บทที่ 3

ผลการทดลอง

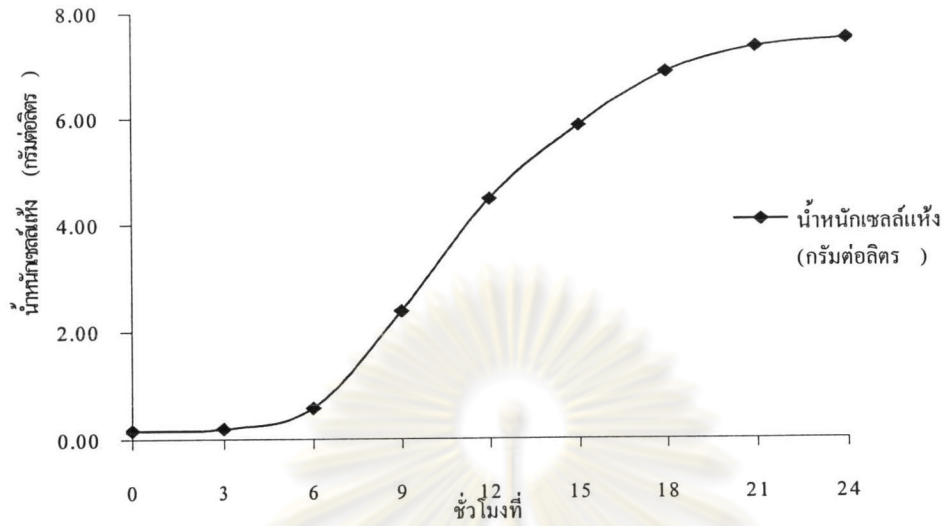
3.1 ลักษณะการเจริญของเชื้อ *Candida oleophila* C-73ในอาหารเหลวสำหรับการเจริญ

ศึกษาการเจริญของเชื้อ *Candida oleophila* C-73 เพื่อหาอายุของหัวเชื้อที่เหมาะสมโดยทำการเลี้ยงในอาหารเหลว (YM-medium) ตามวิธีทดลองในข้อ 2.3.2.1 ควบคุมอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 300 รอบต่อนาที ติดตามการเจริญของเชื้อทุก 3 ชั่วโมงจนครบ 24 ชั่วโมง โดยหาน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามวิธีข้อ 2.4.3 ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 3.1 และรูปที่ 3.1 พบว่าการเจริญของเชื้อจะอยู่ในระยะพักตัว (lag phase) เป็นช่วงเวลาสั้นๆ และเริ่มเข้าสู่ระยะของการเจริญแบบทวีคูณ (log phase) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 3 หลังจากนั้นเชื้อเจริญเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จนถึงชั่วโมงที่ 15 ก็เข้าสู่ช่วงท้ายของการเจริญแบบทวีคูณและเริ่มเข้าสู่ระยะของการเจริญแบบคงที่ (stationary phase) เมื่อพิจารณาถึงค่าอัตราการเจริญจำเพาะพบว่าชั่วโมงที่ 9 ให้ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดคือ 0.301 ชั่วโมง$^{-1}$ โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 2.366 กรัมต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวาสนา แย้มเกตุ (2540) ดังนั้นในการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 จะใช้อายุหัวเชื้อที่เวลา 9 ชั่วโมง ซึ่งให้ค่าอัตราการเจริญสูงสุด

ตารางที่ 3.1 น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ ในระดับขวดเขย่าที่ช่วงเวลาเพาะเลี้ยงต่างๆ

ชั่วโมงที่	น้ำหนักเซลล์แห้ง(กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญจำเพาะ(μ: ชั่วโมง$^{-1}$)
0	0.158	-
3	0.194	0.068
6	0.570	0.214
9	2.366	0.301
12	4.472	0.279
15	5.858	0.241
18	6.862	0.210
21	7.338	0.183
24	7.486	0.161

หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้เนื่องจากเซลล์เริ่มต้นไม่มีการเจริญ



รูปที่ 3.1 รูปแบบการเจริญของเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ

3.2 การผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ศึกษาการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 5 ลิตรโดยใช้สูตรอาหารของวาสนา แย้มเกตุ (2540)(ภาคผนวก ก2.1) ที่ได้ทำการปรับปรุงสูตรอาหารโดยใช้น้ำตาลกลูโคสโมโนไฮเดรตเกรดการค้า (commercial grade) แทนแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.2.2 เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณกรดมะนาว ปริมาณกรดไอโซซิตริกและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.2 และรูปที่ 3.2, 3.3, 3.4 พบว่า เชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้ น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 16.30 กรัมต่อลิตร ในเวลา 96 ชั่วโมง และเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจาก 12 ชั่วโมง โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและได้ 94.82 กรัมต่อลิตร ชั่วโมงที่ 96 คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 237.05 กรัม การลดลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้สอดคล้องกับปริมาณกรดมะนาวที่เพิ่มขึ้น พบว่าชั่วโมงที่ 96 ของการหมักนั้นเหลือน้ำตาลกลูโคส 46.33 กรัมต่อลิตร จากรูปที่ 3.3 แสดงค่าการคำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average) พบว่าค่าความสามารถการใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ (Yp/s) และค่าความสามารถที่เซลล์มีกิจกรรมในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ (Yp/x) มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 ของการหมัก จากนั้นค่ามีแนวโน้มคงที่ ส่วนค่าความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลล์ของเชื้อ (Yx/s) มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก และจากรูปที่ 3.4 แสดงค่าการคำนวณทางจลนพลศาสตร์คิด ในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous) พบว่าค่าความสามารถที่เชื้อใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตกรดมะนาว (Y′p/s)

ตารางที่3.2 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และY′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

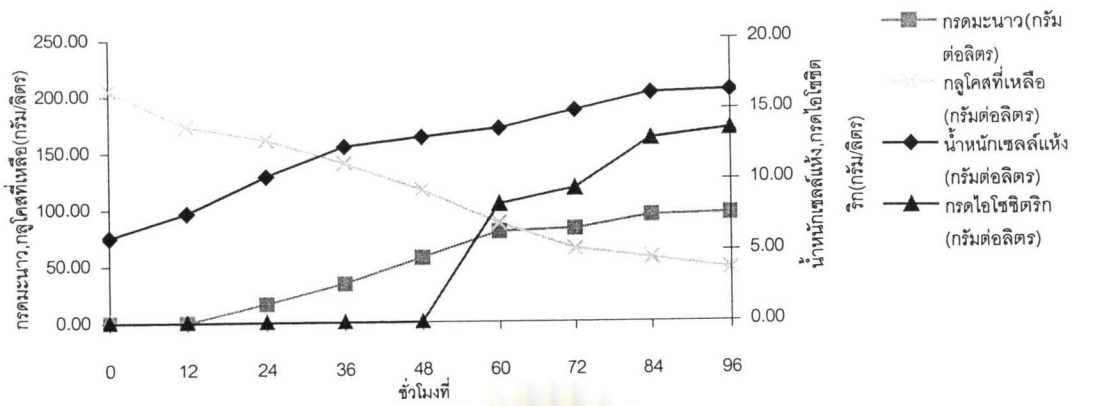
เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	6.00	0.00	0.00	205.48	-	-	-	-	-	-	-
12	7.70	0.00	0.00	173.25	0.000	0.000	0.053	0.000	0.000	0.053	0.000
24	10.30	16.38	0.00	161.15	0.683	0.370	0.097	3.809	1.354	0.215	6.300
36	12.40	34.07	0.00	140.20	0.946	0.522	0.098	5.323	0.844	0.100	8.424
48	13.05	56.66	0.00	116.03	1.180	0.633	0.079	8.037	0.935	0.027	34.754
60	13.65	79.50	8.30	86.63	1.325	0.669	0.064	10.392	0.777	0.020	38.067
72	14.90	81.59	9.40	64.43	1.133	0.578	0.063	9.167	0.094	0.056	1.672
84	16.15	93.45	12.91	56.00	1.113	0.625	0.068	9.207	1.407	0.148	9.488
96	16.30	94.82	13.59	46.33	0.988	0.596	0.065	9.206	0.142	0.016	9.133

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 2,500 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 237.05 กรัม

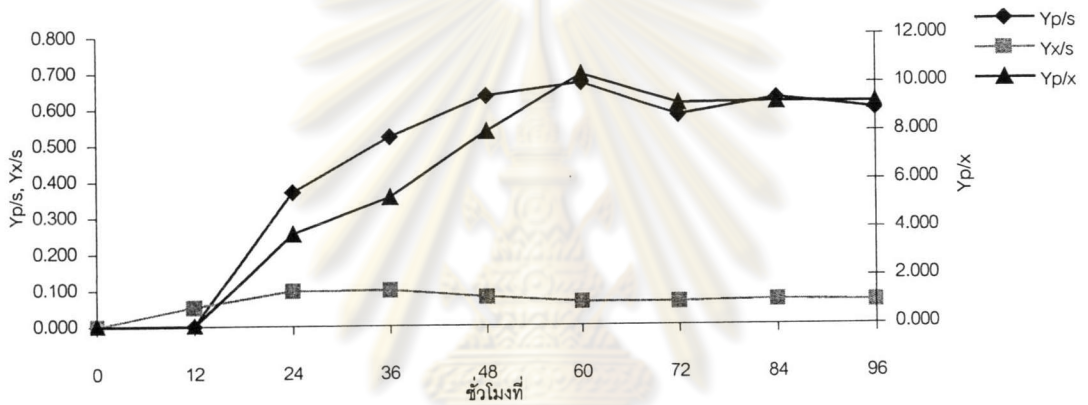
หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

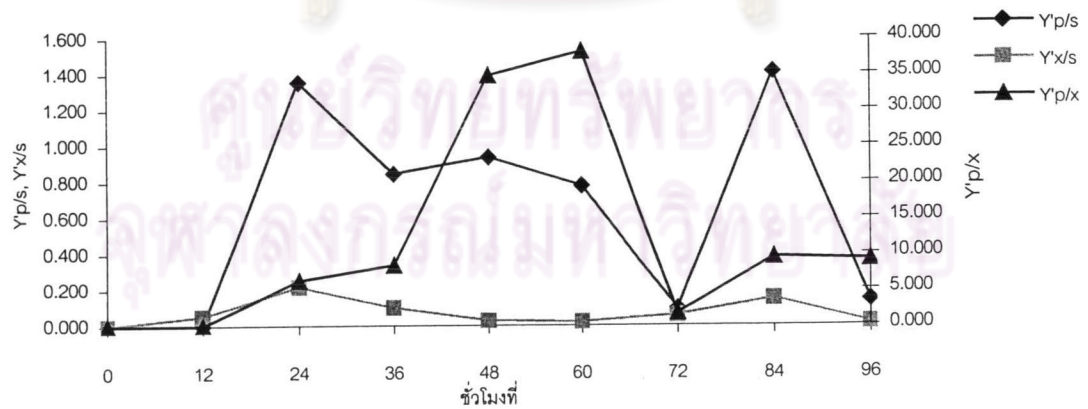
หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้



รูปที่ 3.2 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ในระยะเวลาต่างๆ เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 3.3 ค่า Yp/s Yx/s Yp/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 3.4 ค่า Y'p/s Y'x/s Y'p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

มีค่าสูงสุดคือชั่วโมงที่ 84 ของการหมักและค่าความสามารถที่เซลล์มีกิจกรรมในการผลิตกรดมะนาว ($Y'p/x$) มีค่าสูงสุดคือชั่วโมงที่ 60 ของการหมักซึ่งทั้งสองค่านี้จะมีการกระโดดเพราะเป็นค่าที่ได้จากการคำนวณจากผลการทดลองที่เวลาการหมักนั้นส่วนค่าความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลล์ ($Y'x/s$) มีค่าสูงสุดคือชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก

จากการทดลองพบว่าน้ำหมักเริ่มมีความหนืดเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 น้ำหมักมี 5.0 กิโลกรัมต่อเมตรต่อวินาทีชั่วโมงที่ 96 ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการกวนและการถ่ายเทออกซิเจนในการหมัก จึงทำให้ได้ปริมาณกรดมะนาวต่ำ และความหนืดของน้ำหมักยังเป็นอุปสรรคต่อการแยกเซลล์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตเพื่อนำมาเวียนกลับมาใช้ใหม่ด้วย ดังนั้นภาวะของการผลิตกรดมะนาวนี้จึงไม่เหมาะสมที่จะใช้ในการแยกเซลล์เพื่อเวียนกลับมาใช้ใหม่

3.3 การผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต โดยเติมแบบต่อเนื่อง

จากผลการทดลองที่ 3.2 พบว่าน้ำหมักมีความหนืดมาก ซึ่งสาเหตุหนึ่งของปัญหาความหนืดอาจเกิดมาจากการใส่แคลเซียมคาร์บอเนตที่ใช้ไปทั้งหมดตั้งแต่ต้นในการผลิตกรดมะนาว ดังนั้นการทดลองนี้จึงเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาว (ภาคผนวก ก2.2) ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.2.2 ทำการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสเท่ากับ 5 ตลอดการทดลองด้วยการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตแบบต่อเนื่อง ทำการเก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองตามตารางที่ 3.3 และรูปที่ 3.5, 3.6, 3.7 พบว่าน้ำหมักมีความหนืดชั่วโมงที่ 96 วัดค่าได้ เท่ากับ 4.0 กิโลกรัมต่อเมตรต่อวินาที ซึ่งความหนืดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ 3.2 โดยได้ปริมาณกรดมะนาว 99.28 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 96 คิดเป็นกรดมะนาวทั้งหมด 268.06 กรัม จากรูปที่ 3.6 แสดงค่าการคำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average) พบว่าค่าความสามารถการใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ (Yp/s) มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 ของการหมัก และค่าความสามารถที่เซลล์มีกิจกรรมในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ (Yp/x) มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 จากนั้นมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 96 ของการหมัก ส่วนค่าความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลล์ของเชื้อ (Yx/s) มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก และจากรูปที่ 3.7 แสดงค่าการคำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous) พบว่าค่าความสามารถที่เชื้อใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตกรดมะนาว ($Y'p/s$) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 เมื่อถึงชั่วโมงที่ 36 ของการหมักค่าที่ได้จะมีการแกว่งแต่เมื่อพิจารณาจากแนวโน้มพบว่าค่าที่ได้นั้นมีแนวโน้มคงที่และค่าความสามารถที่เซลล์มีกิจกรรมในการผลิต

ตารางที่3.3 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ$Y'_{p/s}$ $Y'_{x/s}$ $Y'_{p/x}$ ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยเติมแบบต่อเนื่อง

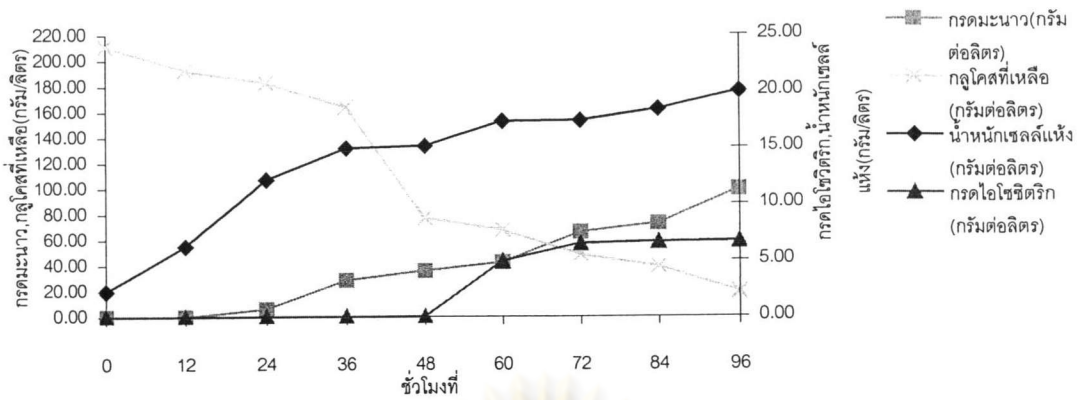
เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	$Y'_{p/s}$	$Y'_{x/s}$	$Y'_{p/x}$
0	2.25	0.00	0.00	211.25	-	-	-	-	-	-	-
12	6.25	0.00	0.00	192.50	0.000	0.000	0.213	0.000	0.000	0.213	0.000
24	12.15	5.99	0.00	182.50	0.250	0.208	0.344	0.605	0.599	0.590	1.015
36	14.75	28.27	0.00	163.75	0.785	0.595	0.267	2.226	1.188	0.149	7.957
48	15.15	35.78	0.00	77.00	0.745	0.267	0.096	2.774	0.087	0.002	37.550
60	17.35	42.21	4.90	67.38	0.704	0.293	0.105	2.795	0.668	0.229	2.923
72	17.40	65.85	6.48	48.13	0.915	0.404	0.093	4.347	1.228	0.003	472.800
84	18.40	72.42	6.62	39.03	0.862	0.421	0.094	4.484	0.722	0.110	6.570
96	20.00	99.28	6.67	19.25	1.034	0.517	0.092	5.593	1.358	0.081	16.788

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 2,700 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 268.06 กรัม

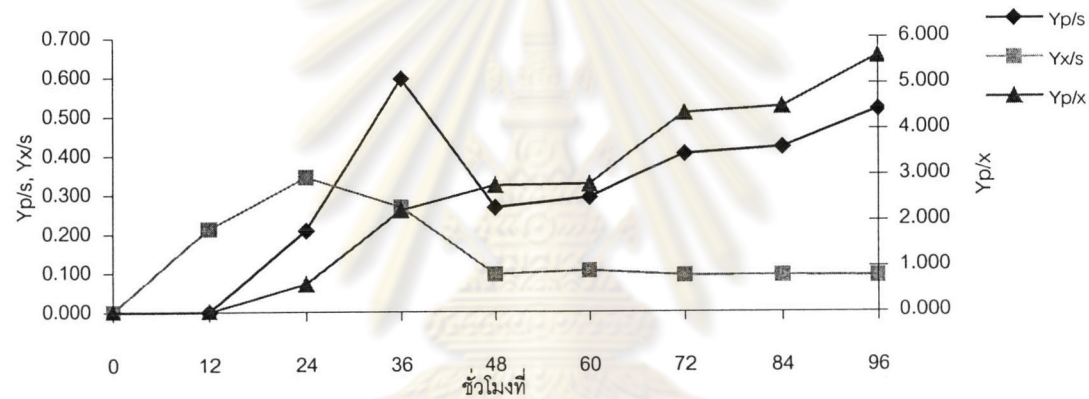
หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

$Y'_{p/s}$ $Y'_{x/s}$ $Y'_{p/x}$ คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

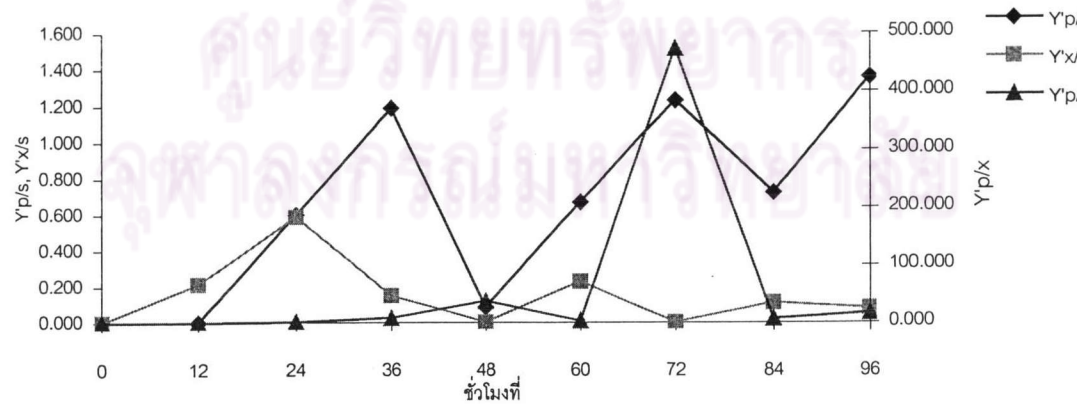
หมายเหตุ (-)ไม่สามารถคำนวณได้



รูปที่ 3.5 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรดด่างfh ด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยเติมแบบต่อเนื่อง



รูปที่ 3.6 ค่าYp/s Yx/s Yp/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรดด่างด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยเติมแบบต่อเนื่อง



รูปที่ 3.7 ค่าY'p/s Y'x/s Y'p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรดด่างด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยเติมแบบต่อเนื่อง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กรดมะนาว ($Y'_{p/x}$) มีค่าสูงสุดคือชั่วโมงที่ 72 ของการหมัก ส่วนค่าความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลล์ ($Y'_{x/s}$) มีค่าสูงสุดคือชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก

3.4 การผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต โดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

จากผลการทดลองที่ 3.2 และ 3.3 พบว่าความหนืดของน้ำหมักยังมีค่าสูงอยู่ จึงทำการทดลองเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาว (ภาคผนวก ก2.3) ตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.2.2 ทำการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสเท่ากับ 5 โดยแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต ครั้งแรก 120 กรัม ครั้งที่ 2-6 ครั้งละ 60 กรัม เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองในตารางที่ 3.4 จากรูปที่ 3.8, 3.9, 3.10 พบว่าชั่วโมงที่ 96 น้ำหมักมีความหนืด 3.0 กิโลกรัมต่อเมตรต่อวินาที โดยได้ปริมาณกรดมะนาว 114.14 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 96 คิดเป็นกรดมะนาวทั้งหมด 308.18 กรัม จากรูปที่ 3.9 แสดงค่าการคำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average) พบว่าค่าความสามารถการใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ ($Y_{p/s}$) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 เมื่อถึงชั่วโมงที่ 36 ของการหมักค่าความสามารถการใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตกรดมะนาวเริ่มเข้าสู่ภาวะคงที่ (stationary) อย่างชัดเจน และค่าความสามารถที่เซลล์มีกิจกรรมในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ ($Y_{p/x}$) มีค่าเพิ่มขึ้นชั่วโมงที่ 12 และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วชั่วโมงที่ 24 เมื่อถึงชั่วโมงที่ 60 ของการหมักค่าความสามารถที่เซลล์มีกิจกรรมในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อเริ่มเข้าสู่ภาวะคงที่ (stationary) อย่างชัดเจน ส่วนค่าความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลล์ของเชื้อ ($Y_{x/s}$) มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก จากรูปที่ 3.10 แสดงค่าการคำนวณทางจลนพลศาสตร์คิด ในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous) พบว่าค่าความสามารถที่เชื้อใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตกรดมะนาว ($Y'_{p/s}$) มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก และค่าความสามารถที่เซลล์มีกิจกรรมในการผลิตกรดมะนาว ($Y'_{p/x}$) มีค่าสูงสุดคือชั่วโมงที่ 48 ของการหมักแต่ค่าที่ได้ขณะชั่วโมงที่ 96 มีค่ามากกว่าแต่คาดว่าเกิดจากการคลาดเคลื่อน ส่วนค่าความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลล์ ($Y'_{x/s}$) มีค่าสูงสุดคือชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก

จากการทดลองที่ 3.2, 3.3 และ 3.4 พบว่าการทดลองที่ 3.4 มีปริมาณกรดมะนาวมากที่สุด ขณะที่ความหนืดของน้ำหมักต่ำ ดังนั้นจึงเลือกใช้ภาวะของการผลิตกรดมะนาวในการทดลองที่ 3.4 ทำการผลิตกรดมะนาวเพื่อใช้ในการทดลองแยกเซลล์เพื่อเวียนกลับมาใช้ใหม่ต่อไป

ตารางที่3.4 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และY′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

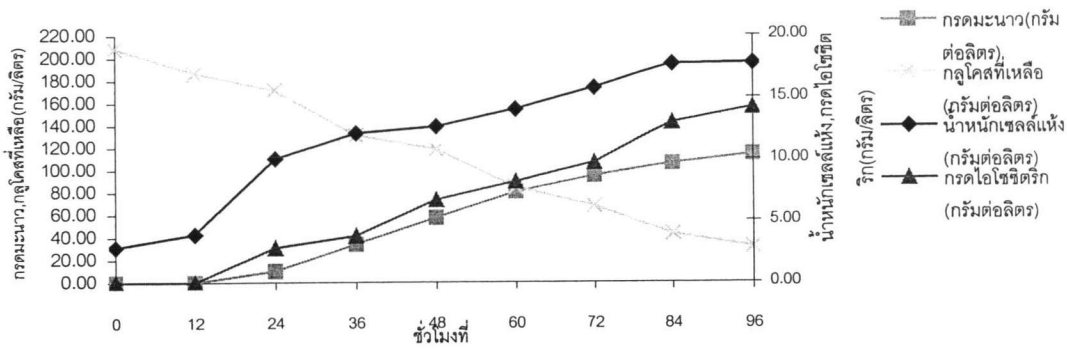
เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	2.80	0.00	0.00	208.33	-	-	-	-	-	-	-
12	3.87	0.00	0.00	186.83	0.000	0.000	0.050	0.000	0.000	0.050	0.000
24	10.03	9.97	2.79	171.67	0.415	0.272	0.197	1.379	0.658	0.406	1.619
36	12.10	33.69	3.75	131.33	0.936	0.438	0.121	3.623	0.588	0.051	11.459
48	12.63	57.43	6.68	118.67	1.196	0.641	0.110	5.842	1.875	0.042	44.792
60	14.03	80.35	8.15	84.67	1.339	0.650	0.091	7.155	0.674	0.041	16.371
72	15.77	94.63	9.71	68.00	1.314	0.674	0.092	7.296	0.857	0.104	8.207
84	17.70	105.88	12.95	43.00	1.260	0.640	0.090	7.106	0.450	0.077	5.829
96	17.77	114.14	14.19	31.50	1.189	0.645	0.085	7.625	0.718	0.006	118.000

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 2,700 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 308.18 กรัม

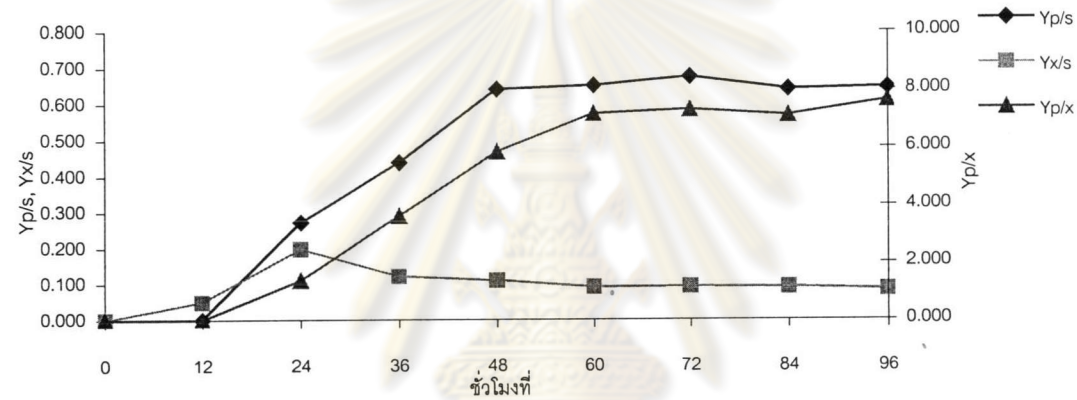
หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

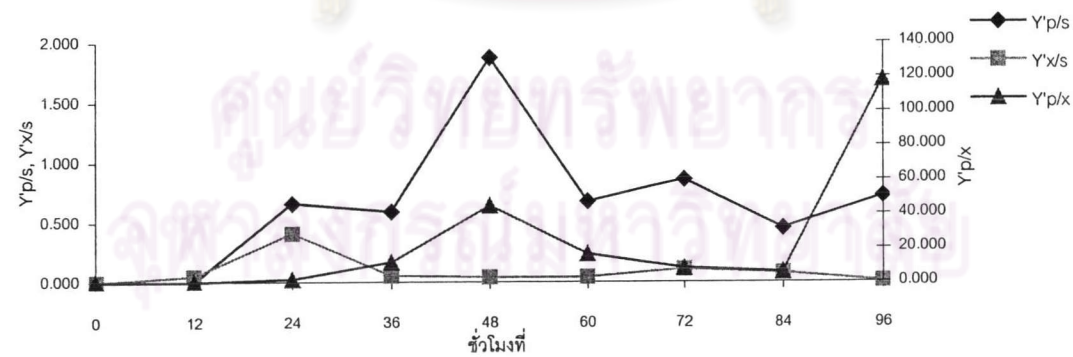
หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้



รูปที่ 3.8 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรดด่างด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต



รูปที่ 3.9 ค่า Yp/s Yx/s Yp/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรดด่างด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต



รูปที่ 3.10 ค่า Y'p/s Y'x/s Y'p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรดด่างด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

3.5 ลักษณะทางกายภาพของเซลล์ยีสต์ แคลเซียมซิเทรต แคลเซียมคาร์บอเนตและน้ำหมัก

ในการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ ควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต ผลผลิตที่ได้จะอยู่ในรูปของแคลเซียมซิเทรตซึ่งไม่ละลายน้ำ ดังนั้นเมื่อสิ้นสุดการหมัก ในน้ำหมักประกอบด้วย supernatant และส่วนที่ไม่ละลายน้ำได้แก่ แคลเซียมซิเทรต แคลเซียมคาร์บอเนตที่เหลือ และเซลล์ยีสต์ การเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่จะต้องแยกเซลล์ยีสต์ออกจากส่วนประกอบอื่นๆของน้ำหมัก การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากแคลเซียมซิเทรตนั้นอาจใช้ได้ทั้งวิธีทางกายภาพหรือเคมี ข้อดีของการแยกโดยวิธีทางกายภาพนั้นคือไม่มีการใช้สารเคมีซึ่งอาจเป็นพิษต่อเซลล์ การแยกโดยวิธีทางกายภาพเช่นการตกตะกอนหรือการปั่นเหวี่ยงนั้น ต้องทราบสมบัติของสารที่จะแยก เช่น ความหนาแน่น ขนาด เป็นต้น (Geankoplis, 1993) งานวิจัยในขั้นตอนนี้จึงทำการทดลองเพื่อหาสมบัติทางกายภาพของเซลล์ยีสต์, แคลเซียมซิเทรต, แคลเซียมคาร์บอเนตและ น้ำหมัก เพื่อหาความแตกต่างและวิธีที่เหมาะสมที่ใช้แยก

3.5.1 ความหนาแน่นของยีสต์ แคลเซียมซิเทรต แคลเซียมคาร์บอเนต และส่วนน้ำใสของน้ำหมัก (ซึ่งต่อไปนี้จะเรียกว่า supernatant)

จากการทดลองหาความหนาแน่นตามวิธีในข้อ 2.5.1 ได้ผลแสดงในตารางที่ 3.5 พบว่ายีสต์ แคลเซียมซิเทรต แคลเซียมคาร์บอเนต และ supernatant มีความหนาแน่น 1.0642, 2.1447, 2.6431 และ 1.0404 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความหนาแน่นของยีสต์กับแคลเซียมซิเทรต และยีสต์กับแคลเซียมคาร์บอเนตจะเห็นได้ว่าแคลเซียมซิเทรตและแคลเซียมคาร์บอเนตมีค่าความหนาแน่นมากกว่ายีสต์ประมาณ 2 เท่า

3.5.2 ขนาดของยีสต์ แคลเซียมซิเทรต และแคลเซียมคาร์บอเนต

จากการทดลองตามวิธีในข้อ 2.5.2 ได้ผลแสดงในตารางที่ 3.5 และรูปในภาคผนวก ฉ1 และ ฉ2 พบว่าขนาดของยีสต์ แคลเซียมซิเทรต และแคลเซียมคาร์บอเนตที่วัดโดยเฉลี่ยเท่ากับ 5.92, 12.67 และ 28.67 ไมโครเมตร ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบขนาดของยีสต์กับแคลเซียมซิเทรต จะเห็นได้ว่าแคลเซียมซิเทรตมีขนาดใหญ่กว่ายีสต์ 2.14 เท่า สรุปได้ว่ายีสต์มีขนาดและความหนาแน่นแตกต่างจากแคลเซียมคาร์บอเนต แคลเซียมซิเทรต จึงน่าจะสามารถแยกออกจากกันได้

3.5.3 ความหนืดของน้ำหมัก

จากการหาความหนืดของน้ำหมักด้วยเครื่อง Portable Viscotester รุ่น VT-04 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.5 พบว่าน้ำหมักมีค่าความหนืดเท่ากับ 3.0 กิโลกรัมต่อเมตรต่อวินาที

ตารางที่ 3.5 ลักษณะทางกายภาพของยีสต์ แคลเซียมซิเทรต แคลเซียมคาร์บอเนต supernatant และน้ำหมัก

	ความหนาแน่น (กรัมต่อมิลลิลิตร)	ขนาด (ไมโครเมตร)	ความหนืด (กิโลกรัมต่อเมตรต่อวินาที)
ยีสต์	1.0642±0.0056	5.92±3.01	-
แคลเซียมซิเทรต	2.1447±0.0581	12.67±2.75	-
แคลเซียมคาร์บอเนต	2.6431±0.0172	28.67±10.19	-
supernatant	1.0404±0.0016	-	-
น้ำหมัก	-	-	3.0

3.6 การคำนวณความเร็วในการตกตะกอนของยีสต์ แคลเซียมซิเทรต และแคลเซียมคาร์บอเนต

จากผลการทดลองในตารางที่ 3.5 นำมาคำนวณหาความแตกต่างของความเร็วในการตกตะกอนของยีสต์ แคลเซียมซิเทรต และแคลเซียมคาร์บอเนตในน้ำหมัก ภายใต้อิทธิพลของแรงดึงดูดของโลกจากกฎของสโต๊คส์ (Stoke's Law) คือ $V_g = D^2(\rho_1-\rho_2)g/18\mu$ ได้ผลการคำนวณในตารางที่ 3.6

ตารางที่ 3.6 ผลการคำนวณความเร็วในการตกตะกอนของยีสต์ แคลเซียมซิเทรต และแคลเซียมคาร์บอเนตภายใต้แรงโน้มถ่วงของโลก

	ความเร็วในการตกตะกอน (เมตรต่อวินาที)
ยีสต์	1.52×10^{-10}
แคลเซียมซิเทรต	3.24×10^{-8}
แคลเซียมคาร์บอเนต	2.41×10^{-7}

จากตารางที่ 3.6 เมื่อเปรียบเทียบความเร็วในการตกตะกอนของยีสต์กับแคลเซียมซิเทรตจะพบว่าแคลเซียมซิเทรตและแคลเซียมคาร์บอเนตมีความเร็วในการตกตะกอนเร็วกว่ายีสต์ 213.16 และ 1580 เท่าตามลำดับ แต่ความเร็วที่ยีสต์ แคลเซียมซิเทรตและแคลเซียมคาร์บอเนตตกตะกอนเป็นความเร็วในการตกตะกอนที่ช้ามาก ดังนั้นเมื่อทิ้งให้ตกตะกอนภายใต้อิทธิพลจากแรงโน้มถ่วงของโลกนั้นไม่สามารถที่จะแยกยีสต์กับแคลเซียมซิเทรตออกจากกันได้

จากรายงานการวิจัยของ Lasch และคณะ (2000) มีการปรับเปลี่ยนความหนาแน่นของ supernatant เพื่อช่วยในการแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงออกจากเลือด ดังนั้นจึงนำหลักการนี้มาช่วยในการแยกเซลล์ด้วยวิธีการตกตะกอน โดยการปรับความหนาแน่นของ supernatant ให้เท่ากับหรือมากกว่าความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ เพื่อให้เซลล์ยีสต์ลอยอยู่ในส่วนของเหลว ขณะที่แคลเซียมซิเทรตและแคลเซียมคาร์บอเนตตกตะกอน พบว่าเมื่อทำการทดสอบโดยนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองที่ 3.5 มาคำนวณโดยใช้ความหนาแน่นของ supernatant เท่ากับ 1.06, 1.08, 1.10, 1.12 และ 1.14 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งได้ผลการคำนวณดังตารางที่ 3.7

ตารางที่ 3.7 ผลการคำนวณความเร็วในการตกตะกอนของยีสต์ แคลเซียมซิเทรต และแคลเซียมคาร์บอเนต ของ supernatant ที่ความหนาแน่นต่างๆ

	ความเร็วในการตกตะกอน (เมตรต่อวินาที) ที่ความหนาแน่นของ supernatant				
	1.06 g/ml	1.08 g/ml	1.10 g/ml	1.12 g/ml	1.14 g/ml
ยีสต์	2.69×10^{-11}	-1.01×10^{-10}	-2.29×10^{-10}	-3.57×10^{-10}	-4.86×10^{-10}
แคลเซียมซิเทรต	3.18×10^{-8}	3.12×10^{-8}	3.07×10^{-8}	3.01×10^{-8}	2.95×10^{-8}
แคลเซียมคาร์บอเนต	2.38×10^{-7}	2.38×10^{-7}	2.32×10^{-7}	2.29×10^{-7}	2.26×10^{-7}

จากผลการคำนวณในตารางที่ 3.7 เมื่อความหนาแน่นของ supernatant มีค่าเพิ่มขึ้น ความเร็วการตกตะกอนของยีสต์จะมีค่าติดลบมากขึ้น ซึ่งแสดงว่ายีสต์นั้นไม่ตกตะกอนและยีสต์จะลอยเร็วขึ้น แต่ความเร็วการตกตะกอนของแคลเซียมซิเทรตและแคลเซียมคาร์บอเนตนั้นมีความเร็วช้าลงเมื่อความหนาแน่นของ supernatant เพิ่มขึ้น จากการพิจารณาจะพบว่า การปรับความหนาแน่นของ supernatant เท่ากับ 1.08 กรัมต่อมิลลิลิตร มีความเร็วของยีสต์ที่ลอยขึ้นกับความเร็วในการตกตะกอนของแคลเซียมซิเทรตมีความแตกต่างกันประมาณ 309 เท่าซึ่งมากที่สุด แต่จากการคำนวณหาเวลาที่ใช้ในการเคลื่อนที่ของยีสต์และแคลเซียมซิเทรตเป็นระยะทาง 0.01 เมตร จะต้องใช้เวลา 27,502.75 และ 89.03 ชั่วโมงตามลำดับซึ่งเป็นเวลาที่ช้ามาก จึงไม่สามารถใช้วิธีการตกตะกอนโดยแรงโน้มถ่วงมาทำการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากแคลเซียมซิเทรตได้

3.7 การแยกเซลล์โดยใช้คอลัมน์

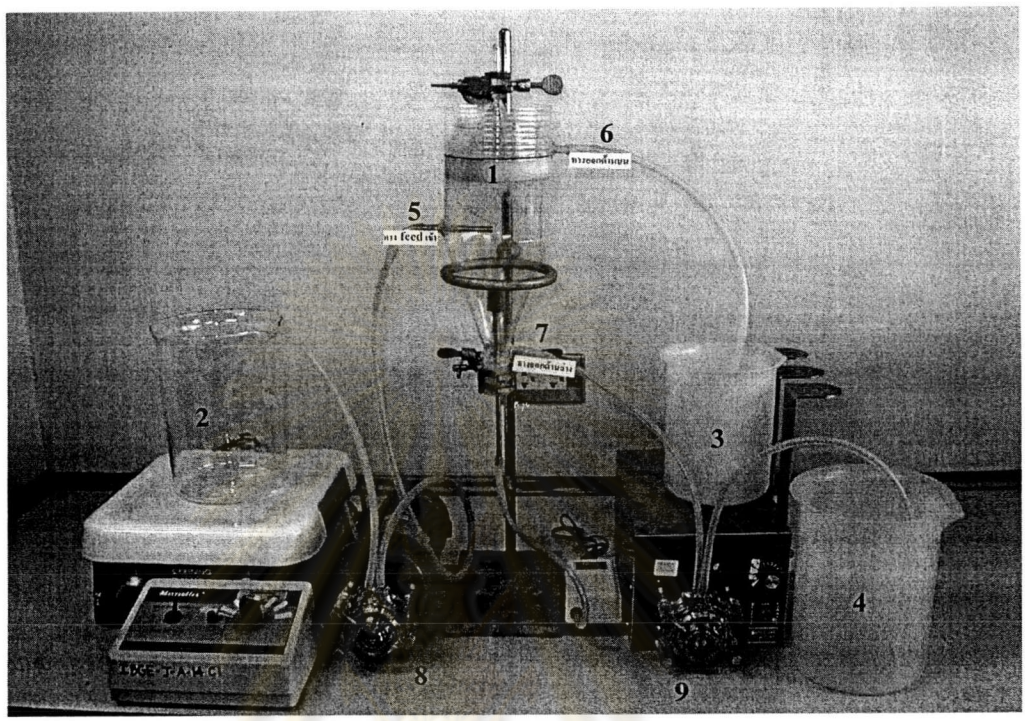
จากผลการทดลองที่ 3.5 และผลการคำนวณจากตารางที่ 3.6 และ 3.7 พบว่ายีสต์ และแคลเซียมซิเทรตมีความหนาแน่นและขนาดแตกต่างกัน เมื่อคำนวณความเร็วในการตกตะกอนโดยปรับความหนาแน่นของ supernatant เท่ากับ 1.08 กรัมต่อมิลลิลิตร จะพบว่ามีความเร็วแตกต่างกันแต่ไม่สามารถใช้วิธีตกตะกอนโดยแรงโน้มถ่วงมาใช้ในการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากแคลเซียมซิเทรตได้ การทดลองนี้จึงทำการตกตะกอนในคอลัมน์และใช้ฟองอากาศมาช่วยในการแยก

3.7.1 การใช้คอลัมน์แบบสั้น

ทำการทดลองนี้ตามวิธีที่ 2.6.1 ด้วยเครื่องมือดังรูปที่ 3.11 โดยใช้การปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยน้ำปราศจากไอออน, สารละลายซูโครส 30 และ 35 บริกส์ ตามลำดับ ในสัดส่วนของน้ำหมัก 400 กรัม (ปริมาตรประมาณ 300 มิลลิลิตร) ต่อสารละลายที่ใช้ในการปรับความหนาแน่น 600 มิลลิลิตร ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3.8 จากการทดลองพบว่าการใช้สารละลายซูโครส 35 บริกส์ปรับความหนาแน่นของน้ำหมัก และเมื่อป้อนเข้าสู่คอลัมน์สารผสมจะมีความหนาแน่น 1.14 กรัมต่อมิลลิลิตรสามารถแยกได้ 33.53%ของน้ำหนักเซลล์แห้ง แต่การใช้สารละลายซูโครส 30 บริกส์ปรับความหนาแน่นของน้ำหมักจะได้สารผสมที่มีความหนาแน่น 1.11 กรัมต่อมิลลิลิตรสามารถแยกได้ 33.26%ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันและจากการสังเกตในการทดลองพบว่าเมื่อป้อนสารผสมเข้าคอลัมน์ยังมีความหนืดสูงจึงไม่กระจายตัวทำให้สารผสมนั้นตกลงอยู่ส่วนล่างของคอลัมน์แสดงว่าการผสมโดยใช้สารละลายซูโครสปริมาตร 600 มิลลิลิตรน้อยเกินไปโดยความหนืดของสารผสม 0.3 กิโลกรัมต่อเมตรต่อวินาทีนั้นยังคงสูงและระยะเวลาของสารผสมที่อยู่ในคอลัมน์น้อยทำให้ประสิทธิภาพการแยกไม่ดี

ตารางที่ 3.8 ผลการแยกเซลล์ยีสต์จากน้ำหมัก 400 กรัมโดยใช้คอลัมน์แบบสั้น

สารละลายที่ใช้ผสมเพื่อปรับความหนาแน่น (600มิลลิลิตร)	% น้ำหนักเซลล์แห้งที่พบในแต่ละส่วนของการแยก		
	ทางออกด้านบน (ส่วนของยีสต์)	ทางออกด้านล่าง (ส่วนของแคลเซียมซิเทรต)	สารแขวนลอยที่เหลือภายในคอลัมน์
น้ำปราศจากไอออน	19.86	52.52	27.62
สารละลายซูโครส 30 บริกส์	33.26	31.69	35.05
สารละลายซูโครส 35 บริกส์	33.53	31.09	35.38



1 คอลัมน์แบบสั้น

2 บีกเกอร์สำหรับผสมน้ำหมักและสารที่ใช้ในการปรับความหนาแน่น

3 บีกเกอร์เก็บตัวอย่างทางออกด้านบน ในส่วนของยีสต์

4 บีกเกอร์เก็บตัวอย่างทางออกด้านล่าง ในส่วนของแคลเซียมซิเทรต

5 ทางป้อนสารผสมเข้าคอลัมน์

6 ทางออกด้านบน ในส่วนของยีสต์

7 ทางออกด้านล่าง ในส่วนของแคลเซียมซิเทรต

8 ปั๊มป้อนสารผสมเข้าคอลัมน์

9 ปั๊มดึงแคลเซียมซิเทรตออกจากคอลัมน์

รูปที่ 3.11 ชุดคอลัมน์แยกแบบสั้น

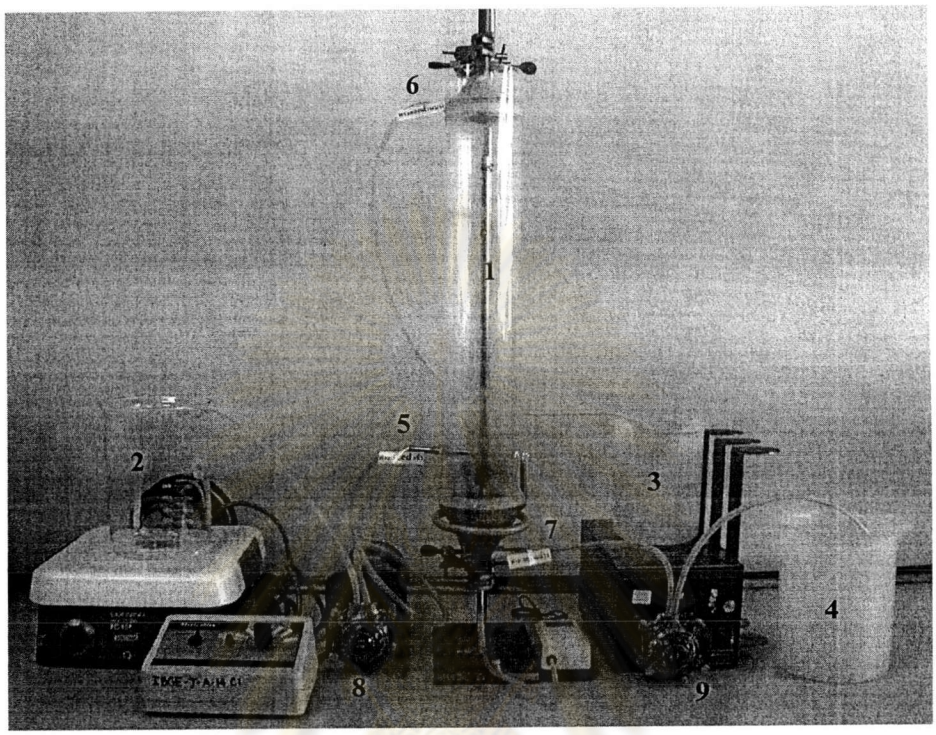
3.7.2 การใช้คอลัมน์แบบยาว

จากผลการทดลองที่ 3.7.1 พบว่าสารผสมนั้นความหนืดสูงทำให้ไม่เกิดการกระจายตัวเมื่อเข้าสู่คอลัมน์และระยะเวลาของสารผสมที่อยู่ในคอลัมน์นั้นน้อย ดังนั้นการทดลองนี้จึงเปลี่ยนขนาดของคอลัมน์ที่ใช้แยกโดยเพิ่มความยาวของคอลัมน์เป็น 50 เซนติเมตร โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักโดยเติมสารละลายซูโครส 25, 30 และ 35 บริกส์ ตามลำดับ ในสัดส่วนของน้ำหมัก 500 กรัม (ปริมาตรประมาณ 400 มิลลิลิตร) ต่อสารละลายที่ใช้ในการปรับความหนาแน่น 1,000 มิลลิลิตร โดยทำตามวิธีการทดลองที่ 2.6.2 และได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3.9 พบว่าจากการทดลองใช้สารละลายซูโครส 30 บริกส์ปรับความหนาแน่นของน้ำหมักนั้นสามารถแยกได้ดีที่สุด 46.26%ของน้ำหนักเซลล์แห้งทั้งหมด จากการทดลองพบว่าการแยกโดยวิธีการใช้คอลัมน์แบบยาวต้องใช้สารละลายน้ำตาลซูโครสในการผสม 1,000 มิลลิลิตร ภายในคอลัมน์ 2,500 มิลลิลิตร และใช้ในการป้อนล้าง 1,500 มิลลิลิตร รวมเป็นปริมาตร 5,000 มิลลิลิตรเพื่อใช้ในการแยกน้ำหมัก 500 กรัม ปริมาณของแข็งที่ตกตะกอนและปริมาณเซลล์ยีสต์ที่แยกได้ปริมาณน้อยดังนั้นวิธีนี้จึงไม่เหมาะสมที่จะใช้แยกเซลล์จากน้ำหมัก

