บทที่ 3

ผลการวิจัย

1. **ผลการเตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึงของ** *Aspergillus niger* G153

1.1 ผลการเตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 **ในชิ้น** PUF **ขนาด** 0.20 **เซนติเมตร**^{3}

เมื่อตรึงสปอร์ของ *Aspergillus niger* G153 ความหนาแน่น 1-2.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตรในชิ้น PUF ขนาด 0.20 เซนติเมตร^3 หนัก 1 กรัม แล้วเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้สายใยตรึงตามวิธีดำเนินการทดลองข้อ 5.1 พบว่าจะได้น้ำหนักแห้งสายใยตรึง 1.20 กรัม

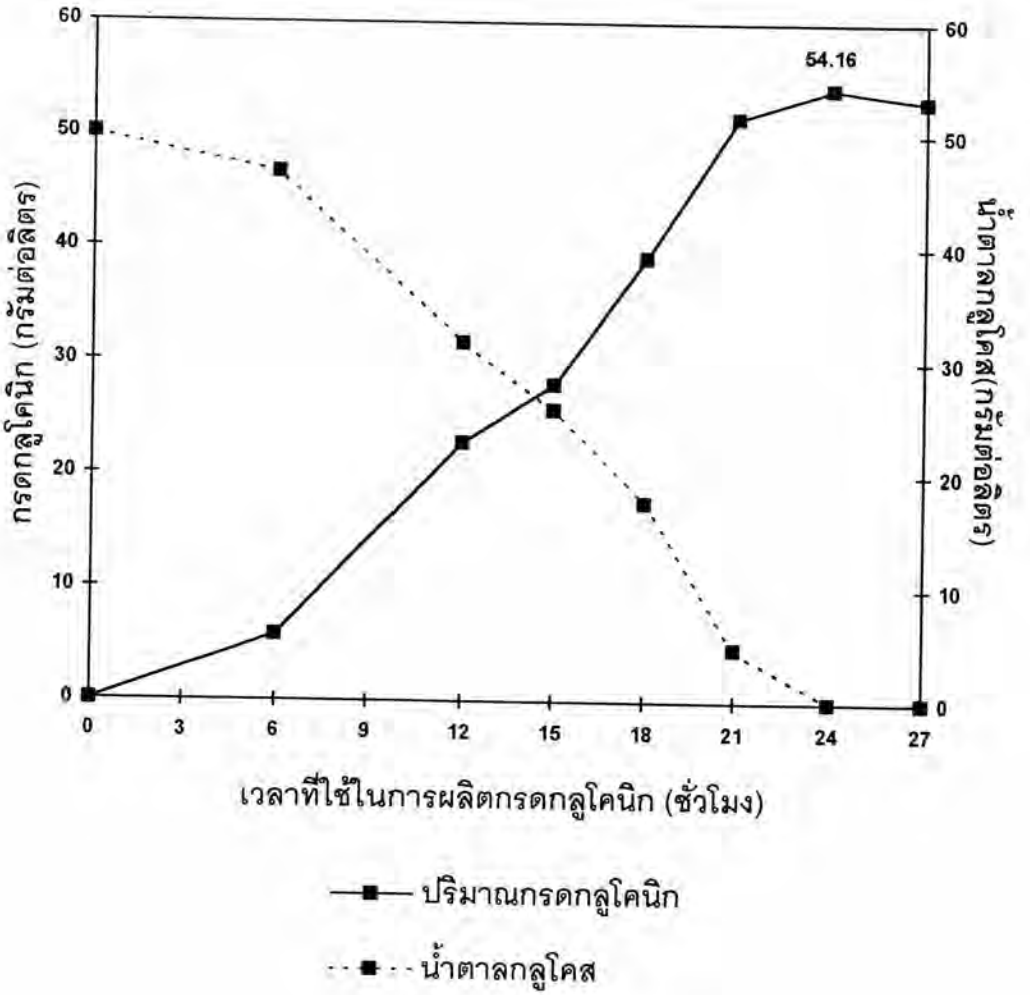
1.2 ผลการเตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 **ในแผ่น** PUF **ขนาด** 4.4 **เซนติเมตร**^{2}

เมื่อตรึงสปอร์ของ *Aspergillus niger* G153 ความหนาแน่น 5.0-12.5×10^6 สปอร์ต่อแผ่น PUF ขนาด 4.4 เซนติเมตร^2 น้ำหนัก 0.05 กรัม จำนวน 1 แผ่น แล้วเพาะเลี้ยงให้ได้สายใยตรึงตามวิธีดำเนินการทดลองข้อ 5.2 พบว่าจะได้น้ำหนักแห้งสายใยตรึง 0.16406 กรัม เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในงานวิจัยต่อไป

2. **ผลการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยสายใยตรึงของ** *Aspergillus niger* G153 **ในชิ้น** PUF **ขนาด** 0.20 **เซนติเมตร**^{3} **ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง**

2.1 ผลการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนต โดยใช้ภาวะเหมาะที่ได้ศึกษาโดย นิติพงษ์ จิระวรานันท์ (2539)

เมื่อทดลองผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างด้วยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในชิ้น PUF ภายใต้ภาวะเหมาะสมที่ศึกษามาแล้วโดย นิติพงษ์ จิระวรานันท์, 2539 ตามวิธีดำเนินการทดลองข้อ 14.1 โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้วในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ปรับความเป็นกรดด่างด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ตลอดการทดลอง ผลการทดลองพบว่าได้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 54.16 กรัมต่อลิตร ในเวลา 24



รูปที่ 4 การผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ปริมาตรใช้งาน 400 มิลลิลิตร ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตในรูปแคลเซียมกลูโคเนต ด้วยสายใยตรึงในซิ้น PUF เมื่อใช้แป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้วที่มีน้ำตาลกลูโคส 50 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอนไม่มีแหล่งไนโตรเจน อัตราการให้อากาศ 9 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ใช้กล้าเชื้อสายใยตรึง 6 กรัมต่อลิตร (ซึ่งเตรียมจาก PUF แห้งหนัก 5 กรัมต่อลิตร) ที่อุณหภูมิห้อง (30-33 องศาเซลเซียส)

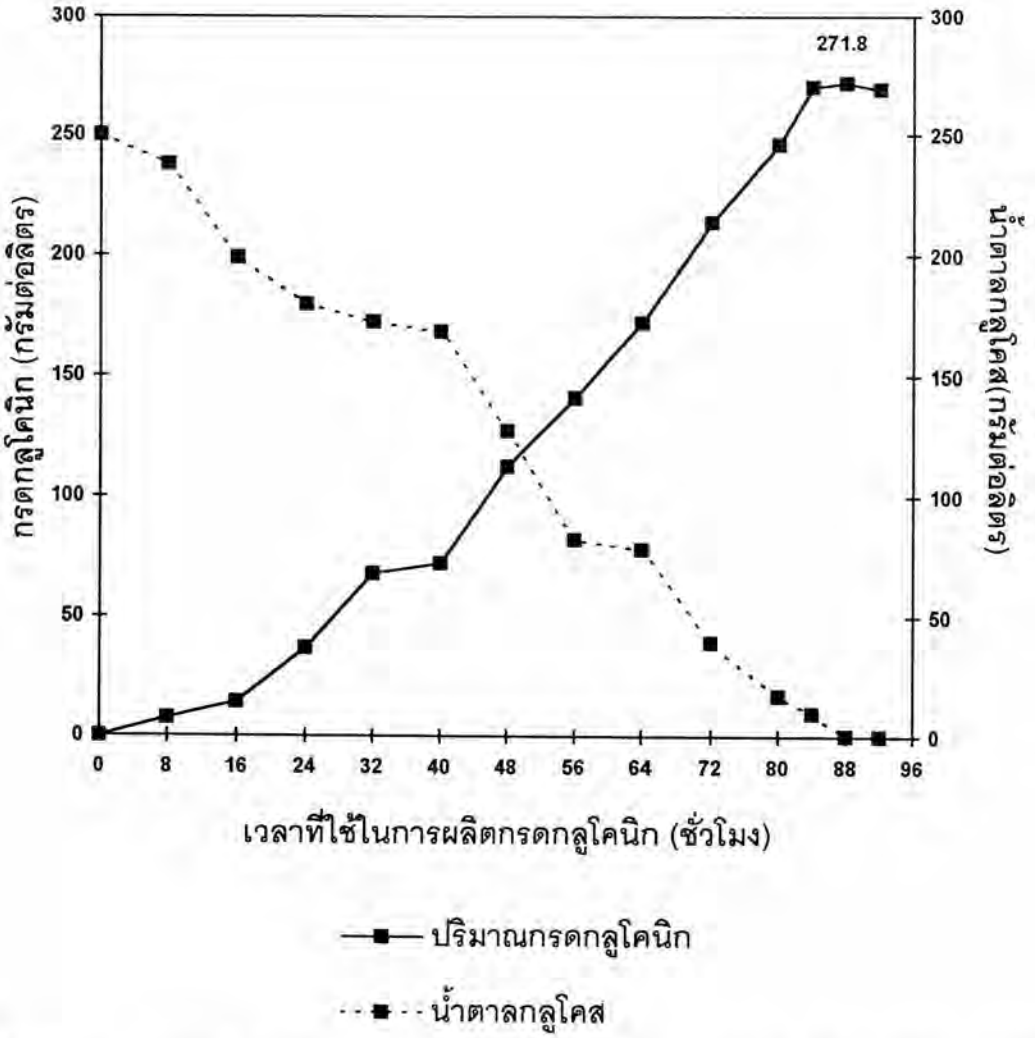
ชั่วโมง (รูปที่ 4) คิดเป็นผลผลิตกรดกลูโคนิกเมื่อเทียบกับน้ำตาลตั้งต้นเท่ากับ 99.39 เปอร์เซ็นต์ ใช้น้ำตาลหมดในชั่วโมงที่ 24 เมื่อเทียบกับผลผลิตกรดกลูโคนิกในรูปแคลเซียมกลูโคเนตจากสายใยตรึงในชิ้น PUF ที่ศึกษาโดย นิติพงษ์ จิระวรานันท์, 2539 ภายใต้ภาวะเดียวกัน พบว่า การผลิตกรดกลูโคนิกในรูปแคลเซียมกลูโคเนต ให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 53.8 กรัมต่อลิตร ในเวลา 24 ชั่วโมง (รูปที่ 16) คิดเป็นผลผลิตกรดเมื่อเทียบกับน้ำตาลตั้งต้นเท่ากับ 98.82 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งได้ปริมาณกรดใกล้เคียงกัน และใช้เวลาในการผลิตเท่ากัน และเมื่อเปรียบเทียบการใช้น้ำตาลยังพบว่า มีการใช้น้ำตาลในรูปแบบเดียวกัน นอกจากนี้ นิติพงษ์ จิระวรานันท์ (2539) พบว่าการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปแคลเซียมกลูโคเนตโดยสายใยตรึงในชิ้น PUF ไม่สามารถใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นได้สูงกว่า 50 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเกิดตะกอนแคลเซียมกลูโคเนตจำนวนมากรบกวนการผลิต แต่จากการศึกษาของ จินตนา ไกรวัฒนพงศ์ (2536) พบว่าในการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตด้วยสายใยอิสระความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นที่เหมาะสมคือ 300 กรัมต่อลิตร และไม่พบตะกอนของเกลือโซเดียมกลูโคเนต เนื่องจากเกลือโซเดียมละลายได้ดีกว่าเกลือแคลเซียมมาก ดังนั้นจึงเลือกผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนต โดยสายใยตรึงในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้น 300 กรัมต่อลิตร เป็นเกณฑ์ในการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการผลิตในการทดลองต่อไป

2.2 ผลการหาภาวะเหมาะสมบางประการในการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนต โดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ที่ตรึงในชิ้น PUF

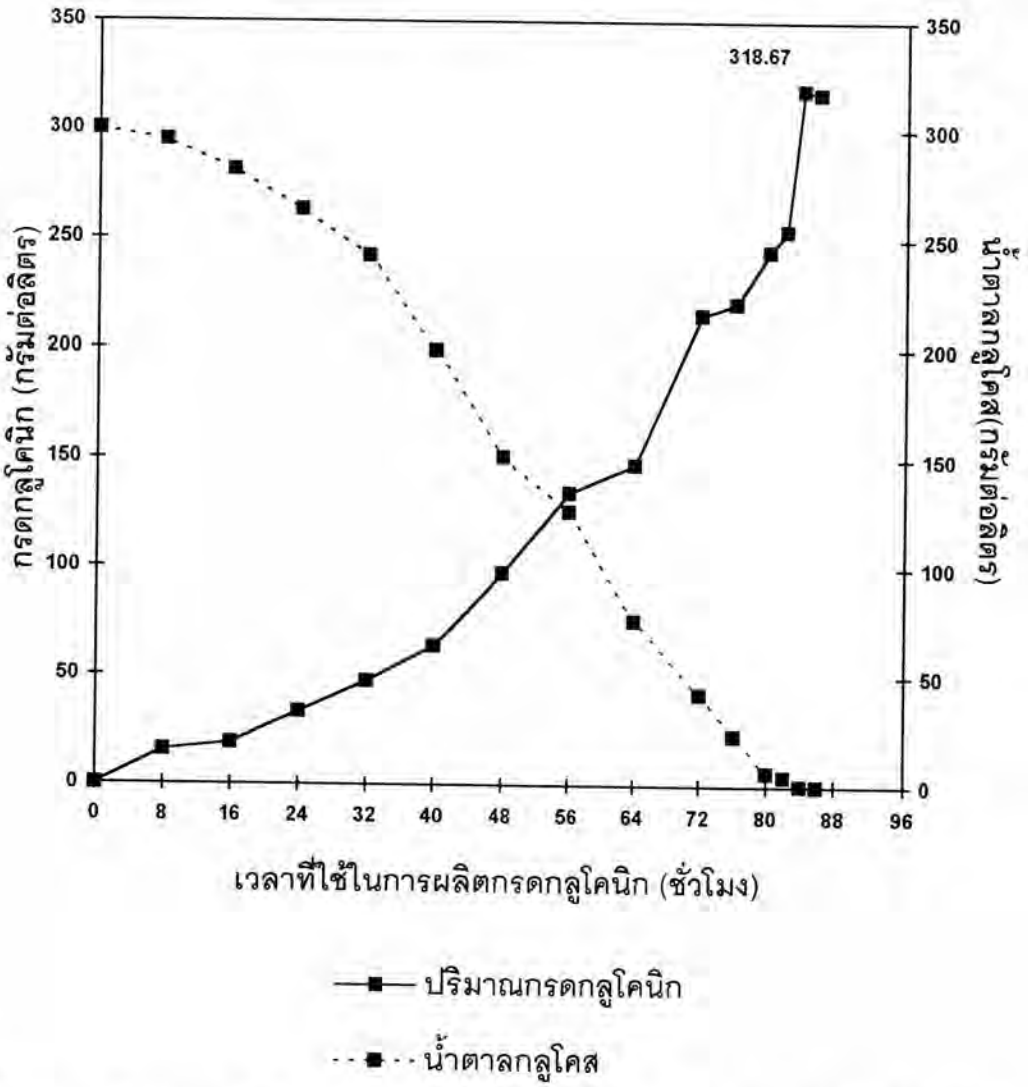
2.2.1 ผลการแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้วในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิก

เมื่อนำกล้าสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G 153 อายุ 48 ชั่วโมงในชิ้น PUF ขนาด 0.20 เซนติเมตร^3 มาผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิก (ภาคผนวก ก4) ตามวิธีดำเนินการทดลองข้อ 7 โดยแปรผันความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังเป็น 250 300 และ 350 กรัมต่อลิตร ใช้ชิ้น PUF (รูปลูกบาศก์) ขนาด 0.20 เซนติเมตร^3 เป็นวัสดุตรึง น้ำหนักแห้งกล้าเชื้อสายใยตรึงเท่ากับ 6 - 6.225 กรัมต่อลิตร

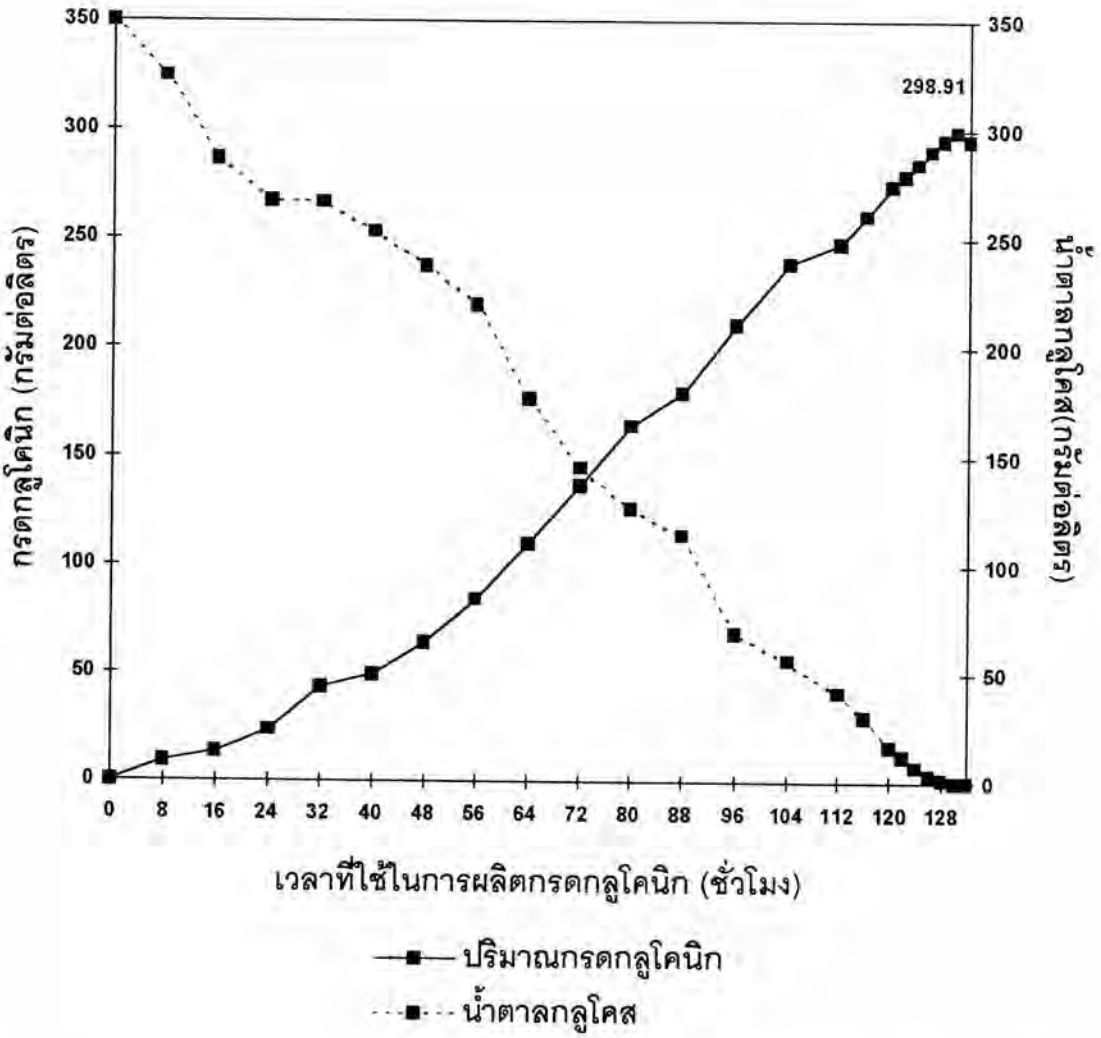
อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด (ใช้น้ำหนักแห้งของชิ้น PUF เท่ากับ 5 กรัมต่อลิตร) ตามลำดับ ให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ควบคุมความเป็นกรดด่างของการผลิตตลอดการทดลองให้อยู่ในช่วง 5.5 - 6.5 โดยชุดควบคุมที่มี 1 นอร์มอล และ 5 นอร์มอล โซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นสารเคมีที่ใช้ปรับค่าความเป็นกรดด่าง โดยช่วงแรกจะใช้ 1 นอร์มอล โซเดียมไฮดรอกไซด์ปรับความเป็นกรดด่างของการทดลองก่อน หลังจากเวลาผ่านไป 8 - 16 ชั่วโมง จึงใช้ 5 นอร์มอลโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปรับความเป็นกรดด่าง ผลการทดลอง (รูปที่ 5 - 8) พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วสูงขึ้นในระดับที่เหมาะสม การผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตก็เพิ่มสูงขึ้นด้วย นั่นคือ เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว เท่ากับ 250 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 271.8 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 88 ของการผลิต ใช้น้ำตาลหมดในชั่วโมงที่ 88 ของการผลิต (รูปที่ 5 และ 8) ในขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วเป็น 300 และ 350 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า ผลผลิตเพิ่มขึ้นสูงสุด เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 300 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 318. 67 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 84 ของการผลิต ใช้น้ำตาลหมดในชั่วโมงที่ 84 ของการผลิต (รูปที่ 6 และ 8) แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 350 กรัมต่อลิตร ได้ผลผลิตน้อยลงคือ ให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 298.91 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 130 ของการผลิต (รูปที่ 7 และ 8) เมื่อพิจารณาการเติบโตของสายใยตรึง โดยพิจารณาจากการนำน้ำหนักแห้งของสายใยตรึงเมื่อเริ่มต้นของการผลิตและสิ้นสุดการผลิตมาเปรียบเทียบกัน (ตารางที่ 5) พบว่าเมื่อความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วเท่ากับ 250 กรัมต่อลิตร น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเพิ่มขึ้นน้อยมากจนถือได้ว่าไม่มีความแตกต่างในแง่การเติบโต ส่วนที่ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 300 กรัมต่อลิตร น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเพิ่มขึ้นเล็กน้อย คือ 0. 30 กรัมต่อลิตร แต่ที่ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 350 กรัมต่อลิตร น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเพิ่มมากที่สุดคือ 0.655 กรัมต่อลิตร ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้ผลผลิตกรดต่ำลงก็ได้ จะเห็นได้ว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้ม



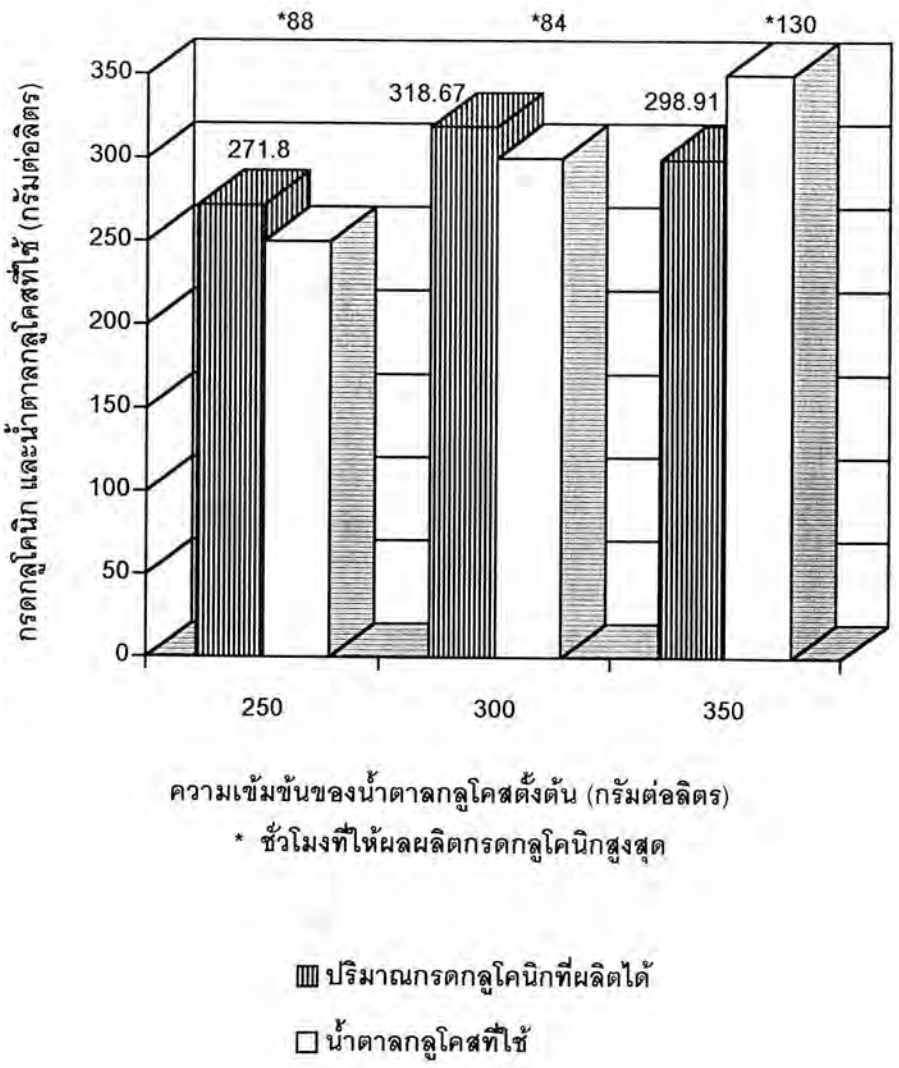
รูปที่ 5 การผลิตกรดกลูโคนิกจากสายใยตรึงในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วเท่ากับ250 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30-33 องศาเซลเซียส)



รูปที่ 6 การผลิตกรดกลูโคนิกจากสายใยตรึงในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30-33 องศาเซลเซียส)



รูปที่ 7 การผลิตกรดกลูโคนิกจากสายใยตรึงในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วเท่ากับ 350 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30-33 องศาเซลเซียส)



รูปที่ 8 เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุดที่ผลิตได้โดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G 153 ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นเป็น 250 300 350 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้อง (30-33 องศาเซลเซียส)

ข้นของน้ำตาลกลูโคสในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้ว 300 กรัมต่อลิตร เหมาะสมในการผลิตกรดกลูโคนิกให้การเติบโตและระยะเวลาในการผลิตเหมาะสม ดังนั้นจึงเลือกปริมาณน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 300 กรัมต่อลิตร ในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 5 การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้น PUF ในการผลิตกรดกลูโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้น

น้ำตาลกลูโคสตั้งต้น (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อลิตร)
250	0.025
300	0.3
350	0.655

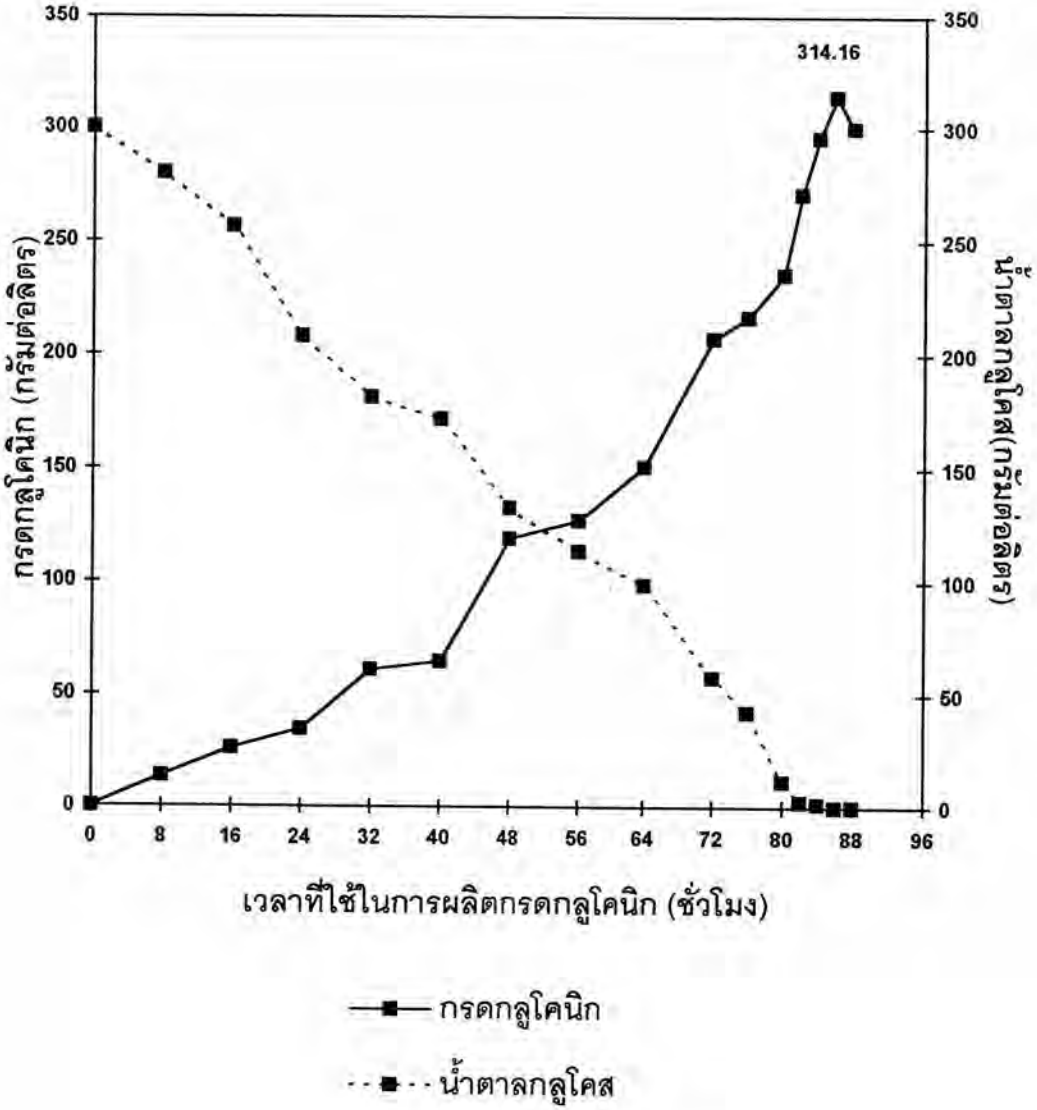
2.2.2 ผลการแปรผันอัตราการให้อากาศในการผลิตกรดกลูโคนิก

เมื่อนำสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 มาผลิตกรดกลูโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 400 มิลลิลิตรที่มีแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วที่มีน้ำตาลกลูโคส 300 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน ใช้กล้าเชื้อสายใยตรึงอายุ 48 ชั่วโมง โดยมีน้ำหนักแห้งสายใยตรึง 5.975-6.225 กรัมต่อลิตร (ใช้ชิ้น PUF แห้ง 5 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ) แปรผันอัตราการให้อากาศเป็น 15 12.5 10 และ 7.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ผลการทดลองพบว่า เมื่ออัตราการให้อากาศเท่ากับ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที (ซึ่งอัตราการให้อากาศที่ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ถือว่าเป็นอัตราการให้อากาศสูงสุดที่สามารถให้ได้ภายใต้ภาวะการผลิตนี้) ให้ปริมาณกรดสูงสุด 318.67 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 84 ของการผลิต (รูปที่ 6 และ 12) เมื่อลดอัตราการให้อากาศเป็น 12.5 10 และ 7.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที พบว่าให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุดลดลงด้วยและให้ผลผลิตช้าลง คือให้ผลผลิตเท่ากับ 314.16 315.54 และ 313.97 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 86

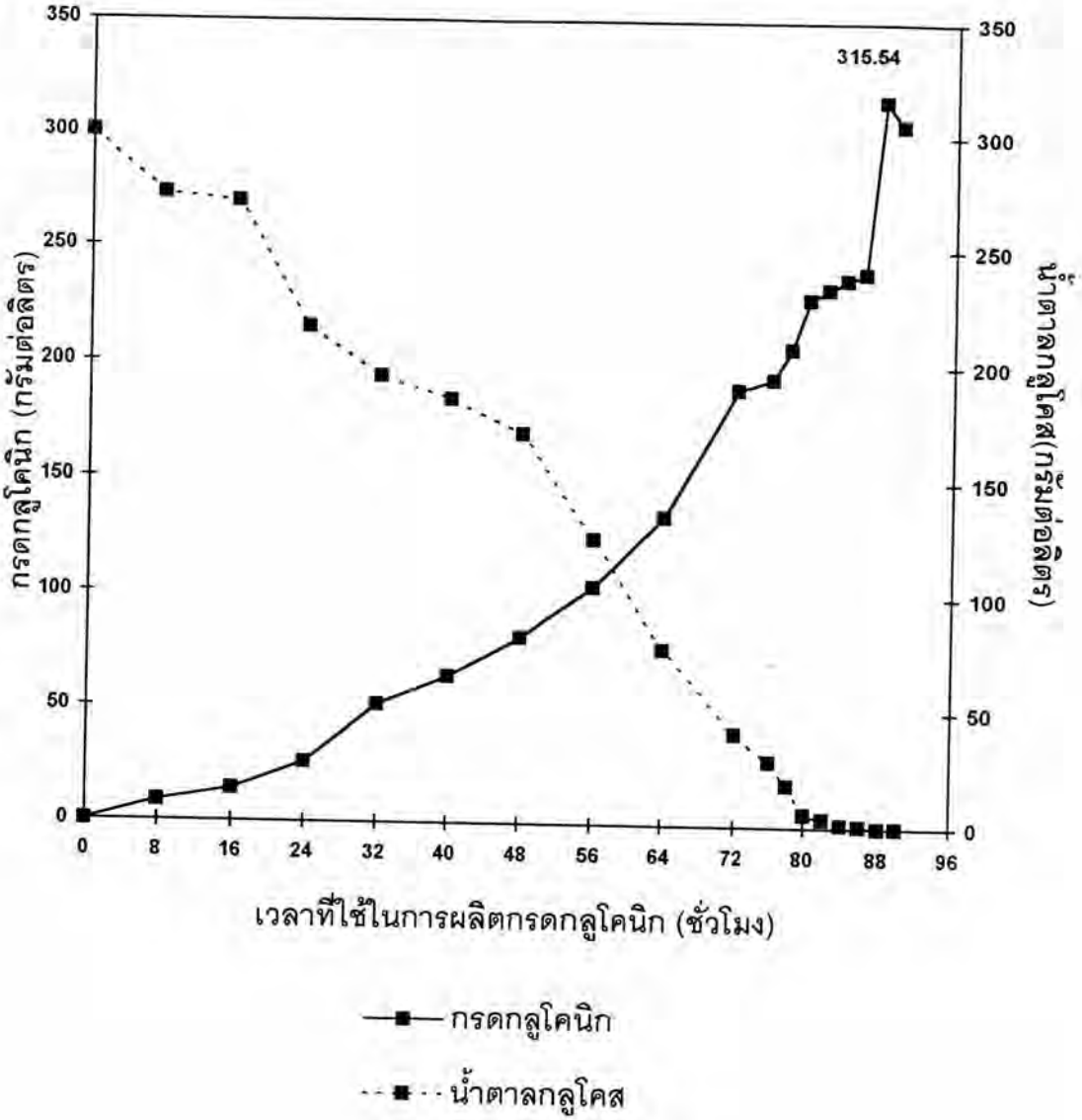
88 และ 108 ของการผลิต ตามลำดับ (รูปที่ 9 10 และ 11 ตามลำดับและรูปที่ 12) ส่วนการใช้น้ำตาล พบว่าการใช้น้ำตาลจะช้าลงเมื่อลดอัตราการให้อากาศ แต่การใช้น้ำตาลเร็วที่สุดที่อัตราการให้อากาศเท่ากับ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที สำหรับการเติบโตของสายใยตรึงพบว่าที่อัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาทีจะมีการเติบโตของสายใยตรึงเพิ่มขึ้นเล็กน้อยที่สุดคือ 0.3 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 6) ซึ่งสอดคล้องกับผลผลิตกรดกลูโคนิกที่ได้ ส่วนที่ค่าอัตราการให้อากาศอื่นๆ จะมีการเติบโตของสายใยตรึงใกล้เคียงกันคือที่อัตราการให้อากาศ 12.5 10 และ 7.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที มีการเติบโตของสายใยตรึงไล่เลี่ยกันคือ 0.475 0.5 และ 0.575 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่มากกว่าที่อัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที (ตารางที่ 6) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิกที่ผลิตได้สูงสุด และระยะเวลาในการผลิตกรด ในแต่ละอัตราการให้อากาศ (รูปที่ 12) จะเห็นได้ว่าอัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาทีเหมาะสมที่สุดจึงใช้ในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 6 การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้น PUF เมื่อผลิตกรดกลูโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ด้วยความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้น 300 กรัมต่อลิตร และแปรผันอัตราการให้อากาศต่างๆกัน

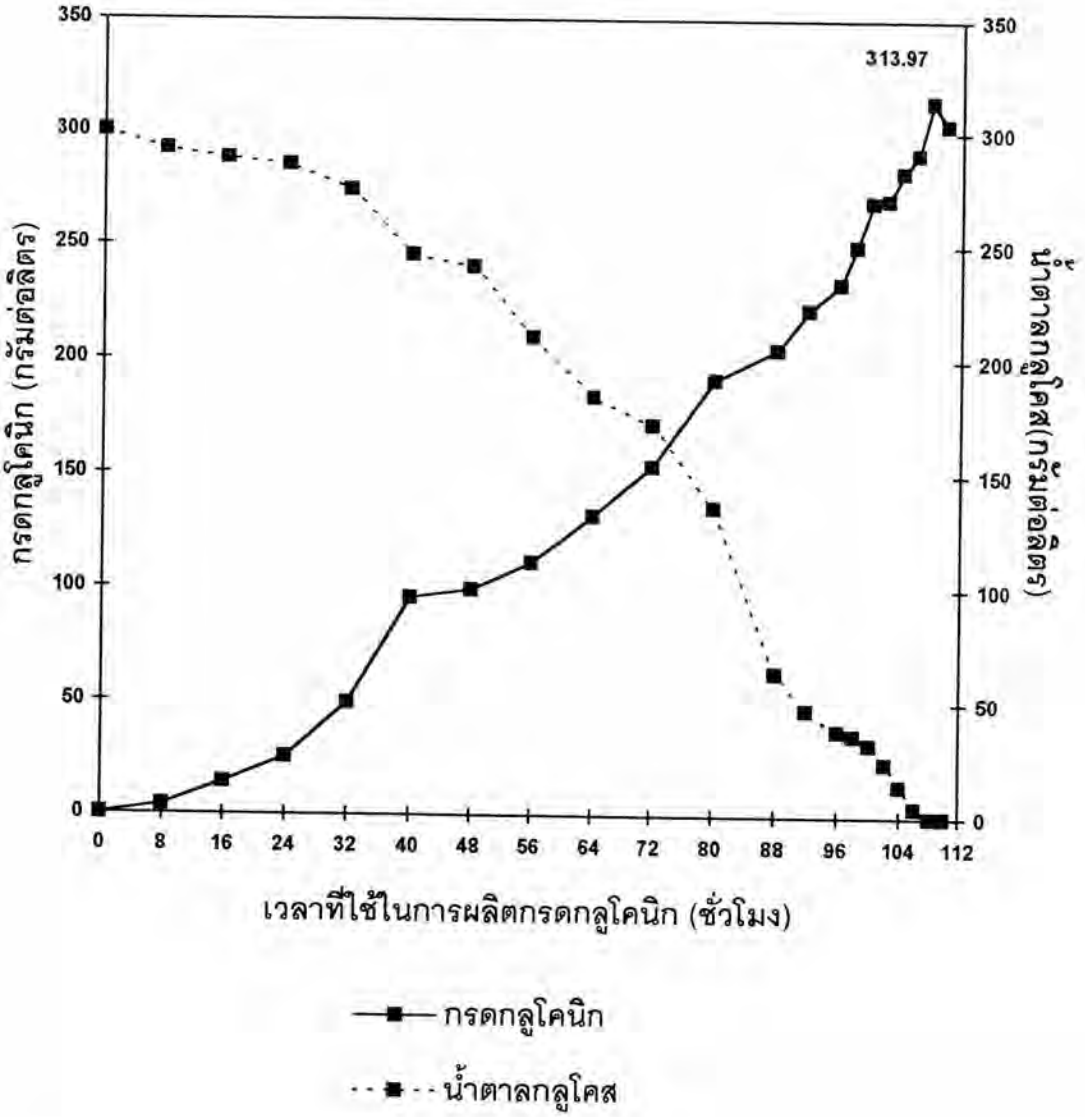
อัตราการให้อากาศ (ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อลิตร)
15	0.3
12.5	0.475
10	0.5
7.5	0.575



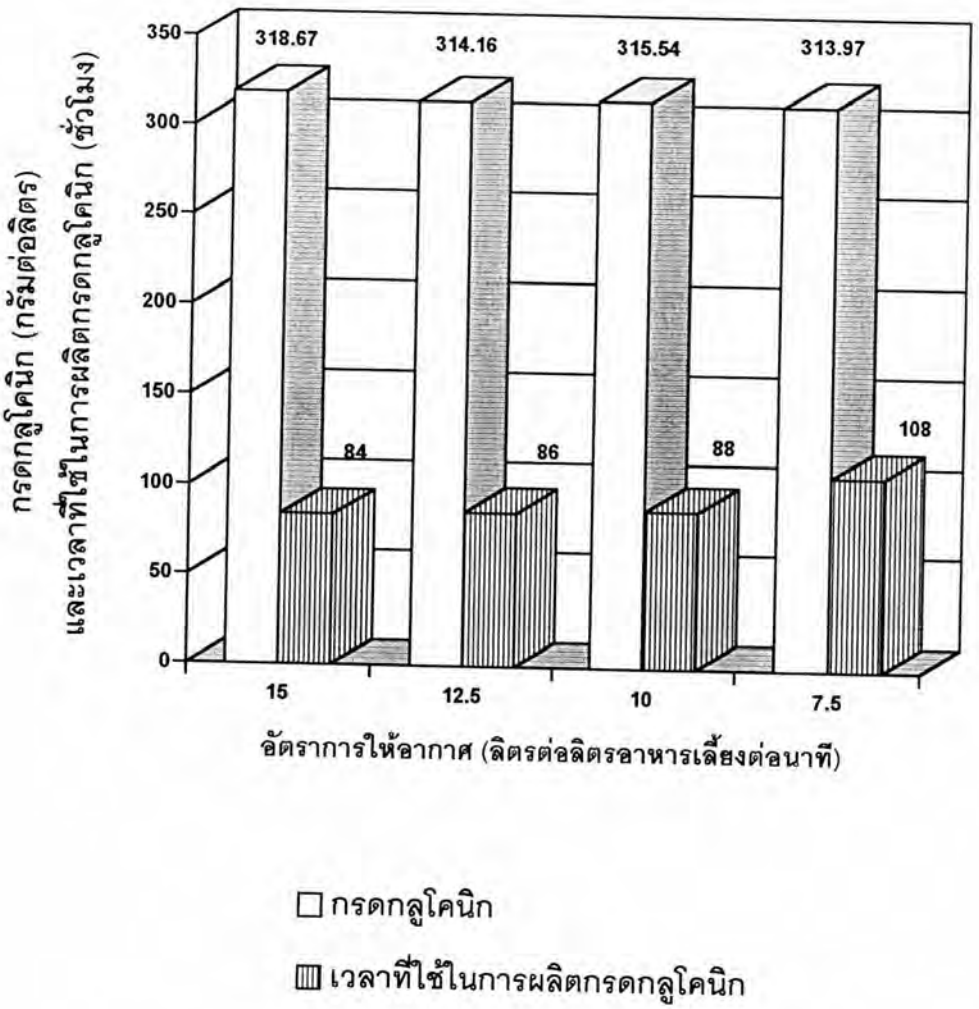
รูปที่ 9 การผลิตกรดกลูโคนิกจากสายใยตรึงในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 12.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30-33 องศาเซลเซียส)



รูปที่ 10 การผลิตกรดกลูโคนิกจากสายใยตรึงในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 10 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30-33 องศาเซลเซียส)



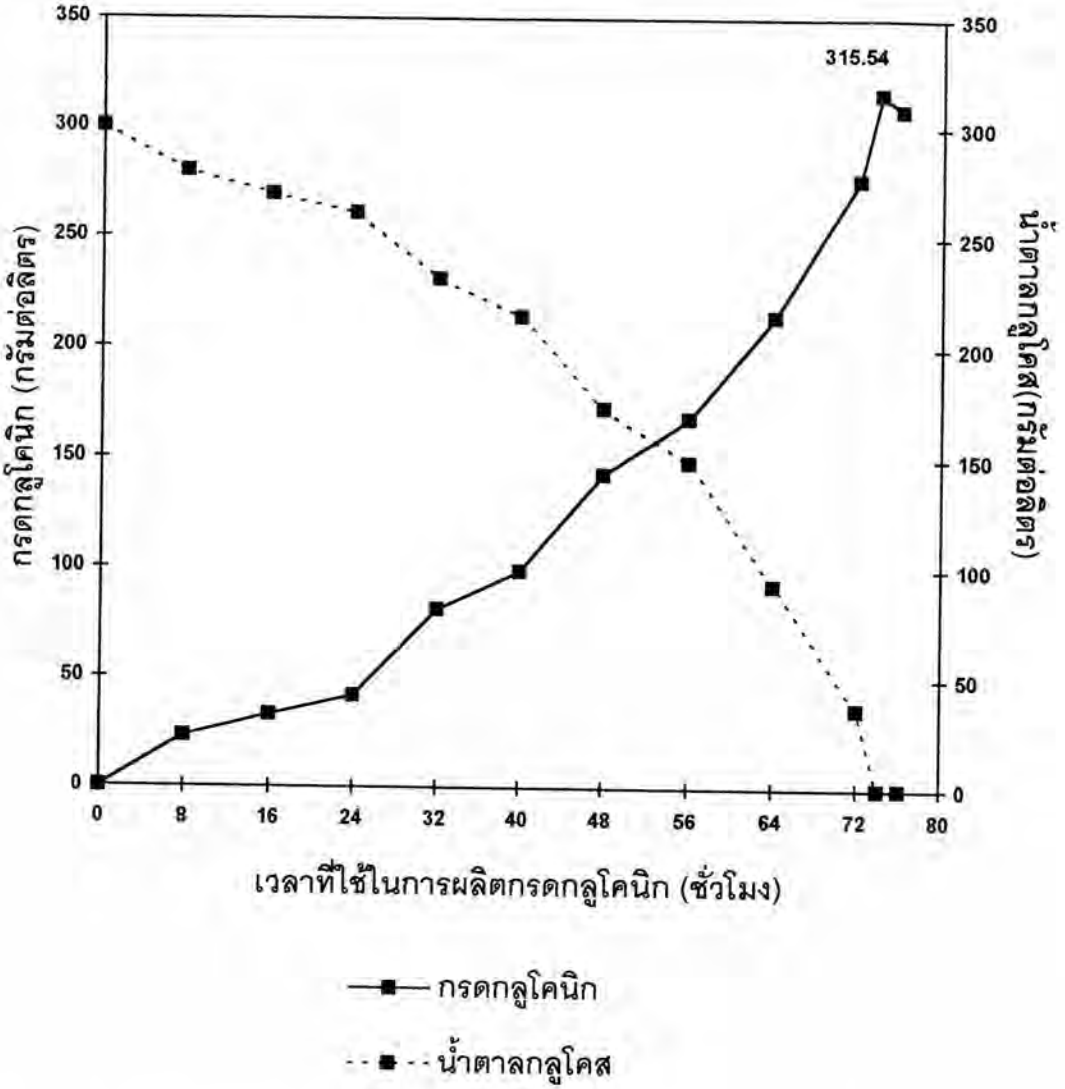
รูปที่ 11 การผลิตกรดกลูโคนิกจากสายใยตรึงในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 7.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30-33 องศาเซลเซียส)



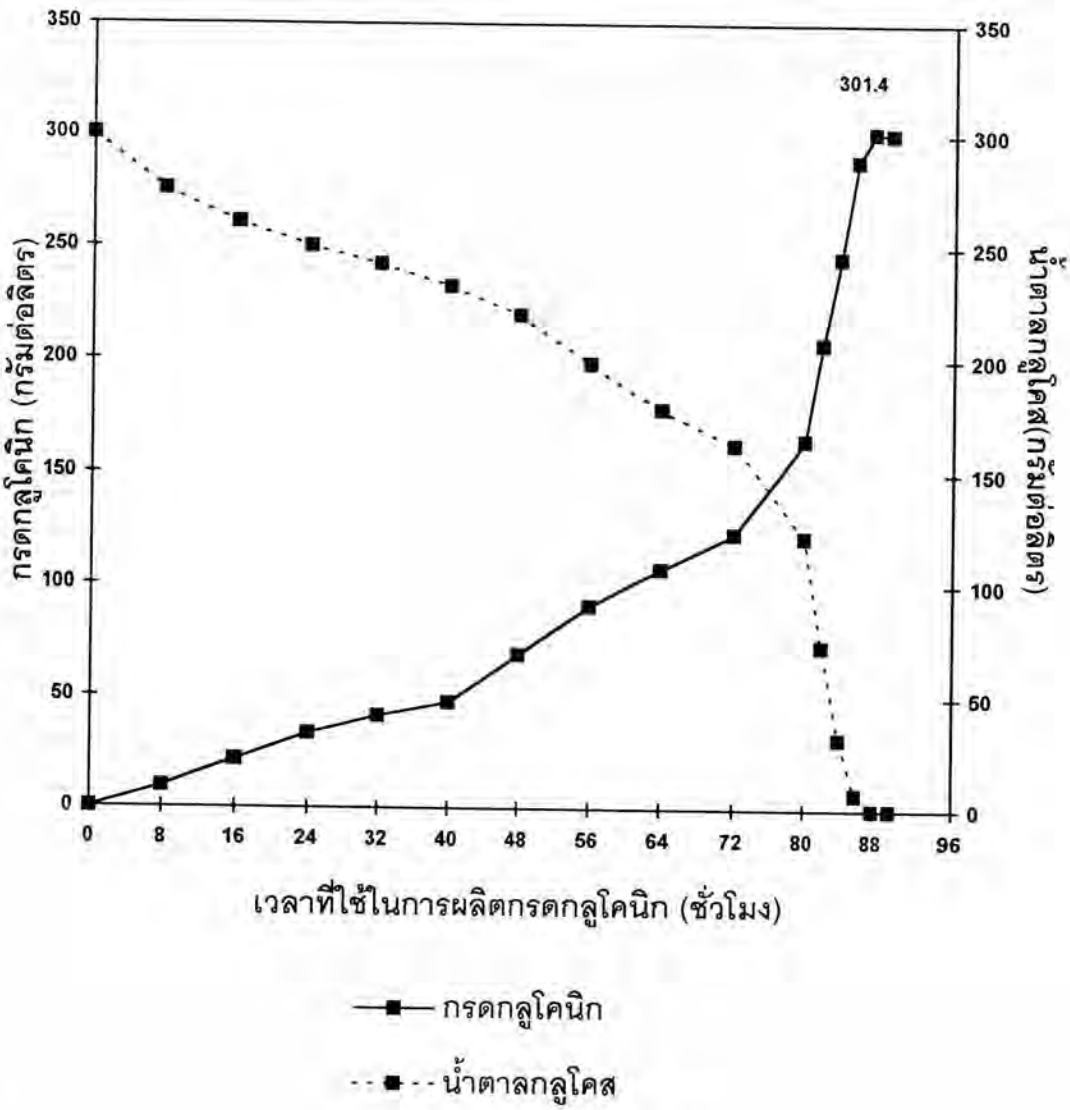
รูปที่ 12 เปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิกและเวลาที่ใช้ผลิต เมื่อผลิตในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยสายใยตรึงในชิ้น PUF ใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 300 กรัมต่อลิตร เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศเป็น 15 12.5 10 7.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30-33 องศาเซลเซียส)

2.2.3 ผลการแปรผันขนาดกล้าเชื้อสายใยตรึงในการผลิตกรดกลูโคนิก

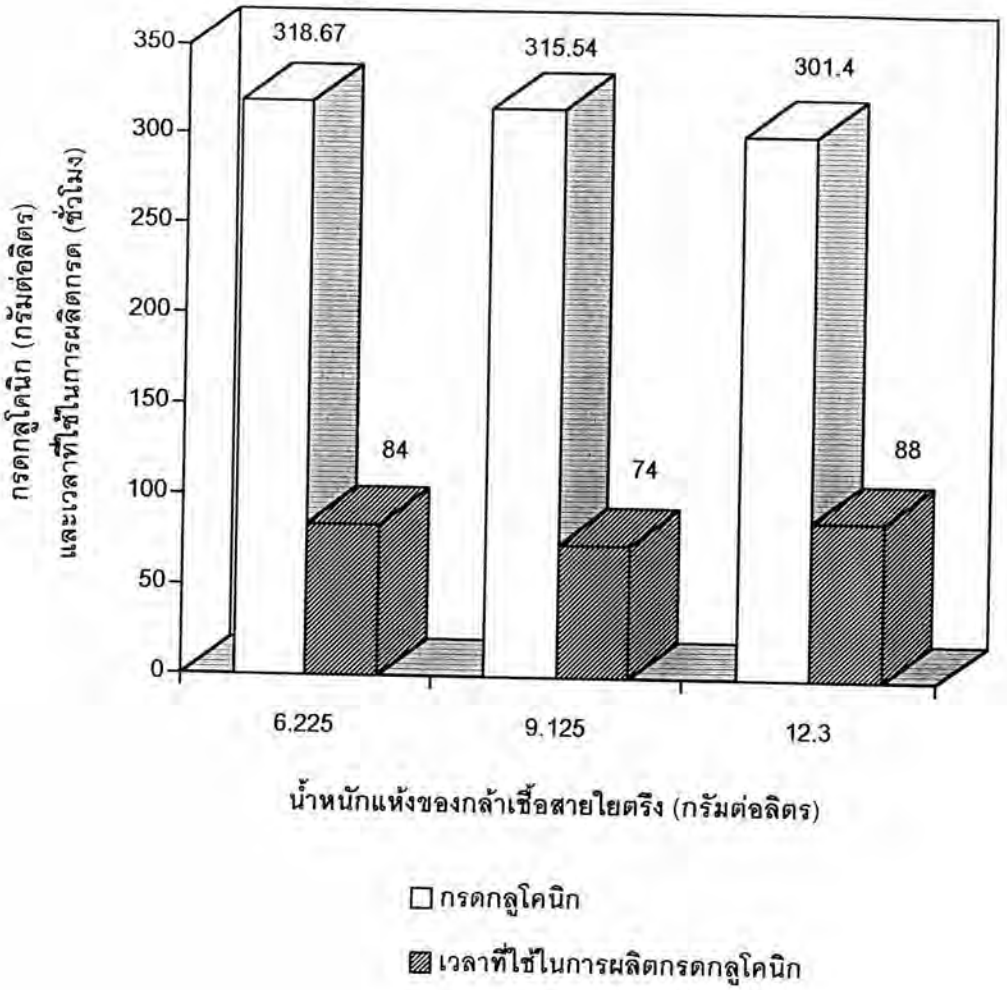
เมื่อผลิตกรดกลูโคนิกโดยใช้สายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในชิ้น PUF ขนาด 0.20 เซนติเมตร^3 ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยแปรผันน้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึงเท่ากับ 6.225 9.125 12.3 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (ซึ่งใช้น้ำหนักแห้งของชิ้น PUF เท่ากับ 5 7.5 10 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ) ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้วที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้นเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ผลการทดลองพบว่า การทดลองที่ใช้น้ำหนักแห้งสายใยตรึง 6.225 กรัมต่อลิตร (ซึ่งมีน้ำหนักแห้งของชิ้น PUF 5 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ) ให้ปริมาณกรดสูงสุด 318.67 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 84 และใช้น้ำตาลหมดชั่วโมงที่ 84 เช่นกัน (รูปที่ 6) ส่วนการทดลองที่ใช้น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึง 9.125 12.3 กรัมต่อลิตร (เตรียมจากน้ำหนักแห้งของชิ้น PUF 7.5 และ 10 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ) ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 315.54 และ 301.40 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 74 และ 88 ตามลำดับ และใช้น้ำตาลหมดในชั่วโมงที่ 74 และ 88 ตามลำดับ เช่นเดียวกัน (รูปที่ 13และ 14) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิก และระยะเวลาที่ผลิตกรดในแต่ละขนาดของกล้าเชื้อสายใยตรึง (รูปที่ 15) จะเห็นเด่นชัดว่าที่น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึง 9.125 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (เตรียมจากน้ำหนักแห้งของชิ้น PUF 7.5 กรัมต่อลิตร) ใช้ระยะเวลาในการผลิตสั้นสุด คือ 74 ชั่วโมง แต่ผลผลิตจะต่ำกว่าที่น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึง 6.225 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (เตรียมจากน้ำหนักแห้งของชิ้น PUF 5 กรัมต่อลิตร) เล็กน้อยซึ่งเมื่อพิจารณาการเติบโตของสายใยตรึง พบว่าที่น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึง 9.125 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (เตรียมจากน้ำหนักแห้งของชิ้น PUF 7.5 กรัมต่อลิตร) จะมีการเติบโตของสายใยตรึง 0.4 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าที่น้ำหนักแห้งสายใยตรึง 6.225 กรัมต่อลิตร (เตรียมจากน้ำหนักแห้งของชิ้น PUF 5 กรัมต่อลิตร) (ตารางที่ 7) จึงอาจเป็นไปได้ว่าผลผลิตที่น้อยกว่าเล็กน้อยนั้นอาจเนื่องจากมีการเติบโตแทนการผลิตกรด ถึงอย่างไรก็ตามผลผลิตที่น้อยกว่านี้ก็น้อยกว่าไม่มาก และเมื่อคำนึงถึงระยะเวลาในการผลิตที่สั้น กับสภาวะภายในคอลัมน์แก้ว เมื่อใช้น้ำหนักแห้งกล้าเชื้อสายใยตรึง 9.125 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (เตรียมจากน้ำหนักแห้งของชิ้น PUF 7.5 กรัมต่อลิตร) นั้นมีลักษณะการไหลเวียนที่ดี



รูปที่ 13 การผลิตกรดกลูโคนิกจากสายใยตรึงในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที เมื่อใช้น้ำหนักแห้งกล้าเชื้อสายใยตรึงเท่ากับ 9.125 กรัมต่อลิตร (ซึ่งเตรียมจาก PUF แห้งหนัก 7.5 กรัมต่อลิตร) ที่อุณหภูมิห้อง (30 - 33 องศาเซลเซียส)



รูปที่ 14 การผลิตกรดกลูโคนิกจากสายใยตรึงในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที เมื่อใช้น้ำหนักแห้งกล้าเชื้อสายใยตรึงเท่ากับ 12.3 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (ซึ่งเตรียมจาก PUF แห้งหนัก 10 กรัมต่อลิตร) ที่อุณหภูมิห้อง (30-33 องศาเซลเซียส)



รูปที่ 15 เปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิกและเวลาที่ใช้ในการผลิต เมื่อผลิตในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยสายใยตรึงในชิ้น PUF เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยสลายแล้ว 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที โดยแปรผันน้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึงเท่ากับ 6.225 9.125 12.3 กรัมต่อลิตร (ซึ่งเตรียมจาก PUF แห้งหนัก 5 7.5 10 กรัมต่อลิตร) ที่อุณหภูมิห้อง (30-33 องศาเซลเซียส)

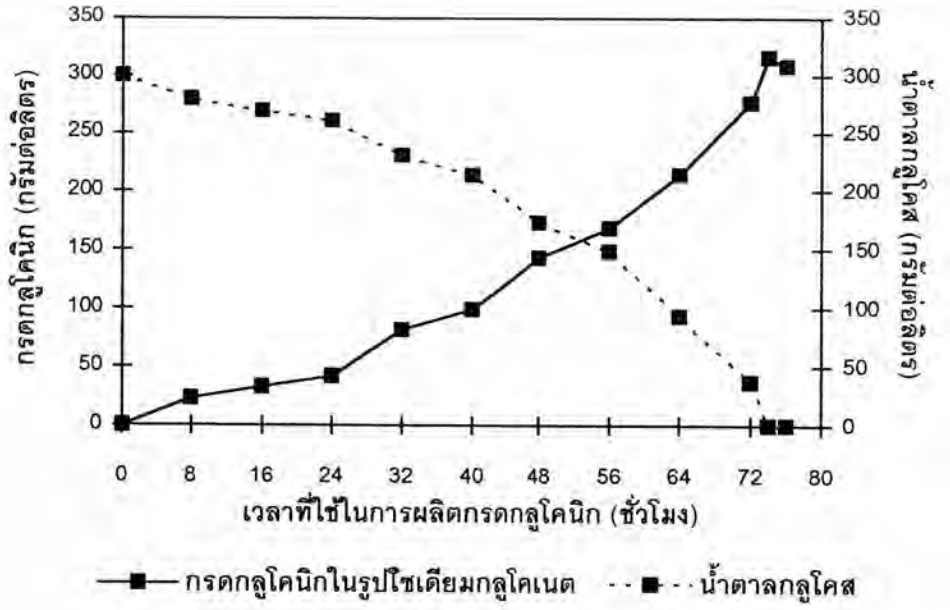
ปริมาณชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึงไม่มากหรือน้อยเกินไป และระหว่างการให้อากาศทางด้านล่างของคอลัมน์แก้วนั้น พบว่าชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึงไม่ตกลงมาอยู่รวมกันทางด้านล่างของคอลัมน์แก้ว ดังนั้นภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้น PUF ในระดับคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง คือ ใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้ว 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึง 9.125 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (เตรียมจากน้ำหนักแห้งของชิ้น PUF 7.5 กรัมต่อลิตร) ได้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 315.54 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 74 ของการผลิต

ตารางที่ 7 การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้น PUF ในการผลิตกรดกลูโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ด้วยความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้น 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที เมื่อแปรผันน้ำหนักแห้งกล้าเชื้อสายใยตรึงต่างๆกัน

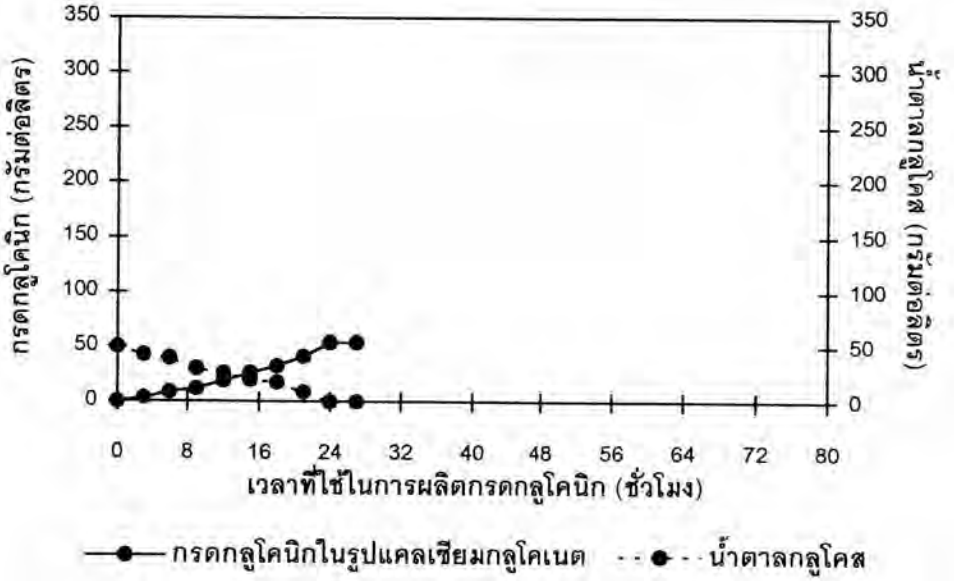
น้ำหนักแห้งกล้าเชื้อสายใยตรึง (กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อเริ่มต้นการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อสิ้นสุดการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อลิตร)
6.225 (เตรียมจาก PUF 5 กรัมต่อลิตร)	6.225	6.525	0.3
9.125 (เตรียมจาก PUF 7.5 กรัมต่อลิตร)	9.125	9.525	0.4
12.3 (เตรียมจาก PUF 10 กรัมต่อลิตร)	12.3	14.7	2.4

2.3 ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนต และในรูปแคลเซียมกลูโคเนตที่ผลิตได้ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตโดยสายใยตรึงในชิ้น PUF

เมื่อผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยสายใยตรึงในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างภายใต้ภาวะที่เหมาะสมคือ ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหมาะสมเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิก (ภาคผนวก ก4) ที่จัดความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้วเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ใช้กล้าเชื้อสายใยตรึงที่มีน้ำหนักแห้งสายใยตรึง 9.125 กรัมต่อลิตร (ที่เตรียมจากชิ้น PUF ที่มีน้ำหนัก 7.5 กรัมต่อลิตร) ปรับความเป็นกรดด่างตลอดการทดลองด้วย 1 และ 5 นอร์มอล โซเดียมไฮดรอกไซด์ พบว่าให้ปริมาณกรดสูงสุด 315.54 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 74 ของการผลิต และใช้น้ำตาลหมดในชั่วโมงที่ 74 เช่นเดียวกัน (รูปที่ 16 ก) คิดเป็นผลผลิตเมื่อเทียบกับน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นเท่ากับ 96.59 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปแคลเซียมกลูโคเนตในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างโดยสายใยตรึงในชิ้น PUF ภายใต้ภาวะเหมาะสมที่ศึกษาโดย นิติพงษ์ จิระวรานันท์ (2539) คือใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิก (ภาคผนวก ก4) แต่ใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ใช้กล้าเชื้อสายใยตรึงที่มีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 6 กรัมต่อลิตร ซึ่งเตรียมได้จากชิ้น PUF ที่มีน้ำหนักแห้ง 5 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 9 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที และปรับความเป็นกรดด่างระหว่างการผลิตด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต พบว่า ให้ปริมาณกรดกลูโคนิกในรูปแคลเซียมกลูโคเนตสูงสุด 53.8 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 24 ของการผลิต คิดเป็นผลผลิตกรดเมื่อเทียบกับน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นเท่ากับ 98.82 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 16 ข) ซึ่งจะเห็นได้ว่าให้ผลผลิตไล่เลี่ยกัน แต่ในการผลิตแต่ละครั้งที่ใช้น้ำตาลกลูโคสตั้งต้นต่างกันมากทำให้การผลิตในรูปโซเดียมกลูโคเนตให้ผลผลิตต่อ 1 ครั้งของการผลิตมากกว่าถึง 6 เท่า แต่ใช้เวลามากกว่าเพียง 3 เท่า ดังนั้นการใช้สายใยตรึงผลิตกรดกลูโคนิกควรผลิตในรูปโซเดียมกลูโคเนต จะให้ผลผลิตสูงกว่า จึงเหมาะสมกว่า



ก. ผลการทดลองจากงานวิจัยนี้



ข. ผลการทดลองที่ศึกษาโดย นิติพงษ์ จิระวรานันท์ (2539)

รูปที่ 16 เปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนต (ก) และรูปแคลเซียมกลูโคเนต (ข) และการใช้น้ำตาลเพื่อผลิตกรด โดยสายใยตรึงในชิ้น PUF ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต ที่อุณหภูมิห้อง (30-33 องศาเซลเซียส)

3. ผลการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงในแผ่น PUF รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 4.4 เซนติเมตร^2

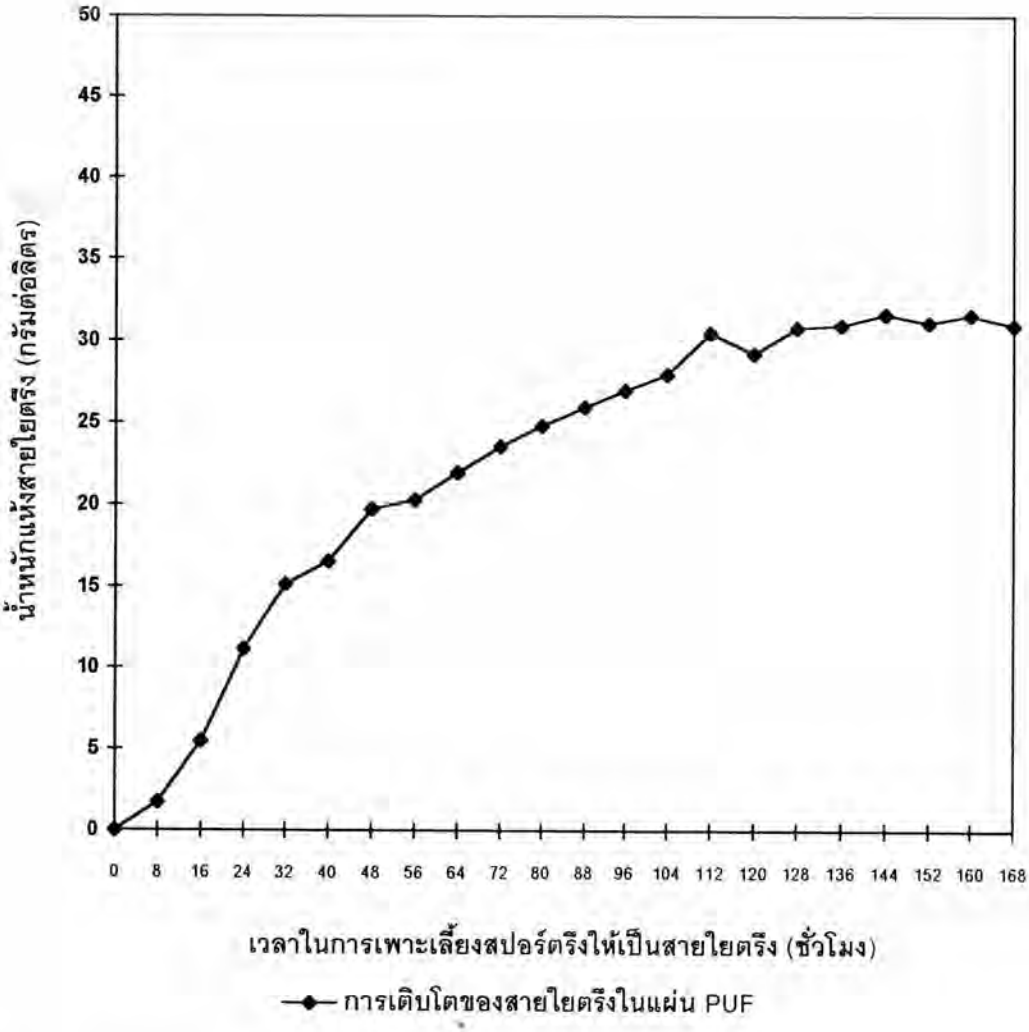
3.1 ผลการหาภาวะที่เหมาะสมบางประการในการเตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึงในแผ่น PUF ในระดับขวดเขย่า

