

การสกัดและการทำกรดแลกติกให้บริสุทธิ์จากน้ำหมัก

EXTRACTION AND PURIFICATION OF LACTIC ACID FROM  
FERMENTATION BROTH



ญานี ลีตะนันท์  
YANEE LEETANAN



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2541

ISBN 974-622-334-8

เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน.....3.1.6.6.6.  
วัน, เดือน, ปี.....21 ส.ค. 2541

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EXTRACTION AND PURIFICATION OF LACTIC ACID FROM  
FERMENTATION BROTH



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY  
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT' S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

1998

ISBN 974-622-334-8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**COPYRIGHT 1998**

**SCHOOL OF GRADUATE STUDIES**

**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG** ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การสกัดและการทำกรดแลกติกให้บริสุทธิ์จากน้ำหมัก
นักศึกษา	นางสาวญานี ลีตะนันท์
รหัสประจำตัว	38064205
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
พ.ศ.	2541
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ. ดร. ดุชนัน ณะบริพัทธ์

## บทคัดย่อ

จากการศึกษาการแยกกรดแลกติกจากน้ำหมัก โดยวิธีการตกตะกอนด้วย  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  พบว่า เมื่อใช้ตัวตกตะกอน  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  ปริมาณ 0.5 โมลของแมกนีเซียมต่อโมลของกรดแลกติก เติมลงในน้ำหมักเริ่มต้น โดยที่น้ำหมักมีพีเอช 4, 5, 6, 7, 8 ตามลำดับ ระบายน้ำหมักจนมีปริมาตร 1/6 ของปริมาตรน้ำหมักเริ่มต้น บ่มตะกอนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ตะกอนที่ได้จะอยู่ในรูปแมกนีเซียมแลกเตต ล้างตะกอนด้วยน้ำอุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ละลายตะกอนด้วยน้ำอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส สกัดกรดแลกติกด้วยตัวทำละลายบิวทานอล พบว่า ที่พีเอช 7 เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการตกตะกอนด้วย  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  มีเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว 95.56 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำไปผ่านการฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ปริมาณ 2 กรัม ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 5 นาที สามารถฟอกสีได้ 93.20 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว 87.94 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาผ่านเรซินแลกเปลี่ยนประจุชนิดแอนไอออน (Amberlite IRA-400) มีเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว 84.96 เปอร์เซ็นต์ สารละลายกรดแลกติกเมื่อผ่านขั้นตอน การสกัด ผ่านการฟอกสี ผ่านเรซิน จะไม่มีการปนเปื้อนจากน้ำตาลกลูโคส แมกนีเซียม โพแทสเซียม และโซเดียม (ตรวจวัดความเข้มข้นที่ระดับ ppm) สารละลายกรดแลกติกเมื่อผ่านขั้นตอนการสกัด ผ่านการฟอกสี ผ่านเรซิน มีเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ 95 เปอร์เซ็นต์

Thesis Title	Extraction and Purification of Lactic Acid from Fermentation Broth
Student	Miss Yanee Leetanan
Student ID.	38064205
Degree	Master of Science in Biotechnology
Program	Biotechnology
Year	1998
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Dusanèe Thanaboripat

## Abstract

Lactic acid was recovered from fermentation broth at pH 4, 5, 6, 7, 8 by precipitation with  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (0.5 mol Mg/mole lactic acid). The solution was concentrated to one-sixth by evaporation at  $100^\circ C$ . The precipitate was washed with distilled water at  $0^\circ C$  and dissolved in distilled water at  $90^\circ C$ . The solution was extracted with n-butanol and back-extracted with water. The yield of lactic acid was best obtained at pH 7 with  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (0.5 mol Mg/mole lactic acid). The overall yield of lactic acid was 95.56%. It was then decolorized with 2 grams of activated carbon powder at  $100^\circ C$  for 5 minutes. The recovery of lactic acid was about 87.94%. The impurity in lactic acid solution was removed by passing through anion exchange resin (Amberlite IRA-400). The recovery of lactic acid was about 84.96%. The final lactic acid solution was not contaminated with glucose, magnesium, potassium and sodium at concentration of 1 per million. The purification of lactic acid was 95%.

# กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยเรื่อง "การสกัดและการทำกรดแลกติกให้บริสุทธิ์จากน้ำหมัก" สำเร็จลุล่วงด้วยความอนุเคราะห์จาก รองศาสตราจารย์ ดร. ดุชนี ณะบริพัฒน์ ดร. รัตนา ตีพันธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นवलพรรณ ณ ระนอง ที่กรุณารับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ให้คำแนะนำผู้วิจัยตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เนาวรัตน์ ปานแย้ม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อรไท สุขเจริญ และดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์ ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณคณาจารย์คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ส่งเสริมการศึกษาของบุตรเป็นอย่างดี และขอขอบคุณ คุณพยอม เกียรติกำจร คุณวิทยา เขียวเขิน เจ้าหน้าที่ภาคชีววิทยาประยุกต์ทุกท่าน เพื่อนๆ และผู้อยู่เบื้องหลังทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือ ในการทำวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ต้นจนจบ

ญาณี ลีตะนันท์

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญภาพ.....	XI
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 สมบัติทางเคมีของกรดแลกติก.....	3
2.2 ประวัติและความเป็นมาของกรดแลกติก.....	5
2.3 การผลิตกรดแลกติกด้วยวิธีทางชีวภาพ.....	6
2.4 การผลิตกรดแลกติกด้วยวิธีทางเคมี.....	12
2.5 กระบวนการแยกกรดแลกติก.....	12
2.6 ทฤษฎีการแลกเปลี่ยนไอออน.....	16
2.7 ประเภทของผงถ่านกัมมันต์.....	26
2.8 วิธีการสังเคราะห์คาร์บอน.....	27
2.9 ผงถ่านกัมมันต์.....	27
2.10 กลไกการดูดซับ.....	28
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ.....	
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการ IV เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.2 สารเคมี.....	30
3.3 เชื้อจุลินทรีย์.....	33
3.4 การผลิตกรดแลกติก.....	31
3.5 การแยกเซลล์จุลินทรีย์ออกจากน้ำหมัก.....	31
3.6 การแยกกรดแลกติกจากน้ำหมักวิธีที่การดัดแปลง จากวิธีของ Benthin และ Villadsen(1995).....	31
3.7 ศึกษาผลของพีเอชต่อการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ และสกัดเกลือแลกเตตด้วยตัวทำละลาย n-butanol.....	34
3.8 ศึกษาผลของพีเอชต่อการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ และสกัดเกลือแลกเตตด้วยตัวทำละลาย n-butanol.....	34
3.9 ศึกษาหาปริมาณกรดแลกติกที่ได้จากการตกตะกอนที่สภาวะที่เหมาะสม ในตัวทำละลาย n-butanol , Octanol และ Isoamyl alcohol.....	34
3.10 ศึกษาหาปริมาณผงถ่านกัมมันต์ที่เหมาะสมในการฟอกสี สารละลายกรดแลกติก.....	34
3.11 ศึกษาอัตราการไหลผ่านเรซินแลกเปลี่ยนประจุชนิดแอนไอออน (Amberlite IRA-400).....	35
3.12 ศึกษาปริมาณสารปนเปื้อนที่มีอยู่ในสารละลายที่ได้ในแต่ละ ขั้นตอนการแยกกรดแลกติกน้ำหมัก.....	35
3.13 การวิเคราะห์.....	35

### บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการศึกษาวิธีการตกตะกอนและสกัดกรดแลกติกโดยใช้น้ำหมัก ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ <i>L. casei</i> TISTR 47 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Broth.....	38
4.2 ผลของพีเอชต่อการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ และสกัดเกลือแลกเตตด้วยตัวทำละลาย n-butanol.....	38

# สารบัญ(ต่อ)

หน้า

4.3 ผลของพีเอชต่อการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ และสกัดเกลือแลกเตตด้วยตัวทำละลาย n-butanol.....	41
4.4 ผลการศึกษาหาปริมาณกรดแลกติกที่ได้จากการตกตะกอนด้วย $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ที่พีเอช 7 ในตัวทำละลาย n-butanol , Octanol, และ Isoamyl alcohol.....	44
4.5 ผลการหาปริมาณผงถ่านกัมมันต์ที่เหมาะสมกับการฟอกสีสารละลาย กรดแลกติกที่ได้จากการตกตะกอนและสกัดจากน้ำหมัก.....	47
4.6 ผลการไหลผ่านเรซินแลกเปลี่ยนประจุชนิดแอนไอออน(Amberlite IRA-400) ของสารละลายกรดแลกติก.....	52
4.7 ผลการศึกษาความบริสุทธิ์ของกรดแลกติก.....	54
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	56
ข้อเสนอแนะ.....	58
บรรณานุกรม.....	59
ภาคผนวก ก.....	63
ภาคผนวก ข.....	64
ประวัติผู้เขียน.....	75

# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สมบัติทางกายภาพของกรดแลกติก.....	4
2.2 หมู่ไอออนของเรซินประเภทต่างๆ.....	24
4.1 แสดงผลของพีเอชต่อการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ และสกัดด้วยตัวทำละลาย n-butanol .....	39
4.2 แสดงผลของพีเอชต่อการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ และสกัดด้วยตัวทำละลาย n-butanol .....	42
4.3 แสดงปริมาณกรดแลกติกที่ได้จากการตกตะกอน $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ที่พีเอช 7 ในตัวทำละลาย n-butanol , Octanol, และ Isoamyl alcohol.....	45
4.4 แสดงเปอร์เซ็นต์การฟอกสีสารปนเปื้อนในสารละลายกรดแลกติก ด้วยผงถ่านกัมมันต์ปริมาณ 1, 2, 3, 4, และ 5 กรัม.....	48
4.5 แสดงปริมาณกรดแลกติกในสารละลายหลังจากการฟอกสี ด้วยผงถ่านกัมมันต์ปริมาณ 1, 2, 3, 4, และ 5 กรัม.....	50
4.6 แสดงเปอร์เซ็นต์กรดแลกติกที่แยกได้หลังจากผ่านเรซินแลกเปลี่ยน ประจุชนิดแอนไอออน(Amberlite IRA-400) ด้วยอัตราการไหล 1, 2, 3 , 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อนาที.....	52
4.7 เปรียบเทียบปริมาณสารปนเปื้อนในสารละลายในแต่ละช่วงของการสกัดและทำการ แลกติกให้บริสุทธิ์จากน้ำหมัก.....	55

# สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.2 สูตรโครงสร้างของ L(+)-lactic acid.....	3
2.2 สูตรโครงสร้างของ D(-)-lactic acid.....	3
2.3 การเกิด self-esterification ของกรดแลคติก.....	4
2.4 โครงสร้างพอลิแลคติกแอซิด.....	5
2.5 แสดงไซคลิกพอลิเมอร์ของกรดแลคติก.....	5
2.6 การผลิตกรดแลคติกโดยแลคติกแอซิดแบคทีเรีย.....	8
2.7 การแยกแบบ liquid surfactant menbrane.....	15
2.8 คอลัมน์ที่ใช้ศึกษาในห้องปฏิบัติการ .....	17
2.9 รูปร่างของเรซินแลกเปลี่ยนไอออน .....	18
2.10 องค์ประกอบของเม็ดเรซิน.....	19
2.11 แสดงถึงกลไกการดูดซับสาร .....	28
3.1 ขั้นตอนการสกัดกรดแลคติกด้วยตัวทำละลายและสกัดย้อนกลับด้วยน้ำ.....	33
4.1 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวของปริมาณกรดแลคติกที่ได้จาก การตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ และสกัดด้วยตัวทำละลาย n-butanol ที่พีเอช 4, 5, 6, 7, 8.....	40
4.2 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวของปริมาณกรดแลคติกที่ได้จาก การตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ และสกัดด้วยตัวทำละลาย n-butanol ที่พีเอช 4, 5, 6, 7, 8.....	43
4.3 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวของปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากการตกตะกอนด้วย $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ที่พีเอช 7 ในตัวทำละลาย n-butanol, Octanol และ Isoamyl alcohol.....	48
4.4 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การฟอกสีสารปนเปื้อนในสารละลายกรดแลคติก เมื่อฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ปริมาณ 1, 2, 3, 4 และ 5 กรัม.....	49
4.5 เปรียบเทียบ เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวของปริมาณกรดแลคติกในสารละลายหลังจาก การฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ปริมาณ 1, 2, 3, 4 และ 5 กรัม.....	51
4.6 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกที่แยกได้หลังจากผ่านเรซินแลกเปลี่ยนประจุ ชนิดแอนไอออน(Amberlite IRA-400) ด้วยอัตราการไหล 1, 2, 3, 4	

# สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่	หน้า
และ 5 มิลลิลิตรต่อนาที.....	53
1 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณกรดแลกติกโดยเครื่อง HPLC .....	64
2 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำตาลกลูโคส.....	65
3 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณแมกนีเซียมโดยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชัน สเปกโทรสโกปี.....	66
4 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณตะกั่วโดยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชัน สเปกโทรสโกปี.....	67
5 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณโพแทสเซียมโดยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชัน สเปกโทรสโกปี.....	68
6 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณโซเดียมโดยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชัน สเปกโทรสโกปี.....	69
7 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณเหล็กโดยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชัน สเปกโทรสโกปี.....	70
8 แสดงการไหลผ่านเรซินแลกเปลี่ยนประจุชนิดแอนไอออน (Amberlite IRA-400).....	71
9 ลักษณะโคม่าโตแกรมของกรดแลกติกวิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC.....	72

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กรดแลกติก (lactic acid) เป็นกรดอินทรีย์ที่นิยมใช้กันมาก จากสถิติในปี ค.ศ. 1990 พบว่า ทั่วโลกสามารถผลิตกรดแลกติกได้ประมาณ  $40 \times 10^3$  ตันต่อปี (Rathin และคณะ 1993 : 221) การผลิตกรดแลกติกสามารถผลิตได้ 2 วิธี คือ วิธีทางชีวภาพโดยการหมัก มีบริษัทผู้ผลิตรายใหญ่ คือ CCA Biochem จากประเทศเนเธอร์แลนด์ มีสาขาในประเทศบราซิล และสเปน วิธีทางเคมี มีบริษัทผู้ผลิต คือ Stealing Chemicals, Inc ในรัฐเท็กซัส ประเทศสหรัฐอเมริกา และบริษัท Musashino ประเทศญี่ปุ่น ปัจจุบันการผลิตกรดแลกติกด้วยวิธีทางชีวภาพโดยการหมักกำลังได้รับความสนใจ เนื่องจากการผลิตสามารถใช้ของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมต่างๆได้ เช่น corn steep liquor ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากโรงงานแป้งข้าวโพดที่เหลือหลายล้านตันต่อปี นำมาทำการหมักด้วยเชื้อแลกติกแบคทีเรีย ในสภาวะที่ควบคุมปัจจัยต่างๆ เช่น อุณหภูมิ อัตราการให้อากาศ พีเอช ปริมาณสารอาหาร เป็นต้น ซึ่งกรดแลกติกที่แบคทีเรียผลิตได้ จะอยู่ในรูป D(-) lactic acid, L(+) lactic acid หรือ DL(-) lactic acid ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรีย จึงเป็นข้อดีของการผลิตกรดแลกติกโดยการหมัก แต่ในการผลิตกรดแลกติกโดยการหมักมีข้อจำกัด คือ ความเข้มข้นของกรดแลกติกที่สูงจะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและการผลิตกรดแลกติกของแบคทีเรีย ทำให้มีปริมาณกรดแลกติกที่ได้จากการหมักมีความเข้มข้นต่ำ สำหรับการผลิตกรดแลกติกด้วยวิธีทางเคมีมีของเหลือทิ้งจากการผลิตมาก การควบคุมการผลิตยุ่งยาก ลึนเปลืองพลังงาน และเมื่อต้องการที่จะนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร ต้องมีการควบคุมการปนเปื้อนจากไซยาไนด์ที่เป็นวัตถุพิษในการผลิตที่อาจตกค้างอยู่ และกรดแลกติกที่ผลิตได้ จะอยู่ในรูป DL(-) lactic acid

กรดแลกติกใช้เป็นส่วนประกอบในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากกรดแลกติกมีรสเปรี้ยวช่วยในการปรุงรสอาหารและเป็นสารกันเสียในอาหาร อุตสาหกรรมยาใช้เป็นตัวปรับความเป็นกรดเป็นด่างของยา เป็นส่วนประกอบของยาบางชนิด เช่น ยาแก้ปวดและหูด และเป็นส่วนประกอบในการผลิตโพลีเมอร์ที่ใช้ในการเย็บแผล อุตสาหกรรมพลาสติกใช้เป็นส่วนประกอบในการผลิต plasticizer, phenol-formaldehyde resin, cellophane อุตสาหกรรมอื่นๆ เช่น การฟอกย้อมเสื้อผ้า ช่วยให้สีย้อมติดผ้าได้ดี ในประเทศไทยมีการใช้กรดแลกติกในอุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมยา ซึ่งจะสั่งซื้อกรดแลกติกจากต่างประเทศ ไม่มีโรงงานผลิตกรดแลกติกในประเทศไทย

ดังนั้นกระบวนการแยกกรดแลกติกจากน้ำหมักและทำให้บริสุทธิ์จึงมีความสำคัญมาก เนื่องจากประสิทธิภาพการแยกสกัดที่ดี ทำให้กรดแลกติกที่ได้ไม่สูญเสียไป และช่วยลดต้นทุนการผลิตกรดแลกติก การผลิตกรดแลกติกให้มีความบริสุทธิ์เพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมที่มีความต้องการกรดแลกติกที่มีความบริสุทธิ์ ในการใช้กรดแลกติกเป็นวัตถุดิบ เช่น อุตสาหกรรมยา และอุตสาหกรรมอาหาร

## 1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย

- 1.2.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตกตะกอนกรดแลกติกจากน้ำหมัก
- 1.2.2 ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดกรดแลกติก
- 1.2.3 ศึกษาปริมาณผงถ่านกัมมันต์ที่เหมาะสมกับการฟอกสีกรดแลกติกที่ได้จากการตกตะกอนและสกัดกรดแลกติกจากน้ำหมัก
- 1.2.4 ศึกษาการทำกรดแลกติกให้บริสุทธิ์โดยใช้เรซิน
- 1.2.5 ศึกษาความบริสุทธิ์ของกรดแลกติกที่ได้จากการสกัด

## 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสกัดกรดแลกติกที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 47 ซึ่งผลิตกรดแลกติกจากอาหาร MRS Broth ที่มีกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร โดยเปลี่ยนพีเอชของน้ำหมัก และศึกษาวิธีการทำกรดแลกติกที่แยกได้จากการหมักให้บริสุทธิ์โดยใช้ถ่านกัมมันต์และเรซิน

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 สามารถแยกสกัดกรดแลกติกจากน้ำหมักโดยมีการสูญเสียกรดแลกติกน้อยที่สุด
- 1.4.2 ลดต้นทุนในการผลิตกรดแลกติกด้วยการแยกสกัดกรดแลกติกที่มีประสิทธิภาพ
- 1.4.3 สามารถนำวิธีการนี้ไปประยุกต์ใช้ในการแยกกรดอินทรีย์อื่น

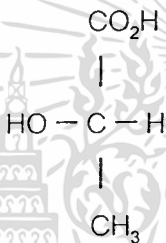
## บทที่ 2

# ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

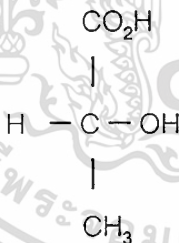
### 2.1 สมบัติทางเคมีของกรดแลกติก

กรดแลกติกมีชื่อทางเคมีว่า 2-hydroxypropanoic acid หรือ 2-hydroxypropionic acid สูตรโมเลกุล  $C_3H_6O_3$  กรดแลกติกมี 2 isomer (Filachion 1952 :167 ) ดังภาพที่ 2.1 และ 2.2 สมบัติทางกายภาพของกรดแลกติก (Lockwood และคณะ 1965:857 และ Holten และคณะ 1971:873) แสดงไว้ในตารางที่ 2.1

ภาพที่ 2.1 สูตรโครงสร้างของ L(+)-lactic acid



ภาพที่ 2.2 สูตรโครงสร้างของ D(-)-lactic acid



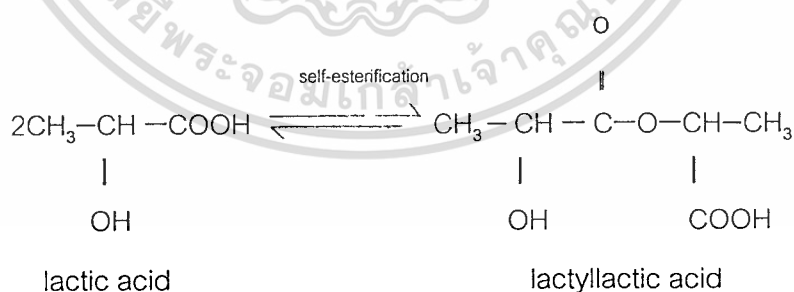
การเปลี่ยนรูปของ L(+)-lactic acid และ D(-)-lactic acid เกิดจากการหมุนของเอทิลีนออกไซด์บริดจ์ (ethylene oxide bridge ) ระหว่างคาร์บอนอะตอมที่หนึ่งและอะตอมที่สอง โดยเกิดทาโทเมอริกชิฟ (tautomeric shift) ของไฮดรอกซิลกรุป(hydroxyl group) บนคาร์บอนอะตอมที่สองไปเป็นคาร์บอนิลกรุป(Carbonyl group) ของ คาร์บอกซิล(Carboxyl) (Lockwood และคณะ 1965:763)

## ตารางที่ 2.1 สมบัติทางกายภาพของกรดแล็กติก

น้ำหนักโมเลกุล	90.08
จุดหลอมเหลว D(-)หรือ L(+)	52.8-54 องศาเซลเซียส
DL(ในสัดส่วนต่างๆ)	16.8-33 องศาเซลเซียส
จุดเดือด DL	82 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 0.5 มม.ของปรอท 122 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 14 มม.ของปรอท
ค่าคงที่ของการแตกตัว ( $K_a$ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส )	$1.37 \times 10^{-4}$
ค่าความร้อนของการเผาไหม้ ( $H_c$ )	1361 กิโลจูลต่อโมล
ค่าความร้อนจำเพาะ ( $C_p$ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส )	190 กิโลจูลต่อโมล องศาเซลเซียส ( $KJ/mol^{\circ}C$ )

กรดแล็กติกที่มีความบริสุทธิ์สูงจะไม่มีสี กรดแล็กติกสามารถละลายน้ำ เอทานอล อะซีโตน อีเทอร์ และไม่ละลายในคลอโรฟอร์ม ปิโตรเลียมอีเทอร์ และคาร์บอนไดซัลไฟด์ (Lockwood และคณะ 1965: 763)

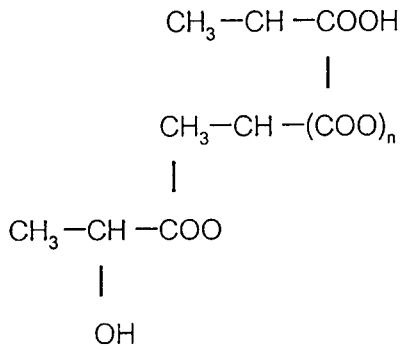
สารละลายกรดแล็กติกที่มีความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรสามารถเกิด self-esterification ได้เพราะกลุ่มของไฮดรอกซิลและคาร์บอกซิล ปฏิกริยา self-esterification ของกรดแล็กติก ดังภาพที่ 2.3 (Filachion 1952 :168 )



ภาพที่ 2.3 การเกิด self-esterification ของกรดแล็กติก

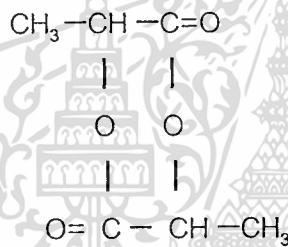
กรดแล็กติกมารวมกันหลายๆโมเลกุล ทำให้เกิดพอลิแล็กติกแอซิด (polylactic acid) มีน้ำหนักโมเลกุลมากใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลาสติก โครงสร้างพอลิแล็กติกแอซิด (Filachion 1952 :168 ) ดังภาพที่ 2.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างพอลิแลกติกแอซิด

กรดแลกติกเกิดเป็นไซคลิกพอลิเมอร์ (cyclic polymers) เช่น lactide (3,6-dimethyl-p-dioxane-2,5-dione) ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลาสติก โครงสร้างไซคลิกพอลิเมอร์ของกรดแลกติก (Filachion 1952 :168) ดังภาพที่ 2.5



ภาพที่ 2.5 ไซคลิกพอลิเมอร์ของกรดแลกติก

กรดแลกติกเป็นกรดอินทรีย์ที่สิ่งมีชีวิตสามารถผลิตได้ในความเข้มข้นต่ำ กรดแลกติกความเข้มข้นสูงเป็นอันตรายต่อร่างกายทั้งภายนอกและภายใน เมื่อกรดสัมผัสกับผิวหนังจะเหมือนถูกไฟลวก เมื่อกรดถูกดวงตาสสามารถทำให้ตาบอดได้ ในกรณีที่กรดถูกดวงตาหรือผิวหนังควรล้างออกด้วยน้ำสะอาดหลายๆครั้ง (Foster 1972:127)

## 2.2 ประวัติและความเป็นมาของกรดแลกติก

ในปี ค.ศ. 1942 ประเทศสหรัฐอเมริกา ผลิตกรดแลกติกได้  $2.7 \times 10^6$  กิโลกรัมต่อปี ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องหนังช่วยในการฟอกย้อม 50 เปอร์เซ็นต์ ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร 20 เปอร์เซ็นต์ (Filachion 1952:167) ในปี ค.ศ. 1780 Scheel ได้แยกกรดแลกติกออกจากนมเปรี้ยวเป็นครั้งแรก ในปี ค.ศ. 1881 ได้มีการผลิตกรดแลกติกเป็นการค้าครั้งแรกโดย Charles E. Avery ที่เมืองลิตเติลตัน รัฐแมสซาชูเซต ประเทศสหรัฐอเมริกา ในปี ค.ศ. 1882 ได้มีการผลิตกรดแลกติก  $24-28 \times 10^6$  กิโลกรัมต่อปี มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อปรับความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร และเป็นสารกันเสียในอาหาร 20 เปอร์เซ็นต์

ที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารใช้ในรูป sodium หรือ calcium stearoyl-2-lactylate เป็นส่วนผสมในการทำขนมอบ ส่วนที่เหลือใช้ในอุตสาหกรรมยาและเป็นส่วนประกอบในการย้อมสีเครื่องหนังและเสื้อผ้า การผลิตกรดแลคติกปริมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ผลิตโดยการหมัก (Vickroy 1985: 765) ในปัจจุบันการผลิตกรดแลคติกในระดับอุตสาหกรรมโดยการหมัก 70 เปอร์เซ็นต์เป็นการหมักแบบแบช (Vaccari และคณะ 1993:23)

## 2.3 การผลิตกรดแลคติกด้วยวิธีทางชีวภาพ

### 2.3.1 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดแลคติก (Brock และคณะ 1997:718-724)

#### 2.3.1.1 แลคติกแอซิดแบคทีเรีย แบ่งได้ 6 จีนัส (genus)

2.3.1.1.1 *Lactobacillus* เป็นแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตกรดแลคติกระดับอุตสาหกรรมมีหลาย subspecies ตัวอย่างเช่น *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *L. delbrueckii* subsp. *lactis* (Gasser และคณะ 1970:224-239) นอกจากนี้ยังมี *Lactobacillus* species อื่นๆ เช่น *L. casei*, *L. helveticus*, *L. acidophilus* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมกับการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติก สภาวะที่ใช้ในการหมัก คือ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พีเอช 5-7 ในอุตสาหกรรมใช้ความเข้มข้นน้ำตาลประมาณ 12- 15 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลาในการหมัก 2-4 วัน สามารถผลิตกรดแลคติกได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบจากผลิตภัณฑ์ทั้งหมด (Vickroy 1985:766)

การเลือกจุลินทรีย์ในการหมักกรดแลคติก ขึ้นกับแหล่งคาร์บอนที่เป็นวัตถุดิบ (Gasser และคณะ 1970:224) ความสามารถในการผลิตกรดและการเจริญในแหล่งของน้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. lactis* เหมาะสมกับการหมักน้ำตาลกลูโคส *L. pentosus* ใช้น้ำทิ้งจากโรงงานทำเยื่อกระดาษที่มีซัลไฟต์ในการหมักกรดแลคติก (Leonard 1959:393) Nakamura และ Crowell (1979:531-540) ได้แยก *L. amylophilus* ซึ่งเป็น homofermentative strain สามารถผลิต L(+) lactic acid ได้ 90 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์ทั้งหมด *L. amylophilus* เป็นพวก facultative anaerobe แกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ และมีรูปร่างเป็นท่อน สามารถผลิต L(-), lactic acid และ D(-) lactic acid ได้จากแป้ง

#### 2.3.1.1.2 *Streptococcus* สามารถแบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 ทำให้เกิดโรค (pathogen) เช่น *S. agalactiae* เป็นสาเหตุของโรคเต้านม

อักเสบในวัวนม *S. pyogenes* เป็นสาเหตุของโรคคอเจ็บ

นอกจากนี้ยังมีจุลินทรีย์อื่น ๆ อีกจำนวนมากที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้เช่นกัน ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 2 ใช้ในอุตสาหกรรมนม เช่น *S. thermophilus* ใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น(strater) ในการผลิตเนยแข็ง เช่น เนยแข็งสวิส(swiss cheese) และนมเปรี้ยว เนื่องจากสามารถผลิต กลิ่นเฉพาะของผลิตภัณฑ์นมได้

2.3.1.1.3 *Leuconostoc* เป็นพวก heterofermentative สามารถผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ ในอุตสาหกรรมใช้เชื้อ *L. cremoris* เป็นเชื้อเริ่มต้นในการผลิตเนยแข็งกูดา(gouda cheese) เนยแข็งนี้มีลักษณะพิเศษ คือ เนื้อเนยเป็นโพรง ซึ่งเกิดจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้จากการผลิตของเชื้อ *L. cremoris* ไปดันเนื้อเนยให้เกิดเป็นโพรง

2.3.1.1.4 *Pediococcus* เป็น homofermentative สามารถผลิตกรดแลกติกได้ 0.5-0.9 เปอร์เซ็นต์ และเจริญได้ดีในอาหารที่มีเกลือความเข้มข้นสูง

2.3.1.1.5 *Enterococcus* เป็นจุลินทรีย์ที่พบในลำไส้คนและสัตว์ เช่น *E. faecalis*

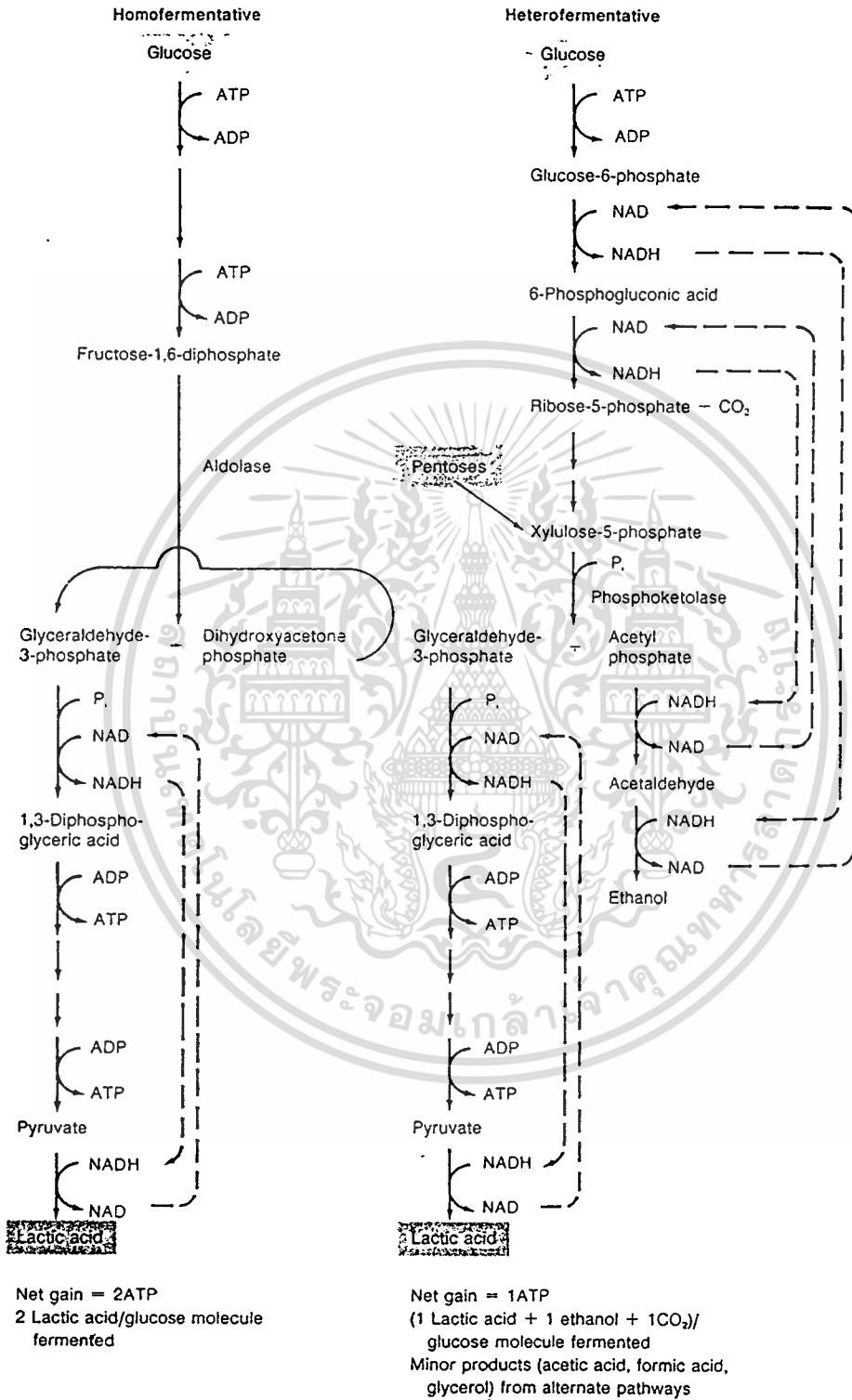
2.3.1.1.6 *Lactococcus* เป็นเชื้อเริ่มต้นในการผลิตครีมเปรี้ยว (sour cream) คอตเตจชีส (cottage cheese)

แลกติกแอซิดแบคทีเรีย แบ่งตามการผลิตกรดแลกติกได้ 2 พวก คือ

1 homofermentative สามารถเปลี่ยนกลูโคสเป็นกรดแลกติกเพียงอย่างเดียว โดยใช้ เอนไซม์อัลโดเลส (aldolase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ตัวหนึ่งในวิถีไกลโคไลติก(glycolytic pathway)

2 heterofermentative สามารถเปลี่ยนกลูโคสเป็นกรดแลกติก เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ ด้วยวิธีฟอสโฟคีโตเลส(phosphoketolase pathway)

การผลิตกรดแลกติกโดยแลกติกแอซิดแบคทีเรีย (Brock และคณะ1997 : 721) ดังภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 การผลิตกรดแลกติกโดยแลกติกแอซิดแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1.2 จุลินทรีย์อื่น ๆ ที่สามารถผลิตกรดแลกติกได้ Gilliland (1979: 15-19) พบว่า *Saccharomyces cerevisiae* บางสายพันธุ์สามารถผลิตกรดแลกติก เอทานอล กลีเซอรอล สารประกอบที่มีคาร์บอน 14 ตัว ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ขึ้นกับสายพันธุ์ของเชื้อ *Rhizopus oryzae* และ *R. tokinensis* สามารถผลิต L(+) lactic acid ได้ (Chen และ Zutong 1995:91-95) ความยุ่งยากในเรื่องของความต้องการสารอาหารมากกว่าแลกติกแอซิด แบคทีเรีย Snell และ Lowery(1964:1-7) ได้เปรียบเทียบ *Lactobacillus* และ *Rhizopus* พบว่า *Rhizopus* สามารถผลิตกรดแลกติกจากแป้งได้และมีผลพลอยได้อื่นๆ เหลืออยู่มาก (โพลีอัล และ กรดอินทรีย์อื่นๆ) Rosenberg และคณะ (1992 : 45-48) ศึกษาการผลิตสารโพลีอัล และ กรดไขมันในระหว่างการผลิตกรดแลกติกโดยเชื้อ *Rhizopus arrhizus* พบว่า *R. arrhizus* สามารถผลิตกรดแลกติกและกรดแกมมาลิโนลิอิกได้ ซึ่งการผลิตจะใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโตในระยะแรก และผลิตกรดแลกติกพร้อมด้วยสารพวกโพลีอัลไปพร้อมกัน เมื่อน้ำตาลที่ใช้เป็น สารอาหารหมด เชื้อจะหยุดการผลิตกรดแลกติกและสารโพลีอัล และเริ่มผลิตกรดแกมมาลิโน ลีอิก โดยใช้โพลีอัลเป็นสารอาหารเริ่มต้น และสารโพลีอัลดังกล่าวส่วนใหญ่เป็นกลีเซอรอล ยีสต์และราที่สามารถผลิตกรดแลกติกจากเมล็ดมะกอกฝรั่ง คือ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Hansenula Fusarium Aspergillus* (Prescott และคณะ 1982: 254)

## 2.3.2 การหมักเพื่อผลิตกรดแลกติก

2.3.2.1 การหมักแบบแบช (batch) เป็นการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง ทำการหมักในระบบปิดที่มีการเติมสารอาหารเริ่มต้นปริมาณจำกัด เมื่อใส่เชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการเพาะเลี้ยงแล้ว จะไม่มีการเติมสารอาหารใดๆอีก อัตราการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จะลดลงเป็นศูนย์เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อหมดลง หรือเมื่อมีการสะสมของผลิตภัณฑ์ที่เป็นพิษเกิดขึ้นหรือเกิดขึ้นทั้งสองสาเหตุ ในอุตสาหกรรมผลิตกรดแลกติก ถึงหมักสร้างจากไม้หรือเหล็กกล้าไร้สนิม มีอุปกรณ์ควบคุมการแลกเปลี่ยนความร้อน การกวนให้อากาศจากด้านบน สภาพการหมักขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลกติก เช่น *L. delbrueckii* จะผลิตกรดแลกติกได้ดีที่อุณหภูมิ 45-60 องศาเซลเซียส และพีเอช 5.0-6.5 (Inskeep และคณะ 1952:1955) *L. bulgaricus* ที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส และพีเอช 6.0-7.0 (Burton 1937:571) *Rhizopus* ที่อุณหภูมิ 30-50 องศาเซลเซียส และพีเอชต่ำกว่า 6 (Snell และ Lowery 1964: 1-7)

2.3.2.2 การหมักแบบต่อเนื่อง เป็นการหมักซึ่งทำการหมักในระบบเปิดมีการเติมสารอาหารใหม่ และแยกอาหารเก่าที่มีผลิตภัณฑ์ออกจากระบบในอัตราเดียวกันตลอดเวลา ทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้อย่างต่อเนื่อง โดยไม่มีข้อจำกัดในเรื่องสารอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อดีของการหมักแบบต่อเนื่อง

1. ถังหมักที่ใช้มีขนาดเล็กกว่าถังหมักแบบแบช การใช้งานอย่างต่อเนื่องช่วยลดเวลาในการทำความสะอาด และประหยัดค่าใช้จ่าย

2. การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้นในอัตราที่คงที่ในสภาวะที่คงที่ และการหมักแบบนี้สามารถควบคุมปัจจัยต่างๆได้สะดวก เช่น ปริมาณออกซิเจน อุณหภูมิ พีเอช

ข้อเสียของการหมักแบบต่อเนื่อง ได้แก่ การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆและการกลายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ เพราะระยะเวลาในการหมักนานมากกว่าการหมักแบบแบช

Keller และคณะ (1975 : 997) ศึกษาการหมักแบบต่อเนื่องในแบบ 2 ขั้นตอนแบบไม่ปลอดเชื้อโดยใช้หางนมเป็นวัตถุดิบในการผลิตกรดแลคติก พบว่า สามารถผลิตกรดแลคติกได้ 95 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์ทั้งหมด ที่พีเอช 5.5 ในเวลา 31 ชั่วโมง

Boyarol และคณะ (1987 : 179) ศึกษาการผลิตกรดแลคติกแบบต่อเนื่องโดยการลดความเข้มข้นของกรดแลคติกโดยใช้ Ultrafiltration แยกเซลล์จุลินทรีย์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ และแยกกรดแลคติกออกโดยใช้ Electrodialysis พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณกรดแลคติกได้ 3 เท่า

Ultrafiltration คือ การแยกโดยใช้เมมเบรนและใช้แรงดันช่วยในการแยกสารคอลลอยด์ต่างๆ เช่น เซลล์จุลินทรีย์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ

Electrodialysis คือ การใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้าทำให้เกิดการแยกสารที่แตกตัวเป็นไอออนได้ออกจากน้ำ

2.3.2.3 การปรับปรุงการหมักกรดแลคติก การผลิตกรดแลคติกมีปัญหาในเรื่องของปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตได้เนื่องจากมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ ดังนั้นสามารถนำเทคนิคการตรึงเซลล์มาป้องกันไม่ให้เซลล์สัมผัสกับกรดแลคติกโดยตรง หรือการแยกกรดแลคติกออกจากน้ำหมักในระหว่างการหมักในถังหมัก หรือการปรับปรุงสายพันธุ์ของเชื้อเพื่อที่จะผลิตกรดแลคติกได้มาก และมีความทนทานต่อปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตได้

Yanbannavar และคณะ (1991 : 508-511) ได้ศึกษาการตรึงเซลล์ *L. delbrueckii* ด้วยตัวตรึง K-carrageenan เลี้ยงในถังหมักและทำการสกัดแยกกรดแลคติกด้วย 15 เปอร์เซ็นต์ Alamine 336 ที่เจือจางด้วย Oleyl alcohol จากการทดลองพบว่า การสกัดกรดแลคติกในระหว่างการหมักสามารถผลิตกรดแลคติกได้ 12 กรัมต่อตัวตรึงชั่วโมง(g/gel.h) เปรียบเทียบกับการหมักโดยไม่มีกรสกัดกรดแลคติกในระหว่างการหมักสามารถผลิตกรดแลคติกได้ 7 กรัมต่อตัวตรึงชั่วโมง(g/gel.h) สามารถปรับปรุงการหมักกรดแลคติกได้โดยไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดกรดแลคติก ทำได้ดังนี้ คือ ลดขนาดของเม็ดตรึงให้เล็กลง หรือเพิ่มปริมาณเชื้อในเม็ดตรึง และหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Srivastava และคณะ (1992 : 607-613) ได้ศึกษาการเลี้ยง *L. delbrueckii* NRRL-B445 เพื่อผลิตกรดแลกติก โดยการแยกกรดแลกติกด้วยวิธีการแลกเปลี่ยนประจุ เพื่อลดการยับยั้งการเจริญเติบโตและการผลิตกรดแลกติก โดยใช้เรซินแลกเปลี่ยนประจุชนิดแอนไอออน(Amberlite IRA-400) ที่ผิวเรซินเคลือบด้วยคลอไรด์ ซึ่งถูกแทนที่ด้วยไฮดรอกซิลไอออนจากแลกเตต ต่อเข้ากับถังหมักขนาด 2 ลิตร จากการทดลอง พบว่า การหมักโดยไม่แยกกรดแลกติกจะผลิตกรดแลกติกได้ 0.313 กรัมต่อลิตรชั่วโมง(g/l.h) และคิดปริมาณกรดแลกติกเทียบกับสารอาหารเริ่มต้นได้ 0.828 กรัมต่อกรัม(g/g) แต่การหมักโดยแยกกรดแลกติกในระหว่างการหมักกรดแลกติกจะผลิตกรดแลกติกได้ 0.929 กรัมต่อลิตรชั่วโมง และคิดปริมาณกรดแลกติกเทียบกับสารอาหารเริ่มต้นได้ 1.668 กรัมต่อกรัม การสกัดแยกกรดแลกติกออกจะสามารถผลิตกรดแลกติกเพิ่มมากขึ้นจาก 0.313 กรัมต่อลิตรชั่วโมง เป็น 1.6065 กรัมต่อกรัม สามารถเพิ่มการผลิตได้ถึง 5.36 เท่าของการผลิตโดยไม่มีการแยกกรดแลกติกในระหว่างการหมัก

Honda และคณะ(1995 : 593-598) ได้ศึกษาการเลี้ยง *L. delbrueckii* NRRL-B445 เพื่อผลิตกรดแลกติก โดยการแยกกรดแลกติกโดยการสกัดแยกกรดแลกติกแบบ 2 ขั้นตอนเพื่อลดการยับยั้งการเจริญเติบโตและการผลิตกรดแลกติก โดยสกัดด้วย 40 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรของ Alamine 336 ที่เจือจางด้วย Oleyl alcohol และทำการสกัดกรดแลกติกย้อนกลับ (back-extraction) ด้วย Oleyl alcohol พบว่า ในช่วงเวลาที่ 10-14 เป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมในการแยกกรดแลกติก เพราะเป็นช่วงที่กรดแลกติกยับยั้งการผลิตกรดแลกติกของเชื้อ เมื่อทำการสกัดแบบ 2 ขั้นตอน สามารถสกัดกรดแลกติกได้เพิ่มขึ้น 1.4 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับการหมักโดยไม่มีการสกัดแบบ 2 ขั้นตอน

Kaiming และคณะ(1996 : 223-226) ได้ศึกษาการเลี้ยง *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii* IAM 1928 โดยปรับปรุงการหมักโดยการนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่ โดยการกรองแยกเซลล์ด้วย hollow fibre แยกกรดแลกติกด้วยวิธีการแลกเปลี่ยนประจุ โดยใช้เรซินแลกเปลี่ยนประจุชนิดแอนไอออน(Amberlite IRA-400) นำสารอาหารที่เหลือจากการหมักนำมาเติมสารอาหารให้อยู่ในปริมาณที่เหมาะสม และนำไปใช้ซ้ำอีก พบว่า สามารถผลิตกรดแลกติกได้ 7.75 กรัมต่อลิตรชั่วโมง และได้ปริมาณกรดแลกติกทั้งหมด 85.21 กรัมต่อลิตร.(g/l) หลังจากทำการหมัก 11 ชั่วโมง ได้ปริมาณเซลล์ 2.0 กรัมต่อลิตร และปริมาณสารอาหารที่นำกลับมาใช้ซ้ำได้ประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ เติมปริมาณสารอาหารใหม่เพิ่มประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์

hollow fibre เป็น แผ่นเมมเบรนที่แบ่งตามขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางได้ 2 ชนิด คือ

1 ขนาด 50-85 ไมครอน ทำจากวัสดุไนลอนพวงโพลีเอไมด์

2 ขนาด 200-300 ไมครอน ทำจากเซลลูโลสไตรอะซีเตต

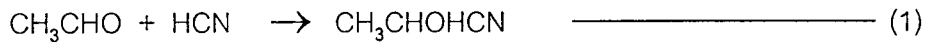
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.4 การผลิตกรดแลคติกด้วยวิธีทางเคมี (Rathin และคณะ 1995 : 224-225 )

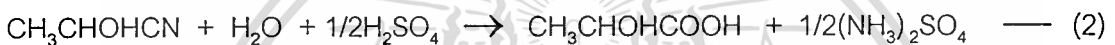
การผลิตกรดแลคติกด้วยวิธีทางเคมี แบ่งได้ 3 ขั้นตอน

ขั้นตอนที่ 1 นำ hydrogen cyanide ทำปฏิกิริยากับ acetaldehyde ได้ lactonitrile ทำปฏิกิริยาที่ความดันบรรยากาศ ดังสมการที่ 1

catalyst



ขั้นตอนที่ 2 นำ lactonitrile มาย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก หรือ กรดซัลฟิวริกจะได้กรดแลคติกและเกลือแอมโมเนียมซึ่งเป็นของเหลือทิ้ง ดังสมการที่ 2



ขั้นตอนที่ 3 นำกรดแลคติกที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ โดยทำให้เป็นอนุพันธ์เอสเทอร์ คือ เมทิลแลคเตต นำเมทิลแลคเตตมากลั่นและย่อยจะได้กรดแลคติก ส่วนเมทานอล hydrogen cyanide และสารปนเปื้อนอื่นๆ จะกำจัดออกโดยนำมาผ่านถ่านกัมมันต์ และการทำ ion-exchange ดังสมการที่ 3 และ 4



