บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

สรุปผลการทดลอง

1. ไม่สามารถใช้น้ำตาลที่ได้จากการหมักข้าวด้วยจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์แอลฟาอไมเลสและกลูโคอไมเลสได้สูงเป็นแหล่งคาร์บอนแทนน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์เพื่อการผลิตกรดกลูโคนิค เนื่องจากให้ปริมาณผลผลิตกรดต่ำมาก คือ 37.41-79.52 กรัมต่อลิตร แต่การเติบโตสูงมาก สำหรับน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์ให้ผลผลิตกรดเท่ากับ 217.16 กรัมต่อลิตร

2. สามารถใช้แป้งไฮโดรไลเสสเป็นแหล่งคาร์บอน ในการผลิตกรดกลูโคนิคแทนน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์ได้ และแป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรอง เป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีกว่าแป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ไม่ได้ผ่านการกรอง โดยให้ผลผลิตกรดสูงสุด 226 กรัมต่อลิตร สูงกว่าแป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ไม่ได้ผ่านการกรอง 50 กรัมต่อลิตร

3. แป้งไฮโดรไลเสสที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 25%(น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดกลูโคนิคในระดับขวดเขย่าขนาด 250 มล.ที่ 30°ซ. ใช้เครื่องเขย่าแบบโรตารี่ 200 รอบต่อนาที

4. กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่มีปริมาณไนโตรเจน 20 มก. ต่อ 100 มล. อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ให้ผลผลิตสูงเช่นเดียวกับการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ซึ่งมีปริมาณไนโตรเจน 85 มก. ต่อ 100 มล.อาหารเลี้ยงเชื้อ โดยให้ผลผลิตสูงสุด 231.22 กรัมต่อลิตร ในเวลา 6 วัน

5. สามารถใช้น้ำประปาแทนน้ำปลอดประจุในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยไม่ต้องเติม $FeSO_4.7H_2O$ KH_2PO_4 $MgSO_4.7H_2O$ และ $MnSO_4.4H_2O$ ซึ่งให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงสุดไล่เลี่ยกับการใช้น้ำปลอดประจุที่เติมองค์ประกอบอาหารครบส่วน คือ 232.32 กรัมต่อลิตร เวลาในการเพาะเลี้ยง 5 วัน

6. เมื่อขยายส่วนการผลิตกรดกลูโคนิคโดยผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่าไม่สามารถใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 25% (น้ำหนักต่อปริมาตร) เพื่อการผลิตกรดดังกล่าวได้ เนื่องจากเกิดตะกอนของแคลเซียมกลูโคเนตจำนวนมากรบกวนการหมัก

7. แป้งไฮโดรไลเสสที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 20% (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในการผลิตกรดกลูโคนิคในถังหมักขนาด 5 ลิตร

8. อัตราการให้อากาศที่เหมาะสมเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิคในถังหมักขนาด 5 ลิตรเมื่อใช้หัวเชื้อ 5% คือ 1.50 ลิตรต่อลิตรอาหารต่อนาที ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 189.24 กรัมต่อลิตร ที่ 36 ชั่วโมง

9. อัตราการกวนที่เหมาะสมเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิคในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้หัวเชื้อ 5% คือ 500 รอบต่อนาที และให้ผลผลิตกรดสูงสุด 189.24 กรัมต่อลิตร ที่ 36 ชั่วโมง

10. ปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิคในถังหมักขนาด 5 ลิตร คือ 7% (ปริมาตรต่อปริมาตร) ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 191.28 กรัมต่อลิตรในเวลา 24 ชั่วโมง

11. เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิคในระดับขวดเขย่ากับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยจัดสภาวะในการผลิตให้เหมาะสม พบว่า การผลิตกรดกลูโคนิคในระดับขยายส่วนในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยมีแป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้นเหมาะสมคือ 20% เป็นแหล่งคาร์บอนให้ผลผลิตถึง 95.64% ของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้น คือ 191.28 กรัมต่อลิตร เวลาในการผลิตเพียง 24 ชั่วโมง ส่วนการผลิตกรดกลูโคนิคในระดับขวดเขย่าขนาด 250 มล. โดยใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้นเหมาะสมคือ 25% ให้ผลผลิตกรดกลูโคนิค 92.93% ของน้ำตาลกลูโคสตั้งต้น คือ 232.32 กรัมต่อลิตร เวลาในการผลิต 5 วัน จะเห็นได้ว่าการผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตรให้ผลผลิตเร็วกว่าระดับขวดเขย่าถึง 4 วัน

