การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus terreus* I10

นางสาวเทพนาฏ พุ่มไพบูลย์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2540

ISBN 974 - 638 - 888 - 6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ITACONIC ACID PRODUCTION BY IMMOBILIZED MYCELIUM OF *Aspergillus terreus* I10

Miss. Tepanata Pumpaibool

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Industrial Microbiology
Department of Microbiology
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 1997

ISBN 974 - 638 - 888 - 6

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus terreus* I10

โดย นางสาว เทพนาฏ พุ่มไพบูลย์

ภาควิชา จุลชีววิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ กรรณิกา จันทรสอาด

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ศุภวัฒน์ ชุติวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ส่งศรี กุลปรีชา)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ กรรณิกา จันทรสอาด)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กาญจณา จันทองจีน)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

เทพนาฏ พุ่มไพบูลย์ : การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ Aspergillus terreus I10 (ITACONIC ACID PRODUCTION BY IMMOBILIZED MYCELIUM OF Aspergillus terreus I10) อ.ที่ปรึกษา : รศ.กรรณิกา จันทรสอาด, 145 หน้า. ISBN 974-638-888-6.

ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมสายใยตรึงของ Aspergillus terreus I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอม ซึ่งเป็นวัสดุตรึงจากธรรมชาติเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิก คือ เพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงความหนาแน่น $1\text{-}2x10^{8}$ สปอร์ต่อชิ้นเส้นใยบวบหอมหนัก 2.0-2.2 กรัม ซึ่งมีความสูง 5 เซนติเมตร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.0-4.2 เซนติเมตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลทรายขาว 15 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน เป็นเวลา 44 ชั่วโมง เมื่อผลิตกรดในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างพบว่า ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรด คือ อัตราการให้อากาศ 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ใช้กล้าเชื้อหนัก 3.74 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตรที่มีน้ำตาลทรายขาว 40 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน

ส่วนภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมสายใยตรึงในชิ้นพอลียูรีเทนโฟม คือ เพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงความหนาแน่น $1\text{-}2x10^{9}$ สปอร์ต่อพอลิยูรีเทนโฟมรูปลูกบาศก์ ขนาด 0.25 ลูกบาศก์เซนติเมตร หนัก 1 กรัม เป็นเวลา 72 ชั่วโมง สำหรับการผลิตกรดอิทาโคนิกภายใต้ภาวะการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ใช้กล้าเชื้อหนัก 2.69 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตรที่มีน้ำตาลทรายขาว 25 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน

ชิ้นเส้นใยบวบหอมเป็นวัสดุตรึงจากธรรมชาติชนิดใหม่ที่น่าสนใจและเหมาะสำหรับการตรึง Aspergillus terreus I10 เนื่องจากการเตรียมวัสดุตรึงง่ายและใช้เวลาเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อสั้น

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต เทพนาฏ พุ่มไพบูลย์

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2540 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

หมายเลขบันทึกวิทยานิพนธ์ของสถาบันวิทยบริการ

C726452 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY
KEY WORD: Aspergillus terreus I10/ ITACONIC ACID/IMMOBILIZED MYCELIUM / FIBER / POLYURETHANE FOAM
TEPANATA PUMPAIBOOL : ITACONIC ACID PRODUCTION BY IMMOBILIZED MYCELIUM OF Aspergillus terreus I10. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. KANNIKA CHANTARASA-ARD, 145 pp. ISBN 974-638-888-6.

The suitable conditions for preparation of immobilized Aspergillus terreus I10 mycelia on luffa's fruit fiber, natural matrix, were as followed : cultivating 1-2x10^8 immobilized spores per 2.0-2.2 g. dry weight of fiber (5 cm. high, 4.0-4.2 cm. diameter) for 44 hrs. in preculture medium containing 15 g/l. refined-cane sugar, 1.35 g/l. ammonium sulfate as carbon and nitrogen sources respectively. The acid production in glass bubble column under the following optimal conditions : 2.0 vvm. aeration rate, 3.74 g. mycelial dry weight per 1 liter of production medium containing 40 g/l. refined-cane sugar as carbon source, without adding any nitrogen source.

For the preparation of immobilized mycelia in polyurethane foam cube, the suitable conditions were as followed : cultivating 1-2x10^9 immobilized spores per 1 g. of 0.25 $cm.^3$ foam cube in preculture medium for 72 hrs. The production of itaconic acid in glass bubble column with 2.5 vvm. aeration rate, 2.69 g. mycelial dry weight per 1 liter of production medium containing 25 g/l. refined-cane sugar as carbon source without nitrogen source were optimum.

Luffa's fruit fiber, a new natural matrix, was interesting and suitable for immobilized Aspergillus terreus I10 mycelia to produce itaconic acid. It was easy to prepare and the time for cultivation immobilized mycelia on fiber was short.

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต เทพนาฏ ปุ่มไพบูลย์

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา กรรณิกา จันทรสสาธร

ปีการศึกษา 2540 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก รองศาสตราจารย์ กรรณิกา จันทรสอาด อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาเป็นที่ปรึกษา ให้คำแนะนำและแนวคิด พร้อมทั้งตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนสมบูรณ์ จึงขอขอบพระคุณมา ณ.โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ประธานกรรมการ และกรรมการทุกท่านที่กรุณาตรวจสอบและแก้ไขต้นฉบับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จ

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. ชินอิชิ คิโนชิตะ (Prof. Dr. Shinishi Kinoshita) แห่งมหาวิทยาลัยฮอกไกโด ประเทศญี่ปุ่นที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์บางอย่างที่ใช้ในงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ คุณสุนันท์ รังษีกาญจน์ส่อง ที่ช่วยให้คำแนะนำและช่วยวิเคราะห์กรดอิทาโคนิกด้วยเครื่อง HPLC

ขอขอบพระคุณ คุณรัชนีพร ตนเจริญสุข ที่ช่วยถ่ายภาพสายใยตรึงด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด

ขอขอบพระคุณ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ที่ให้ทุนอุดหนุนงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตลอดจนเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจเป็นอย่างดีตลอดมา จนการทำวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงลงด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และคุณยาย ที่ให้การสนับสนุนในทุก ๆ ด้าน ไม่ว่าจะเป็นกำลังใจ และทุนทรัพย์ อย่างดียิ่งเสมอมา จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญรูป ..... ฌ
บทที่
1. บทนำ 1
2. อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย 24
3. ผลการวิจัย 42
4. สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย 110
รายการอ้างอิง 127
ภาคผนวก 136
ประวัติผู้เขียน 145

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. ตัวอย่างสิทธิบัตรที่เกี่ยวข้องกับการผลิตกรดอิทาโคนิก 3
2. ตัวอย่างวัสดุตรึงที่ใช้ในการตรึงเซลล์โดยวิธีกักขังเซลล์ 9
3. ตัวอย่างวัสดุตรึงชนิดต่าง ๆ ที่นิยมใช้ตรึงเซลล์หรือสายใยรา 10
4. ตัวอย่างการใช้จุลินทรีย์ที่ตรึงใน PUF โดยวิธีการทำให้เซลล์หรือสายใยเจริญภายใน PUF เพื่อผลิตสารผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ 12
5. น้ำหนักแห้งของสายใยตรึงที่ได้จากการเตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมเป็นจำนวน 10 ชุด 46
6. การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมเมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกในขวดเขย่าโดยแปรผันความหนาแน่นของสปอร์ในการเตรียมกล้าเชื้อต่างกัน .. 58
7. เปรียบเทียบปริมาณกรดอิทาโคนิก การพบสายใยอิสระ เมื่อแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด 60
8. การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่นต่างกัน ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างเมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศต่าง ๆ กัน 67
9. การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมเมื่อแปรผันความสูงของชิ้นเส้นใยบวบหอม ทำการผลิตกรดในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ... 72
10. การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้น PUF เมื่อแปรผันช่วงเวลาในการเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึง ในการผลิตกรดอิทาโคนิกในขวดเขย่า 79
11. การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้น PUF เมื่อแปรผันความหนาแน่นของสปอร์ที่ใช้ในการเตรียมกล้าเชื้อ ในการผลิตกรดอิทาโคนิกในขวดเขย่า 81
12. การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้น PUF เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศ ในการผลิตกรดอิทาโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง 84
13. การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้น PUF เมื่อแปรผันขนาดของกล้าเชื้อสายใยตรึง ในการผลิตกรดอิทาโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง 85
14. เปรียบเทียบอัตราการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในการทดลองต่างๆ.. 125

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1. สูตรโครงสร้างของกรดอิทาโคนิก 1
2. วิถีการสังเคราะห์กรดอิทาโคนิก 6
3. วัสดุตรึงที่ใช้ในการทดลอง 27
4. การผลิตกรดอิทาโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง 30
5. เปรียบเทียบปริมาณกรดอิทาโคนิกที่ผลิตได้โดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดในขวดเขย่า เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนทดแทนน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ต่างชนิดกัน 43
6. การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่ใช้แหล่งคาร์บอนทดแทนน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ต่างกันในขวดเขย่า 45
7. ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงสุดที่ผลิตได้และน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการผลิตกรดอิทาโคนิกในขวดเขย่าโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอม เป็นจำนวน 10 ชุด 47
8. การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตต่างกัน 49
9. การผลิตกรดอิทาโคนิกในขวดเขย่าโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมเมื่อใช้กล้าเชื้อ 3 ช่วงอายุที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 2.70 กรัมต่อลิตร 51
10. การผลิตกรดอิทาโคนิกในขวดเขย่าโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมเมื่อใช้กล้าเชื้อ 3 ช่วงอายุที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตร 52
11. การผลิตกรดอิทาโคนิกในขวดเขย่าโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมเมื่อใช้กล้าเชื้อ 3 ช่วงอายุที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 0.81 กรัมต่อลิตร 54
12. น้ำหนักแห้งที่เพิ่มขึ้นของสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมระหว่างการผลิตกรดอิทาโคนิกในขวดเขย่า เมื่อใช้กล้าเชื้อสายใยตรึงที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตต่าง ๆ กัน 55

รูปที่ หน้า

13. การผลิตกรดอิทาโคนิกในขวดเขย่าโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมอายุ 44 ชั่วโมงที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตร เมื่อตรึงสปอร์ความหนาแน่นต่างกัน.. 57
14. ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตกรดอิทาโคนิกในขวดเขย่าโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอม เมื่อตรึงสปอร์ความหนาแน่นต่างกัน 59
15. การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่น 1 - 2 x 10^9 สปอร์ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศต่างกัน 62
16. ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่น 1 - 2 x 10^9 สปอร์ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศต่างกัน 63
17. การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่น 1 - 2 x 10^8 สปอร์ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศต่างกัน 64
18. ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่น 1 - 2 x 10^8 สปอร์ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศต่างกัน 65
19. เปรียบเทียบการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อใช้สายใยตรึงที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่นต่างกัน ภายใต้ภาวะที่เหมาะสม 68
20. การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันความสูงของชิ้นเส้นใยบวบหอมที่มีสายใยตรึงต่างกัน 70
21. ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันความสูงของชิ้นเส้นใยบวบหอมที่มีสายใยตรึงต่างกัน 71

รูปที่ หน้า

22. การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อปรับลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด 73
23. ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อปรับลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด 74
24. การเติบโตของสายใยตรึงใน PUF เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน ในขวดเขย่า 76
25. การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงใน PUF ในขวดเขย่า เมื่อแปรผันอายุของกล้าเชื้อสายใยตรึงต่างกัน 77
26. ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงใน PUF ในขวดเขย่า เมื่อแปรผันอายุของกล้าเชื้อสายใยตรึงต่างกัน 78
27. การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงใน PUF ในขวดเขย่า เมื่อตรึงสปอร์ความหนาแน่นต่างกันใน PUF หนัก 1 กรัม 80
28. การผลิตกรดอิทาโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยสายใยตรึงใน PUF หนัก 15.0 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศต่างกัน 82
29. ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตกรดอิทาโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยสายใยตรึงใน PUF หนัก 15.0 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศต่างกัน 83
30. การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงใน PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันน้ำหนักเปียก PUF ที่มีสายใยตรึงต่างกัน 86
31. ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด - ด่างเมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยสายใยตรึงใน PUF เมื่อแปรผันน้ำหนักเปียก PUF ที่มีสายใยตรึงต่างกัน 87

รูปที่ หน้า

32. การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงใน PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อปรับลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด 89
33. ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงใน PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อปรับลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด 90
34. เปรียบเทียบการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมและชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างภายใต้ภาวะที่เหมาะสม... 92
35. ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมและชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างภายใต้ภาวะที่เหมาะสม 93
36. การผลิตกรดอิทาโคนิกซ้ำโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอม ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ภายใต้ภาวะที่เหมาะสม 95
37. การผลิตกรดอิทาโคนิกซ้ำโดยสายใยตรึงใน PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ภายใต้ภาวะที่เหมาะสม 96
38. การผลิตกรดอิทาโคนิกซ้ำโดยสายใยตรึงใน PUF โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดที่มีแอมโมเนียมซัลเฟตในการผลิตซ้ำ ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ภายใต้ภาวะที่เหมาะสม 98
39. โครมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอม ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ภายใต้ภาวะที่เหมาะสม เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC โดยคอลัมน์ Zorbox - C8 99
40. โครมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสายใยตรึงใน PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ภายใต้ภาวะที่เหมาะสม เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC โดยคอลัมน์ Zorbox - C8 100
41. ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดแสดงลักษณะการเติบโตของกล้าเชื้อสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมอายุ 44 ชั่วโมงซึ่งเตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตร กำลังขยาย 200 และ 2,000 เท่า 103

รูปที่ หน้า

42. ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของกล้าเชื้อสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมอายุ 44 ชั่วโมงที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตต่างกัน กำลังขยาย 1,500 เท่า 104
43. ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอม กำลังขยาย 1,500 เท่า 105
44. ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของกล้าเชื้อสายใยตรึงในชิ้น PUF อายุ 72 ชั่วโมง กำลังขยาย 35 เท่า 106
45. ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของสายใยตรึงในชิ้น PUF กำลังขยาย 150 เท่า 107
46. ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของสายใยตรึงในชิ้น PUF กำลังขยาย 1,000 เท่า 108
47. ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดเปรียบเทียบลักษณะของกล้าเชื้อสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมและใน PUF กำลังขยาย 1,000 เท่า 109