

บทที่ 3

ผลการทดลอง

จากรายงานวิธีแยกกรดมะนาวจากน้ำหมักมีหลายวิธี ได้แก่ วิธีการสกัดกรดมะนาวจากน้ำหมักด้วยตัวทำละลาย (Baniel et al.,1981, 1982) วิธีจับประจุออนของกรดมะนาวที่แตกตัวด้วยเรซินที่มีความจำเพาะ (Kulprathipanja, 1988, 1989) วิธีตกตะกอนกรดมะนาวด้วยต่าง ใน 2 วิธีแรกมีขีดจำกัด คือ เหมาะสมกับน้ำหมักกรดมะนาวที่ใช้กลูโคสหรืออัลเคนเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรต ในขณะที่วิธีการตกตะกอนกรดมะนาวยังเป็นวิธีที่นิยมใช้มาจนถึงปัจจุบัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ เนื่องจากกากน้ำตาลมีสารปนเปื้อนมาก

3.1 ชนิดของต่างที่เหมาะสมในการตกตะกอนกรดมะนาวจากน้ำหมัก

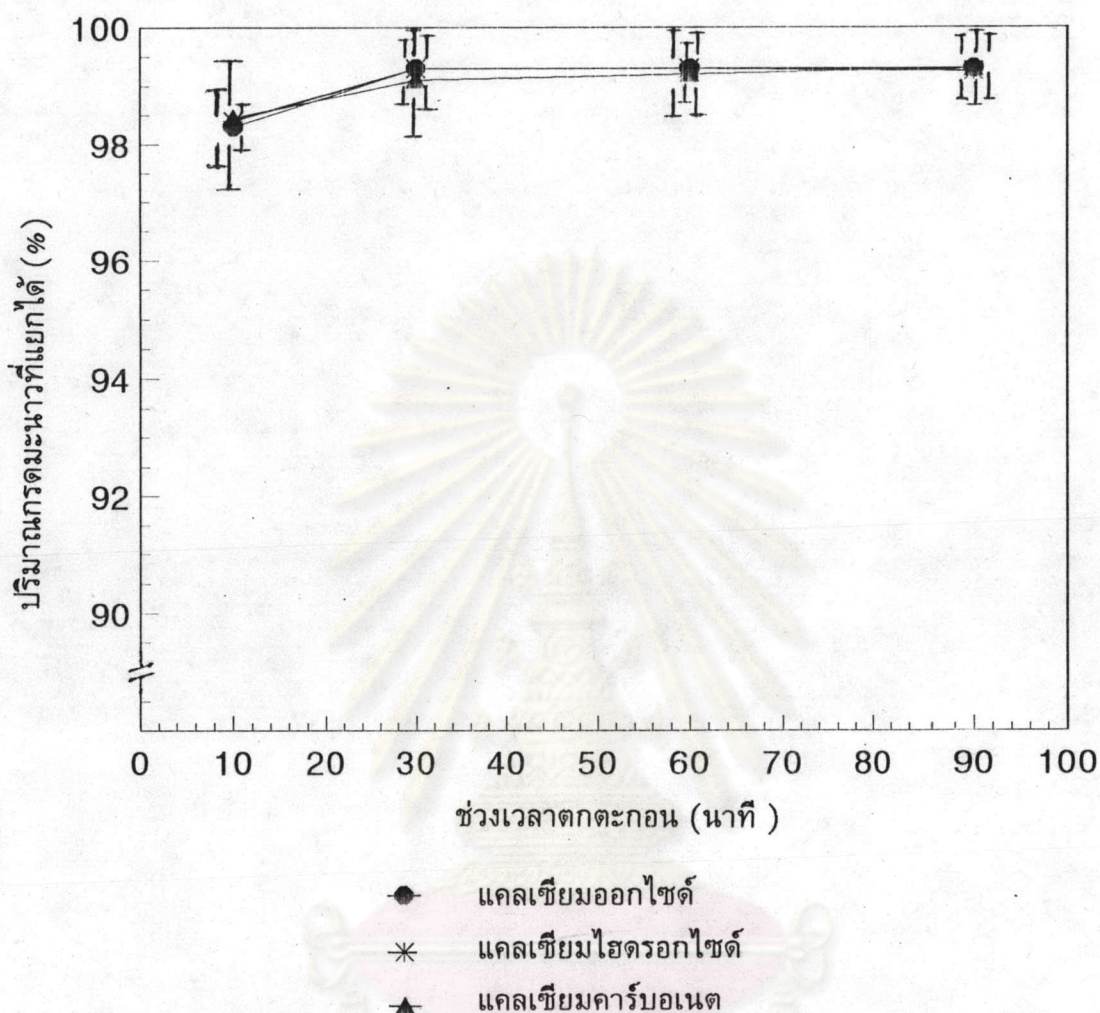
ผลการตกตะกอนกรดมะนาวจากน้ำหมักที่มีกรดมะนาวเข้มข้นร้อยละ 10 (w/v) ด้วยแคลเซียมออกไซด์ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ และแคลเซียมคาร์บอเนต ตามวิธีทดลองในข้อ 7.1 ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 3 และรูปที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณต่างที่ใช้ตกตะกอนกรดมะนาวจากน้ำหมักที่มีกรดมะนาวเข้มข้น 10 % ปริมาตร 100 มล. จนกระทั่งพีเอชในน้ำหมักเท่ากับ 7 ต้องใช้แคลเซียมออกไซด์ 4.37 กรัม แคลเซียมไฮดรอกไซด์ 5.78 กรัม และแคลเซียมคาร์บอเนต 7.81 กรัม สำหรับแคลเซียมคาร์บอเนตขณะตกตะกอนจะเกิดฟองก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และต้องใช้ปริมาณมากกว่าแคลเซียมออกไซด์หรือแคลเซียมไฮดรอกไซด์จึงไม่เหมาะสมเป็นตัวตกตะกอน ในการศึกษาขั้นต่อไปจึงเลือกแคลเซียมออกไซด์เป็นตัวตกตะกอนกรดมะนาวจากน้ำหมักที่เหมาะสม และแคลเซียมไฮดรอกไซด์มีความเหมาะสมรองจากแคลเซียมออกไซด์

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดมะนาวที่ตกตะกอนด้วยแคลเซียมออกไซด์ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ และแคลเซียมคาร์บอเนตนั้น พบว่าในช่วงเวลา 30 นาที มีปริมาณกรดมะนาวที่ตกตะกอนจนถึงจุดอิ่มตัวของต่าง 3 ชนิดใกล้เคียงกัน ซึ่งอนุมานได้ว่าประสิทธิภาพการตกตะกอนกรดมะนาวจากน้ำหมักได้ใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 3 ปริมาณกรดมะนาวที่ตกตะกอนได้จากน้ำหมักที่มีกรดมะนาวเข้มข้น 10 % ด้วยสารละลายแขวนลอยแคลเซียมออกไซด์ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ และแคลเซียมคาร์บอเนตเข้มข้น 25 % ที่อุณหภูมิ 90 °ซ. ในช่วงเวลาตกตะกอน 10, 30, 60 และ 90 นาที

สารละลายแขวนลอย (25 %, w/v)	ปริมาณต่างที่ใช้ ตกตะกอน (กรัม) จน พีเอชในน้ำหมัก = 7	ปริมาณกรดมะนาวที่ตกตะกอนได้ (%)* ในช่วงเวลา			
		10 นาที	30 นาที	60 นาที	90 นาที
แคลเซียมออกไซด์	4.37±0.14	98.30±0.50	99.30±0.38	99.30±0.68	99.30±0.02
แคลเซียมไฮดรอกไซด์	5.78±0.29	98.40±0.80	99.30±0.88	99.30±0.38	99.25±0.45
แคลเซียมคาร์บอเนต	7.81±2.39	98.40±0.30	99.10±0.50	99.20±0.56	99.30±0.50

* ปริมาณกรดมะนาวเฉลี่ย ($\bar{x} + SD, \%$) ที่ตกตะกอนได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ เทียบกับในน้ำหมัก โดยกำหนดให้ปริมาณกรดมะนาวในน้ำหมักเริ่มต้นเป็น 100% (ภาคผนวกที่ 13)



รูปที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณกรดมะนาวที่ตกตะกอนได้ เมื่อตกตะกอนด้วยสารละลายแวนลอยแคลเซียมออกไซด์ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ และแคลเซียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 25 % (w/v) ที่อุณหภูมิ 90 °ซ. ในช่วงเวลา 10, 30, 60 และ 90 นาที

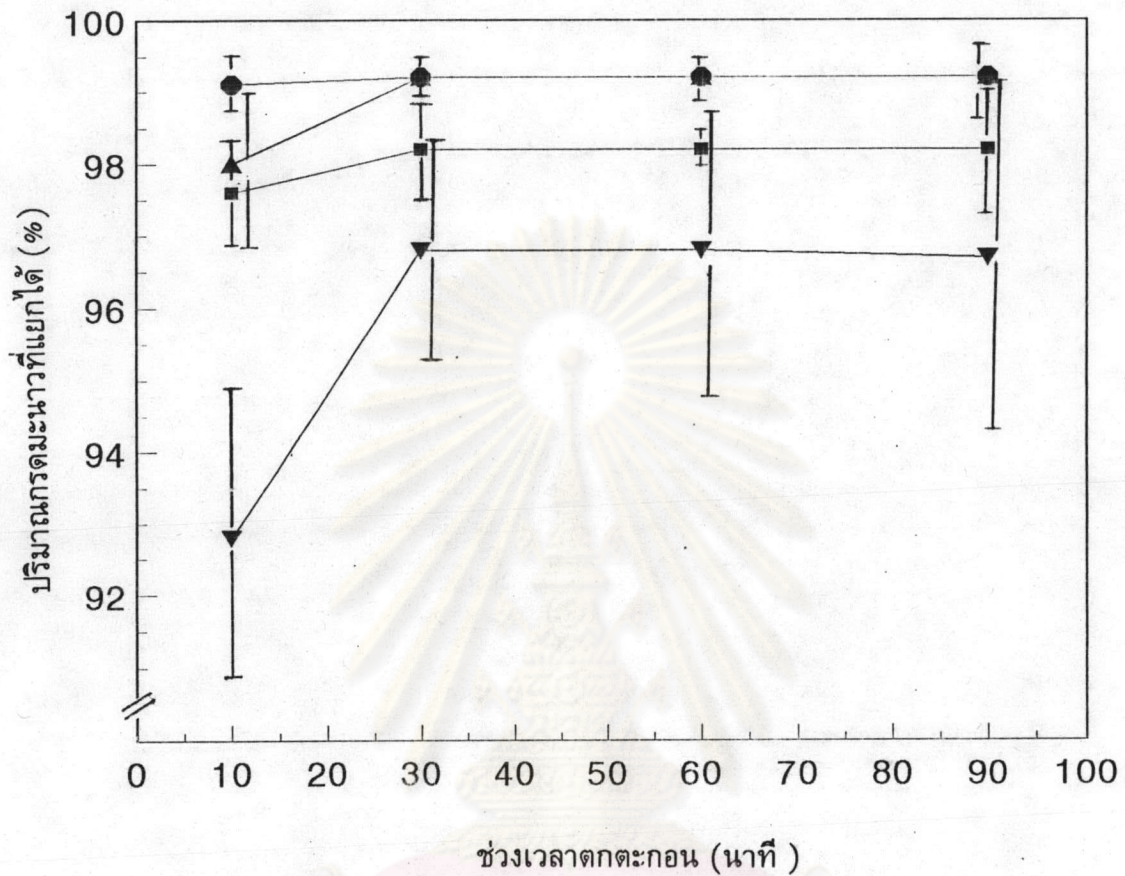
3.2 อุณหภูมิกับช่วงเวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนกรดมะนาวจากน้ำหมัก

มีรายงานการตกตะกอนกรดมะนาวจากน้ำหมักที่อุณหภูมิสูงสามารถตกตะกอนกรดมะนาวได้ดี ขณะที่สารปนเปื้อนและกรดอินทรีย์ส่วนใหญ่ไม่ตกตะกอน (Milson, 1985) จึงได้ทำการศึกษาการตกตะกอนกรดมะนาวจากน้ำหมักที่อุณหภูมิสูง 70 °, 80 °, 90 ° และ 100 °ซ. ในช่วงเวลาตกตะกอนต่างๆด้วยสารละลายแวนลอยแคลเซียมออกไซด์ตามวิธีทดลอง ในข้อ 7.2 ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 4 และรูปที่ 4

ตารางที่ 4 ปริมาณกรดมะนาวที่ตกตะกอนได้จากน้ำหมักที่มีกรดมะนาวเข้มข้น 10 % ด้วยสารละลายแวนิลอยแคลเซียมออกไซด์ 25 % เมื่อผันแปรอุณหภูมิในการตกตะกอนที่ 70 °, 80 °, 90 ° และ 100 °ซ. ในช่วงเวลา 10, 30, 60 และ 90 นาที

อุณหภูมิในน้ำหมัก ที่ใช้ตกตะกอน(°ซ.)	ปริมาณกรดมะนาวที่ตกตะกอนได้ (%) * ในช่วงเวลา			
	10 นาที	30 นาที	60 นาที	90 นาที
70±1	92.80±3.75	96.80±1.46	96.80±1.96	96.70±2.36
80±1	97.60±0.65	98.20±0.76	98.20±0.15	98.20±1.00
90±1	98.00±1.03	98.20±0.33	99.20±0.33	99.20±0.57
100 ±1	99.10±0.38	99.20±0.86	99.20±0.33	99.20±0.46

* ปริมาณกรดมะนาวเฉลี่ย ($X \pm SD$, %) ที่ตกตะกอนได้เทียบกับในน้ำหมัก โดยกำหนดให้ปริมาณกรดมะนาวในน้ำหมักเริ่มต้น เป็น 100% (ภาคผนวกที่ 13)



- ▼ ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 70 °ซ. ■ ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 80 °ซ.
 ▲ ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 90 °ซ. ● ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 100 °ซ.

รูปที่ 4 เปรียบเทียบปริมาณการงอกที่ได้จากน้ำหมักที่มีกรดมะนาวเข้มข้น 10 % ด้วยสารละลายแวนิลอยแคลเซียมออกไซด์เข้มข้น 25 % เมื่อผันแปรอุณหภูมิกับช่วงเวลาของการตกตะกอน 10, 30, 60 และ 90 นาที

ผลการตกตะกอนด้วยต่างแคลเซียมออกไซด์ ที่อุณหภูมิ 90 ° และ 100 ° ซ. สามารถตกตะกอนกรดมะนาวได้สูงถึง 99.20 % เทียบกับการงอกในน้ำหมักเริ่มต้น (ตารางที่ 4) สูงกว่าที่อุณหภูมิ 70 °ซ. และ 80 °ซ. ส่วนที่อุณหภูมิ 90 ° และ 100 °ซ. ตกตะกอนได้ใกล้เคียงกัน ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับตกตะกอนกรดมะนาวคือ 90 ° - 100 °ซ. ซึ่งตรงกับรายงานของ Matthey (Matthey, 1992) และ Milson (Milson, 1985)

3.3 ความเข้มข้นกรดมะนาวในน้ำหมักกับช่วงเวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอน

มีรายงานการตกตะกอนจากน้ำหมักที่มีกรดมะนาวเข้มข้น 10% (w/v) ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์สามารถตกตะกอนกรดมะนาวได้ 99.00 % (Atkinson, 1983) ในการศึกษาได้ทดลองตกตะกอนกรดมะนาวจากน้ำหมักที่มีกรดมะนาวเข้มข้น 5, 10, 15 และ 20 % ที่อุณหภูมิ 90 °ซ. ด้วยสารละลายแวนลอยแคลเซียมออกไซด์ 25 % ตามวิธีทดลองในข้อ 7.3 ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 5 และรูปที่ 5

จากตารางที่ 5 และรูปที่ 5 เมื่อใช้น้ำหมักกรดมะนาวเข้มข้น 5 % ตกตะกอนกรดมะนาวด้วยแคลเซียมออกไซด์ ในช่วงเวลา 90 นาที ยังตกตะกอนไม่ถึงจุดอิ่มตัว ขณะที่น้ำหมักที่มีกรดมะนาวเข้มข้น 10, 15 และ 20 % สามารถตกตะกอนกรดมะนาวได้มาก และตกตะกอนถึงจุดอิ่มตัวในช่วงเวลา 30 นาที ได้ปริมาณใกล้เคียงกัน

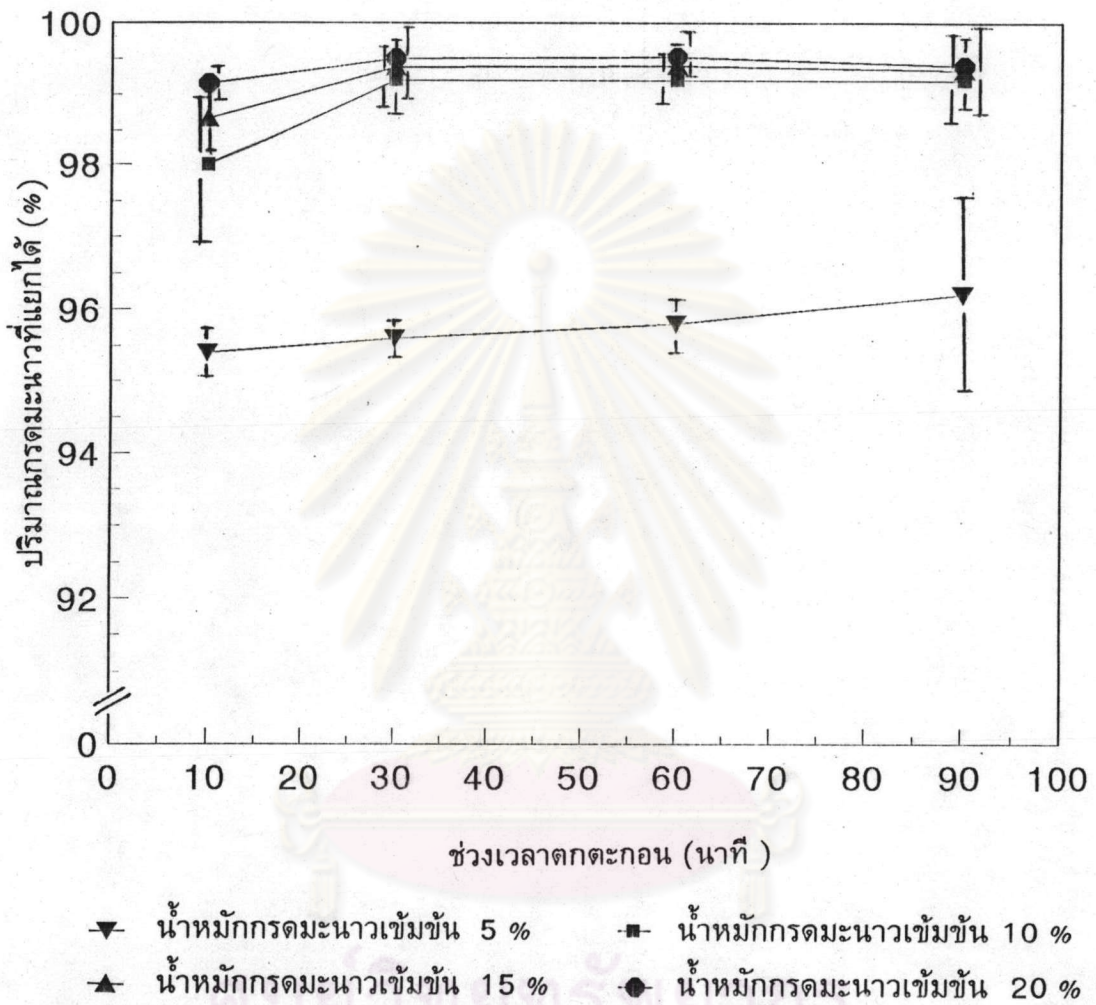
จากการศึกษาการตกตะกอนกรดมะนาวจากน้ำหมัก ได้สภาวะที่เหมาะสม คือ ตกตะกอนกรดมะนาวจากน้ำหมักที่มีกรดมะนาวเข้มข้นอย่างน้อย 10 % (w/v) ด้วยสารละลายแวนลอยแคลเซียมออกไซด์ 25 % อัตราการเติม 2 มล. / นาที ในระบบปิดที่มีการกวนผสม ตลอดเวลาที่อุณหภูมิ 90 ° - 100 °ซ. บ่มให้เกิดตกตะกอนเป็นเวลา 30 นาที สามารถตกตะกอนกรดมะนาวจากน้ำหมัก ได้ 99.20 % เทียบกับกรดมะนาวในน้ำหมักเริ่มต้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 ปริมาณกรดมะนาวที่ตกตะกอนได้จากน้ำหมักที่มีกรดมะนาวเข้มข้น 10 % ด้วยสารละลายแวนิลอยแคลเซียมออกไซด์เข้มข้น 25% เมื่อผันแปรความเข้มข้นกรดมะนาวในน้ำหมักเป็นร้อยละ 5, 10, 15 และ 20 ในช่วงเวลาตกตะกอน 10, 30, 60 และ 90 นาที

