สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง
ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์น้ำต้มข้าวโพด

(Increase Productivity of Vinegar from Baby Corn Blanching Water in Stirred Tank Reactor)

T096461

จัดทำโดย

นางสาว ประกายแก้ว นาคธรรยงค์ รหัสนักศึกษา 46041063

นาย สว่างพงษ์ เทวบัญชาประเสริฐ รหัสนักศึกษา 46041077

วศ.
ว 191 ก
2549

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 96461
วัน,เดือน,ปี.....

b.11729160
i.....

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร
Faculty of Agricultural Industry

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพ ฯ 10520

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Bangkok 10520 Thailand

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์น้ำต้มข้าวโพด

(Increase Productivity of Vinegar from Baby Corn Blanching Water in Stirred Tank Reactor)

จัดทำโดย

นางสาว ประกายแก้ว นาคยรรยงค์ รหัสนักศึกษา 46041063

นาย สว่างพงษ์ เทวบัญชาประเสริฐ รหัสนักศึกษา 46041077

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 15 /มี.ค./ 50 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(รองศาสตราจารย์.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์น้ำต้มข้าวโพด

(Increase Productivity of Vinegar from Baby Corn Blanching Water in Stirred Tank Reactor)

จัดทำโดย

นางสาว ประกายแก้ว นาคยรรยงค์ รหัสนักศึกษา

นาย สว่างพงษ์ เทวบัญชาประเสริฐ รหัสนักศึกษา

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาศาสตร์วิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประกายแก้ว นาคยรรยงค์ และ สว่างพงษ์ เทวบัญชาประเสริฐ. 2549 : การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนในถังหมัก STR (Increase Productivity of Vinegar from Baby Corn Blanching Water in Stirred Tank Reactor).
โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
อาจารย์ที่ปรึกษา: รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนในถังหมัก STR ที่มีการกวน และให้อากาศอย่างต่อเนื่องโดยใช้เชื้อ *Acetobacter* sp. สป. 5 เริ่มจากนำไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ 7 เปอร์เซ็นต์ และกรด 1 เปอร์เซ็นต์ มาปรับให้มีสภาวะของแอลกอฮอล์ 3.5 เปอร์เซ็นต์และกรด 4.5 เปอร์เซ็นต์ โดยหมักที่อุณภูมิห้อง เมื่อแอลกอฮอล์ลดลงเหลือประมาณ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรดมีปริมาณเพิ่มขึ้น จากนั้นเปลี่ยนสภาวะการหมักโดยปรับปริมาณแอลกอฮอล์เพียงอย่างเดียว พบว่าที่ปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5 เปอร์เซ็นต์ในช่วงการหมัก 55 วันแรกปริมาณกรดเพิ่มขึ้นประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์หลังจากนั้นอีก 20 วันเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์เป็น 4.06 และ 4.84 เปอร์เซ็นต์ปริมาณกรดเพิ่มขึ้นจากประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์เป็นประมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์และประมาณ 3.06 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ลายมือชื่อนักศึกษา	(รองศาสตราจารย์ ดร.วราวุฒิ ครูส่ง) ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา	วัน เดือน ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำปัญหาพิเศษได้สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดี ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ รศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่กรุณาสละเวลามาคอยแนะนำ ให้คำปรึกษาและคอยดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดี รวมทั้งการตรวจทานแก้ไขปัญหาพิเศษฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ทางผู้จัดทำรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาที่ท่านได้ให้แก่ผู้จัดทำในครั้งนี้ ผู้จัดทำต้องขอกราบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ของผู้จัดทำที่ได้คอยให้กำลังใจและสนับสนุนในทุกๆ ด้าน เพื่อให้การทำปัญหาพิเศษฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา ที่ให้คำแนะนำ ข้อมูล เอกสารต่างๆ แ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่คอยช่วยเหลือด้านอุปกรณ์และสารเคมี ที่จำเป็นในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ขึ้น

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยช่วยเหลือในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ที่ให้กำลังใจ เอาใจใส่เสมอมา โดยเฉพาะเพื่อนๆอีก 2 กลุ่มที่ได้ทำปัญหาพิเศษที่ห้อง D312 ด้วยกัน

สุดท้ายนี้ประโยชน์ ความรู้และคุณค่าที่ได้จากปัญหาพิเศษฉบับนี้ ทางผู้จัดทำหวังว่าคงมีประโยชน์ต่อทุกท่าน

ผู้จัดทำ
ประกายแก้ว นาคยรรยงค์
สว่างพงษ์ เทวบัญชาประเสริฐ
13 มีนาคม 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญภาพ	ง
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วารสารปริทัศน์	2
2.1 กรดแอซิติก (acetic acid)	2
2.2 วิธีการผลิตน้ำส้มสายชู	2
2.3 ขั้นตอนการหมักน้ำส้มสายชูหมัก	4
2.4 เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter* sp	5
2.5 ถังหมัก	9
3. อุปกรณ์และวิธีการ	10
4. ผลการทดลองและวิจารณ์	15
5. สรุปผลการทดลอง	18
บรรณานุกรม	19
ภาคผนวก ก : องค์ประกอบและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	20
ภาคผนวก ข : วิธีวิเคราะห์ทางเคมี	22
ประวัติผู้เขียน	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
3.1	ถังหมักที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชู	13
3.2	ฝาถังหมัก	13
3.3	สภาพการหมักภายในถังหมัก	14
4.1	ผลของการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน ด้วยเชื้อ *Acetobactor aceti* สป.5ในสภาวะการหมักปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5%และกรด 4.5%	15
4.2	อัตราการผลิตกรดในแต่ละครั้งของการหมัก จากเชื้อ *Acetobactor aceti* สป.5 ในสภาวะการหมักปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5%และกรด 4.5%	15
4.3	ผลของการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดจากเชื้อ *Acetobactor aceti สป.5* ร่วมกับเชื้อ *Acetobactor aceti* fring ในสภาวะการหมักปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5%และกรด 4.5%	16
4.4	อัตราการผลิตกรดในแต่ละครั้งของการหมัก จากเชื้อ *Acetobactor aceti* สป.5 ร่วมกับเชื้อ *Acetobactor aceti* fring ในสภาวะการหมักปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5%และกรด 4.5%	16
4.4	ผลของการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดจากเชื้อ *Acetobactor aceti สป.5* ในสภาวะการหมักปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% อย่างเดียว และเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ขึ้น	17
4.6	อัตราการผลิตกรดในแต่ละครั้งของการหมัก จากเชื้อ *Acetobactor aceti* สป.5 ในสภาวะการหมักปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% อย่างเดียว และเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ขึ้น	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ประวัติความเป็นมาของน้ำส้มสายชู

น้ำส้มสายชูหรือ vinegar คือ ไวน์ที่เสื่อมเสียโดยมีกลิ่นรสเปรี้ยว ซึ่งถือเป็นจุดกำเนิดของน้ำส้มสายชูอันเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่ของเมื่อกว่าหมื่นปีที่แล้วซึ่งได้นำวัตถุดิบหลายชนิดมาทำเป็นน้ำส้มสายชู ได้แก่ กากน้ำตาล ข้าวฟ่าง ผลไม้ เบอร์รี่ เมล่อน มะพร้าว น้ำผึ้ง เบียร์ ซีรับ ของผลไม้รสเปรี้ยว มันฝรั่ง มอลต์ ข้าว และหางนม แต่หลักการพื้นฐานคือการหมักที่เปลี่ยนจากน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ และหมักครั้งที่สองต่อเป็นน้ำส้มสายชู

คนสมัยก่อนหาประโยชน์ของน้ำส้มสายชูกันอย่างรวดเร็ว เช่น พวกบาบิลอนเคยใช้เป็นสารกันบูดและใช้เป็นเครื่องปรุง โรมันเคยใช้เป็นพวกเครื่องดื่ม กรีกใช้ในการดองผักและเนื้อ ในสงครามโลกใช้ในการรักษาบาดแผลและอื่นๆอีกมากมาย (http://www.versatilevinegar.org)

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการผลิตกรดอะซิติกโดยเชื้อ *Acetobactor aceti* ส.ป.5 จากไวน์น้ำต้มข้าวโพดในสภาวะที่กำหนด

2. เพื่อปรับปรุงระยะเวลาการผลิตกรดอะซิติกให้เร็วขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 กรดแอซิติก (acetic acid) (บุษกร, 2547)

เป็นกรดที่ละลายน้ำได้ ใช้กรดนี้ในการถนอมอาหารเนื่องจากมีพิษน้อย หาง่าย และราคาถูก กรดแอซิติกรวมทั้งเกลือโซเดียมแอซิเตท (sodium acetate) แคลเซียมแอซิเตท (calcium acetate) โซเดียมไดแอซิเตท (sodium diacetate) และแคลเซียมไดแอซีเตท (calcium diacetate) จัดเป็นสาร GRAS ที่ยอมรับว่าใช้แล้วมีความปลอดภัยจึงสามารถ ใช้ใส่ในอาหารและทำให้ได้ผลผลิตที่ดี (Good Manufacturing Practice : GMP) เป็นสารที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อเมื่อมีพีเอช 4.5 หรือต่ำกว่า กรดแอซิติกมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย จึงจัดเป็นสารแบคเทอริไซด์สำหรับฆ่าโคลิฟอร์มและซัลโมเนลลา โดยมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อราได้น้อยกว่ายีสต์

กรดแอซิติกเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำส้มสายชู ที่ใช้ใส่ในอาหารหลายชนิด เช่น มายองเนส น้ำสลัด มัสตาร์ด แตงกวาดอง และซอสมะเขือเทศ เป็นต้น

แม้ว่ากรดแอซิติกจะมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้ แต่ในอาหารบางชนิดไม่ใช้กรดชนิดนี้ เนื่องจากเป็นกรดที่มีกลิ่นฉุนรุนแรง และยังมีฤทธิ์กัดกร่อน ทำให้รูปสัมผัสรวมทั้งสีของอาหารซีดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเนื้อไก่ และเนื้อสัตว์อื่นๆ อย่างไรก็ตามกรดชนิดนี้ได้รับอนุญาตให้ใส่ในเนื้อสัตว์และเนื้อไก่ เพื่อถนอมรักษาเนื้อดังกล่าวให้เน่าเสียช้าลง

การเติมกรดแอซิติก 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำลวกไก่ จะช่วยลดค่า D-value ในการฆ่า Salmonella และ *Campylobaccter jejuni* เมื่อเติมกรดเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้เชื้อดังกล่าวตาย ขณะที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ จะยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทางอาหารส่วนใหญ่ได้ และที่ระดับความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ จะยับยั้งการเติบโตของเชื้อราที่สร้างสารพิษได้

2.2 วิธีการผลิตน้ำส้มสายชู (พรรณธิดา และวนิดา, 2548)

การผลิตน้ำส้มสายชูแบบช้า (slow process หรือ surface culture)

ในระบบเปิดทั่วๆ ไป จะพบเชื้อน้ำส้มสายชูเจริญเป็นแผ่นฝ้า (film) อยู่บนผิวหน้าของสารละลายแอลกอฮอล์หรือไวน์เพื่อเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติก ในสมัยโบราณมีวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูโดยเติมไวน์ลงในถังหมัก แล้วให้เกิดการสร้างกรดเองตามธรรมชาติ ซึ่งจะต้องมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสร้างแผ่นฝ้าขึ้นใหม่ทุกครั้งทำให้สูญเสียสับเตรทไปโดยไม่มีการสร้างกรดอะซิติก รวมทั้งกระบวนการยังเกิดช้าและมีประสิทธิภาพต่ำ จึงต้องมีการปรับปรุงคดยใช้เชื้อน้ำส้มสายชูที่มีประสิทธิภาพดีเป็นกล้าเชื้อ (inoculum) โดยใช้เชื้อน้ำส้มสายชูที่เกาะกับข้างถังและลอยอยู่ในน้ำส้มสายชูที่เหลืออยู่จากการหมักครั้งก่อนเป็นกล้าเชื้อในครั้งต่อไป แต่พบว่าวิธีนี้มีเอทธานอลเหลืออยู่ในน้ำส้มสายชูที่ได้เนื่องจากการหมักเกิดไม่สมบูรณ์ ในประเทศไทยส่วนมากผลิตน้ำส้มสายชูวิธีนี้แต่ใช้กล้าเชื้อในรูปของลูกแป้งของเชื้อน้ำส้มสายชูที่เก็บไว้ในรูปแห้ง

ต่อมาจึงมีการปรับปรุงกระบวนการผลิตใหม่ เป็นวิธีการผลิตแบบกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous) เรียกว่า Orleans process โดยใช้ถังไม้ขนาดใหญ่และมีท่อสำหรับเติมไวน์สู่ก้นถัง ทำให้ไม่รบกวนแผ่นฝ้า และอากาศสามารถผ่านเข้าไปในถังได้แล้วปล่อยให้เกิดกรดจนมีปริมาณสูง แล้วปล่อยน้ำส้มสายชูออกทางก้นถัง แล้วเติมไวน์ลงไปใหม่เพื่อผลิตน้ำส้มสายชูต่อไปอีก

ปัจจุบันการผลิตน้ำส้มสายชูโดยวิธีนี้ไม่นิยมใช้ เนื่องจากต้องใช้ถังจำนวนมากวางไว้ในห้องโล่ง ต่อมาในประเทศญี่ปุ่นได้ปรับปรุงวิธีการผลิตเป็นแบบต่อเนื่อง โดยมีการรบกวนแผ่นฝ้าน้อยที่สุดควบคุมอุณหภูมิประมาณ 28-29 องศาเซลเซียส จะสมมารถผลิตน้ำส้มสายชูที่มีกรดอะซิติก 5 เปอร์เซ็นต์ได้ 54.1 ลิตรต่อชั่วโมง คือ เกิดกรด 3.24 เปอร์เซ็นต่อวัน

การผลิตน้ำส้มสายชูแบบเร็ว (quick process)

การผลิตน้ำส้มสายชูแบบเร็วจะมีอัตราการเกิดกรดสูงกว่าวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูแบบข้า โดยมีการเพิ่มพื้นที่ของการเจริญ ลดช่วงเวลาของ lag phase และเพิ่มออกซิเจนเพื่อให้เชื้อน้ำส้มสายชูในถังหมักมีกิจกรรมสูงขึ้น ถังหมักที่รู้จักกันแพร่หลาย คือ เจนเนอเรเตอร์ (generator) โดยวิธีนี้จะใช้ถังหมักที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางของปากถังเล็กกว่าก้นถัง (flask shape) และมีตัวกลางบรรจุอยู่ภายในถังเพื่อให้เชื้อน้ำส้มสายชูเจริญเป็นแผ่น (film) อยู่บนตัวกลาง ปล่อยให้วัตถุดิบไหลจากด้านบนถังลงสู่ก้นถังและพ่นอากาศเข้าทางก้นถังวิธีการนี้สามารถนำน้ำส้มสายชูที่เกิดกรดไม่สมบูรณ์กลับมาผ่านถังหมักอีก จนเอทธานอลส่วนใหญ่เปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก รวมทั้งมีการปรับปรุงการไหลของวัตถุดิบให้กระจายสม่ำเสมอลงบนผิวของตัวกลาง ปรับปรุงการให้อากาศควบคุมอุณหภูมิ และการหมักเป็นแบบกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous) ซึ่งเรียกว่า Frings generator

การผลิตน้ำส้มสายชูวิธีนี้จะต้องให้เชื้อน้ำส้มสายชูยึดเกาะกับตัวกลาง ดังนั้นตัวกลางที่ใช้จึงมักจะเป็นวัสดุจำพวกเซลลูโลส ได้แก่ เปลือกไม้ ก้านองุ่น ขี้เลื่อย ชานอ้อย ถ่านไม้ กระเชื้อง เชื้อจำพวก *Acetobacter xylinum* จะสร้างเซลลูโลสทำให้ตัวกลางเกาะแน่นและอุดตัน จึงต้องมีการเปลี่ยนตัวกลางใหม่

การผลิตน้ำส้มสายชูแบบสับเมอร์จ (submerged culture)

เป็นวิธีการผลิตน้ำส้มสายชู โดยใช้น้ำส้มสายชูที่เหลืออยู่ในถังประมาณ 1/3 ของถังหมักเป็นกล้าเชื้อแล้วเติมแอลกอฮอล์หรือไวน์ลงไปใหม่ถังหมักที่นิยมใช้ เรียกว่า อะซิเตเตอร์ (acetator) โดยใช้เชื้อน้ำส้มสายชูสายพันธุ์ที่ไม่สามารถเจริญได้บนอาหารแข็งธรรมดาและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารอาหารที่เรียกว่าอะซิโตไซม์ (acetozyme) ซึ่งใช้ผสมกับเอทธานอลเป็นวัตถุดิบ ถังที่ใช้ในการหมักอาจเป็นไม้หรือสแตนเลส ก้นถังมีระบบการกวน (agitator) และระบบให้อากาศ (aeration) โดยการพ่นฟองให้เกิดเป็นฟองอากาศขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วไปในถัง ส่วนการกำจัดฟองจะใช้เครื่องกำจัดฟอง (deformer) โดยแรงเหวี่ยง (centrifugal force) ติดอยู่ด้านบนของถัง การหมักโดยวิธีนี้จะได้กรดอะซิติกเร็วและมีคุณภาพดี

เมื่อเปรียบเทียบการผลิตน้ำส้มสายชูโดย generator กับ acetator พบว่า acetator มีอัตราการผลิตสูงกว่า generator ถึง 10 เท่า และมีประสิทธิภาพการเปลี่ยนเอทานอลเป็นกรดอะซิติกสูงถึง 94 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ generator มีประสิทธิภาพเพียง 85 เปอร์เซ็นต์

2.3 ขั้นตอนการหมักน้ำส้มสายชูหมัก

วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชูมีหลายชนิดทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของผลไม้ที่จะนำมาผลิตไวน์ ถ้าวัตถุดิบมีปริมาณน้ำตาลน้อยต้องทำให้มีความเข้มข้นขึ้น เช่น น้ำสกัดจากผลไม้ หรือหากวัตถุดิบมีปริมาณน้ำตาลมาก เช่น กากน้ำตาล ต้องมีเจือจางลงให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม เพื่อให้ได้เอทธานอลในปริมาณที่ต้องการ เมื่อได้เอทานอลแล้วจะมีการหมักต่อจนได้น้ำส้มสายชู ทั้งนี้เป็นการหมักแบบให้อากาศเป็นสำคัญ

กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี 2 ขั้นตอน คือ

1. การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์

$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{เอ็นไซม์จากยีสต์ } \textit{Saccharomyces cerevisiae}} 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

น้ำผลไม้ น้ำตาล แป้งที่ถูกไฮโดรไลซ์ สามารถที่จะนำมาหมักให้เกิดแอลกอฮอล์โดยอาศัยเอ็นไซม์จากยีสต์ สำหรับการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์นี้เหมือนกับการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในการทำไวน์ ยีสต์จะย่อยน้ำตาลในน้ำผลไม้เป็นแอลกอฮอล์การหมักในขั้นนี้จึงไม่ต้องการอากาศ จึงควรหมักในภาชนะปากแคบ และควรให้มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นสามารถถ่ายเทออกไปได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักประมาณ 23-27 องศาเซลเซียส

2. การเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์เป็นกรดแอซิติก

$$2C_2H_5OH \xrightarrow{\text{เอ็นไซม์จากเชื้อน้ำส้ม } \textit{Acetobacter aceti}} 2CH_3COOH + 2H_2O$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำแอลกอฮอล์หรือไวน์ที่ได้ในขั้นตอนที่1มาหมักด้วยเชื้อน้ำส้มสายชู *(Acetobacter aceti)* ซึ่งการเปลี่ยนแปลงในขั้นตอนนี้ต้องการอากาศมาก เพื่อที่จะออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ไปเป็นกรดน้ำส้ม จึงควรหมักในภาชนะปากกว้าง เพื่อให้มีเนื้อที่สัมผัสอากาศได้มาก หรือมีการกวนบ่อย ๆ ให้อากาศผ่านเข้าไปในถังหมัก อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักนั้นขึ้นอยู่กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก และกรรมวิธีการผลิตโดยทั่ว ๆ ไปใช้อุณหภูมิประมาณ 26-29 องศาเซลเซียส (มาลัย,2548)

2.4 เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter* sp.

2.4.1 แบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดอะซิติกจากเอทธานอล

ปี ค.ศ.1974 De Lay and Frateur ได้รายงานว่าแบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติก (acetic acid bacteria) จะมีรูปร่างลักษณะเซลล์กลมรี จนถึงเป็นท่อน การเรียงตัวของเซลล์มีทั้งอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่และเรียงตัวเป็นสายทั้งแบบสายสั้นๆ และสายยาว แตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ (spacies) และไม่พบเอนโดสปอร์ (endospore) ในแบคทีเรียชนิดนี้ การย้อมสีแกรมพบว่าติดสีแกรมลบแต่เมื่อเซลล์มีอายุมากขึ้นอาจติดสีเปลี่ยนไปบ้าง (gram variable) แบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติกมีลักษณะที่สำคัญ คือ ต้องการออกซิเจนในการออกซิไดซ์เอทธานอลให้เป็นกรดอะซิติก และสามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกรดอะซิติกตั้งแต่ 2-11 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติกแบ่งออกได้เป็น 2 สกุล คือ *Acetobacter sp.* และ *Gluconobacter sp.* ซึ่งแต่เดิมเรียก *Acetomonas* แบคทีเรียทั้งสองสกุลนี้มีคุณสมบัติเหมือนกันหลายประการ และมักพบอยู่ปะปนกันในถังหมักน้ำส้มสายชูตามธรรมชาติ แต่แบคทีเรียสกุล *Gluconobacter sp.* จะเจริญได้ในอาหารที่มีปริมาณเอทธานอลต่ำๆ และมีประสิทธิภาพในการออกซิไดซ์เอทธานอลเป็นกรดอะซิติกค่อนข้างต่ำ (gibbs and Shapton 1996; Asai 1968) ส่วนแบคทีเรียสกุล *Acetobacter sp.* จะมีประสิทธิภาพในการออกซิไดซ์เอทธานอลเป็นกรดอะซิติกได้ต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ดังนั้นในการผลิตน้ำส้มสายชูจึงต้องเลือกใช้สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการออกซิไดซ์เอทธานอลได้สูงกว่า 4กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

2.4.2 คุณสมบัติทั่วไปของ *Acetobacter sp.*

เซลล์ของ *Acetobacter sp.* มีหลายลักษณะ (pleomorphic) ปกติพบรูปร่างค่อนข้างรี จนกระทั่งเป็นท่อนชัดเจน ขนาดกว้างประมาณ 0.6-0.8 ไมครอน ยาวประมาณ 1.0-3.0 ไมครอน อาจพบเซลล์เดี่ยวๆจับเป็นคู่หรือต่อกันเป็นลูกโซ่ บางครั้งพบเซลล์ที่มีรูปร่างแปลกไปจากที่กล่าวมาแล้ว เช่น รูปร่างกลม ยืดยาวออก บวมหรือรูปกระบอก บางชนิดมีแฟลีกเจลลาแบบรอบเซลล์ (peritrichous flagella) ทำให้สามารถเคลื่อนที่ได้ (De lay and Frateur, 1974) นอกจากนั้นมีรายงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ว่าเซลล์ที่มีอายุน้อยของ *A. peroxydans* สามารถเคลื่อนที่ได้ แต่ไม่พบการเคลื่อนที่เมื่อเซลล์มีอายุมาก แสดงว่าอายุของเซลล์มีผลต่อการเคลื่อนที่และการสร้างแฟล็กเจลลา ส่วน *Acetobacter sp.* บางชนิดไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ เช่น *A. xylinum* (Rao, 1957)

จากรายงานพบว่ามีหลาย species ที่สามารถสร้างแคปซูลได้ เช่น *A.turbidans* , *A. viscosum* และ *A. capsulatum* (Rao, 1957)

Acetobacter sp. เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนในการดำรงชีวิต (obligate aerobes) เนื่องจากไม่สามารถใช้สารอื่นนอกจากออกซิเจนเป็นตัวรับไฮโดรเจนตัวสุดท้ายในกระบวนการเปลี่ยนอาหารเป็นพลังงาน (De lay and Frateur, 1974) ซึ่งมักพบว่าในถังหมักน้ำส้มสายชูซึ่งไม่มีการพ่นอากาศเชื้อน้ำส้มสายชูจะเจริญอยู่ที่ผิวหน้ามองเห็นเป็นแผ่นฝ้า (film) (Adams, 1980; Conner and Allgeier, 1976)

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของ *Acetobacter sp.* จะแตกต่างกันตามสายพันธุ์ ซึ่งเชื้อส่วนใหญ่จะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิตั้งแต่ 15-34 องศาเซลเซียล *Acetobacter sp.* ชอบ pH ค่อนข้างต่ำ พบว่าเจริญได้ที่ pH 4.0-4.5 และเจริญได้ดีที่ pH 5.4-6.3 ในระดับ pH 7-8 จะเจริญได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น (De lay and Frateur, 1974)

2.4.3 แหล่งที่พบ *Acetobacter sp.*

แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถพบได้ในผักชนิดต่างๆน้ำผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว น้ำส้มสายชู เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์และผิวของผลไม้ต่างๆ โดยเฉพาะที่ดอกและผล (De lay and Frateur, 1974) แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นสาเหตุให้ผักเกิดการเน่าเสียต่อเนื่องจากยีสต์ได้ ในสภาวะที่มีอากาศและเป็นตัวการในการเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติก

สำหรับในประเทศไทยนั้น นภา (2519) และนันทพร (2517) ได้รายงานว่าพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ในน้ำตาลสด น้ำตาลปึบ น้ำตาลเมา กระแช่ ลูกแป้งข้าวหมาก ลูกแป้งเหล้าและเหล้าขาว ซึ่งจะเจริญเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ บนผิวหน้าของสารละลายที่มีแอลกอฮอล์ และเชื้อน้ำส้มสายชูบางชนิดสามารถสร้างเซลลูโลสได้ จะมีลักษณะเป็นแผ่นหนาเจริญร่วมกับยีสต์ในน้ำชาที่เติมน้ำตาลซึ่งเรียกว่า เห็ดรัสเซีย (tea fungus) เพราะมีลักษณะคล้ายดอกเห็ด (Hesseltine, 1965)

2.4.4 สภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการเจริญของ *Acetobacter sp.*

อาหาร : ความต้องการสารอาหารที่ในการเจริญของ *Acetobacter sp.* จะแตกต่างกันแต่ละสายพันธุ์

- แหล่งคาร์บอน : Conner and Allgeier (1976) รายงานว่า *Acetobacter aceti* สามารถใช้กลูโคสได้อย่างสมบูรณ์ โดยสามารถเปลี่ยนกลูโคสเป็นกลูโคเนท (gluconate) ได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ และใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานเพียง 20 เปอร์เซ็นต์ ส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งคาร์บอนอื่นๆ ได้แก่ แมนนิทอล ฟรุกโตส แมนโนส กาแล็กโตส ไซโลส กลีเซอรอล อิริธริตอล โซเดียมแล็กเตท เอทธานอล และโซเดียมอะซิเตท

- แหล่งไนโตรเจน : แหล่งไนโตรเจนที่ดีของแบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติกได้มาจากกนคอะมิโนต่างๆ พวกวาลีน (Valine) ไอโซลูซีน (Isoleucine) อะลานีน (Alanine) ซีสติน (Cystine) โปรลีน (Proline) แอสปาร์เตท (Aspartate) รวมทั้งสารอาหารพวกสารที่สกัดจากยีสต์ (Yeast extract) น้ำที่ใช้ยีสต์ (Yeast water) สารสกัดจากข้าวมอลล์ (Malt extract) หรือ น้ำแช่ข้าวโพด (Corn steep liquor) และบางสายพันธุ์ยังสามารถใช้เกลือแอมโมเนียมเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ดี
- วิตามิน : Rao (1957) รายงานว่า *Acetobacter suboxydans* 621, *A. acti* และ *A.pasteurianus* ต้องการ PABA (p-aminobenzoic acid) กรดนิโคตินิก (nicotinic acid) และกรดแพนโตธีนิก (pantothenic acid) เป็นสารช่วยในการเจริญ ส่วน *A. melanogenus* และ *A. rancens* ต้องการไธอามีน (thiamine) และพบว่าเชื้อน้ำส้มสายชูสามารถใช้พาราอะมิโนฟีนิลอะลานีน (p-aminophenylalanine) แทน PABA

อากาศ : *Acetobacter sp.* เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการดำรงชีวิต (obligate aerobes) เนื่องจากใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับไฮโดรเจนในกระบวนการเปลี่ยนอาหารเป็นพลังงาน ดังนั้นในถังหมักน้ำส้มสายชูที่ไม่มีอากาศจะพบเชื้อน้ำส้มสายชูเจริญอยู่ที่ผิวหน้าอาหารเท่านั้น

อุณหภูมิ : *Acetobacter sp.* จะเจริญได้ที่อุณหภูมิที่แตกต่างกันขึ้นอยู่แต่ละสายพันธุ์ ซึ่งส่วนใหญ่เชื้อน้ำส้มสายชูเจริญได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 15-34 องศาเซลเซียล ที่อุณหภูมิประมาณ 12-15 องศาเซลเซียลเชื้อจะมีการเจริญที่ช้าลง ส่วนที่อุณหภูมิสูงประมาณ 42-45 องศาเซลเซียล เชื้ออาจเจริญได้ดี แต่จะมีความสามารถในการเปลี่ยนเอทธานอลเป็นกรดอะซิติกได้ลดลง

ความเป็นกรดด่าง : *Acetobacter sp.* ชอบความเป็นกรดด่าง (pH) ค่อนข้างต่ำ เชื้อจะเจริญได้ดีที่ pH 4.0-4.5 และเจริญได้ดีที่ pH 5.4-6.3 ส่วนที่ระดับ pH 7-8 เชื้อจะเจริญได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.5 การเปลี่ยนแปลงของเชื้อ *Acetobacter sp.* ในระหว่างการหมักเพื่อผลิตน้ำส้มสายชู

ในระหว่างการหมักเพื่อผลิตน้ำส้มสายชูจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของเชื้อ Acetobacter ใช้ทั้งนี้เนื่องจากผลของการเปลี่ยนแปลงปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการหมักนั่นเอง ผลของการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวแบ่งออกได้ดังนี้ (วราวุฒิ และรุ่งนภา, 2532)

1.ผลของการขาดออกซิเจน (effect of lack in oxygen supply)

การหมักเพื่อผลิตน้ำส้มสายชูนี้เป็นการหมักในสภาพที่ต้องการอากาศ ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องมีการให้อากาศ (aeration) อย่างต่อเนื่อง แต่อย่างไรก็ตาม ถ้าการให้อากาศเกิดขัดข้องขึ้นมาในระหว่างการหมักจะเกิดผลกระทบต่อเชื้อ Acetobacter อย่างมากเพราะเชื้อนี้จะถูกทำลายลงอย่างรวดเร็ว

ผลของการทำลายเซลล์ Acetobacter ในระหว่างการขาดออกซิเจนนี้ยังเกี่ยวข้องกับปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในการหมักอีกด้วย ได้แก่ ความเข้มข้นทั้งหมดของกรดอะซิติกและแอลกอฮอล์ในน้ำหมัก (total concentration) ความเข้มข้นของกรดอะซิติก (acetic acid concentration) อัตราเร็วของการหมัก (fermentation rate) เป็นต้น นอกจากนี้ยังรวมถึงระยะเวลาที่ขาดออกซิเจนอีกด้วย

สำหรับสาเหตุที่ทำให้เซลล์ Acetobacter ถูกทำลายไปเมื่อมีการขาดออกซิเจนนั้น ได้มีสมมุติฐานที่อธิบายถึงสาเหตุที่เกิดขึ้นหลายประการ จนกระทั่ง Meyrath (1973) ได้ตั้งสมมุติฐานขึ้นว่า ตามปกติแล้วเซลล์ Acetobacter จะมีเอนไซม์อไพเรส (apyrase enzyme) ซึ่งทำหน้าที่ย่อยสลาย ATP (ซึ่งเป็นแหล่งสะสมพลังงาน และมีการสะสมในระหว่างปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก) อย่างรวดเร็ว ซึ่งจะทำให้เหลือ ATP สำหรับกิจกรรมของเมทาบอลิซึมอื่นๆ ของเซลล์ในระดับต่ำ ดังนั้นในเมื่อการให้อากาศหยุดชะงักจึงทำให้ ATP ในแหล่งเก็บพลังงานที่เรียกว่า ATP Pool สูญหายไปอย่างรวดเร็วซึ่งจะส่งผลกระทบต่อเซลล์ทันที ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์ Acetobacter นี้ไม่สามารถทนต่อสภาพการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวได้

2 ผลของการขาดแอลกอฮอล์ (effect of lack in alcohol)

เชื้อ Acetobacter จะถูกทำลายลงไปเมื่อการหมักเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จนกระทั่งปริมาณแอลกอฮอล์ (เอทธานอล : C_2H_5OH) ในน้ำหมักถูกเปลี่ยนไป (ออกซิไดซ์) จนหมดและในขณะเดียวกันมีการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ที่มีแอลกอฮอล์เป็นองค์ประกอบลงไปในน้ำหมักนั้นช้าจนเกินไป ผลของการทำลายเซลล์ Acetobacter ซึ่งเนื่องจากการขาดแอลกอฮอล์นี้เกี่ยวข้องกับความเข้มข้นของกรดอะซิติกและแอลกอฮอล์ทั้งหมดที่มีอยู่ในน้ำหมัก และระยะเวลาที่ขาดแอลกอฮอล์โดยผลที่เกิดขึ้นมีลักษณะเช่นเดียวกับกรณีการขาดออกซิเจน

3. ผลของอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง (effect of changes in temperature)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักเกิดขึ้นอย่างปกติ เมื่อควบคุมอุณหภูมิให้เปลี่ยนแปลงระหว่าง 32 และ 26 องศาเซลเซียส ทุกๆ 2 ชั่วโมง

ตามปกติแล้วมักควบคุมอุณหภูมิในระหว่างการหมักไม่ให้สูงเกินไปด้วยระบบหล่อเย็น (cooling system) แต่ถ้าระบบหล่อเย็นเกิดขัดข้องจะทำให้อุณหภูมิสูงขึ้น จนกระทั่งจะทำลายเซลล์ Acetobacter ได้ ซึ่งในที่สุดจะทำให้การหมักหยุดลง

นอกจากปัจจัยที่กล่าวมาแล้วนี้ในบางครั้งการทำลายเซลล์ Acetobacter อาจจะเกี่ยวข้องกับอัตราการเจริญเติบโตที่จำเพาะ (specific growth rate) ของเชื้อและความเข้มข้นของกรดอะซิติกกับแอลกอฮอล์ที่มีในน้ำหมักอีกด้วย แต่อย่างไรก็ตาม ผลจากการขาดออกซิเจน การขาดแอลกอฮอล์ และอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงเป็นปัจจัยหลักที่เราต้องคำนึงถึงก่อนเสมอ

2.5 ถังหมัก

ถังหมักเป็นอุปกรณ์ที่สำคัญมากในอุตสาหกรรมการหมัก มีรูปร่างหลายแบบขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการใช้งาน

ถังหมักระบบ STR (Stirred Tank Reactor) เป็นถังหมักที่มีระบบการกวนและการให้อากาศโดยเชิงกล (Mechanical agitation and aeration system) เป็นถังหมักที่ใช้พลังงานมาก แต่จะให้การส่งถ่ายมวลสารของก๊าซและของเหลว (gas/liquid mass transfer) มีการถ่ายเทความร้อนที่เหมาะสม และการผสมของน้ำหมักได้ดี เป็นถังหมักที่เป็นลักษณะพื้นฐานของถังหมักทั่วไป โดยเฉพาะถังหมักที่ระบบการกวนอย่างต่อเนื่อง (stirred tank reactor, STR) ซึ่งใช้กันมากในห้องปฏิบัติการและในอุตสาหกรรมเทคโนโลยีการหมัก โดยถังหมักลักษณะนี้ออกแบบและพัฒนาขึ้นมาในช่วงทศวรรษที่ 1940 และ 1950 เพื่อใช้ในการผลิตเพนนิซิลิน หลังจากนั้นได้ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น การผลิตแอลกอฮอล์ ยีสต์ขนมปัง สารปฏิชีวนะ กรดอะซิติก และสารอื่นๆ เป็นต้น (วราวุฒิ และกรวิกา, 2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัตถุดิบ

ไวน์น้ำต้มข้าวโพด

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

3.2.1 *Acetobacter aceti* สป. 5 ได้จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2.2 *Acetobacter aceti* fring ได้จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.3 สารเคมี

	ชื่อสารเคมี	บริษัทหรือประเทศที่ผลิต
3.3.1	โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	Merck Co.,Ltd
3.3.2	แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$)	Merck Co.,Ltd
3.3.3	แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$)	Merck Co.,Ltd
3.3.4	แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$)	Merck Co.,Ltd
3.3.5	ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (H_2PO_4)	Merck Co.,Ltd
3.3.6	กรดอะซิติก (CH_3COOH)	Merck Co.,Ltd
3.3.7	Phenolphthalein	Riedel-desaen
3.3.11	แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	โรงงานสุรา องค์การสุรา กรมสรรพสามิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 สารอาหาร

	ชื่อสารอาหาร	บริษัทหรือประเทศที่ผลิต
3.4.1	Glucose	Merck Co.,Ltd
3.4.2	Yeast Extract	DIFCO
3.4.3	Malt Extract	DIFCO
3.4.4	Peptone	DIFCO

3.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหาร Glucose Yeast Extract Broth (GYE Broth)

3.6 เครื่องมือและอุปกรณ์

	ชื่อเครื่องมือ	รุ่น	บริษัทหรือประเทศที่ผลิต
3.6.1	เครื่องชั่งชนิดละเอียด (4 ตำแหน่ง)	Mettler, AE 3000	Switzerland
3.6.2	เครื่องชั่งชนิดหยาบ (2 ตำแหน่ง)	OHAUS	America
3.6.3	เครื่องพ่นให้อากาศ (Air Pump)		Thailand
3.6.4	เครื่องวัดพีเอช (pH meter)	Suntex	Taiwan
3.6.5	ตู้แช่เย็น	Thermotek	Thailand
3.6.6	ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	Memmert	Germany
3.6.7	ตัวกรองอากาศ (Membrane filter)	Sartorius	Germany
3.6.8	สายยางซิลิโคน		Thailand
3.6.9	หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)	Tomy SS-245	Japan
3.6.10	เครื่องเขย่า (Shaker)	Gerhardt Bonn	Germany
3.6.11	Ebuliometer	ARCUEUEIL, 94117	France

18

	ชื่อเครื่องมือ	รุ่น	บริษัทหรือประเทศที่ผลิต
3.6.12	Hand Refractometer	ATAGO, N-1E	Japan
3.6.13	ถังหมักสเตนเลสพร้อมใบกวนขนาด 50 ลิตร		Thailand
3.6.14	ถังน้ำพลาสติก		Thailand

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก (D312) โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.8 วิธีการดำเนินงาน

3.8.1 การเตรียมน้ำหมัก

นำไวน์น้ำต้มข้าวโพดที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ประมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณกรดประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ มาเติมสารอาหารได้แก่ Ammonium sulphate ($(NH_4)_2SO_4$), Magnesium sulphate ($MgSO_4$), Sodium dihypophosphate (NaH_2PO_4) และ Yeast extract ทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น

3.8.2 การเตรียมกล้าเชื้อน้ำส้มสายชู

การเตรียมกล้าเชื้อน้ำส้มสายชู *Acetobacter aceti* สป. 5 โดยนำเชื้อซึ่งอยู่ในรูปของเหลวปริมาตร 24 มิลลิลิตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYE Broth (ประกอบด้วย Glucose 100 กรัม Yeast Extract 10 กรัม และน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) ปริมาตร 216 มิลลิลิตร แล้วทำการเขย่าด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

3.8.3 การเพิ่มปริมาณกล้าเชื้อครั้งที่ 1

นำกล้าเชื้อจากข้อที่ 2 ปริมาตร 240 มิลลิลิตร ผสมกับ GYE Broth ปริมาตร 2160 มิลลิลิตร ทำการให้อากาศด้วยเครื่องปั๊มอากาศผ่านแผ่นกรองเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

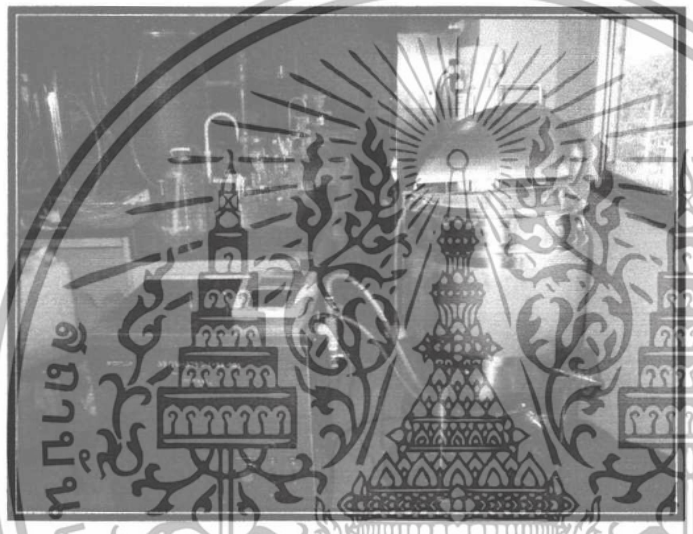
3.8.4 การเพิ่มปริมาณกล้าเชื้อครั้งที่ 2

นำกล้าเชื้อจากข้อที่ 3.8.3 ปริมาตร 2.4 ลิตร ผสมกับน้ำหมักปริมาตร 7.6 ลิตร ซึ่งเมื่อผสมมีการปรับสภาวะน้ำหมักเริ่มต้นโดยมีแอลกอฮอล์เท่ากับ 3.5 เปอร์เซ็นต์ และมีกรดเท่ากับ 4.5 เปอร์เซ็นต์ ทำการให้อากาศโดยใช้ปั๊มให้อากาศ และใช้ใบพัดกวน แล้วทำการหมักจนกระทั่งน้ำหมักนั้นมีปริมาณของแอลกอฮอล์เหลืออยู่ 0.5 เปอร์เซ็นต์

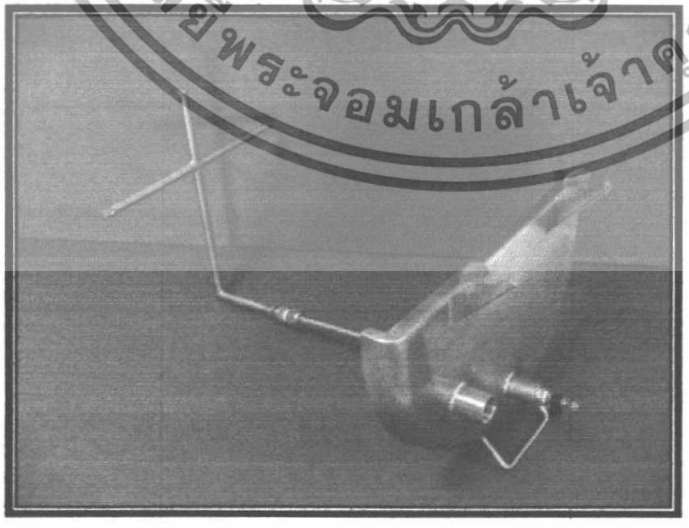
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.8.5 การหมักน้ำส้มสายชู

นำน้ำหมักผสมกับกล้าเชื้อในข้อที่ 3.8.4 ในถังหมัก โดยปรับให้มีสภาวะภายในถังหมักมีแอลกอฮอล์ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ทำการให้อากาศโดยใช้ปั๊มให้อากาศ และใช้ใบพัดกวน แล้วทำการหมักจนกระทั่งน้ำหมักนั้นมีปริมาณของแอลกอฮอล์เหลืออยู่ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ต่อมาทำการถ่ายน้ำส้มสายชูออกโดยคำนวณให้เหลือกล้าเชื้อในถังหมักไม่น้อยกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นเติมน้ำหมักให้มีปริมาณแอลกอฮอล์ภายในถังหมัก 3.5 เปอร์เซ็นต์ จะทำการถ่ายน้ำส้มสายชูออกและเพิ่มน้ำหมักเข้าเช่นนี้จนกระทั่งมีประสิทธิภาพในการผลิตกรดอะซิติกถึง 7 เปอร์เซ็นต์

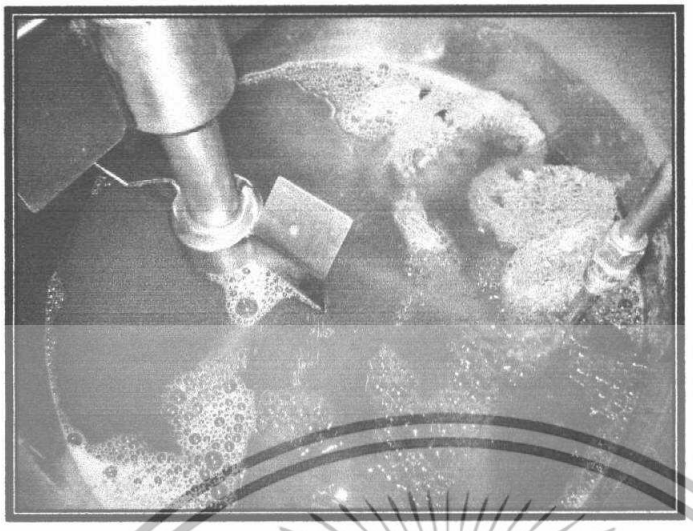


ภาพที่ 3.1 ถังหมักที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชู



ภาพที่ 3.2 ฝาถังหมัก STR ที่ต่อท่อให้อากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.3 สภาพการหมักภายในถังหมัก

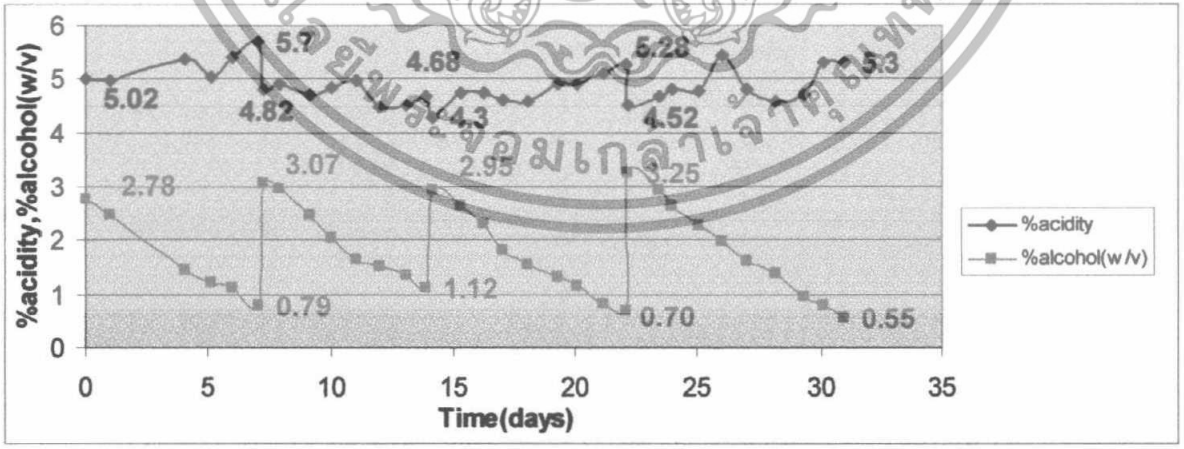
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 ผลของการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดจากเชื้อ *Acetobactor aceti สป.5* ในสภาวะการหมักปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5%และกรด 4.5%

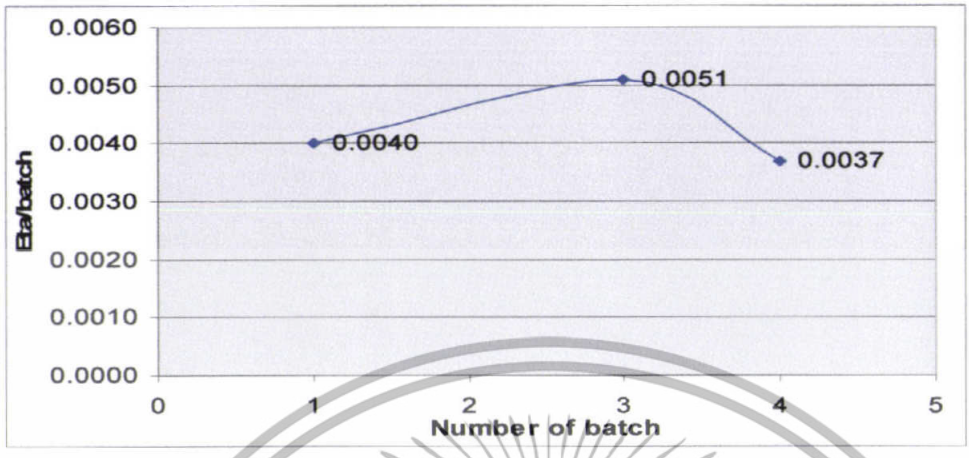
เพื่อศึกษาการผลิตกรดน้ำส้มสายชูของเชื้อ *Acetobactor aceti* สป.5 ให้คงที่ในสภาพการหมักแบบต่อเนื่อง ในถังหมัก STR (Stirred Tank Reactor) โดยมีสภาวะของปริมาณแอลกอฮอล์และกรด 3.5 และ 4.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการให้อากาศและการกวนตลอดเวลา เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 31 วัน จะพบว่าสามารถผลิตกรดน้ำส้มสายชูปริมาณที่ไม่สูงนัก คือ สามารถผลิตกรดได้ไม่เกิน 1.0 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณแอลกอฮอล์ที่เหลืออยู่ในน้ำส้มสายชู คือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ จากปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มต้นที่ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.1

อัตราการผลิตกรดต่อการหมักในแต่ละครั้ง (ETA/batch) จากการหมักอย่างต่อเนื่อง 4 ครั้ง พบว่าอัตราการผลิตกรดในแต่ละครั้งมีแนวโน้มไม่แน่นอน ดังแสดงในภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.1 การลดลงของแอลกอฮอล์และการเพิ่มขึ้นของกรดจากเชื้อ *Acetobactor aceti* สป.5 ตั้งแต่วันที่ 11/08/06 ถึงวันที่ 11/09/06 รวมระยะเวลาการหมัก 31 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



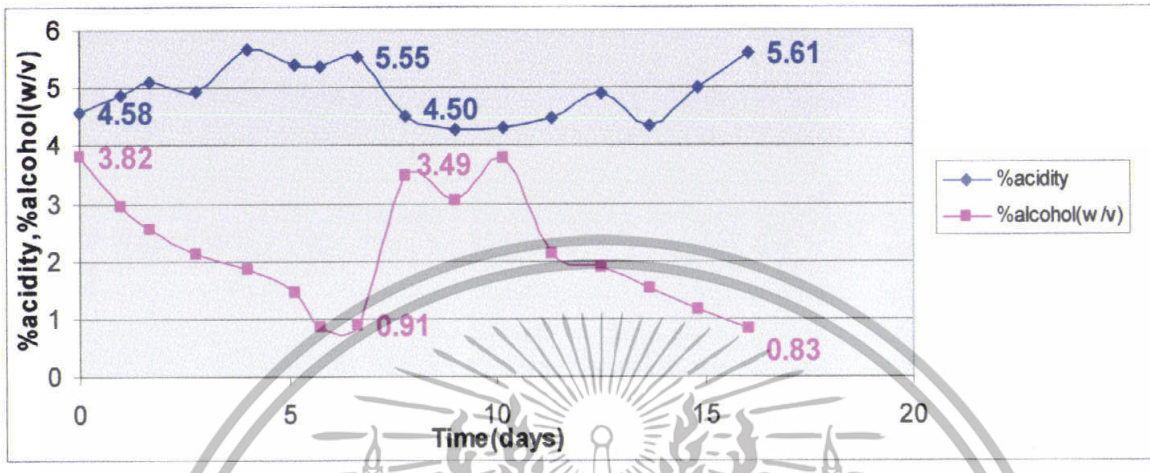
ภาพที่ 4.2 อัตราการผลิตกรดในแต่ละครั้งของการหมัก จากเชื้อ *Acetobactor aceti* สป.5 จำนวน 4 ครั้งต่อเนื่องกัน

4.2 ผลของการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดจากเชื้อ *Acetobactor aceti* สป.5 ร่วมกับเชื้อ *Acetobactor aceti* fring ในสภาวะการหมักปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5%และกรด 4.5%

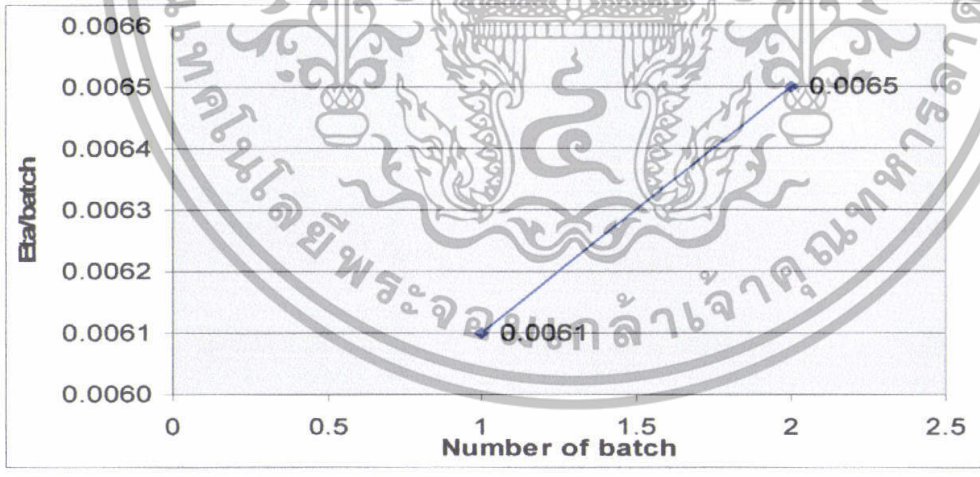
เพื่อศึกษาการผลิตกรดน้ำส้มสายชูของเชื้อ *Acetobactor aceti* สป.5 ร่วมกับเชื้อ *Acetobactor aceti* fring ให้คงที่ในสภาพการหมักแบบต่อเนื่อง ในถังหมัก STR (Stirred Tank Reactor) โดยมีสภาวะของปริมาณแอลกอฮอล์และกรด 3.5 และ 4.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการให้อากาศและการกวนตลอดเวลา เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 16 วัน จะพบว่าสามารถผลิตกรดน้ำส้มสายชูปริมาณที่ไม่สูงนัก คือ สามารถผลิตกรดได้ไม่เกิน 1.1 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณแอลกอฮอล์ที่เหลืออยู่ในน้ำส้มสายชู คือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ จากปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มต้นที่ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.3

อัตราการผลิตกรดต่อการหมักในแต่ละครั้ง (ETA/batch) จากการหมักอย่างต่อเนื่อง 2 ครั้ง พบว่าอัตราการผลิตกรดต่อครั้งของการหมักมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ดังแสดงในภาพที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 การลดลงของแอลกอฮอล์และการเพิ่มขึ้นของกรดจากเชื้อ *Acetobactor aceti* สป.5 และเชื้อ *Acetobactor aceti* fring ตั้งแต่วันที่ 19/09/06 ถึงวันที่ 4/10/06 รวมระยะเวลาการหมัก 16 วัน



ภาพที่ 4.4 อัตราการผลิตกรดในแต่ละครั้งของการผลิตกรด จากเชื้อ *Acetobactor aceti* สายพันธุ์ สป.5 และเชื้อ *Acetobactor aceti* สายพันธุ์ fring จำนวน 2 ครั้งต่อเนื่องกัน

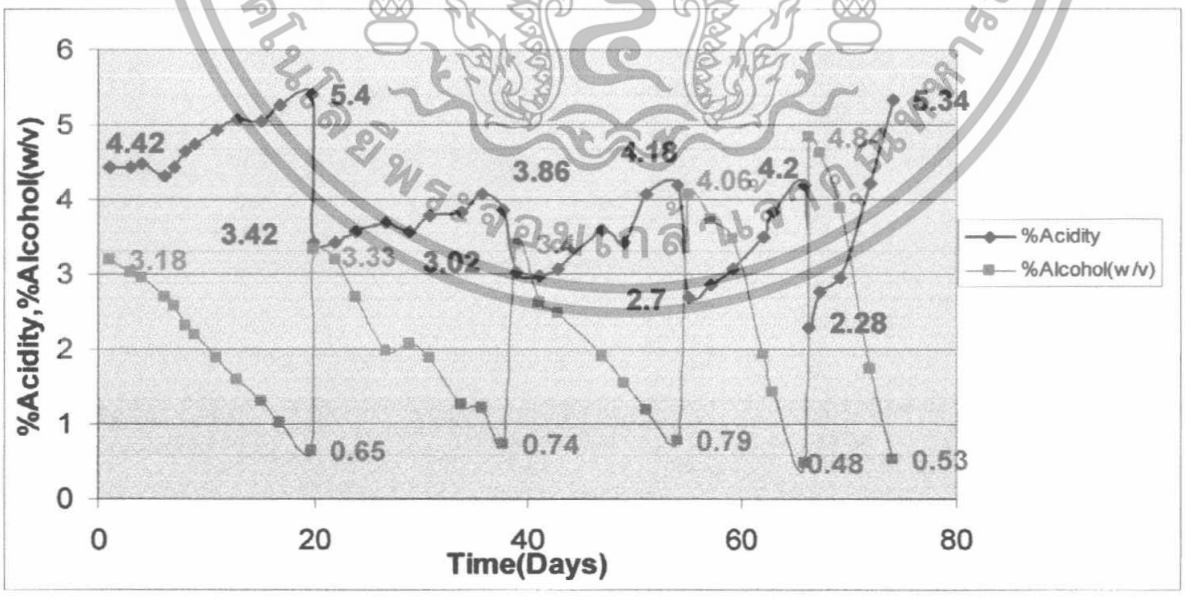
96461

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลของการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดจากเชื้อ *Acetobactor aceti สป.5* ในสภาวะการหมักปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% อย่างเดียว และเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ขึ้น

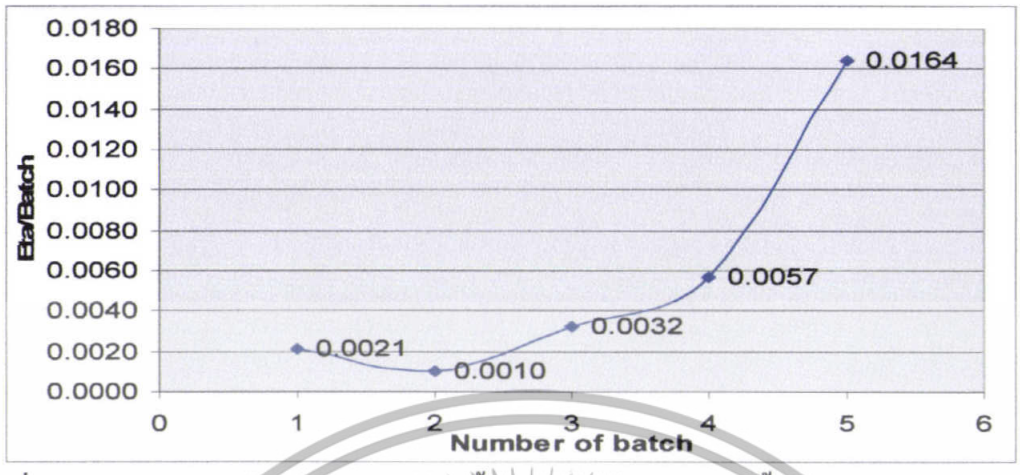
เพื่อศึกษาการผลิตกรดน้ำส้มสายชูของเชื้อ *Acetobactor aceti* สป.5 ให้คงที่ในสภาพการหมักแบบต่อเนื่อง ในถังหมัก STR (Stirred Tank Reactor) โดยมีสภาวะเริ่มต้นของปริมาณแอลกอฮอล์และกรด 3.5 และ 4.5เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการให้อากาศและการกวนตลอดเวลา เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 74 วัน จะพบว่าสามารถผลิตกรดน้ำส้มสายชูได้เพิ่มขึ้นตามปริมาณของแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้น คือ สามารถผลิตกรดได้ไม่เกิน 1.0 เปอร์เซ็นต์ จากปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5 และเพิ่มเป็น 1.5 และ 3.06 เปอร์เซ็นต์ จากปริมาณแอลกอฮอล์ 4.2 และ 5.34 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และปริมาณแอลกอฮอล์ที่เหลืออยู่ในน้ำส้มสายชู คือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.5

อัตราการผลิตกรดต่อการหมักในแต่ละครั้ง (ETA/batch) จากการหมักอย่างต่อเนื่อง 5 ครั้ง พบว่าอัตราการผลิตกรดคงที่ในช่วงแรกที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์เป็น 4.06 และ 5.34 อัตราการผลิตกรดต่อครั้งของการหมักสูงขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 4.6



ภาพที่ 4.5 การลดลงของแอลกอฮอล์และการเพิ่มขึ้นของกรดจากเชื้อ *Acetobactor aceti* สป.5 ตั้งแต่วันที่ 19/12/06 ถึงวันที่ 3/03/07 รวมระยะเวลาการหมัก 74 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 อัตราการผลิตกรดในแต่ละครั้งของการผลิตกรด จากเชื้อ *Acetobactor aceti* สป.5 จำนวน 5 ครั้งต่อเนื่องกัน

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดในสภาวะการปรับปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% และกรด 4.5% ของเชื้อ *Acetobactor aceti สป.5* พบว่าอัตราการผลิตกรดต่อการหมักแต่ละครั้ง (ETA/batch) ลดลง เชื้อไม่สามารถผลิตกรดได้ตามเป้าหมาย และมีแนวโน้มใช้เวลาในการหมักมากขึ้น

การผสมเชื้อ *Acetobactor aceti* ระหว่างสายพันธุ์สป.5 และ fring ในสภาวะการปรับปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% และกรด 4.5% พบว่าค่า ETA/batch และระยะเวลาในการหมักไม่แตกต่างจากการใช้สายพันธุ์สป.5 เพียงชนิดเดียว

ในสภาวะที่มีการปรับแอลกอฮอล์ 3.5% อย่างเดียว โดยไม่ปรับกรดทำการหมักด้วยเชื้อ *Acetobactor aceti* สป.5 พบว่าเชื้อสามารถผลิตกรดได้คงที่และค่า ETA/batch ไม่แตกต่างกัน เมื่อทำการเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ พบว่าเชื้อสามารถนำแอลกอฮอล์มาผลิตเป็นกรดได้มากขึ้นตามความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้น ค่า ETA/batch มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและใช้ระยะเวลาหมักสั้นลง

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรใช้ถังหมักที่มีประสิทธิภาพซึ่งสามารถควบคุมสภาวะต่างๆได้

5.2.2 ควรมีระบบการถ่ายน้ำหมักเข้าออกที่แน่นอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

"ความเป็นมาของน้ำส้มสายชู" [Online]. Available http://www.versatilevinegar.org "27/11/49"

บุษกร อุตรภิชาติ. 2547. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาวิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยทักษิณ

พรรณธิดา สุนทรพนเวศและวนิดา ปานอุทัย. 2548. การคงสภาพเชื้อ Acetobacter sp. สป.5 ในสภาพไม่สร้างเจลเพื่อการหมักน้ำส้มสายชูและการติดตามการสร้างน้ำส้มสายชูโดยอาศัยการวัดค่าพีเอชด้วยเครื่อง. ปริญญานิพนธ์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

มาลัย บุญรัตนกรกิจ.2548.วารสารเกษตรกรรมธรรมชาติ เรื่องน้ำส้มสายชูหมักแบบธรรมชาติ. บริษัทรุ่งเรืองสาส์น การพิมพ์ .กรุงเทพฯ.หน้า 21-50.

