บทที่ 2

วิธีการทดลอง

2.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

2.1.1 อุปกรณ์

เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (psychrotherm incubator shaker) รุ่น G-27 ของบริษัท New Brunswick Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น DU650 ของบริษัท New Brunswick Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องปั่นแยก (centrifuge)รุ่น J-21C ของบริษัท New Brunswick Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (autoclave) รุ่น HA-30 ของบริษัท Hirayama Manufacturing Corporation ประเทศญี่ปุ่น

ตู้อบไมโครเวฟ รุ่น KOR-816T ของบริษัท Daewoo ประเทศเกาหลี

เครื่องผสม (vortex mixer) รุ่น Vortex-Genie2 ของบริษัท Scientific Industries ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น pH-M83 ของบริษัท Radiometer ประเทศเดนมาร์ค

เครื่องเพอริสตอลติกปั๊ม รุ่น Pump P-1 ของบริษัท Pharmacia LKB ประเทศสวีเดน

ตู้อบ (oven) รุ่น B-20 ของบริษัท Memmert ประเทศเยอรมัน

เครื่องวัดความหนืด (viscometer) รุ่น RVT ของบริษัท Brookfield Synchro-Lectric ประเทศสหรัฐอเมริกา

กระดาษกรอง (glass microfibre filters) รุ่น GF/C ของบริษัท Whatman ประเทศอังกฤษ

ถังหมัก (fermenter) ขนาด 5 ลิตร รุ่น Bio FLO II C ใบพัดแบบ disk flat blade turbine ของบริษัท New Brunswick Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.1.2 สารเคมี

สารเคมี	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศที่ผลิต
กรดมะนาวชนิดปราศจากน้ำ	Sigma Chemicals	ประเทศสหรัฐอเมริกา
กรดไฮโดรคลอริก	Farmitalia Carlo Erba	ประเทศอิตาลี
กรดซัลฟุริก	Mallinckrodt	ประเทศสหรัฐอเมริกา
โซเดียมไฮดรอกไซด์	Merck Damstation	ประเทศเยอรมัน
โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	Fluka	ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	Merck Damstation	ประเทศเยอรมัน
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	Merck Damstation	ประเทศเยอรมัน
แอมโมเนียมคลอไรด์	May & Baker	ประเทศอังกฤษ
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต	BDH Chemicals	ประเทศอังกฤษ
แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต	Merck Damstation	ประเทศเยอรมัน
น้ำตาลกลูโคสชนิดปราศจากน้ำ	Farmitalia Carlo Erba	ประเทศอิตาลี
สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	Difco	ประเทศสหรัฐอเมริกา
สารสกัดจากมอลต์ (malt extract)	Difco	ประเทศสหรัฐอเมริกา
เปปโตน (peptone)	Difco	ประเทศสหรัฐอเมริกา
วุ้นผง (agar)	Merck Damstation	ประเทศเยอรมัน
แป้งมันสำปะหลัง	ตราปลามังกร	ประเทศไทย

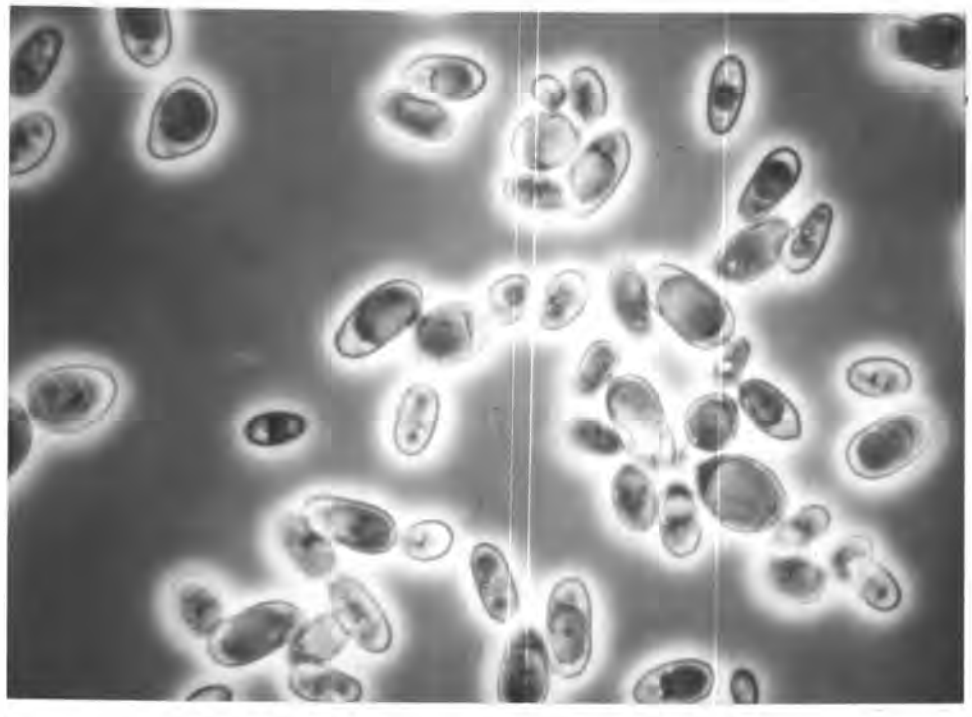
เอนไซม์ BAN 240 L	Novo Nordisk	ประเทศเดนมาร์ก
เอนไซม์ AMG	Novo Nordisk	ประเทศเดนมาร์ก
พีจีโอเอนไซม์ (PGO-enzyme)	Sigma Chemicals	ประเทศสหรัฐอเมริกา
ออโธ-ไดอะนิซิดีน (o-dianisidine)	Sigma Chemicals	ประเทศสหรัฐอเมริกา
กรด3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิค (3,5-dinitrosalicylic acid)	Sigma Chemicals	ประเทศสหรัฐอเมริกา
ไทโอยูเรีย	BDH Chemicals	ประเทศอังกฤษ
โซเดียมเตตระโบเรต	BDH Chemicals	ประเทศอังกฤษ
โปแตสเซียมเปอร์มังกานต	BDH Chemicals	ประเทศอังกฤษ
โปแตสเซียมโบรไมด์	Farmitalia Carlo Erba	ประเทศอิตาลี
ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 30%	Farmitalia Carlo Erba	ประเทศอิตาลี
แคลเซียมคาร์บอเนต	ปูนคุณภาพจำกัด	ประเทศไทย
แคลเซียมออกไซด์	ปูนคุณภาพจำกัด	ประเทศไทย
น้ำมันปาล์ม	ตราหยก	ประเทศไทย
น้ำมันถั่วเหลือง	ตราหยก	ประเทศไทย
น้ำมันรำข้าว	ตราคิง	ประเทศไทย
แอนติโฟม เอ (antifoam A)	Fluka	ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

2.2 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นยีสต์สายพันธุ์ *Candida oleophila* C-73 ที่ผ่านการคัดเลือกแล้วจากการวิจัยของ เรวดี เลิศไตรรักษ์ (2535) ดังรูปที่ 2-1

2.3 การเก็บรักษาเชื้อยีสต์

ถ่ายเชื้อโดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อ (loop) แล้วลาก (streak) ลงบนอาหารแข็งลาดเอียง (ภาคผนวก ก1.2) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน เก็บเชื้อในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ –70 องศาเซลเซียส



รูปที่ 2-1 ยีสต์สายพันธุ์ *Candida oleophila* C-73 อัตราการขยาย 200 เท่า ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ photoeyepiece lens 5 เท่า และ objective lens 40 เท่า

2.4 การเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกรดมะนาว

2.4.1 การเตรียมหัวเชื้อในระดับขวดเขย่า

เลี้ยงเชื้อยีสต์บนอาหารแข็งลาดเอียง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน ถ่ายเชื้อลงในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ (ภาคผนวก ก1.1) โดยเติมน้ำที่กำจัดไอออน และผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 5.0 มิลลิลิตร ต่อหลอดอาหารแข็งลาดเอียง ปิเปตเซลล์แขวนลอยปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร ลงในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบวงกลม (rotary shaker) ควบคุมอุณหภูมิที่ 28 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

2.4.2 การเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกรดมะนาวในระดับขวดเขย่าขนาด 250 มิลลิลิตร

ปิเปตหัวเชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 2.4.1 ลงในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาว (ภาคผนวก ก2.1) ปริมาณร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบวงกลม ควบคุมอุณหภูมิที่ 28 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาที

2.4.3 การเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกรดมะนาวในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร

ถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 2.4.1 ลงในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาว (ภาคผนวก ก2.2) ปริมาณร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ควบคุมภาวะในการหมักที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที

2.4.4 การเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกรดมะนาวในระดับถังหมักขนาด 12.5 ลิตร

ถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 2.4.1 ลงในอาหารสำหรับผลิตกรดมะนาว (ภาคผนวก ก2.4) ปริมาณร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ควบคุมภาวะในการหมักที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 90 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศมีค่า 1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที

2.5 วิธีการวิเคราะห์

2.5.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

นำเอาอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการหมักในระยะเวลาต่างๆไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก โดยใช้เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

2.5.2 ค่าความหนืด

นำเอาอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการหมักในระยะเวลาต่างๆไปวัดค่าความหนืดของน้ำหมัก โดยใช้เครื่องวัดค่าความหนืด (viscometer) ด้วยเข็มวัดเบอร์ 28 ที่ความเร็ว 50 รอบต่อนาที

2.5.3 การละลายเกลือแคลเซียมซิเตรทในน้ำหมัก (Nakanishi et al.,1972)

ก่อนการวิเคราะห์หาปริมาณกรดมะนาวและคิดตามการเจริญของเชื้อในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาว จะต้องทำการละลายเกลือแคลเซียมซิเตรทที่เกิดขึ้น โดยการเติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 2 โมลาร์ ลงในน้ำหมัก 10 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 2.0 จากนั้นจึงปรับปริมาตรให้เท่ากับ 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำที่กำจัดไอออนแล้ว

2.5.4 วัดการเจริญของเชื้อในอาหารสำหรับการผลิตกรดมะนาวโดยวิธีหาน้ำหนักเซลล์แห้ง

ปิเปตน้ำหมักที่ได้จากข้อ 2.5.3 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman GF/C ที่ทราบน้ำหนักแห้งแน่นอน ด้วยเครื่องสูบสุญญากาศ ล้างเซลล์ด้วยน้ำที่กำจัดไอออนแล้ว 10 มิลลิลิตร นำกระดาษกรองที่มีเซลล์ไปอบด้วยเครื่องไมโครเวฟที่ความร้อนระดับดีฟรอส เป็นเวลา 30 นาทีทิ้งไว้ให้เย็นในเดสิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนักเวยเครื่องชั่งละเอียด หักน้ำหนักกระดาษกรองออก จะได้น้ำหนักเซลล์แห้งหน่วยเป็นกรัมต่อลิตร ส่วนสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการกรองเอาเซลล์ออกแล้วนำไปวิเคราะห์หา ปริมาณกรดมะนาว และน้ำตาลที่เหลือต่อไป

2.5.5 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคสโดยใช้พีจีโอเอนไซม์ (Huggett and Nixon,1957)

ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการเจือจางให้เหมาะสม ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองเติมสารละลายพีจีโอเอนไซม์ (ภาคผนวก จ) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 425 นาโนเมตร ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ คำนวณหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสได้จากกราฟมาตราฐานของน้ำตาลกลูโคส ในช่วงความเข้มข้น 0-0.2 กรัมต่อลิตร (ภาคผนวก ช) หน่วยเป็นกรัมต่อลิตร

2.5.6 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์โดยใช้กรดไดไนโตรซาลิไซลิค (Bernfeld, 1957)

ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการเจือจางให้เหมาะสม ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิค ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร (ภาคผนวก จ) ผสมให้เข้ากัน ปิดฝาหลอดทดลองด้วยลูกแก้ว นำไปต้มในอ่างน้ำเดือดนาน 5 นาที จากนั้น ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในอ่างน้ำแข็งนาน 5 นาที เติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ จากกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส ในช่วงความเข้มข้น 0-2.0 กรัมต่อลิตร (ภาคผนวก ช)

2.5.7 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดมะนาว โดยวิธีเพนตะโบรโมอะซิโตน (Pentabromoacetone Method) (Stern,1957)

นำสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการละลายเกลือแคลเซียมและกรองผ่านกระดาษกรองแล้วมาวิเคราะห์หากรดมะนาวตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

2.5.7.1 ขั้นตอนการเปลี่ยนกรดมะนาวเป็นเพนตะโบรโมอะซิโตน

ปิเปตสารละลายที่ผ่านการเจือจางให้เหมาะสมปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองชนิดที่มีฝาเกลียว เติมกรดซัลฟุริคความเข้มข้น 2.0 นอร์มอล ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมสารละลายโปตัสเซียมโบรไมด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ลงไป 5 หยด เติมสารละลาย โปตัสเซียมเปอร์มังกาเนตความเข้มข้น 5 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ลงไป 10 หยด ทันที เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

2.5.7.2 ขั้นตอนการสกัดเพนตะโบรโมอะซิโตนด้วยเฮปเทน

นำหลอดทดลองที่เปลี่ยนกรดมะนาวเป็นเพนตะโบรโมอะซิโตนแล้ว แช่ลงในอ่างน้ำแข็ง หยดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 6 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ลงในหลอดทดลองจนสารละลายใส ปิเปตเฮปเทนปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ปิดฝาให้สนิท สกัดโดยใช้เครื่องผสมนาน 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น

2.5.7.3 ขั้นตอนการสกัดด้วยไทโอยูเรีย

ปิเปตส่วนบน (ชั้นเฮปเทน) ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองชนิดฝาเกลียวที่มีสารละลายไทโอยูเรีย (ภาคผนวก จ) ปริมาตร 4.0 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดทดลองให้สนิทสกัดโดยใช้เครื่องผสมนาน 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น

นำสารละลายชั้นล่าง (ชั้นไทโอยูเรีย) ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร ใช้ไทโอยูเรียเป็นตัวเปรียบเทียบ คำนวณปริมาณกรดมะนาวจากกราฟมาตราฐานของกรดมะนาวในช่วงความเข้มข้น 0-0.4 กรัมต่อลิตร (ภาคผนวก ช)

2.6 การออกแบบสร้างถังหมักเพื่อใช้ในการผลิตกรดมะนาว

การออกแบบสร้างถังหมักเพื่อผลิตกรดมะนาวจากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (ภาคผนวก ฉ) ด้วย *Candida oleophila* C-73 มีแผนผังและรูปเครื่องมือที่ทำการออกแบบสร้างดังรูปที่ 2-2 และ 2-3 ตามลำดับ

ถังหมักที่ออกแบบสร้างมีส่วนประกอบดังนี้ คือ

2.6.1 เครื่องปฏิกรณ์ถังกวน

มีส่วนประกอบ 3 ส่วน คือ

2.6.1.1 ถังกวน

สร้างขึ้นจากเหล็กกล้าไร้สนิม 304 (Stainless Steel 304) ถังกวนเป็นรูปทรงกระบอกมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 22 เซนติเมตร สูง 32 เซนติเมตร ขนาดความจุประมาณ 12.5 ลิตร ด้านล่างของถังกวนเป็นรูปโค้งนูนสูง 11 เซนติเมตร และเจาะเป็นรูเล็กๆขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร เพื่อให้สารที่สังเคราะห์ได้ไหลลงไปตามท่อโดยมีวาล์วที่ทำจากเหล็กกล้าไร้สนิมเป็นตัวควบคุมการไหล และทำช่องเสียบให้อากาศผ่านทางด้านล่างของถังหมัก ส่วนด้านข้างถังกวนมีแจคเก็ตหุ้ม 2 ชั้น ชั้นแรกทำจากเหล็กกล้าไร้สนิมเป็นรูปทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 34 เซนติเมตร สูง 28 เซนติเมตร ภายในบรรจุน้ำมันประมาณ 15.5 ลิตร และขดลวดให้ความร้อน ชั้นที่สองทำจากเหล็กเป็นรูปทรงกระบอกเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 40 เซนติเมตร สูง 36 เซนติเมตร มีท่อน้ำเข้า ท่อน้ำออก และท่อน้ำล้น ใช้สำหรับถ่ายเทน้ำเมื่อต้องการลดอุณหภูมิให้กับน้ำมัน ทำให้อุณหภูมิภายในถังลดลงเร็วขึ้น มีลักษณะดังรูปที่ 2-4

2.6.1.2 ใบพัดกวน

ทำจากเหล็กกล้าไร้สนิม 304 มีลักษณะเป็นรูปเกือกม้า กว้าง 4.5 เซนติเมตร ยาว 24 เซนติเมตร หนา 0.5 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 18.5 เซนติเมตร ส่วนล่างของเกือกม้ายึดติดกับแกนกลางรูปทรงกระบอกเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร ยาว 52 เซนติเมตร ตรงปลายของแกนกลางมีเดือยยึดตัวใบพัดกวนกับถังกวนและมีเหล็กกล้าไร้สนิม 304 ทำเป็นรูปเข็มปลายแหลม 4 ตัว ติดอยู่ที่แกนกลางเพื่อใช้ตีฟองที่เกิดขึ้นระหว่างการหมัก ส่วนตรงกลางแกนกลางมีใบพัดกว้าง 4.5 เซนติเมตร ยาว 5 เซนติเมตร หนา 0.5 เซนติเมตร 4 ใบยื่นออกมา ดังรูปที่ 2-5

2.6.1.3 ฝาถังกวน

ทำจากเหล็กกล้าไร้สนิม 304 เป็นรูปโค้งนูนสูงประมาณ 10 เซนติเมตร ด้านบนฝาถังมีช่องเติมสาร กระจก ที่เสียบเทอร์มอคัปเปิล (thermocouple) ช่องเติมสารกำจัดฟอง ช่องสำหรับเสียบเครื่องควบแน่นอากาศที่ออกจากถังหมัก (air condenser) ช่องสำหรับต่อไอน้ำเพื่อฆ่าเชื้อภายในถังหมัก ช่องสำหรับให้แกนใบพัดสอดขึ้นไปยึดกับมอเตอร์ โดยแต่ละจุดรวมถึงขอบฝาถังกวนจะมีประเก็น (o-ring) ที่ทำจากซิลิโคนทนความร้อนอัดเพื่อป้องกันการรั่วซึม ฝาถังกวนมีลักษณะดังรูปที่ 2-6

2.6.2 ชุดควบคุมอุณหภูมิ

ชุดควบคุมอุณหภูมิ ทำหน้าที่ควบคุมอุณหภูมิภายในถังกวนให้คงที่ ประกอบด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ เทอร์มอคัปเปิล (thermocouple) และขดลวดให้ความร้อน (heater) ดังรูปที่ 2-7

2.6.2.1 เครื่องควบคุมอุณหภูมิ

รุ่น ECS-120R/E (สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ในช่วง 0 ถึง 400 องศาเซลเซียส) ของบริษัท Shinko Technology ประเทศญี่ปุ่น

2.6.2.2 เทอร์มอคัปเปิล

เป็นชนิดโครเมล อะลูเมล (K-type) ทำงานโดยอาศัยหลักเมื่อเกิดความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิที่ขั้วและที่ปลายจุดต่อบนโลหะ 2 ชนิดของเทอร์มอคัปเปิล ทำให้เกิดแรงเคลื่อนไฟฟ้าระหว่างขั้วทั้ง 2 และจะส่งสัญญาณเข้าเครื่องควบคุมอุณหภูมิ

2.6.2.3 ขดลวดให้ความร้อน

ขดลวดให้ความร้อนที่ใช้ กำลังไฟฟ้า 1000 วัตต์ ความต่างศักย์ 220 โวลต์ ดัดเป็นรูปตัวยู จุ่มในน้ำมัน

2.6.3 เครื่องอัดอากาศ (air compressor)

ดังรูปที่ 2-8 มอเตอร์ที่ใช้มีกำลังไฟฟ้า 7.46 กิโลวัตต์ ต่อท่อลมผ่านถังดักน้ำ ผ่านชุดกรองอากาศชั้นแรกที่ใช้ผ้าขาวบางและสำลีเป็นตัวกรอง ดังรูปที่ 2-9 แล้วต่อท่อลมเข้ากับเครื่องวัดอัตราการไหลของอากาศ (rotameter) ดังรูปที่ 2-10 จากนั้นจึงผ่านฟิลเตอร์กรองอากาศ (polytetrafluorethylene cartridge filter) ที่มีรูพรุนขนาด 0.2 ไมโครเมตร ให้อากาศปราศจากเชื้อปนเปื้อนผ่านเข้าทางด้านล่างถังหมัก ดังแผนผังในรูปที่ 2-2

2.6.4 เครื่องควบคุมระบบน้ำหล่อเย็น (circulation type handy cooler)

ดังรูปที่ 2-11

2.6.5หม้อไอน้ำ (boiler)

ดังรูปที่ 2-12 รุ่น M100-30 ของบริษัท Cleaver Brooks สามารถผลิตไอน้ำได้ 1075 ปอนด์ต่อชั่วโมง ความดัน 150 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ผ่านวาล์วปรับความดัน ผ่านชุดกรองไอน้ำ

จากนั้นจึงต่อไอน้ำบริสุทธิ์เข้าถังหมักโดยผ่านวาล์วควบคุมการไหลของไอน้ำอีกครั้ง ดังแสดงในแผนผังในรูปที่ 2-2

2.6.6 ชุดควบคุมความเร็วรอบ

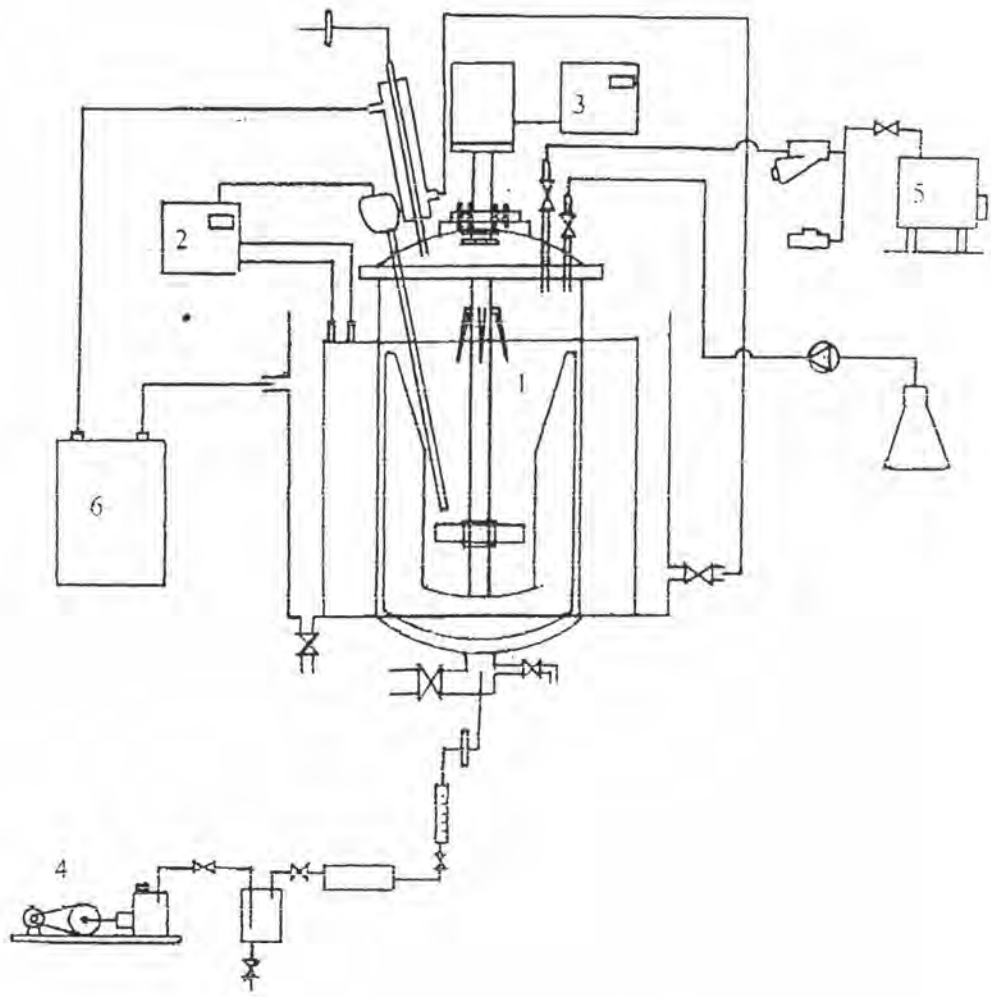
ประกอบด้วยมอเตอร์และเครื่องควบคุมความเร็วรอบ ดังรูปที่ 2-13

2.6.6.1 มอเตอร์

เป็นแบบปรับความเร็วรอบชนิด SH 195V กำลังไฟฟ้า 0.37 กิโลวัตต์ ความต่างศักย์ 190 โวลต์ กระแส 2.7 แอมแปร์ ความเร็วรอบสูงสุด 1750 รอบต่อนาที

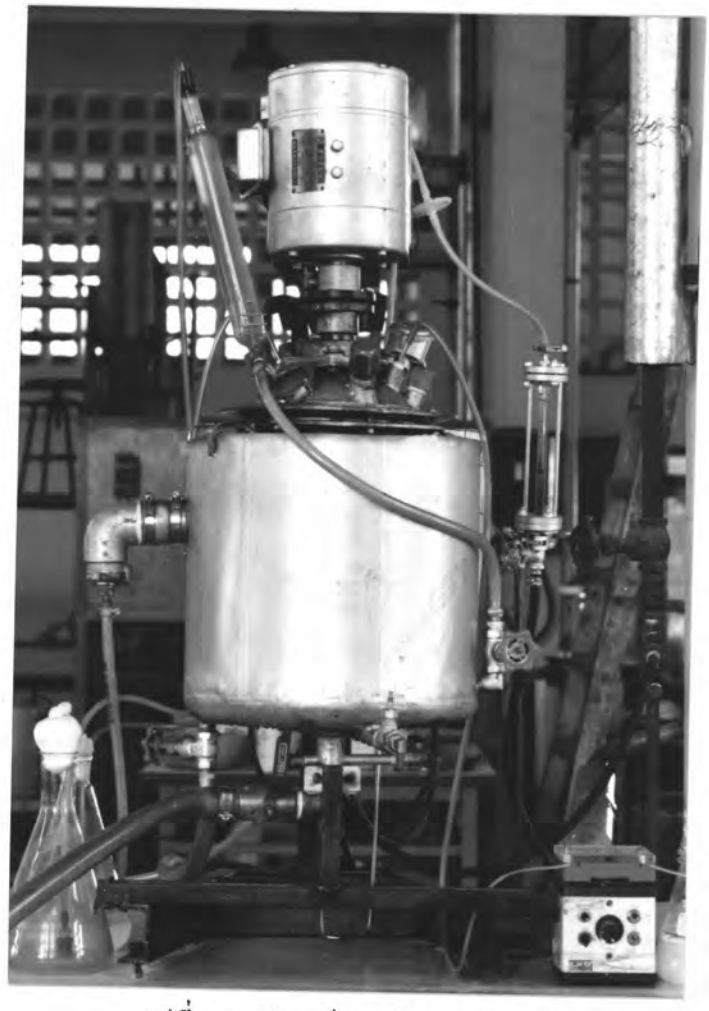
2.6.6.2 เครื่องควบคุมความเร็วรอบ (motor controller)

เป็นแบบกระแสตรง ชนิด Victor – 670S



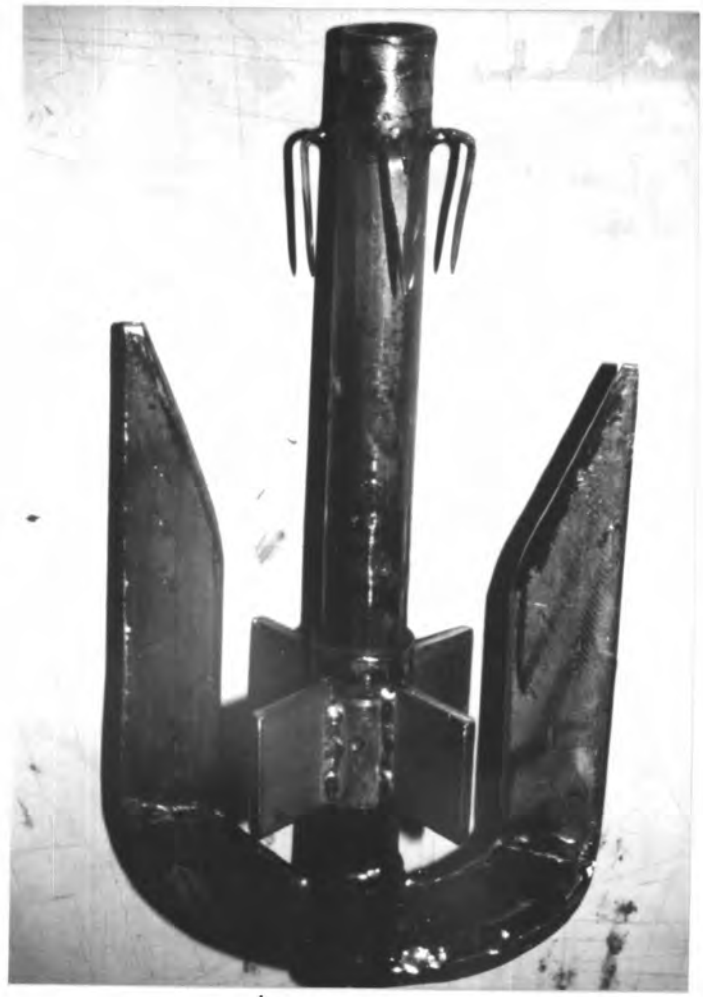
1 ถังกวน
2 ชุดควบคุมอุณหภูมิ
3 ชุดควบคุมความเร็วรอบ
4 เครื่องอัดอากาศ
5 หม้อไอน้ำ
6 เครื่องควบคุมระบบน้ำหล่อเย็น

รูปที่ 2-2 ไดอะแกรมอุปกรณ์การผลิตกรดมะนาว

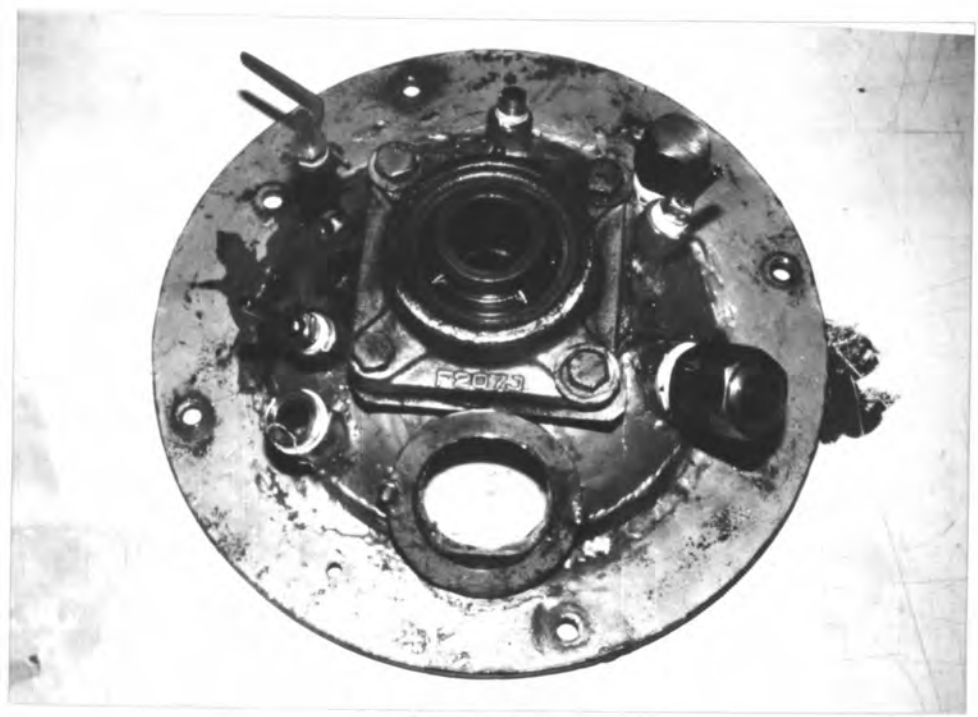


รูปที่ 2-3 ปฏิกรณ์การผลิตกรดมะนาว

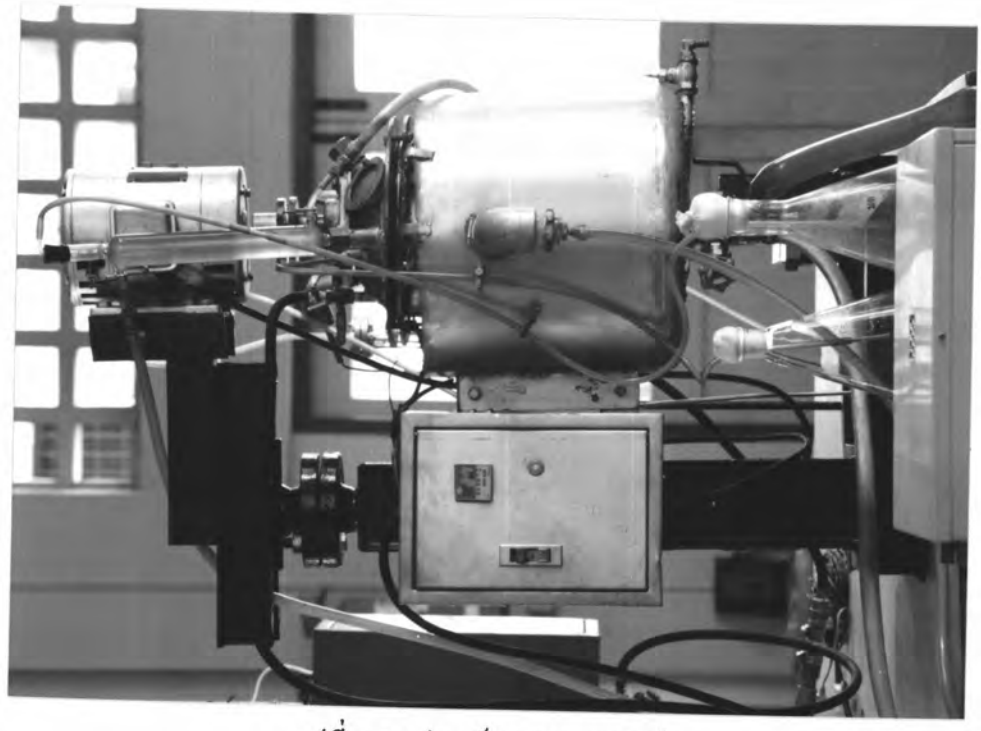
รูปที่ 2-4 ถังกวน (รูปถ่ายจากด้านบน)



รูปที่ 2-5 ใบพัดกวน

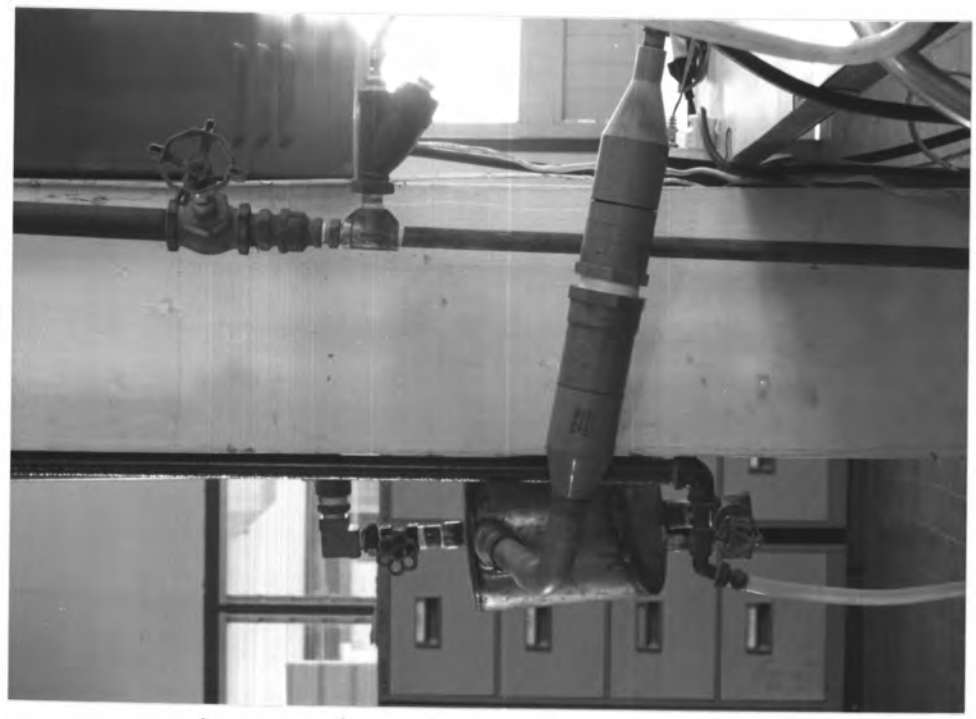


รูปที่ 2-6 ฝาถังกวน

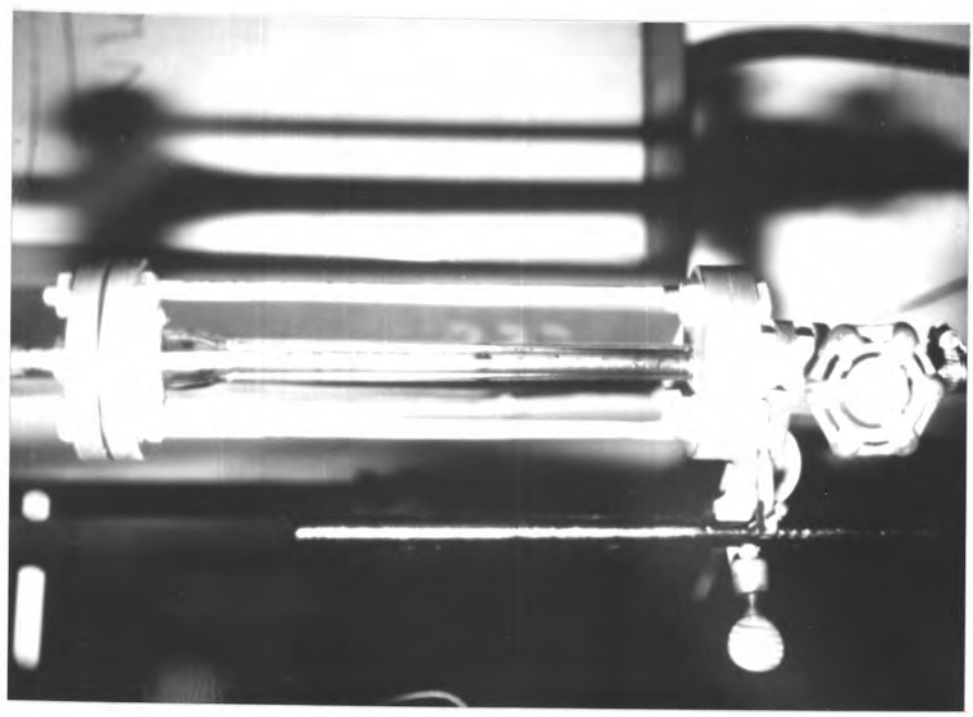


รูปที่ 2-7 อุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิ

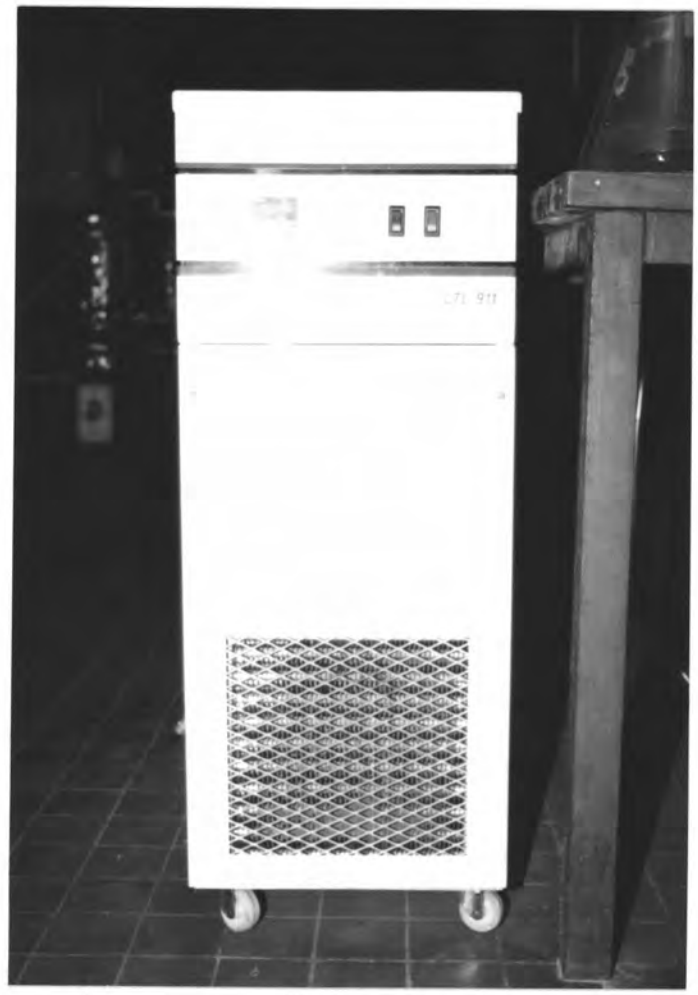
รูปที่ 2-8 เครื่องอัดอากาศ (air compressor)



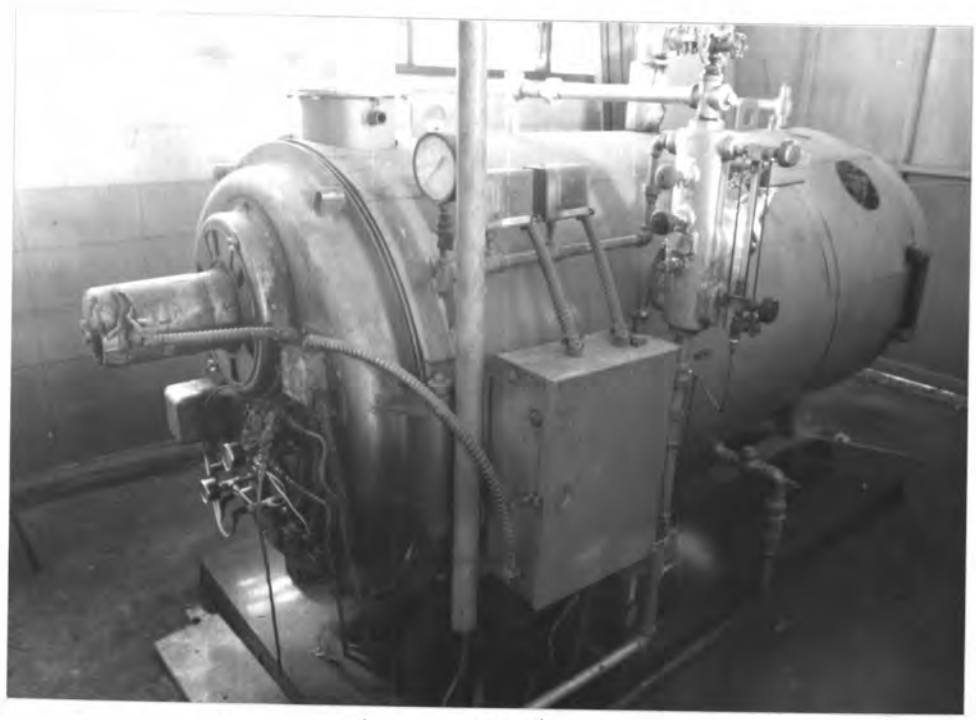
รูปที่ 2-9 ถังดักน้ำจากเครื่องอัดอากาศและชุดกรองอากาศ



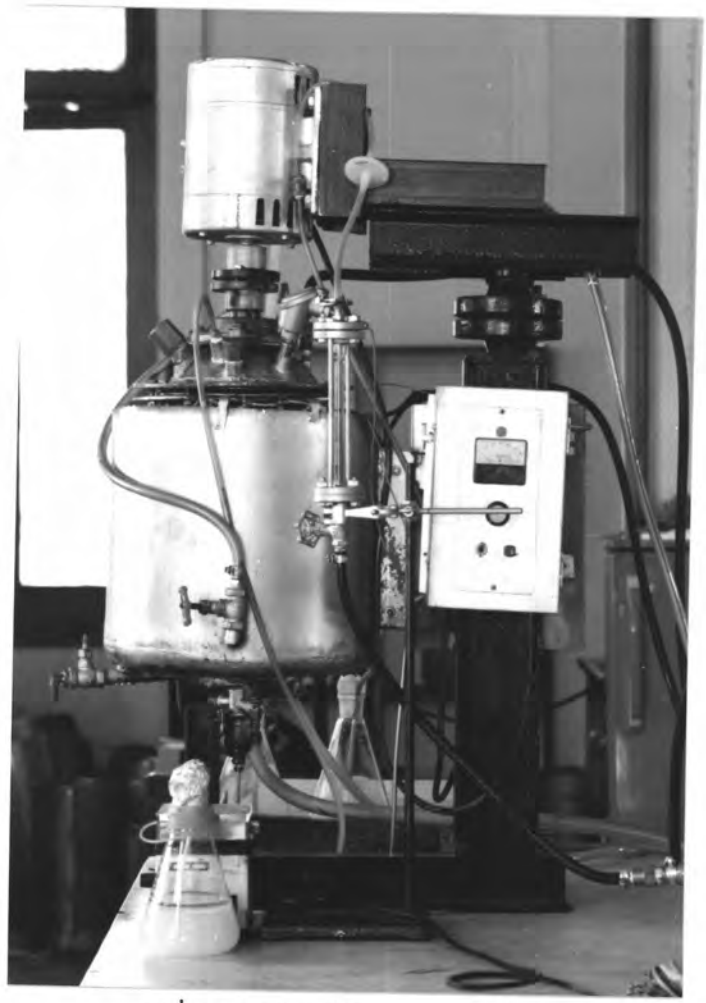
รูปที่ 2-10 เครื่องวัดอัตราการไหลของอากาศ (rotameter)



รูปที่ 2-11 เครื่องควบคุมระบบน้ำหล่อเย็น (circulation type handy cooler)



รูปที่ 2-12 หม้อไอน้ำ (boiler)



รูปที่ 2-13 อุปกรณ์ควบคุมความเร็วรอบ