การแยกเซลล์ยีสต์จากตะกอนซิเทรตในน้ำหมักและผลต่อศักยภาพการหมักในการผลิตกรดมะนาว

นายณัฐพล กฤตยวรรณ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-2721-6

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

SEPARATION OF YEAST CELLS FROM PRECIPITATE OF CITRATE IN FERMENTATION BROTH AND EFFECTS ON FERMENTATIVE POTENCY IN CITRIC ACID PRODUCTION

Mr. Natthaphon Krittayawan

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Biotechnology

Program of Biotechnology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-17-2721-6

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การแยกเซลล์ยีสต์จากตะกอนซิเทรตในน้ำหมักและผลต่อศักยภาพการหมักในการผลิตกรดมะนาว
โดย	นายณัฐพล กฤตยวรรณ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรพงศ์ นวังคสัตฤศาสน์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. นลิน นิลอุบล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร.วันชัย โพธิ์พิจิตร)

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ งามประเสริฐสิทธิ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรพงศ์ นวังคสัตฤศาสน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร. นลิน นิลอุบล)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

..... กรรมการ

(อาจารย์ วาสนา โตเลี้ยง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ณัฐพล กฤตยวรรณ : การแยกเซลล์ยีสต์จากตะกอนซิเทรตในน้ำหมักและผลต่อศักยภาพการหมักในการผลิตกรดมะนาว (SEPARATION OF YEAST CELLS FROM PRECIPITATE OF CITRATE IN FERMENTATION BROTH AND EFFECTS ON FERMENTATIVE POTENCY IN CITRIC ACID PRODUCTION) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์ , อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร. นลิน นิลอุบล , 125 หน้า.ISBN 974-17-2721-6

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาวิธีและภาวะที่เหมาะสมในการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากแคลเซียมซิเทรตในน้ำหมักเพื่อเวียนกลับมาใช้ในการผลิตกรดมะนาวรอบใหม่ โดยอาศัยสมบัติทางกายภาพที่แตกต่างกันระหว่างเซลล์ยีสต์และแคลเซียมซิเทรต วิธีการแยกเซลล์ออกจากแคลเซียมซิเทรตทำได้โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาล แล้วทำให้ตกตะกอนในคอลัมน์หรือการปั่นเหวี่ยง พบว่าการปั่นเหวี่ยงจะให้การได้กลับคืนของเซลล์ยีสต์มากกว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่โดยวิธีการปั่นเหวี่ยงนั้นได้แก่ อุณหภูมิในการแยกเซลล์, อายุของเซลล์ยีสต์ และการสะสมความเข้มข้นของน้ำตาล จากการทดลองจะพบว่าอายุของยีสต์เซลล์ที่เหมาะสมสำหรับการแยกเวียนมาใช้คือที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงของการหมัก และภาวะที่เหมาะสมในการแยกคือการปรับความหนาแน่นของส่วนน้ำใสของน้ำหมักเท่ากับ 20 บริกส์ (1.08 กรัมต่อมิลลิลิตร) หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 430xg ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำส่วนแขวนลอยปรับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเป็น 220 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้ในการหมักรอบใหม่ พบว่าการเวียนเซลล์ด้วยวิธีนี้จะให้ค่า productivity ของการผลิตกรดมะนาวคงที่ แม้ว่าจะทำการผลิตกรดมะนาวโดยการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่แล้ว 7 รอบ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หลักสูตร.....เทคโนโลยีทางชีวภาพ..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางชีวภาพ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา.....2545..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4272274823 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD : *Candida oleophila* C-73 / citric acid / yeast cells / separation

NATTHAPHON KRITTAYAWAN : SEPARATION OF YEAST CELLS FROM PRECIPITATE OF CITRATE IN FERMENTATION BROTH AND EFFECTS ON FERMENTATIVE POTENCY IN CITRIC ACID PRODUCTION. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. SURAPONG NAVANKASATTUSAS , Ph.D. THESIS CO-ADVISOR : ASSOC. PROF. NALINE NILUBOL , Ph.D. 125 pp. ISBN 974-17-2721-6

The work involves the investigation of a method and suitable conditions for separation of yeast cells from calcium citrate in fermentation broth, in order to recycle the yeasts for production of citric acid, based on the difference in physical properties of the yeasts and calcium citrate. A separation method was carried out by adjusting the density of fermentation broth with a solution of dextrose, followed by sedimentation using a column method or centrifugation. The centrifugation was found to give higher recovery of yeast cells.The following factors affecting the yeast cell recovery include separation temperature, the age of yeast, and the concentration of the dextrose solution. From experiments, the suitable the age of recycled yeast cells was found to be 48 hours of fermentation time and the optimum condition for separation are following ; adjusting the density of supernatant to be 20 $^{\circ}$brix (1.08 g/ml). The mixture was centrifuged with 430xg at temperature of 28 $^{\circ}$C for 5 min. Before a new cycle of fermentation, suspension was separated and adjusted to have 220 g/l glucose. Results showed that the produtivity of citric acid with the recycled yeast cells did not change although the recycled cells was used for 7 times.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Program.....Biotechnology..... Student's signature.....

Field of study..... Biotechnology..... Advisor's signature.....

Academic year.....2002..... Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาระดับปริญญามหาบัณฑิต และวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยความสมบูรณ์ โดยได้รับความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์ รองศาสตราจารย์ ดร. นลิน นิลอุบล ที่กรุณารับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา และอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ตลอดจนให้คำแนะนำแนวทางการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ซึ่งกระผมขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้อย่างสูงยิ่ง

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ งามประเสริฐสิทธิ์ ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ และอาจารย์ วาสนา โตเลี้ยงที่ได้กรุณาให้คำแนะนำปรึกษา รวมทั้งช่วยตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ อีกทั้งได้กรุณาเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณคณะผู้บริหารสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ความสะดวกในด้าน อุปกรณ์ และสารเคมีในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณคุณณรงค์ หอมจันทร์ที่ให้ความช่วยเหลือในช่างเทคนิค และอำนวยความสะดวกเกี่ยวกับเครื่องมืออุปกรณ์ พร้อมทั้งเจ้าหน้าที่ฝ่ายช่างของสถาบันฯ ทุกท่าน

ขอขอบพระคุณคุณสุนันท์ ลิ้มเทียนเจริญ ที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจด้วยดีมาตลอด

ขอขอบคุณ พี่ๆน้องๆ สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือด้วยดีมาตลอด

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ อาม่า อาปา อาม่ะ อาอี้ อากู๋ ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจที่สำคัญ สำหรับการทำวิจัยตลอดเวลา

ความดีและคุณค่าของวิทยานิพนธ์นี้ ข้าพเจ้าขออุทิศแด่ บูรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ฐ

สารบัญรูป..... ต

บทที่

1 บทนำ

1.1 ประวัติความเป็นมา..... 1

1.2 การผลิตกรดมะนาวด้วยยีสต์..... 2

1.3 ประวัติการเวียนเซลล์เพื่อนำกลับมาใช้ใหม่..... 2

1.4 ชีวเคมีของการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อยีสต์..... 3

1.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์..... 6

1.5.1 สายพันธุ์ของยีสต์..... 6

1.5.2 ภาวะที่เหมาะสมในการผลิต..... 6

1.5.2.1 สารแหล่งคาร์บอน..... 6

1.5.2.2 สารแหล่งไนโตรเจน..... 6

1.5.2.3 ฟอสเฟต..... 6

1.5.2.4 แร่ธาตุ..... 7

1.5.2.5 สารเสริมอื่นๆ..... 7

1.5.2.6 ค่าความเป็นกรดเบส..... 7

1.5.2.7 อุณหภูมิ..... 8

1.5.2.8 การให้อากาศและการกวน..... 8

1.6 สมบัติของกรดมะนาว..... 8

1.7 ประโยชน์ของกรดมะนาว..... 9

1.7.1 อุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม..... 9

1.7.2 อุตสาหกรรมทางเภสัชกรรม..... 10

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	1.7.3 อุตสาหกรรมด้านอื่นๆ	11
	1.8 การแยกทางกล	11
	1.8.1 การเคลื่อนที่ของอนุภาคในของไหล	11
	1.8.2 การตกตะกอน (sedimemtation)	13
	1.8.2.1 การตกตะกอนของอนุภาคต่างๆ ในของเหลวด้วยแรงโน้มถ่วงของโลก (gravitational sedimentation of particles in a liquid)	13
	1.8.2.2 การตกตะกอนของอนุภาคโดยการหมุนเหวี่ยง (centridugal separation)	14
	1.9 มูลเหตุจูงใจในการทำการวิจัย	15
2	วิธีการทดลอง	
	2.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	17
	2.1.1 อุปกรณ์	17
	2.1.2 สารเคมี	18
	2.2 เชื้อจุลินทรีย์	19
	2.3 การเก็บรักษาเชื้อและการเลี้ยงเชื้อ	19
	2.3.1 การเก็บรักษาเชื้อ	19
	2.3.2 การเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกรดมะนาว	19
	2.3.2.1 การเตรียมหัวเชื้อในระดับขวดเขย่า	19
	2.3.2.2 การเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกรดมะนาวในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร	20
	2.4 วิธีวิเคราะห์	20
	2.4.1 ค่าความเป็นกรดเบส	20
	2.4.2 การละลายเกลือแคลเซียมซิเทรตในน้ำหมัก	20
	2.4.3 วัดการเจริญของเชื้อโดยวิธีหาน้ำหนักเซลล์แห้ง	20
	2.4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดมะนาวและกรดไอโซซิตริกน้ำหมักโดยใช้เครื่องไฮเพอร์พอแมนซ์ลิควิดโครมาโตรกราฟฟี (HPLC)	21
	2.4.5 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์	21
	2.5 การศึกษาลักษณะทางกายภาพของแคลเซียมซิเทรต, ยีสต์และ supernatant ของน้ำหมัก	22

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	2.5.1 การศึกษาความหนาแน่นของแคลเซียมซิเทรต, ยีสต์และ supernatant ของน้ำหมัก	22
	2.5.1.1 การศึกษาความหนาแน่นของแคลเซียมซิเทรต, ยีสต์และ supernatant ของน้ำหมัก	22
	2.5.1.2 การศึกษาความหนาแน่นของ supernatant ของน้ำหมัก	22
	2.5.2 การศึกษาขนาดของแคลเซียมซิเทรตและยีสต์	22
	2.5.3 การศึกษาความหนืดของน้ำหมัก	22
2.6	การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตโดยใช้คอลัมน์	23
	2.6.1 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตโดยใช้คอลัมน์แบบสั้น	23
	2.6.2 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตโดยใช้คอลัมน์แบบยาว	23
2.7	การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตโดยการปั่นเหวี่ยง	24
	2.7.1 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตในน้ำหมักชั่วโมงที่ 72 โดยการปั่นเหวี่ยงที่ 4 °C เป็นเวลา 5 นาที	24
	2.7.1.1 การศึกษาการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตโดยการปั่นเหวี่ยง ซึ่งปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส 25, 30 และ 35 บริกส์	24
	2.7.1.2 การศึกษาการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตโดยการปั่นเหวี่ยง ซึ่งปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคส 25, 30 และ 35 บริกส์	24
	2.7.2 การศึกษาการแยกเซลล์ยีสต์จากตะกอนแคลเซียมซิเทรตในน้ำหมักโดยการปั่นเหวี่ยงที่ 28°C เป็นเวลา 5 นาที	24
	2.7.2.1 การศึกษาการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตในน้ำหมักชั่วโมงที่ 72 และปรับความหนาแน่นด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคส 25, 30 และ 35 บริกส์	24
	2.7.2.2 การศึกษาการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตในน้ำหมักชั่วโมงที่ 96 และปรับความหนาแน่นด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคส 25, 30 และ 35 บริกส์	25

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	2.7.3 การศึกษาการแยกเซลล์ยีสต์จากตะกอนแคลเซียมซิเทรตในน้ำหมัก โดยเติมสารละลายน้ำตาลกลูโคสปรับความหนาแน่นของส่วนน้ำใส ของน้ำหมัก (supernatant) ให้เท่ากับ 1.08 กรัมต่อลิตร.....	25
3	ผลการทดลอง	
	3.1 ลักษณะการเจริญของเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารเหลวสำหรับการเจริญ.....	26
	3.2 การผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	27
	3.3 การผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยเติมแบบต่อเนื่อง.....	30
	3.4 การผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	33
	3.5 ลักษณะทางกายภาพของเซลล์ยีสต์ แคลเซียมซิเทรต แคลเซียมคาร์บอเนตและน้ำหมัก.....	36
	3.5.1 ความหนาแน่นของยีสต์ แคลเซียมซิเทรต แคลเซียมคาร์บอเนต และ supernatant ของน้ำหมัก.....	36
	3.5.2 ขนาดของยีสต์ แคลเซียมซิเทรต และแคลเซียมคาร์บอเนต.....	36
	3.5.3 ความหนืดของน้ำหมัก.....	36
	3.6 การคำนวณความเร็วในการตกตะกอนของยีสต์ แคลเซียมซิเทรต และแคลเซียมคาร์บอเนต.....	37
	3.7 การแยกเซลล์โดยใช้คอลัมน์.....	39
	3.7.1 การใช้คอลัมน์แบบสั้น.....	39
	3.7.2 การใช้คอลัมน์แบบยาว.....	41
	3.8 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตโดยการปั่นเหวี่ยง.....	43
	3.8.1 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตโดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส 25, 30 และ 35 บริกส์ ที่ 4°C	43

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	3.8.2 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตโดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคส 25, 30 และ 35 บริกส์ ด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ 4°C	43
	3.8.3 การผลิตกรดมะนาวด้วยการเวียนเซลล์ยีสต์กลับมาใช้ใหม่โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายกลูโคส 35 บริกส์ และปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที การปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4°C ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร	48
	3.8.4 การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตโดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคส 35 บริกส์ ที่ 28°C	54
	3.8.5 การผลิตกรดมะนาวด้วยการเวียนเซลล์ยีสต์จากน้ำหมักกลับมาใช้ใหม่โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายกลูโคส 35 บริกส์และปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิการปั่นเหวี่ยง 28°C ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร	54
	3.8.5.1 การผลิตกรดมะนาวด้วยการเวียนเซลล์ยีสต์กลับมาจากน้ำหมักชั่วโมงที่ 96	54
	3.8.5.2 การผลิตกรดมะนาวด้วยการเวียนเซลล์ยีสต์กลับมาจากน้ำหมักชั่วโมงที่ 72	66
	3.8.6 การผลิตกรดมะนาวด้วยการเวียนเซลล์ยีสต์จากน้ำหมักชั่วโมงที่ 48 กลับมาใช้ใหม่โดยการปรับความหนาแน่นของ supernatant ของน้ำหมักเท่ากับ 1.08 กรัมต่อมิลลิลิตรและปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิการปั่นเหวี่ยง 28°C ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร	83
4	สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	100
รายการอ้างอิง		105
ภาคผนวก		109
	ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	110
	ภาคผนวก ข การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	114
	ภาคผนวก ค กราฟมาตรฐาน	116

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ **หน้า**

ภาคผนวก ง การคำนวณ..... 119
ภาคผนวก จ แผนภาพการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากแคลเซียมซิเทรตโดยใช้คอลัมน์. 120
ภาคผนวก ฉ รูปเซลล์ยีสต์ และแคลเซียมซิเทรต..... 122
ภาคผนวก ช สูตรการคำนวณค่าทางจลนพลศาสตร์..... 123
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 125

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	คุณลักษณะทางเคมีตามมาตรฐานกรดมะนาว.....	10
1.2	ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าและส่งออกกรดมะนาวของประเทศไทยระหว่างปี 2531 – 2545.....	16
3.1	น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ ในระดับขวดเขย่าที่ช่วงเวลาเพาะเลี้ยงต่างๆ.....	26
3.2	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 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	28
3.3	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 เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยระบบอัตโนมัติ.....	31
3.4	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 เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	34
3.5	ลักษณะทางกายภาพของยีสต์ แคลเซียมซิเทรต แคลเซียมคาร์บอเนต supernatant และน้ำหมัก.....	37
3.6	ผลการคำนวณความเร็วในการตกตะกอนของยีสต์ แคลเซียมซิเทรต แคลเซียมคาร์บอเนตภายใต้แรงโน้มถ่วงของโลก.....	37
3.7	ผลการคำนวณความเร็วในการตกตะกอนของยีสต์ แคลเซียมซิเทรต แคลเซียมคาร์บอเนตของ supernatant ที่ความหนาแน่นต่างๆ.....	38
3.8	ผลการแยกเซลล์ยีสต์จากน้ำหมัก 400 กรัม โดยใช้คอลัมน์แบบสั้น.....	39
3.9	ผลการแยกเซลล์ยีสต์จากน้ำหมัก 500 กรัมโดยใช้คอลัมน์แบบยาว.....	41

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3.10	ผลการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากแคลเซียมซิเทรตในน้ำหมัก โดยปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส 25, 30 และ 35 บริกส์ ด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ ที่ 4°C เป็นเวลา 5 นาที.....	44
3.11	ผลการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากแคลเซียมซิเทรตในน้ำหมัก โดยปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคส 25, 30 และ 35 บริกส์ ด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ ที่ 4°C เป็นเวลา 5 นาที.....	46
3.12	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 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	49
3.13	ผลการแยกเซลล์ยีสต์ออกจากแคลเซียมซิเทรตในน้ำหมัก โดยปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคส 35 บริกส์ ด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ ที่ 28°C เป็นเวลา 5 นาที.....	55
3.14	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 1 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	57
3.15	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 2 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	58
3.16	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 3 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	59

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3.17	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 1 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	67
3.18	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 2 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	68
3.19	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 3 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	69
3.20	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 4 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	70
3.21	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/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.....	71

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3.22	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 6 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	72
3.23	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 7 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	73
3.24	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 1 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	84
3.25	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 2 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	85
3.26	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 3 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	86

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3.27	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 4 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	87
3.28	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/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.....	88
3.29	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 6 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	89
3.30	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ ค่า productivity ค่า Yp/s Yx/s Yp/x และ Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 7 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	90
4.1	การเปรียบเทียบค่า Yp/s ที่ได้กับงานวิจัยของ Parente และคณะ (1995).....	104

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1.1	วิถีไกลโคไลซิสของยีสต์	4
1.2	วิถีการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ผ่านทางวัฏจักรเครปส์	5
1.3	สูตรโครงสร้างทางเคมีของกรดมะนาว	8
1.4	ผลของการตกตะกอนแบบกะ (a) สารแขวนลอยเริ่มต้นที่สม่ำเสมอ (b) บริเวณที่มีการตกตะกอนหลังจากเวลาผ่านไปช่วงหนึ่ง (c) การอัดแน่นของบริเวณ D หลังจากบริเวณ B และ C หายไป (d) ความสูงของ z เทียบกับเวลาของการตกตะกอน	13
1.5	การแยกของเหลวในเครื่องปั่นเหวี่ยง	15
3.1	รูปแบบการเจริญของเชื้อ *Candida oleophila* C73 ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ	27
3.2	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ในระยะเวลาต่างๆ เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	29
3.3	ค่า Yp/s Yx/s Yp/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	29
3.4	ค่า Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	29
3.5	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรดเบสโดยแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยระบบอัตโนมัติ	32
3.6	ค่า Yp/s Yx/s Yp/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรดเบสโดยแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยระบบอัตโนมัติ	32
3.7	ค่า Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรดเบสโดยแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยระบบอัตโนมัติ	32

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.8	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	35
3.9	ค่า Yp/s Yx/s Yp/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	35
3.10	ค่า Y′p/s Y′x/s Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรดเบสด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตโดยการแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต.....	35
3.11	ชุดคอลัมน์แยกแบบสั้น.....	40
3.12	ชุดคอลัมน์แบบยาว.....	42
3.13	การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส 25 บริกซ์ ที่ 4 °C.....	45
3.14	การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส 30 บริกซ์ ที่ 4 °C.....	45
3.15	การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส 35 บริกซ์ ที่ 4 °C.....	45
3.16	การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส 25 บริกซ์ ที่ 4 °C.....	47
3.17	การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส 30 บริกซ์ ที่ 4 °C.....	47

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.18	การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส 35 บริกส์ ที่ 4 °C	47
3.19	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 1 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	50
3.20	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 2 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	50
3.21	ค่า Yp/s ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	50
3.22	ค่า Yx/s ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	51
3.23	ค่า Yp/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	51
3.24	ค่า Y′p/s ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	51
3.25	ค่า Y′x/s ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	52
3.26	ค่า Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	52
3.27	ค่า productivity ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	52
3.28	การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักชั่วโมงที่ 72 ด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคส 35 บริกส์ ที่ 28 °C	56

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.29	การแยกเซลล์ยีสต์ออกจากตะกอนแคลเซียมซิเทรตด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วต่างๆ โดยการปรับความหนาแน่นของน้ำหมักชั่วโมงที่ 96 ด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคส 35 บริกส์ ที่ 28 °C	56
3.30	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 1 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	60
3.31	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 2 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	60
3.32	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 3 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	60
3.33	ค่า Yp/s ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	61
3.34	ค่า Yx/s ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	61
3.35	ค่า Yp/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	61
3.36	ค่า Y′p/s ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	62
3.37	ค่า Y′x/s ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	62
3.38	ค่า Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	62
3.39	ค่า productivity ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	63

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.40	ค่า productivity ที่รอบการหมักต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	63
3.41	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 1 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	74
3.42	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 2 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	74
3.43	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 3 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	74
3.44	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 4 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	75
3.45	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 5 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	75
3.46	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 6 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	75

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.47	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคส ที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 7 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	76
3.48	ค่า Yp/s ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	76
3.49	ค่า Yx/s ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	76
3.50	ค่า Yp/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	77
3.51	ค่า Y′p/s ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	77
3.52	ค่า Y′x/s ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	77
3.53	ค่า Y′p/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	78
3.54	ค่า productivity ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	78
3.55	ค่า productivity ที่รอบการหมักต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	78
3.56	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคส ที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 1 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	91
3.57	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคส ที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 2 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	91

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.58	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคส ที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 3 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	91
3.59	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคส ที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 4 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	92
3.60	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคส ที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 5 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	92
3.61	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคส ที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 6 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	92
3.62	ปริมาณกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำตาลกลูโคส ที่เหลือในน้ำหมัก ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมักครั้งที่ 7 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	93
3.63	ค่า Yp/s ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	93
3.64	ค่า Yx/s ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	93
3.65	ค่า Yp/x ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	94
3.66	ค่า Y′p/s ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร	94

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.67	ค่า $Y'_{x/s}$ ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	94
3.68	ค่า $Y'_{p/x}$ ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	95
3.69	ค่า productivity ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	95
3.70	ค่า productivity ที่รอบการหมักต่างๆ ของการหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	95

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย