บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ทำการออกแบบสร้างถังหมักเพื่อใช้สำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยอาศัยข้อมูลพื้นฐานที่ได้จากการศึกษาของ ประเสริฐ หาญเมืองใจ (2537) และของ ธีรวัฒนา ภาระมาตย์ (2540) พบว่าการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 จะสูงขึ้นเมื่อมีการให้อากาศอย่างพอเพียง เนื่องจากการผลิตกรดมะนาวจะเกิดขึ้นในวัฏจักรเครปส์ภายในเมทริกซ์ของไมโทคอนเดรียซึ่งเป็นภาวะที่ต้องการออกซิเจน แต่การผลิตกรดมะนาวมักประสบกับปัญหาความหนืดของน้ำหมักมักสูงขึ้นเมื่อมีการผลิตกรดมะนาวเพิ่มขึ้นทำให้การกวนผสมภายในถังหมักขนาด 5 ลิตรเกิดขึ้นไม่ดี เชื้อจึงสัมผัสกับอากาศและอาหารได้น้อยลง เนื่องจากน้ำหมักมีการเคลื่อนตัวเฉพาะบริเวณใบพัดกวนเท่านั้น

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการออกแบบสร้างถังหมักขนาด 12.5 ลิตร เพื่อผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 โดยถังหมักที่ออกแบบสร้างขึ้นมีส่วนประกอบหลักคือตัวเครื่องปฏิกรณ์ที่ประกอบด้วย ถังกวนรูปทรงกระบอก (ด้านข้างถังกวนมีแจคเก็ตหุ้มอยู่ 2 ชั้น) ใบพัดกวนและฝาถังกวน ซึ่งสร้างขึ้นจากเหล็กกล้าไร้สนิม 304 เพื่อป้องกันการกัดกร่อนจากกรดมะนาวที่ผลิตขึ้น มีรายละเอียดดังแสดงในวิธีการทดลองที่ 2.6 และเพื่อเป็นการแก้ปัญหาที่เกิดจากความหนืดของน้ำหมักดังนั้นถังหมักที่สร้างขึ้นจึงเลือกใช้ใบพัดกวนรูปเกือกม้า โดยติดเข็มปลายแหลมทำจากเหล็กกล้าไร้สนิม 304 ที่แกนกลางของใบพัดกวนด้านบน จำนวน 4 ตัวเพื่อใช้ตีฟองที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักเพื่อผลิตกรดมะนาว เนื่องจากการเกิดฟองล้นถังหมักนับเป็นปัญหาสำคัญอีกปัญหาหนึ่งที่เกิดขึ้นในถังหมักขนาด 5 ลิตร ทำให้มีการปนเปื้อนโดยจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ง่าย จากผลการทดลองในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร พบว่า เมื่อใช้อัตราการกวนสูงขึ้นเข็มปลายแหลมที่ติดอยู่บนแกนใบพัดกวนจะมีความสามารถในการควบคุมการเกิดฟองได้ดีขึ้น โดยพบว่าเมื่อใช้อัตราการกวนที่ 160 รอบต่อนาที เข็มปลายแหลมดังกล่าวจะมีประสิทธิภาพควบคุมการเกิดฟองได้สูงสุดโดยไม่มีการใช้สารควบคุมการเกิดฟองเลย

จากรายงานของ เรวดี เลิศไตรรักษ์ (2535) พบว่าอุณหภูมิระหว่างทำการหมักเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ซึ่งจะสามารถผลิตกรดมะนาวได้ดีเมื่อควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 28 องศาเซลเซียสตลอดการหมัก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการออกแบบสร้างชุดควบคุมอุณหภูมิโดยมีเทอร์มอคัปเปิลชนิดโครเมล อะลูเมล (K-type) เสียบผ่านฝาถังจุ่มลงในน้ำหมัก ซึ่งจะส่งสัญญาณเข้าเครื่องควบคุมเมื่ออุณหภูมิมีการเปลี่ยน

แปลง ถ้าอุณหภูมิของน้ำหมักลดลงเครื่องควบคุมอุณหภูมิจะส่งสัญญาณผ่านขดลวดให้ความร้อนที่จุ่มอยู่ในแจคเก็ตชั้นถัดจากตัวถังหมักให้ทำงาน โดยอาศัยน้ำมันที่บรรจุอยู่ในแจคเก็ตช่วยกระจายความร้อนจาก ขดลวดให้ความร้อน ผ่านเข้าสู่น้ำหมักภายในถังหมัก แต่ถ้าอุณหภูมิของน้ำหมักสูงกว่าที่ตั้งไว้คือ 28 องศาเซลเซียส ขดลวดให้ความร้อนจะหยุดทำงานโดยอาศัยน้ำเย็นที่อยู่ในแจคเก็ตชั้นนอกสุด ช่วยลดอุณหภูมิ โดยน้ำเย็นที่อยู่ในแจคเก็ตชั้นนอก จะมาจากเครื่องควบคุมระบบน้ำหล่อเย็น ซึ่งน้ำเย็นจากเครื่องควบคุมระบบน้ำหล่อเย็นดังกล่าว ก่อนที่จะเข้าสู่แจคเก็ตชั้นนอกสุดจะผ่านเข้าสู่เครื่องควบแน่นอากาศ (air condenser) ที่ออกจากถังหมักก่อน เพื่อป้องกันน้ำหมักภายในถังหมักระเหยจากการให้อากาศเข้าสู่ถังหมัก จากนั้นน้ำเย็นจากแจคเก็ตชั้นนอกสุดจะไหลกลับเข้าสู่เครื่องควบคุมระบบน้ำหล่อเย็นใหม่อีกครั้ง ทำให้มีการใช้น้ำได้อย่างคุ้มค่า ซึ่งแผนผังในการควบคุมอุณหภูมิจะแสดงอยู่ในรูปที่ 2-2

จากรายงานของ ธีรวัฒนา ภาระมาตย์ (2540) พบว่าการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร จะมีอัตราการผลิตสูงขึ้น เมื่อมีการใช้อัตราการกวนสูงขึ้น โดยจะมีการผลิตกรดมะนาวสูงสุดเมื่อใช้อัตราการกวนผสม 600 รอบต่อนาที ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการทดสอบการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักที่ออกแบบสร้างขึ้นโดยอาศัยเกณฑ์กายภาพที่นิยมใช้กำหนดการขยายส่วนการผลิตของเครื่องหมักแบบถังกวน (Wang et al.,1979) ได้แก่ เวลาที่ใช้ในการกวนผสม ค่าเรโนลนัมเบอร์ (Reynolds number, N_{Re}) ความเร็วรอบของปลายใบพัด (πnDi) อัตราส่วนระหว่างกำลังมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมัก (Pg/V) และสัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจน(K_La) โดยทำการคำนวณเพื่อให้ค่าต่างๆมีค่าคงที่ระหว่างถังหมักขนาด 5 ลิตร และ 12.5 ลิตรที่ออกแบบสร้างขึ้น จากการคำนวณในภาคผนวก ค พบว่าต้องใช้อัตราการกวนสูงมากซึ่งอาจทำให้ถังหมักที่ออกแบบสร้างเกิดความเสียหายได้อีกทั้งยังขาดอุปกรณ์สำหรับวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก ดังนั้นจึงทำการทดสอบการผลิตกรดมะนาวโดยการแปรผันอัตราการกวนในช่วงที่ถังหมักสามารถทำงานได้คือ 90 , 125 และ 160 รอบต่อนาทีแทน ซึ่งพบว่าที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 สามารถผลิตกรดมะนาวได้ 42.91 , 48.71 และ 54.22 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานของ ธีรวัฒนา ภาระมาตย์(2540) โดยอัตราการกวนที่เหมาะสมในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร คือ 160 รอบต่อนาที

จากรายงานของ Rane และ Sims (1993) กล่าวว่าการเพิ่มค่าละลายของออกซิเจนในน้ำหมักจะมีผลโดยตรงต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ให้สูงขึ้น อีกทั้ง Okoshi และคณะ (1987) ได้รายงานว่าการเพิ่มปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำให้การผลิตกรดมะนาวเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งนอกจากการกวนอาหารเลี้ยงเชื้อจะเป็นการเพิ่มการละลายและการถ่ายเทออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดีแล้ว การให้อากาศเข้าสู่ถังหมักโดยตรงก็เป็นอีกวิธีหนึ่ง

ดังนั้นจึงทำการทดสอบการผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยการแปรผันอัตราการให้อากาศ คือ 1.0 , 1.5 และ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที ซึ่งพบว่าที่ชั่วโมงการหมักที่ 180 สามารถผลิตกรดมะนาวได้ 54.22 , 61.36 และ 75.00 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานข้างต้น โดยอัตราการให้อากาศที่เหมาะสำหรับถังหมักขนาด 12.5 ลิตร คือ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที

จากรายงานของ ธีรวัฒนา ภาระมาตย์ (2540) กล่าวว่าการเพิ่มปริมาณหัวเชื้อของ *Candida oleophila* C-73 ในรูปเซลล์ตรึงในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวให้สูงขึ้น จะมีผลให้การผลิตกรดมะนาวสูงขึ้นด้วย แต่จากรายงานของ ประเสริฐ หาญเมืองใจ (2537) กล่าวว่าน้ำหนักเซลล์แห้งเริ่มต้นของเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในรูปเซลล์อิสระในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดมะนาวคือ ประมาณ 7 กรัมต่อลิตร ซึ่งจะอยู่ในช่วงท้ายของการเจริญแบบทวีคูณ และเริ่มเข้าสู่ระยะของการเจริญแบบคงที่ ดังนั้นจึงทำการทดสอบการผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยเลือกใช้เซลล์อิสระอายุ 18 ชั่วโมง ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อซึ่งมีน้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 7 กรัมต่อลิตร (ภาคผนวก ข) เพื่อนำมาผลิตกรดมะนาวในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาว เพิ่มจากร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เป็นร้อยละ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เพื่อศึกษาการผลิตกรดมะนาว พบว่าที่ระยะการหมัก 180 ชั่วโมง สามารถผลิตกรดมะนาวได้เพียง 70.50 กรัมต่อลิตร ซึ่งพบว่าปริมาณกรดมะนาวที่ได้ต่ำกว่าเมื่อใช้หัวเชื้อเริ่มต้นที่ปริมาณร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ที่สามารถผลิตกรดมะนาวได้ 75.00 กรัมต่อลิตร ดังนั้นการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นปริมาณร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) จึงเหมาะสมต่อการผลิตกรดมะนาวอยู่แล้ว และการที่เชื้อมีความสามารถในการผลิตกรดมะนาวต่ำลง อาจมีสาเหตุมาจากการเพิ่มปริมาตรของหัวเชื้อซึ่งเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการเจริญที่อุดมไปด้วยสารแหล่งไนโตรเจนจากเปปโตน จากสารสกัดจากมอลต์ และสารสกัดจากยีสต์ โดยรายงานของ Makay และคณะ (1994) ได้กล่าวว่าการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์จำเป็นต้องควบคุมปริมาณสารแหล่งไนโตรเจนให้เพียงพอต่อการเจริญเท่านั้น เนื่องจากยีสต์จะสะสมกรดมะนาวหลังจากที่สารแหล่งไนโตรเจนในอาหารเริ่มถูกใช้หมดไปเท่านั้น

Kubicek และ Rohr (1986) ได้รายงานว่า นอกจากการเติมสารอาหารต่างๆที่มีอยู่ในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวแล้ว ยังมีสารที่จำเป็นสำหรับการเจริญและการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์คือ วิตามินบี 1 ในรูป ไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ ดังนั้นจึงทดสอบการผลิตกรดมะนาวด้วยยีสต์ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร โดยทดลองเติม ไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ลงในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาว พบว่าที่ระยะการหมัก 180 ชั่วโมงสามารถผลิตกรดมะนาวได้ 74.10 กรัมต่อลิตร จากการทดลองนี้พบว่าเชื้อสามารถผลิตกรดมะนาวได้ในปริมาณใกล้เคียงกับ

การทดลองเมื่อไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ แต่สารดังกล่าวกลับไปส่งผลต่อการเจริญของเชื้อมากกว่า คือได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ระยะการหมัก 180 ชั่วโมง ประมาณ 23.27 กรัมต่อลิตร ในขณะที่เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารปกติที่ไม่เติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์จะมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 20.08 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการเติมไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ ไม่มีความจำเป็นสำหรับการผลิตกรดมะนาว ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า ในสูตรอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวมีสารสกัดจากยีสต์ ซึ่งประกอบไปด้วยกรดอะมิโนและวิตามินหลายชนิดซึ่งรวมถึงวิตามินบี 1 ในปริมาณที่พอเพียงอยู่แล้ว (Abou-Zeid and Ashy,1984)

จากรายงานของ Chung และ Chang (1988) กล่าวว่ากระบวนการหมักในระดับอุตสาหกรรมจะต้องใช้พลังงานสูงในการกวนและการให้อากาศ ดังนั้น ประเสริฐ หาญเมืองใจ (2537) จึงได้ทดลองใช้ด่างแก่ในการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างในถังหมักขนาด 5 ลิตร เพื่อลดปัญหาความหนืดที่เกิดขึ้นโดยการเติมด่างแก่นี้จะเติมแบบอัตโนมัติให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างไม่ต่ำกว่า 5 ตลอดการทดลองเพื่อเป็นการแก้ปัญหาการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตที่ใส่ทั้งหมดตั้งแต่ต้น โดยทดลองใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10 นอร์มอล และทดลองใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่เตรียมในรูปสารแขวนลอยในน้ำปริมาณร้อยละ 50 น้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ แต่พบว่าความสามารถในการผลิตกรดมะนาวที่ได้ช้าและต่ำกว่าการใช้แคลเซียมคาร์บอเนตควบคุม ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาผลของการใช้แคลเซียมออกไซด์ (เตรียมในรูปสารแขวนลอยในน้ำปริมาณร้อยละ 30 น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เปรียบเทียบกับการใช้แคลเซียมคาร์บอเนต 100 กรัมต่อลิตรในการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างในถังหมักขนาด 5 ลิตรแทนการศึกษาในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร เนื่องจากใช้เวลาในการผลิตกรดมะนาวเร็วกว่าและเนื่องจากราคาของแคลเซียมออกไซด์ถูกกว่าแคลเซียมคาร์บอเนต อีกทั้งแคลเซียมออกไซด์ยังมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าแคลเซียมคาร์บอเนต จึงน่าจะช่วยลดปัญหาของความหนืดของหมักซึ่งทำให้เกิดการกวนผสมไม่ดีในถังหมักขนาด 5 ลิตรได้ ผลการทดลองเมื่อใช้สารแขวนลอยของแคลเซียมออกไซด์และแคลเซียมคาร์บอเนตควบคุมค่าเป็นกรด-ด่างในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 พบว่าที่ระยะการหมัก 96 ชั่วโมง สามารถผลิตกรดมะนาวได้ 87.16 และ 104.17 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่เนื่องจากการเติมแคลเซียมออกไซด์ทำให้น้ำหมักเจือจางลงมาก ดังนั้นจึงต้องพิจารณาจากปริมาณกรดมะนาวที่เหลือทั้งหมดในถังหมัก ซึ่งได้ประมาณ 339.05 และ 353.14 กรัม ตามลำดับ พบว่าเมื่อทำการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตจะให้ผลผลิตกรดมะนาวสูงกว่า แต่พบว่ามีปัญหาการกวนผสมไม่ดีเนื่องจากน้ำหมักมีลักษณะคล้ายแป้งเปียกที่มีความข้นสูงมาก โดยวัดค่าความหนืดที่

ระยะการหมัก 96 ชั่วโมง ได้ถึง 3000 เซนติพอยซ์ แต่พบว่าเมื่อใช้แคลเซียมออกไซด์ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างน้ำหมักจะไม่มีปัญหาความหนืดเกิดขึ้น

การผลิตกรดมะนาวโดย *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่านอกจากปัญหาความหนืดของหมักสูงทำให้การกวนผสมภายในถังหมักไม่มีประสิทธิภาพเชื้อจึงได้รับออกซิเจนไม่พอเพียงและไม่สามารถสัมผัสกับอาหารได้อย่างทั่วถึงอีกทั้งยังยากต่อการเก็บเกี่ยวผลผลิตและเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนได้สูงแล้ว ยังพบว่าปัญหาที่สำคัญอีกประการคือ ปัญหาการเกิดฟองล้นถังในระหว่างการหมักเพื่อผลิตกรดมะนาวจึงทำให้ต้องมีการใช้สารควบคุมการเกิดฟองเป็นจำนวนมาก ดังนั้นจึงทำการศึกษาผลของการใช้สารควบคุมการเกิดฟองชนิดต่างๆต่อการผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร แต่ใช้แคลเซียมออกไซด์ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างแทนการใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาความหนืดจากน้ำหมักซึ่งทำให้การเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์เกิดความคลาดเคลื่อนได้ โดยเลือกใช้น้ำมันพืช 3 ชนิด ได้แก่ น้ำมันปาล์ม น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันรำข้าวซึ่งเป็นผลผลิตทางการเกษตรราคาถูกที่ผลิตมากในประเทศไทย เปรียบเทียบกับการใช้ แอนติโฟม เอ (antifoam A) ซึ่งเป็นสารจำพวกซิลิโคนโพลิเมอร์ที่มีราคาแพงโดยมีลักษณะโครงสร้างโดยทั่วไปดังนี้ คือ

$$(CH_3)_3SiO[Si(CH_3)_2O]_nSi(CH_3)_3$$

เมื่อ n เท่ากับ 0 ถึง 2,500 โดยประมาณ (Hall et al.,1973) พบว่าสามารถผลิตกรดมะนาวที่ระยะการหมัก 96 ชั่วโมงได้ 92.41 , 99.65 , 109.45 และ 87.16 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลการทดลองที่ได้พบว่า เมื่อใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองสามารถให้ผลผลิตกรดมะนาวสูงที่สุด อีกทั้งยังพบว่าการใช้น้ำมันพืชเป็นสารควบคุมการเกิดฟองจะมีผลทำให้น้ำหมักเกิดความหนืดช้ากว่าการใช้ แอนติโฟม เอ ทำให้ไม่มีปัญหาการกวนผสมเกิดขึ้น

ดังนั้นในการทดลองต่อมาจึงทำการศึกษาผลของการใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารควบคุมการเกิดฟองในน้ำหมักเมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างในถังหมักขนาด 5 ลิตร เนื่องจากการใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างจะทำให้เชื้อ *Candida oleophila* C-73 มีประสิทธิภาพการผลิตกรดมะนาวสูงกว่าการใช้แคลเซียมออกไซด์ และเพื่อใช้เป็นข้อมูลเปรียบเทียบกับผลการทดลองในถังหมักขนาด 12.5 ลิตรที่ออกแบบสร้างขึ้น โดยพบว่า **ในถังหมักขนาด 5 ลิตร** ที่ระยะการหมัก 96 ชั่วโมง เชื้อ *Candida oleophila* C-73 สามารถผลิตกรดมะนาวได้ 102.04 กรัมต่อลิตร มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 19.48 กรัมต่อลิตร มีน้ำตาลกลูโคสเหลืออยู่ในน้ำหมัก 54.47 กรัมต่อลิตร โดยวัดค่าความหนืดของน้ำหมักได้ 2400 เซนติพอยซ์ **แต่ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร** ที่ระยะการหมัก 180 ชั่วโมง จะสามารถผลิตกรดมะนาวได้ 75.00 กรัมต่อลิตร มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 20.08 กรัมต่อลิตร มีน้ำตาลกลูโคสเหลืออยู่ในน้ำหมัก

60.70 กรัมต่อลิตร โดยวัดค่าความหนืดของน้ำหมักได้เพียง 675 เซนติพอยซ์ จากการเปรียบเทียบพบว่าอัตราการผลิตกรดมะนาว (Productivity)ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร จะช้ากว่าในถังหมักขนาด 5 ลิตรมาก คือจะผลิตกรดมะนาวได้ 0.417 และ 1.063 กรัมกรดมะนาวต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งเป็นปัญหาที่มักพบเมื่อมีการขยายส่วนการผลิตขึ้น (Wang et al.,1979) ดังนั้นเพื่อให้ได้ปริมาณกรดมะนาวที่สูงขึ้นจึงควรทำการศึกษาโดยเพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการกวนผสมให้นานขึ้น เนื่องจากพบว่าที่ชั่วโมงสุดท้ายของการหมักยังมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเหลืออยู่ในน้ำหมักค่อนข้างสูง และเมื่อพิจารณาผลการทดลองที่ได้ทั้งหมดจากการขยายส่วนการผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 12.5 ลิตร คาดว่างานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการปฏิบัติงานได้จริงในระดับการหมักที่ใหญ่ขึ้นจนถึงในระดับอุตสาหกรรมได้ แต่เพื่อให้เกิดความแน่ชัดควรจะทำการวิจัยการผลิตกรดมะนาวในถังหมักที่มีขนาดใหญ่กว่านี้

จากการทดลองทั้งหมดพบว่าภาวะที่เหมาะสมต่อการขยายส่วนการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 12.5 ลิตรที่ออกแบบสร้างขึ้น คือการเลี้ยงเชื้อโดยใช้สูตรอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีน้ำตาลกลูโคส 200 กรัมต่อลิตรเป็นสารแหล่งคาร์บอน , แอมโมเนียมคลอไรด์ 2.0 กรัมต่อลิตรเป็นสารแหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจน , โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2 กรัมต่อลิตรเป็นสารแหล่งฟอสเฟต (เนื่องจากฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบของส่วนสำคัญต่างๆในเซลล์ เช่น กรดนิวคลีอิค นิวคลีโอไทด์ และฟอสฟอลิปิด) , แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรตและแมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต 0.5 และ 0.2 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นแร่ธาตุ(trace element)ซึ่งมีความสำคัญต่อการผลิตกรดมะนาว , สารสกัดจากยีสต์ 1.0 กรัมต่อลิตรเป็นสารแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนและเป็นสารเสริมซึ่งอุดมไปด้วย ไธอะมีน กรดนิโคตินิก และไบโอตินที่มีความจำเป็นต่อการเจริญและการผลิตกรดมะนาว (Kubicek and Rohr, 1986) และ แคลเซียมคาร์บอเนต 100 กรัมต่อลิตร (เนื่องจากแคลเซียมคาร์บอเนตมีความสามารถในการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วง 4.5 ถึง 6.5 ซึ่งเหมาะสมต่อการผลิตกรดมะนาวด้วยเชื้อ *Candida oleophila* C-73 โดยที่สามารถเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมดตั้งแต่ต้นชั่วโมงการหมัก ทำให้ช่วยลดค่าใช้จ่ายจากการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องมือควบคุมการเติมแบบอัตโนมัติ) โดยในระหว่างการหมักจะใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารลดฟอง เนื่องจากมีราคาถูกกว่าการใช้ แอนติโฟม เอ ซึ่งเป็นซิลิโคนโพลิเมอร์ แต่มีคุณสมบัติเป็นสารพวก surface active agent (surfactant) ซึ่งสามารถลดแรงตึงผิวของฟองได้ (Hall et al.,1973) อีกทั้งน้ำมันรำข้าวยังจัดว่าเป็นสารแหล่งคาร์บอนหนึ่งที่เชื้อ *Candida oleophila* C-73 สามารถนำไปใช้เพื่อผลิตกรดมะนาวได้ โดยควบคุมภาวะการหมักที่อัตราการกวน 160 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ตามลำดับ