บทที่ 3

ผลการทดลอง

1. การเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตกรดโดยเชื้อรา Aspergillus niger 12 สายพันธุ์ เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดมะนาวในระดับขวดเขย่า

เลี้ยงเชื้อ A . niger ทั้ง 12 สายพันธุ์ตามวิธีทดลองในข้อ 2.3.3 โดยใช้สูตรอาหารในภาคผนวกที่ 1.3 ซึ่งมีแป้งที่ย่อยแล้ว 200 กรัม/ลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน เลี้ยงเชื้อราบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 °ซ. ที่เขย่าด้วยความเร็ว 250 รอบ/นาที นาน 10 วัน ทำการวิเคราะห์กรดทั้งหมดตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.1 พบว่า เมื่อใช้แป้งที่ย่อยแล้วเป็นแหล่งคาร์บอน เชื้อรา A . niger สายพันธุ์ A 13 เจริญเติบโตได้ดีที่สุดคือ ให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 17.7 กรัม/ลิตร แต่ปริมาณกรดทั้งหมดที่ผลิตได้มีค่าต่ำ คือ 42 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 5) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการทดลองนี้ พบว่า A. niger สายพันธุ์ A 185 ผลิตกรดทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 120 กรัม /ลิตร (รูปที่ 4) ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปจึงเลือกใช้ A . niger สายพันธุ์ A 185 เป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสำหรับการผลิตกรดมะนาว

2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา Aspergillus niger A 185 ในระดับขวดเขย่า

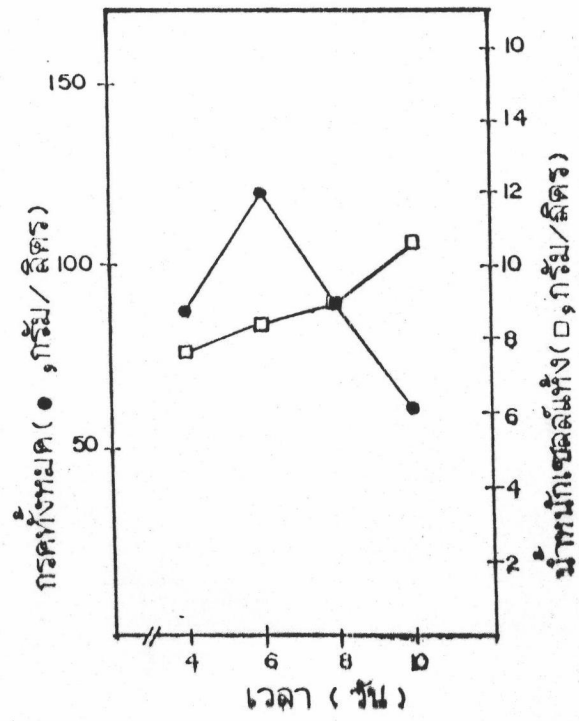
2.1 การเจริญของเชื้อรา A . niger A 185 ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ

เลี้ยง A . niger A 185 ตามวิธีทดลองที่กล่าวไว้ในข้อ 2.3.2 โดยใช้สูตรอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ ตามภาคผนวกที่ 1.2 แปรผันจำนวนสปอร์เริ่มต้น $1x10^6$ $1x10^7$ และ $1x10^8$ สปอร์/มล.ตามลำดับ ตรวจสอบน้ำหนักเซลล์แห้งตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.4 พบว่า ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ของเชื้อราจะมีลักษณะแตกต่างกันขึ้นกับจำนวนสปอร์เริ่มต้นกล่าวคือ เมื่อใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้น $1x10^6$สปอร์/มล. เชื้อราที่เจริญแล้วจะมีลักษณะเป็นกลุ่มสายใย (pellet)ขนาดใหญ่ แต่ถ้าใช้จำนวนสปอร์

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบเชื้อรา Aspergillus niger 12 สายพันธุ์ โดยใช้แป้งที่ย่อยแล้ว เป็นแหล่งคาร์บอน

A.niger สายพันธุ์	แป้งที่ย่อยแล้ว กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	น.น.เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	วันที่
A 3	14	11.6	6
A 5	16	10.5	4
A 13	42	17.7	10
A 16	19	10.3	4
A 18	72	10.6	6
A 22	11	14.5	6
A 35	17	13.0	6
A 41	19	7.8	10
A 46	9	7.3	8
A 185	120	8.4	6
NRC 401121	34	8.9	4
NRRL 2270	20	7	6

วันที่ : วันที่ให้ผลิตภัณฑ์สูงสุด



รูปที่ 4 ปริมาณกรดทั้งหมดและน้ำหนักเซลล์แห้งของ Aspergillus niger A 185 เมื่อใช้แป้งที่ย่อยแล้ว เป็นแหล่งคาร์บอน

เริ่มต้น $1x10^7$สปอร์/มล. เชื้อราเจริญเป็นกลุ่มสายใยที่มีขนาดเล็ก และเมื่อใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้น $1x10^8$ สปอร์/มล. เชื้อราเจริญเป็นเส้นใยกระจายซึ่งเป็นลักษณะที่เหมาะจะใช้เป็นหัวเชื้อ

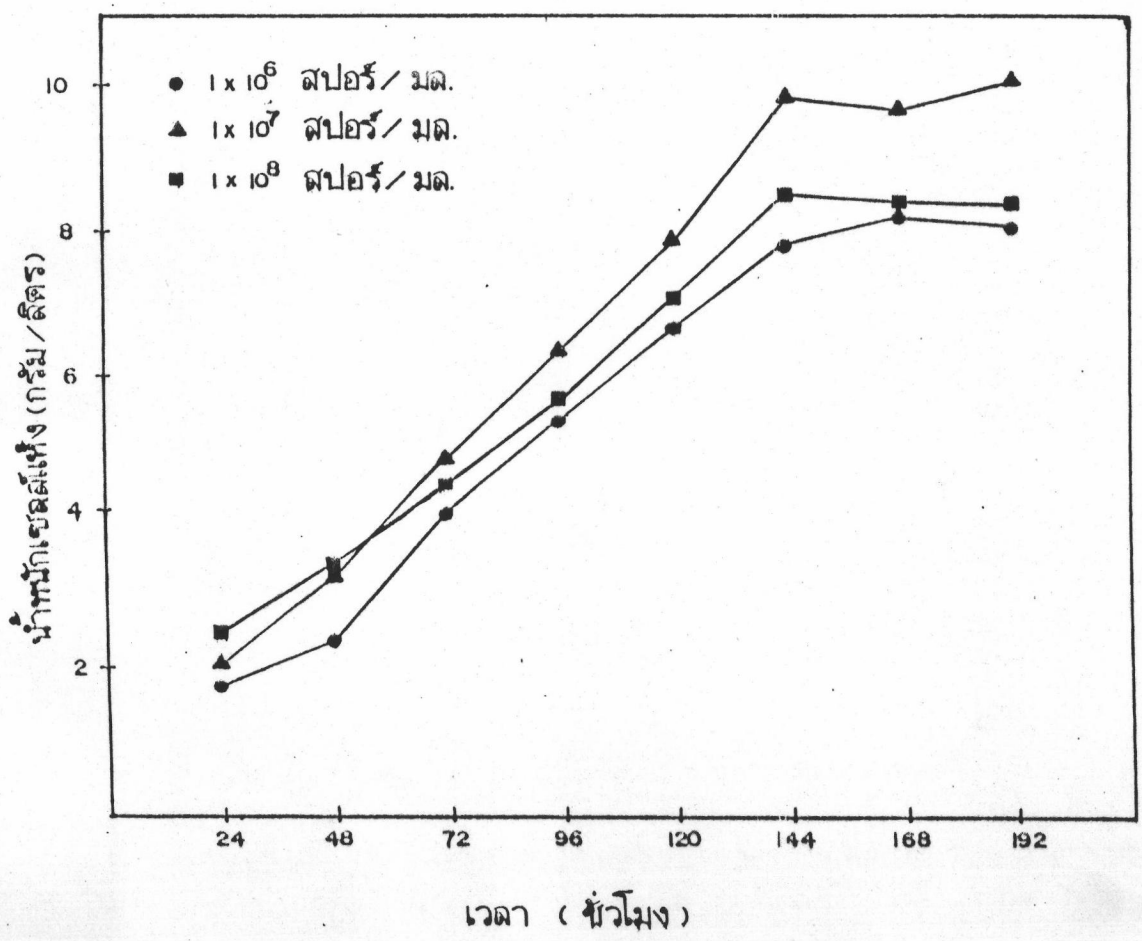
เนื่องจากลักษณะของเชื้อราเมื่อใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้น $1x10^7$ สปอร์/มล. มีลักษณะเป็นกลุ่มสายใยขนาดเล็ก และเมื่อใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้น $1x10^8$ สปอร์/มล. มีลักษณะเส้นใยกระจาย ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดมะนาว เนื่องจากการที่เส้นใยกระจายและมีลักษณะเป็นกลุ่มสายใยขนาดเล็ก ทำให้แต่ละเส้นใยได้รับอาหารอย่างทั่วถึง แต่การเตรียมสปอร์ให้มีความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. มีขั้นตอนการเตรียมหลายขั้นตอน ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นสามารถปนเปื้อนได้ง่าย และเมื่อทำการเปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้งในระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ 72 ชม. ซึ่งเป็นเวลาจุดกึ่งกลางของการเจริญแบบทวีคูณ (mid-log phase) พบว่า น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อราที่มีจำนวนสปอร์เริ่มต้น $1x10^7$ สปอร์/มล. มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดคือ 4.9 กรัม/ลิตร (รูปที่ 5)

ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไป จึงเลือกใช้อาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อที่มีจำนวนสปอร์เริ่มต้น $1x10^7$ สปอร์/มล. โดยใช้ระยะเวลาการเลี้ยง 72 ชม. สำหรับเป็นหัวเชื้อในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดมะนาว ทั้งในระดับขวดเขย่า และถังหมักขนาด 5 ลิตร

2.2 องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.2.1 ปริมาณแป้งที่ย่อยแล้วที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาว

เลี้ยงเชื้อ A. niger A 185 ตามวิธีทดลองในข้อ 2.3.3 โดยใช้สูตรอาหารในภาคผนวกที่ 1.3 ซึ่งประกอบด้วย แอมโมเนียมซัลเฟต โปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต และแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรท แปรผันปริมาณแป้งที่ย่อยแล้วตั้งแต่ 100 กรัม/ลิตร ถึง 900 กรัม/ลิตร ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดมะนาวตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2 พบว่า เชื้อรา A. niger A 185 สามารถใช้แป้งที่ย่อยแล้วปริมาณ 450 กรัม/ลิตร เพื่อการผลิตกรดมะนาวได้สูงสุดคือ 106 กรัม/ลิตร โดยคิดเป็นร้อยละ 44.5 เมื่อเทียบกับปริมาณกรดทั้งหมดคือ 238 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 6) ปริมาณกรดมะนาวและกรดทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และมีค่าสูง

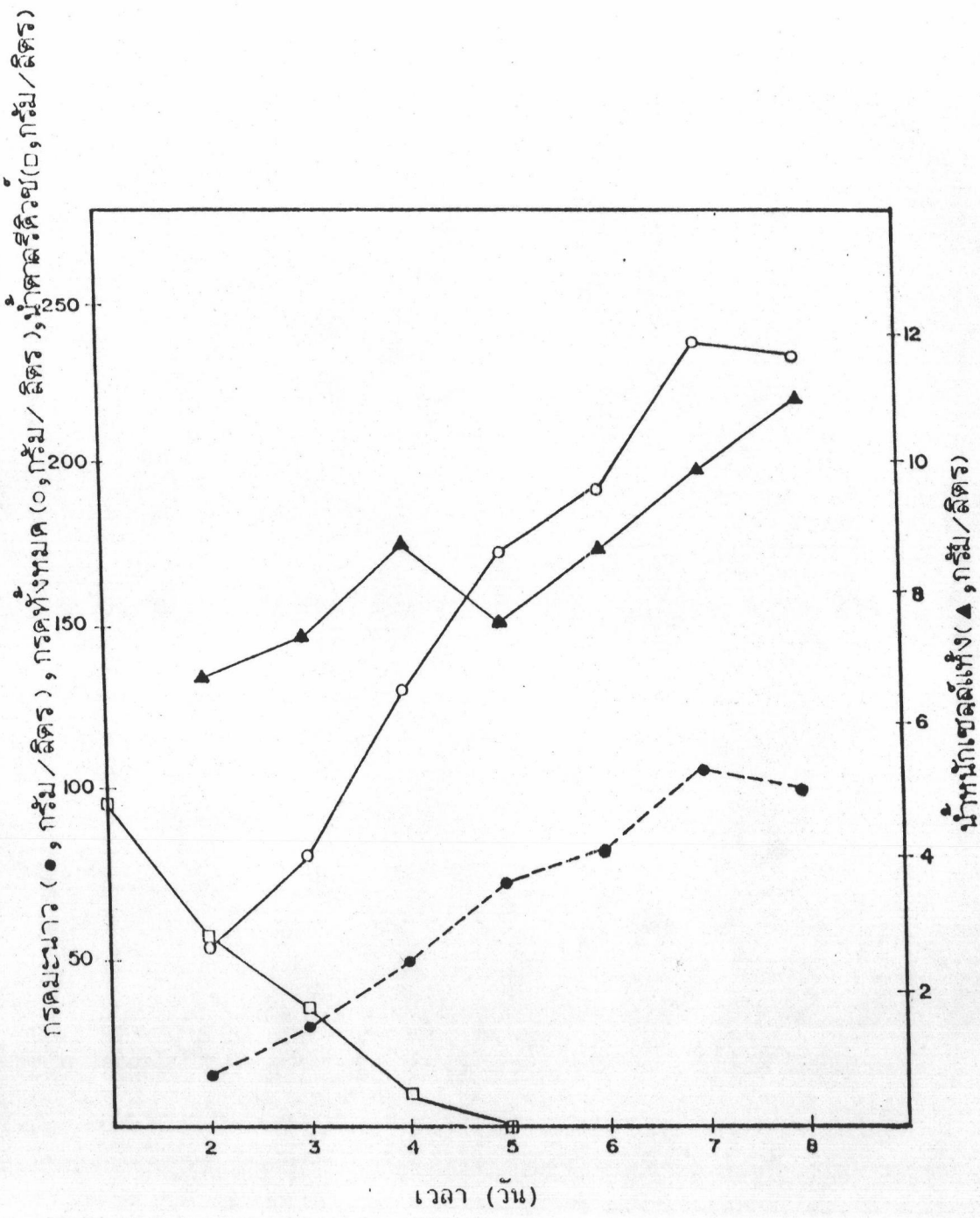


รูปที่ 5 เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อรา Aspergillus niger A 185 ที่มีจำนวนสปอร์เริ่มต้นในหัวเชื้อ $1x10^6$ $1x10^7$ และ $1x10^8$ สปอร์/มล. ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ผลการแปรผันปริมาณแป้งที่ย่อยแล้ว ต่อการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อ Aspergillus niger A 185

แป้งที่ย่อยแล้ว (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น.เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
100	11	51	21.5	6.5	1.8
150	33	99	33.3	6.2	1.6
200	42	111	37.8	7.5	1.6
250	47	129	36.4	8.6	1.7
300	50	143	34.9	9.2	1.7
350	61	163	37.4	10.7	1.6
400	82	215	38.1	9.5	1.6
450	106	238	44.5	9.9	1.6
500	91	220	41.3	9.0	1.6
630	84	198	42.4	8.7	1.6
900	73	175	41.7	8.1	1.6

$$\text{กรดมะนาว (ร้อยละ)} = \frac{\text{กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)}}{\text{กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)}} \times 100$$



รูปที่ 6 การผลิตกรดมะนาวของเชื้อ Aspergillus niger A 185 เมื่อใช้แป้งที่ย่อยแล้ว 450 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน

สุดในวันที่ 7 ของการหมัก (รูปที่ 6) ดังนั้น ในการทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้แป้งที่ย่อยแล้วปริมาณ 450 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน

2.2.2 ชนิดของสารแหล่งไนโตรเจน

เลี้ยงเชื้อ A . niger A 185 ตามวิธีทดลองข้อ 2.3.3 โดยใช้สูตรอาหารในภาคผนวกที่ 1.4 ซึ่งมีปริมาณแป้งที่ย่อยแล้ว 450 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันชนิดของสารแหล่งไนโตรเจนโดยมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) เท่ากับ 0.7 กรัม/ลิตร ทำการวิเคราะห์กรดมะนาวตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2 พบว่า สารแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ คอร์นสตีปลิเคอร์ผงยีสต์สกัด ผงเนื้อสกัดกากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันแล้ว สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันแล้ว และสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวที่สกัดไขมันแล้ว ทำให้เชื้อราเจริญเติบโตได้ดีมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูง ได้แก่ 13.0 15.7 13.5 11.5 12.7 และ 12.1 กรัม/ลิตร ตามลำดับ แต่ผลิตกรดมะนาวในปริมาณต่ำ (ตารางที่ 7) ดังนั้นจึงไม่เลือกใช้แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนดังกล่าวเป็นแหล่งไนโตรเจนเพื่อการผลิตกรดมะนาว ถึงแม้ว่าบางชนิดจะมีราคาถูกและหาได้ง่ายภายในประเทศ

สำหรับแหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต โซเดียมไนเตรท แอมโมเนียมไนเตรท แอมโมเนียมคลอไรด์ และ แอมโมเนียมไบคาร์บอเนต ผลิตกรดมะนาวปริมาณ 99 85 80 64 และ 32 กรัม/ลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 7) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดมะนาวที่ได้จากการใช้แหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจน และปริมาณกรดมะนาวที่ได้จากการใช้แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าแหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจน โดยเฉพาะแอมโมเนียมซัลเฟต ช่วยให้เชื้อ A . niger A 185 ผลิตกรดมะนาวได้ปริมาณสูงสุด คือ 99 กรัม/ลิตร ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจะเลือกใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน

2.2.3 ปริมาณที่เหมาะสมของแอมโมเนียมซัลเฟต

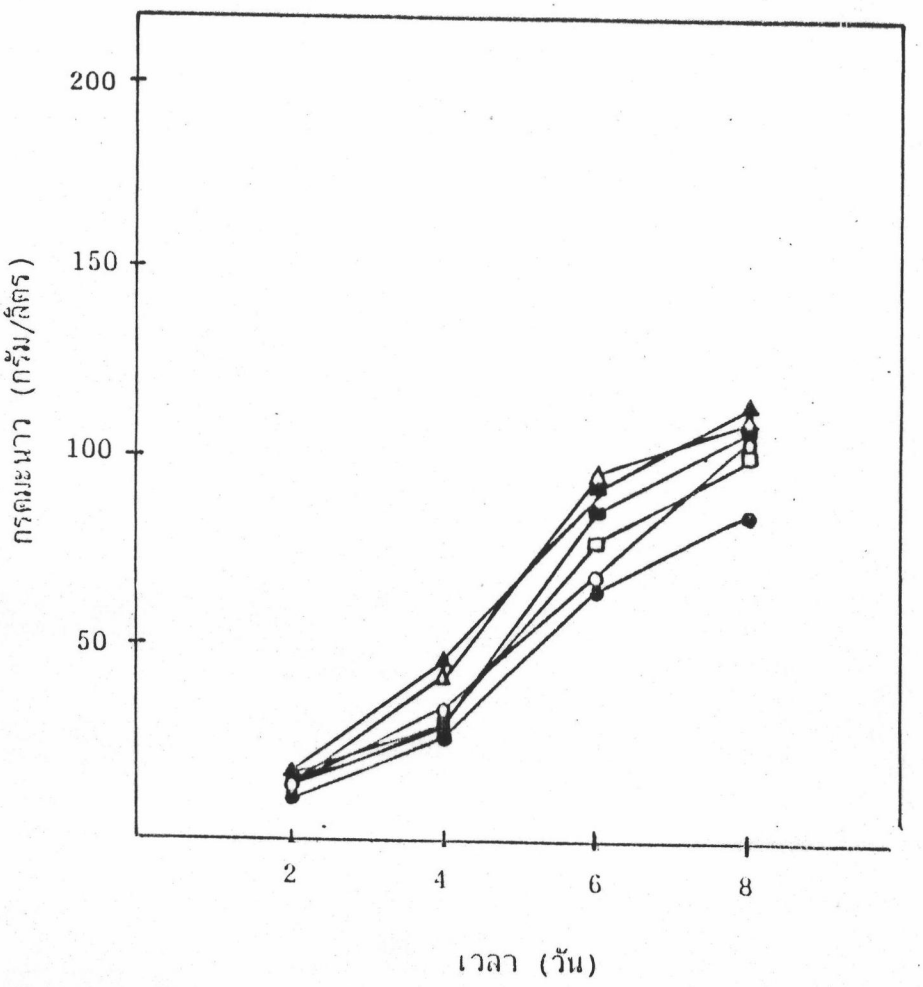
เลี้ยง A . niger A 185 ตามวิธีทดลองข้อ 2.3.3 โดยใช้สูตรอาหารในภาคผนวกที่ 1.4 ซึ่งมีปริมาณแป้งที่ย่อยแล้ว 450 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน วิเคราะห์กรดมะนาวตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2 พบว่า เมื่อใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 2.5 3.5 และ 4.5 กรัม/ลิตร

ตารางที่ 7 ผลการแปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจน ต่อการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ Aspergillus niger A 185

แหล่งไนโตรเจน	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น.เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน					
แอมโมเนียมซัลเฟต	99	227	43	12.6	1.6
โซเดียมไนเตรท	95	200	42	10.9	2.2
แอมโมเนียมไนเตรท	80	202	39	13.8	1.9
แอมโมเนียมคลอไรด์	64	186	34	11.6	1.5
แอมโมเนียมไบคาร์บอเนต	32	140	22	8.5	2.0
แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน					
คอร์นสตีปลิเคอร์	21	123	17	13.0	1.9
ผงยีสต์สกัด	35	152	23	15.7	2.2
ผงเนื้อสกัด	30	148	20	13.5	2.0
กากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันแล้ว	15	110	13	11.5	2.0
สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลืองสกัดไขมันแล้ว	18	168	10	12.7	1.9
สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวที่สกัดไขมันแล้ว	25	172	14	12.1	1.9

ตารางที่ 8 ผลการแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Aspergillus niger* A 185

ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น.เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
0.5	86	196	43	6.3	1.6
1.5	105	252	41	7.1	1.6
2.5	115	275	41	7.4	1.5
3.5	112	275	40	7.2	1.6
4.5	110	273	40	7.4	1.5
5.5	101	261	38	7.8	1.5



รูปที่ 7 ผลการแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต ต่อการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อ Aspergillus niger A 185

เชื้อราจะผลิตกรดมะนาวปริมาณใกล้เคียงกัน คือ 115 112 และ 110 กรัม/ลิตร ตามลำดับ และผลิตกรดทั้งหมดปริมาณใกล้เคียงกัน คือ 275 275 และ 273 กรัม/ลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 8) ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้แอมโมเนียมซัลเฟต ปริมาณ 2.5 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน

2.2.4 ปริมาณที่เหมาะสมของแหล่งฟอสเฟต

2.2.4.1 แปรผันปริมาณโปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต

เลี้ยงเชื้อ A. niger A 185 ตามวิธีทดลองในข้อ 2.3.3 โดยใช้สูตรอาหารตามภาคผนวกที่ 1.5 ซึ่งมีแป้งที่ย่อยแล้ว 450 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันปริมาณโปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟตตั้งแต่ 0.1 ถึง 0.5 กรัม/ลิตร วิเคราะห์กรดมะนาวตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2 พบว่า เมื่อใช้โปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณ 0.3 กรัม/ลิตร เชื้อราผลิตกรดมะนาวสูงสุด คือ 42 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 9 และรูปที่ 7)

2.2.4.2 แปรผันปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต

เลี้ยงเชื้อ A . niger A 185 ตามวิธีทดลองในข้อ 2.3.3 โดยใช้สูตรอาหารตามภาคผนวกที่ 1.5 ซึ่งมีแป้งที่ย่อยแล้ว 450 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตตั้งแต่ 0.1 ถึง 0.5 กรัม/ลิตร วิเคราะห์กรดมะนาวตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2 พบว่า เมื่อใช้โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณ 0.3 กรัม/ลิตร เชื้อราผลิตกรดมะนาวสูงสุด คือ 67 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 10 และรูปที่ 7)

จากผลการทดลองที่ 2.2.4.1 และ 2.2.4.2 พบว่า เมื่อใช้โปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณ 0.3 กรัม/ลิตรนั้น เชื้อราผลิตกรดมะนาวได้สูงสุด 42 กรัม/ลิตร และเมื่อใช้โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณ 0.3 กรัม/ลิตร เชื้อราผลิตกรดมะนาวได้สูงสุดปริมาณ 67 กรัม/ลิตร ซึ่งปริมาณกรดมะนาวที่ได้มีค่าต่ำกว่าปริมาณกรดมะนาวที่ได้จากผลการทดลองในข้อ 2.2.3 ซึ่งใช้ปริมาณโปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต ร่วมกับโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตในอัตราส่วน 1:1

จากผลการทดลองนี้ แสดงว่า ฟอสเฟตเพียงชนิดเดียวอาจไม่เพียงพอที่จะช่วยให้เชื้อราเจริญเติบโตและผลิตกรดมะนาวในปริมาณมาก ดังนั้นในการ

ตารางที่ 9 ผลการแปรผันปริมาณโปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต ต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ Aspergillus niger A 185

ปริมาณโปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น.เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
0.1	18	101	17.8	5.3	1.9
0.2	32	123	26.0	6.1	1.8
0.3	42	154	27.8	6.8	1.8
0.4	41	156	26.2	7.2	1.8
0.5	38	149	25.5	7.1	1.9

ตารางที่ 10 ผลการแปรผันปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ Aspergillus niger A 185

ปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น.เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
0.1	27	160	15.4	6.4	1.8
0.2	54	207	26.0	6.9	1.8
0.3	67	230	29.2	7.3	1.7
0.4	63	228	27.6	7.5	1.7
0.5	57	217	26.2	7.8	1.8

i17966407

ทดลองต่อไปจึงทำการแปรผันปริมาณฟอสเฟต ทั้ง 2 ชนิดร่วมกันในอัตราส่วน 1:1

2.2.4.3 แปรผันปริมาณโปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต ต่อปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ในอัตราส่วน 1:1

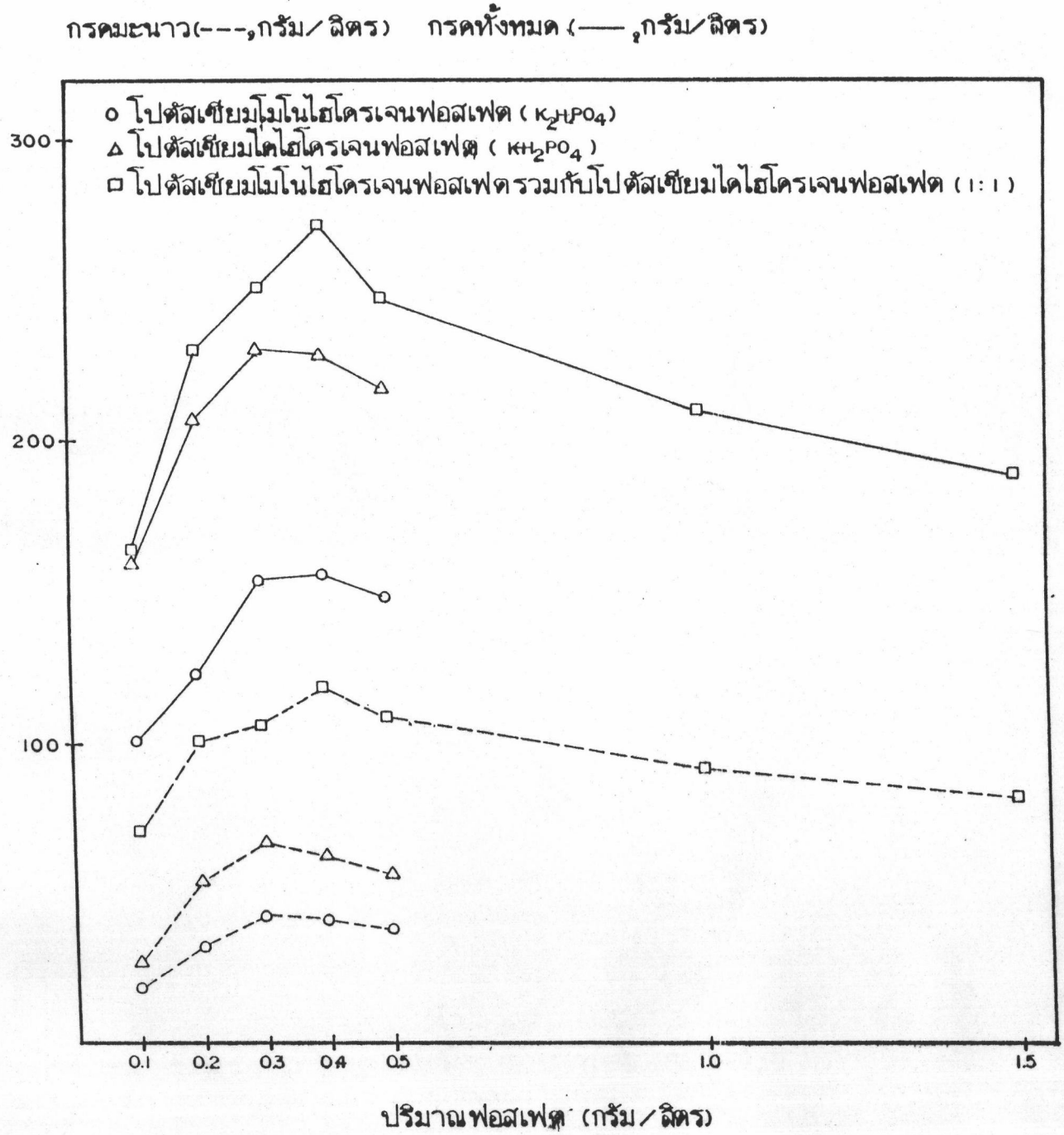
เลี้ยงเชื้อ A . niger A 185 ตามวิธีทดลองในข้อ 2.3.3 โดยใช้สูตรอาหารตามภาคผนวกที่ 1.5 ซึ่งมีแป้งที่ย่อยแล้ว 450 กรัม/ลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันปริมาณโปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต ต่อ ปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตในอัตราส่วน 1:1 ตั้งแต่ 0.1 ถึง 1.5 กรัม/ลิตร วิเคราะห์กรดมะนาวตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2 จากการแปรผันปริมาณฟอสเฟต 2 ชนิดร่วมกัน พบว่า โปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณ 0.4 กรัม/ลิตร ที่ใช้ร่วมกับโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณ 0.4 กรัม/ลิตร ช่วยให้เชื้อราผลิตกรดมะนาวและกรดทั้งหมดในปริมาณสูงสุดคือ 119 และ 272 กรัม/ลิตรตามลำดับ (ตารางที่ 10 และรูปที่ 7) ส่วนการแปรผันฟอสเฟตร่วมกันชนิดละ 1.0 และ 1.5 กรัม/ลิตร ช่วยให้เชื้อราเจริญเติบโตได้ดีกว่าการผลิตกรดมะนาว น้ำหนักเซลล์แห้งจึงสูงถึง 13.2 และ 15.6 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้ปริมาณฟอสเฟตทั้ง 2 ชนิดในอัตราส่วน 1:1 ได้แก่ โปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณ 0.4 กรัม/ลิตร และ โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณ 0.4 กรัม/ลิตร

2.2.5 ปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตที่เหมาะสม

เลี้ยง A . niger A 185 ตามวิธีทดลองในข้อ 2.3.3 โดยใช้สูตรอาหารตามภาคผนวกที่ 1.6 ซึ่งมีแป้งที่ย่อยแล้ว 450 กรัม/ลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรท ตั้งแต่ 0.1 กรัม/ลิตร ถึง 0.5 กรัม/ลิตร วิเคราะห์กรดมะนาวตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2 พบว่า แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรทปริมาณ 0.3 และ 0.4 กรัม/ลิตร ช่วยให้เชื้อราผลิตกรดทั้งหมดใกล้เคียงกันคือ 264 และ 260 กรัม/ลิตรตามลำดับ (ตารางที่ 12) แต่เมื่อใช้แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรทปริมาณ 0.4 และ 0.5 กรัม/ลิตร เชื้อราจะสร้างสปอร์บริเวณด้านข้างของขวดทดลอง ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อถูกนำไปใช้ในการสร้างสปอร์มากกว่าการนำมาใช้ผลิตกรดมะนาว ดังนั้นผลผลิตกรดมะนาวจึงลดลง ได้แก่ 103 และ 98 กรัม/ลิตร ตามลำดับ เมื่อใช้แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรทปริมาณ

ตารางที่ 11 ผลการแปรผันปริมาณโปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต ต่อ ปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ในอัตราส่วน 1:1 ต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ Aspergillus niger A 185

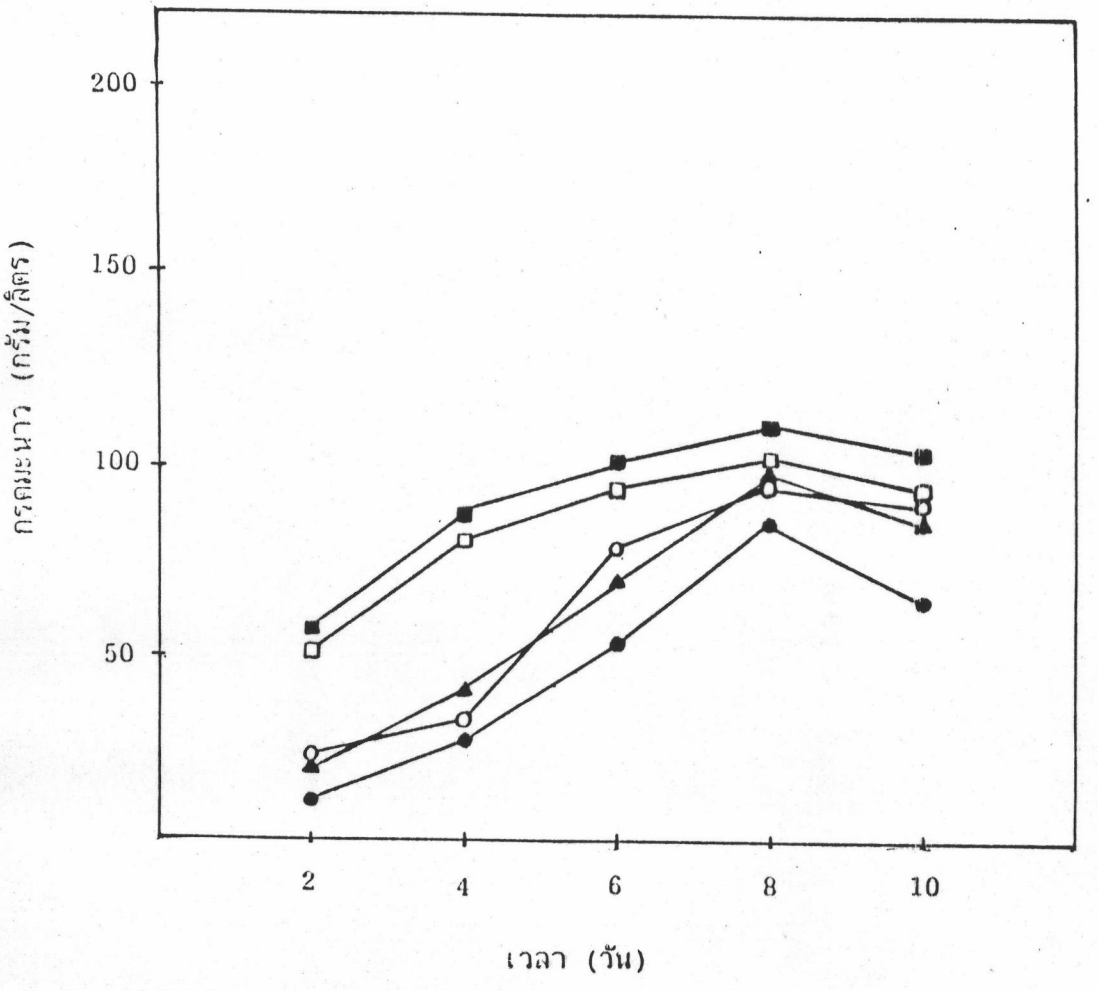
ปริมาณฟอสเฟต ในอัตราส่วน 1:1 (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น.เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
0.1:0.1	71	163	43	8.5	1.7
0.2:0.2	101	230	43	8.7	1.8
0.3:0.3	106	251	42	9.2	1.7
0.4:0.4	119	272	43	11.1	1.7
0.5:0.5	109	248	43	14.2	1.8
1.0:1.0	92	210	43	13.2	1.8
1.5:1.5	83	189	43	15.6	1.9



รูปที่ 8 ผลการแปรผัน ปริมาณโปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต ปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต และปริมาณโปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต ต่อปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตในอัตราส่วน 1:1 ต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ Aspergillus niger A 185

ตารางที่ 12 ผลการแปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรท ต่อการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อ Aspergillus niger A 185

ปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรท (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น.เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
0.1	87	235	37.0	8.9	1.9
0.2	95	248	38.3	9.2	1.9
0.3	111	264	42.0	9.5	1.8
0.4	103	260	39.6	9.8	1.8
0.5	98	251	39.0	9.9	1.8



ปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรท

● 0.1 (กรัม/ลิตร) ○ 0.2 (กรัม/ลิตร) ■ 0.3 (กรัม/ลิตร)

□ 0.4 (กรัม/ลิตร) ▲ 0.5 (กรัม/ลิตร)

รูปที่ 9 ผลการแปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรท ต่อการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อ Aspergillus niger A 185

0.3 กรัม/ลิตร เชื้อราผลิตกรดมะนาวได้สูงสุดคือ 111 กรัม/ลิตร ดังนั้นในการทดลองต่อไป จึงเลือกใช้แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรทปริมาณ 0.3 กรัม/ลิตร

2.2.6 ปริมาณแร่ธาตุที่เหมาะสม

2.2.6.1 ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของแร่ธาตุที่สำคัญ 4 ชนิดสำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ Aspergillus niger A 185

เลี้ยง A . niger A 185 ตามวิธีทดลองในข้อ 2.3.3 โดยใช้สูตรอาหารในภาคผนวกที่ 1.7 ซึ่งมีแป้งที่ย่อยแล้ว 450 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันปริมาณแร่ธาตุทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ เหล็ก ทองแดง สังกะสี และแมงกานีส ตั้งแต่ 0.1 ถึง 200.0 ส่วนในล้านส่วน ทำการวิเคราะห์กรดมะนาวตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2 พบว่า จากผลการทดลองในตารางที่ 13.1 นั้น เหล็กปริมาณ 5 ส่วนในล้านส่วนช่วยให้เชื้อราผลิตชกรดมะนาวได้สูงสุด คือ 123 กรัม/ลิตร ส่วนทองแดงปริมาณ 5 ส่วนในล้านส่วนจะช่วยให้เชื้อราผลิตกรดมะนาวได้สูงสุด คือ 132 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 13.2) จากผลการทดลองในตารางที่ 13.3 สังกะสีปริมาณ 5 ส่วนในล้านส่วนจะช่วยให้เชื้อราผลิตกรดมะนาวได้สูงสุด คือ 103 กรัม/ลิตร และปริมาณแมงกานีส 5 ส่วนในล้านส่วนจะช่วยให้เชื้อราผลิตกรดมะนาวได้สูงสุด คือ 120 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 13.4)

จากผลการทดลองในตารางที่ 13.1 13.2 13.3 และ 13.4 นี้ พบว่า ปริมาณกรดมะนาวที่ได้จากการเติมแร่ธาตุชนิดละ 5 ส่วนในล้านส่วน ได้แก่ 123 132 103 และ 120 กรัม/ลิตรนั้น มีค่าต่ำกว่าปริมาณกรดมะนาวที่ได้จากชุดควบคุม (อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมแร่ธาตุ ตามสูตรอาหารในภาคผนวกที่ 1.7) ได้แก่ 149 138 141 และ 135 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

การแปรผันแร่ธาตุเพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง อาจไม่เหมาะสมต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ A . niger A 185 ดังนั้นในการทดลองต่อไป จึงนำปริมาณแร่ธาตุแต่ละชนิดที่ช่วยให้เชื้อราผลิตกรดมะนาวปริมาณสูงสุดจากตารางที่ 13.1 13.2 13.3 และ 13.4 มาแปรผันร่วมกัน

ตารางที่ 13.1 ผลการแปรผันปริมาณเหล็กที่มีต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Aspergillus niger* A 185

ปริมาณเหล็ก (ส่วนในล้านส่วน)	เหล็ก				
	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น.เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
0 (ชุดควบคุม)	149	273	54.5	9.5	1.8
0.1	80	257	31.1	10.1	1.9
0.5	103	262	39.3	9.1	1.8
1.0	108	263	41.0	9.7	1.9
5.0	123	302	40.7	10.0	1.8
10.0	114	260	43.0	11.3	1.7
50.0	103	259	39.7	12.8	1.8
100.0	91	247	36.8	13.0	1.9
200.0	91	241	37.7	11.0	2.0

ตารางที่ 13.2 ผลการแปรผันปริมาณทองแดงที่มีต่อการผลิตกรดมะนาวโดย *Aspergillus niger* A 185

ปริมาณทองแดง (ส่วนในล้านส่วน)	ทองแดง				
	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น.เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
0 (ชุดควบคุม)	138	271	50.9	8.9	1.8
0.1	114	249	45.7	8.5	1.7
0.5	117	252	46.4	7.8	1.8
1.0	123	258	47.6	8.6	1.7
5.0	132	300	44.0	9.0	1.7
10.0	130	392	44.5	9.9	1.7
50.0	125	278	44.9	9.5	1.8
100.0	118	268	44.0	10.3	1.9
200.0	93	233	39.9	9.3	1.9

ตารางที่ 13.3 ผลการแปรผันปริมาณสังกะสีที่มีต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Aspergillus niger* A 185

ปริมาณสังกะสี (ส่วนในล้านส่วน)	สังกะสี				
	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น.เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
0 (ชุดควบคุม)	141	274	51.4	9.1	1.8
0.1	96	215	44.6	8.1	1.7
0.5	94	220	42.7	8.1	1.7
1.0	98	225	43.5	8.4	1.8
5.0	103	230	44.7	9.8	1.7
10.0	87	189	46.0	13.2	1.9
50.0	79	173	45.6	14.2	1.9
100.0	65	168	38.6	14.6	1.9
200.0	38	85	44.7	14.4	1.8

ตารางที่ 13.4 ผลการแปรผันปริมาณแมงกานีสที่มีต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Aspergillus niger* A 185

ปริมาณแมงกานีส (ส่วนในล้านส่วน)	แมงกานีส				
	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น.เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
0 (ชุดควบคุม)	135	269	50.1	8.8	1.7
0.1	101	216	46.7	8.8	1.9
0.5	105	237	44.3	9.2	1.9
1.0	113	251	45.0	10.5	1.8
5.0	120	267	44.9	13.0	1.9
10.0	110	255	43.1	11.2	1.7
50.0	107	252	42.4	12.2	1.8
100.0	101	245	41.2	10.4	1.9
200.0	96	237	40.5	8.2	1.9

2.2.6.2 ศึกษาการแปรผันแร่ธาตุทั้ง 4 ชนิดร่วมกัน

เลี้ยง A . niger A 185 ตามวิธีทดลองในข้อ 2.3.3 โดยใช้สูตรอาหารในภาคผนวกที่ 1.7 ซึ่งมีแป้งที่ย่อยแล้ว 450 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันแร่ธาตุร่วมกันทั้ง 4 ชนิดๆละ 5 ส่วนในล้านส่วน ได้แก่ เหล็ก ทองแดง สังกะสี และ แมงกานีส ทำการวิเคราะห์กรดมะนาวตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2 พบว่า การแปรผันแร่ธาตุทั้ง 4 ชนิดร่วมกันจะช่วยให้เชื้อราเจริญเติบโตได้ดี ทำให้น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงมาก ดังแสดงในตารางที่ 14 แต่ปริมาณกรดมะนาวที่ผลิตได้นั้นมีค่าต่ำกว่า ปริมาณกรดมะนาวของชุดควบคุม คือ 145 กรัม/ลิตร

จากการแปรผันชนิดและปริมาณแร่ธาตุทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ เหล็ก ทองแดง สังกะสี และ แมงกานีส เพื่อช่วยให้เชื้อรา A . niger A 185 ผลิตกรดมะนาว พบว่า แร่ธาตุทั้ง 4 ชนิดไม่ว่าจะถูกใช้โดยลำพัง หรือใช้ร่วมกับแร่ธาตุตัวอื่น ก็ไม่สามารถช่วยให้เชื้อราสะสมกรดมะนาวในปริมาณสูงได้ ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไป จึงใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากการเติมแร่ธาตุ เพื่อการผลิตกรดมะนาวทั้งในระดับขวดเขย่า และ ถังหมักขนาด 5 ลิตร

2.2.7 การเลี้ยงเชื้อ A.niger A 185 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดมะนาวในระดับขวดเขย่า

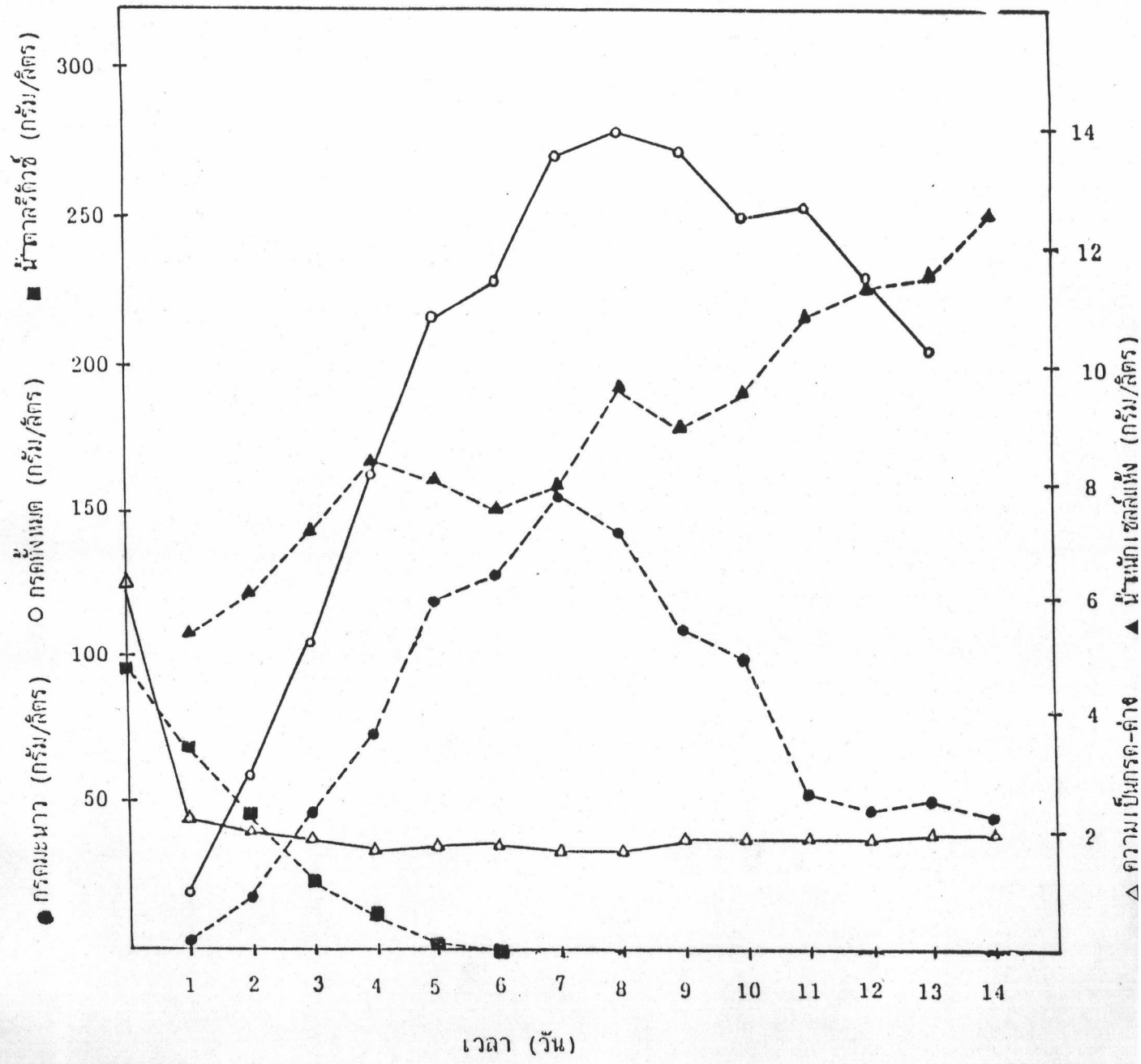
เลี้ยงเชื้อ A.niger A 185 ในขวดทดลองตามวิธีทดลองในข้อ 2.3.3 โดยใช้สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อตามภาคผนวกที่ 1.7 ซึ่งประกอบด้วยแป้งที่ย่อยแล้ว 450 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต 2.5 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน โปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.4 กรัม/ลิตร โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.4 กรัม/ลิตร และแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรท 0.3 กรัม/ลิตร ทำการวิเคราะห์กรดมะนาวตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2 พบว่า จากการติดตามการผลิตกรดมะนาวของ A . niger A 185 ในขวดทดลองนาน 14 วันนั้น เชื้อราผลิตกรดมะนาวและผลิตกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 7 วันแรก และผลิตกรดมะนาวและกรดทั้งหมดสูงสุดในวันที่ 7 ได้แก่ 156 และ 271 กรัม/ลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 15) ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 6.4 จะลดลงเหลือ 2.2 ในช่วง 24 ชั่วโมงแรก และความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมักจะอยู่ในช่วง 1.5 ถึง 2.0 ตลอดระยะ

ตารางที่ 14 ผลการแปรผันแร่ธาตุร่วมกันทั้งสี่ชนิด ชนิดละ 5.0 ส่วนในล้านส่วน ต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ Aspergillus niger A 185

แร่ธาตุ	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น.เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)
ไม่มี (ชุดควบคุม)	145	265	54.7	8.7
เหล็ก	65	239	27.1	13.6
ทองแดง	90	204	44.1	10.9
แมงกานีส	102	197	51.7	14.0
สังกะสี	44	82	53.6	13.1
เหล็ก ทองแดง	82	232	35.3	15.8
ทองแดง สังกะสี	41	109	37.6	15.9
สังกะสี แมงกานีส	46	91	50.5	14.6
แมงกานีส เหล็ก	64	200	32.0	14.9
เหล็ก สังกะสี	67	167	40.1	18.7
ทองแดง แมงกานีส	73	183	39.8	14.0
เหล็ก ทองแดง สังกะสี	52	157	33.1	20.6
ทองแดง สังกะสี แมงกานีส	58	140	41.4	16.9
สังกะสี แมงกานีส เหล็ก	57	146	39.0	22.4
แมงกานีส เหล็ก ทองแดง	69	202	34.1	16.6
เหล็ก ทองแดง สังกะสี แมงกานีส	32	148	21.6	21.5

ตารางที่ 15 ผลการเลี้ยงเชื้อ Aspergillus niger A 185 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดมะนาว

เวลา (วัน)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	ความเป็น กรด-ด่าง	น้ำตาล รีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)
					6.4	94.7
1	3	19	15.7	5.4	2.2	68.1
2	18	58	31.0	6.1	2.0	45.3
3	46	104	44.2	7.2	1.9	23.2
4	72	163	44.1	8.4	1.7	12.9
5	119	217	54.8	8.1	1.8	3.2
6	128	229	55.8	7.6	1.8	0.5
7	156	271	57.5	8.0	1.7	0.3
8	143	279	51.2	9.7	1.7	0.2
9	109	273	39.9	9.0	1.9	0.2
10	99	250	39.6	9.6	1.9	0.3
11	52	254	20.4	10.9	1.9	0.2
12	47	231	20.3	11.4	1.9	0.3
13	50	206	24.2	11.6	2.0	0.3
14	45	206	21.8	12.6	2.0	0.3



รูปที่ 10 ผลการเลี้ยงเชื้อ Aspergillus niger A 185
ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดมะนาว

เวลาการหมัก ส่วนน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่วันแรกและมีค่าต่ำกว่า 0.5 กรัม/ลิตร ในวันที่ 6

2.3 สภาวะที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ

2.3.1 อุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อ

เลี้ยงเชื้อ A . niger A 185 ตามวิธีทดลองในข้อ 2.3.3 โดยใช้สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อตามภาคผนวกที่ 1.7 ซึ่งมีแป้งที่ย่อยแล้ว 450 กรัม/ลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันอุณหภูมิที่ในการเลี้ยงเชื้อ 25 30 และ 35 °ซ. ทำการวิเคราะห์กรดมะนาวตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2 พบว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อ A . niger A 185 ที่อุณหภูมิ 25 °ซ.นั้น เชื้อราผลิตกรดมะนาวได้สูงสุดในวันที่ 8 คือ 102 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 16.1) ส่วนที่อุณหภูมิ 30° ซ. เชื้อราผลิตกรดมะนาวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 6 วันแรก และผลิตกรดมะนาวสูงสุดในวันที่ 8 คือ 142 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 16.2) เชื้อราที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 °ซ. จะเจริญเติบโตได้น้อยกว่าเชื้อราที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 °ซ. และ 30 °ซ. นอกจากนี้เชื้อรายังผลิตกรดมะนาวได้สูงสุดเพียง 92 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 16.3) จากผลการทดลองแสดงว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ A . niger A 185 คือ 30 °ซ.

2.3.2 ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ

เลี้ยงเชื้อ A . niger A 185 ตามวิธีทดลองในข้อ 2.3.3 โดยใช้สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อตามภาคผนวกที่ 1.7 ซึ่งมีแป้งที่ย่อยแล้ว 450 กรัม/ลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ 4.5 5.5 6.5 และ 7.5 ตามลำดับ ทำการวิเคราะห์กรดมะนาวตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2 พบว่าเชื้อ A . niger A 185 ที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น 4.5 และ 5.5 สามารถผลิตกรดมะนาวสูงสุด 53 และ 82 กรัม/ลิตรตามลำดับ (ตารางที่ 17.1 และ 17.2) และเมื่อเลี้ยงเชื้อราในอาหารที่มีความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น 6.5 เชื้อราผลิตกรดมะนาวสูงสุด 137 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 17.3) ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น 7.5 ช่วยให้เชื้อราผลิตกรดมะนาวสูงสุด 102 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 17.4) ส่วนความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมักขณะทำการหมักจะอยู่ในช่วง 1.5-2.0 ตลอดระยะเวลาของการหมัก จากผลการทดลองพบว่า ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นใน

ตารางที่ 16.1 ผลของการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 25 °ซ. ต่อการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ *Aspergillus niger* A 185

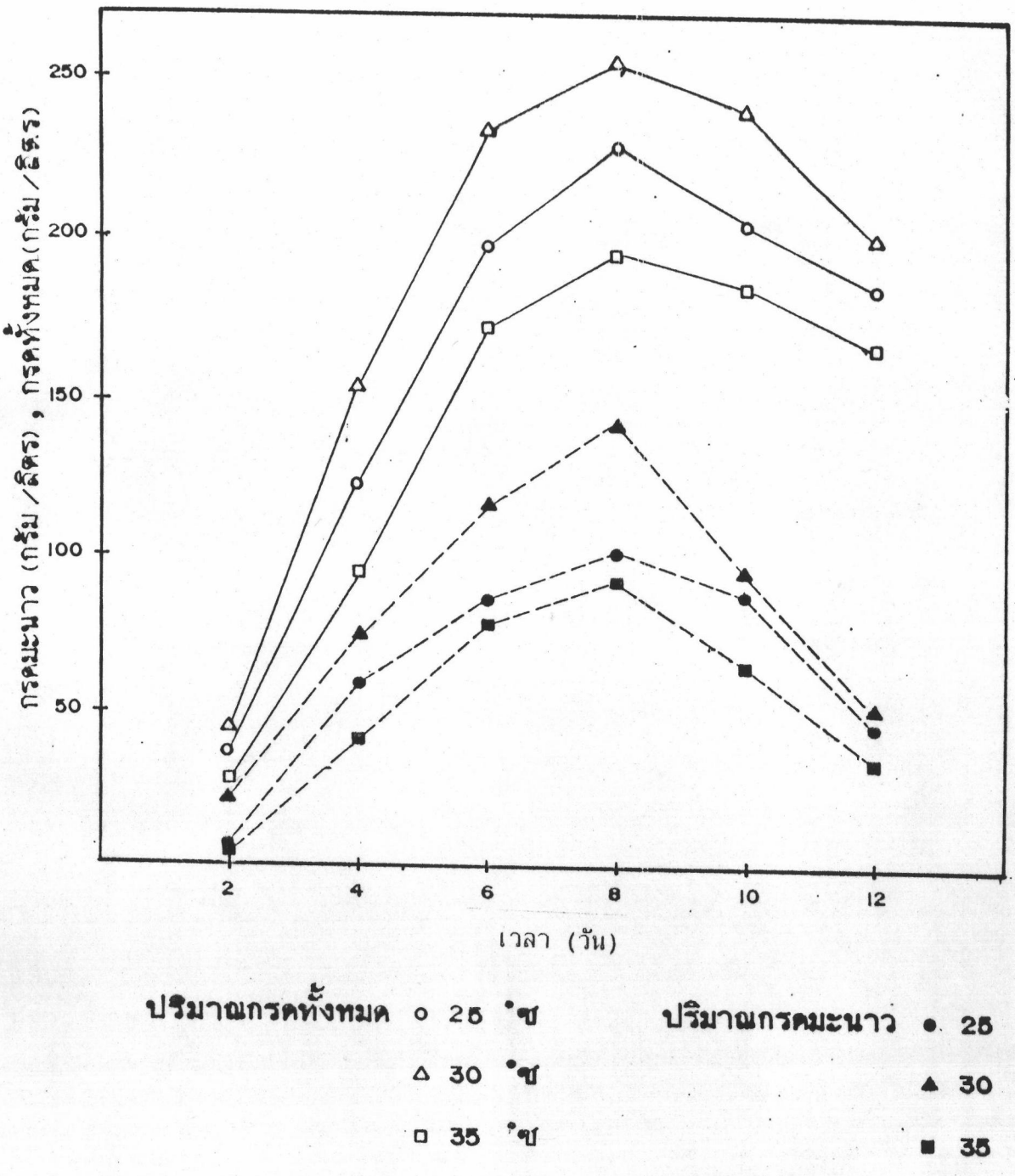
เวลา (วัน)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
2	8	37	21.6	6.9	61.4	2.0
4	59	123	47.9	7.8	39.7	1.8
6	87	198	43.9	7.9	21.3	1.9
8	102	230	44.3	8.7	10.2	1.9
10	89	205	43.4	9.6	3.6	1.8
12	46	185	24.8	10.5	0.7	1.9

ตารางที่ 16.2 ผลของการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 °ซ. ต่อการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ Aspergillus niger A 185

เวลา (วัน)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
2	12	45	26.6	6.5	58.2	1.9
4	75	154	48.7	7.2	29.4	1.8
6	117	235	49.7	8.1	15.6	1.8
8	142	256	55.4	8.9	2.8	1.7
10	95	241	39.4	10.1	0.9	1.8
12	52	201	25.8	10.9	0.8	1.8

ตารางที่ 16.3 ผลของการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 35 °ซ. ต่อการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ Aspergillus niger A 185

เวลา (วัน)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
2	7	28	25.0	5.8	50.1	2.3
4	41	95	43.1	7.1	21.9	2.0
6	79	172	45.9	7.7	9.4	1.9
8	92	195	47.1	7.5	1.5	1.9
10	65	185	35.1	8.0	0.6	2.0
12	34	167	20.3	19.5	0.7	2.0



รูปที่ 11 ผลการแปรผันอุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ ต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ Aspergillus niger A 185

ตารางที่ 17.1 ผลของความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4.5 ต่อการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ Aspergillus niger A 185

เวลา (วัน)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
2	3	29	10.3	5.4	62.1	2.1
4	33	97	34.0	6.2	36.4	1.9
6	47	110	42.7	6.9	29.3	1.8
8	52	139	37.4	7.3	9.5	1.9
10	53	130	40.7	7.9	4.7	1.9
12	37	125	29.6	8.1	1.3	2.0

ตารางที่ 17.2 ผลของความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 5.5 ต่อการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ Aspergillus niger A 185

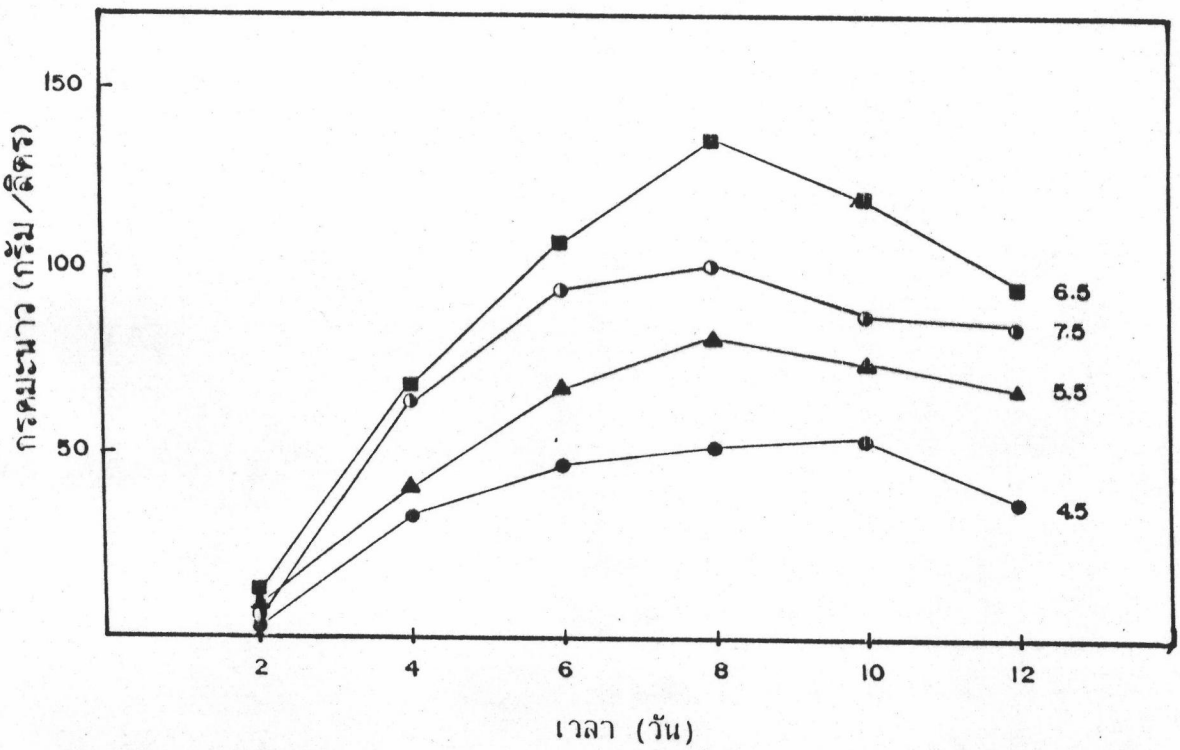
เวลา (วัน)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
2	9	46	19.5	6.3	58.4	2.2
4	41	112	36.6	6.9	31.7	2.0
6	68	167	40.7	7.4	18.4	1.9
8	82	185	44.3	7.8	7.6	1.9
10	75	180	41.6	7.9	2.4	1.9
12	69	165	41.8	8.5	0.7	1.8

ตารางที่ 17.3 ผลของความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 6.5 ต่อการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ Aspergillus niger A 185

เวลา (วัน)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
2	11	57	19.2	7.3	52.5	1.9
4	69	165	41.8	7.9	26.6	1.8
6	109	243	44.8	8.1	11.2	1.8
8	137	261	52.4	9.6	3.3	1.8
10	121	243	49.7	10.3	0.5	1.8
12	97	205	47.3	11.0	0.7	1.9

ตารางที่ 17.4 ผลของความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.5 ต่อการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ Aspergillus niger A 185

เวลา (วัน)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
2	6	61	9.8	8.0	50.1	1.8
4	65	172	37.7	7.8	23.7	1.9
6	97	235	41.2	8.2	9.6	1.9
8	102	247	41.2	9.8	2.5	1.8
10	89	210	42.3	10.5	0.9	1.8
12	85	195	43.5	10.8	0.7	1.9



รูปที่ 12 ผลการแปรผันความเป็นกรด-ด่าง เริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ
ต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ Aspergillus niger A 185

อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดมะนาว คือ 6.5

2.3.3 จำนวนสปอร์เริ่มต้นในหัวเชื้อ

เลี้ยงเชื้อ A . niger A 185 ตามวิธีทดลองในข้อ 2.3.3 โดยใช้สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อตามภาคผนวกที่ 1.7 ซึ่งมีแป้งที่ย่อยแล้ว 450 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันจำนวนสปอร์เริ่มต้นในหัวเชื้อ $1x10^6$ $1x10^7$ และ $1x10^8$ สปอร์/มล.ตามลำดับ ทำการวิเคราะห์กรดมะนาวตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2 พบว่า เมื่อใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้นในหัวเชื้อ $1x10^6$ สปอร์/มล. เชื้อราผลิตกรดมะนาวและกรดทั้งหมดสูงสุดในวันที่ 10 คือ 112 และ 230 กรัม/ลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 18.1) การใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้นในหัวเชื้อน้อยการผลิตกรดมะนาวจะล่าช้าออกไป ส่วนการใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้นในหัวเชื้อ $1x10^7$ สปอร์/มล. เชื้อราจะผลิตกรดมะนาวสูงสุด 148 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 18.2) และถ้าใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้นในหัวเชื้อ $1x10^8$ สปอร์/มล. เชื้อราผลิตกรดมะนาวสูงสุด 115 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 18.3) ดังนั้นจำนวนสปอร์เริ่มต้นในหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดมะนาว คือ $1x10^7$ สปอร์/มล.

2.3.4 ความเร็วรอบของการเขย่าเพื่อให้อากาศ

เลี้ยงเชื้อ A . niger A 185 ในขวดทดลองตามวิธีทดลองในข้อ 2.3.3 โดยใช้สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ตามภาคผนวกที่ 1.7 ซึ่งมีแป้งที่ย่อยแล้ว 450 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันความเร็วรอบในเขย่าเพื่อให้อากาศ 200 250 และ 300 รอบ/นาที ทำการวิเคราะห์กรดมะนาวตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2 พบว่า ความเร็วในการเขย่าเพื่อให้อากาศ 200 รอบ/นาที เชื้อราผลิตกรดมะนาวและกรดทั้งหมดสูงสุดคือ 89 และ 230 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 19.1) เมื่อเขย่าด้วยความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที เชื้อราผลิตกรดมะนาวและกรดทั้งหมดสูงสุด 135 และ 252 กรัม/ลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 19.2) เมื่อเขย่าด้วยความเร็วรอบ 300 รอบ/นาที จะทำให้เกิดสายใยเกาะอยู่ที่ข้างขวด สายใยจึงได้รับอาหารไม่ทั่วถึงทำให้เชื้อราผลิตกรดมะนาวได้น้อย คือ 109 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 19.3) จากผลการทดลอง พบว่าความเร็วในการเขย่าให้อากาศที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวในระดับขวดเขย่าคือ 250 รอบ/นาที

ตารางที่ 18.1 ผลของจำนวนสปอร์เริ่มต้นในหัวเชื้อ $1x10^6$ สปอร์/มล. ต่อการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ Aspergillus niger A 185

