บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 การผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยทำการผันแปรอัตราการกวนที่ความเร็วต่างๆ

การผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อยีสต์ *Candida oleophila* C-73 เป็นกระบวนการหมักที่ต้องการออกซิเจน จากรายงานของ Rane และ Sims (1993) กล่าวว่าการเพิ่มค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักจะมีผลโดยตรงต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ให้สูงขึ้น อีกทั้ง Okoshi และคณะ (1987) ได้รายงานว่าการเพิ่มปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำให้การผลิตกรดมะนาวเพิ่มสูงขึ้นและปริมาณกรดไอโซซิตริกจะลดลง ซึ่งการกวนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มการละลายและการถ่ายเทออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดีขึ้นโดยประเสริฐ หาญเมืองใจ (2537) ได้รายงานผลการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่าการเลี้ยงเชื้อที่อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที ให้ผลผลิตกรดมะนาวสูงสุดถึง 143.13 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการหมัก 96 ชั่วโมง

ดังนั้นในการทดลองนี้จะทำการศึกษาการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 เมื่อกำหนดเกณฑ์การขยายส่วนการผลิตให้มีค่าเท่ากันระหว่างถังหมักขนาด 12.5 ลิตร และถังหมักขนาด 5 ลิตร ดังแสดงใน ภาคผนวก ค แต่พบว่าต้องใช้อัตราการกวนสูงมาก อีกทั้งยังขาดอุปกรณ์สำหรับวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก ทำให้ไม่สามารถศึกษาเกณฑ์เหล่านี้ได้

จึงทำการทดลองโดยเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร ตามวิธีการทดลองในข้อ 2.4.4 แล้วติดตามการเจริญเติบโตของเซลล์ (น้ำหนักเซลล์แห้ง) การใช้น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวส์ การผลิตกรดมะนาว ค่าความหนืด และค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก โดยเปรียบเทียบการผันแปรควบคุมอัตราการกวน 90 , 125 และ 160 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างครั้งละ 60 มิลลิลิตร ทุก 12 ชั่วโมง การทดลองนี้เลือกใช้หัวเชื้อ *Candida oleophila* C-73 อายุ 18 ชั่วโมง (ภาคผนวก ข) ซึ่งอยู่ในช่วงท้ายของการเจริญแบบทวีคูณ (มีอัตราการเจริญจำเพาะ "μ" เท่ากับ 0.172 ชั่วโมง$^{-1}$) เพื่อผลิตกรดมะนาวแทนการใช้หัวเชื้ออายุ 12 ชั่วโมงซึ่งเป็นระยะที่เชื้อมีอัตราการเจริญสูงสุด (มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด "μ_{max}" เท่ากับ 0.191 ชั่วโมง$^{-1}$) เนื่องจากได้ทำการทดลองในระดับขวดเขย่าแล้วพบว่าการใช้หัวเชื้ออายุ 18 ชั่วโมงมีน้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 7 กรัมต่อลิตรเมื่อทำการหมักเป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมงจะให้ผลผลิตกรดมะนาวสูงถึง 86.89 กรัมต่อลิตร

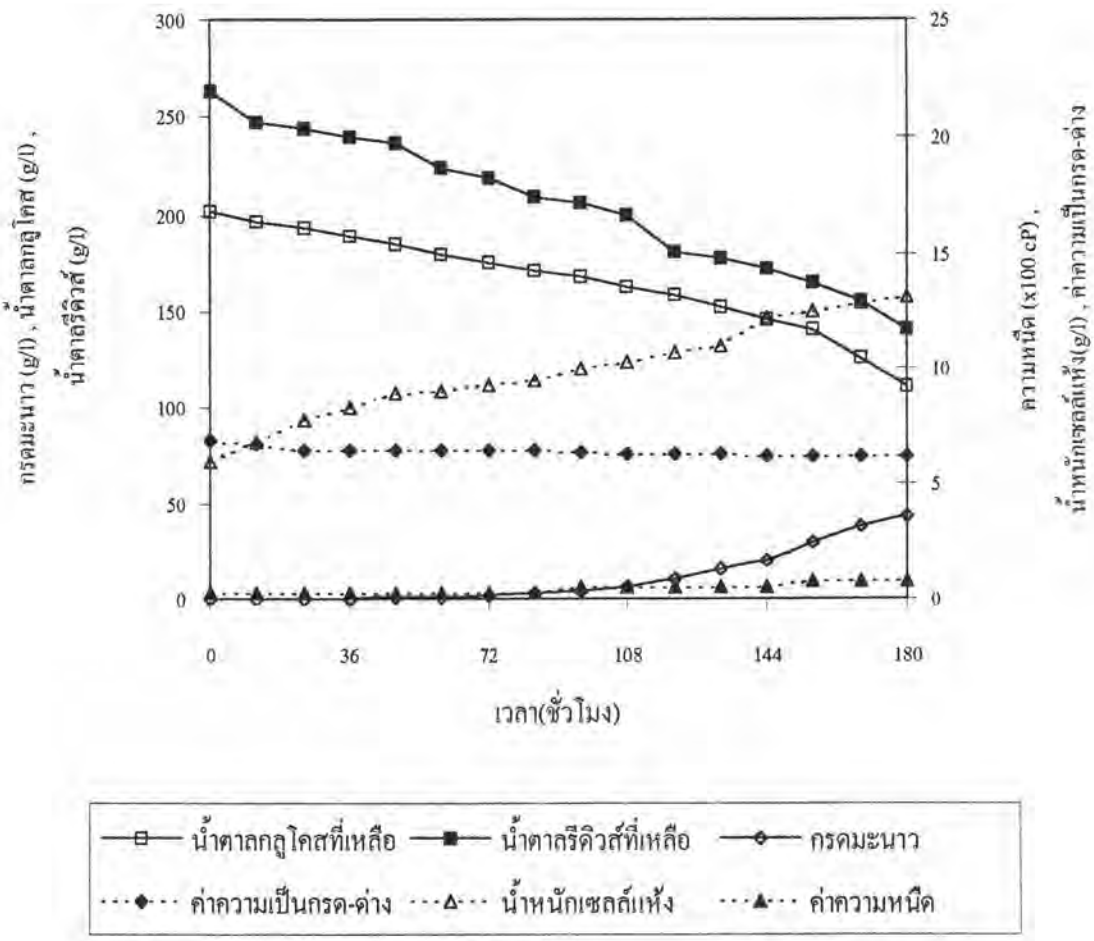
ในขณะที่การใช้หัวเชื้ออายุ 12 ชั่วโมงมีน้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 3 กรัมต่อลิตรจะให้ผลผลิตกรดมะนาวเพียง 70.63 กรัมต่อลิตร

3.1.1 ผลของการควบคุมอัตราการกวน 90 รอบต่อนาที

ผลที่ได้จากการกวนในอัตรา 90 รอบต่อนาที ได้ผลของปริมาณกรดมะนาวที่ผลิต ค่าความหนืดของน้ำหมัก การเจริญเติบโตของเซลล์(น้ำหนักเซลล์แห้ง) ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลืออยู่ ดังแสดงใน **ตารางที่ 3-1** และ **รูปที่ 3-1**

ตารางที่ 3-1 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยใช้อัตราการกวน 90 รอบต่อนาที

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	กรดมะนาว (กรัมต่อลิตร)	ค่าความหนืด (เซนติพอยซ์)
0	6.94	5.98	201.46	263.25	0.00	25
12	6.77	6.88	196.58	247.22	0.00	25
24	6.55	7.84	193.74	244.38	0.01	25
36	6.52	8.37	188.91	239.55	0.04	25
48	6.49	8.96	184.44	236.58	0.73	25
60	6.48	9.08	180.07	223.44	1.25	25
72	6.51	9.34	175.50	218.21	2.10	25
84	6.49	9.52	170.93	209.13	2.90	25
96	6.45	10.04	167.82	205.60	4.06	50
108	6.37	10.31	162.99	200.17	6.49	50
120	6.33	10.76	158.71	180.81	10.14	50
132	6.32	11.00	152.56	177.45	15.91	50
144	6.29	12.24	145.97	171.81	20.52	50
156	6.28	12.48	140.03	165.25	29.50	75
168	6.25	12.81	125.48	154.90	37.89	75
180	6.25	13.10	110.65	140.07	42.91	75



รูปที่ 3-1 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยใช้อัตราการกวน 90 รอบต่อนาที

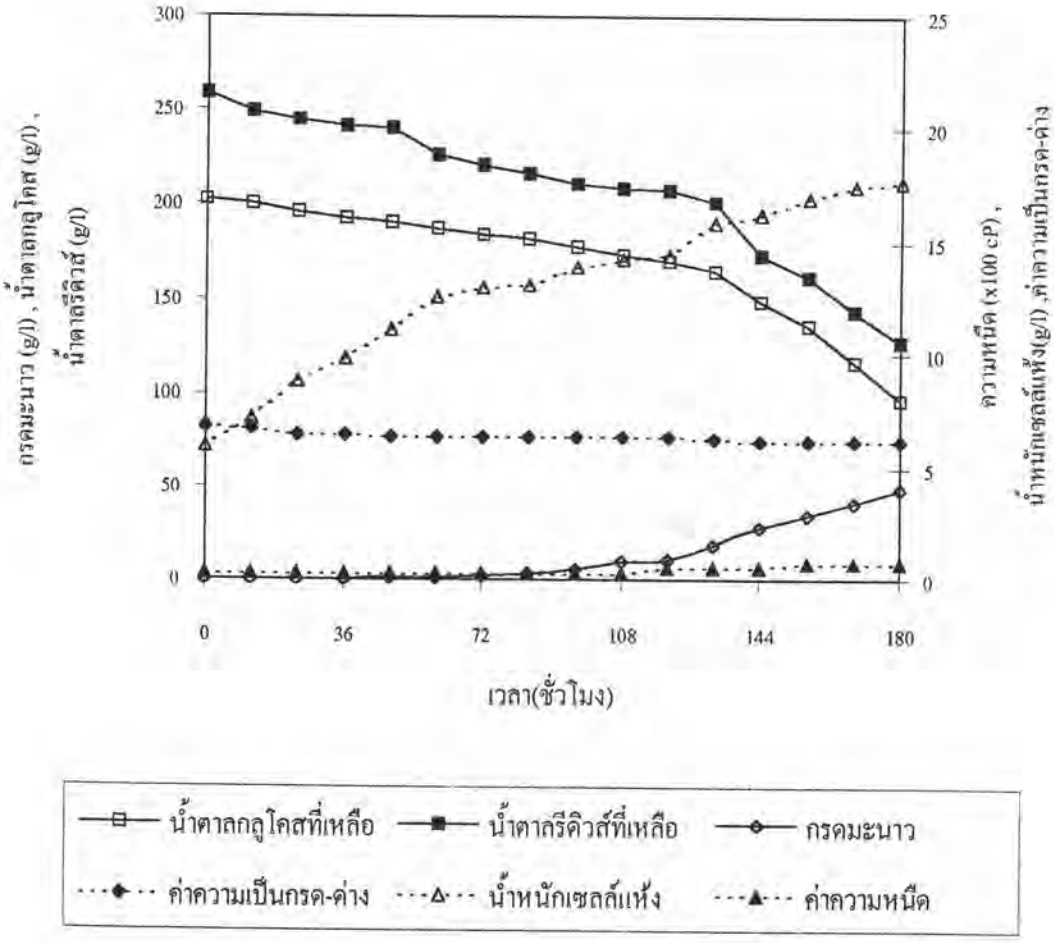
ผลที่ได้พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 ประมาณ 13.10 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าความหนืด 75 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 24 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 42.91 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 คิดเป็นปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมักได้ 391.34 กรัมในระหว่างการหมักใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองที่ชั่วโมงการหมักที่ 0 ถึง 24 ประมาณ 20 มิลลิลิตร

3.1.2 ผลของการควบคุมอัตราการกวน 125 รอบต่อนาที

ผลที่ได้จากการกวนในอัตรา 125 รอบต่อนาที ได้ผลของปริมาณกรดมะนาวที่ผลิต ค่าความหนืดของน้ำหมัก การเจริญเติบโตของเซลล์(น้ำหนักเซลล์แห้ง) ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลืออยู่ ดังแสดงใน **ตารางที่ 3-2** และ **รูปที่ 3-2**

ตารางที่ 3-2 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยใช้อัตราการกวน 125 รอบต่อนาที

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	กรดมะนาว (กรัมต่อลิตร)	ค่าความหนืด (เซนติพอยซ์)
0	6.88	5.95	202.67	259.27	0.00	25
12	6.73	7.18	199.83	248.69	0.00	25
24	6.54	8.80	195.94	244.82	0.02	25
36	6.54	9.83	192.85	241.05	0.08	25
48	6.41	11.08	190.23	240.25	0.60	25
60	6.42	12.51	187.72	226.15	1.02	25
72	6.40	13.00	184.52	220.68	1.97	25
84	6.38	13.13	181.77	216.18	3.11	25
96	6.41	13.93	178.02	211.00	5.40	25
108	6.39	14.23	173.59	209.39	9.95	25
120	6.37	14.40	169.79	207.48	11.04	50
132	6.32	15.85	164.86	201.50	18.44	50
144	6.27	16.23	148.71	173.18	27.67	50
156	6.25	16.96	135.56	160.94	34.49	75
168	6.25	17.50	116.02	142.70	41.56	75
180	6.23	17.69	96.47	126.70	48.71	75



รูปที่ 3-2 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยใช้อัตราการกวน 125 รอบต่อนาที

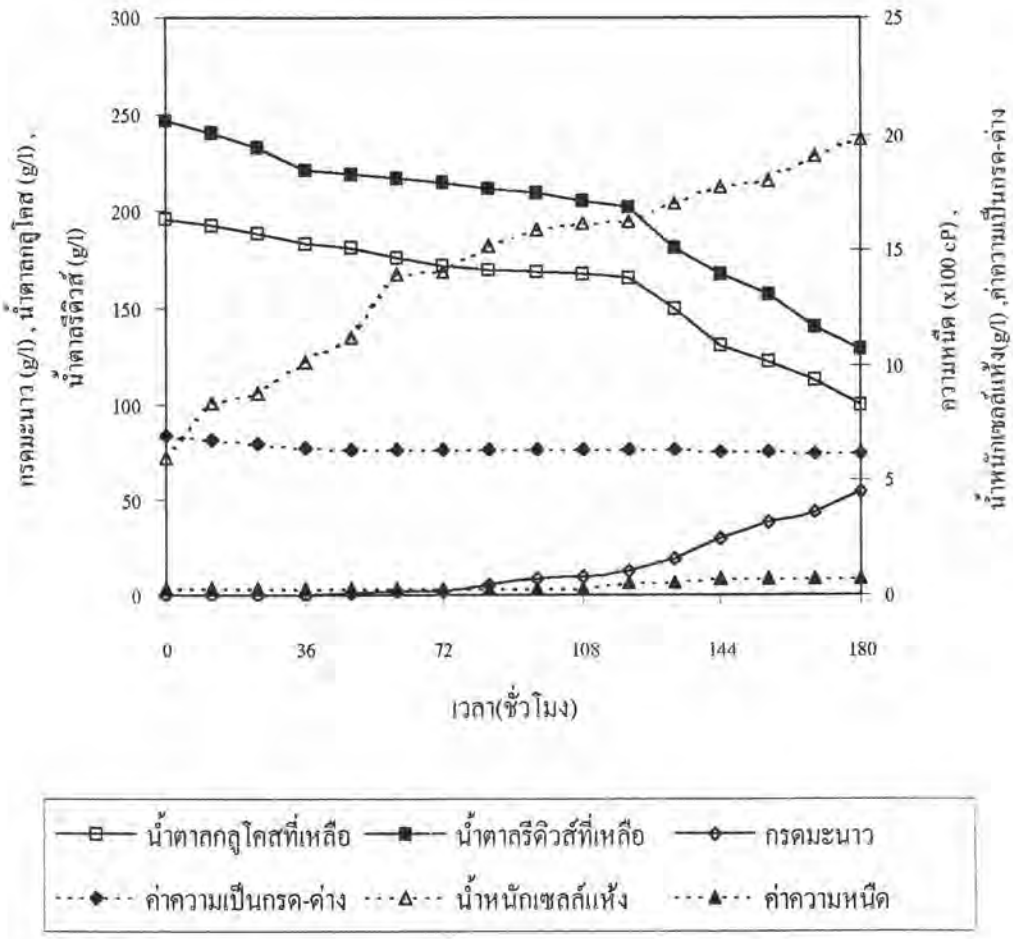
ผลที่ได้ พบว่า เชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 ประมาณ 17.69 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าความหนืดของน้ำหมัก 75 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 24 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ประมาณ 48.71 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 คิดเป็นปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมักได้ 443.50 กรัม ในระหว่างการหมักใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองที่ชั่วโมงการหมักที่ 0 ถึง 12 ประมาณ 5 มิลลิลิตร

3.1.3 ผลของการควบคุมอัตราการกวน 160 รอบต่อนาที

ผลที่ได้จากการกวนในอัตรา 160 รอบต่อนาที ได้ผลของปริมาณกรดมะนาวที่ผลิต ค่าความหนืดของน้ำหมัก การเจริญเติบโตของเซลล์(น้ำหนักเซลล์แห้ง) ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลืออยู่ ดังแสดงใน **ตารางที่ 3-3** และ **รูปที่ 3-3**

ตารางที่ 3-3 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยใช้อัตราการกวน 160 รอบต่อนาที

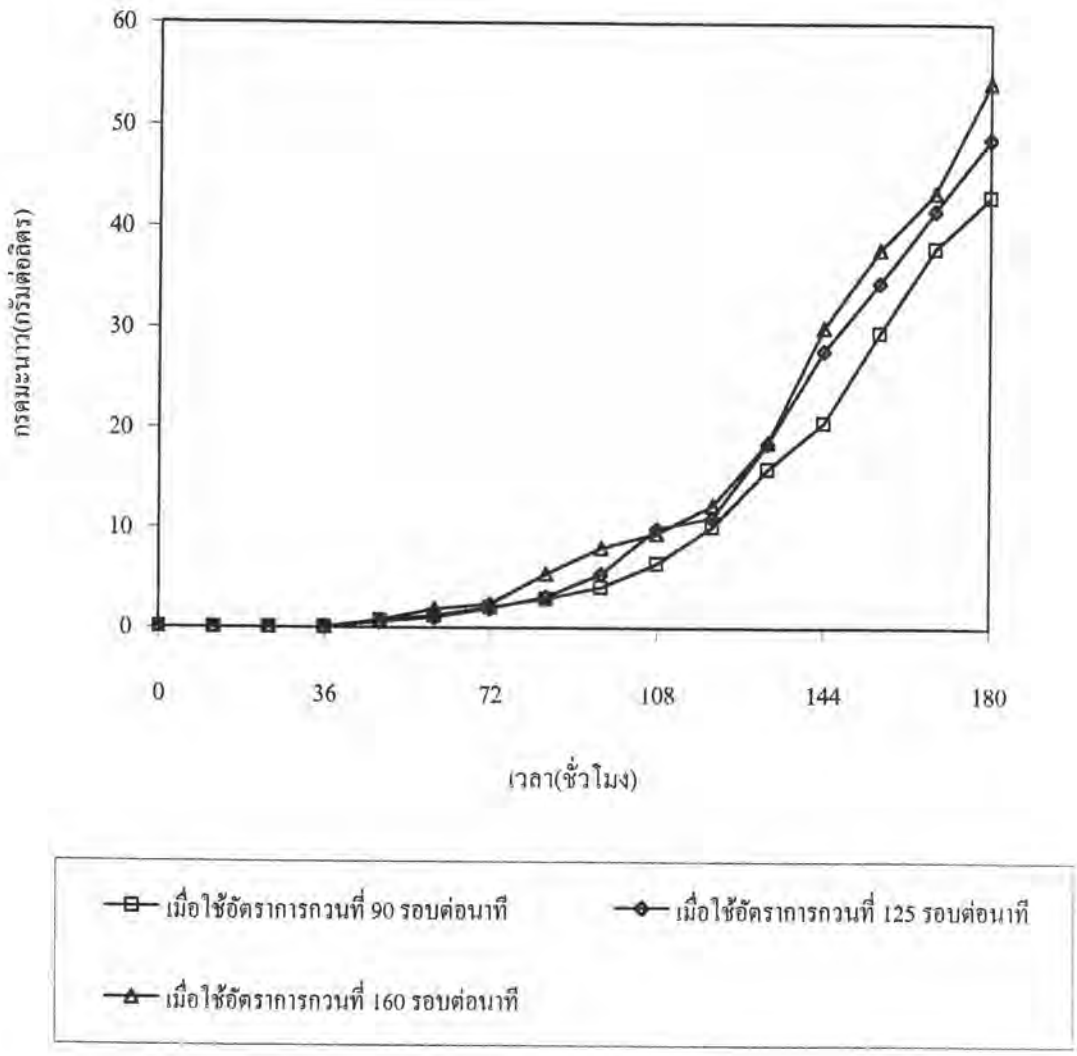
เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	กรดมะนาว (กรัมต่อลิตร)	ค่าความหนืด (เซนติพอยซ์)
0	6.97	6.05	196.54	246.94	0.00	25
12	6.78	8.40	193.32	240.75	0.00	25
24	6.59	8.80	188.61	233.13	0.01	25
36	6.42	10.13	183.89	221.97	0.09	25
48	6.38	11.18	180.78	219.51	0.75	25
60	6.35	13.97	176.18	217.06	1.88	25
72	6.32	14.03	171.44	215.32	2.37	25
84	6.34	15.20	170.08	211.58	5.43	25
96	6.33	15.89	168.16	209.84	8.02	25
108	6.32	16.15	167.22	205.61	9.50	25
120	6.32	16.23	165.79	202.50	12.31	50
132	6.32	17.03	149.98	180.94	18.57	50
144	6.28	17.75	130.11	167.68	30.01	75
156	6.25	18.05	121.41	156.75	37.78	75
168	6.22	19.08	112.75	140.29	43.35	75
180	6.20	19.78	99.56	128.70	54.22	75



รูปที่ 3-3 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยใช้อัตราการกวน 160 รอบต่อนาที

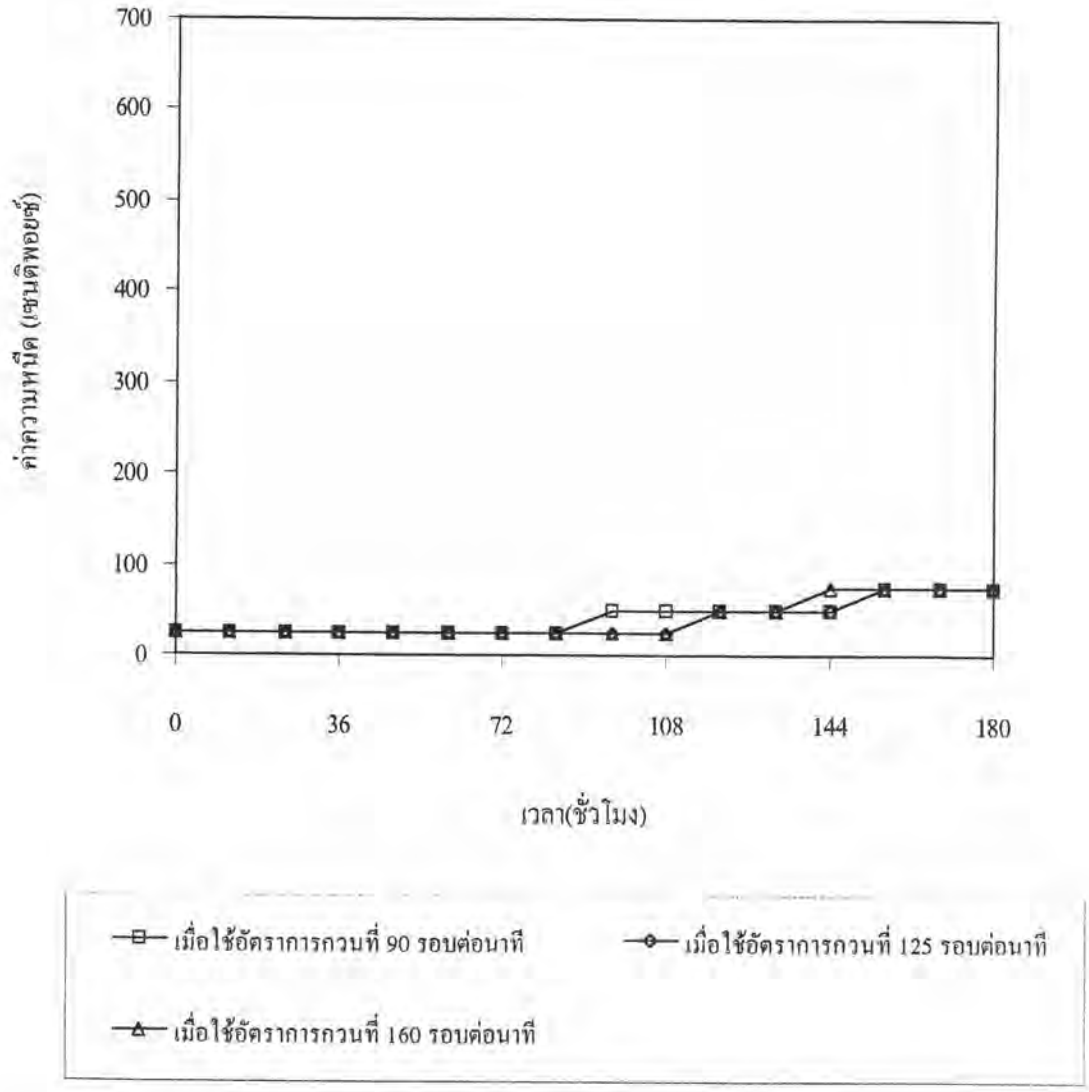
ผลที่ได้ พบว่า เชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 ประมาณ 19.78 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าความหนืดของน้ำหมัก 75 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 24 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 54.22 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 คิดเป็นปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมักได้ 493.40 กรัม ในระหว่างการหมักไม่มีการใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองเลย

จากผลการทดลองที่ 3.1.1 , 3.1.2 และ3.1.3 ทำการเปรียบเทียบผลการแปรผันอัตราการกวนที่ 90 , 125 และ160 รอบต่อนาที ตามลำดับ พบว่า



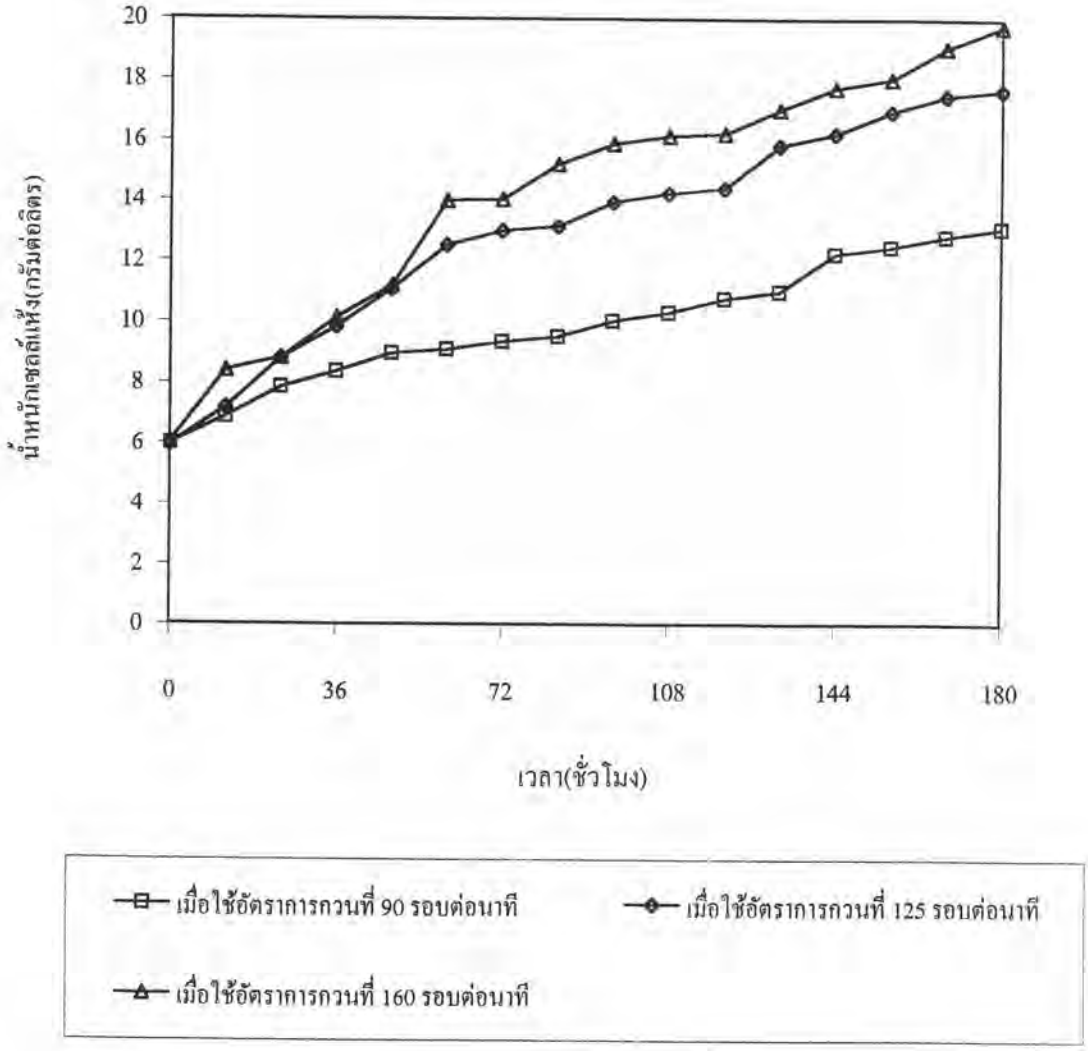
รูปที่ 3-4 การเปรียบเทียบปริมาณการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร จากการแปรผันอัตราการกวนที่ 90 , 125 และ 160 รอบต่อนาที

จาก **รูปที่ 3-4** การผลิตกรดมะนาวจะมีการเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณหลังจากชั่วโมงการหมักที่ 72 และจะเห็นได้ว่าเมื่อใช้อัตราการกวนสูงขึ้นจะส่งผลให้มีการผลิตกรดมะนาวสูงขึ้นตามไปด้วย คือที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 จะให้ผลผลิตกรดมะนาวเท่ากับ 42.91 , 48.71 และ54.22 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ



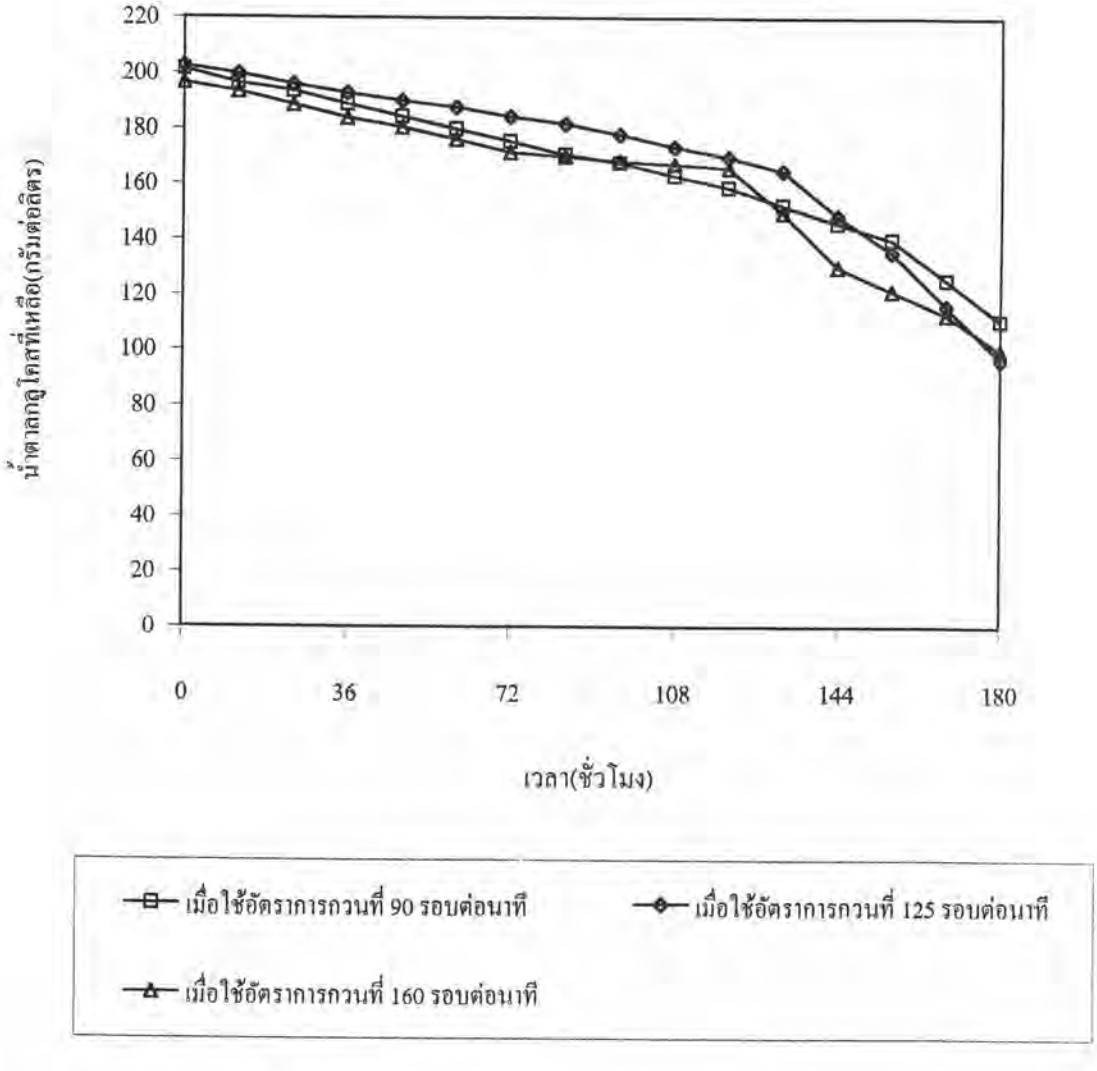
รูปที่ 3-5 การเปรียบเทียบค่าความหนืดของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร จากการแปรผันอัตราการกวนที่ 90 , 125 และ 160 รอบต่อนาที

จาก **รูปที่ 3-5** จะเห็นได้ว่าค่าความหนืดของน้ำหมักเมื่อทำการแปรผันอัตราการกวนที่ความเร็วรอบต่างๆมีค่าต่ำใกล้เคียงกันซึ่งโดยความเป็นจริงแล้วความหนืดควรมีค่าสูงขึ้นเมื่อกรดมะนาวเพิ่มขึ้นเนื่องจากกรดมะนาวที่ผลิตได้จะอยู่ในรูปเกลือแคลเซียมซิเตรตที่มีลักษณะข้น แต่ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากกรดมะนาวที่ผลิตได้มีปริมาณต่ำเพียงประมาณร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร)



รูปที่ 3-6 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเซลล์ของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร จากการแปรผันอัตราการกวนที่ 90 , 125 และ 160 รอบต่อนาที

จาก **รูปที่ 3-6** พบว่าหลังจากทำการหมักเป็นเวลา 36 ชั่วโมง แล้วการเจริญเติบโตของเซลล์จะเริ่มเห็นความแตกต่างได้ชัดเจนคือเมื่อทำการแปรผันอัตราการกวนที่ความเร็วรอบสูงขึ้น การเจริญของเซลล์จะเพิ่มขึ้น



รูปที่ 3-7 การเปรียบเทียบน้ำตาลกลูโคสที่เหลือของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร จากการแปรผันอัตราการกวนที่ 90 , 125 และ 160 รอบต่อนาที

จาก **รูปที่ 3-7** พบว่าการนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้สำหรับการเจริญเติบโตและการผลิตกรดมะนาวมีลักษณะใกล้เคียงกันทุกค่าการแปรผันอัตราการกวนคือที่ระยะการหมักชั่วโมงที่ 0 ถึง 120 เชื้อ *Candida oleophila* C-73 จะมีการนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้ช้ามากแต่หลังจากชั่วโมงการหมักที่ 120 เชื้อจะเริ่มนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้สูงขึ้นซึ่งสอดคล้องกับ **รูปที่ 3-4** และ **รูปที่ 3-6** ที่แสดงการผลิตกรดมะนาวและการเจริญเติบโตของเชื้อ *Candida oleophila* C-73 จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเชื้อมีการใช้น้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 3-4 การเปรียบเทียบค่าทางจลนพลศาสตร์ของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยทำการผันแปรอัตราการกวนที่ 90 , 125 และ 160 รอบต่อนาที

ค่าทางจลนพลศาสตร์	ภาวะการหมักต่าง ๆ		
	เมื่อใช้อัตราการกวนที่ 90 รอบต่อนาที	เมื่อใช้อัตราการกวนที่ 125 รอบต่อนาที	เมื่อใช้อัตราการกวนที่ 160 รอบต่อนาที
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) (ชั่วโมง$^{-1}$)	0.004	0.006	0.007
Biomass yield ($Y_{X/S}$) (กรัมเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาลกลูโคส)	0.078	0.111	0.142
Product yield ($Y_{P/S}$) (กรัมกรดมะนาวต่อกรัมน้ำตาลกลูโคส)	0.473	0.459	0.559
Productivity (กรัมกรดมะนาวต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.238	0.271	0.301

จาก **ตารางที่ 3-4** พบว่าเมื่อใช้อัตราการกวนสูงขึ้นจะส่งผลให้ค่าทางจลนพลศาสตร์ทุกค่าสูงตามไปด้วย อีกทั้งยังพบว่าการใช้อัตราการกวนเพิ่มขึ้นจะมีผลให้เหล็กกล้าไร้สนิมที่ทำเป็นรูปเข็มปลายแหลมที่ติดอยู่บนแกนกลางของใบพัดกวนมีความสามารถในการกำจัดฟองได้ดีโดยพบว่าอัตราการใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองจะลดลงเมื่อมีความเร็วรอบในการกวนสูงขึ้น ดังนั้นการใช้อัตราการกวนที่ 160 รอบต่อนาที จึงเป็นภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการผลิตกรดมะนาวด้วย *Candida oleophila* C-73 ต่อไปในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร

3.2 การผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยทำการผันแปรอัตราการให้อากาศ

การผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อยีสต์ *Candida oleophila* C-73 เป็นกระบวนการหมักในภาวะที่ต้องการออกซิเจน การเพิ่มปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำให้การผลิตกรดมะนาวเพิ่มสูงขึ้นในขณะเดียวกันปริมาณกรดไอโซซิตริกจะลดลง (Okoshi et al.,1987) นอกจากการกวนอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งเป็นการเพิ่มการละลายและการถ่ายเทออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดีขึ้นแล้ว การให้อากาศเข้าสู่ถังหมักโดยตรงก็เป็นอีกวิธีหนึ่ง Chung และ Chang (1988) รายงานว่าการผลิตกรดมะนาวจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อให้ออกซิเจนบริสุทธิ์เข้าไปในถังหมัก

จึงทำการทดลองโดยเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร ตามวิธีการทดลอง 2.4.4 แต่ควบคุมอัตราการกวน 160 รอบต่อนาทีแล้วติดตามการเจริญเติบโตของเซลล์ (น้ำหนักเซลล์แห้ง) การใช้น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวส์ การผลิตกรดมะนาว ค่าความหนืด และค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก โดยเปรียบเทียบการผันแปรควบคุมอัตราการให้อากาศ 1.0 , 1.5 และ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที เก็บตัวอย่างครั้งละ 60 มิลลิลิตร ทุก 12 ชั่วโมง

3.2.1 ผลของการควบคุมอัตราการให้อากาศ 1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที

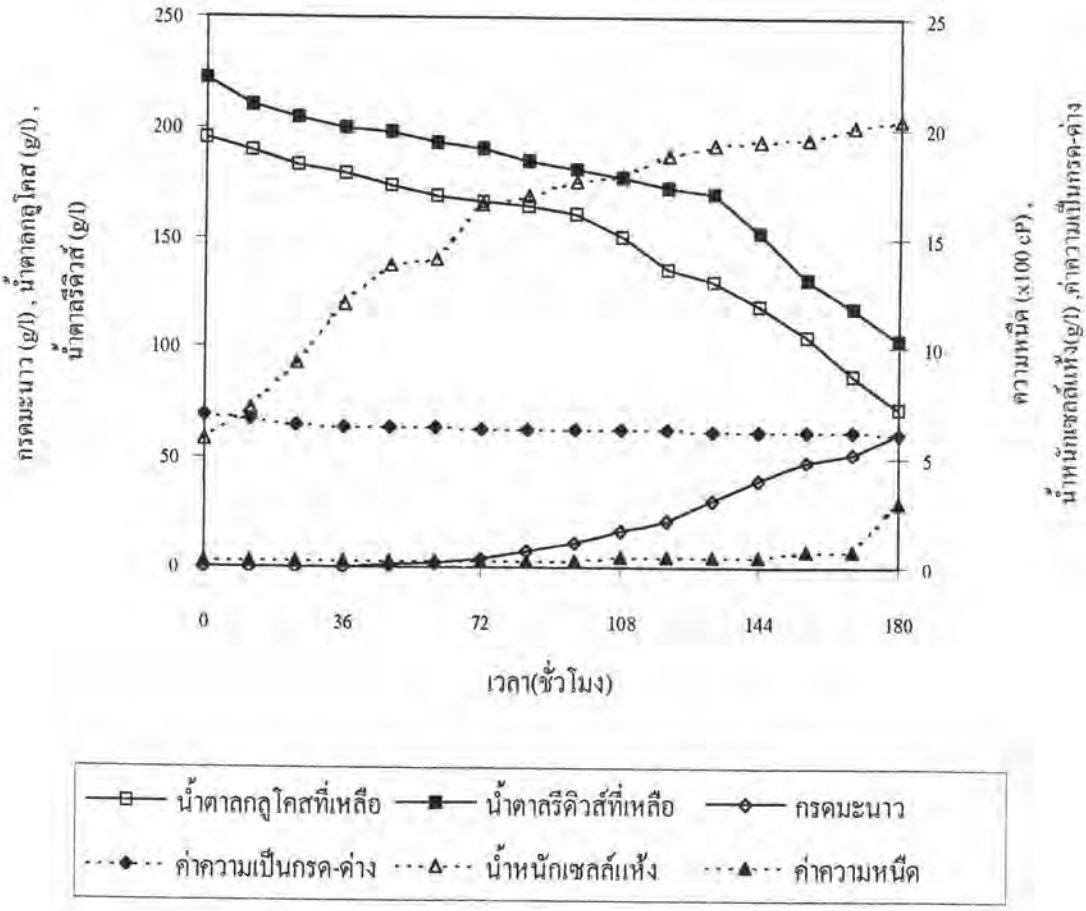
ผลที่ได้ดังแสดงใน ตารางที่ 3-3 และ รูปที่ 3-3 ซึ่งได้ทำไปแล้ว พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ ชั่วโมงการหมักที่ 180 ประมาณ 19.78 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าความหนืดของน้ำหมัก 75 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 24 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 54.22 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 คิดเป็นปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมักได้ 493.40 กรัม ในระหว่างการหมักไม่มีการใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองเลย

3.2.2 ผลของการควบคุมอัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที

ผลที่ได้จากการให้อากาศในอัตรา 1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที ได้ผลของปริมาณกรดมะนาวที่ผลิต ค่าความหนืดของน้ำหมัก การเจริญเติบโตของเซลล์(น้ำหนักเซลล์แห้ง) ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลืออยู่ ดังแสดงในตารางที่ 3-5 และ รูปที่ 3-8

ตารางที่ 3-5 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยใช้อัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	กรดมะนาว (กรัมต่อลิตร)	ค่าความหนืด (เซนติพอยซ์)
0	7.01	5.87	195.42	222.12	0.00	25
12	6.79	7.24	189.94	210.44	0.00	25
24	6.46	9.32	183.16	204.35	0.02	25
36	6.41	12.03	178.95	200.13	0.08	25
48	6.37	13.74	174.03	198.04	1.05	25
60	6.38	13.99	168.91	193.18	2.07	25
72	6.36	16.56	166.76	190.19	3.98	25
84	6.34	16.87	164.07	185.31	7.35	25
96	6.35	17.52	160.78	181.07	10.71	25
108	6.35	17.81	150.64	177.92	17.14	50
120	6.32	18.74	135.24	173.21	21.80	50
132	6.27	19.23	130.23	169.95	30.79	50
144	6.22	19.46	118.68	152.33	40.14	50
156	6.20	19.51	105.15	130.72	48.55	75
168	6.20	20.11	86.93	117.64	52.34	75
180	6.14	20.33	72.69	102.81	61.36	300



รูปที่ 3-8 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยใช้อัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที

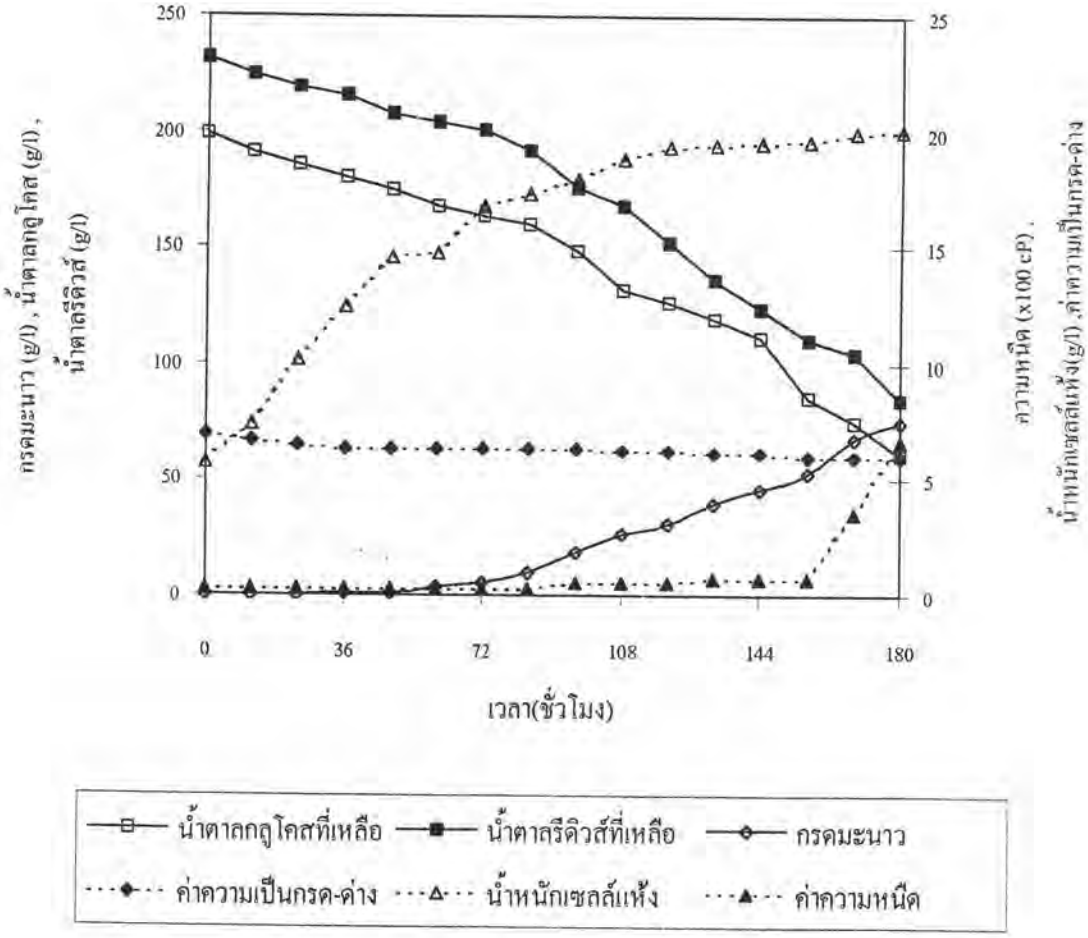
ผลที่ได้พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 ประมาณ 20.33 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าความหนืดของน้ำหมัก 300 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 24 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 61.36 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 คิดเป็นปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมักได้ 558.38 กรัม ในระหว่างการหมักไม่มีการใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองเลย

3.2.3 ผลของการควบคุมอัตราการให้อากาศ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที

ผลที่ได้จากการให้อากาศในอัตรา 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที ได้ผลของปริมาณกรดมะนาวที่ผลิต ค่าความหนืดของน้ำหมัก การเจริญเติบโตของเซลล์(น้ำหนักเซลล์แห้ง) ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลืออยู่ ดังแสดงใน **ตารางที่ 3-6** และ **รูปที่ 3-9**

ตารางที่ 3-6 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยใช้อัตราการให้อากาศ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที

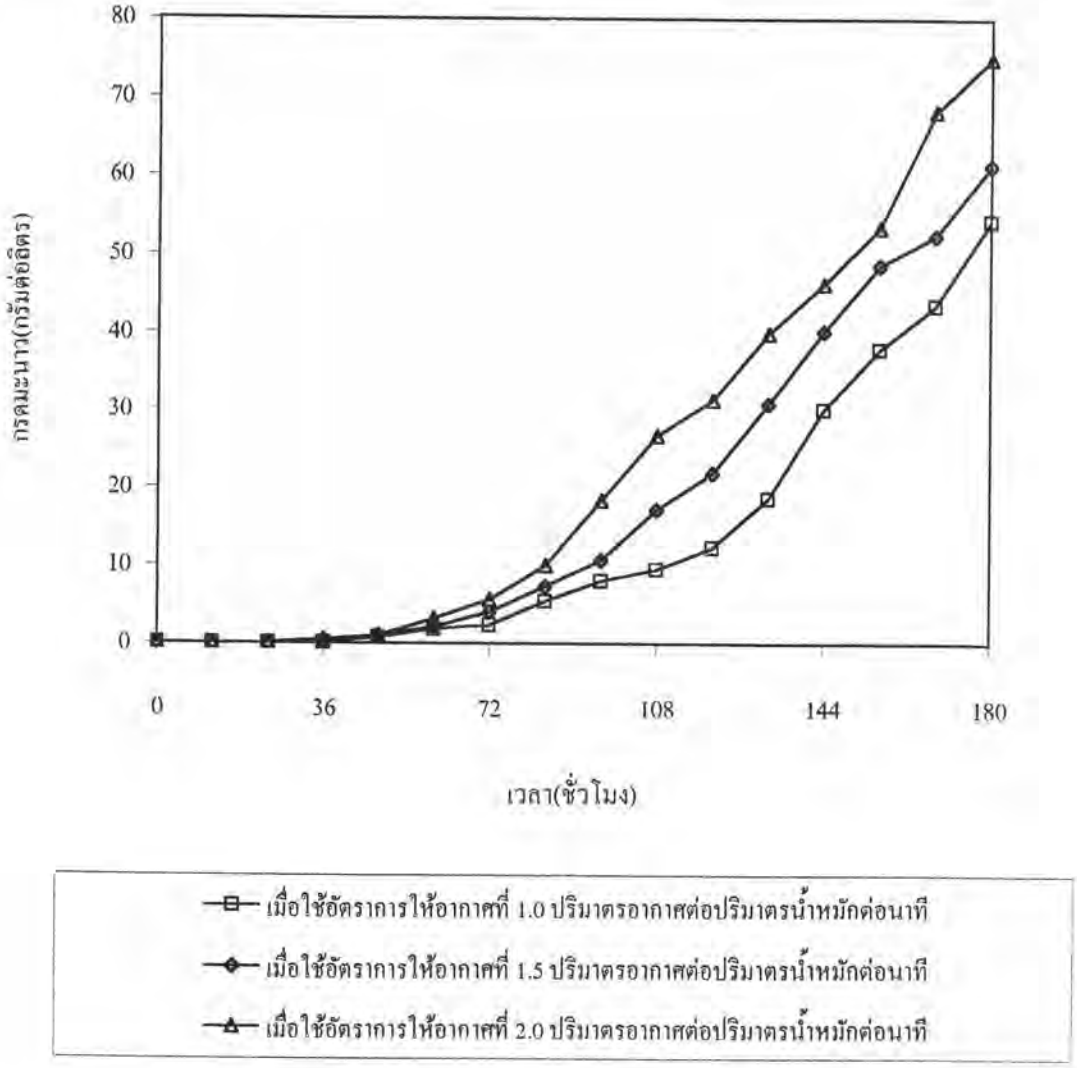
เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	กรดมะนาว (กรัมต่อลิตร)	ค่าความหนืด (เซนติพอยซ์)
0	6.96	5.73	198.43	231.43	0.00	25
12	6.74	7.43	191.01	224.15	0.00	25
24	6.51	10.13	185.64	218.95	0.07	25
36	6.40	12.45	180.18	215.64	0.47	25
48	6.37	14.55	174.50	207.85	1.03	25
60	6.36	14.75	168.27	204.08	3.18	25
72	6.36	16.75	163.22	200.10	5.64	25
84	6.35	17.35	159.99	191.75	10.00	25
96	6.33	17.95	148.38	176.18	18.34	50
108	6.28	18.83	131.52	167.47	26.70	50
120	6.27	19.38	126.21	152.05	31.29	50
132	6.18	19.43	119.15	136.02	39.90	75
144	6.16	19.48	110.93	123.50	46.25	75
156	6.04	19.58	85.49	110.44	53.40	75
168	6.01	19.98	74.65	104.59	68.20	350
180	5.99	20.08	60.70	84.67	75.00	675



รูปที่ 3-9 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยใช้อัตราการให้อากาศ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที

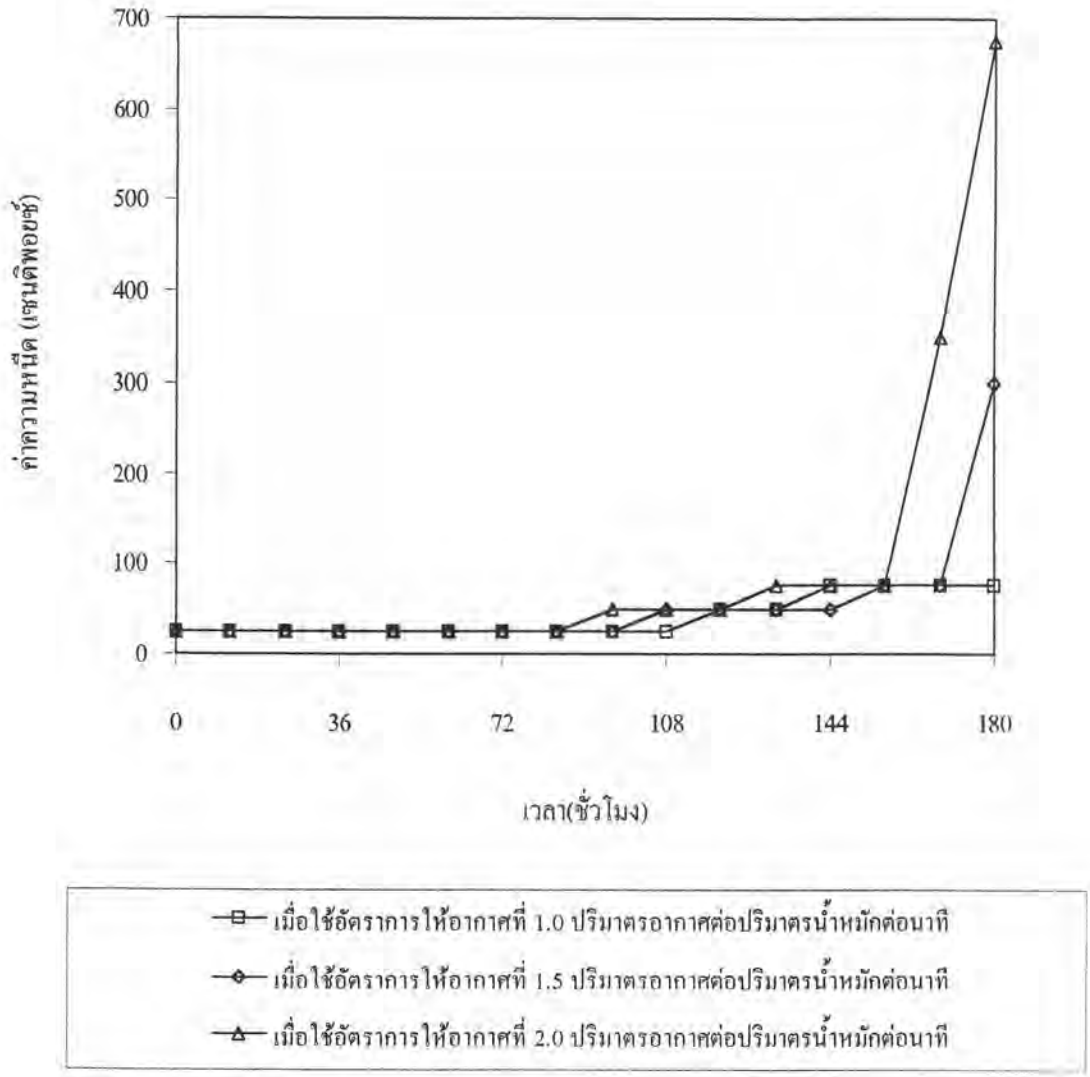
ผลที่ได้พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 ประมาณ 20.08 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าความหนืดของน้ำหมัก 675 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 24 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 75.00 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 คิดเป็นปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมักได้ 682.50 กรัม ในระหว่างการหมักไม่มีการใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองเลย

จากผลการทดลองที่ 3.2.1 , 3.2.2 และ3.2.3 ทำการเปรียบเทียบผลการแปรผันอัตราการให้อากาศที่ 1.0 , 1.5 และ2.0 ตามลำดับ พบว่า



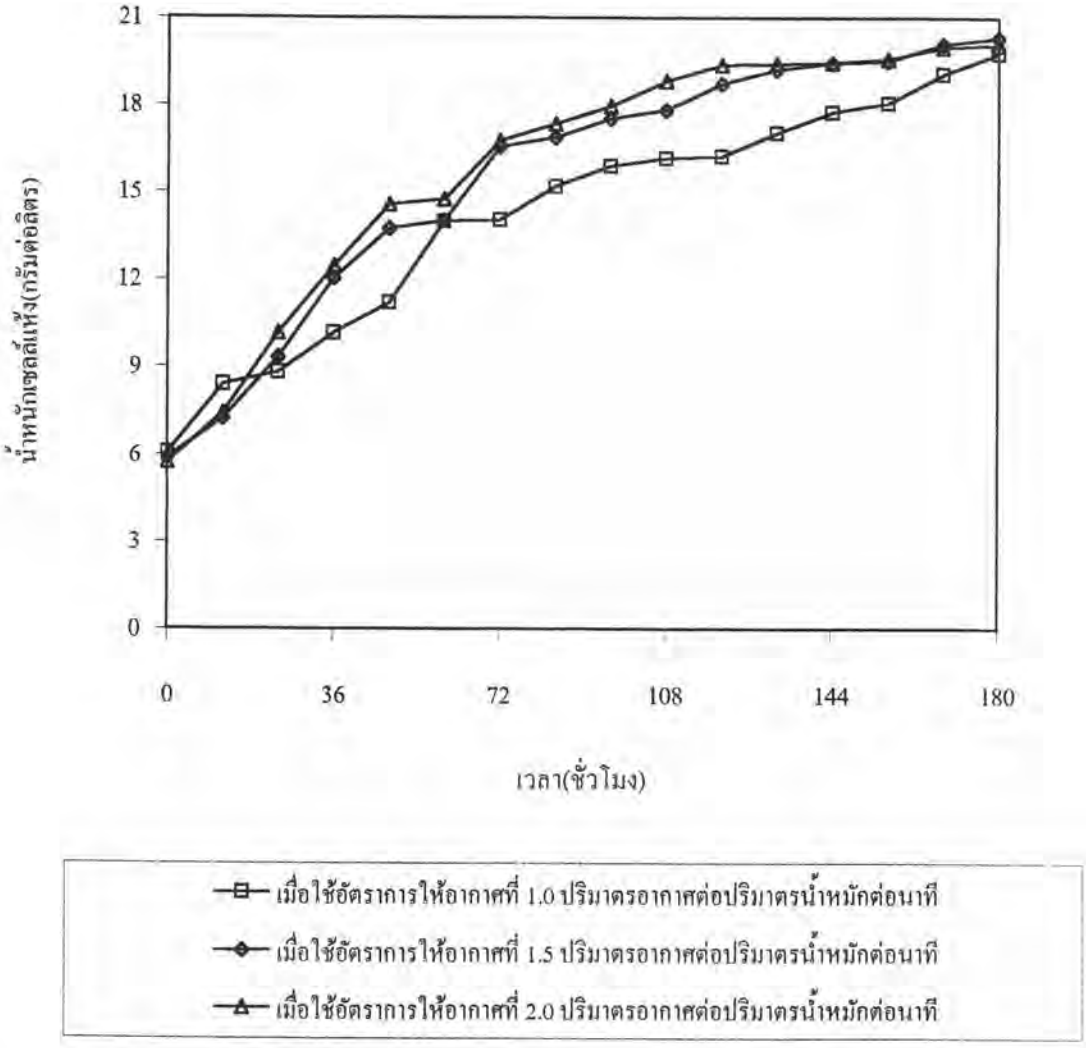
รูปที่ 3-10 การเปรียบเทียบปริมาณการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร จากการแปรผันอัตราการให้อากาศที่ 1.0 , 1.5 และ2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที

จาก **รูปที่ 3-10** การผลิตกรดมะนาวจะมีการเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณหลังจากชั่วโมงการหมักที่ 72 และจะเห็นได้ว่าเมื่อใช้อัตราการให้อากาศสูงขึ้นจะส่งผลให้มีการผลิตกรดมะนาวสูงขึ้นตามไปด้วยคือที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 จะให้ผลผลิตกรดมะนาวเท่ากับ 54.22 , 61.36 และ75.00 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ



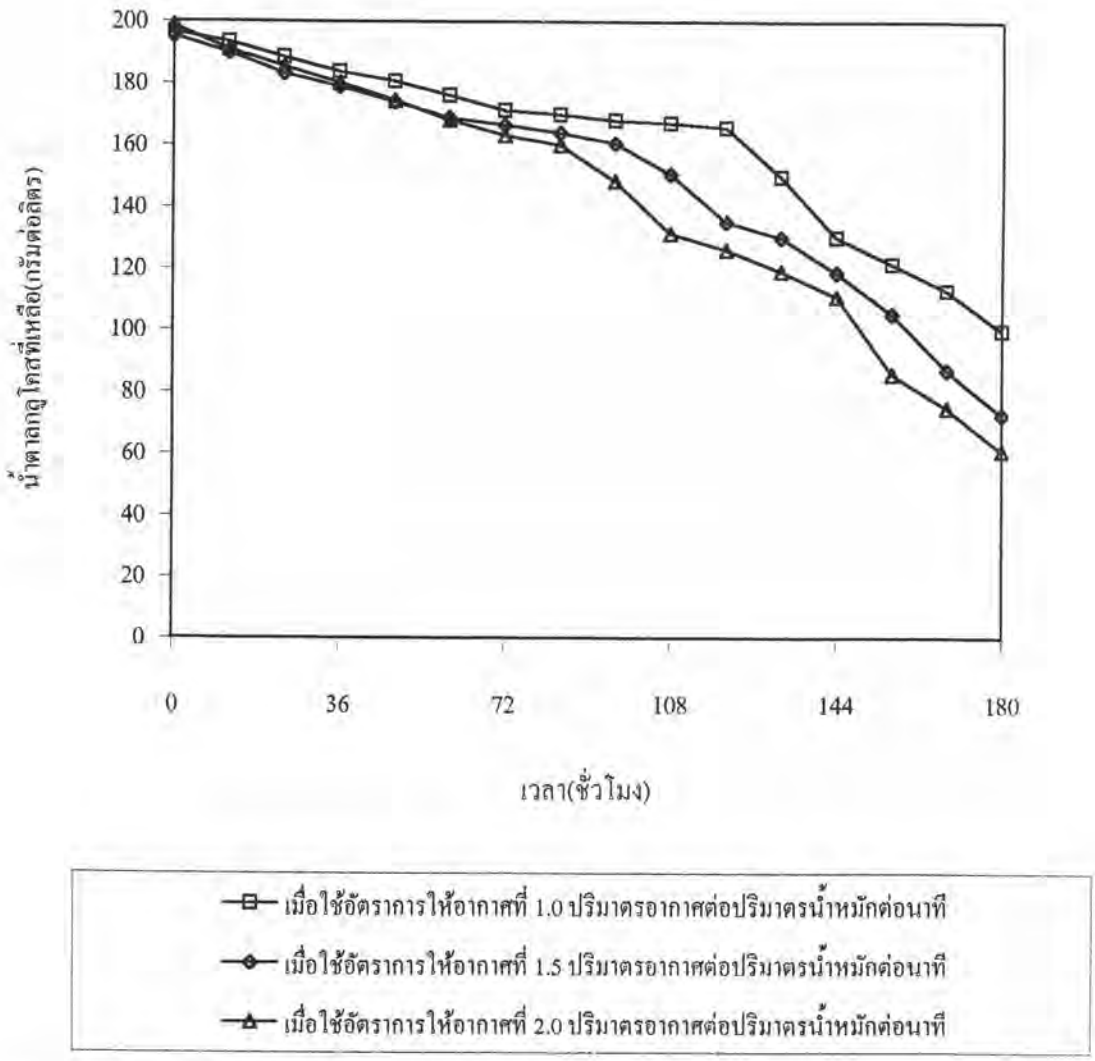
รูปที่ 3-11 การเปรียบเทียบค่าความหนืดของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร จากการแปรผันอัตราการให้อากาศที่ 1.0 , 1.5 และ2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที

จาก **รูปที่ 3-11** จะเห็นได้ว่าค่าความหนืดที่ระยะเวลาการหมักชั่วโมงที่ 0 ถึง 156 จะมีความหนืดค่อนข้างคงที่แต่หลังจากชั่วโมงการหมักที่ 156 ความหนืดของน้ำหมักที่เกิดจากการผลิตกรดมะนาวในรูปเกลือแคลเซียมซิเตรตจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อผันแปรอัตราการให้อากาศเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ **รูปที่ 3-10** คือที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 จะให้ผลผลิตกรดมะนาวประมาณร้อยละ 5.4 , 6.1 และ7.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เมื่อใช้อัตราการให้อากาศ 1.0 , 1.5 และ2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที ตามลำดับ



รูปที่ 3-12 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเซลล์ของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร จากการแปรผันอัตราการให้อากาศที่ 1.0 , 1.5 และ2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที

จาก **รูปที่ 3-12** พบว่าหลังจากทำการหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้ว การเจริญเติบโตของเซลล์จะเริ่มเห็นความแตกต่างได้ชัดเจนคือเมื่อใช้อัตราการให้อากาศ 1.5 และ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาทีการเจริญของเซลล์จะใกล้เคียงกันแต่จะสูงกว่าเมื่อใช้อัตราการให้อากาศ 1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที



รูปที่ 3-13 การเปรียบเทียบน้ำตาลกลูโคสที่เหลือของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร จากการแปรผันอัตราการให้อากาศที่ 1.0 , 1.5 และ2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที

จาก **รูปที่ 3-13** พบว่าการนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้สำหรับการเจริญเติบโตและการผลิตกรดมะนาวเมื่อทำการแปรผันอัตราการให้อากาศที่ 1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที เชื้อ *Candida oleophila* C-73 จะมีการนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้ช้ากว่าที่อัตราการให้อากาศ 1.5 และ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที ตามลำดับ แต่หลังจากชั่วโมงการหมักที่ 120 เชื้อจึงจะเริ่มนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้สูงขึ้น

ตารางที่ 3-7 การเปรียบเทียบค่าทางจลนพลศาสตร์ของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยทำการแปรผันอัตราการให้อากาศที่ 1.0 , 1.5 และ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที

ค่าทางจลนพลศาสตร์	ภาวะการหมักต่าง ๆ		
	เมื่อใช้อัตราการให้อากาศที่ 1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	เมื่อใช้อัตราการให้อากาศที่ 1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที	เมื่อใช้อัตราการให้อากาศที่ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) (ชั่วโมง$^{-1}$)	0.007	0.007	0.007
Biomass yield ($Y_{X/S}$) (กรัมเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาลกลูโคส)	0.142	0.118	0.104
Product yield ($Y_{P/S}$) (กรัมกรดมะนาวต่อกรัมน้ำตาลกลูโคส)	0.559	0.500	0.545
Productivity (กรัมกรดมะนาวต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.301	0.341	0.417

จาก ตารางที่ 3-7 พบว่าความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสเพื่อนำไปสร้างเป็นเซลล์ ($Y_{X/S}$) และผลิตภัณฑ์ ($Y_{P/S}$) ที่อัตราการให้อากาศ 1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาทีจะมีความสามารถในการสร้างเซลล์และกรดมะนาวสูงที่สุดแต่พบว่าอัตราการผลิตกรดมะนาว (Productivity) ที่อัตราการให้อากาศ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที จะมีความสามารถผลิตกรดมะนาวได้สูงที่สุด

ดังนั้นภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการผลิตกรดมะนาวด้วย *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร นี้คือ การใช้อัตราการให้อากาศที่ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที ซึ่งจะให้ผลผลิตกรดมะนาวที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 ประมาณ 75.00 กรัมต่อลิตร

3.3 การผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร เมื่อทำการผันแปรปริมาณการใช้หัวเชื้อเริ่มต้น

ประเสริฐ หาญเมืองใจ (2537) รายงานว่าการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นของ *Candida oleophila* C-73 ที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดมะนาว คือใช้หัวเชื้อคิดเป็นน้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 7 กรัมต่อลิตร จากการเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการเจริญ (Yeast Malt Extract Medium) ซึ่งจะอยู่ในช่วงท้ายของการเจริญแบบทวีคูณ (ภาคผนวก ข) ก่อนที่จะนำมาเลี้ยงต่อในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาว ปริมาณร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) แต่จากการทดลองที่ผ่านมาในผลการทดลองที่ **3.1**จากรูปที่ 3-4 และรูปที่ 3-6 และผลการทดลองที่ **3.2** จากรูปที่ 3-10 และรูปที่ 3-12 พบว่าอัตราการผลิตกรดมะนาว (Productivity) จะมีปริมาณมากขึ้นเมื่อมีปริมาณของเชื้อ *Candida oleophila* C-73 เพิ่มขึ้น

จึงทำการทดลองโดยเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร ตามวิธีการทดลอง 2.4.4 แต่ควบคุมอัตราการกวน 160 รอบต่อนาทีและควบคุมอัตราการให้อากาศ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที แล้วติดตามการเจริญเติบโตของเซลล์ (น้ำหนักเซลล์แห้ง) การใช้น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวส์ การผลิตกรดมะนาว ค่าความหนืด และค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก โดยเปรียบเทียบการผันแปรปริมาณการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นที่ปริมาณร้อยละ 10 และ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เก็บตัวอย่างครั้งละ 60 มิลลิลิตร ทุก 12 ชั่วโมง

3.3.1 ผลของการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นปริมาณร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร)

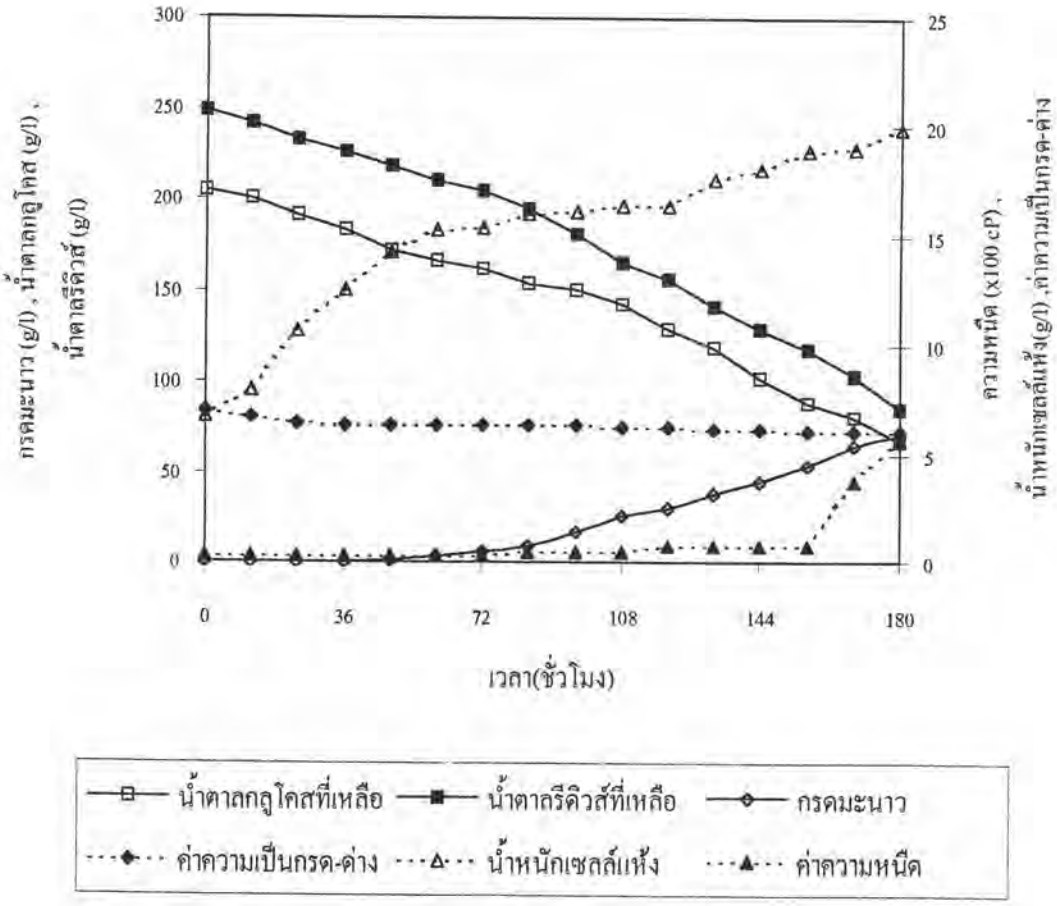
ผลที่ได้ดังแสดงใน **ตารางที่ 3-6** และ **รูปที่ 3-9** ซึ่งได้ทำไปแล้ว พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ ชั่วโมงการหมักที่ 180 ประมาณ 20.08 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าความหนืดของน้ำหมัก 675 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 24 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 75.00 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 คิดเป็นปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมักได้ 682.50 กรัม ในระหว่างการหมักไม่มีการใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองเลย

3.3.2 ผลของการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นปริมาณร้อยละ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร)

ผลที่ได้จากการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นปริมาณร้อยละ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ได้ผลของปริมาณกรดมะนาวที่ผลิต ค่าความหนืดของน้ำหมัก การเจริญเติบโตของเซลล์ (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลืออยู่ ดังแสดงใน ตารางที่ 3-8 และ รูปที่ 3-14

ตารางที่ 3-8 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร)

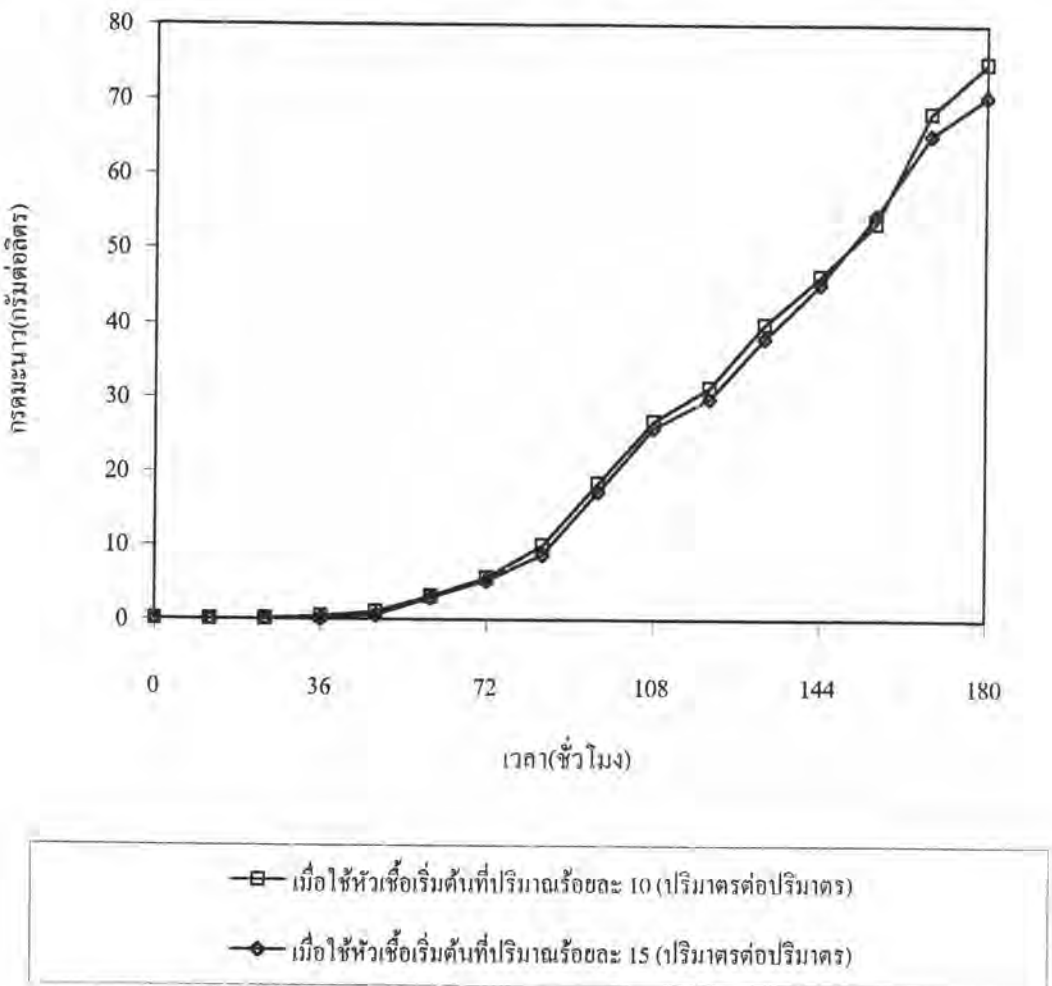
เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	กรดมะนาว (กรัมต่อลิตร)	ค่าความหนืด (เซนติพอยซ์)
0	7.02	6.73	204.65	248.14	0.00	25
12	6.75	7.93	200.41	241.07	0.00	25
24	6.48	10.65	191.16	232.79	0.03	25
36	6.41	12.55	182.83	225.62	0.17	25
48	6.40	14.23	172.11	217.43	0.64	25
60	6.37	15.23	166.81	210.12	2.95	25
72	6.35	15.35	161.40	204.10	5.24	25
84	6.34	15.98	154.23	194.76	8.76	50
96	6.34	16.08	150.89	181.07	17.21	50
108	6.29	16.38	142.17	165.49	25.87	50
120	6.27	16.43	129.64	155.75	29.78	75
132	6.21	17.58	118.66	141.13	37.99	75
144	6.15	18.09	101.98	128.70	45.25	75
156	6.11	18.88	88.46	117.51	54.42	75
168	6.09	19.03	80.61	103.02	65.21	375
180	6.08	19.93	67.74	85.68	70.50	575