<u>วิจารณ์ผลการทดลอง</u>

เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp. G153 ในน้ำตาลที่ได้จากการหมักข้าวโดยปรับให้มีน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 25% (น้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่า น้ำตาลที่ได้จากการหมักข้าวเป็นแหล่งคาร์บอนที่ไม่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิค ให้ปริมาณผลผลิตกรดกลูโคนิคต่ำกว่าการใช้น้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์มากดังกล่าวในสรุปผลการทดลอง นอกจากนี้การเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลจากการหมักข้าวก็สูงมาก เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของข้าวสาร พบว่าประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน วิตะมิน และแร่ธาตุต่าง ๆ

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของข้าวสาร

องค์ประกอบของข้าวสาร	ปริมาณ
แคลอรี่ (100 แคลอรี่ต่อกรัม)	29.0
โปรตีน (%)	7.6
ไขมัน (%)	0.3
คาร์โบไฮเดรต (%)	79.4
เถ้า (%)	0.4
เส้นใย (%)	0.2
วิตะมิน (ส่วนในล้านส่วน)	
กรดแอสคอร์บิก	0.6-1.0
ไทอะมีน	0.23
ไรโบฟลาวิน	15.20
กรดนิโคทินิก	6.4
กรดแพนโทธินิก	4.5
ไพริดอกซีน	880
เอ (ไอ.ยู.ต่อกรัม)	0
แร่ธาตุ (%)	0.009
แคลเซียม	0.028
แมกนีเซียม	0.079
โพแทสเซียม	0.028
โซเดียม	0.096
ฟอสฟอรัส	0.006
กำมะถัน	0.0009
เหล็ก	10.14
ทองแดง (ส่วนในล้านส่วน)	1.90

ที่มา : อรอนงค์ นัยวิกุล, 2534

หลายชนิดดังแสดงในตารางที่ 3 (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2534) ดังนั้นในน้ำหมักข้าวจึงมิได้ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสเพียงอย่างเดียว แต่ยังมีแหล่งไนโตรเจนและแหล่งของสารที่มีผลต่อการเติบโตอีกด้วย ซึ่งจะช่วยส่งเสริมให้ *Aspergillus* sp. G153 มีการเติบโตมากขึ้น น้ำตาลกลูโคสจึงถูกนำมาใช้เพื่อการเติบโตมากกว่านำไปใช้ในการผลิตกรดกลูโคนิค ทำให้ผลผลิตกรดน้อยลงไปด้วย เมื่อพิจารณาปริมาณเหล็กในข้าวสารพบว่าสูงถึง 10% (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2534) และเป็นที่ทราบแล้วว่าถ้ามีเหล็กในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับหรือมากกว่า 50 มก.ต่อลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วจะทำให้ *Aspergillus* sp. G153 ผลิตกรดกลูโคนิคได้ปริมาณน้อย (กรรณิกา จันทรสอาด, 2533) ดังนั้นการที่ *Aspergillus* sp. G153 ผลิตกรดกลูโคนิคจากน้ำตาลที่ได้จากการหมักข้าวน้อยมากอาจเนื่องมาจากมีปริมาณเหล็กมากเกินไปก็ได้

เมื่อใช้แป้งมันสำปะหลังไฮโดรไลเสสเป็นแหล่งคาร์บอน แทนน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์ในการผลิตกรดกลูโคนิค พบว่าสามารถใช้แป้งไฮโดรไลเสสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ และให้ผลผลิตกรดในปริมาณสูงไล่เลี่ยกับน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์ ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกับการทดลองของ Kundu และ Das (1982) โดยใช้ *Aspergillus niger* MN181 และใช้แป้งข้าวโพดไฮโดรไลเสสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าสามารถใช้แป้งไฮโดรไลเสสนี้ผลิตกรดกลูโคนิคได้โดยมีการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดกลูโคนิคสูงถึง 85% Su และคณะ (1977) ได้ทำการผลิตกรดกลูโคนิคด้วย *Pullularia pullulans* โดยใช้แป้งมันสำปะหลังไฮโดรไลเสสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าสามารถใช้แป้งไฮโดรไลเสสในการผลิตกรดได้เช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบชนิดของแป้งไฮโดรไลเสสจากการทดลองนี้พบว่า แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ยังไม่ได้ผ่านการกรอง จะให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคต่ำกว่าแป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรอง และมีการเติบโตสูงมากด้วยดังแสดงในรูปที่ 7 และรูปที่ 8 จึงอาจสันนิษฐานได้ว่า *Aspergillus* sp. G153 สามารถใช้แป้งที่ตกค้างอยู่ในแป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ไม่ได้ผ่านการกรองเพื่อการเติบโตได้

จากการทดลองหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำตาลกลูโคสในแป้งไฮโดรไลเสสเพื่อให้มีการผลิตกรดกลูโคนิคสูงสุดในระดับขวดเขย่า พบว่าแป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 25% (น้ำหนักต่อปริมาตร) เหมาะสมต่อการผลิตกรดดังกล่าวดังแสดงในรูปที่ 15 การทดลองนี้สอดคล้อง

กับการทดลองของ รติกร กัณฑะพงศ์ (2534) ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์ที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิคโดย *Aspergillus* sp. G153 คือ 25% (น้ำหนักต่อปริมาตร) Casida (1968) ได้รายงานว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดกลูโคนิคประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส 25% แคลเซียมคาร์บอเนต และแร่ธาตุหลายชนิด นอกจากนี้ยังมีผู้รายงานว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมในการผลิตกรดกลูโคนิคโดย *Aspergillus niger* อยู่ระหว่าง 110-250 กรัมต่อลิตร (Rohr, 1983)

แหล่งไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญในการเจริญเติบโตของเชื้อรา เชื้อราสามารถใช้แหล่งไนโตรเจนได้ทั้งแหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจน เช่น เกลือแอมโมเนียม และแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน เช่น ยูเรีย คอร์นสตีบลิเคอร์ ปริมาณแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมจะช่วยให้เชื้อราเติบโตและผลิตกรดกลูโคนิคได้มาก แต่ถ้าแหล่งไนโตรเจนมีมากจะทำให้เชื้อรามีการเติบโตมากเกินความต้องการ และทำให้การผลิตกรดกลูโคนิคลดลง (Milsom และ Meers, 1985) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องปรับปริมาณแหล่งไนโตรเจนให้พอเหมาะ จากการทดลองแปรผันปริมาณไนโตรเจนในกากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสซึ่งเป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนเปรียบเทียบกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิคโดย *Aspergillus* sp. G153 (รติกร กัณฑะพงศ์, 2534) พบว่ากากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่มีปริมาณไนโตรเจน 20 มก.ต่อ 100 มล.อาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นปริมาณที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดกลูโคนิคโดย *Aspergillus* sp. G153 และให้ผลผลิตใกล้เคียงกับการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% ดังแสดงในรูปที่ 23 เมื่อพิจารณาความคุ้มค่าของการใช้แหล่งไนโตรเจนทั้ง 2 ชนิด และความยุ่งยากในการเตรียมพบว่า กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสมีขั้นตอนการเตรียมหลายขั้นตอน ส่วนแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีราคาไม่สูงมาก และปริมาณที่พอเหมาะสำหรับการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 เพื่อให้ได้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงสุดนั้นเพียง 0.4% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ซึ่งเป็นปริมาณน้อยมาก อีกประการหนึ่งกากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสมีสารอาหารประเภทโปรตีน ซึ่งจะทำหน้าที่รักษาสภาพฟองที่เกิดขึ้นจากการให้อากาศและการกวน เมื่อทำการผลิตกรดกลูโคนิคในถังหมัก (Winkler, 1988) ทำให้ต้องเติมแอนติโฟมเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นการสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการผลิต ดังนั้นแอมโมเนียมซัลเฟตจึงเหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองต่อไป ซึ่งสอดคล้องกับการผลิตกรดกลูโคนิคจากหลายการทดลองที่ใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยง

เชื้อ โดยมีปริมาณต่าง ๆ กันขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ (Takao และ Sasaki, 1964; Su, 1977; Chun และ Rogers, 1988)

แร่ธาตุเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการผลิตกรดกลูโคนิค กรรณิกา จันทรสอาด (2533) ได้รายงานว่า ปรอท เงิน และทองแดง ทำให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคโดย *Aspergillus* sp. G153 ลดลงทันที แม้จะมีปนเปื้อนเพียง 0.1 มก.ต่อลิตร ส่วนเหล็กในรูปของ $FeSO_4.7H_2O$ ถ้ามีในปริมาณพอเหมาะจะทำให้การผลิตกรดดีกว่าไม่มีหรือมีน้อยเกินไป แต่ถ้ามีเหล็กในอาหารเลี้ยงเชื้อมากเกินคือ เท่ากับหรือมากกว่า 50 มก.ต่อลิตร ก็จะทำให้ผลผลิตกรดลดลงเช่นกัน ในกรณีของแมงกานีสพบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณแมงกานีสในรูป $MnSO_4.4H_2O$ จนถึง 500 มก.ต่อลิตร ทำให้ผลผลิตกรดเพิ่มขึ้นด้วย Elnaghy และ Megella (1975) พบว่า แมกนีเซียมในรูปของ $MgSO_4.7H_2O$ ที่ความเข้มข้น 0.005-0.01% จะเพิ่มผลผลิตกรดกลูโคนิค และการลดความเข้มข้นของแมกนีเซียมในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus niger* ให้มีพอเหมาะจะทำให้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสมีกิจกรรมเพิ่มขึ้น (Munk, 1963) จากการทดลองใช้น้ำประปาในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในการทดลองนี้โดยไม่ต้องเติม $FeSO_4.7H_2O$ KH_2PO_4 $MgSO_4.7H_2O$ และ $MnSO_4.4H_2O$ พบว่าสามารถผลิตกรดกลูโคนิคได้สูง และใกล้เคียงกับการใช้น้ำปลอดประจุที่เติมธาตุที่เป็นองค์ประกอบของอาหารครบส่วนดังแสดงในรูปที่ 30 เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำประปาในกรุงเทพมหานคร ประจำปี 2534 พบว่า ในน้ำประปานั้นมี เหล็ก แมกนีเซียม และแมงกานีส อยู่ในปริมาณหนึ่งซึ่งเพียงพอต่อการผลิตกรดกลูโคนิค จึงทำให้สามารถใช้น้ำประปาในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิคได้โดยไม่ต้องเติมองค์ประกอบอื่น ๆ นอกจากแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนเท่านั้น ซึ่งเป็นข้อได้เปรียบประการสำคัญอีกประการหนึ่งของการใช้ *Aspergillus* sp. G153 ในการผลิตกรดกลูโคนิค Blom และคณะ (1952) ได้ทดลองใช้น้ำประปาในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ *Aspergillus niger* แต่ต้องมีการเติมธาตุที่เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยจึงจะใช้ได้ผล Yasin และคณะ (1969) ทดลองผลิตกรดกลูโคนิคโดยใช้ *Aspergillus niger* หลายสายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้น้ำประปาในการเตรียม และไม่เติมเหล็ก ทองแดง และสังกะสี พบว่า สามารถผลิตกรดได้เช่นกัน นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า Hatcher (1972) ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรดกลูโคนิคโดยเตรียมจากน้ำประปาเช่นเดียวกัน

จากการทดลองในระดับขวดเขย่า พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดกลูโคนิคประกอบด้วยแป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25%เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน แคลเซียมคาร์บอเนต 6% และปรับปริมาตรด้วยน้ำประปา เมื่อทดลองขยายส่วนการผลิตกรดดังกล่าวโดยใช้ถังหมัก ขนาด 5 ลิตร แล้วศึกษาปัจจัยต่าง ๆ เพื่อให้ *Aspergillus* sp. G153 สร้างกรดกลูโคนิคได้สูงขึ้น พบว่าแป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นความเข้มข้นที่ไม่เหมาะสมในการผลิตกรดกลูโคนิคในถังหมักขนาด 5 ลิตร เนื่องจากเกิดตะกอนแคลเซียมกลูโคเนตจำนวนมาก ทำให้การให้อากาศและการกวนเป็นไปไม่ทั่วถึง จึงแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในแป้งไฮโดรไลเสสให้มีความเข้มข้นลดลง พบว่าน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20% เป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดกลูโคนิคโดย *Aspergillus* sp. G153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Sakurai และคณะ (1989) ที่ได้รายงานว่าการผลิตกรดกลูโคนิคจะถูกยับยั้งในสภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคส 25% Kundu และ Das (1987) พบว่าความสามารถในการละลายน้ำของแคลเซียมกลูโคเนตมีประมาณ 4% แต่ถ้าในอาหารเลี้ยงเชื้อมีน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเข้มข้นมากกว่า 15% จะทำให้ได้ผลผลิตแคลเซียมกลูโคเนตมากพอที่จะทำให้เกิดการตกตะกอนของเกลือชนิดนี้และมีผลยับยั้งการหมัก Gastrock และคณะ (1938) ได้ทดลองเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus niger* 67 ในถังหมักแบบกลองหมุน และพบว่า การตกตะกอนแคลเซียมกลูโคเนตเกิดขึ้น เมื่อในอาหารเลี้ยงเชื้อมีน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 25-30% ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองโดย *Aspergillus* sp. G153 ในการทดลองนี้

ในการหมักเพื่อผลิตกรดกลูโคนิค จัดเป็นการหมักในสภาพที่ต้องการอากาศอย่างเพียงพอ (ดังได้กล่าวแล้วในบทที่ 1) ดังนั้นเชื้อราจึงจำเป็นต้องได้รับอากาศในปริมาณมากพอ ซึ่งในระหว่างการหมักนี้สามารถควบคุมปริมาณอากาศได้โดยการให้อากาศและการกวน ทั้งสองระบบนี้จะช่วยให้มีการแผ่กระจายออกซิเจนในน้ำหมักได้ดี ดังนั้นจึงแปรผันอัตราการให้อากาศค่าต่าง ๆ กัน พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศ จะทำให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคเพิ่มขึ้นด้วย ทั้งนี้เนื่องจากกรดกลูโคนิคเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำตาลกลูโคส ดังนั้นการผลิตจึงขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Moresi และคณะ, 1991) เมื่อเปรียบเทียบอัตราการให้อากาศ 2 อัตราคือ 1.50 และ 1.75 ลิตรต่อลิตรอาหารต่อนาที ซึ่งให้ผลผลิตกรดสูงใกล้เคียงกันในเวลา

เท่า ๆ กัน โดยคำนึงถึงความประหยัดทางด้านพลังงานและความสึกหรอของถังหมัก อัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตรต่อลิตรอาหารต่อนาที จะเหมาะสมที่สุดที่จะใช้ในการผลิตกรดกลูโคนิคในถังหมักขนาด 5 ลิตรโดย *Aspergillus* sp. G153 ดังแสดงในรูปที่ 36 และรูปที่ 37 เมื่อแปรผันอัตราการกวนค่าต่าง ๆ กัน พบว่าอัตราการกวน 500 รอบต่อนาที จะเป็นค่าที่เหมาะสมในการผลิตกรดกลูโคนิค ส่วนอัตราการกวน 400 รอบต่อนาที จะให้ผลผลิตกรดต่ำกว่าและใช้เวลาในการผลิตนานกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องจากการกวนที่ความเร็วรอบต่ำ จะทำให้เชื้อรามีโอกาสสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศที่เติมได้น้อยและไม่ทั่วถึง ทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดได้น้อยลงเป็นผลให้มีกรดกลูโคนิคลดลงด้วยเช่นเดียวกับ Ghosh และ Ghose (1978) ที่ได้รายงานว่า การเพิ่มอัตราการให้อากาศและอัตราการกวน จะเป็นการเพิ่มอัตราการละลายของออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ และระบบที่มีทั้งการให้อากาศและการกวนจะมีการละลายของออกซิเจนดีกว่าระบบที่มีการกวน เพียงอย่างเดียว

Qadeer และคณะ (1975) ได้กล่าวถึงผลของปริมาณหัวเชื้อที่มีต่ออัตราการหมัก เมื่อมีการเพิ่มปริมาณของหัวเชื้อ *Aspergillus niger* WRL 51 เป็น 4 10 และ20% พบว่าจะทำให้มีการผลิตกรดกลูโคนิคเพิ่มขึ้น และใช้เวลาในการผลิตลดลง โดยหัวเชื้อ 20% เป็นปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดกลูโคนิคในถังหมักขนาด 50 ลิตร ดังนั้นในการทดลองนี้จึงทำการแปรผันปริมาณหัวเชื้อ *Aspergillus* sp. G153 เป็น 5 7 และ 10% พบว่าปริมาณหัวเชื้อ 7% จะให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงกว่าปริมาณหัวเชื้อ 5% เล็กน้อย แต่ใช้เวลาในการหมักเร็วกว่าปริมาณหัวเชื้อ 5% ถึง 12 ชั่วโมง แต่ปริมาณหัวเชื้อ 10% ให้ผลผลิตกรดต่ำกว่า เมื่อพิจารณาการเติบโตพบว่าปริมาณหัวเชื้อ 10% มีการเติบโตสูงมาก สันนิษฐานว่าน้ำตาลกลูโคสส่วนใหญ่ถูกนำไปใช้เพื่อการเติบโตมากกว่านำไปใช้ผลิตกรด ดังนั้นปริมาณหัวเชื้อ 7% จึงเป็นปริมาณที่เหมาะสมในการผลิตกรดกลูโคนิคในถังหมักขนาด 5 ลิตร