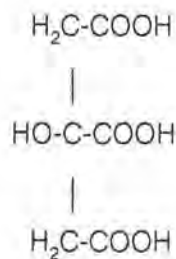


# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 คุณสมบัติของกรดมะนาว

กรดมะนาว (citric acid) มีชื่อทางเคมีว่า กรด 2-ไฮดรอกซี-1,2,3-โพรเพนไตรคาร์บอกซิลิก (2-hydroxy-1,2,3-propanetricarboxylic acid) เป็นกรดอินทรีย์ที่ประกอบด้วยคาร์บอกซิล 3 หมู่ และไฮดรอกซิล 1 หมู่ มีสูตรโครงสร้างทางเคมี ดังรูปที่ 1-1



รูปที่ 1-1 โครงสร้างของกรดมะนาว (Bouchard and Merritt, 1979)

กรดมะนาวที่ปราศจากน้ำ (anhydrous citric acid) มีสูตรโมเลกุล  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  น้ำหนักโมเลกุล 192.13 ได้จากการตกผลึกสารละลายของกรดมะนาวในขณะร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 36.6 องศาเซลเซียส มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 153 องศาเซลเซียสมีความหนาแน่นเท่ากับ 1.665 ส่วนกรดมะนาวชนิดที่มีน้ำ 1 โมเลกุล (citric acid monohydrate) มีสูตรโมเลกุล  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$  น้ำหนักโมเลกุล 210.14 ได้จากการตกผลึกสารละลายกรดมะนาวในขณะเย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 36.6 องศาเซลเซียส มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส มีความหนาแน่นเท่ากับ 1.542

กรดมะนาวมีค่า pKa ที่ 25 องศาเซลเซียส หลายค่าดังนี้  $\text{pKa}_1$  3.128 ,  $\text{pKa}_2$  4.761 และ  $\text{pKa}_3$  6.396 ลักษณะทั่วไปเป็นผลึกสีขาว รสเปรี้ยว ความเป็นพิษต่ำย่อยสลายได้ง่าย ความสามารถในการละลายในน้ำสูงขึ้นกับอุณหภูมิ โดยอุณหภูมิยิ่งสูงความสามารถในการละลายน้ำจะดียิ่งขึ้น (Bouchard and Merritt, 1979 ; Kubicek and Rohr, 1986)

## 1.2 มาตรฐานของกรดมะนาว

สำหรับมาตรฐานของกรดมะนาวที่จะนำไปใช้ในอุตสาหกรรม จะต้องมียุทธลักษณะทางเคมีตามพระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์ทางอุตสาหกรรมซึ่งได้แสดงไว้ในตารางที่ 1-1

ตารางที่ 1-1 คุณลักษณะทางเคมีตามมาตรฐานกรดมะนาว

รายการที่	คุณลักษณะ	เกณฑ์ที่กำหนด	
		กรดมะนาวโมโนไฮเดรต	กรดมะนาวอันไฮเดรต
1.	ความบริสุทธิ์ $C_6H_8O_7$ , คำนวณในสภาพแห้งร้อยละ	99.5 ถึง 101.0	99.5 ถึง 101.0
2.	น้ำร้อยละ	7.5 ถึง 8.8	ไม่เกิน 0.5
3.	กากที่เหลือจากการเผา ร้อยละ ไม่เกิน	0.05	0.05
4.	ออกซาเลต มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่เกิน	350	350
5.	ซัลเฟต มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่เกิน	150	150
6.	สารหนู มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่เกิน	3	3
7.	โลหะหนัก (คำนวณเป็นตะกั่ว) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่เกิน	10	10
8.	เบเรียม	สารละลายตัวอย่าง ต้องไม่ขุ่นกว่าสารละลายมาตรฐานสอบเทียบ	
9.	แคลเซียม มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่เกิน	200	200
10.	เหล็ก มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่เกิน	50	50
11.	คลอไรด์ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่เกิน	50	50
12.	สารที่สลายให้คาร์บอนได้ง่าย (readily carbonizable substance)	สีของสารละลายตัวอย่างต้องไม่เข้มกว่าสีของสารละลายมาตรฐาน	

ที่มา : พระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (กรดมะนาว) พ.ศ. 2535

### 1.3 ประวัติความเป็นมา

กรดมะนาว (citric acid) หรือ กรด 2-ไฮดรอกซี -1,2,3-โพเพนไตรคาร์บอกซิลิกเป็นกรดอินทรีย์ที่พบทั่วไปในพืชและสัตว์ แต่พบมากในผลไม้หลายชนิด เช่น ลูกพีช ลูกแพร์ สับปะรด และผลไม้ตระกูลส้ม (citrus fruits) เป็นต้น ในปี ค.ศ.1784 Scheele สามารถสกัดแยกและตกผลึกกรดมะนาวได้เป็นครั้งแรกจากน้ำมะนาว (Kubicek and Rohr, 1986) ในระยะแรกของการผลิตกรดมะนาวเพื่อการค้า จะผลิตโดยการตกตะกอนสารละลายของกรดมะนาว จากน้ำผลไม้ในรูป เกลือแคลเซียมซิเตรต จึงเรียกรวมมะนาวที่ผลิตโดยวิธีนี้ว่า กรดมะนาวธรรมชาติ (natural citric acid) เป็นการผลิตกรดมะนาวที่ผลผลิตต่ำ โดยใช้ผลไม้ 30-40 ตันจึงจะได้กรดมะนาว 1 ตัน (Rohr and Kubicek , 1980) เนื่องจากมีความต้องการกรดมะนาวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วทำให้กรดมะนาวธรรมชาติไม่เพียงพอต่อความต้องการจึงมีราคาแพงขึ้น ดังนั้นเป็นเหตุให้มีการค้นคิดการผลิตกรดมะนาวโดยวิธีการอื่น ๆ เช่น ในปี ค.ศ. 1880 Grimoux และ Adams ได้สังเคราะห์กรดมะนาวจากกลีเซอรอล แต่เนื่องจากวัตถุดิบมีราคาแพง และเป็นปฏิกิริยาเคมี หลายขั้นตอน สารที่ใช้เป็นอันตรายและให้ผลผลิตต่ำไม่คุ้มค่า จึงไม่เหมาะสมต่อการผลิตในเชิงการค้า (Mattey, 1992 ; Milsom and Meers, 1985) ในปี ค.ศ. 1893 Wehmer ได้ผลิตกรดมะนาวโดยจุลินทรีย์เป็นครั้งแรกพบว่าเชื้อรา 2 ชนิดคือ *Mucor* และ *Citromyces* (ปัจจุบันคือ *Penicillium*) สามารถผลิตกรดมะนาวจากกระบวนการหมัก (fermentation of citric acid) ในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นองค์ประกอบแต่ผลผลิตยังต่ำไม่สามารถผลิตเป็นการค้าได้ (Marison, 1988) ในปี ค.ศ. 1917 Currie รายงานการผลิตกรดมะนาวจากเชื้อรา *Aspergillus niger* โดยหมักในอาหารที่มีน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ ซึ่งช่วยลดปัญหาการปนเปื้อน จากจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ (Prescott and Dunn, 1959 ; Kubicek and Rohr , 1986) ในปี ค.ศ.1919 โรงงานแห่งแรกที่ใช้เชื้อรา *Aspergillus niger* ได้ถูกก่อตั้งขึ้นในประเทศเบลเยียม หลังจากนั้นมีการก่อตั้งโรงงานอีกหลายแห่งในยุโรป ใช้วิธีการหมักบนผิวอาหารเหลว (surface culture method) โดยใช้น้ำตาลซูโครสและกากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ ต่อมาในปี ค.ศ. 1946 ได้พัฒนามาเป็นกระบวนการหมักในสภาพอาหารเหลว (submerged culture process) ในระดับอุตสาหกรรมโดย Shu และ Johnson (Kubicek and Rohr, 1986) นอกจากเชื้อราแล้ว แบคทีเรียและยีสต์หลายชนิดก็สามารถผลิตกรดมะนาวได้เช่นกัน (Grewal and Kalra, 1995 ) ในปี ค.ศ. 1932 มีการผลิตกรดมะนาวด้วยยีสต์เป็นครั้งแรก ในอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรต และ นอร์มัล-อัลเคน (Mattey, 1992 ; Milsom and Meers, 1985) สำหรับแบคทีเรียยังไม่ได้รับความสนใจที่จะนำมาใช้ผลิตกรดมะนาวในระดับอุตสาหกรรมเนื่องจากให้ผลผลิตต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับราและยีสต์ (Marison, 1988) ปัจจุบันการผลิตกรดมะนาวจากกระบวนการหมักออกมามีประมาณ

400,000 ตันต่อปีส่วนใหญ่ผลิตโดย เชื้อรา *Aspergillus niger* และยีสต์ *Yarrowia lipolytica* (Mattey, 1992 ; Grewal and Kalra, 1995)

#### 1.4 การผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์

ปัจจุบันการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ ได้รับความสนใจมากขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากยีสต์มีข้อดีหลายประการเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อรา ได้แก่ ยีสต์สามารถใช้สารแหล่งคาร์บอนได้หลายชนิด ทำให้มีโอกาสเลือกสัปสเตรทที่เหมาะสมที่สุด ยีสต์มีการเจริญเติบโตเร็วทำให้ใช้เวลาในการหมักสั้นกว่า การเพาะเลี้ยงยีสต์ทำได้ง่ายกว่ารา และสามารถพัฒนาการผลิตเป็นแบบกระบวนการต่อเนื่องได้ในการผลิตกรดมะนาวในสภาพอาหารเหลว ยีสต์มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวจึงไม่มีปัญหาการเกาะตัวของเส้นใยโดยการกวนในขณะหมักเช่นเดียวกับรา ดังนั้นยีสต์จึงให้ผลผลิตสูงกว่ารา (Marison, 1988) แต่การผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์มีข้อเสียที่สำคัญคือ มักพบปัญหาการปนเปื้อนของกรดไอโซซิทริก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการคัดเลือก และปรับปรุงสายพันธุ์ ตลอดจนหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้ได้กรดมะนาวปริมาณมากและมีกรดไอโซซิทริกที่ต่ำลง โดยยีสต์ที่สามารถผลิตกรดมะนาวได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ มีหลายชนิด ได้แก่ *Candida sp.* , *Debaromyces sp.* , *Endomyces sp.* , *Hansenula sp.* , *Kloeckera sp.* , *Nocardia sp.* , *Pichia sp.* , *Rhodotorula sp.* , *Saccharomyces sp.* , *Sporobolomyces sp.* , *Torulopsis sp.* , *Trichosporon sp.* และ *Zygosaccharomyces sp.* โดยเฉพาะสกุล *Candida* (syn. *Saccharomycopsis* , *Yarrowia*) เป็นสกุลที่ใช้อย่างกว้างขวาง (Marison, 1988) เช่น *Candida guilliermodii* (Asenjo, Szuhay and Chiu, 1982) *Candida lipolytica* (Tabuchi and Igoshi, 1978) *Candida utilis* (Cassio and Leao, 1991) และ *Candida oleophila* (Iizuka et al., 1971) เป็นต้น

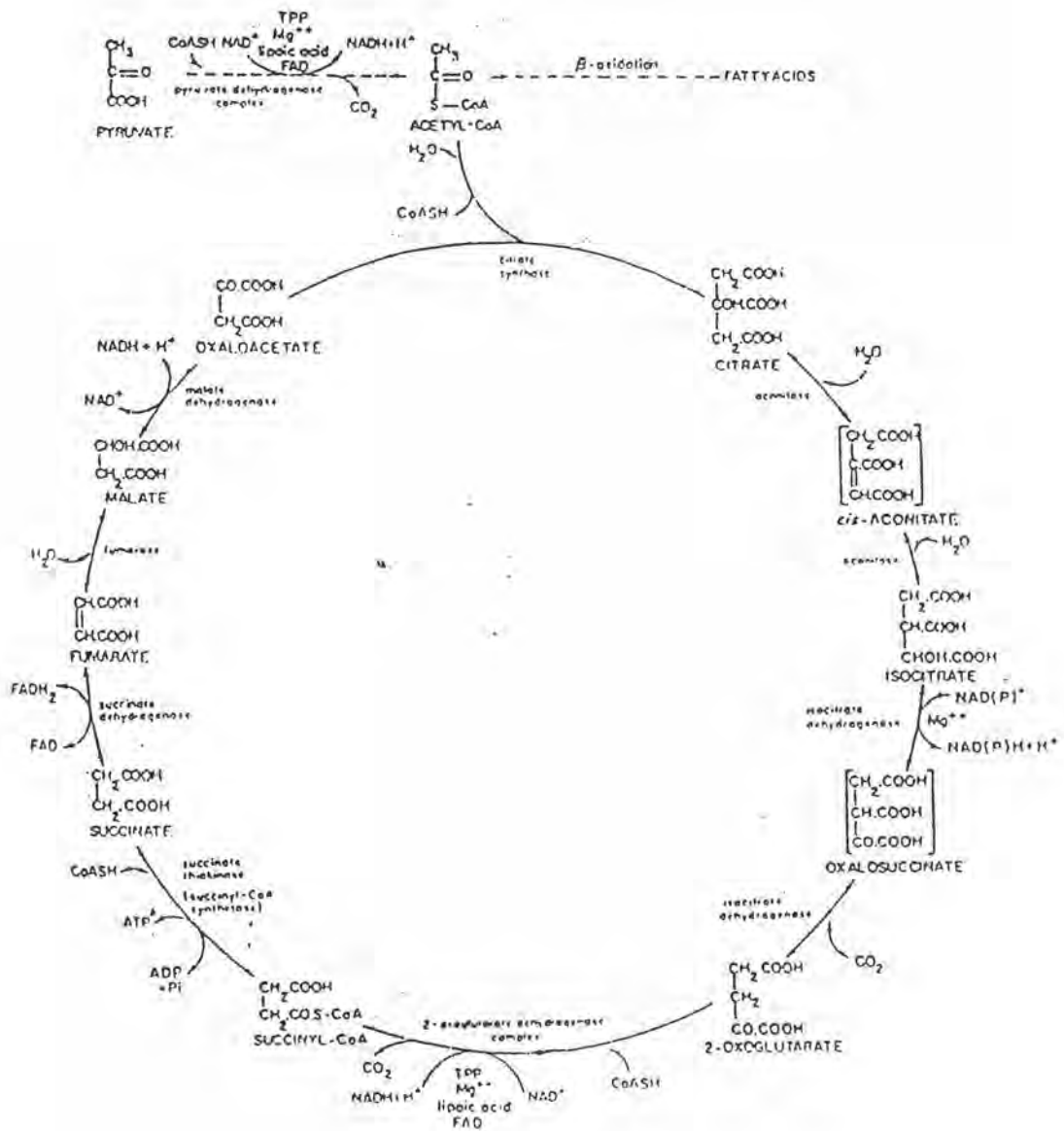
กระบวนการหมักสำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยใช้ยีสต์ ในสภาพอาหารเหลว เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากในประเทศอุตสาหกรรม เนื่องจากให้ผลผลิตสูง ใช้แรงงานต่ำ ใช้พื้นที่น้อยและสามารถควบคุมภาวะต่างๆ ในระหว่างการหมักได้ดี โดยใช้อุปกรณ์ที่ทันสมัยและใช้เทคโนโลยีการผลิตขั้นสูง ถึงหมักที่ใช้มีหลายแบบ ได้แก่ ถึงหมักแบบหอสูง (Tower fermentor) ถึงหมักแบบถังกวน (Stirred tank fermentor) (Kubicek and Rohr, 1986) และถึงหมักแบบแอร์ลิฟท์ (Air-lift fermentor) (Mattey, 1992) ซึ่งวัสดุที่ใช้ทำถึงหมักต้องเป็นเหล็กกล้าทนการกัดกร่อนของกรดได้ดี ในระหว่างการหมักจะต้องควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ให้เหมาะสมเช่น อุณหภูมิ การกวน การให้อากาศ ค่าความเป็นกรด-ด่าง และสารกำจัดฟอง เป็นต้น (Abou-Zeid and Ashy, 1984) ในรายงานการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ ส่วนใหญ่ใช้การหมักแบบแบทช์ (Batch process) เนื่องจากสามารถป้องกัน

การปนเปื้อนได้ง่าย กระบวนการหมักอื่น ๆ ได้มีผู้รายงานไว้เช่นกันคือ กระบวนการหมักแบบแบ่งเติมสารอาหารบางอย่าง (Fed-batch fermentation) (Rane and Sims, 1993) กระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous fermentation) (Aiba and Matsuoka, 1979 ; Enzminger and Asejo, 1986 ; Klasson, Clausen and Gaddy, 1989) นอกจากนี้ในปัจจุบันมีการศึกษาการผลิตกรดอะมิโนด้วยวิธีการตรึงเซลล์ยีสต์ โดยใช้คาร์ราจีแนน และ อัลจิเนต เป็นต้น (Kautola et al., 1991 ; Rymowicz et al., 1993)

### 1.5 ชีวเคมีของการผลิตกรดอะมิโนโดยยีสต์

กรดอะมิโนเป็นสารตัวกลางตัวหนึ่งที่สำคัญในวัฏจักรเครปส์ (Krebs cycle หรือ Citric acid cycle หรือ Tricarboxylic acid cycle) ดังรูปที่ 1-2 จัดเป็นผลิตภัณฑ์ของเมตาบอลิซึมแบบปฐมภูมิ (primary metabolite) ที่เกิดภายในไมโทคอนเดรีย (mitochondria) ซึ่งในสภาวะปกติทั่วไปกรดชนิดนี้ถูกหลั่งออกมาภายนอกเซลล์ของจุลินทรีย์ ในปริมาณน้อย ดังนั้นกรดอะมิโนที่ถูกผลิตในปริมาณสูงๆ เกิดขึ้นได้จากความไม่สมดุลของเมตาบอลิซึม (metabolism) หรือจากความบกพร่องของยีนส์ (genes) ที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์บางชนิดในวัฏจักรเครปส์ (Milsom and Meers, 1985 ; Goldberg, Peleg and Roken, 1991) สำหรับเอนไซม์หลักที่เกี่ยวข้องกับการผลิตและการสะสมกรดอะมิโนโดยการหมักนี้มี 2 กลุ่มโดย กลุ่มแรกคือ อะโคนิเตส (aconitase) และไอโซซิเตรตดีไฮโดรจีเนส (isocitrate dehydrogenase) กลุ่มที่ 2 คือ ซิเตรตซินเทส (citrate synthase) เอนไซม์กลุ่มแรกจะมีกิจกรรมในระดับต่ำ ในขณะที่เอนไซม์กลุ่มที่สองมีกิจกรรมในระดับสูง (Marison, 1988 ; Ermakova et al., 1986) ซึ่งทำให้เกิดการรวมตัวของอะซิติลโคเอ (acetyl CoA) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีคาร์บอน 2 อะตอมกับออกซาโลอะซิเตต (oxaloacetate) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีคาร์บอน 4 อะตอม เกิดเป็นกรดอะมิโนที่มีคาร์บอน 6 อะตอม

ยีสต์จะเริ่มผลิตกรดอะมิโนในระยะการเจริญแบบคงที่ภายใต้ภาวะที่มีไนโตรเจนปริมาณจำกัด ซึ่งจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงประจุพลัง (energy charge) ภายในเซลล์ โดยอัตราส่วนของ ATP ต่อ AMP จะเพิ่มขึ้น ซึ่ง ATP ที่เพิ่มขึ้นนี้ จะมีผลยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ ไอโซซิเตรตดีไฮโดรจีเนส ทำให้มีการผลิตกรดอะมิโนในปริมาณมาก (Sokolov et al., 1995) ดังนั้นถ้าต้องการให้ผลิตกรดอะมิโนมากๆ จึงต้องหาวิธีชะลอการทำงานของวัฏจักรเครปส์ ไว้ที่การผลิตกรดอะมิโน แต่ไปลดกิจกรรมของเอนไซม์อะโคนิเตส และไอโซซิเตรตดีไฮโดรจีเนส สำหรับเอนไซม์อะโคนิเตสทำได้โดยให้มี  $Fe^{2+}$  ในความเข้มข้นต่ำๆ หรือใช้สารยับยั้ง เช่น ฟลูออโรอะซิเตต



รูปที่ 1-2 วิถีจักรเครปส์ (Singleton and Sainsbury, 1988)

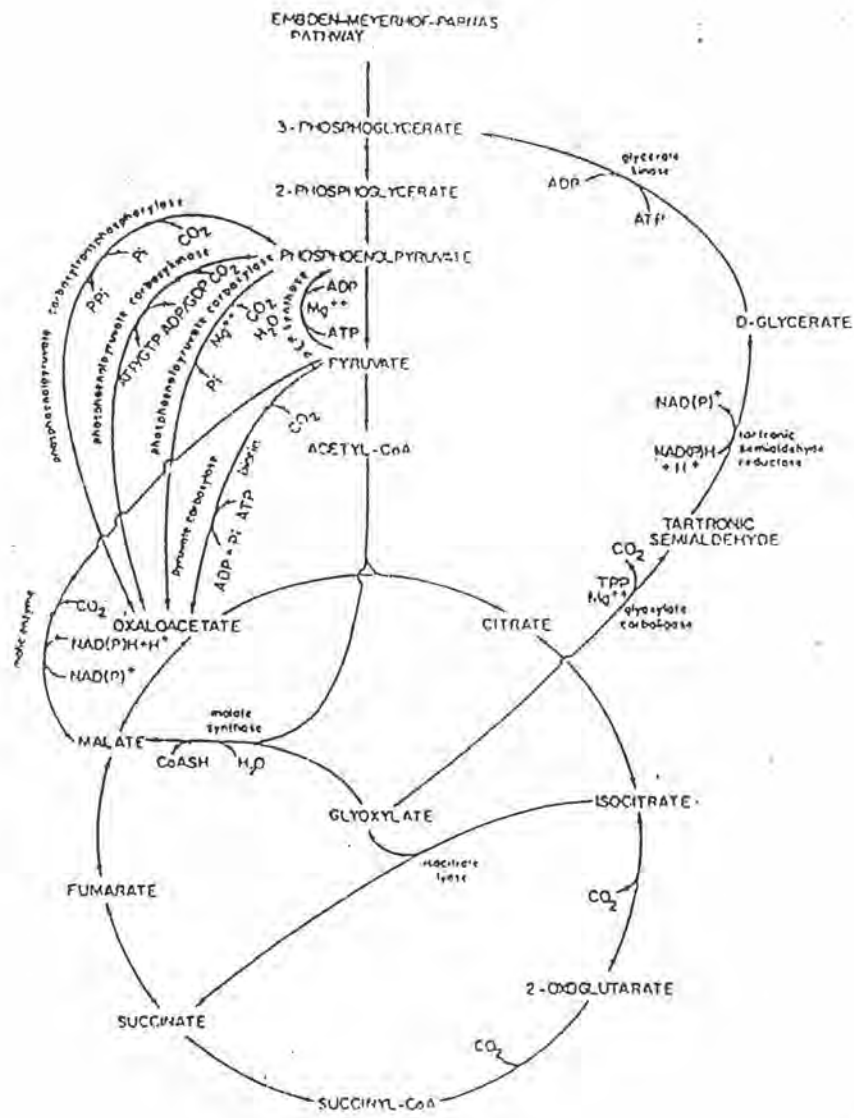
(Akiyama et al., 1973 ; Cartledge, 1987 ; Tani, Sakai and Chou, 1990) ซึ่งยับยั้งเอนไซม์แบบแข่งขัน (Competitive inhibition) สำหรับเอนไซม์ไอโซซิเตรตดีไฮโดรจีเนสจะลดกิจกรรมโดยเติมสารยับยั้ง เช่น โปแทสเซียมเฟอโรโรไซยาไนด์ (Marison, 1988) ในการผลิตกรดมะนาวนอกจากอาศัยวัฏจักรเครปส์แล้วจุลินทรีย์ยังต้องมีวิถีเมตาบอลิซึมอื่นๆ เพื่อเปลี่ยนสับสเตรทเช่น วิถีไกลโคไลซิส (Glycolysis) ซึ่งเปลี่ยนกลูโคส เป็น ไพรูเวท (pyruvate) เข้าสู่วัฏจักรเครปส์ ดังรูปที่ 1-2 วัฏจักรไกลออกซีเลต (Glyoxylate cycle) ซึ่งจะช่วยสร้างสารตัวกลางบางชนิด เพิ่มให้กับวัฏจักรเครปส์ เช่น มาเลต (malate) ซัคซิเนต (succinate) เป็นต้น และปฏิกิริยาอะนาพลิโรติกซีควเอนซ์ (Anaplerotic sequences reaction ) เพื่อเพิ่มออกซาโลอะซิเตต อันเป็นสารตัวกลางที่สำคัญของวัฏจักรเครปส์ (Marison, 1988) โดยรูปแสดงความสัมพันธ์ระหว่างวัฏจักรเครปส์ วัฏจักรไกลออกซีเลต และปฏิกิริยาทดแทนอะนาพลิโรติก แสดงดังรูปที่ 1-3

## 1.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์

กระบวนการหมักเพื่อการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ในสภาพอาหารเหลว จะประสบผลสำเร็จหรือไม่ ขึ้นอยู่กับ 2 ปัจจัยหลัก คือ สายพันธุ์ยีสต์ และ ภาวะที่เหมาะสมในการผลิตของยีสต์ แต่ละสายพันธุ์

### 1.6.1 สายพันธุ์ของยีสต์

ปัจจุบันพบว่า ยีสต์หลายสายพันธุ์ เช่น *Yarrowia lipolytica* *Saccharomycopsis lipolytica* *Zygosaccharomyces sp.* โดยเฉพาะในกลุ่ม *Candida sp.* (Marison, 1988 ; Matthey, 1992) เป็นสายพันธุ์ที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง สามารถผลิตกรดมะนาวได้ดี ในการผลิตกรดมะนาวควรมีหลักดังนี้ คือ มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตกรดมะนาว และจีนส์ที่ควบคุมการผลิตกรดมะนาวมีความเสถียรให้ผลผลิตสม่ำเสมอ สามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายชนิด ให้กรดชนิดอื่นที่ไม่ต้องการในปริมาณน้อย ทนต่อโลหะหนักที่มีผลต่อการผลิตได้สูง มีกิจกรรมของเอนไซม์อะโคนิเตสต่ำ รวมถึงใช้ระยะเวลาในการหมักสั้น



รูปที่ 1-3 ความสัมพันธ์ของวัฏจักรเครปส์ วัฏจักรไกลออกซิเลต และปฏิกิริยาทดแทน  
อะนาโพลิโรติก (Singleton and Sainsbury ,1988)



## 1.6.2 ภาวะที่เหมาะสมในการผลิต

### 1.6.2.1 สารแหล่งคาร์บอน

การผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์สามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายชนิด ได้แก่ แอลกอฮอล์ กลีเซอรอล กรดไขมัน นอร์มัลพาราฟฟิน (Ikeno et al., 1975) สารไฮโดรคาร์บอน (Gledhill, Hill and Hodson, 1973) เซลลูโลสที่ผ่านการย่อยแล้ว (Asenjo et al., 1982 ; Maddox et al., 1985) ฟรุคโทส กากน้ำตาล แป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้วด้วยเอนไซม์ (Shah et al., 1993) กูโคส (Ermakova et al., 1986 ; Rane and Sims, 1993) แหล่งคาร์บอนที่เลือกใช้ควรเป็นสารที่หาได้ง่ายและราคาถูกเพื่อลดต้นทุนการผลิตให้สามารถขยายไประดับอุตสาหกรรมได้ โดยที่ชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในการผลิตกรดมะนาวนั้น ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของยีสต์ที่ใช้ น้ำตาลกูโคสจัดเป็นแหล่งคาร์บอนที่ยีสต์นำไปใช้ได้ดี และรวดเร็วแต่ราคาแพง ดังนั้น จึงจำเป็นต้องหาแหล่งคาร์บอนที่ถูกกว่า Shah และคณะ (1993) ได้รายงานว่าการใช้แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว (tapioca starch hydrolysate) ที่สมมูลเดกซ์โตรร็อยลอะ 94-95 สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้ดี

### 1.6.2.2 สารแหล่งไนโตรเจน

ในการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์จำเป็นต้องควบคุมปริมาณสารแหล่งไนโตรเจนให้พอเพียงต่อการเจริญในระยะแรกเท่านั้น เนื่องจากยีสต์จะสะสมกรดมะนาวหลังจากที่แหล่งไนโตรเจนในอาหารถูกใช้หมดแล้ว (Kubicek and Rohr, 1986 ; Potvin et al., 1988 ; Rane and Sims, 1993 ; McKay et al., 1994) สำหรับชนิดของสารแหล่งไนโตรเจน พบว่ายีสต์สามารถใช้ได้ทั้งรูปของอินทรีย์ และอนินทรีย์ในโตรเจน แหล่งของอินทรีย์ในโตรเจน ได้แก่ สารสกัดจากยีสต์ เปปโตน น้ำแช่ข้าวโพด (Cornsteep liquor) ส่วนแหล่งของสารอนินทรีย์ในโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมไนเตรต แอมโมเนียมอะซิเตรต โซเดียมไนเตรต ยูเรีย และแอมโมเนีย เป็นต้น ชนิดของสารแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ยีสต์ โดยอาจจะใช้ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือใช้ควบคู่กันก็ได้ (Abou-Zeid and Ashy, 1984)

### 1.6.2.3 แหล่งของฟอสเฟต

ฟอสเฟตเป็นสารที่จำเป็นต่อการเจริญและผลิตกรดมะนาวสำหรับยีสต์ซึ่งกลไกการควบคุมทางชีวเคมี และทางชีวภาพยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด การสะสมของกรดมะนาวจะเกิดขึ้นเมื่อมีฟอสเฟตในอาหารเพียงเชื่อในปริมาณที่จำกัด (Kubicek and Rohr, 1986 ; McKay et al., 1993) โดยอาศัยหลักความจริงที่ว่าฟอสฟอรัสเป็นปัจจัยที่จำเป็นต่อเมตาบอลิซึม เพื่อ

ให้ได้พลังงาน อีกทั้งยังเป็นองค์ประกอบ ของส่วนสำคัญต่างๆ ในเซลล์ เช่น กรดนิวคลีอิก นิวคลีโอไทด์ และ ฟอสฟอลิปิด เป็นต้น ดังนั้นการจำกัดปริมาณฟอสเฟต ซึ่งมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์และการไม่แสดงออกของยีนส์ทำให้เกิดการสะสมของกรดมะนาว ในปี 1970 Shimizu และคณะรายงานว่าโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต เป็นแหล่งของฟอสเฟตที่เหมาะสมสำหรับผลิตกรดมะนาว โดยยีสต์สายพันธุ์ *Candida sp.* (Abou-Zeid and Ashy, 1984)

#### 1.6.2.4 แร่ธาตุ ( Trace elements )

แร่ธาตุหลายชนิดมีความสำคัญต่อการเจริญและการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ได้แก่ แมงกานีส แมกนีเซียม เหล็ก ทองแดง สังกะสี ตะกั่ว เป็นต้น ในปี 1970 Shimizu และคณะพบว่าแมกนีเซียมซัลเฟต และแมงกานีสซัลเฟตมีความจำเป็นต่อการผลิตกรดมะนาว (Abou-Zeid and Ashy, 1984) และแมกนีเซียมยังเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์หลายชนิดภายในเซลล์ที่สำคัญเช่น เอนไซม์จำพวกโคเนส (Marison, 1988) Tabuchi (1970) รายงานว่าความเข้มข้นของ  $Fe^{2+}$  สูงๆ จะไปเพิ่มแอกติวิตีของเอนไซม์อะโคนิตสให้สูงขึ้น มีผลให้กรดมะนาวถูกเปลี่ยนเป็นกรดไอโซซิทริก Fired ( 1972 ) รายงานว่าเมื่อเลี้ยง *Candida sp.* ในอาหารที่มีตะกั่วปริมาณ 0.5-1.5 กรัมต่อลิตร จะทำให้ผลิตกรดมะนาวได้สูงกว่าอาหารที่ไม่มีการเติมตะกั่ว Marchal และคณะ (1977) รายงานว่า  $Fe^{2+}$  มีผลต่อการผลิตกรดมะนาวมากที่สุด โดยถ้าเติม  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  ลงในอาหารปริมาณ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้ผลผลิตกรดมะนาวจาก *Saccharomycopsis lipolytica* ลดลงร้อยละ 30 Furukawa และคณะ (1977) รายงานว่า การเติมเหล็กซัลเฟตในอาหารจะทำให้ *Candida sp.* ผลิตกรดมะนาวได้น้อยลง แต่ผลผลิตกรดไอโซซิทริกมากขึ้น แต่การเติมทองแดงซัลเฟตให้มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ได้ปริมาณกรดมะนาวเพิ่มขึ้น แต่การเพิ่มปริมาณทองแดงซัลเฟตจะทำให้การผลิตกรดไอโซซิทริกลดลง Hamissa และคณะ (1978) พบว่า การผลิตกรดมะนาวจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อเติม  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  0.05 กรัมต่อลิตร และ  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  0.02 กรัมต่อลิตร Rymowicz และคณะ (1993) รายงานว่าการผลิตกรดมะนาวจากเซลล์ตรึง *Candida lipolytica* จะทำให้การผลิตกรดมะนาวสูงสุด เมื่อในอาหารมี  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  เข้มข้น 21 มิลลิกรัมต่อลิตร และ  $Mn SO_4$  เข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

#### 1.6.2.5 สารเสริมอื่นๆ

องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ นอกจากเติมสารต่างๆ ที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ยังมีการเติมสารบางชนิด ซึ่งเป็นสารที่จำเป็นสำหรับการเจริญ และการผลิตกรดมะนาว เช่น ไทอะมีน กรดนิโคตินิก และไบโอติน (Kubicek and

Rohr, 1986) โดยเฉพาะ ไทอะมีนซึ่งอยู่ในรูปของไทอะมีนไฮโดรคลอไรด์เป็นสารที่จำเป็นสำหรับการเจริญของยีสต์ต่อการผลิตกรดมะนาว จากรายงานของ Hamissa และคณะ (1978) พบว่าในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาวที่มีไทอะมีน กรดนิโคตินิก และไบโอติน เข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร จะส่งผลให้ *Candida lipotica* ผลิตกรดมะนาวได้มากขึ้น หรืออาจใช้ในรูปของสารประกอบอินทรีย์ที่ซับซ้อน เช่น สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) และคอร์นสตีปลิเควอร์ (cornsteep liquor) เป็นต้น (Iizuka et al., 1971, Abou-Zeid and Ashy, 1984)

#### 1.6.2.6 ความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ

การควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตกรดมะนาวจะแตกต่างกันขึ้นกับสายพันธุ์ของเชื้อที่ใช้โดยยีสต์จะมีความแตกต่างจากการใช้เชื้อราอย่างเห็นได้ชัดประการหนึ่งคือ เชื้อรา *Aspergillus niger* ที่ใช้ในการผลิตกรดมะนาวสามารถทนต่อปริมาณกรดที่สร้างขึ้นมาได้สูง ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องเติมสารที่ใช้ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เป็นกลาง (neutralizing agent) ลงไป ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารจะลดลงจนถึงประมาณ 1.7-2.0 แต่ยีสต์ส่วนใหญ่ที่ใช้ในการหมักเพื่อผลิตกรดมะนาวจะมีความทนต่อปริมาณกรดที่สร้างขึ้นมาได้ต่ำกว่าเชื้อรามาก ดังนั้นการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ในระหว่างการหมักเมื่อมีการสะสมกรดเพิ่มมากขึ้นมีผลทำให้น้ำหมักเป็นกรดมากขึ้น ซึ่งจะยับยั้งการเจริญของเซลล์ มีผลทำให้การผลิตกรดมะนาวลดลง (Moresi, 1994) โดยทั่วไปแล้วการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์จะเติมสารบางอย่างลงไปเพื่อควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารให้คงที่ ตัวอย่างเช่น แคลเซียมคาร์บอเนต (Kautola et al., 1991 ; Shah et al., 1993 ; Rymowicz et al., 1993) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Nakanishi et al., 1972 ; Klasson et al., 1989 ; Wejtatowicz et al., 1991) โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Briffaud and Engasser, 1979) และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Rottini and Cardini, 1981) เป็นต้น โดยที่ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 4.5-6.5 (Kubicek and Rohr, 1986) ในการเลือกใช้สารใดข้อมขึ้นอยู่กับความเหมาะสม สำหรับการผลิตกรดมะนาวในระดับขวดเข่านิยมใช้แคลเซียมคาร์บอเนต โดยเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งแต่เริ่มต้น ปริมาณที่เหมาะสมขึ้นกับปริมาณกรดมะนาวที่เชื้อผลิตขึ้น โดยมักใช้ความเข้มข้นประมาณร้อยละ 6-10 (น้ำหนักต่อปริมาตรของอาหาร) (Hustede and Sieberty, 1974 ; Kubicek and Rohr, 1986) แต่ถ้าเป็นการผลิตกรดมะนาวในระดับถังหมักสามารถใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเติมในถังหมักตั้งแต่เริ่มต้น หรือใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ , โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ เติมลงในถังหมักในระหว่างการหมักเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่าถ้าค่าความเป็นกรด-ด่างสูงเกินไปยีสต์จะผลิตสารพวก โพลีแอลกอฮอล์ อีทิลแอลกอฮอล์ และ แมนนิทอล แทนการผลิตกรดมะนาว (Mattey, 1992)

### 1.6.2.7 อุณหภูมิ

Furukawa และคณะ(1977) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ *Candida citrica* MT-1001 พบว่าที่อุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไปจะทำให้การผลิตกรดมะนาวลดลง เนื่องจากยีสต์นำสับสเตรทไปใช้ในการเจริญเติบโตมาก และใช้สร้างกรดอินทรีย์ชนิดอื่นแทนกรดมะนาว เช่น กรดไอโซซิทริก เป็นต้น ดังนั้นอุณหภูมิในระหว่างการหมัก จึงมีบทบาทที่สำคัญ โดยทั่วไปแล้วอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดมะนาวจะอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส (Marison, 1988) ขึ้นอยู่กับแต่ละสายพันธุ์

### 1.6.2.8 การให้อากาศและการกวน

การผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อยีสต์เป็นกระบวนการหมักในภาวะที่ต้องการออกซิเจน ดังนั้นในระหว่างการหมัก โดยเฉพาะช่วงที่เชื้อมีการเจริญจำเป็นต้องให้อากาศอย่างพอเพียง ซึ่งการถ่ายเทของออกซิเจนในถังหมักขึ้นกับองค์ประกอบหลายอย่าง เช่น อัตราการให้อากาศและอัตราการกวน โดยต้องใช้ควบคู่กันอย่างเหมาะสม (Iizuka et al., 1971) นอกจากนี้ยังขึ้นกับองค์ประกอบและสภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ ความดันและอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักด้วย จากรายงานของ Rane และ Sims (1993) ยังรายงานอีกว่าการเพิ่มค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักจะมีผลโดยตรงต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ *Candida lipolytica* Y1095 ให้สูงขึ้น Okoshi และคณะ (1987) ได้ศึกษาการผลิตกรดมะนาวจากเชื้อ *Candida tropicalis* ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนความเข้มข้นสูงพบว่า การผลิตกรดมะนาวจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อในช่วง 5-60 ppm ถ้าเพิ่มสูงกว่า 60 ppm การผลิตกรดมะนาวจะลดลง นอกจากนั้น การเพิ่มความเข้มข้นออกซิเจนยังทำให้การผลิตกรดไอโซซิทริกลดลงด้วย ในการเลี้ยงยีสต์ในระดับขวดเขย่านิยมใช้วิธีการเขย่าภาชนะแบบวงกลม (rotary shaker) มากกว่าแบบเป็นเส้นตรง (reciprocal shaker) ถึงแม้ว่าการเขย่าแบบเส้นตรงจะมีอัตราการแลกเปลี่ยนออกซิเจนสูงกว่าแบบวงกลม แต่การเขย่าแบบเส้นตรงจะเกิดการกระเด็นของสับสเตรทไปตามข้างผนังขวดมากกว่า (เรวดี เลิศไตรรัตน์, 2535)

## 1.7 ประโยชน์ของกรดมะนาว

เนื่องจากกรดมะนาวมีความสามารถในการละลายสูง ความเป็นพิษต่ำ มีรสเปรี้ยวเป็นที่ยอมรับ มีคุณสมบัติในการจับกับโลหะหนักและการเป็นบัฟเฟอร์ จึงสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ได้มาก (Bouchard and Merritt, 1979 ; Matthey, 1992) กรดมะนาวที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรม

กรรมจะอยู่ในรูปอันไฮดรรัส โมโนไฮเดรต ในรูปของเกลือ และเอสเทอร์ของกรดมะนาว จากกรดมะนาวทั้งหมดที่ผลิตได้ประมาณร้อยละ 70 ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม ประมาณร้อยละ 12 ใช้ในอุตสาหกรรมเภสัชกรรม และอีกประมาณร้อยละ 18 ถูกใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ ประเทศที่การผลิตกรดมะนาวมากได้แก่ สหรัฐอเมริกา คือผลิตได้ประมาณ 180 ล้านกิโลกรัมต่อปี (Marison, 1988 ; Shah et al., 1993) ความต้องการกรดมะนาวทั่วโลกในปัจจุบันยังคงต้องการเพิ่มขึ้น ประมาณร้อยละ 2-3 ต่อปี (Goldberg et al., 1991) ประโยชน์ของกรดมะนาวในอุตสาหกรรมมีรายละเอียดดังนี้

### 1.7.1 อุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม

กรดมะนาวเป็นกรดที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มกันมาก โดยมักใช้เป็นสารให้ความเปรี้ยวและเพิ่มรสชาติ เป็นสารปรับกรด (acidulant) ในอาหารกระป๋องหรือน้ำขวด สารที่ใช้ปรับกรดในอุตสาหกรรมอาหารมีหลายชนิด แต่ส่วนใหญ่ใช้กรดมะนาว คือประมาณร้อยละ 73 รองลงมาเป็นกรดฟอสฟอริกประมาณร้อยละ 15 ส่วนที่เหลือเป็นกรดชนิดอื่น เช่น กรดมาลิก กรดฟูมาริก กรดแลคติก และกรดทาร์ทาริก เป็นต้น (Goldberg et al., 1991) นอกจากนี้ ยังใช้ป้องกันการเน่าเสียของน้ำเชื่อม น้ำหวาน ลูกกวาด แยมและเยลลี่ ใช้ป้องกันการบูดและการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในไวน์ อีกทั้งป้องกันการเกิดออกซิไดซ์ของกรดแอสคอบิก (ascorbic acid) หรืออีริทอร์บิก (erythrobic acid) ใช้ควบคุมความเป็นกรด-ด่างของอาหาร จำพวกเยลลี่ เจลลาติน เพื่อให้เกิดเจลได้นานที่สุด ช่วยเพิ่มรสชาติและป้องกันการบูดเสียในผลิตภัณฑ์พวกเนยแข็งและเนยเหลว ช่วยเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำขวด ใช้ป้องกันการเหม็นหืนในอาหารที่มีไขมัน ป้องกันการเปลี่ยนสีของเนื้อสัตว์จำพวกปลาและกุ้งที่มีไขมัน โดยการจุ่มลงในสารละลายผสมระหว่างกรดมะนาวกับกรดแอสคอบิก ป้องกันการตกผลึกของน้ำผึ้ง ป้องกันการเปลี่ยนสีของหัวน้ำหอม และใช้ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในอาหารแช่แข็ง เป็นต้น

### 1.7.2 อุตสาหกรรมทางเภสัชกรรม

กรดมะนาวมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมทางด้านยา คือ ใช้เป็นส่วนผสมของยาบางชนิด ซึ่งมักอยู่ในรูปเกลือของกรดมะนาว ได้แก่ ยาลดกรดในกระเพาะอาหาร โดยผสมกับไบคาร์บอเนตและคาร์บอเนต ที่ทำให้เกิดฟองฟูในน้ำดื่มเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เฟอร์ริคซิเตรต (feric citrate) ใช้เป็นแหล่งธาตุเหล็กสำหรับคนที่เป็นโรคโลหิตจาง โซเดียมซิเตรตใช้ในการเตรียม

สารละลายสำหรับการป้องกันการแข็งตัวของเลือด และ ช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในการเตรียมวิตามินเป็นต้น (Bouchard and Merritt, 1979)

### 1.7.3 อุตสาหกรรมด้านอื่นๆ

อุตสาหกรรมสำคัญที่ใช้กรดมะนาว นอกเหนือจากที่กล่าวข้างต้น ได้แก่

#### 1.7.3.1 อุตสาหกรรมการผลิตผงซักฟอก

ในช่วงปี ค.ศ. 1971-1972 อเมริกามีการออกกฎหมายควบคุมการใช้ฟอสเฟตเป็นส่วนผสมในผงซักฟอก ดังนั้นจึงมีการใช้เกลือไตรโซเดียมซิเตรตแทนสารเตตระโซเดียมฟอสเฟต เนื่องจากย่อยสลายง่าย ไม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของวัชพืชน้ำ เช่นสาหร่ายบางชนิด ไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำและมีวงจรในห่วงโซ่อาหารสั้นกว่าฟอสเฟต นอกจากนี้แล้วอาจใช้แทน แคลเซียมหรือโซเดียมคาร์บอเนต เพื่อลดการเกิดคราบของหินปูนเกาะติดเครื่องซักผ้า

#### 1.7.3.2 อุตสาหกรรมการผลิตพลาสติก

ใช้กรดมะนาวในรูปของไตรเอทิล อะซิเตท (triethyl acetate) ในการทำพลาสติกจำพวกสารประกอบพอลิไวนิล คลอไรด์ (polyvinyl chloride) และทำฟิล์มเซลลูโลสติก (cellulosic films) นอกจากนี้ยังใช้ทำพลาสติกที่ใช้ห่อหุ้มอาหาร โดยผ่านการตรวจรับรองจากองค์การอาหารและยา ของสหรัฐอเมริกา (FDA) แล้วว่าปลอดภัย

#### 1.7.3.3 อุตสาหกรรมการผลิตเครื่องสำอางค์

จะใช้เป็นสารละลายบัฟเฟอร์เพื่อควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างในครีมนวดผมห น้ยาขัดผมห น้ยาทำความสะอาดใบหน้า และโลชั่นแอสตริงเจนท์ (astringent lotion) เป็นต้น

#### 1.7.3.4 ระบบการกำจัดก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์

ในระบบการกำจัดก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในเหมืองที่ถลุงแร่โลหะ และโรงงานที่มีการใช้ถ่านหินเป็นแหล่งผลิตพลังงาน จะใช้สารละลายผสมของ โซเดียมซิเตรต กรดมะนาว และโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นตัวดูดซับก๊าซที่เกิดขึ้น นอกจากนั้นยังใช้ในการชะล้างสนิมและน้ำมันดินออกจากโลหะ ใช้ทำความสะอาดหม้อน้ำของโรงงานอุตสาหกรรม โดยจะจับกับไอออนของโลหะบางชนิดเช่น นิกเกิล เหล็ก และทองแดง เกิดเป็นสารที่ละลายน้ำได้ และป้อง

กันการเกิดเป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำของออกไซด์ หรือ ไฮดรอกไซด์ อีกทั้งยังใช้ป้องกันการเกิดเมือก และตะกรันในอุปกรณ์บำบัดน้ำเสียแบบออสโมซิสผันกลับ (Reverse osmosis) อีกด้วย (Bouchard and Merritt, 1979)

## 1.8 การออกแบบถังหมัก

การออกแบบถังหมักเพื่อใช้ในกระบวนการหมักแต่ละชนิดอาจแตกต่างกันไป แต่โดยพื้นฐานแล้วหน้าที่ที่สำคัญของถังหมัก คือ ทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่ควบคุมได้สำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ เพื่อให้ได้ผลผลิตตามต้องการ ดังนั้นถังหมักโดยทั่วไปจะต้องมีคุณสมบัติพื้นฐานดังนี้ คือ มีความแข็งแรง ทนความร้อน และความดันได้สูง มีระบบการให้อากาศ และระบบการกวนที่ดี มีระบบควบคุมอุณหภูมิ มีระบบควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง มีระบบควบคุมการเกิดฟอง มีที่เก็บตัวอย่างจากถังหมักได้สะดวกโดยไม่เกิดการปนเปื้อน มีการสูญเสียเนื่องจากการระเหยจากถังหมักได้น้อย มีรูปแบบที่ควบคุมการทำงาน การเก็บเกี่ยวผลผลิต การทำความสะอาด และการบำรุงรักษาได้ง่าย และใช้แรงงานน้อย สามารถใช้กับกระบวนการหมักได้หลายชนิด ด้านในของถังหมักควรมีผิวเรียบ อยู่ในสภาพปลอดเชื้อในขณะที่ใช้งานได้เป็นเวลานาน ทนต่อการกัดกร่อน และทำจากวัสดุราคาถูกที่สุดแต่มีคุณภาพตามต้องการ ซึ่งในปัจจุบันแม้ว่าจะมีการออกแบบถังหมักกันหลายแบบ แต่ก็มีเพียงไม่กี่แบบ ที่ใช้ได้ดีกับกระบวนการหมักที่ต้องการอากาศในระดับอุตสาหกรรม (Stanbury and Whitaker, 1984)

### ลักษณะของใบพัดของเครื่องกวน

โดยปกติการออกแบบเครื่องกวนให้เหมาะสมกับภาวะของของไหลและให้มีตัวใบพัดใช้ประโยชน์ได้มากที่สุด ควรเลือกใบพัดที่มีประสิทธิภาพการกวนสูง

เครื่องกวนสามารถแบ่งตามประเภทของการทำงานได้ 5 ชนิด ดังนี้

1. Propellers เหมาะสำหรับของเหลวที่มีความหนืดต่ำ ไม่มีแรงต้านทานในเรื่องของขนาดและรูปร่างของภาชนะ ปริมาตรการไหลส่งของเหลวไปรอบๆ เกิดขึ้นด้วยการพ่นที่สูง อัตราการไหลมีผลต่อการกำหนดตัวใบพัดมาก

1.1 การออกแบบ ปัจจุบันปรับปรุงใช้กับเรือเดินทะเล ลักษณะเป็นใบพัดสามใบ ในปี ค.ศ.1886 Froude ได้แสดงถึงวิวัฒนาการของรูปแบบใบพัดจากสองใบเป็นสี่ใบ รวมทั้งประโยชน์ใช้สอย พื้นที่ใบพัดรวมเป็นตัวกำหนดอัตราส่วนรูปร่างหรือพื้นที่ยื่นออกมาเป็นพื้นที่

แผ่นกลม และมีค่าอัตราส่วนรูปร่างอยู่ในช่วง 0.45-0.55 พื้นที่ใบพัดทั้งหมดสามารถบอกได้ว่า แรงขับเคลื่อนหรือผิวหน้ามีลักษณะการทำงานของใบพัดเป็นแผ่นแบน หรือเว้าเข้าข้างใน (Robert et al., 1966)

1.2 ความบิดของใบพัด (Pitch) ใบพัดแต่ละใบจะเอียงห่างกันอย่างต่อเนื่องจากต้นถึงปลายใบ ความบิดของใบพัดสูงขึ้นตามจำนวนรอบหมุนและ โดยทั่วไปอุตสาหกรรมมีมาตรฐานความบิดของใบพัด เช่น ค่าความบิดใบพัดเท่ากับเส้นผ่านศูนย์กลาง เป็นต้น

1.3 แขน (Hand) ระยะใบพัดมีความสัมพันธ์กับทิศทางการหมุน เมื่อใบพัดหมุนตามเข็มนาฬิกา หรือจากซ้ายไปขวา (left-handed propeller) เมื่อมองจากด้านบน ของไหลถูกผลักลงด้านล่าง ในทางตรงกันข้ามเมื่อใบพัดหมุนทวนเข็มนาฬิกา หรือจากขวาไปซ้าย (right-handed propeller) ของไหลถูกผลักขึ้นด้านบนที่ภาวะการทำงานที่เหมือนกัน การผลิตใบพัดต่างๆ มีมาตรฐานการออกแบบไม่เหมือนกันทุกชนิด

2. Turbines มีการใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง โดย A.I.Ch.E. “Standard Test Procedure for Impeller-Type Mixing Equipment” (1960) กำหนดว่า เป็นใบพัดที่ต้องมีมุมใบพัดคงที่สัมพันธ์กับแนวตั้งมากกว่าความยาวของใบพัดทั้งหมด ใบพัดแต่ละใบตั้งอยู่ในแนวตั้งหรือที่มุมน้อยกว่า 90 องศา กับแนวตั้ง ใบพัดอาจเป็นรูปโค้งหรือแบน พื้นฐานลักษณะทางกายภาพของ turbine มี 2 ประการ คือ ลักษณะใบพัดแบนเป็นแฉก และใบพัดชนิดบิดพลิกไปตามแกน ดังรูปที่ 1-4 (Robert et al., 1966)

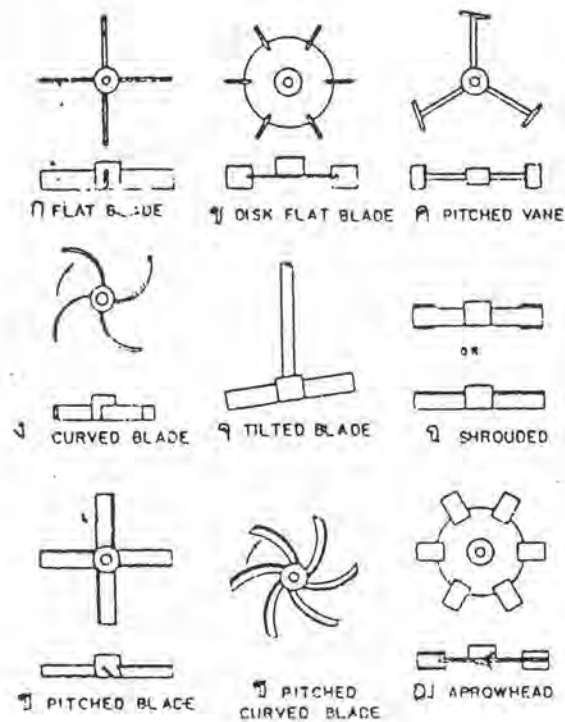
2.1 Flat blade ใบพัดมีลักษณะตรง ความเร็วรอบที่ใช้อยู่ในช่วง 600-900 ฟุตต่อนาที ความกว้างใบพัดที่ใช้ทั่วไป คือ  $1/5 - 1/8$  ของเส้นผ่านศูนย์กลาง

2.2 Disk flat blade นิยมใช้ในอุตสาหกรรม ลักษณะคล้ายกับ flat-blade turbine แต่ต่างกันในเรื่องการใช้กำลังงาน

2.3 Pitched vane ในปี ค.ศ.1946 Brumagin ได้กล่าวไว้ว่า เป็นการดัดแปลงใบพัดแบบ disk อย่างง่าย เพื่อลดพื้นที่ โดยทำให้ใบพัดบิดเอียงตามแนวตั้ง จึงทำให้มีข้อดีในเชิงเศรษฐกิจ คือ ใช้ที่อัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางใบพัดกวนต่อเส้นผ่านศูนย์กลางถังกวน (D/T) และที่ความเร็วรอบสูงๆ ได้ โดยที่ใช้กำลังงานต่ำ หรือเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Robert et al., 1966)

2.4 Curved blade มีลักษณะโค้ง หรือเบนไปทางเดียวกันตลอดตามทิศทางการหมุน เป็นการปรับปรุงจากรูปแบบ flat-blade เพื่อลดผลกระทบจากแรงเฉือนที่จะมีต่อเครื่องกวนรอบนอก ในทางอุตสาหกรรมนิยมใช้กับสารละลายแขวนลอยของแข็งที่เปราะ่วน





รูปที่ 1-4 การออกแบบเครื่องกังหันใบพัด turbine (Robert et al., 1966)

2.5 Tilted blade ในปี ค.ศ.1948 Lyons อธิบายถึง curved blade ที่มีผลกระทบบของการเพิ่มความลึกของการไหล และการปรับปรุงการทำงานทั่วไปโดยไม่ต้องเพิ่มกำลัง (Robert et al., 1966)

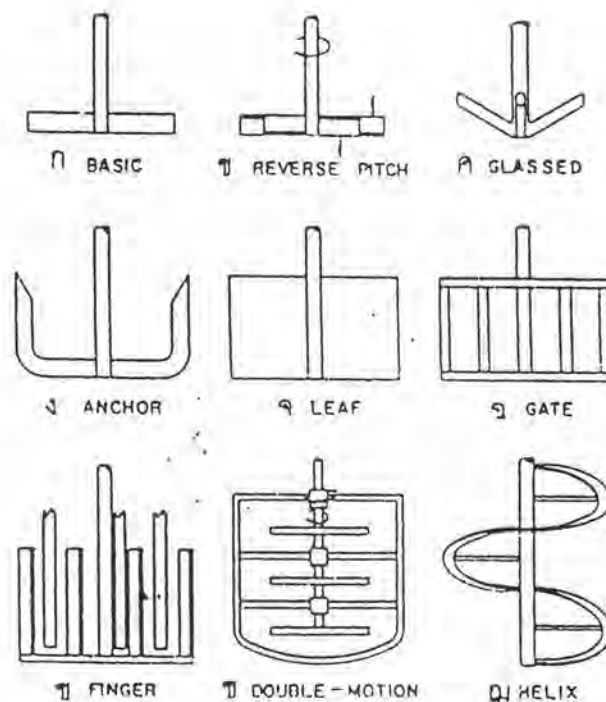
2.6 Shrouded มีการเพิ่มของแผ่นโลหะทั้งหมดหรือบางส่วน ตามแนวราบด้านบนหรือด้านล่างของ turbine ที่ไหลเป็นแฉก เพื่อควบคุมรูปแบบการไหล ดังรูปที่ 1-4 ฉ รูปบนมีแหวนเป็นวงทั้งด้านบนและด้านล่าง ส่วนรูปล่างเป็นการนำแผ่นโลหะติดด้านบนตลอดแนว ในปี ค.ศ.1944 Cooper และคณะใช้ใบพัดชนิดนี้เพื่อกระจายแก๊ส โดยเรียกว่า vaned disk คือ นำแผ่นโลหะติดด้านล่างของใบพัดในตำแหน่งที่อยู่ใกล้พื้นผิวของเหลวเป็นการเพิ่มกระแสนของแก๊สลงในของเหลวให้มากขึ้น (Robert et al., 1966)

2.7 Pitched blade มีมุมใบพัดคงที่ ตลอดความยาวของใบพัดคง และความสามารถของเครื่องกังหันนี้จะเหนือกว่าถ้าตั้งอยู่ในตำแหน่งใกล้กับกันถึง ความลาดชันของใบพัดกังหันอยู่ได้ทุกตำแหน่ง จาก 0 ถึง 90 องศา แต่โดยมาตรฐานคือ 45 องศา เครื่องกังหันนี้ยังเป็นที่รู้จักกันในประเภทของใบพัดลมด้วย (fan type)

2.8 Pitched curved blade ความลาดชันของใบพัดกวนที่โค้งเป็นการรวมของใบกวน ค้างรูปที่ 1-4 ง และ 1-4 ข เข้าด้วยกัน ซึ่งยังไม่มีข้อมูลการทำงานและกำลังงาน จึงไม่เหมาะกับการนำมาใช้งานทั่วไป อีกทั้งโครงสร้างของเครื่องกวนชนิดนี้มีราคาสูง

2.9 Arrowhead ได้มีการศึกษา เครื่องกวนชนิดนี้ในปี ค.ศ.1944 โดย Foust และคณะ และทำการศึกษาค่อยในปี ค.ศ.1947 โดย Olney และ Carlson แต่ไม่ประสบความสำเร็จในการนำไปใช้งาน เครื่องกวนนี้ทำให้เกิดการไหลแบบผสม ตามแนวแกนและเป็นแฉกออกไป (axial and radial) (Robert et al., 1966)

3. Paddles เป็นรูปแบบที่พัฒนาต่อมาเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมการกวนโดยปกติรูปแบบพื้นฐานประกอบด้วยใบพัด 2 ลักษณะ คือ แนวนอน หรือแนวตั้ง และมีอัตราส่วน D/T สูง การออกแบบใบพัดแบ่งได้ดังรูปที่ 1-5



รูปที่ 1-5 การออกแบบเครื่องกวน ใบพัด Paddle (Robert et al.,1966)

3.1 Basic paddle เป็นรูปแบบที่ง่ายที่สุด คือใช้แผ่นโลหะแบนแผ่นเดียววางตามแนวนอน มักมีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางใบพัดต่อเส้นผ่านศูนย์กลางถังกวน อยู่ในช่วง 0.5-

0.9 โดยทั่วไปใช้ความเร็วรอบนอกในช่วง 250-450 ฟุตต่อนาที ส่วนมากในอเมริกาใช้อัตราส่วนความกว้างต่อเส้นผ่านศูนย์กลางใบพัด (w/D)  $1/6 - 1/12$  แต่ในยุโรปใช้ w/D  $1/4 - 1/5$

3.2 Reverse pitch เป็นการปรับปรุงลักษณะของ paddle โดยการพลิกใบพัดด้านบนลงด้านล่าง ดังรูปที่ 1-5 ข มุมใบพัด 45 องศา พลิกผ่านเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ สามส่วนสี่ของเส้นผ่านศูนย์กลางเครื่องกวนและการหมุน ทำให้เกิดการไหลส่วนด้านบนออกเพิ่มขึ้น

3.3 Glassed steel มีใบพัด 3 ใบ แต่ละใบบิดประมาณ 30 องศา จากแนวตั้งหรือโค้ง โดยปกติเครื่องกวนชนิดนี้มีค่า D/T อยู่ในช่วง 0.55-0.65 และใช้งานกับของไหลที่มีความหนืดต่ำ

3.4 Anchor ใบพัดมีรูปร่างคล้ายกันถึงเป็นรูปสมอ หรือรูปเกือบสี่เหลี่ยม ขนาดของใบพัดจำกัดด้วยความยาวของเส้นสัมผัสถึงกวนที่ต่ำสุด หรือใบพัดสูงต่อเนื่องขึ้นตามผนังด้านข้างถึงกวน ช่องว่างระหว่างใบพัดและผนังถึงกวนประมาณ  $1/8 - 3$  นิ้ว ขึ้นกับเส้นผ่านศูนย์กลางและการถ่ายโอนความร้อนที่ต้องการให้เกิด

3.5 Leaf เป็นใบพัดที่มีอัตราส่วน w/D มากที่สุด

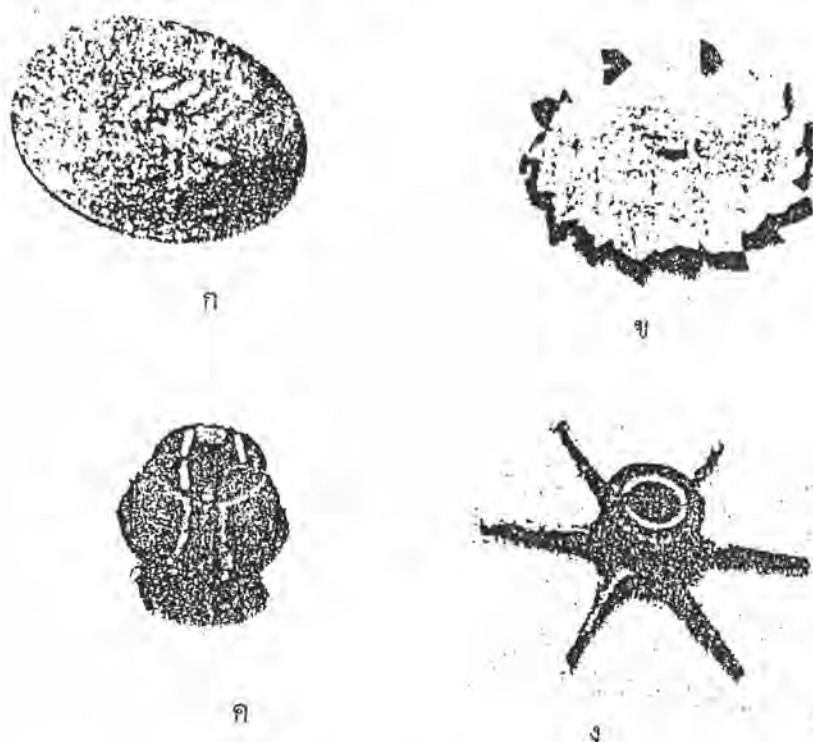
3.6 Gate นำแขนใบพัดจำนวนมากมากต่อกันตามแนวตั้ง การออกแบบนี้มักนำมาใช้กับถังกวนที่มีขนาดใหญ่

3.7 Finger หรือรู้อักในชื่อ paste mixer ด้วย เป็นการนำใบพัดมาต่อรวมกันตามแนวตั้งและมีแผ่นกันแทรก ดังรูปที่ 1-5 ข ใบพัดแบบนี้ใช้กันมานานแต่ไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับกำลังงานหรือการทำงาน การใช้งานเหมาะกับถังกวนขนาดเล็กแบบกะ (น้อยกว่า 1,000 แกลลอน) เพราะการออกแบบโครงสร้างทำได้ยาก

3.8 Double-motion เป็นการนำใบพัดแบบ gate, anchor และ multiple-pitched มารวมกัน การหมุนของสองส่วนสวนทางกัน การขับเคลื่อนเฉพาะที่มีการหมุนสวนทางกันออกจากแกนที่มีจุดศูนย์กลางรวมกัน การใช้เหมาะกับงานที่มีปัญหาต้องการการกวนผสมที่รุนแรงของของไหลที่เป็นนอนนิวโทเนียน (very non-Newtonian fluids)

3.9 Helix รูปร่างภายนอกของใบพัดชนิดนี้มีลักษณะทางกายภาพคล้ายกับ basic paddle น้อยที่สุดใบพัดนี้ทำงานในช่วงการไหลแบบราบเรียบที่ อัตราส่วน D/T สูง ใบพัดปกติเข้ายึด  $1/3 - 1/5$  ของเส้นผ่านศูนย์กลางถึง helical ribbon มีเส้นผ่านศูนย์กลางเกือบเท่ากับเส้นผ่านศูนย์กลางถึง ดังรูปที่ 1-5 ฉ ในอดีตมีการใช้งานน้อยมาก เพื่อกวนผสมของแข็ง แต่ในปี ค.ศ.1957 Nagata ได้นำใบพัดชนิดนี้กลับมาใช้อีก และยังมีนิมใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรม (Robert et al., 1966)

4. High Shear Impellers เครื่องกวนกลุ่มนี้เหมาะกับงานที่มีเลขเรย์โนลด์สูง, มีอัตราส่วน D/T ต่ำ, ความเร็วรอบสูง และพื้นที่ใบพัดน้อย ลักษณะเฉพาะของเครื่องกวนคือ การไหลด้วยความเร็วสูง ส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นแฉก ดังรูปที่ 1-6



รูปที่ 1-6 เครื่องกวนที่มีแรงเฉือนสูง (Robert et al., 1966)

4.1 Disk เป็นแผ่นเหล็กกลมแบน สามารถทำงานที่ความเร็วรอบนอกสูงๆ ใช้กำลังงานต่ำ แต่ความสามารถทำให้เกิดการหมุนเวียนต่ำ จึงจำกัดใช้งานกับของเหลวที่มีความหนืดต่ำมากเท่านั้น ดังรูปที่ 1-6 ก

4.2 Modified disk เป็นการออกแบบให้ขอบของแผ่นเหล็กกลมมีลักษณะเป็นฟันเลื่อย ดังรูปที่ 1-6 ข การปรับปรุงไม่ได้ทำให้แรงเฉือนเพิ่มขึ้น แต่ทำให้แผ่นเหล็กกลมมีความสามารถเพิ่มการหมุนเวียนได้ง่ายขึ้น

4.3 Modified cone คล้ายกรวยปลายเปิดทั้งสองด้าน จุดศูนย์กลางอยู่บนแกน มีการใช้ช่องว่างขวางเพื่อทำให้เกิดการกระจายออกเป็นแฉกผ่านช่องด้านข้าง ดังรูปที่ 1-6 ค

4.4 Modified turbine เป็นการออกแบบให้ flat-blade turbine มีใบพัดค้อยๆ เรียวเล็กลง ทำให้ความสามารถการไหลปรับระดับให้ต่ำได้ตามต้องการเป็นการใช้กำลังให้เกิดประโยชน์มากที่สุด แต่ยังคงต้องการลักษณะแรงเฉือนรอบนอก ดังรูปที่ 1-6 ง

5. Reciprocating Impellers ใบพัดในกลุ่มนี้ทำให้การปะทะกันเกิดไม่ค่อยดีนัก ในอเมริกาพบว่า มีการใช้ในหม้อหนึ่งขนาดเล็กที่มีขดลวดโซลินอยด์

### 1.9 การขยายส่วนการผลิต

ปัจจุบันนี้ความต้องการใช้กรรมนามมีมากขึ้น จึงทำให้ต้องมีการเพิ่มผลผลิตซึ่งทำได้ โดยการขยายส่วนกำลังการผลิตที่ได้จากกระบวนการหมัก โดยต้องอาศัยข้อมูลที่ได้จากการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อออกแบบโรงงานขึ้นผลิต ซึ่งต้องสามารถให้ผลผลิตใกล้เคียงกับระดับห้องปฏิบัติการ ในการขยายส่วนการผลิตจากระดับห้องปฏิบัติการจนมีขนาดใหญ่ขึ้นพบว่า เกิดปัญหาหลายอย่าง ซึ่งปัญหาหนึ่งที่สำคัญ คือ ผลผลิตที่ได้ในระดับที่มีการขยายส่วน มักไม่ดีเท่ากับในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งสาเหตุเกิดจากความแตกต่างในด้านต่างๆ ได้แก่ เทคนิคการให้อากาศและการกวน การทำให้ปลอดเชื้อ การเตรียมหัวเชื้อ การกำจัดฟอง และวัตถุดิบที่ใช้ (Elander, 1989)

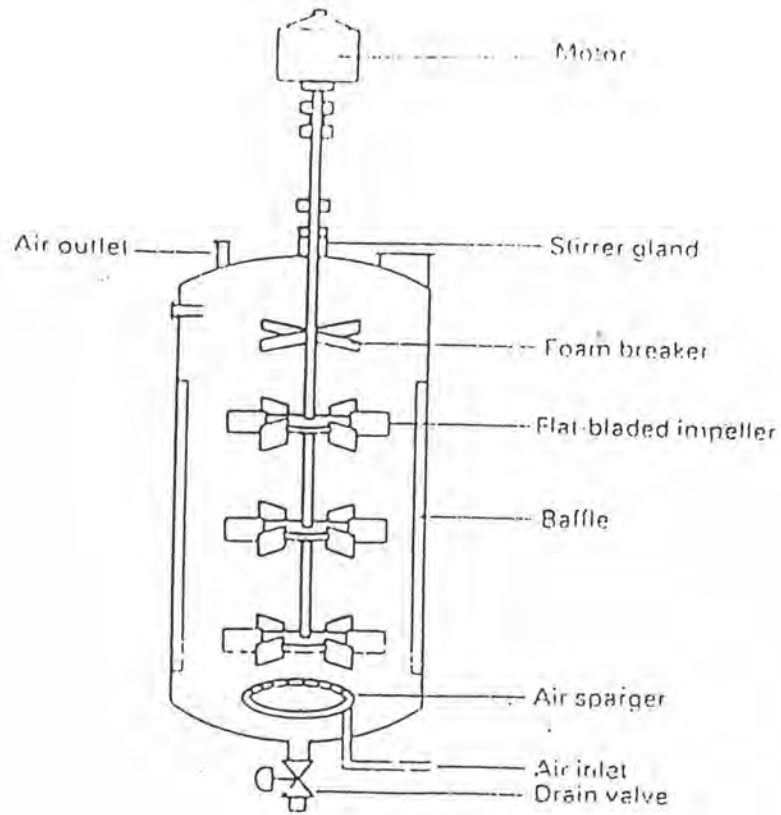
การขยายส่วนการผลิต มีหลักเกณฑ์ที่ต้องใช้พิจารณาในการขยายส่วน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเลือกหลักเกณฑ์ที่ใช้ให้เหมาะสมกับชนิดของเครื่องหมัก ในการหมักที่ใช้ถังหมักที่มีรูปร่างทางเรขาคณิตเหมือนกัน แต่มีขนาดต่างกันนั้น การที่จะทำให้ค่าตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อการผลิตให้คงที่ทั้งหมดนั้นเป็นไปได้ยาก (Wang et al., 1979) ดังนั้นการขยายส่วนอาจไม่จำเป็นต้องคำนึงถึงรูปร่างทางเรขาคณิตที่เหมือนกัน ซึ่งจะทำให้ผู้ออกแบบสามารถออกแบบได้อย่างยืดหยุ่น (Charles, 1985) โดยส่วนประกอบต่างๆ ของถังหมักมีลักษณะ ดังรูปที่ 1-7 และสัดส่วนทางเรขาคณิตของถังหมักมาตรฐานนั้น ได้แสดง ดังรูปที่ 1-8

#### 1.9.1 ปัจจัยการขยายส่วนมีผลต่อการผลิตในทางชีวภาพ ได้แก่

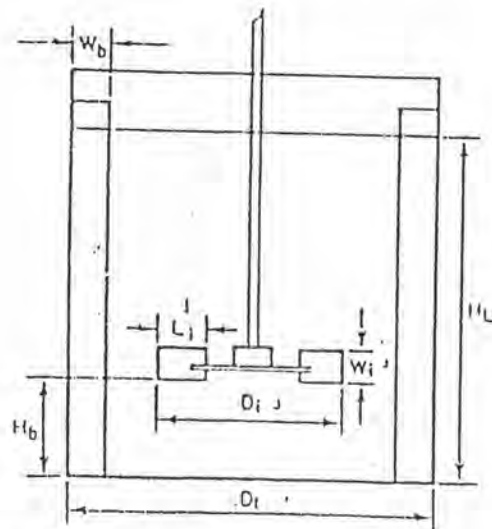
1.9.1.1 ปัจจัยทางฟิสิกส์ ได้แก่ อุณหภูมิ แรงเฉียร์ (shear) เป็นต้น

1.9.1.2 ปัจจัยทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ความสามารถในการละลายของอากาศ เป็นต้น

1.9.1.3 ปัจจัยทางชีวภาพ ได้แก่ ความคงตัวของสายพันธุ์จุลินทรีย์ ปริมาณเซลล์ เป็นต้น



รูปที่ 1-7 ส่วนประกอบต่างๆ ของถังหมัก (Scrugg A.H.,1991)



Geometric ratio for standard fermenter

$\frac{D_i}{D_t}$	$\frac{H_L}{D_t}$	$\frac{L_i}{D_i}$	$\frac{w_i}{D_i}$	$\frac{H_b}{D_i}$	Baffles $N_b$	$\frac{w_b}{D_t}$
0.33	1.0	0.25	0.2	1.0	4	0.1

รูปที่ 1-8 สัดส่วนทางเรขาคณิตของถังหมักมาตรฐาน (Kristiansen and Chamberlain, 1983)

ตารางที่ 1-2 การขยายส่วนการผลิตมีผลต่อการผลิตในทางชีวภาพ

Parameter	Mechanical control mechanism	Biological control mechanism
Physical		
Temperature	Cooling or heating system	Heat of metabolism
Shear	Tank, Impeller design	Rheology
Interphase mass transfer	rpm, agitation	Rheology
Chemical		
pH	Acid or base addition	Uptake rates
Dissolved gasses	Head pressure, transfer rates via rpm	Uptake rates
Other nutrients	Initial medium Feed systems Volume control Sterilization methods	Uptake rates
Product concentrations	Harvest methods	Productivity rates
Biological		
Cell mass	Environmental control via the above	Growth rates
Strain stability	Inoculum methods	Reversion, selection

ที่มา : Dewitt, Jackson and Paulus (1989)

จากตารางที่ 1-2 ปัจจัยที่มีผลต่อการขยายส่วนนั้นมี 3 ปัจจัย โดยสามารถทำการควบคุมปัจจัยได้ 2 กลไก คือ

- ก. การควบคุมโดยกลไกทางกล (Mechanical control mechanism)
- ข. การควบคุมโดยกลไกทางชีวภาพ (Biological control mechanism)

1.9.2 เภณย์กายภาพที่นิยมใช้กำหนดการขยายส่วนของเครื่องหมักแบบถังกวน (Wang et al., 1979) ได้แก่

- ค่าเรโนลด์นัมเบอร์ ( Reynolds number,  $N_{Re}$ )
- ความเร็วรอบของปลายใบพัด ( $\pi n D_i$ )
- อัตราส่วนระหว่างกำลังมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมัก ( $P_g/V$ )
- สัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจน ( $K_L a$ )
- เวลาที่ใช้ในการกวน

1.9.2.1 ค่าเรโนลด์นัมเบอร์ ( Reynolds number,  $N_{Re}$ ) เป็นค่าที่แสดงความรุนแรงในการกวนสามารถคำนวณได้จากสมการ (Aiba, Humphrey and Mills, 1973)

$$\text{เมื่อ Reynolds number } , N_{Re} = \rho n D_i^2 / \mu \quad \text{————— 1}$$

$D_i$  = เส้นผ่านศูนย์กลางของใบพัด (cm)

$n$  = ความเร็วรอบของการกวน ( $\text{sec}^{-1}$ )

$\rho$  = ความหนาแน่นของน้ำหมัก ( $\text{g/cm}^3$ )

$\mu$  = ความหนืดของน้ำหมัก ( $\text{g/cm}\cdot\text{sec}$ )

ถ้ารับการขยายส่วนโดยกำหนดให้ค่า Reynold number คงที่ในการผลิตที่มีขนาดแตกต่างกันจะแสดงได้ดังสมการ

$$\begin{aligned} \text{Reynolds number} & \propto n D_i^2 & \text{————— 2} \\ n_1 D_{i_1}^2 & = n_2 D_{i_2}^2 \end{aligned}$$

### 1.9.2.2 ความเร็วรอบปลายใบพัด ( $\pi n D_i$ )

เนื่องจากเครื่องหมักแบบถังกวนที่มีการผสมดี จะเกิดแรงเฉือนขึ้นภายใน ซึ่งแรงเฉือนนี้มีผลต่อการละลายของออกซิเจนการกระจายของสารอาหารและเซลล์ ซึ่งแรงเฉือนนั้นจะเกิดที่บริเวณปลายของใบพัด ซึ่งความเร็วที่เกิดขึ้นที่ปลายใบพัด แสดงดังสมการ (Pace, 1985)

$$\text{Tip speed} \propto n D_i \quad \text{————— 3}$$

ดังนั้นความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นเมื่อภาวะการหมักเหมือนกันในการผลิตที่มีขนาดแตกต่างกันจะได้ว่า



เมื่อ

$$n_1 D_{i1} = n_2 D_{i2} \quad \text{-----} \quad 4$$

$D_i$  = เส้นผ่านศูนย์กลางของใบพัด (cm)

$n$  = ความเร็วรอบของการกวน ( $\text{sec}^{-1}$ )

### 1.9.2.3 อัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมัก ( $Pg/V$ )

เนื่องจากอัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมัก ( $Pg/V$ ) มีความสัมพันธ์กับค่า power number ( $N_p$ ) ซึ่งเป็นค่าที่ถูกกำหนดขึ้นจากตัวแปรของการเปลี่ยนแปลงขนาดที่มีความสัมพันธ์กับ กำลังของมอเตอร์ ที่ต้องใช้ในถังหมักแบบถังกวน ซึ่งเราสามารถคำนวณได้จาก (Aiba et al., 1973)

$$\begin{aligned} \text{Power number} = N_p &= \frac{Pg_c / n D_i \times 1 / D_i^3}{\rho n^2 D_i} \\ &= Pg_c / n^3 D_i^5 \rho \quad \text{-----} \quad 5 \end{aligned}$$

เมื่อ

$n$  = ความเร็วรอบของการกวน ( $\text{sec}^{-1}$ )

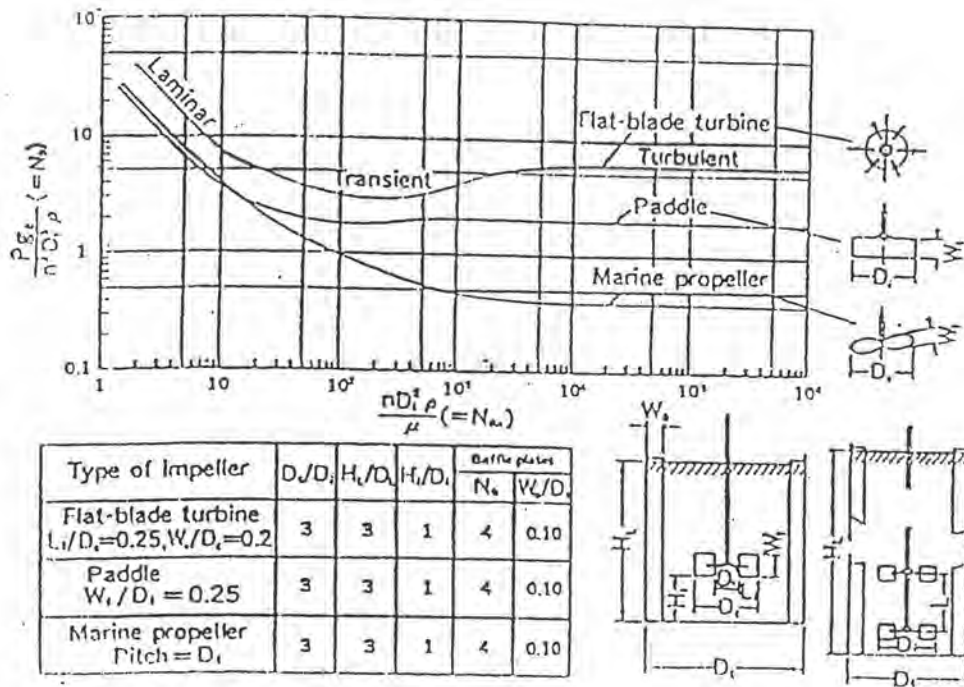
$P$  = กำลังของมอเตอร์ ( $\text{kgm} / \text{sec}$ )

$g_c$  = conversion factor ( $\text{kgm} / \text{kg sec}^2$ )

$D_i$  = เส้นผ่านศูนย์กลางของใบพัด (cm)

$\rho$  = ความหนาแน่นของน้ำหมัก ( $\text{g} / \text{cm}^3$ )

และเนื่องจาก power number ( $N_p$ ) มีความสัมพันธ์กับค่า Reynolds number ( $N_{Re}$ ) จากสภาวะการไหลในลักษณะต่างๆ ดังรูปที่ 1-9



รูปที่ 1-9 ความสัมพันธ์ของ  $N_p$  และ  $N_{Re}$  (Aiba et al., 1973)

จากสภาพการไหลลักษณะต่างๆ จะได้ความสัมพันธ์ของ  $N_p$  และ  $N_{Re}$  ดังนี้คือ (Miura, 1976)

- เมื่อการไหลมีลักษณะแบบราบเรียบ (laminar flow) ซึ่งค่า  $N_{Re}$  มีค่า  $< 10$  มีความชัน = -1 จึงได้ความสัมพันธ์ว่า

$$N_p = K_1 (N_{Re})^{-1} \quad \text{----- 6}$$

- เมื่อการไหลมีลักษณะแบบปั่นป่วน (turbulent flow) ซึ่งค่า  $N_{Re}$  มีค่า  $> 10^4$  มีความชัน = 0 จะทำให้ค่า  $N_p$  ได้ความสัมพันธ์ว่า

$$N_p = K_1 \quad \text{----- 7}$$

สำหรับการขยายส่วนที่มีลักษณะทางเรขาคณิตเหมือนกัน โดยการกำหนดให้อัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรของน้ำหมักคงที่ โดยที่ถึงหมักมาตรฐาน ซึ่งได้ออกแบบให้มีการไหลเป็นแบบปั่นป่วน (turbulent flow) และมีการใช้ใบพัดแบบ flat-blade turbine สามารถแสดงได้ดังสมการ คือ

$$\begin{aligned} N_p &= K_1 \\ P_{g_c} / n^3 D_i^5 \rho &= K_1 \\ P_{g_c} &= K_1 n^3 D_i^5 \rho \end{aligned} \quad \text{————— 8}$$

ในการขยายส่วนโดยกำหนด ให้อัตราส่วนระหว่างกำลังมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมักคงที่นั้น จะได้ว่า

$$P_{g_c} / V = K_1 n^3 D_i^5 \rho / V \quad \text{————— 9}$$

โดยที่ปริมาตรของถังหมักมาตรฐานนั้นมีความสัมพันธ์เป็น

$$V \propto D_i^3$$

ทำให้

$$\begin{aligned} P_{g_c} / V &= K_1 n^3 D_i^5 \rho / D_i^3 \\ P_{g_c} / V &= K_1 n^3 D_i^2 \rho \end{aligned} \quad \text{————— 10}$$

ดังนั้นความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นเมื่อภาวะการหมักเหมือนกัน ในการผลิตที่มีความแตกต่างกันจะได้ว่า

$$n_1^3 D_{i1}^2 = n_2^3 D_{i2}^2 \quad \text{————— 11}$$

$$n_2 = n_1 (D_{i1} / D_{i2})^{2/3} \quad \text{————— 12}$$

#### 1.9.2.4 สัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจน ( $K_L a$ )

สำหรับการหมักโดยจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ ปัญหาที่สำคัญ คือ การละลายของออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงซึ่งเป็นปัจจัยที่ต้องควบคุมเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์มีความต้องการอากาศเพื่อใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม ซึ่งมีความต้องการอากาศหรือ ออกซิเจน

ในอาหารเลี้ยงนั้น แสดงได้โดยอาศัยความสัมพันธ์ของการถ่ายเทออกซิเจน (oxygen transfer rate = OTR)

$$\text{OTR} = K_{L,a} (C^* - C) \quad \text{————— 13}$$

เมื่อ

OTR = อัตราการถ่ายเทออกซิเจน

$K_{L,a}$  = สัมประสิทธิ์การถ่ายเทออกซิเจน ( $\text{hr}^{-1}$ )

$C^*$  = ความเข้มข้นอิ่มตัวของออกซิเจนที่ละลายในอาหารเหลว ( $\text{mmol/l}$ )

$C$  = ความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายได้ในอาหารเหลว ( $\text{mmol/l}$ )

และเนื่องจากรูปแบบและขนาดของถังหมักมีความสัมพันธ์กับการกำหนดค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทออกซิเจนซึ่งมีความสัมพันธ์ดังนี้ (Pace, 1985)

$$K_{L,a} = f (Pg/V)^2 (Vs)^3 (B/6)^{0.8} (J/Di)^{0.3} \quad \text{————— 14}$$

เมื่อ

$Pg$  = กำลังที่ใช้ในการกวน (hp)

$Vs$  = ความเร็วของอากาศ ( $\text{cm/sec}$ )

$Di$  = เส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวน (cm)

$B$  = จำนวนใบพัด

$J$  = ความกว้างของครีป (baffle) (cm)

$V$  = ปริมาตรในถังหมัก (cm)

สำหรับการขยายส่วน การกำหนดให้ลักษณะทางเรขาคณิตของถังหมักเหมือนกันจะได้ความสัมพันธ์ใหม่เป็น (Scragg A.H., 1991)

$$K_{L,a} = K (Pg/V)^\alpha (Vs)^\beta \quad \text{————— 15}$$

โดยที่

$K$  = ค่าคงที่

$\alpha$  = ค่าคงที่

$\beta$  = ค่าคงที่

จากสมการที่ 15 ในกรณีที่ไม่สามารถวัดอัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมักได้ โดยตรงนั้น สามารถที่จะใช้ค่าความเร็วรอบของการกวนแทนได้เนื่องจากอัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมักนั้นเปลี่ยนแปลงตามความเร็วรอบของการกวน ดังนั้นจะได้สมการใหม่เป็น

$$K_r a = K (n)^\alpha (Vs)^\beta \quad \text{————— 16}$$

เมื่อ

$$n = \text{ความเร็วรอบของการกวน (sec}^{-1}\text{)}$$

#### 1.9.2.5 เวลาที่ใช้ในการกวนผสม

ในการผลิตที่มีการเพิ่มขนาดมากขึ้น หรือมีการขยายส่วนการผลิตขึ้น พบว่าปัญหาที่มักเกิดขึ้นคือ ในถังหมักที่มีขนาดใหญ่ซึ่งมีปริมาตรมากกว่า 5,000 ลิตร จะเกิดการกวนผสมไม่ดีเท่ากับถังหมักที่มีขนาดเล็กที่ซึ่งมีปริมาตรน้อยกว่า 500 ลิตร ทำให้ในถังหมักขนาดใหญ่มีลักษณะของมวลสารไม่เป็นเนื้อเดียวกัน Wang และคณะ (1979) ได้ใช้ dimensional analysis techniques พิจารณาค่าเวลาที่ใช้ในการกวนผสมสำหรับถังหมักที่มีลักษณะทางเรขาคณิตเหมือนกัน โดยกำหนดให้อัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมักมีค่าคงที่ ได้ความสัมพันธ์ดังนี้

$$t_{m1} / t_{m2} = (D_{i1} / D_{i2})^{11/18} \quad \text{————— 17}$$

เมื่อ

$$t_m = \text{เวลาที่ใช้ในการกวนผสม (hr)}$$

$$D_i = \text{เส้นผ่านศูนย์กลางของใบพัด (cm)}$$

สำหรับเวลาที่ใช้ในการกวนผสม หาโดยดูเวลาที่ในห้องค์ประกอบต่างๆ มีการผสมกันจนเป็นเนื้อเดียวกันซึ่งสามารถวัดโดยติดตามเวลาที่เกิดการกระจายตัวของ Tracer ได้แก่ สารละลายที่เป็นกรด-เบส จากสมการเมื่อขยายขนาดของถังหมักเพิ่มขึ้น เวลาที่ใช้ในการกวนจะเพิ่มขึ้น

### 1.10 มุลเหตุุงใจในการทำวิจัย

เนื่องจากปัจจุบันกรรมมะนาวถูกนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายชนิดอีกทั้งแนวโน้มความต้องการกรรมมะนาวยังเพิ่มขึ้นเป็นเหตุให้ประเทศไทยต้องนำเข้ากรรมมะนาวให้พอเพียงกับความต้องการ ดังแสดงในตารางที่ 1-3 อีกทั้งประเทศไทยมีแหล่งวัตถุดิบมากมายที่

สามารถใช้ผลิตภัณฑ์มะนาวได้ เช่น มันสำปะหลัง ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งโดยประเทศไทยได้ส่งแป้งมันสำปะหลังเป็นสินค้าออกไปขายทั่วโลกแต่มูลค่าการส่งออกยังค่อนข้างต่ำ ดังแสดงในตารางที่ 1-4 ดังนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่วัตถุดิบทางคณะผู้วิจัยจึงได้เห็นความสำคัญในส่วนนี้ จึงได้ดำเนินการวิจัยเกี่ยวกับการผลิตกรรมมะนาวอย่างต่อเนื่อง คือ คัดเลือกสายพันธุ์ จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรรมมะนาวได้ผลผลิตสูงโดย เรวัตี เลิศไทรรักษ์ (2535) ศึกษาเพื่อหา สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตในระดับขวดเขย่าและถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยประเสริฐ หาญเมืองใจ (2537)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาต่อ โดยการออกแบบสร้างถังหมักเพื่อผลิตกรรมมะนาว เพื่อใช้เป็นแนวทางการผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

ตารางที่ 1-3 ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าและส่งออกกรรมมะนาวในประเทศไทย ระหว่างปี

พ.ศ.2531-2542

ปี พ.ศ.	การนำเข้า		การส่งออก	
	ปริมาณ (กิโลกรัม)	มูลค่า (บาท)	ปริมาณ (กิโลกรัม)	มูลค่า (บาท)
2531	771,111	26,127,503	122,335	4,497,815
2532	1,460,893	45,802,953	26,800	958,788
2533	2,113,734	57,264,118	-	-
2534	2,398,451	64,844,372	-	-
2535	3,985,387	131,742,434	1,600	79,788
2536	2,226,539	72,735,321	-	-
2537	3,484,410	101,905,659	-	-
2538	3,826,454	144,210,978	123,137	4,779,426
2539	3,056,073	102,561,454	6,725	3,901,360
2540	4,535,422	150,003,744	33,738	21,446,585
2541	1,285,372	52,478,529	60,923	58,005,738
2542	4,741,274	178,966,713	72,957	62,347,711

ที่มา : กรมศุลกากร

ตารางที่ 1-4 ปริมาณและมูลค่าการส่งออกแป้งมันสำปะหลังของประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ.  
2534-2540

ปีพ.ศ.	ปริมาณที่ส่งออก (กิโลกรัม)	มูลค่าการส่งออก (บาท)
2534	295,140,190	1,787,450,241
2535	318,562,014	1,840,411,172
2536	216,113,635	1,158,301,128
2537	466,767,684	2,619,651,418
2538	447,624,757	3,487,743,769
2539	451,124,862	3,358,476,469
2540* (ม.ค.-ต.ค.)	516,104,973	3,624,919,536

ที่มา : กรมศุลกากร

#### 1.11 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

ออกแบบสร้างถังหมักเพื่อผลิตกรดมะนาวจากยีสต์สายพันธุ์ *Candida oleophila* C-73

#### 1.12 ขั้นตอนการทำวิจัย

1. ค้นคว้าและรวบรวมข้อมูลจากรายงาน เอกสารและสิทธิบัตร
2. ศึกษาการผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตรเพื่อรวบรวมข้อมูลพื้นฐาน
3. ออกแบบสร้างถังหมักสำหรับผลิตกรดมะนาว
4. ขยายส่วนการผลิตกรดมะนาวในถังหมักที่สร้างขึ้น