วราวุฒิ ครูส่ง และกรวิกา สุขศรีวงษ์. 2539. เทคโนโลยีชีวภาพ. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์

วราวุฒิ ครูส่ง และรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2532. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์

Adams, M. R. 1985. Vinegar. Microbiology of Fermented Foods. London : Elsevier Applied Science Publishers.

AOAC. 1995. Official methods of analysis of AOAC international. 16th ed. Association of Analysis Chemistry. Virginia.

De Ley, J. and J. Frateur. 1974. The Genus Acetobacter. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The Williams and Wilkin Co. Baltimore.

Gibbs, B.M. and D.A. Shapton. 1968. Identification Method for Microbiologist. Part B. New York : Academic Press.

Hesseltine, C.W. 1965. Industrial mycology. Mycologia. 57:177-179

Rao, M. R. R. 1957. Acetic Acid Bacteria. Ann. Review of Microbiol. 11 : 317-337

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

องค์ประกอบและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหาร Glucose Yeast Extract Broth (GYE Broth)

มีองค์ประกอบดังนี้

Glucose	100.00	กรัม
Yeast Extract	10.00	กรัม
Distilled water	1000.00	มิลลิลิตร

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 15 นาที

2. การคำนวณการเติมน้ำหมักในถัง STR

เริ่มระบบ 3.5%alc + 4.5%acid

↓ หมัก

แอลกอฮอล์เหลือ 0.5%

↓ feed ← 7%alc + 1%acid = 8%TC

$(10L \times 0.5\%alc_{\text{ที่เหลือ}}) + (V \times 7\%alc_{feed}) = (10L + V)3.5\%alc$

↓

Batch ถัดไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เริ่มระบบสภาวะภายใน 3.5%alc + 4.5%acid ปริมาตร 18 ลิตร โดยใช้เชื้อส.ป.5
หมักจนกระทั่งแอลกอฮอล์เหลือ 0.5%
ทำการดึงน้ำหมักออกมาให้ปริมาตรภายในเหลือไม่ต่ำกว่า 40% ของน้ำหมัก

น้ำหมัก (feed) มีสภาวะภายใน 7%alc + 1%acid = 8%TC

(ปริมาตรที่เหลือในถัง x 0.5%alc$_{ที่เหลือ}$) + (ปริมาตรของ feed x 7%alc$_{feed}$) = ปริมาตรรวม x เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์รวม

(10L x 0.5%alc$_{ที่เหลือ}$) + (V x 7%alc$_{feed}$) = (10L + V)3.5%alc

หมายเหตุ
ในการปรับสภาวะภายในถังหมักของBatchถัดไปจะปรับเฉพาะแอลกอฮอล์ให้ได้ 3.5%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช

วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้ Ebuliometer

1.1 การหาจุดเดือดของน้ำ

ล้าง Ebuliometer ให้สะอาดแล้วเติมน้ำให้ได้ปริมาตรที่ขีดไว้ตอนล่างของกระบอกตวง (25 มิลลิลิตร) โดยเติมในช่องที่เสียบเทอร์โมมิเตอร์ ใส่เทอร์โมมิเตอร์ไว้ตามเดิม จุดไฟตะเกียงแอลกอฮอล์ใส่ไว้ใต้เครื่อง รอประมาณ 8-9 นาที น้ำจะร้อนขึ้น เห็นปรอทของเทอร์โมมิเตอร์ขึ้นเมื่อน้ำเดือดและปรอทอยู่คงที่ อ่านค่าอุณหภูมิที่ได้จะเป็นจุดเดือดของน้ำ (ควรจะได้ใกล้เคียงกับ 100)

ข้อสังเกต ไม่ต้องเติมน้ำในส่วนคอนเดนเซอร์ข้างบนขณะที่หาจุดเดือดของน้ำ

1.2 การหาจุดเดือดของตัวอย่าง

เทน้ำออกแล้วใช้ตัวอย่างล้าง และเททิ้งให้หมด ตวงตัวอย่างด้วยกระบอกตวงโดยใช้ปริมาตรที่ขีดบน (50 มิลลิลิตร) เติมน้ำในคอนเดนเซอร์ จุดไฟตะเกียงแอลกอฮอล์สังเกตปรอทของเทอร์โมมิเตอร์เริ่มขึ้นสูงจนกระทั่งปรอทหยุดอยู่คงที่ อ่านค่าอุณหภูมิที่ได้

1.3 การอ่านค่าแอลกอฮอล์

อ่านค่าโดยใช้แป้นกลม หมุนปุ่มวงกลมให้จุดเดือดของน้ำตรงกับค่าแอลกอฮอล์ที่ 0 ดีกรี จากนั้นอ่านค่าจุดเดือดของตัวอย่างและค้านตรงข้ามจะเป็นค่าแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยวิธีนี้อ่านค่าได้โดยตรงโดยไม่ต้องปรับค่าของอุณหภูมิทำให้สะดวกและรวดเร็วขึ้น

Ebuliometer จะวัดค่าแอลกอฮอล์ได้แม่นยำในช่วงที่มีแอลกอฮอล์น้อยกว่า 5% ค่าอุณหภูมิที่อ่านได้ในช่วงที่เหมาะสมคือประมาณ 96-100 องศาเซลเซียส ถ้าตัวอย่างที่ต้องการหามีปริมาณแอลกอฮอลล์สูงควรจะเติมน้ำให้เจือจางลงมา เมื่ออ่านค่าได้แล้วจึงคำนวณกลับไปหาปริมาตรเดิมก่อนเติมน้ำ นอกจากนี้ตัวอย่างที่ใช้ควรจะมีน้ำตาลน้อยกว่า 2% จึงจะอ่านค่าได้ใกล้เคียงที่สุดและมีความผิดพลาดไม่เกิน 0.1%

Ebuliometer ควรจะต้องไม่มีคราบตะกอน โดยปกติเมื่อใช้หาตัวอย่างไปแล้วทุกๆ 50 ครั้ง ทำความสะอาดโดยต้มกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2% นาน 5-10 นาที แล้วล้างน้ำสะอาด และต้มด้วยน้ำเปล่าสองถึงสามครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 1995)

2.1 สารเคมี

2.1.1 น้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ เตรียมโดยนำน้ำกลั่นมาต้มเดือดเป็นเวลา 20 นาที

2.2.2 สารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH เตรียมจาก NaOH 4 กรัม ที่เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดแก้วที่กันคาร์บอนไดออกไซด์ได้ และเป็นแก้วทนด่าง ก่อนใช้ให้นำมาค่าความเข้มข้นมาตรฐานก่อน

2.2.3 สารละลายฟีนอล์ฟธาลีน (phenolphthalein) ชั่ง 1 กรัม ละลายในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร

<u>การหาความเข้มข้นมาตรฐาน</u>

การหาค่าความเข้มข้นมาตรฐานของ 0.1 N NaOH ทำได้โดยการชั่งโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต ซึ่งผ่านการอบ 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วนำมาชั่ง 0.3 กรัม เติมลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จึงเติมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ 90 - 100 มิลลิลิตร เมื่อโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต ($KHC_8H_4O_4$) ละลาย จึงเติมสารละลายฟีนอล์ฟธาลีน 3 หยด แล้วไตเตรทด้วยสารละลาย 0.1 N NaOH ความเข้มข้นมาตรฐานคำนวณได้จากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นมาตรฐาน (N)} = \frac{\text{กรัม } KHC_8H_4O_4 \times 1{,}000}{\text{มิลลิลิตร NaOH} \times 204.229}$$

2.2 วิธีวิเคราะห์

นำตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร มาเจือจางน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ เติมสารละลายฟีนอล์ฟธาลีน 3 หยด แล้วไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH จนกระทั่งถึงจุดยุติ (end point) สีชมพู แต่ถ้าตัวอย่างมีสีให้ใช้พีเอชมิเตอร์วัด โดยจุดยุติของสารละลายฟีนอล์ฟธาลีน คือ pH 8.6 ปริมาณกรดคำนวณเป็นกรดอะซิติดตามสูตร

$$\text{กรดทั้งหมด (กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)} = \frac{N \times V \times 60 \times 100}{1000 \times 1}$$

โดยกำหนด

N คือ ความเข้มข้นมาตรฐาน 0.1 N NaOH

V คือ จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวประกายแก้ว นาคยรรยงค์ เกิดเมื่อวันที่ 3 กันยายน พ.ศ. 2526 จังหวัดอ่างทอง ที่อยู่ปัจจุบัน 71/18 หมู่ 7 ต.อ่างแก้ว อ.โพธิ์ทอง จ.อ่างทอง สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมตอนปลายจากโรงเรียนอ่างทองปัทมโรจน์วิทยาคม พุทธศักราช 2544 ปัจจุบันศึกษาอยู่ที่โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีการหมัก)

นายสว่างพงษ์ เทวบัญชาประเสริฐ เกิดเมื่อวันที่ 2 มีนาคม พ.ศ. 2528 จังหวัดชุมพร ที่อยู่ปัจจุบัน 77/10 ต.ท่าตะเภา อ.เมือง จ.ชุมพร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมตอนปลายจากโรงเรียนศรียาไพร พุทธศักราช 2545 ปัจจุบันศึกษาอยู่ที่ โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีการหมัก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้