## 2.5 กระบวนการแยกกรดแลคติก (Vickroy และคณะ 1985: 766-769)

### 2.5.1 การสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid-liquid extraction)

ตัวถูกละลาย (solute) จะถ่ายเทจากตัวทำละลายหนึ่งไปยังตัวทำละลายอีกตัวหนึ่ง โดยที่ทั้งสองไม่ละลายซึ่งกันและกัน (immiscible) หรือละลายเป็นบางส่วน (partially miscible) สารละลายที่นำมาแยกสกัด เรียกว่า สารป้อน (feed) ส่วนตัวทำละลายที่ใช้เป็นตัวสกัด เรียกว่า ตัวทำละลาย (solvent) เมื่อสิ้นสุดกระบวนการสกัดแล้วของเหลวที่มีตัวถูกละลายอยู่มาก เรียกว่า ผลิตภัณฑ์สกัด (extract) ส่วนของเหลวผสมที่เหลือจากการสกัด เรียกว่า แรฟไฟเนต (raffinate)

Dalcanale และคณะ(1992 : 1-10) ได้ศึกษาการแยกสกัดกรดแลคติกในน้ำหมักโดยใช้ Octol ซึ่งได้จากการสังเคราะห์ระหว่าง Resorcinol และ Alkyl aldehyde ในสภาวะที่เหมาะสม เอกสารนี้เป็นเอกสารทงส่วนไวสำหรับกรใช้งานเพื่อการกรศกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตหนำไปไซ่ประโยชน์ด้านการค้า ใช้เป็นตัวทำละลายกรดแลคติกโดยนำตัวทำละลายมาเจือจางด้วยคาร์บอนเตตราคลอไรด์ โทลูอีน ไนโตรเจนเหลว ฟอสฟอรัส อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และทำการกวนผสมกับน้ำมันที่มีกรดแลกติก โดยกวนผสมที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 8 ชั่วโมง เมื่อของเหลวแยกชั้นทำการสกัดย้อนกลับด้วยน้ำกลั่นโดยกวนผสมที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 8 ชั่วโมง พบว่า ตัวทำละลาย Octanol เจือจางด้วยคาร์บอนเตตราคลอไรด์จะสกัดกรดแลกติกจากน้ำมันได้มาก

Siebold และคณะ (1995 : 81-95) ได้ศึกษาการแยกกรดแลกติกโดยใช้ตัวทำละลาย TOPO (trioctylphosphinoxide), D2EPHA (di-2-ethylhexyl phosphate), TBP (tributylphosphate), Amberlite LA2 (secondary amine) , Hostarex A 327 (tertiary amine), Adogen 464 /TOMAC (trioctyl methylammonium chloride) และ Aliquat 336 (quarternary C<sub>8</sub> และ C<sub>10</sub>-alkyl ammonium salts) ทำการเจือจางใน Kerosene และ Xylene ตามลำดับ จากการทดลองพบว่า Hostarex A 327 และ Amberlite LA-2 มี degree of extraction (E) สูงที่สุด คือ 75 และ 70 ตามลำดับ

$$E = \frac{C_{org} V_{org}}{C_o V_{aq}} \times 100$$

E : degree of extraction

C<sub>org</sub> : the equilibrium concentration of the solute in the organic phase

V<sub>org</sub> : volume of the organic phase

C<sub>o</sub> : initial concentration of solute

V<sub>aq</sub> : volume of the aqueous phase

Martine และคณะ(1992:1-6) ได้ศึกษาผลของกลูโคสและเกลือที่มีผลต่อการสกัดสารละลายของกรดแลกติกในตัวทำละลาย Alamine 336 ความเข้มข้น 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรที่เจือจางด้วยโทลูอีน ทำการสกัดกรดแลกติกที่มีความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า คลอไรด์ที่ได้จากเกลือโซเดียมคลอไรด์ ไฮโดรเนียมจากกรดแลกติก มีผลต่อ Alamine 336 ที่ใช้ในการสกัดแต่กลูโคสไม่มีผลต่อการสกัดกรดแลกติก

Martin และคณะ (1996:281-285) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการสกัดสารละลายของกรดแลกติกโดยใช้ Alamine 336 ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่เจือจางด้วยโทลูอีน ทำการสกัดกรดแลกติกที่มีความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร. พบว่า อุณหภูมิสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส มีผลทำประสิทธิภาพการสกัดกรดแลกติกด้วย Alamine 336 มีค่าลดลง

สิ่งที่มีผลกระทบต่อกรดแลกติกโดยวิธีสกัดของเหลวด้วยของเหลว(liquid-liquid extraction) คือ ความเข้มข้นของกรดแลกติกในน้ำมัน ความจำเพาะของเกลือเอมีนที่มีต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดแลกติกที่สกัด อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดกรดแลกติก เมื่อกรดแลกติกอยู่ในสารสกัดเอมีน แล้วทำการสกัดย้อนกลับด้วยน้ำ

### 2.5.2 การใช้เรซินแยกกรดออกจากน้ำหมัก

การแยกกรดแลกติกโดยการใช้เรซินไม่เหมาะสมกับการนำมาใช้ทางปฏิบัติในอุตสาหกรรม เนื่องจาก ion-exchange resin มีราคาแพง ประสิทธิภาพการดูดซับจะลดลงเมื่อน้ำหมักมีสารปนเปื้อนสูง เซลล์ที่เหลือจากการแยกเซลล์ก่อนที่จะนำน้ำหมักมาแยกกรดแลกติกอาจจะจับกับเรซินทำให้การดูดซับจะลดลง และใช้เวลาในการแยกนาน (Roffler และคณะ 1984 : 129-136)

### 2.5.3 Emulsion liquid membrane

Emulsion liquid membrane เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) และฟีนอลจากน้ำเสีย ในปัจจุบันได้นำมาประยุกต์ใช้ในการแยกกรดอินทรีย์ที่ผลิตโดยการหมัก เนื่องจากมีอัตราการแยกสกัดที่สูงและประหยัดพลังงาน (Yong และคณะ 1996 : 309-316)

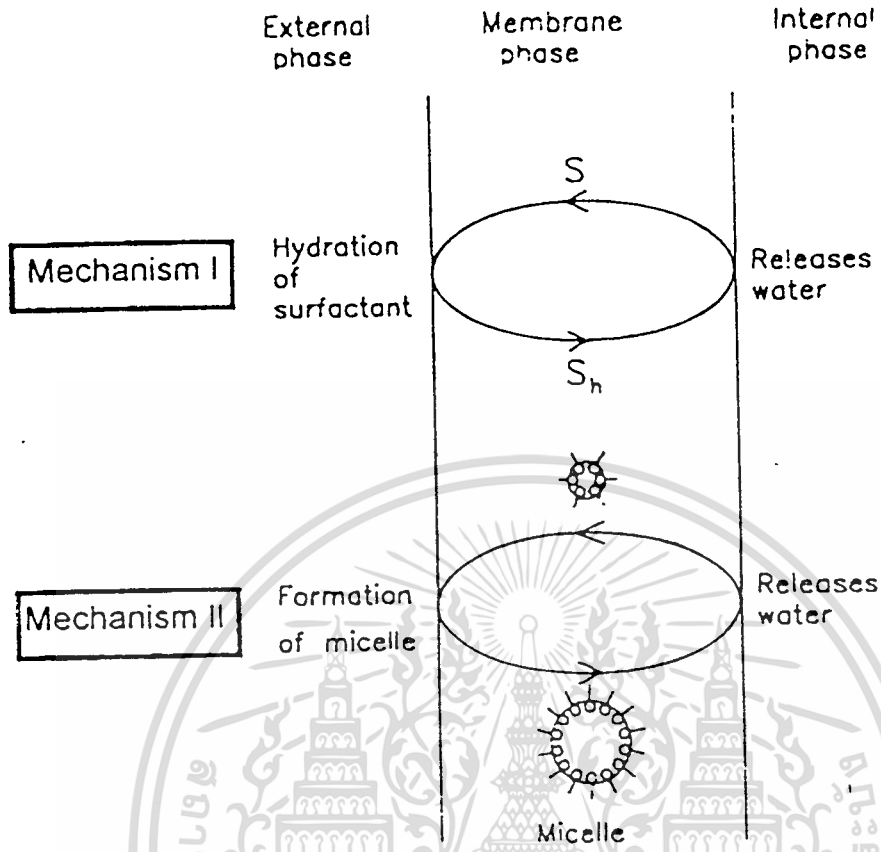
วิธีนี้มีข้อดีคือ สามารถสกัดกรดแลกติกและสามารถทำให้มีความเข้มข้นสูงมากขึ้นได้ภายในระยะเวลาเดียวกัน สามารถสกัดกรดจากน้ำหมักที่มีความเข้มข้นต่ำได้ ข้อเสีย คือ เกิดการฟองตัวระหว่างชั้น external ไปถึง internal phase เนื่องจากน้ำมีผลทำให้สารในเมมเบรนมีความเข้มข้นต่ำลงมีผลทำให้ประสิทธิภาพการแยกสกัดกรดแลกติกลดลง

#### 2.5.3.1 ส่วนประกอบของการสกัดด้วยวิธี Emulsion liquid membrane คือ

- 1 external phase
- 2 membrane phase
- 3 internal phase

Scholler และคณะ (1993 : 50-58) ได้ศึกษาการสกัดกรดแลกติกโดยใช้วิธี Emulsion liquid membrane ชั้นของ membrane phase ประกอบด้วย Alamine 336 และ Span 80 ละลายใน n-heptane และ ใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) เป็น internal phase พบว่า การฟองตัวของเมมเบรน เกิดจากความแตกต่างของแรงดันออสโมซิสระหว่างชั้นของภายนอกและภายในของเมมเบรน พีเอชที่ external phase ควรต่ำกว่าค่า  $\text{pKa}$  ของกรดที่จะทำการแยก การเปลี่ยนแปลงพีเอช มีผลต่อการสกัดและการแยกของเมมเบรน อุณหภูมิที่ใช้สกัดอยู่ระหว่าง 13.5-50 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อการสกัด ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต มีผลต่อแรงดันออสโมซิส และการเคลื่อนที่ของน้ำที่ผ่านเข้าออกในชั้น internal phase การแยกแบบ liquid surfactant membrane (Yong และคณะ 1996 : 310) ดังภาพที่ 2.7

ไม่วารณี่ใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



S: Surfactant, S<sub>h</sub>: hydrated surfactant.

ภาพที่ 2.7 การแยกแบบ liquid surfactant membrane

## 2.6 ทฤษฎีการแลกเปลี่ยนไอออน (มันลิน 2536 : 81-95)

การแลกเปลี่ยนไอออน เกิดจากการแลกเปลี่ยนไอออนกลับไปกลับมา (reversible interchange) ระหว่างตัวกลาง 2 ชนิด คือ ตัวกลางของเหลวและตัวกลางของแข็ง โดยไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านโครงสร้างของตัวกลางของแข็ง

หน้าที่ของกระบวนการแลกเปลี่ยนไอออน คือ ช่วยให้สารนั้นๆบริสุทธิ์ปราศจากไอออนต่างๆ เช่น  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$  เป็นต้น อาจใช้กำจัดโลหะที่มีพิษต่างๆได้แต่ต้องใช้เรซินชนิดพิเศษ โลหะที่มีพิษ เช่น แคดเมียม โครเมียม ตะกั่ว เซเลเนียม วานาเดียม สังกะสี นิกเกิล

การทำงานของระบบแลกเปลี่ยนไอออน

การแลกเปลี่ยนไอออนสามารถทำได้ 2 วิธี คือ

### 1 การทำงานแบบแบช (batch operation)

การทำงานแบบแบชเป็นการแลกเปลี่ยนไอออนที่ง่ายที่สุด โดยนำสารละลายมากรองผสมกับเรซินจากนั้นแยกเรซินออกโดยการกรอง

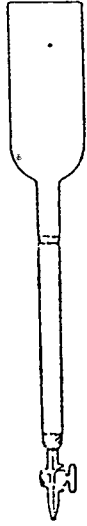
### 2 การทำงานแบบคอลัมน์ (column operation)

การทำงานแบบคอลัมน์ใช้ในการศึกษาในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการแลกเปลี่ยนไอออน

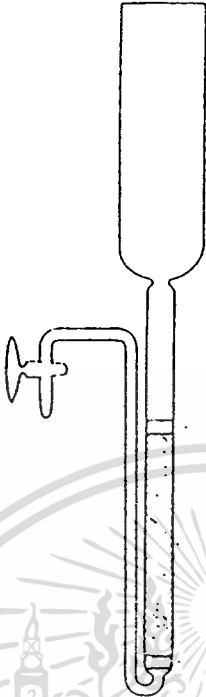
### 3 การทำงานแบบต่อเนื่อง

การทำงานแบบต่อเนื่อง คือ การทำงานแบบคอลัมน์ซึ่งมีการบรรจุเรซินในถังและปล่อยให้น้ำไหลผ่านเรซินอย่างต่อเนื่องทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนไอออนตลอดเวลา

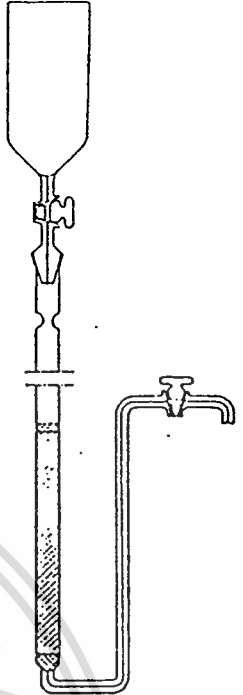
ลักษณะคอลัมน์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการมีหลายแบบ เช่น คอลัมน์มาตรฐาน คอลัมน์สำหรับงานวิเคราะห์ขนาดเล็ก คอลัมน์สำหรับงานวิเคราะห์อย่างละเอียด คอลัมน์มาตรฐานที่ใช้สำหรับควบคุมความดัน คอลัมน์ที่มีการไหลแบบสวนทาง (Dorfer 1977: 300) ดังภาพที่ 2.8



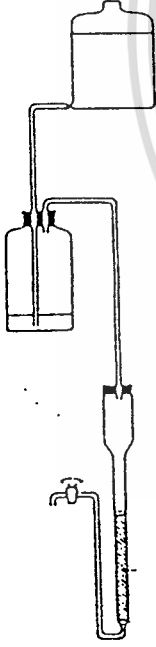
1) คอลัมน์มาตรฐาน



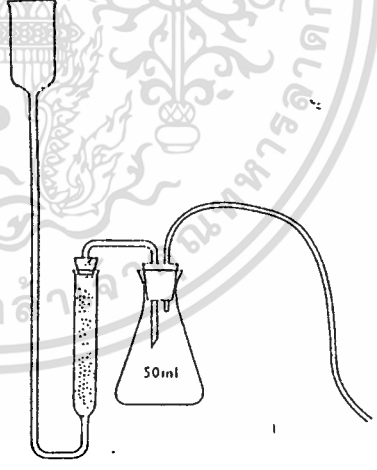
2) คอลัมน์สำหรับงานวิเคราะห์ขนาดเล็ก



3) คอลัมน์สำหรับงานวิเคราะห์อย่างละเอียด



4) คอลัมน์มาตรฐานที่ใช้สำหรับควบคุมความดัน

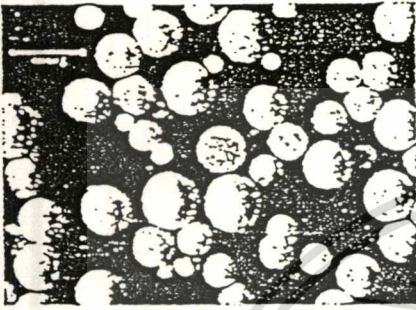


5) คอลัมน์ที่มีการไหลแบบสวนทาง

ภาพที่ 2.8 คอลัมน์ที่ใช้ศึกษาในห้องปฏิบัติการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

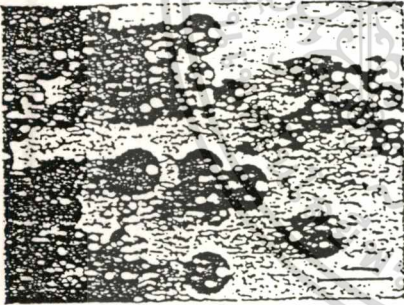
โครงสร้างของเรซินแลกเปลี่ยนไอออนเรซินมีโครงสร้างคล้ายตาข่ายสามมิติ โดยมีกลุ่มไอออนที่ไม่มีประจุอยู่บนตาข่าย เรียกว่า เมตริก(matrix) และมีหมู่ไอออนที่มีประจุบนตาข่าย เรียกว่า ฟังก์ชันกรุป มีประจุบวก เรียก cation exchanger คือ สามารถแลกเปลี่ยนประจุบวก มีประจุลบ เรียก anion exchanger คือ สามารถแลกเปลี่ยนประจุลบ รูปร่างของเรซินแลกเปลี่ยนไอออน (Dorfer 1977: 308) ดังภาพที่ 2.9



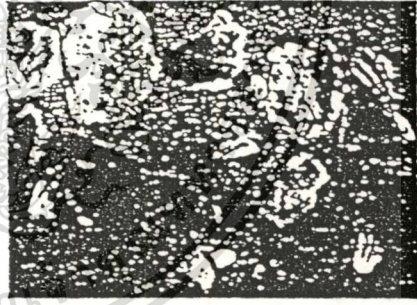
1) เรซินแบบกรดอ่อน



2) เรซินแบบด่างอ่อน



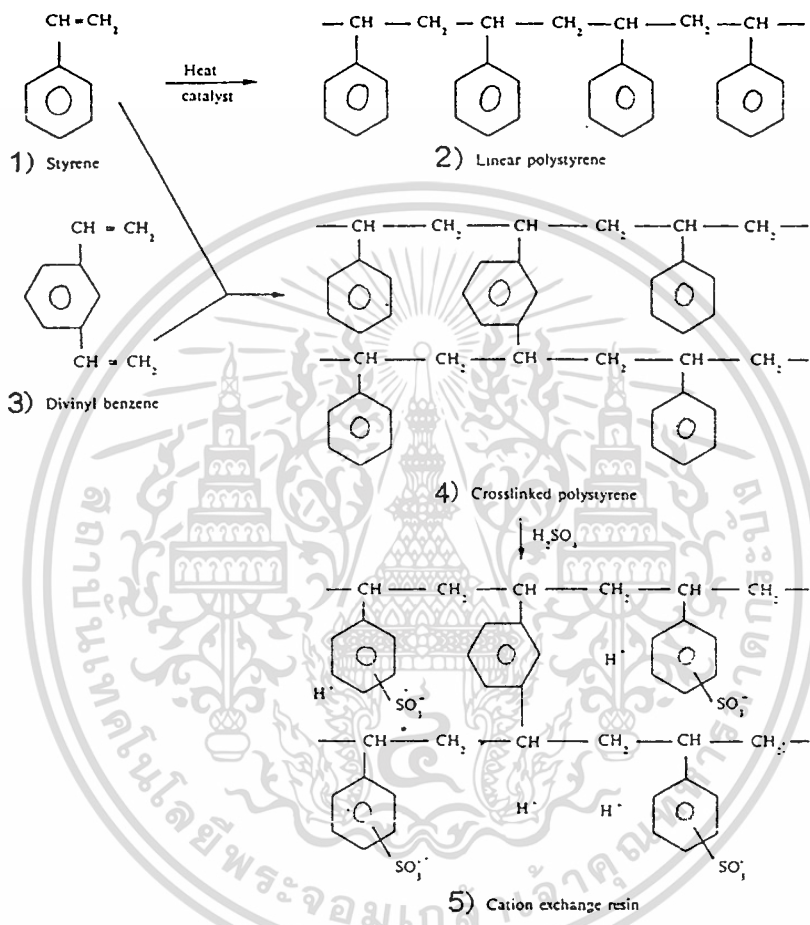
3) เรซินแบบกรดแก่



4) เรซินแบบด่างแก่

ภาพที่ 2.9 รูปร่างของเรซินแลกเปลี่ยนไอออน

เรซินที่สังเคราะห์โดยกระบวนการทางเคมีที่นิยมใช้ในปัจจุบัน สังเคราะห์จาก polystyrene ที่รวมตัวกับ divinylbenzene โดยฟังก์ชันกรุปของ cation exchanger เป็นพวก sulfonic, carboxylic และ ฟังก์ชันกรุปของ anion exchanger เป็นพวก primary amine, secondary amine ลักษณะองค์ประกอบทางเคมีของเม็ดเรซิน (มันลิน 2536 : 84) ดังภาพที่ 2.10



ภาพที่ 2.10 องค์ประกอบของเม็ดเรซิน

โครงร่างเรซิน(matrix) แบ่งตามลักษณะทางกายภาพได้ 3 ชนิด คือ

1 Gel Type ลักษณะคล้ายวุ้นมีฟังก์ชันกรุปมาก รูพรุนมีขนาดเล็กมาก ทำให้เกิดการดูดซับได้ง่าย โดยเฉพาะพวก strong anion

2 Macroporous Type มีความพรุนมาก มีพื้นที่ผิว 100 ตารางเมตรต่อกรัม ทำจากพวก polystyrene divinylbenzene ถ้ามีส่วนประกอบของ divinylbenzene น้อย จะมีการพองตัวและหดตัวมากและมีความเปราะสูง

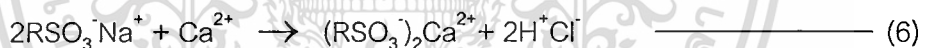
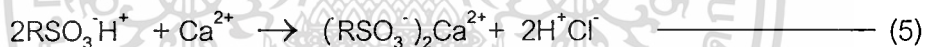
3 Opaque Gel มีโครงร่างที่แข็งแรง

## 2.6.5 ชนิดของเรซินแลกเปลี่ยนไอออน

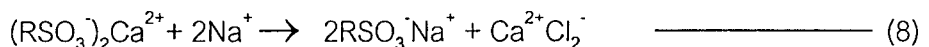
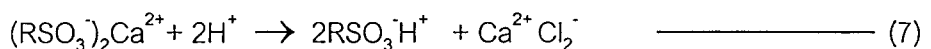
การแลกเปลี่ยนไอออนของเรซินขึ้นกับฟังก์ชันกรุป สามารถแบ่งตามความเป็นกรดเป็นด่างได้ดังนี้

2.6.5.1 เรซินแบบกรดแก่ (strong acidic cationic resin) มีหมู่ซัลโฟนิค ( $\text{SO}_3^-$ ) เป็นฟังก์ชันกรุป และมี  $\text{H}^+$  หรือ  $\text{Na}^+$  เป็นไอออนอิสระ เรซินแบบกรดแก่จะใช้ไอออนบวกแลกเปลี่ยนกับไอออนที่ต้องการกำจัด เช่น  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  เป็นต้น

การแลกเปลี่ยนไอออนของเรซินแบบกรดแก่ในรูป  $\text{H}^+$  และ  $\text{Na}^+$  ดังสมการที่ 5 และ 6



เรซินแบบกรดแก่สามารถจับไอออนพวก cation ได้ทั้งหมด เมื่อเรซินหมดอำนาจในการแลกเปลี่ยนไอออน สามารถเรียกอำนาจกลับคืนมาได้ โดยการทำรีเจนเนเรชั่น เรซินที่อยู่ในรูปของ  $\text{Na}^+$  ต้องรีเจนเนเรชั่นด้วยโซเดียมคลอไรด์ ส่วนเรซินที่อยู่ในรูปของ  $\text{H}^+$  ต้องรีเจนเนเรชั่นด้วยกรดไฮโดรคลอริก หรือกรดซัลฟูริก ดังสมการที่ 7 และ 8



ข้อดีของเรซินแบบกรดแก่ คือ

- 1 สามารถใช้ได้กับน้ำที่มีพีเอชทุกระดับ
- 2 สามารถแยก  $\text{Na}^+$  จากโซเดียมคลอไรด์ได้ เรียก อำนาจชนิดนี้ว่า salt splitting
- 3 การรั่วของไอออนบวกที่ต้องการกำจัด เช่น แคลเซียม ( $\text{Ca}^{2+}$ ) เกิดขึ้นได้น้อย

4 เรซินมีอัตราแลกเปลี่ยนไอออนได้เร็ว

5 เรซินมีความคงตัว และทนอุณหภูมิได้สูงถึง 100-200 องศาเซลเซียส

6 การเปลี่ยนรูปของ  $\text{Na}^+$  ในเรซินเป็น  $\text{H}^+$  ทำให้ปริมาณเพิ่มขึ้นเพียง 7 เปอร์เซ็นต์

7 เหมาะสำหรับใช้กำจัดความกระด้างหรือในการทำให้น้ำปราศจากประจุ

(deminerization)

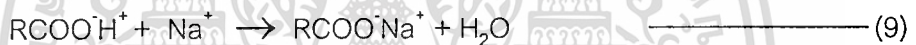
ข้อเสียของเรซินแบบกรดแก่ คือ

1 เรซินมีประสิทธิภาพในการทำรีเจนเนอเรชั่นต่ำ ประมาณ 25-45 เปอร์เซ็นต์ ทำให้สิ้นเปลืองสารเคมีในการทำรีเจนเนอเรชั่น

2 เรซินถูกออกซิไดส์ได้ง่าย และทำให้เรซินเกิดการบวม และมีความชื้นสูงขึ้นโดยเฉพาะเรซินที่มีระดับการประสานโครงร่างต่ำ

2.6.5.2 เรซินแบบกรดอ่อน (weak acidic cationic resin) มีหมู่คาร์บอกซิลิก ( $\text{COO}^-$ ) เป็นฟังก์ชันกรุป และมี  $\text{H}^+$  หรือ  $\text{Na}^+$  เป็นไอออนอิสระ เรซินแบบกรดแก่จะใช้ไอออนบวกแลกเปลี่ยนไอออนที่ต้องการกำจัด

การแลกเปลี่ยนไอออนของเรซินแบบกรดอ่อน ดังสมการที่ 9



ข้อดีของเรซินแบบกรดอ่อน

1 มีประสิทธิภาพในการทำรีเจนเนอเรชั่นสูง ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ โดยมีกรดแก่หรือกรดอ่อน หรือเกลือแกงเป็นรีเจนเนอเรนต์

2 ความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออนสูงกว่าเรซินแบบกรดแก่ ประมาณ 2 เท่า

3 ทนต่อสารออกซิเดนต์ เช่น คลอรีน ได้ดี

4 เรซินในรูป  $\text{H}^+$  สามารถกำจัดความกระด้างออกจากน้ำได้โดยไม่ต้องเติมกรด

5 เรซินสามารถใช้รีเจนเนอเรนต์จากการทำรีเจนเนอเรชั่นของเรซินแบบกรดแก่ได้

6 มีการรั่วของแคลเซียมต่ำ แต่ยอมให้โซเดียมรั่วหนีได้มาก

ข้อเสียของเรซินแบบกรดอ่อน คือ

1 เรซินใช้ได้ในสภาวะจำกัด เช่น ใช้ได้กับน้ำที่มีพีเอชต่างเท่านั้น

2 เรซินไม่สามารถแยก  $\text{Na}^+$  จากโซเดียมคลอไรด์ได้

3 การเปลี่ยนรูปของ  $\text{Na}^+$  ในเรซินเป็น  $\text{H}^+$  ทำให้ปริมาณเพิ่มขึ้นประมาณ 2 เท่า

4 เรซินมีอัตราแลกเปลี่ยนไอออนช้า และขึ้นกับอัตราการไหลของสารละลาย

5 เรซินเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับน้ำได้ง่าย ทำให้เกิดการรั่ว (leakage) ของไอออนที่

ต้องการกำจัดออก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

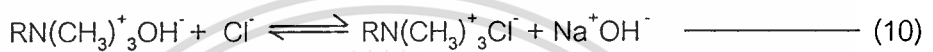
2.6.5.3 เรซินแบบต่างแก่ (strong basic anionic resin) มีหมู่ quaternary amine เป็นฟังก์ชันกรุป และมี  $\text{Cl}^-$  หรือ  $\text{OH}^-$  เป็นไอออนอิสระ เรซินแบบต่างแก่จะใช้ไอออนลบแลกกับไอออนที่ต้องการกำจัด เช่น  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$

เรซินแบบต่างแก่มี 2 ชนิดคือ

ชนิดที่ 1 มีความเป็นด่างและความทนสูง มีความสามารถในการจับ silica ได้ดี

ชนิดที่ 2 มีความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออน และมีประสิทธิภาพในการทำรีเจนเนอเรชันสูง

การแลกเปลี่ยนไอออนและรีเจนเนอเรชันเป็นปฏิกิริยาแบบย้อนกลับ ดังสมการที่ 10



สารรีเจนเนอเรนต์ที่ใช้ ได้แก่ กรดไฮโดรคลอริก โซเดียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมคลอไรด์ ข้อดีของเรซินแบบต่างแก่

- 1 สามารถใช้ได้กับน้ำที่มีพีเอชทุกระดับ
- 2 สามารถแยก  $\text{Na}^+$  จากโซเดียมคลอไรด์ได้ เรียก อานาซชนิดนี้ว่า salt splitting
- 3 มีอัตราแลกเปลี่ยนไอออนได้เร็ว

ข้อเสียของเรซินแบบกรดแก่

1 มีประสิทธิภาพในการทำรีเจนเนอเรชันต่ำ ประมาณ 18-33 เปอร์เซ็นต์ ทำให้สิ้นเปลืองสารเคมีในการทำรีเจนเนอเรชัน

2 มีความคงทนต่ำ อายุการใช้งานสั้น

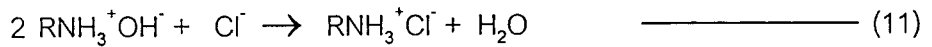
3 เรซินเปลี่ยนเป็นต่างอ่อนได้ง่าย ทำให้สูญเสียความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออน

4 ในกรณีที่น้ำเสียมีกรดฮิวมิกจากการเน่าเปื่อยของพืช สามารถทำให้เรซินเสียและไม่สามารถทำรีเจนเนอเรชันได้

2.6.5.4 เรซินแบบต่างอ่อน (weak basic anionic resin) มีหมู่ primary, secondary amine เป็นฟังก์ชันกรุป และมี  $\text{Cl}^-$  หรือ  $\text{OH}^-$  เป็นไอออนอิสระหรือไม่มีไอออนอิสระ การกำจัดไอออนลบของเรซินแบบต่างอ่อนจะแตกต่างจากเรซินทั้ง 3 ชนิดข้างต้น เนื่องจากไม่มีการแลกเปลี่ยนไอออน เรซินแบบต่างอ่อนสามารถกำจัดได้เฉพาะกรดแก่  $\text{HCl}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HNO}_3$  แต่ไม่สามารถกำจัดกรดอ่อน เช่น กรดคาร์บอนิก เป็นต้น การกำจัดกรดแก่เกิดโดยที่กรดแก่ทั้งโมเลกุลเข้าจับกับเรซิน

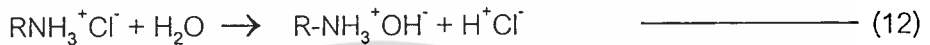
ปฏิกิริยาในการจับโมเลกุลของกรดแก่ ดังสมการที่ 11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เรซินแบบต่างอ่อนไม่จำเป็นต้องมีไอออนอิสระ เนื่องจากกลไกการทำงานของเรซินเป็นลักษณะดูดซับ (adsorption) ไม่ใช่การแลกเปลี่ยนประจุ เรซินแบบต่างอ่อนนิยมใช้กำจัด  $\text{Cl}^-$  และ  $\text{SO}_4^{2-}$

สารรีเจนเนอเรนต์ที่ใช้ ได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) โซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) และแอมโมเนีย ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) ดังสมการที่ 12



ข้อดีของเรซินแบบต่างอ่อน

1 เรซินมีประสิทธิภาพในการทำรีเจนเนอเรชั่นสูง ประมาณ 100 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ใช้สารเคมีน้อย

2 ทนต่อกรดฮิวมิก

ข้อเสียของเรซินแบบต่างอ่อน คือ

1 เรซินใช้ได้ในสภาวะจำกัด เช่น ใช้ได้กับน้ำที่มีพีเอชต่างเท่านั้น

2 เรซินมีอัตราแลกเปลี่ยนไอออนช้า

หมู่ไอออนของเรซินกรดแก่ กรดอ่อน ต่างแก่ ต่างอ่อน (มันลิน 2536 : 86) ดังตารางที่

## 2.2

ตารางที่ 2.2 หมู่ไอออนของเรซินประเภทต่างๆ

Classification	Active group	Dissociation Constant pKa	Typical configuration
Cation exchange resin			
Strong acid :	Sulfonic	1	
	Methylene sulfonic	1	
Weak acid :	Carboxylic	4-6	
	Phosphonic	2-3	
	Phenolic hydroxyl	9-10	
Anion exchange resin			
Strong base :	Quarternary ammonium type(I)	13	
	type(II)		
Weak base :	Primary amine	6-9	
	Secondary amine	7-9	
	Tertiary amine		
	(aromatic matrix)	9-11	
	(aliphatic matrix)		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.6.6 การเลือกจับไอออนของเรซิน (selectivity)

เรซินแบบกรดและต่าง มีความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออนของเรซินไม่เท่ากัน พบว่าเรซินเลือกทำปฏิกิริยากับไอออนบางชนิดมากกว่าชนิดอื่นๆ ขึ้นอยู่กับ จำนวนประจุ น้ำหนักโมเลกุล ความเข้มข้นของไอออน ขนาดของเรซิน (degree of cross-linking) ชนิดของฟังก์ชันกรุป และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา

ความสัมพันธ์ระหว่างไอออนกับการเลือกจับไอออนของเรซิน

- 1 เรซินสามารถแลกเปลี่ยนกับไอออนที่มีวาเลนซ์สูง ได้ดีกว่าไอออนที่มีวาเลนซ์ต่ำ
- 2 ไอออนที่มีวาเลนซ์เท่ากัน และไอออนที่มีน้ำหนักอะตอมสูงสามารถแลกเปลี่ยนกับเรซินได้ดีกว่าไอออนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ
- 3 เรซินที่มี degree of cross-linking สูงสามารถในการเลือกจับไอออนจะมีมากกว่าเรซินที่มี degree of cross-linking ต่ำ

### 2.6.7 คุณสมบัติทั่วไปของเรซิน

เพื่อให้มีอำนาจในการแลกเปลี่ยนไอออน เรซินควรมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้

- 1 ต้องมีไอออนอิสระ ที่สามารถใช้แลกเปลี่ยนกับไอออนในน้ำ
  - 2 ต้องไม่ละลายน้ำ
  - 3 ต้องมีช่องว่างภายในเพื่อให้ไอออนต่างๆเคลื่อนที่ผ่านเข้าออกได้อย่างสะดวก
- นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติอื่นๆ ได้แก่

#### 1 ความชื้นของเรซิน (moisture content)

เรซินที่มีความชื้นสูงจะเก็บน้ำไว้ในช่องว่างได้มาก และที่มีความชื้นต่ำจะมีช่องว่างเก็บน้ำน้อย ความสามารถในการเก็บน้ำมีผลต่อการบวมของเรซินซึ่งมีผลต่อการแลกเปลี่ยนไอออนอิสระของเรซิน การบวมน้ำของเรซินขึ้นอยู่กับ degree of cross-linking ถ้า degree of cross-linking สูงจะมีความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออนสูง ถ้า degree of cross-linking สูงเกินไปทำให้ช่องว่างภายในเรซินเหลือน้อยจะทำให้การแลกเปลี่ยนเกิดขึ้นได้ไม่ดี ความชื้นของเรซินมีหน่วยเป็น % moisture/weight of dry resin หรือ % moisture/weight of wet resin

#### 2 ความหนาแน่น (bulk density)

ความหนาแน่นของเรซิน เป็นความหนาแน่นที่วัดหลังจากผ่านการล้างย้อน(back-wash) ตกตะกอนและทิ้งให้สะเด็ดน้ำ หมายถึง น้ำหนักของเรซินหารด้วยปริมาตรทั้งหมดของเรซิน ซึ่งรวมความพรุนที่เกิดจากการซ้อนกันของเรซิน bulk density หรือ shipping weight มีประโยชน์สำหรับการขนส่งเรซิน เนื่องจากจะบอกได้ว่าเรซิน 1 หน่วยมีน้ำหนักเท่าใด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3 ขนาดของเม็ดเรซิน (particle size)

ขนาดของเรซิน สามารถบอกได้ด้วยพารามิเตอร์ 2 ตัว คือ effective size และ uniformity coefficient

### 4 การบวมของเรซิน (swelling)

เรซินที่ทำจากสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ มีความสามารถดูดน้ำหรือของเหลวรอบตัวได้ และทำให้เรซินบวมขึ้น การบวมเกิดจากการไฮเดรชัน (hydration) ของฟังก์ชันกรุป และไอออนอิสระ และเกิดจากแรงดันออสโมติก (osmotic pressure)

### 5 อัตราแลกเปลี่ยนไอออน (rate of ion exchange)

อัตราแลกเปลี่ยนไอออนของเรซินขึ้นอยู่กับ ขนาดเม็ดเรซิน ความเข้มข้นของสารละลายรอบเม็ดเรซิน ชนิดและขนาดของไอออนที่จะแลกเปลี่ยน การกวน degree of cross-linking พีเอชและอุณหภูมิของระบบ พีเอชของเรซิน

### 6 ความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออน (ion exchange capacity)

การแลกเปลี่ยนไอออนของเรซิน หมายถึง ปริมาณไอออนที่เรซินแยกมาจากสารละลายต่อน้ำหนักหรือหน่วยปริมาตรของเรซิน หน่วยแสดงความสามารถของเรซิน มีดังนี้

- หน่วยสมมูลต่อปริมาตรของเรซิน เช่น meq/ml, eq/l
- หน่วยสมมูลต่อน้ำหนักของเรซิน เช่น meq/g
- หน่วยน้ำหนัก(ในเทอมหินปูนต่อปริมาตรของเรซิน เช่น กิโลกรัมต่อลิตรหรือกิโลกรัม

ต่อลูกบาศก์ฟุต

### 7 การทำรีเจนเนอเรชัน (regeneration)

การทำรีเจนเนอเรชัน หมายถึง การทำเรซินให้เรซินที่หมดอำนาจในการแลกเปลี่ยนไอออนแล้วกลับมาใช้อำนาจในการแลกเปลี่ยน การที่เรซินหมดอำนาจการแลกเปลี่ยนเป็นเพราะไอออนอิสระในเรซินถูกนำไปแลกกับไอออนในสารละลาย การทำรีเจนเนอเรชัน คือ การไล่ไอออนในเรซินที่แลกมาจากน้ำและเติมไอออนอิสระให้กับเรซินทำให้เรซินมีอำนาจในการแลกเปลี่ยนเหมือนเดิม สารเคมีที่ใช้เติมไอออนอิสระให้กับเรซิน เรียกว่า สารรีเจนเนอเรนต์ (regenerant) เช่น NaCl ใช้เติม  $\text{Na}^+$  หรือ  $\text{Cl}^-$  ให้กับเรซิน หรือ  $\text{H}_2\text{SO}_4$  เติม  $\text{H}^+$  ให้กับเรซิน

## 2.7 ประเภทของผงถ่านกัมมันต์ (EPA 1973 : 103)

สารที่มีอำนาจดูดโมเลกุลต่างๆมาติดที่ผิวได้ (adsorbent) แบ่งได้ 3 ประเภท คือ

1 สารอนินทรีย์ เช่น ดินเหนียว ถ่านกระดูก (bone char) แอ็คติเวตเต็ดซิลิกา (activated silica) เป็นต้น มีพื้นที่ผิวจำเพาะประมาณ 50-200 ตารางเมตรต่อกรัม ข้อเสียของสารประเภทสารอนินทรีย์ คือ จับโมเลกุลหรือคอลลอยด์ได้เพียงไม่กี่ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2 ผงถ่านกัมมันต์ (activated carbon) คาร์บอนชนิดนี้อาจจัดอยู่ในสารอนินทรีย์สังเคราะห์ได้ แต่เป็น adsorbent ที่ดีกว่าสารอนินทรีย์ เนื่องจากมีพื้นที่ผิวจำเพาะประมาณ 600-1,000 ตารางเมตรต่อกรัม วัสดุที่ใช้ทำผงถ่านกัมมันต์ เช่น กระจุกไม้ ถ่าน

3 สารอนินทรีย์ ได้แก่ เรซินแลกเปลี่ยนไอออน (ion exchange) สารเรซินมีพื้นที่ผิวจำเพาะประมาณ 300-500 ตารางเมตรต่อกรัม

## 2.8 วิธีการสังเคราะห์คาร์บอน

มี 2 วิธี คือ

1 การคาร์บอนไนเซชัน (carbonization) เป็นการเผาวัสดุในที่ไม่มีอากาศ เพื่อไล่ออกซิเจน ไฮโดรเจน และธาตุอื่นๆที่ไม่ใช่คาร์บอน อุณหภูมิในการเผาไม่แน่นอน เช่น การเตรียมถ่านแอนทราไซต์ เผาที่อุณหภูมิ 850-900 องศาเซลเซียส การคาร์บอนไนเซชันอาจใส่สารเคมีผสมรวมกับวัสดุ เพื่อให้มีคุณสมบัติเหมาะสมในการใช้ สารเคมีที่ใช้ เช่น แมกนีเซียมคลอไรด์ ( $MgCl_2$ ) แคลเซียมคลอไรด์ ( $CaCl_2$ ) ซิงค์คลอไรด์ ( $ZnCl_2$ ) เป็นต้น นิยมใช้ซิงค์คลอไรด์ ( $ZnCl_2$ ) เนื่องจากเป็นสารเคมีที่สามารถละลายทั้งเซลลูโลส และองค์ประกอบอื่นๆได้ง่าย

2 การกระตุ้น (activation) ถ่านที่ผ่านการคาร์บอนไนเซชัน สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับโดยการทำการกระตุ้นโดยการทำปฏิกิริยากับก๊าซออกซิไดซิง เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ ออกซิเจน และไอน้ำ ในสภาวะที่เหมาะสมซึ่งขึ้นกับชนิดของวัสดุที่ใช้หรือทำปฏิกิริยากับสารเคมี เช่น พวกลิวต์ กรดไนตริก ( $HNO_3$ )

## 2.9 ผงถ่านกัมมันต์ (activated carbon)

ผงถ่านกัมมันต์ (activated carbon) มี 2 ชนิด

1 แบบผง (powder activated carbon) ใช้ในการฟอกสีของสารละลายโดยการผสมผงถ่านกัมมันต์

ข้อดีของคาร์บอนแบบผง คือ คาร์บอนแบบผงมีราคาถูกกว่าแบบเม็ดประมาณ 2-3 เท่า และการดูดติดผิวเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากโมเลกุลหรือคอลลอยด์สามารถสัมผัสกับผิวของคาร์บอนได้ง่าย

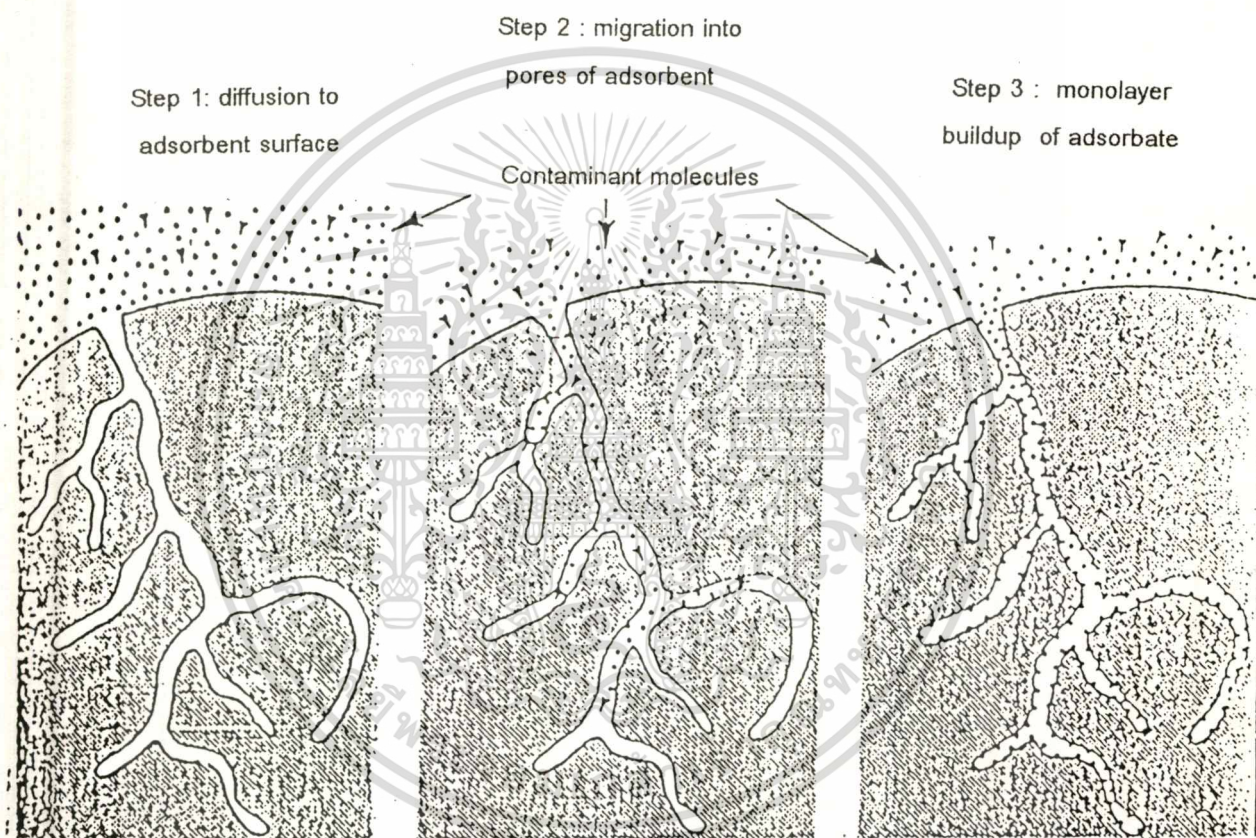
ข้อเสียของคาร์บอนแบบผง คือ การทำรีเจนเนอเรชันมักไม่คุ้มค่า ดังนั้นการใช้คาร์บอนผงเป็นการใช้แล้วทิ้ง

2 แบบเม็ด (granular activated carbon) เหมาะสมกับการดูดซับก๊าซ คาร์บอนแบบเม็ดที่ใช้แล้วสามารถทำรีเจนเนอเรชันได้ แต่การทำรีเจนเนอเรชัน จะมีการสูญเสียประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากการทำรีเจนเนอเรชัน ต้องเผาไหม้ที่อุณหภูมิสูงทำให้คาร์บอนบางส่วนแตกเป็นผงละเอียดจนใช้ไม่ได้

## 2.10 กลไกการดูดซับ (mechanism of adsorption) (EPA 1973 : 104)

การดูดซับเป็นการเคลื่อนที่ของสาร (mass transfer) จากก๊าซหรือของเหลว มายังของแข็งหรือของเหลว การดูดซับแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ

- 1 โมเลกุลสิ่งสกปรก (adsorbate) ในสารละลายจะเคลื่อนที่เกาะอยู่รอบนอกของถ่าน
- 2 โมเลกุลสิ่งสกปรกสิ่งสกปรกจะแพร่ (diffusion) เข้าไปในรูพรุนของถ่าน
- 3 สิ่งสกปรกจะอยู่ในรูพรุนของถ่าน การดูดจะดูดด้วยแรงทางฟิสิกส์หรือทางเคมี หรือแรงทั้ง 2 ชนิดพร้อมกัน แสดงถึงกลไกการดูดซับสาร (EPA 1973 : 163) ดังภาพที่ 2.12



ภาพที่ 2.11 แสดงถึงกลไกการดูดซับสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

# อุปกรณ์และวิธีการ

### 3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

บริษัทผู้ผลิต

- หม้อนึ่งอัตโนมัติ (autoclave) HIRAYAMA MANUFACTURING CORPORATION รุ่น HA-3D
- เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH-meter) TOA pH meter รุ่น HM-7E
- กล้องจุลทรรศน์ (microscope) Nikon รุ่น YE2-H
- แผ่นนับเม็ดเลือด (haemocytometer) Bocco รุ่น Neubauer Bright Line
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ZK 380 Chermile
- เครื่องระเหย (evaporator) Buchi รุ่น RE-111
- เครื่องกวน (stirrer) Barnstead รุ่น SR 46920
- ตู้เขี่ยเชื้อ (laminar air flow) FASTER รุ่น Bio 48
- ไมโครปิเปตต์ (micropipette) Nichiryo 500
- ชุดกรอง Millipore Bedford รุ่น 01730
- เครื่องชั่งละเอียด (balance) Sartorius รุ่น 2842
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven) WTB binder รุ่น FD 53
- ตู้บ่ม (Incubator) Schwabach W- Germany รุ่น Menmert 859
- เครื่องแก้วต่างๆ Pyrex
- เครื่องไฮเพอโฟแมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี (High Performance Liquid Chromatography) Shimadzu LC-3A
- เครื่องยววิวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible spectrophotometer) HACH Company รุ่น DR/4000
- เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปีมิเตอร์ (atomic absorption spectrophotometer, AAS) Varian รุ่น 300-AA
- กระดาษกรอง เบอร์ 5 Whatman
- กระดาษกรองเซลลูโลสอะซิเตต Sartorius

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อให้บริการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แท่งกวนแม่เหล็ก (magnetic bar)
- เดสิคเคเตอร์ (Desiccator)

### 3. 2 สารเคมี

	บริษัทผู้ผลิต
- แมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต (Magnesium chloride 6-hydrate)	Merck
- แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต (Magnesium sulfate 7-hydrate)	Merck
- บิวทานอล (n-butanol)	Merck
- กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid )	Merck
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)	Merck
- โซเดียมแลกเตต (sodium L-lactate)	Merck
- ฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein)	Merck
- ไอโซเอมิวแอลกอฮอล์ (Isoamy alcohol)	JT.Baker
- กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)	JT.Baker
- ออกทานอล (2-Octanol)	Sigma
- ผงถ่านกัมมันต์	Fluka
- ไดไนโตรซาลิไซลิกแอซิด (3,5-Dinitrosalicylic acid)	Fluka
- สารโพแทสเซียมโซเดียมทาร์ทาเรต (Potassium sodium tartarate)	Fluka
- อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Broth	
- แอนไอออนเรซิน Amberlite IRA-400 Strongly Acidic Anion Exchange ,Gel form, Cross-linkage 8%, Ion form Chloride	Sigma

### 3.3 เชื้อจุลินทรีย์

3.3.1 *Lactobacillus casei* TISTR 47 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3.2 วิธีเก็บรักษาเชื้อ

เชื้อเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 47 ลงในอาหาร MRS Broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำไปเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

### 3.3.3 การเตรียมเชื้อเริ่มต้น

ถ่ายเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 47 จากข้อ 3.3.2 ลงใน MRS Broth ที่บรรจุในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจนับเชื้อด้วย haemocytometer

## 3.4 การผลิตกรดแลกติก

ถ่ายเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 47 จากข้อ 3.3 ปรับให้ได้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นเป็น  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ถ่ายเชื้อลงใน MRS Broth ที่มีความเข้มข้นกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

## 3.5 การแยกเซลล์จุลินทรีย์ออกจากน้ำหมัก

นำน้ำหมักที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Lactobacillus casei* TISTR 47 ที่เลี้ยงในอาหาร MRS broth ในข้อ 3.4 มาทำการแยกเซลล์โดยเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) โดยปั่นที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 20 นาที วิเคราะห์หาปริมาณกรดแลกติกตามวิธีในข้อ 3.13.1

## 3.6 การแยกกรดแลกติกจากน้ำหมักวิธีการดัดแปลงจากวิธีของ Benthin และ Villadsen (1995)

วิธีการตกตะกอนมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

### 3.6.1 การตกตะกอนแยกกรดแลกติกจากน้ำหมัก

นำน้ำหมักที่ได้จากการแยกเซลล์ ที่มีพีเอชเท่ากับ 3.6 มาตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน  
-  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  ปริมาณ 0.5 โมลของแมกนีเซียมต่อโมลของกรดแลกติก

### 3.6.2 การทำให้น้ำหมักมีความเข้มข้นมากขึ้น

ทำการระเหยน้ำหมักที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ให้เหลือปริมาตร 1/6 เท่าของปริมาตรเริ่มต้น โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.6.3 บ่มให้เกิดตะกอนของแมกนีเซียมแล็กเตต

นำน้ำหมักจากข้อ 3.6.2 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

### 3.6.4 การแยกตะกอนจากน้ำหมัก

ปั่นแยกตะกอนที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 20 นาที

### 3.6.5 การล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น

นำตะกอนมาล้างด้วยน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2 ครั้ง

### 3.6.6 การละลายตะกอน

นำตะกอนที่ล้างน้ำจากข้อ 3.6.5 มาละลายด้วยน้ำกลั่นอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 42 มิลลิลิตร

วิธีการสกัดกรดแล็กติกจากเกลือแล็กเตต

การสกัดกรดแล็กติกจากสารละลายตะกอนเกลือแล็กเตตมีขั้นตอนดังต่อไปนี้ ดังภาพที่

3.1



### 3.7 ศึกษาผลของพีเอชต่อการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ และ สกัดเกลือแกลกเตตด้วยตัวทำละลาย n-butanol

นำน้ำหมักที่มีกรดแลคติกความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร มาผันแปรพีเอชให้เท่ากับ 4, 5, 6, 7 และ 8 ตามลำดับ ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 4 โมลาร์ ตกตะกอนด้วย  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  ปริมาณ 9 กรัม และสกัดกรดแลคติกด้วยตัวทำละลาย n-butanol ตามขั้นตอนในข้อ 3.6 วิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติกตามวิธีในข้อ 3.13.2

### 3.8 ศึกษาผลของพีเอชต่อการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ และ สกัดเกลือแกลกเตตด้วยตัวทำละลาย n-butanol

นำน้ำหมักที่มีกรดแลคติกความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร มาผันแปรพีเอชให้เท่ากับ 4, 5, 6, 7 และ 8 ตามลำดับ ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 4 โมลาร์ ตกตะกอนด้วย  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  ปริมาณ 10.5 กรัม และสกัดกรดแลคติกด้วยตัวทำละลาย n-butanol ตามขั้นตอนในข้อ 3.6 วิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติกตามวิธีในข้อ 3.13.2

### 3.9 ศึกษาหาปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากการตกตะกอนที่สภาวะที่เหมาะสม ในตัวทำละลาย n-butanol , Octanol และ Isoamyl alcohol

นำน้ำหมักที่มีกรดแลคติกความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ปรับพีเอชด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 4 โมลาร์ ตามสภาวะที่เหมาะสมในการทดลองที่ 3.8 ตกตะกอนด้วย  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  ตามขั้นตอนในข้อ 3.6 และสกัดกรดแลคติกด้วยตัวทำละลาย n-butanol , Octanol และ Isoamyl alcohol วิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติกตามวิธีในข้อ 3.13.2

### 3.10 ศึกษาหาปริมาณผงถ่านกัมมันต์ที่เหมาะสมในการฟอกสีสารละลายกรด แลคติก

นำน้ำหมักที่มีกรดแลคติกความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร มาทำตามวิธีการทดลองที่ 3.9 เมื่อได้สารละลายกรดแลคติก นำมาทำการระเหยที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนมีปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยการผันแปรปริมาณผงถ่านกัมมันต์ให้เท่ากับ 1, 2, 3, 4 และ 5 กรัมตามลำดับ ใส่ลงในสารละลายทำการระเหยนาน 5 นาทีและกรองผงถ่านกัมมันต์ออกโดยกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5 ล้างผงถ่านกัมมันต์ด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร วิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติกตามวิธีในข้อ 3.13.2 และวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การฟอกสีตามวิธีในข้อ 3.13.6

### 3.11 ศึกษาอัตราการไหลผ่านเรซินแลกเปลี่ยนประจุชนิดแอนไอออน(Amberlite IRA-400) ของสารละลายกรดแลกติก

นำสารละลายที่ผ่านการฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ที่สภาวะที่เหมาะสมตามวิธีการทดลองที่ 3.10 ความเข้มข้น 100 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผ่านแอนไอออนด้วยอัตราการไหล 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อนาที วิธีการบรรจุเรซินในคอลัมน์ในภาคผนวกที่ 9 วิเคราะห์หาปริมาณกรดแลกติกตามวิธีในข้อ 3.13.2

### 3.12 ศึกษาปริมาณสารปนเปื้อนที่มีอยู่ในสารละลายที่ได้ในแต่ละขั้นตอนการแยกกรดแลกติกจากน้ำหมัก

นำสารละลายกรดแลกติกที่ผ่านขั้นตอนการตกตะกอนและสกัดที่สภาวะที่เหมาะสมตามวิธีการทดลองที่ 3.9 สารละลายกรดแลกติกที่ผ่านการฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ที่สภาวะที่เหมาะสมตามวิธีการทดลองที่ 3.10 สารละลายกรดแลกติกที่ผ่านเรซินแลกเปลี่ยนประจุ Amberlite IRA-400 มาวิเคราะห์หาปริมาณเหล็ก ตะกั่ว โซเดียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม โดยเครื่องอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปีมิเตอร์ (atomic absorption spectrophotometer, AAS) และวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลตามวิธีในข้อ 3.13.4

### 3.13 การวิเคราะห์ (Analysis)

3.13.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดแลกติกก่อนการแยกสกัด(Thai Pharmacopoeia 1993:1053-1054.)

นำน้ำหมักที่แยกเซลล์โดยการปั่นแยกเซลล์ที่ความเร็ว 10,000 รอบ เป็นเวลานาน 20 นาที ดูด supernatant 3 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นที่ไล่ CO<sub>2</sub> ปริมาณ 10 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 0.1 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ผ่านการหาความเข้มข้นที่แน่นอนตามวิธีในภาคผนวกที่ 11 ปริมาณ 15 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที เติมนิฟอพทาลีน 3 หยด และไตเตรทกับสารละลาย 0.1 โมลาร์ กรดไฮโดรคลอริกที่ผ่านการหาความเข้มข้นที่แน่นอนตามวิธีในภาคผนวกที่ 11 แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณกรดแลกติก

ปริมาณกรดแลกติก (g/l) =  $\frac{90.08 \times \text{ปริมาณ } 0.1 \text{ M NaOH ที่ทำปฏิกิริยากับกรดแลกติก} \times 0.1}{\text{ตัวอย่าง } 3 \text{ มิลลิลิตร}}$

ปริมาณ 0.1 M NaOH - A = ปริมาณ 0.1 M NaOH ที่ทำปฏิกิริยากับกรดแลกติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
A : ปริมาณ 0.1 M NaOH ที่ทำปฏิกิริยากับ 0.1 M HCl  
ไม่มีการเปิดเผยถึงส่วน อื่นๆ ที่ห้ามมิให้เปิดเผยข้อมูล และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.13.2 การวิเคราะห์ปริมาณกรดแลกติกหลังผ่านการแยกสกัด

นำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ให้มีความเข้มข้นกรดแลกติกอยู่ระหว่าง 200-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรองเซลลูโลสอะซิเตตที่มีรูพรุน (pore size) 0.45 ไมครอน ฉีดสารละลายตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร คำนวณปริมาณกรดแลกติกเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก ข-1) สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์กรดแลกติกด้วยเครื่อง HPLC มีดังต่อไปนี้

คอลัมน์ : Spherisorb C-8 ขนาด (I.D.) 4.6 มิลลิเมตร ยาว 25 เซนติเมตร

สารละลายตัวพา : น้ำกลั่นไม่มีประจุปรับพีเอชด้วยกรดซัลฟิวริก พีเอชเท่ากับ 3.5

อัตราการไหลของสารละลายตัวพา : 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที

ตรวจด้วยเครื่อง UV ความยาวคลื่น : 210 นาโนเมตร

ปริมาตรที่ใช้วิเคราะห์ : 10 ไมโครลิตร

### 3.13.3 วัดค่าพีเอช ด้วย pH meter

### 3.13.4 วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Dinitrosalicylic (DNS) reagent method Bernfeld(1955 : 149)

นำสารละลายกรดแลกติกที่ได้จากการสกัด 1 มิลลิลิตร มาทำการเจือจางเพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ ผสมกับสารละลาย DNS reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร(ภาคผนวก ข- 7) นำมาให้ความร้อนโดยการต้มเป็นเวลานาน 5 นาที หลังจากนั้นทำให้สารละลายอุณหภูมิต่ำลง เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็น blank คำนวณค่าปริมาณน้ำตาลจากกราฟมาตรฐานกลูโคส (ภาคผนวก ข- 2)

### 3.15.5 วิเคราะห์ปริมาณแมกนีเซียม ตะกั่ว โฟสเฟสเซียม โซเดียม เหล็ก Sidney(1984 : 1217)

วิเคราะห์หาปริมาณแมกนีเซียม ตะกั่ว โฟสเฟสเซียม โซเดียม เหล็ก โดยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปีมิเตอร์ (atomic absorption spectrophotometer, AAS) เทียบกับกราฟมาตรฐาน แมกนีเซียม ตะกั่ว โฟสเฟสเซียม โซเดียม เหล็ก (ภาคผนวก ข- 3, ข-4, ข-5, ข-6, ข-7)

### 3.13.6 วิเคราะห์การฟอกสีสารละลายกรดแลกติก Gurgel และคณะ (1995 : 220)

นำสารละลายกรดแลกติกที่ผ่านการแยกสกัดตามวิธีการทดลองที่ 3.9 มาสู่มหาความยาวคลื่นโดยเครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible spectrophotometer) โดยสู่มวัดค่าดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 320-600 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank ผลการวัดค่าดูดกลืนแสง พบว่า ค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสม คือ 352 นาโนเมตร โดยกำหนดให้ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายกรดแลกติกที่ได้จากการสกัดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ค่าดูดกลืนแสงของน้ำกลั่นที่เป็น blank เป็น 0 เปอร์เซ็นต์



## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### 4.1 ผลการศึกษาวิธีการตกตะกอนและสกัดกรดแลกติกโดยใช้น้ำหมักที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ *L. casei* TISTR 47 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Broth

นำน้ำหมักที่แยกเซลล์ มีกรดแลกติกความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ เติมตัวตกตะกอน  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  ปริมาณ 9 กรัม คนให้ละลาย ระบายที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ จนมีปริมาตร 42 มิลลิลิตร บ่มตะกอนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง แยกตะกอนแมกนีเซียมแลกเตตจากน้ำหมักและล้างตะกอนด้วยน้ำ 0 องศาเซลเซียส และละลายตะกอนด้วยน้ำ 90 องศาเซลเซียส สกัดด้วยตัวทำละลาย n-butanol โดยนำตัวทำละลาย n-butanol มากวนผสมกับสารละลายเกลือแลกเตตนาน 5 นาที ทิ้งให้แยกชั้นนำส่วนล่างมาปรับพีเอชเท่ากับ 2.5 ทำการผสมนาน 5 นาที ทิ้งให้แยกชั้นนำส่วนบนทำการสกัดย้อนกลับด้วยน้ำโดยกวนผสมกับน้ำนาน 5 นาที ทิ้งให้แยกชั้นเก็บส่วนล่างมาปรับพีเอชเท่ากับ 6 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และกวนผสมนาน 5 นาที ทิ้งให้แยกชั้นเก็บส่วนล่าง การสกัดย้อนกลับด้วยน้ำทำซ้ำ 3 ครั้ง

จากการทดลองพบว่า เมื่อผ่านขั้นตอนการสกัดทั้งหมดได้กรดแลกติก 0.09 กรัมต่อลิตร เเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว 1.2 เเปอร์เซ็นต์เทียบให้กรดแลกติกในน้ำหมักเริ่มต้นเป็น 100 เเปอร์เซ็นต์ เนื่องจากสภาวะการตกตะกอนไม่เหมาะสมจึงได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการตกตะกอนต่อไป

#### 4.2 ผลของพีเอชต่อการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ และสกัดเกลือแลกเตตด้วยตัวทำละลาย n-butanol

ผลการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  และสกัดแยกแลกเตตด้วยตัวทำละลาย n-butanol ตามวิธีการทดลองในข้อ 3.6 โดยนำน้ำหมักเริ่มต้นมีความเข้มข้นกรดแลกติก 30 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร (กรดแลกติก 7.5 กรัม) เติมตัวตกตะกอน  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  9 กรัม แสดงผลการทดลองในตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1

จากการเปรียบเทียบระดับพีเอช 5 ระดับ กับตัวตกตะกอน  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  พบว่า พีเอชมีผลต่อการตกตะกอนและสกัดกรดแลกติกจากน้ำหมัก กล่าวคือ ถ้าปรับพีเอชก่อนการตกตะกอนให้มีค่าพีเอชเป็นกรดที่พีเอช 4 มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวเท่ากับ 1.56 เเปอร์เซ็นต์

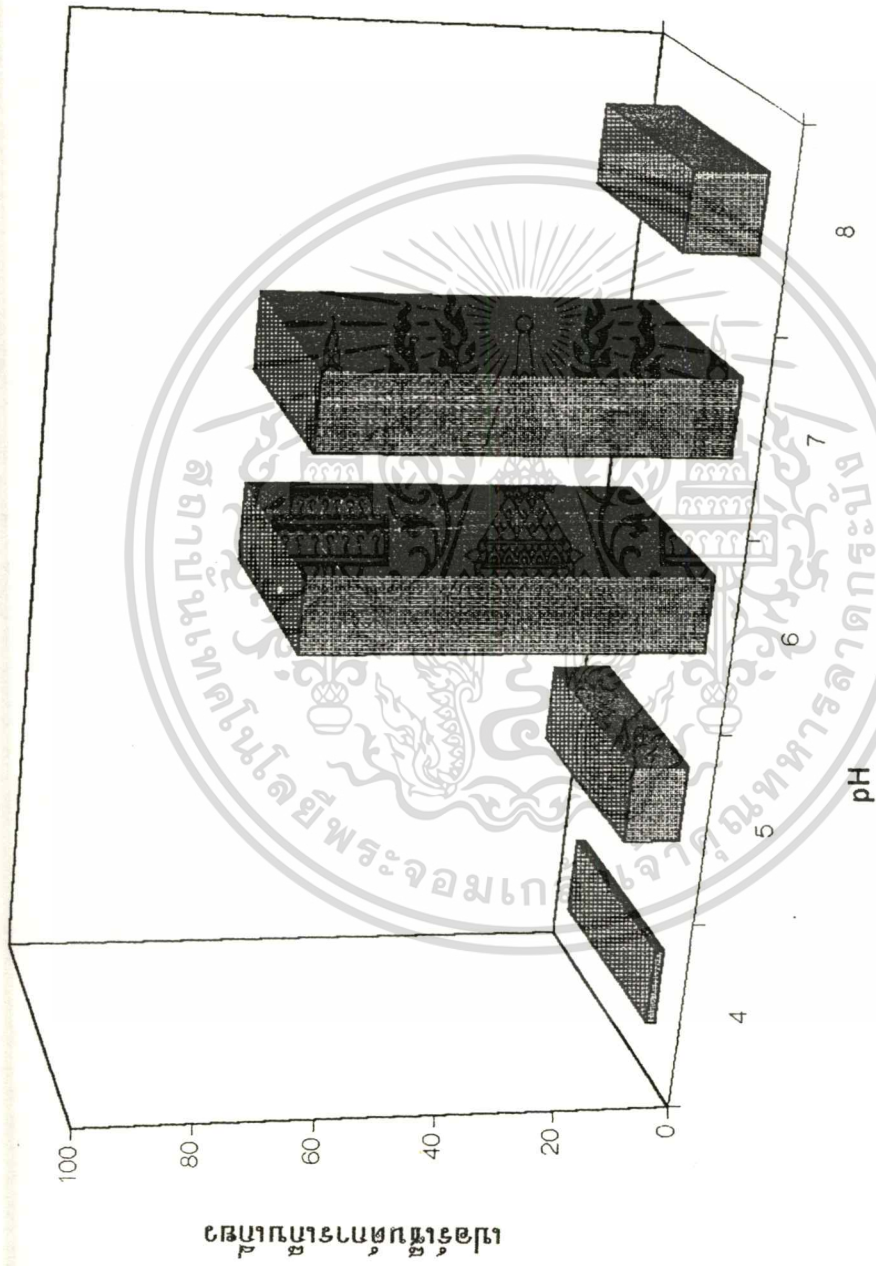
ซึ่งเป็นเปอร์เซ็นต์ที่ต่ำที่สุดหาเมื่อปรับพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 5 มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวสูงกว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพิ่มขึ้นเป็น 9.6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพีเอชมีค่าเท่ากับ 7 มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว 67.53 ซึ่งเป็นเปอร์เซ็นต์ที่สูงที่สุด และเมื่อปรับพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 8 มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวลดลงเป็น 12.23 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองพบว่าการตกตะกอนด้วยตะกอน  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  ที่พีเอช 7 มี เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวสูงที่สุดเพียง 67.53 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการปรับปรุงการตกตะกอนโดยเลือกตัวตกตะกอนอื่นๆที่เป็นสารประกอบแมกนีเซียมมาเป็นตัวตกตะกอน เนื่องจากสารประกอบแมกนีเซียมเมื่อละลายน้ำแล้วแมกนีเซียมจะรวมกับแลกเตตได้เป็นตะกอนแมกนีเซียมแลกเตต ซึ่งมีคุณสมบัติการละลายได้ดีที่อุณหภูมิสูงและละลายได้น้อยที่อุณหภูมิต่ำเหมาะสมกับขั้นตอนการล้างตะกอนและละลายตะกอนด้วยน้ำ เนื่องจากสารประกอบแมกนีเซียมมี 2 ชนิดที่สามารถละลายน้ำได้ดี คือ แมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ( $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ) และ แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) ดังนั้นจึงเลือกแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) มาเป็นตัวตกตะกอนเปรียบเทียบต่อไป

ตารางที่ 4.1 แสดงผลของพีเอชต่อการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  และสกัดด้วยตัวทำละลาย n-butanol

พีเอช	ปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากการตกตะกอนและสกัดด้วยตัวทำละลาย(กรัมต่อ 250มิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว
4	$0.117 \pm 0.02$	1.56
5	$0.720 \pm 0.25$	9.60
6	$5.040 \pm 0.90$	67.20
7	$5.065 \pm 0.51$	67.53
8	$0.917 \pm 0.37$	12.23

เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวเทียบให้กรดแลคติกในน้ำหมักเริ่มต้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.1 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวของปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  และสกัดด้วยตัวทำละลาย n-butanol ที่พีเอช 4, 5, 6, 7, 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3 ผลของพีเอชต่อการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ และสกัดเกลือแลกเตตด้วยตัวทำละลาย n-butanol

ผลการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  และสกัดแยกแลกเตตด้วยตัวทำละลาย n-butanol ตามวิธีการทดลองในข้อ 3.6 โดยนำน้ำหมักเริ่มต้นความเข้มข้นกรดแลกติก 30 กรัมต่อลิตร ปริมาณ 250 มิลลิลิตร (กรดแลกติก 7.5 กรัม) ตัวตกตะกอน  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  10.5 กรัม แสดงผลการทดลองในตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.2

จากการเปรียบเทียบระดับพีเอช 5 ระดับ กับตัวตกตะกอน  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  พบว่า พีเอชมีผลต่อการตกตะกอนและสกัดกรดแลกติกจากน้ำหมัก กล่าวคือ ถ้าปรับพีเอชก่อนการตกตะกอนให้มีค่าพีเอชเป็นกรดที่พีเอช 4 มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวเท่ากับ 1.86 เปอร์เซ็นต์ซึ่งเป็นเปอร์เซ็นต์ที่ต่ำที่สุด เมื่อปรับพีเอชให้มีความเป็นกรดลดลงที่พีเอช 5 มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้นเป็น 10.53 เปอร์เซ็นต์ เมื่อปรับพีเอชให้มีค่าเป็น 6 มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้นเป็น 83.80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพีเอชมีค่าเป็น 7 มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้นเป็น 95.56 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นเปอร์เซ็นต์ที่สูงที่สุด และเมื่อปรับพีเอชให้มีค่าเป็น 8 มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว มีค่าลดลงเป็น 12.40 เปอร์เซ็นต์

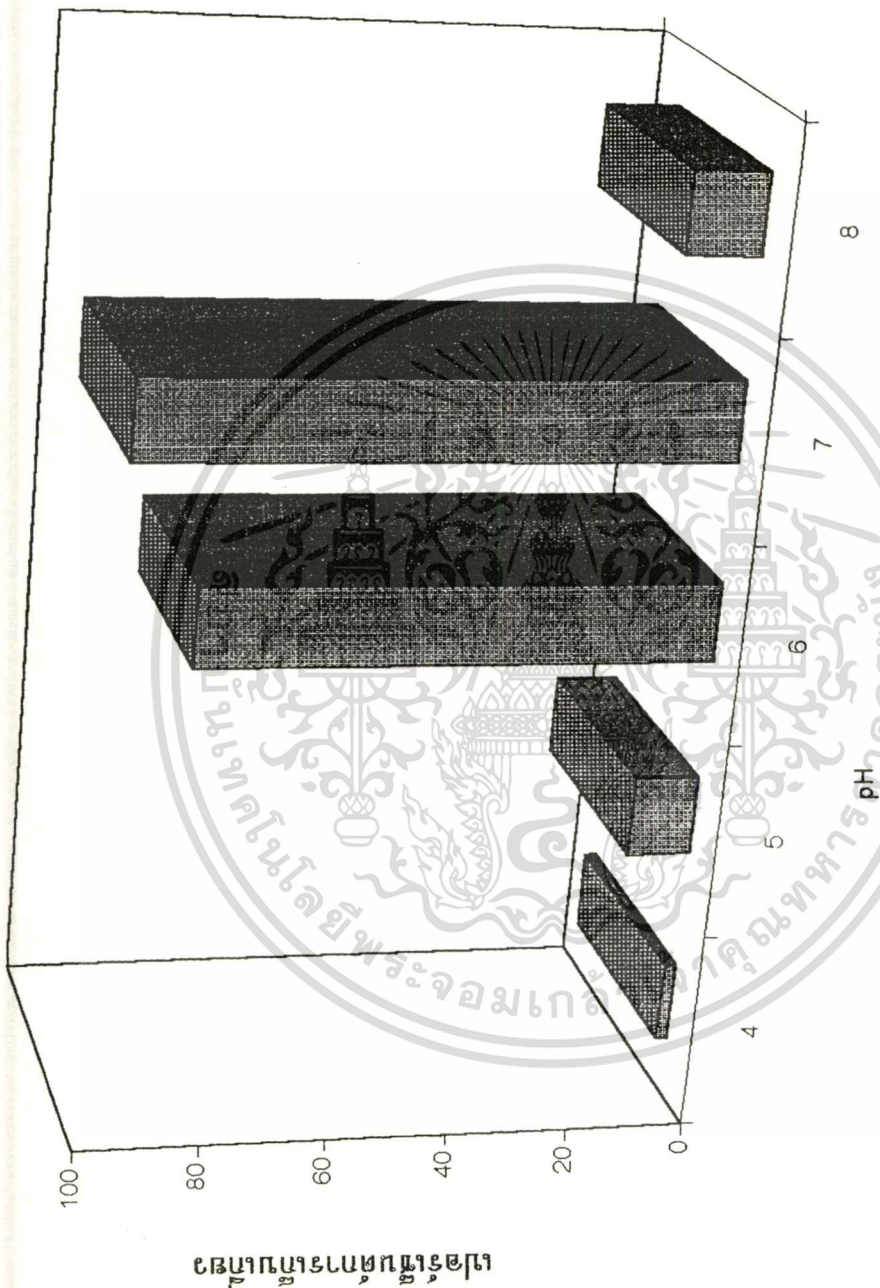
จากการทดลองที่ 4.2 และ 4.3 พบว่า พีเอชของน้ำหมักก่อนการตกตะกอนมีผลต่อการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  และ  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  ซึ่งมีผลการทดลองสอดคล้องไปในทางเดียวกัน คือ ที่พีเอช 7 มีเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวสูงที่สุด  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  มีเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว 67.53 เปอร์เซ็นต์ และ  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  มีเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว 95.56 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ตัวตกตะกอน  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  ที่พีเอช 7 เหมาะสมในการตกตะกอนและสกัดกรดแลกติกด้วยตัวทำละลาย n-butanol มากที่สุดเนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวสูงที่สุด จึงเลือก  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  เป็นตัวตกตะกอนในการทดลองต่อไป Wessier และ Geankoplis (1955:858-863) ศึกษาผลของ  $Na_2SO_4$  และ  $NaCl$  ต่ออัตราการกระจายของกรดแลกติกในตัวทำละลายอินทรีย์ พบว่า ไม่มีผลต่อการกระจายตัวของกรดแลกติกในตัวทำละลาย การเกิดและการละลายของเกลือคาร์บอกซิลิกขึ้นกับโลหะที่เป็นส่วนประกอบของเกลือที่นำมาตกตะกอนกรดคาร์บอกซิลิก ความยาวของโซ่อัลคิลของกรดคาร์บอกซิลิก และสารปนเปื้อนที่อยู่ในสารละลายเริ่มต้น การเตรียมเกลือคาร์บอกซิลิกต้องทำให้สารละลายกรดคาร์บอกซิลิกเป็นกลาง และไม่มีไฮดรอกซิลไอออน ทำการระเหยภายใต้ความดันสุญญากาศ ทิ้งให้ตกตะกอน อุณหภูมิที่ใช้ในการระเหยและตกตะกอนขึ้นกับชนิดของเกลือคาร์บอกซิลิกนั้นๆ (Lovering และ Robert 1983:138-139)

ตารางที่ 4.2 แสดงผลของพีเอชต่อการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  และสกัดตัวทำละลาย n-butanol

พีเอช	ปริมาณกรดแลกติกที่ได้จากการตกตะกอนและสกัดด้วยตัวทำละลาย(กรัมต่อ 250มิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว
4	$0.140 \pm 0.02$	1.86
5	$0.790 \pm 0.31$	10.53
6	$6.285 \pm 0.27$	83.80
7	$7.167 \pm 0.06$	95.56
8	$0.930 \pm 0.28$	12.40

เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวเทียบให้กรดแลกติกในน้ำหมักเริ่มต้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์





ภาพที่ 4.2 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวของปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากการตกตะกอน  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  และสกัดด้วยตัวทำละลาย n-butanol ที่พีเอช 4, 5, 6, 7, 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.4 ผลการศึกษาหาปริมาณกรดแลกติกที่ได้จากการตกตะกอนด้วย

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$  ที่พีเอช 7 ในตัวทำละลาย n-butanol, Octanol และ Isoamyl alcohol

ผลการตกตะกอนด้วยตัวตกตะกอน  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  และสกัดแยกแลคเตดด้วยตัวทำละลาย n-butanol, Octanol, Isoamyl alcohol ตามวิธีการทดลองในข้อ 3.6 โดยนำน้ำหมักเริ่มต้นมีปริมาณกรดแลกติก 30 กรัมต่อลิตร ตัวตกตะกอน  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  10.5 กรัม น้ำหมักเริ่มต้นปริมาตร 250 มิลลิลิตร แสดงผลการทดลองในตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.3

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดแลกติกที่ได้จากการตกตะกอนและสกัดแยกกรดแลกติกพบว่า ตัวทำละลาย n-butanol สามารถสกัดกรดแลกติกได้มากที่สุด รองลงมา Isoamyl alcohol และ Octanol ปริมาณกรดแลกติกที่สกัดได้แตกต่างกัน เนื่องจากความแตกต่างในเรื่องของความมีขั้วของตัวทำละลาย ลำดับของความมีขั้วเรียงจากมากไปน้อย คือ n-butanol, Isoamyl alcohol, Octanol, ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Wessier และ Geankoplis (1955:858-863) ศึกษาอัตราส่วนการกระจายตัวของกรดแลกติกกับตัวทำละลายต่างๆ โดยนำสารละลายกรดแลกติกบริสุทธิ์ผสมกับตัวทำละลายที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

$$\text{อัตราส่วนการกระจายตัวของกรดแลกติก}(K) = \frac{\text{ความเข้มข้นของกรดแลกติกในตัวทำละลาย}(C_s)}{\text{ความเข้มข้นของกรดแลกติกในน้ำ}(C_w)}$$

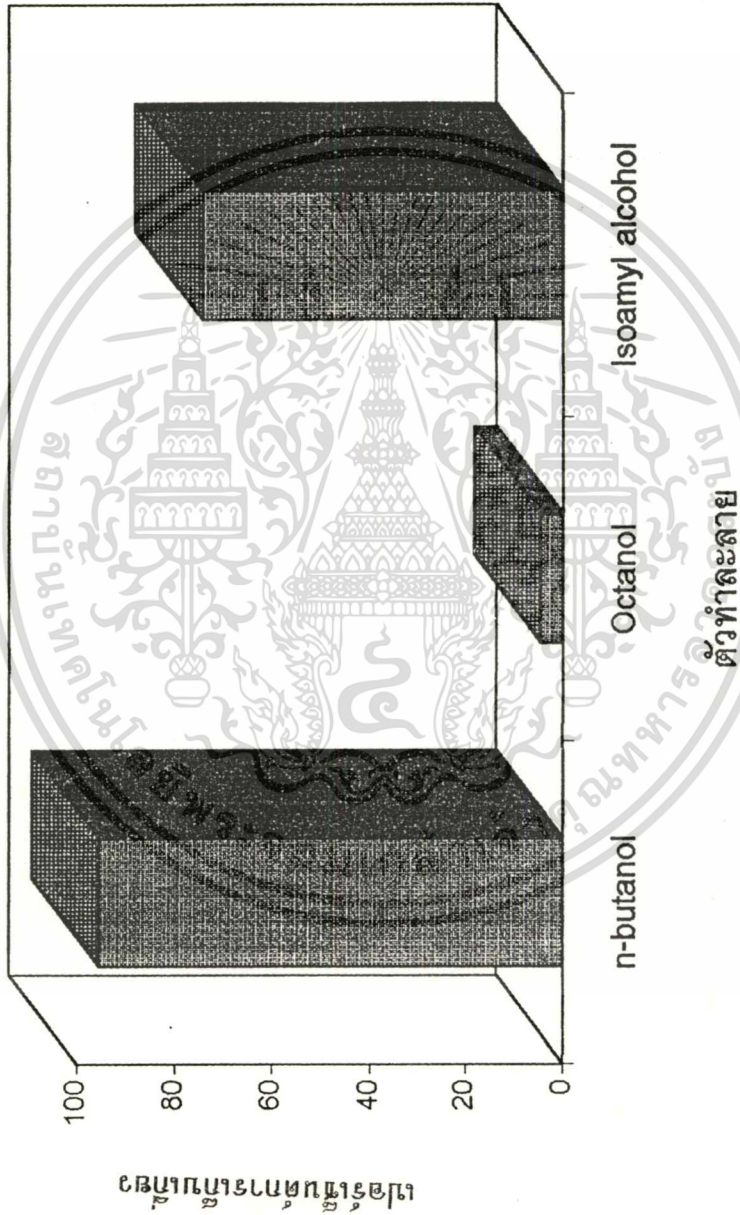
โดยแบ่งตัวทำละลายเป็นกลุ่มดังนี้ กลุ่ม ester ได้แก่ n-butyl acetate ,4-methyl amyl acetate กลุ่ม methyl ketone ได้แก่ methyl isopropyl ketone , methyl isobutyl ketone เป็นต้น กลุ่ม higher ketone ได้แก่ diethyl ketone, di-n-propyl ketone, diisobutyl ketone เป็นต้น กลุ่มแอลกอฮอล์ ได้แก่ butyl alcohol, amyl alcohol, hexyl alcohol จากการทดลองพบว่า กลุ่มแอลกอฮอล์ คือ butyl alcohol สามารถสกัดกรดแลกติกได้ดี เนื่องจากมีอัตราส่วนการกระจายตัวของกรดแลกติกสูงสุด และเป็นตัวทำละลายที่มีราคาถูก กลุ่ม methyl ketone อัตราส่วนการกระจายตัวของกรดแลกติกใกล้เคียงกับกลุ่ม ester และสูงมากกว่ากลุ่ม higher ketone เมื่อเปรียบเทียบหาความสัมพันธ์ของน้ำหนักโมเลกุลของตัวทำละลายกับอัตราส่วนการกระจายตัวของกรดแลกติก พบว่า ตัวทำละลายที่มีน้ำหนักโมเลกุลมาก จะมีค่าอัตราส่วนการกระจายตัวของกรดแลกติกที่ต่ำ เนื่องจากจะมีส่วนที่ไม่มีขั้วสูงมากขึ้นตามน้ำหนักโมเลกุลที่มากขึ้น

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากการตกตะกอนด้วย  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  ที่พีเอช 7  
ในตัวทำละลาย n-butanol, Octanol และ Isoamyl alcohol

ตัวทำละลาย	ปริมาณกรดแลคติกที่ได้จาก การตกตะกอนและสกัดด้วยตัว ทำละลาย (กรัมต่อ 250 มิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว
n-Butanol	$7.160 \pm 0.06$	95.56
Octanol	$0.335 \pm 0.07$	4.48
Isoamyl alcohol	$5.560 \pm 0.53$	74.13

เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวเทียบให้กรดแลคติกในน้ำหมักเริ่มต้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์





ภาพที่ 4.3 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวของปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากการตกตะกอนด้วย  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  ที่พีเอช 7 ในตัวทำละลาย n-butanol ,

Octanol และ Isoamyl alcohol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.5 ผลการหาปริมาณผงถ่านกัมมันต์ที่เหมาะสมกับการฟอกสีสารละลายกรดแลคติกที่ได้จากการตกตะกอนและสกัดจากน้ำหมัก

ในขั้นตอนนี้ได้ทำการศึกษาหาปริมาณผงถ่านกัมมันต์ที่เหมาะสมกับการฟอกสีสารละลายกรดแลคติกที่ได้จากการตกตะกอนและสกัดจากน้ำหมัก การตกตะกอนและสกัดกรดแลคติกจากน้ำหมักได้กำจัดสารปนเปื้อนส่วนใหญ่ออกไป เช่น น้ำตาล เป็นต้น แต่ยังมีสารปนเปื้อนเหลืออยู่ในสารละลายกรดแลคติก ดังนั้นการฟอกสีจึงเป็นขั้นตอนสำคัญในการกำจัดสารปนเปื้อนเพื่อทำให้สารละลายกรดแลคติกมีความบริสุทธิ์สูงขึ้น นำสารละลายกรดแลคติกที่ได้จากการตกตะกอนและสกัดกรดแลคติกจากน้ำหมักตามสภาวะที่เหมาะสมในผลการทดลองที่ 4.4 มาผันแปรปริมาณผงถ่านกัมมันต์ตามวิธีการทดลองที่ 3.10 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.4 พบว่า ปริมาณผงถ่านกัมมันต์ที่เพิ่มขึ้น มีผลทำให้สามารถฟอกสีสารกรดแลคติกได้มากขึ้น เปอร์เซ็นต์การฟอกสีของปริมาณผงถ่านกัมมันต์ในช่วง 2-5 กรัมมีค่าที่ใกล้เคียงกัน คือ 93.20-95.13 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Gurgel และคณะ (1995: 219-223) ที่ศึกษาการฟอกสีไซลิทอลที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ *Candida guilliermondii* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการย่อยกากน้ำตาลตามวิธีของ Roberto และคณะ (1991:271-275) พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณผงถ่านกัมมันต์มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การฟอกสีเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มปริมาณผงถ่านกัมมันต์ไปเรื่อยๆจะพบว่าที่ปริมาณหนึ่งจะมีค่าเปอร์เซ็นต์การฟอกสีที่คงที่ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการฟอกสี พบว่า มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การฟอกสีลดลง แต่ถ้าเพิ่มปริมาณผงถ่านกัมมันต์จะมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การฟอกสีเพิ่มขึ้น ที่อุณหภูมิสูงมีผลทำให้เกิดการสั่นสะเทือนของโมเลกุลของสาร มีผลต่อแรงวันเดอร์วาลส์ (van der Waals) และแรงดึงดูดระหว่างขั้วของโมเลกุล (dipole-dipole interactions) (How และ Morr 1982 : 933) ความสามารถในการดูดซับกรดอินทรีย์โดยใช้ผงถ่านกัมมันต์จะลดลงเนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น (Shiomori และคณะ 1994 :453)

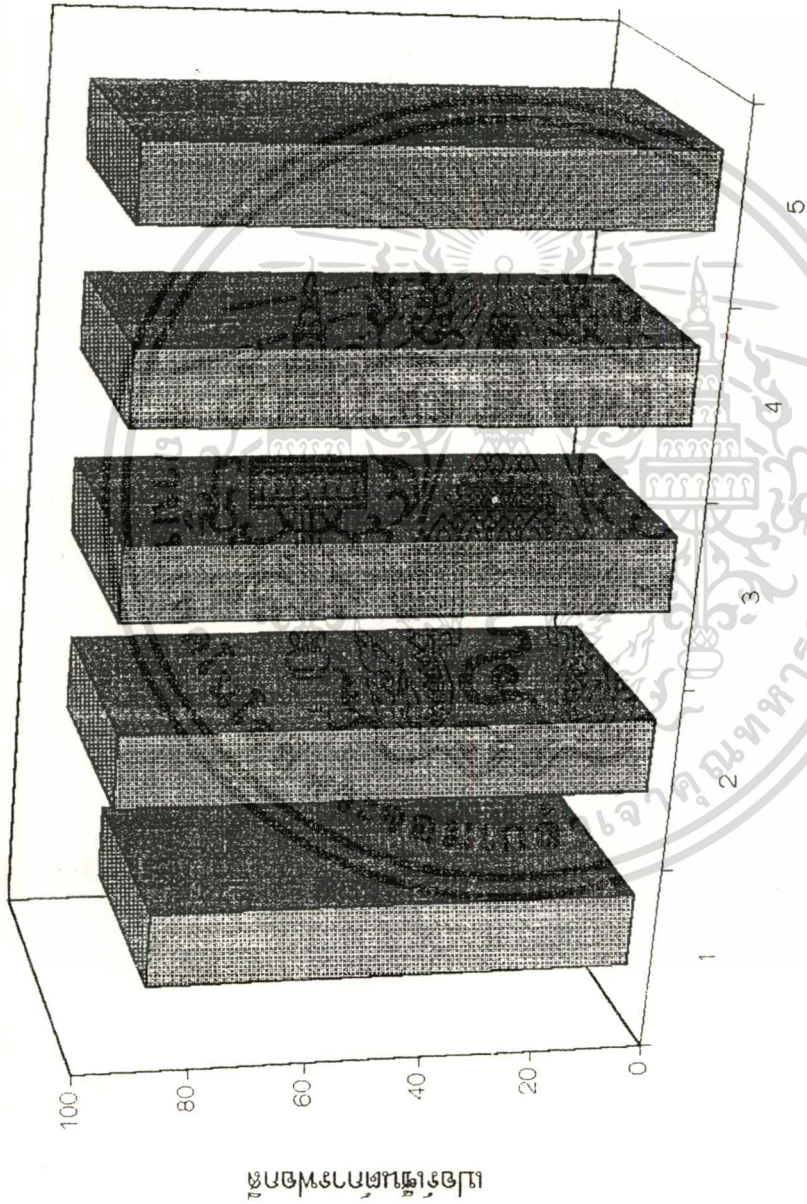
ตารางที่ 4.4 แสดงเปอร์เซ็นต์การฟอกสีสารปนเปื้อนในสารละลายกรดแลคติกด้วยผงถ่าน  
กัมมันต์ปริมาณ 1, 2, 3, 4, และ 5 กรัม

ปริมาณผงถ่านกัมมันต์ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การฟอกสี
1	85.73
2	93.20
3	94.20
4	94.36
5	95.13

เปอร์เซ็นต์การฟอกสีเทียบให้สีก่อนการฟอกสีเป็น 100 เปอร์เซ็นต์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ปริมาณผงถ่านกัมมันต์(กรัม)  
 ภาพที่ 4.4 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การฟอกสีสารปนเปื้อนในสารละลายการแตกติกเมื่อฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ปริมาณ 1, 2, 3, 4 และ 5 กรัม

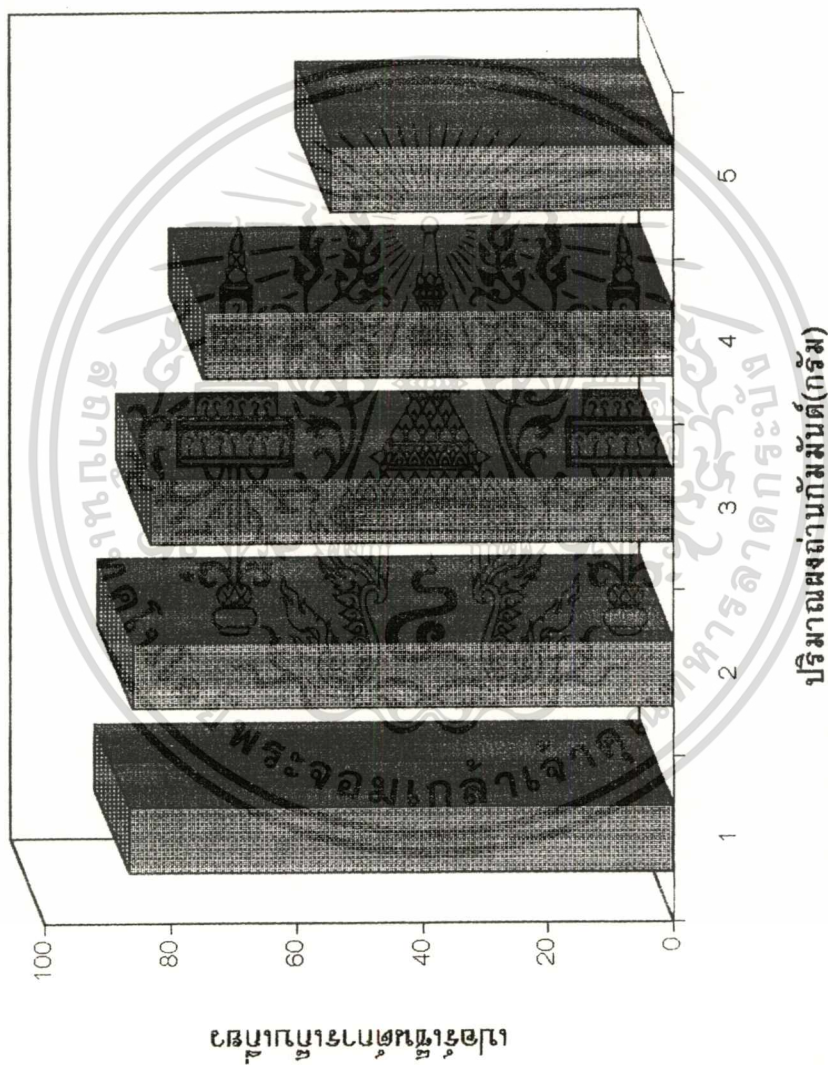
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลอง พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณผงถ่านกัมมันต์มากขึ้น ปริมาณกรดแลกติกในสารละลายหลังจากการฟอกสีจะลดลง แสดงผลการทดลองในตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.5 พบว่าปริมาณผงถ่านกัมมันต์ 1-3 กรัม จะมีเปอร์เซ็นต์กรดแลกติกเหลืออยู่ระหว่าง 82.93-86.48 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณผงถ่านกัมมันต์ 5 กรัม จะมีกรดแลกติกเหลืออยู่น้อยที่สุด คือ 54.52 เปอร์เซ็นต์ ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากผงถ่านกัมมันต์สามารถจับกรดแลกติกในสารละลายได้ ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องผลการทดลองของ Gurgel (1995: 219-223) ที่ได้ศึกษาโดยนำสารละลายไซลิทอลที่ผ่านการฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ปริมาณต่างๆที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การฟอกสีที่ใกล้เคียงกัน พบว่า ปริมาณไซลิทอลที่ได้หลังการฟอกสีจะลดลงตามปริมาณผงถ่านกัมมันต์ที่เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การฟอกสีและปริมาณกรดแลกติกในสารละลายหลังจากการฟอกสี พบว่าปริมาณผงถ่านกัมมันต์ 2 กรัม มีความเหมาะสมที่สุดเนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวของกรดแลกติกมากที่สุด 85.97 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์การฟอกสี 93.20 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณกรดแลกติกในสารละลายหลังจากผ่านการฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ ปริมาณ 1, 2, 3, 4 และ 5 กรัม

ปริมาณผงถ่านกัมมันต์ (กรัม)	ปริมาณกรดแลกติก ในสารละลายหลังจากการฟอก (กรัมต่อ 250 มิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว
1	6.486±0.506	86.48
2	6.448±0.175	85.97
3	6.220±0.905	82.93
4	5.600±0.328	74.66
5	4.089±0.297	54.52

เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวเทียบให้กรดแลกติกในน้ำหมักเริ่มต้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.5 เปรียบเทียบ เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวของปริมาณกรดแลคติกในสารละลายหลังจากการฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ปริมาณ 1, 2, 3, 4 และ 5 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.6 ผลการไหลผ่านเรซินแลกเปลี่ยนประจุชนิดแอนไอออน(Amberlite IRA-400) ของสารละลายกรดแลกติก

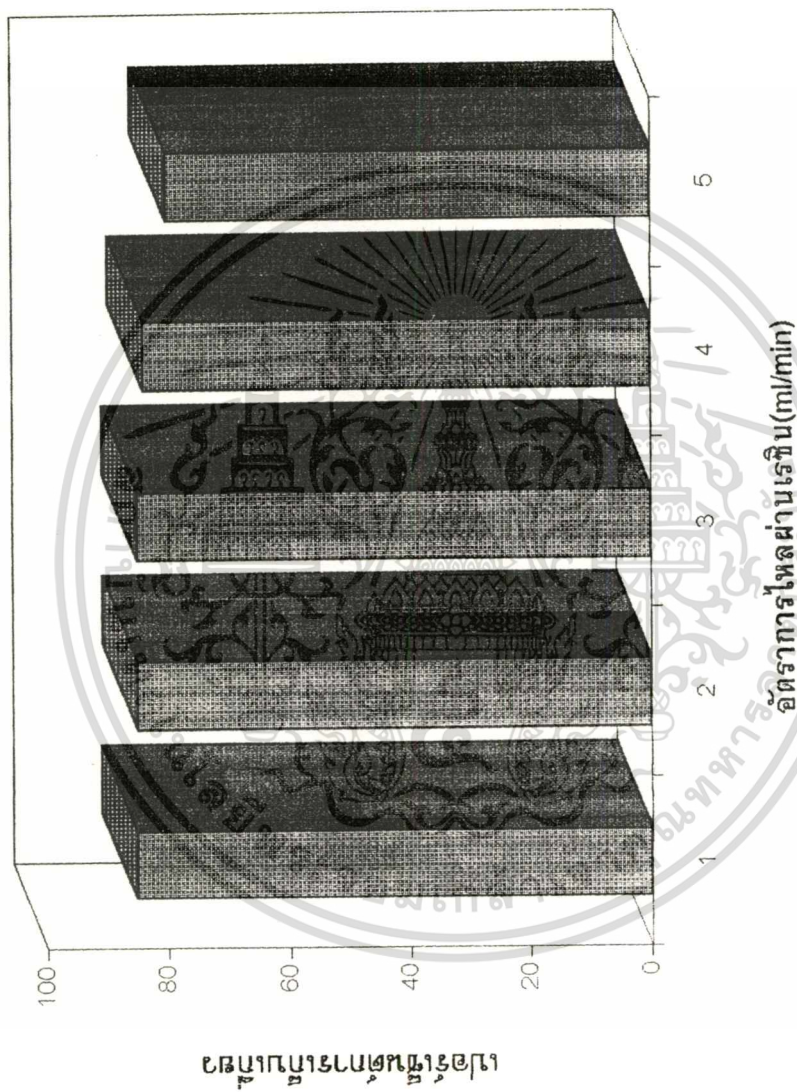
นำสารละลายกรดแลกติกที่ได้จากการตกตะกอนและสกัดกรดแลกติกจากน้ำหมักที่ได้ทำตามขั้นตอนที่ 3.6 มาปรับให้มีความเข้มข้นกรดแลกติก 100 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และสารละลายกรดแลกติกที่ผ่านการฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ปริมาณ 2 กรัม ความเข้มข้นกรดแลกติก 100 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร มาผ่านเรซินแลกเปลี่ยนประจุ โดยผ่านการจับประจุด้วยแอนไอออนเรซิน Amberlite IRA-400 ควบคุมอัตราการไหล 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อนาที ผลแสดงในตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.6

จากการทดลอง พบว่า เมื่อผ่านคอลัมน์ด้วยอัตราการไหล 5 มิลลิลิตรต่อนาที จะมีการสูญเสียกรดแลกติกมากที่สุด และการสูญเสียกรดแลกติกลดลงเมื่ออัตราการไหลมีความเร็วลดลง ที่อัตราการไหล 1-3 มิลลิลิตรต่อนาทีมีเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวที่ใกล้เคียงกัน คือ ประมาณ 85 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงเลือกอัตราการไหล 3 มิลลิลิตรต่อนาทีเป็นสภาวะที่เหมาะสม

ตารางที่ 4.6 แสดงเปอร์เซ็นต์กรดแลกติกที่แยกได้หลังจากผ่านเรซินแลกเปลี่ยนประจุชนิดแอนไอออน (Amberlite IRA-400) ด้วยอัตราการไหล 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อนาที

อัตราการไหลผ่านเรซิน (มิลลิลิตรต่อนาที)	เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว
1	85.13
2	85.04
3	84.96
4	83.98
5	80.03

เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวเทียบให้กรดแลกติกในน้ำหมักเริ่มต้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.6 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกที่แยกได้หลังจากผ่านเรซินแลกเปลี่ยนประจุชนิดแอนไอออน (Amberlite IRA-400) ด้วยอัตราการไหล 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อนาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.7 ผลการศึกษาความบริสุทธิ์ของกรดแลกติก

นำอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ความเข้มข้นกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 47 เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง มีกรดแลกติกความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร สารละลายกรดแลกติกที่ได้จากการตกตะกอน  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  ที่พีเอช 7 และสกัดด้วยตัวทำละลาย n-butanol ตามวิธีการทดลองที่ 3.9 สารละลายกรดแลกติกที่ผ่านการฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ปริมาณ 2 กรัม ตามวิธีการทดลองที่ 3.10 และสารละลายกรดแลกติกที่ผ่านเรซินแลกเปลี่ยนประจุชนิดแอนไอออน (Amberlite IRA-400) ด้วยอัตราการไหลที่ 3 มิลลิลิตรต่อนาทีตามวิธีการทดลองที่ 3.11 มาศึกษาหาปริมาณสารปนเปื้อนต่างๆ ผลแสดงในตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.7 พบว่า ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นก่อนการสกัดมีปริมาณ 16.2 กรัมต่อลิตร เมื่อผ่านการตกตะกอนและสกัดด้วยตัวทำละลาย มีปริมาณน้ำตาลเหลือ 0.8 กรัมต่อลิตร ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Wessier และ Geankoplis (1955:858-863) ศึกษาการกระจายตัวของซูโครสและแล็กโทสในตัวทำละลาย butanol ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า ซูโครสมีค่าการกระจายตัวของ 0.0157 แล็กโทสมีการกระจายตัวของ 0.0060 โดยสารที่มีค่าการกระจายตัวสูงจะละลายในตัวทำละลาย n-butanol ได้ดีและเมื่อผ่านการฟอกสีด้วยผงถ่านกัมมันต์มีน้ำตาล 0.1 กรัมต่อลิตร เมื่อผ่านเรซินแลกเปลี่ยนประจุจะไม่มีน้ำตาลเหลือในกรดแลกติก (ตรวจวัดที่ระดับความเข้มข้นมีหน่วยเป็น ppm) ปริมาณแมกนีเซียมที่ใช้เป็นตัวตกตะกอนเมื่อผ่านการสกัดแล้วปริมาณแมกนีเซียมเหลืออยู่ในเพียง 0.293 กรัม เนื่องจากแมกนีเซียมไม่ละลายในอีลกอฮอล์ ปริมาณไซเดียมในสารละลายที่ผ่านการสกัดแล้ว พบว่า มีปริมาณไซเดียมใกล้เคียงกับปริมาณกรดแลกติกที่วิเคราะห์หาปริมาณด้วยเครื่อง HPLC คือมีปริมาณไซเดียม 29.025 กรัมต่อลิตร และปริมาณกรดแลกติก 28.66 กรัมต่อลิตร สารละลายกรดแลกติกเมื่อผ่านเรซินพบว่า มีปริมาณเหล็กและตะกั่วที่เหลืออยู่ 0.26, 0.013 ppm ตามลำดับซึ่งถือว่าน้อยมาก ปริมาณไซเดียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม ไม่มีเหลืออยู่ในกรดแลกติกที่ผ่านเรซิน (ตรวจวัดที่ระดับความเข้มข้นมีหน่วยเป็น ppm) กรดแลกติกเมื่อผ่านขั้นตอนการสกัด ผ่านผงถ่านกัมมันต์ผ่านเรซิน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ ความบริสุทธิ์ 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.7 เปรียบเทียบปริมาณสารปนเปื้อนในสารละลายในแต่ละช่วงของการสกัดและทำการตกตะกอนให้บริสุทธิ์จากน้ำหมัก

ชนิดของสารปนเปื้อน	น้ำตาล (g/l)	เหล็ก (ppm)	ตะกั่ว (ppm)	โซเดียม (g/l)	แมงกานีส (ppm)	โพแทสเซียม (ppm)
ปริมาณสารปนเปื้อนที่พบ						
น้ำหมัก	16.2	0.958	0.064	1.5	0.03	1.255
หลังจากผ่านการศึกษาสกัด	0.8	0.937	0.059	29.025	0.293	0.146
หลังจากผ่านแผนถ่วงน้ำหนัก	0.1	0.876	0.060	0.0	0.0	0.0105
หลังจากผ่านเรซิน	0.0	0.261	0.013	0.0	0.0	0.0

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการตกตะกอนและสกัดกรดแลกติกจากน้ำหมักที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 47 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Broth

#### 5.1 ในขั้นตอนการตกตะกอนกรดแลกติกจากน้ำหมัก

กรดแลกติกความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร สภาวะที่เหมาะสมในการตกตะกอน คือ ปรับพีเอชน้ำหมักก่อนการตกตะกอนให้เท่ากับ 7 และตกตะกอนด้วย  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  ทำการระเหยด้วยเครื่องสูญญากาศที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสจนกระทั่งมีปริมาตร 42 มิลลิลิตร และบ่มตะกอนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ทำการล้างตะกอนละลายตะกอน และสกัดด้วยตัวทำละลาย n-butanol พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว 95.56 เปอร์เซ็นต์เทียบให้กรดแลกติกในน้ำหมักเริ่มต้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์

#### 5.2 ในขั้นตอนการศึกษาความแตกต่างของตัวทำละลายที่มีผลต่อการสกัดกรดแลกติก

พบว่า n-butanol เป็นตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมเนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวที่สูงที่สุด 95.56 เปอร์เซ็นต์เทียบให้กรดแลกติกในน้ำหมักเริ่มต้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ และ n-butanol เป็นตัวทำละลายที่มีพิษน้อยและนิยมใช้เป็นส่วนประกอบในการผลิต เครื่องดื่ม ลูกกวาด หมากฝรั่ง เป็นตัวทำให้เกิดกลิ่นในเนย(butter) และเหล้า(Grace 1994:36)

#### 5.3 ในขั้นตอนการฟอกสีสารละลายกรดแลกติกด้วยผงถ่านกัมมันต์

พบว่า การฟอกสีด้วยถ่านกัมมันต์ปริมาณ 2 กรัม มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การฟอกสี 93.20 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว 87.94 เปอร์เซ็นต์เทียบให้กรดแลกติกในน้ำหมักเริ่มต้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์

#### 5.4 ในขั้นตอนการผ่านเรซินแลกเปลี่ยนประจุชนิดแอนไอออน(Amberlite

IRA-400

พบว่า อัตราการไหลที่เหมาะสม 3 มิลลิลิตรต่อนาที มีเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว 84.96 เปอร์เซ็นต์เทียบให้กรดแลกติกในน้ำหมักเริ่มต้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์

## 5.5 ความบริสุทธิ์ของกรดแลคติก

เมื่อผ่านขั้นตอนการตกตะกอนและสกัดด้วยตัวทำละลาย กำจัดสีด้วยผงถ่านกัมมันต์ และผ่านเรซินแลกเปลี่ยนประจุ พบว่า จะไม่มีน้ำตาล โซเดียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม ปนเปื้อนในสารละลายกรดแลคติก(ตรวจวัดที่ระดับความเข้มข้นมีหน่วยเป็น ppm) และกรดแลคติกที่ได้มีความบริสุทธิ์ 95 เปอร์เซ็นต์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาในครั้งนี้ ทำให้ทราบปัจจัยที่มีผลต่อการตกตะกอนและสกัดกรดแลกติกจากน้ำหมัก แต่ยังมีรายละเอียดอื่นๆ ที่น่าจะทำการศึกษาต่อไป

- 1 ทดลองนำวิธีการตกตะกอนและสกัดมาแยกกรดแลกติกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Broth ไปประยุกต์ใช้แยกกรดแลกติกในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่นๆ
- 2 ทดลองนำวิธีการตกตะกอนและสกัดนี้ไปสกัดแยกกรดอินทรีย์ชนิดอื่นๆ
- 3 นำขั้นตอนการตกตะกอนและสกัดไปต่อเข้ากับถังหมักเพื่อที่จะได้ระบบการผลิตและแยกกรดแลกติกเป็นระบบแบบต่อเนื่อง



## บรรณานุกรม

ชุติมา ศรีวิบูลย์ และรัชชชัย ศรีวิบูลย์. 2534. ปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์. พิมพ์ครั้งที่ 4.

กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยสุโขทัย.

มันดิน ดันทุลเวศน์. 2532. วิศวกรรมการแปรรูป. เล่ม 2. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Benthin, S. and Villadsen, J. 1995 "Production of Optically Pure D-lactate by

*Lactobacillus bulgaricus* and Purification by Crystallization and

Liquid/Liquid Extraction" Appl.Microbiol.Biotechnol. 42 : 826-829.

Bernfeld, P. et. al. 1955. Method in Enzymology .Vol.1. New York : Academic Press.

Boyarol, P. et. al. 1987. "Continuous Lactic Acid Fermentation with Concentrated

Product Recovery by Ultrafiltration and Electrolysis" J.Ferment.Technol.

65 :179-182.

Brock, T.D. et. al. 1997. Biology of Microorganisms. New York. : Prentice Hall.

Burton, L.V. 1937 "By products of milk" Food Ind. 9 : 571-575.

Chen, B. and Zutong, Liu. 1995 "The Study of Lactic Acid Fermentation Using

*Rhizopus*" J.Tsinghu Uni. 33 : 91-95.

Dalcanale, L. et. al. Process for Recovering Lactic Acid from Solution which Contain

It. U.S.patent no. 5189664, Feb 1992.

Dorfer K. 1977. Ion Exchanger properties and Application 3<sup>rd</sup>.ed. Michigan : Ann

Arbor Science.

Environmental Protection Agency U.S. Process Design Manual for Carbon Adsorption.

1973.

Filachione, E.M. 1952 " Lactic Acid" Encyclopedia of Chemical Technology. Vol.1

: 167-170.

Foster, D.S. 1972. "Lactic Acid and Its Derivatives " Encyclopedia of Industrial

Chemical Analysis. Vol.15 : 127.

Gasser, F. et. al. 1970. "Electrophoretic Characterization of Lactate Dehydrogenase in

Genus *Lactobacillus*." J.Gen Microbiol. 62 : 23-239.

Gilliland, R.B. 1979. The Stability of Industrial Organisms. New York.: Prentice Hall.

Grace, R. L. 1994. 1,001 Chemicals in Everyday Products. New York : Van Nostrand

เอกสารนี้เป็น Reinhold. วนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Gurgel, P.V. et. al. 1995 . "Xylitol Recovery from Fermented Sugarcane Bagasse Hydrolyzate." *Biores Technol.* 52 : 219-223.
- Holten ,C.M. et. al. 1971. *Lactic Acid* Weinherim : Bergstrverlay Chemie .
- Honda, H. et. al. 1995 "Effect of Lactic Acid Production by Two-Stage Extractive Fermentation." *J.Ferment. Bioeng.* 79 : 598-593.
- How, J.S.L.and Morr, C.V. 1982 "Removal of Phenolic Compounds from Soy Protein Extracts Using Activated Carbon." *J.Food.Sci.* 47 : 933-940.
- Inskeep, G.C. et. al 1952 "Lactic Acid from Corn Sugar." *Ind.Eng.Chem.* 44 : 1955-1966.
- Kertes, A.S.and King,.J. 1985. "Extraction Chemistry of Fermentation Product Carboxylic Acid." *Biotech. Bioeng.* 8 : 269-282.
- Keller, A.K. et. al. 1975 "Continuous Lactic Acid Fermentation of Whey to Produce a Ruminant Feed Supplement High in Crude Protein." *Biotech Bioeng.* 17 : 997-1018.
- Kaiming, YE. Et.. al. 1996. "Cell Recycle and Broth Reuse Fermentation with Cross-Flow Filtration and Ion Exchange Resin." *J.Chem.Tech.Biotechnol.* 66 : 223-226.
- Leonard, R.H. 1959. "Lactic Acid from Fermentation." *J.Biochem.Microb.Technol.Eng.* 1 :393-412.
- Lovering, D.G. and Robert, J.Gal. 1983. *Molten Salt Techniques*, Vol.1 New York : Plenum Press
- Lockwood,L.B. 1965. "Lactic Acid." *Ann.N.Y. Acad.Sci.* 119 : 354- 867.
- Marta,S.M. et. al. 1992. "Reactive Extraction of Lactic Acid with Alamine 336 in The Presence of Salts and Lactose." *J.Chem. Tech. Biotechnol.* 54 : 1-6.
- Marta,S.M. et. al. 1995. "Liquid-Liquid Extraction of Lactic Acid with Alamine 336." *J.Chem.Tech. Biotechnol.* 65 : 281-285.
- Nakamura,.L.K. and Crowell ,C.D. 1979. "*Lactobacillus amylophilus* New Starch Hydrolysing Species from Swine Waste-Corn Fermentation." *Dev. Ind. Microbiol.* 20 : 531-540.
- Prescott, S.C. and Dunn, C.G. 1982. *Industrial Microbiology.* 4<sup>th</sup>.ed. New York : Mc.Graw-Hill.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Roffler, S.R.. et. al. 1984. "Lactic Acid" *Trend in Biotech.* 2 : 129-136.
- Rathin, D. et. al. 1995. "Technological and Economic Potential of Poly(lactic acid) and Lactic Acid Derivatives." *Fems Microbiol Rev.* 16 : 221-231.
- Roberto, I.C. et. al.1991. "Utilization of Sugarcane Bagasse Hemicellulosic Hydrolyzate by *Candida guilliermondii* for Xylitol Production." *Biores.Technol.* 36 : 271-275.
- Rosenberg, M. et. al. 1992. "The Fermentation of Polyols and Fatty Acid During L-lactic Acid Fermentation by *Rhizopus arrhizus*." *Biotechlogy Letters.* 14 : 45-48.
- Scholler,C. et. al. 1993. "Emulsion Liquid Membrane Extraction of Lactic Acid from Aqueous Solution and Fermentation Broth." *Biotech Bioeng.* 42 : 50-58.
- Shiomori, K. et. al. 1994. "Adsorption Equilibria of The Organic Acids on Activated Carbon at Various Temperatures." *Kagaku Kogaku Ronbunshu.* 20 : 453-458.
- Sidney, W. 1984. *Official Method of Analysis.14<sup>th</sup>*,ed Association of Official Analytical Chemists.: 1217-1220.
- Siebold ,M. et. al. 1995. "Comparison of The Production of Lactic Acid by Three Different *Lactobacilli* and its Recovery by Extraction and Electrodialysis." *Process Biochem.* 30 : 81-95.
- Snell,.R.L. and Lowery,C.E. Calcium L(+)-lactic Acid Production. U.S.patent. no. 3125494, March 1964.
- Srivastava,A. et. al. 1992. "Extractive Lactic Acid Fermentation Using Ion-Exchange Resin." *Biotech Bioeng.* 39 : 607-6013.
- Thai Pharmacopoeia. Drug Committee and The Food and Drug Admistration of THAILAND Vol.1 Part 2. 1993 : 1053-1054.
- Vaccari, O.et. al. 1993. "Fermentation Production of L(+)-lactic Acid by *Lactobacillus casein* DSM 20011 and Product Recovery Using Ion-Exchang Resin." *Appl, Microbiol.* 40 : 23-27.
- Vickroy, T.B. editor. 1985. *In Comprehensive Biotechnology.* Oxford : Pergam Press
- Vickroy, T.B. et. al. 1983. "Lactic Acid Production in CSTR Will Cell Recycle" *Biotech.Lett.* 5 : 665-670.
- Wesiser, R.B. and Geankopolis ,C.J. 1955. "Lactic Acid Purification by Extraction" *Ind.Eng.Chem.* 47 : 858-863.

Yanbannavar,V.M. and Wang, D.I. 1991. "Extractive Fermentation for Lactic Acid Product." *Biotech. Bioeng.* 77 : 508-511.

Yong, S. et. al. 1996. "Control of Swelling in Lliquid Emulsion Membranes Employed for Lactic Acid Separation." *J.Chem Tech.Biotech.* 65 : 309-316.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

## อาหารเลี้ยงเชื้อ

## 1 สูตรอาหาร MRS broth

สูตรอาหาร MRS broth ที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 47 มี ส่วนประกอบดังต่อไปนี้ (ต่อปริมาตร 1 ลิตร)

Casein hydrolyzate	10	g
Beef extract	10	g
Glucose monohydrate	50	g
Yeast extract	5	g
Tween 80	1	g
Sodium acetate	3	g
$K_2HPO_4$	2	g
Ammonium citrate	2	g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2	g
$MnSO_4 \cdot H_2O$	0.05	g

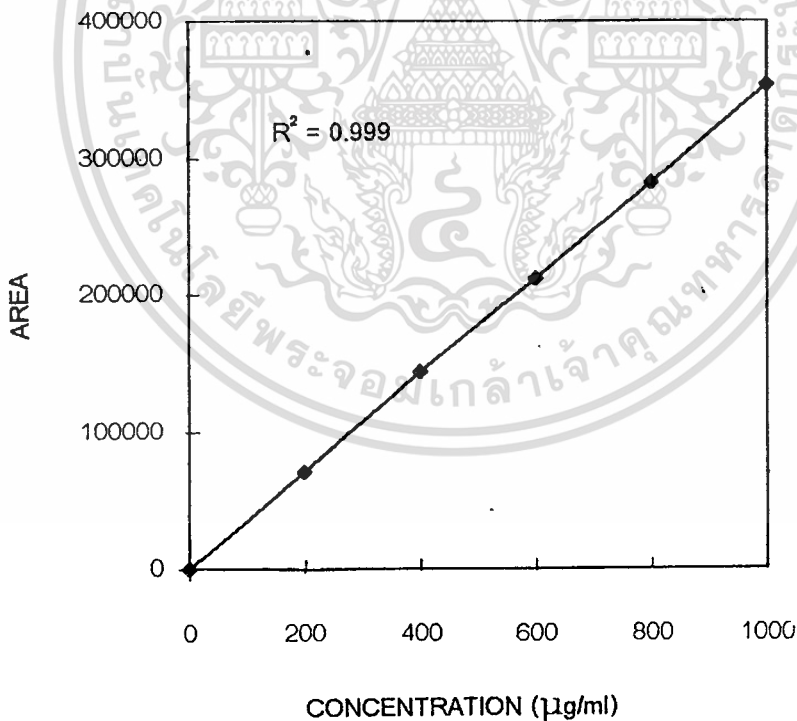
ทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็น เวลานาน 15 นาที

## ภาคผนวก ข

### การวิเคราะห์

#### 1 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณกรดแล็กติกโดยเครื่อง HPLC

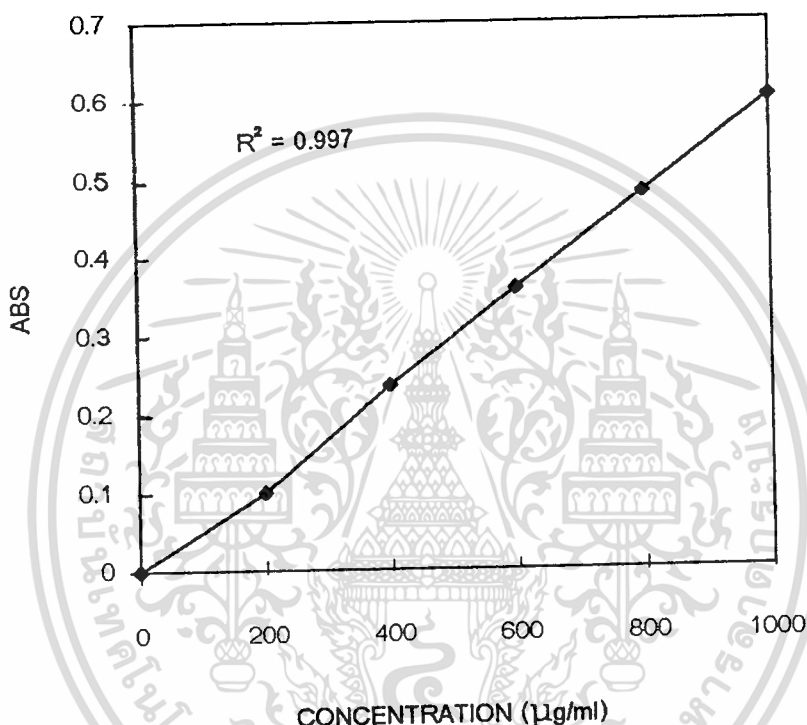
เตรียมสารละลายมาตรฐานไซเตียมแล็กเตตความเข้มข้นเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร โดยชั่งไซเตียมแล็กเตตมาตรฐานที่บริสุทธิ์ 98 เปอร์เซ็นต์ (W/W) ปริมาณ 1.0204 กรัม ละลายน้ำปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยขวดวัดปริมาตร(Volumetric flask) เจือจางสารละลายไซเตียมแล็กเตตให้มีความเข้มข้น 200-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์ปริมาณตามวิธีในข้อ 3.13.2 เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างพื้นที่ใต้พีคและความเข้มข้นของไซเตียมแล็กเตต ดังภาพที่ 1 การวิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Spherisorb C-8 ขนาด (I.D.) 4.6 มิลลิเมตร ยาว 25 เซนติเมตร สารละลายตัวพา คือ น้ำกรองไม่มีประจุรับพีเอชด้วยกรดซัลฟิวริก พีเอชเท่ากับ 3.5 ตรวจด้วยเครื่อง UV ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร จะวิเคราะห์ปริมาณแล็กเตตได้ในรูปของกรดแล็กติก



ภาพที่ 1 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณกรดแล็กติกโดยเครื่อง HPLC

## 2 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำตาลกลูโคส

เตรียมสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำตาลกลูโคสปริมาณ 1 กรัม ละลายน้ำและปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) เจือจางสารละลายกลูโคสให้มีความเข้มข้น 200-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วัดค่าดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสตามวิธีการวิเคราะห์ในข้อ 3.13.4 เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรและความเข้มข้นของกลูโคส ดังภาพที่ 2

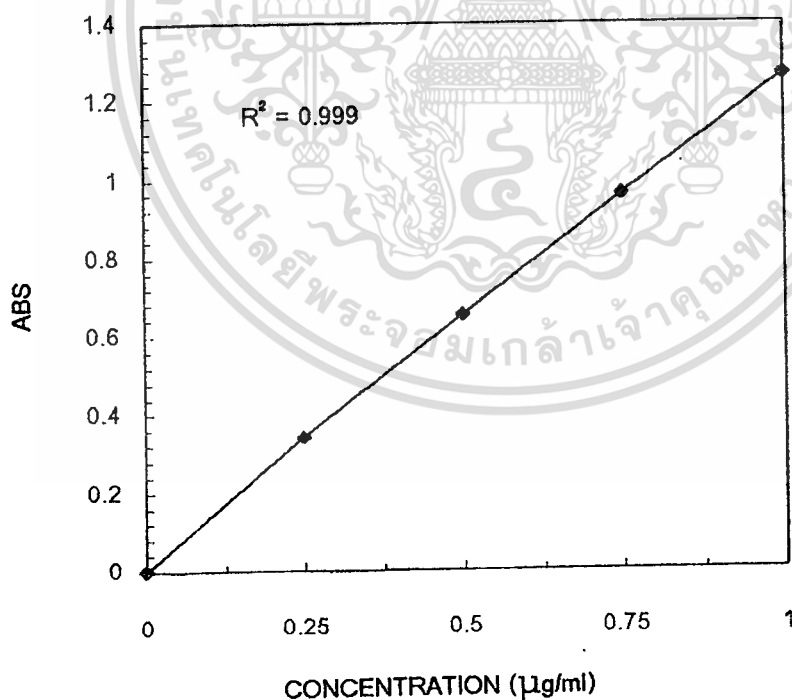


ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณกลูโคส

### 3 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณแมงกนีเซียมโดยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี (Sidney 1984:1217)

เตรียมสารละลายแมงกนีเซียมมาตรฐานความเข้มข้น 0.0-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์ปริมาณแมงกนีเซียมโดยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปีมิเตอร์ในสภาวะต่อไปนี เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 285.2 นาโนเมตรและความเข้มข้นของแมงกนีเซียม ดังภาพที่ 3

INSTRUMENT MODE	=	ABSORBANCE
CALIBRATION MODE	=	CONCENTRATION
WAVELENGTH (nm)	=	285.2
FLAME	=	AIR-ACETYLENE
MEASUREMENT TIME (sec)	=	1
REPLICATES	=	3
AIR FLOW	=	13.50 ml/min
ACETYLENE FLOW	=	2.00 ml/min



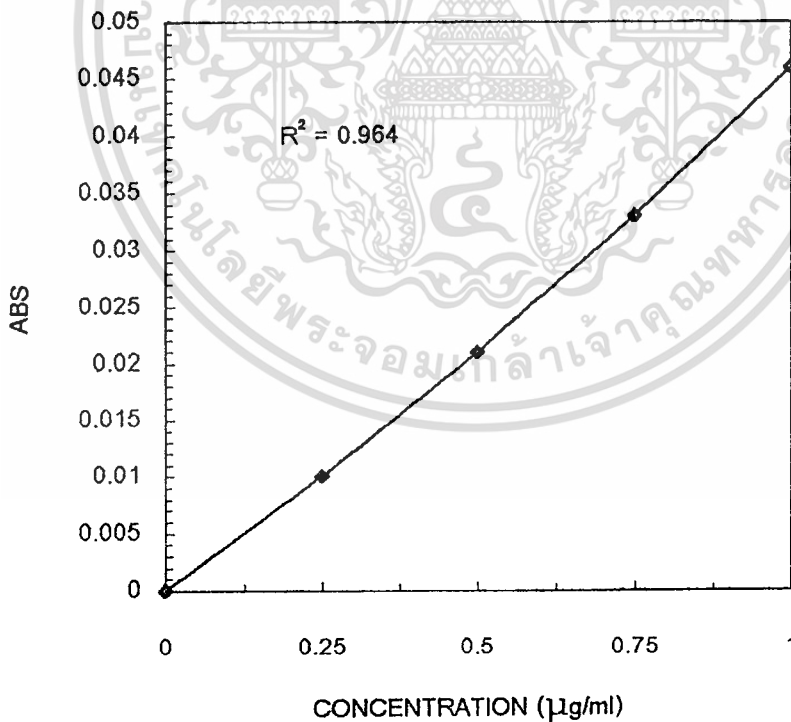
ภาพที่ 3 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณแมงกนีเซียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณตะกั่วโดยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโคปี (Sidney 1984 :1217)

เตรียมสารละลายตะกั่วมาตรฐานความเข้มข้น 0.0-1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วโดยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโคปีมิเตอร์ในสภาวะดังต่อไปนี้ เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 217.0 นาโนเมตรและความเข้มข้นของตะกั่ว ดังภาพที่ 4

INSTRUMENT MODE	=	ABSORBANCE
CALIBRATION MODE	=	CONCENTRATION
WAVELENGTH (nm)	=	217.0
FLAME	=	AIR-ACETYLENE
MEASUREMENT TIME (sec)	=	3
REPLICATES	=	3
AIR FLOW	=	13.50 ml/min
ACETYLENE FLOW	=	2.00 ml/min

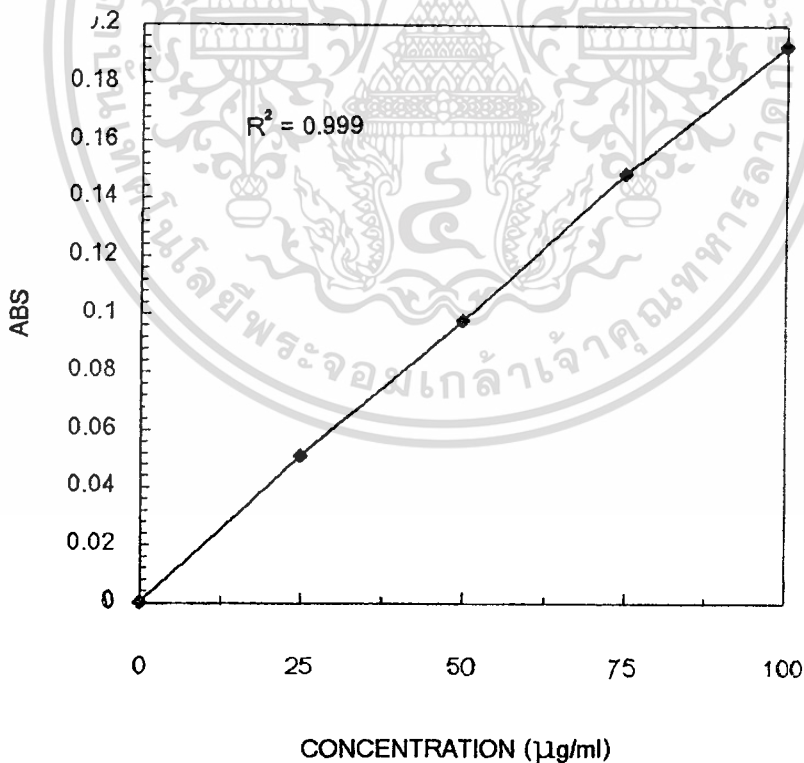


ภาพที่ 4 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณตะกั่ว

## 5 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณโพแทสเซียมโดยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี (Sidney 1984 :1219)

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมมาตรฐานความเข้มข้น 0.0-100.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมโดยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปีมิเตอร์ในสภาวะดังต่อไปนี้ เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 404.4 นาโนเมตรและความเข้มข้นของโพแทสเซียม ดังภาพที่ 5

INSTRUMENT MODE	=	ABSORBANCE
CALIBRATION MODE	=	CONCENTRATION
WAVELENGTH (nm)	=	404.4
FLAME	=	AIR-ACETYLENE
MEASUREMENT TIME (sec)	=	1
REPLICATES	=	3
AIR FLOW	=	13.50 ml/min
ACETYLENE FLOW	=	2.00 ml/min

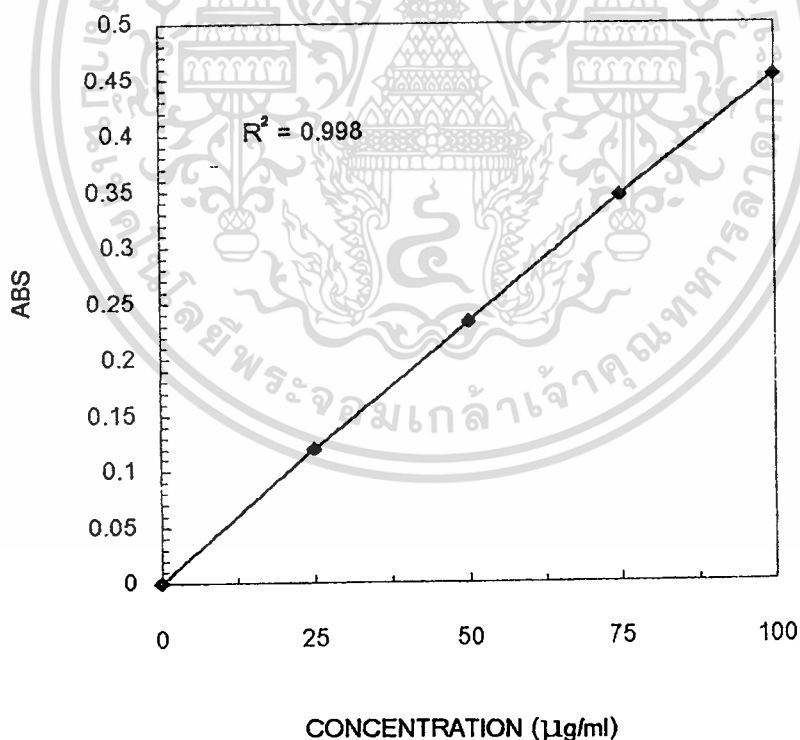


ภาพที่ 5 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณโพแทสเซียม

## 6 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณโซเดียมโดยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี (Sidney 1984 : 1220 )

เตรียมสารละลายโซเดียมมาตรฐานความเข้มข้น 0-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมโดยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปีมิเตอร์ในสภาวะดังต่อไปนี้ เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 330.2 นาโนเมตรและความเข้มข้นของโซเดียม ดังภาพที่ 6

INSTRUMENT MODE	=	ABSORBANCE
CALIBRATION MODE	=	CONCENTRATION
WAVELENGTH (nm)	=	330.2
FLAME	=	AIR-ACETYLENE
MEASUREMENT TIME (sec)	=	1
REPLICATES	=	3
AIR FLOW	=	13.50 ml/min
ACETYLENE FLOW	=	2.00 ml/min

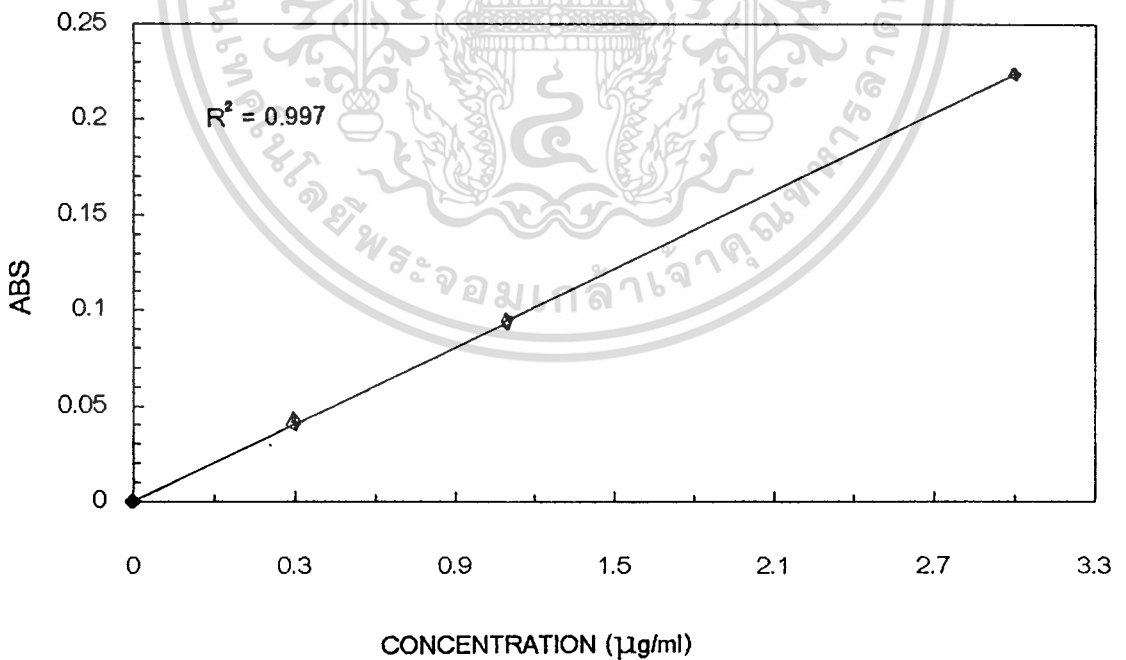


ภาพที่ 6 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณโซเดียม

## 7 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณเหล็กโดยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี (Sidney 1984 :1219)

เตรียมสารละลายเหล็กมาตรฐานความเข้มข้น 0.0-1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรวิเคราะห์ปริมาณเหล็กโดยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปีมิเตอร์ในสภาวะดังต่อไปนี้ เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 248.3 นาโนเมตรและความเข้มข้นของเหล็ก ดังภาพที่ 7

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



ภาพที่ 7 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณเหล็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

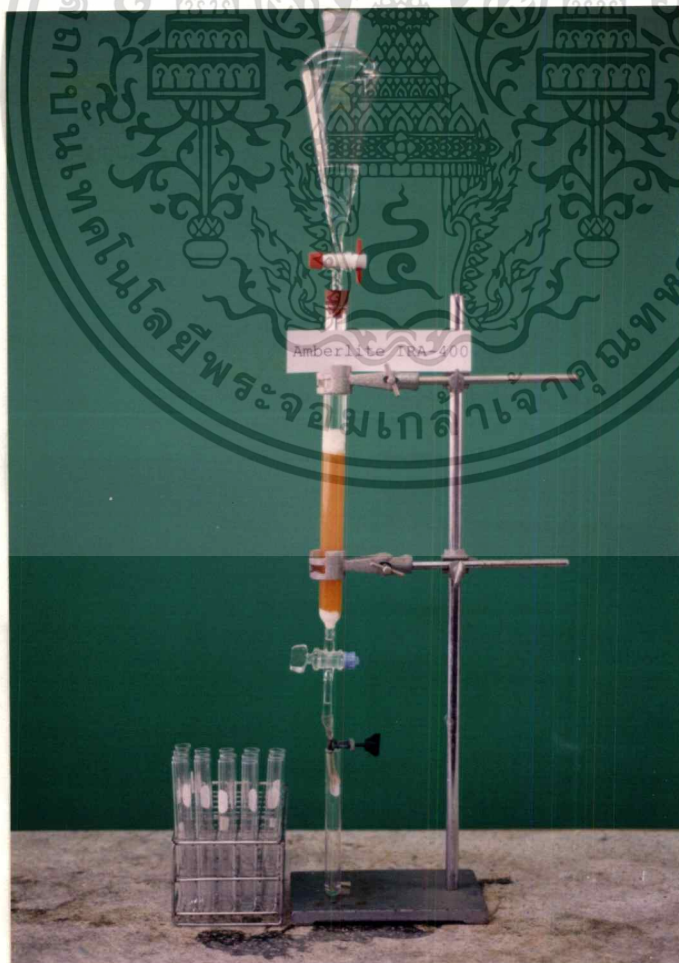
## 8 สารละลาย Dinitrosalicylic (DNS) reagent ประกอบด้วย

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 2 โมลาร์ 20 มิลลิลิตร
- สารไดไนโตรซาลิไซลิกแอซิด( Dinitrosalicylic acid) 2 กรัม
- สารโพแทสเซียมโซเดียมทาร์ทาทเรท (Potassium sodium tartarate) 30 กรัม

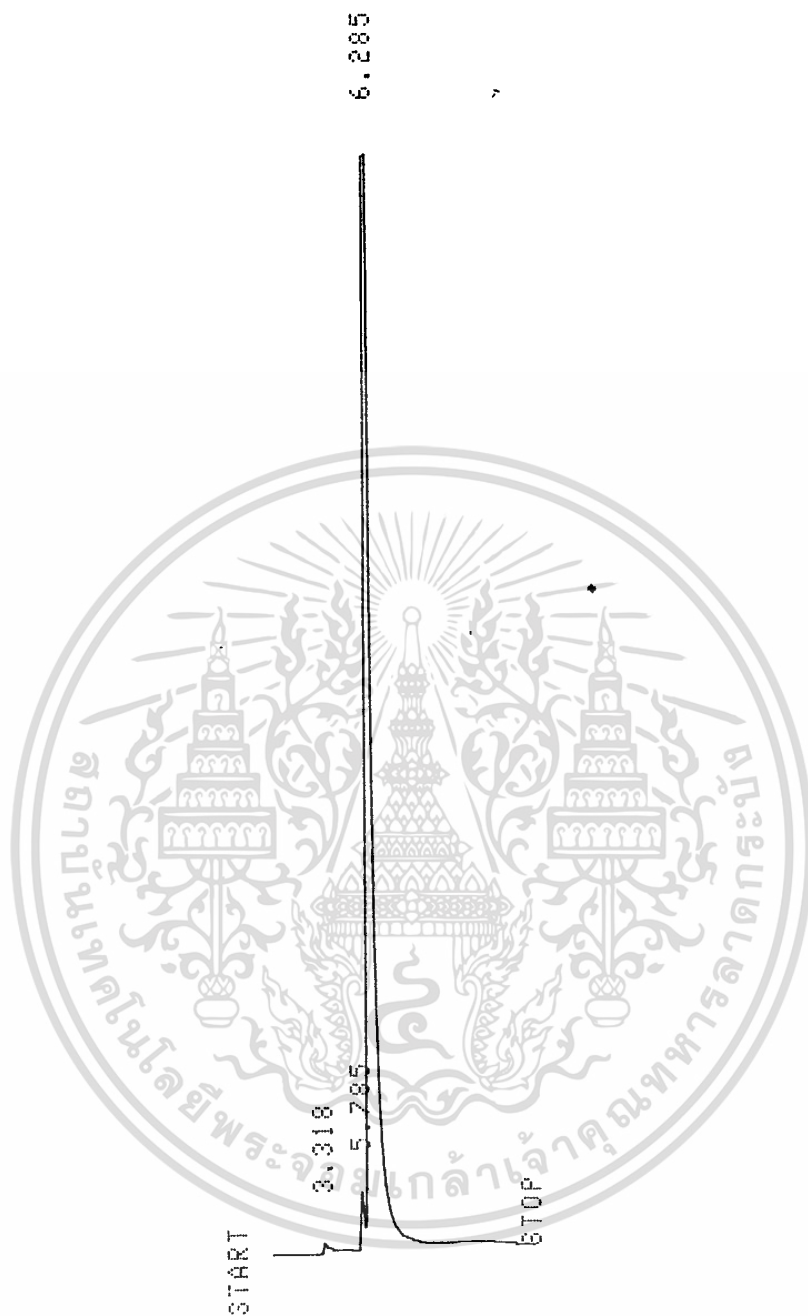
ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

## 9 วิธีการเตรียมเรซินแลกเปลี่ยนประจุชนิดแอนไอออน(Amberlite IRA-400)

นำเรซินแลกเปลี่ยนประจุชนิดแอนไอออนเรซิน(Amberlite IRA-400) จำนวน 30 กรัม แช่ในน้ำกลั่นนาน 4 ชั่วโมง บรรจุเรซินลงในคอลัมน์แก้ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร ยาว 30 เซนติเมตร ใส่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ จำนวน 150 มิลลิลิตร ให้ไหลผ่านคอลัมน์ ทดสอบสารละลายที่ผ่านคอลัมน์ด้วยซิลเวอร์ไนเตรตจนกระทั่งสารละลายไม่มีตะกอนขาวขุ่น และล้างเรซินด้วยน้ำกรองไม่มีประจุจนกระทั่งสารละลายที่ผ่านออกมา มีพีเอชเท่ากับ 7



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
**ภาพที่ 8** แสดงการไหลผ่านคอลัมน์  
 ไม่ควรกรณใดๆ หงสน อักทงหามมีเหตุดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 ลักษณะโครมาโทแกรมของกรดแลคติกวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 10 วิธีการคำนวณผลการวิเคราะห์

ขั้นตอนที่ 1 ปริมาณกรดแลกติกที่ได้จากการตกตะกอนและสกัดกรดแลกติกด้วยตัวทำละลาย

น้ำหนักแห้งเริ่มต้นมีกรดแลกติกความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ที่ใช้ในการทดลองมีปริมาณกรดแลกติกเริ่มต้นเท่ากับ 7.5 กรัม

คิดปริมาณกรดแลกติกเทียบกับกราฟมาตรฐาน

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว} = \frac{\text{ปริมาณกรดแลกติกที่ได้จากการวิเคราะห์}}{7.5} \times 100$$

ขั้นตอนที่ 2 การฟอกสีสารละลายกรดแลกติกด้วยผงถ่านกัมมันต์

$$\text{เปอร์เซ็นต์การฟอกสี} = \frac{(\text{OD 352 ก่อนฟอกสี} - \text{OD 352 หลังฟอกสี})}{\text{OD 352 ก่อนฟอกสี}} \times 100$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว} = \frac{\text{ปริมาณกรดแลกติกหลังฟอก}}{\text{ปริมาณกรดแลกติกก่อนฟอก}} \times 100$$

ขั้นตอนที่ 3 การแยกสารปนเปื้อน

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว} = \frac{\text{ปริมาณกรดแลกติกหลังแยกสารปนเปื้อน}}{\text{ปริมาณกรดแลกติกก่อนแยกสารปนเปื้อน}} \times 100$$

## 11 การเตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์(NaOH) และสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก(HCl) (ชุดิมา 2534 : 301-302)

11.1 เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์(NaOH) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ซึ่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 4 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นที่ต้มจนเดือดและทิ้งให้เย็น ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยขวดวัดปริมาตร(Volumetric flask)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11.2 เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก(HCl) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

นำสารละลายกรดไฮโดรคลอริก(HCl)ปริมาตร 8.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

11.3 หาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยไทเตรต กับสารละลายปฐุมภูมิโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (KHP)

นำโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตที่บริสุทธิ์ 99.9 เปอร์เซ็นต์ อบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง เก็บไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ซึ่งโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต 0.6 กรัม ละลายกับน้ำกลั่นที่ต้มจนเดือดและทิ้งให้เย็นปริมาตร 75 มิลลิลิตร ไตเตรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ได้จากการเตรียมในข้อ 11.1 โดยใช้ฟีนอพทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

11.4 หาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

นำสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 25 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ไตเตรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ได้จากการเตรียมในข้อ 11.1 โดยใช้ฟีนอพทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

## ประวัติผู้เขียน

นางสาวณานิ ลีตะนันท์ เกิดวันที่ 6 กรกฎาคม 2516 ที่จังหวัดกรุงเทพฯ สำเร็จการศึกษาระดับวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันราชภัฏสวนสุนันทา เมื่อปีการศึกษา 2537 และเข้าศึกษาต่อระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ตั้งแต่ปีการศึกษา 2538



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้