การผลิตกรดกลูโคนิคโดย Aspergillus sp. สายพันธุ์ G153

นายรติกร กัณฑะพงศ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาจุลชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2534
ISBN 974-579-291-8
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

017453 i 10313448

PRODUCTION OF GLUCONIC ACID BY *Aspergillus* sp. Strain G 153

Mr. Ratigorn Guntapong

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillments of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Microbiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1991

ISBN 974-579-291-8

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การผลิตกรดกลูโคนิค โดย Aspergillus sp.สายพันธุ์ G153

โดย นายรติกร กัณฑะพงศ์

ภาควิชา จุลชีววิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ กรรณิกา จันทรสอาด

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ วีระวุฒิ มหามนตรี)

.....กรรณิกา จันทรสอาด..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ กรรณิกา จันทรสอาด)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ส่งศรี กุลปรีชา)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งนิพัฒน์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เป็นของผู้เขียนเพียงผู้เดียว

รติกร กัณฑะพงศ์ : การผลิตกรดกลูโคนิคโดย Aspergillus sp.สายพันธุ์G153
(PRODUCTION OF GLUCONIC ACID BY Aspergillus sp.Strain G153)
อ.ที่ปรึกษา : รศ.กรรณิกา จันทรสอาด, 73 หน้า. ISBN 974-579-291-8

จากการทดลองเกี่ยวกับการผลิตกรดกลูโคนิคโดย Aspergillus sp.สายพันธุ์ G153 ในห้องปฏิบัติการพบว่า แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4%(น้ำหนักต่อปริมาตร) และกลูโคส 25%(น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นแหล่งไนโตรเจนและแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมที่สุด อัตราส่วนระหว่างกลูโคสและแอมโมเนียมซัลเฟตที่ให้ผลผลิตสูงสุด คือ 125:2 หัวเชื้อที่ดีที่สุดคือสปอร์ที่ได้ทำให้งอกในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดียวกับที่ใช้ผลิตกรดดังกล่าวเป็นเวลา 16 ชั่วโมงที่มีความหนาแน่น $2.5-5.0\times10^{7}$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตที่ใช้เป็นสารควบคุมความเป็นกรดด่างคือ 24%(น้ำหนักต่อน้ำหนักกลูโคสตั้งต้น) เมื่อใช้ขวดแก้วทรงกรวยที่มีก้นบุบ เขย่าด้วยอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เลี้ยงเชื้อที่ 33 องศาเซลเซียส จะได้ผลผลิตกรดสูงสุดเท่ากับ 23.52 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ ในวันที่ 5 ของการเลี้ยงเชื้อ สามารถใช้น้ำตาลจากการหมักข้าวเป็นแหล่งคาร์บอนแทนกลูโคสบริสุทธิ์ได้ แต่ได้ผลผลิตเพียง 50% เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้กลูโคสบริสุทธิ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา .....จุลชีววิทยา.....
สาขาวิชา .....จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม.....
ปีการศึกษา .....2533.....

ลายมือชื่อนิสิต .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

RATIGORN GUNTAPONG : PRODUCTION OF GLUCONIC ACID BY *Aspergillus* sp.Strain G153. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. KANNIKA CHANTARASA-ARD, 73 PP.

Laboratory scale production of gluconic acid by *Aspergillus* sp. strain G153 shows ammonium sulfate 0.4% (w/v) and glucose 25% (w/v) are the best nitrogen and carbon sources. The ratio of carbon and nitrogen sources that give the highest yield is 125:2. The suitable inoculum is the spores ($2.5-5.0 \times 10^7$ spores per milliliter) which are germinated in the production medium about 16 hours. The sufficient amount of calcium carbonate for neutralizing the acid in the culture medium is 24% (w/w) of initial glucose concentration. Using of the baffle flask with shaking speed at 200 rpm. and at 33°c for 5 days cultivation give the highest yield which is 23.52 grams per 100 milliliters of the culture medium. Glucose from fermented rice can be used as a source of carbon and give 50% yield as of purified glucose.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา ..... จุลชีววิทยา .....
สาขาวิชา ..... จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม .....
ปีการศึกษา ..... 2533 .....

ลายมือชื่อนิสิต .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ได้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ รองศาสตราจารย์ กรรณิกา จันทรสอาด อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาเป็นที่ปรึกษาให้คำแนะนำ แนวความคิด ตลอดจนช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ประธานกรรมการ และคณะกรรมการทุกท่าน ที่กรุณาตรวจสอบ และแก้ไขต้นฉบับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จจุดมุ่งหมายอย่างดี

ขอขอบพระคุณ คุณประดิษฐ์ ครุวัฒนา นักวิจัยเอก สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ที่กรุณาเป็นที่ปรึกษาให้คำแนะนำเกี่ยวกับวิธีเตรียมน้ำข้าวจากจุลินทรีย์

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ เจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตลอดจนเพื่อนๆและน้องๆ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดี ตลอดมาจนบรรลุถึงจุดมุ่งหมายในการทำวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนงานวิจัยนี้

ท้ายสุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และญาติทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือด้านการเงินและให้กำลังใจแก่ข้าพเจ้าเสมอมาจนกระทั่งวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ช

สารบัญรูป ..... ฌ

บทที่

1. บทนำ 1
2. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย 17
3. ผลการวิจัย 30
4. สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย 55

เอกสารอ้างอิง 62

ภาคผนวก 68

ประวัติผู้เขียน 73

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดกลูโคนิค 2
2. อัตราการเกิดปฏิกิริยาระหว่างดี(+)กลูโคสรูปเบตาและน้ำตาลชนิดอื่นกับออกซิเจนโดยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส 9
3. จำนวนสปอร์ของ Aspergillus sp. สายพันธุ์ G153 เมื่อเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง 3 ชนิด ที่อุณหภูมิห้อง(30±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน 36
4. เปรียบเทียบเวลาในการงอกของสปอร์ของรา Aspergillus sp. สายพันธุ์ G153 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว 3 ชนิด 37
5. ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี Aspergillus sp. สายพันธุ์ G153 บนอาหารแข็ง 2 ชนิด 49

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1.	ขั้นตอนการเกิดกรดกลูโคนิคจากน้ำตาลกลูโคส	1
2.	สูตรโครงสร้างและขั้นตอนการเกิดกรดกลูโคนิค	7
3.	การทำงานของระบบเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการผลิตกรดกลูโคนิค จากจุลินทรีย์	8
4.	ความสัมพันธ์ของกลูโคส กลูโคโนเดลตาแลคโตนและกรดกลูโคนิค ระหว่างการหมัก	11
5.	ลักษณะของขวดแก้วทรงกรวยทั้ง 3 ชนิดที่ใช้ในการวิจัยนี้	29
6.	เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิคโดย Aspergillus sp.สายพันธุ์ G153 เมื่อแปรผันชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนต่างๆกัน	30
7.	เปรียบเทียบปริมาณการผลิตกรดกลูโคนิคโดยเชื้อรา Aspergillus sp. สายพันธุ์ G153 เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน	32
8.	ปริมาณกรดกลูโคนิคจากเชื้อรา Aspergillus sp.สายพันธุ์ G153 เมื่อแปรผันความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน	33
9.	เปรียบเทียบการผลิตกรดกลูโคนิคและการเติบโตของ Aspergillus sp. สายพันธุ์G153 เมื่อแปรผันอัตราส่วนระหว่างกลูโคสต่อแอมโมเนียมซัลเฟต	34
10.	ประสิทธิภาพของหัวเชื้อชนิดสปอร์ที่งอกแล้วจากอาหารเลี้ยงเชื้อ	38
11.	ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิคสูงสุดเมื่อแปรผันชนิดและขนาดของหัวเชื้อ	40
12.	เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิค การใช้น้ำตาลและความเป็นกรดด่างเมื่อแปรผันปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนต	42
13.	เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิคและการใช้น้ำตาลกลูโคสเมื่อใช้ภาชนะบรรจุต่างชนิดกัน	44
14.	เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิคเมื่อแปรผันความเร็วของเครื่องเขย่า	45

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่		หน้า
15.	ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิค เมื่อแปรผันอุณหภูมิในระหว่างการเลี้ยงเชื้อต่างๆกัน	47
16.	การเติบโตของ Aspergillus sp.สายพันธุ์ G153 เมื่อเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็งสูตรที่ 2 แต่ใช้แคลเซียมกลูโคเนตเป็นแหล่งคาร์บอนแทนน้ำตาลกลูโคส	48
17.	ปริมาณกรดกลูโคนิค การใช้น้ำตาล ความเป็นกรดด่าง และการเติบโตของ Aspergillus sp.สายพันธุ์ G153 เมื่อใช้อาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะต่างๆที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิค	50
18.	ปริมาณกรดกลูโคนิค การใช้น้ำตาล และการเติบโตของ Aspergillus sp.สายพันธุ์ G153 เมื่อใช้น้ำตาลจากการหมักข้าวเป็นแหล่งคาร์บอน	52
19.	เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิคและน้ำหนักแห้งที่ได้จากการใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน	53

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย