รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

เชาวรีย์ เรืองวิไลทรัพย์. 2539. ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวโดย *Candida oleophila* NN-39. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ประเสริฐ หาญเมืองใจ. 2537. การผลิตกรดมะนาวจากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วด้วยยีสต์ *Candida oleophila* C-73. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พระราชบัญญัติมาตรฐานอุตสาหกรรม (กรดซิตริก) พ.ศ. 2535. ราชกิจจานุเบกษา 109 (15 ธันวาคม 2535): 2.

เรวดี เลิศไตรรักษ์. 2535. กรดมะนาวจากนอร์มัล พาราฟินส์โดยวิธีการหมักในอาหารเหลวด้วยยีสต์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมศักดิ์ นาคซื่อตรง. 2537. การปรับปรุงสายพันธุ์ *Candida oleophila* C-73 เพื่อผลิตกรดมะนาว วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Aiba, S., Humphrey, A.E. and Mills, N.F. 1973. Biochemical Engineering. 2 ed. New York : Acadamic Press.

Abou - Zeid, A.A., and Ashy, M.A. 1984. Production of citric acid: A review. Agricultural Wastes. 9(1): 51-76.

Aiba , S. and Matsuoka. N. 1979. Identification of metabolic model : citrate production from glucose by *Candida lipolytica*. Biotechnogy and Bioengineering 21: 1373-1386.

Akiyama, S., Suzuki,T., Sumino, Y., Nakao, Y. and Fukuda, H. 1973. Relationship between aconitate hydratase activity and citric acid production in fluoroacetate-sensitive mutant strain of *Candida lipolytica*. Agricultural and Biological Chemistry 37(4):885-888.

Asenjo, J.A., Szuhay, J. and Chiu, D. 1982. Growth and citric acid production by *Candida guilliermondii* using a cellulose substrate. Biotechnology and

Bioengineering Symp. 12:111-120.

Bouchard, E,F, and Merritt, E.F. 1979. Kirk-Other Encyclopedia of Chemical Technology. Vol.6,pp. 150-179. New York: John Wiley & Sons.

Cartledge. T.G. 1987. Substrates utilization, non-carbohydrate substrate. In Berry, D.R., Russell. I, and Stewart, G.G.(eds.), Yeast Biotechnology. pp.331-342. London:Alleo and Unwin.

Cassio, F. and Leao, C. 1991. Low-and high-affinity transport systems for citric acid in the yeast *Candida utilis*. Applied and Environmental Microbiology 57 (12) : 3623-3628.

Charles, M. 1985. Fermenter design and scale -up. In C.L.Cooney, and A.E.Humphrey (eds.),Comprehensive Biotechnology, vol.2 pp.57-75. New York: Programon Press.

Crueger, W., and Crueger, A. 1984. Biotechnology: A text of Industrial Microbiology, In D. Brock (ed.).chap.5,pp.54-97. Madison : Science Tech, Inc.

Dewitt,J.P., Jackon, J.V., and Paulus,T.J. 1989. Scale-up. In J.O.Neway (ed.), Fermentation Process Development of Industrial Organism,pp. 27-71. New York: Dekker

Elander, R.P. 1989. Bioprocess technology in industrial fungi. In J.O.Neway(ed.). Fermentation Process Development of Industrial Organism,pp. 162-219. New York: Dekker

Enzminger , J.D. and Asenjo, J.A. 1986. Use of cell recycle in aerobic fermentative production of citric acid by yeast. Biotechnology Letters. 8 (1) : 7-12

Ermakova, I.T., Shishlanova, N.V., Melnikova, P.F. and Finogenova, T.V. 1986. Properties of *Candida lipolytica* mutants with the modified glyoxylate cycle and their ability to produce citric and isocitric acid. Applied Microbiology and Biotechnology 23:372 - 377.

Fired, J.H. 1972. Method of producing citric acid by fermentation. US patent 3,632,476.

Furukawa, T., Matsuyoshi, T., Minoda, Y. and Yamada, K. 1977. Fermentative production of citric acid from n- paraffins by yeast. Journal of Fermentation

Technology 55 (4): 356-363.

Gledhill, W.E., Hill, I.D. and Hodson, P.H. 1973. Citrate production from hydrocarbons by use of nonsterile, semicontinuous cell recycle system. Biotechnology and Bioengineering 15: 963-972.

Goldberg, I., Peleg, Y.and Roken,J.S. 1991. Citric, Fumaric and Malic Acid. Biotechnology and Food Ingredients. pp.349-358. New York: Van Nostand Reinhold.

Grewal, H.S., and Kalra. 1995. Fungal production of citric acid. Biotechnology Advance. 13(2): 209-234.

Iizuka, H., Shimizu, J., Ishii, K., and Nakajima, Y.1971. Process for the production of citric acid fermentation. US patent 3,622,455.

Ikeno, Y., Masuda, M., Tanno, K.,Oomari, I. And Akahashi, N.1975. Citric acid production from various raw materials by yeast. Journal of Fermentation Technology 53 (10); 752-756.

Kautola, H.,Rymowicz, W., Linko, Y. and Linko,P. 1991. Production of citric acid with immobilized *Yarrowia lipolytica*. Applied Microbiology and Biotechnology 35:447-449.

Klasson, T.K., Clausen, E.C. and Gaddy, J.L. 1989. Continuous fermentation for the production of citric acid from glucose. Applied Biochemistry and Biotechnology 20(21):491-509.

Kristiansen, B.,and Chamberlain,H.E. 1983. Fermenter design. In J.F. Smith and D.R. Berry (eds.). The Filamentous Fungi, pp. 1-7.

Kubicek, C.P. and Rohr, M. 1986. Citric acid fermentation. Critical Reviews In Biotechnology. 3; 331-373.

Maddox, I.S., Spencer, K., Greenwood,J.M.,Dawson, M.W. and Brooks, J.D. 1985. Production of citric acid form sugars present in wood hemicellulose using *Aspergillus niger* and *Saccharomycopsis lipolytica*. Biotechnology Letters 7: 815-818.

Marison, W. 1988. Citric acid production. In Scragg, A.H. (ed.). Biotechnology for

Engineer : Biological Systems in Technological Process. pp.322-336. New York : John Wiley & Sons.

Mattey, M. 1992. The production of organic acids. Critical Reviews In Biotechnology 12(1/2) :87-132.

Mckay, I.A., Maddox, I.S. and Brooks, J.D. 1994. High specific rate of glucose utilisation under condition of restricted growth are required for citric acid accumulation by *Yarrowia lipolytica* IMK 2. Applied Microbiology and Biotechnology 41: 73-78.

Milsom, P.E. and Meers, J.R. 1985. Citric acid. In Moo-Young, M.(ed.). Comprehensive Biotechnology. Vol. 3 pp. 665-681. London : Pergamon Press.

Miura, Y.1976. Transfer of oxygen and scale-up in submerged aerobic fermentation. Adv.In Biochem.Eng. 4:3-40.

Moresi, M. 1994. Effect of glucose concentration on citric acid production by *Yarrowia lipolytica*. Journal of Chemical Technology and Biotechnology 60: 387-395.

Nakanishi, T., Yamamoto, M., Kimura, K. and Tanaka , k. 1972. Fermentative production of citric acid from n- paraffin by yeast. Journal of Fermentation Technology 50 (12) : pp. 855-867

Pace, G.W. 1985. Scale-up of fermentation processes. Proceeding of Biotech 85 Asia. pp. 249-263.

Phaff, H.J., Miller, M.W. and Mrak, E.M. 1978. The life of yeasts. 2nd ed. USA: the President and Fellows of Harvard College.

Prescott, S.C. and Dunn, C.G. 1959. The citric acid fermentation. Industrial Microbiology (3 rd. ed.). pp. 533-577. New York :Mcgraw-Hill.

Rane,K.D., and Sims, K.A. 1993. Production of citric acid by *Candida lipolytica* Y1095: Effect of glucose concentration on yield and productivity. Enzyme Microb. Technol. 15:646-651.

———. 1994. Oxygen uptake and citric acid production by *Candida lipolytica* Y1095. Biotechnology and Bioengineering 43:131-137.

———. 1995. Citric acid production by *Candida lipolytica* Y1095 in cell recycle and

Rymowicz, W., Kautola, H., Wojitatowicz, M. Linko, Y. and Linko, P. 1993. Study on citric acid production with immobilized *Yarrowia lipolytica* in repeated batch and continuous air-lift bioreactors. Applied Microbiology and Biotechnology 39: 1-4.

Scragg A.H. 1991. Bioreactor design. Bioreactor in Biotechnology. pp. 112-125. Ellis Horwood Limited.

Shah, D.N., Chattoo, B.B., Kothari, R.M. and Hegde,M.V. 1993. Starch hydrolysate, an optimal and economical source of carbon for the secretion of citric acid by *Yarrowia lipolytica* (DS-1). Starch/Starke 45:104-109.

Sikyta, B. 1983. Method in industrial Microbiology. Chichester : Ellis Horwood Limited.

Singleton, P. and Sainsbury ,D. 1988. Dictionary of Microbiology and Molecular Biology. 2 nd ed. Singapore: John Wiley & Sons.

Sokolov, D.M., Solodovnikova, N.Y., Sharyshev, A.A., and Finogenova, T.V. 1995 The role of NAD:isocitrate dehydrogenase in the biosynthesis of citric acid by yeast. Applied Biochemistry and Microbiology. 31(5): 450-454.

Stanbury, P.F. and Whitaker, A. 1984. Principles of Fermentation Technology. Oxford:Pergamon Press.

Tabuchi, T. and Igoshi, K. 1978. Regulation of enzyme synthesis of the glyocylate , the citric acid, and the methylcitric acid cycles in *Candida lipolytica*. Agricultural and Biological Chemistry 42 (12) : 2381-2386.

Tani,Y., Sakai, Y. and Chou, S.G. 1990. Production of citric acid from methanol by a fluoroacetate - resistant mutant of *Candida sp.* Y-1. Applied Microbiology and Biotechnology 34:5-9.

Wang, D.I.C., Cooney, C.L., Demain, A.L., Dunnill,P.,Humphrey ,A.E.,Lilly, M.D. 1979. Fermentation and Enzyme Technology. New York: John Wiley & Sons.

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1 อาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ (Yeast Malt Extract Medium)

อาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ จะเปลี่ยนแปลงตามปัจจัยที่ต้องการศึกษา โดยใส่อาหารในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ตั้งไว้ 2 วัน จึงนำไปใช้

1.1 อาหารเหลวพื้นฐานสำหรับเตรียมหัวเชื้อ

ในอาหารเหลว 1 ลิตร ประกอบด้วย

กลูโคส	10.0	กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (DIFCO)	3.0	กรัม
สารสกัดจากมอลต์ (DIFCO)	3.0	กรัม
เปปโตน	5.0	กรัม

1.2 อาหารเหลวสำหรับเตรียมหัวเชื้อ ตามงานวิจัยของ เชาวรีย์ เรืองวิไลทรัพย์ (2539)

ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

กลูโคส	10.0	กรัม
สารสกัดยีสต์ (IBGE)	3.0	กรัม
สารสกัดจากมอลต์ (เกรดทางการค้าชนิดเหลว)ของ FIS		
คิดเป็นน้ำหนักแห้ง	3.0	กรัม
เปปโตน	5.0	กรัม

1.3 อาหารแข็งลาดเอียง (YM Slant)

เตรียมได้โดยเติมวุ้นผง 20.0 กรัม ลงในสูตรอาหารเหลวข้อ 1.1 หรือ 1.2 ทำให้วุ้นละลาย ปิเปตใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 6 .0 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลี นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

1.4 อาหารเหลวสำหรับเตรียมหัวเชื้อ ที่ปรับปรุงมาจาก สูตรอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาว (โดยให้มีปริมาณไนโตรเจนเท่ากันกับสูตรอาหารเตรียมหัวเชื้อจากข้อ 1.1) ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์	10.0	กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์	2.0	กรัม
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.2	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต	0.5	กรัม
แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต	0.2	กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (IBGE)	5.60	กรัม

โดยใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 50.0 มิลลิลิตร ต่อขวด นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 7.2 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ 2 วัน จึงนำไปใช้

2 อาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาว

อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรดมะนาวที่จะกล่าวต่อไปนี้จะเปลี่ยนแปลงตามปัจจัยที่ต้องการศึกษาโดยเลี้ยงเชื้อในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่อาหารปริมาตร 25.0 มิลลิลิตร ต่อขวด นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 7.2 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที ตั้งไว้ 2 วัน จึงนำไปใช้

2.1 อาหารพื้นฐานสำหรับการผลิตกรดมะนาว

ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์และกำจัดกากออกแล้ว มีน้ำตาลกลูโคส	220.0	กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์	2.0	กรัม
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.2	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต	0.5	กรัม
แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต	0.2	กรัม

สารสกัดจากยีสต์ (IBGE)	1.0	กรัม
แคลเซียมคาร์บอเนต (OMEGA)	120.0	กรัม

โดยเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่อาหารปริมาตร 25.0 มิลลิลิตรต่อขวด นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 7.2 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที ตั้งไว้ 2 วัน จึงนำไปใช้

2.2 อาหารสำหรับศึกษาผลของ แอมโมเนียมคลอไรด์ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต แมกนีเซียมซัลเฟต และ แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต ที่เป็นเกรดทางการค้า เทียบกับเกรดทางห้องปฏิบัติการ

ในอาหาร 1 ลิตรมีส่วนประกอบเช่นเดียวกับข้อ 2.1 ยกเว้นมีการใช้ แอมโมเนียมคลอไรด์ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต แมกนีเซียมซัลเฟต และ แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต เป็นเกรดทางการค้า เทียบกับเกรดทางห้องปฏิบัติการ

2.3 อาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบเช่นเดียวกับในข้อ 2.1 แยกสารอาหารออกเป็น 4 ส่วน คือ

1. แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ และกำจัดกากออกแล้ว
2. แอมโมเนียมคลอไรด์ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต และแมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต
3. สารสกัดจากยีสต์
4. แคลเซียมคาร์บอเนต

ส่วนที่ 1-3 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 7.2 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 30 นาที ส่วนแคลเซียมคาร์บอเนตนำไปนึ่งฆ่าเชื้อพร้อมถังหมักและสารกำจัดฟองที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที

2.4 อาหารสำหรับศึกษาผลการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยแบ่งเติมแคลเซียมคาร์บอเนต

เตรียมอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาว 3.5 ลิตร โดยมีสูตรอาหารและวิธีเตรียมเช่นเดียวกับในข้อ 2.3 ยกเว้นแคลเซียมคาร์บอเนต ซึ่งจะแบ่งใส่ในถังหมักตั้งแต่เริ่มต้นรวม 45 กรัม (คิดเป็นปริมาณ 12.86 กรัมต่อลิตร) ส่วนแคลเซียมคาร์บอเนตที่เหลือ 375 กรัม จะแบ่งเติมเป็น 6 ครั้ง ๆ ละ 60 กรัม และครั้งสุดท้าย 75 กรัม โดยเตรียมในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ผสมน้ำปราศจากไอออนขวดละ 40 มิลลิลิตร และเตรียมน้ำสำหรับกลั้วอีกขวดละ 32 มิลลิลิตร ดังนั้น ปริมาตรน้ำทั้งหมดที่ใช้ในการเตรียมแคลเซียมคาร์บอเนตสำหรับเติมคือ 432 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2.5 อาหารสำหรับศึกษาผลการควบคุมระดับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในถังหมัก

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบและวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับในข้อ 2.3 ยกเว้นจะใช้ปริมาตรอาหารเริ่มต้น 3.0 ลิตร ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร และเตรียมสารละลายเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสสำหรับใช้เติม โดยใช้แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ และกำจัดกากออกแล้วซึ่งมีน้ำตาลกลูโคสประมาณ 325 กรัมต่อลิตร ใช้ปริมาตร 1450 มิลลิลิตร ทำให้เข้มข้นจนมีปริมาตร 500 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องทำให้ระเหยเป็นไอ (evaporator) ซึ่งสารละลายที่ได้จะมีน้ำตาลกลูโคสประมาณ 942 กรัมต่อลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 7.2 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที ส่วนแคลเซียมคาร์บอเนตจะเตรียมเช่นเดียวกับในข้อ 2.5

2.6 อาหารสำหรับศึกษาผลการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยแคลเซียมออกไซด์

ในอาหาร 1 ลิตรมีส่วนประกอบและ วิธีการเตรียมเช่นเดียวกับในข้อ 2.3 ยกเว้นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างจะใช้แคลเซียมออกไซด์ซึ่งเตรียมในรูปสารแขวนลอยในน้ำปริมาณร้อยละ 30 น้ำหนักต่อปริมาตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2.7อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดมะนาวในระดับขวดเขย่า ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบดังนี้

แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ มีน้ำตาลกลูโคส		220.0	กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์	(เกรดทางการค้า)	2.0	กรัม
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	(เกรดทางการค้า)	0.2	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต	(เกรดทางการค้า)	0.5	กรัม
แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต	(เกรดทางการค้า)	0.2	กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (IBGE)		1.0	กรัม
แคลเซียมคาร์บอเนต (OMEGA)		120.0	กรัม

2.8 อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดมะนาวในระดับถังหมักขนาดใหญ่

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบเช่นเดียวกับในข้อ 2.7 และวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับในข้อ 2.3 ยกเว้นค่าความเป็นกรด - ด่าง จะใช้แคลเซียมออกไซด์แทนการใช้แคลเซียมคาร์บอเนตซึ่งเตรียมในรูปสารแขวนลอย ในน้ำปริมาณ ร้อยละ 30 น้ำหนักต่อปริมาตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในงานทดลอง

1. การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ค่าความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.0

ในสารละลายบัฟเฟอร์ 1 ลิตรประกอบด้วย
โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 195 มิลลิลิตร
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 305 มิลลิลิตร
ผสมสารละลายทั้งสองเข้าด้วยกัน เติมน้ำที่กำจัดไอออนแล้ว 500 มิลลิลิตร เก็บในตู้เย็น

2. การเตรียมสารละลาย พีจีโอเอ็นไซม์

ละลายพีจีโอ เอนไซม์ 1 แคปซูล ซึ่งประกอบด้วย กลูโคสออกซิเดส 500 หน่วย และเปอร์ออกซิเดส 100 หน่วย ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร เติมสารละลายออโธ - ไดอะนิซิดีน เข้มข้นร้อยละ 1 ในเอธานอล ลงไป 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100.0 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เก็บในขวดสีชาและแช่ตู้เย็น

3. การเตรียมสารละลายตัวพา (mobile phase) สำหรับการวิเคราะห์กรดมะนาวโดย HPLC

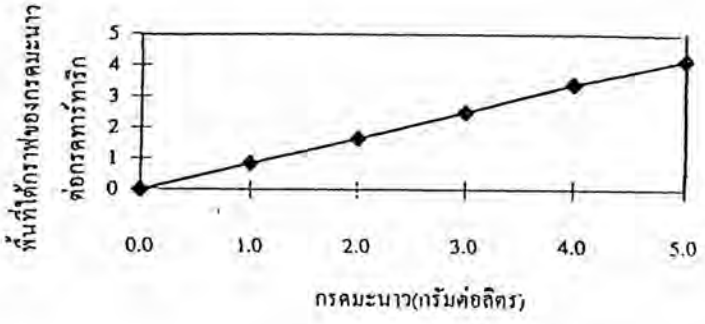
ละลายไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 5 กรัมต่อลิตร ในน้ำที่กำจัดไอออนแล้วอย่างดี ปรับค่าความเป็นกรด - ด่างเท่ากับ 2.00 ด้วยกรดฟอสฟอริก แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเซลลูโลสอะซิเตต จากนั้น กำจัดก๊าซโดยใช้เครื่องกำเนิดคลื่นอุลตราโซนิค (sonicator) เป็นเวลา 22 นาที

ภาคผนวก ค

กราฟมาตรฐาน

1. กราฟมาตรฐานของกรดมะนาว โดยวิธี HPLC

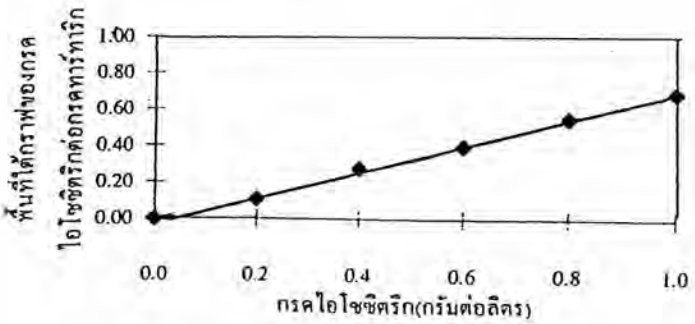
จากสารละลายกรดมะนาวในช่วงความเข้มข้น 0.0 - 5.0 กรัมต่อลิตร และ สารละลายไอโซซิตริกในช่วง 0.0 - 1.0 กรัมต่อลิตร โดยใช้กรดทาร์ทาริกเป็นสารละลายมาตรฐานเปรียบเทียบภายใน เมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC ทำการคำนวณอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของกรดมะนาวหรือกรดไอโซซิตริก กับอัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟของกรดต่อสารละลายมาตรฐานเปรียบเทียบภายในดังแสดงในรูปที่ ค-1 และค-2



รูปที่ ค- 1 กราฟมาตรฐานของกรดมะนาวในช่วงความเข้มข้น 0.0 - 5.0 กรัมต่อลิตร

กรดมะนาว (กรัมต่อลิตร) = พื้นที่ใต้กราฟของกรดมะนาวต่อกรดทาร์ทาริก x 1 / ความเข้มข้น x ความเจือจาง

2 กราฟมาตรฐานของกรดไอโซซิตริก โดยใช้วิธี HPLC

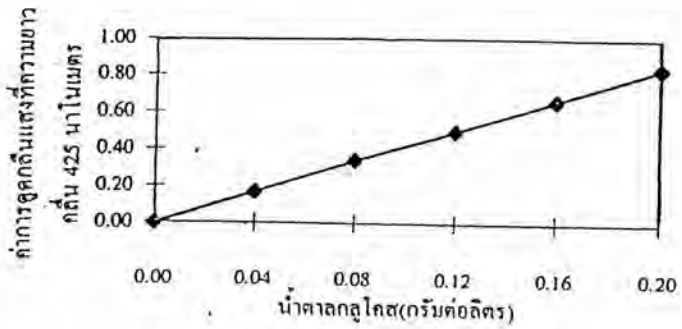


รูปที่ ค-2 กราฟมาตรฐานของกรดไอโซซิตริกในช่วงความเข้มข้น 0.0 - 1.0 กรัมต่อลิตร

กรดไอโซซิตริก (กรัมต่อลิตร) = พื้นที่ใต้กราฟของกรดไอโซซิตริกต่อกรดทาร์ทาริก x 1 / ความเข้มข้น x ความเจือจาง

3. กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส โดยใช้วิธี พีจี.โอเอนไซม์

จากสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสในช่วงความเข้มข้น 0.0 - 0.2 กรัมต่อลิตร นำมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคสโดยวิธี พีจีโอเอนไซม์ ตามวิธีการทดลองที่ 2.4.4 เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ค่าความดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร กับปริมาณน้ำตาลกลูโคสดังแสดงในรูปที่ ค-3



รูปที่ ค-3 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสในช่วงความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 0.0 - 0.2 กรัมต่อลิตร

น้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร) = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 425 นาโนเมตร x 1/ ความเข้มข้น x ความเจือจาง

ภาคผนวก ง

การย่อยแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์

วัตถุดิบและเอนไซม์ที่ใช้

1. แป้งมันสำปะหลัง ตรากุหลาบ ของบริษัทไทยวา จำกัด
2. เอนไซม์ BAN 240 L ของบริษัท Novo Nordisk ประเทศเดนมาร์ก
3. เอนไซม์ Dextroztyme 225 / 75 L ของบริษัท Novo Nordisk ประเทศเดนมาร์ก

ขั้นตอนการย่อยแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์

1. ชั่งแป้งมันสำปะหลัง 14 กิโลกรัม ผสมกับน้ำขจัดไอออนแล้ว 30 ลิตร ใส่ลงในถังปฏิกรณ์ (reactor) กวนให้เข้ากัน
2. ปรับค่าความเป็นกรด - ด่างให้เป็น 6.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์
3. เติมเอนไซม์ BAN 240 L ปริมาตร 8 .5 มิลลิลิตร
4. เพิ่มอุณหภูมิเป็น 70 องศาเซลเซียส ประมาณ 5 นาที เพื่อให้เอนไซม์ BAN 240L ทำงาน จากนั้นหยุดการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว โดยเพิ่มอุณหภูมิเป็น 90 องศาเซลเซียส แล้วลดอุณหภูมิทันที และควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส
5. ปรับค่าความเป็นกรด - ด่างเป็น 4.3 - 4.5 ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้นร้อยละ 10
6. เติมเอนไซม์ Dextrozyme 225 / 75 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
7. ควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 ชั่วโมง
8. เพิ่มอุณหภูมิขึ้นเป็น 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อทำลายเอนไซม์ Dextroztyme 225 / 75L
9. กรองตะกอนทิ้ง แยกส่วนใสเก็บแช่ไว้ที่อุณหภูมิที่ - 20 องศาเซลเซียส

สมบัติของแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว

ปริมาณของแข็งทั้งหมด	351.09	กรัมต่อลิตร
ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์	339.21	กรัมต่อลิตร
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	325.92	กรัมต่อลิตร
สมมูลเด็กซ์โตรส	96.62	
น้ำตาลกลูโคสร้อยละ	92.83	

ภาคผนวก จ

สูตรการคำนวณค่าทางจลนพลศาสตร์

1. อัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate ; μ)

$$dx/dt = \mu x$$

$$\ln x_t = \ln x_o + \mu t$$

เมื่อ x = ความเข้มข้นของเซลล์ (g/l)

t = เวลา (h)

μ = อัตราการเจริญจำเพาะ (h^{-1})

2. Biomass yield ($Y_{x/s}$)

$$dx/dt = - Y_{x/s}\, ds/dt$$

$$Y_{x/s} = (x - x_o)/(s_o - s)$$

เมื่อ $Y_{x/s}$ = ปริมาณเซลล์ต่อสารอาหารที่ใช้ (g cell/ g substrate)

s = ความเข้มข้นของสารอาหาร (g/l)

3. Product yield ($Y_{p/s}$)

$$dp/dt = -Y_{p/s}\, ds/dt$$

$$Y_{p/s} = (p - p_o)/(s_o - s)$$

เมื่อ $Y_{p/s}$ = ปริมาณผลผลิตต่อสารอาหารที่ใช้

(g product/g substrate)

P = ปริมาณผลผลิต (g/l)

4. Specific product yield ($Y_{p/x}$)

$$dp/dt = Y_{p/x}\, dx/dt$$

$$Y_{p/x} = (p - p_o)/ (x - x_o)$$

เมื่อ $Y_{p/x}$ = ปริมาณผลผลิตต่อปริมาณเซลล์ (g product/ g cell)

5 Productivity

P = ปริมาณผลผลิต/เวลาที่ใช้ในการหมัก

$$= (p - p_o)/(t - t_o)$$

เมื่อ Productivity มีหน่วยเป็น (g product/l/h)

ภาคผนวก ฉ

การคำนวณค่าความเร็วรอบของการกวนเมื่อใช้เกณฑ์ทางกายภาพในการกำหนดการขยายส่วนของถังหมัก

1.สัดส่วนของถังหมักมาตรฐาน

1.1 ถังหมักขนาด 5 ลิตร

- เส้นผ่านศูนย์กลางถังหมัก(D_T)	17	cm
- ความสูงของถังหมัก(H_T)	23.5	cm
- เส้นผ่านศูนย์กลางใบพัด(D_i)	8	cm
- ความกว้างของใบพัด	1.5	cm
- ความยาวของใบพัด	2	cm

1.2 ถังหมักขนาด 30 ลิตร

- เส้นผ่านศูนย์กลางถังหมัก(D_T)	28.4	cm
- ความสูงของถังหมัก(H_T)	40.9	cm
- เส้นผ่านศูนย์กลางใบพัด(D_i)	11.3	cm
- ความกว้างของใบพัด	2.2	cm
- ความยาวของใบพัด	2.8	cm

1.3 ถังหมักขนาด 300 ลิตร

- เส้นผ่านศูนย์กลางถังหมัก(D_T)	65.0	cm
- ความสูงของถังหมัก(H_T)	75.0	cm
- เส้นผ่านศูนย์กลางใบพัด(D_i)	21.6	cm
- ความกว้างของใบพัด	4.3	cm
- ความยาวของใบพัด	5.4	cm

2. การคำนวณความเร็วรอบของการกวน

2.1 อัตราส่วนระหว่างกำลังต่อปริมาตรในถังหมัก(P_g/V)ของถังหมัก 30 ลิตร และ 5 ลิตร มีค่าเท่ากัน

จากสมการที่ 10

$$P_g/V = K_1 n^3 D_i^2 \text{ ——— } 10$$

ความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นเมื่อภาวะการหมักเหมือนกันในการผลิตที่มีขนาดแตกต่างกัน จะได้ดังสมการที่ 11

$$n_2^3 D_{i2}^2 = n_1^3 D_{i1}^2 \text{ ——— } 11$$

เมื่อ n_2 = ความเร็วรอบของการกวนของถังหมัก 30 ลิตร

n_1 = ความเร็วรอบของการกวนของถังหมัก 5 ลิตร

D_{i2} = เส้นผ่านศูนย์กลางของใบพัด 30 ลิตร

D_{i1} = เส้นผ่านศูนย์กลางของใบพัด 5 ลิตร

$$n_2 = 600 \times (8/11.3)^{2/3}$$

$$= 476.60 \text{ รอบต่อนาที}$$

ดังนั้นความเร็วรอบของการกวนของถังหมัก 30 ลิตร จะใช้ประมาณ 500 รอบต่อนาที

2.2 อัตราส่วนระหว่างกำลังต่อปริมาตรในถังหมัก(P_g/V)ของถังหมัก 300 ลิตร และ 5 ลิตร มีค่าเท่ากัน

จากสมการที่ 10

$$P_g/V = K_1 n^3 D_i^2$$

ความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นเมื่อภาวะการหมักเหมือนกันในการผลิตที่มีขนาดแตกต่างกัน จะได้ดังสมการที่ 11

$$n_2^3 D_{i2}^2 = n_1^3 D_{i1}^2$$

$$n_2 = 600 \times (8 / 21.6)^{2/3}$$

$$= 299.36 \text{ รอบต่อนาที}$$

ดังนั้นความเร็วรอบของการกวนของถังหมัก 300 ลิตร จะใช้ประมาณ 300 รอบต่อนาที

2.3 ความเร็วรอบของปลายใบพัด (πnD_i) ของถังหมักขนาด 30 ลิตร และ 5 ลิตร มีค่าเท่ากัน

จากสมการที่ 3

$$\text{Tip speed} \propto nD_i \quad \text{——— 3}$$

ความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นเมื่อภาวะการหมักเหมือนกันในการผลิตที่มีขนาดแตกต่างกันจะได้

$$n_2 D_{i2} = n_1 D_{i1}$$

$$n_2 = (600 \times 8)/11.3$$

$$= 424.77 \text{ รอบต่อนาที}$$

ดังนั้นความเร็วรอบของการกวนของถังหมัก 30 ลิตร จะใช้ประมาณ 400 รอบต่อนาที

2.4 ค่าเรโนลนัมเบอร์ของถังหมักขนาด 30 ลิตร และ 5 ลิตร มีค่าเท่ากัน

จากสมการที่ 1

$$\text{Reynolds number} = \rho n D_i^2 / \mu \quad \text{—— 1}$$

ความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นเมื่อภาวะการหมักเหมือนกันในการผลิตที่มีขนาดแตกต่างกันจะได้ดังสมการที่ 2

$$\text{Reynolds number} \propto nD_i^2 \quad \text{——— 2}$$

$$n_2 D_{i2}^2 = n_1 D_{i1}^2$$

$$n_2 = (600 \times 8^2) / 11.3^2$$

$$= 300.72 \text{ รอบต่อนาที}$$

ดังนั้นความเร็วรอบของการกวนของถังหมัก 30 ลิตร จะใช้ประมาณ 300 รอบต่อนาที

2.5 สัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจน ($k_L a$) ในถังหมักขนาด 30 ลิตร และ 5 ลิตร มีค่าเท่ากัน

จากสมการที่ 16

$$k_L a = K (n)^{\alpha} (V_s)^{\beta} \quad \text{——— 16}$$

เมื่อ k_La = สัมประสิทธิ์การส่งผ่านออกซิเจนต่อปริมาตร (hr^{-1})

n = ความเร็วรอบของการกวน (rpm)

V_s = ความเร็วของอากาศ (cm/sec)

= อัตราการไหลของอากาศ (vvm) / พื้นที่หน้าตัดของถังหมัก (cm^2)

เมื่อมีอัตราการไหลของอากาศ เท่ากับ 1 vvm

สำหรับการหาค่า Parameter (α ,β) และความเร็วรอบของการกวนของถังหมักในถังหมักขนาด 30 ลิตร จะแสดงรายละเอียดในภาคผนวก ช

ภาคผนวก ช

การคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทออกซิเจน(k_La)และ Parameter constant (α , β) โดยวิธี Dynamic measurement (ดัดแปลงจาก Wang,1979)

อัตราการส่งผ่านออกซิเจน สามารถอธิบายได้โดยใช้สมการดังนี้

$$dc_L/dt = k_La\,(C^* - C_L) - rx \qquad \text{——— 17}$$

เมื่อ C_L = ความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในอาหารเหลว (mmol/l)

C^* = ความเข้มข้นอิ่มตัวของออกซิเจนที่ละลายได้ในอาหารเหลว(mmol/l)

dC_L/dt = การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของออกซิเจนในระยะเวลาหนึ่งหรืออัตราการส่งผ่านออกซิเจน (mmolO_2/l/h)

k_La = สัมประสิทธิ์การส่งผ่านออกซิเจนต่อปริมาตร (h^{-1})

x = ความเข้มข้นของเซลล์ (g cell)

r = อัตราการหายใจจำเพาะของจุลินทรีย์ (mmolO_2/g cell/h)

จากสมการที่ 17

$$dC_L = k_La\,(C^* - C_L)dt - rxdt$$

$$dC_L = (k_La\,C^* - rx)dt - k_LaC_Ldt$$

$$\int_{C_{Lo}}^{C_{Lf}} dC_L = (k_La\,C^* - rx)\int_{t_o}^{t_f} dt - k_La\int_{t_o}^{t_f} C_L dt$$

$$(C_{Lf} - C_{Lo}) = (k_La\,C^* - rx)\,t_f - k_La\int_{t_o}^{t_f} C_L dt$$

$$(C_{Lf} - C_{Lo})/t_f = (k_La\,C^* - rx) - k_La/t_f \int_{t_o}^{t_f} C_L dt \qquad \text{——— 18}$$

จากสมการที่ 13 ถ้าเขียนกราฟระหว่าง $(C_{Lf} - C_{lo})/t_f$ เป็นแกนตั้ง กับ $\int_{t_o}^{t_f} C_L dt$ เป็นแกนนอน

จะได้ความชัน = $- k_La/t_f$

กราฟตัดแกน $Y = (k_La\ C^* - rx)$

เนื่องจากค่า k_La มีความสัมพันธ์กับค่า Parameter 2 ตัว คือ อัตราส่วนระหว่างกำลังต่อปริมาตรในถังหมัก(P_g/V) และ ค่าความเร็วของอากาศ (V_s) ซึ่งมีความสัมพันธ์ดังสมการที่ 15

$$k_La = K\ (P_g/V)^{\alpha}(V_s)^{\beta} \quad \text{——— 15}$$

และเนื่องจากการทดลองไม่สามารถวัดค่า (P_g/V) ได้โดยตรง แต่เนื่องจากค่าอัตราส่วนระหว่างกำลังต่อปริมาตรในการหมักเปลี่ยนแปลงตามความเร็วรอบของการกวน ดังนั้นในการทดลองจะใช้ค่าความสัมพันธ์นี้ในการหาค่าคงที่ของ α และ β ดังสมการที่21

$$k_La = K\ (n)^{\alpha}(V_s)^{\beta} \quad \text{——— 16}$$

เมื่อ n = ความเร็วรอบของการกวน (rpm)

โดยเขียนกราฟระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การส่งผ่านออกซิเจนเป็นแกนตั้ง กับ อัตราการกวนเมื่อให้อัตราการให้อากาศคงที่เป็นแกนนอน และ เขียนกราฟระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การส่งผ่านออกซิเจนเป็นแกนตั้ง กับ อัตราการให้อากาศเมื่อให้อัตราการกวนคงที่เป็นแกนนอน จากนั้นหาค่าความลาดเอียงของกราฟของความสัมพันธ์ทั้ง 2 ซึ่งจะได้ค่า Parameter α และ β ของถังหมัก ตามลำดับ

ตารางที่ 1 การละลายของออกซิเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่อัตราการกวน 400 รอบต่อนาที เมื่ออัตราการให้อากาศมีค่า 1.0 และ 1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาทีในถังหมักขนาด 5 ลิตร (ซึ่งกำหนดให้ความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายน้ำได้อิ่มตัว 100 % ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มีค่าประมาณ 7.8 มิลลิกรัมต่อลิตร)

เวลา (วินาที)	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที
0 (ปิดอากาศ)	4.134	4.29
5	4.056	4.212
10	3.9	4.134
15	3.666	3.978
20	3.588	3.822
25	3.432	3.666
30	3.216	3.588
35	3.12	3.52
40	3.042	3.354
45	2.496	3.276
50	2.106	2.886
55	1.482	2.262
60	1.56 (เปิดอากาศ)	1.872
65	1.794	1.638
70	2.106	1.794 (เปิดอากาศ)
75	2.652	2.106
80	2.886	2.34
85	3.12	2.652
90	3.276	2.964
95	3.52	3.12
100	3.666	3.354
105	3.744	3.432
110	3.91	3.744
115	4.056	3.822
120	4.134	4.056
125	4.134	4.134

เวลา (วินาที)	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที
130	4.134	4.212
135	4.134	4.212
140	4.134	4.29
145	4.134	4.29
150	4.134	4.29
155	4.134	4.29
160	4.134	4.29
165	4.134	4.29
170	4.134	4.29

ตารางที่ 2 การละลายออกซิเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที เมื่ออัตราการให้อากาศมีค่า 1.0 และ 1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

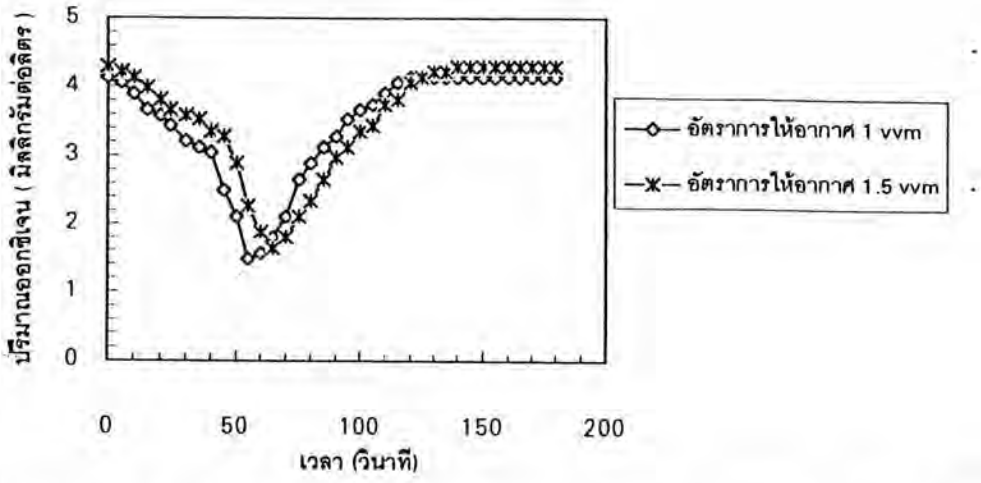
เวลา (วินาที)	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที
0 (ปิดอากาศ)	5.46	5.616
5	5.382	5.538
10	5.07	5.46
15	4.914	5.382
20	4.836	5.304
25	4.758	5.148
30	4.602	4.991
35	4.524	4.836
40	4.446	4.758
45	4.368	4.602
50	4.29	4.446
55	4.212	4.368

เวลา (วินาที)	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที
60	4.134	3.978
65	4.056	3.822
70	3.978	3.666
75	3.9	3.588
80	3.744	3.52
85	3.666	3.432
90	3.588	2.34
95	3.52	2.106
100	3.276	1.248
105	2.886	0.78
110	1.56	1.014 (เปิดอากาศ)
115	0.702	2.34
120	1.014 (เปิดอากาศ)	2.964
125	1.638	3.432
130	2.34	3.9
135	3.198	4.446
140	3.666	4.68
145	3.9	4.758
150	4.134	4.836
155	4.524	5.07
160	4.524	5.304
165	4.68	5.46
170	4.992	5.46
175	5.07	5.46
180	5.226	5.46
185	5.304	5.538
190	5.46	5.538
195	5.46	5.616
200	5.46	5.616
205	5.46	5.616
210	5.46	5.616
215	5.46	5.616
220	5.46	5.616

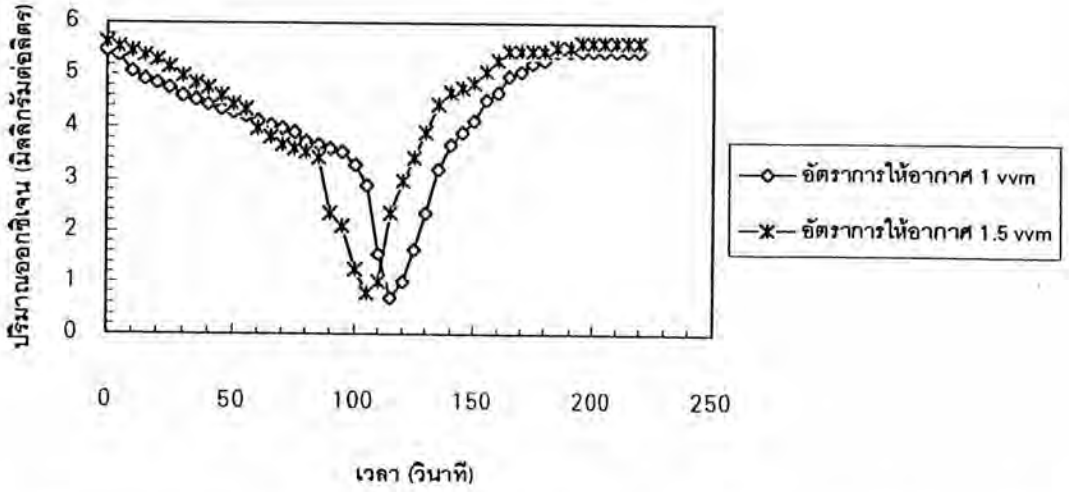
ตารางที่ 3 การละลายของออกซิเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที เมื่ออัตราการให้อากาศที่ค่า 1.0 และ 1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาทีในถังหมักขนาด 5 ลิตร

เวลา (วินาที)	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที
0 (ปิดอากาศ)	6.006	6.084
5	5.928	6.006
10	5.77	5.77
15	5.46	5.616
20	5.38	5.538
25	5.23	5.46
30	5.07	5.23
35	4.91	5.07
40	4.83	4.992
45	4.6	4.836
50	4.44	4.68
55	4.36	4.524
60	4.29	4.44
65	4.13	4.36
70	4.05	4.29
75	3.97	4.212
80	3.82	4.13
85	3.74	4.05
90	3.66	3.9
95	3.588	3.822
100	3.432	3.66
105	1.95	3.52
110	0.78	2.496
115	0.94 (เปิดอากาศ)	0.94
120	1.95	0.64
125	3.042	1.326 (เปิดอากาศ)
130	3.744	2.186
135	4.446	3.198
140	4.914	3.9

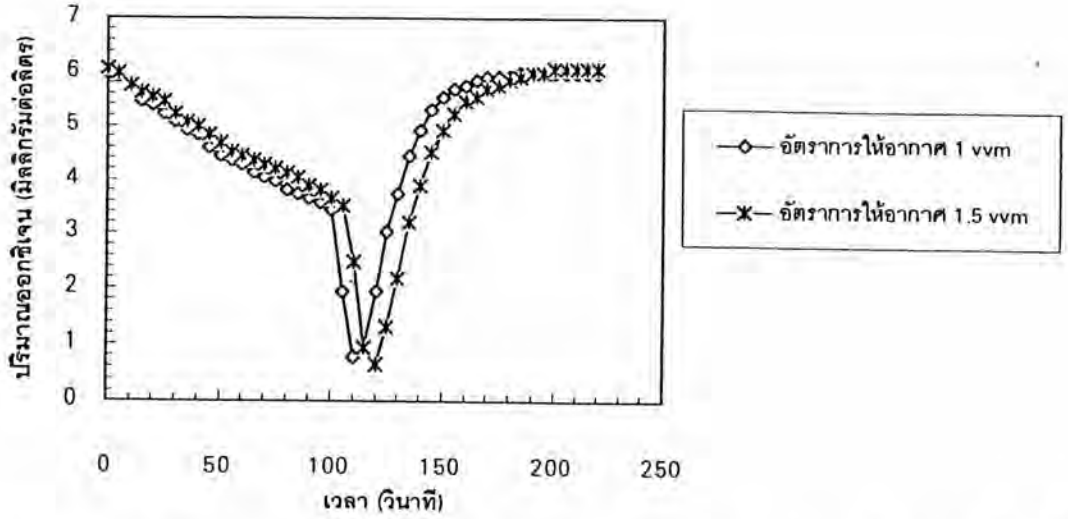
(วินาที)	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที
145	5.304	4.524
150	5.538	4.91
155	5.698	5.23
160	5.77	5.46
165	5.85	5.538
170	5.928	5.698
175	5.928	5.77
180	5.928	5.85
185	6.006	5.928
190	6.006	6.006
195	6.006	6.006
200	6.006	6.006
205	6.006	6.006
210	6.006	6.006
215	6.006	6.006
220	6.006	6.006
225	6.006	6.006



รูปที่ 1 แสดงการบันทึกปริมาณออกซิเจนที่ละลายเมื่อปิดและเปิดการให้อากาศเมื่อทำการเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในชั่วโมงที่ 12 โดยใช้อัตราการกวน 400 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1.0 และ 1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที ในถังหมักขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 2 แสดงการบันทึกปริมาณออกซิเจนที่ละลายเมื่อปิดและเปิดการให้อากาศเมื่อทำการเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในชั่วโมงที่ 12 โดยใช้อัตราการกวน 500 รอบต่อนาทีและ อัตราการให้อากาศ 1.0 และ1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที ในถังหมักขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 3 แสดงการบันทึกปริมาณออกซิเจนที่ละลายเมื่อปิดและเปิดการให้อากาศเมื่อทำการเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในชั่วโมงที่ 12 โดยใช้อัตราการกวน 600 รอบต่อนาทีและอัตราการให้อากาศ 1.0 , 1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที ในถังหมัก 5 ลิตร

ตารางที่ 4 ค่า $(C_{Lf}-C_{L0}) / (t_f - t_0)$ และ $\int C_L dt$ (พื้นที่ใต้กราฟหลังจากเริ่มพ่นอากาศ) สำหรับหาค่า K_La เมื่อมีอัตราการกวนเท่ากับ 400 รอบ ต่อนาที อัตราการให้อากาศต่าง ๆ ของถังหมักขนาด 5 ลิตร

เวลา (วินาที)	อัตราการให้อากาศ (ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที)			
	1.0		1.5	
	$(C_{Lf}-C_{L0}) / (t_f - t_0)$	$\int C_L dt$	$(C_{Lf}-C_{L0}) / (t_f - t_0)$	$\int C_L dt$
0	0	0	0	0
10	0.0312	16.5	0.0468	18.5
20	0.0585	41.8	0.0507	42
30	0.0546	70.5	0.0494	72
40	0.0509	102	0.0449	100
50	0.0452	132.5	0.0437	137
60	0.0429	168	0.0416	174
70	0.0378	199.5	0.0368	203
80	0.0332	228	0.0332	323
90	0.0295	256.5	0.0295	261
100	0.0265	285	0.0265	290
110	0.0241	313.5	0.0241	319

ตัวอย่างการคำนวน ค่า K_La

การคำนวนค่า K_La ของการผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตรเมื่อทำการหมักเป็นเวลา 12 ชั่วโมง มีอัตราการให้อากาศ 1 vvm อัตราการกวน 400 rpm

จากสมการที่ 7 ความชัน = $- K_La / (t_f - t_0)$

จากตารางที่ 4 สามารถหาความชันได้ = -8.85×10^{-5} (sec^{-2})

ดังนั้น $-K_La / (t_f - t_0) = -8.85 \times 10^{-5}$ (sec^{-2})

เมื่อ t_f มีค่า 110 วินาที

$$K_La = 8.85 \times 10^{-5} \times (t_f - t_0) \ (sec^{-2})$$

$$= 8.85 \times 10^{-5} \times 110 \ (sec^{-2})$$

$$= 8.85 \times 10^{-5} \times 110 \times 3600 \ (hr^{-1})$$

$$= 35.05 \ (hr^{-1})$$

จากการคำนวนข้างต้นดังนั้นค่า K_La ของ 1.5 vvm ที่ 400 rpm มีค่า = 35.05 (hr^{-1})

ตารางที่ 5 ค่า $(C_{Lf}-C_{L0}) / (t_f - t_0)$ และ $\int C_L dt$ (พื้นที่ใต้กราฟหลังจากเริ่มพ่นอากาศ) สำหรับหาค่า K_La เมื่อมีอัตราการกวนเท่ากับ 500 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศต่าง ๆ ของถังหมักขนาด 5 ลิตร

เวลา (วินาที)	อัตราการให้อากาศ (ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที)			
	1.0		1.5	
	$(C_{Lf}-C_{L0}) / (t_f - t_0)$	$\int C_L dt$	$(C_{Lf}-C_{L0}) / (t_f - t_0)$	$\int C_L dt$
0	0	0	0	0
10	0.0936	11.7	0.156	16
20	0.1248	39.5	0.133	43
30	0.1066	70.5	0.122	79.5
40	0.0955	106	0.0995	112
50	0.0858	146	0.0858	147.5
60	0.0754	180	0.0715	186
70	0.0656	213.5	0.0669	217
80	0.0595	244	0.0585	248
90	0.0528	274.5	0.0529	279
100	0.0475	305	0.0484	310
110	0.0432	335.5	0.0439	341

จากการคำนวนข้างต้นดังนั้นค่า K_La ของ 1.0และ 1.5 vvm ที่ 400 rpmมีค่า=89.26 (hr^{-1}) 131.08 (hr^{-1})

ตารางที่ 6 ค่า $(C_{Lf}-C_{L0}) / (t_f - t_0)$ และ $\int C_L dt$ (พื้นที่ใต้กราฟหลังจากเริ่มพ่นอากาศ) สำหรับหาค่า K_La เมื่อมีอัตราการกวนเท่ากับ 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศต่าง ๆ ของถังหมักขนาด 5ลิตร.

เวลา (วินาที)	อัตราการให้อากาศ (ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที)			
	1.0		1.5	
	$(C_{Lf}-C_{L0}) / (t_f - t_0)$	$\int C_L dt$	$(C_{Lf}-C_{L0}) / (t_f - t_0)$	$\int C_L dt$
0	0	0	0	0
10	0.117	14	0.3415	14
20	0.1482	46	0.163	46
30	0.1378	84	0.1426	87
40	0.1189	122	0.1205	128
50	0.0998	157.5	0.1012	165
60	0.0858	195	0.0868	204
70	0.0735	234.5	0.0766	238
80	0.0653	268	0.0671	272
90	0.058	301.5	0.0596	306
100	0.0523	335	0.0536	340
110	0.0475	368.5	0.0487	374

จากการคำนวนข้างต้นดังนั้นค่า K_La ของ 1.0 และ 1.5 vvm ที่ 600 rpmมีค่า = 101.24hr^{-1} และ227.8 (hr^{-1})

ตารางที่ 7 แสดงค่า K_La , ln K_La ที่ได้จากการหาความชัน เมื่อกำหนดอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศต่าง ๆ ของถังหมักขนาด 5 ลิตร

อัตราการกวน (รอบต่อนาที)	อัตราการให้อากาศ (ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที)			
	1.0		1.5	
	K_La (ชั่วโมง$^{-1}$)	lnK_La	K_La (ชั่วโมง$^{-1}$)	lnK_La
400	35.05	3.52	33.81	3.56
500	89.26	4.49	131.08	4.87
600	111.14	4.71	227.8	5.43

ตารางที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ค่า $\ln K_La$ (ที่อัตราการให้อากาศต่าง ๆ) กับ $\ln N_i$ (อัตราการกวนต่าง ๆ)ของถังหมักขนาด 5 ลิตร

$\ln N_i$	$\ln K_La$		ค่าเฉลี่ย
	1.0 vvm	1.5 vm	
400 rpm	3.525	3.56	-
500 rpm	4.49	4.87	-
600 rpm	4.71	5.43	-
ความชัน (α)	3.03	4.72	3.87

ตารางที่9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln K_La$ (ที่อัตราการกวนต่าง ๆ) กับ V_s (อัตราการให้อากาศต่าง ๆ) ของถังหมักขนาด 5 ลิตร

$\ln V_S$	$\ln K_La$			ค่าเฉลี่ย
	400 rpm	500 rpm	600 rpm	
1.0 vvm	3.52	4.49	4.71	-
1.5 vvm	3.56	4.87	5.43	-
ความชัน (β)	0.098	0.94	1.77	0.936

เพราะฉะนั้น ค่า parameter α และ β ของถังหมักขนาด 5 ลิตร มีค่าดังนี้

ค่า α = 3.87 และ ค่า β = 0.936

ตารางที่ ๗ การละลายของออกซิเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่อัตราการกวน 400 รอบต่อนาทีเมื่ออัตราการ ให้อากาศมีค่า 1.0, 1.5 และ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาทีในถังหมักขนาด 30 ลิตร (ซึ่งกำหนดให้ความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายน้ำได้อิ่มตัว 100 % ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสมีค่าประมาณ 7.8 มิลลิกรัมต่อลิตร)

เวลา	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
(วินาที)	1.0 ปริมาตรอากาศต่อ ปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	1.5ปริมาตรอากาศต่อ ปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	2.0 ปริมาตรอากาศต่อ ปริมาตรน้ำหมักต่อนาที
0 ปิดอากาศ	4.68	4.758	4.836
5	4.602	4.68	4.758
10	4.524	4.602	4.68
15	4.446	4.524	4.602
20	4.368	4.446	4.524
25	4.29	4.368	4.446
30	4.212	4.29	4.368
35	4.134	4.212	4.29
40	4.056	4.134	4.212
45	3.978	4.056	4.134
50	3.9	3.978	4.056
55	3.822	3.9	3.978
60	3.744	3.822	3.978
65	3.666	3.744	3.9
70	3.588	3.666	3.822
75	3.52	3.588	3.744
80	3.432	3.52	3.588
85	3.276	3.432	3.52
90	3.198	3.354	3.354
95	3.12	3.276	3.276

เวลา (วินาที)	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	1.2 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที
100	2.964	3.12	3.12
105	2.73	2.886	2.964
110	2.496	2.574	2.574
115	2.808 (เปิดอากาศ)	2.808(เปิดอากาศ)	2.808(เปิดอากาศ)
120	2.964	3.12	3.12
125	3.52	3.744	3.744
130	3.822	4.056	4.134
135	4.056	4.134	4.212
140	4.212	4.446	4.446
145	4.29	4.524	4.524
150	4.368	4.524	4.602
155	4.446	4.602	4.602
160	4.524	4.68	4.68
165	4.602	4.68	4.758
170	4.68	4.758	4.758
175	4.68	4.758	4.836
180	4.68	4.758	4.836
185	4.68	4.758	4.836
190	4.68	4.758	4.836
195	4.68	4.758	4.836
200	4.68	4.758	4.836
205	4.68	4.758	4.836
210	4.68	4.758	4.836
215	4.68	4.758	4.836
220	4.68	4.758	4.836

ตารางที่ 11 การละลายของออกซิเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่อัตราการกวน 500 รอบต่อนาทีเมื่ออัตราการให้อากาศมีค่า 1.0, 1.5 และ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาทีในถังหมักขนาด 30 ลิตร (ซึ่งกำหนดให้ความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายน้ำได้อิ่มตัว 100 % ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสมีค่าประมาณ 7.8 มิลลิกรัมต่อลิตร

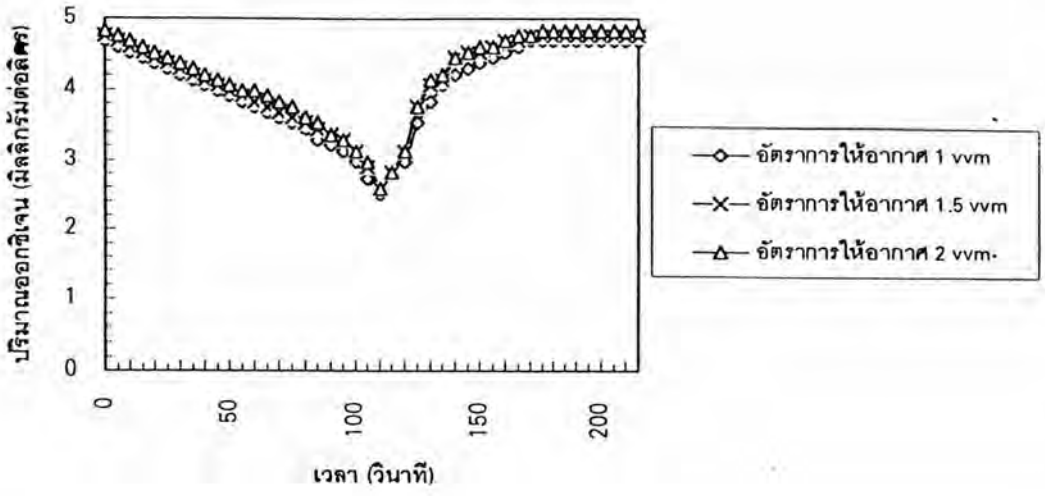
เวลา	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
(วินาที)	1.0 ปริมาตรอากาศต่อ ปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	1.5ปริมาตรอากาศต่อ ปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	2.0ปริมาตรอากาศต่อ ปริมาตรน้ำหมักต่อนาที
0 ปิดอากาศ	4.992	5.07	5.148
5	4.914	4.992	5.07
10	4.836	4.914	4.992
15	4.758	4.836	4.914
20	4.68	4.758	4.836
25	4.602	4.68	4.758
30	4.524	4.602	4.68
35	4.446	4.524	4.602
40	4.368	4.446	4.524
45	4.29	4.29	4.446
50	4.212	4.212	4.368
55	4.134	4.134	4.212
60	3.9	4.056	4.056
65	3.822	3.978	3.9
70	3.666	3.9	3.822
75	3.52	3.822	3.822
80	3.354	3.666	3.744
85	3.276	3.52	3.52
90	3.12	3.432	3.35
95	3.042	3.276	3.198
100	2.964	3.12	3.12
105	2.886	3.042	3.042
110	2.652	2.73	2.80

เวลา (วินาที)	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที
115	2.964 เปิดอากาศ	3.042	3.042
120	3.276	3.198 เปิดอากาศ	3.276 เปิดอากาศ
125	3.978	4.056	4.134
130	4.29	4.368	4.446
135	4.386	4.446	4.524
140	4.524	4.602	4.68
145	4.602	4.68	4.836
150	4.68	4.758	4.914
155	4.758	4.836	4.914
160	4.836	4.914	4.992
165	4.836	4.992	5.04
170	4.917	4.992	5.04
175	4.992	5.07	5.148
180	4.992	5.07	5.148
185	4.992	5.07	5.148
190	4.992	5.07	5.148
195	4.992	5.07	5.148
200	4.992	5.07	5.148
205	4.992	5.07	5.148
210	4.992	5.07	5.148
210	4.992	5.07	5.148
220	4.992	5.07	5.148

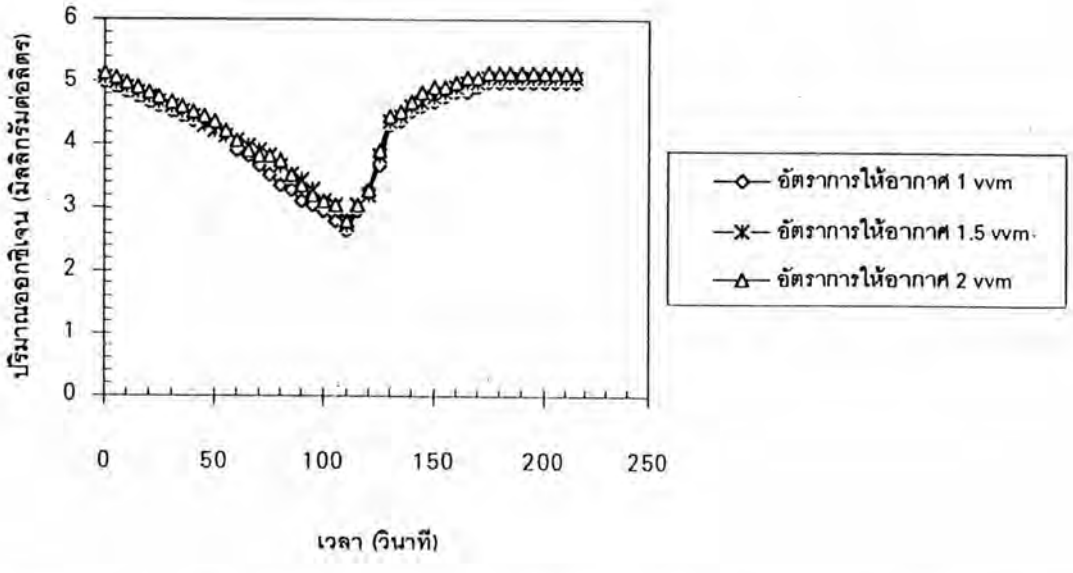
ตารางที่ 12 การละลายของออกซิเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่อัตราการกวน 600 รอบต่อนาทีเมื่ออัตราการให้อากาศมีค่า 1.0, 1.5 และ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาทีในถังหมักขนาด 30 ลิตร (ซึ่งกำหนดให้ความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายน้ำได้อิ่มตัว 100 % ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสมีค่าประมาณ 7.8 มิลลิกรัมต่อลิตร)

เวลา	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
(วินาที)	1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	1.5ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที
0 ปิดอากาศ	5.226	5.382	5.46
5	5.148	5.304	5.382
10	5.07	5.226	5.304
15	4.914	5.07	5.226
20	4.836	4.914	5.148
25	4.758	4.836	5.07
30	4.68	4.68	4.992
35	4.602	4.602	4.914
40	4.446	4.524	4.836
45	4.368	4.446	4.68
50	4.212	4.212	4.602
55	4.134	4.134	4.524
60	4.056	4.056	4.446
65	3.978	3.978	4.368
70	3.9	3.9	4.212
75	3.744	3.822	4.056
80	3.588	3.666	3.978
85	3.52	3.588	3.9
90	3.276	3.52	3.822
95	3.042	3.354	3.666
100	2.964	3.198	3.52
105	2.886	3.042	3.276
110	2.73	2.964	3.12
115	2.652	2.73	2.964

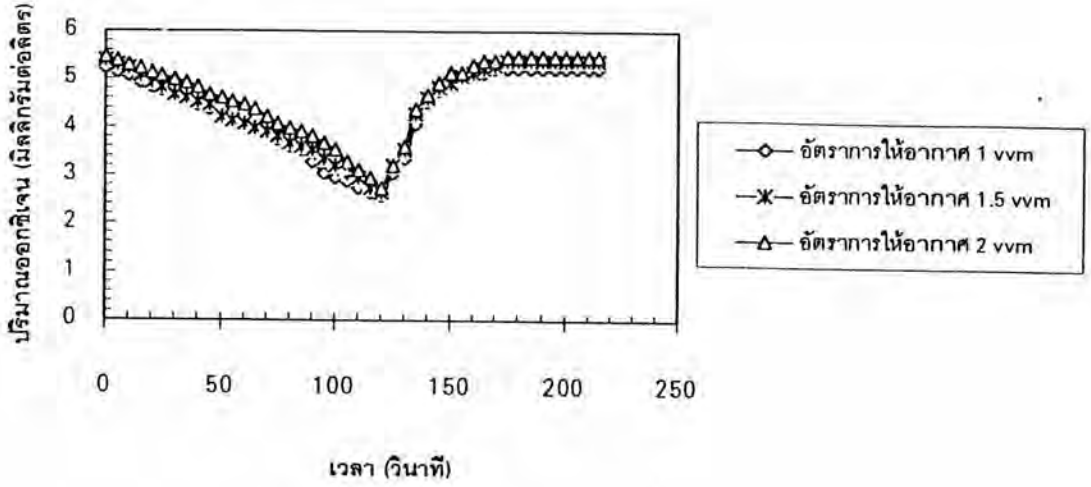
เวลา	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
(วินาที)	1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	1.5ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที
125	3.042 เปิดอากาศ	3.198 เปิดอากาศ	3.198 เปิดอากาศ
130	3.354	3.52	3.588
135	4.056	4.29	4.368
140	4.524	4.602	4.68
145	4.758	4.836	4.914
150	4.914	4.914	5.148
155	5.07	5.07	5.148
160	5.148	5.148	5.304
165	5.148	5.226	5.382
170	5.226	5.304	5.382
175	5.226	5.382	5.46
180	5.226	5.382	5.46
185	5.226	5.382	5.46
190	5.226	5.382	5.46
195	5.226	5.382	5.46
200	5.226	5.382	5.46
205	5.226	5.382	5.46
210	5.226	5.382	5.46
215	5.226	5.382	5.46
220	5.226	5.382	5.46
225	5.226	5.382	5.46
230	5.226	5.382	5.46



รูปที่ 4 แสดงการบันทึกปริมาณออกซิเจนที่ละลายเมื่อปิด และ เปิดการให้อากาศเมื่อทำการเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในชั่วโมงที่ 12 โดยใช้อัตราการกวน 400 รอบต่อนาที และ อัตราการให้อากาศ 1.0 , 1.5 และ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที ในถังหมักขนาด 30 ลิตร



รูปที่ 5แสดงการบันทึกปริมาณออกซิเจนที่ละลายเมื่อปิด และ เปิดการให้อากาศเมื่อทำการเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในชั่วโมงที่ 12 โดยใช้อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และ อัตราการให้อากาศ 1.0 , 1.5 และ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที ในถังหมักขนาด 30 ลิตร



รูปที่ 6 แสดงการบันทึกปริมาณออกซิเจนที่ละลายเมื่อปิด และ เปิดการให้อากาศเมื่อทำการเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในชั่วโมงที่ 12 โดยใช้อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และ อัตราการให้อากาศ 1.0 , 1.5 และ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที ในถังหมักขนาด 30 ลิตร

ตารางที่ 14 ค่า $(C_{Lf}-C_{L0}) / (t_f - t_0)$ และ $\int C_L dt$ (พื้นที่ใต้กราฟหลังจากเริ่มพ่นอากาศ) สำหรับหาค่า K_La เมื่อมีอัตราการกวนเท่ากับ 500 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศต่าง ๆ ของถังหมักขนาด 30 ลิตร

เวลา (วินาที)	อัตราการให้อากาศ (ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที)					
	1.0		1.5		2.0	
	$(C_{Lf}- C_{L0}) / (t_f - t_0)$	$\int C_L dt$	$(C_{Lf}- C_{L0}) / (t_f - t_0)$	$\int C_L dt$	$(C_{Lf}- C_{L0}) / (t_f - t_0)$	$\int C_L dt$
0	0	0	0	0	0	0
10	0.0624	30	0.0468	30.3	0.0468	31.5
20	0.0819	71	0.0819	73	0.0819	74
30	0.0624	109.5	0.0624	111.75	0.0624	115.5
40	0.0507	150	0.0507	152	0.0527	158
50	0.0437	190	0.0421	192.5	0.0437	200
60	0.0378	231	0.0364	237	0.0377	243
70	0.0334	269.5	0.0323	276.5	0.0334	283.5
80	0.0293	308	0.0293	316	0.0293	324
90	0.0260	346.5	0.0260	355.5	0.0260	364.5
100	0.0230	385	0.0230	395	0.0230	405
110	0.0212	423.5	0.0212	434.5	0.0213	445.5

จากการคำนวนข้างต้นดังนั้นค่า K_La ของ 1.0 ,1.5 และ 2.0vvm ที่ 500 rpmมีค่า = 60.8 (hr^{-1})., 60.1 (hr^{-1}) และ60.0 (hr^{-1})

ตารางที่ 13 ค่า $(C_{Lf}-C_{L0}) / (t_f - t_0)$ และ $\int C_L dt$ (พื้นที่ใต้กราฟหลังจากเริ่มพ่นอากาศ) สำหรับหาค่า K_La เมื่อมีอัตราการกวนเท่ากับ 400 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศต่าง ๆ ของถังหมักขนาด 30 ลิตร

เวลา (วินาที)	อัตราการให้อากาศ (ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที)					
	1.0		1.5		2.0	
	$(C_{Lf}- C_{L0}) / (t_f - t_0)$	$\int C_L dt$	$(C_{Lf}- C_{L0}) / (t_f - t_0)$	$\int C_L dt$	$(C_{Lf}- C_{L0}) / (t_f - t_0)$	$\int C_L dt$
0	0	0	0	0	0	0
10	0.0468	27.5	0.0546	29	0.0546	29
20	0.0663	64	0.0741	67	0.0741	68
30	0.0572	100.5	0.0546	106.5	0.052	106.5
40	0.0468	138	0.0487	144	0.0487	144
50	0.0406	175	0.0421	182.5	0.0406	182.5
60	0.0364	216	0.0364	222	0.0351	222
70	0.0312	252	0.0312	259	0.0312	259
80	0.0273	288	0.0273	296	0.0283	296
90	0.0242	324	0.0242	333	0.0251	333
100	0.0218	360	0.0218	370	0.0226	370
110	0.0198	396	0.0198	407	0.0205	407

จากการคำนวนข้างต้นดังนั้นค่า K_La ของ 1.0 ,1.5 และ 2.0vvm ที่ 400 rpmมีค่า = 53.5 (hr^{-1}) , 55.4 (hr^{-1}) และ54.1 (hr^{-1})

ตารางที่ 15 ค่า $(C_{Lf}-C_{L0}) / (t_f - t_0)$ และ $\int C_L dt$ (พื้นที่ใต้กราฟหลังจากเริ่มพ่นอากาศ) สำหรับหาค่า K_La เมื่อมี อัตราการกวนเท่ากับ 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศต่าง ๆ ของถังหมักขนาด 30 ลิตร

เวลา (วินาที)	อัตราการให้อากาศ (ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที)					
	1.0		1.5		2.0	
	$(C_{Lf}- C_{L0}) / (t_f - t_0)$	$\int C_L dt$	$(C_{Lf}- C_{L0}) / (t_f - t_0)$	$\int C_L dt$	$(C_{Lf}- C_{L0}) / (t_f - t_0)$	$\int C_L dt$
0	0	0	0	0	0	0
10	0.0858	32.5	0.0868	30.5	0.0780	30
20	0.0975	76	0.0975	74	0.0975	72
30	0.0806	120	0.0754	115.5	0.0780	114
40	0.0644	166	0.0624	160	0.0644	156
50	0.0530	210	0.0530	202.5	0.0530	200
60	0.0455	252	0.0455	243	0.0442	240
70	0.0390	294	0.0390	283.5	0.0378	280
80	0.0341	336	0.0341	324	0.0332	320
90	0.0303	378	0.0303	364.5	0.0295	260
100	0.0273	420	0.0270	405	0.0265	400
110	0.0248	462	0.0248	445.5	0.0241	440

จากการคำนวนข้างต้นดังนั้นค่า K_La ของ 1.0 ,1.5 และ 2.0vvm ที่ 500 rpmมีค่า = 71.2 (hr^{-1}) , 71.2 (hr^{-1}) และ 74.5 (hr^{-1})

ตารางที่ 16 แสดงค่า K_La , ln K_La ที่ได้จากการหาความชัน เมื่อกำหนดอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศต่าง ๆ ของถังหมักขนาด 30 ลิตร

อัตราการกวน (รอบต่อนาที)	อัตราการให้อากาศ (ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที)		
	1.0 K_La (ชั่วโมง$^{-1}$)	1.5 K_La (ชั่วโมง$^{-1}$)	2.0 K_La (ชั่วโมง$^{-1}$)
400	53.5	55.4	54.1
500	60.8	60.1	60.0
600	71.2	71.2	74.5

ตารางที่ 17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า lnK_La (ที่อัตราการให้อากาศต่าง ๆ) กับ ln N_i (อัตราการกวนต่าง ๆ)ของถังหมักขนาด 30 ลิตร

ln Ni	ln K_La			ค่าเฉลี่ย
	1.0 vvm	1.5 vvm	2.0 vvm	
400 rpm	3.97	4.01	3.99	-
500 rpm	4.09	4.10	4.11	-
600 rpm	4.26	4.26	4.31	-
ความชัน(α)	0.705	0.62	0.78	0.70

ตารางที่ 18 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า lnK_La (ที่อัตราการกวนต่าง ๆ) กับ V_s (อัตราการให้อากาศต่าง ๆ)ของถังหมักขนาด 30 ลิตร

ln V_s	ln K_La			ค่าเฉลี่ย
	400 rpm	500 rpm	600 rpm	
1.0 vvm	3.97	4.09	4.26	
1.5 vvm	4.01	4.10	4.26	
2.0 vvm	3.99	4.11	4.31	
ความชัน (β)	0.033	0.028	0.067	0.043

เพราะฉะนั้น ค่า parameter α และ β ของถังหมักขนาด 30 ลิตร มีค่าดังนี้

ค่า α = 0.70 และค่า β = 0.043

จากการทดลองที่ผ่านมาจะได้ค่า α และ β ของถังหมักขนาด 5 ลิตรและ 30 ลิตรมีค่าเท่ากับ 3.87, 0.936 และ 0.70 ; 0.043 ตามลำดับ

เราจึงสามารถหาค่า K ของถังหมักขนาด 5 ลิตร และ 30 ลิตร จากการหาค่า K_La เมื่อมีการเลี้ยงเชื้อที่ 12 ชั่วโมงที่ 28 องศาเซลลเซียส อัตราการให้อากาศ 1 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที อัตราการกวน 600รอบต่อนาที

ได้ค่า K_La ของถังหมัก 5 ลิตร เท่ากับ 111.14 ชั่วโมง$^{-1}$

ได้ค่า K_La ของถังหมัก 30 ลิตร เท่ากับ 71.2 ชั่วโมง $^{-1}$

จากความสัมพันธ์

$$K_La = K (n)^{\alpha} (Vs)^{\beta}$$

หมายเหตุ

n = ความเร็วรอบของการกวน

Vs = ความเร็วของอากาศ (cm / sec)

โดยที่

$$Vs\ (30)\ lit = 1/ \pi r^2$$

$$= 1/ (3.14 \times 14.2^2)$$

$$= 0.0016\ cm / sec$$

ดังนั้นในถังหมักขนาด 5 ลิตร

เมื่อหาค่า α และ β ได้เท่ากับ 3.87 และ 0.936 ตามลำดับ และ ค่า K_La = 111.14 ดังนั้นจะได้ความสัมพันธ์

$$K_La = K (n)^{\alpha} (Vs)^{\beta}$$

$$K = K_La / (n^{3.87} Vs^{0.936})$$

$$K = 111.14 / (600^{3.87} \times 0.0044^{0.936})$$

$$K = 31.75 \times 10^{-8}$$

ในระดับถังหมักขนาด 30 ลิตร

เมื่อหาค่า α และ β ได้เท่ากับ 0.70 และ 0.043 ตามลำดับ และ ค่า $K_La = 71.2$ ดังนั้นจะได้ความสัมพันธ์

$$K_La = K(n)^{\alpha}(Vs)^{\beta}$$

$$K = K_La / (n^{0.70} Vs^{0.043})$$

$$K = 71.2 / (600^{0.70} \times 0.0016^{0.043})$$

$$K = 1.06$$

ดังนั้น

$$K_{30}(n_{30})^{\alpha}(Vs)^{\beta} = K_5(n_5)^{\alpha}(Vs)^{\beta}$$

$$1.06(n_{30})^{0.70}(0.0016)^{0.043} = 31.75\times10^{-8}(600)^{3.87}(0.0044)^{0.936}$$

$$(n_{30})^{0.70} = 31.75\times10^{-8}(600)^{3.87}(0.0044)^{0.936} / 1.06 \times 0.758$$

$$(n_{30}) = 1148 \text{ รอบต่อนาที}$$

ประวัติผู้เขียน

นางสาววาสนา แย้มเกตุ เกิดวันพุธที่ 28 กรกฎาคม พ.ศ. 2515 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต เมื่อปีการศึกษา 2536 และเข้าศึกษาต่อในระดับบัณฑิตศึกษา หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2537