หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

น้ำส้มสายชู (vinegar) มาจากภาษาฝรั่งเศส "vin + aigre" ซึ่งเท่ากับ vine + sour หรือไวน์เปรี้ยว (sour wine) นั่นเอง น้ำส้มสายชูนั้นนอกจากจะใช้เป็นสารปรุงแต่งอาหารแล้วยังใช้ช่วยในการถนอมอาหารด้วย น้ำส้มสายชูเป็นผลิตผลที่ได้จากขบวนการอะซีติฟิเคชั่น(acetification) ของพวกแอลกอฮอล์ ซึ่งได้จากพวกวัตถุดิบที่มีน้ำตาลหรือแป้งประกอบ ในศตวรรษที่ 16 ชาวฝรั่งเศสได้ผลิตน้ำส้มสายชูที่หมักจากผลองุ่นเพื่อใช้ในบ้านและเป็นสินค้าออก ส่วนในอังกฤษผลิตจากข้าวมอลท์นั่นก็คือ น้ำส้มสายชูผลิตจากวัตถุดิบต่าง ๆ มากมาย แต่หลักที่สำคัญคือจะต้องมีแอลกอฮอล์ หรือน้ำตาลพอเพียงซึ่งสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้และมีกลิ่นตามต้องการ

2.1 น้ำส้มสายชูแบ่งออกเป็น 3 ชนิดคือ (1)

1. น้ำส้มสายชูหมัก ซึ่งได้แก่ผลผลิตที่ได้จากการนำธัญญ พืชหรือน้ำตาลมาหมัก ด้วยเชื้อยีสต์แล้วหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีธรรมชาติ

2. น้ำส้มสายชูกลั่น ซึ่งได้แก่ผลิตผลที่ได้จากการนำน้ำสุราขาวเจือจางหรือแอลกอฮอล์เจือจางมาหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชู ตามกรรมวิธีธรรมชาติ หรือที่ได้มาโดยการกลั่นน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น

3. น้ำส้มสายชูเทียม ได้แก่ผลิตผลที่ได้จากการนำเอากรดน้ำส้มมาเจือจางด้วยน้ำเท่านั้น

การแบ่งน้ำส้มสายชูตามชนิดของวัตถุดิบที่นำมาผลิตแบ่งออกได้ดังต่อไปนี้

1. ไซเดอร์ วีนีก้า (cider vinegar) หรือแอปเปิ้ล วีนีก้า (apple vinegar) คือน้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักน้ำแอปเปิ้ล

2. ไวน์วีนีก้า (wine vinegar) หรือเกรพวีนีก้า (grape vinegar) คือน้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักน้ำองุ่น

3. มอลท์วีนีก้า (malt vinegar) คือน้ำส้มสายชูที่ทำจากข้าวบาเลย์โดยขั้นแรกอาศัยเอ็นไซม์ในข้าวมอลท์เป็นตัวย่อยแป้ง (ข้าวบาเลย์) ให้เป็นน้ำตาลก่อนแล้วจึงทำการหมักให้เป็นแอลกอฮอล์ แล้วหมักต่อไปให้เป็นน้ำส้มสายชู

4. ชูก้า วีนีก้า (sugar vinegar) คือน้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักน้ำเชื่อมหรือกากน้ำตาล (molasses)

5. กลูโคส วีนีก้า (glucose vinegar) คือน้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักกลูโคส

6. สปิริทวีนีก้า (spirit vinegar) หรือ ดีสทิวด์ วีนีก้า (distilled vinegar) หรือ เกรนวีนีก้า (grain vinegar) คือน้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักแอลกอฮอล์เจือจางซึ่งได้จากการกลั่น

2.2 วิวัฒนาการของเครื่องหมัก

ในปี ค.ศ. 1670 มีชาวฝรั่งเศสทำการหมักน้ำส้มสายชู โดยใช้ถังซึ่งมีความจุประมาณ 200 ลิตร ใช้น้ำส้มสายชูที่มีคุณภาพดี และยังไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อ (pasteurize) ลงไป $\frac{1}{3}$ ของถัง แล้วเติมไวน์ซึ่งเป็นวัตถุดิบในการทำน้ำส้มสายชูลงไป 10-15 ลิตรทุกสัปดาห์จนครบ 4 สัปดาห์ พอถึงสัปดาห์ที่ 5 ดูดเอาน้ำส้มสายชู 10-15 ลิตรออกจากถังหมัก ซึ่งจะเห็นได้ว่าถ้าทำแบบนี้จะมีน้ำส้มสายชูออกทุกสัปดาห์และขณะเดียวกันก็เติมไวน์ลงไปทุกสัปดาห์เช่นกัน ส่วนอากาศอาจจะให้ทางด้านบนของถังหรืออาจจะให้ทางรูหรือช่องขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 นิ้ว ที่เจาะไว้ข้างถัง อากาศจะผ่านเข้าได้ตามรูนี้และที่รูนี้จะมีที่กรองอากาศเพื่อป้องกันพวกแมลงต่าง ๆ เข้า กรรมวิธีการนี้เป็นวิธีที่เก่าแก่วิธีหนึ่งในการผลิตน้ำส้มสายชูที่ใช้รับประทานเรียกกันทั่วไปว่า ยบวนการออรีน (Orleans process) หรือยบวนการช้า (slow process) หรือยบวนการแบบฝรั่งเศส (French process) (2, 3, 4) วิธีนี้แบคทีเรียที่ผลิตน้ำส้มสายชูจะสร้างฟิลม์ที่ผิวของน้ำหมัก และฟิลม์นี้จะค่อย ๆ หนาและเกิดเป็นเมือก (gelatinuous zoogloeal mat) และมีแบคทีเรียเป็นจำนวนมาก เรียกว่า

แผ่นเมือก (mother of vinegar) ถ้าหากไม่มีอะไรรองรับเยื่อนี้ มันจะจมลงที่ก้นถัง และเกิดฟิลม์ขึ้นใหม่ วิธีการผลิตวิธีนี้ค่อนข้างช้าและต้นทุนในการผลิตสูง จากการกระทบกระเทือนเวลาใส่แอลกอฮอล์ ลงไปใหม่หรือดูดอะซีติกออกทำให้ฟิลม์จมง่าย ซึ่งสภาพนี้จุลินทรีย์จะใช้อาหารต่าง ๆ ที่มีอยู่หมดและจะไม่สร้างกรดอะซีติกเนื่องจากเป็นภาวะปราศจากอากาศ แต่วิธีนี้มีข้อดีคือ ได้น้ำส้มสายชูที่มีกลิ่น และรสดี ต่อมา Pasteure ได้พยายามปรับปรุงกรรมวิธีนี้โดยใช้แพคเบด เช่นไม้เบา ๆ ใส่ลงไปเพื่อช่วยในการพยุงแบคทีเรียไม่ให้แตกและจม วิธีนี้เรียกว่ากระบวนการดัดแปลงของออรีน

ในปี ค.ศ. 1732 Boerhave ชาวฮอลันดาได้สร้างเครื่องหมักที่เรียกว่ากระบวนการหมักแบบเร็ว (quick vinegar process) หรือกระบวนการแบบเยอรมัน (German process) โดยให้ไวน์หยดผ่านแพคเบดที่แพคกันอย่างหลวม (loosely packed pomace) พบว่าจะเกิดน้ำส้มสายชูอย่างรวดเร็ว ต่อมาในปี ค.ศ. 1823 Schuzenbach ชาวเยอรมันได้ปรับปรุงให้ดีขึ้น โดยใช้แพคเบดที่มีรูพรุน (porous material) เพื่อให้จุลินทรีย์มีโอกาสสัมผัสกับน้ำหมักและอากาศมากที่สุด เครื่องหมัก (generator) แบบนี้มีอัตราส่วนของความสูงกับเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 ต่อ 1 และประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ ที่สามารถถ่ายเทและกรองได้ โดยมีอากาศผ่านไปทางส่วนล่างของเครื่องหมักที่ก้นถังจะมีแพคเบด (packing material) บรรจุอยู่ในลักษณะโปร่ง ๆ ประมาณครึ่งหนึ่งทำให้เกิดพื้นที่ผิวสัมผัสสำหรับจุลินทรีย์เข้าไปทำปฏิกริยาได้มาก และส่วนบนของเครื่องนี้จะมีเครื่องสำหรับหมุน เพื่อให้อากาศอย่างสม่ำเสมอ พบว่าวิธีนี้ใช้ระยะเวลาในการผลิตน้ำส้มสายชูสั้นกว่าวิธีการของออรีน (3) อย่างไรก็ตามในเวลาต่อมาได้มีการปรับปรุงเครื่องหมักน้ำส้มสายชูให้ดีขึ้นกว่าเดิม

ในปี ค.ศ. 1932-1937 Frings (4) ได้เพิ่มระบบการไหลหมุนเวียนของน้ำหมักเข้าไปด้วย โดยมีหลักการเหมือนกับกระบวนการหมักแบบเร็ว นอกจากนี้เครื่องหมักของ Frings ยังมีระบบควบคุมจุดต่าง ๆ ของเครื่องหมัก เช่น เครื่องวัดอัตราการไหลของน้ำหมัก อัตราการไหลของน้ำหล่อเย็น อัตราการไหลของอากาศ และเทอร์โมมิเตอร์สำหรับวัดอุณหภูมิของน้ำหมักตามจุดต่าง ๆ เพื่อวัดอุณหภูมิในส่วนที่ต่าง ๆ กัน การทำงานของเครื่องโดยให้ส่วนผสมของน้ำหมักไหลผ่านเศษไม้ (beechwood shaving) และไหลวนอยู่ในท่อ ซึ่งทำด้วยสเตนเลส (stainless steel) และท่อชั้นนอกทำด้วยทองแดง

