บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

สรุปผลการวิจัย

1. สามารถใช้ PUF ชนิดโครงสร้างเปิดความหนาแน่นสูง ลักษณะที่เป็นชิ้นและแผ่นเป็นวัสดุตรึงในการตรึงสายใยของ *Aspergillus niger* G153 เพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตได้

2. สำหรับการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยสายใยของ *Aspergillus niger* G153 ในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยใช้ภาวะที่เหมาะสมของสำหรับการผลิตในรูปแคลเซียมกลูโคเนต ใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังไฮโดรไลเสต 50 กรัมต่อลิตร พบว่าได้ปริมาณกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนต 54.16 กรัมต่อลิตร ซึ่งไล่เลี่ยกับการผลิตในรูปแคลเซียมกลูโคเนตโดยใช้เวลา 24 ชั่วโมงเท่ากัน

3. สามารถผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยสายใยตรึง *Aspergillus niger* G153 ในชิ้น PUF โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังไฮโดรไลเสตมากกว่า 50 กรัมต่อลิตร โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 300 กรัมต่อลิตร

4.ในการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างด้วยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในชิ้น PUF ขนาด 0.20 เซนติเมตร^3 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสในแป้งมันสำปะหลังไฮโดรไลเสตเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน ไม่ต้องเติมไนโตรเจน พบว่าภาวะที่เหมาะสมคือ อัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ใช้กล้าเชื้อที่มีน้ำหนักแห้งสายใยตรึง 9.125 กรัมต่อลิตร (ใช้ชิ้น PUF แห้งหนักเท่ากับ 7.5 กรัมต่อลิตร) ได้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 315.54 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 74 ของการผลิต อัตราการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนต เมื่อเทียบกับน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นเท่ากับ 96.59 เปอร์เซนต์

5. ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรึงสายใยของ *Aspergillus niger* G153 ในแผ่น PUF ขนาด 4.4 เซนติเมตร^2 คือใช้สปอร์ความหนาแน่น 5.0-12.5 x 10^6 สปอร์ต่อแผ่น

PUF ขนาด 4.4 เซนติเมตร^2 มีน้ำหนัก 0.05 กรัม จำนวน 1 แผ่น เพาะเลี้ยงให้สปอร์ตรึงเป็นสายใยตรึงนาน 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 30-33 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าแบบโรตารี ความเร็ว 200 รอบต่อนาที

6. สำหรับการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตด้วยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในแผ่น PUF ขนาด 4.4 เซนติเมตร^2 ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสในแป้งมันสำปะหลังไฮโดรไลเสตเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน ไม่ต้องเติมแหล่งไนโตรเจน ภาวะเหมาะสมคือ อัตราการให้อากาศเท่ากับ 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ใช้กล้าเชื้อที่มีน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเท่ากับ 2.87 กรัมต่อลิตร (ใช้ PUF แห้งหนักเท่ากับ 2.5 กรัมต่อลิตร) ได้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 296.7 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 80 ของการผลิต อัตราการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนต เมื่อเทียบกับน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นเท่ากับ 90.83 เปอร์เซนต์

7. สายใยของ *Aspergillus niger* G153 ที่ตรึงในชิ้น PUF มีความเหมาะสมที่จะใช้เพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตมากกว่าสายใยที่ตรึงในแผ่น PUF เนื่องจากให้ผลผลิตไล่เลี่ยกัน แต่เร็วกว่าถึง 6 ชั่วโมง

8. การผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ใน PUF มีความเหมาะสมกว่าการผลิตในรูปแคลเซียมกลูโคเนต เนื่องจากใช้แหล่งคาร์บอนตั้งต้นได้สูงกว่าถึง 6 เท่า ซึ่งมีผลทำให้ได้ผลผลิตกรดต่อการผลิต 1 ครั้งมากกว่าเกือบ 6 เท่า

9. เมื่อใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดตรวจการเติบโตของสายใยตรึงในชิ้น PUF พบว่า มีการเติบโตทั่วทั้งชิ้น PUF แต่สายใยที่ตรึงในแผ่น PUF มีการเติบโตมากที่บริเวณผิวของแผ่น PUF ส่วนภายในแผ่น PUF มีการเติบโตเล็กน้อย

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองได้ใช้ PUF ชนิดโครงสร้างเปิดความหนาแน่นสูงเป็นวัสดุในการตรึง *Aspergillus niger* G153 และพบว่าเป็นวัสดุตรึงที่ดี เนื่องจาก PUF ชนิดโครงสร้างเปิด เป็น PUF ที่มีโพรงของเซลล์ต่อถึงกันทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อ และสปอร์ของราสามารถผ่านเข้าไปเจริญงอกเป็นสายใยอยู่ภายในชิ้น PUF ได้ทั่วถึงทั้งชิ้น และ PUF ชนิดโครงสร้างเปิดจะจมลง

ในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ลอยอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้ออีกด้วย จึงทำให้ได้รับส่วนอาหารทั่วถึงกัน และการที่มีความหนาแน่นสูงนั้นมีส่วนดีคือ ตาข่ายของ PUF เชื่อมกันอย่างหนาแน่นจึงมีความทนทานต่อแรงเขย่าไม่มีการฉีกขาดของชิ้น PUF ในขณะเตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึงและในระหว่างการผลิต (บรรเลง ศรานิล, 2535; นิติพงษ์ จิระวรานันท์, 2539)

เมื่อผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยแปรผันตามความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วเป็น 250 300 และ 350 กรัมต่อลิตร พบว่า ที่ความเข้มข้น 300 กรัมต่อลิตร เหมาะสมให้ผลผลิตกรดสูงสุด 318 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 84 ของการผลิต และที่ความเข้มข้นสูงถึง 350 กรัมต่อลิตร ก็ยังผลิตกรดได้แต่ให้ผลผลิตกรดเพียง 298.91 กรัมต่อลิตร และใช้เวลานานถึง 130 ของการผลิต ซึ่งจะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังขึ้นอีกเพียง 50 กรัมต่อลิตร ปรากฏว่าใช้เวลาในการผลิตเพิ่มขึ้นอีก 56 ชั่วโมง ซึ่งถือว่าใช้เวลานานมากเกินไปไม่คุ้มกับการผลิตต่อ 1 ครั้ง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ จินตนา ไกรวัฒนพงศ์ (2536) ที่ได้ทดลองผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยสายใยอิสระของ *Aspergillus niger* G153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นที่เหมาะสมในการผลิตคือ 300 กรัมต่อลิตร ส่วนที่ความเข้มข้น 350 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตต่ำกว่าและช้ากว่า นั่นก็คือไม่ว่าจะผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยสายใยอิสระหรือสายใยตรึงก็พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นคือ 300 กรัมต่อลิตร และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Blom และคณะ (1952) ที่ได้ทดลองผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตในระดับโรงงานต้นแบบ ด้วยสายใยอิสระของ *Aspergillus niger* พบว่า สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วได้สูงถึง 350 กรัมต่อลิตร แต่ปริมาณน้ำตาลกลูโคสในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนต และให้ผลผลิตสูงสุดคือ 300 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้จากผลการทดลองนี้พบว่า ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 350 กรัมต่อลิตร มีการเติบโตของสายใยระหว่างการผลิตค่อนข้างมากเพราะน้ำหนักแห้งของสายใยตรึงเพิ่มขึ้นถึง 2.175 กรัมต่อลิตร ซึ่งอาจเป็นเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลผลิตไม่สูงเท่าที่ควร

การที่มีการเติบโตเกิดขึ้นทุกๆ การทดลอง อาจเนื่องมาจากมีไนโตรเจนบางส่วนค้างอยู่ในวัสดุตรึงหรือสายใยตรึงจึงทำให้สายใยมีการเจริญเติบโตต่อได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของนิติพงษ์ จิระวรานันท์ (2539) ที่ได้ทดลองผลิตกรดกลูโคนิกในรูปแคลเซียมกลูโคเนตโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง พบว่า PUF มีลักษณะที่อุ้มน้ำ ดังนั้นเมื่อทำการชะล้าง PUF ที่มีหัวเชื้อสายใยตรึงด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 เปอร์เซนต์ 2 - 3 ครั้ง แล้วอาจล้างแหล่งไนโตรเจนได้ไม่หมดจึงทำให้คงมีแหล่งไนโตรเจนจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการทำให้สปอร์ตรึงงอกเหลืออยู่ในชิ้น PUF บ้างเล็กน้อยหรือการเติบโตอาจเกิดจากมีการนำไนโตรเจนที่สะสมอยู่ในเซลล์ของสายใยมาใช้ก็ได้ จึงทำให้มีการเจริญของสายใยอยู่บ้างเล็กน้อย

การผลิตกรดกลูโคนิกเป็นกระบวนการที่ต้องการออกซิเจนอย่างเพียงพอ เนื่องจากกรดกลูโคนิกเกิดจากกระบวนการออกซิเดชั่นของน้ำตาลกลูโคส (Zetelaki และ Vas, 1968) ดังนั้นจึงได้ทดลองผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างใช้น้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร โดยแปรผันอัตราการให้อากาศเป็น 15 12.5 10 และ 7.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ใช้น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึงเท่ากับ 6.225 6.15 6.05 5.975 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ซึ่งเตรียมจากชิ้น PUF 5 กรัมต่อลิตร) พบว่า เมื่อให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 318.17 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 84 แต่เมื่อลดอัตราการให้อากาศเป็น 12.5 10 และ 7.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ให้ปริมาณกรดกลูโคนิกลดลง และใช้เวลาในการผลิตนานขึ้น ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าเมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศผลผลิตกรดกลูโคนิกจะเพิ่มขึ้น และใช้เวลาในการผลิตเร็วขึ้นด้วย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Vassilev และคณะ (1993) ได้ทำการผลิตกรดกลูโคนิกด้วยสายใยตรึงใน PUF ในระดับขวดเขย่าและระดับขยายส่วนคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง พบว่า ความเร็วของเครื่องเขย่าเหมาะสมในการผลิตคือ 220 รอบต่อนาที ส่วนในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างปริมาตรใช้งาน 300 มิลลิลิตร พบว่า เมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศจะมีผลเพิ่มผลผลิตกรดกลูโคนิก โดยอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมคือ 1.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที นอกจากนี้ Traeger และคณะ (1992) ได้ศึกษาการผลิตกรดกลูโคนิกด้วย

Aspergillus niger พบว่า เมื่อเพิ่มการละลายของออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ (dissolved oxygen) จากเดิม 30 เปอร์เซนต์ เป็น 100 เปอร์เซนต์ ทำให้เพิ่มผลผลิตกรดกลูโคนิกถึง 3 เท่า เนื่องจากการเพิ่มการละลายของออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลส่งเสริมการทำงานเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสให้ดีขึ้น และ Dronawat และคณะ (1995) ได้ศึกษาผลของการปั่นกวน และการให้อากาศที่มีผลต่อการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยอิสระในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยใช้ *Aspergillus niger* ATCC 9029 ในถังหมัก พบว่า เมื่อเพิ่มการปั่นกวนเท่ากับ 300 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศเท่ากับ 10 ลิตรต่อนาที สามารถให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 22.72 กรัมต่อลิตร

ในระหว่างการทดลองนี้ได้ควบคุมความเป็นกรดด่างให้อยู่ในช่วง 5.5 - 6.5 ตลอดการทดลองด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ เนื่องจากเป็นค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิกโดย *Aspergillus niger* G153 ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ มีผลโดยตรงต่อการผลิตกรดกลูโคนิก และการเจริญ นอกจากนี้ยังเป็นความจำเพาะเจาะจงสำหรับจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์ (จินตนา ไกรวัฒนพงศ์, 2536) ช่วงความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่สูงหรือต่ำเกินไปจะทำให้ผลผลิตกรดลดลงหรือมีผลิตภัณฑ์อื่นปนอยู่ด้วย ดังเช่นในงานวิจัยของ Heinrich และ Rehm (1982) ได้พบว่า มีการผลิตกรดกลูโคนิกในระหว่างการผลิตกรดซิตริก โดยสายใยอิสระ และสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* ATCC 9142 ที่เกาะติดบนแผ่นกระเบื้องในหอทดลองแบบฟิกซ์เบดซึ่งพบว่า ที่ระดับความเป็นกรดด่าง 5.5 จะมีการผลิตกรดกลูโคนิกสูงสุด ซึ่งอาจเนื่องมาจากที่ความเป็นกรดด่าง 5.5 เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส และส่งเสริมให้กลูโคโนเดลต้าแลคโตนที่สะสมอยู่ให้เปลี่ยนเป็นกรดกลูโคนิก และงานวิจัยของ Roukas และ Harvey (1988) ได้ศึกษาผลของ pH ต่อการผลิตกรดซิตริก และกรดกลูโคนิก ซึ่งพบว่า ที่ค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่า 5 จะสามารถส่งเสริมการผลิตกรดซิตริก แต่ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0 จะส่งเสริมการผลิตกรดกลูโคนิก เนื่องจากที่ค่าความเป็นกรดด่างค่านี้จะไปส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ กลูโคสออกซิเดส

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตและรูปแคลเซียมกลูโคเนตที่ผลิตได้ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตโดยสายใยตรึงในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง พบว่าการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปแคลเซียมกลูโคเนต โดย

นิติพงษ์ จิระวรานันท์ (2539) โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยมาแล้ว 50 กรัมต่อลิตร (เป็นความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นสูงสุดที่ใช้ได้) ใช้กล้าเชื้อสายใยตรึงที่มีน้ำหนักแห้ง 6 กรัมต่อลิตร (ซึ่งเตรียมจาก PUF 5 กรัมต่อลิตร) อัตราการให้อากาศ 9 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ให้ปริมาณกรดสูงสุด 53.8 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 24 ของการผลิต ส่วนการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตสามารถ ใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยมาแล้วได้มากกว่าคือได้ถึง 300 กรัมต่อลิตร ใช้น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึง 9.125 กรัมต่อลิตร (ซึ่งเตรียมจาก PUF 7.5 กรัมต่อลิตร) ได้ปริมาณกรดสูงสุด 315.54 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 74 ของการผลิต ซึ่งจะเห็นได้ว่าการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปแคลเซียมกลูโคเนต สามารถใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นได้ต่ำกว่าการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตมาก ซึ่งถ้าต้องการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปแคลเซียมกลูโคเนต ให้ได้ปริมาณกรดใกล้เคียงกับปริมาณกรดที่ผลิตได้ในรูปโซเดียมกลูโคเนต เมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้น 300 กรัมต่อลิตร ต้องผลิตถึง 6 ครั้ง ใช้เวลาในการผลิตถึง 144 ชั่วโมงหรือ 6 วัน ซึ่งใช้เวลาถึง 2 เท่าของการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตจึงทำให้สิ้นเปลืองพลังงานมากกว่า การผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนต ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ กุลธิรา สู่สุข (2538) ที่พบว่าในการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปแคลเซียมกลูโคเนตโดยสายใยตรึงในแคลเซียมอัลจิเนตในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง สามารถใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นได้สูงสุดคือ 50 กรัมต่อลิตร ไม่สามารถใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นได้มากกว่านี้ เนื่องจากจะเกิดตะกอนแคลเซียมกลูโคเนตรบกวนการผลิต

จากการหาอายุที่เหมาะสมของกล้าเชื้อสายใยตรึงในแผ่น PUF สำหรับการผลิตกรดกลูโคนิก พบว่า อายุของกล้าเชื้อสายใยตรึงที่เหมาะสมที่ให้ปริมาณกรดสูงสุดและเร็วที่สุดคือ กล้าเชื้อสายใยตรึงอายุ 48 ชั่วโมง ซึ่งเป็นระยะเวลาที่มีการเติบโตของสายใยตรึงมากและรวดเร็ว (log phase) อาจส่งผลให้ระบบเอนไซม์ต่างๆ ภายในเซลล์สามารถทำงานได้อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นจึงได้ปริมาณกรดสูงสุดและใช้เวลาการผลิตสั้นที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ นิติพงษ์ จิระวรานันท์ (2539) ที่ศึกษาหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมกล้า

เชื้อสายใยตรึงในชิ้น PUF เพื่อให้ได้ปริมาณกรดสูงสุดและรวดเร็ว พบว่า ที่ 40 และ 48 ชั่วโมง สามารถผลิตกรดกลูโคนิกได้ปริมาณสูงและรวดเร็วกว่าที่อายุ 24 และ 30 ชั่วโมง

ความหนาแน่นของสปอร์ตรึงในแผ่น PUF เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการตรึงและการผลิตผลิตภัณฑ์จากเซลล์ตรึง จากผลการทดลองแปรผันความหนาแน่นของสปอร์ในการตรึงเป็น $5.0 - 12.5 \times 10^4$ $5.0 - 12.5 \times 10^5$ $5.0 - 12.5 \times 10^6$ และ $5.0 - 12.5 \times 10^7$ สปอร์ต่อ PUF ขนาด 4.4 ตารางเซนติเมตร^2 มีน้ำหนัก 0.05 กรัม จำนวน 1 แผ่น พบว่าความหนาแน่นสปอร์ $5.0 - 12.5 \times 10^6$ สปอร์ต่อ PUF 1 แผ่น ให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 180.69 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 11 ของการผลิต แต่เมื่อใช้สปอร์ความหนาแน่น $5.0 - 12.5 \times 10^7$ สปอร์ต่อ PUF 1 แผ่น ในการตรึง พบว่ามีสปอร์เหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการทำให้สปอร์ตรึงงอก จึงเป็นความหนาแน่นที่มากเกินไปสปอร์ที่เหลือไม่สามารถบรรจุในช่องรูพรุนของ PUF ได้หมดส่วนที่ความหนาแน่นสปอร์ตรึง $5.0 - 12.5 \times 10^5$ และ $5.0 - 12.5 \times 10^4$ สปอร์ต่อ PUF 1 แผ่น ไม่พบสายใยอิสระแต่ให้ปริมาณกรดน้อยลง และใช้ระยะเวลาในการผลิตยาวนานขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณสปอร์ที่น้อยเกินไปจะให้ปริมาณสายใยตรึงที่น้อยเกินไปทำให้การผลิตกรดช้ากว่าปริมาณสปอร์ที่เหมาะสม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Vassilev (1993) ที่ได้ทำการศึกษาปริมาณสปอร์ที่เหมาะสมในการตรึงที่ให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด โดยแปรผันปริมาตรสายใยตรึงต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 1:2 1:3 และ 1:4 พบว่า ปริมาณสปอร์ที่เหมาะสมจะให้สายใยที่เหมาะสมในการผลิตกรดกลูโคนิกด้วยสายใยตรึง *Aspergillus niger* ในชิ้น PUF ที่ไม่สูงหรือต่ำเกินไป และให้ปริมาณกรดสูงสุดคือที่ ปริมาณสายใยตรึงต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 1:3

จากการทดลองแปรผันอัตราการให้อากาศในการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนต โดยสายใยตรึงในแผ่น PUF ได้แสดงให้เห็นแล้วว่าปริมาณออกซิเจนเป็นปัจจัยที่สำคัญในการผลิตกรดกลูโคนิก ดังนั้นในการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนต โดยสายใยตรึงในแผ่น PUF จึงได้มีการแปรผันอัตราการให้อากาศเช่นเดียวกัน เพื่อหาอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด และใช้เวลาในการผลิตสั้นที่สุด ซึ่งจากการทดลองได้แปรผันอัตราการให้อากาศเป็น 15 20 25 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ใช้กล้าเชื้อสายใยตรึง 9.125 9.085 และ 9.15 กรัมต่อลิตร (ซึ่งเตรียมจากน้ำหนักแห้ง PUF 7.5 กรัมต่อลิตร) พบว่า ที่อัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อ

นาทียังไม่เหมาะสม ได้ปริมาณกรดสูงสุด 292.85 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 128 ของการผลิต ส่วนลักษณะภายในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างในระหว่างการผลิตจะมีการหมุนเวียนของแผ่น PUF ไม่ค่อยดี เนื่องจากแผ่น PUF มักตกลงมาที่ด้านล่างของคอลัมน์แก้ว และยังเกาะกลุ่มกันเป็นระยะๆระหว่างการผลิตทำให้การให้อากาศไม่ทั่วถึง แต่เมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศเท่ากับ 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาทีซึ่งเหมาะสม พบว่า เมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศช่วยทำให้ระยะเวลาในการผลิตสั้นลงคือให้ผลผลิต 298.27 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 108 ของการผลิต ส่วนลักษณะภายในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างมีการหมุนเวียนของแผ่น PUF ดีขึ้น แต่เมื่อทดลองเพิ่มอัตราการให้อากาศขึ้นไปอีกเป็น 25 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที พบว่า อัตราการให้อากาศมากเกินไปทำให้เกิดแรงดันในคอลัมน์แก้วทำให้สายยางซิลิโคนที่เชื่อมต่อจากปั๊มอากาศมาที่เครื่องวัดปริมาตรอากาศ (rotameter) และจากเครื่องวัดปริมาตรอากาศ (rotameter) มาที่แผ่นกรองอากาศ (air filter) หลุดจึงต้องหยุดการทดลองในชั่วโมงที่ 128 ดังนั้นอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในแผ่น PUF คือ 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

การทดลองแปรผันน้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึงในแผ่น PUF พบว่า น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึงในแผ่น PUF 2.87 กรัมต่อลิตร (ซึ่งเตรียมจากน้ำหนักแห้ง PUF 2.5 กรัมต่อลิตร) เหมาะสมที่สุดให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 296.7 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 80 ของการผลิต ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากน้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึงในแผ่น PUF ที่กล่าวมาแล้วข้างต้นที่ถูกตรึงอยู่ในแผ่น PUF 7 แผ่น พอเหมาะกับการให้อากาศในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.5 เซนติเมตร สูง 40 เซนติเมตร ปริมาตรใช้งาน 400 มิลลิลิตร เพราะในระหว่างการผลิตลักษณะภายในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างมีการหมุนเวียนของแผ่น PUF ดีมาก จึงอาจทำให้อาหารและอากาศเข้าไปได้ทั่วถึง (อากาศเป็นปัจจัยที่สำคัญในการผลิตกรดกลูโคนิก) ไม่พบการเกาะกลุ่มและตกลงมาด้านล่างของคอลัมน์เลย

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตภายใต้ภาวะที่เหมาะสมด้วย *Aspergillus niger* G153 ในชิ้นและแผ่น PUF พบว่า การผลิตกรดกลูโคนิกโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 300 กรัมต่อ

ลิตร อัตราการให้อากาศ 15 และ 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที และน้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึง 9.125 และ 2.87 กรัมต่อลิตร (ซึ่งเตรียมจากน้ำหนักแห้ง PUF 7.5 และ 2.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) ตามลำดับ ให้ปริมาณกร ดกลูโคนิกสูงสุด 315.54 และ 296.7 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 74 และ 80 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าสายใยตรึงในแผ่น PUF ให้ปริมาณกรดน้อยกว่าเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Vassilev และคณะ (1993) ที่พบว่าชิ้น PUF รูปลูกบาศก์ขนาดเล็กกว่าคือ 0.3 เซนติเมตร^3 ให้ผลผลิตสูงกว่าขนาดใหญ่กว่าคือ 1.0 เซนติเมตร^3 นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยอื่นๆ ที่ใช้ชิ้น PUF รูปลูกบาศก์เป็นวัสดุตรึง ดังเช่น Sun และคณะ (1996) ได้พบว่า ชิ้น PUF รูปลูกบาศก์ เป็นวัสดุตรึงที่เหมาะสมในการตรึง *Rhizopus oryzae* เพื่อการผลิตกรดแลคติก เนื่องจากทำให้ผลผลิตกรดแลคติกสูงขึ้น และงานวิจัยของ Dong และคณะ (1996) ที่ได้ใช้ชิ้น PUF รูปลูกบาศก์ เป็นวัสดุในการตรึง *Rhizopus oryzae* ในการผลิตกรดแลคติก พบว่าสปอร์ของราสามารถเข้าไปเจริญอยู่ข้างในชิ้น PUF รูปลูกบาศก์ ได้อย่างทั่วถึง เมื่อเปรียบเทียบการใช้น้ำตาลในงานวิจัยนี้ พบว่าการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในชิ้นและแผ่น PUF มีการใช้น้ำตาลรูปแบบเดียวกัน กล่าวคือ ใช้น้ำตาลหมดในชั่วโมงที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด แต่สายใยที่ตรึงในแผ่น PUF ใช้น้ำตาลในช่วงกลางของการผลิตเร็วกว่า ซึ่งทำให้มีการเจริญของสายใยเพิ่มขึ้น เนื่องจากการใช้น้ำตาลไปในช่วงแรกของการผลิตนั้นเพื่อใช้ในการดำรงชีพและการผลิตกรดกลูโคนิกจึงทำให้เหลือแหล่งคาร์บอนเพื่อการผลิตกรดน้อยลงจึงอาจเป็นสาเหตุให้ได้ผลผลิตน้อยลง นอกจากจะให้ผลผลิตมากกว่าแล้วเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการผลิตจะเห็นได้ว่าการผลิตกรดกลูโคนิกด้วยสายใยตรึงในชิ้น PUF ใช้ระยะเวลาในการผลิตสั้นกว่า 6 ชั่วโมง ดังนั้นเมื่อพิจารณาถึงการประหยัดพลังงานและต้นทุนการผลิตต่อการผลิต 1 ครั้ง จึงสรุปได้ว่าการผลิตกรดกลูโคนิกด้วยสายใยตรึงในชิ้น PUF เหมาะสมกว่า

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตที่ผลิตได้ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมโดยสายใยอิสระของ *Aspergillus niger* G153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่ศึกษาโดย จินตนา ไกรวัฒนพงศ์ (2536) กับที่ผลิตได้โดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างจากการทดลองนี้ พบว่า การผลิตโดยสายใยอิสระของ *Aspergillus niger* G153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ให้

ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุดที่ 280.4 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 42 ของการผลิต ซึ่งต่ำกว่าแต่ใช้เวลาสั้นกว่าการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยสายใยอิสระของ *Aspergillus niger* G153 ซึ่งได้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 315.54 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 74 ของการผลิต ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า การผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยอิสระให้ปริมาณกรดกลูโคนิกต่ำกว่า เนื่องจากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกมีไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นองค์ประกอบอยู่ 4 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้มีการเติบโตไปพร้อมๆกับการผลิต ดังนั้นแหล่งคาร์บอนส่วนหนึ่งจึงถูกใช้ไปเพื่อการเติบโต จึงมีแหล่งคาร์บอนที่ใช้เพื่อการผลิตน้อยกว่าในการผลิตโดยสายใยตรึงที่ไม่มีแหล่งไนโตรเจนเลย เมื่อพิจารณาในแง่ของระยะเวลาในการผลิต พบว่าการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยอิสระจะใช้เวลาในการผลิตเร็วกว่าการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนต 32 ชั่วโมง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในถังหมักขนาด 5 ลิตร มีการกวนทำให้ออกซิเจนละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วถึงดีขึ้น นอกจากนี้สายใยยังสัมผัสกับอาหารและออกซิเจนได้ดีกว่าสายใยตรึง ในขณะที่การผลิตโดยสายใยตรึงในคอลัมน์แก้วไม่มีการกวนปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้ออาจกระจายไม่ดีเท่าในถังหมักขนาด 5 ลิตร แต่เมื่อมาพิจารณาในแง่ของการผลิตในรูปสายใยตรึงก็จะพบว่า การใช้สายใยตรึงก็มีข้อได้เปรียบกว่าการใช้สายใยอิสระในแง่อื่นๆ คือ สามารถใช้ผลิตกรดแบบต่อเนื่องและใช้สายใยซ้ำได้ถึงแม้การผลิตโดยสายใยอิสระที่ศึกษาโดย จินตนา ไกรวัฒนพงศ์ (2536) ใช้สายใยซ้ำได้ก็ตามแต่ก็ต้องมีการกรองสายใยออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อนำไปผลิตในซ้ำอีกต่อไป ซึ่งโอกาสของการปนเปื้อนจึงเป็นไปได้สูงกว่า ส่วนถังหมักที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงจึงควรเป็นถังหมักที่มีแรงเฉือนต่ำๆ เช่น ถังหมักที่มีการให้อากาศด้านล่าง ซึ่งได้ใช้ในการทดลองนี้ (Moreira และคณะ 1996) นอกจากนี้ในการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างยังเป็นถังหมักแบบง่ายๆ ราคาไม่แพง สิ้นเปลืองพลังงานเพียงหนึ่งในสามส่วนของพลังงานที่จำเป็นในถังหมัก ที่มีการกวน (Trager และคณะ 1989)

เมื่อวิเคราะห์กรดอินทรีย์ที่สร้างขึ้นโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 โดยเครื่อง HPLC พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตมีเพียงกรดกลูโคนิกเพียงชนิดเดียวไม่ว่าจะตรวจ

สอบด้วย Zorbox-C8 คอลัมน์หรือ Spherisorb-C18 คอลัมน์ ผลการทดลองนี้จึงเป็นเครื่องยืนยันว่า *Aspergillus niger* G153 เป็นสายพันธุ์ที่ผลิตกรดกลูโคนิกชนิดเดียว

เมื่อตรวจลักษณะการเติบโตของสายใยตรึงด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด พบว่า ในชิ้น PUF ขนาด 0.20 เซนติเมตร^3 มีการเจริญของสายใยอย่างทั่วถึงทั้งชิ้น PUF และเมื่อตรวจดูการเจริญจากชิ้น PUF ที่ถูกตัดเป็นแว่นก็พบการเจริญของสายใยที่บริเวณลึกลงไปในชิ้น PUF ด้วย ส่วนชิ้น PUF ที่ผ่านการผลิตกรดมาแล้วก็พบการเจริญของสายใยที่มีความหนาแน่นมากขึ้นเล็กน้อย ซึ่งการที่สายใยเจริญอยู่ทั่วทั้งชิ้นใน PUF อาจเนื่องมาจากลักษณะของ PUF เป็นรูปลูกบาศก์ที่มีขนาดเล็กมากมีพื้นที่ถึง 6 ด้าน ที่จะให้อากาศและอาหารเลี้ยงเชื้อผ่านเข้าไปได้ ฉะนั้นในขั้นตอนการเตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึงสปอร์จึงถูกแรงเหวี่ยงจากการเขย่าของเครื่องเขย่าให้เข้าไปในชิ้น PUF เป็นรูปลูกบาศก์ได้ทั่วถึง เมื่อได้รับอาหารเลี้ยงเชื้อและอากาศอย่างเพียงพอจึงเติบโตเป็นสายใยอยู่เต็มชิ้น PUF ในขณะที่เมื่อตรวจสอบสายใยตรึงในแผ่น PUF พบว่า มีการเจริญของสายใยตรึงอยู่บริเวณผิวของชิ้นวัสดุตรึง และลึกลงไปจากผิวระดับหนึ่ง โดยบริเวณตรงกลางของแผ่น PUF มีสายใยเจริญอยู่เล็กน้อยทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในช่วงที่เตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึงจะ มีสปอร์ถูกตรึงอยู่ในแผ่น PUF แบบกระจายไม่ทั่วทั้งแผ่นเมื่อสปอร์งอกเป็นสายใย จึงพบว่าการเติบโตบริเวณกลางมีน้อย และนอกจากนี้สปอร์บริเวณผิวด้านบนและล่าง จะมีการเจริญอย่างรวดเร็วเนื่องจากได้รับอาหารเลี้ยงเชื้อและอากาศอย่างเพียงพอในระหว่างการเตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึงมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ด้วยก็ได้ ซึ่งทำให้บริเวณที่อยู่ลึกเข้าไปข้างในพบการเจริญเพียงเล็กน้อยเพราะลักษณะของแผ่น PUF จะมีพื้นที่ที่สามารถให้อาหารและอากาศผ่านเข้าออกได้อย่างพอเพียงไม่เท่ากับลักษณะชิ้น PUF เป็นรูปบาศก์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Eikmeier และคณะ (1984) ซึ่งพบว่าความหนาแน่นของสายใยตรึงนี้จะเป็นตัวกีดขวางการนำเข้าของแหล่งอาหาร การแพร่กระจายของอากาศเข้าไปด้านในไม่ดีหรืออาจถูกใช้หมดไปก่อน และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gosmann และ Rehn (1988) ซึ่งพบว่า ถ้าความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่สูงมากเกินไปการเจริญของสายใยจะข้าความต้องการออกซิเจนจะน้อยปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อจะพอเพียงกับการเจริญของสายใยที่อยู่ข้างในเม็ดเจลทำให้การเจริญภายในเม็ดเจลเจริญทั่วถึง แต่ถ้าความเข้มข้นของไนโตรเจนสูงสายใยบริเวณผิวของเม็ดเจลจะมีการเจริญอย่างรวดเร็วจึงทำ

ให้ออกซิเจนผ่านเข้าไปในเม็ดเจลได้ยากทำให้การเจริญของสายใยข้างในเม็ดเจลเจริญน้อยมาก นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ นิติพงษ์ จิระวรานันท์ (2539) ที่พบว่า สายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในชิ้น PUF จะมีการเจริญบริเวณผิวของชิ้นวัสดุตรึงและลึกลงไปในชิ้นวัสดุตรึงในระดับหนึ่งเท่านั้น ซึ่งอาจเนื่องมาจากบริเวณที่ลึกลงไปจากผิววัสดุตรึงออกซิเจนไม่สามารถผ่านเข้าไปถึงภายในได้ เนื่องจากบริเวณผิวมีการเจริญของสายใยจำนวนมากจึงอุดตันรูของวัสดุตรึง หรือออกซิเจนอาจถูกใช้จนหมดแล้ว ดังนั้นชิ้น PUF ที่มีขนาดเล็กจะเหมาะสมกว่าและจากงานวิจัยนี้ชิ้น PUF ที่ใช้ก็มีขนาดเล็กที่เหมาะสมจนพบการเติบโตทั่วทั้งชิ้น

การใช้วัตถุดิบที่มีราคาถูกเป็นวิธีหนึ่งช่วยลดต้นทุนในการผลิตได้ในการทดลองนี้ได้ใช้แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยสลายแล้วเป็นแหล่งคาร์บอนทดลอง ในการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ซึ่งทำให้สามารถลดต้นทุนการผลิตได้อีกวิธีหนึ่ง และนอกจากนี้แป้งมันสำปะหลังยังเป็นวัตถุดิบจากการเกษตรที่หาได้ง่าย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rogalski และคณะ (1996) ที่ใช้แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยสลายแล้วเป็นแหล่งน้ำตาลกลูโคสทดแทนในการเพาะเลี้ยงสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G-IV-10 เพื่อการผลิตเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส

ในการทดลองนี้ได้ใช้น้ำประปาแทนน้ำปลอดประจุเป็นองค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิก ซึ่งได้ทำการทดลองโดย บาจรีย์ จันทราภานุกร (2536) ซึ่งเนื่องมาจากในน้ำประปามีแร่ธาตุบางชนิดที่มีผลส่งเสริมต่อการผลิตกรดกลูโคนิก แต่งานวิจัยของบาจรีย์ จันทราภานุกร (2536) ได้ทดลองมาถึง 4 ปีแล้ว ในงานวิจัยนี้จึงได้หาข้อมูลผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำประปา จากโรงงานผลิตน้ำประปาบางเขนของการประปานครหลวง (2540) ซึ่งเป็นโรงงานที่ส่งน้ำมาถึงบริเวณห้องทดลองได้ตรวจพบปริมาณแอมโมเนียมอิสระ-ไนโตรเจน เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ปรอท และทองแดง ดังแสดงในตาราง ที่ 12

ตารางที่ 12 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำปะปาของการประปานครหลวง (2540)

พารามิเตอร์	หน่วย มิลลิกรัมต่อลิตร (มก. / ล.)	โรงงานผลิตน้ำบางเขน		
		สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย
แอมโมเนียอิสระ-ไนโตรเจน	มก. / ล.	0.434	0.010	0.084
เหล็ก	มก. / ล.	0.18	0.00	0.03
แมงกานีส	มก. / ล.	0.04	0.00	0.01
แมกนีเซียม	มก. / ล.	9.60	0.50	6.55
สังกะสี	มก. / ล.	0.00	-	-
ปรอท	มก. / ล.	0.0003	-	-
ทองแดง	มก. / ล.	0.00	-	-

เมื่อนำมาพิจารณาเทียบกับรายงานวิจัยของ กรรณิกา จันทรสอาด (2533) ที่ได้รายงานว่า โลหะธาตุที่เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเพิ่มหรือลดปริมาณการผลิตกรดกลูโคนิกโดย *Aspergillus niger* sp. ซึ่งถ้ามีโลหะธาตุ 3 ชนิด คือ ปรอท เงิน และทองแดง มีผลทำให้ผลผลิตกรดกลูโคนิกลดลงแม้มีปนอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณเล็กน้อย ส่วนสังกะสีมีผลกระทบต่อการผลิตน้อยมาก ส่วนโลหะธาตุที่จำเป็นต้องมีคือ เหล็ก แมงกานีส แมกนีเซียม จึงเห็นได้ว่าน้ำประปาจึงมีคุณสมบัติที่สามารถนำไปใช้ในการผลิตได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ จินตนา ไกรวัฒนพงศ์ (2536), บาจรีย์ จันทราภาณุกร (2536), กุลธิรา สู่สุข (2538) และ นิติพงษ์ จิระวรานันท์ (2539) ที่ใช้น้ำประปาแทนน้ำปลอดประจุในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกได้

สำหรับการผลิตกรดกลูโคนิก โดยใช้สายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการทำให้สปอร์ตรึงงอก และเจริญเป็นสายใยตรึงจะต้องมีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟต ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจน แต่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงไม่จำเป็นต้องมีแหล่งไนโตรเจนทั้งนี้เนื่องจาก ถ้าเติมแอมโมเนียมในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกอาจทำให้เกิดสายใยอิสระในอาหารเลี้ยงเชื้อ และสายใย

อิสระที่เพิ่มจำนวนนี้อาจไปอุดตันแผ่นกระจายอากาศซินเตอร์กลาสได้ (sintered glass) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ นิติพงษ์ จิระวรานันท์ (2539) ที่ไม่ได้ใส่แอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกเช่นเดียวกัน เนื่องจากถ้ามีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด จะทำให้เกิดสายใยอิสระในอาหารเลี้ยงเชื้อ จนทำให้เกิดการอุดตันช่องที่ให้อากาศ และมีการรวมตัวกันของชิ้น PUF เป็นชิ้นใหญ่ทำให้เกิดปัญหาต่อการให้อากาศ มีผลต่อเนื่องถึงการกรองแยกสายใยครึ่งออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด ทำให้ต้องเพิ่มต้นทุนเพื่อการกรองในระดับอุตสาหกรรมอีก