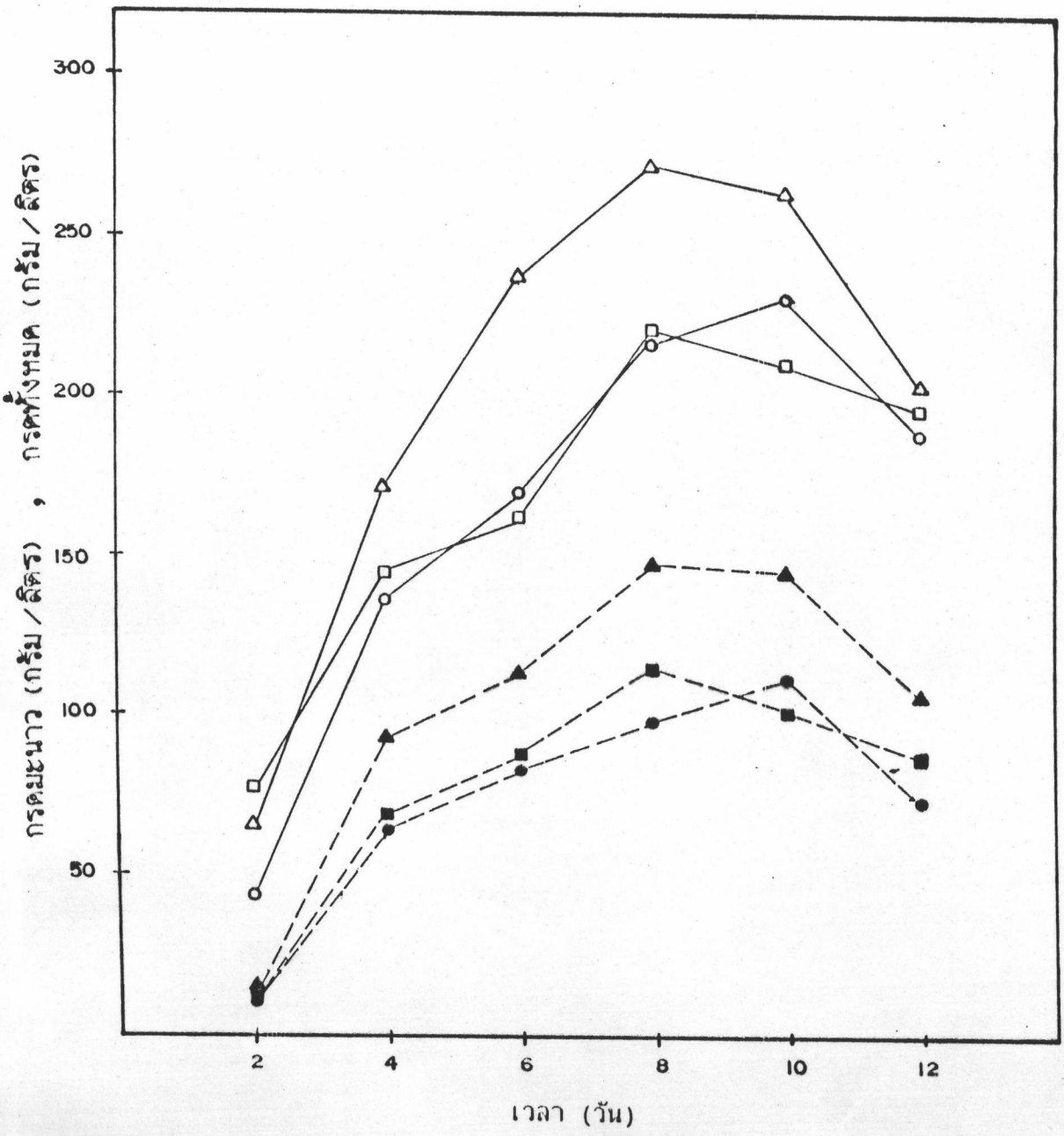
เวลา (วัน)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
2	12	43	27.9	6.2	65.3	2.2
4	64	137	46.7	6.9	38.2	1.9
6	83	170	48.8	7.0	23.4	1.9
8	87	216	45.3	9.8	11.4	1.8
10	82	230	40.0	10.8	3.5	1.9
12	73	188	38.8	13.8	0.4	1.8

ตารางที่ 18.2 ผลของจำนวนสปอร์เริ่มต้นในหัวเชื้อ $1x10^7$ สปอร์/มล. ต่อการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ Aspergillus niger A 185

เวลา (วัน)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
2	15	65	23.0	7.0	52.9	1.9
4	93	172	54.0	7.9	22.1	1.9
6	113	237	47.6	8.3	9.5	1.8
8	148	271	54.6	7.3	2.3	1.7
10	145	263	55.1	11.0	0.5	1.7
12	106	202	52.4	13.1	0.6	1.8

ตารางที่ 18.3 ผลของจำนวนสปอร์เริ่มต้นในหัวเชื้อ $1x10^8$ สปอร์/มล. ต่อการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ Aspergillus niger A 185

เวลา (วัน)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
2	13	77	16.8	8.1	48.7	1.9
4	66	145	45.5	8.5	19.9	1.8
6	87	162	53.7	9.7	6.5	1.9
8	115	218	52.7	9.7	0.9	1.9
10	101	209	48.3	12.3	0.5	1.8
12	87	195	53.3	12.5	0.7	1.8



ปริมาณกรดมะนาว ● 1×10^{6} สปอร์/มล. , ปริมาณกรดทั้งหมด ○ 1×10^{6} สปอร์/มล.

▲ 1×10^{7} สปอร์/มล , △ 1×10^{7} สปอร์/มล.

■ 1×10^{8} สปอร์/มล , □ 1×10^{8} สปอร์/มล.

รูปที่ 13 ผลการแปรผันจำนวนสปอร์เริ่มต้นในหัวเชื้อ ต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ Aspergillus niger A 185

ตารางที่ 19.1 ผลของความเร็วรอบในการเขย่าเพื่อให้อากาศ 200 รอบ/นาที ต่อการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ Aspergillus niger A 185

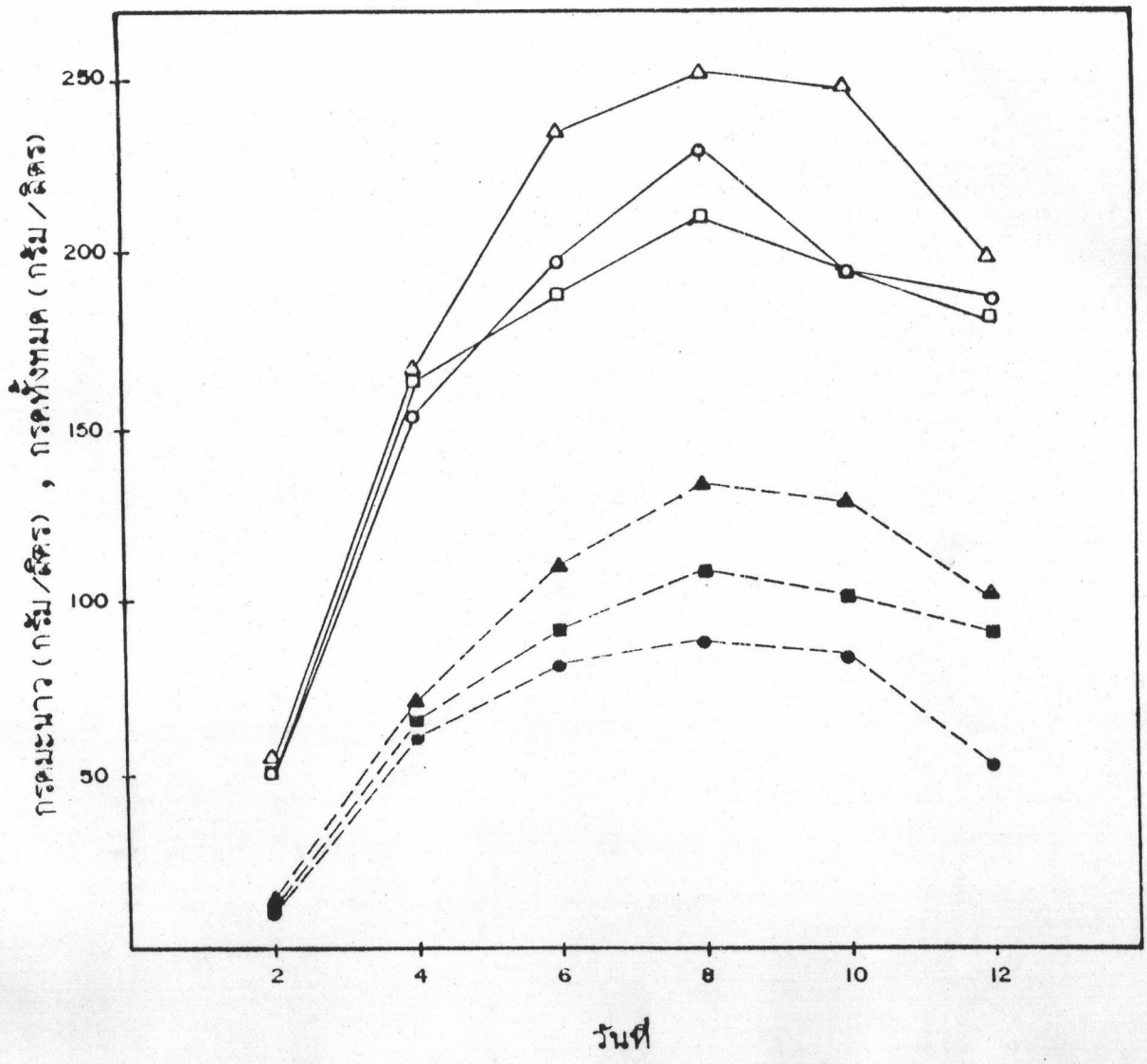
เวลา (วัน)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
2	11	51	21.5	7.4	76.2	2.0
4	61	154	39.6	7.9	47.3	1.9
6	82	198	41.4	8.6	18.5	1.9
8	89	230	38.6	9.0	4.8	1.8
10	85	195	43.5	10.3	0.5	1.9
12	53	187	28.3	11.9	0.1	1.9

ตารางที่ 19.2 ผลของความเร็วรอบในการเขย่าเพื่อให้อากาศ 250 รอบ/นาที ต่อการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ Aspergillus niger A 185

เวลา (วัน)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
2	12	54	22.2	7.5	65.4	1.9
4	72	168	42.8	8.0	31.3	1.8
6	111	235	47.2	8.7	11.6	1.8
8	135	252	53.5	9.0	1.3	1.7
10	129	248	52.0	10.7	0.5	1.7
12	102	199	51.2	11.2	0.3	1.7

ตารางที่ 19.3 ผลของความเร็วรอบในการเขย่าเพื่อให้อากาศ 300 รอบ/นาที ต่อการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ Aspergillus niger A 185

เวลา (วัน)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
2	11	50	22.0	7.9	59.6	2.0
4	67	166	40.3	8.3	29.6	1.9
6	92	188	48.9	8.5	9.6	1.9
8	109	210	51.9	10.9	0.8	1.8
10	102	197	51.7	11.5	0.3	1.8
12	91	182	53.2	12.0	0.5	1.8



ปริมาณกรดมะนาว ● 200 รอบ/นาที , ปริมาณกรดทั้งหมด ○ 200 รอบ/นาที

▲ 250 รอบ/นาที △ 250 รอบ/นาที

■ 300 รอบ/นาที □ 300 รอบ/นาที

รูปที่ 14 ผลการแปรผันความเร็วในการเขย่าเพื่อให้อากาศ ต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ Aspergillus niger A 185

3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อรา Aspergillus niger A 185 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

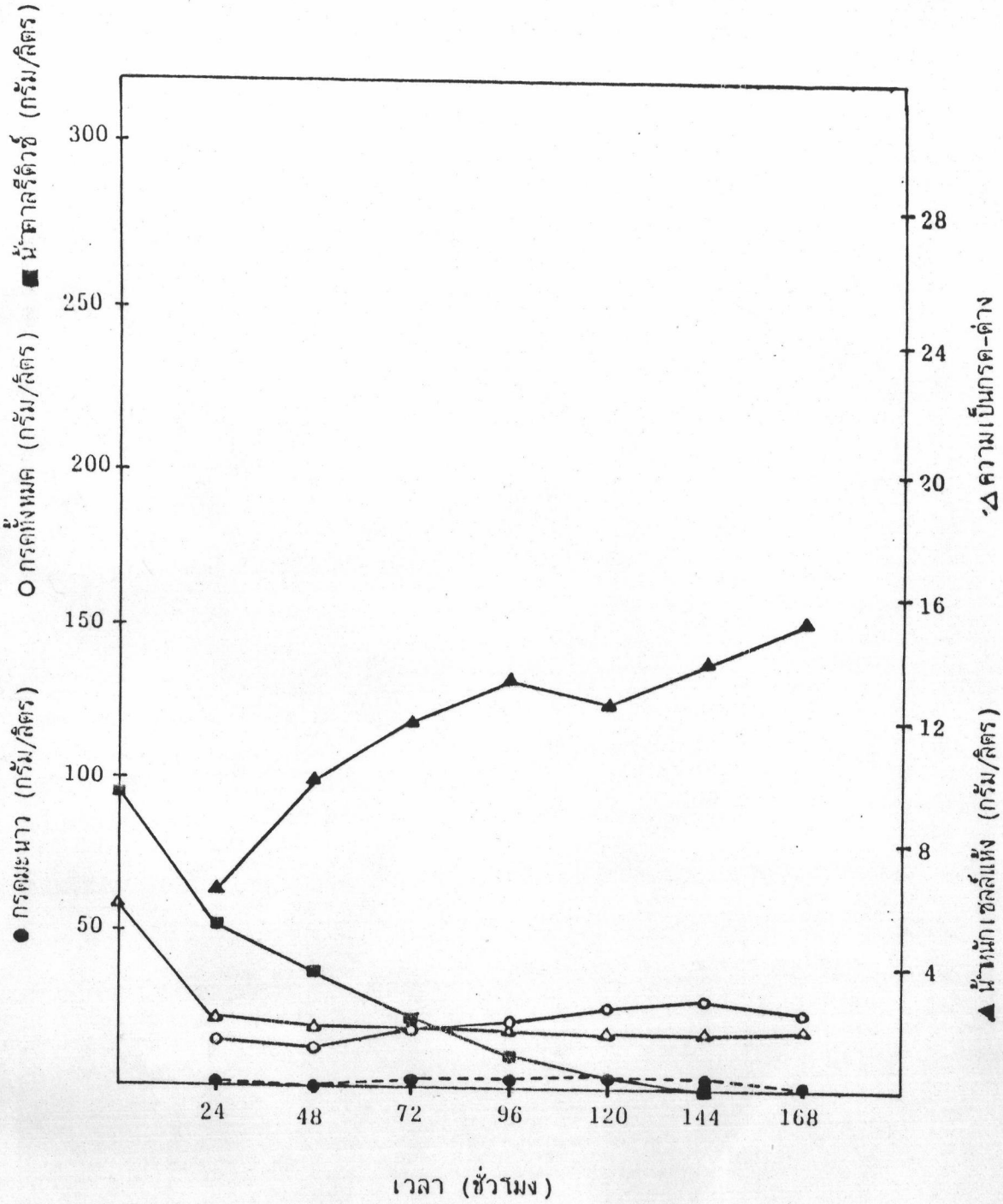
จากการศึกษาสภาวะต่าง ๆในขวดทดลองขนาด 250 มล. พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวประกอบด้วย แป้งที่ย่อยแล้วปริมาณ 450 กรัม/ลิตร เป็นสารแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณ 2.5 กรัม/ลิตร เป็นสารแหล่งไนโตรเจน โปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.4 กรัม/ลิตร โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.4 กรัม/ลิตร และแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรท 0.3 กรัม/ลิตร ปรับความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 6.5 และจำนวนสปอร์เริ่มต้นในหัวเชื้อ $1x10^7$ สปอร์/มล. อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดมะนาวคือ 30 ^{o}ซ. สภาวะต่างๆ เหล่านี้ถูกเลือกมาใช้ในการเลี้ยงเชื้อในถังหมักขนาด 5 ลิตรเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมอื่น ๆ ซึ่งไม่สามารถหาได้จากการทดลองในขวดทดลอง ได้แก่ อัตราการกวน และ อัตราการให้อากาศที่เหมาะสม