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ซึ่งบรรจุน้ำหล่อเย็นน้ำหมักที่ผ่านลงสู่ถังหมักจะถูกปั๊มขึ้นสู่ทางด้านบนของถังใหม่ โดยใช้ปั๊มหมุนเหวี่ยง (centrifigal pump) ซึ่งทำด้วยสเตนเลสและขึ้นไปตามท่อยางเข้าสู่หัวพ่นที่ทำด้วยสเตนเลส อากาศจะเข้าทางด้านล่างของถังก่อนอากาศเข้าจะถูกกรองก่อน วิธีการของ Frings สามารถเปลี่ยนเอทานอลร้อยละ 10.5 โดยปริมาตรและกรดอะซีติกร้อยละ 1 โดยน้ำหนักปริมาณ 2500 แกลลอนให้ได้กรดอะซีติกร้อยละ 6.8 ภายใน 8-10 วัน จากนั้นจะเอาน้ำส้มสายชูออกและเหลือไว้ 8% สำหรับเป็นอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ในการหมักคราวต่อไป วิธีนี้มีข้อดีคือ ต้นทุนต่ำ ควบคุมง่าย และเป็นขบวนการธรรมดาแบบง่าย ๆ จะได้เปอร์เซ็นต์อะซีติกสูงกว่าวิธีอื่น และผลิตได้มากเป็น 30 เท่าของเครื่องหมักที่ไม่มีการไหลหมุนเวียน (4) ใช้เนื้อที่น้อยกว่าวิธีอื่นที่ผลิตได้น้ำส้มสายชูเท่ากัน อุณหภูมิของห้องจะไม่มีผลต่อการผลิต เนื่องจากมีระบบการไหลหมุนเวียนของน้ำหมัก ซึ่งมีโอกาสเกิดเมือก (slime) เพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามได้มีเครื่องหมักแบบใหม่ขึ้นมาคือ เครื่องหมักซับเมอร์ก (submerged fermemter) (2, 3, 4) วิธีนี้เป็นการหมักในถังทรงสูง ไม่ต้องใช้แพคเบด แต่มีการกวนอย่างรุนแรง และให้อากาศอย่างเพียงพอเข้าสู่น้ำหมักในสภาพเป็นฟองละเอียด เพื่อให้พื้นที่ผิวในการสัมผัสสูง และทำให้แบคทีเรียกระจายอยู่ในน้ำหมักโดยทั่วถึง วิธีนี้มีข้อดีหลายประการด้วยกันคือ

- สามารถผลิตกรดอะซีติกได้รวดเร็วกว่าเครื่องหมักของ Frings
- ไม่ต้องใส่แพคเบด จึงไม่มีปัญหาเรื่องอุดตัน
- เป็นถังหมักทรงสูง ดังนั้นจึงใช้พื้นที่สำหรับติดตั้งน้อย
- ต้นทุนต่ำ ให้ประสิทธิภาพในการผลิตได้สูงกว่า

แต่มีข้อเสียคือ

- ใช้กำลังมากในการผลิต
- เกิดน้ำส้มสายชูลักษณะขุ่น (cloudy vinegar)
- ต้องมีการให้อากาศอย่างเพียงพอตลอดเวลา หากเกิดการขัดข้องของเครื่องมือไม่มีอากาศเข้าสู่น้ำหมักภายในเวลา 1 นาที เชื้อจุลินทรีย์จะหยุดการเจริญเติบโต และจะใช้เวลานานกว่าจะฟื้นคืนสู่สภาพเดิมภายหลังให้อากาศใหม่ เนื่องจากปฏิกริยาการหมักเป็นไปอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้แล้วยังต้องควบคุมให้ฟองอากาศที่ผ่านเข้าไปมีขนาดเล็กตลอดคอลัมน์ด้วย ซึ่งจะเห็นได้ว่า วิธีการแบบซับเมอร์กนี้ควบคุมลำบาก ถึงแม้จะให้ผลผลิตรวดเร็วก็ตาม (3,4)

ในปี ค.ศ. 1977 คุ่ภมาศ (5) ได้ศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูจากน้ำสับปะรด โดยใช้ขบวนหมักแบบเร็ว ใช้ท่อกลวงทรงกระบอก (raschig ring) ซึ่งทำด้วยไม้ไผ่เป็นแพคเบด อัตราการไหลเข้าของน้ำหมัก 1 ลิตรต่อชั่วโมง สามารถผลิตน้ำส้มสายชูได้ร้อยละ 4 ภายใน 60 ชั่วโมง แต่ข้อเสียของวิธีการนี้คือผลิตได้น้อย ต่อมาปี ค.ศ. 1981 พรทิพย์ (6) ได้ศึกษาเครื่องหมักแบบคอลัมน์ชนิดแพคเบดในการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์สับปะรด โดยอาศัยข้อดีจากวิธีการของ Frings และ ซับเมอร์ก แต่ใช้ไม้ทรงกลมเป็นแพคเบดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร อัตราการไหลเข้าของน้ำหมัก 2.7 ลิตรต่อนาที และเริ่มต้นด้วย ร้อยละของเอทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร) ต่อร้อยละของกรดอะซีติก (น้ำหนัก/ปริมาตร) 7:1 ซึ่งสามารถผลิตน้ำส้มสายชูได้ร้อยละ 4 ภายใน 50 ชั่วโมง

2.3 ปัจจัยสำคัญในการทำให้เกิดการหมักที่ดี

ในอุตสาหกรรมการหมักจะมีปัจจัย 5 ข้อ ที่จะต้องพิจารณาเป็นพิเศษเพื่อให้เกิดการหมักที่ดีดังนี้ (7)

- คุณสมบัติของวัตถุดิบ
- การเลือกชนิดของจุลินทรีย์
- ปริมาณผลผลิตสูงจนเป็นที่ยอมรับ
- สามารถหมักได้รวดเร็ว
- สามารถนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาใช้ได้ง่าย

2.3.1 คุณสมบัติของวัตถุดิบ

น้ำส้มสายชูผลิตได้ จากวัตถุดิบเกือบทุกชนิดที่สามารถหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ ได้วัตถุที่นิยมในการผลิต ได้แก่ แอปเปิล องุ่น ส้ม น้ำผึ้ง น้ำตาล แป้งที่ผ่านการย่อยแล้ว เบียร์ ไวน์ รวมทั้งผลไม้ต่าง ๆ ที่ปลูกในเมืองไทยก็สามารถนำมาทำน้ำส้มสายชูได้ เช่น สับปะรด น้ำมะพร้าว มะยม (4, 8) ในฝรั่งเศส อิตาลี สเปน กรีก นิยมใช้

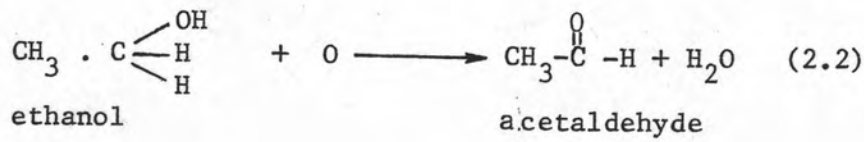
ไวน์จากแอปเปิลเป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำส้มสายชู ส่วนในอังกฤษนิยมใช้ ข้าวมอลท์นั่นคือ วัตถุดิบที่เลือกใช้ควรจะเป็นวัตถุดิบที่หาง่ายและราคาถูก

น้ำส้มสายชูที่มีคุณภาพดีนั้น ขึ้นกับวัตถุดิบที่ใช้ เช่น ผลไม้ควรสะอาด มีคุณภาพดี ไม่อ่อนหรือแก่เกินไป ถ้าเป็นไวน์หรือวัตถุดิบที่มีเอทานอลอยู่ด้วยก็ควรจะใส่สะอาด และไม่มีสารกันบูดเจือปนในการหมักน้ำส้มสายชูนั้นจะเกี่ยวข้องกับปฏิกริยาทางชีวเคมี 2 ขั้นตอนด้วยกันคือ

2.3.1.1 ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นเอทานอล (4, 9)

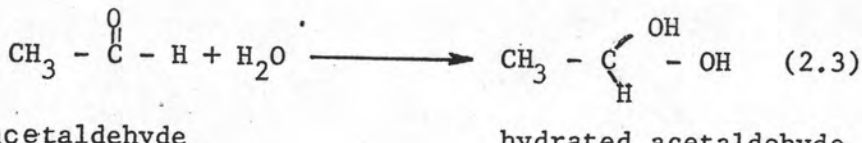
$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{yeast enzyme}} 2C_2H_5OH + 2CO_2 \qquad (2.1)$$

2.3.1.2 เชื้อ <u>Acetobacter</u> จะเปลี่ยนเอทานอลไปเป็นกรดอะซีติกโดยปฏิกริยาดีไฮโดรจิเนชั่น (dehydrogenation) ด้วยเอนไซม์ แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase) ซึ่งจะได้อะเซทท้อลดีไฮด์ (acetaldehyde) Bultin (4) ได้แสดงให้เห็นว่าอะเซทท้อลดีไฮด์ ถูกดีไฮโดรจิเนท (dehydrogenated) เพื่อเป็นกรดอะซีติก โดยที่ออกซิเจนทำหน้าที่รับไฮโดรเจน (hydrogen acceptor) เพื่อเปลี่ยนแอลกอฮอล์ไปเป็น อะเซทท้อลดีไฮด์ (4)



(2.2)

อะเซทท้อลดีไฮด์ทำปฏิกริยากับน้ำ



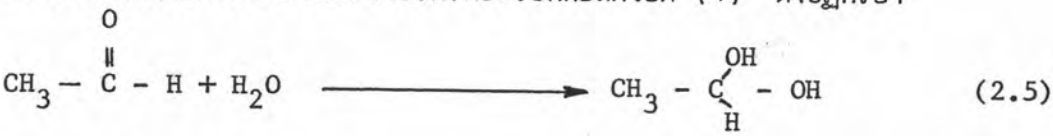
(2.3)

จากนั้นไฮโดรเจน 2 อะตอมของไฮเดรทอะเซททอลดีไฮด์ (hydrated acetaldehyde) จะทำปฏิกริยากับออกซิเจนโดยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจิเนส เป็นตัวเร่ง จะได้กรดอะซิติก

(2.4)

hydrated acetaldehyde acetic acid

อะเซททอลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นอาจจะทำปฏิกริยาซึ่งกันและกัน ซึ่งเรียกว่าปฏิกริยาแคนไนซ่าโร (cannizzaro reaction) ได้กรดอะซิติก และเอทานอลอย่างละหนึ่งโมเลกุล โดยเอทานอลเกิดจาก ไฮโดรจิเนชั่น (hydrogenation) ของอะเซททอลดีไฮด์ และกรดอะซิติกเกิดจากดีไฮโดรจิเนชั่นของไฮเดรทอะเซททอลดีไฮด์ (4) ดังปฏิกริยา



(2.5)

acetaldehyde hydrated acetaldehyde

(2.6)

hydrated acetaldehyde acetaldehyde acetic acid ethonol

ดังนั้นปฏิกริยารวมที่เกิดเป็นดังนี้

(2.7)

ethanol acetic acid

2.3.2 การเลือกชนิดของจุลินทรีย์

ในธรรมชาติมีเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดที่สามารถผลิตน้ำส้มสายชูจากสารละลายวัตถุดิบที่มีเอทานอล แบคทีเรีย Acetobacter โดยทั่วไปมักเรียกว่า วินีก้า แบคทีเรีย (vinegar bacteria) เซลล์แบคทีเรียพวกนี้จะมีลักษณะเป็นท่อน (rod - shaped) หรือรูปรี (ellipsoidal to long) (4) เซลล์ที่อ่อน ๆ จะเป็นแกรมลบ (gram negative) ไม่มีการสร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้มีแฟลคเจลล่า (flagella) แบบโพล่า (polar) และเป็นพวกที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต

ได้มีการแบ่งแบคทีเรียพวกนี้หลายแบบ แต่ยังไม่มีแบบไหนที่สมบูรณ์จนเป็นที่พอใจเลย Bergey (4) ได้แบ่ง Acetobacter ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

- พวกที่สามารถออกซิไดซ์กรดอะซีติกเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำได้
- พวกที่ไม่สามารถออกซิไดซ์กรดอะซีติกได้

สำหรับพวกที่สามารถออกซิไดซ์กรดอะซีติกได้ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม โดยแบ่งตามความสามารถในการใช้เกลือแอมโมเนียมเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ เช่น A. aceti สามารถใช้เกลือแอมโมเนียมได้ ส่วนพวกที่ไม่สามารถใช้เกลือแอมโมเนียมได้ เช่น A. xylinum ซึ่งแบคทีเรียสายพันธุ์นี้จะสร้างเมือกหนา ๆ ที่ผิวหน้าของอาหาร แต่ A. rancens, A. pasteurianus, A. kuetzingianus นี้ไม่สามารถสร้างเมือกได้

พวกที่ไม่สามารถออกซิไดซ์กรดอะซีติกได้เช่น A. melanogenus ซึ่งจะสร้างสารสีน้ำตาลดำ หรือดำในอาหารที่มีกลูโคส (glucose media) A. roseus จะสร้างสารสีชมพูในอาหารที่มีกลูโคส ส่วน A. suboxydans ซึ่งมีอุณหภูมิที่เหมาะสมที่จะเจริญ 30-35 องศาเซลเซียส และ A. oxydans อุณหภูมิที่เหมาะสมที่จะเจริญ 20-25 องศาเซลเซียส จะไม่สร้างเม็ดสี (pigment) โดยทั่วไป Acetobacter มีความสามารถผลิตกรดอะซีติกจากการออกซิไดซ์เอทานอลได้ในช่วงร้อยละ 2-12 แบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่กล่าวมาแล้วนั้นสามารถผลิตกรดอะซีติกได้สูงสุดจากเอทานอลดังต่อไปนี้

A. aceti	6.6 %
A. xylinum	4.5 %
A. pasteurianus	6.2 %
A. Keutizingianus	6.6 %
A. oxydans	2.0 %

สารอาหารที่จำเป็นที่แบคทีเรียพวกนี้ต้องการจะแตกต่างกันมากจากสารอาหารประเภทธรรมดา ๆ จนถึงสารประกอบเชิงซ้อนต่าง ๆ อุณหภูมิที่เหมาะสมก็แตกต่างกันมากในแต่ละสายพันธ์ (species) และแบคทีเรียพวกนี้จะมีมากในอาหารพวกพืชที่สามารถเกิดการหมักแอลกอฮอล์ได้

การคัดเลือกชนิดของเชื้อแบคทีเรียเพื่อนำมาใช้ผลิตน้ำส้มสายชู นอกจากความสามารถในการผลิตกรดได้แล้ว เราต้องคำนึงถึงชนิดของวัตถุดิบ และกรรมวิธีที่จะใช้ในการหมักด้วย อย่างไรก็ตามเราควรเลือกใช้เชื้อที่มีความสามารถในการผลิตกรดอะซีติกได้สูงและรวดเร็ว สามารถเจริญได้ใน สูตรอาหารอย่างง่าย ๆ เป็นเชื้อเดี่ยว หาง่าย ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมได้ดี คือสามารถอยู่ได้ในช่วงความเป็นกรดด่าง และอุณหภูมิค่อนข้างกว้าง และไม่ควรออกซิไดซ์กรดอะซีติกที่ผลิตขึ้นต่อไปได้ง่าย

2.3.3 ปริมาณผลผลิตสูงจนเป็นที่ยอมรับ นั่นคือในการหมักจะต้องให้ผลผลิตได้ไม่ต่ำกว่า ระดับที่ใช้ผลิตกันทั่ว ๆ ไป เช่น ปกติแล้ว A. aceti ใช้หมักกรดอะซีติกได้ร้อยละ 12 ถ้าทำการหมักที่สภาวะเดียวกันนี้ แล้วได้ต่ำกว่าระดับดังกล่าว จะถือว่าผลผลิตที่ได้จะไม่เป็นที่ยอมรับ

2.3.4 สามารถหมักได้รวดเร็ว คือสามารถหมักให้ปริมาณผลผลิตสูงจนเป็นที่ยอมรับโดยใช้ระยะเวลาสั้น

2.3.5 สามารถนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาใช้ได้ง่าย คือไม่ยุ่งยากต่อการที่จะได้ผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์มาใช้ เช่น การหมักน้ำส้มสายชู สามารถได้น้ำส้มสายชูโดยการตกตะกอนหรือกรอง

ดังนั้นเพื่อให้บรรลุผลตามปัจจัยที่กล่าวข้างต้น ควรจะต้องคำนึงถึงอิทธิพลขององค์ประกอบที่มีผลต่อการหมักดังนี้ อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง อัตราการให้ออกซิเจน และระบบการกวนเชื้อบริสุทธิ์ ความสม่ำเสมอของผลผลิต (7)

- อุณหภูมิ

อุณหภูมิในการหมักขึ้นกับเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ และกรรมวิธี การผลิตในอเมริกาจะใช้อุณหภูมิ 26.7-29.4 องศาเซลเซียส แต่ในอังกฤษจะใช้อุณหภูมิสูงกว่า . ถ้าใช้อุณหภูมิต่ำเกินไปการหมักจะเกิดขึ้นช้า แต่ถ้าใช้อุณหภูมิสูงเกินไปแอลกอฮอล์ กรดอะซิติก และสารที่ระเหยได้ง่าย ซึ่งเป็นตัวทำให้เกิดกลิ่นและรสระเหยไป ฉะนั้นจะเห็นว่าอุณหภูมิที่ใช้มีความสำคัญ (4) ถ้าใช้อุณหภูมิต่ำกว่า 12-15 องศาเซลเซียส แบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติก (acetic acid bacteria) จะเจริญช้ามาก และเซลล์จะโตแต่สั้น แต่ถ้าใช้ 15-34 องศาเซลเซียส จะเจริญได้อย่างปรกติ ถ้าใช้อุณหภูมิสูงเกินไปประมาณ 42-45 องศาเซลเซียส เซลล์จะมีรูปร่างแบบเส้นด้ายโปร่งใส (long thread-like transparent filaments) บางครั้งจะมีการแตกหน่อ ซึ่งถ้าเราใช้ภาวะนี้ (42-45°ซ) อาจทำให้เป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ได้ โดยทั่วไปเชื้อ Acetobacter เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส (10) แต่ไม่ควรต่ำกว่าหรือสูงกว่า 27-34 องศาเซลเซียส เพราะว่าถ้าต่ำกว่านี้จะทำให้การเพิ่มจำนวนเซลล์ลดต่ำลง แต่ถ้าใช้อุณหภูมิสูงไปจะทำให้เอทานอล กรดอะซิติก และสารที่ระเหยได้ง่ายจะระเหยไป

- ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ความเป็นกรดด่าง (pH) ย่อมมีอิทธิพลต่อการหมัก เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความสามารถในการเจริญเติบโตได้ดี ในช่วงความเป็นกรดด่างต่างกัน ดังนั้นจึงได้มีการแบ่งเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ดี ตามลักษณะความเป็นกรด-ด่างของอาหารได้ดังนี้ (9)

ก. ในอาหารที่มีค่าความเป็นกรดมาก (high acid food) คือช่วงที่เชื้อจุลินทรีย์มีความสามารถเจริญได้ดีที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ตั้งแต่ 3 ลงไป

ข. ในอาหารที่เป็นกรด (acid food) คือช่วงที่เชื้อจุลินทรีย์มีความสามารถเจริญได้ดีที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 3-4.5

ค. ในอาหารที่มีค่าความเป็นกรดน้อย (low acid food) คือช่วงที่เชื้อจุลินทรีย์มีความสามารถเจริญได้ดี ค่าความเป็นกรด เป็นด่างตั้งแต่ 4.5 ขึ้นไป

นอกจากนี้ยังมีเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้อยู่ในค่าความเป็นกรดด่างระหว่างค่าที่กำหนดข้างต้น (flucultative microorganism)

ในเรื่องการถนอมอาหารก็ได้อาศัยการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เป็นตัวช่วย เนื่องจากความเป็นกรดด่างนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ ดังนั้นในการหมักน้ำส้มสายชูจะต้องมีการปรับสภาวะความเป็นกรดด่างของน้ำหมักให้ได้อยู่ในช่วงที่เหมาะกับเชื้อ Acetobacter สายพันธุ์ที่เลือกใช้นั้น ๆ เจริญได้ดี โดยทั่วไป A. aceti จะเจริญได้ดีช่วงความเป็นกรดด่าง 3-4

- การป้อนอากาศและระบบการกวนในเครื่องหมัก

วิธีการให้อากาศแพร่กระจายเข้าไปในน้ำหมักทั่วถึงกันทุกจุด ถ้าหัวกระจายอากาศเป็นหัวเดียว หรือหลายหัวแต่ถ้าขนาดของฟองที่ให้ออกมามีขนาดโต ทำให้เกิดปัญหาของการรวมตัวของฟองอากาศ เป็นผลให้อากาศอยู่ภายในน้ำหมักได้ไม่นานเท่าที่ควร ดังนั้นอากาศที่แพร่เข้าไปในน้ำหมักมีปริมาณน้อยไม่พอกับความต้องการของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก การมีใบพัดเพื่อกวนจึงช่วยให้เกิดการผสมผสานระหว่างฟองอากาศกับน้ำหมัก และในขณะเดียวกันจะช่วยในการตีให้ฟองอากาศแตกเป็นฟองเล็ก ๆ ดังนั้นจึงเกิดความสัมพันธ์ระหว่างขนาดฟองอากาศกับความเร็วของการกวน ในการหมักครั้งหนึ่ง ๆ จำเป็นที่จะต้องหาความเหมาะสมของความเร็วในการกวนและปริมาณของอากาศที่ให้ ทั้งนี้เนื่องจากน้ำหมักของแต่ละชนิดมีคุณสมบัติทางฟิสิกส์ไม่เหมือนกัน เช่น ความหนืด หรืออัตราการละลายของ

อากาศในน้ำหมักชนิดนั้น ๆ อย่างไรก็ตามแม้การกวนจะทำให้เกิดการผสมผสานระหว่างอากาศและน้ำหมักดี แต่จะทำให้สิ้นเปลืองในการใช้พลังงาน ดังนั้นถ้าหากมีการออกแบบหัวกระจายอากาศ ให้มีขนาดฟองอากาศที่เกิดขึ้นเล็กมาก และทำให้ทุกจุดของน้ำหมักได้รับอากาศเพียงพอจะทำให้ง่ายต่อการปฏิบัติการ และทุ่นค่าใช้จ่าย

เนื่องจากปฏิกริยาการเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นอะซีติก เป็นปฏิกริยาแบบออกซิเดชั่น (oxidation) ในบรรยากาศที่ออกซิเจนกระทำเหมือนกับเป็นตัวรับไฮโดรเจน (hydrogen acceptor) ฉะนั้นความสำเร็จในการหมักจะขึ้นกับออกซิเจนดังสมการ

$$CH_3CH_2OH + \tfrac{1}{2}\, O_2 \longrightarrow CH_3 - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - H + H_2O \qquad (2.8)$$

$$CH_3\overset{O}{\overset{\|}{C}}H + \tfrac{1}{2}\, O_2 \longrightarrow CH_3\, COOH \qquad (2.9)$$

จากสมการจะเห็นว่าการทำน้ำส้มสายชูนั้น ออกซิเจนมีความสำคัญมาก ฉะนั้นในถังหมักจึงต้องมีการพ่นอากาศลงไปเพื่อให้ออกซิเจน หรืออาจจะใช้วิธีพ่นวัตถุดิบ (wine) ที่จะทำน้ำส้มสายชูให้เป็นฝอย เพื่อให้มีโอกาสสัมผัสกับอากาศมากที่สุด (4)

จาก U.S. Patent Office (11) ได้รายงานไว้ว่าที่ความเข้มข้นทั้งหมดร้อยละ 5 นั้นถ้าขาดออกซิเจน 120 วินาที จะทำให้เชื้อตายไปร้อยละ 34 ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการให้ออกซิเจนอย่างเพียงพอจะมีส่วนสำคัญมากที่จะต้องคำนึงถึง

- เชื้อบริสุทธิ์ ใช้เชื้อที่คัดเลือกไว้หมัก โดยมีการปะปนของเชื้ออื่น ๆ น้อยที่สุด
- ความสม่ำเสมอของผลผลิตนั่นคือ ในการหมักทุกครั้งได้ปริมาณของผลผลิตเท่ากันหรือไม่ต่างกันมาก

นอกจากห้าข้อดังที่กล่าวข้างต้นในการหมักน้ำส้มสายชูจะต้องคำนึงถึงความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ และปริมาณกรดอะซีติกที่เติมเข้าไปก่อนการหมัก และอาหารเสริม

ได้มีผู้ทำการทดลองพบว่า Acetobacter สามารถสร้างอะซีติกจากการออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ได้ในช่วง 2-12% (4) การปรับปริมาณแอลกอฮอล์ของน้ำหมักนี้จะมีความจำเป็นมากเพื่อให้แน่ใจว่าการหมักประสบความสำเร็จ ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เหมาะสมในการหมักคือ

ความเข้มข้น 10-13% (1, 4) เมื่อใช้ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ 14% หรือมากกว่า จะมีพวกเมือก (zoogloeal mat) เกิดขึ้นจึงทำให้แอลกอฮอล์ถูกเปลี่ยนเป็นอะซีติกได้ยาก และไม่สมบูรณ์ ในขณะเดียวกันถ้าใช้ความเข้มข้นที่ต่ำจะทำให้ ได้กรดอะซีติกต่ำกว่าระดับที่ใช้ประโยชน์ได้ เมื่อแอลกอฮอล์หมด เชื้อจะออกซิไดซ์กรดอะซีติก ไปเป็นน้ำและคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และยังถูกเชื้ออื่นปะปนเข้าไปได้ง่าย

$$CH_3COOH + 2O_2 \longrightarrow 2CO_2 + 2H_2O \qquad (2.10)$$

นอกจากแอลกอฮอล์แล้ว ปริมาณของกรดอะซีติกที่เติมเข้าไปก่อนการหมักก็มีอิทธิพลต่อการหมักด้วย ในการปรับกรดนี้ก็เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรียอื่น ๆ ที่เราไม่ต้องการให้เกิดขึ้น และเป็นการส่งเสริมให้แบคทีเรียตัวที่จะผลิตน้ำส้มเจริญได้ดีขึ้น (4) ปริมาณกรดที่จะเติมลงไปนี้ขึ้นอยู่กับกรรมวิธีในการผลิตปกติจะเติม 10-25% ของน้ำส้มสายชูโดยปริมาตร หลังจากปฏิกริยาการหมักแอลกอฮอล์สมบูรณ์แล้ว ให้มีความเป็นกรด 1-3% ในรูปกรดอะซีติก มิฉะนั้นจะทำให้ปฏิกริยาการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ ทำให้เราได้น้ำส้มสายชูน้อยลงไปด้วย จาก U.S. Patent Office (11)ได้รายงานการหมักน้ำส้มสายชูด้วยวิธีการแบบซัมเมอร์รักไว้ว่าอิทธิพลของความเข้มข้นทั้งหมด (หมายถึงผลรวมของน้ำหนักกรดอะซีติกใน หน่วยกรัมต่อ 100 มิลลิกรัม ของน้ำหมักกับเอทานอลร้อยละโดยปริมาตร) และความเข้มข้นของเอทานอลและกรดอะซีติกนั้นจะมีผลต่ออัตราการเพิ่มของ Acetobacter จากผลการทดลองพบว่า ถ้าความเข้มข้นทั้งหมดเพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตของ Acetobacter จะลดลงโดยที่ตัวแปรอื่น ๆ คงที่ และถ้าความเข้มข้นทั้งหมดคงที่ อัตราการแบ่งตัวของเชื้อจะสูงสุดเมื่อมีกรดอะซีติกร้อยละ 7-8 และจะลดลงถ้ากรดอะซีติกสูงขึ้น ดังนั้นทุก ๆ ครั้งของการหมักต้องเอากรดอะซีติกออกบางส่วน เพื่อให้ปริมาณกรดอะซีติกในน้ำส้มสายชูอยู่ในช่วงที่เหมาะสม แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณกรดอะซีติกและเอทานอลต้องขึ้นกับชนิดของ Acetobacter ด้วยตามข้อ (2.3.2)

009891

ส่วนอาหารเสริมที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต โดยปกติแล้วเชื้อจุลินทรีย์ก็เช่นเดียวกับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ทั้งหลายที่ต้องการอาหาร เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต ซึ่งความสามารถในการใช้สารอาหารนั้น จุลินทรีย์จะใช้สารอาหารที่มีสูตรง่าย ๆ ก่อน ต่อจากนั้นจะใช้สารอาหารที่ซับซ้อนมาก ๆ โดยทั่วไปพวก Acetobacter ต้องการสารอาหารพวกสารประกอบไนโตรเจน สารประกอบคาร์บอน วิตามิน และเกลือแร่ต่าง ๆ (4)

2.4 ชนิดของเครื่องหมัก

เครื่องหมักสามารถแบ่งได้เป็น 5 ประเภทดังนี้

2.4.1 เครื่องหมักแบบธรรมดา (conventional fermenter) เป็นการหมักแบบธรรมชาติโดยใช้ถังหมัก ดังเช่นกรรมวิธีแบบ ออรีน ซึ่งเป็นการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง (batch) ให้อากาศทางด้านบนของถัง หรืออาจจะให้ทางรู หรือช่องที่เจาะไว้ข้างถัง และที่รูนี้มีที่กรองอากาศเพื่อป้องกันแมลงต่าง ๆ เข้า ในการหมักบางครั้งอาจใช้แพคเบดที่เบา ๆ ใส่ลงไป เพื่อช่วยในการพยุงฟิลม์ของแบคทีเรียไม่ให้แตกหรือจม (1, 2)

2.4.2 เครื่องหมักแบบธรรมดาที่ดัดแปลง (modified conventional fermenter) ดังเช่นเครื่องหมักแบบของซัมเมอรักและFrings (ดังที่กล่าวในหัวข้อ 2.1) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางกับความสูงใกล้เคียงกัน (1)

2.4.3 เครื่องหมักแบบฟลูอิไดเบดคอลัมน์ (fluidized bed column fermenter) เป็นเครื่องหมักที่ใช้เทคโนโลยีใหม่ ๆ ไม่เป็นที่แพร่หลาย ซึ่งพบในการหมักแอลกอฮอล์ ส่วนในการหมักน้ำส้มสายชูยังไม่พบ (12)

2.4.4 เครื่องหมักคอลัมน์แบบตรึงชั้น (fixed bed column fermenter) เป็นเครื่องหมัก ซึ่งมีอัตราส่วนของเส้นผ่าศูนย์กลางกับความสูงตั้งแต่ 1 : 10 ขึ้นไป ดังเช่นเครื่องหมัก พรทิพย์ (6)

2.4.5 เครื่องหมักคอลัมน์แบบหลายชั้น (multistage column fermenter) เป็นเครื่องหมักชนิดใหม่ ยังมีผู้ใช้น้อยเช่น ใช้ในการศึกษาเบื้องต้นในการหาการถ่ายเทออกซิเจนในกลีเซอรอล (glycerol)

2.5 ประสิทธิภาพของเครื่องหมักที่มีผลต่อการหมัก

เมื่อปัจจัยต่าง ๆ ดังที่กล่าวไว้ในหัวข้อ 2.3 นั้นดีพร้อมแล้ว แต่ถ้าเครื่องหมักไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอ ปัจจัยเหล่านั้นก็ไม่ก่อให้เกิดประโยชน์มากนัก ดังนั้นจะเห็นได้ว่าได้มีการพัฒนาเครื่องหมักให้ดีขึ้นมาเรื่อย ๆ เริ่มตั้งแต่หมักในถังแบบธรรมดาดังวิธีของออรัน แล้วปรับปรุงกรรมวิธีนี้โดยใช้แพคเบดเพื่อช่วยในการพยุงพิลมัยของแบคทีเรีย ไม่ให้แตกและจม จากนั้นก็หมักในถังทรงสูงโดยให้น้ำหมักหยดผ่านแพคเบด เพื่อให้จุลินทรีย์มีโอกาสสัมผัสกับน้ำหมักและอากาศมากดังวิธีของ ยบวนการหมักแบบเร็ว อย่างไรก็ตามในเวลาต่อมาได้มีการปรับปรุงเครื่องหมักให้ดียิ่งกว่าเดิมอีกซึ่งได้แก่เครื่องหมักของ Fringsมีระบบการไหลหมุนเวียนของน้ำหมัก มีระบบควบคุมตามจุดต่าง ๆ ของเครื่องหมัก เช่นเครื่องวัดอัตราการไหลของน้ำหมัก อัตราการไหลของอากาศ อัตราการไหลของน้ำหล่อเย็นมีการวัดอุณหภูมิของน้ำหมักตามจุดต่าง ๆ และใช้เศษไม้ (beechwood shaving) เป็นแพคเบด ต่อจากนั้นก็มีเครื่องหมักแบบชับเมอรัก ซึ่งมีระบบการกวนอย่างรุนแรง และให้อากาศอย่างเพียงพอในลักษณะเป็นฟองละเอียด ในปี ค.ศ. 1981 พรทิพย์ (6) ได้สร้างเครื่องหมักแบบแพคเบดคอลัมน์ชนิดชั้นเดียว ใช้ไม้ลักษณะรูปทรงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตรเป็นแพคเบด มีระบบการไหลหมุนเวียน หัวกระจายอากาศและน้ำหมักเป็นรูปฝักบัว และหัวกระจายอากาศจะให้อากาศออกมาเป็นฟองละเอียด มีระบบน้ำหล่อเย็น จะเห็นได้ว่าเป็นการรวมเอาข้อดีของFringsและชับเมอรัก เข้าไว้ด้วยกันเกิดเป็นเครื่องหมักที่มีประสิทธิภาพ

จากที่กล่าวมาแล้วทั้งหมดนี้จะเห็นได้ว่าเครื่องหมักที่ดีควรจะประกอบด้วยสิ่งต่อไปนี้

- แพคเบด
- ระบบการให้อากาศ
- ระบบการไหลของน้ำหมัก
- ระบบการไหลหมุนเวียนของน้ำหมัก

2.5.1 แพคเบด

เนื่องจากปฏิกริยาการเกิดกรดอะซิติกเป็นปฏิกริยาแบบออกซิเดชั่น (oxidation) วิธีที่จะให้ไวน์ที่ใช้ในการทำน้ำส้มสายชูมีโอกาสสัมผัสกับอากาศมากที่สุดก็คือ

การใช้แพคเบดเพื่อให้เยื่อน้ำล้มเกาะ และเพิ่มผิวสัมผัสระหว่างอากาศที่ไหลขึ้นไป และน้ำหมักที่ไหลลงมา (14, 15) โดยเยื่อจะได้รับสารอาหาร และออกซิเจนจากสารละลายด้วยวิธีการแพร่กระจายจากภายนอกเซลล์เข้าไปภายในเซลล์ แล้วจะมีการแพร่กระจายของสารที่เกิดขึ้นจากปฏิกริยาออกมาในทิศทางตรงข้าม (15, 16) ซึ่งการเพิ่มผิวสัมผัสให้มากนี้ก็เท่ากับเป็นการเพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลสารให้สูงขึ้นด้วยเพราะ

อัตราการถ่ายเทมวลสาร = $Ka\Delta c$ (2.11)

k = สัมประสิทธิ์การถ่ายเท มวลสาร

a = พื้นที่ผิวสัมผัส (inferfacial area)

Δc = ความแตกต่างทางด้านความเข้มข้นของอาหาร (concentration gradient)

ซึ่งเท่ากับเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของเครื่องหมักให้ดีขึ้น โดยทั่วไปวัสดุที่ใช้บรรจุในเครื่องหมักได้แก่ ยักบไม้ ถ่านไม้ (woodcharcoal) ถ่านโค้ก (coke) ซังข้าวโพด ท่อนไม้ ก้านอุ่น และวัตถุอื่น ๆ ที่ให้พื้นที่ผิวสูง พบว่า ซังข้าวโพดให้ผลเป็นที่พอใจในการผลิตน้ำส้มสายชู แต่เป็นวัสดุที่อ่อนนิ่ม จับกลุ่มกันแน่น จะต้องเปลี่ยนบ่อย ส่วนหินพิวมิส (pumice stone) ประกอบด้วยซิลเฟอร์ สำหรับถ่านโค้กประกอบด้วยเหล็ก และซิลเฟอร์ซึ่งเป็นข้อไม่ดีของแพคเบดนี้ (4) ดังนั้นคุณสมบัติของแพคเบดจึงเป็นสิ่งจำเป็นที่จะต้องคำนึงถึง แพคเบดที่ดีควรมีคุณสมบัติดังนี้ คือ (14, 17)

- ให้พื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างอากาศ น้ำหมัก และจุลินทรีย์สูง ฉะนั้นแพคเบดจะต้องมีค่าพื้นที่ผิวสูง
- สามารถให้น้ำหมักเกาะเป็นฟิลม์บาง ๆ
- จะต้องไม่ทำปฏิกริยากับน้ำหมัก
- แข็งแรง มีอายุการใช้งานนาน
- หาง่ายและราคาถูก
- น้ำหนักเบา
- ไม่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์
- จุลินทรีย์เกาะได้ดี

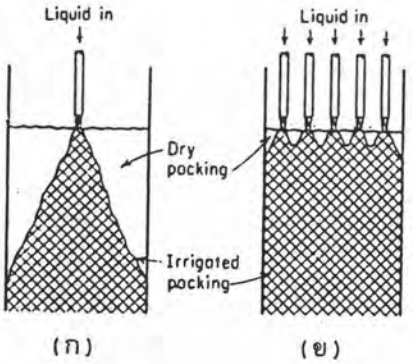
- ไม่ทำให้เกิดกลิ่นรส และสีที่ไม่ดีแก่ผลิตภัณฑ์
- สามารถเคลื่อนย้ายและติดตั้งง่าย

2.5.2 ระบบให้อากาศ

เครื่องหมักที่มีประสิทธิภาพดีควรจะมีหัวกระจายอากาศ ซึ่งให้อากาศออกมามีลักษณะเป็นฟองละเอียดเล็กสม่ำเสมอทั่วกันทุกจุดในเครื่องหมัก เพื่อให้ออกซิเจนสามารถแพร่กระจายเข้าไปในน้ำหมักได้รวดเร็วสม่ำเสมอ และมีโอกาสสัมผัสกับน้ำหมักได้นาน ทั้งนี้เพื่อให้แน่ใจว่าออกซิเจนสามารถถ่ายเทเข้าสู่น้ำหมักได้มากที่สุด ขนาดฟองอากาศขึ้นอยู่กับขนาดรูของหัวกระจายอากาศ ซึ่ง นิคม (10) ได้ทำการศึกษาพบว่า หัวกระจายอากาศรูปกรวย ขนาดรูตะแกรง 40 mesh จะให้ผลดีกว่าแบบอื่น ๆ เช่นรูปทรงกลม หรือตะแกรงที่มีรูโตกว่า 40 mesh

2.5.3 ระบบการไหลเข้าของน้ำหมัก

ในการสร้างเครื่องหมักให้มีประสิทธิภาพที่ดีนั้น หัวกระจายน้ำหมักเป็นสิ่งที่สำคัญมาก (17) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเครื่องหมักประกอบด้วยแพคเบด ซึ่งต้องออกแบบให้มีการกระจายของน้ำหมักตกลงบนแพคเบดอย่างทั่วถึง ฉะนั้นควรออกแบบหัวกระจายน้ำหมักโดยให้น้ำหมักไหลลงมาจากหลายจุด ดังรูปที่ 1 ข เพื่อให้แพคเบดทั้งหมดมีโอกาสสัมผัสกับน้ำหมัก ซึ่งถ้าออกแบบให้น้ำหมักไหลลงมา จากจุดเดียว ดังรูป1 ก จะทำให้แพคเบดบางแห่งไม่มีโอกาสสัมผัสกับน้ำหมัก (dry packing) ดังนั้นจึงไม่มีการถ่ายเทมวลสารระหว่างจุลินทรีย์ น้ำหมักและอากาศ (14, 17) ฉะนั้นย่อมทำให้ประสิทธิภาพของเครื่องหมักลู้แบบข้างต้นไม่ได้



รูปที่ 1 แสดงระบบการไหลของน้ำหมัก (16)

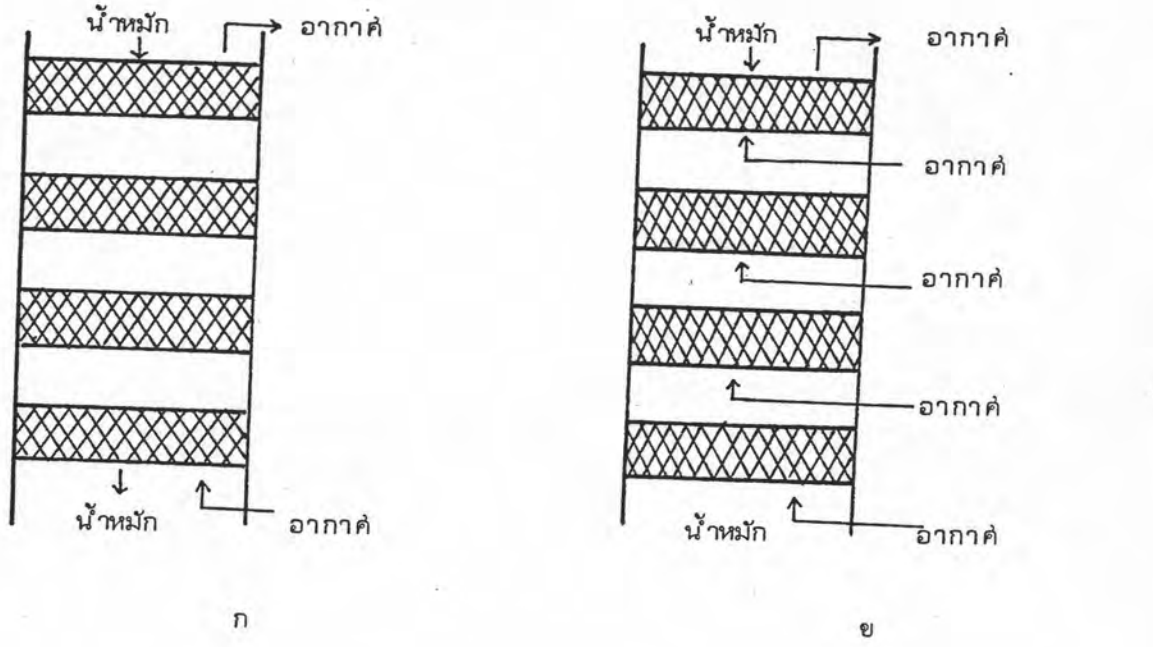
2.5.4 ระบบการไหลหมุนเวียนของน้ำหมัก

ระบบการไหลหมุนเวียนของน้ำหมักจากถังเข้าสู่คอลัมน์ เป็นสิ่งที่จำเป็นมากเพราะจากงานวิจัยของ พรทิพย์ (6) พบว่า ปฏิกริยาการเกิดกรดอะมิโนนั้นส่วนใหญ่จะเกิดในคอลัมน์ และยังได้ทำการวิจัยเปรียบเทียบการหมักที่มีระบบการไหลหมุนเวียนกับการหมักที่ไม่มีระบบการไหลหมุนเวียน พบว่าการหมักที่มีระบบการไหลหมุนเวียนให้ผลดีกว่า

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาเครื่องหมักแบบหลายชั้นในการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์สับปะรด เพื่อให้ประสิทธิภาพในการผลิตได้เร็วขึ้น โดยมีความคิดที่ว่าถ้าปริมาณของแพคเบดที่เท่ากันถูกแบ่งเป็นส่วนย่อย ๆ ได้มากและแต่ละส่วนเป็นหนึ่งชั้นโอกาสที่เชื้อจะได้รับอาหารและอากาศในแต่ละชั้นได้สม่ำเสมอเท่ากันย่อมมีมากกว่าในชั้นเดียว เพราะว่าน้ำหมักและอากาศสามารถกระจายได้ทั่วถึงทุกจุดในคอลัมน์ได้ง่ายกว่าเครื่องหมักชั้นเดียว ฉะนั้นการถ่ายเทมวลสารเพื่อเปลี่ยนสารอาหารให้เป็นผลิตภัณฑ์ย่อมเร็วยิ่งขึ้น

2.6 คุณลักษณะของเครื่องหมักแบบหลายชั้น

คุณลักษณะของเครื่องหมักแบบหลายชั้นประกอบด้วยเครื่องหมักส่วนย่อย ๆ หลายอันรวมกันเป็นอันเดียวโดยให้อากาศเข้าทางด้านล่างเพียงอันเดียว และน้ำหมักเข้าทางด้านบนของเครื่องหมัก ดังรูปที่ 2 ก หรืออาจเป็นเครื่องหมักที่ประกอบด้วยส่วนย่อย ๆ หลายอันโดยให้อากาศเข้าทุกชั้นตอน และน้ำหมักเข้าทางด้านบนของเครื่องหมักดังรูปที่ 2 ข



รูปที่ 2 แสดงลักษณะของเครื่องหมักแบบหลายชั้น

ในเรื่องการถ่ายเทมวลสารระหว่างอากาศกับน้ำหมัก เนื่องจากการหมักน้ำส้มสายชูนั้นเป็นการหมักแบบใช้อากาศ ดังนั้นจึงมี 3 สถานะที่แยกจากกัน คือ จุลินทรีย์ น้ำหมัก และอากาศ มีการถ่ายเทมวลสาร เกิดขึ้นระหว่างอากาศกับน้ำหมัก และน้ำหมักกับจุลินทรีย์ (15) โดยทั่วไปในเครื่องมือที่มีการถ่ายเทมวลสารระหว่างอากาศกับน้ำหมักจะแบ่งออกเป็น 2 แบบคือ (14, 17, 19)

- อากาศเป็นตัวกระจาย (gas dispersed) เช่นในเครื่องหมักแบบถังกวน ซึ่งน้ำหมัก และจุลินทรีย์จะทำหน้าที่เป็นสภาพต่อเนื่อง (continuous phase) ส่วนอากาศหรือออกซิเจนทำหน้าที่เป็นสภาพกระจาย (disperse phase) ในเครื่องหมักแบบถังกวนนี้ฟองอากาศ ต้องมีขนาดเล็ก และจำนวนมากเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสให้มากขึ้น (large interfacial area) ย่อมทำให้การถ่ายเทมวลสารสูงขึ้นด้วย การที่จะทำให้ฟองอากาศมีขนาดเล็กต้องเพิ่มความเร็วของใบพัดให้สูง ฉะนั้นจะต้องให้พลังงานจำนวนมากในการหมุนใบพัด (19) ซึ่งในการหมักสารประเภทที่ระเหยได้ง่าย เช่น แอลกอฮอล์ และกรดอะซิติก จะมีการสูญหายได้ (4)

- น้ำหมักเป็นตัวกระจาย (liquid dispersed) เช่นในเครื่องหมักแบบแพคเบด (packed column) โดยที่น้ำหมักและจุลินทรีย์ทำหน้าที่เป็นสภาพกระจาย ส่วนอากาศหรืออกซิเจนทำหน้าที่เป็นสภาพต่อเนื่อง โดยที่น้ำหมักจะเคลื่อบที่ผิวแพคเบดเป็นฟิลม์บาง ๆ ส่วนช่องว่างของแพคเบดมีอากาศและเกิดการถ่ายเทมวลสารจากอากาศสู่ฟิลม์ของน้ำหมัก ฉะนั้นการหมักสารที่ระเหยง่ายเช่น แอลกอฮอล์ กรดอะซิติก นิยมหมักแบบนี้

ดังนั้นเครื่องหมักแบบหลายขั้นนี้จะต้องพยายามปฏิบัติการให้อัตราการเข้าของน้ำหมักและอากาศที่เหมาะสม จากการแพคคอลัมน์ด้วยการสุ่ม (random packings) จะพบว่ามีความแตกต่างของความดัน (pressure drop) ซึ่งได้รับอิทธิพลมาจากอัตราการไหลของอากาศและของเหลว (gas and liquid flow rate) ดังแสดงในรูปที่ 3 ซึ่งจะเห็นว่าความชันของเส้นแพคเบดที่แห้ง (dry packings) จะอยู่ในช่วง 1.8 ถึง 2.0 และที่ความเร็วส่วนใหญ่ของอากาศจะแสดงการไหลแบบอลวน (turbulent flow) ที่ความเร็วคงที่อันหนึ่งของอากาศ ค่าความแตกต่างความดันของอากาศ (gas pressure drop) จะเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราการไหลของเหลวเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากพื้นที่ภาคตัดสำหรับให้อากาศไหลผ่านลดลงเพราะว่ามีของเหลวอยู่ จากรูปพอสรุปได้ 3 แบบดังนี้คือ

1. ช่วงที่ต่ำกว่า A เมื่ออัตราการเข้าของอากาศเปลี่ยนแปลงปริมาณของเหลวในแพคเบดจะยังคงที่ถึงแม้ว่าอัตราการไหลของเหลวเพิ่มขึ้น

2. ช่วงระหว่าง A และ B ปริมาณของเหลวจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับอัตราการไหลของอากาศ ฉะนั้นพื้นที่ว่างเปล่าสำหรับให้อากาศผ่านจะเล็กลง และความแตกต่างของความดันจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ช่วงนี้เรียกว่า โลดดิ้ง (loading)

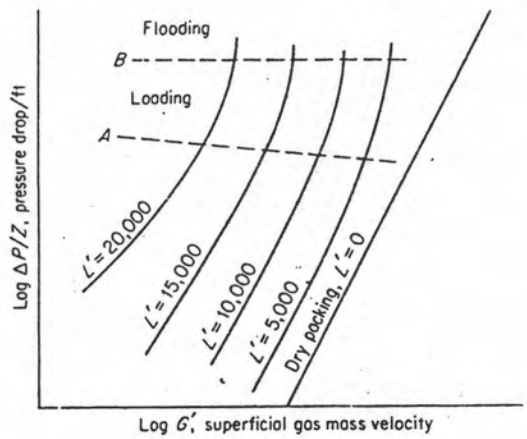
3. ช่วง B เมื่อให้อัตราการเข้าของอากาศเพิ่มขึ้น โดยที่อัตราการไหลของเหลวคงที่จะเกิดปรากฏการณ์ดังนี้

- ของเหลวที่ผ่านฟองอากาศมาจะปรากฏลื่นอยู่ข้างบนและตามช่องว่างของแพคเบดและของเหลวจะไม่ไหลเป็นฟิลม์บาง ๆ รอบแพคเบด

- เกิดการเปลี่ยนแปลงของอากาศจากสภาพต่อเนื่อง และของเหลวจากสภาพกระจาย (gas continuous-liquid dispersed) ไปเป็น อากาศที่อยู่ในสภาพ กระจายของเหลวในสภาพต่อเนื่อง

- ในเครื่องหมักเกิดการท่วม (flooding) เนื่องจากของเหลว และความแตกต่างของความดันจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว

ฉะนั้นในทางปฏิบัติจะต้องพยายามจัด (operate) เครื่องไม่ให้เกิดสภาพของเหลวท่วมแพคเบด (flooding) โดยพยายามให้อยู่ช่วงต่ำกว่าโลดดิ้ง



รูปที่ 3 แสดงถึงความแตกต่างของความดันที่เกิดจากการไหลของของเหลวกับอากาศในเครื่องหมัก (16)

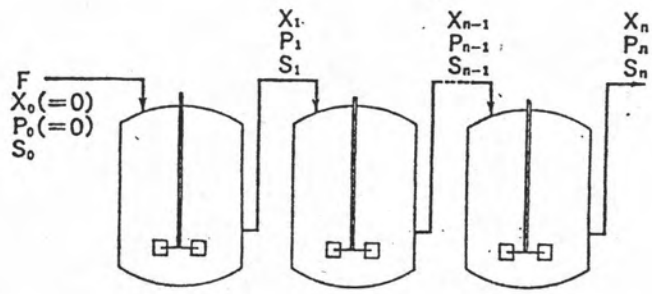
2.7 สมดุลย์มวลในถังหมักหลายขั้น (mass balance in a series of vessels)

ในถังหมักแบบต่อเนื่อง (continuous) ใช้สารอาหารที่ใช้ในการเจริญเติบโตจำกัด (growth-limiting substrate) เป็นตัวควบคุมการทำงาน (activity) ของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งในทางคณิตศาสตร์ Monod ได้กล่าวถึงอิทธิพลของความเข้มข้นของ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารอาหารที่ใช้จำกัด s, นี้ว่ามีอิทธิพลต่ออัตรา การเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ของเชื้อจุลินทรีย์เช่นกัน นั่นคือ เป็นสารอาหารที่ใช้หมักเปลี่ยนความเข้มข้นก็จะมีผลต่อการเจริญเติบโต การใช้สารอาหาร และการเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลินทรีย์

เมื่อนำเครื่องหมักที่มีปริมาตรเท่ากันทั้งหมด n ตัวมาต่อกันดังรูปที่ 4 ให้น้ำหมักผ่านเครื่องหมักเหล่านี้ ด้วยอัตรา F ลิตรต่อชั่วโมง และปริมาตรของเครื่องหมักแต่ละตัวเป็น V ลิตร สามารถเขียนสมการของความสมดุลย์ของมวลสาร (mass balance equation) ในรูปน้ำหนักเซลล์ (X) ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ (P) ความเข้มข้นของอาหาร (S) ได้ดังนี้ (20)



รูปที่ 4 แสดงถึงเครื่องหมัก n ตัว โดย F =อัตราการไหลของน้ำหมัก

X = น้ำหนักของเซล P = ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์

S = ความเข้มข้นของสารอาหาร

X : $$V\frac{dX_n}{dt} = FX_{n-1} - FX_n + V\left(\frac{d\,X_n}{d\,t}\right) \qquad (2.12)$$

การเจริญเติบโต
ในเครื่องหมักตัวที่ n

$$= FX_{n-1} - FX_n + V\,\mu_n X_n$$

$$\frac{dX_n}{dt} = D\,(X_{n-1} - X_n) + \mu_n X_n \qquad (2.13)$$

เมื่อ D = F/V อัตราการเจือจาง (dilution rate), ชม.$^{-1}$

= ช่วงเวลาของการไหลในเครื่องหมักแต่ละตัว

μ_n = $\frac{1}{X_n}\frac{dX_n}{dt}$ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

P ; $$\frac{dP_n}{dt} = \frac{F}{V}\,(P_{n-1} - P_n) + \left(\frac{d\,P_n}{dt}\right)$$

การผลิตในเครื่อง
หมักตัวที่ n

$$\frac{d\,P_n}{dt} = D\,(P_{n-1} - P_n) + Y_{P/X}\,\mu_n X_n \qquad (2.15)$$

เมื่อ $Y_{P/X}$ = $\Delta P/\Delta X$

= ปริมาณผลผลิตที่ได้เมื่อเทียบกับน้ำหนักเซลล์

(yield of product baseon cell mass)

S : $$\frac{d\,S_n}{dt} = \frac{F}{V}\,(S_{n-1} - S_n) + \left(\frac{d\,S_n}{dt}\right) \qquad (2.16)$$

การใช้สารอาหาร
ในเครื่องหมักตัวที่ n

$$\frac{dS_n}{dt} = D(S_{n-1} - S_n) - \frac{1}{Y_{x/s}} \mu_n X_n$$

$$\frac{dS_n}{dt} = D(S_{n-1} - S_n) - \frac{Y_{p/x}}{Y_{p/s}} \mu_n X_n \qquad (2.17)$$

เมื่อ $Y_{x/s}$ $= -\Delta x/\Delta s$

$=$ ปริมาณของเซลล์ที่เจริญเติบโตเมื่อเทียบกับสารอาหารที่จำกัด

$Y_{p/s}$ $= -\Delta P/\Delta S$

$=$ ปริมาณของผลผลิตเมื่อเทียบกับสารอาหารที่จำกัด

$$Y_{p/s} = \left(\frac{\Delta P}{\Delta X}\right)\left(\frac{\Delta X}{-\Delta S}\right)$$

$$= Y_{p/x} \cdot Y_{x/s}$$

สมมติว่าน้ำหมักไหลจากเครื่องหมักที่ (n-1) ไปยังเครื่องหมักที่ n ถูกผสมกันอย่างสมบูรณ์ทันที ในเครื่องหมักที่ n ค่า $Y_{x/s}$, $Y_{p/x}$ และ $Y_{p/s}$ ในสมการถูกสมมุติเป็นค่าคงที่ ภายใต้สถานะภาพคงที่ (steady - state) ทางด้านซ้ายของสมการ 2.12 - 2.17 จะเป็น 0

จากสมการ 2.13 ได้

$$X_n = \frac{D X_{n-1}}{D - \mu_n} \qquad (n \neq 1) \qquad (2.18)$$

$$X_{n-1} = \frac{DX_{n-2}}{D-\mu_{n-1}}$$

$\vdots$ $\vdots$

$$X_n = \frac{DX_{n-1}}{D-\mu_n}$$

$$= \frac{D^2 X_{n-2}}{(D-\mu_n)(D-\mu_{n-1})} = \ldots$$

$$X_n = \frac{D^{n-1}X_1}{\prod_{i=2}^{n}(D-\mu_i)} \qquad (2.19)$$

จากสมการ (2.19) นี้สามารถหาค่า X_n ในเครื่องหมักตัวที่ n ได้ และค่า μ_n หาจากค่า X_n, X_{n-1} สำหรับเครื่องหมัก 1 ตัว (n=1) ค่า X_o ทางขวามือจะมีค่าเท่ากับศูนย์จากสมการ 2.13

$$\frac{dX_n}{dt} = D(X_o - X_1) + \mu_1 X_1 \qquad (2.20)$$

$$0 = -DX_1 + \mu_1 x_1$$

$$0 = (-D+\mu_1)\, x_1$$

$$D = \mu$$

$$D = \mu_{max} \frac{S_1}{k_s+S_1} \qquad (2.21)$$

μ_{max} = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเมื่อความเข้มข้นของสารไม่มีขอบเขตจำกัด

k_s = ค่าคงที่ (saturated constant), มิลลิกรัมต่อลิตร

เนื่องจากค่า $\frac{S_1}{K_s + S_1} < 1$ ดังนั้นค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดในเครื่องหมักตัวที่ 1 จะมีค่าน้อยกว่าค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดในทางทฤษฎี เล่มอ ($D < \mu_{max}$) ซึ่งไม่เป็นความจริงในกรณีเมื่อเครื่องหมักผสมกันไม่สมบูรณ์ หรือเมื่อมีอิทธิพลของความเข้มข้นมาเกี่ยวข้อง หรือเมื่อมีระบบการไหลหมุนเวียน (recycling) แต่กรณีที่สนใจในการพิจารณาคือ เมื่อมีระบบการไหลหมุนเวียนของเยื่อจุลินทรีย์

ให้ r = อัตราส่วนของมวลสารที่หมุนเวียน (fraction of the mass recycled)

ดังนั้น $$\frac{dX_1}{dt} = D_1(rX_1 - X_1) + \mu_1 X_1 \qquad (2.22)$$

ในสถานะภาพคงที่ (steady state)

$$D_1 = \mu_1 \frac{1}{(1-r)}$$

$$= \mu_{max} \frac{S_1}{(K_s+S_1)(1-r)} \qquad (2.23)$$

จะเห็นได้ว่าสภาวะนี้เป็นไปได้ที่มีค่า $D_1 > \mu_{max}$ ซึ่งสภาวะนี้ก็อยู่ในสภาพที่เครื่องหมักผสมกันไม่สมบูรณ์ และมีอิทธิพลของความเข้มข้นเข้ามาเกี่ยวข้อง

สำหรับ P

$$P_n = \frac{DP_{n-1} + Y_{p/x}\,\mu_n\,X_n}{D} \qquad (2.24)$$

กรณีเครื่องหมัก 1 ตัว

$$P_1 = \frac{Y_{p/x}\,\mu_1 X_1}{D}$$

$$= Y_{p/x} X_1 \qquad (2.25)$$

สำหรับ S เมื่อสถานะภาพคงที่ (steady state)

$$S_n = S_{n-1} - \frac{Y_{p/x} X_n \mu_n}{D Y_{p/s}} \quad (2.26)$$

$$= S_{n-1} - \frac{\mu_n X_n}{D Y_{x/s}} \quad (2.27)$$

กรณีเครื่องหมัก 1 ตัว

$$S_1 = S_o - \frac{Y_{p/x} \mu_1 X_1}{D Y_{p/s}} \quad (2.28)$$

$$= S_o - \frac{Y_{p/x} X_1}{Y_{p/s}}$$

$$S_1 = S_o - \frac{X_1}{Y_{x/s}} \quad (2.29)$$

2.8 การเปรียบเทียบความสามารถของการหมัก

2.8.1 การเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตระหว่างการหมักไม่ต่อเนื่องกับการหมักแบบต่อเนื่อง (Batch productivity compared to continuous productivity)

ค่าความสามารถในการผลิต (productivity) จะแสดงในรูปของจำนวนกรัมของผลิตภัณฑ์ต่อลิตรต่อชั่วโมง (20) ในการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง 1 รอบ ใช้เวลาทั้งหมด ดังนี้ คือ

$$t_c = t_m + t_o + t_1 + t_2 \qquad (2.30)$$

$$= t_m + t_e$$

$$= -\frac{1}{\mu_{max}} \ln \frac{X_m}{X_i} + t_e \qquad (2.31)$$

t_m = เวลาที่ใช้ในช่วง exponential phase

t_o = harvest period

t_1 = เวลาที่ใช้ในการเตรียมระหว่างที่จะทำการหมักต่อไป

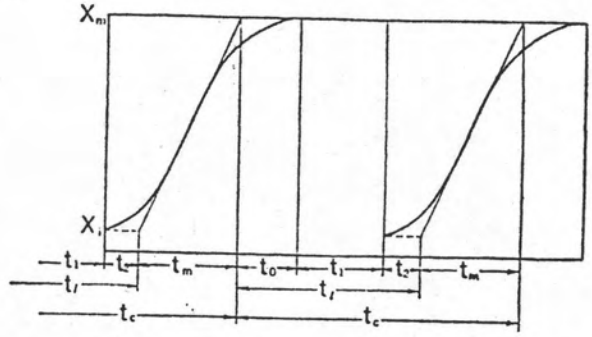
t_2 = เวลาที่ใช้ในการปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อม

t_e = $t_o + t_1 + t_2$

X_i = น้ำหนักเซลล์เริ่มแรก (initial cell concentration)

X_{max} = น้ำหนักเซลล์สูงสุด (maximum cell concentration)

μ_{max} = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด เมื่อความเข้มข้นของสารไม่มีขอบเขตจำกัด



รูปที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์กับเวลาที่ใช้ในการหมักไม่ต่อเนื่อง (20)

จากสมการของปริมาณการเจริญเติบโต (yield of growth)

$$Y_{x/s} = -\Delta X/\Delta S \qquad (2.31)$$

$$Y_{x/s}\, S_o = X_m - X_i \qquad (2.32)$$

ฉะนั้นอัตราการเกิดเซลล์ในการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง (γ_{batch}) มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อชั่วโมง, ดังนี้

$$\gamma_{batch} = \frac{Y_{x/s}\, S_o}{\frac{1}{\mu_{max}} \ln \frac{X_m}{X_i} + te} \qquad (2.33)$$

ส่วนอัตราการเกิดเซลล์ในการหมักแบบต่อเนื่อง (γ_{cont}) มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อชั่วโมง, คือ

$$\gamma_{cont} = DX \qquad (2.34)$$

หรือ $$(\gamma_{cont})max = D_m X_m \qquad (2.35)$$

โดย $$D_m = \mu_{max} \left(1-\sqrt{\frac{K_s}{K_s + S_o}}\right) \qquad (2.36)$$

$$X_m = Y_{x/s} \left\{ S_o + K_s - \sqrt{K_s(S_o+K_s)} \right\} \qquad (2.37)$$

เมื่อ D_m = อัตราการเจือจางสูงสุด (maximum dilution rate), ชม$^{-1}$

K_s = ค่าคงที่ (saturated constanst), มิลลิกรัมต่อลิตร

S_o = ความเข้มข้นของสารอาหารเริ่มต้น (substrate concentration)

ฉะนั้น

$$(\gamma_{cont})_{max} = \left\{ \mu_{max} \left(1-\sqrt{\frac{K_s}{K_s+S_o}}\right) Y_{x/s} \left\{ S_o+K_s - \sqrt{K_s(S_o+K_s)} \right\} \right.$$

$$= Y_{x/s}\ \mu_{max}\ S_o \left\{ \sqrt{\frac{K_s + S_o}{S_o}} - \sqrt{\frac{K_s}{S_o}} \right\}^2 \qquad (2.38)$$

สมมุติว่า $K_s << S_o$ ฉะนั้นสมการ (2.39) จะได้

$$(\gamma_{cont})_{max} = Y_{x/s}\ \mu_{max}\ S_o \qquad (2.39)$$

กำหนดให้ $G = \dfrac{(\gamma_{cont})_{max}}{\gamma_{batch}}$ (2.40)

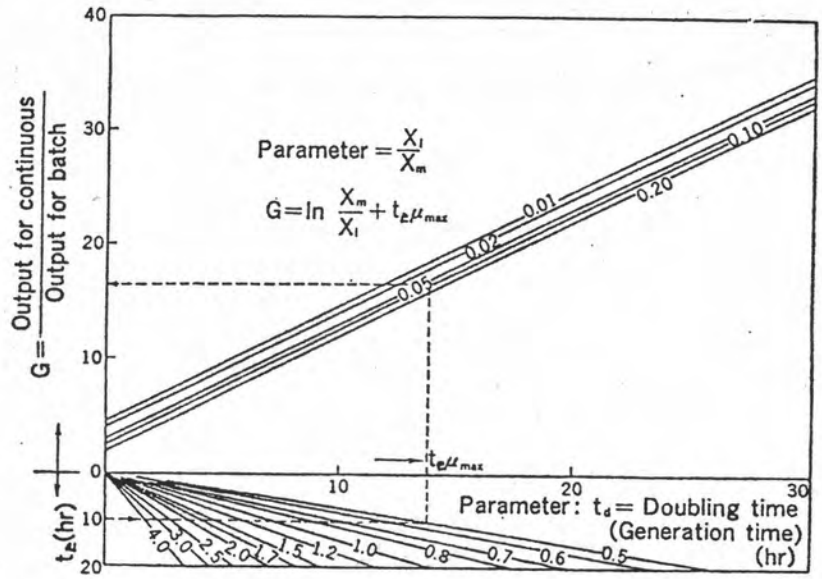
$$= \frac{Y_{x/s}\ \mu_{max}\ S_o}{\dfrac{Y_{x/s}\ S_o}{\dfrac{1}{\mu_{max}} \ln \dfrac{X_m}{X_i} + te}}$$

$$\frac{(\gamma_{cont})_{max}}{\gamma_{batch}} = \ln \frac{X_m}{X_i} + t_e\ \mu_{max} \qquad (2.41)$$

จากสมการ (2.41) สามารถแสดงในกราฟรูปที่ 6 โดยให้ปริมาณเซลล์ที่เติมลงไป (inoculum size) 5 % $X_i/X_m = 0.05$, $t_e = 10$ ชั่วโมง, doubling time (t_d) = 0.05 ชั่วโมง ซึ่งถ้าเปลี่ยนการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง

ไปเป็นการหมักแบบต่อเนื่อง ค่า G จะมีค่าเท่ากับ 18

นั่นคือค่า G จะได้อิทธิพลจากค่า t_d, t_e มากแต่มีความไวต่อค่า X_i/X_m น้อย แสดงให้เห็นว่า ปรากฏการณ์การหมักแบบต่อเนื่องจะให้ประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ได้เร็ว (รูปที่ 6 นี้จะแสดงในรูปของการผลิตเซลล์ ซึ่งสามารถนำมาใช้กับการเกิดผลิตภัณฑ์เช่นกัน)



รูปที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบการหมักไม่ต่อเนื่อง กับการหมักแบบต่อเนื่อง (20)

ในทำนองเดียวกันเมื่อแทนค่าพารามิเตอร์ $X_i/X_m = 0.05$, $t_e = 10$ ชั่วโมง ลงในสมการที่ 2.41 สามารถหาค่าของความสามารถในการผลิตระหว่างการหมักไม่ต่อเนื่อง กับการหมักต่อเนื่องที่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่าง ๆ กัน (21) ดังแสดงในตารางที่ 1

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบผลผลิตในการหมักไม่ต่อเนื่อง กับการหมักแบบต่อเนื่อง

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดในการหมักไม่ต่อเนื่อง (μ_{max}, ชั่วโมง)$^{-1}$	$\frac{\text{ผลผลิตของการหมักแบบต่อเนื่อง}}{\text{ผลผลิตของการหมักไม่ต่อเนื่อง}}$ (G)
0.05	3.5
0.10	4.0
0.20	5.0
0.40	7.0
0.80	11.0
1.0	13.0
1.2	15.0

จากตารางนี้พอสรุปได้ว่าการหมักแบบต่อเนื่องจะให้ผลผลิตดีกว่าการหมักไม่ต่อเนื่อง และจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตที่เร็วกว่าจะเหมาะกับการหมักแบบต่อเนื่องมากยิ่งขึ้น

2.8.2 การเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตระหว่างการหมักไม่ต่อเนื่องกับการหมักกึ่งต่อเนื่อง (Batch productivity compared to semicontinuous productivity)

อัตราการเกิดเซลล์ในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (γ_{semi}) มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตรต่อชั่วโมง คือ

$$\gamma_{semi} = \tfrac{1}{2}\left\{ Y_{x/s}\ \mu_{max}\ S_o + \frac{Y_{x/s} S_o\ \mu_{max}}{\ln \frac{X_m}{X_i} + t_e\ \mu_{max}} \right\} \qquad (2.42)$$

$$= \tfrac{1}{2} Y_{x/s}\, \mu_{max} S_o \left\{ \frac{\ln \frac{X_m}{X_i} + t_e\, \mu_{max} + 1}{\ln \frac{X_m}{X_i} + t_e\, \mu_{max}} \right\} \qquad (2.43)$$

กำหนด $Q = \dfrac{\gamma_{semi}}{\gamma_{batch}}$ (2.44)

$$= \frac{\tfrac{1}{2} Y_{x/s}\, \mu_{max} S_o \left\{ \frac{\ln \frac{X_m}{X_i} + t_e\, \mu_{max} + 1}{\ln \frac{X_m}{X_i} + t_e\, \mu_{max}} \right\}}{\frac{Y_{x/s}\, S_o}{\frac{1}{\mu_{max}} \ln \frac{X_m}{X_i} + t_e}}$$

$$= \tfrac{1}{2} \left\{ \ln \frac{X_m}{X_i} + t_e\, \mu_{max} + 1 \right\} \qquad (2.45)$$

เมื่อแทนพารามิเตอร์ $X_i/X_m = 0.05$, $t_e = 10$ ชั่วโมง ลงในสมการ (2.45) สามารถหาค่าอัตราส่วนของความสามารถในการผลิตระหว่างการหมักไม่ต่อเนื่องกับการหมักกึ่งต่อเนื่อง ที่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่าง ๆ กัน ดังแสดงในตารางที่ 2

i 17A7%019

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบผลผลิตในการหมักไม่ต่อเนื่องกับการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดในการหมักไม่ต่อเนื่อง (μ_{max} ชั่วโมง$^{-1}$)	ผลผลิตของการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (Q) / ผลผลิตของการหมักไม่ต่อเนื่อง
0.05	2.2
0.10	2.5
0.20	3.0
0.40	4.0
0.80	6.0
1.0	7.0
1.2	8.0

จากตารางจะเห็นว่าการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องจะให้ผลดีกว่าการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง และเมื่อเทียบกับตารางที่ 1 จะพบว่าการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องจะให้ผลอยู่ระหว่างการหมักแบบต่อเนื่องกับการหมักไม่ต่อเนื่อง