บทที่ 3

ผลการวิจัย

1.เปรียบเทียบผลผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์เมื่อผลิตในขวดเขย่าและในขวดที่ไม่มีการเขย่า

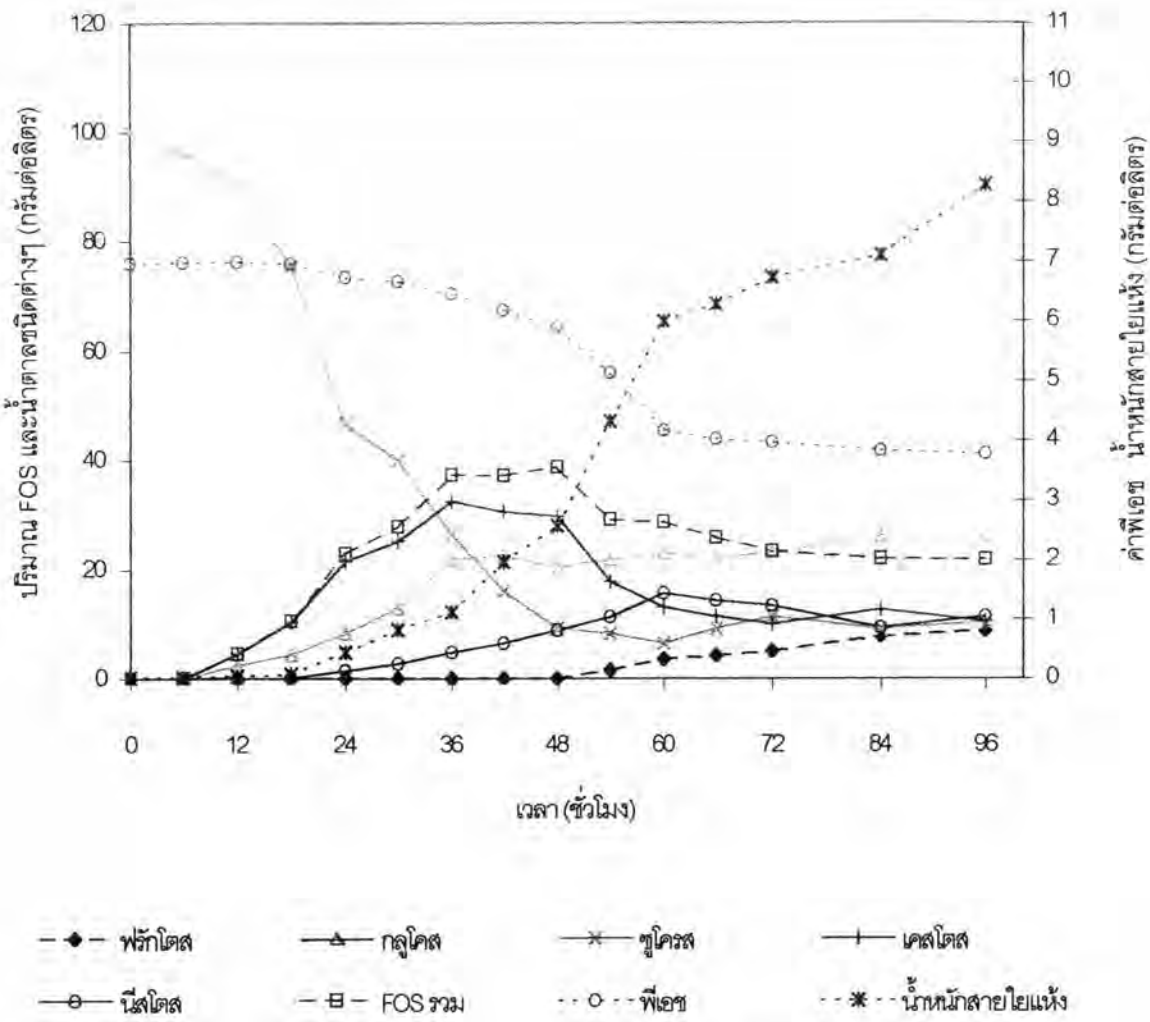
เมื่อเพาะเลี้ยงสปอร์ *Penicillium* sp. H12 ที่เตรียมได้จากวิธีการทดลองข้อ 3.1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (ภาคผนวก ก 3) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส โดยใช้วิธีการผลิตที่แตกต่างกัน คือ เพาะเลี้ยง *Penicillium* sp. H12 โดยไม่มีการเขย่าซึ่งจะมีการเจริญอยู่บนผิวหน้าอาหารเหลว และ *Penicillium* sp. H12 เจริญในอาหารโดยเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบโรตารี่ ด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ผลการทดลองพบว่าการเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp. H12 ทั้งสองวิธีสามารถผลิต FOS ได้ โดยรูปแบบของการผลิต FOS การเติบโต การใช้น้ำตาล จะคล้ายคลึงกันแต่ใช้ระยะเวลาในการผลิตแตกต่างกัน (ดังรูป 4 และ 5) กล่าวคือ เมื่อเริ่มการเพาะเลี้ยง มีการเติบโตเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และมีการผลิต FOS ขึ้นควบคู่ไปพร้อมกับการเติบโต แสดงว่า ฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์นี้เป็นสารปฐมภูมิ (primary metabolite) และขณะที่เริ่มมีการผลิต FOS น้ำตาลซูโครสลดปริมาณลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรกที่เริ่มมีการผลิต FOS ชนิดเคสโตส จากนั้นจะลดลงอย่างช้าๆ FOS ชนิดเคสโตสเริ่มผลิตก่อน FOS ชนิดนีสโตสและให้ผลผลิตเร็วกว่าและสูงกว่านีสโตส ซึ่งจะผลิตได้ปริมาณสูงสุดหลังจากที่เคสโตสเริ่มลดลงแล้ว เนื่องจากการที่จะสร้างนีสโตสได้จะต้องมีเคสโตสเกิดขึ้นก่อนเสมอเพราะนีสโตสเกิดจากการนำน้ำตาลฟรักโตส 1 โมเลกุลเข้าเชื่อมกับเคสโตส 1 โมเลกุล

เมื่อเปรียบเทียบวิธีการผลิตทั้งสองวิธีจะเห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการเขย่าจะมีการผลิต FOS ได้น้อยกว่าและช้ากว่าการเพาะเลี้ยงที่มีการเขย่า โดยการเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการเขย่าจะผลิต FOS ได้ช้ากว่าคือผลิต FOSรวม (เคสโตสรวมกับนีสโตส) ได้สูงสุดเท่ากับ 38.69 กรัมต่อลิตร ใน 48 ชั่วโมง ผลิตเคสโตสสูงสุดได้ 32.52 กรัมต่อลิตรใน 36 ชั่วโมง ผลิตนีสโตสสูงสุด 15.67 กรัมต่อลิตร ใน 60 ชั่วโมง (รูปที่ 4 และตารางที่ 8) ส่วนการเพาะเลี้ยงที่มีการเขย่าจะผลิต FOS ได้เร็วกว่าและให้ผลผลิตสูงกว่าเล็กน้อย คือผลิต FOSรวม ได้สูงสุด 41.61 กรัมต่อลิตรใน 24 ชั่วโมง ผลิตเคสโตสได้สูงสุด 35.66 กรัมต่อลิตร ใน 18 ชั่วโมง ผลิตนีสโตสสูงสุด 20.49 กรัมต่อลิตร ใน 24 ชั่วโมง (รูปที่ 5 และตารางที่ 8)

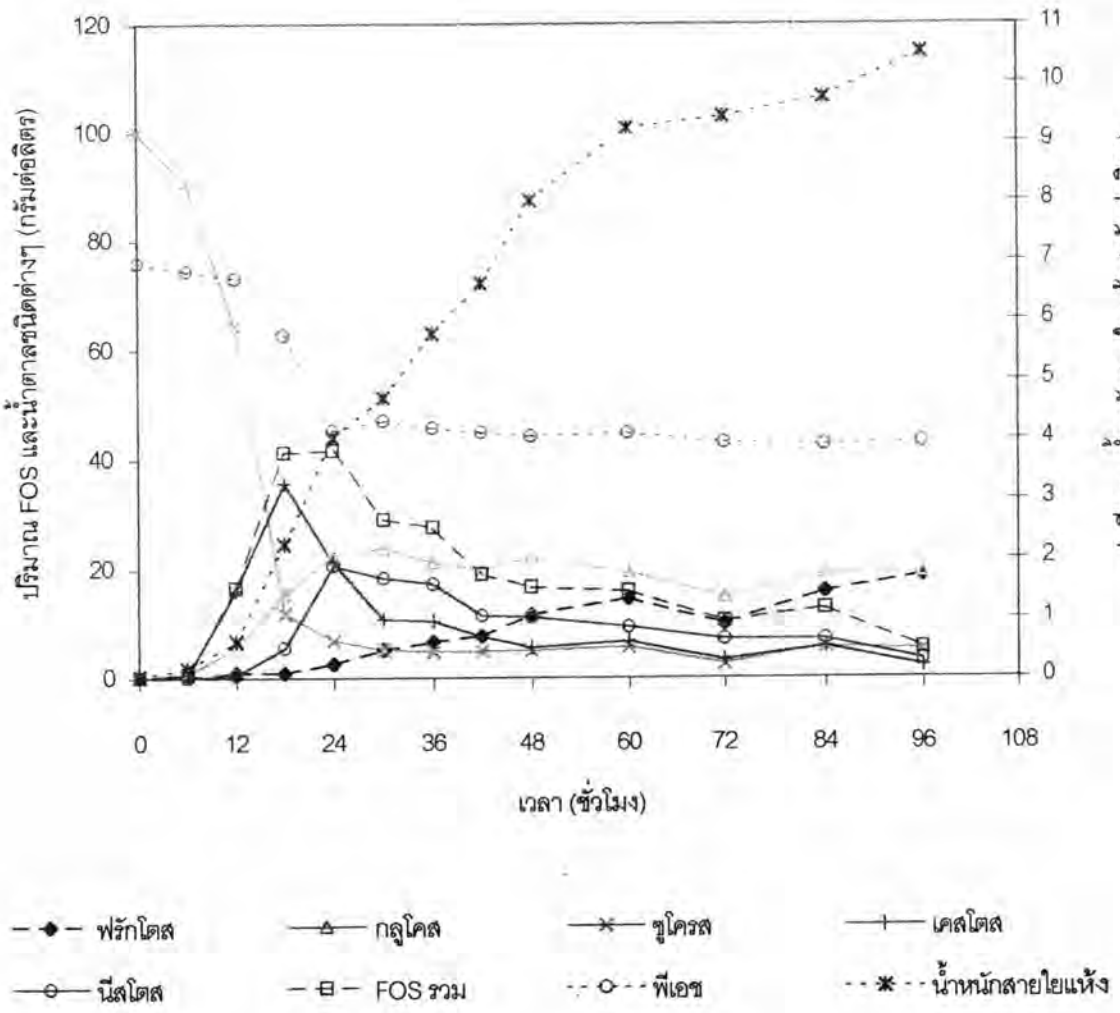
สำหรับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน FOS น้ำตาลมาตรฐานชนิดต่างๆ และของตัวอย่างน้ำหมัก ซึ่งได้แสดงในรูปที่ 6 และ 7 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสารมาตรฐาน FOS ที่ใช้มีเพียงสองชนิด คือ FOSชนิดเคสโตส และ FOSชนิดนีสโตสเท่านั้น เนื่องจากไม่สามารถหาสารมาตรฐานของ FOSชนิดฟรักโตฟิวแรนโนซิลนีสโตสได้ (รูปที่ 6) ดังนั้นในการคิดปริมาณ FOSรวมจึงหมายถึงเคสโตสรวมกับนีสโตส และในตัวอย่างน้ำหมักจะพบว่ามีพีคขนาดเล็กที่มีเวลาที่อยู่ในคอลัมน์น้อยกว่าเคสโตส ซึ่งให้สัญลักษณ์เป็น Unk1 ซึ่งเป็นสารที่ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ชนิด (รูปที่ 7) ซึ่งอาจเป็น 6-เคสโตส ก็ได้ นอกจากนี้ยังมีพีคขนาดเล็กที่มีเวลาอยู่ในคอลัมน์นานกว่า FOS ชนิดนีสโตส(Unk2) ซึ่งคาดว่ามีดีกรีของการโพลีเมอไรเซชั่นสูงกว่านีสโตส ซึ่งอาจจะเป็นฟรักโต-ฟิวแรนโนซิลนีสโตส แต่อย่างไรก็ตามมีความสูงของพีคต่ำมาก ดังนั้นคาดว่ามีปริมาณเล็กน้อยเท่านั้น

เมื่อพิจารณาการเติบโตพบว่าการผลิตโดยไม่มีการเขย่ามีการเติบโตอย่างช้าๆใน 30 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง จากนั้นมีการเติบโตเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ (รูปที่ 4) ส่วนการผลิตโดยมีการเขย่ามีการเติบโตอย่างรวดเร็วกว่าการผลิตโดยไม่มีการเขย่าโดยเริ่มตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยงแต่หลังจาก 60 ชั่วโมงเป็นต้นไปมีการเติบโตช้าลง อาจเนื่องมาจากมีความแออัดของสายใยมาก การถ่ายเทอากาศไม่ดี การเติบโตจึงลดลง (รูปที่ 5) ทำให้เมื่อสิ้นสุดการทดลองทั้งสองวิธีให้การเติบโตไม่แตกต่างกันมากนัก โดยมีน้ำหนักสายใยของการผลิตโดยไม่มีการเขย่าและมีการเขย่าเท่ากับ 8.27 และ 10.52 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 4 และ 5 ตามลำดับ) ซึ่งการเติบโตมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช คือการเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการเขย่า ซึ่งมีการเติบโตช้า ค่าพีเอชจึงค่อยๆลดลงจนถึงชั่วโมงที่ 30 หลังจากนั้นค่าพีเอชลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 30 – 60 ชั่วโมง จากพีเอช 6.7 เป็น 4.2 จากนั้นค่าพีเอชลดลงช้ามาก (รูปที่ 4) ส่วนการเพาะเลี้ยงที่มีการเขย่า ซึ่งมีการเติบโตรวดเร็ว ค่าพีเอชจึงลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยงจนถึงชั่วโมงที่ 24 จากพีเอช 7.0 เป็น 4.2 จากนั้นลดลงช้ามาก (รูปที่ 5) ทำให้เมื่อสิ้นสุดการทดลองทั้งการผลิตโดยไม่มีและมีการเขย่ามีค่าพีเอชไล่เลี่ยกันเท่ากับ 3.8 และ 4.0 ตามลำดับ (รูปที่ 4 และ 5) ทั้งนี้เนื่องการผลิตโดยไม่มีการเขย่าการเติบโตจะค่อยๆเกิดขึ้น ปริมาณของสารเมตาโบไลต์ซึ่งส่วนมากมีความเป็นกรดจึงค่อยๆเกิดขึ้น แต่เมื่อเวลานานขึ้น การเติบโตมากขึ้นจนมาไล่เลี่ยกับการผลิตโดยมีการเขย่า ค่าพีเอชจึงลดต่ำลงไล่เลี่ยกัน

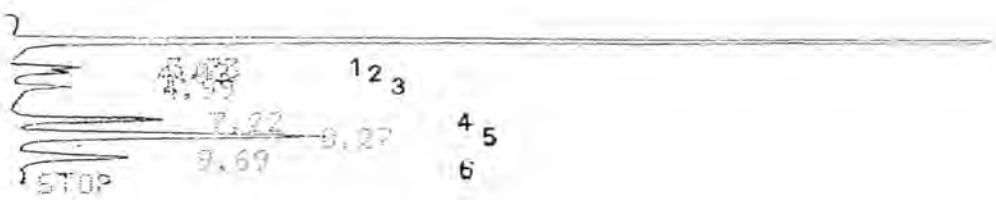
เมื่อพิจารณาการใช้น้ำตาลซูโครสซึ่งเป็นสารตั้งต้นลำดับแรกในการผลิตFOS พบว่า การผลิตที่ไม่มีการเขย่าซึ่งในช่วงแรกมีการเติบโตช้ากว่าจะมีการใช้น้ำตาลช้ากว่าด้วย ตัวอย่างเช่น ที่ 24 ชั่วโมง จะมีน้ำตาลซูโครสเหลืออยู่ 46.6 กรัมต่อลิตร ส่วนการเพาะเลี้ยงที่มีการเขย่า จะมีเหลืออยู่ 6.79 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อเวลาในการผลิตนานเข้า การใช้น้ำตาลของการทดลองที่ไม่มีการเขย่าจะเพิ่มขึ้น คือที่ 96 ชั่วโมง การเพาะเลี้ยงแบบไม่มีการเขย่าและมีการเขย่าจะมีน้ำตาลซูโครสเหลืออยู่ 10.33 และ 5.23 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ดังรูปที่ 4 และ 5)



รูปที่ 4 ปริมาณ FOS น้ำตาลชนิดต่างๆ ค่าพีเอชและน้ำหนักสายใยแห้ง เมื่อเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp.H12 ในอาหารเหลวโดยไม่มีการเขย่า (เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลว) มีความเข้มข้นของน้ำตาลทราย 100 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส

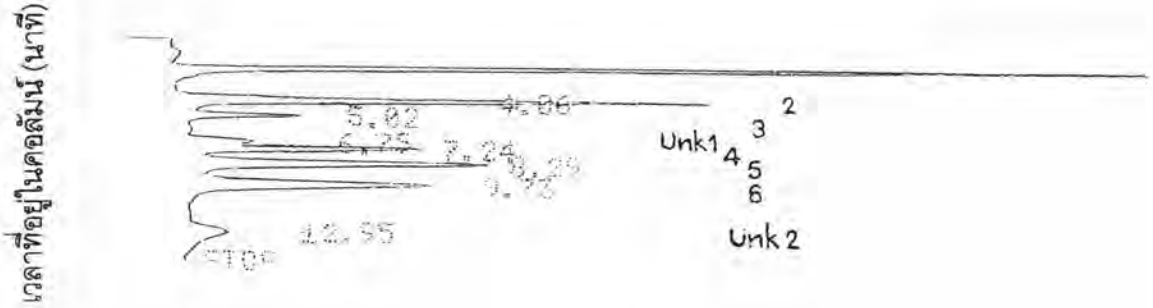


รูปที่ 5 ปริมาณ FOS น้ำตาลชนิดต่างๆ ค่าพีเอชและน้ำหนักสายใยแห้ง เมื่อเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp. H12 ในอาหารเหลวที่มีการเขย่า มีความเข้มข้นของน้ำตาลทราย 100 กรัมต่อลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส

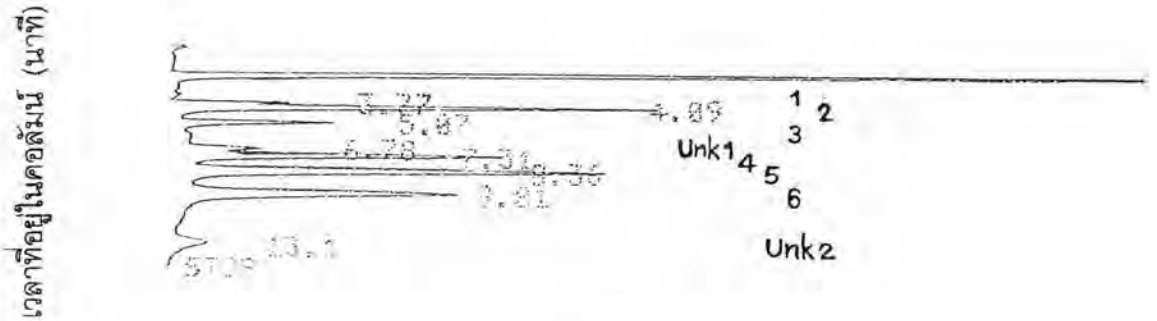


รูปที่ 6 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน FOS และน้ำตาลชนิดต่างๆ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

1 หมายถึง น้ำตาลฟรักโตส
2 หมายถึง น้ำตาลกลูโคส
3 หมายถึง น้ำตาลซูโครส
4 หมายถึง FOSชนิดเคสโตส
5 หมายถึง น้ำตาลราฟฟิโนส (สารมาตรฐานภายใน)
6 หมายถึง FOSชนิดนีสโตส



ก



ข

รูปที่ 7 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของ FOS และน้ำตาลชนิดต่างๆ ในน้ำหมักที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp.H12 โดยวิธีการเขย่าและไม่มีการเขย่า เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

ก. FOS และน้ำตาลชนิดต่างๆในน้ำหมักที่ผลิตโดยไม่มีการเขย่า (มีน้ำตาลราฟฟิโนสเป็นสารมาตรฐานภายใน)

ข. FOS และน้ำตาลชนิดต่างๆในน้ำหมักที่ผลิตโดยมีการเขย่า (มีน้ำตาลราฟฟิโนสเป็นสารมาตรฐานภายใน)

1 หมายถึง น้ำตาลฟรักโตส
2 หมายถึง น้ำตาลกลูโคส
3 หมายถึง น้ำตาลซูโครส
4 หมายถึง FOSชนิดเคสโตส
5 หมายถึง น้ำตาลราฟฟิโนส (สารมาตรฐานภายใน)
6 หมายถึง FOSชนิดนีสโตส
Unk1 และ Unk2 หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ยังไม่สามารถวิเคราะห์ชนิด

สำหรับน้ำตาลกลูโคส การเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการเขย่าจะมีการเพิ่มของน้ำตาลช้ากว่าแบบที่มีการเขย่า คือ มีการเพิ่มขึ้นรวดเร็วตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยงจนถึงชั่วโมงที่ 36 จากนั้นจะเพิ่มขึ้นอย่างช้า จนสิ้นสุดการทดลองมีน้ำตาลกลูโคส 26.55 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 4) ส่วนการเพาะเลี้ยงที่มีการเขย่าจะมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในตั้งแต่ 24 ชั่วโมง จากนั้นจะค่อนข้างคงที่ เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีน้ำตาลกลูโคสเหลือ 19.63 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 5) ที่เป็นเช่นนี้เพราะว่ามีการผลิต FOS ช้า เมื่อเพาะเลี้ยงโดยไม่มีการเขย่า จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เหลือจากการสร้าง FOS (น้ำตาลกลูโคส) เกิดขึ้นช้าด้วย

ส่วนน้ำตาลฟรักโตส ตรวจพบได้เมื่อมีการผลิตFOSไประยะหนึ่ง โดยการเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการเขย่าจะตรวจพบน้ำตาลฟรักโตสช้ากว่าการเพาะเลี้ยงที่มีการเขย่า กล่าวคือ เริ่มตรวจพบได้หลัง 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงเริ่มมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีน้ำตาลฟรักโตส 8.86 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 4) ส่วนการเพาะเลี้ยงที่มีการเขย่า ตรวจพบได้เร็วมากคือตั้งแต่ 12 ชั่วโมงแต่มีปริมาณน้อยมาก จากนั้นจะเริ่มมีปริมาณมากขึ้นเรื่อยๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีน้ำตาลฟรักโตส 18.8 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 5) เนื่องจากในช่วงแรกมีอัตราการผลิตFOSสูง น้ำตาลฟรักโตสจึงถูกใช้ในการผลิต FOS หมด ต่อมาอัตราการผลิต FOS ลดลงจึงมีน้ำตาลฟรักโตสเหลือซึ่งสามารถตรวจพบได้

เมื่อพิจารณาปริมาณฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ การเติบโต การใช้น้ำตาล จะมีความสอดคล้องกัน คือในการผลิตแบบมีการเขย่า จุลินทรีย์ได้รับออกซิเจนละลายมากกว่าทำให้มีการเติบโตอย่างรวดเร็ว ทำให้สามารถผลิต FOS ได้เร็วกว่า จึงทำให้เหลือปริมาณน้ำตาลซูโครสและน้ำตาลกลูโคสอยู่น้อยกว่า ส่วนการผลิตแบบไม่มีการเขย่า จุลินทรีย์ได้รับออกซิเจนละลายน้อยกว่าจึงผลิต FOS ได้แต่ใช้เวลานานกว่า เนื่องจากมีการเติบโตที่ช้ากว่า การใช้น้ำตาลก็ต่ำตามไปด้วย

เมื่อพิจารณาอัตราการผลิต FOSรวม ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด พบว่าการผลิตโดยไม่มีการเขย่ามีอัตราการผลิตต่ำกว่าการผลิตโดยการเขย่า คือมีอัตราการผลิตเท่ากับ 0.81 และ 1.73 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ดังตารางที่ 8

สำหรับประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสไปเป็น FOS (Yp/s) พบว่าการผลิตโดยไม่มีการเขย่ามีค่า Yp/s ต่ำกว่าการผลิตแบบเขย่าเล็กน้อย โดยมีค่าเท่ากับ 0.42 และ 0.45 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8 แต่เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของสายใยในการผลิต FOS (Yp/x) พบว่าการผลิตโดยไม่มีการเขย่าสายใยมีประสิทธิภาพดีกว่าการผลิตโดยมีการเขย่า โดยมี Yp/x ตามลำดับดังกล่าว เท่ากับ 15.05 และ 10.32 เนื่องจากการทดลองที่มีการเขย่าแหล่งคาร์บอนถูกใช้ไปเพื่อการเติบโตมาก (ตารางที่ 8) แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อคิดอัตราการผลิต

และ FOSรวม ตามที่กล่าวมาแล้ว การผลิตแบบเขย่าให้ผลผลิตเร็วกว่ามากและปริมาณสูงกว่าเล็กน้อย

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าการผลิตทั้งสองแบบให้ผลผลิตในปริมาณไม่แตกต่างกันมากนัก แต่จะแตกต่างกันในด้านระยะเวลาในการผลิต แบบไม่มีการเขย่าจะใช้เวลานานกว่า 2 เท่าทั้งๆที่ให้ผลผลิตไล่เลี่ยกัน อาจเพราะความต้องการออกซิเจนในการสร้าง FOS อาจต้องการขนาดหนึ่งซึ่งไม่มากเกินไปนัก แต่การเติบโตของการผลิตแบบไม่เขย่าเป็นไปอย่างช้า จึงทำให้ผลิต FOS ได้ช้าด้วย เพราะฉะนั้นจะเลือกใช้วิธีไหนในการผลิตก็ได้ ขึ้นอยู่กับต้นทุนและเครื่องมือที่มีอยู่ โดยวิธีการผลิตโดยการเขย่าใช้เวลาในการผลิตเร็วกว่ามากถึง 2 เท่า ดังนั้นวิธีการเขย่าจึงมีความเหมาะสมกว่า จึงเลือกใช้การผลิตแบบที่มีการเขย่าในการทดลองขั้นต่อๆไป และเนื่องจากได้ผลผลิต FOSรวม สูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงในเวลา 24 ชั่วโมงซึ่งเร็วมากเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์อื่นๆที่ผลิตโดยรา มักใช้เวลาอย่างน้อย 3 วันขึ้นไป เนื่องจากช่วงชีวิตของราใช้เวลานาน ดังนั้น *Penicillium* sp. H12 นี้เป็นสายพันธุ์ที่น่าสนใจในการนำมาศึกษาถึงการผลิตต่อไป

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบปริมาณ FOS อัตราการผลิต น้ำหนักสายใยแห้ง Yp/x และ Yp/s ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุดเมื่อผลิตโดยมีและไม่มีการเขย่า

เปรียบเทียบ	ผลิตโดยไม่มีการเขย่า		ผลิตโดยมีการเขย่า	
	ปริมาณ (ก/ล)	ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด	ปริมาณ (ก/ล)	ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด
เคสโตส	32.52	36	35.66	18
นีสโตส	15.67	60	20.49	24
FOSรวม	38.69	48	41.61	24
อัตราการผลิต * (ก/ล/ชม.)	0.81		1.73	
น้ำหนักสายใยแห้ง * (ก/ล)	2.574		4.03	
Yp/x *	15.05		10.32	
Yp/s *	0.42		0.45	

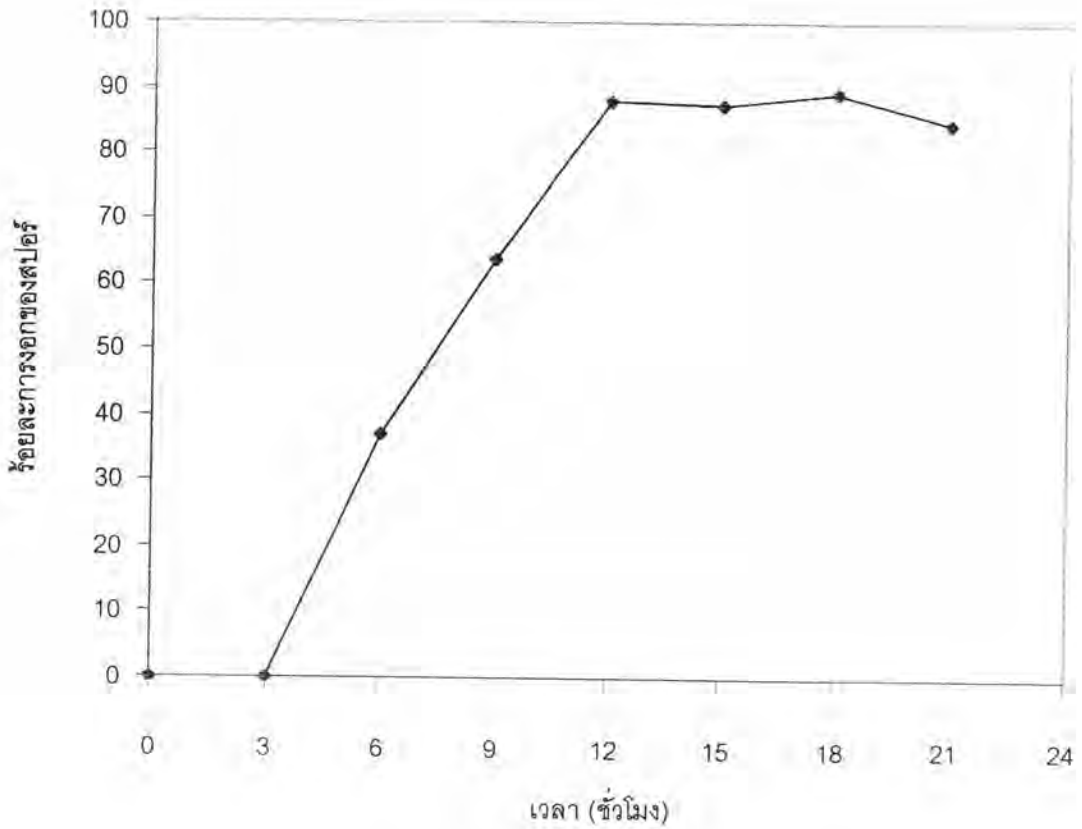
หมายเหตุ * คิดจากชั่วโมงที่ให้ผลผลิตFOSรวมสูงสุด

2.ผลของปัจจัยบางประการที่มีต่อการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ในขวดเขย่า

2.1 ผลการหาระยะเวลาในการงอกของสปอร์และการเติบโตของ *Penicillium* sp.H12

2.1.1 ผลการหาระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเพื่อให้สปอร์งอกมากที่สุด

เมื่อเพาะเลี้ยงสปอร์แขวนลอยของ *Penicillium* sp.H12 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้สปอร์งอก (ภาคผนวก ก 2) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าแบบโรตารี่ด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที เมื่อนับจำนวนสปอร์ที่งอกทุก 3 ชั่วโมง ด้วยอุปกรณ์นับเม็ดเลือดตามวิธีการทดลองข้อ 11.1.1 เมื่อนำมาคำนวณเป็นร้อยละของการงอก พบว่าค่าร้อยละของการงอกเพิ่มขึ้นทุกครั้งที่มีการตรวจนับ คือในชั่วโมงที่ 3 6 9 12 และการงอกไม่เพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีร้อยละการงอกของสปอร์สูงสุด เท่ากับ 88.11 ในชั่วโมงที่ 12 ของการเพาะเลี้ยง ดังแสดงในรูปที่ 8 จึงใช้ระยะเวลา 12 ชั่วโมงนี้เป็นระยะเวลาที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อสปอร์งอก

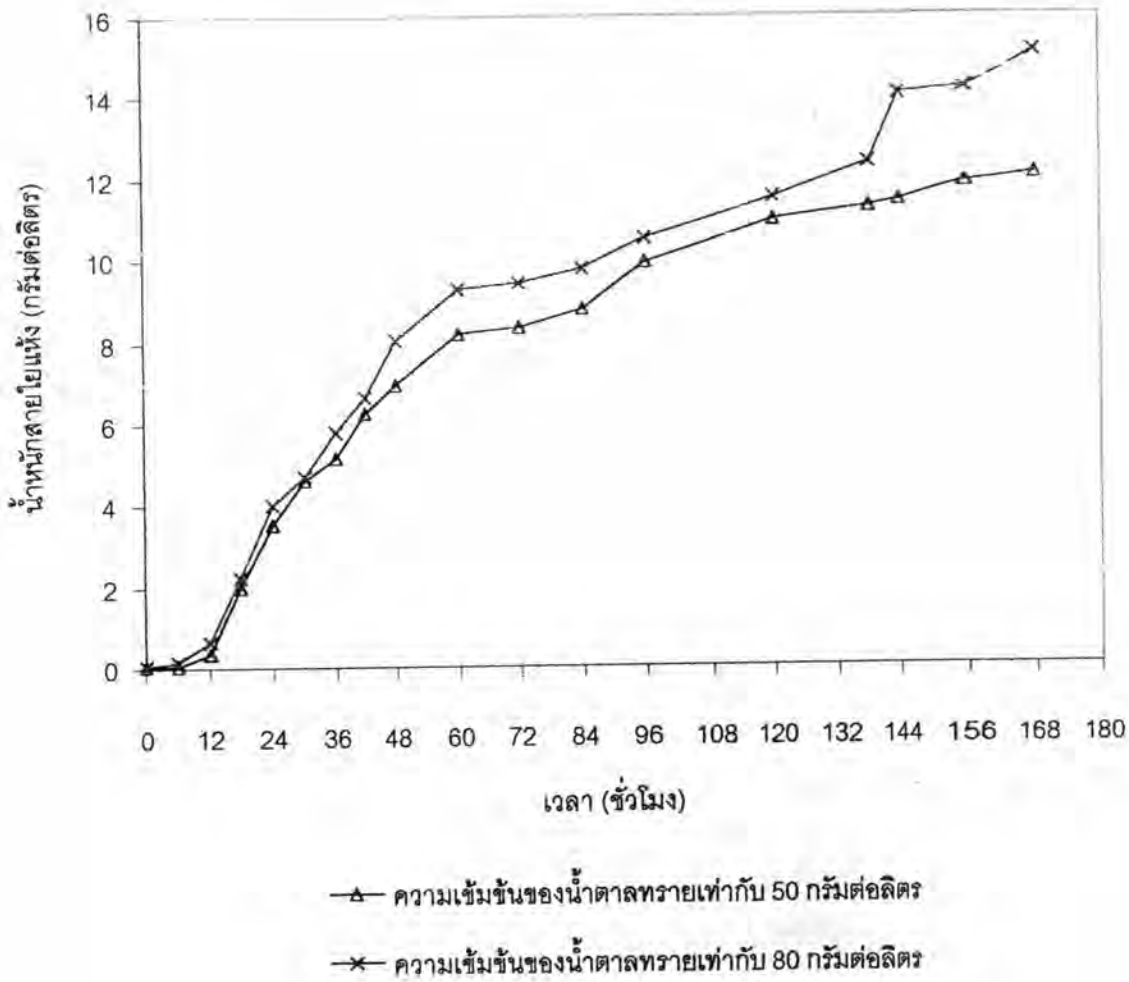


รูปที่ 8 ร้อยละการงอกของสปอร์ เมื่อเพาะเลี้ยงสปอร์แขวนลอยของ *Penicillium* sp.H12 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส

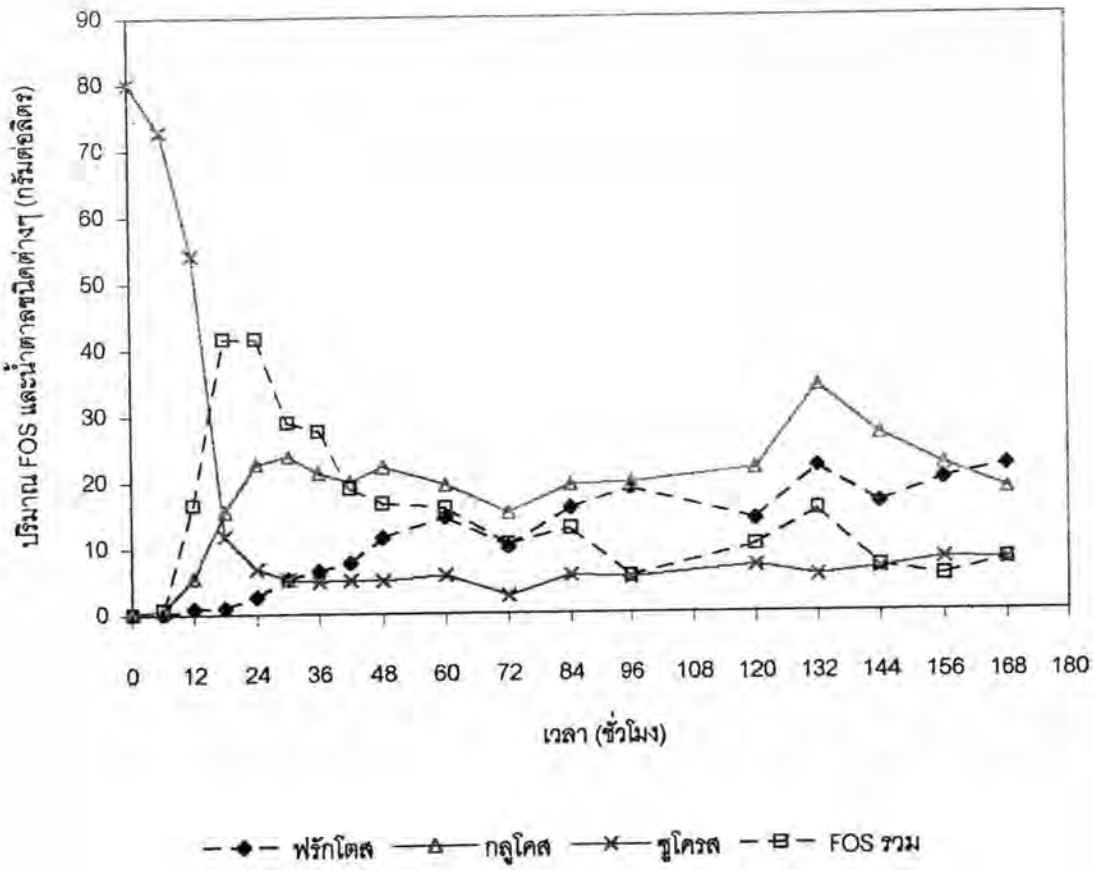
2.1.2 ผลการหาการเติบโตของ *Penicillium* sp.H12

เมื่อเพาะเลี้ยงสปอร์แขวนลอยของ *Penicillium* sp.H12 ความหนาแน่น ~2 × 10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้สปอร์งอก (ภาคผนวก ก2) ซึ่งมีน้ำตาลทรายขาว 80 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 30 ±2 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าแบบโรตารี่ ด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที วัดการเติบโตโดยชั่งหาน้ำหนักสายใยแห้งทุก 6 ชั่วโมง เมื่อเพาะเลี้ยงนานถึง 168 ชั่วโมง (นาน 7 วัน) ผลการทดลองพบว่าการเติบโตจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ แม้จะผ่านไป 3 วัน แต่ในช่วงท้ายการเติบโตช้าลง ดังรูปที่ 9 นั่นคือ ภายใน 168 ชั่วโมง มีช่วงการเติบโตแบ่งออกเป็น 2 ระยะเท่านั้น ได้แก่ ระยะที่ไม่มีการเติบโตหรือมีน้อย (lag phase) คือ ระยะการเติบโตตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยงจนถึงชั่วโมงที่ 9 -12 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีการเติบโตน้อย โดยน้ำหนักแห้งเพิ่มจาก 0.03 กรัมต่อลิตร เป็น 0.62 กรัมต่อลิตร ระยะที่มีการเติบโตมากและรวดเร็ว (log phase) คือ ระยะการเติบโตหลังจากชั่วโมงที่ 12 ไป จนถึงสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง คือ 168 ชั่วโมง ซึ่งมีการเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยน้ำหนักแห้งเพิ่มจาก 0.62 กรัมต่อลิตร จนเท่ากับ 15.08 กรัมต่อลิตร ไม่มีระยะที่การเติบโตคงที่ (stationary phase) ดังแสดงในรูปที่ 9 การที่ไม่มีระยะที่การเติบโตคงที่ เนื่องจาก FOS ที่ผลิตขึ้นมีการสลายเป็นน้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรักโตสได้ ซึ่งใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเติบโตได้อีก ตราบเท่าที่ยังมีแหล่งไนโตรเจนเหลืออยู่ (รูปที่ 10) และพบว่า ณ.ชั่วโมงที่ 168 ที่สิ้นสุดการทดลอง ก็ยังมีปริมาณน้ำตาลฟรักโตส น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลซูโครสเหลืออยู่ เมื่อตรวจปริมาณไนโตรเจน พบว่า ปริมาณไนโตรเจนเริ่มต้นมีเท่ากับ 0.29 กรัมต่อลิตรเมื่อถึงวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณไนโตรเจนเหลืออยู่ 0.005 กรัมต่อลิตร ส่วนในวันที่ 7 ไม่สามารถวัดปริมาณไนโตรเจนได้แต่คาดว่าอาจจะมีปริมาณไนโตรเจนเหลืออยู่ เพราะเมื่อดูจากรูปที่ 9 ยังมีการเติบโตต่อไป ประกอบกับปริมาณน้ำตาลซึ่งใช้เป็นแหล่งคาร์บอนก็ยังมีอยู่หรืออาจได้ไนโตรเจนจากเซลบางเซลที่เยื่อหุ้มเซลสลายไป จึงมีองค์ประกอบต่างๆในเซลออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงทำให้สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ และนอกจากนั้นยังพบว่าเริ่มมีการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นช่วงที่สปอร์เพิ่งเริ่มงอก

จากการทดลองนี้จึงมีแนวคิดว่าถ้าลดแหล่งคาร์บอนลงอาจทำให้การเติบโตเข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่ได้ จึงทำการทดลองหาการเติบโต เมื่อใช้อาหารสูตรเดิมแต่ลดปริมาณแหล่งคาร์บอนลง



รูปที่ 9 การเติบโตของ *Penicillium* sp.H12 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 80 และ 50 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 168 ชั่วโมง มีปริมาณหัวเชื้อสปอร์แขวนลอย ~2×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ±2 องศาเซลเซียส

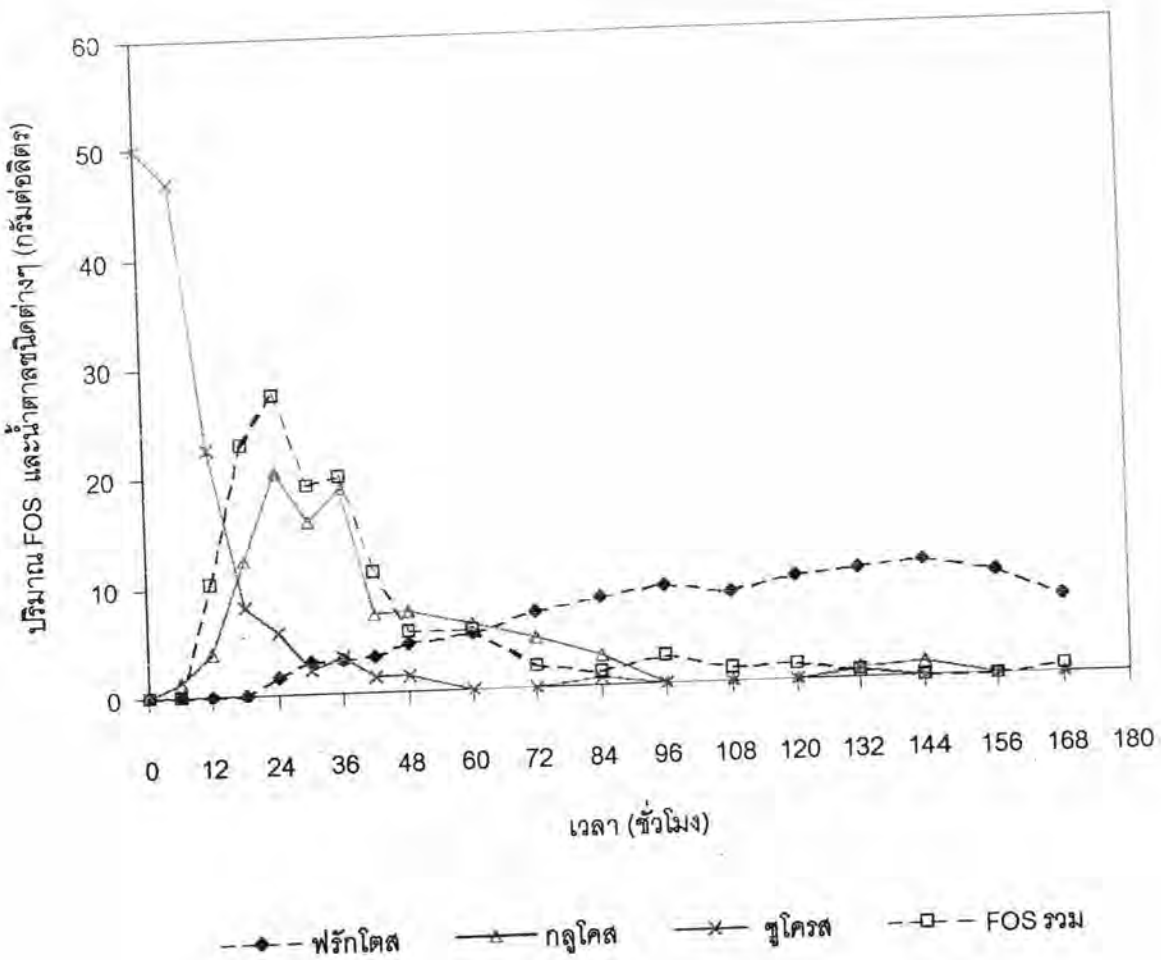


รูปที่ 10 ปริมาณ FOS และน้ำตาลชนิดต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp.H12 ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 80 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 168 ชั่วโมง เพื่อหาภาวะการเติบโต มีปริมาณหัวเชื้อสปอร์แขวนลอย ~2×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ±2 องศาเซลเซียส

ดังนั้นจึงทดลองหาการเติบโตในอาหารสูตรเดิม(ภาคผนวก n2) แต่ลดปริมาณน้ำตาลซูโครสลง เหลือเพียง 50 กรัมต่อลิตร เพื่อเปรียบเทียบรูปแบบของการเติบโตและการผลิต FOS ผลการทดลองพบว่ามีรูปแบบของการเติบโตเหมือนการทดลองที่ใช้น้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร คือมีการเติบโตเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ยังไม่พบระยะการเติบโตคงที่ตราบเท่าที่ยังมีแหล่งคาร์บอนเพียงพอ แต่การเติบโตช้าลงในช่วงหลัง โดยระยะที่มีการเติบโตน้อยเริ่มตั้งแต่เริ่มต้นการเพาะเลี้ยง (ชั่วโมงที่ 0) จนถึงชั่วโมงที่ 12 มีน้ำหนักสายใยแห้งเพิ่มขึ้นจาก 0.03 จนเท่ากับ 0.35 กรัมต่อลิตร ระยะที่มีการเติบโตรวดเร็วหลังจาก 12 ชั่วโมงไปจนถึงสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง มีน้ำหนักสายใยแห้งเพิ่มจาก 0.35 จนเท่ากับ 12.06 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 9)

สำหรับการใช้น้ำตาล พบว่า น้ำตาลซูโครสหมดลงตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 ของการเพาะเลี้ยง แต่ยังมีการเติบโตต่อไปได้อีกเนื่องจากยังมีน้ำตาลกลูโคสเหลืออยู่ ต่อมาเมื่อน้ำตาลกลูโคสหมดลงในชั่วโมงที่ 96 ของการเพาะเลี้ยงก็ยังมีการเติบโตอยู่ และแม้การเพาะเลี้ยงจะดำเนินมาถึงชั่วโมงที่ 168 แล้วก็ตามการเติบโตก็ยังมีอยู่เนื่องจากยังมีน้ำตาลฟรักโตสเหลืออยู่ อันเป็นผลมาจากการสลายตัวของ FOS และพบว่ามีการสร้างฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ตั้งแต่สปอร์เริ่มงอกเช่นเดียวกับการทดลองที่ใช้น้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร โดยเริ่มผลิตตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 และหมดไปในชั่วโมงที่ 96 (รูปที่ 11) ซึ่งแตกต่างกับการผลิตโดยใช้น้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 10) โดยจะเห็นได้ว่า ณ. ชั่วโมงที่ 120 ของการเพาะเลี้ยง เมื่อใช้น้ำตาลซูโครสตั้งต้น 50 กรัมต่อลิตร ซึ่งน้ำตาลกลูโคสและซูโครสหมดไปแล้ว จะพบว่า ปริมาณของ FOS ค่อยๆลดลงและหมดไป แสดงว่า ได้มีการสลาย FOS แล้วนำไปใช้ในการเติบโตแทน โดยจะเห็นได้ว่ามีน้ำตาลฟรักโตสเพิ่มขึ้น ทำให้การเติบโตยังไม่ถึงระยะการเติบโตคงที่ เมื่อเพาะเลี้ยงไปเรื่อยๆ จนถึง 168 ชั่วโมงที่น้ำตาลกลูโคส ซูโครส และ FOS หมดลง แต่ฟรักโตสยังไม่หมดแต่จะมีปริมาณลดลง น่าจะคาดได้ว่ามีการนำน้ำตาลฟรักโตสไปใช้ในการเติบโตแทนจึงยังเติบโตต่อไปได้แต่การเติบโตจะค่อยๆช้าลง และคาดว่าถ้าน้ำตาลฟรักโตสหมดลงการเติบโตจึงจะถึงระยะการเติบโตคงที่ ซึ่งจะเห็นได้ว่าต้องใช้ระยะเวลานานมากๆ จะเห็นได้ว่าแม้ลดน้ำตาลซูโครสลงเหลือ 50 กรัมต่อลิตร ก็ยังไม่พบระยะการเติบโตคงที่ และถ้าลดน้ำตาลซูโครสลงอีก คาดว่าการเติบโตน่าจะเข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่ แต่ไม่ได้มีการทดลองต่อ เพราะ FOS เป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตควบคู่กับการเติบโตโดยผลิตขึ้นทันทีที่สปอร์งอก

จะเห็นได้ว่าสำหรับสายพันธุ์ราที่ผลิต FOS เมื่อให้วัตถุดิบที่เป็นน้ำตาลซูโครสจะยังคงพบการเติบโตไปเรื่อยๆตราบเท่าที่แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนยังคงมีอยู่ เนื่องจากเมื่อน้ำตาลซูโครสถูกย่อยจะได้น้ำตาลกลูโคสและฟรักโตสออกมา แล้วน้ำตาลฟรักโตสถูกนำไปใช้ในการสร้าง FOS ต่อมาเมื่อ FOS ถูกย่อยสลายจะได้น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรักโตสออกมาซึ่งใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเติบโตได้อีก

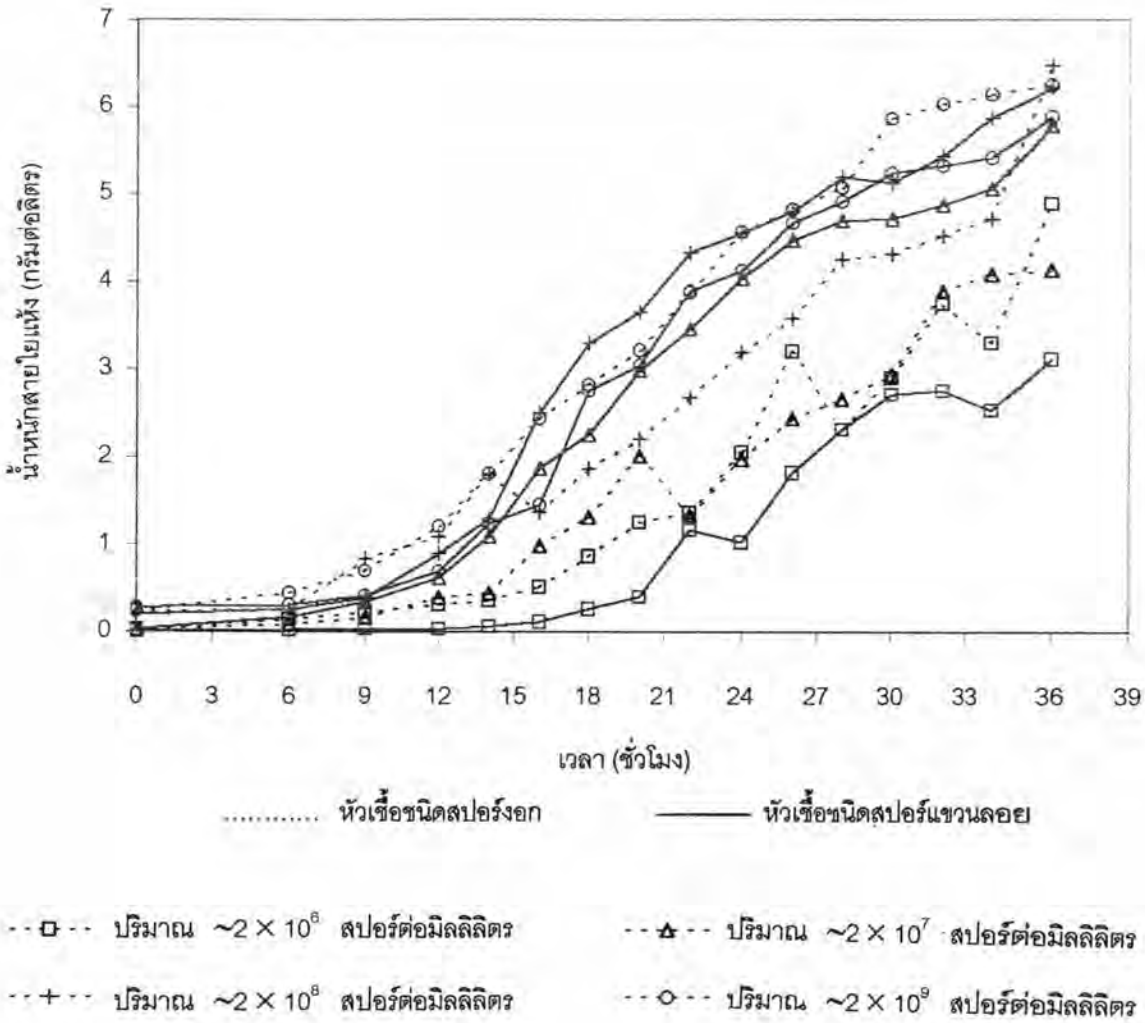


รูปที่ 11 ปริมาณ FOS และน้ำตาลชนิดต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp.H12 ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร (องค์ประกอบอื่นมีปริมาณเท่าเดิม) เป็นเวลา 168 ชั่วโมง มีปริมาณหัวเชื้อสปอร์แขวนลอย ~2×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส

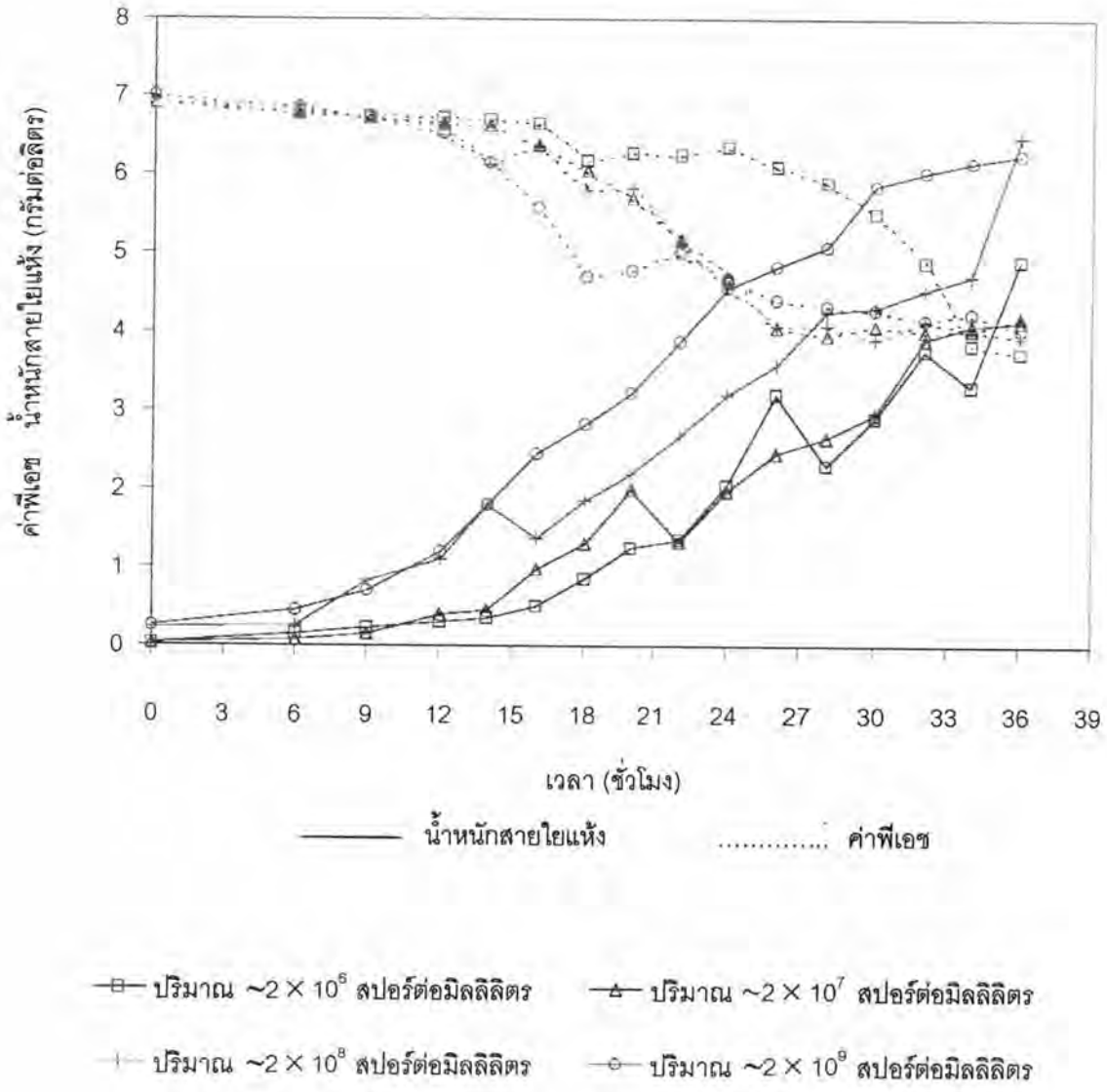
2.2 ผลของชนิดและปริมาณของหัวเชื้อที่มีต่อปริมาณการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็ก-คาไรด์

เนื่องจาก *Penicillium* sp.H12 สามารถผลิต FOS ได้ตั้งแต่สปอร์เริ่มงอก โดยเมื่อตรวจวัดปริมาณ FOS ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเตรียมหัวเชื้อสปอร์งอกในชั่วโมงที่ 12 ซึ่งเป็นชั่วโมงที่สปอร์งอกสูงสุด พบว่าให้ผลผลิต FOS ได้ในปริมาณมากแล้วคือ 16.5 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงทำการทดลองผลิต FOS โดยใช้หัวเชื้อทั้งสองชนิด คือ สปอร์แขวนลอยและสปอร์งอกอายุ 12 ชั่วโมง และแปรผันปริมาณของหัวเชื้อทั้งสองชนิด

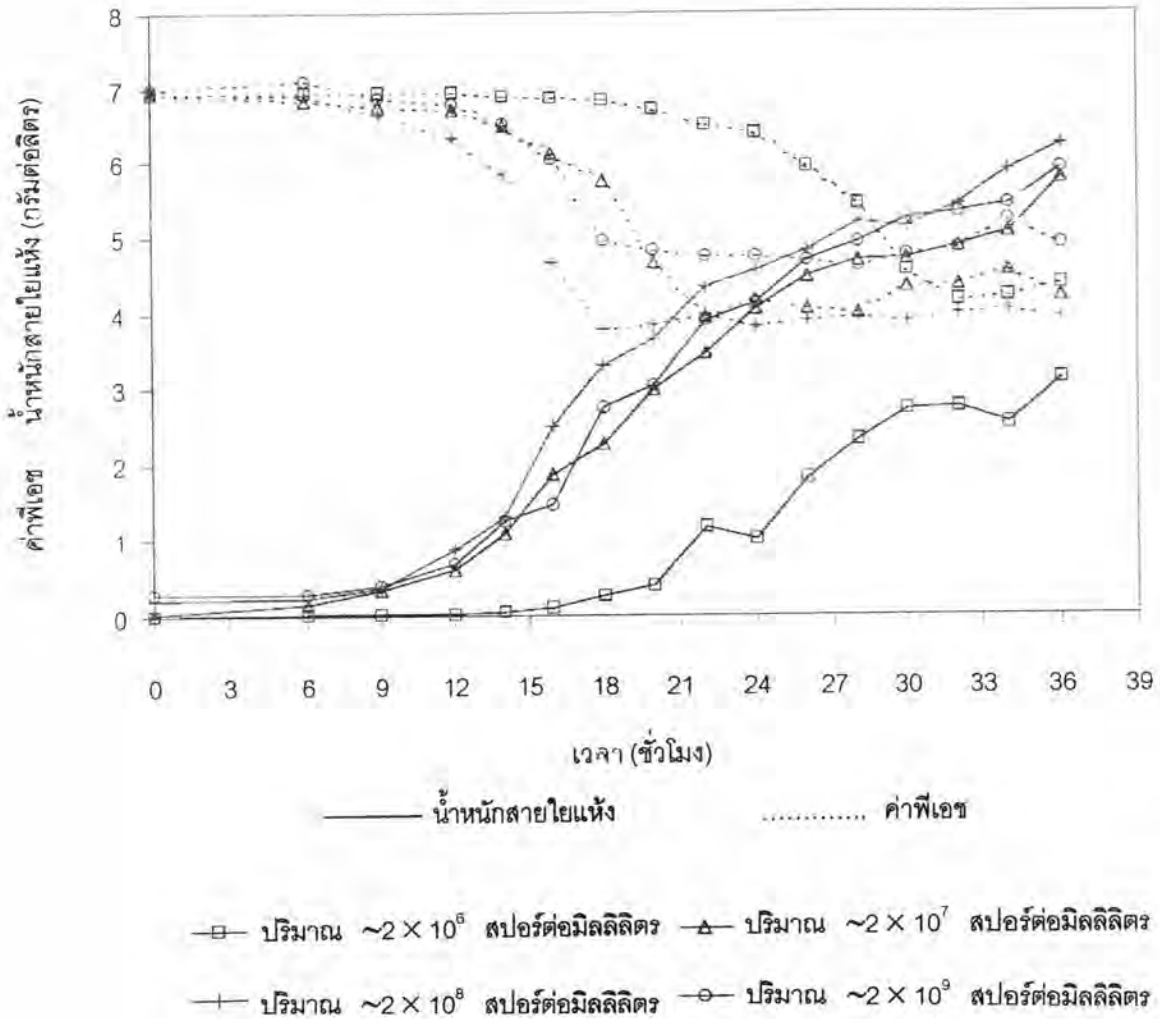
เมื่อแปรผันปริมาณหัวเชื้อสปอร์แขวนลอยและสปอร์งอกต่างๆ กัน คือ ~2 × 10^6 ~2 × 10^7 ~2 × 10^8 และ ~2 × 10^9 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ผลการทดลองพบว่าสำหรับหัวเชื้อทั้งสองชนิด ปริมาณหัวเชื้อมาก ให้การเติบโตดีกว่าปริมาณหัวเชื้อน้อย (รูปที่ 12) คือหัวเชื้อชนิดสปอร์งอกปริมาณ ~2 × 10^9 ให้การเติบโตดีที่สุดโดยมีน้ำหนักสายใยแห้งเท่ากับ 1.81 กรัมต่อลิตร ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิต FOSรวม สูงสุดคือ 14 ชั่วโมง และปริมาณ ~2 × 10^6 ให้การเติบโตต่ำที่สุดเท่ากับ 0.89 กรัมต่อลิตร ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตรวมสูงสุดคือ 18 ชั่วโมง สำหรับหัวเชื้อชนิดสปอร์แขวนลอย ปริมาณ ~2 × 10^8 ให้การเติบโตมากกว่าปริมาณ ~2 × 10^9 โดยมีน้ำหนักสายใยเท่ากับ 2.5 และ 0.69 กรัมต่อลิตร ณ.ชั่วโมงที่ผลิต FOSรวม สูงสุดคือ 16 และ 12 ชั่วโมง ตามลำดับ อาจเนื่องจากปริมาณ ~2 × 10^9 มีความแออัดของสายใยมาก การถ่ายเทอากาศไม่ดีทำให้การเติบโตต่ำ และหัวเชื้อปริมาณ ~2 × 10^6 ซึ่งน้อยที่สุด ให้การเติบโตต่ำที่สุดเท่ากับ 2.71 กรัมต่อลิตร ณ.ชั่วโมงที่ผลิต FOSรวม สูงสุดคือ 30 ชั่วโมง และการเติบโตมีความสอดคล้องกับค่าพีเอช คือหัวเชื้อชนิดสปอร์งอก ปริมาณหัวเชื้อมาก ให้การเติบโตมาก ค่าพีเอชยิ่งลดลงอย่างรวดเร็ว (รูปที่ 13) โดยปริมาณ ~2 × 10^9 ซึ่งมากที่สุด ค่าพีเอชลดลงเร็วที่สุดในช่วง 12-18 ชั่วโมง จากพีเอช 6.5 เป็น 4.7 รองลงมาคือปริมาณ ~2 × 10^8 ลดลงเร็วในช่วง 14 -24 ชั่วโมง จากค่าพีเอช 6.1 เป็น 4.6 ปริมาณ ~2 × 10^7 ลดลงเร็วในช่วง 16-26 จากพีเอช 6.4 เป็น 4.0 และปริมาณหัวเชื้อน้อยที่สุดคือ ~2 × 10^6 ค่าพีเอชลดลงช้าที่สุดเนื่องจากมีการเติบโตน้อย คือลดลงตั้งแต่ชั่วโมงที่ 22-34 จากค่าพีเอช 6.3 เป็น 3.8 สำหรับหัวเชื้อชนิดสปอร์แขวนลอย (รูปที่ 14) โดยภาพรวมปริมาณหัวเชื้อมากให้การเติบโตมาก ค่าพีเอชลดลงเร็วมากเช่นกัน แต่หัวเชื้อปริมาณ ~2 × 10^9 กลับให้การเติบโตน้อยกว่าปริมาณ ~2 × 10^8 มีการลดลงของค่าพีเอชช้ากว่า คือปริมาณ ~2 × 10^8 เติบโตดีที่สุด ค่าพีเอชลดลงเร็วที่สุดในช่วง 9-18 ชั่วโมง จากค่าพีเอช 6.6 เป็น 3.8 รองลงมาคือปริมาณ ~2 × 10^9 ลดลงเร็วในช่วง 12-18 ชั่วโมงจากค่าพีเอช 6.8 เป็น 4.9 ปริมาณ ~2 × 10^7 ลดลงเร็วในชั่วโมงที่ 16-26 จากค่าพีเอช 6.4 เป็น 4.0 และปริมาณ ~2 ×



รูปที่ 12 การเติบโตของ *Penicillium* sp. H12 ระหว่างการผลิต FOS โดยหัวเชื้อ 2 ชนิด ในปริมาณต่างๆ กัน ใช้อาหารเหลวที่มีความเข้มข้นน้ำตาลทรายเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส



รูปที่ 13 เปรียบเทียบค่าพีเอชและน้ำหนักสายใยแห้ง ตลอดการเพาะเลี้ยง เมื่อผลิต FOS โดยใช้หัวเชื้อชนิดสปอร์งอก ของ *Penicillium* sp. H12 ปริมาณต่างๆ ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นน้ำตาลทรายเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส

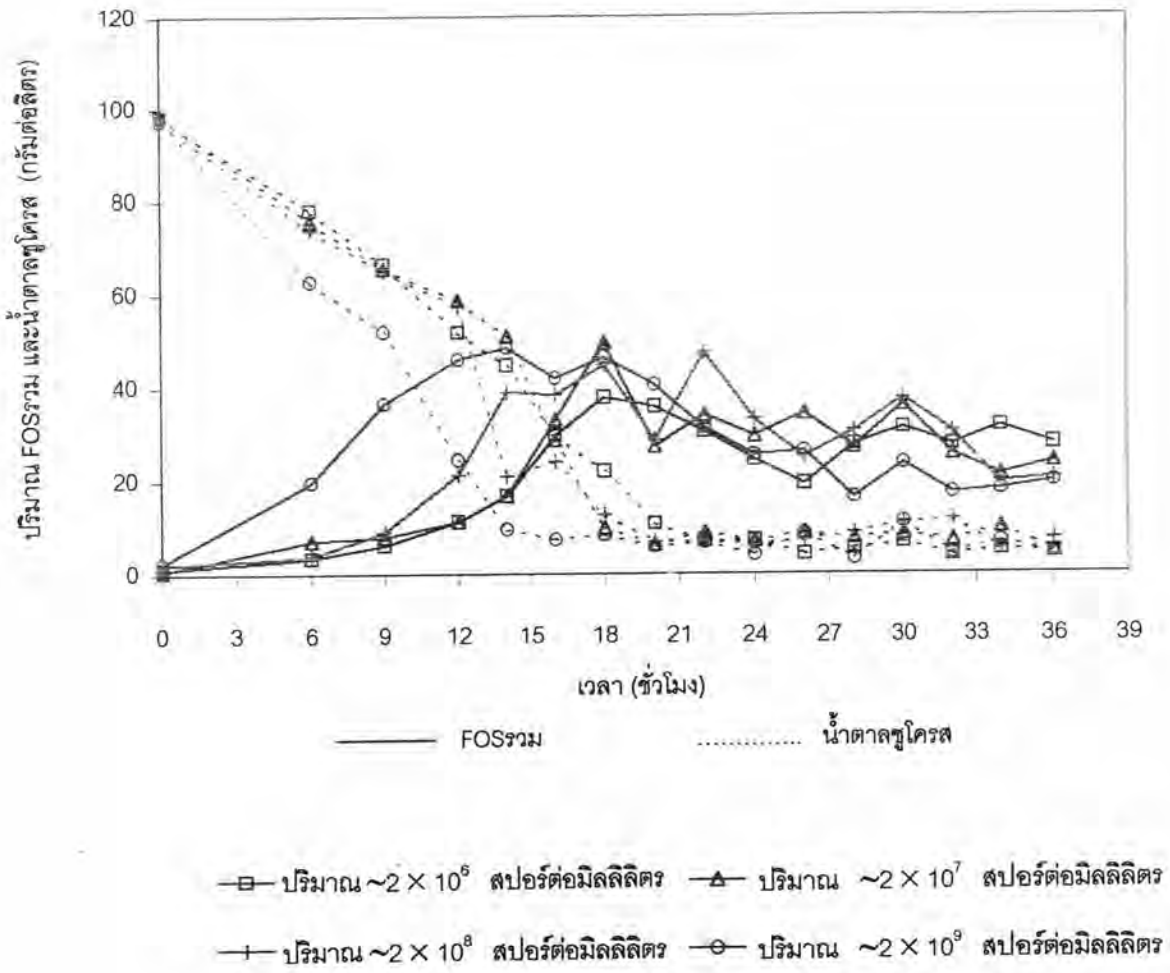


รูปที่ 14 เปรียบเทียบค่าพีเอชและน้ำหนักสายใยแห้ง ตลอดการเพาะเลี้ยง เมื่อผลิต FOS โดยใช้หัวเชื้อชนิดสปอร์แขวนลอย ของ *Penicillium* sp.H12 ปริมาณต่างๆ ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นน้ำตาลทรายเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส

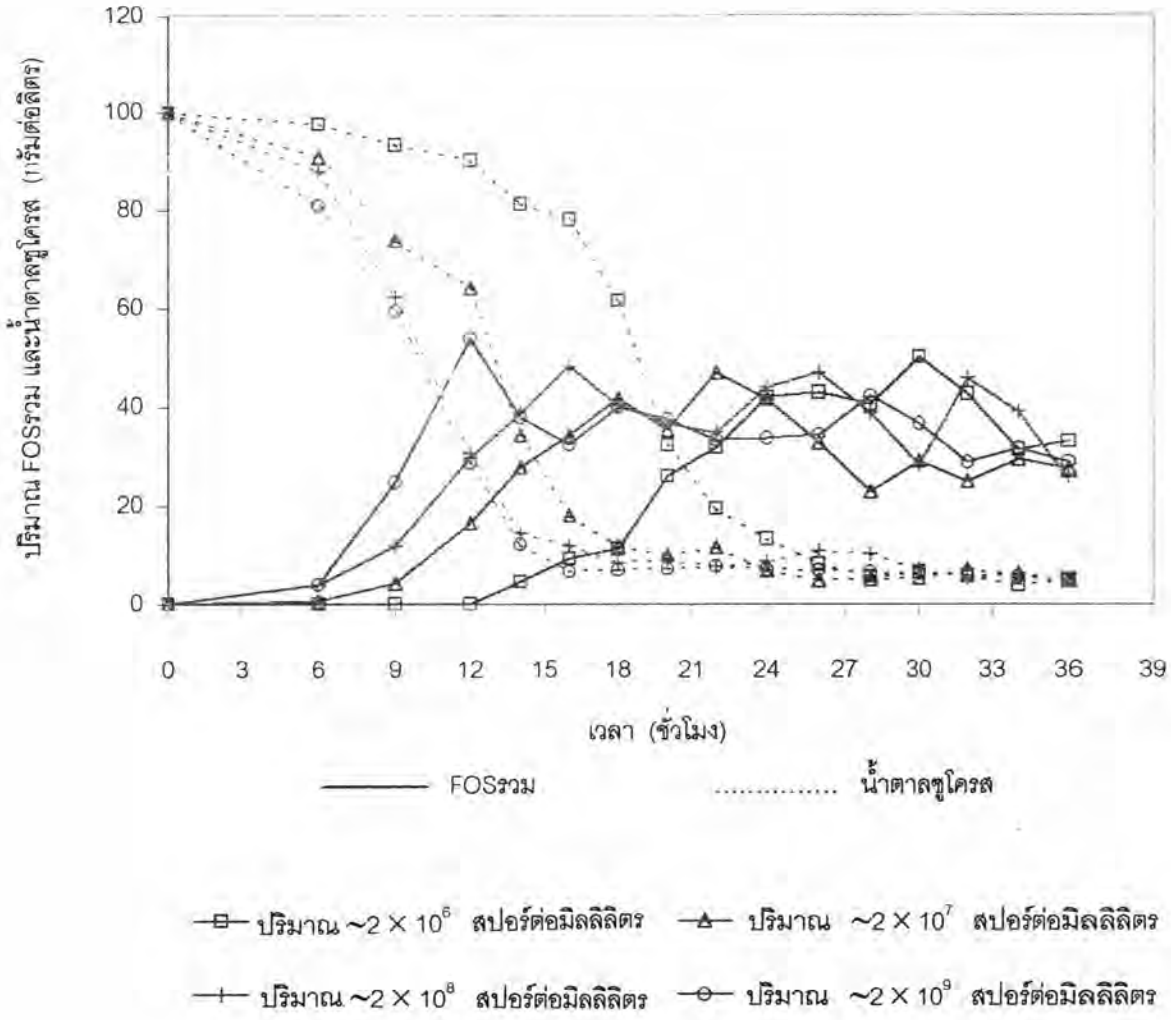
10^6 ซึ่งให้การเติบโตน้อยที่สุด ค่าพีเอชลดลงช้าที่สุดในช่วง 22 - 34 ชั่วโมง จากค่าพีเอช 6.3 เป็น 3.8 หลังจากนั้นค่าพีเอชในทุกชนิดและขนาดหัวเชื้อเริ่มลดลงช้ามากเกือบคงที่ในช่วงพีเอช 5.0 - 4.0

เมื่อพิจารณาผลของชนิดและปริมาณหัวเชื้อที่มีต่อผลผลิตรวม FOS พบว่าหัวเชื้อชนิดสปอร์งอก(รูปที่ 15) ปริมาณหัวเชื้อเกือบจะไม่มีผลต่อปริมาณFOSรวม คือให้ปริมาณผลผลิตสูงสุดไล่เลี่ยกัน แต่มีผลต่อระยะเวลาในการผลิต คือเมื่อปริมาณหัวเชื้อเพิ่มขึ้นตั้งแต่ ~2 × 10^7 ถึง ~2 × 10^9 ปริมาณผลผลิตแตกต่างกันเล็กน้อยแต่ใช้เวลาในการผลิตเร็วขึ้น โดยปริมาณ ~2 × 10^9 ให้ผลผลิตเร็วที่สุดคือใช้เวลาเพียง 14 ชั่วโมงให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 48.47 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 15 และตารางที่ 9) รองลงมาคือหัวเชื้อปริมาณ ~2 × 10^8 และ ~2 × 10^7 ใช้เวลาในการผลิต 22 และ 18 ชั่วโมงให้ผลผลิต FOSรวม 47.33 และ 49.56 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่เมื่อใช้หัวเชื้อปริมาณน้อยที่สุดเท่ากับ ~2 × 10^6 ให้ผลผลิตต่ำที่สุดเท่ากับ 37.78 กรัมต่อลิตร ใน 18 ชั่วโมง (รูปที่ 15 และตารางที่ 9) สำหรับหัวเชื้อชนิดสปอร์แขวนลอย (รูปที่ 16) พบว่าปริมาณหัวเชื้อมีผลต่อปริมาณและระยะเวลาในการผลิต โดยปริมาณหัวเชื้อมาก ให้ผลผลิตมากในเวลารวดเร็ว โดยหัวเชื้อปริมาณ ~2 × 10^9 ให้ผลผลิตมากและเร็วที่สุดเท่ากับ 53.9 กรัมต่อลิตรใน 12 ชั่วโมง ยกเว้นหัวเชื้อปริมาณน้อยที่สุดเท่ากับ ~2 × 10^6 กลับให้ผลผลิต FOSรวม สูงพอควรคือได้เท่ากับ 50.12 กรัมต่อลิตร แต่ใช้เวลานานมากคือ 30 ชั่วโมง (รูปที่ 16 และตารางที่ 9) ที่เป็นเช่นนี้อาจเพราะว่าการที่ใช้เวลานาน จึงค่อยสะสม FOSรวมที่สร้างขึ้น ทำให้ได้ผลผลิตสูงกว่าที่ปริมาณหัวเชื้อ ~2 × 10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตรก็ได้ จะเห็นได้ว่าปริมาณหัวเชื้อมีผลกระทบโดยตรงต่อการเติบโต โดยปริมาณหัวเชื้อมาก มีการเติบโตมาก ย่อมผลิตเอนไซม์ FT ซึ่งใช้ในการผลิต FOS ในปริมาณมาก จึงทำให้ผลิต FOS ในระยะเวลาอันรวดเร็ว

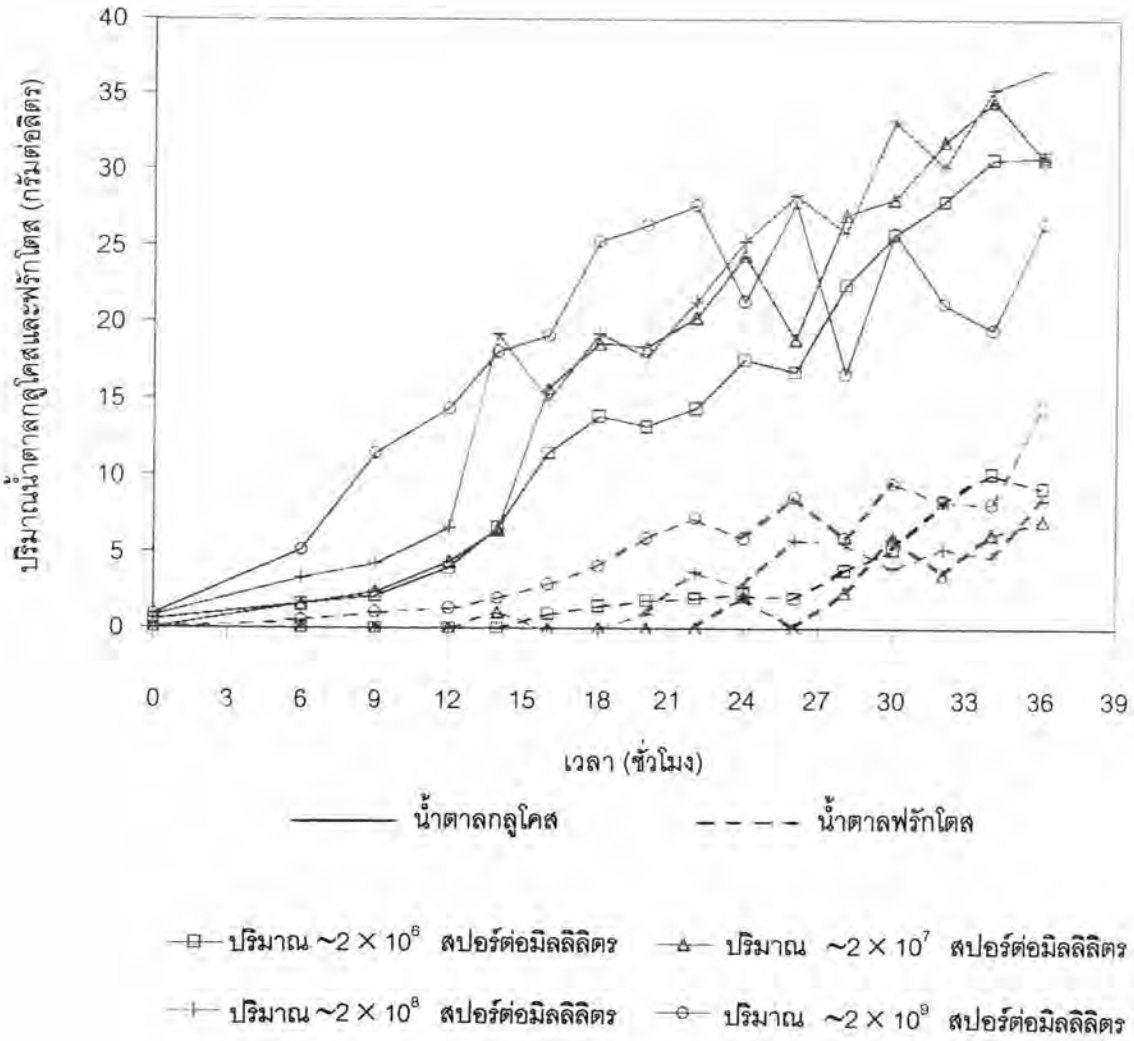
ปริมาณผลผลิต FOS มีความสัมพันธ์กับการใช้น้ำตาลซูโครสระหว่างการผลิตด้วย คือหัวเชื้อทั้งสองชนิด (รูปที่ 15 และ 16) ปริมาณหัวเชื้อมากซึ่งผลิต FOSรวมเร็ว น้ำตาลซูโครสลดลงมากในเวลารวดเร็ว โดยหัวเชื้อชนิดสปอร์งอกปริมาณ ~2 × 10^9 ซึ่งให้ผลผลิตFOSรวมสูงที่สุดเท่ากับ 48.47 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครสลดลงเร็วที่สุดคือ ใน 16 ชั่วโมง เหลือน้ำตาลซูโครสเพียง 7.47 กรัมต่อลิตร(รูปที่ 15) และหัวเชื้อสปอร์แขวนลอยซึ่งให้ผลผลิต FOSรวม สูงที่สุดคือเท่ากับ 53.9 กรัมต่อลิตร ใช้เวลาเพียง 16 ชั่วโมง เหลือน้ำตาลซูโครสเพียง 6.62 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 16) ส่วนปริมาณ ~2 × 10^6 ซึ่งผลิต FOS ได้น้อย น้ำตาลซูโครสลดลงช้าที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่จะมีเหลือในระบบ เนื่องจากไม่ได้นำไปใช้ในการผลิต (รูปที่ 17 และ 18) คือหัวเชื้อปริมาณ ~2 × 10^9 ของทั้งสองชนิดหัวเชื้อ ซึ่งน้ำตาลซูโครสลดลงเร็วที่สุด และผลิต FOS มากที่สุด จะมีน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้นมากที่สุดด้วย เนื่องจากมีการ



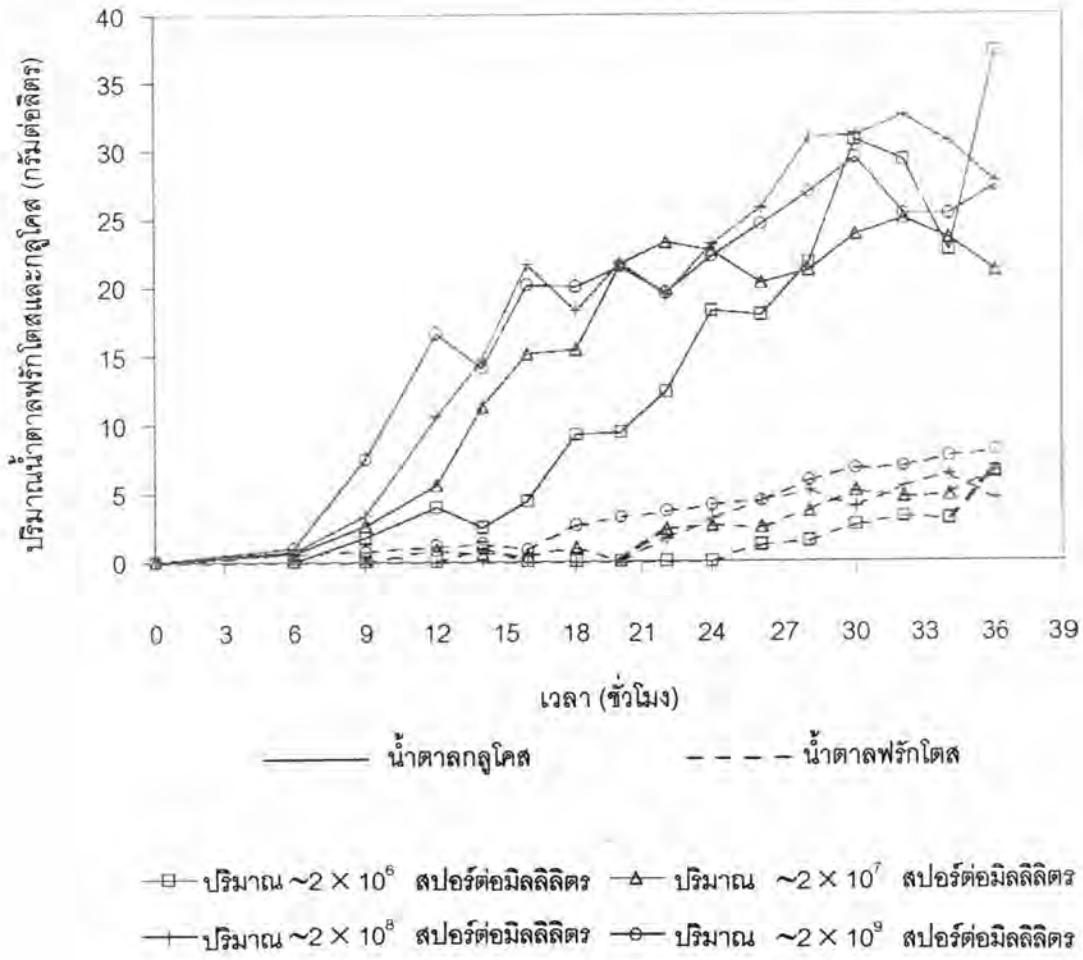
รูปที่ 15 เปรียบเทียบปริมาณ FOSรวม และน้ำตาลซูโครส ตลอดการเพาะเลี้ยง เมื่อผลิต FOS โดยใช้หัวเชื้อชนิดสปอร์งอก ของ *Penicillium* sp.H12 ปริมาณต่างๆ ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นน้ำตาลทรายเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส



รูปที่ 16 เปรียบเทียบปริมาณ FOSรวม และน้ำตาลซูโครส ตลอดการเพาะเลี้ยง เมื่อผลิต FOS โดยใช้หัวเชื้อชนิดสปอร์แขวนลอย ของ *Penicillium* sp.H12 ปริมาณต่างๆ ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นน้ำตาลทรายเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส



รูปที่ 17 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตส ตลอดการเพาะเลี้ยง เมื่อผลิต FOS โดยใช้หัวเชื้อชนิดสปอร์งอก ของ *Penicillium* sp.H12 ปริมาณต่างๆ ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นน้ำตาลทรายเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส

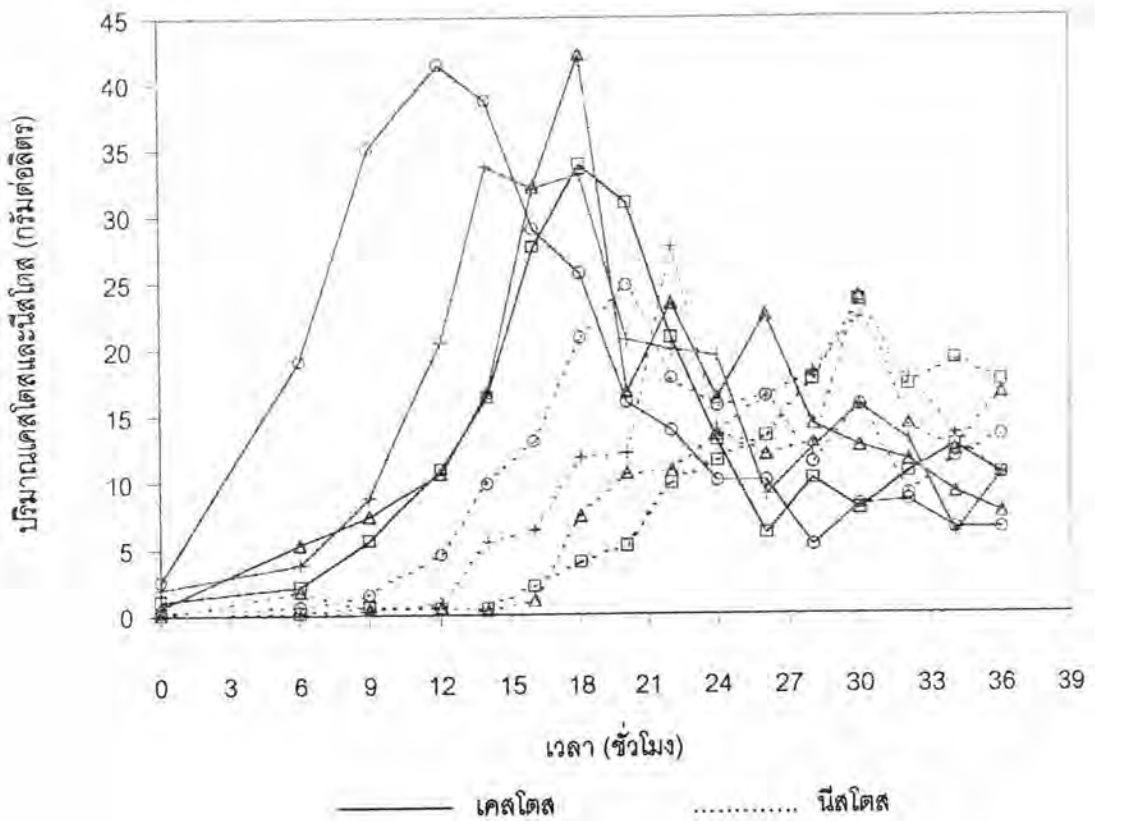


รูปที่ 18 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตส ตลอดการเพาะเลี้ยง เมื่อผลิต FOS โดยใช้หัวเชื้อชนิดสปอร์แขวนลอย ของ *Penicillium* sp.H12 ปริมาณต่างๆ ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นน้ำตาลทรายเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส

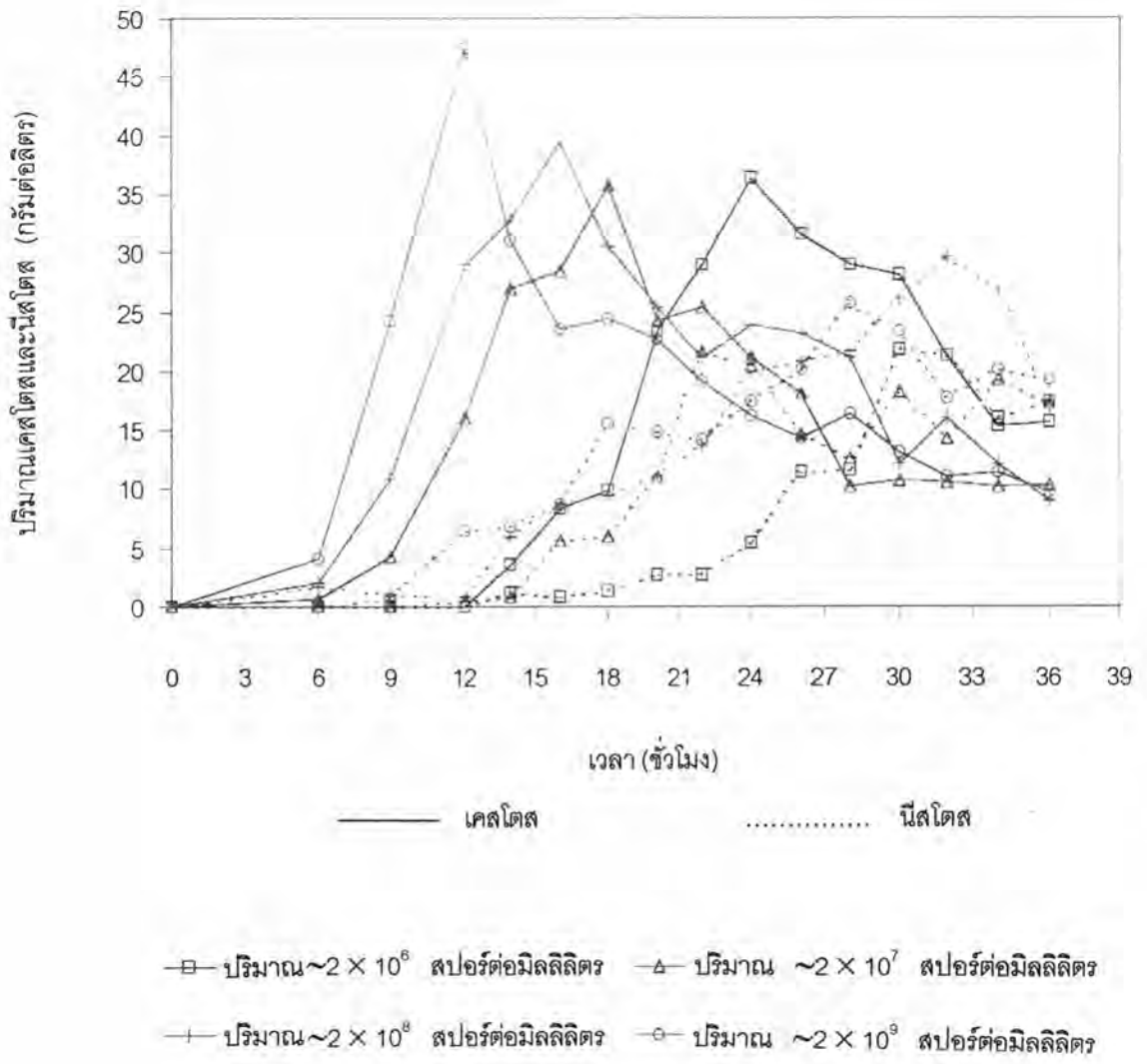
สลายน้ำตาลซูโครสมากให้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลฟรักโตสและน้ำตาลกลูโคส แต่น้ำตาลฟรักโตสนำไปใช้ในการผลิต FOS ดังนั้นจึงเหลือน้ำตาลกลูโคสมาก โดยน้ำตาลกลูโคสมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตามเวลาการเพาะเลี้ยง ขณะที่มีน้ำตาลฟรักโตสเหลืออยู่บ้าง เนื่องจากส่วนหนึ่งใช้ในการผลิต FOS และการที่ในช่วงแรกตรวจไม่พบหรือพบน้ำตาลฟรักโตสน้อยเนื่องจากช่วงแรกมีอัตราการผลิต FOS สูง จึงนำน้ำตาลฟรักโตสไปใช้มาก แต่จะพบน้ำตาลฟรักโตสในช่วงที่ปริมาณ FOS เริ่มลดลง

เมื่อปริมาณหัวเชื้อมีผลอย่างมากต่อเวลาในการผลิต FOSรวม และมีผลเล็กน้อยต่อปริมาณ FOSรวม คือหัวเชื้อมาก ปริมาณเอนไซม์มาก ผลิต FOSรวมมากในเวลารวดเร็ว จึงน่าจะมาพิจารณาผลของปริมาณหัวเชื้อต่อการผลิต FOSแต่ละชนิด คือเคสโตสและนีสโตส โดยพบว่าในหัวเชื้อทั้งสองชนิด เมื่อปริมาณหัวเชื้อมาก ผลิตเคสโตสได้เร็วที่สุด โดยหัวเชื้อชนิดสปอร์งอกปริมาณ ~2 × 10^9 ซึ่งมีปริมาณมากที่สุด ผลิตเคสโตสได้เร็วที่สุดเท่ากับ 41.42 กรัมต่อลิตรใน 12 ชั่วโมง รองลงมาคือปริมาณ ~2 × 10^8 ผลิตเคสโตสได้เร็วในช่วง 14 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นผลิตได้ช้าลงจึงทำให้ผลิตเคสโตสสูงสุดเพียง 33.68 กรัมต่อลิตรในเวลา 14 ชั่วโมง แต่หัวเชื้อปริมาณ ~2 × 10^7 ซึ่งผลิตเคสโตสได้ช้ากว่าปริมาณ ~2 × 10^8 ในช่วงแรกแต่กลับผลิตได้สูงกว่าในที่สุด คือ 42.08 กรัมต่อลิตรแต่ใช้เวลาในการผลิตนานกว่าคือ 18 ชั่วโมง ส่วนหัวเชื้อปริมาณ ~2 × 10^6 ซึ่งเป็นปริมาณน้อยที่สุด ผลิตได้น้อยและช้าที่สุดเท่ากับ 33.86 กรัมต่อลิตรใน 18 ชั่วโมง (รูปที่ 19) ส่วนหัวเชื้อชนิดสปอร์แขวนลอย ปริมาณ ~2 × 10^9 ซึ่งเป็นปริมาณมากที่สุด ผลิตเคสโตสมากที่สุดและเร็วที่สุดเท่ากับ 47.4 กรัมต่อลิตรใน 12 ชั่วโมง รองลงมา คือปริมาณ ~2 × 10^8 ผลิตได้ 39.49 กรัมต่อลิตรใน 16 ชั่วโมง และหัวเชื้อที่ผลิตได้น้อยและช้าที่สุดคือปริมาณ ~2 x 10^6 โดยผลิตได้ 36.43 กรัมต่อลิตรใน 24 ชั่วโมง (รูปที่ 20) และในการผลิตนีสโตสมีรูปแบบการผลิตเช่นเดียวกับเคสโตส คือทั้งสองชนิดหัวเชื้อ (รูปที่ 19 และ 20) หัวเชื้อปริมาณมากผลิตนีสโตสได้เร็ว และจะเห็นได้ว่าการผลิตนีสโตสนั้นเกิดขึ้นหลังจากมีการผลิตเคสโตสแล้ว เนื่องจากนีสโตสมีดีกรีของการโพลิเมอไรเซชั่นสูงกว่าเคสโตส นั่นคือนีสโตสผลิตได้จากการนำน้ำตาลฟรักโตสเข้ามาเชื่อมกับเคสโตส

เมื่อพิจารณาอัตราการผลิต FOSรวม ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด (ตารางที่ 9) ของหัวเชื้อทั้งสองชนิด พบว่าปริมาณหัวเชื้อมากมีอัตราการผลิตสูงกว่าและเร็วกว่า โดยปริมาณหัวเชื้อ ~2 x10^9 มีอัตราการผลิตมากที่สุด รองลงมาคือหัวเชื้อปริมาณ ~2 x10^8 ~2 x10^7 และ ~2 x10^6 ตามลำดับ โดยหัวเชื้อปริมาณมากที่สุดคือ ~2 x 10^9 ของหัวเชื้อสปอร์งอกและสปอร์แขวนลอยมีอัตราการผลิตสูงสุดเท่ากับ 3.46 และ 4.49 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าหัวเชื้อสปอร์แขวนลอยมีอัตราการผลิตดีกว่า และเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสไปเป็น FOSรวม (Yp/s) พบว่าหัวเชื้อชนิดสปอร์งอกในทุกขนาดมีค่า Yp/s ไม่



รูปที่ 19 เปรียบเทียบปริมาณเคสโตสและนีสโตส ตลอดการเพาะเลี้ยง เมื่อผลิต FOS โดยใช้หัวเชื้อชนิดสปอร์งอก ของ *Penicillium* sp. H12 ปริมาณต่างๆ ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นน้ำตาลทรายเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส



รูปที่ 20 เปรียบเทียบปริมาณเคสโตสและนีสโตส ตลอดการเพาะเลี้ยง เมื่อผลิต FOS โดยใช้หัวเชื้อชนิดสปอร์แขวนลอย ของ *Penicillium* sp.H12 ปริมาณต่างๆ ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นน้ำตาลทรายเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส

แตกต่างกันมากนัก คืออยู่ในช่วง 0.5 - 0.55 แต่หัวเชื้อสปอร์แขวนลอย ปริมาณหัวเชื้อ ~2 x10^6 ถึง ~2 x10^8 มีค่า Yp/s ไม่แตกต่างกันมากนักคืออยู่ในช่วง 0.53 - 0.55 แต่หัวเชื้อสปอร์แขวนลอยปริมาณ ~2 x10^9 มีค่า Yp/s สูงสุดอย่างเด่นชัดและสูงกว่าทุกชนิดและปริมาณหัวเชื้ออื่นคือเท่า 0.76 (ตารางที่ 9)

และเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของสายใยในการผลิต FOS (Yp/x) ดังตารางที่ 9 พบว่าสำหรับหัวเชื้อชนิดสปอร์งอก ปริมาณหัวเชื้อมากประสิทธิภาพของสายใยไม่ได้เพิ่มตามไปด้วย ปริมาณหัวเชื้อน้อยสายใยมีประสิทธิภาพดีกว่า ส่วนหัวเชื้อชนิดสปอร์แขวนลอย ปริมาณหัวเชื้อมากสายใยมีประสิทธิภาพดีกว่า

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าปริมาณหัวเชื้อ ~2 x10^9 ของหัวเชื้อทั้งสองชนิดให้ผลผลิต FOSรวมดีที่สุด แต่หัวเชื้อชนิดสปอร์แขวนลอยผลิตได้ปริมาณมากกว่าและเร็วกว่าและยังเป็นปริมาณที่สูงที่สุดและเร็วที่สุดเมื่อเทียบกับชนิดและปริมาณหัวเชื้ออื่น นั่นคือผลิต FOS รวมได้เท่ากับ 53.9 กรัมต่อลิตร อีกทั้งยังมีอัตราการผลิต Yp/s และ Yp/x สูงกว่าด้วย และเนื่องจาก FOS ผลิตได้ทันทีที่สปอร์เริ่มงอก ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะเลือกทำการศึกษากับสปอร์แขวนลอยที่ปริมาณ ~2 x10^9 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในการทดลองต่อๆไป

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบปริมาณ FOSรวม อัตราการผลิต น้ำหนักสายใยแห้ง Yp/s และ Yp/x ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด เมื่อแปรผันชนิดและปริมาณหัวเชื้อ

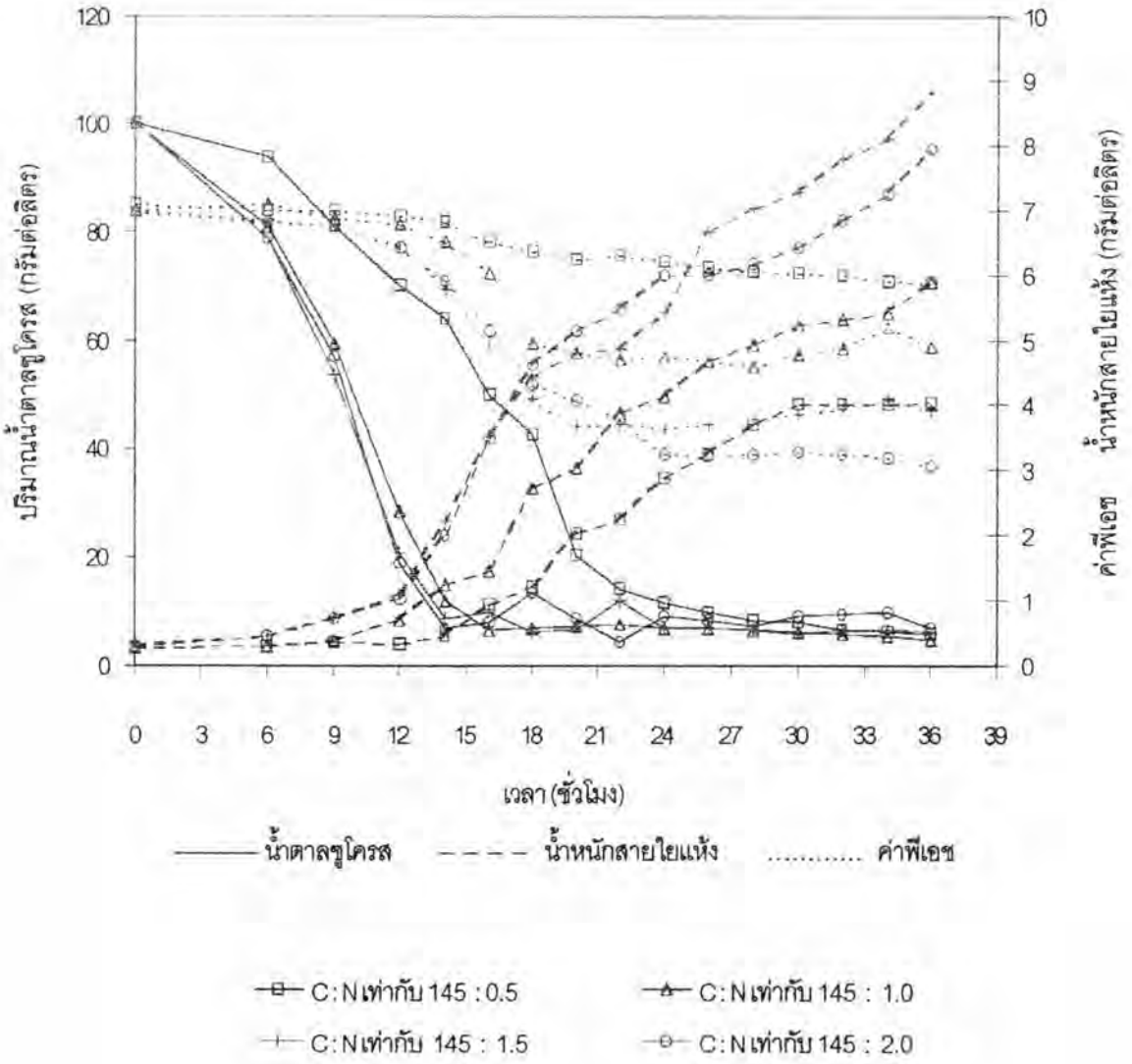
เปรียบเทียบ	สปอร์งอก				สปอร์แขวนลอย			
	ความหนาแน่น (สปอร์ต่อมิลลิลิตร)				ความหนาแน่น (สปอร์ต่อมิลลิลิตร)			
	~2 x 10^6	~2 x 10^7	~2 x 10^8	~2 x 10^9	~2 x 10^6	~2 x 10^7	~2 x 10^8	~2 x 10^9
FOSรวม (ก/ล)	**37.78**	**49.56**	**47.33**	**48.47**	**50.12**	**46.95**	**48.2**	**53.9**
เวลา (ชม.)	18	18	22	14	30	22	16	12
อัตราการผลิต * (ก/ล/ชม.)	2.1	2.75	2.15	3.46	1.67	2.13	3.01	4.49
Yp/s *	0.50	0.56	0.52	0.55	0.54	0.53	0.55	0.76
น้ำหนักสายใยแห้ง * (ก/ล)	0.89	1.31	2.67	1.81	2.71	3.45	2.5	0.69
Yp/x *	43.93	37.83	17.73	26.78	18.49	13.61	19.28	78.12

หมายเหตุ FOSรวม หมายถึง ปริมาณ FOS ชนิดเคสโตส รวมกับ FOS ชนิดนีสโตส ณ.เวลาเดียวกัน
เวลา หมายถึง เวลาในการผลิตFOSได้สูงสุด * คิดจากชั่วโมงที่ให้ผลผลิตFOSรวมสูงสุด

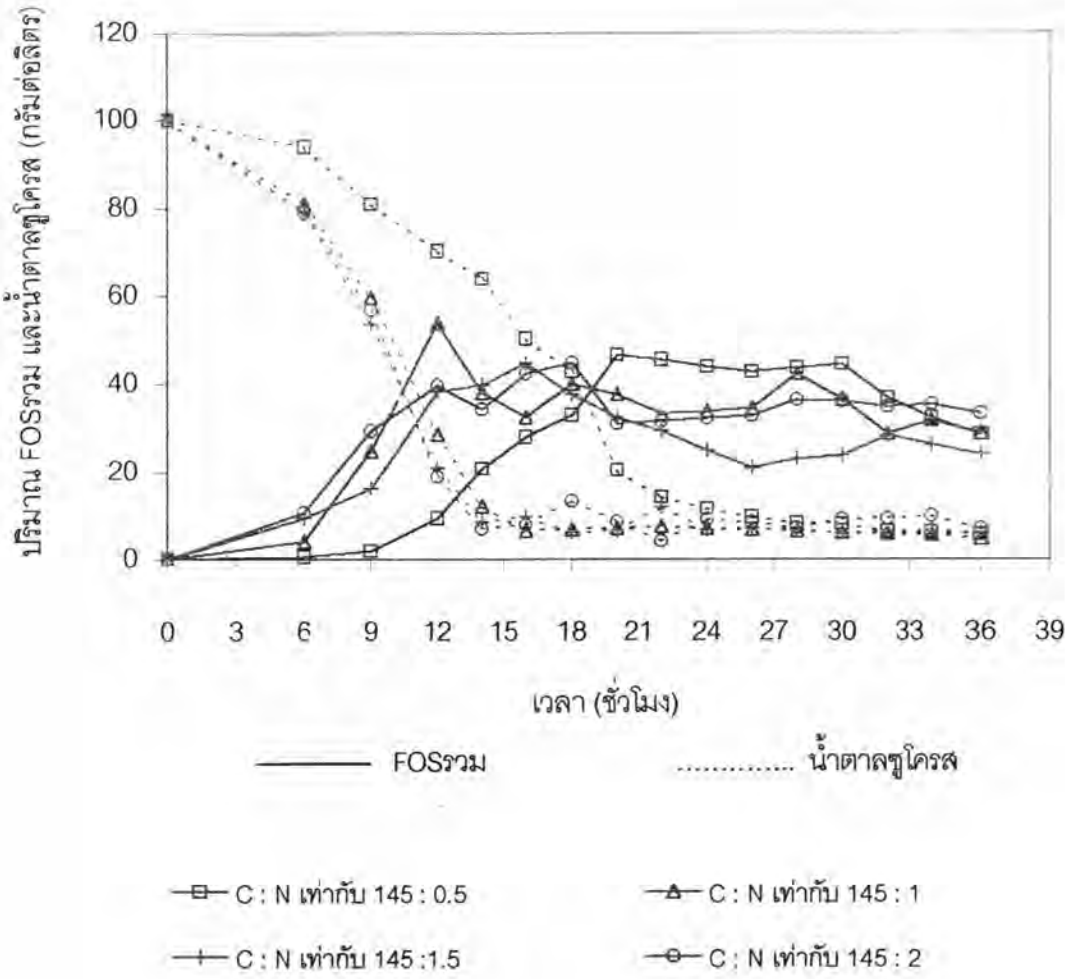
2.3ผลของอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์

เมื่อผลิต FOS โดยแปรผันอัตราส่วนระหว่างแหล่งคาร์บอนต่อแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 145 : 0.5 145 : 1.0 145 : 1.5 และ 145 : 2.0 โดยคงค่าปริมาณน้ำตาลซูโครส 100 กรัมต่อลิตรซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอน ดังตารางที่ 6 โดยใช้หัวเชื้อชนิดสปอร์แขวนลอยปริมาณ ~2 x 10^9 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งได้จากผลการทดลองข้อ 2.2 ผลการทดลองพบว่า เมื่ออัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเปลี่ยนไป จะมีผลต่อการเติบโตอย่างเด่นชัดและต่อค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการผลิตและการใช้น้ำตาลซูโครส (รูปที่ 21) คือ เมื่อค่าอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำลง (ปริมาณไนโตรเจนมากขึ้น) ทำให้มีการเติบโตมากขึ้น ค่าพีเอชยิ่งลดลงอย่างรวดเร็ว (รูปที่ 21) โดยอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 145 : 1.5 และ 145 : 2.0 ให้การเติบโตมากที่สุดไล่เลี่ยกันใน 18 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นอัตราส่วน 145 : 2.0 ให้การเติบโตช้าลง ทำให้เมื่อสิ้นสุดการทดลองอัตราส่วน 145 : 1.5 ให้การเติบโตดีที่สุดเท่ากับ 8.82 และอัตราส่วน 145 : 2.0 ให้การเติบโตรองลงมาเท่ากับ 7.63 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยทั้งสองอัตราส่วนมีค่าพีเอชลดลงมากในเวลารวดเร็วในช่วง 12 – 22 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยงจากพีเอช 6.4 เป็น 3.8 ขณะที่อัตราส่วน 145 : 1.0 มีการเติบโตรองลงมาคือเท่ากับ 5.89 กรัมต่อลิตรเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ค่าพีเอชลดลงในช่วง 12-18 ชั่วโมงจากพีเอช 6.8เป็น 5.0 และอัตราส่วน 145 : 0.5 มีการเติบโตน้อยที่สุดเท่ากับ 4.09 กรัมต่อลิตรเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ค่าพีเอชค่อยๆลดลงช้าๆตลอดการเพาะเลี้ยง ซึ่งสอดคล้องกับการใช้น้ำตาลซูโครส โดยอัตราส่วนที่ให้การเติบโตเร็วที่สุด คือ 145 : 1.5 และ 145 : 2.0 น้ำตาลซูโครสลดลงอย่างรวดเร็วกว่าอัตราส่วนอื่น เนื่องจากมีปริมาณเอนไซม์ในการสลายน้ำตาลซูโครสได้น้ำตาลกลูโคสและ ฟรักโตสเป็นผลิตภัณฑ์มาก ซึ่งนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้ในการเติบโตมาก และอัตราส่วน 145 : 0.5 น้ำตาลซูโครสลดลงช้าที่สุด

และอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนก็มีผลต่อผลผลิต FOSรวม ด้วยเช่นกัน (รูปที่ 22) พบว่าการเพิ่มหรือลดอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนไม่ได้ทำให้ผลผลิตเพิ่มหรือลดตาม โดยอัตราส่วน 145 :1.0 เริ่มผลิต FOSรวม ได้ดีตั้งแต่ชั่วโมงที่ 9 และผลิตได้มากที่สุดและเร็วที่สุดเท่ากับ 53.9 กรัมต่อลิตรโดยใช้เวลาเพียง 12 ชั่วโมง รองลงมาคืออัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูง (ปริมาณไนโตรเจนน้อย) คืออัตราส่วน 145 : 0.5 ให้ผลผลิตมากแต่ช้าที่สุด เท่ากับ 46.55 กรัมต่อลิตรโดยใช้เวลานานถึง 20 ชั่วโมง และอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำ (ไนโตรเจนมาก) คือ 145 : 1.5 และ 145 : 2.0 กลับทำให้ผลิต FOSรวมน้อย และ



รูปที่ 21 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลซูโครส ค่าพีเอชและน้ำหนักสายใยแห้ง ตลอดการเพาะเลี้ยงเมื่อผลิตFOS ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทราย 100 กรัมต่อลิตรและมีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่างๆกัน บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส

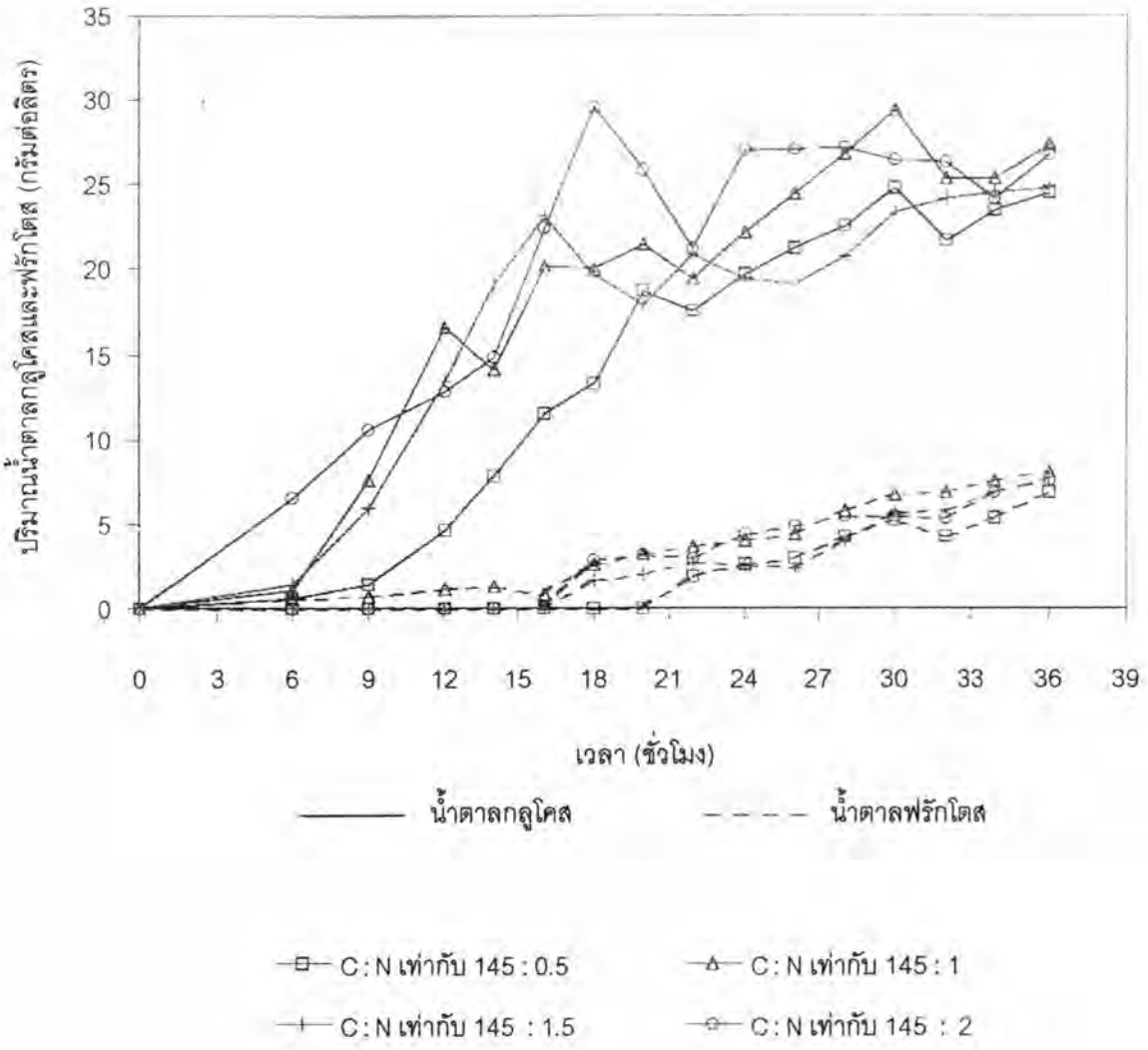


รูปที่ 22 เปรียบเทียบปริมาณ FOSรวม และน้ำตาลซูโครส ตลอดการเพาะเลี้ยงเมื่อผลิต FOS ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทราย 100 กรัมต่อลิตร และมีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่างๆ กัน บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส

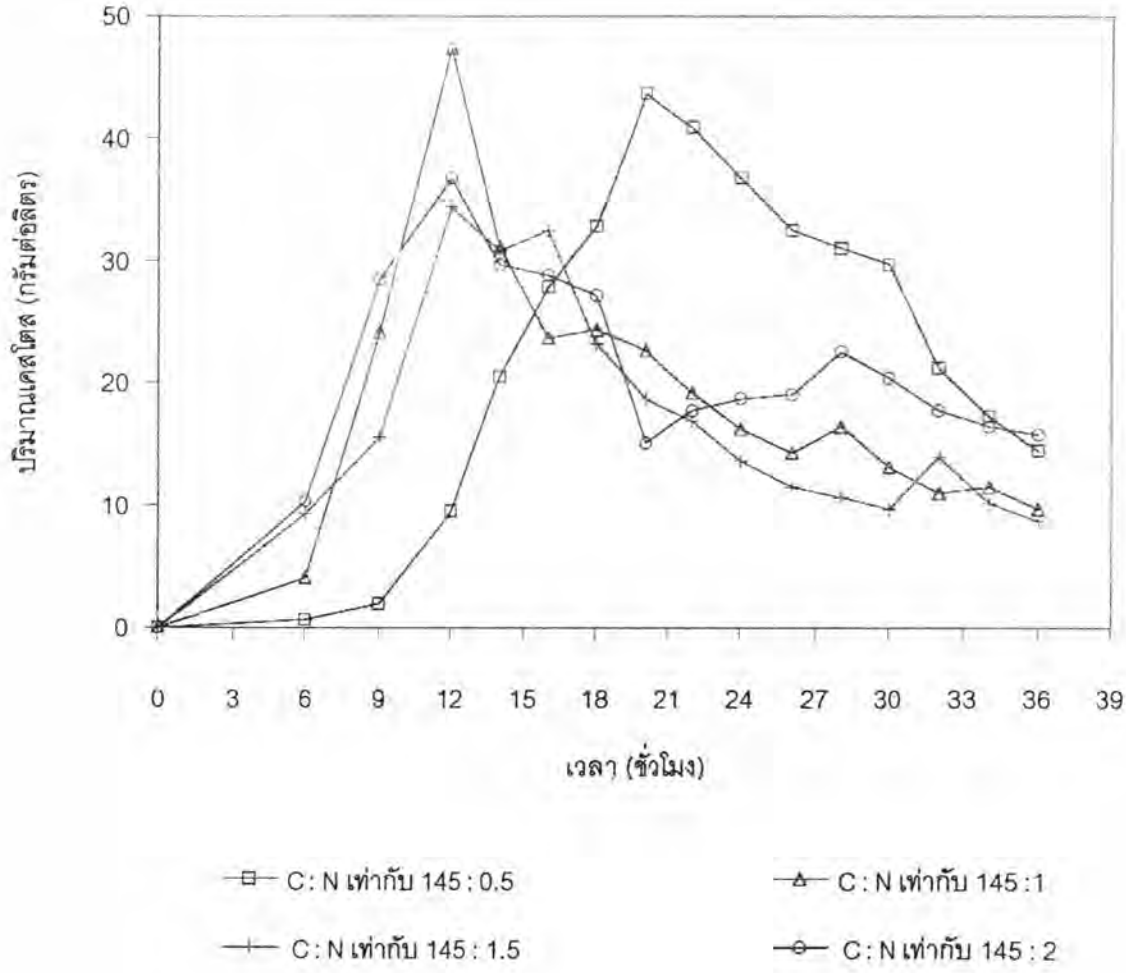
ระยะเวลาในการผลิตนานพอควรคือ เท่ากับ 44.7 กรัมต่อลิตร ใน 16 ชั่วโมง และ 44.8 กรัมต่อลิตร ใน 18 ชั่วโมง ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการที่จะให้ได้ผลผลิต FOSรวมสูง ต้องมีค่าอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสม ในที่นี้คืออัตราส่วน 145 : 1.0 ซึ่งเกิดสมดุลระหว่างการเติบโตและการผลิต

นอกจากนั้นเมื่อพิจารณาการใช้น้ำตาลซูโครส (รูปที่ 22) พบว่าเมื่ออัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำ (ปริมาณไนโตรเจนมาก) ซึ่งผลิต FOSรวมเร็ว มีการใช้น้ำตาลซูโครสอย่างรวดเร็ว โดยอัตราส่วน 145 : 1.0 145 : 1.5 และ 145 : 2.0 น้ำตาลซูโครสลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยงจนถึงชั่วโมงที่ 14 ส่วนอัตราส่วน 145 : 0.5 ซึ่งผลิต FOSรวม ช้าที่สุด น้ำตาลซูโครสลดลงช้าที่สุดด้วยตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยงจนถึงชั่วโมงที่ 20 แต่ปริมาณผลผลิตที่ได้ของอัตราส่วน 145 : 1.5 และ 145 : 2.0 กลับมีปริมาณต่ำเมื่อเทียบกับน้ำตาลซูโครสที่ลดลงเร็วกว่าอัตราส่วนอื่น แสดงว่าน่าจะมีการนำแหล่งคาร์บอนไปใช้ในการเติบโตมากกว่าการผลิต ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตส (รูปที่ 23) นั่นคือเมื่อน้ำตาลซูโครสลดลงเร็วคือมีการสลายน้ำตาลซูโครสไปเป็นน้ำตาลฟรักโตสและกลูโคสมาก และผลิต FOS ได้มากด้วย แต่ในช่วงแรกยังตรวจไม่พบน้ำตาลฟรักโตสเนื่องจากนำไปใช้ในการผลิต FOS ซึ่งมีอัตราการผลิตสูงในช่วงแรก แต่ตรวจพบน้ำตาลกลูโคสตั้งแต่เริ่มมีการเติบโต เนื่องจากน้ำตาลกลูโคสไม่ได้ถูกใช้ในกระบวนการผลิต และจะเห็นได้ว่าปริมาณน้ำตาลฟรักโตสต่ำกว่าน้ำตาลกลูโคสมาก เนื่องจากน้ำตาลฟรักโตสส่วนหนึ่งถูกใช้ในการผลิต FOS และที่อัตราส่วน 145 : 1.0 มีการใช้น้ำตาลซูโครสมาก ปริมาณผลผลิตที่ได้ก็สูงด้วย เนื่องจากมีน้ำตาลฟรักโตสและซูโครสไปใช้ในการผลิตมากกว่าการเติบโต โดยมีน้ำตาลกลูโคสซึ่งเหลือจากการผลิต FOS มาก ส่วนที่อัตราส่วน 145 : 0.5 มีน้ำตาลซูโครสลดลงช้าที่สุด เนื่องจากมีการเติบโตน้อย ใช้น้ำตาลได้ทีละน้อย จึงใช้เวลาในการผลิตนานกว่า ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตสก็เพิ่มขึ้นช้าๆ

เมื่อพิจารณาผลของอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อการผลิต FOS แต่ละชนิด คือชนิดเคสโตสและนีสโตส พบว่าอัตราส่วน 145 :1.0 ซึ่งให้ผลผลิตรวมสูงสุดก็ผลิตเคสโตสมากกว่าอัตราส่วนอื่น (รูปที่ 24) คือผลิตได้เท่ากับ 47.4 กรัมต่อลิตรใน 12 ชั่วโมง รองลงมาคืออัตราส่วน 145 : 2.0 และ 145 : 1.5 ซึ่งมีแนวโน้มในการเติบโตมากจึงให้ผลผลิตเคสโตสต่ำลงคือเท่ากับ 36.73 กรัมต่อลิตรใน 12 ชั่วโมง และ 34.42 กรัมต่อลิตรใน 12 ชั่วโมงตามลำดับ ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนโตรเจนต่ำ (อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจน เท่ากับ 145 : 0.5) ซึ่งมีการเติบโตน้อย ทำให้ระยะเวลาในการผลิตทั้งเคสโตสยืดออกไปมากกว่าอัตราส่วนอื่น แต่ปริมาณที่ผลิตได้ไม่ต่ำมากนัก โดยผลิตได้สูงกว่าอัตราส่วน 145 : 1.5 และ 145 : 2.0 คือ 43.52 กรัมต่อลิตรใน 20 ชั่วโมง ส่วนการผลิตนีสโตส พบว่าผลิตได้หลังจากเคสโตสผลิตขึ้นแล้วและมีปริมาณต่ำกว่าเคสโตส(ดังรูปที่ 25 และ 26) โดยอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ผลิต



รูปที่ 23 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตส ตลอดการเพาะเลี้ยง เมื่อผลิต FOS ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทราย 100 กรัมต่อลิตรและมีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่างๆกัน บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส



รูปที่ 24 เปรียบเทียบปริมาณเคสโตส ตลอดการเพาะเลี้ยง เมื่อผลิตFOS ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทราย 100 กรัมต่อลิตรและมีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่างๆกัน บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30± 2 องศาเซลเซียส

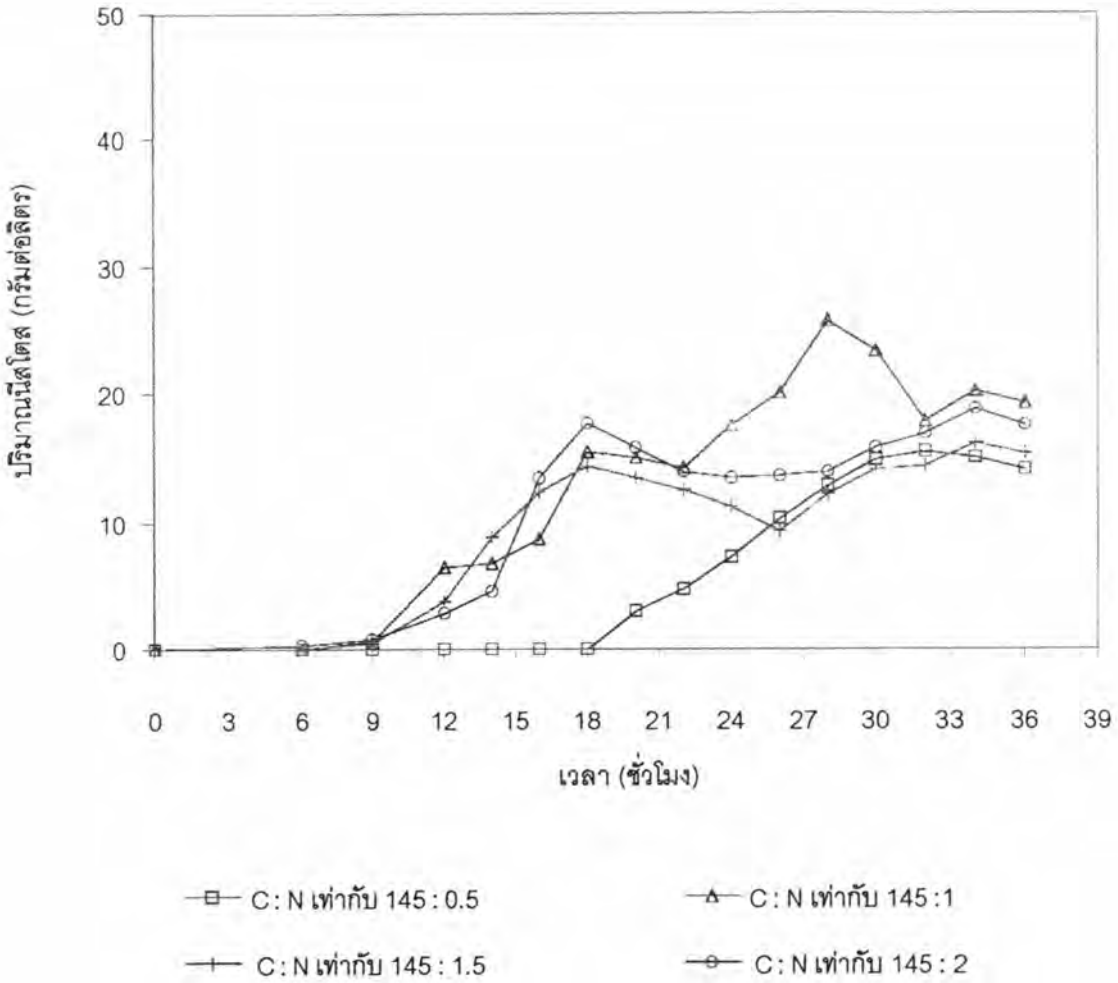
เคสโตสมาก จะผลิตนีสโตสมากตามด้วย เนื่องจากนีสโตสมีดีกรีของการโพลิเมอไรเซชั่นสูงกว่าเคสโตสและต้องใช้น้ำตาลเคสโตสเป็นสารตั้งต้นในการผลิตด้วย อัตราส่วน 145 : 1.0 ซึ่งผลิตเคสโตสมากที่สุด ก็ผลิตนีสโตสได้สูงที่สุดด้วย โดยผลิตได้มากและเร็วที่สุดเท่ากับ 25.74 กรัมต่อลิตรใน 28 ชั่วโมง รองลงมาคืออัตราส่วน 145 : 2.0 และ 145 : 1.5 ผลิตนีสโตสเท่ากับ 18.84 กรัมต่อลิตร ใน 34 ชั่วโมง และ 16.07 กรัมต่อลิตรใน 34 ชั่วโมง และอัตราส่วน 145 : 0.5 ผลิตนีสโตสน้อยที่สุดเท่ากับ 15.53 กรัมต่อลิตรใน 32 ชั่วโมง ทั้งๆที่อัตราส่วนนี้มีการผลิตเคสโตสมากกว่าอัตราส่วน 145 : 1.5 และ 145 : 2.0 อาจเนื่องจากการเติบโตน้อยเกินไป ปริมาณเอนไซม์ในการผลิตน้อยเกินไป

สำหรับการใช้ไนโตรเจน พบว่ามีไนโตรเจนเหลือเล็กน้อยในทุกอัตราส่วนเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยที่อัตราส่วน 145 : 0.5 145 : 1.0 145 : 1.5 145 : 2.0 มีไนโตรเจนเริ่มต้นเท่ากับ 0.145 0.29 0.44 0.58 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง(36 ชั่วโมง) ที่อัตราส่วน 145 : 0.5 145 : 1.0 145 : 1.5 145 : 2.0 มีไนโตรเจนเหลืออยู่ 0.017 0.05 0.08 0.13 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาอัตราการผลิต FOSรวม ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด (รูปที่ 26) พบว่า อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่สูงหรือต่ำเกินไปจะมีอัตราการผลิตต่ำ โดยอัตราส่วน 145 : 1.0 มีอัตราการผลิตสูงสุด เท่ากับ 4.49 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง รองลงมาคือ อัตราส่วน 145 : 1.5 145 : 2.0 และ 145 : 0.5 ซึ่งมีอัตราการผลิตเท่ากับ 2.79 2.49 และ 2.33 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ

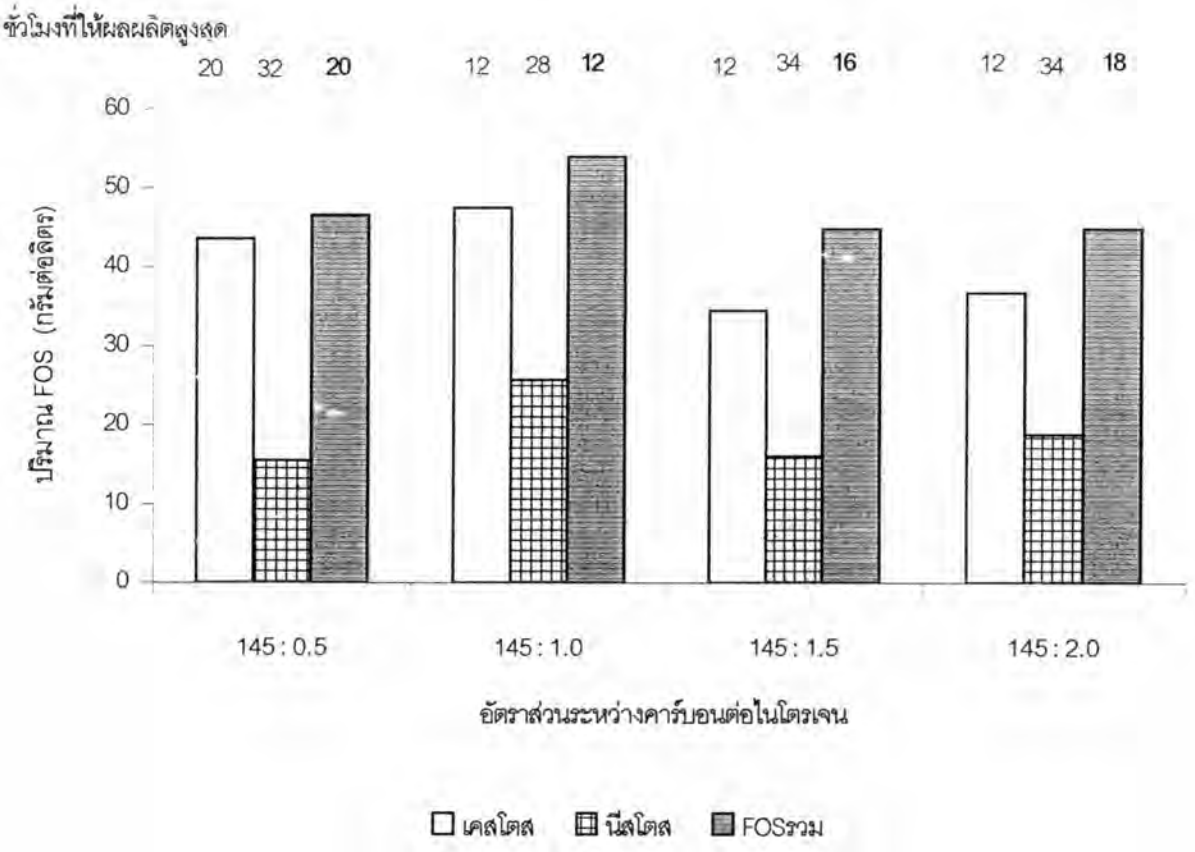
เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของสายใยในการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Yp/x) พบว่า ที่อัตราส่วน 145 : 1.0 สายใยมีประสิทธิภาพสูงสุด รองลงมาคือ 145 : 0.5 145 : 1.5 และ 145 : 2.0 ตามลำดับ (รูปที่ 26) และเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสไปเป็น FOS (Yp/s) พบว่า เมื่อปริมาณไนโตรเจนสูงหรือต่ำเกินไปจะมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสไปเป็น FOS ต่ำ โดยอัตราส่วน 145 : 1.0 มีค่า Yp/s สูงที่สุด เท่ากับ 0.76 ซึ่งเป็นอัตราส่วนเดียวกับที่ค่า Yp/x สูงสุด รองลงมาคืออัตราส่วน 145 : 0.5 145 : 2.0 และ 145 : 1.5 โดยมีค่าเท่ากับ 0.58 0.52 และ 0.49 ตามลำดับ (รูปที่ 26)

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนมีผลต่อการเติบโตโดยตรงแต่การเติบโตมากเกินไป ไม่ได้ทำให้ผลิต FOS มากตาม จำเป็นต้องมีสมดุลระหว่างการเติบโตกับการผลิต คือต้องมีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสม โดยอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ คือ 145 : 1.0 ซึ่งให้ผลผลิต FOSรวม มากที่สุดและเร็วที่สุด คือ 53.9 กรัมต่อลิตร ใน 12 ชั่วโมง (รูปที่ 26) มีอัตราการผลิตสูงที่สุดและให้ค่า Yp/x และ Yp/s สูงที่สุด ซึ่งจะใช้ค่าอัตราส่วนนี้ในการทดลองต่อไป



รูปที่ 25 เปรียบเทียบปริมาณนีสโตสตลอดการเพาะเลี้ยง เมื่อผลิตFOS ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทราย 100 กรัมต่อลิตรและมีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่างๆกัน บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30$\pm$ 2 องศาเซลเซียส

อัตราการผลิต * (ก/ล/ชม.)	2.33	4.49	2.79	2.49
น้ำหนักสายใยแห้ง *(ก/ล)	2.05	0.69	3.54	4.61
Yp/x *	22.7	78.12	12.63	9.72
Yp/s *	0.58	0.76	0.49	0.52



หมายเหตุ FOSรวม หมายถึง ปริมาณเคสโตสรวมกับนีสโตส ณ.ชั่วโมงเดียวกัน

* คิดจากชั่วโมงที่ให้ผลผลิต FOSรวม สูงสุด

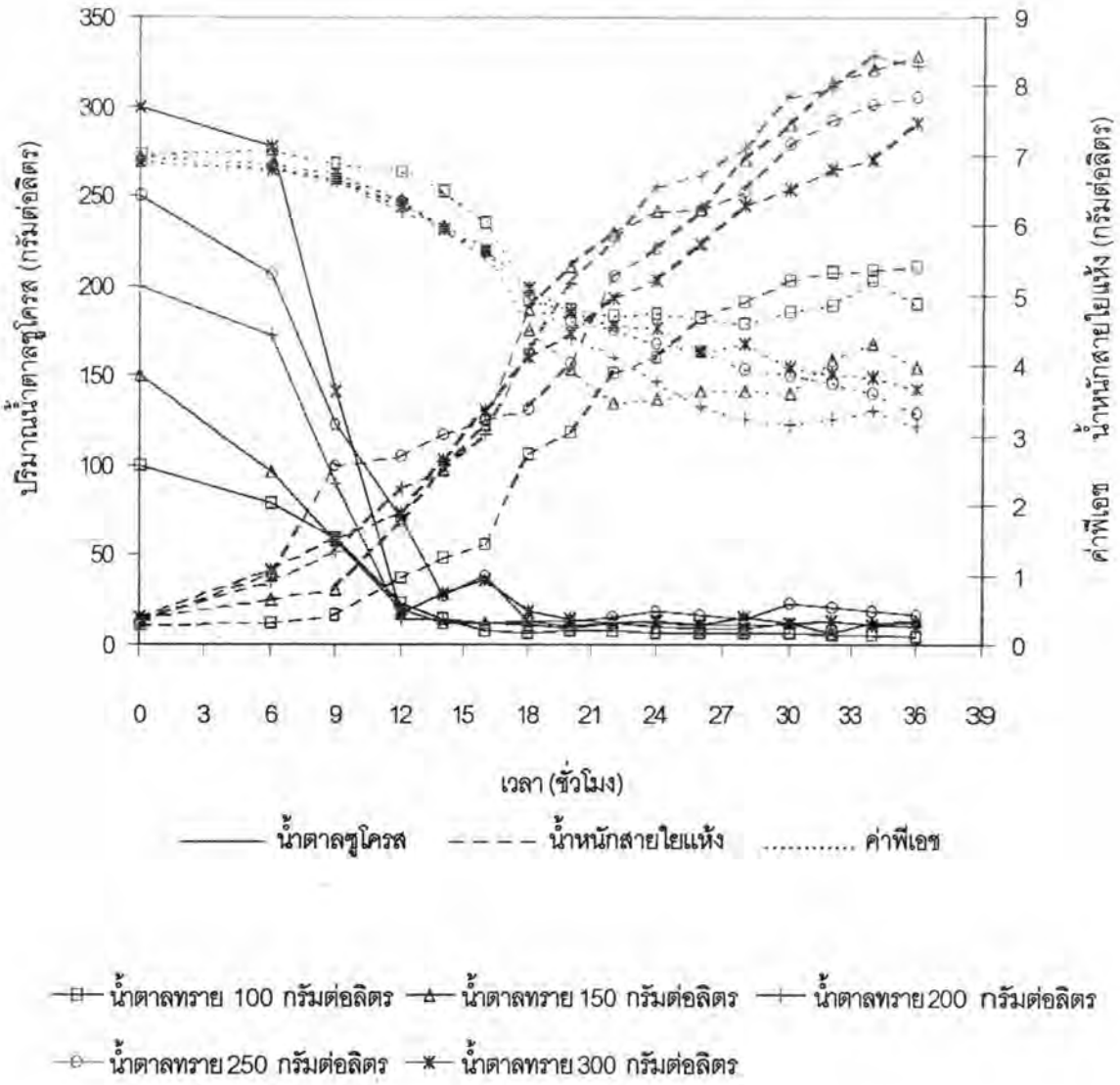
รูปที่ 26 เปรียบเทียบปริมาณ FOS อัตราการผลิต น้ำหนักสายใยแห้ง Yp/x และ Yp/s ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp.H12 ในอาหารเหลวที่มีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่างๆ กัน

2.4 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาวในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีต่อปริมาณการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์

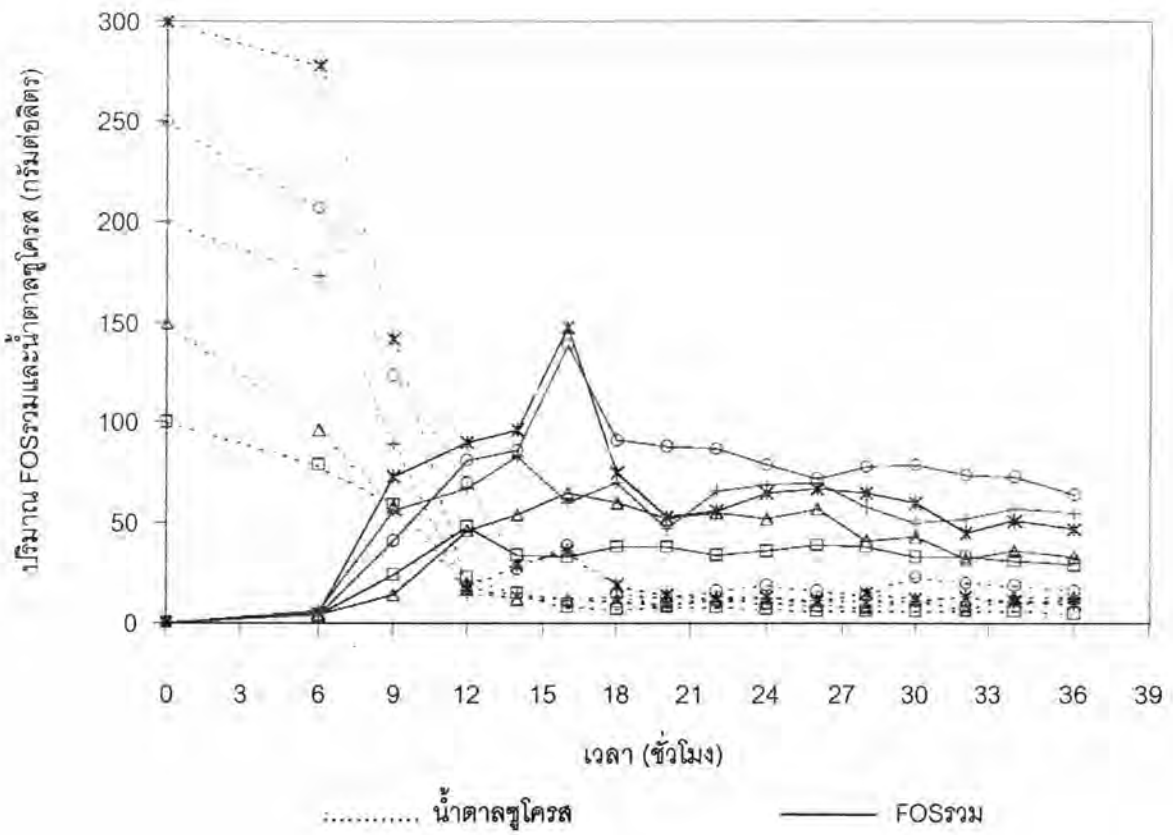
เมื่อผลิต FOS ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (ภาคผนวก ก 3) โดยแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาว เท่ากับ 300 250 200 150 และ 100 กรัมต่อลิตร โดยยังคงค่าอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมซึ่งได้จากผลการทดลองข้อ 2.3 คือ 145 : 1.0 เท่ากันในแต่ละการทดลอง

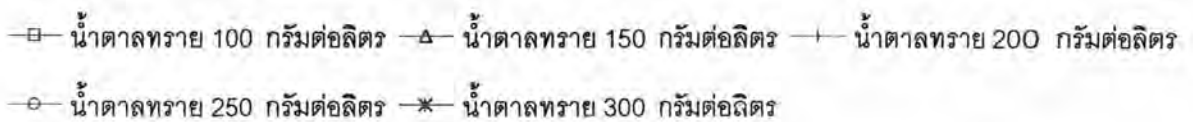
ผลการทดลองพบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลทรายในอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 100 - 250 กรัมต่อลิตร ทำให้การเติบโตเพิ่มขึ้นในช่วง 16 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง แต่หลังจากชั่วโมงที่ 16 ความเข้มข้นน้ำตาลทราย 250 กรัมต่อลิตรให้การเติบโตน้อยกว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาลทราย 150 กรัมต่อลิตร อาจเนื่องมาจากมีความแออัดของสายใยของสายใยมากเกินไป การถ่ายเทอากาศไม่ดี ทำให้การเติบโตลดลง แต่ถ้าเพิ่มน้ำตาลทรายสูงถึง 300 กรัมต่อลิตร กลับทำให้การเติบโตช้าและน้อยกว่าเมื่อใช้น้ำตาลทราย 150-250 กรัมต่อลิตร(รูปที่ 27) เนื่องจากความเข้มข้นของน้ำตาลมากเกินไป มีแรงดันออสโมติกสูง จุลินทรีย์สูญเสียน้ำ กระบวนการเมตา--โบลิซึมลดลงทำให้การเติบโตลดลง เมื่อสิ้นสุดการทดลองอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทราย 150 และ 200 กรัมต่อลิตร มีการเติบโตมากที่สุดไล่เลี่ยกันคือ 8.43 และ 8.29 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือน้ำตาลทราย 250 และ 300 ให้การเติบโตไล่เลี่ยกันเท่ากับ 7.84 และ 7.48 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นน้ำตาลทราย 100 กรัมต่อลิตร ให้การเติบโตน้อยที่สุดคือ 5.41 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้พบว่าการเติบโตมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช (รูปที่ 27) คือ เมื่อความเข้มข้นน้ำตาลทรายมาก ให้การเติบโตมาก ทำให้ค่าพีเอชลดลงอย่างรวดเร็ว โดยทุกความเข้มข้นค่าพีเอชลดลงมากในช่วง 9 - 22 ชั่วโมงของการผลิต และความเข้มข้นน้ำตาลทราย 200 กรัมต่อลิตรซึ่งให้การเติบโตสูงที่สุด ค่าพีเอชลดลงเร็วที่สุดและมีค่าพีเอชต่ำที่สุด และจะเห็นได้ว่าการใช้น้ำตาลซูโครสในช่วงที่มีการเติบโต (รูปที่ 27) ทุกการทดลอง น้ำตาลซูโครสลดลงอย่างรวดเร็วจนเหลือน้อยมากในช่วง 15 – 23 กรัมต่อลิตรใน 12 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง

เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นน้ำตาลทรายต่อผลผลิต FOSรวม (รูปที่ 28) พบว่าเมื่อความเข้มข้นน้ำตาลทรายเพิ่มขึ้น ทำให้มีการผลิต FOSรวม เพิ่มขึ้นแต่ใช้ระยะเวลาในการผลิตเพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยความเข้มข้นน้ำตาลทรายสูงสุดคือ 300 กรัมต่อลิตร ผลิต FOSรวม มากที่สุดเท่ากับ 147.33 กรัมต่อลิตรใน 16 ชั่วโมง แต่มากกว่าความเข้มข้นน้ำตาลทราย 250 กรัมต่อลิตรเพียงเล็กน้อย คือน้ำตาลทราย 250 กรัมต่อลิตรให้ผลผลิตเท่ากับ 138.81 กรัมต่อลิตรใน 16 ชั่วโมง สำหรับน้ำตาลทราย 200 กรัมต่อลิตรซึ่งให้การเติบโตมากที่สุดแต่ผลิต FOSรวม ได้เพียง 87.78 กรัมต่อลิตร ใน 14 ชั่วโมง และน้ำตาลทราย 150 กรัมต่อลิตรก็ผลิต FOSรวม ได้ต่ำคือ



รูปที่ 27 เปรียบเทียบน้ำหนักสายใยแห้ง ค่าพีเอช และปริมาณน้ำตาลซูโครส ตลอดการเพาะเลี้ยง ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายตั้งต้นต่างๆ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส





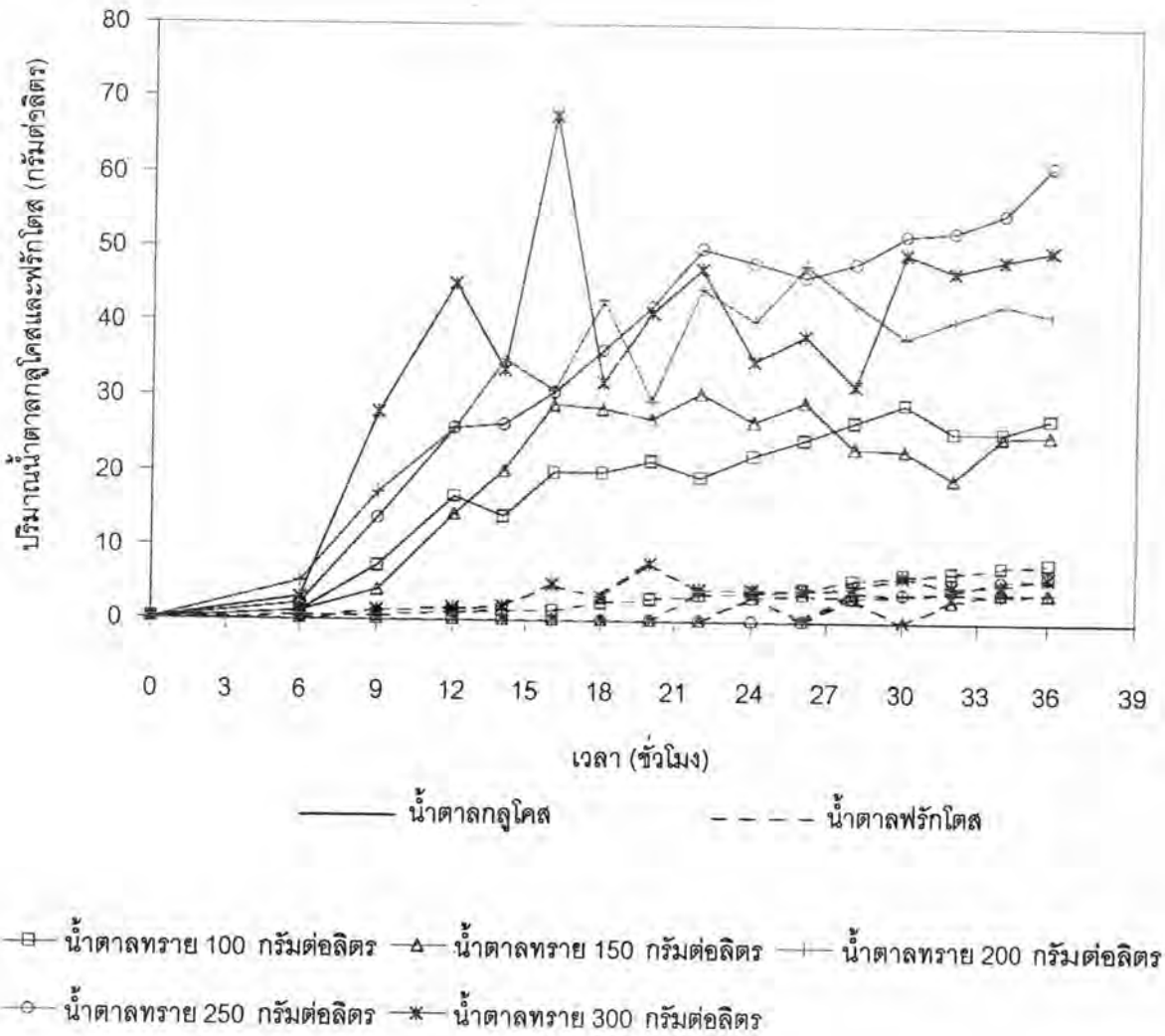
รูปที่ 28 เปรียบเทียบปริมาณ FOSรวมและน้ำตาลซูโครส ตลอดการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายตั้งต้นต่างๆ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30± 2 องศาเซลเซียส

64.75 กรัมต่อลิตรใน 16 ชั่วโมง และความเข้มข้นน้ำตาลทรายน้อยที่สุดคือ 100 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตต่ำที่สุดแต่มีระยะเวลาในการผลิตเร็วที่สุด คือ 47.73 กรัมต่อลิตรใน 12 ชั่วโมง ซึ่งการผลิต FOSรวม สอดคล้องกับการใช้น้ำตาลซูโครสคือผลิต FOS มากน้ำตาลซูโครสลดลงอย่างรวดเร็ว แต่จะเห็นได้ว่าน้ำตาลทราย 300 กรัมต่อลิตรซึ่งมีน้ำตาลซูโครสลดลงเร็วมากแต่ผลผลิตที่ได้กลับมากกว่าเมื่อใช้น้ำตาลทราย 250 กรัมต่อลิตรเล็กน้อย คือน้ำตาลทรายเพิ่มขึ้นอีก 50 กรัมต่อลิตร แต่ผลิต FOSรวม ได้เพิ่มขึ้นเพียง 8.52 กรัมต่อลิตรเท่านั้น ซึ่งไม่คุ้มกับปริมาณน้ำตาลทรายตั้งต้นที่เพิ่มขึ้น นั่นคือน้ำตาลทรายตั้งต้น 250 กรัมต่อลิตรเหมาะสมที่สุดในการผลิต FOSรวม

เมื่อคิดเป็นร้อยละการผลิต FOSรวมโดยเทียบกับความเข้มข้นน้ำตาลทรายตั้งต้นที่มีในอาหารเลี้ยงเชื้อ (ตารางที่ 10) พบว่าค่าร้อยละของ FOSรวม ไม่สอดคล้องกับปริมาณการผลิต FOSรวม โดยน้ำตาลทรายสูงหรือต่ำกว่า 250 กรัมต่อลิตร ให้ร้อยละการผลิตต่ำ แต่น้ำตาลทราย 250 กรัมต่อลิตร ให้ร้อยละการผลิต FOSรวม สูงที่สุดเท่ากับ 55.52 รองลงมาคือน้ำตาลทราย 300 100 150 และ 200 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบการผลิตและการเติบโต จะเห็นได้ว่าความเข้มข้นน้ำตาลทรายตั้งต้นมีผลกระทบต่อการเติบโตและการผลิต โดยการทดลองที่ใช้น้ำตาลทรายตั้งต้น 100 กรัมต่อลิตรให้การเติบโตช้า อาจเนื่องจากมีแหล่งคาร์บอนไม่เพียงพอ ทำให้ผลผลิตFOSรวมน้อย ดังแสดงผลข้างต้น (รูปที่ 27 และ 28) ส่วนการใช้น้ำตาลทรายตั้งต้น 150 และ 200 ให้การเติบโตมากสูงกว่าการทดลองอื่นแต่ให้ผลผลิต FOSรวมน้อย (รูปที่ 27 และ 28) มีร้อยละการผลิต FOSรวมต่ำ (ตารางที่ 10) การทดลองที่ใช้น้ำตาลทรายตั้งต้น 300 กรัมต่อลิตร ให้การเติบโตต่ำกว่าน้ำตาลทราย 250 กรัมต่อลิตร แม้จะผลิต FOS ได้สูงกว่า แต่มีร้อยละการผลิต FOSรวม ต่ำกว่า ส่วนน้ำตาลทราย 250 กรัมต่อลิตรมีความเหมาะสมในการผลิต FOS มากที่สุด เพราะเกิดสมดุลระหว่างการเติบโตและการผลิตจึงทำให้ได้ผลผลิตสูงสุดดังแสดงข้างต้น

เมื่อพิจารณาการใช้น้ำตาลซูโครส (รูปที่ 28) จะเห็นได้ว่าทันทีที่ผลิตFOSรวม น้ำตาลซูโครสลดลงในทุกการทดลองเมื่อเวลาในการผลิตผ่านไป 12 ชั่วโมง โดยมีน้ำตาลซูโครสเหลืออยู่ 15-23 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นจึงเริ่มคงที่อยู่ในปริมาณต่ำ (รูปที่ 28) โดย FOSรวมผลิตได้สูงสุดในช่วงที่มีการลดลงของน้ำตาลซูโครสอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากน้ำตาลซูโครสเป็นสารตั้งต้นของการผลิต FOS ส่วนการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลฟรักโตสในอาหารเลี้ยงเชื้อ (รูปที่ 29) พบว่า เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆตามเวลาในการเพาะเลี้ยง โดยช่วงแรกมีน้ำตาลฟรักโตสน้อยมากหรือไม่มีเลย เนื่องจากถูกนำไปเชื่อมกับน้ำตาลซูโครสเพื่อผลิต FOS แต่ทุกความเข้มข้นน้ำตาลทรายปริมาณน้ำตาลฟรักโตสแตกต่างกันเล็กน้อย เนื่องจากเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลทรายสูง มีการเติบโตดีผลิต FOS มาก จะมีการสลายน้ำตาลซูโครสกลายเป็นน้ำตาลฟรักโตสและกลูโคสมาก ถึงแม้จะนำน้ำตาลฟรักโตสไปใช้ผลิต FOSด้วยก็ตาม แต่อาจยังมีน้ำตาลฟรักโตสเหลืออยู่มาก ประกอบกับมี



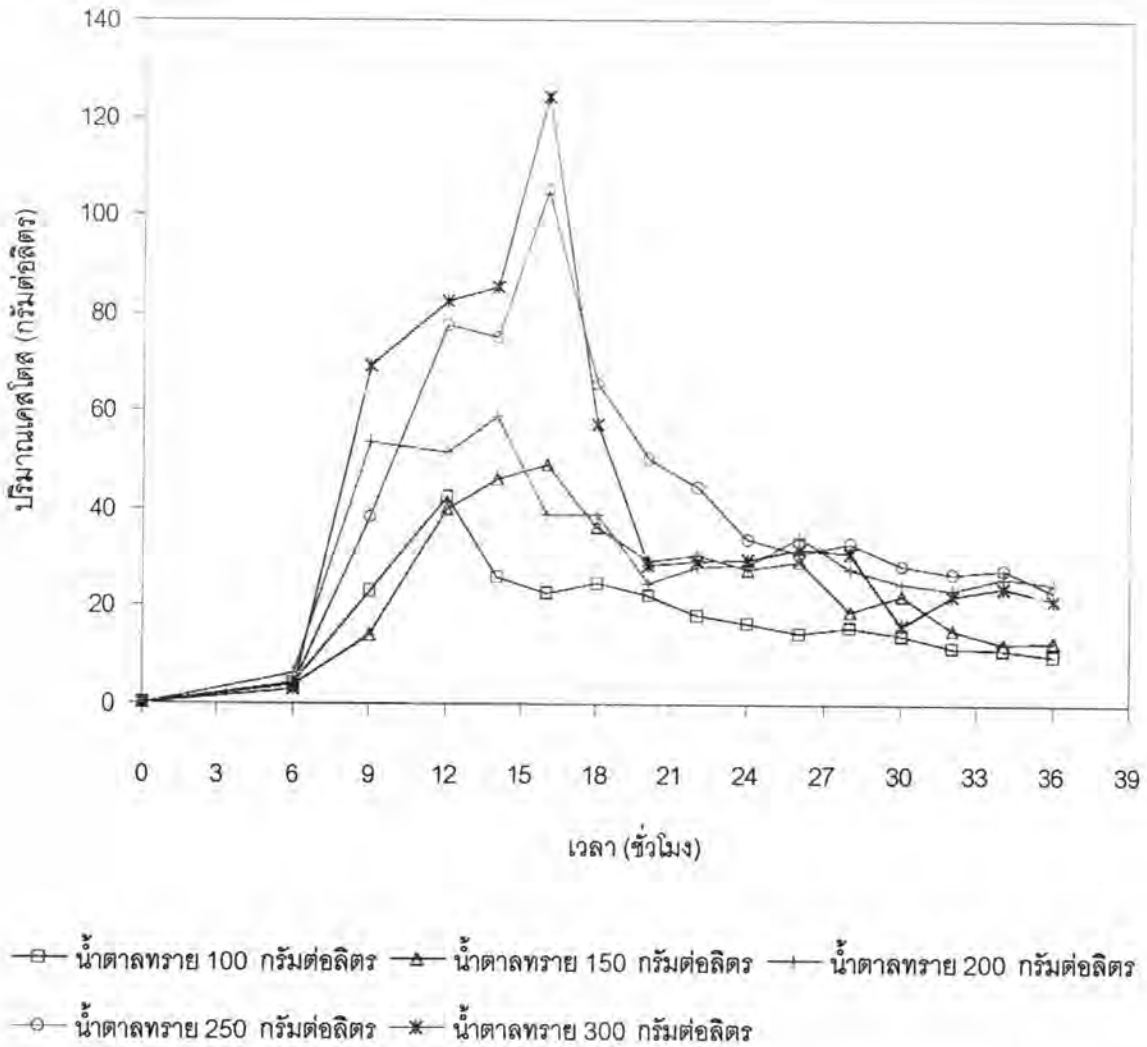
รูปที่ 29 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรักโตส ตลอดการเพาะเลี้ยง ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายตั้งต้นต่างๆ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30± 2 องศาเซลเซียส

น้ำตาลฟรักโตสเนื่องจากการสลาย FOS ด้วย ทำให้มีปริมาณไล่เลี่ยกันกับความเข้มข้นน้ำตาลทรายอื่นที่สลายน้ำตาลซูโครสน้อยและผลิต FOS น้อย ส่วนน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้นมากตลอดการเพาะเลี้ยงโดยเพิ่มขึ้นรวดเร็วในช่วงที่ผลิต FOS มากซึ่งเห็นได้จากการทดลองที่ใช้น้ำตาลทราย 300 กรัมต่อลิตร ซึ่งผลิตเคสโตสสูงที่สุด ทำให้น้ำตาลกลูโคสเพิ่มปริมาณสูงกว่าการใช้น้ำตาลทรายอื่น เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่เหลือจากการผลิต FOS (รูปที่ 29)

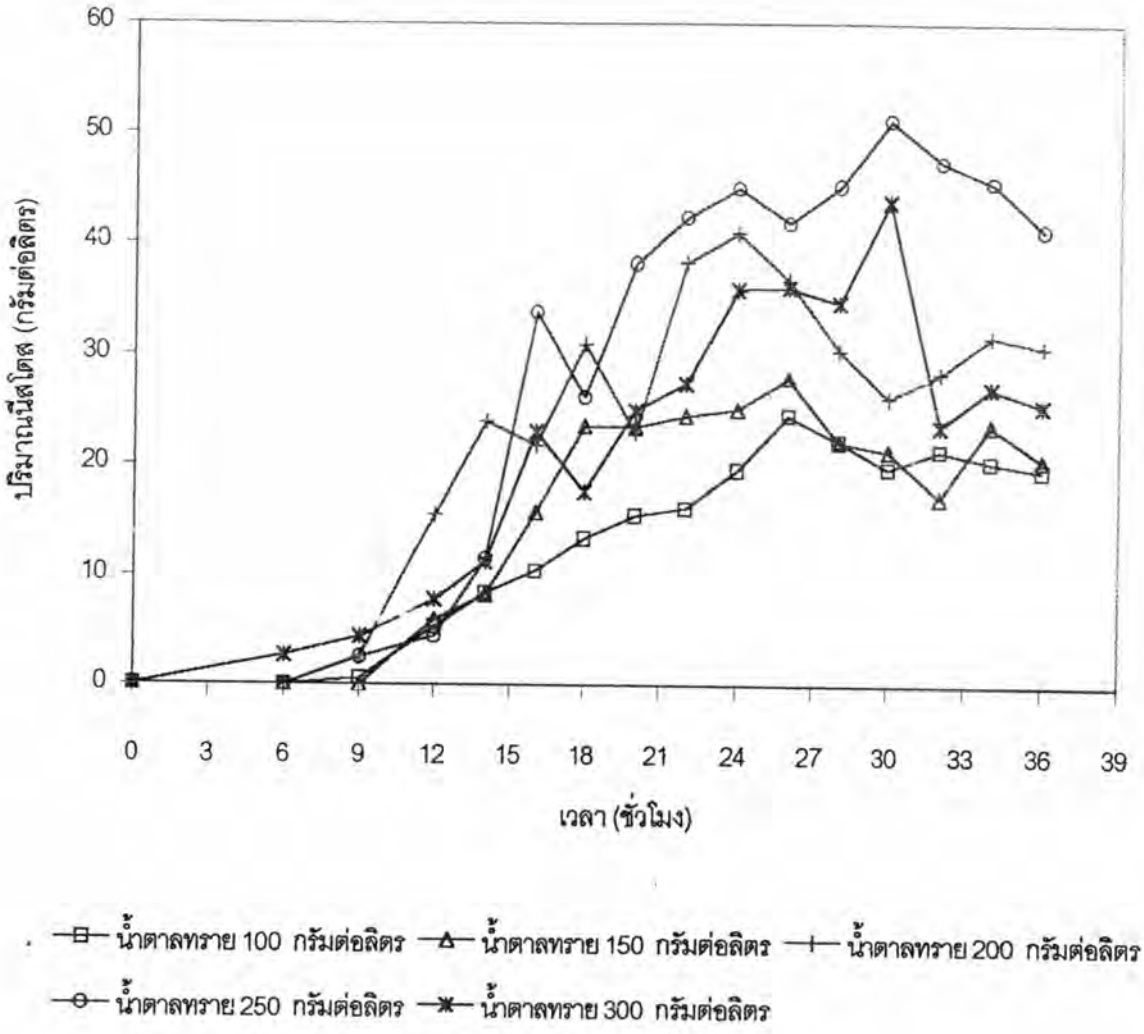
จะเห็นได้ว่าความเข้มข้นน้ำตาลทรายมีผลต่อปริมาณ FOSรวม ดังกล่าวข้างต้น จึงมาพิจารณาผลของปริมาณน้ำตาลทรายตั้งต้นว่ามีต่อการผลิต FOS แต่ละชนิด คือเคสโตสและนีสโตสหรือไม่อย่างไร โดยพบว่าความเข้มข้นน้ำตาลทรายตั้งต้นมีผลต่อปริมาณเคสโตสและนีสโตสแต่ไม่ค่อยมีผลต่อระยะเวลาการผลิตมากนัก กล่าวคือเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลทรายสูงขึ้น ผลิตเคสโตสมากขึ้น โดยการทดลองที่ใช้น้ำตาลทราย 300 กรัมต่อลิตร ผลิตเคสโตสมากที่สุดเท่ากับ 124.32 กรัมต่อลิตรใน 16 ชั่วโมง รองลงมาคือน้ำตาลทราย 250 กรัมต่อลิตรผลิตได้ 105.03 กรัมต่อลิตรใน 16 ชั่วโมง ส่วนความเข้มข้นน้ำตาลทรายต่ำที่สุดคือ 100 กรัมต่อลิตร ผลิตเคสโตสได้น้อยที่สุดเท่ากับ 42.49 กรัมต่อลิตรใน 12 ชั่วโมง (รูปที่ 30) ส่วนการผลิตนีสโตส (รูปที่ 31) พบว่าการทดลองที่ใช้น้ำตาลทราย 250 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตนีสโตสมากที่สุดเท่ากับ 51.12 กรัมต่อลิตรใน 30 ชั่วโมง ส่วนน้ำตาลทราย 300 กรัมต่อลิตรผลิตได้มากเท่ากับ 43.85 กรัมต่อลิตรใน 30 ชั่วโมงเช่นกัน และน้ำตาลทราย 100 กรัมต่อลิตรผลิตนีสโตสน้อยที่สุดเท่ากับ 24.49 กรัมต่อลิตรใน 28 ชั่วโมง

เมื่อเปรียบเทียบอัตราการผลิต FOSรวม ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด (ตารางที่ 10) พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลทรายในอาหารเลี้ยงเชื้อขึ้น อัตราการผลิตจะเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย โดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายขาว 300 และ 250 กรัมต่อลิตร มีอัตราการผลิตสูงที่สุดไล่เลี่ยกันคือ 9.21 และ 8.68 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และรองลงมาตามลำดับคือความเข้มข้นน้ำตาลทราย 200 150 และ 100 กรัมต่อลิตร มีอัตราการผลิตเท่ากับ 5.91 4.05 และ 3.98 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนสารตั้งต้นคือน้ำตาลซูโครสไปเป็น FOSรวม (Yp/s) พบว่าความเข้มข้นน้ำตาล 250 กรัมต่อลิตร มีค่า Yp/s สูงที่สุด ดังตารางที่ 10

เมื่อพิจารณาปริมาณน้ำตาลซูโครสที่ใช้ไป (ตารางที่ 10) พบว่าน้ำตาลทราย 300 กรัมต่อลิตรมีการนำน้ำตาลซูโครสไปใช้มาก แต่ให้ร้อยละการผลิต FOSรวม ต่ำกว่าน้ำตาลทราย 250 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่คุ้มค่ากับน้ำตาลซูโครสที่ใช้เพิ่มขึ้นโดยจะเห็นได้ว่ามีค่า Yp/s ต่ำกว่าน้ำตาลทราย 250 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพของสายใยในการผลิต FOSรวม (Yp/x) ดังตารางที่10 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเพิ่มขึ้นประสิทธิภาพของสายใยไม่ได้เพิ่มตาม โดยการทดลองที่ใช้ความเข้มข้นน้ำตาลทรายน้อยที่สุดเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร สายใย



รูปที่ 30 เปรียบเทียบปริมาณ FOSชนิดเคสโตส ตลอดการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายตั้งต้นต่างๆ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส



รูปที่ 31 เปรียบเทียบปริมาณFOSชนิดนีสโตส ตลอดการเพาะเลี้ยง ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายตั้งต้นต่างๆ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30$\pm$2 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบปริมาณ FOSรวม อัตราการผลิต น้ำหนักสายใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลซูโครสที่ถูกใช้ Yp/x และ Yp/s ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตรวมสูงสุด เมื่อแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลทรายตั้งต้นต่างกัน

เปรียบเทียบ	ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายตั้งต้น (ก/ล)				
	100	150	200	250	300
FOSรวม (ก/ล)	**47.73**	**64.75**	**82.78**	**138.81**	**147.33**
เวลา (ชม.)	12	16	14	16	16
ร้อยละ FOSรวม(คิดจากน้ำตาลซูโครสตั้งต้น)	47.73	43.17	41.39	55.52	49.11
อัตราการผลิต (ก/ล/ชม.) *	3.98	4.05	5.91	8.68	9.21
Yp/x *	49.72	20.42	33.38	43.24	43.72
น้ำหนักสายใยแห้ง * (ก/ล)	0.96	3.17	2.48	3.21	3.37
ปริมาณซูโครสที่ถูกใช้ * (ก/ล)	77.08	138.22	185.25	211.35	263.95
ร้อยละของซูโครสที่ถูกใช้	77.08	92.15	92.62	84.54	87.98
Yp/s *	0.62	0.46	0.45	0.66	0.56

หมายเหตุ FOSรวม หมายถึง ปริมาณเคสโตสรวมกับนีสโตส ณ.ชั่วโมงเดียวกัน

เวลา หมายถึง เวลาที่ผลิต FOS ได้สูงสุด

* คิดจากชั่วโมงที่ให้ผลผลิต FOSรวม สูงสุด

มีประสิทธิภาพสูงสุดเท่ากับ 49.72 รองลงมาคือน้ำตาลทราย 250 และ 300 กรัมต่อลิตร สายใยมีประสิทธิภาพไล่เลี่ยกันคือ 43.24 และ 43.72 และการทดลองที่ใช้น้ำตาลทราย 200 และ 150 กรัมต่อลิตร สายใยมีประสิทธิภาพต่ำที่สุด

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสมีผลต่อการเติบโตและการผลิต FOS โดยน้ำตาลทรายตั้งต้น 250 กรัมต่อลิตร เป็นปริมาณที่มีความสมดุลระหว่างการผลิต การเติบโต การใช้น้ำตาล โดยให้ผลผลิต FOSรวม สูงคุ้มค่ากับปริมาณน้ำตาลซูโครสที่ใช้ไป คือมีอัตราการผลิต Yp/s และมีร้อยละการผลิต FOSรวม สูงที่สุดและมีการเติบโตที่พอเหมาะ ดังนั้นจึงเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์โดยมีน้ำตาลทรายตั้งต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ 250 กรัมต่อลิตร ในการทดลองขั้นต่อไป

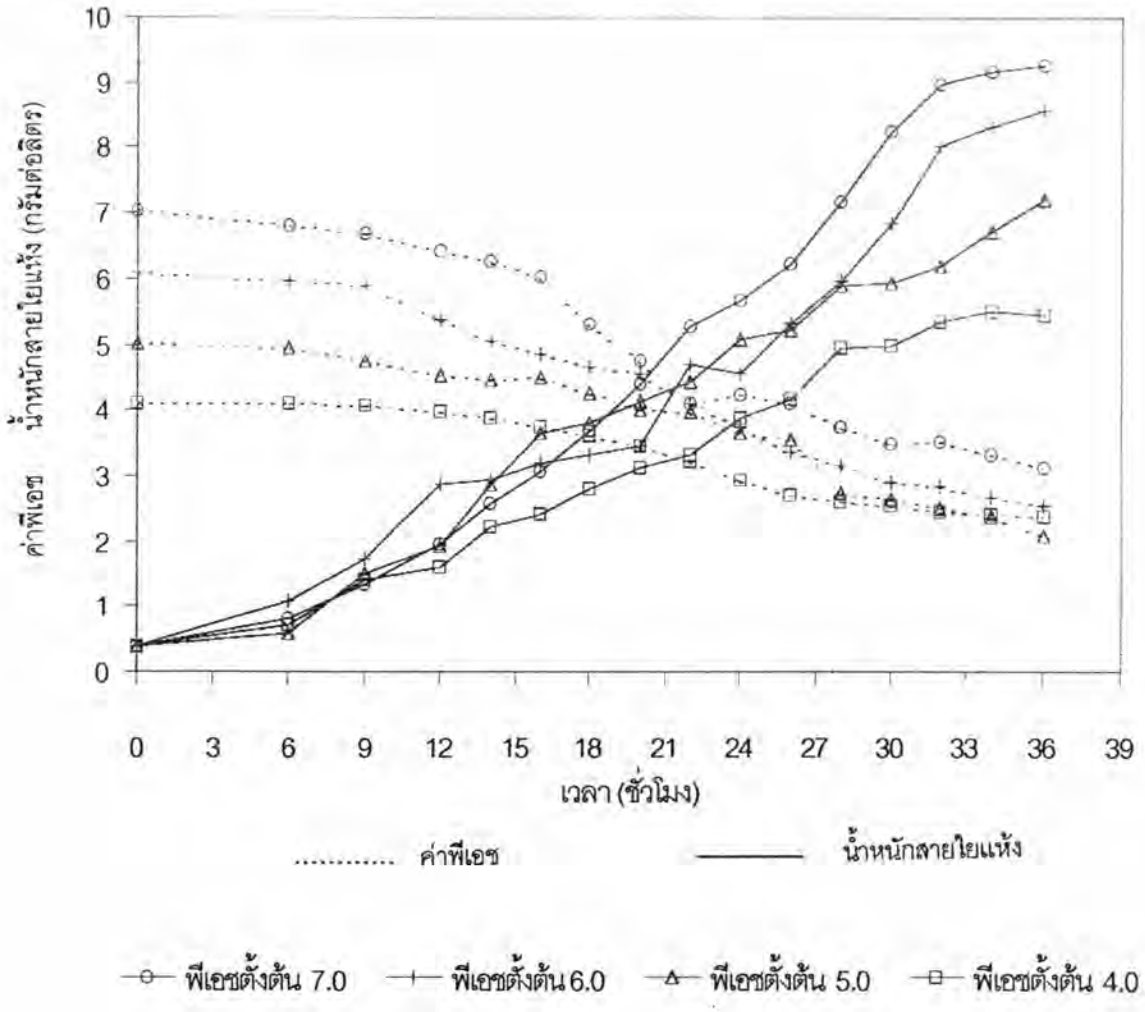
2.5 ผลของค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์

2.5.1 ผลของค่าพีเอชตั้งต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ

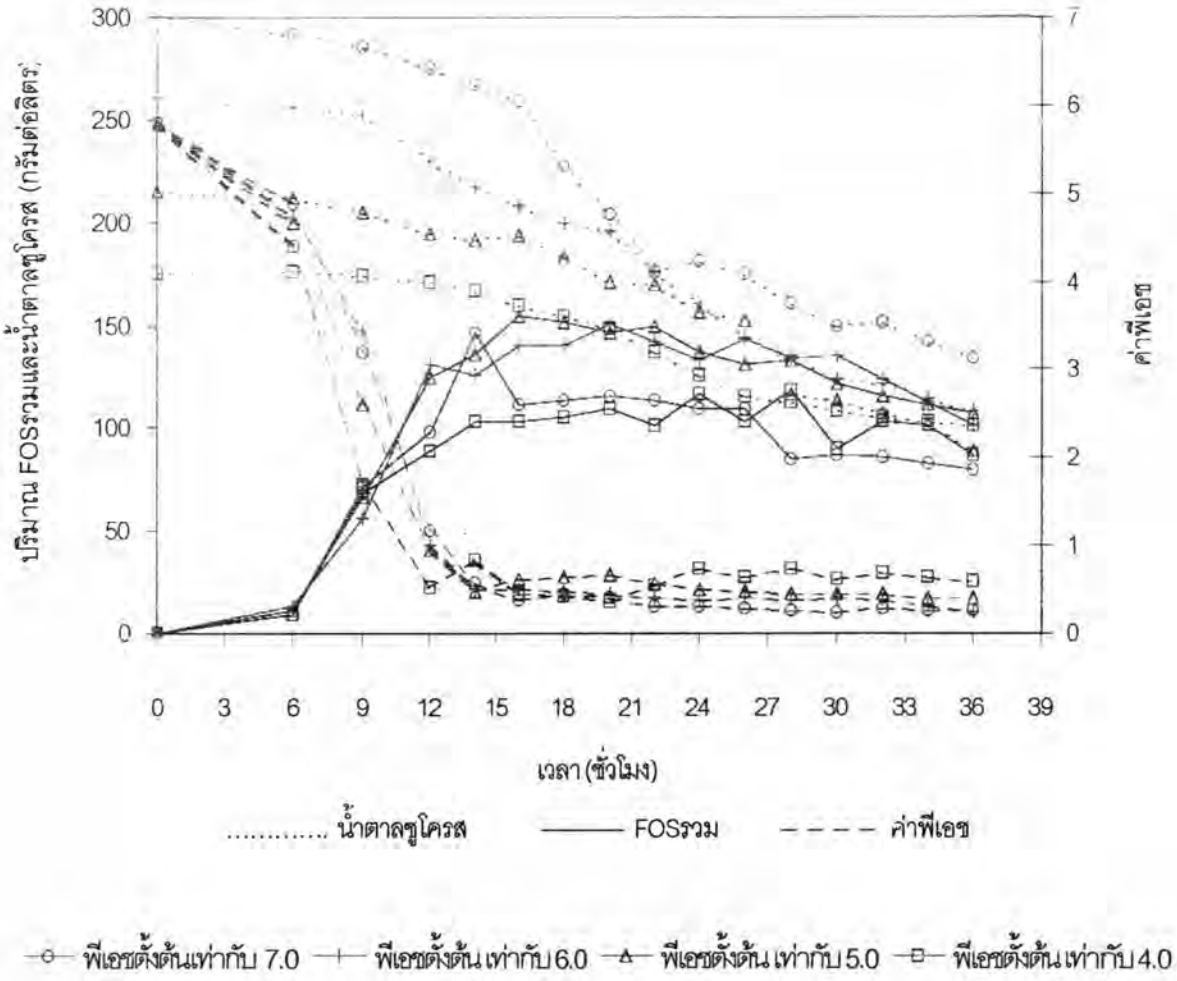
เมื่อแปรผันค่าพีเอชตั้งต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อต่างๆ กัน เท่ากับ 4.0 5.0 6.0 และ 7.0 พบว่าค่าพีเอชตั้งต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อทั้งการผลิตและการเติบโต สำหรับการเติบโต (รูปที่ 32) เมื่อมีค่าพีเอชตั้งต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อสูงขึ้น การเติบโตก็สูงตามไปด้วย แต่ในช่วง 18 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง การทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้น 5.0 6.0 และ 7.0 ให้เติบโตไล่เลี่ยกัน แต่หลังจากนั้นจึงให้การเติบโตแตกต่างกัน โดยการทดลองที่จัดค่าพีเอช 7.0 เติบโตดีที่สุดคือ 9.24 กรัมต่อลิตรเมื่อสิ้นสุดการทดลอง รองลงมาคือพีเอช 6.0 และ 5.0 ซึ่งให้น้ำหนักแห้งสายใยเท่ากับ 8.57 และ 7.21 กรัมต่อลิตรเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ตามลำดับ ส่วนการทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้น 4.0 ให้การเติบโตต่ำที่สุดคือ 5.45 กรัมต่อลิตรเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และพบว่าเมื่อค่าพีเอชตั้งต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อสูง ให้การเติบโตมาก มีการลดลงของค่าพีเอชเร็วกว่า กล่าวคือ การทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้น 7.0 ซึ่งมีการเติบโตมากที่สุด ค่าพีเอชลดลงเร็วที่สุด รองลงมาคือ พีเอช 6.0 ซึ่งให้การเติบโตรองลงมา แต่ยิ่งค่าพีเอชตั้งต้นต่ำๆ (พีเอช 4.0 และ 5.0) ซึ่งมีการเติบโตน้อย มีการลดลงของค่าพีเอชอย่างช้าๆ

เมื่อพิจารณาผลของพีเอชตั้งต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิต FOSรวม (รูปที่ 33) พบว่าการทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้นเท่ากับ 7.0 ซึ่งให้การเติบโตสูงที่สุด ไม่ได้ทำให้ผลผลิต FOSรวมสูงตาม โดยการทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้น 5.0 ผลิตFOSรวมเร็วและมากที่สุด เท่ากับ 154.44 กรัมต่อลิตรใน 16 ชั่วโมง รองลงมาคือพีเอชตั้งต้น 6.0 ผลิตFOSรวมได้เท่ากับ 150.51 กรัมต่อลิตรใน 20 ชั่วโมง พีเอชตั้งต้น 7.0 ซึ่งให้การเติบโตดีที่สุดแต่ผลิต FOSรวม ได้เพียง 146.29 กรัมต่อลิตรใน 14 ชั่วโมง และการทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้น 4.0 ซึ่งมีการเติบโตน้อยที่สุด ผลิต FOSรวม ได้น้อยและช้าที่สุดเท่ากับ 118.72 กรัมต่อลิตรใน 28 ชั่วโมง

จะเห็นได้ว่าค่าพีเอชตั้งต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อทั้งการเติบโตและการผลิต FOSรวม คือการเติบโตเกิดได้ดีที่พีเอช 7.0 แต่การผลิตเกิดได้ดีที่พีเอช 5.0 โดยใน 6 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง ค่าพีเอชไม่มีผลต่อการผลิต ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอยู่ในระยะที่สปอร์เพิ่งเริ่มงอก หลังจากนั้นพีเอชจึงมีผลต่อการผลิต คือการทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้น 4.0 ซึ่งให้การเติบโตต่ำที่สุด น่าจะมีปริมาณเอนไซม์ในการผลิตน้อย ผลิตFOSรวม น้อยและช้าที่สุด และอาจเนื่องจากค่าพีเอชนี้น่าจะไม่เหมาะต่อการผลิตด้วย นอกจากนี้ค่าพีเอชตั้งต้นเท่ากับ 7.0 ซึ่งให้การเติบโตดีที่สุดแต่มิได้ให้ผลผลิตสูงที่สุด นั่นคือ ผลผลิตFOSรวม นอกจากจะต้องมาจากการมีปริมาณเอนไซม์มากเพียงพอซึ่งเป็นผลมาจากการเติบโตแล้ว ยังต้องมาจากการทำงานอย่างมีประสิทธิภาพด้วย คือต้องมีค่าพีเอชที่เหมาะกับการทำงาน มิใช่อย่างใดอย่างหนึ่ง โดยการทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้ง-



รูปที่ 32 เปรียบเทียบค่าพีเอชและน้ำหนักสายใยแห้ง ตลอดการเพาะเลี้ยง ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชตั้งต้นต่างๆกัน บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส



รูปที่ 33 เปรียบเทียบปริมาณ FOSรวม น้ำตาลซูโครสและค่าพีเอช ตลอดการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชตั้งต้นต่างๆ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส

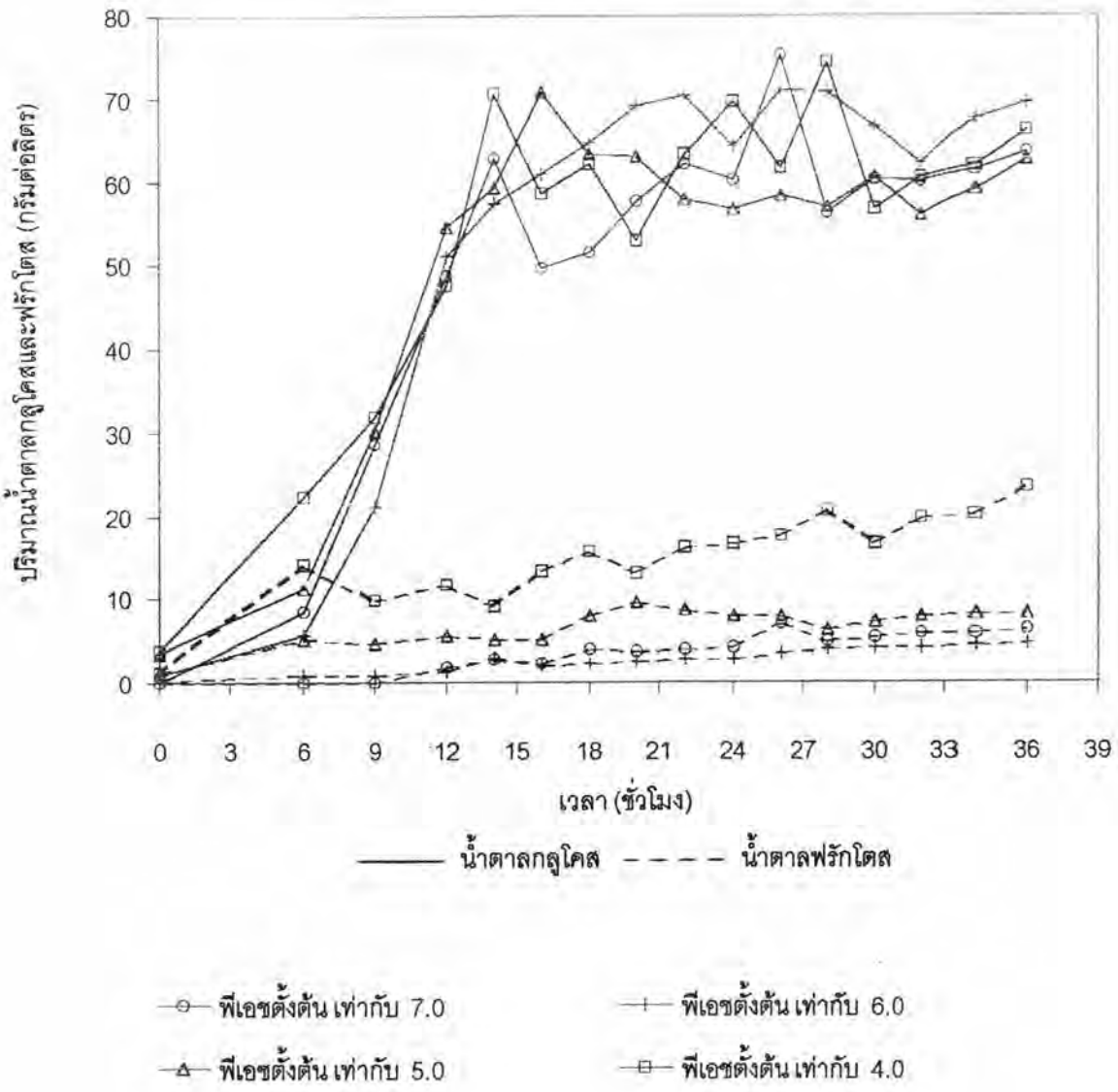
ต้น 5.0 และ 6.0 มีการเติบโตเพียงพอที่จะผลิตเอนไซม์ได้มากพอและเอนไซม์ในการผลิต FOS ยังทำงานได้ดี ทำให้ผลิต FOSรวม เร็วและสูงไล่เลี่ยกันดังกล่าวข้างต้น

สำหรับการใช้น้ำตาลซูโครส (รูปที่ 33) พบว่าการผลิตที่จัดค่าพีเอชตั้งต้นต่างกันในทุกการทดลอง มีการใช้น้ำตาลซูโครสไม่แตกต่างกันมากนัก คือ ในช่วง 6-14 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยงซึ่งเป็นช่วงที่มีการผลิต FOSรวม เร็วที่สุด หลังจากนั้นเหลือน้ำตาลซูโครสน้อยมากคือในช่วง 20-35 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามพบว่าการทดลองที่จัดค่าพีเอช 4.0 มีการลดลงของน้ำตาลซูโครสเร็วกว่าการทดลองอื่น ทั้งๆที่ค่าพีเอช 4.0 นี้มีการผลิตFOSรวมน้อยที่สุด แสดงว่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการสลายน้ำตาลซูโครสคือ 4.0 แต่พีเอชนี้ไม่เหมาะกับการทำงานของเอนไซม์ในการผลิตFOSรวม เพราะให้ผลผลิตต่ำ หรืออาจเป็นเพราะการที่สลายน้ำตาลซูโครสดี ทำให้เหลือน้ำตาลซูโครสที่ใช้เป็นสารตั้งต้นน้อย ถึงแม้ว่าจะมีน้ำตาลฟรักโตสมากก็ตามจะเห็นได้ว่าเหลือน้ำตาลฟรักโตสมาก (รูปที่ 34) จึงทำให้ผลผลิตต่ำ การทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้น 5.0 และ 6.0 มีความสมดุลของการทำงานของเอนไซม์ในการสลายน้ำตาลซูโครสและการผลิตมากที่สุด คือ สลายน้ำตาลซูโครสได้ดีพอเหมาะ มีน้ำตาลฟรักโตสเพื่อใช้ผลิตได้มากพอ ขณะเดียวกันก็ยังมีน้ำตาลซูโครสเหลือมากพอในการเป็นสารตั้งต้นในการผลิต ประกอบกับเอนไซม์ในการผลิต FOS ทำงานดีจึงช่วยส่งเสริมการผลิต แต่พีเอช 5.0 ให้ผลผลิตสูงและเร็วกว่าเล็กน้อย ส่วนการทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้น 7.0 มีความเหมาะสมในการผลิตรองลงมา

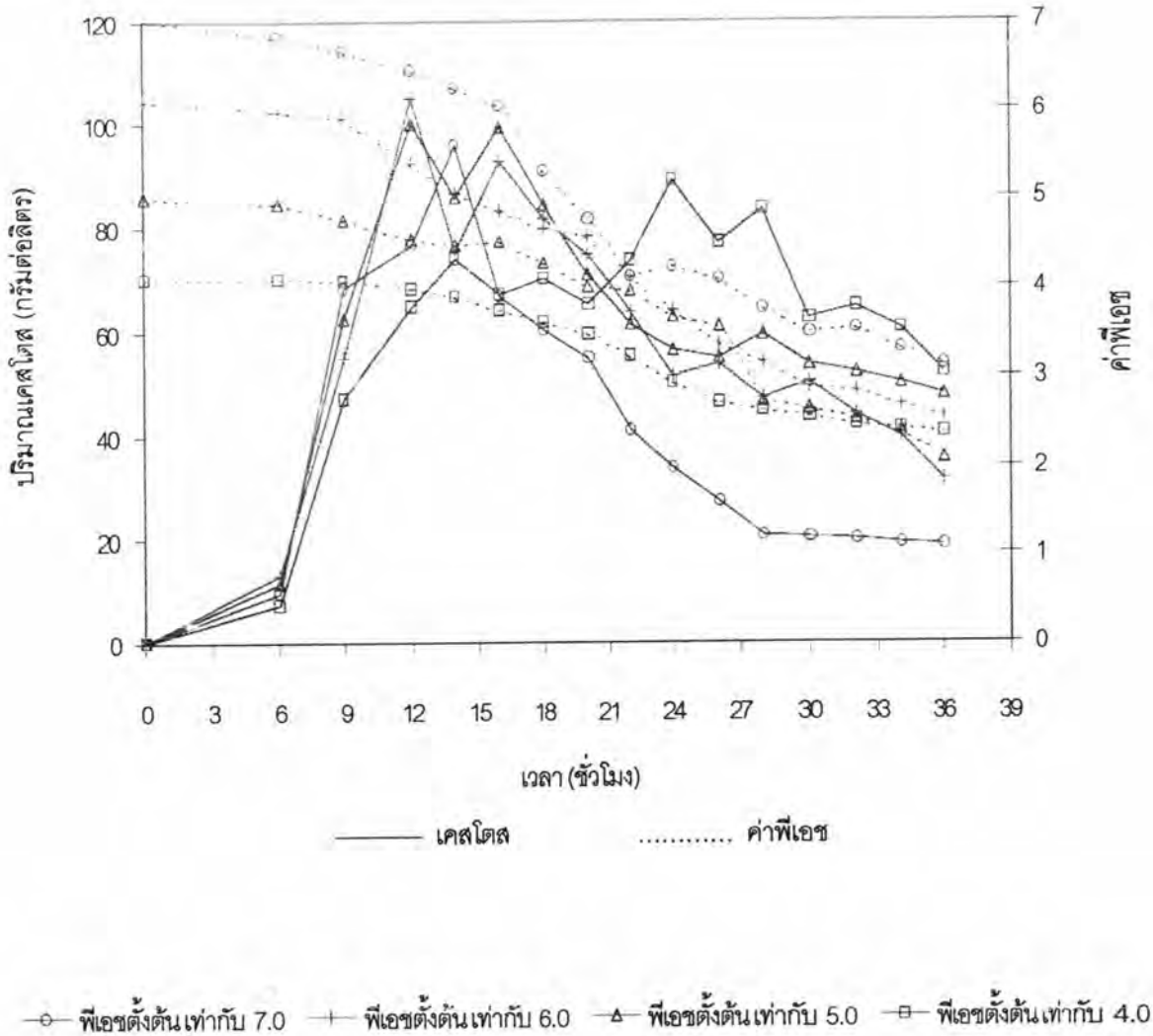
นอกจากนี้การผลิต FOSรวม การใช้น้ำตาลซูโครสสอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรักโตสที่ตรวจพบระหว่างการผลิต (รูปที่ 34) กล่าวคือการทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้น 4.0 สลายน้ำตาลซูโครสได้ดี แต่ผลิต FOSรวม น้อย ทำให้มีน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตสมากที่สุด รองลงมาคือพีเอชตั้งต้น 5.0 และ 6.0 ซึ่งสลายน้ำตาลซูโครสได้เหมาะสม ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตสจึงน้อยกว่าที่พีเอช 4.0 แต่ต่อมาปริมาณน้ำตาลกลูโคสเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีการผลิต FOSรวมมาก ทำให้มีน้ำตาลกลูโคสซึ่งเหลือจากผลิต FOS มาก

เมื่อพิจารณาผลของค่าพีเอชตั้งต้นที่มีต่อFOSแต่ละชนิด โดยพบว่าพีเอชตั้งต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อสูงหรือต่ำเกินไป (คือพีเอช 7.0 และ 4.0) ทำให้ผลิต FOSชนิดเคสโตสน้อยและใช้เวลานาน (รูปที่ 35) โดยการทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้น 6.0 ผลิตเคสโตสมากที่สุดเท่ากับ 104.97 กรัมต่อลิตรใน 12 ชั่วโมง (รูปที่ 37) รองลงมาคือพีเอชตั้งต้น 5.0 ผลิตได้ 100.13 กรัมต่อลิตรใน 12 ชั่วโมง พีเอชตั้งต้น 7.0 ผลิตเคสโตสเท่ากับ 95.85 กรัมต่อลิตรใน 14 ชั่วโมง ส่วนพีเอชตั้งต้น 4.0 ผลิตได้น้อยและช้าที่สุดเท่ากับ 88.8 กรัมต่อลิตร ใน 24 ชั่วโมง (รูปที่ 35 และ 37)

นอกจากนี้ยังพบว่าปัจจัยเรื่องปริมาณสารตั้งต้น (น้ำตาลซูโครส) ก็มีความสำคัญต่อการผลิตเคสโตสร่วมด้วยนอกเหนือจากค่าพีเอช คือ พบว่าในช่วงที่เคสโตสเริ่มลดลงคือหลังชั่วโมงที่ 12 ของการผลิต สำหรับการทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้นเท่ากับ 5.0 และ 6.0 และหลังจาก



รูปที่ 34 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตสตลอดการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชตั้งต้นต่างๆ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส



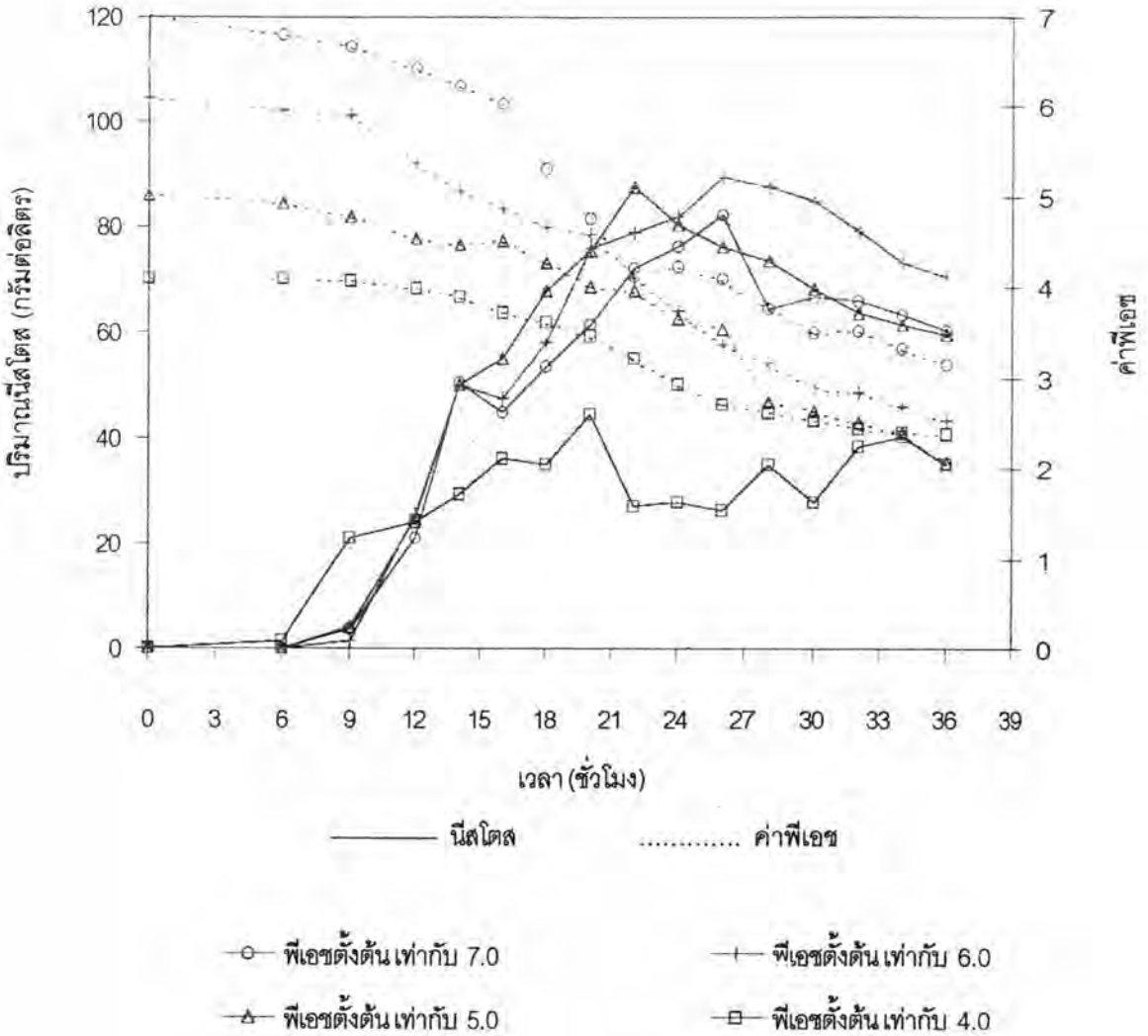
รูปที่ 35 เปรียบเทียบปริมาณเคสโตสและค่าพีเอช ตลอดการเพาะเลี้ยง ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชตั้งต้นต่างๆ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส

ชั่วโมงที่ 14 สำหรับการทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้นเท่ากับ 4.0 และ 7.0 เป็นช่วงที่น้ำตาลซูโครสถูกใช้ไปเกือบหมดแล้ว (รูปที่ 33) ดังนั้นจึงไม่สามารถผลิตเคสโตสได้มาก และการที่เคสโตสลดลงเนื่องจากขณะนั้น (ชั่วโมงที่ 12) มีการผลิตนีสโตสแล้ว เคสโตสจึงถูกนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตนีสโตส เพราะฉะนั้นจึงมีปัจจัยร่วมที่เกี่ยวข้องในการผลิตเคสโตสคือการผลิตนีสโตสและการที่น้ำตาลซูโครสเกือบหมด ดังนั้นจึงเห็นกราฟของเคสโตสลดลงอย่างรวดเร็วหลังชั่วโมงที่ 12 และ 14 ของการผลิตดังกล่าวข้างต้น สำหรับการผลิตนีสโตส (รูปที่ 36) พบว่าในทุกค่าพีเอชตั้งต้นเมื่อมีการผลิตเคสโตสมากก็จะผลิตนีสโตสมากด้วยเนื่องจากเคสโตสเป็นสารตั้งต้นในการผลิตนีสโตส โดยใน 14 ชั่วโมงแรก การทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้นในช่วง 5.0-7.0 ไม่มีผลให้ผลิตนีสโตสที่ต่างกัน แต่หลังจากนั้นการทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้น 5.0 ผลิตนีสโตสได้เร็วที่สุดคือ 22 ชั่วโมง ในปริมาณ 87.56 กรัมต่อลิตรซึ่งปริมาณไล่เลี่ยกับพีเอชตั้งต้น 6.0 คือ 89.56 กรัมต่อลิตร แต่ใช้เวลานานกว่าคือเท่ากับ 26 ชั่วโมง รองลงมาคือพีเอชตั้งต้น 7.0 ผลิตได้เท่ากับ 82.38 กรัมต่อลิตรใน 26 ชั่วโมงเนื่องจากมีปริมาณเคสโตสที่เป็นสารตั้งต้นน้อยกว่า (รูปที่ 35 36 และ 37) ส่วนการทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้น 4.0 ผลิตนีสโตสต่ำที่สุดคือ 44.36 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 20

เมื่อพิจารณาถึงอัตราการผลิต FOSรวม ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด (รูปที่ 37) พบว่า การทดลองที่จัดค่าพีเอชตั้งต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.0 และ 5.0 มีอัตราการผลิตสูงสุดไล่เลี่ยกัน คือมีอัตราการผลิตเท่ากับ คือ 10.45 และ 9.65 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ รองลงมาคือ พีเอช 6.0 และ 4.0 มีอัตราการผลิตเท่ากับ 7.52 และ 4.24 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ

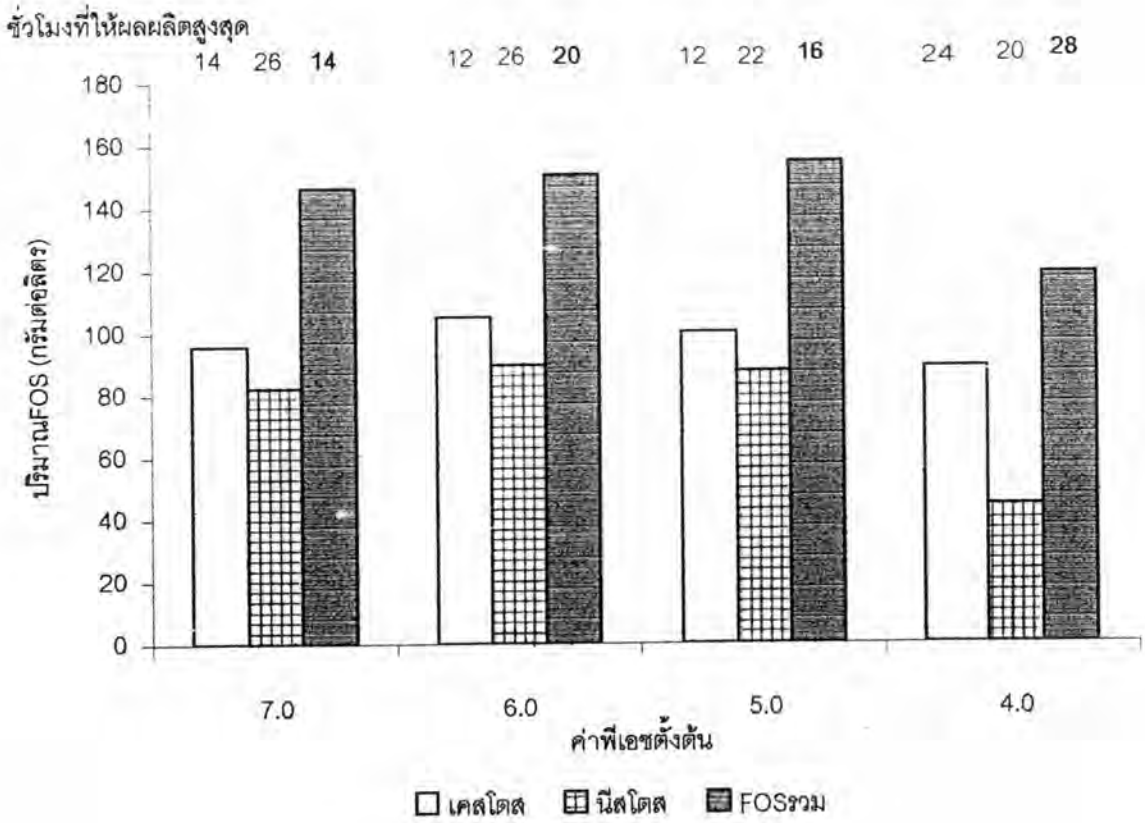
เมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพในการเปลี่ยนในการเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสไปเป็น FOSรวม (Yp/s) พบว่า เมื่อค่าพีเอชตั้งต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อสูง ในช่วง 5.0 - 7.0 มีค่า Yp/s ไล่เลี่ยกันในช่วง 0.65 - 0.70 (รูปที่ 37) แต่ค่าพีเอชตั้งต้น 5.0 มีค่า Yp/s สูงที่สุดเท่ากับ 0.7 รองลงมาคือพีเอช 7.0 และ 6.0 มีค่า Yp/s เท่ากันคือ 0.65 และพีเอช 4.0 มี Yp/s ต่ำที่สุดเท่ากับ 0.55 ส่วนประสิทธิภาพของสายใยในการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Yp/x) พบว่าค่าพีเอชตั้งต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อสูงขึ้น สายใยมีประสิทธิภาพดีขึ้น โดยที่พีเอช 7.0 ซึ่งเติบโตดีสายใยมีประสิทธิภาพในการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ได้ดีที่สุดเท่ากับ 56.92 รองลงมาคือ พีเอช 6.0 5.0 4.0 มีค่า Yp/x เท่ากับ 43.75 42.31 และ 24.03 ตามลำดับ (รูปที่ 37)

จากผลการทดลองดังกล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่าค่าพีเอชตั้งต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการเติบโตและการผลิต FOS โดยพีเอชตั้งต้น 5.0 มีความเหมาะสมที่สุดในการผลิต FOSรวม เพราะมีความสมดุลระหว่างการเติบโตและการทำงานของเอนไซม์จึงให้ผลผลิตรวมมากกว่าและเร็วกว่าที่พีเอชตั้งต้นอื่น รวมทั้งมีอัตราการผลิตและมีค่า Yp/s สูงที่สุด



รูปที่ 36 เปรียบเทียบปริมาณนีสโตสและค่าพีเอช ตลอดการเพาะเลี้ยง ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชตั้งต้นต่างๆ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส

อัตราการผลิต *(ก/ล/ชม.)	10.45	7.52	9.65	4.24
น้ำหนักสายใยแห้ง (ก/ล) *	2.57	3.44	3.65	4.94
Yp/x *	56.92	43.75	42.31	24.03
Yp/s *	0.65	0.65	0.70	0.55



หมายเหตุ * คิดจากชั่วโมงที่ให้ผลผลิต FOSรวม สูงสุด

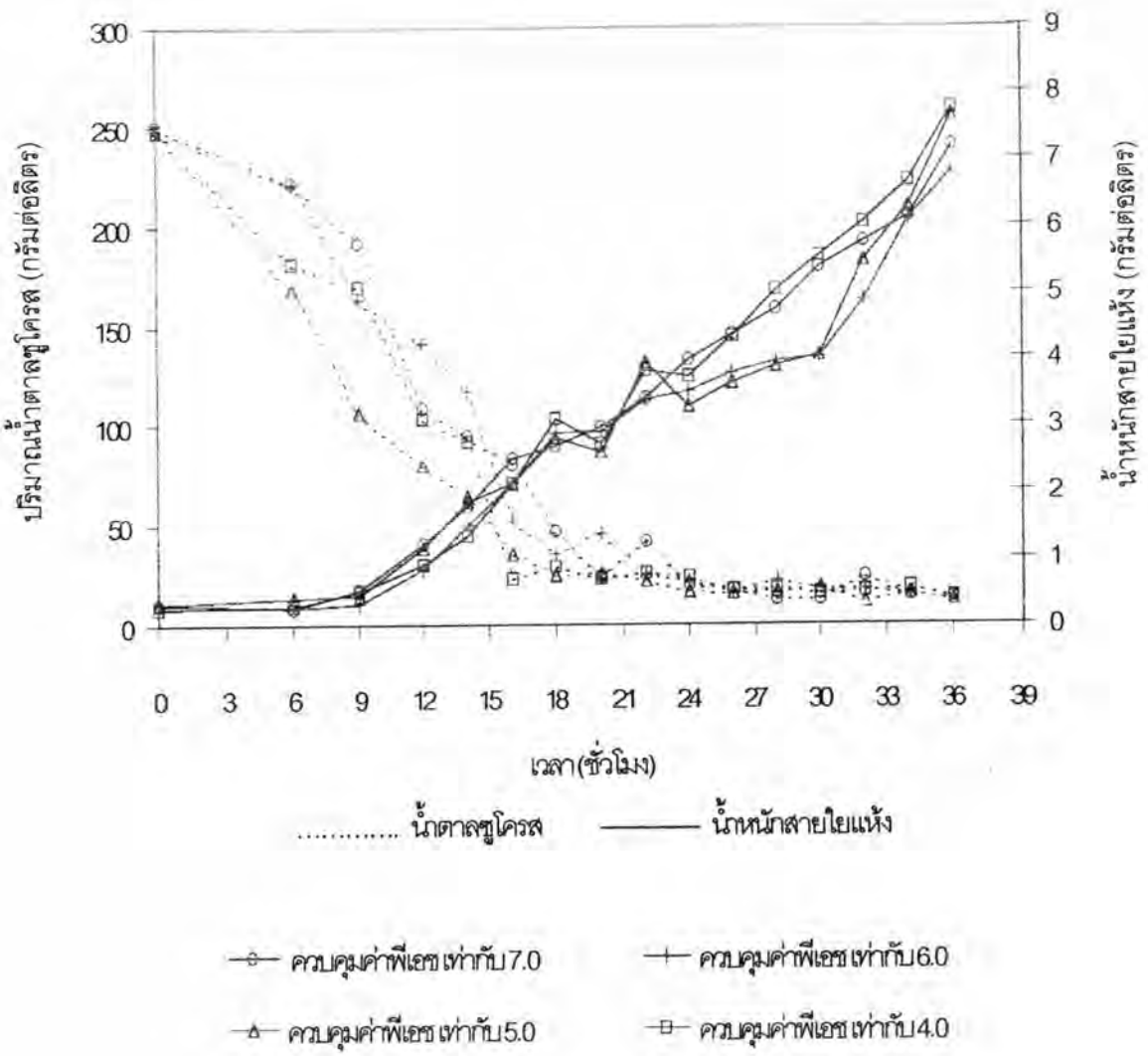
รูปที่ 37 เปรียบเทียบปริมาณ FOS อัตราการผลิต น้ำหนักสายใยแห้ง Yp/x และ Yp/s ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp. H12 ในอาหารเหลวที่มีค่า พีเอชตั้งต้นต่างๆ กัน

2.5.2 ผลของการควบคุมค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการเพาะเลี้ยง

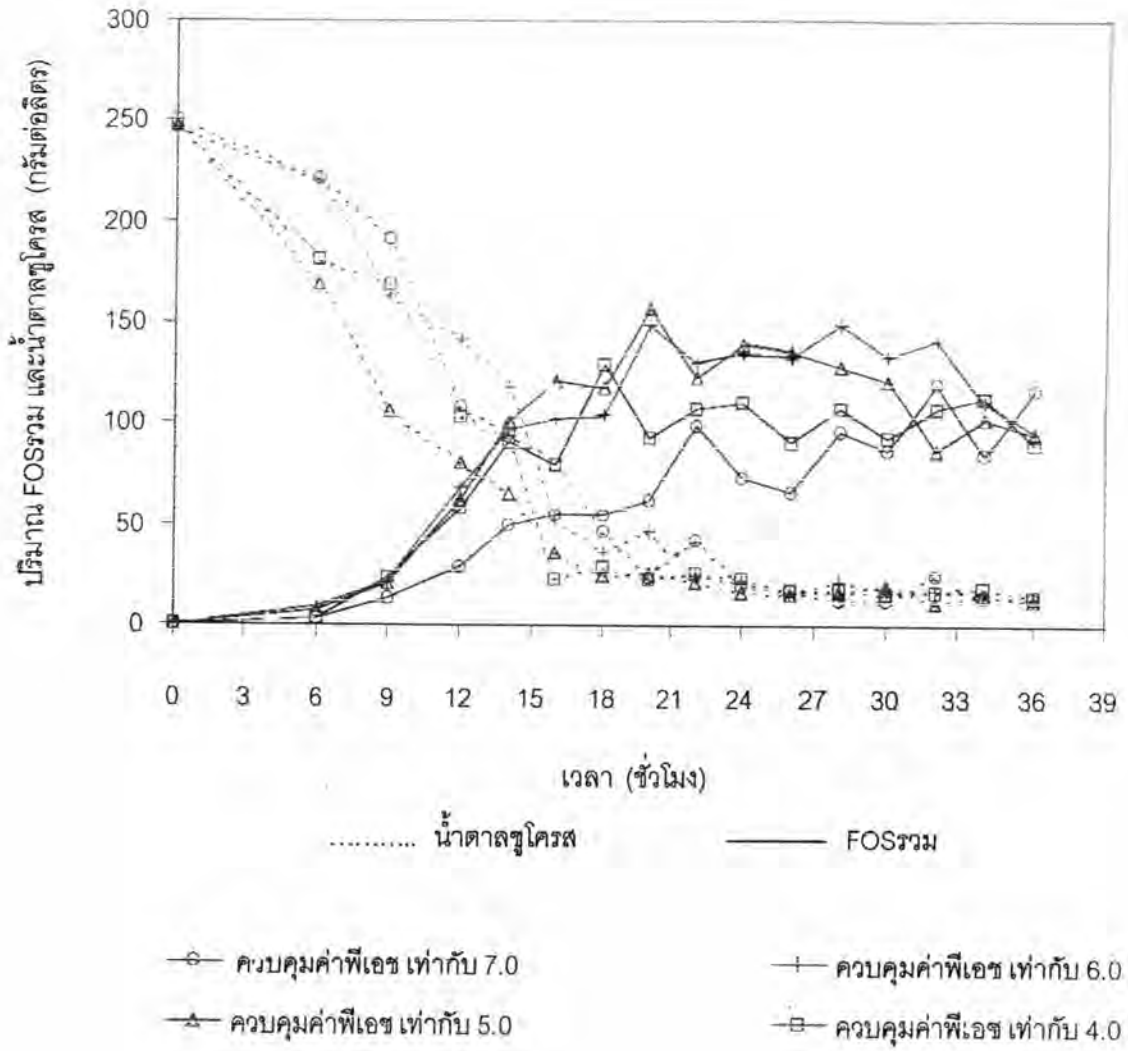
เมื่อเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp.H12 เพื่อผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ โดยควบคุมค่าพีเอชอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองต่างๆ กัน คือ พีเอช 4.0 5.0 6.0 7.0 พบว่าทุกการทดลองที่ควบคุมค่าพีเอช ให้การเติบโตไล่เลี่ยกัน (รูปที่ 38) แต่อย่างไรก็ตามในช่วง 24 -34 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง การทดลองที่ควบคุมค่าพีเอช 5.0 และ 6.0 ให้การเติบโตต่ำกว่าการควบคุมค่าพีเอช 4.0 และ 7.0 เล็กน้อย และเมื่อพิจารณาการใช้น้ำตาลซูโครส จะเห็นได้ว่าในช่วง 18 ชั่วโมงแรก การใช้น้ำตาลซูโครสเป็นไปอย่างรวดเร็ว โดยมีการลดลงแตกต่างกันในช่วงประมาณ 18 ชั่วโมงแรกซึ่งทำให้เหลือน้ำตาลซูโครสน้อยมากในทุกการทดลอง คือในช่วง 25 - 46 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นคงค่าตลอดการทดลอง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าค่าพีเอชน่าจะมีผลต่อการย่อยสลายน้ำตาลซูโครสและ/หรือต่อการนำน้ำตาลซูโครสไปใช้เพื่อการผลิต FOS ด้วย โดยข้อมูลแสดงให้เห็นในช่วง 18 ชั่วโมงแรกว่าการทดลองที่ควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 5.0 น้ำตาลซูโครสลดลงรวดเร็วที่สุด

ดังนั้นจึงมาพิจารณาผลของการควบคุมค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิต FOSรวม (รูปที่ 39) โดยพบว่าการควบคุมค่าพีเอชสูง (พีเอช 7.0) หรือต่ำ (พีเอช 4.0) เกินไป ทำให้ผลผลิตน้อย โดยการทดลองที่ควบคุมพีเอช 5.0 ผลิต FOSรวม มากที่สุดเท่ากับ 157.44 กรัมต่อลิตรใน 20 ชั่วโมง รองลงมาคือพีเอช 6.0 ผลิตได้ 149.09 กรัมต่อลิตร โดยใช้เวลาในการผลิตเท่ากับพีเอช 5.0 คือ 20 ชั่วโมง พีเอช 4.0 ผลิตได้น้อยแต่ใช้ระยะเวลาสั้นกว่าพีเอช 6.0 เล็กน้อย คือ 129.04 กรัมต่อลิตร ใน 18 ชั่วโมง และพีเอช 7.0 ซึ่งผลิตFOSรวมน้อยและช้าที่สุดเท่ากับ 120.26 กรัมต่อลิตรใน 32 ชั่วโมง ดังนั้นการควบคุมค่าพีเอชมีผลต่อการผลิต FOSรวม นั่นคือมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ฟรักโตซิลทรานเฟอเรส (FT) คือ ช่วง 14 ชั่วโมงแรก การทดลองที่ควบคุมค่าพีเอช 4.0-6.0 ให้ผลผลิต FOSรวม ไล่เลี่ยกัน แต่หลังจาก 14 ชั่วโมงการทดลองที่ควบคุมค่าพีเอช 5.0 ซึ่งเป็นค่าพีเอชที่มีการสลายน้ำตาลซูโครสได้ดีที่สุด เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ในการผลิต FOS มากที่สุดด้วย จึงให้ผลผลิตสูงที่สุดดังกล่าวข้างต้น รองลงมาคือพีเอช 6.0 จึงให้ผลผลิตรองลงมา ส่วนพีเอช 4.0 และ 7.0 ให้ผลผลิต FOSรวม ต่ำ ดังกล่าวข้างต้น

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าการควบคุมค่าพีเอชมีผลต่อทั้งการทำงานของเอนไซม์ในการผลิต FOS และการสลายน้ำตาลซูโครส เนื่องจากการผลิต FOS ต้องใช้ทั้งน้ำตาลซูโครสและน้ำตาลฟรักโตส ดังนั้นการจะให้ผลผลิตสูงต้องนำน้ำตาลฟรักโตสเข้ามาเชื่อมกับน้ำตาลซูโครสได้มากและต้องมีการสลายน้ำตาลซูโครสได้มากด้วยจึงจะมีน้ำตาลฟรักโตสมาใช้



รูปที่ 38 เปรียบเทียบน้ำหนักสายใยแห้งและปริมาณน้ำตาลซูโครส ตลอดการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่ควบคุมค่าพีเอชตลอดการทดลองต่างๆกัน บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส

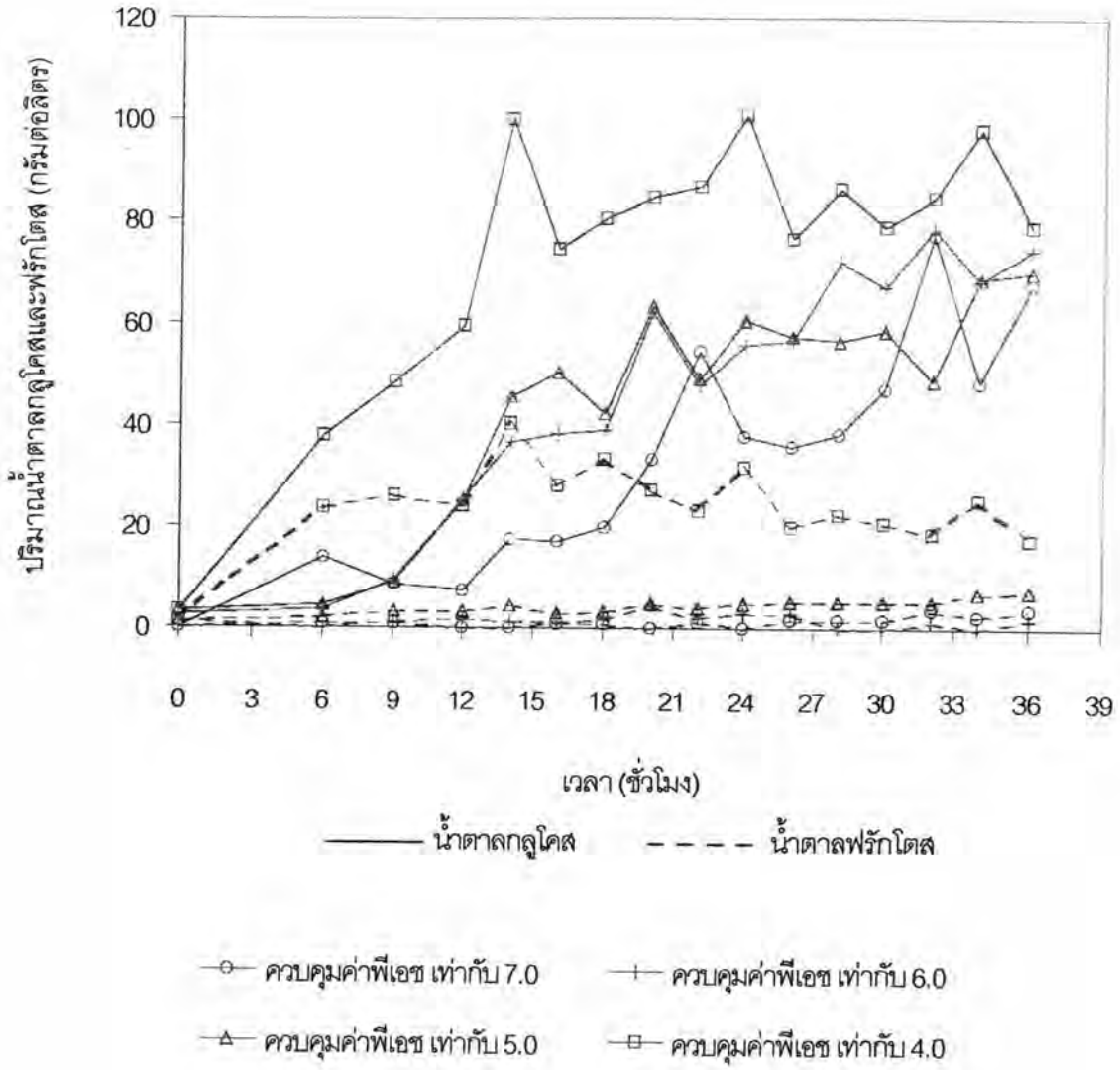


รูปที่ 39 เปรียบเทียบปริมาณ FOSรวม และน้ำตาลซูโครส ตลอดการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่ควบคุมค่าพีเอชตลอดการทดลองต่างๆกัน บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส

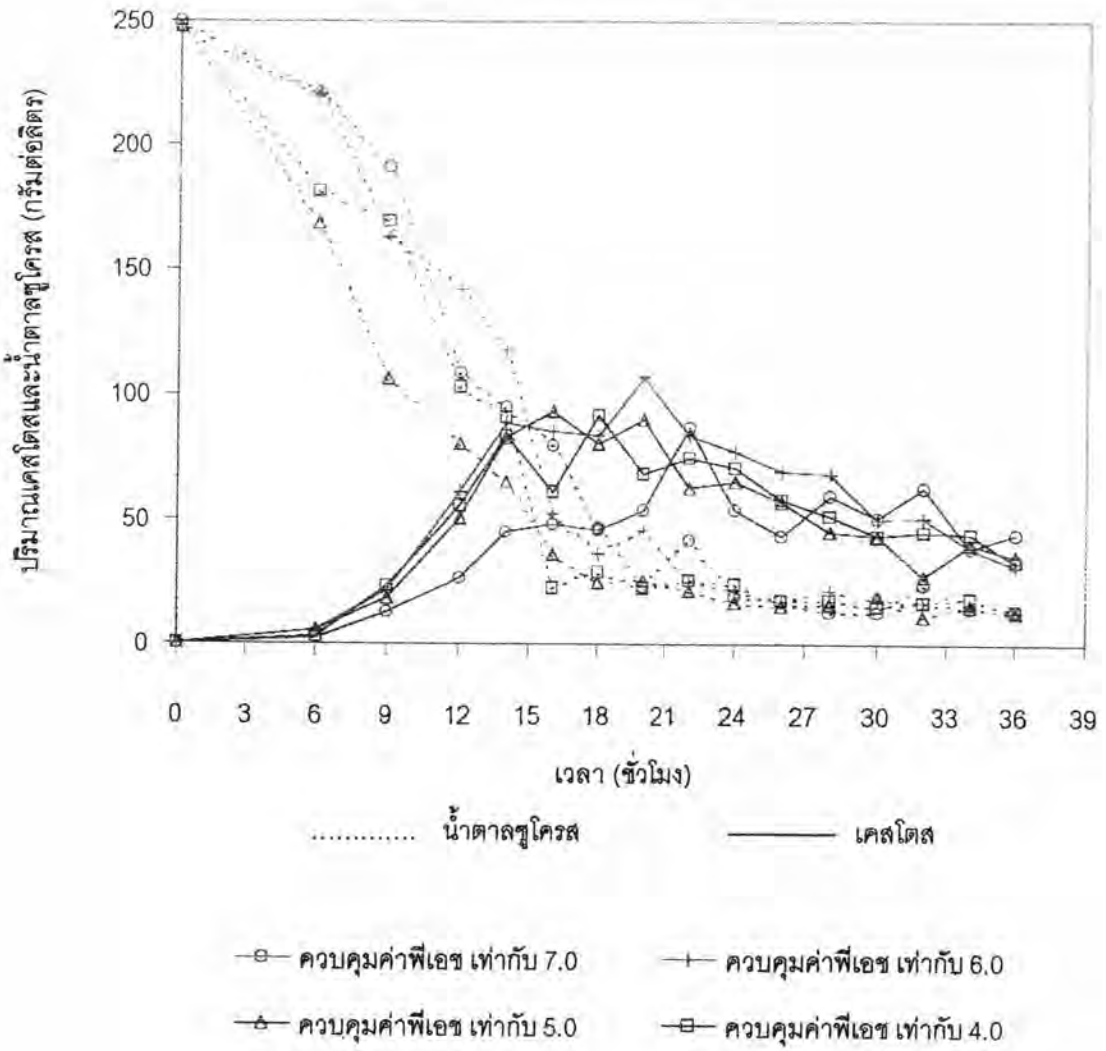
ในการผลิตมาก ผลการทดลองพบว่า การทดลองที่ควบคุมค่าพีเอช 5.0 มีน้ำตาลซูโครสลดลงเร็วที่สุด รองลงมาคือพีเอช 4.0 6.0 และ 7.0 ตามลำดับ (รูปที่ 39) ซึ่งสอดคล้องกับการผลิต FOS รวม คือพีเอช 5.0 นำน้ำตาลซูโครสไปใช้ในการผลิต FOSรวม มากที่สุด และน่าจะเป็นค่าพีเอชที่สลายน้ำตาลซูโครสได้ดีด้วย แต่เมื่อพิจารณาปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตส (รูปที่ 40) พบว่าการทดลองที่ควบคุมค่าพีเอช 4.0 มีน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตสเหลือมากที่สุด และให้ผลผลิต FOSรวมต่ำ แสดงว่าพีเอช 4.0 นี้เป็นพีเอชที่เหมาะสมต่อการสลายน้ำตาลซูโครส แต่ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ในการผลิต FOSรวม จึงให้ผลผลิตต่ำ พีเอช 5.0 ก็สลายน้ำตาลซูโครสได้ดีและเหมาะสมต่อการผลิต FOSรวม มากที่สุดด้วย กล่าวคือ สลายน้ำตาลซูโครสได้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรักโตสปริมาณหนึ่ง จึงมีน้ำตาลฟรักโตสไปเชื่อมกับน้ำตาลซูโครสเพื่อผลิต FOS และขณะเดียวกันยังมีน้ำตาลซูโครสเหลืออยู่มากพอที่จะเป็นสารตั้งต้นในการผลิตประกอบกับเอนไซม์ในการผลิต FOS ทำงานได้ดี จึงให้ผลผลิตมากที่สุด น้ำตาลซูโครสถูกใช้มากที่สุด พีเอช 6.0 สลายน้ำตาลซูโครสได้พอสมควรแต่เอนไซม์ในการผลิต FOS ยังทำงานได้ดีอยู่ กล่าวคือมีน้ำตาล ฟรักโตสในการผลิตน้อยลง จึงทำให้ผลิต FOSรวม ต่ำกว่าพีเอช 5.0 และพีเอช 7.0 สลายน้ำตาลซูโครสได้น้อยที่สุดประกอบกับเอนไซม์ในการผลิต FOS ทำงานไม่ดีจึงทำให้ผลผลิตต่ำและใช้ระยะเวลานานที่สุด

จะเห็นได้ว่าค่าพีเอชมีผลต่อการผลิต FOSรวม โดยที่พีเอช 5.0 มีความสมดุลของการทำงานของเอนไซม์สองชนิดคือเอนไซม์ที่สลายน้ำตาลซูโครส (อินเวอเทส) และเอนไซม์ในการผลิต FOS (ฟรักโตซิลทรานเฟอเรส) จึงผลิต FOSรวม ได้มากและเร็วที่สุด

ต่อมาจึงมาพิจารณาผลของการควบคุมค่าพีเอชว่ามีผลต่อการผลิต FOS แต่ละชนิดอย่างไร ผลการทดลองพบว่า การควบคุมค่าพีเอชสูงหรือต่ำกว่า 6.0 ผลิตเคสโตสน้อย (รูปที่ 41) กล่าวคือ การทดลองที่ควบคุมค่าพีเอช 6.0 ผลิตเคสโตสได้มากที่สุดเท่ากับ 106.92 กรัมต่อลิตรใน 20 ชั่วโมง รองลงมาคือพีเอช 5.0 ผลิตได้น้อยลงแต่ใช้ระยะเวลาเร็วขึ้นเท่ากับ 93.26 กรัมต่อลิตรใน 16 ชั่วโมง พีเอช 4.0 ผลิตได้ 92.05 กรัมต่อลิตรใน 18 ชั่วโมง ส่วนการทดลองที่ควบคุมค่าพีเอช 7.0 ผลิตเคสโตสได้น้อยและช้าที่สุดเท่ากับ 86.78 กรัมต่อลิตรใน 22 ชั่วโมง (รูปที่ 41 และ 43) และหลังจากผลิตได้สูงสุดแล้วปริมาณเคสโตสลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะเห็นได้ว่าเป็นช่วงที่น้ำตาลซูโครสเหลือในระบบน้อยมาก ในช่วง 29 - 46 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 41) และเป็นช่วงที่มีการผลิตนีสโตสแล้ว ดังนั้นการที่เคสโตสลดลงอาจเนื่องจากถูกใช้ไปในการผลิตนีสโตส



รูปที่ 40 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตส ตลอดการเพาะเลี้ยง ในอาหารเหลวที่ควบคุมค่าพีเอชตลอดการทดลองต่างๆกัน บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส



รูปที่ 41 เปรียบเทียบปริมาณเคสโตสและน้ำตาลซูโครส ตลอดการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่ควบคุมค่าพีเอชตลอดการทดลองต่างๆกัน บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส

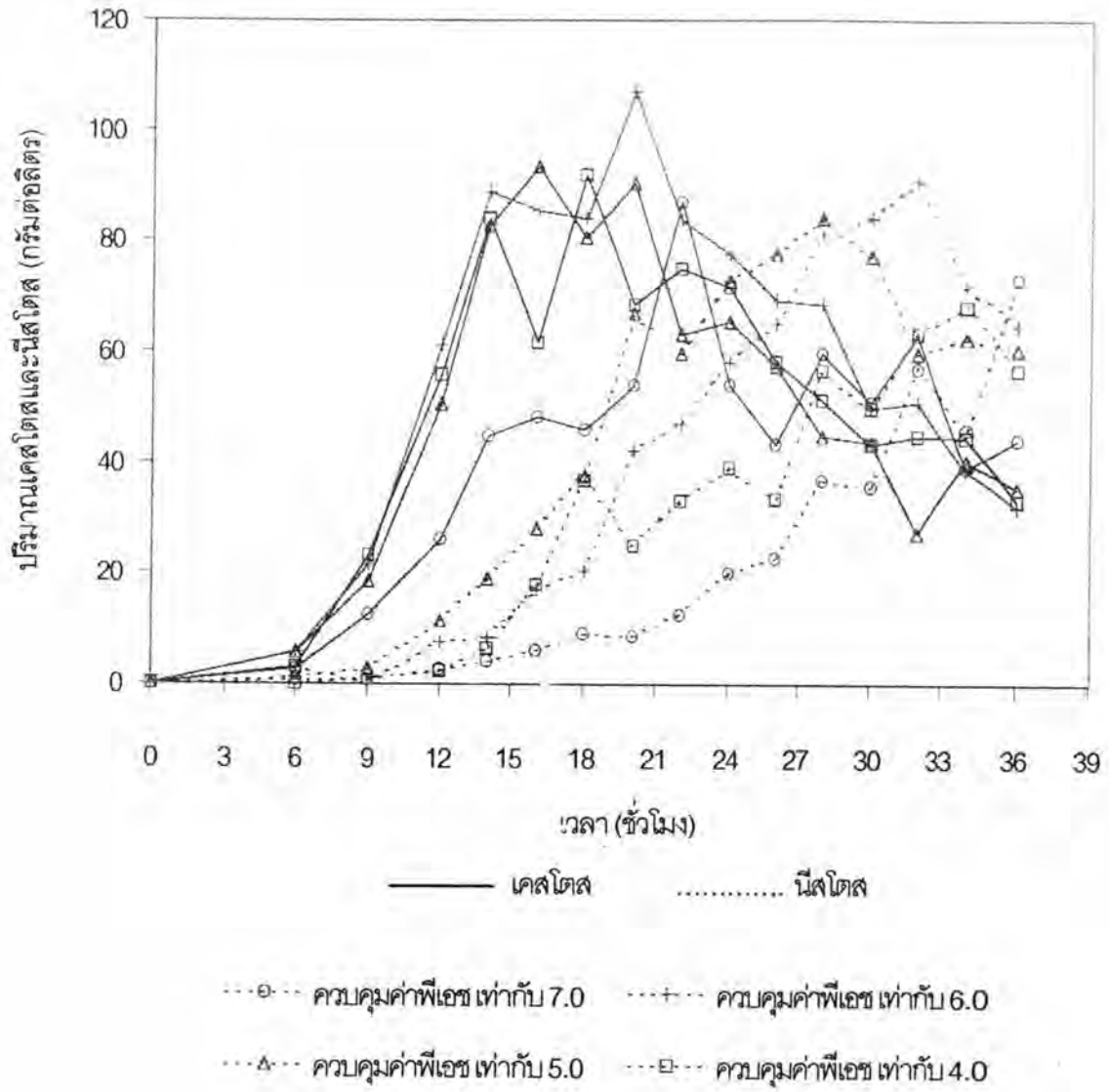
และเกือบไม่มีการผลิตเคสโตสเพิ่มขึ้นหรือผลิตน้อยมาก เนื่องจากน้ำตาลซูโครสหมดลง สำหรับการผลิตนีสโตส (รูปที่ 42) พบว่านีสโตสมีปริมาณต่ำกว่าเคสโตสในทุกค่าพีเอช และพีเอชไหนที่ผลิตเคสโตสได้เร็ว การผลิตนีสโตสก็จะเร็วตามด้วย และถ้าผลิตเคสโตสได้มากปริมาณนีสโตสย่อมมากตาม เนื่องจากเคสโตสเป็นสารตั้งต้นในการผลิตนีสโตส โดยพีเอช 6.0 ผลิตนีสโตสมากที่สุดเท่ากับ 90.73 กรัมต่อลิตรใน 32 ชั่วโมง รองลงมาคือพีเอช 5.0 ผลิตได้เท่ากับ 83.76 กรัมต่อลิตร ใน 28 ชั่วโมง พีเอช 7.0 ผลิตนีสโตสช้ามาก แม้เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (36 ชั่วโมง) แล้วปริมาณนีสโตสก็ยังไม่ลดลง โดยผลิตได้เท่ากับ 72.86 กรัมต่อลิตร พีเอช 4.0 ผลิตนีสโตสได้น้อยที่สุดเท่ากับ 67.88 กรัมต่อลิตร ใน 34 ชั่วโมง (รูปที่ 42 และ 43)

จะเห็นได้ว่าการควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ทำให้มีการผลิตเคสโตสและนีสโตสได้ช้าที่สุด ซึ่งน่าจะเนื่องจากทั้งเอนไซม์อินเวอเทสและฟรักโตซิลทรานเฟอเรสทำงานได้ไม่ดีทั้งคู่ พีเอช 6.0 และพีเอช 5.0 มีความสมดุลในการทำงานของเอนไซม์ลองชนิดได้ดี แต่พีเอช 6.0 ผลิตเคสโตสและนีสโตสได้มากที่สุด ส่วนพีเอช 5.0 ผลิตเคสโตสและนีสโตสได้เร็วที่สุดแต่มีปริมาณของเคสโตสและนีสโตสต่ำกว่าพีเอช 6.0 เล็กน้อย ส่วนพีเอช 4.0 เอนไซม์อินเวอเทสทำงานได้ดี แต่เอนไซม์ ฟรักโตซิลทรานเฟอเรสทำงานไม่ดี ทำให้ผลิตเคสโตสและนีสโตสได้น้อย และถึงแม้ว่าจะควบคุมค่าพีเอชตลอดการทดลองแต่หลังจากผลิตนีสโตสได้สูงสุดแล้วมีปริมาณลดลง อาจเนื่องจากถูกใช้ในการผลิต FOS ชนิดที่สาม คือ FOS ชนิดฟรักโตฟิวแรนโนซิลนีสโตส ซึ่งมิได้ตรวจปริมาณในงานวิจัยนี้ ดังเหตุผลที่กล่าวข้างต้น

สำหรับอัตราการผลิต FOSรวม ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด (รูปที่ 43) พบว่า การทดลองที่ควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 5.0 ซึ่งให้ผลผลิตสูงที่สุด มีอัตราการผลิตสูงสุดด้วย คือ 7.87 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง รองลงมาคือ พีเอช 6.0 4.0 และ 7.0 ซึ่งมีอัตราการผลิตเท่ากับ 7.45 7.17 และ 3.76 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ

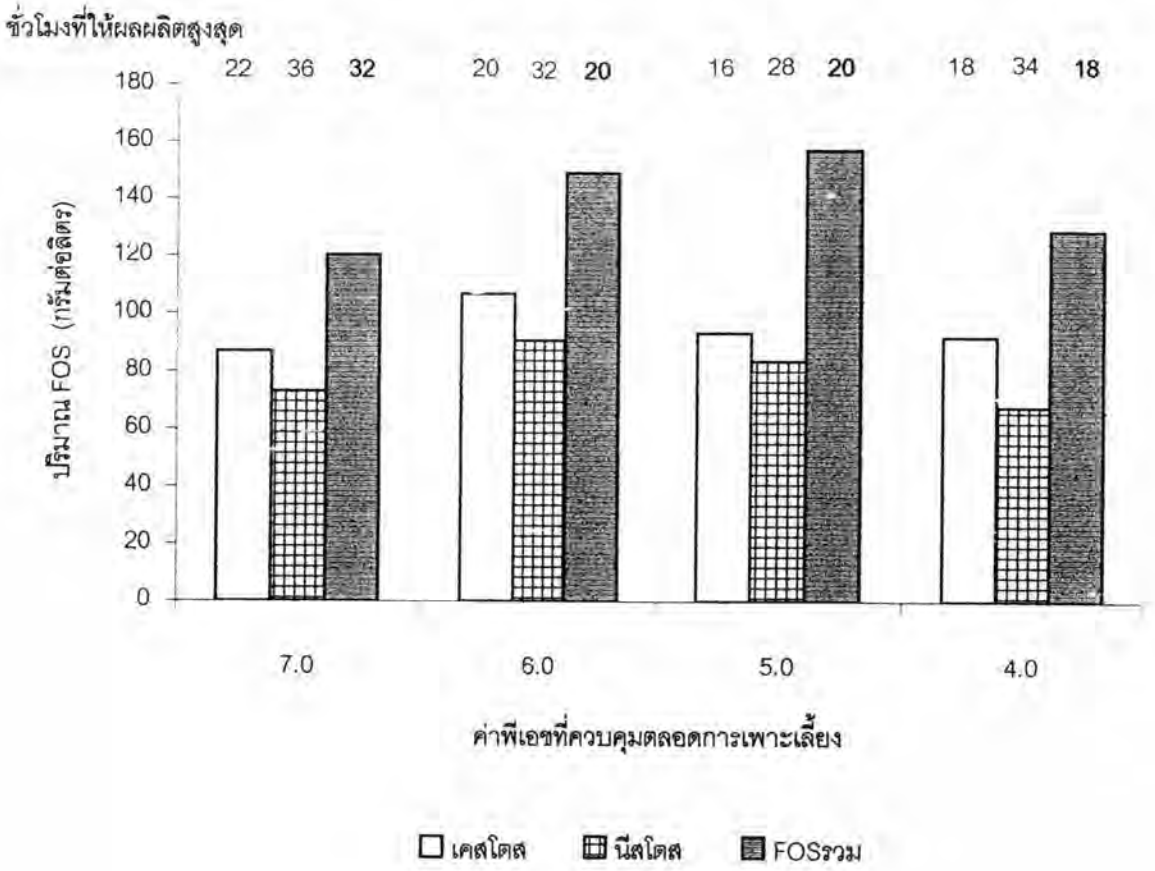
เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสไปเป็น FOSรวม (Yp/s) พบว่า การควบคุมค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อสูง (พีเอช 7.0) หรือต่ำ (พีเอช 4.0) เกินไป มีค่า Yp/s ต่ำ โดยพีเอช 6.0 และ 5.0 มีค่า Yp/s สูงที่สุดไล่เลี่ยกันเท่ากับ 0.74 และ 0.71 ตามลำดับ ส่วนพีเอช 4.0 และ 7.0 ซึ่งมีค่า Yp/s ต่ำไล่เลี่ยกัน คือ 0.59 และ 0.53 ตามลำดับ (รูปที่ 43)

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของสายใยในการผลิต FOSรวม (Yp/x) พบว่า การทดลองที่ควบคุมค่าพีเอชสูง (พีเอช 7.0) หรือต่ำ (พีเอช 4.0) ซึ่งผลิต FOS น้อยกว่า สายใยมี



รูปที่ 42 เปรียบเทียบปริมาณเคสโตสและนีสโตส ตลอดการเพาะเลี้ยง ในอาหารเหลวที่มีการควบคุมค่าพีเอชตลอดการทดลองต่างๆ กัน บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส

อัตราการผลิต *(ก/ล/ชม.)	3.76	7.45	7.87	7.17
น้ำหนักสายใยแห้ง * (ก/ล)	5.73	2.91	2.61	3.12
Yp/x *	20.99	51.23	60.32	41.36
Yp/s *	0.53	0.74	0.71	0.59



หมายเหตุ * คิดจากชั่วโมงที่ให้ผลผลิต FOSรวม สูงสุด

รูปที่ 43 เปรียบเทียบปริมาณ FOS อัตราการผลิต น้ำหนักสายใยแห้ง Yp/x และ Yp/s ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp.H12 ในอาหารเหลวที่ควบคุมค่าพีเอชต่างๆ กัน

ประสิทธิภาพน้อยลงด้วย คือ 20.99 และ 41.36 ตามลำดับ การทดลองที่ควบคุมค่าพีเอช 5.0 ซึ่งผลิต FOS มากที่สุดและมีอัตราการผลิตสูงสุด สายใยมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการผลิต FOS รวม คือ 60.32 รองลงมาคือ พีเอช 6.0 ซึ่งมีค่า Yp/x เท่ากับ 51.23 ดังรูปที่ 43

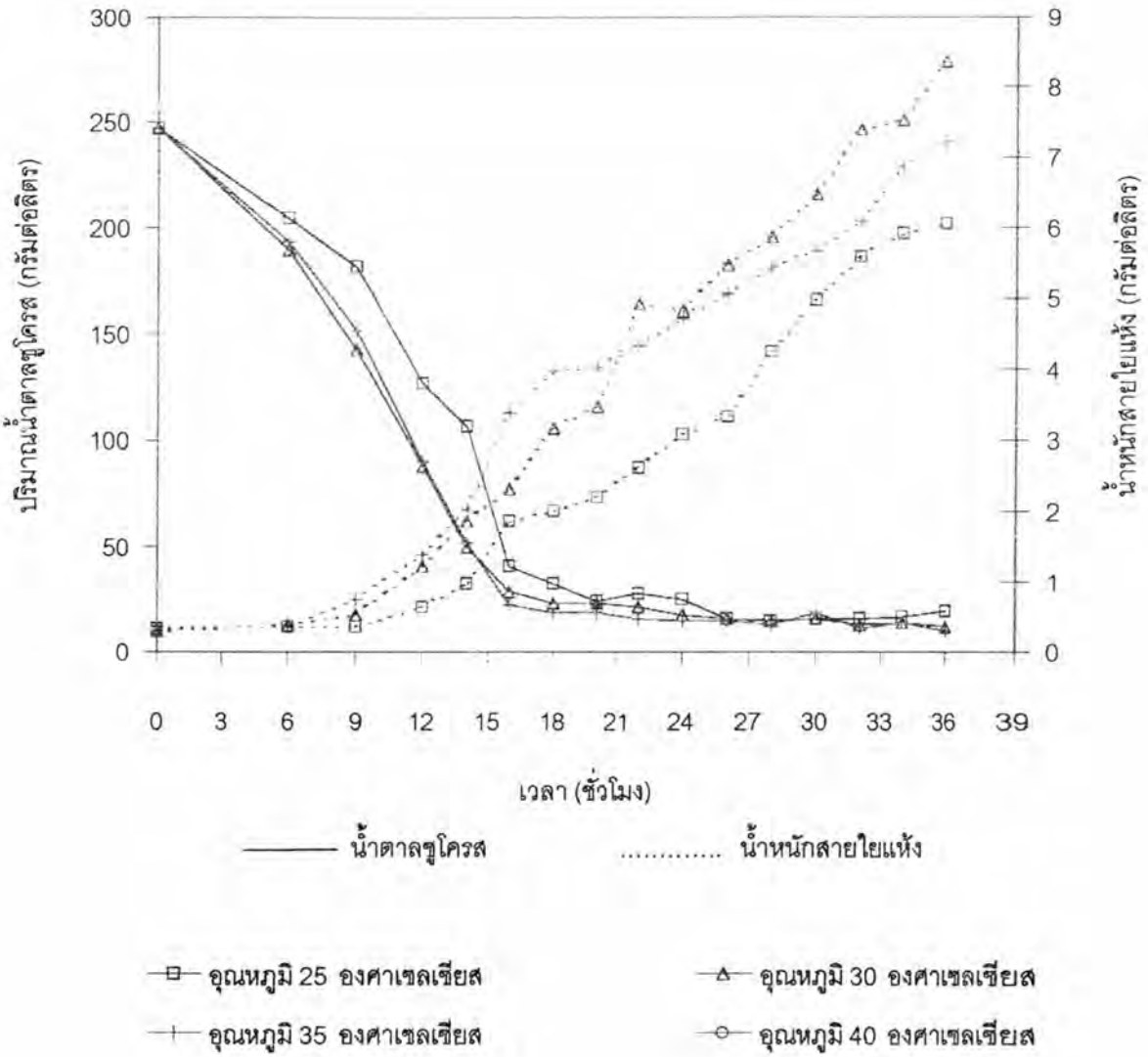
จะเห็นได้ว่าสามารถใช้การควบคุมค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลอง เพื่อทำให้ได้ผลผลิตสูง ใช้เวลาในการผลิตสั้นได้ เนื่องจากค่าพีเอชมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ที่สลายน้ำตาลซูโครส (อินเวอเทส) และ เอนไซม์ที่สร้าง FOS (เอนไซม์ FT) ซึ่งถ้าจัดค่าพีเอชให้เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิด จะทำให้ผลิต FOS ได้มากในเวลาอันรวดเร็ว โดยพีเอช 5.0 มีความสมดุลของการทำงานของเอนไซม์สองชนิด จึงส่งเสริมให้ผลิต FOS ได้สูง และยังมีอัตราการผลิต ค่า Yp/x และ Yp/s สูงกว่าค่าพีเอชอื่นๆ

เมื่อเปรียบเทียบผลผลิต FOSรวมสูงสุด จากทั้งสองการทดลองคือการจัดค่าพีเอชตั้งต้นกับการควบคุมค่าพีเอชตลอดการทดลอง พบว่า ค่าพีเอชตั้งต้น 5.0 ให้ผลผลิต FOSรวม ได้มากและเร็วที่สุด และการควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 5.0 ตลอดการทดลอง ก็ผลิต FOSรวม ได้มากและเร็วกว่าการควบคุมค่าพีเอชอื่นเช่นกัน โดยผลิต FOSรวม สูงสุด ได้เท่ากับ 154.44 กรัมต่อลิตรใน 16 ชั่วโมง และ 157.44 กรัมต่อลิตร ใน 20 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าให้ปริมาณ FOS ใกล้เคียงกันมาก แต่การจัดพีเอชค่าตั้งต้นให้ผลผลิตเร็วกว่าการควบคุมค่าพีเอชตลอดการทดลองอยู่ 4 ชั่วโมง และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการผลิต FOSรวม ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด พบว่า พีเอชตั้งต้น 5.0 ให้อัตราการผลิตเท่ากับ 9.65 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งมีอัตราการผลิตมากกว่าการคงค่าพีเอช ซึ่งมีอัตราการผลิต 7.87 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (รูปที่ 37 และ 43) ดังนั้นการใช้พีเอชตั้งต้นในการผลิต FOS จึงมีความเหมาะสมในการผลิตมากกว่าเพราะให้ผลผลิตเร็วกว่าและมีอัตราการผลิตสูงกว่า ซึ่งในการผลิตเป็นการค้า การผลิตโดยไม่ต้องควบคุมค่าพีเอช 5.0 ตลอดการเพาะเลี้ยง จะมีความสะดวกกว่า เพราะเป็นการปล่อยการผลิตเป็นไปตามธรรมชาติ ไม่ต้องสิ้นเปลืองกรดด่างในการควบคุมค่าพีเอช จึงเป็นการลดต้นทุนการผลิต แต่สำหรับในงานวิจัยนี้จะเลือกการคงค่าพีเอช 5.0 ตลอดการเพาะเลี้ยงมาใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป เนื่องจากเป็นการศึกษาผลกระทบของปัจจัยที่มีต่อการผลิต FOS ซึ่งต้องการให้มีปัจจัยที่เป็นตัวแปรเพียงปัจจัยเดียว จึงต้องควบคุมค่าพีเอชไว้เพื่อไม่ให้มีผลของค่าพีเอชไปเกี่ยวข้องกับการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ด้วย

2.6 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์

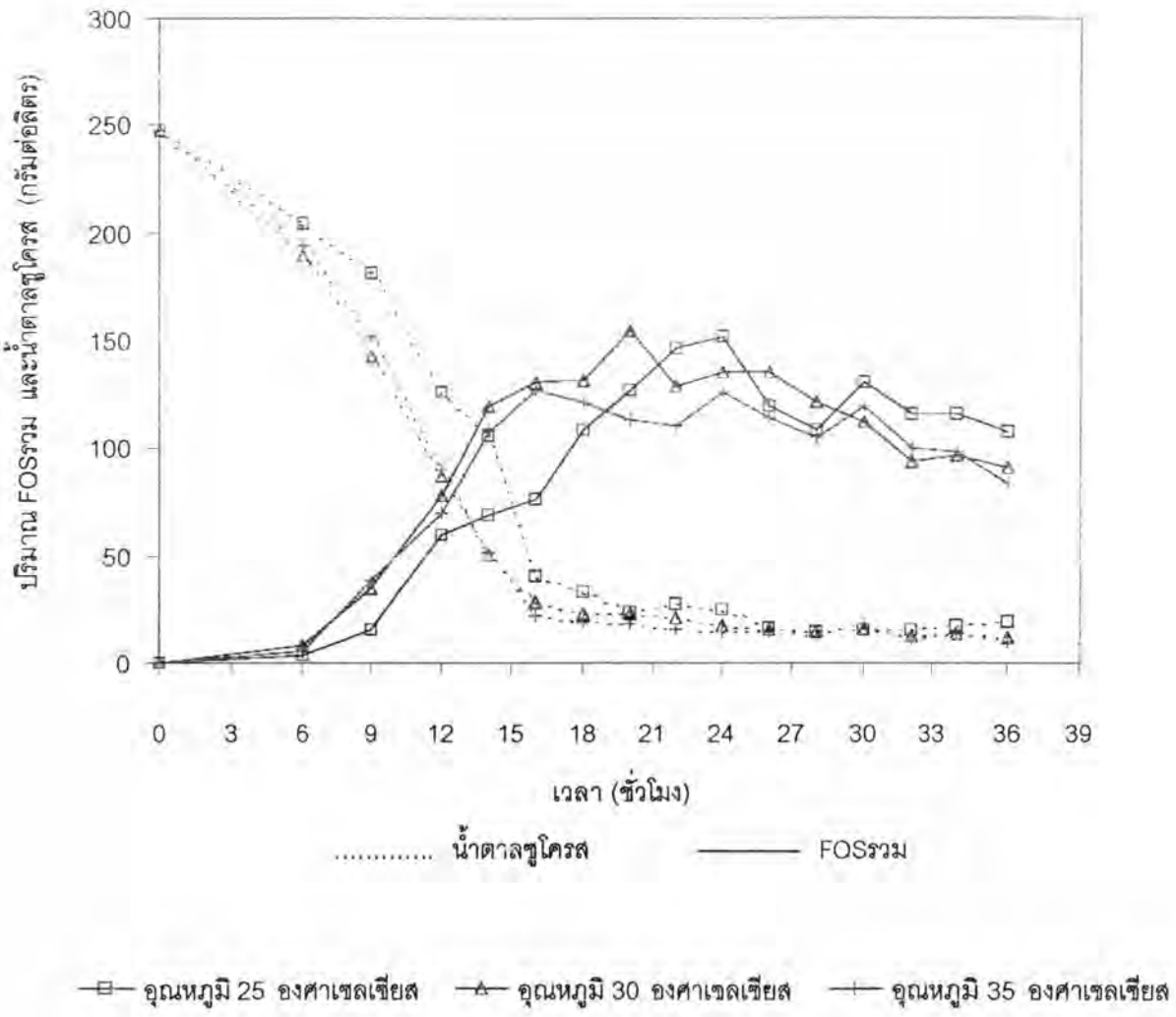
เมื่อแปรผันอุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง เท่ากับ 25 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส (ควบคุมค่าพีเอช เท่ากับ 5.0 ตลอดการเพาะเลี้ยง) ผลการทดลองพบว่าเมื่ออุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงสูงขึ้น มีการเติบโตมากขึ้น (รูปที่ 44) โดยอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีการเติบโตช้าที่สุด โดยมีน้ำหนักสายใยแห้งเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 6.06 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีการเติบโตสูงที่สุดไล่เลี่ยกับอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ให้การเติบโตเร็วที่สุดใน 18 ชั่วโมงแรก แต่หลังจาก 18 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง มีการเติบโตลดลง คือเติบโตน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเล็กน้อย ทำให้เมื่อสิ้นสุดการทดลอง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีการเติบโตมากกว่าอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส คือเท่ากับ 8.37 และ 7.22 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลซูโครส คือเมื่อเติบโตน้อย น้ำตาลซูโครสลดลงช้า เนื่องจากมีปริมาณเอนไซม์ในการสลายน้ำตาลซูโครสน้อยได้น้ำตาลกลูโคสและฟรักโตสเป็นผลิตภัณฑ์น้อย จึงมีน้ำตาลกลูโคสไปใช้ในการเติบโตน้อย ส่วนอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสไม่มีการเติบโตเลย

เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการผลิต FOSรวม (รูปที่ 45) พบว่าอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่า 30 องศาเซลเซียส ทำให้ได้ผลผลิตต่ำหรือใช้ระยะเวลานาน โดยอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ผลิต FOSรวม ได้สูงที่สุด เท่ากับ 154.95 กรัมต่อลิตร ใน 20 ชั่วโมง รองลงมาคืออุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ผลิตได้เท่ากับ 152.25 กรัมต่อลิตร แต่ใช้เวลาในการผลิตนานกว่าคือ 24 ชั่วโมง ส่วนอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ผลิต FOSรวม ได้ต่ำที่สุดเท่ากับ 127.38 กรัมต่อลิตรในเวลา 16 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิมีผลต่อการเติบโตและการผลิต FOS กล่าวคืออุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งมีการเติบโตต่ำ น่าจะมีปริมาณเอนไซม์ในการผลิตน้อย ส่งผลให้ผลิต FOS ช้า ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่มีการเติบโตดีที่สุด น่าจะผลิตเอนไซม์ FT ได้มากด้วย ก็ผลิต FOSรวม ได้สูงที่สุดและเร็วที่สุด ดังกล่าวข้างต้น ส่วนอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีการเติบโตปานกลาง ผลิต FOS ได้น้อยกว่าอุณหภูมิอื่น และการผลิต FOSรวม มีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำตาลซูโครส (รูปที่ 45) น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรักโตส (รูปที่ 46) โดยอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งผลิต FOSรวม มากที่สุด มีการใช้น้ำตาลซูโครสและน้ำตาลฟรักโตสไปอย่างรวดเร็ว จึงมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเหลืออยู่มากที่สุด

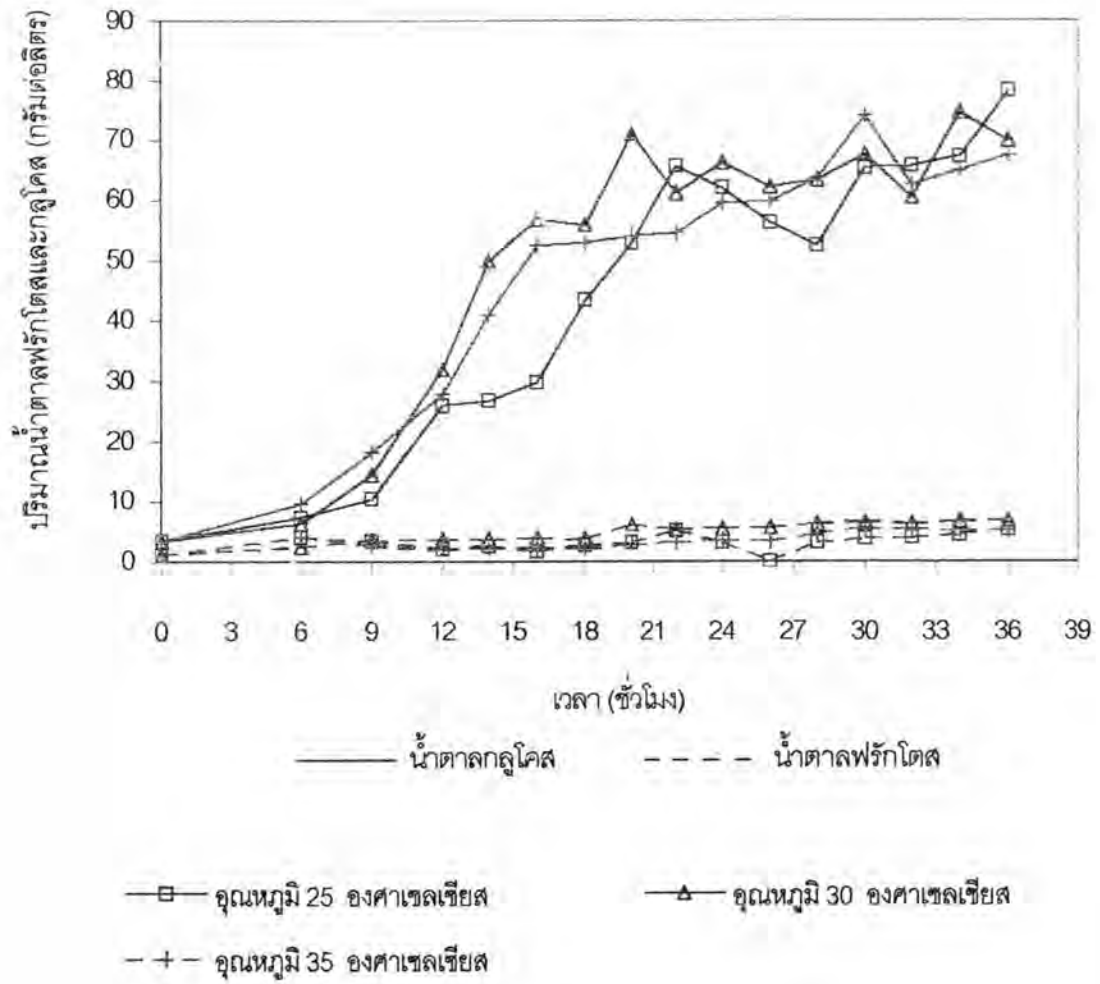


รูปที่ 44 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลซูโครสและน้ำหนักสายใยแห้งตลอดการเพาะเลี้ยง ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ควบคุมค่าพีเอชตลอดการทดลองเท่ากับ 5.0 เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างๆ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที

หมายเหตุ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ไม่พบการเติบโต จึงไม่มีข้อมูลในรูปที่ 44



รูปที่ 45 เปรียบเทียบปริมาณ FOSรวม และน้ำตาลซูโครสตลอดการเพาะเลี้ยง ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ควบคุมค่าพีเอชตลอดการทดลองเท่ากับ 5.0 เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างๆ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที



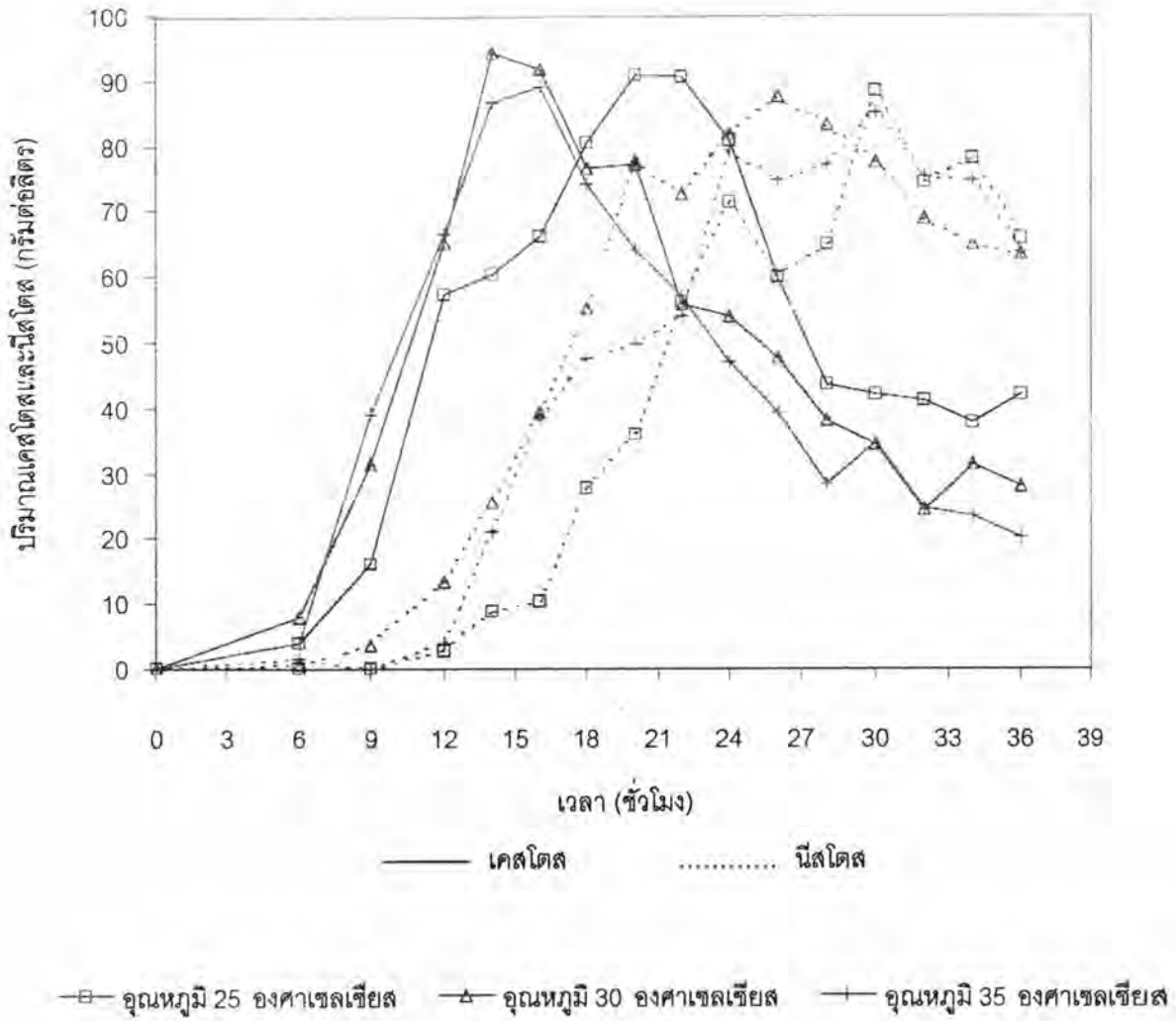
รูปที่ 46 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรักโตสตลอดการเพาะเลี้ยง ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ควบคุมค่าพีเอชตลอดการทดลองเท่ากับ 5.0 เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างๆ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที

เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิต่อการผลิต FOS แต่ละชนิด พบว่าอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ผลิตเคสโตสได้เร็วและมากที่สุด เท่ากับ 94.12 กรัมต่อลิตร ใน 14 ชั่วโมง (รูปที่ 47 และตารางที่ 11) รองลงมาคืออุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสผลิตได้เท่ากับ 90.92 กรัมต่อลิตร แต่ใช้ระยะเวลานานที่สุดคือ 20 ชั่วโมง และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสผลิตเคสโตสได้น้อยที่สุด เท่ากับ 88.97 กรัมต่อลิตร ในเวลา 16 ชั่วโมง และการผลิตนีสโตสก็ พบว่าอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ผลิตนีสโตสได้เร็วที่สุดเช่นกันกับการผลิตเคสโตส และปริมาณไล่เลี่ยกับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส คือ 87.5 กรัมต่อลิตร ใน 26 ชั่วโมง (รูปที่ 47 และตารางที่ 11) รองลงมาคืออุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสผลิตได้เท่ากับ 88.36 กรัมต่อลิตร แต่ใช้ระยะเวลานานกว่าคือ 30 ชั่วโมง ส่วนอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสผลิตนีสโตสได้น้อยที่สุดเท่ากับ 85.16 กรัมต่อลิตรและใช้เวลานานถึง 30 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตเคสโตสและนีสโตส คือ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งผลิตทั้งเคสโตสและนีสโตสได้เร็วและมากที่สุดเมื่อเทียบกับอุณหภูมิอื่น

เมื่อพิจารณาอัตราการผลิต FOSรวม ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด ดังตารางที่ 11 พบว่าที่อุณหภูมิ 30 และ 35 องศาเซลเซียส ให้อัตราการผลิต FOSรวม สูงสุดไล่เลี่ยกัน คือ 7.96 และ 7.74 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีอัตราการผลิตต่ำที่สุด คือ 6.34 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

แต่เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของสายใยในการผลิต FOSรวม (Yp/x) ดังตารางที่ 11 พบว่า ยิ่งอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงสูงขึ้น ประสิทธิภาพของสายใยยิ่งลดลง โดยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีค่า Yp/x มากที่สุด ถึงแม้ว่าจะมีการเติบโตที่น้อยกว่าอุณหภูมิอื่นแต่ก็ให้ผลผลิตสูง มีค่าเท่ากับ 49.43 รองลงมาคือ อุณหภูมิ 30 และ 35 องศาเซลเซียส มีค่า Yp/x เท่ากับ 44.53 และ 37.58 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสไปเป็น FOSรวม (Yp/s) พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีค่า Yp/s สูงที่สุดไล่เลี่ยกับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.69 และ 0.68 ตามลำดับ ส่วนอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีค่า Yp/s ต่ำที่สุดเท่ากับ 0.56 (ตารางที่ 11)

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโตและการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์มากที่สุด คือ มีการเติบโตดีที่สุด ผลิต FOS ได้มากและรวดเร็วกว่าอุณหภูมิอื่น นอกจากนั้นยังมีอัตราการผลิตและ Yp/s สูงที่สุดด้วย ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมาใช้ในการทดลองต่อไป



รูปที่ 47 เปรียบเทียบปริมาณเคสโตสและนีสโตสตลอดการเพาะเลี้ยง ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ควบคุมค่าพีเอชตลอดการทดลองเท่ากับ 5.0 เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างๆกัน บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบปริมาณ FOS อัตราการผลิต น้ำหนักสายใยแห้ง Yp/x และ Yp/s ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างกัน

เปรียบเทียบ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	25	30	35
เคสโตส (ก/ล)	**90.92**	**94.12**	**88.97**
เวลา(ชม.)	20	14	16
นีสโตส (ก/ล)	**88.36**	**87.5**	**85.16**
เวลา(ชม.)	30	26	30
FOSรวม (ก/ล)	**152.25**	**154.95**	**127.38**
เวลา (ชม.)	24	20	16
อัตราการผลิต * (ก/ล/ชม.)	6.34	7.74	7.96
น้ำหนักสายใยแห้ง * (ก/ล)	3.08	3.48	3.39
Yp/x *	49.43	44.53	37.58
Yp/s *	0.68	0.69	0.56

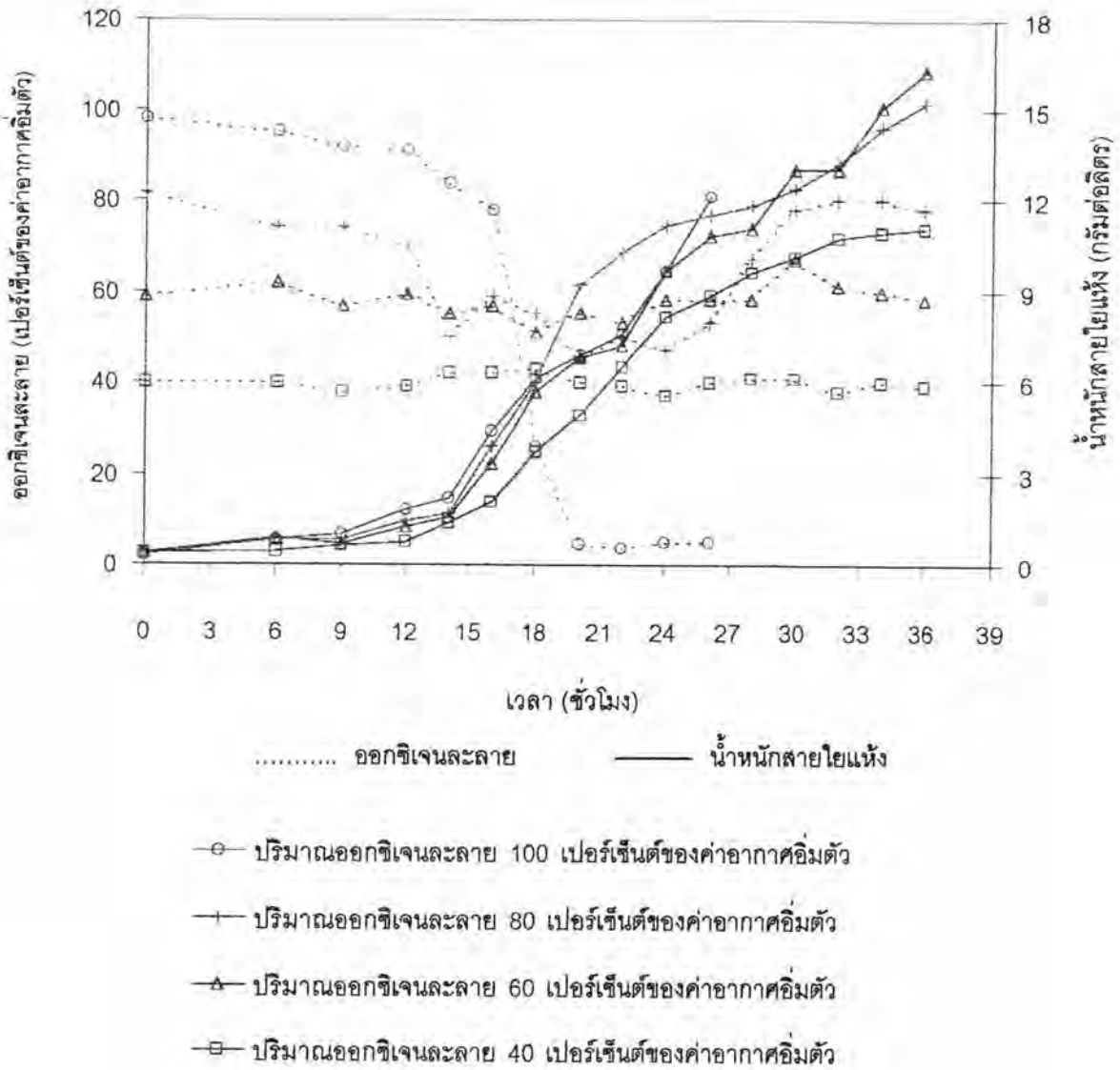
<u>หมายเหตุ</u> FOSรวม หมายถึง ปริมาณเคสโตสรวมกับนีสโตส ณ.ชั่วโมงเดียวกัน

เวลา หมายถึง เวลาที่ผลิต FOS ได้สูงสุด

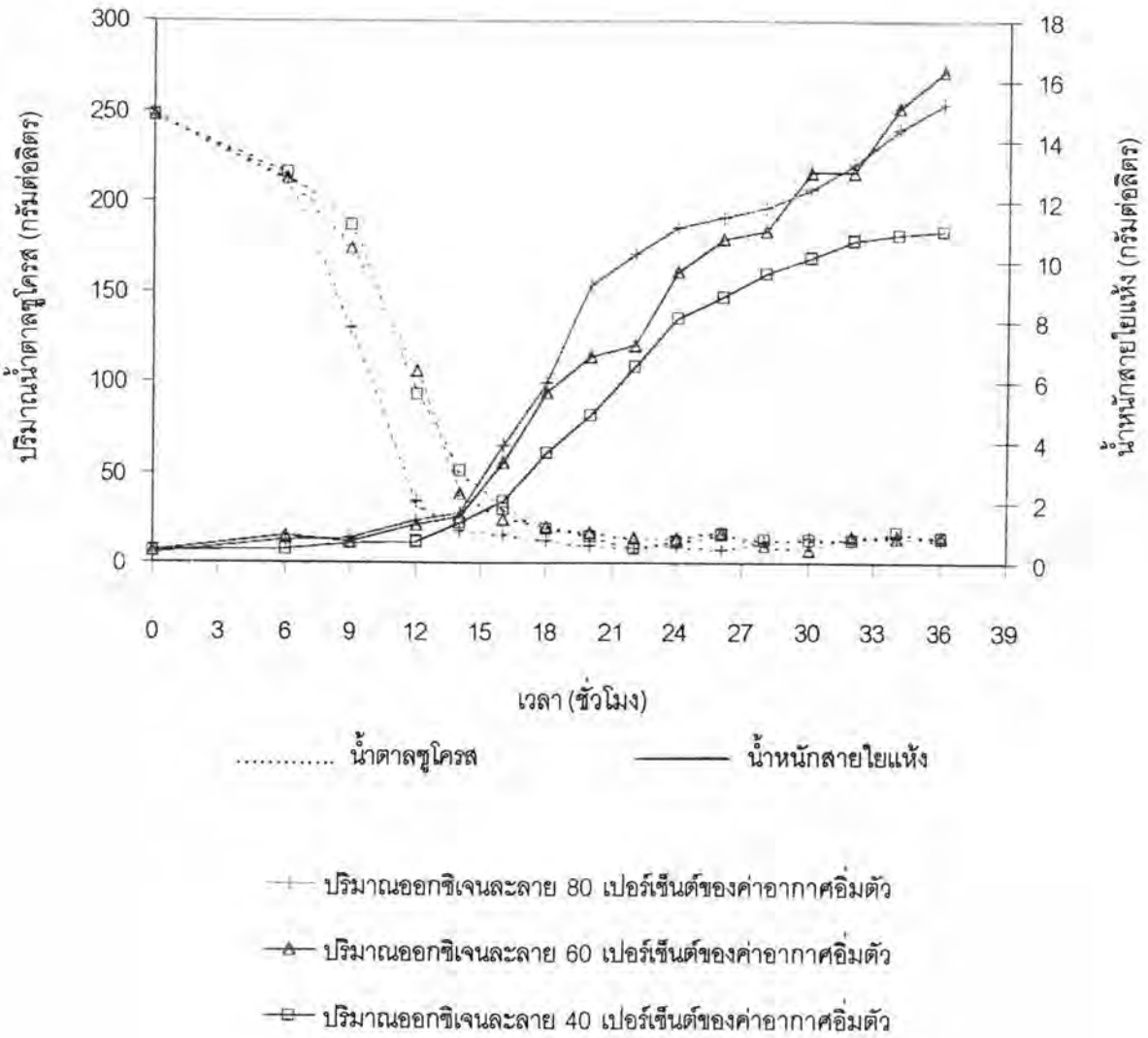
* คิดจากชั่วโมงที่ให้ผลผลิต FOSรวม สูงสุด

2.7ผลของปริมาณออกซิเจนละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิตฟรักโตโอลิโก-แซ็กคาไรด์

เนื่องจากฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์เป็นสารที่ผลิตขึ้นควบคู่ไปกับการเติบโต ดังนั้น ถ้ามีปริมาณออกซิเจนละลายมาก การเติบโตน่าจะมากด้วย และน่าจะส่งผลให้ผลิตฟรักโตโอลิ-โกแซ็กคาไรด์ได้ดี และจากที่ได้ทดลองข้างต้นโดยผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์โดยมีการเขย่าและไม่มีการเขย่าในขวดทดลอง จากผลการทดลอง ข้อ 1 พบว่าการเขย่าจะทำให้มีการเติบโตที่ดี ผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ได้เร็วขึ้น ซึ่งย่อมหมายความว่าการที่มีปริมาณอากาศมากเพียงพอก็ย่อมมีผลดีต่อการผลิต ฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ ดังนั้นจึงมีการศึกษาผลของปริมาณออกซิเจนละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีต่อการผลิต FOS โดยเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp.H12 ในถังหมักขนาด 5 ลิตรแล้วแปรผันออกซิเจนละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 100 80 60 และ 40 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว ผลการทดลองพบว่า เมื่อปริมาณออกซิเจนละลายมากขึ้นจะให้การเติบโตเร็วและมากขึ้น โดยปริมาณออกซิเจนละลาย 100 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัวให้การเติบโตดีที่สุดใน 18 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง แต่ในช่วงหลังจากนั้นมีการเติบโตต่ำกว่าปริมาณออกซิเจนละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว อาจเนื่องจากมีเซลกระเด็นติดที่ข้างถังในปริมาณมาก เพราะมีการกวนและให้อากาศรุนแรง สายใยภายในอาหารเลี้ยงเชื้อจึงมีน้อยทำให้น้ำหนักสายใยแห้งที่ตรวจวัดได้ลดลง ซึ่งทำให้เมื่อเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ การเติบโต การใช้น้ำตาล อาจจะไม่ใช่ค่าที่แท้จริง ดังนั้นจึงไม่ทำการทดลองโดยใช้ปริมาณออกซิเจนละลายที่ 100 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว (รูปที่ 48) ดังนั้นจึงพิจารณาผลการทดลองเฉพาะปริมาณออกซิเจนละลาย 40 - 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว โดยพบว่า เมื่อปริมาณออกซิเจนละลายมาก มีการเติบโตสูง โดยใน 18 ชั่วโมงแรกปริมาณออกซิเจนละลาย 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัวให้การเติบโตไล่เลี่ยกัน ต่อมาในช่วง 18 - 28 ชั่วโมง ปริมาณออกซิเจนละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัวให้การเติบโตดีที่สุด แต่หลังจากนั้นให้การเติบโตไล่เลี่ยกัน โดยปริมาณออกซิเจนละลาย 60 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว ให้การเติบโตสูงกว่าเล็กน้อยคือ 16.3 และ 15.2 กรัมต่อลิตรเมื่อสิ้นสุดการทดลองตามลำดับ ส่วนปริมาณออกซิเจนละลาย 40 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัวให้การเติบโตน้อยที่สุดเท่ากับ 11.06 กรัมต่อลิตรเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และการเติบโตสอดคล้องกับการใช้น้ำตาลซูโครส คือเติบโตมาก น้ำตาลซูโครสลดลงอย่างรวดเร็ว โดยปริมาณออกซิเจนละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว ซึ่งมีการเติบโตเร็วที่สุด มีน้ำตาลซูโครสลดลงเร็วที่สุด รองมาคือปริมาณออกซิเจนละลาย 60 และ 40 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว ตามลำดับ (รูปที่ 49)



รูปที่ 48 เปรียบเทียบน้ำหนักสายใยแห้งและปริมาณออกซิเจนละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ ตลอดการทดลอง เมื่อเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp.H12 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีปริมาณออกซิเจนละลาย 100 80 60 และ 40 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 250 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 5.0

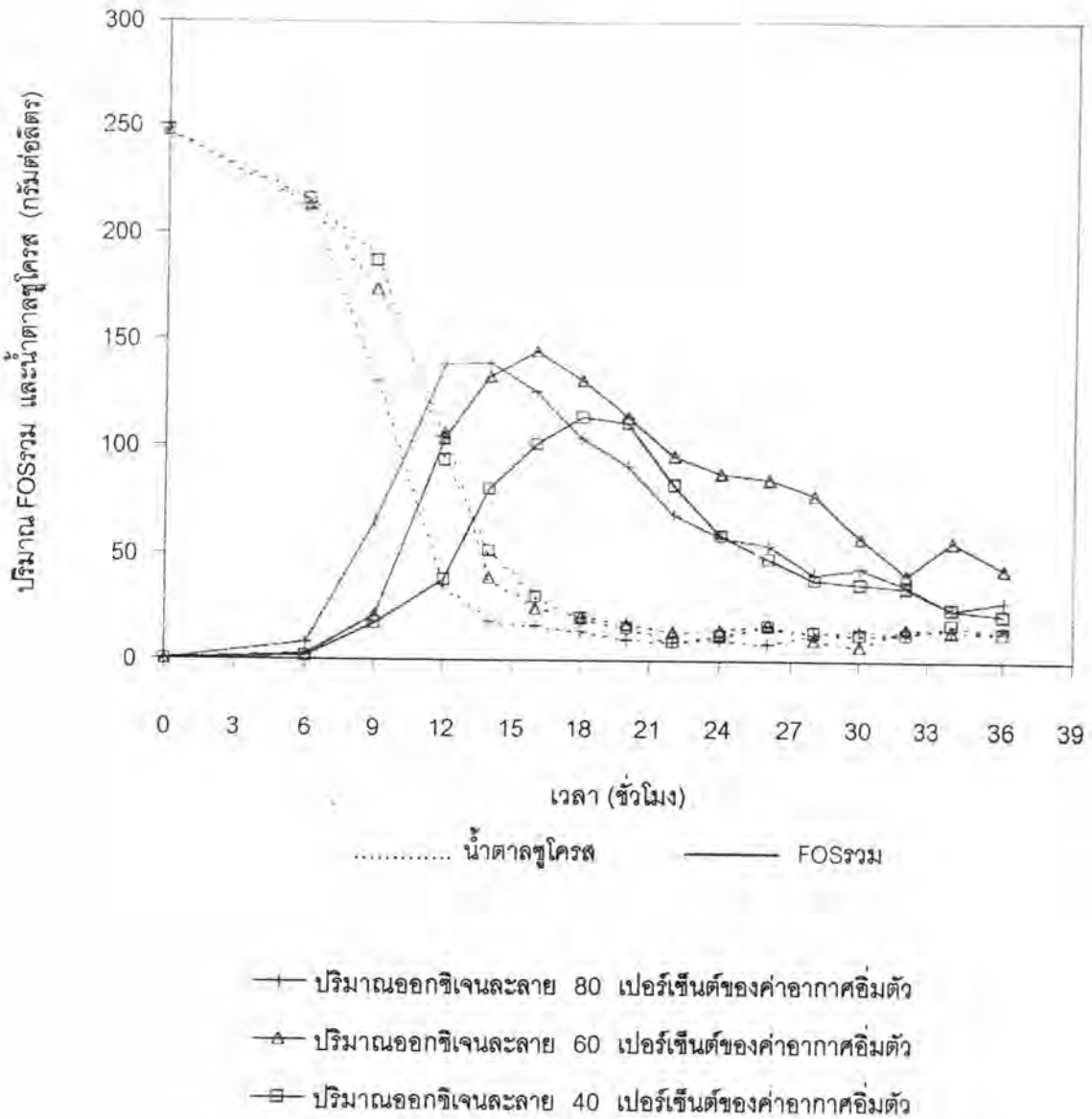


รูปที่ 49 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลซูโครสและน้ำหนักสายใยแห้ง ตลอดการทดลอง เมื่อเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp.H12 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีปริมาณออกซิเจนละลายต่างๆ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 250 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 5.0

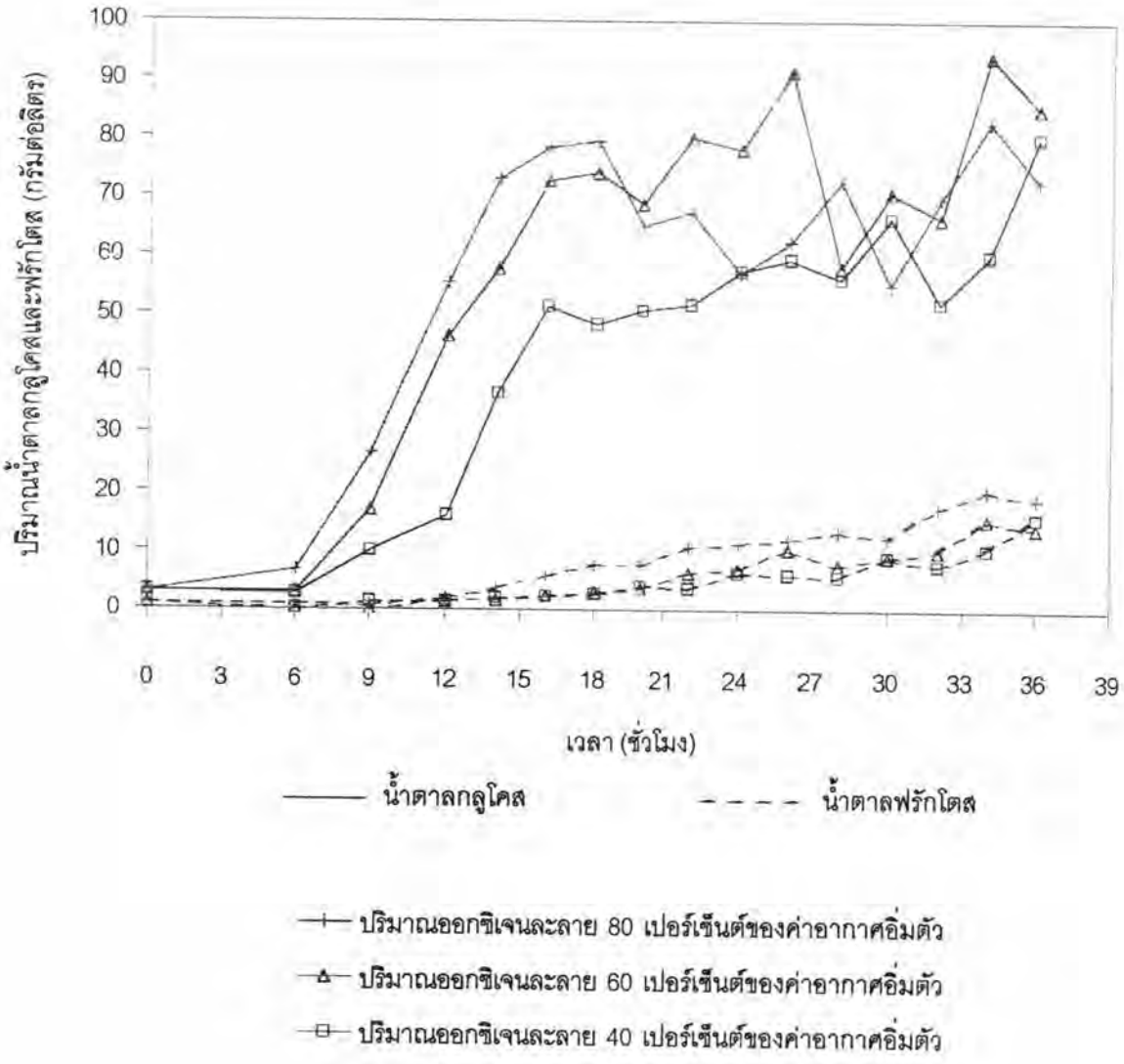
เมื่อพิจารณาผลของปริมาณออกซิเจนละลายที่มีต่อการผลิต FOSรวม พบว่า เมื่อปริมาณออกซิเจนละลายมากจะผลิต FOSรวม ได้สูงและเร็ว (รูปที่ 50) คือปริมาณออกซิเจนละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว ผลิต FOSรวม ได้เร็วที่สุดเท่ากับ 139.2 กรัมต่อลิตร ใน 14 ชั่วโมง และมีการเติบโตดีที่สุด รองลงมาคือปริมาณออกซิเจนละลาย 60 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว ผลิต FOSรวม ได้สูงกว่าปริมาณออกซิเจนละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัวเล็กน้อย คือผลิตได้เท่ากับ 145.02 กรัมต่อลิตร แต่ใช้เวลาในการผลิตนานกว่าคือ 16 ชั่วโมง ส่วนปริมาณออกซิเจนละลาย 40 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว เนื่องจากให้การเติบโตน้อย จึงผลิต FOSรวม ได้น้อยและช้าที่สุดเท่ากับ 113.96 กรัมต่อลิตร ใน 18 ชั่วโมง

การผลิต FOS มีความสัมพันธ์กับการใช้น้ำตาลซูโครส (รูปที่ 50) คือเมื่อผลิต FOSรวมมาก ย่อมมีการใช้น้ำตาลซูโครสไปมากและย่อมมีการสลายน้ำตาลซูโครสได้เป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตสมากด้วย เนื่องจากต้องใช้น้ำตาลฟรักโตสไปเชื่อมกับโมเลกุลของน้ำตาลซูโครสและโมเลกุลของเคสโตสได้เป็นเคสโตสและนีสโตส ตามลำดับ ดังนั้นย่อมจะมีน้ำตาลกลูโคสเหลือเพิ่มขึ้น (รูปที่ 51) ส่วนน้ำตาลฟรักโตสมีเหลือในปริมาณน้อยเพราะนำไปใช้ในการผลิต FOS แต่การที่น้ำตาลฟรักโตสเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงเกือบสิ้นสุดการทดลองเพราะมีการสลาย FOS นั่นเอง (รูปที่ 51) โดยปริมาณออกซิเจนละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว ซึ่งผลิต FOSรวม ดีที่สุด พบว่ามีน้ำตาลซูโครสลดลงเร็วที่สุดจนใกล้หมด อย่างไรก็ตามในที่สุดเมื่อถึงชั่วโมงที่ 18 ของการเพาะเลี้ยง น้ำตาลซูโครสของทุกการทดลองก็ลดลงเหลือไล่เลี่ยกัน คือประมาณ 18 กรัมต่อลิตร

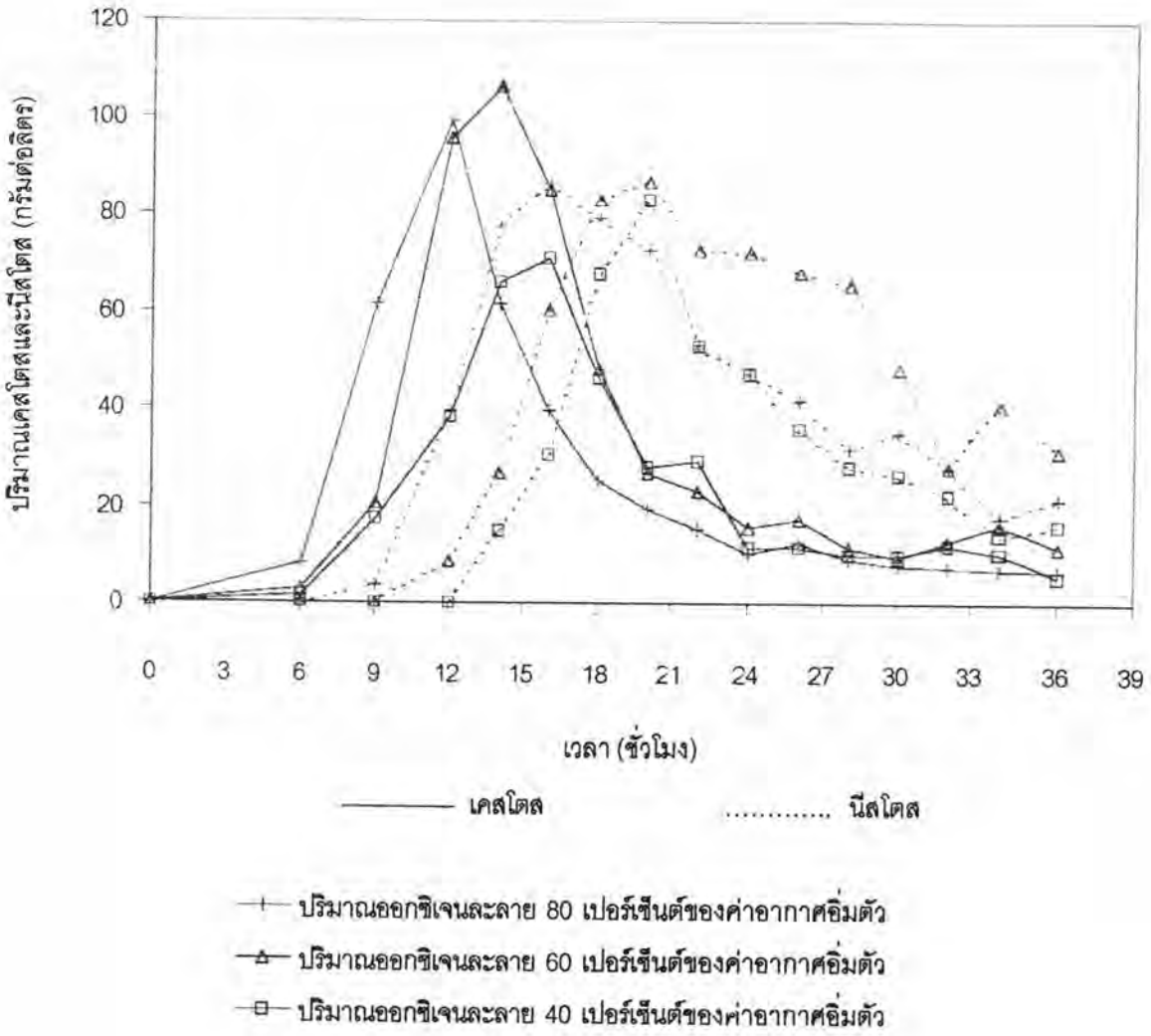
สำหรับผลของปริมาณออกซิเจนละลายต่อการผลิต FOS แต่ละชนิดนั้นได้แสดงในรูปที่ 52 และ 53 สำหรับการผลิตเคสโตส (รูปที่ 52) ผลการทดลองพบว่ามีรูปแบบการผลิตเหมือนการผลิต FOSรวม คือปริมาณออกซิเจนละลายมากกว่า ผลิตเคสโตสได้เร็วกว่า โดยปริมาณออกซิเจนละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัวผลิตเคสโตสได้เร็วที่สุดแต่มีปริมาณต่ำกว่าปริมาณออกซิเจนละลาย 60 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว อาจเนื่องจากมีแนวโน้มในการเติบโตมากกว่าในช่วงแรก จึงผลิตได้เร็ว โดยผลิตเคสโตสได้เท่ากับ 99.31 กรัมต่อลิตร ใน 12 ชั่วโมง ส่วนปริมาณออกซิเจนละลาย 60 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว ผลิตได้เคสโตสได้มากกว่าเล็กน้อยคือเท่ากับ 106.19 กรัมต่อลิตร แต่ใช้เวลานานกว่าคือ 14 ชั่วโมง(รูปที่ 52 และ 53) ส่วนปริมาณออกซิเจนละลาย 40 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว ซึ่งมีการเติบโตน้อย ผลิตเคสโตสได้น้อยและช้าที่สุดเท่ากับ 70.79 กรัมต่อลิตร ใน 16 ชั่วโมง (รูปที่ 52 และ 53) และหลังจาก



รูปที่ 50 เปรียบเทียบปริมาณ FOSรวม และน้ำตาลซูโครสตลอดการทดลอง เมื่อเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp.H12 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีปริมาณออกซิเจนละลายต่างๆ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 250 กรัมต่อลิตร ควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 5.0 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส



รูปที่ 51 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตส ตลอดการทดลอง เมื่อเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp.H12 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีปริมาณออกซิเจนละลายต่างๆ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 250 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 5.0



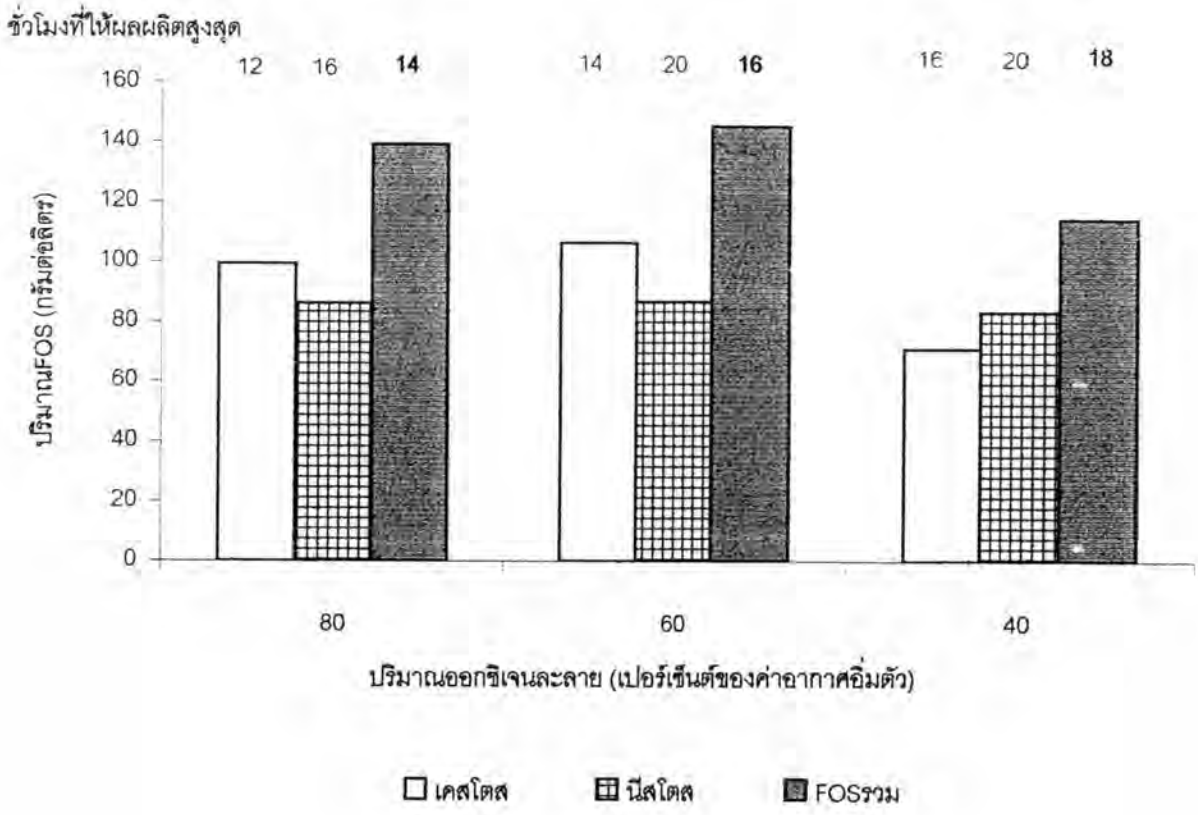
รูปที่ 52 เปรียบเทียบปริมาณเคสโตสและนีสโตส ตลอดการทดลอง เมื่อเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp.H12 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีปริมาณออกซิเจนละลายต่างๆ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 250 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 5.0

ผลิตเคสโตสได้สูงสุดแล้วเคสโตสมีปริมาณลดลง คาดว่านำไปใช้ในการผลิตนีสโตส นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำตาลซูโครสในช่วงที่เคสโตสเริ่มลดลงนั้น ลดลงมากเหลืออยู่เพียง 18 กรัมต่อลิตร ดังนั้นการที่เคสโตสลดลงอาจมาจากการที่มีการผลิตเพิ่มขึ้นน้อยมากหรือไม่ผลิตเพิ่มด้วยอีกประการหนึ่ง สำหรับการผลิตนีสโตสพบว่าการทดลองที่มีการผลิตเคสโตสมากหรือเร็ว ก็จะมีปริมาณนีสโตสก็มากหรือเร็วตาม เพราะเคสโตสเป็นสารตั้งต้นในการผลิตนีสโตส (รูปที่ 52 และ 53) โดยที่ปริมาณออกซิเจนละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัวผลิตนีสโตสเร็วที่สุด เท่ากับ 86.2 กรัมต่อลิตร ใน 16 ชั่วโมง รองลงมาคือปริมาณออกซิเจนละลาย 60 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว ผลิตได้ปริมาณไล่เลี่ยกันเท่ากับ 86.62 กรัมต่อลิตร แต่ใช้เวลานานกว่าคือ 20 ชั่วโมง และปริมาณออกซิเจนละลาย 40 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัวผลิตนีสโตสได้น้อยและช้าที่สุด เท่ากับ 83.07 กรัมต่อลิตร ใน 20 ชั่วโมง และจะเห็นได้ว่าการผลิตนีสโตสในถังหมักใช้ระยะเวลารวดเร็วกว่าการผลิตนีสโตสในขวดเขย่า (ส่วนใหญ่ใช้เวลาในการผลิตได้สูงสุด หลัง 20 ชั่วโมงไปแล้ว) เนื่องจากในถังหมักมีการกวนและให้อากาศ จึงได้รับอากาศอย่างเพียงพอ มีการเติบโตมากกว่า จึงผลิตได้เร็วกว่า และหลังจากที่นีสโตสผลิตได้สูงสุดแล้วจะมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็ว อาจเนื่องจากถูกใช้ในการผลิต FOS ชนิดฟรักโตฟิวแรนโนซิลนีสโตส ซึ่งมีดีกรีของการโพลิเมอไรเซชั่นมากกว่านีสโตสและต้องใช้นีสโตสเป็นสารตั้งต้นในการผลิต จึงถูกผลิตขึ้นหลังนีสโตส

เมื่อพิจารณาอัตราการผลิต FOSรวม (รูปที่ 53) ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด พบว่า ยิ่งมีปริมาณออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อมาก อัตราการผลิตยิ่งสูงขึ้นตามไปด้วย โดยปริมาณออกซิเจนละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว มีอัตราการผลิตสูงสุด คือ 9.94 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง รองลงมาคือปริมาณออกซิเจนละลาย 60 และ 40 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว ซึ่งมีอัตราการผลิตเท่ากับ 9.06 และ 6.33 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสไปเป็น FOSรวม (Yp/s) พบว่าปริมาณออกซิเจนละลาย 80 และ 60 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว มีค่า Yp/s สูงที่สุดไล่เลี่ยกัน คือมีค่าเท่ากับ 0.61 และ 0.65 ตามลำดับ ส่วนปริมาณออกซิเจนละลาย 40 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว มีค่า Yp/s ต่ำที่สุดเท่ากับ 0.5 และเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของสายใยในการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Yp/x) ดังรูปที่ 53 พบว่า ยิ่งมีปริมาณออกซิเจนละลายมาก สายใยยิ่งมีประสิทธิภาพมาก โดยปริมาณออกซิเจนละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว สายใยมีประสิทธิภาพดีที่สุด คือมีค่า Yp/x เท่ากับ 81.88 นั่นคือนอกจากจะเติบโตดีแล้วยังให้ผลผลิตที่ดีด้วย รองลงมาคือปริมาณออกซิเจนละลาย 60 และ 40 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว มีค่าเท่ากับ 43.16 และ 30.8 ตามลำดับ

อัตราการผลิต * (ก/ล/ชม.)	9.94	9.06	6.33
น้ำหนักสายใยแห้ง * (ก/ล)	1.7	3.36	3.7
Yp/x *	81.88	43.16	30.8
Yp/s *	0.61	0.65	0.5



หมายเหตุ * คิดจากชั่วโมงที่ให้ผลผลิต FOSรวม สูงสุด

รูปที่ 53 เปรียบเทียบปริมาณ FOS อัตราการผลิต น้ำหนักสายใยแห้ง Yp/x และ Yp/s ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp.H12 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีปริมาณออกซิเจนละลายต่างๆ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 250 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 5.0

จากผลการทดลองข้างต้น จะเห็นได้ว่าปริมาณออกซิเจนละลาย 80 และ 60 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว สามารถผลิต FOS ได้ดีทั้งคู่ คือปริมาณออกซิเจนละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว ให้ผลผลิตเร็วกว่าแต่น้อยกว่าปริมาณออกซิเจนละลาย 60 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัวเล็กน้อย นั่นคือปริมาณออกซิเจนละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัวมีการเติบโตเร็วกว่า คือ เอาแหล่งคาร์บอนไปใช้เพื่อการเติบโตเร็วและมากแต่ก็สามารถผลิตฟรักโตโอจิโกแซ็กคาไรด์ได้เร็วด้วย โดยมีระยะเวลาในการผลิตเร็วมากเพียง 14 ชั่วโมง แต่มีปริมาณ FOS น้อยกว่าปริมาณออกซิเจนละลาย 60 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัวเล็กน้อย ประกอบกับมีอัตราการผลิต Yp/s และ Yp/x สูงที่สุดด้วย ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณออกซิเจนละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัวในการผลิต FOS ในการทดลองต่อไป

2.8 ผลของการเพิ่มอาหารเลี้ยงเชื้อในระหว่างการผลิตต่อปริมาณฟรักโตโอลิโก-แซ็กคาไรด์

เนื่องจากผลการทดลองแปรผันปริมาณน้ำตาลทรายในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าถ้าเพิ่มน้ำตาลซูโครสสูงกว่า 250 กรัมต่อลิตรเป็น 300 กรัมต่อลิตร พบว่าให้ FOS เพิ่มขึ้น แต่การเพิ่มขึ้นนั้นไม่คุ้มกับปริมาณน้ำตาลซูโครสที่เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเนื่องจากเมื่อน้ำตาลซูโครสเข้มข้นมาก (300 กรัมต่อลิตร) ทำให้แรงดันออสโมติกสูงมีผลกระทบต่อการเติบโต จึงมีแนวคิดว่าอาจทำการเพิ่มน้ำตาลซูโครสและให้ผลผลิตคุ้มค่าได้โดยแบ่งใส่อาหารเลี้ยงเชื้อในระหว่างการผลิต ดังแสดงผังการผลิตในวิธีดำเนินการทดลองข้อ 12.2

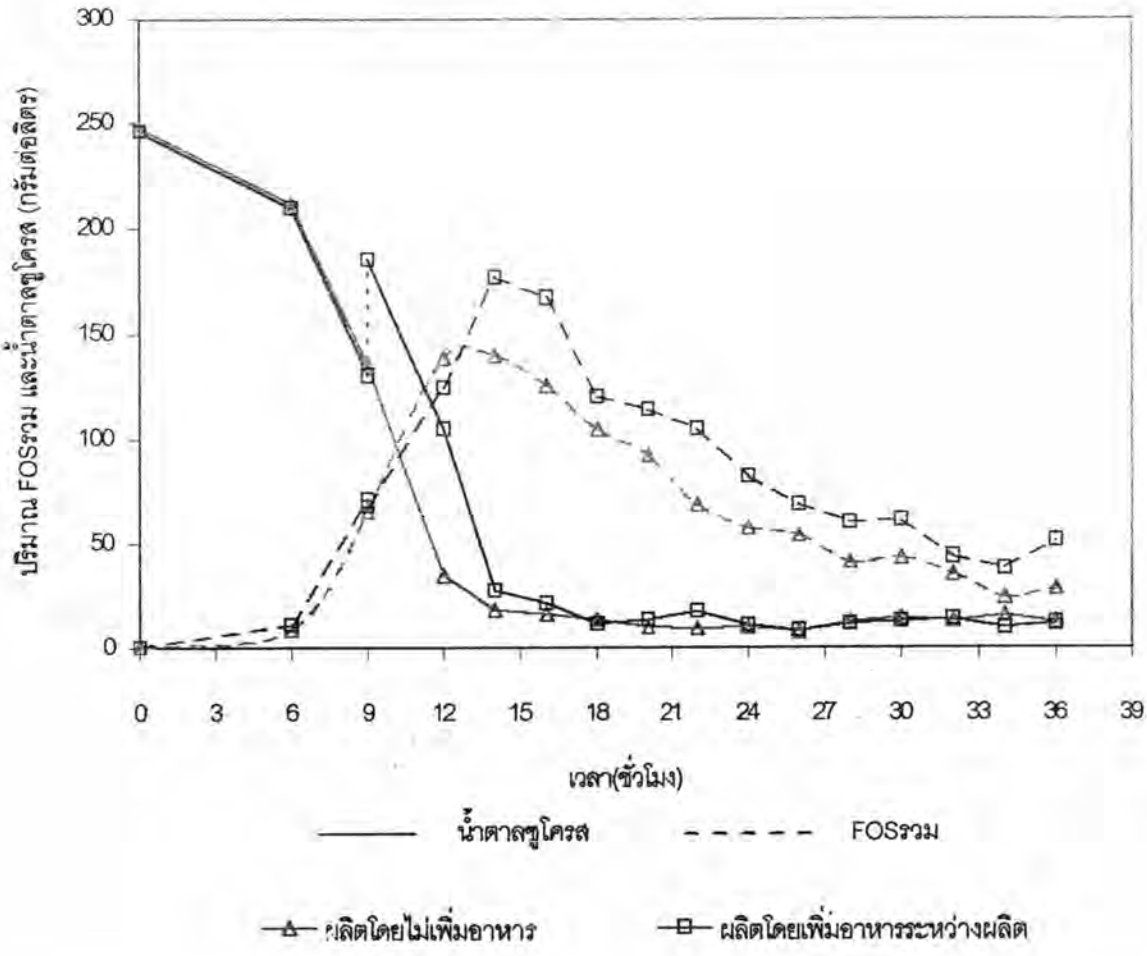
เมื่อผลิต FOS ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้ภาวะที่ให้ผลผลิต FOS สูง คือ ปริมาณออกซิเจนละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ควบคุมค่าพีเอชตลอดการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 5.0 โดยทำการทดลอง 2 ชุด คือ ชุดที่ 1 ผลิตแบบกะ ใช้น้ำตาลซูโครสรวม 550 กรัมต่อการผลิต 1 ครั้ง ชุดที่ 2 เพิ่มอาหารเลี้ยงเชื้อในระหว่างการผลิต คือ เพิ่มในชั่วโมงที่ 9 ซึ่งน้ำตาลซูโครสเหลือ 130.27 กรัมต่อลิตร แล้วเพิ่มอาหารอีกทำให้มีน้ำตาลซูโครสหลังการเติมเท่ากับ 185.1 กรัมต่อลิตร ทำให้ได้น้ำตาลซูโครสรวมต่อการผลิต 1 ครั้งในการทดลองชุดที่ 2 เท่ากับ 660 กรัม

ผลการทดลองพบว่าการทดลองชุดที่เพิ่มอาหารเลี้ยงเชื้อในระหว่างการผลิต ซึ่งทำให้ปริมาณแหล่งคาร์บอนเพิ่มขึ้นทำให้ผลิต FOS เพิ่มขึ้น คือหลังชั่วโมงที่ 12 ของการผลิตปริมาณ FOSรวม ของการทดลองชุดที่เพิ่มอาหารจะสูงกว่า โดยให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 176.35 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 14 ซึ่งสูงกว่าชุดที่ไม่เพิ่มอาหารซึ่งได้ FOSรวมสูงสุดเท่ากับ 139.2 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 14 (รูปที่ 54 และตารางที่ 12) และเมื่อตรวจการผลิต FOS แต่ละชนิด ในทั้ง 2 ชุด

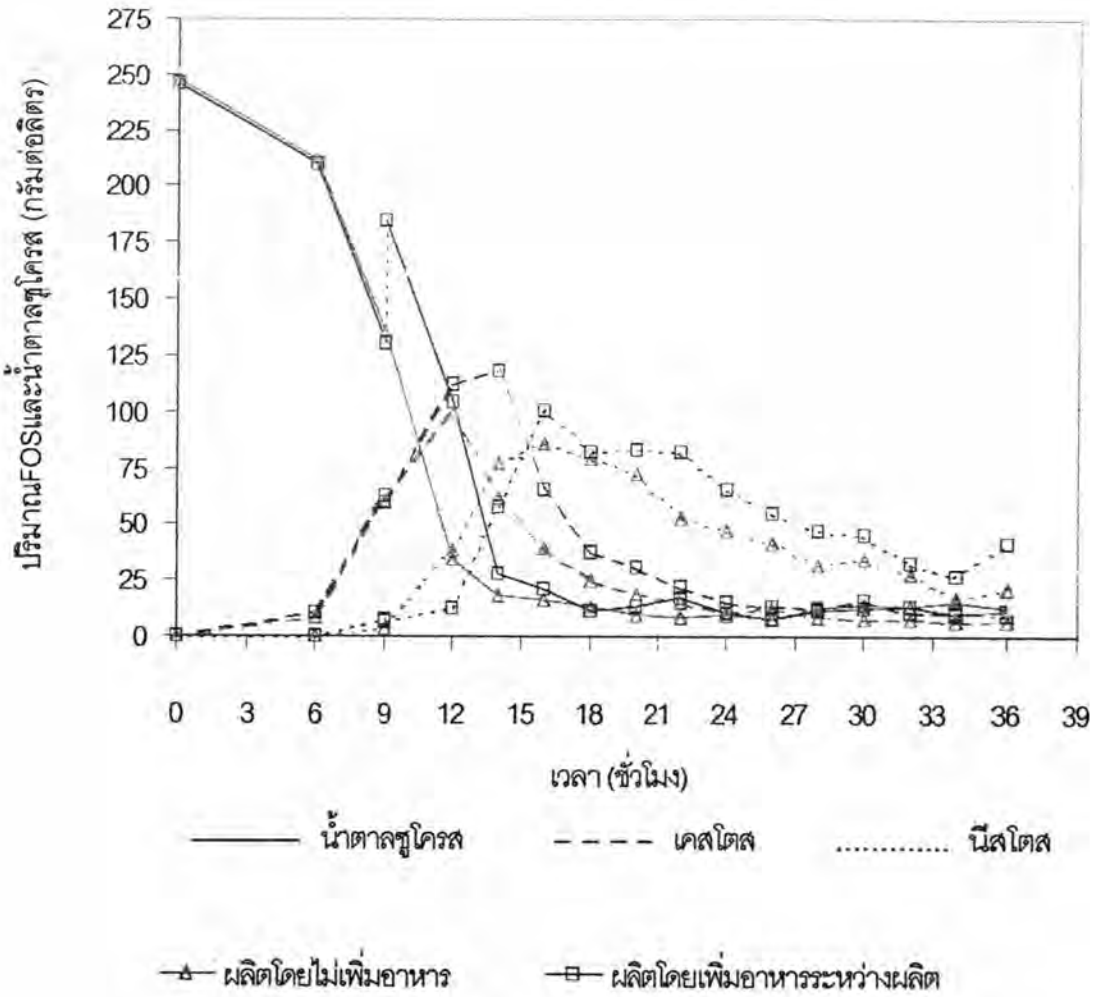
การทดลอง พบว่าชุดที่เพิ่มอาหารระหว่างผลิตให้ FOS ชนิดเคสโตส เพิ่มขึ้นหลังการเพิ่มอาหารแล้วคือหลัง 9 ชั่วโมงไปแล้ว โดยให้ผลผลิตเคสโตสสูงสุดเท่ากับ 118.43 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 14 แต่การทดลองชุดที่ไม่เพิ่มอาหาร ให้ผลผลิตเคสโตสสูงสุดเท่ากับ 99.31 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 12 (รูปที่ 55) และยังให้ปริมาณ FOS ชนิดนีสโตส ของการทดลองชุดที่เพิ่มอาหารสูงกว่าเช่นกันคือ 101.02 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 16 แต่ชุดที่ไม่เพิ่มอาหารให้ผลผลิตนีสโตสน้อยกว่าคือ 86.2 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 16 ซึ่งน่าจะมาจากการเพิ่มแหล่งคาร์บอนนั่นเอง (รูปที่ 55)

ต่อมาจึงมาพิจารณาผลของการเพิ่มอาหารที่มีต่อการเติบโต (รูปที่ 56) พบว่าการทดลองชุดที่เพิ่มอาหารให้การเติบโตมากกว่าชุดที่ไม่เพิ่มอาหารตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 ของการผลิต เนื่องจากมีแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนมากขึ้น โดยให้การเติบโตเท่ากับ 4.09 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 14 ซึ่งเป็นชั่วโมงที่ให้ผลผลิต FOSรวม สูงสุด ส่วนการทดลองชุดที่ไม่เพิ่มอาหารให้การเติบโตน้อยกว่า คือ 1.7 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 14 ซึ่งให้ผลผลิตรวมสูงสุด ดังนั้นการที่มีการเติบโตมากขึ้น มีปริมาณเอนไซม์ในการผลิตมากขึ้น จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การทดลองที่เพิ่มอาหารระหว่างการผลิตให้ผลผลิต FOSรวม FOSชนิดเคสโตส และ FOSชนิดนีสโตส เพิ่มมากขึ้นดังกล่าวมาแล้วข้างต้น และให้ผลผลิตได้ในระยะเวลาเท่ากับการทดลองชุดที่ไม่เพิ่มอาหาร โดยไม่มีผลของค่าพีเอชมาเกี่ยวข้องกับการเติบโตและการผลิตเลย เนื่องจากมีการควบคุมค่าพีเอชตลอดการผลิต กล่าวคือการเพิ่มอาหารแบบแบ่งใส่ไม่มีผลต่อระยะเวลาในการผลิต แต่มีผลต่อปริมาณผลผลิต คือให้ผลผลิตสูงขึ้น โดยสามารถผลิต FOS สูงสุดได้ในเวลาเท่ากับการทดลองที่ไม่เพิ่มอาหาร คือ ชั่วโมงที่ 16 แต่ให้ผลผลิตมากกว่า 38.18 กรัมต่อลิตร และมีร้อยละ FOSรวม ที่ผลิตได้สูงกว่าคือเท่ากับ ร้อยละ 58.78 ขณะที่ชุดที่ไม่เพิ่มอาหารให้ร้อยละ FOSรวม เท่ากับ 55.68 (ตารางที่ 12)

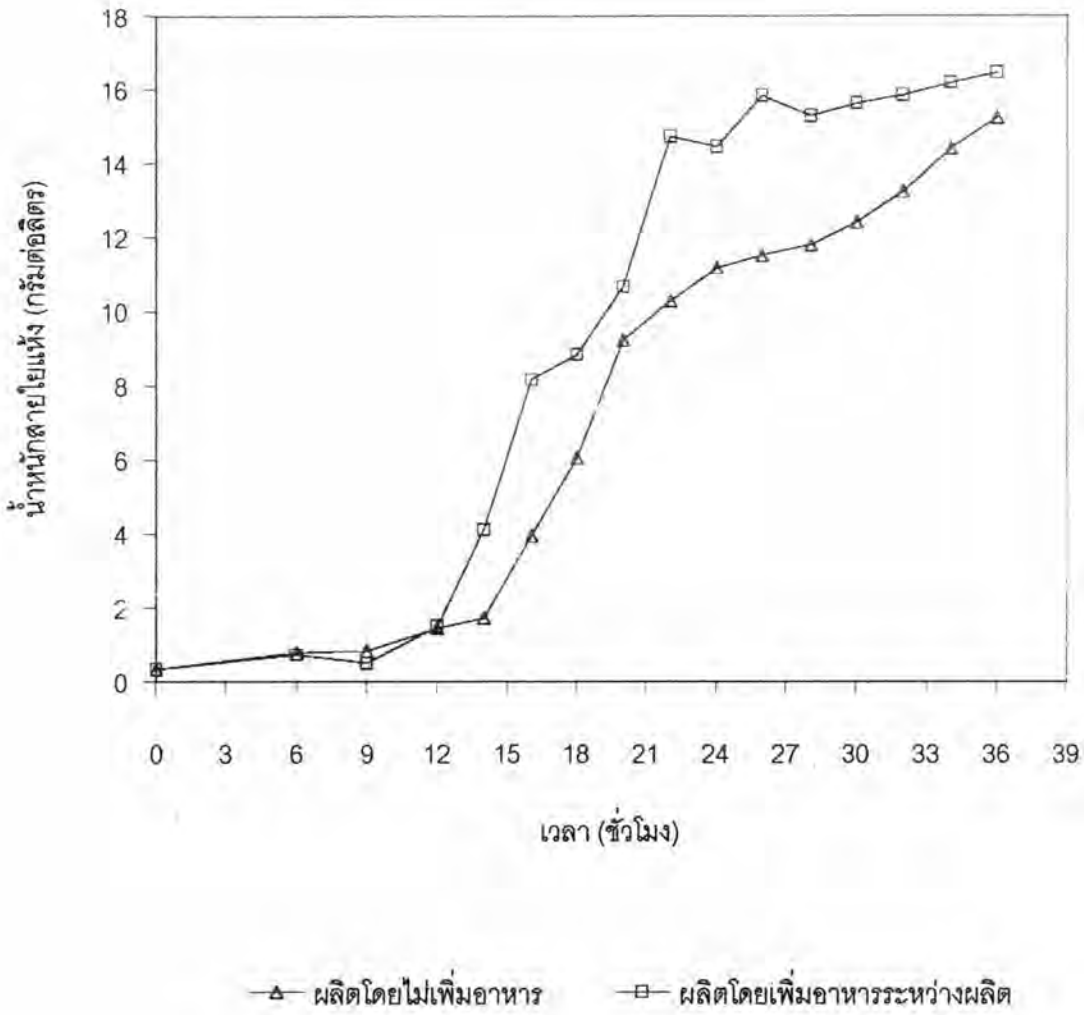
และเมื่อพิจารณาการใช้น้ำตาลซูโครสในระหว่างการผลิต (รูปที่ 55) พบว่ามีความสอดคล้องกับการผลิต FOS คือการทดลองชุดที่เพิ่มอาหารระหว่างการผลิตซึ่งผลิต FOS รวมได้เพิ่มขึ้น มีการใช้น้ำตาลซูโครสอย่างรวดเร็วกว่าการทดลองที่ไม่เพิ่มอาหาร หลังการเพิ่มอาหารในชั่วโมงที่ 9 และเหลือในปริมาณน้อยมากไล่เลี่ยกับชุดที่ไม่เพิ่มอาหารคือในช่วง 16 - 21 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 16 ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตส (รูปที่ 57) คือน้ำตาลกลูโคสในชั่วโมงที่ 9 -18 ของการผลิต ทั้งสองชุดการทดลองมีปริมาณไล่เลี่ยกัน แต่หลังจากนั้นการทดลองชุดที่เพิ่มอาหารมีน้ำตาลกลูโคสเพิ่มมากขึ้นกว่าชุดที่ไม่เพิ่มอาหาร ส่วนน้ำตาลฟรักโตสใน 26 ชั่วโมงแรกของการผลิต การทดลองทั้งสองชุดมีปริมาณไล่เลี่ยกัน หลัง



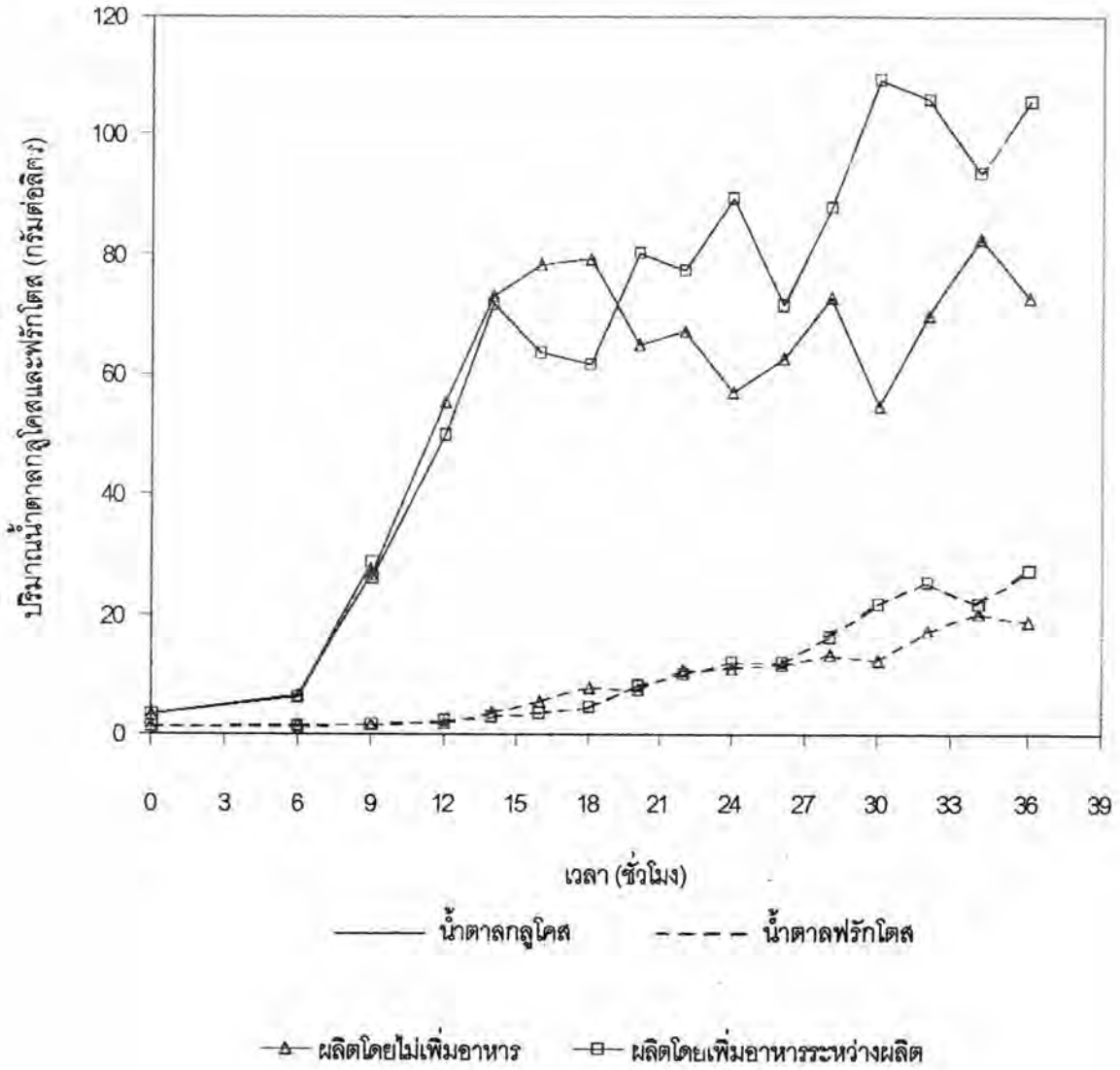
รูปที่ 54 เปรียบเทียบปริมาณ FOSรวม และน้ำตาลซูโครส เมื่อผลิต FOS ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีการเพิ่มอาหารในชั่วโมงที่ 9 ของการเพาะเลี้ยงและไม่เพิ่มอาหาร โดยจัดปริมาณออกซิเจนละลายเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 5.0 ตลอดการเพาะเลี้ยง



รูปที่ 55 เปรียบเทียบปริมาณเคสโตสและนีสโตส เมื่อผลิตFOS ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีการเพิ่มอาหารในชั่วโมงที่ 9 ของการเพาะเลี้ยงและไม่เพิ่มอาหาร โดยจัดปริมาณออกซิเจนละลายเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 5.0 ตลอดการเพาะเลี้ยง



รูปที่ 56 เปรียบเทียบน้ำหนักสายใยแห้ง เมื่อผลิต FOS ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีการเพิ่มอาหารในชั่วโมงที่ 9 ของการเพาะเลี้ยงและไม่เพิ่มอาหาร โดยจัดปริมาณออกซิเจนละลายเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 5.0 ตลอดการเพาะเลี้ยง



รูปที่ 57 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตส เมื่อผลิตFOS ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีการเพิ่มอาหารในชั่วโมงที่ 9 ของการเพาะเลี้ยงและไม่เพิ่มอาหาร โดยจัดปริมาณออกซิเจนละลายเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 5.0 ตลอดการเพาะเลี้ยง

จากนั้นการทดลองชุดที่เพิ่มอาหารจึงปริมาณน้ำตาลฟรักโตสเพิ่มขึ้นมากกว่า เหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากหลังการเพิ่มอาหาร น้ำตาลฟรักโตสที่มีอยู่เดิมมีปริมาณน้อยมาก ดังนั้นน้ำตาลซูโครสที่เพิ่มลงไปใหม่ต้องใช้ระยะเวลาหนึ่งในการสลายให้ได้น้ำตาลฟรักโตสมากขึ้นเพื่อนำมาเชื่อมกับน้ำตาลซูโครสในการผลิต FOS จึงมีน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตสในช่วงแรกไล่เลี่ยกับชุดที่ไม่เพิ่มอาหาร แต่หลังจากชั่วโมงที่ 18 จึงปรากฏให้เห็นความแตกต่างคือการทดลองชุดที่เพิ่มอาหารซึ่งมีการสลายน้ำตาลซูโครสและผลิต FOS ได้ดี ทำให้มีน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตสเพิ่มมากกว่าชุดที่ไม่เพิ่มอาหาร

เมื่อพิจารณาอัตราการผลิต FOSรวม ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด พบว่าการทดลองที่เพิ่มอาหารมีอัตราการผลิตสูงกว่าการทดลองที่ไม่เพิ่มอาหาร คือเท่ากับ 12.6 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แต่ชุดที่ไม่เพิ่มอาหารมีค่าเท่ากับ 9.94 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (ตารางที่ 12) นอกจากนี้ยังมีการนำน้ำตาลซูโครสไปผลิต FOSรวม ได้คุ้มค่ากว่าด้วย คือมีค่า Yp/s สูงกว่าการผลิตแบบไม่เพิ่มอาหาร โดยมีค่า Yp/s ตามลำดับดังกล่าว เท่ากับ 0.81 และ 0.61

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของสายใยในการผลิต FOS (Yp/x) ดังตารางที่ 12 พบว่าการเพิ่มอาหาร สายใยมีประสิทธิภาพต่ำกว่าการไม่เพิ่มอาหาร คือ มีค่า Yp/x เท่ากับ 43.12 และ 81.88 ตามลำดับ เนื่องจากการเพิ่มอาหารให้การเติบโตดีกว่ามากคือดีกว่าประมาณ 2 เท่า แต่อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสไปเป็น FOSรวม (Yp/s) ของชุดที่เพิ่มอาหารนั้นสูงกว่า

เพราะฉะนั้นวิธีการเติมอาหารในระหว่างการผลิตนี้อาจเป็นแนวทางหนึ่งที่ช่วยลดระยะเวลาและค่าใช้จ่ายได้มากกว่าการเติมอาหารครั้งเดียวตั้งแต่แรก และคาดหวังว่าจะสามารถเติมอาหารได้มากกว่า 1 ครั้ง ซึ่งจะทำให้การผลิตเพิ่มมากขึ้น ตราบใดที่สายใยยังมีประสิทธิภาพในการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์อยู่ และการทดลองเติมอาหารนี้จะเป็นแนวทางสำหรับการผลิต FOS สำหรับสายพันธุ์ของ *Penicillium* sp. H12 นี้ ในระดับขยายส่วนผลิตเพื่อหาความเหมาะสมว่าควรเติมแหล่งคาร์บอนกี่ครั้งและเติมในช่วงเวลาใดของการผลิตต่อไป

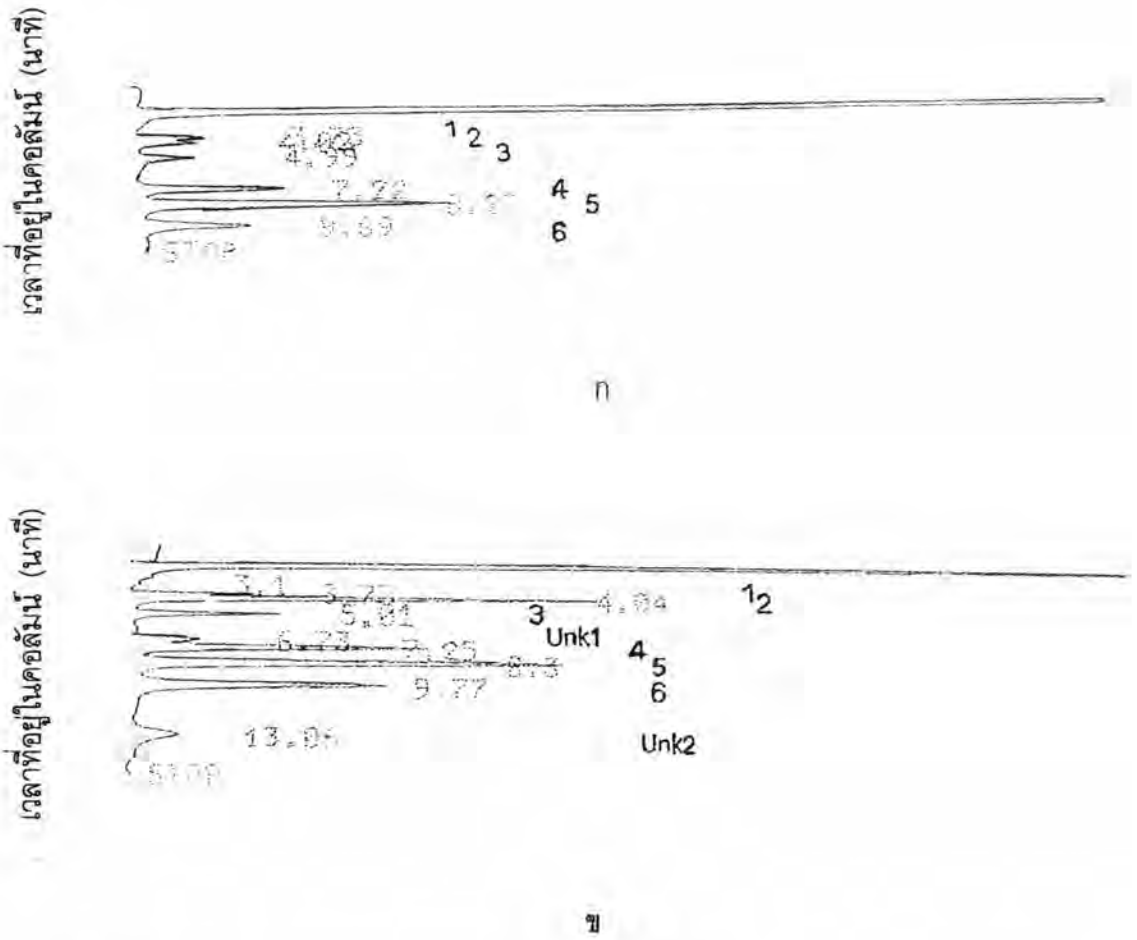
ตารางที่ 12 เปรียบเทียบปริมาณFOS อัตราการผลิต น้ำหนักสายใยแห้ง Yp/x และ Yp/s ณ.ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด เมื่อผลิตโดยการเพิ่มและไม่เพิ่มอาหารในระหว่างผลิต

เปรียบเทียบ	ไม่เพิ่มอาหาร (น้ำตาลซูโครส 250 กรัมต่อลิตร)		เพิ่มอาหาร (น้ำตาลซูโครส 300 กรัมต่อลิตร)	
	ปริมาณ (ก/ล)	ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด	ปริมาณ (ก/ล)	ชั่วโมงที่ให้ผลผลิตสูงสุด
เคสโตส	99.31	12	118.43	14
นีสโตส	86.2	16	101.02	16
FOSรวม	139.2	14	176.35	14
ร้อยละการผลิตFOSรวม	55.68		58.78	
อัตราการผลิต * (ก/ล/ชม.)	9.94		12.6	
น้ำหนักสายใยแห้ง * (ก/ล)	1.7		4.09	
Yp/x *	81.88		43.12	
Yp/s *	0.61		0.81	

หมายเหตุ * คิดจากชั่วโมงที่ให้ผลผลิต FOSรวม สูงสุด

3. ตัวอย่างผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์และน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ที่ผลิตได้จากการเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp. H12 ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

เมื่อนำตัวอย่างน้ำหมักที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp.H12 ในถังหมักณ.ชั่วโมงที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง ที่ได้จากการจัดค่าปริมาณออกซิเจนละลายเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว โดยควบคุมค่าพีเอชตลอดการทดลองเท่ากับ 5.0 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มาวิเคราะห์ชนิดและคำนวณหาปริมาณของ FOS และน้ำตาลชนิดต่างๆ โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานในภาคผนวก ค และ ใช้วิธีการคำนวณตามภาคผนวก ง โดยให้เวลาสารอยู่ในคอลัมน์นาน 17 นาที พบว่า มีผลิตภัณฑ์ 5 ชนิด ที่มีช่วงเวลาที่อยู่ในคอลัมน์ ใกล้เคียงกับ FOS และน้ำตาลมาตรฐานชนิดต่างๆ ดังรูปที่ 58 กล่าวคือมีน้ำตาลชนิดต่างๆที่มีระยะเวลาอยู่ในคอลัมน์จากน้อยไปมากเรียงตามลำดับ ได้แก่ น้ำตาลฟรักโตส น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลซูโครส รวมทั้ง FOS ชนิดเคสโตส และ FOS ชนิดนีสโตส (โดยมีน้ำตาลราฟฟิโนสซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐานภายในปรากฏพีคอยู่ระหว่างเคสโตสและนีสโตส) เมื่อนำมาคำนวณหาปริมาณ พบว่าน้ำตาลฟรักโตส น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลซูโครส FOS ชนิดเคสโตส และ FOS ชนิดนีสโตส มีปริมาณเท่ากับ 3.71 73.11 17.97 61.62 และ 77.58 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีพีคของน้ำตาลที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ 2 พีค โดยพีคแรกมีเวลาที่อยู่ในคอลัมน์ 6.73 นาที โดยปรากฏอยู่ระหว่างน้ำตาลซูโครสและเคสโตส (1–เคสโตส) และ พีคที่สองมีเวลาที่อยู่ในคอลัมน์นาน 13.06 นาทีซึ่งปรากฏอยู่หลังพีคของนีสโตส ดังรูปที่ 58 ซึ่งพีคแรกที่ไม่สามารถระบุชนิดได้คาดว่าน่าจะเป็น 6-เคสโตส ส่วนพีคที่ไม่สามารถระบุชนิดพีคที่สองคาดว่าน่าจะเป็น ฟรักโตฟิวแรนโนซิลนีสโตส (fructofuranosylnystose) ซึ่งเป็นฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ชนิดหนึ่ง ซึ่งมีดีกรีของการโพลิเมอไรเซชั่นสูงกว่า FOS ชนิดนีสโตส คือประกอบด้วยน้ำตาลซูโครสต่อกับน้ำตาลฟรักโตส 3 โมเลกุล เพราะมีระยะเวลาที่อยู่ในคอลัมน์นานกว่านีสโตส



รูปที่ 58 โครมาโตแกรมของ FOS และน้ำตาลชนิดต่างๆ ในน้ำหมัก ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp. H12 และสารมาตรฐาน FOS และน้ำตาลชนิดต่างๆ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยจัดปริมาณออกซิเจนละลายเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ของค่าอากาศอิ่มตัว

ก. FOS และน้ำตาลมาตรฐานชนิดต่างๆ และน้ำตาลราฟฟิโนส ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐานภายใน

ข. FOS และน้ำตาลชนิดต่างๆในน้ำหมักที่ผลิตขึ้นโดย *Penicillium* sp. H12 ผสมกับน้ำตาลราฟฟิโนสมาตรฐาน

1 หมายถึง น้ำตาลฟรักโตส
2 หมายถึง น้ำตาลกลูโคส
3 หมายถึง น้ำตาลซูโครส
4 หมายถึง FOSชนิดเคสโตส
5 หมายถึง น้ำตาลราฟฟิโนส (สารมาตรฐานภายใน)
6 หมายถึง FOSชนิดนีสโตส

Unk1 และ Unk2 หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ยังไม่ได้ทำการวิเคราะห์ชนิด