รูปที่ 3-14 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร)

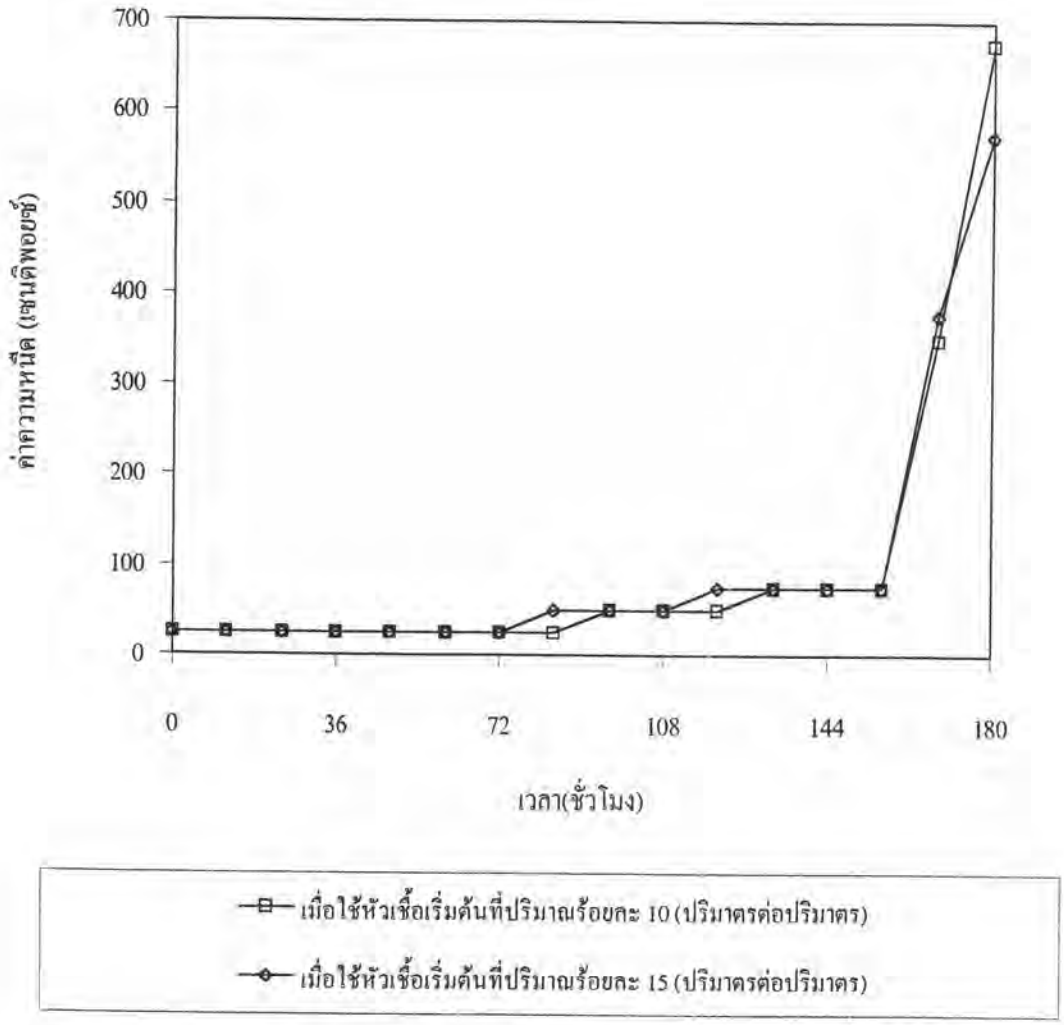
ผลที่ได้พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 ประมาณ 19.93 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าความหนืดของน้ำหมัก 575 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 24 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 70.50 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 คิดเป็นปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมักได้ 641.55 กรัม ในระหว่างการหมักไม่มีการใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองเลย

จากผลการทดลองที่ 3.3.1 และ3.3.2 ทำการเปรียบเทียบผลการแปรผันปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 และ15 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ตามลำดับ พบว่า



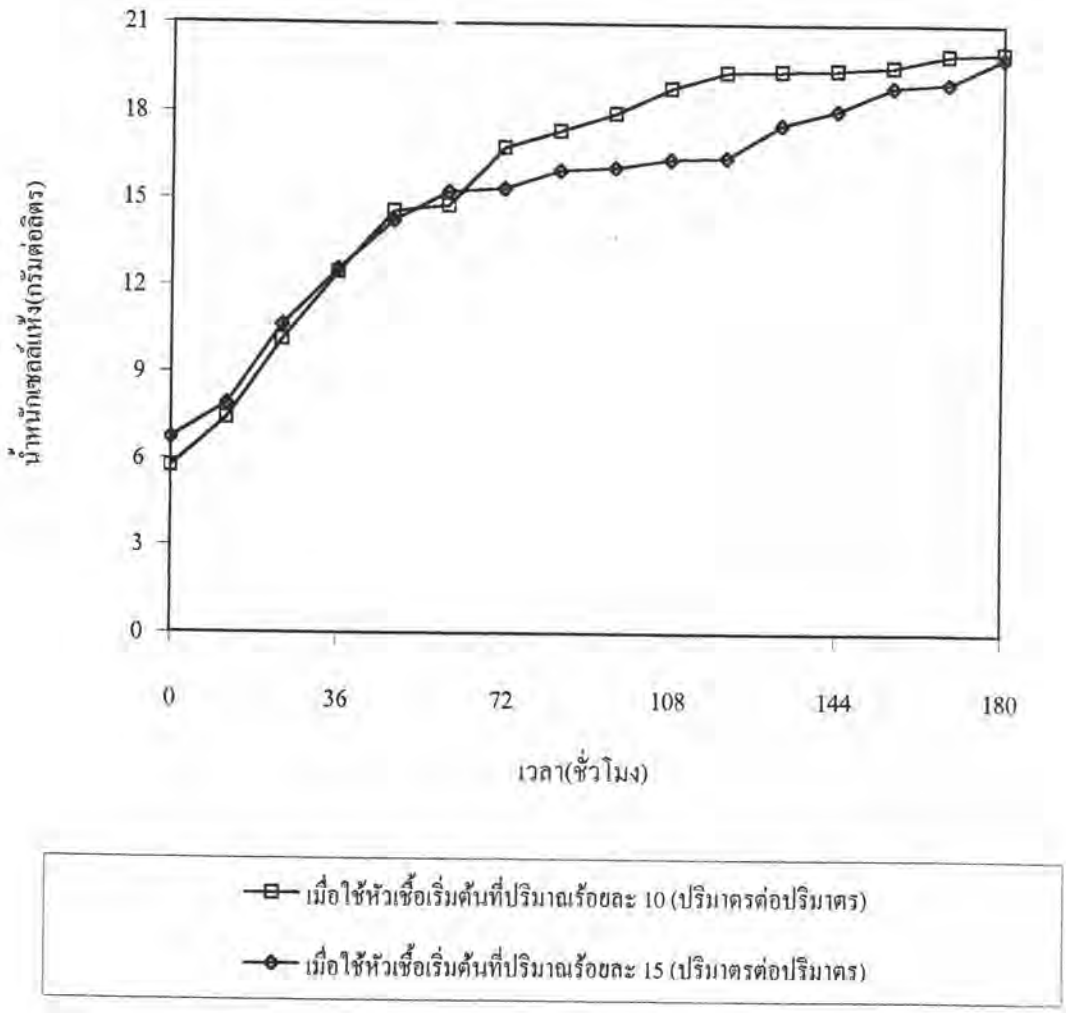
รูปที่ 3-15 การเปรียบเทียบปริมาณการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร จากการแปรผันปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 และ15 (ปริมาตรต่อปริมาตร)

จาก **รูปที่ 3-15** การผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 จะเริ่มมีการเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณหลังจากชั่วโมงการหมักที่ 48 โดยจะเห็นได้ว่าการใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 และ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร) มีการผลิตกรดมะนาวใกล้เคียงกัน แต่ในชั่วโมงการหมักที่ 180 การใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) จะให้ผลผลิตกรดมะนาว 75.00 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ที่ให้ผลผลิตกรดมะนาว 70.50 กรัมต่อลิตร



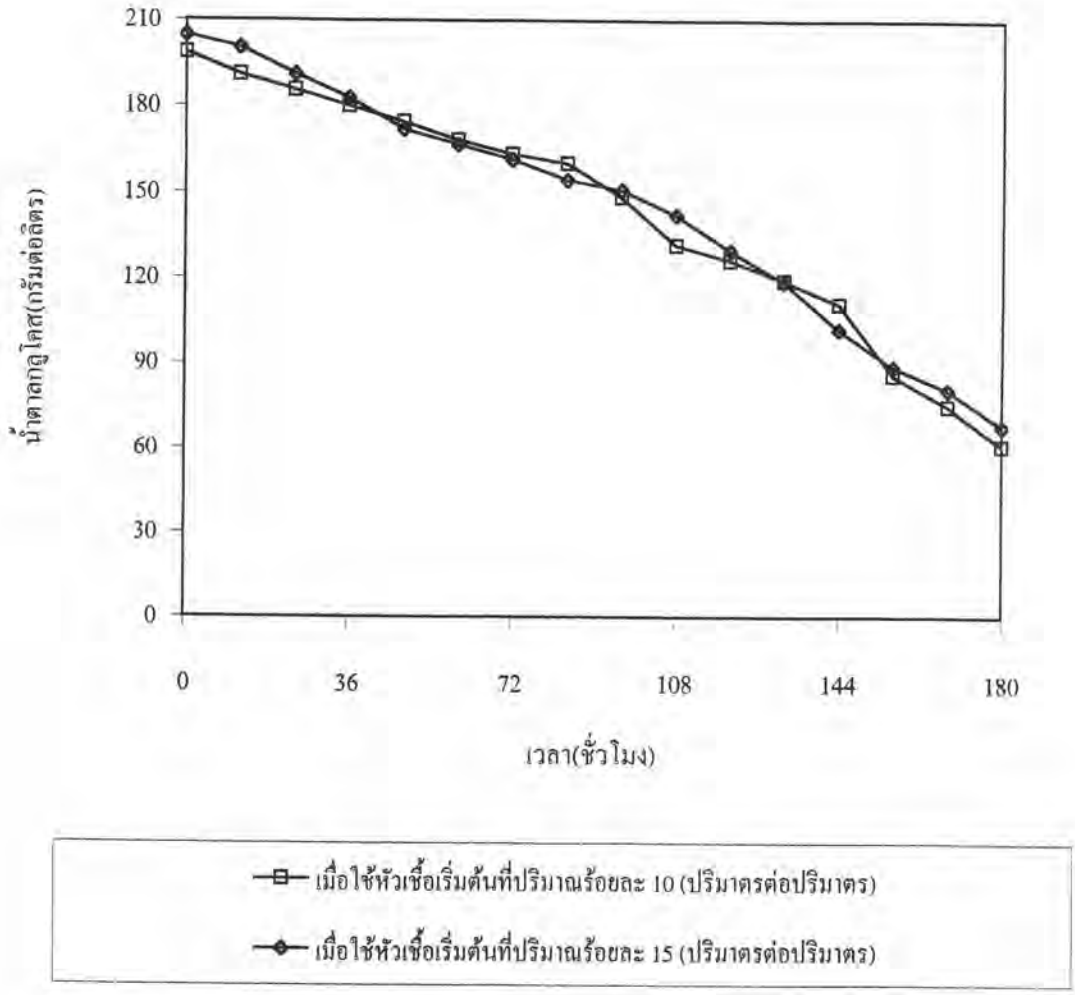
รูปที่ 3-16 การเปรียบเทียบค่าความหนืดของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร จากการแปรผันปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 และ15 (ปริมาตรต่อปริมาตร)

จาก **รูปที่ 3-16** จะเห็นได้ว่าค่าความหนืดที่ระยะเวลาการหมักชั่วโมงที่ 0 ถึง 156 จะมีความหนืดค่อนข้างคงที่แต่หลังจากชั่วโมงการหมักที่ 156 ความหนืดของน้ำหมักที่เกิดจากการผลิตกรดมะนาวในรูปเกลือแคลเซียมซิเตรตจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยที่ในชั่วโมงการหมักที่ 180 การใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) จะมีค่าความหนืดสูงกว่าการใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เล็กน้อยซึ่งสอดคล้องกับ **รูปที่ 3-15** คือความหนืดของน้ำหมักจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการผลิตกรดมะนาวเพิ่มขึ้น



รูปที่ 3-17 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเซลล์ของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร จากการแปรผันปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 และ15 (ปริมาตรต่อปริมาตร)

จาก **รูปที่ 3-17** พบว่าหลังจากทำการหมักเป็นเวลา 56 ชั่วโมงแล้ว การเจริญเติบโตของเซลล์จะเริ่มเห็นความแตกต่างได้ชัดเจนคือการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นที่ปริมาณร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เชื้อ *Candida oleophila* C-73 จะมีอัตราการเจริญสูงกว่าการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นที่ปริมาณร้อยละ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร)



รูปที่ 3-18 การเปรียบเทียบน้ำตาลกลูโคสที่เหลือของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร จากการแปรผันปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 และ15 (ปริมาตรต่อปริมาตร)

จาก **รูปที่ 3-18** พบว่าการนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้สำหรับการเจริญเติบโตและการผลิตกรดมะนาวเมื่อทำการแปรผันปริมาณหัวเชื้อ *Candida oleophila* C-73 เริ่มต้นร้อยละ 10 และ15 (ปริมาตรต่อปริมาตร) จะใกล้เคียงกันมากโดยจากรูปจะเห็นได้ว่าอัตราการนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้ค่อนข้างคงที่แต่หลังจากชั่วโมงการหมักที่ 96 เชื้อจึงจะเริ่มนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้สูงขึ้นเล็กน้อยซึ่งสอดคล้องกับ **รูปที่ 3-15** และ **รูปที่ 3-17** ที่แสดงการผลิตกรดมะนาวและการเจริญเติบโตของเชื้อ *Candida oleophila* C-73 จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเชื้อมีการใช้น้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 3-9 การเปรียบเทียบค่าทางจลนพลศาสตร์ของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยทำการแปรผันปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 และ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร)

ค่าทางจลนพลศาสตร์	ภาวะการหมักต่าง ๆ	
	เมื่อใช้หัวเชื้อเริ่มต้นที่ปริมาณร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร)	เมื่อใช้หัวเชื้อเริ่มต้นที่ปริมาณร้อยละ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร)
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) (ชั่วโมง$^{-1}$)	0.007	0.006
Biomass yield ($Y_{X/S}$) (กรัมเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาลกลูโคส)	0.104	0.096
Product yield ($Y_{P/S}$) (กรัมกรดมะนาวต่อกรัมน้ำตาลกลูโคส)	0.545	0.515
Productivity (กรัมกรดมะนาวต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.417	0.392

จาก **ตารางที่ 3-9** พบว่าเมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) จะมีค่าทางจลนพลศาสตร์ทุกค่าสูงกว่าเมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร)

ดังนั้นภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการผลิตกรดมะนาวด้วย *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร นี้คือ การใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ซึ่งจะให้ผลผลิตกรดมะนาวที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 ประมาณ 75.00 กรัมต่อลิตร

3.4 การผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร เมื่อเติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ ลงในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาว

เรวดี เลิศไตรรักษ์ (2535) รายงานว่า การเติมวิตะมินบี 1 ในรูป ไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ ลงในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวจะมีผลต่อการเจริญและการผลิตกรดมะนาว ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร ตามวิธีการทดลอง 2.4.4 แต่ควบคุมอัตราการกวนที่ 160 รอบต่อนาที และควบคุมอัตราการให้อากาศที่ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที แล้วติดตามการเจริญเติบโตของเซลล์ (น้ำหนักเซลล์แห้ง) การใช้น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวส์ การผลิตกรดมะนาว ค่าความหนืด และค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก โดยเปรียบเทียบระหว่างการเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาว (ภาคผนวก ก2.4) ที่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ 0.01 กรัมต่อลิตร กับการเลี้ยงในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวปกติที่ไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ เก็บตัวอย่างครั้งละ 60 มิลลิลิตร ทุก 12 ชั่วโมง

3.4.1 ผลของการไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์

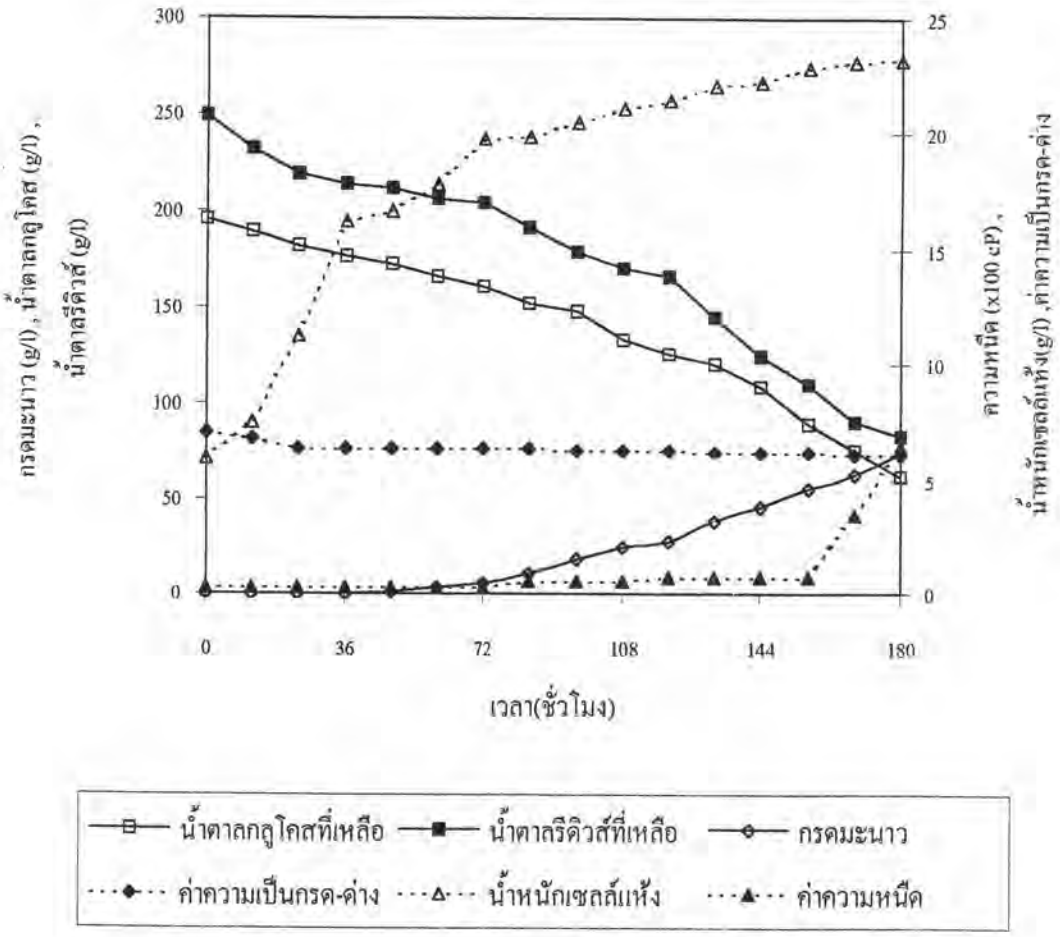
ผลที่ได้ดังแสดงใน **ตารางที่ 3-6** และ **รูปที่ 3-9** ซึ่งได้ทำไปแล้ว พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ ชั่วโมงการหมักที่ 180 ประมาณ 20.08 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าความหนืดของน้ำหมัก 675 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 24 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 75.00 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 คิดเป็นปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมักได้ 682.50 กรัม ในระหว่างการหมักไม่มีการใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองเลย

3.4.2 ผลของการเติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์

ผลที่ได้จากการเติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรดมะนาว พบว่าปริมาณกรดมะนาวที่ผลิต ค่าความหนืดของน้ำหมัก การเจริญเติบโตของเซลล์(น้ำหนักเซลล์แห้ง) ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลืออยู่ ดังแสดงใน **ตารางที่ 3-10** และ **รูปที่ 3-19**

ตารางที่ 3-10 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวที่เติมไขอะมีนไฮโดรคลอไรด์ ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร

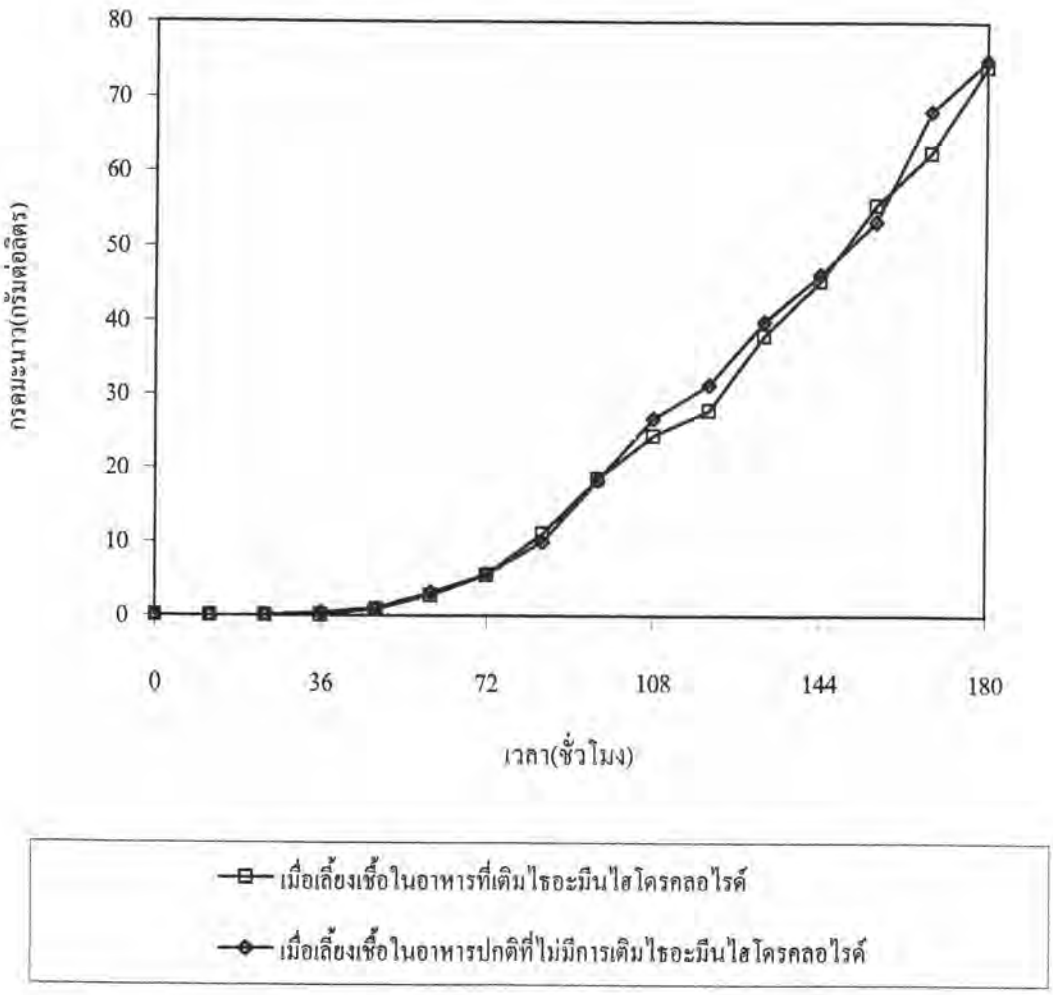
เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	กรดมะนาว (กรัมต่อลิตร)	ค่าความหนืด (เซนติพอยซ์)
0	7.05	5.95	195.66	248.44	0.00	25
12	6.80	7.51	188.97	232.21	0.00	25
24	6.38	11.23	181.78	218.72	0.04	25
36	6.38	16.23	176.15	213.96	0.11	25
48	6.37	16.63	172.10	211.83	0.85	25
60	6.38	17.80	165.76	206.09	2.77	25
72	6.36	19.78	160.43	204.01	5.53	25
84	6.34	19.83	151.89	191.56	11.17	50
96	6.32	20.45	147.76	178.50	18.52	50
108	6.31	21.13	132.64	170.66	24.37	50
120	6.28	21.48	125.68	165.52	27.80	75
132	6.23	22.08	120.01	144.74	37.90	75
144	6.21	22.23	108.77	124.01	45.39	75
156	6.18	22.90	89.74	109.62	55.57	75
168	6.12	23.10	75.92	90.55	62.54	350
180	6.10	23.27	61.85	82.51	74.10	650



รูปที่ 3-19 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวที่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร

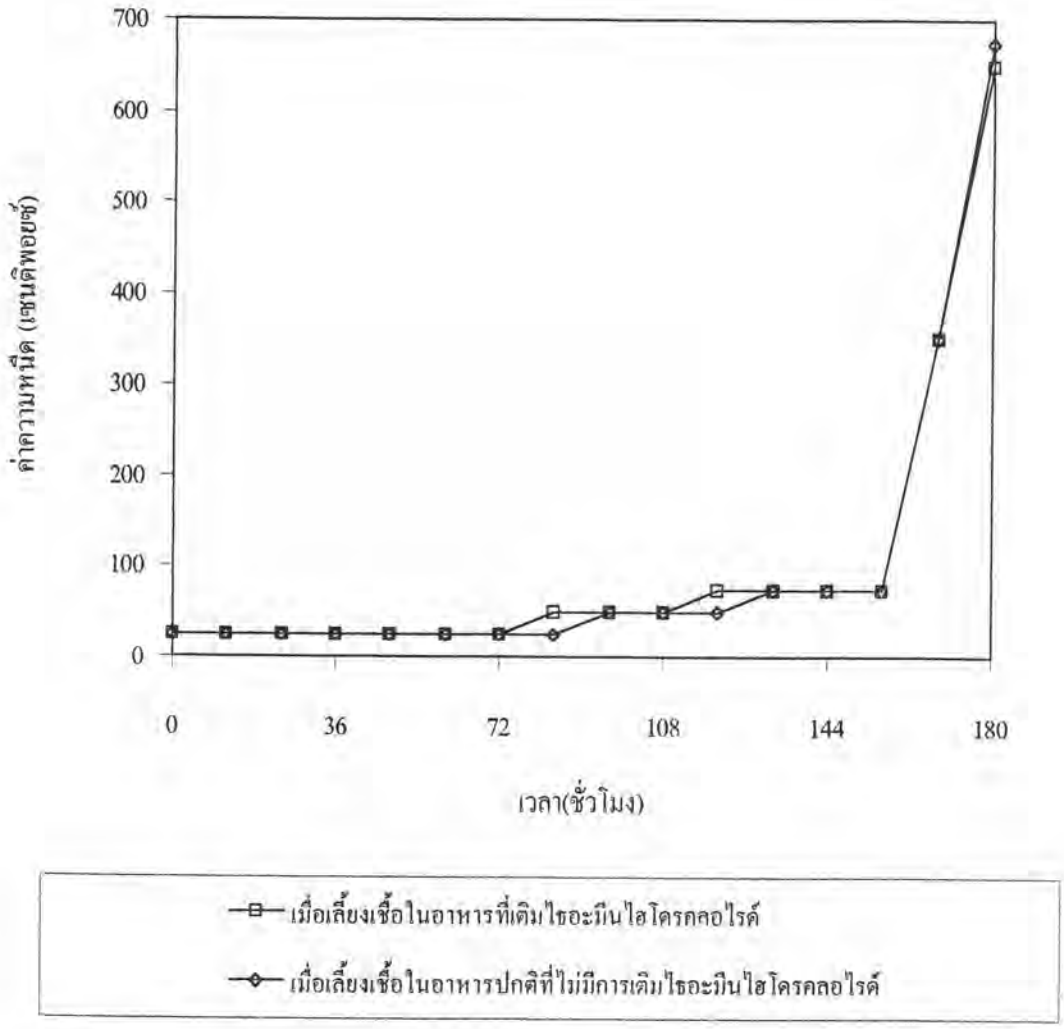
ผลที่ได้พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 ประมาณ 23.27 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าความหนืดของน้ำหมัก 650 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 24 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 74.10 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 คิดเป็นปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมักได้ 674.31 กรัม ในระหว่างการหมักไม่มีการใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองเลย

จากผลการทดลองที่ 3.4.1 และ3.4.2 ทำการเปรียบเทียบผลเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวที่เติมและไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ ตามลำดับ พบว่า



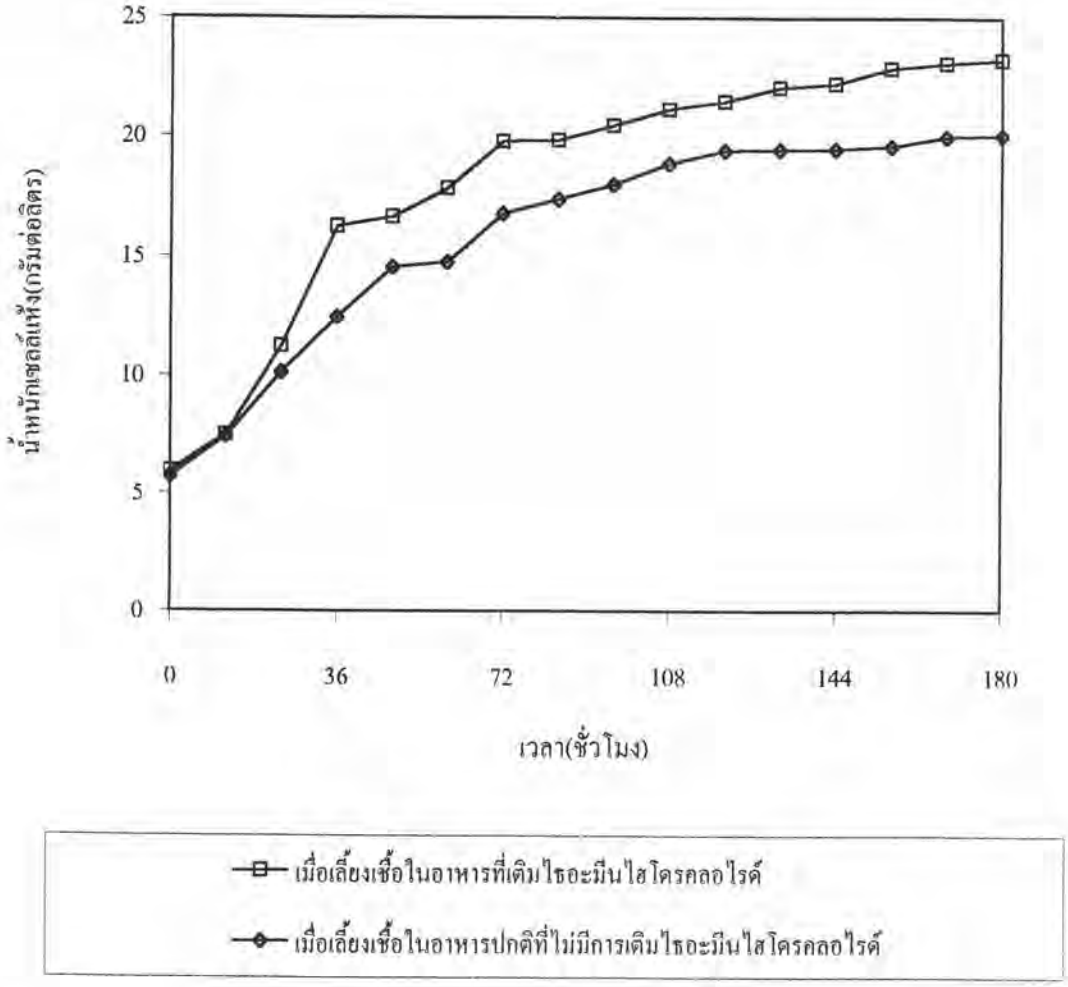
รูปที่ 3-20 การเปรียบเทียบปริมาณการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวที่เติมและไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร

จาก **รูปที่ 3-20** การผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 จะเริ่มมีการเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณหลังจากชั่วโมงการหมักที่ 48 โดยจะเห็นได้ว่าการเติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ลงในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวไม่ได้ส่งผลให้การผลิตกรดมะนาวเพิ่มขึ้น แต่จะมีการผลิตกรดมะนาวในระดับใกล้เคียงกันตลอดระยะเวลาการหมัก



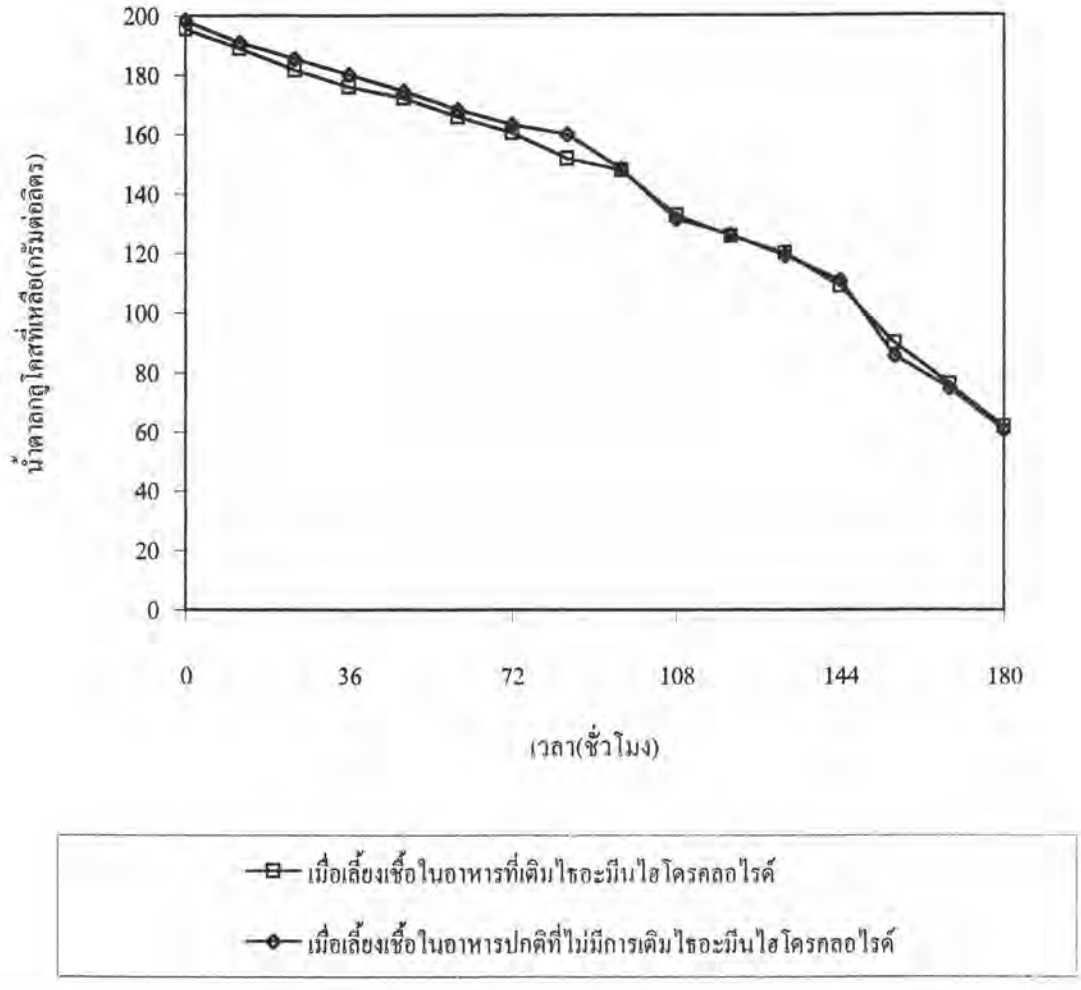
รูปที่ 3-21 การเปรียบเทียบค่าความหนืดของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวที่เติมและไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร

จาก **รูปที่ 3-21** จะเห็นได้ว่าค่าความหนืดที่ระยะเวลาการหมักชั่วโมงที่ 0 ถึง 156 จะมีความหนืดค่อนข้างคงที่แต่หลังจากชั่วโมงการหมักที่ 156 ความหนืดของน้ำหมักที่เกิดจากการผลิตกรดมะนาวในรูปเกลือแคลเซียมซิเตรตจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระดับใกล้เคียงกันตลอดระหว่างการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารที่มีการเติมและไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ ซึ่งสอดคล้องกับ **รูปที่ 3-20** คือความหนืดของน้ำหมักจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการผลิตกรดมะนาวเพิ่มขึ้น



รูปที่ 3-22 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเซลล์ของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวที่เติมและไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร

จาก **รูปที่ 3-22** พบว่าหลังจากทำการหมักเป็นเวลา 12 ชั่วโมงแล้ว การเจริญเติบโตของเซลล์จะเริ่มเห็นความแตกต่างได้ชัดเจนคือการเติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ลงในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวจะมีอัตราการเจริญสูงกว่าไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ โดยน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 ในอาหารที่เติมและไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ มีค่าเท่ากับ 23.27 และ 20.08 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ



รูปที่ 3-23 การเปรียบเทียบน้ำตาลกลูโคสที่เหลือของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวที่เติมและไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร

จาก **รูปที่ 3-23** พบว่าการนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้สำหรับการเจริญเติบโตและการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารที่มีการเติมและไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์จะใกล้เคียงกันมากโดยจากรูปจะเห็นได้ว่าอัตราการนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้ค่อนข้างคงที่ในชั่วโมงการหมักที่ 0 ถึง 96 แต่หลังจากชั่วโมงการหมักที่ 96 เชื้อจึงจะเริ่มนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้สูงขึ้นเล็กน้อยซึ่งสอดคล้องกับ **รูปที่ 3-20** และ **รูปที่ 3-22** ที่แสดงการผลิตกรดมะนาวและการเจริญเติบโตของเชื้อ *Candida oleophila* C-73 จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเชื้อมีการใช้น้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 3-11 การเปรียบเทียบค่าทางจลนพลศาสตร์ของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวที่เติมและไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร

ค่าทางจลนพลศาสตร์	ภาวะการหมักต่าง ๆ	
	เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์	ไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) (ชั่วโมง$^{-1}$)	0.008	0.007
Biomass yield ($Y_{X/S}$) (กรัมเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาลกลูโคส)	0.129	0.104
Product yield ($Y_{P/S}$) (กรัมกรดมะนาวต่อกรัมน้ำตาลกลูโคส)	0.554	0.545
Productivity (กรัมกรดมะนาวต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.412	0.417

จาก ตารางที่ 3-11 พบว่าเมื่อเติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ลงในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวจะทำให้อัตราการเจริญจำเพาะ (μ) และความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสเพื่อนำไปสร้างเป็นเซลล์ ($Y_{X/S}$) และผลิตภัณฑ์ ($Y_{P/S}$) สูงกว่าเมื่อไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ เล็กน้อย แต่จะมีอัตราการผลิตกรดมะนาว (Productivity) ต่ำกว่าเมื่อไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์

จากการเปรียบเทียบทั้งหมดพบว่าภาวะที่ไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์เป็นภาวะที่เหมาะสมอยู่แล้ว เนื่องจากการเติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์จะส่งผลให้มีอัตราการเจริญของเชื้อเพิ่มขึ้นเท่านั้น แต่ปริมาณการผลิตกรดมะนาวไม่ได้สูงขึ้นตามไปด้วย

3.5 การผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 โดยใช้แคลเซียมคาร์บอเนต และแคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง

ประเสริฐ หาญเมืองใจ (2537) รายงานว่าแคลเซียมคาร์บอเนตมีความสามารถในการเป็นบัฟเฟอร์ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วง 4.5 ถึง 6.5ได้ดี ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดมะนาวโดย *Candida oleophila* C-73 จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดปัญหาเรื่องความหนืด เนื่องจากการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตทั้งหมดลงไปในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวตั้งแต่เริ่มแรก ดังนั้นจึงได้พยายามทดลองใช้ด่างแก่ในการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างแทนเพื่อหลีกเลี่ยงการเติมสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างครั้งเดียวตั้งแต่ต้น ได้แก่ ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10 นอร์มอล และใช้ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่เตรียมในรูปสารแขวนลอยในน้ำ ปริมาณร้อยละ 50 น้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ แต่พบว่าสามารถผลิตกรดมะนาวได้ช้าและต่ำกว่าการเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต

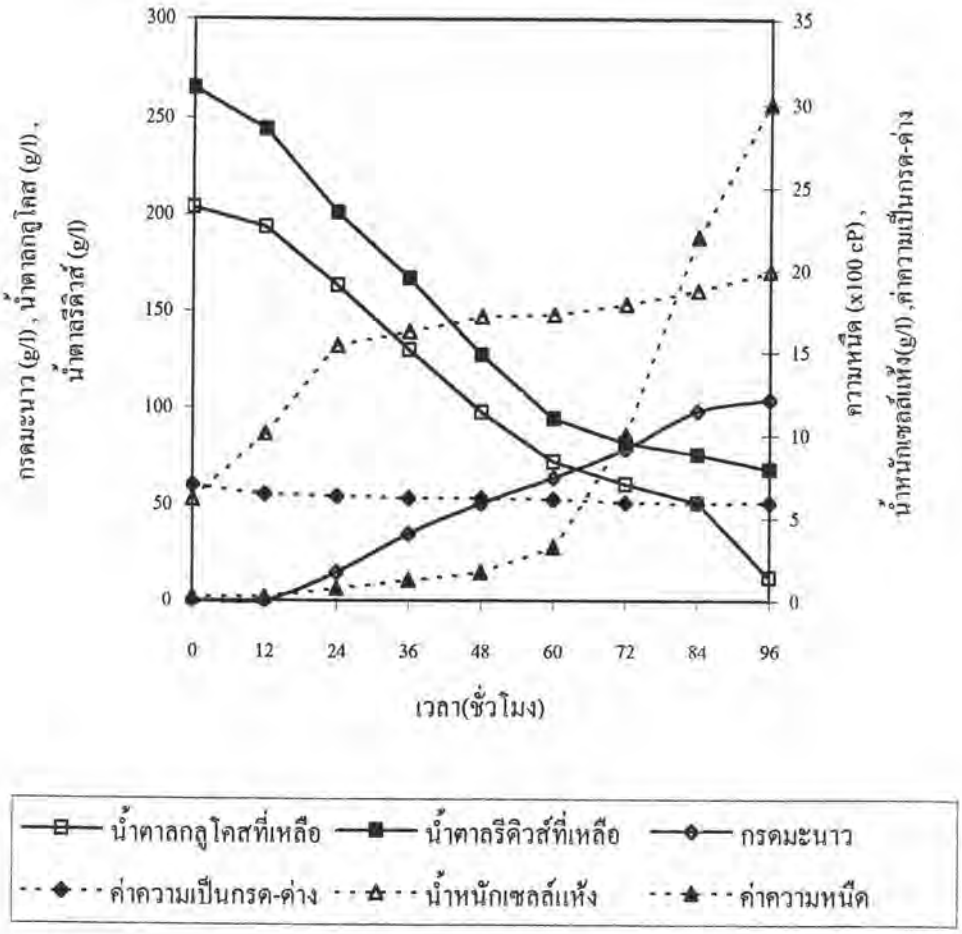
ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยติดตามการเจริญเติบโตของเซลล์ (น้ำหนักเซลล์แห้ง) การใช้น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวส์ การผลิตกรดมะนาว ค่าความหนืด และค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก เพื่อเปรียบเทียบผลของการใช้สารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่าง สารแขวนลอยของแคลเซียมออกไซด์ปริมาณร้อยละ 30 น้ำหนักต่อปริมาตรทำการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างแบบอัตโนมัติ เปรียบเทียบกับผลของการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตรในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาว

3.5.1 ผลของการใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากการเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ตามวิธีการทดลองในข้อ 2.4.3 โดยเก็บตัวอย่างน้ำหมักครั้งละ 50 มิลลิลิตร ทุก 12 ชั่วโมง เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตพบว่า ปริมาณกรดมะนาวที่ผลิต ค่าความหนืดของน้ำหมัก การเจริญเติบโตของเซลล์(น้ำหนักเซลล์แห้ง) ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลืออยู่ ผลที่ได้ดังแสดงใน **ตารางที่ 3-12** และ **รูปที่ 3-24**

ตารางที่ 3-12 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวเมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	กรดมะนาว (กรัมต่อลิตร)	ค่าความหนืด (เซนติพอยซ์)
0	7.02	6.15	203.56	265.31	0.00	25
12	6.45	10.11	193.64	244.28	0.16	25
24	6.35	15.42	163.27	201.05	14.96	75
36	6.24	16.23	129.72	166.77	34.80	125
48	6.22	17.13	97.65	127.07	50.62	175
60	6.14	17.28	71.96	94.42	63.96	325
72	5.97	17.88	60.58	81.68	78.55	1000
84	5.90	18.72	51.06	75.84	98.41	2200
96	5.94	19.92	12.02	68.08	104.17	3000



รูปที่ 3-24 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวเมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง

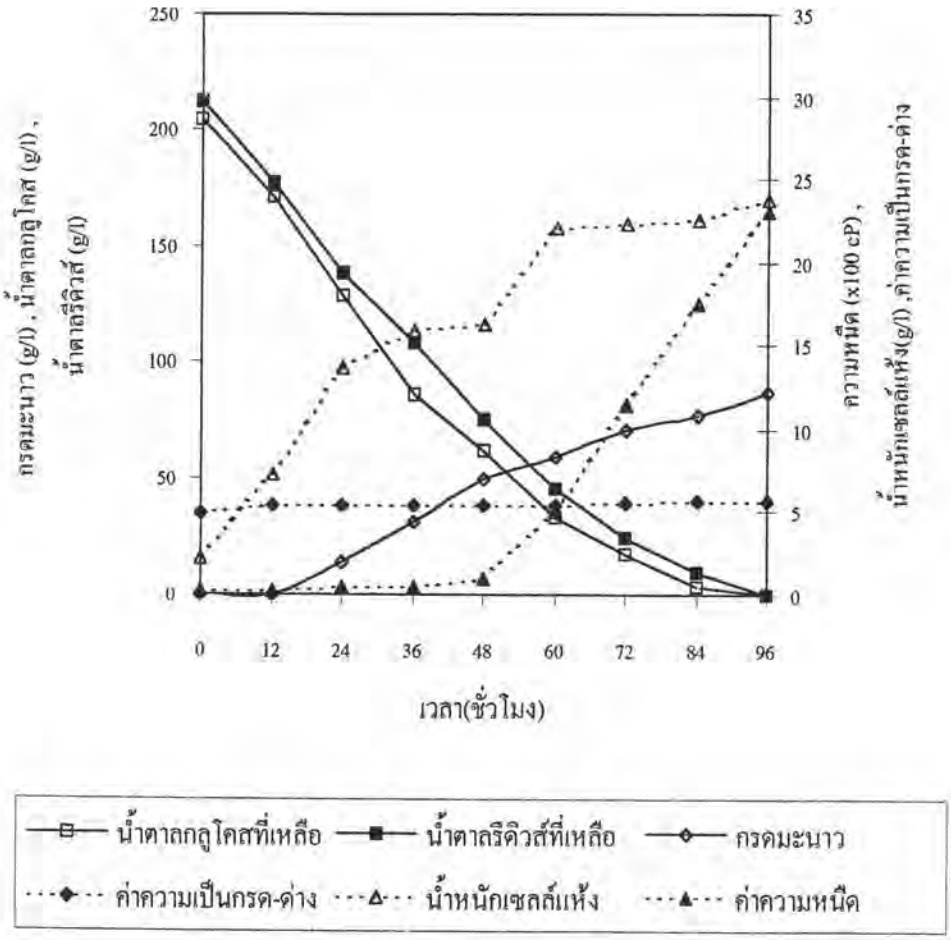
ผลที่ได้พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 ประมาณ 19.92 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าความหนืดของน้ำหมัก 3000 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 12 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 104.17 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 คิดเป็นปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมักได้ 353.14 กรัม โดยระหว่างการหมักชั่วโมงที่ 0 ถึง 36 มีการใช้ แอนติโฟม เอ ที่เจือจางด้วยน้ำ 5 เท่า เพื่อควบคุมการเกิดฟอง 240 มิลลิลิตร

3.5.2 ผลของการใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากการเลี้ยงเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ตามวิธีการทดลองในข้อ 2.4.3 (แต่เตรียมอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวดังแสดงใน ภาคผนวก ก2.3) โดยเก็บตัวอย่างน้ำหมักครั้งละ 70 มิลลิลิตร ทุก 12 ชั่วโมง ทำการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 5.00 ตลอดการทดลอง (การเลือกควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.00 เนื่องมาจากค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 อยู่ในช่วงประมาณ 4.5 ถึง 6.5) ผลที่ได้ดังแสดงใน **ตารางที่ 3-13** และ **รูปที่ 3-25**

ตารางที่ 3-13 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวเมื่อใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง

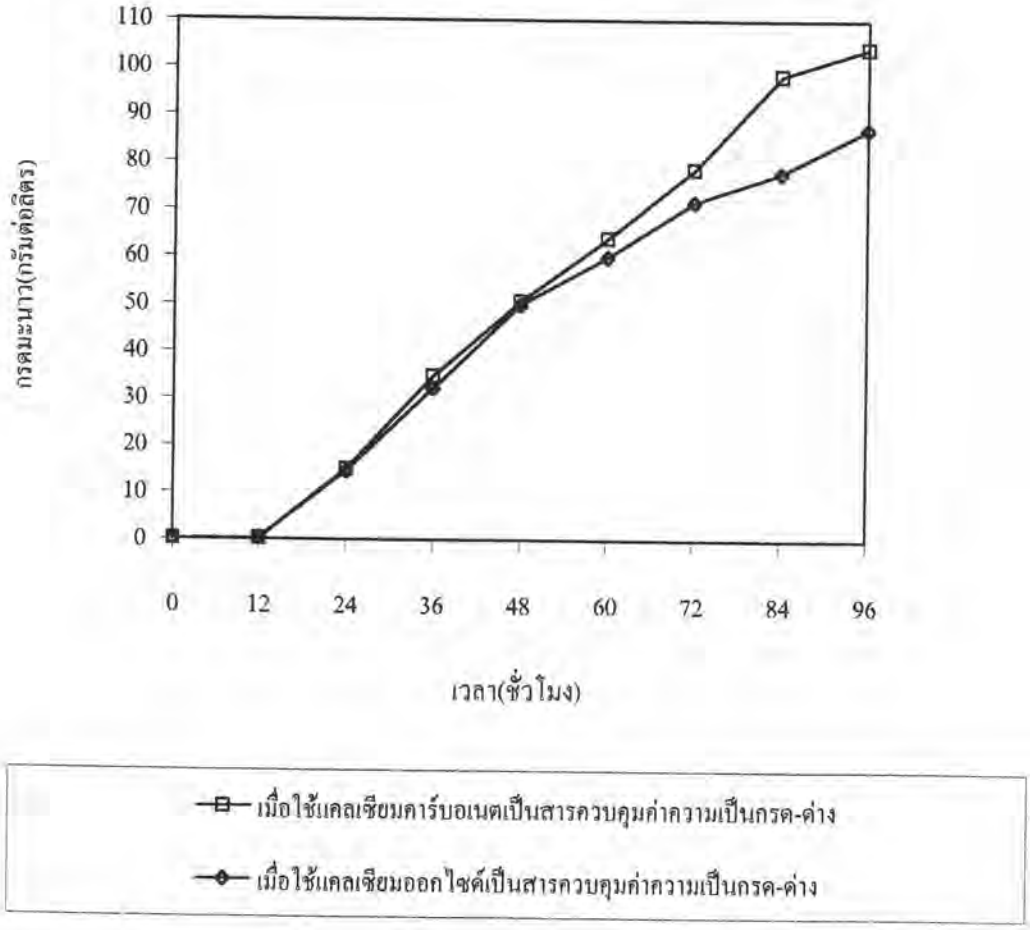
เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	กรดมะนาว (กรัมต่อลิตร)	ค่าความหนืด (เซนติพอยซ์)
0	4.96	2.20	204.45	212.19	0.00	25
12	5.44	7.30	171.16	177.13	0.29	25
24	5.41	13.72	128.70	138.64	14.47	50
36	5.47	15.92	86.62	108.25	32.12	50
48	5.48	16.30	62.14	75.81	49.92	100
60	5.40	22.00	33.49	45.70	60.07	500
72	5.50	22.30	17.29	24.79	71.57	1150
84	5.61	22.50	3.41	9.38	77.79	1750
96	5.73	23.80	0.00	0.00	87.16	2300



รูปที่ 3-25 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวเมื่อใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง

ผลที่ได้พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 ประมาณ 23.80 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าความหนืดของน้ำหมัก 2300 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 12 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 87.16 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 คิดเป็นปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมักได้ 339.05 กรัม โดยระหว่างการหมักชั่วโมงที่ 0 ถึง 96 มีการใช้ แอนติโฟม เอ ที่เจือจางด้วยน้ำ 5 เท่า เพื่อควบคุมการเกิดฟองและใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง 600 และ 850 มิลลิลิตร ตามลำดับ

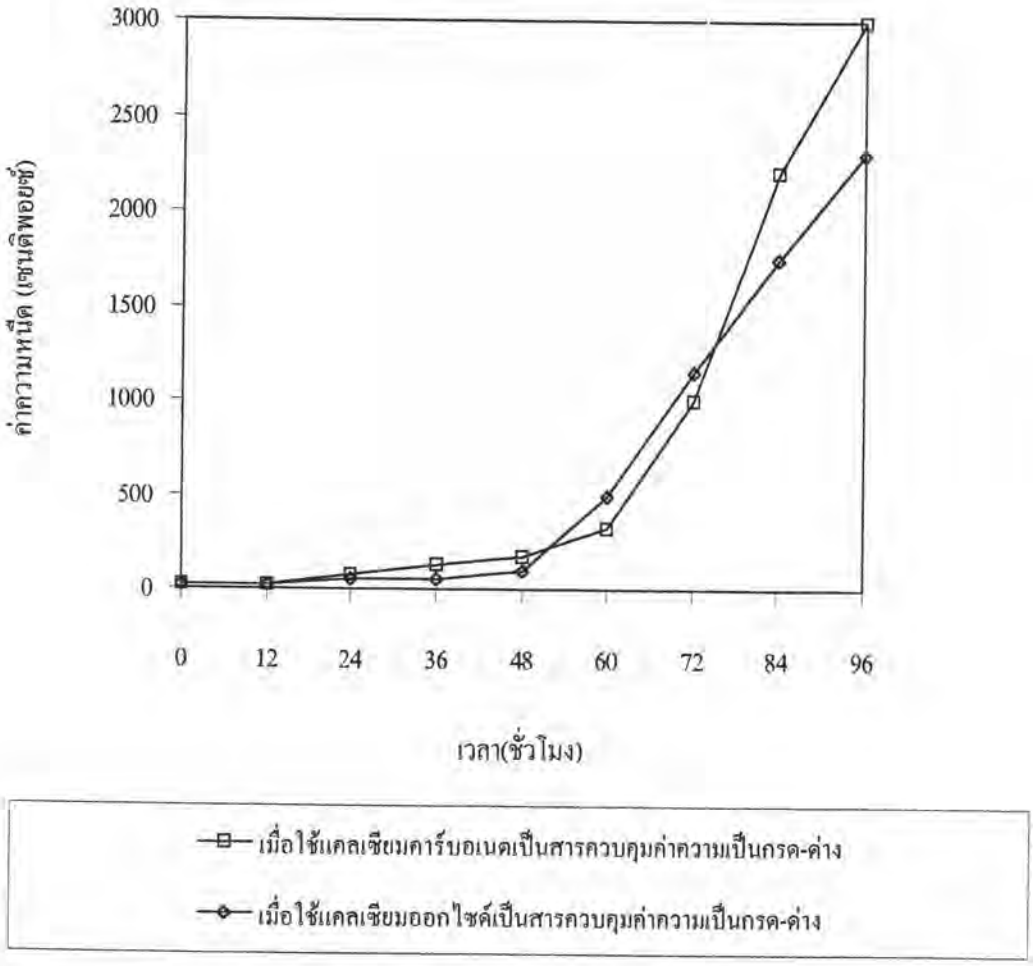
จากผลการทดลองที่ 3.5.1 และ3.5.2 ทำการเปรียบเทียบผลเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวที่ใช้แคลเซียมคาร์บอเนต และใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง ตามลำดับ พบว่า



รูปที่ 3-26 การเปรียบเทียบปริมาณการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวที่ใช้แคลเซียมคาร์บอเนตและใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง

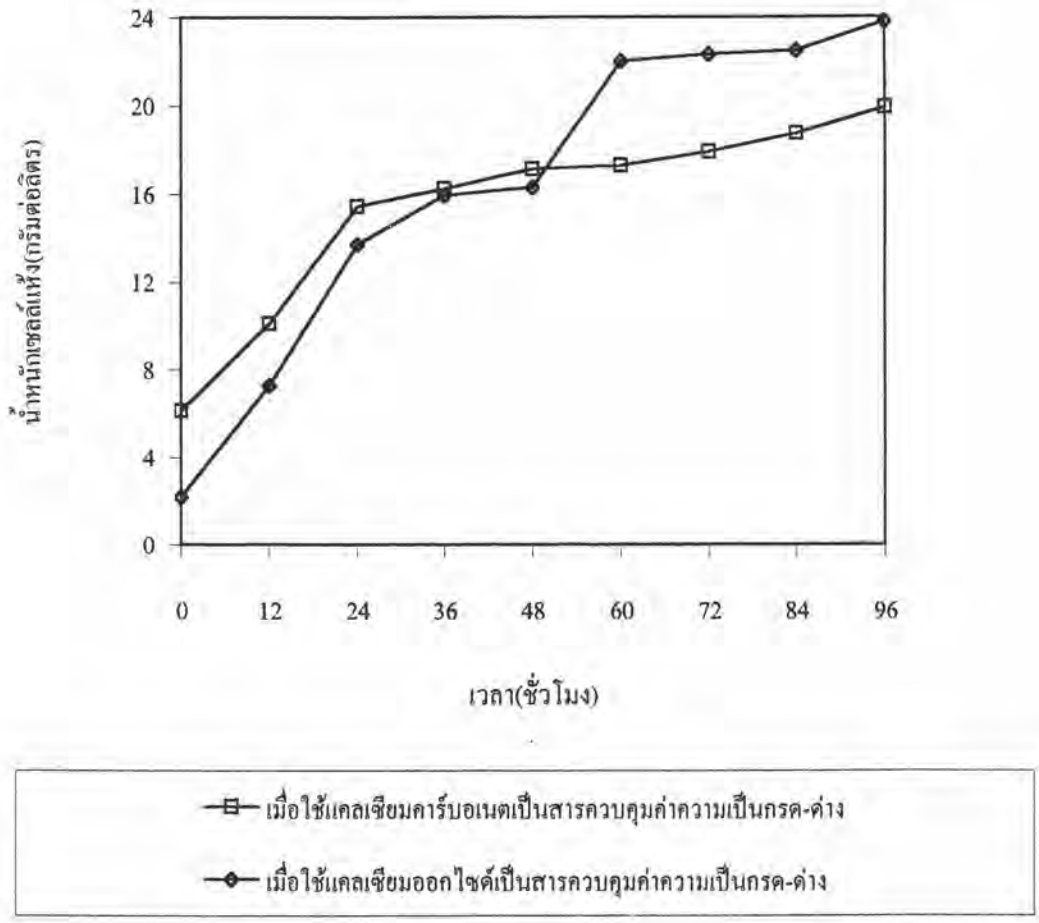
จาก **รูปที่ 3-26** การผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 จะเริ่มมีการเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณหลังจากชั่วโมงการหมักที่ 12 โดยจะเห็นได้ว่าที่ชั่วโมงการหมักที่ 60 การใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างจะเริ่มให้ผลผลิตกรดมะนาวสูงกว่าการใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง แต่เนื่องจากการใช้แคลเซียมออกไซด์ทำให้น้ำหมักเจือจางลงจึงต้องพิจารณาจากปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมัก พบว่าที่ชั่ว

โมงการหมักที่ 96 เมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตและใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างจะผลิตกรดมะนาวได้ 353.14 และ 339.05 กรัม ตามลำดับ



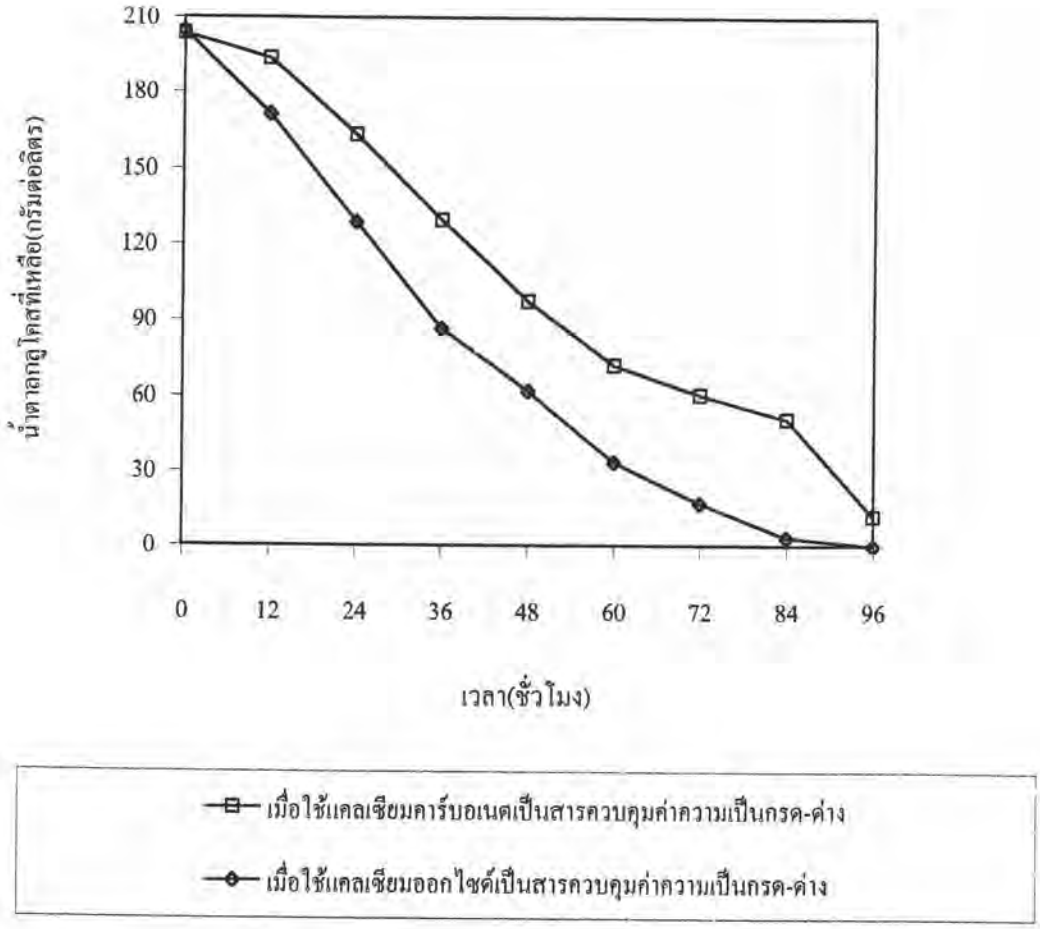
รูปที่ 3-27 การเปรียบเทียบค่าความหนืดของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวที่ใช้แคลเซียมคาร์บอเนตและใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง

จาก **รูปที่ 3-27** จะเห็นได้ว่าค่าความหนืดที่ชั่วโมงที่ 0 ถึง 48 ค่อนข้างมีความหนืดคงที่ แต่หลังจากชั่วโมงการหมักที่ 48 ความหนืดของน้ำหมักจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระดับใกล้เคียงกันจนกระทั่งในชั่วโมงการหมักที่ 84 การใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างจะเริ่มมีค่าความหนืดสูงกว่าการใช้แคลเซียมออกไซด์ทำให้เกิดปัญหาการกวนผสมเฉพาะบริเวณใบพัดกวนเท่านั้นเนื่องจากน้ำหมักมีความข้นสูงมากซึ่งมีลักษณะคล้ายแป้งเปียก



รูปที่ 3-28 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเซลล์ของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวที่ใช้แคลเซียมคาร์บอเนตและใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง

จาก **รูปที่ 3-28** พบว่าระหว่างการหมักชั่วโมงที่ 0 ถึง 48 เชื้อมีอัตราการเจริญเติบโตใกล้เคียงกันแต่หลังจากทำการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมงแล้ว การเจริญเติบโตของเชื้อ *Candida oleophila* C-73 จะเริ่มเห็นความแตกต่าง คือเมื่อใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง เชื้อจะมีอัตราการเจริญสูงกว่าเมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนต โดยน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 ในน้ำหมักที่ใช้แคลเซียมคาร์บอเนตและใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าเท่ากับ 19.92 และ 23.80 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ



รูปที่ 3-29 การเปรียบเทียบน้ำตาลกลูโคสที่เหลือของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวที่ใช้แคลเซียมคาร์บอเนตและใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง

จาก **รูปที่ 3-29** เมื่อพิจารณาตามความเป็นจริงแล้วไม่สามารถบอกได้ว่าการนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้สำหรับการเจริญเติบโตและการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 เมื่อใช้แคลเซียมออกไซด์หรือใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างวิธีการใดจะมีความสามารถในการนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้ได้ดีกว่ากันเนื่องจากในระหว่างการหมักเมื่อใช้แคลเซียมออกไซด์น้ำหมักจะมีความเจือจางมากขึ้นจากการเติมสารดังกล่าวเพื่อควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง ดังนั้นจึงต้องพิจารณาจากค่า Biomass yield ($Y_{X/S}$) และ Product yield ($Y_{P/S}$) แทนซึ่งจะบอกถึงความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสเพื่อนำไปสร้างเป็นเซลล์ และผลิตภัณฑ์ ดังแสดงในตารางที่ 3-14

ตารางที่ 3-14 การเปรียบเทียบค่าทางจลนพลศาสตร์ของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวที่ใช้แคลเซียมคาร์บอเนตและใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง

ค่าทางจลนพลศาสตร์	ภาวะการหมักต่าง ๆ	
	ใช้แคลเซียมคาร์บอเนต	ใช้แคลเซียมออกไซด์
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) (ชั่วโมง$^{-1}$)	0.012	0.025
Biomass yield ($Y_{X/S}$) (กรัมเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาลกลูโคส)	0.072	0.106
Product yield ($Y_{P/S}$) (กรัมกรดมะนาวต่อกรัมน้ำตาลกลูโคส)	0.544	0.426
Productivity (กรัมกรดมะนาวต่อลิตรต่อชั่วโมง)	1.085	0.908

จาก **ตารางที่ 3-14** พบว่าเมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างจะทำให้อัตราการเจริญจำเพาะ (μ) และความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสเพื่อนำไปสร้างเป็นเซลล์ ($Y_{X/S}$) ต่ำกว่าเมื่อใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุม แต่จะพบว่าความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสเพื่อนำไปสร้างเป็นกรดมะนาว($Y_{P/S}$) และอัตราการผลิตกรดมะนาว (Productivity) จะมีค่าสูงกว่าเมื่อใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง จากการเปรียบเทียบทั้งหมดพบว่าการใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างมีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้ผลิตกรดมะนาวในถังหมักที่ออกแบบสร้างขึ้น

3.6 การผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 โดยใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันพืชชนิดต่างๆเป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

การเกิดฟองในระหว่างการหมักมีสาเหตุได้หลายกรณีทั้งการให้อากาศโดยตรงจากการใช้เครื่องอัดอากาศ และการกวน นอกจากนี้อาจมีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติของโปรตีนในอาหารเลี้ยงเชื้อ ฟองที่เกิดขึ้นนี้จะทำให้จุลินทรีย์บางส่วนออกไปอยู่นอกอาหารและเกิดการสลายตัว (autolysis) ปล่อยโปรตีนออกมาจากเซลล์ทำให้ฟองมีความคงตัวมากขึ้น ถ้าเกิดฟองมากขึ้นเรื่อยๆ ในที่สุดก็จะทำให้ที่กรองอากาศ (air filter) ของถังหมักเปียก จึงมีโอกาศที่จะเกิดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ภายนอกได้สูง และอาหารบางส่วนอาจไหลออกมานอกถังหมักทำให้สูญเสียผลผลิตไปบางส่วน การแก้ปัญหาที่นิยมใช้กันทั่วไปคือ การใช้สารควบคุมการเกิดฟอง โดยงานวิจัยที่ผ่านมาใช้ แอนติโฟม เอ (antifoam A) เพื่อควบคุมการเกิดฟองแต่เนื่องจากแอนติโฟม เอ เป็นซิลิโคนโพลิเมอร์ทำให้มีราคาสูง (Hall et al.,1973)

ดังนั้นในการทดลองนี้จะทำการศึกษาผลของการใช้น้ำมันพืชเป็นสารควบคุมการเกิดฟองได้แก่ น้ำมันปาล์ม น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันรำข้าว เนื่องจากมีราคาถูกกว่า แอนติโฟม เอ โดยใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเนื่องจากในผลการทดลองที่ 3.5 โดยความเป็นจริงแล้วเมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างจะมีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้ผลิตกรดมะนาวต่อไป แต่การใช้แคลเซียมคาร์บอเนตในถังหมักขนาด 5 ลิตร จะก่อให้เกิดปัญหาการกวนผสมไม่ดีซึ่งมีสาเหตุมาจากกรดมะนาวที่ผลิตได้อยู่ในรูปของเกลือแคลเซียมซิเตรตทำให้น้ำหมักมีความข้นมากยากต่อการกวนผสมให้เชื้อสัมผัสกับอาหารและอากาศได้ดี อีกทั้งยังทำให้ยากต่อการเก็บเกี่ยวผลผลิตและการเก็บตัวอย่างน้ำหมักเพื่อนำมาวิเคราะห์ซึ่งอาจเกิดความคลาดเคลื่อนได้ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกใช้แคลเซียมออกไซด์แทนการใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง

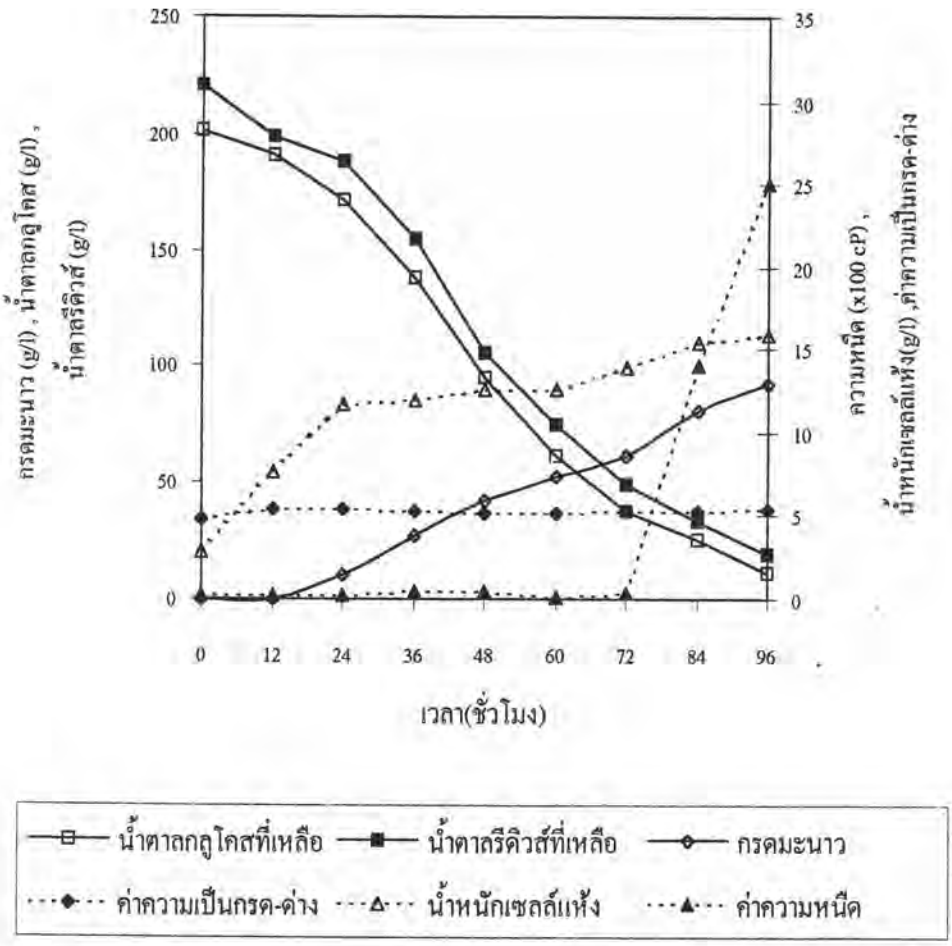
ทำการทดลองโดยเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ตามวิธีการทดลองในข้อ 2.4.3 (แต่เตรียมอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวดังแสดงใน ภาคผนวก ก2.3)โดยควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 5.00 ตลอดการทดลอง ด้วยแคลเซียมออกไซด์ (การเลือกควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.00 เนื่องมาจาก ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 อยู่ในช่วงประมาณ 4.5 ถึง 6.5) เก็บตัวอย่างน้ำหมักครั้งละ 50 มิลลิลิตร ทุก 12 ชั่วโมง

3.6.1 ผลของการใช้น้ำมันปาล์มเป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

ผลที่ได้จากการใช้น้ำมันปาล์มเป็นสารควบคุมการเกิดฟอง พบว่าปริมาณกรดมะนาวที่ผลิต ค่าความหนืดของน้ำหมัก การเจริญเติบโตของเซลล์(น้ำหนักเซลล์แห้ง) ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลืออยู่ ดังแสดงใน **ตารางที่ 3-15** และ **รูปที่ 3-30**

ตารางที่ 3-15 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวเมื่อใช้น้ำมันปาล์มเป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	กรดมะนาว (กรัมต่อลิตร)	ค่าความหนืด (เซนติพอยซ์)
0	4.81	2.80	201.66	220.52	0.00	25
12	5.41	7.68	190.81	199.04	0.19	25
24	5.42	11.70	171.36	188.76	10.75	25
36	5.28	11.90	137.91	154.75	27.68	50
48	5.21	12.60	94.68	105.23	42.19	50
60	5.21	12.63	61.54	75.16	52.95	100
72	5.27	13.93	37.95	49.27	61.29	400
84	5.31	15.45	25.43	33.86	81.35	1400
96	5.37	15.88	11.57	19.80	92.41	2500



รูปที่ 3-30 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวเมื่อใช้น้ำมันปาล์มเป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

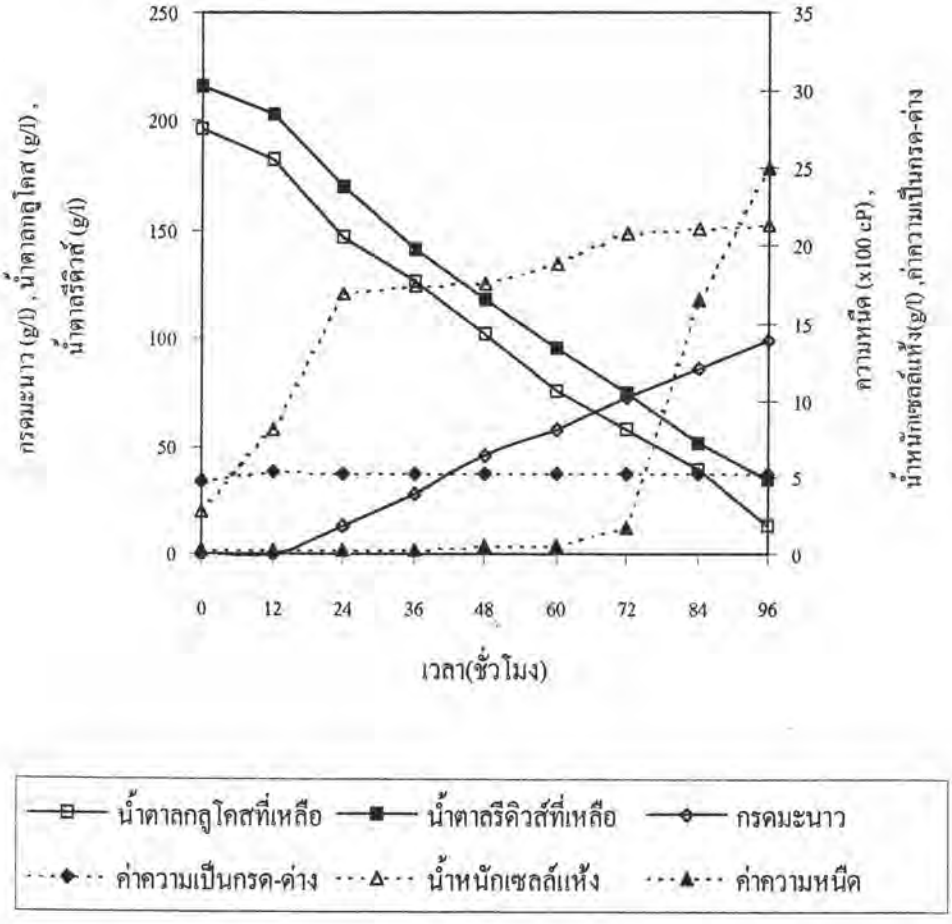
ผลที่ได้พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 ประมาณ 15.88 กรัมต่อลิตร ซึ่งวัดค่าความหนืดของน้ำหมักได้ 2500 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 12 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 92.41 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 คิดเป็นปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมักได้ 305.88 กรัม ในระหว่างการหมักใช้น้ำมันปาล์ม เพื่อใช้เป็นสารควบคุมการเกิดฟองที่ชั่วโมงการหมัก 0 ถึง 24 ประมาณ 10 มิลลิลิตร และใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างที่ชั่วโมงการหมักที่ 0 ถึง 96 ประมาณ 700 มิลลิลิตร

3.6.2 ผลของการใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

ผลที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นสารควบคุมการเกิดฟอง พบว่าปริมาณกรดมะนาวที่ผลิต ค่าความหนืดของน้ำหมัก การเจริญเติบโตของเซลล์(น้ำหนักเซลล์แห้ง) ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลืออยู่ ดังแสดงใน **ตารางที่ 3-16** และ **รูปที่ 3-31**

ตารางที่ 3-16 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวเมื่อใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	กรดมะนาว (กรัมต่อลิตร)	ค่าความหนืด (เซนติพอยซ์)
0	4.78	2.78	196.26	216.52	0.00	25
12	5.35	8.08	183.02	203.07	0.12	25
24	5.29	16.88	147.20	170.83	13.06	25
36	5.29	17.45	126.18	141.49	28.30	25
48	5.28	17.60	102.11	118.40	46.16	50
60	5.30	18.90	76.06	95.53	57.79	50
72	5.27	20.83	58.02	75.21	72.90	175
84	5.24	21.11	39.67	51.70	85.79	1650
96	5.27	21.31	13.41	34.39	99.65	2500



รูปที่ 3-31 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวเมื่อใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

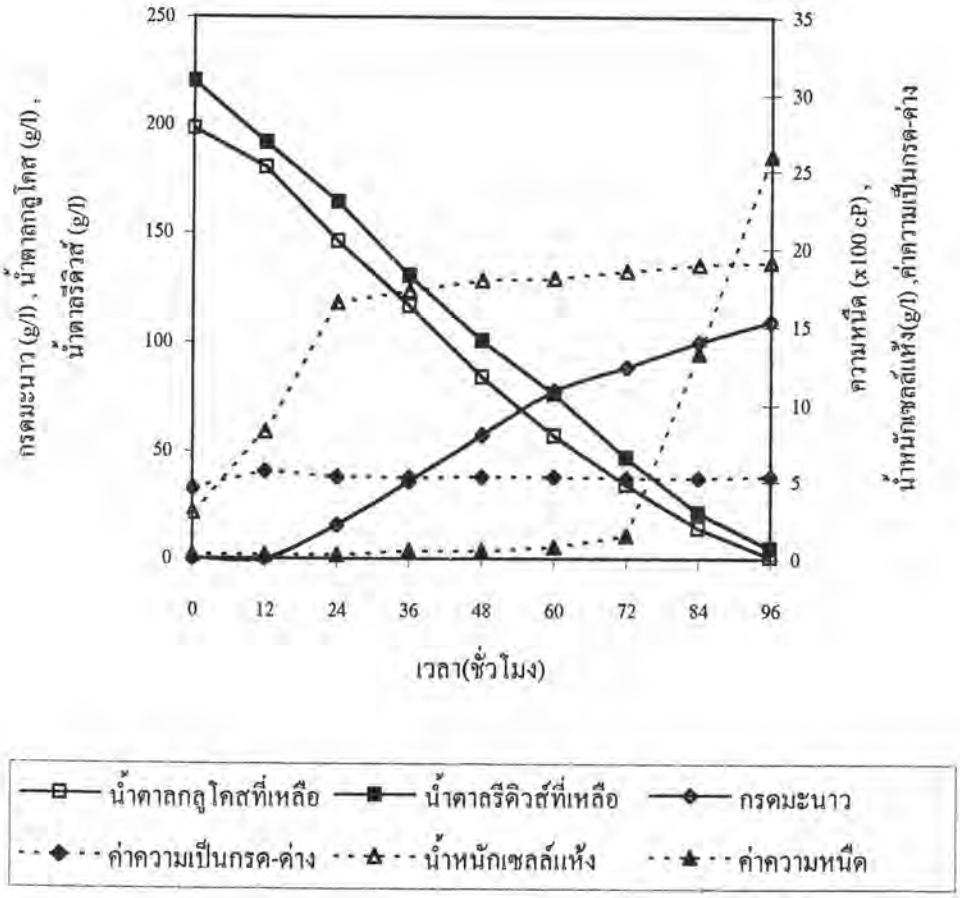
ผลที่ได้พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 ประมาณ 21.31 กรัมต่อลิตร ซึ่งวัดค่าความหนืดของน้ำหมักได้ 2500 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 12 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 99.65 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 คิดเป็นปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมักได้ 336.32 กรัม ในระหว่างการหมักใช้น้ำมันถั่วเหลืองเพื่อใช้เป็นสารควบคุมการเกิดฟองที่ชั่วโมงการหมัก 0 ถึง 72 ประมาณ 75 มิลลิลิตร และใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างที่ชั่วโมงการหมักที่ 0 ถึง 96 ประมาณ 700 มิลลิลิตร

3.6.3 ผลของการใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

ผลที่ได้จากการใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟอง พบว่า ปริมาณกรดมะนาวที่ผลิต ค่าความหนืดของน้ำหมัก การเจริญเติบโตของเซลล์(น้ำหนักเซลล์แห้ง) ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลืออยู่ ดังแสดงใน **ตารางที่ 3-17** และ **รูปที่ 3-32**

ตารางที่ 3-17 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวเมื่อใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	กรดมะนาว (กรัมต่อลิตร)	ค่าความหนืด (เซนติพอยซ์)
0	4.56	2.98	198.34	220.17	0.00	25
12	5.70	8.25	180.33	191.57	0.11	25
24	5.32	16.50	146.14	164.20	15.55	25
36	5.28	17.25	116.46	130.14	35.87	50
48	5.30	17.93	83.87	100.59	57.41	50
60	5.30	18.05	57.16	76.32	77.67	75
72	5.24	18.55	34.17	46.88	88.46	150
84	5.24	18.95	14.15	21.34	99.89	1325
96	5.37	19.13	0.94	4.89	109.45	2600



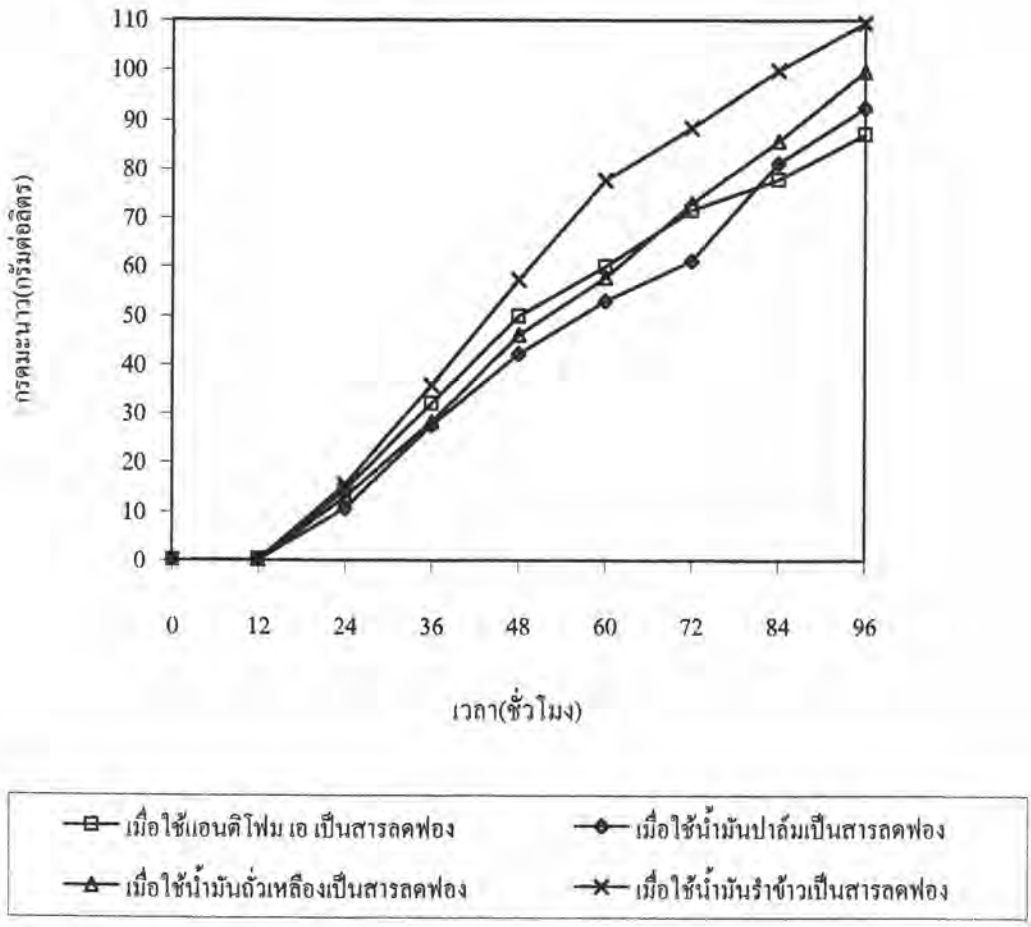
รูปที่ 3-32 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวเมื่อใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

ผลที่ได้พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 ประมาณ 19.13 กรัมต่อลิตร ซึ่งวัดค่าความหนืดของน้ำหมักได้ 2600 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 12 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 109.45 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 คิดเป็นปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมักได้ 385.26 กรัม ในระหว่างการหมักใช้น้ำมันรำข้าวเพื่อควบคุมการเกิดฟองและใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างที่ชั่วโมงการหมักที่ 0 ถึง 96 ประมาณ 80 และ 840 มิลลิลิตร ตามลำดับ

3.6.4 ผลของการใช้ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

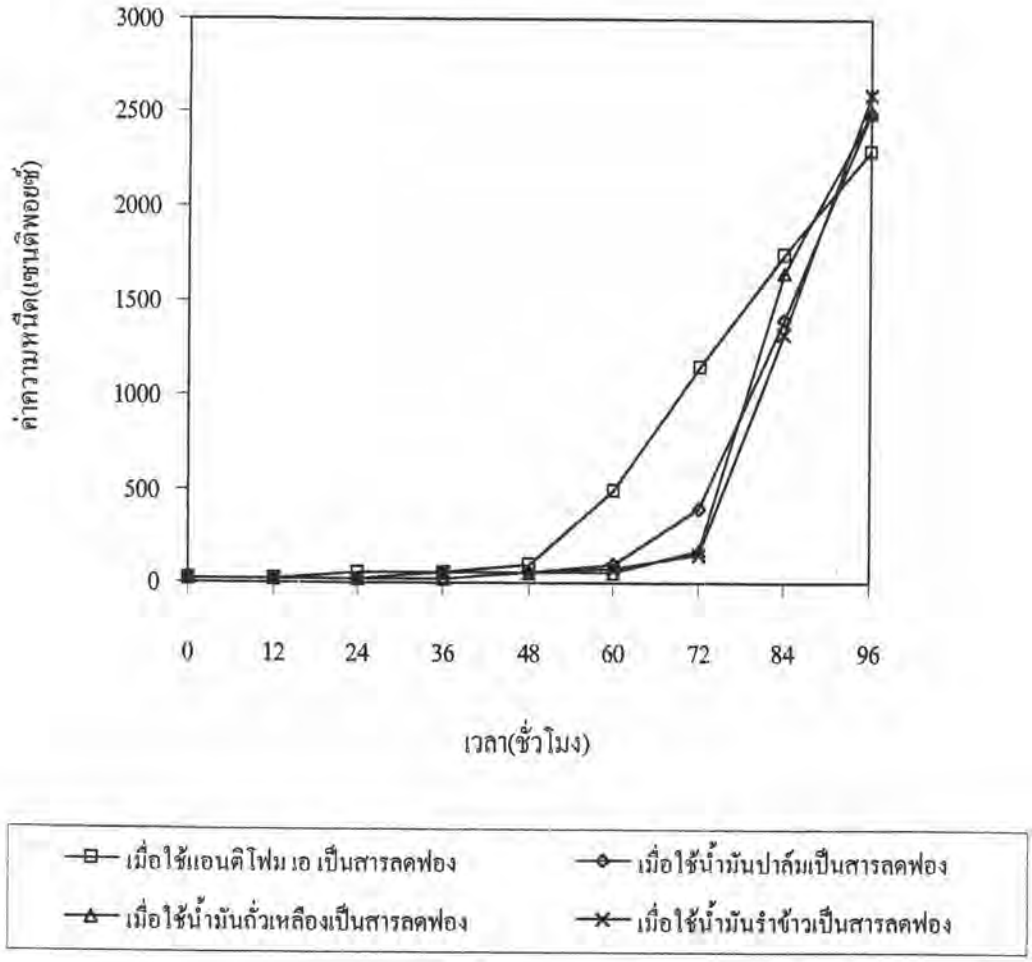
ผลที่ได้ดังแสดงใน **ตารางที่ 3-13** และ **รูปที่ 3-25** ซึ่งได้ทำการทดลองไปแล้ว พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 ประมาณ 23.80 กรัมต่อลิตร ซึ่งวัดค่าความหนืดของน้ำหมักได้ 2300 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 12 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 87.16 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 คิดเป็นปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดที่เหลือในถังหมักได้ 339.05 กรัม ในระหว่างการหมักชั่วโมงที่ 0 ถึง 96 มีการใช้ แอนติโฟม เอ ที่เจือจางด้วยน้ำ 5 เท่า เพื่อควบคุมการเกิดฟองและใช้แคลเซียมออกไซด์เพื่อควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง 600 และ 850 มิลลิลิตร ตามลำดับ

จากผลการทดลองที่ 3.6.1 , 3.6.2 , 3.6.3 และ 3.6.4 ทำการเปรียบเทียบผลเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง เพื่อศึกษาผลระหว่างการใช้น้ำมันปาล์ม น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว และแอนติโฟมเอ เป็นสารลดฟอง พบว่า



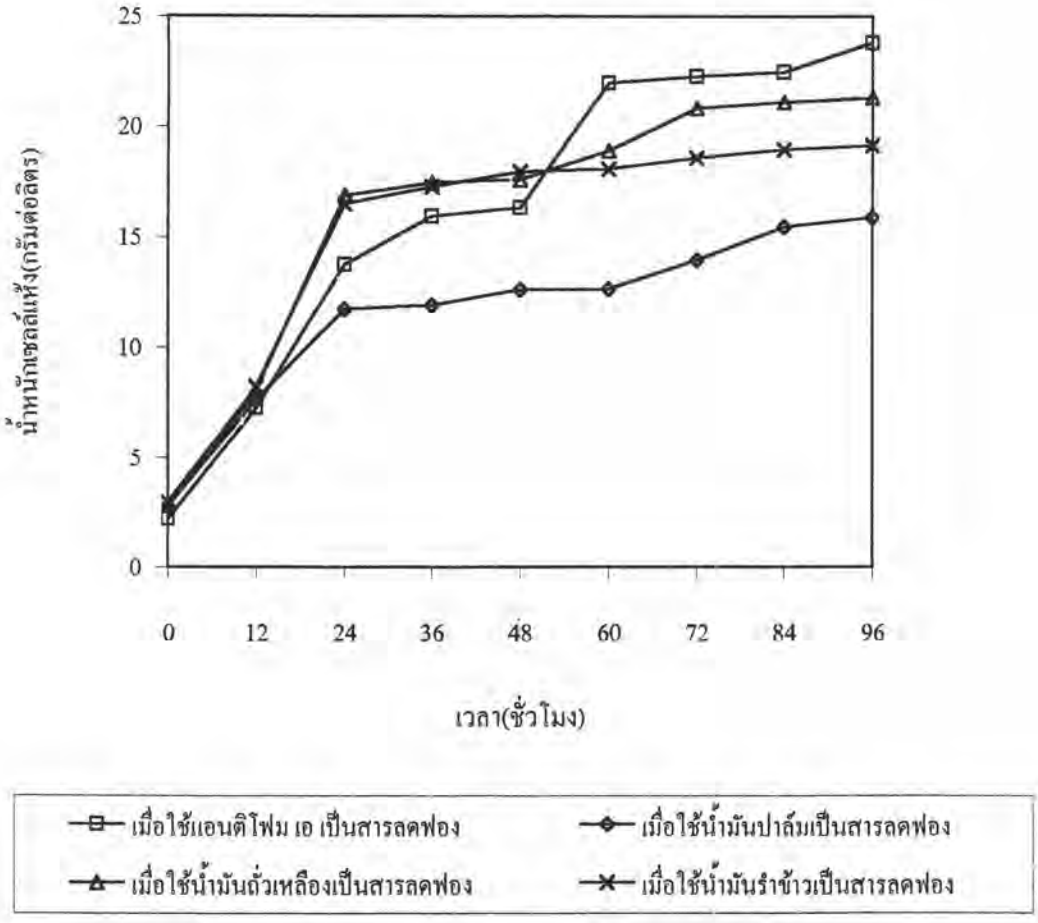
รูปที่ 3-33 การเปรียบเทียบปริมาณการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ระหว่างการใช้น้ำมันพืชและ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

จาก **รูปที่ 3-33** การผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 จะเริ่มมีการเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณหลังจากชั่วโมงการหมักที่ 12 โดยจะเห็นได้ว่าที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 เมื่อใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองจะให้ผลผลิตกรดมะนาวสูงกว่าการใช้น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม และแอนติโฟมเอ คือผลิตกรดมะนาวได้ 109.45 , 99.65 , 92.41 และ 87.16 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ



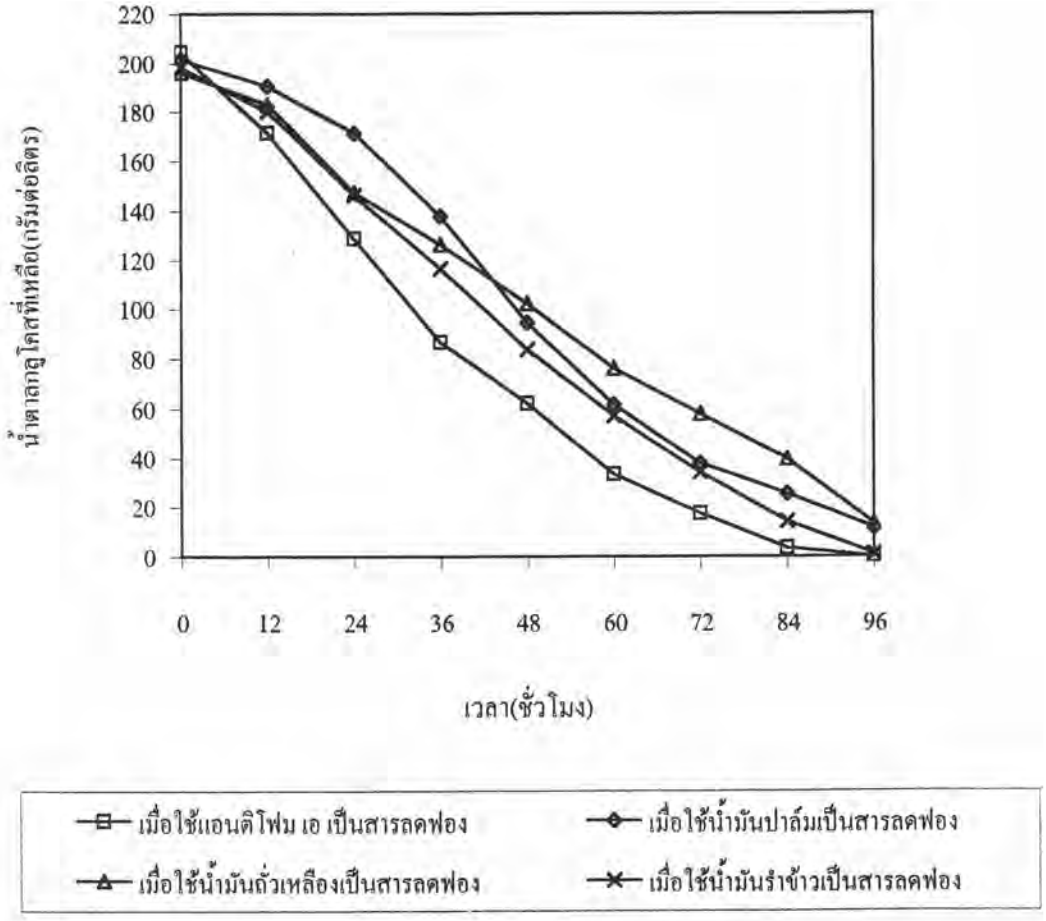
รูปที่ 3-34 การเปรียบเทียบค่าความหนืดของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ระหว่างการใช้น้ำมันพืชและ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

จาก **รูปที่ 3-34** จะเห็นได้ว่าการใช้น้ำมันพืชเป็นสารควบคุมการเกิดฟองจะมีผลให้น้ำหมักเกิดความหนืดช้ากว่าการใช้ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง โดยค่าความหนืดที่ชั่วโมงการหมักที่ 48 จะเริ่มมีการเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณเมื่อใช้ แอนติโฟม เอ แต่พบว่าเมื่อใช้น้ำมันพืชค่าความหนืดจะเริ่มเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณหลังจากชั่วโมงการหมักที่ 72



รูปที่ 3-35 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเซลล์ของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ระหว่างการใช้น้ำมันพืชและ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

จาก **รูปที่ 3-35** พบว่าระหว่างการหมักชั่วโมงที่ 0 ถึง 24 เชื้อ *Candida oleophila* C-73 มีการเจริญเติบโตแบบทวีคูณแต่หลังจากชั่วโมงการหมักที่ 24 อัตราการเจริญของเชื้อจะเริ่มลดลง โดยจะเห็นได้ว่าที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 เมื่อใช้ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟองจะมีน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในน้ำหมักสูงกว่าการใช้น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าวและน้ำมันปาล์ม คือผลิตได้ 23.80 , 21.31 , 19.13 และ 15.88 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ



รูปที่ 3-36 การเปรียบเทียบน้ำตาลกลูโคสที่เหลือของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ระหว่างการใช้น้ำมันพืชและ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

จาก **รูปที่ 3-36** เมื่อใช้ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟองจะทำให้เชื้อ *Candida oleophila* C-73 นำน้ำตาลกลูโคสไปใช้สำหรับการเจริญเติบโตและการผลิตกรดมะนาวสูงกว่าการใช้สารควบคุมการเกิดฟองชนิดอื่น โดยเฉพาะหลังชั่วโมงการหมักที่ 12 เชื้อจะเริ่มมีอัตราการนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้สำหรับการผลิตกรดมะนาวและการเจริญเติบโตสูงมาก ซึ่งสองคล้องกับ**รูปที่ 3-33** และ **รูปที่ 3-35** ตามลำดับ

ตารางที่ 3-18 การเปรียบเทียบค่าทางจลนพลศาสตร์ของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ระหว่างการใช้น้ำมันพืชและ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

ค่าทางจลนพลศาสตร์	ภาวะการหมัก			
	ใช้แอนติโฟม เอ เป็นสารลดฟอง	ใช้น้ำมันปาล์มเป็นสารลดฟอง	ใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นสารลดฟอง	ใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารลดฟอง
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) (ชั่วโมง$^{-1}$)	0.025	0.018	0.021	0.019
Biomass yield ($Y_{X/S}$) (กรัมเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาลกลูโคส)	0.106	0.069	0.101	0.082
Product yield ($Y_{P/S}$) (กรัมกรดมะนาวต่อกรัมน้ำตาลกลูโคส)	0.426	0.486	0.545	0.554
Productivity (กรัมกรดมะนาวต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.908	0.963	1.038	1.140

จาก ตารางที่ 3-18 พบว่าเมื่อใช้ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟองจะส่งผลให้อัตราการเจริญจำเพาะ (μ) และความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสเพื่อนำไปสร้างเป็นเซลล์ ($Y_{X/S}$) สูงกว่าเมื่อใช้น้ำมันพืชเป็นสารควบคุมการเกิดฟอง แต่จะพบว่าความสามารถในการนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้เพื่อการผลิตกรดมะนาว($Y_{P/S}$) และอัตราการผลิตกรดมะนาว (Productivity) เมื่อใช้น้ำมันพืชเป็นสารควบคุมการเกิดฟองจะมีความสามารถสูงกว่าเมื่อใช้ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้น้ำมันรำข้าวเพื่อควบคุมการเกิดฟองจะทำให้เชื้อมีอัตราการผลิตกรดมะนาวสูงที่สุดและมีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้ควบคุมการเกิดฟองในถังหมักที่ออกแบบสร้างขึ้นต่อไป

3.7 การผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 โดยใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเพื่อศึกษาผลของการใช้ แอนติโฟม เอ และน้ำมันรำข้าว เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

จาก ผลการทดลองที่ 3.6 พบว่าการใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเมื่อใช้น้ำมันรำข้าวเพื่อควบคุมการเกิดฟอง จะส่งผลให้มีอัตราการผลิตกรดมะนาวสูงกว่าเมื่อใช้ แอนติโฟม เอ เพื่อควบคุมการเกิดฟอง อีกทั้งยังช่วยลดปัญหาการกวนผสมไม่ดี ซึ่งเกิดจากน้ำหมักมีความหนืดสูงในช่วงท้ายของการหมักเพื่อผลิตกรดมะนาว และเนื่องจาก ผลการทดลองที่ 3.5 พบว่าการใช้แคลเซียมคาร์บอเนตจะมีความสามารถทำให้เชื้อ *Candida oleophila* C-73 มีการผลิตกรดมะนาวสูงกว่าการใช้แคลเซียมออกไซด์ แต่เกิดปัญหาน้ำหมักมีความหนืดสูง ทำให้ประสิทธิภาพการกวนผสมต่ำ อีกทั้งยังยากต่อการเก็บตัวอย่างน้ำหมักเพื่อนำมาวิเคราะห์ ซึ่งทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนสูง จึงเป็นเหตุผลหนึ่งที่เลือกใช้แคลเซียมออกไซด์เป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันพืชชนิดต่างๆเพื่อควบคุมการเกิดฟอง

ดังนั้นในการทดลองนี้จึงทำการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง ตามวิธีการทดลอง 2.4.3 แล้วติดตามการเจริญเติบโตของเซลล์ (น้ำหนักเซลล์แห้ง) การใช้น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวส์ การผลิตกรดมะนาว ค่าความหนืด และค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก โดยเปรียบเทียบการใช้น้ำมันรำข้าวและ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง เก็บตัวอย่างน้ำหมักครั้งละ 50 มิลลิลิตร ทุก 12 ชั่วโมง

3.7.1 ผลของการใช้ แอนติโฟม เอ เพื่อควบคุมการเกิดฟอง

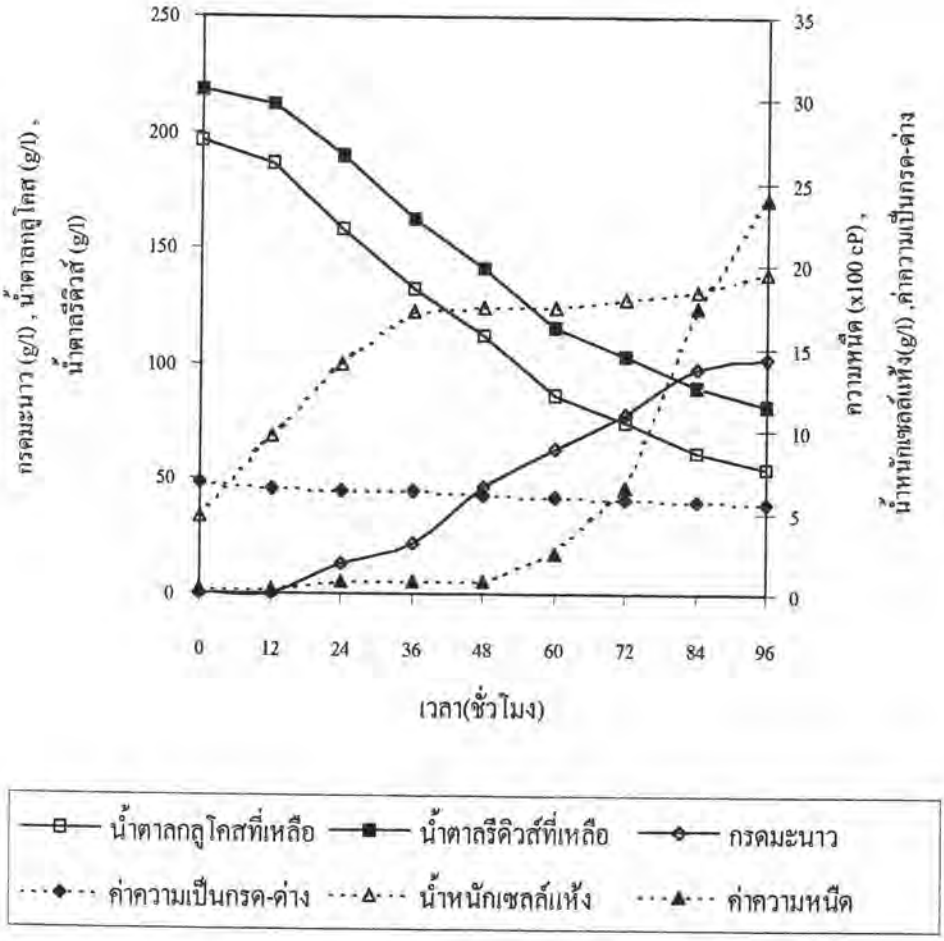
ผลที่ได้ดังแสดงใน ตารางที่ 3-12 และ รูปที่ 3-24 ซึ่งได้ทำการทดลองไปแล้ว พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 ประมาณ 19.92 กรัมต่อลิตร ซึ่งวัดค่าความหนืดของน้ำหมักได้ 3000 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 12 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 104.17 กรัมต่อลิตรที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 โดยระหว่างการหมักชั่วโมงที่ 0 ถึง 36 มีการใช้ แอนติโฟม เอ ที่เจือจางด้วยน้ำ 5 เท่า เพื่อควบคุมการเกิดฟอง 240 มิลลิลิตร

3.7.2 ผลของการใช้ น้ำมันรำข้าว เพื่อควบคุมการเกิดฟอง

ผลที่ได้จากการใช้น้ำมันรำข้าวเพื่อควบคุมการเกิดฟอง ได้ผลของปริมาณกรดมะนาวที่ผลิต ค่าความหนืดของน้ำหมัก การเจริญเติบโตของเซลล์(น้ำหนักเซลล์แห้ง) ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลืออยู่ ดังแสดงใน **ตารางที่ 3-19** และ **รูปที่ 3-37**

ตารางที่ 3-19 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวเมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเพื่อควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง และใช้น้ำมันรำข้าวเพื่อควบคุมการเกิดฟอง

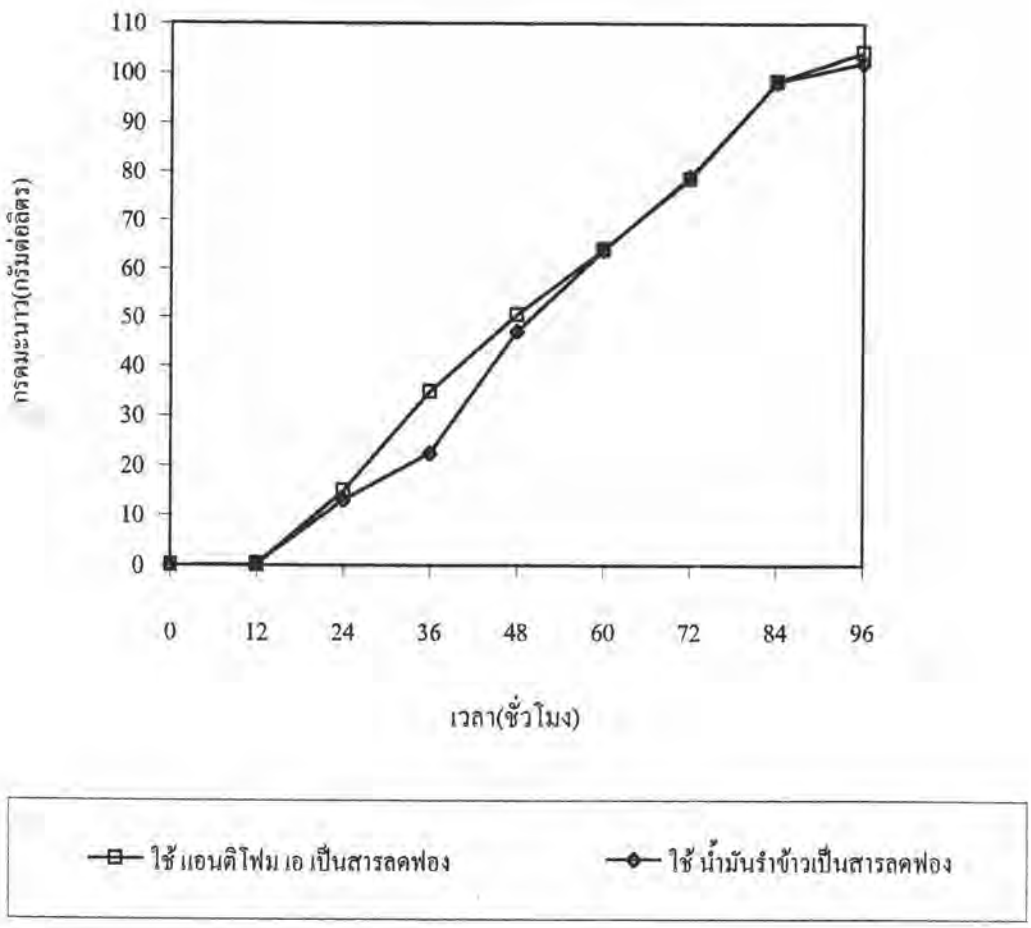
เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลกลูโคสที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	กรดมะนาว (กรัมต่อลิตร)	ค่าความหนืด (เซนติพอยซ์)
0	6.76	4.75	196.02	218.00	0.00	25
12	6.43	9.60	186.74	212.45	0.21	25
24	6.30	14.00	158.26	189.51	13.12	75
36	6.28	17.23	132.50	162.95	22.49	75
48	6.12	17.38	111.93	141.59	47.18	75
60	5.93	17.43	86.94	115.92	63.77	250
72	5.82	17.90	75.46	103.77	78.94	650
84	5.73	18.43	62.07	89.89	98.22	1750
96	5.55	19.48	54.47	82.37	102.04	2400



รูปที่ 3-37 ปริมาณกรดมะนาว ค่าความหนืด น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือ ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* C-73 ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวเมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเพื่อควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง และใช้น้ำมันรำข้าวเพื่อควบคุมการเกิดฟอง

ผลที่ได้พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 ประมาณ 19.48 กรัมต่อลิตร ซึ่งวัดค่าความหนืดของน้ำหมักได้ 2400 เซนติพอยซ์ ในระหว่างการหมักเชื้อจะเริ่มผลิตกรดมะนาวหลังจากชั่วโมงที่ 12 และปริมาณกรดมะนาวจะสูงขึ้นเรื่อยๆจนได้ 102.04 กรัมต่อลิตรที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 โดยระหว่างการหมักชั่วโมงที่ 0 ถึง 48 มีการใช้น้ำมันรำข้าวเพื่อควบคุมการเกิดฟอง 10 มิลลิลิตร

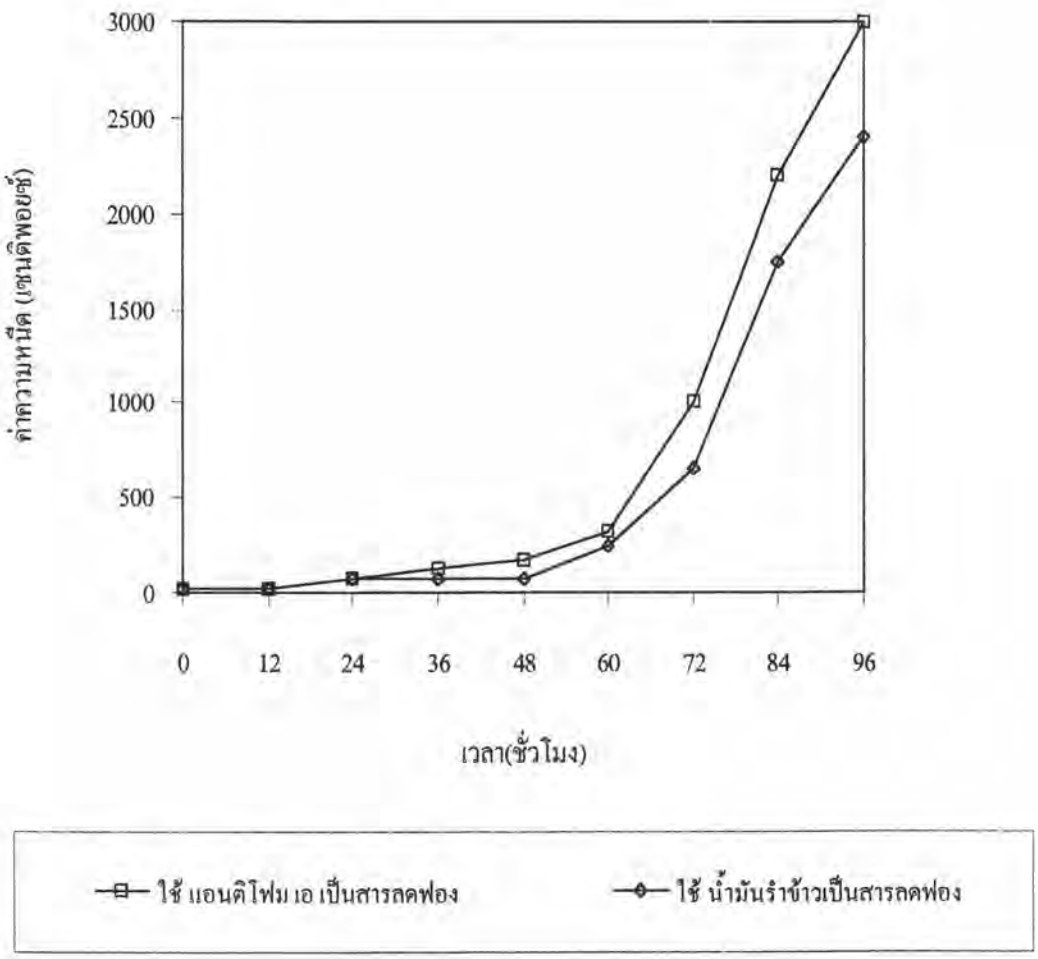
จากผลการทดลองที่ 3.7.1 และ3.7.2 ทำการเปรียบเทียบผลการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันรำข้าวและ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง ตามลำดับ พบว่า



รูปที่ 3-38 การเปรียบเทียบปริมาณการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 เมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันรำข้าวและแอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

จาก **รูปที่ 3-38** การผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 จะเริ่มมีการเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณหลังจากชั่วโมงการหมักที่ 12 โดยจะเห็นได้ว่าความสามารถในการผลิตกรดมะนาวระหว่างการใช้แอนติโฟม เอ และน้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองใกล้เคียงกันตลอดระยะ

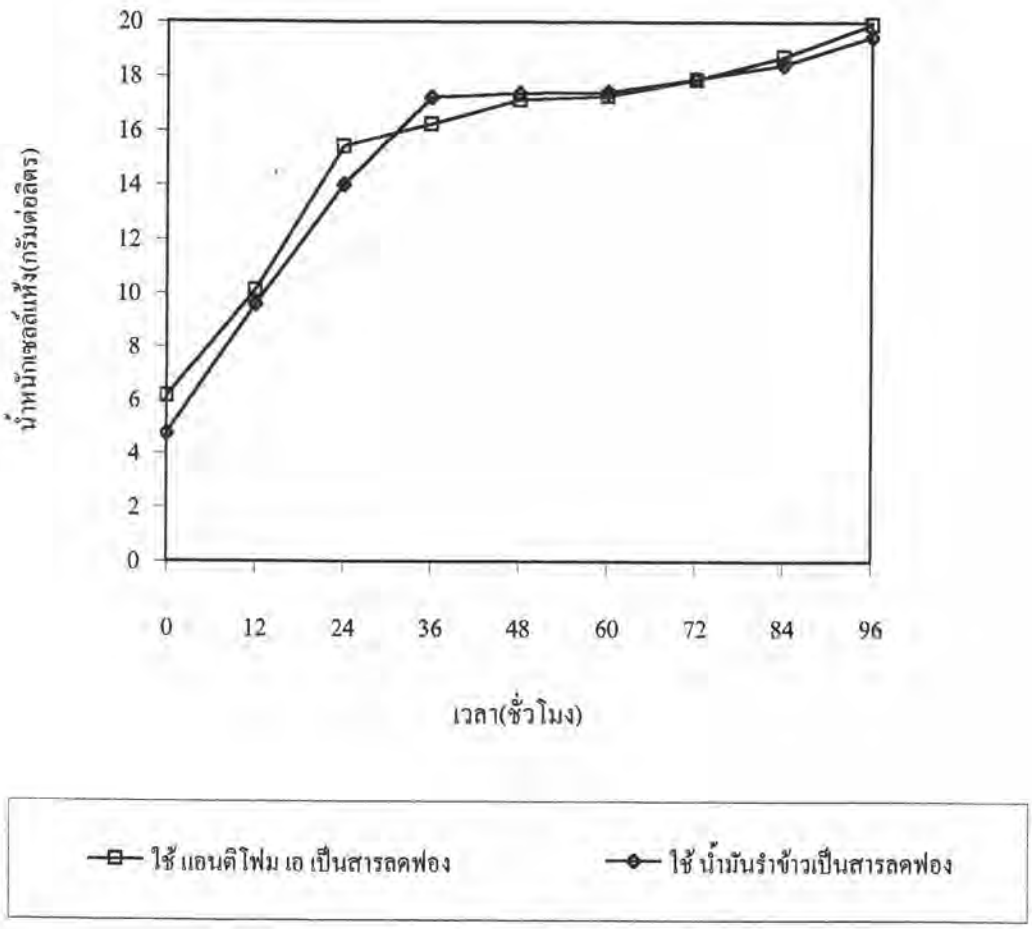
เวลาการหมักโดยในชั่วโมงการหมักที่ 96 จะสามารถผลิตกรดมะนาวได้ 104.17 และ 102.04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ



รูปที่ 3-39 การเปรียบเทียบค่าความหนืดของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 เมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันรำข้าวและ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

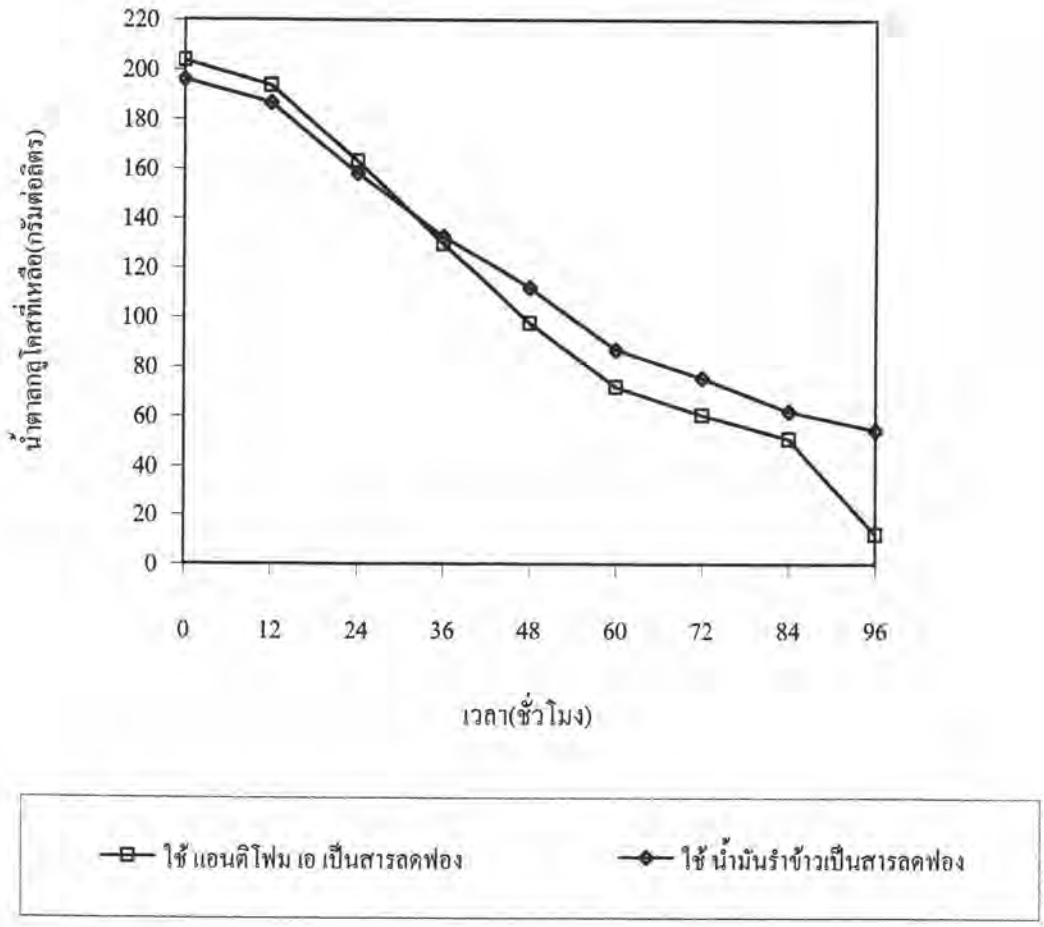
จาก **รูปที่ 3-39** จะเห็นได้ว่าที่ชั่วโมงการหมักที่ 0 ถึง 60 ชั่วโมง มีความหนืดของน้ำหมักค่อนข้างคงที่ใกล้เคียงกัน แต่หลังจากชั่วโมงการหมักที่ 6 ความหนืดของน้ำหมักเมื่อใช้แอนติโฟม เอ ควบคุมการเกิดฟองจะเริ่มมีความหนืดของน้ำหมักสูงกว่าการใช้น้ำมันรำข้าวควบคุมการเกิดฟอง โดยชั่วโมงการหมักที่ 96 วัดค่าความหนืดของน้ำหมักได้ 3000 และ 2400 เซนติพอยซ์ ตามลำดับ ซึ่งพบว่าการใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองแล้วจะทำให้ไม่มีปัญหาการกวน

ผสมเกิดขึ้นแต่จะให้ผลผลิตกรดมะนาวในระดับใกล้เคียงกับการใช้แอนติโฟม เอ ควบคุมการเกิดฟอง ดังแสดงในรูปที่ 3-38



รูปที่ 3-40 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเซลล์ของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 เมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันรำข้าวและ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

จาก **รูปที่ 3-40** พบว่าการใช้น้ำมันรำข้าวควบคุมการเกิดฟอง เชื้อ *Candida oleophila* C-73 จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วระหว่างการหมักชั่วโมงที่ 0 ถึง 36 แต่เมื่อใช้แอนติโฟม เอ ควบคุมการเกิดฟองเชื้อจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วระหว่างการหมักชั่วโมงที่ 0 ถึง 24 ซึ่งหลังจากนั้นเชื้อมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำลงในระดับใกล้เคียงกันโดยจะมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 เท่ากับ 19.48 และ 19.92 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ



รูปที่ 3-41 การเปรียบเทียบน้ำตาลกลูโคสที่เหลือของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 เมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันรำข้าวและ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

จาก **รูปที่ 3-41** ระหว่างการหมักชั่วโมงที่ 0 ถึง 36 เชื้อ *Candida oleophila* C-73 มีความสามารถในการนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้สำหรับการเจริญเติบโตและการผลิตกรดมะนาวในระดับใกล้เคียงกัน แต่หลังจากชั่วโมงการหมักที่ 36 เมื่อใช้ แอนติโฟม เอ เพื่อควบคุมการเกิดฟองจะมีอัตราการนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้สูงกว่าการใช้น้ำมันรำข้าวเพื่อควบคุมการเกิดฟอง ซึ่งพบว่าที่ชั่วโมงการหมักที่ 96 จะมีน้ำตาลกลูโคสเหลือในน้ำหมัก 12.02 และ 54.47 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเนื่องจากเมื่อใช้น้ำมันรำข้าวเพื่อควบคุมการเกิดฟองเมื่อทำการหมักจนถึงชั่วโมงที่ 96 แล้ว ยังมีความสามารถในการกวนผสมได้ดี อีกทั้งยังมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเหลืออยู่ในน้ำหมักค่อนข้างสูง จึงทำให้สามารถยืดระยะเวลาการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อยีสต์ออกไปได้อีก ดังนั้นการใช้น้ำมันรำข้าวเพื่อควบคุมการเกิดฟองจึงน่าจะมีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในถังหมักที่ออกแบบสร้างต่อไป

ตารางที่ 3-20 การเปรียบเทียบค่าทางจลนพลศาสตร์ของการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 เมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันรำข้าวและ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง

ค่าทางจลนพลศาสตร์	ภาวะการหมักต่าง ๆ	
	ใช้ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง	ใช้น้ำมันรำข้าว เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) (ชั่วโมง$^{-1}$)	0.012	0.015
Biomass yield ($Y_{X/S}$) (กรัมเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาลกลูโคส)	0.072	0.104
Product yield ($Y_{P/S}$) (กรัมกรดมะนาวต่อกรัมน้ำตาลกลูโคส)	0.544	0.721
Productivity (กรัมกรดมะนาวต่อลิตรต่อชั่วโมง)	1.085	1.063

จาก ตารางที่ 3-20 พบว่าการใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองจะส่งผลให้มีอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) และความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสเพื่อนำไปสร้างเป็นเซลล์ ($Y_{X/S}$) และกรดมะนาว ($Y_{P/S}$) สูงกว่าการใช้ แอนติโฟม เอ เป็นสารควบคุมการเกิดฟอง โดยมีอัตราการผลิตกรดมะนาว (Productivity) ในระดับใกล้เคียงกันคือ 1.063 และ 1.085 กรัมกรดมะนาวต่อลิตรต่อชั่วโมง และจากการเปรียบเทียบทั้งหมดข้างต้นการใช้น้ำมันรำข้าวเพื่อควบคุมการเกิดฟองจึงมีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้สำหรับผลิตกรดมะนาวในถังหมักที่ออกแบบสร้างขึ้นต่อไป