บทที่ 3

ผลการวิจัย

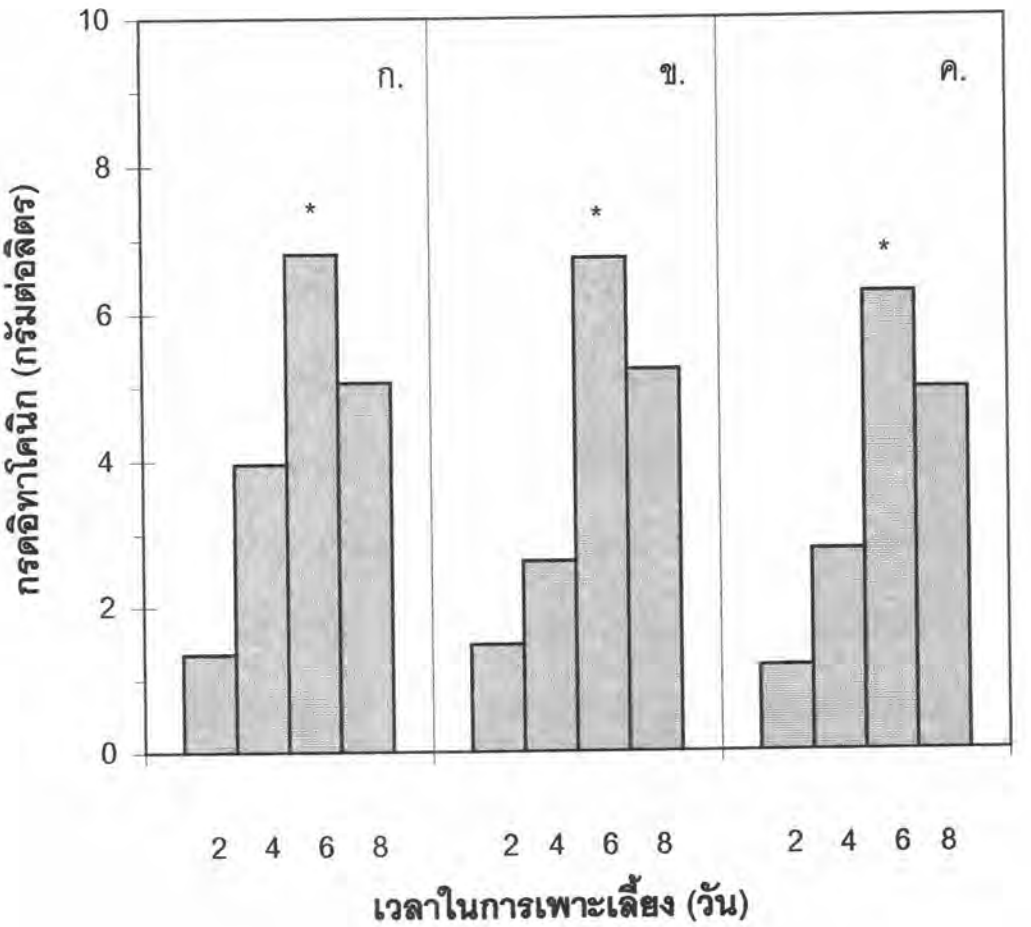
1. ผลการหาแหล่งคาร์บอนทดแทนน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์สำหรับการผลิตกรดอิทาโคนิกและการเตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอม

1.1 ผลการหาแหล่งคาร์บอนทดแทนที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอม

เมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึง (ภาคผนวก ก 4) ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ น้ำตาลทรายขาว น้ำตาลทรายแดง เข้มข้น 66 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 วัน ผลการทดลองพบว่า น้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงสุดเท่ากับ 6.81 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง น้ำตาลทรายขาวให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงสุดเท่ากับ 6.75 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนน้ำตาลทรายแดงให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงสุด 6.27 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง (รูปที่ 5) สำหรับการใช้น้ำตาลของสายใยตรึงเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นน้ำตาลทั้งสามชนิดนั้นไล่เลี่ยกัน คือ เหลือ 53.65 52.09 และ 56.20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าแหล่งน้ำตาลซูโครสทั้งสามแหล่งให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกไล่เลี่ยกัน จึงสามารถใช้ทดแทนกันได้ แต่น้ำตาลทรายแดงทำให้สีของอาหารเลี้ยงเชื้อเข้มจนเป็นสีน้ำตาลซึ่งรบกวนต่อการวิเคราะห์กรดและน้ำตาลได้ จึงเลือกใช้น้ำตาลทรายขาวเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกสำหรับการทดลองต่อ ๆ ไป

1.2 ผลการหาแหล่งคาร์บอนทดแทนที่เหมาะสมต่อการเตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอม

เมื่อเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก (ภาคผนวก ก 2) ที่แปรผันแหล่งคาร์บอนเป็นน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ น้ำตาลทรายขาว น้ำตาลทรายแดง บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำสายใยตรึงที่ได้ไปผลิตกรดอิทาโคนิกด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึง (ภาคผนวก ก 5) ในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน ผลการทดลองพบว่า กล้าเชื้อที่เตรียมได้จากน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงสุดเท่ากับ 6.47 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการผลิต กล้าเชื้อที่เตรียมได้จาก



รูปที่ 5 เปรียบเทียบปริมาณกรดอิทาโคนิกที่ผลิตได้โดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10ในชิ้นเส้นใยบวบหอม เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนทดแทนน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ต่างชนิดกันความเข้มข้น 66 กรัมต่อลิตรในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิก เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก

ก. หมายถึง ใช้น้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์เป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิก

ข. หมายถึง ใช้น้ำตาลทรายขาวเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิก

ค. หมายถึง ใช้น้ำตาลทรายแดงเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิก

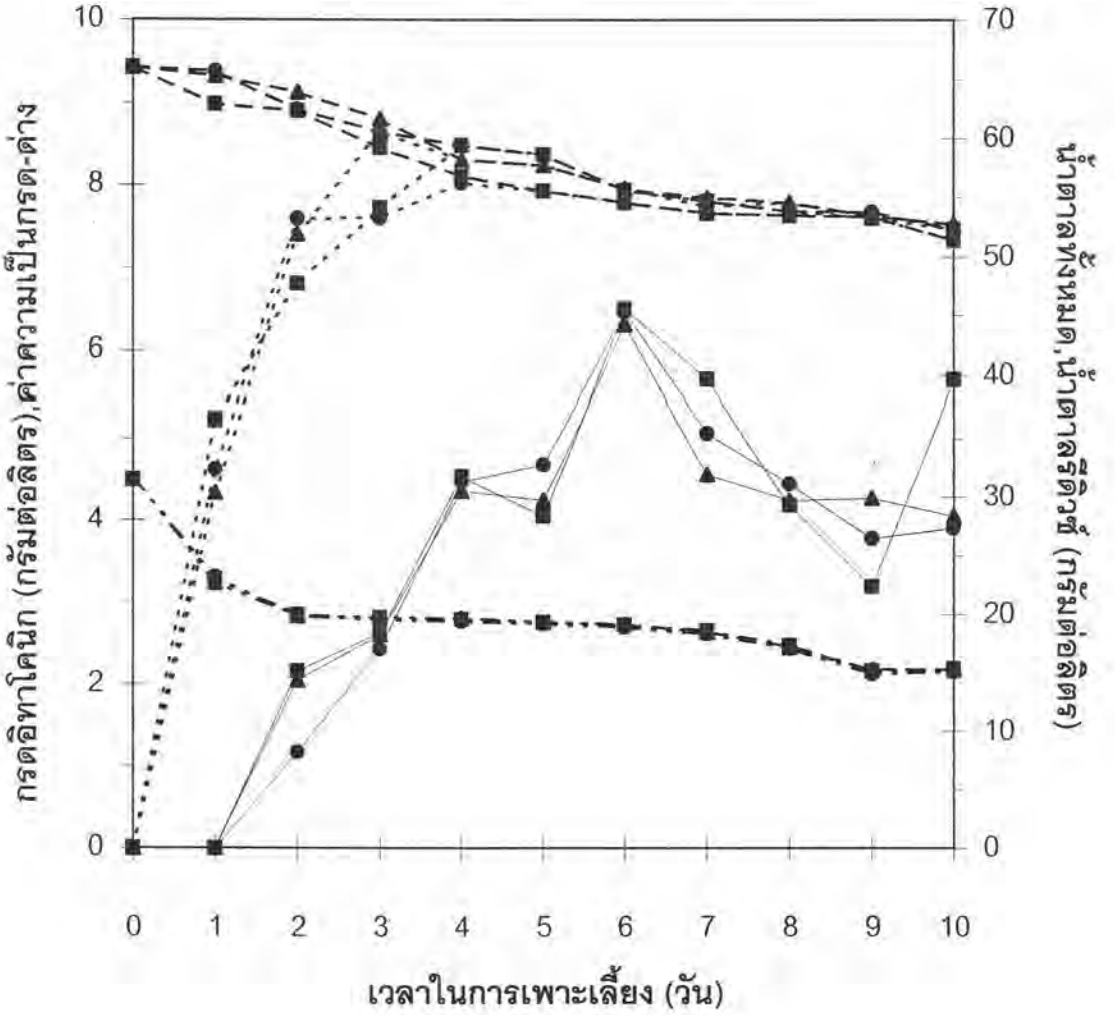
* หมายถึง วันที่ให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงสุด

น้ำตาลทรายขาวให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงสุดเท่ากับ 6.5 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการผลิต ส่วนกล้าเชื้อที่เตรียมได้จากน้ำตาลทรายแดงให้ปริมาณกรดสูงสุดเท่ากับ 6.32 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการผลิต สำหรับการใช้น้ำตาลของสายใยตรึง พบว่า มีรูปแบบเดียวกันและมีปริมาณการใช้ไล่เลี่ยกัน (รูปที่ 6) สำหรับค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการผลิต พบว่า การผลิตกรดโดยกล้าเชื้อสายใยตรึงที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีแหล่งคาร์บอนทั้งสามชนิดมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด - ด่างมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันและมีค่าใกล้เคียงกัน คือ ค่าความเป็นกรด - ด่างจะลดลงอย่างรวดเร็วจาก 4.5 เป็น 2.8 ในวันที่ 2 ของการผลิตจากนั้นค่าความเป็นกรด - ด่างจะลดลงเพียงเล็กน้อย (รูปที่ 6) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดอิทาโคนิกที่ผลิตได้จากกล้าเชื้อสายใยตรึงที่เตรียมจากการใช้แหล่งน้ำตาลซูโครสทั้ง 3 ชนิด จะเห็นได้ว่าให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกไล่เลี่ยกัน ดังนั้นจึงสามารถใช้น้ำตาลทรายขาวและน้ำตาลทรายแดงเป็นแหล่งคาร์บอนทดแทนน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ในการเตรียมกล้าเชื้อได้ แต่น้ำตาลทรายแดงจะทำให้กล้าเชื้อสายใยตรึงมีสีน้ำตาลอ่อน ซึ่งอาจเกิดจากสายใยราดูดซับสีของน้ำตาลทรายแดงไว้ นอกจากนั้นน้ำตาลทรายขาวและน้ำตาลทรายแดงมีราคาไล่เลี่ยกัน จึงเลือกใช้น้ำตาลทรายขาวเป็นแหล่งคาร์บอนในการเตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึงในการผลิตกรดอิทาโคนิกต่อไป

2. ผลการหาความเป็นไปได้และความสม่ำเสมอในการใช้ชิ้นเส้นใยบวบหอมในการตรึงและการผลิตกรดอิทาโคนิกในระดับขวดเขย่า

2.1 ผลการหาความสม่ำเสมอของน้ำหนักแห้งกล้าเชื้อสายใยตรึง

เมื่อเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงของ *A. terreus* I10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก (ภาคผนวก ก 2) แต่ใช้น้ำตาลทรายขาวเป็นแหล่งคาร์บอน บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จำนวน 10 ชุด ผลการทดลองพบว่า น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้อสายใยตรึงอยู่ในช่วง 4.23 - 5.21 กรัมต่อลิตร ดังตารางที่ 5 คิดเป็นค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งกล้าเชื้อสายใยตรึงเท่ากับ 4.72 กรัมต่อลิตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.34 กรัมต่อลิตร พิสัยเท่ากับ 0.98 กรัมต่อลิตร ค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปรเท่ากับ 7.2 เปอร์เซ็นต์ จากค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปรซึ่งเป็นค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของเฉลี่ยที่มีค่าน้อยทำให้เห็นว่ามีความแปรปรวนน้อย แสดงว่าสามารถใช้ชิ้นเส้นใยบวบหอมในการตรึงสายใยของ *A. terreus* I10 ได้



รูปที่ 6 การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการทำให้สปอร์ตรึงงอกที่ใช้แหล่งคาร์บอนทดแทนน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ต่างกัน เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก

— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

- — - หมายถึง ค่าความเป็นกรด - ด่าง

—●— หมายถึง น้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์เป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก

—■— หมายถึง น้ำตาลทรายขาวเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก

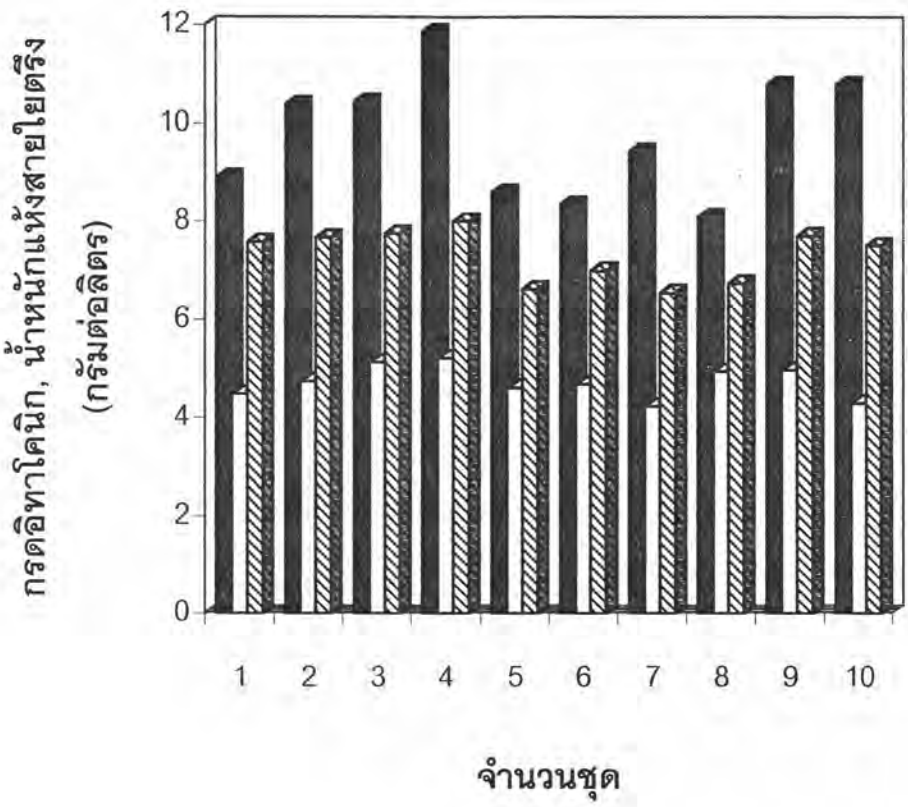
—▲— หมายถึง น้ำตาลทรายแดง เป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก

ตารางที่ 5 น้ำหนักแห้งของสายใยตรึงที่ได้จากการเตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอม เป็นจำนวน 10 ชุด

ชุดที่	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อเริ่มต้นการผลิต (กรัมต่อลิตร)
1	4.47
2	4.73
3	5.13
4	5.21
5	4.60
6	4.68
7	4.23
8	4.94
9	4.96
10	4.29

2.2 ผลการหาความสม่ำเสมอและความเป็นไปได้ในการใช้สายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมในการผลิตกรดอิทาโคนิก

เมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึง (ภาคผนวก ก 5) บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 วัน ตามวิธีการทดลองข้อ 5 จำนวน 10 ชุด ผลการทดลองพบว่าปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงสุดที่ผลิตได้ในวันที่ 7 ของการผลิตอยู่ในช่วง 8.09 - 11.87 กรัมต่อลิตร เมื่อคำนวณหาค่าเฉลี่ยเท่ากับ 9.77 กรัมต่อลิตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 1.27 กรัมต่อลิตร พิสัยเท่ากับ 3.78 กรัมต่อลิตร ค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปรเท่ากับ 12.99 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเติบโตของสายใยตรึงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ได้น้ำหนักแห้งสายใยตรึงอยู่ในช่วง 6.54 - 7.99 กรัมต่อลิตร คำนวณค่าเฉลี่ยได้เท่ากับ 7.30 กรัมต่อลิตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.53 กรัมต่อลิตร พิสัยเท่ากับ 1.45 กรัมต่อลิตร ค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปรเท่ากับ 7.26 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 7) จะเห็นได้ว่าค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปรที่คำนวณได้มีค่าน้อยทำให้เห็นว่ามีความแปรปรวนน้อยหรือมีความสม่ำเสมอนั่นเอง



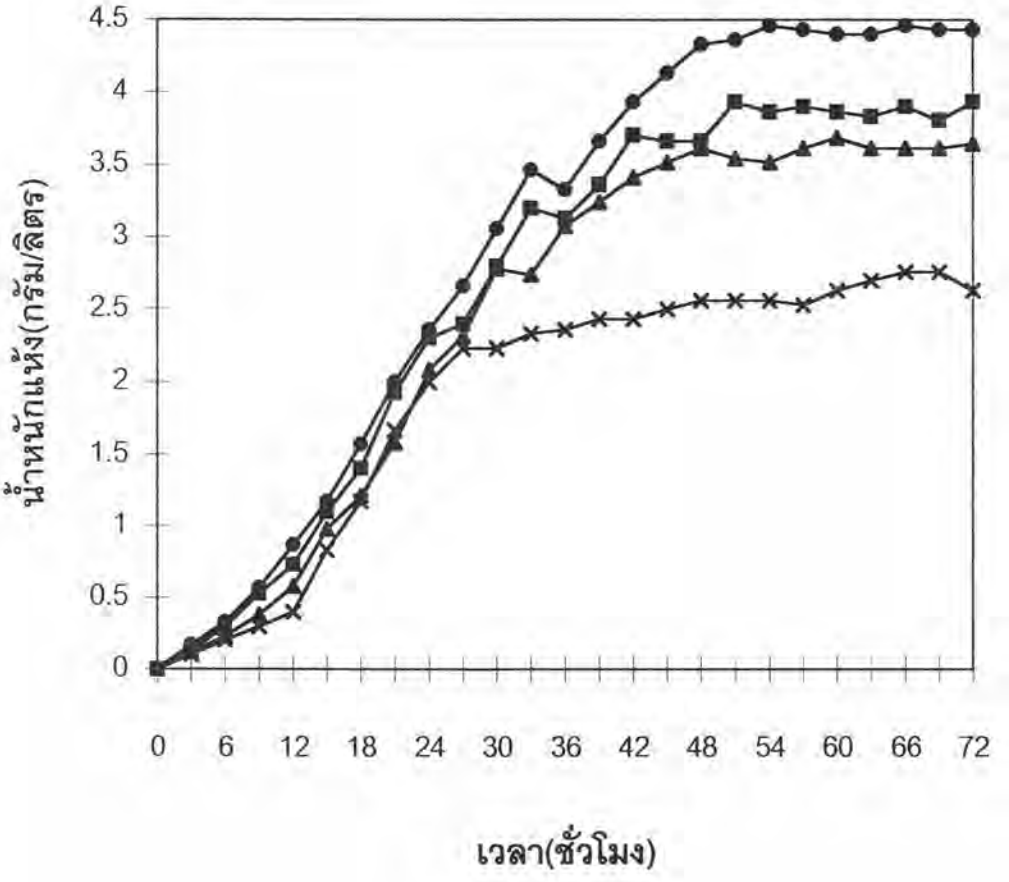
รูปที่ 7 ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงสุดที่ผลิตได้ (วันที่ 7 ของการผลิต)และน้ำหนักแห้งของสายใยตรึงเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอม จากการทดลอง 10 ชุด เมื่อเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก
หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใยตรึงเมื่อเริ่มต้นการผลิต
หมายถึง น้ำหนักแห้งของสายใยตรึงเมื่อสิ้นสุดการผลิต

3. ผลการหาภาวะที่เหมาะสมบางประการในการเตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอม

3.1 ผลการหาการเติบโตของ *A. terreus* I10 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ กัน

เมื่อเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก (ภาคผนวก ก 2) แต่ใช้น้ำตาลทรายขาวเป็นแหล่งคาร์บอน แล้วแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 2.70 1.35 0.81 และ 0.27 กรัมต่อลิตร หาการเติบโตโดยชั่งน้ำหนักเปียกของกล้าเชื้อสายใยตรึง ณ. เวลาต่าง ๆ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นคำนวณหาน้ำหนักแห้งจากค่าปัจจัยในการเปลี่ยนน้ำหนักเปียกไปเป็นน้ำหนักแห้ง ผลการทดลอง (รูปที่ 8) พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนสูงจะให้การเติบโตที่สูงขึ้นตามลำดับและสามารถแบ่งการเติบโตของ *A. terreus* I10 ได้เป็น 3 ระยะ ได้แก่ ระยะที่ไม่มีการเติบโตหรือมีน้อย (lag phase) ระยะที่มีการเติบโตมากและรวดเร็ว (log phase) และ ระยะที่การเติบโตคงที่ (stationary phase) ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 0.27 กรัมต่อลิตร ระยะที่ไม่มีการเติบโตหรือมีน้อยเริ่มจากระยะเริ่มเพาะเลี้ยงถึงชั่วโมงที่ 12 ของการเพาะเลี้ยง จากนั้นจะเข้าสู่ระยะที่มีการเติบโตรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 27 ของการเพาะเลี้ยง น้ำหนักแห้งของสายใยตรึงเพิ่มจาก 0.4 กรัมต่อลิตรเป็น 2.23 กรัมต่อลิตร หลังจากชั่วโมงที่ 27 จะเข้าสู่ระยะที่การเติบโตคงที่ เมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 0.81 กรัมต่อลิตร ระยะที่มีการเติบโตน้อยจะเริ่มจากระยะเริ่มเพาะเลี้ยงถึงชั่วโมงที่ 9 ของการเพาะเลี้ยง และเข้าระยะที่มีการเติบโตรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 48 ของการเพาะเลี้ยง น้ำหนักแห้งของสายใยตรึงเพิ่มจาก 0.38 กรัมต่อลิตรเป็น 3.51 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นเข้าระยะการเติบโตคงที่ในที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตร และ 2.7 กรัมต่อลิตรแทบจะไม่พบระยะการเติบโตน้อยเลย ส่วนระยะที่มีการเติบโตรวดเร็วนั้นจะสิ้นสุดลงในในชั่วโมงที่ 48 และ 54 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ น้ำหนักแห้งของสายใยตรึงเพิ่มเป็น 3.51 และ 4.46 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และตามด้วยระยะที่การเติบโตคงที่ ซึ่งจะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 0.27 กรัมต่อลิตร ให้การเติบโตน้อยเกินไป จึงไม่เหมาะที่จะใช้เตรียมกล้าเชื้อ ดังนั้นจึงเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 2.70 1.35 และ 0.81 กรัมต่อลิตรเตรียมกล้าเชื้อสำหรับการทดลองต่อไป



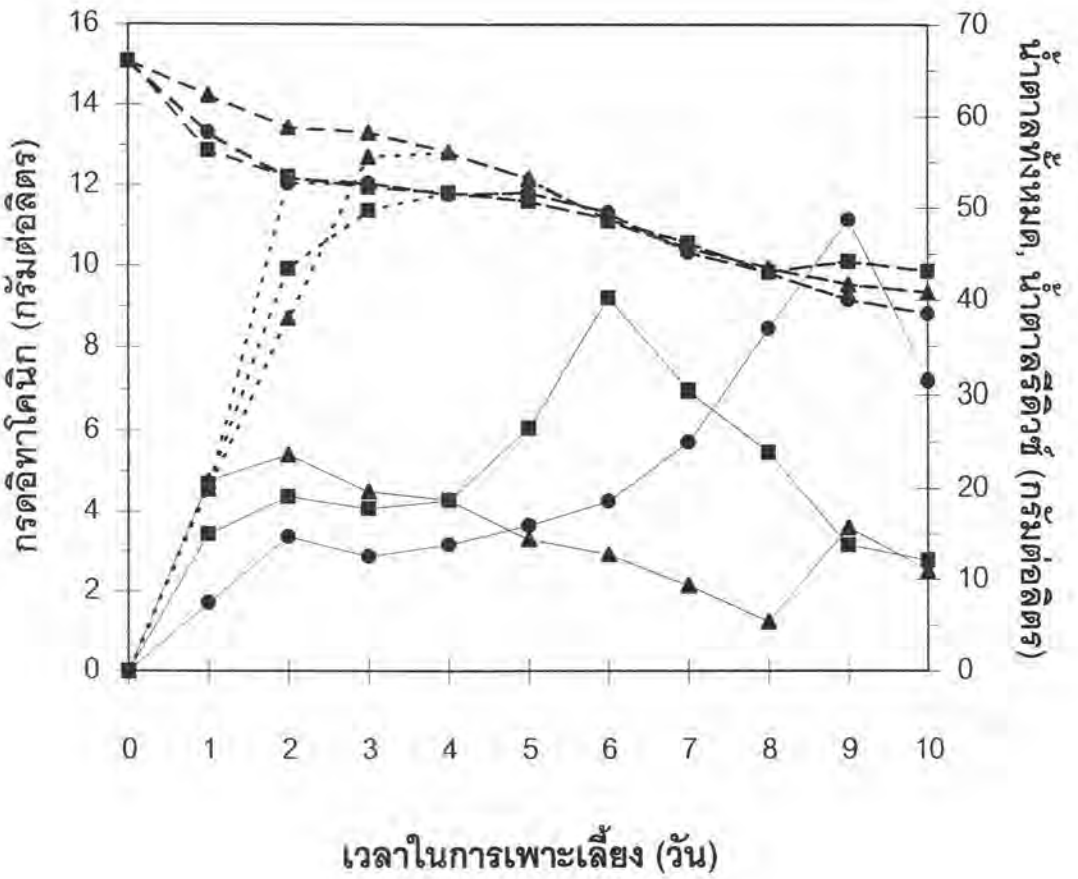
รูปที่ 8 การเติบโตของสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอม เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการทำให้สปอร์ตรึงงอก โดยแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตต่าง ๆ กัน เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ±1 องศาเซลเซียส

—●— หมายถึง แอมโมเนียมซัลเฟต 2.70 กรัมต่อลิตร
—■— หมายถึง แอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตร
—▲— หมายถึง แอมโมเนียมซัลเฟต 0.81 กรัมต่อลิตร
—×— หมายถึง แอมโมเนียมซัลเฟต 0.27 กรัมต่อลิตร

3.2 ผลการหาความเข้มข้นของไนโตรเจนและช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึง

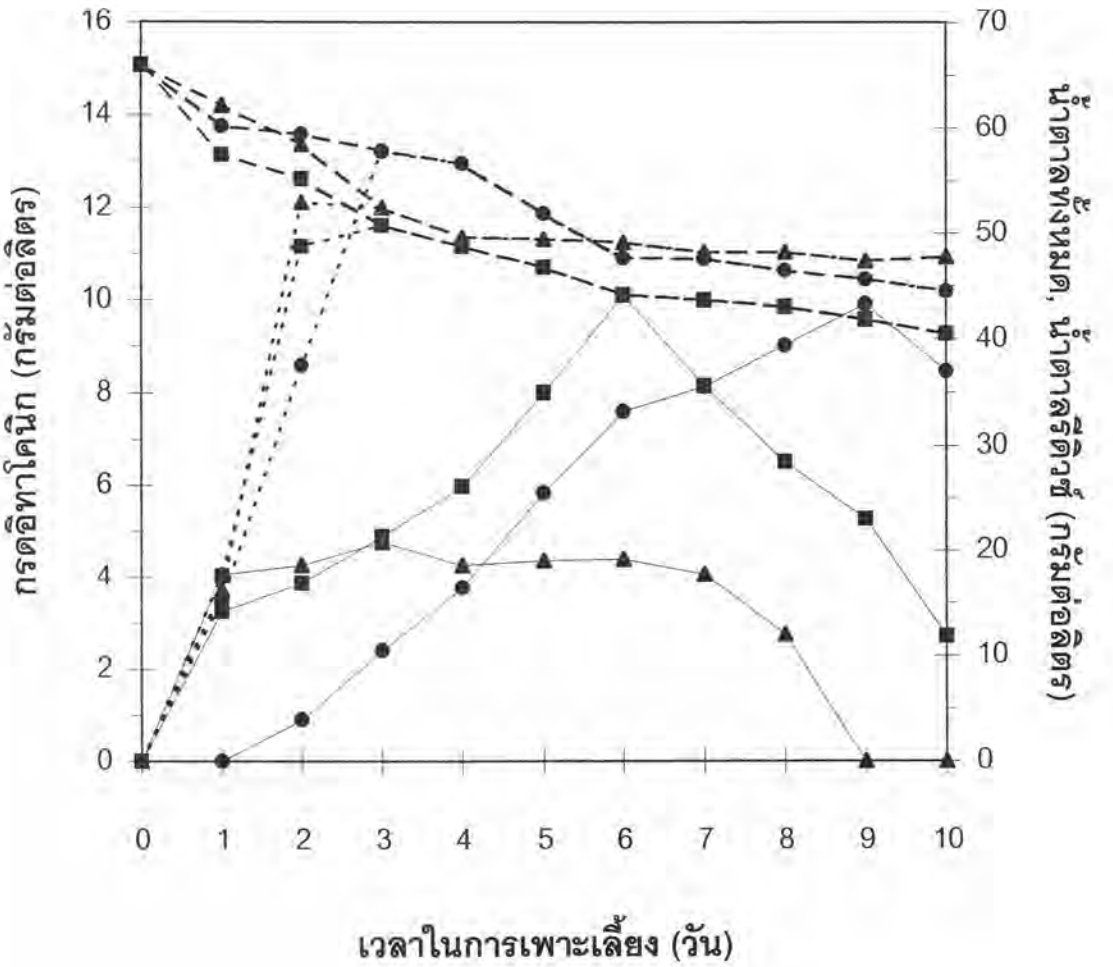
เมื่อทำการผลิตกรดอิทาโคนิกในระดับขวดเขย่า โดยใช้กล้าเชื้อที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 2.70 1.35 และ 0.81 กรัมต่อลิตร โดยเลือกกล้าเชื้อสายใยตรึง 3 ช่วงอายุ คือ 28 44 และ 60 ชั่วโมง จากทุก ๆ ค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก ผลการทดลองพบว่าสายใยตรึงที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 2.70 กรัมต่อลิตร ให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงสุดเมื่อใช้สายใยตรึงอายุ 28 ชั่วโมง คือ 11.14 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 9 ของการผลิต ส่วนสายใยตรึงอายุ 44 ชั่วโมง ให้ปริมาณกรดต่ำกว่ากล้าเชื้ออายุ 28 ชั่วโมง คือ ให้ปริมาณกรด 9.19 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการผลิต สำหรับสายใยตรึงอายุ 60 ชั่วโมง ให้กรดต่ำมากตลอดการทดลอง โดยให้ปริมาณกรดสูงสุดเท่ากับ 5.4 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการผลิต (รูปที่ 9) สำหรับการใช้น้ำตาลของสายใยตรึงอายุ 28 ชั่วโมง พบว่าน้ำตาลจะถูกใช้อย่างรวดเร็วใน 2 วันแรกของการผลิต หลังจากนั้นการใช้น้ำตาลจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจนถึงวันที่ 5 ของการผลิตหลังจากนี้จะเริ่มใช้น้ำตาลเร็วขึ้นอีกครั้งและการผลิตกรดสูงขึ้นด้วย น้ำตาลซูโครสถูกเปลี่ยนเป็นกลูโคสและฟรุคโตสหมดในวันที่ 2 เช่นกัน การใช้น้ำตาลของสายใยตรึงอายุ 44 ชั่วโมงมีแนวโน้มเช่นเดียวกันกับสายใยตรึงอายุ 28 ชั่วโมง และน้ำตาลซูโครสถูกเปลี่ยนหมดในวันที่ 4 ของการผลิต การใช้น้ำตาลของสายใยตรึงอายุ 60 ชั่วโมง มีการใช้น้ำตาลน้อยกว่าสายใยตรึงอายุอื่นในช่วง 5 วันแรกของการผลิต และใช้น้ำตาลได้เท่า ๆ กับสายใยตรึงอายุอื่นในวันที่ 6 ของการผลิต (รูปที่ 9) ส่วนน้ำหนักแห้งของสายใยตรึงที่เพิ่มขึ้นได้แสดงไว้ในรูปที่ 12 กล่าวคือ น้ำหนักแห้งของกล้าเชื้ออายุ 60 44 และ 28 ชั่วโมง เมื่อเริ่มผลิตเท่ากับ 4.76 4.46 และ 2.96 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากสิ้นสุดการผลิตน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเพิ่มเป็น 8.56 7.94 และ 5.36 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ คิดเป็นน้ำหนักแห้งของสายใยตรึงเพิ่มขึ้น 3.48 3.48 และ 2.40 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

สำหรับสายใยตรึงที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตร ผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้สายใยตรึงอายุ 28 ชั่วโมง ให้ปริมาณกรดสูงสุด 9.89 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 9 ของการผลิต ส่วนสายใยตรึงอายุ 44 ชั่วโมง จะให้ปริมาณกรดสูงกว่ากล้าเชื้อสายใยตรึงอายุ 28 ชั่วโมงเล็กน้อย คือ ให้ปริมาณกรด 10.08 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการผลิต สำหรับสายใยตรึงอายุ 60 ชั่วโมง ให้ปริมาณกรดต่ำกว่าสายใยตรึงอายุอื่น ๆ คือ ให้ปริมาณกรดสูงสุดเท่ากับ 4.75 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 3 ของการผลิต (รูปที่ 10) สำหรับการใช้น้ำตาล พบว่า สายใยตรึงอายุ 44 ชั่วโมงใช้น้ำตาลได้เร็วและมากที่สุด การใช้น้ำตาลของสายใยตรึงอายุ 60 ชั่วโมงเป็นไปอย่างรวดเร็วในช่วง 6 วันแรกของการผลิตต่อจากนั้น



รูปที่ 9 การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอมเมื่อใช้กล้าเชื้อ 3 ช่วงอายุที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต 2.70 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก
— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด
- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์
—●— หมายถึง กล้าเชื้ออายุ 28 ชั่วโมง
—■— หมายถึง กล้าเชื้ออายุ 44 ชั่วโมง
—▲— หมายถึง กล้าเชื้ออายุ 60 ชั่วโมง

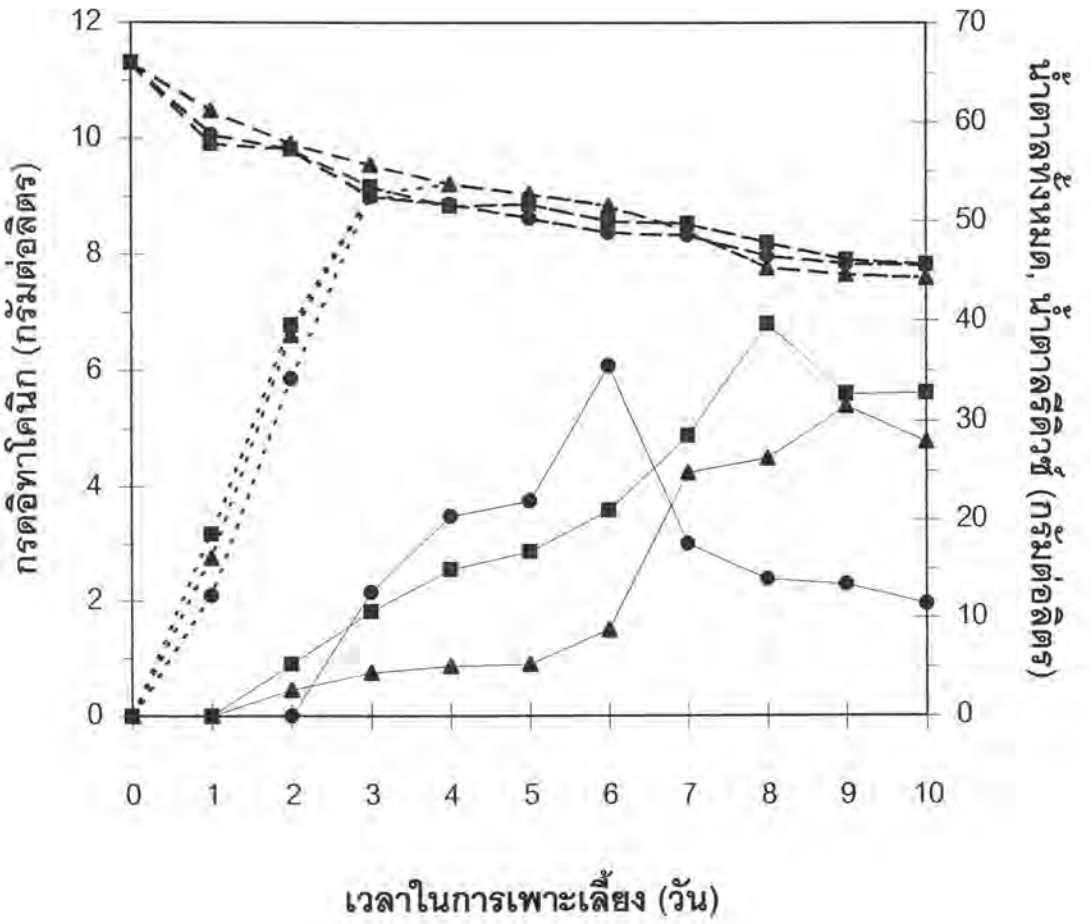


รูปที่ 10 การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอมเมื่อใช้กล้าเชื้อ 3 ช่วงอายุที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก
— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด
---- หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์
—●— หมายถึง กล้าเชื้ออายุ 28 ชั่วโมง
—■— หมายถึง กล้าเชื้ออายุ 44 ชั่วโมง
—▲— หมายถึง กล้าเชื้ออายุ 60 ชั่วโมง

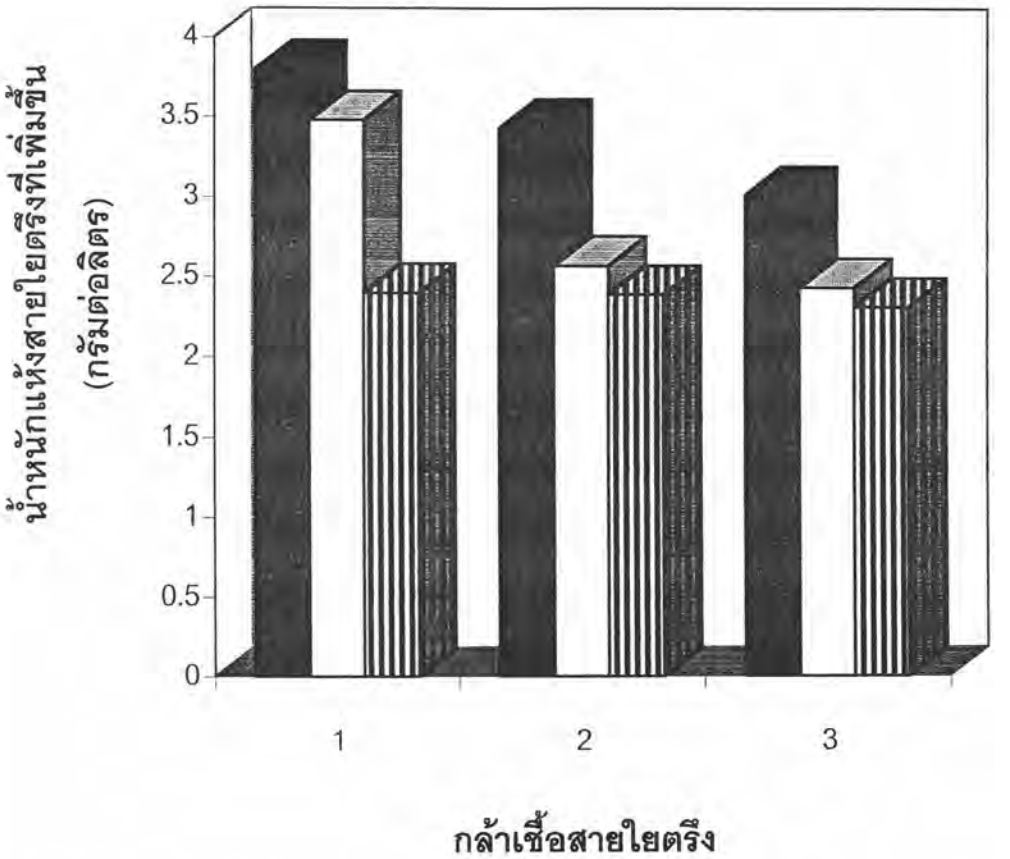
จะเริ่มคงที่ ส่วนการใช้น้ำตาลของสายใยตรึงอายุ 28 ชั่วโมงจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงวันที่ 10 ของการผลิต สายใยตรึงทั้ง 3 อายุสามารถเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสได้หมด ในวันที่ 3 ของการผลิต (รูปที่ 10) สำหรับน้ำหนักแห้งของสายใยตรึงอายุ 60 44 และ 28 ชั่วโมง เมื่อเริ่มผลิตกรดเท่ากับ 4.65 4.45 และ 3.20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากสิ้นสุดการผลิตน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเพิ่มเป็น 8.08 7.02 และ 5.59 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเพิ่มขึ้น 3.43 2.57 และ 2.39 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 12)

ส่วนสายใยตรึงที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 0.81 กรัมต่อลิตร ผลการทดลองพบว่า สายใยตรึงอายุ 28 ชั่วโมง ผลิตกรดอิทาโคนิกได้ปริมาณกรดสูงสุด 6.07 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการผลิต ส่วนสายใยตรึงอายุ 44 ชั่วโมง ให้ปริมาณกรด 6.79 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 8 ของการผลิต สำหรับสายใยตรึงอายุ 60 ชั่วโมง ให้ปริมาณกรดสูงสุด 5.4 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 9 ของการผลิต (รูปที่ 11) สำหรับการใช้น้ำตาลพบว่า สายใยตรึงอายุ 28 และ 44 ชั่วโมงมีการใช้น้ำตาลทั้งหมดใกล้เคียงกัน ส่วนสายใยตรึงอายุ 60 ชั่วโมง มีการใช้ที่ช้ากว่าเล็กน้อย โดยน้ำตาลซูโครสจะถูกเปลี่ยนได้หมดในวันที่ 3 ของการผลิต เมื่อใช้สายใยตรึงอายุ 28 และ 44 ชั่วโมง ส่วนสายใยตรึงอายุ 60 ชั่วโมง เปลี่ยนน้ำตาลซูโครสได้ช้ากว่า (รูปที่ 11) ส่วนน้ำหนักแห้งของสายใยตรึงอายุ 60 44 และ 28 ชั่วโมง เมื่อเริ่มผลิตเท่ากับ 4.65 4.29 และ 3.47 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการผลิตน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเพิ่มเป็น 7.66 7.03 และ 6.08 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ คิดเป็นน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเพิ่มขึ้น 3.01 2.43 และ 2.31 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 12) เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 2.70 1.35 และ 0.81 กรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อเป็นเวลา 44 ชั่วโมง พบว่า มีแอมโมเนียมซัลเฟตเหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 0.038 0.034 และ 0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงเมื่อสิ้นสุดทุกการทดลองอยู่ในช่วง 2.7 - 2.8 จากผลการทดลองจะเห็นว่าสายใยตรึงที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 0.81 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตกรดอิทาโคนิกต่ำและต่ำกว่าผลผลิตกรดที่ได้จากสายใยตรึงที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตค่าอื่น นอกจากนั้นสายใยตรึงอายุ 60 ชั่วโมงที่เตรียมจากการเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตต่างกันทั้ง 3 ค่าให้ปริมาณกรดต่ำกว่าปริมาณกรดที่ได้จากสายใยตรึงที่มีอายุน้อยกว่า ส่วนการเติบโตที่เพิ่มขึ้นระหว่างการผลิตกรดอิทาโคนิก ผลการทดลองพบว่า สายใยตรึงที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตสูงจะให้การเติบโตของสายใยตรึงระหว่างการผลิตกรดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นมาก



รูปที่ 11 การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอม เมื่อใช้กล้าเชื้อ 3 ช่วงอายุที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต 0.81 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก
— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด
---- หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์
—●— หมายถึง กล้าเชื้ออายุ 28 ชั่วโมง
—■— หมายถึง กล้าเชื้ออายุ 44 ชั่วโมง
—▲— หมายถึง กล้าเชื้ออายุ 60 ชั่วโมง



รูปที่ 12 น้ำหนักแห้งที่เพิ่มขึ้นของสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมในระหว่างการผลิตกรดอิทาโคนิก เมื่อใช้กล้าเชื้อสายใยตรึงที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตต่าง ๆ กัน บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

■ หมายถึง สายใยตรึงอายุ 60 ชั่วโมง

□ หมายถึง สายใยตรึงอายุ 44 ชั่วโมง

▥ หมายถึง สายใยตรึงอายุ 28 ชั่วโมง

1 หมายถึง กล้าเชื้อที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 2.70 กรัมต่อลิตร

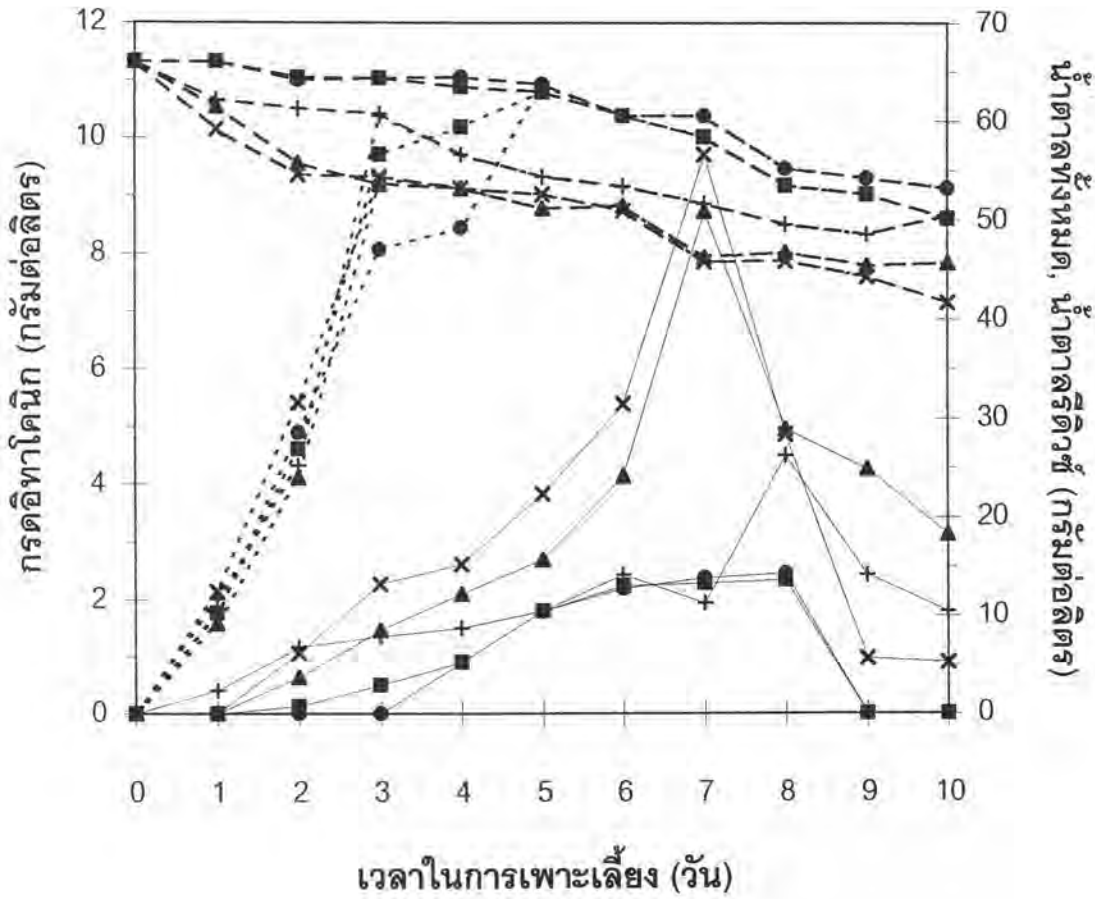
2 หมายถึง กล้าเชื้อที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตร

3 หมายถึง กล้าเชื้อที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 0.81 กรัมต่อลิตร

กว่าสายใยตรึงที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตต่ำกว่า ซึ่งอาจทำให้เกิดปัญหาการอุดตันในการผลิตในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างได้ และเมื่อพิจารณาการผลิตกรดของสายใยตรึงอายุ 28 และ 44 ชั่วโมงที่ได้จากทั้งการเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 2.70 และ 1.35 กรัมต่อลิตร จะเห็นได้ว่า สายใยตรึงอายุ 28 ชั่วโมงที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 2.70 กรัมต่อลิตร ให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงที่สุด คือ 11.14 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 9 ของการผลิต รองลงมา คือ สายใยตรึงอายุ 44 ชั่วโมงที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตร ให้ปริมาณกรด 10.08 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการผลิต ซึ่งให้ปริมาณกรดน้อยกว่าสายใยตรึงที่ให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงที่สุดเพียงเล็กน้อย แต่ใช้เวลาสั้นกว่า จึงเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 1.35 กรัมต่อลิตรในการเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อสายใยตรึง และเลือกใช้สายใยตรึงอายุ 44 ชั่วโมงสำหรับการผลิตกรดอิทาโคนิกต่อไป

3.3 ผลการหาความหนาแน่นที่เหมาะสมของสปอร์ในการตรึง

เมื่อตรึงสปอร์ของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอม โดยใช้ความหนาแน่นสปอร์ $1 - 2 \times 10^{6}$ $1 - 2 \times 10^{7}$ $1 - 2 \times 10^{8}$ $1 - 2 \times 10^{9}$ และ $1 - 2 \times 10^{10}$ สปอร์ต่อชิ้นบวบหอม 1 ชิ้น เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหมาะสมเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก (ภาคผนวก ก 3) เป็นเวลา 44 ชั่วโมง ตามวิธีการทดลองข้อ 4.1 นำสายใยตรึงที่ได้ไปผลิตกรดอิทาโคนิกในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหมาะสมเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึง (ภาคผนวก ก 5) พบว่าสายใยตรึงที่เตรียมโดยใช้ความหนาแน่นของสปอร์ $1 - 2 \times 10^{9}$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ผลิตกรดได้สูงสุด 9.71 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการผลิต ในขณะที่สายใยตรึงที่เตรียมโดยใช้ความหนาแน่นของสปอร์ $1 - 2 \times 10^{6}$ $1 - 2 \times 10^{7}$ $1 - 2 \times 10^{8}$ และ $1 - 2 \times 10^{10}$ สปอร์ ให้ปริมาณกรดสูงสุด 2.45 กรัมต่อลิตรในวันที่ 8 ของการผลิต 2.34 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 8 ของการผลิต 8.74 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการผลิต และ 4.5 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 8 ของการผลิต ตามลำดับ (รูปที่ 13) สำหรับการใช้น้ำตาล พบว่า การทดลองที่ใช้สายใยตรึงที่เตรียมโดยใช้ความหนาแน่นสปอร์ $1 - 2 \times 10^{9}$ สปอร์ ใช้น้ำตาลได้เร็วกว่าการทดลองที่ใช้ความหนาแน่นสปอร์อื่น ๆ โดยการใช้น้ำตาลสอดคล้องกับปริมาณกรดที่สร้างขึ้น สายใยตรึงที่เตรียมโดยใช้ความหนาแน่นของสปอร์ $1 - 2 \times 10^{8}$ $1 - 2 \times 10^{9}$ และ $1 - 2 \times 10^{10}$ สปอร์ สามารถเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุคโตสได้หมดในวันที่ 3 ของการผลิต ส่วนสายใยตรึงที่เตรียมโดยใช้ความหนาแน่นของสปอร์ต่ำกว่า คือ $1 - 2 \times 10^{6}$ และ $1 - 2 \times 10^{7}$ สปอร์จะเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสได้หมดช้ากว่า คือ หมดในวันที่ 5 ของการผลิต (รูปที่ 13) สำหรับการเติบโตพบว่า



รูปที่ 13 การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอมเมื่อตรึงสปอร์ความหนาแน่นต่าง ๆ กันใช้กล้าเชื้ออายุ 44 ชั่วโมงที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก

— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

—●— หมายถึง สปอร์ตรึงหนาแน่น 1 - 2 x 10^6 สปอร์

—■— หมายถึง สปอร์ตรึงหนาแน่น 1 - 2 x 10^7 สปอร์

—▲— หมายถึง สปอร์ตรึงหนาแน่น 1 - 2 x 10^8 สปอร์

—×— หมายถึง สปอร์ตรึงหนาแน่น 1 - 2 x 10^9 สปอร์

—+— หมายถึง สปอร์ตรึงหนาแน่น 1 - 2 x 10^{10} สปอร์

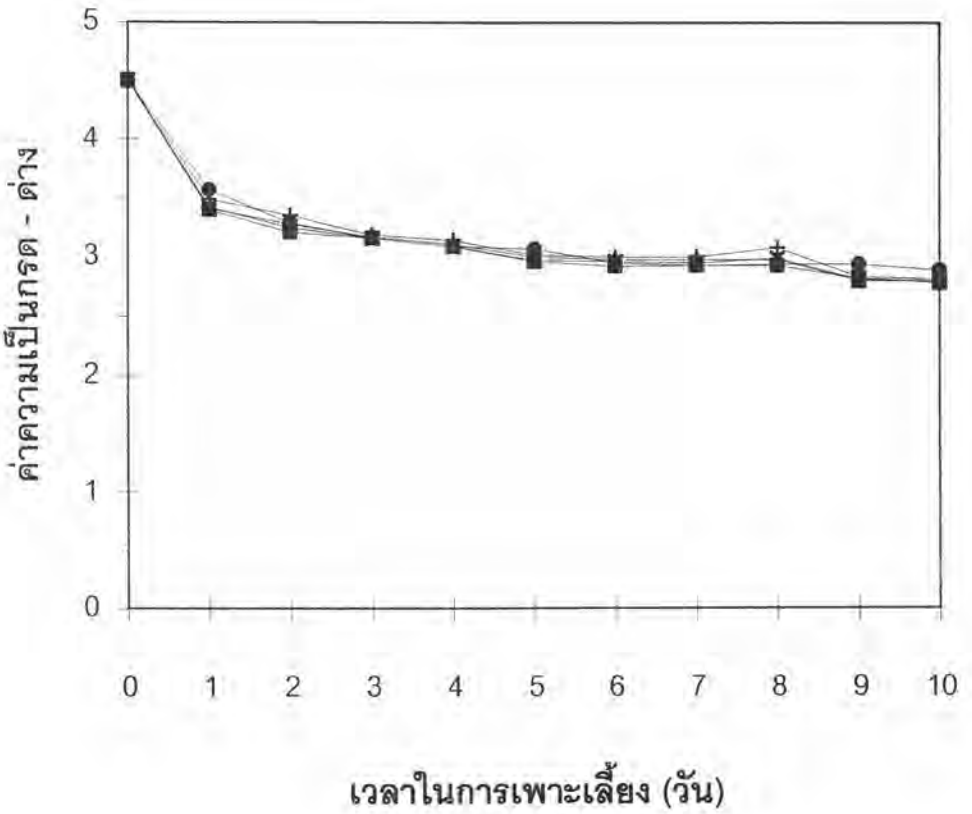
สายใยตรึงที่เตรียมจากความหนาแน่นสปอร์เท่ากับ $1 - 2 \times 10^6$ $1 - 2 \times 10^7$ และ$1 - 2 \times 10^8$ สปอร์ จะมีน้ำหนักแห้งเมื่อเริ่มต้นผลิตกรดเป็น 3.57 3.93 และ 3.90 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการผลิตน้ำหนักแห้งสายใยเพิ่มเป็น 4.96 5.67 และ 5.96 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยมีน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเพิ่มขึ้น 1.39 1.74 และ 2.06 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการเติบโตของสายใยตรึงเมื่อความหนาแน่นสปอร์เป็น $1 - 2 \times 10^9$ และ $1 - 2 \times 10^{10}$ สปอร์นั้นใกล้เคียงกัน คือ น้ำหนักแห้งเพิ่มจาก 4.38 และ 4.42 กรัมต่อลิตรเป็น 6.23 และ 6.51 กรัมต่อลิตร ได้น้ำหนักแห้งของสายใยตรึงเพิ่มขึ้น 1.85 และ 2.09 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีการเติบโตใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 6) ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการผลิตกรดของสายใยตรึงที่เตรียมโดยใช้ความหนาแน่นสปอร์ต่าง ๆ กันมีค่าใกล้เคียงกัน คือ ค่าความเป็นกรด - ด่างจะลดลงอย่างรวดเร็วในวันแรกของการผลิตและจะค่อย ๆ ลดลงจนเมื่อสิ้นสุดการทดลองจะมีค่าประมาณ 2.8 (รูปที่ 14) จะเห็นได้ว่ากล้าเชื้อที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่น $1 - 2 \times 10^8$ และ $1 - 2 \times 10^9$ สปอร์ให้ผลผลิตกรดสูงกว่าความหนาแน่นอื่นและใกล้เคียงกันจึงเลือกใช้กล้าเชื้อสายใยตรึงทั้งสองความหนาแน่นในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 6 การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมเมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกในขวดเขย่าโดยแปรผันความหนาแน่นของสปอร์ที่ใช้ในการเตรียมกล้าเชื้อต่างกัน

ความหนาแน่นของสปอร์ที่ใช้ในการตรึง (สปอร์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อเริ่มต้นการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อสิ้นสุดการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อลิตร)
$1 - 2 \times 10^6$	3.57	4.96	1.39
$1 - 2 \times 10^7$	3.93	5.67	1.74
$1 - 2 \times 10^8$	3.90	5.96	2.06
$1 - 2 \times 10^9$	4.38	6.23	1.85
$1 - 2 \times 10^{10}$	4.42	6.51	2.09

4. ผลการหาความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอม

เมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหมาะสมเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึง (ภาคผนวก ก 5) ที่แปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตต่างกัน คือ 0 0.2 และ 0.4 กรัมต่อลิตร ใช้กล้าเชื้ออายุ 44 ชั่วโมงที่เตรียม



รูปที่ 14 ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอม เมื่อตรึงสปอร์ความหนาแน่นต่าง ๆ กันใช้กล้าเชื้ออายุ 44 ชั่วโมงที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

—●— หมายถึง สปอร์ตรึงหนาแน่น 1 - 2 x 10^6 สปอร์
—■— หมายถึง สปอร์ตรึงหนาแน่น 1 - 2 x 10^7 สปอร์
—▲— หมายถึง สปอร์ตรึงหนาแน่น 1 - 2 x 10^8 สปอร์
—×— หมายถึง สปอร์ตรึงหนาแน่น 1 - 2 x 10^9 สปอร์
—+— หมายถึง สปอร์ตรึงหนาแน่น 1 - 2 x 10^{10} สปอร์

จากสปอร์ความหนาแน่น 1 - 2 x 10^9 สปอร์ต่อชิ้นเส้นใยบวบหอม 1 ชิ้น ผลการทดลองพบว่าไม่สามารถใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกที่มีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตกรดได้ เนื่องจากพบสายใยอิสระในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้ไม่สามารถบอกได้ว่าผลผลิตกรดที่ได้เกิดจากสายใยตรึงหรือสายใยอิสระมากน้อยเพียงใดจึงไม่ทำการทดลองต่อ ส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกที่ไม่เติมแอมโมเนียมซัลเฟต ไม่พบสายใยอิสระในอาหารเลี้ยงเชื้อ และให้ปริมาณกรดสูงสุด 9.71 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการผลิต (ตารางที่ 7) ดังนั้นจึงเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจนคือแอมโมเนียมซัลเฟตเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบปริมาณกรดอิทาโคนิก การพบสายใยอิสระ เมื่อแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิก

แอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด (กรัมต่อลิตร)	วันที่พบสายใยอิสระในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรด	วันที่ให้ปริมาณกรดสูงสุด (วัน)	ปริมาณกรดสูงสุด (กรัมต่อลิตร)
0.4	3	-	-
0.2	5	-	-
0	ไม่พบ	7	9.71

- หมายถึง ไม่ได้ทำการทดลองต่อ

5. ผลการหาภาวะเหมาะสมบางประการในการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง

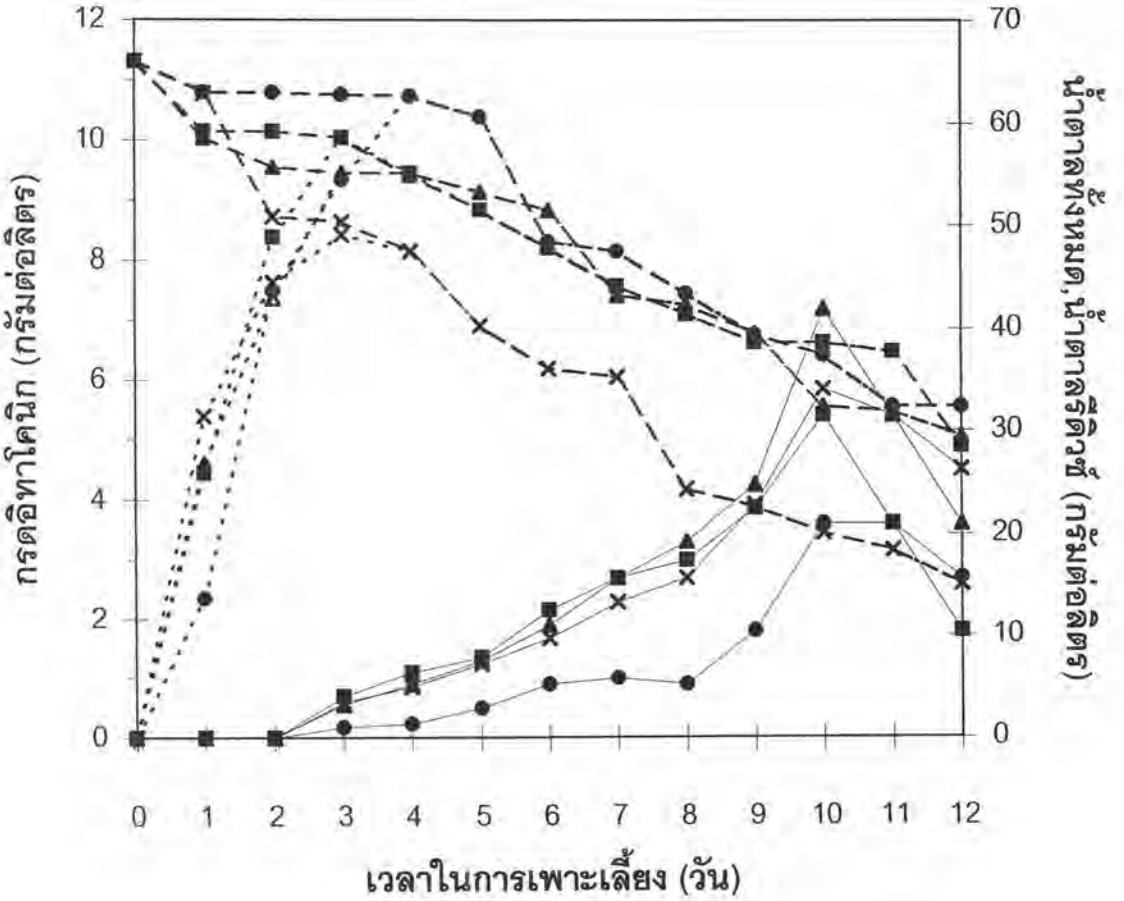
5.1 ผลการแปรผันอัตราการให้อากาศและขนาดของกล้าเชื้อในการผลิตกรดอิทาโคนิก

เนื่องจากผลการทดลองข้อ 3.3 จึงได้เลือกสายใยตรึงที่เตรียมจากสปอร์หนาแน่น 1 - 2 x 10^9 และ 1 - 2 x 10^8 สปอร์ใช้ในการทดลองผลิตกรดอิทาโคนิดในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ซึ่งบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหมาะสมเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึง (ภาคผนวก ก 5) ปริมาตร 400 มิลลิลิตร โดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอม (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.0 - 4.2 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร น้ำหนักแห้ง 2.0 - 2.2 กรัม) ซึ่งเตรียม

ตามวิธีการทดลองข้อ 4.1 โดยใช้สปอร์ความหนาแน่น 1 - 2 x 10^9 และ 1 - 2 x 10^8 สปอร์ต่อชิ้นเส้นใยบวบหอม 1 ชิ้น โดยแปรผันอัตราการให้อากาศเป็น 1.5 2.0 2.5 และ 3.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ผลการทดลองพบว่า

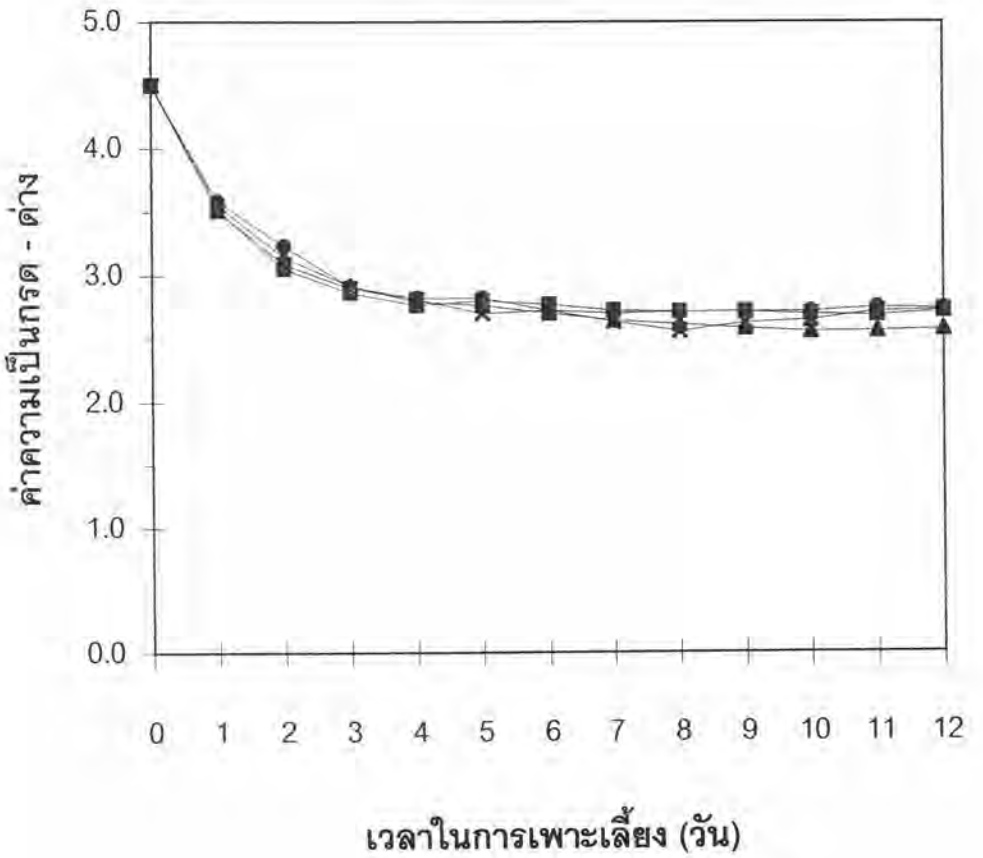
เมื่อใช้สายใยตรึงที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่น 1 - 2 x 10^9 สปอร์ สามารถผลิตกรดอิทาโคนิกได้สูงสุด 7.19 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 10 ของการผลิต เมื่ออัตราการให้อากาศเป็น 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที (รูปที่ 15) เมื่อให้อากาศ 3.0 2.0 และ 1.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ให้ปริมาณกรดต่ำกว่าคือให้ปริมาณกรดสูงสุด 5.85 5.40 และ 3.60 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 10 ของการผลิต สำหรับการใช้น้ำตาล พบว่า เมื่ออัตราการให้อากาศเท่ากับ 3.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ใช้น้ำตาลได้เร็วที่สุด รองลงมา คือ 2.5 2.0 และ 1.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ตามลำดับ และเมื่ออัตราการให้อากาศเป็น 2.0 2.5 และ 3 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาทีซึ่งค่อนข้างสูง น้ำตาลซูโครสจะถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุคโตสได้เร็ว คือ เปลี่ยนได้หมดในวันที่ 3 ของการผลิต แต่เมื่ออัตราการให้อากาศต่ำลงคือ 1.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที น้ำตาลซูโครสจะถูกเปลี่ยนได้หมดในเวลา 4 วัน ส่วนน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อเริ่มผลิตกรดเท่ากับ 4.44 4.28 4.50 และ 4.39 กรัมต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการผลิตน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเพิ่มขึ้น 2.51 2.60 2.00 และ 1.91 กรัมต่อลิตร เมื่ออัตราการให้อากาศเป็น 3.0 2.5 2.0 และ 1.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ตามลำดับ (ตารางที่ 8) ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการผลิตกรดเมื่ออัตราการให้อากาศต่างกัน พบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด - ด่างของแต่ละการทดลองไม่แตกต่างกันมากนัก โดยเมื่อให้อัตราการให้อากาศเท่ากับ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีค่าต่ำกว่า (รูปที่ 16)

สำหรับสายใยตรึงที่เตรียมจากสปอร์หนาแน่น 1 - 2 x 10^8 สปอร์ ให้ปริมาณกรดสูงสุด 9.0 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 10 ของการผลิต เมื่ออัตราการให้อากาศเป็น 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ส่วนการให้อากาศ 3.0 และ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ผลิตกรดได้น้อยกว่า คือ ผลิตได้สูงสุด 6.29 และ 6.74 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 10 ของการผลิต ส่วนอัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ให้ปริมาณกรดต่ำกว่าการทดลองอื่นคือให้ 4.95 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 11 ของการผลิต สำหรับการใช้น้ำตาลพบว่า เมื่ออัตราการให้อากาศ 3.0 และ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ใช้น้ำตาลได้ใกล้เคียงกันและเร็วที่สุด รองลงมา คือ 2.0 และ 1.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามการใช้น้ำตาลไม่แตกต่างกันมากนัก และทุกค่าของอัตราการให้อากาศสายใยตรึงสามารถเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุคโตสได้หมดในเวลา 3 วัน (รูปที่ 17) ส่วน



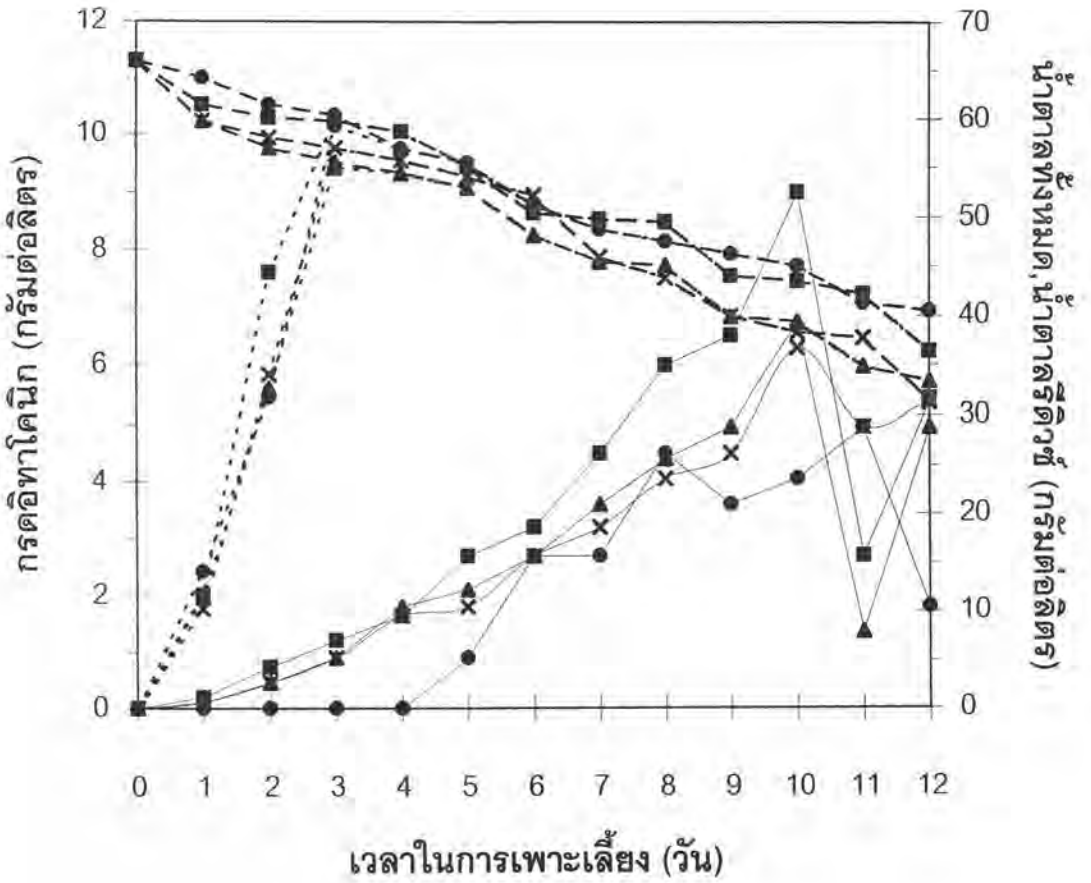
รูปที่ 15 การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่เตรียมจากสปอร์หนาแน่น 1 - 2 x 10^9 สปอร์ ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างที่อุณหภูมิห้อง (31±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 วัน เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศต่าง ๆ กัน

—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก
— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด
- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์
—●— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที
—■— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที
—▲— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที
—×— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 3.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที



รูปที่ 16 ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่เตรียมจากสปอร์หนาแน่น 1 - 2 x 10^9 สปอร์ ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างที่อุณหภูมิห้อง (31±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 วัน เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศต่าง ๆ กัน

—●— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที
—■— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที
—▲— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที
—×— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 3.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที



รูปที่ 17 การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่เตรียมจากสปอร์หนาแน่น 1 - 2 x 10^8 สปอร์ ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างที่อุณหภูมิห้อง (31±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 วัน เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศต่าง ๆ กัน

—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก

— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

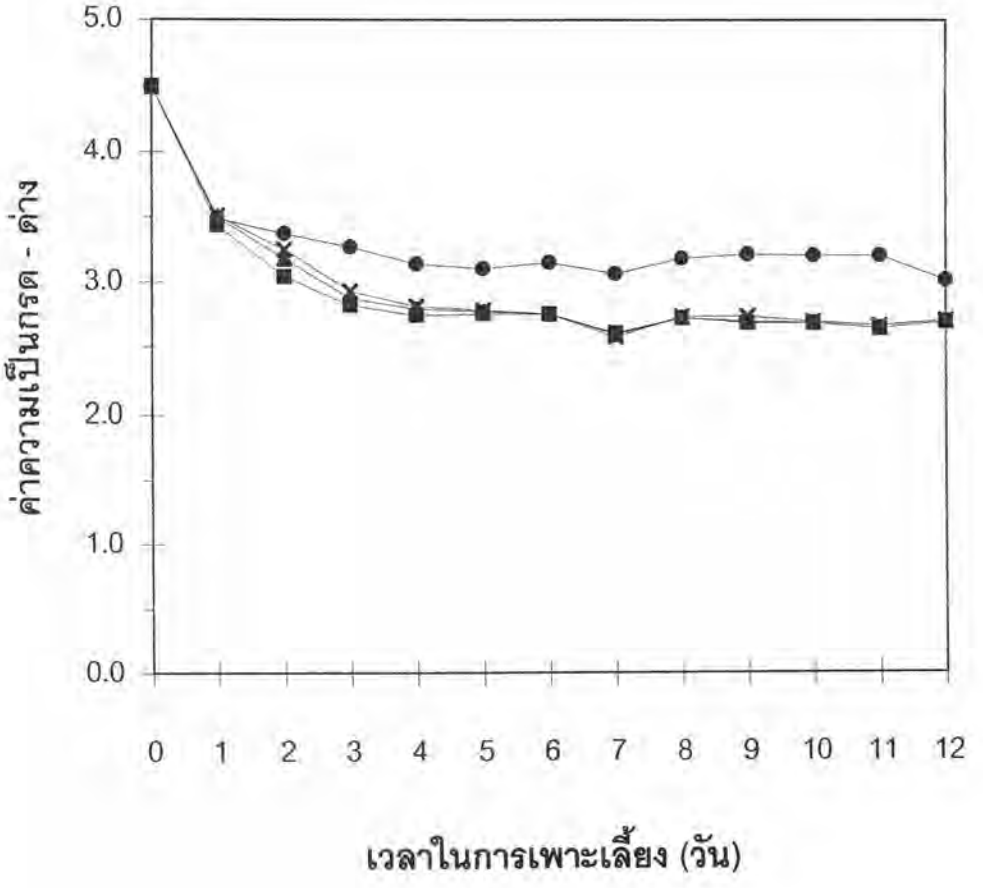
- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

—●— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

—■— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

—▲— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

—×— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 3.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที



รูปที่ 18 ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่เตรียมจากสปอร์หนาแน่น 1 - 2 x 10^8 สปอร์ ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างที่อุณหภูมิห้อง (31±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 วัน เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศต่าง ๆ กัน

—●— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที
—■— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที
—▲— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที
—×— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 3.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อเริ่มต้นผลิตกรดเท่ากับ 3.56 3.66 3.74 และ 3.64 กรัมต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการผลิตน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเพิ่มขึ้น 2.10 1.96 2.02 และ 2.04 กรัมต่อลิตร เมื่ออัตราการให้อากาศเป็น 3.0 2.5 2.0 และ 1.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ตามลำดับ (ตารางที่ 8) สำหรับค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการผลิตกรด พบว่า เมื่อให้อัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที จะมีค่าสูงกว่าเมื่อให้อัตราการให้อากาศอื่น (รูปที่ 18) จะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศ การผลิตกรดจะสูงขึ้นจนกระทั่งถึงจุดหนึ่งที่เมื่อให้อากาศมากเกินไปจะไม่มีผลในการเพิ่มปริมาณการผลิตแต่ทำให้การผลิตกรดลดลง ส่วนการใช้น้ำตาลจะเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราการให้อากาศที่เพิ่มขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดที่ผลิตได้สูงสุดจากกล้าเชื้อที่เตรียมจากสปอร์ทั้งสองความหนาแน่นและอัตราการให้อากาศต่างกัน พบว่า เมื่อใช้สายใยตรึงที่เตรียมจากสปอร์หนาแน่น 1 - 2 x 10^8 สปอร์ อัตราการให้อากาศเป็น 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงที่สุดคือ 9 กรัมต่อลิตรแต่กลับใช้น้ำตาลน้อยกว่าเมื่อผลิตจากกล้าเชื้อที่เตรียมจากสปอร์หนาแน่น 1 - 2 x 10^9 สปอร์ อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (รูปที่ 19) สำหรับค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อใช้กล้าเชื้อสายใยตรึงความหนาแน่นสปอร์ 1 - 2 x 10^8 และ 1 - 2 x 10^9 สปอร์ ให้อัตราการให้อากาศที่เหมาะสม พบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อไม่แตกต่างกันดังแสดงในรูปที่ 19 เมื่อพิจารณาการเติบโตของสายใยตรึงและการใช้น้ำตาลจะเห็นได้ว่ากล้าเชื้อความหนาแน่นสปอร์สูงกว่า คือ 1 - 2 x 10^9 และอัตราการให้อากาศที่ให้มากกว่า คือ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที มีมากกว่าการเติบโตและการใช้น้ำตาลของสายใยตรึงที่ได้จากกล้าเชื้อความหนาแน่นสปอร์ต่ำกว่า คือ 1 - 2 x 10^8 สปอร์ และอัตราการให้อากาศ 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที แต่กลับผลิตกรดได้น้อยกว่า ดังนั้นอัตราการให้อากาศและความหนาแน่นสปอร์ที่เหมาะสม คือ 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที และสปอร์ความหนาแน่น 1 - 2 x 10^8 สปอร์ ตามลำดับ จึงใช้สำหรับการทดลองต่อไป

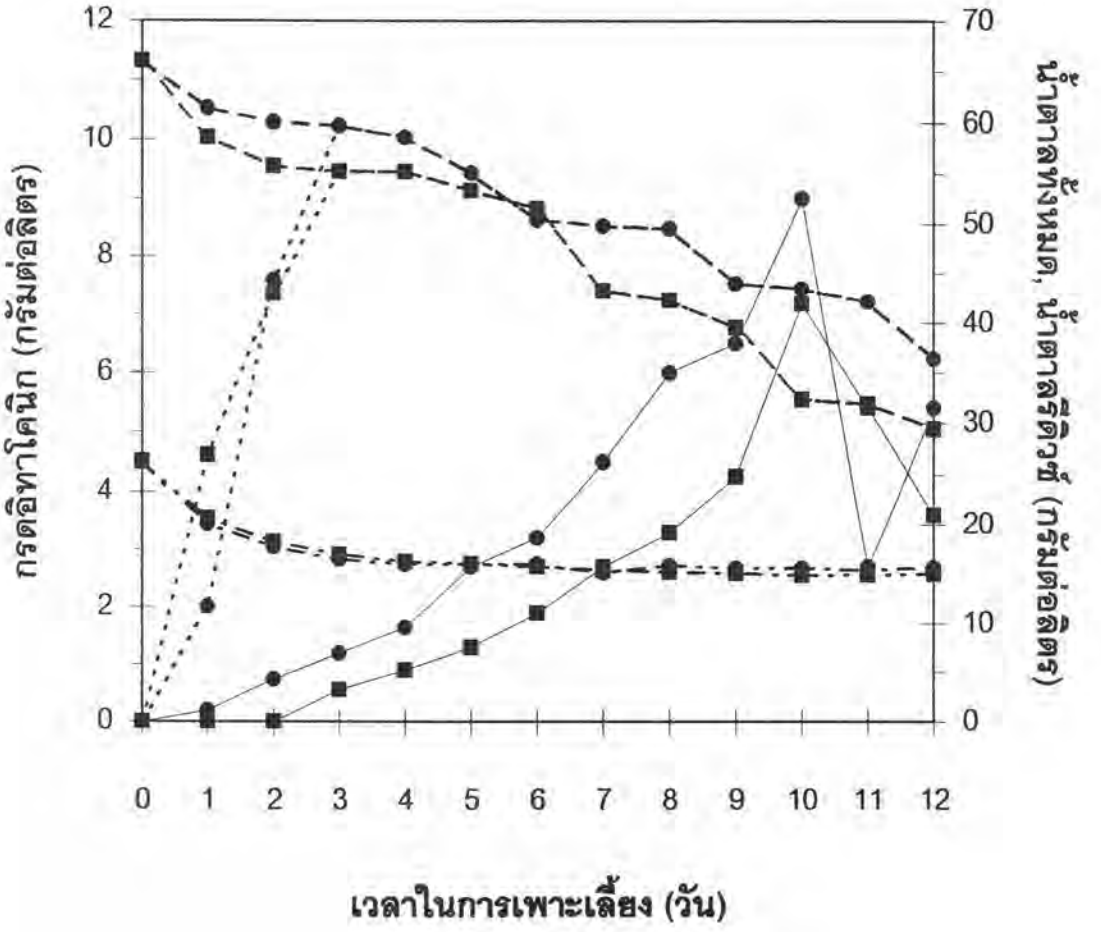
ตารางที่ 8 การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่นต่างกัน ในการผลิตกรดอิทาโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศต่าง ๆ กัน

ความหนาแน่นสปอร์ที่ใช้เตรียมกล้าเชื้อ (สปอร์ต่อมิลลิลิตร)	อัตราการให้อากาศ (ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อเริ่มต้นผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อสิ้นสุดการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อลิตร)
$1 - 2 \times 10^8$	3.0	3.56	5.66	2.10
	2.5	3.66	5.62	1.96
	2.0	3.74	5.76	2.02
	1.5	3.64	5.68	2.04
$1 - 2 \times 10^9$	3.0	4.44	6.95	2.51
	2.5	4.28	6.88	2.60
	2.0	4.50	6.50	2.00
	1.5	4.39	6.30	1.91

5.2 ผลการแปรผันขนาดชิ้นวัสดุตรึงที่มีสายใยตรึงต่อการผลิตกรดอิทาโคนิก

เนื่องจากขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของคอลัมน์แก้วกับเส้นผ่าศูนย์กลางของชิ้นเส้นใยบวบหอมใกล้เคียงกัน ดังนั้นการแปรขนาดชิ้นวัสดุที่มีสายใยตรึงอยู่ จึงทำได้โดยการแปรผันความสูงของชิ้นวัสดุตรึง ซึ่งหมายถึงการแปรผันน้ำหนักแห้งวัสดุตรึงและความหนาแน่นของสายใยตรึงด้วย โดยแปรความสูงเป็น 7 5 และ 3 เซนติเมตร ทำให้มีน้ำหนักแห้งของชิ้นเส้นใยบวบหอมเท่ากับ 2.8 2.0 และ 1.2 กรัม และเมื่อทำการตรึงสายใยราได้น้ำหนักเปียกรวมเท่ากับ 44.76 29.12 และ 17.48 กรัม ตามลำดับ คิดเป็นน้ำหนักแห้ง 5.27 3.59 และ 2.21 กรัม ซึ่งเท่ากับน้ำหนักแห้งสายใยราเป็น 2.47 1.49 และ 1.02 กรัม (6.18 3.74 และ 2.55 กรัมต่อลิตร) ตามลำดับ

เมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกโดยใช้สายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอมในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยแปรผันความสูงของชิ้นบวบที่มีสายใยตรึงเป็น 7 5 และ 3 เซนติเมตรต่ออาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหมาะสมเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดย



รูปที่ 19 เปรียบเทียบการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอมในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อใช้สายใยตรึงที่เตรียมจากสปอร์ที่มีความหนาแน่นต่างกัน ภายใต้อัตราการให้อากาศที่เหมาะสมของแต่ละความหนาแน่นสปอร์ ที่อุณหภูมิห้อง (31±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 วัน

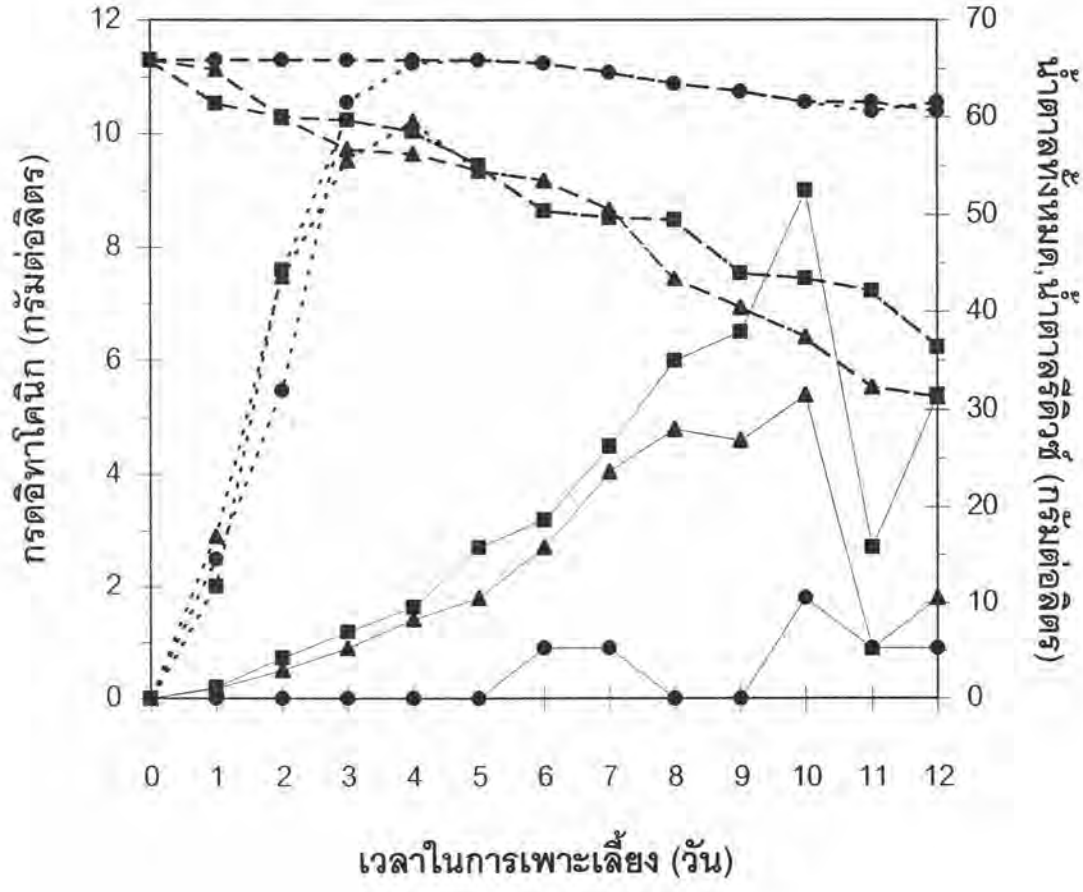
—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก
— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด
- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์
- — - หมายถึง ค่าความเป็นกรด - ด่าง
—●— หมายถึง กล้าเชื้อความหนาแน่น 1 - 2 x 10^8 สปอร์มิลลิลิตร
—■— หมายถึง กล้าเชื้อความหนาแน่น 1 - 2 x 10^9 สปอร์มิลลิลิตร

สายใยตรึง (ภาคผนวก ก 5) ปริมาตร 400 มิลลิลิตร อัตราการให้อากาศ 2.0 ลิตรต่อลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ผลการทดลองพบว่า การทดลองที่ใช้ชิ้นเส้นใยบวบหอมสูง 5 เซนติเมตร ให้ปริมาณกรดสูงสุด 9.0 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 10 ของการผลิต เมื่อใช้ชิ้นเส้นใยบวบหอมสูง 7 และ 3 เซนติเมตร ได้ปริมาณกรดต่ำกว่า คือ ได้สูงสุด 5.4 และ 1.80 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 10 ของการผลิต ตามลำดับ (รูปที่ 20) สำหรับการใช้น้ำตาลเมื่อใช้ชิ้นเส้นใยบวบหอมสูง 7 เซนติเมตร มีการใช้น้ำตาลเร็วที่สุด ส่วนชิ้นเส้นใยบวบหอมสูง 3 เซนติเมตร มีการใช้น้ำตาลที่ช้าที่สุด การเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุคโตสของกล้าเชื้อสายใยตรึงเมื่อใช้ชิ้นเส้นใยบวบหอมสูง 3 เซนติเมตร ช้ากว่ากล้าเชื้อสายใยตรึงความสูงอื่น 1 วัน กล่าวคือ เมื่อใช้ชิ้นเส้นใยบวบหอมสูง 7 และ 5 เซนติเมตร สามารถเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสได้หมดในวันที่ 3 ของการผลิต (รูปที่ 20) สำหรับการเติบโตของสายใยตรึงบนชิ้นเส้นใยบวบหอมสูง 3 5 และ 7 เซนติเมตร มีน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อเริ่มผลิตกรดเป็น 2.55 3.74 และ 6.18 กรัมต่อลิตร เพิ่มเป็น 4.51 5.93 และ 9.16 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการผลิต คิดเป็นน้ำหนักแห้งของสายใยตรึงเพิ่มขึ้น 1.96 2.19 และ 2.98 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 9) สำหรับค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า เมื่อใช้ชิ้นเส้นใยบวบหอมสูง 7 เซนติเมตร ให้ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำกว่าเมื่อใช้ชิ้นเส้นใยบวบหอมความสูงอื่น ค่าความเป็นกรด - ด่างจะลดลงถึง 2.75 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (รูปที่ 21) จะเห็นได้ว่าชิ้นเส้นใยบวบหอมขนาดความสูง 5 เซนติเมตร มีความเหมาะสมที่จะใช้ในการผลิตมากกว่าขนาดความสูงอื่น

5.3 ผลการปรับลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวต่อการผลิตกรดอิทาโคนิก

จากผลการทดลองที่ผ่านมาแม้จะแปรผันภาวะต่าง ๆ เพื่อให้เหมาะสมต่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงแล้ว ก็ยังพบว่ามีน้ำตาลทั้งหมดเหลืออยู่มากในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ไม่สามารถใช้หมดดังเช่นสายใยอิสระ ดังนั้นเพื่อมิให้เป็นการสูญเสียแหล่งคาร์บอนไปโดยเปล่าประโยชน์ จึงทำการปรับลดความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนซึ่งก็คือน้ำตาลทรายขาวลง

เมื่อนำสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอมสูง 5 เซนติเมตร มาผลิตกรดอิทาโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหมาะสมเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึง (ภาคผนวก ก 5) โดยปรับลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาว จาก 66 เป็น 40 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ผลการทดลอง (รูปที่ 22) พบว่า เมื่อลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวเป็น 40



รูปที่ 20 การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศทางด้านล่าง อัตราการให้อากาศ 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (31±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 วัน เมื่อแปรผันความสูงของชิ้นเส้นใยบวบหอมที่มีสายใยตรึง ต่าง ๆ กัน

—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก

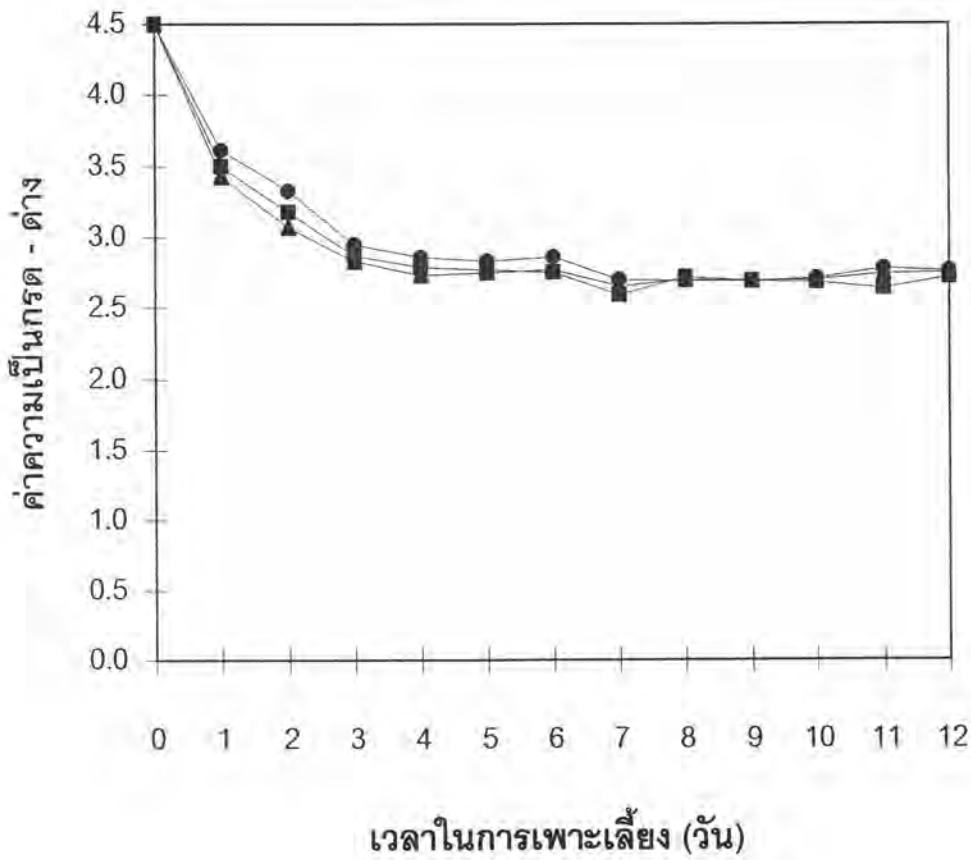
— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

—●— หมายถึง ความสูง 3 เซนติเมตร (น้ำหนักแห้งวัสดุตรึง 1.2 - 1.4 กรัม)

—■— หมายถึง ความสูง 5 เซนติเมตร (น้ำหนักแห้งวัสดุตรึง 2.0 - 2.2 กรัม)

—▲— หมายถึง ความสูง 7 เซนติเมตร (น้ำหนักแห้งวัสดุตรึง 2.8 - 3.0 กรัม)



รูปที่ 21 ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศทางด้านล่าง อัตราการให้อากาศ 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (31 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 วัน เมื่อแปรผันความสูงของชิ้นเส้นใยบวบหอมที่มีสายใยตรึง ต่าง ๆ กัน

—●— หมายถึง ความสูง 3 เซนติเมตร (น้ำหนักแห้งวัสดุตรึง 1.2 - 1.4 กรัม)
—■— หมายถึง ความสูง 5 เซนติเมตร (น้ำหนักแห้งวัสดุตรึง 2.0 - 2.2 กรัม)
—▲— หมายถึง ความสูง 7 เซนติเมตร (น้ำหนักแห้งวัสดุตรึง 2.8 - 3.0 กรัม)

กรัมต่อลิตร ให้ปริมาณกรดสูงสุด 8.2 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 9 ของการผลิต ซึ่งไล่เลี่ยกับการใช้น้ำตาลทรายขาว 66 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงสุด 9.0 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 10 ของการผลิต ส่วนการใช้น้ำตาลจะเห็นได้ว่าไม่ว่าจะเริ่มต้นที่ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวเท่าไรก็ใช้ได้ในปริมาณไล่เลี่ยกันและมีรูปแบบของการใช้น้ำตาลคล้ายคลึงกัน การเติบโตของสายใยตรึงเมื่อเริ่มต้นการผลิตมีน้ำหนักแห้งของสายใยเท่ากับ 3.68 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการผลิตน้ำหนักแห้งของสายใยเพิ่มเป็น 4.97 กรัมต่อลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งของสายใยตรึงเพิ่มขึ้น 1.29 กรัมต่อลิตร สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด - ด่างระหว่างการผลิต พบว่า เมื่อปรับลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวลงเหลือ 40 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรด - ด่างจะลดลงน้อยกว่าเมื่อใช้น้ำตาลทรายขาวความเข้มข้น 66 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน โดยมีค่าความเป็นกรด - ด่างเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 3.28 ในขณะที่เมื่อใช้ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนมากกว่าจะมีค่าความเป็นกรด - ด่างต่ำกว่า คือ 2.69 (รูปที่ 23) ดังนั้นความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวที่เหมาะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอม คือ 40 กรัมต่อลิตร

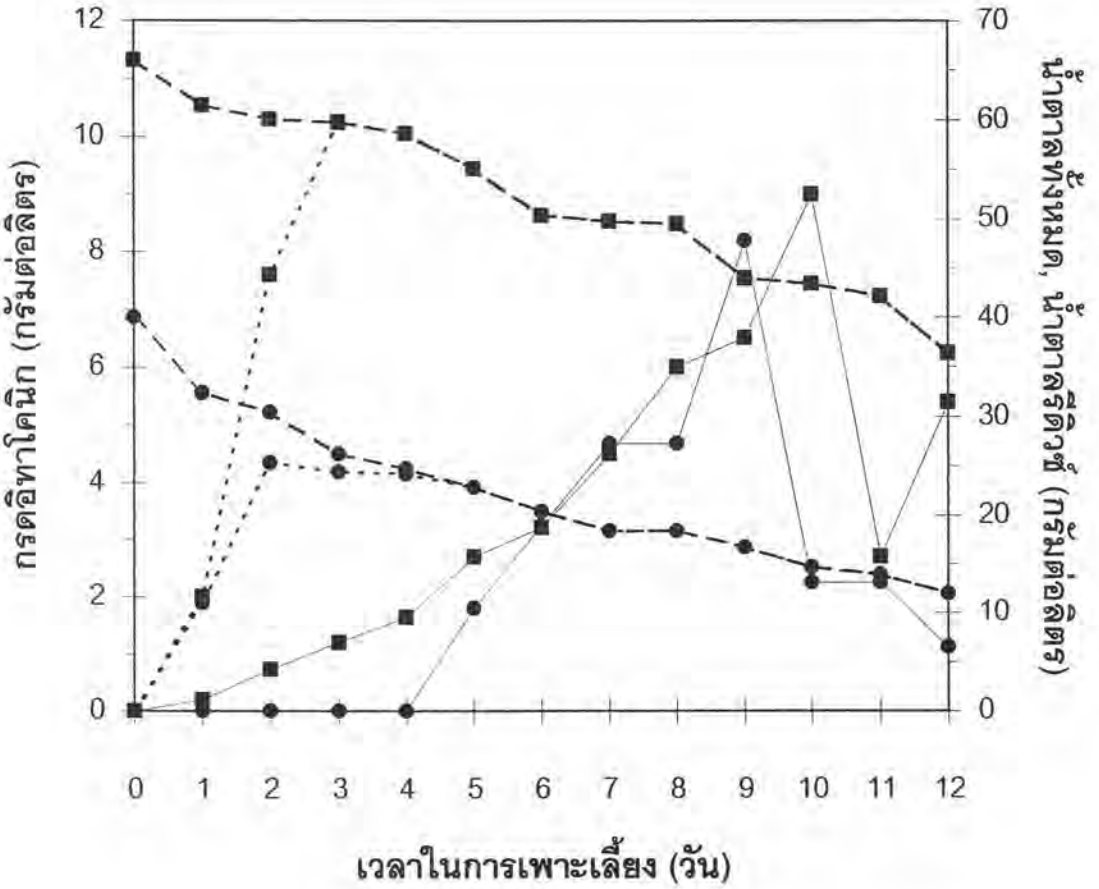
ตารางที่ 9 การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมในการผลิตกรดอิทาโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันความสูงของชิ้นเส้นใยบวบหอม

ความสูงของชิ้นเส้นใยบวบหอม (เซนติเมตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อเริ่มต้นการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อสิ้นสุดการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อลิตร)
3	2.55	4.51	1.96
5	3.74	5.76	2.02
7	6.18	9.16	2.98

6. ผลการหาภาวะที่เหมาะสมบางประการในการเตรียมกล้าเชื้อสายใยตรึงใน PUF

6.1 ผลการหาการเติบโตของ *A. terreus* I10 ที่ตรึงใน PUF เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการทำให้สปอร์ตรึงงอกในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน

เมื่อเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงที่มีความหนาแน่นสปอร์ 1 - 2 x 10^9 สปอร์ต่อ PUF หนัก 1 กรัม ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก (ภาคผนวก ก 2) ปริมาตร 150



รูปที่ 22 การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยใช้สายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง อัตราการให้อากาศ 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (31 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 วัน เมื่อปรับลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงจาก 66 เป็น 40 กรัมต่อลิตร

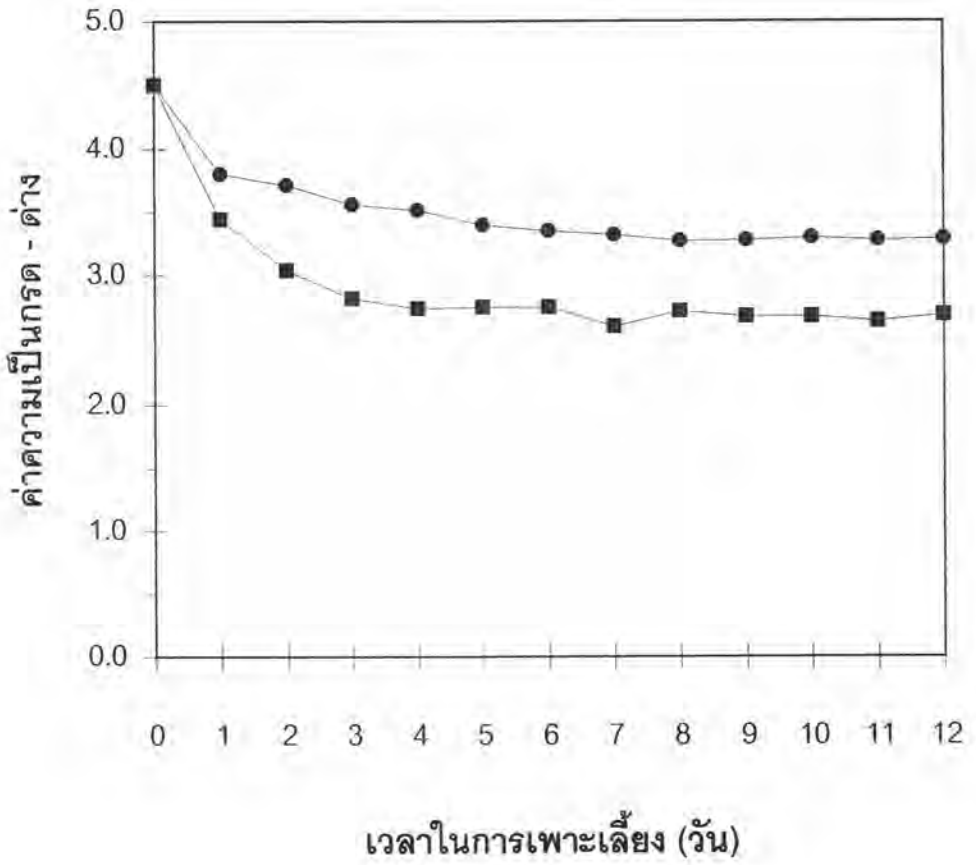
—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก

— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

—●— หมายถึง น้ำตาลทรายขาว 40 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

—■— หมายถึง น้ำตาลทรายขาว 66 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ



รูปที่ 23 ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกโดยใช้สายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง อัตราการให้อากาศ 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (31±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 วัน เมื่อปรับลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงจาก 66 เป็น 40 กรัมต่อลิตร

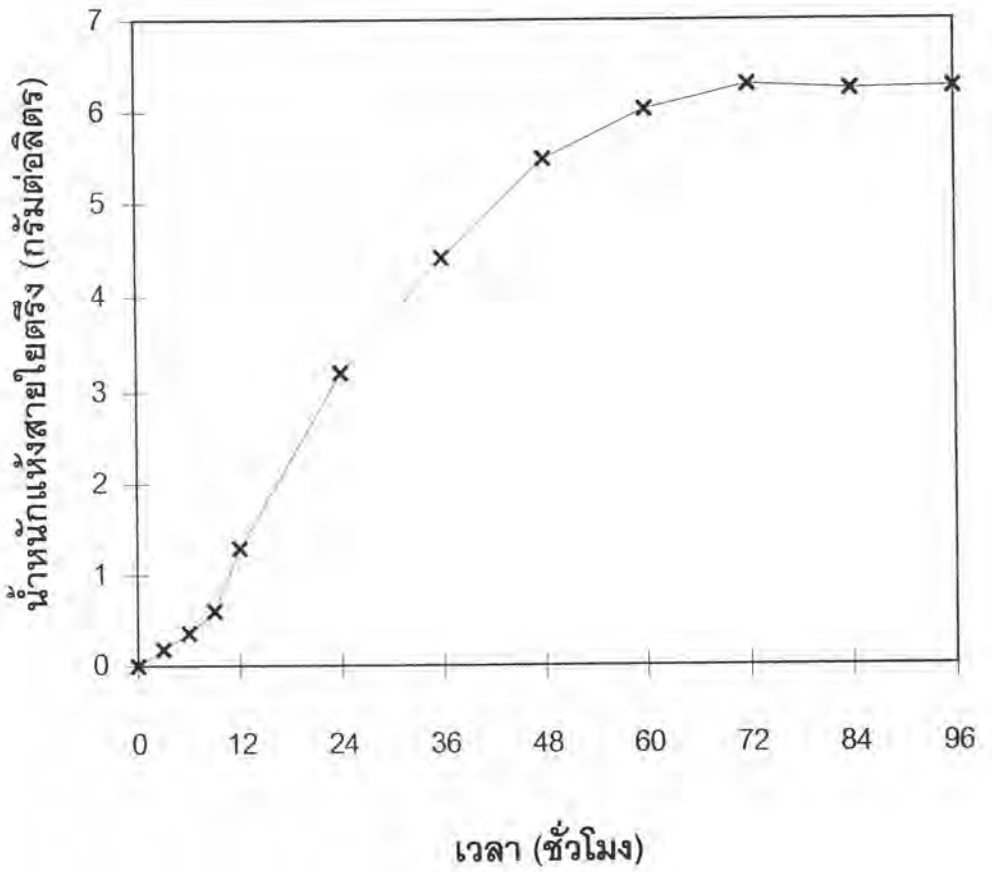
—●— หมายถึง น้ำตาลทรายขาว 40 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

—■— หมายถึง น้ำตาลทรายขาว 66 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

มิลลิลิตร แต่ใช้น้ำตาลทรายขาว 15 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน โดยแปรผันช่วงเวลาต่าง ๆ กันตั้งแต่ 0 - 96 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่า การเติบโตใน 96 ชั่วโมงนั้นแบ่งได้เป็น 3 ระยะ ได้แก่ ระยะที่ไม่มีการเติบโตหรือมีน้อย ซึ่งอยู่ในช่วงเริ่มเพาะเลี้ยงจนถึงชั่วโมงที่ 9 ของการเพาะเลี้ยง โดยน้ำหนักแห้งของสายใยตรึงเพิ่มเป็น 0.60 กรัมต่อลิตร ระยะที่มีการเติบโตมากและรวดเร็วเริ่มจากชั่วโมงที่ 9 จนถึงชั่วโมงที่ 72 ของการเพาะเลี้ยง โดยน้ำหนักแห้งเพิ่มเป็น 6.27 กรัมต่อลิตร และระยะที่มีการเติบโตคงที่ คือ ช่วงเวลาหลังจากชั่วโมงที่ 72 จนสิ้นสุดการทดลอง จะได้น้ำหนักแห้งสายใยตรึง 6.30 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 24)

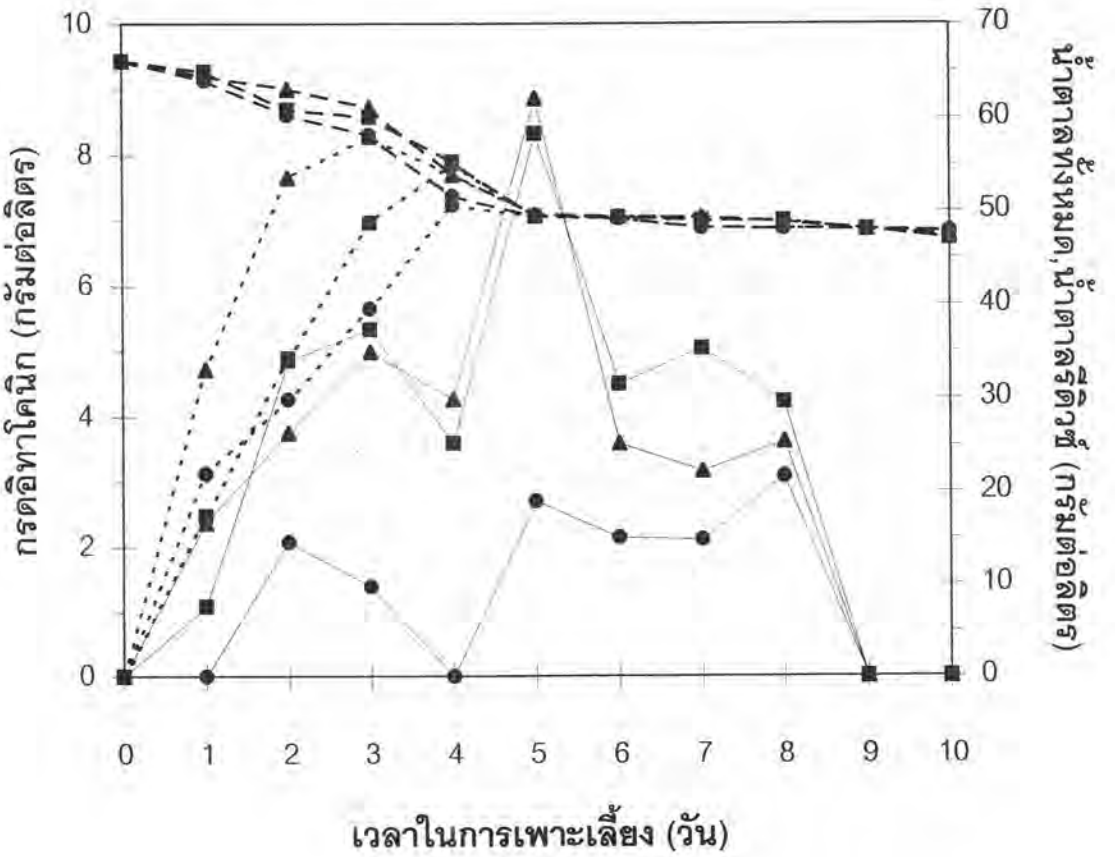
6.2 ผลการหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสปอร์ที่ตรึงใน PUF

เมื่อเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึงที่มีความหนาแน่นสปอร์ $1 - 2 \times 10^9$ สปอร์ต่อ PUF หนัก 1 กรัม ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก (ภาคผนวก ก 2) แต่ใช้น้ำตาลทรายขาวเป็นแหล่งคาร์บอน บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน คือ 60 72 และ 84 ชั่วโมง แล้วนำสายใยตรึงที่ได้ไปผลิตกรดอิทาโคนิกด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหมาะสมเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึง (ภาคผนวก ก 5) ผลการทดลองพบว่า สายใยตรึงอายุ 72 และ 84 ชั่วโมง ให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกใกล้เคียงกัน คือ 8.32 และ 8.86 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 5 ของการผลิต ส่วนสายใยตรึงอายุ 60 ชั่วโมง ให้ปริมาณกรดต่ำกว่าและช้ากว่า คือให้ 3.09 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 8 ของการผลิต (รูปที่ 25) สำหรับการใช้น้ำตาล พบว่า ในช่วง 5 วันแรกของการผลิต สายใยตรึงอายุ 60 ชั่วโมง ใช้น้ำตาลได้เร็วที่สุด รองลงมาคือ สายใยตรึงอายุ 72 และ 84 ชั่วโมง ตามลำดับ หลังจากนั้นการใช้น้ำตาลของสายใยตรึงทั้งสามอายุจะไล่เลี่ยกันและสามารถเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสไปเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุคโตสได้หมดในวันเดียวกัน คือ วันที่ 4 ของการผลิต (รูปที่ 25) การเติบโตของสายใยตรึง โดยพิจารณาจากน้ำหนักแห้งของสายใยตรึงเมื่อเริ่มต้นการผลิตจนสิ้นสุดการผลิต พบว่าน้ำหนักแห้งของสายใยตรึงเกือบไม่เพิ่มขึ้นจากทุกอายุของสายใยตรึง (ตารางที่ 10) ส่วนค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อไม่แตกต่างกันมากนัก โดยให้ค่าความเป็นกรด - ด่างเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 2.9 (รูปที่ 26) เมื่อคำนึงถึงการประหยัดเวลาและพลังงานในการเตรียมสายใยตรึง จึงเลือกใช้สายใยตรึงอายุ 72 ชั่วโมง เป็นกล้าเชื้อสำหรับการทดลองต่อไป



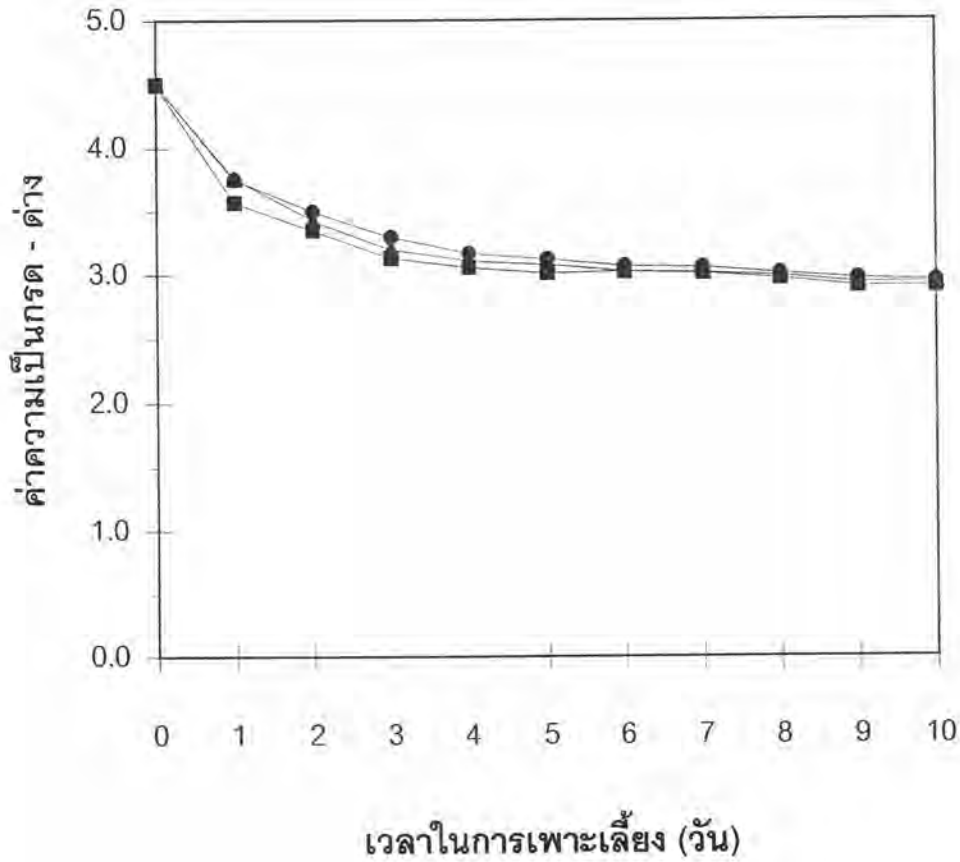
รูปที่ 24 การเติบโตของสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ใน PUF เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการทำให้สปอร์ตรึงงอก ในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ±1 องศาเซลเซียส

—×— หมายถึง น้ำหนักแห้งสายใยตรึง



รูปที่ 25 การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ใน PUF เมื่อแปรผันอายุของกล้าเชื้อสายใยตรึงต่าง ๆ กัน เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก
— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด
- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์
—●— หมายถึง กล้าเชื้ออายุ 60 ชั่วโมง
—■— หมายถึง กล้าเชื้ออายุ 72 ชั่วโมง
—▲— หมายถึง กล้าเชื้ออายุ 84 ชั่วโมง



รูปที่ 26 การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ใน PUF เมื่อแปรผันอายุของกล้าเชื้อสายใยตรึงต่าง ๆ กัน เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

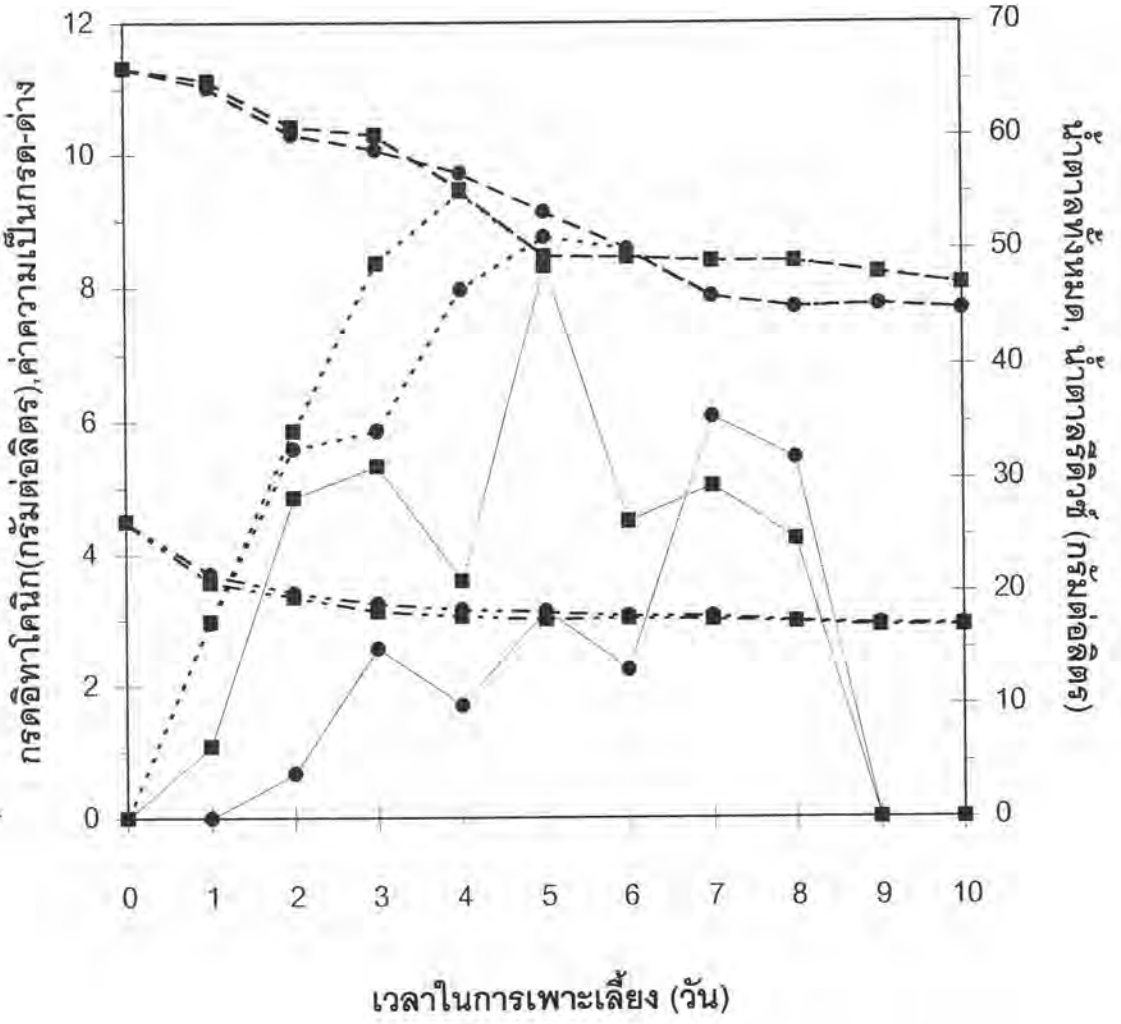
—●— หมายถึง กล้าเชื้ออายุ 60 ชั่วโมง
—■— หมายถึง กล้าเชื้ออายุ 72 ชั่วโมง
—▲— หมายถึง กล้าเชื้ออายุ 84 ชั่วโมง

ตารางที่ 10 การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้น PUF ในการผลิตกรดอิทาโคนิกในขวดเขย่า เมื่อแปรผันช่วงเวลาในการเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึง

เวลาในการเพาะเลี้ยงสปอร์ตรึง (ชั่วโมง)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อเริ่มต้นการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อสิ้นสุดการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อลิตร)
60	10.11	10.27	0.16
72	10.52	10.76	0.24
84	10.29	10.42	0.13

6.3 ผลการหาความหนาแน่นที่เหมาะสมของสปอร์ที่ตรึงใน PUF

เมื่อตรึงสปอร์ของ *A. terreus* I10 ใน PUF โดยใช้ความหนาแน่นสปอร์ $1 - 2 \times 10^{8}$ $1 - 2 \times 10^{9}$ และ $1 - 2 \times 10^{10}$ สปอร์ต่อ PUF หนัก 1 กรัม เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก (ภาคผนวก ก 2) แต่ใช้น้ำตาลทรายขาวเป็นแหล่งคาร์บอน เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำสายใยตรึงที่ได้ไปผลิตกรดอิทาโคนิกในขวดเขย่า ผลการทดลองพบว่าที่ความหนาแน่นสปอร์เท่ากับ $1 - 2 \times 10^{10}$ สปอร์ พบสายใยอิสระในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอก ซึ่งอาจเนื่องจากสปอร์เข้าไปใน PUF ได้ไม่หมด จึงเติบโตอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงไม่นำไปทดลองในขั้นตอนการผลิตกรด สายใยตรึงที่เตรียมโดยใช้ความหนาแน่นสปอร์เท่ากับ $1 - 2 \times 10^{8}$ และ $1 - 2 \times 10^{9}$ สปอร์ ผลิตกรดอิทาโคนิกได้สูงสุด 6.07 และ 8.32 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 และ 5 ของการผลิต ตามลำดับ การใช้น้ำตาลของสายใยตรึงความหนาแน่นสปอร์ $1 - 2 \times 10^{8}$ และ $1 - 2 \times 10^{9}$ สปอร์ ในการผลิตกรดนั้นใกล้เคียงกัน แต่การเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุคโตสของสายใยตรึง พบว่า สายใยตรึงที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่น $1 - 2 \times 10^{8}$ สปอร์เปลี่ยนน้ำตาลซูโครสได้หมดในวันที่ 6 ของการผลิต ส่วนสายใยตรึงที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่น $1 - 2 \times 10^{9}$ สปอร์ เปลี่ยนน้ำตาลซูโครสได้หมดในวันที่ 4 ของการผลิตซึ่งเร็วกว่า (รูปที่ 27) สำหรับค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อใช้ความหนาแน่นสปอร์ต่างกัน กล้าเชื้อความหนาแน่นสปอร์ $1 - 2 \times 10^{9}$ สปอร์จะมีค่าความเป็นกรด - ด่างต่ำกว่าเมื่อใช้กล้าเชื้อความหนาแน่นสปอร์ $1 - 2 \times 10^{8}$ สปอร์เพียงเล็กน้อยเท่านั้น และเมื่อสิ้นสุดการผลิตค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อใช้กล้าเชื้อความหนาแน่นสปอร์ทั้งสองค่าเท่ากับ 2.9 (รูปที่ 27) ส่วนการเติบโต พบว่า สายใยตรึงที่เตรียมจากสปอร์ทั้งสองความหนาแน่นให้การเติบโตไล่เลี่ยกันแต่สายใยตรึงที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่น



รูปที่ 27 การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ใน PUF เมื่อตรึงสปอร์ความหนาแน่นต่าง ๆ กันใน PUF หนัก 1 กรัม เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก
— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด
- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์
- — - หมายถึง ค่าความเป็นกรด - ด่าง
—●— หมายถึง ความหนาแน่น 1 - 2 x 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร
—■— หมายถึง ความหนาแน่น 1 - 2 x 10^9 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

$1 - 2 \times 10^8$ สปอร์ให้การเติบโตมากกว่าเล็กน้อย (ตารางที่ 11) ซึ่งจะเห็นได้ว่า ที่ความหนาแน่น $1 - 2 \times 10^9$ สปอร์ ผลิตกรดได้มากกว่าและเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุคโตสได้เร็วกว่า ดังนั้นความหนาแน่นของสปอร์ที่เหมาะสมสำหรับการตรึงใน PUF คือ $1 - 2 \times 10^9$ สปอร์ต่อ PUF 1 กรัม

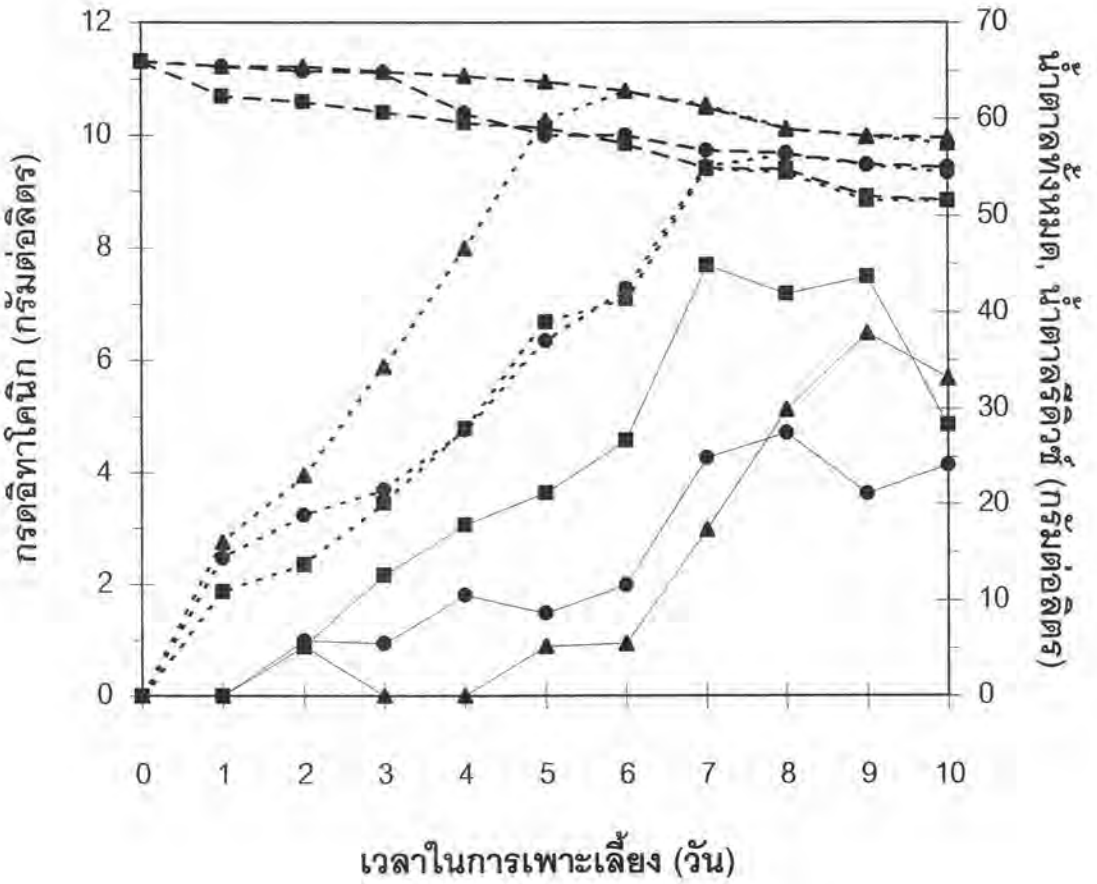
ตารางที่ 11 การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้น PUF ในการผลิตกรดอิทาโคนิกในขวดเขย่า เมื่อแปรผันความหนาแน่นของสปอร์ที่ใช้ในการเตรียมกล้าเชื้อ

ความหนาแน่นของสปอร์ที่ใช้ในการตรึง (สปอร์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อเริ่มต้นการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อสิ้นสุดการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อลิตร)
$1 - 2 \times 10^8$	8.25	8.63	0.38
$1 - 2 \times 10^9$	10.52	10.76	0.24

7. ผลการหาภาวะเหมาะสมบางประการในการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยใช้สายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ใน PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง

7.1 ผลการแปรผันอัตราการให้อากาศในการผลิตกรดอิทาโคนิก

เมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างโดยบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ 400 มิลลิลิตร ใช้กล้าเชื้อสายใยตรึงอายุ 72 ชั่วโมง โดยมีน้ำหนักเปียกของ PUF ที่มีสายใยตรึงเท่ากับ 15 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ แปรผันอัตราการให้อากาศเป็น 1.25 2.5 และ 5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ผลการทดลอง (รูปที่ 28) พบว่า เมื่อให้อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงสุด 7.69 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการผลิต อัตราการให้อากาศ 1.25 และ 5.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ให้ปริมาณกรดสูงสุด 4.72 และ 6.48 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 8 และ 9 ของการผลิต ตามลำดับ ส่วนการใช้น้ำตาลเมื่ออัตราการให้อากาศเท่ากับ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาทีมีการใช้น้ำตาลเร็วกว่าเมื่อการให้อากาศเท่ากับ 1.25 และ 5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ตามลำดับ สำหรับการเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุคโตสพบว่า เมื่ออัตราการให้อากาศเป็น 1.25 2.5 และ 5.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที สามารถเปลี่ยนได้หมดในวันที่ 8 7 และ 6 ของการผลิต ตามลำดับ ส่วนการเปลี่ยน



รูปที่ 28 การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงใน PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันอัตรการให้อากาศต่าง ๆ กัน ใช้ PUF ที่มีสายใยตรึง 15.0 กรัม (น้ำหนักเปียก) ต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิก ที่อุณหภูมิห้อง (31 ±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 วัน

—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก

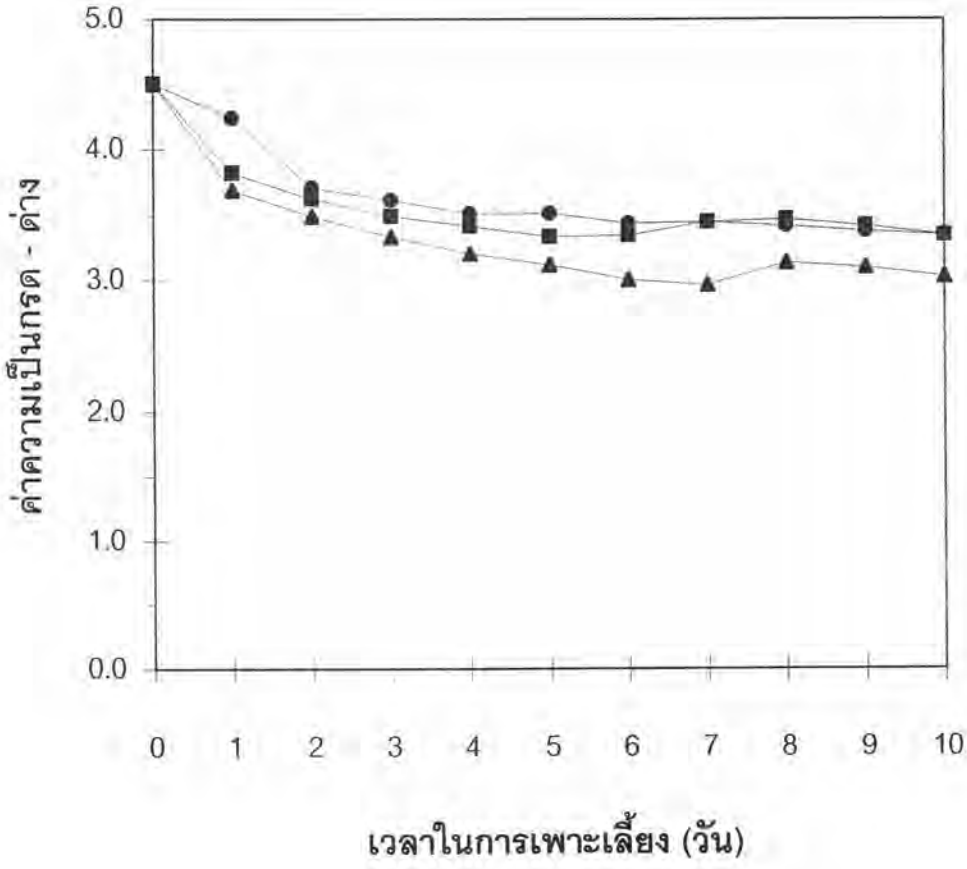
— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

—●— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 1.25 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

—■— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

—▲— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 5.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที



รูปที่ 29 ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงใน PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันอัตรการให้อากาศต่าง ๆ กัน ใช้ PUF ที่มีสายใยตรึง 15.0 กรัม (น้ำหนักเปียก) ต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิก ที่อุณหภูมิห้อง (31±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 วัน

—●— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 1.25 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที
—■— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที
—▲— หมายถึง อัตราการให้อากาศ 5.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

แปลงค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า เมื่ออัตราการให้อากาศเท่ากับ 5.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาทีมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด - ด่างอย่างรวดเร็วกว่าเมื่อให้อัตราการให้อากาศเท่ากับ 2.5 และ 1.25 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ตามลำดับ โดยที่เมื่อสิ้นสุดการผลิตจะมีค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 2.9 (รูปที่ 29) สำหรับการเติบโตของสายใยตรึงเมื่ออัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.25 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาทีเกือบไม่มีการเติบโตเพิ่มขึ้น ส่วนการเติบโตของสายใยตรึงเมื่ออัตราการให้อากาศเท่ากับ 2.5 และ 5.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาทีการเติบโตเพิ่มขึ้น 0.05 และ 0.07 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 12) ซึ่งเพิ่มขึ้นน้อยมากจนถือว่าไม่มีความแตกต่างในแง่การเติบโตเมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศในช่วงที่ทำการทดลอง แต่การให้อากาศต่างกันทำให้ผลผลิตกรดต่างกัน จะเห็นได้ว่าอัตราการให้อากาศที่เหมาะสม คือ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที

ตารางที่ 12 การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้น PUF ในการผลิตกรดอิทาโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันอัตราการให้อากาศต่างกัน

อัตราการให้อากาศ (ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อเริ่มต้นการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อสิ้นสุดการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึงที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อลิตร)
1.25	1.76	1.77	0.01
2.5	1.80	1.85	0.05
5.0	1.79	1.86	0.07

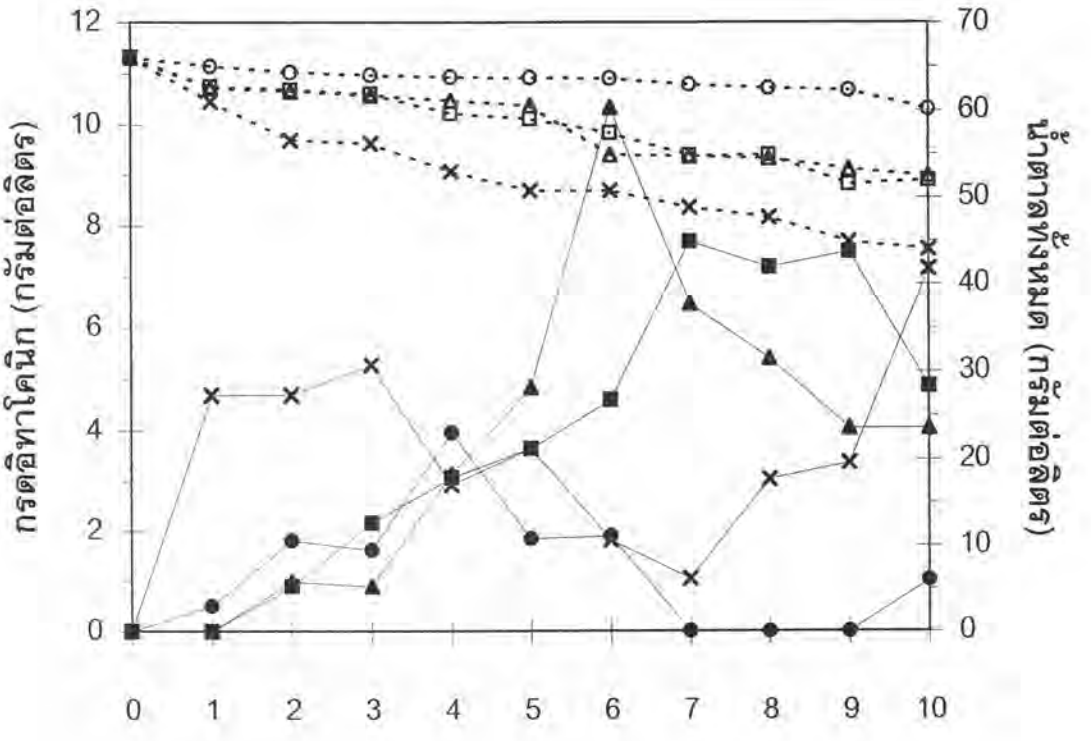
7.2 ผลการแปรผันขนาดกล้าเชื้อสายใยตรึงโดยแปรผันน้ำหนักของ PUF ที่มีสายใยตรึงในการผลิตกรดอิทาโคนิก

เมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกโดยใช้สายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ใน PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างโดยแปรผันน้ำหนักเปียกของ PUF ที่มีสายใยตรึง เป็น 7.5 15.0 22.5 และ 30.0 กรัมซึ่งมีน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเท่ากับ 0.96 1.80 2.69 และ 3.31 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหมาะสมเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึง (ภาคผนวก ก 5) มีน้ำตาลทรายขาวความเข้มข้น 66 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ผลการทดลองพบว่า การทดลองที่ใช้ PUF ที่มีสายใยตรึงหนัก 22.5 กรัมต่อลิตร ให้ปริมาณกรดสูงสุด 10.34 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการผลิต ส่วนการทดลองที่ใช้ PUF ที่มีสายใยตรึงหนัก 7.5 และ 15.0 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตกรด

สูงสุด 3.96 และ 7.69 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 4 และ 7 ของการผลิต ตามลำดับ ส่วนการทดลองที่ใช้ PUF ที่มีสายใยตรึงหนัก 30.0 กรัมต่อลิตร พบว่า ในวันที่ 10 ให้ผลผลิตกรดสูงสุด 7.16 กรัมต่อลิตร ซึ่งผลผลิตที่ได้ต่ำกว่าการทดลองที่ใช้ PUF ที่มีสายใยตรึงหนัก 22.5 และ 15.0 กรัมต่อลิตร จะเห็นได้ว่ากว่าจะถึงวันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุดนั้นช้ามากเกินไป สำหรับการใช้น้ำตาล พบว่า กล้าเชื้อขนาดใหญ่กว่าจะใช้น้ำตาลมากกว่ากล้าเชื้อขนาดเล็กตามลำดับ (รูปที่ 30) สำหรับสายใยตรึงขนาด 7.5 กรัมต่อลิตร นอกจากจะใช้น้ำตาลได้น้อยแล้วยังไม่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสไปเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ได้หมดแม้เมื่อสิ้นสุดการผลิตก็ตาม ซึ่งต่างจากกล้าเชื้อขนาดอื่น ๆ (รูปที่ 31) ส่วนค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า เมื่อใช้ PUF ที่มีสายใยตรึงหนัก 30.0 กรัมต่อลิตรมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด - ด่างเพียงเล็กน้อยเท่านั้น คือ เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 3.73 แต่เมื่อใช้ PUF ที่มีสายใยตรึงหนัก 22.5 และ 15.0 กรัมต่อลิตรนั้นค่าความเป็นกรด - ด่างลดลงมากกว่าและลดลงในรูปแบบไล่เลี่ยกัน คือ เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 3.3 และ 3.34 ตามลำดับ เมื่อใช้ PUF ที่มีสายใยตรึงหนัก 7.5 กรัมต่อลิตรจะมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด - ด่างที่ต่ำกว่าเมื่อใช้ PUF ที่มีสายใยตรึงหนัก 30.0 กรัมต่อลิตร แต่จะมีค่าสูงกว่าเมื่อใช้ PUF ที่มีสายใยตรึงหนัก 22.5 และ 15.0 กรัมต่อลิตร คือ เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 3.49 (รูปที่ 31) สำหรับการเติบโต พบว่า ในทุกการทดลองแทบจะไม่มีการเติบโต(ตารางที่ 13) จนอาจกล่าวได้ว่าไม่มีการเติบโตเพิ่มขึ้นระหว่างการผลิต จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่า กล้าเชื้อจาก PUF ที่มีสายใยตรึง 22.5 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นขนาดกล้าเชื้อที่เหมาะสมให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงสุด จึงเลือกใช้สำหรับการทดลองต่อไป

ตารางที่ 13 การเติบโตของสายใยตรึงในชิ้น PUF ในการผลิตกรดอิทาโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันขนาดของกล้าเชื้อสายใยตรึง

น้ำหนักเปียกของ PUF ที่มีสายใยตรึง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึง เมื่อเริ่มต้นการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึง เมื่อสิ้นสุดการผลิต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งสายใยตรึง ที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อลิตร)
7.5	0.96	0.98	0.02
15.0	1.80	1.85	0.05
22.5	2.69	2.72	0.03
30.0	3.31	3.35	0.04



รูปที่ 30 การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อแปรผันน้ำหนักเปียก PUF ที่มีสายใยตรึงต่าง ๆ กัน อัตราการให้อากาศเท่ากับ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (31 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 วัน

—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก

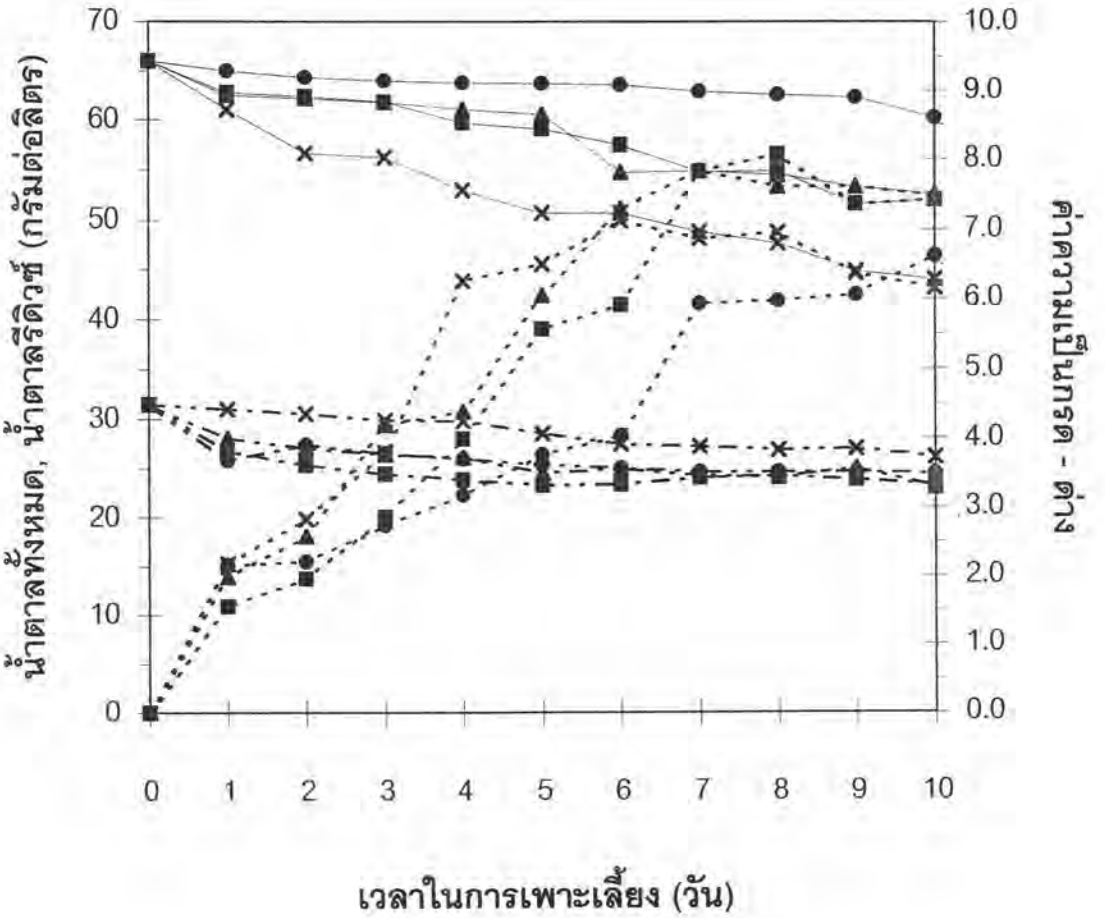
- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

—●— หมายถึง น้ำหนักเปียก PUF ที่มีสายใยตรึง 7.5 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (น้ำหนักแห้ง PUF เท่ากับ 0.63 กรัมต่อลิตร,น้ำหนักแห้งสายใยตรึง 0.96 กรัมต่อลิตร)

—■— หมายถึง น้ำหนักเปียก PUF ที่มีสายใยตรึง 15.0 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (น้ำหนักแห้ง PUF เท่ากับ 1.25 กรัมต่อลิตร,น้ำหนักแห้งสายใยตรึง 1.80 กรัมต่อลิตร)

—▲— หมายถึง น้ำหนักเปียก PUF ที่มีสายใยตรึง 22.5 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (น้ำหนักแห้ง PUF เท่ากับ 1.86 กรัมต่อลิตร,น้ำหนักแห้งสายใยตรึง 2.69 กรัมต่อลิตร)

—×— หมายถึง น้ำหนักเปียก PUF ที่มีสายใยตรึง 30.0 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (น้ำหนักแห้ง PUF เท่ากับ 2.50 กรัมต่อลิตร,น้ำหนักแห้งสายใยตรึง 3.31 กรัมต่อลิตร)



รูปที่ 31 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ค่าความเป็นกรด - ด่างเมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยแปรผันน้ำหนักเปียก PUF ที่มีสายใยตรึงต่าง ๆ กัน อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (31 ±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 วัน

—— หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

- —- - หมายถึง ค่าความเป็นกรด - ด่าง

—●— หมายถึง น้ำหนักเปียก PUF ที่มีสายใยตรึง 7.5 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

—■— หมายถึง น้ำหนักเปียก PUF ที่มีสายใยตรึง15.0 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

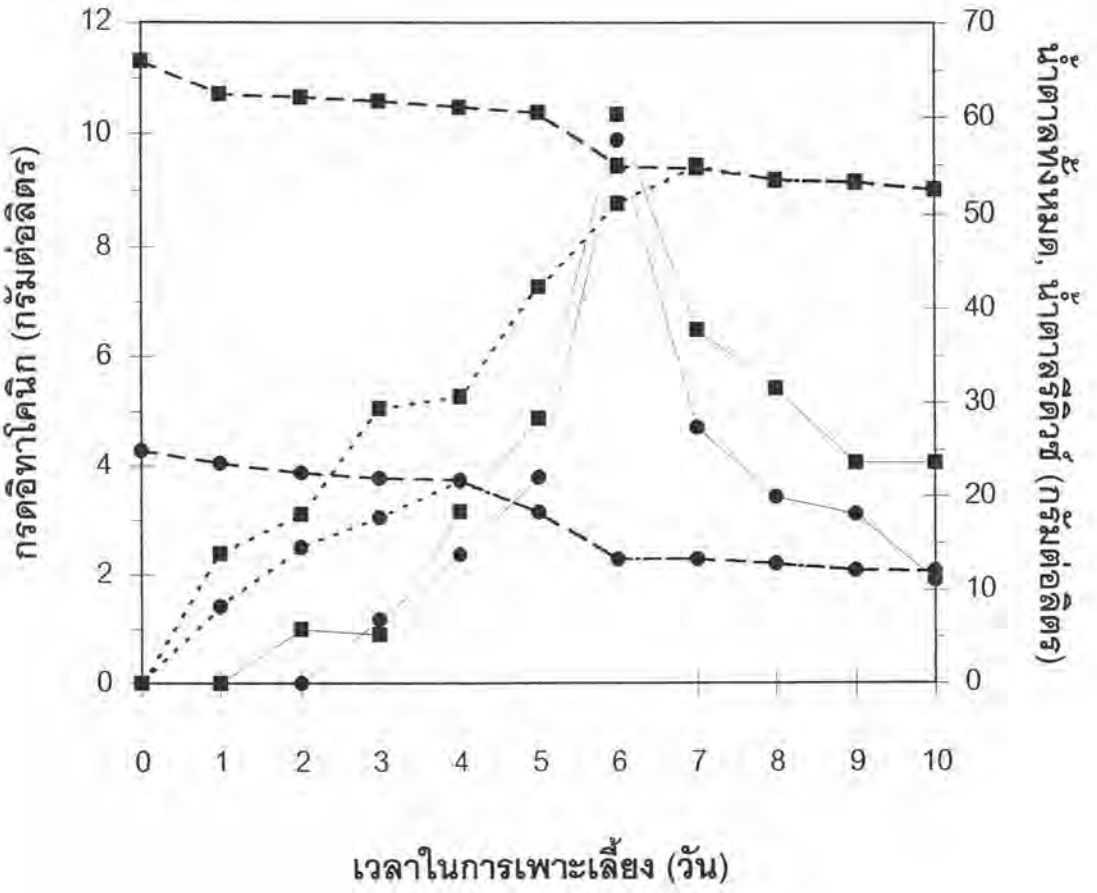
—▲— หมายถึง น้ำหนักเปียก PUF ที่มีสายใยตรึง 22.5 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

—×— หมายถึง น้ำหนักเปียก PUF ที่มีสายใยตรึง 30.0 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

7.3 ผลการปรับลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวต่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10

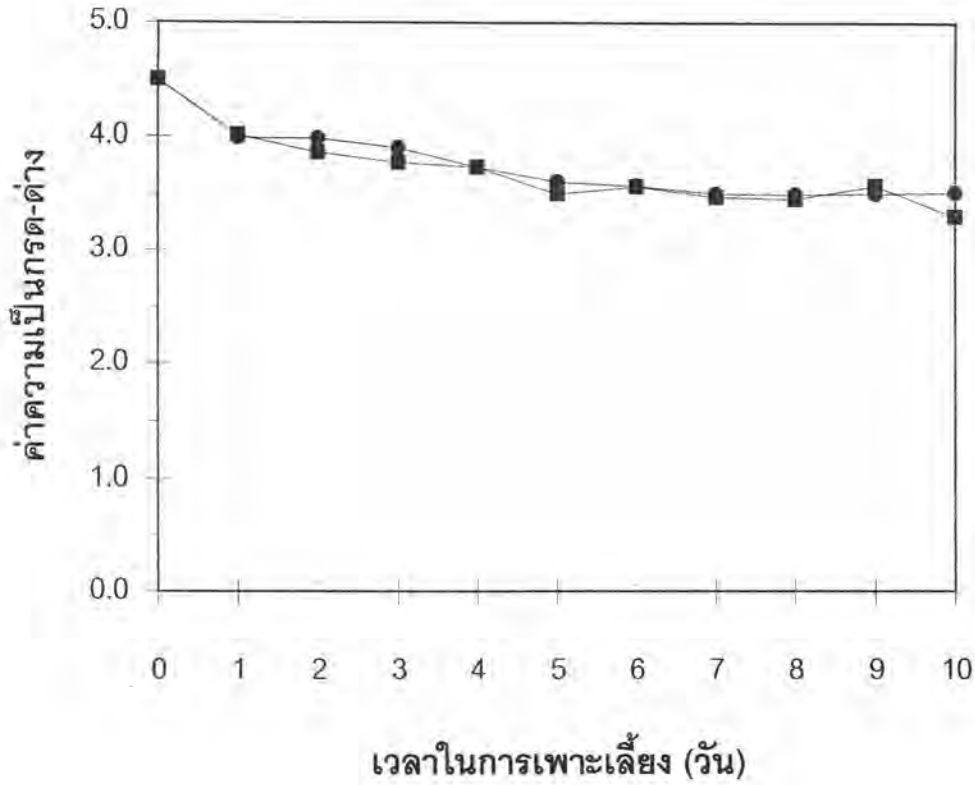
ด้วยเหตุผลเช่นเดียวกันกับการปรับลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวในการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ที่ตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอม ซึ่งมีน้ำตาลทั้งหมดเหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อสิ้นสุดการผลิต จึงปรับลดโดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือในการทดลองที่ผ่านมา ในการทดลองนี้ปรับลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวในอาหารเลี้ยงเชื้อลงเหลือเพียง 25 กรัมต่อลิตร

เมื่อนำสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 มาผลิตกรดอิทาโคนิกในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหมาะสมเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึง (ภาคผนวก ก 5) โดยปรับลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวจาก 66 เป็น 25 กรัมต่อลิตร โดยใช้ PUFที่มีสายใยตรึงซึ่งมีน้ำหนักเปียก 22.5 กรัมต่อลิตรเป็นกล้าเชื้อ อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ผลการทดลอง (รูปที่ 32) พบว่า เมื่อลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวลงเหลือ 25 กรัมต่อลิตร ได้ปริมาณกรดสูงสุด 9.88 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการผลิต ซึ่งปริมาณกรดที่ได้ใกล้เคียงกับเมื่อใช้น้ำตาลทรายขาว 66 กรัมต่อลิตร คือ 10.34 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการผลิต ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อสิ้นสุดการผลิตมีค่าเท่ากับ 3.51 จะมีค่าซึ่งใกล้เคียงกับเมื่อใช้น้ำตาลทรายขาวความเข้มข้น 66 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 33) สำหรับการเติบโตของสายใยตรึงเมื่อใช้น้ำตาล 66 และ 25 กรัมต่อลิตรเมื่อเริ่มต้นผลิตเป็น 2.69 และ 2.63 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการผลิตเพิ่มเป็น 2.72 และ 2.72 กรัมต่อลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น 0.03 และ 0.09 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการใช้น้ำตาลของสายใยตรึงพบว่ามีรูปแบบเดียวกัน แต่การเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุคโตสเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 25 กรัมต่อลิตร ใช้เวลา 4 วัน ในขณะที่เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 66 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครสจะถูกเปลี่ยนหมดในวันที่ 7 ของการผลิต (รูปที่ 32) จะเห็นได้ว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวที่เหมาะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ใน PUF คือ 25 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 32 การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงใน PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง เมื่อปรับลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิต กรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงจาก 66 เป็น 25 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (31 ±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 วัน

—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก
— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด
- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์
—●— หมายถึง น้ำตาลทรายขาว 25 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ
—■— หมายถึง น้ำตาลทรายขาว 66 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ



รูปที่ 33 ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงใน PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง โดยปรับลดความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงจาก 66 เป็น 25 กรัมต่อลิตร จัดอัตราการให้อากาศเท่ากับ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (31 ±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 วัน

—●— หมายถึง น้ำตาลทรายขาว 25 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

—■— หมายถึง น้ำตาลทรายขาว 66 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

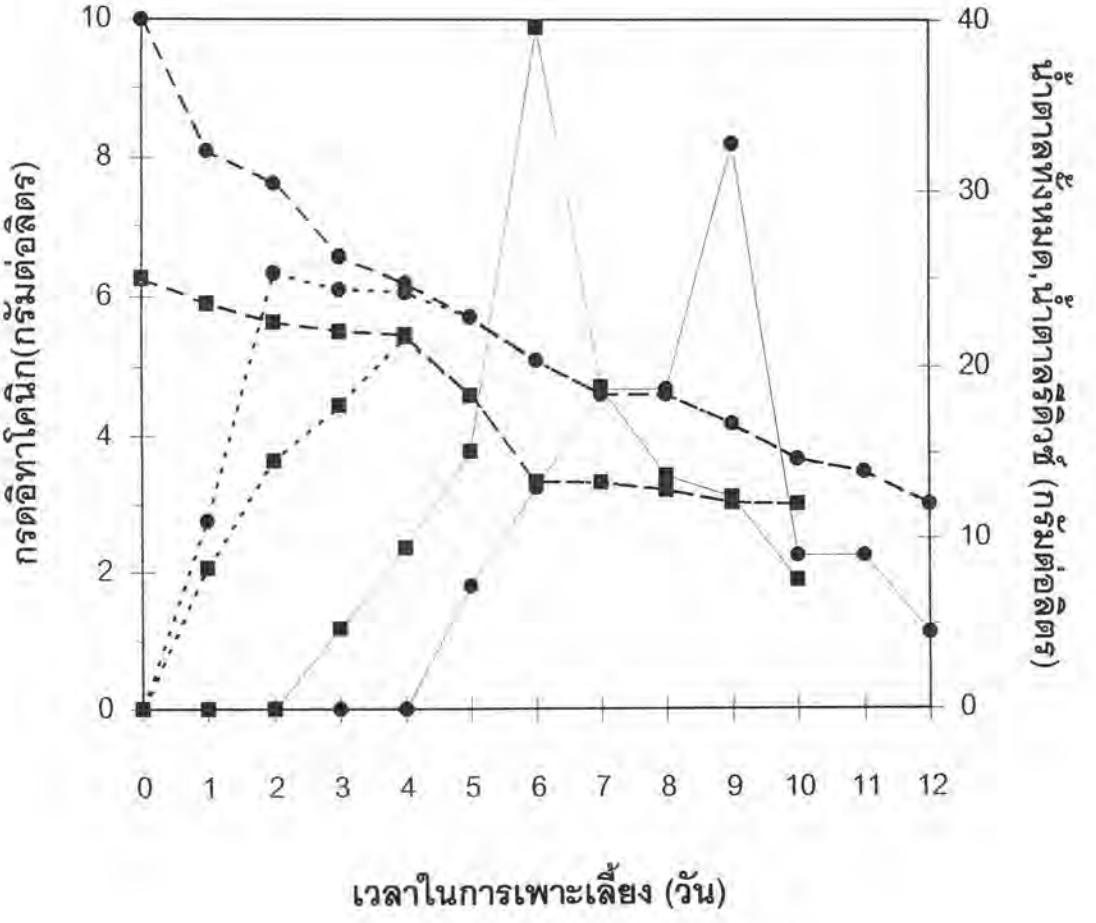
8. ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดอิทาโคนิกภายใต้ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมและสายใยตรึงใน PUF

เมื่อผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงในชิ้นบวบในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหมาะสมเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิก (ภาคผนวก ก 5) โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาว 40 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 2 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง พบว่าให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงสุด 8.2 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 9 ของการผลิต อัตราการผลิตกรดอิทาโคนิกเท่ากับ 0.038 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (0.912 กรัมต่อลิตรต่อวัน) ผลผลิตกรดอิทาโคนิกเมื่อเทียบกับน้ำตาลที่ใช้ 35.15 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 34) ผลผลิตกรดอิทาโคนิกเมื่อเทียบกับน้ำตาลตั้งต้นเท่ากับ 20.50 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงใน PUF ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหมาะสมเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิก (ภาคผนวก ก 5) ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาว 25 กรัมต่อลิตร น้ำหนักเปียกของ PUF ที่มีสายใยตรึงเท่ากับ 22.5 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง พบว่า ให้ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงสุด 9.88 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการผลิต (รูปที่ 34) อัตราการผลิตกรดอิทาโคนิกเท่ากับ 0.069 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (1.656 กรัมต่อลิตรต่อวัน) ผลผลิตกรดอิทาโคนิกเมื่อเทียบกับน้ำตาลที่ใช้เท่ากับ 84.52 เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตกรดอิทาโคนิกเมื่อเทียบกับน้ำตาลตั้งต้นเท่ากับ 39.52 เปอร์เซ็นต์ การผลิตโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมใช้น้ำตาลมากกว่าเมื่อใช้สายใยตรึงใน PUF แต่ให้ผลผลิตน้อยกว่า และเมื่อเปรียบเทียบค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า ค่าความเป็นกรด - ด่างเมื่อใช้สายใยตรึงใน PUF จะมีค่าสูงกว่าเล็กน้อย (รูปที่ 35) ส่วนการเติบโตของสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมมีน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเพิ่มขึ้น 1.29 กรัมต่อลิตร ในขณะที่สายใยตรึงใน PUF ไม่มีการเติบโตของสายใยในขณะที่ทำการผลิตกรดเลย จากผลการทดลองจะเห็นว่าสายใยตรึงใน PUF ให้ผลผลิตกรดสูงกว่าสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมเล็กน้อย

9. ผลการทดลองการผลิตกรดอิทาโคนิกซ้ำโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง

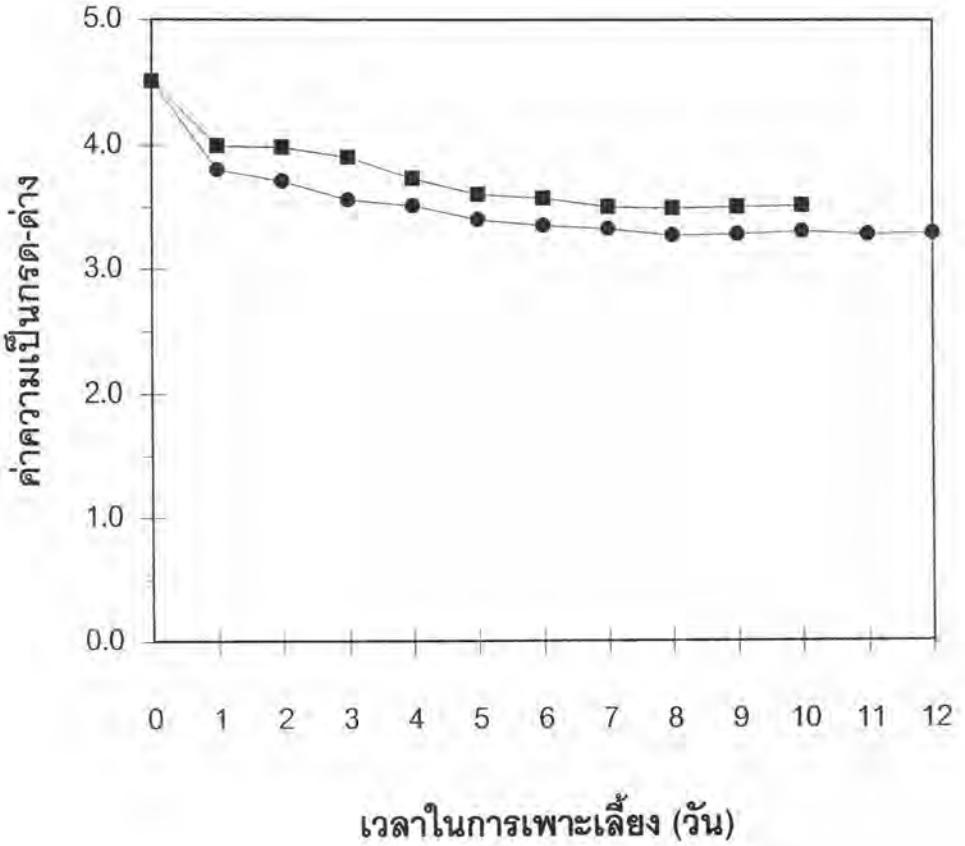
9.1 ผลการผลิตกรดอิทาโคนิกซ้ำโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอม

เมื่อทดลองผลิตกรดอิทาโคนิกซ้ำ ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโดยสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่ได้ศึกษามาแล้ว คือ ใช้กล้าเชื้อที่เตรียมจากความหนาแน่นสปอร์ 1 - 2 x 10^8 สปอร์ อายุ 44 ชั่วโมง ขนาดความสูงของชิ้นวัสดุตรึง 5 เซนติเมตร



รูปที่ 34 เปรียบเทียบการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอมและใน PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างภายใต้ภาวะการผลิตที่เหมาะสมของแต่ละการทดลอง ที่อุณหภูมิห้อง (31 ±2 องศาเซลเซียส)

—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก
— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด
- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์
—●— หมายถึง สายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอม
—■— หมายถึง สายใยตรึงใน PUF



รูปที่ 35 ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อทำการเปรียบเทียบการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอมและใน PUF ในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่างภายใต้ภาวะการผลิตที่เหมาะสมของแต่ละการทดลอง ที่อุณหภูมิห้อง (31 ±2 องศาเซลเซียส)

—●— หมายถึง สายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอม

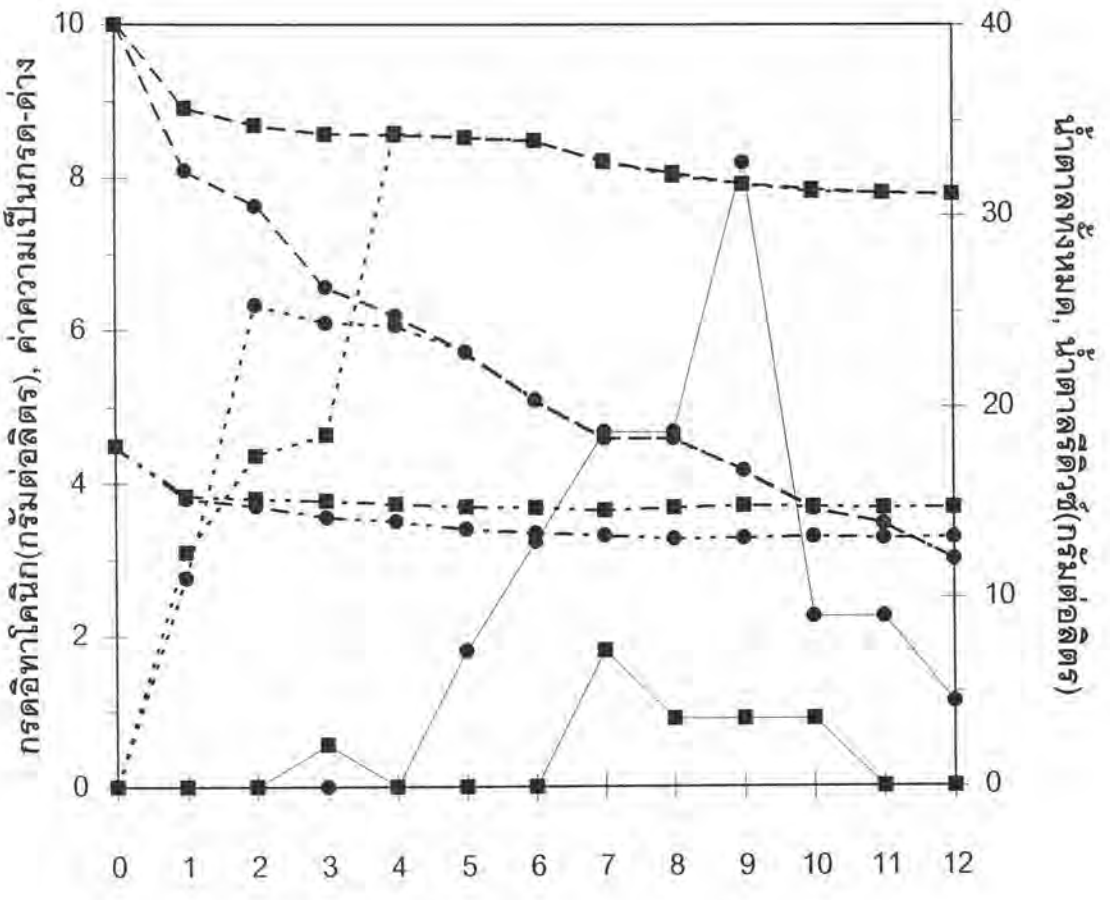
—■— หมายถึง สายใยตรึงใน PUF

(น้ำหนักแห้งสายใยตรึง 2.18 กรัมต่อลิตร) ผลิตกรดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวเท่ากับ 40 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที พบว่า ได้ปริมาณกรดอิทาโคนิกสูงสุด 8.2 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 9 ของการผลิต ใช้น้ำตาล 23.33 กรัมต่อลิตร เมื่อนำสายใยตรึงมาผลิตกรดซ้ำโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อและภาวะต่าง ๆ เช่นเดียวกับที่ใช้ในการผลิตกรดครั้งที่ 1 พบว่าได้ปริมาณกรดอิทาโคนิกน้อยเพียง 1.8 กรัมต่อลิตรเท่านั้น ในวันที่ 7 ของการผลิต การใช้น้ำตาลตลอดการทดลองน้อยมากคือ ใช้ไป 8.86 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อนำสายใยตรึงมาผลิตซ้ำจะมีค่าสูงกว่าเมื่อทำการผลิตครั้งแรก (รูปที่ 36) สำหรับน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อสิ้นสุดการผลิตครั้งแรกและการผลิตซ้ำเท่ากับ 4.97 และ 5.95 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่ามีการเติบโตเพิ่มขึ้น

9.2 ผลการผลิตกรดอิทาโคนิกซ้ำโดยสายใยตรึงใน PUF

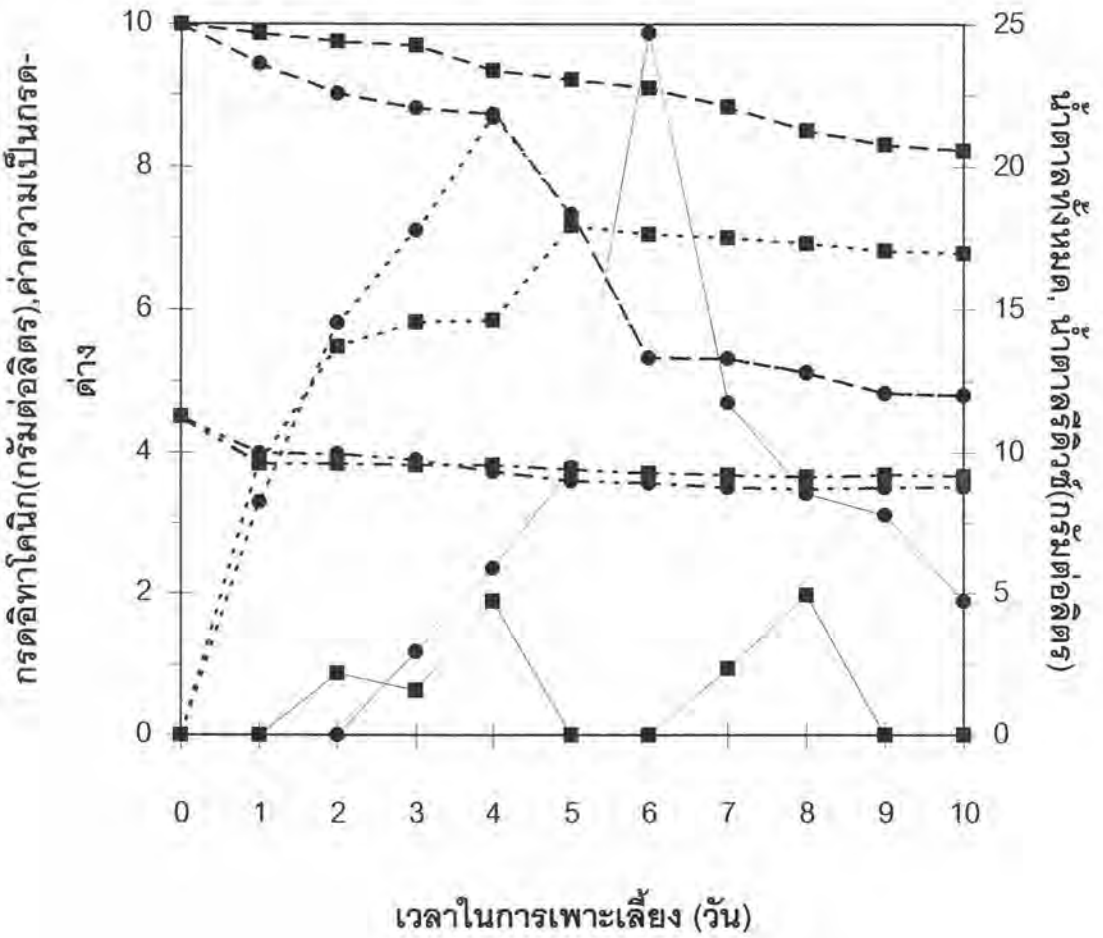
เมื่อทดลองผลิตกรดอิทาโคนิกซ้ำ ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโดยสายใยตรึงใน PUF ที่ได้ศึกษามาแล้ว คือ ใช้กล้าเชื้อที่เตรียมจากความหนาแน่นสปอร์ 1 - 2 x 10^9 สปอร์ อายุ 72 ชั่วโมง ซึ่งมีน้ำหนักเปียกของ PUF ที่มีสายใยตรึงเท่ากับ 22.5 กรัม (น้ำหนักแห้งสายใยตรึง 2.69 กรัมต่อลิตร) ต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลทรายขาว 25 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ได้ปริมาณกรดสูงสุด 9.88 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการผลิต ใช้น้ำตาล 11.69 กรัมต่อลิตร เมื่อนำสายใยตรึงมาผลิตกรดซ้ำโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อและภาวะต่าง ๆ เช่นเดียวกับที่ใช้ในการผลิตกรดครั้งที่ 1 พบว่า ปริมาณกรดอิทาโคนิกที่ผลิตได้น้อยเพียง 1.98 กรัมต่อลิตร น้ำตาลถูกใช้เพียง 4.45กรัมต่อลิตรเท่านั้น ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อนำสายใยตรึงมาผลิตซ้ำจะมีค่าสูงกว่าเมื่อทำการผลิตครั้งแรกเล็กน้อย (รูปที่ 37) สำหรับน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อสิ้นสุดการผลิตครั้งแรกและการผลิตซ้ำ เท่ากับ 2.72 และ 2.75 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ นั่นคือ ไม่มีการเติบโตเพิ่มขึ้น

จากการทดลองการผลิตกรดอิทาโคนิกซ้ำโดยใช้ทั้งสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมและสายใยตรึงใน PUF พบว่า เมื่อนำสายใยตรึงมาผลิตกรดซ้ำในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีแหล่งไนโตรเจนผลผลิตกรดที่ได้ลดลงจากการผลิตครั้งแรกมาก จึงคาดว่าถ้าเติมแหล่งไนโตรเจนปริมาณเล็กน้อยในการผลิตซ้ำอาจทำให้สายใยราคงความสามารถในการผลิตกรดต่อไปได้



รูปที่ 36 การผลิตกรดอิทาโคนิกซ้ำโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10ในชิ้นเส้นใยบวบหอมกล้าเชื้ออายุ 44 ชั่วโมง ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกที่มีน้ำตาลทรายขาวความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตรในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง อัตราการให้อากาศ 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (31 ± 2) เป็นเวลา 12 วัน

—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก
— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด
- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์
- ---- หมายถึง ค่าความเป็นกรด - ด่าง
—●— หมายถึง ผลิตกรดครั้งที่ 1
—■— หมายถึง ผลิตกรดซ้ำ



รูปที่ 37 การผลิตกรดอิทาโคนิกซ้ำโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ใน PUF ใช้กล้าเชื้ออายุ 72 ชั่วโมง ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 25 กรัมต่อลิตร ทำการผลิตในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (31 ± 2) เป็นเวลา 10 วัน

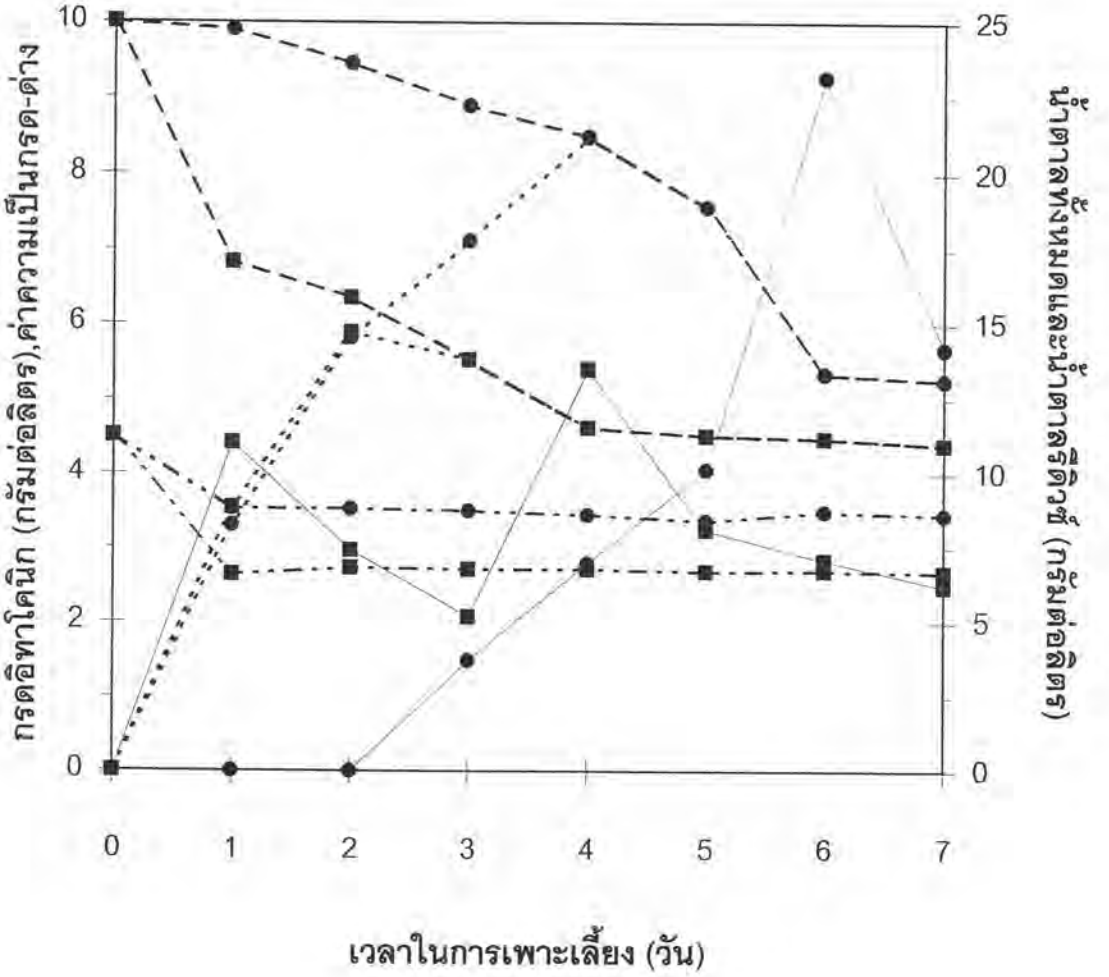
—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก
— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด
- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์
- —- - หมายถึง ค่าความเป็นกรด - ด่าง
—●— หมายถึง ผลิตกรดครั้งที่ 1
—■— หมายถึง ผลิตกรดซ้ำ

10.ผลการผลิตกรดอิทาโคนิกซ้ำโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งไนโตรเจนในการผลิตซ้ำ

เมื่อทดลองผลิตกรดอิทาโคนิกซ้ำ ภายใต้ภาวะที่เหมาะสม คือ เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวเท่ากับ 25 กรัมต่อลิตร น้ำหนักเปียกของ PUF ที่มีสายใยตรึงเท่ากับ 22.5 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ได้ปริมาณกรดสูงสุด 9.26 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการผลิต ใช้น้ำตาล 11.61 กรัมต่อลิตร อัตราการผลิตเท่ากับ 0.064 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (1.54 กรัมต่อลิตรต่อวัน) เมื่อนำสายใยตรึงมาผลิตกรดซ้ำโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อและภาวะต่าง ๆ เช่นเดียวกับที่ใช้ในการผลิตกรดครั้งที่ 1 แต่มีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.68 กรัมต่อลิตรในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า ผลิตกรดได้เท่ากับ 5.4 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 4 ของการผลิต ใช้น้ำตาล 13.46 กรัมต่อลิตร อัตราการผลิตเท่ากับ 0.056 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (1.35 กรัมต่อลิตรต่อวัน) ซึ่งผลิตได้น้อยกว่าการผลิตครั้งแรกแต่ให้ผลผลิตรวดเร็วกว่า คือ เริ่มผลิตกรดสูงตั้งแต่วันแรกของการผลิต ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อนำสายใยตรึงมาผลิตซ้ำจะมีค่าต่ำกว่าเมื่อทำการผลิตครั้งแรก (รูปที่ 38) สำหรับน้ำหนักแห้งสายใยตรึงเมื่อสิ้นสุดการผลิตครั้งแรกและผลิตซ้ำเท่ากับ 2.70 และ 4.74 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

11. ผลวิเคราะห์กรดอิทาโคนิกที่สร้างโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ด้วยวิธี HPLC

เมื่อทำการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ที่ผลิตได้โดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 เพื่อยืนยันว่าเป็นกรดอิทาโคนิก โดยใช้ตัวอย่างน้ำหมักที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นวัสดุตรึงทั้งสองชนิดในวันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรด ผลการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 39 และ 40 พบว่ากรดอินทรีย์ที่สร้างขึ้นมีช่วงเวลาที่อยู่ในคอลัมน์ Zorbox - C8 เช่นเดียวกับกรดอิทาโคนิกมาตรฐาน แต่จะพบว่านอกจากกรดอิทาโคนิกแล้วสายใยตรึงยังผลิตกรดอินทรีย์อื่นปนบ้างซึ่งแตกต่างจากการผลิตกรดโดยสายใยอิสระที่พบว่า เมื่อถึงวันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุดจะไม่พบกรดอื่น ๆ ปนเปื้อน (อุษา กรีอักษร, 2539)



รูปที่ 38 การผลิตกรดอิทาโคนิกโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ใน PUF ซ้ำโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดที่เติมแหล่งไนโตรเจนในการผลิตครั้งที่ 2 ใช้กล้าเชื้ออายุ 72 ชั่วโมง ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 25 กรัมต่อลิตร ทำการผลิตในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (31 ± 2) เป็นเวลา 10 วัน

—— หมายถึง ปริมาณกรดอิทาโคนิก

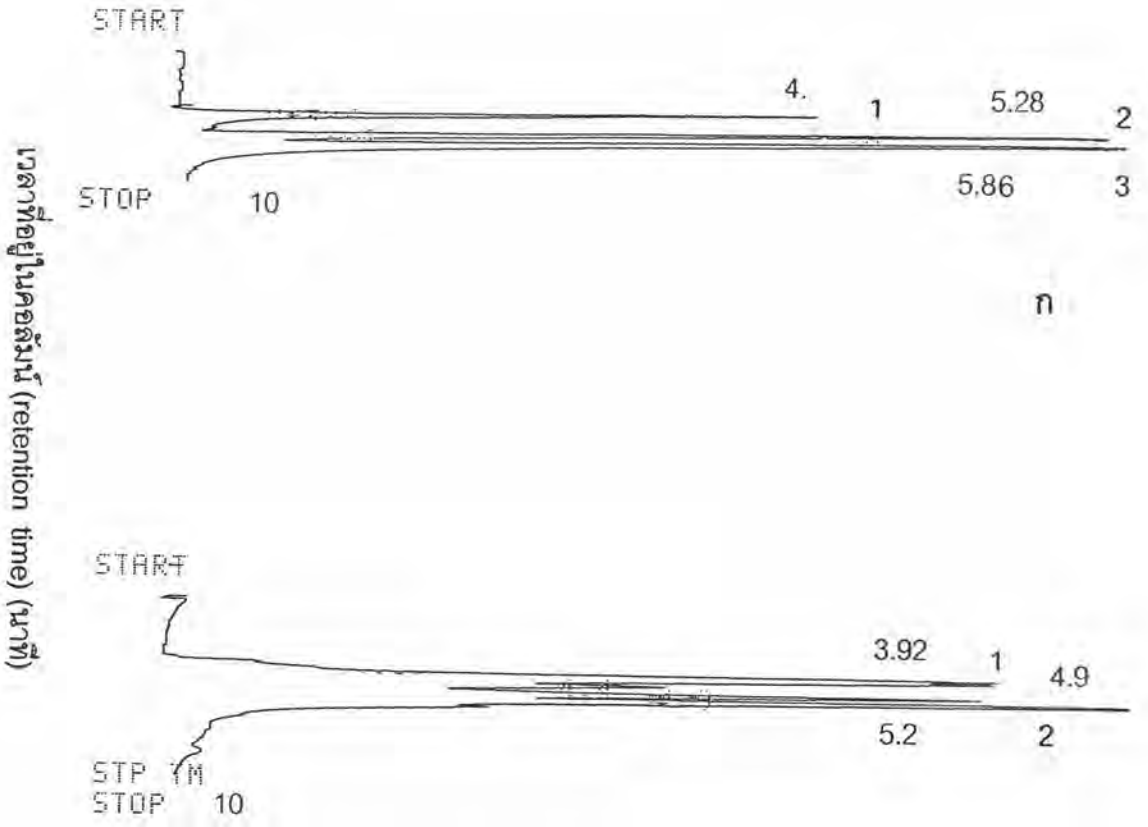
— — หมายถึง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

- - - - หมายถึง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

- — - หมายถึง ค่าความเป็นกรด - ด่าง

—●— หมายถึง ผลิตกรดครั้งที่ 1

—■— หมายถึง ผลิตกรดซ้ำ

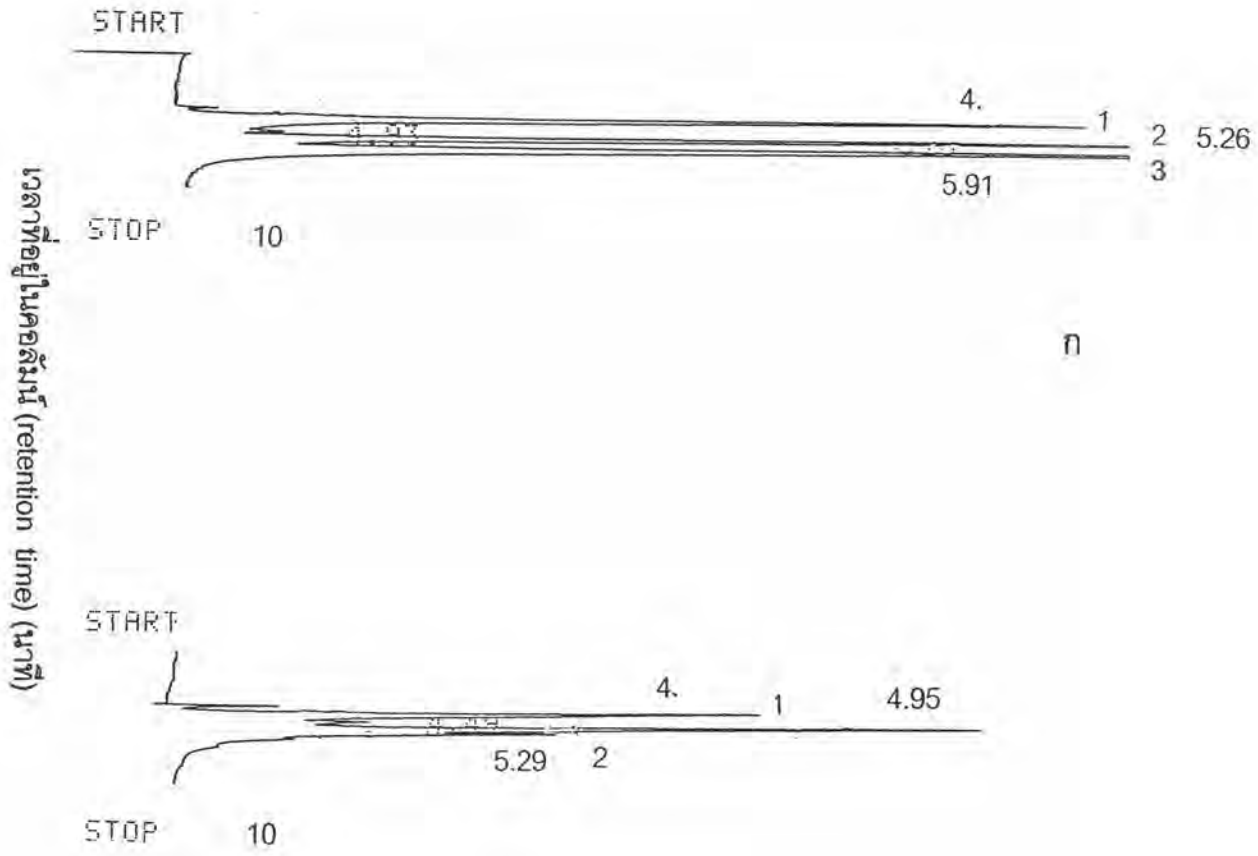


รูปที่ 39 โครมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ที่ผลิตโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอมในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ใช้กล้าเชื้อความหนาแน่นสปอร์ 1 - 2 x 10^8 สปอร์ อัตราการให้อากาศ 2.0 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC โดยใช้คอลัมน์ Zorbox - C8

ก. กรดกลูโคนิกมาตรฐาน ผสมกับ กรดอิทาโคนิกมาตรฐานและกรดโคจิกมาตรฐาน

ข. กรดอินทรีย์ที่สร้างขึ้นโดย *A. terreus* I10 ผสมกับกรดกลูโคนิกมาตรฐาน

1. หมายถึง กรดกลูโคนิก (internal standard)
2. หมายถึง กรดอิทาโคนิก
3. หมายถึง กรดโคจิก



รูปที่ 40 โครมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ที่ผลิตโดยสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ใน PUFในคอลัมน์แก้วที่มีการให้อากาศด้านล่าง ใช้กล้าเชื้อความหนาแน่นสปอร์ 1 - 2 x 10^9 สปอร์ อัตราการให้อากาศ 2.5 ลิตรต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC โดยใช้คอลัมน์ Zorbox - C8

ก. กรดกลูโคนิกมาตรฐาน ผสมกับ กรดอิทาโคนิกมาตรฐานและกรดโคจิกมาตรฐาน

ข. กรดอินทรีย์ที่สร้างขึ้นโดย *A. terreus* I10 ผสมกับกรดกลูโคนิกมาตรฐาน

1. หมายถึง กรดกลูโคนิก (internal standard)
2. หมายถึง กรดอิทาโคนิก
3. หมายถึง กรดโคจิก

12. ผลการตรวจการเติบโตของสายใยตรึง *A. terreus* I10 ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope)

ทำการตรวจการเติบโตของสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมและใน PUF ดังนี้

1. กล้าเชื้อสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมอายุ 44 ชั่วโมง ที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่น 1 - 2 x 10^8 สปอร์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต 2.70 กรัมต่อลิตร

2. กล้าเชื้อสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมอายุ 44 ชั่วโมง ที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่น 1 - 2 x 10^8 สปอร์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตร

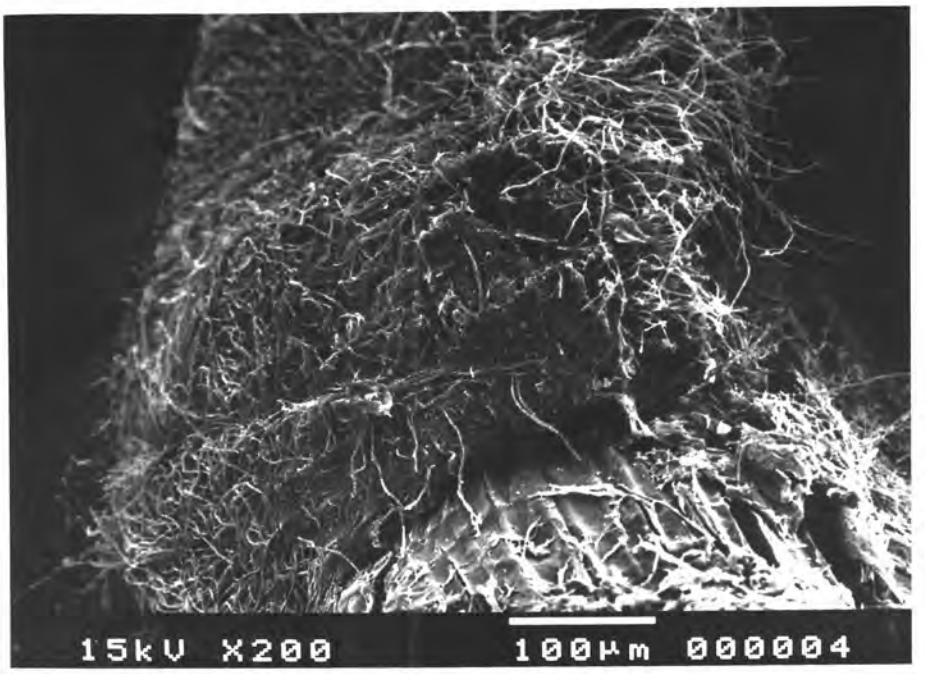
3. สายใยตรึงที่ผ่านการผลิตกรดอิทาโคนิกในคอลัมน์แก้วมาแล้ว 1 ครั้งโดยใช้กล้าเชื้อสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมอายุ 44 ชั่วโมง ที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่น 1 - 2 x 10^8 สปอร์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตร

4. กล้าเชื้อสายใยตรึงในชิ้น PUF อายุ 72 ชั่วโมง ที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่น 1 - 2 x 10^9 สปอร์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต 2.70 กรัมต่อลิตร

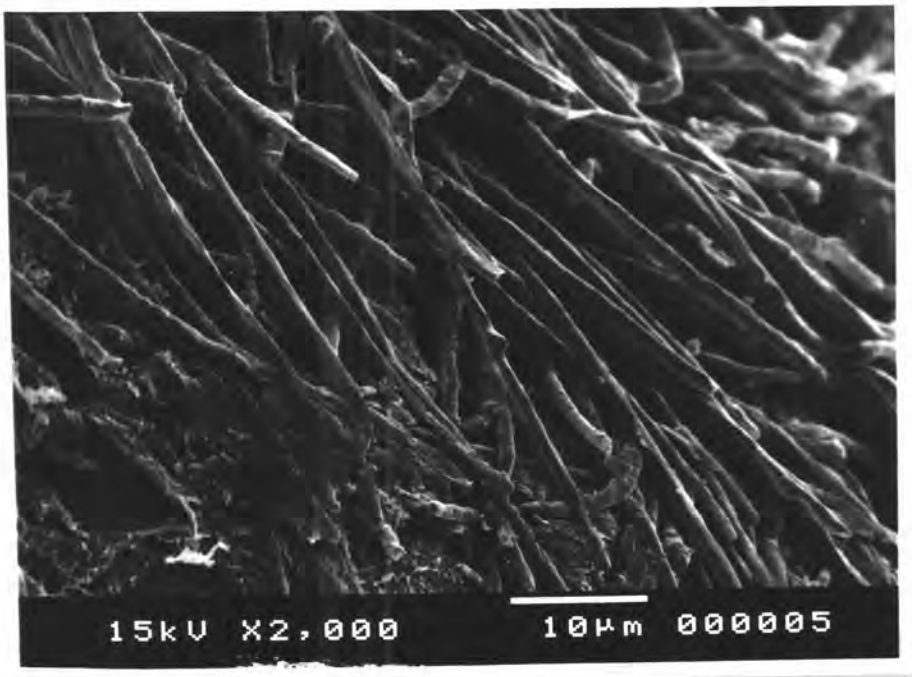
5. สายใยตรึงที่ผ่านการผลิตกรดอิทาโคนิกในคอลัมน์แก้วมาแล้ว 1 ครั้งโดยใช้กล้าเชื้อสายใยตรึงในชิ้น PUF อายุ 72 ชั่วโมง ที่เตรียมจากสปอร์ความหนาแน่น 1 - 2 x 10^9 สปอร์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต 2.70 กรัมต่อลิตร

ผลการตรวจการเติบโตของสายใยตรึงด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด พบว่า เมื่อตรวจดูการเติบโตด้วยกำลังขยาย 200 เท่า กล้าเชื้อสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่เตรียมโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตรซึ่งเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเตรียมกล้าเชื้อ มีการเติบโตปกคลุมเส้นใยบวบหอมในปริมาณมากโดยเกาะบนผิวนอกของเส้นใยบวบหอม และเมื่อเพิ่มกำลังขยายเป็น 2,000 เท่า จะเห็นว่าสายใยราเติบโตเฉพาะบนผิวนอกของเส้นใยบวบหอมเท่านั้น ไม่พบการเติบโตเข้าไปภายในเส้นใยบวบหอมเลย จึงอาจกล่าวได้ว่าการตรึงสายใยของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอมเป็นแบบพาสซีฟ อิมโมบิไลเซชั่น ชนิดที่สายใยเกาะติดบนวัสดุตรึง (adsorption) (รูปที่ 41) เมื่อเปรียบเทียบการเติบโตของสายใยราที่ตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่ได้จากการเตรียมกล้าเชื้อโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนต่างกัน คือ มีแอมโมเนียมซัลเฟต 2.70 และ 1.35 กรัมต่อลิตร ด้วยกำลังขยาย 1,500 เท่า พบว่าขนาดของสายใยราไม่แตกต่างกันและลักษณะของสายใยราไม่ต่างกัน คือ เรียบไม่มีลักษณะของปุ่มปม แต่การเติบโตของกล้าเชื้อที่เตรียมจากอาหารที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตมากกว่าจะมากกว่า (รูปที่ 42)

