บทที่ 3

อุปกรณ์ วัสดุ และการทดลอง

3.1 อุปกรณ์และวัสดุ

เครื่องมือแบ่งออกเป็น 2 พวกคือ

3.1.1 เครื่องหมักไวน์ (เอทานอล)

3.1.2 เครื่องหมักน้ำส้มสายชู

3.1.1 เครื่องหมักไวน์

การผลิตไวน์ประกอบด้วยเครื่องมือ 2 ส่วนคือ

ก. เครื่องพาสเจอไรซ์ (pasteurizer)

ประกอบด้วยถังเก็บน้ำหมักก่อนให้ความร้อนทางด้านล่างของถังต่อเข้ากับท่อสเตนเลสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 1 เซนติเมตรขดเป็นวงกลมหลายชั้นมีเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 10 เซนติเมตรบรรจุอยู่ภายในถังสเตนเลสทรงกระบอกซึ่งบรรจุน้ำและมีขดลวดให้ความร้อน (heating coil) อยู่ภายในถัง ดังรูปที่ 3.1

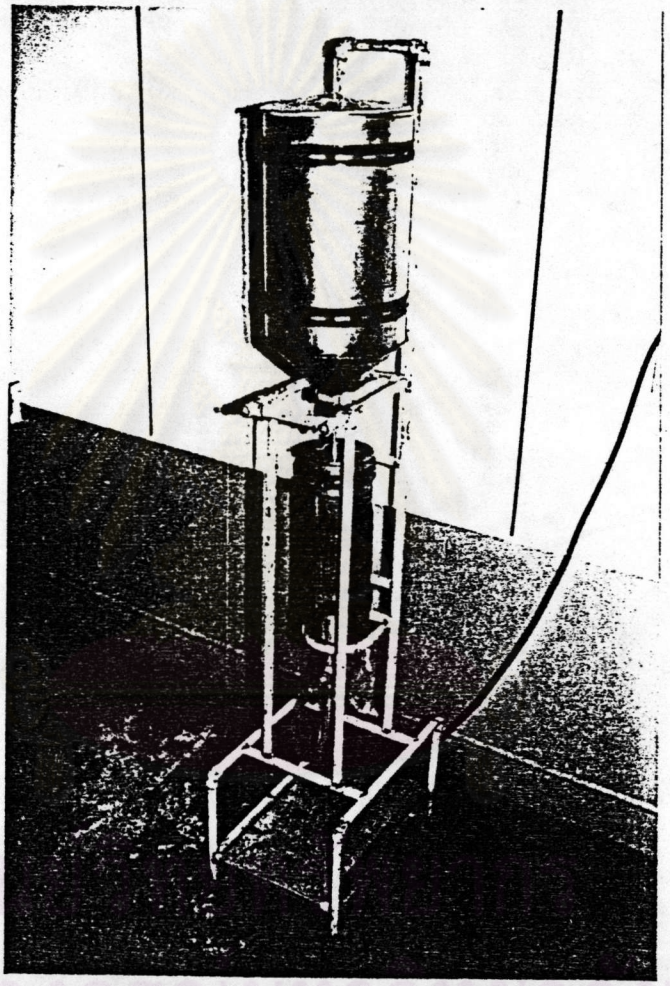
หลักการพาสเจอไรซ์สำหรับเครื่องมือชุดนี้คืออาศัยน้ำเป็นตัวนำความร้อนจากขดลวดผ่านไปให้ของเหลวในถังที่ไหลผ่านท่อสเตนเลสปลายท่อมีวาล์วปิดเปิดใช้ในการควบคุมการไหลของของเหลวเพื่อให้ของเหลวได้รับความร้อนจนมีอุณหภูมิประมาณ 78 องศาเซลเซียส ของเหลวที่ผ่านการพาสเจอไรซ์แล้วจะถูกเก็บไว้ในถังเก็บและนำไปแช่เย็น

ข. เครื่องหมักไวน์ (เอทานอล)

เป็นเครื่องหมักไวน์แบบต่อเนื่องประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วนคือ

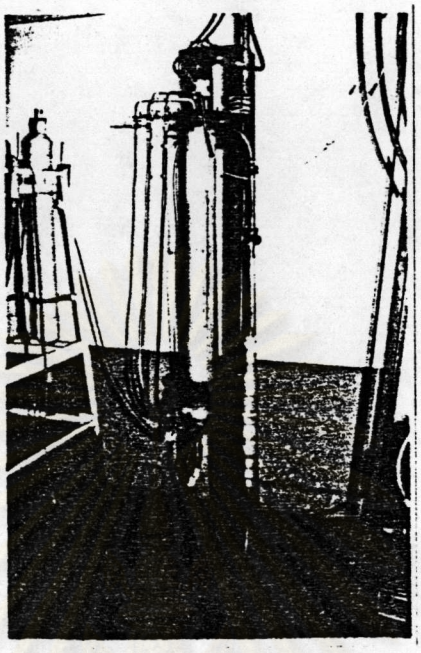
- ส่วนแรกทำหน้าที่เพิ่มจำนวนเซลล์ยีสต์เพื่อใช้ในการหมักไวน์ มีการให้อากาศตลอดเวลา เป็นเครื่องหมักคอลัมน์ ตัวคอลัมน์ทำด้วยแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร สูง 100 เซนติเมตร ด้านบนมีช่องระบายอากาศหรือฟองอากาศ ด้านล่างมีหัวกระจายอากาศ (distributer)

- ส่วนที่สองทำหน้าที่ผลิตเอทานอล ไม่มีการให้อากาศเป็นเครื่องหมักคอลัมน์จำนวน 8 คอลัมน์ทำด้วยพีวีซี เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 10 เซนติเมตร สูง 100 เซนติเมตร ระหว่างคอลัมน์มีท่อพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 2.5 เซนติเมตรต่อจากคอลัมน์ที่ 1 ถึงคอลัมน์ที่ 8 เครื่องหมักนี้มีกำลังการผลิตไวน์ซึ่งมีปริมาณเอทานอลร้อยละ 12 ประมาณวันละ 30 ลิตร ดังรูปที่ 3.2

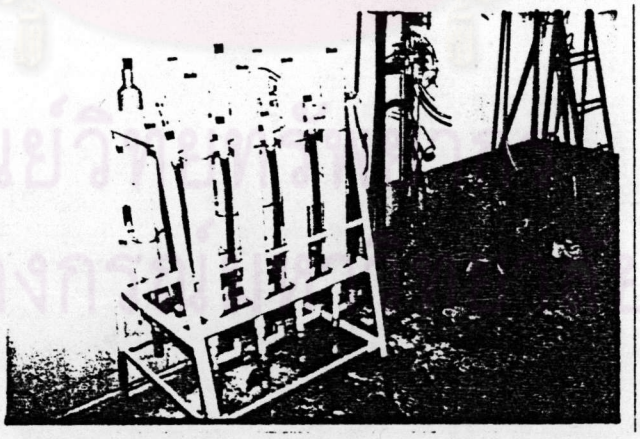


รูปที่ 3.1 เครื่องพาสเจอไรซ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



(ก)



(ข)

รูปที่ 3.2 เครื่องหมักไวน์คอลัมน์แบบต่อเนื่อง ก. หน่วยเพิ่มปริมาณเชื้อ ข. หน่วยผลิตไวน์

3.1.2 เครื่องหมักน้ำส้มสายชู

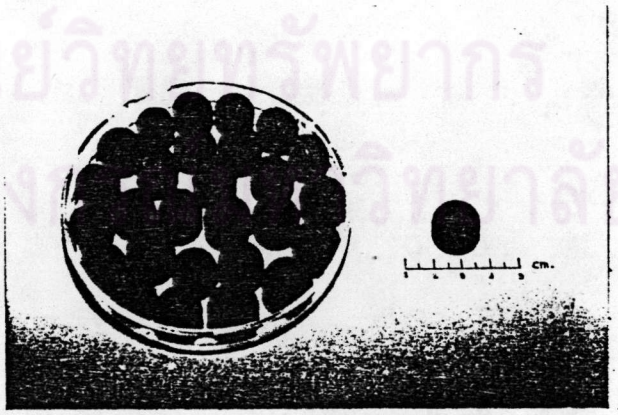
เครื่องหมักน้ำส้มสายชูที่ใช้ในงานวิจัยมี 2 ลักษณะคือ

3.1.2.1 เครื่องหมักน้ำส้มสายชูแบบแพคเบดคอลัมน์เดี่ยว ตัวคอลัมน์ทำด้วยพีวีซีใส มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.2 เซนติเมตร สูง 50 เซนติเมตรจุน้ำหมักได้ 2 ลิตร ส่วนภายในบรรจุแพคเบดซึ่งเป็นไม้ทรงกลม (ไม้มะค่า) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร ดังรูปที่ 3.3 ใต้คอลัมน์มีถังเก็บน้ำหมักจุได้ 15 ลิตร นอกจากนี้ยังมีระบบการไหลกลับของน้ำหมักซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงได้คือ

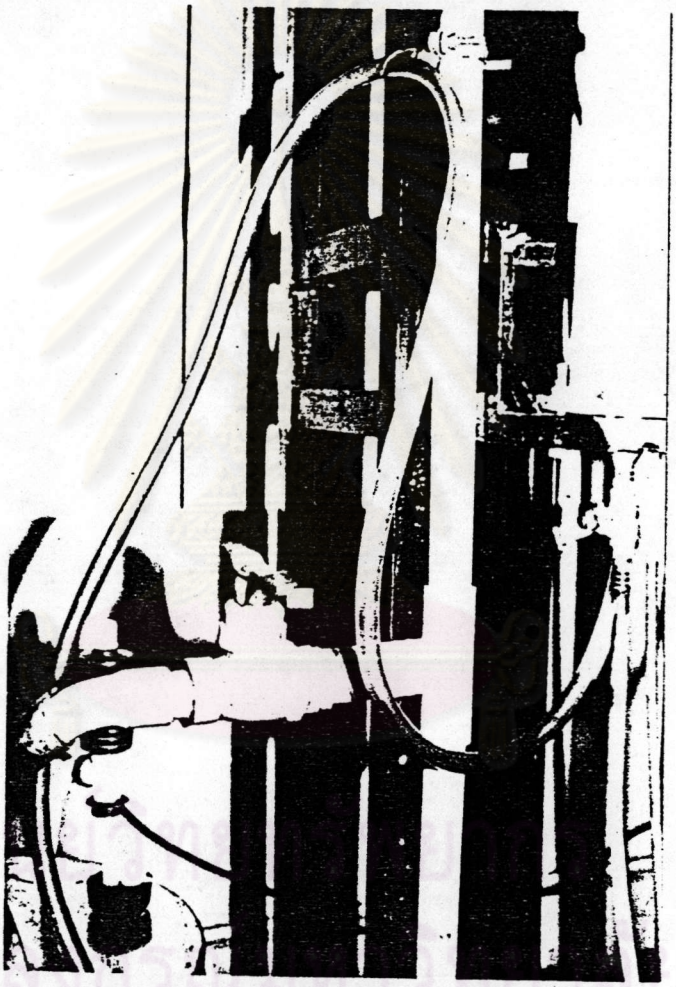
ระบบกาลักน้ำ (syphoning system) ดังรูปที่ 3.4 ซึ่งจะทำให้น้ำหมักไหลลงถังหมักเป็นจังหวะ

ระบบน้ำหมักไหลผ่านแพคเบดแบบธรรมดา (pass through) มีลักษณะคือ น้ำหมักที่ออกจากหัวกระจายน้ำหมักผ่านแพคเบดตลอดเวลาอย่างต่อเนื่องลงสู่ถังหมัก โดยไม่ถูกกักไว้ในคอลัมน์

3.1.2.2 เครื่องหมักน้ำส้มสายชูแพคเบดแบบต่อเนื่อง ประกอบด้วยเครื่องหมักชั้นเดี่ยว (3.1.2.1) ที่มีส่วนประกอบและลักษณะเหมือนกัน 4 เครื่องต่อเรียงกันเป็นอนุกรม ดังรูปที่ 3.5 โดยที่ลักษณะการต่อกันนี้จะต่อจากถังเก็บน้ำหมักของเครื่องหนึ่งไปถังเก็บน้ำหมักอีกเครื่องหนึ่งและเมื่อเวลาเดินเครื่องวัตถุดิบจะถูกป้อนเข้าตลอดเวลา ซึ่งทำให้น้ำหมักในถังเก็บน้ำหมักไหลผ่านเครื่องหมักต่างๆได้โดยอาศัยการท่วมล้น (overflow) ของน้ำหมักในถังเก็บจากถังแรกสู่ถังลำดับต่อ ๆ ไป

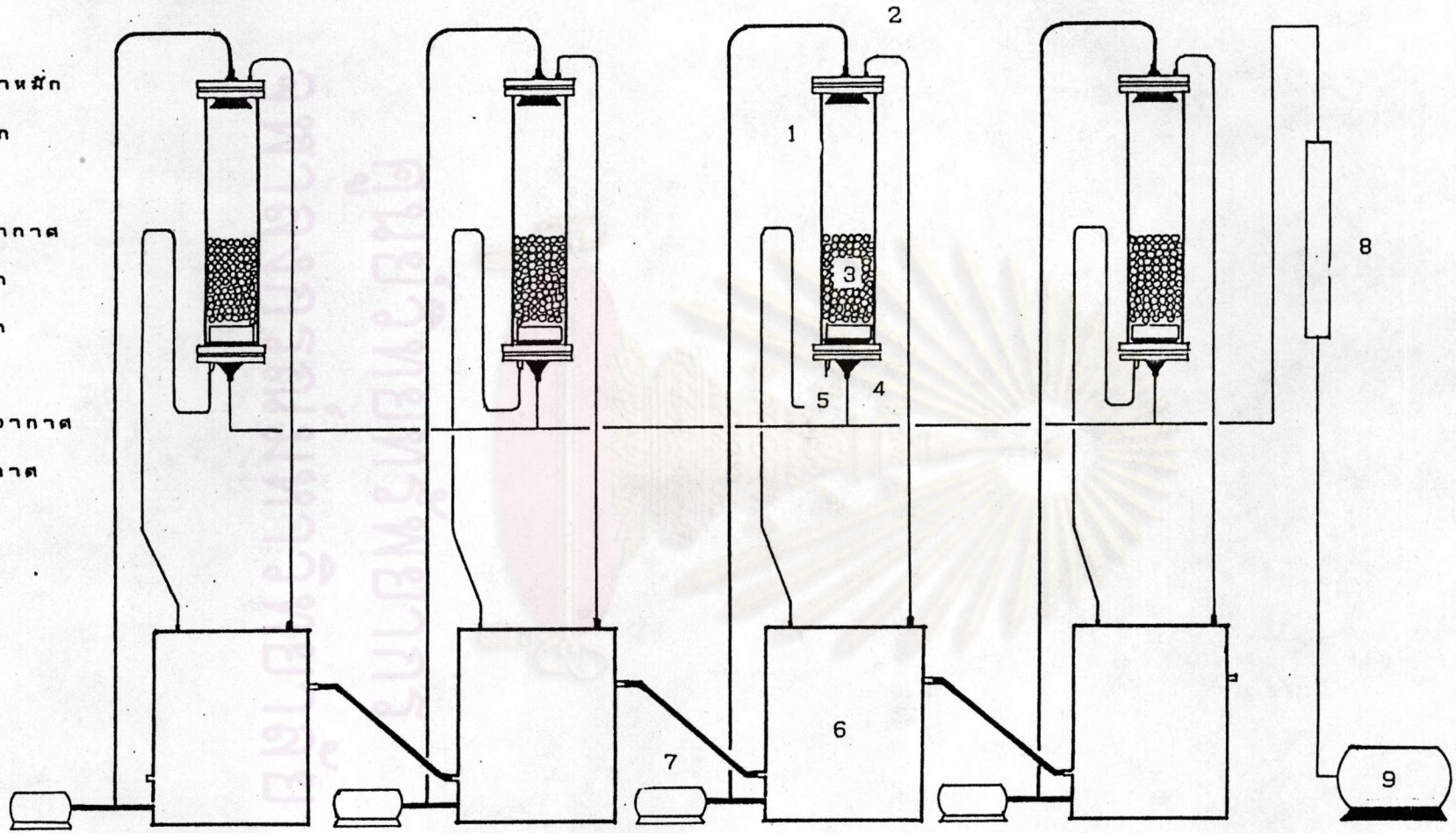


รูปที่ 3.3 ลักษณะและขนาดของเม็ดไม้มะค่าที่ใช้เป็นแพคเบด



รูปที่ 3.4 ลักษณะระบบการไหลเวียนของน้ำหมักแบบกาลักน้ำ

1. หัวกระจายน้ำหมัก
2. ท่ออากาศออก
3. แผลเบด
4. หัวกระจายอากาศ
5. ท่อน้ำหมักออก
6. ถังเก็บน้ำหมัก
7. ปั๊ม
8. เครื่องกรองอากาศ
9. เครื่องอัดอากาศ



รูปที่ 3.5 ลักษณะของเครื่องหมักหลายคอลัมน์แบบต่อเนื่อง

3.2 การทดลอง

3.2.1 เตรียมวัสดุตัวกลางที่ยึดเกาะของเชื้อ (packing material) ซึ่งมีลักษณะทรงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร ทำจากไม้มะค่า (Afzelia Xylocarpa Oraib) นำวัสดุที่ยึดเกาะของเชื้อแช่กรดอะซิติกร้อยละ 5 เพื่อกำจัดกลิ่นและสี ล้างกรดออกด้วยน้ำต้มจนเดือดโดยเปลี่ยนน้ำหลายๆครั้งจนน้ำที่ต้มใสแล้วนำไปสเตอไรซ์ที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

3.2.2 การเตรียมไวน์สับปะรด ใช้น้ำสับปะรดที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 18 องศาบริกซ์ที่ pH 4.5 นำไปหมักในเครื่องหมักดังรูปที่ 3.2 โดยใช้เชื้อ S.ellipsodevs แล้วเติมอาหารเสริมซึ่งประกอบด้วย ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตร้อยละ 0.05 ,แมกนีเซียมซัลเฟต 0.01 และแอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หมักจนไวน์สับปะรดมีเอทานอลร้อยละ 11 โดยประมาณ หลังจากนั้นนำมาพาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ 75-78 องศาเซลเซียส

3.2.3 การเตรียมน้ำส้มสายชูแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนคือ

3.2.3.1 การเตรียมน้ำหมักเริ่มต้น ใช้ไวน์สับปะรดหรือเอทานอลมาเจือจางให้ได้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 7 โดยปริมาตร เติมกรดอะซิติกเพื่อปรับปริมาณกรดเริ่มต้นในน้ำหมักให้ได้ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

3.2.3.2 การเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้น เชี่ยเชื้อ A.aceti ลงสู่อาหารเหลวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วซึ่งประกอบด้วยยีสต์เอกซแทรกต์ เปปโตน แมนนิทอล และไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตร้อยละ 0.05,0.03,0.05 และ 0.3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรตามลำดับในขวดขนาด 500 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่องเขย่าที่ 240 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 48 ชั่วโมงตามวิธีการของ Richardson K.C.(21) แล้วนำส่วนนี้ไปผสมกับไวน์ที่เตรียมไว้ในข้อ (3.2.2) ใส่ลงในคอลัมน์ที่บรรจุแพคเบดเพื่อเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้นให้ได้ร้อยละ 20 โดยปริมาตรของน้ำหมักทั้งหมดพร้อมทั้งให้อากาศเป็นเวลา 18 ชั่วโมง ต่อจากนั้นเติมส่วนที่เหลืออีกร้อยละ 80 ลงในถังเก็บและปล่อยให้เชื้อหมักเริ่มต้นที่เตรียมไว้ในคอลัมน์ลงสู่ถังเก็บ เปิดปั๊มหมุนเหวี่ยงพร้อมทั้งปรับอัตราการไหลของน้ำหมักและอากาศตามต้องการ

3.2.4 การเตรียมเครื่องหมักเพื่อการหมักแบบต่อเนื่อง จากข้อ (3.2.3.2) เมื่อเตรียมเครื่องหมักทั้งสี่และใส่น้ำหมักเรียบร้อยแล้ว จากนั้นควบคุมความเข้มข้นของกรดอะซิติกในน้ำหมักของเครื่องหมักที่ 1,2,3,และ4 ให้ได้ร้อยละ 2,3,4,และ5 ตามลำดับ แล้วจึงต่อแต่ละเครื่องเข้าด้วยกันเป็นอนุกรมดังรูปที่ 3.5 โดยให้แต่ละเครื่องมีอัตราการไหลของน้ำหมักและอากาศไม่ขึ้นต่อกัน

3.2.5 ขั้นตอนการทดลอง

3.2.5.1 ศึกษาความสูงของแพคเบดที่เหมาะสมที่สุด โดยพิจารณา 2 ตัวแปร คืออัตราส่วนความสูงของช่องว่างเหนือแพคเบดต่อความสูงของแพคเบดเท่ากับ 1:1.22,1:0.95 ให้อัตราการไหลของน้ำหมักเท่ากับ 2.8 ลิตรต่อนาทีและอัตราการไหลของอากาศเท่ากับ 0.04 ปปน. (ปริมาตรของอากาศต่อปริมาตรของน้ำหมักต่อนาที) ใช้อัตราส่วนร้อยละของเอทานอล (โดยปริมาตร) ต่อร้อยละของกรดอะซิติก (น้ำหนักต่อปริมาตร) เริ่มต้นเท่ากับ 7:1

3.2.5.2 ศึกษาระบบการไหลเวียนของน้ำหมักที่เหมาะสมที่สุด โดยพิจารณา 2 ระบบ คือ

ก. ระบบกาลักน้ำ

ข. ระบบการไหลผ่านธรรมดา

ให้อัตราการไหลของน้ำหมักเท่ากับ 2.8 ลิตรต่อนาทีอัตราการไหลของอากาศเท่ากับ 0.04 ปปน.และให้อัตราส่วนร้อยละของเอทานอลต่อร้อยละของกรดอะซิติกเท่ากับ 7:1

3.2.5.3 ศึกษาสภาวะที่สามารถผลิตกรดอะซิติกได้เร็วที่สุดในแต่ละเครื่องหมักทั้ง 4 เครื่อง (โดยนำสภาวะที่ดีที่สุดจากข้อ (3.2.5.1) และ (3.2.5.2) มาใช้) จากปริมาณกรดอะซิติกแต่ละช่วงของแต่ละเครื่องหมัก ดังนี้

เครื่องหมักที่ 1 จากปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 1 ถึง 2

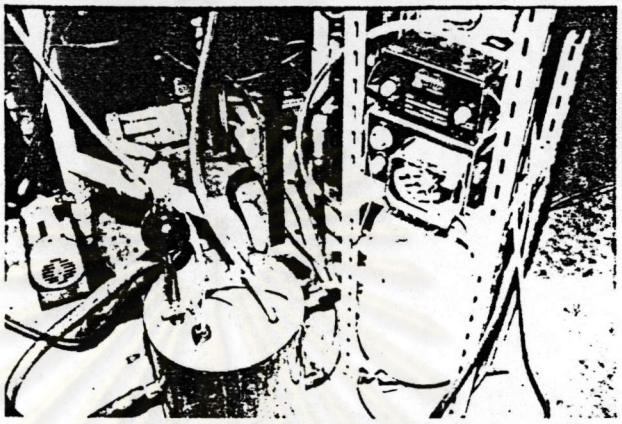
เครื่องหมักที่ 2 จากปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 2 ถึง 3

เครื่องหมักที่ 3 จากปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 3 ถึง 4

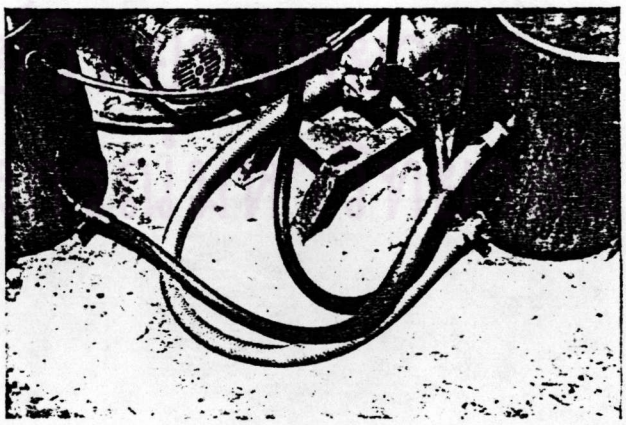
เครื่องหมักที่ 4 จากปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 4 ถึง 5

โดยเปลี่ยนอัตราการไหลของน้ำหมักเป็นค่าต่าง ๆ คือ 3.2,2.8,และ 2.4 ลิตรต่อนาที อัตราการไหลของอากาศเป็น 0.08,0.06,และ 0.04 ปปน.

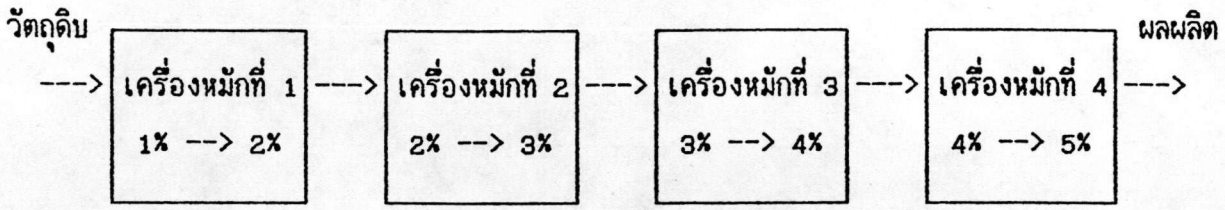
3.2.5.4 เมื่อได้สภาวะที่สามารถผลิตกรดอะซิติกเร็วที่สุดของแต่ละเครื่องแล้วประกอบเครื่องหมักทั้งสี่เป็นอนุกรมเพื่อทำการผลิตแบบต่อเนื่อง โดยควบคุมให้ปริมาณกรดอะซิติกในเครื่องหมักที่ 1,2,3 และ4 ประมาณ 2,3,4 และ5 % ตามลำดับ จากนั้นเริ่มป้อนวัตถุดิบเข้าทางเครื่องหมักที่ 1 พร้อมกับศึกษาอัตราการเจือจาง (dilution rate) ที่เหมาะสมที่สุดของวัตถุดิบที่ป้อนเข้าโดยไม่ทำให้ปริมาณกรดอะซิติกเปลี่ยนแปลง ซึ่งวัตถุดิบป้อนเข้ามีอัตราส่วนร้อยละของเอทานอลต่อร้อยละของกรดอะซิติกเท่ากับ 7:1 ดังรูปที่ 3.8



รูปที่ 3.6 หน่วยการป้อนวัตถุดิบ

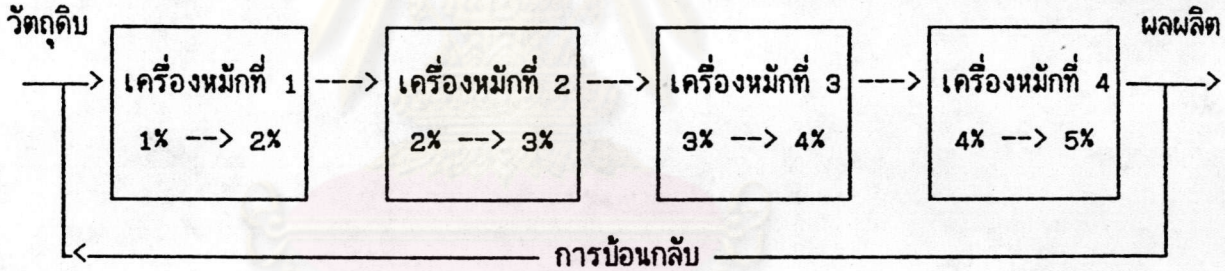


รูปที่ 3.7 ลักษณะการท่วมล้นจากถังหมักต้นสู่ถังหมักลำดับต่อไป



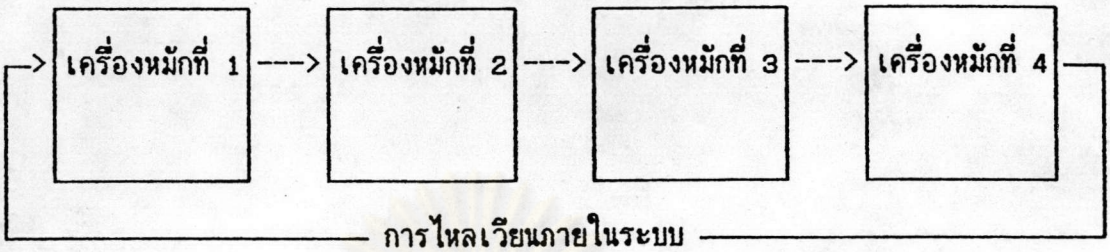
รูปที่ 3.8 แผนภูมิการเดินเครื่องแบบต่อเนื่อง

3.2.5.5 ศึกษาอัตราการเจือจางและอัตราส่วนการป้อนกลับ (recycle ratio = dilution rate:recycle rate) เมื่อนำเอาบางส่วนของผลผลิตมารวมกับวัตถุดิบแล้วป้อนเข้าเครื่องที่ 1 แปรค่าอัตราการเจือจางและอัตราการป้อนกลับที่เหมาะสมที่สุดโดยไม่ทำให้ปริมาณกรดอะซิติกและเชื้อเปลี่ยนแปลง ซึ่งจะนำผลการทดลองของข้อ (3.2.5.4) มาพิจารณาร่วมด้วย ดังรูปที่ 3.9



รูปที่ 3.9 แผนภูมิการเดินเครื่องแบบต่อเนื่องเมื่อมีการป้อนกลับ

3.2.5.6 เปรียบเทียบกำลังการผลิต (ปริมาณการผลิตต่อหน่วยเวลา) ของระบบการผลิตแบบไม่ต่อเนื่อง กึ่งต่อเนื่อง และต่อเนื่อง ในเครื่องหมักแพคเบดหลายคอลัมน์ โดยในการผลิตแบบไม่ต่อเนื่องและกึ่งต่อเนื่องจะประกอบเครื่องเป็นแบบปิด (เอาทางออกของเครื่องหมักที่ 4 ต่อกับทางเข้าของเครื่องที่ 1) ไม่มีการป้อนเข้าของวัตถุดิบ ดังรูปที่ 3.10 จากนั้นทำการเปรียบเทียบระยะเวลาในการผลิตน้ำส้มสายชูปริมาณเท่ากัน (60 ลิตร) ของกระบวนการผลิตทั้งสามแล้วคำนวณเป็นปริมาณการผลิตต่อหน่วยเวลา (ลิตรต่อวัน)



รูปที่ 3.10 แผนภูมิการเดินเครื่องแบบไม่ต่อเนื่องและกึ่งต่อเนื่อง

3.2.6 วิธีวิเคราะห์

ในงานวิจัยได้ทำการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

- ปริมาณกรดอะซิติกโดยวิธีของ A.O.A.C.(35)
- ปริมาณเอทานอลโดยวิธีของ A.O.A.C.(35)
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid) โดยใช้รีแฟรคโตมิเตอร์ (refractometer)
- ความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้ pH meter Electronic Instrument Limited, Serial No.7010/582
- อุณหภูมิโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์
- ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธีของ Hemacytometer

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย