

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

คณะกรรมการวิชาการคณะที่ 406. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกรดซิตริก, 2526.

นิมล กิจจันทร์. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดมะนาวในอาหารเหลว โดย *Aspergillus niger*. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2532.

ศยามล นองบุญนาท. การผลิตกรดมะนาวโดย แอสเปอร์จิลลัส ไนเจอร์ ด้วยวิธีการหมักในอาหารเหลว. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2534.

### ภาษาอังกฤษ

Atkinson B., and Mavituna, F. Biochemical Engineering and Biotechnology. pp.74  
New York : Macmillan, 1983.

Beniel, A.M., and Israel, J. Extraction of Organic Acids from Aqueous Solution.  
U.S. Pat. 4,334,095. 8(June 1982)

\_\_\_\_\_Blumberg, R., and Hajdu, K. Recovery of Acids from Aqueous Solution.  
U.S. Pat. 4,275,234. 23(June 1981)

Bevilacqua, A.E., and Califano A.N. Determine of Organic Acid in Dairy Products by High Performance Liquid Chromatography. J. Food Science. 54(1987): 1076-1079.

Canata, P., Calabria, R. and Longobardi, G. Process and Equipment for Producing Crystalline Citric Acid from Solutions of Alkaline Citrates.  
U.S. Pat. 3,968,017. 6(July 1976)

Crueger, W., and Cruger, A. Organic Acid in Biotechnology. In T.D. Brock,, ed., Industrial Microbiology, pp. 109-112. New York : Academic press, 1987.



- Edwin, O.W. The Decomposition of Citric Acid. J. Phys. Chems.  
52(1960) : 4729
- Fugene, W.E. Precipitation. In P.N. Lacey, ed., Physical and  
Chemical Methods of Separation. pp. 185-226. New York :  
McGrew-Hill, 1963.
- Helferich, F. Ion Exchange. pp. 20-93 New York : McGrew-Hill, 1962.
- Israel, G., and Richard, W. Biotechnology and Food Ingredients.  
In D.H. Dean ed., pp. 352-353. New York : Academic Press, 1991.
- John, W.H. Purification with Activated Carbon. pp. 55-87. New York : Chemical  
Publishing, 1974.
- Kubicek, C.P., and Rohr, M. Citric Acid Fermentation. Critical Review in  
Biotechnology. 3(1986) : 331-373.  
\_\_\_\_\_  
Novel Trends in Physiological and Technology of Citric Acid Production.  
Over Production of Microbial Metabolites.  
pp. 263-269. New York : Academic Press, 1982.
- Kulprathipanja, S. , and Hoffman, E. Separation of Citric Acid from  
Fermentation Broth with A Neutral Polymers Absorbent. U.S.  
Pat. 4,720,579. 19(June 1988)  
\_\_\_\_\_  
Separation of Citric Acid from Fermentation Broth with A Weakly Basic Anion  
Exchange Rasin Adsorbent. U.S. Pat. 4,851,573. 25(July 1989)
- Leader, E., and Leader, M. Ion Exchange Chromatography. pp. 38-60  
New York : Elsevier, 1962.
- Lizuka, H., et al. Process for The Production of Citric Acid by Fermentation.  
U.S. Pat. 3,622,455. 23(November 1971)
- Lockwood, L.B. The Production of Organic Acids by Fermentation,  
Microbial Technology. (vol. 1, 2nd ed.) pp. 355, New York :  
Academic Press, 1979.
- Mattey, M. The Production of Organic Acid. Critical Review in  
Biotechnology. 12(1992): 87-132.



- Matha, W., and Rosemary, F.B. An Encyclopedia of Chemicals Drugs and Biologicals. (10th ed.) pp. 988. New York : Academic Press, 1983.
- Meitzner, E. F., and Oline, J.A. Polymerization Process and Products Therefrom. U.S. Pat. 4,224,415. 9(September 1980a)
- \_\_\_\_\_ Process for Preparing Macroreticular Resins Copolymers and Products of Said Process. U.S. Pat. 4,382.124. 3(May 1983)
- \_\_\_\_\_ Reticular Crosslinked Monovinylidene N- Heterocyclic copolymer. U.S. Pat. 4,221,871. 23(September 1980b)
- Minczewki, J., and Kathryn, D. Precipitation Method in Inorganic Coprecipitation. In M. Florin, and E.H. stotz, eds., Separation and Preconcentration Method in Inorganic Trace Analysis. pp. 98-103. New York : Ellis Horword, 1982.
- Milson, P.E., and Meer, J.L. Citric Acid, Comprehensive Biotechnology. (vol. 3) pp.663-689. New York : Pergamon Press, 1985.
- Prescott, S.C., and Dunn, C.G. The Citric Acid Fermentation. Industrial Microbiology, (3 rd. ed.) pp. 555-577. New York : McGraw Hill, 1959.
- Robert, C.W., Melrin, J.A., and William, H.B. CRC Handbook of Chemistry and Physics. pp. 254. Florida : CRC Press, 1988-1989.
- \_\_\_\_\_ Physical Constants of Inorganic Compounds. CRC Handbook and Physics. (68 th ed. ) pp. 186. Florida : CRC Press, 1987-1988.
- Shu, R., and Johnson, M.J. The Independence of Medium Constituents in Citric Acid Production by Submerged Fermentation. J. Bacteriol. 56(1948) : 577-585
- Sidney W. Official Method of Analysis, (14 th, ed.) Association of Official Analytical Chemists, 1984.
- Snyder, L.R., and Kirkland, J.J. Introduction to Modern Liquid Chromatography. pp. 86. New York : John Wiley and Sons, 1974.



Sodech, P.J. Citric Acid Fermentation According to Submerged Culture.

Proc. Biochem. (vol. 16) pp. 9-11. 1981.

Stern, J.R. Assay of Tricarboxylic Acids. pp. 95-97. New York :

Academic Press, 1957.

Tan, H.S., Mekibben, D.M., and Glasser, A.C. Improved Assay for Mixture of Citric Acid in Systemic Alkalines Solution. J. Phaemacetical Scien.

70(1981) : 693-695.

Warren P.Y., and Herman F. Multiport Rotary Disc Valve with Linear Protection Means

U.S. Pat. 3,422,848. 21(Jan 1969)

William, D.L., Nunn, R.F., and Mark, V. eds. Scientific Foundation of

Clinical Biochemistry. (vol. 1) pp.87 London : William Heinemann

Medical Books, 1980.

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก



### 1. สูตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อรา *A. niger* A 185 เพื่อผลิตกรดมะนาว ในอาหารเหลว

#### 1.1 สูตรอาหารที่ใช้เก็บรักษาเชื้อราและเพิ่มจำนวนสปอร์

ได้แก่ โปเตโตเด็กซ์โทรสอาร์การ์ (Potato dextrose agar , PDA) ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

มันฝรั่ง (ต้มในน้ำเดือดกรองเฉพาะส่วนใส)	300 กรัม
เด็กซ์โทรส	20 กรัม
วุ้นผง	20 กรัม

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121<sup>o</sup>ซ. ความดัน 15 ปอนด์ / ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

#### 1.2 สูตรอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

แป้งที่ย่อยแล้ว ( DE = 86 % )	200 กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต	3.5 กรัม
โปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.3 กรัม
โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.3 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต เฮปตาไฮเดรท	0.3 กรัม

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121<sup>o</sup>ซ. ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

#### 1.3 สูตรอาหารเพื่อการผลิตกรดมะนาว ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

แป้งที่ย่อยแล้ว ( DE = 86 % )	450 กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต	0.4 กรัม
โปตัสเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.4 กรัม
โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.4 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต เฮปตาไฮเดรท	0.3 กรัม

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121<sup>o</sup>ซ. ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที



## 2. การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

### 2.1 การเตรียมสารละลายไทโอยูเรีย

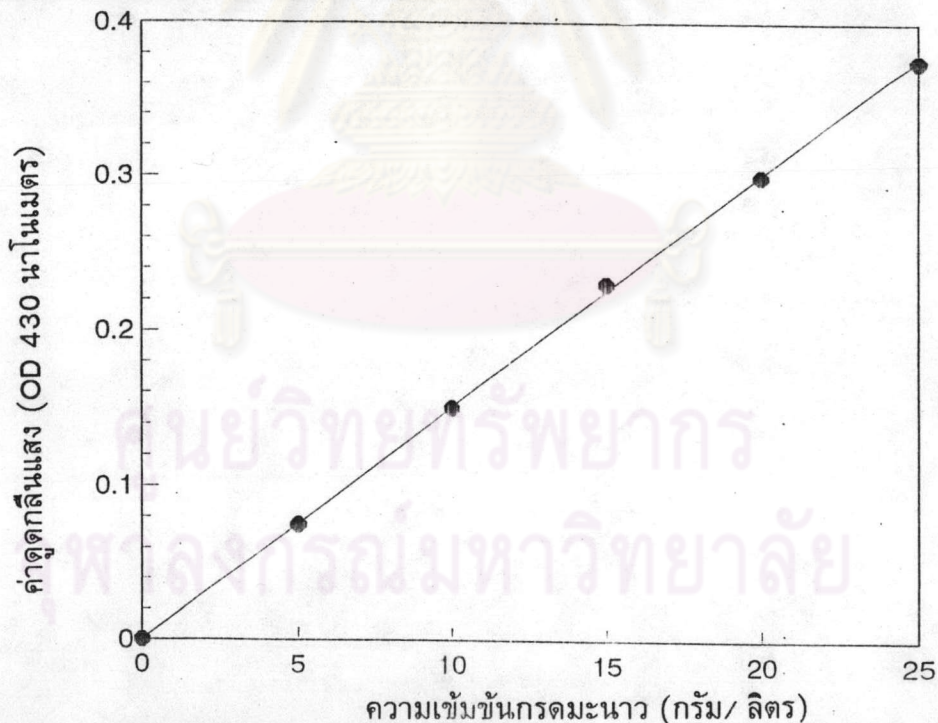
ซึ่งไทโอยูเรีย 4 กรัม เติมน้ำปริมาตร 100 มล. (ไทโอยูเรีย ร้อยละ 4 ) ผสมให้เข้ากัน ได้สารละลายใส ซึ่งโซเดียมบอเรต 2 กรัม เติมลงในสารละลายไทโอยูเรีย ผสมให้ละลายทั่วกัน

### 2.2 การเตรียม conditioning reagent

ผสม 50 มล. ของกลีเซอรอล 30 มล. ของกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 37 % (v / v) 300 มล. ของน้ำกลั่น 100 มล. ของอัลกอฮอล์ 100 % และ 75 กรัมของโซเดียม คลอไรด์ ให้เป็นสารละลายผสม

## 3. กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณกรดมะนาวด้วยวิธีเพนตาโบรโมอะซิโตน

เตรียมสารละลายกรดมะนาวมาตรฐาน โดยใช้กรดมะนาวมาตรฐานบริสุทธิ์ 99.5 % (w/w) ที่ปราศจากน้ำให้มีความเข้มข้นระหว่าง 0 – 25 กรัม/ลิตร ละลายในกรดซัลฟูริก 1 นอร์มัล ผ่านการทดลองตามวิธีในข้อ 5.1 เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณกรดมะนาว กับค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร



รูปที่ 8 แสดงกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์กรดมะนาวโดยวิธีเพนตาโบรโมอะซิโตน

จากรูปที่ 8 ได้สมการเส้นตรงเป็น  $Y = 0.015 x$

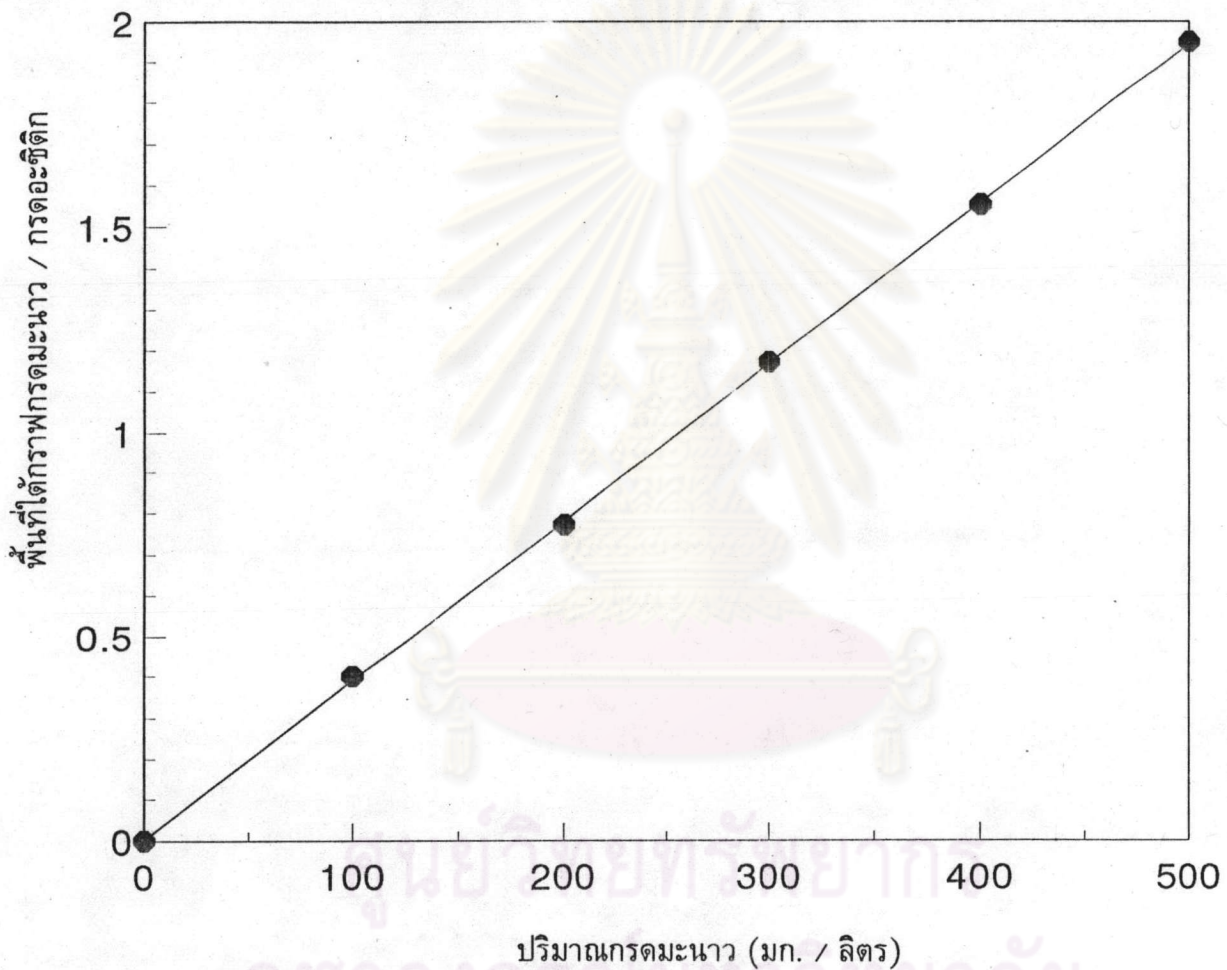
โดย Y เป็น ค่าดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร

X เป็น ความเข้มข้นกรดมะนาว ( กรัม / ลิตร)

มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( correlation coefficient ) เป็น 0.998

#### 4. กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณกรดมะนาวโดยวิธี HPLC

เตรียมสารละลายกรดมะนาวมาตรฐานเข้มข้น 10 กรัม/ ลิตร โดยชั่งกรดมะนาวมาตรฐานโมโนไฮเดรทบริสุทธิ์ 99.5 % (w / w) ปริมาณ 10.9334 กรัม ละลายน้ำปรับปริมาตร ด้วย Volumetric flask เจือจางสารละลายกรดมะนาวให้มีความเข้มข้นในช่วง 0-500 มก./ ลิตร เติมกรดอะซิติกเข้มข้น 4 % (v / v) 100 ไมโครลิตร เป็นสารเปรียบเทียบภายในฉีดสารละลายกรดมะนาวมาตรฐานที่เตรียมได้ตามวิธีในข้อ 5.2



รูปที่ 9 กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณกรดมะนาวด้วยวิธี HPLC

จากรูปที่ 9 ได้สมการเส้นตรงเป็น  $Y = 0.04 X$

โดย Y เป็น พื้นที่ใต้กราฟกรดมะนาว / กรดอะซิติก

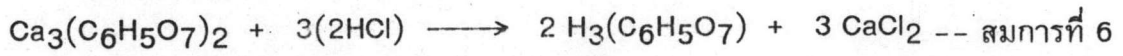
X เป็น ความเข้มข้นกรดมะนาว (มก./ ลิตร)

มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( correlation coefficient ) เป็น 0.999



### 5. การละลายตะกอนไตรแคลเซียมซีเตรทเพื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดมะนาว

การละลายตะกอนไตรแคลเซียมซีเตรท ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอร์มัล ในปริมาณที่พอดีตามสมการการละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริก

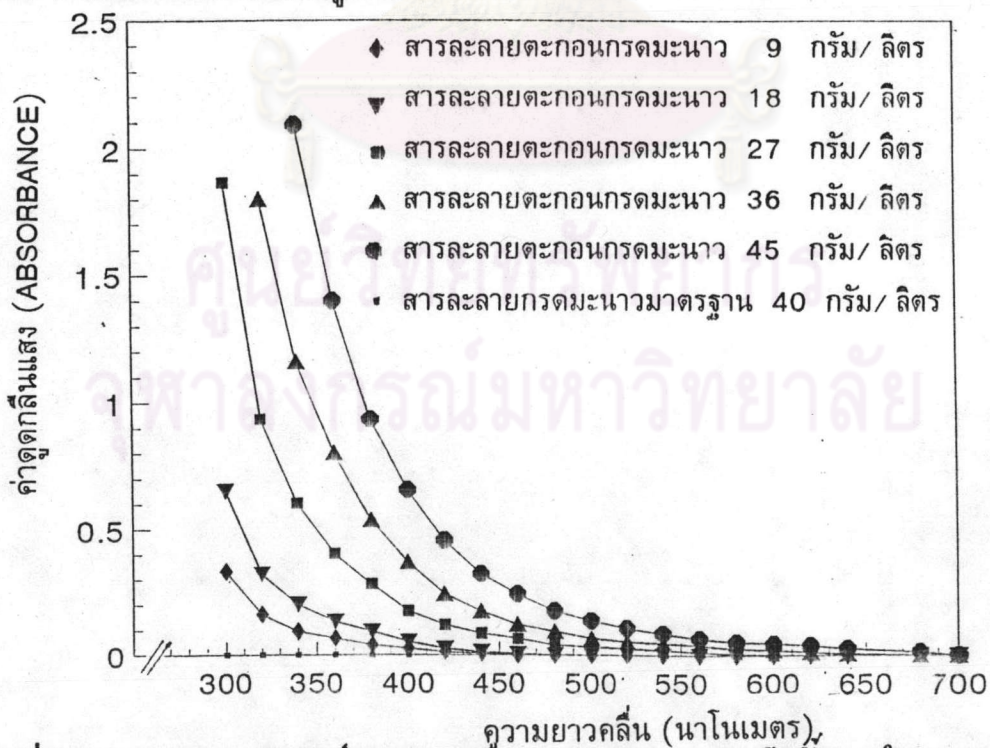


สมการที่ 6 แสดงปฏิกิริยาการละลายตะกอนไตรแคลเซียมซีเตรทด้วยกรดไฮโดรคลอริก ละลายตะกอนที่อุณหภูมิ 50° ซ. เป็นเวลา 30 นาที

### 6. การฟอกสีสารละลายตะกอนกรดมะนาว

ได้ทดลองสุ่มหาความยาวคลื่นสำหรับวัดค่าดูดกลืนแสงในสารละลายตะกอนกรดมะนาวที่มีสีของสารปนเปื้อน ด้วยผงถ่านกัมมันต์ โดยนำสารละลายตะกอนกรดมะนาวที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 9, 18, 27, 36 และ 45 กรัม/ลิตร มาสุ่มวัดค่าดูดกลืนแสง ในช่วงความยาวคลื่น 300 - 700 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับสารละลายกรดมะนาวมาตรฐานที่มีน้ำหนักของแข็งทั้งหมดเท่ากับ 40 กรัม/ลิตร ผลแสดงในรูปที่ 10

ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงในสารละลายกรดมะนาวมาตรฐานในช่วงความยาวคลื่นดังกล่าว ไม่มีค่าดูดกลืนแสงขณะที่ค่าดูดกลืนแสงในสารละลายตะกอนกรดมะนาวแปรผันโดยตรงกับปริมาณ ของแข็งทั้งหมดในสารละลายตะกอน ซึ่งได้เลือกค่าความยาวคลื่นที่มองเห็นคือ 400 นาโนเมตรสำหรับวัดค่าดูดกลืนแสงในการฟอกสี



รูปที่ 10 แสดงความสัมพันธ์ของค่าดูดกลืนแสงกับปริมาณของแข็งทั้งหมดในสารละลาย



## 7. การเตรียมแคทไอออนเรซินและแอนไอออนเรซินแลกเปลี่ยนประจุ (Meizner, 1980)

### 7.1 การเตรียมแคทไอออนเรซิน

แซ่แคทไอออนเรซิน Dowex- 50 จำนวน 30 กรัม ในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอร์มัล เป็นเวลา 4 ชม. บรรจุเรซินลงในคอลัมน์แก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 ซม. ยาว 30 ซม. ล้างเรซินในคอลัมน์ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 2 นอร์มัล ปริมาตร 50 มล. ล้างเรซินในคอลัมน์ด้วยน้ำกรองที่ไม่มีประจุ จนกระทั่งน้ำที่ผ่านออกจากคอลัมน์ให้ค่าพีเอชเป็นกลาง

### 7.2 การเตรียมแอนไอออนเรซิน

แซ่แอนไอออนเรซิน Dowex- 1 จำนวน 30 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 นอร์มัล เป็นเวลา 4 ชม. บรรจุเรซินในคอลัมน์แก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 ซม. ยาว 30 ซม. ล้างเรซินในคอลัมน์ด้วยน้ำกรองที่ไม่มี ประจุจนกระทั่งน้ำที่ผ่านออกจากคอลัมน์ให้ค่าพีเอชเป็นกลาง

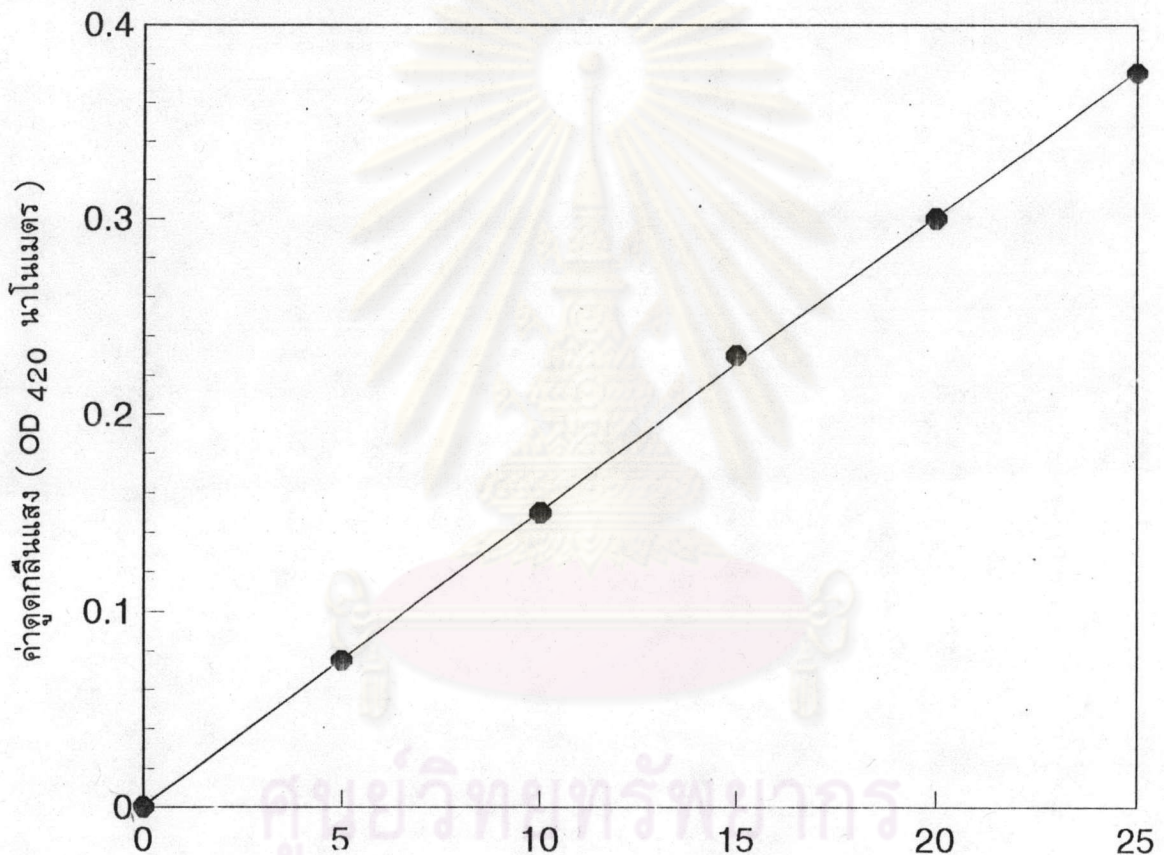


รูปที่ 11 แสดงการจับประจุสารปนเปื้อนด้วยเรซินจับประจุบวกและจับประจุลบ



### 8. กราฟมาตรฐานหาปริมาณซัลเฟตโดยวิธีวัดความขุ่น (Sidney, 1984)

เตรียมสารละลายซัลเฟตมาตรฐานเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มล. โดยชั่งไดโซเดียมซัลเฟต ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) ปราศจากน้ำจำนวน 147.9 มก. ละลายน้ำปรับปริมาตรด้วย Volumetric flask เป็น 1 ลิตร เจือจางสารละลายซัลเฟตให้มีความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (w/v) วัดค่าดูดกลืนแสงความขุ่นของสารละลายมาตรฐานตามวิธีการวิเคราะห์ ในข้อ 12.3 เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าดูดกลืนแสงของความขุ่นกับความเข้มข้นของสารละลายซัลเฟต



ความเข้มข้นซัลเฟต (ไมโครกรัม / มล.)

รูปที่ 12 แสดงกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟต

จากรูปที่ 12 ได้สมการเส้นตรงเป็น  $Y = 0.015 X$

โดย Y เป็น ค่าดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

X เป็น ความเข้มข้นซัลเฟต (ไมโครกรัม / มล.)

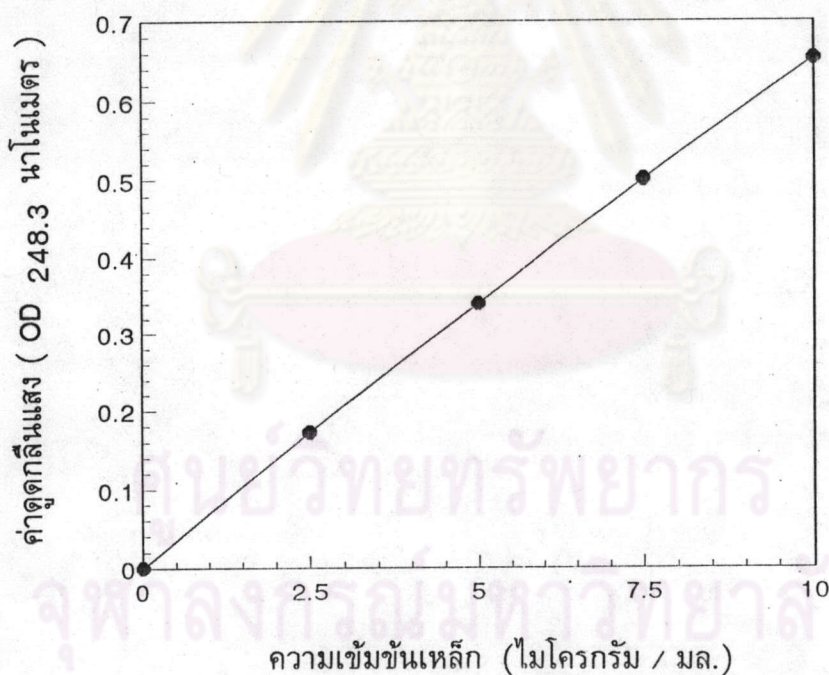
มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) เป็น 0.996



