

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง (Literature review)

น้ำส้มสายชูหมักเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการหมักซึ่งประกอบด้วย 2 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนการหมักผลไม้หรือวัตถุดิบให้เป็นไวน์ด้วยเชื้อยีสต์ในสภาพที่ไม่มีอากาศ และขั้นตอนการหมักไวน์ที่ได้ในขั้นตอนแรกด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* ในสภาพที่ให้อากาศ (Adams, 1998)

แบคทีเรียอะซิติก (Acetic acid bacteria) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ต้องการอากาศในการเจริญและมักพบในธรรมชาติ เช่น ผลไม้ ธัญชาติ สมุนไพร เป็นต้น (de Ley *et al.*, 1984) แบคทีเรียอะซิติกเป็นจุลินทรีย์หลักที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน เพื่อเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติกในเมตาบอลิซึมแบบใช้อากาศ (Aerobic metabolism) ซึ่งออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนสุดท้าย (terminal electron acceptor) (Deppenmeir *et al.*, 2002; Ilabaca *et al.*, 2008) ในกลุ่มของแบคทีเรียอะซิติกทั้ง *Acetobacter* spp. และ *Gluconobacter* spp. สามารถจำแนกออกจากกันได้โดยอาศัยความสามารถในการออกซิโดสรีการอะซิติกเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ โดยที่เชื้อ *Acetobacter* spp. สามารถออกซิโดสรีการแอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติก และยังสามารถออกซิโดสรีการอะซิติกเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำในสภาพที่ไม่มีแอลกอฮอล์ ในขณะที่ *Gluconobacter* spp. ไม่สามารถออกซิโดสรีการอะซิติกเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (Bartowsky and Henschke, 2008)

การผลิตน้ำส้มสายชูในระดับอุตสาหกรรมนิยมใช้ระบบ Submerged fermentation โดยอาศัยกระบวนการหมักกึ่งต่อเนื่อง หรือเรียกว่า Semi-continuous processes (Fregapani *et al.*, 1999, 2001; de Ory *et al.*, 2002, 2004; Krusong *et al.*, 2007, 2010, 2011; Ndoye *et al.*, 2007) โดยปัจจัยที่สำคัญของการผลิตน้ำส้มสายชู คือ ช่วงเริ่มต้นการหมัก (Start up) ซึ่งเป็นช่วงที่แบคทีเรียอะซิติกปรับสภาพเข้าสู่ระบบการหมัก โดยเป็นผลกระทบของความเข้มข้นของกรดอะซิติก หรือความเข้มข้นรวมของกรดอะซิติกและแอลกอฮอล์ในน้ำหมักต่อการเจริญของแบคทีเรียอะซิติก (de Ory *et al.*, 2002; Fregapani *et al.*, 2003) ทำให้การเริ่มต้นการหมักทำได้ช้า (หรือใช้เวลานาน) หนึ่งได้มีการศึกษาของนักวิทยาศาสตร์หลายท่านรายงานถึงผลกระทบของกรดอะซิติกต่อแบคทีเรียอะซิติก ดังเช่น Soo Park *et al.* (1989) ระบุว่ากรดอะซิติกความเข้มข้นสูงกว่า 20 กรัม/ลิตร จะเริ่มส่งผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอะซิติก ขณะที่ความเข้มข้นสูงกว่า 40 กรัม/ลิตร จะส่งผลด้านการเจริญของแบคทีเรียอะซิติก อีกทั้งในสภาพที่มีกรดอะซิติกความเข้มข้นเท่ากับ 60 กรัม/ลิตร จะก่อให้เกิดการยับยั้งแบคทีเรียอะซิติกได้สูงถึง 70% ต่อมา Gomez *et al.* (1994) รายงานตามการคำนวณตามสมการจลศาสตร์ พบว่า ความเข้มข้นของกรดอะซิติกและแอลกอฮอล์มากกว่า 40 กรัม/ลิตร จะมีผลในการยับยั้งกิจกรรมของแบคทีเรียอะซิติกโดยตรง สำหรับแนวทางในการแก้ไขปัญหาดังกล่าวแนวทางหนึ่ง คือ การปรับสภาพ (Adaptation) เซลล์แบคทีเรียอะซิติกให้อยู่สภาพที่ทนความเครียดจากกรด (acid stress) เพื่อควบคุมสภาพการยับยั้งจนทำให้แบคทีเรียอะซิติกสามารถก่อให้เกิดการหมักได้ (Arnold *et al.*, 2002)

ตามปกติการหมักในระบบ Fed batch fermentation ซึ่งเป็นกรรมวิธีในการเพิ่มประสิทธิภาพในการหมักเพื่อให้ได้ผลผลิตของผลิตภัณฑ์ในปริมาณสูง ในกรณีของการผลิตน้ำส้มสายชูนั้นได้มีการนำระบบการหมักนี้มาใช้เพื่อหลีกเลี่ยงผลกระทบของกรดอะซิติกและแอลกอฮอล์ในน้ำหมักโดย อาศัยการควบคุมปริมาณกรดอะซิติกและแอลกอฮอล์ให้อยู่ในระดับที่ไม่มีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอะซิติก (Berraud, 2000; Arnold *et al.*, 2002) ดังนั้นในการศึกษานี้จึงเลือกใช้เทคนิค Fed batch fermentation เพื่อใช้ปรับสภาพความทนกรดของแบคทีเรียอะซิติก *A. aceti* WK เพื่อให้สามารถผลิตน้ำส้มสายชูหมักให้มีปริมาณกรดอะซิติก 8-10% บนพื้นฐานของหลักการว่าแบคทีเรีย อะซิติก *A. aceti* WK จะต้องสามารถทนกรดอะซิติกในระดับความเข้มข้น 8-10% ได้ก่อนจึงจะสามารถผลิตน้ำส้มสายชูที่มีปริมาณกรด 8-10% ได้ตามต้องการ