บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

สรุปผลการทดลอง

1. เวลาที่เหมาะสมในการใช้แอมเบอร์ไลท์ ไอ-อาร์ 120 พี ดูดซับโซเดียมไอออนออกจากโซเดียมกลูโคเนตมาตรฐาน 100 มิลลิกรัม คือ 30 นาที

2. ปริมาณแอมเบอร์ไลท์ ไอ-อาร์ 120 พี ที่เพียงพอในการดูดซับโซเดียมไอออนออกจากโซเดียมกลูโคเนตมาตรฐาน 100 มิลลิกรัม คือ 9 มิลลิลิตร

3. วิธีการที่เหมาะสมในการใช้แอมเบอร์ไลท์ ไอ-อาร์ 120 พี ดูดซับโซเดียมไอออนออกจากโซเดียมกลูโคเนต คือการบรรจุสารดูดซับลงในคอลัมน์ แล้วผ่านสารละลายโซเดียมกลูโคเนตลงในคอลัมน์นี้

4. การผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต ในระดับขวดเขย่า โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปแคลเซียมกลูโคเนต ให้ผลผลิตกรด 185.56 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการเลี้ยงเชื้อ ต่ำกว่าการผลิตในรูปแคลเซียมกลูโคเนตถึง 16.5 กรัมต่อลิตร

5. ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนตในระดับขวดเขย่า คือ 30 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 237.4 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง

6. ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ในการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต คือ 5.5-6.5

7. สามารถใช้แป้งไฮโดรไลเสส เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนตได้เช่นเดียวกับกลูโคสบริสุทธิ์ โดยที่แป้งไฮโดรไลเสส ที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ผลผลิตกรดใกล้เคียงกับการใช้น้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

8. การผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต ในระดับขวดเขย่า ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม คือแป้งไฮโดรไลเสส ที่มีน้ำตาลกลูโคสข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเป็นกรดด่างอยู่ระหว่าง 5.5-6.5 เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบโรตารี ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 236.64 กรัมต่อลิตร โดยใช้เวลาในการผลิต 8 วัน

9. เมื่อทดลองขยายส่วนการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต ในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่า อัตราการให้อากาศและอัตราการกวนที่เหมาะสม คือ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที และ 600 รอบต่อนาที ตามลำดับ

10. สารกำจัดฟองที่ควบคุมฟองได้ดี และไม่มีผลกระทบต่อการผลิตกรดกลูโคนิคโดย *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 คือ อะดีคานอล

11. การผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมโดยใช้น้ำประปา และไม่เติมธาตุใดๆ ให้ผลผลิตกรดใกล้เคียงกับการผลิตโดยใช้น้ำปลอดประจุที่มีการเติมธาตุครบสูตร คือ 280.40 กรัมต่อลิตร และ 281.19 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 42 ของการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกัน

12. เมื่อขยายส่วนการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม คือ ใช้องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อตามภาคผนวก ก.2 โดยใช้แป้งไฮโดรไลเสส ที่มีน้ำตาลกลูโคสข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นแหล่งคาร์บอน ควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ระหว่าง 5.5-6.5 อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที และอัตราการกวน 600 รอบต่อนาที ใช้อะดีคานอลเป็นสารกำจัดฟอง พบว่า ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 281.19 กรัมต่อลิตร โดยใช้เวลาในการผลิต 42 ชั่วโมง

13. เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิคในระดับขวดเขย่า และในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมของทั้งสองระดับ พบว่า ระดับถังหมักให้ผลผลิตสูงกว่าถึง 46.55 กรัมต่อลิตร และใช้ระยะเวลาในการผลิตเพียง 42 ชั่วโมง ซึ่งเร็วขึ้นกว่า ระดับขวดเขย่า 6 วัน 6 ชั่วโมง (150 ชั่วโมง)

14. วิธีการการกรองใช้เฉพาะสายใย *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 จากอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นวิธีการที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิคซ้ำ และปริมาณสายใยที่เหมาะสม คือ สายใยจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสายใยเจริญ 15 มิลลิลิตรต่ออาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ 50 มิลลิลิตร หรือ 30 % ปริมาตร/ปริมาตร

15. เมื่อผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต โดยใช้สายใย *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ซ้ำ 4 ครั้งติดต่อกันในระดับขวดเขย่า พบว่า ผลผลิตกรดของ 4 ครั้งใกล้เคียงกันคือ การเลี้ยงเชื้อครั้งแรก ให้ผลผลิตกรด 232.6 กรัมต่อลิตรในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 1 2 และ 3 ให้ผลผลิตกรด 228.12 226.20 และ 227.50 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง การใช้สายใยซ้ำแต่ละครั้งสามารถลดระยะเวลาในการผลิตลงได้ 2 วัน

16. เมื่อผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต โดยใช้สายใย *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ซ้ำ 4 ครั้งติดต่อกันในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่า ผลผลิตกรดของทั้ง 4 ครั้งใกล้เคียงกัน แต่ระยะเวลาที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุดต่างกัน คือ ในการเลี้ยงเชื้อครั้งแรก ให้ผลผลิตกรด 282.32 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 42 ของการเพาะเลี้ยง การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 1 2 และ 3 ให้ผลผลิตกรด 280.32 279.10 และ 280.91 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 30 34 และ 32 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ การใช้สายใยซ้ำแต่ละครั้งสามารถลดระยะเวลาในการผลิตได้ ประมาณ 10 ชั่วโมง

17. เมื่อเปรียบเทียบการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต โดยใช้สายใย *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 ซ้ำ 4 ครั้งติดต่อกันในสภาวะที่เหมาะสมทั้งในระดับขวดเขย่า และถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่า ในถังหมักให้ผลผลิตกรดสูงกว่าในระดับขวดเขย่า 217.15 กรัมต่อลิตร และ ใช้เวลาในการผลิตน้อยกว่าระดับขวดเขย่า 20 วัน

18. การกรองเก็บสายใย *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 ไว้ที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส แล้วนำมาผลิตกรดซ้ำ ภายในเวลา 3 วัน สายใยยังคงมีประสิทธิภาพ ในการผลิตกรดในปริมาณสูงใกล้เคียงกับการเลี้ยงเชื้อครั้งแรก

19. การวิเคราะห์ชนิดของกรด ที่ผลิตโดย *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 โดยใช้แอมเบอร์ไลท์ ไอ-อาร์ 120 พี เป็นตัวดูดซับโซเดียมไอออน ออกจากโซเดียมกลูโคเนต แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC พบว่า เป็นกรดกลูโคนิค เนื่องจากมีช่วงเวลาอยู่ในคอลัมน์เท่ากับกรดกลูโคนิคมาตรฐาน

วิจารณ์ผลการทดลอง

การตรวจหาปริมาณกรดกลูโคนิคที่ผลิตขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำโดยดูดซับโซเดียมไอออนออกจากโซเดียมกลูโคเนต แล้วไตเตรทหาปริมาณกรดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Su และคณะ, 1977) มีความจำเป็นต้องศึกษาหาเวลา และ ปริมาณของแอมเบอร์ไลท์ ไอ-อาร์ 120 พี ที่เหมาะสม เพื่อให้มีการดูดซับโซเดียมไอออนอย่างสมบูรณ์ แอมเบอร์ไลท์ ไอ-อาร์ 120 พี เป็นแคทไอออนเอ็กซ์เชนจ์ที่แรง (strong cation exchanger) จึงนำมาใช้ดูดซับโซเดียมไอออนออกจากโซเดียมกลูโคเนตในงานวิจัยนี้ จากผลการทดลองดูดซับโซเดียมไอออนออกจากโซเดียมกลูโคเนตมาตรฐาน พบว่า แอมเบอร์ไลท์ปริมาณ 9 มิลลิลิตร เป็นปริมาณที่เพียงพอในการดูดซับโซเดียมไอออนออกจากโซเดียมกลูโคเนตมาตรฐาน 100 มิลลิกรัม ใช้เวลาดูดซับ 30 นาที และเมื่อทดลองหาวิธีการที่เหมาะสม ในการดูดซับโซเดียมไอออนออกจากโซเดียมกลูโคเนตมาตรฐาน 100 มิลลิกรัม พบว่า การใช้คอลัมน์เป็นวิธีการที่เหมาะสม สะดวกกว่าวิธีการกวนโดยใช้เครื่องกวน และ ตรวจพบปริมาณกรดกลูโคนิคสูง 82.39 มิลลิกรัม จึงนำผลการทดลองนี้มาใช้กับการตรวจหาปริมาณกรดกลูโคนิค ในการทดลองต่าง ๆ ที่เชื้อ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ผลิตขึ้น

ได้มีรายงานเกี่ยวกับ แอมเบอร์ไลท์ไอ-อาร์ 120 พี ว่า มีสมบัติสามารถแลกเปลี่ยนไฮโดรเจนไอออนกับไอออนอื่น ๆ ได้ดี และการทำไอออนเอ็กซ์เชนจ์แบบคอลัมน์ เป็นวิธีการที่ช่วยให้การแลกเปลี่ยนไอออนเกิดได้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น (ธวัชชัย ศรีวิบูลย์ ,2533)

การทดลองผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต จาก *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ (ภาคผนวก ก.2)และสภาวะที่เหมาะสมจากการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปแคลเซียมกลูโคเนต คือ เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบรีดารีความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอน (รติกร กัณฑพงศ์ ,2534) ควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อให้อยู่ในระหว่าง 5.5-6.5 ด้วย 1 นอร์มอล โซเดียมไฮดรอกไซด์ แทนการใช้แคลเซียมคาร์บอเนต ผลการทดลอง พบว่าได้ผลผลิตกรดสูงสุด 185.56 กรัมต่อลิตรหรือ 74.22 % (น้ำหนักต่อน้ำหนักน้ำตาลกลูโคสตั้งต้น) ในวันที่ 7 ของการเลี้ยงเชื้อ เมื่อพิจารณาผลผลิตกรด พบว่า เป็นปริมาณที่ต่ำกว่า การผลิตในรูปแคลเซียมกลูโคเนตภายใต้สภาวะเดียวกันซึ่งให้ผลผลิตถึง 282 กรัมต่อลิตร หรือ 94 % (รติกร

