คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การผลิตน้ำส้มสายชูจากน้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนด้วยระบบการตรึงเซลล์ในถังหมัก STR

(Production of Vinegar from Baby Corn Blanching Water by Cell Immobilization in Stirred Tank Reactor)

จัดทำโดย

นางสาว นพรัตน์ แมนสรวง รหัสนักศึกษา 45040794

นาย วีรภัทร์ ลีไพบูลย์ รหัสนักศึกษา 45040814

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

.... 23 / มิ.ย. / 49 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(รองศาสตราจารย์.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

21092

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตน้ำส้มสายชูจากน้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนด้วยระบบการตรึงเซลล์ในถังหมัก STR

Production of Vinegar from Baby Corn Blanching Water by Cell Immobilization in Stirred Tank Reactor

T096744

จัดทำโดย

นางสาว นพรัตน์ แมนสรวง

นาย วีรภัทร์ ลิไพบูลย์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาศาสตร์วิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2548

ปพ.
น184ก
2548

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....96744
วัน,เดือน,ปี.....- 4 JUN 2009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นพรัตน์ แมนสรวง และ วีรภัทร์ ลิไพบูลย์. 2548 : การผลิตน้ำส้มสายชูจากน้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนด้วยระบบการตรึงเซลล์ในถังหมัก STR (Production of Vinegar from Baby Corn Blanching Water by Cell Immobilization in Stirred Tank Reactor).
โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
อาจารย์ที่ปรึกษา: รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนในถังหมัก STR ที่มีการกวน และให้อากาศอย่างต่อเนื่องโดยใช้เชื้อ *Acetobacter* sp. สป. 5 พบว่าน้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนเมื่อนำมาหมักเป็นไวน์เป็นเวลา 6 วัน ได้ปริมาณแอลกอฮอล์ 6.5 เปอร์เซ็นต์ และนำไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนที่ได้นั้นมาทำการหมักน้ำส้มสายชูต่อ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 32 วัน โดยแบ่งการผลิตออกเป็น 2 สภาวะ คือ การหมักแบบไม่ใช้ตัวตรึงเซลล์ กับแบบที่ใช้ใยบวบในการตรึงเซลล์ ซึ่งประสิทธิภาพการหมักมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย จากค่าปริมาณกรดอะซิติกที่วิเคราะห์ได้พบว่าการหมักแบบไม่ใช้ตัวตรึงเซลล์ ผลิตปริมาณกรดได้ 1.92 เปอร์เซ็นต์ และแบบที่ใช้ใยบวบในการตรึงเซลล์ ผลิตปริมาณกรดได้ 2.18 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทั้งสองสภาวะนั้นทำการผลิตกรดได้ในปริมาณที่ไม่สูงนักในระยะเวลาที่กำหนด

นพรัตน์ แมนสรวง
วีรภัทร์ ลิไพบูลย์
ลายมือชื่อนักศึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.วราวุฒิ ครูส่ง)
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

23 มี.ค. 49
วัน เดือน ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีนั้น เนื่องมาจากความกรุณาของ รศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่ให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำในวิธีการดำเนินงาน การแก้ไขปัญหาต่างๆ อีกทั้งยังเป็นธุระในการจัดหาอุปกรณ์และตัวอย่างที่ใช้ในการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้ รวมทั้งการตรวจทานแก้ไขปัญหาพิเศษฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ทางผู้จัดทำรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาที่ท่านได้ให้แก่ผู้จัดทำในครั้งนี้ ผู้จัดทำต้องขอกราบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ครอบครัวแมนสรวง และครอบครัวลิไพบูลย์ ที่ได้คอยให้กำลังใจและสนับสนุนในทุกๆ ด้านเพื่อให้การทำปัญหาพิเศษฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

และนอกจากนี้ ยังมีบุคคลหลายท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ให้ปัญหาพิเศษสำเร็จลุล่วงได้

ขอขอบพระคุณอาจารย์สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา ที่ให้คำแนะนำ ข้อมูล เอกสารต่างๆ และความช่วยเหลือในปัญหาพิเศษ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ คุณอัสนี ที่คอยช่วยเหลือ ให้คำชี้แนะ เรื่องการใช้อุปกรณ์ วิธีการทดลอง รวมไปถึงพี่เจ้าหน้าที่ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการเบิกอุปกรณ์เครื่องใช้ สารเคมีในการดำเนินการ

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยช่วยเหลือในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ตลอดจนให้กำลังใจ มีน้ำใจ และเอาใจใส่เสมอมา โดยเฉพาะ นายเอกรัตน์ อุ่มบางตลาดที่คอยช่วยเหลือ และให้กำลังตลอดจนเสียสละเวลา ผู้จัดทำตลอดเวลาในทุกๆ เรื่อง

สุดท้ายนี้ประโยชน์ ความรู้และคุณค่าที่ได้จากปัญหาพิเศษฉบับนี้ ทางผู้จัดทำหวังว่าคงมีประโยชน์ต่อทุกท่าน

ผู้จัดทำ
นพรัตน์ แมนสรวง
วีรภัทร์ ลิไพบูลย์
16 มีนาคม 2549

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญภาพ	จ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน	3
2.2 เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*	4
2.3 ขั้นตอนการหมักไวน์	4
2.4 เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter* sp.	5
2.5 ขั้นตอนการหมักน้ำส้มสายชู	7
2.6 การพัฒนาการหมักน้ำส้มสายชู	8
2.7 การหมักน้ำส้มสายชูโดยวิธีการตรึงเซลล์จุลินทรีย์	10
2.8 บวบ และใยบวบ	14
2.9 ถังหมักที่มีระบบการกวนและการให้อากาศแบบ STR	15
3. อุปกรณ์และวิธีการ	16
4. ผลการทดลองและวิจารณ์	21
5. สรุปผลการทดลอง	27
บรรณานุกรม	29
ภาคผนวก ก : องค์ประกอบและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	32
ภาคผนวก ข : วิธีวิเคราะห์ทางเคมี	34
ภาคผนวก ค : ข้อมูล	36
ประวัติผู้เขียน	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ภาคผนวก ค

1 ผ. : ผลการผลิตแอลกอฮอล์ในการผลิตไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน ด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* M 30 โดยทำการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 วัน 36

2 ผ. : ผลการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนด้วยเชื้อ *Acetobacter* sp. สป.5 ปริมาณร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก แบบไม่ใช้ตัวตรึง ในถังหมักระบบ STR ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 32 วัน 37

3 ผ. : ผลการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนด้วยเชื้อ *Acetobacter* sp. สป.5 ปริมาณร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก แบบใช้ตัวตรึงใยบวบในถังหมัก STR ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 32 วัน 38

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	รูปแบบการตรึงเซลล์	11
2.2	ใยบวบที่นำมาใช้	14
2.3	Stirred Tank Reactor (ก) The basic stirred tank reactor และ (ข) Diagram of stirred tank reactor	15
4.1	ผลของการผลิตไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน ด้วยเชื้อ S. *cerevisiae* M 30 โดยทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 6 วัน	21
4.2	ผลของการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน ในสภาวะการหมักแบบ batch โดยไม่ใช้ตัวตรึงเซลล์ ในระยะเวลา 32 วัน	22
4.3	ผลการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน ในสภาวะการหมักแบบ batch โดยใช้ตัวตรึงเซลล์ใยบวบ	23
4.4	ผลการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน ในระยะเวลาที่ทำการทดลอง 35 วัน (ก) แบบไม่ใช้ตัวตรึงเซลล์ และ (ข) แบบใช้ตัวตรึงเซลล์ ใยบวบ	24
4.5	ชุดอุปกรณ์ที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชู	25
4.6	ฝาถัง STR ที่มีการต่อท่อให้อากาศ	25
4.7	สภาพการหมักแบบไม่มีใยตรึงเซลล์	26
4.8	สภาพการหมักแบบมีใยบวบเป็นตัวตรึงเซลล์	26

มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

น้ำส้มสายชู (vinegar) หรือ กรดอะซิติก (acetic acid) เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการหมัก โดยเฉพาะการหมักในสภาพของอาหารเหลวโดยอาศัยการเปลี่ยนวัตถุดิบพวกน้ำตาลให้เป็นการหมักแอลกอฮอล์ก่อนด้วยการใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* แล้วตามด้วยการหมักในสภาพที่มีอากาศซึ่งเกิดจากการทำงานของเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Acetobacter* sp.ทำให้เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในไวน์ให้เป็นกรดอะซิติก

การผลิตน้ำส้มสายชูในถังหมักสเตนเลสที่มีใบพัดกวน หรือที่เรียกว่า ถังหมัก STR (Stirred Tank Reactor) โดยการหมักเติมแอลกอฮอล์และสารอาหารที่ช่วยให้เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter* sp. สามารถเจริญ พร้อมทั้งมีการปรับสภาพกรดด่างให้เหมาะสม กับการเจริญของจุลินทรีย์ในระหว่างการหมัก โดยที่มีการให้อากาศและใช้ใบพัดกวนเพื่อให้อากาศกระจายได้อย่างทั่วถึง เป็นผลทำให้ปริมาณออกซิเจนละลายในแอลกอฮอล์ได้มากและกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอได้ดี ทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญและสร้างกรดได้ทั่วทุกจุดในถังหมัก การผลิตดำเนินไปได้อย่างรวดเร็วและสามารถผลิตกรดได้ในปริมาณมาก ถือเป็นวิธีการที่ใช้ทั่วไปในการผลิตน้ำส้มสายชูกลั่น

เซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกตรึง (Immobilized cells) คือ เซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกจำกัดขอบเขตไว้เพื่อไม่ให้สูญเสียความสามารถในการเป็นตัวเร่งและสามารถใช้ได้หลายครั้งอย่างต่อเนื่อง โดยเซลล์ที่ถูกตรึงนั้นอาจอยู่ในสภาพกำลังเจริญ อยู่ในระยะพัก หรือตายแล้วก็เป็นได้ การใช้เซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกตรึงนั้นได้มีการใช้และศึกษามาเป็นเวลานานแล้ว โดยเฉพาะการผลิตน้ำส้มสายชูอย่างรวดเร็ว (Quick vinegar) ด้วยฟิล์มเชื้อที่ติดบนเศษไม้เลื่อย ซึ่งถือว่าเป็นวิธีที่ใช้ตัวตรึงเข้ามาเกี่ยวข้องในระบบเพื่อตรึงเซลล์เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter* sp. ให้เจริญและเกาะที่ใยตรึงนั้นสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ในการผลิตน้ำส้มสายชูครั้งต่อไปได้อีกหลายครั้ง เพื่อการประหยัดต้นทุนด้านหัวเชื้อเริ่มต้น และปริมาณการผลิต คุณภาพของการผลิตแต่ละครั้งก็จะมีความสม่ำเสมอกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ขอบเขตของการวิจัย

ปัญหาพิเศษนี้เป็นการศึกษาอัตราการผลิตน้ำส้มสายชูโดยการตรึงเซลล์เชื้อน้ำส้มสายชู *Acetobacter* sp. สายพันธุ์ สป.5 บนวัสดุตัวกลางที่ใช้เป็นเส้นใยธรรมชาติ คือ ใยบวบ หมักในถังหมักสเตนเลสที่มีใบพัดกวน STR โดยใช้น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนในการผลิตเป็นไวน์ซึ่งใช้ในการผลิตกรดน้ำส้มสายชูต่อไป เพื่อให้ได้ผลผลิตเป็นกรดน้ำส้มสายชูมีปริมาณกรดสูง

1.3 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนในถังหมักระบบ STR
2. เพื่อเปรียบเทียบการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน ในถังหมักระบบ STR ระหว่างแบบที่ใช้และไม่ใช้ตัวตรึงเซลล์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน

ข้าวโพดฝักอ่อน (baby corn หรือ young ear corn) นับว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญอย่างมาก โดยเฉพาะในวงการด้านอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งสามารถนำข้าวโพดฝักอ่อนมาแปรรูปได้ทั้งในอาหารกึ่งสำเร็จรูปและอาหารสำเร็จรูปในลักษณะต่างๆ การใช้ประโยชน์ของข้าวโพดฝักอ่อนเริ่มจากการใช้ฝักสดนำมาปรุงอาหาร พบว่ามีลักษณะและรสชาติที่ดี รสหวาน กรอบ กลิ่นหอมน่ารับประทาน ทำให้มีผู้บริโภคหันมานิยมมากขึ้น (กรมวิชาการเกษตร, 2524) จนทำให้ปริมาณการผลิตเพิ่มมากขึ้นจนเกินกว่าที่ตลาดจะรองรับได้หมด จึงหันมาส่งเสริมการทำสินค้าส่งออกไปจำหน่ายในต่างประเทศและภายในประเทศในรูปของข้าวโพดฝักอ่อนบรรจุกระป๋อง ในประเทศต่างๆ เช่น ญี่ปุ่น เยอรมัน สหรัฐอเมริกา และเนเธอร์แลนด์ เป็นต้น (กองบรรณาธิการเฉพาะกิจเกษตรกรรม.,2530)

มาตรฐานข้าวโพดฝักอ่อนสำหรับในการส่งโรงงานเพื่อการแปรรูปส่งออก เป็นข้าวโพดฝักอ่อนบรรจุกระป๋อง ได้กำหนดลักษณะข้าวโพดฝักอ่อนที่ทำการปอกเปลือกแล้วควรมีลักษณะดังนี้

1. ฝักอ่อนสมบูรณ์ไม่หัก โดยเฉพาะปลายฝัก ไม่บิดเบี้ยว คด หรืองอ
2. ฝักยาวที่สุดประมาณ 9 เซนติเมตร
3. ฝักสั้นที่สุดประมาณ 4 เซนติเมตร
4. ฝักอ้วนที่สุดมีเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 1.5 เซนติเมตร เล็กที่สุดไม่ต่ำกว่า 1 เซนติเมตร
5. ฝักต้องสดไม่เก็บไว้นานจนเหี่ยวแห้ง หรือแช่น้ำมาก่อน
6. สีของฝักมีสีเหลืองหรือสีครีม
7. การเรียงของไข่ปลา ไม่แยกเป็นร่อง

จากการนำน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนมาวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการได้สามารถพบว่า น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน มีส่วนประกอบที่เป็นแหล่งของคาร์บอนและไนโตรเจน เช่น กรดแลกติก น้ำตาลรีดิวซ์ และสารประกอบโพลีแซกคาไรด์ รวมไปถึงส่วนประกอบอื่นๆ อีก (สมใจ,2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

ยีสต์ คือ เชื้อจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการหมักไวน์ เป็นสิ่งมีชีวิตจำพวกรา เป็นลักษณะเซลล์เดี่ยว มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อที่เรียกว่า budding ยีสต์มีประโยชน์ในการนำมาผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น เบียร์ ไวน์ นอกจากนี้ยังใช้ผลิตผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ และจุลิทรีย์โปรตีนได้อีกด้วย

ยีสต์ที่ใช้นิยมหมักไวน์เป็นยีสต์ในสกุล *S. cerevisiae* มีหลายสายพันธุ์ ได้แก่ montrachet, champagne, sherry, ellipsoideus ยีสต์เหล่านี้สามารถหมักได้อย่างรวดเร็ว ให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงและทนทานต่อสภาวะแวดล้อม เช่น ดีกรีแอลกอฮอล์ อุณหภูมิ และกรดด่าง เป็นยีสต์ที่เจริญที่ก้นภาชนะ เพราะหลังหมักไวน์จะทำให้ไวน์ใส สามารถแยกตะกอนออกได้ง่าย ยีสต์ที่จะนำมาใช้ควรเป็นยีสต์ที่มีความบริสุทธิ์ ทนต่อปริมาณแอลกอฮอล์สูง ใช้น้ำตาลได้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถรวมตัวและตกตะกอนได้หลังสิ้นสุดการหมัก โดยทั่วไปนิยมใช้ 3 รูปแบบ คือ ยีสต์ผง ยีสต์น้ำ และยีสต์สด

ยีสต์ถือว่ามีบทบาทสำคัญไม่น้อยไปกว่าชนิดของผลไม้เพราะยีสต์นอกจากมีหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลในน้ำผลไม้ให้เป็นแอลกอฮอล์แล้ว ยังทำหน้าที่ผลิตสารหอมระเหยบางชนิดออกมาด้วยทำให้ได้กลิ่นและรสชาติที่เฉพาะ ได้ไวน์ที่มีรสกลมกล่อม ไวน์ประเภทเดียวกันที่ผลิตจากบริษัทที่ต่างกัน จะได้ไวน์ที่มีรสชาติไม่เหมือนกัน อันเนื่องมาจากสายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้ในการแตกต่างกัน (ประดิษฐ์, 2546)

ยีสต์ *S. cerevisiae* M 30 เป็นยีสต์สายพันธุ์ซึ่งตกตะกอนเมื่อมีการเจริญเติบโต (ประพันธ์, 2531) ซึ่งมีการกล่าวว่า ลักษณะเซลล์ของยีสต์ในขณะที่ตกตะกอน จะมีโครงสร้างบางอย่างยื่นออกมาจากผิวเซลล์ทำให้เกิดการรวมตัวกันเป็นกลุ่มเซลล์เรียกว่า clumps หรือ flocs จากลักษณะเฉพาะดังกล่าว นี้มีผลต่อไวน์เนื่องจากสามารถกรองเอาแต่ส่วนใสออกไปได้ง่ายขึ้น

2.3 ขั้นตอนการหมักไวน์

การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยเชื้อยีสต์ ในระหว่างการหมักไวน์ต้องเป็นสภาพที่ไร้อากาศ (anaerobic condition) ซึ่งยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลที่มีในน้ำหมักให้เป็นแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ ดังสมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow[\text{Enzyme}]{\text{Yeast}} 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

Glucose　　　　　　　　　Ethyl alcohol

ในระหว่างการหมัก 2-3 วันแรก น้ำตาลจะลดลงอย่างรวดเร็ว ส่วนอุณหภูมิของน้ำหมักและปริมาณแอลกอฮอล์จะสูงขึ้น นั่นคือการทำงานของเชื้อยีสต์ที่เป็นกล้าเชื้อทำงาน สารแทนนิน รงควัตถุจะถูกสกัดออกมา พร้อมกับเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (วราวุฒิ และรุ่งนภา, 2532)

2.4 เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter* sp.

2.4.1 คุณสมบัติทั่วไปของ Acetobacter sp.

เซลล์ของ *Acetobacter* sp. มีหลายลักษณะ (pleomorphic) ปกติพบรูปร่างค่อนข้างรีจนกระทั่งเป็นท่อนชัดเจน ขนาดกว้างประมาณ 0.6-0.8 ไมครอน ยาวประมาณ 1.0-3.0 ไมครอน อาจพบเป็นเซลล์เดี่ยว จับเป็นคู่ๆหรือต่อกันเป็นลูกโซ่ บางครั้งซลล์รูปร่างแปลกออกไปจากที่กล่าวมา เช่น กลม หรือยืดยาวออก บวม รูปทรงกระบอก บางชนิดมีแฟลกเจลลารอบเซลล์ (peritrichous flagella) ทำให้สามารถเคลื่อนที่ได้ (De Ley and Frateur, 1974b)

เมื่อย้อมสีพบว่าเซลล์ *Acetobacter* sp. ในระยะแรกมีของการเจริญติดสี Gram negative เมื่อมีอายุมากขึ้นจะติดสี Gram variable ไม่พบการสร้างสปอร์ภายในเซลล์ (endospore) เมื่อเซลล์อยู่รวมกลุ่มมากๆ อาจมีสีชมพู จากอิทธิพลของ porphyrins (De Ley and Frateur, 1974b)

Acetobacter sp. ต้องการอากาศในการดำรงชีวิต (obligate aerobes) เนื่องจากไม่สามารถใช้สารอื่นนอกจากออกซิเจนเป็นตัวรับไฮโดรเจนตัวสุดท้ายในกระบวนการเปลี่ยนอาหารเป็นพลังงาน (De Ley and Frateur, 1974b) จึงมักพบว่าในถังหมักน้ำส้มสายชูซึ่งไม่มีการพ่นอากาศเชื้อน้ำส้มจะเจริญที่ผิวหน้ามองเห็นเป็นแผ่นฝ้า (film) (Adams, 1980;Corner and Allgeier, 1976)

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของ *Acetobacter* sp. ส่วนใหญ่จะเจริญได้ดีที่ตั้งแต่ 15 – 34 องศาสเซลเซียส ชอบ pH ค่อนข้างต่ำ พบว่าเจริญที่ pH 4.0 – 4.5 และเจริญได้ดีที่ pH 5.4 – 6.3 (De Ley and Frateur, 1974b)

2.4.2 การออกซิไดส์เอทธานอลเป็นกรดอะซิติก

Cornner and Allgeries (1976) ได้สรุปรายงานเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงเอทธานอลเป็นกรดอะซิติก ดังนี้

ขั้นที่ 1 เกิดการออกซิไดส์เอทธานอลเป็นอะซีตัลดีไฮด์ โดยใช้เอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส ดังสมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\underset{\text{Ethanol}}{CH_3CH_2OH} + O \longrightarrow \underset{\text{Acetaldehyde}}{CH_3CHO} + H_2O \qquad (1)$$

ขั้นที่ 2 เป็นการสร้างกรดอะซิติกจากอะซีตัลดีไฮด์ ปฏิกิริยาแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกอะซีตัลดีไฮด์รวมกับน้ำเป็นไฮดรตเตตระอะซีตัลดีไฮด์ (Hydrated acetaldehyde) ดังสมการที่ 2 จากนั้นเกิดปฏิกิริยาขั้นที่ 2 เป็นไฮดรตเตตระอะซีตัลดีไฮด์ถูกออกซิไดส์หรือดีไฮโดรจีเนท เป็นอะซิติกโดยเอนไซม์อะซีตัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส (Acetaldehydehydrogenase) ทำให้โปรตอน 2 ตัวของไฮดรตเตตระอะซีตัลดีไฮด์ ถูกส่งผ่านไปยังอะตอมของออกซิเจน ดังสมการที่ 3

$$\underset{\text{Acetaldehyde}}{CH_3CHO} + H_2O \longrightarrow \underset{\text{Hydrated acetaldehyde}}{CH_3C(H)(OH)(OH)} \qquad (2)$$

$$\underset{\text{Hydrated acetaldehyde}}{CH_3C(H)(OH)(OH)} + O \longrightarrow \underset{\text{Acetic Acid}}{CH_3COOH} + H_2O \qquad (3)$$

เมื่อเติมแคลเซียมซัลไฟด์ (calcium sulfide) หรือแคลเซียมไบซัลไฟด์ (calcium bisulfide) ซึ่งสามารถจับกับอัลดีไฮด์ได้ดังสมการที่ 4 ลงในถังหมักน้ำส้มสายชู ตรวจพบว่าไม่มีกรดอะซิติกเพิ่มขึ้น เป็นการยืนยันว่าอะซีตัลดีไฮด์ที่สร้างสมการที่ 1 เป็นสารตัวกลาง (intermediate) ในการเกิดกรดอะซิติก

$$2CH_3CHO + Ca(HSO_3)_2 \longrightarrow 2CH-\overset{O-H}{\underset{H}{C}}\,SO_3Ca^{1/2} \qquad (4)$$

อะซีตัลดีไฮด์อาเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกได้อีกแนวทางหนึ่ง โดยอะซีตัลดีไอด์ 2 โมเลกุลจากสมการที่ 1 ทำปฏิกิริยากันเองได้กรดอะซิติกและเอทธานอลดังสมการที่ 5 ซึ่งเยกว่าปฏิกิริยาแคนนิซซาโร (Cannizaro reaction) ส่วนเอทธานอลที่เกิดขึ้นจะเข้าสู่สมการที่ 1 อีกเป็นวัฏจักรจนกระทั่งกลายเป็นอะซิติกทั้งหมด ซึ่งในทางทฤษฎีพบว่า เอทธานอล 1 กรัม สามารถเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกได้ 1.31 กรัม (Adams,1985)

$$\underset{\text{Acetaldehyde}}{CH_3CHO} + CH_3CHO \xrightarrow{H_2O} \underset{\text{Acetc acid}}{CH_3COOH} + \underset{\text{Ethanol}}{CH_3CH_2OH} \qquad (5)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 เมตาบอลิซึมของคาร์บอนและพลังงาน

Cornner and Allgeries พบว่า *Acetobacter aceti* สามารถใช้กลูโคสได้อย่างสมบูรณ์ โดยที่ 80 เปอร์เซ็นต์ของกลูโคสจะถูกเปลี่ยนเป็นกลูโคเนท ละใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานสะสม 20 เปอร์เซ็นต์ ตามวิถีเฮกโซไคเนส (hexocinase pathway) ในวัฏจักรเฮกโซสโมโนฟอสเฟต (hexose monophosphate cycle) ส่วนน้ำตาลอื่น เช่น กาแลกโตส ไซโลส อะราบิโนส แลพไรโบส จะถูกออกซิไดส์เป็นกรดที่เกี่ยวข้องได้ แต่น้ำตาลเหล่านี้เป็นแหล่งคาร์บอนที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของน้ำส้มสายชูส่วนใหญ่ ถึงแม้ว่า *Acetobacter* sp. สามารถเปลี่ยนน้ำตาลชนิดต่างๆ เป็นกรดที่เกี่ยวข้องได้ แต่พบว่าไม่มีวัฏจักรกรดไตรคาร์บอกซิลิก (tricarboxylic acid cycle) ในเชื้อน้ำส้มสายชูหลายชนิด (Rao,1957; Cornner and Allgeries,1976)

2.4.4 เมตาบอลิซึมของไนโตรเจน

เชื้อน้ำส้มสายชูสามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนจากอนินทรีย์ไนโตรเจนได้เริ่มจากการสังเคราะห์กลูตาเมทโดยเอนไซม์กลูตามิกดีไฮโดรจีเนส (glutamic dehydrogenase) ทำปฏิกิริยากับแอมโมเนีย และ 2-ออกซิกลูตาเรท (2-oxyglutarate) ซึ่งเกิดวัฏจักรกรดไตรคาร์บอกซิลิกได้กลูตาเมท ส่วนการสังเคราะห์แอล-กลูตาเมท และออกซาโลอะซิเตท และคาดว่ากรดอะมิโนอื่นๆ อาจเกิดขึ้นโดยวิธีการคล้ายกันนี้ (Rainbow,1996)

2.5 ขั้นตอนการหมักน้ำส้มสายชู

น้ำส้มสายชู (vinegar) หรือ กรดอะซิติก (acetic acid) เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการหมัก โดยเฉพาะการหมักในสภาพของอาหารเหลวโดยอาศัยการเปลี่ยนวัตถุดิบพวกน้ำตาลให้เป็นการหมักแอลกอฮอล์ก่อนด้วยการใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* แล้วตามด้วยการหมักในสภาพที่มีอากาศซึ่งเกิดจากการทำงานของเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Acetobacter* ทำให้เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในไวน์ให้เป็นกรดอะซิติก

วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชูสามารถใช้ได้หลายชนิด กรณีที่สับสเตรทมีปริมาณน้ำตาลน้อยอาจต้องมีการเติมหรือทำให้เข้มข้นขึ้น เช่น น้ำสกัดจากผลไม้ หรือหากสับสเตรทมีปริมาณน้ำตาลมาก เช่น กากน้ำตาล ต้องมีเจือจางลงให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม เพื่อให้ได้เอทธานอลในปริมาณที่ต้องการ แต่ถ้าสับสเตรทเป็นพวกแป้ง เช่น ธัญพืช ต้งการเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของน้ำตาลก่อนโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ หรือไฮโดรไลซ์ด้วยกรด โดยทั่วไปมักปรับปริมาณความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้นที่ประมาณ 10 – 15 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) และปรับ pH ให้ค่อนข้างเป็นกรด ประมาณ 4.5 แล้วปล่อยให้ยีสต์ทำการหมัก ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเซียส การหมักจะเสร็จใน 48 – 72 ชั่วโมงได้เป็นแอลกอฮอล์ จึงหมักด้วยต่อด้วยเชื้อน้ำส้มสายชู พร้อมการให้อากาศเป็นสำคัญ (Adams,1985)

2.6 การพัฒนาการหมักน้ำส้มสายชู

กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูสามารถผลิตได้หลายวิธี วิธีที่เป็นดั้งเดิมนั้นเป็นวิธีเรียกว่า “ปล่อยทิ้งเฉยๆ” การผลิตทำโดยบรรจุแอลกอฮอล์ลงในถังหมักประมาณค่อนถัง แล้วทิ้งไว้ให้เกิดการสร้างกรดเอง โดยให้มีการถ่ายเทอากาศได้สะดวก การเจริญของจุลินทรีย์ *Acetobacter* sp. ในแอลกอฮอล์ จะสังเกตได้จากการมีฝ้าขาวหรือฟิล์มบนผิวหน้าของแอลกอฮอล์ กระบวนการนี้ทำเป็นแบบที่ทำได้ทีละครั้ง คือ เมื่อหมักแอลกอฮอล์ ให้ได้กรดอะซิติกจนมีความเข้มข้นที่ต้องการแล้ว ก็จะต้องหยุดทำการล้างถังหมัก แล้วค่อยบรรจุแอลกอฮอล์เพื่อเริ่มหมักใหม่อีก ดังนั้นจุลินทรีย์จะต้องสร้างฟิล์มทุกครั้งที่ทำการหมัก ซึ่งจะต้องใช้สารอาหารเพื่อการเจริญเติบโตและสร้างฟิล์มและใช้เวลามาก นอกจากนี้การทำเช่นนี้มีโอกาสปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการมากและไม่ค่อยมีประสิทธิภาพ

ได้มีการปรับปรุงแก้ไขการหมักให้มีประสิทธิภาพในการผลิต มีการพัฒนาสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ให้ได้สายพันธุ์ที่สร้างกรดได้มากและยังสามารถทนกรดในปริมาณสูงได้ นอกจากนี้ในทางกระบวนการผลิตได้นำกระบวนการผลิตที่เรียกว่ากระบวนการ โอลีน (Orlean process) โดยใช้หลักการทำการหมักให้ได้กรดในระดับที่ต้องการ แล้วทำการถ่ายน้ำส้มสายชูออกไปบางส่วนก่อนที่จะเติมแอลกอฮอล์เพิ่มโดยไม่ให้มีการกระเทือนฟิล์มที่ลอยอยู่บนผิวหน้า

การผลิตแบบโอลีนก็ยังช้าอยู่ เนื่องจากพื้นที่ผิวหน้าของแอลกอฮอล์ที่มีเชื้อ *Acetobacter* sp. สัมผัสกับอากาศมีอยู่จำกัด จึงได้พัฒนาระบบเพื่อเพื่อการสัมผัสอากาศนั้น โ ดยการนำเอาวัสดุซึ่งเชื้อ *Acetobacter* sp. สามารถเกาะอยู่ เช่น เศษไม้องุ่น ซังข้าวโพด หรือขี้กบจากไม้ชนิดต่างๆมาใส่ลงในถังหมักอย่างหลวมๆ ให้อากาศสามารถผ่านได้ เมื่อจุลินทรีย์ *Acetobacter* sp. เกาะอยู่บนเศษไม้แล้วค่อยๆ เทแอลกอฮอล์ผ่านลงบนเศษไม้ที่มีจุลินทรีย์เกาะ แอลกอฮอล์ที่เทลงไปจะไหลผ่านไปบนเศษไม้ที่มีจุลินทรีย์เกาะอยู่ จุลินทรีย์ใช้แอลกอฮอล์และเปลี่ยนให้เป็นกรดอะซิติก วิธีนี้เรียกว่า “Quick vinegar process” ซึ่งได้มีการเริ่มใช้มาตั้งแต่ปี ค.ศ.1830 สามารถผลิตกรดอะซิติกได้ในลักษณะแบบต่อเนื่อง ทำให้ได้น้ำส้มสายชูในปริมาณที่มากขึ้น และใช้เวลาในการผลิตน้อยลง

ในปัจจุบันการผลิตน้ำส้มสายชูทำในถังหมักแบบที่ให้เชื้อจุลินทรีย์ผสมรวมกันอยู่กับอาหาร (แอลกอฮอล์) การผลิตวิธีนี้สามารถผลิตน้ำส้มสายชูปริมาณ 750-1250 ลิตรต่อวัน การผลิตทำในถังสแตนเลส (Stainless fermenter) ที่มีใบพัด หมักโดยใส่แอลกอฮอล์และสารอาหารที่ช่วยให้เชื้อ *Acetobacter* sp. สามารถเจริญ พร้อมทั้งปรับสภาพกรดด่างให้เหมาะสม ในการเจริญของจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักจะทำการให้อากาศ และใช้ใบพัดกวนเพื่อให้อากาศกระจายไปทั่ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทำเช่นนี้จะทำให้ปริมาณออกซิเจนละลายในแอลกอฮอล์ได้มากและทั่วถึง ทำให้จุลินทรีย์สามารถสร้างกรดได้ทุกจุดในถังหมัก การผลิตจึงดำเนินไปอย่างรวดเร็วและสามารถผลิตได้ในปริมาณมากๆ ด้วย โดยทั่วไปจะใช้วิธีผลิตแบบนี้กับการผลิตน้ำส้มสายชูกลั่น (สุเมธ, 2536)

ปัญหาของการผลิตมักเกิดจากระบบควบคุมอัตโนมัติ (Adams, 1985) ได้แก่ การขัดข้องของระบบควบคุมอุณหภูมิ การให้อากาศ และการกวน เป็นต้น การขัดข้องของระบบให้อากาศมีผลรุนแรงมาก ส่วนปัญหาของการผลิตที่เคยพบในประเทศไทยได้แก่มีการขัดข้องทางกระแสไฟฟ้าทำให้ระบบควบคุมอัตโนมัติหยุดการทำงานในช่วงเวลาเพียง 5 นาที เชื้อน้ำส้มสายชูในถังหมักตายลงอย่างรวดเร็วและไม่สามารถดำเนินการผลิตต่อไปได้ ซึ่งต้องปรับปรุงให้มีระบบไฟฟ้าสำรองซึ่งจะทำงานทันทีโดยอัตโนมัติเมื่อมีการขัดข้องทางกระแสไฟฟ้า

การเปรียบเทียบปัจจัยต่างๆในการผลิตน้ำส้มสายชูโดยเจนเนอเรเตอร์และอะซิเตอร์ พบว่าอะซิเตเตอร์มีอัตราการผลิตสูงกว่าถึง 10 เท่า ประสิทธิภาพการเปลี่ยนเอทธานอลเป็นกรดอะซิติกสูงถึง 94 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เจนเนอเรเตอร์มีประสิทธิภาพเพียง 85 เปอร์เซ็นต์ (Conner and Allgeier, 1976) วิธีการใช้และควบคุมการหมักของอะซิเตเตอร์ง่ายและเหมาะสมต่อระบบ โรงงานเนื่องจากต้องการคนงานและพื้นที่น้อยกว่าเจอเนอเรเตอร์ครึ่งหนึ่ง แต่ข้อเสียเปรียบของอะซิเตเตอร์คือต้นทุนการผลิตสูงเนื่องจากต้องการใช้พลังงานสูง เมื่อมีการขัดข้องเกี่ยวกับระบบควบคุมอัตโนมัติจะได้รับความเสียหายสูงมาก และน้ำส้มสายชูที่ผลิตโดยอะซิเตเตอร์ขุ่นมากจึงต้องมีขั้นตอนทำให้ใสที่ดี (Ebner et. al. ,1967; Adams, 1985)

ตัวอย่างการผลิตน้ำส้มสายชูในแบบ Submerged Fermentation ที่สำคัญ คือ ถังหมัก Frings Acetator โดยการหมักน้ำส้มสายชูของ Frings นั้นมีการใช้ระบบการกวนและการให้อากาศภายในถังหมัก เป็นการกวนและการให้อากาศดีผสมกันจากทางด้านล่างของถังภายในตัวเดียวกันที่เรียกว่า self aspiration โดยไม่ต้องใช้การพ่นให้อากาศ (compressed air) โดยมีการหมุนรอบความเร็วรอบที่ 1450 หรือ 1750 rpm ถือว่ามีอัตราการกวนที่สูงมาก อากาศจะผ่านจากท่อกลวงตรงกลางของ rotor โดยต่อกับ air suction pipe ปริมาณอากาศที่น้ำหมักได้รับขึ้นอยู่กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ rotor และเกิดการผสมกันที่ดีระหว่างของเหลวและอากาศขึ้นอยู่กับความเร็วที่ใช้ในการกวน โดยที่สภาพน้ำหมักเริ่มต้นที่ผสมของ 7.5 acetic acid/100 ml และ 5.5 vol.% ethanol สามารถผลิต acetic acid ได้สูงถึง 15 acetic acid/100 ml (Gerald, 1982)

การผลิตน้ำส้มสายชูแบบ Submerged Fermentation วิธีอื่นๆ มีดังนี้คือ

Yeoman's Cavitator ลักษณะส่วนมากคล้ายอซิเตเตอร์ แตกต่างเพียงหลักการให้อากาศของเหลวและอากาศถูกส่งเข้าสู่ท่อที่มีการกวนแล้วปล่อยลงกลางถังหมักต่อเนื่อง ทำให้เกิดแรงกดดันขึ้น ของเหลวและอากาศที่ผสมกันในท่อแล้วผสมกันดีขึ้นและกระจายไปทั่วถังหมัก ถังหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดนี้มีประสิทธิภาพการเปลี่ยนเอทานอลเป็นกรดอะซิติกสูง 98 เปอร์เซ็นต์ และเป็นถังหมักต่อเนื่อง (Nickol, 1979)

Bourgeois Process ประกอบด้วยสองส่วนคือ ถังเตรียมกล้าเชื้อ และถังหมัก ทำให้มีปริมาณเชื้อสูง กระบวนการผลิตจะสิ้นสุดเมื่อเอทานอลถูกใช้หมด แล้วทำการเติมเอทธานอลในน้ำส้มสายชูที่ได้เพื่อทำให้น้ำส้มสายชูนี้มีกลิ่นหอมของเอสเตอร์ซึ่งเกิดระหว่างการเก็บ วิธีนี้ให้ปริมาณกรดต่ำและใช้เวลานาน (Nickol, 1979)

Fardon Process (White,1970) ปรับปรุงระบบให้อากาศโดยอัดของเหลวผ่าน venture nozzle ทำให้ของเหลวผสมกับอากาศแล้วลงสู่ถังหมักเป็นระบบไหลวน (circulation system) วิธีนี้ประสิทธิต่ำ ใช้เวลาและพลังงานสูง (Nickol,1979)

Tower Fermentor (Greenshield and Smith, 1974) เน้นปรับปรุงระบบให้อากาศเช่นกันโดยลักษณะถังหมักเป็นท่อวางในแนวตั้ง พื้นที่หน้าตัดประกอบด้วยช่องขนาดเล็กมากมายเพื่อให้อากาศผ่านขึ้นมาและกระจายไปทั่วถังหมัก ถังหมักชนิดนี้ให้ผลผลิตเท่ากับอะซิติกเตเตอร์แต่ราคาถูกกว่าครึ่งหนึ่ง อย่างไรก็ตาม ในระดับอุตสาหกรรมยังนิยมใช้น้อย (Cornner and Allgeries ,1976)

Vinegator (Muller, 1978) ปรับปรุงการให้อากาศโดยใช้ self-aspirating stirrer ควบคู่กับการอัดอากาศ ต่อมาปรับปรุงให้ควบคุมโดย polarographic oxygen electrode ระบบให้อากาศจะทำงานมากขึ้นเมื่อ dissolved oxygen ต่ำกว่าค่าที่ตั้งไว้ ถังหมักชนิดนี้สามารถเพิ่มผลผลิตคิดเป็นกรดบริสุทธิ์ 300 กิโลกรัมต่อวัน ทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำลง

2.7 การหมักน้ำส้มสายชูโดยวิธีการตรึงเซลล์จุลินทรีย์

2.7.1 การหมักโดยวิธีการตรึงเซลล์จุลินทรีย์

เซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกตรึง (Immobilized cells) หมายถึง เซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกจำกัดขอบเขตหรือสถานที่ทางฟิสิกส์ให้อยู่ในบริเวณที่ทำให้จุลินทรีย์ไม่สูญเสียความสามารถในการเป็นตัวเร่งและสามารถนำกลับมาใช้ใหม่หลายครั้งได้อย่างต่อเนื่อง โดยที่เซลล์นั้นอาจอยู่ในสภาพเซลล์กำลังเจริญ เซลล์ระยะพัก หรือเซลล์ที่ตายแล้ว (บุษบา ยงสมิทธ์, 2540)

การใช้เซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกตรึงนั้นได้มีการใช้และศึกษามาเป็นเวลานานแล้ว นปี ค.ศ. 1823 Schuertzenbach ได้ทำการผลิตน้ำส้มสายชูอย่างรวดเร็ว (Quick vinegar) ด้วยฟิล์มเชื้อที่ติดบนเศษไม้เลื่อย

บุษบา ยงสมิทธ์ (2540) กล่าวว่าเมื่อเปรียบเทียบข้อดีข้อเสียของวิธีการใช้เซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกตรึง มีข้อได้เปรียบหลายอย่างเมื่อเทียบกับตัวเร่งวิธีอื่นๆ คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ปฏิกิริยาภายใต้สภาวะปกติและใช้พลังงานต่อปฏิกิริยามีความจำเพาะและเกิดการเปลี่ยนแปลงในอัตราสูง ปัญหาการเกิดมลภาวะน้อย แต่เซลล์ที่ถูกตรึงมีข้อเสีย คือ ต้องการโคแฟกเตอร์ต่างๆ ในการเกิดปฏิกิริยา

2. ปัจจุบันการหมักเป็นระบบตัวเร่งทางชีวภาพ แต่การหมักจะใช้สารอาหารราคาแพง เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานจุลินทรีย์ ในระหว่างการหมักการควบคุมการผลิตอย่างต่อเนื่องทำได้ยาก และหลังจากการหมักสิ้นสุดยังแยกสารที่ต้องการออกได้ยาก การใช้เซลล์ที่ถูกตรึงมีข้อดีคือสามารถควบคุมปฏิกิริยาได้สะดวกไม่มีปัญหาการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่น แยกผลผลิตได้ง่ายเซลล์ที่ถูกตรึงมีความคงทนสูง สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ นอกจากนั้นเซลล์ที่ถูกตรึงในสภาพระยะพักต้องการพลังงานเพื่อความอยู่รอดเท่านั้น เป็นการเพิ่มผลผลิตได้สูงกว่าการหมัก

3. สามารถใช้เซลล์จำนวนมากๆ และทำการศึกษาถังปฏิกิริยาขนาดเล็กในการควบคุมปฏิกิริยาได้ง่าย และสามารถแยกผลิตผลออกได้สะดวก แต่มีข้อเสีย เสียค่าใช้จ่ายในการตรึงเซลล์ และเซลล์อาจเสียความสามารถระหว่างการตรึง

วิธีการตรึงเซลล์ มี 3 วิธี เหมือนกับการตรึงเอนไซม์ คือ การจับกับพาหะ (Carrier Binding) , การเชื่อมไขว้ (Cross Linking) และการกัก (Entrapment)

วัสดุที่ใช้ในการตรึงเซลล์ควรมีลักษณะดังนี้

1. พื้นที่ผิวมาก ขนาดและรูปร่างเหมาะสม
2. มีการซึมผ่านของสารได้
3. ไม่ละลายน้ำ
4. เสถียรต่อสารเคมี ความร้อน และแรงกระทบ
5. นำกลับมาใช้ใหม่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.2 การผลิตน้ำส้มสายชูโดยการตรึงเซลล์

Gist-Brocades (1978) ทดลองเติมออกไซด์ (oxide) ของโลหะ เช่น titanium, vanadium, zirconium, เหล็ก, ดีบุก และ chelated polyhydroxy support ลงในถังหมักน้ำส้มสายชู พบว่า การผลิตอะซิติกดีขึ้นเนื่องจากสารเหล่านี้ทำให้เซลล์ของเชื้อน้ำส้มสายชูเกาะกลุ่มกันดีขึ้น และ titanium chelated lactose, titanium citrate หรือ titanium urea ทำให้เชื้อน้ำส้มสายชูที่สร้างเซลลูโลส (*A.xylinum*) ผลิตกรดได้ดีขึ้น

Kennedy *et. Al.* (1980) ทำการตรึงเชื้อ *A. xylinum* บน hydrous titanium IV oxide หรือ titanium (IV) cellulose chelated แล้วนำไปผลิตน้ำส้มสายชูแบบต่อเนื่องใน tower fermenter เป็นเวลา 88 วัน พบว่าเชื้อน้ำส้มสายชูยึดเกาะได้ดี และสามารถผลิตกรดอะซิติกในอัตรา 5.0 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ได้ผลผลิตกรด 69 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าระบบสับเมอร์กที่ใช้กันอยู่ แต่อัตราการเจือจางที่ใช้ต่ำมาก คือ น้อยกว่า 0.08 h^{-1} ส่วนการเติม titanium (IV) cellulose chelated ทำให้เชื้อน้ำส้มสายชูที่ไม่สร้างเซลลูโลสผลิตกรดได้ดีขึ้น แต่ไม่พบการเกาะของเซลล์

ต่อมา Ghommidh *et. Al.* (1981) ทดลองตรึงเชื้อน้ำส้มสายชูบนวัสดุพวกเครื่องดินเผา (ceramic) และนำไปผลิตน้ำส้มสายชูแบบต่อเนื่องในถังหมักแบบ fixed bed pulsed flow reactor เป็นเวลา 9 เดือน พบว่าปริมาณออกซิเจนที่ได้รับเป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมการผลิต ในสภาวะที่มีออกซิเจนสูงถังหมักนี้สามารถผลิตกรดได้สูงถึง 10.48 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ได้ผลผลิตกรด 35 กรัมต่อลิตร ซึ่งอัตราการผลิตจะแปรผันโดยตรงกับปริมาณออกซิเจนที่เชื้อได้รับ กรณีนี้เมื่อระยะเวลาในถังปฏิกิริยานานมักจะพบการยับยั้งการเจริญ เนื่องจากผลิตภัณฑ์และการอุดตันของวัสดุยึดเกาะ

Osuga *et. Al.* (1984) ตรึงเซลล์เชื้อน้ำส้มสายชูในเม็ด K-carragenan ซึ่งมีคุณสมบัติในการยอมสับสเตรทไหลผ่านได้ดี ตลอดจนยอมให้เซลล์เจริญได้ภายใน เมื่อเพิ่มปริมาณเซลล์เป็น 100 เท่า และทดลองการหมักน้ำส้มสายชูในถังแบบ fluidized bed reactor จะสามารถผลิตกรดในอัตรา 40.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเจลต่อชั่วโมง เป็นเวลานาน 120 วัน และพบว่าปัจจัยควบคุมอัตราการผลิตกรดและการเจริญได้แก่ ออกซิเจนจะมีอิทธิพลต่อเชื้อที่ถูกตรึงมาก โดยที่กรดอะซิติกจะมีผลต่อเชื้อที่ถูกตรึงแล้วน้อย การตรึงแบบนี้สมารถใช้อัตราการเจือจางสูงกว่า wash out point ของเซลล์อิสระ และสามารถผลิตกรดในอัตรา 4 มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตรของน้ำส้มสายชูต่อชั่วโมง (Mori, 1985)

Nanba *et. Al.* (1985) ศึกษาการหมัก rice vinegar แบบต่อเนื่อง โดยการตรึงเซลล์ของ *A. ranceus* บนผิว hollow polypropylene fibres พบว่าสามารถผลิตกรดได้คงที่เป็นเวลา 1 เดือน อัตราการผลิตกรด 0.2 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ได้ผลผลิตกรด 30 กรัมต่อลิตร วิธีนี้อัตราผลิตต่ำเนื่องจากปริมาณเซลล์ที่ถูกตรึงค่อนข้างน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อมา Okuhara (1985) ทดลองการหมักน้ำส้มสายชูแบบ batch โดยตรึงเชื้อน้ำส้มสายชูบน cotton-like polypropylene fibres ซึ่งบรรจุอยู่ในคอลัมน์ (column) ผ่านวัสดุหมักและอากาศจากด้านบนของถัง และควบคุมปริมาณออกซิเจนที่ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอัตราการผลิตกรด 2.6 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ได้ผลผลิตกรด 75 กรัมต่อลิตร การเพิ่มอัตราการไหลของแก๊สและวัสดุหมักจะสามารถผลิตกรดได้เร็วขึ้น นอกจากนั้นยังพบว่าการยึดเกาะของเชื้อน้ำส้มสายชูบนวัสดุที่ไม่มีรูพรุน เนื่องมาจากส่วนของไขมันบริเวณผิวเซลล์มีความชอบต่อวัสดุพวก polypropylene

Ghommidh *et. Al.* (1986) ได้ตรึงเชื้อน้ำส้มสายชูบน bentonite แล้วนำไปศึกษาการหมักใน bubble column ที่มีการกวน 800 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 0.1 vvm พบว่าหลังจากที่เชื้อยึดเกาะแล้วบางเซลล์จะสูญเสียกิจกรรมไปเนื่องจากปัญหาการส่งผ่านออกซิเจน เมื่อปรับปรุงระบบการให้อากาศและศึกษาการหมักอย่างต่อเนื่องโดยใช้อัตราการเจือจาง 0.055 h^{-1} พบว่าอัตราการผลิตกรดสูงถึง 2.9 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ได้ผลผลิตกรด 62 กรัมต่อลิตร

Bar *et. Al.* (1986) ได้ตรึงเซลล์ของ A. *aceti* บน ion-exchange resin พบว่าเชื้อสามารถยึดเกาะได้ดีด้วยประจุไฟฟ้าบนผนังเซลล์แบคทีเรียกับ polyglyceryl chain ของ exchange group resin โดยประสิทธิภาพในการยึดเกาะสูงถึง 46-64 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อกรัมของเรซิน

Okuhara (1987) ได้ตรึงเชื้อน้ำส้มสายชูบน lipophilic fibrous เช่น polypropylenes, polyethylene, polystyrenes, polyehyleneterephthalate และ polyurethanes ในถังหมักแบบ tower พบว่าอัตราการผลิตกรด 0.2 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ได้ผลผลิตกรด 70 กรัมต่อลิตร

วรรณา มาลาพันธุ์ (2530) ได้ศึกษาการตรึงเชื้อ *Acetobacter* sp. 249-1 ในระบบไบโอดิสค์โดยหมักน้ำส้มสายชูแบบ batch พบว่าการใช้น้ำมะพร้าวเติมเอทธานอล 4.7% หรือไวน์น้ำมะพร้าวเจือจางจนมีเอทธานอล 4.9% เป็นวัสดุหมัก สามารถหมักน้ำส้มสายชูที่มีกรด 4.5 และ 4.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ คิดเป็นผลผลิตกรด $Y_{P/S}$ = 0.96 โดยมีอัตราการผลิต 0.22 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และเมื่อการหมักโดยให้เชื้อเจริญที่ผิวหน้าในถังปฏิกิริยาแบบไบโอดิสค์ ต้องใช้กล้าเชื้อถึง 20 เปอร์เซ็นต์จึงสามารถผลิตกรดในอัตราซึ่งเท่ากับที่ผลิตได้จากระบบไบโอดิสค์ซึ่งใช้กล้าเชื้อเพียง 5 เปอร์เซ็นต์ การหมักน้ำส้มสายชูแบบต่อเนื่อง เมื่อใช้อัตราการเติมสับสเตรท 20 มิลลิลิตรต่อวัน ได้อัตราการผลิตและปริมาณกรดต่ำกว่าการหมักด้วยระบบ batch อย่างไรก็ตามการศึกษาพบว่า ประสิทธิภาพและถังปฏิกิริยาสามารถใช้หมักน้ำส้มสายชูแบบ batch ได้อย่างต่อเนื่อง โดยระบบที่มีการตรึงเซลล์ไว้ทำให้เซลล์ไม่ถูกชะล้างออกจากระบบได้ง่าย ทำให้สามารถใช้ dilution rate สูงๆ เพื่อให้ได้ผลผลิตต่อหน่วยเวลาสูงขึ้น ซึ่งต่างจากการหมักแบบต่อเนื่องที่เซลล์แขวนลอยอยู่ในวัสดุหมัก กรณีนี้มักพบปัญหาเซลล์ถูกชะล้างออกไป ทำให้ต้องมีการกลับเข้าสู่ระบบ recycle cell

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 บวบ และใยบวบ

บวบเป็นพืชที่มีลักษณะกลมยาว มีลายรอบๆ เป็นพืชไม้เลื้อยมีสรรพคุณช่วยขับถ่ายความร้อนออกในร่างกาย สามารถลดอาการอักเสบได้ เนื้อบวมมีธาตุเหล็ก ช่วยสร้างเม็ดเลือด กระดูกและฟัน มีแร่ธาตุมาก วิตามินน้อย เนื้อบวบดูสะอาด เขียวใส หวานนิดๆ ตามธรรมชาติ ไม่ค่อยปนเปื้อนด้วยสารเคมียาฆ่าแมลง เพราะไม่ค่อยมีแมลงรบกวน เป็นทั้งพืชผักและพืชสมุนไพร แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ บวบเหลี่ยม และบวบหอม

ส่วนที่นำมาใช้จากบวบนั้น ได้แก่ ผลสด เส้นใยจากผล ยอดอ่อน และน้ำมันจากเมล็ดแก่ นอกจากนี้ยังพบสารที่เป็นประโยชน์ ได้แก่ ผลอ่อนมีแคลเซียม เหล็ก และฟอสฟอรัสมาก เมล็ดมีรสขม เนื่องจากสาร Cucurbitacin B,G ,D และ H

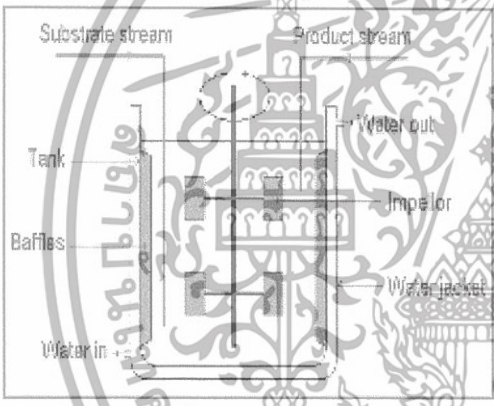
การนำบวบมาใช้นั้น พบว่าใยบวบสามารถนำมาใช้ขัดผิวได้ นิยมใช้ในการขัดถูชำระคราบสกปรกตามร่างกาย เป็นการจุดประกายความคิดทำผลิตภัณฑ์นำใยบวบมาให้เกิดคุณค่าดีกว่าการทิ้งไป เป็นการแปรรูปวัสดุเหลือใช้ สร้างรายได้อย่างงดงาม ขั้นตอนการผลิต คือ นำบวบที่แห้งแล้วจากต้นมาลอกเปลือกด้านนอกออก จากนั้นทำความสะอาดด้วยการล้างน้ำสบู่อ่อนๆ นำไปผึ่งแดดให้แห้งเพียงเท่านี้ก็ได้ฟองน้ำถูตัวจากธรรมชาติได้เป็นอย่างดี ลักษณะเป็นม้วนแห้งเป็นเส้นใยพันกันไปมา (ธรณิศวร์ พิรุณละออ,2545)

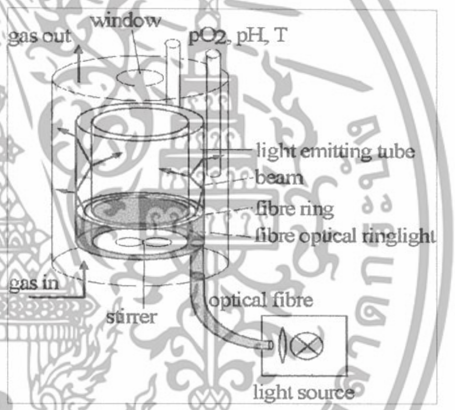
ภาพที่ 2.2 ใยบวบที่นำมาใช้
ที่มา : ธรณิศวร์ พิรุณละออ (2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 ถังหมักที่มีระบบการกวนและการให้อากาศแบบ STR

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) ซึ่งใช้กันมากในห้องปฏิบัติการและในอุตสากรรมเทคโนโลยีการหมัก โดยถังหมักลักษณะนี้ออกแบบและพัฒนาขึ้นมาในช่วงทศวรรษที่ 1940 และ 1950เพื่อใช้ในการผลิตเพนนิซิลิน หลังจากนั้นได้ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น การผลิตแอลกอฮอล์ ยีสต์ขนมปัง สารปฏิชีวนะ กรดอะซิติก และสารอื่นๆ เป็นต้น (วราวุฒิ และกรวิกา, 2539)





ภาพที่ 2.3 Stirred tank reactor

(ก) The basic stirred tank reactor

(ข) Diagram of stirred tank reactor

[internet : http://www.photobiology.com/v1/csoegoer/image272.gif]

[internet : http://www.food.reading.ac.uk/online/fs560/topic2/t2c/t2c3.gif]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัตถุดิบ

น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน ได้รับจาก บริษัท แอกโกรออน (ประเทศไทย) จำกัด อ.สามชุก จ.สุพรรณบุรี

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

3.2.1 *Saccharomyces cerevisiae* M 30 ได้จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2.2 *Acetobacter aceti* สป. 5 ได้จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.3 สารเคมี

	ชื่อสารเคมี	บริษัทหรือประเทศที่ผลิต
3.3.1	โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	Merck Co.,Ltd
3.3.2	กรดไฮโดรคลอริก (HCl)	Merck Co.,Ltd
3.3.3	แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$)	Merck Co.,Ltd
3.3.4	แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$)	Merck Co.,Ltd
3.3.5	แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$)	Merck Co.,Ltd
3.3.6	โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4)	Merck Co.,Ltd
3.3.7	กรดอะซิติก (CH_3COOH)	Merck Co.,Ltd
3.3.8	โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟด์ (KMS)	Carlo Erba Reagenti
3.3.9	Phenolphthalein	Riedel-desaen
3.3.10	Bromcresol purple	BDH
3.3.11	แอลกอฮอล์ 70 และ 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 น้ำตาลทราย	มิตรผล
3.4.3 Yeast Extract	DIFCO
3.4.4 Malt Extract	DIFCO
3.4.5 Peptone	DIFCO
3.4.6 Agar	S.P SCIENCE

3.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.5.1 อาหาร Glucose Yeast Extract Broth (GYE Broth)

3.5.2 อาหาร Glucose Yeast Extract Agar (GYEA)

3.5.3 อาหาร MY Broth

3.5.4 อาหาร MY Agar

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	ตู้บ่มเชื้อ	Hermotex	Japan
3.6.6	ตู้แช่เย็น	Thermotek	Thailand
3.6.7	ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	Memmert	Germany
3.6.8	ตู้ปลอดเชื้อ		Thailand
3.6.9	ตัวกรองอากาศ (Membrane filter)	Sartorius	Germany
3.6.10	สายยางซิลิโคน		Thailand
3.6.11	หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)	Tomy SS-245	Japan
3.6.12	เครื่องเขย่า (Shaker)	Gerhardt Bonn	Germany
3.6.13	Ebuliometer	ARCUEUEIL, 94117	France

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96744

	ชื่อเครื่องมือ	รุ่น	บริษัทหรือประเทศที่ผลิต
3.6.14	Hand Refractometer	ATAGO, N-1E	Japan
3.6.15	ถังหมักสเตนเลสพร้อมใบกวนขนาด 50 ลิตร		Thailand
3.6.16	ใยบวบ		Thailand
3.6.17	ถังน้ำพลาสติก		Thailand

3.7 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.8 วิธีการดำเนินงาน

3.8.1 การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์

การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* M 30 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MY Broth 100 มิลลิลิตร ในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็น แล้วจึงถ่ายเชื้อ *S. cerevisiae* M 30 ที่เลี้ยงบน MY Agar Slant ซึ่งผ่านการบ่มมาเป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง มาใส่ในอาหาร ที่เตรียมไว้ นำไปเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.8.2 การเตรียมกล้าเชื้อน้ำส้มสายชู

การเตรียมกล้าเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* สป. 5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYE Broth ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็น แล้วจึงถ่ายเชื้อ *A. aceti* สป. 5 ที่เลี้ยงบนอาหาร GYE Agar Slant มาเติม แล้วนำสายยางซิลิโคนที่ต่อกับตัวกรองอากาศมาให้มีการพ่นอากาศตลอดเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.8.3 ศึกษาการหมักไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน ให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์ 8 – 10 %

นำน้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนมาปรับ pH ให้เท่ากับ 4.5 ปรับค่าความหวานให้ได้ 18 °Brix ด้วย hand refractometer แล้วนำไปผ่านการให้ความร้อนพาสเจอไรส์ ที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 15 นาที บรรจุในภาชนะที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการแช่ด้วยสารละลาย Potassium metabisulphide (KMS) 200 ppm 24 ชั่วโมง แล้วรินส์ด้วยน้ำต้มเดือด 3 ครั้ง ทำทุกขั้นตอนด้วย aseptic technique

เติมสารอาหารประกอบด้วย 0.05 % (w/v) Ammonium sulphate และ 0.02% (w/v) Magnesium sulphate ลงในน้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน ปรับค่าพีเอชเป็น 4.5 ใส่ในภาชนะที่ทำการหมัก แล้วถ่ายกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M 30 ที่เตรียมไว้จากข้อ 1 ร้อยละ 5 ของของปริมาณน้ำหมักเติมลงไป ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง

ติดตามผลการหมัก โดยนำตัวอย่างมาวัดค่าและติดตาม pH , ปริมาณแอลกอฮอล์ด้วย Ebuliometer และ ค่าปริมาณน้ำตาลที่ละลายได้ (°Brix) ด้วย hand refractometer และการตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์โดยตรงด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ Haemacytometer

ไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน ที่ได้นั้นนำไปทำให้ใสโดยการแช่ในห้องเย็น (cold stabilization) เพื่อให้เซลล์ยีสต์ตกตะกอนแล้วนำส่วนใสมาใช้

3.8.4 ศึกษาการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน โดยไม่ใช้ตัวตรึงในถังหมัก STR

นำไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนที่ได้นำมาแยกตะกอนยีสต์ออกจากส่วนใสที่ได้จากข้อ 3 มาใส่ลงในถังหมักที่ใช้มีท่อพ่นอากาศและใบกวน เป็นถังสเตนเลสขนาด 50 ลิตร ที่ผ่านการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อก่อนใช้ โดยไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนที่ใช้ต้องมีการเติมปรับสภาพไวน์ด้วยการเติม 1% acetic acid และเติมสารอาหาร 0.4% (w/v) Ammonium sulphate จากนั้นนำกล้าเชื้อน้ำส้มสายชูมาทำการหมัก โดยถ่ายกล้าเชื้อ *A. aceti* สป. 5 ในข้อ 2 ร้อยละ 5 โดยปริมาณน้ำหมัก ทำการหมักในสภาพที่มีอากาศ ณ อุณหภูมิห้อง

ติดตามผลการหมัก โดยนำตัวอย่างมาวัดค่าและติดตาม pH , ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ลดลง และปริมาณกรดที่สร้างโดยวิธีของ AOAC (1995) จนได้น้ำส้มสายชูซึ่งมีปริมาณกรดประมาณร้อยละ 4 และติดตามการเปลี่ยนแปลงของเชื้อน้ำส้มสายชู โดยอาศัยการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์โดยวิธี Viable plate count โดยการ Spread plate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.8.5 ศึกษาการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนโดยใช้ตัวตรึงใยบวบในถังหมัก STR

นำไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนที่ได้นำมาแยกตะกอนยีสต์ออกจากส่วนใส มาใส่ในถังหมัก STR ซึ่งบรรจุเส้นใยตรึงที่ทำใยบวบ ซึ่งในถังหมักที่ใช้มีท่อพ่นอากาศและใบกวน เป็นถังหมักสเตนเลส ขนาด 50 ลิตร โดยไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่จะใช้ต้องมีการเติมปรับสภาพไวน์ด้วยการเติม 1% acetic acid และเติมสารอาหาร 0.4% (w/v) Ammonium sulphate โดยถ่ายกล้าเชื้อ A. *aceti* สป. 5 ในข้อ 2 ร้อยละ 5 โดยปริมาณน้ำหมัก ทำการหมักในสภาพที่มีอากาศ ณ อุณหภูมิห้อง

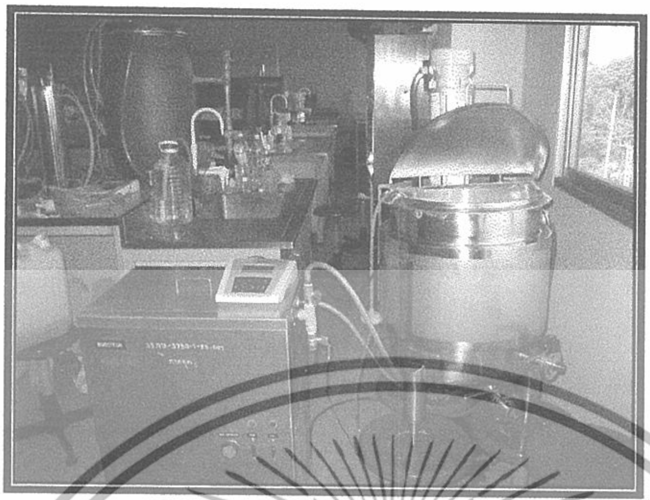
ติดตามผลการหมัก โดยนำตัวอย่างมาวัดค่าและติดตาม pH , ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ลดลง และปริมาณกรดที่สร้างโดยวิธีของ AOAC (1995) จนได้น้ำส้มสายชูซึ่งมีปริมาณกรดประมาณร้อยละ 4 และติกตามการเปลี่ยนแปลงของเชื้อน้ำส้มสายชู โดยอาศัยการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์โดยวิธี Viable plate count โดยการ Spread plate

3.8.6 เปรียบเทียบผลของการหมักน้ำส้มสายชูจากข้อ 3.8.3 และข้อ 3.8.4

นำผลที่ได้จากการติดตามการหมักทั้งสองสภาวะ คือ ที่ไม่ใช้ตัวตรึง และใช้ตัวตรึง มาทำการเปรียบเทียบค่าที่ทำการติดตาม เพื่อวิเคราะห์ระยะเวลาการหมัก และปริมาณกรดที่สร้างได้สูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

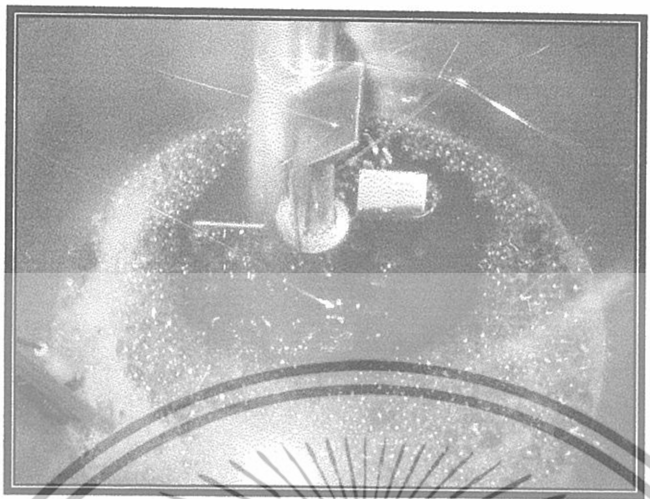
21092



ภาพที่ 4.1 ชุดอุปกรณ์ที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชู

ภาพที่ 4.2 ฝาถังหมัก STR ที่ต่อท่อให้อากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง



ภาพที่ 4.3 สภาพการหมักแบบไม่มีตัวตรึงเซลล์

ภาพที่ 4.4 สภาพการหมักแบบมีใยบวบเป็นตัวตรึงเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลของการผลิตไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน

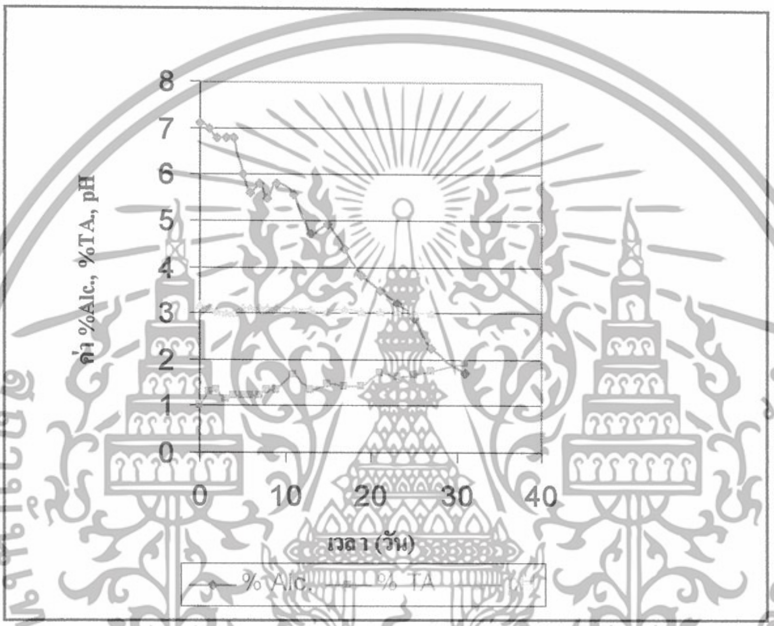
เมื่อทำการหมักไวน์จากน้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนด้วยเชื้อยีสต์เป็นเวลา 6 วันที่อุณหภูมิห้อง จะได้ไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ 6.5 %(v/v) ปริมาณน้ำตาลที่เหลืออยู่ 9.6 องศาบริกซ์ และค่า pH 3.08 โดยที่ค่าเริ่มต้นที่ปริมาณน้ำตาล 16 องศาบริกซ์ และค่า pH เริ่มต้นที่ 4.5 ดังแสดงในภาพที่ 4.1 นั้น นำมาใช้เป็นสับสเตรทเริ่มต้นในการผลิตน้ำส้มสายชูต่อไปได้ดี เนื่องจากมีปริมาณแอลกอฮอล์ไม่สูงมากนักอยู่ในปริมาณที่เหมาะสมต่อการผลิตกรด คือ ปริมาณเอทานอล 6 %(v/v) (นภยร, 2545)

ภาพที่ 4.1 : ผลของการผลิตไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน ด้วยเชื้อ S. *cerevisiae* M 30 โดยทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 6 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของการหมักน้ำส้มสายชูจากน้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนโดยไม่ใช้ตัวตรึงในถังหมัก STR

จากระยะเวลาการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนที่มีปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มต้นที่ 7 เปอร์เซ็นต์ เพื่อศึกษาการผลิตกรดน้ำส้มสายชูในสภาพการหมักแบบครั้งเดียว (batch) ในถังหมัก STR (Stirred Tank Reactor) ซึ่งมีการให้อากาศและการกวนที่ความเร็วรอบ 50 rpm ตลอดเวลา เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 32 วัน จะพบว่าสามารถผลิตกรดน้ำส้มสายชูปริมาณที่ไม่สูงนัก คือ มีปริมาณกรด 1.92 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณแอลกอฮอล์ที่เหลืออยู่ในน้ำส้มสายชู คือ 1.7 เปอร์เซ็นต์ จากปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มต้นที่ 7 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.2



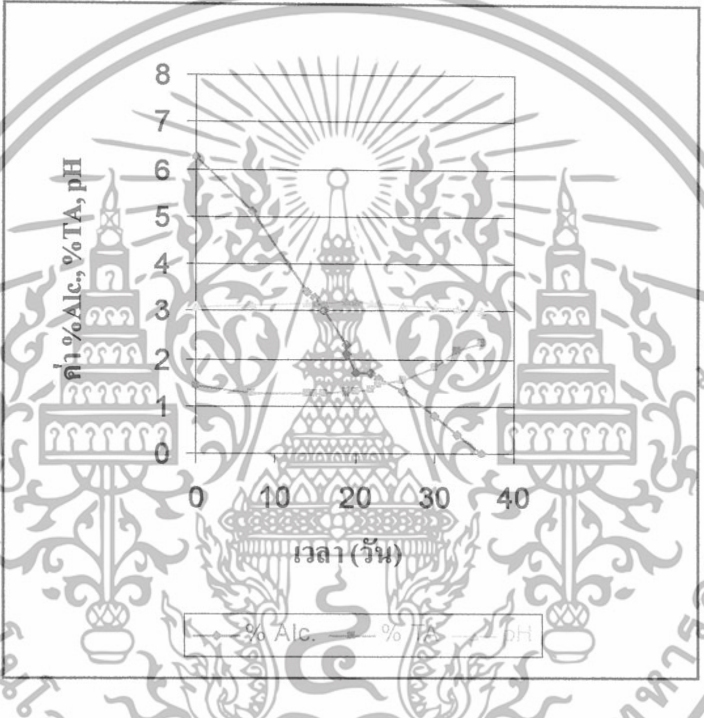
ภาพที่ 4.2 : ผลของการผลิตน้ำส้มสายชูจาก ไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน ในสภาวะการหมักแบบ batch โดยไม่ใช้ตัวตรึงเซลล์ ในระยะเวลา 32 วัน

ปริมาณกรดสร้างขึ้นได้น้อยสอดคล้องกับการที่ปริมาณแอลกอฮอล์ค่อยๆ ลดลงอย่างต่อเนื่อง ในช่วงแรกปริมาณแอลกอฮอล์ที่ลดลงนั้นเชื้อ *A. aceti* สป.5 มีการนำไปใช้ในการสร้างกลิ่นหอมระเหยในรูปของ ester ออกมา ทำให้ในช่วงแรกมีการสูญเสียปริมาณแอลกอฮอล์ในการสร้างกรดน้ำส้มสายชูแทน และเนื่องจากเชื้อ *A. aceti* สป.5 ใช้เอทธานอลในไวน์เป็นสับสเตรทในการสร้างกรดอะซิติก แต่ปริมาณแอลกอฮอล์ที่นำมาใช้นั้นก็มีปริมาณสูง ทำให้เกิดการผลิตกรดได้ช้า เพราะคุณสมบัติของแอลกอฮอล์มีผลไปยับยั้งการเจริญของเชื้อ ในสภาวะที่มีกรดอะซีติกอยู่ (Adams, 1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลของการหมักน้ำส้มสายชูจากน้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนโดยใช้ตัวตรึงใยบวบในถังหมัก STR

จากระยะเวลาการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนที่มีปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มต้นที่ 7 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกัน ในถังหมัก STR (Stirred Tank Reactor) ซึ่งมีสภาพการหมักแบบครั้งเดียว (batch) โดยมีการให้อากาศและการกวนที่ความเร็วรอบ 50 rpm ตลอดเวลา เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 32 วัน จะพบว่าสามารถผลิตกรดน้ำส้มสายชูปริมาณที่สูงขึ้น คือ มีปริมาณกรด 2.08 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณแอลกอฮอล์ที่เหลืออยู่ในน้ำส้มสายชู คือ 0 เปอร์เซ็นต์ จากปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มต้นที่ 6.26 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.3



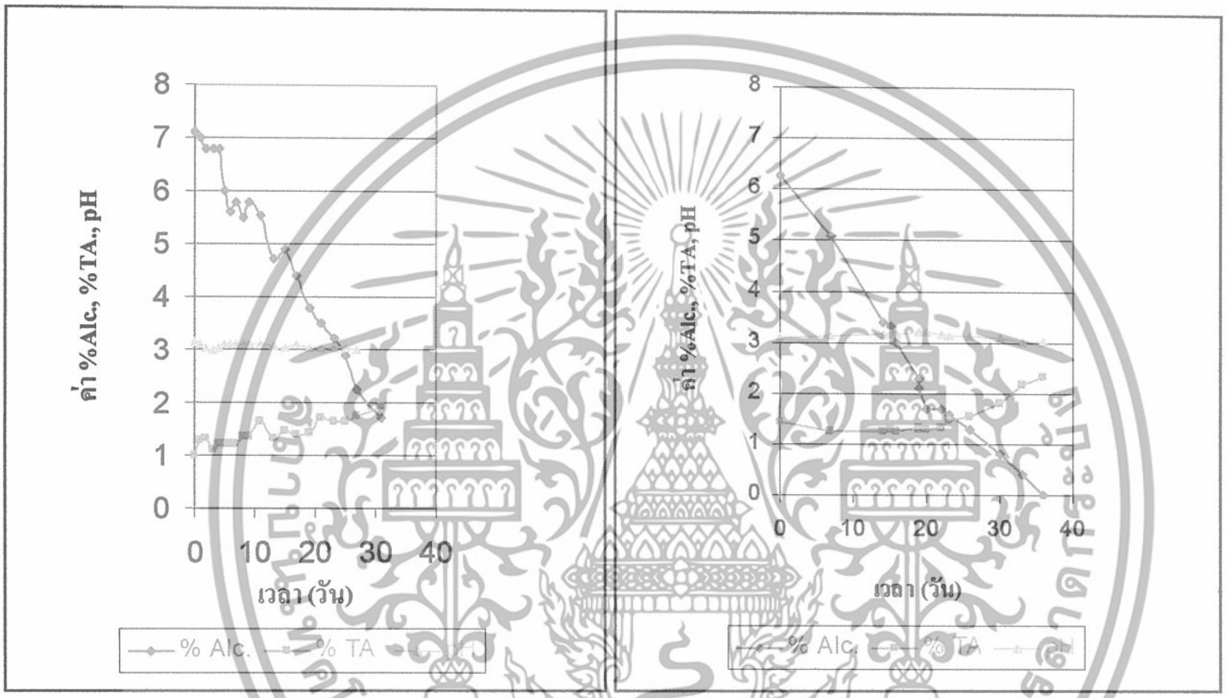
ภาพที่ 4.3 : ผลการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน ในสภาวะการหมักแบบ batch โดยใช้ตัวตรึงเซลล์ใยบวบ

การใช้ใยบวบในการตรึงเซลล์นั้นสามารถสร้างกรดได้สูงกว่าการไม่ใช้ใยตรึงไม่สูงมากนัก แต่ก็ให้ผลที่ดีกว่าคือ ช่วงค่าปริมาณกรดอะซิติกมีแนวโน้มที่สูงขึ้น ถึงแม้ว่าจะเพิ่มขึ้นช้าก็ตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4. การเปรียบเทียบผลของการหมักน้ำส้มสายชูใน 2 สภาวะ

การเปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างแบบที่ไม่ใช้ตัวตรึงและที่ใช้ใยบวบในการตรึงเซลล์ ในระยะเวลาการหมัก 32 วันพบว่าแนวโน้มของปริมาณกรดอะซิติกในการผลิตแบบใช้ตัวตรึงเซลล์ ใยบวบนั้นมีแนวโน้มที่สูงขึ้นในอัตราที่คงที่กว่าแบบไม่ใช้ตัวตรึงเซลล์ และแนวโน้มปริมาณแอลกอฮอล์ที่ลดลงของแบบใช้ตัวตรึงเซลล์ ใยบวบก็ลดลงอย่างต่อเนื่องในอัตราที่คงที่กว่าแบบไม่ใช้ตัวตรึงเซลล์



(ก) (ข)

ภาพที่ 4.4 : ผลการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน ในระยะเวลาที่ทำการทดลอง 35 วัน

(ก) แบบไม่ใช้ตัวตรึงเซลล์

(ข) แบบใช้ตัวตรึงเซลล์ ใยบวบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนซึ่งถือเป็นของเสียจากกระบวนการผลิตแปรรูปข้าวโพดฝักอ่อนบรรจุกระป๋องของโรงงาน สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นน้ำส้มสายชูได้ โดยการผลิตให้เป็นไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนก่อนโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* M30 ทำการหมักให้เกิดเอทธานอลเพื่อใช้ผลิตกรดอะซิติกต่อด้วยเชื้อ *Acetobacter* sp. สป. 5 ในถังหมักที่มีการกวนและให้อากาศอย่างต่อเนื่อง (ถัง STR) ซึ่งการทดลองที่ให้ผลดีสามารถผลิตกรดอะซิติกได้ในปริมาณที่สูง โดยทำการหมักแบบครั้งเดียว (batch) ไม่มีการเติมสับสเตรทเพิ่มในระยะเวลาการหมัก 32 วัน และนำการตรึงเซลล์มาร่วมใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู โดยใยบวบที่นำมาใช้นั้นเป็นวัสดุจากธรรมชาติที่หาได้ง่าย ราคาไม่แพง ซึ่งให้ผลการผลิตกรดในปริมาณที่สูงกว่าการไม่ใช้ตัวตรึงเซลล์ในการผลิต

พบว่า ปริมาณกรดอะซิติกที่สร้างขึ้นนั้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณแอลกอฮอล์สับสเตรทที่ลด ลงอย่างเห็นได้ชัด จากการติดตามผลการทดลองพบว่าเมื่อปริมาณแอลกอฮอล์ใกล้จะหมดลงค่าปริมาณกรดอะซิติกจะมีปริมาณสูงที่สุด

จากระยะเวลาที่ทำการหมักใช้เวลานาน ทำให้มีการผลิตปริมาณกรดน้อย เนื่องจากการหมักสภาพ batch ที่เมื่อหมักไปในระยะนานขึ้นปริมาณแอลกอฮอล์ก็ลดลงเรื่อยๆ จนหมด ทำให้เชื้อไม่มีสับสเตรทในการนำมาใช้สร้างกรด กรดบางส่วนเกิดการรวมตัวกับแอลกอฮอล์สร้างเป็นกลิ่นหอมเฉพาะ (ester) ขึ้นมาในช่วงระหว่างการผลิต ตลอดเวลาพร้อมกับการสร้างกรด นอกจากนี้ปริมาณการให้อากาศยังมีผลต่อการหมัก เพราะมีปริมาณน้อยฟองอากาศกระจายไม่ทั่วถึงทุกจุดในถัง และการกวนด้วยความเร็วที่ค่อนข้างต่ำ (50 rpm) จึงทำให้ไม่เกิดสภาพที่เป็นเนื้อเดียวกันระหว่างน้ำหมักและอากาศ จึงทำให้การหมักเกิดได้อย่างไม่สมบูรณ์

นอกจากนี้ในการผลิตเพื่อเปรียบเทียบแบบที่มีและไม่มีใยตรึงนั้นประสิทธิภาพการหมักไม่มีความแตกต่างกันมาก ซึ่งสังเกตได้จากปริมาณกรดอะซิติกที่ถูกสร้างขึ้นในช่วงเวลาที่เท่ากัน แต่ถือว่าการผลิตในรูปแบบที่มีการใช้ใยบวบในการตรึงเซลล์นั้น มีแนวโน้มที่สร้างกรดได้ดีกว่าแบบไม่มีการตรึงเซลล์ ซึ่งกล่าวได้ว่าการผลิตลักษณะนี้จะได้ประสิทธิภาพดีขึ้นกับการควบคุมปัจจัยการหมักนั่นเอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการทดลองเป็นระบบแบบ Batch ทำให้ประสิทธิภาพการสร้างปริมาณกรดอะซิติกให้สูงทำได้ยาก เนื่องจากปริมาณสับสเตรท คือ แอลกอฮอล์ จะหมดลงทำให้ปริมาณกรดอะซิติกลดลงตามไปด้วย ถือเป็นการสูญเสียปริมาณสาร ควรนำวิธีการอื่นมาช่วยรักษาสภาพน้ำหมักให้มีแอลกอฮอล์อยู่ เพื่อผลิตกรดได้ต่อเนื่อง เช่น semi continuous

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรมวิชาการเกษตร. 2524. ข้าวโพด เอกสารวิชาการ เล่ม 4. สำนักงานทะเบียนและประมาณสถิติ กองแผนงาน กรมวิชาการเกษตร. พิมพ์ครั้งที่ 1 พ.ศ. 2524, กรุงเทพฯ

กองบรรณาธิการเฉพาะกิจเกษตรกรรม. 2530. ข้าวโพดฝักอ่อน. สำนักพิมพ์ฐานเกษตรกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 1 . พ.ศ. 2530, กรุงเทพฯ.

คณะทำงานข้าวโพดอุตสาหกรรม สภาวิจัยแห่งชาติ. 2528, อุตสาหกรรมข้าวโพดฝักอ่อน.

ธรณิศวร์ พิรุณละออง. 2545. ทรัพย์ชุมชน : แปรใยบวบสู่สายใยชุมชน. [Internet]. Available: http://www.bangkokbiznews.com/2002/03/12/jud/index.php?news=jud3.html.

นันทพร วรวุฒิพงษ์. 2517. การคัดสายพันธุ์บักเตรีเพื่อใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นภษร บุญเพ็ชรแก้ว. 2545. การผลิตน้ำส้มสายชูโดยการตรึงเซลล์ในถังหมักทรงสูงที่ให้อากาศอย่างต่อเนื่อง.วิทยานิพนธ์ปริญญาโทสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

บุษบา ยงสมิทธ์. 2540. จุลชีววิทยาการหมัก : วิตามินและสารสี. กรุงเทพฯ : เท็กซ์ แอนด์ พลับบลิเคชั่น.

พนิต เพ็ชรน่วม. 2545. การผลิตน้ำส้มสายชูจากน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนกึ่งต่อเนื่องโดยการตรึงเซลล์ในถังหมักทรงสูงที่ให้อากาศ. ปริญญานิพนธ์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

ลูกจันทร์ ภัครัชพันธุ์. 2524. อุตสาหกรรมอาหารหมักดอง. โรงพิมพ์ศรีอนันต์ , กรุงเทพฯ.

วรรณภา ไผ่พันธ์ และ สวรรยา เม้งเกร็ด. 2547. การผลิตโปรตีนจุลินทรีย์โปรตีนจากน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนโดย *Saccharomyces cerevisiae* M 30. ปริญญานิพนธ์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

วรรณา มาลาพันธุ์. 2530. การศึกษาศักยภาพของถังปฏิกิริยาแบบไบโอดิสค์ในการผลิตน้ำส้มสายชู. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

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

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

สมใจ ศิริโภค. 2544. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ : ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ.

สุเมธ ตันตระเธียร. 2536. น้ำส้มสายชู. วิทยาศาสตร์. 47(2) : 79-84

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

Adams, M. R. 1980. The Small-Scale Production of Vinegar from Banana. Rep. Trop. Prod. Inst. G132.

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

Bar, R.L. Gainer and D.J. kirwan. 1986. Immobilized of *Acetobacter aceti* on Cellulose Ion Exchangers : Adsorption Isoterms. Biotech. Bioeng. 28(8) : 1166-1171.

Brinton M. Miller and Warren Litsky. 1976. Industrial Microbiology. New York :McGraw-Hill, 1976.

Corner, H.A. and R.J. Allgeier. 1976. Vinegar : Its History and Development. Adv. Appl. Microbial. 20 : 81-133.

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

Ebner, H.,K. Pohl and A. Enenkel. 1976. Self-Preming Acrator and Mechanical Ddeformer for Microbiological Process. Biotech. Bioeng. 9 : 357-364.

Gerald Reed. 1982 . 4th ed. Prescott & Dunn's Industrial Microbiology . Westport, 1982. : 802-834

Ghommidh, C.,J.M. Navarro and G. Durand. 1981. Acetic Acid Production by Immobilized Acetobacter Cells. Biotechnol. Lett. 3(2) : 93-98.

Ghommidh, C.,J.M. Cutayar and J.M. Navarro. 1986. Continuous Production of Vinegar. I. Research Strategy. Biotechnol. Lett. 8(1) : 13-18.

Gist-Brocades. 1978. British patent no. 1,514,425.

Greenshield, R. N. and E.L. Smith. 1974. The Tubular Reactor in Fermentation. Proc. Biochem. 9 : 11-13, 15-18.

Jun-Ichi Horuchi, Tohru Kanno, and Masayoshi Kobayashi. 2000. Effective Onion Vinegar Production Fermentation System by a Two-Step. Bioscience AND Bioengineering. Vol. 90, No.3 : 289-293.

Kennedy, J.F,J.D. Humphreys, S.A. Barker and R.N. Greenshield. 1980. Application of Living Immobilized Cells to The Acceleration of The Continuous Conversions of Ethanol (Wort) to Acetic Acid (Vinegar) - Hydrous Titanium (IV) Oxide Immobilizedv Acetobacter Species. Enzyme. Microb. Technol. 2(3) : 209-216.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Maria Gullo, Cinzia Caggia, Luciana De Vero and Paolo Giudici. 2004. Characterization of acetic acid bacteria in ''traditional balsamic vinegar. Department of Agricultural Science, University of Modena and Reggio Emilia, , Italy, 2004.

Moli, A. 1985. Production of Vinegar by Immobilized Cells. Proc. Biochem. 20(3) : 67-74.

Muller, F. 1978. A Modern Bioreactor for Vinegar Production. Proc. Biochem. 13 : 10-11.

Nanba, A., A. Tumura and S. Nagai. 1985. Vinegar Production by *Acetobacter rancens* Cells Fixed on a Hollow Fiber Module. J. ferment. Technol. 63(1) : 57-60.

Nickol, G.B. 1979. Vinegar. Microbial Technology. New York : Academic Press.

Okuhara, A. 1985. Vinegar Production with Acetobacter Grown on Fibrous Support. J. Ferment. Technol. 63(1) : 57-60.

Okuhara, A. 1987. Production of Vinegar with Bacteria on Support. U.S. patent no. 4,661,356.

Osaga, J.,A Mori and J. Kato. 1984. Acetic Acid Production by Immobilized *Acetobacter aceti* Cell Entrapped in a K-Carragenan Gel. J. Ferment. Technol. 62(2) : 139-149.

Rainbow, C. 1996. Nutrition and Metabolism of Acetic and Bacteria (Brewery Spoilage Organism). Wallerstein Lab. Commun. 29(98/99) : 5-15.

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

Stanbury, P. F. and A. Whitaker. 1984. Principle of Fermentation Technology. Oxford : Pergamon Press.

White, J. 1970. Malt Vinegar Manufacture. Proc. Biochem. 5(10) : 54-56.

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. อาหาร Glucose Yeast Extract Agar (GYEA)

มีองค์ประกอบดังนี้			
	Glucose	100.00	กรัม
	Yeast Extract	10.00	กรัม
	Calcium carbonate ($CaCO_3$)	20.00	กรัม
	Agar	20.00	กรัม
	Distilled water	1000.00	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นด้วยความร้อนจน agar ละลาย แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 15 นาที

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. อาหาร Glucose Yeast Extract Agar (GYEA) สูตรปรับปรุงจากข้อ 2

มีองค์ประกอบดังนี้

Glucose	100.00	กรัม
Yeast Extract	10.00	กรัม
Bromcresol purple	0.003	กรัม
(ละลายในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณที่น้อยที่สุด)		
Agar	20.00	กรัม
Distilled water	1000.00	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นด้วยความร้อนจน agar ละลาย แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 15 นาที

4. อาหาร MY Broth

มีองค์ประกอบดังนี้

Glucose	10.00	กรัม
Peptone	5.00	กรัม
Yeast Extract	3.00	กรัม
Malt Extract	3.00	กรัม
Distilled water	1000.00	มิลลิลิตร

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 15 นาที

5. อาหาร MY Agar

มีองค์ประกอบดังนี้

Glucose	10.00	กรัม
Peptone	5.00	กรัม
Yeast Extract	3.00	กรัม
Malt Extract	3.00	กรัม
Agar	20.00	กรัม
Distilled water	1000.00	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นด้วยความร้อนจน agar ละลาย แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 15 นาที

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

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 จากนั้นอ่านค่าจุดเดือดของตัวอย่างและด้านตรงข้ามจะเป็นค่าแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยวิธีนี้อ่านค่าได้โดยตรงโดยไม่ต้องปรับค่าของอุณหภูมิทำให้สะดวกและรวดเร็วขึ้น

Ebuliometer จะวัดค่าแอลกอฮอล์ได้แม่นยำในช่วงที่มีแอลกอฮอล์น้อยกว่า 5% ค่าอุณหภูมิที่อ่านได้ในช่วงที่เหมาะสมคือประมาณ 96-100 องศาเซลเซียส ถ้าตัวอย่างที่ต้องการหามีปริมาณแอลกอฮอล์สูงควรจะเติมน้ำให้เจือจางลงมา 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 0.1 N NaOH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคนวก ค

ข้อมูล

ตารางที่ 1 ผ. : ผลการผลิตแอลกอฮอล์ในการผลิตไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน ด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* M 30 โดยทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 วัน

จำนวนวัน	pH	°Brix	Alc.% %V	Cell (cfu/ml)
0	4.35	16.4	0.0	8.58×10^7
3	3.11	10.0	4.7	7.64×10^8
6	3.08	9.6	6.5	3.84×10^8

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ผ. : ผลการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนด้วยเชื้อ *Acetobacter* sp. สป.5 ปริมาณร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก แบบไม่ใช้ตัวตรึงใยบวบ ในถังหมักระบบ STR ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 32 วัน

จำนวนวัน	pH	% TA (acetic acid)	Alcohol (%V)
0	3.16	1.00	7.1
7	3.11	1.23	5.8
14	3.09	1.65	5.6
15	3.07	1.33	4.7
16	3.04	1.47	4.9
17	3.09	1.41	4.4
19	3.03	1.44	3.8
21	3.03	1.70	3.5
23	3.05	1.64	3.2
25	3.02	1.66	2.9
27	3.00	1.74	2.3
29	3.00	1.92	1.7
31	2.98	1.42	3.3
32	2.98	1.47	2.8

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ผ. : ผลการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนด้วยเชื้อ *Acetobacter* sp. สป.5 ปริมาณร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก แบบใช้ตัวตรึงด้วยใยบวบในถังหมัก STR ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 32 วัน

จำนวนวัน	pH	% TA (acetic acid)	Alcohol (% V)
0	3.08	1.42	6.26
7	3.12	1.27	5.10
14	3.16	1.27	3.40
15	3.17	1.28	3.30
16	3.17	1.27	3.00
17	3.20	1.31	2.30
19	3.20	1.28	2.10
21	3.19	1.30	1.70
23	3.17	1.34	1.70
25	3.15	1.48	1.60
27	3.13	1.55	1.30
29	3.09	1.81	0.80
30	3.04	2.18	0.40
32	3.02	2.32	0.00

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวนพรัตน์ แมนสรวง เกิดเมื่อวันที่ 28 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2527 จังหวัดกรุงเทพมหานคร ที่อยู่ปัจจุบัน 641 ซอยนวมินทร์ 69 ถนนนวมินทร์ แขวงคลองขกุ่ม เขตบึงกุ่ม จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมตอนปลายจากโรงเรียนบางกะปิ พุทธศักราช 2545 ปัจจุบันศึกษาอยู่ที่โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีการหมัก)

นายวีรภัทร์ ลิไพบูลย์ เกิดเมื่อวันที่ 9 กันยายน พ.ศ. 2526 จังหวัดกรุงเทพมหานคร ที่อยู่ปัจจุบัน 104/2 ถนนรามอินทรา คันนายาว จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมตอนปลายจากโรงเรียนบางกะปิ พุทธศักราช 2544 ปัจจุบันศึกษาอยู่ที่ โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีการหมัก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้