

ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโคจิกโดย *Aspergillus oryzae* K-13 ในระดับขวดเขย่า

นายรพี โรจนอุไร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2539

ISBN 974-636-477-4

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

OPTIMAL CONDITIONS FOR KOJIC ACID PRODUCTION BY  
*Aspergillus oryzae* K-13 IN SHAKE-FLASK

Mr.Rapee      Rojana-u-rai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science  
Department of Microbiology  
Graduate School  
Chulalongkorn University  
Academic Year 1996  
ISBN 974-636-477-4


หัวข้อวิทยานิพนธ์   ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโคจิกโดย  
  *Aspergillus oryzae* K-13 ในระดับขวดเซย่า  
โดย                           นายรพี   โรจนอุไร  
ภาควิชา                   จุลชีววิทยา  
อาจารย์ที่ปรึกษา       รองศาสตราจารย์กรรณิกา   จันทร์สอาด

---

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น  
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

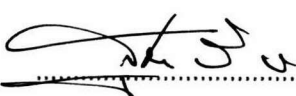
  
..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ศุภวัฒน์ ชุตินวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา จันทร์ทอง)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(รองศาสตราจารย์ กรรณิกา จันทร์สอาด)

  
..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สงครี กุลปรีชา)

  
..... กรรมการ  
(อาจารย์ ดร.สุจิมา รักษาศีล)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

รพี โรจนอุไร : ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโคจิกโดย Aspergillus oryzae K-13  
ในระดับขวดเขย่า(OPTIMAL CONDITIONS FOR KOJIC ACID PRODUCTION  
BY Aspergillus oryzae K-13 IN SHAKE-FLASK) อ.ที่ปรึกษา :  
รศ.กรรณิกา จันทรสอาด , 179 หน้า . ISBN 974-636-477-4.

ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดโคจิกโดย Aspergillus oryzae K-13 ในระดับขวด  
เขย่า คือ ใช้หัวเชื้อสปอร์ช็อกอายุ 24 ชั่วโมงความหนาแน่น  $4-8 \times 10^7$  สปอร์ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการ  
ผลิตกรดโคจิกปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่มีน้ำตาลทรายขาว 100 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน มีสารสกัด  
จากยีสต์ 0.5 กรัมต่อลิตรร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจนและแร่ธาตุโดย  
มีอัตราส่วนระหว่างปริมาณคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 840 : 2 ค่าความเป็นกรด-ด่างตั้งต้นของอาหาร  
เลี้ยงเชื้อคือ 4.5 และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง 30 องศาเซลเซียส สามารถใช้น้ำประปาแทนน้ำปลอดประจุ  
เพื่อเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการเตรียมหัวเชื้อสปอร์ช็อกได้โดยผลผลิตไม่ลดลง

ภาควิชา ..จุลชีววิทยา.....  
สาขาวิชา ..จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม.....  
ปีการศึกษา 2539 .....

ลายมือชื่อนิสิต ..รพี โรจนอุไร.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ..กรรณิกา จันทรสอาด ..รศ.กรรณิกา.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .. - .....



## G726411 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD: Aspergillus oryzae / KOJIC ACID

RAPEE ROJANA-U-RAI : OPTIMAL CONDITIONS FOR KOJIC ACID  
PRODUCTION BY Aspergillus oryzae K-13 IN SHAKE-FLASK ,  
THESIS ADVISOR : ASSO. PROF.KANNIKA CHANTARASA-ARD ,  
179 pp. ISBN 974-636-477-4

The optimal conditions for kojic acid production by Aspergillus oryzae  
K-13 in shake-flask were as followed ; inoculum culture ; 24 hrs. , inoculum  
size ;  $4-8 \times 10^7$  germinated spores in 100 ml. production medium , 100 g/l  
refined-cane sugar as carbon source , 0.5 g/l yeast extract with 0.24 g/l  
ammonium sulfate as nitrogen and minerals source , 840 : 2 C : N ratio , 4.5  
initial pH and 30 °C cultivation temperature. Tap water could be used instead  
of deionized water for precultivation medium without decreasing in the yield.

ภาควิชา Microbiology.....

สาขาวิชา Industrial Microbiology.....

ปีการศึกษา 2539.....

ลายมือชื่อนิสิต..... *รศ. Kanok*

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... *Assoc. Prof. Kanna*

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... -

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีโดยความช่วยเหลือและเอาใจใส่อย่างดี  
ยิ่งของรองศาสตราจารย์ภรณีภา จันทรสอาด อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณา  
เป็นที่ปรึกษา ให้คำแนะนำ ตลอดจนช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ จึงขอ  
กราบขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณประธานกรรมการและคณะกรรมการทุกท่าน ที่กรุณาตรวจสอบ  
แก้ไขต้นฉบับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนงาน  
วิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณสุนันท์ รังษีกาญจน์ ที่ช่วยให้คำแนะนำ และช่วยวิเคราะห์  
กรดโคจิกและน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

ขอขอบพระคุณ คุณภัสตรา สมบูรณ์ธเนศ ที่ช่วยให้คำแนะนำ และช่วย  
วิเคราะห์จุดหลอมเหลวกรดโคจิกด้วยเครื่อง DSC

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์  
มหาวิทยาลัย ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ในการศึกษาระดับปริญญาโทบัณฑิต

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยาที่ได้อำนวยความสะดวกต่างๆที่เกี่ยวข้อง  
ข้องกับงานวิจัยนี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนด้านการเรียนของลูก  
ตลอดมา จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ .....	ฉ
สารบัญตาราง .....	ช
สารบัญรูป .....	ญ
บทที่	
1. บทนำ .....	1
2. อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย .....	29
3. ผลการวิจัย .....	47
4. สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย .....	140
รายการอ้างอิง .....	156
ภาคผนวก .....	168
ประวัติผู้เขียน .....	179

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. จุลินทรีย์ที่มีความสามารถผลิตกรดโคจิก .....	8
2. แหล่งคาร์บอนที่สามารถใช้ผลิตกรดโคจิก .....	9
3. ตัวอย่างสิทธิบัตรเกี่ยวกับกรดโคจิกและอนุพันธ์ของกรด .....	10
4. แหล่งไนโตรเจนที่สามารถใช้ผลิตกรดโคจิก .....	19
5. แสดงการแปรผันปริมาณไนโตรเจนอนินทรีย์เสริมและอัตราส่วน ระหว่างปริมาณคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ .....	41
6. อัตราส่วนระหว่างปริมาณสารสกัดจากยีสต์ต่อปริมาณแอมโมเนียม ซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกรดโคจิก .....	42
7. อัตราเฉลี่ยของการใช้น้ำตาล การผลิตกรดโคจิก เปอร์เซ็นต์การใช้ น้ำตาลและเปอร์เซ็นต์ของการเกิดผลผลิตกรดโคจิก .....	55
8. แสดงการเติบโตของสายใยรา <i>Aspergillus oryzae</i> K-13 อัตราการผลิต กรดโคจิกและเปอร์เซ็นต์ของการผลิตกรดโคจิก .....	68
9. ผลผลิตกรดโคจิกและวันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุดเมื่อแปรผันปริมาณ ไนโตรเจนอนินทรีย์เสริมและอัตราส่วนระหว่างปริมาณคาร์บอน ต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ .....	84
10. ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุด วันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุดและน้ำหนักแห้ง ของสายใยเมื่อเพาะเลี้ยง <i>Aspergillus oryzae</i> K-13 ในอาหารเลี้ยง เชื้อที่แปรผันอัตราส่วนระหว่างปริมาณไนโตรเจนจากสารสกัดจาก ยีสต์และปรีไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟต .....	96
11. ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการผลิตกรดโคจิก โดยรา <i>Aspergillus oryzae</i> K-13 .....	97

ตารางที่	หน้า
12. ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการผลิตกรดโคจิก โดยรา <i>Aspergillus oryzae</i> K-13 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้น้ำประปาและ น้ำปลอดประจุในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ .....	109
13. ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการผลิตกรดโคจิก โดยรา <i>Aspergillus oryzae</i> K-13 เมื่อแปรผันอุณหภูมิเพาะเลี้ยงต่างกัน	113
14. ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการผลิตกรดโคจิก โดยรา <i>Aspergillus oryzae</i> K-13 เมื่อแปรผันอายุหัวเชื้อต่างกัน .....	124
15. ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการผลิตกรดโคจิก โดยรา <i>Aspergillus oryzae</i> K-13 เมื่อแปรผันความหนาแน่นของหัวเชื้อ สปอร์ออกต่างๆกัน .....	130

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1. สูตรโครงสร้างกรดโคจิก .....	1
2. กระบวนการสร้างเมลานินในร่างกายมนุษย์ .....	5
3. อนุพันธ์ที่เกิดจากกรดโคจิก 2 โมเลกุลกับโลหะหนัก .....	7
4. การเกิดกรดโคจิกจากไดไฮดรอกซีอะซีโตน .....	14
5. การเกิดกรดโคจิกจากกลีเซอรอลไดไฮดรอกซีอะซีโตนและกลีเซอรอลไดไฮดรอกซีอะซีโตน .....	14
6. แบบแผนการเกิดกรดโคจิกจากน้ำตาลกลูโคสโดยตรง .....	15
7. การสังเคราะห์กรดโคจิกตามแบบแผนของ Bajpai .....	17
8. อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนโดยวิธี Kjeldahl .....	37
9. ปริมาณกรดโคจิก น้ำหนักแห้งของสายใย และการใช้น้ำตาลของรา A. <i>oryzae</i> K-13 เมื่อผลิตกรดโคจิกในอาหารเลี้ยงเชื้อโมดิฟายเยีสต์ เอ็กซ์แทรกซ์ชูโครสสูตรที่สอง .....	48
10. ปริมาณกรดโคจิก น้ำหนักแห้งของสายใย และการใช้น้ำตาลของรา A. <i>oryzae</i> K-13 เมื่อผลิตกรดโคจิกในอาหารเลี้ยงเชื้อโมดิฟายซาเพ็กซ์ ดอกซ์สูตรที่หนึ่ง .....	49
11. ปริมาณกรดโคจิก น้ำหนักแห้งของสายใย และการใช้น้ำตาลของรา A. <i>oryzae</i> K-13 เมื่อผลิตกรดโคจิกในอาหารเลี้ยงเชื้อโมดิฟายซาเพ็กซ์ ดอกซ์สูตรที่สอง .....	50
12. ปริมาณกรดโคจิก น้ำหนักแห้งของสายใย และการใช้น้ำตาลของรา A. <i>oryzae</i> K-13 เมื่อผลิตกรดโคจิกในอาหารเลี้ยงเชื้อเยีสต์เอ็กซ์แทรกซ์ ชูโครส .....	51
13. ปริมาณกรดโคจิก น้ำหนักแห้งของสายใย และการใช้น้ำตาลของรา A. <i>oryzae</i> K-13 เมื่อผลิตกรดโคจิกในอาหารเลี้ยงเชื้อโมดิฟายเยีสต์ เอ็กซ์แทรกซ์ชูโครสสูตรที่หนึ่ง .....	52

รูปที่	หน้า
14. ปริมาณกรดโคจิก น้ำหนักแห้งของสายใยของรา <i>A. oryzae</i> K-13 เมื่อผลิตกรดโคจิกในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดโคจิกสูตร ต่างๆกัน .....	53
15. ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆกันในระหว่าง การผลิตกรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 .....	57
16. ปริมาณกรดโคจิกสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K-13 ในอาหาร เลี้ยงเชื้อที่มีชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนต่างๆกัน .....	59
17. การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรด-ด่างเมื่อผลิต กรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาล กลูโคสความเข้มข้นต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอน .....	60
18. การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรด-ด่างเมื่อผลิต กรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาล ฟรุคโตสความเข้มข้นต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอน .....	61
19. การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรด-ด่างเมื่อผลิต กรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาล ไซโลสความเข้มข้นต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอน .....	62
20. การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรด-ด่างเมื่อผลิต กรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาล มอลโตสความเข้มข้นต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอน .....	63
21. ค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการผลิตกรดโคจิกในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีน้ำตาลมอลโตสความเข้มข้นต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอนโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 .....	64

รูปที่	หน้า
22. การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดเมื่อผลิตกรดโคจิก โดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอน .....	65
23. ค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการผลิตกรดโคจิกในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอนโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 .....	66
24. กรดโคจิกและน้ำหนักแห้งของสายใยรา <i>A. oryzae</i> K-13 เมื่อแปรผันชนิดของแหล่งคาร์บอนเป็นน้ำตาลทรายขาวและน้ำตาลซูโครส .....	69
25. ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ระหว่างการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K-13 โดยทำการแปรผันชนิดของแหล่งคาร์บอนเป็นน้ำตาลทรายขาวและน้ำตาลซูโครส .....	71
26. ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 ทำการแปรผันชนิดของแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นน้ำตาลทรายขาวและน้ำตาลซูโครส .....	72
27. ปริมาณกรดโคจิกที่ผลิตโดย <i>A. oryzae</i> K-13 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลทรายขาว 100 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอนและแปรผันปริมาณสารสกัดยีสต์เป็น 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 5.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตรตามลำดับ .....	74
28. น้ำหนักแห้งของสายใยรา <i>A. oryzae</i> K-13 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดโคจิกที่มีปริมาณสารสกัดยีสต์เป็น 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 5.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตร .....	75
29. การใช้น้ำตาลรีดิวซ์ของรา <i>A. oryzae</i> K-13 ในอาหารที่มีปริมาณสารสกัดยีสต์เท่ากับ 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 5.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตร .....	76



