

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ประวัติความเป็นมา

กรดมะนาว (citric acid) มีชื่อทางเคมีว่า กรด 2-ไฮดรอกซี-1,2,3-โพเพนไตรคาร์บอกซิลิก ใน 1 โมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอน 6 อะตอมและมีหมู่ฟังก์ชัน 2 ชนิด ได้แก่ หมู่คาร์บอกซิล 3 หมู่ และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ เป็นกรดอินทรีย์ที่สำคัญ พบทั่วไปในพืชและสัตว์เนื่องจากเป็นสารตัวกลางในวัฏจักรเครบส์ (Kreb's cycle) พบมากในผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว เช่น มะนาว ส้ม และองุ่น เป็นต้น การผลิตกรดมะนาวเป็นการค้าในระยะแรกๆนั้นผลิตจากน้ำผลไม้โดยการตกตะกอนสารละลายของกรดมะนาวในน้ำผลไม้ในรูปของแคลเซียมซิเตรตเรียกกรดมะนาวที่ผลิตได้นี้ว่ากรดมะนาวธรรมชาติ (natural citric acid) ซึ่งได้ผลผลิตต่ำทำให้ไม่เพียงพอต่อความต้องการและราคาแพง (Kubicek and Rohr, 1986) ในปี ค.ศ.1880 Grimoux และ Adams ได้สังเคราะห์กรดมะนาวจากกลีเซอรอล แต่เนื่องจากวัตถุดิบมีราคาแพง, ต้องใช้ปฏิกิริยาหลายขั้นตอน ใช้สารก่อปฏิกิริยาที่เป็นอันตรายและให้ผลผลิตไม่คุ้มค่าจึงไม่เหมาะที่จะใช้เป็นการค้า (Mattey, 1992; Milsom and Meers, 1985) ในปี 1893 Wehmer ค้นพบการผลิตกรดมะนาวจากจุลินทรีย์เป็นครั้งแรกโดยพบเชื้อรา 2 ชนิดคือ *Mucor* และ *Citromyces* (ปัจจุบันคือ *Penicillium*) สามารถผลิตกรดมะนาวในอาหารที่มี น้ำตาลซูโครสเป็นองค์ประกอบ (Marison, 1988) และเรียกกรดมะนาวชนิดที่ผลิตโดยวิธีนี้ว่า กรดมะนาวจากการหมัก (fermentation citric acid) แต่ยังไม่สามารถผลิตเป็นการค้าได้ ในปี 1917 Currie ได้รายงานการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อราสายพันธุ์ *Aspergillus niger* สามารถผลิตกรดมะนาวได้ดีในอาหารที่มีน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนและมีค่าความเป็นกรดเบสต่ำซึ่งช่วยลดปัญหาการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆได้ (Kubicek and Rohr, 1986) ปี ค.ศ.1923 Currie ร่วมกับบริษัท Chas.Pfizer&Co.Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกาได้นำเชื้อราสายพันธุ์ดังกล่าวไปใช้ผลิตกรดมะนาวในระดับอุตสาหกรรม โดยใช้กระบวนการหมักบนผิวหน้าอาหาร (surface culture) จากวัตถุดิบที่เป็นน้ำตาลซูโครสและกากน้ำตาล หลังสงครามโลกได้มีการพัฒนากระบวนการผลิต เป็นการหมักในสภาพอาหารเหลว (submerged culture) จากวัตถุดิบที่เป็นน้ำเชื่อมกลูโคสและกากน้ำตาล (Milsom and Meers, 1985) การผลิตกรดมะนาวโดยจุลินทรีย์นอกจากเชื้อราแล้วยังพบว่าแบคทีเรียและยีสต์หลายสกุลก็สามารถผลิตกรดมะนาวได้เช่นกัน (Grewal and Kulra, 1995) ปัจจุบันมีการผลิตกรดมะนาวจากกระบวนการหมักซึ่งส่วนใหญ่ผลิตโดยเชื้อรา *Aspergillus niger* และบางส่วนผลิตโดยยีสต์ *Yarrowia lipolytica* (Grewal and Kulra, 1995; Mattey, 1992) สำหรับแบคทีเรียไม่ได้ได้รับความสนใจเพราะให้ผลผลิตต่ำเมื่อเทียบกับราและยีสต์ (Marison, 1988)

1.2 การผลิตกรดมะนาวด้วยยีสต์

การผลิตกรดมะนาวจากยีสต์เริ่มครั้งแรกในปี ค.ศ.1932 โดย Wieland และ Sanderhoff เป็นการผลิตกรดมะนาวในอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตและนอร์มัลอัลเคนเป็นแหล่งคาร์บอน (Mattey, 1992; Milsom and Meers, 1985) ยีสต์ที่ผลิตกรดมะนาวโดยเฉพาะสกุล *Candida* (syn. *Saccharomycopsis*, *Yarrowia*) เป็นสกุลที่ใช้กันอย่างกว้างขวางเช่น *Candida lipolytica* (Tabuchi and Igoshi, 1978), *Candida utilis* (Cassio and Leao, 1991) และ *Candida oleophila* (Iizuka et al. 1971) เป็นต้น การผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ได้รับความสนใจเนื่องจากยีสต์มีข้อดีหลายประการเมื่อเทียบกับเชื้อรา เช่นยีสต์สามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายชนิดและสามารถทนต่อความเข้มข้นของสับสเตรตสูงๆได้ทำให้มีโอกาสเลือกสับสเตรตที่เหมาะสมที่สุด, ยีสต์มีการเจริญเร็วกว่าราทำให้ระยะเวลาในการหมักสั้นลง, การเพาะเลี้ยงยีสต์ทำได้ง่ายกว่าราและสามารถพัฒนาการผลิตเป็นแบบกระบวนการต่อเนื่องได้ในการผลิตกรดมะนาวในสภาพอาหารเหลว ยีสต์มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวจึงไม่มีปัญหาการกักขังของเส้นใยโดยการกวนในขณะหมักแบบเดียวกับรา ไม่ไวต่อไอออนของโลหะคั่งนั้นยีสต์จะให้ผลผลิตสูงกว่ารา (Marison, 1988) แต่การผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์มีข้อเสียคือมีการปนเปื้อนของกรดไอโซซิเตริกจึงทำให้ต้องมีการคัดเลือกและปรับปรุงสายพันธุ์ ตลอดจนหาภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้ได้กรดมะนาวปริมาณมากและกรดไอโซซิเตริกปริมาณต่ำลง การผลิตกรดมะนาวโดยใช้ยีสต์ในสภาพอาหารเหลว ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากในประเทศอุตสาหกรรม เนื่องจากให้ผลผลิตสูง ใช้แรงงานต่ำและใช้พื้นที่น้อยและควบคุมภาวะต่างๆในระหว่างการหมักได้ดี เนื่องจากสามารถป้องกันการปนเปื้อนได้ง่าย นอกจากนี้ยังมีการศึกษากระบวนการหมักแบบแบ่งเติมสารอาหาร (fed-batch fermentation) (Rane and Sims, 1995) กระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง (continuous fermentation) (Aiba and Matsuoka, 1979) และยังมี การเอาเทคนิคการตรึงเซลล์ (cell immobilization) มาใช้ในการผลิตกรดมะนาวจากยีสต์ (Kautola et al. 1991) อีกด้วย

1.3 ประวัติการเวียนเซลล์เพื่อนำกลับมาใช้ใหม่

ในปี 1986 Enzminger กับ Asenjo ศึกษาการผลิตกรดมะนาวแบบต่อเนื่องด้วย *Saccharomycopsis lipolytica* Y 7576 ที่ได้เวียนนำกลับมาใช้ใหม่โดยเมมเบรนแบบ hollow fiber ultrafiltration ขนาด molecular weight cut-off 10,000 ดาลตัน โดยใช้อัตราการเจือจางเท่ากับ 0.015 ชั่วโมง⁻¹ ได้ผลผลิตกรดมะนาว (productivity) 0.83 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง มีการผลิตคงที่กว่า 200 ชั่วโมง (Enzminger and Asenjo, 1986)

ในปี 1987 Kim และคณะ ได้ศึกษาการผลิตกรดมะนาวแบบต่อเนื่องด้วย *Saccharomycopsis lipolytica* D 1805 ที่ได้เวียนนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่เพื่อพัฒนาการหมักให้มีความมีชีวิตของยีสต์คงที่ พบว่า อัตราการผลิตกรดมะนาวจำเพาะมีค่าประมาณ 14-16 มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์ต่อชั่วโมง โดยความมีชีวิต (viability) ยังใกล้เคียงกันตลอด 600 ชั่วโมง (Kim et al., 1987)

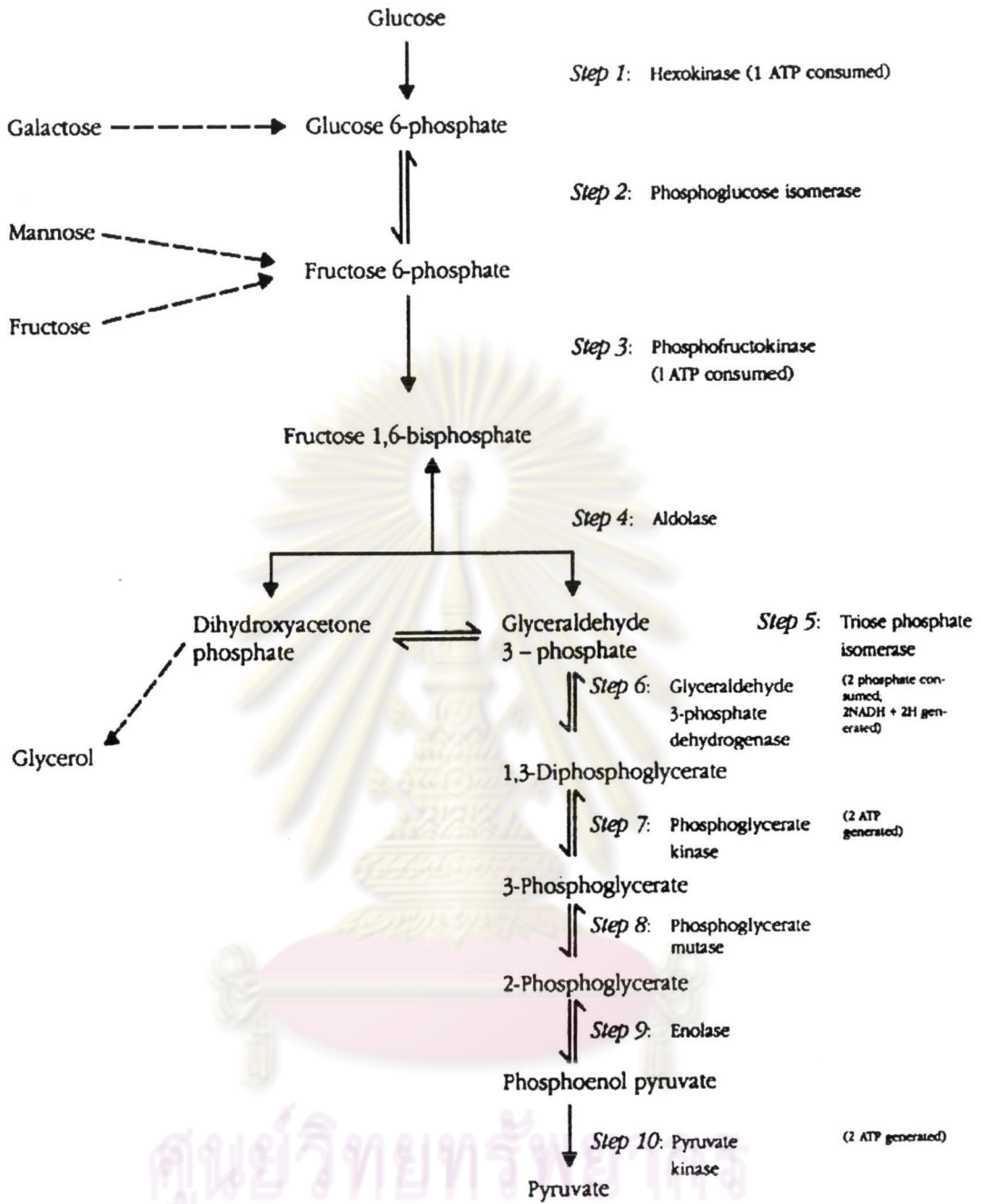
ในปี 1995 Rane และ Sims ศึกษาการผลิตกรดมะนาวโดยใช้ *Candida lipolytica* Y 1095 ที่เวียนกลับมาใช้ใหม่พบว่ายีสต์สามารถทนต่อภาวะ nitrogen-deficient และทนต่อแรงเฉือนที่เป็นผลมาจากปั๊มและการไหลผ่านเมมเบรนแบบ hollow fiber ultrafiltration ได้ค่าสัมประสิทธิ์ของกรดมะนาว (Yp/s) 0.65 กรัมต่อกรัมกลูโคส และอัตราการการผลิตกรดมะนาวจำเพาะ 24.9 มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์ต่อชั่วโมง (Rane and Sims, 1995)

ในปี 1995 Parente และคณะ ผลิตกรดมะนาวจาก *Yarrowia lipolytica* NRRL Y 7576 ได้ค่าสัมประสิทธิ์ของกรดมะนาว (Yp/s) 0.571 ± 0.077 กรัมต่อกรัมกลูโคส และเมื่อเวียนเซลล์กลับมาใช้ผลิตใหม่โดยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ปลอดภัย ได้ค่าสัมประสิทธิ์ของกรดมะนาว 0.475 ± 0.032 และ 0.339 ± 0.045 กรัมต่อกรัมกลูโคส ในการผลิตครั้งที่ 1 และ 2 ตามลำดับ (Parente et al., 1995)