3.1 อัตราการกวน

เลี้ยงเชื้อ A . niger A 185 ในถังหมักขนาด 5 ลิตรตามวิธีทดลองในข้อ 2.3.4 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อในภาคผนวกที่ 1.7 และให้อากาศเข้าถังหมัก 1.0 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที ควบคุมอุณหภูมิ 30 ^{o}ซ. คงที่ตลอดระยะเวลาการหมัก แปรผันอัตราการกวน 300 400 และ 500 รอบ/นาที พบว่า การกวนด้วยอัตรา 300 รอบ/นาที เชื้อราผลิตกรดมะนาวได้ 1.5 ถึง 3.2 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 20.1) ปริมาณกรดมะนาวที่ได้มีค่าน้อยมาก อาจมีสาเหตุมาจากอัตราการกวน 300 รอบ/นาทีไม่สามารถให้ออกซิเจนเพียงพอแก่ความต้องการของเชื้อรา ส่วนการกวนที่อัตรา 400 รอบ/นาที เชื้อราผลิตกรดมะนาวสูงสุดในชั่วโมงที่ 144 คือ 71.6 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 20.2) เมื่อเพิ่มอัตราการกวนเป็น 500 รอบ/นาที เชื้อราเจริญเติบโตได้ดี ทำให้น้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และปริมาณกรดมะนาวสูงสุดที่ได้คือ 56.3 กรัม/ลิตรในชั่วโมงที่ 120 การกวนเพื่อให้อากาศที่ 500 รอบ/นาที จะช่วยการเจริญเติบโตของเชื้อรามากกว่าการผลิตกรดมะนาว จากผลการทดลอง พบว่า อัตราการกวนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวของ A . niger A 185 คือ 400 รอบ/นาที

ตารางที่ 20.1 ผลการกวนด้วยอัตรา 300 รอบ/นาที ต่อการผลิตกรดมะนาว ของเชื้อ Aspergillus niger A 185 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

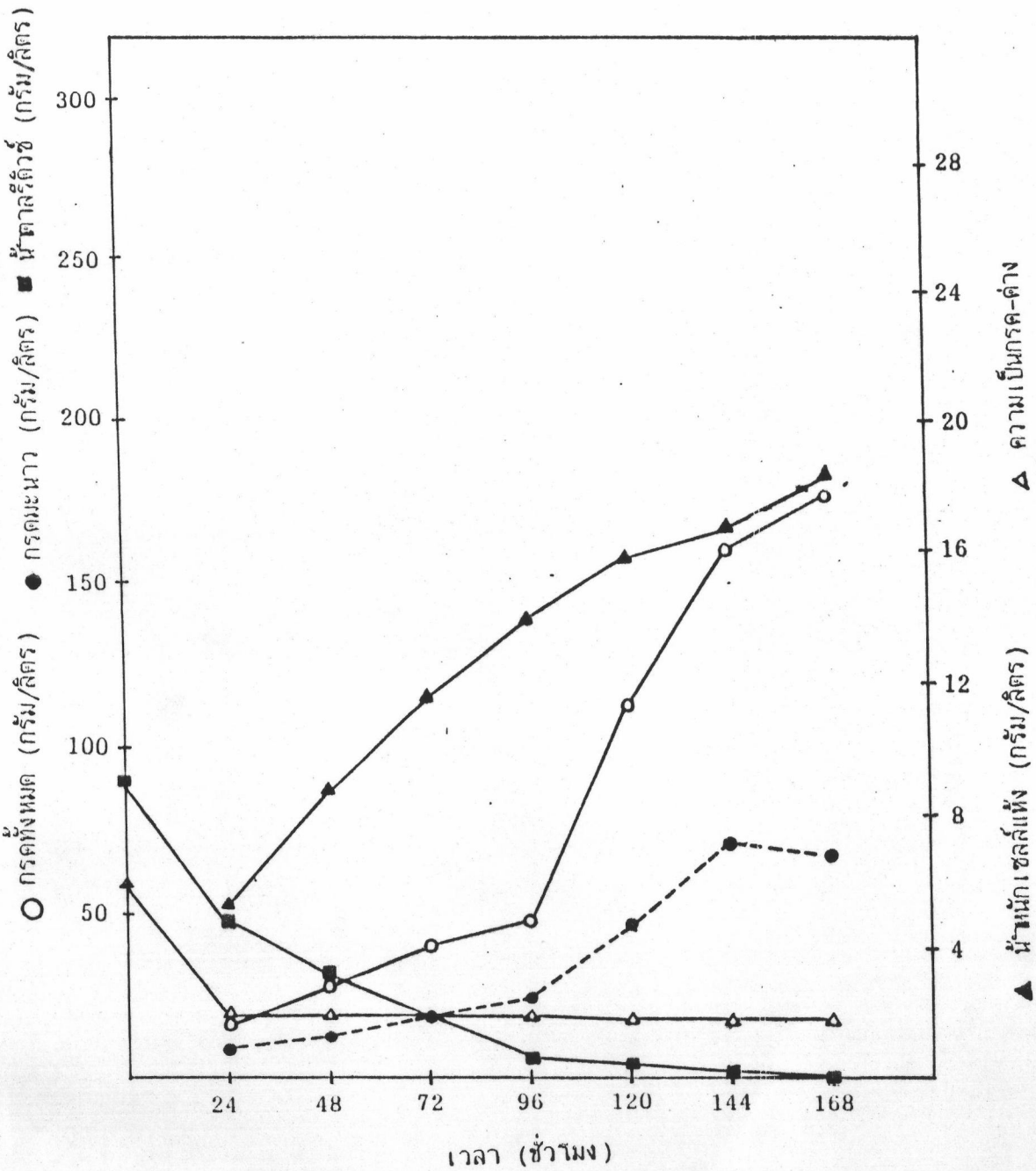
เวลา (ชม.)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
0					95.1	5.9
24	1.5	14	10.5	6.4	52.3	2.1
48	0.8	12	6.3	9.9	37.6	1.9
72	1.9	18	10.3	11.9	21.0	1.9
96	2.1	21	10.0	13.3	9.8	1.9
120	2.7	26	10.3	12.5	2.1	1.8
144	3.2	28	11.2	13.9	1.1	1.8
168	1.7	24	7.0	15.2	0.9	1.9



รูปที่ 15 ผลของอัตราการกวน 300 รอบ/นาที ต่อการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อ Aspergillus niger A 185 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ตารางที่ 20.2 ผลการกวนด้วยอัตรา 400 รอบ/นาที ต่อการผลิตกรดมะนาว ของเชื้อ Aspergillus niger A 185 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

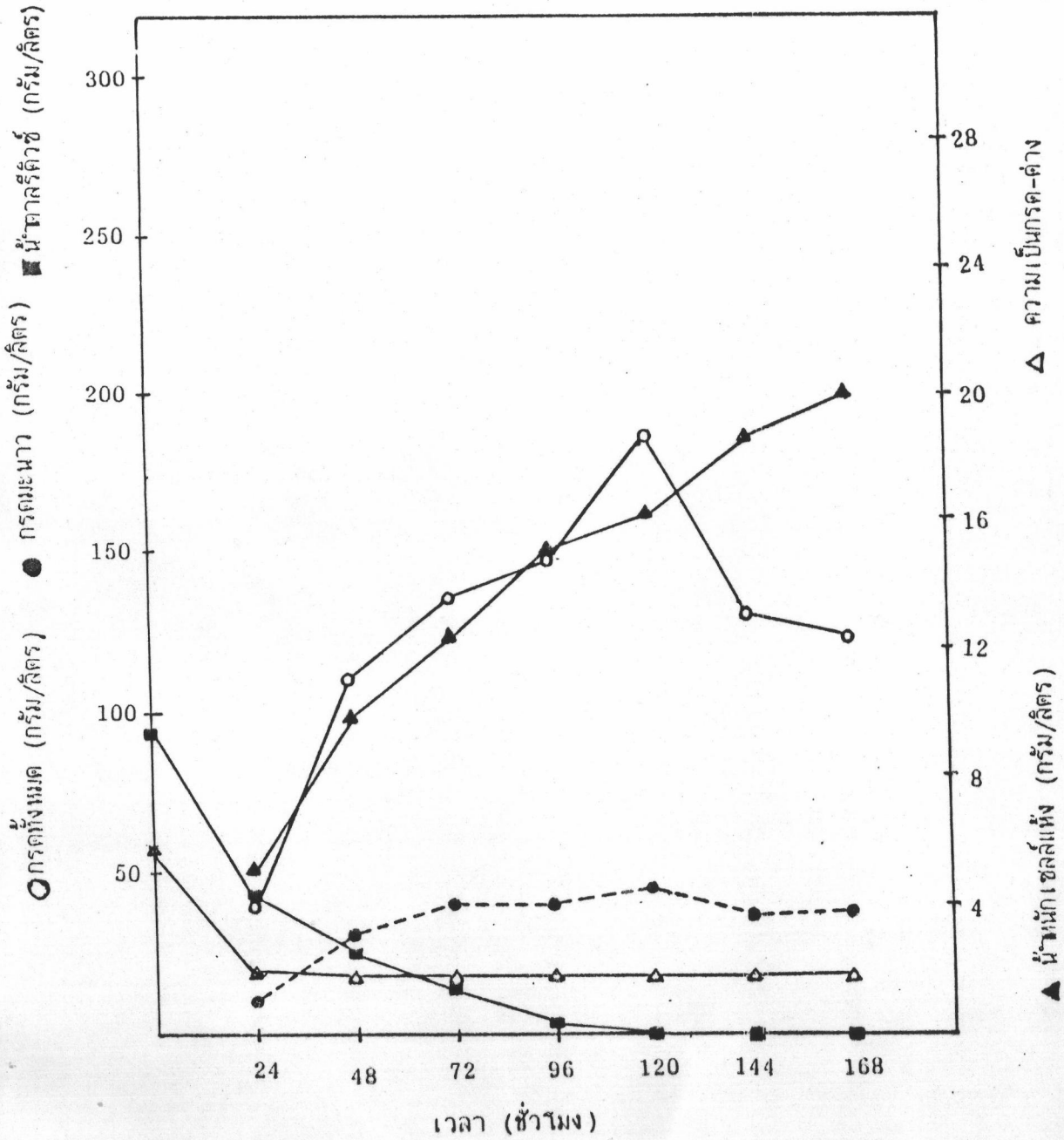
เวลา (ชม.)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
0					89.9	5.9
24	8.5	16	53.1	5.3	48.2	1.9
48	12.5	28	44.6	8.8	31.1	1.9
72	19.1	40	47.7	11.6	19.5	1.9
96	24.3	58	41.8	13.9	5.6	1.9
120	47.6	113	42.1	15.8	3.2	1.8
144	71.6	160	44.7	16.7	1.8	1.8
168	68.2	176	38.7	18.3	0.9	1.8



รูปที่ 16 ผลของอัตราการกวน 400 รอบ/นาที ต่อการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อ Aspergillus niger A 185 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ตารางที่ 20.3 ผลการกวนด้วยอัตรา 500 รอบ/นาที ต่อการผลิตกรดมะนาว ของเชื้อ Aspergillus niger A 185 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

เวลา (ชม.)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
0					93.4	5.7
24	10.1	39	25.8	5.2	41.3	1.9
48	30.1	110	27.3	9.9	25.4	1.8
72	40.2	135	29.7	12.4	14.3	1.8
96	40.1	147	27.2	14.9	3.1	1.8
120	55.3	186	29.7	16.2	1.1	1.8
144	37.4	130	28.7	18.6	0.9	1.8
168	38.2	123	31.0	20.1	0.7	1.9



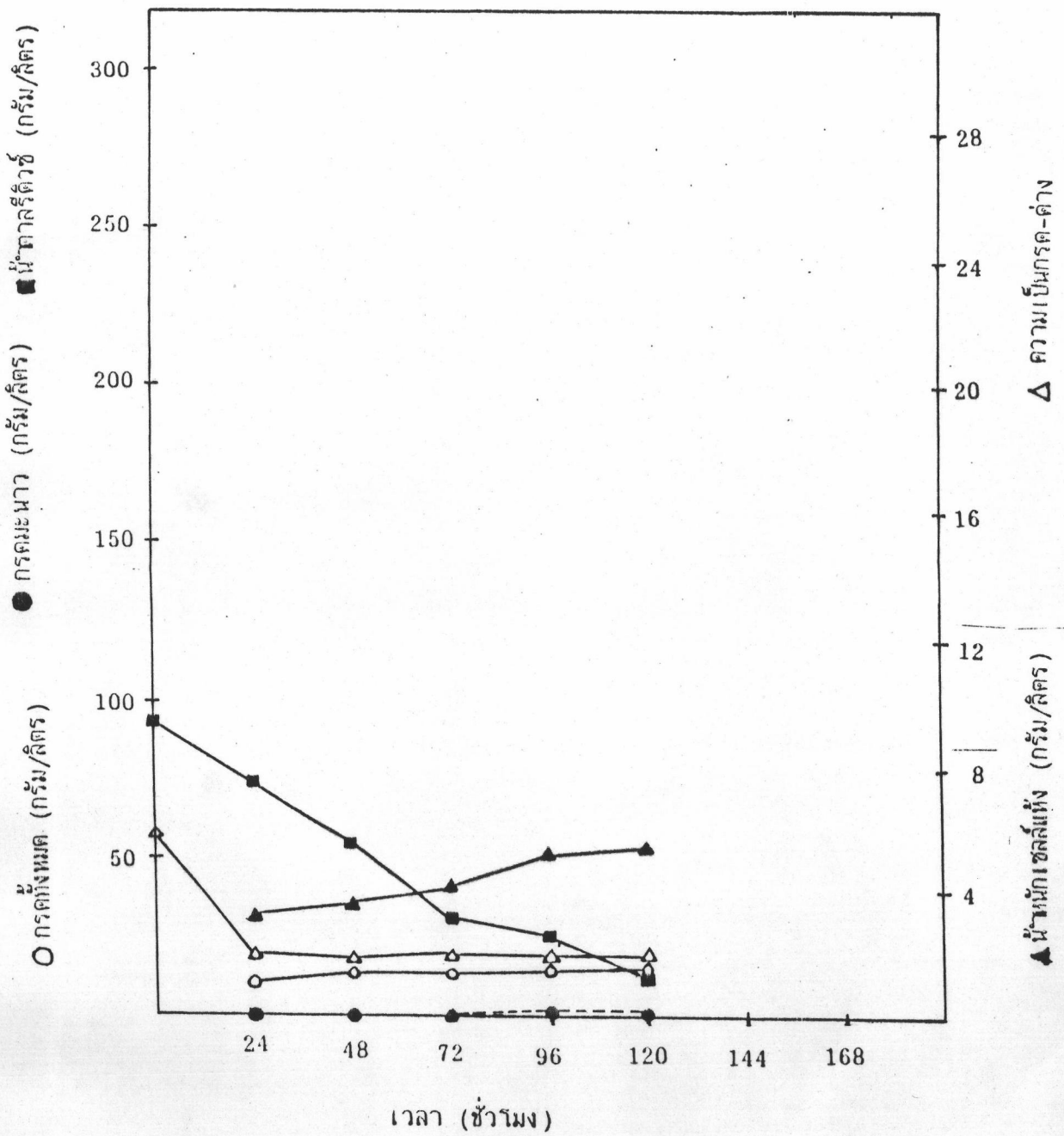
รูปที่ 17 ผลของอัตราการกวน 500 รอบ/นาที ต่อการผลิตกรดมะนาว โดยเชื้อ Aspergillus niger A 185 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

3.2 อัตราการให้อากาศ

เลี้ยง A . niger A 185 ในถังหมักขนาด 5 ลิตรตามวิธีทดลองในข้อ 2.3.4 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อตามภาคผนวกที่ 1.7 และใช้อัตราการกวน 400 รอบ/นาที ควบคุมอุณหภูมิ 30 °ซ.ตลอดการหมัก แปรผันอัตราการให้อากาศ 0.5 1.0 และ 1.5 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที พบว่า อัตราการให้อากาศ 0.5 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาทีไม่เพียงพอต่อความการต้องการของเชื้อราทำให้ผลิตกรดมะนาวในปริมาณต่ำ เจริญเติบโตได้น้อย เนื่องจากน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าต่ำมาก (ตารางที่ 21.1) นอกจากนี้ ยังมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลืออยู่ในน้ำหมักในปริมาณมาก ดังนั้นอัตราการให้อากาศ 0.5 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที จึงให้ออกซิเจนไม่เพียงพอ ต่อความต้องการของเชื้อราเพื่อการผลิตกรดมะนาวและการเจริญเติบโต เมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศเป็น 1.0 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที เชื้อราสามารถผลิตกรดมะนาวได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 144 คือ 50.4 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 21.2) และเมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศเป็น 1.5 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที เชื้อราเจริญเติบโตได้ดีมากทำให้น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงกว่าเมื่อให้อากาศ 1.0 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที (ตารางที่ 21.3) กรดมะนาวสูงสุดที่ได้มีค่า 43.2 กรัม/ลิตร ในชั่วโมงที่ 144 ดังนั้น อัตราการให้อากาศที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดมะนาวของเชื้อ A.niger A 185 คือ 1.0 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที

ตารางที่ 21.1 ผลของอัตราการให้อากาศ 0.5 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที ต่อการผลิตกรดมะนาว ของเชื้อ Aspergillus niger A 185 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

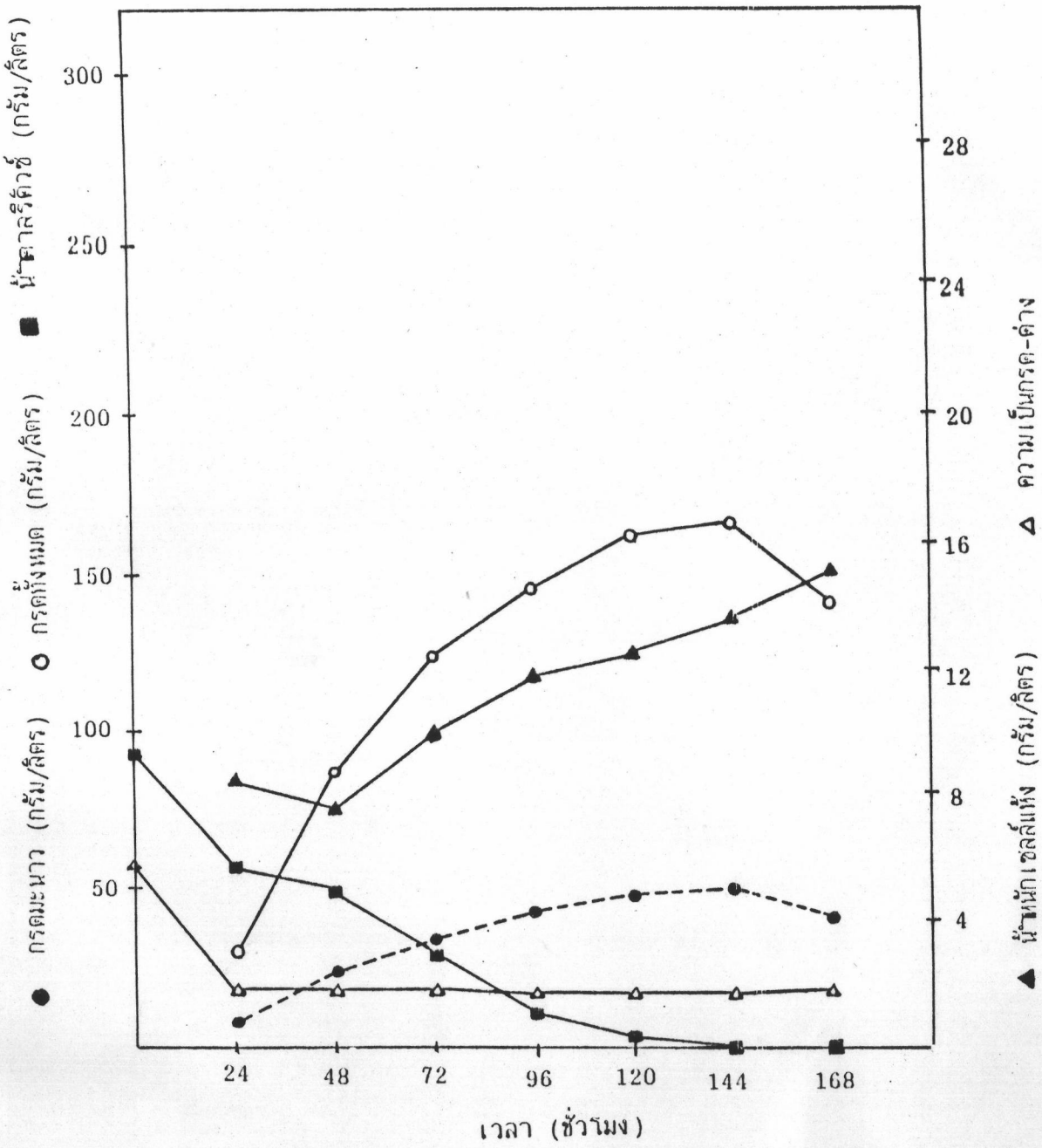
เวลา (ชม.)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
0					94.1	5.8
24	0.3	10	3.0	3.1	75.1	1.9
48	0.9	13	6.9	3.5	55.0	1.8
72	0.9	13	6.9	4.1	31.0	1.9
96	1.1	14	7.8	5.2	25.6	1.9
120	1.2	15	8.0	5.4	12.3	1.9



รูปที่ 18 ผลของอัตราการให้อากาศ 0.5 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที ต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ Aspergillus niger A 185 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ตารางที่ 21.2 ผลของอัตราการให้อากาศ 1.0 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที ต่อการผลิตกรดมะนาว ของเชื้อ Aspergillus niger A 185 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

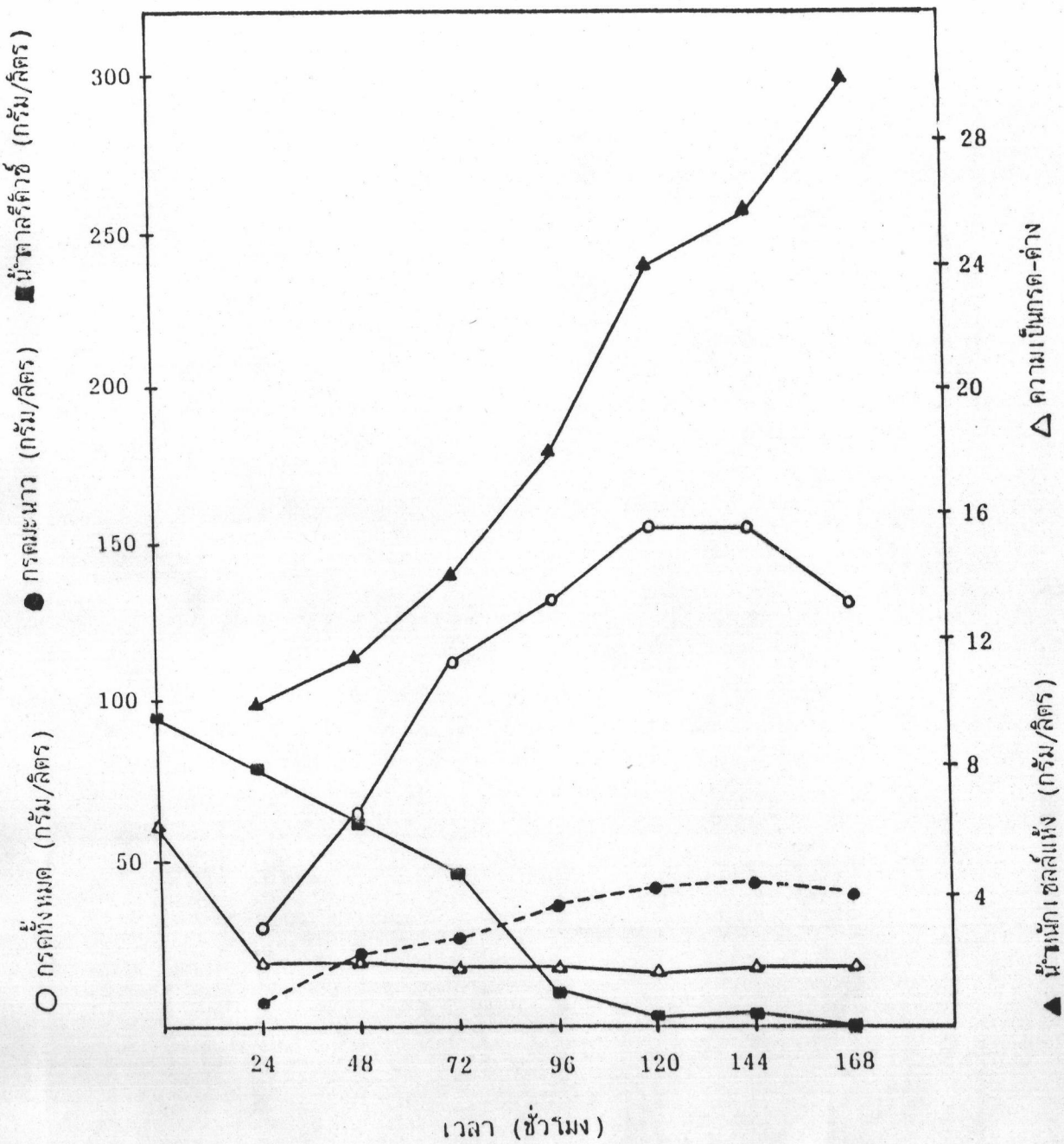
เวลา (ชม.)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
0					93.5	5.8
24	7.8	30	26.0	8.5	57.6	1.8
48	23.8	87	27.3	7.6	49.5	1.8
72	34.1	124	27.5	10.0	29.3	1.8
96	43.4	146	29.7	11.8	11.2	1.7
120	48.0	162	29.6	12.5	2.7	1.7
144	50.4	166	30.3	13.7	0.9	1.7
168	41.4	141	29.3	15.2	0.6	1.8



รูปที่ 19 ผลของอัตราการให้อากาศ 1.0 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที ต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ Aspergillus niger A 185 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ตารางที่ 21.3 ผลของอัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที ต่อการผลิตกรดมะนาว ของเชื้อ Aspergillus niger A 185 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

เวลา (ชม.)	กรดมะนาว (กรัม/ลิตร)	กรดทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	กรดมะนาว (ร้อยละ)	น.น. เซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก
0					95.0	6.1
24	6.6	30	22.0	9.9	79.0	1.9
48	22.8	65	35.0	11.4	63.0	1.9
72	27.0	112	24.0	14.0	47.0	1.8
96	37.2	132	28.1	18.0	10.0	1.8
120	42.0	155	27.0	24.0	2.7	1.7
144	43.2	155	27.8	25.8	3.0	1.8
168	40.8	131	31.1	30.8	0.8	1.8



รูปที่ 20 ผลของอัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตร/ลิตรอาหาร/นาที ต่อการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ Aspergillus niger A 185 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร