บทที่ 3

ผลการวิจัย

1. ผลการหาชนิด และขนาดชิ้นของ PUF ที่เหมาะสมในการตรึง *Aspergillus niger* G153 เพื่อการผลิตกรดกลูโคนิก

1.1 ผลการหาชนิดของ PUF ที่เหมาะสม

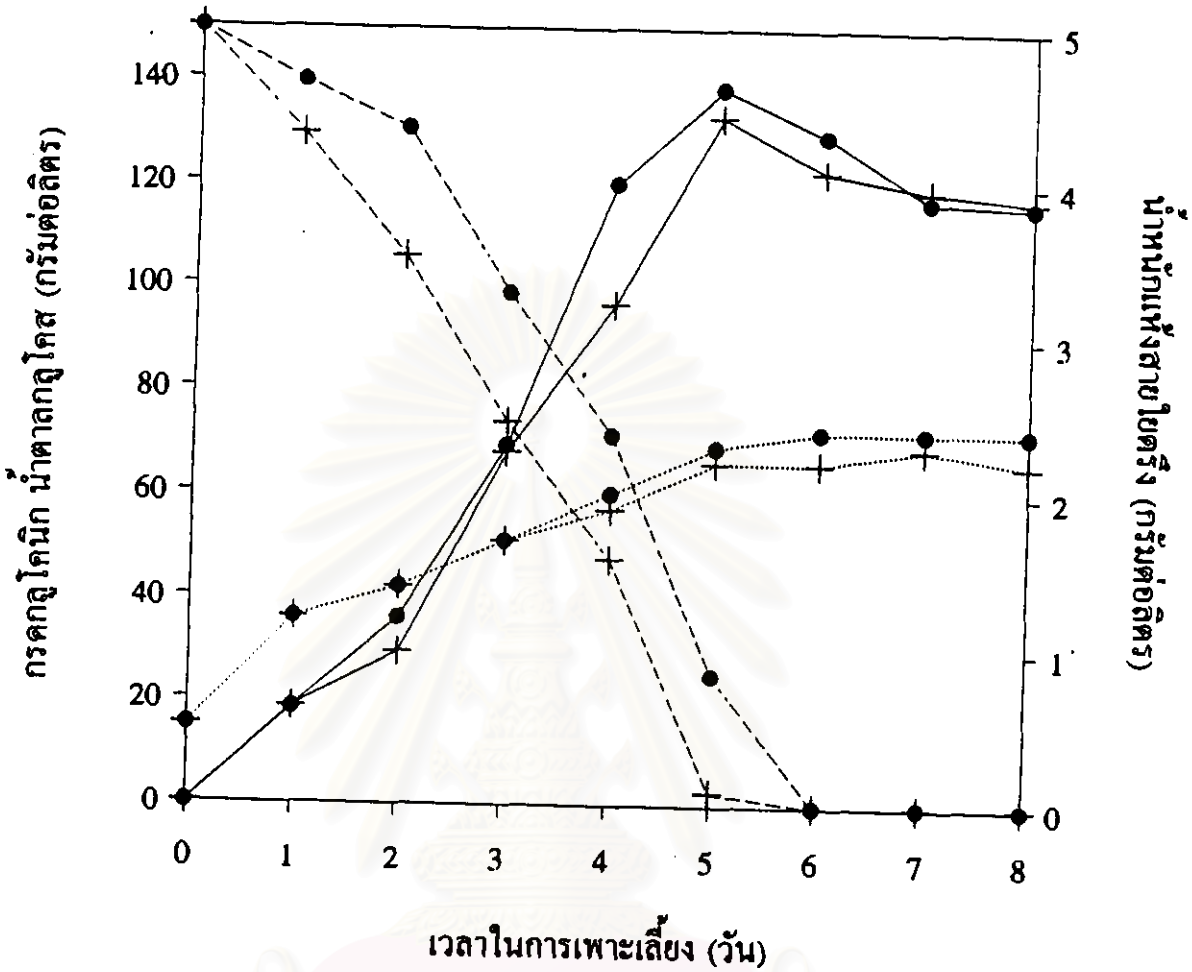
เมื่อทำการตรึงสปอร์ของ *Aspergillus niger* G153 จำนวน 1.0-2.5 X 10^8 สปอร์ต่อ PUF ชนิดโครงสร้างปิด และโครงสร้างเปิด 1 กรัมเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก (ภาคผนวก ก 2) 150 มิลลิลิตร ในขวดขนาด 500 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 40 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (30-33 องศาเซลเซียส) พบว่า PUF ชนิดโครงสร้างปิดจะลอยอยู่บนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ ไม่จมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเขย่าบนเครื่องเขย่าพบว่าสปอร์บางส่วนถูกดูดซับเข้าไปยังผิวหน้าของชิ้น PUF ชนิดโครงสร้างปิด เมื่อเวลาผ่านไปครบ 40 ชั่วโมง สังเกตุพบว่ามีสปอร์บางส่วนที่ไม่ถูกตรึงเข้าไปในชิ้น PUF ชนิดโครงสร้างปิด งอกเป็นสายใยอิสระอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และมีบางส่วนเจริญเป็นสายใยอยู่ที่ผิวของชิ้น PUF ชนิดโครงสร้างปิด และเมื่อทำการผ่าชิ้น PUF เพื่อสังเกตุลักษณะภายในโดยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าสปอร์จะถูกดูดซับและเจริญเป็นสายใยอยู่เพียงบริเวณผิวของชิ้น PUF เท่านั้น ส่วน PUF ชนิดโครงสร้างเปิด เมื่ออุ้มน้ำเต็มที่จะจมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเติมสปอร์แล้วนำไปทำการเขย่าบนเครื่องเขย่า เมื่อเวลาผ่านไปจะสังเกตุพบว่าสปอร์จะถูกดูดซับเข้าไปในชิ้น PUF ชนิดโครงสร้างเปิดจนหมด เมื่อครบเวลา 24 ชั่วโมง ไม่พบสปอร์อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และและเมื่อทำการผ่าชิ้น PUF เพื่อสังเกตุลักษณะภายในด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าสปอร์จะถูกดูดซับอยู่ภายในชิ้น PUF ทั่วทั้งชิ้นและงอกเป็นสายใยอยู่ภายในชิ้น เพราะฉะนั้นชนิดของ PUF ที่เหมาะสมสำหรับการตรึงสายใย คือ PUF ชนิดโครงสร้างเปิดเนื่องจากจะจมอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และสามารถดูดซับสปอร์เข้าไปในชิ้นได้ทั่วถึงกว่า PUF ชนิดโครงสร้างปิด ดังนั้น จึงเลือกใช้ PUF ชนิดโครงสร้างเปิด เป็นวัสดุตรึงที่ใช้ในการทดลองต่อไป

1.2 ผลการเปรียบเทียบความเหมาะสมของ PUF ความหนาแน่นสูงกับ PUF ความหนาแน่นต่ำในการตรึงสปอร์

เมื่อทำการตรึงสปอร์ใน PUF ชนิดโครงสร้างเปิด ซึ่งเป็นวัสดุตรึงที่เหมาะสมจากผลการทดลองข้อ 1.1 ชนิดความหนาแน่นสูง และความหนาแน่นต่ำ โดยใช้สปอร์ของ *Aspergillus niger* G153 จำนวน 1.0-1.25 X 10^8 สปอร์ ต่อ PUF ทั้งสองชนิด หนัก 1 กรัมเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก (ภาคผนวก ก 2) ปริมาตรเท่ากับ 150 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วเท่ากับ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 40 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าบริเวณรอบนอกของชิ้น PUF ความหนาแน่นต่ำฉีกขาด สังเกตุได้ว่าชิ้น PUF มีขนาดเล็กลง และมีเส้นใยของ PUF ชิ้นเล็ก ๆ อยู่ภายในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก ส่วนสปอร์ของราถูกตรึงเข้าไปในชิ้น PUF จนหมดและงอก เมื่อทำการถ่ายชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึงซึ่งมีน้ำหนักเปียกเท่ากับ1 กรัม ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงสูตรที่ 1 (ภาคผนวก ก 3) พบว่าชิ้น PUF มีขนาดเล็กลงอีกเนื่องจากการฉีกขาดของ PUF และพบสายใยราอิสระอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ไม่พบการฉีกขาดของ PUF ความหนาแน่นสูงเมื่อผ่านขั้นตอนการเตรียมสายใยตรึง แล้วถ่ายชิ้น PUF ความหนาแน่นสูงที่มีสายใยตรึงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำการผลิตกรดกลูโคนิกพบสายใยอิสระเล็กน้อย จะเห็นได้ว่า PUF ชนิดโครงสร้างเปิด ความหนาแน่นสูง มีความทนทานต่อการใช้งานสามารถนำมาใช้ในการตรึงสายใยเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกได้ ดังนั้นจึงเลือกใช้ PUF ชนิดโครงสร้างเปิด ความหนาแน่นสูงเป็นวัสดุตรึงในการทดลองต่อไป

1.3 ผลการเปรียบเทียบความเหมาะสมของขนาดชิ้น PUF 0.6 เซนติเมตร และ 0.8 เซนติเมตร

เมื่อนำ PUF ที่เหมาะสม คือ ชนิดโครงสร้างเปิด ความหนาแน่นสูง ที่ได้จากการทดลองในข้อ 1.1 และ 1.2 มาใช้ในการทดลองเปรียบเทียบขนาดชิ้นของ PUF 0.6 และ 0.8 เซนติเมตร โดยตรึงสปอร์ของ *Aspergillus niger* G153 1.0-2.5 X 10^8 สปอร์ ต่อ PUF ทั้งสองขนาดหนัก 1 กรัม เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก (ภาคผนวก ก 2) ปริมาณเท่ากับ 150 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบเท่ากับ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 40 ชั่วโมง แล้วนำชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึงซึ่งมีน้ำหนักเปียกเท่ากับ 1 กรัม มาผลิตกรดกลูโคนิกในระดับขวดเขย่าในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึง สูตรที่ 1 (ภาคผนวก ก 3) ที่อุณหภูมิห้อง หาปริมาณกรดกลูโคนิก ปริมาณน้ำตาล และน้ำหนักแห้งสายใยตรึง ผลการทดลอง (รูปที่ 3) พบว่า PUF ขนาดชิ้น 0.6 เซนติเมตร ให้ปริมาณกรดใกล้เคียงกับ



รูปที่ 3 การผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 เมื่อใช้ขนาดชิ้น PUF 2 ขนาด คือ 0.6 และ 0.8 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง

——— หมายถึง ปริมาณกรดกลูโคนิก
- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส
------- หมายถึง น้ำหนักแห้งสายใยตรึง
—●— หมายถึง PUF ขนาดชิ้น 0.6 เซนติเมตร
—+— หมายถึง PUF ขนาดชิ้น 0.8 เซนติเมตร

PUF ขนาดชิ้น 0.8 เซนติเมตร แต่สูงกว่าเล็กน้อย โดยให้ปริมาณกรดสูงสุด 138.5 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 5 ของการผลิต ส่วน PUF ขนาดชิ้น 0.8 เซนติเมตร ให้ปริมาณกรดสูงสุด 133.0 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 5 ของการผลิต ส่วนการใช้น้ำตาลพบว่า PUF ขนาดชิ้น 0.6 เซนติเมตร ใช้น้ำตาล ได้เร็วกว่า PUF ขนาดชิ้น 0.8 เซนติเมตร เล็กน้อยปริมาณน้ำตาลลดลงจาก 150 กรัมต่อลิตรในวันที่เริ่มต้นทำการผลิตจนหมดในวันที่ให้ปริมาณกรดสูงสุด การเติบโตของสายใย พบว่า PUF ขนาดชิ้น 0.6 เซนติเมตร ให้น้ำหนักแห้งสายใยตรึงสูงกว่า PUF ขนาดชิ้น 0.8 เซนติเมตร ในระยะแรกของการผลิตการเติบโตของสายใยจะเพิ่มขึ้น จนค่อนข้างคงที่ในวันที่ 5 ของการผลิตเป็นต้นไป จึงเลือกใช้ PUF ขนาดชิ้น 0.6 เซนติเมตร เป็นวัสดุตรึงในการทดลองต่อไป เนื่องจากให้ปริมาณกรดที่สูงกว่าและเร็วกว่า PUF ขนาดชิ้น 0.8 เซนติเมตร

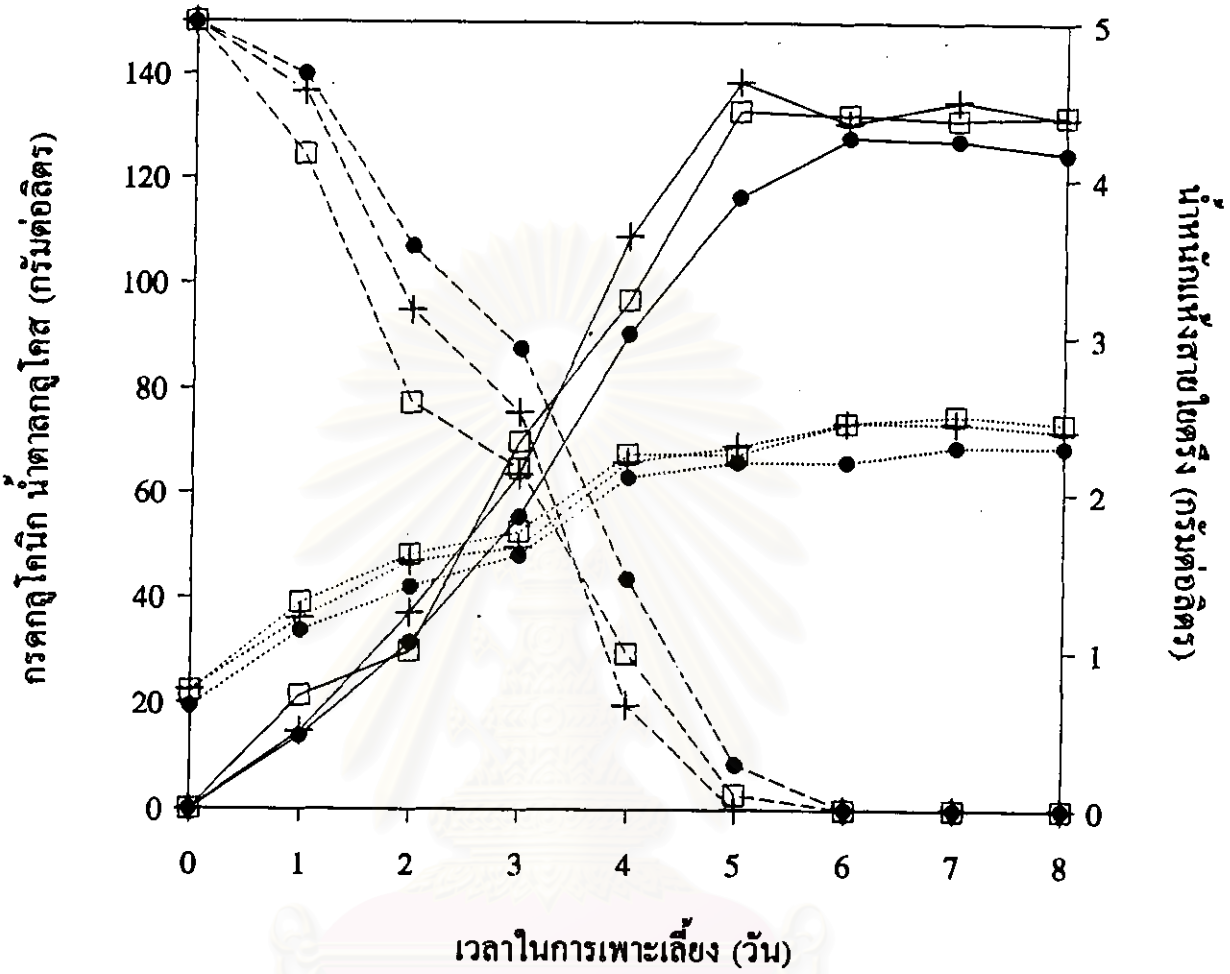
ดังนั้น PUF ที่เหมาะสมสำหรับการตรึงสปอร์ของ *Aspergillus niger* G153 และการผลิตกรดกลูโคนิก คือ PUF โครงสร้างเปิด ความหนาแน่นสูง ขนาดชิ้น 0.6 เซนติเมตร

2. ผลการหาภาวะที่เหมาะสมในการตรึงสปอร์ และการเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงให้ได้สายใยตรึงประสิทธิภาพสูง

2.1 ผลการหาความหนาแน่นที่เหมาะสมของสปอร์ในการตรึง

เมื่อตรึงสปอร์ของ *Aspergillus niger* G153 ใน PUF ชนิดโครงสร้างเปิดความหนาแน่นสูง โดยใช้ความหนาแน่นสปอร์ 1.0-2.5 X 10^7 1.0-2.5 X 10^8 และ 1.0-2.5 X 10^9 สปอร์ต่อ PUF หนัก 1 กรัมเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก (ภาคผนวก ก 2) เป็นเวลานาน 40 ชั่วโมง แล้วถ่ายชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึงซึ่งมีน้ำหนักเปียกเท่ากับ 1 กรัม ลงในขวดที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึง สูตรที่ 1 (ภาคผนวก ก 3) เขย่าที่อุณหภูมิห้อง ผลการทดลอง (รูปที่ 4) พบว่า ความหนาแน่นของสปอร์เท่ากับ 1.0-25 X 10^8 สปอร์ ผลิตกรดได้สูงสุดเท่ากับ 138.6 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 5 ของการผลิต ในขณะที่ความหนาแน่นของสปอร์เท่ากับ 1.0-2.5 X 10^9 และ 1.0-2.5 X 10^7 สปอร์ ให้ปริมาณกรดสูงสุดเท่ากับ 133.0 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 5 ของการผลิต และ 127.8 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการผลิต ตามลำดับ สำหรับการใช้น้ำตาล พบว่า การทดลองที่ใช้สปอร์จำนวน 1.0-2.5 X 10^9 สปอร์ ใช้น้ำตาลได้เร็วกว่าการทดลองที่ใช้สปอร์ปริมาณอื่น ๆ ในช่วง 3 วันแรก หลังจากนั้น การทดลองที่ใช้สปอร์ 1.0-2.5 X 10^8 สปอร์ มีการใช้น้ำตาลเร็วกว่าการทดลองที่ใช้สปอร์จำนวน 1.0-2.5 X 10^9 และ 1.0-2.5 X 10^7 สปอร์ ตามลำดับ และน้ำตาลจะถูกใช้หมด ในวันที่ 5 ของการผลิต ส่วนการเติบโตของสายใยตรึง พบว่าความหนาแน่น

I18840426



รูปที่ 4 การผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยครึงของ *Aspergillus niger* G153 เมื่อครึงสปอร์ความหนาแน่นต่าง ๆ กันใน PUF น้ำหนัก 1 กรัม เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง

——— หมายถึง ปริมาณกรดกลูโคนิก

- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส

------ หมายถึง น้ำหนักแห้งสายใยครึง

—●— หมายถึง ความหนาแน่น 1.0-2.5 x 10^7 สปอร์

—+— หมายถึง ความหนาแน่น 1.0-2.5 x 10^8 สปอร์

—□— หมายถึง ความหนาแน่น 1.0-2.5 x 10^9 สปอร์

สปอร์ที่ 1.0-2.5 X 10^8 และ 1.0-2.5 X 10^9 สปอร์ มีการเติบโตของสายใยตรึงที่ใกล้เคียงกัน สำหรับความหนาแน่นของสปอร์ที่ 1.0-2.5 X 10^7 สปอร์ จะมีการเจริญที่ต่ำกว่าเล็กน้อย และการเติบโตของสายใยตรึงของสปอร์ทั้ง 3 ความหนาแน่นจะค่อนข้างคงที่หลังจากวันที่ 5 ของการผลิต ดังนั้นความหนาแน่นของสปอร์ที่เหมาะสมสำหรับการตรึง คือ 1.0-2.5 X 10^8 สปอร์ต่อ PUF 1 กรัม

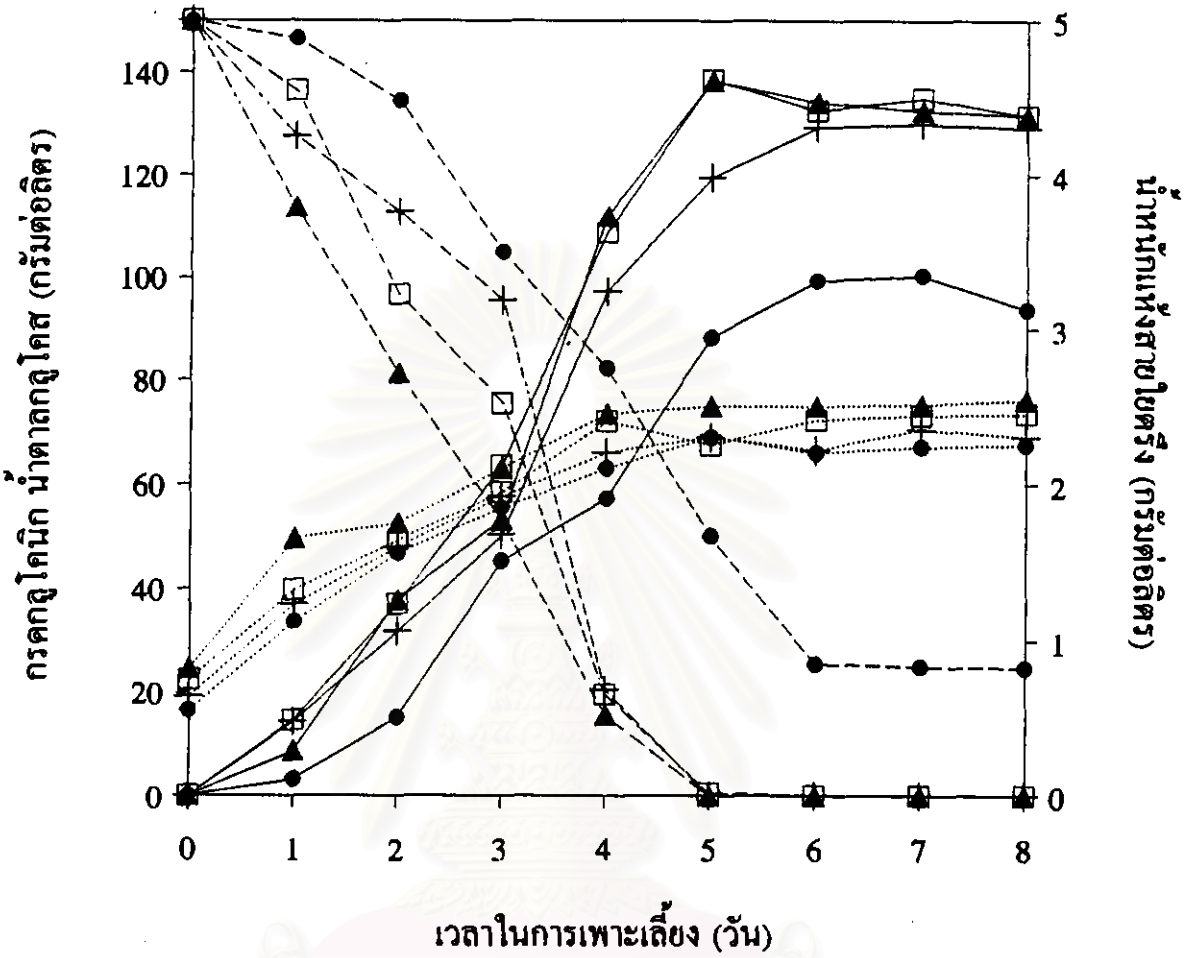
2.2 ผลการหาช่วงเวลาเหมาะสมในการเตรียมสายใยตรึงให้มีประสิทธิภาพสูง

เมื่อเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก (ภาคผนวก ก 2) บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ 24 32 40 และ 48 ชั่วโมง แล้วนำสายใยตรึงที่ได้ไปผลิตกรดกลูโคนิกด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึง สูตรที่ 1 (ภาคผนวก ก 3) ซึ่งไม่มีแหล่งไนโตรเจนในระดับขวดเขย่าที่อุณหภูมิห้อง ผลการทดลอง (รูปที่ 5 และ 6) พบว่าสายใยตรึงอายุ 24 ชั่วโมง ให้ปริมาณกรดกลูโคนิกต่ำ คือ 100.5 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการผลิต และน้ำตาลกลูโคสเหลืออยู่ 24.8 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง แต่เมื่อใช้สายใยตรึงอายุ 32 ชั่วโมง ให้ปริมาณกรดสูงขึ้นเป็น 130.0 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการผลิต ใช้น้ำตาลหมดในวันที่ 6 ของการผลิต ส่วนสายใยตรึงอายุ 40 และ 48 ชั่วโมงให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงใกล้เคียงกัน คือ 138.6 และ 138.4 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 5 ของการผลิต และใช้น้ำตาลหมดในวันที่ 5 ของการผลิตเช่นกัน เมื่อคำนึงถึงการประหยัดเวลาและพลังงานในการเตรียมสายใยตรึงเพื่อการผลิตกรด จึงเลือกใช้สายใยตรึงอายุ 40 ชั่วโมง สำหรับการผลิตกรดกลูโคนิก

3. ผลการหาภาวะที่เหมาะสมบางประการในการผลิตกรดกลูโคนิกโดยใช้สายใยตรึงในขวดเขย่า

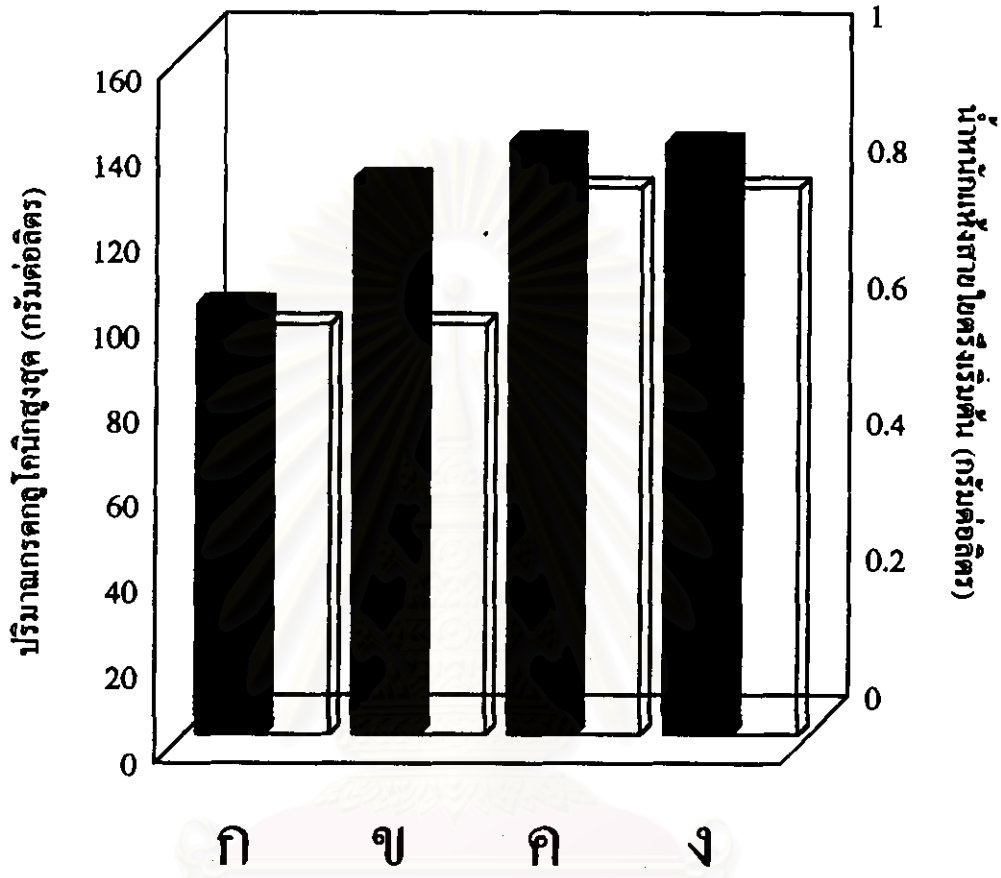
3.1 ผลการหาความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน (แอมโมเนียมซัลเฟต) ที่เหมาะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกรดกลูโคนิก

เมื่อผลิตกรดกลูโคนิกในขวดเขย่าโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงสูตรที่ 1 (ภาคผนวก ก 3) ซึ่งไม่มีแอมโมเนียมซัลเฟต และสูตรที่แปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 0.2 และ 0.4 กรัมต่อลิตร และแปรผันเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสายใยตรึงเป็น 24 32 40 และ 48 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าไม่สามารถใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกที่มีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ไม่ว่าจะใช้หัวเชื้ออายุเท่าไร เนื่องจากพบสายใยอิสระใน



รูปที่ 5 การผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึง *Aspergillus niger* G153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดที่ไม่มีแหล่งไนโตรเจนเมื่อแปรผันเวลาที่ใช้ในการเตรียมหัวเชื้อสายใยตรึง ต่าง ๆ กัน เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง

—— หมายถึง ปริมาณกรดกลูโคนิก
- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส
------ หมายถึง น้ำหนักแห้งสายใยตรึง
—●— หมายถึง เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อ 24 ชั่วโมง
—+— หมายถึง เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อ 32 ชั่วโมง
—□— หมายถึง เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อ 40 ชั่วโมง
—▲— หมายถึง เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อ 48 ชั่วโมง



รูปที่ 6 เปรียบเทียบการเติบโตและการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีแหล่งไนโตรเจน เมื่อแปรผันหัวเชื้อสายใยตรึงเริ่มต้นอายุต่าง ๆ กัน เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง

■ หมายถึง ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด

□ หมายถึง ปริมาณน้ำหนักแห้งหัวเชื้อสายใยตรึง

ก หมายถึง หัวเชื้อสายใยตรึงอายุ 24 ชั่วโมง

ข หมายถึง หัวเชื้อสายใยตรึงอายุ 32 ชั่วโมง

ค หมายถึง หัวเชื้อสายใยตรึงอายุ 40 ชั่วโมง

ง หมายถึง หัวเชื้อสายใยตรึงอายุ 48 ชั่วโมง

อาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกที่ไม่มีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟต . ไม่พบสายใยอิสระในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ว่าจะใช้หัวเชื้ออายุเท่าไร และช่วงเวลาในการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมคือ 40 ชั่วโมง ให้ปริมาณกรดสูงสุด 138.6 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 5 ของการผลิต (รูปที่ 5 6 และตารางที่ 6) ดังนั้นจึงเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกที่ไม่มีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟต และเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึง 40 ชั่วโมง ในการทดลองต่อไป

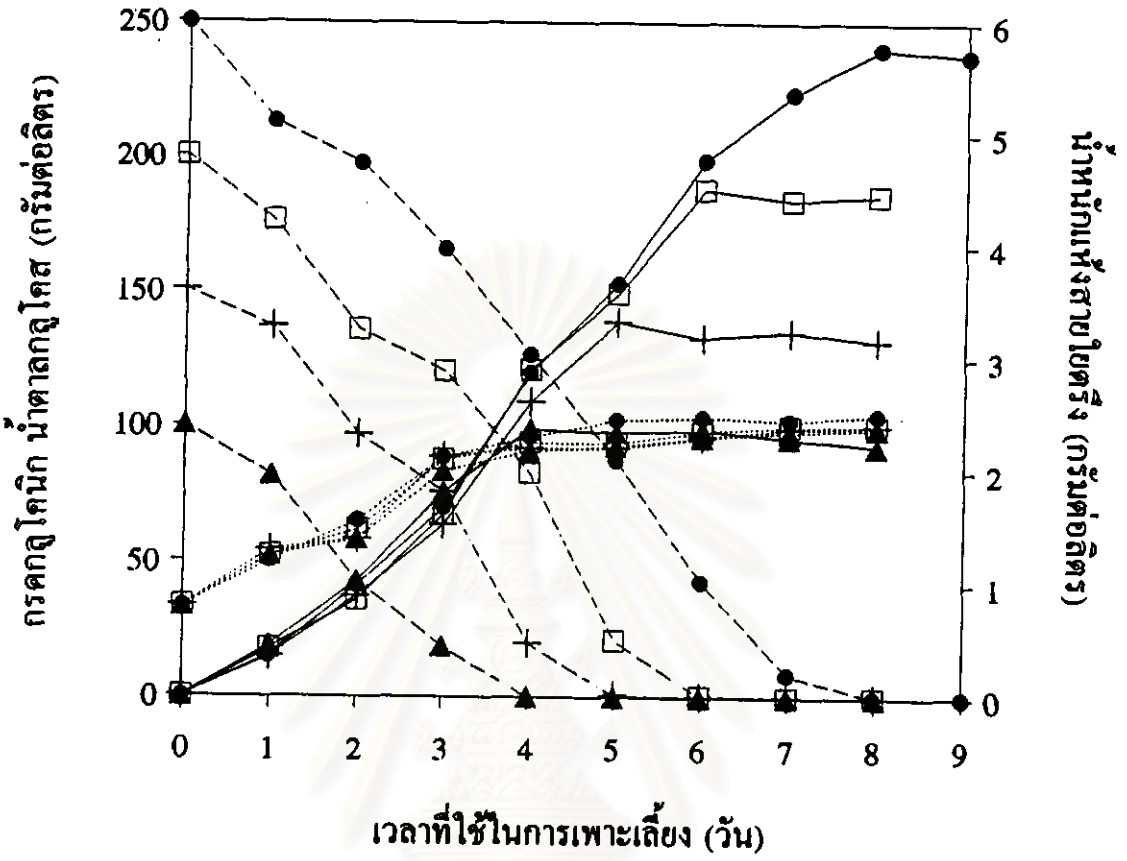
ตารางที่ 6 เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิก การพบสายใยอิสระ เมื่อแปรผันเวลาในการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อ และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด

ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึง (ชั่วโมง)	แอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด (กรัมต่อลิตร)	สายใยอิสระในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด (วัน)	วันที่ให้ปริมาณกรดสูงสุด (วัน)	ค่าเฉลี่ยปริมาณกรดสูงสุด (กรัมต่อลิตร)
24	0.4	พบ	5	132.5
	0.2	พบ	5	123.6
	0	ไม่พบ	7	100.5
32	0.4	พบ	5	132.5
	0.2	พบ	6	129.4
	0	ไม่พบ	7	130.0
40	0.4	พบ	5	139.9
	0.2	พบ	5	139.9
	0	ไม่พบ	5	138.6
48	0.4	พบ	5	138.8
	0.2	พบ	5	137.6
	0	ไม่พบ	5	138.4

3.2 ผลการหาความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ใช้ในการผลิตกรดกลูโคนิค

เมื่อผลิตกรดกลูโคนิกในขวดเขย่าโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงสูตรที่ 1 (ภาคผนวก ก 3) โดยแปรผันปริมาณน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นเป็น 250 200 150 และ 100 กรัมต่อลิตร ผลการทดลอง (รูปที่ 7) พบว่าเมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสตั้งต้น 250 กรัมต่อลิตร ให้ปริมาณกรดในวันที่ 8 สูงกว่าวันอื่น ๆ คือ ให้ 240.5 กรัมต่อลิตร (คิดเป็น 88.28 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับน้ำตาลตั้งต้น) และใช้น้ำตาลกลูโคสหมดในวันที่ 8 ของการผลิต เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสตั้งต้น 200 กรัมต่อลิตร ให้ปริมาณกรดสูงสุด 187.5 กรัมต่อลิตร (คิดเป็น 86.03 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับน้ำตาลตั้งต้น) ในวันที่ 6 ของการผลิต และใช้น้ำตาลกลูโคสหมดในวันที่ 6 ของการผลิต น้ำตาลกลูโคสตั้งต้น 150 กรัมต่อลิตร ให้ปริมาณกรดสูงสุด 138.6 กรัมต่อลิตร (คิดเป็น 91.76 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับน้ำตาลตั้งต้น) ในวันที่ 6 ของการผลิต และใช้น้ำตาลกลูโคสหมดในวันที่ 6 ของการผลิต น้ำตาลกลูโคสตั้งต้น 100 กรัมต่อลิตร ให้ปริมาณกรดสูงสุด 98.6 กรัมต่อลิตร (คิดเป็น 90.48 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับน้ำตาลตั้งต้น) ในวันที่ 4 ของการผลิต และน้ำตาลกลูโคสหมดในวันที่ 4 ของการผลิต

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 7 การผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 เมื่อแปรผันความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส ต่าง ๆ กัน เพาะเลี้ยงเบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง

——— หมายถึง ปริมาณกรดกลูโคนิก
- - - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส
--------- หมายถึง น้ำหนักแห้งสายใยตรึง
—●— หมายถึง ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส 250 กรัมต่อลิตร
—□— หมายถึง ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส 200 กรัมต่อลิตร
—+— หมายถึง ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส 150 กรัมต่อลิตร
—▲— หมายถึง ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส 100 กรัมต่อลิตร

4. ผลการหาภาวะที่เหมาะสมบางประการในการผลิตกรดกลูโคนิกโดยใช้สายใยตรึง ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง

4.1 ผลการแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้วในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิก

เมื่อนำสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 มาผลิตกรดกลูโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกสูตรที่ 2 (ภาคผนวก ก 4) โดยแปรผันความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้วเป็น 250 150 100 และ 50 กรัมต่อลิตร ใช้ PUF ขนาดชิ้น 0.6 เซนติเมตร เป็นวัสดุตรึง น้ำหนักเปียกของ PUF ที่สายใยตรึง 100 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ การให้อากาศ 5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ผลการทดลอง (ตารางที่ 7) พบว่าเมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้ว 250 150 กรัมต่อลิตร และ 100 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนเกิดตะกอนแคลเซียมกลูโคเนตจำนวนมากตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 36 และ 42 ตามลำดับ ของการผลิตและมากขึ้นจนการให้อากาศไม่ทั่วถึง จนไม่สามารถดำเนินการผลิตได้ แต่เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้วความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตรในการผลิต ให้ปริมาณกรดสูงสุด 45.6 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ของการผลิต ใช้น้ำตาลหมดในชั่วโมงที่ 48 ของการผลิต จะเห็นได้ว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่สามารถใช้ในการผลิตโดยไม่มีตะกอนแคลเซียมกลูโคเนตรบกวนการผลิตคือ 50 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงเลือกปริมาณน้ำตาลกลูโคสในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้ว 50 กรัมต่อลิตร ในการทดลองต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

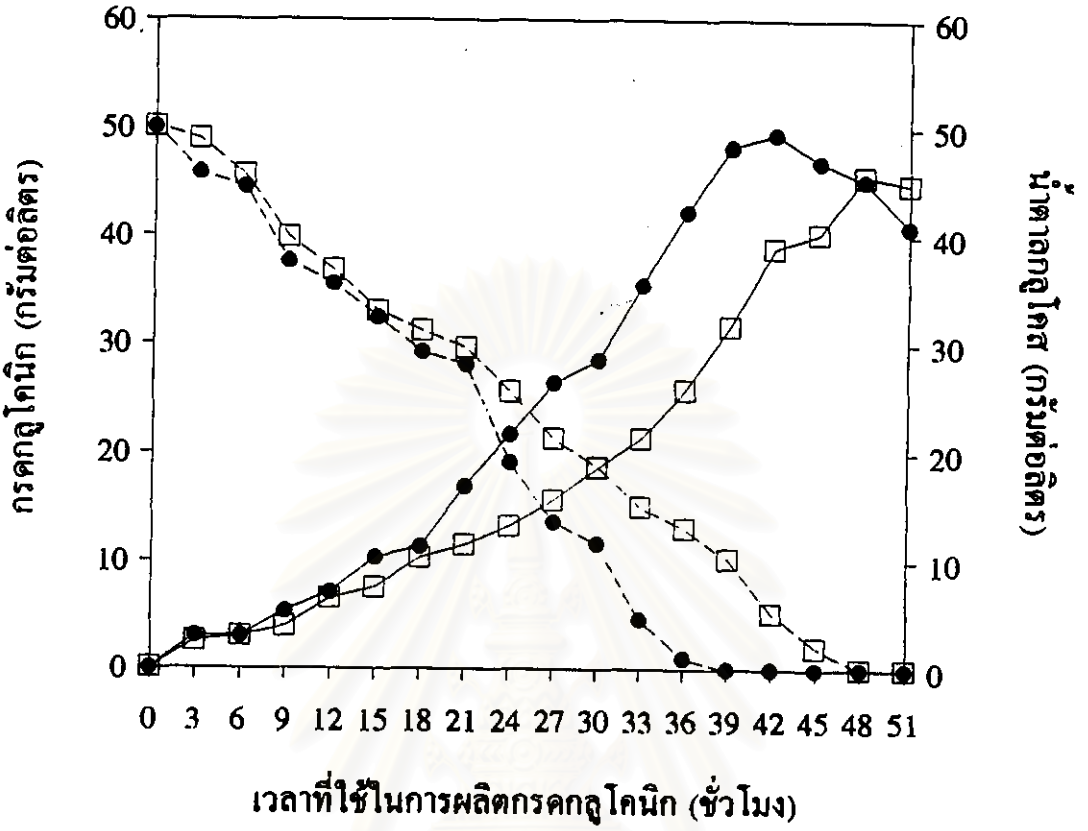
ตารางที่ 7 ปริมาณกรดกลูโคนิก และเวลาที่พบตะกอนแคลเซียมกลูโคเนต เมื่อผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 เมื่อแปรผันความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้วต่างกัน

ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้ว (กรัมต่อลิตร)	ชั่วโมงที่เกิดตะกอน	ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด (กรัมต่อลิตร)
250	24	-*
150	36	-*
100	42	-*
50	ไม่พบ	45.6 (ชั่วโมงที่ 48)

-* หมายถึง ไม่ทราบปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุดเนื่องจากการเกิดตะกอนแคลเซียมกลูโคเนตรบกวนการผลิตจึงไม่ทำการผลิตต่อ

4.2 ผลการแปรผันขนาดชิ้นของ PUF เป็น 0.6 และ 0.25 เซนติเมตรในการใช้เป็นวัสดุตรึงต่อการผลิตกรดกลูโคนิก

เมื่อทำการผลิตกรดกลูโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศทางด้านล่าง ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกสูตรที่ 2 (ภาคผนวก ก 4) ใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้วเป็น 50 กรัมต่อลิตร น้ำหนักเปียกของ PUF ที่มีสายใยตรึง 100 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ อัตราการให้อากาศ 5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที แปรผันขนาดชิ้นของ PUF เป็น 0.6 และ 0.25 เซนติเมตร ผลการทดลอง (รูปที่ 8) พบว่า PUF ขนาดชิ้น 0.6 เซนติเมตร ให้ปริมาณกรดสูงสุด 45.6 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ของการผลิต และใช้น้ำตาลหมดในชั่วโมงที่ 48 เช่นกัน ส่วน PUF ขนาดชิ้น 0.25 เซนติเมตร ให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 49.5 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 39 และ 42 จะเห็นได้ PUF ขนาดเล็กกว่าจะให้ปริมาณกรดรวดเร็วกว่า ดังนั้นจึงเลือกใช้ PUF ขนาดชิ้น 0.25 เซนติเมตร เป็นวัสดุตรึงในการทดลองต่อไป



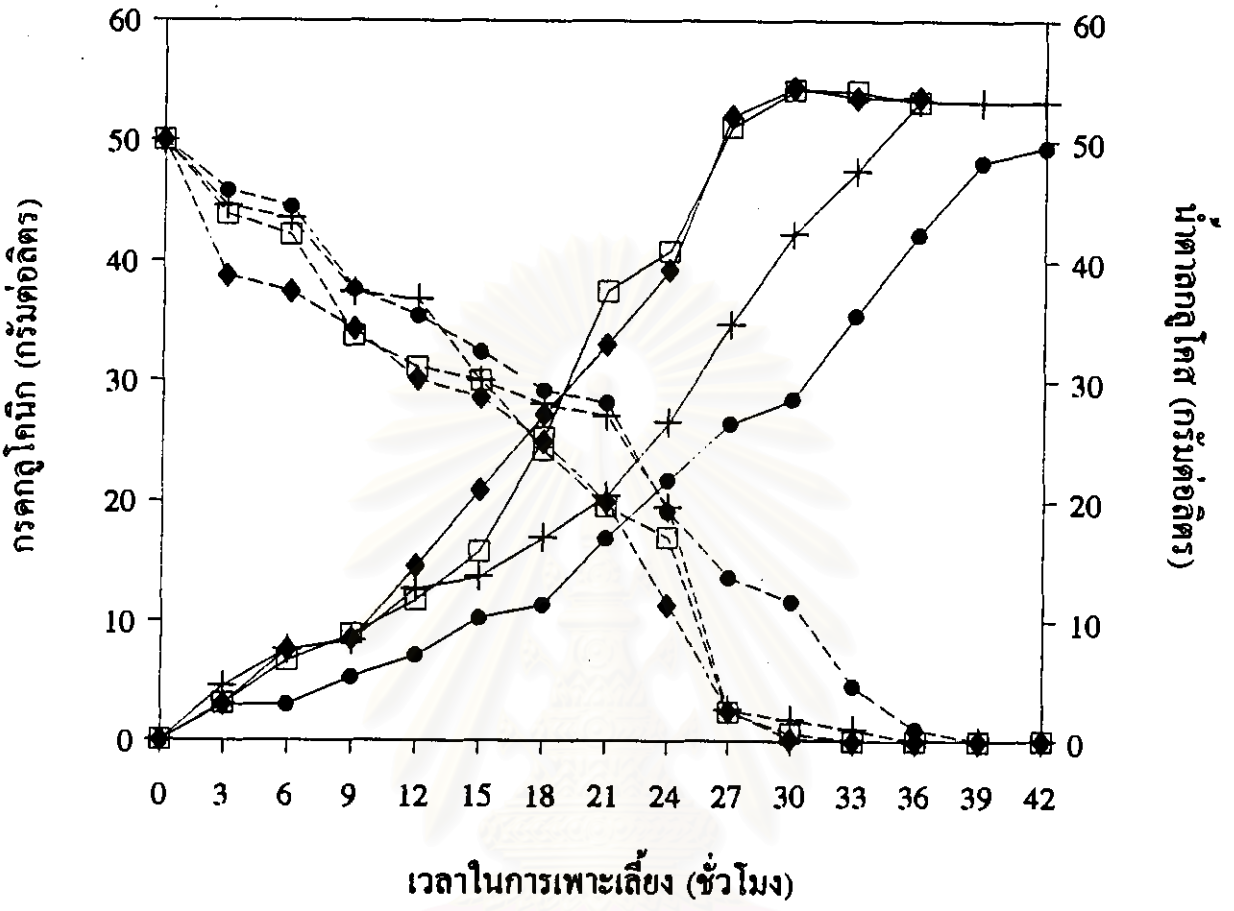
รูปที่ 8 การผลิตกรดกลูโคนิกจากสายใยตรึงในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันขนาดชิ้นของ PUF เป็น 0.25 และ 0.6 เซนติเมตร อัตราการให้อากาศ 5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที น้ำหนักเปียกของ PUF ที่มีสายใยตรึง 100 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้ว เท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร

—— หมายถึง ปริมาณกรดกลูโคนิก
---- หมายถึง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส
—●— หมายถึง ขนาดชิ้นของ PUF 0.25 เซนติเมตร
—□— หมายถึง ขนาดชิ้นของ PUF 0.6 เซนติเมตร

4.3 ผลการแปรผันอัตราการให้อากาศในการผลิตกรดกลูโคนิก

เมื่อผลิตกรดกลูโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างโดยบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ 500 มิลลิลิตร ใช้ PUF ขนาด 0.25 เซนติเมตร โดยใช้แป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้วที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน 50 กรัมต่อลิตร น้ำหนักเปียกของ PUF ที่มีสายใยตรึง 100 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ แปรผันอัตราการให้อากาศเป็น 5 7 9 และ 11 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ผลการทดลอง (รูปที่ 9) พบว่าอัตราการให้อากาศ 9 และ 11 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด ใกล้เคียงกัน คือ ให้ปริมาณกรด 54.2 และ 54.4 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในเวลา 30 ชั่วโมง การใช้น้ำตาลกลูโคสใกล้เคียงกันและปริมาณน้ำตาลจะหมดลงในชั่วโมงที่ 33 ของการผลิต ส่วนการให้อากาศ 7 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 คือ 53.3 กรัมต่อลิตร และใช้น้ำตาลหมดในชั่วโมงที่ 36 และการให้อากาศ 5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ให้ปริมาณกรดกลูโคนิกชั่วโมงที่ 42 เท่ากับ 49.5 กรัมต่อลิตร และใช้น้ำตาลหมดใน ชั่วโมงที่ 39 ดังนั้นอัตราการให้อากาศที่เหมาะสม คือ 9 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 9 การผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงในระดับขยายส่วนในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างเมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศต่าง ๆ กัน

หมายถึง ปริมาณกรดกลูโคนิก

หมายถึง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส

หมายถึง อัตราการให้อากาศ 5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

หมายถึง อัตราการให้อากาศ 7 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

หมายถึง อัตราการให้อากาศ 9 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

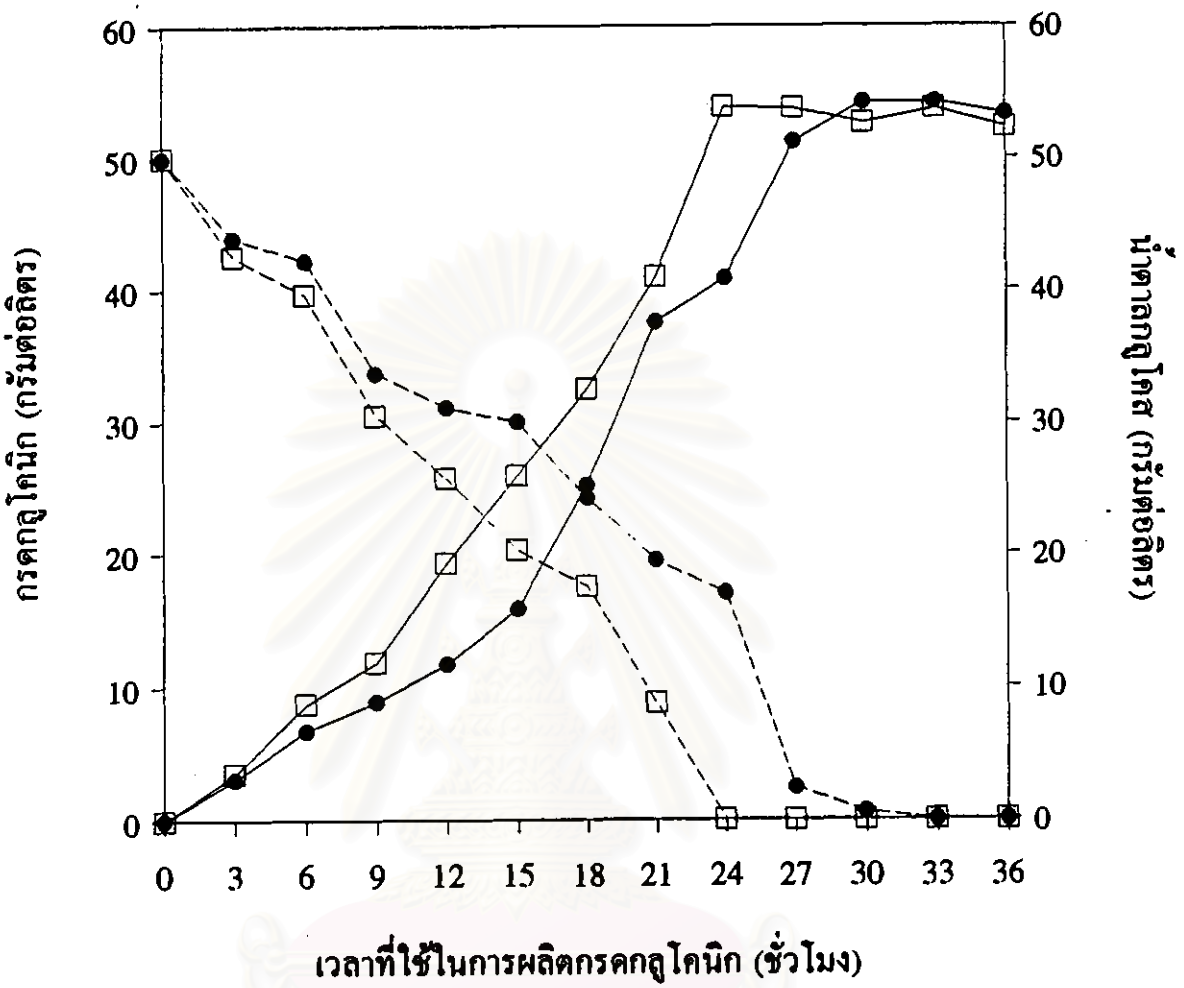
หมายถึง อัตราการให้อากาศ 11 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

4.4 ผลของการแปรผันปริมาณ PUF ต่อการผลิตกรดกลูโคนิก

เมื่อผลิตกรดกลูโคนิกโดยใช้สายตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศทางด้านล่าง โดยแปรผันน้ำหนักเปียกของ PUF ที่มีสายใยตรึงเป็น 100 และ 200 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกสูตรที่ 2 (ภาคผนวก ก 4) ปริมาตร 1 ลิตร ซึ่งมีแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้วที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน ใช้ PUF ขนาดชิ้นเท่ากับ 0.25 เซนติเมตร อัตราการให้อากาศ 9 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ผลการทดลอง (รูปที่ 10) พบว่าการทดลองที่ใช้ PUF ที่มีสายใยตรึง 200 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ปริมาณกรดสูงสุดภายในชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 53.8 กรัมต่อลิตร และ ใช้น้ำตาลหมดในชั่วโมงที่ 24 เช่นกัน ส่วนการทดลองที่ใช้ PUF ที่มีสายใยตรึง 100 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ปริมาณกรดสูงสุดในชั่วโมงที่ 30 คือ 54.2 กรัมต่อลิตร และใช้น้ำตาลหมดในชั่วโมงที่ 33 จะเห็นได้ว่าการทดลองที่ใช้ PUF ที่มีสายใยตรึง 200 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ปริมาณกรดเร็วกว่า จึงเลือกใช้สำหรับการทดลองต่อไป

เนื่องจากผลการทดลองที่ได้ใช้อัตราการให้อากาศ 9 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ซึ่งได้ทดลองว่าเหมาะสมจากการทดลองข้างต้นที่ใช้น้ำหนักเปียกของ PUF ที่มีสายใยตรึง 100 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่เมื่อปริมาณ PUF เริ่มต้นที่เหมาะสมเป็น 200 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ อัตราการให้อากาศ 9 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที อาจไม่เหมาะสม ดังนั้นจึงเพิ่มปริมาณการให้อากาศเป็น 11 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ผลการทดลอง (รูปที่ 11) พบว่าการเพิ่มปริมาณการให้อากาศมากขึ้นไม่มีผลต่อเวลาที่ให้ปริมาณกรดสูงสุด และปริมาณกรดสูงสุดยังคงใกล้เคียงกับปริมาณเริ่มต้นน้ำหนักเปียกของ PUF ที่มีสายใยตรึง 200 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ อัตราการให้อากาศ 9 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

ดังนั้นภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงในระดับคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศทางด้านล่าง คือ ใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้ว 50 กรัมต่อลิตร PUF ขนาดชิ้น 0.25 เซนติเมตร อัตราการให้อากาศ 9 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที น้ำหนักเปียกของ PUF ที่มีสายใยตรึง 200 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 53.8 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 24 ของการผลิต



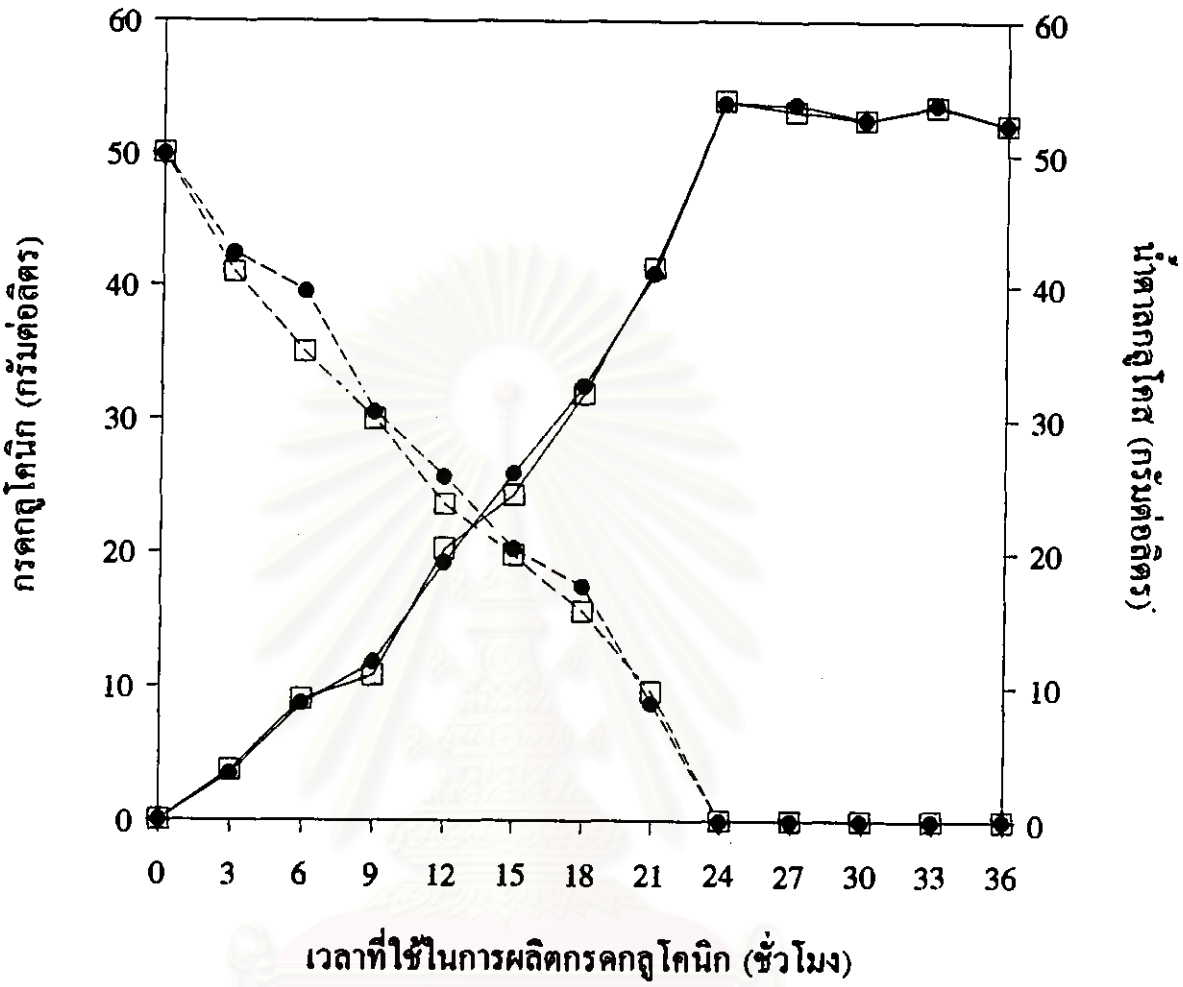
รูปที่ 10 การผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงในระดับขยายส่วนในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันน้ำหนักเปียก PUF ที่มีสายใยตรึงต่าง ๆ กัน อัตราการให้อากาศเท่ากับ 9 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

—— หมายถึง ปริมาณกรดกลูโคนิก

---- หมายถึง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส

—●— หมายถึง น้ำหนักเปียก PUF ที่มีสายใยตรึง 100 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

—□— หมายถึง น้ำหนักเปียก PUF ที่มีสายใยตรึง 200 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ



รูปที่ 11 การผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงในระดับขยายส่วนในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศ เป็น 9 และ 11 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที น้ำหนักเปียก PUF ที่มีสายใยตรึงหนัก 200 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

—— หมายถึง ปริมาณกรดกลูโคนิก

---- หมายถึง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส

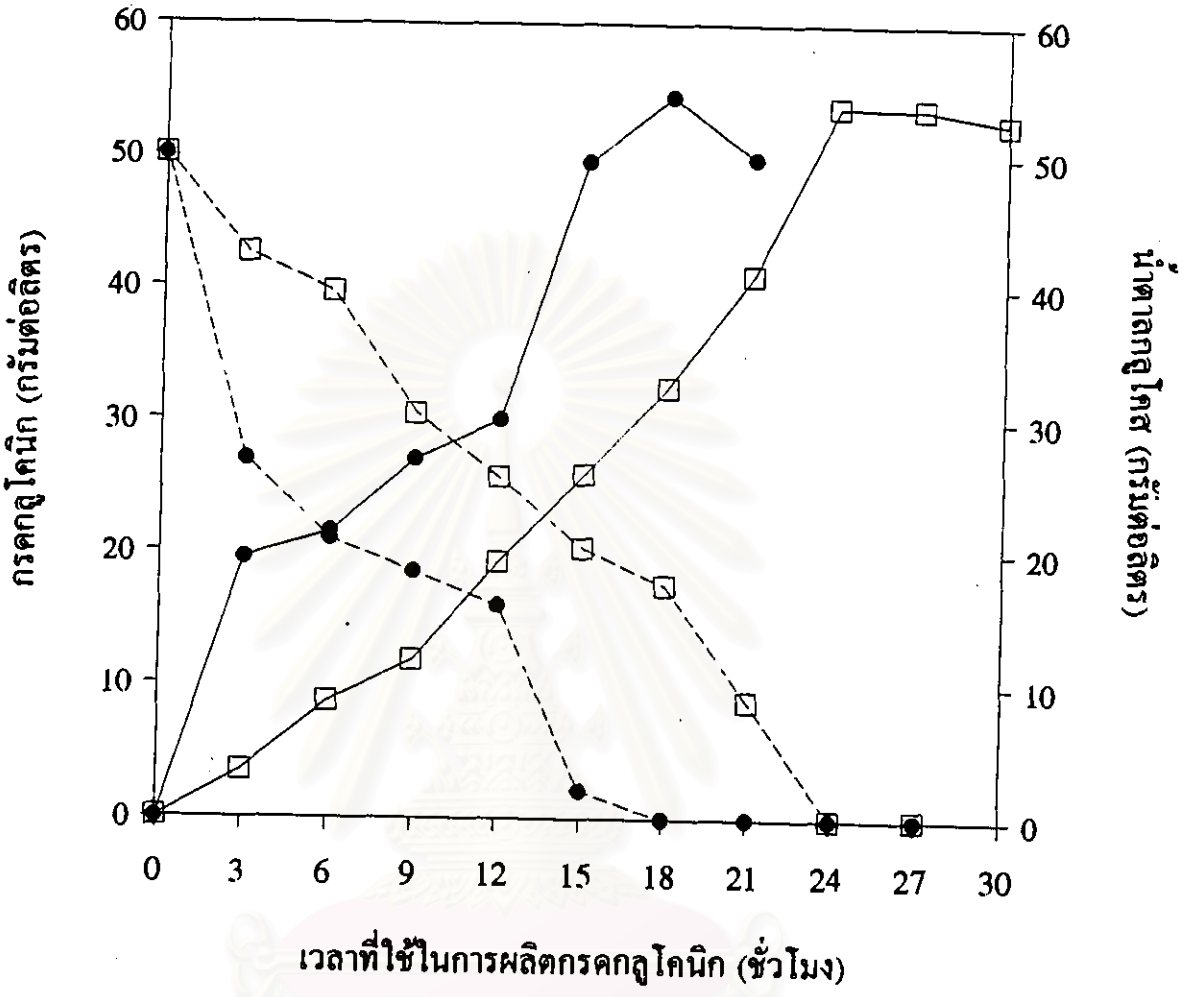
—●— หมายถึง ปริมาณการให้อากาศ 9 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

—□— หมายถึง ปริมาณการให้อากาศ 11 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

5. ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิกภายใต้ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตโดยสายใยตรึงใน PUF และสายใยตรึงในแคลเซียมอัลจิเนต

เมื่อผลิตกรดกลูโคนิกโดยใช้น้ำหนักเปียกของ PUF ที่มีสายใยตรึง 200 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกสูตรที่ 2 (ภาคผนวก ก 4) โดยใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้ว 50 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 9 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง พบว่าให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 53.8 กรัมต่อลิตร ในเวลา 24 ชั่วโมง (รูปที่ 12) สำหรับการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงในแคลเซียมอัลจิเนต (กุลธิรา สู่สุข , 2538) อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกสูตรที่ 2 (ภาคผนวก ก 4) โดยใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้วที่มีน้ำตาลกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร น้ำหนักของเม็ดเจลสายใยตรึง 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 10 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง พบว่าให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 54.5 กรัมต่อลิตร ในเวลา 18 ชั่วโมง (รูปที่ 12) เมื่อเปรียบเทียบการผลิตกรดกลูโคนิกโดยวิธีตรึงสายใยใน PUF และ แคลเซียมอัลจิเนต พบว่าการผลิตโดยสายตรึงทั้งสองวิธีให้ปริมาณกรดใกล้เคียงกัน แต่การผลิตโดยตรึงสายใยในแคลเซียมอัลจิเนตใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงให้งอกนานกว่า แต่ใช้เวลาในการผลิตน้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบการใช้น้ำตาลพบว่ามีการใช้น้ำตาลในรูปแบบเดียวกัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 12 เปรียบเทียบผลการผลิตกรดกลูโคนิกภายใต้ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตโดยสายใยตรึงที่ตรึงในแคลเซียมอัลจิเนต และ PUF

—— หมายถึง ปริมาณกรดกลูโคนิก

---- หมายถึง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส

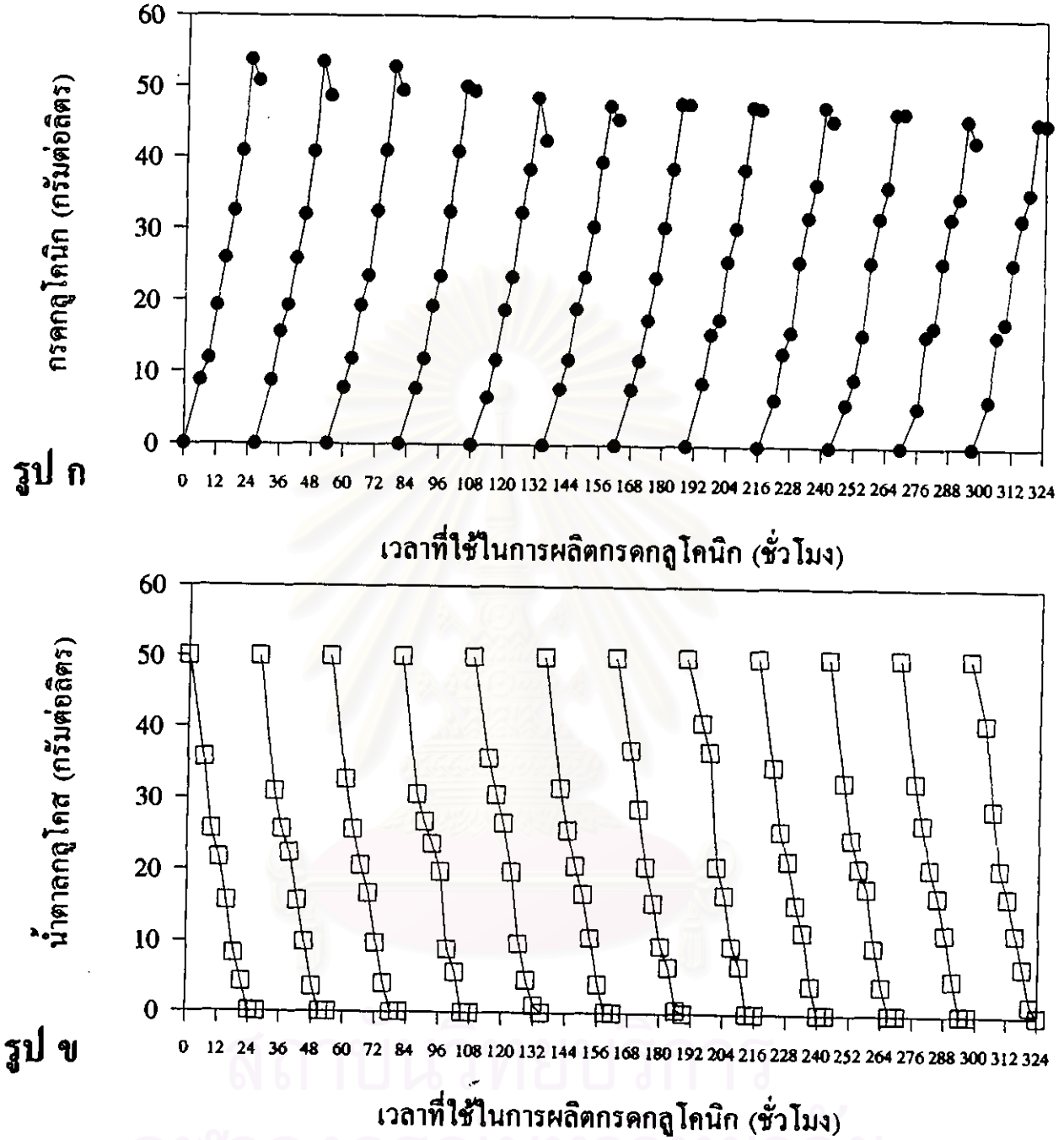
—□— หมายถึง สายใยที่ตรึงใน PUF

—●— หมายถึง สายใยที่ตรึงในแคลเซียมอัลจิเนต

6. ผลการทดลองผลิตกรดกลูโคนิกซ้ำ (repeated batch) โดยใช้สายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศทางด้านล่าง

เมื่อทดลองผลิตกรดกลูโคนิกซ้ำ โดยใช้ภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองข้างต้น คือ ใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้ว 50 กรัมต่อลิตร PUF ขนาดชิ้น 0.25 เซนติเมตร อัตราการให้อากาศ 9 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที น้ำหนักเปียกของ PUF ที่มีสายใยตรึง 200 กรัมต่อลิตร มาทำการผลิตกรดกลูโคนิกซ้ำ 12 ครั้ง พบว่าสามารถผลิตกรดได้โดยใช้สายใยตรึงซ้ำได้รวม 12 ครั้งในเวลา 324 ชั่วโมงโดยปริมาณสูงสุดลดลงเล็กน้อย และให้ปริมาณกรดกสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 ของการทดลองทุกซ้ำ โดยผลการทดลองใช้สายใยตรึงซ้ำ 3 ครั้งแรกให้ปริมาณกรดสูงสุดใกล้เคียงกัน คือ 53.8 53.5 และ 52.8 กรัมต่อลิตรตามลำดับ เมื่อทำการผลิตโดยใช้สายใยตรึงซ้ำต่อไปอีก พบว่าการผลิตในซ้ำที่ 4 ถึงซ้ำที่ 12 ให้ผลการผลิตกรดสูงสุดลดลงเล็กน้อย คือ ให้ปริมาณกรดสูงสุด 50.1 48.6 47.5 47.9 47.5 47.5 46.7 45.8 และ 45.6 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 13 ก) ปริมาณน้ำตาลกลูโคสของการผลิตทุกซ้ำจะลดลงในลักษณะเดียวกันและหมดลงในชั่วโมงที่ 24 ของการผลิต แต่การทดลองในซ้ำที่ 5 7 และ 12 จะมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเหลือเล็กน้อยใน ชั่วโมงที่ 24 และจะหมดในชั่วโมงที่ 27 (รูปที่ 13 ข)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 13 การผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงในระดับขยายส่วนในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ทำการผลิตโดยใช้สายใยตรึงซ้ำ 12 ซ้ำ

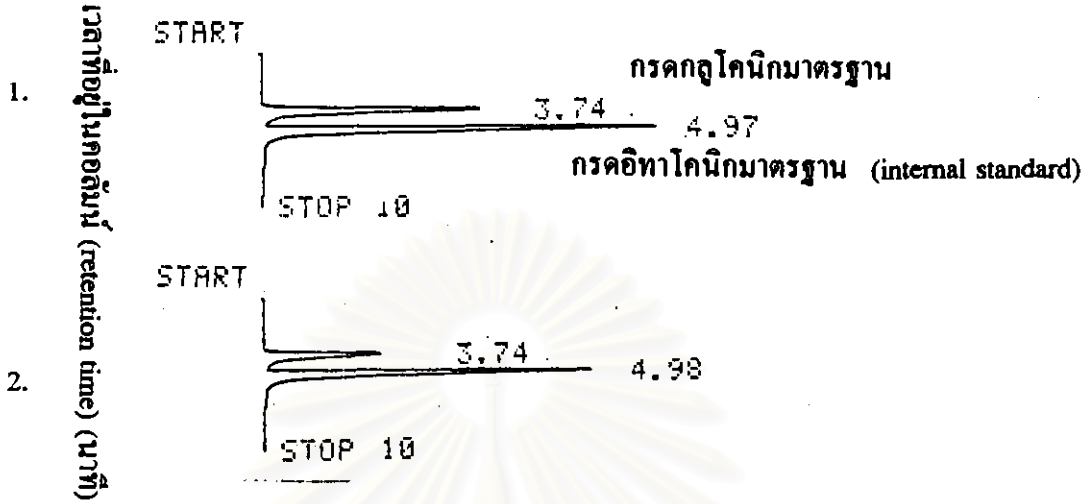
รูป ก —●— หมายถึง ปริมาณกรดกลูโคนิก

รูป ข —□— หมายถึง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส

7. ผลการวิเคราะห์กรดกลูโคนิกที่สร้างขึ้นโดยสายใยตรึง *Aspergillus niger* G153 ด้วยเครื่อง HPLC

เมื่อทำการวิเคราะห์กรดที่สร้างโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 เพื่อยืนยันว่าเป็นกรดกลูโคนิกโดยเทียบกับกรดกลูโคนิกมาตรฐาน ผลการทดลอง (รูปที่ 14) พบว่ากรดอินทรีย์ที่สร้างโดย *Aspergillus niger* G153 มีเพียงชนิดเดียว และ มีช่วงเวลาที่อยู่ใน Zobox-C8 คอลัมน์ เช่นเดียวกับกรดกลูโคนิกมาตรฐาน เมื่อทดลองวิเคราะห์ชนิดของกรดดังกล่าวซ้ำ เพื่อยืนยันผลโดยใช้ Spherisorb-C18 คอลัมน์ ผลการทดลอง (รูปที่ 15) พบว่ามีกรดอินทรีย์ที่สร้างโดย *Aspergillus niger* G153 เพียงชนิดเดียว และมีช่วงเวลาที่อยู่ในคอลัมน์เช่นเดียวกับกรดกลูโคนิกมาตรฐาน จึงยืนยันได้ว่ากรดอินทรีย์ที่สร้างโดยจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้ คือ กรดกลูโคนิก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 14 HPLC โครมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ เมื่อใช้ใช้ Zorbox-C8 คอลัมน์

1. กรดกลูโคนิกมาตรฐานผสมกับกรดอิทาโคนิกมาตราฐาน (internal standard)
2. กรดอินทรีย์ที่สร้างโดย *Aspergillus niger* G153 ผสมกับกรดอิทาโคนิกมาตรฐาน

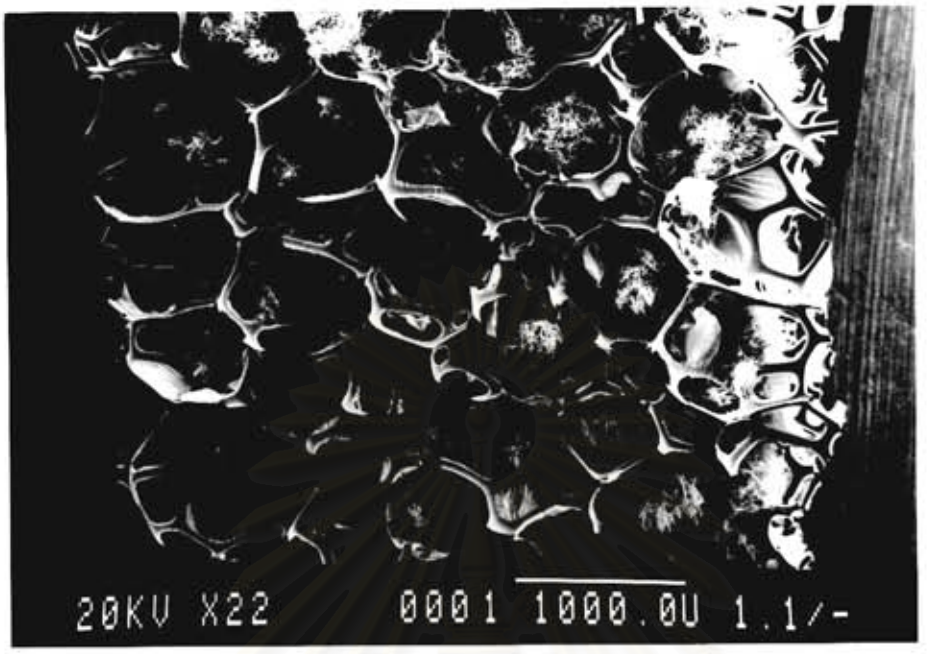
รูปที่ 15 HPLC โครมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ เมื่อใช้ Spherisorb-C18 คอลัมน์

1. กรดกลูโคนิกมาตรฐานผสมกับกรดอิทาโคนิกมาตราฐาน (internal standard)
2. กรดอินทรีย์ที่สร้างโดย *Aspergillus niger* G153 ผสมกับกรดอิทาโคนิกมาตรฐาน

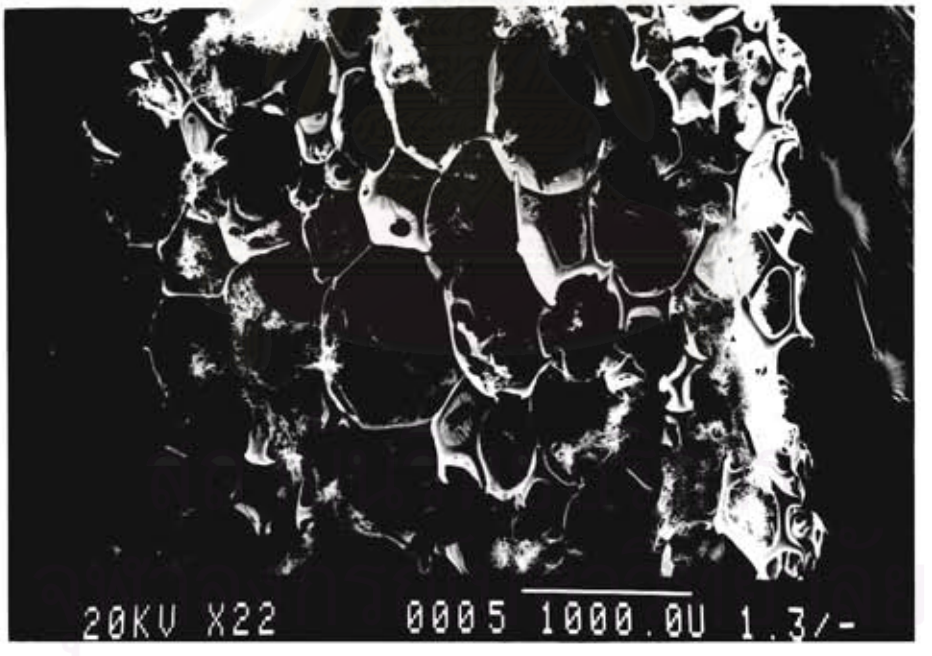
8. ผลการตรวจการเติบโตของสายใยตรึง *Aspergillus niger* G153 ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope)

เมื่อนำ PUF ขนาดชิ้น 0.25 เซนติเมตร ที่มีสายใยตรึงอยู่ภายใน ได้แก่ PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึง PUF ที่ผ่านการผลิตกรดโดยใช้สายใยตรึง 1 ซ้ำ และ PUF ที่ผ่านการผลิตกรดโดยใช้สายใยตรึง 3 ซ้ำ มาตรวจการเติบโตของสายใยตรึงด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด โดยส่องดูบริเวณผิวของชิ้นวัสดุตรึง และส่องดูบริเวณภายในชิ้น PUF ที่ผ่าเป็นแว่น พบว่าสายใยเจริญอยู่เฉพาะบริเวณผิวของชิ้นวัสดุตรึงและลึกลงไปจากผิวระดับหนึ่งเท่านั้น ไม่พบการเจริญของสายใยบริเวณกลางชิ้นวัสดุตรึงเมื่อตรวจการเติบโตบริเวณผิวของชิ้น PUF ด้วยกำลังขยาย 22 เท่า พบว่า PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึง (รูปที่ 16 (1)) มีความหนาแน่นของสายใยไล่เลี่ยกับ PUF ที่มีสายใยตรึงที่ผ่านการผลิตกรดโดยใช้สายใยตรึง 1 ซ้ำ (รูปที่ 17 (1)) แต่เมื่อเพิ่มกำลังขยายเพิ่มขึ้นเป็น 180 เท่า จะสังเกตุเห็นว่า PUF ที่ผ่านขั้นตอนการผลิตกรด 1 ซ้ำ (รูปที่ 18(2)) มีสายใยแน่นกว่า PUF ที่ผ่านขั้นตอนการเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงให้เป็นสายใยตรึง (รูปที่ 18(1)) เล็กน้อย เมื่อตรวจดูด้านในของชิ้น PUF ที่ผ่าเป็นแว่น พบว่าชั้นสายใยใน PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึง (รูปที่ 16 (2)) มีความหนาน้อยกว่า คือ 0.45 มิลลิเมตร และ PUF ที่ผ่านการผลิตกรด 1 ซ้ำ (รูปที่ 17 (2)) มีความหนามากกว่า คือ 0.79 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบ PUF ที่ผ่านการผลิตกรด 1 ซ้ำ (รูปที่ 19 (1)) กับ PUF ที่ผ่านการผลิตกรด 3 ซ้ำ (รูปที่ 19 (2)) พบว่าความหนาของชั้นการเจริญใกล้เคียงกัน คือ 0.79 มิลลิเมตร และ 0.80 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเพิ่มกำลังขยายสูงขึ้นเป็น 1000 เท่า พบว่าสายใยบริเวณกลางชิ้น PUF มีลักษณะที่แปลกออกไปกล่าวคือ มีลักษณะเป็นปุ่มปม (รูปที่ 20)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



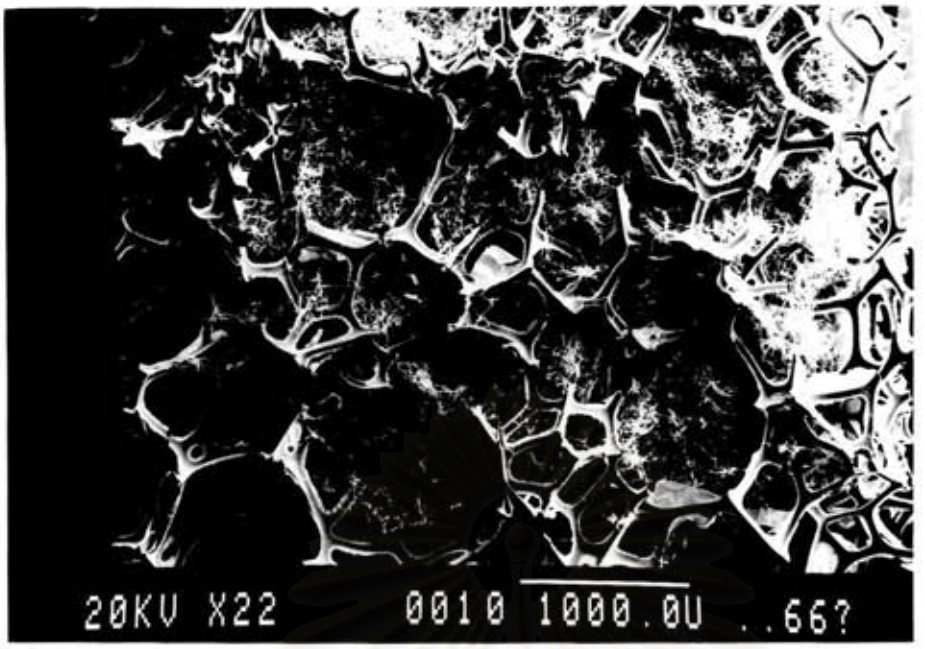
1



2

รูปที่ 16 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของ PUF ขนาดชิ้น 0.25 เซนติเมตร มีกล้าเชื้อสายใยตรึงเจริญอยู่ กำลังขยาย 22 เท่า

1. ชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึง มองจากผิวด้านบน
2. ชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึง ผ่าเป็นแว่น

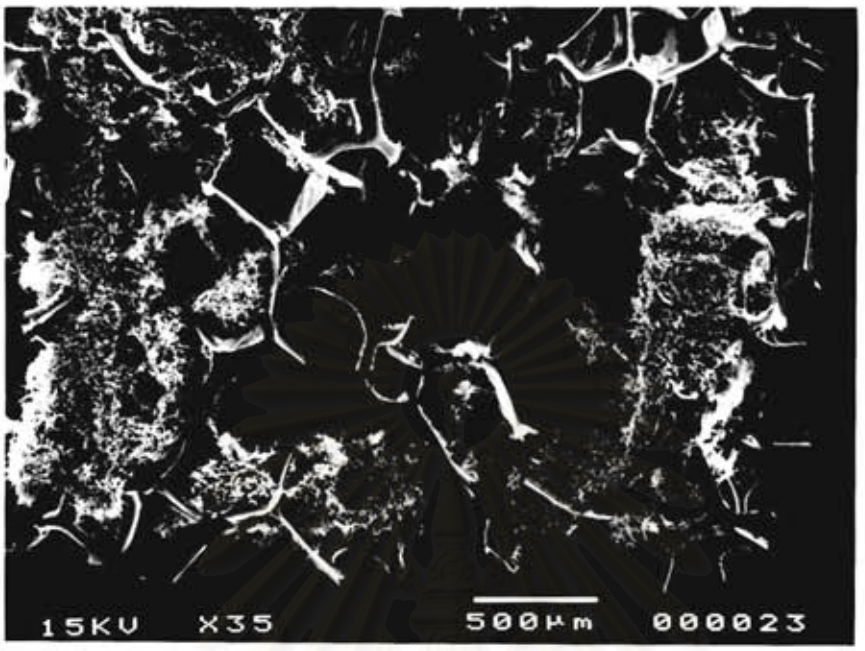


1

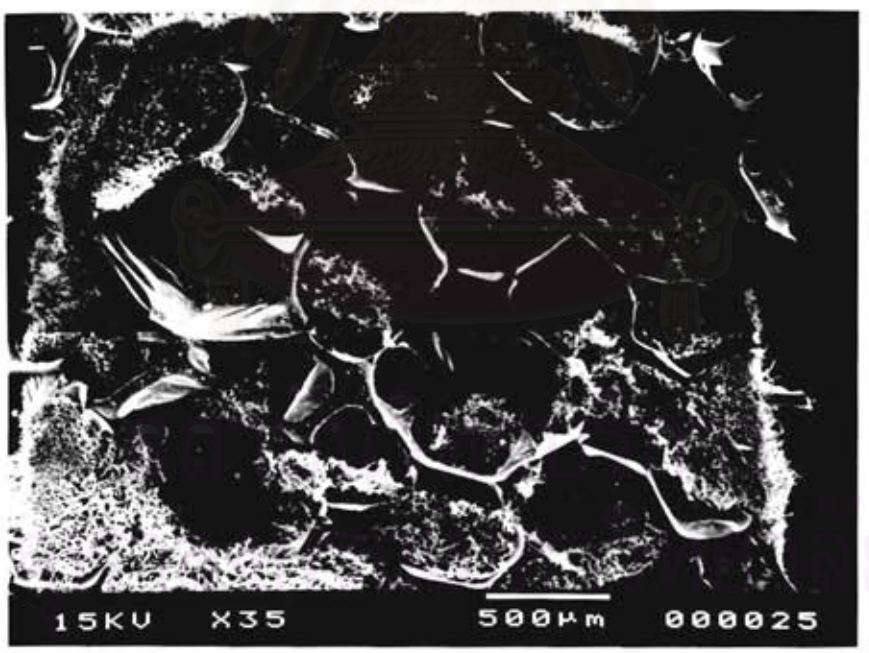
2

รูปที่ 17 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของ PUF ขนาดชิ้น 0.25 เซนติเมตร ที่มีสายใยตรึงซึ่งผ่านการผลิดกรดกลูโคนิก 1 ซ้ำ กำลังขยาย 22 เท่า

1. ชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึง มองจากผิวด้านบน
2. ชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึง ผ่าเป็นแว่น



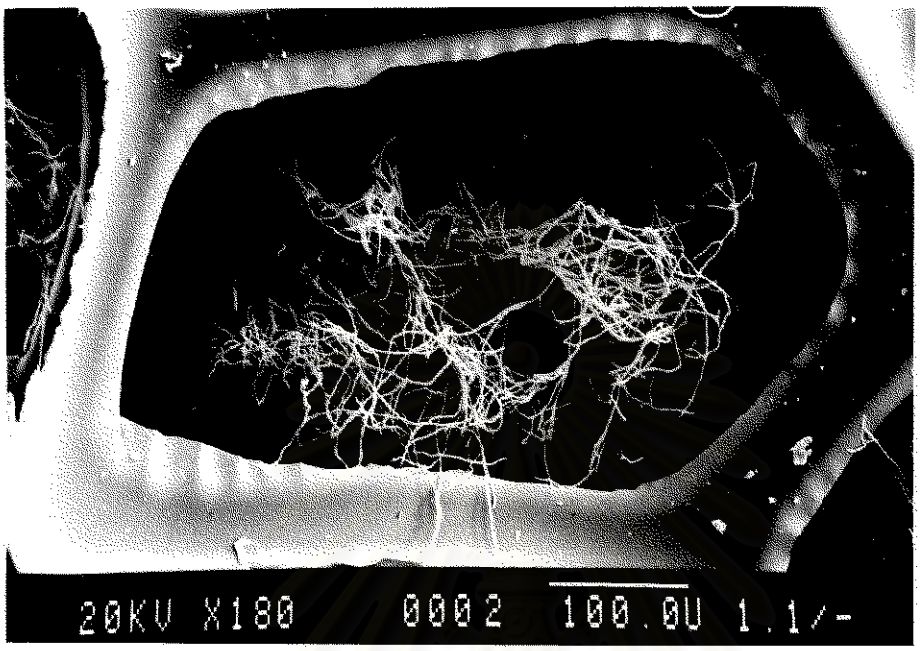
1



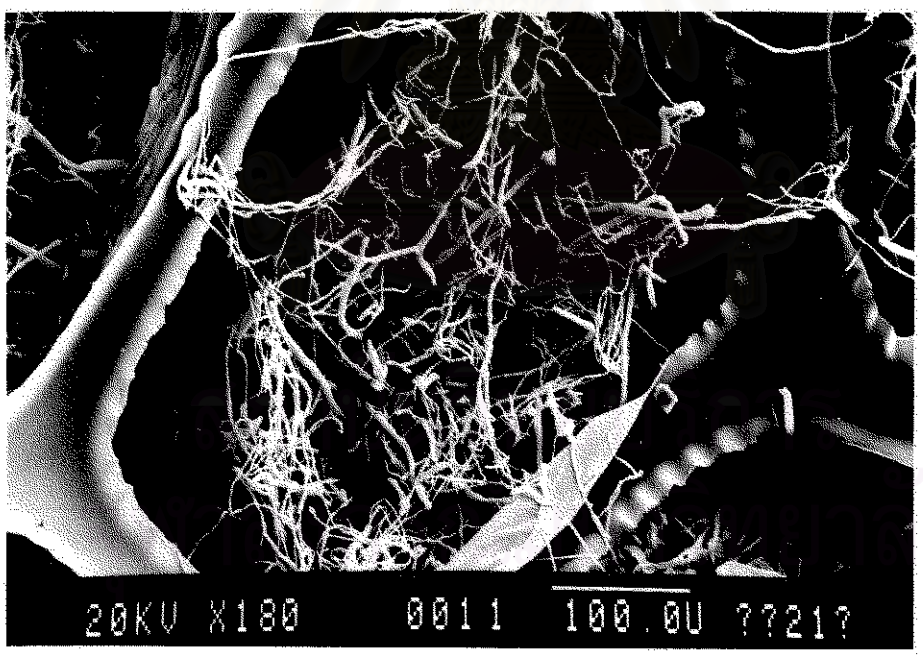
2

รูปที่ 19 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของ PUF ขนาดชิ้น 0.25 เซนติเมตร ผ่าเป็นแว่น กำลังขยาย 35 เท่า

1. ชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึง ซึ่งผ่านการผลิตกรดกลูโคนิก 1 ซ้ำ
2. ชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึง ซึ่งผ่านการผลิตกรดกลูโคนิก 3 ซ้ำ



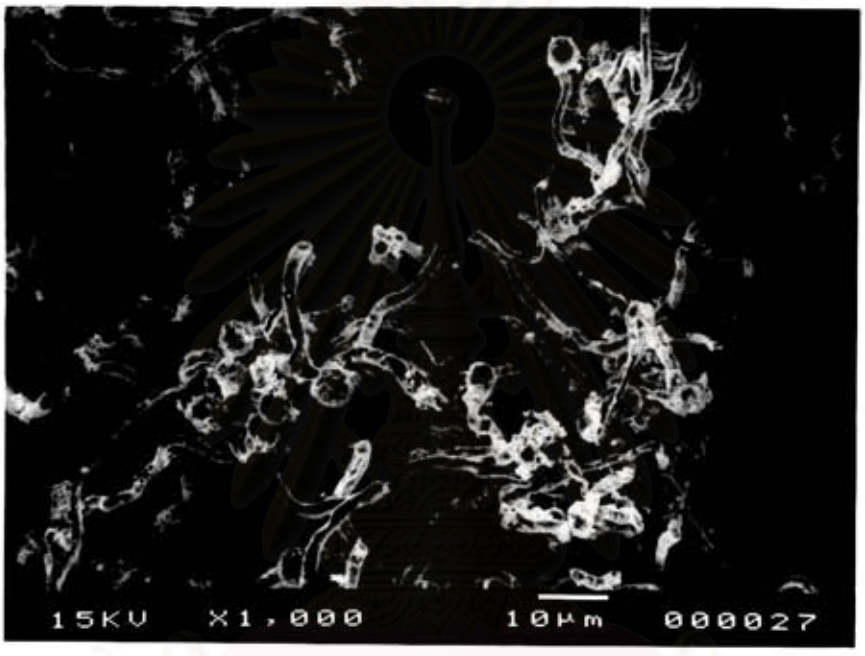
1



2

รูปที่ 18 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของชิ้น PUF ขนาดชิ้น 0.25 เซนติเมตร กำลังขยาย 180 เท่า

1. ชิ้น PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึงเจริญอยู่
2. ชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึงซึ่งผ่านการผลิตกรดกลูโคนิก 1 ชั้น



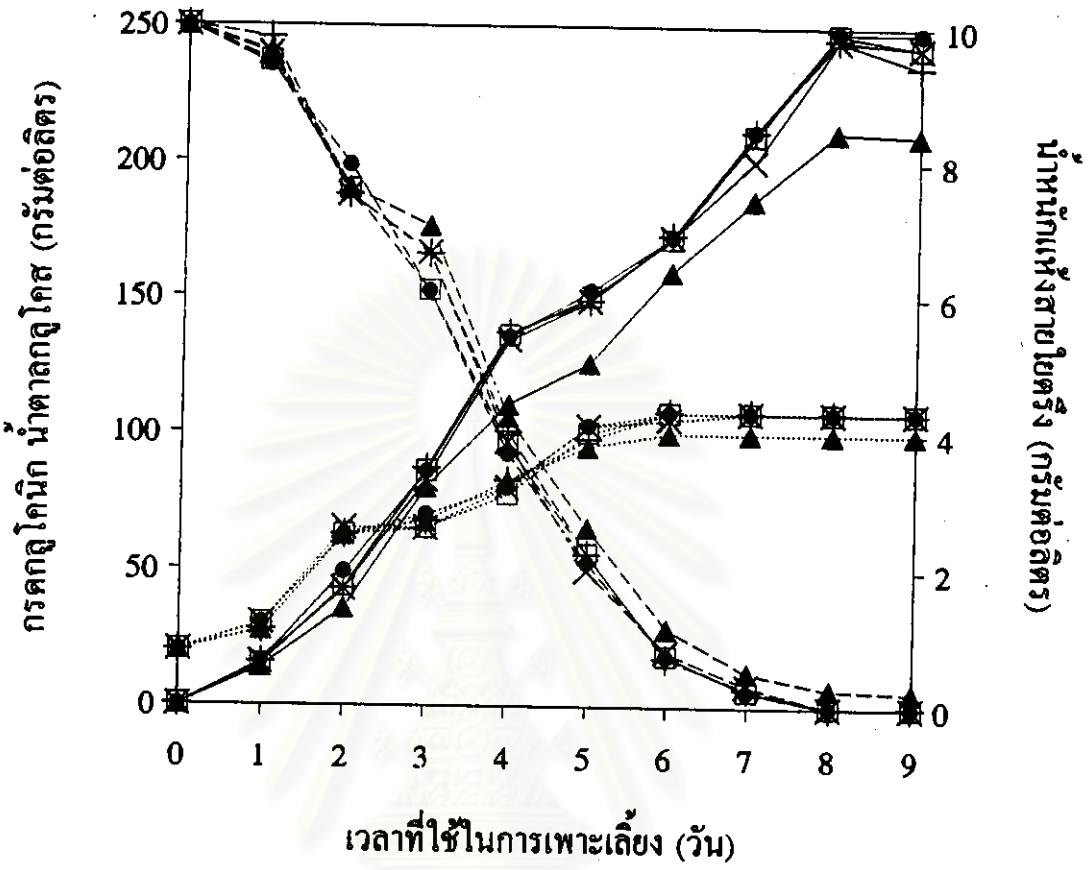
รูปที่ 20 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของ PUF ขนาดชิ้น 0.25 เซนติเมตร ที่ผ่านการผลิตกรดกลูโคนิก 3 ซ้ำ กำลังขยาย 1000 เท่า

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

9. ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตกรดกลูโคนิกของสายใยตรึงที่เก็บไว้ที่ 6 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่าง ๆ กันก่อนนำมาใช้ผลิตกรด

เมื่อนำชิ้น PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึง มาล้างด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) 2 ครั้ง แล้วเก็บชิ้น PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ไว้ที่ 6 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 3 5 7 และ 9 วัน แล้วจึงนำชิ้น PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึงมาผลิตกรดกลูโคนิกในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิก สูตรที่ 2 ที่มีน้ำตาลกลูโคส 250 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน ผลการทดลอง (รูปที่ 21) พบว่า PUF ที่เก็บไว้ในเวลา 0 3 5 และ 7 วัน จะให้ปริมาณกรดสูงสุดใกล้เคียงกัน คือ 248.2 245.6 247.6 และ 245.2 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 7 ของการผลิต และใช้น้ำตาลกลูโคสหมดในวันที่ได้ผลการผลิตสูงสุด แต่ PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึงที่เก็บไว้เป็นเวลา 9 วัน ผลิตกรดกลูโคนิกได้น้อยลงคือ ให้ปริมาณกรดสูงสุด 211.5 กรัมต่อลิตร โดยยังคงมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเหลือเล็กน้อย เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 21 การผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 เมื่อเก็บ PUF ที่มีหัวเชื้อสายใยตรึงไว้ ที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่าง ๆกัน ก่อนนำมาเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง

——— หมายถึง ปริมาณกรดกลูโคนิก

- - - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส

- - - - - - - - หมายถึง น้ำหนักแห้งสายใย

—●— หมายถึง เก็บหัวเชื้อสายใยตรึงไว้เป็นเวลา 0 วัน

—□— หมายถึง เก็บหัวเชื้อสายใยตรึงไว้เป็นเวลา 3 วัน

—+— หมายถึง เก็บหัวเชื้อสายใยตรึงไว้เป็นเวลา 5 วัน

—×— หมายถึง เก็บหัวเชื้อสายใยตรึงไว้เป็นเวลา 7 วัน

—▲— หมายถึง เก็บหัวเชื้อสายใยตรึงไว้เป็นเวลา 9 วัน