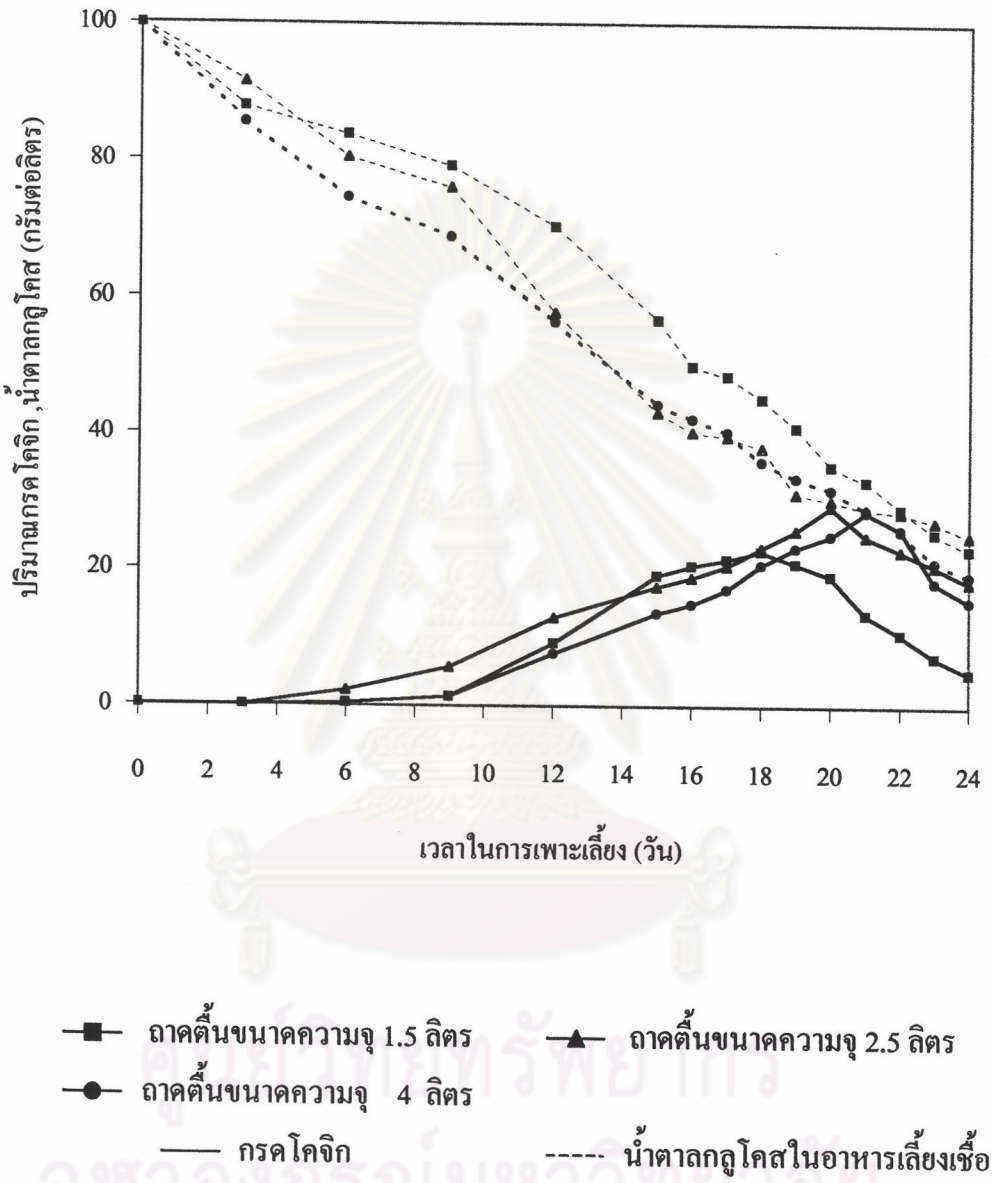
บทที่ 3

ผลการวิจัย

1. ผลของการหาขนาดถาดตื้นที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดโคจิกโดยการเพาะเลี้ยง *Aspergillus oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลว

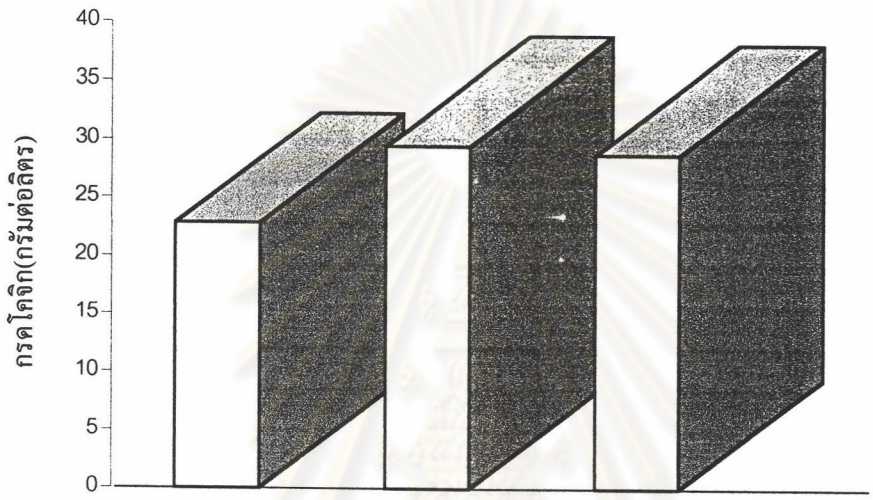
จากผลการทดลองการผลิตกรดโคจิกโดยการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวในถาดตื้น 3 ขนาด คือ ถาดตื้นขนาดความจุ 1.5 2.5 และ 4 ลิตร ใช้หัวเชื้อที่เตรียมได้จากวิธีการทดลองข้อ 3 เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรดโคจิกตามวิธีการทดลองข้อ 4 นาน 24 วัน พบว่า ในช่วง 3 วันแรกของการเพาะเลี้ยงราจะยังไม่มีการผลิตกรดโคจิก จนกระทั่งวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยงเป็นต้นไปจึงเริ่มมีการผลิตกรดโคจิกขึ้นและสะสมอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยในถาดขนาดความจุ 2.5 ลิตร ให้ผลผลิตเร็วกว่าแต่ในที่สุดจะให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดไล่เลี่ยกันกับถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร คือเท่ากับ 29.4 และ 28.7 กรัมต่อลิตรในวันที่ 20 และ 21 ของการเพาะเลี้ยงตามลำดับ ส่วนในถาดตื้นขนาดความจุ 1.5 ลิตรจะให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุด 22.8 กรัมต่อลิตรในวันที่ 18 ของการเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นปริมาณกรดโคจิกในอาหารเลี้ยงเชื้อจะเริ่มลดลงในขณะที่ปริมาณน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อก็ลดลงด้วย (รูปที่ 13) เมื่อคิดเป็นอัตราการผลิตกรดโคจิก พบว่า ในถาดตื้นขนาดความจุ 2.5 และ 4 ลิตรจะมีอัตราการผลิตกรดโคจิก ณ. วันที่ให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดใกล้เคียงกัน คือเท่ากับ 3.49 และ 3.54 กรัมต่อลิตรต่อวันตามลำดับ ในขณะที่ถาดตื้นขนาดความจุ 1.5 ลิตรจะมีอัตราการผลิตกรดโคจิก ณ. วันที่ให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดต่ำกว่ามากคือเท่ากับ 1.19 กรัมต่อลิตรต่อวัน (รูปที่ 14) ซึ่งจะเห็นได้ว่า ถาดตื้นที่มีพื้นที่ผิวหน้าอาหารเหลวกว้างกว่าจะให้ผลผลิตกรดโคจิกรวมถึงอัตราการผลิตกรดโคจิกดีกว่าถาดตื้นที่มีพื้นที่ผิวหน้าอาหารเหลวน้อยกว่า แต่สำหรับในถาดตื้นขนาดความจุ 2.5 และ 4 ลิตรจะมีปริมาณกรดโคจิกและอัตราการผลิตกรดไล่เลี่ยกัน

สำหรับการใช้น้ำตาลของราในถาดตื้นทั้ง 3 ขนาด แสดงดังรูปที่ 13 จะเห็นได้ว่า ยิ่งถาดมีพื้นที่ผิวมากจะมีการใช้น้ำตาลเร็วขึ้น ซึ่งราจะใช้น้ำตาลไปใน 2 ลักษณะ คือ เพื่อการเติบโตและเพื่อการผลิตกรดโคจิก โดยในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยง ราจะใช้น้ำตาลไปในการเติบโตและสร้างสายใยแต่ยังไม่มีการผลิตกรดหรือผลิตได้น้อยมาก โดยในช่วงนี้ราในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตรจะมีการใช้น้ำตาลเร็วที่สุด (ไม่สามารถแสดงน้ำหนักแห้งในช่วงนี้ได้เนื่องจากเป็นการขยายส่วนการผลิตซึ่งใช้เนื้อที่มาก จึงทำสองถาดต่อหนึ่งการทดลอง (2 ซ้ำ) เท่านั้น) หลังจากนั้นในช่วงของการ



รูปที่ 13 เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกและน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาดความจุ 1.5 2.5 และ 4 ลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 24 วัน

อัตราการผลิตกรดโคจิก*	1.19	3.49	3.54 (กรัมต่อลิตรต่อวัน)



1.5	2.5	4	ความจุของถาด (ลิตร)
400	600	800	พื้นที่ผิวหน้าอาหารเหลว (ตารางเซนติเมตร)
18	20	21	วันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด

*คิดจากวันที่ให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 14 เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกและอัตราการผลิตกรดโคจิก ณ.วันที่ให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดจากการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวในถาดตื้นขนาดความจุ 1.5 2.5 และ 4 ลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 24 วัน

ผลิตกรดโคจิกการใช้น้ำตาลของราในถาดตื้นขนาดความจุ 2.5 และ 4 ลิตรจะใกล้เคียงกันมากจนสิ้นสุดการทดลอง ขณะที่การใช้น้ำตาลของราในถาดตื้นขนาดความจุ 1.5 ลิตร จะช้ากว่าราในถาดทั้ง 2 ขนาดข้างต้นตั้งแต่เริ่มการผลิตจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (24 วัน) จะเหลือปริมาณน้ำตาลกลูโคสในถาดตื้นขนาดความจุ 1.5 2.5 และ 4 ลิตรเท่ากับ 25.46 27.26 และ 21.36 กรัมต่อลิตรตามลำดับ โดยเมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกของรา พบว่า มีค่าใกล้เคียงกันคือประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกของราในถาดตื้นขนาดความจุ 1.5 2.5 และ 4 ลิตรมีค่าเท่ากับ 0.42 0.42 และ 0.41 ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

เมื่อเปรียบเทียบค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า ในช่วงที่มีการผลิตกรดโคจิก ค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อจะลดลงดังแสดงในรูปที่ 15 กล่าวคือ ค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อในถาดตื้นทั้ง 3 ขนาดจะลดลงตั้งแต่ช่วงแรกของการเพาะเลี้ยงโดยจะคงค่าอยู่ประมาณ 3 จนกระทั่งในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยงเป็นต้นไปค่าความเป็นกรดด่างจะคงอยู่ที่ 2.0 ถึง 2.5 ซึ่งช่วงเวลานี้จะมีปริมาณกรดโคจิกที่สะสมอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูงสุดทั้ง 3 ถาด หลังจากนั้นในช่วงหลังของการเพาะเลี้ยงค่าความเป็นกรดด่างในทุกการทดลองสูงขึ้นซึ่งเป็นผลมาจากปริมาณกรดโคจิกที่เริ่มลดลง

สำหรับการเติบโตของราในถาดตื้นทั้ง 3 ขนาด เนื่องจากเป็นการผลิตกรดโคจิกแบบกะที่เพาะเลี้ยงราให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลว ดังนั้นจึงไม่สามารถวัดการเติบโตของราเป็นระยะได้ แต่อย่างไรก็ตามจากการติดตามดูการเติบโตของราพบว่า มีการสร้างสายใยมาปกคลุมเต็มผิวหน้าอาหารเหลวในช่วงวันที่ 11 ถึง 15 ของการเพาะเลี้ยง และมีการสร้างสปอร์ในช่วงวันที่ 14 ถึง 18 ของการเพาะเลี้ยง โดยลักษณะสายใยและสปอร์ของราเมื่อสิ้นสุดการทดลองแสดงดังรูปที่ 16 โดยมีน้ำหนักแห้งของสายใยรวมถึงสปอร์เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (24 วัน) ในถาดตื้นขนาดความจุ 1.5 2.5 และ 4 ลิตร เท่ากับ 6.36 12.52 และ 12.95 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังนั้น ขนาดของถาดจึงมีผลต่อการเติบโตของราโดยถ้าผิวหน้าของอาหารเหลวมาก ราก็มีโอกาสเติบโตได้มากแต่อย่างไรก็ตามถาดตื้นขนาดความจุ 2.5 และ 4 ลิตรให้การเติบโตไล่เลี่ยกัน

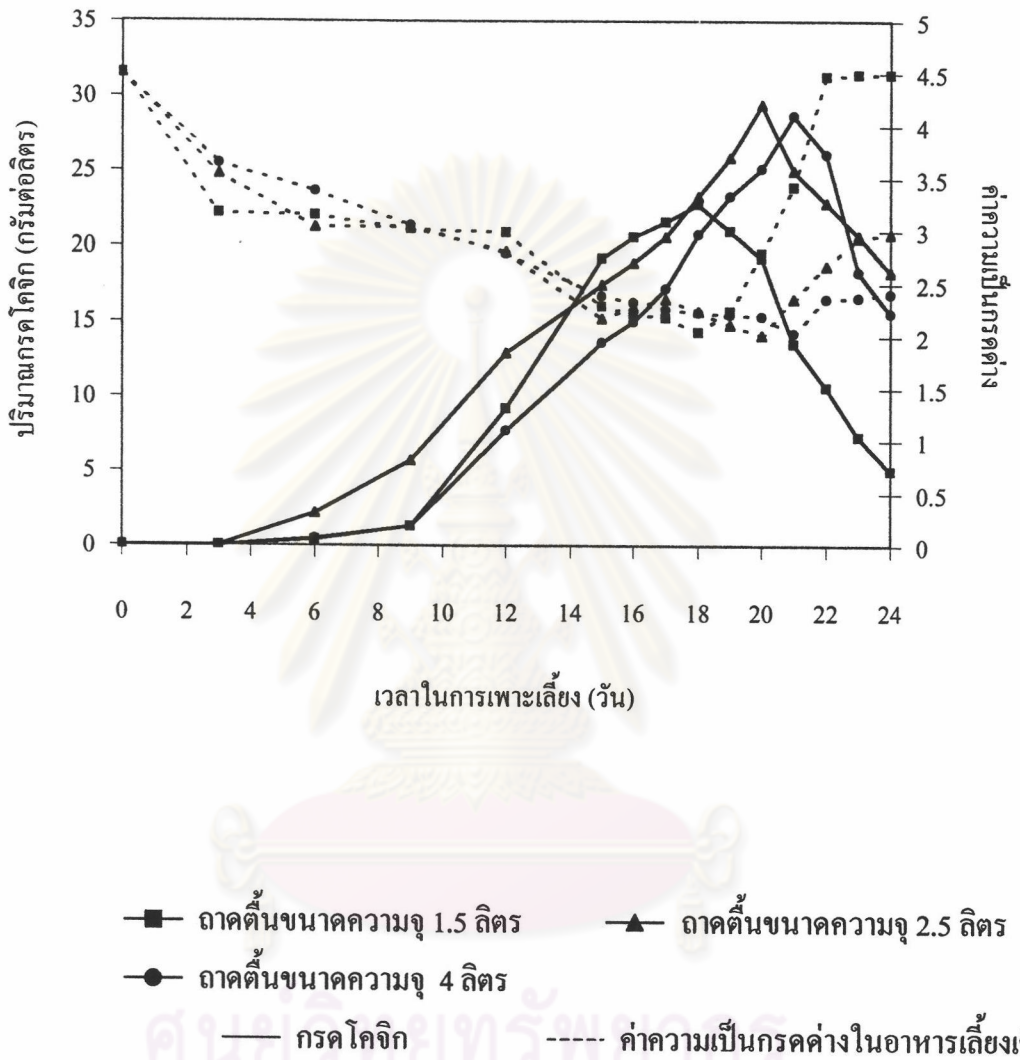
เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตรวมของกรดโคจิกต่อการผลิต 1 ครั้ง พบว่า การผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตรซึ่งบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ 3.2 ลิตรมีพื้นที่ผิวหน้าอาหารเหลว 800 ตารางเซนติเมตร จะให้ผลผลิตรวมของกรดโคจิกมากที่สุดคือเท่ากับ 91.84 กรัม ซึ่งมากกว่าในถาดตื้นขนาดความจุ 2.5 ลิตรซึ่งบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ 1.8 ลิตรที่มีพื้นที่ผิวหน้าอาหารเหลว 600 ตารางเซนติเมตรถึง 38.92 กรัม (ตารางที่ 7) คิดเป็นปริมาณกรดโคจิกที่เพิ่มขึ้น 73.54 เปอร์เซ็นต์ แต่ใช้พื้นที่ในการผลิตเพิ่มขึ้นอีกเพียง 200 ตารางเซนติเมตรหรือใช้พื้นที่เพิ่มขึ้นเพียง 33 เปอร์เซ็นต์ จึงกล่าวได้ว่าการใช้ถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตรเป็นภาชนะในการเพาะเลี้ยงเหมาะสมกว่าและเมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดโคจิก น้ำตาลกลูโคสและค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยง

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบผลผลิตกรดโคจิก ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดโคจิกและน้ำหนักแห้งเมื่อแปรผันขนาดของถาดตื้นที่ใช้ผลิตต่างกัน

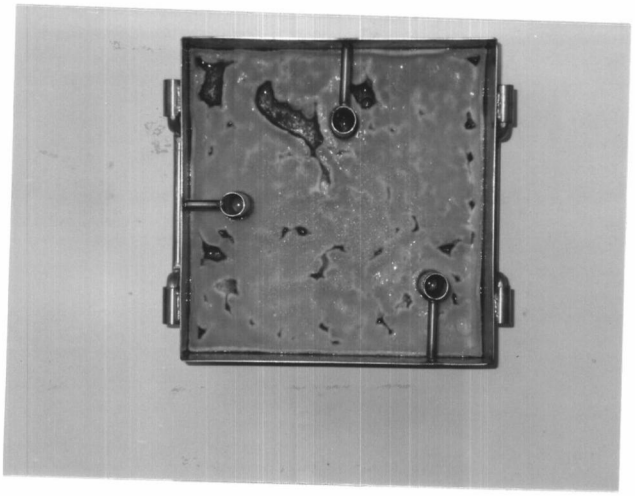
ขนาดถาด (ลิตร)	พื้นที่ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ (ตารางเซนติเมตร)	ความสูงของอาหารเลี้ยงเชื้อ (เซนติเมตร)	ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (ลิตร)	วันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด	ปริมาณกรดโคจิก* (กรัมต่อลิตร)	กรดโคจิกรวมต่อการผลิต 1 ครั้ง * (กรัม)	ประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดโคจิก* (Yp/s)	น้ำหนักแห้งของสายใย** (กรัมต่อลิตร)
1.5	400	2	0.8	18	22.8	18.24	0.42	6.36
2.5	600	3	1.8	20	29.4	52.92	0.42	12.52
4	800	4	3.2	21	28.7	91.84	0.41	12.95

* คิดจากวันที่ให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุด

** คิดจากวันที่สิ้นสุดการทดลอง (24 วัน)

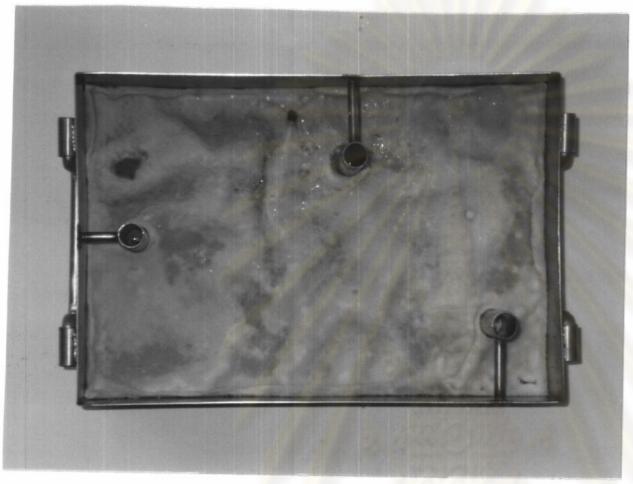


รูปที่ 15 เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกและค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาดความจุ 1.5 2.5 และ 4 ลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 24 วัน



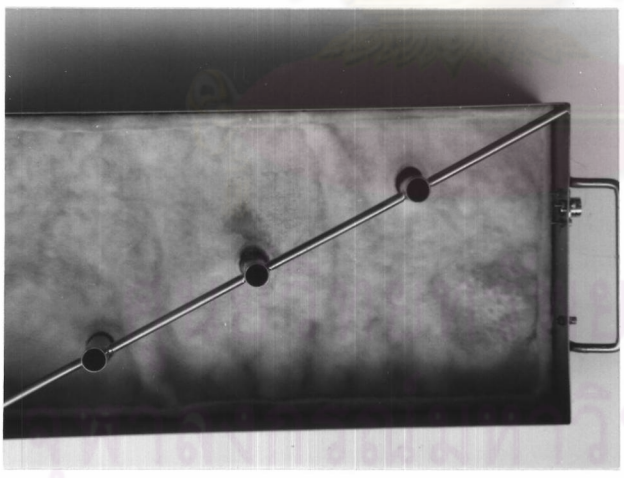
น้ำหนักแห้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 6.36 ก/ล

(ก)



น้ำหนักแห้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 12.52 ก/ล

(ข)



น้ำหนักแห้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 12.95 ก/ล

(ค)

รูปที่ 16 ภาพถ่ายจากด้านบนของถาดตื้นเพื่อแสดงการเติบโตของ *A. oryzae* K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาดความจุ 1.5 ลิตร (ก) ถาดตื้นขนาดความจุ 2.5 ลิตร (ข) และถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร (ค) ใช้ปริมาณหัวเชื้อ 2 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 24 วัน

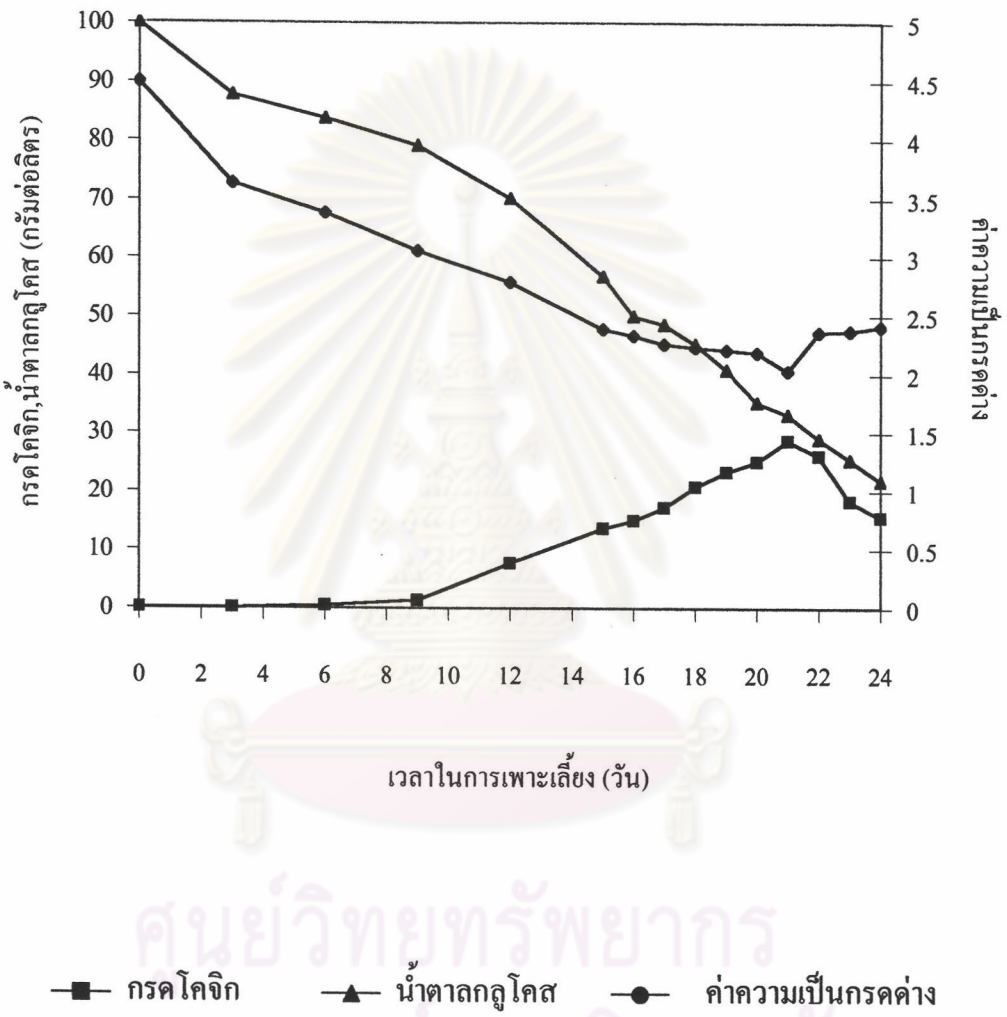
เชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร (รูปที่ 17) จะเห็นได้ว่า ในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยง (0 - 6 วัน) รายังไม่มีการผลิตกรดโคจิก แต่น้ำตาลกลูโคสในอาหารเหลวเริ่มลดลงไปประมาณ 17 เปอร์เซ็นต์จากน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นซึ่งราน่าจะใช้ไปสำหรับการเติบโตสร้างสายใย โดยค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มลดลงเช่นกัน หลังจากนั้นเมื่อเริ่มมีการผลิตกรดโคจิกขึ้น ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อจะลดลงอย่างรวดเร็วโดยในวันที่ให้ปริมาณกรดโคจิกสูงสุด (28.7 กรัมต่อลิตรในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยง) ปริมาณน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อจะเหลือประมาณ 29.0 กรัมต่อลิตรและค่าความเป็นกรดด่างจะลดต่ำลงมากที่สุดคือเท่ากับ 2.03 หลังจากนั้น เมื่อปริมาณกรดโคจิกเริ่มลดลงจะมีผลให้ค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มขยับสูงขึ้นด้วย

จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่า ถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตรมีความคุ้มค่าและเหมาะสมที่จะใช้เป็นภาชนะในการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิก ซึ่งจะใช้เป็นภาชนะเพาะเลี้ยงในการทดลองขั้นต่อไป

2. ผลของการหาปริมาณของหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร

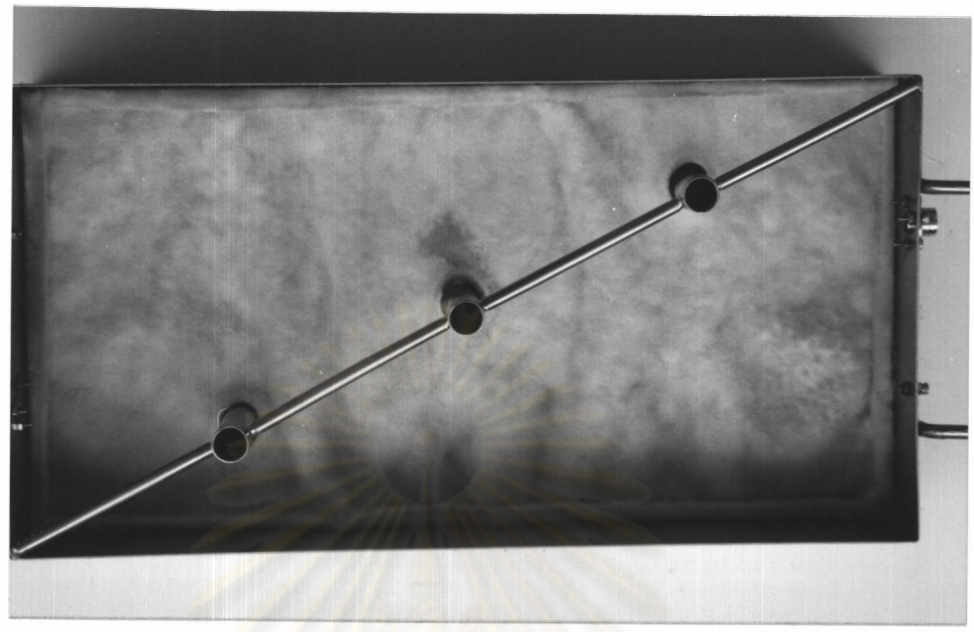
เมื่อถ่ายหัวเชื้อที่มีความหนาแน่นประมาณ 3×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโคจิก (ภาคผนวก ก3) ปริมาตร 3.2 ลิตร โดยแปรปริมาณของหัวเชื้อเป็น 2 5 8 11 และ 15 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) เพาะเลี้ยงในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 24 วัน พบว่า เมื่อใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 5 และ 8 เปอร์เซ็นต์ จะมีการสร้างสายใยแผ่ปกคลุมทั่วผิวหน้าอาหารเหลวภายในวันที่ 16 ของการเพาะเลี้ยงโดยที่ 2 เปอร์เซ็นต์จะสังเกตเห็นว่าสร้างสายใยได้น้อยและช้าที่สุด ส่วนการใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 11 และ 15 เปอร์เซ็นต์ จะมีการเติบโตเร็วที่สุด โดยมีการสร้างสายใยมาปกคลุมเต็มผิวหน้าอาหารเหลวในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยงและสังเกตเห็นว่ามีการสร้างสปอร์สีเขียวเข้มกระจายทั่วถาดในวันที่ 16 ของการเพาะเลี้ยงแสดงดังรูปที่ 18 19 20 21 และ 22 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าปริมาณของหัวเชื้อมีผลต่อการเติบโตของสายใยและการสร้างสปอร์ของราโดยการใช้ปริมาณของหัวเชื้อมากจะทำให้ราผลิตสายใยได้ปริมาณมากซึ่งสังเกตได้จากความหนาของสายใยซึ่งหนามากกว่าและมีผลให้การสร้างสปอร์เป็นไปอย่างรวดเร็วด้วย แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองกลับพบว่าน้ำหนักของสายใยแห้งมีความแตกต่างกันไม่มากนัก อาจเนื่องจากน้ำหนักที่แสดงเป็นน้ำหนักรวมของสายใยและสปอร์ โดยน้ำหนักสายใยแห้งของราเมื่อใช้ปริมาณของหัวเชื้อสปอร์งอก 2 5 8 11 และ 15 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) มีค่าเท่ากับ 12.95 13.75 13.73 14.06 และ

น้ำหนักแห้งของสายใยรา 12.95 กรัมต่อลิตร

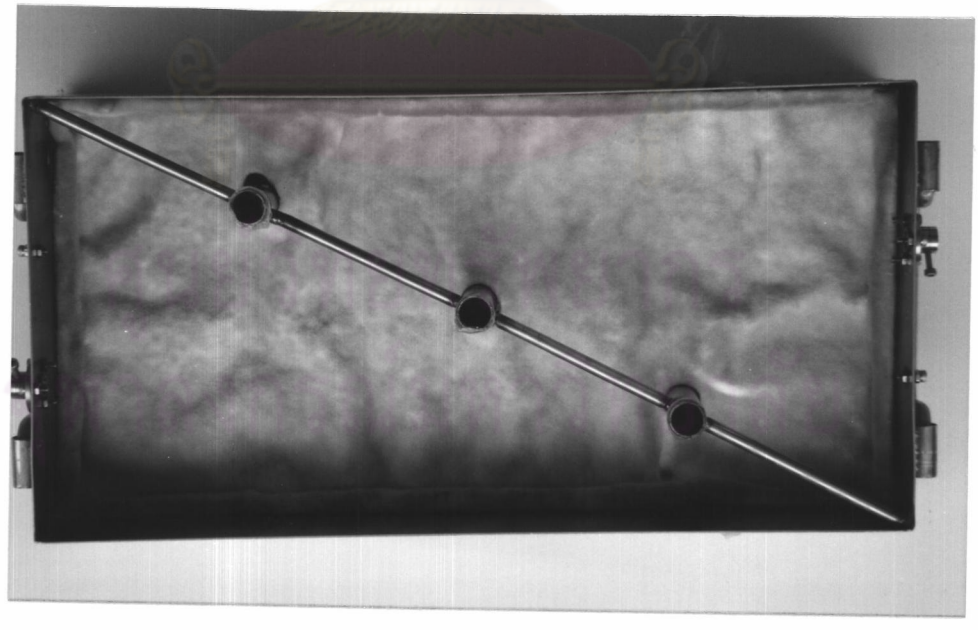


ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

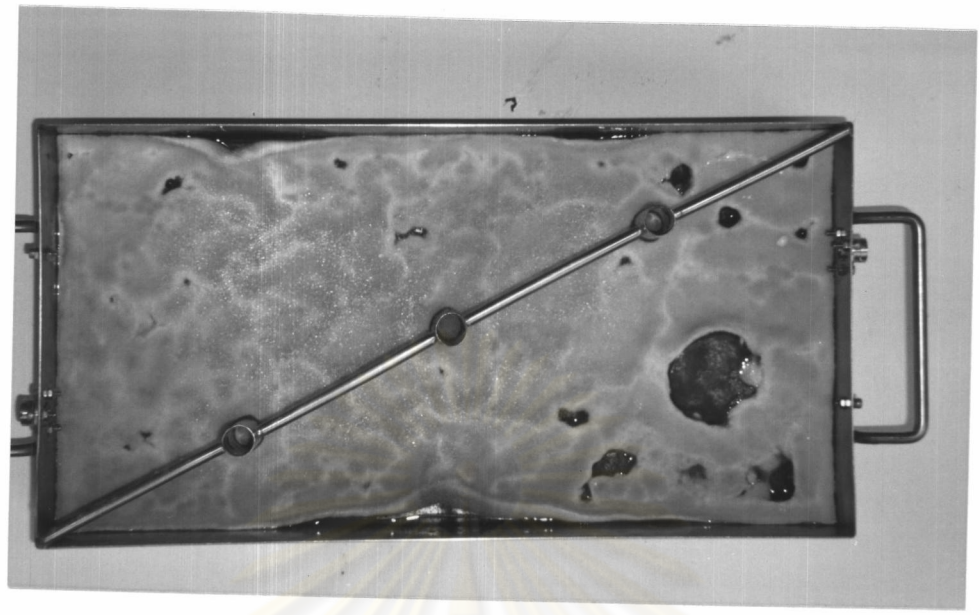
รูปที่ 17 ปริมาณกรดโคจิก น้ำตาลกลูโคส และค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 24 วัน



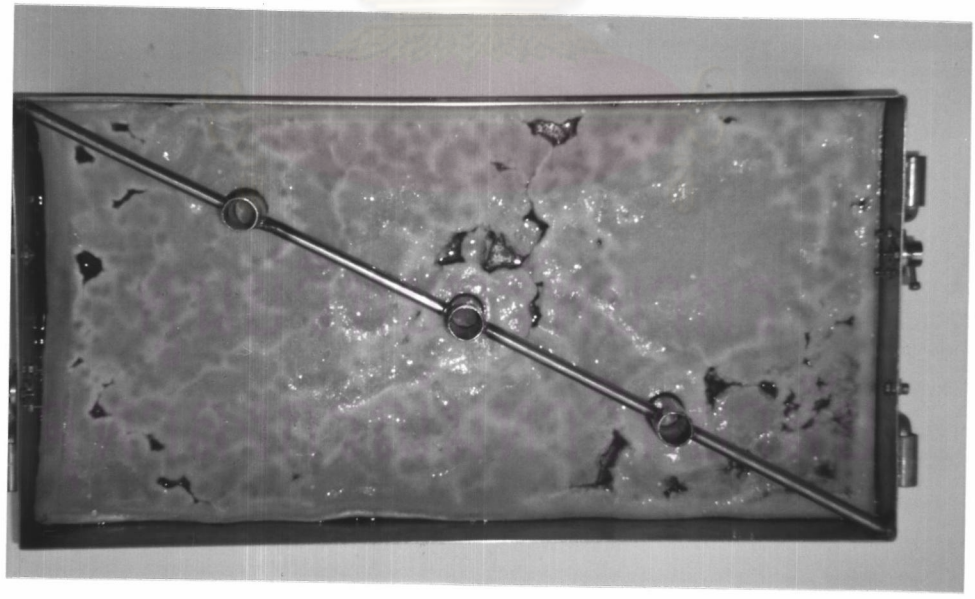
รูปที่ 18 ภาพถ่ายจากด้านบนเพื่อแสดงการเติบโตของ *A. oryzae* K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร ใช้ปริมาณของหัวเชื้อเท่ากับ 2 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 24 วัน



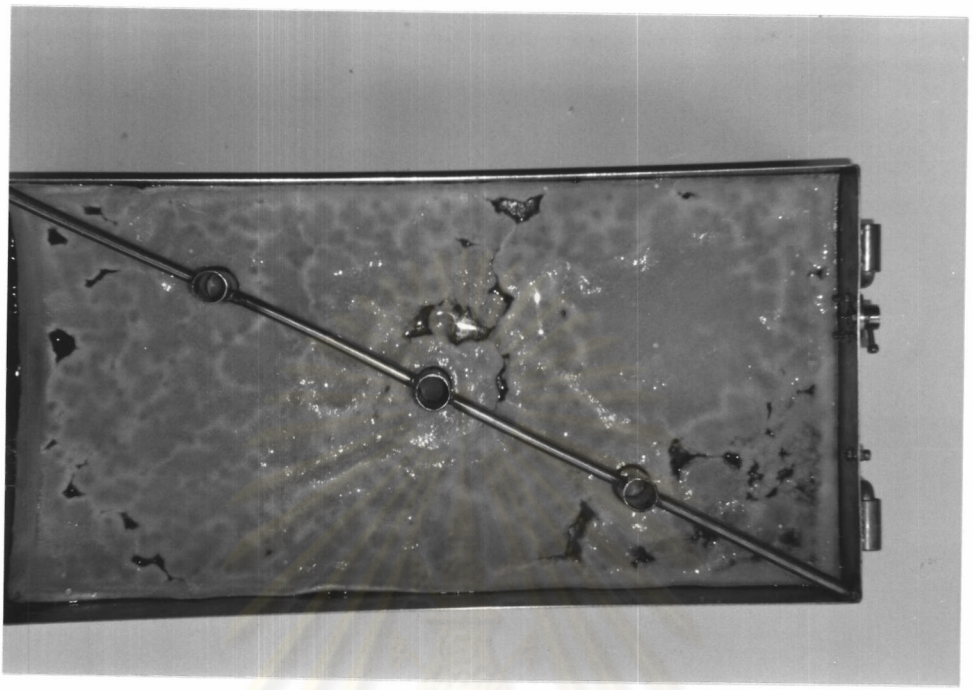
รูปที่ 19 ภาพถ่ายจากด้านบนเพื่อแสดงการเติบโตของ *A. oryzae* K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร ใช้ปริมาณของหัวเชื้อเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 24 วัน



รูปที่ 20 ภาพถ่ายจากด้านบนเพื่อแสดงการเติบโตของ *A. oryzae* K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร ใช้ปริมาณของหัวเชื้อเท่ากับ 8 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 24 วัน



รูปที่ 21 ภาพถ่ายจากด้านบนเพื่อแสดงการเติบโตของ *A. oryzae* K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร ใช้ปริมาณของหัวเชื้อเท่ากับ 11 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 24 วัน



รูปที่ 22 ภาพถ่ายจากด้านบนเพื่อแสดงการเติบโตของ *A. oryzae* K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร ใช้ปริมาณของหัวเชื้อเท่ากับ 15 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 24 วัน

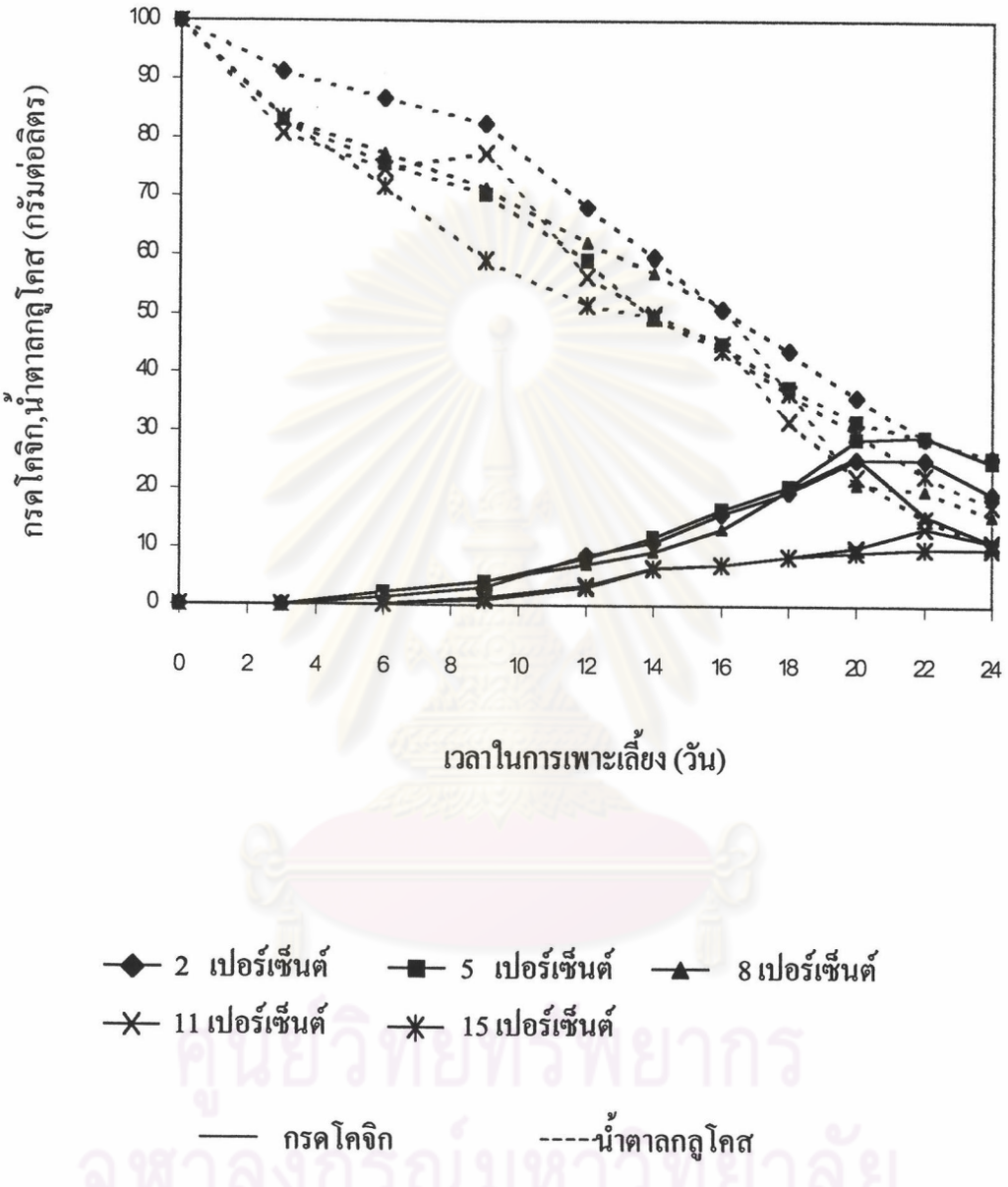
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

13.92 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ การที่ปริมาณหัวเชื้อ 2 เปอร์เซ็นต์ให้ปริมาณกรดโคจิกใกล้เคียงกับปริมาณของหัวเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ ทั้งที่มีการใช้น้ำตาลน้อยกว่าและการเติบโตสร้างสายใยยังไม่เต็มผิวหน้าดีนัก อาจเนื่องจากว่าในช่วงของการเติบโตการใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 2 เปอร์เซ็นต์จะไม่ค่อยมีการสร้างสปอร์ น้ำหนักแห้งของสายใยที่ได้จึงเป็นน้ำหนักแห้งของสายใยเกือบร้อยเปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงให้ผลผลิตกรดโคจิกได้ดีเนื่องจากกรดโคจิกผลิตจากส่วนของสายใยรา

เมื่อเปรียบเทียบการใช้น้ำตาลและการผลิตกรดโคจิก (รูปที่ 23) พบว่า เมื่อใช้ปริมาณของหัวเชื้อมากจะมีการใช้น้ำตาลมากขึ้น ส่วนการผลิตกรดจะแตกต่างกัน นอกจากนี้พบว่า ถ้าใช้ปริมาณของหัวเชื้อมากเกินไป ผลผลิตของกรดโคจิกจะลดลงแม้จะมีการใช้น้ำตาลมากขึ้นก็ตาม นั่นคือ การใช้ปริมาณของหัวเชื้อเท่ากับ 11 และ 15 เปอร์เซ็นต์จะให้ผลผลิตกรดต่ำมาก คือเท่ากับ 13.53 และ 10.85 กรัมต่อลิตรในวันที่ 22 และ 23 ของการเพาะเลี้ยงตามลำดับ แต่ปริมาณของหัวเชื้อ 15 เปอร์เซ็นต์จะใช้น้ำตาลได้เร็วที่สุดเช่นเดียวกันกับปริมาณของหัวเชื้อ 11 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ถ้าใช้ปริมาณของหัวเชื้อเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) จะให้ผลผลิตกรดสูงที่สุด คือ เท่ากับ 30.28 กรัมต่อลิตรในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งให้ผลผลิตไล่เลี่ยกับการใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 2 เปอร์เซ็นต์ซึ่งให้ผลผลิตกรดเท่ากับ 28.68 กรัมต่อลิตรในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยงเช่นกัน และการใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 8 เปอร์เซ็นต์ จะให้ผลผลิตกรดโคจิกต่ำลงไปอีกคือเท่ากับ 25.71 กรัมต่อลิตรในวันที่ 20 ของการเพาะเลี้ยง โดยการใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 2 เปอร์เซ็นต์จะมีการใช้น้ำตาลได้ช้าที่สุด ส่วนการใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 5 และ 8 เปอร์เซ็นต์ จะมีการใช้น้ำตาลไล่เลี่ยกันตั้งแต่วันแรกของการเพาะเลี้ยงจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง แต่ยังมีการใช้น้ำตาลน้อยกว่าปริมาณของหัวเชื้อเท่ากับ 11 และ 15 เปอร์เซ็นต์

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้น้ำตาลไปในการผลิตกรดโคจิกของรา ดังแสดงในตารางที่ 8 การใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้รามีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกได้สูงสุดเท่ากันคือ 0.41 รองลงมาคือการใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 8 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) ซึ่งให้ค่าประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกเท่ากับ 0.32 ส่วนการใช้ปริมาณของหัวเชื้อที่มากเกินไป (11 และ 15 เปอร์เซ็นต์) จะทำให้รามีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกน้อยมากคือมีค่าเท่ากับ 0.15 และ 0.12

การใช้ปริมาณของหัวเชื้อที่มากเกินไปคือ 11 และ 15 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ได้ผลผลิตกรดโคจิกน้อยลงจึงมีผลให้ค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าสูงกว่าการใช้ปริมาณของหัวเชื้อที่น้อยกว่า ดังแสดงในรูปที่ 24 โดยจะคงค่าอยู่ที่ประมาณ 3.5 ในขณะที่การใช้ปริมาณของหัวเชื้อที่น้อยกว่าคือ 2 5 และ 8 เปอร์เซ็นต์ จะมีค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อไล่เลี่ยกันโดยจะคงค่าอยู่ที่ 2.0 - 2.5 และสูงขึ้นเมื่อใกล้วันสิ้นสุดการทดลองเนื่องมาจากปริมาณกรดโคจิกที่สะสมใน



รูปที่ 23 เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกและน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิก โดยแปรผันปริมาณของหัวเชื้อเท่ากับ 2 5 8 11 และ 15 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 24 วัน

ตารางที่ 8 ปริมาณกรดโคจิก ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ไป และประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดโคจิก ณ. วันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด เมื่อใช้ปริมาณของหัวเชื้อต่างกัน

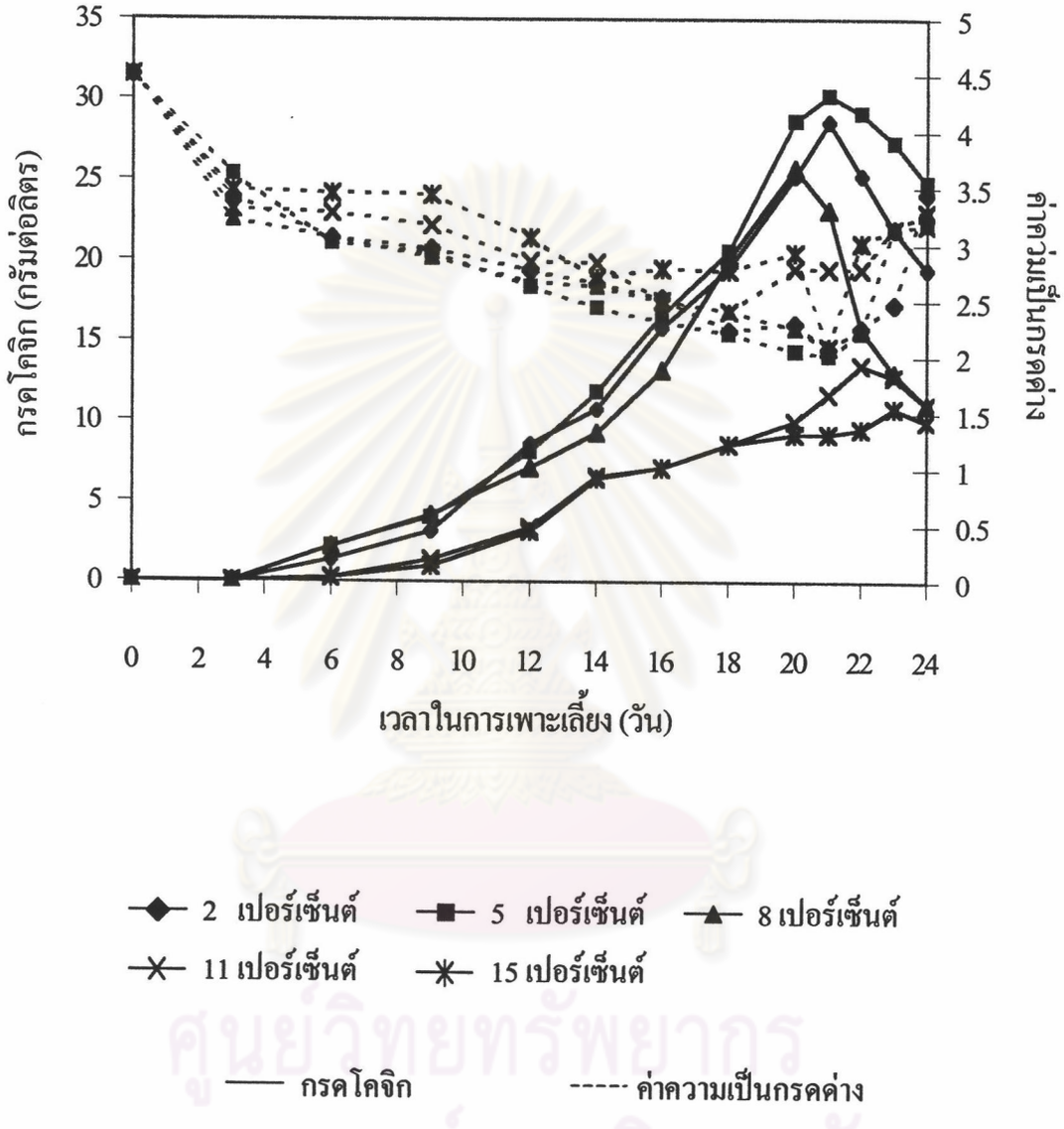
ปริมาณของหัวเชื้อ* (เปอร์เซ็นต์)	ผลผลิตกรดโคจิก** (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ไป** (กรัมต่อลิตร)	ประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดโคจิก** (Yp/s)	วันที่ให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุด	นน.แห้งของสายใย*** (กรัมต่อลิตร)
2	28.68	69.10	0.41	21	12.95
5	30.28	73.61	0.41	21	13.75
8	25.71	78.97	0.32	20	13.73
11	13.53	84.77	0.16	22	14.06
15	10.85	88.60	0.12	23	13.92

* ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ

** คิดจากวันที่ให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุด

*** ชั่งหาน้ำหนักจากวันที่สิ้นสุดการทดลอง (24 วัน)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 24 เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกและค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกโดยแปรผันขนาดของหัวเชื้อเท่ากับ 2 5 8 11 และ 15 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 24 วัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มลดลง ดังนั้นการใช้ปริมาณของหัวเชื้อที่เหมาะสมจะทำให้ได้ผลผลิตกรดสูงส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าค่อนข้างต่ำด้วย

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ จะให้ผลผลิตกรดโคจิกไล่เลี่ยกัน (รูปที่ 25) โดยการใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ จะให้การเติบโตของราที่พอเหมาะ มีการใช้น้ำตาลไปสำหรับผลิตกรดโคจิกสูงและมีค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำ ขณะที่การใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 2 เปอร์เซ็นต์ แม้จะมีการเติบโตและใช้น้ำตาลได้ช้ากว่าแต่จะใช้ไปสำหรับสร้างสายใยมากกว่าสปอร์ เนื่องจากสังเกตเห็นว่ามีการสร้างสปอร์น้อยมากซึ่งเป็นผลดีต่อการผลิตกรดเนื่องจากกรดโคจิกจะผลิตจากส่วนที่เป็นสายใยของรา จึงให้ผลผลิตกรดโคจิกได้ใกล้เคียงกับปริมาณของหัวเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจะใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 2 หรือ 5 เปอร์เซ็นต์ก็ได้แต่ในงานวิจัยนี้จะเลือกปริมาณของหัวเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์เนื่องจากว่าให้ผลผลิตกรดสูงกว่าเล็กน้อยและยังต้องมีการจัดภาวะในการเพาะเลี้ยงให้เหมาะสมต่อไป ซึ่งอาจทำให้ผลผลิตกรดเพิ่มขึ้นจึงไม่ต้องการให้หัวเชื้อน้อยเป็นอุปสรรค

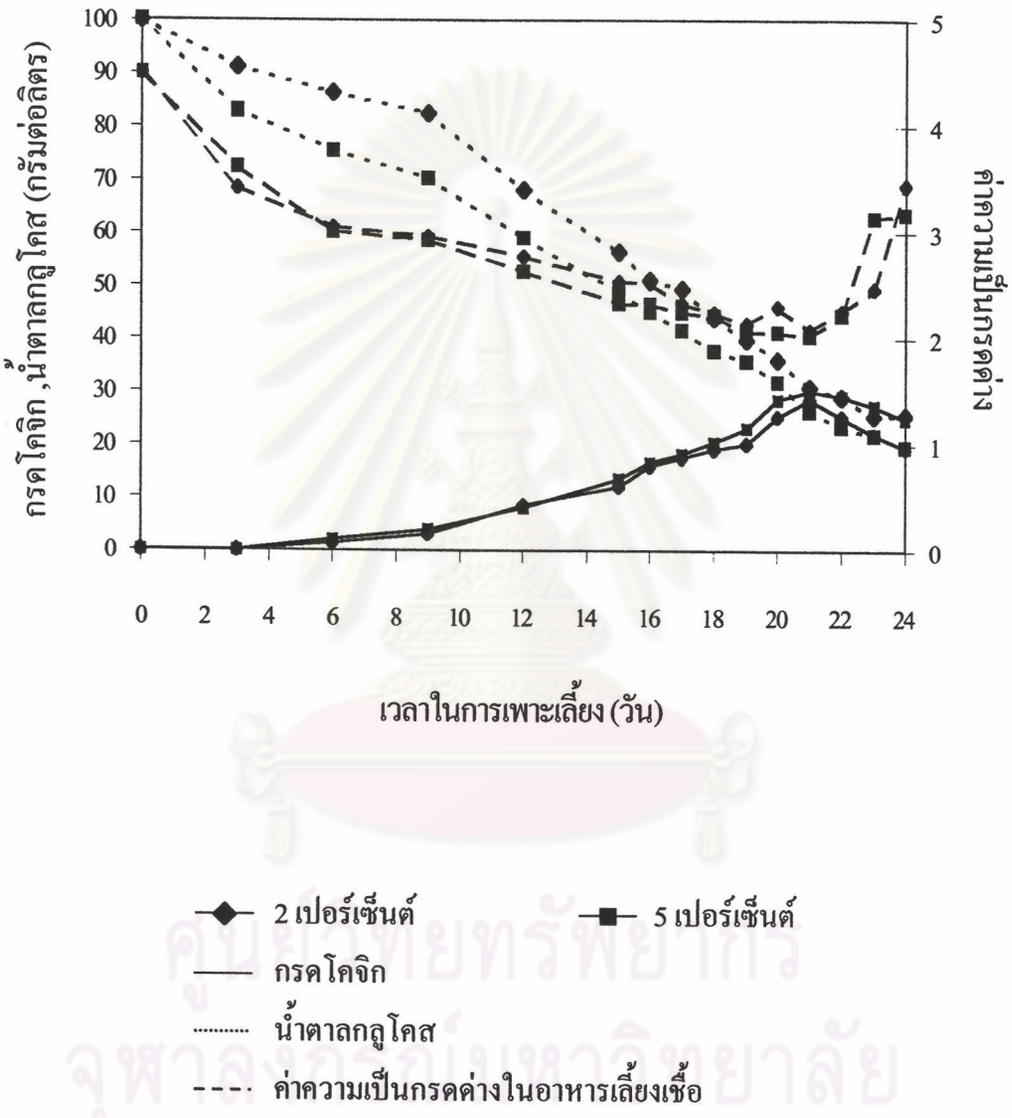
ดังนั้น จึงใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) เป็นปริมาณของหัวเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดโคจิกโดยการเพาะเลี้ยงราให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลว ซึ่งจะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3. ผลของการหาอัตราการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดโคจิก

เมื่อการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวสูตรเหมาะสมต่อการผลิตกรดโคจิก (ภาคผนวก ก3) ภายใต้ภาวะที่เหมาะสม คือใช้ถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตรเป็นภาชนะสำหรับการผลิต โดยใช้ปริมาณของหัวเชื้อเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส โดยแปรอัตราการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร ในอัตราเร็วเท่ากับ 0 25 50 100 และ 200 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที พบว่า การเป่าอากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวจะช่วยลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเกิดจากกระบวนการเมตาบอลิสมของราที่บริเวณเหนือผิวหน้าอาหารเหลวในระหว่างการผลิตได้ เมื่อทำการวัดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ใช้เพาะเลี้ยงบริเวณผิวด้านนอกของผ้าที่ใช้ปิดปากภาชนะเพาะเลี้ยงและบริเวณเหนือผิวหน้าอาหารเหลว 1 เซนติเมตรด้วยเครื่องวัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แบบเคลื่อนย้ายได้ (portable CO_2 detector) พบว่า โดยรวมแล้วปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่วัดได้จากบริเวณเหนือผิวหน้าอาหารเหลว 1 เซนติเมตร จะมีค่าสูงสุด รองลงมาคือบริเวณผิวด้านนอกของผ้าที่ใช้ปิดปากภาชนะเพาะเลี้ยง ส่วนบรรยากาศภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ใช้เพาะเลี้ยงจะมีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์น้อยที่สุด ซึ่งการแพร่ของก๊าซคาร์บอน

น้ำหนักแห้งของสายใย 12.95 กรัมต่อลิตร

13.75 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 25 ปริมาณกรดโคจิก น้ำตาลกลูโคสและค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกโดยใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 24 วัน

ไดออกไซด์ในแต่ละวันจะไม่เท่ากัน ดังแสดงในตารางที่ 9 และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่า การทดลองในชุดที่ไม่มีการเป่าให้อากาศ จะมีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์บริเวณเหนือผิวหน้าอาหารเหลว 1 เซนติเมตรเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและสูงกว่าการทดลองอื่นในขณะที่การทดลองที่มีการเป่าให้อากาศในอัตราสูงจะวัดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้น้อยดังแสดงการเปรียบเทียบปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เหนือผิวหน้าอาหารเหลว 1 เซนติเมตร ในรูปที่ 26

การเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวมีผลต่อการเติบโตของสายใยราและการสร้างสปอร์ของราเป็นอย่างมาก กล่าวคือ ถ้ามีการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวจะทำให้รามีการสร้างสายใยมาปกคลุมทั่วผิวหน้าอาหารเหลวภายในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง ขณะที่ราในการทดลองที่ไม่มีการเป่าให้อากาศจะสร้างสายใยมาปกคลุมทั่วผิวหน้าอาหารเหลวภายในวันที่ 16 ของการเพาะเลี้ยง แม้ราในการทดลองที่มีการเป่าให้อากาศจะสร้างสายใยได้เร็วกว่าแต่กลับสร้างสปอร์ได้ช้ากว่าโดยพบว่าในวันที่สิ้นสุดการทดลองจะพบสปอร์เฉพาะบริเวณขอบของถาดและขอบของท่อเก็บตัวอย่างเท่านั้น ขณะที่การทดลองที่ไม่มีการเป่าให้อากาศจะมีการสร้างสปอร์ทั่วทั้งถาด นอกจากนี้อัตราเร็วในการเป่าให้อากาศยังมีผลต่อการเติบโตของราเช่นเดียวกัน กล่าวคือ ถ้ามีการเป่าให้อากาศในอัตราเร็วที่สูง (100 และ 200 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที) ราจะมีการเจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวอย่างไม่สมบูรณ์นัก จึงทำให้ได้น้ำหนักแห้งของสายใยน้อย โดยมีกลุ่มของสายใยราบางส่วนจมอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้ออาจเนื่องมาจากความแรงของอากาศที่พ่นให้ไปมีผลให้ค่าการละลายของออกซิเจน (dissolved oxygen tension) ในอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าสูง ทำให้ราที่จมอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อได้รับออกซิเจนเพียงพอจึงเติบโตสร้างสายใยราในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ส่วนการเป่าให้อากาศในอัตราเร็วที่ต่ำคือ 25 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที ราจะมีการเติบโตคล้ายกับการทดลองที่ไม่มีการเป่าให้อากาศ หรือกล่าวได้อีกนัยว่า การเป่าให้อากาศในอัตราเร็วที่น้อยเกินไปจะไม่มีผลเร่งการเติบโตสร้างสายใยของรา ในขณะที่การเป่าให้อากาศในอัตราเร็วที่เหมาะสม (50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที) จะช่วยให้ราเติบโตสร้างสายใยได้เร็วขึ้น อีกทั้งการสร้างสปอร์ราช้าลงเมื่อเทียบกับการทดลองอื่น เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (20 วัน) ราในการทดลองที่ไม่มีการเป่าให้อากาศ มีน้ำหนักสายใยราแห้งเท่ากับ 12.98 กรัมต่อลิตร ขณะที่ราในการทดลองที่มีการเป่าให้อากาศในอัตราเร็วเท่ากับ 25 50 100 และ 200 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที มีน้ำหนักสายใยราแห้งเท่ากับ 13.01 13.5 12.28 และ 11.49 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 9 ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่วัดได้ในระหว่างการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลว เมื่อไม่มีการเป่าให้อากาศและมีการเป่าให้อากาศในอัตราเร็วต่างกัน

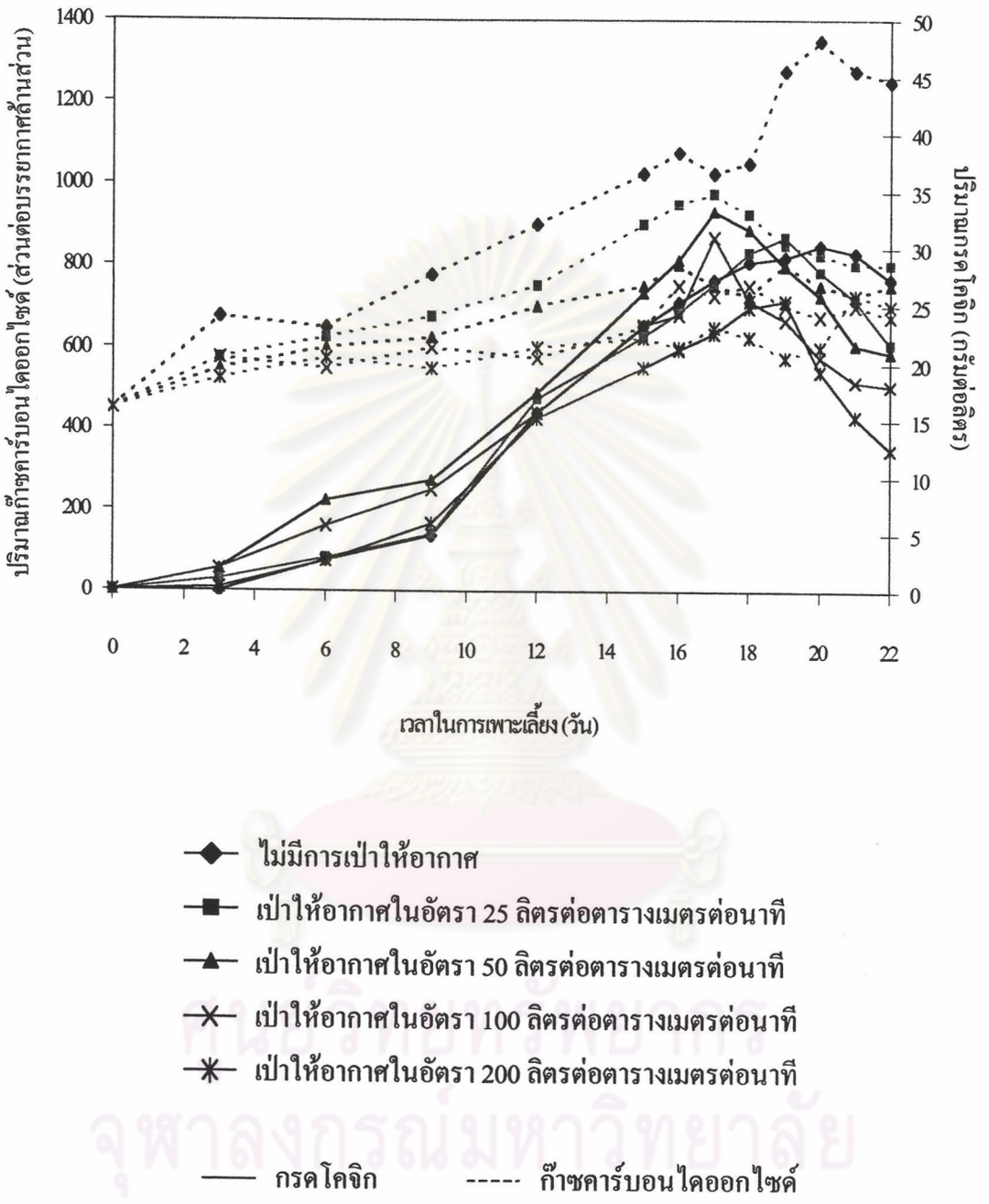
วันที่	ไม่มีการเป่าให้อากาศ (ppm)			มีการเป่าให้อากาศตลอดการทดลองในอัตราเร็วต่างกัน (ppm)											
				25 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที			50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที			100 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที			200 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
0	450	450	450	450	450	450	450	450	450	450	450	450	450	450	450
3	675	625	600	575	525	500	550	525	500	575	525	500	525	500	475
6	650	625	600	625	600	525	600	550	500	550	525	500	575	500	475
9	775	650	625	675	600	525	625	525	500	600	550	525	550	525	500
10	825	750	675	700	650	575	650	500	475	575	525	500	600	550	525
11	850	775	700	775	675	575	650	575	475	650	600	525	625	575	525
12	900	850	775	750	675	600	700	650	550	675	575	500	600	575	500
13	925	875	800	825	750	650	725	650	525	700	650	575	650	525	475
14	950	850	775	800	725	625	700	625	525	675	625	500	625	500	475
15	1025	975	850	900	825	750	750	650	600	700	625	525	575	525	500
16	1075	975	875	950	850	775	800	700	575	750	675	650	600	550	525
17	1025	1000	950	975	850	750	750	675	575	725	650	500	725	675	550
18	1050	1025	975	925	775	650	725	625	500	750	700	625	700	650	575
19	1275	1200	975	850	725	625	800	750	625	700	625	600	750	650	550
20	1350	1250	1000	825	725	625	750	625	575	675	600	550	675	575	500

หมายเหตุ ค่าปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศปกติอยู่ในช่วง 400 - 450 ส่วนต่อบรรยากาศล้านส่วน

A หมายถึง ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์บริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 เซนติเมตร

B หมายถึง ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์บริเวณผิวด้านนอกของผ้าที่ใช้ปิดภาชนะเพาะเลี้ยง

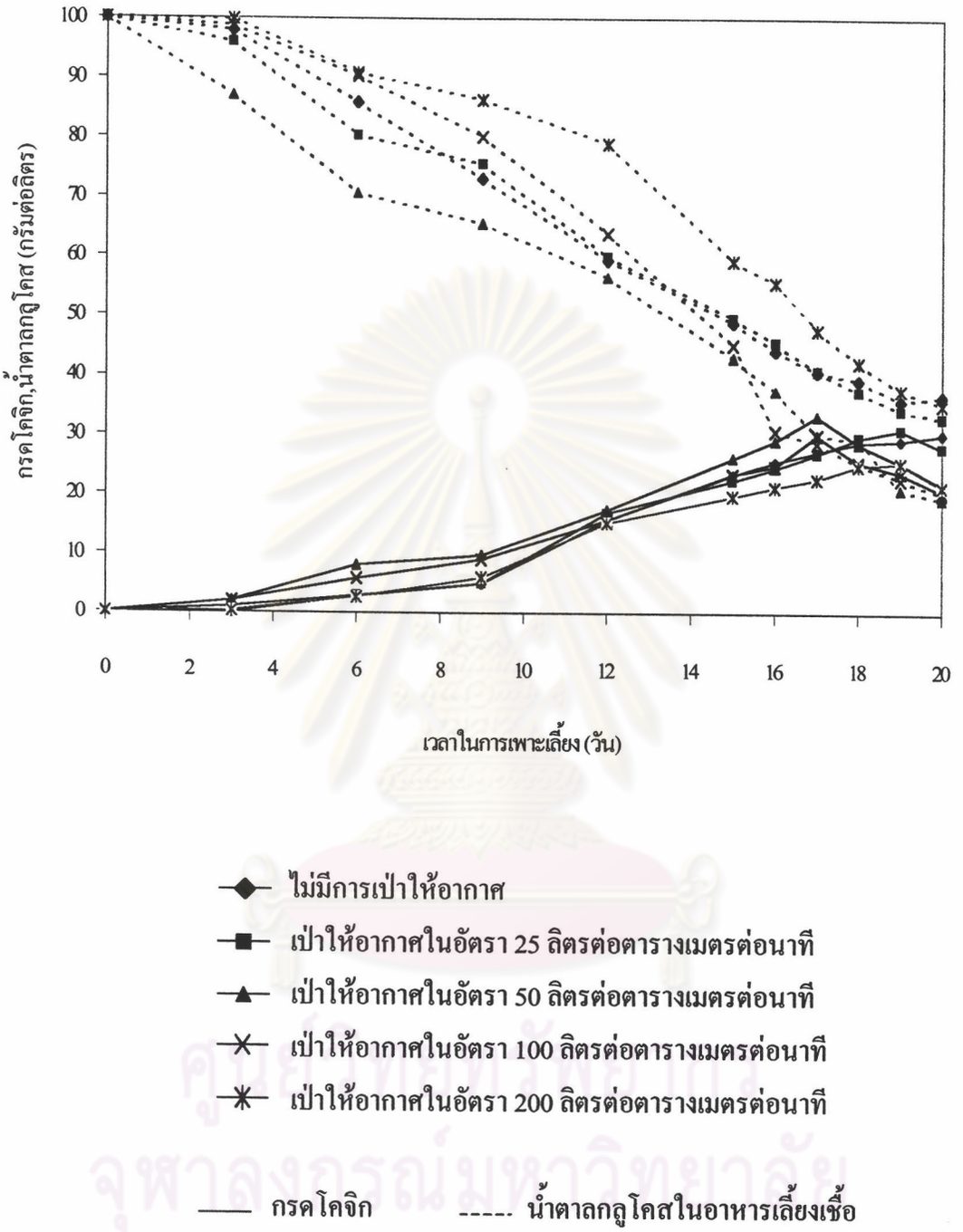
C หมายถึง ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากบรรยากาศภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิ



รูปที่ 26 เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์บริเวณเหนือผิวหน้าอาหารเหลว 1 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวสำหรับผลิตกรดโคจิก เมื่อเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวในอัตราเร็วเท่ากับ 0 25 50 100 และ 200 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที

การเป่าอากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวมีผลต่อปริมาณกรดโคจิกที่ผลิตขึ้น เนื่องจากการเป่าอากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวจะช่วยลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่สะสมอยู่เหนือผิวหน้าอาหารเหลวซึ่งปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์นี้จะผกผันกับปริมาณกรดโคจิกที่ผลิตขึ้นดังแสดงในรูปที่ 26 จะเห็นได้ว่า การเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวในอัตราเร็วที่เหมาะสม (50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที) จะทำให้ได้ผลผลิตกรดโคจิกสูงและเร็วขึ้นมากกว่าการที่ไม่มีการเป่าให้อากาศหรือมีการเป่าให้อากาศในอัตราเร็วที่สูงเกินไป (100 และ 200 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที) โดยการเป่าอากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวในอัตราเร็วเท่ากับ 50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาทีจะให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงและเร็วที่สุดคือเท่ากับ 33.27 กรัมต่อลิตรในวันที่ 17 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งสูงกว่าการทดลองที่ไม่มีอัตราการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวถึง 3 กรัมต่อลิตรและลดระยะเวลาที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุดลง 3 วัน คือ ชุดที่ไม่มีการเป่าให้อากาศ ให้ผลผลิตกรดโคจิกเท่ากับ 30.25 กรัมต่อลิตรในวันที่ 20 ของการเพาะเลี้ยง ทั้งนี้เนื่องจากว่าการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวเท่ากับ 50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาทีจะทำให้ราสร้างสายใยมาปกคลุมทั่วผิวหน้าอาหารเหลวได้เร็วกว่าจึงเริ่มมีการผลิตกรดได้เร็วกว่าอีกทั้งยังมีการสร้างสปอร์น้อย ดังนั้นจึงไม่สูญเสียอาหารไปกับการสร้างสปอร์ แต่อย่างไรก็ดี การเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวในอัตราเร็วที่สูงเกินไป กลับทำให้ผลผลิตกรดลดลงกว่าการเป่าให้อากาศในอัตราเร็วที่เหมาะสม แต่เมื่อเทียบกับการทดลองที่ไม่มีการเป่าให้อากาศพบว่าระยะเวลาในการให้ผลผลิตกรดสูงสุดของชุดที่มีการเป่าให้อากาศในอัตราเร็วที่สูงเกินไปจะเร็วกว่าการทดลองที่ไม่มีการเป่าให้อากาศ คือ ถ้ามีการเป่าให้อากาศในอัตราเร็ว 100 และ 200 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที จะให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุด 31.01 และ 25.41 กรัมต่อลิตรในวันที่ 17 และ 19 ของการเพาะเลี้ยงตามลำดับ ขณะที่ชุดการทดลองที่ไม่มีการเป่าให้อากาศจะให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดเท่ากับ 30.26 กรัมต่อลิตรในวันที่ 20 ของการเพาะเลี้ยง

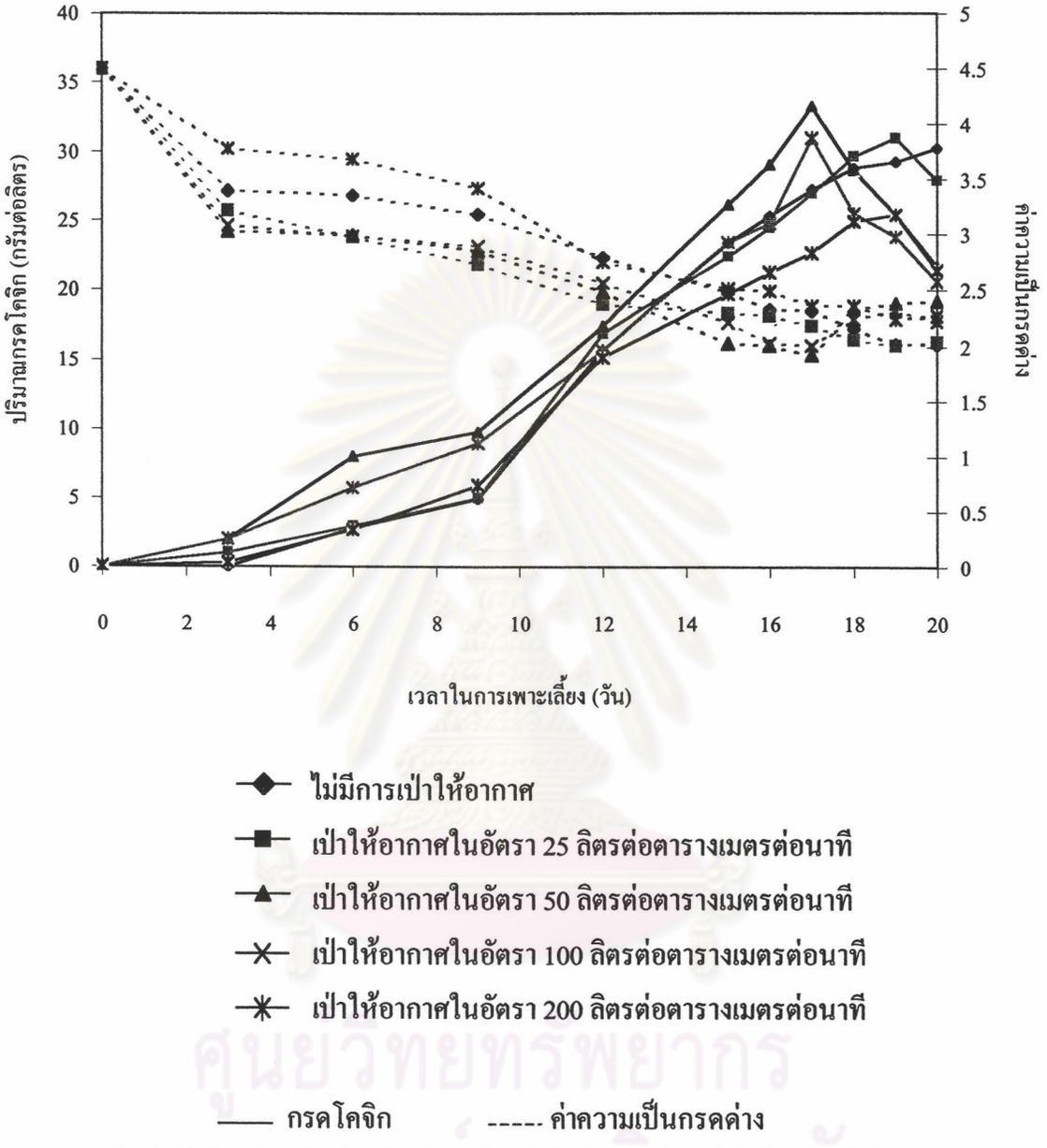
เมื่อพิจารณาการใช้น้ำตาลควบคู่ไปกับการผลิตกรดโคจิกของรา พบว่า การเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวในอัตราเร็วที่เหมาะสม (50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที) จะมีผลให้ราใช้น้ำตาลได้เร็วและให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดด้วยดังแสดงในรูปที่ 27 แต่การเป่าให้อากาศในอัตราเร็วที่สูงเกินไป (100 และ 200 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที) ราจะมีการใช้น้ำตาลช้ากว่าและให้ผลผลิตกรดโคจิกต่ำและช้าที่สุด ขณะที่การเป่าให้อากาศในอัตราเร็วที่ต่ำเกินไป (25 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที) รามีการใช้น้ำตาลไม่แตกต่างกับการทดลองที่ไม่มีการเป่าให้อากาศ ซึ่งเมื่อพิจารณาปริมาณกรดโคจิกควบคู่ไปด้วยพบว่าให้ผลผลิตของกรดโคจิกใกล้เคียงกันมาก ดังนั้น การเป่าให้อากาศในอัตราเร็วที่ต่ำเกินไป จึงไม่มีผลช่วยเพิ่มผลผลิตกรดโคจิกขึ้นเลยทั้งยังสิ้นเปลืองพลังงานที่ใช้ในการเป่าให้อากาศอีกด้วย



รูปที่ 27 เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกและน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวสำหรับผลิตกรดโคจิกโดยมีการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลว 2 เซนติเมตรในอัตราเร็วเท่ากับ 0 25 50 100 และ 200 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที

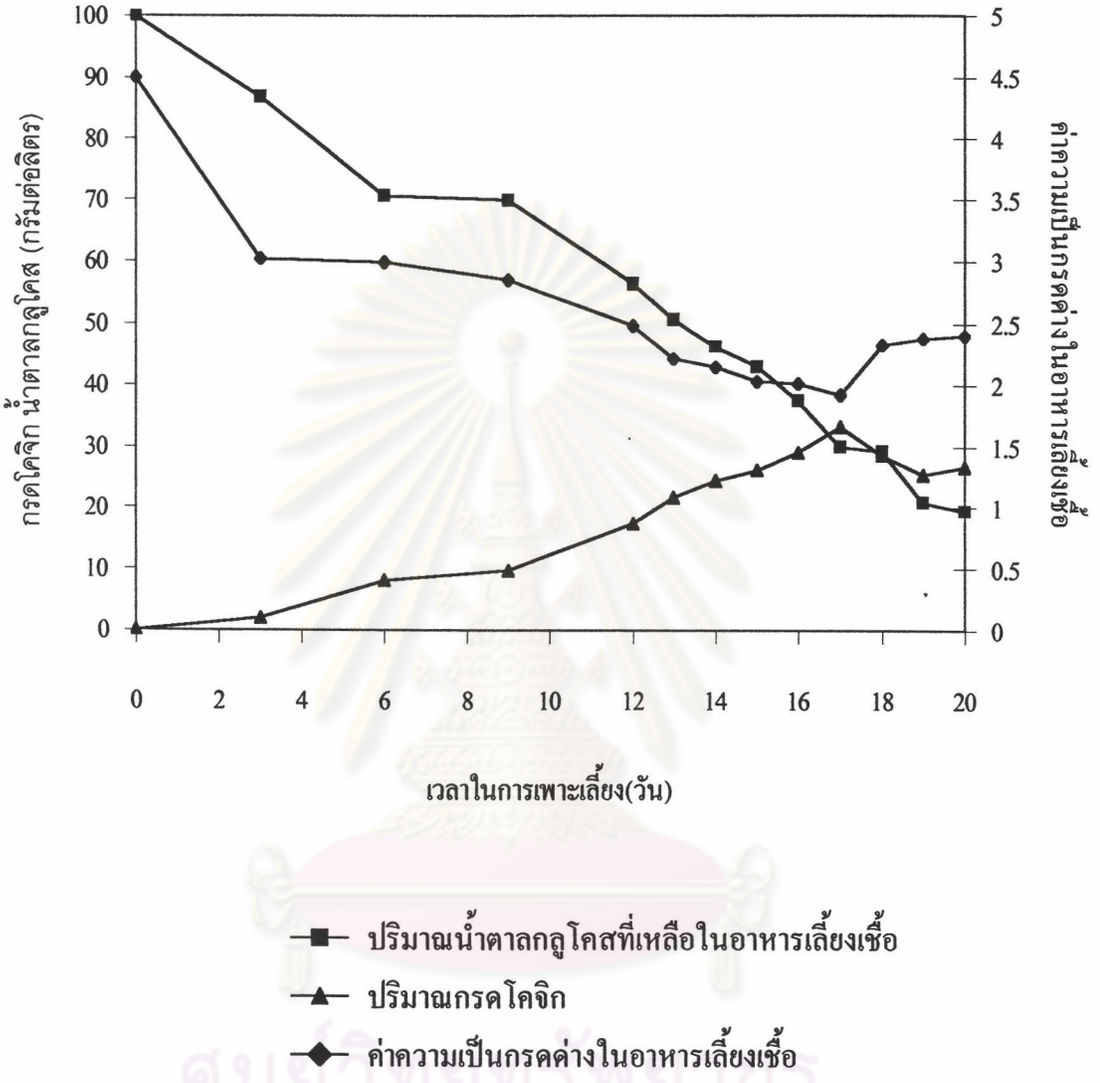
สำหรับค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับปริมาณกรดโคจิกที่ผลิตขึ้นดังแสดงในรูปที่ 28 นั่นคือ ถ้ามีการผลิตกรดโคจิกมาก จะทำให้ค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำลง เมื่อเปรียบเทียบค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าในการทดลองที่ไม่มีการเป่าให้อากาศและมีการเป่าให้อากาศในอัตราเร็วเท่ากับ 200 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาทีมีค่าความเป็นกรดด่างสูงกว่าการทดลองอื่น ส่วนในการทดลองที่มีอัตราการให้อากาศในอัตราเร็วเท่ากับ 25 50 และ 100 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาทีมีค่าความเป็นกรดด่างใกล้เคียงกันจนสิ้นสุดการทดลองและเป็นที่น่าสังเกตว่า ณ. วันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุดจากการทดลองที่มีการเป่าให้อากาศในอัตราเร็วที่เหมาะสมคือเท่ากับ 50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที จะวัดค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ต่ำมากถึง 1.92 ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณกรดโคจิกที่สูงถึง 33.27 กรัมต่อลิตรในวันที่ 17 ของการเพาะเลี้ยง ดังแสดงในรูปที่ 29 เมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกของรา พบว่า ในชุดการทดลองที่ไม่มีการเป่าให้อากาศและมีการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวในอัตราเร็วเท่ากับ 25 และ 50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาทีจะมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกใกล้เคียงกันมากคือมีค่าเท่ากับ 0.48 0.47 และ 0.48 ตามลำดับ ในขณะที่ถ้าเพิ่มอัตราเร็วในการเป่าให้อากาศมากขึ้น จะยิ่งทำให้ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกของราลดลง คือมีค่าเท่ากับ 0.45 และ 0.41 ในชุดการทดลองที่มีอัตราเร็วในการเป่าให้อากาศ 100 และ 200 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาทีตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 10 เมื่อคำนวณค่าอัตราการผลิตกรดโคจิกในช่วงต่างๆ ของการทดลอง เช่น ในวันที่ 4 ของการผลิต พบว่า มีอัตราการผลิตกรดโคจิกเท่ากับ 1.56 กรัมต่อลิตรต่อวัน ค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 2.99 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง จะมีอัตราการผลิตกรดโคจิกเท่ากับ 2.06 กรัมต่อลิตรต่อวัน ค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 2.67 ส่วนในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยงจะมีอัตราการผลิตกรด โคจิกเท่ากับ 2.76 กรัมต่อลิตรต่อวัน ค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 2.14 และในวันที่ 17 ของการเพาะเลี้ยงจะมีอัตราการผลิตกรดเท่ากับ 4.21 กรัมต่อลิตรต่อวัน ค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 2.00 ซึ่งจะเห็นได้ว่า อัตราการผลิตจะมีค่าสูงเมื่อค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ในช่วง 2.0 - 2.5

จากผลการทดลองจะเห็นว่า การขยายส่วนการผลิตในงานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จอย่างสูง โดยให้ผลผลิตกรดโคจิกไม่ต่ำกว่าการผลิตกรดโคจิกในระดับห้องปฏิบัติการ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า การออกแบบถาดตื้นที่คงค่าอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวหน้าอาหารเหลวต่อความสูงเท่ากับ 200 : 1 เหมาะสมแล้วที่จะนำมาใช้เป็นภาชนะเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิก โดยเมื่อเลือกใช้ปริมาณของหัวเชื้อที่เหมาะสม รวมถึงสามารถออกแบบอุปกรณ์ในการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวได้ พบว่า จะให้ผลผลิตกรดโคจิกเพิ่มขึ้น 15.92 เปอร์เซ็นต์ และลดระยะเวลาในการผลิตลงถึง 4 วัน



รูปที่ 28 เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกและค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวสำหรับผลิตกรดโคจิกโดยมีการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวในอัตราเร็วเท่ากับ 0 25 50 100 และ 200 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 29 เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิก น้ำตาลกลูโคส และค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวสำหรับผลิตกรดโคจิกโดยมีการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวในอัตราเร็วเท่ากับ 50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที

ตารางที่ 10 ปริมาณกรดโคจิก ปริมาณน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ และประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดโคจิก ณ. วันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุดในการทดลองที่มีการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวในอัตราเร็วต่างกัน

อัตราการเป่าให้อากาศ (ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที)	ปริมาณกรดโคจิก (กรัมต่อลิตร)*	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ (กรัมต่อลิตร)*	วันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด (วัน)	ประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดโคจิก (Yp/s)*
0	30.26	36.68	20	0.48
25	30.98	34.26	19	0.47
50	33.27	30.03	17	0.48
100	31.01	30.68	17	0.45
200	25.41	37.71	19	0.41

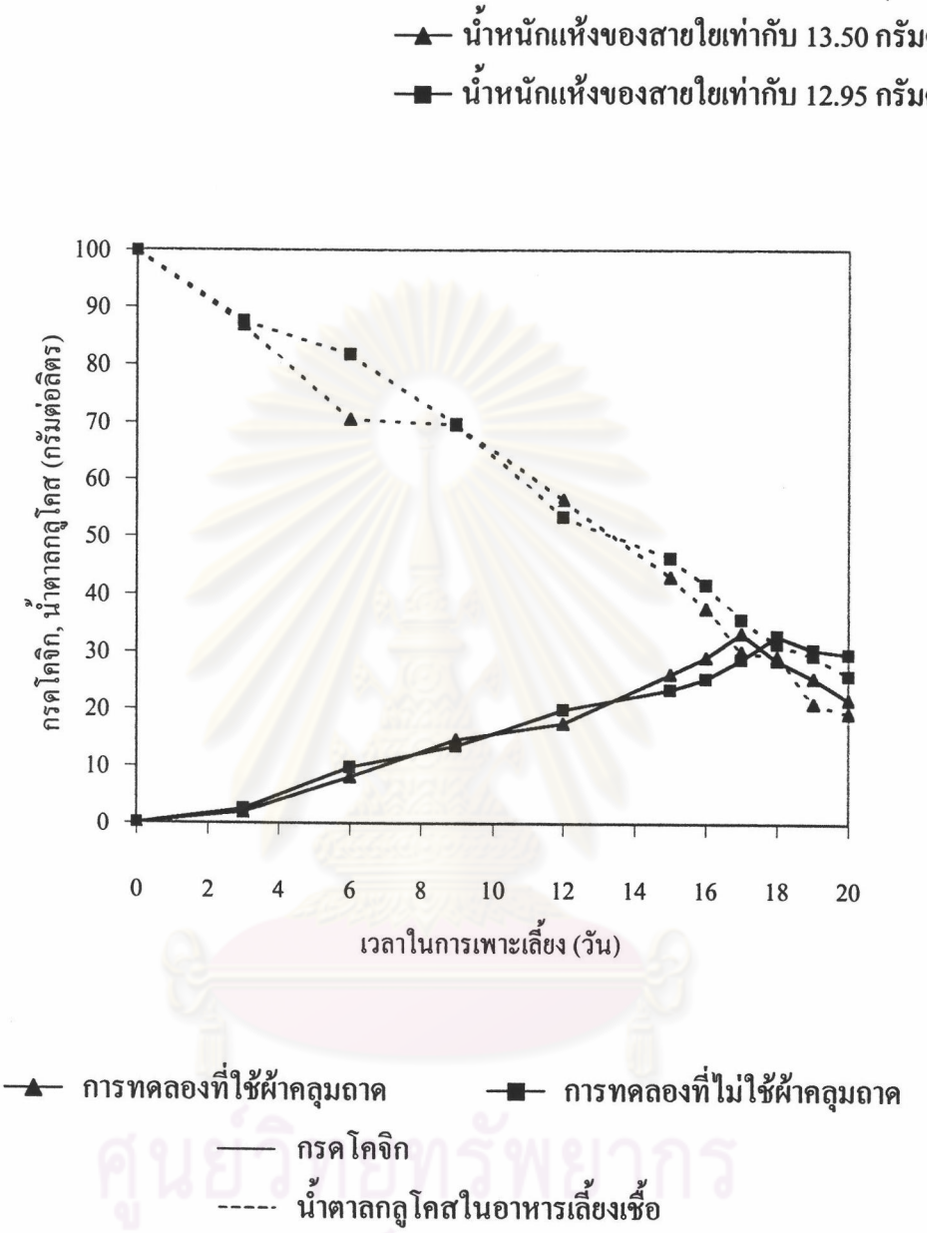
* คิดจากวันที่ให้ปริมาณกรดโคจิกสูงสุด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. ผลการทดลองการผลิตกรดโคจิกโดยไม่ใช้ผ้าคลุมถาดตื้น

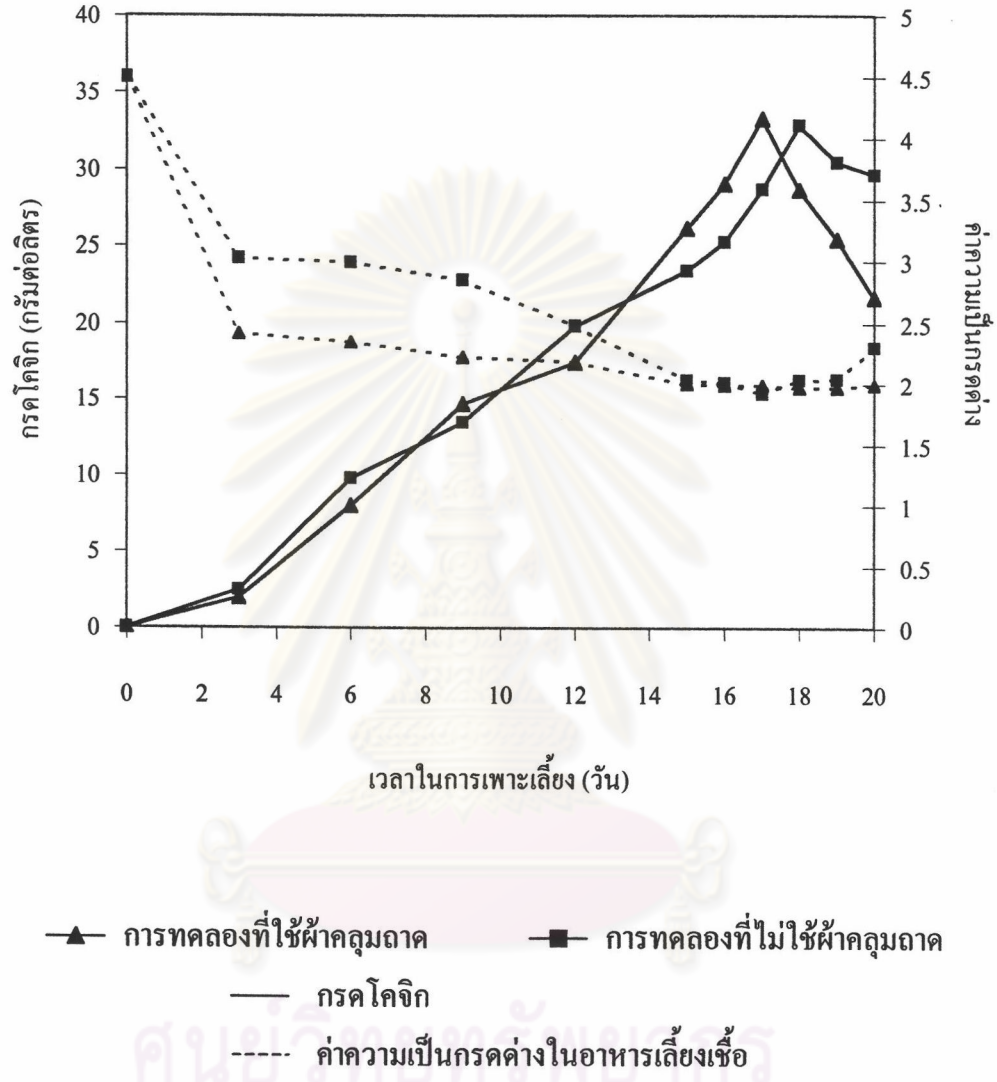
เมื่อประสบความสำเร็จในการผลิตกรดโคจิกจากการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตรโดยใช้ภาวะในการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมที่ศึกษามาแล้วข้างต้นคือ ใช้ปริมาณหัวเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) มีการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลว 2 เซนติเมตรในอัตราเร็วเท่ากับ 50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที (ผลการทดลองข้อที่ 3) ซึ่งให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงขึ้นและลดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงได้มาก แต่ในการเพาะเลี้ยงราให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวในผลการทดลองข้อที่ 3 นั้น มีการใช้ผ้าคลุมถาดตื้นที่เป็นภาชนะเพาะเลี้ยงเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่น ซึ่งอาจดูเป็นการยุ่งยากถ้าจะนำไปใช้ในการผลิตจริงในระดับอุตสาหกรรม ดังนั้นในงานทดลองนี้จึงไม่ใช้ผ้าคลุมถาดระหว่างการผลิตเพื่อศึกษาปริมาณผลผลิตกรดโคจิก การใช้น้ำตาล และการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่น เพื่อเพิ่มความสะดวกในการเพาะเลี้ยงมากยิ่งขึ้น ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า การผลิตกรดโคจิกโดยไม่ใช้ผ้าคลุมถาดที่ใช้เป็นภาชนะเพาะเลี้ยงออกให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดมีค่าเท่ากับ 32.86 กรัมต่อลิตรในวันที่ 18 ของการเพาะเลี้ยง เมื่อเทียบกับการทดลองที่ใช้ผ้าคลุมถาดตื้นที่มีภาวะในการเลี้ยงเชื้อเหมือนกันทุกประการซึ่งให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดมีค่าเท่ากับ 33.27 กรัมต่อลิตรในวันที่ 17 ของการเพาะเลี้ยงแล้ว พบว่าให้ปริมาณกรดโคจิกใกล้เคียงกันดังรูปที่ 30 และเมื่อพิจารณาถึงการใช้น้ำตาล จะเห็นได้ว่ามีการใช้น้ำตาลไล่เลี่ยกันมาก โดยน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อจะลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่ 3 วันแรกของการเพาะเลี้ยง โดยเฉพาะในช่วงที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด (ประมาณวันที่ 17 - 18 ของการเพาะเลี้ยง) จนสิ้นสุดการทดลองจะมีการใช้น้ำตาลอย่างรวดเร็วที่สุดทั้ง 2 การทดลอง ส่วนค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีความแตกต่างกันบ้างในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยง (รูปที่ 31) กล่าวคือ ในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยงชุดการทดลองที่มีการปิดผ้าคลุดถาดตื้นจะมีค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำกว่าโดยจะคงค่าอยู่ที่ประมาณ 2.2 ถึง 2.5 ขณะที่ในการทดลองที่เปิดผ้าคลุมถาดออกจะมีค่าความเป็นกรดด่างประมาณ 2.5 ถึง 3.0 แต่หลังจากวันที่ 15 ของการเพาะเลี้ยงจนสิ้นสุดการทดลองปรากฏว่าค่าความเป็นกรดด่างของการทดลองที่ไม่มีผ้าคลุมถาดจะลดลงจนมีค่าใกล้เคียงกับชุดการทดลองที่มีผ้าคลุมถาดซึ่งมีค่าประมาณ 2.0 ถึง 2.5 เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกแสดงดังตารางที่ 11 จะเห็นได้ว่าทั้ง 2 ชุดการทดลองมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกเท่ากันคือมีค่าเท่ากับ 0.47

จากการสังเกตการเติบโตของทั้ง 2 ชุดการทดลอง พบว่า เป็นไปในแบบแผนเดียวกันกล่าวคือราจะเติบโตสร้างสายใยทั่วทั้งผิวหน้าอาหารเหลวในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยงโดยมีการสร้างสปอร์น้อยมากซึ่งจะพบบริเวณขอบของถาดและขอบของท่อเก็บตัวอย่างเท่านั้น และน้ำหนักแห้งของสายใยราเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (20 วัน) มีค่าไม่แตกต่างกันเท่าไรนักโดยราในชุดการทดลองที่มีผ้าคลุมถาดและไม่มีผ้าคลุมจะให้น้ำหนักแห้งของสายใยราเท่ากับ 13.50 และ 12.95 กรัม



รูปที่ 30 ปริมาณกรดโคจิก และน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกโดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด คือ การทดลองที่ใช้ผ้าคลุมบนถาดตื้นที่ใช้เป็นภาชนะเพาะเลี้ยงและการทดลองที่ไม่ใช้ผ้าคลุมถาด เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 20 วัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 31 ปริมาณกรดโคจิก และค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกโดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด คือ การทดลองที่ใช้ผ้าคลุมบนถาดตื้นที่ใช้เพาะเลี้ยงและการทดลองที่ไม่ใช้ผ้าคลุมถาด เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 20 วัน

ต่อลิตร ตามลำดับ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าแม้จะเปิดผ้าคลุมถาดออกแต่ไม่ปรากฏว่ามีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นแต่อย่างใด รวมทั้งเมื่อพิจารณาถึงปริมาณผลผลิตกรดโคจิกที่ได้ การใช้น้ำตาลกลูโคสค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ และประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกของราทั้ง 2 การทดลองมีค่าใกล้เคียงกันมาก จึงกล่าวได้ว่า การเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร โดยใช้ภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมที่ศึกษามาแล้วสามารถกระทำได้โดยไม่จำเป็นต้องมีผ้าคลุมถาดที่ใช้เป็นภาชนะเพาะเลี้ยง ซึ่งจะไม่ทำให้เกิดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ใดๆทั้งสิ้นและให้ผลผลิตกรดโคจิกและประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 11 ปริมาณกรดโคจิก น้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อและประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกของ *A. oryzae* K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิก โดยที่ขณะเพาะเลี้ยงใช้ผ้าคลุมถาดและไม่ใช้ผ้าคลุมถาดตื้นที่ใช้เป็นภาชนะในการเพาะเลี้ยง

ชุดการทดลอง**	ปริมาณกรดโคจิก (กรัมต่อลิตร)*	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสตั้งต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ (กรัมต่อลิตร)*	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ (กรัมต่อลิตร)**	ประสิทธิภาพ การเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิก (Yp/s)*
ชุดคลุมถาด	33.27	100	69.97	0.47
ชุดไม่คลุมถาด	32.86	100	68.58	0.47

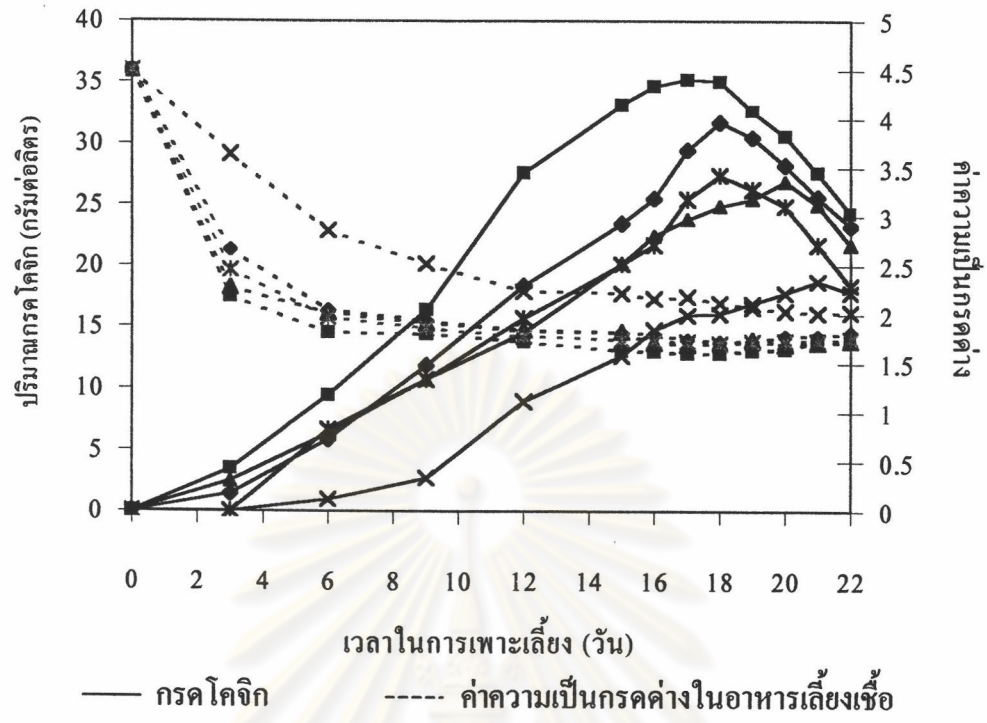
* คิดจากวันที่ให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุด

** ชุดคลุมถาด หมายถึง ชุดการทดลองที่ใช้ผ้าคลุมถาดเป็นภาชนะเพาะเลี้ยง
ชุดไม่คลุมถาด หมายถึง ชุดการทดลองที่ไม่ใช้ผ้าคลุมถาดเป็นภาชนะเพาะเลี้ยง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. ผลการทดลองการผลิตกรดโคจิกโดยมีการเติมสารอาหารในระหว่างกระบวนการผลิต

เมื่อเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกในถาดตื้น ขนาดความจุ 4 ลิตร โดยใช้ภาวะที่เหมาะสมที่ศึกษามาแล้ว คือ ใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ) มีการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลว 2 เซนติเมตรใน อัตราเร็วเท่ากับ 50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที โดยมีการเติมสารอาหารในระหว่างการเพาะเลี้ยง ซึ่งแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 5 ชุดดังกล่าวแล้วในวิธีการทดลอง พบว่า การเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นที่มีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนตามสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดโคจิก ยกเว้นแหล่งคาร์บอนที่จะทยอยเติม 4 ครั้งในระหว่างการผลิต (ชุดการทดลอง ข) พบว่า ราสามารถผลิตกรดโคจิกได้ปริมาณมากและเร็วขึ้น คือ ให้ผลผลิตกรดโคจิกเท่ากับ 35.26 กรัมต่อลิตรในวันที่ 17 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งสูงกว่าการผลิตกรดโคจิกที่ใช้กระบวนการหมักแบบกะ (ชุดการทดลอง ก) ที่ให้ปริมาณกรดโคจิกสูงสุด 31.71 กรัมต่อลิตรในวันที่ 18 ของการเพาะเลี้ยง ขณะที่การทยอยเติมทั้งแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนในระหว่างการเพาะเลี้ยง (ชุดการทดลอง ค และ ง) จะให้ปริมาณกรดโคจิกน้อยและช้ากว่า 2 ชุดการทดลองที่กล่าวข้างต้น คือให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดเท่ากับ 26.83 และ 18.17 กรัมต่อลิตรในวันที่ 20 และ 21 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ (รูปที่ 32 และตารางที่ 12) เมื่อเปรียบเทียบการใช้น้ำตาลของรา จะเห็นได้ว่า การใช้น้ำตาลของราในชุดการทดลอง ก ในช่วงแรกจะค่อนข้างรวดเร็วจากนั้นจะเริ่มช้าลงในช่วงปลายของการเพาะเลี้ยง ส่วนในชุดการทดลอง ข และ ค มีการใช้น้ำตาลเป็นไปในลักษณะเดียวกัน กล่าวคือ ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการเพาะเลี้ยงจะไม่แตกต่างกันมากนัก ราจะใช้น้ำตาลอย่างรวดเร็วและสม่ำเสมอโดยจะเห็นได้ว่า โดยราในชุดการทดลอง ข จะใช้น้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อได้เร็วกว่าราในชุดการทดลอง ก และ ค ส่วนในชุดการทดลอง ง จะมีการใช้น้ำตาลแตกต่างจาก 3 ชุดการทดลองข้างต้น กล่าวคือ ชุดการทดลอง ง จะใช้น้ำตาลได้ช้ามากกว่าชุดการทดลองอื่น (รูปที่ 33) ซึ่งจะเห็นได้ว่าเมื่อเติมแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อ อาหารจะมีความเข้มข้นของน้ำตาลเพิ่มมากขึ้นกว่าก่อนเติมอาหาร แสดงว่าราใช้น้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อได้น้อยมาก จึงเหลือปริมาณน้ำตาลสูง การที่ชุดทดลอง ง ซึ่งเป็นชุดทดลองที่มีการทยอยเติมแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนในระหว่างการเพาะเลี้ยง มีการใช้น้ำตาลได้น้อยและมีผลผลิตกรดต่ำ แสดงว่า ราต้องการแหล่งไนโตรเจนในช่วงแรกของการเติบโตเป็นอย่างมาก การทยอยเติมแหล่งไนโตรเจนจะทำให้ราเติบโตไม่เต็มที่และไม่สามารถเติบโตต่อได้เหมือนกับชุดการทดลองที่เติมแหล่งไนโตรเจนให้หมดตั้งแต่ครั้งแรก จะสังเกตเห็นได้ว่ารามีการเติบโตได้ไม่ดี และเมื่อพิจารณาถึงปริมาณกรดโคจิกที่ราผลิตขึ้นควบคู่ไปด้วย จะเห็นได้ว่าชุดการทดลองที่มีการใช้น้ำตาลมากจะให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงด้วยนั่นคือชุดการทดลอง ข ซึ่งมีการใช้น้ำตาลมากและรวดเร็วที่สุดจะให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงที่สุดมีค่าเท่ากับ 35.26 กรัมต่อลิตรในวันที่ 17 ของการเพาะเลี้ยง



ชุดการทดลอง ก (—◆—) คือ ชุดการทดลองที่ผลิตกรดโคจิกโดยใช้กระบวนการหมักแบบกะ

ชุดการทดลอง ข (—■—) คือ ชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นมีสารอาหารอื่นๆครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนที่จะเติมในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 (4 ครั้ง) ในระหว่างการเพาะเลี้ยง

ชุดการทดลอง ค (—▲—) คือ ชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นมีสารอาหารอื่นๆครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนโดยแหล่งไนโตรเจนจะเติมให้หมดภายใน 2 ครั้งแรกส่วนแหล่งคาร์บอนจะ เติมในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 (4 ครั้ง) ในระหว่างการเพาะเลี้ยง

ชุดการทดลอง ง (—✕—) คือ ชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นมีสารอาหารอื่นๆครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนโดยแหล่งไนโตรเจนจะเติมให้หมดภายใน 3 ครั้งแรกส่วนแหล่งคาร์บอนจะเติมในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 (4 ครั้ง) ในระหว่างการเพาะเลี้ยง

ชุดการทดลอง จ (—✳—) คือ ชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นมีสารอาหารอื่นๆครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนที่จะเติมในรูปผงกลูโคสที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสงอัลตราไวโอเลต (4 ครั้ง) ในระหว่างการเพาะเลี้ยง

รูปที่ 32 เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกและค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในระหว่างการผลิตกรดโคจิกโดยเพาะเลี้ยง *A.oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวระหว่างวิธีการเพาะเลี้ยงแบบกะกับวิธีการเพาะเลี้ยงโดยมีการเติมสารอาหารในระหว่างการผลิต

ตารางที่ 12 ปริมาณกรดโคจิก น้ำตาลกลูโคสที่ใช้ไป และประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดโคจิก เมื่อเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวโดยมีการเติมสารอาหารในระหว่างกระบวนการผลิต (ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อรวมต่อการผลิต 1 ครั้งเท่ากับ 3.2 ลิตร)

ชุดการทดลอง***	ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้น (ลิตร)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อหลังเติมแหล่งคาร์บอนครบ 4 ครั้ง* (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ไป** (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ไป** (กรัมต่อการผลิต 1 ครั้ง)	ปริมาณกรดโคจิก** (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกรดโคจิกต่อการผลิต 1 ครั้ง** (กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 3.2 ลิตร)	วันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด	ประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดโคจิก**
ก	3.2	100	37.58	62.42	199.71	31.71	101.47	18	0.51
ข	2.0	100	37.71	62.29	199.32	35.26	112.83	17	0.56
ค	2.0	100	36.66	63.34	202.68	26.83	85.85	20	0.42
ง	2.0	100	48.32	51.68	165.37	18.17	58.14	21	0.35
จ	2.0	100	48.32	51.68	165.37	27.36	87.55	18	0.53

* คิดจากวันที่ 15 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งเป็นวันสุดท้ายที่มีการเติมแหล่งคาร์บอน

** คิดจากวันที่ให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุด

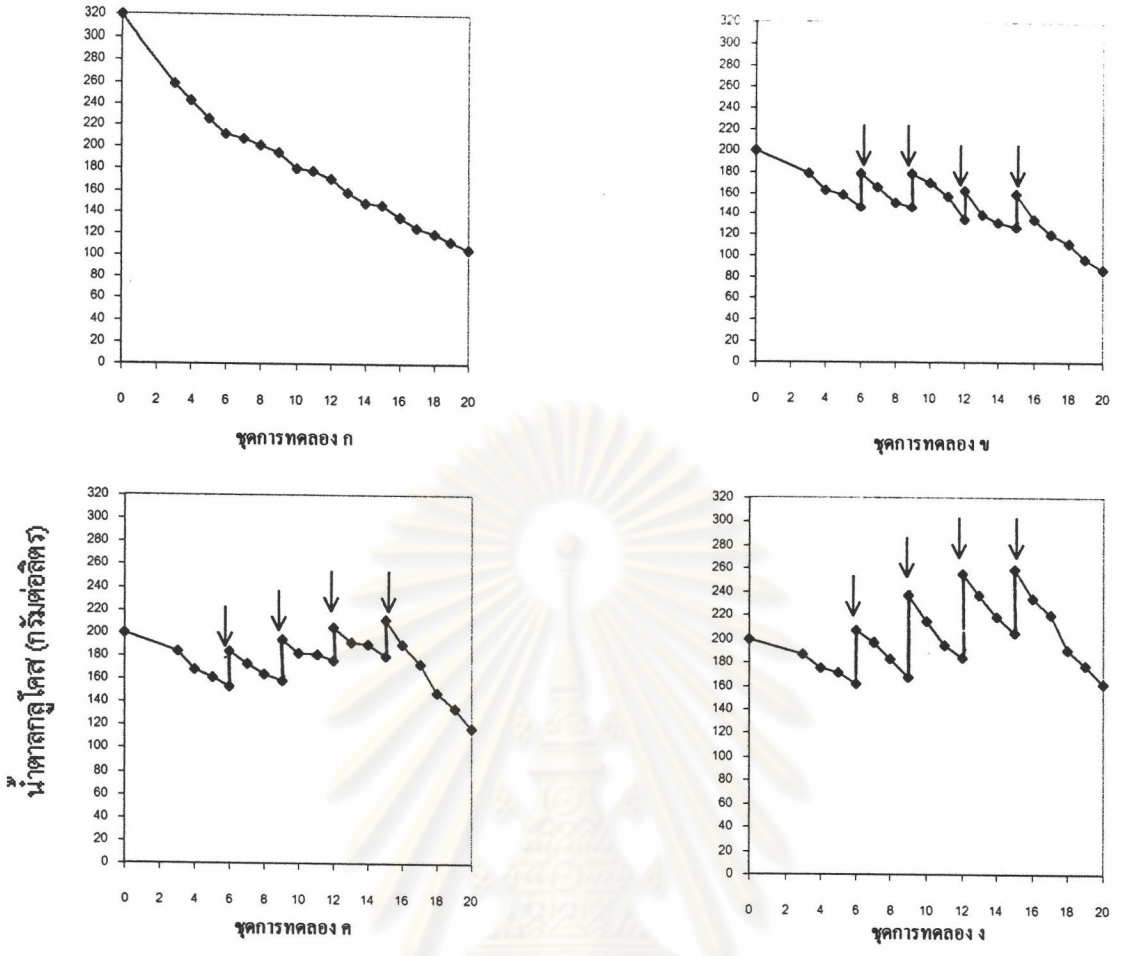
*** ชุดการทดลอง ก คือชุดการทดลองที่ผลิตกรดโคจิกโดยใช้กระบวนการหมักแบบกะ

ชุดการทดลอง ข คือชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นมีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนที่เติมในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ในระหว่างการเพาะเลี้ยง

ชุดการทดลอง ค คือชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นมีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนโดยแหล่งไนโตรเจนจะเติมให้หมดภายใน 2 ครั้งแรก ส่วนแหล่งคาร์บอนจะเติมในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ในระหว่างการเพาะเลี้ยง

ชุดการทดลอง ง คือชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นมีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนโดยแหล่งไนโตรเจนจะเติมให้หมดภายใน 3 ครั้งแรก ส่วนแหล่งคาร์บอนจะเติมในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ในระหว่างการเพาะเลี้ยง

ชุดการทดลอง จ คือชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นมีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนที่จะเติมในรูปผงกลูโคสที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสงอัลตราไวโอเลตในระหว่างการเพาะเลี้ยง



ชุดการทดลอง ก คือ ชุดทดลองที่ผลิตกรดโคจิกโดยใช้กระบวนการหมักแบบกะ

ชุดการทดลอง ข คือ ชุดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นมีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนที่เติมในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ในระหว่างการเพาะเลี้ยง

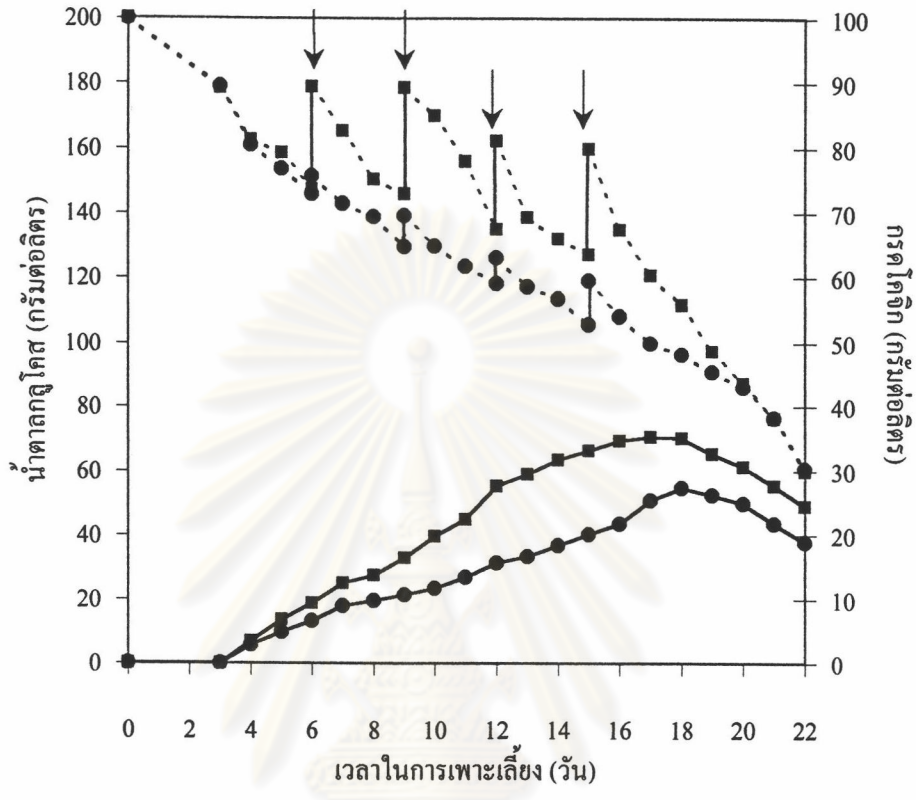
ชุดการทดลอง ค คือ ชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นที่มีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนโดยแหล่งไนโตรเจนจะเติมให้หมดภายใน 2 ครั้งแรก ส่วนแหล่งคาร์บอนจะเติมในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ในระหว่างการเพาะเลี้ยง

ชุดการทดลอง ง คือ ชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นที่มีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนโดยแหล่งไนโตรเจนจะเติมให้หมดภายใน 3 ครั้งแรก ส่วนแหล่งคาร์บอนจะเติมในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ในระหว่างการเพาะเลี้ยง

ชุดการทดลอง จ คือ ชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นที่มีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนที่จะเติมในรูปผงกลูโคสที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสงอัลตราไวโอเลตในระหว่างการเพาะเลี้ยง

รูปที่ 33 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการผลิตกรดโคจิกโดยเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวโดยมีการเติมสารอาหารในระหว่างการผลิตที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 20 วัน

รองลงมาคือชุดการทดลอง ก และ ค ส่วนชุดการทดลอง ง ซึ่งให้ผลผลิตกรดโคจิกต่ำที่สุดจะมีการใช้น้ำตาลได้น้อยที่สุดด้วย สำหรับชุดการทดลองที่เติมผงกลูโคสที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสงอัลตราไวโอเลตในระหว่างการผลิต (ชุดการทดลอง จ) ให้ผลผลิตกรดโคจิกเท่ากับ 27.36 กรัมต่อลิตรในวันที่ 18 ของการเพาะเลี้ยง (รูปที่ 34) ซึ่งปริมาณกรดโคจิกที่ได้ต่ำกว่าชุดการทดลองที่ใช้กระบวนการหมักกรดโคจิกแบบกะ (ชุดการทดลอง ก) และชุดการทดลองที่มีการทยอยเติมเฉพาะแหล่งคาร์บอน 4 ครั้งในรูปสารละลายกลูโคสในระหว่างการเพาะเลี้ยง (ชุดการทดลอง ข) แต่ราจะใช้น้ำตาลได้เร็วที่สุด ปริมาณน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อค่อนข้างต่ำและคงที่ตั้งแต่วันแรกจนถึงวันที่สิ้นสุดการทดลอง ทั้งนี้อาจเกิดจากว่าราใช้น้ำตาลไปสำหรับการเติบโตเนื่องจากสังเกตเห็นว่าราในชุดการทดลอง จ มีการเติบโตมากกว่าชุดการทดลองอื่นดังแสดงน้ำหนักแห้งของสายใย ณ.วันที่สิ้นสุดการทดลอง (13.91 กรัมต่อลิตร) ซึ่งแสดงไว้ในรูปที่ 35 และตารางที่ 13 และเมื่อพลิกสายใยขึ้นมาดู ปรากฏว่ามีความหนาของสายใยมากกว่าชุดการทดลองอื่น ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าราใช้น้ำตาลไปสำหรับการเติบโตค่อนข้างมากจึงให้ผลผลิตกรดน้อยลง เมื่อเทียบกับชุดการทดลองที่เติมสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ในระหว่างการเพาะเลี้ยงซึ่งแบ่งเติมเหมือนกันทุกประการต่างกันเฉพาะแหล่งคาร์บอนที่เติมเป็นสารละลายกลูโคส (ชุดการทดลอง ข) ซึ่งให้การเติบโตของสายใยน้อยกว่าแต่ให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดมากกว่า 7.90 กรัมต่อลิตรและใช้เวลาสั้นกว่า 1 วัน (รูปที่ 34) สำหรับประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกของราทั้ง 5 ชุดการทดลอง แสดงดังในตารางที่ 12 จะเห็นได้ว่า ชุดการทดลอง ข จะมีค่าสูงสุดเท่ากับ 0.56 รองลงมาคือชุดการทดลอง ค และ ง ซึ่งมีค่าเท่ากันคือ 0.53 และชุดการทดลอง ก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.51 ส่วนชุดการทดลอง ง จะมีค่าต่ำที่สุดคือ 0.35 ซึ่งค่าประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกของราจะสัมพันธ์กันกับปริมาณกรดโคจิก กล่าวคือ ชุดการทดลองที่มีประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกสูงสุดมีค่าเท่ากับ 0.56 (ชุดการทดลอง ข) จะให้ปริมาณกรดโคจิกสูงสุดด้วย (35.26 กรัมต่อลิตร) ขณะที่ชุดการทดลองที่มีประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกต่ำที่สุดมีค่าเท่ากับ 0.35 (ชุดการทดลอง ง) จะให้ปริมาณกรด โคจิกต่ำที่สุดด้วย (18.17 กรัมต่อลิตร) ดังแสดงในรูปที่ 35 ส่วนการเติบโตสร้างสายใยของรา จะสังเกตเห็นได้ว่า ในชุดการทดลอง ก ข และ จ ซึ่งมีปริมาณสารอาหารอื่นๆรวมทั้งแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นครบถ้วนตามสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิก (ภาคผนวก ก3) ยกเว้นแหล่งคาร์บอนที่จะทยอยเติมในระหว่างการเพาะเลี้ยง จะสังเกตเห็นว่ามีการสร้างสายใยรามาปกคลุมทั่วทั้งผิวหน้าอาหารเหลวในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยงโดยเฉพาะในชุดการทดลอง จ จะสังเกตเห็นว่าสายใยมีความหนามากกว่าชุดการทดลองอื่นแต่การสร้างสปอร์จะแตกต่างกัน กล่าวคือ ราในชุดการทดลอง ก ซึ่งเป็นชุดการทดลองควบคุมที่มีวิธีการเพาะเลี้ยงแบบกะจะมีการสร้างสปอร์ทั่วทั้งถาดภายในวันที่ 18 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนราในชุดการทดลอง ข และ จ ซึ่งมีวิธีการเพาะเลี้ยงโดยมีการทยอยเติมเฉพาะแหล่ง



—— กรดโคจิก ----- น้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ

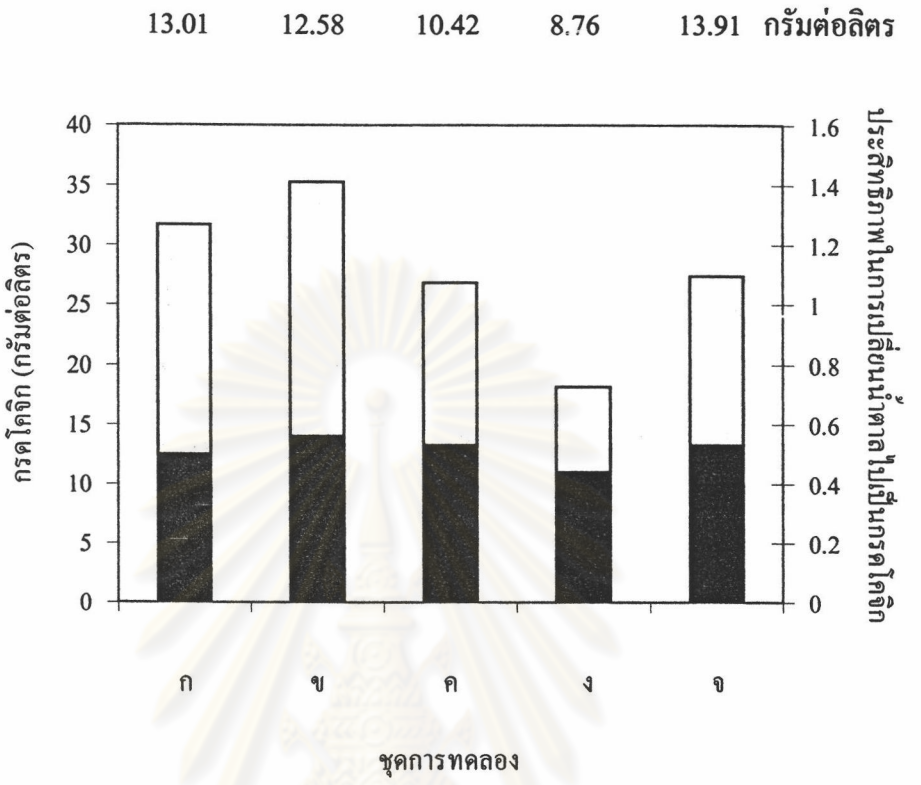
—■— เติมสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ในระหว่างการเพาะเลี้ยง (ชุดการทดลอง ข)

—●— เติมผงกลูโคสที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสง UV ในระหว่างการเพาะเลี้ยง (ชุดการทดลอง จ)

↓ เติมแหล่งคาร์บอน (สารละลายหรือผงกลูโคส)

รูปที่ 34 เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกและน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการผลิตกรดโคจิกโดยเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวโดยมีการเติมแหล่งคาร์บอนในระหว่างการผลิต ซึ่งแหล่งคาร์บอนที่ใช้เติมจะอยู่ในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 กับการทดลองที่เติมในรูปผงกลูโคสซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสงอัลตราไวโอเลต โดยเติมในวันที่ 6 9 12 และ 15 ของการเพาะเลี้ยง

น้ำหนักแห้งของสายใยรา*



*คิดจากวันที่สิ้นสุดการทดลอง (22 วัน)

ชุดการทดลอง ก คือ ชุดทดลองที่ผลิตกรดโคจิกโดยใช้กระบวนการหมักแบบกะ

ชุดการทดลอง ข คือ ชุดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นมีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนที่เติมในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ในระหว่างการเพาะเลี้ยง

ชุดการทดลอง ค คือ ชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นที่มีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนโดยแหล่งไนโตรเจนจะเติมให้หมดภายใน 2 ครั้งแรก ส่วนแหล่งคาร์บอนจะเติมในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ในระหว่างการเพาะเลี้ยง

ชุดการทดลอง ง คือ ชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นที่มีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนโดยแหล่งไนโตรเจนจะเติมให้หมดภายใน 3 ครั้งแรก ส่วนแหล่งคาร์บอนจะเติมในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ในระหว่างการเพาะเลี้ยง

ชุดการทดลอง จ คือ ชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นที่มีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนที่จะเติมในรูปผงกลูโคสที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสงอัลตราไวโอเลตในระหว่างการเพาะเลี้ยง

รูปที่ 35 เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกและประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดโคจิกเมื่อเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวระหว่างวิธีการเพาะเลี้ยงแบบกะกับวิธีการเพาะเลี้ยงโดยมีการเติมสารอาหารในระหว่างการเพาะเลี้ยง

ตารางที่ 13 น้ำหนักแห้งของสายใย ณ.วันที่สิ้นสุดการทดลอง จากการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกโดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงแบบกะและแบบที่มีการเติมสารอาหารในระว่างการผลิต

ชุดการทดลอง*	น้ำหนักแห้งของสายใย (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งของสายใย** (กรัม)
ก	13.01	41.63
ข	12.58	40.25
ค	10.42	33.34
ง	8.76	28.03
จ	13.91	44.51

* ชุดการทดลอง ก คือชุดการทดลองที่ผลิตกรดโคจิกโดยใช้กระบวนการหมักแบบกะ

ชุดการทดลอง ข คือชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นมีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนที่เติมในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ในระหว่างการเพาะเลี้ยง

ชุดการทดลอง ค คือชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นมีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนโดยแหล่งไนโตรเจนจะเติมให้หมดภายใน 2 ครั้งแรกส่วนแหล่งคาร์บอนจะเติมในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ในระหว่างการเพาะเลี้ยง

ชุดการทดลอง ง คือชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นมีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนโดยแหล่งไนโตรเจนจะเติมให้หมดภายใน 3 ครั้งแรกส่วนแหล่งคาร์บอนเติมในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ในระหว่างการเพาะเลี้ยง

ชุดการทดลอง จ คือชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นมีสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนที่เติมในรูปผงกลูโคสที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสงอัลตราไวโอเลตในระหว่างการเพาะเลี้ยง

** คิดจากปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 3.2 ลิตร

คาร์บอนในระหว่างเพาะเลี้ยงจะมีการสร้างสปอร์น้อยมากโดยจะสร้างสปอร์เฉพาะสายใยบริเวณขอบของถาดเท่านั้น ขณะที่ราในชุดการทดลอง ค และ ง ซึ่งมีปริมาณสารอาหารอื่นๆในอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นครบถ้วนยกเว้นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่จะทยอยเติมในระหว่างการเพาะเลี้ยง จะมีการสร้างสายใยราอย่างไม่สมบูรณ์ ราเจริญไม่เต็มผิวหน้าอาหารเหลวแม้ในวันที่สิ้นสุดการทดลองและสามารถหาน้ำหนักแห้งของสายใยในวันที่สิ้นสุดการทดลอง (22 วัน) ในชุดการทดลอง ก ข ค ง และ จ ได้เท่ากับ 13.01 12.58 10.42 8.76 และ 13.91กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 13)

เมื่อพิจารณาค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อควบคู่ไปกับการผลิตกรดโคจิกของรา (รูปที่ 32) พบว่า เกือบทุกการทดลองค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 3 วันแรกของการเพาะเลี้ยงยกเว้นชุดการทดลอง ง ที่มีค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อสูงกว่าการทดลองอื่น โดยในชุดการทดลองที่มีปริมาณกรดโคจิกสูง ค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อจะค่อนข้างต่ำ ขณะที่ในชุดการทดลองที่มีปริมาณกรดโคจิกค่อนข้างต่ำ ค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อจะลดลงจากวันแรกของการเพาะเลี้ยงไม่มากนัก

วิธีการผลิตกรดโคจิกโดยใช้กระบวนการหมักแบบกะและแบบที่มีการเติมสารอาหารในระหว่างการผลิต ให้ผลผลิตกรดโคจิกแตกต่างกันขึ้นอยู่กับว่าจะเติมแหล่งคาร์บอนเมื่อไรและในรูปใดและเมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกควบคู่ไปกับปริมาณกรดโคจิกที่ผลิตขึ้น (ตารางที่ 12) พบว่า การทยอยเติมแหล่งคาร์บอนในระหว่างการเพาะเลี้ยงมีผลให้ได้ปริมาณกรดโคจิกสูงขึ้นถ้าเลือกช่วงเวลาและวิธีการเติมให้เหมาะสมราจะมีประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกสูงขึ้นด้วยเมื่อเทียบกับการผลิตกรดโคจิกโดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงแบบกะ

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า การผลิตกรดโคจิกโดยการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวที่มีแหล่งไนโตรเจนและแร่ธาตุต่างๆที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตและการผลิตกรดโคจิกของราอย่างครบถ้วนโดยจะมีการทยอยเติมแหล่งคาร์บอนซึ่งจะอยู่ในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ครั้งละ 300 มิลลิลิตรในวันที่ 6 9 12 และ 15 ของการเพาะเลี้ยงรวมทั้งสิ้น 4 ครั้ง ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อรวมเท่ากับ 3.2 ลิตร จะให้ผลผลิตของกรดสูงขึ้นและเวลาที่ใช้ผลิตกรดโคจิกได้ปริมาณสูงสุดเร็วขึ้นด้วย ดังนั้น การผลิตกรดโคจิกโดยมีการเติมสารอาหารในระหว่างกระบวนการผลิต จึงมีความเป็นไปได้และเหมาะสมรวมทั้งน่าสนใจที่จะนำไปผลิตจริงในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากสามารถเพิ่มผลผลิตและลดระยะเวลาในการผลิตกรดโคจิกด้วย

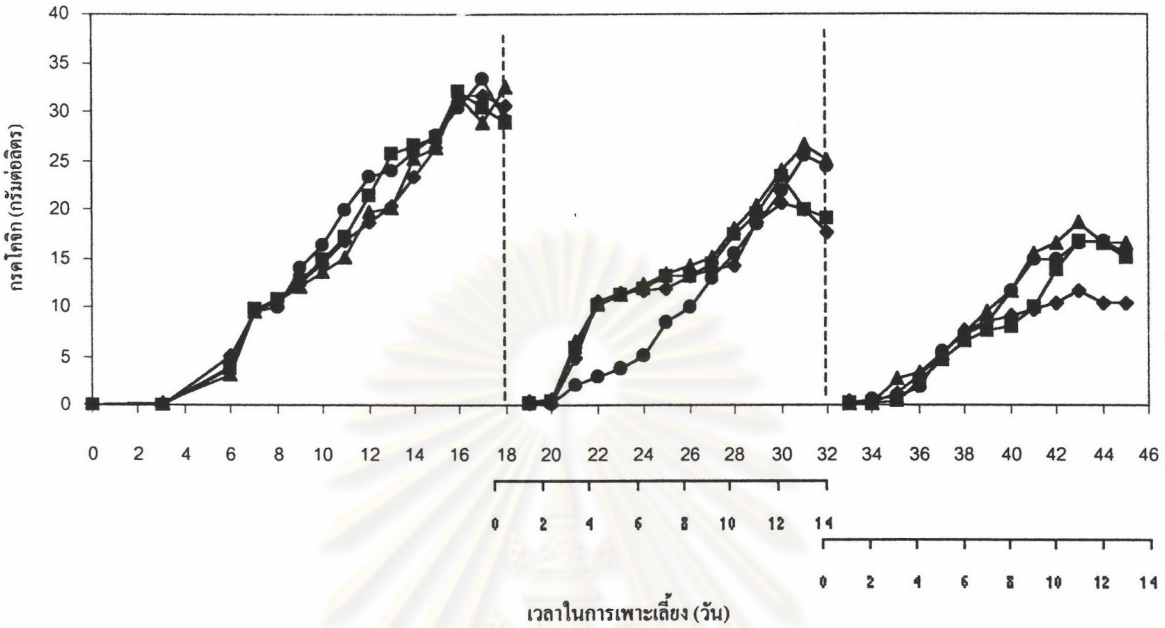
6. ผลการทดลองการผลิตกรดโคจิกโดยใช้สายใยซ้ำ

เมื่อทดลองผลิตกรดโคจิกโดยใช้สายใยซ้ำของ *A. oryzae* K13 สามรอบการผลิต โดยทำการทดลอง 4 ชุดการวิจัย คือ ชุดการทดลองที่ 1 หมายถึง การทดลองที่มีการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ปริมาตร 3.2 ลิตร ชุดการทดลองที่ 2 หมายถึง การทดลองที่มีการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3.2 ลิตร ชุดการทดลองที่ 3 หมายถึง การทดลองที่มีการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3.2 ลิตร และชุดการทดลองที่ 4 หมายถึง การทดลองที่มีการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิก ปริมาตร 3.2 ลิตร โดยชุดการทดลองทั้งหมดใช้ปริมาณของหัวเชื้อตั้งต้นเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) มีการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวในอัตราเร็วเท่ากับ 50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที พบว่า ในรอบแรกของการผลิตที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดโคจิก ปริมาตร 3.2 ลิตรเหมือนกันทุกประการทั้ง 4 ชุดการทดลอง จะได้ผลผลิตกรดโคจิกและระยะเวลาในการผลิตไม่แตกต่างกันมากนักโดยอยู่ในช่วง 31.73 กรัมต่อลิตรถึง 33.54 กรัมต่อลิตรในวันที่ 16 ถึง 18 ของการผลิต ซึ่งราจะเริ่มมีการผลิตกรดโคจิกตั้งแต่วันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยงเป็นต้นไป โดยชุดการทดลองที่ 4 จะให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดมีค่าเท่ากับ 33.54 กรัมต่อลิตรในวันที่ 17 ของการเพาะเลี้ยง รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งให้ผลผลิตกรดใกล้เคียงกับชุดการทดลองที่ 2 คือเท่ากับ 32.46 และ 32.09 กรัมต่อลิตรในวันที่ 18 และ 16 ของการเพาะเลี้ยงตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองที่ 1 จะให้ผลผลิตกรดโคจิกต่ำที่สุดคือเท่ากับ 31.73 กรัมต่อลิตรในวันที่ 17 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) พบว่า การทดลองทุกชุดให้ผลผลิตกรดโคจิกต่ำกว่าการผลิตในรอบแรก แต่ใช้ระยะเวลาในการผลิตสั้นลงโดยราสามารถผลิตกรดโคจิกได้ตั้งแต่วันแรกของการเพาะเลี้ยง คือ ชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลง 50 เปอร์เซ็นต์จากปริมาณแหล่งไนโตรเจนเดิมจะให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดมีค่าเท่ากับ 26.61กรัมต่อลิตรในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยง รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 4 ซึ่งเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดโคจิกที่มีสารอาหารครบถ้วน จะให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดเท่ากับ 25.67 กรัมต่อลิตรในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงและชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์จากปริมาณแหล่งไนโตรเจนเดิมจะให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดเท่ากับ 23.37

กรัมต่อลิตรในวันที่ 11 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสารละลายกลูโคสเพียงอย่างเดียว จะให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดเท่ากับ 20.63 กรัมต่อลิตรในวันที่ 11 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนในซ้ำที่ 2 ของการผลิต (รอบที่ 3) จะให้ผลการทดลองไปในทางเดียวกันกับผลการทดลองในซ้ำที่ 1 คือให้ผลผลิตกรดต่ำลงกว่าการผลิตครั้งแรกและซ้ำที่ 1 แต่ระยะเวลาในการผลิตสั้นลง โดยชุดการทดลองที่ 3 จะให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุด 18.85 กรัมต่อลิตรในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 4 2 และ 1 ซึ่งจะให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดเท่ากับ 16.93 16.74 และ 11.63 กรัมต่อลิตรในวันที่ 11 10 และ 10 ของการเพาะเลี้ยงตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 36 โดยปริมาณกรดโคจิกที่แสดงในซ้ำที่ 1 และ 2 ได้หักลบกับปริมาณกรดโคจิกที่ติดตามสายใยจากการถ่ายอาหารเลี้ยงเชื้อในรอบแรกของการผลิต แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปแทนที่เพื่อชะกรดโคจิกที่ติดอยู่ตามสายใยออก ก่อนที่จะถ่ายออกและเติมอาหารเลี้ยงเชื้อลงไปผลิตกรดโคจิกต่อ

เมื่อพิจารณาถึงการใช้น้ำตาลของทั้ง 4 ชุดการทดลอง พบว่า ในรอบแรกของการผลิตการใช้น้ำตาลของราทั้ง 4 ชุดการทดลองมีรูปแบบเดียวกัน คือ มีการใช้น้ำตาลอย่างรวดเร็วตั้งแต่เริ่มต้นการผลิตจนกระทั่งวันที่สิ้นสุดการผลิตในรอบแรก (20 วัน) ส่วนในรอบที่ 2และสามของการผลิตเริ่มมีการใช้น้ำตาลแตกต่างจากรอบแรก คือ ในชุดการทดลองที่ 4 จะมีการใช้น้ำตาลรวดเร็วที่สุด ขณะที่ชุดการทดลองที่ 2 และ 3 จะมีการใช้น้ำตาลไล่เลี่ยกัน ส่วนชุดการทดลองที่ 1 จะมีการใช้น้ำตาลช้าที่สุด (รูปที่ 37) โดยเฉพาะในรอบที่ 3ของการผลิตในชุดการทดลองที่ 2 3 และ 4 มีการใช้น้ำตาลไล่เลี่ยกันยกเว้นชุดการทดลองที่ 1 จะใช้น้ำตาลได้ช้ามากโดยในวันที่สิ้นสุดการทดลองจะมีปริมาณน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อสูงมากถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ชุดการทดลองอื่นจะเหลือน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 60 - 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการผลิตกรดโคจิกในซ้ำที่ 1 และ 2 นั้น จะเหลือปริมาณน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อมากกว่าการผลิตกรดโคจิกแบบกะซึ่งจะเหลือปริมาณน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อในวันที่สิ้นสุดการทดลองประมาณ 30 ถึง 40 กรัมต่อลิตร (ดังผลการทดลองหัวข้อที่ 3) ขณะที่การผลิตกรดโคจิกโดยใช้สายใยซ้ำในการผลิตซ้ำที่ 1 และ 2 เหลือปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงกว่ามาก

เมื่อพิจารณาถึงการเติบโตของราจะเห็นว่า ในรอบแรกของการผลิตราทั้ง 4 ชุดการทดลองจะสังเกตเห็นว่า มีการเติบโตสร้างสายใยไม่แตกต่างกันเนื่องจากใช้สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ และภาวะในการเพาะเลี้ยงเหมือนกัน แต่ในซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) เริ่มสังเกตเห็นความแตกต่างของลักษณะสายใยรา กล่าวคือ ราในชุดการทดลองที่เติมอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 (ชุดการทดลองที่ 1) จะไม่สามารถสังเกตเห็นการเติบโตที่เพิ่มขึ้น ขณะที่ราในชุดการทดลองที่เติมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนอยู่ (ชุดการทดลองที่ 2 ถึง 4) จะสังเกตเห็นว่าจะเริ่มมีการสร้างสายใยเพิ่มขึ้นและพบการสร้างสปอร์เพิ่มมากขึ้นด้วย และเมื่อผลิตกรดโคจิกซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) รามีสภาพเหี่ยวฝ่อลงในทุกชุดการทดลอง โดยเฉพาะราในชุดการทดลองที่ 1 ที่มี



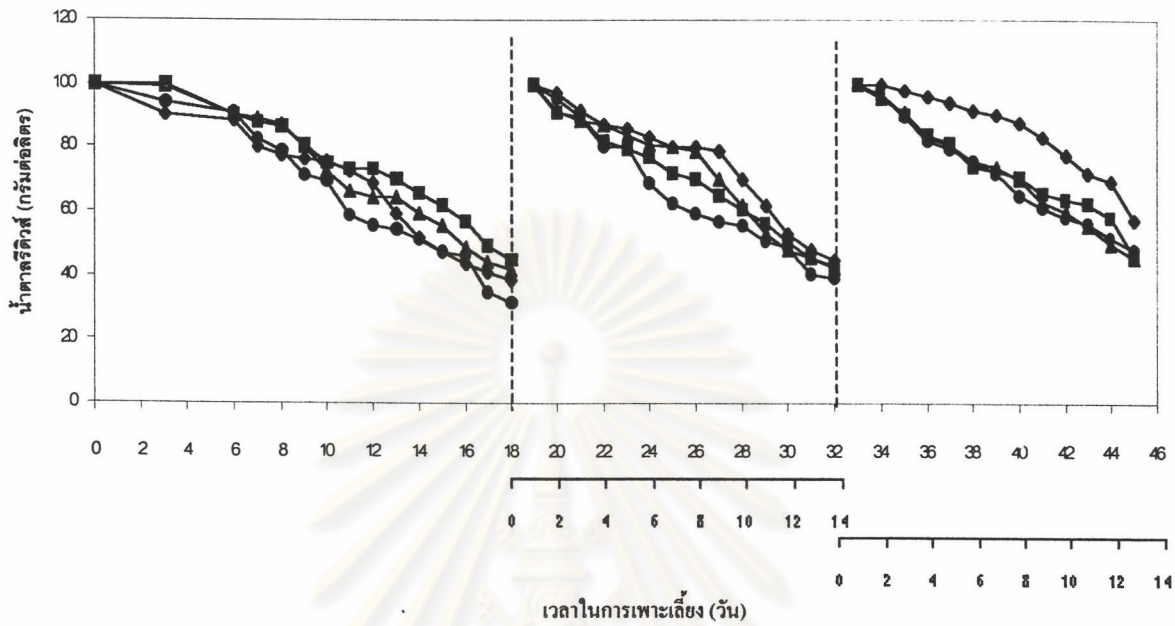
ชุดการทดลองที่ 1 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ปริมาตร 3.2 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 2 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิก แต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3.2 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 3 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิก แต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3.2 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิก ปริมาตร 3.2 ลิตร

รูปที่ 36 เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อผลิตกรดโคจิกบนผิวหน้าอาหารเหลว โดยใช้สายใยซ้ำของ *A. oryzae* K13 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 45 วัน



ชุดการทดลองที่ 1 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ปริมาตร 3.2 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 2 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3.2 ลิตร

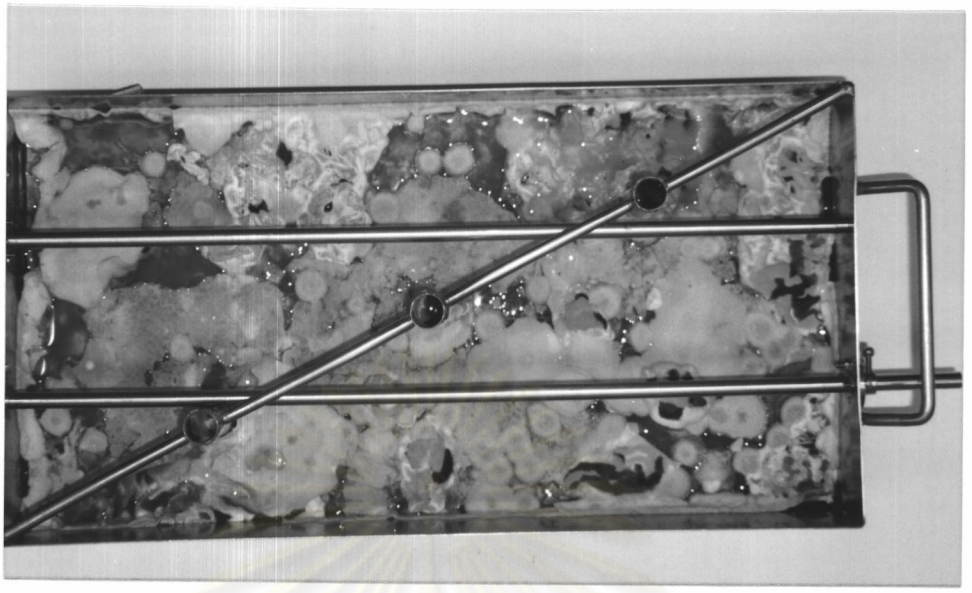
ชุดการทดลองที่ 3 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3.2 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิกปริมาตร 3.2 ลิตร

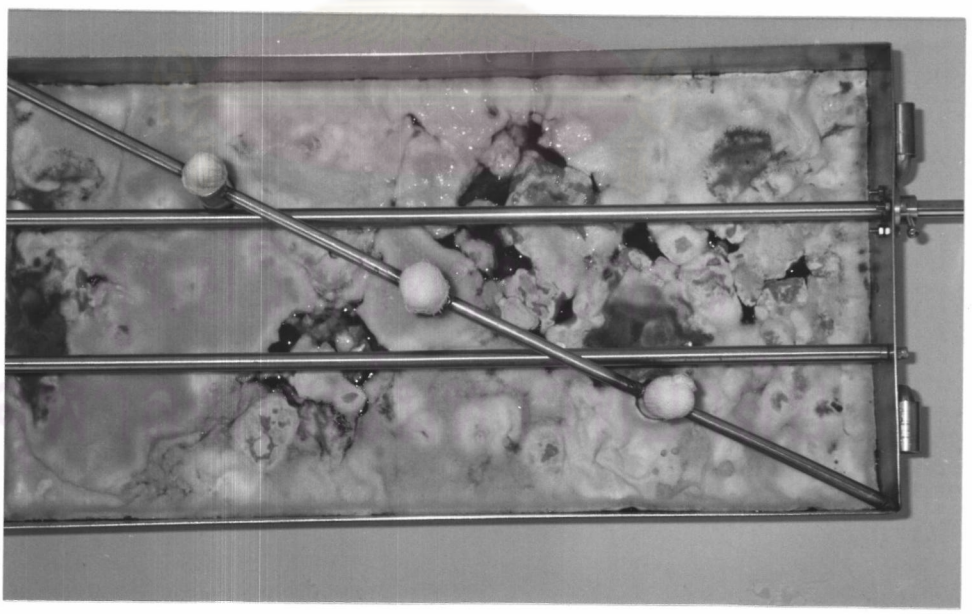
รูปที่ 37 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อผลิตกรดโคจิกบนผิวหน้าอาหารเหลว โดยใช้สายใยซ้ำ ของ *A. oryzae* K13 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 45 วัน

สภาพเหี่ยวฝ่อมากและมีลักษณะค่อนข้างแห้ง (รูปที่ 38) ส่วนราในชุดการทดลองที่ 2 จะสังเกตเห็นว่ามีการสร้างสปอร์เพิ่มมากขึ้น (รูปที่ 39) และเมื่อพลิกสายใยขึ้นมาดู ปรากฏว่าสายใยมีความหนามากขึ้นเมื่อเทียบกับความหนาของสายใยที่ใช้ผลิตกรดโคจิกมา 1 รอบการผลิต (20 วัน) ในงานทดลองอื่นๆ ที่ผ่านมา ขณะที่ชุดการทดลองที่ 3 จะมีปริมาณและความหนาของเส้นใยน้อยกว่าชุดการทดลองที่ 2 (รูปที่ 40) สำหรับราในชุดการทดลองที่ 4 จะมีการสร้างสายใยใหม่ในซ้ำที่ 1 และ 2 ของการผลิตมากขึ้นกว่าทุกชุดการทดลองดังรูปที่ 41 (สังเกตเห็นว่ามีสายใยบางกลุ่มที่เพิ่งเกิดขึ้นในรอบที่ 3ของการผลิต ซึ่งมีลักษณะสายใยสีขาวคล้ายกับสายใยที่เพิ่งเจริญขึ้นใหม่กระจายอยู่อย่างเบาบางทั่วถาด) เมื่อสิ้นสุดการทดลองจะสามารถหาน้ำหนักแห้งของสายใยราทั้ง 4 ชุดการทดลองได้ดังแสดงในตารางที่ 14 จะเห็นได้ว่าเมื่อเทียบน้ำหนักแห้งของการใช้สายใยซ้ำของราในการผลิตกรดโคจิกทั้ง 3 รอบ (42 วัน) กับการผลิตกรดโคจิกแบบกะ (20 วัน) จากการทดลองอื่นที่ผ่านมา พบว่าน้ำหนักแห้งของสายใยราจากการผลิตกรดโคจิกแบบกะในวันที่สิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 43.2 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตรหรือ 13.5 กรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อเทียบกับการผลิตโดยใช้สายใยซ้ำในชุดการทดลองที่ 1 คือ ชุดการทดลองที่เติมอาหารเลี้ยงเชื้อในซ้ำที่ 1 และ 2 ของการผลิตเป็นสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ปริมาตร 3.2 ลิตร จะให้น้ำหนักแห้งของสายใยราในวันที่สิ้นสุดการทดลอง (42 วัน) ลดลงคือ 37.47 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตรหรือ 11.71 กรัมต่อลิตร จะเห็นได้ว่าน้ำหนักแห้งของสายใยกลับลดลงจากการผลิตแบบกะซึ่งเป็นชุดควบคุมถึง 1.79 กรัมต่อลิตรหรือ 5.73 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ชุดการทดลองที่ 2 3 และ 4 จะมีน้ำหนักแห้งของสายใยราเพิ่มขึ้นคือมีค่าเท่ากับ 54.97 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตรหรือ 17.18 กรัมต่อลิตร 65.31 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตรหรือ 20.14 กรัมต่อลิตร และ 79.2 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตรหรือ 24.75 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 14) ซึ่งคิดเป็นน้ำหนักแห้งของสายใยที่เพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมถึง 27.24 51.18 และ 83.33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นอาจเป็นน้ำหนักของสายใยราที่เพิ่มเติบโตขึ้นมาใหม่ในซ้ำที่ 1 และ 2 ของการผลิตหรืออาจเป็นน้ำหนักของสปอร์ที่สังเกตเห็นว่ามีการสร้างขึ้นมากในซ้ำที่ 1 และ 2 ของการผลิตก็ได้

เมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกของรา ณ. วันที่ให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุด พบว่า ในรอบแรกของการผลิตประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกของราในชุดการทดลองที่ 2 มีค่าสูงสุดคือเท่ากับ 0.74 ส่วนในชุดการทดลองอื่นจะมีค่าใกล้เคียงกันคือประมาณ 0.55 ส่วนในซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) ของการผลิตประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกมีค่าลดลง คือ ชุดการทดลองที่ 3 กลับมีประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกสูงสุดคือมีค่าเท่ากับ 0.48 ซึ่งใกล้เคียงกับชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.47 ขณะที่ชุดการทดลองที่ 1 และ 4 มีค่าประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกเท่ากับ 0.44 และ 0.42 ตามลำดับ และในซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิต พบว่าประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกจะลดลง

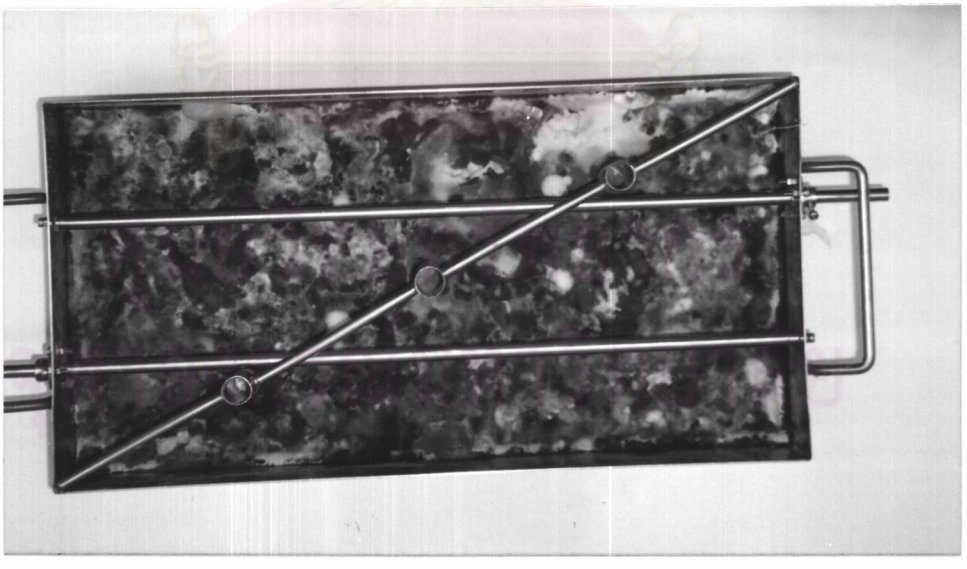


รูปที่ 38 ภาพถ่ายจากด้านบนของถาดที่ใช้ผลิตเพื่อแสดงสภาพการเติบโตของสายใยซ้ำของ *A. oryzae* K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกครบ 2 ซ้ำ (3รอบการผลิต) โดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในซ้ำที่ 1 และ 2 เป็นสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2



รูปที่ 39 ภาพถ่ายจากด้านบนของถาดที่ใช้ผลิตเพื่อแสดงสภาพการเติบโตของสายใยซ้ำของ *A. oryzae* K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกครบ 2 ซ้ำ (3 รอบการผลิต) โดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในซ้ำที่ 1 และ 2 เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโคจิกแต่มีแหล่งไนโตรเจนเพียง 10 เปอร์เซ็นต์จากสูตรอาหารเดิม

รูปที่ 40 ภาพถ่ายจากด้านบนของถาดที่ใช้ผลิตเพื่อแสดงสภาพการเติบโตของสายใยซ้ำของ *A. oryzae* K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกครบ 2 ซ้ำ (3 รอบการผลิต) โดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในซ้ำที่ 1 และ 2 เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโคจิกแต่มีแหล่งไนโตรเจน 50 เปอร์เซ็นต์จากสูตรอาหารเดิม



รูปที่ 41 ภาพถ่ายจากด้านบนของถาดที่ใช้ผลิตเพื่อแสดงสภาพการเติบโตของสายใยซ้ำของ *A. oryzae* K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกครบ 2 ซ้ำ (3 รอบการผลิต) โดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในซ้ำที่ 1 และ 2 เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโคจิก ปริมาตร 3.2 ลิตร

ตารางที่ 14 เปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของสายใยราในการผลิตกรดโคจิกโดยใช้สายใยซ้ำ 3 รอบการผลิตกับการผลิตกรดโคจิกแบบกะ (ชุดควบคุม)

การทดลอง	น้ำ หนักแห้งของสายใยรวมต่อการผลิตแต่ละชุด* (กรัม)	น้ำหนักแห้งของสายใย* (กรัมต่อลิตร)
การผลิตแบบกะ (ชุดควบคุม)	43.20	13.50
สายใยซ้ำ ชุดที่ 1	37.47	11.71
สายใยซ้ำ ชุดที่ 2	54.97	17.18
สายใยซ้ำ ชุดที่ 3	65.31	20.14
สายใยซ้ำ ชุดที่ 4	79.2	24.75

* คิดจากวันที่สิ้นสุดการทดลอง

** เทียบกับชุดการทดลองแบบกะ (ชุดควบคุม) ซึ่งเป็นผลการทดลองการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวในอัตราเร็วเท่ากับ 50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที

*** น้ำหนักแห้งของสายใยราอ้างอิงจากผลการทดลองข้อที่ 3 ซึ่งเพาะเลี้ยงนาน 20 วัน

ชุดการทดลองที่ 1 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมในซ้ำที่ 1 และ 2 เป็นสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0

ชุดการทดลองที่ 2 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมในซ้ำที่ 1 และ 2 เป็นสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์จากแหล่งไนโตรเจนเดิม

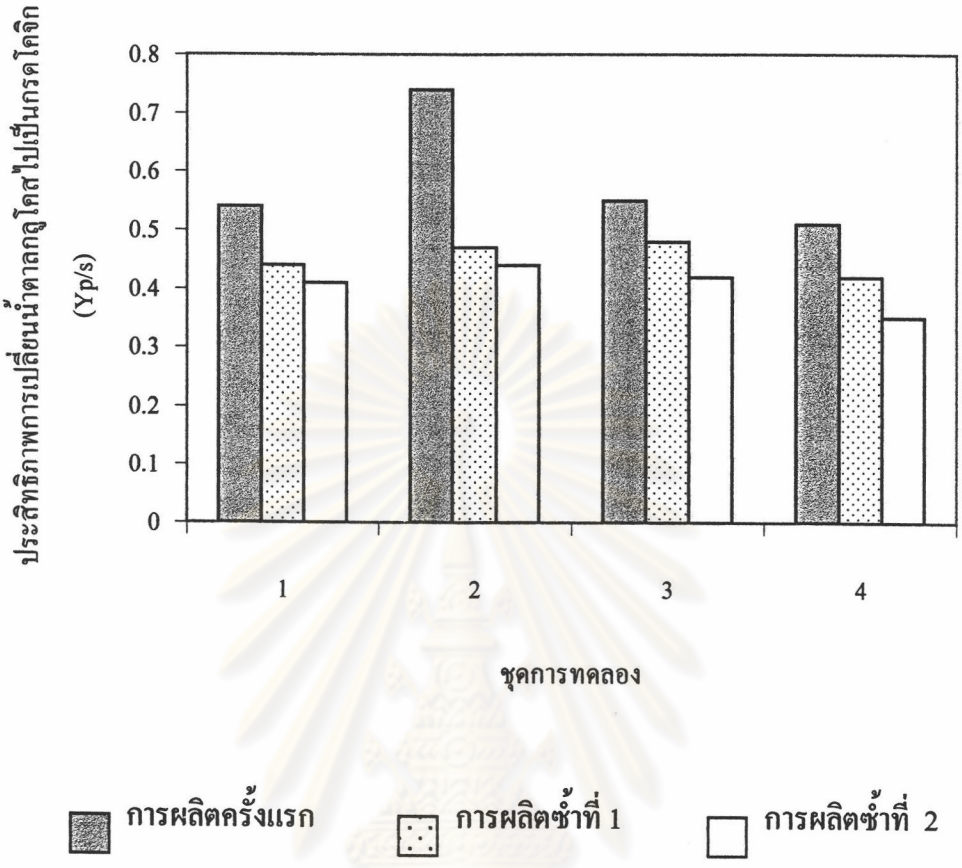
ชุดการทดลองที่ 3 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมในซ้ำที่ 1 และ 2 เป็นสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลง 50 เปอร์เซ็นต์จากแหล่งไนโตรเจนเดิม

ชุดการทดลองที่ 4 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมในซ้ำที่ 1 และ 2 เป็นสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดโคจิก

ไปอีกโดยชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 จะมีค่าประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดโคจิกใกล้เคียงกันคือเท่ากับ 0.41 0.44 และ 0.42 ตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองที่ 4 จะมีค่าต่ำสุดคือเท่ากับ 0.35 (รูปที่ 42)

สำหรับค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ แสดงดังรูปที่ 43 จะเห็นว่าในรอบแรกของการผลิต ค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อจะลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่วันแรกของการเพาะเลี้ยง โดยในวันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด จะวัดค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ประมาณ 1.6 ถึง 1.7 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในรอบแรก ซึ่งจะมีการถ่ายน้ำหมักออกแล้วเติมอาหารเหลวที่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนแตกต่างกันลงไปแทนที่ โดนในอาหารเหลวจะปรับค่าความเป็นกรดด่างตั้งต้นให้เท่ากับ 2.0 ทุกชุดการทดลอง พบว่าค่าความเป็นกรดด่างค่อนข้างจะคงที่อยู่ประมาณ 1.8 - 2.0 และเป็นไปรูปแบบเดียวกับค่าความเป็นกรดด่างในรอบที่ 3 ของการผลิตทั้ง 4 ชุดการทดลอง

จากผลการทดลองการผลิตกรดโคจิกโดยใช้สายใยซ้ำจะเห็นได้ว่า แม้ว่าการผลิตกรดโคจิกในซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และ 2 (รอบที่ 3) จะให้ผลผลิตต่ำลงจากรอบแรกของการผลิต แต่เมื่อพิจารณาถึงผลผลิตกรดโคจิกรวมทั้งสามรอบการผลิตจะค่อนข้างสูงและยังช่วยลดระยะเวลาในการผลิตในแต่ละรอบลงได้มาก ดังแสดงในตารางที่ 15 กล่าวคือ ปริมาณกรดโคจิกสูงสุดในซ้ำที่ 1 ของการผลิตจะลดลงจากการผลิตครั้งแรกประมาณ 23 - 27 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นชุดการทดลองที่ 1 ที่ลดลงถึง 34.9 เปอร์เซ็นต์ แต่เวลาที่ให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุดจะเร็วขึ้นประมาณ 29 - 35 เปอร์เซ็นต์ และในซ้ำที่ สามของการผลิต พบว่า ปริมาณกรดโคจิกจะลดลงจากรอบที่ 2ของการผลิตประมาณ 28 - 34 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะชุดการทดลองที่ 1 จะลดลงมากถึง 43.6 เปอร์เซ็นต์ แต่เวลาที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุดจะเร็วขึ้น (ประมาณ 30 - 40 เปอร์เซ็นต์) และเมื่อพิจารณาถึง ผลผลิตกรดโคจิกรวมและเวลาที่ใช้ในการผลิตทั้ง 3 รอบการผลิตของทั้ง 4 ชุดการทดลอง แสดงดังรูปที่ 44 ซึ่งจะเห็นได้ว่า ชุดการทดลองที่ 1 2 3 และ 4 มีค่าเท่ากับ 63.99 72.20 77.92 และ 76.14 กรัมต่อลิตรหรือเท่ากับ 204.76 231.04 249.34 และ 243.48 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตร โดยใช้เวลาในการผลิตรวมเท่ากับ 38 37 40 และ 40 วัน ตามลำดับ ซึ่งเป็นเวลาที่ไล่เลี่ยกัน และเมื่อเทียบความคุ้มค่าในการผลิตกรดโคจิกโดยใช้สายใยซ้ำ จะเห็นได้ว่า เมื่อพิจารณาถึงอัตราการผลิตกรดโคจิก (ตารางที่ 15) ของการผลิตครั้งแรกทั้ง 4 ชุดการทดลองจะมีค่าใกล้เคียงกับคือประมาณ 1.8 - 2.0 กรัมต่อลิตรต่อวัน ส่วนในซ้ำที่ 1 ของการผลิตนั้นพบว่าอัตราการผลิตโดยรวมสูงขึ้นเนื่องจากสามารถลดระยะเวลาในการผลิตให้สั้นลงไปมากแต่ชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งมีการผลิตกรดโคจิกลดลงจากครั้งแรกของการผลิตเล็กน้อยและมีค่าอัตราการผลิตไล่เลี่ยแต่ต่ำกว่าทุกชุดการทดลองเล็กน้อย ส่วนชุดการทดลองที่ 2 3 และ 4 กลับมีอัตราการผลิตกรดโคจิกเพิ่มขึ้นจากครั้งแรกของการผลิตโดยมีค่าอยู่ในช่วง 2.1 - 2.2 กรัมต่อลิตรต่อวันโดยเฉพาะชุดการทดลองที่ 3 จะมีอัตราการผลิตกรดโคจิกในซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) สูงที่สุด (2.21 กรัมต่อลิตรต่อวัน) แต่ในซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตทั้ง 4 ชุดการทดลองจะมีอัตราการผลิตกรด



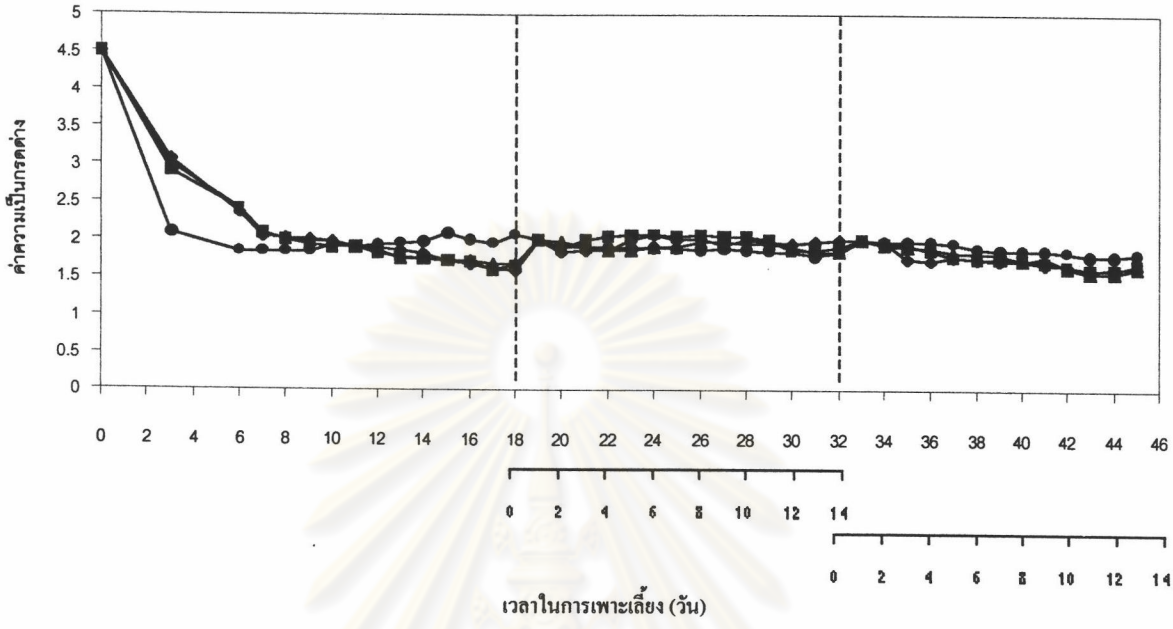
ชุดการทดลองที่ 1 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ปริมาตร 3.2 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 2 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3.2 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 3 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3.2 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิก ปริมาตร 3.2 ลิตร

รูปที่ 42 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดโคจิกจากการใช้สายใยราซ้ำของ *A. oryzae* K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกทั้ง 3 รอบการผลิต (ซ้ำ 2 ครั้ง) ณ. วันที่ให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุด



ชุดการทดลองที่ 1 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ปริมาตร 3.2 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 2 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3.2 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 3 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3.2 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิกปริมาตร 3.2 ลิตร

รูปที่ 43 เปรียบเทียบค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อผลิตกรดโคจิกบนผิวหน้าอาหารเหลว โดยใช้สายใยซ้ำ ของ *A. oryzae* K13 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 45 วัน

ตารางที่ 15 ปริมาณกรดโคจิก เปอร์เซ็นต์การลดลงของกรดโคจิก เปอร์เซ็นต์การลดลงของเวลาที่ใช้ผลิตกรดในแต่ละซ้ำ โดยการใช้สายใยซ้ำของ*A. oryzae* K13 ที่เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิก

ชุดการทดลอง	การผลิตครั้งแรก			การผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) ของการผลิต					การผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิต						
	กรดโคจิก* (กรัมต่อลิตร)	วันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด	อัตราการผลิตกรด* (กรัมต่อลิตรต่อนาที)	กรดโคจิก* (กรัมต่อลิตร)	วันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด	อัตราการผลิตกรด* (กรัมต่อลิตรต่อนาที)	การลดลงของกรดโคจิก** (เปอร์เซ็นต์)	การลดลงของเวลาในการผลิต** (เปอร์เซ็นต์)	กรดโคจิก* (กรัมต่อลิตร)	วันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด	อัตราการผลิตกรด* (กรัมต่อลิตรต่อนาที)	การลดลงของกรดโคจิก** (เปอร์เซ็นต์)	การลดลงของเวลาในการ ผลิต** (เปอร์เซ็นต์)	การลดลงของกรดโคจิก*** (เปอร์เซ็นต์)	การลดลงของเวลาในการผลิต*** (เปอร์เซ็นต์)
1	31.73	17	1.86	20.63	11	1.85	34.98	35.29	11.63	10	1.16	63.34	41.17	43.62	9.09
2	32.09	16	2.00	23.37	11	2.12	27.17	31.25	16.74	10	1.67	52.16	37.50	28.36	9.09
3	32.46	18	1.80	26.61	12	2.21	23.22	33.33	18.85	10	1.88	45.61	44.44	29.16	16.66
4	33.54	17	1.97	25.67	12	2.13	23.46	29.41	16.93	11	1.53	49.52	35.29	34.04	8.33

* คิดจากวันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด

** คิดเทียบกับการผลิตครั้งแรก

*** คิดเทียบกับการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2)

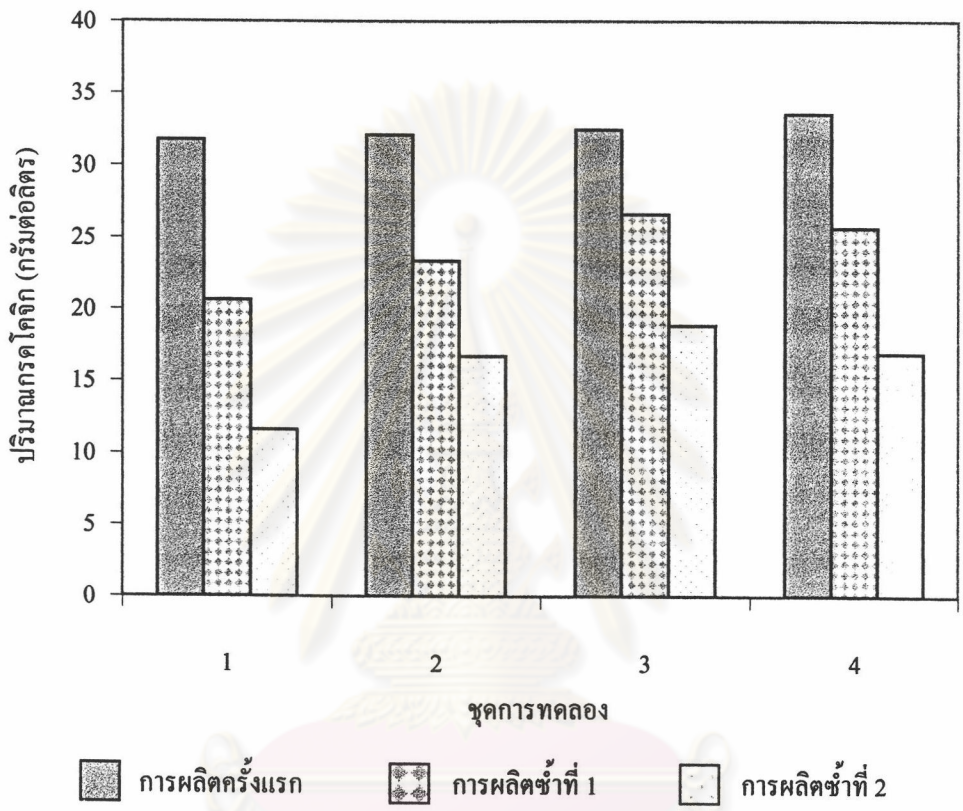
ชุดการทดลองที่ 1 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในซ้ำที่ 1 และ 2 ของการผลิตเป็นสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0

ชุดการทดลองที่ 2 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในซ้ำที่ 1 และ 2 ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 3 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในซ้ำที่ 1 และ 2 ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 4 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในซ้ำที่ 1 และ 2 ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิก

เวลารวมที่ใช้ในการผลิต 3 รอบ	38	37	40	40	(วัน)
ผลผลิตกรดโคจิก	63.99	72.20	77.92	76.14	(กรัมต่อลิตร)
รวมทั้ง 3 รอบ	204.76	231.04	249.34	243.64	(กรัมต่อ 9.6 ลิตร)



ชุดการทดลองที่ 1 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ปริมาตร 3.2 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 2 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3.2 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 3 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3.2 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำที่ 1 (รอบที่ 2) และการผลิตซ้ำที่ 2 (รอบที่ 3) ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดโคจิก ปริมาตร 3.2 ลิตร

รูปที่ 44 เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกจากการใช้สายใยซ้ำ ของ *A. oryzae* K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อผลิตกรดโคจิกทั้ง 3 รอบการผลิต (ซ้ำ 2 ครั้ง) ณ. วันที่ให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุด

โคจิกลดลงมาก โดยจะมีอัตราการผลิตกรดโคจิกต่ำกว่าครั้งแรกของการผลิตเสียอีกยกเว้นชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งมีค่าอัตราการผลิตใกล้เคียงกัน (1.80 กรัมต่อลิตรต่อวันในรอบแรกและ 1.88 กรัมต่อลิตรต่อวันในซ้ำที่ 2 คือรอบที่ 3) เมื่อเปรียบเทียบการผลิตกรดโคจิกโดยใช้สายใยซ้ำ 3 รอบการผลิต (2 ซ้ำ) กับการผลิตกรดโคจิกแบบกะ 3 รอบการผลิต พบว่า แม้การผลิตกรดโคจิกโดยใช้สายใยซ้ำจะให้ผลผลิตรวมของกรดโคจิกทั้ง 2 ซ้ำต่ำกว่า แต่ช่วยลดระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงลงได้มาก โดยเมื่อพิจารณาถึงอัตราการผลิตกรดโคจิก จะเห็นได้ว่า การผลิตกรดโคจิกแบบกะ ซึ่งให้ผลผลิตรวมของกรดโคจิก 3 รอบการผลิตเท่ากับ 319.39 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตร ใช้เวลาในการผลิตรวมทั้งสิ้น 51 วัน (อ้างอิงจากผลการทดลองการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวในอัตราเร็วเท่ากับ 50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที) คิดเป็นอัตราการผลิตกรดโคจิกเท่ากับ 6.26 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตรต่อวัน ขณะที่การผลิตกรดโคจิกโดยใช้สายใยซ้ำในชุดที่ 1 ถึง 4 ให้ผลผลิตรวมของกรดโคจิก เท่ากับ 204.76 231.04 249.37 และ 243.64 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตร และใช้เวลาในการผลิตกรดโคจิก 38 37 40 และ 40 วัน คิดเป็นอัตราการผลิตกรดโคจิกเท่ากับ 5.38 6.24 6.23 และ 6.09 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตรต่อวันตามลำดับ จะเห็นได้ว่าในชุดการทดลองที่ 2 3 และ 4 ของการใช้สายใยซ้ำจะให้อัตราการผลิตกรดโคจิกใกล้เคียงกับการทดลองแบบกะ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า การผลิตกรดโคจิกโดยใช้สายใยซ้ำโดยในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในการผลิตซ้ำต้องมีแหล่งไนโตรเจนอย่างน้อย 10 เปอร์เซ็นต์จากแหล่งไนโตรเจนเดิม จะยังคงความคุ้มค่าเทียบเท่ากับการผลิตแบบกะ เนื่องจากมีอัตราการผลิตกรดโคจิกต่อวันใกล้เคียงกัน อีกทั้งยังประหยัดในเรื่องของเวลาในการเพาะเลี้ยง และค่าใช้จ่ายในการเตรียมอุปกรณ์ การเตรียมหัวเชื้อใหม่ จึงเป็นอีกแนวทางเลือกหนึ่งที่จะนำไปใช้ผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไปได้อย่างคุ้มค่า

7. ผลการวิเคราะห์กรดโคจิกที่สร้างขึ้นจากการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวในถาดตื้นขนาด 4 ลิตร ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง

7.1 ผลการวิเคราะห์ชนิดของกรดอินทรีย์ที่สร้างโดย *A. oryzae* K13

เมื่อทำการวิเคราะห์ชนิดของกรดอินทรีย์เป็นระยะๆตลอดการทดลองจากตัวอย่างน้ำหมักที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวในถาดตื้นขนาด 4 ลิตร พบว่ากรดอินทรีย์ที่สร้างขึ้นนั้นมีช่วงเวลาที่อยู่ในคอลัมน์ Zorbax C - 8 เช่นเดียวกับกรดโคจิกมาตราฐาน และเมื่อใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน 20 นาทีพบว่าไม่มีการปนเปื้อนของกรดอินทรีย์ชนิดอื่นเลย ซึ่งในที่นี้จะแสดงตัวอย่างผลการวิเคราะห์น้ำหมักที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่เหมาะสม (ภาคผนวก ก3) ใช้ปริมาณของหัวเชื้อสปอร์งอก 5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ) มีอัตราการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลว 2 เซนติเมตรเท่ากับ

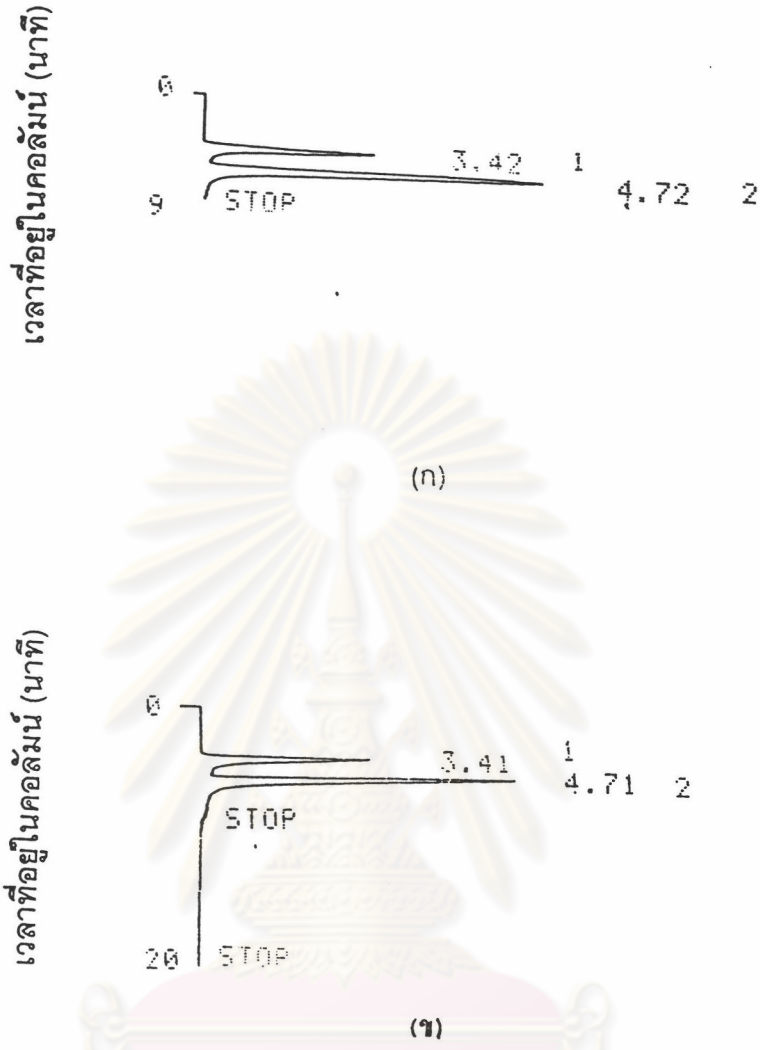
50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที ในวันที่ 18 ของการเพาะเลี้ยง ดังแสดงในรูปที่ 46

7.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดโคจิกด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง

เมื่อนำตัวอย่างน้ำหมักจากข้อ 7.1 ซึ่งได้จากผลการทดลองการผลิตกรดโคจิกโดยมีการเติมแหล่งคาร์บอนในรูปสารละลายกลูโคสในระหว่างกระบวนการผลิตในหัวข้อที่ 4 ชุดการทดลอง ข. มาทำการวิเคราะห์และคำนวณหาปริมาณของกรดโคจิกโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตราฐานของกรดโคจิก เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (ภาคผนวก ค2) และใช้วิธีคำนวณในภาคผนวก ง1 พบว่าน้ำหมักดังกล่าวมีปริมาณกรดโคจิก 35.49 กรัมต่อลิตรซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณกรดโคจิกที่วิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี (Bentley, 1957) คือเท่ากับ 35.26 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณกรดโคจิกที่วิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโต กราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง จะมีค่าสูงกว่าปริมาณกรดโคจิกที่วิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี 0.23 กรัมต่อลิตร คิดเป็นปริมาณกรดโคจิกมีค่าสูงกว่า 0.67 เปอร์เซ็นต์ จึงแสดงให้เห็นว่า วิธีวิเคราะห์ทางเคมี (Bentley, 1957) เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อการวัดปริมาณกรดโคจิก แต่การวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูงมีความไวสูงกว่า

8. ผลของการเปรียบเทียบผลผลิตกรดโคจิกจากวิธีการผลิตแบบกะ แบบที่มีการเติมสารอาหารในระหว่างการผลิตและการใช้สายใยซ้ำของ *A. oryzae* K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลว

เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกรดโคจิกที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวโดยใช้วิธีการผลิตแบบกะ แบบที่มีการเติมสารอาหารระหว่างการผลิต และการใช้สายใยซ้ำ ภายใต้ภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมคือใช้ปริมาณของหัวเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์(ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) มีการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวในอัตราเร็วเท่ากับ 50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 16 การเติมสารอาหารจำนวน 3 รอบการผลิตเปรียบเทียบกัน พบว่า การผลิตกรดโคจิกแบบที่มีการเติมสารอาหารในระหว่างการผลิตจะให้ปริมาณกรดโคจิกสูงสุดรวมทั้งสามรอบการผลิตมีค่าเท่ากับ 338.49 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตรใช้เวลาในการผลิต 51 วัน รองลงมาคือกระบวนการหมักแบบกะ ซึ่งให้ผลผลิตกรดโคจิกรวมสามรอบการผลิตเท่ากับ 319.39 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตรซึ่งน้อยกว่าการผลิตกรดโคจิกโดยวิธีแรก 19.1 กรัมหรือ 5.64 เปอร์เซ็นต์และใช้เวลาในการผลิต 51 วันเช่นกัน ส่วนการผลิตกรดโคจิกโดยใช้สายใยซ้ำจะให้ผลผลิตกรดน้อยที่สุดรวมสามรอบการผลิตมีค่าเท่ากับ 248.04 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตรซึ่งน้อยกว่าการผลิตแบบที่มีการเติมสารอาหาร 90.45 กรัมหรือ 26.72 เปอร์เซ็นต์และน้อยกว่าการผลิตแบบกะ 71.35 กรัมหรือ 22.32 เปอร์เซ็นต์ แต่ใช้เวลาในการผลิตกรดเร็วกว่า คือ การใช้สายใยซ้ำจะใช้เวลาในการผลิตรวม 40 วัน



รูปที่ 45 โครมาโตแกรมของกรดโคจิกมาตรฐานและกรดอินทรีย์ที่ผลิตขึ้นจากการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลว เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ Zorbax C - 8

(ก) กรดโคจิกมาตรฐานผสมกับกรดกลูโคนิกมาตรฐาน

(ข) กรดอินทรีย์ที่สร้างขึ้นโดย *A. oryzae* K13 ผสมกับกรดกลูโคนิกมาตรฐาน ซึ่งใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน 20 นาที

1 หมายถึง พีคของกรดกลูโคนิก (สารมาตรฐานภายใน)

2 หมายถึง พีคของกรดโคจิก

ตารางที่ 16 เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกจากวิธีการผลิตแบบกะ แบบที่มีการเติมสารอาหารโดยผลิต 3 ครั้งและการใช้สายใยซ้ำ จำนวน 2 ซ้ำ (รวม 3 ครั้งของการผลิต)

ปริมาตรอาหารเหลวต่อการผลิต 1 ครั้ง (ลิตร)	วิธีการผลิต					
	แบบกะ*		เติมสารอาหารระหว่างการผลิต**		การใช้สายใยซ้ำ ***	
	ผลรวมของกรดโคจิก (กรัม)	ผลรวมระยะเวลาที่ใช้ผลิต (วัน)	ผลรวมของกรดโคจิก (กรัม)	ผลรวมระยะเวลาที่ใช้ผลิต (วัน)	ผลรวมของกรดโคจิก (กรัม)	ผลรวมระยะเวลาที่ใช้ผลิต (วัน)
ครั้งที่ 1 (3.2)	106.46	17	112.83	17	102.87	18
ครั้งที่ 2 (3.2)	212.92	34	225.66	34	ซ้ำที่ 1	
					188.02	30
ครั้งที่ 3 (3.2)	319.39	51	338.49	51	ซ้ำที่ 2	
					248.04	40

* วิธีการผลิตกรดโคจิกแบบกะโดยใช้ผลการทดลองในข้อ 3 ชุดการทดลองที่มีการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวในอัตราเร็วเท่ากับ 50 ลิตรต่อตารางเมตรต่อนาที

** ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้น 2.0 ลิตรที่มีสารอาหารต่างๆครบถ้วนตามสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโคจิกยกเว้นแหล่งคาร์บอนที่จะทยอยเติมในรูปสารละลายกลูโคสที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.0 ปริมาตร 300 มล. ในวันที่ 6 9 12 และ 15 ของการเพาะเลี้ยง (ปริมาตรรวม 3.2 ลิตร)

***อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมในซ้ำที่ 1 และ 2 ของการผลิตเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโคจิกแต่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์

เมื่อคำนวณปริมาณกรดโคจิกที่ผลิตได้ต่อวัน จากการผลิต 3 ครั้ง (อาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตร) พบว่า มีอัตราการผลิตใกล้เคียงกัน คือ การผลิตกรดโคจิกโดยมีการเติมสารอาหารในระหว่างกระบวนการผลิตจะมีอัตราการผลิตสูงสุดเท่ากับ 6.63 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตรต่อวัน รองลงมาคือการผลิตกรดโคจิกแบบกะ และแบบใช้สายใยซ้ำ จะมีอัตราการผลิตกรดโคจิกเท่ากับ 6.26 และ 6.20 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตรต่อวัน ตามลำดับ

การผลิตกรดโคจิกทั้ง 3 วิธีนี้จะมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกัน คือ การเติมสารอาหารระหว่างการผลิตจะให้ปริมาณกรดโคจิกสูงมากแต่อาจมีปัญหาเกี่ยวกับการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่นขณะเติมสารอาหารและต้องเตรียมอาหารเหลวที่จะใช้เติม จึงต้องใช้ความระมัดระวังในขั้นตอนของการเติมสารอาหาร ส่วนการผลิตกรดโคจิกแบบกะแม้จะให้ผลผลิตกรดน้อยกว่าแต่จะไม่พบปัญหาที่กล่าวข้างต้นขณะที่การใช้สายใยซ้ำแม้ว่าจะให้ปริมาณกรดโคจิกน้อยกว่า 2 วิธีข้างต้นแต่วิธีนี้จะช่วยลด

ระยะเวลาในการผลิตและลดค่าใช้จ่ายเกี่ยวกับการเตรียมอุปกรณ์และการล้างอุปกรณ์ในการผลิตแต่ละครั้งด้วย อีกทั้งไม่เป็นภาระที่จะนำมาบำบัดในภายหลังเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงด้วย ดังนั้นการผลิตกรดโคจิกทั้งสามวิธีนี้ เปรียบเสมือนสามทางเลือกที่จะนำไปใช้ผลิตจริงในระดับอุตสาหกรรม ซึ่งจะเลือกใช้วิธีใดควรจะพิจารณาถึงความคุ้มค่า ความเหมาะสมกับวัตถุประสงค์และกระบวนการผลิตของแต่ละโรงงานที่จะนำไปใช้ด้วย

9. ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกจากการเพาะเลี้ยง *Aspergillus oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวโดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงแบบกะในภาชนะแก้วรูปทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.5 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร (กนิษฐา ภูวนารถนรานุบาล, 2542) กับการขยายส่วนผลิตกรดโคจิกโดยวิธีการเพาะเลี้ยงแบบกะ แบบที่มีการเติมสารอาหารในระหว่างการผลิตและการใช้สายใยซ้ำในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร (ผลจากงานวิจัยนี้) ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดโคจิกในแต่ละระดับ

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกโดยวิธีการเพาะเลี้ยงแบบกะจากการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ในภาชนะแก้วรูปทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.5 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตรที่ศึกษาโดยกนิษฐา ภูวนารถนรานุบาล (2542) กับการขยายส่วนผลิตกรดโคจิกโดยวิธีการเพาะเลี้ยงแบบกะ ที่มีการเติมสารอาหารในระหว่างการผลิต และการใช้สายใยซ้ำในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตรซึ่งเป็นภาชนะที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ภายใต้สูตรอาหารและภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดโคจิกแต่ละวิธี สามารถสรุปผลได้ดังตารางที่ 17

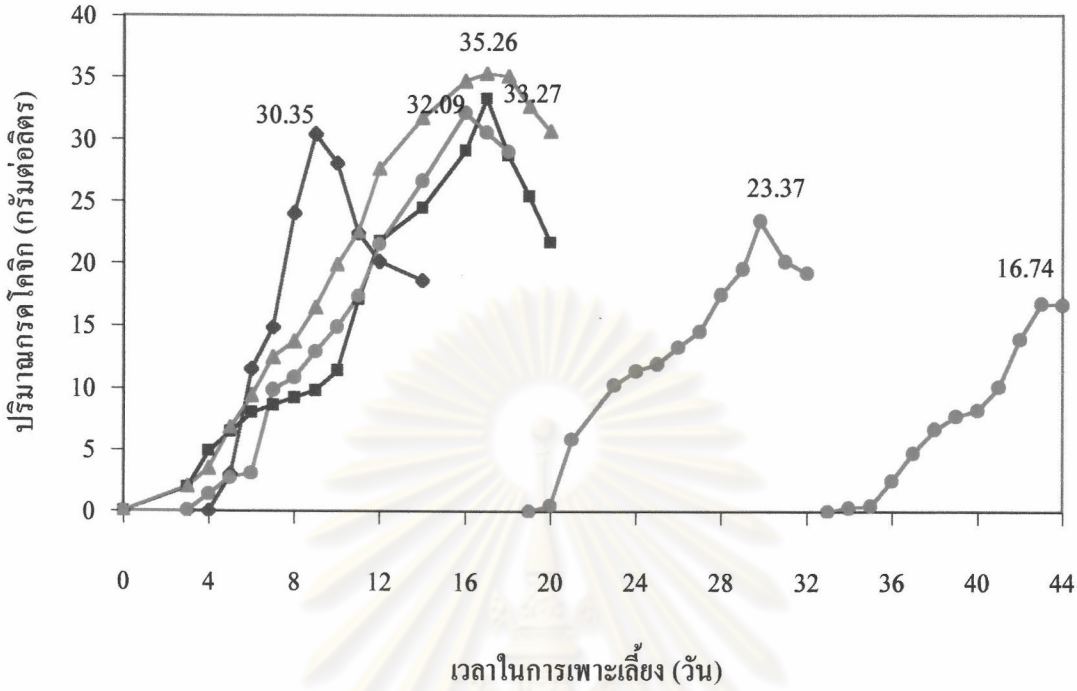
ซึ่งจะเห็นได้ว่า การการขยายส่วนเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวภายใต้สูตรอาหารและภาวะในการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร ให้ผลผลิตกรดสูงเป็นที่น่าพอใจทั้งในกระบวนการหมักแบบกะ แบบที่มีการเติมสารอาหารในระหว่างการผลิต และการใช้สายใยซ้ำ และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตรโดยใช้กระบวนการหมักแบบกะกับการผลิตกรดโคจิกจากการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวโดยกระบวนการหมักแบบกะในภาชนะแก้วทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.5 เซนติเมตร สูง 10.0 เซนติเมตร ที่ศึกษาโดยกนิษฐา ภูวนารถนรานุบาล (2542) พบว่าเมื่อขยายส่วนผลิตแล้วผลผลิตมิได้ลดลงอย่างที่เคยเกิดขึ้นกับการขยายส่วนผลิตโดยทั่วไปแต่กลับได้ผลผลิตสูงขึ้นเล็กน้อยดังแสดงในรูปที่ 46 ภาวะในการเพาะเลี้ยงทั้งปริมาณหัวเชื้อและอัตราเร็วในการเป่าให้อากาศมีความเหมาะสมสำหรับการผลิตกรดโคจิกโดยราสายพันธุ์ *A. oryzae* K13 และเมื่อทดลองผลิตกรดโคจิกโดยที่มีการเติมสารอาหารในระหว่างการผลิตจะยิ่งทำให้ได้ผลผลิตกรดโคจิกสูงขึ้นจากการผลิตกรดโคจิกแบบกะ (33.27 กรัมต่อลิตร) อีก

ตารางที่ 17 เปรียบเทียบผลผลิตกรดโคจิกจากกระบวนการหมักแบบกะโดยใช้ภาชนะแก้วทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.5 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร (กนิษฐา ภูวนารถนรานุบาล, 2542) กับการผลิตในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร (งานวิจัยนี้) และผลผลิตกรดโคจิกจากกระบวนการหมักที่มีการเติมสารอาหารในระหว่างการผลิต และการใช้สายใยซ้ำในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร ภายใต้ภาวะเหมาะสมของแต่ละการผลิต

ขนาดการผลิต	ผลิตกรดโคจิกในภาชนะแก้วทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.5 ซม.สูง 10 ซม. โดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงแบบกะ	ผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาด 4 ลิตร		
		กระบวนการหมักแบบกะ	กระบวนการหมักที่มีการเติมสารอาหารในระหว่างการผลิต	กระบวนผลิตโดยใช้สายใยซ้ำ
จุลินทรีย์	*A. oryzae* K13	*A. oryzae* K13	*A. oryzae* K13	*A. oryzae* K13
องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 1 ลิตร	น้ำตาลกลูโคส 100 กรัม สารสกัดจากยีสต์ 0.5 กรัม แอมโมเนียมไนเตรต 1.814 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต 0.5 กรัม โปแตสเซียมคลอไรด์ 0.1 กรัม กรดฟอสฟอริก 0.054 มล.	น้ำตาลกลูโคส 100 กรัม สารสกัดจากยีสต์ 0.5 กรัม แอมโมเนียมไนเตรต 1.814 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต 0.5 กรัม โปแตสเซียมคลอไรด์ 0.1 กรัม กรดฟอสฟอริก 0.054 มล.	น้ำตาลกลูโคส 100 กรัม สารสกัดจากยีสต์ 0.5 กรัม แอมโมเนียมไนเตรต 1.814 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต 0.5 กรัม โปแตสเซียมคลอไรด์ 0.1 กรัม กรดฟอสฟอริก 0.054 มล.	น้ำตาลกลูโคส 100 กรัม สารสกัดจากยีสต์ 0.5 กรัม แอมโมเนียมไนเตรต 1.814 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต 0.5 กรัม โปแตสเซียมคลอไรด์ 0.1 กรัม กรดฟอสฟอริก 0.054 มล.
ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิต 1 ครั้ง	53 มล.	3200 มล	3200 มล.	3200 มล.

ตารางที่ 17 (ต่อ) เปรียบเทียบผลผลิตกรดโคจิกจากกระบวนการหมักแบบกะโดยใช้ภาชนะแก้วทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.5 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร (กนิษฐา ภูวนารถนรานุบาล, 2542) กับการผลิตในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร (งานวิจัยนี้) และผลผลิตกรดโคจิกจากกระบวนการหมักที่มีการเติมสารอาหารในระหว่างการผลิต และการใช้สายใยซ้ำในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร ภายใต้ภาวะเหมาะสมของแต่ละการผลิต

ขนาดการผลิต	ผลิตกรดโคจิกในภาชนะแก้วทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.5 ซม.สูง 10 ซม. โดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงแบบกะ	ผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาด 4 ลิตร		
		กระบวนการหมักแบบกะ	กระบวนการหมักที่มีการเติมสารอาหารในระหว่างการผลิต	กระบวนผลิตโดยใช้สายใยซ้ำ
ภาวะที่เหมาะสม	- ปริมาณของหัวเชื้อ 2 % - พท.ผิวหน้า : ความสูงของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 57 : 1 - อัตราการเป่าให้อากาศ 176 ลิตร/ตารางเมตร/นาที	- ปริมาณของหัวเชื้อ 5 % - พท.ผิวหน้า:ความสูงของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 200 : 1 - อัตราการเป่าให้อากาศ 50 ลิตร/ตารางเมตร/นาที	- ปริมาณของหัวเชื้อ 5 % - พท.ผิวหน้า:ความสูงของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 200 : 1 - อัตราการเป่าให้อากาศ 50 ลิตร/ตารางเมตร/นาที	- ปริมาณของหัวเชื้อ 5 % - พท.ผิวหน้า:ความสูงของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 200 : 1 - อัตราการเป่าให้อากาศ 50 ลิตร/ตารางเมตร/นาที
รอบการผลิต	1	1	1	1 2 3
ปริมาณกรดโคจิกสูงสุด (กรัมต่อลิตร)	30.35	33.27	35.26	32.09 23.37 16.74
วันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด	9	17	17	16 11 10
ปริมาณกรดโคจิกต่อการผลิต 1 ครั้ง (กรัม) (3.2 ลิตร)	1.60 (4.5 กรัมต่อ 3 รอบการผลิต)	106.46 (319.38 กรัมต่อ 3 รอบการผลิต)	112.83 (338.49 กรัมต่อ 3 รอบการผลิต)	102.68 74.78 53.56 (231.02 กรัมต่อ 3 รอบการผลิต (2ซ้ำ))



- ปริมาณกรดโคจิกที่ผลิตโดย *A. oryzae* K13 เมื่อเพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวในภาชะแก้วทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.5 ซม. สูง 10 ซม. ภายใต้สูตรอาหารและภาวะที่เหมาะสม ศึกษาโดยกนิษฐา ภูวนารถนรานุบาล (2542)
- ปริมาณกรดโคจิกที่ผลิตโดย *A. oryzae* K13 เมื่อเพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวโดยใช้กระบวนการหมักแบบกะในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร ภายใต้สูตรอาหารและภาวะที่เหมาะสม (ในงานวิจัยนี้)
- ปริมาณกรดโคจิกที่ผลิตโดย *A. oryzae* K13 เมื่อเพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวโดยใช้กระบวนการหมักแบบที่มีการเติมสารอาหารเป็นระยะในระหว่างการผลิตในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร ภายใต้สูตรอาหารและภาวะที่เหมาะสม (ในงานวิจัยนี้)
- ปริมาณกรดโคจิกที่ผลิตโดยใช้สายใยซ้ำของ *A. oryzae* K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตร ซึ่งมีการผลิตกรดโคจิกภายใต้สูตรอาหารและภาวะที่เหมาะสม (ในงานวิจัยนี้)

รูปที่ 46 เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกจากการเพาะเลี้ยง *A.oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวภายใต้สูตรอาหารและภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโคจิกโดยใช้ภาชนะในการผลิตและกระบวนการผลิตกรดโคจิกแตกต่างกัน

5.98 เปอร์เซ็นต์คือได้ผลผลิตกรดโคจิกเท่ากับ 35.26 กรัมต่อลิตรและเมื่อผลิตกรดโคจิกโดยใช้สายใยซ้ำพบว่าก็สามารถเพิ่มความคุ้มค่าในการผลิตได้อีกวิธีหนึ่ง ผลผลิตรวมของกรดโคจิกต่อการผลิต (2 ซ้ำ หรือ 3 รอบการผลิต) หรือ 256.38 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9.6 ลิตร เฉลี่ยได้เท่ากับ 26.7 กรัมต่อลิตร นับเป็นความสำเร็จในการขยายส่วนการผลิตกรดโคจิกอย่างน่าพอใจเป็นอย่างยิ่ง ซึ่งน่าจะเกิดจากการออกแบบและการเลือกภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยงได้เหมาะสม การเลือกหาภาวะที่มีผลต่อการผลิตกรดโคจิกในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตรได้อย่างเหมาะสม รวมถึงการออกแบบอุปกรณ์ในการเป่าให้อากาศซึ่งมีผลให้ได้ปริมาณกรด โคจิกสูงขึ้นและยังช่วยลดระยะเวลาในการผลิตลงได้อีกด้วย ดังนั้นการพัฒนาการผลิตกรดโคจิกจากการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวในถาดตื้นขนาดความจุ 4 ลิตรโดยเฉพาะอย่างยิ่งแบบที่มีการเติมสารอาหารในงานวิจัยนี้ มีความคุ้มค่าสูงและมีความน่าสนใจที่จะนำไปใช้ในการผลิตกรดโคจิกในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย