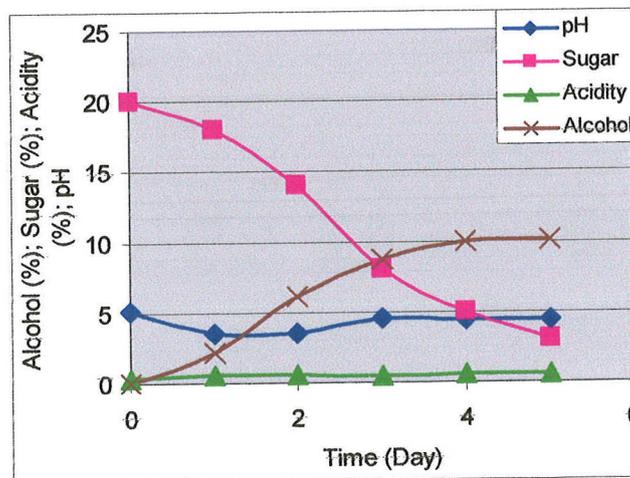




ผลการทดลอง

การผลิตไวน์ข้าวโพด

ในการหมักไวน์ข้าวโพดตามวิธีของ Krusong *et al.* (2007; 2010) ด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30 (“เชื้อยีสต์ M30”) ได้ผลการหมักดังแสดงในภาพที่ 4 พบว่า “เชื้อยีสต์ M30” สามารถทำการหมักได้อย่างรวดเร็วโดยสามารถผลิตไวน์ที่มีแอลกอฮอล์ 10.1% ภายใน 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (30-32 องศาเซลเซียส) อนึ่งการหมักไวน์ข้าวโพดนี้ทำในถังหมักระบบหมุนวนเซลล์ (Cell recycle reactor) เพื่อหมุนวนเซลล์ยีสต์ เนื่องจาก “เชื้อยีสต์ M30” เป็นยีสต์ตกตะกอน (Flocculating yeast) แต่การหมุนวนเซลล์นี้ต้องควบคุมมิให้มีการเพิ่มอากาศเข้าในซึ่งอาจจะกระทบต่อประสิทธิภาพการหมักไวน์ที่เป็นการหมักในสภาพที่ไม่ต้องการอากาศ



ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอลกอฮอล์ ปริมาณน้ำตาล ค่า pH และค่าความเป็นกรดในระหว่างการหมักไวน์ข้าวโพดด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30 ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

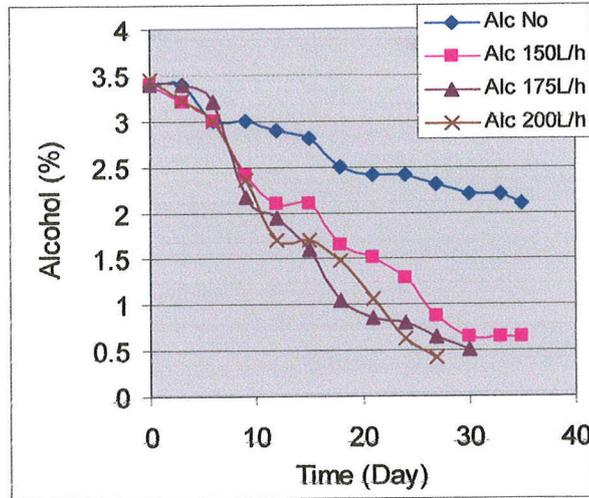
ผลของการให้ออกซิเจนต่อการลดระยะแลค (Lag phase) ของการปรับสภาพเซลล์เมื่อเริ่มต้นระบบการหมักในระบบการตรึงเซลล์ด้วยใยขวม

เนื่องจากในการศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักในงานวิจัยนี้เลือกใช้ถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมัก (ภาพที่ 3) สามารถที่จะปรับการหมุนวนน้ำหมักได้ 3 อัตรา คือ (L/h) 150 175 และ 200 ดังนั้นจึงเริ่มทำการศึกษาดังอัตราการหมุนวนน้ำหมักที่เหมาะสมที่มีต่อประสิทธิภาพการผลิตกรดอะซิติกในการหมักน้ำส้มสายชูด้วย “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ทั้งนี้ทำการเปรียบเทียบกับหมักในสภาพที่ไม่มีการหมุนวนน้ำหมัก

ในการหมักน้ำส้มสายชูโดยทั่วไปจะทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ซึ่งเป็นวัตถุประสงค์หลักที่มีผลโดยตรงต่อปริมาณกรดอะซิติกที่จะถูกสร้างขึ้นด้วย “หัวเชื้อน้ำส้มสายชู” โดยที่การหมักที่ปริมาณแอลกอฮอล์อยู่ในน้ำหมักประมาณ 0.5% ถือได้ว่าการหมักนั้นสมบูรณ์แล้ว ดังนั้นในการเปรียบเทียบผลของอัตราการหมุนวนของน้ำหมักต่อประสิทธิภาพของการหมักน้ำส้มสายชูจึงสามารถใช้ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์มาใช้เป็นดัชนีได้ ดังนั้นอัตราหมุนวนที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของแอลกอฮอล์ถึง 0.5% ได้ก่อน ถือว่าเป็นอัตราหมุนวนที่มีประสิทธิภาพการหมักที่ดีที่สุด

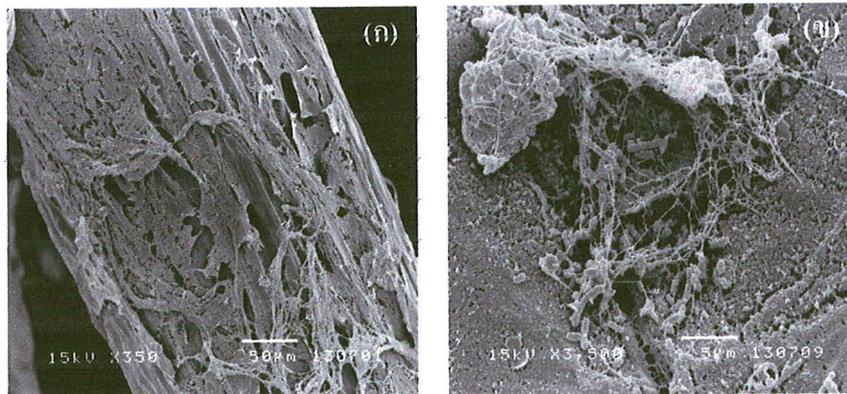
จากผลการทดลองที่แสดงในภาพที่ 5 พบว่า สภาพการหมักในถังหมักแบบยกอากาศที่วางนิ่ง ไม่มีการหมุนวนของน้ำหมักให้ผลของการเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ในเกณฑ์ที่ต่ำที่สุด จึงสรุปเป็นเบื้องต้นได้ว่าระบบการหมุนวนน้ำหมักช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการหมักน้ำส้มสายชูของ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” เป็นสำคัญ

สำหรับผลการศึกษาอัตราการหมวนน้ำหมักที่เหมาะสม พบว่า อัตราหมวนน้ำหมัก 200 L/h ช่วยให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของแอลกอฮอล์เร็วที่สุด (27 วัน) รองลงคือ ที่อัตรา 175 L/h (30 วัน) และ 150 L/h (30 วัน) ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า อัตราการหมวนน้ำหมักที่เหมาะสมในการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าวโพดด้วย “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” คือ “200 L/h”



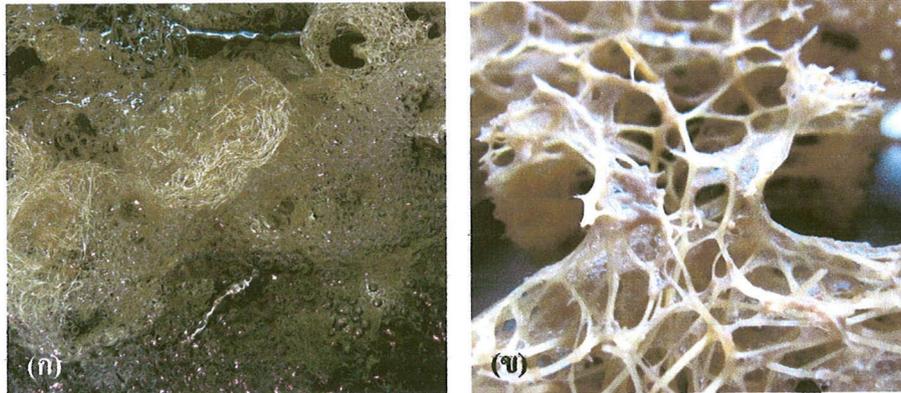
ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าวโพดด้วย “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมวนน้ำหมัก ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส: ◆ Alc No, การหมักในสภาพนิ่ง ไม่มีอัตราการหมวนน้ำหมัก; ■ Alc 150 L/h, การหมักในสภาพหมวนน้ำหมักอัตรา 150 L/h; ▲ Alc 175 L/h, การหมักในสภาพหมวนน้ำหมักอัตรา 175 L/h; X Alc 200 L/h, การหมักในสภาพหมวนน้ำหมักอัตรา 200 L/h

ในการศึกษาผลของการให้ออกซิเจนต่อการลดระยะแลค (Lag phase) ของการปรับสภาพเซลล์เมื่อเริ่มต้นการหมักน้ำส้มสายชูในระบบที่มีการตรึงและไม่ตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ด้วยใยบวบในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมวนน้ำหมักในอัตรา 200 L/h นั้น จากการศึกษาของผู้วิจัยดังแสดงในรายงาน Krusong *et al.* (2007; 2010) พบว่า ใยบวบเป็นวัสดุธรรมชาติที่มีความเหมาะสมต่อการใช้เป็นวัสดุตรึง (Supporting material) ที่ดีสำหรับ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ทั้งนี้เนื่องจากลักษณะของใยบวบมีพื้นที่ผิวที่ขรุขระและมีเส้นใยที่เหมาะสมต่อการยึดจับของเชื้อได้ดี (ภาพที่ 6ก) สำหรับภาพที่ 6ข แสดงให้เห็นถึงการยึดเกาะของ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” บนพื้นผิวของใยบวบ

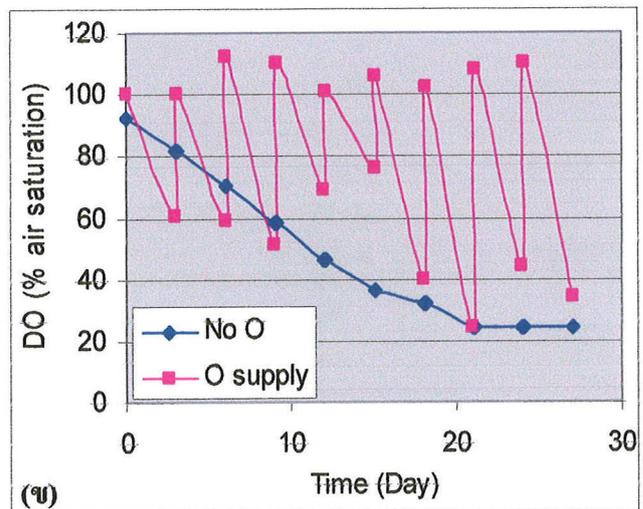
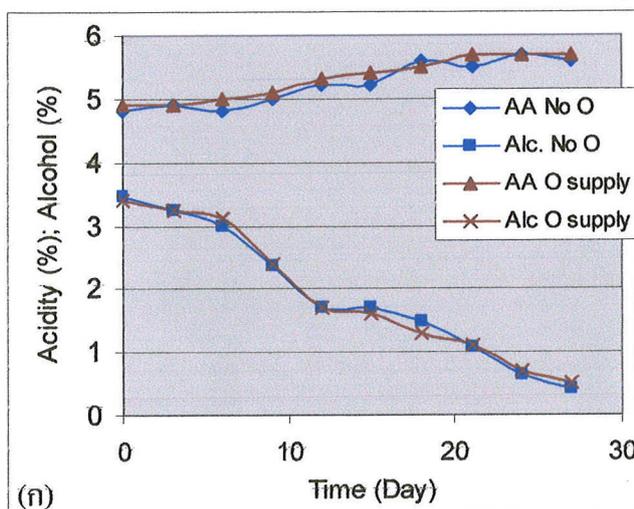


ภาพที่ 6 ใยบวบและการตรึง “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” บนใยบวบเมื่อถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนด้วยเครื่อง JEOL รุ่น JSM-5410 LV Japan : (ก) ลักษณะใยบวบ (กำลังขยาย 350 เท่า); (ข) เซลล์ของ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ที่ตรึงอยู่บนผิวของใยบวบ (กำลังขยาย 3500 เท่า)

สำหรับลักษณะของใยบวบขณะที่อยู่ในน้ำหมักและน้ำหมัก (ที่มี “หัวเชื้อน้ำส้ม WK”) ที่ติดอยู่กับใยบวบแสดงอยู่ในภาพที่ 7ก และ 7ข ตามลำดับ ขณะภาพที่ 8ก และ 8ข แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด แอลกอฮอล์ และค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำได้ในระหว่างช่วงแรกของการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าวโพด (ซึ่งเป็นระยะแลค; Lag phase) ด้วยการตรึง “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ด้วยใยบวบในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมักอัตรา 200 L/h ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 7 ลักษณะของใยบวบขณะที่อยู่ในน้ำหมักในระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าวโพดด้วยการตรึง “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ด้วยใยบวบในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมักอัตรา 200 L/h ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส : (ก) ใยบวบในน้ำหมัก; (ข) น้ำหมักที่ติดอยู่ที่ใยบวบภายหลังจากนำขึ้นมาจากน้ำหมัก



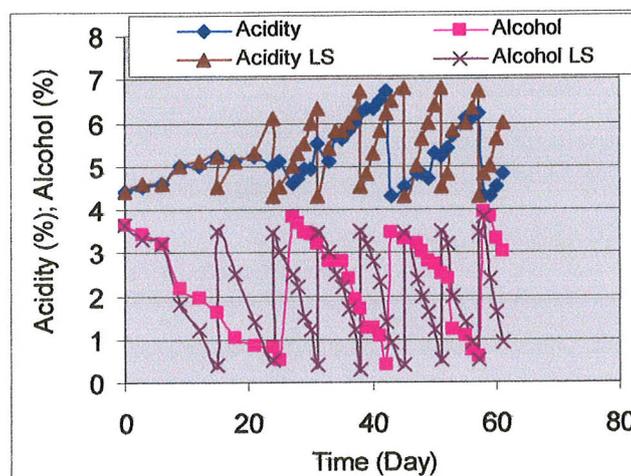
ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรด แอลกอฮอล์ และค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำได้ในระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าวโพดด้วยการตรึง “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ด้วยใยบวบในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมักอัตรา 200 L/h ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส: (ก) ปริมาณกรดและแอลกอฮอล์; ◆ AA No O, ปริมาณกรดในสภาพที่ไม่มีการให้ออกซิเจน; ■ Alc No O, ปริมาณแอลกอฮอล์ในสภาพที่ไม่มีการให้ออกซิเจน; ▲ AA O supply, ปริมาณกรดในสภาพที่มีการให้ออกซิเจน; X Alc O supply, ปริมาณแอลกอฮอล์ในสภาพที่มีการให้ออกซิเจน; (ข) ค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำได้ใน; ■ O supply, ค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำได้ในสภาพที่มีการให้ออกซิเจน; ◆ No O, ค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำได้ในสภาพที่ไม่มีการให้ออกซิเจน

จากภาพที่ 8 พบว่า การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดและแอลกอฮอล์ในน้ำหมักทั้งสภาพที่มีและไม่มีกาให้ออกซิเจนไม่มีความแตกต่างกัน อีกทั้ง “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ใช้ระยะเวลาในการปรับตัว (ระยะแลค; Lag phase) ที่เท่ากัน คือ 27 วัน ส่วนภาพที่ 8ข แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved oxygen, DO; วัดค่าในหน่วย % air saturation) ในสภาพที่มีการให้ออกซิเจนนั้น ได้มีการปรับให้ค่า DO อยู่ในระดับสูง (100-120% air saturation) ตลอดช่วงของการปรับตัวของ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ส่วนสภาพที่ไม่มีกาให้ออกซิเจนมีค่า DO ลดลงอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตามผลของการให้และไม่ให้ออกซิเจนลงในน้ำหมักให้ผลในการปรับตัวของ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ใกล้เคียงกัน จึงสามารถสรุปได้ว่าการให้ออกซิเจนเข้าไปในถังหมักเพื่อรักษาระดับค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำได้ในน้ำหมักไม่มีผลต่อการปรับตัวของ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” แสดงว่า ปริมาณอากาศ / ออกซิเจนในน้ำหมักในถังหมักระบบยกอากาศที่มีการหมุนวนของน้ำหมักในอัตรา 200 L/h เพียงพอต่อการปรับตัวของ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK”

ผลของการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดอะซิติกในระบบการตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ด้วยใยบวบ

แต่เดิมผู้วิจัยได้วางแผนในการศึกษาผลของการให้อากาศต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดอะซิติกในระบบการตรึง “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ด้วยใยบวบ แต่จากผลการศึกษาข้างต้น พบว่า การให้ออกซิเจนไม่มีผลต่อการลดระยะแลค (Lag phase) ของการปรับสภาพเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” เมื่อเริ่มต้นระบบการหมัก ดังนั้นจึงได้มุ่งเน้นการศึกษาถึงการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดอะซิติกในระบบการตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ด้วยใยบวบในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนของน้ำหมักที่อัตรา 200 L/h แทน อนึ่งในการศึกษานี้ได้ศึกษาเปรียบเทียบผลของระบบการหมุนวนน้ำหมักทั้งในสภาพที่มีและไม่มีกาตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” บนใยบวบ

จากผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 9 แสดงให้เห็นถึง ผลลัพท์ของการใช้การตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ด้วยใยบวบในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 200 L/h



ภาพที่ 9 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตกรดอะซิติกในการหมักน้ำส้มสายชูด้วย “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ที่ตรึงและไม่ตรึงด้วยใยบวบในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมักในอัตรา 200 L/h ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส: ◆ Acidity, ปริมาณกรดในสภาพที่ไม่ตรึงเซลล์; ■ Alcohol, ปริมาณแอลกอฮอล์ในสภาพที่ไม่ตรึงเซลล์; ▲ Acidity LS, ปริมาณกรดในสภาพที่มีการตรึงเซลล์; X Alcohol LS, ปริมาณแอลกอฮอล์ในสภาพที่มีการตรึงเซลล์

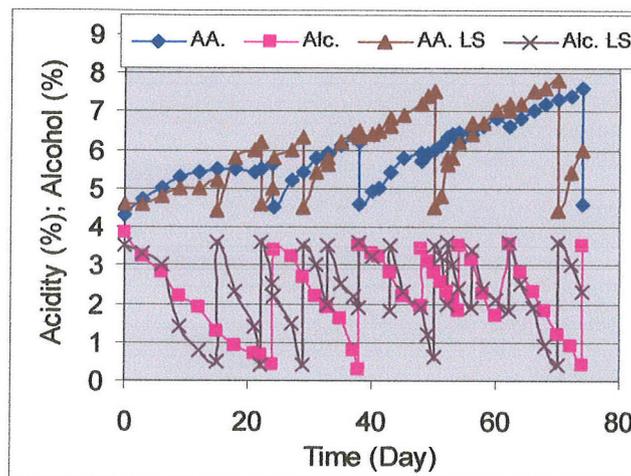
ในระบบการหมักน้ำส้มสายชูในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมักในอัตรา 200 L/h ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส พบว่า ในสภาพที่ไม่มีกาตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” บนใยบวบ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” สามารถที่จะผลิตกรดอะ

ซิดิกได้ 6.2-6.7% ภายในระยะเวลา 14-15 วัน โดยสามารถทำการหมักได้ 3 รอบของการหมักในเวลาที่ทำการศึกษา 58 วัน ส่วนในสภาพที่มีการตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” บนใยบวบนั้น พบว่า “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” สามารถที่จะผลิตกรดอะซิติกได้ 6.1-6.8% ภายในระยะเวลา 6-9 วัน โดยสามารถทำการหมักได้ 7 รอบของการหมักในเวลาที่ทำการศึกษา 58 วัน

จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า การตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ด้วยใยบวบช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตกรดอะซิติกในระบบการหมักน้ำส้มสายชูในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมักในอัตรา 200 L/h

ผลของการเติมสารอาหารต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดอะซิติกในระบบการตรึงเซลล์ด้วยใยบวบ

สารอาหารหลักที่มีผลต่อการผลิตกรดอะซิติกในการหมักน้ำส้มสายชู คือ แอลกอฮอล์ การศึกษานี้มุ่งเน้นการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดอะซิติกโดยอาศัยการเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ เนื่องจากการเติมแอลกอฮอล์ในปริมาณสูงตั้งแต่เริ่มต้นการหมักจะทำให้ความเข้มข้นโดยรวม (Total concentration; TC; ความเข้มข้นของกรดอะซิติกกับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์) ของน้ำหมักสูงจะส่งผลกระทบต่อการผลิตกรดอะซิติกของแบคทีเรียอะซิติก ดังนั้นการเพิ่มแอลกอฮอล์ด้วยการเติมเป็นช่วง ๆ ที่เหมาะสมจะลดผลกระทบของ TC (จากการเพิ่มความเข้มข้นของแอลกอฮอล์) ลงได้ การดำเนินการเช่นนี้เรียกว่า การพัฒนากระบวนการหมักแบบ Fed-batch fermentation สำหรับการศึกษานี้ทำการเปรียบเทียบผลของการเติมแอลกอฮอล์ในระบบการหมักน้ำส้มสายชูในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมักในอัตรา 200 L/h ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส ทั้งในสภาพที่มีการตรึงและไม่ตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” บนใยบวบ ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 10



ภาพที่ 10 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตกรดอะซิติกในการหมักน้ำส้มสายชูด้วย “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ที่ตรึงและไม่ตรึงด้วยใยบวบในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมักในอัตรา 200 L/h ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส โดยอาศัยการเติมแอลกอฮอล์แบบ Fed batch fermentation: ◆ Acidity, ปริมาณกรดในสภาพที่ไม่ตรึงเซลล์; ■ Alcohol, ปริมาณแอลกอฮอล์ในสภาพที่ไม่ตรึงเซลล์; ▲ Acidity LS, ปริมาณกรดในสภาพที่มีการตรึงเซลล์; X Alcohol LS, ปริมาณแอลกอฮอล์ในสภาพที่มีการตรึงเซลล์

การเติมแอลกอฮอล์ในระบบการหมักแบบ Fed-batch fermentation จะเริ่มต้นภายหลังจาก “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ผ่านช่วงการปรับตัว (ช่วงแรก) และผ่านการผลิตกรดอะซิติกในรอบที่ 1-2 ของการหมักแล้ว ทั้งนี้เพื่อให้มั่นใจได้ว่า “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” มีความพร้อมที่จะสร้างกรดอะซิติกแล้ว ในรอบที่ทำการเติมแอลกอฮอล์ในลักษณะ Fed-batch นั้น จะเติมแอลกอฮอล์ในขณะที่แอลกอฮอล์ในน้ำหมักลดลงจาก 3.5% (ตอนเริ่มต้น) มาเป็น 2% แล้วจึงเติมแอลกอฮอล์เพื่อปรับให้แอลกอฮอล์มีปริมาณ 3.5% เช่นเดิม ทำเช่นนี้ 3 รอบ ในรอบที่ 3 จะควบคุมให้การหมักสิ้นสุด (แอลกอฮอล์ลดลงถึง 0.5%)

จากผลการทดลองในภาพที่ 10 พบว่า ในสภาพที่ไม่มีการตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” บนใยบวบ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” สามารถที่จะผลิตกรดอะซิติกในระบบ Fed-batch ได้เพียง 1 ครั้ง ระยะเวลาที่แอลกอฮอล์ลดลงจาก 3.5% ถึง 2% เท่ากับ 6 วัน สามารถทำการผลิตกรดอะซิติกได้เพิ่มขึ้นจาก 6.2% เป็น 7.6% ภายในระยะเวลา 36 วัน ส่วนในสภาพที่มีการตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” บนใยบวบนั้น พบว่า “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” สามารถที่จะผลิตกรดอะซิติกในระบบ Fed-batch ได้ถึง 2 ครั้ง ระยะเวลาที่แอลกอฮอล์ลดลงจาก 3.5% ถึง 2% เท่ากับ 4 วัน สามารถทำการผลิตกรดอะซิติกได้เพิ่มขึ้นจาก 6.2% เป็น 7.5-7.8% ภายในระยะเวลา 20-21 วัน

ผลการทดลองที่ได้นี้สามารถยืนยันถึงข้อดีของการตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ด้วยใยบวบที่สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตกรดอะซิติกในระบบการหมักน้ำส้มสายชูในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมักในอัตรา 200 L/h

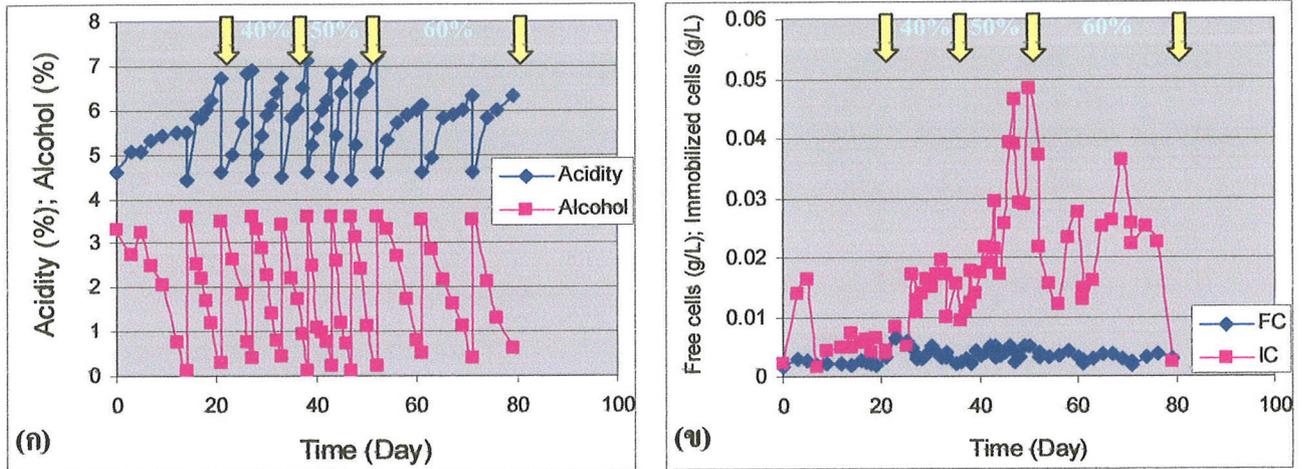
อย่างไรก็ตามผลการศึกษานี้ชี้ว่าระบบ Fed-batch fermentation ที่อาศัยการเติมแอลกอฮอล์เป็นช่วง ๆ จำนวน 3 ช่วงนี้ สามารถช่วยเพิ่มการผลิตกรดอะซิติกเพิ่มขึ้นอีกประมาณ 1.2-1.4% ทั้งในสภาพที่มีการตรึงและไม่ตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” แต่เมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาที่ใช้ในช่วงการหมักดังกล่าว พบว่า ระบบการหมักนี้ก่อให้เกิดความไม่คุ้มทุน เนื่องจากใช้ระยะเวลานานมากขึ้น จำนวนรอบในการหมักลดลงย่อมส่งผลกระทบต่อปริมาณของน้ำส้มสายชูที่ผลิตได้ ดังนั้นจึงสรุปที่จะไม่ใช้ระบบ Fed-batch fermentation ในการศึกษาต่อไป

ผลของใยบวบต่อปริมาณของน้ำหมักที่ดึงออกด้วยระบบ Semi-continuous fermentation

จากแผนการทดลองเดิมได้ระบุที่จะทำการศึกษา “ผลร่วมของการให้อากาศ (ออกซิเจน) และการเพิ่มสารอาหารต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดอะซิติกในระบบการตรึงเซลล์ด้วยใยบวบ” แต่เมื่อพิจารณาถึงผลการทดลองที่ได้ดังแสดงในภาพที่ 8 และ 10 จึงสามารถสรุปว่าทั้งระบบการให้ออกซิเจนและระบบเติมแอลกอฮอล์ในลักษณะ Fed-batch fermentation ไม่เหมาะสมที่จะปฏิบัติในการหมักในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมักในอัตรา 200 L/h ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาในประเด็นของการใช้ใยบวบในการตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” สำหรับการหมักในระบบ Semi-continuous fermentation ที่นิยมใช้ในการผลิตในระดับอุตสาหกรรมแทน ทั้งนี้ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 11ก และ 11ข

จากการศึกษาของผู้วิจัยที่ผ่านมาดังแสดงในรายงานของ Krusong *et al.* (2007) ได้ใช้ใยบวบในการตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ในถังหมัก fermenter ขนาด 10 ลิตร และทำการหมักแบบ Semi-continuous fermentation สามารถใช้อัตราการดึงน้ำหมัก (หรือ ผลิตภัณฑ์; Discharging rate) ได้ถึง 40% ซึ่งจะต้องเติมไวน์ใหม่เข้าไปในถังหมัก (Charging rate) ในอัตราเดียวกัน อัตราการดึงน้ำหมักในระดับนี้สอดคล้องกับรายงาน Fregapane *et al.* (2001) และ de Ory *et al.* (2003) ขณะที่รายงาน Krusong *et al.* (2010) ระบุว่าอัตราการดึงน้ำหมักออกจากถังหมัก Stirred tank reactor ขนาด 50 ลิตร ในระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูในระบบที่ใช้ใยบวบเป็นวัสดุตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” เท่ากับ 30% เท่านั้น ดังนั้นในการหมักในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 200 L/h นี้จึงทำการศึกษาถึงอัตราในการดึงน้ำหมักออกจากถังหมักในอัตรา 40% 50% และ 60% โดยไม่พิจารณาที่อัตรา 30% เนื่องจากให้ปริมาณของผลผลิตที่ต่ำเกินไป

ผลการศึกษาถึงอัตราในการดึงน้ำหมักออกจากถังหมักในระหว่างการผลิตกรดอะซิติกในการหมักน้ำส้มสายชูด้วยระบบ Semi-continuous fermentation ด้วย “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ที่ตรึงด้วยใยบวบในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมักในอัตรา 200 L/h ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส แสดงในภาพที่ 11ก และตารางที่ 1 พบว่า ที่อัตราการดึงน้ำหมัก 40% สามารถผลิตกรดอะซิติกได้ 6.7-7.1% ภายในระยะเวลา 5-7 วัน (ระยะเวลาในการหมักระหว่างวันที่ 21-38) ขณะที่อัตราการดึงน้ำหมัก 50% ได้กรดอะซิติก 6.8-7.2% ภายในระยะเวลา 4-5 วัน (ระยะเวลาในการหมักระหว่างวันที่ 38-52) ส่วนอัตราการดึงน้ำหมัก 60% ผลิตกรดอะซิติก 6.1-6.3% ภายในระยะเวลา 9-10 วัน (ระยะเวลาในการหมักระหว่างวันที่ 52-79)



ภาพที่ 11 การผลิตกรดอะซิติกด้วยระบบ Semi-continuous fermentation ในการหมักน้ำส้มสายชูด้วย “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ที่ตั้งรังกวบนโยบวบในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมักในอัตรา 200 L/h ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส: (ก) การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดและแอลกอฮอล์; (ข) การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเซลล์อิสระและเซลล์ที่ตรึงของ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” บนโยบวบ; 40%, 50% และ 60% คือ อัตราในการดึงผลิตภัณฑ์ออก / การเติมน้ำไวน์ใหม่เข้าไปในถังหมัก; FC = Free cells (เซลล์อิสระ); IC = Immobilized cells (เซลล์ที่ตรึงบนโยบวบ)

ตารางที่ 1 อัตราการสร้างกรด (Acidification rate) ของ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ในน้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าวโพดที่หมักด้วยระบบ Semi-continuous fermentation ในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมักในอัตรา 200 L/h ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส จำนวน 11 รอบของการหมัก

รอบการหมัก	อัตราการดึงน้ำหมัก ² (%)	ปริมาณกรดเมื่อ การหมักเริ่มต้น (%)	ปริมาณกรดเมื่อ การหมักสิ้นสุด (%)	ระยะเวลาในการสร้างกรด (วัน)	Acidification rate ³ (%/h)
1 ¹	-	4.6	5.5	14	0.0027
2	-	4.4	6.7	7	0.0137
3	40	4.6	6.9	6	0.0160
4	40	4.4	6.7	7	0.0137
5	40	4.5	7.1	5	0.0217
6	50	4.6	6.8	5	0.0183
7	50	4.5	7.0	4	0.0260
8	50	4.4	7.2	5	0.0233
9	60	4.6	6.1	9	0.0069
10	60	4.6	6.3	10	0.0071
11	60	4.6	6.3	10	0.0071

¹ รอบการหมักที่ 1 เป็นระยะเวลาที่ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ใช้ในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพการหมัก (Lag phase)

² อัตราการดึงน้ำหมัก (Discharging rate) คือ อัตราในการดึงน้ำหมักหรือผลิตภัณฑ์ออกจากถังหมักในระบบการหมักแบบ Semi-continuous fermentation

³ Acidification rate (ETA) คำนวณจากปริมาณกรดที่สร้างขึ้นในรอบการหมักหารด้วยระยะเวลาที่ใช้ในการสร้างกรดในแต่ละรอบการหมัก

ในการติดตามปริมาณเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ทั้งในน้ำหมักที่เรียกว่า “เซลล์อิสระ (Free cells; FC)” และ “เซลล์ที่ถูกตรึงบนใยบวบ (Immobilized cells; IC)” ในการหมักน้ำส้มสายชูด้วย “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ที่ตรึงด้วยใยบวบในถังหมักแบบยกอากาศที่มีการหมุนวนน้ำหมักในอัตรา 200 L/h ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส พบว่า การผลิตกรดอะซิติกได้มากสัมพันธ์โดยตรงกับทั้งเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงที่มีปริมาณสูงในน้ำหมักซึ่งสามารถสังเกตได้จากผลที่แสดงในภาพที่ 11 ซึ่งปริมาณเซลล์อิสระในช่วงที่มีการคั่งน้ำหมักออกจากถังหมักในอัตรา 50% มีปริมาณสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ที่อัตรา 40% และ 60% ตามลำดับ อย่างไรก็ตามปริมาณของเซลล์ที่ถูกตรึงที่ระดับอัตรา 50% มีปริมาณสูงที่สุดเช่นกัน รองลงมา คือ ที่ 60% ทั้งนี้เนื่องจากระยะการหมักที่นานขึ้นย่อมส่งผลให้มีปริมาณเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ที่ผิวของใยบวบเพิ่มมากขึ้น

เมื่อพิจารณาถึงอัตราการสร้างกรด (Acidification rate; ETA) ดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่า ที่อัตราการคั่งน้ำหมักออกจากถังหมัก 50% มีค่าอัตราการสร้างกรดที่สูงที่สุดอยู่ในช่วง 0.0183%/h ถึง 0.0260 %/h รองลงมา คือ ที่อัตรา 40% เท่ากับ 0.0137 %/h ถึง 0.0217 %/h ส่วนที่อัตราการคั่งน้ำหมักออกจากถังหมัก 60% มีค่าอัตราการสร้างกรด 0.0069 %/h ถึง 0.0071 %/h ทั้งนี้เนื่องจากที่อัตราการคั่งน้ำหมักจากถังหมักที่ 60% ทำให้ระบบการหมักสูญเสียสภาพสมดุลของปริมาณเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ที่อยู่ในน้ำหมักทำให้ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” จะต้องใช้เวลาในการผลิตกรดอะซิติกที่นานขึ้นซึ่งส่งผลกระทบต่ออัตราการสร้างกรดที่ได้ อนึ่งอัตราการสร้างกรดที่ได้รับที่อัตราการคั่งน้ำหมักออกจากถังหมัก 50% ถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่สูงโดยมีค่ามากกว่าที่ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ผลิตได้ใน corn vinegar ที่ผลิตในสภาพที่มีใยบวบเป็นวัสดุตรึงเซลล์ในถังหมัก Stirred tank reactor ขนาด 50 ลิตร ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0.0028%/h ถึง 0.0067%/h (Krusong *et al.*, 2010)

ต้นแบบกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูหมักด้วยระบบการตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” เพื่อการขยายขนาดการผลิตเป็นระดับกึ่งโรงงาน

จากผลการทดลองที่ได้ในการศึกษาทั้งหมด สามารถสรุปได้ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในการขยายขนาดการผลิตน้ำส้มสายชูหมักด้วยระบบการตรึงเซลล์ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ด้วยใยบวบในถังหมักแบบยกอากาศ

ปัจจัย	ข้อมูลที่กำหนด
ขนาดของถังหมัก	ปริมาตรต่ำสุดเท่ากับ 600 ลิตร
ระบบหมุนวนน้ำหมัก	อัตราหมุนวนต่ำสุดเท่ากับ 200 L/h
ระบบการให้ออกซิเจน (เพิ่มเติม)	ไม่มีความจำเป็น
ระบบการหมัก	Semi-continuous fermentation
อัตราการคั่งน้ำหมัก / อัตราการให้ไวน์ใหม่ (Discharging rate / Charging rate)	40-50%
ปริมาณใยบวบ	20-30% w/v