

การผลิตกรดซิตริกด้วยเชื้อรา *ASPERGILLUS NIGER*
ในถังหมักแบบแพคเบด โดยใช้เปลือกกล้วย

CITRIC ACID PRODUCTION BY *ASPERGILLUS NIGER*
IN A PACKED-BED BIOREACTOR USING BANANA PEEL



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร
คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561

การผลิตกรดซิตริกด้วยเชื้อรา *ASPERGILLUS NIGER*

ในถังหมักแบบแพคเบด โดยใช้เปลือกกล้วย

CITRIC ACID PRODUCTION BY *ASPERGILLUS NIGER*

IN A PACKED-BED BIOREACTOR USING BANANA PEEL



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CITRIC ACID PRODUCTION BY *ASPERGILLUS NIGER*
IN A PACKED-BED BIOREACTOR USING BANANA PEEL



THIS THESIS IS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
BACHELOR OF ENGINEERING IN FOOD ENGINEERING
FACULTY OF ENGINEERING
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญาโทปีการศึกษา 2561

สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร

คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เรื่อง การผลิตกรดซิตริกด้วยเชื้อรา *Aspergillus niger* ในถังหมักแบบแพคเบด
โดยใช้เปลือกกล้วย

Citric acid production by *Aspergillus niger* in a packed-bed bioreactor
using banana peel

ผู้จัดทำ

- | | | |
|--------------------|---------------|----------|
| 1. นายชนพงศ์ | เลี้ยงลอยเลิศ | 58010233 |
| 2. นางสาวสุดารัตน์ | สุจริตภักดี | 58011339 |
| 3. นายอนิวัตต์ | สุวรรณรัตน์ | 58011397 |




(ผศ.ดร.ธีรินทร์ นายศิริโชติ)
อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญาานิพนธ์เรื่อง	การผลิตกรดซิตริกด้วยเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> ในถังหมักแบบแพคเบต โดยใช้เปลือกกล้วย		
จัดทำโดย	1. นายชนพงศ์	เลี้ยงลอยเลิศ	58010233
	2. นางสาวสุดารัตน์	สุจริตภักดี	58011339
	3. นายอนิวัตต์	สุวรรณรัตน์	58011397
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ธีรินทร์ ฉายศิริโชติ		
ปริญญาานิพนธ์	วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง		
ปีการศึกษา	2561		

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดซิตริก โดยทำการหมักบนอาหารแข็งด้วยเชื้อรา *Aspergillus niger* โดยใช้เปลือกกล้วยเหลือใช้จากอุตสาหกรรมอาหารเป็นซับสเตรทในถังหมักแบบแพคเบต ซึ่งการทดลองแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ 1) การศึกษาค่า pH เริ่มต้นที่เหมาะสมของเปลือกกล้วยสำหรับการผลิตกรดซิตริก โดยทำการหมักแบบอาหารแข็งในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 250 มิลลิลิตร (ไม่มีการเติมอากาศ; ค่าพีเอช 3 4 5 และ 6) และ 2) การศึกษาผลของอัตราการเติมอากาศต่อการผลิตกรดซิตริกด้วยการหมักแบบอาหารแข็งในโหลแก้วปริมาตร 1 ลิตร โดยทำการศึกษาอัตราการเติมอากาศที่ 0.1 0.5 1.0 และ 1.5 vvm การหมักเริ่มจากการเพาะเชื้อรา *A.niger* 1×10^5 สปอร์ต่อกรัมซับสเตรทแห้ง ลงบนเปลือกกล้วยที่มีความชื้นร้อยละ 60 และบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองพบว่าที่ค่า pH เริ่มต้นของเปลือกกล้วยเท่ากับ 5 ได้รับอัตราการผลิตกรดซิตริกสูงสุด คือ 0.99 ± 0.27 มิลลิกรัมต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน และพบว่าการเติมอากาศมีผลต่อการเพิ่มอัตราการผลิตของกรดซิตริก โดยที่ 1.0 vvm เหมาะสมที่สุดในการผลิตกรดซิตริก (3.66 ± 0.59 มิลลิกรัมต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน) จากผลการทดลองการหาค่า pH เริ่มต้นและอัตราการเติมอากาศที่เหมาะสมนี้ เมื่อนำไปดำเนินการหมักเปลือกกล้วยในถังหมักแบบแพคเบตปริมาตร 10 ลิตร (Ø 45 เซนติเมตร, H 50 เซนติเมตร; ปริมาตรสุทธิ 20 ลิตร) พบว่าถังหมักที่มีการควบคุมอุณหภูมิมีอัตราการผลิตของกรดซิตริกสูงสุดในวันที่ 2 คือ 5.79 ± 0.19 มิลลิกรัมต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน

คำสำคัญ: *Aspergillus niger*, ถังหมักแบบแพคเบต, การหมักแบบอาหารแข็ง, อัตราการเติมอากาศ, กรดซิตริก, เปลือกกล้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Citric acid production by <i>Aspergillus niger</i> in a packed-bed bioreactor using banana peel		
Students	Mr. Chanapong	Leangloilert	58010233
	Miss Sudarat	Sujaritpukdee	58011339
	Mr. Aniwat	Suwannarat	58011397
Advisor	Asst. Prof. Dr. Teerin Chysirichote		
Thesis for	Bachelor's Degree of Food Engineering Department of Food Engineering Faculty of Engineering King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang		
Academic Year	2018		

Abstract

This research aims to investigate the appropriate conditions of citric acid (CA) production by solid-state fermentation (SSF) of *Aspergillus niger* on banana peel (BP) which was residue from food industry in a packed-bed bioreactor. The experiment consisted of 1) studying the optimum initial pH of BP for the CA production by conducting the SSF in 250 mL flask and 2) studying the effect of aeration rate on the CA production by performing the SSF in the 1 L glass column aerated at 0.1, 0.5 and 1.0 vvm. The SSF was carried out by inoculating spores of *A.niger* 1×10^5 spores/g_{dry substrate} on the sterilized BP (60% moisture content) and incubating at 30 °C. It was found that pH 5 was the optimum initial pH of a BP for CA production which obtained a highest production rate at 0.99 ± 0.27 mg/g_{dry substrate}/d. The aeration increased the production rate of CA and the aeration at 1.0 vvm was found to be appropriated for the CA production (3.66 ± 0.59 mg/g_{dry substrate}/d). The obtained optimum initial pH and aeration rate were applied for the SSF in the 10 L packed-bed bioreactor (Ø 45 cm, height 50 cm; bed volume 20 L). It was found that jacketed packed-bed bioreactor which obtained a highest production rate at 5.79 ± 0.19 mg/g_{dry substrate}/d.

Keyword: *Aspergillus niger*, packed-bed bioreactor, solid-state fermentation, aeration rate, citric acid, banana peel

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญาานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากความกรุณาและการดูแลเอาใจใส่จาก ผศ.ดร.ธีรินทร์ ฉายศิริโชติ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้ให้คำแนะนำ แนวคิด ทศนคติ และประสบการณ์อันมีค่าทางวิชาการตลอดมา ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ มาโดยตลอด จนงานวิจัยเล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณอาจารย์ประจำภาควิชาวิศวกรรมอาหาร และคณะวิศวกรรมศาสตร์ทุกท่าน สำหรับความคิดและคำชี้แนะต่าง ๆ ตลอดการวิจัย

ขอขอบคุณ คุณอำนาจ คุณตะคุ (พี่แมน) คุณบุญนำ ผลโพธิ์ (พี่บุญนำ) คุณวราภรณ์ มาไพศาลทรัพย์ (พี่นุ้ย) และคุณสุธัญญา ถาดนาค (พี่โอ้) เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการและธุรการ ภาควิชาวิศวกรรมอาหารทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการยื่นอุปรกรณ์และห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณสอยสรวง อรุณสง (พี่สอย) ที่คอยให้ความช่วยเหลือ ไขข้อสงสัย และเป็นที่ปรึกษาให้คำชี้แนะตลอดงานวิจัย รวมถึงคอยให้กำลังใจในการทำปริญญาานิพนธ์เล่มนี้

ขอขอบคุณบริษัทล้านกะทิทอง ที่สนับสนุนวัตถุดิบให้ตลอดการวิจัยนี้

ขอขอบคุณเพื่อนและพี่น้องภาควิชาวิศวกรรมอาหารที่เป็นกำลังใจ คอยให้ความสนับสนุน และความช่วยเหลือต่าง ๆ แก่คณะผู้วิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่สนับสนุนด้านการเรียน คอยให้ความช่วยเหลือ และคอยให้กำลังใจผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้าที่
บทคัดย่อภาษาไทย	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ii
กิตติกรรมประกาศ	iii
สารบัญ	iv
สารบัญตาราง	vii
สารบัญรูปภาพ	viii
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการ	1
1.2 จุดประสงค์โครงการ	2
1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.4 ขอบเขตงานวิจัย	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 กรดซิตริก	4
2.1.1 คุณสมบัติของกรดซิตริก	4
2.1.2 การผลิตกรดซิตริก	5
2.2 เปลือกกล้วยหอม	6
2.2.1 ส่วนประกอบทางเคมีของเปลือกกล้วย	6
2.3 เชื้อรา	6
2.3.1 เชื้อรา <i>Aspergillus</i>	6
2.3.1.1 เชื้อรา <i>Aspergillus</i> ที่ใช้ประโยชน์ในการผลิตอาหารและเทคโนโลยีชีวภาพ	7
2.3.2 เชื้อรา <i>Aspergillus niger</i>	8
2.4 การหมัก	9
2.4.1 การหมักแบบอาหารแข็ง (Solid-State Fermentation)	9
2.4.2 การหมักบนอาหารเหลว (Submerged fermentation)	9
2.4.3 การเปรียบเทียบระหว่างการหมักแบบอาหารแข็งและการหมักแบบอาหารเหลว	9
2.5 ถังหมัก	9
2.5.1 ถังหมักแบบถาด (Tray Fermentor)	10
2.5.2 ถังหมักแบบหมุน (Rotating Drum Fermentor)	11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5.3 ถังหมักแบบแพคเบต (Packed-Bed Fermentor)	11
2.5.4 ถังหมักแบบฟลูอิดไดซ์เบต (Fluidized-bed Fermentor)	13
2.5.5 ถังหมักแบบกวน (Stirred-tank Fermentor)	13
2.6 การผลิตกรดซิตริกจากการหมักแบบอาหารแห้ง	14
บทที่ 3 วัสดุและวิธีการ	16
3.1 วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือ	16
3.1.1 วัสดุ	16
3.1.2 อุปกรณ์	16
3.1.3 เครื่องมือ	17
3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย	18
3.2.1 วิธีการเตรียมเชื้อราและอาหาร	18
3.2.2 การเตรียมชั้นสเตรทสำหรับการหมัก	18
3.2.3 การศึกษาผลของค่าพีเอชเริ่มต้นของเปลือกกล้วยต่อการผลิตกรดซิตริก	19
3.2.4 การศึกษาผลของอัตราการเติมอากาศต่อการผลิตกรดซิตริก	19
3.2.5 การศึกษาการผลิตกรดซิตริกในถังหมักแบบแพคเบต	19
3.2.5.1 การออกแบบและสร้างถังหมัก	19
3.2.5.2 การควบคุมอุณหภูมิภายในถัง	20
3.2.6 การทดลองการหมักเปลือกกล้วยหอมในถังหมักแบบแพคเบต	21
3.3 การวิเคราะห์ผล	21
3.3.1 การวัดปริมาณกรดซิตริก	21
3.3.2 การวัดความชื้น	22
3.3.3 การคิดปริมาณลมที่นำไปลดความร้อนภายในถัง	22
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์การทดลอง	23
4.1 ผลของค่า pH เริ่มต้นของเปลือกกล้วยต่อการผลิตกรดซิตริกของ <i>A.niger</i>	23
4.2 ผลของอัตราการเติมอากาศต่อการผลิตกรดซิตริกของ <i>A.niger</i>	26
4.2.1 การผลิตกรดซิตริก	26
4.2.2 ปริมาณความชื้น	28
4.2.3 ปริมาณออกซิเจนที่เหลือ	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 ผลของการหมักกรดซิตริกของ <i>A.niger</i> ในถังหมักแบบแพคเบดที่มี แจ็กเก็ตลม เพื่อลดความร้อนสะสม	29
4.3.1 การผลิตกรดซิตริก	29
4.3.2 อุณหภูมิภายในถังหมัก	31
4.3.3 ปริมาณความชื้น	31
4.3.4 ปริมาณออกซิเจนที่เหลือ	32
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	33
5.1 สรุปผลการทดลอง	33
5.2 ข้อเสนอแนะ	33
บรรณานุกรม	34
ภาคผนวก	38



สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ส่วนประกอบทางเคมีของเปลือกกล้วย	6
2.2	ส่วนประกอบทางเคมีของเปลือกกล้วย	6
4.1	การเลือกใช้สภาวะความเป็นกรดที่เหมาะสมโดยพิจารณาอัตราการผลิตกรดซิตริก	24
4.2	ลักษณะของเชื้อรา <i>A.niger</i> ที่เจริญบนเปลือกกล้วยที่ค่า pH เริ่มต้นต่างกัน	24
4.3	การเลือกใช้สภาวะการเติมอากาศที่เหมาะสมโดยพิจารณาอัตราการผลิตกรดซิตริก	27
4.4	ลักษณะของเชื้อรา <i>A.niger</i> ที่เจริญบนเปลือกกล้วยที่อัตราการเติมอากาศต่างกัน	27
4.5	อัตราการผลิตกรดซิตริกที่ค่า pH 5 และ 1.0 wvm ในถังหมักแบบแพคเบด	30
4.6	ลักษณะของเชื้อรา <i>A.niger</i> ที่เจริญบนเปลือกกล้วยในถังหมักแบบแพคเบด	30
ก.3.1	ค่า pH เริ่มต้นของเปลือกกล้วย ก่อนและหลังฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส	44
ก.4.1	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย D-glucosamine hydrochloride ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	46
ข.1.1	องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกล้วย	48
ข.2.1	ปริมาณกรดซิตริกที่ค่า pH เริ่มต้นของเปลือกกล้วยเท่ากับ 3 4 5 และ 6	50
ข.2.2	ปริมาณกรดซิตริกที่อัตราการเติมอากาศ 0.1 0.5 1.0 และ 1.5 wvm	51
ข.2.3	ปริมาณกรดซิตริกในถังหมักแบบแพคเบดที่ไม่มีการควบคุมและมีการควบคุมอุณหภูมิ	52
ข.3.1	ปริมาณออกซิเจนในโหลแก้วที่มีการเติมอากาศ	54
ข.3.2	ปริมาณออกซิเจนในถังหมักที่มีการเติมอากาศ	54

สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้าที่
1.1	ปริมาณการผลิตของกล้วยในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2504 – 2558	2
2.1	สูตรโครงสร้างของกรดซิตริก	4
2.2	การสังเคราะห์กรดซิตริกจากน้ำตาลกลูโคสด้วยเชื้อรา	5
2.3	ตัวอย่างเชื้อรา <i>Aspergillus</i> ชนิดต่าง ๆ ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA	7
2.4	ลักษณะเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i>	8
2.5	ถึงหมักแบบถาด	10
2.6	ถึงหมักแบบหมุน	11
2.7	ถึงหมักแบบแพคเบต	12
2.8	ถึงหมักแบบฟลูอิดไดซ์เบต	13
2.9	ถึงหมักแบบกวน	14
3.1	ชุดถึงหมักแบบแพคเบต	20
3.2	ขนาดของถึงหมักแบบแพคเบตแบบมีแจ็กเก็ตของงานวิจัยนี้	21
4.1	ปริมาณกรดซิตริกที่ผลิตได้ของ <i>A.niger</i> จากการหมักเปลือกกล้วย ที่ค่า pH เริ่มต้น เท่ากับ 3 4 5 และ 6	23
4.2	ปริมาณความชื้นฐานเปียกจากการหมักเปลือกกล้วย ที่ค่า pH เริ่มต้น เท่ากับ 3 4 5 และ 6	26
4.3	ปริมาณกรดซิตริกที่ผลิตได้ของ <i>A.niger</i> จากการหมักเปลือกกล้วย ที่อัตราการเติมอากาศ เท่ากับ 0.1 0.5 1.0 และ 1.5 vvm	27
4.4	ปริมาณความชื้นฐานเปียกจากการหมักเปลือกกล้วย ที่อัตราการเติมอากาศ เท่ากับ 0.1 0.5 1.0 และ 1.5 vvm	28
4.5	ปริมาณออกซิเจนที่เหลือในโหลแก้ว ที่อัตราการเติมอากาศ เท่ากับ 0.1 0.5 1.0 และ 1.5 vvm	29
4.6	ปริมาณกรดซิตริกที่ผลิตได้ของ <i>A.niger</i> จากการหมักเปลือกกล้วย ที่ pH 5 และ 1.0 vvm ในถึงหมักแบบแพคเบตที่มีแจ็กเก็ตและไม่มีแจ็กเก็ต	30
4.7	อุณหภูมิ ณ ตำแหน่งต่าง ๆ ภายในถึงหมักแบบแพคเบตที่มีแจ็กเก็ตและไม่มีแจ็กเก็ต	31
4.8	ปริมาณความชื้นฐานเปียกจากการหมักเปลือกกล้วยที่ pH 5 และ 1.0 vvm ในถึงหมักแบบแพคเบตที่มีแจ็กเก็ตและไม่มีแจ็กเก็ต	32
4.9	ปริมาณออกซิเจนที่เหลือจากการหมักเปลือกกล้วยที่ pH 5 และ 1.0 vvm ในถึงหมักแบบแพคเบตที่มีแจ็กเก็ตและไม่มีแจ็กเก็ต	32
ก.3.1	สมการมาตรฐานของ pH เริ่มต้นของเปลือกกล้วย	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปร่าง (ต่อ)

รูปที่		หน้าที่
ก.4.1	สมการมาตรฐาน D-glucosamine hydrochloride	46
ค.1.1	ถังหมักแบบแพคเบต	56
ค.1.2	ส่วนประกอบของถังหมัก	56
ค.1.3	ชาตั้งถังหมัก	57
ค.1.4	ช่องอากาศของแจ็กเก็ต	57
ค.1.5	ช่องอากาศของถังหมัก	58
ค.1.6	ฉนวนกันการถ่ายเทความร้อน	58
ค.2.1	เชื้อรา <i>Aspergillus niger</i>	60
ค.2.2	อาหารเลี้ยงเชื้อ	60



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการ

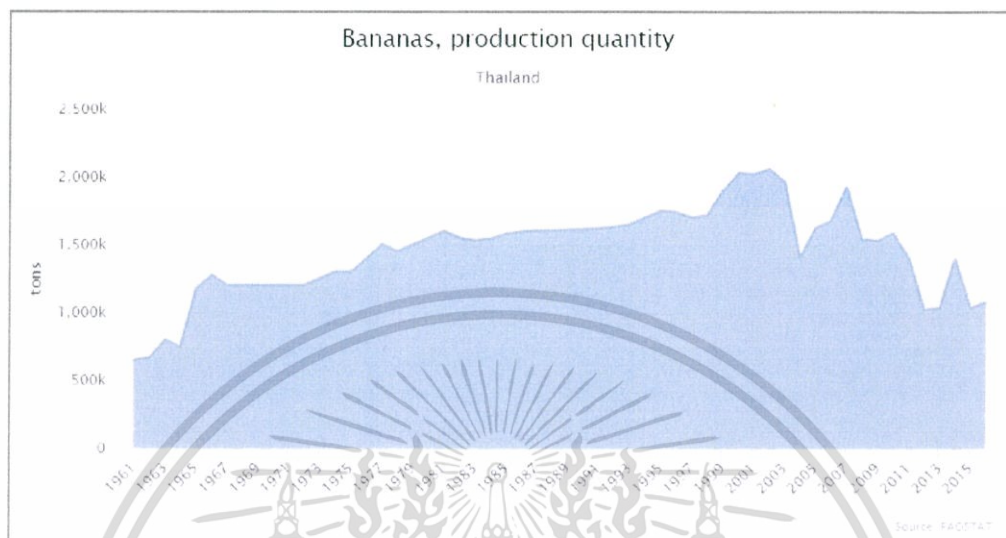
กรดซิตริกเป็นกรดอินทรีย์ที่มีความเป็นกรดอ่อนมีบทบาทสำคัญในชีวิตประจำวัน ประเทศที่มีการผลิตสูงที่สุดคือประเทศจีน รองลงมาอยู่ในแถบยุโรปและอเมริกา กรดซิตริกส่วนใหญ่จะถูกนำไปใช้ในการบริโภคในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม อาหารแปรรูป การชักฟอก (ทำความสะอาด) และเครื่องสำอางค์ กรดซิตริกพบได้ตามธรรมชาติทั่วไปในผักและผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว เช่น มะนาว สับปะรด และส้ม การผลิตกรดซิตริกโดยการใช้มะนาวมาคั้นเพื่อเอาน้ำจะมีองค์ประกอบของกรดซิตริกประมาณร้อยละ 7-9 ในปัจจุบันการผลิตกรดซิตริกสามารถผลิตได้จากน้ำตาลกลูโคสด้วยวิธีไกลโคไลซิส โดยใช้จุลินทรีย์ประเภทเชื้อรา เนื่องจากมีต้นทุนการผลิตต่ำและมีการผลิตทั่วโลกประมาณ 1.7 ล้านตันต่อปี และยังสามารถนำผลผลิตจากการเกษตรมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตกรดซิตริกได้อีกด้วย

การค้นหาวัตถุดิบเพื่อที่จะนำมาเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตกรดซิตริก โดยสารตั้งต้นที่มีราคาไม่สูงนับว่ามีความสำคัญในการลดต้นทุนในการผลิตกรดซิตริก จึงมีการมุ่งความสนใจไปยังการเลือกใช้สิ่งที่เหลือทิ้งจากผลผลิตทางการเกษตรสำหรับการนำมาเป็นสารตั้งต้น เนื่องจากเกิดปัญหาในเรื่องของการจัดการขยะที่มาจากอุตสาหกรรมทางการเกษตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มของประเทศที่กำลังพัฒนา ในปัจจุบันมีการให้ความสำคัญกับการเพิ่มมูลค่าสิ่งเหล่านี้ หรือนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไป (Angumeenal และคณะ, 2005) และในงานวิจัยนี้ได้ทำการเลือกเปลือกกล้วยหอมมาเป็นสารตั้งต้นหรือซัพสเตรทในการหมักเพื่อผลิตกรดซิตริก ซึ่งกล้วยหอมสามารถปลูกได้เกือบทุกประเทศที่มีภูมิอากาศร้อนชื้นหลายแห่งสำหรับประเทศไทยสามารถปลูกกล้วยหอมได้ทั่วทุกภาค ทั้งยังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญโดยมีการเพาะปลูกภายในประเทศสูงถึง 240,394 ตันต่อปีและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้เปลือกของกล้วยยังสามารถนำมาแปรรูปหรือนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ได้อีกหลายอย่าง (พีรศักดิ์ และคณะ, 2544) เช่น การนำมาทำปุ๋ยหมักสำหรับอุตสาหกรรมเกษตร การนำไปเป็นอาหารสัตว์ และการนำมาหมักเพื่อให้ได้กรดซิตริก เป็นต้น

กระบวนการหมักบนอาหารแข็งในถังหมักแบบแพคเบค เป็นกระบวนการการแปรสภาพทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของจุลินทรีย์ โดยอาศัยน้ำในรูปของความชื้นที่ดูดซับในซัพสเตรท ถังหมักจึงถือว่าเป็นอุปกรณ์หนึ่งที่มีความสำคัญ เนื่องจากต้องทำหน้าที่รักษาสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ และปริมาณอากาศ ให้เหมาะสมกับจุลินทรีย์แต่ละชนิดตลอดระยะเวลาของกระบวนการหมัก ถังหมักแบบแพคเบคมีข้อดีคือใช้พลังงานต่ำ เนื่องจากไม่มีการกวน และมีน้ำเสียที่เกิดขึ้นน้อยกว่าการหมักแบบอาหารเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักกรดซิตริกด้วยเชื้อรา *Aspergillus niger* ในถังหมักแบบแพคเบดที่สามารถลดความร้อนสะสมได้โดยใช้เปลือกกล้วยหอมเป็นซับสเตรท



รูปที่ 1.1 ปริมาณการผลิตของกล้วยในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2504 - 2558

ที่มา : Bernhard Slominski (2017)

1.2 จุดประสงค์ของโครงการ

เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการหมักบนอาหารแข็งเพื่อผลิตกรดซิตริกด้วยเชื้อรา *Aspergillus niger* ในถังหมักแบบแพคเบดที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้

1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ทราบกระบวนการและสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดซิตริกจากเชื้อรา *Aspergillus niger* ได้แก่ ค่า pH เริ่มต้นของเปลือกกล้วย และอัตราการเติมอากาศ

1.3.2 สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการออกแบบและสร้างถังหมักแบบแพคเบดที่สามารถลดความร้อนสะสมได้ดี

1.4 ขอบเขตงานวิจัย

1.4.1 ขอบเขตตัวแปรที่ศึกษา เป็นดังนี้

1.4.1.1 ตัวแปรต้น

- ค่า pH เริ่มต้นของเปลือกกล้วยก่อนเริ่มทำการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- อัตราการเติมอากาศ 0.1, 0.5, 1.0 และ 1.5 vvm (vvm คือ ลิตรของอากาศต่อลิตรของวัสดุการหมักต่อนาที)
- ลักษณะของถังหมักแบบแพคเบต (แบบไม่มีแจ็กเก็ตและแบบมีแจ็กเก็ต)

1.4.1.2 ตัวแปรตาม

- ปริมาณกรดซิตริก
- ปริมาณ O_2 ในถังหมัก
- ความชื้นของซัสเตรท
- อุณหภูมิ ณ ใจกลางของซัสเตรท และอุณหภูมิขาออกของถังหมัก

1.4.1.3 ตัวแปรควบคุม

- ชนิดของเชื้อรา คือ *Aspergillus niger*
- ปริมาณเชื้อราเริ่มต้น 1×10^5 สปอร์ต่อกรัมซัสเตรทแห้ง
- ปริมาตรของซัสเตรทแห้ง มี 3 แบบ
 - สำหรับการหมักในขวดรูปชมพู่ 25 กรัม
 - สำหรับการหมักในโหลแก้ว 300 กรัม
 - สำหรับการหมักในถังหมักแบบแพคเบต 2,500 กรัม
- ความชื้นเริ่มต้นของซัสเตรทร้อยละ 60 (ฐานเปียก)
- อุณหภูมิในการหมัก (30 องศาเซลเซียส)

1.4.2 พัฒนากลังหมักแบบแพคเบต โดยให้สามารถควบคุมอุณหภูมิและลดความร้อนสะสมภายในถังหมักได้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

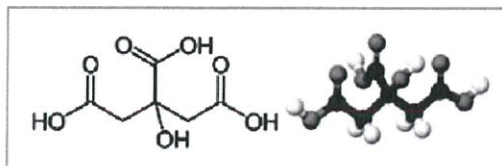
2.1 กรดซิตริก

กรดซิตริก (citric acid) หรือกรดมะนาว เป็นสารเคมีชนิดหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูปและอาหารกึ่งสำเร็จรูปต่าง ๆ เช่น น้ำผลไม้ ลูกกวาด เจลลี่ น้ำมะนาวเทียมจะใช้กรดซิตริกเป็นสารให้รสเปรี้ยว นอกจากนี้ยังใช้กรดซิตริกเป็นสารลดความฟาด ควบคุมความเป็นกรด-เบส ป้องกันการเน่าเสียของเครื่องดื่ม ป้องกันการตกผลึกของน้ำผึ้ง และป้องกันน้ำผลไม้ขุ่นได้อีกด้วย (อภิษฐา, 2552)

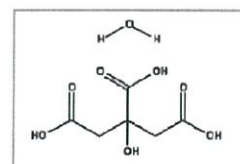
กรดซิตริกเป็นกรดอ่อนใช้ประโยชน์เพื่อการถนอมอาหารโดยมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มรสชาติให้กับอาหารให้มีรสเปรี้ยว และมีกลิ่นหอมชวนรับประทาน ได้รับการยอมรับโดยทั่วไปว่ามีความปลอดภัยในการบริโภค สามารถเติมลงไปในการอาหารโดยไม่เกิดอันตราย และสามารถย่อยสลายได้ง่ายและไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ในระยะแรก ๆ การผลิตกรดซิตริกทำโดยคั้นมะนาวโดยตรงเพื่อให้ได้น้ำมะนาวซึ่งจะมีส่วนประกอบของกรดซิตริกประมาณร้อยละ 7-9 แต่ในปัจจุบันมีโรงงานผลิตกรดซิตริกจำนวนน้อยกว่า 100 โรงงานทั่วโลก

2.1.1 คุณสมบัติของกรดซิตริก

กรดซิตริกมีชื่อทางเคมีว่า 2-hydroxy-1,2,3-propane tricarboxylic acid สำหรับกรดซิตริกที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในท้องตลาดมีอยู่ด้วยกัน 2 ชนิด คือกรดชนิดแอนไฮไดรส์ (citric acid anhydrous) หรือชื่อทางเคมี 2-hydroxy-1,2,3-propane tricarboxylic acid, anhydrous มีสูตรโมเลกุล $C_6H_8O_7$ น้ำหนักโมเลกุล 192.124 กรัมต่อโมล จุดหลอมเหลว 153 องศาเซลเซียส และอีกชนิดก็คือกรดซิตริกชนิดโมโนไฮเดรต (citric acid monohydrate; hydrous citric acid) หรือชื่อทางเคมี 2-hydroxy-1,2,3-propane tricarboxylic acid, monohydrate มีสูตรโมเลกุล $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ น้ำหนักโมเลกุล 210.14 กรัมต่อโมล จุดหลอมเหลว 100 องศาเซลเซียส ลักษณะทางกายภาพทั่วไป มีลักษณะเป็นผงสีขาว ไม่มีกลิ่น มีรสเปรี้ยว สามารถละลายได้ดีในน้ำและแอลกอฮอล์



ก. กรดซิตริกชนิดแอนไฮไดรส์
(Citric Acid Anhydrous)



ข. กรดซิตริกชนิดโมโนไฮเดรต
(Citric Acid Monohydrate)

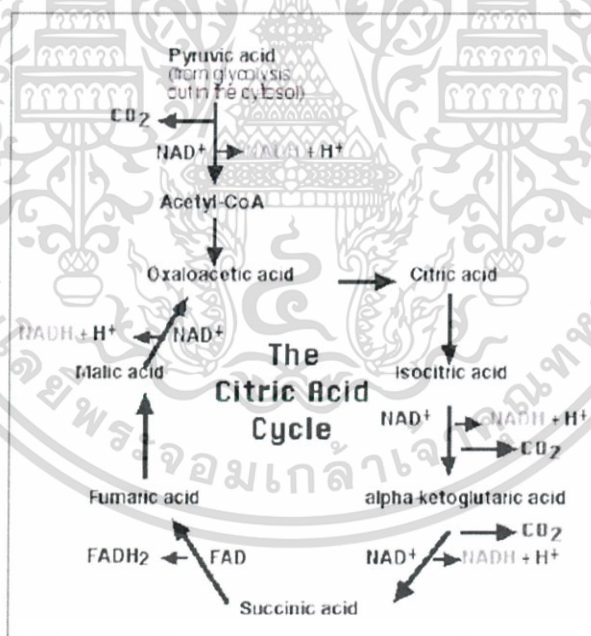
รูปที่ 2.1 สูตรโครงสร้างของกรดซิตริก

ที่มา: อภิษฐา (2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 การผลิตกรดซิตริก

พบทั่วไปในผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว เช่น มะนาว ส้ม สับปะรด เป็นต้น การผลิตกรดซิตริก ในระยะแรกใช้วิธีการสกัดจากผลไม้ที่มีรสเปรี้ยวโดยตรง เช่น มะนาว ซึ่งมีกรดซิตริกประมาณร้อยละ 7-9 แต่ในปัจจุบันนิยมผลิตด้วยวิธีการหมักน้ำตาลกลูโคสด้วยจุลินทรีย์ กรรมวิธีการสังเคราะห์ กรดซิตริกจากน้ำตาลกลูโคส แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นแรกเป็นการย่อยสลายกลูโคส ด้วยจุลินทรีย์ผ่านวิธีไกลโคไลซิส (glycolysis) ได้เป็นไพรูเวท (pyruvate) และอะซิติลโคเอนไซม์เอ (acetyl CoA) ขั้นตอนต่อมาเอนไซม์ไพรูเวทคาร์บอกซิเลส (pyruvate carboxylase) จะเร่งปฏิกิริยา การรวมตัวกันของไพรูเวทกับคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide) ได้เป็นออกซาโลอะซิเตต (oxaloacetate) ขั้นตอนที่สามเป็นการสะสมกรดซิตริก เมื่อได้สารละลายกรดซิตริกแล้วจะนำไป ทำให้บริสุทธิ์โดยผ่านถ่านกัมมันต์และเรซิน ระเหยน้ำออกและตกผลึก การตกผลึกถ้าทำที่อุณหภูมิ สูงกว่า 40 องศาเซลเซียส จะได้กรดซิตริกชนิดแอนไฮดรัส แต่ถ้าทำที่อุณหภูมิต่ำกว่า 36.5 องศาเซลเซียส จะได้กรดซิตริกผงที่มีน้ำอยู่หนึ่งโมเลกุล จุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในการผลิตกรดซิตริก ในปัจจุบัน คือ เชื้อรา *Aspergillus niger* และในโรงงานบางแห่งใช้ยีสต์ในการหมัก เช่น *Candida lipolytica* แต่ปริมาณการผลิตน้อยกว่าใช้เชื้อรามาก



รูปที่ 2.2 การสังเคราะห์กรดซิตริกจากน้ำตาลกลูโคสด้วยเชื้อรา
ที่มา : อภิษฐา (2552)

2.2 เปลือกกล้วยหอม

เนื่องจากประเทศไทยปลูกกล้วยหอมได้ทั่วประเทศ ทั้งยังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ มีการเพาะปลูกภายในประเทศสูงถึง 240,394 ตันต่อปี และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ผลสุกนอกจากจะใช้รับประทานเป็นผลไม้แล้ว เปลือกของกล้วยยังสามารถนำมาแปรรูปหรือนำมาใช้ประโยชน์ได้อีกหลายอย่าง (พีรศักดิ์ และคณะ, 2544) เช่น การนำมาทำปุ๋ยหมัก อาหารสัตว์ เป็นต้น

2.2.1 ส่วนประกอบทางเคมีของเปลือกกล้วย

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบทางเคมีของเปลือกกล้วย (Gane และคณะ, 1993)

ส่วนประกอบ (%)	
แป้ง	31.3
โปรตีน	3.2
เซลลูโลส	3.1
เฮมิเซลลูโลส	5.5
เยื่อใย	1.3
เถ้า	3.7
NDF	8.9
ADF	3.8
ลิกนิน (ADL)	1.0

ตารางที่ 2.2 ส่วนประกอบทางเคมีของเปลือกกล้วย (ชานวัฒน์ และคณะ, 2556)

ส่วนประกอบ (%)	
สารอินทรีย์คาร์บอน	41.37
คาร์โบไฮเดรต	23.44
เซลลูโลส	11.11
ไนโตรเจน	1.06

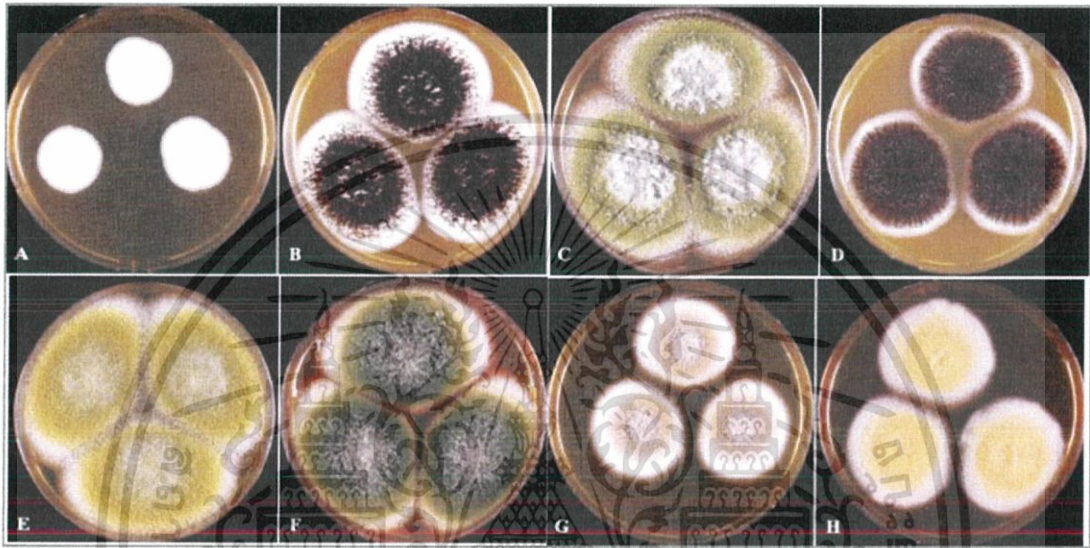
2.3 เชื้อรา

2.3.1 เชื้อรา *Aspergillus*

เชื้อรา *Aspergillus* จัดอยู่ในกลุ่ม Duteromycetes หรือ Fungi imperfecti ซึ่งเป็นกลุ่มเชื้อราที่พบเพียงสภาวะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ อย่างไรก็ตามมีบางสายพันธุ์ที่มีรูปแบบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศในบางสภาวะ โดยการสร้างสปอร์ (conidia) ในปัจจุบันสามารถจัดจำแนกได้มากกว่า 250 สปีชีส์ การจัดจำแนกเชื้อราในจีนัส *Aspergillus* ใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ลักษณะรูปร่าง) ร่วมกับวิธีการวิเคราะห์วิวัฒนาการ (phylogenetic analysis) โดยใช้วิธีอณูชีววิทยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(molecular biology) ประชาชนทั่วไปมักคุ้นเคยกับเชื้อรา *Aspergillus* ที่มีสีดำซึ่งขึ้นบนขนมปัง และอาหารอื่น ๆ เช่น *A.niger*, *A.carbonarius* แต่ในความเป็นจริงนั้น เชื้อรา *Aspergillus* มีความหลากหลายมากโดยมีทั้งสีขาว เช่น *A.candidus* สีเหลือง เช่น *A.ochraceous* สีเขียว เช่น *A.flavus*, *A.parasiticus*, *A.oryzae* สีส้ม เช่น *A.terreus* เป็นต้น ภาพแสดงเชื้อราชนิดต่าง ๆ แสดงในรูปที่ 2.3 โดยเชื้อรา *Aspergillus* แต่ละชนิดมีลักษณะแหล่งที่พบ การสร้างสารพิษ และการนำไปใช้ที่แตกต่างกันไป (ปารมี, ม.ป.ป.)



รูปที่ 2.3 ตัวอย่างเชื้อรา *Aspergillus* ชนิดต่าง ๆ ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA ที่สภาวะ 25 °ซ เป็นเวลา 7 วัน A) *A. candidus* B) *A. carbonarius* C) *A. flavus* D) *A. niger* E) *A. oryzae* F) *A. parasiticus* G) *A. terreus* H) *A. westerdijkiae*
ที่มา : ปารมี (ม.ป.ป.)

เชื้อรา *Aspergillus* มีบทบาทสำคัญในการผลิตอาหารพื้นเมืองในประเทศทางด้านการตะวันออก ซึ่งได้แก่ประเทศ จีน ญี่ปุ่น ไทย และ อินโดนีเซีย เป็นต้น นอกจากนี้เชื้อราสกุลนี้ มีบทบาทสำคัญในการผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรมหลายชนิด ได้แก่ เอนไซม์ และ กรดอินทรีย์ เป็นต้น และยังเป็นเชื้อรากลุ่มหลักที่มีความสำคัญในการเป็นผู้ย่อยสลายสารต่าง ๆ ในระบบนิเวศ โดยมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิดเพื่อสร้างออกมาย่อยเซลล์ของพืชในธรรมชาติได้ (ชลนิชา และคณะ, ม.ป.ป.)

2.3.1.1 เชื้อรา *Aspergillus* ที่ใช้ประโยชน์ในการผลิตอาหารและเทคโนโลยีชีวภาพ
เชื้อราในจีนัส *Aspergillus* หลายชนิด มีการใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารและเทคโนโลยีชีวภาพ ทั้งในแง่การเป็นหัวเชื้อที่ช่วยในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารหลากหลายชนิด รวมทั้งการผลิตกรดอินทรีย์ สารเมตาบอไลต์ หรือเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Aspergillus oryzae และ *A. sojae* เป็นเชื้อราที่มีการใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมาหลายศตวรรษ โดยใช้ในการผลิตโคจิสำหรับผลิตซอสถั่วเหลือง และเต้าเจี้ยว และมีรายงานว่าเชื้อ *A. glaucus*, *A. melleus*, *A. rapens* และ *A. candidus* เป็นเชื้อเจ้าถิ่นในการหมักปลาของประเทศญี่ปุ่น นอกจากนี้ ได้รายงานการใช้ประโยชน์ทางเทคโนโลยีชีวภาพของเชื้อรา *Aspergillus* ชนิดต่าง ๆ ไว้ดังนี้ (ปารมี, ม.ป.ป.)

A. carbonarius ใช้ในการผลิตกรดซิตริก

A. clavatus ใช้ในการผลิตสาร sarcins

A. niger ใช้ในการผลิตกรดซิตริก กรดกลูโคนิก และกรดออกซาลิก ใช้ในการผลิตเอนไซม์หลายชนิด เช่น อะไมเลส โลเปส เพคติเนส อะไมโลกลูโคซิเดส และอื่น ๆ

A. oryzae ใช้สำหรับการหมักปลาทונהในประเทศญี่ปุ่น (katsuobushi) ใช้ในการผลิตซอสถั่วเหลือง ใช้ในการผลิตสาเก เอนไซม์ชนิดต่าง ๆ เช่น อะไมเลส เป็นต้น

2.3.2 เชื้อรา *Aspergillus niger*

เชื้อรามีโคโลนีสีดำ ตรงกลางสีเข้มที่สุดและจางลงไปเรื่อย ๆ เมื่อห่างจากจุดศูนย์กลางของโคโลนี เพราะบริเวณตรงกลางของโคโลนีมี conidial head ที่มีอายุแก่กว่าและขึ้นอยู่อย่างหนาแน่น ส่วนขอบของโคโลนีจะเห็น conidial head ชัดเจนกว่าและจะเห็นก้าน conidiophore ยาว เส้นใยของเชื้อเจริญอยู่ใต้อาหารอย่างบาง ๆ โคโลนีได้อาหารไม่มีสีและตั้งแต่จุดศูนย์กลางจนถึงส่วนกลางของโคโลนีจะมีรอยปุ่มลงในอาหารเป็นทางยาว conidial head เมื่อยังอ่อนอยู่มีรูปร่างกลม ไม่มีสี เมื่อมีอายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีดำ รูปร่างกลม แผ่เป็นรัศมีหรือแตกออกเป็น 3-4 แฉกหรือมากกว่า conidiophore มีสีน้ำตาลอ่อน และจะค่อย ๆ เข้มขึ้นเมื่อถึง vesicle และ conidiophore บริเวณนี้จะเป็นรอยคอดเล็กน้อย ผนังเรียบ ส่วนมากยาวมากกว่า 1 มิลลิเมตร vesicle มีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม sterigma ชั้นคลุมทั้ง vesicle มี 2 ชั้น สีน้ำตาลอ่อน conidia รูปร่างกลม มีสีน้ำตาลอ่อน ผนังขรุขระ (โสพิศ, 2540) ดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 ลักษณะเชื้อรา *Aspergillus niger*

- ก. ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหาร Czapek's solution agar และลักษณะโคโลนีได้อาหาร Czapek's solution agar ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส
- ข. Conidial head รูปร่างกลม แผ่เป็นรัศมีหรือแตกเป็นแฉกหลายแฉก (400x)
- ค. Vesicle รูปร่างกลม มี sterigma สองชั้น (400x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องยกย่องถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ที่มา : โสพิศ (2540)

2.4 การหมัก

2.4.1 การหมักแบบอาหารแข็ง (Solid-State Fermentation)

เป็นการหมักจุลินทรีย์ที่เจริญโดยการใช้ น้ำ และ ทำการหมักบนซับสเตรท ซึ่งได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากใช้พลังงานต่ำ และมีน้ำเสียที่เกิดขึ้นน้อยกว่าการหมักแบบอาหารเหลว อีกทั้งยังสามารถแก้ปัญหาสิ่งแวดล้อมจากขยะประเภทของแข็ง โดยนำมาเป็นซับสเตรทสำหรับการผลิตในเชิงพาณิชย์ (Minyuan และคณะ, 1997) ลดต้นทุนในการผลิตและใช้พื้นที่ในการดำเนินการน้อย และ ลดการปล่อยน้ำเสีย การหมักวิธีนี้เหมาะสมกับการหมักจุลินทรีย์ประเภทรา ซึ่งสามารถเจริญได้ในอาหารหมักที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบน้อย การหมักแบบอาหารแข็งได้รับความสนใจเนื่องจากมีข้อดีมากกว่าการหมักแบบอาหารเหลว ถึงแม้วิธีนี้จะมีประสิทธิภาพเพียงใดแต่ในแง่ของการผลิตผลิตภัณฑ์ในปัจจุบันยังมีปัญหาในการใช้งานเชิงพาณิชย์ คือ ไม่สามารถออกแบบและสร้างการหมักในถังหมักที่มีขนาดใหญ่ได้ ปัญหาในการควบคุมปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับเชื้อที่สำคัญ เช่น การควบคุมความร้อนที่เกิดขึ้นภายในถังหมัก (Kalogeris และคณะ, 2003)

2.4.2 การหมักบนอาหารเหลว (Submerged fermentation)

การหมักประเภทนี้เชื้อจุลินทรีย์จะเจริญอยู่บนซับสเตรทที่อยู่ในสถานะของเหลวซึ่งส่วนมากจะเป็นกลุ่มที่ต้องการความชื้นสูง ในซับสเตรทจะประกอบด้วยสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อรา ซึ่งในถังหมักจะมีด้วยกันอยู่ 2 เฟส คือ ส่วนที่เป็นของเหลวและส่วนที่เป็นแก๊ส ในการผลิตนั้นสามารถทำได้อย่างต่อเนื่องเมื่อเทียบกับการหมักแบบอาหารแข็งที่สามารถทำได้เพียงแบบ Batch ในการผลิตจำเป็นต้องใช้ถังบรรจุขนาดใหญ่ในการหมัก จึงมีน้ำเสียจำนวนมาก และใช้พลังงานสูง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จำเป็นต้องผ่านกระบวนการกรองหรือทำแห้งเสียก่อน โดยผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ก็นั้นมักจะเป็นจำพวกแอลกอฮอล์หรือกรด (Kunamneni และคณะ, 2005)

2.4.3 การเปรียบเทียบระหว่างการหมักแบบอาหารแข็งและการหมักแบบอาหารเหลว

- การหมักแบบอาหารแข็งเหมาะกับเชื้อราที่มีโครงสร้างแบบเส้นใย เช่น *A. niger* เพราะกระบวนการหมักมีความคล้ายกับธรรมชาติของเชื้อรามากกว่าการหมักแบบอาหารเหลว
- กระบวนการหมักจะใช้สิ่งที่เหลือใช้ทางการเกษตรมาเป็นอาหารแข็งซึ่งจะมาเป็นซับสเตรททำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานเพราะมีคาร์บอนอยู่ในปริมาณมากกว่าการหมักแบบอาหารเหลว
- การหมักแบบอาหารแข็งเป็นการหมักที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมมากกว่าอาหารเหลว โดยมีข้อดี คือ ไม่สร้างมลภาวะให้กับสิ่งแวดล้อม และลดการสะสมของของเหลือทางการเกษตร (Brahmachari และคณะ, 2017)

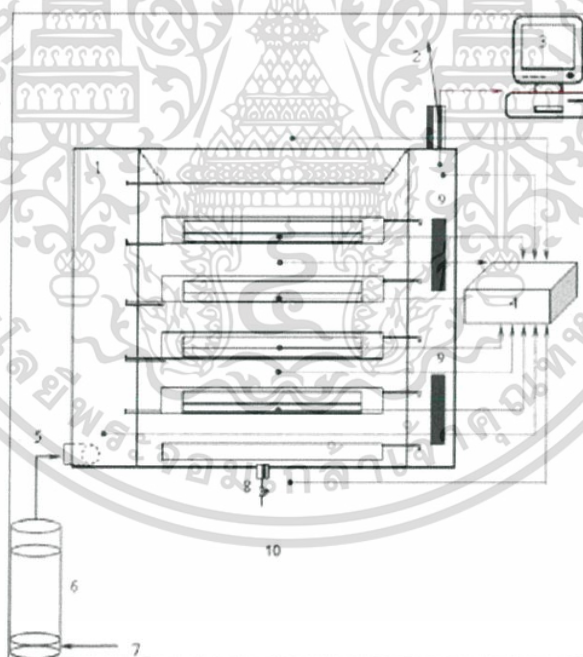
2.5 ถังหมัก

ถังหมักเป็นอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับรองรับการเกิดปฏิกิริยาเคมีภายใน ซึ่งสามารถจำลองสภาพแวดล้อมทางกายภาพที่เหมาะสมให้กับชีวเคมีที่สามารถใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจนเพื่อการเจริญทางชีวภาพ ไม่ว่าจะเป็นอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณความชื้น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การละลายของออกซิเจน อัตราการเติมอากาศ เป็นต้น ลักษณะโดยทั่วไปจะเป็นทรงกระบอก มีหลากหลายขนาดขึ้นอยู่กับระดับของการผลิต วัสดุที่นำมาทำเป็นถังหมักนั้นควรเป็นวัสดุที่ทนทานต่อการกัดกร่อน มีความแข็งแรง สามารถทนต่ออุณหภูมิมาเชื้อได้ สามารถทำความสะอาดได้ง่าย และต้องไม่เกิดสนิม (Nagel และคณะ, 1992)

2.5.1 ถังหมักแบบถาด (Tray Fermentor)

ถังหมักแบบถาดเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในห้องปฏิบัติการและในอุตสาหกรรม ถังหมักแบบถาดประกอบด้วย ถาดสำหรับใส่ซับสเตรทที่มีความหนาประมาณ 1.5 หรือ 2 เซนติเมตร (Arturo และคณะ, 2011) ซึ่งส่วนมากจะทำจากวัสดุที่ไม่ก่อให้เกิดการติดเชื้อและไม่เกิดปฏิกิริยาเคมีกับซับสเตรท ถาดจะถูกป้อนโดยมีการควบคุมอุณหภูมิกับการเติมอากาศแบบแพสซีฟ การใช้ถังหมักแบบถาดในอุตสาหกรรมมีข้อดี คือ ในการหมักไม่จำเป็นต้องผสมกันระหว่างหมักทำให้มีการใช้พลังงานน้อยและใช้งานสะดวก เนื่องจากพึ่งพาเทคโนโลยี แต่มีข้อเสียคือ มีอัตราการใช้พื้นที่ต่ออาหารสูง เนื่องจากแต่ละถาดบรรจุได้สูงสุด 5 เซนติเมตร หากทำการเพิ่มอาหารลงไปมากขึ้นจะก่อให้เกิดปัญหาที่ตามมา คือ ความร้อนสะสมที่มากขึ้น ซึ่งยากต่อการถ่ายเทความร้อน (Byndoor และคณะ, ม.ม.ป.)



รูปที่ 2.5 ถังหมักแบบถาด

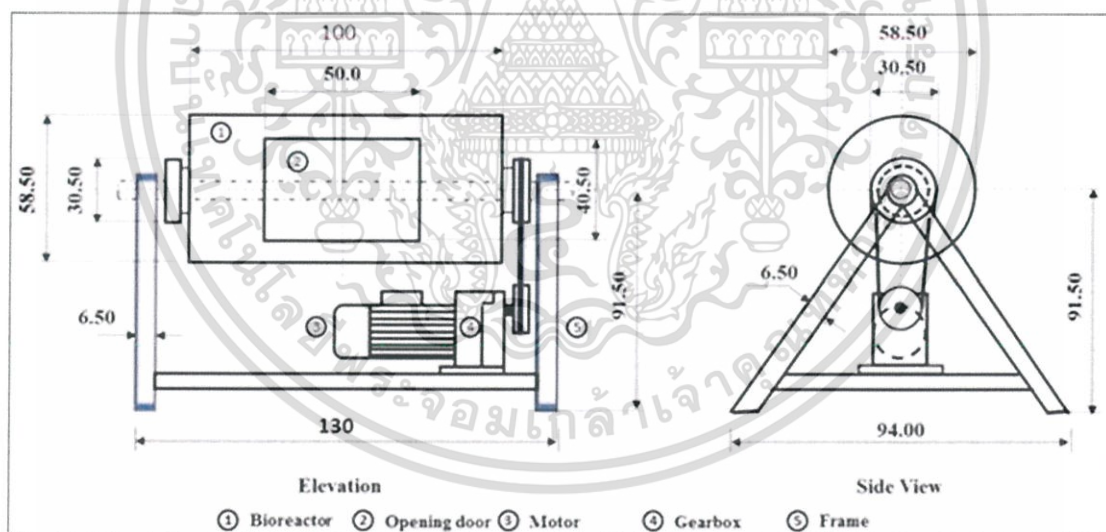
- 1: bioreactor, 2: air exit, 3: determination and registering of CO₂,
 4: determination and registering of temperature (digital thermometer),
 5: saturated air entry, 6: column for saturation of air, 7: dry air inlet, 8: purge, 9: fans

ที่มา : Arturo และคณะ (2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 ถังหมักแบบหมุน (Rotating Drum Fermentor)

ถังหมักแบบหมุน ประเภทนี้ลักษณะโดยทั่วไปจะออกแบบให้ถังหมักอยู่ในแนวนอน เป็นรูปทรงกระบอก หมุนรอบแกนกลางของถัง จะทำให้มีระบบปลอดเชื้อ เกิดการผสมกันอย่างทั่วถึง ของซัสเตรท และสามารถทำงานได้อย่างอัตโนมัติ (Han, 1975) และในถังอาจมีแผ่นกั้น (Baffle) เพื่อให้แยกซัสเตรทกับผิวถังนั้นแยกออกจากกัน (สรวุฒิ และคณะ, 2547) ถังหมักแบบหมุน จะมีการเคลื่อนที่อย่างช้าๆ เพื่อให้ซัสเตรทเกิดการคลุกเคล้ากันอย่างทั่วถึงและลดความเสียหายของไมซีเลียมเชื้อรา (Brahmachari, 2017) ซึ่งความเร็วรอบของการหมุนนั้นนิยมใช้กัน คือ 1-15 รอบต่อนาที ควรมีซัสเตรทประมาณร้อยละ 10-40 ของปริมาตรถังหมัก โดยควรประกอบด้วย ซัสเตรทที่มีขนาดอนุภาคเล็กจำนวนมาก ความชื้นในถังหมักขึ้นอยู่กับจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการหมัก ถังหมักแบบหมุนมีลักษณะสำคัญ 2 อย่าง คือ การบรรจุซัสเตรทจะบรรจุในแนวนอน เมื่อมีการหมุนจะทำให้เกิดการผสมกัน ที่ด้านบนจะมีการเป่าลมเพื่อให้เกิดการถ่ายเทความร้อน กั้นระหว่างอากาศกับซัสเตรท การปรับปรุงโดยการติดตั้งฟิล์ดำนในถังบริเวณผนังของถัง เพื่อการผสมที่ดีขึ้น โดยถังหมักแบบหมุนมีข้อดี คือ มีการถ่ายเทออกซิเจนดี ผสมได้ดี ข้อเสีย คือ เพิ่มขนาดสเกลได้ยากและซัสเตรทมีโอกาสเกิดการรวมกลุ่ม (substrate agglomeration) ขณะกระบวนการหมัก (Krishna, 2005; Matthew และคณะ, 2000)



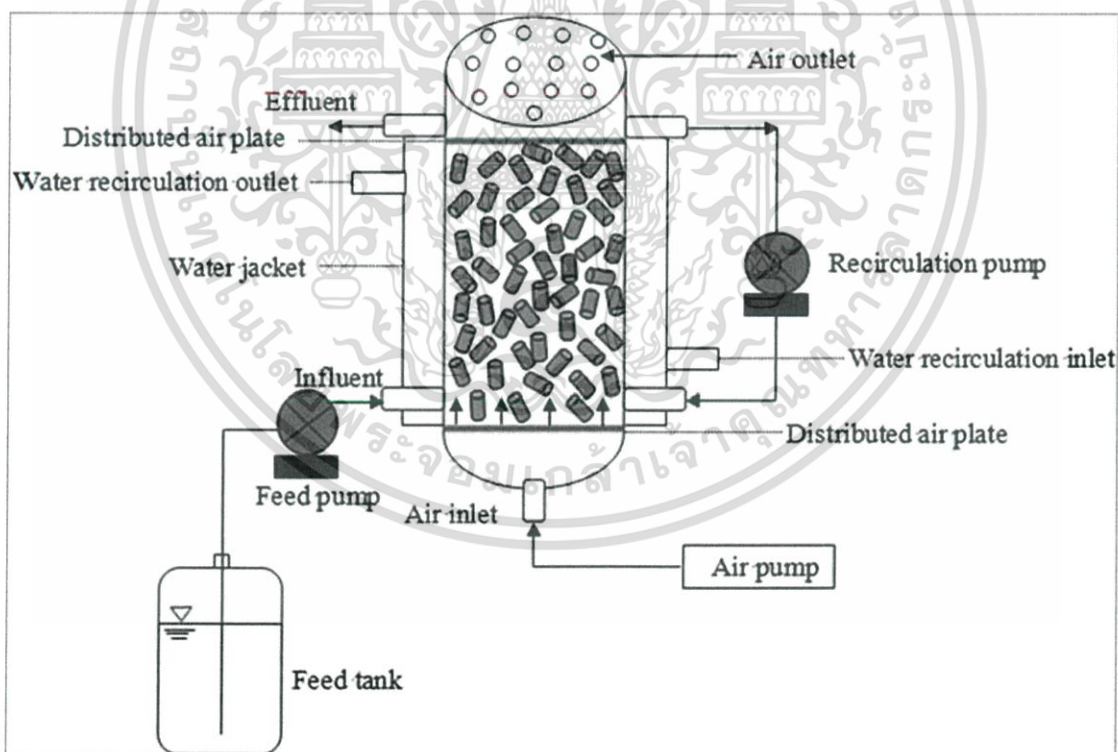
รูปที่ 2.6 ถังหมักแบบหมุน
ที่มา : Abdel-Razzak (2018)

2.5.3 ถังหมักแบบแพคเบด (Packed-Bed Fermentor)

ถังหมักแบบแพคเบด จะมีลักษณะที่เป็นทรงกระบอก ขนาดของถังจะขึ้นอยู่กับระดับในการใช้งาน ถ้าถังในระดับห้องปฏิบัติการจะทำจากแก้วหรือพลาสติก และในระดับอุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะทำได้ด้วยสแตนเลส เพื่อความทนทาน ประสิทธิภาพในการทำความสะอาดได้ และทนการกัดกร่อน (Lonsane และคณะ, 1985; Annunziato และคณะ, 1986; Pandey, 1996; Minyuan และคณะ, 1996) ภายในจะมีการเจาะรูเพื่อให้อากาศผ่านทางด้านข้างหรือด้านล่างของถังจะมีท่อเพื่อให้อากาศขึ้นเข้าไปในถังหมักเพื่อรักษาความชื้นสัมพัทธ์และควบคุมอุณหภูมิ เมื่อทำการหมักไประยะหนึ่งจะเกิดความร้อนสะสม จึงต้องมีการลดความร้อน ซึ่งมีวิธีดังนี้ คือการใช้หลักการของการนำความร้อน เช่น การใช้น้ำหล่อเย็นเป็นตัวกลางไหลผ่านแจ็กเก็ตหรือผ่านท่อขด และการใช้การพาความร้อน เช่น การใช้พัดลมเพื่อพัดอากาศ แคลคเบตแต่ละชั้นไม่ควรสูงมาก เพื่อป้องกันการเกิดอุณหภูมิสูงที่บริเวณท่ออากาศขาออก เนื่องจากอุณหภูมิอากาศขาเข้าจะเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อไหลผ่านท่อโดยการไหลของอากาศภายในถังหมักแบบแคลคเบตจะไหลไปทางเดียวตลอด ระหว่างการหมักความดันตกคร่อม (ΔP) จะเพิ่มมากขึ้นเป็นผลมาจากช่องว่างระหว่างอนุภาคของซัสเตรทลดลงซึ่งเกิดจากการเจริญของจุลินทรีย์ และความดันตกคร่อมระหว่างชั้นสามารถทำให้ลดลงได้โดยนำชั้นออกจากถังหมักทำให้มีช่องว่างเพื่อให้อากาศผ่านมากขึ้น ถังหมักแบบแคลคเบตมีข้อดี คือ ควบคุมระบบได้ง่ายและราคาถูก แต่มีข้อเสีย คือ มีการสะสมความร้อนภายในชั้น (สรวาภูมิ และคณะ, 2547; David และคณะ, 2006)



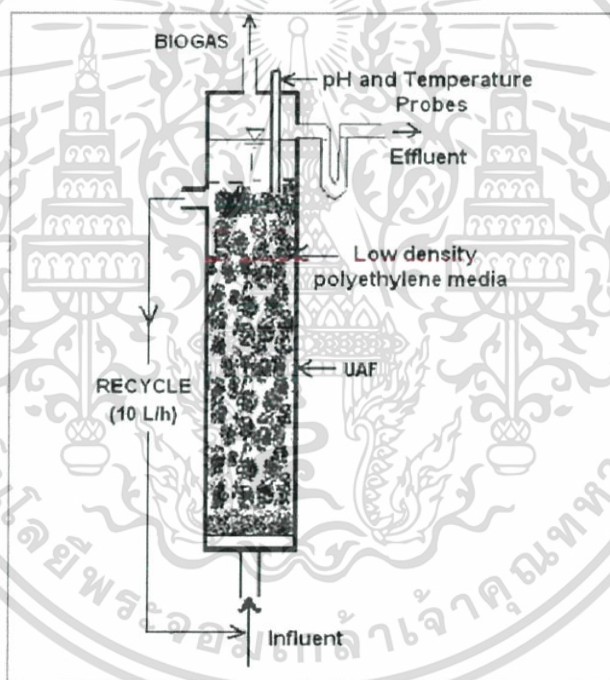
รูปที่ 2.7 ถังหมักแบบแคลคเบต

ที่มา : Yen-Hui และคณะ (2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.4 ถังหมักแบบฟลูอิดไดซ์เบด (Fluidized-bed Fermentor)

ถังหมักแบบฟลูอิดไดซ์เบดโดยส่วนใหญ่จะใช้กันในทั้งชีวเคมีและปิโตรเคมีเป็นถังหมักที่อาศัยการทำปฏิกิริยาทางเคมีของสารภายใน ซึ่งหลัก ๆ จะมีอยู่ด้วยกัน 3 เฟส โดยในเฟสแรก เอนไซม์จะทำการตรึงตัวเร่งปฏิกิริยามาทำปฏิกิริยาเคมี ผลิตภัณฑ์จะเกิดขึ้นในเฟสที่สอง ซึ่งเป็นของเหลว และจะมีตะกอนเกิดขึ้น และในเฟสที่สาม ตะกอนเหล่านี้จะเกิดเป็นฟิล์มเกาะอยู่บนชั้นบนผิวของของเหลว (Patnaik, 2010) ถังหมักประเภทนี้จะใช้ก๊าซหรือของเหลวส่งผ่านวัสดุขนาดเล็กที่มีสถานะของแข็งซึ่งในที่นี้ใช้เป็นซับสเตรทสำหรับการหมักที่ความเร็วสูงมากพอที่สามารถทำให้ของแข็งลอยได้ ทำให้ของแข็งเกิดการแขวนลอยอยู่ในก๊าซหรือของเหลว โดยมีข้อดีคือ อุณหภูมิในถังหมักนี้จะค่อนข้างเท่ากันสม่ำเสมอในทุก ๆ ตำแหน่ง จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการหายใจ สามารถเจริญได้ดี ไม่เกิดความร้อนสะสมภายในถังหมักนี้ สามารถดำเนินงานในกระบวนการต่อเนื่องได้ (Brahmachari, 2016)

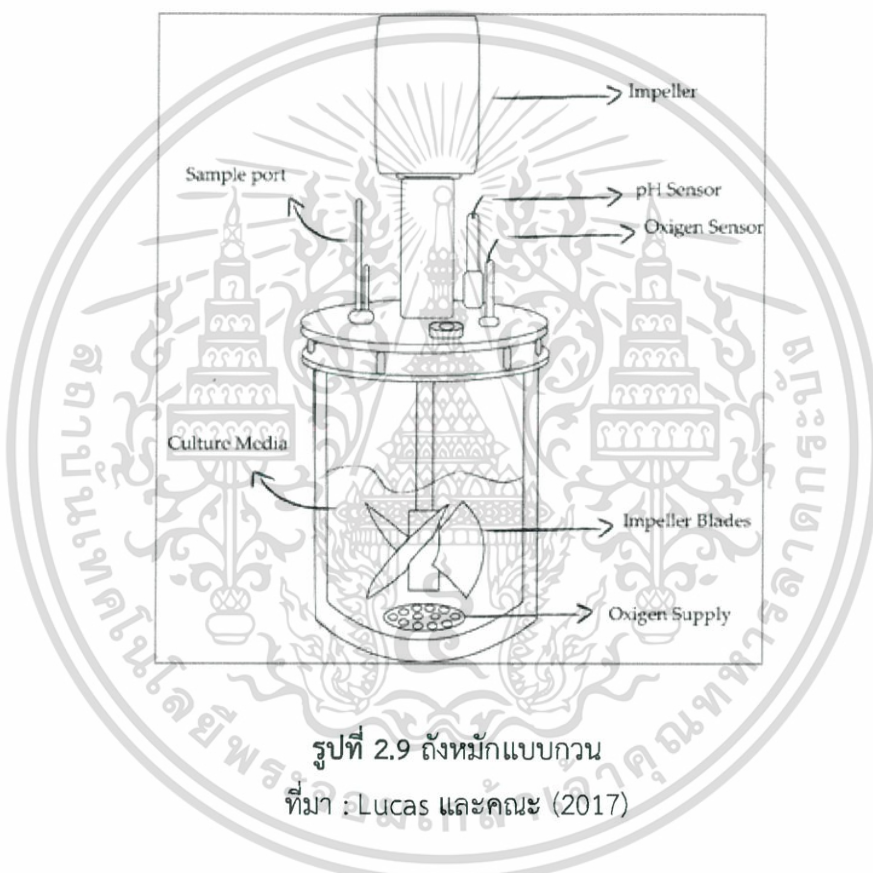


รูปที่ 2.8 ถังหมักแบบฟลูอิดไดซ์เบด
ที่มา : Rajinikanth และคณะ (2009)

2.5.5 ถังหมักแบบกวน (Stirred-tank Fermentor)

ถังหมักแบบกวน เป็นถังหมักที่มีความคล้ายคลึงกับถังหมักแบบหมุน แต่ภายในถังหมักจะมีใบกวน หรือใบขูด ใช้สำหรับผสมซับสเตรทแทนการหมุนตัวถังหมัก อีกทั้งใบกวนจะช่วยทำให้ปฏิกิริยาภายในมีความเข้มข้นและอุณหภูมิที่เท่ากัน อีกทั้งยังช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการถ่ายเทความร้อนระหว่างซับสเตรท ทำให้มีอากาศภายในทั่วถึง เมื่อนำถังหมักแบบกวนมาเปรียบเทียบกับถังหมักเอกสาร์นี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบหมุนถังหมักแบบกวนสามารถบรรจุซัสเตรทได้มากกว่าถังหมักแบบหมุน นอกจากนี้การกวนกับมีระบบพ่นน้ำของถังหมักจะช่วยลดความร้อนสะสมได้ ทำให้ถังหมักแบบกวนเป็นถังหมักที่นิยมใช้งานในระดับอุตสาหกรรมหมักและเป็นที่ยอมรับของกระบวนการทางชีววิทยาเหมาะกับการที่จะควบคุมตัวแปรต่าง ๆ ที่ต้องการจะศึกษา เช่น ค่า pH อุณหภูมิอากาศ อัตราการเติมอากาศ การปั่นป่วน และการเติมซัสเตรท มีข้อดี คือ การเกิดการปนเปื้อนจากภายนอกและการกลายพันธุ์ของเชื้อต่ำ และระยะเวลาในการหมักสั้น แต่มีข้อเสีย คือ ค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานสูง เวลาในการฆ่าเชื้อและทำความสะอาดถึงนาน (สรวุฒิ และคณะ, 2547; Germecca และคณะ, 2018; Garcia-Ochoa และคณะ, 2011)



รูปที่ 2.9 ถังหมักแบบกวน

ที่มา : Lucas และคณะ (2017)

2.6 การผลิตกรดซิตริกจากการหมักแบบอาหารแข็ง

Minyuan และคณะ (1997) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการหมักบนอาหารแข็งโดยการใช้เชื้อรา *A.niger* สำหรับการผลิตกรดซิตริกจากมันหวาน มีการออกแบบและดำเนินการในถังหมักแบบแพคเบตบรรจุหลายชั้น เพื่อศึกษาการถ่ายเทมวล และการถ่ายเทความร้อนระหว่างการหมักจากการเปรียบเทียบถังหมักแบบแพคเบตบรรจุหลายชั้นกับถังหมักแบบแพคเบตบรรจุชั้นเดียว โดยมีซัสเตรทที่เหมือนกัน รวมทั้งมีการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ กรดซิตริก แป้ง และการเจริญของเชื้อราภายในถังหมักแบบแพคเบตบรรจุหลายชั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Seyed และคณะ (2007) ได้ศึกษาผลกระทบการควบคุมความแตกต่างของอุณหภูมิของซัสเตรทและความชื้น โดยการเติมอากาศเข้าด้วยอุณหภูมิต่าง ๆ และการไหลของอากาศทั้งในถังหมักแบบแพคเบดที่ไม่มีน้ำหล่อเย็นในแจ็กเก็ต และถังหมักแบบแพคเบดที่มีน้ำหล่อเย็นในแจ็กเก็ต การทดลองได้ดำเนินการภายในถังหมัก 1 ลิตรที่บรรจุเบดเป็นรำข้าวและเชื้อรา *A. niger* มีการวัดปริมาณแก๊สออกซิเจนในอากาศขาออก อุณหภูมิของเบด และการไหลของอากาศที่ไหลเข้าถังหมักทั้งสองประเภท ผลกระทบของกลยุทธ์การควบคุมอัตราการเจริญของเชื้อราได้ถูกเปรียบเทียบทั้งในถังหมักทั้งสองประเภท จากผลการทดลอง ถังหมักแบบแพคเบดที่มีน้ำหล่อเย็นในแจ็กเก็ตเป็นกลยุทธ์ที่ดีกว่าสำหรับการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นของการหมักบนอาหารแข็งแบบแพคเบด การใช้ออกซิเจนที่สะสมในถังหมักนี้ประมาณ 1.7 เท่า ซึ่งสูงกว่าการควบคุมอื่น ๆ

Minyuan และคณะ (1997) ได้ศึกษาการใช้มันหวาน ซึ่งเป็นพืชรากที่มีการเติบโตอย่างกว้างขวางในนิวซีแลนด์มาใช้เป็นซัสเตรทสำหรับการผลิตกรดซิตริกโดยใช้เชื้อรา *A. niger* ในการหมักบนอาหารแข็ง เมื่อกระบวนการได้ดำเนินการในถังหมักแบบแพคเบดโดยน้ำหนักของเบดเป็นตัวแปรที่สำคัญที่สุดในการดำเนินการ อัตราการเติมอากาศ และขนาดของซัสเตรทนั้นยังมีความสำคัญแต่ผลกระทบที่ได้นั้นจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับตัวแปรอื่น ๆ เช่น อัตราการไหลของอากาศมาก จะเป็นปัจจัยที่เอื้อต่อการผลิตกรดซิตริก ยกเว้นภายใต้สภาพการใช้งานบางอย่าง เช่น พื้นผิวขนาดอนุภาค ซึ่งเป็นการยับยั้งการเจริญของเชื้อราอาจเป็นเพราะความเค้นเฉือน จากการวิเคราะห์การเคลื่อนไหวของระบบแสดงให้เห็นว่าสามารถผลิตกรดซิตริกภายในถังหมักได้ 0.82 กรัมซิเตรทต่อกิโลกรัมซัสเตรทเปียก ซึ่งเป็นครั้งที่สองในการหมักในขวด ในกรณีนี้ผลของการหมักในถังหมักแบบแพคเบดดีกว่าผลของการหมักในขวดอาจเป็นเพราะมีการเติมอากาศจึงทำให้ผลสำเร็จ

บทที่ 3

วัสดุและวิธีการ

3.1 วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.1 วัสดุ

- 1) เชื้อรา *Aspergillus niger*
- 2) เปลือกกล้วยหอม
- 3) ชุดทดลอง Citric acid assay kit
- 4) สารเคมี
 - น้ำกลั่น
 - Sulfuric acid (H_2SO_4)
 - Sodium hydroxide (NaOH)
 - น้ำกลั่น
 - Potassium bisulfate ($KHSO_4$)
 - Sodium nitrite ($NaNO_2$)
 - Ammonium sulfamate ($H_6N_2SO_3$)
 - methyl -2- benzothiazolinone hydrazine hydrochloride (MBTH)
 - Iron(III) chloride hexahydrate ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$)
 - D-(+)-Glucosamine hydrochloride
 - Potato dextrose broth (Difco)
 - Agar (Difco)

3.1.2 อุปกรณ์

- 1) มีด
- 2) เขียง
- 3) กรรไกร
- 5) กะละมัง
- 6) ถุงพลาสติก
- 7) ทัพพี
- 8) ปีกเกอร์
- 9) อลูมิเนียมฟอยล์
- 10) ซ้อนตักสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 11) ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ
- 12) แท่งเชี๋ยเชื้อ
- 13) แท่งแก้วสามเหลี่ยม
- 14) ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 15) จานเพาะเชื้อ
- 16) ขวดรูปชมพู่
- 17) ผ้าก๊อซ
- 18) เทปกาว
- 19) ตัวกรองอากาศ
- 20) สายยางซิลิโคน
- 21) โหลแก้ว
- 22) ลวดอลูมิเนียม
- 23) คีมตัดลวด
- 24) ตาข่ายอลูมิเนียม
- 25) ซิลิโคน
- 26) เชือก
- 27) ขาตั้งถังหมัก
- 28) ถ้วยอลูมิเนียมใส่วัดความชื้น
- 29) ที่คืบซับสเตอร์ท
- 30) ถูมือกันความร้อน
- 31) หลอดทดลอง
- 32) ฟิล์มยืดห่ออาหาร
- 33) ตะแกรงเหล็ก
- 34) กระจกบอกดวง
- 35) แท่งแก้วหยดสาร
- 36) คิวเวตต์
- 37) กรวยกรองเซรามิก
- 38) กระจกตาชกรอง
- 39) พาราฟิล์ม

3.1.3 เครื่องมือ

- 1) เครื่องวัดปริมาณออกซิเจน
- 2) เครื่องอบแห้งแบบถาด (Tray dryer)
- 3) เครื่องซังน้ำหนักทัศนียม 2 ตำแหน่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 4) เครื่องซั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 5) หม้อนึ่งไอน้ำแรงดันสูง (Autoclave)
- 6) เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง
- 7) ไมโครปิเปต
- 8) ตู้ปลอดเชื้อ
- 9) ตู้บ่มเชื้อ
- 10) โรตามีเตอร์
- 11) เครื่องทำความชื้น
- 12) ถังหมักแบบแพคเบต
- 13) ถังน้ำควบคุมอุณหภูมิ
- 14) เครื่องทำความร้อน (ฮีทเตอร์)
- 15) เครื่องทำความเย็น (ซิลเลอร์)
- 16) เซนเซอร์วัดอุณหภูมิ
- 17) ถังควบคุมความชื้น
- 18) เครื่องปั่น
- 19) บีมลม
- 20) เครื่องกวนผสมและแท่งแม่เหล็กกวนสาร
- 21) เครื่องวัดการดูดกลืนแสงของสาร (Biochrom Libra, S12)

3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 วิธีการเตรียมเชื้อราและอาหาร

ทำการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้ PD (Potato Dextrose) ในจานเพาะเชื้อ 24 กรัม และ Agar 15 กรัม เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรทั้งหมด 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งไอน้ำแรงดันสูงอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 20 นาที เทอาหารลงในจานเพาะเชื้อจนอาหารแข็งตัว จึงทำการเพาะเลี้ยงเชื้อลงบนอาหาร จากนั้นนำไปเก็บในตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน ทำการเก็บสปอร์โดยน้ำกลั่นที่ทำการฆ่าเชื้อแล้ว และปรับความเข้มข้นเป็น 1×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

3.2.2 การเตรียมซบสเตรทสำหรับการหมัก

ในงานวิจัยนี้ใช้เปลือกกล้วยหอมเป็นซบสเตรทในการหมัก (ความชื้นร้อยละ 9.68 โปรตีนร้อยละ 7.72 ไขมันร้อยละ 4.13 เยื่อใยร้อยละ 10.26 และเถ้าร้อยละ 14.36) ขนาด 1×1 ตารางเซนติเมตร นำเปลือกกล้วยมาอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำมาปรับความชื้นเป็นร้อยละ 60 ฐานเปียก โดยใช้น้ำกลั่น หลังจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งไอน้ำแรงดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นระยะเวลา 20 นาที พักไว้ให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิของซบสเตรทลดลงจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วจึงผสมเชื้อ *A.niger* ลงในซบสเตรท

3.2.3 การศึกษาผลของค่าพีเอชเริ่มต้นของเปลือกกล้วยต่อการผลิตกรดซิตริก

ทำการศึกษาเพื่อหาค่า pH เริ่มต้นของซบสเตรท โดยนำเปลือกกล้วยที่ถูกผสมแล้วกับความ เป็นกรดต่างๆ คือ pH 3 4 5 และ 6 เติมลงไปในช่วงรูปชมพู ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ต่อมาทำการเก็บตัวอย่างวันละ 1 ขวด จนกระทั่งครบทั้ง 5 วัน เพื่อนำไป วิเคราะห์การผลิตกรดซิตริก เพื่อความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของเปลือกกล้วยที่ทำให้ *A.niger* สามารถผลิตกรดซิตริกได้สูงสุด แล้วนำไปเป็นตัวแปรในการหมักในถังหมักแบบแพคเบตต่อไป

3.2.4 การศึกษาผลของอัตราการเติมอากาศต่อการผลิตกรดซิตริก

ทำการศึกษาการจำลองสภาวะอัตราการเติมอากาศต่าง ๆ พบว่ามีการผลิตกรดซิตริก ที่ต่างกันโดยการใช้อัตราการเติมอากาศที่ 0.1 vvm จะเป็นสภาวะที่อากาศภายในน้อยมากเมื่อ เทียบกับปริมาณซบสเตรท ต่อมาที่ 0.5 vvm จะเป็นการสร้างสภาวะที่มีอากาศเพียงครึ่งหนึ่งของ ปริมาณซบสเตรท ส่วน 1.0 vvm นั้นจะเป็นการเติมอากาศที่มีอากาศเทียบเท่ากับปริมาณซบสเตรท และ 1.5 vvm จะเป็นสภาวะที่มีอากาศภายในมากกว่าปริมาณซบสเตรท โดยจะดำเนินการ เพื่อนำไปออกแบบและสร้างถังหมักแบบแพคเบตในการกำหนดปริมาณอากาศที่เหมาะสม

3.2.5 การศึกษาการผลิตกรดซิตริกในถังหมักแบบแพคเบต

เมื่อทำการศึกษาจากการทดลองเบื้องต้นจากค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ของซบสเตรท ก่อนเริ่มทำการหมัก และอัตราการเติมอากาศที่มีอัตราการผลิตกรดซิตริกสูงสุดจะนำมาเป็นตัวแปร ที่จะนำมาใช้ในการหมักในถังหมักแบบแจ็กเก็ต โดยมีการควบคุมอุณหภูมิภายใน 30 องศาเซลเซียส ทำการหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน โดยในแต่ละวันของการหมัก จะทำการสุ่มเก็บตัวอย่างประมาณ 25 กรัม เพื่อนำไปวัดความชื้น การผลิตกรดซิตริก และการเจริญของเชื้อรา

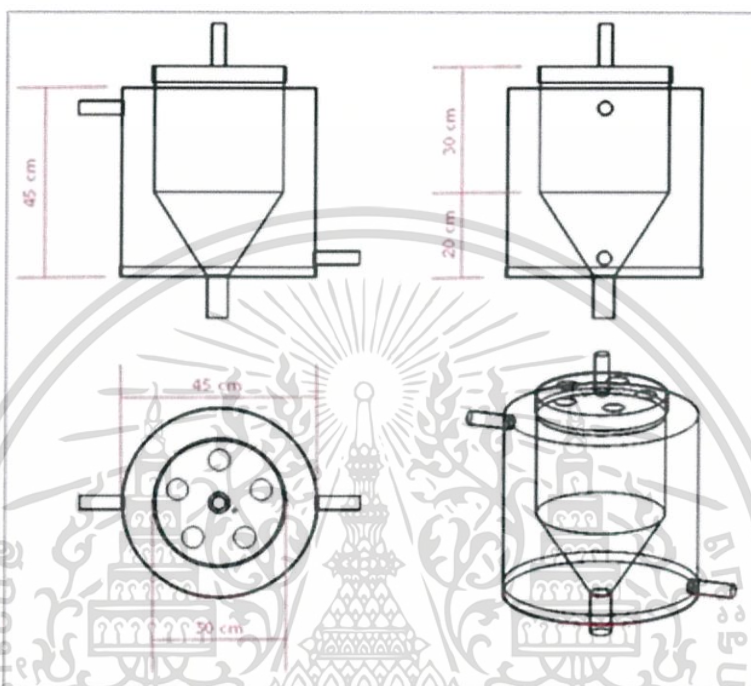
3.2.5.1 การออกแบบและสร้างถังหมัก

ถังหมักแบบแพคเบต โดยตัวถังจะทำจากอลูมิเนียมเพราะมีความแข็งแรง สามารถทนต่อการกัดกร่อนได้ในระดับหนึ่ง มีความสามารถในการนำความร้อนสูง และมี ราคาถูก เนื่องจากอากาศร้อนภายในจะอยู่ที่ด้านบนของถังสูง 50 เซนติเมตร กว้าง 45 เซนติเมตร อากาศจะถูกป้อนเข้าทางด้านล่างของถังผ่านท่อซิลิโคนที่ทำการเจาะรูเพื่อ กระจายอากาศให้กับซบสเตรท อากาศจะผ่านชั้นของตะแกรงเหล็กที่รองรับซบสเตรท เมื่อ ระยะเวลาของการหมักผ่านไปจะเกิดความชื้นและความร้อนสะสม เพื่อป้องกันไม่ให้ความชื้น ภายในถังหมักเปลี่ยน จึงต้องออกแบบให้ถังด้านล่างมีความชื้นเพื่อให้เกิดการระบายน้ำได้ ภายในถังหมัก และมีการติดตั้งแจ็กเก็ตเพื่อระบายความร้อนภายในถัง และบริเวณแจ็กเก็ต จะมีการติดตั้งฉนวนเพื่อป้องกันการถ่ายเทความร้อนจากสิ่งแวดล้อม รวมถึงด้านบนของถัง จะมีช่องเพื่อเก็บตัวอย่างนำไปวิเคราะห์ดังรูปที่ 3.1

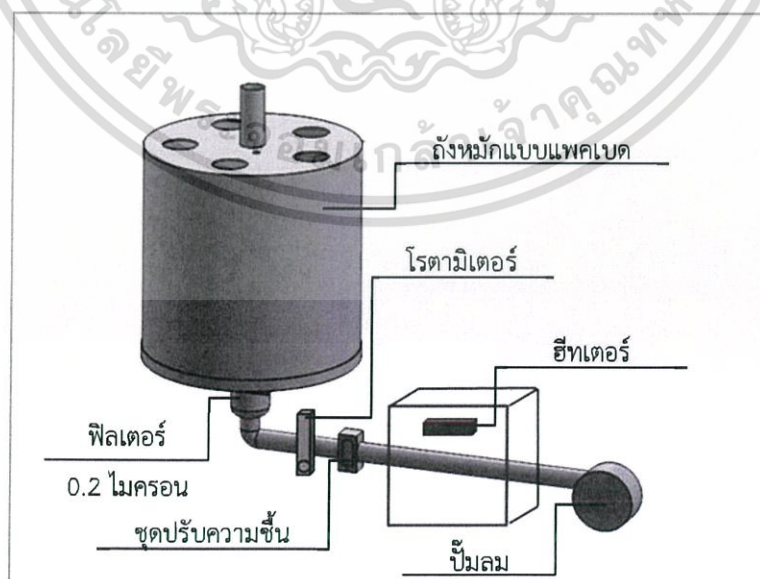
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5.2 การควบคุมอุณหภูมิภายในถัง

ได้ทำการศึกษาว่าภายในถังมีความร้อนสะสมภายในถัง จึงได้มีการลดความร้อน โดยการใช้ปั๊มลมปริมาตร 7 ลิตรต่อนาที ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 3.1-3.3 และนำมาต่อท่ออย่างซิลิโคนแล้วนำไปหล่อเย็นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสจากนั้นนำท่อซิลิโคนต่อเข้าไปในถังชั้นนอกเพื่อลดความร้อนสะสมภายใน ดังรูปที่ 3.2

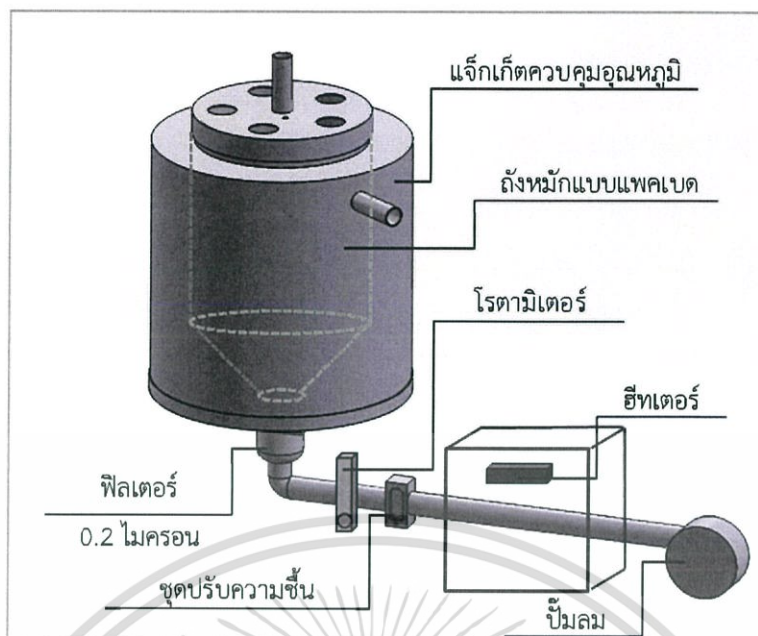


รูปที่ 3.1 ขนาดของถังหมักแบบแพคเบดแบบมีแจ็กเก็ตของงานวิจัยนี้



(ก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ข)

รูปที่ 3.2 ชุดถังหมักแบบแพคเบต

(ก) ถังหมักแบบไม่มีแจ็กเก็ต (ข) ถังหมักแบบมีแจ็กเก็ต

3.2.6 การทดลองการหมักเปลือกกล้วยหอมในถังหมักแบบแพคเบต

โดยการศึกษาการควบคุมอุณหภูมิภายในถังหมักจากการเปรียบเทียบระหว่างถังหมักที่มีการควบคุมอุณหภูมิ (มีแจ็กเก็ต) และถังหมักที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ (ไม่มีแจ็กเก็ต) โดยใช้ถังหมักแบบแพคเบตปริมาตร 20 ลิตร สำหรับบรรจุซัสเตรทปริมาตร 7 ลิตร มีอัตราการเติมอากาศและค่าความเป็นกรด คือ 1.0 vvm และ pH 5 ตามลำดับ ความเข้มข้นของเชื้อรา *A.niger* เท่ากับ 1×10^5 สปอร์ต่อกรัมซัสเตรทแห้ง ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน และสุ่มเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง เพื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดซิตริกที่เชื้อราสามารถผลิตได้ และบันทึกลักษณะของเชื้อรา รวมทั้งวัดปริมาณแก๊สออกซิเจนในถังหมัก

3.3 การวิเคราะห์ผล

3.3.1 การวัดปริมาณกรดซิตริก

ทำการเก็บตัวอย่างมา 5 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาณ 50 มิลลิลิตร ทำการผสมสารเป็นเวลา 60 นาที แล้วนำไปกรอง จากนั้นนำไปวัดปริมาณกรดซิตริกด้วยชุดทดสอบกรดซิตริก Citric acid assay kit ของบริษัท Megazyme

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 การวัดความชื้น

ทำการเก็บตัวอย่างมา 3.0000-5.0000 กรัม ด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง หลังจากนั้นนำไปเข้าตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง หรือจนกว่า น้ำหนักคงที่ จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการอบแล้วมาชั่งในเครื่องชั่งใหม่อีกครั้งเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนัก ที่หายไปของตัวอย่างก่อนอบและตัวอย่างหลังอบ

3.3.3 การคิดปริมาณลมที่นำไปลดความร้อนภายในถัง

ทำการติดตั้งเทอร์โมคัปเปิลวัดอุณหภูมิที่บริเวณใจกลางของซัสเตรทและฝาถัง เพื่อตรวจสอบว่าอุณหภูมิเฉลี่ยที่เกิดขึ้น ณ ตำแหน่งนั้นมีค่าเท่าไร จากนั้นจะทำการคำนวณค่าความจุความร้อนรวมของถัง ดังสมการที่ 3.1 3.2 และ 3.3 (Hsu และคณะ, 1991)

$$C_{p,รวม} = (C_{p,อากาศที่อุณหภูมิเฉลี่ย} \times \text{ความชื้น}) + (C_{p,แพคเบต} \times \text{ความชื้น}) \quad (3.1)$$

$$C_{p,แพคเบต} = 4180[0.406 + (1.46 \times 10^{-3} \times T_{เฉลี่ย}) + (0.203 \times \text{ความชื้น}) - (2.49 \times 10^{-3} \times \text{ความชื้น}^2)] \quad (3.2)$$

โดย C_p คือ ค่าความจุความร้อน (จุลต่อกิโลกรัมองศาเซลเซียส)

T คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)

จากนั้นนำไปหาปริมาตรลมได้จากปริมาณความร้อนที่ลดลงภายในถังเท่ากับความร้อนที่ลมได้รับ

$$m_{รวม} \times C_{p,รวม} \times ((T_{เฉลี่ย} - T)/1440) = \rho_{อากาศ} \times V_{ลม} \times C_{p,อากาศ} \times (\Delta T/1440) \quad (3.3)$$

โดย $m_{รวม}$ คือ มวลรวมในถัง (อากาศ, ซัสเตรท, น้ำ) (กิโลกรัม)

T คือ อุณหภูมิที่ต้องการ (องศาเซลเซียส)

$\rho_{อากาศ}$ คือ ความหนาแน่นของอากาศที่ 25 องศาเซลเซียส (กิโลกรัมต่อลิตร)

$V_{ลม}$ คือ ปริมาตรลม (ลิตร)

$C_{p,อากาศ}$ คือ ความจุความร้อนจำเพาะของอากาศที่ 25 องศาเซลเซียส (จุลต่อกิโลกรัมองศาเซลเซียส)

ΔT คือ อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น - อุณหภูมิอากาศ (องศาเซลเซียส)

1440 คือ นาทีในหนึ่งวัน

จากสมการข้างต้นจะได้ปริมาตรอากาศ (ลิตร) ที่สามารถลดอุณหภูมิภายในถังระหว่างกระบวนการหมักได้

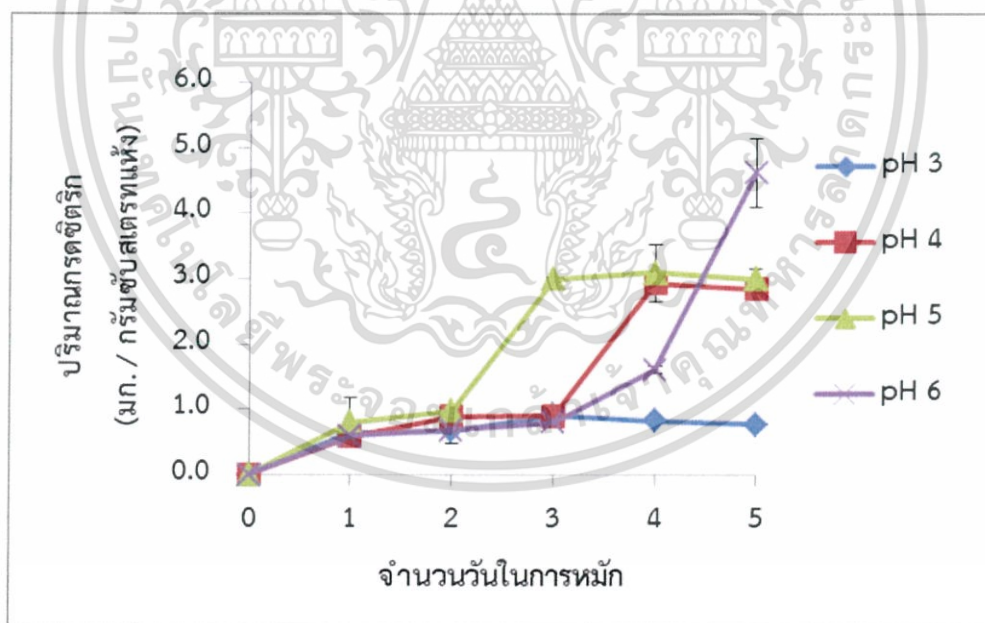
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์การทดลอง

4.1 ผลของค่า pH เริ่มต้นของเปลือกกล้วยต่อการผลิตกรดซิตริกของ *A.niger*

จากรูปที่ 4.1 พบว่าที่สภาวะความเป็นกรดเริ่มต้นเท่ากับ 5 มีปริมาณการผลิตกรดซิตริกสูงที่สุดในวันที่ 3 เท่ากับ 2.99 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อกรัมซับสเตรทแห้ง โดยมีอัตราการผลิตกรดซิตริกสูงที่สุด เท่ากับ 0.99 ± 0.27 มิลลิกรัมต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ดังตารางที่ 4.1 และหลังจากนั้นปริมาณกรดซิตริกจะคงที่ไปจนตลอดการหมัก ดังนั้นค่า pH เริ่มต้นของซับสเตรทที่เลือกใช้ในการศึกษาอัตราการเติมอากาศในโหลแก้ว คือ pH 5 เนื่องจากมีปริมาณการผลิตกรดซิตริกมากที่สุด ซึ่งใช้จำนวนวันในการหมักน้อยที่สุด ทั้งนี้เป็นเพราะเชื้อราสามารถเจริญได้ในช่วงค่า pH เท่ากับ 3-6 และจากงานวิจัยนี้ พบว่าเชื้อรา *A.niger* สามารถเจริญได้ดีที่ค่า pH เท่ากับ 5 เนื่องจากพบว่าตั้งแต่วันที่ 3 เป็นต้นไป ค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 5 มีปริมาณเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา *A.niger* มากกว่าที่ค่า pH เริ่มต้นอื่น ๆ เส้นใยมีลักษณะเป็นสีขาวฟูมและสปอร์กระจายอยู่ทั่วทั้งซับสเตรทอย่างเห็นได้ชัดเมื่อมองด้วยตาเปล่า ดังตารางที่ 4.2





รูปที่ 4.1 ปริมาณกรดซิตริกที่ผลิตได้ของ *A.niger* จากการหมักเปลือกกล้วยที่ค่า pH เริ่มต้น เท่ากับ 3 4 5 และ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 การเลือกใช้สภาวะความเป็นกรดที่เหมาะสมโดยพิจารณาอัตราการผลิตกรดซิตริก



ค่า pH เริ่มต้น ของเปลือกกล้วย	จำนวนวัน ที่ได้อัตราผลิต กรดซิตริกสูงสุด	ปริมาณกรดซิตริก (มก.ต่อกรัมซับสเตรทแห้ง)	อัตราการผลิตกรดซิตริก (มก.ต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน)
pH 3	1	0.63±0.02	0.63±1.35
pH 4	4	2.84±0.00	0.73±0.57
pH 5	3	2.99±0.03	0.99±0.27
pH 6	5	4.62±0.52	0.92±0.19

ตารางที่ 4.2 ลักษณะของเชื้อรา *A.niger* ที่เจริญบนเปลือกกล้วยที่ค่า pH เริ่มต้นต่างกัน

ค่า pH เริ่มต้น ของเปลือกกล้วย	ลักษณะทางกายภาพของเชื้อรา <i>A.niger</i> ในวันที่ 5 ของการหมัก
pH 3	 <p>มีการเกิดเส้นใยเป็นพุ่มและมีสปอร์เพียงเล็กน้อย</p>
pH 4	 <p>มีการเกิดเส้นใยเป็นพุ่มกระจายอยู่ในซับสเตรทและมีสปอร์เพียงเล็กน้อย</p>

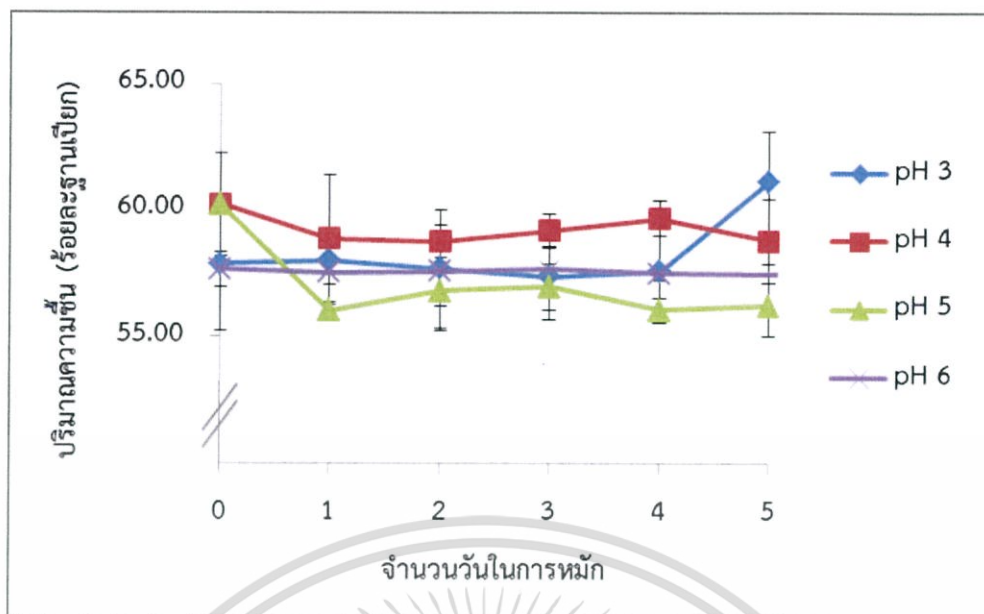
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ) ลักษณะของเชื้อรา *A.niger* ที่เจริญบนเปลือกกล้วยที่ค่า pH เริ่มต้นต่างกัน

ค่า pH เริ่มต้น ของเปลือกกล้วย	ลักษณะทางกายภาพของเชื้อรา <i>A.niger</i> ในวันที่ 5 ของการหมัก
pH 5	 <p data-bbox="550 814 1227 853">มีการเกิดเส้นใยเป็นพุ่มและมีสปอร์กระจายอยู่ทั่วทั้งซับสเตอร์ท</p>
pH 6	 <p data-bbox="564 1369 1209 1407">มีการเกิดเส้นใยเป็นพุ่มและมีสปอร์กระจายอยู่ในซับสเตอร์ท</p>

จากรูปที่ 4.2 เป็นปริมาณความชื้นฐานเปียกที่ได้จากการหมักเปลือกกล้วยในขวดรูปชมพู่ โดยไม่มีการเติมอากาศ ทำให้ความชื้นของซับสเตอร์ทในแต่ละวันของแต่ละสภาวะความเป็นกรดต่าง ๆ มีค่าปริมาณความชื้นฐานเปียกเฉลี่ยร้อยละ 58.03 ± 1.33 ซึ่งความชื้นเป็นปัจจัยที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อรา ทั้งนี้การลดลงของปริมาณความชื้นในวันแรก เนื่องจากเชื้อรามีการนำความชื้นไปใช้ในการทำกิจกรรมภายในเซลล์ และหลังจากนั้นความชื้นเริ่มคงที่ เนื่องจากเชื้อรามีการหายใจจากการทำกิจกรรมภายในเซลล์ รวมถึงการหมักที่ไม่มีการเติมอากาศแต่มีการถ่ายเทอากาศผ่านสำลีที่ปิดด้านบนของขวดรูปชมพู่เท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



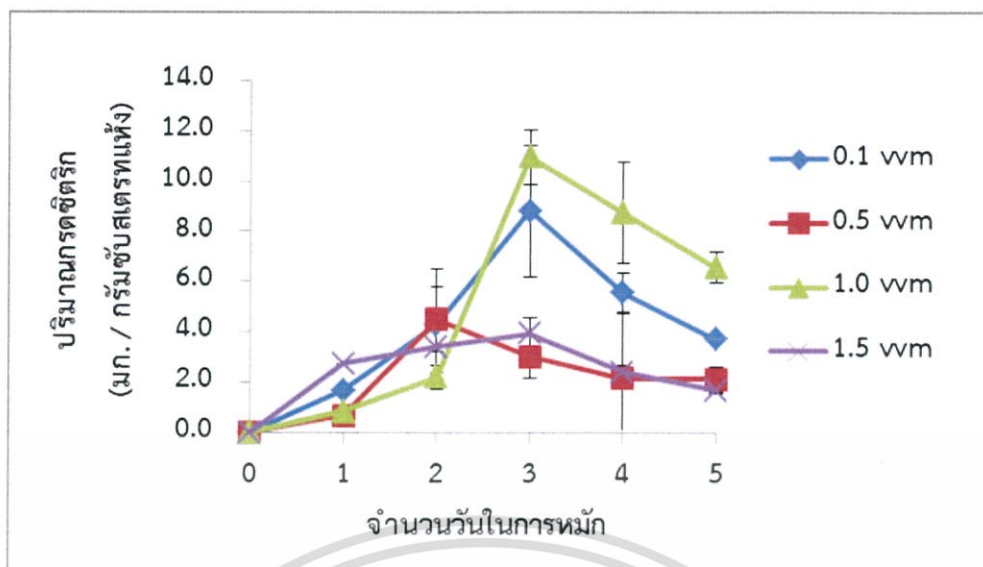
รูปที่ 4.2 ปริมาณความชื้นฐานเปียกจากการหมักเปลือกกล้วยที่ค่า pH เริ่มต้น เท่ากับ 3 4 5 และ 6

4.2 ผลของอัตราการเติมอากาศต่อการผลิตกรดซิตริกของ *A.niger*

4.2.1 การผลิตกรดซิตริก

จากรูปที่ 4.3 การผลิตกรดซิตริกเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 1 และ 2 สำหรับการเติมอากาศที่อัตรา 1.5 และ 0.5 vvm ตามลำดับ ส่วนที่ 0.1 และ 1.0 vvm การผลิตกรดซิตริกสูงจนถึงวันที่ 3 จากนั้นลดลง เนื่องจากอาจมีสถานะที่ไม่เหมาะสม กล่าวคือ ที่ 0.1 vvm มีการเติมอากาศที่ไม่เพียงพอ ส่งผลให้เกิดความร้อนสะสมมากเกินไป และที่ 1.0 vvm เชื้อราอาจเจริญได้ดี แต่เมื่อเริ่มเกิดเส้นใยเป็นพุ่มทั่วทั้งชั้บสเตรท ทำให้ความสามารถในการระบายความร้อนสะสมลดลง และจากตารางที่ 4.4 พบว่าที่อัตราการเติมอากาศ 0.1 vvm ไม่มีการเกิดเส้นใยแต่มีการผลิตกรดซิตริก แสดงว่า การเกิดเส้นใยอาจไม่ได้มีผลต่อการผลิตกรดซิตริก และสาเหตุที่ทำให้ 0.1 vvm มีการผลิตกรดซิตริกสูงเทียบเท่า 1.0 vvm อาจเป็นเพราะว่ามีการเกิดสปอร์กระจายอยู่ทั่วทั้งชั้บสเตรทเช่นเดียวกัน และอัตราการผลิตกรดซิตริกในตารางที่ 4.3 พบว่าอัตราการผลิตกรดซิตริกจะมีค่าสูงที่สุด เมื่อใช้อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm โดยจะมีอัตราการผลิตกรดซิตริกเท่ากับ 3.66 ± 0.59 มิลลิกรัมต่อกรัมชั้บสเตรทแห้งต่อวัน และสามารถผลิตกรดซิตริกได้สูงที่สุดเท่ากับ 10.97 ± 0.85 มิลลิกรัมต่อกรัมชั้บสเตรทแห้ง ในวันที่ 3 ดังนั้นจึงเลือกใช้อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm เพื่อทำการหมักในถังหมักแบบแพคเบดต่อไป ทั้งนี้เป็นเพราะเชื้อราต้องการใช้ออกซิเจนในการทำกิจกรรมภายในเซลล์เพื่อการเจริญ ดังนั้นในกระบวนการหมักจึงต้องมีอัตราการเติมอากาศที่เหมาะสมและออกซิเจนที่มากเพียงพอสำหรับการเจริญของเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ปริมาณกรดซिटริกที่ผลิตได้ของ *A.niger* จากการหมักเปลือกกล้วยที่อัตราการเติมอากาศ เท่ากับ 0.1 0.5 1.0 และ 1.5 wvm

ตารางที่ 4.3 การเลือกใช้สภาวะการเติมอากาศที่เหมาะสมโดยพิจารณาอัตราการผลิตกรดซิทริก

อัตราการเติมอากาศ	จำนวนวันที่ได้อัตราการผลิตกรดซิทริกสูงสุด	ปริมาณกรดซิทริก (มก.ต่อกรัมซัสเตรทแห้ง)	อัตราการผลิตกรดซิทริก (มก.ต่อกรัมซัสเตรทแห้งต่อวัน)
0.1 wvm	3	8.81±1.09	2.94±0.19
0.5 wvm	2	4.50±2.22	2.25±0.39
1.0 wvm	3	10.97±0.85	3.66±0.59
1.5 wvm	1	2.73±0.00	2.73±0.01

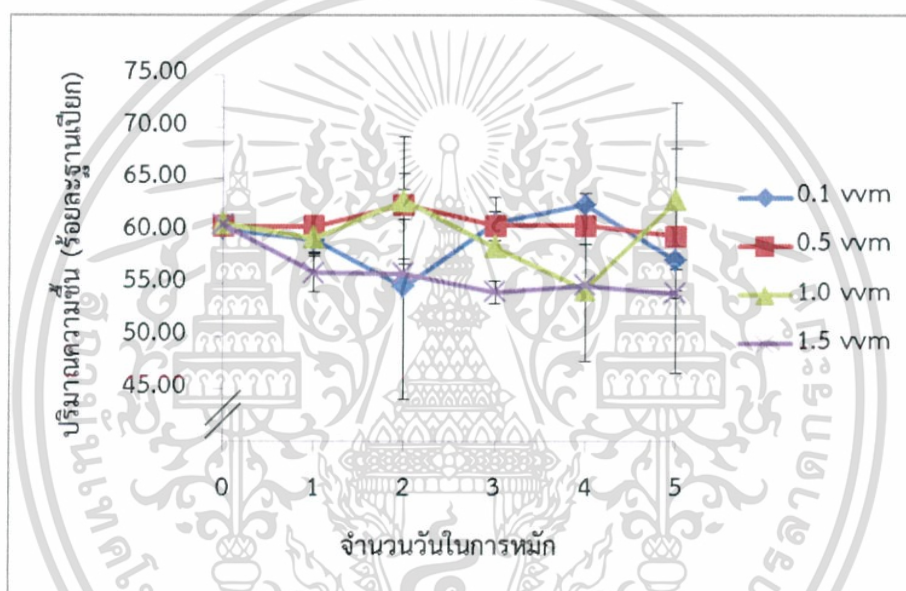
ตารางที่ 4.4 ลักษณะของเชื้อรา *A.niger* ที่เจริญบนเปลือกกล้วยที่อัตราการเติมอากาศต่างกัน

อัตราการเติมอากาศ	ลักษณะทางกายภาพของเชื้อรา <i>A.niger</i>
0.1 wvm	ไม่มีการเกิดเส้นใย แต่มีการเกิดสปอร์กระจายอยู่ทั่วทั้งซัสเตรท
0.5 wvm	มีการเกิดเส้นใยและมีสปอร์เพียงเล็กน้อย
1.0 wvm	มีการเกิดเส้นใยเป็นพุ่มและมีสปอร์กระจายอยู่ทั่วทั้งซัสเตรท
1.5 wvm	มีการเกิดเส้นใยแต่ไม่เป็นพุ่ม และมีการเกิดสปอร์กระจายอยู่ทั่วทั้งซัสเตรท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ปริมาณความชื้น

จากรูปที่ 4.5 พบว่าที่ 0.1 0.5 1.0 และ 1.5 vvm มีปริมาณความชื้นฐานเปียกเฉลี่ยร้อยละ 59.15±2.77 60.74±0.99 59.85±3.21 และ 55.99±2.42 ตามลำดับ บ่งบอกได้ว่าเมื่อมีอัตราการเติมอากาศที่เพิ่มขึ้น จะทำให้ความชื้นฐานเปียกของซบสเตรทลดลง เนื่องจากในกระบวนการหมักมีช่องทางการระบายอากาศ (รูลมขาออก) ทำให้อากาศที่เติมเข้ามาในกระบวนการหมักมีผลต่อความชื้นของซบสเตรท กล่าวคือ กระบวนการหมักที่มีการเติมอากาศจะมีการแลกเปลี่ยนความร้อนระหว่างอากาศกับความชื้นสะสมของซบสเตรท ในขณะที่เดียวกันยังเป็นการถ่ายเทมวลของน้ำของซบสเตรท ซึ่งหากเลือกใช้อัตราการเติมอากาศที่มากเกินไป จะส่งผลให้ความชื้นของซบสเตรทลดน้อยลงจนอาจเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา



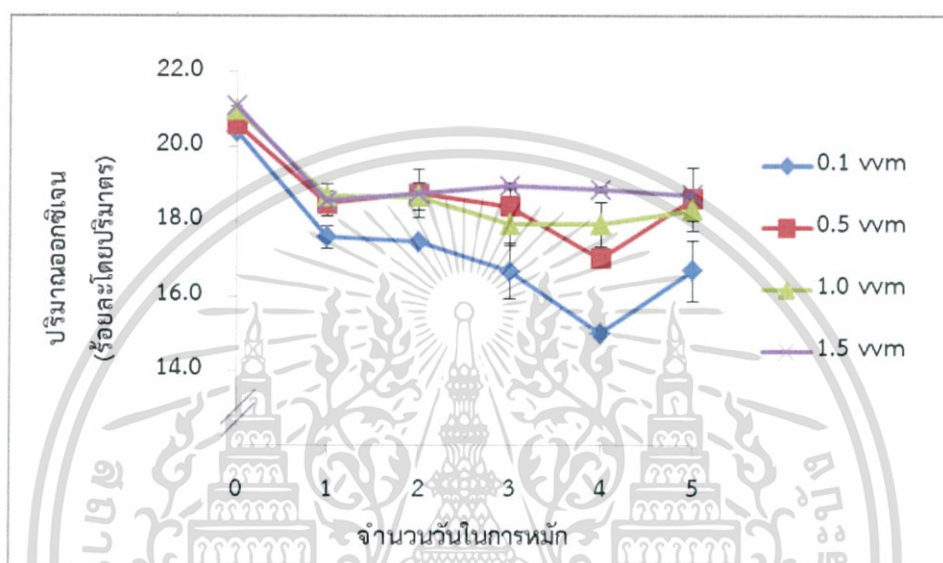
รูปที่ 4.4 ปริมาณความชื้นฐานเปียกจากการหมักเปลือกกล้วยที่อัตราการเติมอากาศ เท่ากับ 0.1 0.5 1.0 และ 1.5 vvm

4.2.3 ปริมาณออกซิเจนในโหลแก้ว

จากรูปที่ 4.3 และ 4.5 จะเห็นว่าที่อัตราการเติมอากาศต่าง ๆ ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อรา *A.niger* โดยที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm มีอัตราการผลิตกรดซิตริกสูงที่สุด ซึ่งเกิดจากปริมาณออกซิเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดซิตริก กล่าวคือ เชื้อราต้องใช้ออกซิเจนในการเจริญเพื่อทำกิจกรรมภายในเซลล์ จึงส่งผลต่อการผลิตกรดซิตริก และจากรูปที่ 4.3 จะพบว่าแม้ว่า 1.0 vvm จะเหมาะสมต่อการผลิตกรดซิตริกมากที่สุด แต่จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของเชื้อรา ดังตารางที่ 4.4 ในระหว่างกระบวนการหมักของ 0.1 vvm ซึ่งไม่มีการเกิดเส้นใยของเชื้อรา แต่มีการเกิดสปอร์กระจายอยู่ทั่วทั้งซบสเตรท ในขณะที่ 1.0 vvm เกิดเส้นใยสีขาวเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พุ่มห่ออม ๆ และในขณะที่เดียวกันก็มีสปอร์กระจายอยู่ทั่วทั้งซับสเตอร์ทเช่นเดียวกัน และที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm เป็นอัตราการเติมอากาศที่มีออกซิเจนที่มากเพียงพอและมีผลต่อการเจริญของเชื้อรามากที่สุด ถึงแม้ว่าลักษณะเส้นใยของเชื้อราจะเกิดเป็นเส้นใยสีขาวและมีสปอร์กระจายอยู่ทั่วซับสเตอร์ท แต่จำนวนเชื้อราที่สามารถผลิตกรดซิตริกได้อาจมีปริมาณน้อยกว่าอัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm เนื่องจากอัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm อาจมีความแรงของลมมากเกินไปสำหรับการเจริญของเชื้อราและทำให้เส้นใยมีลักษณะขาดไม่เป็นพุ่ม



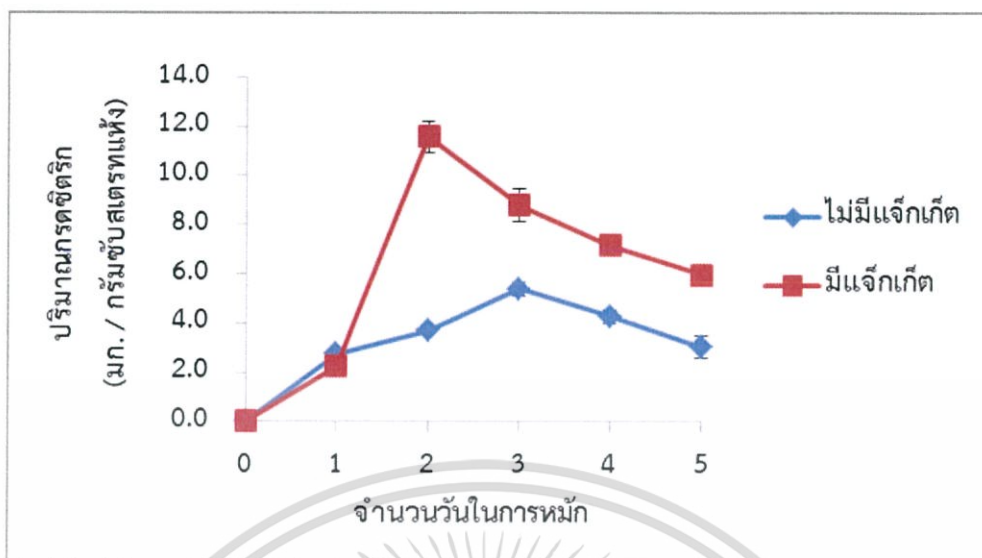
รูปที่ 4.5 ปริมาณออกซิเจนที่เหลือในโหลแก้ว
ที่อัตราการเติมอากาศ เท่ากับ 0.1 0.5 1.0 และ 1.5 vvm

4.3 ผลของการหมักกรดซิตริกของ *A.niger* ในถังหมักแบบแพคเบดที่มีแฉักเกิดลม เพื่อลดความร้อนสะสม

4.3.1 การผลิตกรดซิตริก

จากรูปที่ 4.8 และอัตราการผลิตกรดซิตริกในตารางที่ 4.3 สำหรับถังหมักแบบแพคเบดที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ (ไม่มีแฉักเกิด) พบว่าอัตราการผลิตกรดซิตริกจะมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 1 คือ 2.74 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อกรัมซับสเตอร์ทแห้งต่อวัน ลักษณะทางกายภาพของเชื้อราจะมีการสร้างเส้นใยเพียงเล็กน้อย และสำหรับถังหมักแบบแพคเบดที่มีการควบคุมอุณหภูมิ (มีแฉักเกิด) พบว่าอัตราการผลิตกรดซิตริกจะมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 2 คือ 5.79 ± 0.19 มิลลิกรัมต่อกรัมซับสเตอร์ทแห้งต่อวัน และพบว่าเชื้อรามีการสร้างเส้นใยมากกว่าการหมักในถังหมักที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ ดังนั้น การควบคุมอุณหภูมิของถังหมักจึงมีผลต่ออัตราการผลิตของกรดซิตริก เนื่องจากสามารถลดความร้อนสะสมภายในถังหมัก ส่งผลให้เชื้อราสามารถผลิตกรดซิตริกในสภาวะอุณหภูมิที่เหมาะสมได้ ดังรูปที่ 4.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ปริมาณกรดซิติริกที่ผลิตได้ของ *A.niger* จากการหมักเปลือกกล้วยที่ pH 5 และ 1.0 vvm ในถังหมักแบบแพคเบตที่มีแจ็กเก็ตและไม่มีแจ็กเก็ต

ตารางที่ 4.5 อัตราการผลิตกรดซิติริกที่ค่า pH 5 และ 1.0 vvm ในถังหมักแบบแพคเบต

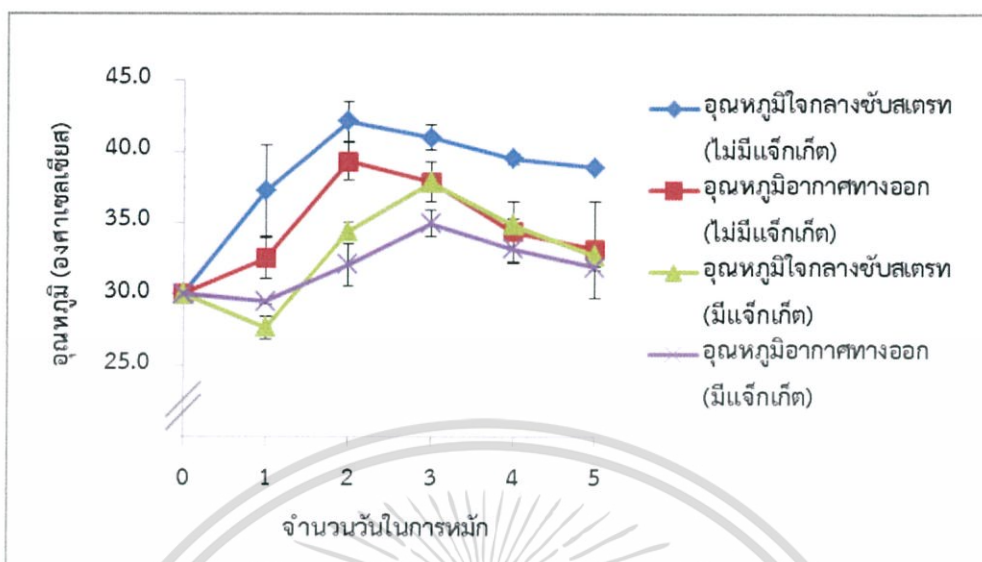
การควบคุม อุณหภูมิ	จำนวนวันที่ได้อัตรา ผลิตกรดซิติริกสูงสุด	ปริมาณกรดซิติริก (มก.ต่อกรัมซับสเตรทแห้ง)	อัตราการผลิตกรดซิติริก (มก.ต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน)
ไม่มีการควบคุม อุณหภูมิ	1	2.74±0.06	2.74±0.03
มีการควบคุม อุณหภูมิ	2	11.58±0.65	5.79±0.19

ตารางที่ 4.6 ลักษณะของเชื้อรา *A.niger* ที่เจริญบนเปลือกกล้วยในถังหมักแบบแพคเบต

การควบคุม อุณหภูมิ	ลักษณะทางกายภาพของเชื้อรา <i>A.niger</i>
ไม่มีการควบคุม อุณหภูมิ	มีการเกิดเส้นใยเป็นพุ่มเพียงเล็กน้อย แต่มีการเกิดสปอร์กระจายอยู่ทั่วทั้งซับสเตรท
มีการควบคุม อุณหภูมิ	มีการเกิดเส้นใยเป็นพุ่มและมีการเกิดสปอร์กระจายอยู่ทั่วทั้งซับสเตรทจำนวนมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 อุณหภูมิภายในถังหมัก



รูปที่ 4.7 อุณหภูมิ ณ ตำแหน่งต่าง ๆ ภายในถังหมักแบบแพคเบตที่มีแฉักเกิดและไม่มีแฉักเกิด

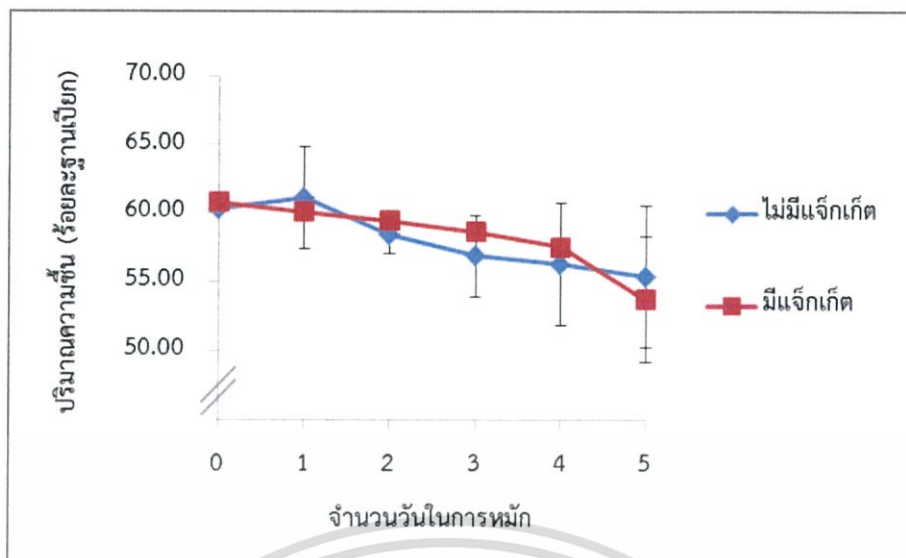
เมื่อมีกระบวนการหมักระยะเวลา 5 วัน อุณหภูมิภายในถังหมักจะเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากความร้อนสะสมที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมภายในเซลล์ของเชื้อรา ส่งผลให้การควบคุมอุณหภูมิภายในถังหมักที่คงไว้ 30 องศาเซลเซียสนั้นเปลี่ยนไป จึงต้องมีการทำระบบหล่อเย็นด้วยการสร้างแฉักเกิดลมภายนอกของถังหมักเพื่อลดอุณหภูมิภายในถังหมัก

จากการวิเคราะห์ผลการเก็บอุณหภูมิ ณ ตำแหน่งใจกลางของข้อศร และอุณหภูมิอากาศทางออกของถังหมัก พบว่าอุณหภูมิทั้งสองตำแหน่งของถังหมักแบบแพคเบตที่มีแฉักเกิดสามารถลดความร้อนสะสมภายในถังหมักได้ดีกว่าถังหมักแบบแพคเบตที่ไม่มีแฉักเกิดอย่างเห็นได้ชัด ดังรูปที่ 4.7 จากข้อสรุปนี้สามารถกล่าวได้ว่าการติดตั้งแฉักเกิด สามารถลดความร้อนสะสมภายในถังหมักได้

4.3.3 ปริมาณความชื้น

จากรูปที่ 4.8 พบว่าปริมาณความชื้นฐานเปียกเฉลี่ยร้อยละของข้อศรภายในถังหมักที่ไม่มี การควบคุมอุณหภูมิและมีการควบคุมอุณหภูมิ เท่ากับ 58.09 ± 2.29 และ 58.39 ± 2.53 ตามลำดับ จากผลข้างต้นนี้ เป็นผลมาจากเมื่อถังหมักมีการติดตั้งแฉักเกิดลม ทำให้ถังหมักสามารถลดความร้อนสะสมภายในถัง ซึ่งส่งผลต่อการควบคุมความชื้นฐานเปียกของข้อศรภายในถังหมักได้ และสาเหตุที่ทำให้ความชื้นของข้อศรภายในถังหมักที่ไม่มี การควบคุมอุณหภูมิและมีการควบคุมอุณหภูมิแตกต่างกันเล็กน้อย อาจเป็นเพราะสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดซิตริกของ *A.niger* (pH 5 และ 1.0 vvm) กล่าวคือ ทั้งถังหมักที่ไม่มี การควบคุมอุณหภูมิและมีการควบคุมอุณหภูมิ มีอัตราการเติมอากาศที่เหมาะสม จึงส่งผลให้ความชื้นภายในถังหมักไม่แตกต่างกัน

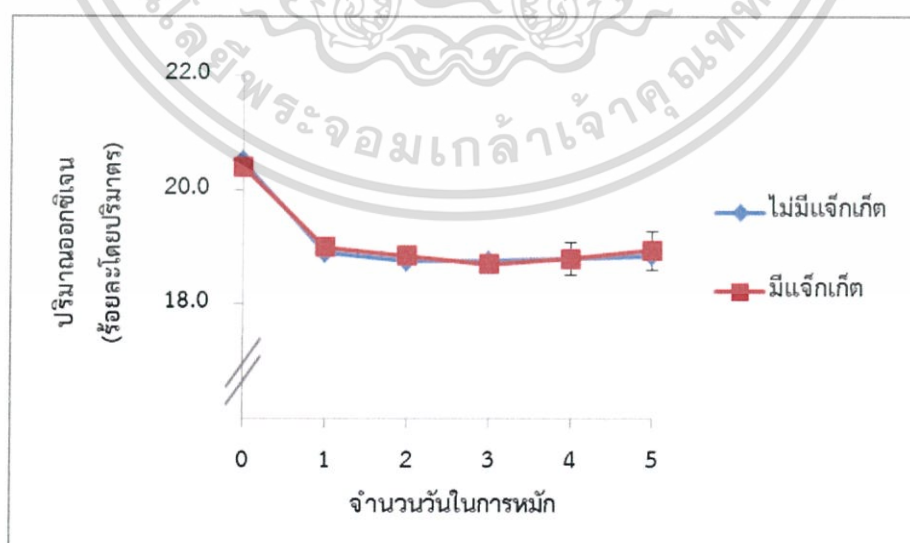
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 ปริมาณความชื้นฐานเบสิกจากการหมักเปลือกกล้วยที่ pH 5 และ 1.0 vvm ในถังหมักแบบแพคเบตที่มีแฉีกเกิดและไม่มีแฉีกเกิด

4.3.4 ปริมาณออกซิเจนในถังหมัก

จากรูปที่ 4.9 พบว่าเนื่องจากในถังหมักแบบแพคเบตมีอัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่เหลือภายในถังหมักตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงตลอดระยะเวลาการหมักมีปริมาณไม่ต่างกัน คือ ร้อยละ 18.83 ± 0.09 เนื่องจากอัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm เป็นอัตราการเติมอากาศที่มีปริมาณออกซิเจนมากเพียงพอต่อการเจริญของเชื้อรา ซึ่งจะส่งผลต่อการผลิตกรดซิตริก หากปริมาณออกซิเจนลดลง จะบ่งบอกถึงเชื้อรามีการใช้ออกซิเจน จากผลข้างต้นนี้ สามารถสรุปได้ว่าอัตราการเติมอากาศ เท่ากับ 1.0 vvm เพียงพอต่อกระบวนการเจริญของเชื้อรา *A.niger*



รูปที่ 4.9 ปริมาณออกซิเจนที่เหลือจากการหมักเปลือกกล้วยที่ pH 5 และ 1.0 vvm ในถังหมักแบบแพคเบตที่มีแฉีกเกิดและไม่มีแฉีกเกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดซิตริกด้วยการหมักแบบอาหารแข็ง (Solid State Fermentation, SSF) ของเชื้อรา *A.niger* โดยใช้เปลือกกล้วยเหลือใช้จากอุตสาหกรรมอาหารเป็นซับสเตรทในถังหมักแบบแพคเบตในงานวิจัยนี้ พบว่าค่า pH เริ่มต้นของเปลือกกล้วยและอัตราการเติมอากาศ เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการผลิตกรดซิตริกและการเจริญของเชื้อรา ค่า pH เริ่มต้นของของซับสเตรท เท่ากับ 5 และอัตราการเติมอากาศ เท่ากับ 1.0 vvm เหมาะสมต่อการผลิตกรดซิตริกของ *A.niger* นอกจากนี้ ถังหมักแบบแพคเบตที่มีการติดตั้งแจ็กเก็ตผสม สามารถลดอุณหภูมิสะสมภายในถังหมักได้ ทำให้เหมาะสมต่อการผลิตกรดซิตริก การใช้เปลือกกล้วยเป็นซับสเตรทในการหมักทางชีวภาพด้วยถังหมักแบบแพคเบตที่มีการควบคุมอุณหภูมิ จึงเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับการผลิตกรดซิตริก

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากระหว่างกระบวนการหมักในถังหมักแบบแพคเบต พบว่าความชื้นของซับสเตรทลดลงจากความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา จึงควรแก้ปัญหาด้วยการติดตั้งเครื่องควบคุมความชื้น ชุดสเปรย์พ่นละอองน้ำ และติดตั้งเซนเซอร์วัดความชื้นของซับสเตรท เพื่อทำการเพิ่มความชื้นของซับสเตรท และอาจจะสามารถทำให้เชื้อราทำกิจกรรมเพื่อผลิตกรดซิตริกได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น
2. ควรเพิ่มจำนวนครั้งในการตรวจวัดคุณภาพของเปลือกกล้วยที่นำมาเป็นซับสเตรท หลังมีการรับมาจากอุตสาหกรรม เพื่อควบคุมการผลิตกรดซิตริกในแต่ละครั้งให้มีมาตรฐานใกล้เคียงกันและมีความแม่นยำมากขึ้น

บรรณานุกรม

- ชลธิชา ทองขลิบ และวิเชียร กิจปรีชาวนิจ. 2549. “*Aspergillus* isolated from Thailand and their ability on animal feed enzyme production.” คณະวิททยาสาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ณัฐธัญญา วงศ์แก้ว, ยุรีพร คลังทอง และอานนท์ พันธุ์เทศ. 2558. “การพัฒนาถังหมักแบบแพคเบตเพื่อลดความร้อนสะสมจากการหมักเอนไซม์เซลลูเลสโดย *Aspergillus niger*.” คณະวิศวกรรมศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ธานุวัฒน์ ลาภตันศุภผล, ปฐิมา ทองขวัญ และศิริลักษณ์. 2556. “การสกัดเพคตินจากเปลือกฝักและผลไม้.” ว.วิททย์. กษ. 44(2) ฉบับพิเศษ: 433-436.
- ปารมี หุ่นิม. 2550. “Enumeration of Ochratoxin A Producing Fungi in Thai Coffee Beans.” คณະวิททยาสาสตร์และเทคโนโลยี.
- พีรศักดิ์ วรสุนทรโรสถ, สุนทร ดุริยะประพันธ์, ทักษิณ อาชวาคม, สายันต์ ต้นพานิช, ชลธิชา นิवास ประกฤติ และปรียานันท์ ศรีสูงเนิน. 2544. “ทรัพยากรพืชในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้.” ไม้ผลและไม้ผลเคี้ยวมัน. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.
- สรารุณี มาทา และเสน่ห์ กาฬภักดี. 2547. “การออกแบบและสร้างถังหมักโคจิ.” โครงการส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรครุศาสตร์อุตสาหกรรมบัณฑิต, สาขาวิชาวิศวกรรมอุตสาหกรรม, คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม, สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล.
- โสพิศ สว่างจิตร. 2540. “Identification of *Aspergillus spp.* On corn grain.” คณະเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อภิษฐา ช่างสุพรรณ. “กรดซิตริก.” สารเคมีใกล้ตัวที่ควรรู้. วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ, 7-10.
- อุษา ภูค์สมาส. 2553. “บทบาทของกรดซิตริกในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม.” วารสารอาหาร ปีที่ 40. ฉบับที่ 4: 283 - 288.
- Abdel-Razzak, H., Fahad, A., Mohamed, R., Ronnele, F. and Mansour, I. 2018. “Tomato waste compost as an alternative substrate to peat moss for the production of vegetable seedlings.” *Journal of Plant Nutrition*. 42(3): 287-295.
- Alagarsamy, K. and Nallusamy, S. 2010. “Citric acid production by Koji fermentation using banana peel as a novel substrate.” *Bioresource Technology*. 101: 5552-5556.
- Angumeenal, A. and Venkappayya, D. 2005. “*Atcocarpus heterophyllus*-A potential substrate for citric acid biosynthesis using *Aspergillus niger*.” *Food Science Technology*. 38: 89-93.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Annunziato, M.E., Mahoney, R.R. and Mudgett, R. E. 1986. "Production of α galactosidase from *Aspergillus oryzae* grown in solid-state culture." **Journal of Food Science**. 51(5): 1370-1371.
- Arturo, F., Gerardo, S., Mariano, G., Tristán, E., Sergio, H. and Ernesto, F. 2011. "Improvement of heat removal in solid-state fermentation tray bioreactors by forced air convection." **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. 86(10): 1321-1331.
- Bernhard, S. 2017. "Thailand: Bananas, production quantity (tons)." On-line. Available from Internet, <http://www.factfish.com/statistic-country/thailand/bananas>, retrieved on 8 April 2018.
- Brahmachari, G., Demain, A. and Adrio, J. 2016. **Biotechnology of Microbial Enzymes: Production, Biocatalysis and Industrial Applications**. Academic Press Inc.: 65.
- Brahmachari, G. 2017. "Solid State Fermentation for Production of Microbial Cellulases." **Biotechnology of Microbial Enzymes**. 43-64.
- Byndoor, M.G., Karanth, N.G. and Rao, G.V. 1997. "Efficient and versatile design of a tray type solid state fermentation bioreactor." **Advances in Solid State Fermentation**. 113-119.
- David, A.M., Marin, B. and Nadia, K. 2006. "Solid-State Fermentation Bioreactors." **Fundamentals of Design and Operation**. 115-128.
- David, M. and Geiser. 2009. "Sexual structures in *Aspergillus*: morphology, importance and Genomics", **Medical Myology**.: 47.
- Enes, K., Theodore, J. "An Introduction to Bioreactor Hydrodynamics and Gas-Liquid Mass Transfer." **Wiley**.
- Gane, R. and Sarathathevy, S. 1993. "Physical and Biological properties of green banana flour." **Plant foods for human nutrition**. 43(1): 19-27.
- Garcia-Ochoa, F., Santos, V. and Gomez, E. 2011. "Stirred Tank Bioreactors." **Comprehensive Biotechnology**. Universidad Complutense, Madrid, Spain.
- Germeca, M., Karhana, M., Bialkab, K., Demircib, A. and Turhan, I. 2018. "Mathematical Modeling of Lactic Acid Fermentation in Bioreactor with Carob Extract." **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. 14: 254-263.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Hamidi-Esfamani, Z., Shojaosadati, A. and Rinzema, A. 2004. "Modelling of Simultaneous effect of moisture and temperature on *A.niger* growth in solid-state fermentation." **Biochemical Engineering Journal**. 21: 265-272.
- Han, Y. W. and Anderson, A. W. 1975. "Semi-solid Fermentation of Ryegrass Straw." **Applied Microbiology**. 30(6): 930-934.
- Hsu, M.-H., Mannapperuma, J.D. and Singh, R.P. 1991. "Physical and Thermal Properties of Pistachios." **Journal of Agricultural Engineering Research**. 49: 311-321.
- Kalogeris, E., Iniotaki, F., Topakas, E., Christakopoulos, P., Kekos, D. and Macris, B.J. 2003. "Performance of an intermittent agitation rotating drum type bioreactor for solid-state fermentation of wheat straw." **Bioresource Technology**. 86(3): 207-213.
- Kim, H.O., Lim, J.M., Joo, J.H., Kim, S.W., Hwang, H.J., Choi, J.W. and Yun, J.W. 2005. "Optimization of submerged culture condition for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by *Agrocybe cylindracea*." **Bioresource Technology**. 96: 1175-1182.
- Krishna, C. 2005. "Solid-State Fermentation Systems." **Critical Reviews in Biotechnology**. Vol. 25, 2005 - Issue 1-2.
- Kunamneni, A., Permaul, K., and Singh, S. 2005. "Amylase production in solid state fermentation by the thermophilic fungus *Thermomyces lanuginosus*." **Journal of bioscience and bioengineering**. 100(2): 168-171.
- Lonsane, B. K., Ghildyal, N. P., Budiatman, S. and Ramakrishna, S. V. 1985. "Engineering Aspects of Solid State Fermentation." **Enzyme and Microbial Technology**. 7(6): 258-265.
- Lucas, S.C., Otávio, B.S., Gabriela, C.A., Juliana, D.O., Nadia, S.P. and Talita, S.C. 2017. "Production Processes for Monoclonal Antibodies." **Fermentation Processes**. 181-198.
- Matthew, T., David, A. and Tony, H. 2000. "Approach to designing rotating drum bioreactors for solid-state fermentation on the basis of dimensionless design factors *Biotechnol Bioeng*." **Biotechnology and Bioengineering**. 67(3): 274-82.
- Minyuan, L., John, D. and Ian, S. 1997. "Citric acid production by solid-state fermentation in a packed-bed reactor using *Aspergillus niger*." **Enzyme and Microbial Technology**. 21: 392-397.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Nagel, B., Dellweg, H. and Lila, M. 1992, "Glossary for chemists of terms used in biotechnology." **Pure and Applied Chemistry**. 64(1): 143-168.
- Pandey, A., Selvakumar, P. and Ashakumary, L. 1996. "Perform of column bioreactor for glucoamylase synthesis by *Aspergillus niger* in SSF." **Process Biochemistry**. 31: 43-46.
- Patnaik, K. S. K., Sriharsha, K. L. 2010. "Fluidization Principles for Three - Phase Fluidized Bed Bio-Reactor." **International Journal of Chemical Engineering and Applications**. Vol.1, No. 3.
- Rajinikanth, R., Ganesh, R., Joseph, T., Ramamoorthy, A. and Michel, T. 2009. "Anaerobic treatment of winery wastewater in fixed bed reactors." **Bioprocess and Biosystems Engineering**. 33(5): 619-628.
- Ramesh, C., Sudhanshu, S. 2017. "Solid State Fermentation for Production of Microbial Cellulases." **Biotechnology of Microbial Enzymes**. 43-79.
- Seyed, A.S., Zohreh, H.E., Parisa, H., Ebrahim, V.F. and Arian, R. "Evaluation of strategies for temperature and moisture control in solid state packed bed bioreactors." **Iran an Journal of biotechnology**. Vol. 5, No. 4.
- Yen-Hui, L. 2015. "Biodegradation of 2,4-Dichlorophenol by Mixed Culture in an Aerobic Fixed-Biofilm Process—Kinetic Model and Reactor Performance." **Environmental Engineering Science**. 32(6).

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก วิธีการทดลอง

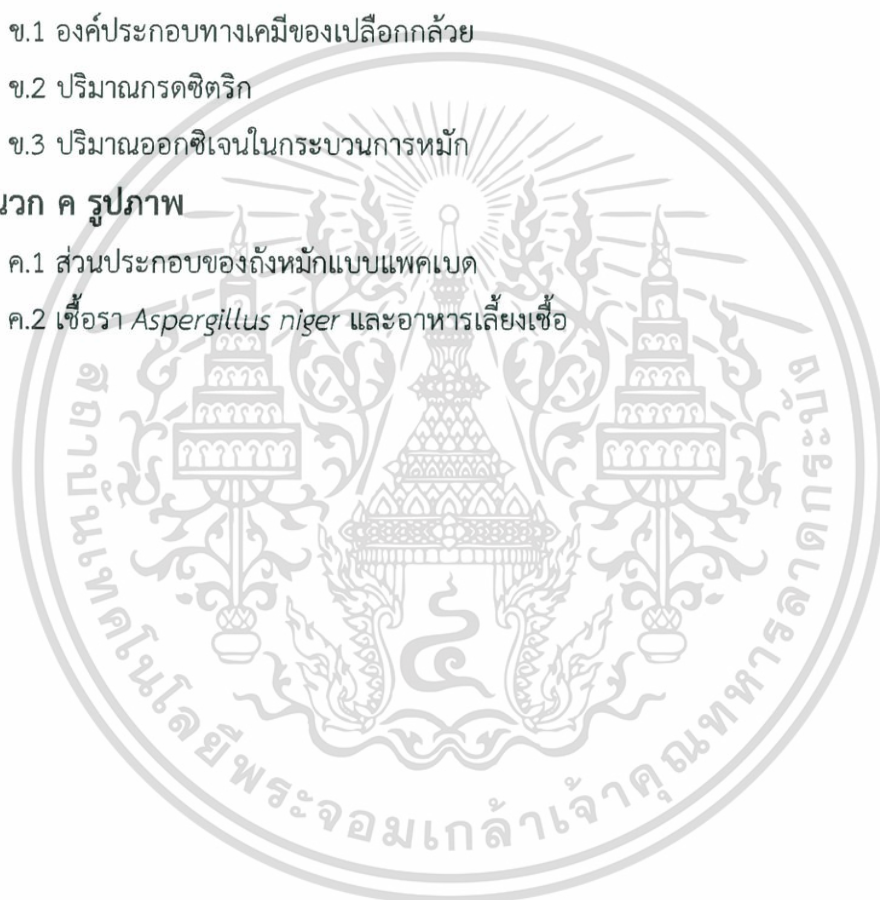
- ก.1 วิธีการเตรียมสารมาตรฐาน
- ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณกรดซิตริก
- ก.3 กราฟมาตรฐานสำหรับคำนวณค่า pH เริ่มต้นของเปลือกกล้วย
- ก.4 กราฟมาตรฐานสำหรับคำนวณปริมาณกลูโคซามีน

ภาคผนวก ข ข้อมูลดิบ

- ข.1 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกล้วย
- ข.2 ปริมาณกรดซิตริก
- ข.3 ปริมาณออกซิเจนในกระบวนการหมัก

ภาคผนวก ค รูปภาพ

- ค.1 ส่วนประกอบของถังหมักแบบแพคเบด
- ค.2 เชื้อรา *Aspergillus niger* และอาหารเลี้ยงเชื้อ





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ขั้นตอนการเตรียมสารมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีน

1. เตรียมสารละลาย D-glucosamine hydrochloride ที่มีความเข้มข้น 0 5 10 25 30 และ 35 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. นำสารละลายที่ได้จากข้อ 1 ปริมาณ 2 มิลลิลิตร มาผสมกับสารละลาย NaNO_2 ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยมวลต่อปริมาตรและสารละลาย KHSO_4 ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้จนสารละลายทั้งสามทำปฏิกิริยากันอย่างสมบูรณ์
3. หลังจากนั้นดูดส่วนใสจากสารละลายข้อ 2 ปริมาณ 3 มิลลิลิตร เติมสารละลาย $\text{H}_6\text{N}_2\text{SO}_3$ ความเข้มข้นร้อยละ 12.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องผสมสารเป็นเวลา 3 นาที
4. เติมสารละลาย MBTH ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มในน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นทำให้อุณหภูมิลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงอุณหภูมิห้อง
5. เติมสารละลาย FeCl_3 ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร พักทิ้งไว้ในที่มืดไม่มีแสง ณ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ขั้นตอนการวิเคราะห์สารมาตรฐานปริมาณกรดซิตริก

1. ละลายสารในขวดที่ 2 ด้วยน้ำกลั่นปริมาณ 16 มิลลิลิตร
2. ละลายสารในขวดที่ 4 ด้วยน้ำกลั่นปริมาณ 0.55 มิลลิลิตร
3. เตรียมสารมาตรฐานโดยเติมน้ำกลั่นปริมาณ 2 มิลลิลิตร ลงในคิวเวท จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์ในขวดที่ 1 ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร แล้วจึงเติมสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ 1 (NADH/PVP) เป็นปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร สุดท้ายเติมสารละลายในขวดที่ 3 (L-MDH/D-LDH) ปริมาณ 0.02 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 4 นาที
4. นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร ได้เป็นค่า A1
5. นำสารละลายในข้อ 4 มาหยดสาร Citrate lyase lyophilizate ปริมาณ 0.02 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงเหมือนดังข้อ 4 ได้เป็น A2

2. ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณกรดซิตริก

1. ละลายสารในขวดที่ 2 ด้วยน้ำกลั่นปริมาณ 16 มิลลิลิตร
2. ละลายสารในขวดที่ 4 ด้วยน้ำกลั่นปริมาณ 0.55 มิลลิลิตร
3. เตรียมสารมาตรฐานโดยเติมน้ำกลั่นปริมาณ 1.8 มิลลิลิตรลงในคิวเวท และใส่ตัวอย่างลงไป 0.2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์ในขวดที่ 1 ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร แล้วจึงเติมสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ 1 (NADH/PVP) เป็นปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร สุดท้ายเติมสารละลายในขวดที่ 3 (L-MDH/D-LDH) ปริมาณ 0.02 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 4 นาที
4. นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร ได้เป็นค่า A1
5. นำสารละลายในข้อ 4 มาหยดสาร Citrate lyase lyophilizate ปริมาณ 0.02 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงเหมือนดังข้อ 4 ได้เป็น A2

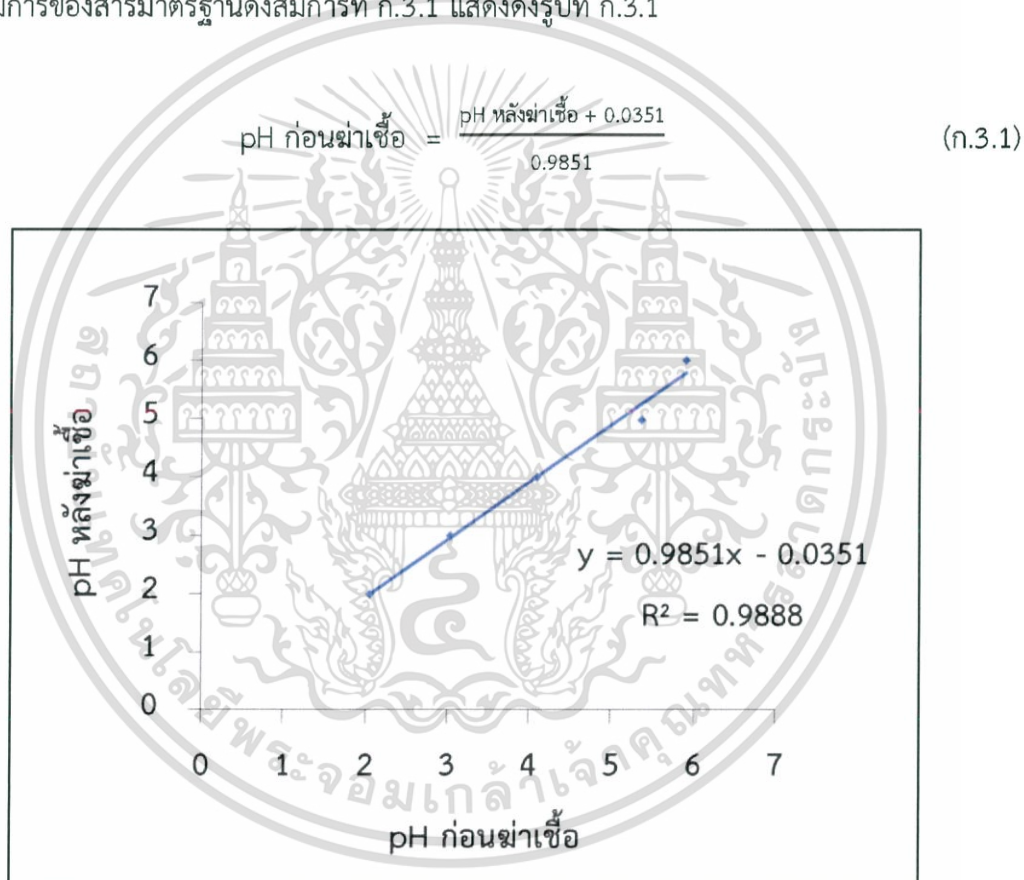


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.3.1 ค่า pH เริ่มต้นของเปลือกกล้วย ก่อนและหลังฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส

pH ก่อนฆ่าเชื้อ	pH หลังฆ่าเชื้อ
2.00	2.05
2.99	3.04
4.00	4.10
4.99	5.36
6.00	5.91

จะได้สมการของสารมาตรฐานดังสมการที่ ก.3.1 แสดงดังรูปที่ ก.3.1



รูปที่ ก.3.1 สมการมาตรฐานของ pH เริ่มต้นของเปลือกกล้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



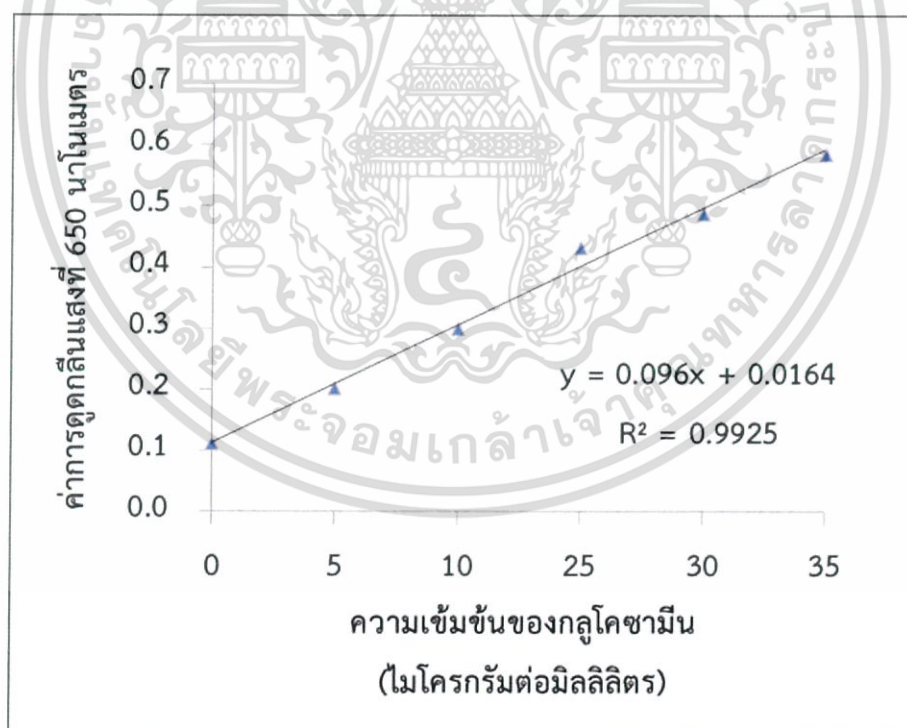
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.4.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย D-glucosamine hydrochloride ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารละลาย D-glucosamine hydrochloride (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 650 นาโนเมตร
0	0.110
5	0.202
10	0.299
25	0.432
30	0.488
35	0.585

จะได้สมการของสารมาตรฐานดังสมการที่ ก.4.1 แสดงดังรูปที่ ก.4.1

$$\text{ความเข้มข้นของ D-glucosamine} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสง} - 0.0164}{0.096} \quad (\text{ก.4.1})$$



รูปที่ ก.4.1 สมการมาตรฐาน D-glucosamine hydrochloride

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกล้วย

องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละ)	เปลือกกล้วย	วิธีการวิเคราะห์
ความชื้น	9.68	AOAC 18 th ed., 2010, Method 934.01
โปรตีน	7.72	AOAC 18 th ed., 2010, Method 984.13
ไขมัน	4.13	AOAC 18 th ed., 2010, Method 2003.05
เยื่อใย	10.26	AOAC 18 th ed., 2010, Method 962.09
เถ้า	14.36	AOAC 18 th ed., 2010, Method 942.05



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2.1 ปริมาณกรดซิตริกที่ค่า pH เริ่มต้นของเปลือกกล้วยเท่ากับ 3 4 5 และ 6

DAY	Sample identifier	Citric Acid (mg/gds)			
		pH 3	pH 4	pH 5	pH 6
0	standard	4.423	4.434	4.675	4.330
1	1/1	3.852	3.943	2.423	0.570
	1/2	0.617	0.585	1.074	0.806
	1/3	0.646	0.579	0.532	0.620
2	2/1	3.132	4.988	0.329	0.532
	2/2	0.691	0.878	1.025	0.286
	2/3	0.651	0.892	0.919	0.827
3	3/1	3.622	4.647	3.009	0.769
	3/2	0.830	0.901	2.970	0.848
	3/3	0.980	0.553	3.455	0.789
4	4/1	3.029	4.475	2.785	1.612
	4/2	0.843	2.811	1.169	1.651
	4/3	0.807	3.045	3.403	1.543
5	5/1	5.020	4.223	3.959	5.049
	5/2	0.763	3.533	3.110	4.774
	5/3	0.763	2.838	2.881	4.037

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2.2 ปริมาณกรดซิตริกที่อัตราการเติมอากาศ 0.1 0.5 1.0 และ 1.5 vvm

DAY	Sample identifier	Citric Acid (mg/gds)			
		0.1 vvm	0.5 vvm	1.0 vvm	1.5 vvm
0	standard	4.602	0.085	0.085	4.689
1	1/1	0.706	0.568	0.654	2.720
	1/2	1.464	0.726	1.018	2.739
	1/3	1.843	2.116	2.292	2.730
2	2/1	0.881	2.930	3.108	4.519
	2/2	3.955	0.778	1.260	2.772
	2/3	4.629	6.066	5.395	2.867
3	3/1	2.625	13.508	11.567	4.649
	3/2	8.044	1.145	1.232	3.763
	3/3	9.581	4.856	10.365	3.416
4	4/1	0.829	13.832	10.573	2.435
	4/2	4.139	1.587	2.514	2.648
	4/3	6.962	2.682	6.927	2.074
5	5/1	0.375	5.874	12.738	1.821
	5/2	3.275	13.398	6.920	1.630
	5/3	4.136	2.191	6.201	1.539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2.3 ปริมาณกรดซิตริกในถังหมักแบบแพคเบดที่ไม่มีการควบคุมและมีการควบคุมอุณหภูมิ

DAY	Sample identifier	Citric Acid (mg/gds)	
		ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ	มีการควบคุมอุณหภูมิ
0	standard	4.612	4.657
1	1/1	2.677	2.524
	1/2	2.806	1.958
	1/3	2.742	2.241
2	2/1	3.528	12.231
	2/2	3.830	10.923
	2/3	3.679	11.577
3	3/1	5.099	9.452
	3/2	5.671	8.097
	3/3	5.385	8.775
4	4/1	4.006	7.036
	4/2	4.551	7.282
	4/3	4.278	7.159
5	5/1	3.456	6.046
	5/2	2.604	5.892
	5/3	3.030	5.969

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3.1 ปริมาณออกซิเจนในโหลแก้วที่มีการเติมอากาศ

อัตราการเติม อากาศ	ปริมาณออกซิเจนเฉลี่ย (ร้อยละโดยปริมาตร)					
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5
0.1 vvm	20.40	17.59	17.45	16.67	15.00	16.67
0.5 vvm	20.60	18.48	18.75	18.41	17.01	18.59
1.0 vvm	21.00	18.68	18.67	17.91	17.92	18.30
1.5 vvm	21.10	18.55	18.75	18.95	18.85	18.70

ตารางที่ ข.3.2 ปริมาณออกซิเจนในถังหมักที่มีการเติมอากาศ

การควบคุม อุณหภูมิ	ปริมาณออกซิเจนเฉลี่ย (ร้อยละโดยปริมาตร)					
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5
ไม่มีการควบคุม อุณหภูมิ	20.50	18.90	18.75	18.75	18.80	18.85
มีการควบคุม อุณหภูมิ	20.40	19.00	18.85	18.70	18.80	18.94

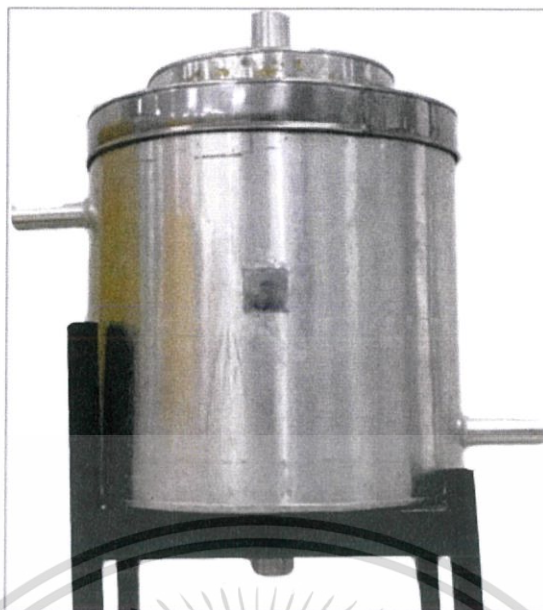
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ค.1

ส่วนประกอบของถังหมักแบบแพคเบด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค.1.1 ถังหมักแบบแพคเบด



(ก)

(ข)

รูปที่ ค.1.2 ส่วนประกอบของถังหมัก

ก. ถังชั้นนอก (แจ็กเก็ต) ข. ถังชั้นใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค.1.3 ขาตั้งถังหมัก



รูปที่ ค.1.4 ช่องอากาศของแจ็กเก็ต

ก. ช่องอากาศขาเข้าแจ็กเก็ต ข. ช่องอากาศขาออกแจ็กเก็ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค.1.5 ช่องอากาศของถังหมัก
 ก. ช่องอากาศขาเข้าถังหมัก ข. ช่องอากาศขาออกถังหมัก



รูปที่ ค.1.6 ฉนวนกันการถ่ายเทความร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค.2.1 เชื้อรา *Aspergillus niger*



รูปที่ ค.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้