บทที่ 3

ผลการวิจัย

<u>ผลการหาเวลาที่เหมาะสมในการใช้แอมเบอร์ไลท์ ไอ-อาร์ 120 พี ดูดซับโซเดียมไอออนจากโซเดียมกลูโคเนตมาตรฐาน</u>

เมื่อแปรผันเวลาที่ใช้ในการดูดซับโซเดียมไอออนออกจากโซเดียมกลูโคเนตมาตรฐาน 100 มิลลิกรัม ด้วยแอมเบอร์ไลท์ ไอ-อาร์ 120 พีแตกต่างกัน พบว่า ปริมาณกรดกลูโคนิคที่ตรวจได้แตกต่างกันด้วย ดังแสดงในรูปที่ 5 จะเห็นได้ว่า เมื่อใช้เวลาในการกวน 15 นาที ตรวจพบปริมาณกรดกลูโคนิค 74.56 มิลลิกรัม ในขณะที่เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 30 45 60 และ 90 นาที ตรวจพบกรดกลูโคนิคในปริมาณที่เท่ากัน คือ 78.46 มิลลิกรัม แสดงว่าเวลาในการกวนตั้งแต่ 30 นาทีเป็นต้นไป เพียงพอต่อการดูดซับโซเดียมไอออนออกจากโซเดียมกลูโคเนตมาตรฐาน 100 มิลลิกรัม

<u>ผลการหาปริมาณแอมเบอร์ไลท์ ไอ-อาร์ 120 พี ที่เหมาะสมในการดูดซับโซเดียมไอออนจากโซเดียมกลูโคเนตมาตรฐาน</u>

เมื่อแปรผันปริมาณแอมเบอร์ไลท์ ไอ-อาร์ 120 พี เพื่อดูดซับโซเดียมไอออนออกจากโซเดียมกลูโคเนตมาตรฐาน 100 มิลลิกรัมต่าง ๆ กัน พบว่า ความสามารถในการดูดซับโซเดียมไอออน ออกจากโซเดียมกลูโคเนตแตกต่างกันด้วย กล่าวคือ ปริมาณกรดกลูโคนิคที่ตรวจได้ มีความแตกต่างกัน โดยเมื่อใช้แอมเบอร์ไลท์ ปริมาณ 3 และ 6 มิลลิลิตร ตรวจพบปริมาณกรดกลูโคนิค 27.46 และ 51.22 มิลลิกรัม ตามลำดับ แต่เมื่อใช้แอมเบอร์ไลท์ ปริมาณ 9 และ 12 มิลลิลิตร ตรวจพบปริมาณกรดกลูโคนิค 80.46 มิลลิกรัมเท่ากัน ดังแสดงในรูปที่ 6 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า แอมเบอร์ไลท์ 9 มิลลิลิตร เป็นปริมาณที่เพียงพอในการดูดซับโซเดียมไอออน ออกจากโซเดียมกลูโคเนตมาตรฐาน 100 มิลลิกรัม

ผลการหาวิธีการที่เหมาะสมในการใช้แอมเบอร์ไลท์ ไอ-อาร์ 120 พี ดูดซับโซเดียมไอออนจากโซเดียมกลูโคเนตมาตรฐาน

เมื่อใช้วิธีการแตกต่างกันในการใช้แอมเบอร์ไลท์ ไอ-อาร์ 120 พี 9 มิลลิลิตร ดูดซับโซเดียมไอออนออกจากโซเดียมกลูโคเนตมาตรฐาน 100 มิลลิกรัม โดยใช้เวลาดูดซับ 30 นาที พบว่าวิธีการกวน และการใช้คอลัมน์ ตรวจพบปริมาณกรดกลูโคนิคต่างกันเล็กน้อย คือ 80.43 และ 82.39 มิลลิกรัม ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 7 แต่วิธีการใช้คอลัมน์เป็นวิธีที่สะดวกกว่าวิธีแรกที่ต้องอาศัยเครื่องกวน และ สามารถดูดซับโซเดียมไอออนได้ดี จึงนำวิธีการใช้คอลัมน์มาใช้ในการทดลองต่อไป

ผลการนำสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปแคลเซียมกลูโคเนต มาผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต ระดับขวดเขย่า

เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 เพื่อผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต ระดับขวดเขย่า โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจากการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปแคลเซียมกลูโคเนต คือใช้น้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอน ควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้อยู่ในช่วงระหว่าง 5.5-6.5 ตลอดการทดลองด้วย 1 นอร์มอลโซเดียมไฮดรอกไซด์ แทนการใช้แคลเซียมคาร์บอเนต เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบโรตารี ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 185.56 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการเลี้ยงเชื้อ ดังแสดงในรูปที่ 8 น้ำตาลกลูโคสถูกนำไปใช้เพื่อการผลิตกรดและการเติบโต จนกระทั่งวันที่ 8 ของการเลี้ยงเชื้อ น้ำตาลถูกใช้หมด ส่วนการเติบโตซึ่งวัดจากน้ำหนักแห้งของสายใยเพิ่มมากขึ้นควบคู่ไปกับการผลิตกรด เมื่อพิจารณาถึงปริมาณกรดกลูโคนิคที่ผลิตได้ พบว่า มีปริมาณต่ำกว่าการผลิตในรูปแคลเซียมกลูโคเนต คือ ให้ผลผลิตกรด 185.56 กรัมต่อลิตร หรือ 74.22 % (น้ำหนักต่อน้ำหนักน้ำตาลกลูโคสตั้งต้น) ในขณะที่การผลิตกรดดังกล่าว ในรูปแคลเซียมกลูโคเนตภายใต้สภาวะเดียวกันให้ผลผลิตถึง 282 กรัมต่อลิตร หรือเท่ากับ 94 % (รติกร กัณฑพงศ์ ,2534) จึงต้องแปรผันสภาวะบางอย่างในการทดลองต่อไปเพื่อเพิ่มผลผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต

ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมบางประการ เพื่อการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต ในระดับขวดเขย่า

ผลการหาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต

เมื่อทดลองผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต โดยแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเป็น 25% 30% และ 35% (น้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่า น้ำตาลกลูโคส 30% เป็นแหล่งคาร์บอนที่ให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงสุด คือ ให้ผลผลิต 237.4 กรัมต่อลิตร หรือเท่ากับ 79.13% (น้ำหนักต่อน้ำหนักกลูโคสตั้งต้น) ในวันที่ 8 ของการเลี้ยงเชื้อ ดังแสดงในรูปที่ 9 โดยให้ผลผลิตกรดสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ตั้งแต่วันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนผลผลิตกรดจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคส 25 % เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่เริ่มต้นเลี้ยงเชื้อ และมีค่าสูงสุด 185 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 7 วัน ดังรูปที่ 8 ส่วนการเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคส 35% ให้ผลผลิตกรดต่ำมาก กล่าวคือ เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 10 วัน ตรวจพบผลผลิตกรดเพียง 144.4 กรัมต่อลิตร เมื่อวัดการเติบโต พบว่า มีน้ำหนักแห้งของสายใยต่ำมาก คือเท่ากับ 13.5 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 10) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตกรดและระยะเวลาในการผลิต ดังแสดงในรูปที่ 11 พบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต ในระดับขวดเขย่า คือ 30 % จึงเลือกใช้น้ำตาลกลูโคส 30% เป็นแหล่งคาร์บอน ในอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับการทดลองต่อไป

ผลการหาช่วงความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต

เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคส 30% (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆกัน 3 ช่วง คือ ช่วงระหว่าง 4.5-5.5 5.5-6.5 และ 6.5-7.5 ตลอดการทดลอง พบว่า ช่วงความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด คือ 5.5-6.5 ให้ผลผลิตกรด 237 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 8 วัน (รูปที่ 13) ส่วนความ

เป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อช่วง 4.5-5.5 ซึ่งค่อนข้างเป็นกรด ให้ผลผลิตกรดและการเติบโตต่ำมาก คือ ให้ผลผลิตกรดเพียง 90.4 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 8 วัน(รูปที่ 12) ช่วงความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่าง 6.5-7.5 ให้ผลผลิตกรด 202.47 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 9 ของการเพาะเลี้ยง (รูปที่ 14) เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิคจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรดด่างต่างกัน 3 ช่วง ดังกล่าวข้างต้น (รูปที่ 15) จะเห็นได้ว่า ช่วงความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิค ในรูปโซเดียมกลูโคเนต คือ 5.5-6.5

<u>ผลการใช้แป้งไฮโดรไลเสสเป็นแหล่งคาร์บอน แทนน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์ เพื่อผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต</u>

เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแป้งไฮโดรไลเสส เป็นแหล่งคาร์บอน โดยปรับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในแป้งไฮโดรไลเสสเท่ากับ 30% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ตลอดการทดลองให้อยู่ในช่วง 5.5-6.5 เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบโรตารี อัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง

ผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่า สามารถใช้น้ำตาลที่ได้จากแป้งไฮโดรไลเสสเป็นแหล่งคาร์บอนแทนกลูโคสบริสุทธิ์ได้ เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบ ปริมาณกรดกลูโคนิค พบว่าผลผลิตกรดกลูโคนิคใกล้เคียงกัน คือ 234.64 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 8 ของการเลี้ยงเชื้อ หรือคิดเป็น 78.20 % (น้ำหนักต่อน้ำหนักกลูโคสตั้งต้น) การเติบโตและการใช้น้ำตาลก็ใกล้เคียงกัน ดังแสดงในรูปที่ 16 และ 17 ดังนั้น แป้งไฮโดรไลเสสจึงเหมาะสมที่จะนำมาเป็นแหล่งคาร์บอนแทนกลูโคสบริสุทธิ์ในการทดลองต่อไป

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมบางประการ ต่อการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต โดย *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ผลของอัตราการให้อากาศ

เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % เป็นแหล่งคาร์บอน แล้วศึกษาผลของปริมาณอากาศในอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อการผลิตกรดกลูโคนิค โดยแปรผันอัตราการให้อากาศต่าง ๆกัน 3 อัตรา คือ 1 1.5 และ 1.75 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที โดยกำหนดให้อัตราการกวนคงที่ เท่ากับ 500 รอบต่อนาที ควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 5.5-6.5 อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ผลการทดลอง พบว่า เมื่ออัตราการให้อากาศเพิ่มสูงขึ้น การผลิตกรดกลูโคนิคก็เพิ่มสูงขึ้นด้วย นั่นคือ เมื่ออัตราการให้อากาศเท่ากับ 1 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที เชื้อ *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 ผลิตกรดได้สูงสุด 272.93 กรัมต่อลิตร หรือเท่ากับ 90.31 % (เมื่อคิดจากน้ำตาลกลูโคสตั้งต้น) ที่เวลา 54 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ (รูปที่ 18) ในขณะที่เมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศเป็น 1.5 และ 1.75 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที พบว่าผลผลิตเพิ่มขึ้น และมีปริมาณสูงสุดใกล้เคียงกัน คือ 283.75 และ 284.77 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่เวลา 54 ชั่วโมง เช่นเดียวกัน (รูปที่ 19 และ 20) การใช้น้ำตาลใกล้เคียงกัน แต่การเติบโต เมื่อให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที พบน้ำหนักแห้งของสายใยสูงกว่า เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิค พบว่าอัตราการให้อากาศ 1.75 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที ให้ผลผลิตกรดสูงสุด (รูปที่ 21) แต่เนื่องจากการให้อากาศอัตรานี้ เป็นความสามารถสูงสุดของถังหมักเครื่องนี้ และจะสูญเสียพลังงานในการทำงานมากกว่าอัตราการให้อากาศที่ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที แต่ผลผลิตไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน จึงเลือกใช้อัตราการให้อากาศที่ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที ในการทดลองต่อไป

ผลของอัตราการกวน

เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แป้งไฮโดรไลเสส ที่มีน้ำตาลกลูโคสข้น 30 % เป็นแหล่งคาร์บอน แล้วศึกษาผลของอัตราการกวน โดยแปรผันอัตราการกวนต่าง ๆ กัน 3 อัตรา

คือ 500 600 และ 700 รอบต่อนาที กำหนดให้อัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที พบว่า ที่อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที ให้ผลผลิตสูงสุด 280.34 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 54 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ น้ำหนักแห้งของสายใยเท่ากับ 9 กรัมต่อลิตร น้ำตาลถูกใช้หมดในเวลา 54 ชั่วโมง (รูปที่ 22) ส่วนที่อัตราการกวน 600 และ 700 รอบต่อนาที ให้ผลผลิตกรด 281.19 และ 283.74 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 42 ชั่วโมง (รูปที่ 23 และ 24) น้ำตาลจะถูกนำไปใช้อย่างรวดเร็ว และหมดลงเมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 36 ชั่วโมง น้ำหนักแห้งของสายใยสูงสุดเท่ากับ 7.2 และ 7.3 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า เมื่ออัตราการกวนเพิ่มสูงขึ้นจาก 500 รอบต่อนาทีเป็น 600 หรือ 700 รอบต่อนาที ปริมาณกรดกลูโคนิคที่ผลิตได้ใกล้เคียงกัน แต่สามารถลดระยะเวลาในการผลิตลงถึง 12 ชั่วโมง (รูปที่ 25) เมื่อพิจารณาถึงผลผลิตกรด และ ระยะเวลาที่ใช้ ตลอดจนการประหยัดพลังงาน ในการควบคุมอัตราการกวน จึงเลือกใช้อัตราการกวนที่ 600 รอบต่อนาที ในการผลิตกรดกลูโคนิคในถังหมักขนาด 5 ลิตรต่อไป

ผลของสารกำจัดฟอง

เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แป้งไฮโดรไลเสส ที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % เป็นแหล่งคาร์บอน แล้วแปรผันสารกำจัดฟอง 3 ชนิด คือ อะดีคานอล น้ำมันถั่วเหลือง 100 % และ น้ำมันหมู เพื่อควบคุมฟองที่เกิดขึ้นในถังหมัก โดยกำหนดให้อัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที และอัตราการกวน 600 รอบต่อนาที พบว่า สารกำจัดฟองทั้ง 3 ชนิด สามารถควบคุมฟองได้ดี แต่ให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคต่างกัน กล่าวคือ เมื่อใช้อะดีคานอล ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 282 กรัมต่อลิตร คือ 94 % (คิดจากปริมาณกลูโคสตั้งต้น) ที่เวลา 42 ชั่วโมง การใช้น้ำมันถั่วเหลือง 100 % พบว่า ให้ผลผลิตกรดต่ำลง คือผลิตกรดสูงสุด 255.37 กรัมต่อลิตรหรือเท่ากับ 85.12 % (คิดจากปริมาณกลูโคสตั้งต้น) ที่เวลา 42 ชั่วโมง การใช้น้ำมันหมูเป็นสารกำจัดฟอง ให้ผลผลิตกรดสูงสุดเพียง 243.37 กรัมต่อลิตร หรือ 81.12 % (คิดจากปริมาณกลูโคสตั้งต้น) ที่เวลา 42 ชั่วโมง ดังแสดงในรูปที่ 26 27 และ 28 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาถึงการใช้น้ำตาล พบว่า เมื่อใช้น้ำมันถั่วเหลือง 100 % มีการใช้น้ำตาลช้ากว่าเมื่อใช้อะดีคานอลเป็นสารกำจัดฟอง โดยเมื่อใช้อะดีคานอล น้ำตาลถูกใช้หมดในชั่วโมงที่ 42 ของการ

เลี้ยงเชื้อ น้ำมันถั่วเหลือง 100 % น้ำตาลถูกใช้หมดในชั่วโมงที่ 48 ของการเลี้ยงเชื้อ ส่วนน้ำมันหมูในชั่วโมงที่ 48 ของการเลี้ยงเชื้อ ยังใช้น้ำตาลไม่หมด คือตรวจพบปริมาณน้ำตาลที่เหลือ 8.2 กรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาการเติบโตโดยวัดจากน้ำหนักแห้งของสายใย พบว่า เมื่อใช้น้ำมันถั่วเหลือง และ น้ำมันหมูมีค่าต่ำ ซึ่งแสดงว่าสารกำจัดฟองทั้งสองชนิดนี้ไม่เหมาะสมต่อการผลิตกรดและการเติบโตเท่าอะดีคานอล เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกรดจากการใช้สารกำจัดฟองทั้งสามชนิด จะเห็นได้ว่า อะดีคานอล ให้ผลผลิตกรดสูงสุด(รูปที่ 29) จึงเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นสารกำจัดฟองในการทดลองต่อไป เนื่องจากสามารถควบคุมฟองได้ดีและไม่มีผลรบกวนการผลิตกรดกลูโคนิค ทำให้ได้ผลผลิตสูง

<u>ผลการใช้น้ำประปาแทนน้ำปลอดประจุในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ</u>

<u>โดยไม่เติมธาตุใด ๆ</u>

เมื่อทดลองเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 เพื่อการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต โดยใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสให้เท่ากับ 30 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอน มีแอมโมเนียมซัลเฟต 0.4 % เป็นแหล่งไนโตรเจน ใช้น้ำประปาแทนน้ำปลอดประจุ ไม่มีการเติมโปตัสเซียมในรูป KH_2PO_4 แมกนีเซียมในรูป $MgSO_4.7H_2O$ แมงกานีสในรูป $MnSO_4.4H_2O$ และเหล็กในรูป $FeSO_4.7H_2O$ กำหนดให้อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที ควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 5.5-6.5 ตลอดการทดลอง อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ใช้อะดีคานอลเป็นสารกำจัดฟอง ผลการทดลอง พบว่า ได้ผลผลิตกรด 280.4 กรัมต่อลิตร หรือเท่ากับ 93.46 % (น้ำหนักต่อน้ำหนักกลูโคสตั้งต้น) ในชั่วโมงที่ 42 ของการเลี้ยงเชื้อ ดังแสดงในรูปที่ 30 ปริมาณน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อถูกใช้หมดในเวลา 36 ชั่วโมง การเจริญเติบโตมีความใกล้เคียงกับการเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากน้ำปลอดประจุ และมีการเติมธาตุต่าง ๆ ครบ (ภาคผนวก ก.) ซึ่งการใช้น้ำปลอดประจุเติมเร่ธาตุครบสูตรในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อให้ผลผลิตกรดสูงสุด 281 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 42 เช่นกัน (รูปที่ 31) จะเห็นได้ว่า สามารถใช้น้ำประปาแทนน้ำปลอดประจุ ในการผลิตกรดกลูโคนิคได้โดยไม่เติมธาตุใด ๆ เพราะให้ผลผลิตสูงใกล้เคียงกัน (รูปที่ 32)

ผลการเปรียบเทียบปริมาณการผลิตกรดกลูโคนิค ในระดับขวดเขย่า กับถังหมักขนาด 5 ลิตร

เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 เพื่อผลิตกรดกลูโคนิค ในรูปโซเดียมกลูโคเนต ระดับขวดเขย่า ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอน ควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองให้อยู่ในช่วง 5.5-6.5 เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบโรตารี อัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 234.64 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 8 วัน น้ำตาลถูกใช้หมดในวันที่ 8 ของการเลี้ยงเชื้อ

ส่วนการเลี้ยงเชื้อในถังหมักขนาด 5 ลิตร ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลเข้มข้น 30% เป็นแหล่งคาร์บอนเช่นเดียวกัน อัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที ควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ตลอดการทดลองให้อยู่ในช่วง 5.5-6.5 อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ใช้อะดีคานอลเป็นสารกำจัดฟอง พบว่า ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 281.19 กรัมต่อลิตร ในเวลา 42 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลถูกใช้หมดเมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 36 ชั่วโมง

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการผลิตกรดกลูโคนิค ในสภาวะที่เหมาะสมระดับขวดเขย่ากับถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่า ผลผลิตกรดสูงสุดในถังหมักขนาด 5 ลิตรมีปริมาณมากกว่าในระดับขวดเขย่าถึง 46.55 กรัมต่อลิตร และเวลาที่ใช้ในการผลิตลดลง 150 ชั่วโมง หรือเท่ากับ 6 วัน 6 ชั่วโมง (รูปที่ 33) ส่วนการใช้น้ำตาลของเชื้อในถังหมัก ปริมาณน้ำตาลลดลงอย่างรวดเร็วและหมดเร็วกว่าในระดับขวดเขย่า 152 ชั่วโมง

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมบางประการ ต่อการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต ของ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 โดยการใช้สายใยซ้ำ ในระดับขวดเขย่า

ผลการใช้สายใยซ้ำ 2 ชนิด ต่อการผลิตกรดกลูโคนิค

เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และสภาวะที่เหมาะสมจากผลการทดลองที่ได้ศึกษามาแล้ว ในระดับขวดเขย่า จนได้ผลผลิตกรดสูงสุดแล้ว นำสายใยมาใช้เพื่อผลิตกรดซ้ำ โดยใช้สายใยซ้ำ 2 ชนิด คือ ชนิดแรก นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสายใยเจริญอยู่ 15 มิลลิลิตร มาใช้ผลิตกรดซ้ำในอาหารเลี้ยงเชื้อ 50 มิลลิลิตร และ ชนิดที่สองกรองใช้เฉพาะสายใยจากอาหารเลี้ยงเชื้อ 15 มิลลิลิตร มาใช้ผลิตกรดซ้ำในการทดลองต่อไป ผลการทดลอง พบว่า สายใยซ้ำชนิดแรกให้ปริมาณกรดสูงสุด 223.80 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง โดยผลผลิตกรดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ตั้งแต่วันแรกของการเพาะเลี้ยง ส่วนการใช้น้ำตาลก็รวดเร็วเช่นกัน น้ำตาลถูกใช้หมดในวันที่ 6 ของการเลี้ยงเชื้อ ส่วนการเติบโตมีพอควร กล่าวคือ เมื่อเริ่มต้นเลี้ยงเชื้อมีน้ำหนักแห้งของสายใย 5.30 กรัมต่อลิตร และน้ำหนักแห้งของสายใยค่อย ๆ เพิ่มขึ้นเล็กน้อย จนถึงวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยงมีการเติบโตสูงสุด น้ำหนักแห้งของสายใย 16.50 กรัมต่อลิตร [รูปที่ 34 (2)]

ส่วนการใช้สายใยซ้ำโดยกรองใช้เฉพาะสายใย ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 227.10 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง โดยที่ผลผลิตกรดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเช่นเดียวกับการใช้สายใยซ้ำชนิดแรก น้ำตาลถูกใช้ไปอย่างรวดเร็ว และ หมดในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกัน การเติบโตมีพอควรเช่นเดียวกับการใช้สายใยซ้ำชนิดแรก [รูปที่ 35 (2)]

เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิค จากการใช้สายใยซ้ำ 2 ชนิด พบว่าต่างกันเล็กน้อย โดยที่การกรองใช้เฉพาะสายใยให้ผลผลิตสูงกว่า (รูปที่ 36) จึงเลือกใช้วิธีการกรองเอาเฉพาะสายใย จากอาหารเลี้ยงเชื้อ มาใช้ในการทดลองต่อไป

ผลการหาปริมาณสายใยที่เหมาะสม มาใช้ซ้ำเพื่อผลิตกรดกลูโคนิค

เมื่อแปรผันปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสายใยเจริญอยู่เป็น 10 15 และ 20 มิลลิลิตร แล้วกรองเอาเฉพาะสายใยมาใช้ผลิตกรดกลูโคนิคซ้ำ โดยเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ 50 มิลลิลิตร ที่มีองค์ประกอบ และสภาวะเหมือนครั้งแรก ผลการทดลอง พบว่าสายใยจากอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 15 มิลลิลิตร ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 229.05 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 6 วัน (รูปที่ 38) ส่วนสายใยจากอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 222.10 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการเลี้ยงเชื้อ (รูปที่ 37) เมื่อใช้สายใยจากอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ตรวจพบผลผลิตกรดต่ำสุด คือ 192.90 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเลี้ยงเชื้อ (รูปที่ 39) ซึ่งจะเห็นได้ว่า สายใยในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 15 มิลลิลิตรต่ออาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ 50 มิลลิลิตร (30 % ปริมาตร/ปริมาตร) เป็นขนาดเหมาะสมที่สุด เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกรดและระยะเวลาในการผลิต กับปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสายใยเจริญอยู่อีก 2 ขนาด นอกจากนี้ เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกรดสูงสุดจากการนำสายใยจากอาหารเลี้ยงเชื้อ 15 มิลลิลิตร มาผลิตกรดซ้ำกับการเพาะเลี้ยงครั้งแรก ซึ่งให้ผลผลิต 232 กรัมต่อลิตร พบว่าใกล้เคียงกัน แต่การใช้สายใยซ้ำสามารถลดระยะเวลาในการผลิตลง โดยให้ผลผลิตกรดสูงสุดเร็วขึ้น 2 วัน

ผลการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต โดยใช้สายใยซ้ำ เพาะเลี้ยงเชื้อ 4 ครั้งติดต่อกัน ในระดับขวดเขย่า

เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และสภาวะที่เหมาะสม จนได้ผลผลิตกรดสูงสุด คือวันที่ 8 ของการเลี้ยงเชื้อ แล้วกรองแยกสายใยจากอาหารเลี้ยงเชื้อ 15 มิลลิลิตร มาเลี้ยงเชื้อซ้ำอีก 3 ครั้ง ในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผลการทดลอง พบว่า ผลผลิตกรดสูงสุดที่ผลิตได้แต่ละครั้งมีค่าใกล้เคียงกัน และใกล้เคียงกับการเลี้ยงเชื้อครั้งแรก ซึ่งให้ผลผลิตกรดสูงสุด 232.6 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 8 ของการเลี้ยงเชื้อ น้ำตาลถูกใช้หมดในวันเดียวกัน น้ำหนักแห้งของสายใยสูงสุดเท่ากับ 19.5 กรัมต่อลิตร [รูปที่ 40 (1)] เมื่อนำสายใยมาใช้ซ้ำครั้งที่ 1 ผลผลิตกรดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่เริ่มต้นเลี้ยงเชื้อ และสูงสุดเมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 6 วัน ให้ผลผลิตกรด 228.12 กรัมต่อลิตร น้ำตาลถูกใช้ไปอย่างรวดเร็ว

และหมดในวันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด การเติบโตมีไม่มากนัก เมื่อเริ่มต้นเพาะเลี้ยง น้ำหนักแห้งของสายใยเท่ากับ 5.3 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้น เจริญเพิ่มขึ้นตามเวลาที่เลี้ยงเชื้อ และมีน้ำหนักแห้งสูงสุด 20.4 กรัมต่อลิตร [รูปที่ 40 (2)] การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 2 และ 3 ตรวจพบผลผลิตกรดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเช่นกัน และ ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 226.2 และ 227.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับในวันที่ 6 ของการเลี้ยงเชื้อ การใช้น้ำตาลมีลักษณะการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกับการใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 1 การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 2 น้ำหนักแห้งของสายใยเริ่มต้นเท่ากับ 5.38 กรัมต่อลิตร และมีค่าสูงสุด 19.3 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง [รูปที่ 40 (3)] การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 3 มีน้ำหนักแห้งของสายใยเริ่มต้น 5.42 กรัมต่อลิตร และมีค่าสูงสุดเท่ากับ 20 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 เช่นเดียวกัน [รูปที่ 40 (4)] เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกรดจากการเลี้ยงเชื้อ 4 ครั้งติดต่อกัน พบว่า การใช้สายใยซ้ำให้ผลผลิตกรดรวดเร็วกว่าการเลี้ยงเชื้อครั้งแรกถึง 2 วัน และการใช้เชื้อซ้ำ 4 ครั้ง มิได้ทำให้ผลผลิตกรดลดลงแต่อย่างใด (รูปที่ 41)

เมื่อพิจารณาถึงการใช้น้ำตาลทั้ง 4 ครั้ง พบว่า การเลี้ยงเชื้อครั้งแรก น้ำตาลถูกใช้หมดลงในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งช้ากว่าเมื่อใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 1 2 และ 3 คือ พบน้ำตาลถูกใช้หมดในวันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด คือวันที่ 6 ของการเลี้ยงเชื้อ (รูปที่ 42)

เมื่อเปรียบเทียบการเติบโต โดยเทียบจากน้ำหนักแห้งของสายใยของทั้ง 4 ครั้ง พบว่าน้ำหนักแห้งสูงสุดของการเพาะเลี้ยงแต่ละครั้ง ไม่แตกต่างกันมากนัก แต่การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งของสายใยเมื่อเลี้ยงเชื้อซ้ำ มีรูปแบบที่แตกต่างจากการเลี้ยงเชื้อครั้งแรก กล่าวคือการเลี้ยงเชื้อครั้งแรก มีการเจริญช้าในช่วง 18 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้น เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่การเลี้ยงเชื้อซ้ำครั้งที่ 1 2 และ 3 เชื้อค่อย ๆ เจริญจนน้ำหนักคงที่ (รูปที่ 43)

<u>ผลการใช้สายใยของ *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G153 ซ้ำ เพื่อผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต โดยเพาะเลี้ยง 4 ครั้ง ติดต่อกัน ในถังหมักขนาด 5 ลิตร</u>

เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 เพื่อผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่เหมาะสมจากที่ได้ศึกษามาแล้ว คือ อัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ /นาที อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที ควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองให้อยู่ระหว่าง 5.5-6.5 อุณหภูมิ 31-33 องศาเซลเซียส ใช้อะดีคานอล

เป็นสารกำจัดฟอง จนได้ผลผลิตกรดสูงสุดในชั่วโมงที่ 42 แล้ว นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสายใยเจริญอยู่ปริมาตร 600 มิลลิลิตร มาเพาะเลี้ยงซ้ำอีก 3 ครั้งติดต่อกัน โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีองค์ประกอบและสภาวะเหมือนครั้งแรก ผลการทดลอง พบว่า ผลผลิตกรดกลูโคนิคของการเพาะเลี้ยง 4 ครั้งใกล้เคียงกัน การเลี้ยงเชื้อครั้งแรกให้ผลผลิตกรดสูงสุด 282.32 กรัมต่อลิตร ในเวลา 42 ชั่วโมง น้ำตาลหมดเมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 36 ชั่วโมง น้ำหนักแห้งของสายใยเท่ากับ 7.3 กรัมต่อลิตรที่ 42 ชั่วโมง [รูปที่ 44 (1)] การเลี้ยงเชื้อซ้ำครั้งที่ 1 ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 280.32 กรัมต่อลิตร ในเวลา 30 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่เริ่มต้นเลี้ยงเชื้อ และถูกใช้หมดในเวลาที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด การเติบโตมีน้ำหนักแห้งของสายใยเริ่มต้นเท่ากับ 1.59 กรัมต่อลิตร การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักแห้งของสายใยเพิ่มขึ้นช้ากว่าในการเลี้ยงเชื้อซ้ำครั้งแรก น้ำหนักแห้งของสายใยสูงสุด 7.21 กรัมต่อลิตร [รูปที่ 44 (2)] การเลี้ยงเชื้อซ้ำครั้งที่ 2 ให้ผลผลิตกรดสูงสุดเท่ากับ 279.10 กรัมต่อลิตร ในเวลา 34 ชั่วโมง น้ำตาลถูกใช้หมดในเวลา 30 ชั่วโมง และ การเลี้ยงเชื้อซ้ำครั้งที่ 3 ให้ผลผลิตกรด 280.91 กรัมต่อลิตร ในเวลา 32 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง น้ำตาลถูกใช้หมดเมื่อเลี้ยงเชื้อไป 30 ชั่วโมง การเติบโตของการเลี้ยงเชื้อซ้ำ ครั้งที่ 2 และ 3 มีลักษณะใกล้เคียงกับการเลี้ยงเชื้อซ้ำครั้งที่ 1 โดยมีน้ำหนักแห้งของสายใยเริ่มต้น 1.57 และ 1.6 กรัมต่อลิตร มีน้ำหนักแห้งสูงสุด 7.2 และ 7.3 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ [รูปที่ 44 (3) และ 44 (4)]

จะเห็นได้ว่าเมื่อนำสายใยของเชื้อ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 มาใช้ผลิตกรดกลูโคนิคซ้ำ ให้ผลผลิตกรดสูงเช่นเดียวกับการเลี้ยงเชื้อครั้งแรกซึ่งไม่ได้ใช้เชื้อซ้ำ และยังสามารถลดระยะเวลาในการผลิตลง ประมาณ 10 ชั่วโมงต่อการเลี้ยงเชื้อซ้ำแต่ละครั้ง เมื่อเลี้ยงเชื้อซ้ำ 4 ครั้ง พบว่า ให้ผลผลิตกรดรวม 1122.65 กรัมต่อลิตร ใช้เวลาในการผลิต 138 ชั่วโมง (รูปที่ 45)

เมื่อพิจารณาถึงการใช้น้ำตาล พบว่า ในการเลี้ยงเชื้อซ้ำครั้งที่ 1 2 และ 3 น้ำตาลถูกใช้หมดไปเร็วกว่าการเลี้ยงเชื้อครั้งแรก 12 ชั่วโมง (รูปที่ 46)

เมื่อเปรียบเทียบการเติบโต พบว่าการเลี้ยงเชื้อซ้ำ ใช้สายใยที่เติบโตแล้วมาเพาะเลี้ยงตั้งแต่เริ่มต้นเลี้ยงเชื้อซ้ำ หลังจากนั้น การเจริญค่อย ๆ เพิ่มมากขึ้นตามเวลาที่เลี้ยงเชื้อ แตกต่างจากการเลี้ยงเชื้อครั้งแรกที่มีการเจริญเติบโตช้าในช่วงแรก ต่อมา จึงเจริญอย่างรวดเร็ว แต่น้ำหนักแห้งของสายใยสูงสุดของทั้ง 4 ครั้งใกล้เคียงกัน (รูปที่ 47)

ผลการเปรียบเทียบปริมาณการผลิตกรดกลูโคนิค โดยใช้สายใยซ้ำ เพาะเลี้ยงเชื้อ 4 ครั้งติดต่อกัน ในระดับขวดเขย่า กับ ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร

ผลการเปรียบเทียบปริมาณการผลิตกรดกลูโคนิค ในระดับขวดเขย่า กับ ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้สายใยซ้ำ ซึ่งแสดงไว้ในรูปที่ 48 พบว่า เมื่อใช้สายใย *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ซ้ำ โดยเพาะเลี้ยง 4 ครั้ง ติดต่อกันในสภาวะที่เหมาะสม ทั้งในระดับขวดเขย่า และในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่า ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงสุดในการเลี้ยงเชื้อครั้งแรกระดับขวดเขย่า เท่ากับ 232.60 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนในถังหมักให้ผลผลิตกรดเท่ากับ 282.32 กรัมต่อลิตร ในเวลา 42 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง โดยผลผลิตกรดสูงกว่าระดับขวดเขย่า 49.72 กรัมต่อลิตร และใช้เวลาในการผลิตน้อยกว่า 150 ชั่วโมง (6 วัน 6 ชั่วโมง) เมื่อใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 1 ผลผลิตกรดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยระดับขวดเขย่า ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 228.12 กรัมต่อลิตร ในเวลา 6 วัน ในถังหมักให้ผลผลิตกรดสูงสุด 280.32 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 30 ชั่วโมง ผลผลิตกรดสูงกว่าระดับขวดเขย่า 52.20 กรัมต่อลิตร และใช้เวลาในการผลิตน้อยกว่า 114 ชั่วโมง (4 วัน 9 ชั่วโมง) เมื่อเปรียบเทียบการเลี้ยงเชื้อครั้งแรก กับการใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 1 พบว่า ให้ผลผลิตกรดใกล้เคียงกัน แต่ในระดับขวดเขย่าใช้เวลาในการผลิตกรดน้อยกว่าการเลี้ยงเชื้อครั้งแรก 2 วัน ส่วนในถังหมักใช้เวลาน้อยกว่าการเลี้ยงเชื้อครั้งแรก 12 ชั่วโมง การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 2 ระดับขวดเขย่า ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 226.20 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกัน ระดับถังหมัก ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 279.10 กรัมต่อลิตรที่เวลา 34 ชั่วโมง ผลผลิตกรดสูงกว่าระดับขวดเขย่า 52.90 กรัมต่อลิตร ใช้เวลาในการผลิตน้อยกว่า 110 ชั่วโมง (4 วัน 14 ชั่วโมง) เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกรดและระยะเวลาที่ใช้กับการใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 1 พบว่า ใกล้เคียงกัน การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 3 ระดับขวดเขย่าให้ผลผลิตกรด 227.50 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกัน ในถังหมักให้ผลผลิตกรดสูงสุด 280.91 กรัมต่อลิตรในเวลา 32 ชั่วโมง ผลผลิตกรดสูงกว่าในระดับขวดเขย่า 53.41 กรัมต่อลิตร ระยะเวลาในการผลิตลดลง 112 ชั่วโมง (4 วัน 16 ชั่วโมง) เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกรด และเวลาที่ใช้ของการใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 3 กับการใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 1 และ 2 พบว่าใกล้เคียงกัน

เมื่อเลี้ยงเชื้อซ้ำ 4 ครั้งติดต่อกันในระดับขวดเขย่า ให้ผลผลิตกรดรวม 905.50 กรัมต่อลิตร โดยใช้เวลาในการผลิตรวม 26 วัน ส่วนในถังหมักขนาด 5 ลิตร ให้ผลผลิตกรดรวม 1122.65 กรัมต่อลิตร ใช้ระยะเวลาในการผลิต 138 ชั่วโมง (5 วัน 18 ชั่วโมง)

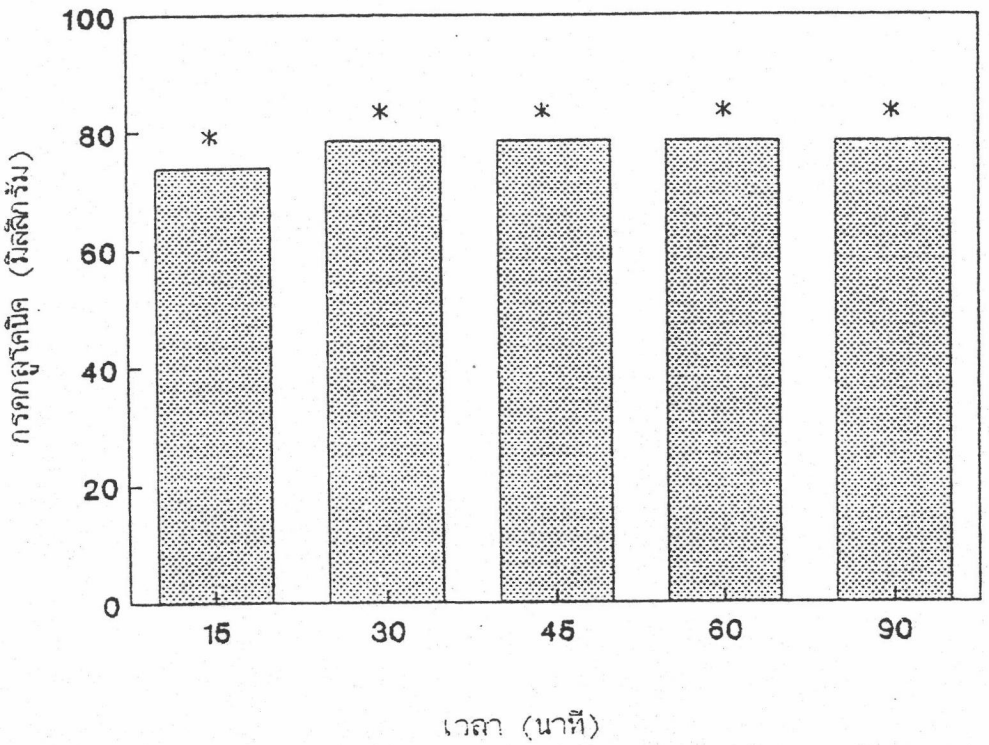
เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิค โดยเลี้ยงเชื้อ 4 ครั้ง ติดต่อกันที่ผลิตในระดับขวดเขย่ากับในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่า ผลผลิตกรดสูงสุดรวมกัน 4 ครั้งในถังหมักสูงกว่าในระดับขวดเขย่าถึง 217.15 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ ยังสามารถลดระยะเวลาในการผลิตลง 20 วัน

<u>ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสายใยที่เก็บไว้ที่เวลาต่าง ๆ กัน ก่อนนำมาใช้เพาะเลี้ยงซ้ำ</u>

เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 จนได้ผลผลิตกรดสูงสุดแล้ว นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสายใยเจริญอยู่ 15 มิลลิลิตร มากรองเก็บเฉพาะสายใยไว้ที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 1 3 5 และ 7 วัน แล้วจึงนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตกรดซ้ำ เมื่อวัดผลผลิตกรด พบว่า สายใยที่กรองแล้วเก็บไว้เป็นเวลา 1 วัน ให้ผลผลิตกรดไม่แตกต่างจากผลผลิตกรดจากสายใยที่กรองแล้วนำมาใช้ผลิตต่อทันที โดยให้ผลผลิตกรด 227.4 กรัมต่อลิตร น้ำตาลถูกใช้หมด มีน้ำหนักแห้งของสายใย เท่ากับ 20.4 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในรูปที่ 49 เก็บสายใยเป็นเวลา 3 วันให้ ผลผลิตกรดต่ำลงเล็กน้อย คือเท่ากับ 217.84 กรัมต่อลิตร น้ำตาลถูกใช้หมดเช่นกัน มีน้ำหนักแห้งของสายใย เท่ากับ 21 กรัมต่อลิตร ส่วนการเก็บสายใยไว้เป็นเวลา 5 และ 7 วัน พบว่า ผลผลิตกรดต่ำมาก คือให้ผลผลิตกรด 192.41 และ 172.8 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และยังมีปริมาณน้ำตาลเหลืออยู่ 4.2 และ10.8 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสายใยที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานประมาณ 3 วัน สามารถนำมาใช้ผลิตกรดซ้ำได้โดยยังคงประสิทธิภาพเกือบ 100 % แต่ถ้าเก็บไว้เป็นเวลานานกว่านี้ จะไม่เหมาะต่อการนำสายใยมาใช้ซ้ำ เนื่องจากเชื้อไม่สามารถกลับมามีประสิทธิภาพ ในการผลิตกรดกลูโคนิคได้ดังเดิม

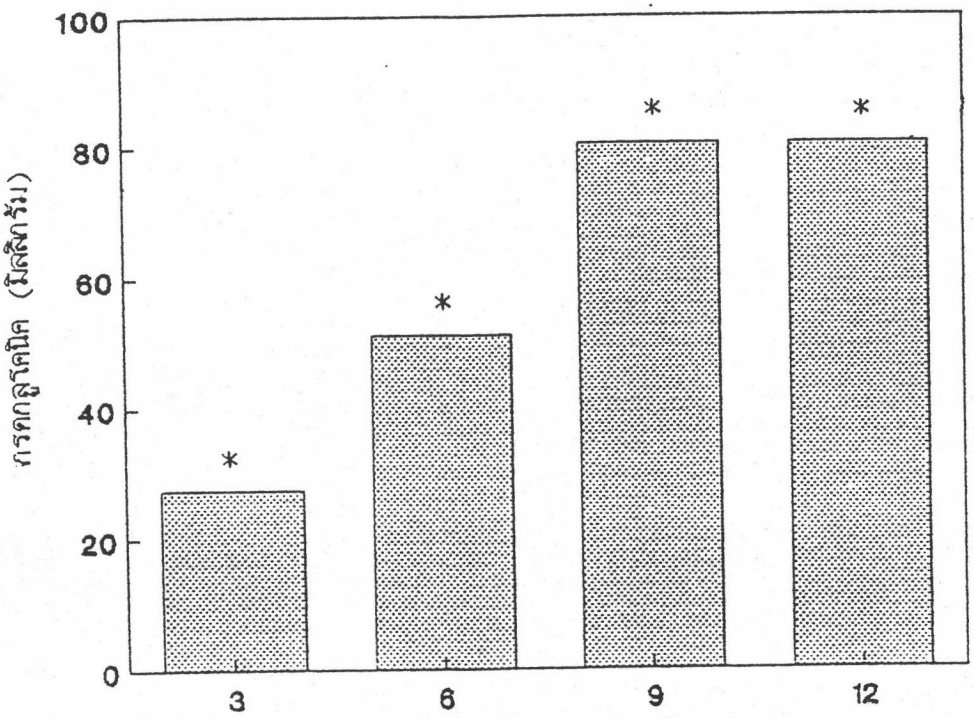
<u>ผลการวิเคราะห์หาชนิดของกรดที่สร้างขึ้นโดย *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 ด้วยเครื่อง HPLC</u>

เมื่อทำการวิเคราะห์หาชนิดของกรดอินทรีย์ที่สร้างโดย *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 โดยเทียบกับกรดกลูโคนิคมาตรฐาน พบว่า กรดดังกล่าวเป็นกรดกลูโคนิค เนื่องจากมีช่วงเวลาที่อยู่ในคอลัมน์เท่ากับกรดกลูโคนิคมาตรฐาน คือ 3.64 นาที ดังแสดงในรูปที่ 50



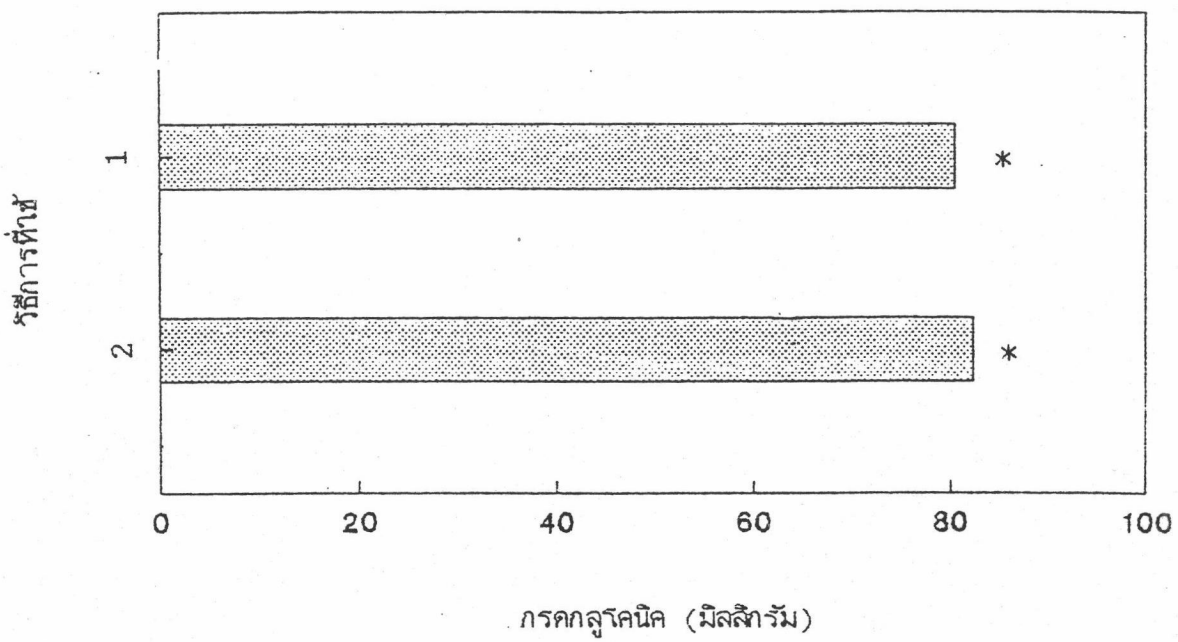
รูปที่ 5 ปริมาณกรดกลูโคนิคที่ตรวจได้ เมื่อใช้แอมเบอร์ไลท์ ไอ-อาร์ 120 พี 12 มิลลิอิคร ดูดซับโซเดียมไอออนออกจากโซเดียมกลูโคเนตมาตรฐาน 100 มิลลิกรัม โดยใช้เวลาในการดูดซับต่างๆกัน

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง



รูปที่ 6 ปริมาณกรดกลูโคนิคที่ตรวจได้ เมื่อแปรผันปริมาณแอมเบอร์ไลท์ ไอ-อาร์ 120 พี ต่าง ๆกัน ในการดูดซับโซเดียมไอออนออกจากโซเดียมกลูโคเนตมาตรฐาน 100 มิลลิกรัม ใช้เวลาในการดูดซับ 30 นาที

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

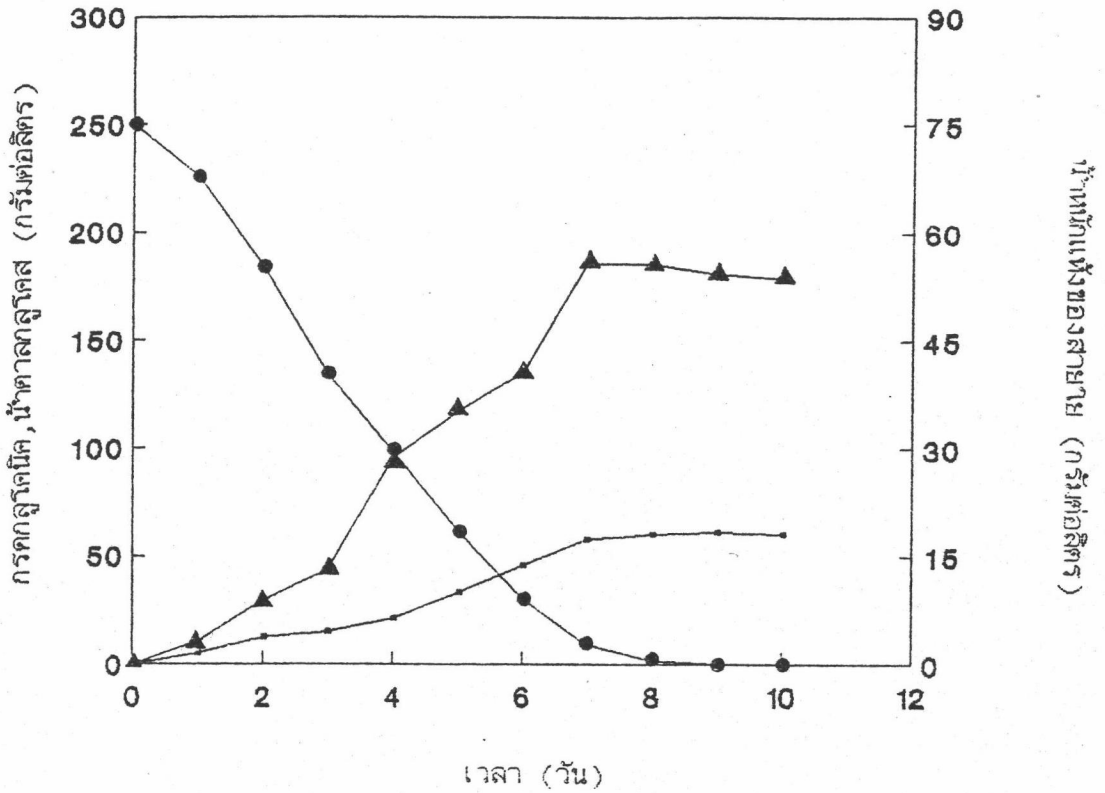


รูปที่ 7 ปริมาณกรดกลูโคนิคที่ตรวจได้ จากการใช้วิธีการที่แตกต่างกันในการดูดซับโซเดียมไอออนออกจากโซเดียมกลูโคเนตมาตรฐาน 100 มิลลิกรัม ใช้เวลาในการดูดซับ 30 นาที

1 หมายถึง วิธีการกวนโดยใช้อุปกรณ์ที่อาศัยแรงแม่เหล็ก

2 หมายถึง วิธีการใช้คอลัมน์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

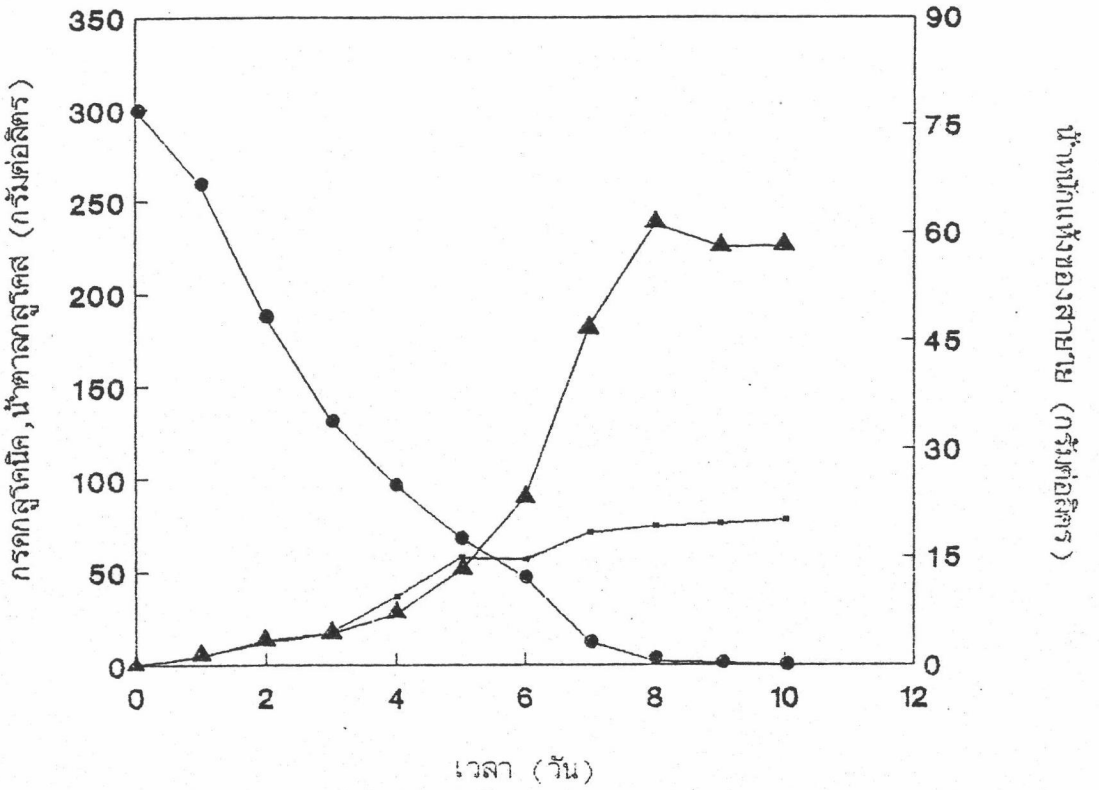


รูปที่ 8 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคสและการเติบโตของ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคส 25 % (น้ำหนักต่อปริมาตร)ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (250 กรัมต่อลิตร)เป็นแหล่งคาร์บอน ควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อให้อยู่ในช่วงระหว่าง 5.5-6.5 ตลอดการทดลอง

▲ หมายถึง กรดกลูโคนิค

● หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

—•— หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใย

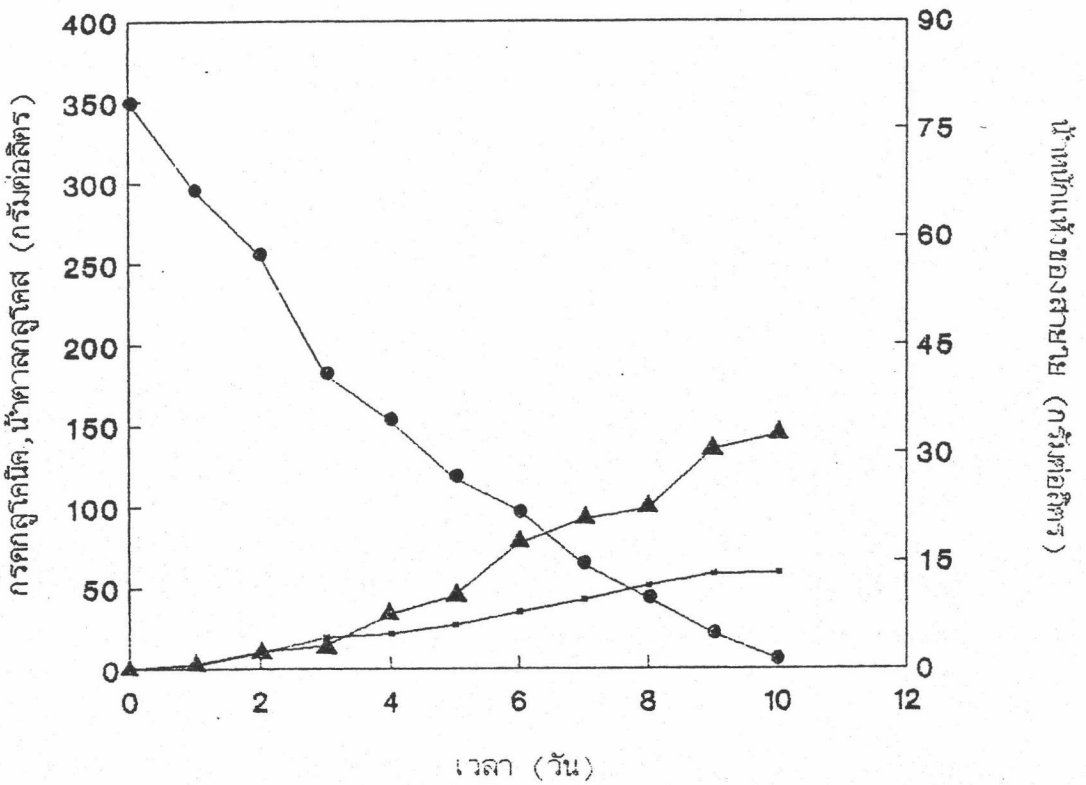


รูปที่ 9 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคสและการเติบโตของ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคส 30 % (น้ำหนักต่อปริมาตร)ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร)เป็นแหล่งคาร์บอน ควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อให้อยู่ในช่วงระหว่าง 5.5-6.5 ตลอดการทดลอง

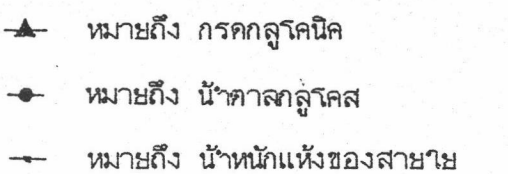
▲ หมายถึง กรดกลูโคนิค

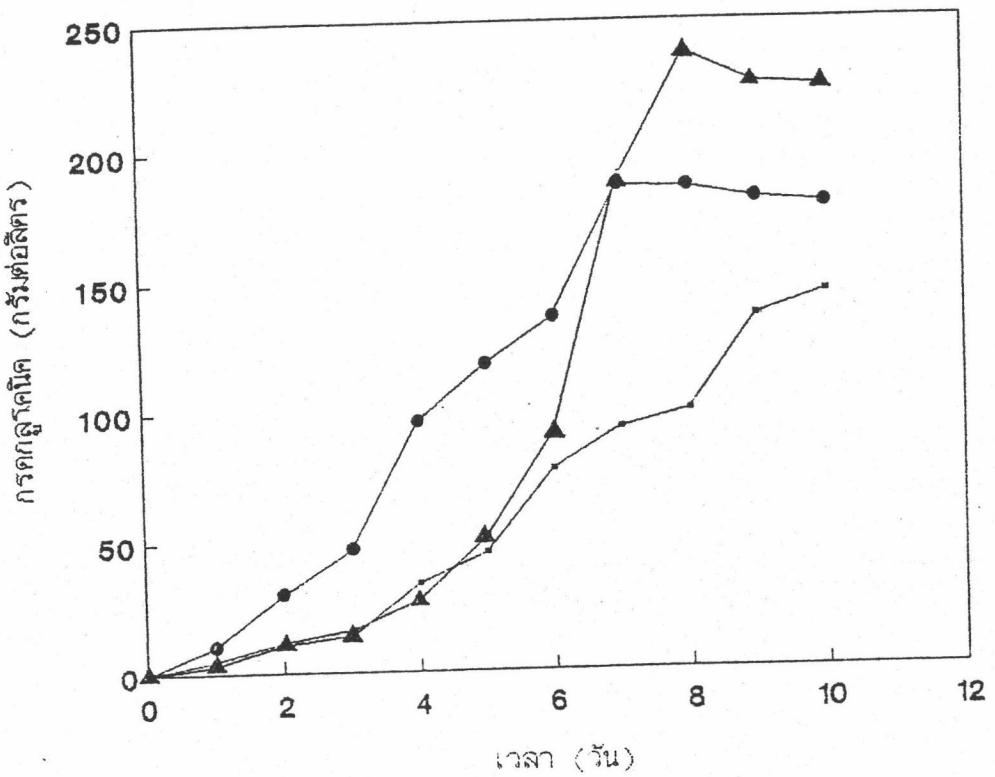
● หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

-•- หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใย



รูปที่ 10 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคสและการเติบโตของ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคส 35 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (350 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน ควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อให้อยู่ในช่วงระหว่าง 5.5-6.5 ตลอดการทดลอง



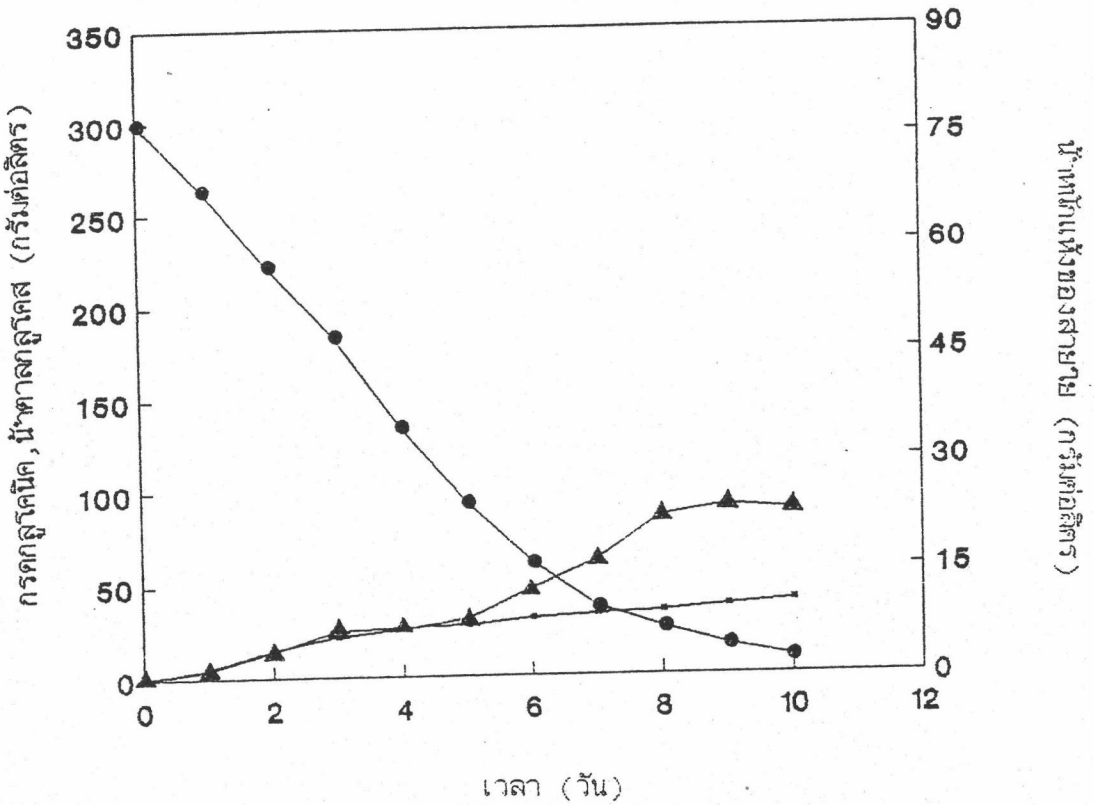


รูปที่ 11 เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิค เมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสแตกต่างกัน เป็นแหล่งคาร์บอน เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 วัน

—●— หมายถึง กลูโคสเข้มข้น 25 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) (250 กรัมต่อลิตร)

—▲— หมายถึง กลูโคสเข้มข้น 30 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) (300 กรัมต่อลิตร)

—•— หมายถึง กลูโคสเข้มข้น 35 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) (350 กรัมต่อลิตร)

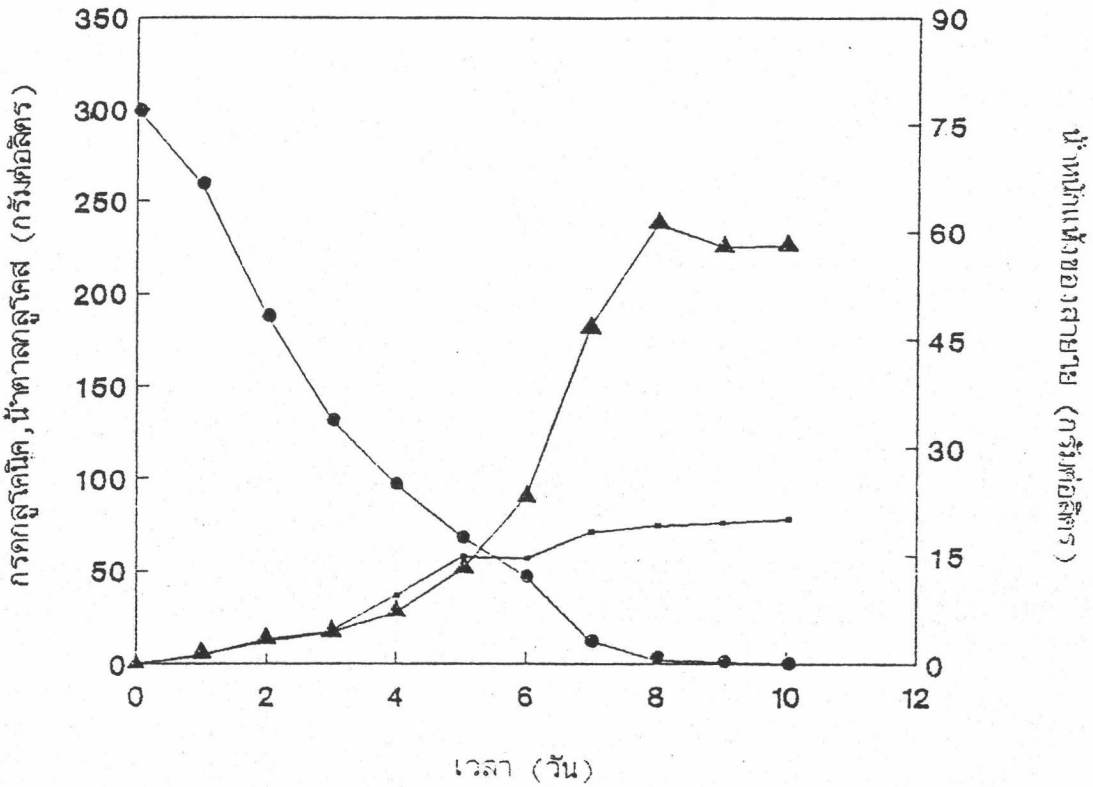


รูปที่ 12 ผลการควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่าง 4.5-5.5 ต่อการผลิตกรดกลูโคนิค เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 10 วัน

▲— หมายถึง กรดกลูโคนิค

●— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

—— หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใย

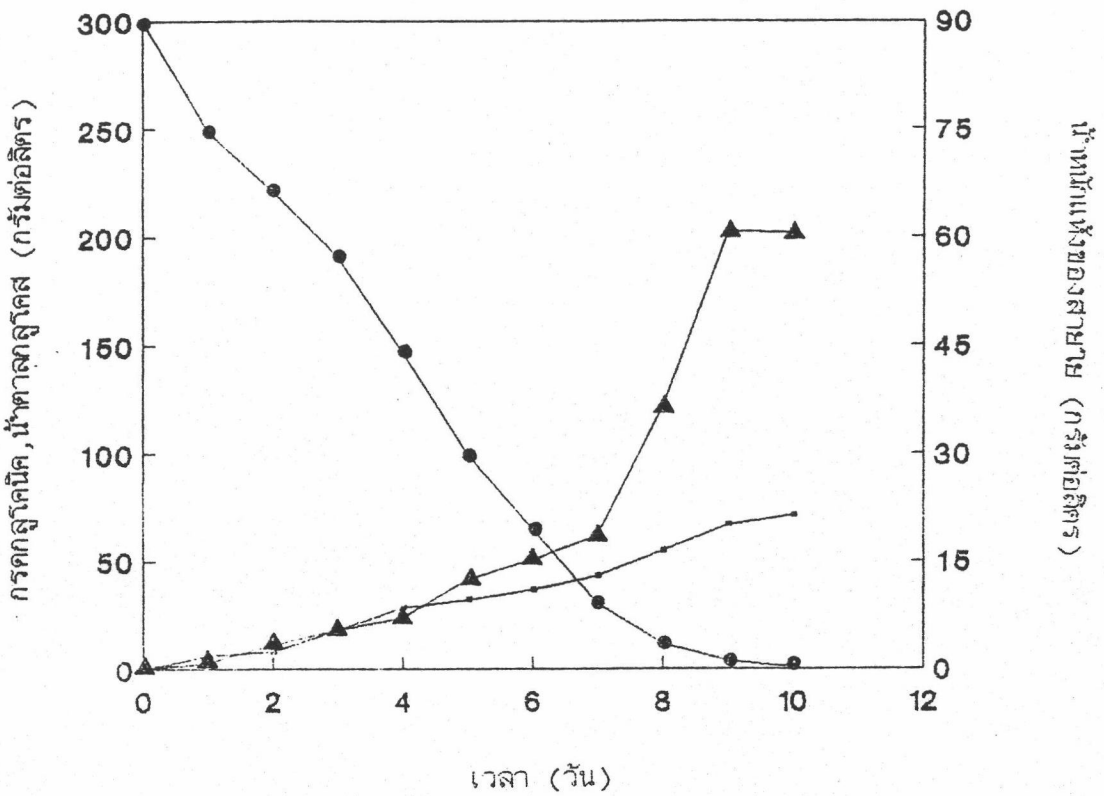


รูปที่ 13 ผลการควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่าง 5.5-6.5 ต่อการผลิตกรดกลูโคนิค เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 10 วัน

—▲— หมายถึง กรดกลูโคนิค

—●— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

—■— หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายยาง

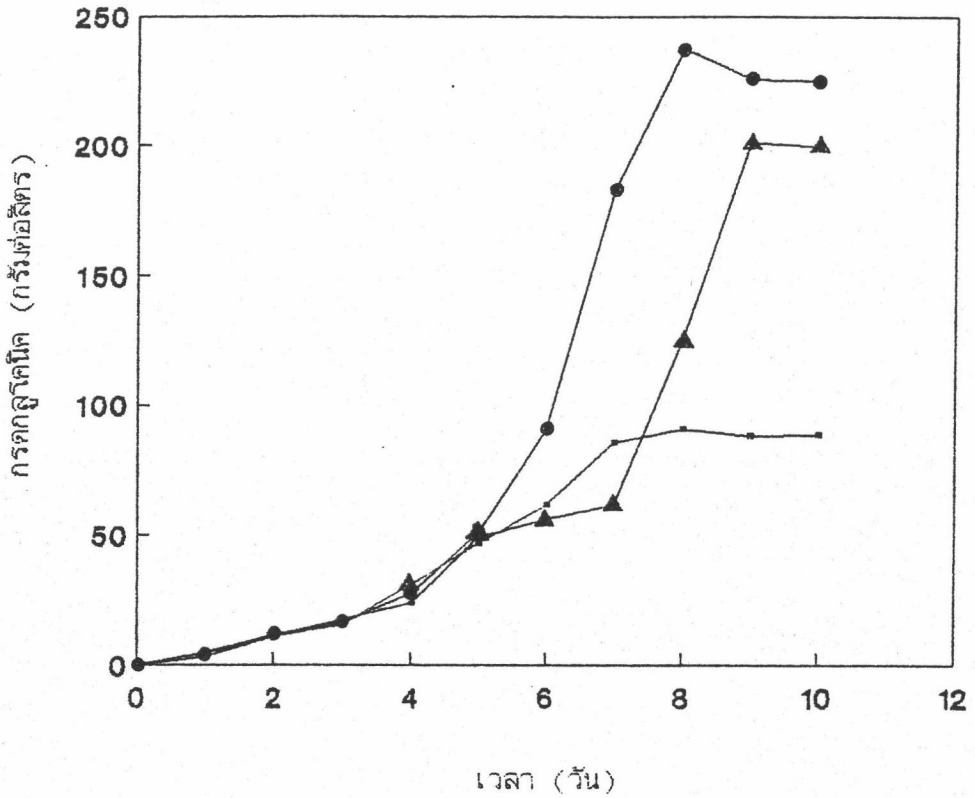


รูปที่ 14 ผลการควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่าง 6.5-7.5 ต่อการผลิตกรดกลูโคนิค เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 10 วัน

▲— หมายถึง กรดกลูโคนิค

●— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

—• หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใย

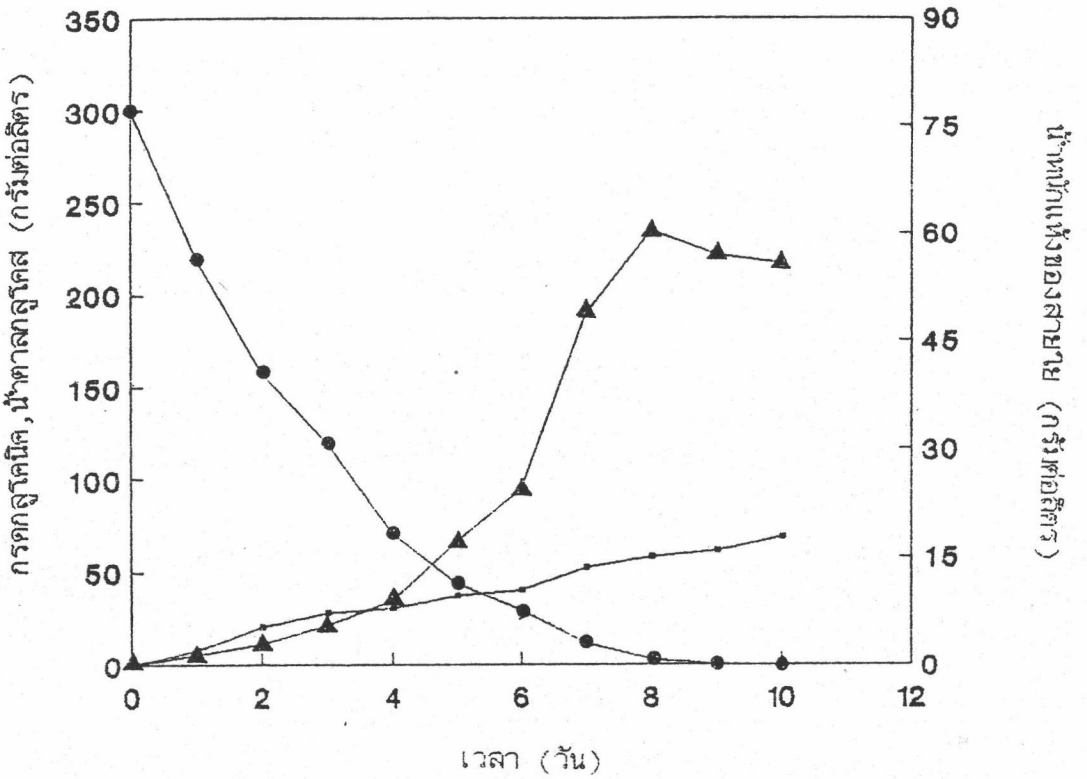


รูปที่ 15 เปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิค เมื่อแปรผันความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆกัน 3 ช่วง เลี้ยงเชื้อในขวดรูปชมพู่ ที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 10 วัน

—▪— หมายถึง ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าระหว่าง 4.5-5.5

—●— หมายถึง ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าระหว่าง 5.5-6.5

—▲— หมายถึง ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าระหว่าง 6.5-7.5

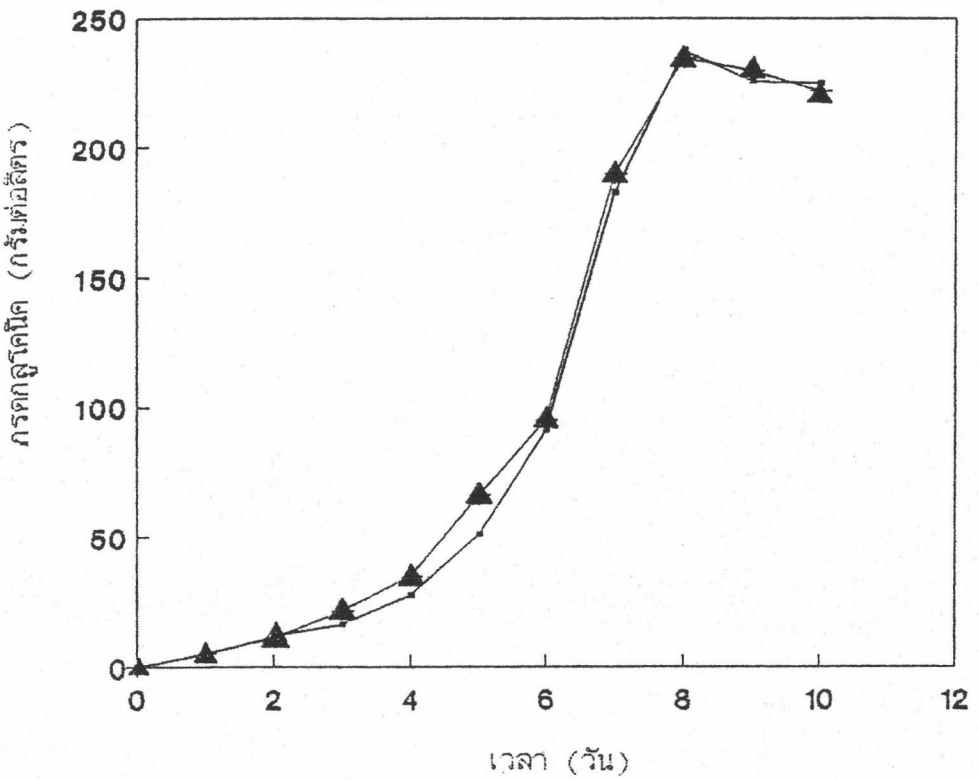


รูปที่ 16 ผลผลิตกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % (น้ำหนักต่อปริมาตร)ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร)เป็นแหล่งคาร์บอน เลี้ยงเชื้อในขวดรูปชมพู่ที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 10 วัน

▲— หมายถึง กรดกลูโคนิค

●— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

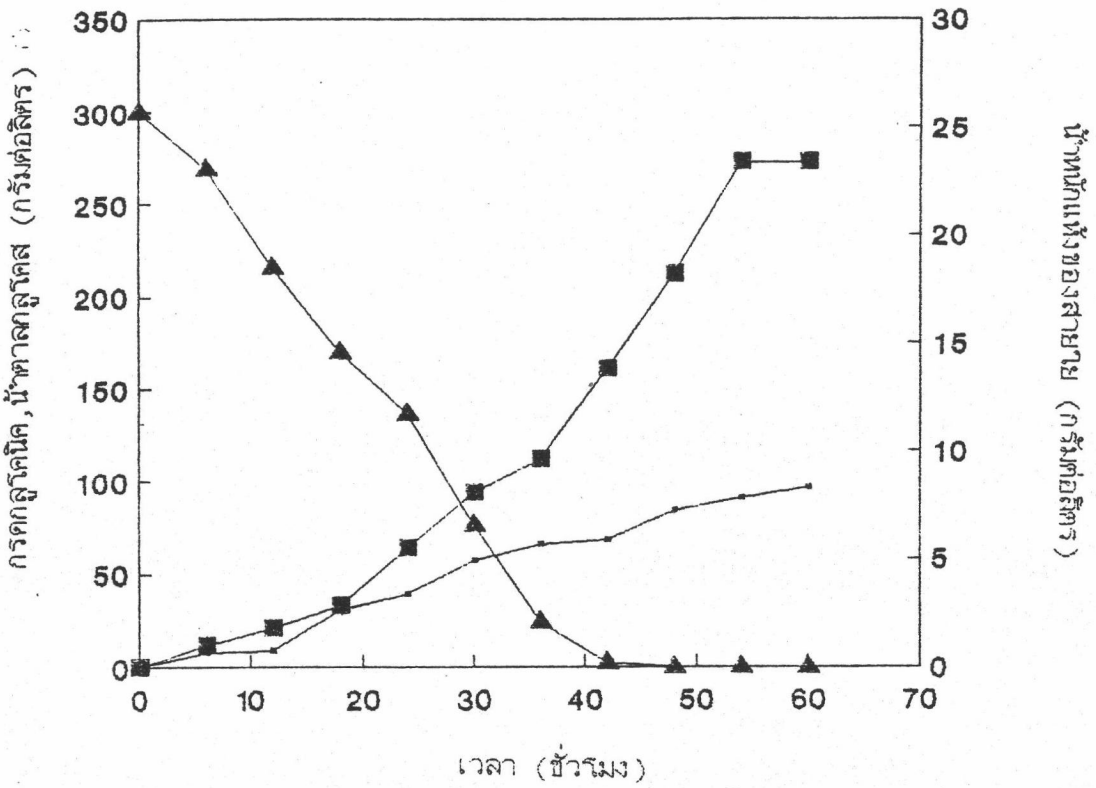
•— หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใย



รูปที่ 17 เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิค เมื่อใช้กลูโคสบริสุทธิ์ และแป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ความเป็นกรดด่างอยู่ระหว่าง 5.5-6.5 เป็นเวลานาน 10 วัน

—•— หมายถึง กลูโคสบริสุทธิ์

—▲— หมายถึง แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร)

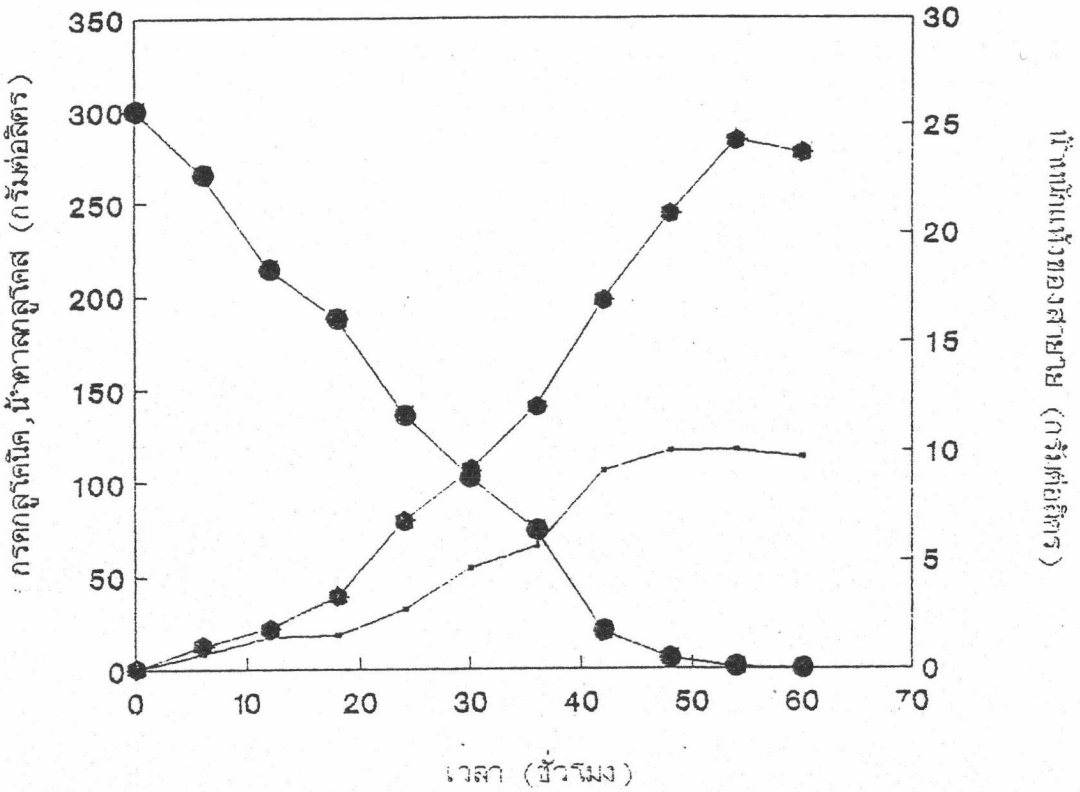


รูปที่ 18 ปริมาณการดกลูโคนิคที่ผลิตจาก *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศ เท่ากับ 1 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที

■ หมายถึง กรดกลูโคนิค

▲ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

● หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใย

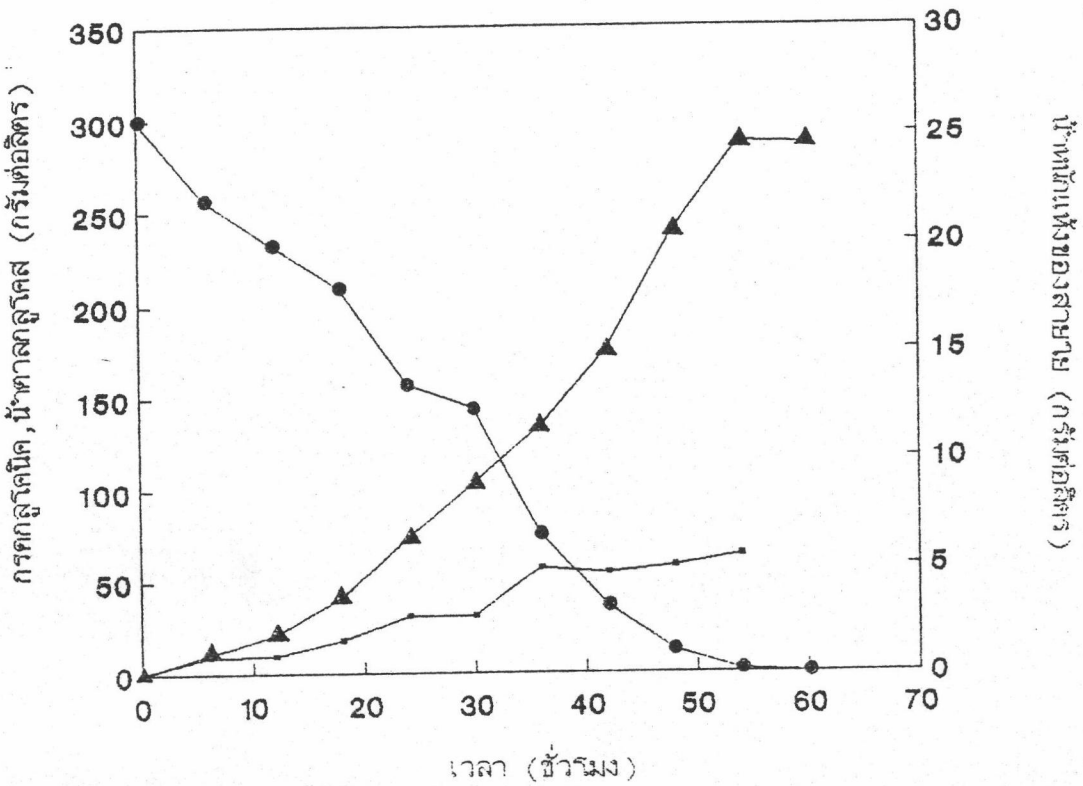


รูปที่ 19 ปริมาณกรดกลูโคนิคที่ผลิตจาก *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศ เท่ากับ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที

—●— หมายถึง กรดกลูโคนิค

—●— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

—●— หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใย

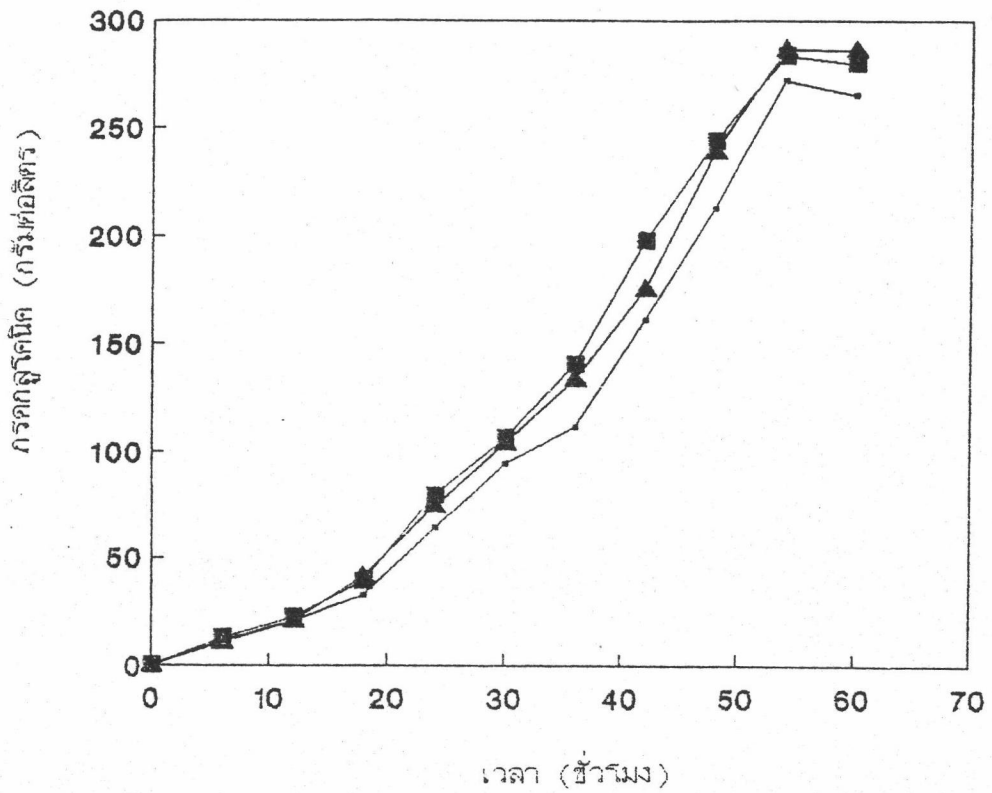


รูปที่ 20 ปริมาณกรดกลูโคนิคที่ผลิตจาก *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศ เท่ากับ 1.75 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที

▲ หมายถึง กรดกลูโคนิค

● หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

■ หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใย

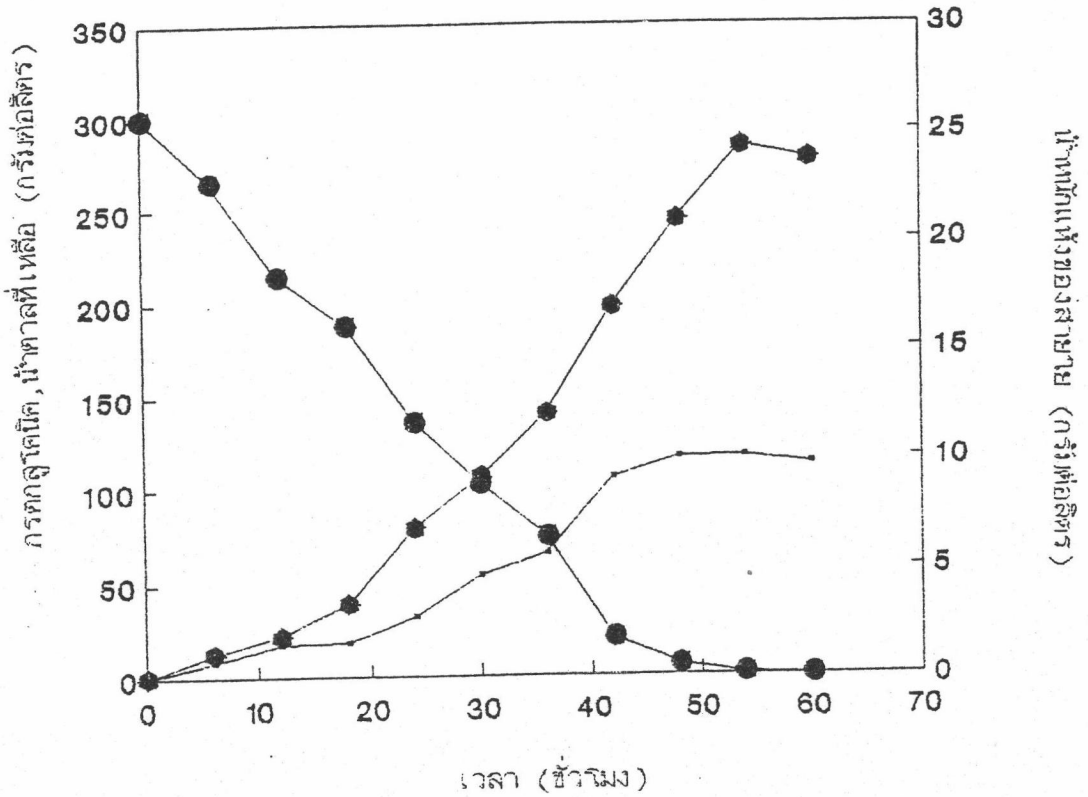


รูปที่ 21 เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิคที่ผลิตจาก *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศต่าง ๆ กัน ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส

—●— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 1 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที

—■— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที

—▲— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 1.75 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที

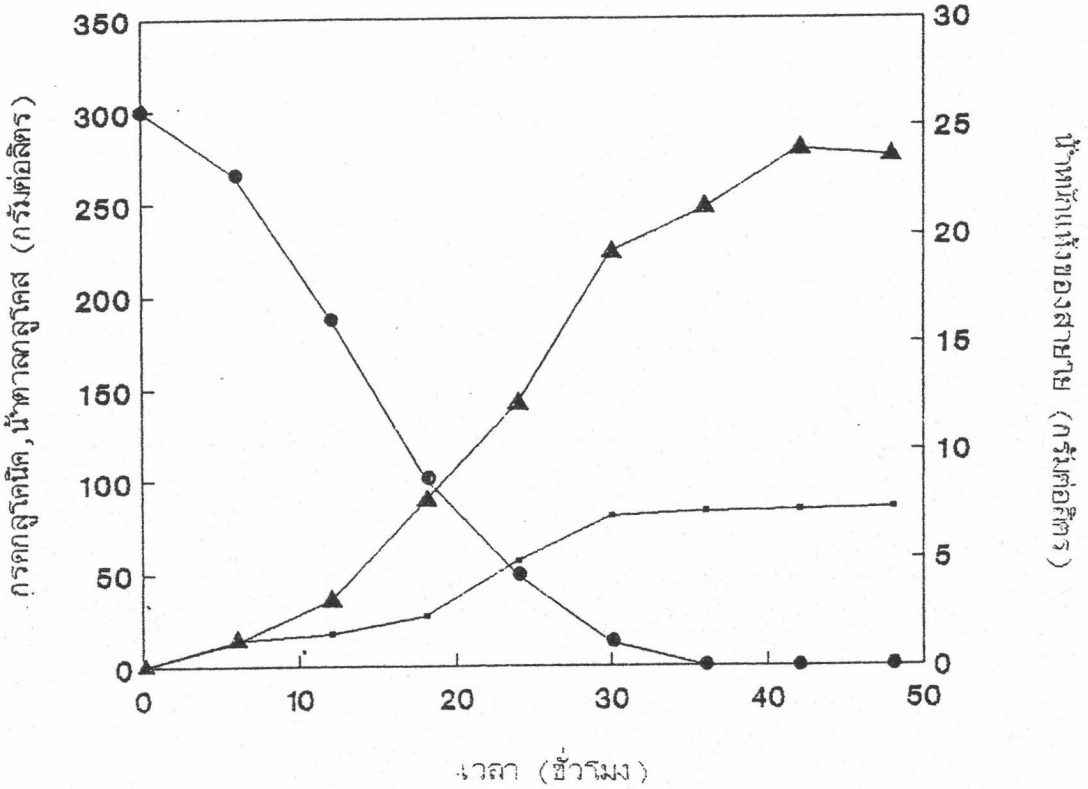


รูปที่ 22 ปริมาณกรดกลูโคนิคที่ผลิต จาก *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศ เท่ากับ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส

—●— หมายถึง กรดกลูโคนิค

—●— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

—●— หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใย

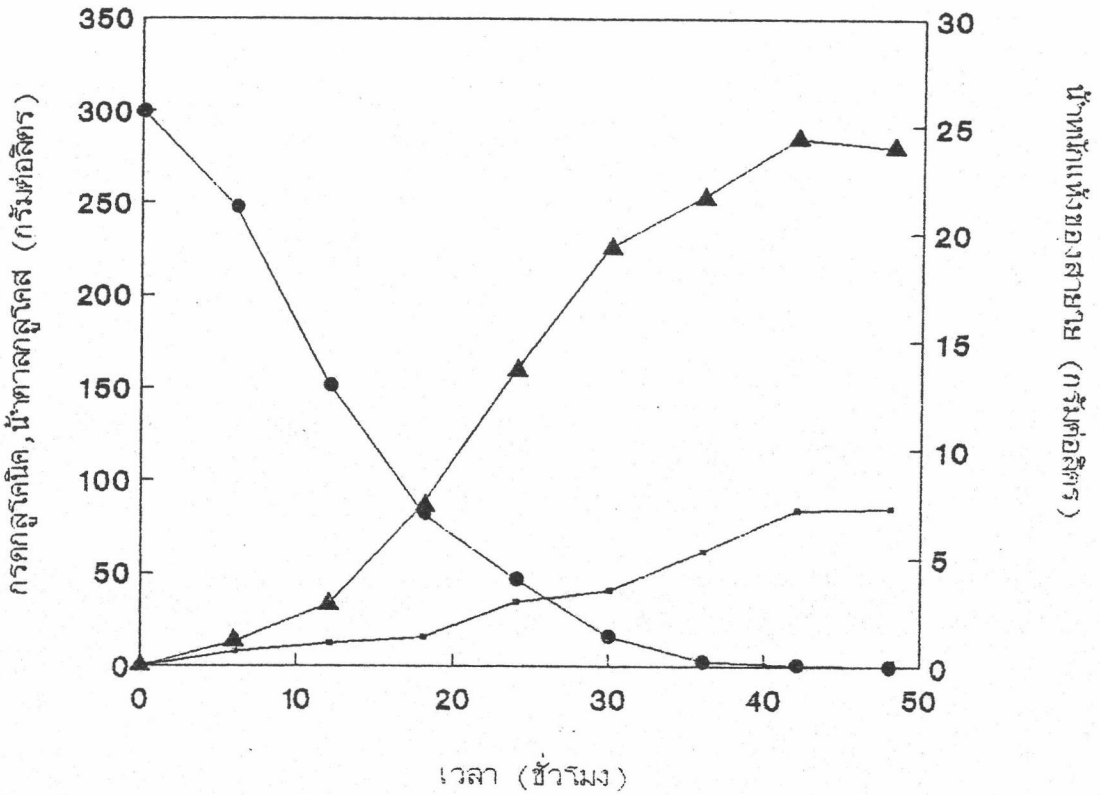


รูปที่ 23 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคสและการเติบโตของ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที

—▲— หมายถึง กรดกลูโคนิค

—●— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

—●— หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใย

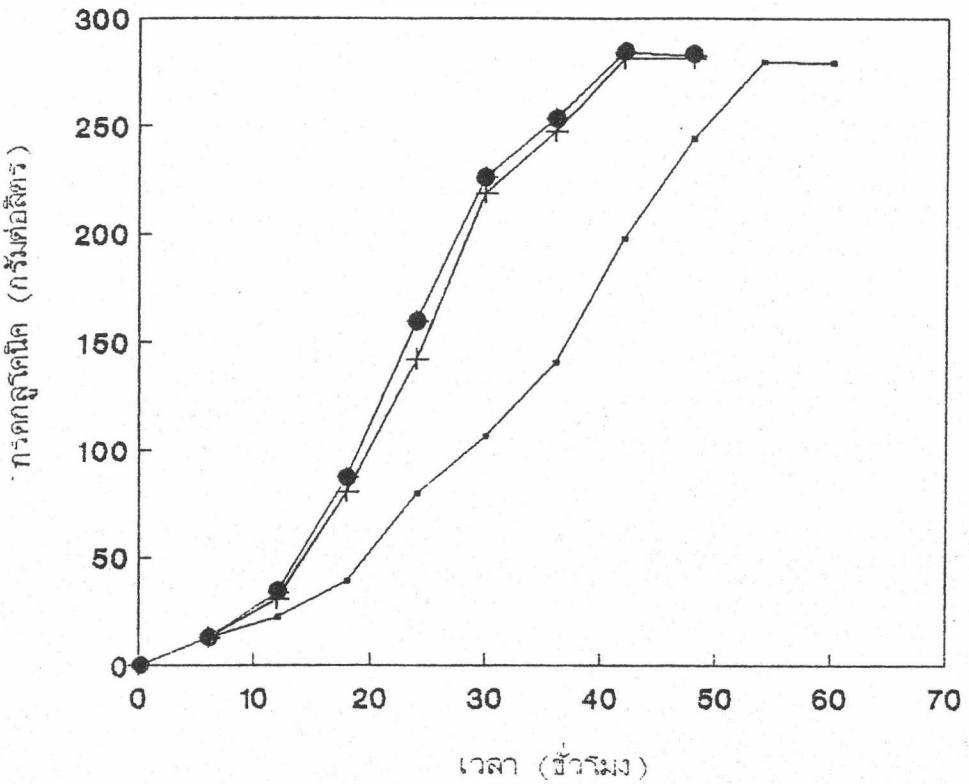


รูปที่ 24 ปริมาณกรดกลูโคนิค การใช้น้ำตาลและการเติบโตของ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 700 รอบต่อนาที

▲ หมายถึง กรดกลูโคนิค

● หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

— หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใย

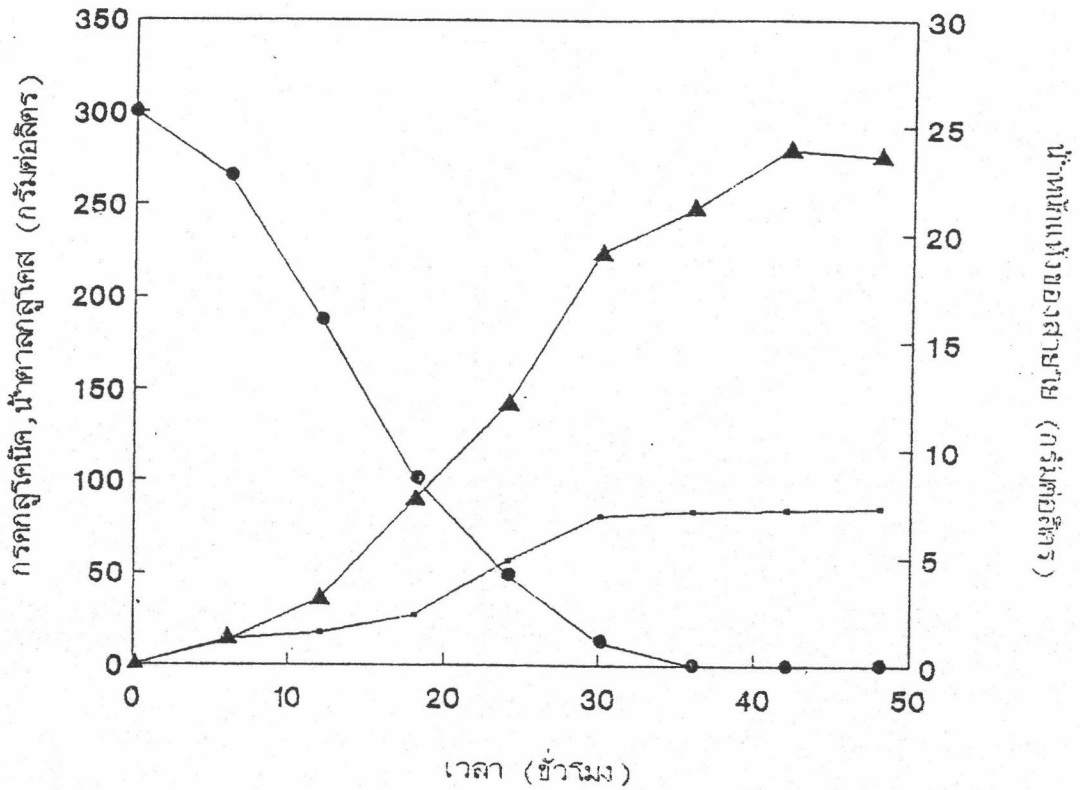


รูปที่ 25 เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิค ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อแปรผันอัตราการกวนที่ค่าต่าง ๆกัน ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที

—•— หมายถึง อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที

—+— หมายถึง อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที

—●— หมายถึง อัตราการกวน 700 รอบต่อนาที

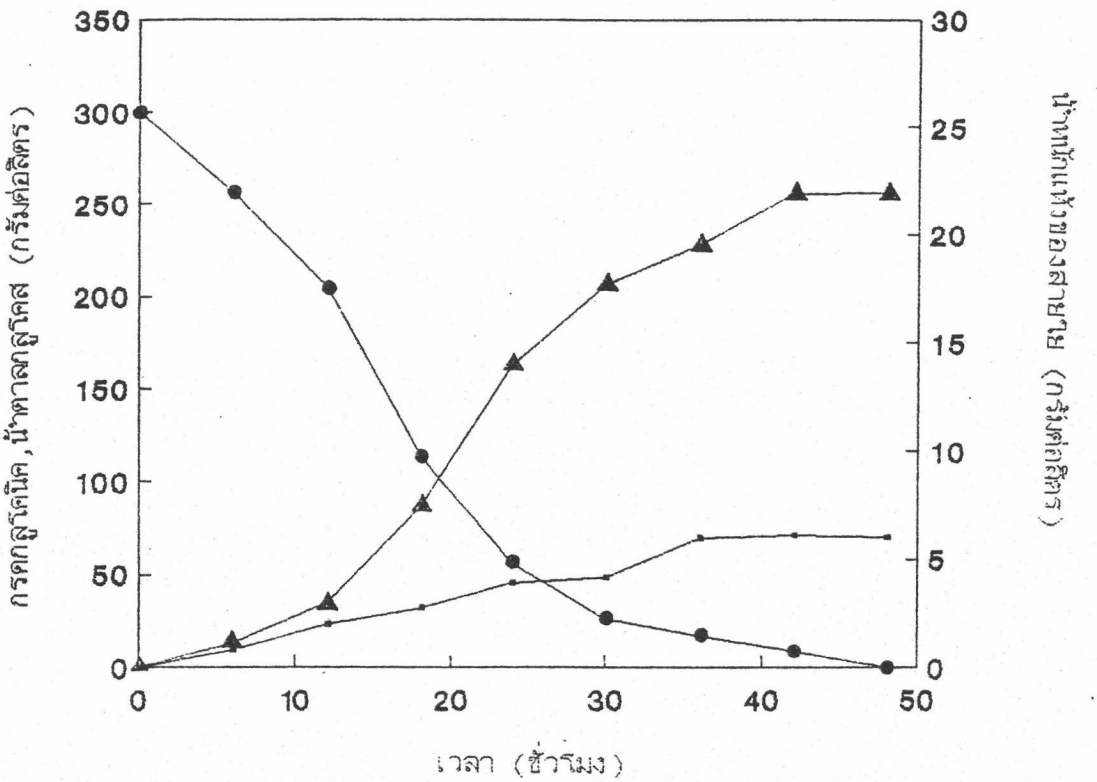


รูปที่ 26 ผลการใช้อะซีตามายด์ เป็นสารกำจัดฟอง ต่อการผลิตกรดกลูโคนิคในถังหมัก ขนาด 5 ลิตร ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส

▲ หมายถึง กรดกลูโคนิค

● หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▪ หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายยาง

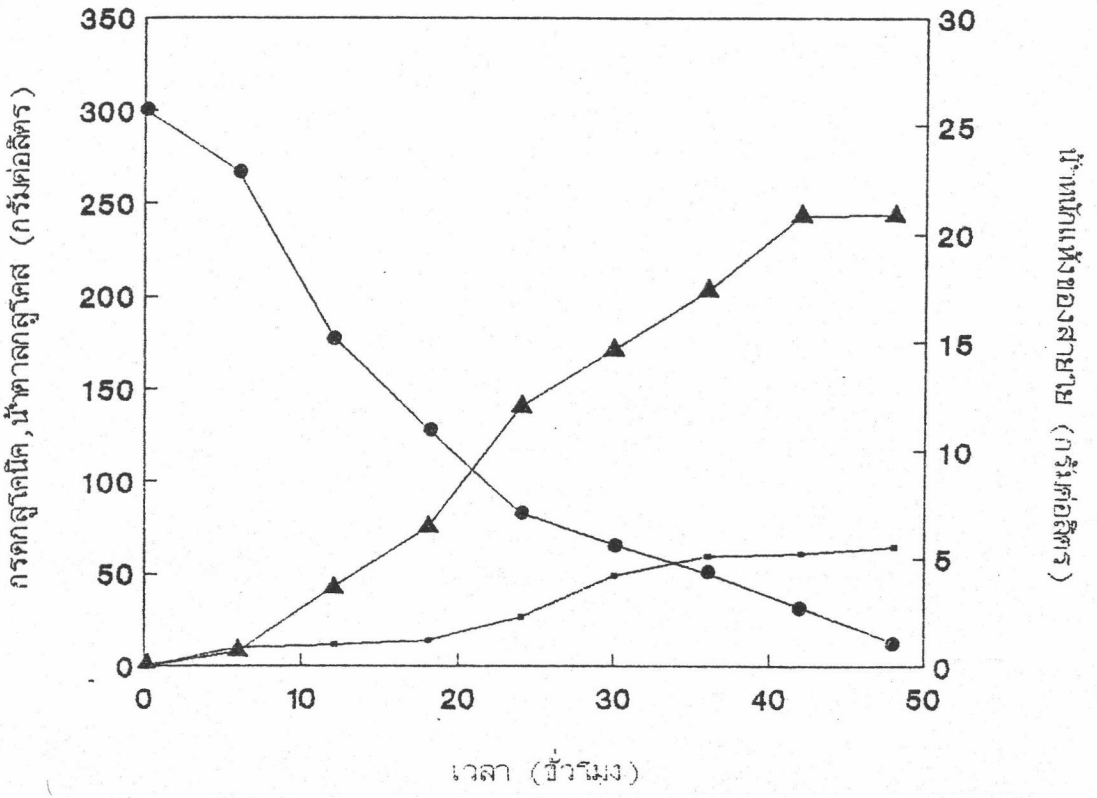


รูปที่ 27 ผลการใช้น้ำมันถั่วเหลือง 100 % เป็นสารกำจัดฟอง ต่อการผลิตกรดกลูโคนิค ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส

—▲— หมายถึง กรดกลูโคนิค

—●— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

—▪— หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใย

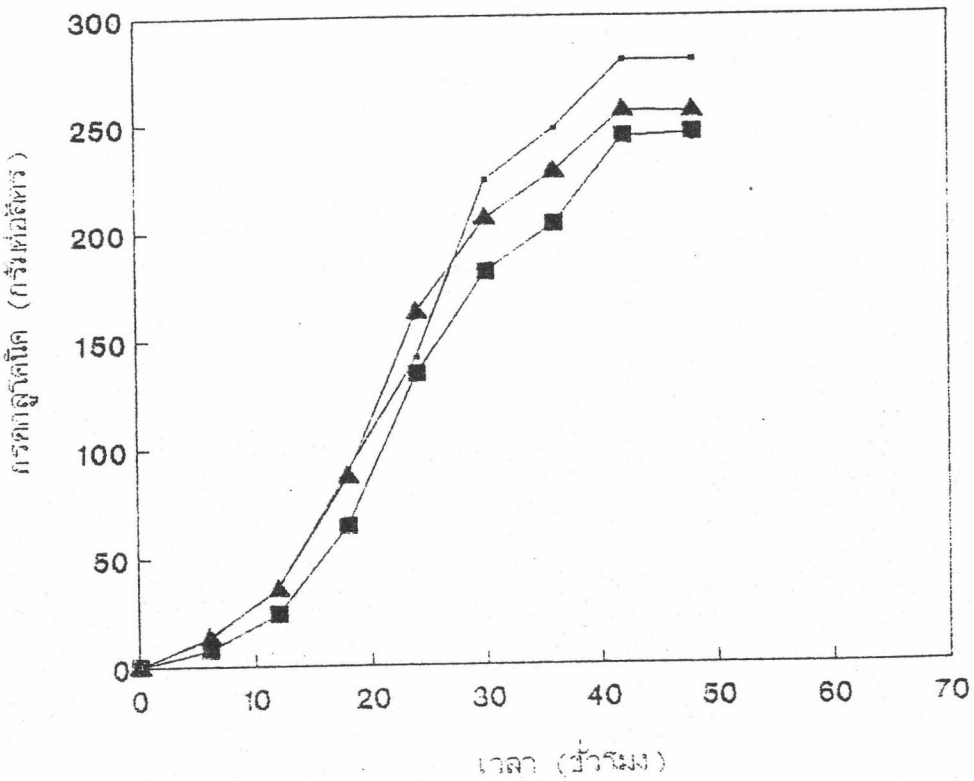


รูปที่ 28 ผลการใช้น้ำมันหมู เป็นสารกำจัดฟอง ต่อการผลิตกรดกลูโคนิคในถังหมัก ขนาด 5 ลิตร ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส

▲— หมายถึง กรดกลูโคนิค

●— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

•— หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายยาว

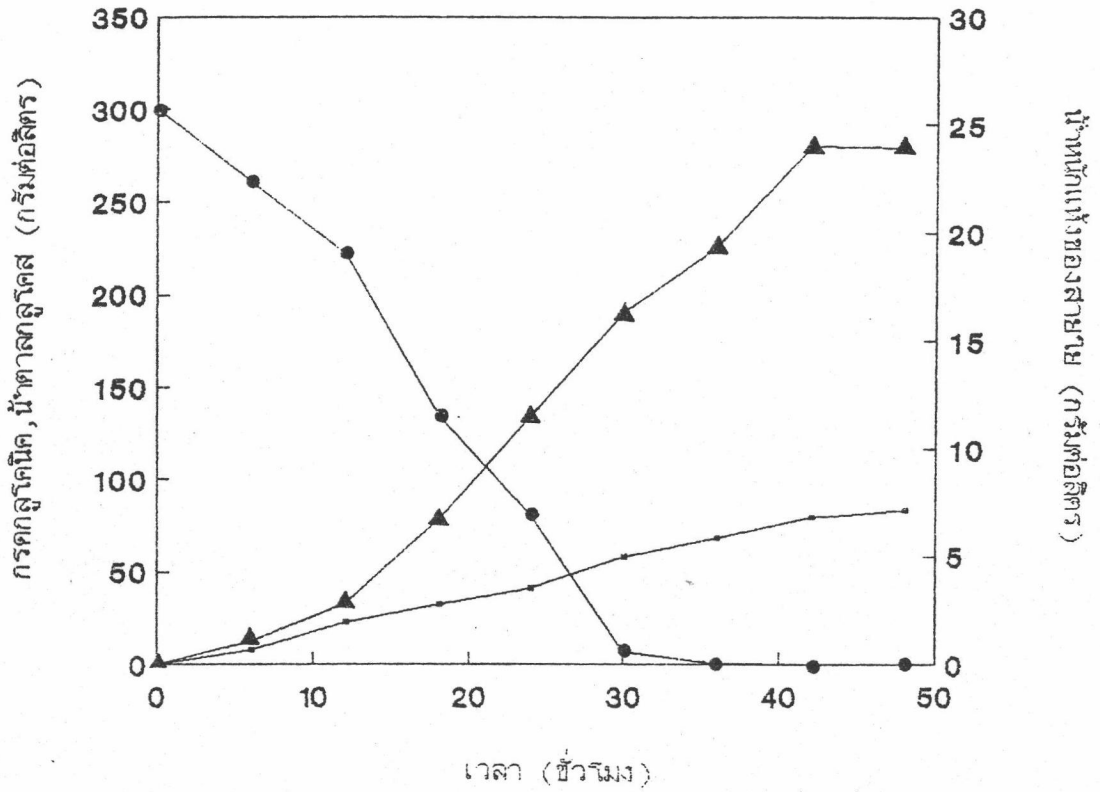


รูปที่ 29 เปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิค จาก *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้สารกำจัดฟองต่าง ๆกัน 3 ชนิด ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส

—●— หมายถึง อะซีตานอล

—▲— หมายถึง น้ำมันถั่วเหลือง 100 %

—■— หมายถึง น้ำมันหมู

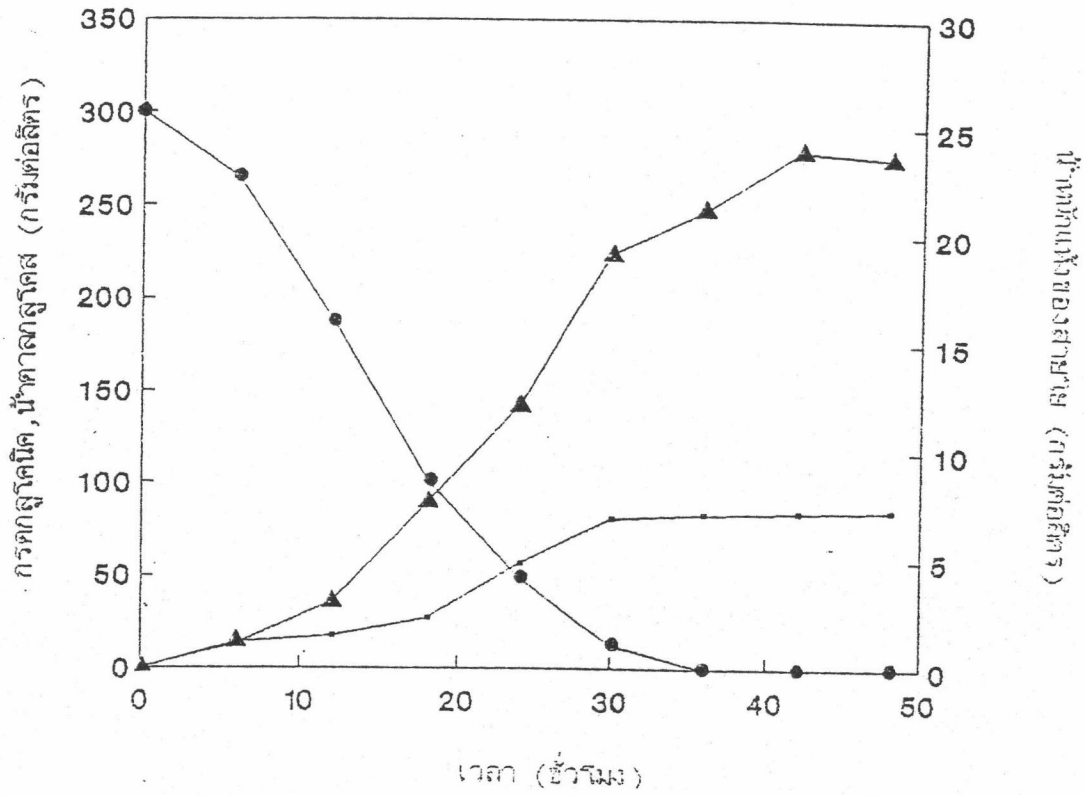


รูปที่ 30 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคสและการเติบโตของ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้น้ำประปาแทนน้ำปลอดประจุในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และไม่เติมธาตุใด ๆ อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที

▲ หมายถึง กรดกลูโคนิค

● หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

■ หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใย

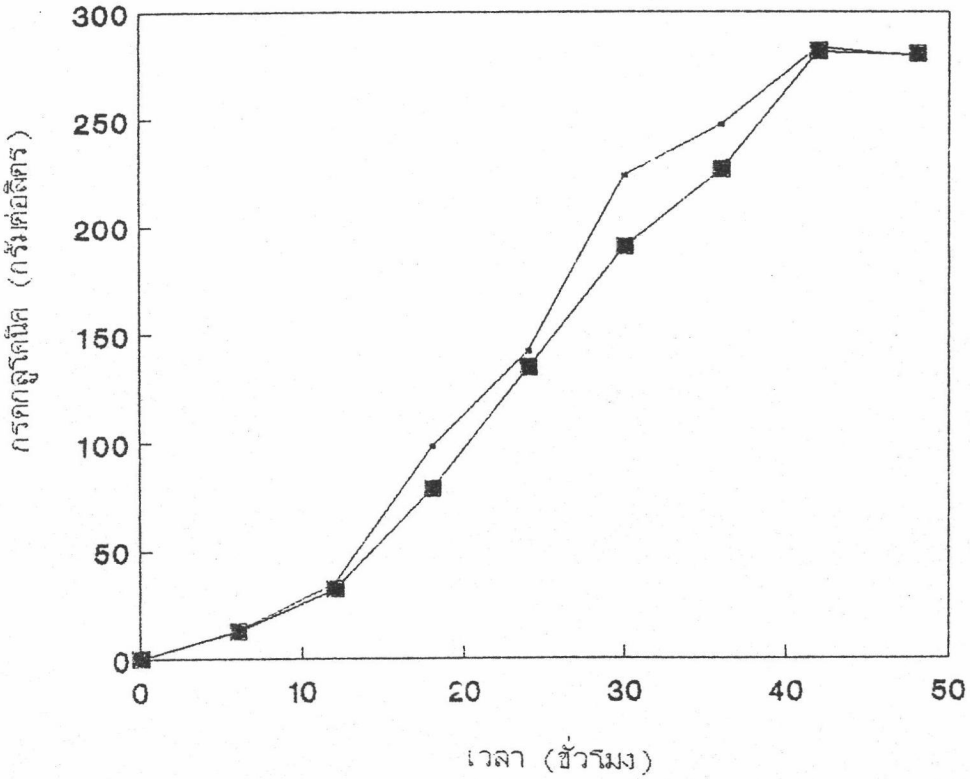


รูปที่ 31 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคสและการเติบโตของ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้น้ำปลอดประจุที่มีแร่ธาตุครบสูตรในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที

—▲— หมายถึง กรดกลูโคนิค

—●— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

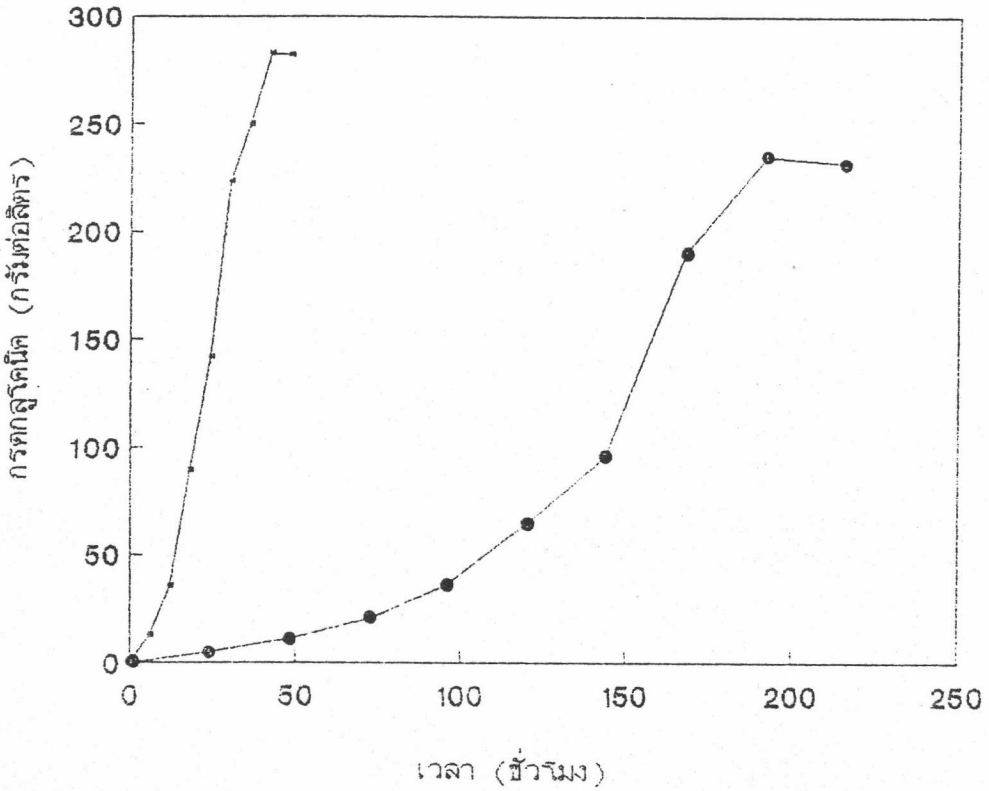
—•— หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใย



รูปที่ 32 เปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิคจาก *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้น้ำปลอดประจุที่มีการเติมธาตุต่าง ๆ กับใช้น้ำประปาที่ไม่เติมธาตุใด ๆ ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

—●— หมายถึง การใช้น้ำปลอดประจุที่มีการเติมธาตุครบสูตร

—■— หมายถึง การใช้น้ำประปาที่ไม่เติมธาตุใด ๆ

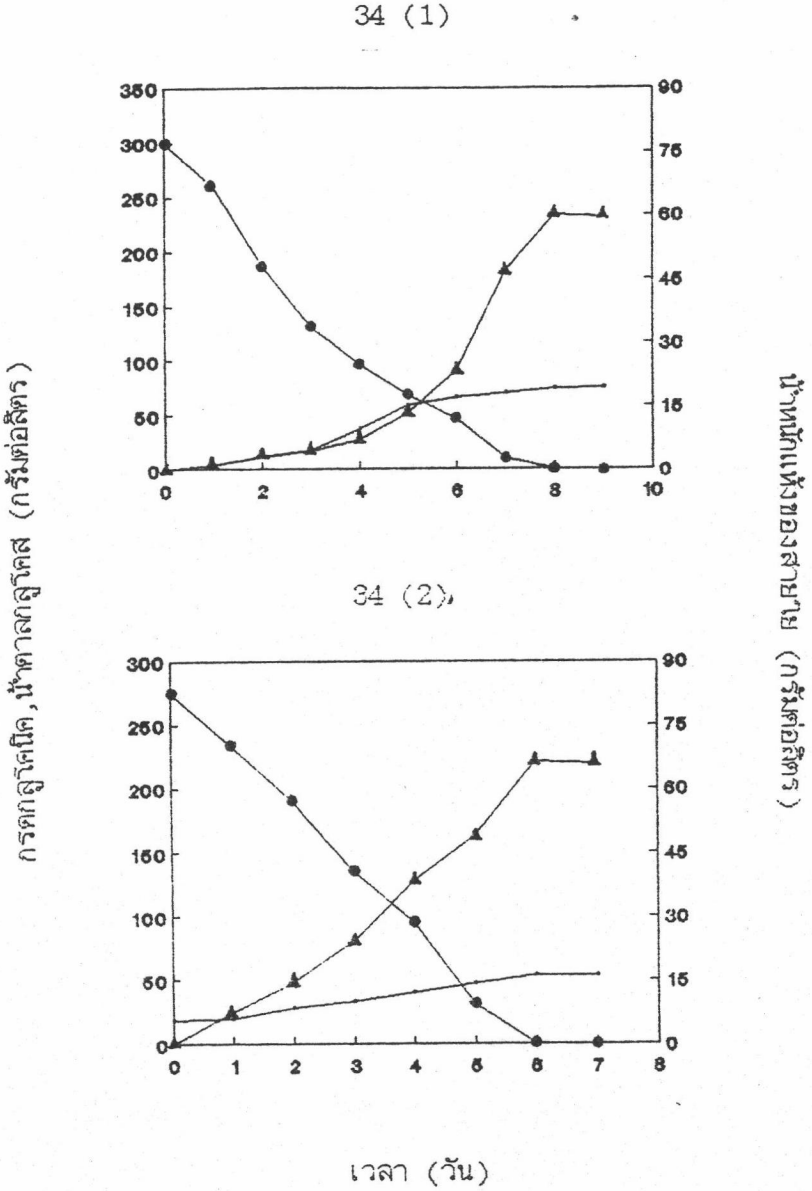


รูปที่ 33 เปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิค จาก *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อโดยใช้สภาวะที่เหมาะสม.* ทั้งในระดับขวดเขย่าและในถังหมักขนาด 5 ลิตร

หมายถึง กรดกลูโคนิคที่ผลิตในระดับขวดเขย่า

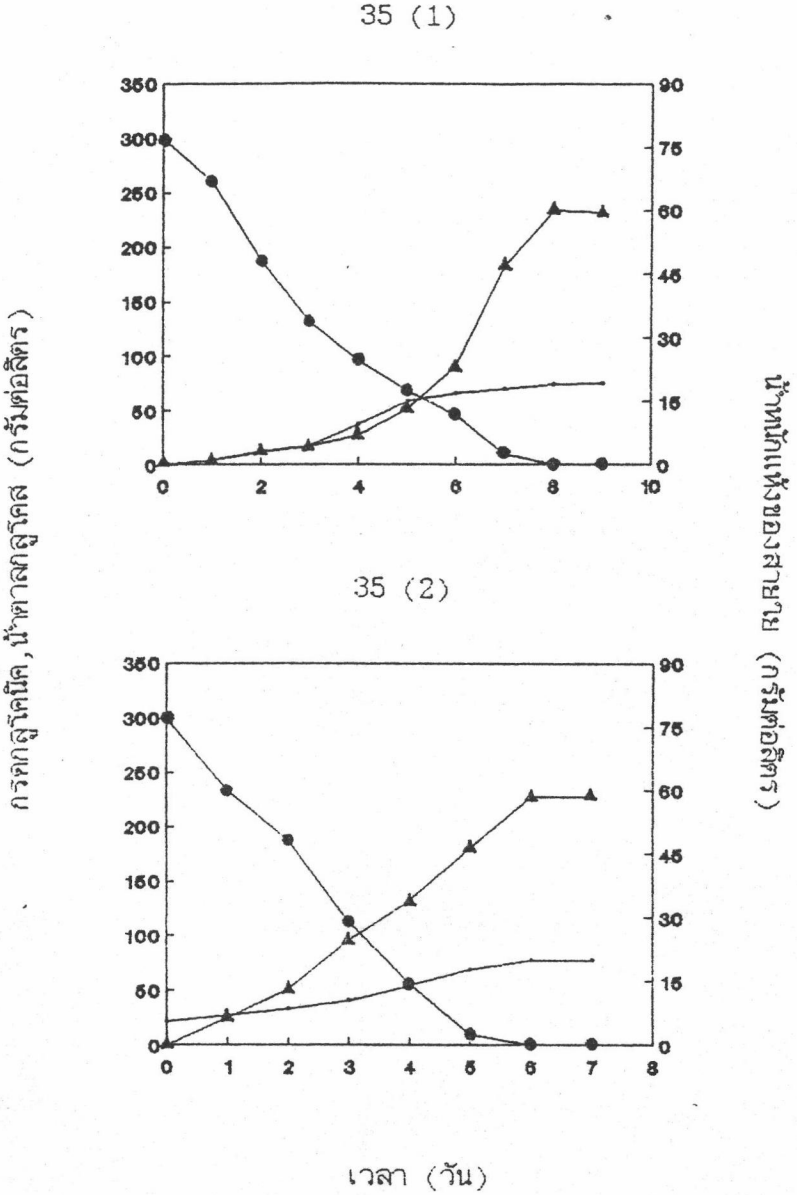
หมายถึง กรดกลูโคนิคที่ผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร

	ระดับขวดเขย่า*	ระดับถังหมัก*
อาหารเลี้ยงเชื้อ	- ภาคผนวก ก. แต่ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % เป็นแหล่งคาร์บอน	- ภาคผนวก ก. แต่ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % เป็นแหล่งคาร์บอน
หัวเชื้อ	- 2 %	- 5 %
การให้อากาศ	- เขย่าแบบโรตารี 200 รอบต่อนาที	- 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหาร/นาที
การกวน	- -	- 600 รอบต่อนาที
อุณหภูมิ	- อุณหภูมิห้อง	- 33 องศาเซลเซียส



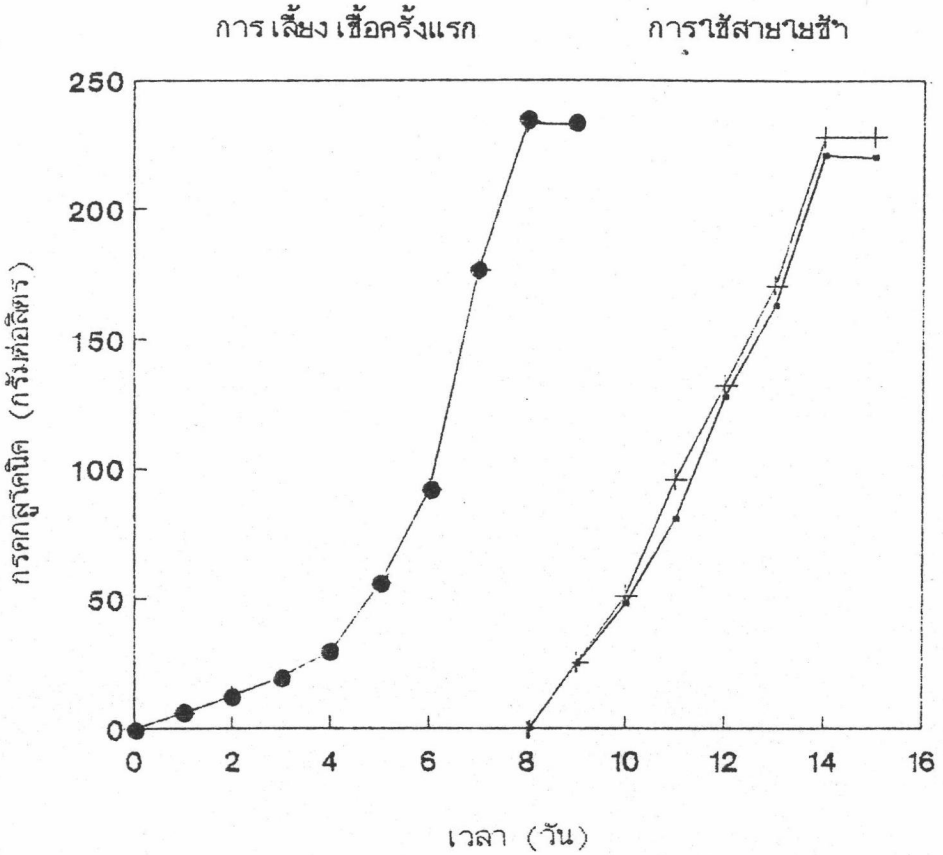
รูปที่ 34 ผลการใช้สายใยข้าชนิดไม่ได้กรองสายใยต่อการผลิตกรดกลูโคนิค การใช้น้ำตาล และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ใช้แป้งไฮโดรไลเสส ที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง 34 (1) เพาะเลี้ยงครั้งแรก 34 (2) เพาะเลี้ยงโดยใช้เชื้อซ้ำ

—▲— กรดกลูโคนิค —●— น้ำตาลกลูโคส —•— น้ำหนักแห้งของสายใย



รูปที่ 35 ผลการใช้สายใยข้าชนิดกรองใช้เฉพาะสายใยต่อการผลิตกรดกลูโคนิค การใช้น้ำตาลและการเติบโตของ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ใช้แป้งไฮโดรไล่เสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง 35 (1) เพาะเลี้ยงครั้งแรก 35 (2) เพาะเลี้ยงโดยใช้เชื้อซ้ำ

—▲— กรดกลูโคนิค —●— น้ำตาลกลูโคส —■— น้ำหนักแห้งของสายใย

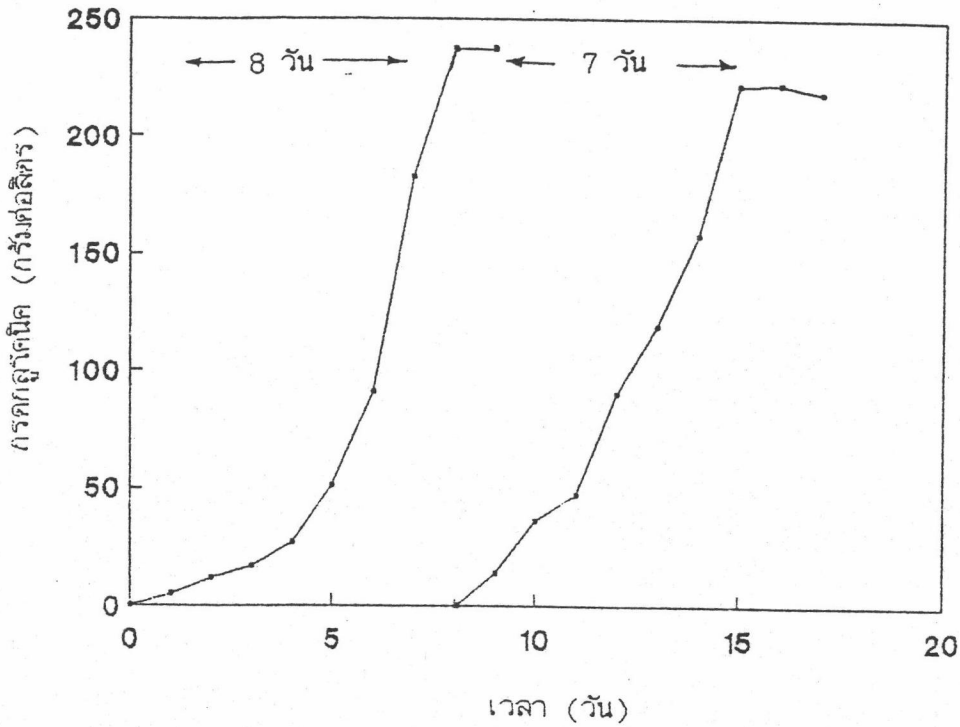


รูปที่ 36 เปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิค เมื่อใช้สายใยซ้ำ 2 ชนิด ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง

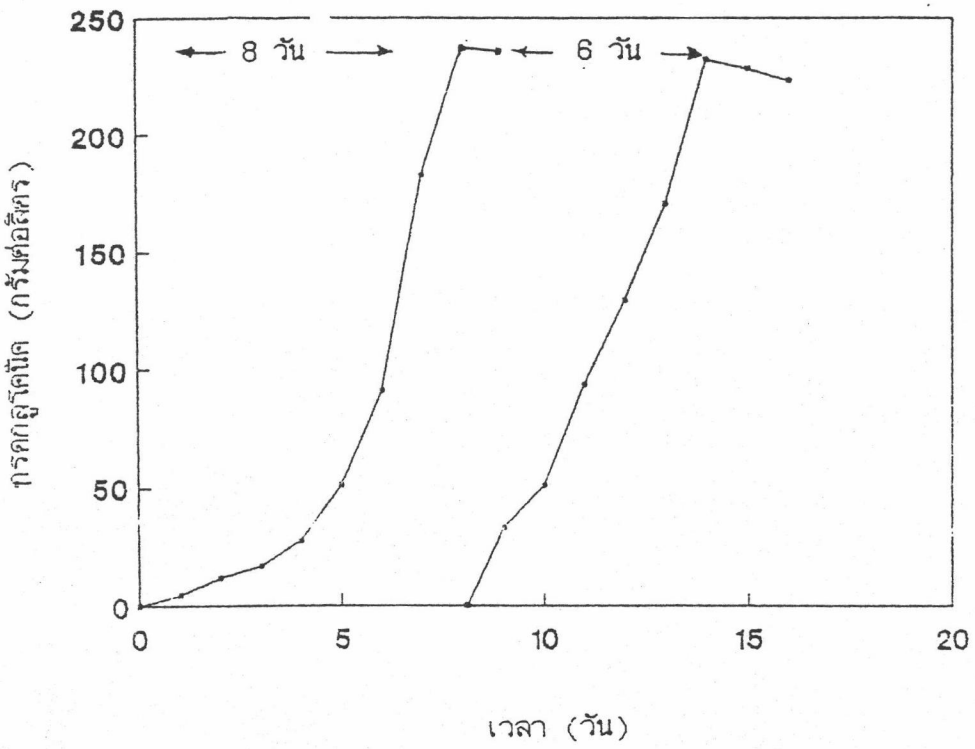
—●— หมายถึง กรดกลูโคนิคในการเพาะเลี้ยงครั้งแรก

—▪— หมายถึง กรดกลูโคนิค เมื่อใช้สายใยซ้ำชนิดแขวนลอย ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

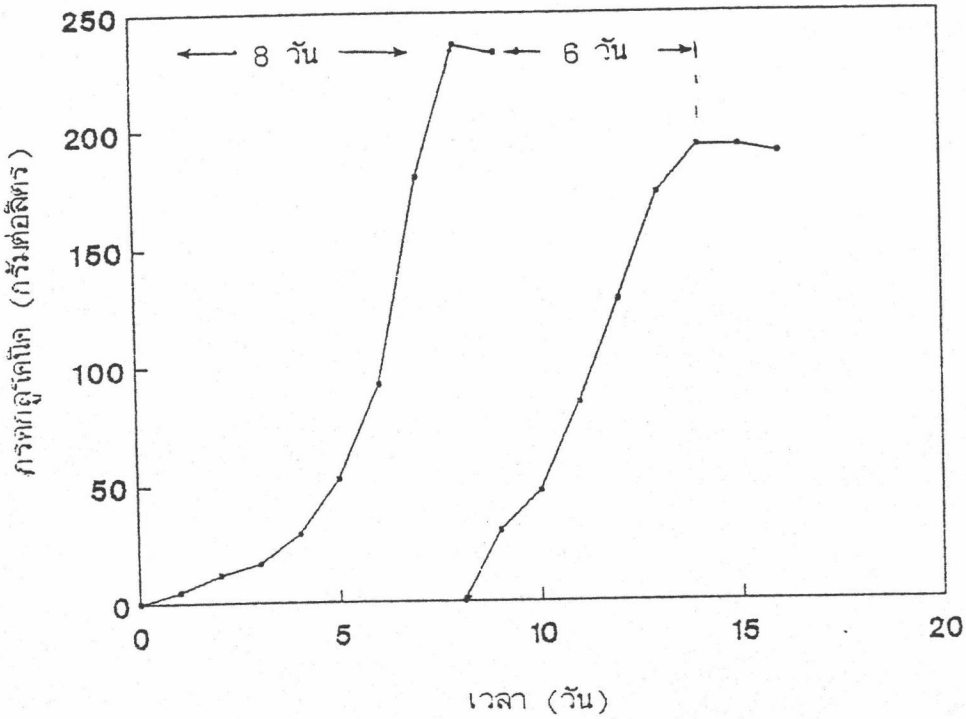
—+— หมายถึง กรดกลูโคนิค เมื่อใช้สายใยซ้ำชนิดใช้เฉพาะสายใย



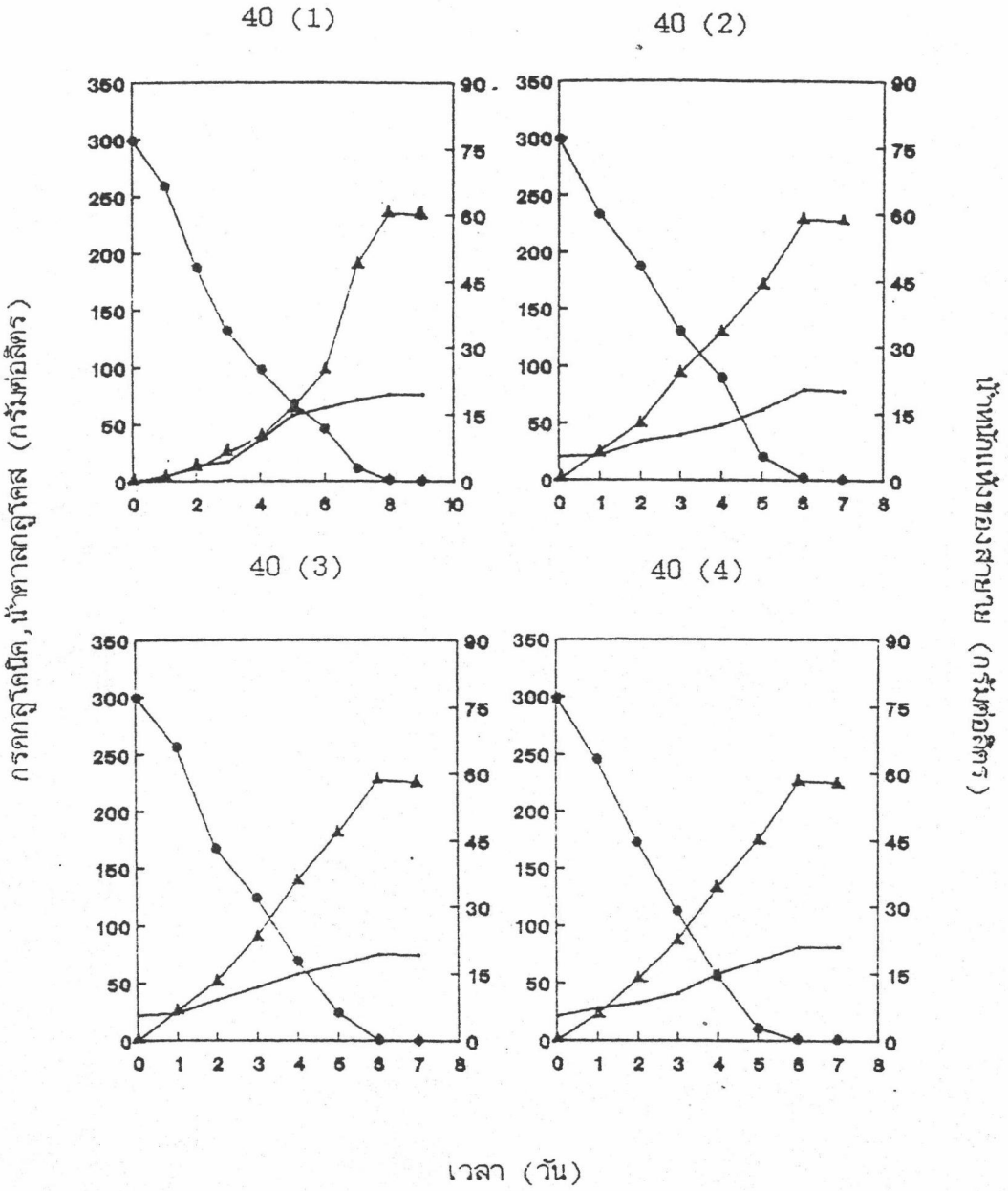
รูปที่ 37 ปริมาณกรดกลูโคนิค เมื่อเพาะเลี้ยง *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 ใช้เชื้อซ้ำชนิดที่กรองสายใยจากอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ 50 มิลลิลิตร (20 % ปริมาตร/ปริมาตร) ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง



รูปที่ 38 ปริมาณกรดกลูโคนิค เมื่อเพาะเลี้ยง *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ใช้เชื้อซ้ำชนิดที่กรองสายใยจากอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ 50 มิลลิลิตร (30 % ปริมาตร/ปริมาตร) ใช้ไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง



รูปที่ 39 ปริมาณกรดกลูโคนิค เมื่อเพาะเลี้ยง *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ใช้เชื้อซ้ำชนิดที่กรองสายใยจากอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ 50 มิลลิลิตร (40 % ปริมาตร/ปริมาตร) ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง

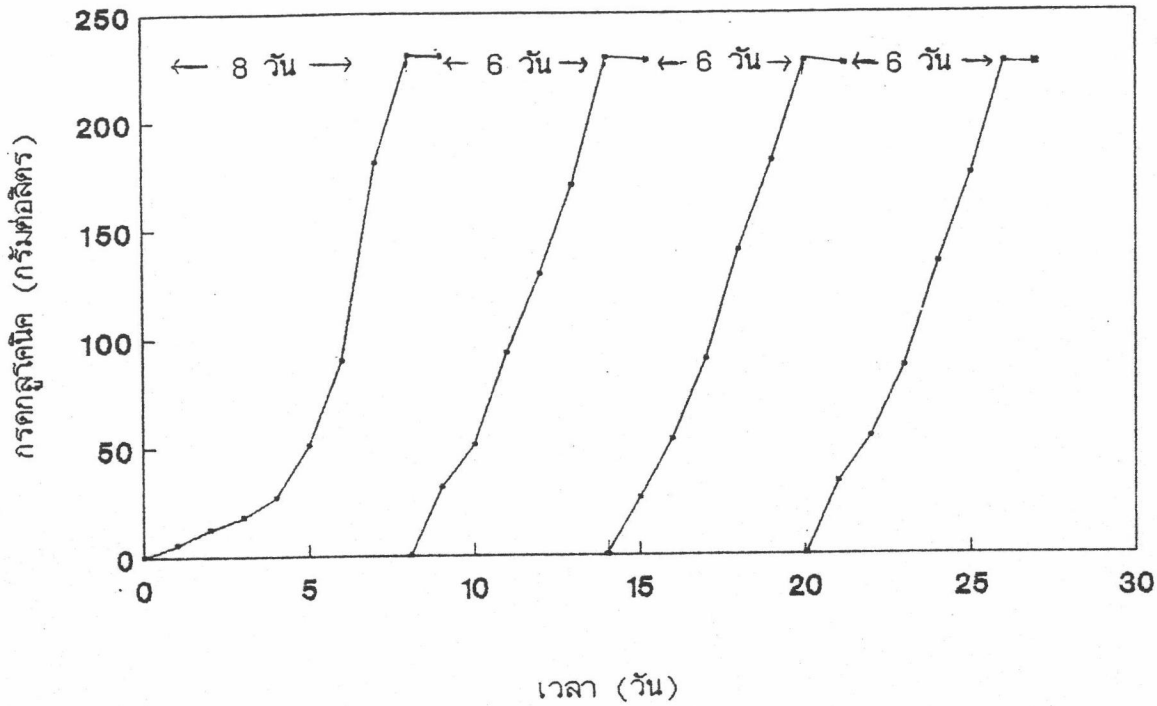


รูปที่ 40 ผลการใช้สายใยซ้ำชนิดใช้เฉพาะสายใย จากอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 15 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ 50 มิลลิลิตร (30 % ปริมาตร /ปริมาตร)ต่อการผลิตกรดกลูโคนิค เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ ติดต่อกัน 4 ครั้ง บนเครื่องเขย่าแบบโรตารี ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง

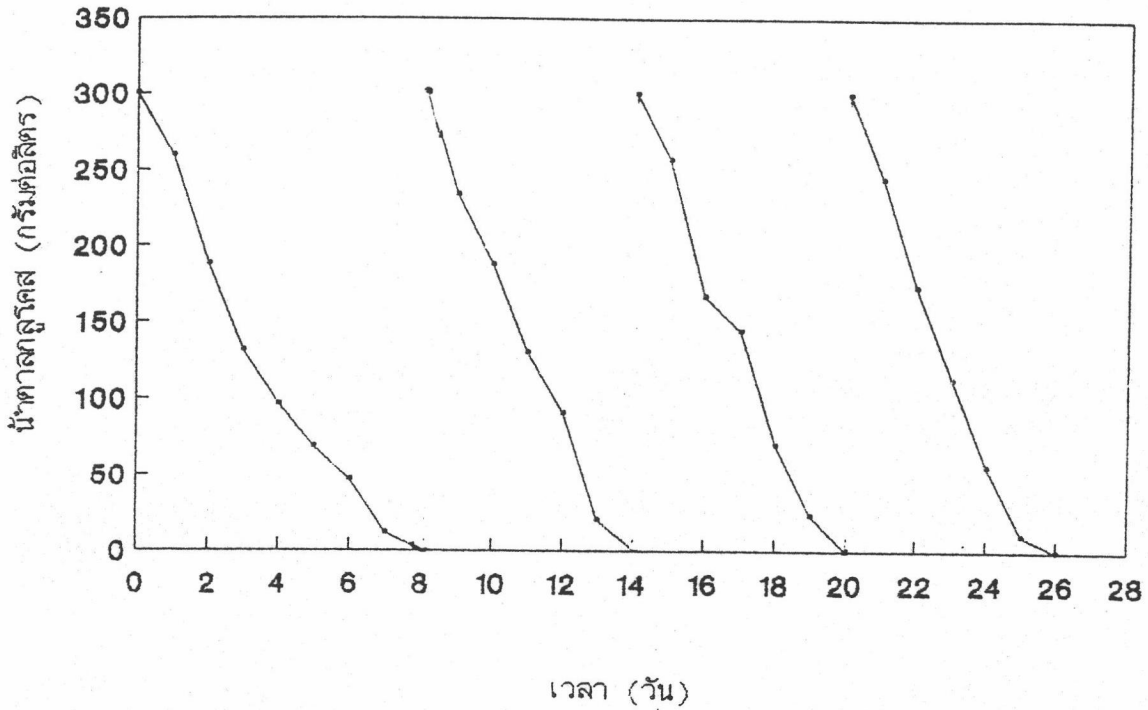
40 (1) การเลี้ยงเชื้อครั้งแรก 40 (2) การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 1

40 (3) การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 2 40 (4) การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 3

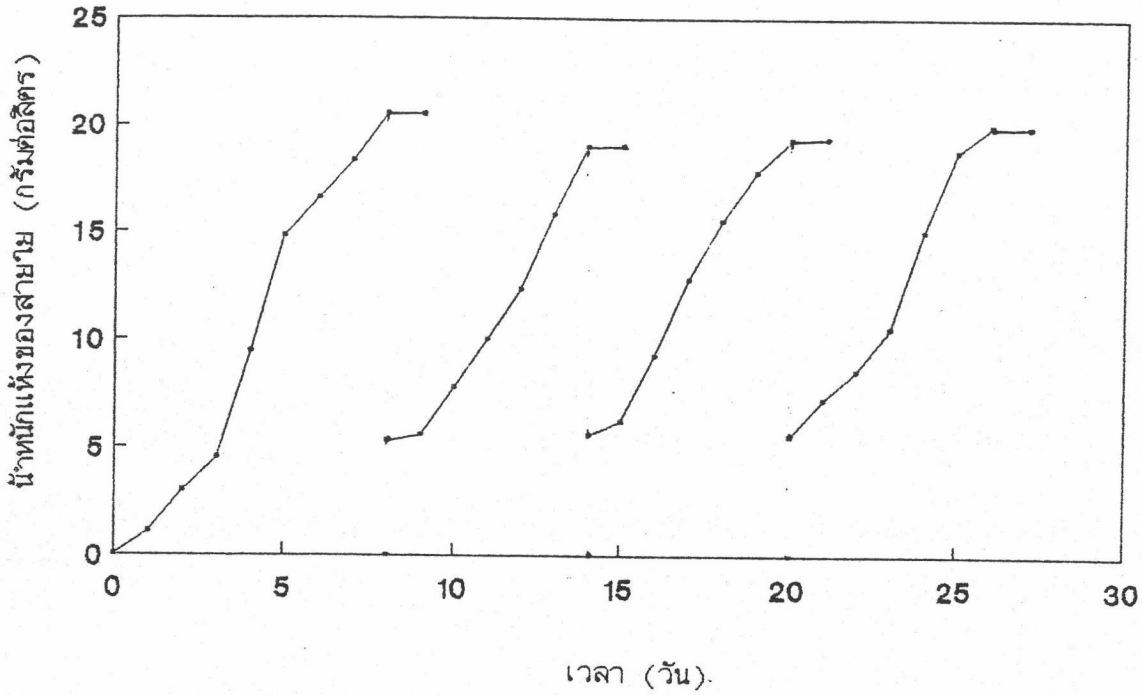
▲ กรดกลูโคนิค ● น้ำตาลกลูโคส — น้ำหนักแห้งของสายใย



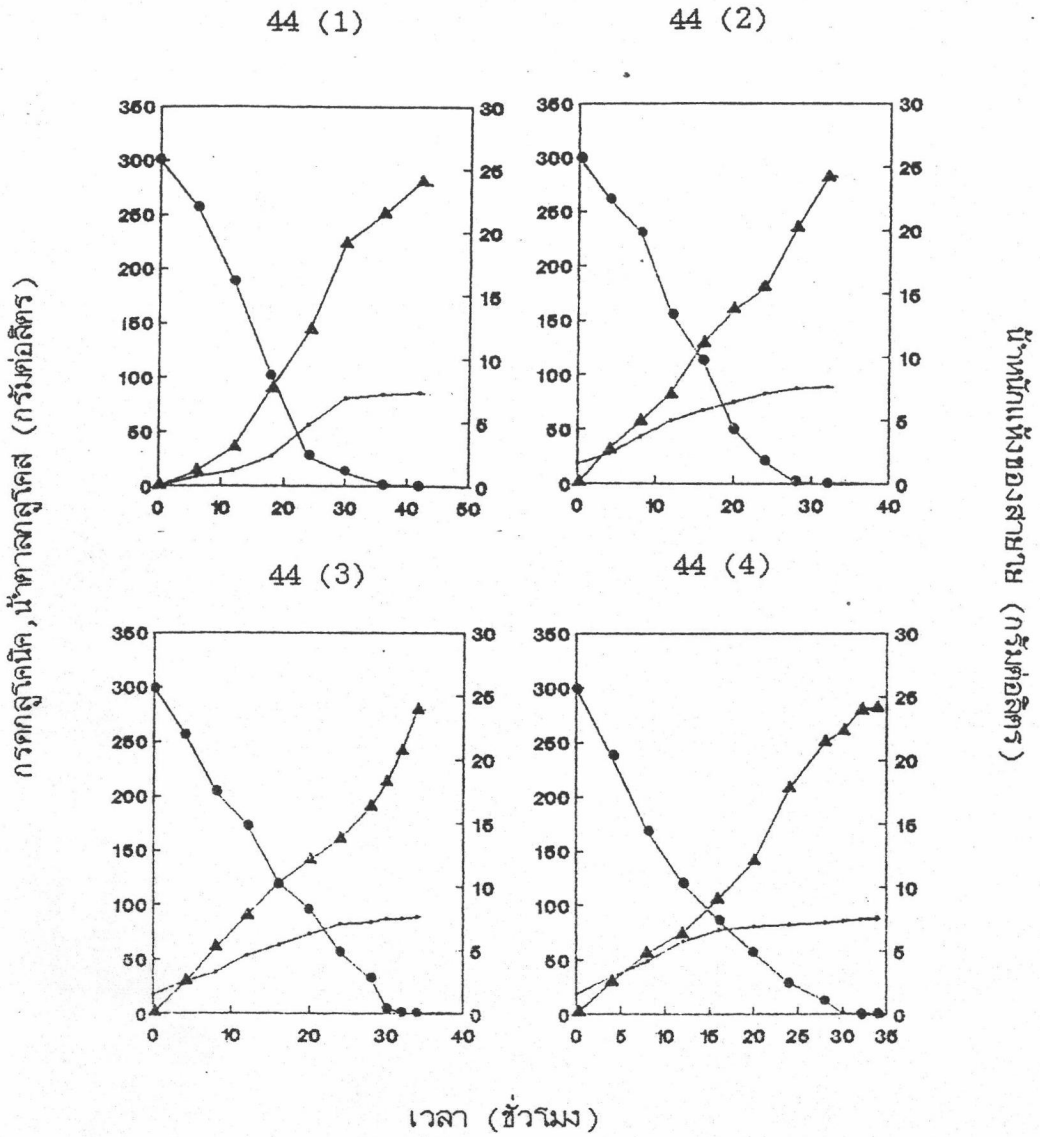
รูปที่ 41 เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิค จากเชื้อ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 เมื่อใช้สายใยซ้ำ เพาะเลี้ยง 4 ครั้งติดต่อกัน ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง



รูปที่ 42 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลกลูโคส ในระหว่างการผลิตกรดกลูโคนิค โดยใช้สายใย *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ซ้ำ ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน เพาะเลี้ยง 4 ครั้ง ติดต่อกัน บนเครื่องเขย่าแบบโรตารีความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง



รูปที่ 43 เปรียบเทียบการเติบโต ในระหว่างการผลิตกรดกลูโคนิค โดยใช้สายใย *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ซ้ำ ใช้แป้งไฮโดรไลเสส ที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอนเพาะเลี้ยง 4 ครั้ง ติดต่อกัน บนเครื่องเขย่าแบบโรตารีความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง

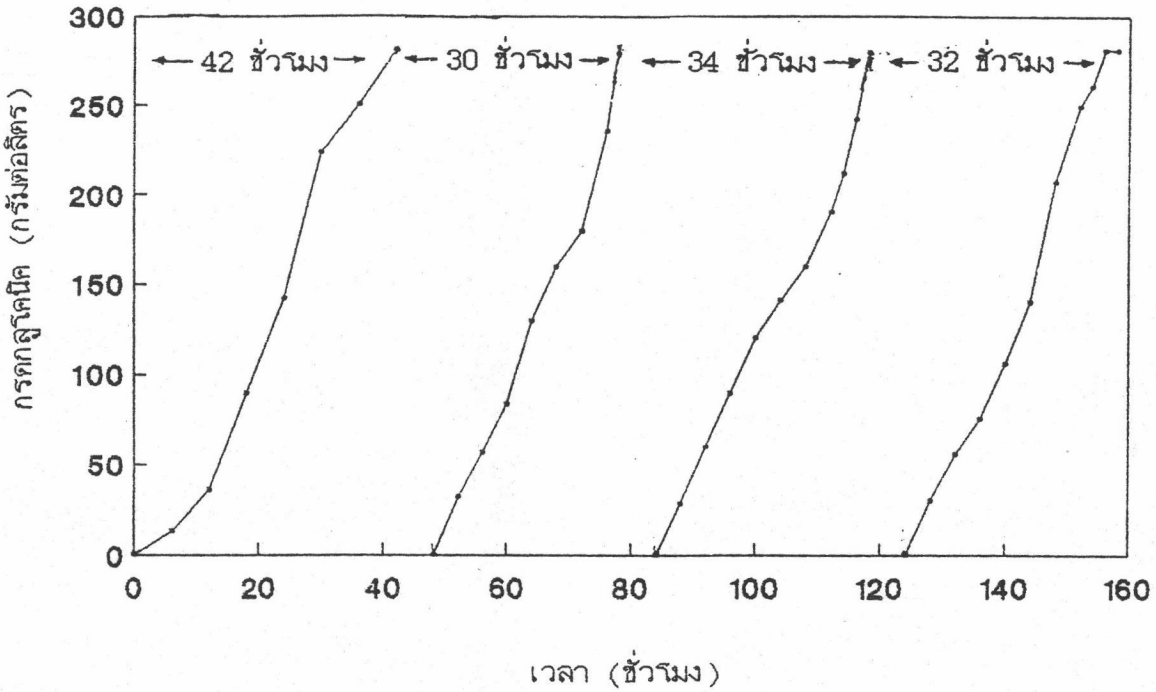


รูปที่ 44 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโต เมื่อเพาะเลี้ยง 4 ครั้ง ติดต่อกัน ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส

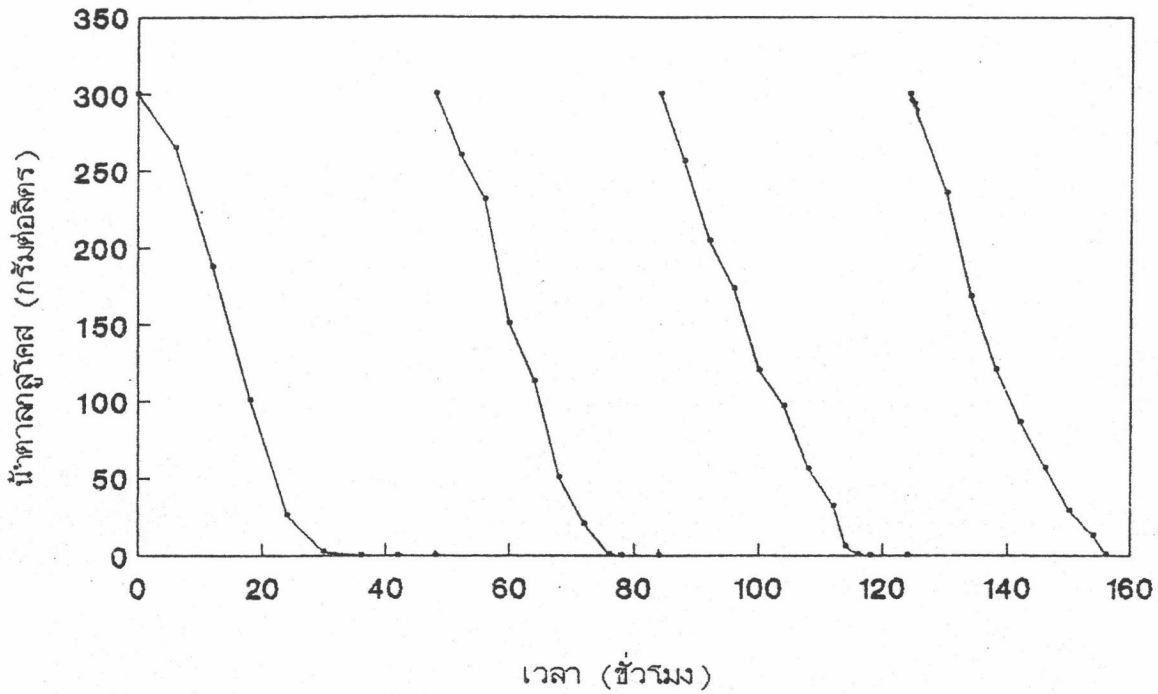
44 (1) การเลี้ยงเชื้อครั้งแรก 44 (2) การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 1

44 (3) การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 2 44 (4) การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 3

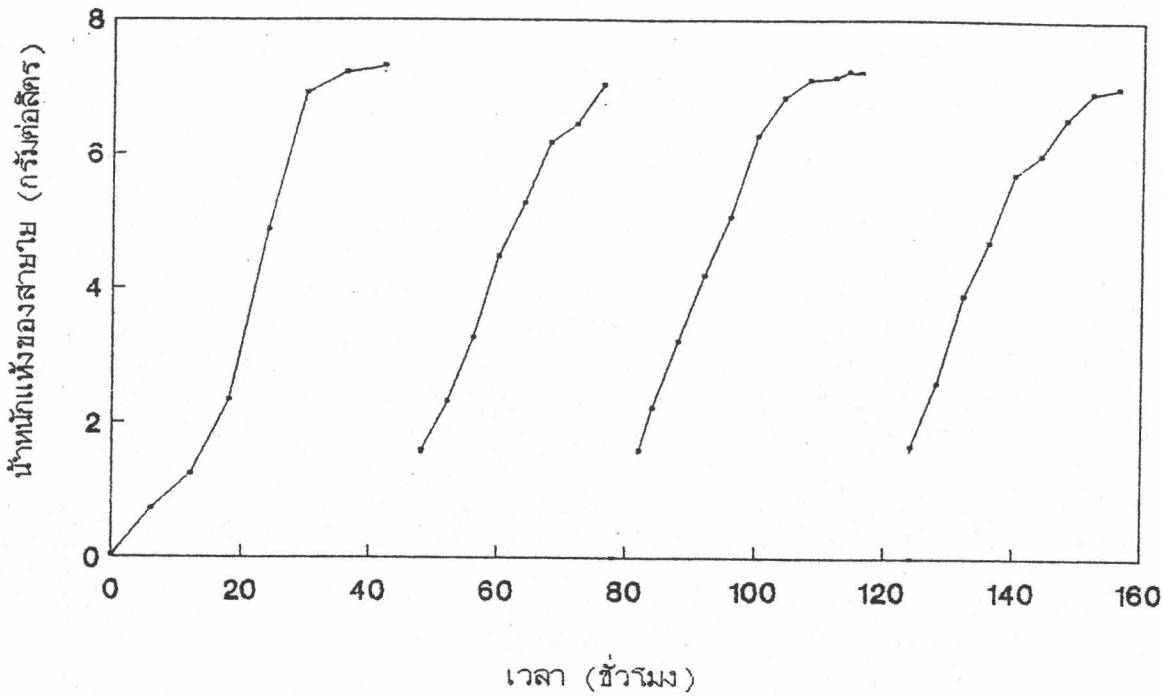
▲ กรดกลูโคนิค ● น้ำตาลกลูโคส → น้ำหนักแห้งของสายใย



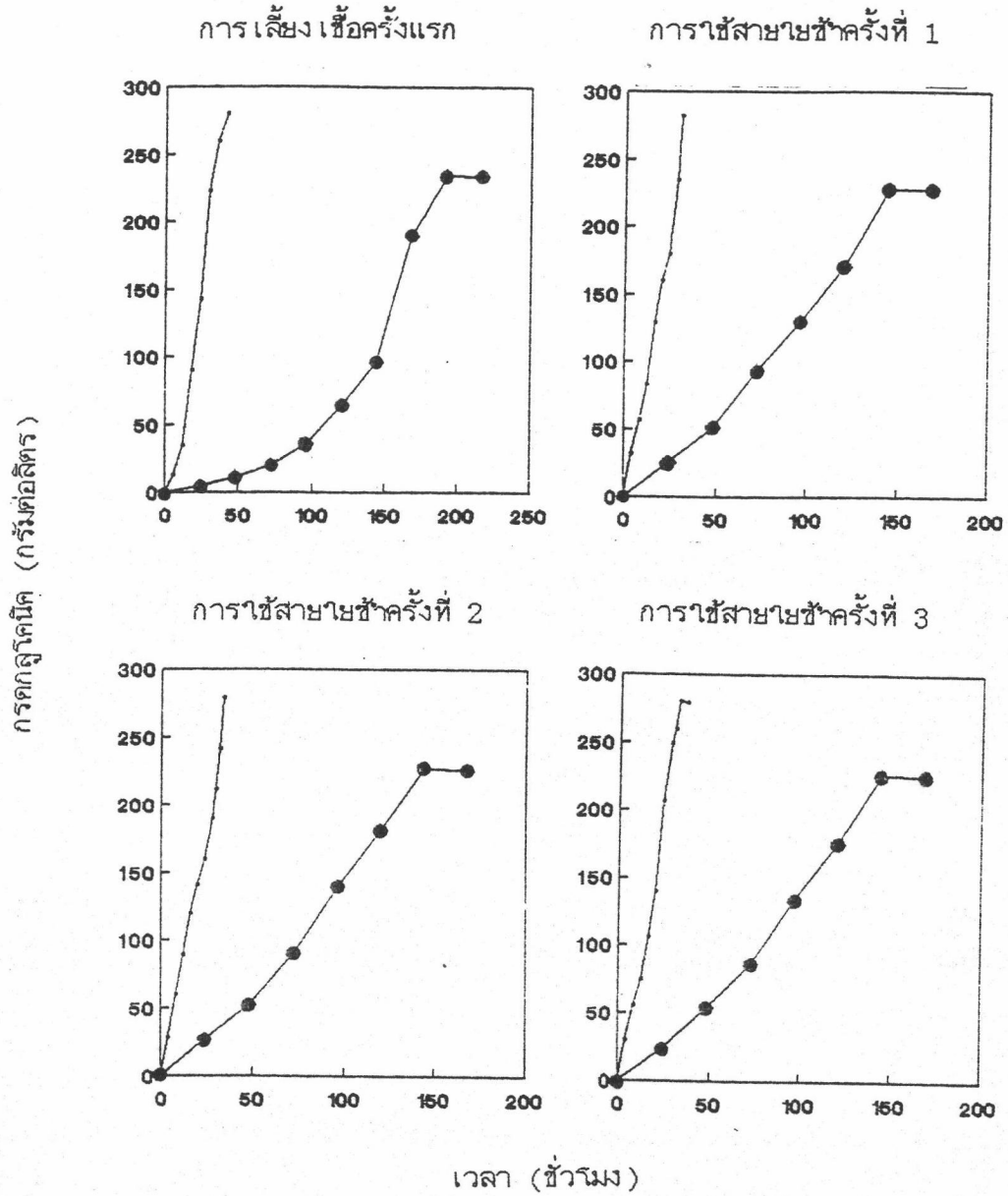
รูปที่ 45 เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิค จากเชื้อ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 เมื่อใช้สายใยซ้ำ เพาะเลี้ยง 4 ครั้งติดต่อกัน ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส



รูปที่ 46 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลกลูโคสในระหว่างการผลิตกรดกลูโคนิค โดยใช้สายใยของ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ซ้ำ เพาะเลี้ยง 4 ครั้ง ติดต่อกัน ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส



รูปที่ 47 เปรียบเทียบการเติบโตในระหว่างการผลิตกรดกลูโคนิค โดยใช้สายใยของ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ซ้ำ เพาะเลี้ยง 4 ครั้งติดต่อกัน ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (300 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส



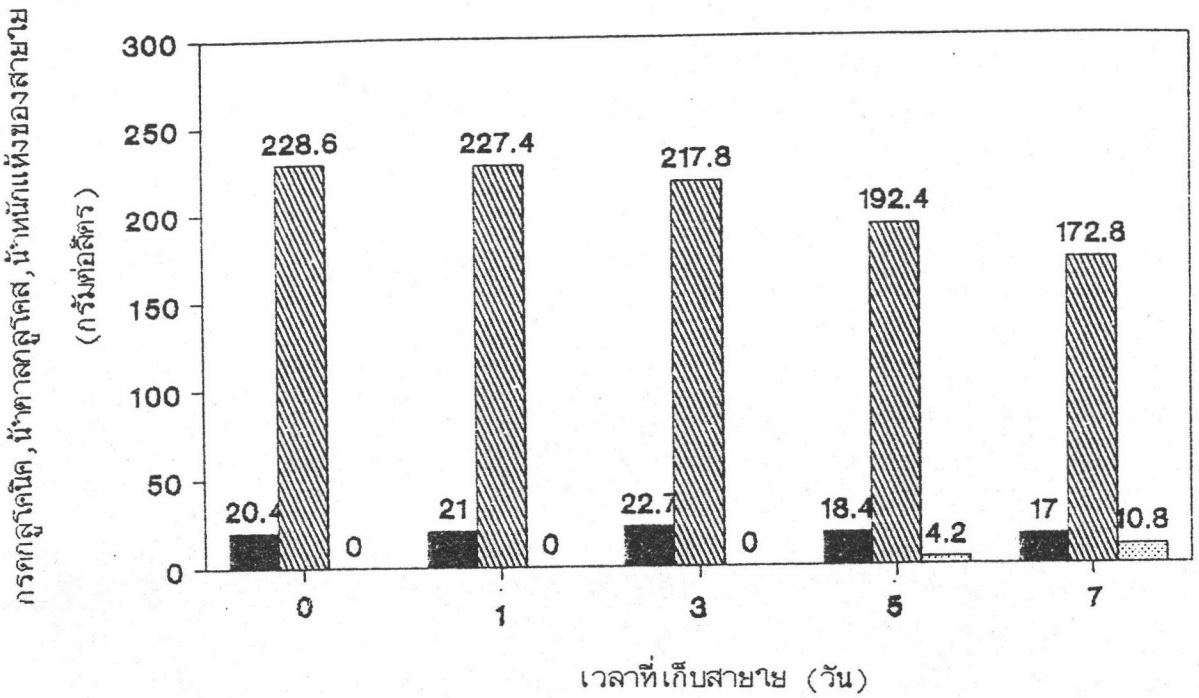
รูปที่ 48 เปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิค จากการใช้สายใยของ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ซ้ำ เพาะเลี้ยง 4 ครั้งติดต่อกัน โดยใช้สภาวะที่เหมาะสม* ทั้งในระดับขวดเขย่า และในถังหมักขนาด 5 ลิตร

—●— หมายถึง กรดกลูโคนิคที่ผลิตในระดับขวดเขย่า

—•— หมายถึง กรดกลูโคนิคที่ผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร

* สภาวะที่เหมาะสม

	ระดับขวดเขย่า	ระดับถังหมัก
อาหารเลี้ยงเชื้อ	- ภาคผนวก ก. แต่ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % เป็นแหล่งคาร์บอน	- ภาคผนวก ก.แต่ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % เป็นแหล่งคาร์บอน
ปริมาณสายไยที่นำมาผลิตกรดซ้ำ	- 15 มิลลิลิตร	- 600 มิลลิลิตร
การให้อากาศ	- เขย่าแบบโรตารี 200 รอบต่อนาที	- 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหาร/นาที
การกวน	- -	- 600 รอบต่อนาที
อุณหภูมิ	- อุณหภูมิห้อง	- 33 องศาเซลเซียส

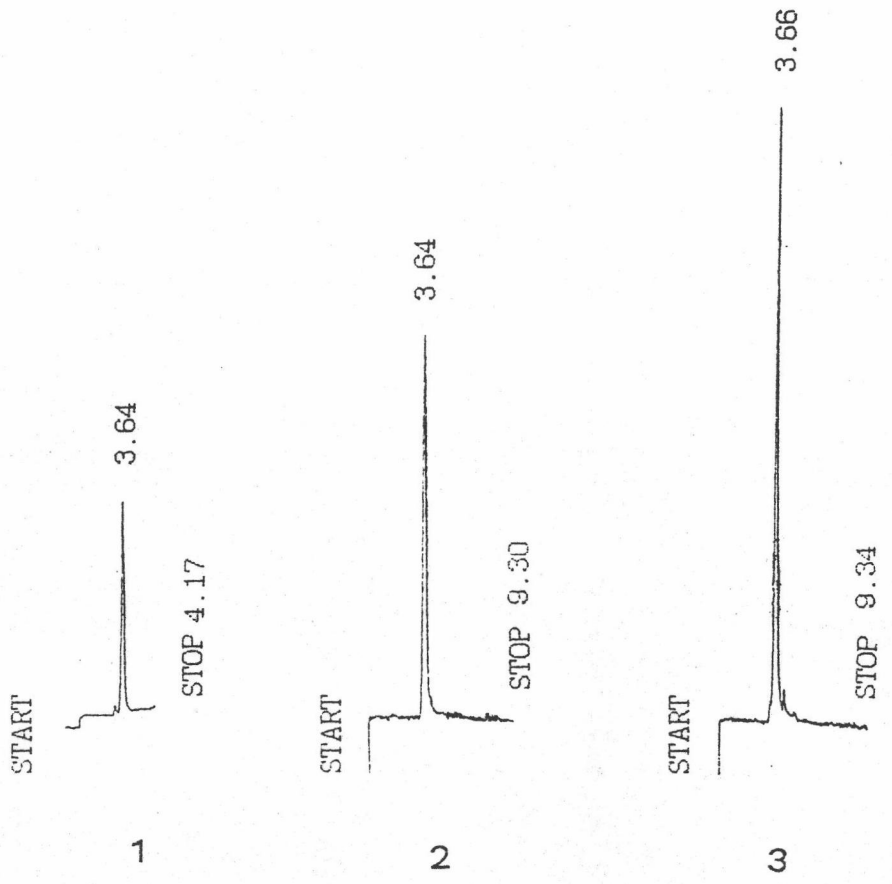


รูปที่ 49 กรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคสและน้ำหนักแห้งของสายใยของ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตกรดกลูโคนิคซ้ำ ในระดับขวดเขย่า หลังจากเก็บสายใยไว้ที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่างๆ กัน เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบโรตารี ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 วัน

▨ หมายถึง กรดกลูโคนิค

▩ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

■ หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใย



เวลาที่อยู่ในคอลัมน์ (Retention time) (นาที)

รูปที่ 50 HPLC โครมาโตรแกรมของกรดกลูโคนิคมาตรฐาน (1) กรดอินทรีย์ที่สร้างโดย *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 (2) และ กรดอินทรีย์ที่สร้างโดย *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ผสมกับกรดกลูโคนิคมาตรฐาน (3)