ตารางที่ 3.9 ผลการแยกเซลล์ยีสต์จากน้ำหมัก 500 กรัมโดยใช้คอลัมน์แบบยาว

สารละลายที่ใช้ผสมเพื่อปรับความหนาแน่น (1,000มิลลิลิตร)	% น้ำหนักเซลล์แห้งที่พบในแต่ละส่วน		
	ทางออกด้านบน (ส่วนของยีสต์)	ทางออกด้านล่าง (ส่วนของแคลเซียมซิเทรต)	สารแขวนลอยที่เหลือในคอลัมน์
สารละลายซูโครส 25 บริกส์	35.60	21.90	42.50
สารละลายซูโครส 30 บริกส์	46.26	22.01	31.73
สารละลายซูโครส 35 บริกส์	38.28	15.67	46.05

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



1 คอลัมน์แบบยาว

2 บีกเกอร์สำหรับผสมน้ำหมักและสารที่ใช้ในการปรับความหนาแน่น

3 บีกเกอร์เก็บตัวอย่างทางออกด้านบน ในส่วนของยีสต์

4 บีกเกอร์เก็บตัวอย่างทางออกด้านล่าง ในส่วนของแคลเซียมซิเทรต

5 ทางป้อนสารผสมเข้าคอลัมน์

6 ทางออกด้านบน ในส่วนของยีสต์

7 ทางออกด้านล่าง ในส่วนของแคลเซียมซิเทรต

8 ปั๊มป้อนสารผสมเข้าคอลัมน์

9 ปั๊มดึงแคลเซียมซิเทรตออกจากคอลัมน์

รูปที่ 3.12 ชุดคอลัมน์แยกแบบยาว

3.8 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตโดยการปั่นเหวี่ยง

จากการทดลองในข้อ 3.7.2 การใช้สารละลายน้ำตาลซูโครสที่ใช้ในการผสมและป้อนเข้ารวม 5,000 มิลลิลิตรในการแยกเซลล์ยีสต์จากน้ำหมัก 500 กรัม ได้เซลล์ยีสต์ 46.26 % ซึ่งเป็นปริมาณน้อย เมื่อเทียบกับปริมาณน้ำตาลที่ใช้ ดังนั้นจึงเปลี่ยนวิธีแยกโดยใช้หลักการตกตะกอนโดยการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์จากน้ำหมัก

3.8.1 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตโดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส 25, 30 และ 35 บริกส์ ที่ 4 องศาเซลเซียส

จากผลการทดลองที่ 3.7.1 และการทดลองที่ 3.7.2 พบว่าวิธีการแยกของทั้งสองการทดลองนั้นให้ประสิทธิภาพในการแยกไม่ดี ต้องใช้สัดส่วนปริมาตรของสารละลายน้ำตาลซูโครสต่อน้ำหนักของน้ำหมักสูง การทดลองนี้ใช้น้ำหมักชั่วโมงที่ 72 มาทำการทดลอง เนื่องจากน้ำหมักมีความหนืดน้อยกว่าน้ำหมักชั่วโมงที่ 96 โดยใช้วิธีการทดลองที่ 2.7.1.1 และได้ผลดังตารางที่ 3.10 และรูปที่ 3.13, 3.14 และ 3.15 พบว่าการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที สามารถแยกเซลล์ยีสต์และกรดมะนาวออกจากน้ำหมักได้ดีที่สุดทุกระดับความหนาแน่นของสารละลายซูโครส 25, 30 และ 35 บริกส์ที่ใช้ปรับความหนาแน่น และที่ความเร็วการปั่นเหวี่ยง 2,000 รอบต่อนาที ในการทดลองที่ปรับความหนาแน่นด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส 35 บริกส์ ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การแยกดีที่สุด 61.46 %

แต่เนื่องจากการผลิตกรดมะนาวนั้น เซลล์ยีสต์ใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญและผลิตกรดมะนาว ดังนั้นการใช้น้ำตาลซูโครสปรับค่าความหนาแน่นของน้ำหมักจึงไม่เหมาะสมเพราะไม่สามารถที่จะนำน้ำตาลซูโครสที่ใช้ปรับความหนาแน่นนั้นมาใช้เริ่มต้นในการหมักกรดมะนาวรอบใหม่ได้

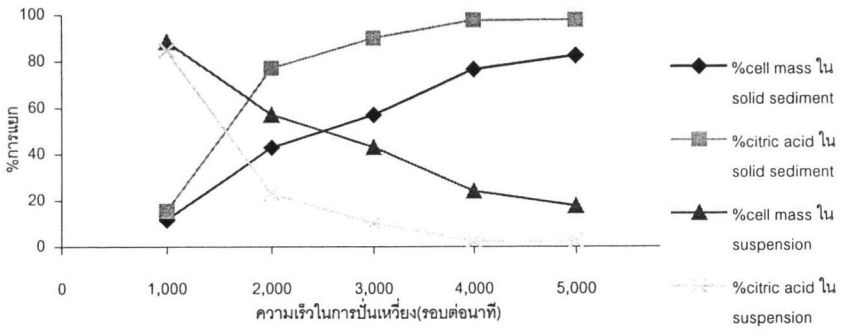
3.8.2การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตโดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคส 25, 30 และ 35 บริกส์ ด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ 4 องศาเซลเซียส

เนื่องจากยีสต์ใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตกรดมะนาว ดังนั้นการใช้สารละลายน้ำตาลซูโครสจึงไม่เหมาะสมที่จะใช้ในการปรับความหนาแน่นเพื่อใช้แยกเซลล์ยีสต์เวียนกลับมาใช้ใหม่ และจากผลการทดลองที่ 3.8.1 พบว่าความเร็วการปั่นเหวี่ยงที่ได้เปอร์เซ็นต์การแยกที่ดีที่สุดคือ 2,000 รอบต่อนาที ดังนั้นจึงเปลี่ยนจากสารละลายซูโครสเป็นสารละลายกลูโคสและแปรผันความเร็วการปั่นเหวี่ยงตั้งแต่ 1,000 2,000 3,000 และ 4,000 รอบต่อนาทีตามลำดับ โดยใช้วิธีการทดลองที่ 2.7.1.2 และได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.11 และรูปที่ 3.16, 3.17 และ 3.18 พบว่าการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที สามารถแยกเซลล์ยีสต์และกรดมะนาวออกจากน้ำหมักได้ดีที่สุดทุกการปรับ

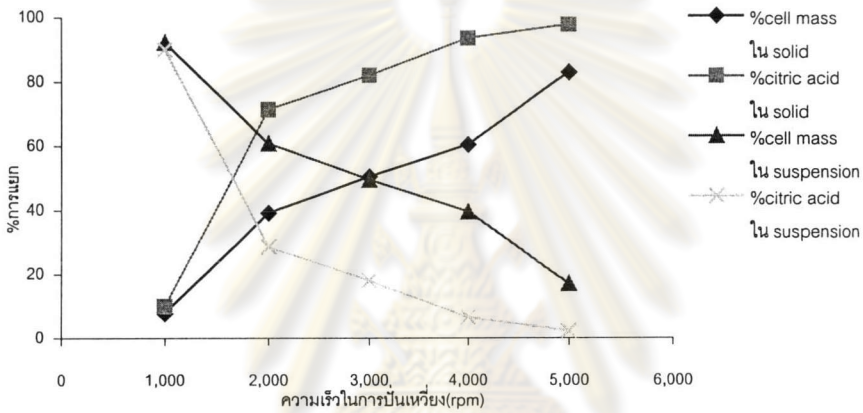
ตารางที่ 3.10 ผลการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากแคลเซียมซิเทรตในน้ำหมัก โดยปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส 25, 30และ35 บริกส์ด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลซูโครส (Brix)*	ความเร็วในการปั่นเหวี่ยง (รอบต่อนาที)	solid sediment			suspension		
		%cell mass	%citric acid	%isocitric acid	%cell mass	%citric acid	%isocitric acid
25	1,000	11.56	15.48	0.00	88.44	84.52	100
	2,000	42.85	77.02	51.08	57.15	22.98	48.92
	3,000	57.03	89.85	58.73	42.97	10.15	41.27
	4,000	76.56	97.56	63.49	24.06	2.44	36.51
	5,000	82.38	97.67	60.31	17.62	2.33	39.69
30	1,000	7.85	10.01	0.00	92.14	89.99	100.00
	2,000	39.13	71.30	46.59	60.87	28.70	53.41
	3,000	50.49	81.98	51.59	49.51	18.02	48.41
	4,000	60.43	93.46	58.85	39.57	6.54	41.15
	5,000	82.85	97.73	61.20	17.15	2.27	38.80
35	1,000	14.90	11.47	0.00	85.10	88.53	100.00
	2,000	38.54	74.55	48.40	61.46	25.45	51.60
	3,000	43.73	88.44	57.75	56.27	11.56	42.25
	4,000	52.29	97.15	62.99	47.71	2.85	37.01
	5,000	73.85	97.43	59.93	26.15	2.57	40.07

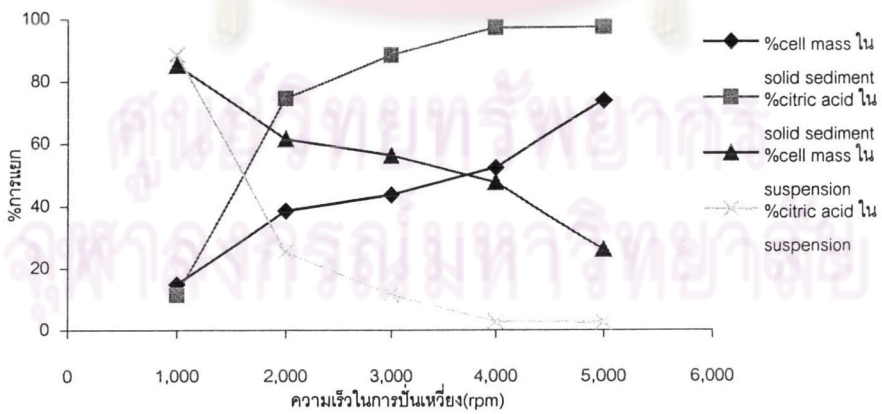
* สัดส่วนการผสมของน้ำหมักชั่วโมงที่ 72 ปริมาตร 2.8 ลิตรกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 2,000 มิลลิลิตร



รูปที่ 3.13 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส 25 บริกส์ ที่ 4°C



รูปที่ 3.14 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส 30 บริกส์ ที่ 4°C

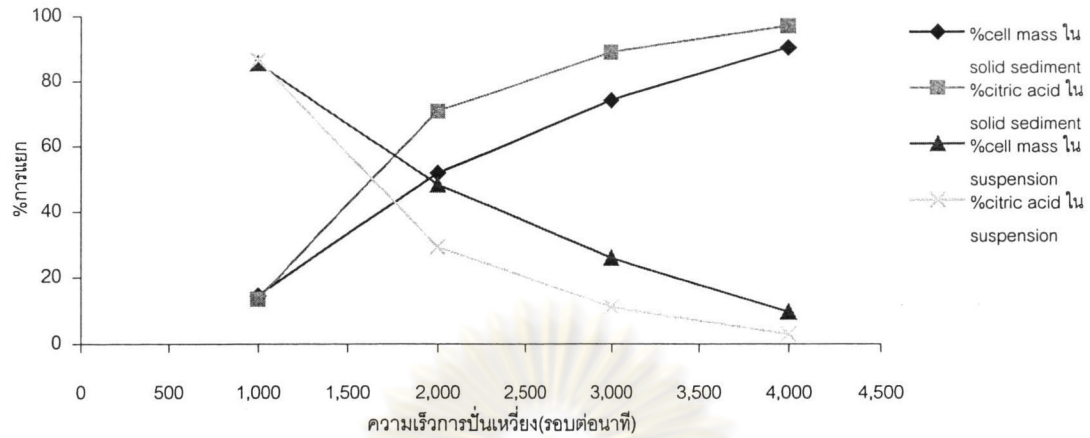


รูปที่ 3.15 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส 35 บริกส์ ที่ 4°C

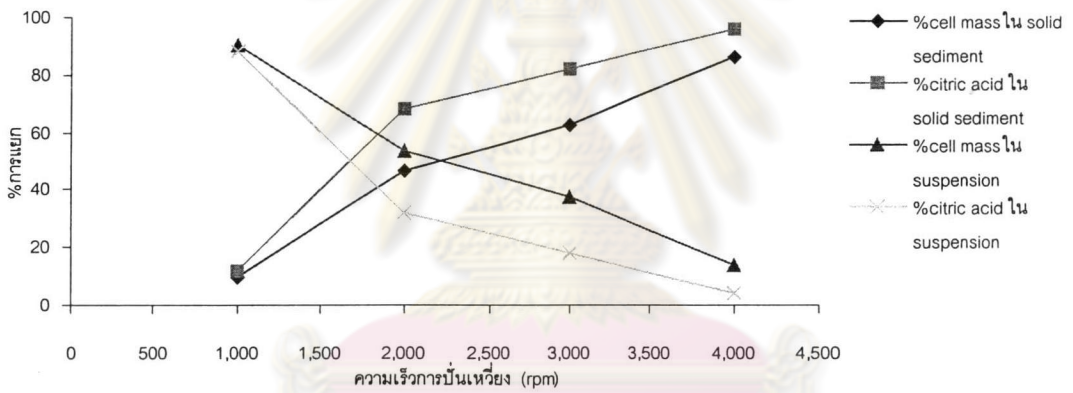
ตารางที่ 3.11 ผลการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากแคลเซียมซิเทรตในน้ำหมัก โดยปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคส 25, 30 และ35 บริกส์ ด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลกลูโคส (Brix)*	ความเร็วในการปั่นเหวี่ยง (rpm)	solid sediment			Suspension		
		%cell mass	%citric acid	%isocitric acid	%cell mass	%citric acid	%isocitric acid
25	1,000	14.56	13.42	0.00	85.44	86.58	100.00
	2,000	51.75	70.80	41.13	48.25	29.20	58.87
	3,000	74.06	88.89	43.95	25.94	11.11	56.05
	4,000	90.31	97.04	72.24	9.69	2.96	27.76
30	1,000	9.85	11.64	0.00	90.15	88.36	100.00
	2,000	46.70	68.28	36.75	53.30	31.72	63.25
	3,000	62.57	81.92	43.82	37.43	18.08	56.18
	4,000	86.34	96.14	72.72	13.66	3.86	24.28
35	1,000	11.45	8.75	0.00	88.55	91.25	100.00
	2,000	35.02	63.41	60.30	64.98	36.59	39.70
	3,000	47.69	79.28	79.90	52.31	20.72	20.10
	4,000	67.67	87.64	88.95	32.33	12.36	11.20

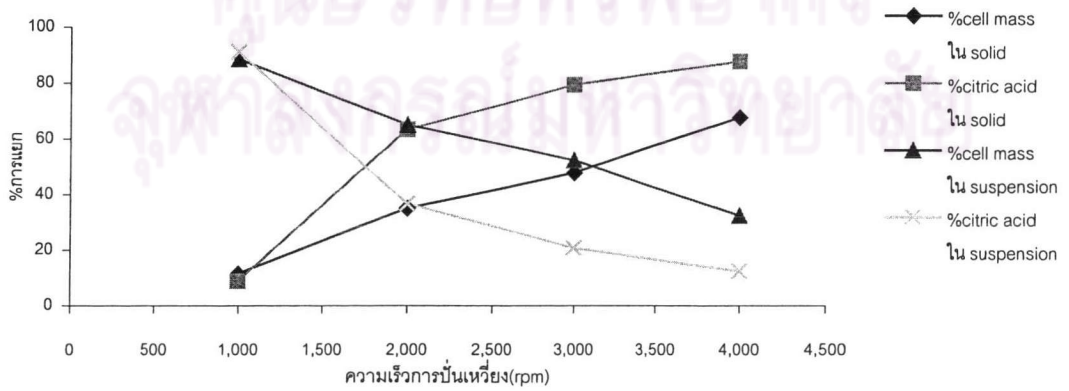
* สัดส่วนการผสมของน้ำหมักชั่วโมงที่ 72 ปริมาตร 2.8 ลิตรกับสารละลายน้ำตาลกลูโคส 2,000 มิลลิลิตร



รูปที่ 3.16 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลเดรกซ์โทรส 25 บริกส์ ที่ 4°C



รูปที่ 3.17 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลเดรกซ์โทรส 30 บริกส์ ที่ 4°C



รูปที่ 3.18 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลเดรกซ์โทรส 35 บริกส์ ที่ 4°C

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความหนาแน่นด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคส 25, 30 และ 35 บริกส์ และที่ความเร็วการปั่นเหวี่ยง 2,000 รอบต่อนาทีนั้น การปรับความหนาแน่นด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคส 35 บริกส์ซึ่งให้ค่าความหนาแน่นสุดท้าย 1.10 กรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเปอร์เซ็นต์การแยกเซลล์ยีสต์สูงที่สุด 64.98 % จึงใช้ภาวะนี้ทำการทดลองแยกเซลล์ยีสต์เพื่อเวียนกลับมาใช้ใหม่

3.8.3 การผลิตกรดมะนาวด้วยการเวียนเซลล์ยีสต์กลับมาใช้ใหม่โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายกลูโคส 35 บริกส์และปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที การปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

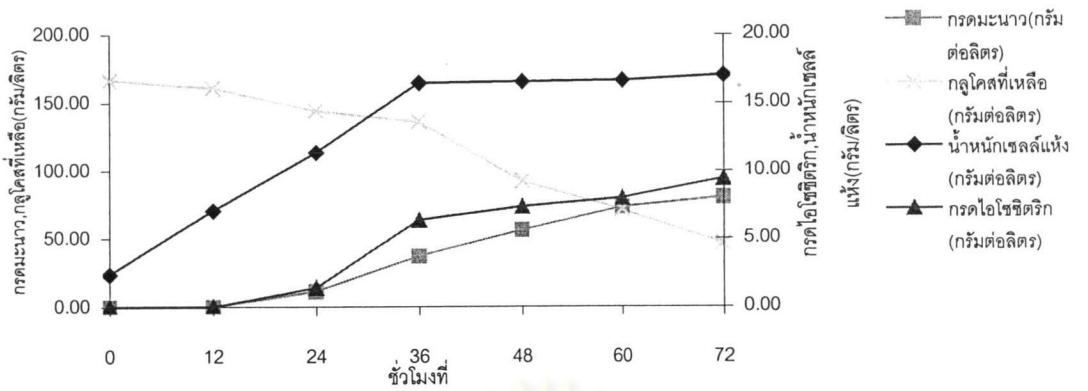
จากผลการทดลองที่ 3.8.2 พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากน้ำหมักที่ดีที่สุด คือการปรับความหนาแน่นด้วยสารละลายกลูโคส 35 บริกส์และปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิการปั่นเหวี่ยง 4 องศาเซลเซียส จึงนำภาวะนี้มาใช้ในการเวียนเซลล์กลับมาผลิตกรดมะนาวอีกครั้ง ตามวิธีการทดลองที่ 2.7.2 และการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาว (ภาคผนวก ก2.3) ตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.2.2 ทำการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสเท่ากับ 5 ตลอดการทดลองด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ทำการเก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองตามตารางที่ 3.12 และรูปที่ 3.19 ถึง3.27 ในการหมักครั้งที่ 1 เป็นการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อเริ่มต้นมาจากการเตรียมหัวเชื้อพบว่าระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึง 72 ของการหมักเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 17.05 กรัมต่อลิตร เชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจาก 12 ชั่วโมง โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 72 ได้ 80.52 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 225.46 กรัม ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 เป็นการผลิตกรดมะนาวจากการนำเซลล์เวียนกลับมาโดยวิธีการปั่นเหวี่ยงตามวิธีการทดลองที่ 2.7.1.2 พบว่าเชื้อยีสต์เริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 มี 10.05 กรัมต่อลิตรแล้วเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 18.68 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 72 เชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 72 ได้ 81.19 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาว ทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือ 227.33 กรัมแต่จากการเวียนเซลล์นั้นมีกรดมะนาวปะปนกลับมา 22.77 กรัมต่อลิตรคิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 79.70 กรัม ดังนั้นในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 จึงมีกรดมะนาวที่ได้จากการผลิตจริงเท่ากับ 149.63 กรัม

จากรูปที่ 3.21, 3.22, 3.23 แสดงค่าการคำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average) พบว่าค่าความสามารถการใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ (Yp/s) ของการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และชั่วโมงที่ 36 มีค่าเท่ากับ 1.221 กรัม

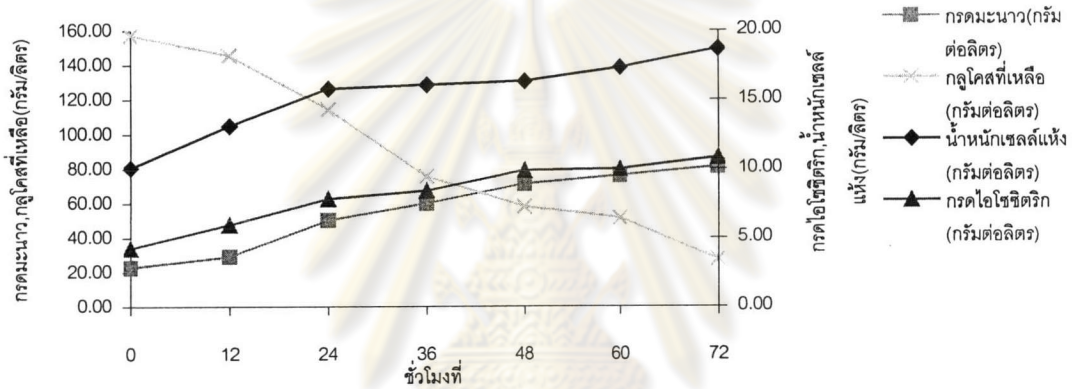
ตารางที่3.12 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่าYp/s Yx/s Yp/x และY′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

การหมักครั้งที่	ชั่วโมงที่	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
1	0	2.35	0.00	0.00	166.40	-	-	-	-	-	-	-
	12	7.05	0.00	0.00	160.80	0.000	0.000	0.839	0.000	0.000	0.839	0.000
	24	11.35	11.19	1.38	144.20	0.466	0.504	0.405	1.243	0.674	0.259	2.602
	36	16.45	37.12	6.34	136.00	1.031	1.221	0.464	2.633	3.162	0.622	5.084
	48	16.55	56.15	7.36	92.00	1.170	0.755	0.191	3.954	0.433	0.002	190.300
	60	16.65	73.10	7.97	71.20	1.218	0.768	0.150	5.112	0.815	0.005	169.500
	72	17.05	80.52	9.42	46.40	1.118	0.671	0.123	5.478	0.299	0.016	18.550
2	0	10.05	22.77	4.24	157.40	-	-	-	-	-	-	-
	12	13.10	29.03	5.96	145.40	0.522	0.522	0.254	2.052	0.522	0.254	2.052
	24	15.80	50.28	7.83	114.40	1.146	0.640	0.134	4.784	0.685	0.087	7.870
	36	16.08	60.10	8.40	75.60	1.037	0.456	0.074	6.191	0.253	0.007	35.071
	48	16.33	71.2	9.87	58.00	1.009	0.487	0.063	7.712	0.631	0.014	44.400
	60	17.30	76.06	9.96	51.40	0.888	0.503	0.068	7.350	0.736	0.147	5.010
	72	18.68	81.19	10.83	27.60	0.811	0.450	0.066	6.769	0.216	0.058	3.717

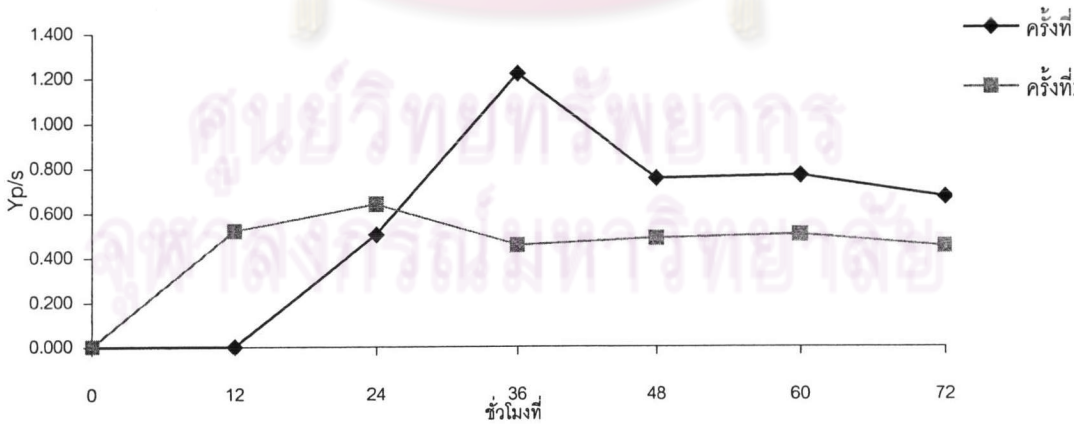
หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้



รูปที่ 3.19 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 1 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

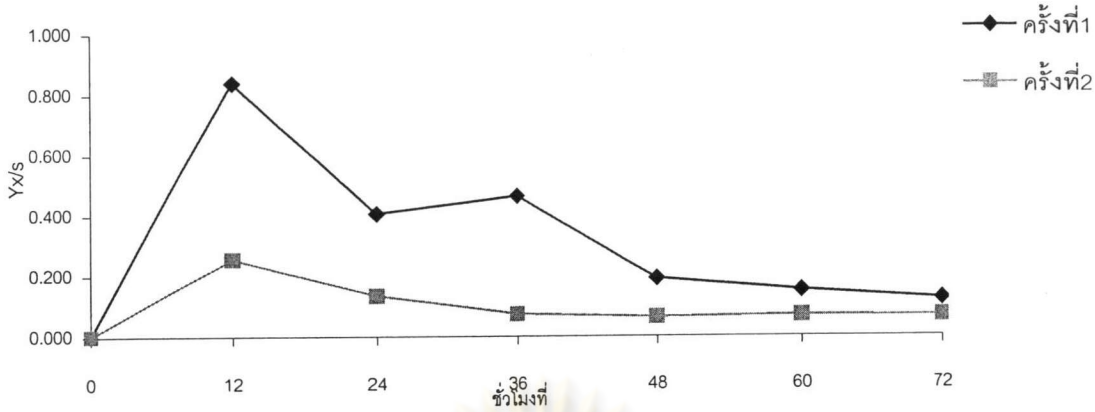


รูปที่ 3.20 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 2 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

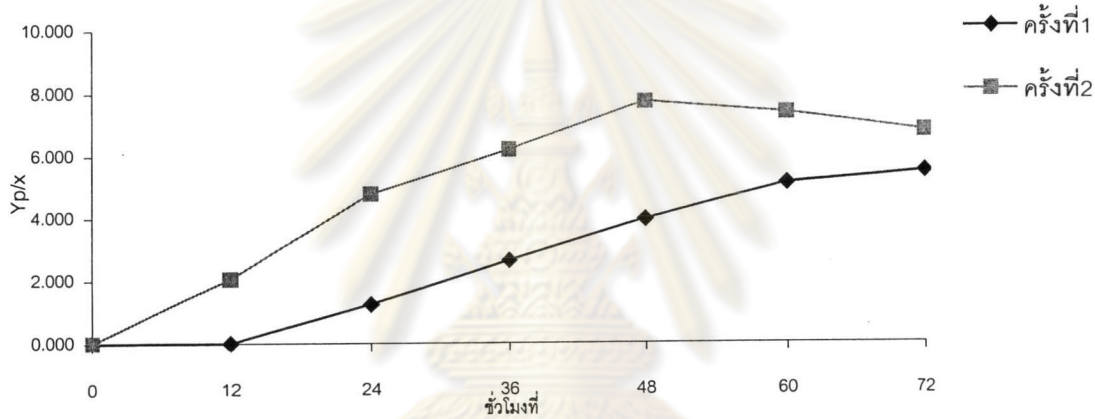


รูปที่ 3.21 ค่า Yp/s ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

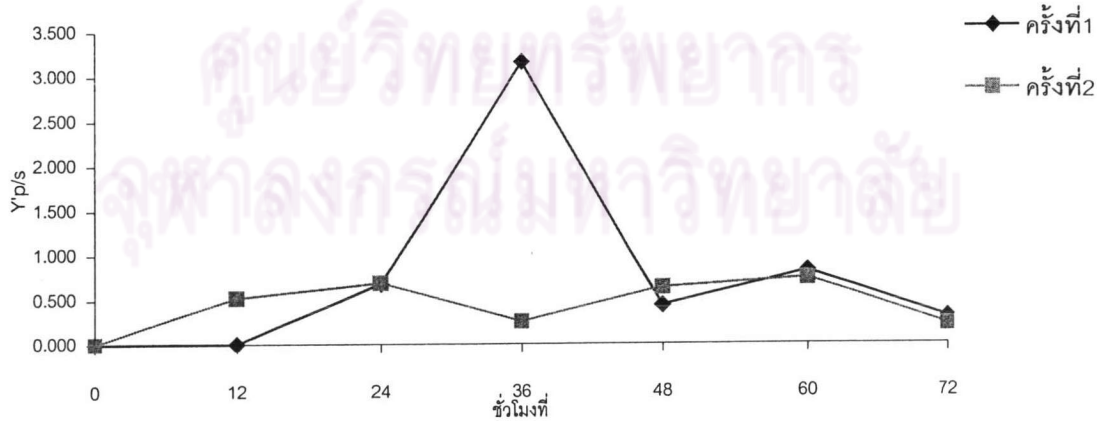
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.22 ค่า Yx/s ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

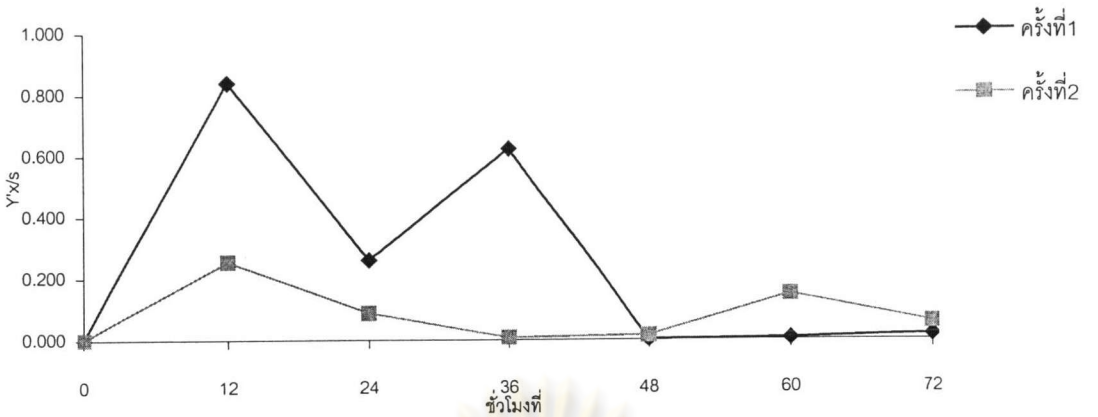


รูปที่ 3.23 ค่า Yp/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

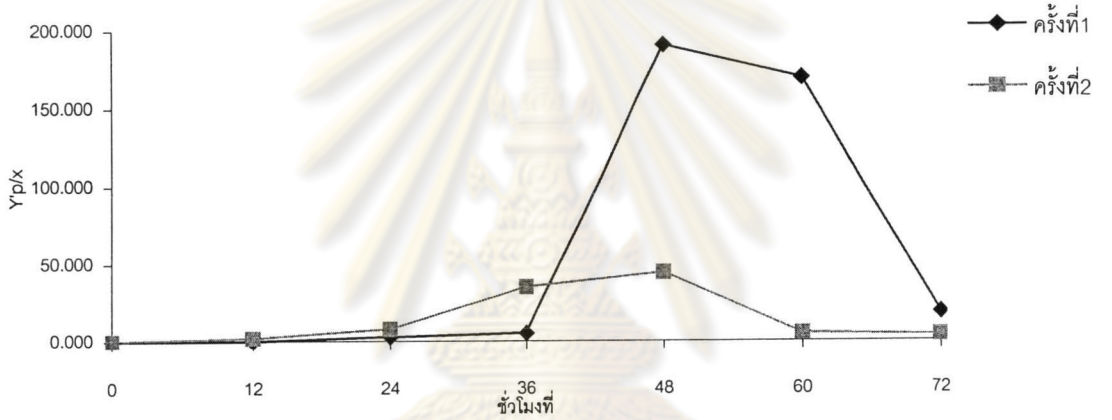


รูปที่ 3.24 ค่า Y'p/s ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

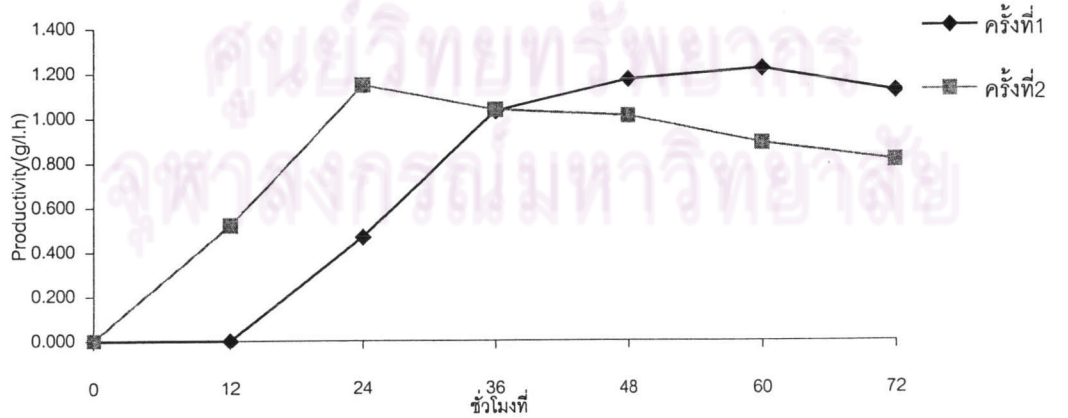
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.25 ค่า Y'x/s ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 3.26 ค่า Y'p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 3.27 ค่า productivity ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคสซึ่งน่าจะเกิดจากปริมาณน้ำตาลที่เปลี่ยนแปลงลดลงเพียงเล็กน้อย ส่วนการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 12 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 0.640 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส เมื่อพิจารณาค่าความสามารถของเซลล์มีกิจกรรมในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ (Yp/x) ของการผลิตครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 72 ของการหมัก ส่วนการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 นั้นมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 ของการหมักและการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 มีค่าความสามารถของเซลล์มีกิจกรรมในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ (Yp/x) มากกว่าการผลิตครั้งที่ 1 และเมื่อพิจารณาค่าความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลล์ของเชื้อ (Yx/s) พบว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 นั้นมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 12 ของการหมักเช่นเดียวกัน แต่การผลิตครั้งที่ 2 มีค่าน้อยกว่า

จากรูปที่ 3.24, 3.25 และ 3.26 ซึ่งแสดงค่าการคำนวณทางจลนพลศาสตร์คิด ในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous) พบว่าค่าความสามารถที่เชื้อใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตกรดมะนาว ($Y'p/s$) ของการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 นั้นมีค่าสูงสุดคือชั่วโมงที่ 36 ของการหมัก ส่วนการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 นั้นค่ามีแนวโน้มคงที่และมีค่าสูงสุดคือชั่วโมงที่ 60 ของการหมักเมื่อพิจารณาค่าความสามารถของเซลล์มีกิจกรรมในการผลิตกรดมะนาว ($Y'p/x$) ของการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าสูงสุดคือชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก ส่วนการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 มีค่าสูงสุดคือชั่วโมงที่ 48 ของการหมักเช่นเดียวกัน และเมื่อพิจารณาค่าความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลล์ ($Y'x/s$) ของการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 มีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 12 เหมือนกัน แต่การผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 มีค่าน้อยกว่า และจากรูปที่ 3.27 ซึ่งแสดงค่าประสิทธิผลของการหมัก (productivity) กับเวลาพบว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และค่ามีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 เท่ากับ 1.218 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งเมื่อหมักครบชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 1.118 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วนการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 1.146 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงและค่าที่ได้มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยซึ่งเมื่อหมักครบชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 0.811 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

จากผลการทดลองข้างต้นพบว่าการใช้ยีสต์ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่นั้นเกิดการผลิตกรดมะนาวเร็วขึ้น แต่ปริมาณกรดที่ได้นั้นมีค่าน้อยกว่า ซึ่งคาดว่าเกิดจากอุณหภูมิการปั่นเหวี่ยงที่ 4 องศาเซลเซียส ไปรบกวนเซลล์ยีสต์ทำให้กลไกการควบคุมของเซลล์เปลี่ยนแปลงไป จึงเกิดการยับยั้งเซลล์เป็นผลให้ประสิทธิภาพของเซลล์ยีสต์ลดลง เพราะอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของยีสต์ โดยทั่วไปอยู่ระหว่าง 25 ถึง 30 องศาเซลเซียส (Marison, 1988)

3.8.4การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตโดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคส 35 บริกส์ ที่ 28 องศาเซลเซียส

จากผลการทดลองที่ 3.8.3 อุณหภูมิที่ใช้ในการปั่นเหวี่ยงมีผลต่อประสิทธิภาพของเซลล์ยีสต์ที่นำกลับไปผลิตกรดมะนาวอีกครั้งและจากการทดลองที่ 3.8.2 พบว่าการปรับความหนาแน่นด้วยสารละลายกลูโคส 35 บริกส์ ได้เปอร์เซ็นต์การแยกดีที่สุด ดังนั้นการทดลองนี้จึงนำน้ำหมักชั่วโมงที่ 72 กับ 96 มาทำการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคส 35 บริกส์ และควบคุมอุณหภูมิการปั่นเหวี่ยงเท่ากับ 28 องศาเซลเซียส โดยทำตามวิธีการทดลองที่ 2.7.2 ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3.13 และรูปที่ 3.28, 3.29 พบว่าความเร็วการปั่นเหวี่ยง 1,500 รอบต่อนาที สามารถแยกเซลล์ยีสต์จากน้ำหมักชั่วโมงที่ 72 ที่ผ่านการปรับความหนาแน่นแล้วดีที่สุดคือ 56.30% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยมีกรดมะนาวปะปนมาเพียง 5.01% ของกรดมะนาวทั้งหมด และที่ความเร็วการปั่นเหวี่ยง 1,500 รอบต่อนาที สามารถแยกเซลล์ยีสต์จากน้ำหมักชั่วโมงที่ 96 ที่ผ่านการปรับความหนาแน่นแล้วดีที่สุดคือ 46.43 % ของน้ำหนักเซลล์แห้งโดยมีกรดมะนาวปะปนมา 23.25%ของกรดมะนาวทั้งหมด ซึ่งเกิดจากน้ำหมักชั่วโมงที่ 72 มีความหนืดน้อยกว่าชั่วโมงที่ 96 จึงทำให้มีเปอร์เซ็นต์การแยกสูงกว่า

3.8.5การผลิตกรดมะนาวด้วยการเวียนเซลล์ยีสต์จากน้ำหมักกลับมาใช้ใหม่โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายกลูโคส 35 บริกส์และปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาทีที่อุณหภูมิการปั่นเหวี่ยง 28 องศาเซลเซียสในถังหมักขนาด 5 ลิตร

3.8.5.1 การผลิตกรดมะนาวด้วยการเวียนเซลล์ยีสต์กลับมาจากน้ำหมักชั่วโมงที่ 96

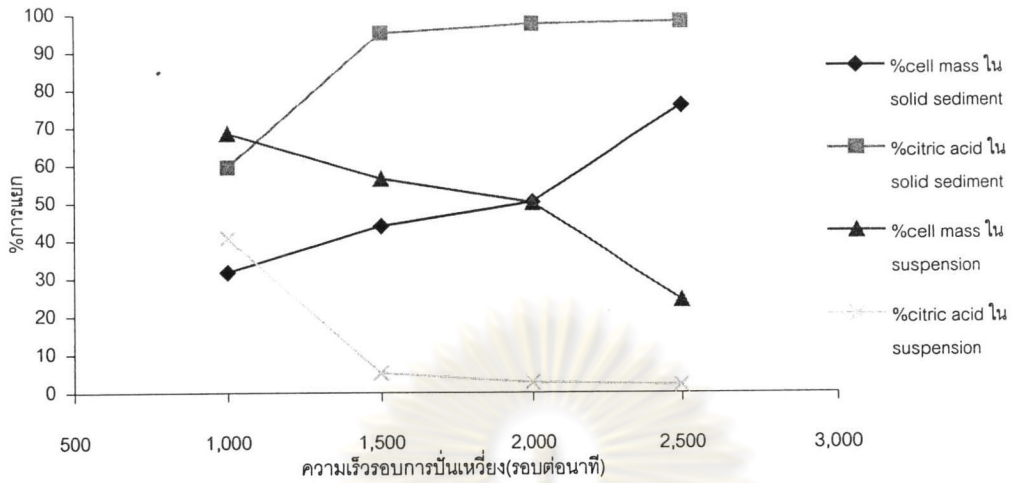
จากผลการทดลองที่ 3.8.4 พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากน้ำหมักคือการปรับความหนาแน่นของน้ำหมัก 2.8 ลิตร ด้วยสารละลายกลูโคส 35 บริกส์ 2,000 มิลลิลิตรและปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิการปั่นเหวี่ยง 28 องศาเซลเซียส จึงนำภาวะนี้มาใช้ในการเวียนเซลล์กลับมาผลิตกรดมะนาวตามวิธีการทดลองที่ 2.7.2.2 และการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาว (ภาคผนวก ก2.3) ตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.2.2 ทำการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสให้มีค่าประมาณ 5 ตลอดการทดลองด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ทำการเก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองตามตารางที่ 3.14, 3.15, 3.16 และรูปที่ 3.30 ถึง 3.40 ซึ่งการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 เป็นการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อเริ่มต้นมาจากการเตรียมหัวเชื้อพบว่าระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึง 96 ของการหมักเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 22.00 กรัมต่อลิตร เชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจาก 12 ชั่วโมง โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 96 ได้ 96.20 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้ง

ตารางที่ 3.13 ผลการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากแคลเซียมซิเทรตในน้ำหมัก โดยปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคส 35 บริกส์ ด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆที่ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

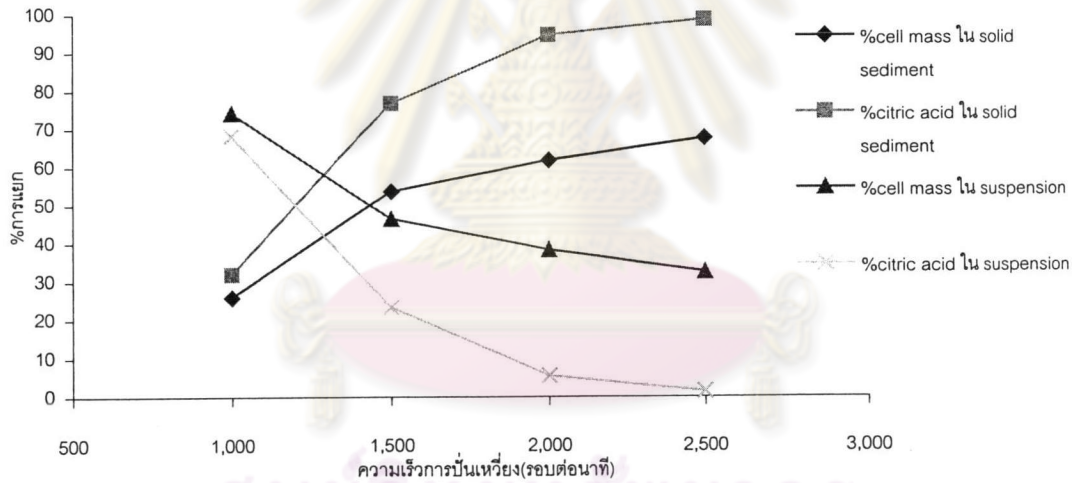
น้ำหมักชั่วโมงที่	ความเร็วในการปั่นเหวี่ยง (รอบต่อนาที)	solid sediment			suspension		
		%cell mass	%citric acid	%isocitric acid	%cell mass	%citric acid	%isocitric acid
72*1	1,000	31.59	59.41	36.07	68.41	40.59	63.93
	1,500	43.70	94.99	59.35	56.30	5.01	40.65
	2,000	50.12	97.36	56.29	49.88	2.64	43.71
	2,500	75.73	97.94	57.69	24.27	2.06	42.31
96*2	1,000	25.84	31.91	24.84	74.16	68.09	75.16
	1,500	53.57	76.75	60.63	46.43	23.25	39.37
	2,000	61.72	94.57	74.28	38.28	5.43	25.72
	2,500	67.47	98.57	75.90	32.53	1.43	24.10

*1 สัดส่วนการผสมของน้ำหมักชั่วโมงที่ 72 ปริมาตร 2.8 ลิตรกับสารละลายน้ำตาลกลูโคส 2,000 มิลลิลิตร

*2 สัดส่วนการผสมของน้ำหมักชั่วโมงที่ 96 ปริมาตร 2.6 ลิตรกับสารละลายน้ำตาลกลูโคส 2,000 มิลลิลิตร



รูปที่ 3.28 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักชั่วโมงที่ 72 ด้วยสารละลายน้ำตาลเดรกซ์โทรส 35 บริกส์ ที่ 28°C



รูปที่ 3.29 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักชั่วโมงที่ 96 ด้วยสารละลายน้ำตาลเดรกซ์โทรส 35 บริกส์ ที่ 28°C

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.14 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่าproductivity ค่าYp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 1 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	5.64	0.00	0.00	250.83	-	-	-	-	-	-	-
12	8.32	0.00	0.00	210.38	0.000	0.000	0.066	0.000	0.000	0.066	0.000
24	13.80	7.00	2.48	204.30	0.292	0.150	0.175	0.858	1.151	0.901	1.277
36	15.28	22.52	4.45	182.05	0.626	0.327	0.140	2.336	0.698	0.067	10.486
48	16.12	40.43	6.13	155.77	0.842	0.425	0.110	3.858	0.682	0.032	21.321
60	17.24	57.16	6.83	141.59	0.953	0.523	0.106	4.928	1.180	0.079	14.938
72	18.28	71.98	8.40	115.31	1.000	0.531	0.093	5.695	0.564	0.040	14.250
84	20.08	85.43	10.15	93.06	1.017	0.541	0.092	5.916	0.604	0.081	7.472
96	22.00	96.20	12.58	84.96	1.002	0.580	0.099	5.880	1.330	0.237	5.609

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 2,600 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 250.12 กรัม

หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ 3.15 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่าYp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 2 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	11.20	28.75	5.88	218.48	-	-	-	-	-	-	-
12	15.97	37.53	6.63	202.30	0.732	0.543	0.295	1.841	0.543	0.295	1.841
24	19.04	59.35	7.92	151.72	1.275	0.458	0.117	3.903	0.431	0.061	7.107
36	20.36	81.83	11.19	133.52	1.474	0.625	0.108	5.795	1.235	0.073	17.030
48	23.68	95.17	14.43	105.12	1.302	0.586	0.110	5.322	0.470	0.117	4.018
60	25.52	100.29	15.07	97.09	1.192	0.589	0.118	4.996	0.638	0.229	2.783
72	26.56	109.22	17.10	86.18	1.073	0.608	0.116	5.239	0.819	0.095	8.587
84	26.84	116.63	18.02	72.00	1.046	0.600	0.107	5.619	0.523	0.020	26.464
96	27.12	121.52	19.35	61.90	0.966	0.592	0.102	5.827	0.484	0.028	17.464

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 2,600 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 315.95 กรัม

หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ 3.16 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่าproductivity ค่าYp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 3 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

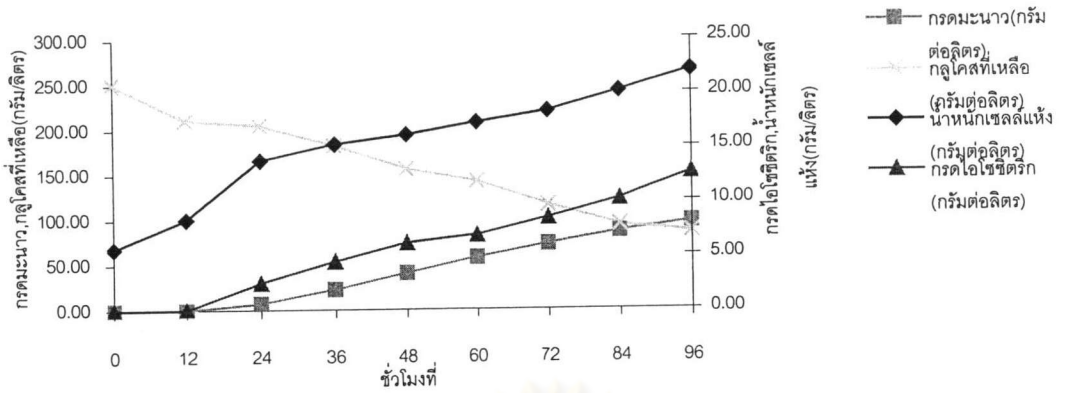
เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	13.00	30.90	8.00	202.30	-	-	-	-	-	-	-
24	18.88	50.68	8.03	137.57	0.824	0.306	0.091	3.364	0.306	0.091	3.364
36	19.84	74.61	12.43	100.33	1.214	0.429	0.067	6.390	0.643	0.026	24.927
48	22.20	87.53	14.22	76.86	1.180	0.451	0.073	6.155	0.550	0.101	5.475
60	24.12	92.26	14.17	52.61	1.023	0.410	0.074	5.518	0.195	0.079	2.464
72	24.12	99.16	14.99	36.40	0.948	0.411	0.067	6.138	0.426	0.000	#DIV/0!
84	25.92	101.68	16.19	26.30	0.843	0.402	0.073	5.478	0.250	0.178	1.400
96	26.72	107.20	17.42	16.18	0.795	0.410	0.074	5.561	0.545	0.079	6.900

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 2,600 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 278.72 กรัม

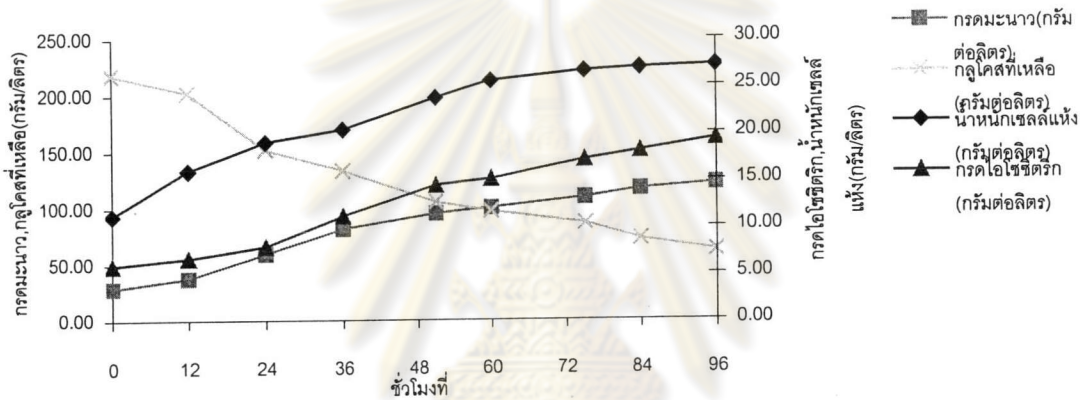
หมายเหตุ Yp/s Yx/sYp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

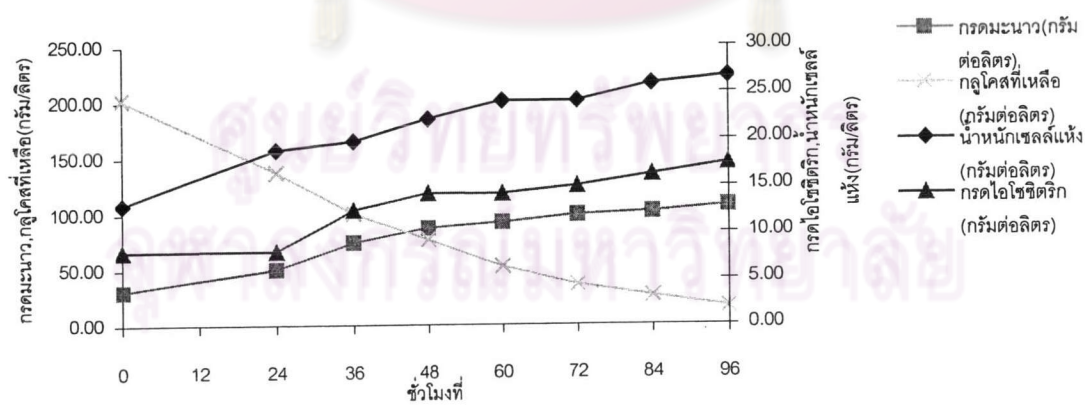
หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้



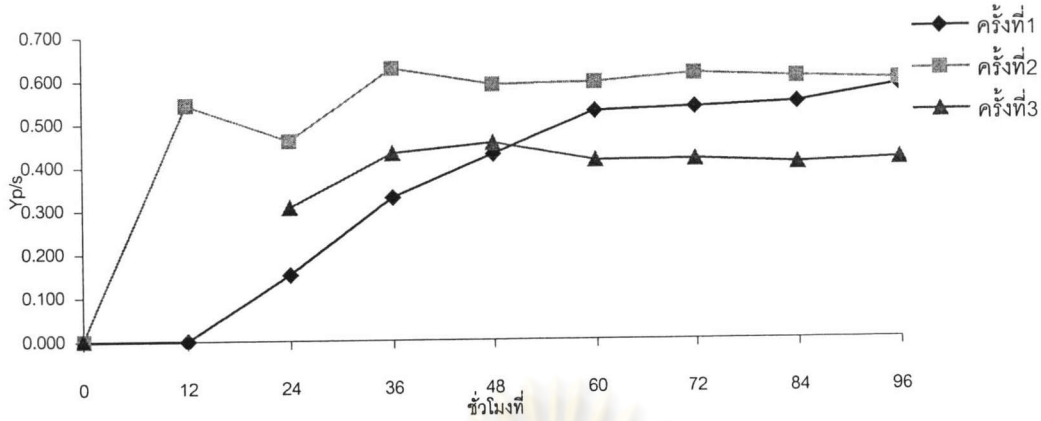
รูปที่ 3.30 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 1 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



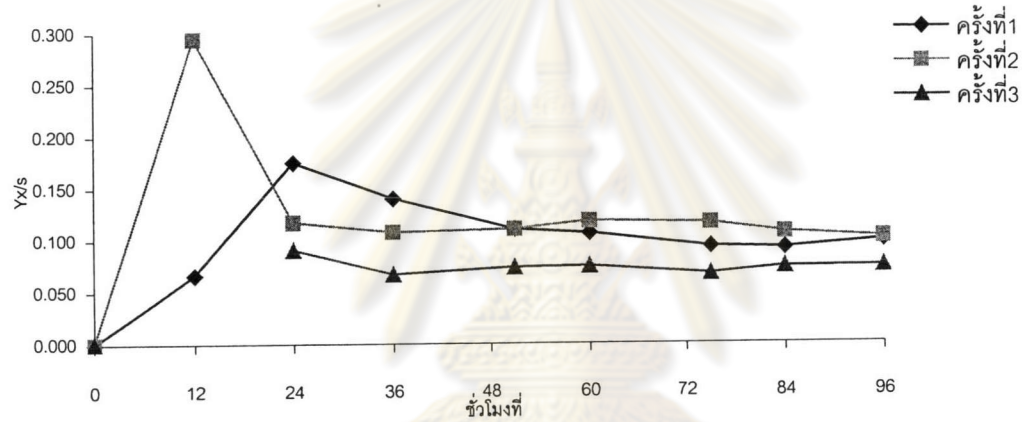
รูปที่ 3.31 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 2 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



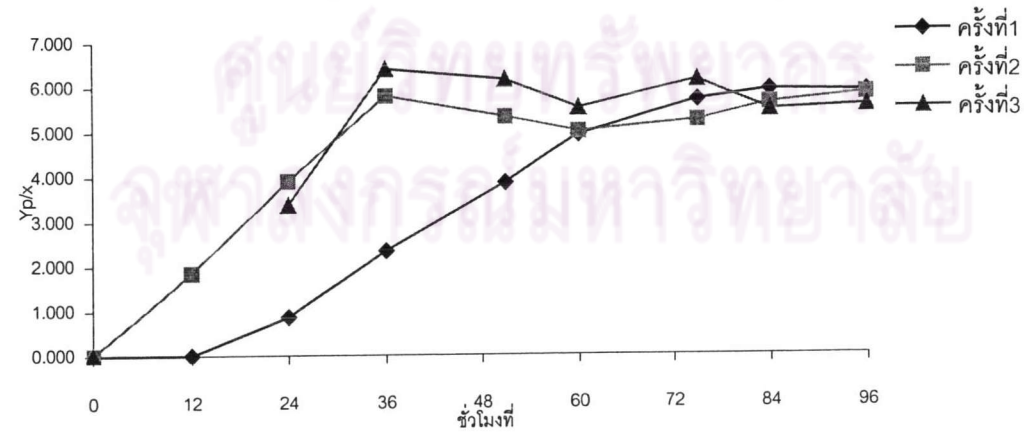
รูปที่ 3.32 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 3 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 3.33 ค่า Yp/s ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

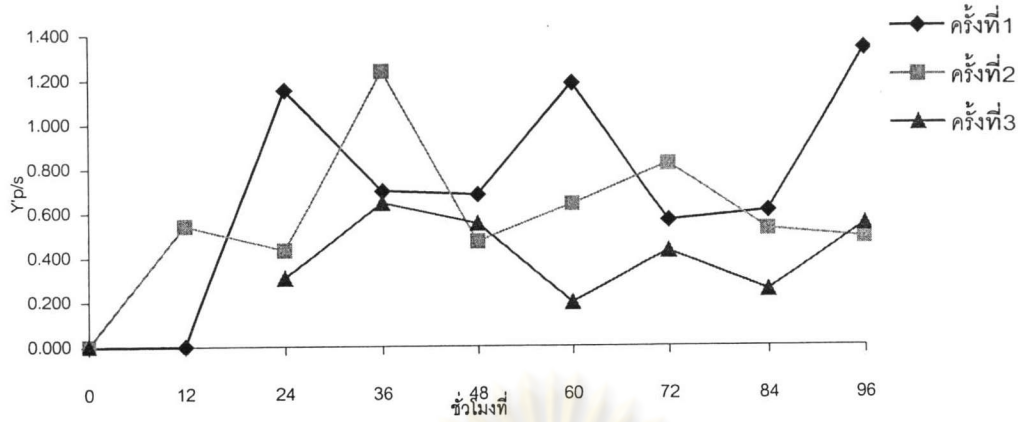


รูปที่ 3.34 ค่า Yx/s ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

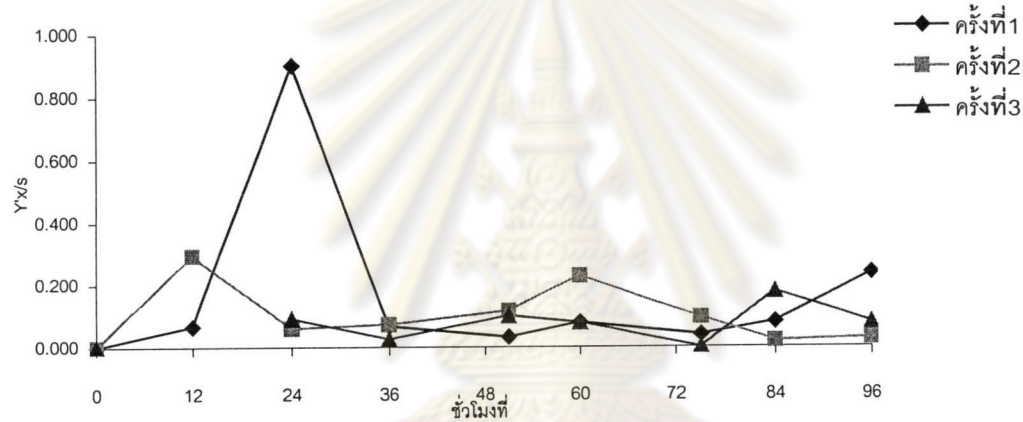


รูปที่ 3.35 ค่า Yp/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร.

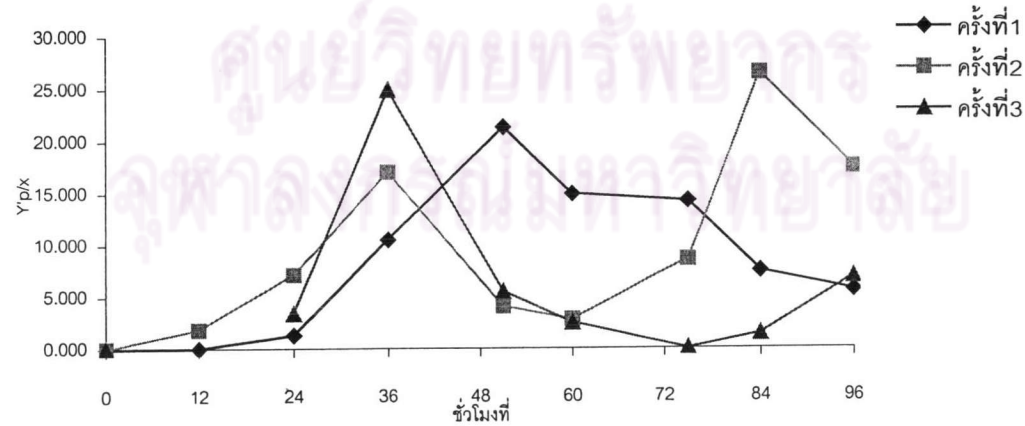
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.36 ค่า Y'p/s ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

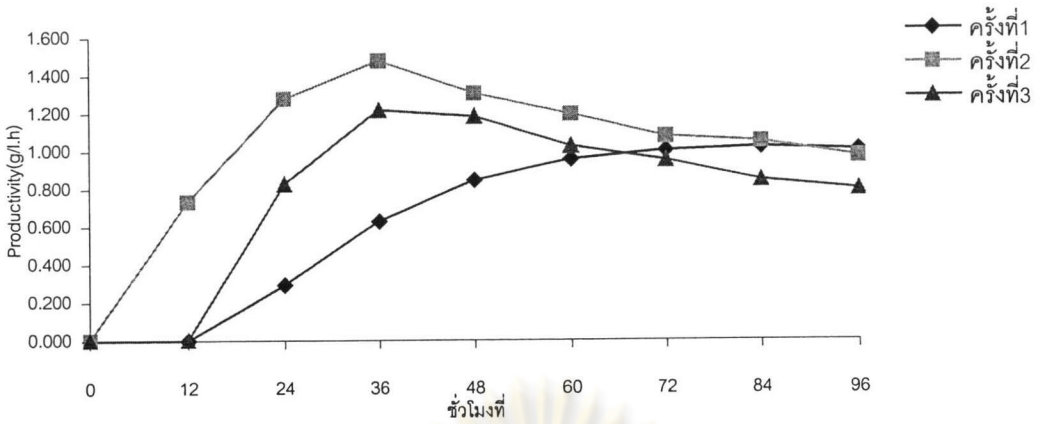


รูปที่ 3.37 ค่า Y'x/s ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

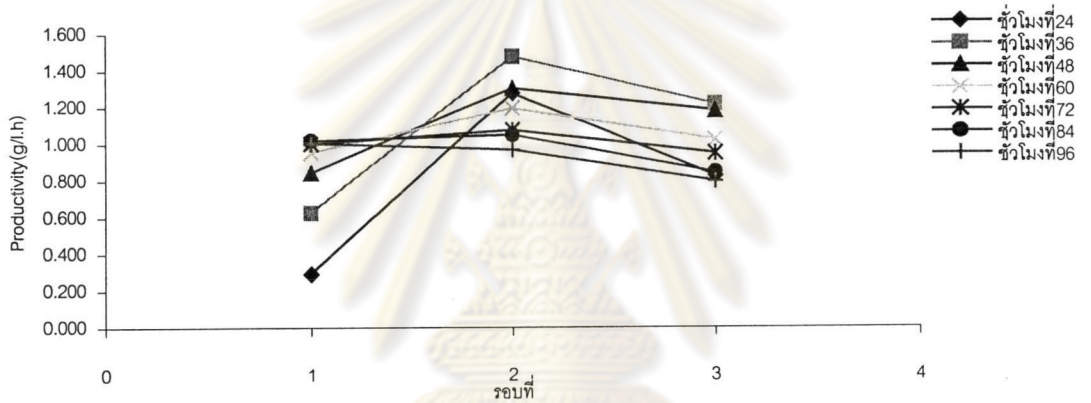


รูปที่ 3.38 ค่า Y'p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.39 ค่า productivity ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 3.40 ค่า productivity ที่รอบการหมักต่างๆ เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 250.12 กรัม ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 เป็นการผลิตกรดมะนาวจากการนำเซลล์ที่เวียนกลับมาจากการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 โดยวิธีการปั่นเหวี่ยงตามวิธีการทดลองที่ 2.7.1.2 พบว่าเชื้อยีสต์เริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 11.20 กรัมต่อลิตรและเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 27.12 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 96 เชื้อที่เวียนกลับมาใช้ใหม่นั้นจะเริ่มผลิตกรดมะนาวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 96 ได้ 121.52 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 315.95 กรัมแต่จากการเวียนเซลล์กลับมานั้นมีกรดมะนาวปะปนกลับมา 28.75 กรัมต่อลิตรคิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่ ชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 100.63 กรัม ดังนั้นในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 จึงมีกรดมะนาวที่ได้จากการผลิตจริงเท่ากับ 215.32 กรัม และในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 เป็นการผลิตกรดมะนาวจากการนำเซลล์ที่เวียนกลับมาจากการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 โดยวิธีการปั่นเหวี่ยงตามวิธีการทดลองที่ 2.7.1.2 พบว่าเชื้อยีสต์เริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 13.00 กรัมต่อลิตรและเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 26.72 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 96 เชื้อที่เวียนกลับมาใช้ใหม่นั้นจะเริ่มผลิตกรดมะนาวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ชั่วโมง โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 96ได้ 107.20 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 278.72 กรัมแต่จากการเวียนเซลล์กลับมานั้นมีกรดมะนาวปะปนกลับมา 30.90 กรัมต่อลิตรคิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 100.63 กรัม ดังนั้นในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 จึงมีกรดมะนาวที่ได้จากการผลิตจริงเท่ากับ 215.32 กรัม

จากรูปที่ 3.33, 3.34, 3.35 แสดงค่าการคำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น(average) พบว่าค่าความสามารถการใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ(Yp/s)ของการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 60 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 96 เท่ากับ 0.580 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส ส่วนการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 12 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 0.625 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส และการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 36 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 0.451 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส เมื่อพิจารณาค่าความสามารถของเซลล์มีกิจกรรมในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ (Yp/x) ของการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 84 ของการหมัก ส่วนการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 นั้นมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 ของการหมักและค่าที่ได้ต่อมามีแนวโน้มคงที่ และการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 นั้นมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 ของการหมักและค่าที่ได้ต่อมามีแนวโน้มคงที่ จากผลการทดลองพบว่าค่าความสามารถของเซลล์มีกิจกรรม

ในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ (Yp/x) ของการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 มีมากกว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 และครั้งที่ 1 ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาค่าความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลล์ของเชื้อ (Yx/s) พบว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก และการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก

จากรูปที่ 3.36, 3.37 และ 3.38 ซึ่งแสดงค่าการคำนวณทางจลนพลศาสตร์คิด ในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous) พบว่าค่าความสามารถของเชื้อที่ใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตกรดมะนาว ($Y'p/s$) ของการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 24 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 96 ของการหมัก ส่วนการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 12 ค่ามีแนวโน้มคงที่และมีค่าสูงสุดคือชั่วโมงที่ 36 ของการหมัก และการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 24 ค่ามีแนวโน้มคงที่และมีค่าสูงสุดคือชั่วโมงที่ 36 ของการหมัก เมื่อพิจารณาค่าความสามารถของเซลล์มีกิจกรรมในการผลิตกรดมะนาว ($Y'p/x$) ของการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าสูงสุดคือชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก ส่วนการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 มีค่าสูงสุดคือชั่วโมงที่ 84 ของการหมัก และการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 มีค่าสูงสุดคือชั่วโมงที่ 36 ของการหมัก และเมื่อพิจารณาค่าความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลล์ ($Y'x/s$) ของการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก และการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 มีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก ส่วนการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 นั้นไม่มีผลการทดลอง และจากรูปที่ 3.39 ซึ่งแสดงค่าประสิทธิผลของการหมัก (productivity) กับเวลาพบว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และค่ามีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 84 เท่ากับ 1.017 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งเมื่อหมักครบชั่วโมงที่ 96 มีค่าเท่ากับ 1.002 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วนการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 1.474 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงและค่ามีแนวโน้มคงที่โดยลดลงเล็กน้อยซึ่งเมื่อหมักครบชั่วโมงที่ 96 มีค่าเท่ากับ 0.966 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 มีลักษณะของกราฟเหมือนกับการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 1.214 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงและค่ามีแนวโน้มคงที่โดยลดลงเล็กน้อยซึ่งเมื่อหมักครบชั่วโมงที่ 96 มีค่าเท่ากับ 0.795 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง จากรูปที่ 3.40 ซึ่งแสดงค่าประสิทธิผลของการหมัก (productivity) กับครั้งที่ของการผลิตพบว่าค่าประสิทธิผลของการหมักจะมีค่ามากที่สุดที่การผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2

3.8.5.2 การผลิตกรดมะนาวด้วยการเวียนเซลล์ยีสต์กลับมาจากน้ำหมักชั่วโมงที่ 72

จากผลการทดลองที่ 3.2.4 พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากน้ำหมัก คือการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักชั่วโมงที่ 72 ปริมาตร 2.8 ลิตรด้วยสารละลายกลูโคส 35 บริกส์ 2,000 มิลลิลิตร และปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิการปั่นเหวี่ยง 28 องศาเซลเซียส จึงนำภาวะนี้มาใช้ในการเวียนเซลล์กลับมาผลิตกรดมะนาวตามวิธีการทดลองที่ 2.7.2.2 และการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาว (ภาคผนวก ก2.3) ตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.2.2 ทำการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสเท่ากับ 5 ตลอดการทดลองด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ทำการเก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองตามตารางที่ 3.17 ถึง 3.23 และรูปที่ 3.41 ถึง 3.55 ซึ่งการหมักครั้งที่ 1 เป็นการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อเริ่มต้นมาจากการเตรียมหัวเชื้อพบว่าระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึง 72 ของการหมักเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 18.96 กรัมต่อลิตร เชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจาก 12 ชั่วโมง โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 72 ได้ 73.07 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 204.60 กรัม ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 โดยการเวียนเซลล์ เป็นการผลิตกรดมะนาวจากการนำเซลล์ที่เวียนกลับมาจากการหมักครั้งที่ 1 โดยวิธีการปั่นเหวี่ยงตามวิธีการทดลองที่ 2.7.1.2 พบว่าเชื้อยีสต์เริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 12.32 กรัมต่อลิตรและเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้ น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 24.16 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 72 เชื้อที่เวียนกลับมาใช้ใหม่นั้นจะเริ่มผลิตกรดมะนาวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 72 ได้ 83.65 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 234.22 กรัมแต่จากการเวียนเซลล์กลับมานั้นมีกรดมะนาวปะปนกลับมา 13.89 กรัมต่อลิตรคิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 48.62 กรัม ดังนั้นในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 จึงมีกรดมะนาวที่ได้จากการผลิตจริงเท่ากับ 185.60 กรัม ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 โดยการเวียนเซลล์ เป็นการผลิตกรดมะนาวจากการนำเซลล์ที่เวียนกลับมาจากการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 โดยวิธีการปั่นเหวี่ยงตามวิธีการทดลองที่ 2.7.1.2 พบว่าเชื้อยีสต์เริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 15.44 กรัมต่อลิตรและเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 26.24 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 72 เชื้อที่เวียนกลับมาใช้ใหม่นั้นจะเริ่มผลิตกรดมะนาว ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ชั่วโมง โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 72 ได้ 103.13 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 288.76 กรัมแต่จากการเวียนเซลล์กลับมานั้นมีกรดมะนาวปะปนกลับมา 36.94 กรัมต่อลิตรคิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 129.29 กรัม ดังนั้นในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 จึงมีกรดมะนาวที่ได้จากการผลิตจริงเท่ากับ 159.47 กรัม ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 4 โดยการเวียนเซลล์ เป็นการผลิตกรดมะนาวจากการนำเซลล์ที่เวียนกลับมาจากการผลิต

ตารางที่ 3.17 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่าproductivity ค่าYp/s Yx/s Yp/x และY′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 1 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	2.64	0.00	0.00	264.00	-	-	-	-	-	-	-
12	5.28	0.00	0.00	219.36	0.000	0.000	0.059	0.000	0.000	0.059	0.000
24	10.16	6.89	0.00	199.10	0.287	0.106	0.116	0.916	0.340	0.241	1.412
36	14.32	25.19	4.35	190.81	0.700	0.344	0.160	2.157	2.207	0.502	4.399
48	16.24	39.07	5.30	152.26	0.814	0.350	0.122	2.873	0.360	0.050	7.229
60	17.84	56.98	6.90	130.05	0.950	0.425	0.113	3.749	0.806	0.072	11.194
72	18.96	73.07	7.47	107.60	1.015	0.467	0.104	4.477	0.717	0.050	14.366

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 2,800 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 204.60 กรัม

หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ 3.18 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่าproductivity ค่าYp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 2 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	12.32	13.89	1.61	239.61	-	-	-	-	-	-	-
12	16.16	21.54	4.70	207.16	0.638	0.236	0.118	1.992	0.236	0.118	1.992
24	18.64	39.35	6.21	172.51	1.061	0.379	0.094	4.028	0.514	0.072	7.181
36	20.80	52.80	7.99	166.41	1.081	0.532	0.116	4.588	2.205	0.354	6.227
48	21.44	60.34	9.02	132.00	0.968	0.432	0.085	5.093	0.219	0.019	11.781
60	23.60	76.00	10.94	127.86	1.035	0.556	0.101	5.506	3.783	0.522	7.250
72	24.16	83.65	12.19	114.44	0.969	0.557	0.095	5.892	0.570	0.042	13.661

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 2,800 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 234.22 กรัม

หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ 3.19 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่าproductivity ค่าYp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 3 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	15.44	36.94	7.62	272.06	-	-	-	-	-	-	-
12	17.12	38.4	7.7	241.56	0.122	0.048	0.055	0.869	0.048	0.055	0.869
24	18.4	50.83	8.94	194.96	0.579	0.180	0.038	4.693	0.267	0.027	9.711
36	20.88	70.38	11.58	160.31	0.929	0.299	0.049	6.147	0.564	0.072	7.883
48	23.12	83.38	12.99	142.25	0.968	0.358	0.059	6.047	0.720	0.124	5.804
60	23.84	97.87	15.96	127.86	1.016	0.423	0.058	7.254	1.007	0.050	20.125
72	26.24	103.13	16.52	109.56	0.919	0.407	0.066	6.129	0.287	0.131	2.192

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 2,800 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 288.76 กรัม

หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ 3.20 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่าproductivity ค่าYp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 4 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	15.84	34.93	8.29	215.21	-	-	-	-	-	-	-
12	18.56	41.38	9.32	211.30	0.538	1.650	0.696	2.371	1.650	0.696	2.371
24	22.64	64.07	12.66	186.90	1.214	1.029	0.240	4.285	0.930	0.167	5.561
36	23.52	84.24	13.42	122.98	1.370	0.535	0.083	6.421	0.316	0.014	22.920
48	24.48	102.05	16.40	105.65	1.398	0.613	0.079	7.769	1.028	0.055	18.552
60	25.84	112.62	16.52	64.90	1.295	0.517	0.067	7.769	0.259	0.033	7.772
72	26.00	126.69	18.25	62.95	1.274	0.603	0.067	9.031	7.215	0.082	87.937

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 2,800 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 354.73 กรัม

หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่3.21 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่าproductivity ค่าYp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 5 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	14.56	28.94	7.81	224.33	-	-	-	-	-	-	-
12	17.86	38.71	9.61	193.76	0.814	0.320	0.108	2.961	0.320	0.108	2.961
24	22.56	65.58	11.16	134.62	1.527	0.408	0.089	4.580	0.454	0.079	5.717
36	23.04	89.49	12.86	89.74	1.682	0.450	0.063	7.140	0.533	0.011	49.813
48	25.20	125.09	15.71	48.95	2.003	0.548	0.061	9.037	0.873	0.053	16.481
60	25.52	128.16	16.25	19.57	1.654	0.485	0.054	9.053	0.104	0.011	9.594
72	27.04	129.17	16.54	2.05	1.392	0.451	0.056	8.031	0.058	0.087	0.664

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 2,800 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 361.68 กรัม

หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ 3.22 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่าproductivity ค่าYp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 6 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	14.08	5.68	2.19	169.26	-	-	-	-	-	-	-
12	18.00	21.69	8.42	112.17	1.334	0.280	0.069	4.084	0.280	0.069	4.084
24	22.08	43.52	9.07	83.62	1.577	0.442	0.093	4.730	0.765	0.143	5.350
36	24.48	68.58	10.71	39.97	1.747	0.487	0.080	6.048	0.574	0.055	10.442
48	25.52	90.54	12.96	4.08	1.768	0.514	0.069	7.418	0.612	0.029	21.115
60	26.32	97.58	12.96	2.05	1.532	0.550	0.073	7.508	3.468	0.394	8.800
72	26.64	98.31	12.07	1.22	1.287	0.551	0.075	7.375	0.880	0.386	2.281

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 2,800 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 275.27 กรัม

หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ 3.23 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่าproductivity ค่าYp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 7 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

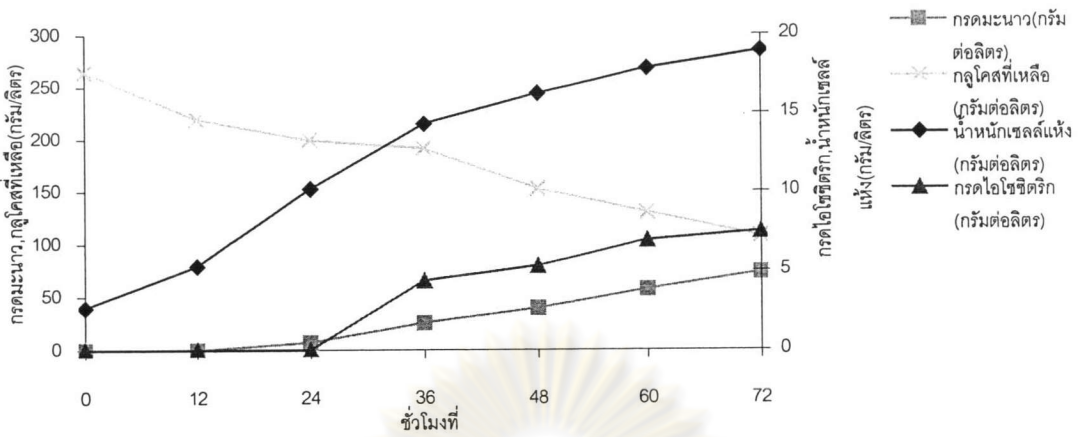
เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	11.44	4.24	0.00	169.26	-	-	-	-	-	-	-
12	16.64	13.42	5.37	125.64	0.765	0.210	0.119	1.765	0.210	0.119	1.765
24	19.04	34.38	7.55	71.37	1.256	0.308	0.078	3.966	0.386	0.044	8.733
36	20.16	50.64	8.62	32.23	1.289	0.339	0.064	5.321	0.415	0.029	14.518
48	21.20	56.51	8.74	1.22	1.089	0.311	0.058	5.356	0.189	0.034	5.644
60	21.52	59.19	9.08	0.81	0.916	0.326	0.060	5.451	6.537	0.780	8.375
72	22.88	60.56	8.75	0.42	0.782	0.334	0.068	4.923	3.513	3.487	1.007

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 2,800 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 169.57 กรัม

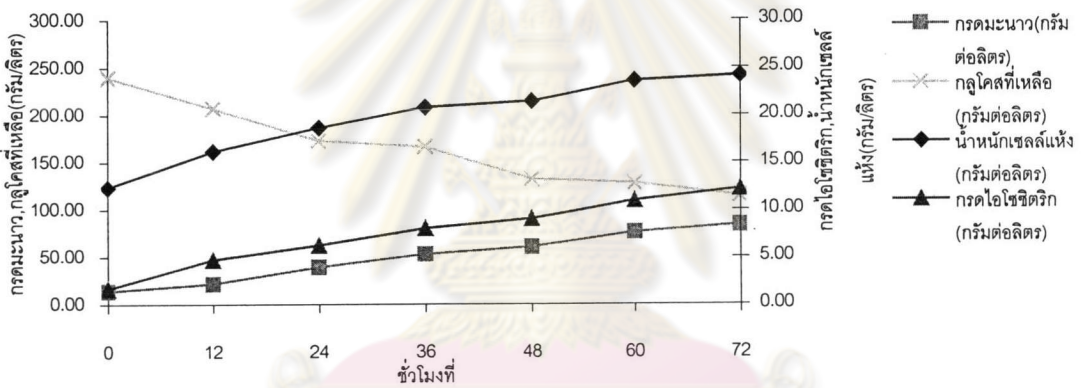
หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

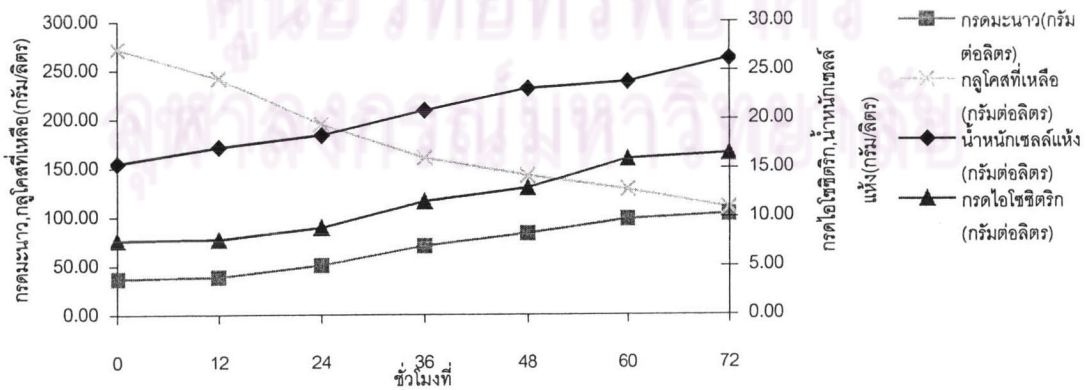
หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้



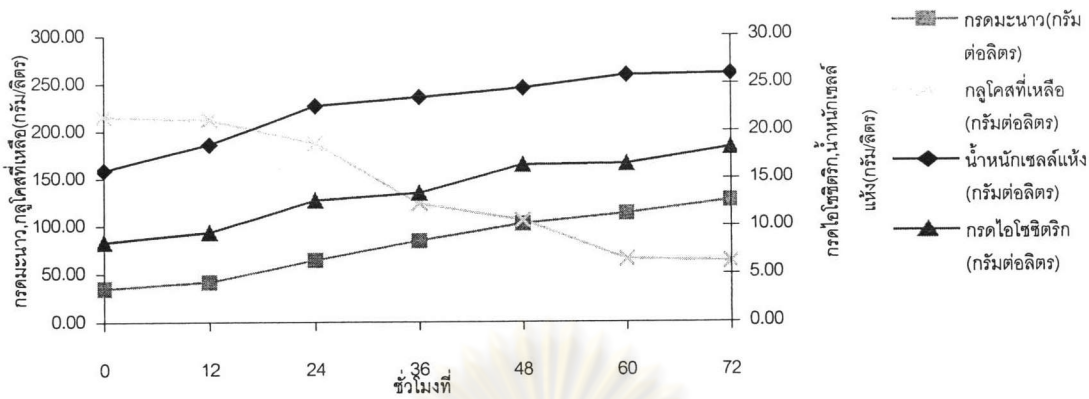
รูปที่ 3.41 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 1 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



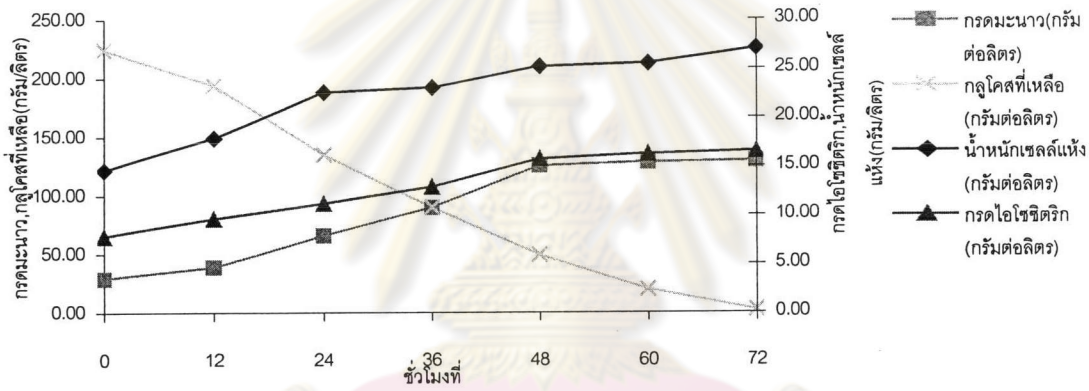
รูปที่ 3.42 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 2 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



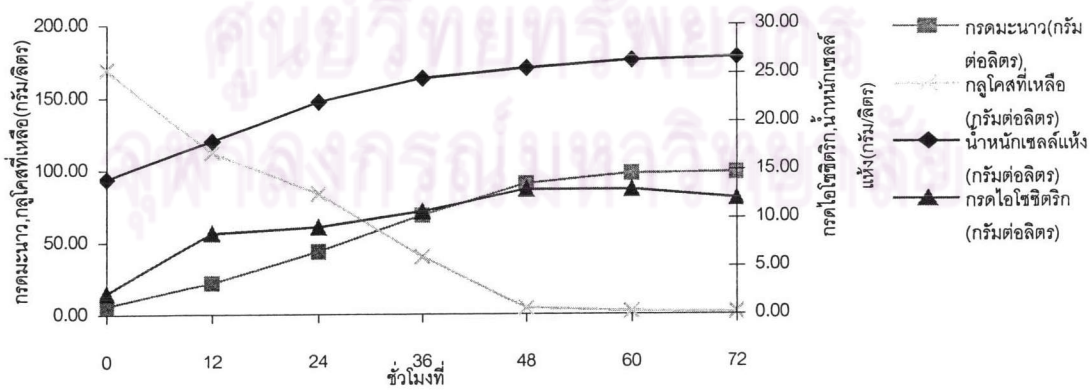
รูปที่ 3.43 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 3 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



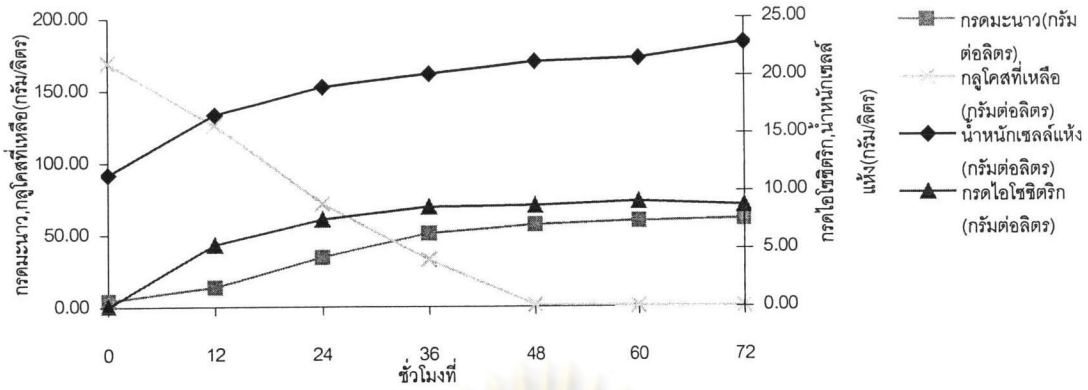
รูปที่ 3.44 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 4 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



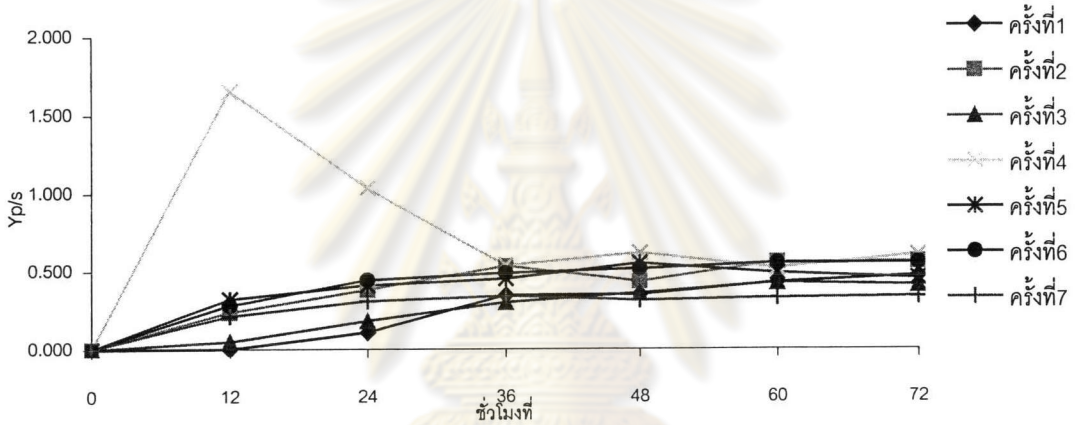
รูปที่ 3.45 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 5 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



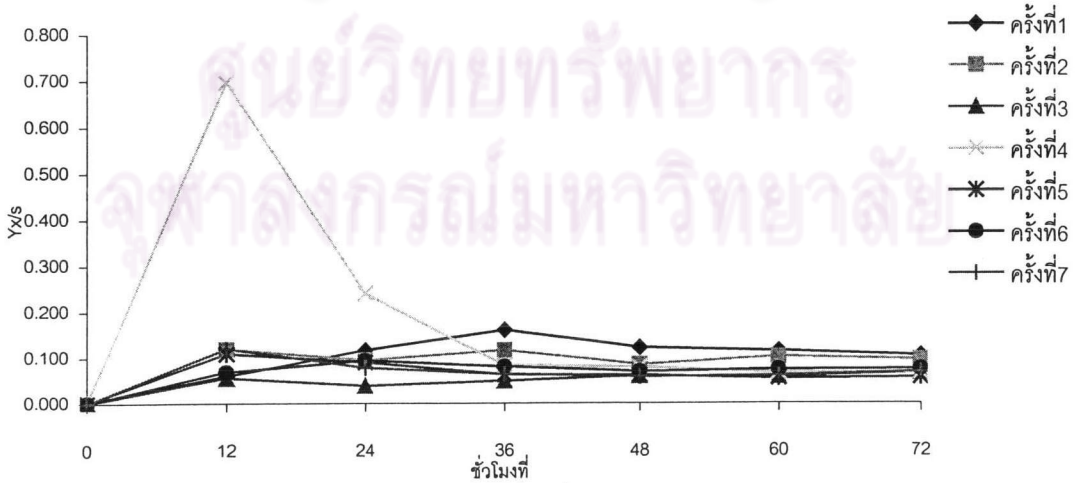
รูปที่ 3.46 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 6 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 3.47 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 7 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

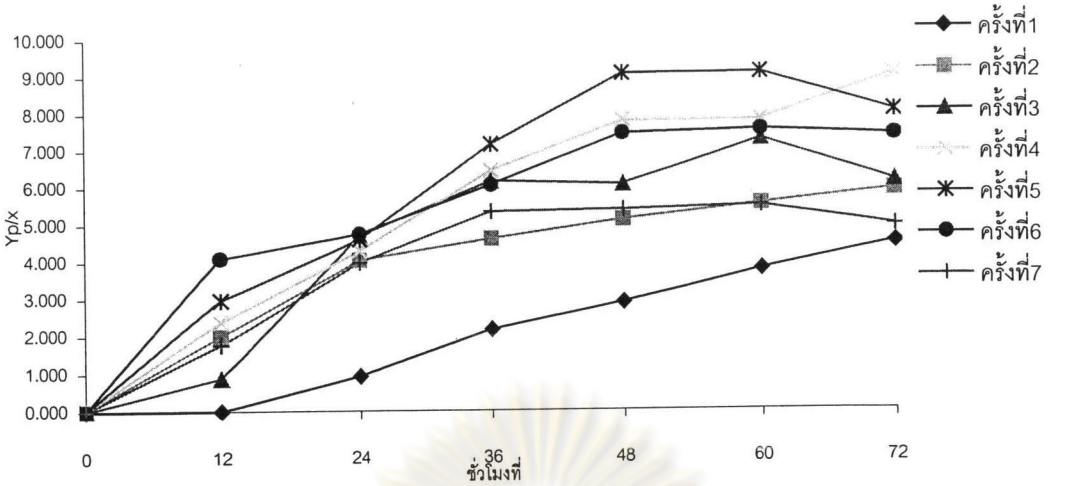


รูปที่ 3.48 ค่า Yp/s ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

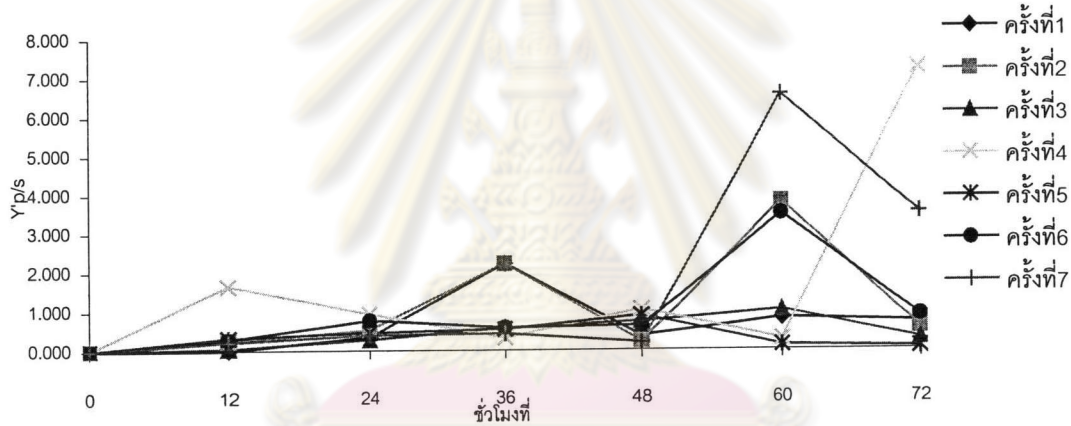


รูปที่ 3.49 ค่า Yx/s ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

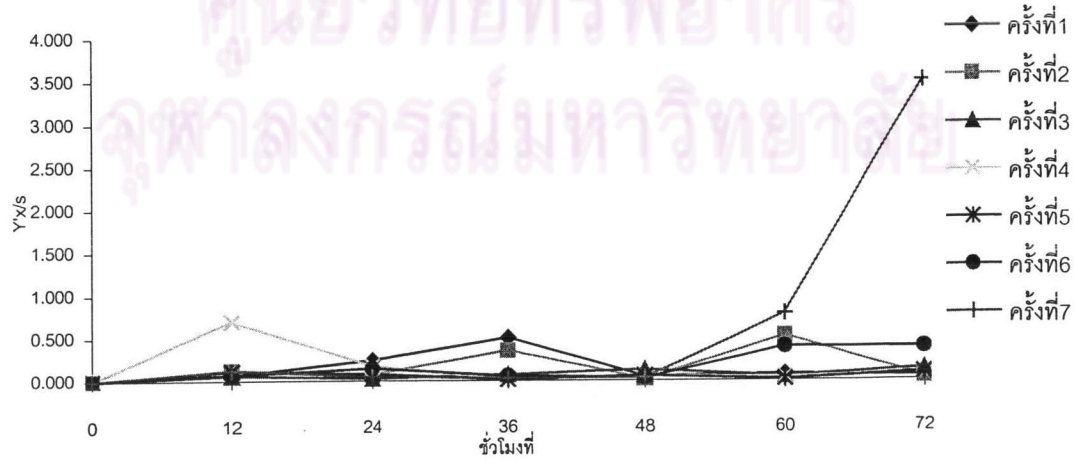


รูปที่ 3.50 ค่า Yp/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

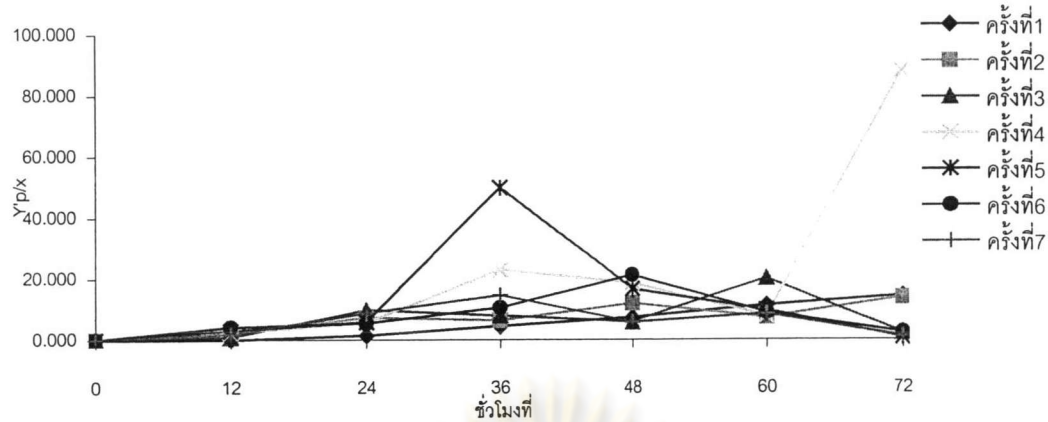


รูปที่ 3.51 ค่า Y'p/s ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

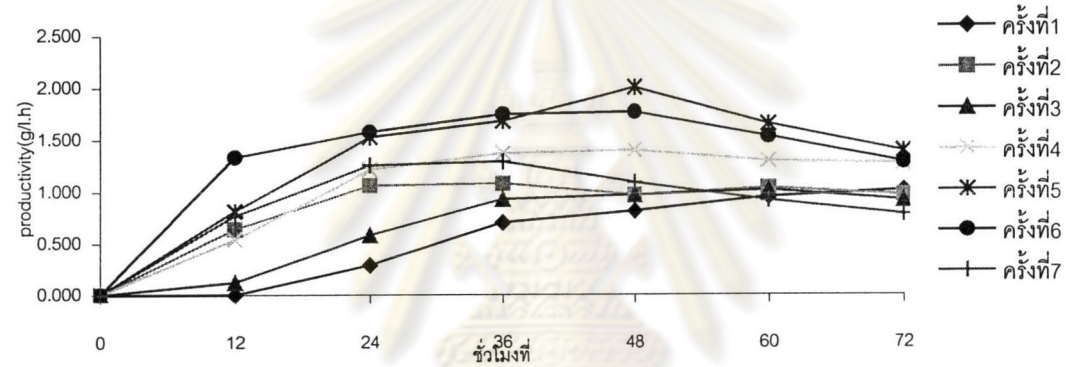
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



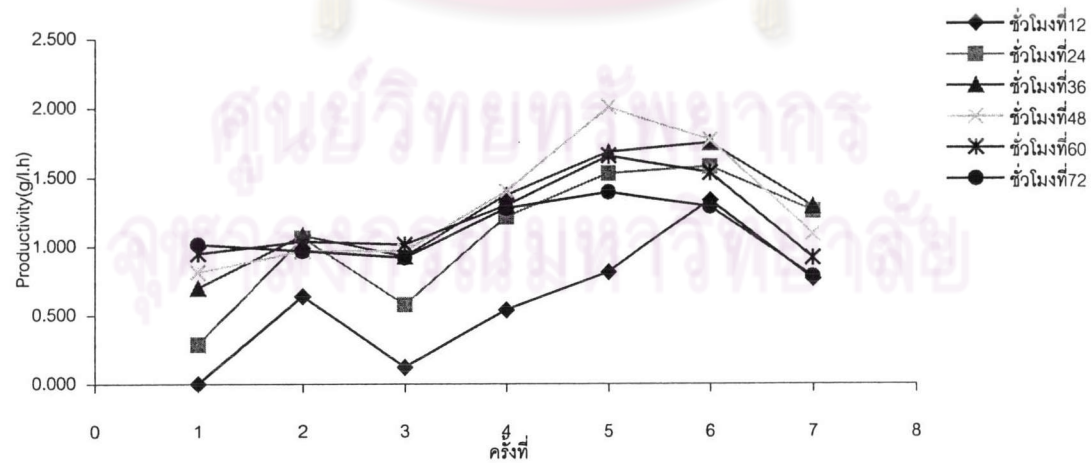
รูปที่ 3.52 ค่า Y'x/s ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 3.53 ค่า Y'p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 3.54 ค่า productivity ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 3.55 ค่า productivity ที่รอบการหมักต่างๆ เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

กรดมะนาวครั้งที่ 3 โดยวิธีการปั่นเหวี่ยงตามวิธีการทดลองที่ 2.7.1.2 พบว่าเชื้อยีสต์เริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 15.84 กรัมต่อลิตรและเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 26.00 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 72 เชื้อที่เวียนกลับมาใช้ใหม่นั้นจะเริ่มผลิตกรดมะนาวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 72 ได้ 126.69 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 354.73 กรัมแต่จากการเวียนเซลล์กลับมานั้นมีกรดมะนาวปะปนกลับมา 34.93 กรัมต่อลิตรคิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 122.26 กรัม ดังนั้นในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 4 จึงมีกรดมะนาวที่ได้จากการผลิตจริงเท่ากับ 232.47 กรัม ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 5 โดยการเวียนเซลล์ เป็นการผลิตกรดมะนาวจากการนำเซลล์ที่เวียนกลับมาจากการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 4 โดยวิธีการปั่นเหวี่ยงตามวิธีการทดลองที่ 2.7.1.2 พบว่าเชื้อยีสต์เริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 14.56 กรัมต่อลิตรและเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 27.04 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 72 เชื้อที่เวียนกลับมาใช้ใหม่นั้นจะเริ่มผลิตกรดมะนาวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 72 ได้ 129.17 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 361.68 กรัมแต่จากการเวียนเซลล์กลับมานั้นมีกรดมะนาวปะปนกลับมา 28.94 กรัมต่อลิตรคิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 101.29 กรัม ดังนั้นในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 5 จึงมีกรดมะนาวที่ได้จากการผลิตจริงเท่ากับ 260.39 กรัม ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 6 โดยการเวียนเซลล์ เป็นการผลิตกรดมะนาวจากการนำเซลล์ที่เวียนกลับมาจากการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 5 โดยวิธีการปั่นเหวี่ยงตามวิธีการทดลองที่ 2.7.1.2 พบว่าเชื้อยีสต์เริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 14.08 กรัมต่อลิตรและเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 26.64 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 72 เชื้อที่เวียนกลับมาใช้ใหม่นั้นจะเริ่มผลิตกรดมะนาวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 72 ได้ 98.31 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 275.27 กรัมแต่จากการเวียนเซลล์กลับมานั้นมีกรดมะนาวปะปนกลับมา 5.68 กรัมต่อลิตรคิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 19.88 กรัม ดังนั้นในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 6 จึงมีกรดมะนาวที่ได้จากการผลิตจริงเท่ากับ 255.39 กรัม ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 7 โดยการเวียนเซลล์ เป็นการผลิตกรดมะนาวจากการนำเซลล์ที่เวียนกลับมาจากการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 6 โดยวิธีการปั่นเหวี่ยงตามวิธีการทดลองที่ 2.7.1.2 พบว่าเชื้อยีสต์เริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 11.44 กรัมต่อลิตรและเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 22.88 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 72 เชื้อที่เวียนกลับมาใช้ใหม่นั้นจะเริ่มผลิตกรดมะนาวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 72 ได้ 60.56 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 169.57 กรัมแต่จากการเวียนเซลล์กลับมานั้นมีกรดมะนาวปะปนกลับมา

4.24 กรัมต่อลิตรคิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 14.84 กรัม ดังนั้นในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 7 จึงมีกรดมะนาวที่ได้จากการผลิตจริงเท่ากับ 154.73 กรัม

จากรูปที่ 3.47, 3.48, 3.49 แสดงค่าการคำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average) พบว่าค่าความสามารถการใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ (Yp/s) ของการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 36 ค่าที่ได้มีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 0.467 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 36 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 0.557 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 48 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 เท่ากับ 0.423 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 4 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 36 ค่ามีแนวโน้มคงที่และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 0.613 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส โดยชั่วโมงที่ 12 และ 24 ค่าที่ได้น่าจะเกิดความคลาดเคลื่อนจากน้ำตาลที่วัดได้มีปริมาณน้อยจึงเป็นผลให้การคำนวณคลาดเคลื่อนไป ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 5 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 36 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 0.548 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 6 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 36 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 0.551 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 7 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 24 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 0.339 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส

เมื่อพิจารณาค่าความสามารถของเซลล์มีกิจกรรมในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ (Yp/x)ของการผลิตครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 72 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 24 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 72 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 36 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 4 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 48 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 72 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 5 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึง

ชั่วโมงที่ 36 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 6 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 36 ค่ามีแนวโน้มคงที่ โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 7 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 36 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 ของการหมัก

และเมื่อพิจารณาค่าความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลล์ของเชื้อ (Yx/s) พบว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2, 4, 5 และ 7 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 มีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 72 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 6 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก

และจากรูปที่ 3.51, 3.52 และ 3.53 ซึ่งแสดงค่าการคำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous) พบว่าค่าความสามารถของเชื้อที่ใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตกรดมะนาว ($Y'p/s$) ของการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 36 ค่ามีแนวโน้มคงที่ โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 96 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่ มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่ มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 4 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่ มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 5 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 6 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่ มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 7 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่ มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 ของการหมัก

เมื่อพิจารณาค่าความสามารถของเซลล์มีกิจกรรมในการผลิตกรดมะนาว ($Y'p/x$) ของการผลิตกรดมะนาวพบว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 72 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 และ 4 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 72 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 5 และ 7 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่ มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดที่

ชั่วโมงที่ 36 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 6 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่ มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก

เมื่อพิจารณาค่าความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลล์ ($Y'x/s$) ของการผลิตกรดมะนาวพบว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 โดยการเวียนเซลล์มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 และ 7 โดยการเวียนเซลล์ มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 72 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 4 และ 5 โดยการเวียนเซลล์มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 6 โดยการเวียนเซลล์ มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 ของการหมัก และจากรูปที่ 3.54 ซึ่งแสดงค่าประสิทธิผลของการหมัก (productivity) กับเวลาพบว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และค่ามีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 1.015 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และค่ามีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 1.081 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งเมื่อหมักครบชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 0.969 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และค่ามีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 เท่ากับ 1.016 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งเมื่อหมักครบชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 0.919 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 4 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และค่ามีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 1.398 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งเมื่อหมักครบชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 1.274 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 5 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และค่ามีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 2.003 กรัมต่อลิตรต่อ ชั่วโมง ซึ่งเมื่อหมักครบชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 1.392 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 6 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และค่ามีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 1.768 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งเมื่อหมักครบชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 1.287 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 7 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และค่ามีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 1.289 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งเมื่อหมักครบชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 0.782 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง จากรูปที่ 3.40 ซึ่งแสดงค่าประสิทธิผลของการหมัก (productivity) กับครั้งที่ของการผลิตกรดมะนาว พบว่าค่าประสิทธิผลของการหมักของชั่วโมงที่ 48 ของการผลิตกรดมะนาวทุกครั้งจะมีค่าดีที่สุด

3.8.6 การผลิตกรดมะนาวด้วยการเวียนเซลล์ยีสต์จากน้ำหมักชั่วโมงที่ 48 กลับมาใช้ใหม่โดยการปรับความหนาแน่นของsupernatantของน้ำหมักเท่ากับ 1.08 กรัมต่อมิลลิลิตรและปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิการปั่นเหวี่ยง 28 องศาเซลเซียส ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

จากผลการทดลองที่ 3.5.1 และผลการคำนวณความเร็วในการตกตะกอนของยีสต์ดังตารางที่ 3.7 ยีสต์มีความหนาแน่น 1.0642 กรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นหากปรับความหนาแน่นของ supernatant ให้เท่ากับ 1.08 กรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งมากกว่าความหนาแน่นของยีสต์จึงทำให้เซลล์ยีสต์ไม่ตกตะกอนและจากผลการทดลองที่ 3.8.5.1 และ 3.8.5.2 พบว่าเซลล์ยีสต์ที่เวียนมานั้นจะผลิตกรดมะนาวได้ดี ณ เวลาการหมักที่ 48 ชั่วโมง ดังนั้นควรทำการเวียนเซลล์ที่ 48 ชั่วโมงของการหมัก จึงทำการทดลองตามวิธีการทดลองที่ 2.7.3 และทำการผลิตกรดมะนาว ตามวิธีการทดลองที่ 2.3.2.2 เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมงได้ผลการทดลองตามตารางที่ 3.24 ถึง 3.30 และรูปที่ 3.56 ถึง 3.70 พบว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 เป็นการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อเริ่มต้นมาจากการเตรียมหัวเชื้อพบว่าระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึง 72 ของการหมักเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 21.40 กรัมต่อลิตร เชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจาก 12 ชั่วโมง โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 72 ได้ 58.18 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 168.72 กรัม ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่เป็นการผลิตกรดมะนาวจากการนำเซลล์ที่เวียนกลับมาจากการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 โดยวิธีการปั่นเหวี่ยงตามวิธีการทดลองที่ 2.7.1.2 พบว่าเชื้อยีสต์เริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 12.40 กรัมต่อลิตรและเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 27.12 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 48 เชื้อที่เวียนกลับมาใช้ใหม่นั้นจะเริ่มผลิตกรดมะนาวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ชั่วโมงโดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 48 ได้ 67.32 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 215.42 กรัมแต่จากการเวียนเซลล์กลับมานั้นมีกรดมะนาวปะปนกลับมา 15.63 กรัมต่อลิตรคิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 54.71 กรัม ดังนั้นในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 จึงมีกรดมะนาวที่ได้จากการผลิตจริงเท่ากับ 160.71 กรัม ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่เป็นการผลิตกรดมะนาวจากการนำเซลล์ที่เวียนกลับมาจากการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 โดยวิธีการปั่นเหวี่ยงตามวิธีการทดลองที่ 2.7.1.2 พบว่าเชื้อยีสต์เริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 15.76 กรัมต่อลิตรและเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 30.04 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 48 เชื้อที่เวียนกลับมาใช้ใหม่นั้นจะเริ่มผลิตกรดมะนาวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ชั่วโมง โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 48 ได้ 88.75 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 284.00 กรัมแต่จากการเวียนเซลล์กลับมานั้นมีกรดมะนาวปะปนกลับมา 19.96 กรัมต่อลิตรคิดปริมาณ

ตารางที่ 3.24 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่าproductivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และY′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 1 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	3.30	0.00	0.00	228.79	-	-	-	-	-	-	-
12	7.72	0.00	0.00	210.64	0.000	0.000	0.244	0.000	0.000	0.244	0.000
24	13.00	6.09	2.28	201.58	0.254	0.224	0.356	0.628	0.672	0.583	1.153
36	16.96	23.62	4.51	158.56	0.656	0.336	0.195	1.729	0.407	0.092	4.427
48	19.48	39.39	5.28	142.71	0.821	0.458	0.188	2.434	0.995	0.159	6.258
60	19.64	56.18	5.83	125.89	0.936	0.546	0.159	3.438	0.998	0.010	104.938
72	21.40	58.18	5.56	87.44	0.808	0.412	0.128	3.214	0.052	0.046	1.136

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 2,900 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 168.72 กรัม

หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ 3.25 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่าproductivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 2 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	12.40	15.63	2.88	237.85	-	-	-	-	-	-	-
12	19.24	24.15	4.27	199.34	0.710	0.221	0.178	1.246	0.221	0.178	1.246
24	22.20	39.00	6.10	178.95	0.974	0.397	0.166	2.385	0.728	0.145	5.017
36	23.00	53.29	7.72	160.83	1.046	0.489	0.138	3.553	0.789	0.044	17.863
48	27.12	67.32	10.26	144.95	1.077	0.556	0.158	3.512	0.884	0.259	3.405

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 3,200 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 215.42 กรัม

หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ 3.26 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่าproductivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 3 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	15.76	19.96	4.23	190.28	-	-	-	-	-	-	-
12	21.16	32.42	7.14	176.68	1.038	0.916	0.397	2.307	0.916	0.397	2.307
24	24.88	50.33	8.66	149.50	1.265	0.745	0.224	3.330	0.659	0.137	4.815
36	29.52	73.79	11.04	115.53	1.495	0.720	0.184	3.912	0.691	0.137	5.056
48	30.04	88.75	13.71	101.93	1.433	0.779	0.162	4.817	1.100	0.038	28.769

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 3,200 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 284.00 กรัม

หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ 3.27 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่าproductivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 4 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	13.64	17.65	4.27	211.64	-	-	-	-	-	-	-
12	17.40	28.29	5.58	174.12	0.887	0.284	0.100	2.830	0.284	0.100	2.830
24	21.60	51.35	8.69	149.07	1.404	0.539	0.127	4.234	0.921	0.168	5.490
36	22.84	76.08	10.65	100.12	1.623	0.524	0.082	6.351	0.505	0.025	19.944
48	24.32	92.60	12.64	68.01	1.561	0.522	0.074	7.018	0.514	0.046	11.162

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 3,200 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 296.32 กรัม

หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ 3.28 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่าproductivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 5 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	13.68	30.18	5.54	223.07	-	-	-	-	-	-	-
12	18.76	39.55	5.69	194.79	0.781	0.331	0.180	1.844	0.331	0.180	1.844
24	23.32	62.48	10.80	155.07	1.346	0.475	0.142	3.351	0.577	0.115	5.029
36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	28.08	95.51	16.64	103.39	1.361	0.546	0.120	4.537	0.639	0.092	6.939

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 3,200 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 305.63 กรัม

หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ 3.29 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่าproductivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 6 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	15.32	33.07	6.86	228.50	-	-	-	-	-	-	-
12	21.24	44.23	8.62	202.95	0.930	0.437	0.232	1.885	0.437	0.232	1.885
24	24.48	66.66	11.00	151.24	1.400	0.435	0.119	3.667	0.434	0.063	6.923
36	27.28	86.29	11.60	119.69	1.478	0.489	0.110	4.450	0.622	0.089	7.011
48	29.00	100.99	8.11	103.39	1.415	0.543	0.109	4.965	0.902	0.106	8.547

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 3,200 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 323.17 กรัม

หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ 3.30 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่าproductivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 7 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

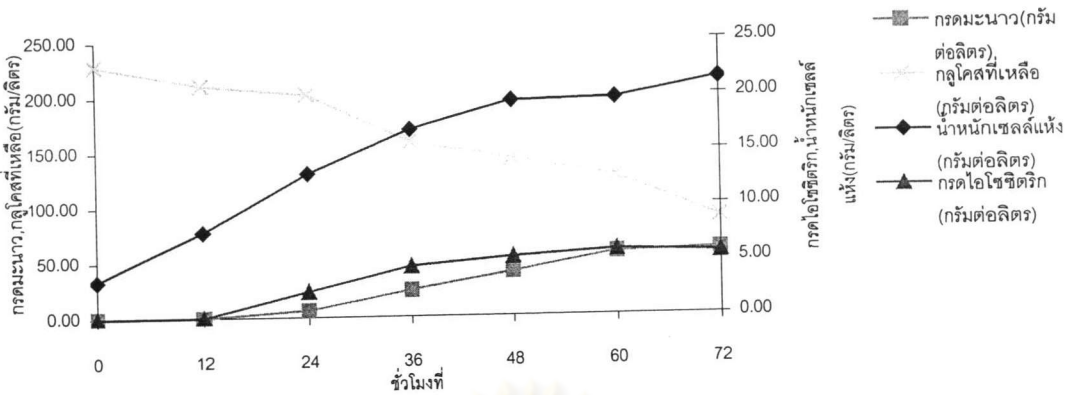
เวลา (ชั่วโมงที่)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดไอโซซิตริก (กรัม/ลิตร)	กลูโคสที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	Productivity (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	Yp/s	Yx/s	Yp/x	Y′p/s	Y′x/s	Y′p/x
0	16.88	28.31	6.48	231.24	-	-	-	-	-	-	-
12	21.68	39.67	8.89	187.69	0.947	0.261	0.110	2.367	0.261	0.110	2.367
24	26.24	66.01	12.73	136.02	1.571	0.396	0.098	4.028	0.510	0.088	5.776
36	29.72	93.04	14.67	100.67	1.798	0.496	0.098	5.041	0.765	0.098	7.767
48	31.36	111.00	16.34	68.01	1.723	0.507	0.089	5.711	0.550	0.050	10.951

ปริมาตรน้ำหมักที่เหลือในถังหมักประมาณ 3,200 มิลลิลิตร คิดเป็นกรดมะนาวประมาณ 355.20 กรัม

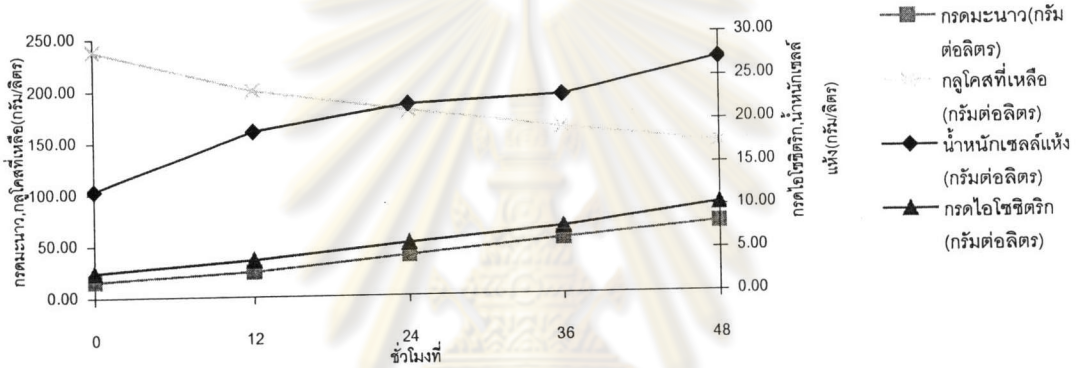
หมายเหตุ Yp/s Yx/s Yp/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average)

Y′p/s Y′x/s Y′p/x คือค่าที่คำนวณทางจลนพลศาสตร์คิดในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous)

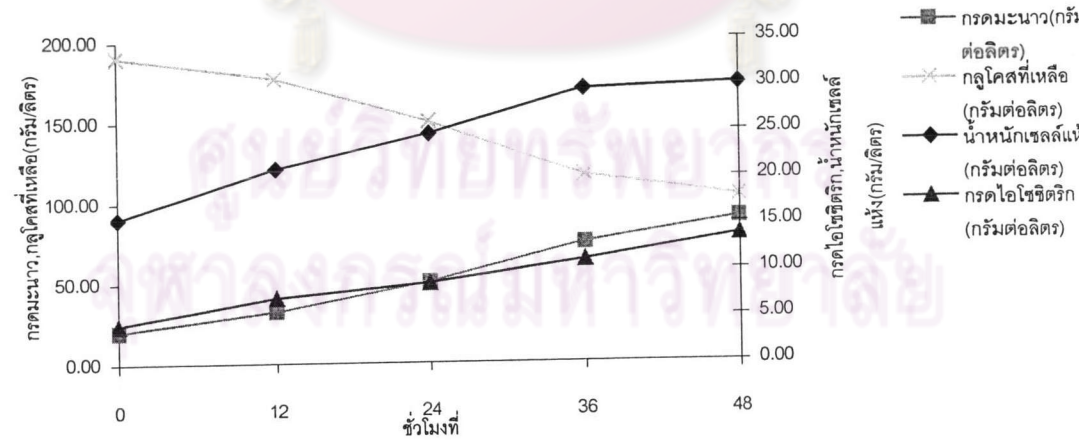
หมายเหตุ (-) ไม่สามารถคำนวณได้



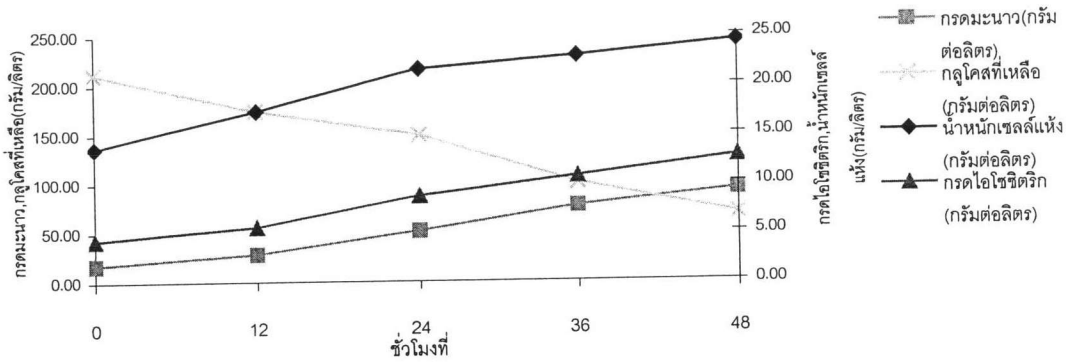
รูปที่ 3.56 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 1 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



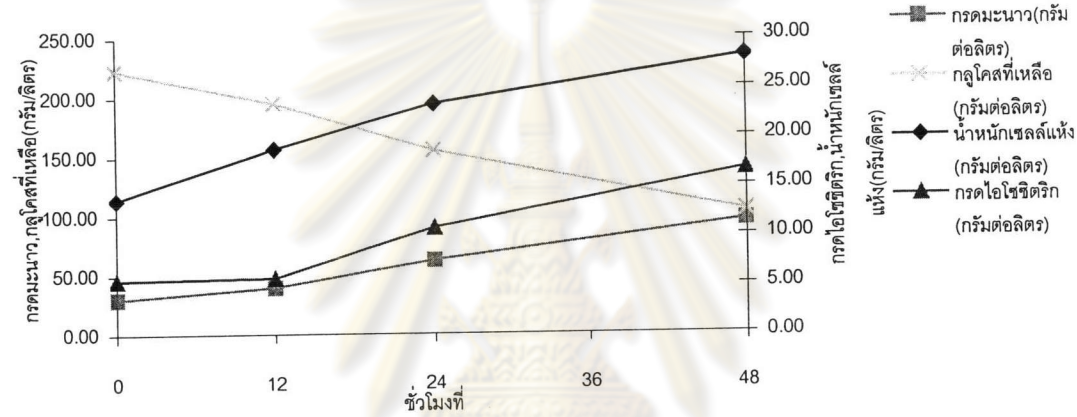
รูปที่ 3.57 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 2 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



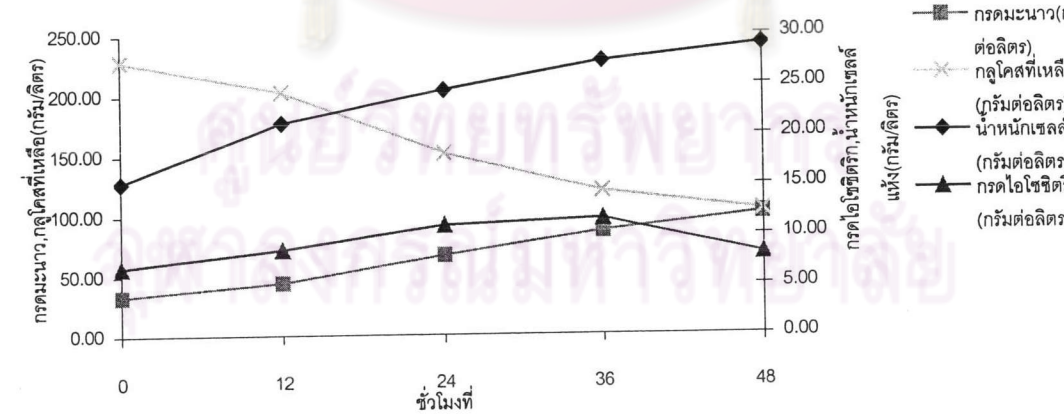
รูปที่ 3.58 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 3 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



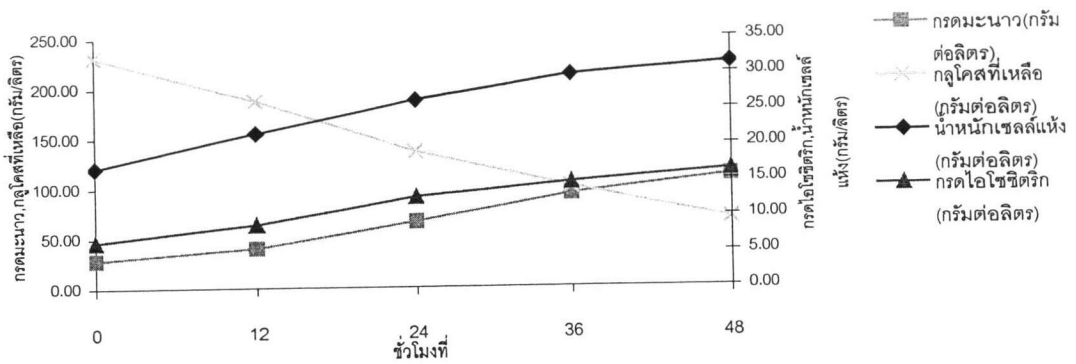
รูปที่ 3.59 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 4 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



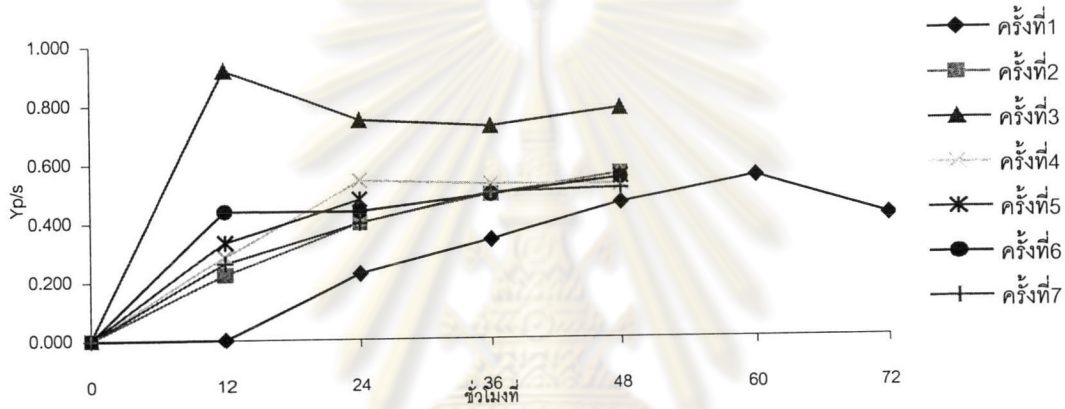
รูปที่ 3.60 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 5 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



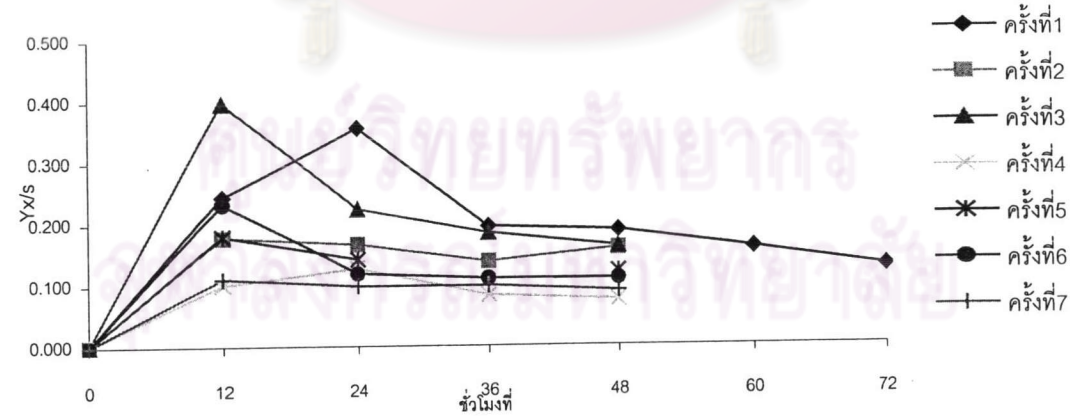
รูปที่ 3.61 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 6 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



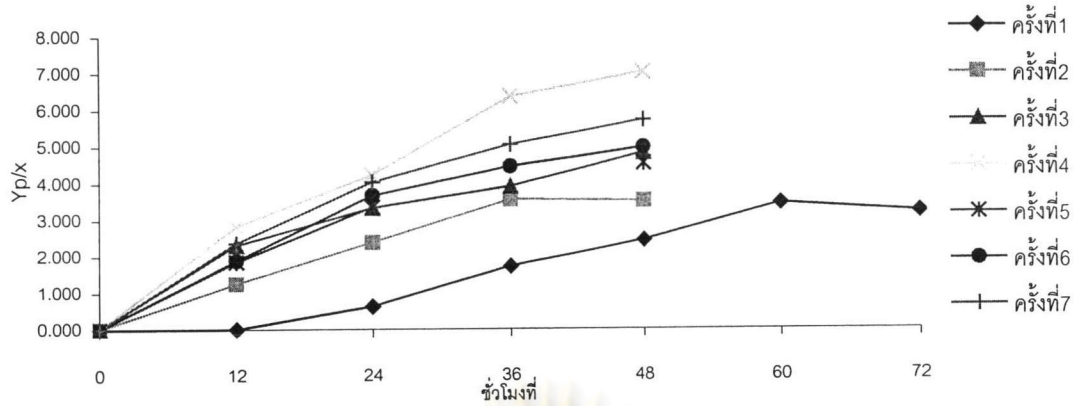
รูปที่ 3.62 ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักครั้งที่ 7 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



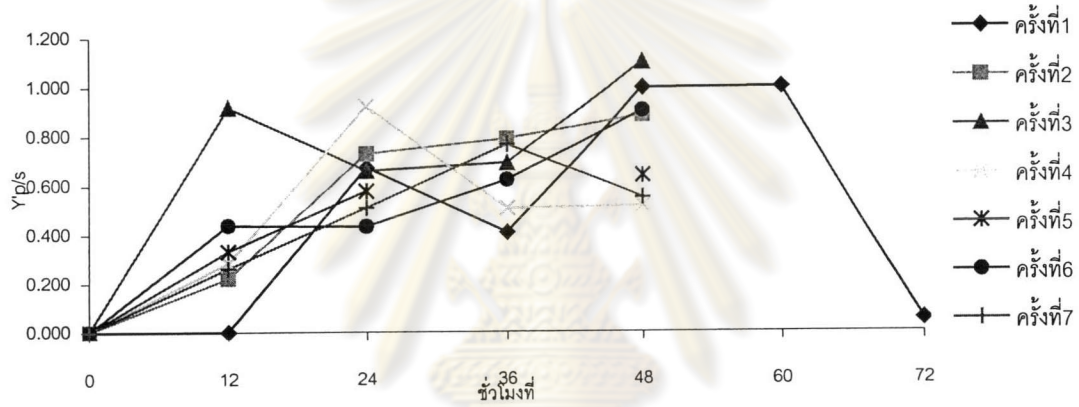
รูปที่ 3.63 ค่า Yp/s ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



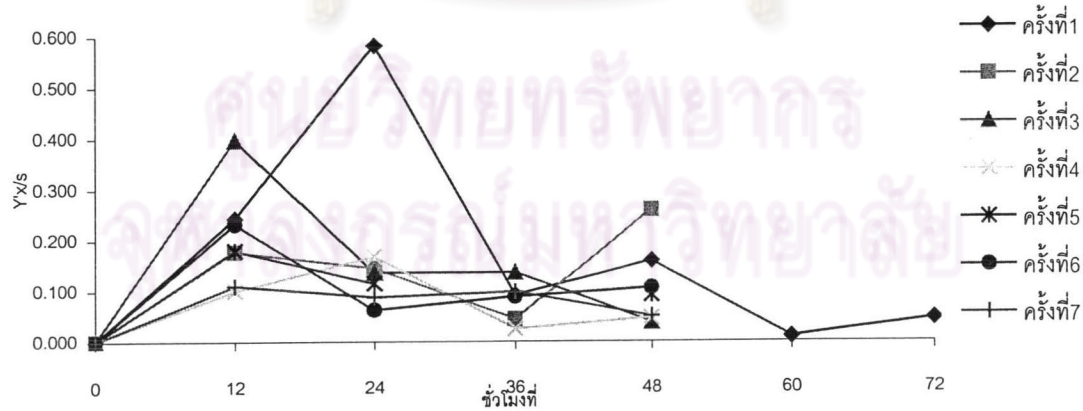
รูปที่ 3.64 ค่า Yx/s ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 3.65 ค่า Yp/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

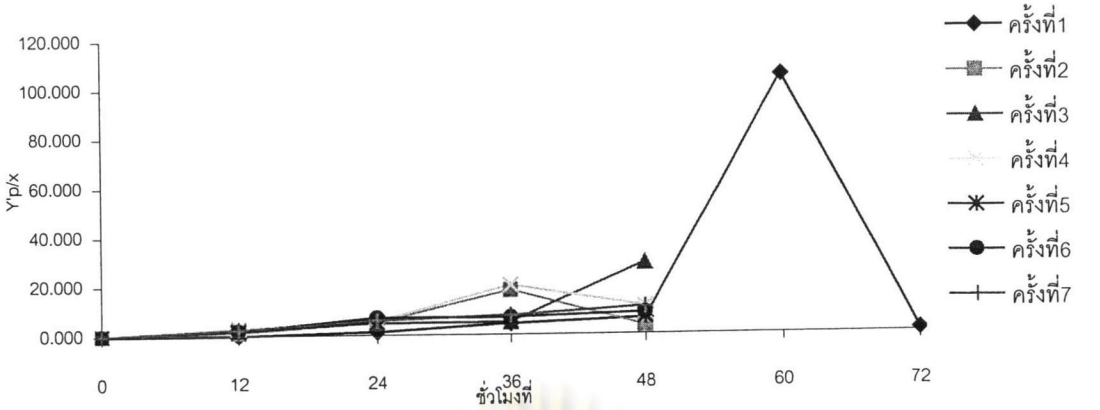


รูปที่ 3.66 ค่า Y'p/s ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

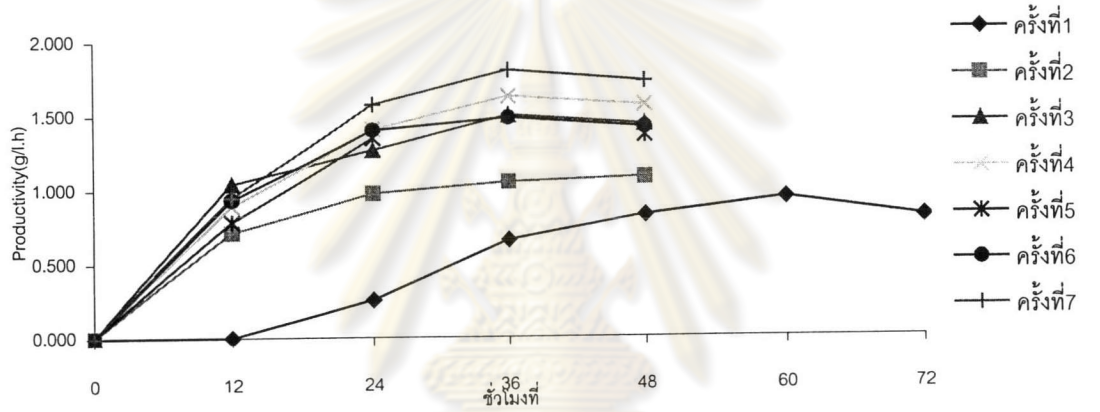


รูปที่ 3.67 ค่า Y'x/s ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

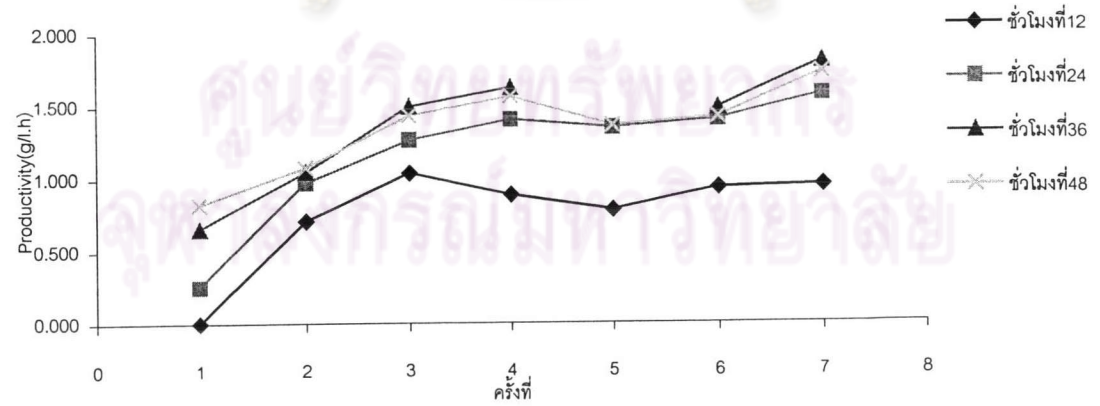
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.68 ค่า Y'p/x ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 3.69 ค่า productivity ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 3.70 ค่า productivity ที่รอบการหมักต่างๆ เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 69.86 กรัม ดังนั้นในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 จึงมีกรดมะนาวที่ได้จากการผลิตจริงเท่ากับ 214.14 กรัม ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 4 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่เป็นการผลิตกรดมะนาวจากการนำเซลล์ที่เวียนกลับมาจากการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 โดยวิธีการปั่นเหวี่ยงตามวิธีการทดลองที่ 2.7.1.2 พบว่าเชื้อยีสต์เริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 13.64 กรัมต่อลิตรและเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 24.32 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 48 เชื้อที่เวียนกลับมาใช้ใหม่นั้นจะเริ่มผลิตกรดมะนาวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ชั่วโมง โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 48 ได้ 92.60 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 296.32 กรัมแต่จากการเวียนเซลล์กลับมานั้นมีกรดมะนาวปะปนกลับมา 17.65 กรัมต่อลิตรคิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 61.78 กรัม ดังนั้นในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 4 จึงมีกรดมะนาวที่ได้จากการผลิตจริงเท่ากับ 234.54 กรัม ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 5 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่เป็นการผลิตกรดมะนาวจากการนำเซลล์ที่เวียนกลับมาจากการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 4 โดยวิธีการปั่นเหวี่ยงตามวิธีการทดลองที่ 2.7.1.2 พบว่าเชื้อยีสต์เริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 13.68 กรัมต่อลิตรและเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 28.08 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 48 เชื้อที่เวียนกลับมาใช้ใหม่นั้นจะเริ่มผลิตกรดมะนาวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ชั่วโมง โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 48 ได้ 95.51 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 305.63 กรัมแต่จากการเวียนเซลล์กลับมานั้นมีกรดมะนาวปะปนกลับมา 30.18 กรัมต่อลิตรคิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 105.63 กรัม ดังนั้นในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 5 จึงมีกรดมะนาวที่ได้จากการผลิตจริงเท่ากับ 200.00 กรัม ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 6 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่เป็นการผลิตกรดมะนาวจากการนำเซลล์ที่เวียนกลับมาจากการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 5 โดยวิธีการปั่นเหวี่ยงตามวิธีการทดลองที่ 2.7.1.2 พบว่าเชื้อยีสต์เริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 15.32 กรัมต่อลิตรและเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้ น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 29.00 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 48 เชื้อที่เวียนกลับมาใช้ใหม่นั้นจะเริ่มผลิตกรดมะนาวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 48 ได้ 100.99 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 323.17 กรัมแต่จากการเวียนเซลล์กลับมานั้นมีกรดมะนาวปะปนกลับมา 33.07 กรัมต่อลิตรคิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 115.75 กรัม ดังนั้นในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 6 จึงมีกรดมะนาวที่ได้จากการผลิตจริงเท่ากับ 207.42 กรัม ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 7 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่เป็นการผลิตกรดมะนาวจากการนำเซลล์ที่เวียนกลับมาจากการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 6 โดยวิธีการปั่นเหวี่ยงตามวิธีการทดลองที่ 2.7.1.2 พบว่าเชื้อยีสต์เริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 16.88 กรัมต่อลิตรและเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 31.36 กรัมต่อลิตรชั่วโมงที่ 48 เชื้อที่เวียน

กลับมาใช้ใหม่นั้นจะเริ่มผลิตกรดมะนาวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 โดยปริมาณกรดมะนาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและชั่วโมงที่ 48 ได้ 111.00 กรัมต่อลิตร คิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักที่เหลือประมาณ 355.20 กรัมแต่จากการเวียนเซลล์กลับมานั้นมีกรดมะนาวปะปนกลับมา 28.31 กรัมต่อลิตรคิดปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในน้ำหมักชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 99.09 กรัม ดังนั้นในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 7 จึงมีกรดมะนาวที่ได้จากการผลิตจริงเท่ากับ 256.11กรัม

จากรูปที่ 3.63, 3.64, 3.65 แสดงค่าการคำนวณทางจลนพลศาสตร์ที่คิดตั้งแต่ต้นจนถึงที่เวลาการหมักนั้น (average) ซึ่งเมื่อพิจารณาค่าความสามารถการใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ (Yp/s)ของการผลิตกรดมะนาวพบว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 48 ค่าที่ได้มีแนวโน้มคงโดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 เท่ากับ 0.546 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 0.556 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 24 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 12 เท่ากับ 0.916 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 4 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 24 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 0.539 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 5 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 0.546 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 6 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 12 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 0.543 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 7 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 0.507 กรัมของกรดมะนาวต่อกรัมของน้ำตาลกลูโคส

เมื่อพิจารณาค่าความสามารถของเซลล์มีกิจกรรมในการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ (Yp/x) ของการผลิตกรดมะนาวพบว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 ของการหมัก ส่วนการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3, 4, 5, 6 และ 7 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก และเมื่อพิจารณาค่าความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลล์ของเชื้อ (Yx/s) พบว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 24 ของการหมักในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2, 3, 5, 6 และ 7 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่า

สูงสุดชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 4 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก

และจากรูปที่ 3.67, 3.68, 3.69 ซึ่งแสดงค่าการคำนวณทางจลนพลศาสตร์คิด ในช่วง 12 ชั่วโมง (instantaneous) เมื่อพิจารณาค่าความสามารถของเชื้อที่ใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตกรดมะนาว ($Y'p/s$) ของการผลิตกรดมะนาวพบว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 48 ค่ามีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2, 3, 5 และ 6 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 4 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 7 โดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 ของการหมัก

เมื่อพิจารณาค่าความสามารถของเซลล์มีกิจกรรมในการผลิตกรดมะนาว ($Y'p/x$) ของการผลิตกรดมะนาวพบว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 และ 4 โดยการเวียนเซลล์มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 ของการหมัก ส่วนการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3, 5, 6 และ 7 โดยการเวียนเซลล์ มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก และเมื่อพิจารณาค่าความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลล์($Y'x/s$)พบว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 โดยการเวียนเซลล์ มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3, 5,6 และ 7 โดยการเวียนเซลล์ มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก ส่วนการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 4 โดยการเวียนเซลล์ มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก

จากรูปที่ 3.70 ซึ่งแสดงค่าประสิทธิผลของการหมัก (productivity) กับเวลาพบว่าการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และค่ามีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 60 เท่ากับ 0.936 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งเมื่อหมักครบชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 0.808 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 2 โดยการเวียนมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และค่ามีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 1.077 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 3 โดยการเวียนมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และค่ามีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 1.495 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งเมื่อหมักครบชั่วโมงที่ 48 มีค่าเท่ากับ 1.433 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 4 โดยการเวียนมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่

0 และค่ามีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 1.623 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งเมื่อหมักครบชั่วโมงที่ 48 มีค่าเท่ากับ 1.561 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 5 โดยการเวียนมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และค่ามีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 1.361 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 6 โดยการเวียนมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และค่ามีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 1.478 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งเมื่อหมักครบชั่วโมงที่ 48 มีค่าเท่ากับ 1.415 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 7 โดยการเวียนมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และค่ามีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 โดยมีค่าสูงสุดชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 1.798 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และจากรูปที่ 3.71 ซึ่งแสดงค่าประสิทธิผลของการหมักที่ชั่วโมงต่างๆกับการผลิตกรดมะนาวครั้งต่างๆพบว่าค่าประสิทธิผลของการหมักมีค่าเพิ่มขึ้นจนถึงการผลิตครั้งที่ 3 จะมีแนวโน้มคงที่จนถึงการผลิตกรดมะนาวครั้งที่ 7 ค่าประสิทธิผลของการหมักก็ยังไม่มีค่าลดลงซึ่งแสดงว่าเซลล์ยีสต์ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่นั้นยังสามารถใช้ในการผลิตกรดมะนาวต่อไปได้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย