สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยเชื้อ Aspergillus niger A185

นางสาว สนธวรรณ สุภัทรประทีป

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2536

ISBN 974-583-530-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

018933 i17124578

OPTIMAL CONDITIONS FOR THE PRODUCTION OF CITRIC ACID IN A 5-L FERMENTER BY *Aspergillus niger* A185

Miss Sonthawan Supattaraprateep

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Department of Biotechnology
Graduate School
Chulalongkorn University
1993

ISBN 974-583-530-7

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยเชื้อ Aspergillus niger A185
โดย	นางสาว สนธวรรณ สุภัทรประทีป
ภาควิชา	หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วินิจ ขำวิวรรธน์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.ส่งศรี กุลปรีชา
	รองศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บัณฑิตมหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

_____ คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

_____ ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

_____ อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วินิจ ขำวิวรรธน์)

_____ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. ส่งศรี กุลปรีชา)

_____ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. นลิน นิลอุบล)

_____ กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

สนธวรรณ สุภัทรประทีป : สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตรโดยเชื้อ Aspergillus niger A185 (OPTIMAL CONDITIONS FOR THE PRODUCTION OF CITRIC ACID IN A 5-L FERMENTER BY Aspergillus niger A185) อ.ที่ปรึกษา : ผศ.วินิจ ขำวิวรรธน์, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร.ส่งศรี กุลปรีชา และ รศ.ดร.นลิน นิลอุบล, 111 หน้า. ISBN 974-583-530-7

อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ Aspergillus niger A185 หนึ่งลิตรประกอบด้วย แป้งมันสำปะหลังที่ย่อยด้วยเอนไซม์โดยมีค่าสมมูลเดกซ์โทรส(DE) ไม่ต่ำกว่า 94 เปอร์เซนต์ ปริมาณ 200 กรัมน้ำหนักแห้ง (total solid) แอมโมเนียมซัลเฟต 2.5 กรัม โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.4 กรัม ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.4 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต 0.3 กรัม ทองแดงไอออน(ในรูปคอปเพอร์ซัลเฟต) $0.5x10^{-3}$ กรัม และเมทิลแอลกอฮอล์ 3 เปอร์เซนต์ (ปริมาตรโดยปริมาตร) ปรับค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.5 การใช้สูตรอาหารดังกล่าวผลิตกรดมะนาวในระดับขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบการเขย่า 250 รอบต่อนาที ใช้หัวเชื้ออายุ 48 ชั่วโมง จะได้ผลผลิตกรดมะนาวสูงสุด 127.8 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 240 ของการหมัก เมื่อนำสูตรอาหารดังกล่าวไปใช้ในการผลิตกรดมะนาวในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการให้อากาศ 1.0 ลิตรอากาศต่อลิตรอาหารต่อนาที อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที หมักในสภาวะที่ไม่ควบคุมค่าความเป็นกรดด่าง พบว่า เชื้อจะผลิตกรดมะนาวได้ 115.3 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 204 ของการหมัก ประสิทธิภาพของการผลิตในถังหมัก สามารถเพิ่มได้โดยการเติมสารแหล่งคาร์บอนและสารแหล่งไนโตรเจนในปริมาณและช่วงเวลาการหมักที่เหมาะสม (fed-batch culture) จากผลการทดลองนี้ พบว่า เชื้อราสามารถผลิตกรดมะนาวได้สูงสุด 147.9 กรัมต่อลิตร ในเวลา 192 ชั่วโมงของการหมัก เมื่อเลี้ยงในถังหมักพร้อมกับการเติมสารแหล่งคาร์บอนและสารแหล่งไนโตรเจนโดยเชื้อผลิตกรดมะนาวได้สูงกว่าในระดับขวดเขย่า 17.8 เปอร์เซนต์ และสูงกว่าการหมักโดยไม่มีการเติมสารแหล่งคาร์บอนและสารแหล่งไนโตรเจน 28.3 เปอร์เซนต์

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2536 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

C226138 :: MAJOR BIOTECHNOLOGY
KEY WORD:
: Aspergillus niger / CITRIC ACID / FED-BATCH CULTURE
SONTHAWAN SUPATTARAPRATEEP : OPTIMAL CONDITIONS FOR THE PRODUCTION OF CITRIC ACID IN A 5-L FERMENTER BY Aspergillus niger A185. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. VINICH KHAMVIWATH THESIS CO-ADVISORS : ASSO. PROF. SONGSRI KULPREECHA, Ph.D. AND ASSO. PROF. NALINE NILUBOL, Ph.D. 111pp. ISBN 974-583-530-7

Production of citric acid by Aspergillus niger A185 was carried out by cultivation in a suitable medium consisting of 200 g (solid content) of hydrolyzed starch with dextrose equivalent of not less than 94%; ammonium sulfate, 2.5 g; potassium dihydrogen phosphate, 0.4 g; dipotassium hydrogen phosphate, 0.4 g; magnesium sulfate, 0.3 g; copper ion (as copper sulfate), 0.5 mg; and methyl alcohol, 3% (v/v) in one litre of medium with initial pH of 6.5. Optimal conditions for shake flask culture was carried out by using 48 hours inoculum culture, at 30 °C and rotary shaking at 250 r.p.m. By shake flask cultivation, citric acid production of 125.6 g/l was obtained within 240 hours. The production of citric acid by 5-L fermenter was investigated using the same medium compositions as above with an initial culture volume of 3.5 litre, at 30 °C, agitation speed at 500 r.p.m., and aeration rate at 1.0 v.v.m. with no pH controlled. In batch culture, 115.3 g/l of citric acid was obtained after 204 hours of cultivation while the maximum yield of 147.9 g/l was produced in fed-batch culture after 192 hours of cultivation, in which C and N sources were added at suitable time. Under fed-batch fermentation, citric acid productions were increased to 17.8% and 28.3%, higher than that by shake flask and by batch culture, respectively.

ภาควิชา หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ปีการศึกษา 2536 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วินิจ ขำวิวรรธน์ รองศาสตราจารย์ ดร.ส่งศรี กุลปรีชา และรองศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล ซึ่งได้ให้คำปรึกษา คำแนะแนว ข้อคิดเห็นต่างๆ และความช่วยเหลือทุกด้านตลอดระยะเวลาในการทำวิจัย รวมทั้งช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น จึงขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงสุดไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล ผู้อำนวยการสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์และสารเคมีในการทำวิจัยจนสำเร็จลงได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ที่ได้กรุณาเป็นประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ที่ได้กรุณาเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์ ที่ได้ให้คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือในการวิเคราะห์ผลทางจลนศาสตร์ และรองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ที่ให้คำปรึกษาและข้อคิดเห็นต่างๆด้านจุลชีววิทยา

ขอขอบคุณ คุณศยามล นองบุญนาก คุณเรวดี เลิศไตรรักษ์ ที่ให้คำแนะนำเทคนิคในการทำวิจัย รวมทั้งคุณวาสนา โตเลี้ยง อาจารย์ขจีนาฏ โพธิเวชกุล คุณศิริลักษณ์ ธีระดากร คุณจันทร์ธิรา ลัภยพร คุณวลัยรัตน์ เหล่าสินชัย นักวิจัย ช่างเทคนิค และเจ้าหน้าที่ประจำสถาบัน ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในทุกๆด้านเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ โดยเฉพาะ พี่จัน พี่หนุ่ม ปุ้ย ปุ๊ก เสือ เสริฐ เก่ง ตี๋ โอ หนุ่ม ก้อง ที่ให้ความช่วยเหลือทั้งกำลังใจและกำลังกายในการทำวิจัยให้สำเร็จด้วยดี

ขอขอบคุณ ฝ่ายวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ และบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนในการทำวิจัย

ท้ายที่สุด ขอกราบขอบพระคุณพ่อ และ แม่ ผู้เป็นที่เคารพยิ่ง รวมทั้งขอขอบคุณป้า น้าและน้องๆ ครอบครัวอันเป็นที่รัก ที่ได้ให้กำลังใจ กำลังกาย กำลังทรัพย์ ตลอดจนความรักและความเข้าใจซึ่งมอบให้แก่ข้าพเจ้าในการทำวิจัยนี้ด้วยดีตลอดมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฎ

สารบัญรูป ..... ฑ

คำอธิบายสัญญลักษณ์และคำย่อ ..... ฒ

บทที่

1 บทนำ

1. ประวัติความเป็นมา 1
2. จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดมะนาว 2
3. กระบวนการหมักกรดมะนาว 2
4. ชีวเคมีของการผลิตกรดมะนาว 4
5. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดมะนาว 6
6. สมบัติและประโยชน์ของกรดมะนาว 11
7. มูลเหตุจูงใจในการทำวิจัย 13
8. ขั้นตอนการดำเนินงาน 15

2 วิธีการทดลอง

1. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 16
2. เชื้อจุลินทรีย์ การเก็บรักษา และการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกรดมะนาว...19
3. วิธีการวิเคราะห์ 20

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่

3 ผลการทดลอง

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 23

1.1 สมบัติในรูปสมมูลเดกซ์โทรสและปริมาณของแป้งที่ผ่านการย่อยเพื่อใช้เป็นสารแหล่งคาร์บอน 23

1.1.1 สมบัติในรูปสมมูลเดกซ์โทรสของแป้งที่ผ่านการย่อยเพื่อใช้เป็นสารแหล่งคาร์บอน 23

1.1.2 ปริมาณของแป้งที่ผ่านการย่อย เพื่อใช้เป็นสารแหล่งคาร์บอน 27

1.2 การแปรผันปริมาณไอออนของทองแดงที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า .. 30

1.3 อายุของหัวเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 31

1.4 ผลของการเติมสารไขมันที่เหมาะสม สำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 37

1.5 ผลของการเติมสารแอลกอฮอล์โมเลกุลต่ำที่เหมาะสม สำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 38

1.6 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 43

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่

2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมัก 5 ลิตร 49

2.1 ผลของอัตราการกวนที่เหมาะสม สำหรับการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อรา A. niger A185 49

2.2 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้กระบวนการหมักแบบ batch culture 58

2.3 ผลของอัตราการเติมแป้งที่ผ่านการย่อยที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ A. niger A185 โดยใช้กระบวนการหมักแบบ fed-batch culture 58

2.3.1 การเติมแป้งที่ผ่านการย่อยโดยมีอัตราคงที่ตลอดการเติม. 60

2.3.2 การเติมแป้งที่ผ่านการย่อยโดยมีการแปรผันอัตราการเติม 66

2.4 ผลของการลดปริมาณสารฟอสเฟตเริ่มต้น ในการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อ A. niger A185ในกระบวนการหมักแบบ fed-batch culture 70

2.5 ผลของการเติมแอมโมเนียมซัลเฟต และแป้งที่ผ่านการย่อยในระหว่างการหมัก เพื่อใช้เป็นสารแหล่งไนโตรเจนและสารแหล่งคาร์บอนในการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อ A. niger A185 ในกระบวนการหมักแบบ fed-batch culture 74

2.6 ผลของการเพิ่มอัตราการเติมแป้งที่ผ่านการย่อย ในระหว่างการหมักที่มีการเติมแป้งที่ผ่านการย่อยและแอมโมเนียมซัลเฟต เพื่อใช้เป็นสารแหล่งคาร์บอน และสารแหล่งไนโตรเจน ในการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อ A. niger A185 ในกระบวนการหมักแบบ fed-batch culture 79

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่

3. วิเคราะห์และเปรียบเทียบข้อมูลเชิงจลนศาสตร์ ระหว่างการหมักกรดมะนาวในระดับขวดเขย่ากับระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้กระบวนการหมักแบบ batch culture และแบบ fed-batch culture ... 83

4 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 84

เอกสารอ้างอิง 91

ภาคผนวก

ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 98

ข การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย 102

ค กราฟมาตรฐาน 104

ง การย่อยแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ 108

จ สูตรคำนวณ 110

ประวัติผู้เขียน 111

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 ผลของการแปรผันสมมูลเดกซ์โทรสของแป้งที่ผ่านการย่อยเพื่อใช้เป็นสารแหล่งคาร์บอน ในการผลิตกรดมะนาวโดยใช้เชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า โดยการควบคุมปริมาณของแข็งทั้งหมดเป็น 200 กรัมต่อลิตร ... 24

2 ผลของการแปรผันปริมาณแป้งที่ผ่านการย่อย เพื่อใช้เป็นสารแหล่งคาร์บอนในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 27

3 ผลของการแปรผันปริมาณไอออนของทองแดงในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 31

4 ผลของการแปรผันอายุของหัวเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 34

5 ผลของการแปรผันปริมาณน้ำมันถั่วเหลืองที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 38

6 ผลของการแปรผันปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์ที่เหมาะสม สำหรับการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 43

7 ผลของการเลี้ยงเชื้อรา A. niger A185 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดมะนาว ในระดับขวดเขย่า 47

8ก ผลของการแปรผันอัตราการกวนที่ 300 รอบต่อนาที ในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร 51

8ข ผลของการแปรผันอัตราการกวนที่ 400 รอบต่อนาที ในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร 52

8ค ผลของการแปรผันอัตราการกวนที่ 500 รอบต่อนาที ในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร 53

8ง ผลของการแปรผันอัตราการกวนที่ 600 รอบต่อนาที ในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร 54

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

9ก ผลของการเติมแป้งที่ผ่านการย่อยอัตรา 1.92 กรัมต่อชั่วโมง เริ่มตั้งแต่ชั่วโมงที่ 96 ในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้กระบวนการหมักแบบ fed-batch culture . 61

9ข ผลของการเติมแป้งที่ผ่านการย่อยอัตรา 2.88 กรัมต่อชั่วโมง เริ่มตั้งแต่ชั่วโมงที่ 96 ในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้กระบวนการหมักแบบ fed-batch culture . 63

10 ผลของการเติมแป้งที่ผ่านการย่อยอัตรา 1.92 กรัมต่อชั่วโมง เริ่มตั้งแต่ชั่วโมงที่ 96 และเพิ่มอัตราการเติมเป็น 2.30 และ 2.88 กรัมต่อชั่วโมงในชั่วโมงที่ 120 และ 144 ตามลำดับ และหยุดการเติมตั้งแต่ชั่วโมงที่ 168 ในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้กระบวนการหมักแบบ fed-batch culture 67

11 ผลของการลดปริมาณสารฟอสเฟตเริ่มต้นในการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อรา A. niger A185 โดยใช้กระบวนการหมักแบบ fed-batch culture ... 71

12 ผลของการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตและแป้งที่ผ่านการย่อย ในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้กระบวนการหมักแบบ fed-batch culture 76

13 ผลของการเพิ่มอัตราการเติมแป้งที่ผ่านการย่อย ในระหว่างการหมักที่มีการเติมแป้งที่ผ่านการย่อยและแอมโมเนียมซัลเฟต เพื่อใช้เป็นสารแหล่งคาร์บอนและสารแหล่งไนโตรเจนในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้กระบวนการหมักแบบ fed-batch culture 80

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

14 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตกรดมะนาว ระหว่างการหมักในระดับขวดเขย่ากับในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้กระบวนการหมักแบบ batch culture และแบบ fed-batch culture ในการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อรา A. niger A185 83

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1 โครงสร้างของกรดมะนาว 1

2 วิถีเมตาบอลิสมของการสังเคราะห์กรดมะนาวในเชื้อรา A. niger 5

3 ปริมาณและมูลค่าการนำเข้ากรดมะนาวของประเทศไทยระหว่าง ปี 2524–2533 14

4 ผลของการแปรผันสมมูลเดกซ์โทรสของแป้งที่ผ่านการย่อย เพื่อใช้เป็นสารแหล่งคาร์บอน ในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่าโดยการควบคุมปริมาณของแข็งทั้งหมดเป็น 200 กรัมต่อลิตร

ก) สมมูลเดกซ์โทรส 85 เปอร์เซนต์

ข) สมมูลเดกซ์โทรส 90 เปอร์เซนต์

ค) สมมูลเดกซ์โทรส 94 เปอร์เซนต์ 25

5 เปรียบเทียบปริมาณกรดมะนาวที่เกิดขึ้นในการแปรผันสมมูลเดกซ์โทรสของแป้งที่ผ่านการย่อยเป็น 85 90 และ 94 เปอร์เซนต์ ในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 26

6 ผลของการแปรผันปริมาณแป้งที่ผ่านการย่อยในรูปของแข็งทั้งหมด เพื่อใช้เป็นสารแหล่งคาร์บอน ในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า

ก) ปริมาณของแข็งทั้งหมด 180 กรัมต่อลิตร

ข) ปริมาณของแข็งทั้งหมด 200 กรัมต่อลิตร

ค) ปริมาณของแข็งทั้งหมด 220 กรัมต่อลิตร 28

7 เปรียบเทียบปริมาณกรดมะนาวที่เกิดขึ้นในการแปรผันปริมาณแป้งที่ผ่านการย่อยในรูปของแข็งทั้งหมดเป็น 180 200 และ 220 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้เป็นสารแหล่งคาร์บอนในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 29

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

8 เปรียบเทียบปริมาณกรดมะนาวที่เกิดขึ้นในการแปรผันปริมาณไอออนทองแดงในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 32

9 ลักษณะการเจริญของหัวเชื้อที่เวลาต่างๆ .....

10 ผลของการแปรผันอายุของหัวเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า
ก) หัวเชื้ออายุ 48 ชั่วโมง
ข) หัวเชื้ออายุ 60 ชั่วโมง
ค) หัวเชื้ออายุ 72 ชั่วโมง 35

11 เปรียบเทียบปริมาณกรดมะนาวที่เกิดขึ้นในการแปรผันอายุของหัวเชื้อเป็น 48 60 และ 72 ชั่วโมง ในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 36

12 ผลของแปรผันปริมาณน้ำมันถั่วเหลืองที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า
ก) น้ำมันถั่วเหลือง 0 เปอร์เซนต์ (ชุดควบคุม)
ข) น้ำมันถั่วเหลือง 1 เปอร์เซนต์
ค) น้ำมันถั่วเหลือง 2 เปอร์เซนต์
ง) น้ำมันถั่วเหลือง 3 เปอร์เซนต์ 39

13 เปรียบเทียบปริมาณกรดมะนาวที่เกิดขึ้นในการแปรผันปริมาณน้ำมันถั่วเหลืองที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 41

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

14 ผลของการแปรผันปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า
ก) เมทิลแอลกอฮอล์ 0 เปอร์เซนต์ (ชุดควบคุม)
ข) เมทิลแอลกอฮอล์ 2 เปอร์เซนต์
ค) เมทิลแอลกอฮอล์ 3 เปอร์เซนต์
ง) เมทิลแอลกอฮอล์ 4 เปอร์เซนต์ 44

15 เปรียบเทียบปริมาณกรดมะนาวที่เกิดขึ้นในการแปรผันปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 46

16 การผลิตกรดมะนาวในสภาวะที่เหมาะสมโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับขวดเขย่า 48

17 ผลของการแปรผันอัตราการกวนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร
ก) อัตราการกวน 300 รอบต่อนาที
ข) อัตราการกวน 400 รอบต่อนาที
ค) อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที
ง) อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที 55

18 เปรียบเทียบปริมาณกรดมะนาวที่เกิดขึ้นในการแปรผันอัตราการกวนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร 57

19 การผลิตกรดมะนาวในสภาวะที่เหมาะสมโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้กระบวนการหมักแบบ batch culture . 59

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

20 ผลของการเติมแป้งที่ผ่านการย่อยโดยมีอัตราการเติมคงที่ตลอดการเติม ในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้กระบวนการหมักแบบ fed-batch culture

ก) อัตราการเติม 1.92 กรัมต่อชั่วโมง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 96

ข) อัตราการเติม 2.88 กรัมต่อชั่วโมง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 96 65

21 ผลของการเติมแป้งที่ผ่านการย่อยโดยมีการแปรผันอัตราการเติมเป็น 1.92 2.30 และ 2.88 ลิตรต่อชั่วโมง ในชั่วโมงที่ 96 120 และ 144 ตามลำดับ และหยุดการเติมตั้งแต่ชั่วโมงที่ 168 ของการหมัก ในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้กระบวนการหมักแบบ fed-batch culture 69

22 ผลของการลดปริมาณสารฟอสเฟตเริ่มต้นในการผลิตกรดมะนาว ที่มีการเติมแป้งที่ผ่านการย่อยโดยการแปรผันอัตราการเติมเป็น 1.92 2.30 และ 2.88 กรัมต่อชั่วโมง ในชั่วโมงที่ 96 120 และ 144 ตามลำดับ และหยุดการเติมตั้งแต่ชั่วโมงที่ 168 ของการหมัก โดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้กระบวนการหมักแบบ fed-batch culture 73

23 ผลของการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในอัตรา 3.30 4.12 และ 4.95 มิลลิกรัมต่อชั่วโมง ในชั่วโมงที่ 72 120 และ 144 ตามลำดับ และหยุดการเติมตั้งแต่ชั่วโมงที่ 168 ของการหมัก และเติมแป้งที่ผ่านการย่อยในอัตรา 1.92 2.30 และ 2.88 ลิตรต่อชั่วโมง ในชั่วโมงที่ 96 120 และ 144 ตามลำดับ และหยุดการเติมในชั่วโมงที่ 168 ของการหมัก เพื่อใช้เป็นสารแหล่งไนโตรเจนและสารแหล่งคาร์บอน ในการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้กระบวนการหมักแบบ fed-batch culture 78

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
24	ผลของการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในอัตรา 3.30 4.12 และ 4.95 มิลลิกรัมต่อชั่วโมง ในชั่วโมงที่ 72 120 และ 144 ตามลำดับ และหยุดการเติมตั้งแต่ชั่วโมงที่ 168 ของการหมัก และเติมแป้งที่ผ่านการย่อยในอัตรา 2.30 2.88 และ 3.07 ลิตรต่อชั่วโมง ในชั่วโมงที่ 96 120 และ 144 ตามลำดับ และหยุดการเติมในชั่วโมงที่ 168 ของการหมัก เพื่อใช้เป็นสารแหล่งไนโตรเจนและสารแหล่งคาร์บอน ในการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อรา A. niger A185 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้กระบวนการหมักแบบ fed-batch culture	82
25	กราฟมาตรฐานของน้ำตาลทั้งหมด	104
26	กราฟมาตรฐานของน้ำตาลรีดิวซ์	105
27	กราฟมาตรฐานของฟอสฟอรัส	106
28	กราฟมาตรฐานของกรดมะนาว	107
29	แสดงคุณสมบัติต่างๆของแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์	109

คำอธิบายสัญญลักษณ์และคำย่อ

สัญญลักษณ์	คำอธิบายสัญญลักษณ์	หน่วย
X	ความเข้มข้นของน้ำหนักเซลล์	กรัมต่อลิตร
S	ความเข้มข้นของสารตั้งต้น (น้ำตาล)	กรัมต่อลิตร
P	ความเข้มข้นของกรดมะนาว	กรัมต่อลิตร
t	เวลา	ชั่วโมง, วัน
V	ปริมาตรน้ำหมัก	ลิตร
F	อัตราการเติม	ลิตรต่อชั่วโมง
u	อัตราการเจริญจำเพาะ (specific growth rate)	ต่อชั่วโมง
qS	อัตราการใช้น้ำตาลจำเพาะ (specific sugar consumption rate)	กรัมน้ำตาลต่อ กรัมเซลล์ต่อชั่วโมง
qP	อัตราการเกิดกรดมะนาวจำเพาะ (specific citric acid formation rate)	กรัมกรดมะนาวต่อ กรัมเซลล์ต่อชั่วโมง
T	อุณหภูมิ	องศาเซลเซียส
DE	สมมูลเดกซ์โทรส (dextrose equivalent)	เปอร์เซนต์

คำย่อ

คำย่อ	คำอธิบาย
ชม.	ชั่วโมง
มก.	มิลลิกรัม
มล.	มิลลิลิตร
r.p.m.	รอบต่อนาที
v.v.m.	ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที
%	เปอร์เซนต์