บทที่ 3

ผลการวิจัย

ผลการใช้น้ำตาลที่ได้จากการหมักข้าวเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิค

เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp. G153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลที่ได้จากการหมักข้าวด้วยจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์แอลฟาอไมเลสและกลูโคอไมเลสได้สูงเป็นแหล่งคาร์บอนแทนน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์ โดยปรับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการหมักข้าวให้เท่ากับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิค โดยเชื้อราสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองนี้ คือ 25% (น้ำหนักต่อปริมาตร) (รติกร กัณฑะพงศ์, 2534) เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบโรตารี่ ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า น้ำตาลที่ได้จากการหมักข้าวโดย *Rhizopus oryzae* ให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงสุด 79.52 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 10 วัน และมีการเติบโตสูงถึง 30.45 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 10 ของการเลี้ยงเชื้อเช่นกัน (รูปที่ 3) ส่วนน้ำตาลที่ได้จากการหมักข้าวโดย *Aspergillus niger* ให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงสุดในวันที่ 10 ของการเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 48.25 กรัมต่อลิตร และมีการเติบโตสูงสุด 22.19 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 (รูปที่ 4) นอกจากนี้การผลิตกรดกลูโคนิคโดยใช้แหล่งคาร์บอนเป็นน้ำตาลที่ได้จากการหมักข้าวด้วย *Aspergillus oryzae* จะได้ผลผลิตกรดสูงสุด เท่ากับ 37.41 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 9 วัน และการเติบโตสูงสุด 44.79 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 5) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิคที่สร้างขึ้นจากน้ำตาลที่ได้จากการหมักข้าวกับน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์ (รูปที่ 6) พบว่าปริมาณกรดสูงสุดที่ได้จากน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์คือ 217.16 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 5 ของการเลี้ยงเชื้อ จะเห็นได้ว่า น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีกว่าน้ำตาลที่ได้จากการหมักข้าว โดยใช้เวลาในการผลิตกรดน้อยกว่าและให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงกว่าประมาณ 2.7-5.8 เท่า

ผลการใช้แป้งไฮโดรไลเสสเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิค

เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp. G153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้งไฮโดรไลเสส 2 ชนิด โดยปรับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อให้เท่ากับ

25% (น้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่า แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองเอาแป้งที่ไม่ได้ถูกย่อยสลายออกเป็นแหล่งคาร์บอน ให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงกว่าแป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ไม่ได้ผ่านการกรอง คือให้ผลผลิต 226 และ 176 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 7 - รูปที่ 8) เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิคที่ได้จากแหล่งคาร์บอนทั้งสองกับที่ได้จากน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์ (รูปที่ 9) พบว่า แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองดังกล่าวข้างต้น และน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์ เป็นแหล่งคาร์บอนที่ให้ผลผลิตกรดใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิคในการทดลองต่อไป

ผลการตรวจสอบเพื่อยืนยันชนิดของกรดที่สร้างโดย *Aspergillus* sp. G153

1. ผลการหาจุดหลอมเหลวของเกลือแคลเซียมกลูโคเนตที่สร้างโดย *Aspergillus* sp. G153

เมื่อใช้เครื่อง Differential Scanning Calorimetry (DSC) ทำการหาจุดหลอมเหลวของแคลเซียมกลูโคเนตมาตรฐาน และแคลเซียมกลูโคเนตที่สร้างขึ้นโดย *Aspergillus* sp. G153 พบว่ามีค่าจุดหลอมเหลวที่ 181.50°ซ. และ 181.30°ซ. ตามลำดับ ซึ่งเป็นการยืนยันว่า เกลือแคลเซียมของกรดที่สร้างโดยจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้ เป็นแคลเซียมกลูโคเนต ดังแสดงใน รูปที่ 10

2. ผลการวิเคราะห์หาชนิดของกรดที่สร้างโดย *Aspergillus* sp. G153 ด้วยเครื่อง HPLC

เมื่อทำการวิเคราะห์หาชนิดของกรดอินทรีย์ที่สร้างโดย *Aspergillus* sp. G153 เพื่อยืนยันว่าเป็นกรดกลูโคนิคโดยเทียบกับกรดกลูโคนิคมาตรฐาน พบว่ากรดดังกล่าวเป็นกรดกลูโคนิค เนื่องจากมีช่วงเวลาอยู่ในคอลัมน์เท่ากับกรดกลูโคนิคมาตรฐานคือ 3.66 นาที ดังแสดงในรูปที่ 11

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิค

เมื่อแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในแป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่กรองแล้ว ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 1 เป็น 20 25 และ 30% (น้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วตรวจหาผลผลิตกรดกลูโคนิคหลังการเลี้ยงเชื้อ พบว่า แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20% ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 155.38 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 5 วัน แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้นเท่ากับ 25% ให้ผลผลิตกรดสูง 226 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเลี้ยงเชื้อ ส่วนแป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30% ใช้เวลาในการผลิตกรดกลูโคนิคนานกว่า กล่าวคือให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงสุด ในวันที่ 8 ของการเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 182.27 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 12 - รูปที่ 14) ซึ่งจะเห็นได้ว่าแป้งไฮโดรไลเสสที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 25% เป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะที่สุดและให้ผลผลิตใกล้เคียงกับการใช้น้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์เป็นแหล่งคาร์บอน (รูปที่ 15) ดังนั้นจึงเลือกใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการทดลองต่อไป

ผลการใช้กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสเป็นแหล่งไนโตรเจน

เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp. G153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 1 และใช้กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสเป็นแหล่งไนโตรเจนแทนแอมโมเนียมซัลเฟต โดยแปรผันปริมาณไนโตรเจนในกากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสเป็น 10 15 20 25 55 และ 85 มก. ต่อ 100 มล. อาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า สามารถใช้กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสเป็นแหล่งไนโตรเจนในการผลิตกรดกลูโคนิคได้เช่นเดียวกับการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต (รูปที่ 16) โดยกากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่มีไนโตรเจน 10 มก. ต่อ 100 มล.อาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงสุด 224.34 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเลี้ยงเชื้อและให้การเติบโตสูงสุด 6.34 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 17) กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่มีไนโตรเจน 15 มก. ต่อ 100 มล. อาหารเลี้ยงเชื้อ ให้การเติบโตสูงสุด 7.24 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 223.03 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการเลี้ยงเชื้อ

(รูปที่ 18) กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่มีไนโตรเจน 20 มก. ต่อ 100 มล.อาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ผลผลิตสูงสุด 231.22 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเลี้ยงเชื้อ และให้การเติบโตสูงสุด 8.04 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 19) กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่มีไนโตรเจน 25 มก. ต่อ 100 มล.อาหารเลี้ยงเชื้อให้ปริมาณกรดสูงสุด 188.29 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเลี้ยงเชื้อ และให้การเติบโตสูงสุด 9.36 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 20) กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่มีไนโตรเจน 55 มก. ต่อ 100 มล.อาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 182.62 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเลี้ยงเชื้อ และให้การเติบโตสูงสุด 12.92 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 21) ส่วนกากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่มีไนโตรเจน 85 มก. ต่อ 100 มล.อาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 165.25 กรัมต่อลิตร และให้การเติบโตสูงสุด 15.93 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 22) เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิคระหว่างการใช้กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่ความเข้มข้นต่างๆกัน เป็นแหล่งไนโตรเจนกับแอมโมเนียมซัลเฟต พบว่า กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่มีไนโตรเจน 20 มก. ต่อ 100 มล. อาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงกว่าความเข้มข้นอื่น และใกล้เคียงกับผลผลิตกรดกลูโคนิค เมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนที่เคยทำการทดลองมาแล้วว่าเหมาะสมคือ แอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้น 0.4% (น้ำหนักต่อปริมาตร) (รติกร กัณฑะพงศ์, 2534) ซึ่งมีปริมาณไนโตรเจน 85 มก. ต่อ 100 มล.อาหารเลี้ยงเชื้อ (รูปที่ 23)

เนื่องจากการเตรียมกากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสยุ่งยากประกอบด้วยหลายขั้นตอน (ภาคผนวก ก.) และการผลิตกรดกลูโคนิคใช้แหล่งคาร์บอนเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิต ส่วนแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการทดลองนี้ ไม่ได้นำไปใช้เพื่อการผลิตกรด แต่จะนำไปใช้เพื่อการเติบโตของจุลินทรีย์เพื่อให้มีกิจกรรมในการผลิตได้ โดยใช้ในปริมาณเล็กน้อยเท่านั้น นอกจากนี้เมื่อทำการทดลองในถังหมักขนาดใหญ่ จะต้องมีการให้อากาศและการกวนซึ่งจะทำให้เกิดฟองมาก และสารอาหารที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น โปรตีน จะเป็นตัวรักษาสภาพของฟองที่เกิดขึ้นไว้ (Winkler, 1988) ทำให้ต้องเติมแอนติโฟมปริมาตรมากขึ้นซึ่งเป็นการสิ้นเปลือง อีกประการหนึ่งแอมโมเนียมซัลเฟตมีราคาไม่สูงนัก ดังนั้นแอมโมเนียมซัลเฟตจึงเป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมกว่ากากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสในการผลิตกรดกลูโคนิค และจะใช้ในการทดลองต่อ ๆ ไป

ผลของการใช้น้ำประปาแทนน้ำปลอดประจุในการผลิตกรดกลูโคนิค

เมื่อทดลองใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่เหมาะสมคือ แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน เติมธาตุที่เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อตามวิธีดำเนินการทดลองในข้อ 2.8.1 แต่ใช้น้ำประปาในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแทนน้ำปลอดประจุ พบว่า *Aspergillus* sp. G153 สามารถผลิตกรดกลูโคนิคได้ปริมาณสูงสุด 177.19 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเลี้ยงเชื้อ (รูปที่ 24) และเมื่อลดธาตุบางชนิดที่เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวในวิธีการทดลองข้อ 2.8.2 พบว่าปริมาณการผลิตกรดกลูโคนิคจะเพิ่มขึ้น เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมธาตุมากชนิดขึ้น (รูปที่ 25 - รูปที่ 28) กล่าวคือ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมเหล็กในรูป $FeSO_4.7H_2O$ ให้ปริมาณกรดสูงสุด 177.87 กรัมต่อลิตร อาหารเลี้ยงเชื้อไม่เติมเหล็กในรูป $FeSO_4.7H_2O$ และแมกนีเซียมในรูป $MgSO_4.7H_2O$ ให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงสุด 212.31 กรัมต่อลิตร อาหารเลี้ยงเชื้อไม่เติมเหล็กในรูป $FeSO_4.7H_2O$ แมกนีเซียมในรูป $MgSO_4.7H_2O$ และโปตัสเซียมในรูป KH_2PO_4 ให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงสุด 216.27 กรัมต่อลิตร อาหารเลี้ยงเชื้อไม่เติมเหล็กในรูป $FeSO_4.7H_2O$ แมกนีเซียมในรูป $MgSO_4.7H_2O$ โปตัสเซียมในรูป KH_2PO_4 และแมงกานีสในรูป $MnSO_4.4H_2O$ ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 232.32 กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิคสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด (รูปที่ 30) พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรใช้น้ำประปาและไม่เติมธาตุที่เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดใด ๆ จะให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคใกล้เคียงกับอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรใช้น้ำปลอดประจุที่มีธาตุองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อครบ (รูปที่ 29) และให้ผลผลิตกรดสูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรใช้น้ำประปาและเติมธาตุที่เป็นองค์ประกอบบางชนิด

ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดกลูโคนิคในถังหมักขนาด 5 ลิตร

1. ผลการทดลองหาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในแป้งไฮโดรไลเสสที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดกลูโคนิค

เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% (จากผลการทดลองในระดับ

ขวดเขย่า) เป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 2 (ภาคผนวก ก.) เลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp. G153 โดยมีอัตราการกวน 500 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตรต่อลิตรอาหารต่อนาที และอุณหภูมิ 33°ซ. พบว่ามีการผลิตกรดกลูโคนิคเพิ่มขึ้นตามเวลาในการเลี้ยงเชื้อจนถึงชั่วโมงที่ 36 ของการเลี้ยงเชื้อ มีการตกตะกอนของแคลเซียมกลูโคเนตจำนวนมาก ทำให้การกวนและการให้อากาศไม่ทั่วถึงจึงหยุดการทดลอง (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลผลิตกรดกลูโคนิค โดย *Aspergillus* sp. G153 เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอน

เวลาในการเลี้ยงเชื้อ (ชั่วโมง)	ปริมาณกรดกลูโคนิค (กรัม/ลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)
12	8.61	0.55	193.54
24	93.35	1.35	102.65
30	152.39	1.89	56.38
-	-	-	-

ได้ทดลองใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสต่ำลงคือ 20 15 และ 10% โดยใช้สภาวะในการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้างต้น พบว่าแป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20 และ 15% ให้ผลผลิตกรดสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 ของการเลี้ยงเชื้อเป็น 189.24 และ 142.63 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 31 - รูปที่ 32) ส่วนแป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 10% ให้ปริมาณกรดสูงสุด 96.33 กรัมต่อลิตร ที่ 30 ชั่วโมง (รูปที่ 33) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิคในแต่ละชุดการทดลอง พบว่า แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคส 20% จะเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในการผลิตกรดกลูโคนิคในถังหมักขนาด 5 ลิตร เพราะให้ผลผลิตกรดมากกว่าความเข้มข้นอื่น ๆ ในเวลาเท่ากัน (รูปที่ 34)

2. ผลของอัตราการให้อากาศต่อการผลิตกรดกลูโคนิค

เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp. G153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20% เป็นแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิ 33°ซ. และมีอัตราการกวนคงที่ที่ 500 รอบต่อนาที แปรผันอัตราการให้อากาศเป็น 1.25 1.50 และ 1.75 ลิตรต่อลิตรอาหารต่อนาที พบว่า ที่อัตราการให้อากาศ 1.25 ลิตรต่อลิตรอาหารต่อนาที จะมีปริมาณกรดกลูโคนิคสูงสุด 177.47 กรัมต่อลิตร ที่ 36 ชั่วโมง ส่วนอัตราการให้อากาศ 1.50 และ 1.75 ลิตรต่อลิตรอาหารต่อนาที ให้ผลผลิตกรดสูงสุดใกล้เคียงกันคือ 189.24 และ 188.83 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่ชั่วโมงที่ 36 ของการเลี้ยงเชื้อ (รูปที่ 35 - รูปที่ 38) เมื่อเปรียบเทียบอัตราการให้อากาศที่ 1.50 และ 1.75 ลิตรต่อลิตรอาหารต่อนาที ซึ่งมีผลผลิตกรดสูงสุดใกล้เคียงกัน โดยคำนึงถึงความประหยัดในแง่พลังงาน จะได้ว่าอัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตรต่อลิตรอาหารต่อนาที เป็นสภาวะในการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่สุด จึงเลือกใช้ในการทดลองต่อไป

3. ผลของอัตราการกวนต่อการผลิตกรดกลูโคนิค

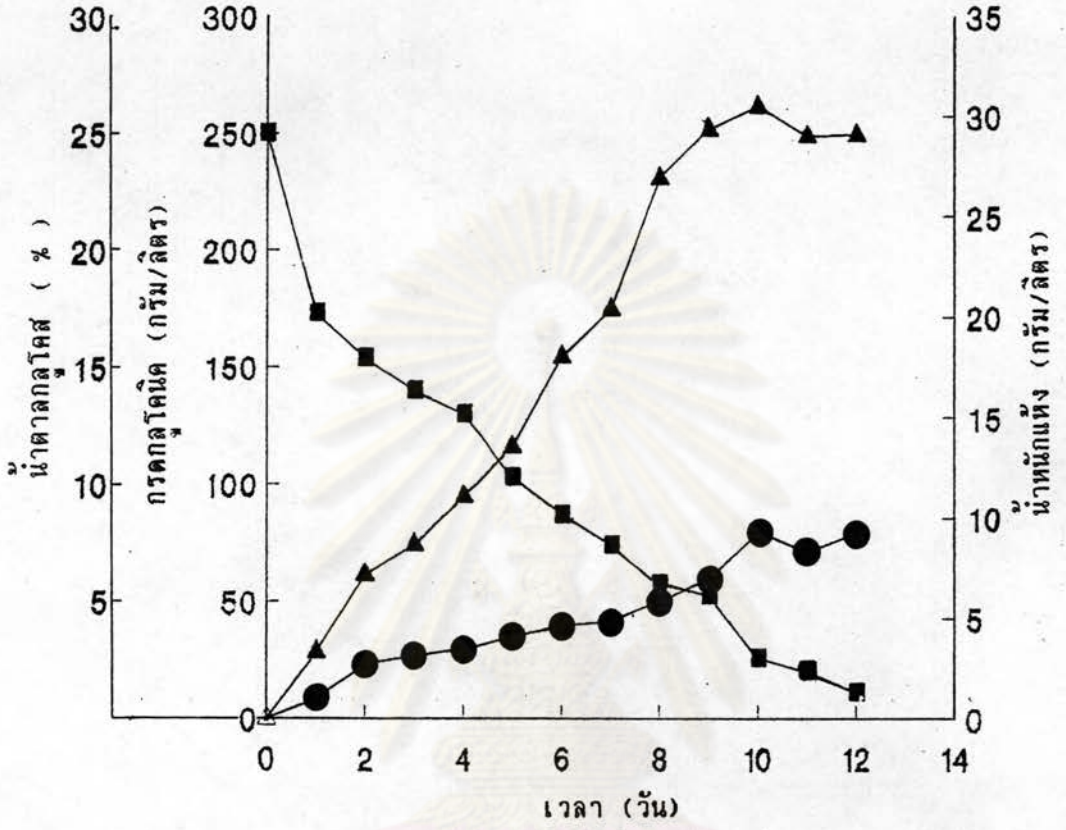
เมื่อแปรผันอัตราการกวนเป็น 400 500 และ 600 รอบต่อนาที โดยกำหนดให้อัตราการให้อากาศคงที่ ที่ 1.50 ลิตรต่อลิตรอาหารต่อนาที และอุณหภูมิ 33°ซ. แล้วตรวจหาปริมาณการผลิตกรดกลูโคนิค พบว่า*Aspergillus* sp. G153 ใช้เวลาในการผลิตกรดกลูโคนิคต่างกันเมื่ออัตราการกวนต่างกัน กล่าวคือ ที่อัตราการกวน 400 รอบต่อนาที มีผลผลิตกรดสูงสุด 151.24 กรัมต่อลิตร ที่ 48 ชั่วโมง(รูปที่ 39) อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 189.24 กรัมต่อลิตร ที่ 36 ชั่วโมง (รูปที่ 40) และอัตราการกวน 600 รอบต่อนาที ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 175.70 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 41) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิคที่ได้จากการใช้อัตราการกวนค่าต่าง ๆ กัน (รูปที่ 42) จะเห็นได้ว่าอัตราการกวน 600 รอบต่อนาที จะใช้เวลาในการผลิตกรดน้อยที่สุด แต่มีปริมาณกรดกลูโคนิคน้อยกว่าที่อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และเมื่อคำนึงถึงค่าใช้จ่ายในแง่พลังงาน รวมถึงความสึกหรอของอุปกรณ์ที่จะเกิดขึ้นเมื่อใช้อัตราการกวนสูง ๆ อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที จึงยังคงเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิคในถังหมักขนาด 5 ลิตร

4. ผลของปริมาณหัวเชื้อต่อการผลิตกรดกลูโคนิค

เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp. G153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 2 (ภาคผนวก ก.) ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20% เป็นแหล่งคาร์บอน สภาวะในการเลี้ยงเชื้อ คือ อัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตรต่อลิตรอาหารต่อนาที อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และอุณหภูมิ 33°ซ. แปรผันปริมาณหัวเชื้อเป็น 5 7 และ 10% (ปริมาตรต่อปริมาตร) พบว่าเมื่อใช้หัวเชื้อ 5% ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 189.24 กรัมต่อลิตร ในเวลา 36 ชั่วโมง (รูปที่ 43) เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อ 7% จะให้ผลผลิตกรดสูงสุด 191.28 กรัมต่อลิตร ในเวลา 24 ชั่วโมง (รูปที่ 44) ส่วนปริมาณหัวเชื้อ 10% จะให้ผลผลิตกรดไม่ดีนัก คือ 153.03 กรัมต่อลิตร ในเวลา 54 ชั่วโมง (รูปที่ 45) แต่จะมีการเติบโตมากกว่าปริมาณหัวเชื้อ 5 และ 7% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตและเวลาที่ใช้ในการทดลองจะเห็นได้ว่า ปริมาณหัวเชื้อ 7% เหมาะสมที่สุดในการผลิตกรดในถังหมักขนาด 5 ลิตร (รูปที่ 46)

ผลการเปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิคในระดับขวดเขย่ากับถังหมักขนาด 5 ลิตรภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp. G153 ในระดับขวดเขย่าและถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้สภาวะและอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมของแต่ละการทดลองคือ ระดับขวดเขย่า มีแป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน ใช้น้ำประปาในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้เครื่องเขย่าแบบโรตารี ความเร็ว 200 รอบต่อนาที พบว่า ให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงถึง 92.93% (คิดเทียบกับน้ำตาลกลูโคสตั้งต้น) ในเวลา 5 วัน (รูปที่ 47) ระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร มีแป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน ใช้น้ำประปาในการเตรียมอาหารเลี้ยง อัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตรต่อลิตรอาหารต่อนาที อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และอุณหภูมิ 33°ซ. พบว่า ให้ผลผลิตกรดสูง 95.64% ในเวลา 24 ชั่วโมง (รูปที่ 47)



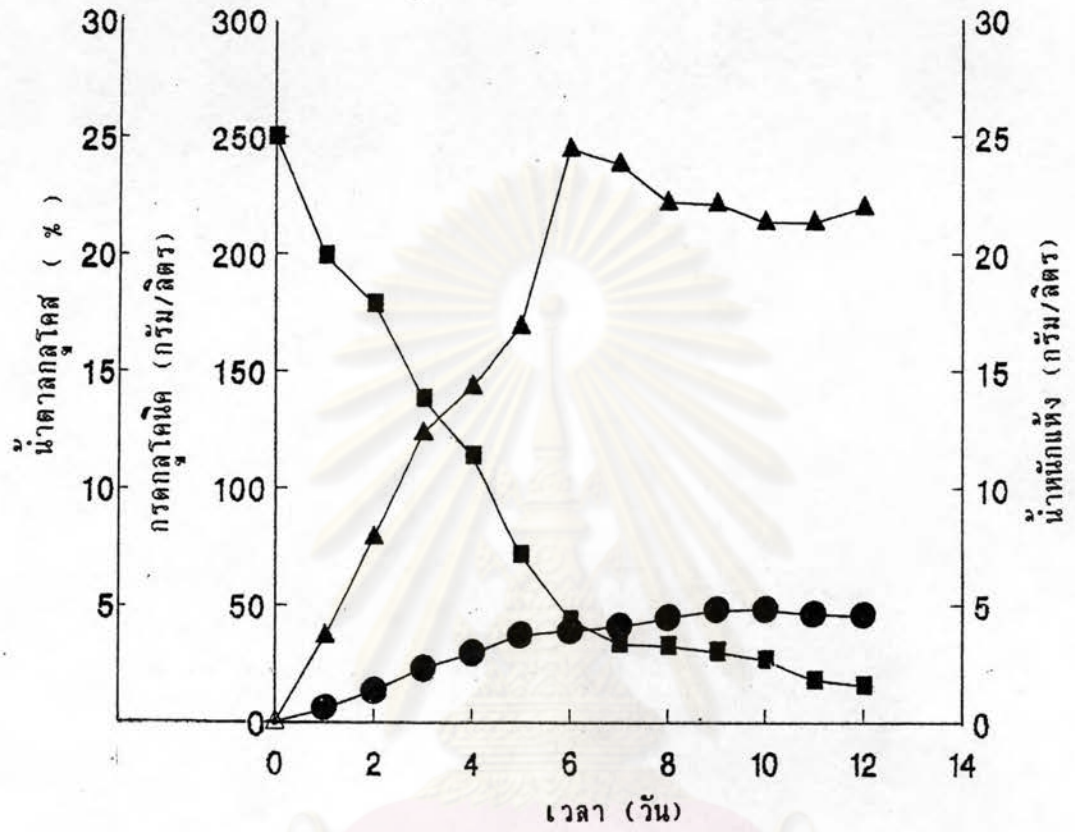
รูปที่ 3 ผลผลิตกรดกลูโคนิคจาก *Aspergillus* sp. G153 เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อนาน 12 วัน ที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้น้ำตาลกลูโคส 25% ที่ได้จากการหมักข้าวด้วย *Rhizopus oryzae* เป็นแหล่งคาร์บอน ใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน หัวเชื้อขนาด $2.5\text{-}5.0\times10^{7}$ สปอร์/มล. ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

i17888600

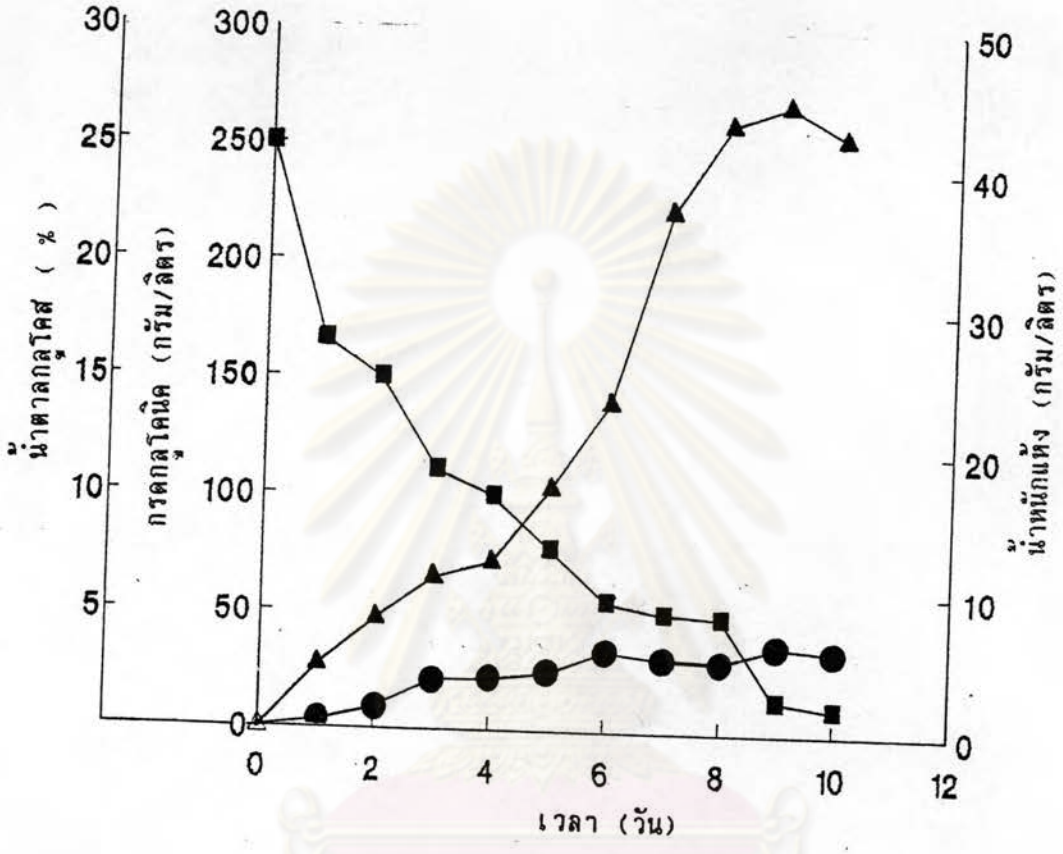


รูปที่ 4 ผลผลิตกรดกลูโคนิคจาก *Aspergillus* sp. G153 เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อนาน 12 วัน ที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้น้ำตาลกลูโคส 25% ที่ได้จากการหมักข้าวด้วย *Aspergillus niger* เป็นแหล่งคาร์บอน ใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน หัวเชื้อขนาด $2.5\text{-}5.0 \times 10^{7}$ สปอร์/มล. ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

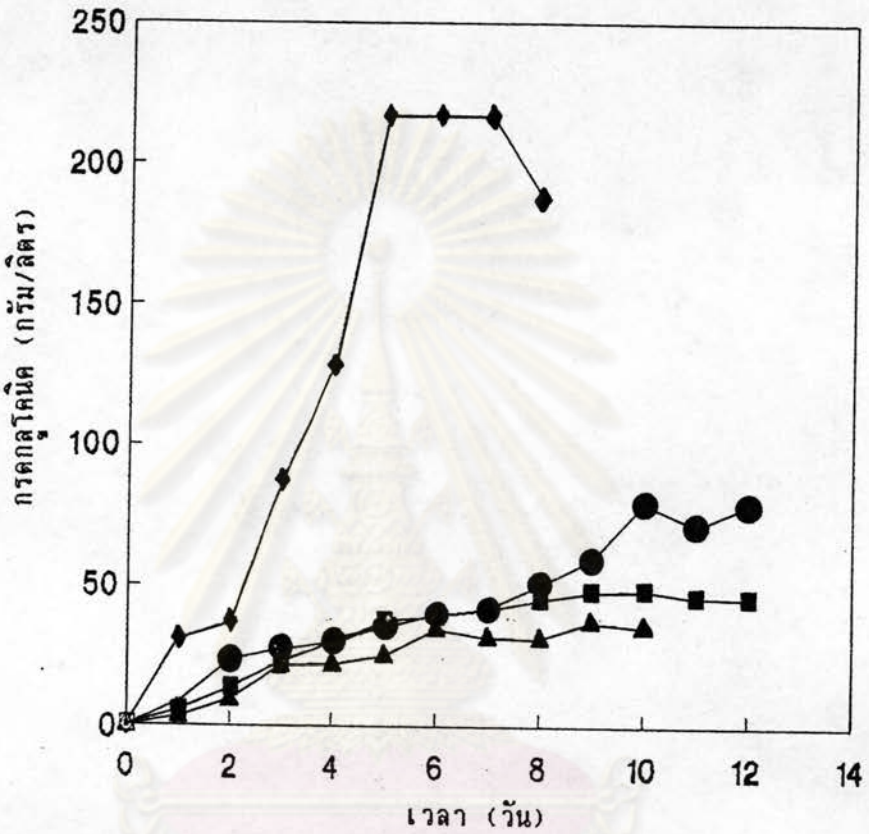


รูปที่ 5 ผลผลิตกรดกลูโคนิคจาก *Aspergillus* sp. G153 เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคส 25% ที่ได้จากการหมักข้าวด้วย *Aspergillus oryzae* เป็นแหล่งคาร์บอน ใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน หัวเชื้อขนาด $2.5\text{-}5.0 \times 10^{7}$ สปอร์/มล. เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 วัน ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต



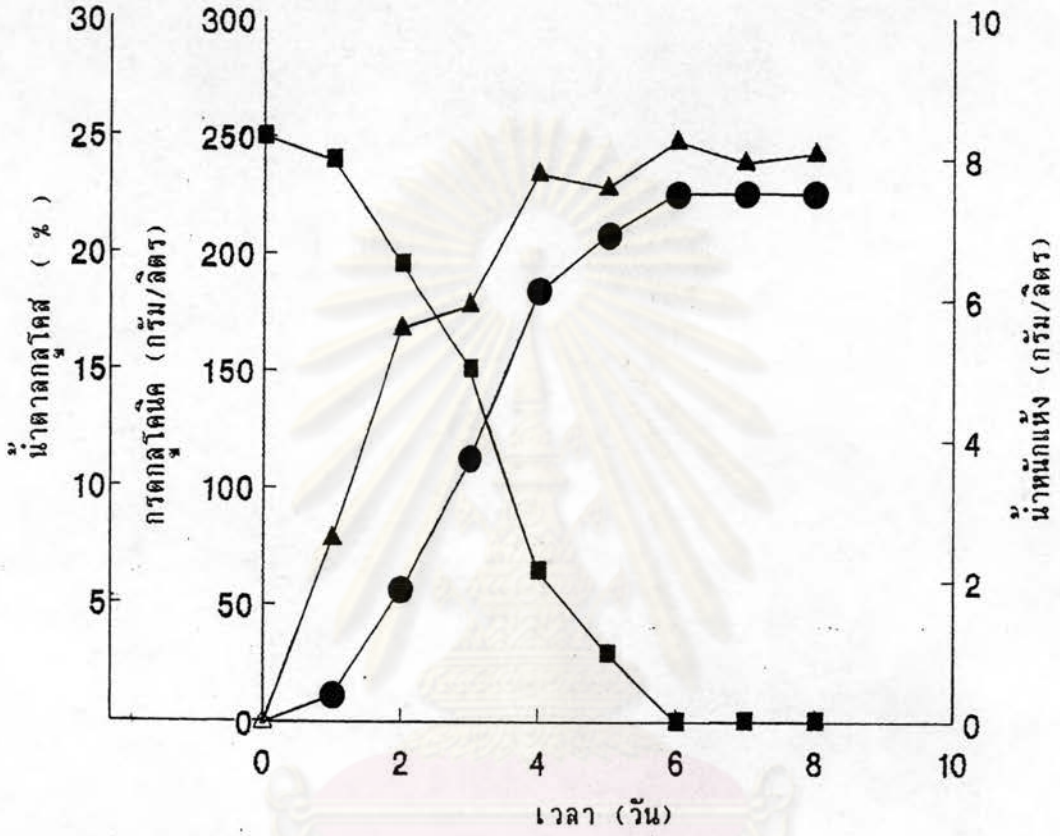
รูปที่ 6 เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิคที่สร้างขึ้นโดย *Aspergillus* sp. G153 เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนต่างกันที่ความเข้มข้น 25% (น้ำหนักต่อปริมาตร)

● หมายถึง กรดกลูโคนิคที่ได้จากน้ำตาลจากการหมักข้าวด้วย *Rhizopus oryzae*

■ หมายถึง กรดกลูโคนิคที่ได้จากน้ำตาลจากการหมักข้าวด้วย *Aspergillus niger*

▲ หมายถึง กรดกลูโคนิคที่ได้จากน้ำตาลจากการหมักข้าวด้วย *Aspergillus oryzae*

◆ หมายถึง กรดกลูโคนิคที่ได้จากน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์

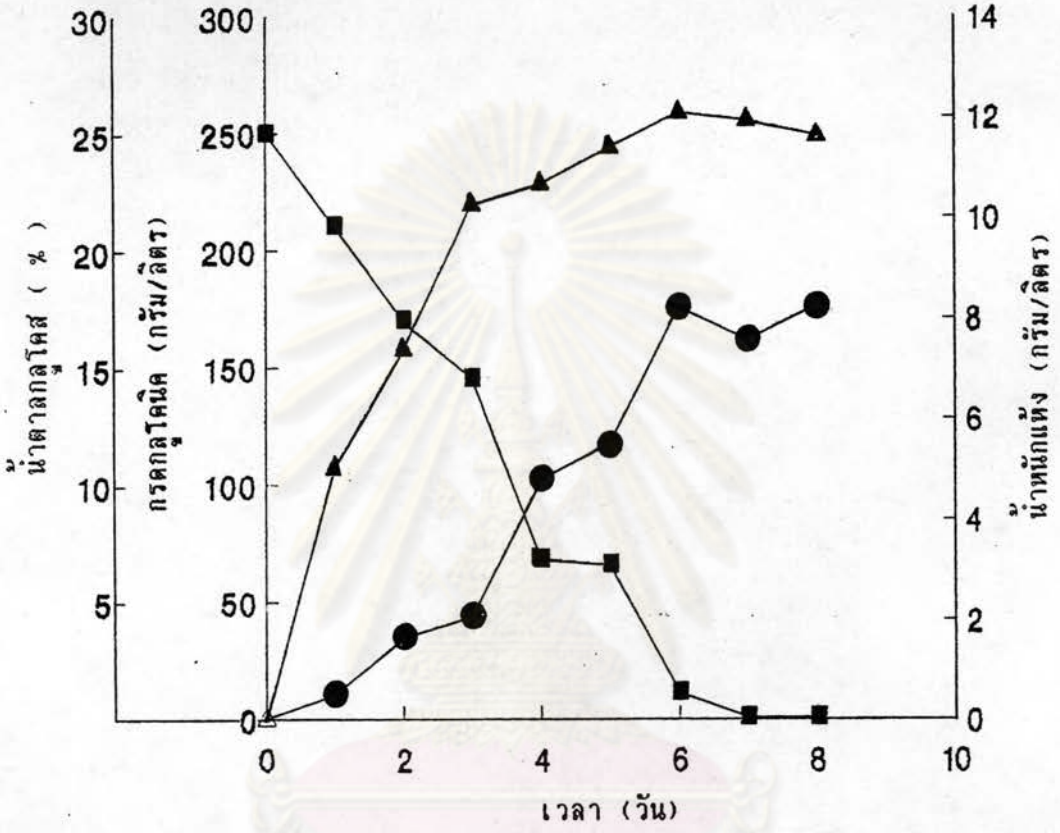


รูปที่ 7 ปริมาณการผลิตกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนเป็นแป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจนขนาดของหัวเชื้อ $2.5\text{-}5.0\times10^{7}$ สปอร์ง่อก/มล. เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

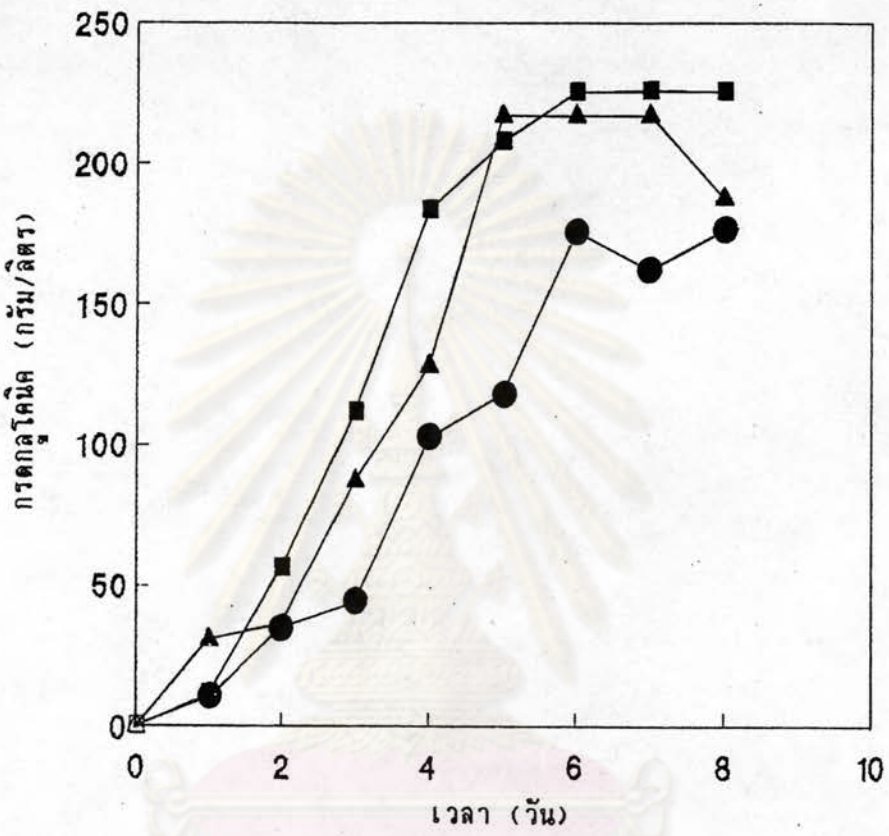


รูปที่ 8 ปริมาณการผลิตกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนเป็นแป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ไม่ได้ผ่านการกรองที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจนขนาดของหัวเชื้อ $2.5\text{-}5.0\times10^{7}$ สปอร์ต่อมล. เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

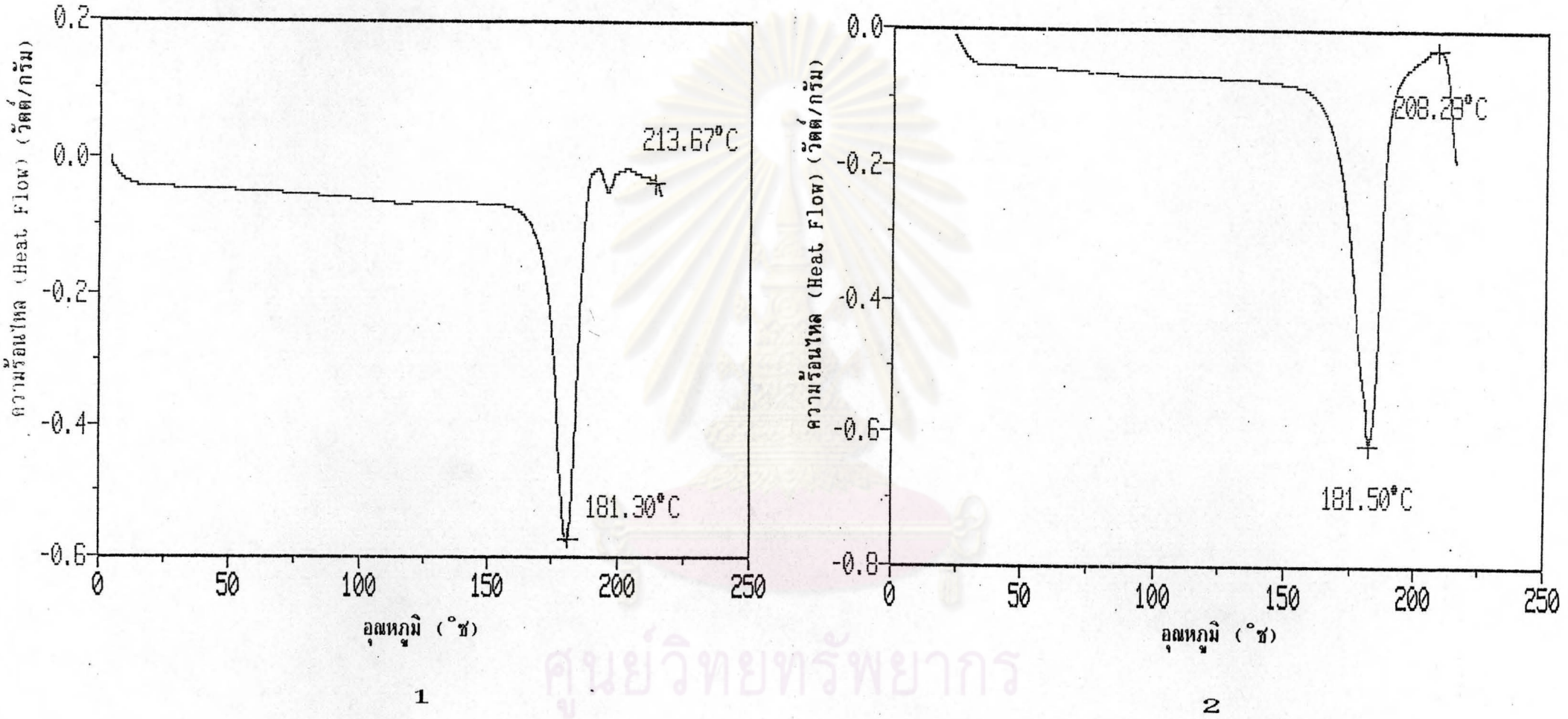


รูปที่ 9 เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิคที่สร้างขึ้นโดย *Aspergillus* sp. G153 เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสและน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 25% (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอน

—●— หมายถึง แป้งไฮโดรไลเสสที่ไม่ได้ผ่านการกรองเอาแป้งที่ไม่ได้ถูกย่อยสลายออก

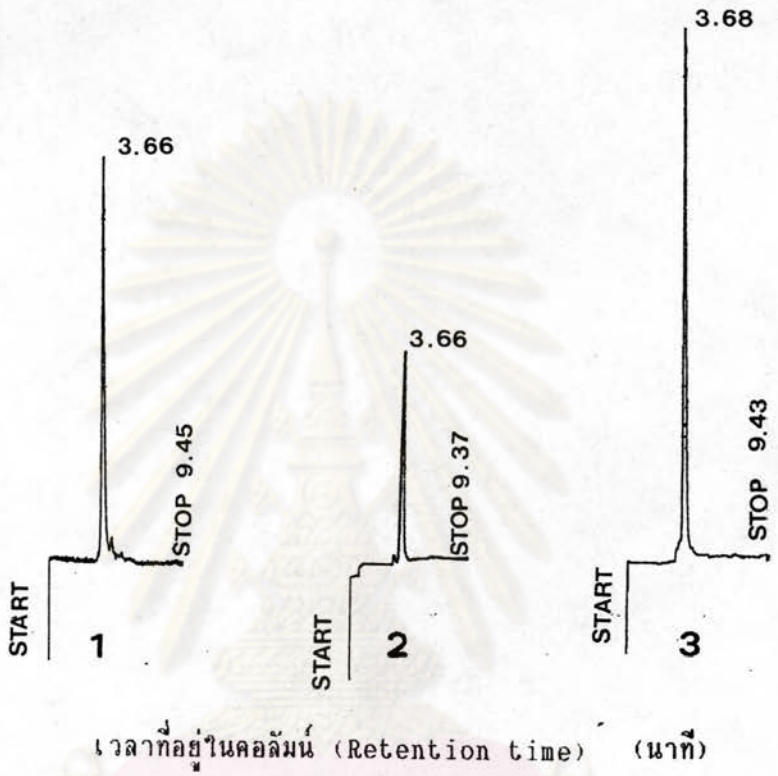
—■— หมายถึง แป้งไฮโดรไลเสสที่ผ่านการกรองเอาแป้งที่ไม่ได้ถูกย่อยสลายออก

—▲— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

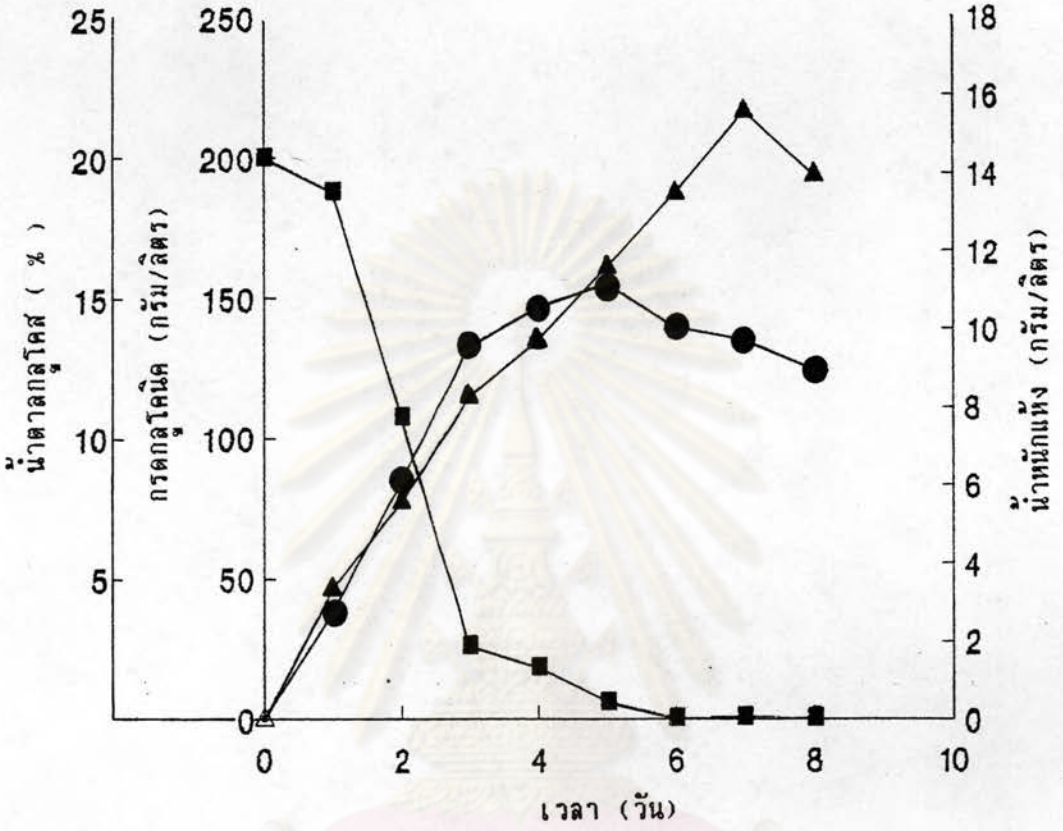


รูปที่ 10 เทอร์โมแกรมของเกลือแคลเซียมกลูโคเนตที่สร้างโดย *Aspergillus* sp. G153 (1) และของแคลเซียมกลูโคเนตมาตรฐาน (2)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 11 HPLC โครมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ที่สร้างโดย *Aspergillus* sp. G153 (1) กรดกลูโคนิกมาตรฐาน (2) และกรดอินทรีย์ที่สร้างโดย *Aspergillus* sp. G153 ผสมกับกรดกลูโคนิกมาตรฐาน (3)

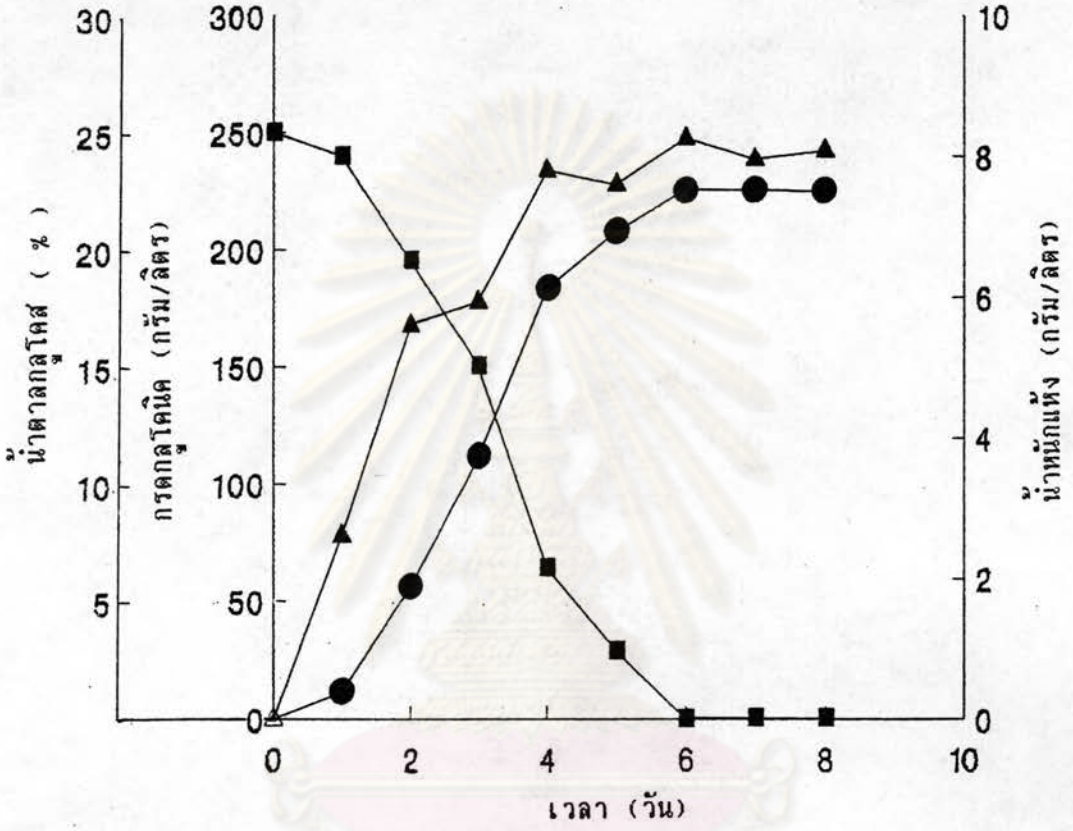


รูปที่ 12 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองมีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

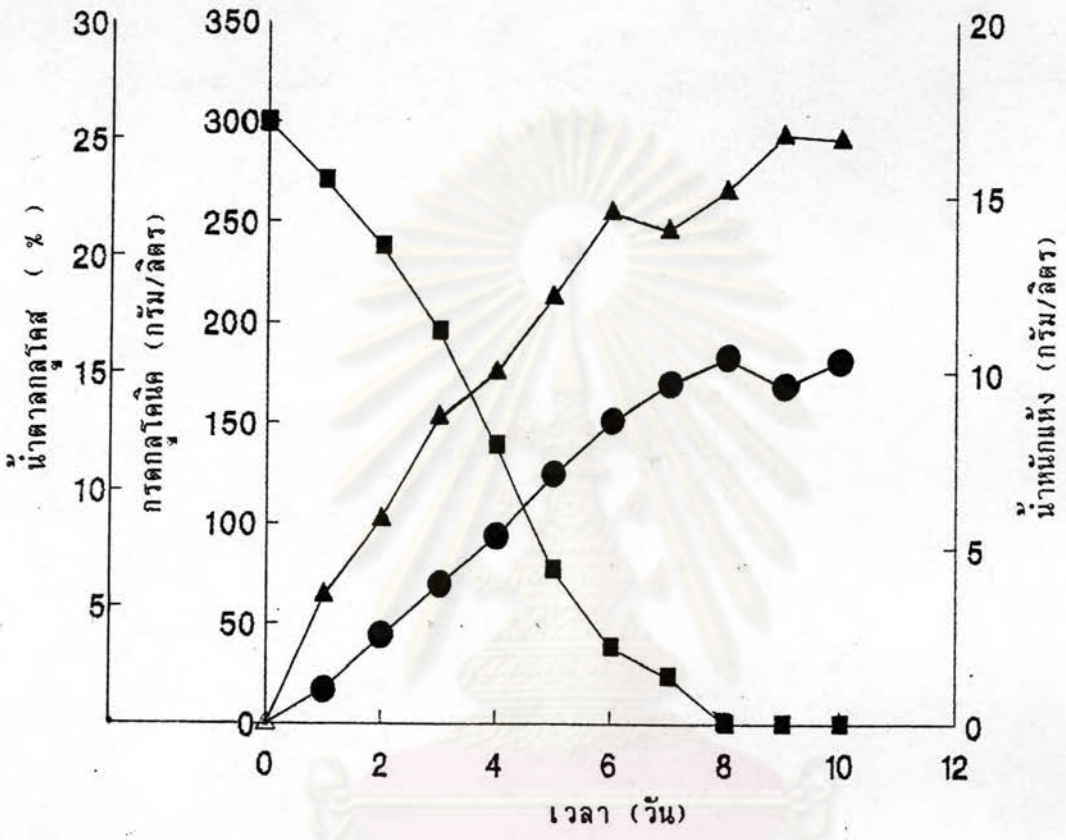


รูปที่ 13 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองมีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

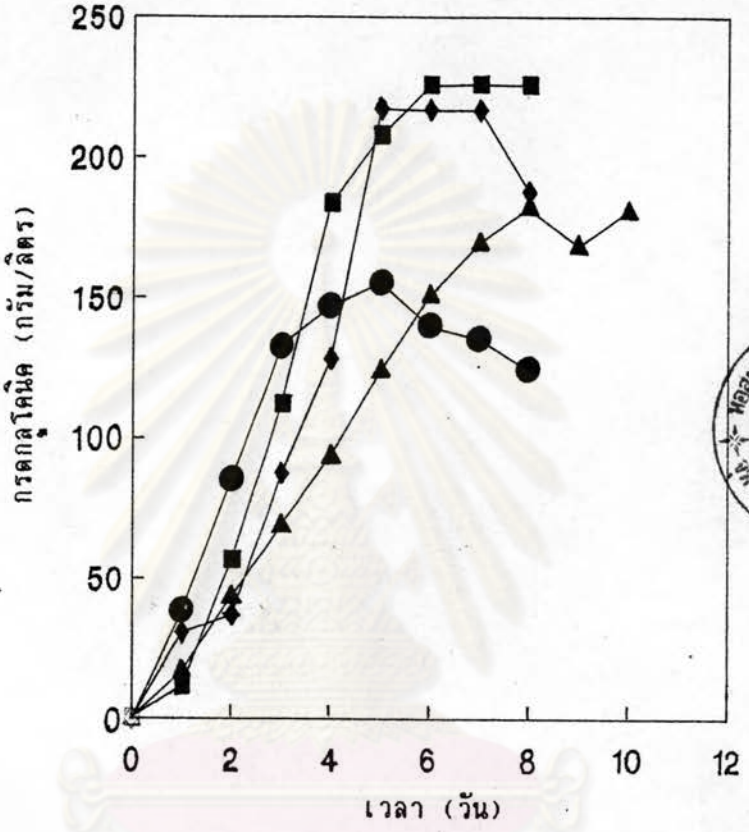


รูปที่ 14 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองมีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

—●— หมายถึง กรดกลูโคนิค

—■— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

—▲— หมายถึง การเติบโต



หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

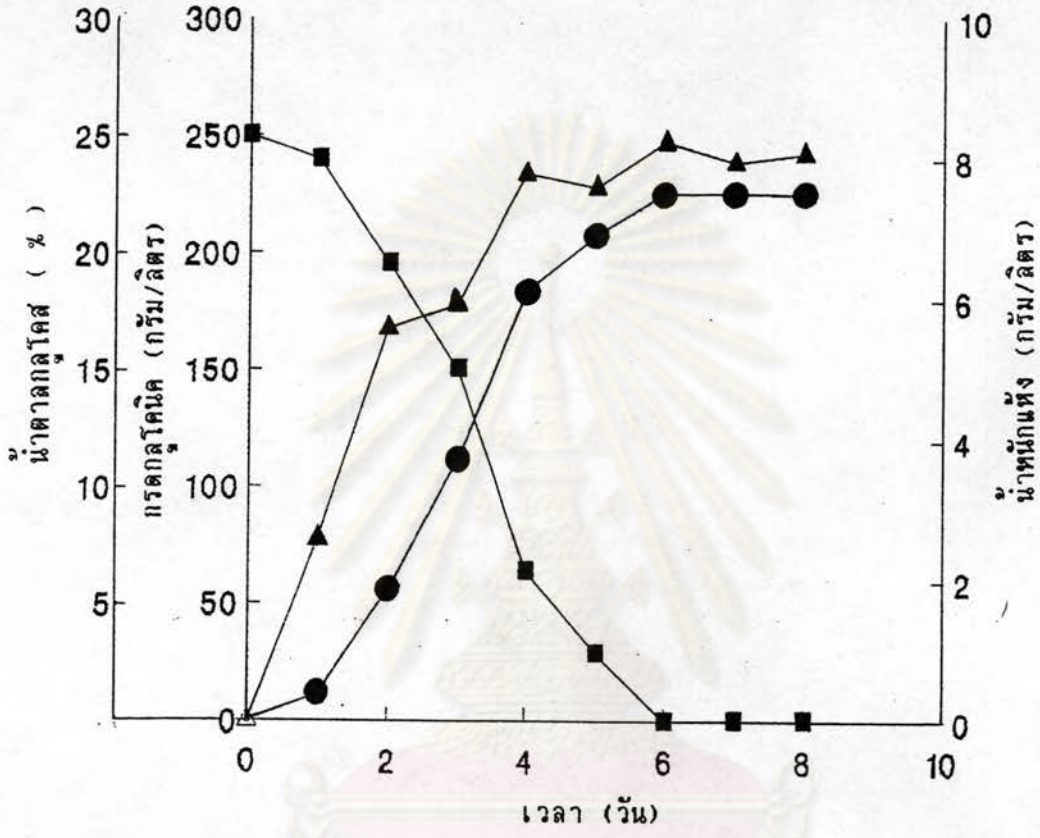
รูปที่ 15 เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิค เมื่อแปรผันความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสในแป้งไฮโดรไลเสสต่าง ๆ กัน

—●— หมายถึง แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20%

—■— หมายถึง แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25%

—▲— หมายถึง แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30%

—◆— หมายถึง น้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์เข้มข้น 25%

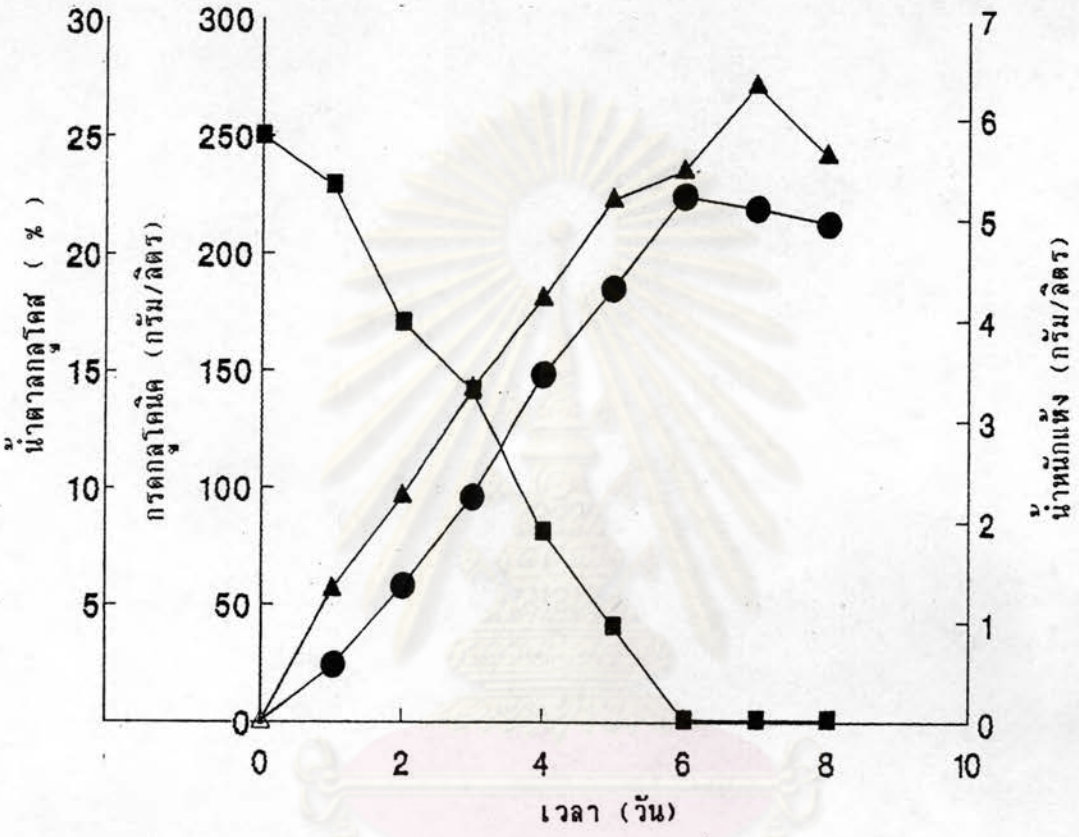


รูปที่ 16 ผลผลิตกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรอง มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% (85 มก. ไนโตรเจน/100 มล. อาหารเลี้ยงเชื้อ) เป็นแหล่งไนโตรเจน เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

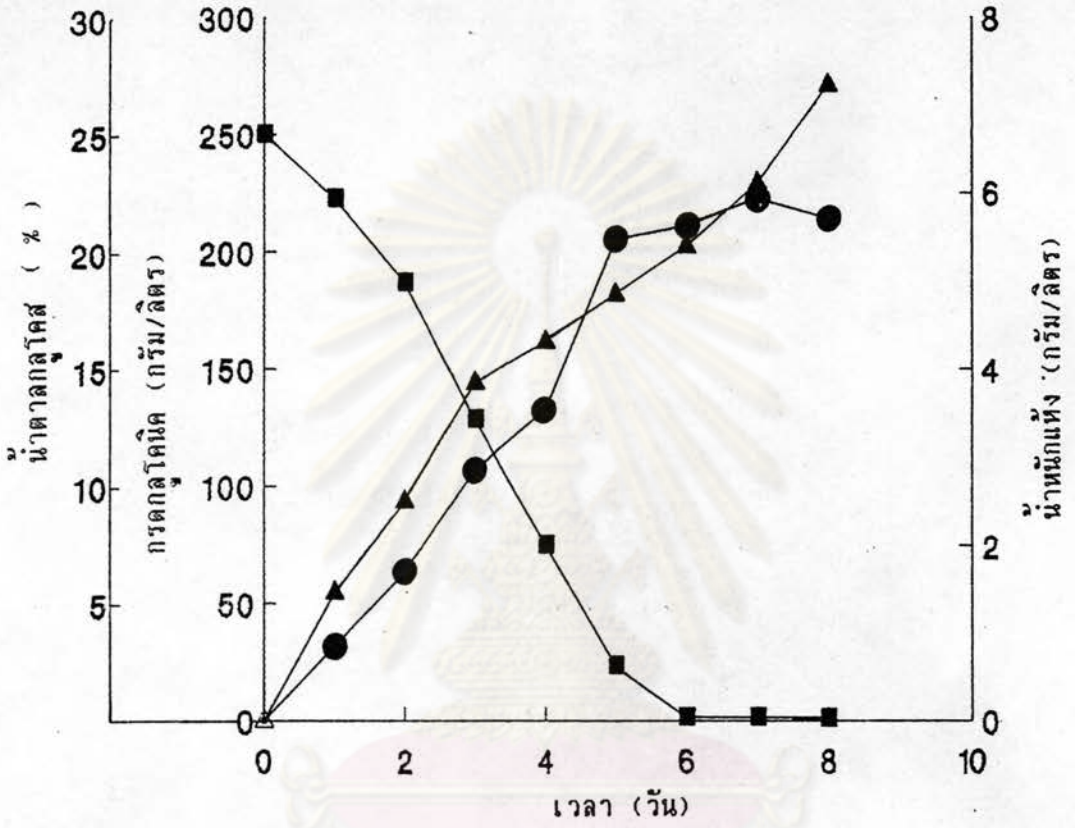


รูปที่ 17 ผลผลิตกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรอง มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอน ใช้กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่มีไนโตรเจน 10 มก. ต่อ 100 มล. อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นแหล่งไนโตรเจน เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

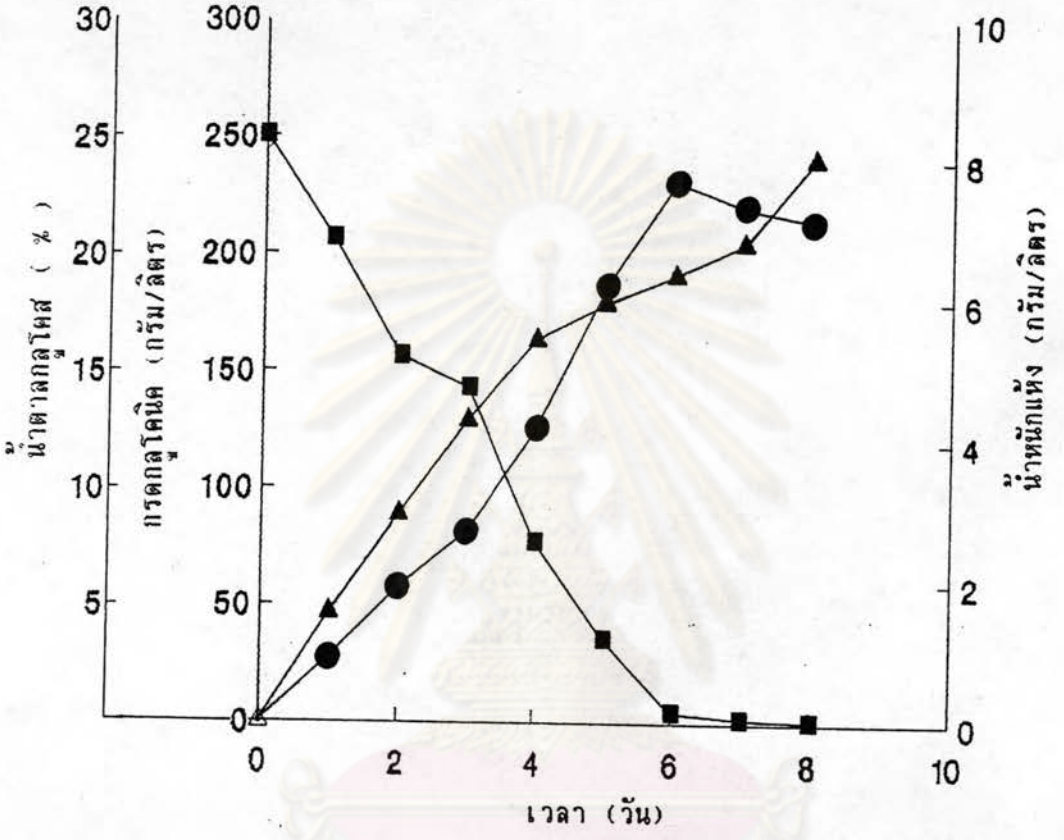


รูปที่ 18 ผลผลิตกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรอง มีน้ำตาลกลูโคส 25% เป็นแหล่งคาร์บอน ใช้กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่มีไนโตรเจน 15 มก. ต่อ 100 มล. อาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นแหล่งไนโตรเจน เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

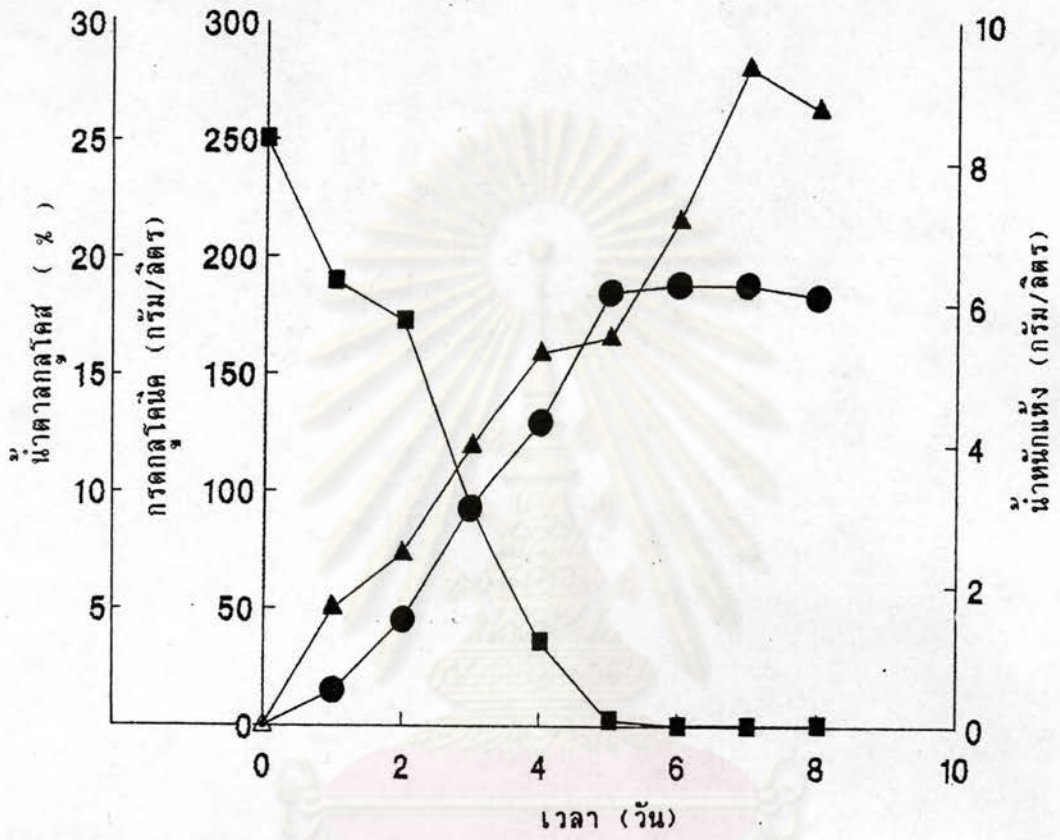


รูปที่ 19 ผลผลิตกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองมีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอน ใช้กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่มีไนโตรเจน 20 มก. ต่อ 100 มล. อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นแหล่งไนโตรเจน เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

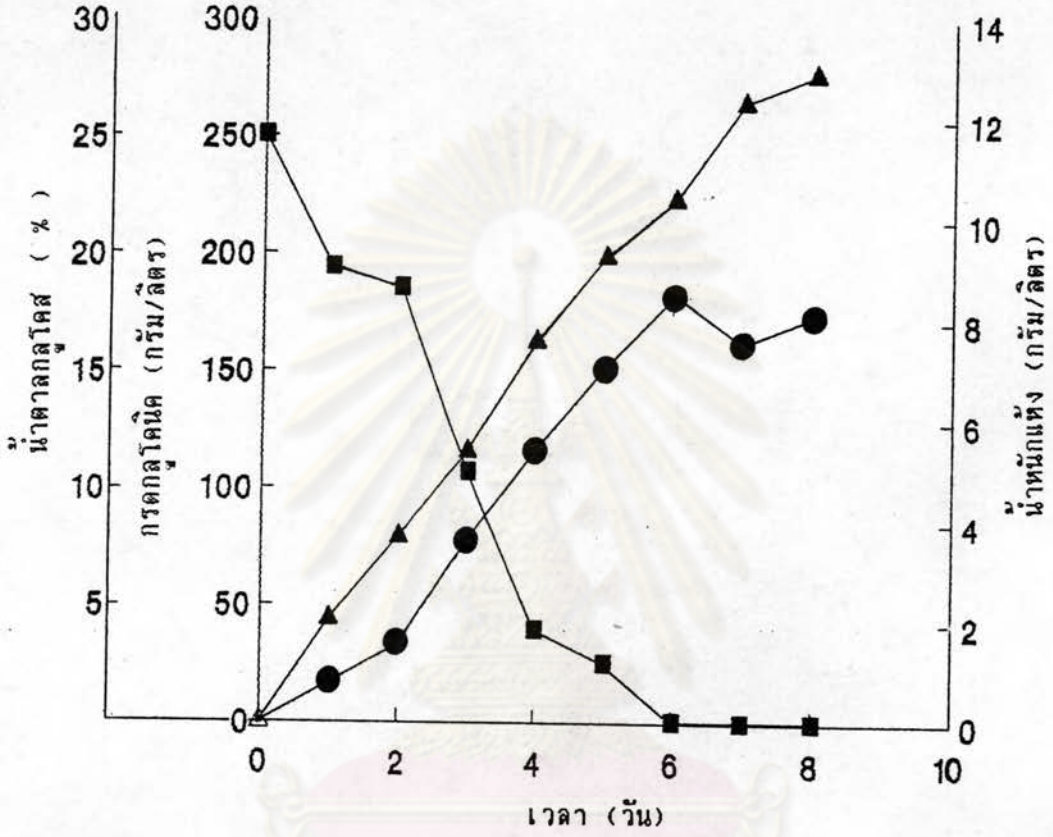


รูปที่ 20 ผลผลิตกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรอง มีน้ำตาลกลูโคส 25% เป็นแหล่งคาร์บอน ใช้กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่มีไนโตรเจน 25 มก. ต่อ 100 มล. อาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นแหล่งไนโตรเจน เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

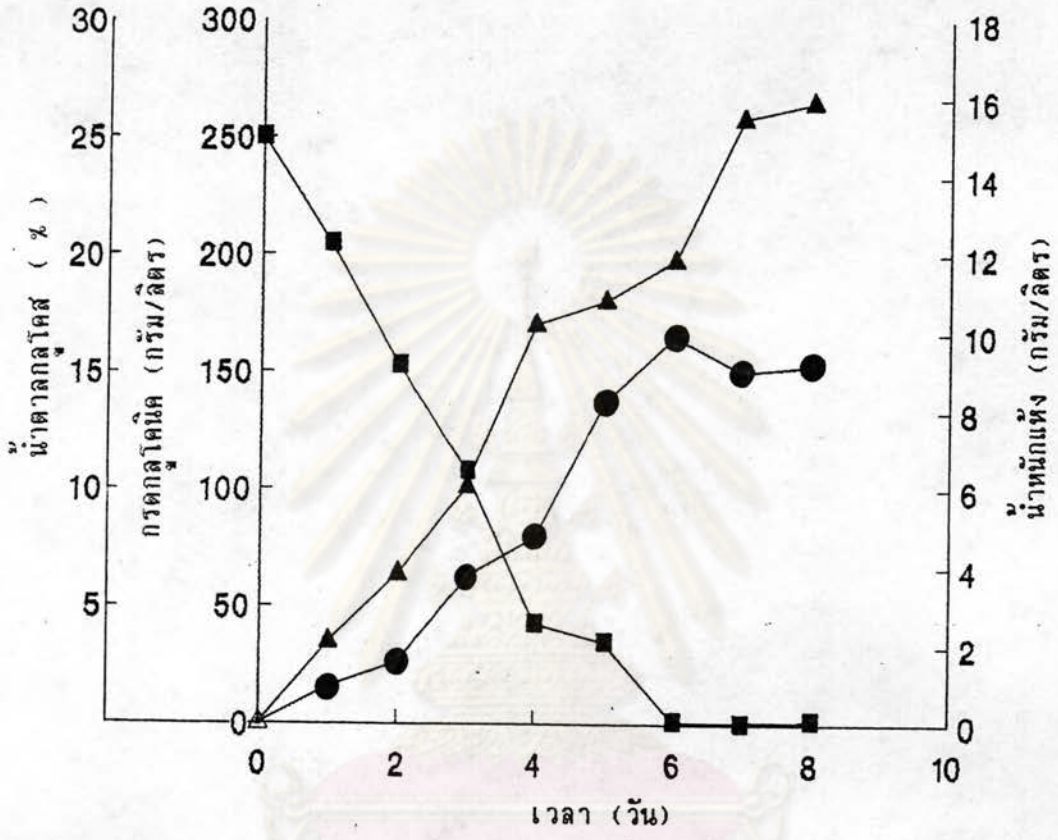


รูปที่ 21 ผลผลิตกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรอง มีน้ำตาลกลูโคส 25% เป็นแหล่งคาร์บอน ใช้กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่มีไนโตรเจน 55 มก. ต่อ 100 มล. อาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นแหล่งไนโตรเจน เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

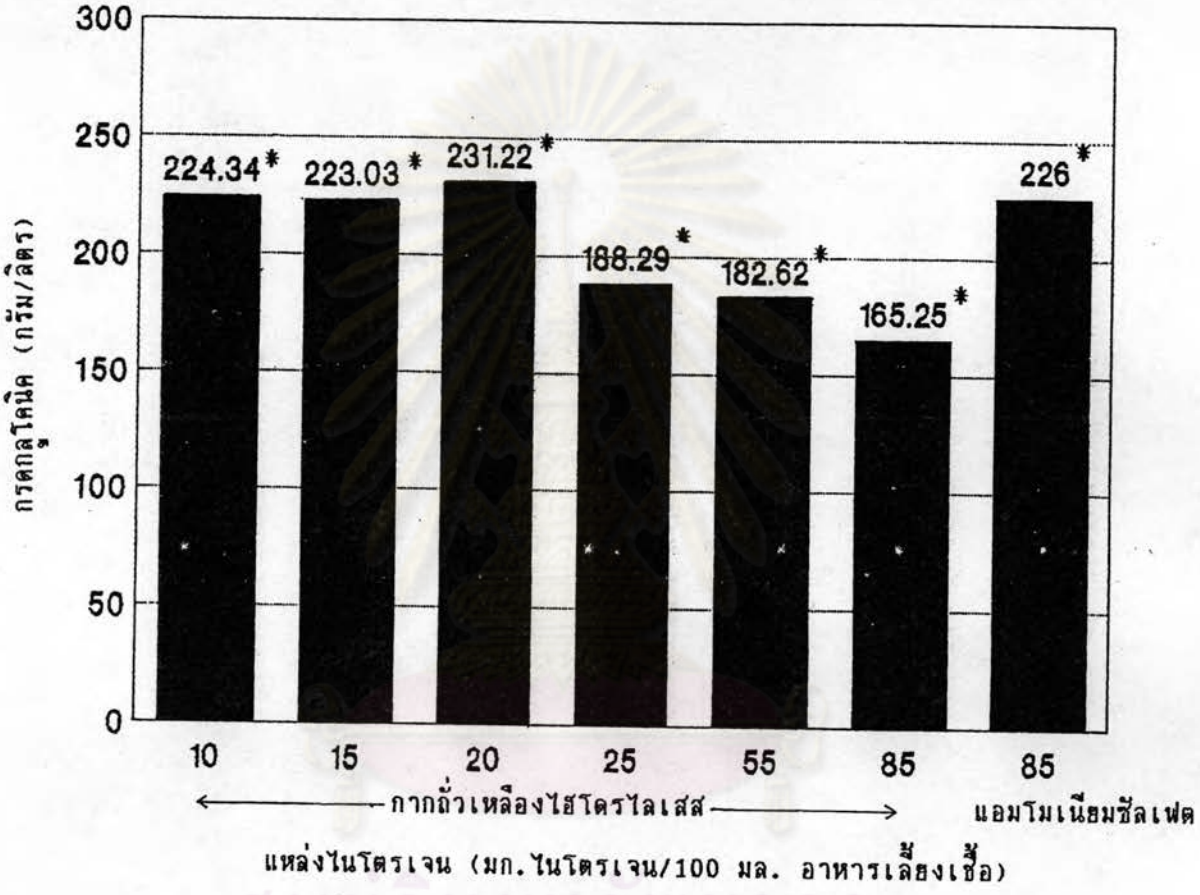


รูปที่ 22 ผลผลิตกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรอง มีน้ำตาลกลูโคส 25% เป็นแหล่งคาร์บอน ใช้กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่มีไนโตรเจน 85 มก. ต่อ 100 มล. อาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นแหล่งไนโตรเจน เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

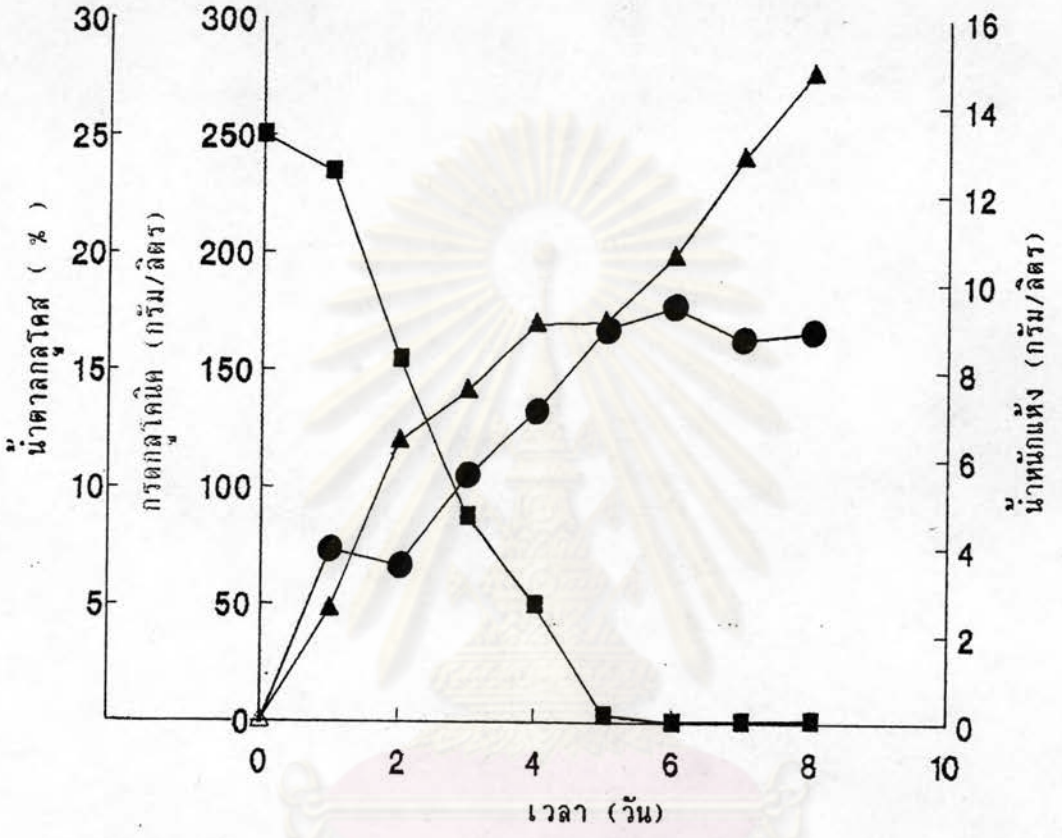
■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต



รูปที่ 23 เปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิค เมื่อใช้กากถั่วเหลืองไฮโดรไลเสสที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันกับแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณที่เหมาะสม (85 มก. ไนโตรเจน/100 มล.อาหารเลี้ยงเชื้อ) เป็นแหล่งไนโตรเจน ใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอน เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบโรตารี่ ความเร็ว 200 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง

* หมายถึง ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ

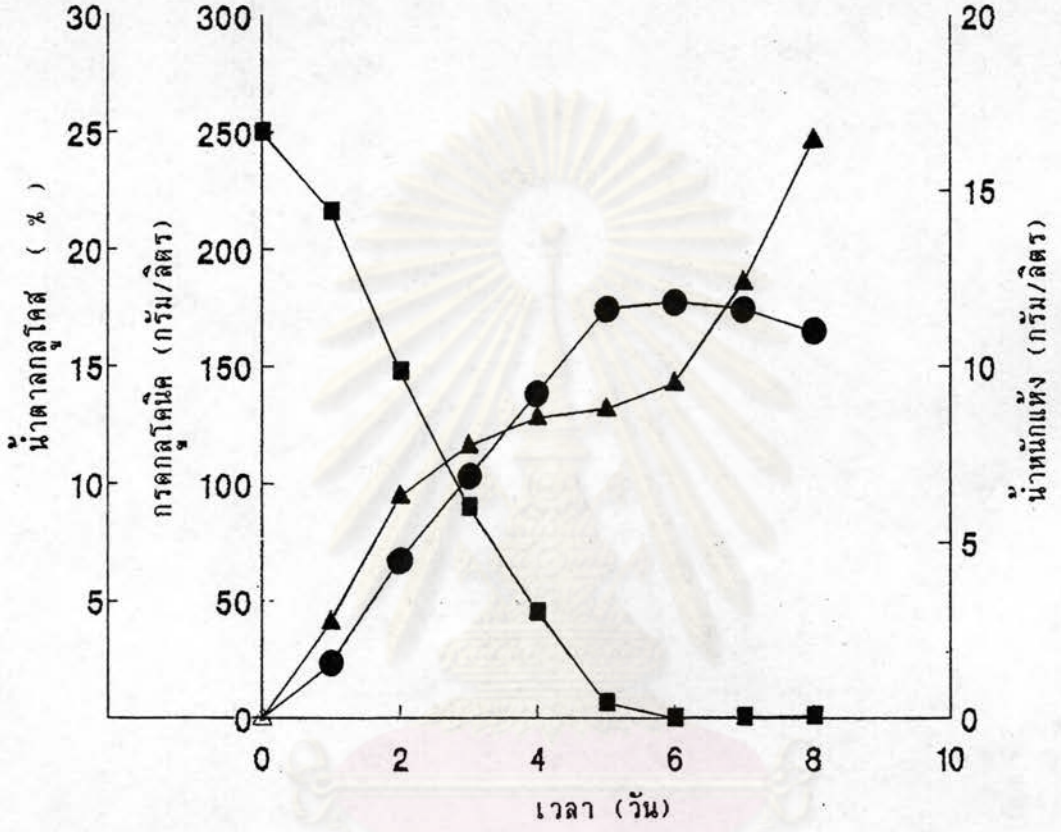


รูปที่ 24 ปริมาณกรดกลูโคนิค จาก *Aspergillus* sp. G153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน ใช้น้ำประปาแทนน้ำปลอดประจุในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

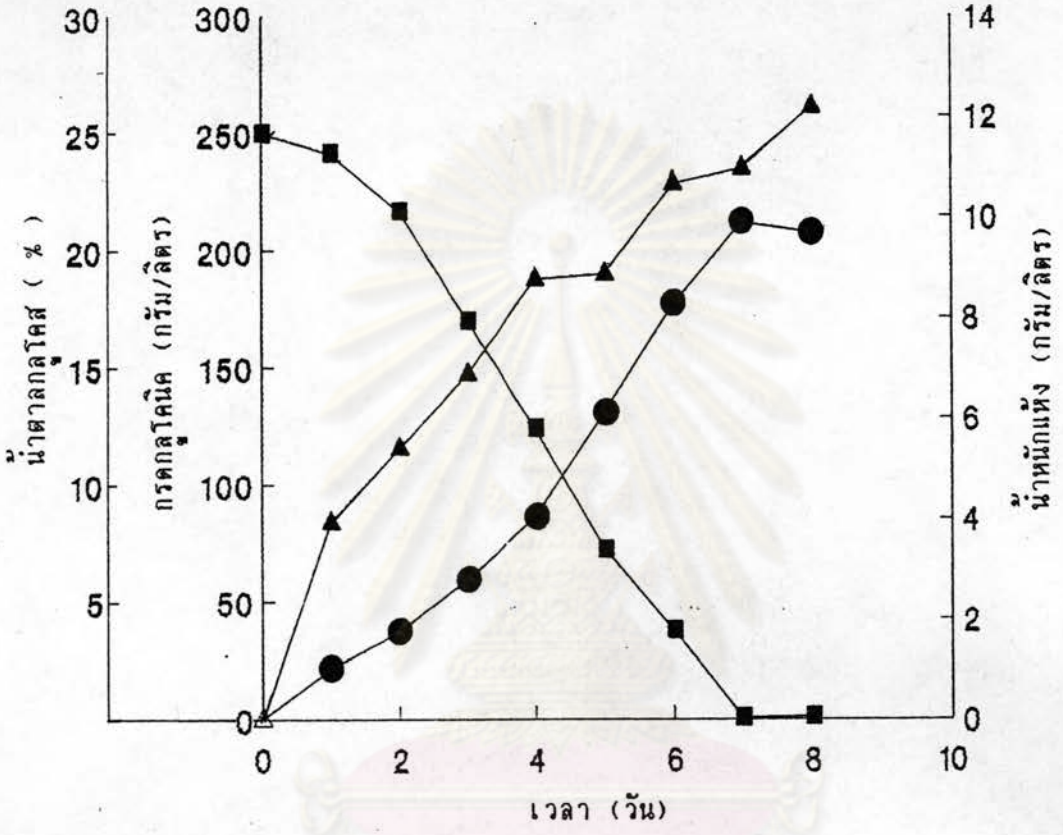


รูปที่ 25 ปริมาณกรดกลูโคนิคจาก *Aspergillus* sp. G153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน ใช้น้ำประปาแทนน้ำปลอดประจุ ไม่เติมเหล็กในรูป $FeSO_4.7H_2O$ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

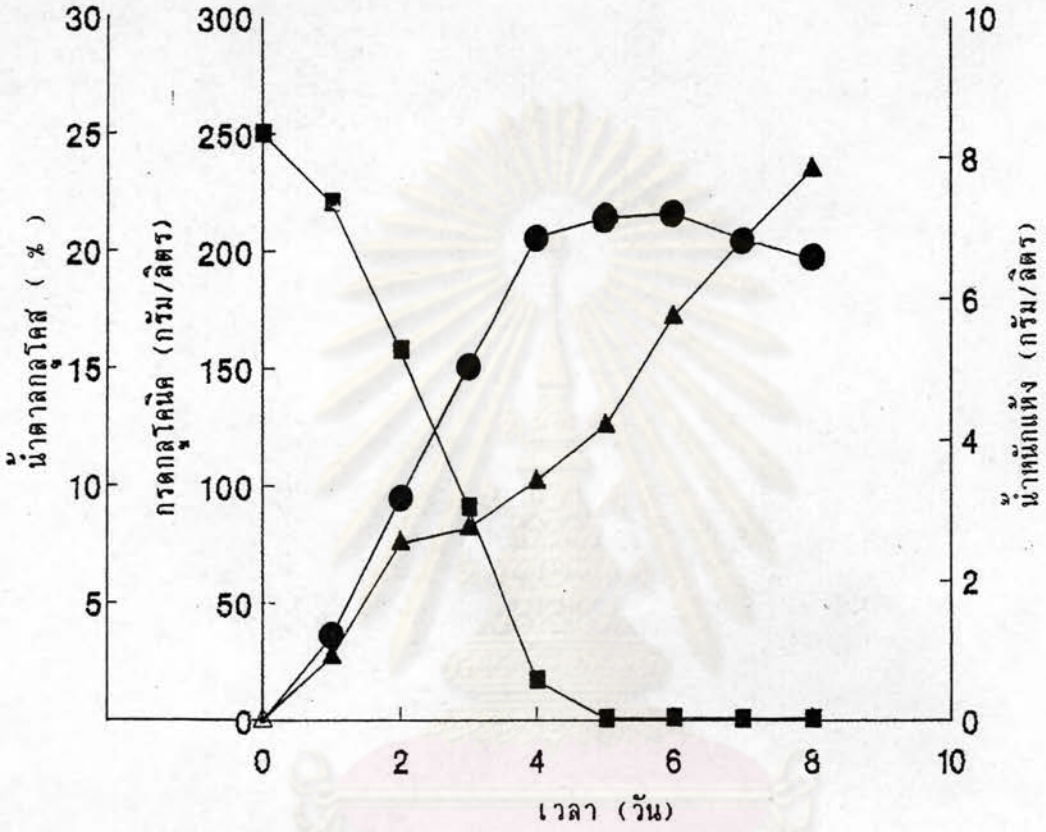


รูปที่ 26 ปริมาณกรดกลูโคนิคจาก *Aspergillus* sp. G153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองซึ่งมีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน ใช้น้ำประปาแทนน้ำปลอดประจุ ไม่เติมเหล็กในรูป $FeSO_4.7H_2O$ และแมกนีเซียมในรูป $MgSO_4.7H_2O$ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

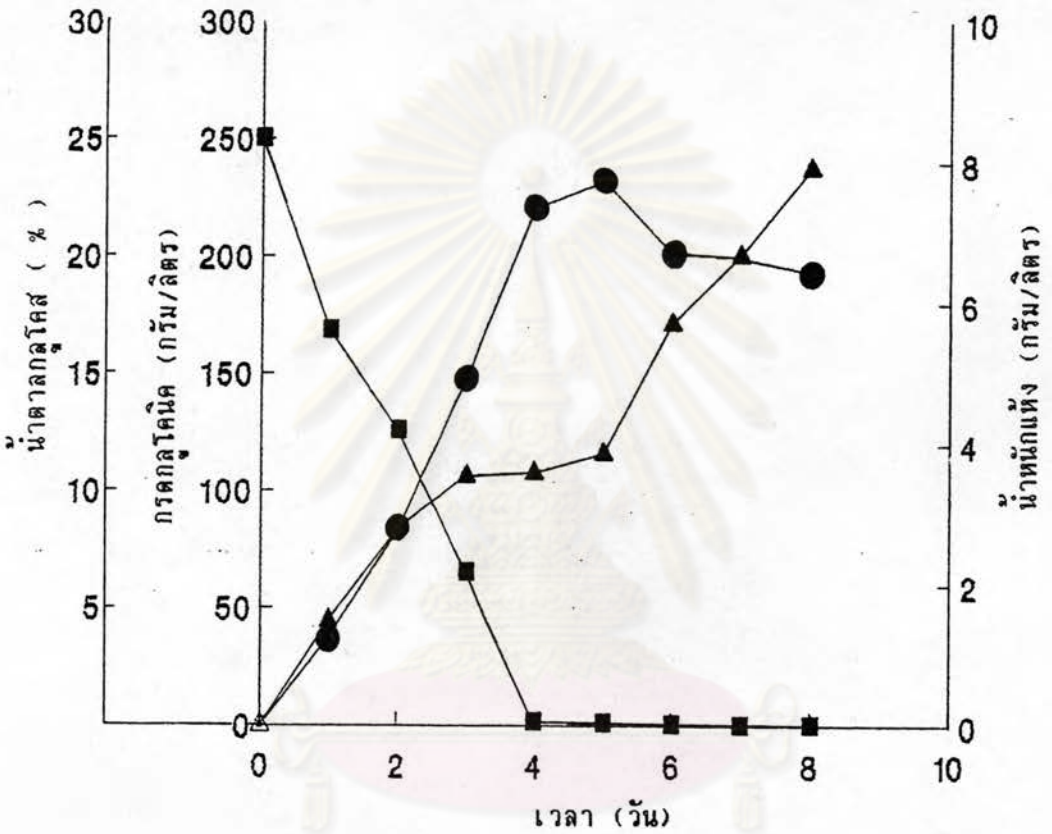


รูปที่ 27 ปริมาณกรดกลูโคนิคจาก *Aspergillus* sp. G153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองซึ่งมีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน ใช้น้ำประปาแทนน้ำปลอดประจุ ไม่เติมเหล็กในรูป $FeSO_4.7H_2O$ แมกนีเซียมในรูป $MgSO_4.7H_2O$ และโปตัสเซียมในรูป KH_2PO_4 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

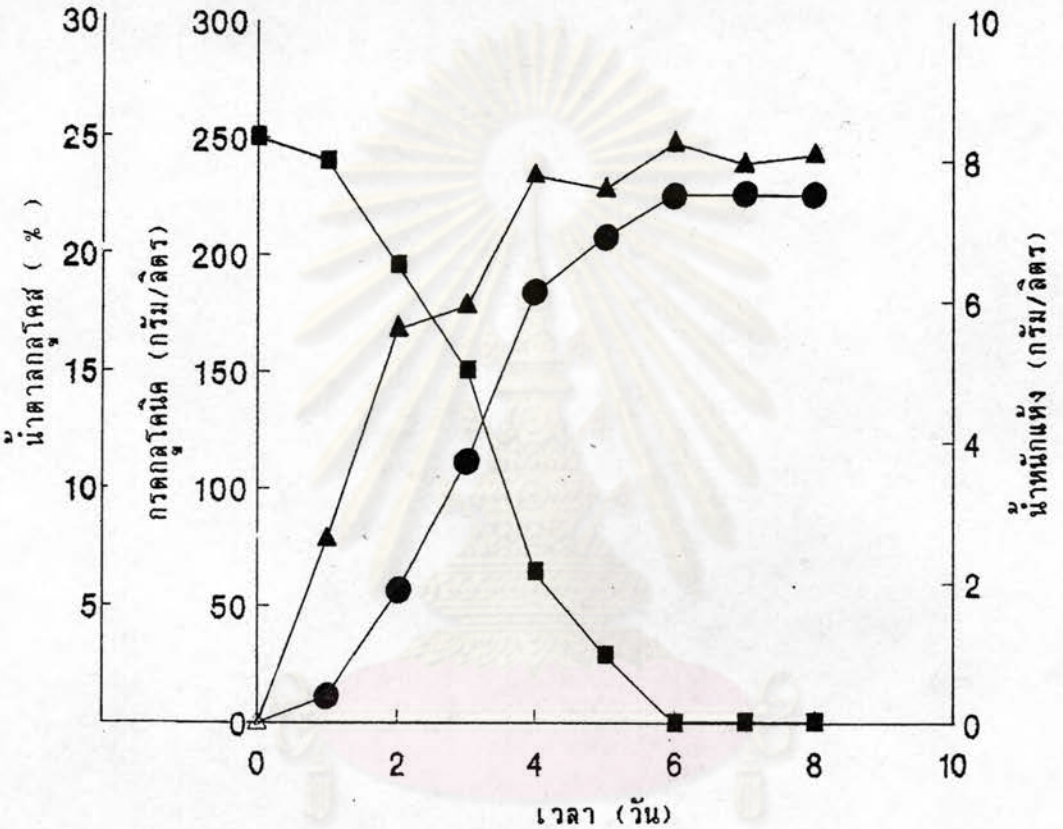


รูปที่ 28 ปริมาณกรดกลูโคนิคจาก *Aspergillus* sp. G153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองซึ่งมีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน ใช้น้ำประปาแทนน้ำปลอดประจุ ไม่เติมเหล็กในรูป $FeSO_4.7H_2O$ แมกนีเซียมในรูป $MgSO_4.7H_2O$ โปตัสเซียมในรูป KH_2PO_4 และแมงกานีสในรูป $MnSO_4.4H_2O$ เพาะเลี้ยง ที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

—●— หมายถึง กรดกลูโคนิค

—■— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

—▲— หมายถึง การเติบโต

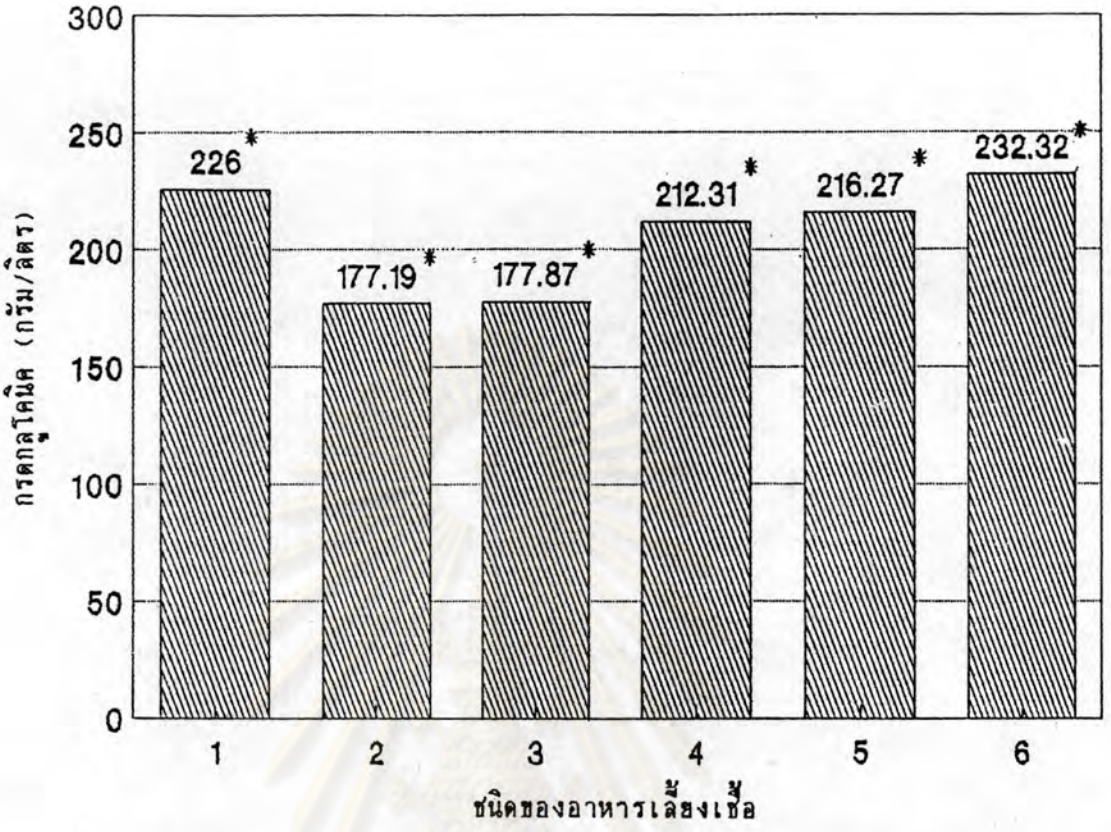


รูปที่ 29 ปริมาณกรดกลูโคนิคจาก *Aspergillus* sp. G153 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองซึ่งมีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน ใช้น้ำปลอดประจุ และมีธาตุที่เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อครบ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

—●— หมายถึง กรดกลูโคนิค

—■— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

—▲— หมายถึง การเติบโต



รูปที่ 30 เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิค เมื่อใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมโดยน้ำประปา และน้ำปลอดประจุ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที

1 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่เหมาะสม** และใช้น้ำปลอดประจุ

2 หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่เหมาะสม** และใช้น้ำประปา

3 หมายถึง 2 ไม่เติม $FeSO_4.7H_2O$

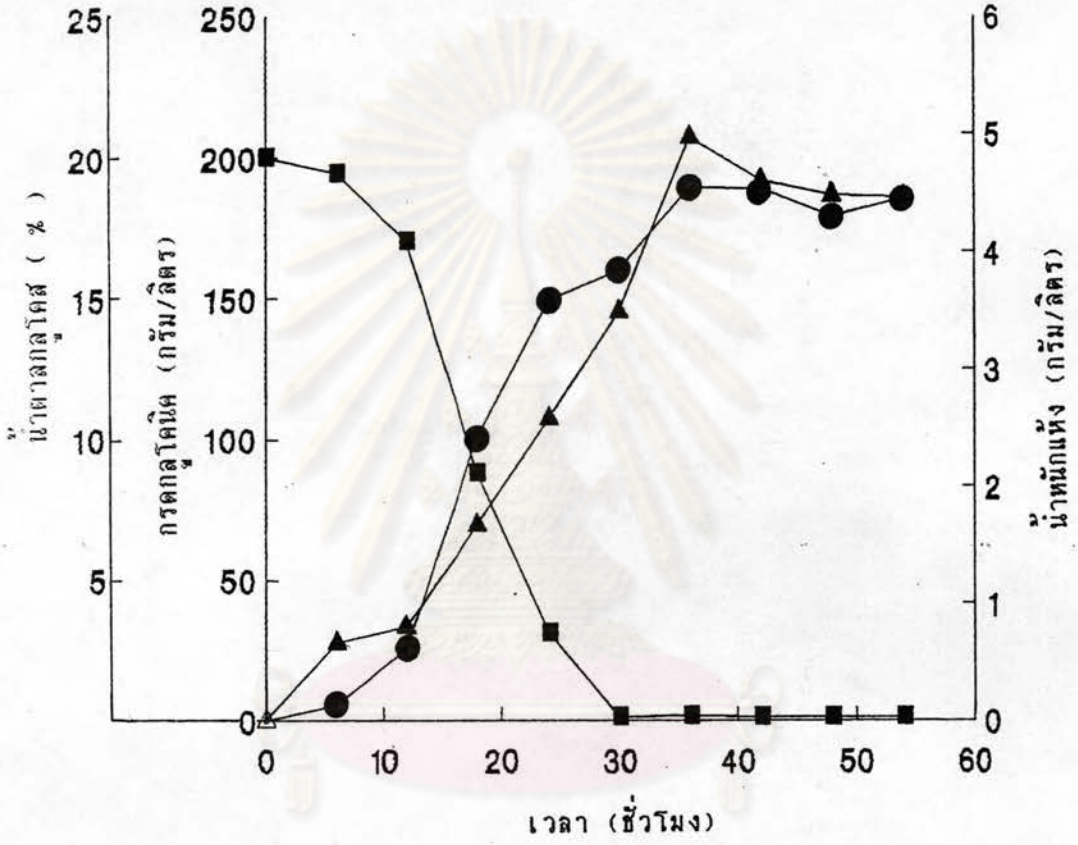
4 หมายถึง 2 ไม่เติม $FeSO_4.7H_2O$ และ $MgSO_4.7H_2O$

5 หมายถึง 2 ไม่เติม $FeSO_4.7H_2O$ $MgSO_4.7H_2O$ และ KH_2PO_4

6 หมายถึง 2 ไม่เติม $FeSO_4.7H_2O$ $MgSO_4.7H_2O$ KH_2PO_4 และ $MnSO_4.4H_2O$

* หมายถึง ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ

** หมายถึง อาหารสูตรที่ 1 (ภาคผนวก ก.) แต่ใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอน

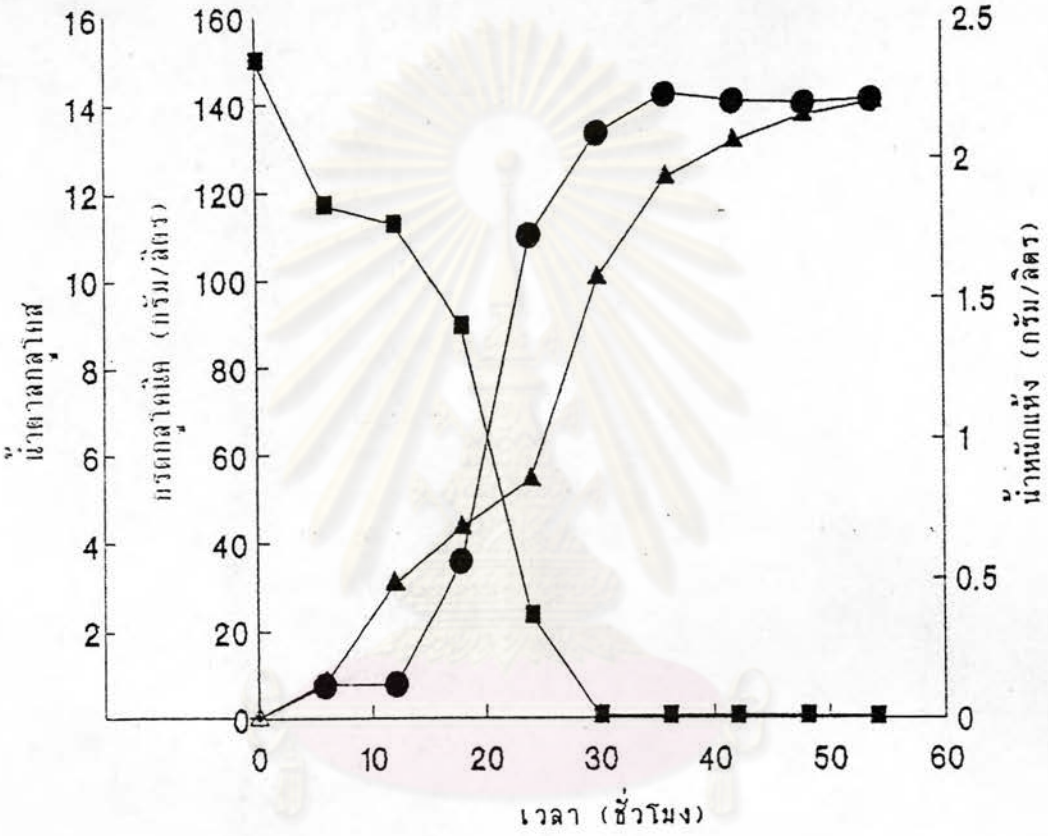


รูปที่ 31 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนเป็นแป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองที่มีน้ำตาลกลูโคส 20% ใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน หัวเชื้อ 5% (ปริมาตร/ปริมาตร) อุณหภูมิ 33°ซ. อัตราการกวน 500 รอบ/นาที อัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

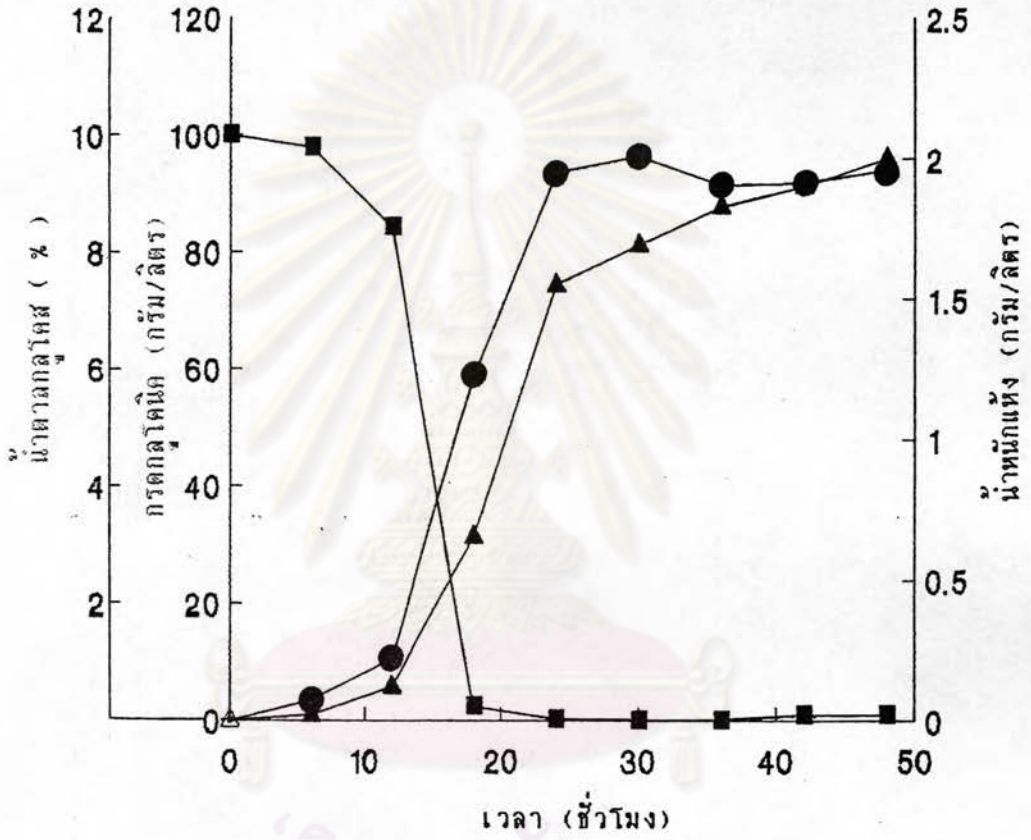


รูปที่ 32 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองที่มีน้ำตาลกลูโคส 15% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน หัวเชื้อ 5% (ปริมาตร/ปริมาตร) อุณหภูมิ 33°ซ. อัตราการกวน 500 รอบ/นาที อัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที

—●— หมายถึง กรดกลูโคนิค

—■— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

—▲— หมายถึง การเติบโต

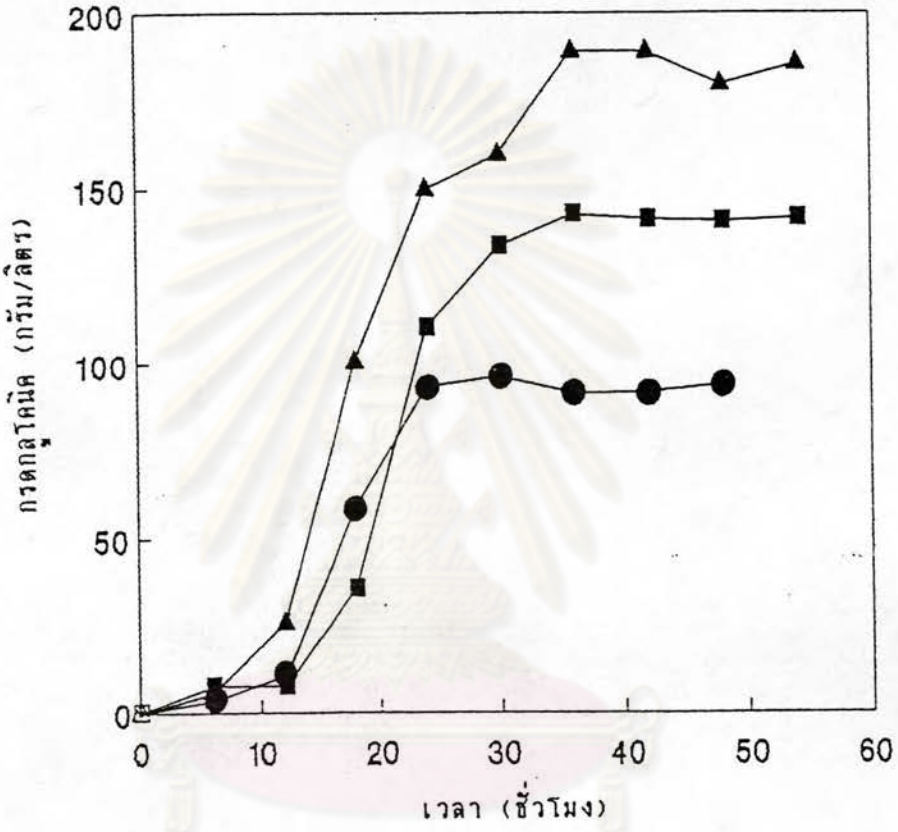


รูปที่ 33 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรองที่มีน้ำตาลกลูโคส 10% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน หัวเชื้อ 5% (ปริมาตร/ปริมาตร) อุณหภูมิ 33°ซ. อัตราการกวน 500 รอบ/นาที อัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที

—●— หมายถึง กรดกลูโคนิค

—■— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

—▲— หมายถึง การเติบโต

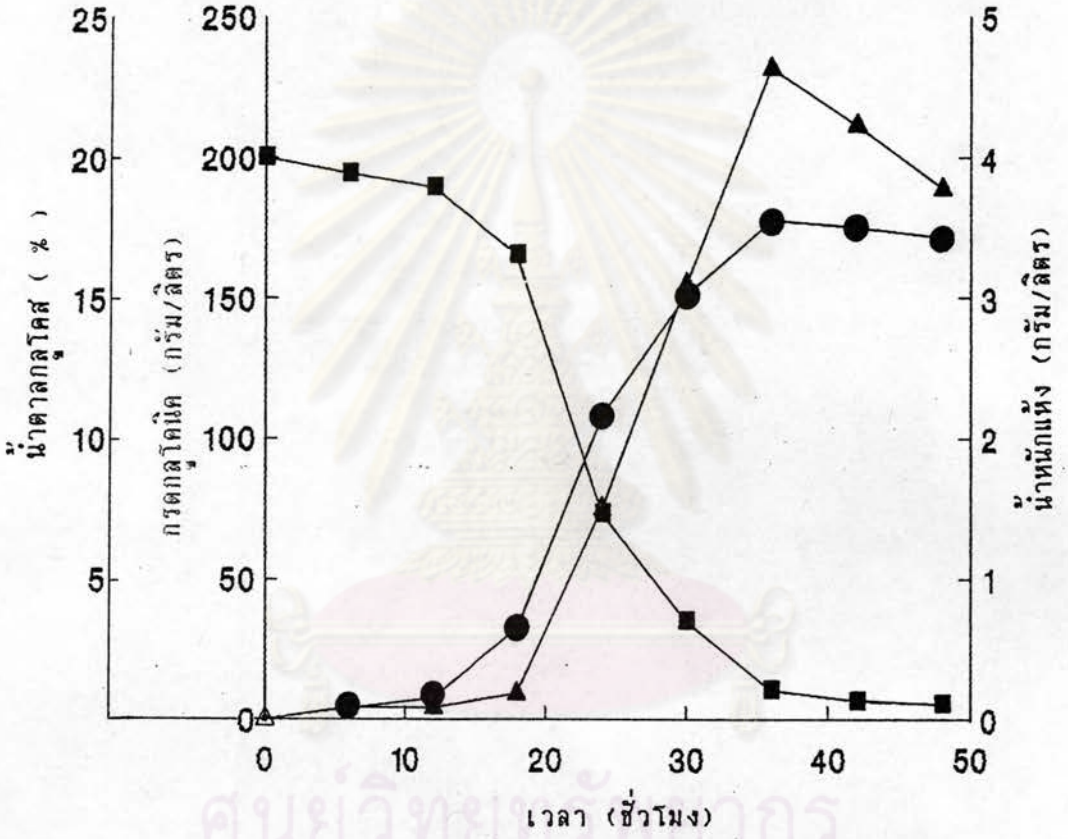


รูปที่ 34 เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิค เมื่อแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในแป้งไฮโดรไลเสสชนิดที่ผ่านการกรอง ใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน หัวเชื้อ 5% (ปริมาตร/ปริมาตร) เพาะเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร อุณหภูมิ 33°ซ. อัตราการกวน 500 รอบ/นาที อัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที

● หมายถึง แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคส 10%

■ หมายถึง แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคส 15%

▲ หมายถึง แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคส 20%



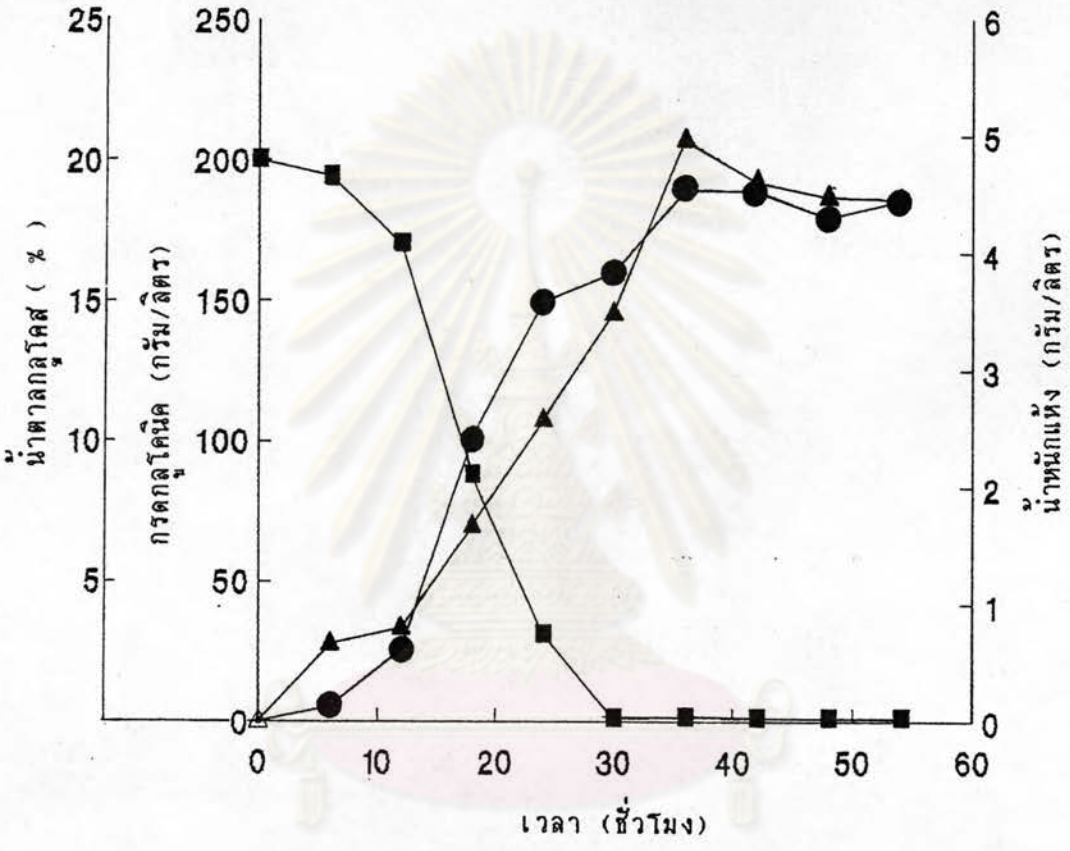
รูปที่ 35 ปริมาณการผลิตกรดกลูโคนิค จาก *Aspergillus* sp. G153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร อัตราการให้อากาศ 1.25 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที อัตราการกวน 500 รอบ/นาที ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคส 20% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน หัวเชื้อ 5% (ปริมาตร/ปริมาตร) อุณหภูมิ 33°ซ.

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

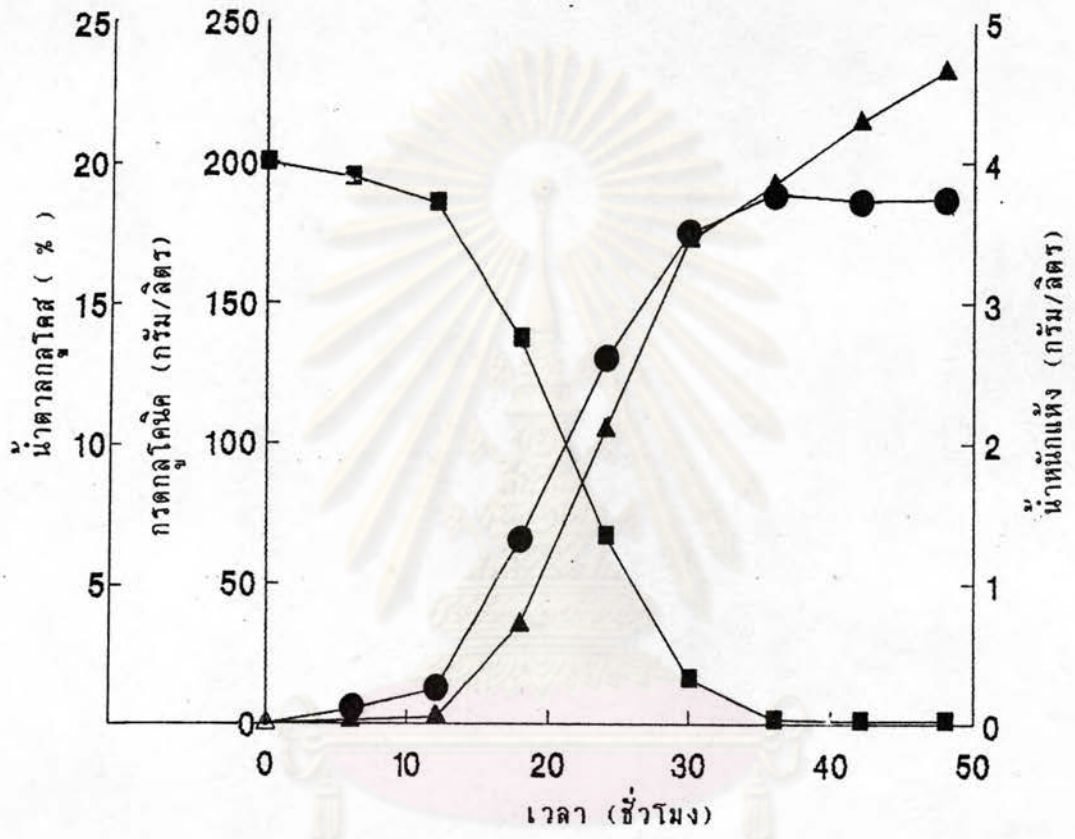


รูปที่ 36 ปริมาณการผลิตกรดกลูโคนิคจาก *Aspergillus* sp. G153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร อัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที อัตราการกวน 500 รอบ/นาที ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคส 20% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน หัวเชื้อ 5% (ปริมาตร/ปริมาตร) อุณหภูมิ 33°ซ.

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

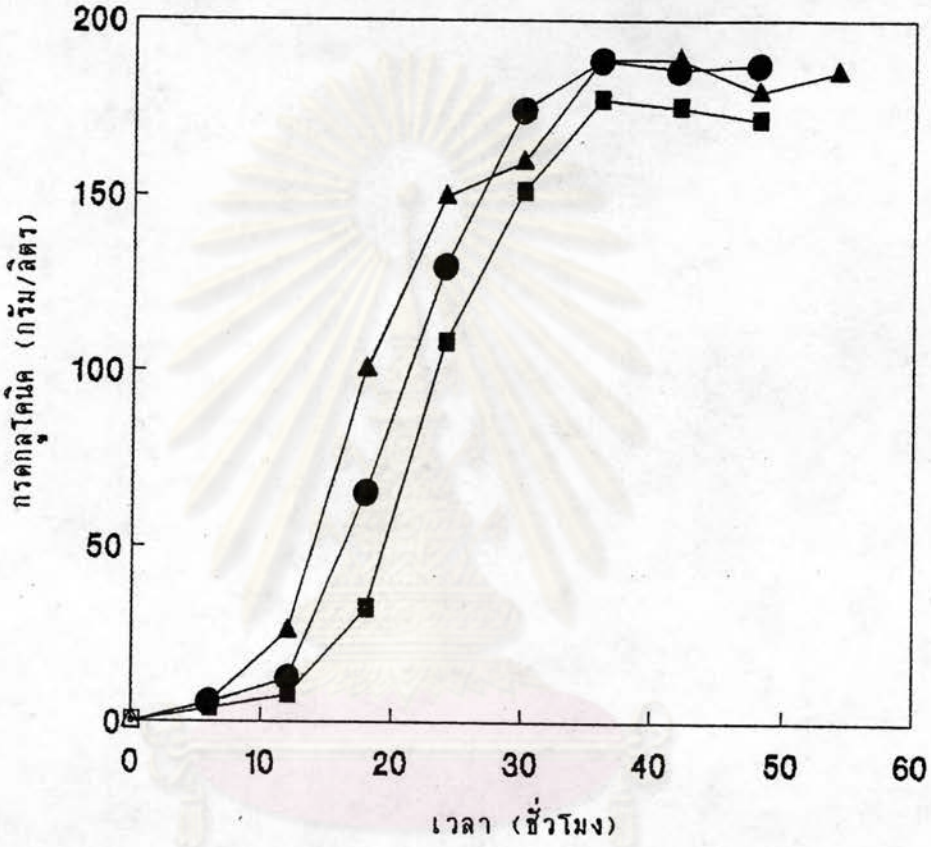


รูปที่ 37 ปริมาณการผลิตกรดกลูโคนิค จาก *Aspergillus* sp. G153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร อัตราการให้อากาศ 1.75 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที อัตราการกวน 500 รอบ/นาที ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคส 20% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน หัวเชื้อ 5% (ปริมาตร/ปริมาตร) อุณหภูมิ 33°ซ.

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

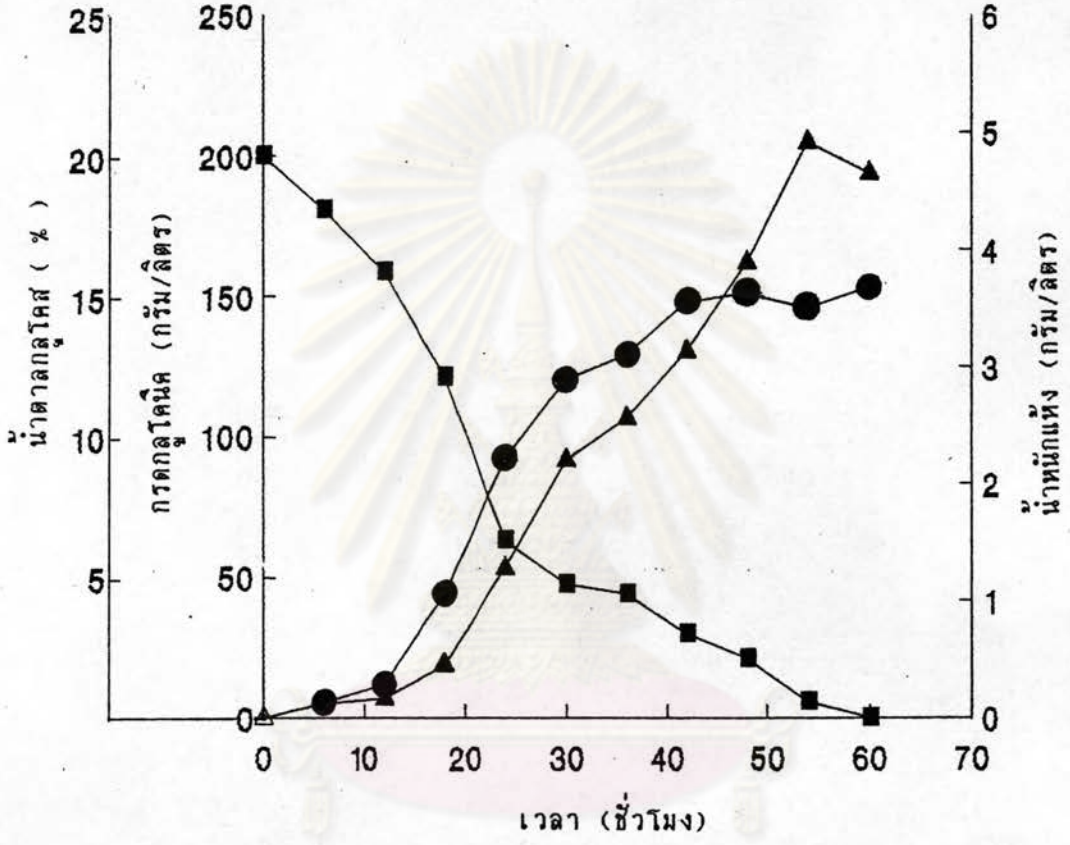


รูปที่ 38 เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิค ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศที่ค่าต่าง ๆ กัน อุณหภูมิ 33°ซ. อัตราการกวน 500 รอบ/นาที เมื่อใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 20% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน หัวเชื้อ 5% (ปริมาตร/ปริมาตร)

● หมายถึง อัตราการให้อากาศ 1.75 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที

▲ หมายถึง อัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที

■ หมายถึง อัตราการให้อากาศ 1.25 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที

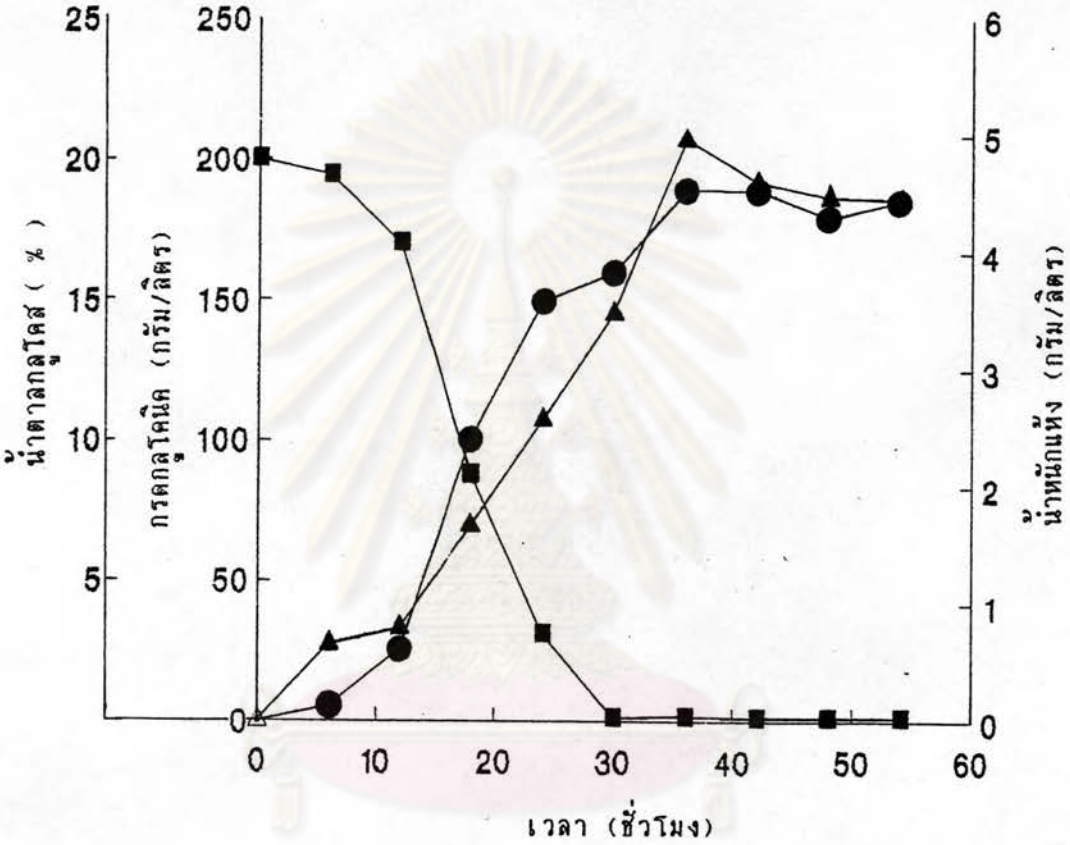


รูปที่ 39 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 เมื่ออัตราการกวนเป็น 400 รอบ/นาที อัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน หัวเชื้อ 5% (ปริมาตร/ปริมาตร) อุณหภูมิ 33°ซ.

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

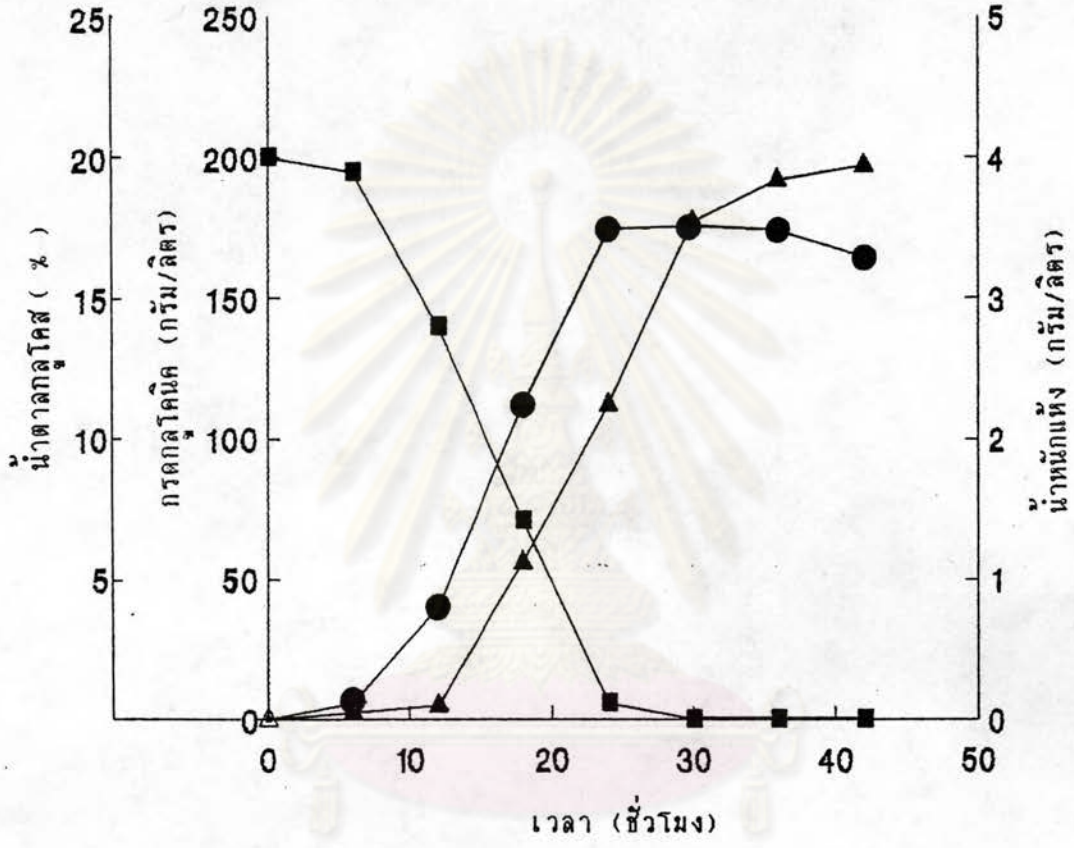


รูปที่ 40 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 เมื่ออัตราการกวนเป็น 500 รอบ/นาที อัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน หัวเชื้อ 5% (ปริมาตร/ปริมาตร) อุณหภูมิ 33°ซ.

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

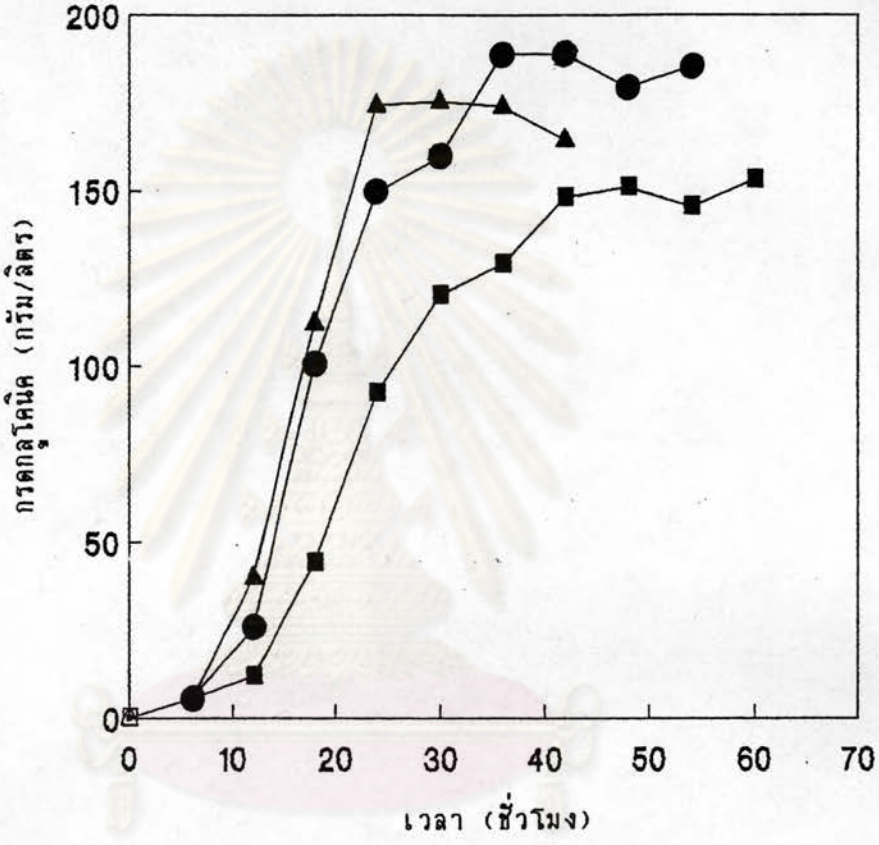


รูปที่ 41 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 เมื่ออัตราการกวนเป็น 600 รอบ/นาที อัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน หัวเชื้อ 5% (ปริมาตร/ปริมาตร) อุณหภูมิ 33°ซ.

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

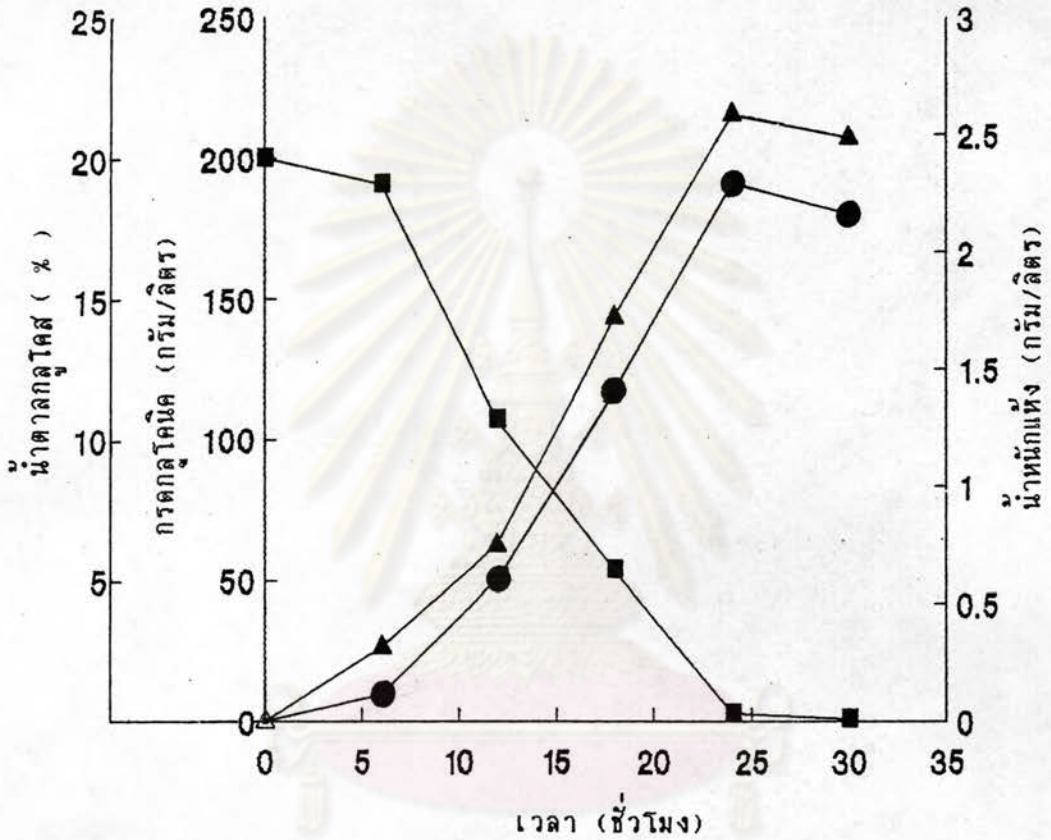


รูปที่ 42 เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิคที่ผลิตโดย *Aspergillus* sp. G153 เมื่อแปรผันอัตราการกวนต่าง ๆ กัน อุณหภูมิ 33°ซ. อัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคส 20% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน หัวเชื้อ 5% (ปริมาตร/ปริมาตร)

—▲— หมายถึง อัตราการกวน 600 รอบ/นาที

—●— หมายถึง อัตราการกวน 500 รอบ/นาที

—■— หมายถึง อัตราการกวน 400 รอบ/นาที

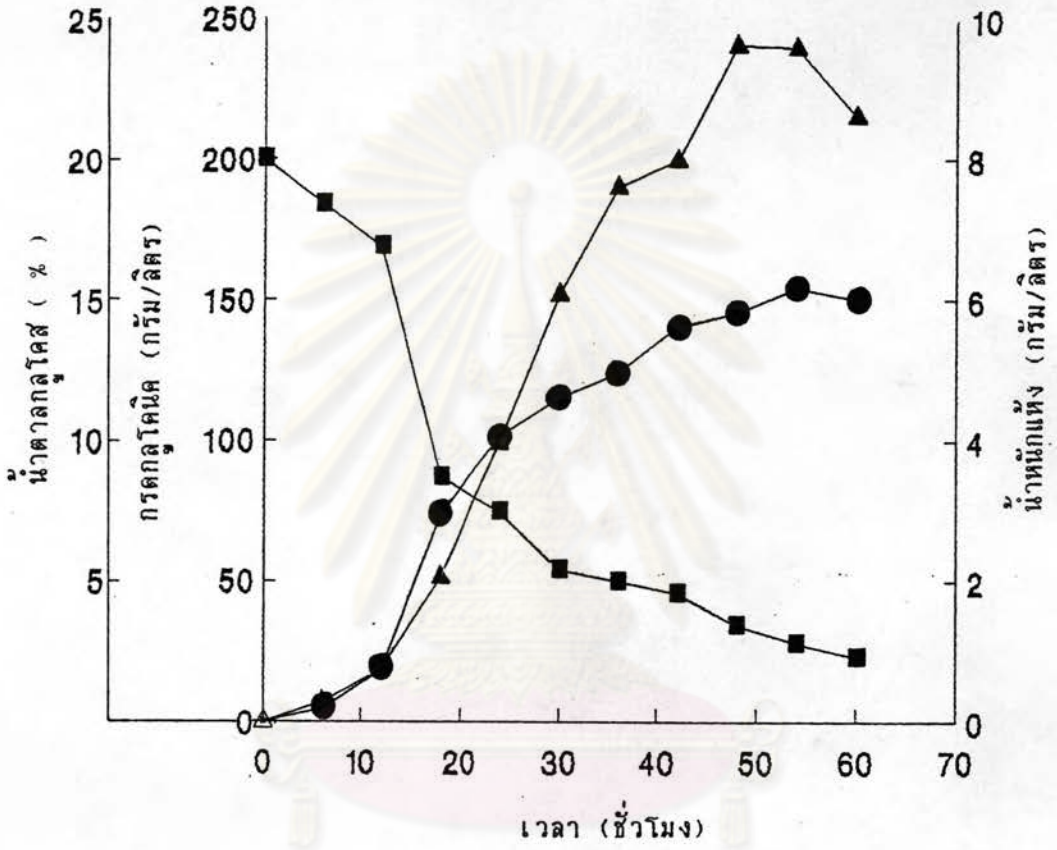


รูปที่ 44 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้หัวเชื้อ 7% (ปริมาตร/ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ) แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน อัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที อัตราการกวน 500 รอบ/นาที อุณหภูมิ 33°ซ.

—●— หมายถึง กรดกลูโคนิค

—■— หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

—▲— หมายถึง การเติบโต

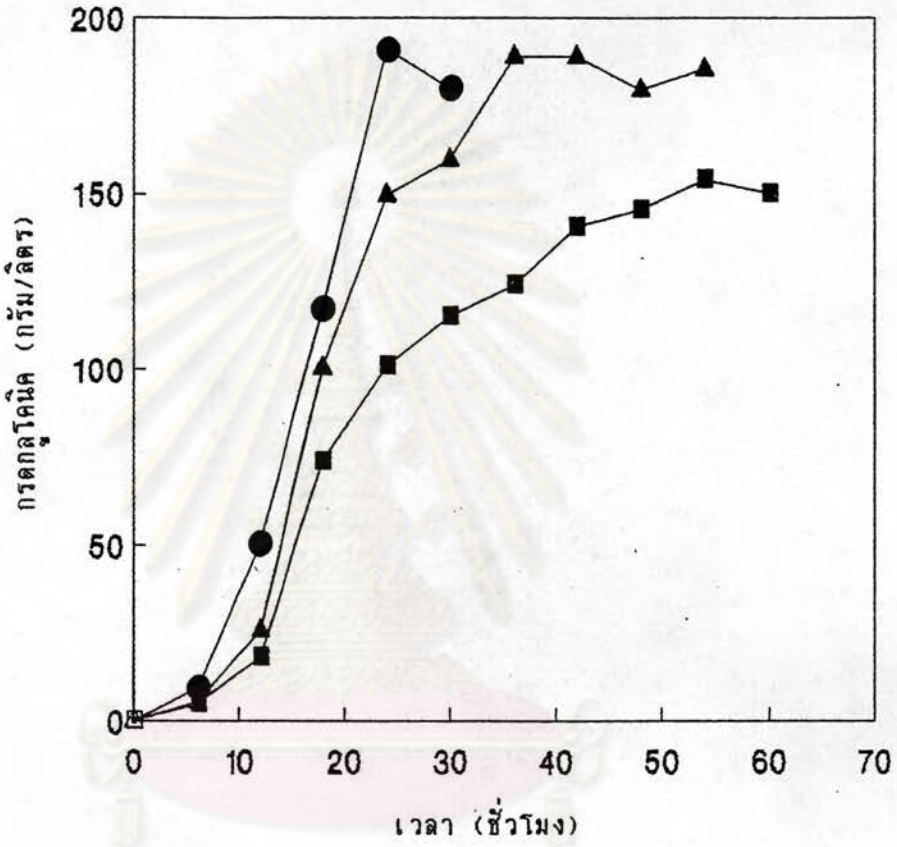


รูปที่ 45 ปริมาณกรดกลูโคนิค น้ำตาลกลูโคส และการเติบโตของ *Aspergillus* sp. G153 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้หัวเชื้อ 10% (ปริมาตร/ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ) แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน อัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที อัตราการกวน 500 รอบ/นาที อุณหภูมิ 33°ซ.

● หมายถึง กรดกลูโคนิค

■ หมายถึง น้ำตาลกลูโคส

▲ หมายถึง การเติบโต

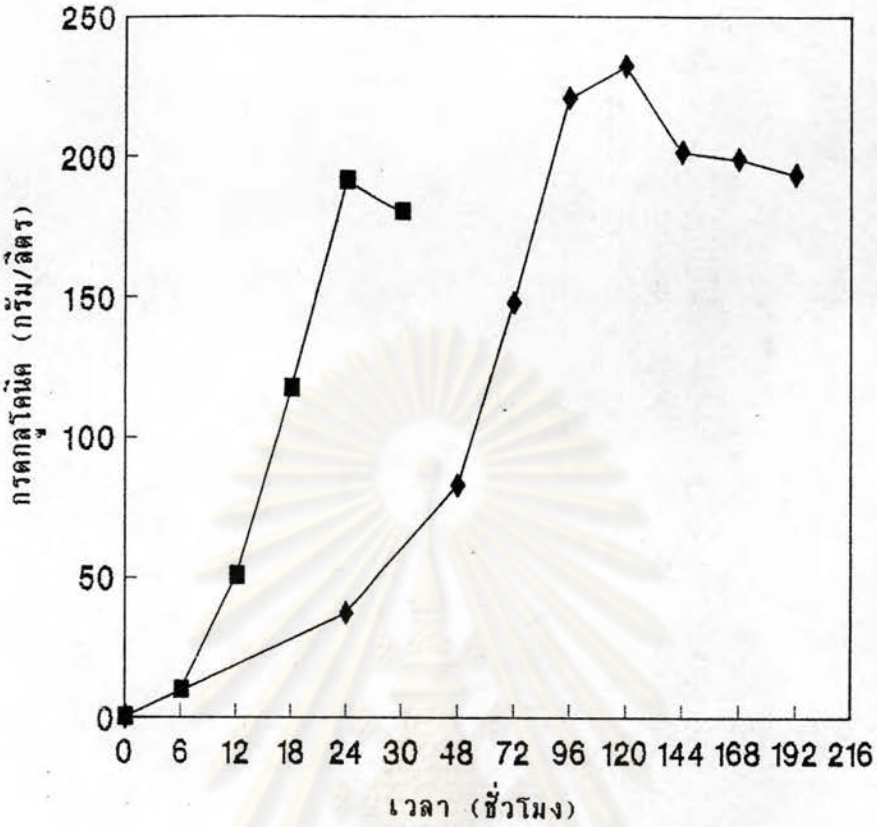


รูปที่ 46 เปรียบเทียบปริมาณกรดกลูโคนิค ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อแปรผันปริมาณของหัวเชื้อ *Aspergillus* sp. G153 ต่าง ๆ กัน โดยมีอัตราการให้อากาศ 1.50 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที อัตราการกวน 500 รอบ/นาที อุณหภูมิ 33°ซ. แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน

—▲— หมายถึง ปริมาณหัวเชื้อ 5%

—●— หมายถึง ปริมาณหัวเชื้อ 7%

—■— หมายถึง ปริมาณหัวเชื้อ 10%



รูปที่ 47 เปรียบเทียบผลผลิตกรดกลูโคนิค ในระดับขวดเขย่าและในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้อาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมที่สุด* ต่อการเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิค

—♦— หมายถึง กรดกลูโคนิคในระดับขวดเขย่า

—■— หมายถึง กรดกลูโคนิคในถังหมักขนาด 5 ลิตร

	ระดับขวดเขย่า*	ระดับถังหมัก*
อาหารเลี้ยงเชื้อ	- สูตรที่ 1 (ภาคผนวก ก.) แต่ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 25% เป็นแหล่งคาร์บอน	- สูตรที่ 1 (ภาคผนวก ก.) แต่ใช้แป้งไฮโดรไลเสสที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20% เป็นแหล่งคาร์บอน
หัวเชื้อ	- 2%	- 7%
การให้อากาศ	- เขย่าแบบโรตารี่ 200 รอบ/นาที	- 1.50 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที
การกวน	- -	- 500 รอบ/นาที
อุณหภูมิ	- อุณหภูมิห้อง	- 33°ซ.