ความเข้มข้นของ กรดมะนาว (%) ในน้ำหมัก	ปริมาณกรดมะนาวที่ตกตะกอนได้ (%)* ในช่วงเวลา			
	10 นาที	30 นาที	60 นาที	90 นาที
5	95.40±0.07	95.60±0.08	95.80±0.14	96.20±1.37
10	98.00±1.03	99.20±0.53	99.20±0.33	99.20±0.57
15	98.67±0.44	99.38±0.27	99.40±0.34	99.34±0.46
20	99.15±0.34	99.50±0.50	99.52±0.33	99.40±0.69

* ปริมาณกรดมะนาวเฉลี่ย ($\bar{X} \pm SD, \%$) ที่ตกตะกอนได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ เทียบกับในน้ำหมัก โดยกำหนดให้ปริมาณกรดมะนาวในน้ำหมักเริ่มต้นเป็น 100% (ภาคผนวกที่ 13)



รูปที่ 5 เปรียบเทียบปริมาณกรดมะนาวที่ตกตะกอนได้ด้วยสารละลายแวนลอยแคลเซียมออกไซด์ที่อุณหภูมิ 90 °ซ. เมื่อผันแปรความเข้มข้นกรดมะนาวในน้ำหมักและตกตะกอนในช่วงเวลาต่างๆ

3.4 อุณหภูมิกับช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับละลายตะกอนแคลเซียมซัลเฟต ด้วยกรดซัลฟูริก

มีรายงานการละลายตะกอนแคลเซียมซัลเฟตด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 70 % (w/v) ที่อุณหภูมิ 50 °ซ. ได้กรดมะนาวในสารละลาย 96 % โดยเทียบกับปริมาณกรดมะนาวในน้ำหมักเริ่มต้น (Milson, 1985)

ในการทดลองจึงได้ตกตะกอนแคลเซียมซัลเฟตจากน้ำหมักกรดมะนาวเข้มข้นร้อยละ 10 (w/v) ปริมาตร 100 มล. ด้วยสารละลายแวนดอลอยแคลเซียมออกไซด์ตามวิธีทดลองในข้อ 7.1 นำตะกอนแคลเซียมซัลเฟตที่เตรียมได้ปริมาณ 36 กรัม (ในตะกอนมีน้ำ 15 กรัม) มาละลายด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 70 % (w/v) ปริมาตร 6.30 มล. ผันแปรอุณหภูมิที่ใช้ละลายตะกอนแคลเซียมซัลเฟตเป็น 50 °, 60 °, 70 ° และ 80 °ซ. ในช่วงเวลาการละลาย 30, 60 นาที 1.5, 2, 2.5 และ 3 ชม. ตามวิธีทดลองในข้อ 8 ได้ผลแสดงในตารางที่ 6 และรูปที่ 6

เนื่องจากการละลายตะกอนแคลเซียมซัลเฟตด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 70 % ที่อุณหภูมิสูง 70 ° และ 80 °ซ. ปฏิบัติการละลายรุนแรง สามารถละลายตะกอนแคลเซียมซัลเฟตได้ถึงจุดอิ่มตัวในช่วงเวลา 1.5 และ 2 ชม. ตามลำดับ แต่สารละลายกรดมะนาวที่ได้จะมีสีเข้มมากกว่าการละลายที่อุณหภูมิ 50 ° และ 60 °ซ. เนื่องจากอุณหภูมิ 60 °ซ. ใช้เวลาในการละลายตะกอนให้ถึงจุดอิ่มตัว 2 ชม. เร็วกว่าการละลายที่อุณหภูมิ 50 °ซ. ซึ่งใช้เวลาในการละลาย 2.5 ชม. ดังนั้นที่อุณหภูมิ 60 ° เวลา 2 ชม. จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับละลายตะกอนแคลเซียมซัลเฟตด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 70 % ซึ่งสามารถละลายตะกอนได้กรดมะนาวในสารละลายประมาณ 97.30% เทียบกับปริมาณกรดมะนาวในน้ำหมักเริ่มต้น

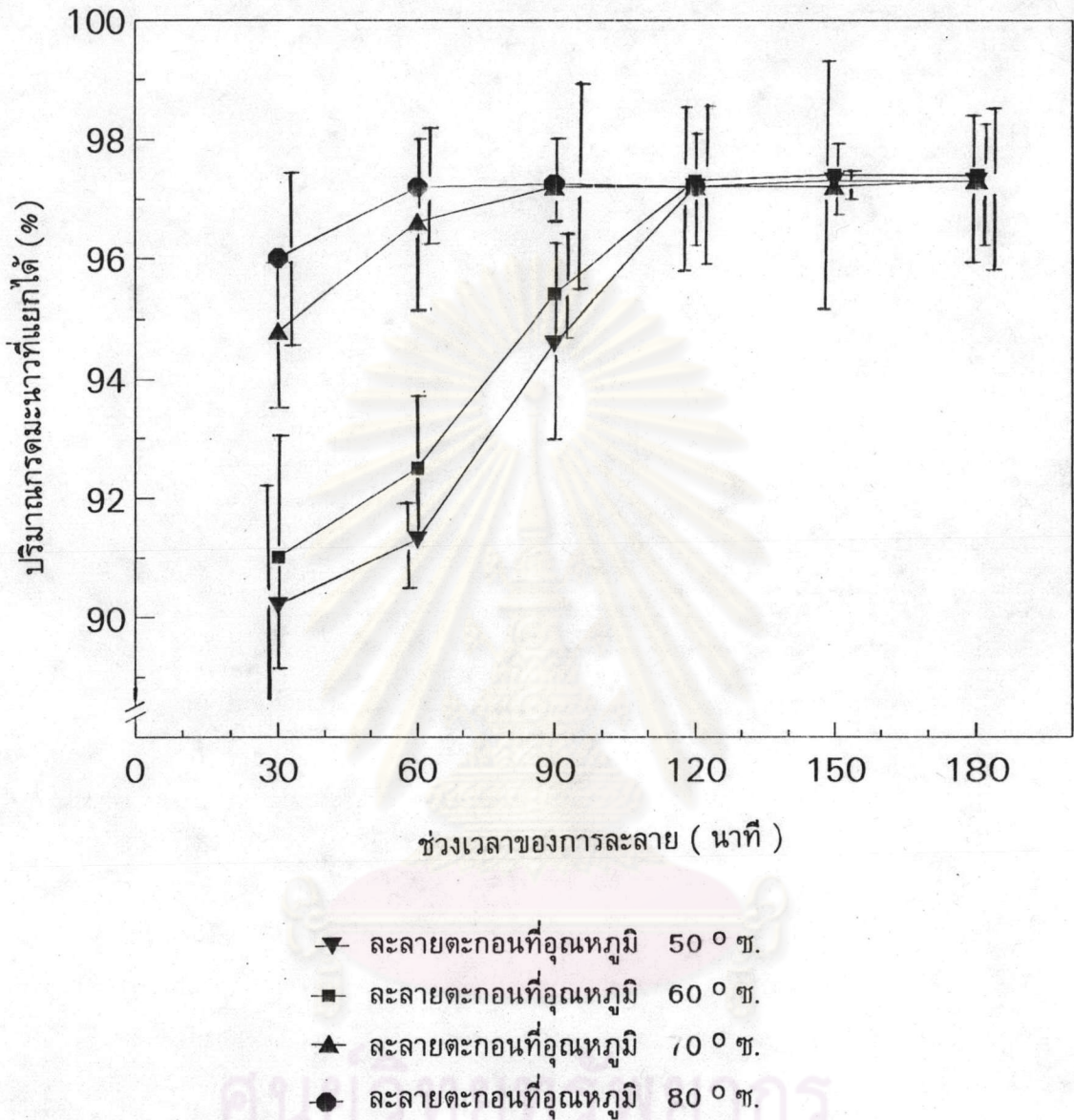
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 ปริมาณกรดมะนาวที่ได้จากการละลายตะกอนแคลเซียมซิติเรทด้วยตัวทำละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 70 เมื่อผันแปรอุณหภูมิในการละลายเป็น 50 °, 60 °, 70 ° และ 80 °ซ. ในช่วงเวลา 30, 60 นาที, 1.5, 2, 2.5 และ 3 ชม.

อุณหภูมิที่ใช้ในการละลายตะกอนแคลเซียมซิติเรท (°ซ)	ปริมาณกรดมะนาว (%) * เมื่อละลายด้วยกรดซัลฟูริกในช่วงเวลาการละลาย					
	30 นาที	60 นาที	1.5 ชม.	2 ชม.	2.5 ชม.	3 ชม.
50±1	90.20±1.68	91.33±0.61	94.60±1.24	97.20±1.18	97.30±1.70	97.30±1.00
60±1	91.00±1.68	92.50±1.05	95.40±1.48	97.30±1.24	97.40±0.52	97.40±0.83
70±1	94.8±1.03	96.60±1.24	97.20±0.73	97.20±0.86	97.20±0.15	97.30±1.10
80±1	96.00±1.18	97.20±0.86	97.25±1.55	97.20±1.13	-	-

- สารละลายตะกอนแคลเซียมซิติเรทระเหยแห้ง ไม่สามารถวิเคราะห์ปริมาณกรดมะนาวได้

* ปริมาณกรดมะนาวเฉลี่ย ($\bar{X} \pm SD, \%$) ที่ตกตะกอนได้จากการละลายตะกอนแคลเซียมซิติเรท 3 ซ้ำ เทียบกับในน้ำหมักโดยกำหนดให้ปริมาณกรดมะนาวเริ่มต้นเป็น 100 % (ภาคผนวกที่ 13)



รูปที่ 6 ปริมาณกรดมะนาวในสารละลายที่ได้จากการละลายตะกอนแคลเซียมซิเตรท ด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 70% เมื่อผันแปรอุณหภูมิของการละลายเป็น 50°, 60°, 70° และ 80° ซ. ในช่วงเวลาของการละลายต่างๆ

3.5 อัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์กับปริมาณของแข็งทั้งหมด ที่เหมาะสมสำหรับ ฟอกสีสารละลายตะกอนกรดมะนาว

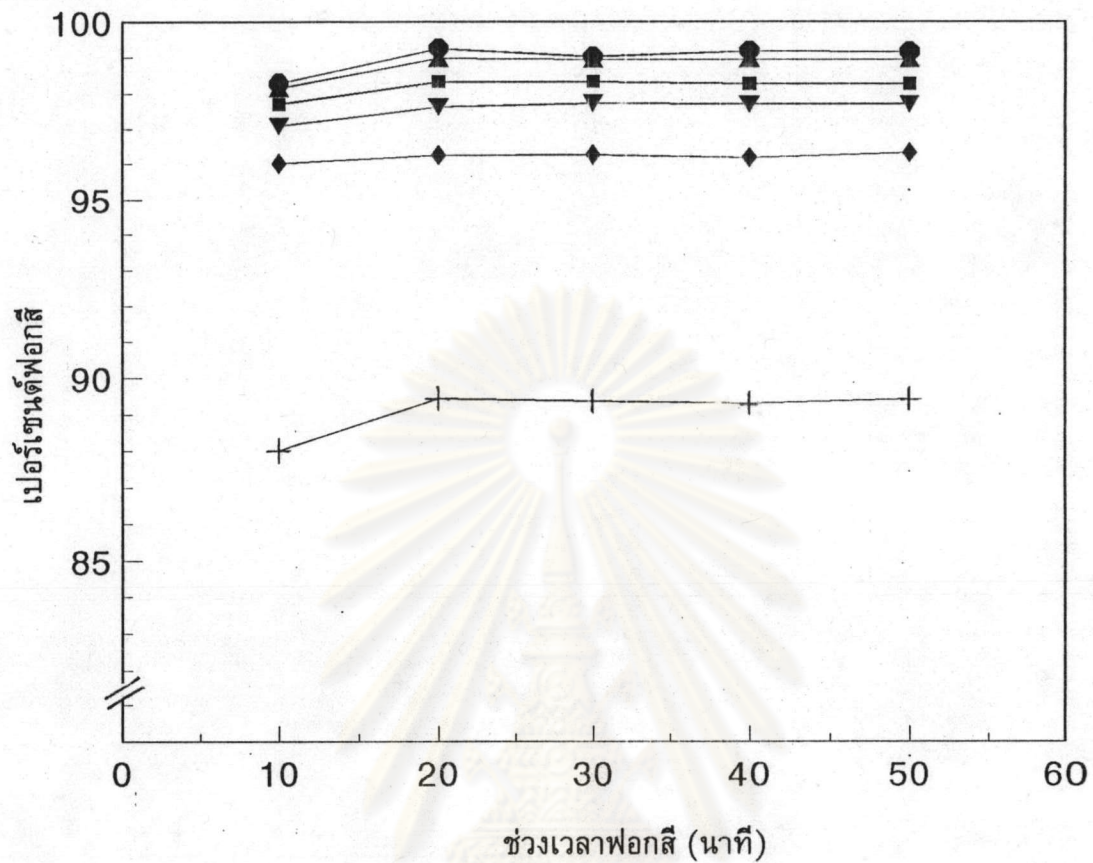
ในขั้นตอนนี้ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับฟอกสีสารละลายตะกอนกรดมะนาวที่ได้จากการละลายตะกอนแคลเซียมซัลเฟต แม้ว่าในขั้นตอนการตกตะกอนได้แยกสารปนเปื้อนส่วนใหญ่ออกไป ได้แก่ สีของน้ำหมัก โปรตีน กรดอะมิโนและน้ำตาล เป็นต้น แต่ก็ยังมีสารปนเปื้อนเหลืออยู่ในสารละลายตะกอนกรดมะนาว ดังนั้นขั้นตอนฟอกสีจึงเป็นขั้นตอนสำคัญของการกำจัดสารปนเปื้อนเพื่อให้ได้สารละลายกรดมะนาวที่มีความบริสุทธิ์สูงขึ้น และตกผลึกได้ง่ายในขั้นตอนตกผลึก ในการทดลองนี้ได้ผันแปรปริมาณผงถ่านกัมมันต์ฟอกสีกับปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid) กับช่วงเวลาที่ทำการฟอกสีโดยเตรียมสารละลายกรดมะนาวที่ได้จากการละลายตะกอนแคลเซียมซัลเฟตด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 70 % ที่อุณหภูมิ 60 °ซ. เป็นเวลา 2 ชม. ได้สารละลายที่มีกรดมะนาวเข้มข้น 32.46 % ฟอกสีสารละลายกรดมะนาวที่อุณหภูมิ 70 °ซ. ด้วยผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ต่อน้ำหนักของแข็งทั้งหมดเป็น 1.35, 2.70, 4.05, 5.40, 6.75 และ 8.10 % (w/w) ในช่วงเวลาฟอกสี 10, 20, 30, 40 และ 50 °ซ. นาทิ ตามวิธีทดลองในข้อ 9 วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ฟอกสี (ภาคผนวกที่ 13) วิเคราะห์ปริมาณกรดมะนาวหลังฟอกสีเทียบกับก่อนฟอกสี ผลการฟอกสีสารละลายตะกอนกรดมะนาว แสดงในตารางที่ 7 และรูปที่ 7

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 เปอร์เซนต์ฟอกสีสารปนเปื้อนในสารละลายตะกอนกรดมะนาว เมื่อฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ต่อน้ำหนักของแข็งทั้งหมด เป็น 1.35, 2.70, 4.05, 5.40, 6.75 และ 8.10 % (w/w) ที่อุณหภูมิ 70 °ซ. ในช่วงเวลา 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที

อัตราส่วน ผงถ่านกัมมันต์ ต่อปริมาณ ของแข็งทั้งหมด	เปอร์เซนต์ฟอกสี *				
	10 นาที	20 นาที	30 นาที	40 นาที	50 นาที
1.35	88.02±0.29	89.44±0.32	89.37±0.24	89.31±0.16	89.43±0.15
2.70	96.01±0.10	96.24±0.05	96.25±0.33	96.17±0.19	96.31±0.19
4.05	97.29±0.23	97.34±0.15	97.74±0.14	97.72±0.08	97.72±0.08
5.40	97.72±0.15	98.34±0.26	98.34±0.26	98.28±0.39	98.28±0.39
6.75	98.16±0.28	98.98±0.25	98.95±0.19	98.95±0.25	98.95±0.25
8.10	98.29±0.14	99.25±0.12	99.23±0.16	99.16±0.16	99.16±0.16

* วิเคราะห์เปอร์เซนต์ฟอกสีในสารละลายตะกอนกรดมะนาว (ภาคผนวกที่ 13) โดยกำหนดให้ก่อนฟอกสีเป็น 100 %



- | | |
|-------------------------|-------------------------|
| + ผงถ่านกัมมันต์ 1.35 % | ◆ ผงถ่านกัมมันต์ 2.70 % |
| ▼ ผงถ่านกัมมันต์ 4.05 % | ■ ผงถ่านกัมมันต์ 5.40 % |
| ▲ ผงถ่านกัมมันต์ 6.75 % | ● ผงถ่านกัมมันต์ 8.10 % |

รูปที่ 7 แสดงเปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสสารปนเปื้อนในสารละลายตะกอนกรดมะนาวด้วยผงถ่านกัมมันต์ต่อน้ำหนักของแข็งทั้งหมด 1.35, 2.70, 4.05, 5.40, 6.75 และ 8.10 % (w /w) ที่อุณหภูมิ 70^o ซ. ในช่วงเวลาฟอสฟอรัสต่างๆ

ผลการฟอสฟอรัสสารปนเปื้อนในสารละลายตะกอนกรดมะนาว เมื่อฟอสฟอรัสด้วยผงถ่านกัมมันต์ที่อุณหภูมิ 70^o ซ. สามารถฟอสฟอรัสสารละลายกรดมะนาวถึงจุดอิ่มตัว ในช่วงเวลา 30 นาที โดยเปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสสูงขึ้นตามเปอร์เซ็นต์ผงถ่านกัมมันต์ที่ใช้ฟอสฟอรัส

จากผลการทดลอง เมื่อฟอสฟอรัสด้วยผงถ่านกัมมันต์ได้เปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสมากกว่า



หรือเท่ากับ 98 % (เทียบกับน้ำกลั่น) จะได้สารละลายกรดมะนาวใส ซึ่งตรงกับผลการฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ 5.40 . 6.75 และ 8.10 % (w/w) ผลการฟอกสีได้ 98.34, 98.95 และ 99.23 % ตามลำดับ โดยเทียบกับก่อนฟอกสี สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดมะนาวหลังฟอกสีจนถึงจุดอิ่มตัวในช่วงเวลาฟอกสี 30 นาที ได้ผลแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ปริมาณกรดมะนาวในสารละลายกรดมะนาวหลังฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ต่อของแข็งทั้งหมด ในอัตราส่วน 1.35, 2.70, 4.05, 5.40, 6.75 และ 8.10%(w/w) ที่อุณหภูมิ 70 ° ซ. ในช่วงเวลาฟอกสี 30 นาที

เปอร์เซ็นต์ผงถ่านกัมมันต์ต่อปริมาณของแข็งทั้งหมด	ปริมาณกรดมะนาว (%) * ในสารละลายกรดมะนาวหลังฟอกสี
1.35	97.03 ± 0.46
2.70	96.63 ± 0.45
4.05	96.23 ± 0.25
5.40	96.11 ± 0.45
6.75	95.74 ± 0.84
8.10	95.01 ± 0.24

* วิเคราะห์เทียบกับก่อนฟอกสี โดยกำหนดให้ปริมาณกรดมะนาวก่อนฟอกสีเป็น 100%

เมื่อเพิ่มปริมาณผงถ่านกัมมันต์ฟอกสีมากขึ้น ปริมาณกรดมะนาวหลังฟอกสีจะลดลง เนื่องจากผงถ่านกัมมันต์สามารถจับกรดมะนาวได้ดี จากตารางที่ 7 แม้ว่าผลการฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ 6.75 % และ 8.10 % สามารถฟอกสีจนถึงจุดอิ่มตัวในช่วงเวลา 30 นาที ได้สูงถึง 98.95 และ 99.23 % แต่ปริมาณกรดมะนาวหลังฟอกสีได้เท่ากับ 95.75 และ 95.00% ตามลำดับ ขณะที่ผลการฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ 5.40 %

สามารถฟอกสีสารละลายสี ได้ปริมาณกรดมะนาวหลังฟอกสีเท่ากับ 96.11 % ดังนั้น จึงได้อัตราส่วนผงถ่านต่อปริมาณของแข็งทั้งหมด 5.40 % ในการฟอกสีที่อุณหภูมิ 70 °ซ. ในช่วงเวลาฟอกสีเท่ากับ 30 นาที เป็นสภาวะฟอกสีที่เหมาะสม

3.6 การจับสารเจือปนที่มีประจุในสารละลายกรดมะนาวด้วยเรซินแลกเปลี่ยนประจุ

นำสารละลายกรดมะนาวที่ผ่านการฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วนต่อของแข็งทั้งหมด 5.40% (w/w) ในช่วงเวลาฟอกสี 30 นาที ปริมาตร 100 มล. มาผ่านเรซินเพื่อจับสารปนเปื้อนที่มีประจุ เนื่องจากในสารละลายกรดมะนาวยังมีสารปนเปื้อนที่มีประจุ ได้แก่ แคลเซียม (Ca^{2+}) , เหล็ก (Fe^{3+}) , ซัลเฟต (SO_4^{2-}) และสารอื่นๆ (Milson, 1985) ต้องผ่านการจับประจุด้วยแคทไอออน Dowex-50 และแอนไอออนเรซิน Dowex-1 ตามวิธีในข้อ 10 ผันแปรอัตราไหลผ่านคอลัมน์ทั้ง 2 ด้วยอัตราไหล 1, 2, 3, 4 และ 5 มล./นาที ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ปริมาณกรดมะนาวที่แยกได้หลังจากผ่านคอลัมน์ที่มีเรซินจับประจุบวกและผ่านคอลัมน์ที่มีเรซินจับประจุลบอย่างต่อเนื่อง ด้วยอัตราไหล 1, 2, 3, 4 และ 5 มล./นาที

อัตราไหลผ่านเรซินจับประจุ (มล./ นาที)	ปริมาณกรดมะนาว(%)*
1	95.17 ± 0.33
2	95.13 ± 0.70
3	95.24 ± 0.92
4	95.18 ± 0.18
5	94.23 ± 0.27

* วิเคราะห์เทียบกับก่อนผ่านเรซินจับประจุ โดยกำหนดให้ก่อนผ่านเรซินจับประจุ มีปริมาณกรดมะนาวเป็น 100 % (ภาคผนวกที่ 13)

ผลการจับประจุบวกและประจุลบด้วยเรซินในคอลัมน์ที่อัตราไหล 1, 2, 3 และ 4 มล. / นาที ได้กรดมะนาวกลับมาหลังจากผ่านเรซิน 95.17, 95.13, 95.24 และ 95.18% ตามลำดับ สูงกว่าที่อัตราไหล 5 มล./ นาที ซึ่งได้กรดมะนาวหลังจากผ่านเรซินเท่ากับ 94.23 % จากผลการทดลอง จึงเลือกอัตราไหลผ่านคอลัมน์ 4 มล./ นาที เป็นสถานะที่เหมาะสม เนื่องจากเป็นอัตราไหลสูงสุดที่มีการสูญเสียกรดมะนาวหลังจากผ่านเรซินน้อย เมื่อนำสารละลายกรดมะนาวหลังจากผ่านการจับประจุด้วยเรซินมาวิเคราะห์ปริมาณสารปนเปื้อนที่มีประจุได้แก่ โปตัสเซียม โซเดียม แคลเซียม และเหล็ก ด้วยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชัน วิเคราะห์ปริมาณซัลเฟตด้วยวิธีวัดความขุ่นในสารละลายกรดมะนาวหลังจากผ่านเรซินในคอลัมน์จับประจุบวกและจับประจุลบ ที่อัตราไหล 4 มล./ นาที ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบปริมาณสารปนเปื้อนที่มีประจุในสารละลายกรดมะนาวก่อนผ่านและหลังจากผ่านเรซินจับประจุที่อัตราไหล 4 มล. / นาที

ไอออนสารปนเปื้อน	ก่อนผ่านคอลัมน์จับประจุบวกและประจุลบ (ไมโครกรัม/ มล.)	หลังจากผ่านคอลัมน์จับประจุบวกและประจุลบ (ไมโครกรัม/ มล.)
โปตัสเซียม (K ⁺) *	337.5	3.9
โซเดียม (Na ⁺) *	137.4	1.48
แคลเซียม (Ca ²⁺) *	720	4.5
เหล็ก (Fe ³⁺) *	65	0.5
ซัลเฟต (SO ₄ ²⁻) **	400	3

* วิเคราะห์ปริมาณด้วยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชัน (ภาคผนวกที่ 8, 9, 10, 11 และ 12)

** วิเคราะห์ปริมาณด้วยวิธีวัดความขุ่น (ภาคผนวกที่ 8)

ผลการจับสารปนเปื้อนที่มีประจุด้วยเรซินแลกเปลี่ยนประจุชนิดบวกและลบ สามารถจับประจุได้อย่างมีประสิทธิภาพทำให้ได้สารละลายกรดมะนาวมีความบริสุทธิ์สูง เหมาะสมที่จะตกผลึกกรดมะนาวในขั้นตอนตกผลึกต่อไป

3.7 การตกผลึกกรดมะนาวโมโนไฮเดรต

หลังจากผ่านสารละลายกรดมะนาวจับสารปนเปื้อนที่มีประจุด้วยเรซินจับประจุบวก และจับประจุลบ ได้สารละลายกรดมะนาวเข้มข้นประมาณ 25 % นำสารละลายกรดมะนาว ปริมาตร 100 มล. มาทำให้เข้มข้นโดยระเหยแยกน้ำออกที่อุณหภูมิ 50 °ซ. จนกระทั่งสารละลายกรดมะนาวเข้มข้นเท่ากับ 65 ° และ 68 °brix จึงเติมกรดมะนาวมาตรฐาน (บริสุทธิ์ 99.50 %) ปริมาณ 0.5 % (w/w) เพื่อเหนี่ยวนำให้ตกผลึกจากสารละลายกรดมะนาวเข้มข้นตามวิธีทดลองข้อ 11 นำผลึกกรดมะนาวที่ได้อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 45 °ซ. ในเครื่องอบสูญญากาศ วิเคราะห์ปริมาณกรดมะนาวที่ตกผลึกได้โดยวิธีชั่งน้ำหนัก ตรวจลักษณะผลึกกรดมะนาวที่ได้ แสดงผลในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 การตกผลึกกรดมะนาวโมโนไฮเดรต ที่อุณหภูมิ 25 °ซ.

กรดมะนาวเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์ผลึกกรดมะนาว *	เปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ของกรดมะนาว **	ลักษณะผลึกที่ได้
65 °brix	37	99.20	สีขาว
68 °brix	46	99.08	สีขาว

* เปรียบเทียบกับปริมาณกรดมะนาวก่อนตกผลึก โดยกำหนดให้ปริมาณกรดมะนาวทั้งหมดในสารละลายก่อนตกผลึกเป็น 100%

** เปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ วิเคราะห์ด้วย HPLC เทียบปริมาณกรดมะนาวต่อน้ำหนักสารทั้งหมด

ผลการตกผลึกกรดมะนาวโมโนไฮเดรตจากสารละลายกรดมะนาวเข้มข้น 65 ° และ 68 °brix สามารถตกผลึกกรดมะนาวโมโนไฮเดรตที่อุณหภูมิ 25 °ซ.ได้เท่ากับ 37 และ 46 % ตามลำดับ และความบริสุทธิ์ของกรดมะนาวโมโนไฮเดรตที่ตกผลึกได้เท่ากับ 99.20 และ 99.08 % ตามลำดับ โดยสารละลายกรดมะนาวที่เตรียมได้มีความเข้มข้นสูงสุด เมื่อระเหยที่อุณหภูมิ 50 °ซ. ได้เท่ากับ 68 °brix ดังนั้นจึงเลือกการตกผลึกกรดมะนาวโมโนไฮเดรตจากสารละลายกรดมะนาวเข้มข้น 68 °brix

เมื่อนำผลึกกรดมะนาวโมโนไฮเดรตมาตรฐาน ความบริสุทธิ์ 99.5 % และกรดมะนาวโมโนไฮเดรตที่ตกผลึกได้มีความบริสุทธิ์ 99.08 % มาเปรียบเทียบจุดหลอมเหลวด้วยเครื่องวิเคราะห์จุดหลอมเหลว ได้ผลแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบจุดหลอมเหลวของกรดมะนาวมาตรฐานและกรดมะนาวโมโนไฮเดรตที่เตรียมได้

สาร	จุดหลอมเหลว (°ซ.)
กรดมะนาวโมโนไฮเดรตมาตรฐาน	140-145
กรดมะนาวโมโนไฮเดรตที่เตรียมได้	138-145

ผลการตรวจสอบแสดงในตารางที่ 12 ผลึกกรดมะนาวโมโนไฮเดรตที่เตรียมได้มีจุดหลอมเหลวอยู่ในช่วงอุณหภูมิเดียวกับกรดมะนาวมาตรฐานคือ 138-145 °ซ

ผลการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกรดมะนาว ได้แก่ กากที่เหลือจากการเผา ปริมาณซัลเฟต ปริมาณเหล็ก แคลเซียมและความบริสุทธิ์ของผลึกกรดมะนาวที่เตรียมได้ อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรม (มอก., 2526) ดังแสดงในตารางที่ 13

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 13 สมบัติทางเคมีของกรดมะนาวที่เตรียมได้เทียบกับมาตรฐานอุตสาหกรรม (มอก., 2526)

คุณลักษณะของกรดมะนาว	เกณฑ์กำหนด กรดมะนาวโมโนไฮเดรท	กรดมะนาว โมโนไฮเดรทที่เตรียมได้
1. ภาวที่เหลือจากการเผาไม่เกินร้อยละ*	0.05	0.04
2. ซัลเฟต **	สารละลายต้องไม่ขุ่น	สารละลายที่ได้ไม่ขุ่น
3. เหล็ก** (มก./ล.) ไม่เกิน	50	25
4. แคลเซียม** (มก./ล.)	200	40
5. ความบริสุทธิ์กรดมะนาวคำนวณใน สภาพแห้ง ร้อยละ	99.05- 101.0	99.08

* วิเคราะห์ปริมาณตามวิธีในข้อ 12.5

** วิเคราะห์ปริมาณด้วยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชัน (ภาคผนวกที่ 9, 10)

*** วิเคราะห์ปริมาณด้วยวิธีวัดความขุ่น (ภาคผนวกที่ 8)