รูปที่	หน้า
30. ค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณสารสกัดยีสต์เท่า กับ 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 5.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตร .....	78
31. การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการ ผลิตกรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 ซึ่งมีปริมาณสารสกัดยีสต์ ตั้งต้นเป็น 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 5.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตร .....	79
32. กรดโคจิกและน้ำหนักแห้งของสายใยรา <i>A. oryzae</i> K-13 ที่เพาะ เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์มีปริมาณ ไนโตรเจนในสารสกัดจากยีสต์เท่ากับ 0.05 กรัมต่อลิตร (C:N = 840:1) .....	81
33. กรดโคจิกและน้ำหนักแห้งของสายใยรา <i>A. oryzae</i> K-13 ที่เพาะ เลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์เสริมต่างกันโดยจัด ให้มีปริมาณไนโตรเจนรวมเท่ากับ 0.1 กรัมต่อลิตร .....	82
34. กรดโคจิกและน้ำหนักแห้งของสายใยรา <i>A. oryzae</i> K-13 ที่เพาะเลี้ยง ในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์เสริมต่างกัน โดยจัดให้มี ปริมาณไนโตรเจนรวมเท่ากับ 0.15 กรัมต่อลิตร .....	83
35. กรดโคจิกและน้ำหนักแห้งของสายใยรา <i>A. oryzae</i> K-13 ที่เพาะเลี้ยง ในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์เสริมต่างกัน โดยจัดให้มี ปริมาณไนโตรเจนรวมเท่ากับ 0.2 กรัมต่อลิตร .....	86
36. ปริมาณกรดโคจิกที่ผลิตโดย <i>A. oryzae</i> K-13 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แปร ผันปริมาณและชนิดของแหล่งไนโตรเจน 2 ชนิดได้แก่แอมโมเนียม ซัลเฟตและแอมโมเนียมไนเตรต โดยจัดให้มีปริมาณไนโตรเจนรวม ต่างๆกัน .....	87
37. ปริมาณกรดโคจิกที่ผลิตโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี การแปรผันอัตราส่วนระหว่างปริมาณคาร์บอนต่อปริมาณไนโตรเจน ต่างๆกัน .....	89

รูปที่	หน้า
38. น้ำหนักแห้งของสายใยรา <i>A. oryzae</i> K-13 เมื่อผลิตกรดโคจิกในอาหาร เลี้ยงเชื้อที่มีการแปรผันอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่างๆกัน	90
39. ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการผลิตกรดโคจิก โดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการแปรผันอัตราส่วน ระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่างๆกัน .....	92
40. การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกรด โคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 โดยแปรผันชนิดและปริมาณของแหล่ง ไนโตรเจนต่างกันและแปรผันอัตราส่วนระหว่างปริมาณคาร์บอนต่อ ไนโตรเจนต่างกัน .....	93
41. ปริมาณกรดโคจิกและน้ำหนักแห้งของสายใยเมื่อผลิตกรดโคจิกโดย <i>A. oryzae</i> K-13 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แปรผันอัตราส่วนระหว่าง น้ำหนักสารสกัดยีสต์และน้ำหนักแอมโมเนียมซัลเฟตต่างๆกัน .....	95
42. การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อผลิตกรด โคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 ในอาหารที่แปรผันอัตราส่วนระหว่าง น้ำหนักสารสกัดยีสต์ต่อน้ำหนักแอมโมเนียมซัลเฟตต่างๆกัน .....	98
43. ปริมาณกรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แปรผัน ค่าความเป็นกรด-ด่างตั้งต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อต่างๆกัน .....	100
44. น้ำหนักแห้งของสายใยเมื่อผลิตกรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 โดย ทำการแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างตั้งต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อต่างๆกัน	101
45. ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดระหว่างการผลิตกรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 เมื่อแปรค่าความเป็นกรด-ด่างตั้งต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อต่างๆกัน	102
46. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ระหว่างการผลิตกรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 เมื่อแปรค่าความเป็นกรด-ด่างตั้งต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อต่างๆกัน	103

รูปที่	หน้า
47. ค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการผลิตกรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 เมื่อแปรค่าความเป็นกรด-ด่างตั้งต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อต่างกัน	105
48. ปริมาณกรดโคจิกและน้ำหนักแห้งของสายใยรา <i>A. oryzae</i> K-13 เมื่อผลิตกรดโคจิกโดยแปรผันแหล่งน้ำที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 2 ชนิดได้แก่น้ำปลอดประจุและน้ำประปา	106
49. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดระหว่างการผลิตกรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 เมื่อทำการแปรผันน้ำที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 2 ชนิดได้แก่น้ำประปาและน้ำปลอดประจุ	108
50. ปริมาณกรดโคจิกและน้ำหนักแห้งของสายใยรา <i>A. oryzae</i> K-13 เมื่อแปรผันอุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงต่างกัน	110
51. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดระหว่างผลิตกรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 โดยแปรผันอุณหภูมิที่ใช้เพาะเลี้ยงต่างกัน	112
52. การเติบโตของรา <i>A. oryzae</i> K-13 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตหัวเชื้อสปอร์งอกเป็นเวลา 72 ชั่วโมง	115
53. ปริมาณกรดโคจิกและน้ำหนักแห้งของสายใยเมื่อผลิตกรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 โดยใช้หัวเชื้อสปอร์แขวนลอย	116
54. ปริมาณกรดโคจิกและน้ำหนักแห้งของสายใยเมื่อผลิตกรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 โดยใช้หัวเชื้อสปอร์งอกอายุ 12 ชั่วโมง	117
55. ปริมาณกรดโคจิกและน้ำหนักแห้งของสายใยเมื่อผลิตกรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 โดยใช้หัวเชื้อสปอร์งอกอายุ 24 ชั่วโมง	118
56. ปริมาณกรดโคจิกและน้ำหนักแห้งของสายใยเมื่อผลิตกรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 โดยใช้หัวเชื้อสปอร์งอกอายุ 36 ชั่วโมง	119
57. ปริมาณกรดโคจิกและน้ำหนักแห้งของสายใยเมื่อผลิตกรดโคจิกโดยรา <i>A. oryzae</i> K-13 โดยใช้หัวเชื้อสปอร์งอกอายุ 48 ชั่วโมง	121

รูปที่	หน้า
58. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการผลิตกรดโคจิกโดยรา A. <i>oryzae</i> K-13 เมื่อแปรผันอายุหัวเชื้อต่างกัน .....	122
59. ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการผลิตกรดโคจิก โดยรา A. <i>oryzae</i> K-13 เมื่อแปรผันอายุหัวเชื้อต่างกัน .....	123
60. ปริมาณกรดโคจิกที่ผลิตโดยรา A. <i>oryzae</i> K-13 โดยแปรผัน ความหนาแน่นของหัวเชื้อสปอร์งอกต่างๆกัน .....	126
61. น้ำหนักแห้งของสายใยเมื่อผลิตกรดโคจิกโดยรา A. <i>oryzae</i> K-13 โดยแปรผันความหนาแน่นของหัวเชื้อสปอร์งอกต่างๆกัน .....	127
62. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ระหว่างการผลิตกรดโคจิกโดยรา A. <i>oryzae</i> K-13 โดยแปรผันปริมาณความหนาแน่นหัวเชื้อสปอร์งอกต่างๆกัน .....	128
63. ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดระหว่างการผลิตกรดโคจิกโดยรา A. <i>oryzae</i> K-13 โดยแปรผันความหนาแน่นของหัวเชื้อสปอร์งอกต่างๆกัน .....	129
64. กรดโคจิกและน้ำหนักแห้งของสายใยเมื่อเพาะหัวเชื้อสปอร์งอก A. <i>oryzae</i> K-13 จากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตหัวเชื้อสปอร์งอกที่เตรียม โดยใช้น้ำปลอดประจุและน้ำประปา .....	132
65. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดระหว่างการผลิตกรดโคจิกโดย ใช้หัวเชื้อสปอร์งอก A. <i>oryzae</i> K-13 ที่ได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตหัว เชื้อสปอร์งอกที่เตรียมโดยน้ำปลอดประจุและน้ำประปา .....	133
66. ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการผลิตกรดโคจิกโดย ใช้หัวเชื้อสปอร์งอกของ A. <i>oryzae</i> K-13 ที่ได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิต หัวเชื้อสปอร์งอกที่เตรียมโดยน้ำปลอดประจุและน้ำประปา .....	134
67. ปริมาณกรดโคจิก น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ น้ำหนักแห้งของ สายใยและค่าความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการผลิต กรดโคจิกโดย A. <i>oryzae</i> K-13 .....	135

รูปที่	หน้า
68. ปริมาณกรดโคจิกที่ได้ก่อนและหลังทำการปรับสภาพที่เหมาะสมต่อการผลิต .....	137
69. โครมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ที่สร้างโดย <i>A. oryzae</i> K-13 เป็นเวลา 20 วัน เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC โดยใช้คอลัมน์ Zorbox-C8 .....	138
70. เทอร์โมแกรมของกรดโคจิกที่สร้างโดย <i>A. oryzae</i> K-13 (1) และของกรดโคจิกมาตรฐาน (2) .....	139