3.1.1 ผลการหาการเติบโตของ *Aspergillus niger* G153 ที่ตรึงในแผ่น PUF เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการทำให้สปอร์ตรึงงอกในช่วงเวลาต่างๆ กัน

เมื่อเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงที่มีความหนาแน่นสปอร์ 5.0-12.5×10^6 สปอร์ ในแผ่น PUF ขนาด 4.4 เซนติเมตร^2 มีน้ำหนัก 0.05 กรัม จำนวน 1 แผ่นตามวิธีดำเนินการทดลองข้อ 5.2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการทำให้สปอร์ตรึงงอก (ภาคผนวก ก2) บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 168 ชั่วโมง เก็บเกี่ยวทุก 8 ชั่วโมงเพื่อนำสายใยตรึงในแผ่น PUF ไปอบแห้งเพื่อหาการเติบโตของสายใยตรึงตามวิธีดำเนินการทดลองข้อ 11 ผลการทดลองพบว่าการเติบโตแบ่งเป็น 3 ระยะ ได้แก่ ระยะที่ไม่มีการเติบโตหรือมีน้อย ซึ่งอยู่ในช่วงเริ่มเพาะเลี้ยงจนถึงชั่วโมงที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีน้ำหนักแห้งของสายใยตรึงเพิ่มเป็น 1.66 กรัมต่อลิตร ระยะที่มีการเติบโตมากและรวดเร็ว เริ่มจากชั่วโมงที่ 8 จนถึงชั่วโมงที่ 112 ของการเพาะเลี้ยง โดยน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเพิ่มเป็น 30.85 กรัมต่อลิตร และระยะที่มีการเติบโตคงที่ คือช่วงเวลาหลังจากชั่วโมงที่ 112 จนสิ้นสุดการทดลองจะได้น้ำหนักแห้งสายใยตรึง 31 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 17)

3.1.2 ผลการหาอายุที่เหมาะสมของกล้าเชื้อสายใยที่ตรึงในแผ่น PUF สำหรับการผลิตกรดกลูโคนิก

เมื่อผลิตกรดกลูโคนิกด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหมาะสมเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึง (ภาคผนวก ก3) ในขวดเขย่าตามวิธีดำเนินการทดลองข้อ 6 ปรับความเป็นกรดด่างตลอดการทดลองให้อยู่ในช่วง 5.5-6.5 ด้วย 1 N NaOH โดยแปรผันอายุของกล้าเชื้อสายใยตรึงต่างๆ กันคือ 36 40 44 48 และ 52 ชั่วโมง ซึ่งจัดอยู่ในช่วงกลางค่อนข้างต้นของระยะที่มีการเติบโตมากและรวดเร็ว ผลการทดลองพบว่า กล้าเชื้อสายใยตรึงอายุ 36 ชั่วโมง ผลิตกรดได้ปริมาณต่ำคือ 148.7 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 12 ของการผลิต แต่เมื่อใช้กล้าเชื้อสายใยตรึงอายุเพิ่มขึ้นเป็น 48 ชั่วโมง ให้ปริมาณกรดมากที่สุดคือ 180.69

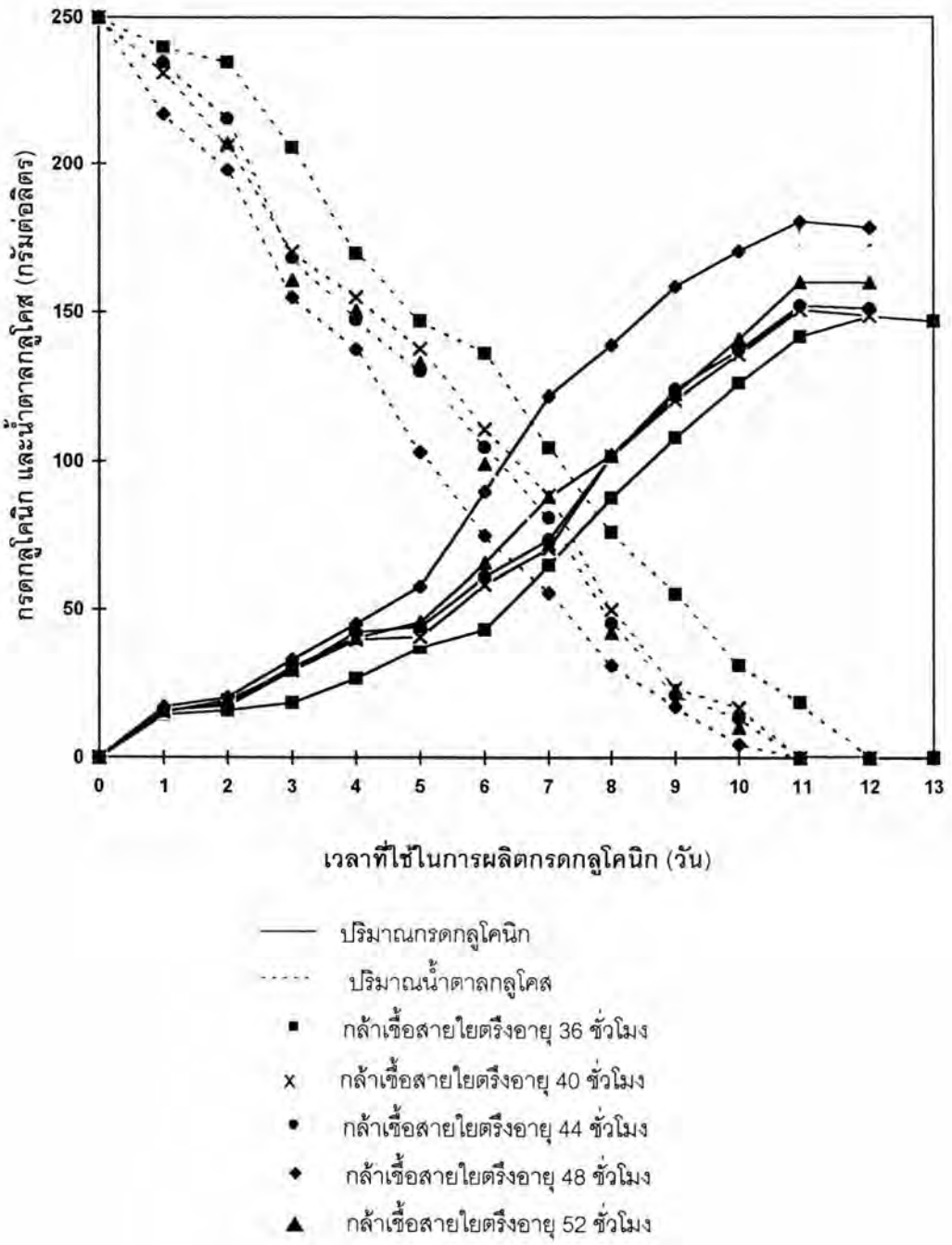


รูปที่ 17 การเติบโตของ *Aspergillus niger* G153 ที่ตรึงในแผ่น PUF เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกในช่วงเวลาต่างๆ กันในขวดเขย่า

กรัมต่อลิตร ในวันที่ 11 ของการผลิต ส่วนกล้าเชื้อสายใยตรึงอายุ 40 44 และ 52 ชั่วโมง นั้น ให้ปริมาณกรดใกล้เคียงกันคือ 150.75 152.25 และ 160.04 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 18) สำหรับการใช้น้ำตาลของกล้าเชื้อสายใยตรึงทั้ง 4 อายุ มีการใช้น้ำตาลไล่เลี่ยกัน คือ ใช้น้ำตาลหมดในวันที่ 11 ของการผลิตเช่นเดียวกัน ส่วนกล้าเชื้อสายใยตรึงอายุ 36 ชั่วโมงนั้น ใช้น้ำตาลช้า คือ ใช้น้ำตาลหมดในวันที่ 12 ของการผลิต (รูปที่ 18) การเติบโตของกล้าเชื้อสายใยตรึงระหว่างการผลิต ซึ่งพิจารณาจากน้ำหนักแห้งของสายใยตรึง เมื่อเริ่มต้นการผลิตจนสิ้นสุดการผลิต พบว่ามีการเจริญของสายใยตรึงเพิ่มขึ้นในทุกๆ การทดลองและไม่ต่างกันมากนัก (ตารางที่ 8) จะเห็นได้ว่ากล้าเชื้อสายใยตรึงอายุ 48 ชั่วโมงมีประสิทธิภาพในการผลิตกรดสูงกว่าอายุอื่นๆ จึงเลือกใช้กล้าเชื้อสายใยตรึงอายุ 48 ชั่วโมง สำหรับการทดลองต่อไป

ตารางที่ 8 การเติบโตของสายใยตรึงระหว่างการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตในขวดเขย่า เมื่อแปรผันอายุของกล้าเชื้อสายใยตรึงต่างๆ กัน เตรียมกล้าเชื้อจากการตรึงสปอร์ของ *Aspergillus niger* G153 จำนวน 5.0-12.5 × 10^6 สปอร์ต่อแผ่น PUF ขนาด 4.4 เซนติเมตร^2 1 แผ่น

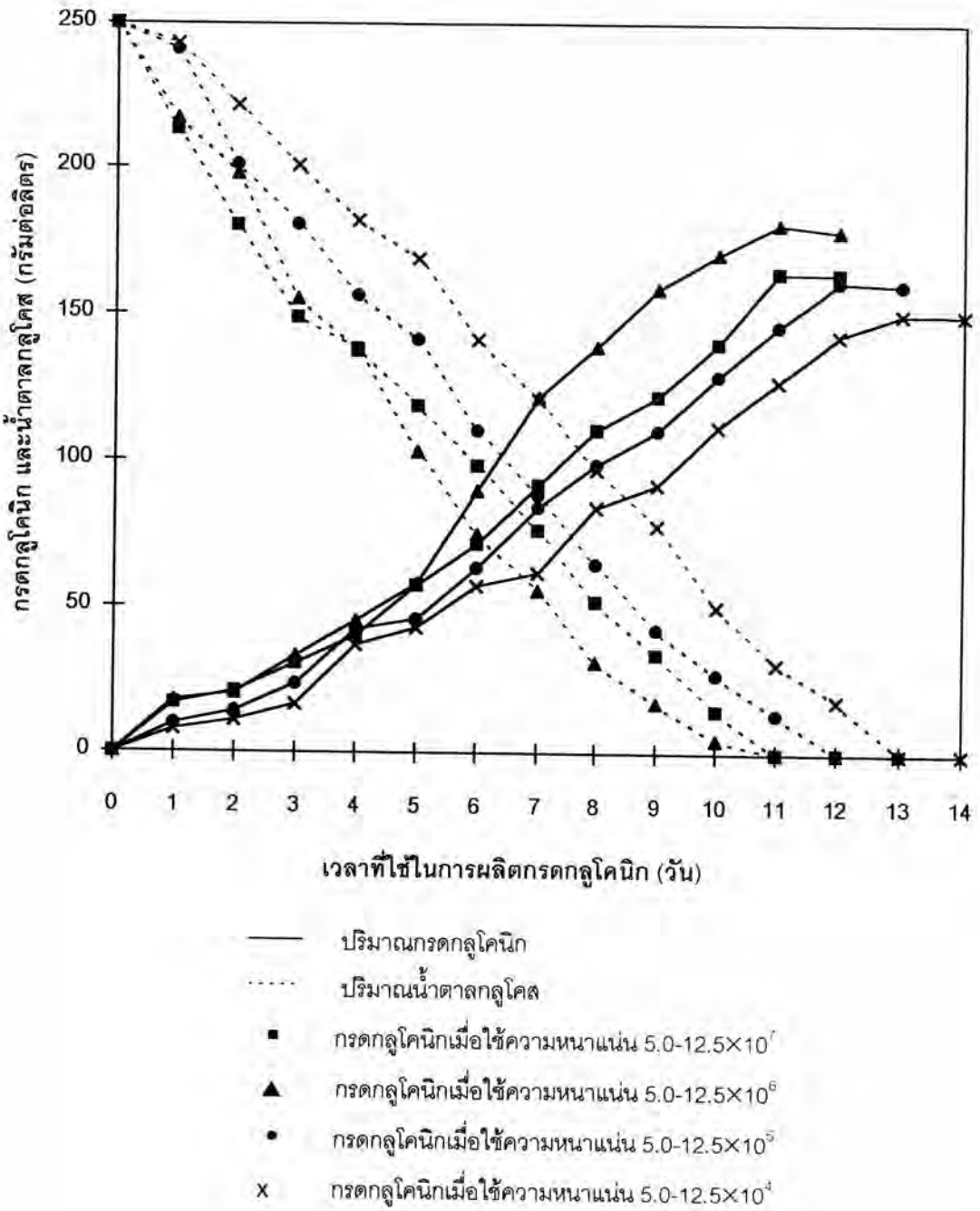
อายุกล้าเชื้อสายใยตรึง (ชั่วโมง)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อเริ่มการผลิต		น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อสิ้นสุดการผลิต		น้ำหนักแห้งสายใยตรึงที่เพิ่มขึ้น	
	กรัมต่อ 1 แผ่น PUF	กรัมต่อลิตร	กรัมต่อ 1 แผ่น PUF	กรัมต่อลิตร	กรัมต่อ 1 แผ่น PUF	กรัมต่อลิตร
36	0.135	1.35	0.3	3.0	0.1650	1.65
40	0.15	1.5	0.308	3.086	0.1586	1.586
44	0.1512	1.512	0.32	3.2	0.1685	1.688
48	0.152	1.52	0.3354	3.354	0.1834	1.834
52	0.1557	1.557	0.3345	3.345	0.1788	1.788



รูปที่ 18 ผลผลิตกรดกลูโคนิก และน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ เมื่อผลิตกรดกลูโคนิกโดยใช้กล้าเชื้อสายใยตรึงอายุต่างๆ กัน วัสดุตรึงคือ แผ่น PUF ขนาด 4.4 เซนติเมตร^2 ทำการผลิตบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30-33 องศาเซลเซียส)

3.1.3 ผลการหาความหนาแน่นที่เหมาะสมของสปอร์ที่ตรึงในแผ่น PUF

เมื่อตรึงสปอร์ของ *Aspergillus niger* G153 ในแผ่น PUF โดยใช้ความหนาแน่นสปอร์ 5.0-12.5×10^4 5.0-12.5×10^5 5.0-12.5×10^6 5.0-12.5×10^7 สปอร์ต่อแผ่น PUF ขนาด 4.4 เซนติเมตร^3 มีน้ำหนัก 0.05 กรัม จำนวน 1 แผ่น ตามวิธีดำเนินการทดลองข้อ 5.2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการทำให้สปอร์ตรึงงอก (ภาคผนวก ก2) เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง แล้วถ่ายแผ่น PUF ที่มีสายใยตรึงลงในขวดที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงในระดับขวดเขย่า (ภาคผนวก ก3) ตามวิธีดำเนินการทดลองข้อ 6 มีการปรับความเป็นกรดด่างตลอดการทดลองด้วย 1 N NaOH โดยใช้อินดิเคเตอร์ที่ใส่ไปในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดเป็นตัวบ่งชี้ว่า เมื่อใดควรจะเติม 1 N NaOH ผลการทดลองพบว่า ความหนาแน่นสปอร์เท่ากับ 5.0-12.5×10^7 สปอร์ต่อ 1 แผ่น PUF พบสายใยอิสระในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก ซึ่งอาจเนื่องจากสปอร์เข้าไปในแผ่น PUF ได้ไม่หมด จึงเติบโตอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และเมื่อถ่ายแผ่น PUF ที่มีสายใยตรึงไปในขวดบรรจุอาหาร สำหรับการผลิตกรด พบว่า ได้ปริมาณกรดกลูโคนิก 164.12 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 11 ของการผลิต จากนั้นจึงทดลองลดความหนาแน่นสปอร์ตรึงเป็น 5.0-.5×10^6 5.0-12.5×10^5 5.0-12.5×10^4 สปอร์ต่อ 1 แผ่น PUF ได้ปริมาณกรดกลูโคนิก 180.69 161.1 และ 150.4 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 11 12 13 ของการผลิตตามลำดับ (รูปที่ 19) สำหรับการใช้น้ำตาล พบว่า การทดลองที่ใช้สปอร์จำนวน 5.0-12.5×10^7 สปอร์ต่อ 1 แผ่น PUF ใช้น้ำตาลได้เร็วกว่าการทดลองที่ใช้สปอร์ปริมาณอื่นๆ ในช่วง 3 วันแรก หลังจากนั้นการทดลองที่ใช้สปอร์ 5.0-12.5×10^6 สปอร์ต่อ 1 แผ่น PUF มีการใช้น้ำตาลเร็วกว่าการทดลองที่ใช้สปอร์จำนวน 5.0-12.5×10^7 5.0-12.5×10^5 5.0-12.5×10^4 ตามลำดับ (รูปที่ 19) ส่วนการเติบโตของสายใยตรึง พบว่า ความหนาแน่นสปอร์ 5.0-12.5×10^7 มีการเติบโตมากที่สุด รองลงมาคือ 5.0-12.5×10^6 5.0-12.5×10^5 5.0-12.5×10^4 ตามลำดับ (ตารางที่ 9) ดังนั้นความหนาแน่นของสปอร์ที่เหมาะสมสำหรับการตรึงในแผ่น PUF ขนาด 4.4 เซนติเมตร^2 1 แผ่น คือ 5.0-12.5×10^6 สปอร์



รูปที่ 19 ผลผลิตกรดกลูโคนิก และน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ เมื่อเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงในแผ่น PUF เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยแปรผันความหนาแน่นของสปอร์ตรึงเป็น $5.0\text{-}12.5\times10^{7}$ $5.0\text{-}12.5\times10^{6}$ $5.0\text{-}12.5\times10^{5}$ $5.0\text{-}12.5\times10^{4}$ สปอร์ต่อ PUF 1 แผ่น ในระดับขวดเขย่า ที่อุณหภูมิห้อง (30-33 องศาเซลเซียส)

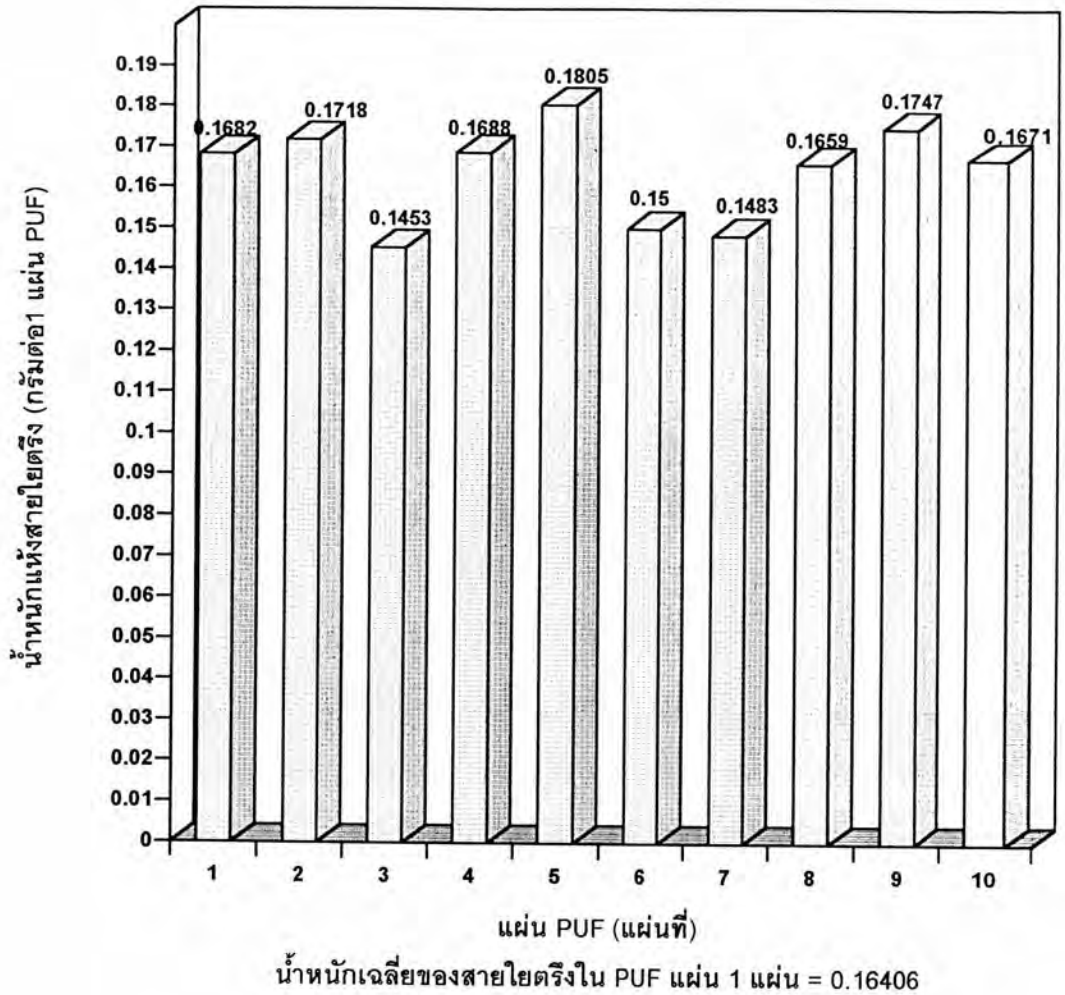
ตารางที่ 9 แสดงผลการเติบโตของน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงในแผ่น PUF เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อแปรผันความหนาแน่นของสปอร์ตรึงต่างๆ กัน

ความหนาแน่นสปอร์ตรึง (สปอร์ต่อ 1 แผ่น PUF	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อเริ่มการผลิต		น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อสิ้นสุดการผลิต		น้ำหนักแห้งสายใยตรึงที่เพิ่มขึ้น	
	กรัมต่อ1 แผ่น PUF	กรัมต่อลิตร	กรัมต่อ 1 แผ่น PUF	กรัมต่อลิตร	กรัมต่อ 1 แผ่น PUF	กรัมต่อลิตร
5.0-12.5×10^4	0.1201	1.201	0.2599	2.599	0.1398	1.398
5.0-12.5×10^5	0.135	1.35	0.2876	2.876	0.1526	1.526
5.0-12.5×10^6	0.152	1.52	0.3354	3.354	0.1834	1.834
5.0-12.5×10^7	0.1693	1.693	0.3644	3.644	0.1951	1.951

3.1.4 ผลการหาน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของสายใยตรึงในแผ่น PUF 10 แผ่น

เตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึงอายุ 48 ชั่วโมงในแผ่น PUF ตามวิธีการทดลองข้อ 5.2 จำนวน 10 แผ่น จากนั้นนำสายใยตรึงในแผ่น PUF ไปอบแห้งเพื่อหาน้ำหนักแห้งของสายใยตรึงในแต่ละแผ่น PUF และน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเฉลี่ย ผลการทดลอง (รูปที่ 20) พบว่า น้ำหนักแห้งสายใยตรึงในแต่ละแผ่นมีค่าใกล้เคียงกันคือ อยู่ในช่วง 0.14 - 0.18 กรัมต่อ PUF 1 แผ่น โดยที่น้ำหนักแห้งสายใยตรึงต่ำสุดเท่ากับ 0.1453 กรัมต่อ PUF 1 แผ่น และน้ำหนักแห้งสายใยตรึงสูงสุดเท่ากับ 0.1895 กรัมต่อ PUF 1 แผ่น ส่วนน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 0.16406 กรัมต่อ PUF 1 แผ่น การที่มีการหาน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเฉลี่ยในการทดลองนี้ เนื่องจากการผลิตกรดกลูโคนิกด้วยสายใยตรึงในแผ่น PUF นั้นใช้น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเป็นเกณฑ์ในการระบุขนาดของกล้าเชื้อสายใยตรึง ดังนั้นจึงต้องมีน้ำหนักแห้งสายใยเฉลี่ย เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณหาจำนวนแผ่นของ PUF ในการผลิตกรดกลูโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยสายใยตรึงในแผ่น PUF ต่อไป

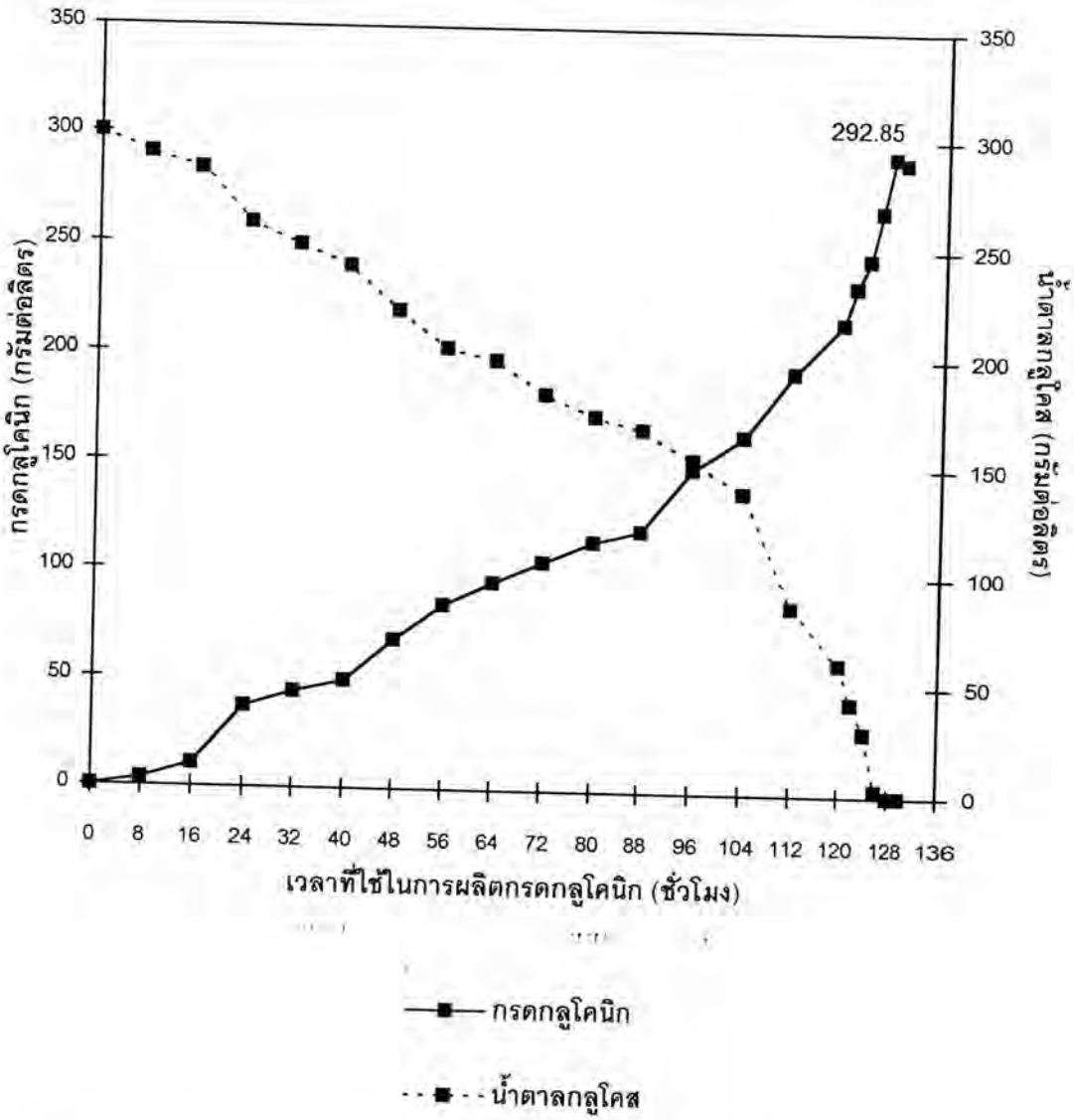
3.2 ผลการหาภาวะเหมาะสมบางประการในการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในแผ่น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง



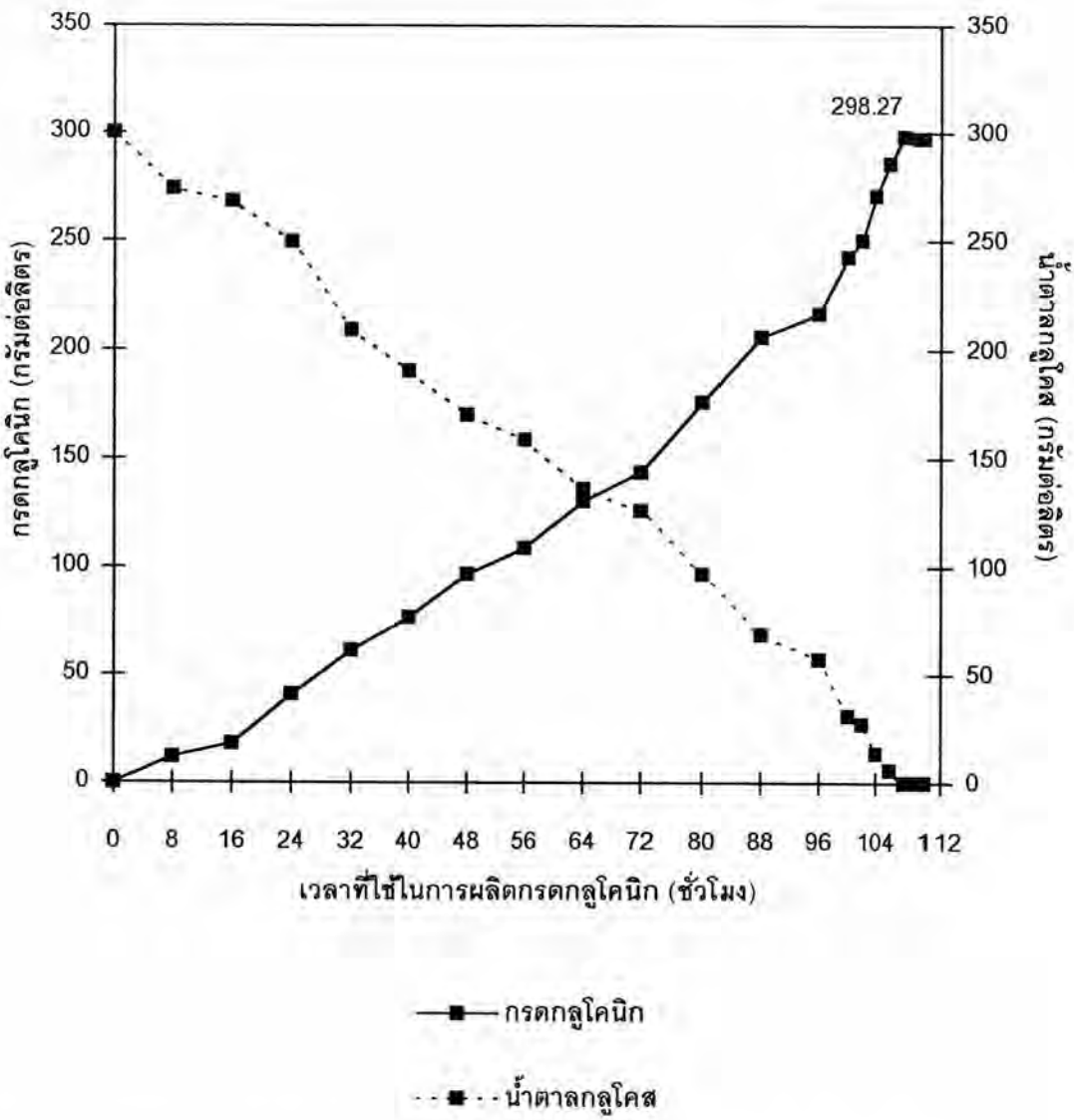
รูปที่ 20 ค่าน้ำหนักแห้งของสายใยที่ตรึงในแผ่น PUF ขนาด 4.4 เซนติเมตร^2 จำนวน 10 แผ่น ใช้ กล้าเชื้อความหนาแน่นสปอร์ตรึง 5.0-12.5X10^6 สปอร์ต่อ PUF 1 แผ่น อายุ 48 ชั่วโมง

3.2.1 ผลการแปรผันอัตราการให้อากาศในการผลิตกรดกลูโคนิก

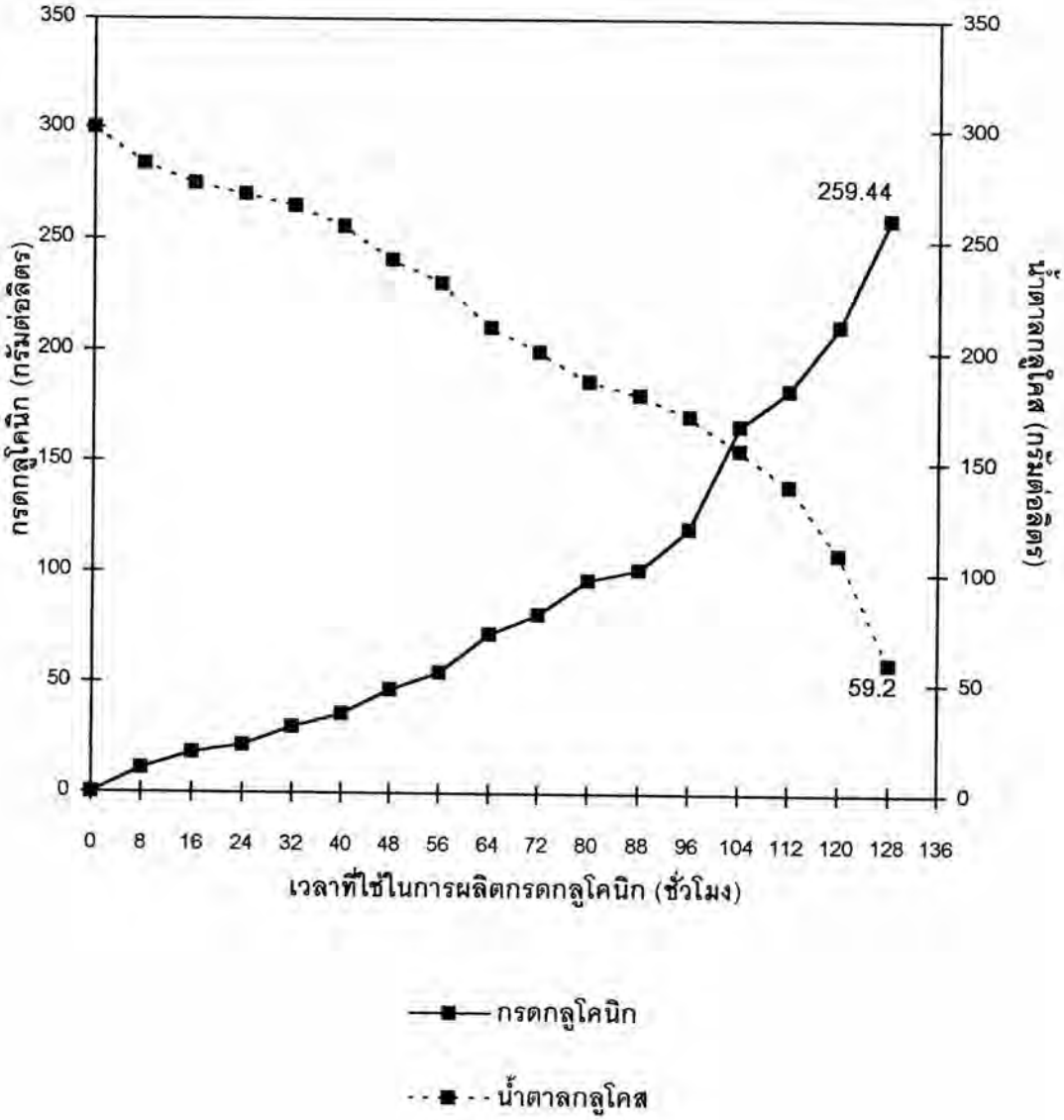
เมื่อนำสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 มาผลิตกรดกลูโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิก (ภาคผนวก ก4) โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วเป็น 300 กรัมต่อลิตร ซึ่งได้ศึกษามาแล้วว่าเหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยสายใยตรึงในชิ้น PUF ใช้กล้าเชื้อสายใยตรึงอายุเหมาะสมคือ 48 ชั่วโมง น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใย 9.085 - 9.15 กรัมต่อลิตร (ซึ่งเตรียมจากน้ำหนักแห้งของแผ่น PUF 7.5 กรัมต่อลิตร) (น้ำหนักแห้งสายใยตรึงค่านี้คือ ค่าที่เหมาะสมในการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้น PUF) แปรผันอัตราการให้อากาศเป็น 15 20 25 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ผลการทดลองพบว่า เมื่อให้อัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ให้ปริมาณกรดสูงสุด 292.85 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 128 ของการผลิต และใช้น้ำตาลหมดในชั่วโมงที่ 128 ของการผลิตเช่นเดียวกัน (รูปที่ 21) แต่เมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศเป็น 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที (รูปที่ 22) พบว่า ให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 298.27 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 108 ของการผลิต และใช้น้ำตาลหมดในชั่วโมงที่ 108 ของการผลิตเช่นเดียวกัน และเมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศขึ้นอีกเป็น 25 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที (รูปที่ 23) แต่ในระหว่างการผลิต พบว่า ที่อัตราการให้อากาศ 25 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที มากเกินไปทำให้เกิดฟองปริมาณมาก จึงต้องใส่สารกำจัดฟอง (อะดีคานอล) ปริมาณมาก เพื่อกำจัดฟองที่เกิดขึ้น นอกจากนี้ในระหว่างการผลิตจุกยางที่ปิดด้านบนของคอลัมน์แก้วจะถูกดันให้ขยับขึ้นมาเรื่อยๆ เนื่องจากการให้อากาศที่มากเกินไป จึงต้องหยุดการทดลอง ในชั่วโมงที่ 128 ซึ่งให้ปริมาณกรด 259.44 กรัมต่อลิตร เหลือน้ำตาล 59.2 กรัมต่อลิตร ซึ่งจะเห็นได้ว่าผลผลิตกรด และการใช้น้ำตาลช้ากว่าการให้อากาศค่าอื่น ส่วนการเติบโตของสายใยตรึง (ตารางที่ 6) เมื่ออัตราการให้อากาศเท่ากับ 15 20 และ 25 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที มีการเติบโตเพิ่มขึ้น 1.525 1.315 และ 1.6 กรัมต่อลิตรตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุดที่ผลิตได้ และระยะเวลาในการผลิตกรด (รูปที่ 24) พบว่า ที่อัตราการให้อากาศ 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ปริมาณกรดสูงกว่าที่อัตราการให้อากาศค่าอื่นๆ คือ 298.27 กรัมต่อลิตร และใช้เวลาในการผลิตสั้นที่สุดด้วยคือที่ชั่วโมง



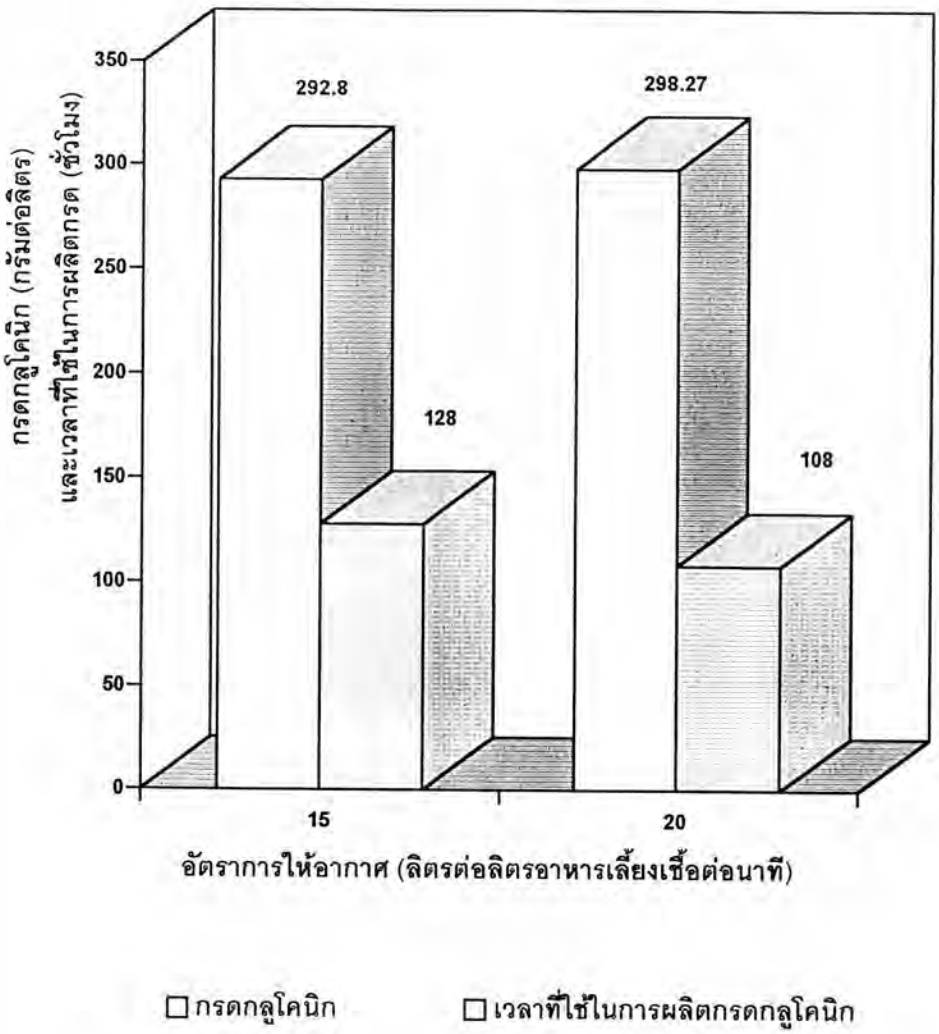
รูปที่ 21 การผลิตกรดกลูโคนิกด้วยสายใยตรึงในแผ่น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร และอัตราการให้อากาศ 15 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30 - 33 องศาเซลเซียส)



รูปที่ 22 การผลิตกรดกลูโคนิกด้วยสายใยตรึงในแผ่น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30 - 33 องศาเซลเซียส)



รูปที่ 23 การผลิตกรดกลูโคนิกด้วยสายใยตรึงในแผ่น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 300 กรัมต่อลิตร และอัตราการให้อากาศ 25 ลิตรต่อลิตร อาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาทีที่อุณหภูมิห้อง (30 - 33 องศาเซลเซียส)



รูปที่ 24 เปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิกและเวลาที่ใช้ในการผลิต เมื่อผลิตในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยสายใยตรึงแผ่น PUF เมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 300 กรัมต่อลิตร เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศเป็น 15 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30-33 องศาเซลเซียส)

108 ของการผลิต ดังนั้นอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมคือ 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

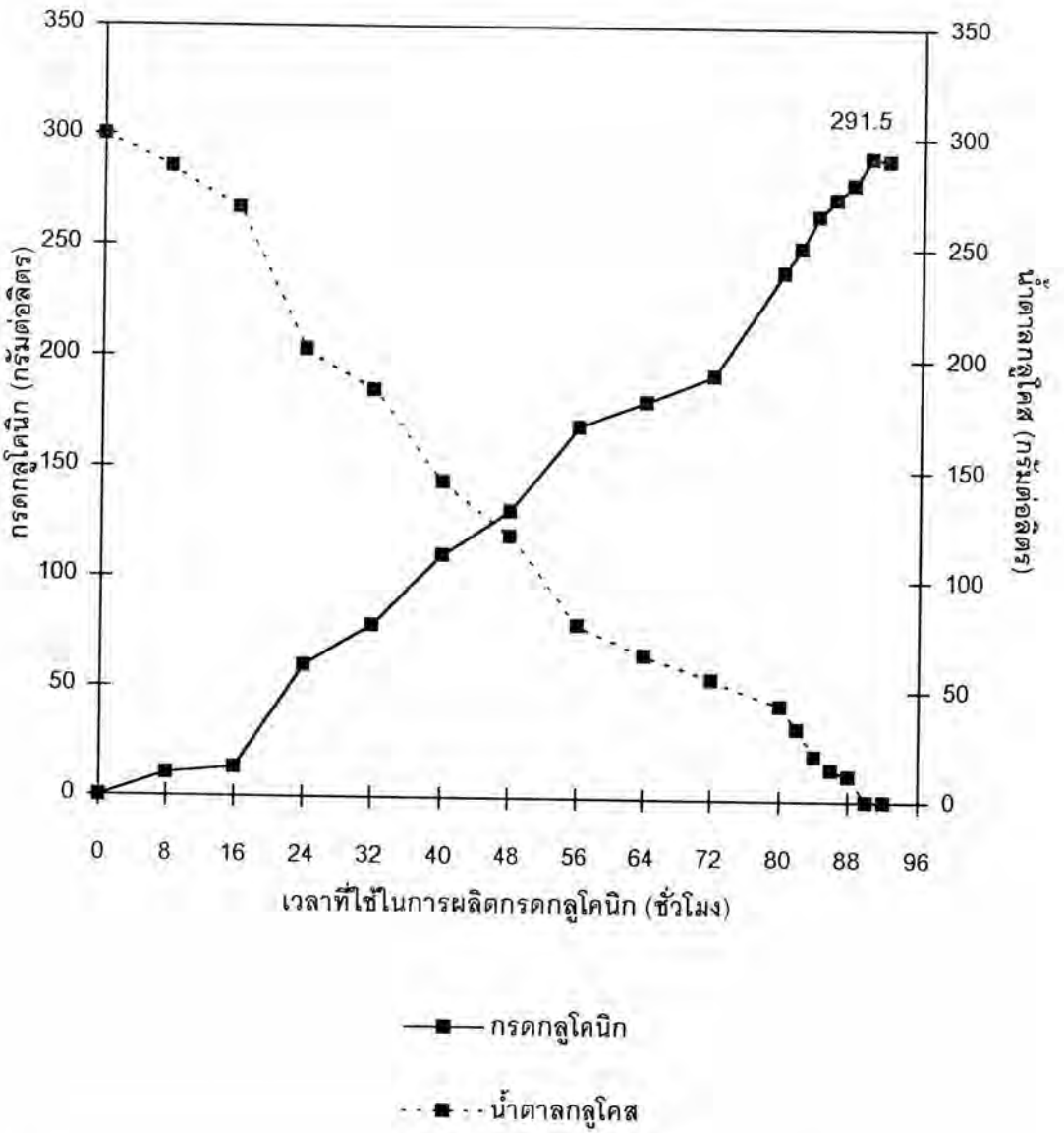
ตารางที่ 10 การเติบโตของสายใยตรึงในแผ่น PUF ในการผลิตกรดกลูโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึง 9.085 - 9.15 กรัมต่อลิตรตามลำดับ (ซึ่งเตรียมจากน้ำหนักแห้งของแผ่น PUF 7.5 กรัมต่อลิตร เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศต่างๆ กัน

อัตราการให้อากาศ (ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงในแผ่น PUF ที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อลิตร)
15	1.525
20	1.315
25	1.6 หยุดการทดลองที่ 128 ชั่วโมง