ในปี 1997 Lopresti S. และคณะ ได้ผลิตกรดมะนาวแบบ fed-batch โดยเวียนเซลล์ *Yarrowia lipolytica* ATCC 20346 ด้วย cross-flow microfiltration พบว่าเมื่อจำนวนรอบการผลิตมากขึ้น ผลผลิตกรดมะนาว (productivity) จะลดลงขณะที่ค่าสัมประสิทธิ์ของกรดมะนาวต่อกรัมกลูโคส (Yp/s) คงที่ (Lopresti et al., 1997)

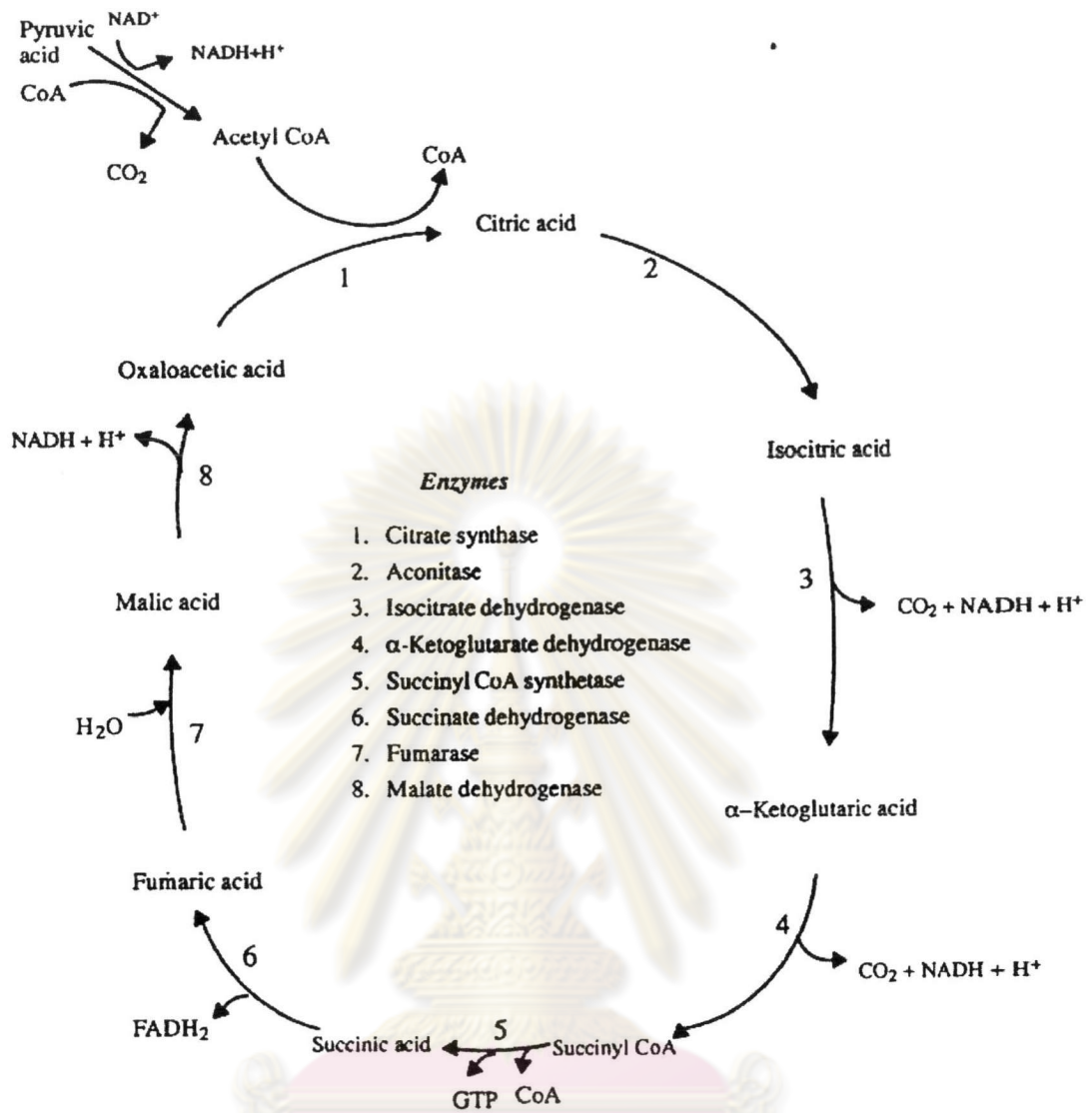
1.4 ชีวิตเม็ชของการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อยีสต์

การผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์จากน้ำตาลกลูโคสนั้น น้ำตาลกลูโคสจะถูกเปลี่ยนเป็นไพรูเวต (pyruvate) โดยวิถีไกลโคไลซิส (glycolysis pathway) ซึ่งแสดงในรูปที่ 1.1 ซึ่งกรดมะนาวจะเป็นสารตัวกลางที่สำคัญในวัฏจักรเครปส์ (Kreb's cycle) ซึ่งแสดงในรูปที่ 1.2 และไพรูเวตที่เกิดขึ้นจะถูกเปลี่ยนไปเป็น อะซิติล-โคเอ (acetyl-CoA) เพื่อเข้าสู่การผลิตกรดมะนาวโดยอะซิติล-โคเอ ที่เกิดจะรวมกับออกซาโลอะซิเตรท (oxaloacetate) โดยเอนไซม์ซิเตรตซินเทส (citrate synthase) ได้กรดมะนาวเกิดขึ้นในระหว่างการสะสมกรดมะนาว ออกซาโลอะซิเตรตถูกสร้างขึ้นในระหว่างการสะสมกรดมะนาว ออกซาโลอะซิเตรตถูกสร้างขึ้นโดยเอนไซม์ปฏิกิริยา การสร้างทดแทน (anaplerotic reaction) ซึ่งเกิดจากไพรูเวตร่วมกับคาร์บอนไดออกไซด์ โดยเอนไซม์ไพรูเวตคาร์บอกซิเลส (pyruvate carboxylase) (Milsom and Meers, 1985) การสะสมกรดมะนาวในอาหารเลี้ยงเชื้อเกิดขึ้นเนื่องจากมีความผิดปกติของวัฏจักรเครปส์ โดยมีเอนไซม์สำคัญ 2 ชนิดได้แก่ อะโคนิเตส (aconitase) และ ไอโซซิเตรต ดีไฮโดรจีเนส (isocitrate dehydrogenase) ซึ่งในช่วงที่มีการผลิตกรดมะนาวเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด จะมีกิจกรรม (activity) ลดลง ในขณะที่เอนไซม์ซิเตรตซินเทส มีกิจกรรมสูงขึ้น (Marison, 1988)



รูปที่ 1.1 วิถีไกลโคไลซิสของยีสต์ (Walker, 1998)

ศูนย์วิทยุทรงคุณวุฒิ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1.2 วิธีการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ผ่านทางวัฏจักรเครปส์ (Walker, 1998)

ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์

1.5.1 สายพันธุ์ของยีสต์

ปัจจุบันพบว่า ยีสต์หลายสายพันธุ์โดยเฉพาะในกลุ่ม *Candida sp.* สามารถผลิตกรดมะนาวได้ดี การผลิตกรดมะนาวควรมีหลักดังนี้คือ มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตกรดมะนาว และยีสต์ที่ควบคุมการผลิตกรดมะนาวมีเสถียรภาพให้ผลผลิตสม่ำเสมอ สามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายชนิด ให้กรดชนิดอื่นที่ไม่ต้องการในปริมาณน้อย ทนต่อโลหะหนักที่มีผลต่อการผลิตได้สูง มีกิจกรรมของเอนไซม์อะโคนิเตสต่ำ และใช้ระยะเวลาในการหมักสั้น

1.5.2 ภาวะที่เหมาะสมในการผลิต

1.5.2.1 สารแหล่งคาร์บอน

การผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์สามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายชนิด ดังมีรายงานการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์จากสารแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ได้แก่ กลูโคส (Rane and Sims, 1993) แอลกอฮอล์ กลีเซอรอล กรดไขมัน นอร์มัล-พาราฟฟิน (Ikeno et al., 1975) ฟรุคโทส กากน้ำตาล แป้งมันสำปะหลังที่ย่อยแล้วด้วยเอนไซม์ (Shah et al., 1993) เซลลูโลสที่ผ่านการย่อยแล้ว (Asenjo et al., 1982 ; Maddox et al., 1985) สารไฮโดรคาร์บอน (Gledhill et al., 1973) โดยที่ชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในการผลิตกรดมะนาวนั้น ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ที่ใช้นอกจากนี้ควรเป็นสารที่หาได้สม่ำเสมอ และราคาถูกเพื่อให้สามารถขยายไปสู่ระดับอุตสาหกรรมได้

1.5.2.2 สารแหล่งไนโตรเจน

การผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์นั้นจำเป็นต้องควบคุมปริมาณสารแหล่งไนโตรเจนเพียงพอต่อการเจริญเท่านั้น เนื่องจากยีสต์จะสะสมกรดมะนาวหลังจากที่แหล่งไนโตรเจนในอาหารถูกใช้หมดแล้ว (Mckay et al., 1994) สำหรับชนิดของสารแหล่งไนโตรเจนพบว่ายีสต์สามารถใช้ได้ทั้งในรูปของอินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ สารสกัดจากยีสต์ เปปโตน น้ำแช่ข้าวโพด (cornsteep liquor) ส่วนอนินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมไนเตรด เป็นต้น ชนิดของสารแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ยีสต์ ซึ่งอาจเลือกใช้ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือใช้ควบคู่กันก็ได้ (Abou-Zeid and Ashy, 1984)

1.5.2.3 ฟอสเฟต

ฟอสเฟตเป็นสารที่จำเป็นต่อการเจริญและการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ ซึ่งยังไม่ทราบแน่ชัดถึงกลไกการควบคุมทางชีวเคมีและทางชีวภาพ แต่อาศัยหลักความจริงที่ว่า ฟอสฟอรัสเป็นปัจจัยที่จำเป็นต่อเมตาบอลิซึม เพื่อให้ได้พลังงาน และยังเป็นองค์ประกอบของ

ส่วนสำคัญต่างๆ ในเซลล์ เช่น กรดนิวคลีอิก นิวคลีโอไทด์ และฟอสฟอลิปิด เป็นต้น ดังนั้นการจำกัดปริมาณฟอสเฟต ซึ่งมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ และการไม่แสดงออกของยีนส์ ทำให้เกิดการสะสมของกรดมะนาว (Kubicek and Rohr, 1986) โดยรูปของฟอสเฟตที่นิยมใช้คือ โปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต

1.5.2.4 แร่ธาตุ

แร่ธาตุหลายชนิดมีผลต่อการเจริญและการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ ได้แก่ แมกนีเซียม แมงกานีส เหล็ก ทองแดง สังกะสี ตะกั่ว เป็นต้น ในปี 1970 Shimizu และคณะ พบว่า แมกนีเซียมซัลเฟต และแมงกานีสซัลเฟต เป็นแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการผลิตกรดมะนาว (อ้างถึงใน Abou-Zeid and Ashy, 1984) และแมกนีเซียมยังเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์หลายชนิดภายในเซลล์ ที่สำคัญคือ เอนไซม์จำพวกไคเนส (Marison, 1988) จากรายงานของ Furukawa และคณะ (1977) พบว่าการเติมเหล็กซัลเฟตลงในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้เชื้อ *Candida sp.* ผลิตกรดมะนาวได้น้อยลงแต่ผลิตกรดไอโซซิทริกมากขึ้น แต่การเติมทองแดงซัลเฟตให้มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ได้ปริมาณกรดมะนาวเพิ่มขึ้น แต่การเพิ่มปริมาณทองแดงซัลเฟตจะทำให้การผลิตกรดไอโซซิทริกลดลง Fired (1972) ได้รายงานว่าการเลี้ยงเชื้อ *Candida sp.* ในอาหารที่มีตะกั่วปริมาณ 0.5 – 1.5 กรัมต่อลิตร ทำให้ได้กรดมะนาวสูงกว่าอาหารที่ไม่มีการเติมตะกั่ว ส่วนเหล็กไอออนจะช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์อะโคนิตเอสทำให้กรดมะนาวถูกเปลี่ยนเป็นกรดไอโซซิทริก

1.5.2.5 สารเสริมอื่นๆ

นอกจากสารต่างๆ ดังกล่าวข้างต้นยังมีการเติมสารบางชนิดซึ่งเป็นสารที่จำเป็นสำหรับการเจริญ และการผลิตกรดมะนาวของยีสต์ เช่น ไชอะมิน ซึ่งใช้อยู่ในรูปของไชอะมินไฮโดรคลอไรด์ กรดนิโคตินิก และไบโอติน (Kubicek and Rohr, 1986) หรือเติมสารประกอบอินทรีย์ เช่น สารสกัดจากยีสต์ และน้ำแช่ข้าวโพด (Abou-Zeid and Ashy, 1984)

1.5.2.6 ค่าความเป็นกรดเบส

การผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์นั้น พบว่าเมื่อมีการสะสมกรดมะนาวระหว่างการหมักจำเป็นต้องเติมสารที่ใช้ปรับค่าความเป็นกรดเบสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น แคลเซียมคาร์บอเนต โซเดียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมคาร์บอเนต แคลเซียมไฮดรอกไซด์ โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ เป็นต้น เพื่อควบคุมค่าความเป็นกรดเบสที่ลดลง ซึ่งจะไปยับยั้งการเจริญและการผลิตกรดมะนาว (Moresi, 1994) โดยที่ค่าความเป็นกรดเบสของอาหารเลี้ยงเชื้อจะอยู่ในช่วง 4.5-6.5 (Kubicek and Rohr, 1986) ในการเลือกใช้สารใดย่อมขึ้นอยู่กับความเหมาะสม สำหรับการ

ผลิตภัณฑ์มะนาวในระดับขวดเขย่านิยมใช้เคลือบผิวคาร์บอนเนต โดยการเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งแต่เริ่มต้น (Kubicek and Rohr, 1986) ถ้าค่าความเป็นกรดเบสสูงเกินไปยีสต์จะผลิตสารพวก โพลีแอล อิริทรีออล และแมนนิทอล แทนการผลิตกรดมะนาว (Mattey, 1992)

