หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

น้ำส้มสายชู เป็นผลิตภัณฑ์หมักที่รู้จักกันมาแต่โบราณ เช่นเดียวกับเครื่องดื่มที่ได้จากการหมักจำพวกไวน์หรือเบียร์ โดยเริ่มแรกนั้นได้น้ำส้มสายชูมาจากการเสียของไวน์หรือเบียร์ที่เกิดจากการกระทำของแบคทีเรียพวก Acetobacter ในสภาพที่มีออกซิเจน แบคทีเรียนี้จะไปเปลี่ยนแอลกอฮอล์ในไวน์หรือเบียร์ให้เป็นกรดอะซิติกหรือกรดน้ำส้ม จึงทำให้ไวน์หรือเบียร์นั้นมีรสเปรี้ยว ได้เป็นน้ำส้มสายชู (vinegar) น้ำส้มสายชูมาจากภาษาฝรั่งเศสว่า vinaigre แปลว่า ไวน์ที่มีรสเปรี้ยวมาก (vin แปลว่า ไวน์ ,aigre แปลว่า รสเปรี้ยวหรือแหลม) ดังนั้น น้ำส้มสายชูจึงหมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำให้เกิดกรดน้ำส้ม (acetification) ของวัตถุดิบพวกแป้งหรือน้ำตาลที่ผ่านกระบวนการหมักแอลกอฮอล์มาแล้ว(1)

2.1 น้ำส้มสายชูแบ่งตามวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตได้ดังนี้

White distilled vinegar เป็นน้ำส้มสายชูที่เตรียมมาจากเอทานอลซึ่งได้จากการหมักวัตถุดิบพวกธัญญพืช กากน้ำตาล หรือเป็นแอลกอฮอล์ที่สังเคราะห์ขึ้น น้ำส้มสายชูที่หมักได้จะใส ไม่มีสี มีกรดอะซิติก 4-5 % และแอลกอฮอล์ที่เหลือไม่ควรเกิน 0.5 %

Wine vinegar เป็นน้ำส้มสายชูที่ผลิตจากองุ่นเป็นวัตถุดิบ และมีกรดอะซิติกไม่น้อยกว่า 4 %

Malt vinegar เป็นน้ำส้มสายชูที่ได้จากข้าวมอลท์หรือข้าวอื่น ๆ ที่ถูกย่อยโดยข้าวมอลท์เป็นวัตถุดิบและมีกรดอะซิติกไม่น้อยกว่า 4 %

Spirit vinegar เป็นน้ำส้มสายชูที่ผลิตจากการหมักสารละลายเอทานอลซึ่งกลั่นได้จากขบวนการหมัก

Cider vinegar เป็นน้ำส้มสายชูที่ผลิตจากแอปเปิ้ลด้วยกระบวนการหมักแอลกอฮอล์และกรดอะซิติกติดต่อกัน(1) กรดอะซิติกที่ได้ประมาณ 5 %

Flavoured vinegar เป็นน้ำส้มสายชูที่เตรียมจากการทำน้ำส้มสายชูชนิดอื่น ๆ แล้วนำมาปรุงแต่งกลิ่น รส ด้วยสารที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี เช่น เติมกระเทียม เกลือ

Blends of vinegar เป็นน้ำส้มสายชูที่เตรียมขึ้นจากน้ำส้มสายชูหลาย ๆ ชนิดนำมารวมเข้าด้วยกัน เช่น น้ำส้มสายชูที่เรียกว่า Special vinegar ผสมกับน้ำส้มสายชูอื่น ๆ และอาจมีการปรุงแต่งรสเพิ่มเติมหรือไม่ก็ได้

วัตถุดิบที่จะนำมาผลิตเป็นน้ำส้มสายชูมีหลายชนิด ซึ่งอาจจำแนกได้เป็น 5 ประเภทคือ(2)

ก. พวกผลไม้ มีองุ่น แอปเปิ้ล สับปะรด ส้ม แพร์

ข. พวกแป้ง ได้แก่ มันเทศ มันฝรั่ง มันสำปะหลัง ข้าวมอลท์ ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวบาร์เล่ ข้าวไรน์ ข้าวจ้าว ข้าวเหนียว เป็นต้น

ค. พวกน้ำตาล ได้แก่ อ้อย หัวบีท และกากน้ำตาล

ง. พวกเอทานอลที่เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมอื่น ๆ

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูควรมีคุณภาพดี เช่น ผลไม้ก็ควรจะเป็นผลไม้ที่แก่จัด มีกลิ่นและรสชาติดีและกำลังสุกพอดี ไวน์ และแอลกอฮอล์ก็จะต้องใสปราศจากสารที่ใช้ในการถนอมอาหารเจือปน

สำหรับประเทศไทย มีมาตรฐานของน้ำส้มสายชูที่กำหนดโดยกระทรวงสาธารณสุขไว้ดังต่อไปนี้

ข้อที่ 1 น้ำส้มสายชูแบ่งออกเป็น

1 น้ำส้มสายชูหมัก ได้แก่ ผลิตผลที่ได้จากธัญญพืช ผลไม้ หรือน้ำตาล แล้วหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีตามธรรมชาติ

2 น้ำส้มสายชูกลั่น ได้แก่ การนำสุราขาวเจือจาง หรือแอลกอฮอล์เจือจาง หมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีธรรมชาติ หรือได้มาจากการกลั่นน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น

3 น้ำส้มสายชูเทียม ได้แก่ การเอากรดอะซิติกมาเจือจางกับน้ำ

ข้อที่ 2 สำหรับคุณภาพและมาตรฐานของน้ำส้มสายชูหมัก และน้ำส้มสายชูกลั่นมีดังนี้คือ

1 ต้องมีกรดอะซิติกไม่น้อยกว่า 4 กรัม/100 มล.

2 ต้องไม่มีกรดน้ำส้ม หรือกรดอะซิติกที่มิได้มาจากการผลิตน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่นตามกรรมวิธีธรรมชาติ

3 ต้องไม่มีการเจือจางกรดซัลฟุริก หรือกรดแร่อิสระอย่างอื่น

4 ต้องไม่มีตะกอน เว้นไว้แต่ตะกอนอันเกิดจากธรรมชาติจากกรรมวิธีที่ผลิต

5 ต้องไม่มีหนอนน้ำส้ม (vinegar eel)

ข้อที่ 3 การแต่งสีน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่นให้ใช้สีน้ำตาลไหม้ (caramel)

ข้อที่ 4 สำหรับน้ำส้มสายชูเทียม ต้องมีคุณภาพและมาตรฐาน ดังนี้

1 ต้องมีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 กรัม/100 มล.

2 ต้องไม่มีกรดซัลฟุริกหรือกรดแร่อิสระอย่างอื่น

3 ต้องไม่มีตะกอน

4 ไม่มีการเจือจางสีชนิดใด ๆ

ข้อที่ 5 น้ำส้มสายชูหมัก น้ำส้มสายชูกลั่น และน้ำส้มสายชูเทียมที่ผลิตและจำหน่ายต้องมีฉลาก และในการแสดงฉลากนั้นอย่างน้อยต้องมีข้อความเป็นอักษรหรือภาษาไทยที่เห็นได้ชัดเจนดังต่อไปนี้

1 คำว่า " น้ำส้มสายชูหมัก " คำว่า " น้ำส้มสายชูกลั่น " หรือคำว่า " น้ำส้มสายชูเทียม " แล้วแต่กรณีและเลขทะเบียนอาหาร

2 ปริมาตรของน้ำส้มสายชูเป็น มล.

3 ชื่อผู้ผลิต และตำบลที่ตั้งของโรงงาน

4 กรณีน้ำส้มสายชูกลั่นมีกรดน้ำส้มเกินกว่า 7 กรัม/100 มล. จะต้องระบุปริมาณของน้ำส้มคิดเป็นกรดต่อ 100 มล. และวิธีทำให้เจือจางก่อนนำไปใช้บริโภค

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวกับการผลิตน้ำส้มสายชู

2.2.1. ยีสต์ เป็นจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นเอทานอล ซึ่งเป็นวัตถุดิบโดยตรงในการผลิตกรดอะซิติก ยีสต์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักน้ำส้มสายชูเป็นชนิดเดียวกับที่ใช้หมักเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์ แต่ในปัจจุบันมักมีการเลือกใช้ยีสต์ในขั้นตอนการเตรียมแอลกอฮอล์สำหรับใช้ในการผลิตกรดอะซิติก เพื่อให้ได้กลิ่นรสที่ดีและสม่ำเสมอ เช่นในการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์ ยีสต์ที่เลือกใช้คือ Saccharomyces ellipsoideus และถ้าจะผลิตน้ำส้มสายชูจากข้าวมอลท์ ก็ใช้ยีสต์ Saccharomyces cerevisiae ที่ได้จากการผลิตเบียร์หรือบางครั้งอาจมีการเติม Saccharomyces diastaticus เพื่อไปเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตที่เชื้อ Saccharomyces cerevisiae ใช้ไม่หมด ระยะเวลาการหมักประมาณ 48 - 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 21-30° ซ นอกจากนี้อาจใช้เชื้อ Saccharomyces carlsbergenesis ก็ได้

2.2.2. แบคทีเรีย ที่มีบทบาทสำคัญต่อการหมักน้ำส้มสายชูเป็นชนิดที่สร้างกรดอะซิติกอยู่ในจีนัส (genus) หรือสกุล Acetobacter ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่าชนิดอื่น ปัญหาของการผลิตน้ำส้มสายชู คือการปนเปื้อนของเชื้ออื่น ๆ ซึ่งจะทำให้ลดประสิทธิภาพของเชื้อ Acetobacter ที่ใช้ผลิตกรดอะซิติกลง ส่วนการหมักน้ำส้มสายชูแบบธรรมชาติจะเป็นการปล่อยให้จุลินทรีย์ในธรรมชาติเจริญเติบโตในสภาวะที่แข่งขันกัน

อย่างไรก็ตามมีแบคทีเรียหลาย ๆ สายพันธุ์ในสกุล Acetobacter ที่ได้รับความสนใจและนำมาใช้ในการผลิต เช่น A.xylinum , A.renceus , A.pasteurianus และ A.kuetzingianus ซึ่งบางสายพันธุ์จะสร้างเมือกหนา ๆ ที่ผิวหน้าของอาหาร เช่น A.xylinum แต่สายพันธุ์อื่น ๆ ไม่สามารถสร้างเมือกได้ โดยทั่วไป Acetobacter สามารถผลิตกรดอะซิติกจากการออกซิไดซ์เอทธิลแอลกอฮอล์ได้ในช่วงร้อยละ 2 - 12 แบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่กล่าวถึงนั้นสามารถผลิตกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูจากเอทธิลแอลกอฮอล์ดังต่อไปนี้

- A.aceti	ผลิตกรดอะซิติกได้ร้อยละ		6.6
- A.xylinum	"	"	4.5
- A.pasteurianus	"	"	6.2
- A.kentizingianus	"	"	6.6

สารอาหารที่จำเป็นที่แบคทีเรียเหล่านี้ต้องการจะแตกต่างกันมากจากสารอาหารประเภทธรรมดา ๆ จนถึงสารประกอบเชิงซ้อนต่าง ๆ อุณหภูมิที่เหมาะสมก็แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์

2.2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของแบคทีเรีย Acetobacter

2.2.3.1 อุณหภูมิ(3)

อุณหภูมิมีผลต่อการทำงานของเชื้อมากโดยถ้าใช้อุณหภูมิต่ำกว่า 12-15 °ซ แบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติกจะเจริญช้ามากและขนาดเซลล์จะโตแต่สั้น ถ้าใช้อุณหภูมิ 15-34 °ซ จะเจริญได้อย่างปกติ และถ้าใช้อุณหภูมิสูงเกินไปเป็น 42-45 °ซ เซลล์ของแบคทีเรียจะมีรูปร่างแบบเส้นด้ายโปร่งใส ซึ่งอุณหภูมิช่วงนี้เป็นอันตรายต่อการดำรงชีพของแบคทีเรีย โดยทั่วไปแล้วเชื้อ Acetobacter จะเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 28-30 °ซ(4) แต่ไม่ควรต่ำกว่าหรือสูงกว่า 27-34 °ซ เพราะถ้าต่ำกว่านี้จะทำให้การเพิ่มจำนวนของเซลล์ลดลง และถ้าใช้อุณหภูมิสูงกว่านี้จะทำให้เชื้อตายได้ นอกจากนั้นยังทำให้เกิดการสูญเสียแอลกอฮอล์ไปกับการระเหยด้วย

2.2.3.2 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)(5)

ความเป็นกรดด่างของการหมักมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ Acetobacter ดังนั้นในการหมักน้ำส้มสายชูจึงต้องคำนึงถึงสภาวะความเป็นกรดด่างของน้ำหมักเพื่อปรับให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตและการสร้างกรดของเชื้อ Acetobacter คืออยู่ในช่วง pH 3-4

2.2.3.2 ออกซิเจน

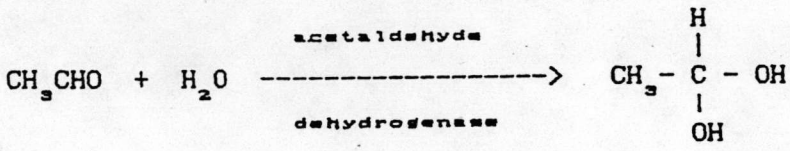
ออกซิเจนนอกจากจะมีความสำคัญต่อการผลิตกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูแล้วยังมีความสำคัญในการดำรงชีพของเชื้อด้วย เพราะเชื้อบางสายพันธุ์ถ้าขาดออกซิเจนเพียง 120 วินาทีก็จะทำให้เชื้อตายไปถึงร้อยละ 34 (6) ดังนั้นการให้อากาศหรือออกซิเจนอย่างทั่วถึงจึงทำให้การเจริญเติบโตและการสร้างกรดอะซิติกเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว

2.3 กลไกการเปลี่ยนแปลงของเอทานอลไปเป็นกรดอะซิติก

กระบวนการเกิดกรดอะซิติกนั้นเป็นกลไกที่เกิดขึ้นในสภาพที่มีอากาศ ซึ่งในช่วงแรกเชื้อ Acetobacter จะเปลี่ยนเอทานอลไปเป็นอะซิทาลดีไฮด์ โดยการทำงานของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (Alcohol dehydrogenase) และออกซิเจนจะทำหน้าที่รับไฮโดรเจน (hydrogen accaptor) เพื่อเปลี่ยนเอทานอลให้เป็นอะซิทาลดีไฮด์(7)

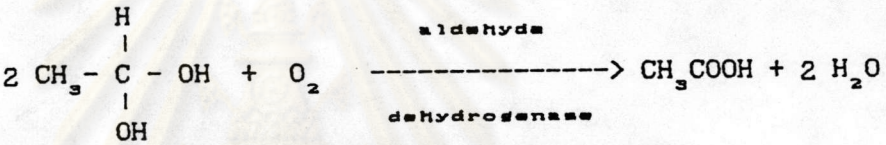
$$CH_3CH_2OH + O_2 \longrightarrow CH_3CHO + H_2O$$

ช่วงที่สองเป็นการเปลี่ยนอะซิทาลดีไฮด์ให้เป็นไฮเดรทอะซิทาลดีไฮด์ (hydrate acetaldehyde) โดยเอนไซม์อะซิทาลดีไฮด์ ดีไฮโดรจีเนส (acetaldehyde dehydrogenase)

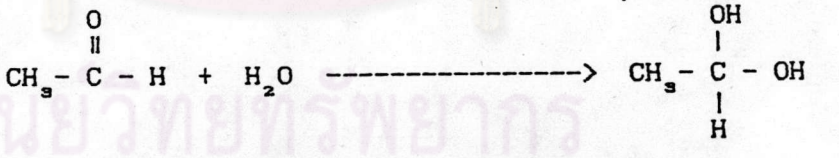


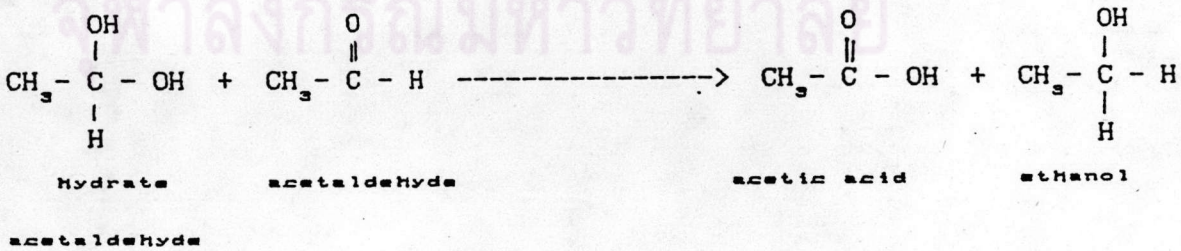
acetaldehyde hydrate acetaldehyde

จากนั้นโปรตอนสองตัวของไฮเดรทอะซิทาลดีไฮด์จะถูกกระตุ้นและถ่ายเทไปยังอะตอมของออกซิเจนจะได้กรดอะซิติกโดยมีเอนไซม์ อัลดีไฮด์ ดีไฮโดรจีเนส (aldehyde dehydrogenase) ซึ่งเป็นตัวช่วยเร่งในการกระตุ้นและถ่ายเท



นอกจากนี้การเกิดกรดอะซิติก อาจจะเกิดจาก acetaldehyde 2 โมเลกุลทำปฏิกิริยากันโดยปฏิกิริยาที่เรียกว่า แคนนิซซาโร (Cannizzaro reaction) ได้กรดอะซิติกและเอทานอลอย่างละ 1 โมเลกุล(7) โดยเอทานอลเกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรจีเนชั่น (hydrogenation) ของอะซิทาลดีไฮด์และกรดอะซิติกเกิดจากปฏิกิริยาดีไฮโดรจีเนชั่น (dehydrogenation) ของไฮเดรทอะซิทาลดีไฮด์ดังปฏิกิริยา(7)





ดังนั้นปฏิกิริยารวมที่เกิดคือ

$$\underset{\text{ethanol}}{C_2H_5OH} + O_2 \longrightarrow \underset{\text{acetic acid}}{CH_3COOH} + H_2O$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.4 วิวัฒนาการของการผลิตน้ำส้มสายชู(2)

กรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูในอุตสาหกรรม มีการพัฒนาปรับปรุงมาเป็นระยะ ๆ นับตั้งแต่โบราณจนกระทั่งถึงยุคปัจจุบัน ซึ่งพอจะรวบรวมได้ดังนี้

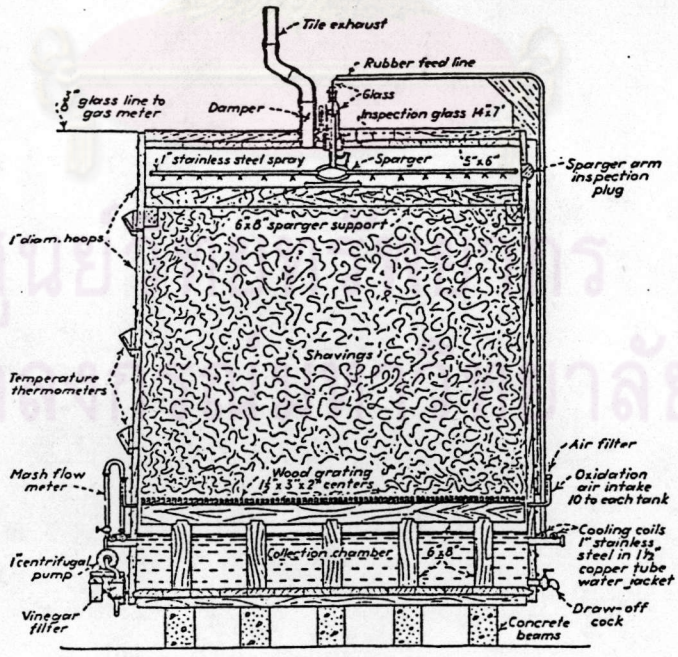
Ancient Method เป็นวิธีผลิตน้ำส้มสายชูที่เรียกว่า "let alone process" คือ ปล่อยให้ไวน์อยู่ในภาชนะเปิดและแบคทีเรียธรรมชาติที่มีอยู่ในอากาศหรือปะปนมากับผลไม้จะแปรเปลี่ยนไวน์ให้เป็นน้ำส้มสายชู ในการหมักครั้งต่อไปก็อาจจะเติมน้ำส้มสายชูเก่าลงไปในไวน์ใหม่ ซึ่งจะช่วยให้ได้น้ำส้มสายชูเร็วขึ้น กรดอะซิติกที่เกิดขึ้นจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียชนิดอื่นที่ปะปนมา เช่น พวกที่จะผลิตกรดแลคติก (lactic acid) ดังนั้นคุณภาพของน้ำส้มสายชูที่ผลิตโดยวิธีนี้จึงไม่เหมือนกันในแต่ละครั้งที่หมัก กรรมวิธีนี้เป็นวิธีที่ใช้มาหลายร้อยปี และบางทีก็เรียกว่า "fielding process" แต่รสชาติของน้ำส้มสายชูที่ได้จากวิธีนี้จะดีกว่าวิธีอื่น ๆ ซึ่งอาจเนื่องจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นดำเนินไปอย่างช้า ๆ ค่อยเป็นค่อยไป (2)

ในปี ค.ศ.1670 มีชาวฝรั่งเศสทำการหมักน้ำส้มสายชู โดยใช้ถังที่มีความจุประมาณ 200 ลิตร เติมน้ำส้มสายชูที่มีคุณภาพดี และยังไม่ได้ฆ่าเชื้อ (pasteurize) ลงไป 1/3 ของถัง แล้วเติมไวน์ซึ่งเป็นวัตถุดิบในการทำน้ำส้มสายชูลงไป 10-15 ลิตรทุกสัปดาห์ จนครบ 4 สัปดาห์ พอถึงสัปดาห์ที่ 5 ก็ดึงน้ำส้มสายชู 10-15 ลิตรออกจากถังหมัก ซึ่งจะเห็นได้ว่าการทำแบบนี้จะสามารถดึงน้ำส้มสายชูออกทุกสัปดาห์และขณะเดียวกันก็เติมไวน์ลงไปทุกสัปดาห์เช่นกัน ส่วนอากาศอาจจะให้ทางด้านบนของถัง หรือทางรูหรือช่องขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 นิ้ว ที่เจาะไว้ข้างถัง อากาศจะผ่านเข้าได้ตามรูนี้ และที่รูนี้จะมีที่กรองอากาศเพื่อป้องกันแมลงต่าง ๆ เข้าการใส่อาหาร (media) หรือแอลกอฮอล์ก็จะส่งผ่านเข้าทางรูปนี้ โดยไม่ให้กระทบกระเทือนต่อแบคทีเรียที่ลอยอยู่บนผิวหน้าของอาหารหมัก ในการหมักใหม่แต่ละครั้งจะเติมน้ำส้มสายชูจากถังเก่าลงไปประมาณร้อยละ 20 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อและเป็นการเพิ่มความเป็นกรดและป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรียชนิดอื่น แบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติกจะเจริญและเกาะเป็นแผ่นฟิล์มบาง ๆ เรียกว่า master of vinegar มีลักษณะเป็นเจลและมักจะจมลงสู่ก้นถังหมักเมื่อมีความหนามาก ๆ ส่วนแผ่นฟิล์มแบคทีเรียใหม่จะเกิดขึ้นแทนแบคทีเรียที่จมลงไปนี้จะใช้อาหารโดยไม่ผลิตกรดอะซิติกเนื่องจากอยู่ในสภาพที่ไม่มีอากาศ กรรมวิธีนี้เรียกว่า กระบวนการออลีน (orlean process) หรือกระบวนการอย่างช้า (slow process) ซึ่งได้พัฒนาดัดแปลงมาจาก field process

ในปี ค.ศ.1732 Boerhave (8) ชาวฮอลันดาได้สร้างเครื่องหมักเรียกว่ากระบวนการหมักอย่างเร็ว (quick process) หรือ tricking quick vinegar process เป็น

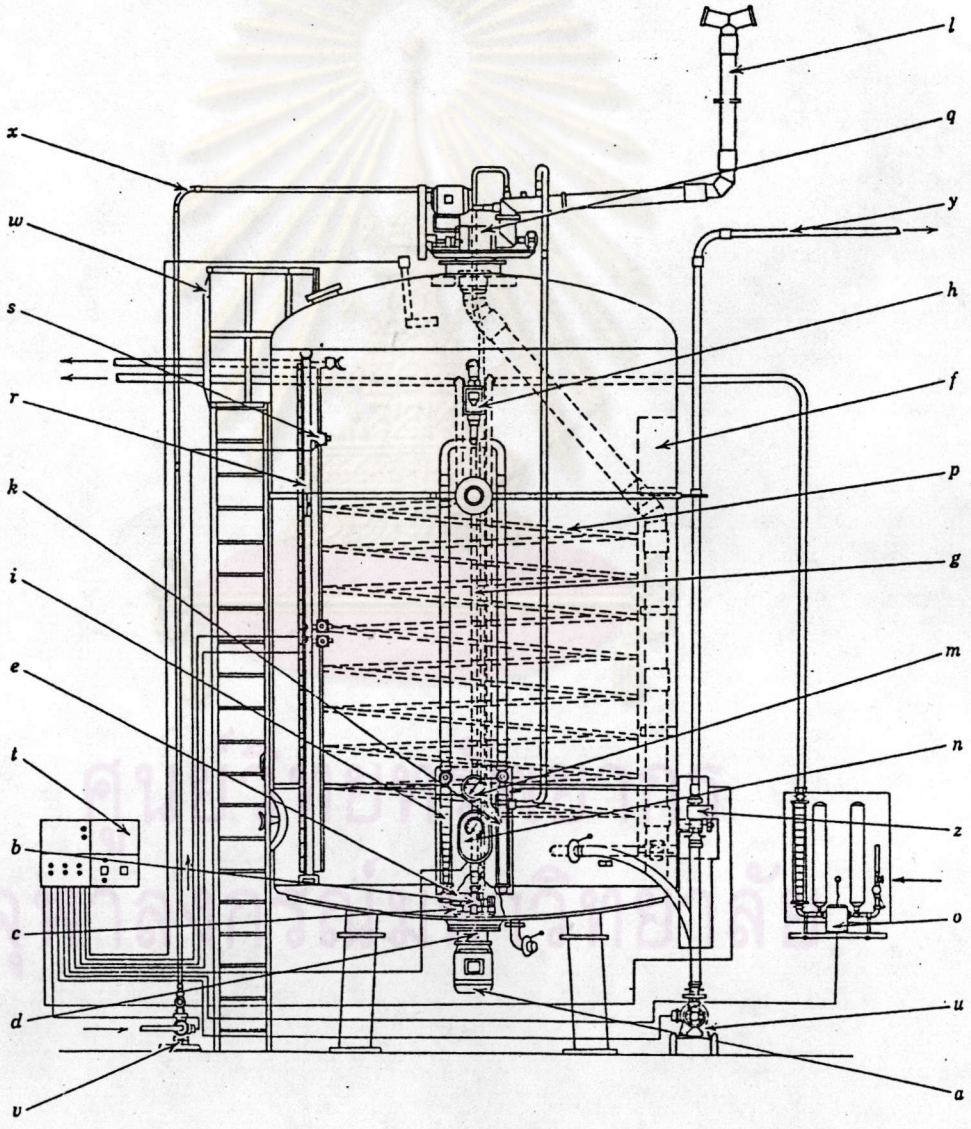
กรรมวิธีที่ใช้ผลิตน้ำส้มสายชูที่รู้จักกันอีกชื่อหนึ่งว่า กระบวนการหมักแบบเยอรมัน (German process) หลักการคือ ให้แอลกอฮอล์ค่อย ๆ หยดผ่านเครื่องหมัก (generator) ที่สร้างโดยเอากากองุ่น (Pamace) กิ่งก้านและต้นองุ่นมาตัดเข้าด้วยกันหรืออาจใช้วัสดุอื่น ๆ ที่มีลักษณะพรุนก็ได้ โดยมีจุดประสงค์ให้มีเนื้อที่ ๆ แบคทีเรียจะรับออกซิเจนได้มากที่สุด วิธีนี้จะผลิตน้ำส้มสายชูได้เร็วกว่าแบบเก่า และใช้เป็นความรู้พื้นฐานในการสร้างเครื่องหมักในโรงงานอุตสาหกรรมยุคหลัง ๆ

เครื่องหมักแบบใหม่ที่ได้นำความรู้ของกระบวนการหมักอย่างเร็ว คือ เครื่องหมักของ Fring (2) ซึ่งประกอบด้วยภาชนะทรงสูง ภายในแบ่งเป็นสามส่วน ส่วนล่างจะเป็นที่เก็บน้ำส้มสายชู ส่วนกลางจะประกอบด้วยวัสดุที่มีลักษณะพรุน (shaving material) ส่วนบนสุดจะเป็นส่วนของสารละลายแอลกอฮอล์ที่ใส่เข้าไปแอลกอฮอล์จะค่อย ๆ หยดไหลผ่านวัสดุพรุนซึ่งมีแบคทีเรียเจริญเกาะอยู่บนผิววัสดุพรุนนั้นและจะออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก (ในการเตรียมเครื่องหมักครั้งแรกจะต้องให้น้ำส้มสายชูผ่านวัสดุพรุนก่อน เพื่อให้แบคทีเรียเกาะบนวัสดุพรุนเหล่านั้นเสียก่อน) นอกจากนี้ Frings ยังเพิ่มระบบการไหลหมุนเวียนของน้ำหมักเข้าไปด้วยซึ่งจะทำให้ได้กรดอะซิติกเข้มข้นมากขึ้น เครื่องมือที่สร้างในสมัยใหม่นี้จะมีเครื่องควบคุมอัตโนมัติสำหรับการไหลเข้าของสารละลายแอลกอฮอล์และไหลออกของกรดอะซิติก ภายในถังมีการควบคุมอุณหภูมิไม่ให้เกิน 35 องศาเซลเซียส ดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 เครื่องหมักของ Fring แบบหมุนเวียน (2)

กรรมวิธีการหมักแบบซับเมอร์ก (Submerged method) เป็นกรรมวิธีการผลิตที่ให้ประสิทธิภาพในการผลิตค่อนข้างสูง เครื่องมือนี้เรียกว่า Frings submerge culture acetator สามารถที่จะผลิตน้ำส้มสายชูได้เร็วกว่าแบบเก่า 30 เท่าและเร็วกว่าแบบ tricking 10 เท่า เครื่องมือ acetator นี้เป็นถังหมักโลหะปลอดสนิม มีใบพัดกวนทำหน้าที่กระจายอากาศภายในถัง พร้อมเครื่องควบคุมอัตราเร็วของใบพัดมีระบบควบคุมอุณหภูมิในถังหมักให้อยู่ในช่อง 24-30 องศาเซลเซียส ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 เครื่องหมักแบบซับเมอร์ก (9)

วิธีนี้สามารถผลิตน้ำส้มสายชูได้สูงกว่าร้อยละ 85-94 โดยใช้ระยะเวลาในการผลิตประมาณ 25-35 ชั่วโมง เครื่องหมักชนิดนี้ไม่ได้ใช้วัสดุพรุนหรือแพคเบดซึ่งมีข้อดีคือลดปัญหาการอุดตัน แต่มีข้อเสียคือต้องใช้กำลังงาน (power) ค่อนข้างสูงในการผลิต ได้น้ำส้มสายชูขุ่น (cloud) และยังจำเป็นต้องให้อากาศตลอดเวลาด้วย ซึ่งถ้าเกิดการขัดข้องทำให้ไม่สามารถให้อากาศได้ภายใน 1 นาที แบคทีเรียจะหยุดชะงักการเจริญเติบโตและต้องใช้เวลานานกว่าจะกลับสู่สภาพเดิมหลังจากให้อากาศใหม่(9)

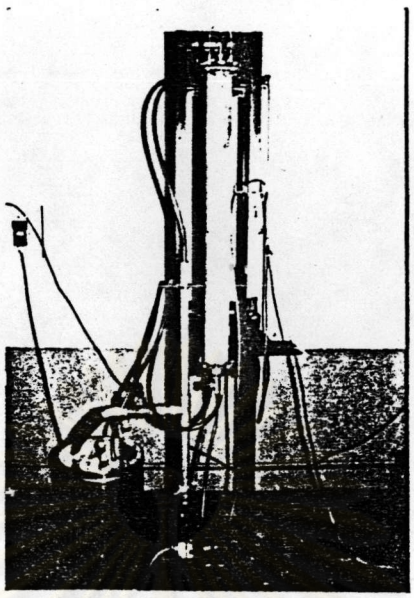
ในปี ค.ศ.1977 ศุภมาศ(10) ได้ทำการผลิตน้ำส้มสายชูจากน้ำสับปะรด โดยใช้กระบวนการหมักแบบเร็ว เครื่องหมักทำจากท่อกลมกลวงทรงกระบอก (rasching ring) และใช้ไม้ไผ่เป็นแพคเบด อัตราการไหลเข้าของน้ำหมักเท่ากับ 1 ลิตรต่อชั่วโมง สามารถผลิตน้ำส้มสายชูได้ร้อยละ 5 ภายใน 60 ชั่วโมง

ข้อเสีย คือ ผลิตได้น้อย ประมาณ 1,500 มิลลิลิตรในเวลา 60 ชั่วโมง

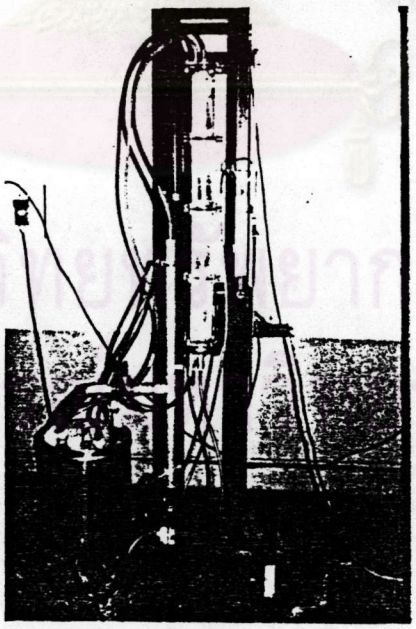
ในปี ค.ศ. 1981 พรทิพย์(11) ได้ศึกษาเครื่องหมักแบบคอลัมน์ชนิดแพคเบดในการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์สับปะรด ดังรูป 2.3 โดยอาศัยข้อดีจากวิธีการของ Frings และซับเมอร์ก ใช้ไม้ทรงกลมเป็นแพคเบดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร อัตราการไหลเข้าของน้ำหมัก 2.7 ลิตรต่อนาที ใช้วัตถุดิบที่ประกอบด้วยร้อยละของเอทานอล (โดยปริมาตร) ต่อกรดอะซิติก (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในอัตราส่วน 7:1 สามารถผลิตน้ำส้มสายชูความเข้มข้นร้อยละ 5 ภายใน 50 ชั่วโมง

ในปี ค.ศ.1984 ศิริวรรณ(12) ได้ศึกษาเครื่องหมักแบบหลายชั้นในการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์สับปะรด ดังรูปที่ 2.4 โดยใช้วัตถุดิบเช่นเดียวกับพรทิพย์ พบว่าการนำเครื่องหมักมาต่อติดกันอย่างอนุกรม 4 ชั้น แบบรวมคอลัมน์ให้ผลดีที่สุด สามารถผลิตน้ำส้มสายชูที่มีปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 6 ภายใน 90 ชั่วโมง

ในปี ค.ศ.1984 โอซุกะ(13) ได้ศึกษาเครื่องหมักแบบฟลูอิไดเซชั่นในการผลิตน้ำส้มสายชู โดยการ immobilize เชื้อ A.aeeti บน supporter ที่ทำด้วย X-Cauagennan bead ให้อากาศทางด้านล่างของเครื่องหมักตลอดเวลาด้วยอัตรา 230 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าได้น้ำส้มสายชูที่มีกรดอะซิติกร้อยละ 5 อย่างต่อเนื่องด้วยอัตรา 54 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง



รูปที่ 2.3 เครื่องหมักแบบคอลัมน์ชนิดแพคเบด (11)



รูปที่ 2.4 เครื่องหมักแบบคอลัมน์หลายชั้นชนิดแพคเบด (12)

2.5 การพัฒนากระบวนการผลิตในรูปแบบต่าง ๆ

นับตั้งแต่เริ่มมีการหมักน้ำส้มสายชูเป็นต้นมา กระบวนการหมักได้รับการพัฒนาให้ดีขึ้นโดยลำดับในรูปแบบต่าง ๆ เพื่อให้ได้อัตราการผลิตเพิ่มขึ้น ดังจะเห็นได้จากกระบวนการหมักแบบเก่าในยุคแรก กรดอะซิติกจะเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ เป็นการหมักตามธรรมชาติ ซึ่งจะทำให้เสียเวลามาก กว่าจะได้กรดอะซิติกที่ระดับร้อยละที่ต้องการ จนถึงการพัฒนาเป็นระบบการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous) เช่น กระบวนการแบบออลีน ซึ่งแต่ละครั้งที่หมักจะได้ความเข้มข้นของกรดอะซิติกตามต้องการแล้วจึงดึงเอาน้ำส้มสายชูออกเกือบหมด เหลือไว้เพียงร้อยละ 20 เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นของการหมักครั้งต่อไป ยิ่งไปกว่านั้น Frings ยังได้นำเอาเทคนิคต่าง ๆ เพื่อช่วยให้อัตราการเกิดกรดอะซิติกสูงขึ้น เช่น การใช้แพคเบดและการไหลเวียนของน้ำหมักเพื่อให้อากาศ เอธิลแอลกอฮอล์และแบคทีเรียมีโอกาสสัมผัสกันได้มากขึ้น(7) แต่ถึงกระนั้นอัตราการเกิดกรดอะซิติกก็ยังไม่สูงนัก และการเปลี่ยนถ่ายน้ำหมักของแต่ละครั้งจะทำให้เสียเวลามากกว่าเชื้อจะกลับสู่สภาพที่สามารถผลิตกรดได้เหมือนเดิม ดังนั้นในยุคหลังนี้การพัฒนากระบวนการผลิตจึงมีการค้นคว้าถึงกระบวนการผลิตอย่างต่อเนื่อง (continuous process) ซึ่งมีการใช้เทคนิคต่าง ๆ ในการเพิ่มพื้นที่สัมผัสของอากาศ เอทานอลและเชื้อแบคทีเรียเพื่อให้ได้อัตราการผลิตที่ดีที่สุดเหมาะสมที่สุดในแต่ละเครื่องหมักและสามารถนำไปปรับปรุงใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำส้มสายชูต่อไป เช่น การนำเอาเทคนิคของฟลูอิไดเซชั่นมาใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่อง(12)

ปัจจุบันนี้กรรมวิธีการผลิตส่วนใหญ่เป็นแบบกึ่งต่อเนื่องและต่อเนื่อง การเพิ่มอัตราการผลิตด้วยการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสก็ยังมีการพัฒนาอยู่เรื่อย ๆ ในรูปแบบของการเปลี่ยนแปลงลักษณะและชนิดของวัสดุที่ใช้ทำแพคแบดอันเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งในการผลิตน้ำส้มสายชู

2.6 ประสิทธิภาพของเครื่องหมักที่มีผลต่อการหมัก

เครื่องหมักที่ดีมีความสำคัญอย่างมากต่อประสิทธิภาพของการหมัก ในกรณีเครื่องหมักแบบแพคเบดซึ่งจะเน้นถึงพื้นที่ผิวในการสัมผัสของน้ำหมัก อากาศและแบคทีเรียที่จะทำให้แบคทีเรียสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ระบบการไหลของของไหลต่าง ๆ ผ่านแพคเบดยังมีความสำคัญต่อการหมักด้วยดังเช่น เครื่องหมักน้ำส้มสายชูของพรทิพย์ ได้สร้างเครื่องหมักแพคเบดชั้นเดียว ใช้ไม้รูปทรงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร เป็นแพคเบดมีระบบการไหลเวียนของน้ำหมักด้วยหัวกระจายน้ำหมักและอากาศเป็นรูปฝักบัว ทำให้อากาศออกมาเป็นฟอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

013867

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ละเอียดพร้อมกับระบบหล่อเย็น ซึ่งทั้งหมดนี้ได้รวมเอาข้อดีของเครื่องหมักแบบ Frings และซับเมอร์ก เข้าด้วยกันจึงเป็นเครื่องหมักที่มีประสิทธิภาพ

จากการที่กล่าวมาแล้วจะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพของเครื่องหมักจะขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของเครื่องหมักดังนี้

- แพคเบด
- ระบบการให้อากาศ
- ระบบการไหลของน้ำหมัก
- ระบบการไหลหมุนเวียนของน้ำหมัก

2.6.1 แพคเบด

เนื่องจากปฏิกิริยาการเกิดกรดอะซิติกเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (oxidation reaction) ดังนั้นการที่จะให้ไวน์ที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูมีโอกาสสัมผัสกับอากาศมากที่สุดวิธีการหนึ่งก็โดยการใช้แบคทีเรียซึ่งจะเป็นที่ยึดเกาะของแบคทีเรียทำให้การแพร่กระจายของออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำหมักผ่านเข้าไปในเซลล์และแพร่กระจายสารที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพที่สุด ดังนั้นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสให้มากก็เท่ากับเป็นการเพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลสารให้สูงขึ้นด้วย

อัตราการถ่ายเทมวลสาร	=	$ka\Delta c$
k	=	สัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลสาร
a	=	พื้นที่ผิวสัมผัส (interfacial area)
Δc	=	ความแตกต่างของความเข้มข้นของสารระหว่างพื้นที่ผิวสัมผัส (concentration gradient)

จากสมการที่ (2.1) พบว่า เมื่อพื้นที่ผิวมากขึ้นจะทำให้อัตราการถ่ายเทมวลสารเพิ่มขึ้นซึ่งหมายถึงอัตราการเกิดกรดอะซิติกเร็วขึ้น และประสิทธิภาพเครื่องหมักสูงขึ้น (14) แต่การใช้พื้นที่ผิวสัมผัสมากทำให้ขนาดของทรงกลมที่ใช้ทำแพคเบดมีขนาดเล็กลง ซึ่งทำให้ช่องว่างระหว่างทรงกลมน้อยลง และเมื่อมีการไหลผ่านของน้ำหมักและอากาศจะเกิดความดันลดลงมาก ทำให้เกิดการท่วมล้น (flooding) ได้ ดังนั้นขีดจำกัดของขนาดทรงกลมและอัตราการไหลของของไหลที่ผ่านแพคเบดจึงต้องสัมพันธ์กัน (14)

แพคเบดที่ดีควรมีคุณสมบัติดังนี้คือ (12)

- ให้พื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างอากาศ น้ำหมัก และแบคทีเรียสูง ฉะนั้นแพคเบดจึงต้องมีพื้นที่ผิวมาก
- แข็งแรงมีอายุการใช้งานนาน
- น้ำหนักเบา
- ไม่เป็นพิษต่อเชื้อแบคทีเรีย
- สามารถให้แบคทีเรียเกาะได้ดี
- ไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นรสเสียไป
- สามารถติดตั้งเคลื่อนย้าย และทำความสะอาดได้ง่าย

2.6.2 ระบบการให้อากาศและระบบการไหลของน้ำหมัก

ปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นในคอลัมน์มีส่วนสัมพันธ์อย่างมากต่อพื้นที่ผิวของแพคเบดในการถ่ายเทมวลสารต่าง ๆ เพื่อให้เกิดการผลิตกรดอะซิติกให้มากที่สุด ดังนั้นอัตราการไหลเข้าของทั้งน้ำหมักและอากาศจึงมีผลโดยตรงต่อการเกิดกรดอะซิติกช้าหรือเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระบบการไหลเวียนของน้ำหมักแบบกาลักน้ำ การสัมผัสของน้ำหมัก อากาศและแพคเบดจะมี 2 ลักษณะ ซึ่งทำให้การถ่ายเทมวลสารสลับซับซ้อนขึ้น ดังนี้คือ

ก. เมื่อขณะที่น้ำหมักท่วมแพคเบดอากาศที่ไหลเข้าทางส่วนล่างของแพคเบดจะมีลักษณะเป็นฟองอากาศผ่านน้ำหมักที่ท่วมแพคเบด ออกซิเจนในอากาศจะละลายเข้าไปในน้ำหมักและมีอีกส่วนหนึ่งแพร่กระจายผ่านฟิล์มบาง ๆ ของเชื้อที่อยู่บนผิวของแพคเบดพร้อมกับอาหารและเอทานอล เกิดปฏิกิริยาเป็นกรดอะซิติก(15) ดังนั้นปรากฏการณ์ช่วงนี้อัตราเร็วของอากาศจึงมีผลอย่างมากต่อการละลายของออกซิเจนเข้าสู่น้ำหมัก

การให้อากาศในขบวนการหมักโดยทั่วไปมีสมการพื้นฐาน คือ(16)

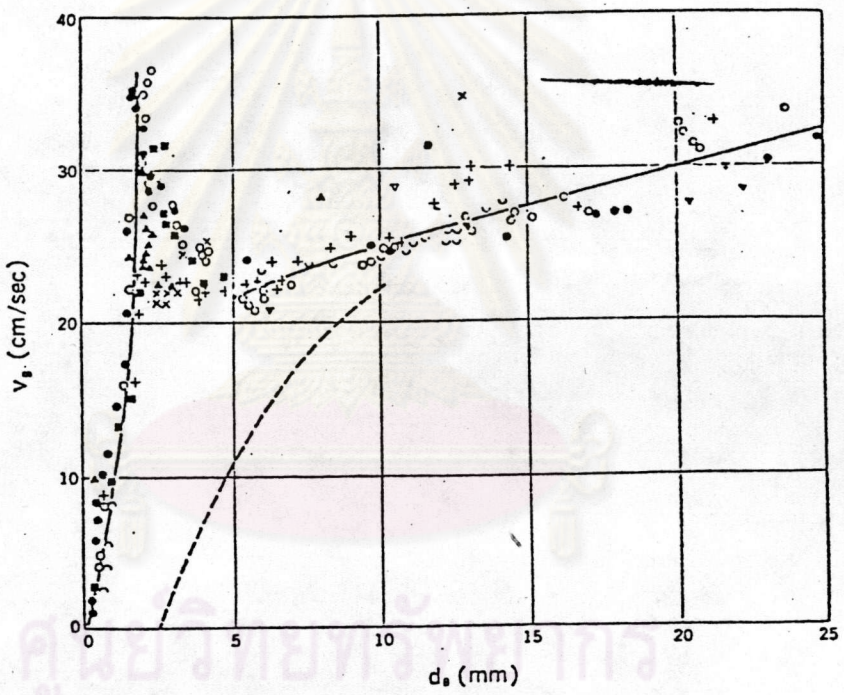
$$d_B \propto F^{\phi}$$

เมื่อ d_B = เส้นผ่าศูนย์กลางของฟองอากาศ

F = อัตราการป้อนอากาศ

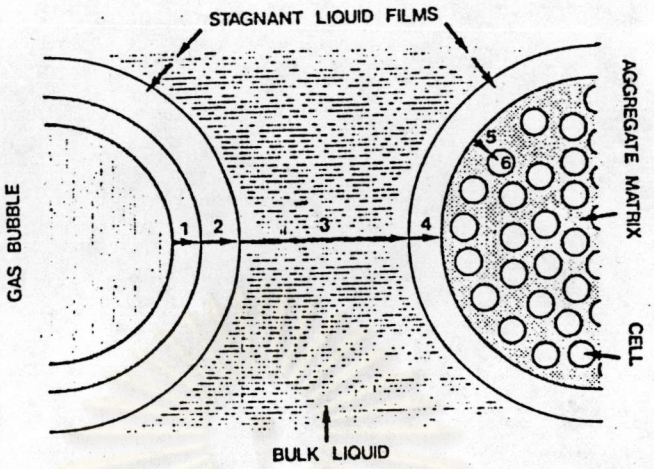
ϕ = ค่าคงที่

Peeble et al(17) ได้เสนอข้อมูลของความสัมพันธ์ระหว่างขนาดฟองอากาศในของเหลวต่าง ๆ 22 ชนิด โดยเปลี่ยนความหนืดของของเหลวจาก 0.233 ถึง 59 เซนติพอยท์ (cp) และแรงตึงผิว (surface tension) จาก 71.2 ถึง 15.9 ไดน์ต่อเซนติเมตร (dyne/cm) ในเครื่องหมักทั่วไปขนาดของฟองอากาศจะอยู่ในช่วง 1.5 ถึง 10 มิลลิเมตร ประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ วัตถุดิบ และผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงมีคุณสมบัติคล้าย ๆ กับน้ำ ความสัมพันธ์ของฟองอากาศกับความเร็วของฟองอากาศในน้ำหมักจึงสามารถใช้กราฟความสัมพันธ์ดังกล่าวของน้ำอธิบายได้ดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 ความสัมพันธ์ระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางของฟองอากาศต่อความเร็วของฟองอากาศ(17)

เมื่อฟองอากาศผ่านน้ำหมักออกซิเจนในอากาศจะแพร่กระจายสู่น้ำหมักซึ่งขึ้นอยู่กับพื้นที่ผิวสัมผัสโดยตรงและการถ่ายเทมวลสารดังกล่าวก็ขึ้นอยู่กับความเร็วของฟองอากาศด้วย ดังรูปที่ 2.6 และดังสมการการถ่ายเทมวลของออกซิเจน (K_L)



รูปที่ 2.6 ปรากฏการณ์การถ่ายเทมวลสารจากฟองอากาศสู่เซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ (15)

$$K_La = FH_L/d_b.v_B^{\frac{1}{2}}.V$$

เมื่อ K_L = สัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลสารของออกซิเจน

a = พื้นที่ผิวสัมผัส (interfacial area) ต่อปริมาตร ($ม^2/ม^3$)

F = อัตราการให้อากาศ ($ซม^3$/นาที)

H_L = ความลึกของของเหลว (เมตร)

d_B = เส้นผ่าศูนย์กลางของฟองอากาศ (มิลลิเมตร)

v_b = ความเร็วของฟองอากาศ (เมตร/วินาที)

= ค่าคงที่

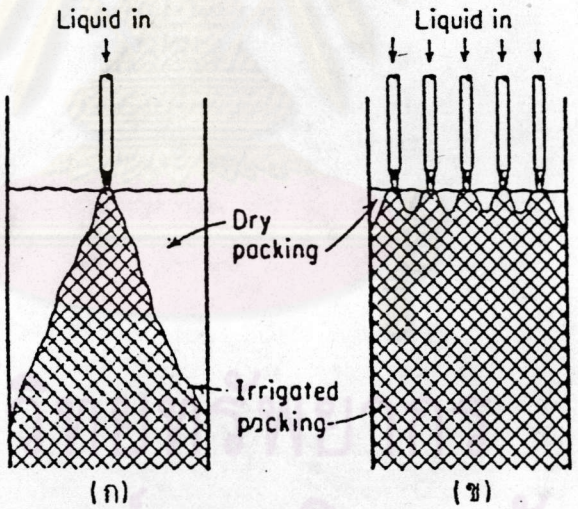
$K_La = \beta F$

β = ค่าคงที่ .....(2.2)

จากสมการที่ (2.2) จะพบว่าการถ่ายเทมวลสารจะแปรตามอัตราการให้อากาศ ซึ่งหมายความว่าออกซิเจนจะสามารถละลายน้ำเข้าไปในน้ำหมักได้มากขึ้น ทำให้การผลิตกรดอะซิติกเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ กล่าวคือ ออกซิเจนจะทำปฏิกริยากับเอทานอลเป็นกรดอะซิติกโดยเชื้อเป็นตัวเปลี่ยนบนผิวของแพคเบด

ข. เมื่อแพคเบดไม่มีน้ำหมักขังอยู่ ซึ่งน้ำหมักจะถูกป้อนเข้ามาโดยการสเปรย์ลงบนแพคเบดตลอดเวลาพร้อมกับอากาศก็จะถูกป้อนเข้าทางด้านล่างของแพคเบด ในช่วงเวลานี้ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำหมักรวมทั้งอาหารเลี้ยงเชื้อจะถ่ายเทมวลจากน้ำหมักผ่านฟิล์มบาง ๆ ที่เคลือบบนแพคเบดซึ่งมีเชื้อเกาะอยู่ อัตราการเกิดกรดอะซิติกขึ้นอยู่กับการถ่ายเทมวลสารของออกซิเจนและอาหารเลี้ยงเชื้อผ่านฟิล์มเข้าไปได้มากน้อยเพียงใด ซึ่งก็เกี่ยวข้องกับอัตราการป้อนเข้าน้ำหมักผ่านแพคเบดเร็วหรือช้าด้วย(18,19,20)

นอกจากนี้การกระจายน้ำหมักและอากาศให้ทั่วถึงทุกพื้นที่ผิวยังมีส่วนช่วยส่งเสริมให้แพคเบดมีเชื้อแบคทีเรียเกาะอยู่เต็มพื้นที่และทำการผลิตกรดอะซิติกออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาหัวกระจายน้ำหมักและอากาศดังกล่าว ซึ่งพบว่าหัวกระจายน้ำหมักควรจะมีการออกแบบให้น้ำหมักไหลลงมาจากหลายจุด(21) ดังรูปที่ 2.7 เพื่อให้แพคเบดมีโอกาสสัมผัสกับน้ำหมักได้มากที่สุด(22)



รูปที่ 2.7 ก. ระบบหัวกระจายจุดเดียว ข. ระบบหัวกระจายหลายจุด (21)

2.6.3 ระบบการไหลเวียนของน้ำหมัก

ระบบการไหลเวียนของน้ำหมักที่ดีจะช่วยให้การถ่ายเทมวลสานของออกซิเจนและอาหารเลี้ยงเชื้อมีประสิทธิภาพมากขึ้น ทั้งยังทำให้เชื้อได้มีโอกาศรับอากาศได้ดีขึ้นเพื่อการดำรงชีวิตของเชื้อ ซึ่งถ้ามีบางส่วนขาดอากาศหรือออกซิเจนนานเกินไปเชื้ออาจตายได้

จากการศึกษาเครื่องหมักแบบหลายชั้นของศิริวรรณ(11) พบว่าการไหลเวียนของน้ำหมักแบบกาลักน้ำดีที่สุด ซึ่งนอกจากจะสามารถผลิตกรดอะซิติกได้เร็วแล้วยังทำให้เชื้อสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้นานอีกด้วยจากการขึ้นลงของน้ำหมักท่วมแผ่นเบดเป็นจังหวะ

ปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้จะช่วยให้ประสิทธิภาพในการหมักดีขึ้น ซึ่งเมื่อนำเอาข้อดีต่าง ๆ ของการหมักแบบไม่ต่อเนื่องมาพิจารณาใช้เป็นพื้นฐานในการหมักแบบต่อเนื่องจะทำให้สามารถจัดกระบวนการหมักได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

ในการนำเครื่องหมักหลายเครื่องมาทำงานร่วมกันอย่างต่อเนื่อง โดยให้ผลผลิตของเครื่องแรกเป็นวัตถุดิบของเครื่องถัดไป และผลผลิตของเครื่องถัดไปก็จะเป็นวัตถุดิบของเครื่องต่อ ๆ ไปตามลำดับ โดยให้ไหลผ่านเครื่องหมักตั้งแต่เครื่องแรกจนถึงเครื่องสุดท้าย แล้วได้ผลผลิตสุดท้ายที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติกตามต้องการ ในระหว่างการไหลผ่านนี้ส่วนประกอบต่าง ๆ ของน้ำหมักจะเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา เช่นความเข้มข้นของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลง สารตั้งต้น (เอทานอล) ลดลง แต่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกจะเพิ่มขึ้น กระบวนการนี้เรียกว่า ระบบการไหลทางเดียวในเครื่องหมักหลายเครื่อง (single stream multi-stage system)(23)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.7 คุณลักษณะของระบบการไหลทางเดียวในเครื่องหมักหลายเครื่อง

กระบวนการหมักแบบต่อเนื่องสามารถใช้ข้อมูลของการหมักแบบไม่ต่อเนื่องเป็นพื้นฐานในการทดลองต่อไปโดยพิจารณาจากการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์ของเชื้อเมื่อเวลาผ่านไป(24,25,26) การเพิ่มขึ้นของเซลล์นี้มีผลมาจากตัวแปรต่าง ๆ ในเครื่องหมักและสภาวะที่ใช้ในการหมัก ข้อมูลส่วนใหญ่จากการหมักแบบไม่ต่อเนื่องจะนำมาใช้เป็นพื้นฐานในการออกแบบและควบคุมกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง แล้วทำการวิเคราะห์ผลโดยใช้หลักทางคณิตศาสตร์เข้ามาช่วยพิจารณาถึงความเป็นไปได้ของกระบวนการ

$$dX/dt = uX \qquad \text{.....} \qquad 2.3$$

เมื่อ X = ความเข้มข้นของเซลล์

u = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate)

t = เวลา

สมการที่ 2.3 อธิบายถึงการเปลี่ยนแปลงปริมาณของเชื้อเมื่อเวลาผ่านไป (t) โดยที่ dX/dt ขึ้นอยู่กับอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อนั้น ๆ (u) u หรืออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อ หมายถึง ปริมาณเชื้อที่เพิ่มขึ้นจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นค่าหนึ่งเมื่อเวลาผ่านไป ค่า u ไม่คงที่ขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อในกระบวนการหมักที่สภาวะอิ่มตัวของระดับอาหารเลี้ยงเชื้อ (S) เรียกว่า ค่าคงที่ของการอิ่มตัว (k_s; saturation constant) ซึ่งค่า u เท่ากับ $u_{max}/2$ โดยสามารถอธิบายได้จากทฤษฎีของโมนอด (Monod's kinetic model)

$$u = u_{max}\, S/(K_s+S) \qquad \text{.....} \qquad 2.4$$

เมื่อ S = ความเข้มข้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ

K_s = ค่าคงที่ของการอิ่มตัว

ในสารอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไปนั้น คาร์บอนเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโตของเชื้อซึ่งค่า u ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยพิจารณาจากกลไกการส่งผ่านมวลของสารอาหารและกระบวนการสร้างและทำลายภายในเซลล์ของเชื้อรวมถึงการซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของเซลล์ด้วย สมการที่ 2.4 แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของค่า u กับความเข้มข้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ (S)(27,28,29)

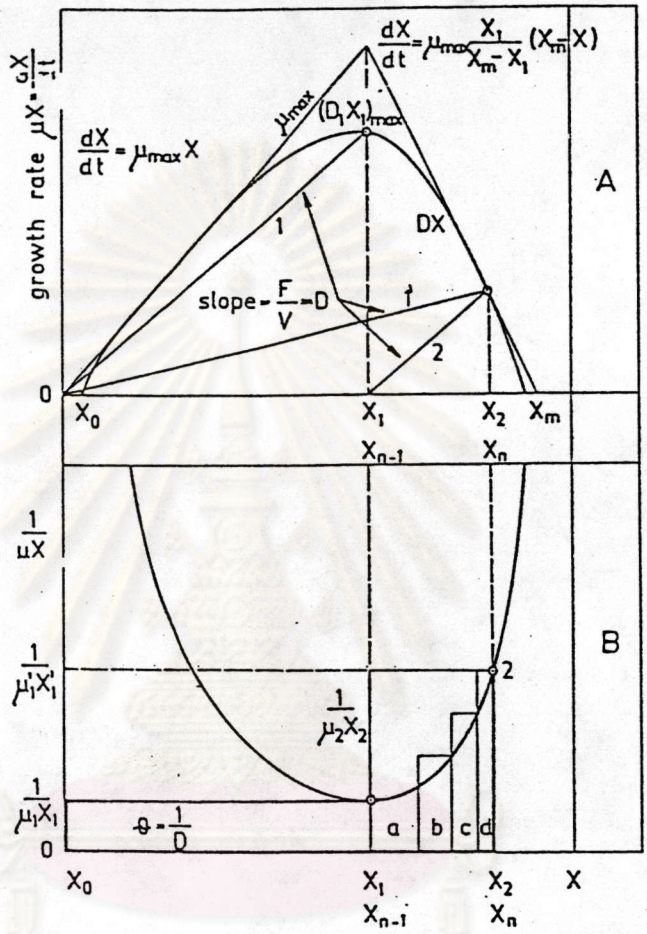
ในกรณีที่การเดินเครื่องหมักหลายเครื่องต่อกัน ค่าอัตราการเจือจาง (dilution rate)(D) มีความสัมพันธ์กับค่าการเจริญเติบโตจำเพาะ โดยที่ค่า u ควรมากกว่าค่า D เพื่อให้การหมักมีเสถียรภาพที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเครื่องหมักเครื่องแรกของกระบวนการหมัก เครื่องหมักเครื่องแรกจะไม่ได้รับเชื้อจากเครื่องอื่น ๆ ดังนั้นการที่ค่า D น้อยกว่าค่า u ทำให้เชื้อไม่ถูกเจือจางลง เมื่อต้องเสียเชื้อไปสู่เครื่องอื่น ๆ ต่อไป

2.7.1 สมดุลของปริมาณเชื้อ (cell mass balance)

ในระบบการไหลทางเดียวในเครื่องหลายเครื่องจะประกอบด้วยเครื่องหมักย่อย ๆ หลายเครื่องต่อกันเป็นอนุกรม โดยแต่ละเครื่องถูกกวนจนน้ำหมักผสมกันจนเป็นเนื้อเดียวกันและทุกเครื่องมีปริมาณเท่ากัน ($V_1, V_2, V_3, \ldots\ldots\ldots V_{n-1}, V_n$) สารอาหารและวัตถุดิบถูกป้อนเข้าโดยเริ่มผ่านจากเครื่องหมักที่หนึ่งไปสู่เครื่องหมักเครื่องต่อ ๆ ไปโดยอาศัยการท่วมล้น ซึ่งจะทำให้อัตราการไหลของน้ำหมักผ่านแต่ละเครื่องเท่ากัน การไหลผ่านของน้ำหมักผ่านเครื่องหมักทั้งหมดจะใช้เวลา (θ_n)

โดยทั่วไปอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อหรือการเพิ่มปริมาณเชื้อเป็นไปตาม สมการ $dX/dt = uX$ เมื่อเขียนกราฟระหว่าง dX/dt กับ X จะได้กราฟดังรูป 2.8

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง dX/dt กับ X และ 1/uX กับ X

จากรูปที่ 2.8 เมื่อปริมาณเชื้อขณะเข้าในเครื่องที่หนึ่งเป็นศูนย์ ความชัน (slope) ของกราฟเส้นตรง (เส้น 1,1') จะผ่าจุดศูนย์กลาง (origin) และตัดจุดบนเส้นกราฟเดิม ซึ่งเป็นจุดที่บอกถึงอัตราการเจือจางของเครื่องหมักเครื่องนั้น พร้อมทั้งแสดงให้เห็นถึงอัตราที่เซลล์ออกจากเครื่องหมักเครื่องนั้นด้วย ในกรณีที่กราฟเส้นตรงสัมผัสกับกราฟเส้นโค้ง (รูปที่ 1 A)

จะแสดงถึงอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (u) ที่สูงสุดของเครื่องหมักที่ 1

$$D_1 = F_1/V_1 \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad 2.5$$

เมื่อ D_1 = อัตราการเจือจาง (dilution rate) ของเครื่องหมักที่ 1

F_1 = อัตราการป้อนสาร (feed rate) ที่เครื่องหมักที่หนึ่ง

V_1 = ปริมาตรของเครื่องหมักที่ 1

ถ้าอัตราการเจือจางคงที่ ดังนั้นอัตราการป้อนสารขึ้นอยู่กับปริมาณของน้ำหมักในถังหมัก

$$F = D_1 V_1 = D_2 V_2 \ldots\ldots\ldots = D_n V_n \quad \ldots\ldots \quad 2.6$$

เมื่อ 1,2,.....n-1, n คือสภาวะของน้ำหมักที่เข้าและออกจากเครื่องหมักที่ 1,2, ... n-1, n ตามลำดับ

ความซับซ้อนของเครื่องหมักยิ่งมากขึ้นถ้าระบบประกอบด้วยเครื่องหมักจำนวนมาก ปริมาณเชื้อในเครื่องหมักแต่ละเครื่องอธิบายด้วยสมการของสมดุลของปริมาณเชื้อ (cell mass balance equation) ดังนี้

การเพิ่มของปริมาณเชื้อ = ปริมาณเชื้อที่เข้าเครื่อง + เซลล์จากการเจริญเติบโตในเครื่องหมัก - เซลล์ที่เสียออกไป

(increase) = (inflow + growth - outflow)

$$dX_n/dt = D_nX_{n-1} + u_nX_n - D_nX_n \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad 2.8$$

ถ้าปริมาณเซลล์ในเครื่องหมักที่เวลาใดเวลาหนึ่งเป็นไปอย่างสม่ำเสมอ (steady state) คือมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้น (ทั้งที่ได้จากการแบ่งเซลล์และที่ได้รับจากเครื่องหมักเครื่องก่อนหน้านี้) พอ ๆ กับการสูญเสียไปสู่เครื่องหมักเครื่องถัดไป ค่า dX/dt จะมีค่าเป็นศูนย์ ซึ่งหมายถึงปริมาณเชื้อแบคทีเรียในเครื่องนั้นมีค่าคงที่ และถ้าพิจารณาในเครื่องหมักที่ 1 ซึ่งไม่ได้รับเชื้อจากเครื่องหมักอื่น ๆ สมการปริมาณเชื้อของเครื่องหมักที่ 1 จะเป็น

$$u_1X_1 = D_1X_1 \quad \text{.....} \quad 2.9$$

$$u_1 = D_1 \quad \text{.....} \quad 2.10$$

และจากสมการนี้ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ จะขึ้นอยู่กับอัตราการเจือจางเพียงค่าเดียว แต่ในเครื่องหมักอื่น ๆ ที่ไม่ใช่เครื่องหมักที่ 1 สมการที่ใช้อธิบายถึงปริมาณเชื้อคือ สมการที่ 2.8 ซึ่งสามารถเขียนได้ใหม่เป็น

$$dX_n/dt = u_nX_n - D_n(X_n-X_{n-1}) \quad \text{.....} \quad 2.11$$

และเมื่อเดินเครื่องแบบต่อเนื่องในสภาวะสม่ำเสมอ (steady state), $dX_n/dt=0$ ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเขียนได้เป็น

$$u_n = D_n(X_n-X_{n-1}) \quad \text{.....} \quad 2.12$$

ในการไหลผ่านของน้ำหมักจากเครื่องแรกไปสู่เครื่องต่อๆไป ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่ขึ้นอยู่กับอัตราการเจือจางเพียงค่าเดียว แต่ขึ้นอยู่กับปริมาณเชื้อจากการไหลเข้าจากเครื่องก่อนหน้าและปริมาณเชื้อของเครื่องหมักนั้น ๆ ด้วย ดังนั้นความแตกต่างของปริมาณเชื้อในน้ำหมักที่ไหลออกจะมากกว่าปริมาณเชื้อในน้ำหมักที่ไหลเข้าเครื่องหมักนั้นโดยเฉพาะเครื่องหมักที่ต่ออยู่ในลำดับหลัง ๆ ดังสมการ

$$X_n-X_{n-1} = u_nX_n \cdot 1/D_n \quad \text{.....} \quad 2.13$$

เวลาที่ใช้ในการไหลผ่านเครื่องหมักแต่ละเครื่อง ($\theta_n = 1/D_n$)

$$\theta_n = 1/u_nX_n \cdot (X_n-X_{n-1}) \quad \text{.....} \quad 2.14$$

เมื่อ θ_n = เวลาที่ใช้ในการไหลผ่านเครื่องหมักตัวที่ (n) ในเครื่องหมักที่ 1 , $X_{n-1} = 0$, เวลาไหลผ่านเป็น

$$O_1 = 1/u_1X_1 \cdot (X_1-\emptyset) \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad 2.15$$

และเมื่อระบบประกอบด้วยเครื่องหมัก N ตัว เวลาที่ใช้ในการไหลผ่านเครื่องหมักทั้งหมดเป็น

$$O_t = O_1+O_2+O_3\ldots\ldots\ldots O_n \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad 2.16$$

เมื่อพิจารณากราฟที่ 2.8 ในกรณีเครื่องหมักที่ 1 พบว่าเมื่อไม่มีการได้รับเชื้อจากน้ำหมักก่อนหน้านี้ ดังนั้นความเข้มข้นของเชื้อจึงเป็น X_1 และมีทางออกเป็น DX_1 เวลาที่ใช้ในการไหลผ่านเครื่องหมักที่ 1 จะเป็นพื้นที่สี่เหลี่ยมผืนผ้าที่มีฐานเป็น $X_1-\emptyset$ สูง $1/uX_1$ ดังแสดงโดยสมการที่ 2.13 และจากรูปที่ 2.8(B) ในกรณีที่ระบบการหมักมีเครื่องหมัก 2 เครื่องเวลาที่น้ำหมักไหลผ่านเครื่องหมักที่ 1 เท่ากับ $(X_1-\emptyset).(1/uX_1)$ และเวลาที่ใช้ในการไหลผ่านเครื่องหมักที่ 2 เท่ากับ $(X_2-X_1).(1/uX_2)$ ตามสมการที่ 2.12, 2.13

จากกราฟเปรียบเทียบเวลาการไหลผ่านของระบบการหมักที่มีเครื่องหมัก 2 เครื่องกับเครื่องเดียวโดยแต่ละระบบให้ผลผลิตที่มีปริมาณเชื้อเท่ากัน จากการพิจารณากราฟรูปที่ 2.9 พบว่าระบบที่มีเครื่องหมัก 2 เครื่อง จะใช้เวลาไหลผ่านน้อยกว่าระบบที่มีเครื่องหมักเพียงเครื่องเดียว โดยดูจากพื้นที่สี่เหลี่ยมผืนผ้าของระบบที่มีเครื่องหมักเครื่องเดียวจะมีพื้นที่มากกว่า

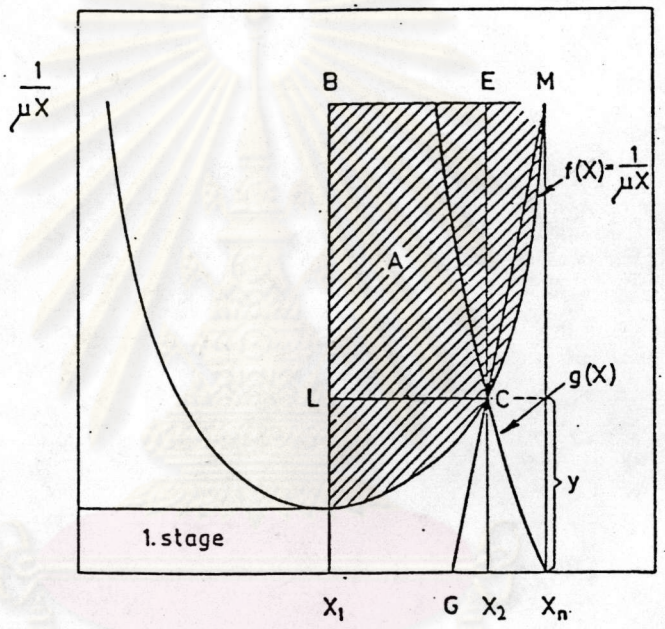
จากทฤษฎีนี้สามารถนำมาออกแบบระบบการหมักแบบต่อเนื่องเพื่อจะให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อตามต้องการได้ โดยเริ่มจากจุดต่ำสุดของรูปกราฟซึ่งหมายถึงการเจริญเติบโตในอัตราที่เร็วที่สุด และเมื่อระบบมีเครื่องหมักมากกว่า 1 เครื่อง ปริมาณเชื้อจะมากขึ้นเรื่อย ๆ ตามลำดับของเครื่องหมัก ซึ่งทั้งนี้ก็ยังสามารถออกแบบได้อีกว่า จะให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อตามต้องการที่เครื่องหมักลำดับต่าง ๆ $(X_1,X_2,X_3\ldots\ldots X_n)$ โดยแต่ละเครื่องมีปริมาตรเท่ากัน ซึ่งจะพิจารณาจากพื้นที่สี่เหลี่ยมผืนผ้าดังกล่าว เช่น ในกรณีที่ระบบมี 2 เครื่องหมัก N = 2 จากรูปที่ 2.9 จะพบว่าเวลาที่ไหลผ่านเครื่องหมักที่ 2 จะเท่ากับพื้นที่สี่เหลี่ยม X_1X_nMB

$$O_2 = 1/uX_n\ (X_n-X_1) \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad 2.17$$

และถ้าเป็นระบบที่มี 3 เครื่อง , N = 3 ที่แกน X จากจุด X_1 ถึง X_n ถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วนไม่เท่ากัน เพื่อให้ได้รูปสี่เหลี่ยมที่มีความสูงที่จุดใด ๆ บนเส้นกราฟเส้นเดิมอันจะทำให้สี่เหลี่ยม X_1X_2CL มีพื้นที่เท่ากับสี่เหลี่ยม X_2X_nME ซึ่งหมายความว่า น้ำหมักไหลผ่านเครื่องหมักที่ 1 เป็นเวลาเท่ากับ

ที่ไหลผ่านเครื่องหมักที่ 2 และจากพื้นที่สี่เหลี่ยมที่เท่ากันนี้

$$(X_2-X_1)\ 1/uX_2 = (X_n-X_2)\ .\ 1/uX_n \quad \ldots\ldots\ldots\ldots \quad 2.18$$



รูปที่ 2.9 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (1/uX) กับ ปริมาณเชื้อ (X)

ในการแบ่งระบบออกเป็นหลายเครื่องหมักนั้นเพื่อที่จะลดเวลาในการไหลผ่าน ซึ่งทางอุตสาหกรรมจะทำให้ลดต้นทุนการผลิตโดยในเวลาเท่ากันจะสามารถผลิตได้มากกว่า ดังจะเห็นได้ว่า พื้นที่ A_1 (BLCE) จะแสดงให้เห็นถึงเวลาที่ลดลงของการไหลผ่านจากการเปรียบเทียบระบบที่มีเครื่องหมักเดียวกันเมื่อระบบมี 2 เครื่องหมัก จะพบว่าระบบที่มี 2 เครื่องหมักจะประหยัดเวลาได้มากกว่า จากรูปที่ 2.9

2.7.2 การเกิดผลผลิต (production formation)

การเพิ่มผลผลิต P (มวล/ปริมาตร) ขึ้นอยู่กับความสามารถและปริมาณของเชื้อ X (มวล/ปริมาตร)

$$dP/dt = pX \quad \text{..... 2.19}$$

ความสามารถของเชื้ออธิบายได้โดยใช้เทอมของอัตราการผลิตจำเพาะ (specific production rate) p, ($time^{-1}$) ซึ่งหมายถึงปริมาณผลผลิตที่ผลิตได้จากเชื้อจำนวนหนึ่งต่อเวลา

$$p = dP/dt \cdot 1/X \quad \text{..... 2.20}$$

อัตราการผลิตจำเพาะขึ้นอยู่กับตัวแปรหลายตัว เช่น ปริมาณเชื้อ, ปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น ตัวแปรต่าง ๆ เหล่านี้มีความสำคัญต่อกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องอย่างมาก นอกจากนี้ผลผลิตของการหมักยังขึ้นอยู่กับอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเจือจางและค่าความเข้มข้นของผลผลิตบางอย่างที่เกิดขึ้นระหว่างหมัก เนื่องจากผลผลิตบางอย่างมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อลดลง(30,31,32) โดยกลไกการเกิดผลผลิตและโครงสร้างทางเคมีของผลผลิตนั้น ๆ

สมการสมดุลของการเกิดผลผลิตเขียนได้เป็น

การเพิ่มผลผลิต = ผลผลิตที่เข้า + ผลผลิตที่เชื้อสร้าง - ผลผลิตที่ออกไป

(increase) = (inflow + production - outflow)

$$dP_n/dt = D_nP_n + p_nX_n - D_nP_n \quad \text{..... 2.21}$$

เมื่อ P_n = ความเข้มข้นของผลผลิตจากเครื่องที่ n

P_{n-1} = ความเข้มข้นของผลผลิตจากเครื่องที่ n-1

D_n = อัตราการเจือจางของเครื่องที่ n

D_{n-1} = อัตราการเจือจางของเครื่องที่ n-1

ที่เวลาคงที่ $dp_n/dt = 0$

$$P_nX_n = D_n(P_n-P_{n-1}) \quad \text{..... 2.22}$$

สมการผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจาก P_{n-1} ถึง P_n เขียนได้เป็น

$$P_n-P_{n-1} = P_nX_n \cdot 1/D_n \quad \text{..... 2.23}$$

และเวลาที่ใช้ในการเกิดผลผลิตจากสมการ, $O_n = 1/D_n$

$$O_n = (P_n-P_{n-1}) \cdot 1/P_nX_n \quad \text{..... 2.24}$$

สำหรับในเครื่องหมักที่ 1 นั้นไม่มีการไหลเข้าของผลผลิต, $P_{n-1} = 0$ ดังนั้นเวลาที่ใช้ในการไหลของน้ำหมักเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของผลผลิต = P_1 เป็น

$$O_1 = (P_n-0) \cdot 1/P_nX_n \quad \text{..... 2.25}$$

จากสมการที่ 2.22 ในกรณีเครื่องหมักที่ 1 สามารถเขียนใหม่ได้เป็น

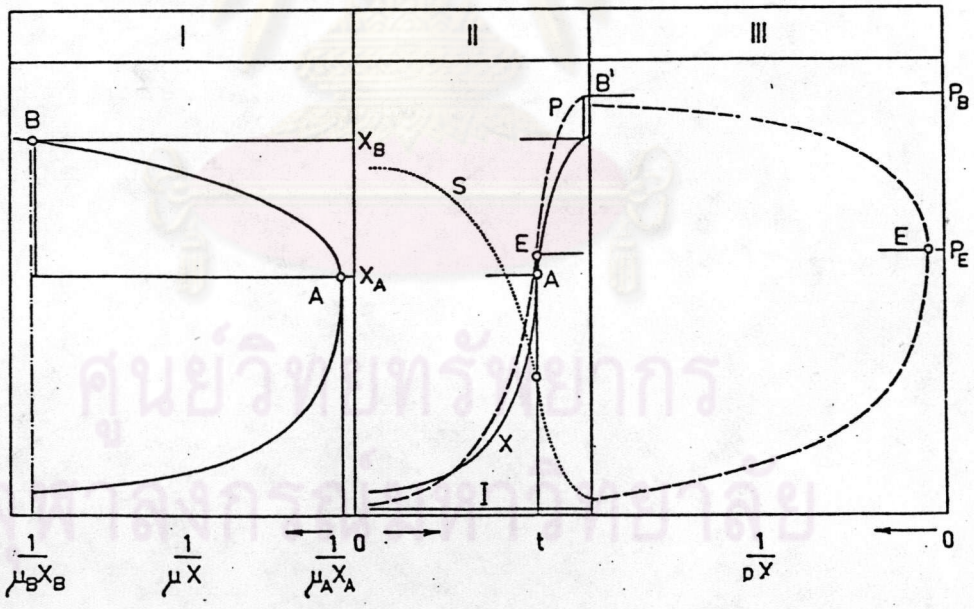
$$P_1X_1 = D_1P_1 \quad \text{..... 2.26}$$

อัตราการเกิดผลผลิตจากการทดลองหมักแบบไม่ต่อเนื่อง ($dP/dt = pX$) เมื่อนำมาเขียนกราฟระหว่าง $1/pX$ กับ P จะได้กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของผลผลิตดังรูปที่ 2.10 (I) ซึ่งทำให้สามารถเลือกความเข้มข้นของผลผลิตตามต้องการได้ โดยพิจารณาจากเวลาไหลผ่านจากสมการ 2.23, 2.24 โดยทั่วไปการเกิดผลผลิตขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเซลล์ที่แข็งแรงและเวลาไหลผ่านซึ่งสามารถนำข้อมูลมาพัฒนาจนได้สภาวะของระบบที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ผลผลิตมากที่สุด จากการพิจารณาถึงเวลาที่ใช้ในการไหลผ่าน

ในขั้นตอนการเกิดผลผลิตโดยส่วนใหญ่มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของเชื้ออย่างมากซึ่งสามารถแบ่งออกได้ออกเป็น 2 ลักษณะคือ

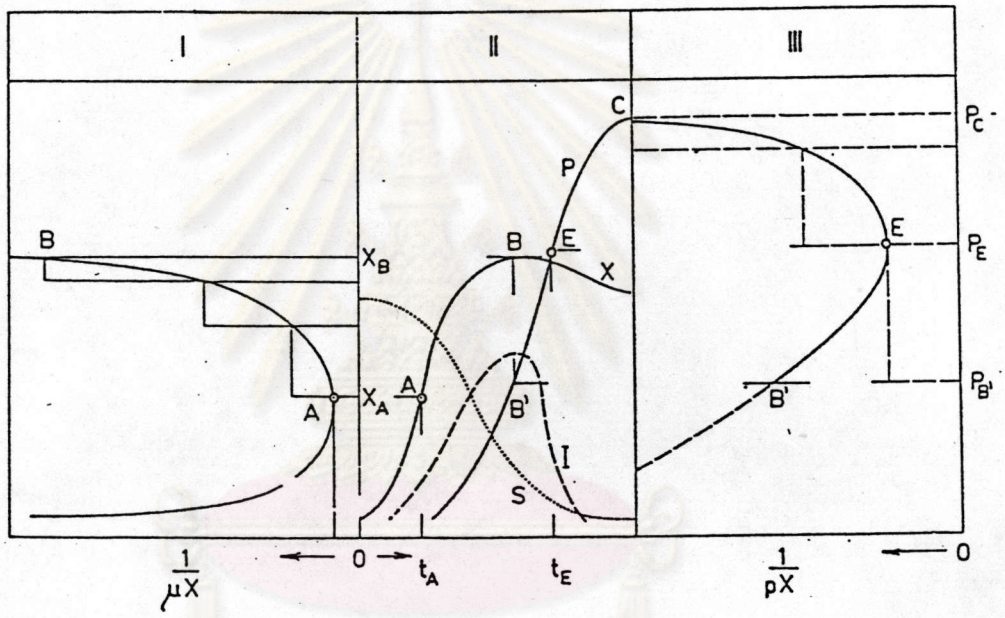
ก. การเกิดผลผลิตพร้อมกับความเจริญเติบโตของเชื้อ หมายถึงเมื่อเชื้อมากขึ้น การเจริญเติบโตมากขึ้น การเกิดผลผลิตจะมากขึ้นด้วยพร้อมกัน จากรูปที่ 2.10 (I, II, III) ($t = t_E$) โดยสังเกตุได้จากปริมาณเชื้อสูงสุดและปริมาณผลผลิตสูงสุดจะใกล้เคียงกัน (จุด E และจุด A บนกราฟที่ 2.10 (II) ใกล้เคียง) ในกรณีดังกล่าวสามารถที่จะนำมาปรับปรุงระบบการหมักให้ดีขึ้นได้ด้วยการทำให้เป็นระบบที่มีหลายเครื่องหมัก ซึ่งจะทำให้ลดเวลาในการหมักเพื่อให้ได้ผลผลิตตามต้องการ ดังที่ได้กล่าวในขั้นต้น

การเกิดผลผลิตพร้อมกับการเจริญเติบโตของเชื้อพร้อมกันนี้ โดยทั่วไปเป็นการผลิตของกรดอินทรีย์, วิตามิน, เอนไซม์, สเตียรอยด์, ไขมัน เป็นต้น



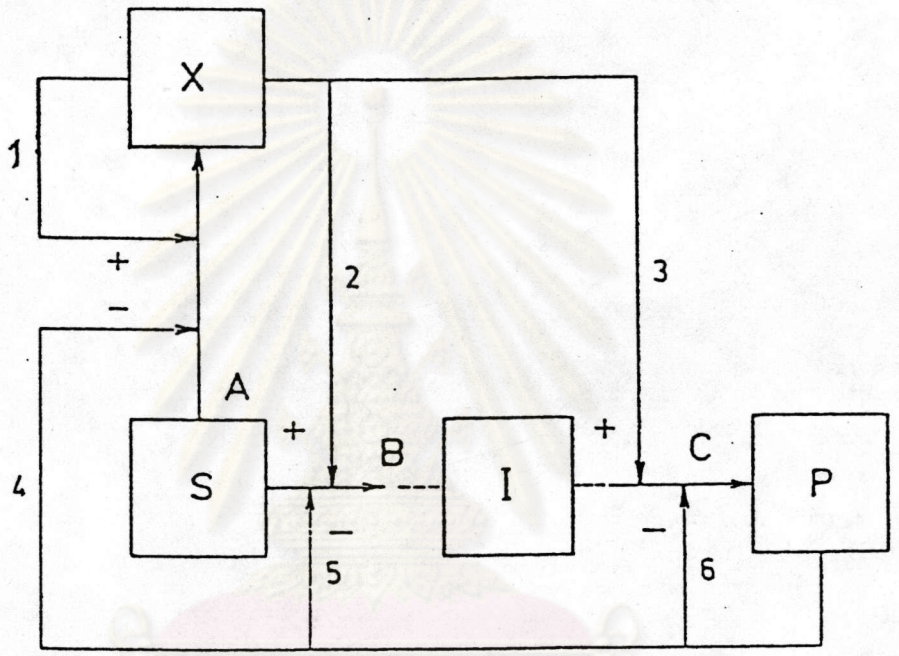
รูปที่ 2.10 ความสัมพันธ์ระหว่าง (I) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (1/μX) กับ ปริมาณเชื้อ (X) (II) เวลา (t) กับ ผลผลิต (P), สารผสมอื่น ๆ (I) และปริมาณเชื้อ (X) (III) อัตราการเกิดผลผลิตจำเพาะ (1/pX) กับ ปริมาณเชื้อ (X) เมื่อการเกิดผลผลิตพร้อมกับการเจริญเติบโตของเชื้อ

ข. การเกิดผลผลิตหลังจากที่เชื้อเจริญเติบโตสูงสุดแล้ว โดยที่ระหว่างที่เชื้อกำลังเจริญเติบโตอยู่ การเกิดผลผลิตจะเป็นไปอย่างช้า และเมื่อเชื้อเจริญเติบโตเต็มที่แล้วและมีอัตราเพิ่มจำนวนของเซลล์เริ่มลดลง การผลิตผลผลิตจึงเริ่มมีอัตราที่สูงขึ้น ดังรูปที่ 2.11 (I, II, III)



รูปที่ 2.11 ความสัมพันธ์ระหว่าง (I) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (1/uX) กับ ปริมาณเชื้อ (X)
(II) เวลา (t) กับ ผลผลิต (P), สารผสมอื่น ๆ (I) และปริมาณเชื้อ (X)
(III) อัตราการเกิดผลผลิตจำเพาะ (1/pX) กับ ปริมาณเชื้อ (X)
เมื่อการเกิดผลผลิตหลังจากที่เชื้อเจริญเติบโตสูงสุดแล้ว

ในการหมักโดยใช้เครื่องหมักหลายเครื่อง แต่ละเครื่องต้องถูกควบคุมให้ได้อัตราการผลิตมากที่สุด ซึ่งหมายถึงปฏิกริยาในแต่ละเครื่องหมักจะต้องควบคุมสภาวะที่เหมาะสมที่สุด เช่น pH ความดันย่อยของออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์, อุณหภูมิ, ความเข้มข้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ องค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น



รูปที่ 2.12 ความสัมพันธ์เป็นแผนภูมิของปริมาณเชื้อ (X), ผลผลิต (p), สารผสมอื่น ๆ (I) และอาหารเลี้ยงเชื้อ (S)

จากรูปที่ 2.12 แสดงให้เห็นถึงแผนภูมิ (block diagram) ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตของเชื้อ (cell growth) อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการเจริญเติบโต ผลผลิตและสารประกอบอื่น ๆ (intermediate formation) โดยใช้ทฤษฎีของการเกิดผลผลิตและการเพิ่มของเซลล์ดังที่กล่าวข้างต้นอธิบายปรากฏการณ์ทั้งหมด

A ,B และ C หมายถึงทิศทางการเปลี่ยนแปลงจากอาหารเลี้ยงเชื้อ (s) ไปสู่การเกิดเชื้อ (X) ; สารประกอบอื่น ๆ (I) และจากสารประกอบอื่น ๆ ไปสู่การเกิดผลผลิต (P) ตามลำดับ

ตัวเลขที่ 1 ถึง 6 หมายถึง กลไกการควบคุมให้เกิดในการลดหรือเพิ่ม เช่น

เครื่องหมาย + หมายถึงการกระตุ้นหรือสนับสนุนให้เป็นไปได้

เครื่องหมาย - หมายถึงการหยุดยั้งหรือชลอให้เป็นไปได้ช้าลง

จากรูปที่ 2.12 หมายเลขที่ 1,2,3 แสดงให้เห็นถึงปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นจะยิ่งไปสนับสนุนหรือกระตุ้นปฏิกิริยาต่าง ๆ ตามลูกศรที่ชี้ไปให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นในทางตรงกันข้าม หมายเลขที่ 4,5,6 แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของผลผลิตมีผลให้ปฏิกิริยาตามลูกศรที่ชี้นั้นเป็นไปได้ยากขึ้น ตัวอย่างเช่น หมายเลข 4 หมายความว่า เมื่อความเข้มข้นของผลผลิตมากขึ้นจะหยุดยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ โดยทำให้เชื้อใช้อาหารได้น้อยลง

2.7.3 ระบบเครื่องหมักหลายชั้น แบบต่อเนื่องที่มีการนำเชื้อแบคทีเรียบางส่วนกลับมาใช้ใหม่ (multi-stage with inflow of further microorganism)

ในกระบวนการหมักหลายชั้นโดยทั่วไป ปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตามลำดับชั้นของเครื่องหมักในการหมักแบบต่อเนื่อง ถ้ามีการนำเชื้อบางส่วนกลับมาใช้ในระบบใหม่ (ซึ่งโดยปกติแล้วนำกลับมาพร้อมกับผลผลิตรวมกับวัตถุดิบเริ่มต้นแล้วป้อนเข้าสู่เครื่องหมักที่ 1) จะช่วยรักษาสมดุลของปริมาณเชื้อในกระบวนการหมักให้คงที่ เพื่อความเสถียรในการผลิตกรดอะซิติกได้นานที่สุด

Herbert, Powell และ Lowe ได้พัฒนาทฤษฎีพื้นฐานของระบบการหมักแบบต่อเนื่องที่มีการนำกลับมาใช้(33,34) และใช้คำจำกัดความของเทอมที่เกี่ยวกับการนำเชื้อกลับมาใช้ใหม่ขึ้น

CX = ความเข้มข้นของเชื้อแขวนลอย (concentration cell suspension)

C = แฟคเตอร์ของความเข้มข้น

X = ปริมาณเชื้อ

γ = อัตราส่วนการนำกลับโดยปริมาตร (volumatric feedback ratio)

a = สัดส่วนของน้ำหนักโดยปริมาตรที่นำกลับมาใช้
(fraction of emergant liquid volume)

b = สัดส่วนของเชื้อที่นำกลับมาใช้
(fraction of cell return)

อัตราส่วนการนำกลับมาใช้ (γ) = a/1-a 2.27

แฟคเตอร์ของความเข้มข้น (C) = b/a 2.28

ในกรณีที่มีเครื่องหมัก N เครื่อง สามารถเขียนสมการแสดงความสัมพันธ์ของเชื้อได้ดังนี้

การเพิ่มของปริมาณเชื้อ = ปริมาณเชื้อที่ได้รับเข้ามา - ปริมาณเชื้อจากการสูญเสียไป + การเพิ่มจำนวนของปริมาณเชื้อในเครื่องหมัก + ปริมาณเชื้อจากการนำกลับมาใช้ใหม่

(increase) = (input - output + growth + feedback)

$$dX_n/dt = D'_n (X'_{n-1} - X'_n) + (S'_n)X'_n + CD'X'_n \quad .... \quad 2.29$$

เมื่อ D'_n = อัตราการเจือจาง เมื่อมีการนำกลับมาใช้ใหม่

S'_n = ความเข้มข้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อระบบมีการนำกลับมาใช้ใหม่

X'_{n-1}, X'_n = ปริมาณของเชื้อในระบบที่มีการนำกลับมาใช้ใหม่ของเครื่องที่ n-1,n

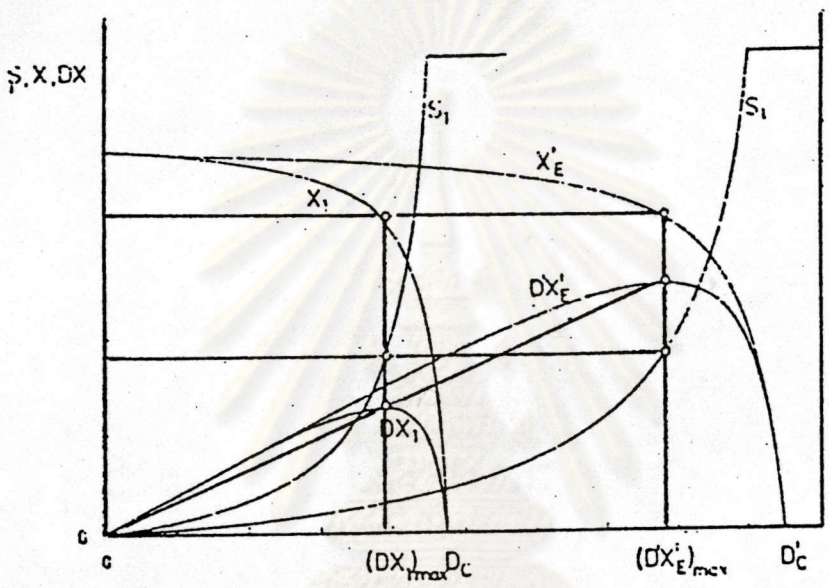
สมการที่ 2.29 ได้พัฒนาเพิ่มเติมเพื่อใช้กับสมการ 2.8 ในกรณีที่กระบวนการหมักที่มีชั้น (stage) เดียว (n=1) จากสมการ 2.29 เขียนได้เป็น

$$dX_1/dt = 0 = \gamma D'CX'_1 - (1+\gamma) D'X'_1 + \gamma(S'_1) X'_1 \quad ... \quad 2.30$$

จากสมการที่ 2.30 แสดงให้เห็นว่าระบบการหมักที่มีการนำเซลล์และผลผลิตบางส่วนกลับมาใช้ใหม่ จะมีอัตราการเจือจางมากกว่า ระบบการหมักที่ไม่มีการนำเซลล์และผลผลิตกลับมาใช้ ซึ่งจะทำให้ผลผลิตในอัตราสูงขึ้น ดังรูปที่ 2.13

I16329958

$$D' = u(S'_1)/(1+\gamma-\gamma C) \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad 2.31$$



รูปที่ 2.13 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ (X) และอาหารเลี้ยงเชื้อ (S) กับ อัตราการเจือจาง เมื่อไม่มีการนำกลับมาใช้ใหม่ และมีการนำกลับมาใช้ใหม่

จากรูปที่ 2.13 เป็นการเปรียบเทียบผลผลิตที่ได้ระหว่างระบบการหมักที่มีและไม่มีการนำกลับมาใช้ใหม่ โดยพิจารณาถึงอัตราการเจือจางของทั้งสองระบบเป็นหลัก จะพบว่าที่ปริมาณเชื้อเท่ากัน ($X_1 = X'_E$) ค่า $(D'X'_E)_{max} > (D_1X_1)$ ซึ่งหมายถึงระบบที่มีการนำกลับมาใช้ใหม่จะมีอัตราการเจือจางมากกว่า ดังนั้นจึงให้ผลผลิตต่อเวลามากกว่า

ในทางกลับกันเมื่อเทียบถึงอัตราการเจือจางเท่ากัน ระบบที่มีการนำกลับมาใช้ใหม่จะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อน้อยกว่า ($S'_E < S_1$) และปริมาณเชื้อจะมากกว่า ($X'_E > X_1$) เพราะฉะนั้นระบบที่มีการนำกลับมาใช้ใหม่นั้น นอกจากจะช่วยประหยัดเวลาในการผลิตลดปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ยังช่วยในการใช้เชื้อเพื่อการผลิตอย่างมีประสิทธิภาพอีกด้วย