9. กราฟมาตรฐานหาปริมาณเหล็กโดยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชัน (Sidney, 1984)

เตรียมสารละลายเหล็กมาตรฐานเข้มข้น 2.5, 5, 7.5 และ 10 ไมโครกรัม/ มล.  
วิเคราะห์ปริมาณเหล็กด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชัน ในสภาวะดังต่อไปนี้

INSTRUMENT MODE	=	ABSORBANCE
CALIBRATION MODE	=	CONCENTRATION
WAVELENGTH (nm)	=	248.3
FLAME	=	AIR-ACETYLENE
MEASUREMENT TIME (sec)	=	7
REPLICATES	=	3
AIR FLOW ( L / min)	=	13.50
ACETYLENE FLOW ( L / min)	=	2.00



รูปที่ 13 แสดงกราฟมาตรฐานหาปริมาณเหล็ก

จากรูปที่ 13 ได้สมการเส้นตรงเป็น  $Y = 0.068 X$

โดย Y เป็น ค่าดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 248.3 นาโนเมตร

X เป็น ความเข้มข้นเหล็ก ( ไมโครกรัม / มิลลิตร)

มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( correlation coefficient ) เป็น 0.990

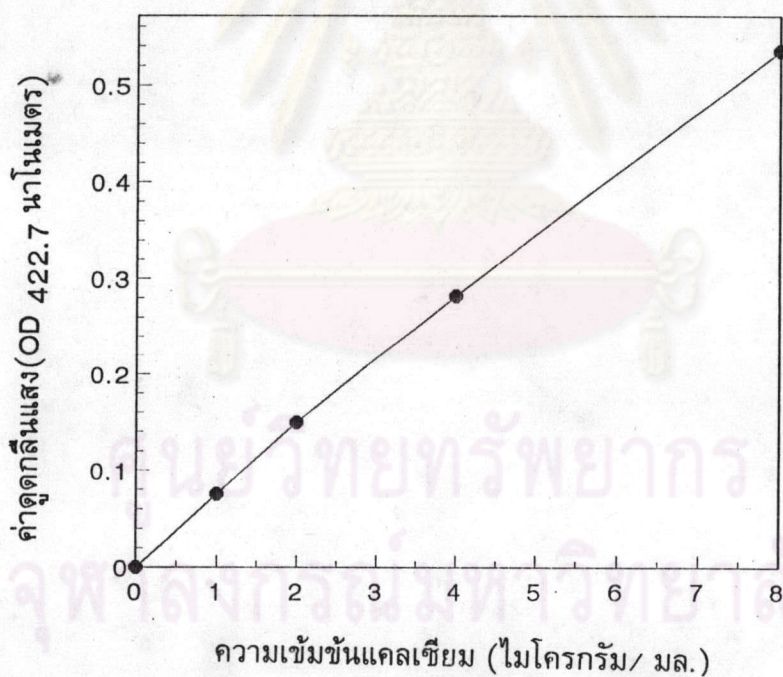


10. กราฟมาตรฐานหาปริมาณแคลเซียมด้วยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชัน (Sidney, 1984)

เตรียมสารละลายแคลเซียมมาตรฐานเข้มข้น 1, 2, 4, และ 8 ไมโครกรัม/มล.

วิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชัน ในสภาวะดังต่อไปนี้

INSTRUMENT MODE	=	ABSORBANCE
CALIBRATION MODE	=	CONCENTRATION
WAVELENGTH (nm)	=	422.7
FLAME	=	AIR-ACETYLENE
MEASUREMENT TIME (sec)	=	3.0
REPLICATES	=	3
AIR FLOW (L / min)	=	13.50
ACETYLENE FLOW (L / min)	=	2.00



รูปที่ 14 แสดงกราฟมาตรฐานหาปริมาณแคลเซียม

จากรูปที่ 14 ได้สมการเส้นตรงเป็น  $Y = 0.07 X$

โดย Y เป็น ค่าดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 422.7 นาโนเมตร

X เป็น ความเข้มข้นแคลเซียม (ไมโครกรัม / มล.)

มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) เป็น 0.989



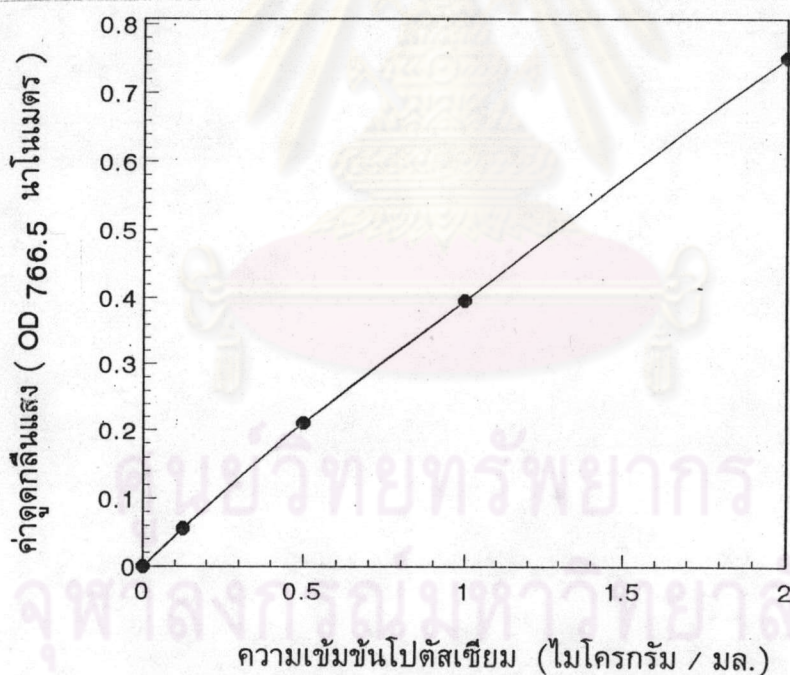
### 11. กราฟมาตรฐานหาปริมาณโปตัสเซียมวิเคราะห์ด้วยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชัน

เตรียมสารละลายโปตัสเซียมมาตรฐานเข้มข้น 0.1, 0.5, 1 และ 2 (ไมโครกรัม/ มล.)

วิเคราะห์หาปริมาณโปตัสเซียมด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันในสภาวะดังต่อไปนี้

(Sidney, 1984)

INSTRUMENT MODE	=	ABSORBANCE
CALIBRATION MODE	=	CONCENTRATION
WAVELENGTH (nm)	=	766.5
FLAME	=	AIR-ACETYLENE
MEASUREMENT TIME (sec)	=	1.0
REPLICATES	=	3
AIR FLOW ( L / min)	=	13.50
ACETYLENE FLOW ( L / min)	=	2.00



รูปที่ 15 กราฟมาตรฐานหาปริมาณโปตัสเซียม

จากรูปที่ 15 ได้สมการเส้นตรงเป็น  $Y = 0.4X$

โดย Y เป็น ค่าดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 766.5 นาโนเมตร

X เป็น ความเข้มข้นโปตัสเซียม (ไมโครกรัม / มล.)

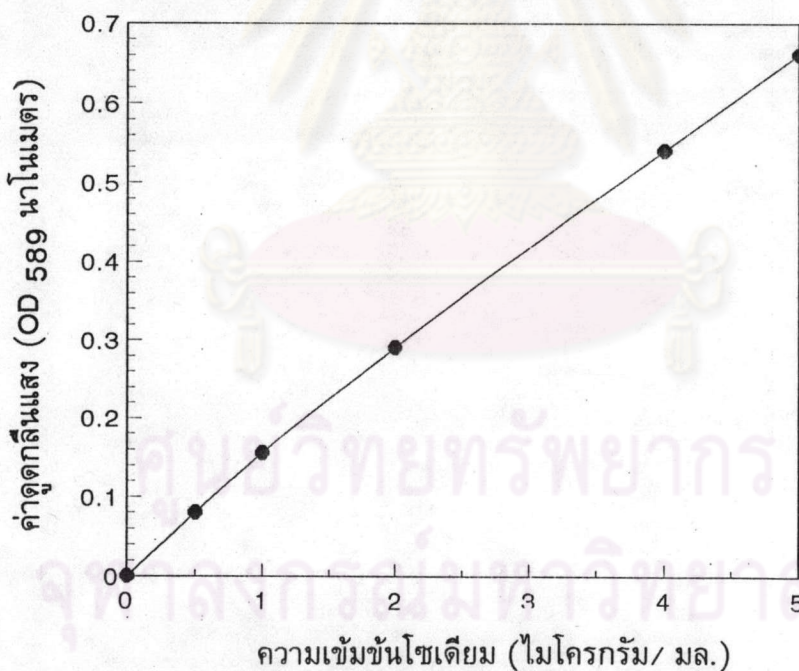
มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) เป็น 0.996



## 12. กราฟมาตรฐานหาปริมาณโซเดียมวิเคราะห์ด้วยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชัน

เตรียมสารละลายโซเดียม เข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 4 และ 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร  
วิเคราะห์หาปริมาณโซเดียมด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันในสภาวะดังต่อไปนี้  
(Sidney, 1984)

INSTRUMENT MODE	=	ABSORBANCE
WAVELENGTH (nm)	=	589
FLAME	=	AIR-ACETYLENE
TIME CONSTANCY	=	0.05
MEASUREMENT TIME (sec)	=	1.0
REPLICATES	=	3
AIR FLOW (L / min)	=	13.50
ACETYLENE FLOW (L / min)	=	2.00



### รูปที่ 16 แสดงกราฟมาตรฐานหาโซเดียม

จากรูปที่ 16 ได้สมการเส้นตรงเป็น  $Y = 0.15 X$

โดย Y เป็น ค่าดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 589 นาโนเมตร

X เป็น ความเข้มข้นโซเดียม ( ไมโครกรัม / มล.)

มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( correlation coefficient ) เป็น 0.995



### 13. วิธีคำนวณผลการวิเคราะห์

ขั้นตอนที่ 1 การตกตะกอนกรดมะนาวจากน้ำหมัก

จากน้ำหมักที่มีกรดมะนาวเข้มข้น 10 % (w/v) ปริมาตร 100 มล.ที่ใช้ในการทดลอง มีปริมาณกรดมะนาวเท่ากับ 10 กรัม

ปริมาณกรดมะนาวที่ได้จากการวิเคราะห์ =  $\frac{\text{OD } 430 \times \text{dilution} \times \text{total volume (ml)}}{\text{slope} \times 1,000 \text{ ml}}$   
(pentabromoacetone)

% RECOVERY =  $\frac{\text{ปริมาณกรดมะนาวที่ได้จากการวิเคราะห์}}{10 \text{ กรัม}} \times 100$

ขั้นตอนที่ 2 ในการละลายตะกอนแคลเซียมซีเตรตด้วยกรดซัลฟูริก ได้สารละลายตะกอนกรดมะนาว ( เทียบกับในน้ำหมักเริ่มต้น ซึ่งเท่ากับ 10 กรัม )

% RECOVERY =  $\frac{\text{ปริมาณกรดมะนาวทั้งหมด(วิเคราะห์ในสารละลายตะกอน)}}{10 \text{ กรัม}} \times 100$

ขั้นตอนที่ 3 การฟอกสีสารละลายตะกอนกรดมะนาวด้วยผงถ่านกัมมันต์

% ฟอกสี =  $\frac{(\text{OD } 400 \text{ ก่อนฟอกสี} - \text{OD } 400 \text{ หลังฟอกสี})}{\text{OD } 400 \text{ ก่อนฟอกสีในสารละลายตะกอน}} \times 100$

% RECOVERY =  $\frac{\text{ปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดหลังฟอกสี}}{\text{ปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดก่อนฟอกสี}} \times 100$

ขั้นตอนที่ 4 การจับสารปนเปื้อนที่มีประจุด้วยเรซิน

% RECOVERY =  $\frac{\text{ปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดหลังผ่านเรซิน}}{\text{ปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดก่อนผ่านเรซิน}} \times 100$

ขั้นตอนที่ 5 การตกผลึกกรดมะนาว



$$\% \text{ RECOVERY} = \frac{\text{น้ำหนักกรดมะนาวโมโนไฮเดรท (กรัม)}}{\text{ปริมาณกรดมะนาวในสารละลายก่อนตกผลึก}} \times 100$$

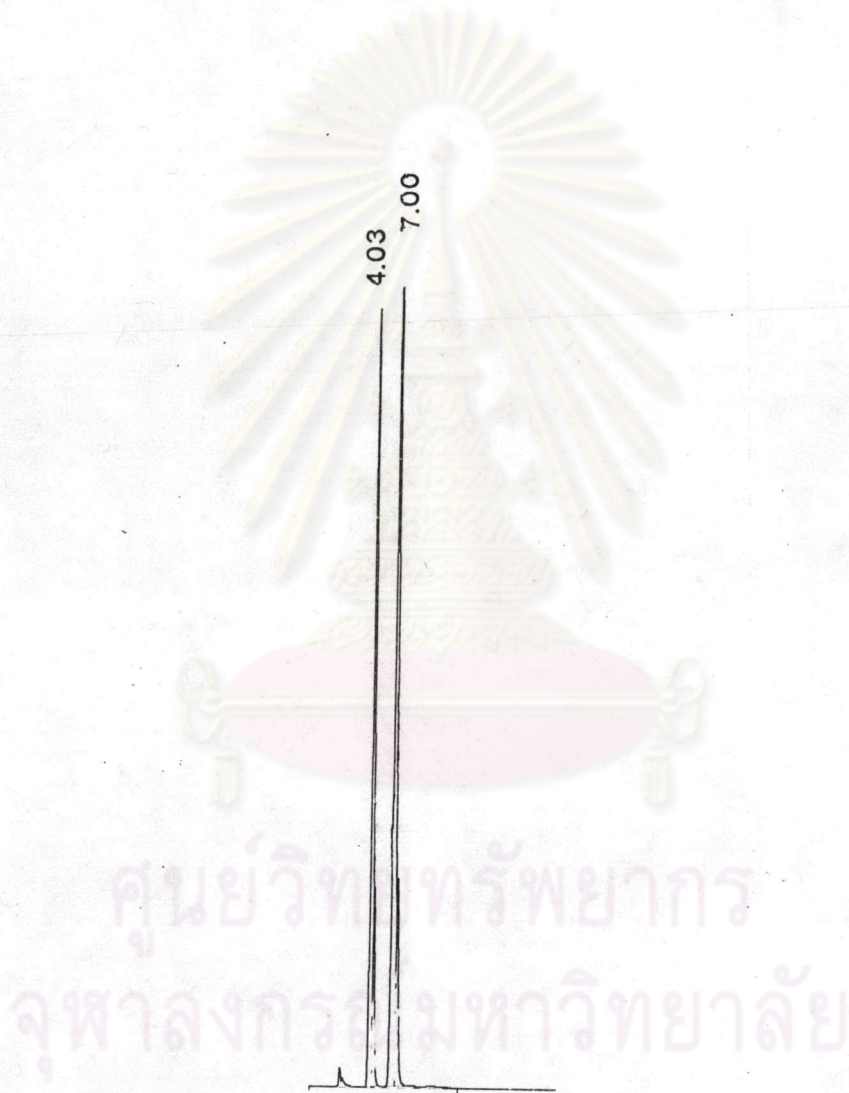


ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 17 ลักษณะโครมาโตแกรมของกรดมะนาว เมื่อใช้กรดอะซิติกมาตรฐาน เป็นสารเปรียบเทียบภายใน วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

$t_R$  ของกรดมะนาว เท่ากับ 7.00 นาที  
 $t_R$  ของกรดอะซิติก เท่ากับ 4.03 นาที





## ประวัติผู้เขียน

นาย ฐัชชัย มงคลวัย เกิดวันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2507 สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี  
วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อปี  
พ.ศ. 2530



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย