เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

จันทร์ธิรา ล้ภยพร. 2536. การปรับปรุงสายพันธุ์ *Giberella fujikuroi* เพื่อผลิตจิบเบอเรลลิน. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์. 2532. สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อราจิบเบอเรลลา ฟูจิกุรอย ซี. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุภาพร พรพรหมกุล. 2533. การสกัดแยกและการตกผลึกกรดจิบเบอเรลลิกจากน้ำหมักของเชื้อ *G. fujikuroi*. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ. 2536. สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลินโดย *Gibberella fujikuroi* F4W-6(9) ในถังหมัก. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อรไท สุขเจริญ. 2533. สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลินในถังหมัก. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Albone, K.S., Gaskin, P., Macmillan, J., and Sponsel, V. M. 1984. Identification and localization of gibberellins in mature seed of the curcubit *Sechium edule* and a comparison between this curcubit and legume *Phaseolus coccineus*. Planta. 162:560-565.

Bearder, R., MacMillan, J., Wels, M. and Phinney, B.O. 1973. Metabolism of steviol and its derivatives by *Gibberella fujikuroi*, mutant B1-41a. J.Chem. Soc. Chem. Commun. . 415-468.

Bernfeld, P. 1955. Amylase and Method in Enzymology (Colowick,P.S. and Kaplan O.N. eds.) vol.1 pp.149. Academic Press Inc., Publishers, New York.

Birch, A.J., Richards, R.W., Smith, H., Harris, A., and Whalley, W.B. 1975. Fungal products XIV. Metabolic pathways from ent-kaurenolic acid to the fungal gibberellins in mutant B1-41a of *Gibberella fujikuroi*. J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1:721-726

Borrow, A., Brian, P.W., Chester, V.E., Curtis, P.J., Hemming, H.G., Henehan, C., Jefferys, E.G., Lloyd, P.B., Nixon, I.S., Norris, G.L.F. and Radley, M. 1955. Gibberellic acid, a metabolic product of the fungus *G. fujikuroi* : Some observations on its production and isolation. J. Sci. Food Agr.. 6 : 340-348.

_____, Jefferys, E.G. and Nixon, Y.S., 1959. Process of producing gibberellic acid by two stage cultivation of *Gibberella fujikuroi*. US.Patent. 2,906,670.

_____, Jefferys, E.G., Kessell, R.H.J., Lloyd, E.C., Lloyd, P.B. and Nixon, I.S. 1961. The metabolism of *Gibberella fujikuroi* in stirred culture. Can. J. Micro.. 7 : 227-276.

_____, Brown, S., Jefferys, E.G., Kessell, R.H.J., Lloyd, P.B., Rothwell, A., Rothwell, B. and Swait, J.C. 1964. Metabolism of *Gibberella fujikuroi* in stirred culture. Can. J. Micro.. 7 : 407-444.

Bruckner, B. and Blechschmidt, D. 1991. The gibberellin fermentation. Crit.Rev.biotechnol. 11(2) : 163-192.

_____, Blechschmidt, D. and Recknagel, R.D. 1991. Optimization of nutrients medium for biosynthesis of gibberellic acid. J. Basic. Microbiol.. 4 : 243-250.

Brueckner, B., Blechschmidt, D., Sembdner, G. and Schneider, G.. 1989. Fungal gibberellin production. Biotechnology of Vitamins,Pigments and Growth factors.

Bu Lock, J.D., Detroy, R.W., Hostalek, Z. and Monin-Al-Shakarchi, A. 1974. Regulation of secondary biosynthesis in *Gibberella fujikuroi*. Trans. Br. Mycol. Soc.. 62 : 377-389.

Corey, E.J.,Danheiser, R.L., Chandrasekavan, S., Keck, G.E., Gopalan , B., Larsen, S.D., Sivet, P. and Gras, J.L. 1978. Steriospecific total synthesis of gibberellic acid . J.Am. Chem. Soc. 100: 8034-8036.

Cross, B.E., Galt, R.H.B., and Hanson, J.R. 1964. Fermentation process for the production of gibberellic acid . GB.patent. No.957,634 .

Curtis, P.J., and Cross, B.E. 1954. Gibberellic acid a new metabolite form the culture filtrates of *Gibberella fujikuroi*. Chem Inc.

_____, 1957. Selection of fungi and actinomycetes for gibberellin production. Science. 125 : 646.

Darken, M.A., Jensen, A.L. and Shu, P. 1959. Production of gibberellic acid by fermentation. Appl. Microbiol.. 7:301-303.

Fuska, J., Kuhr, I., Podojil, M. and Sevcik, V. 1961. The influence of the nitrogen soure on the production of gibberellic acid in submerse cultivation of *Gibberella fujikuroi*. Folia Microbiol.. 6 : 18-21.

Gancheva, V. and Dimova, T. 1984. Biosynthesis of gibberellin. II. Influence of the quantity and age of inoculum on the biosynthesis of gibberellins from the strain *Fusarium moniliforme* IM-11. Acta Microbiol. Bulgarica.. 14 : 74-79.

GB patent No. 783,611. ICI Ltd. Gibberellic acid fermentation process.

Geissman, T.A., Verbiscar, A.J., Phinney, B.O., and Cragg, G. 1966. Study on the biosynthesis of gibberellin from (-)kaurenoic acid in culture of *G. fujikuroi*. Phytochemistry. 5: 933.

Graebe, J.E. 1987. Gibberellin biosynthesis and control. Ann. Rev. Plant physiol.. 38 : 419-465.

_____, and Roper, H.J. 1978. Gibberellins. In Phytohormones and Related Compounds. A Comprehensive Treatise. vol 1. ed. Letham, D.S., Goodwin, P.R., and Haggino, T.J.V., Eds. Elsevier , Amsterdam, Oxford, New York. 107-204.

Hanson, J.R. 1967. New metabolites of *Gibberella fujikuroi*-XII Gibberellin A_{15} . Tetrahedron. 23 : 733

Hemphill, D.D., Baker, L.R., and Sell, H.M. 1972. Isolation and Identification of the gibberellin of *Curcumis sativus and Curcumis melo*. Planta. 103: 241-248.

Hori, S. 1989. "Bakanae disease of rice : Lecture on plant disease" 1 st. lecture. pp. 114-121. Seibido, Tokyo. 1903. In Kumar, P.K.R., and Lonsane, B.K.. Microbial production of gibberellin : State of art. Adv. Appl. Microbiol. 34:29-139.

Huggett, A. and Nixon, D.A. 1957. Enzymatic determination of Blood glucose. J. Biochem.. 66: 1-12.

Jefferys, E.G.. 1970. The gibberellin fermentation. Adv. Appl. Biol. 13:283-316.

Kumar, P.K.R., and Lonsane, B.K. 1989. Microbial production of gibberellins : state of art. Adv. Appl. Microbiol.. 34 : 29-139.

Kurosawa, E. 1926. Experimental studies on the nature of the substance excreted by the "bakanae" fungus. Trans. Nat. Hist. Soc. Fomosa. 16:212-217.

Kyowa Hakko Kogyo Co.,Ltd. Production of gibberellin A_4. JP.Pat. 58,152,499. March 5,1982. In Kumar, P.K.R., and Lonsane, B.K. 1989. Microbial production of gibberellins : state of art. Adv. Appl. Microbiol.. 34 : 29-139.

MacMillan, J. and Takahashi, N. 1968. Proposed procedure for the allocation of trivial names to gibberellins. Nature.. London. 217 : 170-171.

Muromtsev, G.S., Rakovskii, Y.S., Dubovaya, L.P., Taemnikova, T.V. and Fedchenko A.N. 1968. Sucrose and fat as carbon source for the biosynthesis of gibberellins. Prikl. Biokhium. Mikrobiol.. 4 : 398-407.

Murphy, P.J. and West, C.A. 1969. Arch. Biochem. Biophys.. 133: 395-407.

Palmer, G.H. 1971. The industrial use of gibberellic acid and its scientific basic. J. Inst. Brew. 80(13).

Rowe, J.W. 1968. The common and systematic nomenclature of cyclic diterpenes. 3rd. Revision. Madison.

Russell, S. 1975. In "Gibberellins and plant growth"(Krishnamoorth, H.N. Ed.) pp.1-34. Wiley Eastern Ltd. New dehli.

Sembdner, G., Schnliemannn, W. and Hermann, G. 1987. Growth. Progr. Bot.. 49 : 137-170.

Shechter, I. and West, C.A. 1969. Biosynthesis of gibberellins : Biosynthesis of cyclic diterpenes from trans-geranyl geranyl pyrophosphate. J. Biol. Chem.. 224 : 3200-3209.

Stodola, F.H., Raper, K.B., Fennell, D.I., Conway, H.F., Johns, V.E., Langfold, C.T. and Jackson, R.W. 1955. The microbiological production of gibberellins A and X . Arch. Biochem. Biophys. 54 : 240-245.

US patent No. 1,906,671. ICI Ltd. Process of producing gibberellic acid.

US patent No. 2,906,670. ICI Ltd. Process of producing gibberellic acid by two stage cultivation of *Gibberella fujikuroi.*

Vass, R.C. and Jefferys, E.G. 1979. Gibberellic acid. Economic Microbiology vol.3. Academic Press, Fiorida. 421.

Yabuta, T. 1935. Biochemistry of the "Bakanae" fungus of rice. Arg. Hort. 10:17-22.

_____, Kambe, K., and Hayashi, T. 1934. Biochemistry of the "bakanae" fungus of rice. I. fusaric acid , a new product of the bakanae fungus. J. Agic. Chem. Japan. 10: 1059.

_____and Sumiki, Y. 1938. The crystallization of gibberellin A and B . J. Arg. Chem. Japan. 14: 1526-1529.

_____and Hayashi, T. 1939. J. Agric. Chem. Soc. Jpn.. 15:257-266.

West, C.A., and Phinney, B.O. 1956. Properties of gibberellin like factor form extracts of high plants. Plant Physio. . 31:20-25.

_____. 1973. In " Biosynthesis and its control in plants" (Milborrow, B.V. ed.) Academic Press, New York. 143-169.

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารที่ใช้ในงานวิจัย

1.1 สูตรอาหารแข็งสำหรับการเก็บรักษาเชื้อรา โพเตโตเดกซ์โทรสอาการ์ (potato dextrose agar,PDA) เสริมแร่ธาตุในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

มันฝรั่ง	300 กรัม
(ต้มให้เดือด 30 นาที แล้วกรองเอาเฉพาะน้ำใส)	
เด็กซ์โทรส	20 กรัม
วุ้นผง	20 กรัม
อะลูมิเนียมออกไซด์(Al_2O_3)	0.5 กรัม
ซิงค์คลอไรด์($ZnCl_2$)	0.5 กรัม
คอปเปอร์ซัลเฟต($CuSO_4.5H_2O$)	0.01 กรัม

ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้เป็น 5.6 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.2 สูตรอาหารแข็งสำหรับกระตุ้นการสร้างสปอร์ อะซิเตต อาการ์ (acetate agar) ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

แอมโมเนียมไนเตรต(NH_4NO_3)	1 กรัม
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต(KH_2PO_4)	1 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต($MgSO_4.7H_2O$)	0.5 กรัม
โซเดียมอะซิเตต($CH_3COONa.3H_2O$)	0.6 กรัม
วุ้นผง	20 กรัม

ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้เป็น 6.0 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 15 นาที

1.3 สูตรอาหารเหลวสำหรับเตรียมหัวเชื้อ(inoculum medium) ตามสูตรของ อรไท สุขเจริญ(2533) ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

น้ำตาลซูโครส	100 กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$	1.89 กรัม
กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว (defatted soybean meal)	1.90 กรัม
โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	5 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต	1 กรัม
อะลูมิเนียมออกไซด์	0.1 กรัม

ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้เป็น 7.0 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.4 สูตรอาหารเหลวสำหรับผลิต GA_3 ของ อรไท สุขเจริญ (2533) มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับสูตรอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ ในข้อที่ 1.3 แต่มีน้ำมันถั่วเหลืองปริมาณร้อยละ 0.2 ของปริมาตรทั้งหมด

1.5 สูตรอาหารสำหรับหาแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 ในอาหาร 1 ลิตร มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.4 แต่แปรผันปริมาณสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง และกากเมล็ดฝ้ายที่มีปริมาณไนโตรเจนเป็น 0.14,0.64,1.14 และ 1.64 กรัมต่อลิตร ใช้เป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน แทนกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว

1.6 สูตรอาหารสำหรับหาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 ในอาหาร 1 ลิตร มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.4 เมื่อใช้สารละลายของกากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน และกากเมล็ดฝ้ายที่มีปริมาณไนโตรเจนเป็น 1.14 กรัมต่อลิตร แต่แปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 1.39,1.89,2.39 และ 2.89 กรัม

1.7 สูตรอาหารสำหรับหาปริมาณซูโครสที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 ในอาหาร 1 ลิตร มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.4 เมื่อใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีปริมาณไนโตรเจนเป็น 1.14 กรัมต่อลิตร ร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 2.39 แต่แปรผันปริมาณซูโครสเป็น 80,100,120 และ 140 กรัม

1.8 สูตรอาหารสำหรับหาปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 ในอาหาร 1 ลิตร มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.7 แต่แปรผันปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเป็น 3 5 7 และ 9 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

1.9 สูตรอาหารสำหรับหาปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต ที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 ในอาหาร 1 ลิตร มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.7 แต่แปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตเป็น 0.5 1 1.5 และ 2 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

1.10 สูตรอาหารสำหรับหาปริมาณอะลูมิเนียมออกไซด์ที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 ในอาหาร 1 ลิตร มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.7 แต่แปรผันปริมาณอะลูมิเนียมออกไซด์เป็น 0 0.1 0.2 และ 0.3 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

1.11 สูตรอาหารเหลวสำหรับเตรียมหัวเชื้อ(inoculum medium) ที่ได้จากการการศึกษานี้ ในระดับขวดเขย่า ในอาหาร 1 ลิตร มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.7 ยกเว้นไม่มีน้ำมันถั่วเหลือง

1.12 สูตรอาหารเหลวสำหรับผลิต GA_3 ที่ได้จากการศึกษานี้ ซึ่งใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.7

1.13 สูตรอาหารเหลวสำหรับผลิต GA_3 (production medium) ที่ได้จากการศึกษานี้ ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร ในอาหาร 1 ลิตร มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.7 แต่ใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีไนโตรเจน 0.57 กรัมต่อลิตร

1.14 สูตรอาหารเหลวสำหรับผลิต GA_3 (production medium) ที่ใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว เป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน แทนสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ในอาหาร 1 ลิตร มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.4 แต่แปรผันปริมาณกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วเป็น 0.9 1.9 2.9 3.9 4.9 5.9 6.9 และ 7.9 กรัมต่อลิตร ร่วมกับกับแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 1.89 และ 2.39 กรัมต่อลิตร

1.15 สูตรอาหารสำหรับหาปริมาณซูโครสที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 ที่ใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว เป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน แทนสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ในอาหาร 1 ลิตร มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.4 แต่มีปริมาณกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วเท่ากับ 5.9 กรัมต่อลิตร ร่วมกับปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 1.89 กรัมต่อลิตร

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

2.1 การเตรียมสารละลายของกากถั่วเหลือง และกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน

ชั่งกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว หรือกากเมล็ดฝ้าย ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทอุตสาหกรรมวิวัฒน์ ปริมาณ 200 กรัม เติมสารละลายกรดกำมะถันเข้มข้น 0.5 นอร์มอล ปริมาตร 600 มิลลิลิตร นำไปย่อยในตู้นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 40 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น นำมาเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1200 มิลลิลิตร กรองผ่านผ้าขาวบาง แล้วนำมาปรับให้มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7.0 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 35 (น้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่ามีปริมาณไนโตรเจนรวมทั้งหมด ประมาณร้อยละ 0.39-0.41 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ประมาณ 4.2 กรัมต่อลิตร

2.2 การเตรียมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (Dinitrosalicylic acid)

ละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก 1 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร และเติมโปตัสเซียมโซเดียมตาเตรต (Potassium sodiumtartate, $C_4H_4KNaO_6.4H_2O$) 30 กรัม ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.3 การเตรียมสาระลายเอนไซม์อินเวอร์เทส

ปิเปตสารละลายเอนไซม์อินเวอร์เทส ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ พีเอช 4.0 ที่เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและเก็บไว้ในตู้เย็น

2.4 การเตรียมสารละลายของ พีจีโอ เอนไซม์

ละลาย พีจีโอ เอนไซม์ 1 แคปซูล ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส

(glucose oxidase) 500 หน่วย และเปอร์ออกซิเดส(peroxidase) 100 หน่วย ในสารละลายโปตัสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์(Potassium phosphate buffer) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.0 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร เติม 1 เปอร์เซนต์ สารละลาย โอ-ไดอะนิชิดีน (o-dianisidine) ใน 95 เปอร์เซนต์เอทธานอล ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.5 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์ไนโตรเจน

2.5.1 ของผสมของเกลือ(salt mixture) ประกอบด้วย โปตัสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 95 กรัม และคอปเปอร์ซัลเฟต($CuSO_4.5H_2O$) 5 กรัม ทำการปั่นของผสมด้วยเครื่องปั่นให้ละเอียด

2.5.2 อินดิเคเตอร์ผสม(mixed indicator) ละลายเมทธิลเรด (methyl red) และเมทธิลีนบลู (methylene blue) 0.1 กรัม ใน 95 เปอร์เซนต์เอทธานอล ปริมาตร 150 มิลลิลิตร

2.5.3 สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอล

3. กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณ GA_3 โดยวิธี HPLC

3.1 การเตรียมสารละลาย GA_3 มาตรฐาน

ชั่ง GA_3 มาตรฐาน 0.769 กรัม (ความบริสุทธิ์ร้อยละ 97.7) ละลายในเมทธานอลเข้มข้นร้อยละ 35 ปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร ซึ่งจะได้สารละลาย GA_3 เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2 การเตรียมสารละลายภายในมาตรฐาน

สาร internal standard ที่ใช้คือ ยาพาราเซตามอล(paracetamol) ชนิดฉีดของ ATLANTIC (ATC) ความเข้มข้น 0.15 กรัมต่อลิตร เจือจางให้มีความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น บรรจุในขวดสีชา เก็บไว้ในตู้เย็น โดยการเตรียม GA_3 มาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อทำกราฟมาตรฐานแสดงไว้ในตารางที่ 33

3.3 นำตัวอย่างจากข้อ 3.2 สกัดหาปริมาณ GA_3 เพื่อวิเคราะห์ด้วย HPLC ตามวิธีในข้อ 5.8 บทที่ 2 นำค่าสัดส่วนของพื้นที่ใต้กราฟของ GA_3 และสารละลายมาตรฐานภายใน แต่

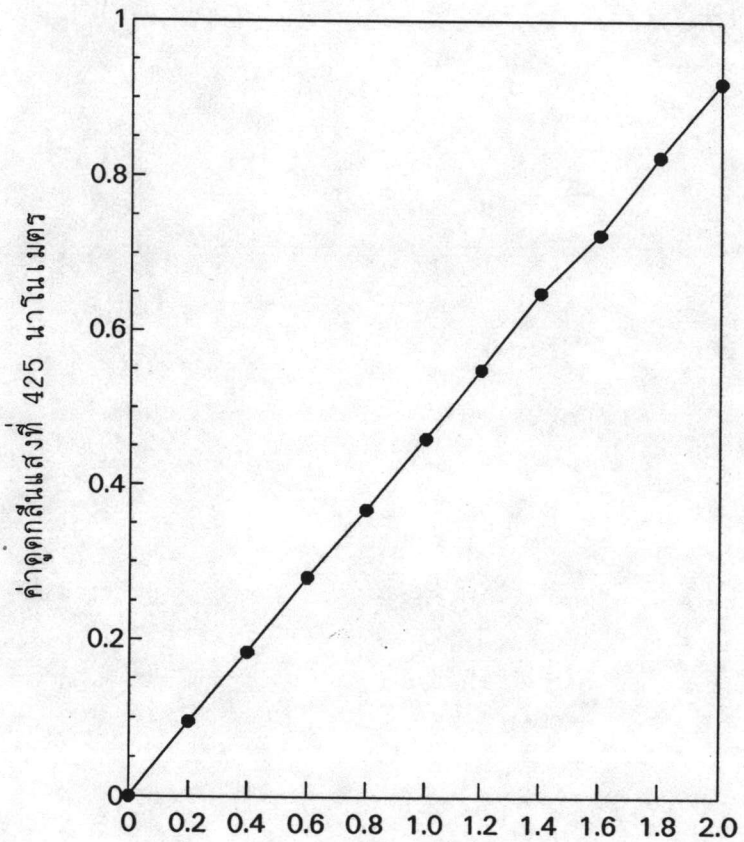
ละค่ามาเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ GA_3 และค่าสัดส่วนของพื้นที่ใต้กราฟ ดังแสดงในรูปที่ 41

ตารางที่ 33 การเตรียมสารละลาย GA_3 มาตรฐาน ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

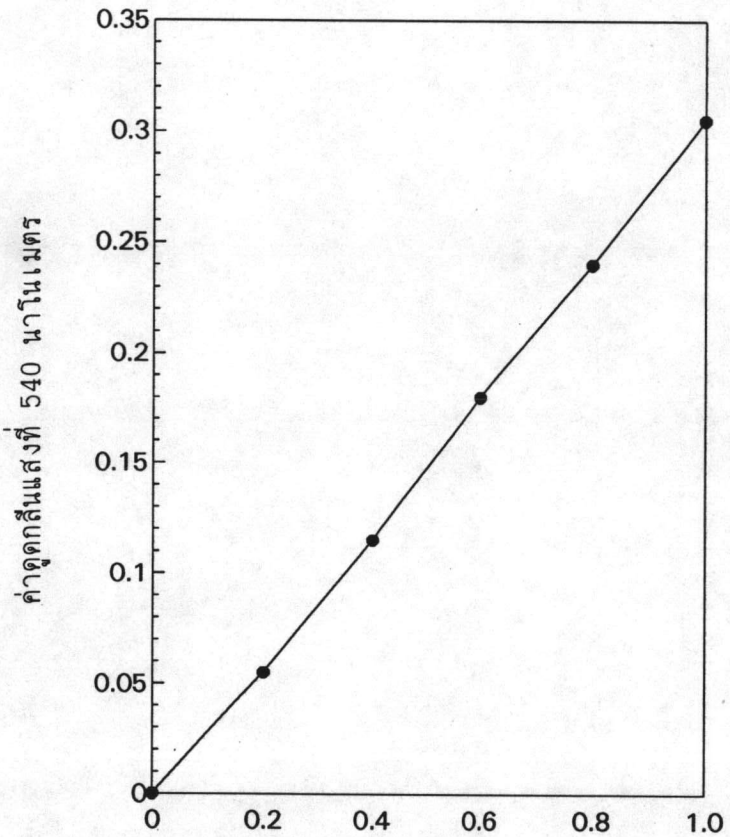
ความเข้มข้นของ GA_3 (มิลลิกรัมต่อลิตร)	สารละลาย GA_3 มาตรฐาน ความเข้มข้น 3 มก.ต่อลิตร (มิลลิลิตร)	อาหารเหลวสำหรับเลี้ยงเชื้อ เพื่อผลิต GA_3 (มิลลิลิตร)
0	0	3.0
0.2	0.2	2.8
0.4	0.4	2.6
0.6	0.6	2.4
0.8	0.8	2.2
1.0	1.0	2.0

ภาคผนวก ง

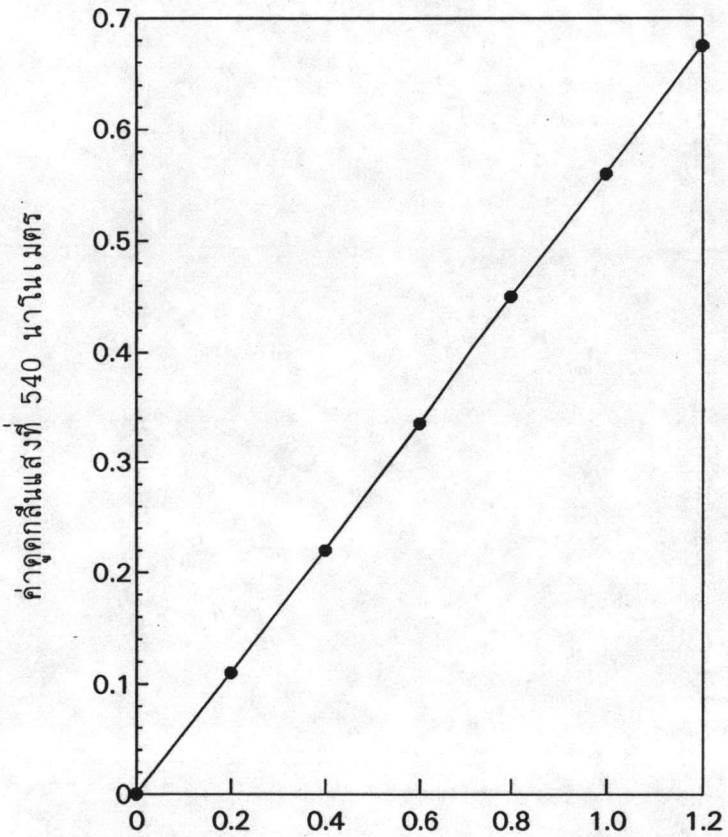
กราฟมาตรฐาน



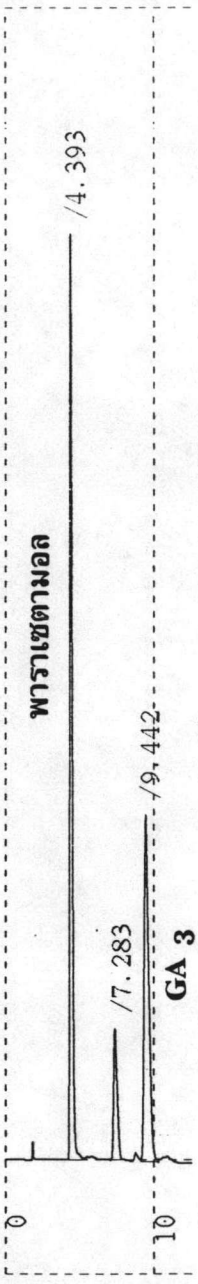
รูปที่ 37 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วยวิธีของ Huglet และ Nixon



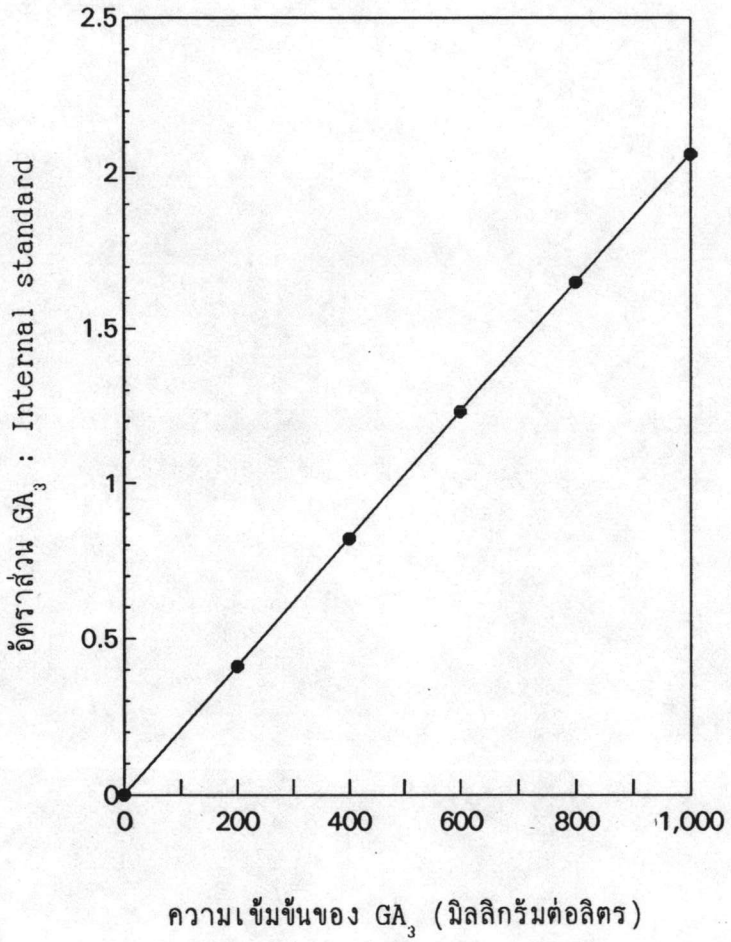
รูปที่ 38 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำตาลซูโครส



รูปที่ 39 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธีการของ Bernfeld



รูปที่ 40 ลักษณะโครมาโตแกรมของ GA_3 และพาราเซตามอล ที่วิเคราะห์ด้วย HPLC



รูปที่ 41 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณ GA_3 โดยวิธี HPLC

ประวัติผู้เขียน

นายศุภชัย สัมปปิโต เกิดเมื่อวันที่ 8 สิงหาคม พ.ศ. 2511 ที่อำเภอเสาไห้ จังหวัดสระบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ วิทยาเขตบางเขน ในปีการศึกษา 2533 ต่อมาเข้าศึกษาในระดับปริญญาโท หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2534 และได้รับทุนในโครงการผลิตและพัฒนาอาจารย์ของทบวงมหาวิทยาลัย (UDC)