1.5.2.7 อุณหภูมิ

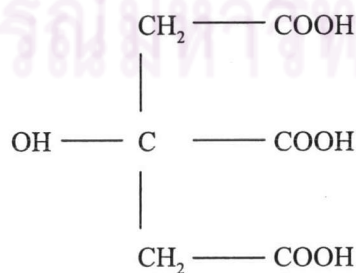
อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและการผลิตกรดมะนาวนั้นขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ที่ใช้ โดยทั่วไปอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส (Marison, 1988) Furukawa และคณะ (1977) ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ *Candida citrica* MT-1001 พบว่าที่อุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไปจะทำให้การผลิตกรดมะนาวลดลง เนื่องจากยีสต์นำสับสเตรตไปใช้ในการเจริญมาก และใช้สร้างกรดอินทรีย์อื่นๆ แทนกรดมะนาว เช่น กรดไอโซซิเตริก เป็นต้น

1.5.2.8 การให้อากาศและการกวน

การผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์เป็นกระบวนการหมักในภาวะที่ต้องการอากาศ ดังนั้นในระหว่างการหมักโดยเฉพาะในช่วงที่เชื้อมีการเจริญจำเป็นต้องให้อากาศอย่างเพียงพอ ซึ่งการถ่ายเทออกซิเจนในถังหมักขึ้นกับองค์ประกอบหลายอย่างเช่น อัตราการให้อากาศ และ อัตราการกวน ต้องใช้ควบคู่กันอย่างเหมาะสม (Iizuka et al., 1971) จากรายงานของ Rane และ Sims (1994) รายงานว่าการเพิ่มค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักจะมีผลทำให้ประสิทธิภาพการผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ *Candida lipolytica* Y 1095 สูงขึ้น

1.6 สมบัติของกรดมะนาว

กรดมะนาวเป็นกรดอินทรีย์มีชื่อทางเคมีว่า กรด 2-ไฮดรอกซี-1,2,3-โพรเพนไตรคาร์บอกซิลิก ซึ่งใน 1 โมเลกุล ประกอบด้วยคาร์บอน 6 อะตอม มีหมู่คาร์บอกซิล 3 หมู่และไฮดรอกซิล 1 หมู่ มีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังรูปที่ 1.3



รูปที่ 1.3 สูตรโครงสร้างทางเคมีของกรดมะนาว

กรดมะนาวที่อยู่ในรูปปราศจากน้ำ (anhydrous citric acid) มีสูตรโมเลกุล $C_6H_8O_7$ น้ำหนักโมเลกุล 192.13 ได้จากการตกผลึกสารละลายเข้มข้นของกรดมะนาวในขณะที่ร้อน (อุณหภูมิสูงกว่า 36.6 องศาเซลเซียส) มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 153 องศาเซลเซียส มีความหนาแน่นเท่ากับ 1.665 ส่วนกรดมะนาวชนิดที่มีน้ำอยู่ 1 โมเลกุล (citric acid monohydrate) มีสูตรโมเลกุล $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ น้ำหนักโมเลกุล 210.14 ได้จากการตกผลึกสารละลายที่เย็น (อุณหภูมิต่ำกว่า 36.6 องศาเซลเซียส) มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส มีความหนาแน่นเท่ากับ 1.542 กรดมะนาวมีค่า pK ที่ 25 องศาเซลเซียสดังนี้ $pK_{a1} = 3.128$, $pK_{a2} = 4.761$ และ $pK_{a3} = 6.396$ ลักษณะทั่วไปเป็นผลึกสีขาวมีรสเปรี้ยว มีความเป็นพิษต่ำ ย่อยสลายได้ง่าย ละลายได้ดีในน้ำ โดยอุณหภูมียิ่งสูงความสามารถในการละลายน้ำจะดียิ่งขึ้น (Kubicek and Rohr, 1986) สำหรับมาตรฐานของกรดมะนาวที่จะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมนั้น ต้องมีคุณลักษณะทางเคมีตามพระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์ทางอุตสาหกรรมซึ่งได้แสดงไว้ในตารางที่ 1.1

1.7 ประโยชน์ของกรดมะนาว

ปัจจุบันทั่วโลกมีความต้องการกรดมะนาวอย่างมากและยังต้องการเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ประมาณร้อยละ 2-3 ต่อปี (Goldberg et al., 1991) เนื่องจากกรดมะนาวมีความสามารถในการละลายสูง ความเป็นพิษต่ำ มีรสเปรี้ยวเป็นที่ยอมรับ และมีคุณสมบัติในการจับไอออนของโลหะหนักและการเป็นบัฟเฟอร์ ดังนั้นจึงสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ได้มาก (Bouchard and Merritt, 1979 ; Matthey, 1992) จะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มประมาณร้อยละ 70 ใช้ในอุตสาหกรรมเกษตรกรรมประมาณร้อยละ 12 และอีกประมาณร้อยละ 18 ถูกใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ (Marison, 1988) ซึ่งรายละเอียดของการใช้ประโยชน์จากกรดมะนาวมีดังนี้

1.7.1 อุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม

ใช้กรดมะนาวเป็นสารให้ความเปรี้ยวและเพิ่มรสชาติในการทำผลไม้ อาหารกระป๋อง น้ำขวด เจลลี่ ขนมหวานจำพวกแยม ป้องกันการบูดเสียในเครื่องดื่ม เนยแข็งและเนยเหลว ป้องกันการขุ่นและการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในไวน์ ป้องกันการตกผลึกของน้ำผึ้ง ช่วยเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำขวด ซึ่งสารปรับกรดในอุตสาหกรรมอาหารมีมากมายหลายชนิด แต่ส่วนใหญ่ใช้กรดมะนาว คือประมาณร้อยละ 73 รองลงมาเป็นกรดฟอสฟอริกประมาณร้อยละ 15 ส่วนที่เหลือเป็นกรดอื่นๆ เช่น กรดมาลิก กรดฟูมาริก กรดแลคติก และกรดทาร์ทาริก เป็นต้น (Goldberg et al., 1991)

ตารางที่ 1.1 คุณลักษณะทางเคมีตามมาตรฐานกรมมะนาว

รายการที่	คุณลักษณะ	เกณฑ์ที่กำหนด	
		กรดซิตริก โมโนไฮเดรต	กรดซิตริก อันไฮดรัส
1	ความบริสุทธิ์ $C_6H_8O_7$, จำนวนในสภาพ แห้ง ร้อยละ	99.5 ถึง 101.0	99.5 ถึง 101.0
2	น้ำ ร้อยละ	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	แบเรียม	สารละลายตัวอย่างต้องไม่จุ่นกว่าสาร ละลายมาตรฐานสอบเทียบ	
9	แคลเซียม มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่เกิน	200	200
10	เหล็ก มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่เกิน	50	50
11	คลอไรด์ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่เกิน	50	50
12	สารที่สลายให้คาร์บอนได้ง่าย (readily carbonizable substrate)	สีของสารละลายตัวอย่างต้องไม่เข้มกว่าสี ของสารละลายมาตรฐาน	

ที่มา : พระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (กรมมะนาว) พ.ศ.2535

1.7.2 อุตสาหกรรมทางเภสัชกรรม

ใช้เป็นยาลดกรดในกระเพาะอาหารโดยผสมกับไบคาร์บอเนตและคาร์บอเนต ซึ่งทำให้เกิดฟองฟูในน้ำดื่ม ใช้กรมมะนาวและโซเดียมซิเตรต ในการเตรียมสารละลายสำหรับการป้องกันการแข็งตัวของเลือด และช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในการเตรียมวิตามิน เป็นต้น (Bouchard and Merritt, 1979)

1.7.3 อุตสาหกรรมด้านอื่นๆ

ในอุตสาหกรรมผงซักฟอกมีการใช้เกลือไตรโซเดียมซิเตรตแทนสารเตตระโพแทสเซียมไพโรฟอสเฟต เนื่องจากย่อยสลายง่าย ไม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของวัชพืชน้ำ และไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ ในอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องสำอาง จะใช้เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ เพื่อควบคุมค่าความเป็นกรดเบสในครีมนวดผมน้ำยาคัดผม น้ำยาทำความสะอาดใบหน้าและโลชั่น ในอุตสาหกรรมโลหะ ใช้กรดมะนาวเป็นส่วนผสมในน้ำยาขัดโลหะ น้ำยาล้างสนิม นอกจากนี้ยังใช้ป้องกันการเกิดเมือก และตะกรันในอุปกรณ์บำบัดน้ำเสียแบบออสโมซิสผันกลับ (Reverse osmosis) อีกด้วย (Bouchard and Merritt, 1979)

1.8 การแยกทางกล (Mechanical separations)

การแยกอนุภาคต่างๆ ออกจากของเหลวโดยใช้แรงกระทำต่ออนุภาค ให้อนุภาคเคลื่อนที่สัมพันธ์กับของเหลวที่อนุภาคอยู่ แรงที่กระทำอาจมาจากแรงโน้มถ่วงหรือแรงปั่นเหวี่ยง ดังนั้นลักษณะการแยกจึงขึ้นอยู่กับลักษณะของอนุภาคที่ต้องการแยกและแรงที่กระทำต่ออนุภาค โดยลักษณะที่สำคัญของอนุภาคได้แก่ ขนาด รูปร่าง และความหนาแน่น ส่วนลักษณะที่สำคัญของของเหลวได้แก่ ความหนืด และความหนาแน่น ในการศึกษาการแยกทางกล แรงที่พิจารณาอาจเป็นแรงโน้มถ่วง หรือแรงโน้มถ่วงร่วมกับแรงอื่นๆ ที่ผลักให้อนุภาคออกจากของเหลวต่างๆ

1.8.1 การเคลื่อนที่ของอนุภาคในของไหล

อนุภาคในของเหลวภายใต้แรงคงที่ เช่น แรงโน้มถ่วงของโลก จะถูกเร่งในเวลาหนึ่งหลังจากนั้นจะเคลื่อนที่ด้วยความเร็วสม่ำเสมอ ความเร็วสูงสุดเรียกว่าความเร็วเทอร์มินอล (terminal velocity) ซึ่งขึ้นกับขนาด ความหนาแน่น รูปร่างของอนุภาคต่างๆ และคุณสมบัติของของไหล เมื่ออนุภาคเคลื่อนที่ผ่านของเหลวอย่างคงตัว (steady) มีแรงที่กระทำต่ออนุภาค 2 ชนิดคือ แรงภายนอกที่ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ และแรงหน่วง (drag force) ที่ต้านทานการเคลื่อนที่ซึ่งเกิดจากแรงเสียดทานของของเหลวนั่นเอง แรงภายนอกที่กระทำต่ออนุภาคที่เคลื่อนที่ (F_s) คือ

$$F_s = Va(\rho_p - \rho_f) \text{-----(1)}$$

เมื่อ F_s = แรงภายนอกสุทธิที่กระทำต่ออนุภาค (N)

V = ปริมาตรของอนุภาค (m^3)

a = ความเร่งที่มีผลจากแรงภายนอก (m/s^2)

ρ_p = ความหนาแน่นของอนุภาค (kg/m^3)

ρ_f = ความหนาแน่นของของเหลว (kg/m^3)

แรงหน่วงที่กระทำต่ออนุภาค (F_d) คือ

$$F_d = C_d \rho_f v^2 A/2 \quad \text{-----}(2)$$

เมื่อ F_d = แรงหน่วงที่กระทำต่ออนุภาค (N)

C_d = สัมประสิทธิ์ของการหน่วง (drag coefficient)

v = ความเร็วของอนุภาค (m/s)

A = พื้นที่ฉายแสงของอนุภาคที่ทำมุมฉากกับทิศทางการเคลื่อนที่ (m^2)

เมื่อแรงทั้งสองกระทำต่ออนุภาคทรงกลม ($V = \pi D^3/6$) และพื้นที่ของทรงกลม ($A = \pi D^2/4$)

เมื่อ D = เส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค และ ความเร็ว v เป็นความเร็วเทอร์มินอล (v_m) เมื่อ

$$F_s = F_d$$

$$Va(\rho_p - \rho_f) = C_d \rho_f v^2 A/2 \quad \text{-----}(3)$$

แทนค่า V และ A

$$(\pi D^3/6)a(\rho_p - \rho_f) = C_d \rho_f v^2 (\pi D^2/4)/2 \quad \text{-----}(4)$$

ในทางทฤษฎีจะพบว่า การเคลื่อนที่ของอนุภาคทรงกลมที่มีลักษณะเป็นการไหลแบบลามินาร์ (laminar flow) ค่าสัมประสิทธิ์ของการหน่วง (drag coefficient) ได้จากความสัมพันธ์ดังนี้

$$C_d = 24/(Re) = 24\mu/Dv_m\rho_f \quad \text{-----}(5)$$

เมื่อ μ = ความหนืดของของไหล (N.s/m²)

ดังนั้น $v_m = D^2 a(\rho_p - \rho_f)/18\mu \quad \text{-----}(6)$

เมื่อ D = เส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค(m)

ρ_p = ความหนาแน่นของอนุภาค (kg/m³)

ρ_f = ความหนาแน่นของของเหลว (kg/m³)

g = แรงโน้มถ่วงของโลก(m/s²)

μ = ความหนืดของของไหล (kg/m.s)

v_m = ความเร็วเทอร์มินอล (m/s)

เป็นสมการพื้นฐานในการเคลื่อนที่ของอนุภาคต่างๆในของไหล สมการนี้เรียกว่า

กฎของสโตคส์ (Stokes' Law) ถ้าการไหลเป็นแบบ turbulent ค่า Re (Reynolds number) อยู่ระหว่าง 1,000 ถึง 2×10^5 จะได้ค่าสัมประสิทธิ์ของการหน่วง (drag coefficient) ประมาณ 0.44

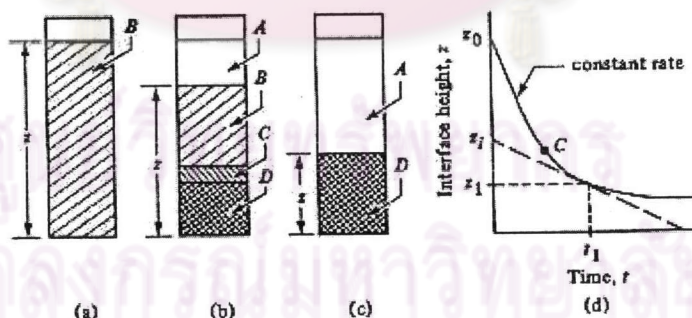
1.8.2 การตกตะกอน(sedimentation)

ในการตกตะกอน อนุภาคจะตกลงมาภายใต้แรงโน้มถ่วงโลก ดังนั้นในการตกตะกอน สมการจะอยู่ในรูปคล้ายกับกฎของสโตคส์ (Stokes' Law) ตามสมการที่ 6

กฎของสโตคส์จะใช้ในกรณีที่การตกตะกอนอิสระ คือการเคลื่อนที่ของอนุภาคจะไม่ขึ้นกับการเคลื่อนที่ของอนุภาคอื่น ถ้าความแตกต่างของขนาดอนุภาคไม่มากกว่า 10 เท่า อนุภาคทั้งหมดมีแนวโน้มที่ตกด้วยอัตราเดียวกัน ซึ่งอัตราการตกตะกอนอยู่ระหว่างอัตราความเร็วของอนุภาคขนาดใหญ่ที่สุดและเล็กที่สุดที่คำนวณจากกฎสโตคส์

1.8.2.1 การตกตะกอนของอนุภาคต่างๆ ในของเหลวโดยแรงโน้มถ่วงของโลก (gravitational sedimentation of particles in a liquid)

ในทรงกระบอกที่มีสารแขวนลอยอย่างสม่ำเสมอและมีการตกตะกอน เกิดขึ้น หรือขอบเขตช่วงต่างๆ ที่มีการแยกค่อนข้างชัดเจนจะปรากฏออกมาขณะที่การตกตะกอนดำเนินต่อไป โดยส่วนบนเป็นบริเวณที่เป็นของเหลวใส บริเวณที่ต่ำกว่าชั้นของของเหลวใสนี้เป็นบริเวณที่มีองค์ประกอบค่อนข้างคงที่ ที่ด้านล่างของทรงกระบอกจะเป็นชั้นของตะกอนที่ของแข็งตกลงมา ซึ่งสามารถทดสอบหาความเร็วของการตกตะกอนดังแสดงในรูปที่ 1.4 โดยเริ่มต้นรูปที่ 1.4 (a) อนุภาคต่างๆ จะตกตะกอนอย่างอิสระในส่วนของ B ด้วยอัตราเร็วสม่ำเสมอค่าหนึ่ง จนปรากฏบริเวณส่วนของ A ซึ่งเป็นส่วนของของเหลวใส (รูปที่ 1.4(a)) ความสูง z จะลดลงด้วยอัตราคงที่ บริเวณส่วนของ D ซึ่งมีอนุภาคที่ตกตะกอนจะปรากฏที่ด้านล่าง บริเวณ C เป็นชั้นที่เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยมีปริมาณของแข็งแตกต่างกันอยู่ระหว่างบริเวณ B และบริเวณ D เมื่อการตกตะกอนดำเนินต่อไป บริเวณ B และ C หายไปดังภาพที่ 1.4(c)



รูปที่ 1.4 ผลของการตกตะกอนแบบกะ (a) สารแขวนลอยเริ่มต้นที่สม่ำเสมอ (b) บริเวณที่มีการตกตะกอนหลังจากเวลาผ่านไปช่วงหนึ่ง (c) การอัดแน่นของบริเวณ D หลังจากบริเวณ B และ C หายไป (d) ความสูงของ z เทียบกับเวลาของการตกตะกอน (Geankoplis, 1993)

จากการอัดแน่นจะเกิดขึ้นจุดนี้เรียกว่า จุดวิกฤติ ระหว่างกระบวนการอัดแน่น ของเหลวจะถูกผลักดันขึ้นสู่ด้านบนจากบริเวณ D ทำให้ความหนาของชั้น D ลดลง ภาพที่ 1.4 (d) แสดงการหาความเร็วของการตกตะกอนซึ่งหาได้จากความชันของกราฟ ซึ่งมีค่าคงที่ในตอนแรกจุดวิกฤติแสดงได้ด้วยตำแหน่ง C ถ้าช่วงขนาดของอนุภาคกว้างมาก บริเวณที่มีองค์ประกอบคงที่ใกล้ด้านบนจะไม่เกิดขึ้นแต่จะปรากฏชั้นที่มีองค์ประกอบแตกต่างกันแทน

1.8.2.2 การตกตะกอนของอนุภาคโดยการปั่นเหวี่ยง(centrifugal separation)

การแยกของของเหลว 2 ชนิด ที่ละลายเข้ากันไม่ได้ หรือของของเหลวและของแข็งขึ้นกับผลแรงโน้มถ่วงต่อองค์ประกอบต่างๆ บางครั้งการแยกลักษณะนี้จะช้ามากเนื่องจากความถ่วงจำเพาะขององค์ประกอบต่างๆ อาจไม่แตกต่างกันมากนักจึงต้องใช้แรงปั่นเหวี่ยงเข้าช่วย ส่วนแรงโน้มถ่วงยังคงกระทำอยู่ และแรงสุทธิจะเป็นการรวมแรงปั่นเหวี่ยงกับแรงโน้มถ่วง แต่เครื่องปั่นเหวี่ยงในอุตสาหกรรม แรงปั่นเหวี่ยงจะสูงกว่าแรงโน้มถ่วงมาก ในการวิเคราะห์จึงละแรงโน้มถ่วงได้ แรงปั่นเหวี่ยงที่กระทำต่ออนุภาค เพื่อให้อนุภาคหมุนเป็นวงกลมคือ

$$F_c = mr\omega^2 \quad \text{-----}(7)$$

เมื่อ F_c = แรงปั่นเหวี่ยงที่กระทำต่ออนุภาคเพื่อให้อยู่ในทางเดินวงกลม (N)

r = รัศมีของทางเดิน (m)

m = มวลของอนุภาค (kg)

ω = ความเร็วเชิงมุมของอนุภาค = v/r

เมื่อ v = ความเร็วเชิงเส้นของอนุภาค(m/s)

ดังนั้นจะได้

$$F_c = (mv^2)/r \quad \text{-----}(8)$$

ความเร็วของการหมุนมักแสดงในรูปรอบต่อนาที (rpm)

ดังนั้น $\omega = 2\pi N/60$

$N = (60v)/(2\pi r)$

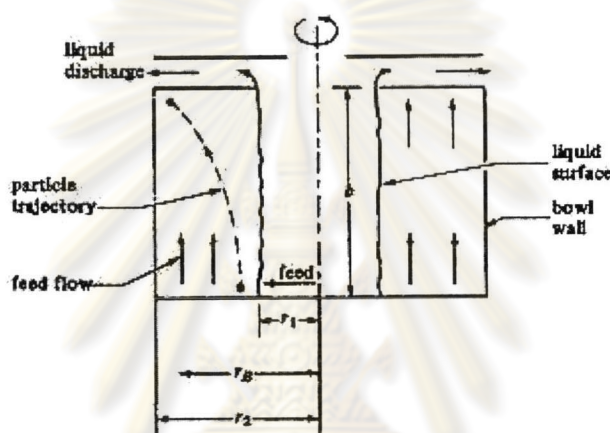
จะได้

$$F_c = mr(2\pi N/60)^2 = 0.01097 mrN^2 \quad \text{-----}(9)$$

เมื่อ N = ความเร็วในการปั่นเหวี่ยงในหน่วยรอบต่อนาที

ถ้าเปรียบเทียบแรงนี้กับแรงโน้มถ่วง ($F_g = mg$) ที่กระทำต่ออนุภาคจะเห็นว่าความเร่งเนื่องจากแรงปั่นเหวี่ยงจะเท่ากับ $0.01097 rN^2$ แทนที่ความเร่งซึ่งเท่ากับค่า g นั่นเอง แรงปั่นเหวี่ยงจึงมักแสดงเปรียบเทียบว่าเป็นจำนวนเท่าของค่า g

แรงปั่นเหวี่ยงจะขึ้นกับรัศมีและความเร็วของการหมุนและขึ้นกับมวลของอนุภาค ถ้ารัศมีและความเร็วของการหมุนคงที่ ดังนั้นปัจจัยที่ควบคุมคือน้ำหนักของอนุภาคโดยอนุภาคที่หนักกว่าจะมีแรงปั่นเหวี่ยงมากกว่า ดังนั้นถ้ามีของเหลว 2 ชนิด ซึ่งชนิดหนึ่งมีความหนาแน่นเป็น 2 เท่าของอีกชนิดหนึ่ง นำไปวางไว้ในถังของเครื่องปั่นเหวี่ยง โดยถึงหมุนความเร็วสูงรอบแกนในแนวตั้ง แรงปั่นเหวี่ยงต่อหน่วยปริมาตรของของเหลวที่หนักกว่าจะเป็น 2 เท่าของของเหลวที่เบากว่า ของเหลวที่หนักกว่าอยู่บริเวณวงแหวน ณ ตำแหน่งเส้นรอบวงของถังและของเหลวที่เบากว่าอยู่ถัดเข้ามาสู่ตำแหน่งศูนย์กลาง ซึ่งเป็นหลักการของการแยกของเหลวด้วยแรงปั่นเหวี่ยงดังแสดงในรูปที่ 1.5



รูปที่ 1.5 การแยกของเหลวในเครื่องปั่นเหวี่ยง (Geankoplis, 1993)

1.9 มุลเหตุจูงใจในการทำการวิจัย

ปัจจุบันมีการนำกรรมชมนาวมาใช้ประโยชน์อย่างมากในอุตสาหกรรม ประเทศไทยต้องนำเข้าจากต่างประเทศเป็นปริมาณมากและมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปีดังข้อมูลในตารางที่ 1.2 การผลิตกรรมชมนาวโดยยีสต์นั้น ทำให้ค่าความเป็นกรดเบสของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ลดลงไปมีผลต่อยับยั้งการทำงานของเซลล์ทำให้ผลผลิตลดลง (Moresi, 1994) จึงจำเป็นต้องเติมสารที่ใช้ปรับค่าความเป็นกรดเบสของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างกรรมชมนาวเช่นแคลเซียมคาร์บอเนต โซเดียมไฮดรอกไซด์ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ เป็นต้นโดยโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นเบสแก่ที่เหมาะสมที่จะใช้ควบคุมค่าความเป็นกรดเบส เมื่อต้องการผลิตกรรมชมนาวในระบบต่อเนื่อง หรือกรณีการเวียนเซลล์กลับมาใช้ใหม่เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการผลิตคือโซเดียมซิเตรต ซึ่งเป็นเกลือที่ละลายน้ำ จึงไม่รบกวนการแยกเซลล์ การกวน และการละลายของออกซิเจนในน้ำหมัก แต่ให้ผลผลิตต่ำ เนื่องจากโซเดียมไอออนที่อยู่ในน้ำหมักจะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์หลายชนิด และทำให้โปรตีนเสียสภาพด้วย (Maiorella et al., 1984) แต่การใช้แคลเซียมคาร์บอเนตนั้น

ผลิตภัณฑ์ที่ได้อยู่ในรูปแคลเซียมซิเตรตจึงรบกวนการแยกเซลล์ แต่จะไม่มีไอออนของโลหะอยู่ในน้ำหมักที่จะไปมีผลยับยั้งการทำงานของเซลล์ อย่างไรก็ตามการใช้แคลเซียมคาร์บอเนตในการควบคุมค่าความเป็นกรดเบสของอาหารเลี้ยงเชื้อจะสะดวกกว่าการใช้เบสแก่ เนื่องจากสามารถเติมลงถึงหมักทั้งหมดตั้งแต่ต้นและยังให้ผลผลิตมากกว่าการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ด้วย

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาภาวะและวิธีที่เหมาะสมในการแยกเซลล์ยีสต์จากแคลเซียมซิเตรตในน้ำหมักอย่างปลอดภัยการปนเปื้อนเพื่อเวียนกลับมาใช้ใหม่ (cell recycle) ซึ่งเป็นประโยชน์ในเชิงเศรษฐศาสตร์ของกระบวนการเพราะสามารถลดเวลาและแรงงานที่ใช้ในการผลิตลง และใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตกรดมะนาวในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

ตารางที่ 1.2 ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าและส่งออกกรดมะนาวของประเทศไทยระหว่างปี

2531-2545

ปี พ.ศ.	การนำเข้า		การส่งออก	
	ปริมาณ (กิโลกรัม)	มูลค่า(บาท)	ปริมาณ (กิโลกรัม)	มูลค่า(บาท)
2531	771,111	26,127,593	122,335	4,497,815
2532	1,460,893	45,802,953	26,800	958,778
2533	2,113,734	57,264,118	-	-
2534	2,398,451	64,844,372	633,881	25,507,323
2535	3,985,387	131,742,434	1,600	79,477
2536	2,226,539	72,735,321	-	-
2537	3,484,410	101,905,659	-	-
2538	5,568,146	171,830,940	9,238	4,866,375
2539	3,056,073	102,561,454	6,725	3,901,360
2540	4,535,422	150,003,744	2,752,438	90,634,188
2541	1,285,372	52,478,529	60,923	58,005,738
2542	4,741,274	178,966,713	72,957	62,347,711
2543	5,448,891	193,560,828	67,975	2,589,197
2544	6,137,781	234,514,780	402,825	13,059,543
2545	8,428,513	253,010,982	2,882,115	124,840,967

ที่มา : กรมศุลกากร