เมื่อเปรียบเทียบการเติบโตของกล้าเชื้ออายุ 44 ชั่วโมงที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 1.35 กรัมต่อลิตรกับสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่ได้ผ่านการผลิตกรดอิทาโคนิกมาแล้ว 1 ครั้งโดยใช้กำลังขยาย 1,500 เท่าพบว่าสายใยที่ใช้ผลิตกรดมาแล้ว 1 ครั้งมีลักษณะสายใยที่ลีบลง (รูปที่ 43) สำหรับกล้าเชื้อสายใยตรึงที่ตรึงใน PUF นั้นเมื่อศึกษาด้วยกำลังขยาย 35 เท่าจะพบการเติบโตอยู่ในรูพรุนของชิ้น PUF ไม่มีสายใยเจริญเกาะบนร่างแหของ PUF เลย จึงจัดได้ว่าการตรึงสายใยของ *A. terreus* I10 ในชิ้น PUF เป็นแบบพาสซีฟ อิมโมบิไลเซชั่น ชนิดที่สายใยเจริญภายในวัสดุตรึง (colonization) (รูปที่ 44) เมื่อเปรียบเทียบลักษณะการเติบโตของกล้าเชื้อกับสายใยตรึงในชิ้น PUF ที่ผ่านการผลิตกรดมาแล้ว 1 ครั้งด้วยกำลังขยาย 150 เท่า พบว่า การเติบโตของสายใยตรึงมีความหนาแน่นไล่เลี่ยกันและลักษณะของสายใยเหมือนกัน (รูปที่ 45) แต่เมื่อเพิ่มกำลังขยายเป็น 1,000 เท่า จะสังเกตเห็นว่าสายใยราที่ผ่านการผลิตกรดมาแล้ว 1 ครั้งจะมีขนาดของสายใยเล็กลงกว่าระยะที่เป็นกล้าเชื้อ นอกจากนั้นยังพบลักษณะปุ่มปมเกิดขึ้นบนสายใยราที่ผ่านการผลิตกรดมาแล้ว (รูปที่ 46) เมื่อเปรียบเทียบลักษณะของกล้าเชื้อสายใยราที่ตรึงอายุเหมาะสมในชิ้นเส้นใยบวบหอมและชิ้น PUF ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 1,000 เท่า พบว่า สายใยตรึงของราในชิ้นบวบมีลักษณะเป็นสายใยตรงและยาว นอกจากนั้นขนาดของสายใยราจะใหญ่กว่า ในขณะที่สายใยตรึงของราในชิ้น PUF มีลักษณะของสายใยเป็นคลื่นและงอบิดไปมาและขนาดของสายใยเล็กกว่าเล็กน้อย (รูปที่ 47)



1

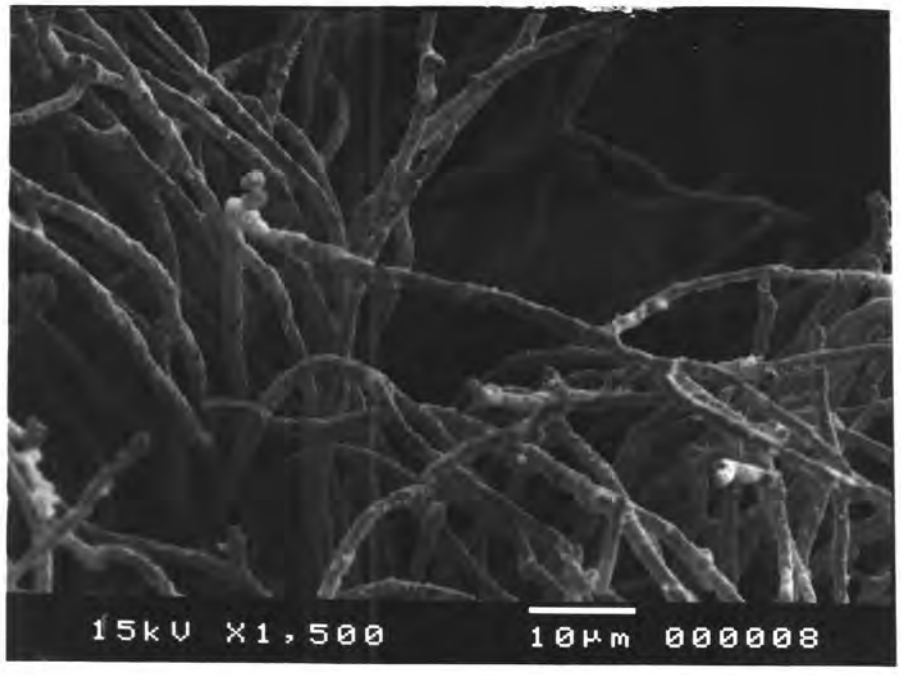


2

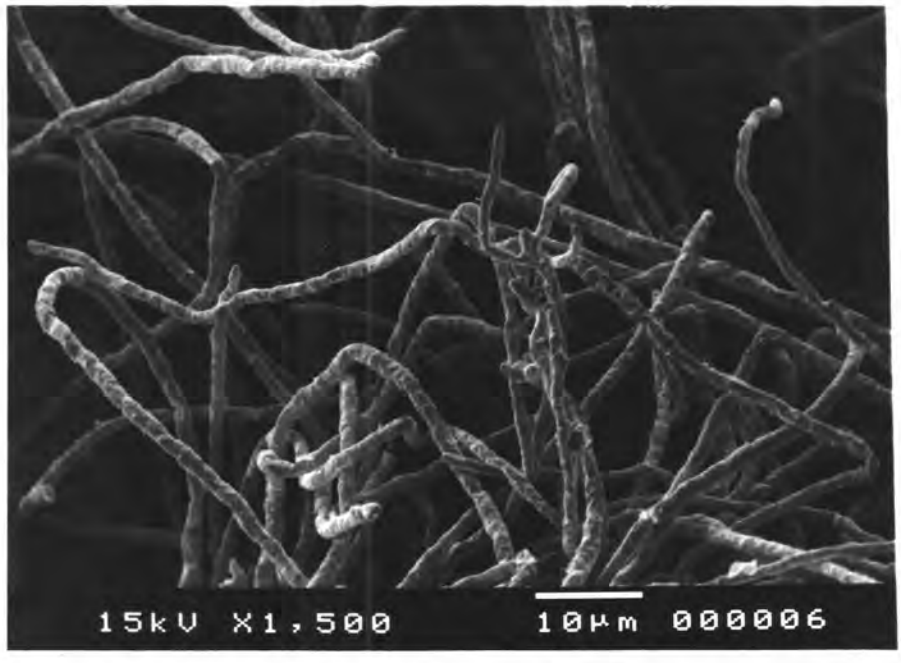
รูปที่ 41 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดแสดงลักษณะการเติบโตของกล้าเชื้อสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 อายุ 44 ชั่วโมงในชิ้นเส้นใยบวบหอมซึ่งเตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตร

1. กำลังขยาย 200 เท่า

2. กำลังขยาย 2,000 เท่า



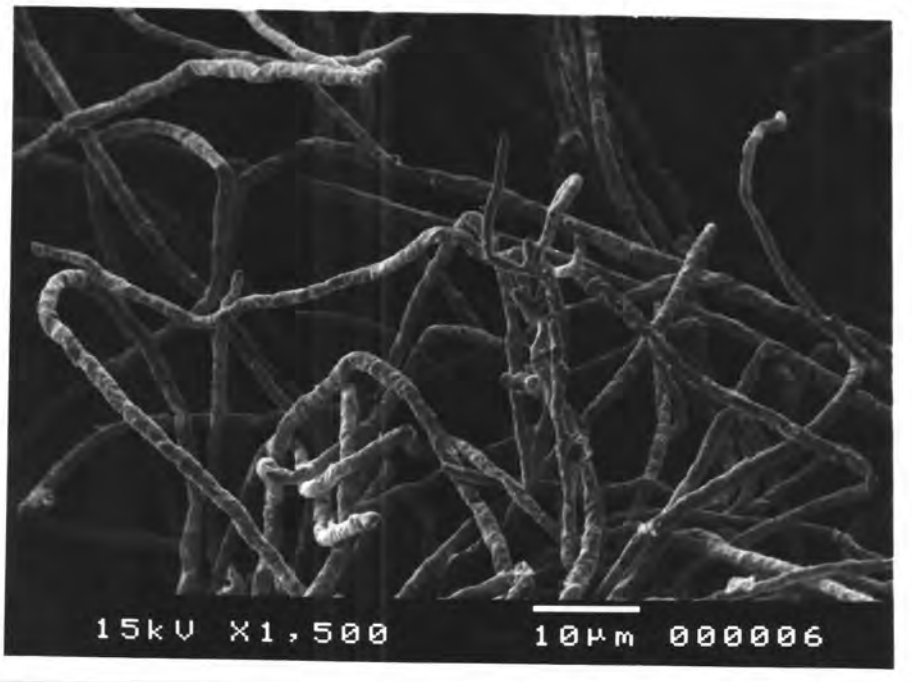
1



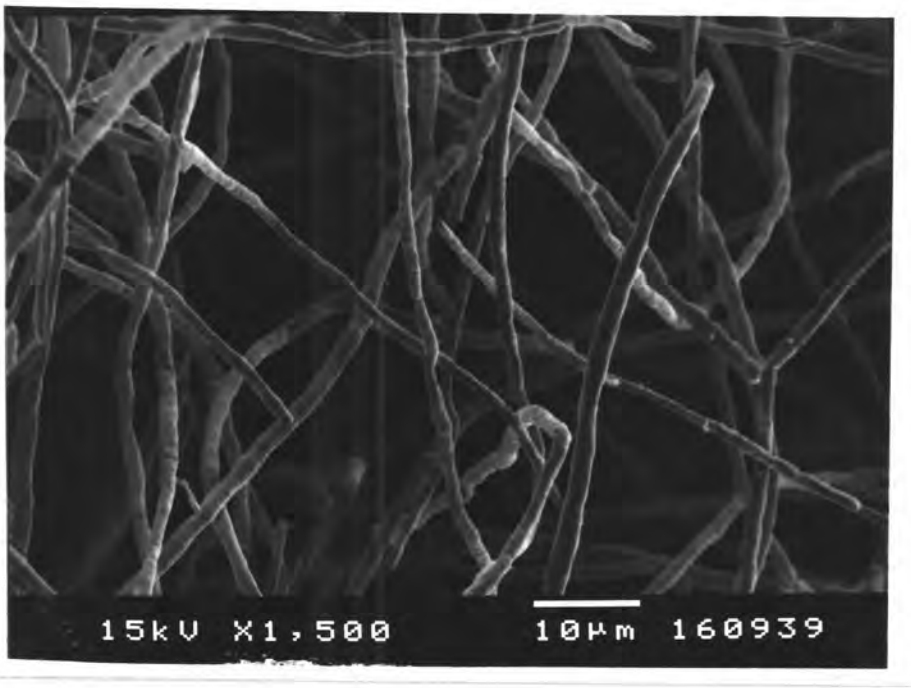
2

รูปที่ 42 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของกล้าเชื้อสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 อายุ 44 ชั่วโมงในชิ้นเส้นใยบวบหอมที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้สปอร์ตรึงงอกที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตต่าง ๆ กัน กำลังขยาย 1,500 เท่า

1. กล้าเชื้อสายใยตรึงที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต 2.70 กรัมต่อลิตร
2. กล้าเชื้อสายใยตรึงที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต1.35 กรัมต่อลิตร



1

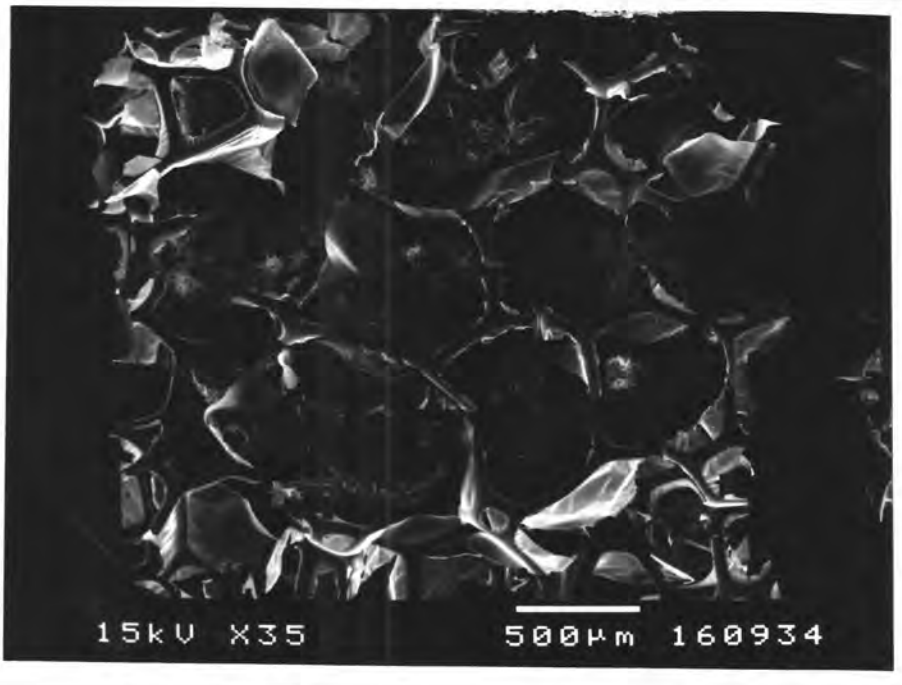


2

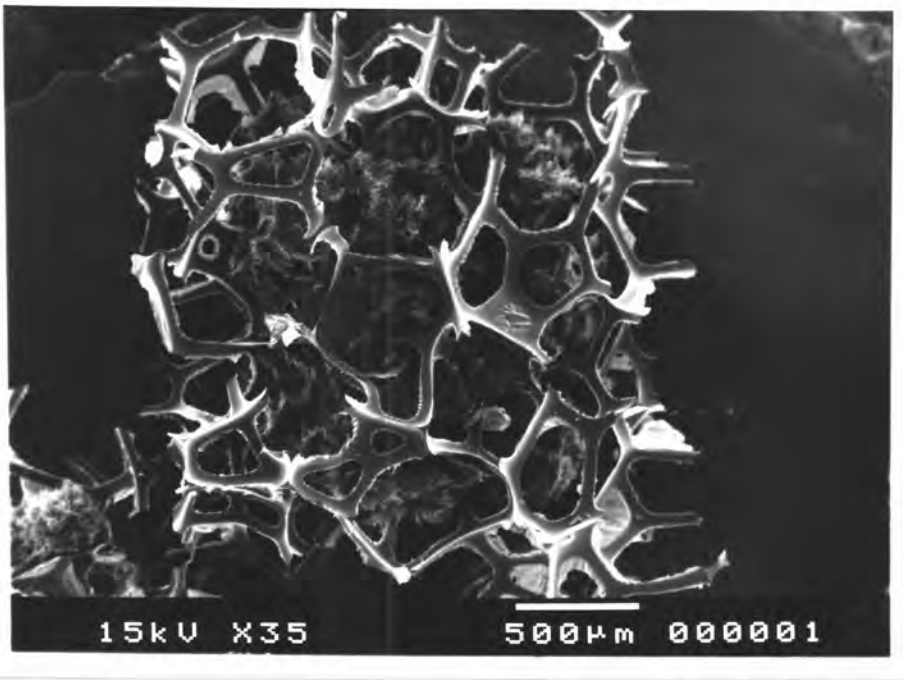
รูปที่ 43 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 ในชิ้นเส้นใยบวบหอม กำลังขยาย 1,500 เท่า

1.กล้าเชื้อสายใยตรึงอายุ 44 ชั่วโมงที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต 1.35 กรัมต่อลิตร

2.สายใยตรึงที่ผ่านการผลิตกรดอิทาโคนิกมาแล้ว 1 ครั้ง



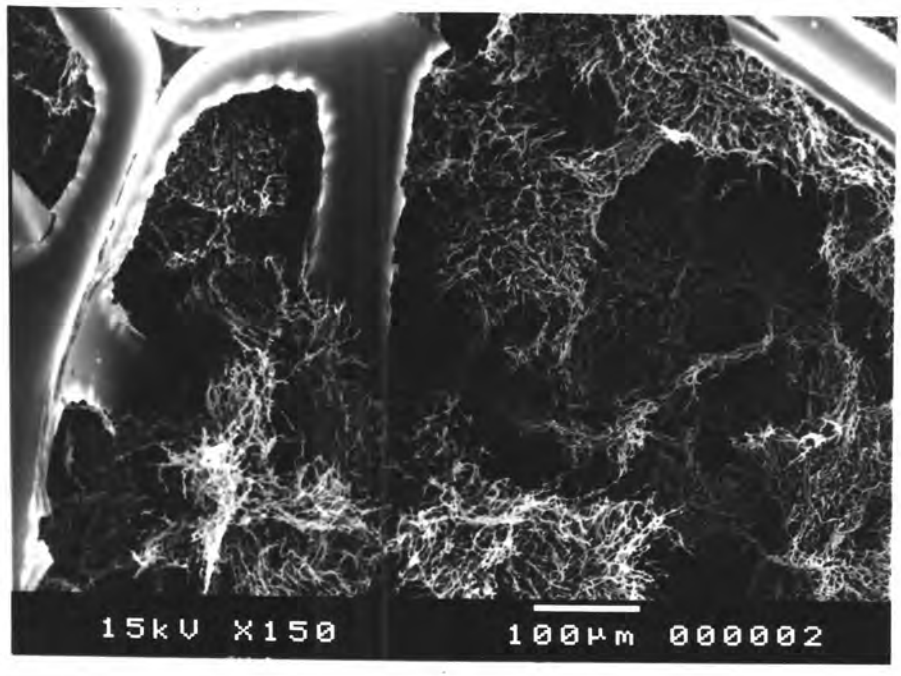
1



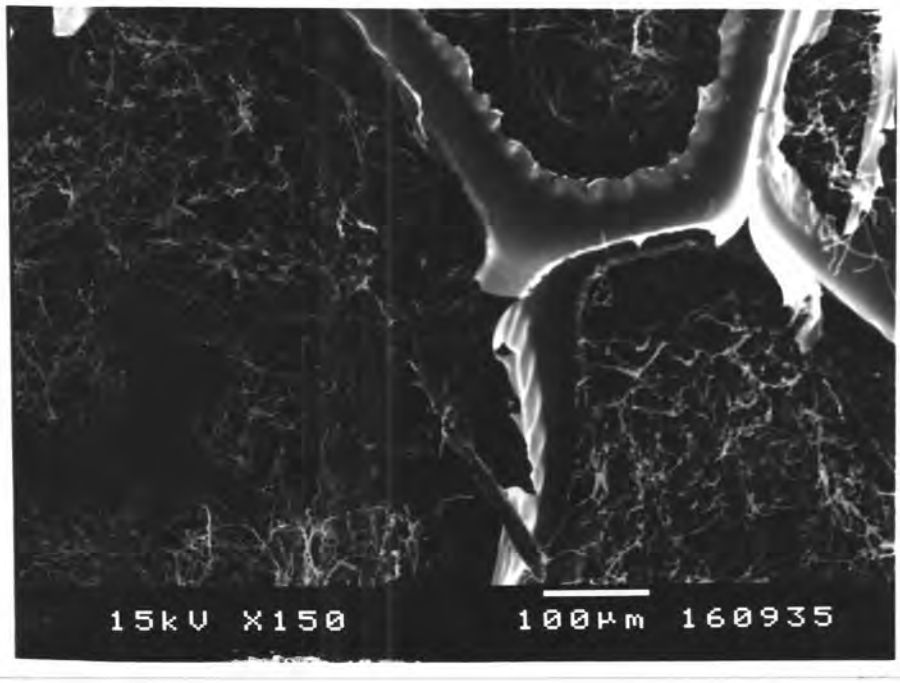
2

รูปที่ 44 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของชิ้น PUF ขนาด 0.25 เซนติเมตร ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 อายุ 72 ชั่วโมงเจริญอยู่ กำลังขยาย 35 เท่า

1. ชิ้น PUF ทั้งชิ้นที่มีสายใยตรึง ถ่ายภาพจากผิวด้านบน
2. ชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึง ผ่าเป็นแว่น



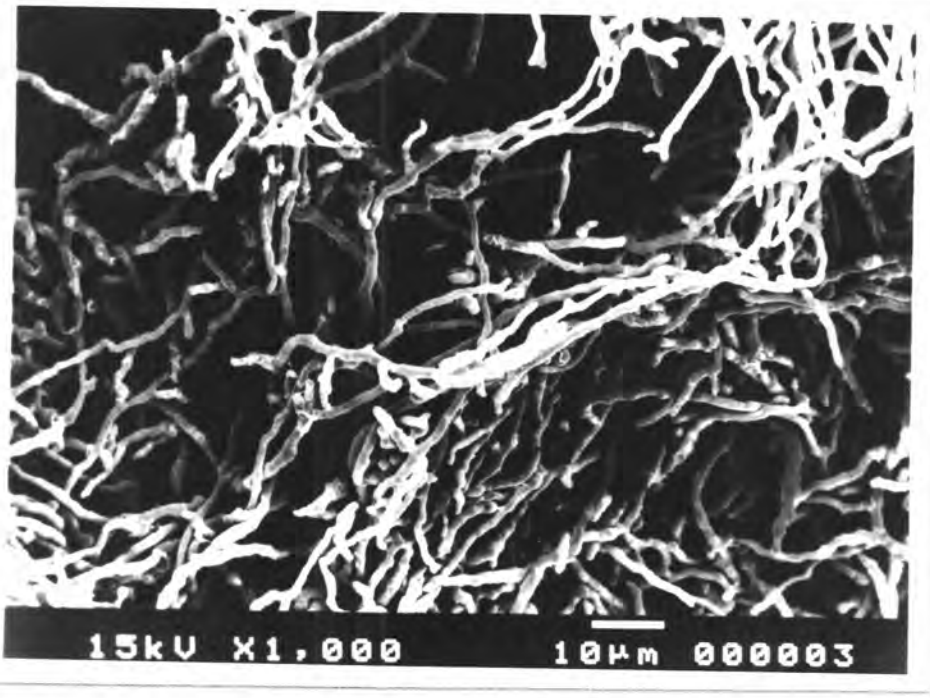
1



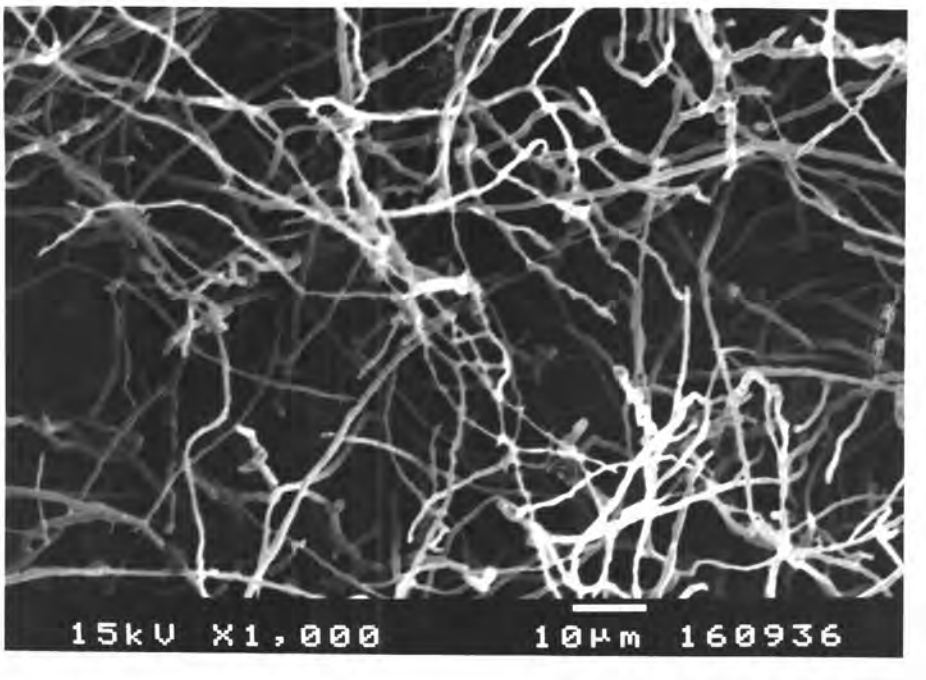
2

รูปที่ 45 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของ PUF ขนาดชิ้น 0.25 เซนติเมตร ที่มีสายใยตรึงของ *A. terreus* I10 กำลังขยาย 150 เท่า

1. ชิ้น PUF ที่มีกล้าเชื้อสายใยตรึงอายุ 72 ชั่วโมง
2. ชิ้น PUF ที่มีสายใยตรึงซึ่งผ่านการผลิตกรดอิทาโคนิกมาแล้ว 1 ครั้ง



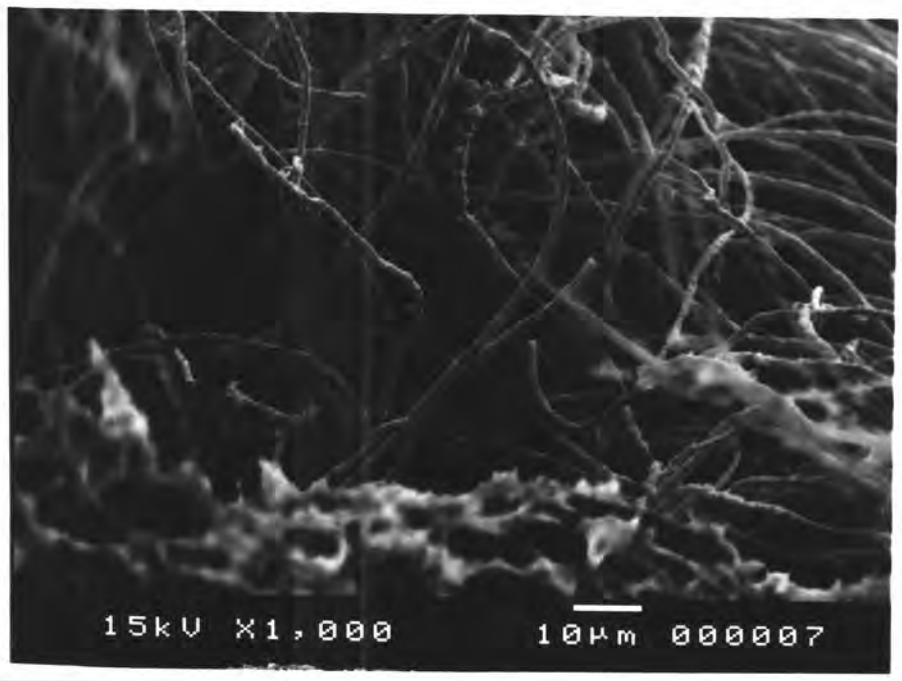
1



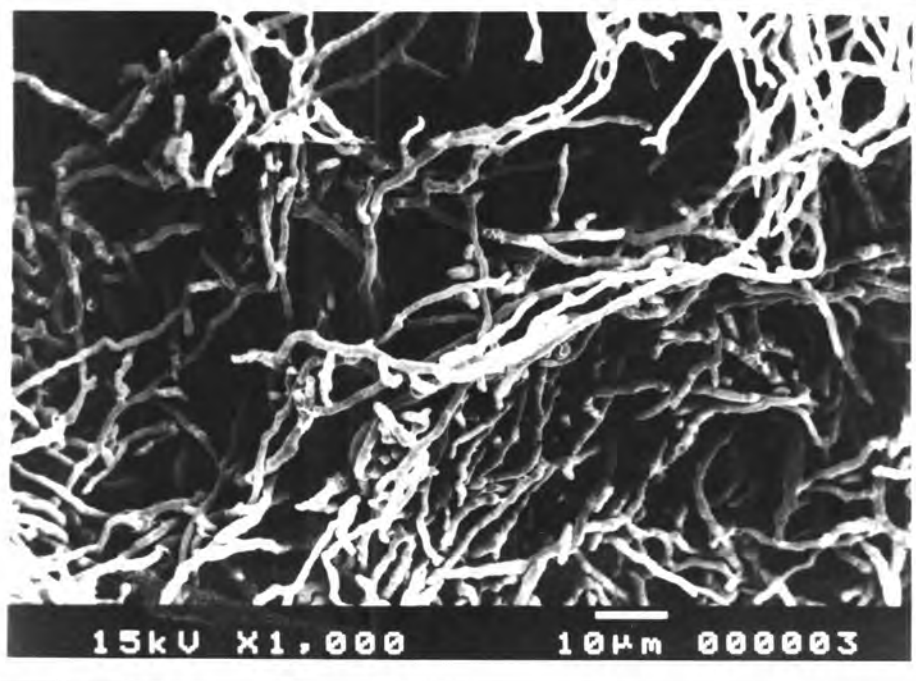
2

รูปที่ 46 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดของชิ้น PUF ขนาด 0.25 เซนติเมตร กำลังขยาย 1,000 เท่า

1. กล้าเชื้อสายใยตรึงอายุ 72 ชั่วโมง
2. สายใยตรึงที่ผ่านการผลิตกรดอิทาโคนิกมาแล้ว 1 ครั้ง



1



2

รูปที่ 47 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 1,000 เท่า

1. กล้าเชื้อสายใยตรึงในชิ้นเส้นใยบวบหอมอายุเหมาะสมคือ 44 ชั่วโมง
2. กล้าเชื้อสายใยตรึงใน PUF อายุเหมาะสมคือ 72 ชั่วโมง