กัณฑพงศ์ ,2534) เป็นไปได้ว่า ยังมีสภาวะบางประการที่ยังไม่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิค ในรูปโซเดียมกลูโคเนต จึงได้ทดลองแปรผันสภาวะบางประการ เพื่อเพิ่มผลผลิตกรดให้สูงขึ้น

มีรายงานเกี่ยวกับการผลิตแคลเซียมกลูโคเนตว่า มีข้อจำกัดในเรื่องปริมาณแหล่งคาร์บอนตั้งต้น ถ้าใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสสูง จะทำให้เกิดตะกอนแคลเซียมกลูโคเนตขึ้น และรบกวนการหมัก (Moyer และคณะ ,1940) แต่การผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต ไม่มีข้อจำกัดดังกล่าว จึงทดลองแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า น้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 237.40 กรัมต่อลิตร หรือ 79.13 % (น้ำหนักต่อน้ำหนักกลูโคสตั้งต้น) ในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง โดยในช่วงแรกปริมาณกรดที่ผลิตค่อนข้างต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับผลผลิตกรดของเชื้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25 % สันนิษฐานว่า ในช่วงแรก เซลต้องปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อม เนื่องจากความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าสูง แต่ต่อมา เมื่อน้ำตาลถูกใช้ไปมากขึ้น ปริมาณกรดจึงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ตั้งแต่วันที่ 5 ของการเลี้ยงเชื้อ และ มีค่าสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25 % และ 35 % เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 35 % พบว่า ให้ผลผลิตกรดต่ำ และ มีการเติบโตน้อย แสดงว่า น้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 35 % เป็นความเข้มข้นที่สูงเกินไปไม่เหมาะสมต่อการผลิตกรด และ การเติบโต ผลการทดลองนี้เป็นไปในทำนองเดียวกับ Blom และคณะ (1952) ซึ่งทดลองผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนตในระดับโรงงานต้นแบบ จาก *Aspergillus niger* พบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด คือ 30 % นอกจากนี้ยังมีรายงานอีกว่า สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสเข้มข้นสูงถึง 42 % ในการผลิตโซเดียมกลูโคเนตจาก *Aspergillus niger* NRRL3 โดยให้ผลผลิตสูงถึง 94.3 % (Ziffer และคณะ ,1969)

ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ มีผลโดยตรงต่อการผลิตกรดกลูโคนิค และการเจริญ และเป็นความจำเพาะเจาะจงสำหรับจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์ ช่วงความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่สูงหรือต่ำเกินไป จะทำให้ผลผลิตกรดลดลง ดังจะเห็นได้ว่า ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ต่อการผลิตกรดกลูโคนิค โดย *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 คือ 5.5-6.5 โดยให้ผลผลิตกรดสูง 237 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 8 วัน แต่เมื่อควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้อยู่ระหว่าง 4.5-5.5 พบว่า ผลผลิตกรดลดลงมาก คือให้ผลผลิตกรดเพียง 90.40 กรัมต่อลิตร การเจริญก็ลดลงด้วย คือให้น้ำหนักแห้ง

ของสายใยเพียง 12 กรัมต่อลิตร หรือถ้าปรับความเป็นกรดด่างให้อยู่ในช่วง 6.5-7.5แล้วผลผลิตก็ต่ำกว่าช่วง 5.5-6.5 Ziffer และคณะ (1969) กับ Sakurai และคณะ (1989) รายงานว่า ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตโซเดียมกลูโคเนตจาก *Aspergillus niger* คือ 6.2-6.6 และ 6.0 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองนี้

จากการทดลองใช้แป้งมันสำปะหลังไฮโดรไลเสส เป็นแหล่งคาร์บอนแทนน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์ในการผลิตกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต โดยปรับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในแป้งไฮโดรไลเสส เท่ากับ 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพาะเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้ทดลองศึกษามาแล้ว ผลการทดลอง พบว่า ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 236.64 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 8 ของการเลี้ยงเชื้อ ซึ่งผลผลิตกรดใกล้เคียงกับการใช้กลูโคสบริสุทธิ์มาก (รูปที่ 17) จึงเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนแทนกลูโคสบริสุทธิ์ เพื่อลดต้นทุนการผลิต

ได้มีรายงานการทดลองใช้แป้งมันสำปะหลังไฮโดรไลเสส เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อผลิตโซเดียมกลูโคเนตจาก *Pullularia pullulans* ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ให้ผลผลิตกรดสูงถึง 97 % (Su และคณะ,1977) นอกจากนี้ มีการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปแคลเซียมกลูโคเนต จากเชื้อ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้แป้งมันสำปะหลังไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสข้น 20 % เป็นแหล่งคาร์บอนแทนกลูโคสบริสุทธิ์ พบว่า ได้ผลผลิตกรด 95.64 % ในเวลา 36 ชั่วโมง (บาจรีย์ จันทราภาณุกร,2536)

การทดลองขยายส่วนการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต จากการผลิตในระดับขวดเขย่าเป็นถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นแหล่งคาร์บอน ควบคุมความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ และ อุณหภูมิให้เหมาะสมโดยใช้อุปกรณ์ควบคุมสภาวะ ใช้อะดีคานอลเป็นสารกำจัดฟอง ทำการศึกษาผลการให้อากาศในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยแปรผันอัตราการให้อากาศ และอัตราการกวนต่าง ๆ กัน พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศให้สูงขึ้นผลผลิตกรดกลูโคนิคก็เพิ่มขึ้นด้วย เมื่ออัตราการให้อากาศ เท่ากับ 1.75 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 284.77 กรัมต่อลิตร ในเวลา 54 ชั่วโมง แต่เนื่องจากอัตราการให้อากาศอัตรานี้ เป็นความสามารถสูงสุดของถังหมักเครื่องนี้ ซึ่งทำให้สูญเสียพลังงานมาก ประกอบกับเมื่อพิจารณาผลของอัตราการให้อากาศที่ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที พบว่าให้ผลผลิตต่ำลงเพียงเล็กน้อย คือ 283.75 กรัมต่อลิตรในเวลา 54 ชั่วโมงเช่นกัน จึงเหมาะสมที่จะนำการให้อากาศอัตรานี้ มาใช้ในการทดลองต่อไปผลการ

ทดลองนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Wells และคณะ (1937) ซึ่งศึกษาผลของอัตราการให้อากาศต่อการผลิตกรดกลูโคนิค โดย *Aspergillus niger* พบว่า เมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศมากขึ้น ผลผลิตกรดก็สูงขึ้นตามไปด้วย ซึ่งเขาได้ทดลองเพิ่มอัตราการให้อากาศจาก 200 มิลลิลิตรต่อนาที เป็น 1600 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่า ปริมาณกรดที่ผลิตเพิ่มขึ้นจาก 269 กรัมเป็น 429 กรัม

เมื่อแปรผันอัตราการกวนต่าง ๆ กัน 3 อัตรา คือ 500 600 และ 700 รอบต่อนาที โดยกำหนดอัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.5 ลิตร/ลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ/นาที พบว่า เมื่ออัตราการกวนเพิ่มสูงขึ้นจาก 500 รอบต่อนาที เป็น 600 และ 700 รอบต่อนาที พบว่าให้ผลผลิตกรดมิได้เพิ่มขึ้นตามอัตราการกวน คือ ให้ผลผลิต 280.34 281.19 และ 283.74 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกัน แต่สามารถลดระยะเวลาที่ใช้ในการผลิตกรดลงได้คือ อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที ใช้เวลาในการผลิต 54 ชั่วโมง แต่เมื่อใช้อัตราการกวน 600 และ 700 รอบต่อนาทีใช้เวลาในการผลิต 42 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาถึงผลผลิตกรดและการประหยัดพลังงานในการควบคุมการกวน พบว่า อัตราการกวนที่ 600 รอบต่อนาทีเป็นอัตราการกวนที่เหมาะสม ให้ผลผลิตสูง ในเวลาสั้น และไม่สิ้นเปลืองจนเกินไป

เมื่อพิจารณาถึงการเติบโตที่วัดจากน้ำหนักแห้งของสายใย พบว่า ที่อัตราการกวนสูง ๆ คือ 600 และ 700 รอบต่อนาที มีน้ำหนักแห้งของสายใยต่ำกว่าที่อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที เล็กน้อย แต่ผลผลิตกรดสูงสุดใกล้เคียงกัน ลักษณะของสายใยที่อัตราการกวน 600 และ 700 รอบต่อนาที เป็นก้อนกลม (pellet) ขนาดเล็ก เป็นไปได้ว่า การที่ก้อนสายใยมีขนาดเล็กเนื่องจากแรงปั่นเหวี่ยงในอัตราเร็วสูง ทำให้มีพื้นที่ผิวในการสัมผัสกับอาหารเลี้ยงเชื้อมากขึ้น การผลิตกรดจึงสูง ได้มีรายงานสนับสนุนข้อสันนิษฐานนี้ โดยกล่าวว่า ประสิทธิภาพในการให้อากาศจะดีเมื่อมีการกวนร่วมด้วย โดยมีผลในการเพิ่มผิวสัมผัสระหว่างอากาศกับอาหารเลี้ยงเชื้อ การกวนทำให้มีฟองอากาศเล็ก ๆ จำนวนมากและทำให้กลุ่มก้อนของเซลมีขนาดเล็กลง ออกซิเจนสามารถซึมเข้าสู่เซลได้ง่าย (Zetelaki และ Vas,1968) และได้มีรายงานเกี่ยวกับการผลิตกรดกลูโคนิคว่า การหมักในระบบที่มีการให้อากาศและการกวน เซลจะได้รับออกซิเจนจากอากาศที่ซึมบริเวณผิวของฟองอากาศโดยตรงอย่างรวดเร็ว เมื่อมีการเพิ่มอัตราการให้อากาศและอัตราการกวน จึงทำให้ผลผลิตกรดสูงขึ้น เนื่องจากอัตราการผลิตกรดกลูโคนิคขึ้นกับ อัตราการนำออกซิเจนไปใช้ (oxygen uptake rate) (Ghosh และ Ghose,1978)

จากการศึกษาสารกำจัดฟอง 3 ชนิดคือ อะดีคานอล น้ำมันถั่วเหลือง 100 % และน้ำมันหมู เพื่อใช้ควบคุมฟองที่เกิดขึ้นในถังหมัก เพราะหากฟองอากาศเกิดขึ้นมากจนล้นออกนอกถังหมักจะเป็นตัวเชื่อมต่อระหว่างระบบภายในถังหมักกับภายนอก ทำให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ (วราวุฒิ ครูส่ง ,2529) ผลการทดลองพบว่า อะดีคานอล สามารถควบคุมฟองได้ดี และไม่มีผลรบกวนต่อการผลิตกรด โดยให้ผลผลิตกรดสูงสุด 282 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 42 ชั่วโมง ส่วนน้ำมันถั่วเหลือง 100 % และน้ำมันหมู สามารถควบคุมฟองได้ดีเช่นกัน แต่ให้ผลผลิตกรดต่ำลง ซึ่งผลการทดลองเป็นไปในทำนองเดียวกับ Blom และคณะ (1952) ซึ่งได้ทดลองใช้น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันหมูเป็นสารกำจัดฟอง พบว่าให้ผลผลิตต่ำลงเช่นกัน เนื่องจากเกิดการทำลายระบบเอนไซม์ โดยอัตราการใช้น้ำตาลต่ำลง อย่างไรก็ตาม ยังมีการใช้น้ำมันเมล็ดฝ้าย (cotton seed oil) เป็นสารกำจัดฟองในการผลิตแคลเซียมกลูโคเนต พบว่าให้ผลผลิตกรดสูง 92.8 % (Mahmoud และคณะ ,1977)

การทดลองผลิตกรดกลูโคนิค ในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยใช้น้ำประปาแทนน้ำปลอดประจุในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยไม่เติมธาตุใด ๆ พบว่า สามารถผลิตกรดได้สูงใกล้เคียงกับการเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากน้ำปลอดประจุ และมีการเติมธาตุครบ (ภาคผนวก ก.2) โดยให้ผลผลิตกรดสูงสุด 280.40 กรัมต่อลิตร หรือเท่ากับ 93.46 %(น้ำหนักต่อน้ำหนักกลูโคสตั้งต้น ที่เวลา 42 ชั่วโมง

ได้มีรายงานเกี่ยวกับการใช้น้ำประปา แทนน้ำปลอดประจุในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตโซเดียมกลูโคเนต พบว่า การผลิตกรดดังกล่าวโดยเชื้อ *Aspergillus niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมธาตุบางชนิด ให้ผลผลิตกรดสูงเกือบ 100 % (Blom และคณะ ,1952) นอกจากนี้ มีการใช้น้ำประปาในการผลิตแคลเซียมกลูโคเนต จาก *Aspergillus niger* NRRL 3 (Yasin และคณะ,1969) และ *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 (บาจรีย์ จันทราภาณุกร,2536) พบว่า ให้ผลผลิตสูงเช่นกัน

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตกรดกลูโคนิค ในระดับขวดเขย่ากับในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่เหมาะสมจากผลการทดลองที่ได้ศึกษามาแล้ว พบว่า ผลผลิตกรดสูงสุด มีปริมาณสูงกว่าระดับขวดเขย่า 46.55 กรัมต่อลิตร เวลาที่ใช้ในการผลิตลดลง 150 ชั่วโมง ส่วนการใช้น้ำตาลของเชื้อในถังหมัก ลดลงอย่างรวดเร็ว และหมดเร็วกว่าในระดับขวดเขย่า 152 ชั่วโมง

การเลี้ยงเชื้อในถังหมักขนาด 5 ลิตร มีข้อได้เปรียบกว่าในขวดเขย่า เนื่องจากสามารถเพิ่มปริมาณออกซิเจนได้ในอัตราที่สูงกว่า โดยอาศัยการให้อากาศและการกวนในอัตราที่สูง นอกจากนี้ สามารถควบคุมความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ และ อุณหภูมิให้เหมาะสมด้วยเครื่องควบคุมอัตโนมัติ ทำให้เชื้อเจริญ และให้ผลผลิตกรดสูงในเวลารวดเร็วกว่าการเพาะเลี้ยงในขวดเขย่ามาก

จากการศึกษาการนำสายใยของเชื้อ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ที่ผลิตกรดกลูโคนิคแล้วมาใช้ซ้ำ โดยใช้สายใยซ้ำสองชนิด พบว่าชนิดที่กรองใช้เฉพาะสายใย จากอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 15 มิลลิลิตร ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 227.10 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงเชื้อครั้งแรก พบว่า ให้ผลผลิตกรดใกล้เคียงกัน (รูปที่ 35) ส่วนการผลิตกรดซ้ำชนิดที่ไม่ได้กรองสายใยจากอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 15 มิลลิลิตร พบว่า ผลผลิตกรดต่ำลงกว่าการผลิตกรดครั้งแรก คือ ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 223 กรัมต่อลิตร และวิธีการนี้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเปลี่ยนแปลงตั้งแต่เริ่มต้นเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ ในอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่มีโซเดียมกลูโคเนตจากอาหารเลี้ยงเชื้อเดิมด้วย จึงต้องตรวจหาปริมาณโซเดียมกลูโคเนตและน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น เพื่อให้ทราบถึงปริมาณการผลิตกรดในระหว่างการเลี้ยงเชื้อซ้ำ และความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้น ซึ่งจะไม่สะดวก วิธีการกรองใช้เฉพาะสายใยจึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมกว่า เพราะตรวจพบผลผลิตกรดสูง รวมทั้งไม่มีโซเดียมกลูโคเนต และความเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลเมื่อเริ่มต้นเลี้ยงเชื้อ

ได้มีรายงานเกี่ยวกับการผลิตกรดกลูโคนิค ในรูปแคลเซียมกลูโคเนตโดยใช้สายใยของ *Aspergillus niger* สายพันธุ์ 67 ซ้ำ โดยมีการใช้สายใยซ้ำทั้งสองชนิด คือชนิดที่นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสายใยเจริญอยู่มาผลิตกรดซ้ำ (Porges และคณะ,1940) และชนิดที่กรองใช้เฉพาะสายใย (Porges และคณะ, 1941) ซึ่งพบว่า เมื่อใช้สายใยซ้ำทั้งสองชนิด ผลผลิตกรดไม่ลดลง และสามารถลดระยะเวลาในการผลิตลง

จากการศึกษาหาปริมาณสายใย *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 ที่เหมาะสม เพื่อนำมาใช้ผลิตกรดซ้ำ ในการทดลองต่อไป พบว่า สายใยที่ได้จากการกรองอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 15 มิลลิลิตร ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ 50 มิลลิลิตร (30 % ปริมาตร/ปริมาตร)ให้ผลผลิตกรดสูงกว่าปริมาณสายใยจากอาหารเลี้ยงเชื้ออีก 2 ขนาด คือ 10 มิลลิลิตร และ 20 มิลลิลิตร โดยให้ผลผลิตกรดสูงสุด 229.05 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งผลผลิตกรดใกล้เคียงกับการเลี้ยงเชื้อครั้งแรกที่ให้ผลผลิตกรด 232 กรัมต่อลิตร แต่สามารถลดเวลาในการผลิตลงได้ 2 วัน

มีรายงานการใช้สายใย *Aspergillus niger* ซ้ำเพื่อผลิตกรดกลูโคนิค โดย Hatcher (1972) พบว่า สามารถกรองใช้สายใยจากอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 10 % - 20 % (ปริมาตร/ปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อเดิม) มาเลี้ยงเชื้อซ้ำได้ ส่วนการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปแคลเซียมกลูโคเนตโดยใช้สายใย *Aspergillus niger* สายพันธุ์ 67 ซ้ำ พบว่า การกรองใช้เฉพาะสายใยโดยอุปกรณ์กรองที่ออกแบบอย่างเหมาะสม กรองสายใยได้สะดวก และ ไม่มีปัญหาเรื่องการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น สามารถนำสายใยปริมาณมาก ประมาณ 75 % (ปริมาตร/ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อเดิม)มาผลิตกรดซ้ำได้ถึง 9 ครั้ง โดยผลผลิตไม่ลดลงและยังลดระยะเวลาที่ใช้ในการผลิตลงด้วย (Porges และ คณะ,1941)

การทดลองผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต จากสายใยของ *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ G 153 ซ้ำ พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงในระดับขวดเขย่าติดต่อกัน 4 ครั้ง ผลผลิตกรดของทั้ง 4 ครั้ง ใกล้เคียงกัน โดยการเลี้ยงเชื้อครั้งแรก ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 232.6 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 8 วัน การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 1 ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 228.12 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 2 และ 3 ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 226.20 และ 227.50 กรัมต่อลิตร ในเวลา 6 วันเช่นกัน เมื่อพิจารณาการใช้น้ำตาลและการเติบโต พบว่า เมื่อใช้สายใยซ้ำน้ำตาลถูกใช้ไปอย่างรวดเร็ว และ หมดเร็วกว่าการเลี้ยงเชื้อครั้งแรก สันนิษฐานว่า จุลินทรีย์ที่นำมาใช้ซ้ำอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมมีความพร้อม สามารถออกซิไดซ์น้ำตาลกลูโคสเป็นกรดกลูโคนิคได้ทันที เพราะ เป็นสายใยที่เจริญอยู่แล้ว มีน้ำหนักแห้งของสายใยสูงตั้งแต่เริ่มต้นเลี้ยงเชื้อ แตกต่างจากการเลี้ยงเชื้อครั้งแรกจากสปอร์งอก น้ำหนักแห้งของสายใยเริ่มต้นมีค่าเข้าใกล้ศูนย์ การใช้น้ำตาลและการเจริญเติบโตเป็นไปอย่างช้า ๆ ผลผลิตกรดมีปริมาณน้อย แต่จะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเลี้ยงเชื้อไปประมาณ 5 วัน ทั้งนี้เนื่องจากในช่วงแรก (lag phase)เชื้อต้องมีการสะสมเอนไซม์ โคเอนไซม์ และสารมัธยันตร์ที่จำเป็น (Freeman, 1985) รวมทั้งปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อม หลังจากนั้น เชื้อจึงจะเจริญอย่างรวดเร็ว และผลิตกรดสูง

เมื่อใช้สายใยซ้ำ เพาะเลี้ยง 4 ครั้งติดต่อกัน ให้ผลผลิตกรดรวม 905.50 กรัมต่อลิตร ซึ่งการใช้สายใยซ้ำไม่ได้ทำให้ผลผลิตลดลง และยังสามารถลดระยะเวลาในการผลิต โดยใช้เวลาเพียง 26 วัน ใช้เวลาในการเตรียมสปอร์งอกในการเลี้ยงเชื้อครั้งแรกเพียงครั้งเดียว

(16 ชั่วโมง) ซึ่งทำให้ลดต้นทุนการผลิตลง เพราะถ้าไม่ได้ใช้สายใยซ้ำต้องใช้เวลาในการผลิต 32 วัน มากกว่าการใช้สายใยซ้ำ 6 วัน และต้องใช้เวลาในการเตรียมหัวเชื้อที่เป็นสปอร์งอกอีก 3 ครั้ง รวมเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น

ทดลองผลิตกรดโดยใช้สายใยซ้ำ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยเพาะเลี้ยง 4 ครั้งติดต่อกัน พบว่าผลผลิตกรดกลูโคนิคของ 4 ครั้งใกล้เคียงกัน แต่ระยะเวลาในการผลิตที่ให้กรดสูงสุดแตกต่างกัน โดยการเลี้ยงเชื้อครั้งแรก ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 282.32 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 42 ชั่วโมง การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 1 ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 280.32 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 30 ของการเพาะเลี้ยง การใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 2 และ 3 ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 279.10 และ 280.91 กรัมต่อลิตร ในเวลา 34 และ 32 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าเวลาที่ใช้ในการผลิตกรดสูงสุดเมื่อใช้สายใยซ้ำลดลงประมาณ 10 ชั่วโมง ต่อการเลี้ยงเชื้อแต่ละครั้ง รูปแบบของการผลิตกรด การใช้น้ำตาล และการเติบโต เป็นไปในทำนองเดียวกับการเลี้ยงเชื้อในขวดเขย่า คือ การเลี้ยงเชื้อครั้งแรก เมื่อเริ่มต้นเพาะเลี้ยงมีสายใยจากสปอร์งอกน้ำหนักแห้งเข้าใกล้ศูนย์ การเติบโตและการใช้น้ำตาลเป็นไปอย่างช้า ๆ ในช่วง 18 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้น จึงเจริญเติบโตและผลิตกรดอย่างรวดเร็ว เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สายใยซ้ำครั้งที่ 1 2 และ 3 ซึ่งมีสายใยที่เจริญเติบโตพร้อมที่จะผลิตกรดได้ทันที พบว่า น้ำตาลกลูโคสถูกใช้หมดเร็วกว่าการเลี้ยงเชื้อครั้งแรกประมาณ 6 ชั่วโมง ผลผลิตกรดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีปริมาณมากตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยงเชื้อ ทำให้ใช้เวลาในการผลิตกรดสูงสุดสั้นลง แต่ผลผลิตกรดสูงสุดของการใช้สายใยซ้ำทั้ง 4 ครั้งใกล้เคียงกัน

เมื่อเพาะเลี้ยง 4 ครั้งติดต่อกันโดยใช้สายใยซ้ำ ได้ผลผลิตกรดรวม 1122.65 กรัมต่อลิตร ใช้เวลาในการผลิตรวม 138 ชั่วโมง (5 วัน 18 ชั่วโมง) ถ้าเพาะเลี้ยงโดยไม่ใช้สายใยซ้ำต้องใช้เวลาถึง 168 ชั่วโมง (7 วัน) ซึ่งมากกว่าการใช้สายใยซ้ำ 30 ชั่วโมง นอกจากนี้ ต้องใช้เวลาและต้นทุนในการเตรียมหัวเชื้อเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการเลี้ยงเชื้อในระดับขวดเขย่าที่กล่าวข้างต้น คือใช้เวลาเพิ่มอีก 48 ชั่วโมง (2 วัน) ดังนั้นการใช้สายใยซ้ำจึงเป็นวิธีการผลิตที่เป็นที่น่าสนใจในทางอุตสาหกรรม เพราะนอกจากผลผลิตจะไม่ลดลงแล้ว ยังสามารถลดระยะเวลา และต้นทุนได้อีกด้วย

มีรายงานการใช้สายใยซ้ำ ในการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปแคลเซียมกลูโคเนตโดยเชื้อ *Aspergillus niger* สายพันธุ์ 3 พบว่า สามารถผลิตกรดกลูโคนิคโดยการกรองเฉพาะสายใยมาใช้ซ้ำ 4 ครั้งติดต่อกัน โดยผลผลิตกรดไม่ลดลง (Moyer และคณะ,1940) นอกจากนี้ มีการผลิต

กรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยใช้สายใย *Aspergillus niger* สายพันธุ์ 67 ซ้ำ 9 ครั้ง ติดต่อกัน โดยผลผลิตยังคงเดิมเช่นกัน (Porges และคณะ, 1941)

เมื่อเปรียบเทียบการผลการผลิตกรดกลูโคนิค โดยใช้สายใย *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 ซ้ำ เพาะเลี้ยง 4 ครั้งติดต่อกัน ในสภาวะที่เหมาะสมระดับขวดเขย่า และในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่า ในถังหมัก 5 ลิตร ให้ผลผลิตกรดสูงกว่าในระดับขวดเขย่า และ ใช้เวลาน้อยกว่าทั้ง 4 ครั้งของการเพาะเลี้ยงซ้ำ โดยในระดับขวดเขย่า มีผลผลิตกรดรวม 905.50 กรัมต่อลิตร ใช้เวลาในการผลิต 26 วัน ในถังหมักผลผลิตกรดรวม 1122.65 กรัมต่อลิตร ใช้ระยะเวลาในการผลิต 138 ชั่วโมง (5 วัน 18 ชั่วโมง) ผลผลิตสูงกว่าในขวดเขย่าถึง 217.15 กรัมต่อลิตร และใช้เวลาน้อยกว่าในระดับขวดเขย่า 20 วัน ทั้งนี้เนื่องจากในถังหมักมีปัจจัยที่เอื้ออำนวยต่อการผลิตกรดดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น การผลิตกรดในขวดเขย่าเป็นการทดลองเบื้องต้นเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้สายใยซ้ำ หลังจากที่ได้ผลดีมีความสามารถในการผลิตกรดสูง จึงมีการขยายส่วนการผลิตให้มีขนาดใหญ่ขึ้น

จากผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสายใย *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 ที่เก็บไว้ที่เวลาต่าง ๆ กัน ก่อนนำมาใช้ เพื่อผลิตกรดซ้ำ พบว่า สายใยที่กรองแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส เมื่อนำมาใช้ผลิต กรดซ้ำภายในเวลา 3 วัน จะยังคงมีประสิทธิภาพในการผลิตกรดกลูโคนิคได้ในปริมาณสูงใกล้เคียงกับการผลิตกรดครั้งแรก แต่หากเก็บไว้เป็นเวลานานกว่า 3 วัน ผลผลิตกรดจะลดลง และมีการเติบโตน้อย อาจเป็นไปได้ว่า เชื้อขาดสารอาหารเป็นเวลานาน สภาวะต่าง ๆ ไม่เหมาะสม จึงทำให้เชื้อไม่สามารถปรับตัวให้มีประสิทธิภาพในการผลิตกรดได้ดังเดิม

จากผลการวิเคราะห์ชนิดของกรด ที่ผลิตโดยเชื้อ *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G153 ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Zorbox C-8 พบว่า เป็นกรดกลูโคนิคเนื่องจากมีช่วงเวลาอยู่ในคอลัมน์เท่ากับกรดกลูโคนิคมาตรฐาน (รูปที่ 50) แสดงให้เห็นว่า เชื้อผลิตกรดกลูโคนิคเพียงชนิดเดียว

ได้มีรายงานเกี่ยวกับการวิเคราะห์กรดกลูโคนิคและโซเดียมกลูโคเนต ด้วยเครื่อง HPLC พบว่าสามารถแยกกรดกลูโคนิคออกจากกรดชนิดอื่นได้อย่างชัดเจน และสามารถวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมกลูโคเนตได้ปริมาณใกล้เคียงกัน ถึงแม้ว่าจะใช้ชนิดของคอลัมน์แตกต่างกันถึง 3 ชนิด คือ Aminex HPX-87 , Hamilton HC-X 8.00 และ Nucleosil 10 NH_3 (Rajakyla, 1981)

จากผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมบางประการ สำหรับการผลิตกรดกลูโคนิคในรูป โซเดียมกลูโคเนต จากเชื้อ *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 ทั้งในระดับขวดเขย่าและ ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่า เชื้อ *Aspergillus* sp.สายพันธุ์ G 153 เป็นสายพันธุ์ ราที่น่าจะนำไปใช้ในการศึกษา และพัฒนาสายพันธุ์รวมทั้งการขยายส่วนการผลิตให้ใหญ่ขึ้นต่อไป เนื่องจากให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงมาก ใช้ระยะเวลาในการผลิตน้อย นอกจากนี้ การผลิต ยังสามารถใช้แหล่งวัตถุดิบที่มีราคาถูกทดแทนได้ เป็นการลดต้นทุนการผลิต และโดยเฉพาะ อย่างยิ่งการใช้สายใยซ้ำเป็นวิธีการที่น่าสนใจ เพราะนอกจากผลผลิตจะไม่ลดลงแล้ว ยัง สามารถลดระยะเวลา และ ต้นทุนการผลิตอีกด้วย