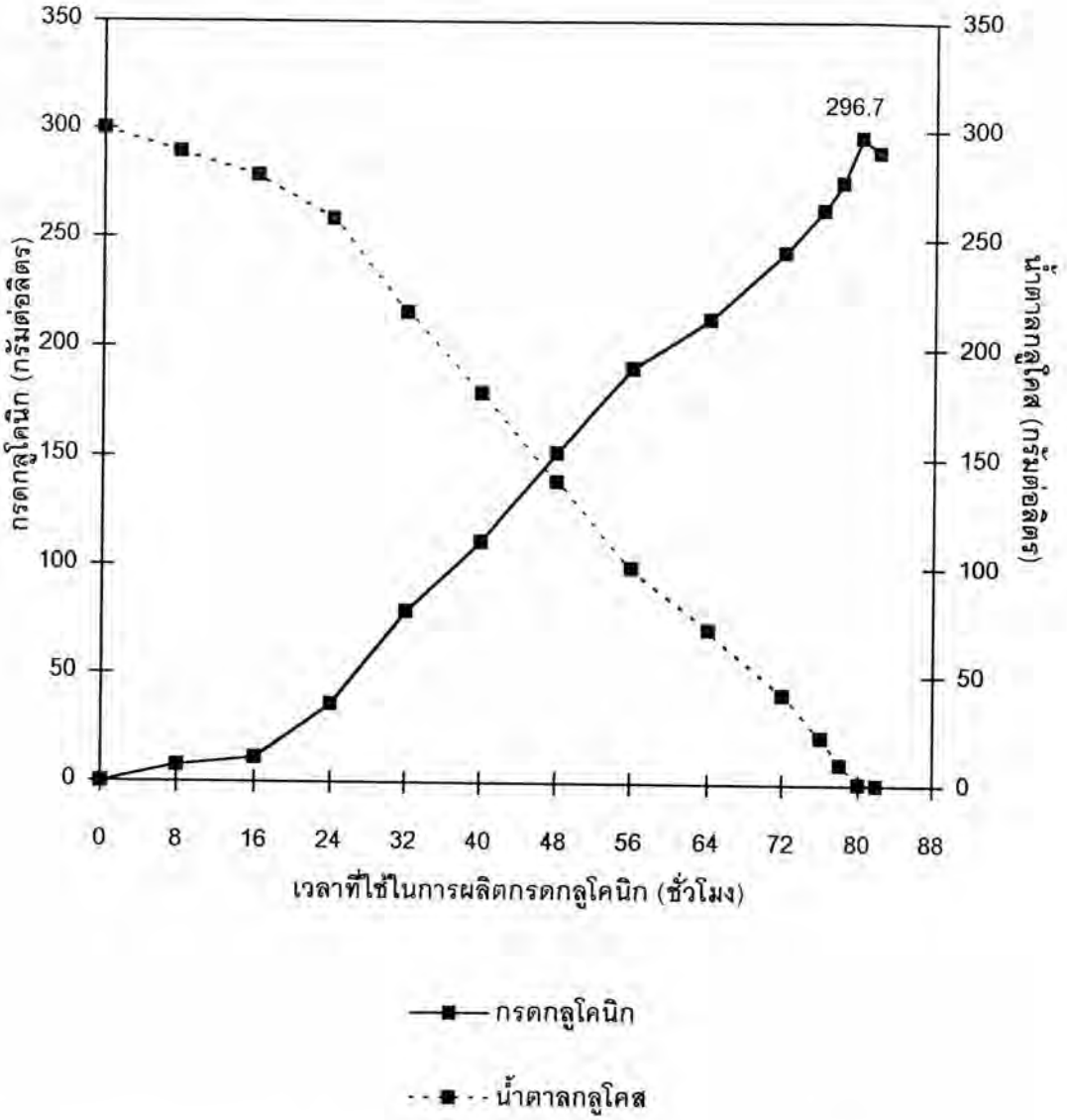
3.2.2 ผลการแปรผันน้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึงในแผ่น PUF

เมื่อผลิตกรดกลูโคนิกโดยใช้สายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยแปรผันน้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึงเป็น 9.085 6.15 2.87 และ 1.64 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด (ซึ่งเตรียมจากน้ำหนักแห้งของแผ่น PUF เท่ากับ 7.5 5 2.5 และ 1.25 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อตามลำดับ) ใช้แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วที่มีน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นเข้มข้นเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศ 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ผลการทดลอง (รูปที่ 22) พบว่า การทดลองที่ใช้น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึง 9.085 กรัมต่อลิตร (เตรียมจากน้ำหนักแห้งของแผ่น PUF 7.5 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ)

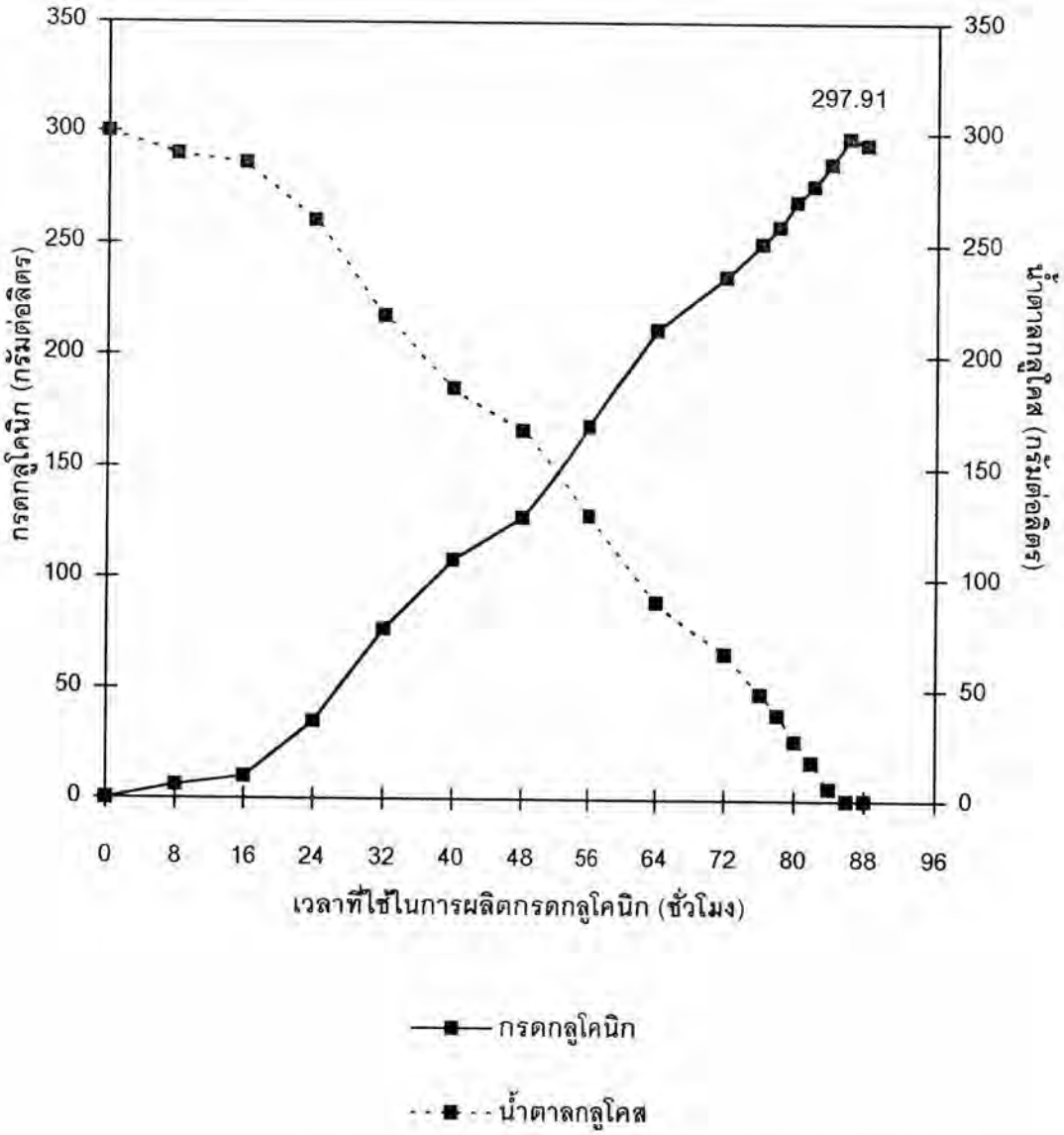
ให้ปริมาณกรดสูงสุด 298.27 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 108 ของการผลิต ส่วนการทดลองที่ใช้น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึงเท่ากับ 6.15 2.87 1.64 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด พบว่า ได้ปริมาณกรดสูงสุด 291.5 296.7 297.91 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 90 80 และ 86 ตามลำดับ และใช้น้ำตาลหมดในชั่วโมงที่ 90 80 และ 86 ตามลำดับเช่นเดียวกัน (รูปที่ 25 26 27) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดสูงสุดที่ผลิตได้ และระยะเวลาในการผลิต (รูปที่ 28) จะเห็นว่าเมื่อใช้กล้าเชื้อสายใยตรึงน้อยลง คือจาก 9.085 กรัมมาเป็น 2.87 กรัม ระยะเวลาในการผลิตกรดจะสั้นลงด้วย เนื่องจากสภาพภายในคอลัมน์เมื่อมีแผ่น PUF หนาแน่นนั้น การให้อากาศไม่ทั่วถึง แต่เมื่อลดขนาดของกล้าเชื้อสายใยตรึงมากกว่านี้คือ 1.64 กรัมต่อลิตร กลับใช้เวลาในการผลิตเพิ่มขึ้น และพบว่าที่น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึงในแผ่น PUF เท่ากับ 2.87 กรัมต่อลิตร (ซึ่งเตรียมจากน้ำหนักแห้งของแผ่น PUF 2.5 กรัมต่อลิตร) ใช้ระยะเวลาในการผลิตกรดสั้นที่สุด คือ 80 ชั่วโมง และให้ปริมาณกรดสูงสุด 296.7 กรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาถึงการเติบโตของสายใยตรึงในแผ่น PUF พบว่า (ตารางที่ 11) มีการเติบโตของสายใยตรึงในแผ่น PUF เพิ่มขึ้นเป็น 1.315 1.35 0.906 0.75 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งผลจากการเติบของสายใยตรึงนี้อาจเป็นสาเหตุของการลดลงของปริมาณกรดก็ได้ ดังนั้นภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงในแผ่น PUF ในระดับคอลัมน์แก้วที่มี การให้อากาศด้านล่าง คือ ใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึงในแผ่น PUF 2.87 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด (ซึ่งเตรียมจากน้ำหนักแห้งของแผ่น PUF 2.5 กรัมต่อลิตร) ได้ปริมาณกรดสูงสุด 296.7 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 80 ของการผลิต



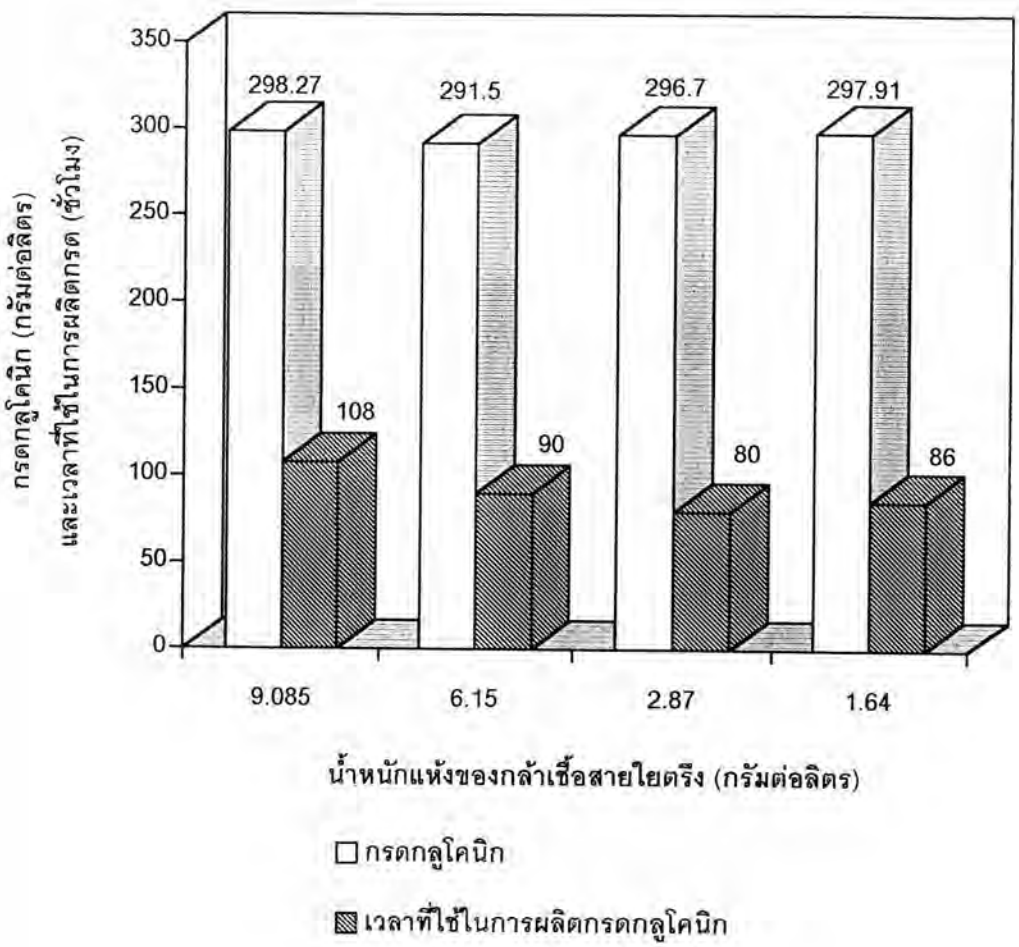
รูปที่ 25 การผลิตกรดกลูโคนิกด้วยสายใยตรึงในแผ่น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที น้ำหนักแห้งกล้าเชื้อสายใยตรึงเท่ากับ 6.15 กรัมต่อลิตร (ซึ่งเตรียมจาก PUF แห้งหนัก 5 กรัมต่อลิตร) ที่อุณหภูมิห้อง (30 - 33 องศาเซลเซียส)



รูปที่ 26 การผลิตกรดกลูโคนิกด้วยสายใยตรึงในแผ่น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นแป้งมันสำหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที น้ำหนักแห้งกล้าเชื้อสายใยตรึงเท่ากับ 2.87 กรัมต่อลิตร (ซึ่งเตรียมจาก PUF แห้งหนัก 2.5 กรัมต่อลิตร) ที่อุณหภูมิห้อง (30 - 33 องศาเซลเซียส)



รูปที่ 27 การผลิตกรดกลูโคนิกด้วยสายใยตรึงในแผ่น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที น้ำหนักแห้งกล้าเชื้อสายใยตรึงเท่ากับ 1.64 กรัมต่อลิตร (ซึ่งเตรียมจาก PUF แห้งหนัก 1.25 กรัมต่อลิตร) ที่อุณหภูมิห้อง (30 - 33 องศาเซลเซียส)



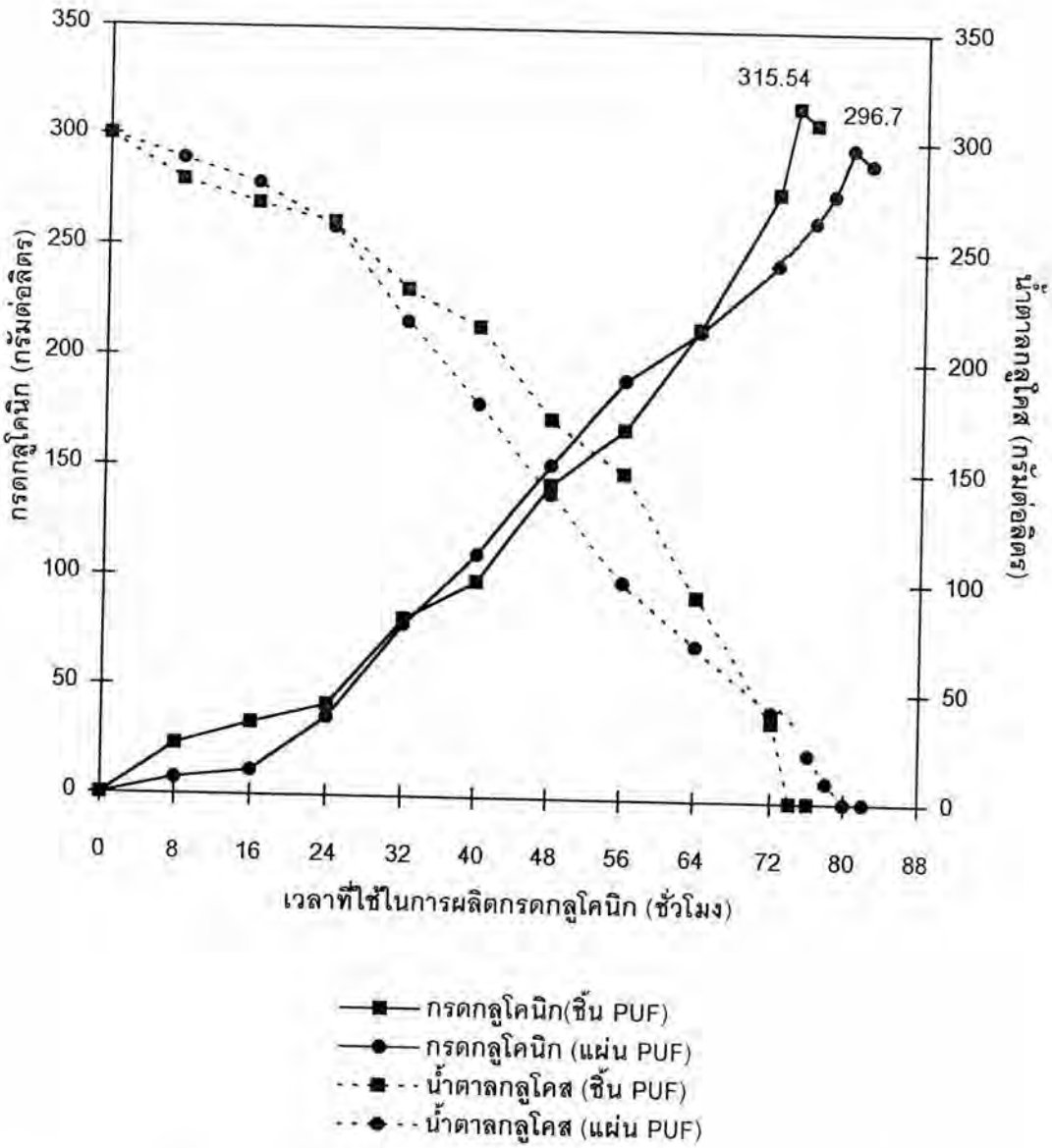
รูปที่ 28 เปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิกและเวลาที่ใช้ในการผลิตเมื่อผลิตในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยสายใยตรึงในแผ่น PUF เมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศเป็น 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที โดยแปรผันน้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึงเท่ากับ 9.085 6.15 2.87 1.64 กรัมต่อลิตร (ซึ่งเตรียมจาก PUF หนัก 7.5 5 2.5 1.25 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) ที่อุณหภูมิห้อง (30 - 33 องศาเซลเซียส)

ตารางที่ 11 การเติบโตของสายใยตรึงในแผ่น PUF เมื่อผลิตกรดกลูโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที โดยแปรผันน้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึงต่างๆ กัน

น้ำหนักแห้งกล้าเชื้อสายใยตรึงในแผ่น PUF เมื่อเริ่มการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งของแผ่น PUF ที่ใช้ในการเตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงในแผ่น PUF เมื่อสิ้นสุดการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงในแผ่น PUF ที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อลิตร)
9.085	7.5	10.4	1.315
6.1495	5	7.5	1.35
2.87	2.5	3.775	0.906
1.64	1.25	2.4	0.75

4. ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตภายใต้ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 ในชิ้นและแผ่น PUF

เมื่อเปรียบเทียบการผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตด้วยสายใยตรึงในชิ้นและแผ่น PUF ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตโดยสายใยตรึง พบว่าเมื่อใช้น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึงในการผลิตเท่ากับ 9.125 2.87 กรัมต่อลิตร (ซึ่งเตรียมจากน้ำหนักแห้งของชิ้นและแผ่น PUF เท่ากับ 7.5 2.5 กรัมต่อลิตร) ตามลำดับ ใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว 300 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 15 และ 20 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง พบว่าให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 315.54 296.7 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 74 80 ของการผลิตตามลำดับ (รูปที่ 29) คิดเป็นอัตราการผลิตกรดกลูโคนิกเมื่อเทียบกับน้ำตาล



รูปที่ 29 เปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตจากสายใยตรึงในชิ้นและแผ่น PUF ผลิตในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างภายใต้ภาวะที่เหมาะสม ที่อุณหภูมิห้อง (30 - 33 องศาเซลเซียส)

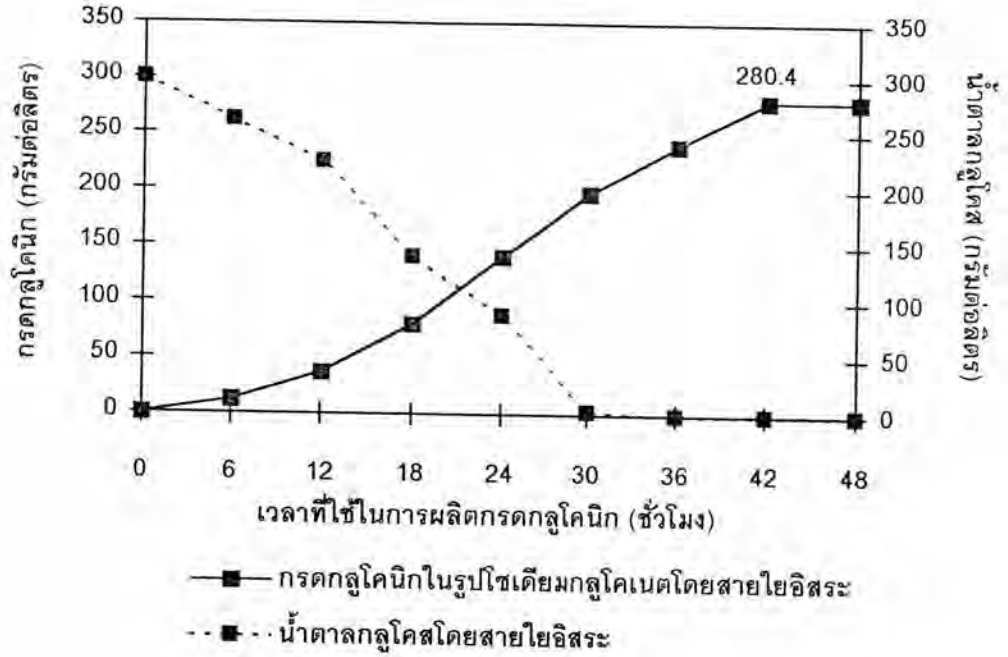
กลูโคสตั้งต้นเท่ากับ 96.59 90.83 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการผลิตกรดกลูโคนิกด้วยสายใยตรึงในแผ่น PUF ให้ปริมาณกรดน้อยกว่าเล็กน้อย เนื่องจากมีการเติบโตของสายใยตรึงเพิ่มมากกว่าการผลิตกรดด้วยสายใยตรึงในชิ้น PUF และนอกจากนี้การผลิตกรดกลูโคนิกด้วยสายใยตรึงในชิ้น PUF ยังใช้ระยะเวลาในการผลิตสั้นกว่าการผลิตกรดกลูโคนิกด้วยสายใยตรึงในแผ่น PUF 6 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบการใช้น้ำตาล พบว่ามีการใช้น้ำตาลรูปแบบเดียวกัน กล่าวคือ ใช้น้ำตาลหมดในชั่วโมงที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด แต่สายใยที่ตรึงในแผ่น PUF ใช้น้ำตาลในช่วงกลางของการผลิตเร็วกว่า ฉะนั้นการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้น PUF น่าจะเหมาะสมกว่า

5 ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตภายใต้ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* **G153 ในชิ้น PUF และสายใยอิสระของ** *Aspergillus niger* **G153**

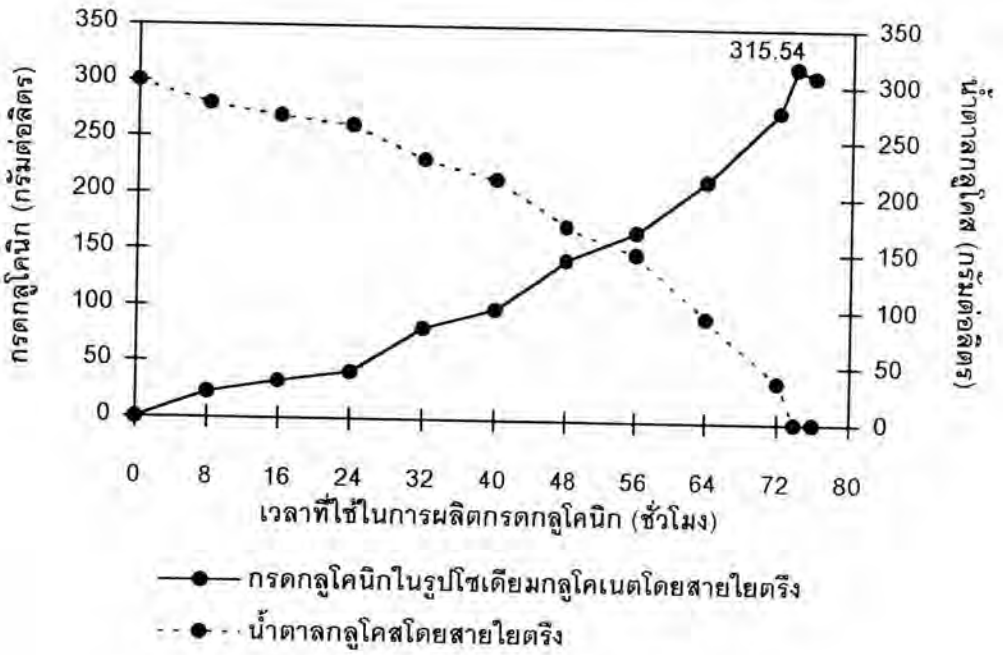
เมื่อผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนตภายใต้ภาวะที่เหมาะสม ด้วยสายใยอิสระในถังหมักขนาด 5 ลิตร (จินตนา ไกรวัฒนพงศ์, 2536) และสายใยตรึงในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง (งานวิจัยนี้) พบว่า การผลิตกรดด้วยสายใยอิสระในถังหมักขนาด 5 ลิตร ให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 280.4 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 42 ของการผลิตหรือเท่ากับ 93.46 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักกลูโคสตั้งต้น) (รูปที่ 30 ก) ส่วนการผลิตกรดด้วยสายใยตรึงใน *Aspergillus niger* G153 ให้ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุด 315.54 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 74 ของการผลิต และใช้น้ำตาลหมดในชั่วโมงที่ 74 เช่นเดียวกัน คิดเป็นผลผลิตเมื่อเทียบกับน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นเท่ากับ 96.59 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 30 ข) ซึ่งจะเห็นได้ว่าการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยอิสระในถังหมักสามารถใช้เวลาในการผลิตสั้นกว่า แต่ปริมาณกรดกลูโคนิกสูงสุดน้อยกว่าการผลิตกรดกลูโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้น PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง

6. ผลการวิเคราะห์อุณหภูมิหลอมเหลว (melting temperature) **ของเกลือโซเดียมกลูโคเนต ที่สร้างโดย รา** *Aspergillus niger* G153

เมื่อนำผลึกของเกลือโซเดียมกลูโคเนตที่ผลิตได้จาก *Aspergillus niger* G153 และเกลือโซเดียมกลูโคเนตมาตราฐานไปหาอุณหภูมิหลอมเหลวโดยเครื่อง Differential Thermal



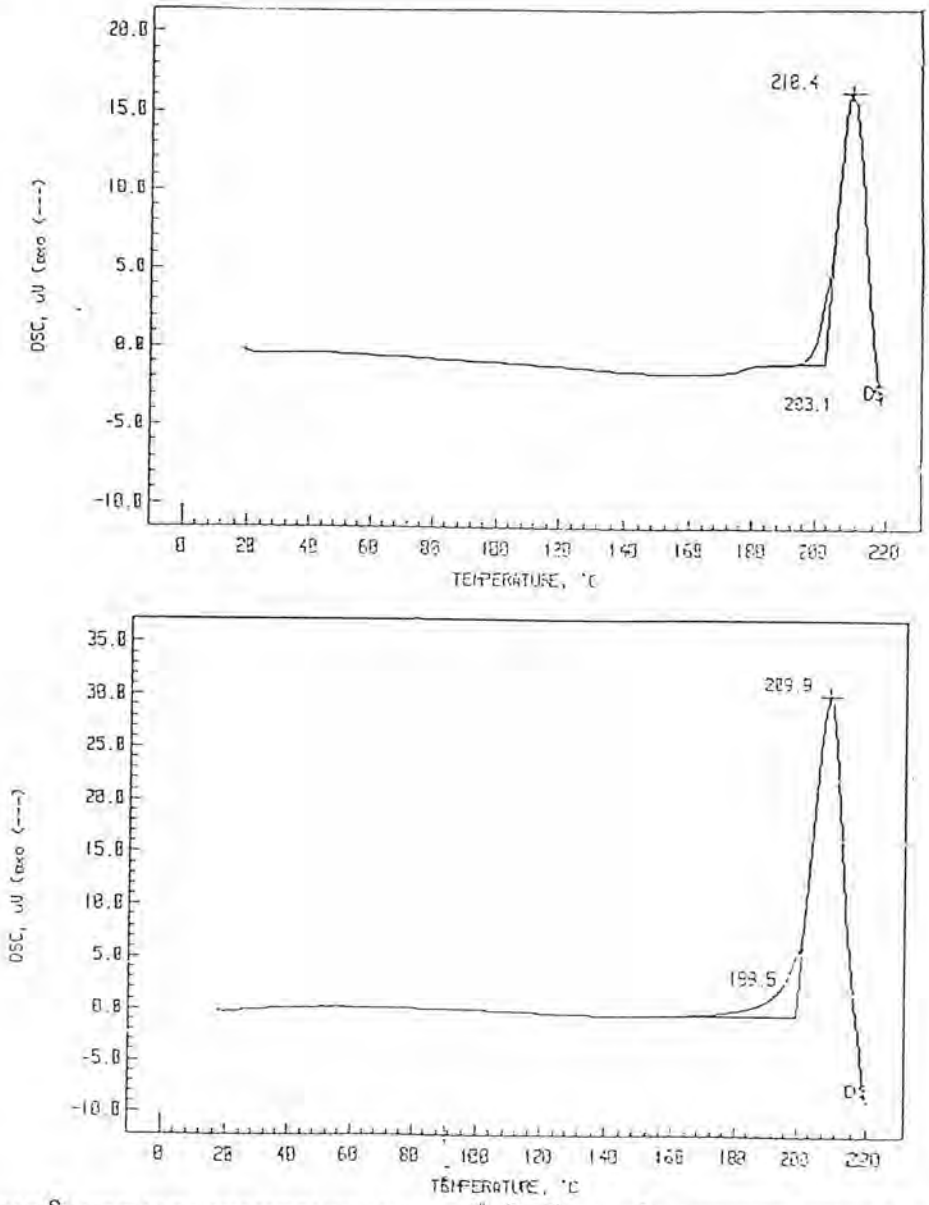
ก. ผลการทดลองที่ศึกษา โดยจินตนา ไกรวัฒนพงศ์ (2536)



ข. ผลการทดลองจากงานวิจัยนี้

รูปที่ 30 เปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิกในรูปโซเดียมกลูโคเนต โดยสายใยอิสระ (ก) และสายใยตรึงในชิ้น PUF (ข) ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต ที่อุณหภูมิห้อง (30 - 33 องศาเซลเซียส)

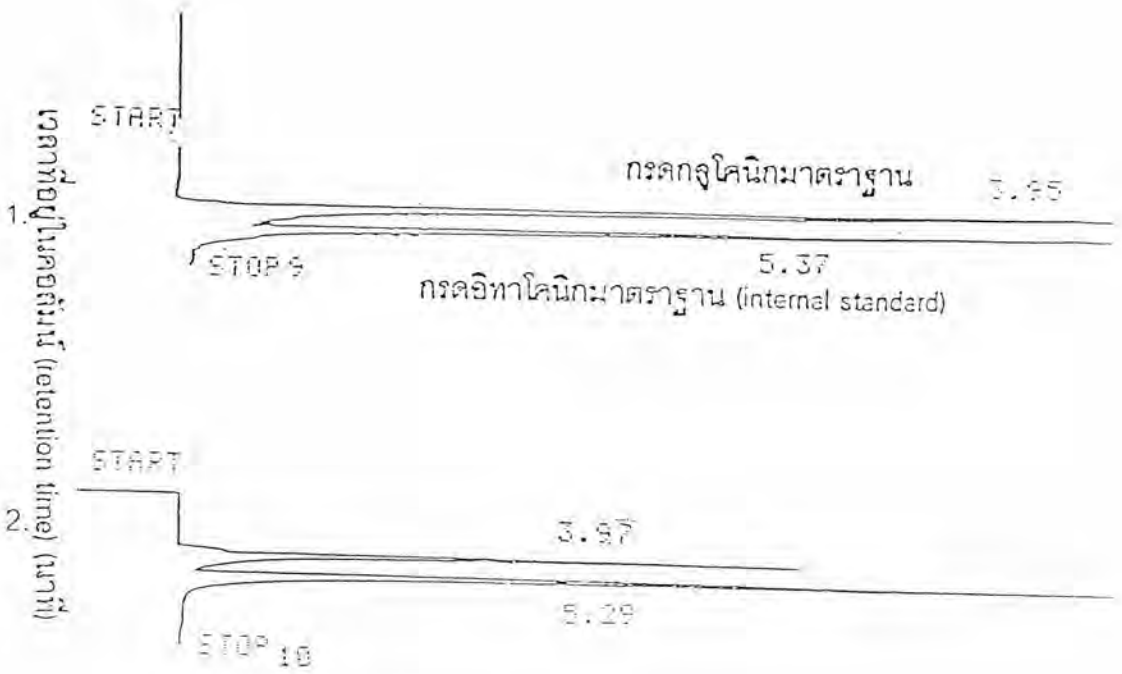
Analysis (DTA) model DTA-409 ตามวิธีดำเนินการทดลองข้อ 13 พบว่า (รูปที่ 31) ผลึกของเกลือโซเดียมกลูโคเนตที่ผลิตได้จาก *Aspergillus niger* G153 มีอุณหภูมิหลอมเหลวอยู่ที่ 209.9 องศาเซลเซียส ส่วนเกลือโซเดียมกลูโคเนตมาตราฐาน มีอุณหภูมิหลอมเหลวอยู่ที่ 210.4 องศาเซลเซียส ซึ่งใกล้เคียงกันมากจนถือได้ว่ามีค่าจุดหลอมเหลวเท่ากัน จึงบ่งชี้ให้เห็นว่า ผลึกของเกลือโซเดียมกลูโคเนตที่ผลิตได้จาก *Aspergillus niger* G153 เป็นผลึกของเกลือโซเดียมกลูโคเนตจริง



รูปที่ 31 โคมาโตแกรมแสดงจุดหลอมเหลวของเกลือโซเดียมกลูโคเนตมาตราฐาน (1) และผลึกของเกลือโซเดียมกลูโคเนตที่ผลิตได้จาก *Aspergillus niger* G153 (2)

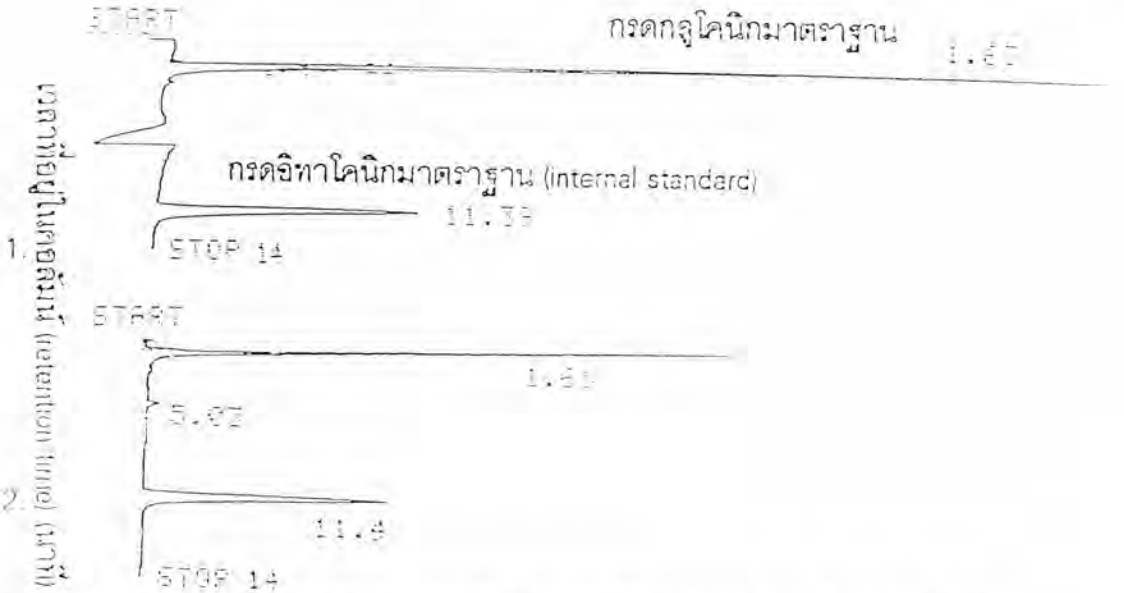
7. ผลการวิเคราะห์กรดกลูโคนิกที่สร้างขึ้นโดยสายใยตรึง *Aspergillus niger* G153 ด้วยวิธี HPLC

เมื่อทำการวิเคราะห์กรดที่สร้างโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* G153 เพื่อยืนยันว่าเป็นกรดกลูโคนิกโดยเทียบกับกรดกลูโคนิกมาตราฐาน ผลการทดลอง (รูปที่ 32) พบว่า กรดอินทรีย์ที่สร้างโดย *Aspergillus niger* G153 มีเพียงชนิดเดียว และมีช่วงเวลาที่อยู่ใน Zobox-C8 คอลัมน์ เช่นเดียวกับกรดกลูโคนิกมาตราฐาน เมื่อทดลองวิเคราะห์ชนิดของกรดดังกล่าวซ้ำ เพื่อยืนยันผลโดยใช้ Spherisorb-C18 คอลัมน์ ผลการทดลอง (รูปที่ 33) พบว่า กรดอินทรีย์ที่สร้างโดย *Aspergillus niger* G153 คือกรดกลูโคนิกเช่นกัน โดยช่วงเวลาที่อยู่ในคอลัมน์เช่นเดียวกับกรดกลูโคนิกมาตราฐาน จึงยืนยันได้ว่ากรดอินทรีย์ที่สร้างโดยจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้ คือ กรดกลูโคนิก



รูปที่ 32 HPLC โครมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ เมื่อใช้ Zorbox-C8 คอลัมน์

1. กรดกลูโคนิกมาตราฐานผสมกับกรดอิทาโคนิกมาตราฐาน (interal standard)
2. กรดอินทรีย์ที่สร้างโดย *Aspergillus niger* G153 ผสมกับกรดอิทาโคนิกมาตราฐาน



รูปที่ 33 HPLC โครมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ เมื่อใช้ Sphensorb-C18 คอลัมน์

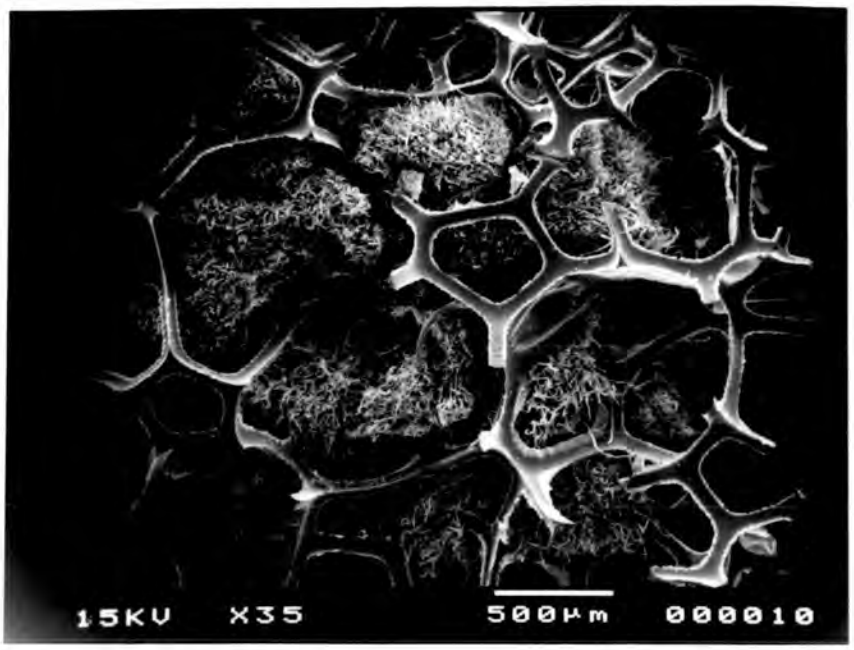
1. กรดกลูโคนิกมาตราฐานผสมกับกรดอิทาโคนิกมาตราฐาน (interal standard)
2. กรดอินทรีย์ที่สร้างโดย *Aspergillus niger* G153 ผสมกับกรดอิทาโคนิกมาตราฐาน

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

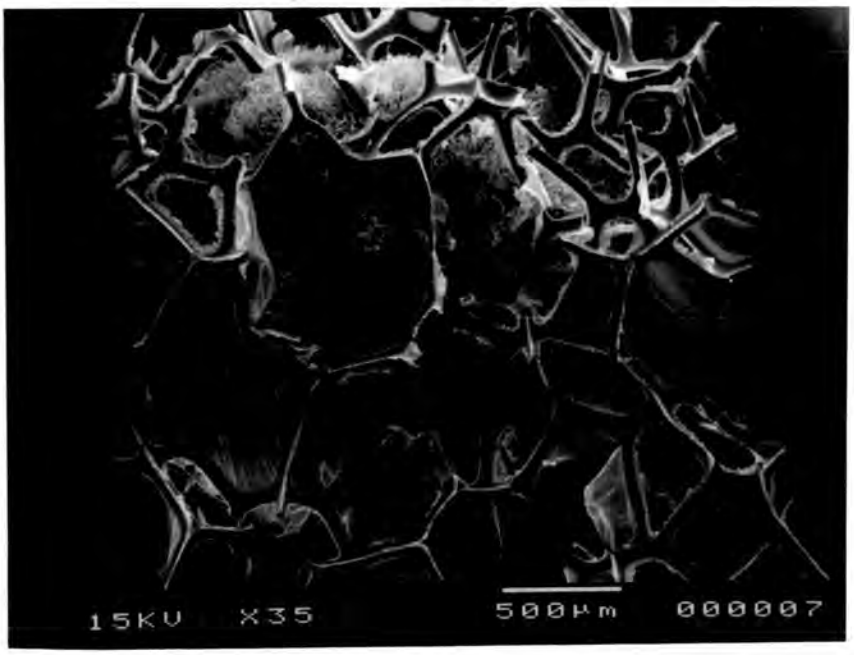
ทำการตรวจการเติบโตของสายใยตรึงในชิ้นและแผ่น PUF ดังนี้

- ชิ้น PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึงอายุ 48 ชั่วโมง ที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่น 1-2.5 x 10^8 สปอร์ต่อ 1 กรัม PUF และสายใยตรึงที่ผ่านการผลิตกรดมาแล้ว 1 ครั้ง
- แผ่น PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึงอายุ 48 ชั่วโมง ที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่น 5.0-12.5 x 10^6 สปอร์ต่อ 1 แผ่น PUF และสายใยตรึงที่ผ่านการผลิตกรดมาแล้ว 1 ครั้ง

เมื่อตรวจการเติบโตด้วยกำลังขยายต่ำ คือ 35 เท่า พบว่ากล้าเชื้อสายใยตรึงในชิ้น PUF (รูปที่ 34) มีการเจริญของสายใยในรูพรุนของชิ้น PUF ทั่วทั้งชิ้น ส่วนสายใยตรึงในชิ้น PUF ที่ผ่านการผลิตกรดมา 1 ครั้ง (รูปที่ 35) จะมีการเจริญของสายใยทั่วทั้งชิ้นและมีสายใยไล่เลี่ยกันกับกล้าเชื้อสายใยตรึง แต่เมื่อเพิ่มกำลังขยายเป็น 100 เท่า (รูปที่ 36) จะเห็นว่าสายใยตรึงที่ผ่านการผลิตกรดมาแล้ว 1 ครั้ง จะมีความหนาแน่นของสายใยมากกว่ากล้าเชื้อสายใยตรึงเล็กน้อย นอกจากนี้เมื่อเพิ่มกำลังขยายเป็น 1000 เท่า (รูปที่ 37) จะเห็นว่าสายใยตรึงที่ผ่านการผลิตกรดมา 1 ครั้ง จะมีลักษณะเป็นปุ่มปมบนสายใยราและมีขนาดโตกว่าคล้ายสายใยพอง ส่วนกล้าเชื้อสายใยตรึงในแผ่น PUF นั้น เมื่อตรวจการเติบโตด้วยกำลังขยายต่ำคือ 35 เท่า พบว่ามีสายใยเจริญอยู่ที่ผิวของชิ้นวัสดุตรึงและลึกลงไปจากผิวระดับหนึ่งโดยบริเวณกลางของความหนาของแผ่น PUF มีสายใยเจริญน้อย (รูปที่ 38) เมื่อนำสายใยตรึงที่ผ่านการผลิตกรดมาแล้ว 1 ครั้ง มาตรวจการเติบโต พบว่าจะมีความหนาแน่นของสายใยมากกว่ากล้าเชื้อสายใยตรึง (รูปที่ 39) นอกจากนี้เมื่อเพิ่มกำลังขยาย 1000 เท่า จะเห็นว่าสายใยตรึงที่ผ่านการผลิตกรดมา 1 ครั้ง จะมีลักษณะปุ่มปมเกิดขึ้นบนสายใยรา และพบการพองของสายใยเช่นเดียวกับในชิ้น PUF (รูปที่ 40)



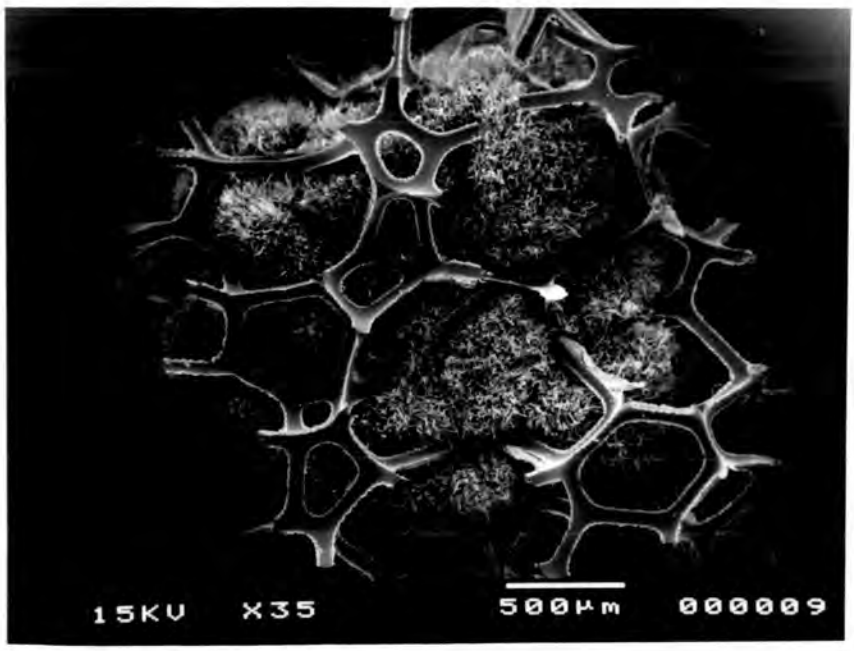
1



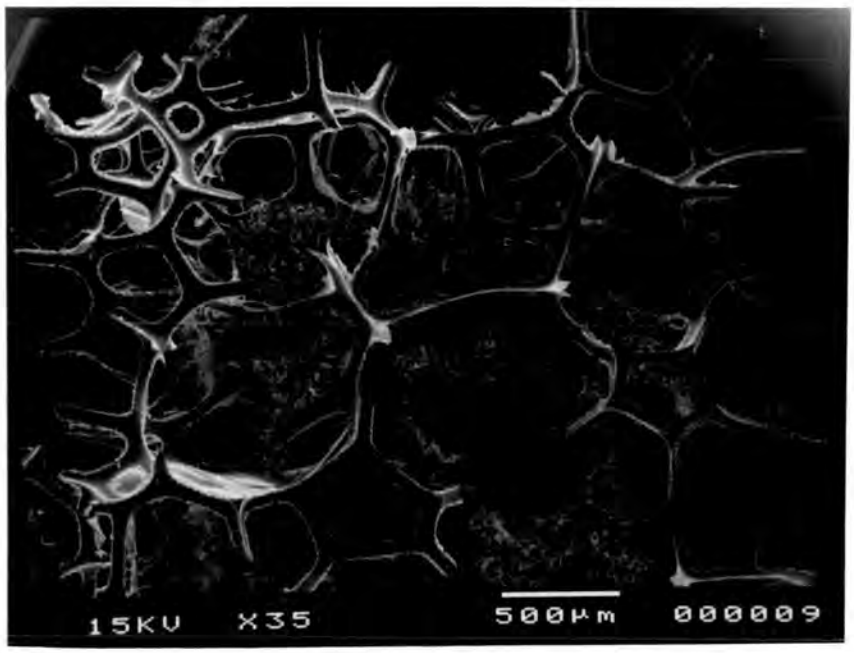
2

รูปที่ 34 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของชิ้น PUF ขนาด 0.20 เซนติเมตร^3 ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึงเจริญอยู่ กำลังขยาย 35 เท่า

1. ชิ้น PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึง ถ่ายภาพจากผิวด้านบน
2. ชิ้น PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึงผ่าเป็นแว่น



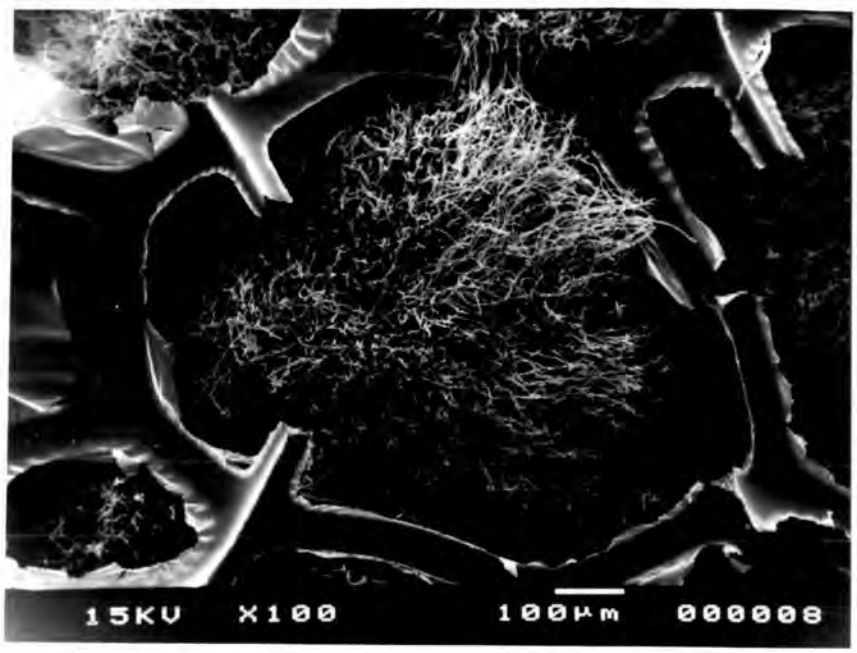
1



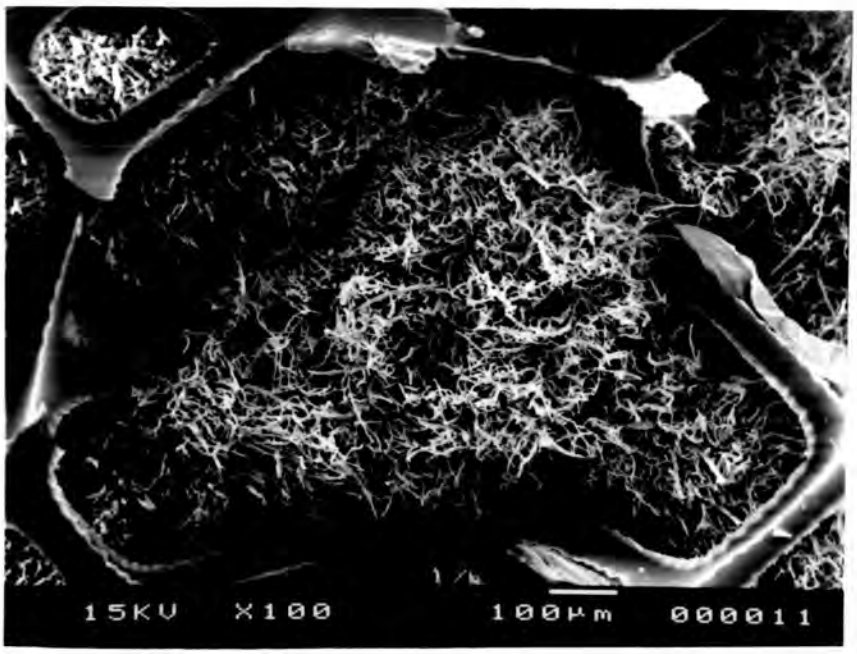
2

รูปที่ 35 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของชิ้น PUF ขนาด 0.20 เซนติเมตร^3 ที่มีสายใยตรึงที่ผ่านการผลิตกรดกลูโคนิก 1 ครั้ง กำลังขยาย 35 เท่า

1. ชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึง ถ่ายภาพจากผิวด้านบน
2. ชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึง ผ่าเป็นแว่น



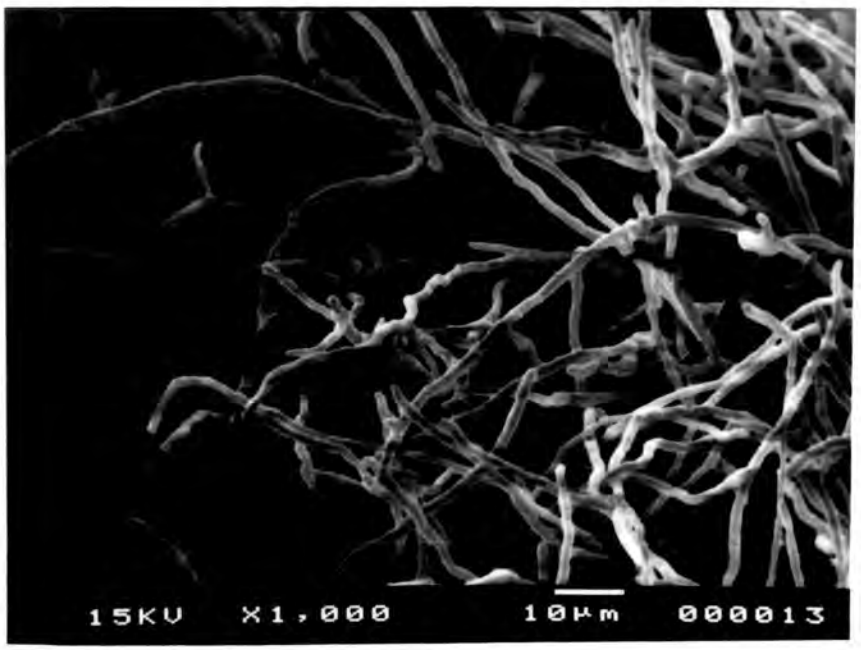
1



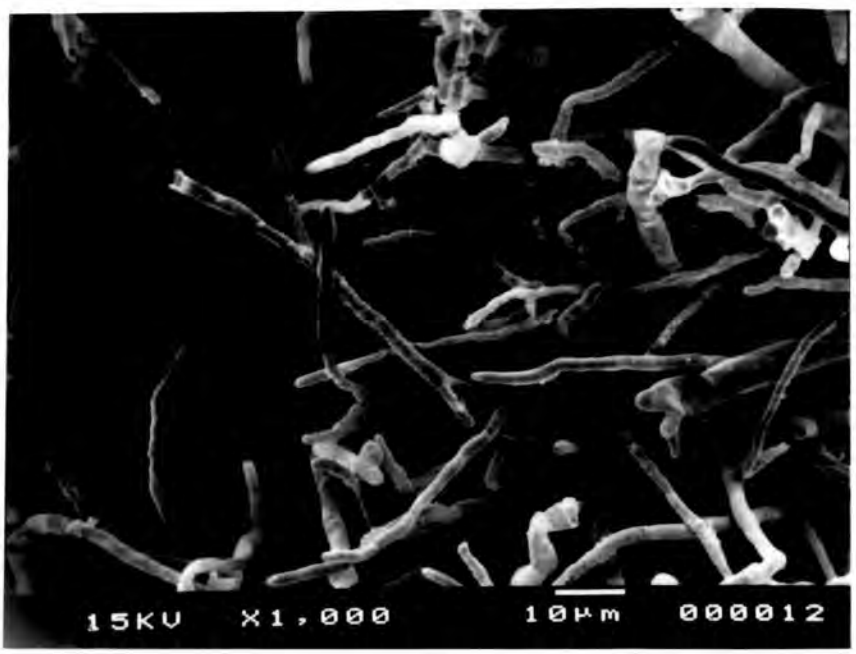
2

รูปที่ 36 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของชิ้น PUF ขนาด 0.20 เซนติเมตร^3 กำลังขยาย 100 เท่า

1. ชิ้น PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึงเจริญอยู่
2. ชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึง ซึ่งผ่านการผลิตกรดกลูโคนิก 1 ครั้ง



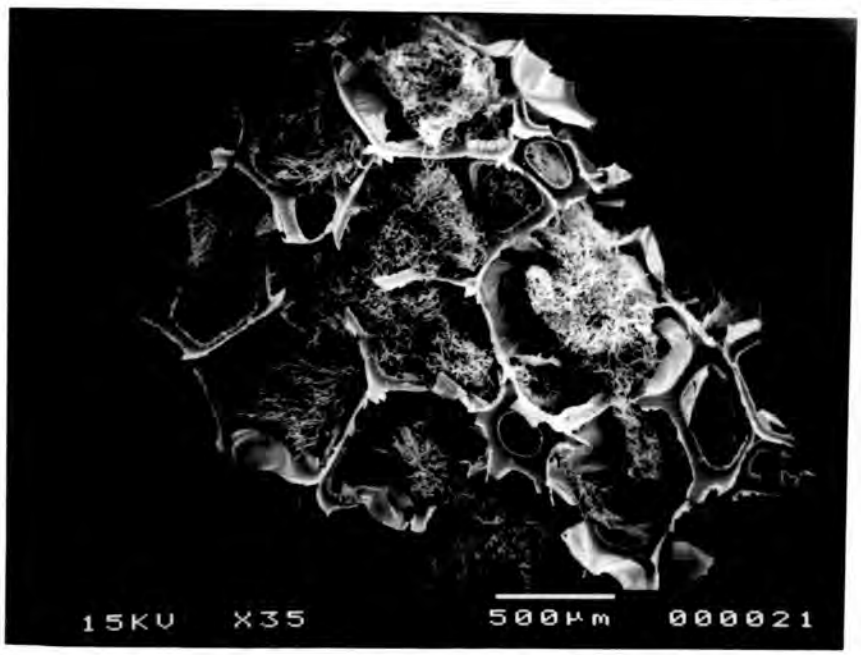
1



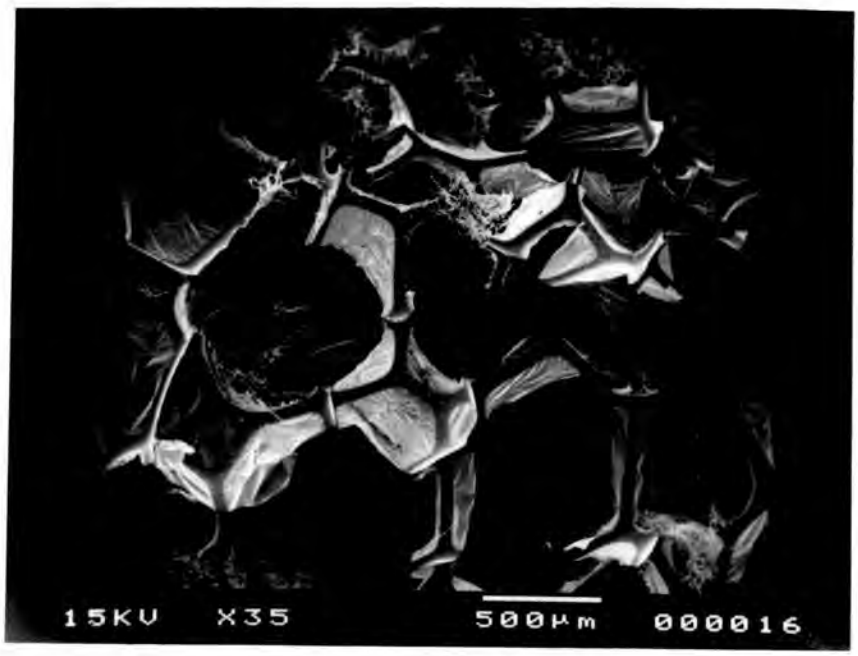
2

รูปที่ 37 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของชิ้น PUF ขนาด 0.20 เซนติเมตร^3 กำลังขยาย 1000 เท่า

1. ชิ้น PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึงเจริญอยู่
2. ชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึงซึ่งผ่านการผลิตกรดกลูโคนิก 1 ครั้ง



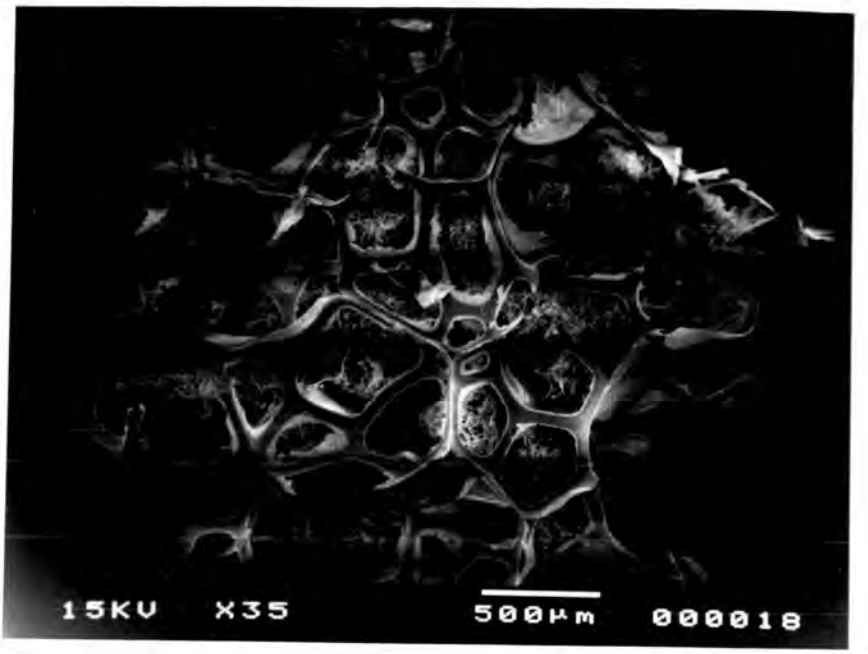
1



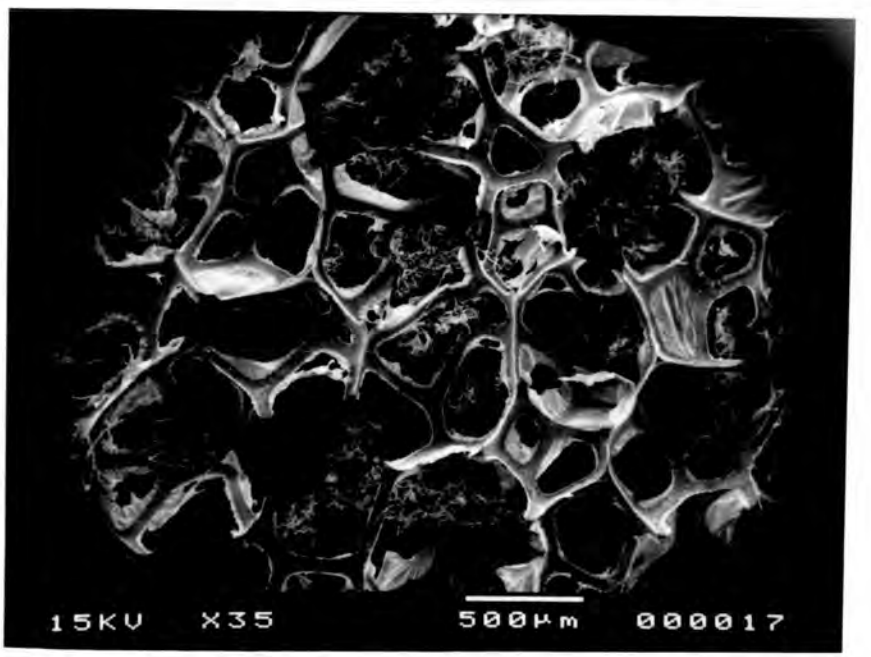
2

รูปที่ 38 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของแผ่น PUF ขนาด 4.4 เซนติเมตร^2 กำลังขยาย 35 เท่า

1. แผ่น PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึง ถ่ายภาพจากผิวด้านบน
2. แผ่น PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึง ผ่าเป็นแว่น



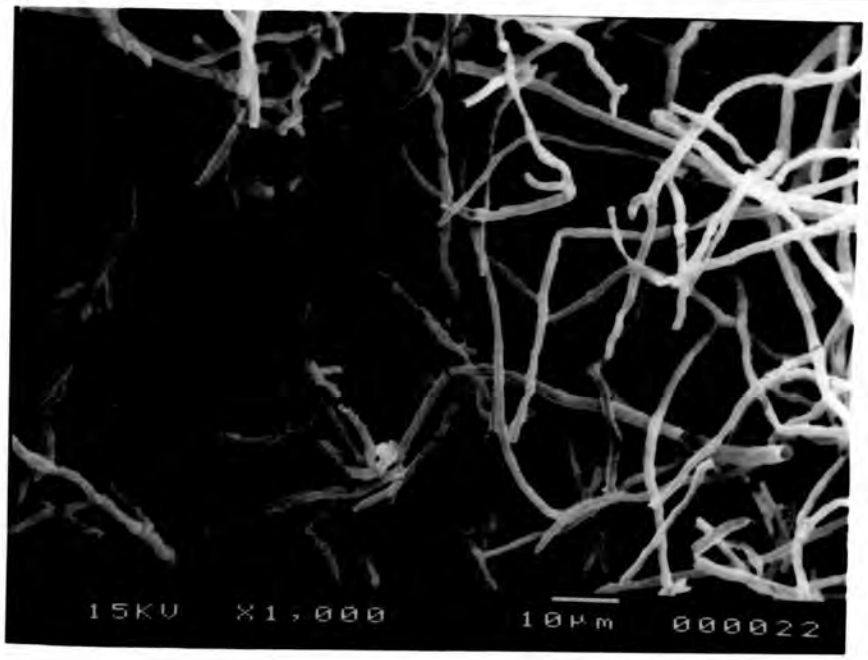
1



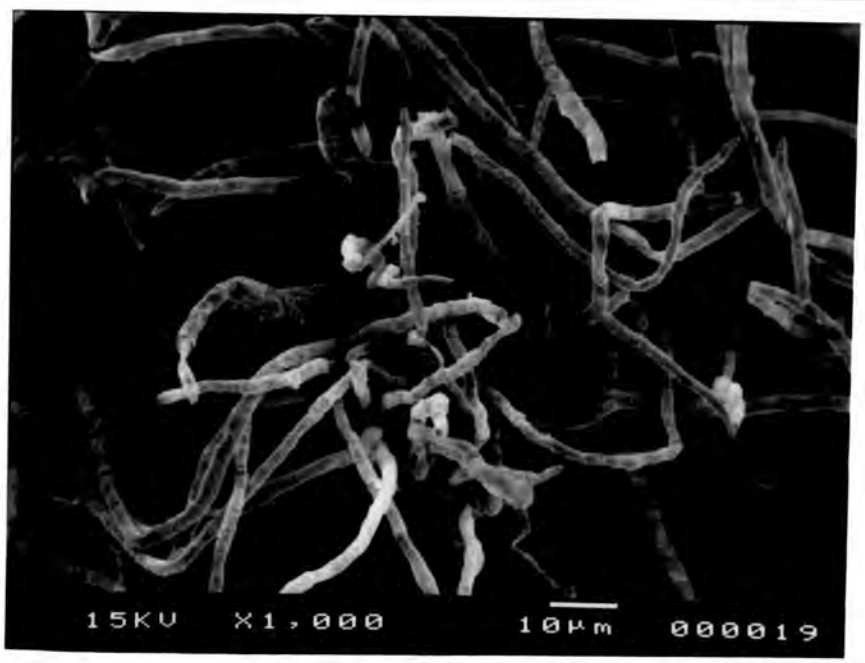
2

รูปที่ 39 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของแผ่น PUF ขนาด 4.4 เซนติเมตร^2 ที่มีสายใยตรึงซึ่งผ่านการผลิตกรดกลูโคนิก 1 ครั้ง กำลังขยาย 35 เท่า

1. แผ่น PUF ที่มีสายใยตรึง ถ่ายภาพจากผิวด้านบน
2. แผ่น PUF ที่มีสายใยตรึง ผ่าเป็นแว่น



1



2

รูปที่ 40 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของแผ่น PUF ขนาด 4.4 เซนติเมตร^2 กำลังขยาย 1000 เท่า

1. แผ่น PUF ที่มีสายใยตรึงเจริญอยู่
2. แผ่น PUF ที่มีสายใยตรึง ซึ่งผ่านการผลิตกรดกลูโคนิก 1 ครั้ง