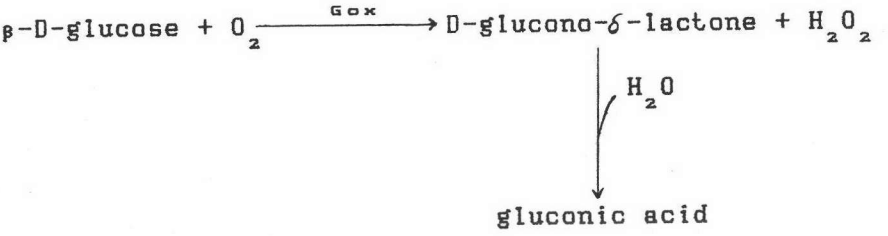
หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

คำนำ

กรดกลูโคนิค (gluconic acid, $C_6H_{12}O_7$) หรือกรดเพนตะไฮดรอกซีคาร์โพรอิก (pentahydroxycaproic acid) เป็นกรดอินทรีย์ที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง เกิดจากกระบวนการออกซิเดชันของน้ำตาลกลูโคส(รูปที่ 1)โดยน้ำตาลกลูโคสจะถูกเปลี่ยนเป็น ดี-กลูโคโน-เดลตา-แลคโตน (D-glucono-δ-lactone) มีเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (β-D-glucose : oxygen 1-oxidoreductase, E.C.1.1.3.4) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จากนั้น ดี-กลูโคโน-เดลตา-แลคโตนจะถูกไฮโดรไลซ์ต่อได้เป็นกรดกลูโคนิค ซึ่งขั้นตอนนี้เกิดได้เองตามธรรมชาติ แต่ปฏิกิริยานี้จะเกิดเร็วขึ้น ถ้ามีเอนไซม์กลูโคโนเดลตาแลคโตเนสช่วยเร่งปฏิกิริยา และ *Aspergillus niger* สร้างเอนไซม์ชนิดนี้อยู่แล้ว (Prescott and Dunn, 1959; Lockwood, 1975; Rohr *et al.*, 1983; Milsom and Meers, 1985) ในขณะที่กลูโคสถูกเปลี่ยนเป็นกลูโคโนเดลตาแลคโตนนั้น ในระบบมีการผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ด้วย แต่จุลินทรีย์ก็สามารถกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยเอนไซม์คะตะเลส (catalase) ที่สร้างขึ้นโดยจุลินทรีย์นั่นเอง (Van Dijken and Veenhuis, 1980; Milsom and Meers, 1985)



Gox : Glucose oxidase

รูปที่ 1 ขั้นตอนการเกิดกรดกลูโคนิคจากน้ำตาลกลูโคส

ปัจจุบันการผลิตกรดกลูโคนิคทางการค้า นิยมผลิตในรูปเกลือของกรดซึ่งอาจเป็นเกลือแคลเซียม หรือเกลือโซเดียม (Casida, 1968)

กรดกลูโคนิค ประกอบด้วยธาตุคาร์บอน 36.74 เปอร์เซนต์ ไฮโดรเจน 6.17 เปอร์เซนต์ และออกซิเจน 57.10 เปอร์เซนต์ น้ำหนักโมเลกุล 196.16 ละลายน้ำได้ดี และละลายในแอลกอฮอล์ได้เล็กน้อย ไม่ละลายในอีเธอร์และตัวทำละลายอื่น ๆ ในทางการค้าจะอยู่ในรูปสารละลาย 50 เปอร์เซนต์ สีเหลืองอ่อน กลิ่นคล้ายน้ำส้มสายชู (Prescott et al., 1953; Merck, 1989) ส่วนแคลเซียมกลูโคเนต ($C_{12}H_{22}CaO_{14}$) ประกอบด้วยธาตุคาร์บอน 33.49 เปอร์เซนต์ ไฮโดรเจน 5.16 เปอร์เซนต์ แคลเซียม 9.31 เปอร์เซนต์ และออกซิเจน 52.05 เปอร์เซนต์ น้ำหนักโมเลกุล 430.38 ละลายได้ช้า ๆ ในน้ำเย็น คือ ละลายได้ในน้ำเย็น 30 ส่วน และในน้ำเดือด 5 ส่วน ไม่ละลายในแอลกอฮอล์และตัวทำละลายอื่น ๆ ไม่มีกลิ่นและรส (Merck, 1989)

ประโยชน์ของกรดกลูโคนิคและอนุพันธ์ของกรดในอุตสาหกรรมต่าง ๆ

1. อุตสาหกรรมยา

แคลเซียมกลูโคเนต และเฟอร์รัสกลูโคเนต ใช้เป็นยารักษาผู้ป่วยที่ขาดธาตุแคลเซียมและเหล็ก ตามลำดับ (Lockwood, 1975; Rohr et al., 1983; Das and Kundu, 1987)

2. อุตสาหกรรมอาหาร

กรดกลูโคนิค ใช้ในอุตสาหกรรมการทำหมากฝรั่งโดยกรดนี้จะป้องกันการตกผลึกของน้ำเชื่อมซอร์บิทอล ซึ่งเป็นสารให้ความหวานในการทำหมากฝรั่ง (Pederson and Sonder, 1981)

กลูโคโนเดลตาแลคโตน ใช้เป็นส่วนผสมของผงฟูในการทำขนมปัง (Prescott and Dunn, 1959; Milsom and Meers,1985; Das and Kundu, 1987)

แคลเซียมกลูโคเนต ใช้ผสมในอาหารสัตว์ปีกทำให้เปลือกไข่แข็งขึ้น (Das and Kundu, 1987)

โซเดียมกลูโคเนต ใช้ป้องกันการตกตะกอนของนมและเบียร์ ในอุตสาหกรรมนมและเบียร์ ตามลำดับ (Su et al., 1977)

3. อุตสาหกรรมเส้นใยและสิ่งทอ

โซเดียมกลูโคเนตใช้เป็นสารป้องกันไม่ให้มีการปนเปื้อนของเหล็กในกระบวนการย้อมผ้า (Prescott et al., 1953) และป้องกันการเกาะติดของเกลือที่ปนอยู่ในน้ำกระด้างบนผ้า (Underkofler, 1954)

4. อุตสาหกรรมย้อมสีหนัง

โซเดียมกลูโคเนต ใช้ป้องกันการตกตะกอนของไฮดรอกไซด์ของโลหะบางชนิดที่ใช้ในกระบวนการย้อมสีหนัง (Prescott et al., 1953)

5. อุตสาหกรรมปูนซีเมนต์

โซเดียมกลูโคเนต ใช้ป้องกันไม่ให้ปูนแข็งตัวเร็ว (Milsom and Meers, 1985)

6. อุตสาหกรรมภาพถ่าย

โซเดียมกลูโคเนต ช่วยให้สารเคมีที่ใช้มีความเสถียรและป้องกันการตกตะกอนของโลหะออกไซด์ในถังบรรจุต่าง (Prescott et al., 1953)

7. อุตสาหกรรมเคมี

โซเดียมกลูโคเนต ใช้เป็นส่วนผสมของน้ำยาทำความสะอาดโลหะป้องกันสนิมโดยเฉพาะในกรณีที่ใช้น้ำกระด้างซึ่งจะเกิดสนิมได้ง่าย ใช้ทำความสะอาดแก้ว ภาชนะต่าง ๆ และเป็นองค์ประกอบของน้ำยาทำความสะอาดผนัง (Lookwood, 1979)

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า กรดกลูโคนิค กลูโคโนเดลตาแลคโตน และแคลเซียมกลูโคเนต มีผลในการเพิ่มจำนวนเชื้อบิฟิโดแบคทีเรีย (Bifidobacterium) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้มนุษย์ ในขณะที่กรดอินทรีย์อื่นๆไม่มีคุณสมบัติดังกล่าว (กรดกลูโคนิคช่วยเพิ่มจำนวนเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียม, 2536)

การผลิตกรดกลูโคนิคในระดับอุตสาหกรรม

ปัจจุบันนิยมใช้ *Aspergillus niger* และ *Gluconobacter oxydans* ในการผลิตกรดกลูโคนิคในระดับอุตสาหกรรมโดยเซลล์อิสระ (Das and Kundu, 1987;Pronk *et al.*, 1989; Sakurai *et al.*, 1989; Attwood *et al.*, 1991) โดยจุลินทรีย์ดังกล่าวผลิตกรดกลูโคนิคได้ในปริมาณมาก มีผลิตภัณฑ์อื่นปะปนเล็กน้อย และแยกออกได้ง่าย

วิธีการผลิตกรดกลูโคนิคในระดับอุตสาหกรรมที่นิยมมี 3 วิธี คือ

1. การผลิตโดยการหมักในถาด (Shallow pan method)
2. การผลิตโดยการหมักในอาหารเหลว (Submerged culture method)
3. การผลิตโดยการใช้ถังหมักแบบกลองหมุน (Rotary drum method)

การหมักในอาหารเหลวทั้งแบบถังตั้งและถังหมักแบบกลองหมุนมีข้อดี คือ สามารถผลิตกรดกลูโคนิคได้ครั้งละมาก ๆ เครื่องมือทำให้ปลอดเชื้อง่าย ค่าใช้จ่ายด้านแรงงานต่ำ และมีอัตราการหมักเร็วกว่าการหมักในถาด ดังนั้นจึงนิยมใช้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม (Mahmoud *et al.*, 1977)

การผลิตกรดกลูโคนิคในระดับอุตสาหกรรมนั้น นอกจากจะต้องคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการผลิต เช่น ชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน ปริมาณแร่ธาตุต่าง ๆ ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ และปริมาณออกซิเจนแล้ว ยังต้องคำนึงถึงต้นทุนของการดำเนินการผลิตโดยต้องพยายามหาวิธีการที่ทำให้ได้ผลผลิตกรดสูงสุดและค่าใช้จ่ายในการผลิตต่ำ เช่น เลือกใช้วัตถุดิบที่หาง่าย ราคาถูก เช่น แป้งมันสำปะหลังไฮโดรไลเสต(Su *et al.*, 1977; Kundu and Das, 1982; Jantrapanukorn and Chantarasa-ard, 1992) การใช้สายใยอิสระซ้ำ (จินตนา ไกรวัฒนพงศ์, 2536; Hatcher, 1972) และอีกวิธีหนึ่งที่จะลดต้นทุนการผลิตได้ คือ การตรึงเซลล์หรือสายใย เนื่องจากเซลล์ตรึงสามารถนำมาใช้ซ้ำได้หลายครั้ง โดยอัตราการผลิตคงที่และช่วยลดเวลาในการผลิตเนื่องจากไม่ต้องเตรียมหัวเชื้อใหม่ (Sakurai *et al.*, 1989; Vassilev *et al.*, 1993)

การตรึงเซลล์หรือสายใย

การใช้จุลินทรีย์เพื่อผลิตสารต่าง ๆ นั้นทำได้หลายวิธี เช่น การใช้จุลินทรีย์ผลิตโดยตรง การใช้เอนไซม์ทั้งในรูปเอนไซม์บริสุทธิ์ เอนไซม์ตรึงรูป และการใช้เซลล์หรือสายใยตรึง การตรึงเซลล์หรือสายใย คือการกักเซลล์หรือสายใยให้อยู่ในขอบเขตจำกัดโดย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความสามารถต่าง ๆ ของเซลล์หรือสายใยยังคงอยู่ เซลล์หรือสายใยตรึงสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำและใช้ในการผลิตแบบต่อเนื่องได้ เซลล์หรือสายใยที่ถูกตรึงจะสามารถเติบโตและตายได้ แต่กิจกรรมของเอนไซม์ (enzyme activities) ที่ต้องการยังคงอยู่ (Chibata et al., 1978; Klein and Wagner, 1983)

ข้อดีของการตรึงเซลล์หรือสายใย

การตรึงเซลล์หรือสายใยมีข้อได้เปรียบ คือ วิธีการไม่ยุ่งยาก ค่าใช้จ่ายในการผลิตต่ำเนื่องจากไม่ต้องเตรียมหัวเชื้อใหม่ในการผลิตแต่ละครั้ง หรือไม่ต้องผ่านขั้นตอนการสกัดและทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์เหมือนการผลิตโดยเอนไซม์ตรึง นอกจากนี้เอนไซม์และโคแฟกเตอร์ต่าง ๆ ยังคงอยู่ภายในเซลล์หรือสายใยตรึงซึ่งเป็นภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงาน เซลล์หรือสายใยตรึงจะมีความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงภาวะแวดล้อม และป้องกันสารบางชนิดที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ได้ สามารถใช้ความหนาแน่นของเซลล์หรือสายใยตรึงต่อหน่วยปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อสูงได้ แต่ถ้าความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ถูกตรึงสูงจะทำให้เกิดปฏิกิริยาโปรตีนต่อโปรตีน (protein-protein interaction) ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง นอกจากนี้เซลล์หรือสายใยตรึงยังสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ และใช้ในกระบวนการต่อเนื่องได้ ซึ่งเป็นการลดต้นทุนการผลิตอีกวิธีหนึ่ง (Chibata et al., 1978; Chibata and Tosa, 1983; Kennedy, 1987)

วิธีการตรึงเซลล์หรือสายใย

วิธีการที่นิยมใช้ในการตรึงเซลล์หรือสายใยมี 3 วิธี (Chibata et al., 1978) คือ

1. การเชื่อมไขว้ (crosslinking)

การตรึงเซลล์หรือสายใยจุลินทรีย์โดยการเชื่อมไขว้มี 2 วิธี คือ

1.1 ใช้สารที่มีกลุ่มฟังก์ชันนัล (functional group) ตั้งแต่ 2 กลุ่มขึ้นไป เช่นกลูตารัลดีไฮด์ ทำปฏิกิริยากับเซลล์ทำให้เกิดปฏิกิริยาที่กลุ่มอมิโนอิสระ และ/หรือกลุ่มคาร์บอกซิลอิสระบนผนังเซลล์ จะได้เซลล์ที่เชื่อมโยงกันด้วยสารเชื่อมไขว้

1.2 เติมสารโพลิอิเลคโตรไลต์ แต่วิธีนี้ไม่นิยมเนื่องจากทำให้เซลล์ตาย

2. การทำให้เซลล์เกาะบนสารพาหะที่ไม่ละลายน้ำ (carrier binding)

การตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้เกิดเนื่องจากธรรมชาติของเซลล์ มักเจริญบนผิวของแข็ง เช่น ดินชื้น โดยมีการเจริญเป็นแผ่นฟิล์มหรือยึดติดบนผิวพาหะเมื่อภาวะเหมาะสม การยึดระหว่างจุลินทรีย์และพาหะดังกล่าว ถือเป็นการตรึงเซลล์วิธีหนึ่ง โดยแรงยึดระหว่างเซลล์และสารพาหะจะมากหรือน้อยขึ้นกับชนิดจุลินทรีย์ แรงที่ยึดระหว่างเซลล์และสารพาหะอาจเป็นแรงวันเดอร์วาลส์ (Van der waal force) พันธะอิออนิก (Ionic bond) หรือสะพานไฮไดรด์ (hydride bridge) ขึ้นอยู่กับกลุ่มต่าง ๆ ที่อยู่บนผิวของผนังเซลล์ เช่น เปปไทด์ (peptide) เฮกโซซามีน (hexosamines) เนื่องจากกลุ่มเหล่านี้มีประจุที่สามารถจับกับกลุ่มที่มีประจุของสารพาหะได้ สารพาหะที่นิยมใช้ ได้แก่ เรซินแลกเปลี่ยนประจุ (Ion exchange resin) เซลลูโลสและอนุพันธ์ เช่น ไดเอทิลอมิโนเอทิล-เซลลูโลส (DEAE - cellulose) และแลคทิน (ภาวิณี คณาสวัสดิ์, 2531)

3. การกักขังเซลล์ (entrapping)

การกักเซลล์ในสารพาหะตรึง (matrics) สามารถเตรียมได้หลายวิธี เช่น ตัดสารพาหะที่เป็นแผ่น เช่น แผ่นโพลิยูรีเทนโฟม (Polyurethane foam)ให้มีขนาดเล็กลงและนำมาตรึงเซลล์ ใช้สารผสมของเซลล์กับสารพาหะกดผ่านเข็มฉีดยาลงในสารละลายเกลือที่ทำให้เม็ดสารพาหะคงรูปอยู่ได้ ซึ่งวิธีนี้ทำให้ได้เม็ดเซลล์ตรึงที่มีขนาดสม่ำเสมอ ตัวอย่างของสารพาหะที่ใช้ตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้ คือ แคลเซียมอัลจิเนต (ภาวิณี คณาสวัสดิ์, 2531)

สารพาหะที่ใช้ในการตรึงเซลล์หรือสายใย

สารพาหะที่ใช้ในการตรึงเซลล์หรือสายใยมีหลายชนิด ทั้งที่เป็นสารอินทรีย์ เช่น เซลลูโลส คาร์ราจิแนน อัลจิเนต และสารอนินทรีย์ เช่น แก้ว ซิลิกา เป็นต้น โดยคำนึงถึงปัจจัยในการเลือกใช้สารพาหะ ดังนี้ (ภาวิณี คณาสวัสดิ์, 2531)

1.ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์และสิ่งแวดล้อม

2.ไม่กระทบกระเทือนต่อระบบเมตาโลบิซึมของเซลล์

3. ความจุของสารพาหะ

4. การตรึงเซลล์ต้องทำในภาวะปลอดเชื้อ ดังนั้นจึงต้องเลือกใช้สารพาหะที่ทนความร้อนสูง เพื่อจะได้ผ่านขั้นตอนการทำให้ปลอดเชื้อโดยสารพาหะตรึงไม่เสียสภาพ

5. ควรเลือกสารพาหะที่ราคาถูก หาง่ายและสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้

ในการตรึงเซลล์หรือสายใยนั้นสารพาหะสามารถป้องกันเซลล์จากการติดเชื้อจุลินทรีย์ภายนอก แรงกดด้านข้าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์ที่ทนต่อแรงกดได้น้อย และปฏิกิริยาที่ทำให้สารผลิตภัณฑ์จับตัวเป็นก้อน ทั้งนี้เนื่องจากลูกโซ่ของโพลิเมอร์ที่ใช้เป็นสารพาหะสามารถกีดขวางการสัมผัสกันระหว่างโปรตีนกับโปรตีน

ตารางที่ 1 ตัวอย่างการตรึงเซลล์หรือสายใยในสารพาหะต่าง ๆ

สารพาหะตรึง	จุลินทรีย์	ผลิตภัณฑ์	เอกสารอ้างอิง
แบเรียม อัลจิเนต (barium alginate)	*Hansenula polymorpha*	เมธานอล	Hiemstra และคณะ, 1983
โพลิอะคลิลาไมด์เจล (polyacrylamide gel)	*Aspergillus niger*	กรดมะนาว	Horitsu และคณะ, 1985
เส้นใยไนลอน (fibrous nylon carrier)	*Gluconobacter suboxydans*	กรดกลูโคนิค	Seiskari และคณะ, 1985

สารพาหะตรึง	จุลินทรีย์	ผลิตภัณฑ์	เอกสารอ้างอิง
เซรามิคลักษณะคล้ายรังผึ้ง (ceramics honeycomb monolith)	*Gluconobacter suboxydans*	กรดกลูโคนิค	Shiraishi และคณะ, 1989
แคปปา-คาร์ราจิแนน (K-carragenan)	*Escherichia coli*	อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase)	Manin และคณะ, 1989
ผ้าใยสังเคราะห์ (nonwoven fabric)	*Aspergillus niger*	กรดกลูโคนิค	Sakurai และคณะ, 1989
ซินเตอร์กลาส (sintered glass)	*Saccharomyces cerevisiae*	กลีเซอรอล (glycerol)	Hecker และคณะ, 1990
แคลเซียมอัลจิเนต (calcium alginate)	*Yarrowia lipolytica*	กรดมะนาว	Kautola และคณะ, 1991

สารพาหะตรึง	จุลินทรีย์	ผลิตภัณฑ์	เอกสารอ้างอิง
ผ้าไนลอน	*Yarrowia lipolytica*	กรดมะนาว	Kautola และคณะ,1991
เรซินที่เชื่อมไขว้โดยแสง (Photo - crosslinkable resin)	*Zymomonas mobilis*	เอธานอล	Iida และคณะ,1993
โพลิยูรีเทนโฟม (polyurethane foam)	*Aspergillus niger*	กรดกลูโคนิค	Vassilev และคณะ,1993

การตรึงเซลล์หรือสายใยในสารพาหะแคลเซียมอัลจิเนต

สารพาหะที่ใช้ตรึงสายใยในงานวิจัยนี้ คือ แคลเซียมอัลจิเนต การตรึงเซลล์หรือสายใยด้วยอัลจิเนตเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก ราคาไม่แพง ปฏิกิริยาที่เกิดขณะตรึงเซลล์หรือสายใยไม่รุนแรงและไม่มีพิษต่อเซลล์หรือสายใย (Kierstan and Bucke, 1977; Ohlson *et al.*, 1980; Fukushima *et al.*, 1988; Gosmann and Rehm, 1988) โซเดียมอัลจิเนตเป็นสารโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ชนิดหนึ่ง ประกอบด้วยเบตา-ดี-แมนูโรเนต (β-D-manuronate) และแอลฟา-แอล-กูลูโลเนต(α-L-gululonate) ต่อกันเป็นโครงสร้างสายใย (net work)

โซเดียมอัลจิเนตแข็งตัวได้โดยแคลเซียมอิออน (calcium ion)หรือแคตอิออนอื่น ๆ เช่น แบเรียม (barium) อลูมิเนียม (aluminium) ไปสร้างสะพานอิออนิก (ionic bridge) ระหว่างกลุ่มคาร์บอกซิล (carboxyl group) ของกูลูโลเนตและแมนูโรเนตเกิดเป็นตาข่ายที่แข็งตัวและสามารถกักเซลล์ไว้ในช่องว่างภายใน โดยมีรูพรุนให้สารตั้งต้นและ

ผลิตภัณฑ์ผ่านเข้าออกได้ ซึ่งขนาดและปริมาณของรูพรุนขึ้นกับชนิดของอิออนโลหะ (metal ion) และชนิดของอัลจิเนตที่ใช้ อัลจิเนตที่มีคุณสมบัติทนต่อแรงกดและการแตกหักได้ดีมักเป็นพวกที่มีปริมาณกูลูโลเนตสูง แต่การใช้อัลจิเนตมีข้อจำกัด คือจะไม่เสถียรเมื่อมีอนุมูลบางตัวในระบบ เช่น ฟอสเฟต แลคเตต หรือสารประกอบบางอย่าง เช่น อีดีทีเอ (EDTA) เป็นต้น (Kierstan and Bucke, 1977; Cheetham *et al.*, 1979; Poncelet *et al.*, 1992)

ตารางที่ 2 ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่ถูกตรึงในแคลเซียมอัลจิเนตเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ

จุลินทรีย์	ผลิตภัณฑ์	เอกสารอ้างอิง
Kluyveromyces marxianus	เอนไซม์อินูเลส (inulase)	Kierstan และ Bucke, 1977
Saccharomyces cerevisiae	เอธานอล (ethanol)	Kierstan และ Bucke, 1977
Aspergillus niger	กรดมะนาว	Eikmeier และ Rehm, 1984
Claviceps purpurea	อัลคาลอยด์ (alkaloid)	Kopp และ Rehm, 1984
Aspergillus niger	กรดมะนาว	Tsay และ To, 1987 Eikmeier และ Rehm, 1987

จุลินทรีย์	ผลิตภัณฑ์	เอกสารอ้างอิง
Penicillium chrysogenum	เอนไซม์โปรติเอส (proteases)	El-Assar และคณะ,1990
Aspergillus phoenicus	เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (glucoamylase)	Kuek,1991
Candida rugosa	เอนไซม์ไลเปส (lipase)	Ferrer และ Sola,1992
Aspergillus niger	กรดมะนาว	Garg และ Sharma,1992
Aspergillus awamori *Zymomonas mobilis* *Rhizopus japonicus*	เอธานอล (ethanol)	Lee และคณะ,1993

จากข้อดีของการตรึงเซลล์หรือสายใยด้วยแคลเซียมอัลจิเนตดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น และจากการค้นเอกสารงานวิจัยต่าง ๆ ไม่พบงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรึงเซลล์หรือสายใยในแคลเซียมอัลจิเนตเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิค ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาการตรึงสายใย *Aspergillus* sp. G153 ในแคลเซียมอัลจิเนตเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิค

พัฒนาการของการตรึงจุลินทรีย์

การตรึงเซลล์ในระยะแรกนิยมใช้เซลล์ที่ไม่มีชีวิต ต่อมาพบว่าการตรึงเซลล์ที่มีชีวิตเหมาะสมกว่า เนื่องจาก

1. สามารถทำให้เซลล์ซึ่งใช้ไประยะหนึ่งและประสิทธิภาพการทำงานลดต่ำลง กลับสู่สภาพเดิมได้โดยเติมอาหารที่เหมาะสม

2. สามารถผลิตสารบางตัวที่จำเป็นต้องใช้ส่วนหนึ่ง หรือทั้งหมดของวิถีเมตาโบลิซึม

(metabolic pathway) ในการผลิตได้

3. สามารถใช้ในกระบวนการที่ต้องการเอนไซม์ร่วม โดยสามารถสร้างเอนไซม์และเอมไซม์ร่วมขึ้นใหม่ได้ตลอดเวลา

4. เซลล์ที่ถูกตรึงสามารถเติบโตได้

นอกจากการตรึงเซลล์หรือสายใยที่มีชีวิตแล้ว ยังมีการตรึงสปอร์เพื่อให้สปอร์งอกภายในสารพาหะตรึง โดยข้อดีของการตรึงสปอร์เมื่อเปรียบเทียบกับการตรึงเซลล์ คือ สปอร์สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ในการตรึงได้ดีกว่าเซลล์อิสระ เช่น ความเป็นพิษของสารพาหะ สารที่ทำให้เกิดการแข็งตัวของสารพาหะ สารที่ช่วยเพิ่มความแข็งให้เม็ดเจล ความแรงของการกวนหรือรังสีในการทำให้สารพาหะแข็งตัว เป็นต้น (Ohlson et al., 1980)

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดกลูโคนิคโดยเซลล์และสายใยตรึง

1. แหล่งคาร์บอน

ในการผลิตกรดกลูโคนิคทั้งจากสายใยอิสระและสายใยตรึงนั้น ปริมาณกรดกลูโคนิคที่ผลิตได้ขึ้นกับชนิด และปริมาณแหล่งคาร์บอนที่ใช้ ทั่วไปนิยมใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน เนื่องจากน้ำตาลกลูโคสถูกเปลี่ยนเป็นกรดกลูโคนิคได้โดยตรง นอกจากนี้ยังมีการใช้น้ำตาลซูโครสและแป้งไฮโดรไลเสตชนิดต่าง ๆ เช่น แป้งข้าวโพดไฮโดรไลเสตเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิต (Moresi et al., 1991; Vassilev et al., 1993) นอกจากชนิดของแหล่งคาร์บอนแล้ว ยังต้องคำนึงถึงปริมาณของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมด้วย ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ในการผลิตกรดกลูโคนิคโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* อยู่ระหว่าง 40-150 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้พาหะตรึงต่าง ๆ และทำการผลิตกรดในรูปต่าง ๆ (Seiskari et al., 1985; Sakurai et al., 1989; Shiraishi et al., 1989; Moresi et al., 1991; Vassilev et al., 1993) ซึ่งน้อยกว่าการผลิตกรดนี้โดยสายใยอิสระ เนื่องจากถ้าใช้น้ำตาลกลูโคสปริมาณมากจะเกิดตะกอนแคลเซียมกลูโคเนต ซึ่งจะทำให้เกิดปัญหาในขั้นตอนการผลิตและการนำไปใช้ซ้ำ

2. แหล่งไนโตรเจน

แหล่งไนโตรเจนที่เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตกรดกลูโคนิค

นั้น โดยทั่วไปจะใช้ทั้งในรูปอนินทรีย์ไนโตรเจนและอินทรีย์ไนโตรเจน เช่น เกลือแอมโมเนียมไนเตรต (Moresi *et al.*, 1991) แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Vassilev *et al.*, 1993) ผงสกัดจากยีสต์ (yeast extract) (Seiskari *et al.*, 1985; Sakurai *et al.*, 1989; Shiraishi *et al.*, 1989) นอกจากชนิดของแหล่งไนโตรเจนแล้วปริมาณที่ใช้ก็มีผลต่อการผลิตกรดกลูโคนิคเช่นกัน สำหรับการผลิตโดยสายใยอิสระไม่ควรมีแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อมาก เพราะจะทำให้เชื้อมีการเติบโตมาก การผลิตกรดน้อยลง (Milsom and Meers, 1985) รติกร กัณฑะพงศ์ (2534) ได้ทดลองผลิตกรดกลูโคนิคโดยสายใยอิสระของ *Aspergillus* sp. G153 โดยใช้แหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ ได้แก่ ผงสกัดยีสต์ ยูเรีย โซเดียมไนเตรต แอมโมเนียมซัลเฟต และแอมโมเนียมไนเตรต พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม คือแอมโมเนียมซัลเฟต 4 กรัมต่อลิตร ในการผลิตกรดโดยสายใยตรึงนั้น ปริมาณแหล่งไนโตรเจนที่ใช้จะน้อยกว่าเมื่อผลิตโดยสายใยอิสระ เนื่องจากถ้าใช้มากเกินไปจะทำให้เกิดสายใยอิสระปนในระบบการผลิต มีรายงานว่า การผลิตกรดกลูโคนิคโดยสายใยตรึง *Aspergillus niger* ไม่จำเป็นต้องใส่แหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด (Sakurai *et al.*, 1989; Moresi *et al.*, 1991; Vassilev *et al.*, 1993)

3. ออกซิเจน

เนื่องจากกรดกลูโคนิคเกิดจากกระบวนการออกซิเดชันของน้ำตาลกลูโคส ดังนั้นปริมาณออกซิเจนจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญมากปัจจัยหนึ่ง เมื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนจะทำให้ได้ผลผลิตสูงและเร็วขึ้นด้วย รติกร กัณฑะพงศ์ (2534) ศึกษาผลของชนิดขวดทดลองและความเร็วรอบของเครื่องเขย่าต่อการผลิตกรดกลูโคนิคโดยสายใยอิสระของ *Aspergillus* sp.G153 ในระดับขวดเขย่า พบว่าใช้ขวดแก้วทรงกรวยที่มีก้นบุบ (baffle flask) และใช้ความเร็วของเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาทีทำให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูงขึ้นและเร็วขึ้น การผลิตกรดกลูโคนิคโดยสายใยตรึงนั้นจะใช้ปริมาณออกซิเจนสูงกว่าการผลิตโดยสายใยอิสระ เนื่องจากออกซิเจนต้องแพร่ผ่านสารพาหะตรึงก่อนสัมผัสเส้นใย Moresi และคณะ (1991) ศึกษาผลของปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ (dissolved oxygen) ต่อการผลิตกรดกลูโคนิคโดยสายใยตรึง *Aspergillus niger* ในแคลเซียมอัลจิเนต พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อจะสามารถใช้น้ำตาลเริ่มต้นเพื่อการผลิตกรดดังกล่าวได้มากขึ้น

Vassilev และคณะ (1993) ทดลองผลิตกรดกลูโคนิคโดยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* ในโพลียูรีเทนโฟมในระดับขวดเขย่า พบว่าความเร็วของเครื่องเขย่าที่เหมาะสมคือ 220 รอบต่อนาที และการผลิตระดับขยายส่วนในคอลัมน์ที่มีการให้อากาศด้านล่าง (bubble column) พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศจะมีผลเพิ่มผลผลิตกรดกลูโคนิค นอกจากนี้ออกซิเจนยังช่วยให้เอมไซม์กลูโคสออกซิเดสที่เปลี่ยนรูปไปหลังจากการทำปฏิกิริยากลับคืนสู่สภาพเดิมเพื่อเร่งปฏิกิริยาได้อีก (Milsom and Meers, 1985)

4. หัวเชื้อ

ในการผลิตกรดกลูโคนิคโดยสายใยตรึงนั้น พบว่าขนาดและอายุของหัวเชื้อสายใยตรึงมีความสำคัญ ถ้าหัวเชื้อสายใยตรึงที่ใช้มีอายุเหมาะสมจะช่วยลดเวลาที่ใช้ในการผลิตกรดและเพิ่มปริมาณกรดที่ผลิตได้ Chantarasa-ard และ Kinoshita (1994) ได้ศึกษาผลของอายุหัวเชื้อสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* ในโพลียูรีเทนโฟม ต่อการผลิตกรดกลูโคนิค โดยเปรียบเทียบหัวเชื้ออายุ 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่า หัวเชื้อสายใยตรึงอายุ 48 ชั่วโมง ให้ผลผลิตกรดกลูโคนิคสูง และเร็วกว่า คือให้ผลผลิตสูงสุด 99 กรัมต่อลิตรในเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อใช้กลูโคสตั้งต้น 100 กรัมต่อลิตร

5. ขนาดของเม็ดเจลสายใยตรึง

ขนาดของเม็ดเจลสายใยตรึงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการผลิตกรดกลูโคนิค โดยเม็ดเจลสายใยตรึงที่มีขนาดเล็กมีข้อได้เปรียบมากกว่าเม็ดเจลขนาดใหญ่ เนื่องจากพื้นที่ผิวในการสัมผัสอาหารและออกซิเจนมากกว่า การผ่านของอาหารและออกซิเจนเข้าไปในเม็ดเจลสายใยตรึงสูงกว่า (Klein *et al.*, 1983) ทำให้กระบวนการออกซิเดชันเกิดเร็วและมากกว่า ปริมาณกรดกลูโคนิคที่ผลิตได้จึงสูงกว่าเมื่อผลิตโดยเม็ดเจลสายใยตรึงขนาดใหญ่

6. ปริมาณหัวเชื้อ

ปริมาณสปอร์ตั้งต้นที่ใช้ในการตรึงและปริมาณเม็ดเจลสายใยตรึงก็มีความสำคัญต่อการผลิตกรดกลูโคนิคเช่นกัน ถ้าใช้สปอร์ปริมาณมากในการตรึงจะทำให้การงอกของสปอร์ในเม็ดเจลไม่ทั่วถึง เนื่องจากสารอาหารและอากาศสามารถผ่านเข้าไปในเม็ดเจลได้ลึกระดับหนึ่งเท่านั้น สปอร์บริเวณผิวเม็ดเจลจะงอกเป็นสายใยแต่สปอร์บริเวณกลางเม็ดเจลไม่สามารถงอก

ได้ ผลผลิตกรดกลูโคนิคจะลดลง (Tsay and To, 1987; Gosmann and Rehm, 1988) หรือถ้าใช้สปอร์ในการตรึงปริมาณมากเกินกว่าที่สารพาหะจะสามารถกักไว้ได้ สปอร์จะหลุดออกมาปนอยู่ในสารละลายที่ใช้แขวนลอยเม็ดเจลสปอร์ตรึง นอกจากนี้ปริมาณเม็ดเจลสายใยตรึงก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการผลิตกรดกลูโคนิค ถ้าใช้เม็ดเจลปริมาณมากเกินไปจะทำให้ผลผลิตกรดน้อยลงเนื่องจากการสัมผัสระหว่างสายใยตรึง สารอาหาร และอากาศไม่ทั่วถึงทำให้กระบวนการผลิตกรดกลูโคนิคเกิดไม่ดีเท่ากับการใช้เม็ดเจลปริมาณพอเหมาะ (Tsay and To, 1987)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตกรดกลูโคนิคโดยเซลล์และสายใยตรึง

Seiskari และคณะ (1985) ทดลองผลิตกรดกลูโคนิคในรูปกรดอิสระแบบต่อเนื่องในคอลัมน์แก้วที่ควบคุมอุณหภูมิได้ (Jacketed glass column reactors) โดยใช้เซลล์ตรึงของ *Gluconobacter oxydans* บนเส้นใยไนลอน (fibrous nylon carrier) พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสตั้งต้น 100 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 1.3 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที อัตราการให้อาหาร 0.067 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อชั่วโมง สามารถผลิตกรดกลูโคนิคได้ 80 กรัมต่อลิตร ต่อเนื่องกันเป็นเวลา 6 เดือน

Sakurai และคณะ (1989) ได้ทดลองผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยใช้สายใยตรึงของ *Aspergillus niger* บนผ้าที่ทอด้วยเส้นใยสังเคราะห์ผสมกับเส้นใยจากธรรมชาติ พบว่าสามารถผลิตกรดได้ 220 กรัมต่อลิตรจากน้ำตาลกลูโคส 300 กรัมต่อลิตร และสามารถใช้สายใยตรึงซ้ำได้ถึง 14 ครั้ง โดยอัตราการผลิตคงที่

Shiraishi และคณะ (1989) รายงานว่าเมื่อผลิตกรดกลูโคนิคในรูปกรดอิสระโดยการหมักแบบต่อเนื่องในถังหมักที่มีการให้อากาศ ด้วยเซลล์ตรึงของ *Gluconobacter suboxydans* IFO 3290 บนกระเบื้องที่มีลักษณะเหมือนรังผึ้ง พบว่าสามารถผลิตกรดกลูโคนิคโดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ต่อเนื่องเป็นเวลา 1 เดือน โดยความสามารถในการผลิตของเซลล์ตรึงคงที่ ปริมาณกรดที่ผลิตได้เฉลี่ย 84.6 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสตั้งต้น 100 กรัมต่อลิตร

Moresi และคณะ (1991) ทดลองผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนตในถังหมักขนาด 3 ลิตร ด้วยสายใยตรึงของ *Aspergillus niger* ในแคลเซียมอัลจิเนต อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 2 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

ใช้น้ำตาลกลูโคสตั้งต้น 70 - 160 กรัมต่อลิตร พบว่า ถ้าเพิ่มปริมาณออกซิเจนที่ละลาย (dissolved oxygen) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จะทำให้สามารถใช้น้ำตาลเริ่มต้นเพื่อการผลิตได้มากขึ้น

Vassilev และคณะ (1993) ได้ทดลองผลิตกรดกลูโคนิคในรูปโซเดียมกลูโคเนต โดยใช้สายใยตรึงของ *Aspergillus niger* บนโพลิยูรีเทนโฟม (polyurethane foam) ในระดับขวดเขย่า พบว่า ผลิตกรดได้สูงสุด 137.1 กรัมต่อลิตร ในเวลา 14 ชั่วโมง เมื่อใช้น้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายแป้งข้าวโพดเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งผลผลิตที่ได้สูงกว่าการผลิตโดยสายใยอิสระ คือ สายใยอิสระผลิตได้ 113.4 กรัมต่อลิตร และสามารถนำสายใยตรึงมาใช้ผลิตกรดซ้ำได้ต่อเนื่อง 65 - 70 ชั่วโมงโดยความสามารถในการผลิตคงที่ ต่อมาทำการผลิตระดับขยายส่วนในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง (bubble column) ขนาด 300 มิลลิลิตร โดยให้อากาศ 1.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ปริมาตรเซลล์ตรึงต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 1:3 พบว่า ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 143 กรัมต่อลิตร ในเวลา 10 ชั่วโมง และสามารถนำสายใยตรึงมาใช้ซ้ำได้ 5 ครั้งต่อเนื่องกัน โดยความสามารถในการผลิตคงที่

ฟลูอิดไดเซชั่น (Fluidization)

การนำเอนไซม์หรือเซลล์ที่ถูกตรึงมาใช้ในกระบวนการผลิต มักทำในหอปฏิกิริยา (reactor) ซึ่งมีหลายแบบ เช่น หอปฏิกิริยาแบบไม่ต่อเนื่อง (batch reactor) หอปฏิกิริยาแบบต่อเนื่องและมีการกวนสม่ำเสมอ (continuous stirred tank reactor) หรือใช้เทคนิคฟลูอิดไดเซชั่น โดยอาจใช้หอปฏิกิริยาแบบฟิกซ์เบด (fixed bed reactor) และหอปฏิกิริยาแบบฟลูอิดไดเบด (fluidized bed reactor)

ฟลูอิดไดเซชั่นใช้อธิบายกระบวนการหรือวิธีการที่ของแข็งซึ่งมีรูปร่างลักษณะเป็นเม็ดหรือชิ้น สัมผัสกับของไหลแล้วเม็ดของแข็งเหล่านี้จะมีคุณสมบัติคล้ายของไหล โดยเม็ดหรือชิ้นของแข็งดังกล่าวถูกวางบนตะแกรงในหอทดลองแล้วปล่อยให้ของไหล ซึ่งอาจเป็นก๊าซหรือของเหลวผ่านมาทางด้านล่างของตะแกรงที่รองรับเม็ดของแข็ง ของไหลจะไหลผ่านชั้นเม็ดของแข็งแล้วไหลออกทางส่วนบนของหอทดลอง เพิ่มความเร็วของไหลให้มากขึ้นเรื่อย ๆ จนในที่สุดจะเห็นเม็ดของแข็งขยับตัว และลอยตัวขึ้นเป็นอิสระต่อกัน ไม่เกาะติดกัน ของแข็งที่อยู่ในลักษณะนี้จะมีคุณสมบัติคล้ายของไหล คือมีการหมุนเวียนของเม็ดของแข็งภายในหอทดลอง เรา

เรียกของแข็งในสถานะนี้ว่า ฟลูอิดไดเซชั่น (สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ, 2528)

ประเภทของฟลูอิดไดเซชั่น มี 2 ประเภท คือ

1. ฟลูอิดไดเซชั่นสองสถานะ ซึ่งแบ่งได้เป็น ก๊าซฟลูอิดไดเซชั่น (gas fluidization) และฟลูอิดไดเซชั่นของเหลว (liquid fluidization)

2. ฟลูอิดไดเซชั่นสามสถานะ ระหว่างของแข็ง ของเหลว และก๊าซ ซึ่งคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง (bubble column) จัดเป็นฟลูอิดไดเซชั่นประเภทนี้

ข้อดีของกระบวนการฟลูอิดไดเซชั่นคือมีการเคลื่อนที่ของเม็ดของแข็งตลอดเวลาทำให้อุณหภูมิภายในหอปฏิกิริยาเท่ากันตลอด และสามารถทำงานแบบต่อเนื่องได้โดยไม่เปลืองพลังงานมากเมื่อเทียบกับหอปฏิกิริยาแบบอื่น (สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ, 2528)

เนื่องจากกรดกลูโคนิคและเกลือของกรดนี้ มีประโยชน์มากมายดังกล่าวข้างต้นและได้มีการนำกรด และเกลือของกรดกลูโคนิคเข้ามาใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆในประเทศไทยโดยเฉพาะอย่างยิ่งอุตสาหกรรมปูนซีเมนต์ แต่ยังไม่มีการผลิตใช้เองในประเทศ ดังนั้นงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตกรดกลูโคนิค จึงมีคุณค่าเพื่อรองรับการผลิตใช้เองในประเทศต่อไป สำหรับจุลินทรีย์ *Aspergillus* sp. G153 ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ เป็นจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดกลูโคนิคได้สูงซึ่งคัดเลือกได้โดย กรรณิกา จันทรสอาด (2530) และได้มีงานวิจัยมากมายเกี่ยวกับการผลิตกรดดังกล่าวโดยจุลินทรีย์ ทั้งที่เป็นการหาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต (รติกร กัณฑะพงศ์, 2534) การผลิตในรูปแคลเซียมกลูโคเนตโดยใช้เซลล์อิสระ (Jantrapanukorn and Chantarasa-ard, 1992) การผลิตในรูปโซเดียมกลูโคเนตโดยการใช้สายใยอิสระและการใช้สายใยอิสระซ้ำ (จินตนา ไกรวัฒนพงศ์, 2536) แต่ยังไม่มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตกรดดังกล่าวด้วยเซลล์หรือสายใยตรึง จากการค้นเอกสารงานวิจัยต่าง ๆยังไม่พบงานวิจัยที่เกี่ยวกับการผลิตกรดกลูโคนิคในรูปแคลเซียมกลูโคเนต โดยใช้สายใยที่ถูกตรึงในแคลเซียมอัลจิเนต ทั้ง ๆ ที่แคลเซียมอัลจิเนตเป็นสารพาหะตรึงที่มีข้อดีหลายประการดังกล่าวข้างต้น ดังนั้นงานวิจัยนี้มุ่งที่จะตรึงสายใยของ *Aspergillus* sp.G153 ด้วยแคลเซียมอัลจิเนต และหาภาวะที่เหมาะสมบางประการในการตรึงสายใย และการผลิตกรดกลูโคนิคโดยสายใยตรึง ทั้งในระดับขวดเขย่าและระดับขยายส่วนผลิตในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง (bubble column) รวมทั้งศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการนำสายใยตรึงมาใช้ผลิตกรดซ้ำเพื่อลดต้นทุนการผลิต

วัตถุประสงค์งานวิจัย

1. เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมบางประการในการตรึงสายใย และการผลิตกรดกลูโคนิค โดย *Aspergillus* sp. G153 ที่ตรึงในแคลเซียมอัลจิเนตทั้งในระดับขวดเขย่าและระดับขยายส่วนในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง

2. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำสายใยตรึงมาผลิตกรดกลูโคนิคซ้ำ

ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาภาวะที่เหมาะสมบางประการในการตรึงสายใย และการผลิตกรดกลูโคนิค โดยสายใยตรึงในระดับขวดเขย่า

2. ศึกษาภาวะที่เหมาะสมบางประการในการผลิตกรดกลูโคนิคโดยสายใยตรึงในระดับขยายส่วนผลิตในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง

3. ผลิตกรดกลูโคนิคโดยใช้น้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายแป้งมันสำปะหลังแทนน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์ และใช้น้ำประปาแทนน้ำปลอดประจุในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดกลูโคนิคโดยสายใยตรึงในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง

4. ผลิตกรดกลูโคนิคโดยใช้สายใยตรึงซ้ำ