เอกสารอ้างอิง

คนอง ศรีนรคุต. ผลของตัวแปรบางตัวที่มีต่อการผลิตเอธานอลจากวัสดุการเกษตรโดยเครื่องหมักแบบคอลัมน์ชนิดต่อเนื่อง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2532.

พรทิพย์ รัตนะ. การศึกษาเครื่องหมักแบบคอลัมน์ในการผลิตน้ำส้มสายชูจากน้ำสับปะรด. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2524.

ประพนธ์ ประสพวัฒนา. เครื่องหมักแบบหลายคอลัมน์ในการผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่องจากไวน์สับปะรด. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2531.

สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์. ใน ศิวาพร ศิวเวชช (บรรณาธิการ), จุลชีววิทยาทางอาหาร, โครงการตำราของศูนย์วิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหารแห่งประเทศไทย, ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร, ม.สงขลานครินทร์, ม.ป.ป. หน้า 15-19, 29-60, 68-73.

ศิริวรรณ จงจิระศิริ. การศึกษาเครื่องหมักแบบหลายชั้นในการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์สับปะรด. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2527.

ศุภมาส ภมรบุตร. การศึกษาเกี่ยวกับการผลิตน้ำส้มสายชูจากน้ำสับปะรดโดยวิธีการหมักแบบเร็ว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2520.

วิชาพงษ์ หาญเบญจพงศ์. การศึกษาการผลิตเอธานอลจากน้ำสับปะรดโดยเครื่องหมักแบบคอลัมน์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2525.

Aiba, S., Humphrey, A.E. and Millis, N.F. Biochemical engineering. 2nd ed. New York: Academic Press, 1973.

Amerine, M.A., Berg, H.W., Kunkee, R.E., Ough, C.S., Singleton,V.L. and Webb, A.D. The technology of wine making. Westport: AVI, 1980. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Aneyama, M. and Kondo, K. Carbohydrate metabolism by the acetic acid bacteria, Part V. On the vitamin requirements for the growth. Agr. Biol. Chem., Vol.30 (1966): 203-211. Cite by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Antoniani, C., Federico, L. and Gobis, L. Sull' origine dell' acetil-metilcarbinolo degli aceti di fermentazione. Chemica (milano) 8 (1953): 324-325. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In G. Reed (vol. ed.), Biotechnology, Vol.5, pp. 428-444, Florida: Verlag Chemie, 1983.

Asai, T. Acetic acid bacteria. Tokyo: University of Tokyo Press, 1968. 343 pp. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Beaman, R.G. Vinegar fermentation. In H.J. Peppler (ed.), Microbial Technology, 454 pp. New York: Reinhold, 1969. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp.1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Bevery, H.W. and Schuhmann, L.C. US Patent, 3,389,567. 1968. 8 pp. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Bioletti, F.T. Microbiology. Philadelphia: Blakiston, 1921. pp.636-648. Cited by Vaughn, R.H. Acetic acid-vinegar. In L. Underkofler and R. Hickey (eds.), Industrial fermentation, Vol.1, pp. 498-532, New York: Chemical Publishing, 1954.

Bourgeois, F. Process and appatus for the acetous fermentation of liquid, especially for the production of vinegar. Fr. Patent, 1,132,093. 1956. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In H. Dellweg (ed.), Biotechnology, Vol.3, pp. 389-404, Florida: Verlag Chemie, 1982.

_____. Chromatographische und mikrobiologische bestimmung von aminosauren in verschiedenen essigarten. Branntweinwirtschaft, Vol.79 (1957): 250-254. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In G. Reed (vol. ed.), Biotechnology, Vol.5, pp. 428-444, Florida: Verlag Chemie, 1983.

Buck, R.E. US Patent, 3,002,896. 1958. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Burrows, S. Baker's yeast. In A.H. Rose (ed.), Microbial biomass. economic microbiology, Vol.4, pp. 31-64. London: Academic Press, 1979. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Calcott, P.H. and Mil, D. Continuous culture of cell, Vol. 1. Florida: CRC Press, 1985. Cited by Prapon Prasopwatana. Multicolumn fermenter in continuous vinegar production from pineapple wine. Master's Thesis, Chulalongkorn University, 1988.

Campbell, C.H. Black vinegar, its cause and cure. The glass packer. Vol.1, 1928, pp. 15-16. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Cliffe, K. Bioreactor. In A.H. Scragg (ed.), Biotechnology for engineers: Biological systems in technological process, Chichester: Ellis Horwood, 1988.

Co-ordinating Committee for Europe. Joint FAO, WHO Food Standards Programme, Alinorm 81/19. 1981. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp.1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Conner, H.A. and Allgeier, R.J. Vinegar: Its history and development. Advances applied microbiology, Vol.20, pp.81-133, 1976. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp.1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Coulson, J.M. and Richardson, J.F. Chemical Engineering, Vol. 2, New York: Pergamon Press, 1968. pp. 1-45.

Cruess, W.V. Commercial fruit and vegetable products. 3rd ed. New York: McGraw Hill, 1948. - Cited by Vaughn, R.H. Acetic acid-vinegar. In L. Underkofler and R. Hickey (ed.), Industrial fermentation, Vol.1, pp. 498-532. New York: Chemical Publishing, 1954 .

_____. Commercial fruit and vegetable products: A textbook for student, investigator and manufacturer, 4th ed. New York: McGraw-Hill, 1958. 844 pp. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Davies, J.M.C. US Patent, 4,207,951. 1980. 10 pp. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Ebner, H. Vinegar. Ullmanns Encyclopedie der technischen Chemie, Vol.11, Weinheim: Verlag Chemie, 1976. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In H. Dellweg (ed.), Biotechnology, Vol.3, pp. 389-404, Florida: Verlag Chemie, 1982.

_____. and Enenkel, A. Der Frings alkograph. GIT' Fachzeitschrift Lab, Vol.13 (1969): 651-654. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

_____. The effect of improved gas dispersion and gas distribution on gas-liquid transfer. 160 th ACS National Meeting, Div. of Microbial Chem. Chicago, Sept. 1970. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

_____. US Patent, 3,974,068. 1976. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In H. Dellweg (ed.), Biotechnology, Vol.3, pp. 389-404, Florida: Verlag Chemie, 1982.

Eckenfelder, W.W. Absorption of oxygen from air bubbles in water. J. Sanitary Eng.'Division (1959): 85. Cited by Prapon Prasopwatana. Multicolumn fermenter in continuous vinegar production from pineapple wine. Master's Thesis, Chulalongkorn University, 1988.

Egan, H., Kirk, R.S. and Sawyer, R. Pearson's Chemical Analysis of Foods, 8th ed. Edenburgh: Churchill Livingston, 591 pp, 1981. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp.1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Federico, L. Sull' origine dell' acetilmetilcarbinolo degli aceti di fermentazione.I. Ann. Chim. Appl., 39 (1948): 619-624. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In G. Reed (vol. ed.), Biotechnology, Vol.5, pp. 428-444. Florida: Verlag Chemie, 1983.

_____. and Gobis, L. Sull' origine dell' acetilmetilcarbinolo degli acetidi fermentazione.II. Ann. Chim. Appl., 39 (1949): 278-282. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In G. Reed (vol. ed.), Biotechnology, Vol.5, pp. 428-444. Florida: Verlag Chemie, 1983.

Galloppini, C. and Rotini, O.T. Ulteriori indagini nella formazione del acetilmetil-carbinolo della fermentazione acetica. Ann. Fac. Agrar. Univ. Pisa, Vol.17 (1956): 99-11. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In G. Reed (vol. ed.), Biotechnology, Vol.5, pp. 428-444, Florida: Verlag Chemie, 1983.

_____. Ulteriori madagin: mella formazione del acetimetilcarbinolo della fermentazione acetica. Ann. Fac. Agrar. Univ. Pisa 17 (1956): 99-111. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In G. Reed (vol. ed.), Biotechnology, Vol.5, pp. 428-444, Florida: Verlag Chemie, 1983.

Garcia, O.R., Casaballido-Estevez, A. and Castanatorres, M. Vinegars II, Ann. Brom., Vol.25 (1973): 121-145. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In G. Reed (vol. ed.), Biotechnology, Vol.5, pp. 428-444, Florida: Verlag Chemie, 1983.

Gossele, F., Swings, J. and De Ley, J. Growth facter requirements of Gluconobacter. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infertionskr. Hyg. I. Abt. Orig. C1(1980): 348-350. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In H. Dellweg (ed.), Biotechnology, Vol.3, pp. 389-404, Florida: Verlag Chemie, 1982.

Grove, O. The amylo process of fermentation. J. Inst. Brewing, Vol. 20 (1914): 248-266. Cited by Adams , M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol. 1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Hadorn, H. and Beetschen, W. Uberechte garungsessige mit extrem niedrigen acetoin-gehalten. Mitt. Lebensmittelunters Hyg., Vol.56 (1565): 44-62. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In G. Reed (vol. ed.), Biotechnology, Vol.5, pp. 428-444, Florida: Verlag Chemie, 1983.

Haeseler, G., Herbst, A.M. and Just, F. Quantitativer nachweis einiger vertreter des vitamin-B-komplexes in verschiedenen essigarten. Branntweinwirtschaft, Vol.79 (1957): 156-157. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In G. Reed (vol. ed.), Biotechnology, Vol.5, pp. 428-444, Florida: Verlag Chemie, 1983.

Hromatka, O. and Ebner, H. Enzymologia 13 (1949): 369. Cited by Vaughn, R.H. Acetic acid-vinegar. In L. Underkofler and R. Hickey (ed.), Industrial fermentation. Vol.1, pp. 498-532. New York: Chemical Publishing, 1954 .

_____. Vinegar by submerged oxidative fermentation. Ind. Engng. Chem. (Ind. end.), Vol.51 (1959): 1279-1280. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Hydraulic Press Mfg. Co. Vinegar Handbook. Mt. Gilead. Ohio: Hydraulic Press Mfg. Co., 1919. Cited by Vaughn, R.H. Acetic acid-vinegar. In L. Underkofler and R. Hickey (eds.), Industrial fermentation, Vol.1, pp. 498-532. New York: Chemical Publishing, 1954.

Kunimatsu, Y., Okumura, H., Masai, H., Yamada, K. and Yamada, M. Production of vinegar with big acetic acid concentration. US Patent, 4,282,257, 1981. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Kutsing, F.T. J.Prakt. Chem., Vol.2 (1837): 385. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Mackin, J.J. US Patent, 2,423,897. 1947. Cited by Vaughn, R.H. Acetic acid-vinegar. In L. Underkofler and R. Hickey (eds.), Industrial fermentation, Vol.1, pp. 498-532. New York: Chemical Publishing, 1954.

Marison, I.W. Growth kinetic. In A.H. Scragg (ed.), Biotechnology for engineers: Biological systems in technological processes, Chichester: Ellis Horwood, 1988.

Masai, H. Recent technical developments on vinegar manufacture in Japan. In Proceeding of the Oriental Fermented Foods, Foods Industry Research and Development Institute, Hsinchu, Taiwan. 1980, pp. 192-206. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Mayer, E. Historic and modern aspects of vinegar making (acetic fermentation). Food Technol., Vol.17 (1963): 582-584. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Mitchell, C.A. Vinegar: its manufacture and examination, 2nd ed. London: Charles Griffin, 1926. 211 pp. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Muller, F. A modern bioreactor for vinegar production. Process Biochem., Vol.13 (1978): 10-11. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Nickol, G.B. Vinegar. Microbial Technology, Vol.2. 2nd ed. New York: Academic Press, 1979. pp. 155-172. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Partington, J.R. A history of chemistry, Vol.1. London: Macmillan, 1962, p. 233. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Pederson, S.C. Microbiology of food fermentation. Westport: AVI, 1971. pp. 45-64. Cited by Prapon Prasopwatana. Multicolumn fermenter in continuous vinegar production from pineapple wine. Master's Thesis, Chulalongkorn University, 1988.

Peeble, F.N. and Garber, H.J. Studies on the motion of gas bubbles in liquid. Chem. Eng. Progress 49 (1953): 88. Cited by Prapon Prasopwatana. Multicolumn fermenter in continuous vinegar production from pineapple wine. Master's Thesis, Chulalongkorn University, 1988.

Persoon, C.H. Mycologia Europea, Vol.1 (1822): 96. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Pirt, S.J. Aerobic and anaerobic microbial digestion in waste reclamation. J. appl. Chem. Biotechnol., Vol.28 (1978): 232-236. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Presscott, S.C. and Dunn, C.G. Industrial Microbiology. 3rd ed. New York: McGraw Hill, 1959. pp. 428-452. Cited by Prapon Prasopwatana. Multicolumn fermenter in continuous vinegar production from pineapple wine. Master's Thesis, Chulalongkorn University, 1988.

Rainbow, C. and Mitson, G.W. Nutritional requirements of acetic acid bacteria. J. gen. Microbiol., Vol.9 (1953): 371-375. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Rombouts, F.M. and Pilnik, W. Pectic enzymes. In A.M. Rose (ed.), Economic Microbiology, Vol.5. London: Academic Press, 693 pp., 1980. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp.1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Schanderl, H. and Stauddenmayer, T. Unterscheidung von garungsessigund synthetischem essig durch aminosauren. Z.Lebensm. Unters. Forch, Vol.104 (1956): 26-28. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In G. Reed (vol. ed.), Biotechnology, Vol.5, pp. 428-444, Florida: Verlag Chemie, 1983.

Schocher, A.J., et al. Acetobacter bacteriophage A-1. Arch. Microbiol., Vol.121 (1979): 193-197. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In H. Dellweg (ed.), Biotechnology, Vol.3, pp. 389-404, Florida: Verlag Chemie, 1982.

Shimwell, J.L. A re-assessment of the genus Acetobacter, Vol.25 (1959): 49-67. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In H. Dellweg (ed.), Biotechnology, Vol.3, pp. 389-404, Florida: Verlag Chemie, 1982.

Vaughn, R.H. Acetic acid - vinegar, In L.A. Underkofler and R.J. Hickey (ed.), Industrial fermentation, Vol.1, pp. 498-532, New York: Chemical Publishing, 1954.

_____. Acetic acid: Vinegar. In L. Underkofler and R.J. Hickey (eds.), Industrial fermentations, Vol.1, pp. 498-535. New York: Chemical Publishing, 1954. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Vera, F.M. and Wang, D.I.C. Increasing productivity in the acetic acid fermentation by continuous culture and cell recycle, 174th Ann. Chem. Soc. Meet., Chicago, 1977. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In H. Dellweg (ed.), Biotechnology, Vol.3, pp. 389-404, Florida: Verlag Chemie, 1982.

White, J. Malt vinegar manufacture. Process Biochem., Vol.5 (1970): 54-56. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

_____. Vinegar quality-legal and commercial standards. Process Biochem., Vol.6 (5), pp. 21-50, 1971. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp.1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Zalkan, R.C. and Fabian, F.W. The influence of vinegar eels (Anquillula aceti) on vinegar production. Food Technol., 1953. pp. 453-455. Cited by Adams, M.R. Vinegar. Microbiology of fermented foods, Vol.1, pp. 1-39. London: Elsevier Applied Science Publisher, 1985.

Zappavigna, R., Brambati, E. and Cerutti, G. Determination of non-volatile amines in wines, juices, beers, vinegar, (Italian). Riv. Vitic. Enol., Vol.27 (1974): 285-294. Cited by Ebner, H. and Follmann, H. Acetic acid. In G. Reed (vol. ed.), Biotechnology, Vol.5, pp. 428-444, Florida: Verlag Chemie, 1983.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การผลิตเชื้อจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการหมักดองอาหาร

จุลินทรีย์ที่จำเป็นต่อกระบวนการหมักนั้นอาจปะปนมากับวัตถุดิบธรรมชาติที่ใช้ในการหมัก เช่น กระหล่ำปลีดอง แตงกวาดอง ผักดอง เป็นต้น อาหารเหล่านี้มีเชื้อปะปนมากับวัตถุดิบในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการ และพร้อมที่จะเจริญเพิ่มจำนวนทันทีเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมจึงไม่ต้องเติมเชื้อให้ แต่ในอุตสาหกรรมการหมักบางชนิด เช่น นมเปรี้ยว, เนยแข็ง, เบียร์, ไวน์, สุรา และน้ำส้มสายชู จำเป็นต้องเติมเชื้อเริ่มต้น (starter) ซึ่งอาจเป็นเชื้อบริสุทธิ์หรือเชื้อผสมก็ได้ที่มีความเหมาะสมแก่วัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนหมักดังกล่าว (สุมาลี, 2527)

หลักการทั่วไปในการเก็บรักษาและการเติมเชื้อจุลินทรีย์

1. การคัดพันธุ์

เชื้อที่ใช้ในการหมักต้องผ่านการคัดพันธุ์มาแล้ว โดยเชื้อที่คัดไว้ต้องไม่กลายพันธุ์ง่าย และมีความสามารถในการให้ผลผลิตที่ต้องการ เชื้อเหล่านี้อาจได้มาจากการปรับปรุงพันธุ์ในห้องปฏิบัติการที่ใดที่หนึ่ง หรืออาจได้มาจากการทดสอบสายพันธุ์ต่าง ๆ ของเชื้อแล้วคัดเลือกพันธุ์ที่ดีเอาไว้ ความคงที่ของเชื้อเป็นลักษณะที่มีความสำคัญมากอันหนึ่ง เพราะอัตราการทำงานและปริมาณผลผลิตที่ได้ไม่ควรมีการเปลี่ยนแปลง

2. การรักษากิจกรรมของเชื้อ

เชื้อที่เก็บรักษาไว้ต้องเป็นเชื้อบริสุทธิ์และอยู่ในสภาพว่องไวอยู่เสมอ จุดประสงค์นี้สามารถบรรลุได้โดยทำการถ่ายเชื้อลงในอาหารที่เหมาะสมเป็นระยะ ๆ ไป และต้องบ่มเชื้อจนเชื้อเจริญอยู่ในช่วงสเตชันนารีเฟส (maximal stationary phase) แล้วจึงนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำพอป้องกันการเจริญของเชื้อได้ การถ่ายเชื้อที่ไม่สม่ำเสมอและบ่อยเกินไปอาจทำให้ลักษณะบางอย่างของเชื้อเปลี่ยนแปลงได้

3. เชื้อที่ต้องการเก็บไว้เป็นสต็อก (stock culture)

ควรเตรียมให้อยู่ในรูปที่สามารถเก็บรักษาเชื้อไว้ได้นาน ๆ โดยไม่ต้องทำการถ่ายเชื้อ เพื่อว่าเชื้อจะได้ไม่กลายพันธุ์ และใช้เป็นแหล่งของเชื้อต่อไปได้ถ้าเกิดการสูญหายหรือการตายของเชื้อที่นำไปใช้ในกระบวนการ ปัจจุบันนี้เก็บสต็อกเชื้อไว้โดยวิธีไลโอฟิไลซ์ (lyophilization) และการแช่แข็งในไนโตรเจนเหลว (-196 องศาเซลเซียส) แม้ใน

บางแห่งยังคงใช้พาราฟินเหลวเทปิดทับเชื้อที่เลี้ยงไว้ในอาหารวุ้นธรรมดา สามารถเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียไว้ได้นานหลายเดือนที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเลี้ยงไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ประกอบอยู่ร้อยละ 1

4. <u>การรักษาสภาพความบริสุทธิ์ของเชื้อ</u>

เพื่อให้แน่ใจในความบริสุทธิ์ของเชื้อจึงควรนำเชื้อมาจากห้องปฏิบัติการที่มีการถ่ายเชื้ออย่างสม่ำเสมอ หรือมีการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้ออยู่เสมอ การตรวจสอบความบริสุทธิ์นี้ทำได้หลายวิธีแล้วแต่ชนิดของเชื้อที่ต้องการทดสอบ การตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์นั้นใช้ได้ต่อเมื่อสิ่งปนเปื้อนนั้นแตกต่างจากเชื้อที่มีอยู่และมีจำนวนมากพอ อีกวิธีคือการเพาะเชื้อในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของสิ่งปนเปื้อน แต่ไม่เหมาะสมกับเชื้อที่มีอยู่ ส่วนอีกวิธีคือการตรวจหาสารบางชนิดที่เชื้อที่มีอยู่ไม่สามารถผลิตได้ แต่เชื้อที่ปะปนมาเป็นพวกที่สร้างขึ้น

5. <u>การเตรียมเชื้อ</u>

ควรเตรียมแม่เชื้อ (mother culture) ขึ้นใหม่เสมอจากเชื้อเดิมหรือสต็อกเชื้อเดิม แม่เชื้อเหล่านี้จะถูกนำไปใส่ไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณมาก เพื่อให้เชื้อเพิ่มจำนวนมากพอที่จะนำไปใช้ในกระบวนการหมักได้ การเพิ่มจำนวนเชื้อมีวัตถุประสงค์เพื่อไม่ให้เชื้อนั้น (1) ประกอบด้วยเชื้อที่ต้องการเท่านั้น (2) มีจำนวนสัดส่วน (ถ้าเป็นเชื้อผสม) และการทำงานเท่ากันตลอด (3) มีความว่องไวในการให้ผลผลิตที่ต้องการ และ (4) สามารถต้านทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้พอสมควรในกรณีที่จำเป็น การเตรียมเชื้อแต่ละครั้งต้องพยายามให้อยู่ในมาตรฐานเดียวกันหมด ไม่ว่าในด้านการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ การเพาะเชื้อ การบ่มเชื้อ เป็นต้น การเก็บเกี่ยวเชื้อในระยะใดของการเจริญนั้นขึ้นกับจุดประสงค์ที่ต้องการใช้ ถ้าต้องการให้เชื้อเจริญในทันทีและรวดเร็วให้เก็บเกี่ยวเชื้อที่เจริญอยู่ในช่วงลอกการิทึมมิคเฟส (logarithmic phase) แต่ถ้าต้องการให้เชื้อสามารถทนทานต่อความร้อนหรือสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้มากขึ้นก็ต้องเก็บเกี่ยวเชื้อที่เจริญอยู่ในระยะต้นของช่วงสเตชันนารีเฟส อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเชื้อมักใช้อุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับอุณหภูมิที่เหมาะสมของเชื้อ เมื่อเชื้อเจริญอยู่ในระยะที่ต้องการแล้วจึงลดอุณหภูมิลงเพื่อมิให้เชื้อเจริญต่อไป

6. <u>การทำงานของเชื้อจุลินทรีย์</u>

การทำงานของเชื้อสามารถวัดได้ โดยการใช้อัตราการเจริญของเชื้อกับปริมาณของผลผลิต ถ้าเป็นเชื้อพันธุ์ดี อาหารเลี้ยงเชื้อเหมาะสม ระยะเวลาบ่มเชื้อดี อุณหภูมิเหมาะสมก็ควรได้ผลงานที่ดี การทำงานของเชื้ออาจเลวลงถ้าการเก็บรักษาและการเพาะเชื้อไม่เหมาะสม มีการถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เหมาะสมบ่อย ๆ เป็นเวลานาน ๆ มีการ

กลายพันธุ์ หรือมีการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส

7. **เชื้อผสม** (mixed culture)

เชื้อผสมชนิดที่ได้มีการจัดจำแนกไว้แล้ว อาจได้มาจากการนำเชื้อบริสุทธิ์หลาย ๆ ชนิดมาเพาะเลี้ยงรวมกัน ให้มีการเจริญไปพร้อม ๆ กัน หรืออาจเพาะเลี้ยงแยกกันแล้วนำมาผสมกันก่อนนำไปใช้ในกระบวนการก็ได้ แบคทีเรียเหล่านี้ต้องสามารถเข้ากันได้ เจริญได้ดีไปพร้อม ๆ กันโดยไม่มีการขัดขวางการทำงานหรือการเจริญของกันและกัน การเก็บรักษาเชื้อผสมให้มีสัดส่วนของเชื้อแต่ละชนิดเท่าเดิมตลอดทำได้ยาก

8. **แบคทีเรียที่ให้กรดอะซิติก**

เนื่องจากการใช้เชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียผลิตกรดอะซิติกยังไม่ได้รับการพิสูจน์ว่ามีประสิทธิภาพดีเพียงพอ ดังนั้นในการผลิตน้ำส้มสายชูจึงยังใช้เชื้อผสมหรือเชื้อที่นำมาจากน้ำส้มสายชูที่เกิดขึ้นโดยวิธีธรรมชาติเติมให้กับวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู

9. **เชื้อยีสต์** (yeast culture)

ยีสต์ส่วนใหญ่ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมมักเป็นพวก Saccharomyces cerevisiae ยีสต์เหล่านี้ถูกปรับปรุงพันธุ์หรือผ่านการคัดพันธุ์มาแล้วเพื่อให้ได้ผลผลิตตามต้องการ ในอุตสาหกรรมการผลิตไวน์ได้มีการคัดพันธุ์ยีสต์สายพันธุ์พิเศษของ Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoideus มาใช้ซึ่งช่วยให้ได้ไวน์ชนิดต่าง ๆ สายพันธุ์ที่นิยมใช้กันมากคือ Burgundy, Tokay และ Champagne เชื้อเหล่านี้ต้องผ่านการเลี้ยงให้เพิ่มจำนวนในน้ำผลไม้ (must) ก่อนนำไปใช้ในการหมักเช่นกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

ตารางแสดงข้อมูลที่ได้จากการทดลอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.1 แสดงอุณหภูมิ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณเชื้อ ร้อยละของกรดอะซิติก และร้อยละของเอธานอลต่อเวลาของถังเก็บไวน์และถังเก็บน้ำหมักที่ 1, 2, 3 และ 4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่อง โดยใช้อัตราการเจือจางเท่ากับ 0.0225 ชม.$^{-1}$

TIME (hr.)	TEMPERATURE (deg.C)					TOTAL DISSOLVED SOLID (B)					CONCENTRATION OF CELLS (x1000000 cell/cu.cm.)					% ACETIC ACID (w/v)					% ETHANOL (v/v)				
	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4
0.0	29.0	30.0	30.5	31.0	30.0	3.8	4.0	4.0	4.0	4.2						0.43	2.24	3.16	4.01	4.94	6.94	3.70	2.20	0.66	0.00
4.0																	2.23	3.17	4.10	4.97					
21.0		30.0	30.5	31.0	30.0		4.2	4.2	4.2	4.2							2.42	3.15	4.51	4.91		3.35	2.26	0.20	0.00
25.5	29.0					3.4										0.49	2.36	2.98	4.52	4.79	6.84				
28.5																	2.31	3.02	4.35	4.70					
69.0		31.0	31.0	31.5	30.5		4.0	4.0	4.0	4.0							2.82	3.40	3.90	4.24		2.95	1.59	0.99	0.53
72.5	30.0					3.0	3.6	3.6	3.8	3.8						0.54	2.54	3.18	3.82	4.26	5.93				
76.5																	2.48	3.12	3.82	4.36					
93.5		31.0	31.0	31.5	30.5		3.8	3.8	3.8	3.8							2.44	3.16	3.90	4.50		2.74	1.53	0.46	0.00
97.0	29.5					3.8											2.38	3.00	3.81	4.60	6.35				
119.0																	2.82	3.29	4.03	4.81					
141.5		30.5	30.5	31.0	30.0		3.6	3.3	4.0	4.0		100	120	110	130		1.94	2.95	3.58	4.48		3.72	2.48	1.19	0.00
146.5	29.0					4.0					80					0.33	1.64	2.51	3.50	4.50	6.75				
149.0																	1.58	2.48	3.40	4.51					
164.5	29.5	31.0	31.0	31.0	30.5	3.6	3.8	3.8	3.8	4.0	20	110	80	120	90	0.29	1.69	2.53	3.35	4.51	7.42	3.92	2.48	0.79	0.00
169.0																	1.65	2.29	3.30	4.52					
173.0																	1.81	2.22	3.28	4.70					
189.0	29.0	30.0	30.5	31.0	30.0	4.0	4.0	3.8	4.0	4.0	39	92	128	106	94	0.50	1.96	2.13	3.18	4.47	7.17	3.43	3.01	1.32	0.00
195.0																	1.80	2.06	2.90	4.10					
197.0																	1.74	2.02	2.85	4.02					
213.0	27.0	30.0	30.5	30.5	30.0	4.2	3.8	3.8	3.8	4.0	70	126	158	152	96	0.33	2.15	2.48	3.28	4.37	7.62	3.57	2.40	1.32	0.00
217.5																	2.00	2.34	3.22	4.43					
220.5																	1.94	2.32	3.22	4.47					
237.5	29.0	30.5	31.0	31.0	30.5	4.2	3.9	3.8	3.8	3.8	80	102	124	100	62	0.52	1.93	2.53	3.35	4.62					
242.5																	1.80	2.41	3.11	4.51					
260.5	29.0	30.5	31.0	31.0	30.0	4.2	4.0	4.0	4.0	4.0	58	140	144	166	66	0.52	1.95	2.37	3.18	4.26	8.26	3.77	3.01	1.39	0.00
267.0																	1.84	2.42	3.14	4.38					
288.0																	2.53	2.92	3.67	4.23					
309.0	30.0	30.5	31.0	31.0	30.5	4.4	4.2	4.0	3.8	3.8	76	104	138	96	78	0.82	1.84	2.73	3.20	4.16	7.74	4.84	2.88	1.73	0.00
313.0																	1.63	2.39	3.10	4.03					
317.0																	1.63	2.36	3.10	4.10					
333.5	28.0	29.5	30.0	30.0	29.5	4.4	4.2	4.0	4.0	4.0	64	112	122	140	110	0.54	1.66	2.53	3.30	4.22	6.84	4.92	3.24	1.59	0.20
337.5																	1.60	2.42	3.15	4.18					
340.5																	1.56	2.39	3.15	4.23					
358.5	27.0	30.5	31.0	31.0	30.0	4.4	4.2	4.0	4.0	4.0	50	110	96	98	74	0.89	1.67	2.53	3.30	4.30	6.92	4.83	3.23	2.00	0.13

ตารางที่ ข.2 แสดงอุณหภูมิ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณเชื้อ ร้อยละของกรดอะซิติก และร้อยละของเอธานอลต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1, 2, 3 และ 4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่อง โดยใช้อัตราการเจือจางเท่ากับ 0.0225 ชม.$^{-1}$ (ทำการทดลองซ้ำ)

TIME (hr.)	TEMPERATURE (deg.C)					TOTAL DISSOLVED SOLID (B)					CONCENTRATION OF CELLS (x1000000 cell/cu.cm.)					% ACETIC ACID (w/v)					% ETHANOL (v/v)				
	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4
0.0	29.0	32.0	33.0	32.5	32.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	106	160	163	162	152	0.67	2.00	3.00	4.00	5.07	6.69	4.85	2.55	1.20	0.00
17.5	28.5	30.0	30.0	29.5	30.0	4.0	4.0	4.2	4.2	4.4	76	158	134	149	146	0.35	1.88	3.16	4.18	5.27	6.15	3.85	1.46	0.13	0.00
23.0																	1.81	3.12	4.23	5.34					
41.5	29.0	30.0	30.5	29.5	30.0	4.0	4.0	4.0	4.2	4.4	94	138	148	160	140	0.47	2.33	2.93	3.91	5.24	6.90	3.30	2.20	0.79	0.00
46.0																	2.19	2.84	3.79	5.19					
49.0																	2.14	2.80	3.74	5.15					
65.5	27.5	28.5	28.5	28.0	28.0	4.0	4.2	4.2	4.4	4.4	114	144	150	178	118	0.54	2.43	3.03	3.88	4.99	6.72	3.11	2.14	0.93	0.00
70.0																	2.39	3.06	3.89	4.87					
73.5																	2.35	2.98	3.80	4.82					
89.5	25.0	27.0	28.0	27.0	27.5	4.2	4.2	4.2	4.4	4.6	66	136	120	112	126	0.50	2.30	2.96	3.99	5.01	6.88	3.74	2.21	0.87	0.00
93.0																	2.23	2.94	3.98	4.89					
97.0																	1.99	2.85	3.89	4.87					
113.0	28.0	29.5	30.0	29.0	29.5	4.0	4.0	4.0	4.2	4.4	54	102	144	140	116	0.51	2.00	2.83	3.99	5.02	7.06	4.29	2.76	0.93	0.00
117.0																	1.90	2.74	3.87	4.95					
140.5						4.2	4.0	4.0	4.2	4.2	58	92	86	118	98	0.59	1.80	2.78	3.93	5.03	6.84	4.36	2.41	0.79	0.00
161.5	28.5	30.0	29.5	29.0	30.0	4.0	4.0	4.0	4.2	4.2	42	126	126	140	118	0.42	1.81	2.67	3.92	4.99	6.62	4.50	2.55	0.79	0.00
165.0																	1.60	2.64	3.91	5.00					
169.0																	1.56	2.55	3.88	5.03					
186.0	26.5	28.5	29.0	28.0	28.5	4.0	4.0	4.2	4.4	4.6	46	116	110	130	112	0.55	1.91	2.47	3.75	4.98	6.48	4.14	3.03	1.86	0.00
189.5																	1.74	2.43	3.73	4.97					
193.0																	1.75	2.42	3.71	4.99					
209.0	26.0	29.0	29.5	28.5	29.0	5.0	4.0	4.0	4.2	4.4	140	130	128	110	162	0.56	1.79	2.42	3.69	4.97	7.74	4.70	3.85	1.32	0.00
213.0																	1.70	2.37	3.74	4.93					
216.5																	1.61	2.32	3.62	4.87					
233.0	29.0	31.5	32.5	30.5	31.0	4.8	4.0	4.0	4.0	4.2	147	219	174	198	174	0.66	1.74	2.44	3.65	4.91	7.97	5.05	3.37	1.46	0.00
238.0																	1.79	2.43	3.62	4.86					
241.0																	1.67	2.40	3.52	4.78					
259.5	29.5	30.5	31.0	30.0	30.5	4.6	4.2	4.0	4.0	4.0	182	160	138	155	179	0.68	1.70	2.49	3.54	4.78	8.05	5.49	3.65	1.80	0.00
264.5																	1.64	2.44	3.51	4.74					
281.5	29.0	30.0	30.5	29.5	30.0	4.9	4.4	4.2	4.2	4.2	190	216	191	194	156	0.63	1.66	2.46	3.46	3.75	8.27	5.49	3.72	1.93	0.00
286.5																	1.60	2.47	3.42	4.63					

ตารางที่ ข.3 แสดงอุณหภูมิ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณเชื้อ ร้อยละของกรดอะซิติก และร้อยละของเอธานอลต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1, 2, 3 และ 4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่อง โดยใช้อัตราการเจือจางเท่ากับ 0.0250 ชม.$^{-1}$

TIME	TEMPERATURE (deg.C)					TOTAL DISSOLVED SOLID (B)					CONCENTRATION OF CELLS (x1000000 cell/cu.cm.)					% ACETIC ACID (w/v)					% ETHANOL (v/v)				
(hr.)	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4
0.0	29.0	31.0	31.0	30.5	30.5	4.0	3.8	3.8	4.0	4.0	50	110	120	110	90	0.77	2.36	3.05	4.02	5.20	6.52	2.41	1.26	0.00	0.00
16.0	29.0	31.0	31.0	30.5	30.5	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	20	110	120	110	120	0.63	2.35	2.80	3.79	4.70	6.53	2.27	1.20	0.40	0.00
21.5																	2.23	2.79	3.70	4.69					
26.0																	2.33	2.78	3.72	4.70					
42.0	23.5	30.7	31.0	30.2	30.5	3.6	3.8	3.8	3.9	4.0	50	90	120	80	90	0.68	2.02	2.65	3.65	4.57	6.60	3.51	1.39	0.40	0.00
46.0																	1.72	2.54	3.57	4.50					
49.0																	1.83	2.49	3.48	4.41					
114.0	29.0	31.0	31.0	30.7	30.5	3.6	3.8	3.8	3.8	3.8	30	120	80	110	50	0.78	2.92	2.56	3.71	3.99	6.38	2.14	2.34	0.26	0.00
118.0																	2.79	2.60	3.78	4.12					
121.5																	2.72	2.69	3.90	4.12					
137.0	28.5	30.5	30.5	30.0	30.0	3.4	3.8	3.8	3.8	3.8	20	90	90	90	70	0.40	2.67	2.84	3.91	4.23	6.52	2.54	1.46	0.00	0.00
142.5																	2.77	2.90	3.92	4.26					
145.0																	2.83	2.96	3.97	4.30					
161.5	29.0	31.0	31.0	30.5	31.0	3.4	3.6	3.6	3.8	3.8	30	80	90	70	50	0.53	2.17	2.77	3.70	4.14	6.59	3.37	2.27	0.73	0.07
166.5																	1.92	2.60	3.55	4.04					
170.0																	1.91	2.46	3.55	4.04					
185.0																	2.24	2.83	3.62	4.11					
193.0																	2.07	2.18	3.31	4.01					
209.5	29.0	30.5	30.5	30.0	30.0	3.4	3.6	3.6	3.8	3.8	0	70	20	70	40	0.77	2.10	2.05	3.14	3.65	6.15	3.58	3.85	1.73	0.53
233.5	29.7	31.5	31.2	30.5	31.0	3.2	3.6	3.4	3.6	3.5	10	70	110	70	50	0.40	2.82	2.26	3.38	3.76	6.94	2.40	2.67	0.99	0.40
239.0																	2.64	2.26	3.29	3.84					
259.0																	3.17	2.62	3.95	3.99					
281.5	29.0	31.0	31.0	30.0	30.5	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	10	90	80	80	90	0.78	2.50	2.57	3.39	3.77	6.28	3.01	2.74	1.32	0.46
285.0																	2.28	2.57	3.27	3.62					
289.5																	2.28	2.57	3.21	3.77					
305.5	29.0	31.0	31.0	30.5	31.0	3.8	3.8	3.8	3.8	4.0	20	70	90	70	60	0.40	2.52	2.67	3.28	3.63	7.49	2.88	2.41	0.99	0.66
311.0																	2.55	2.69	3.24	3.36					

ตารางที่ ข.4 แสดงอุณหภูมิ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณเชื้อ ร้อยละของกรดอะซิติก และร้อยละของเอธานอลต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1, 2, 3 และ 4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่อง โดยใช้อัตราการเจือจางเท่ากับ 0.0250 ชม.$^{-1}$ (ทำการทดลองซ้ำ)

TIME	TEMPERATURE (deg.C)					TOTAL DISSOLVED SOLID (B)					CONCENTRATION OF CELLS (x1000000 cell/cu.cm.)					% ACETIC ACID (w/v)					% ETHANOL (v/v)				
(hr.)	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4
0.0	27.5	30.5	31.0	30.0	30.5	5.0	4.2	4.2	4.2	4.4	153	154	125	208	86	0.49	2.00	3.00	4.12	4.97	7.84	4.57	1.53	0.73	0.00
20.0	27.5	29.5	30.0	29.0	29.5	5.2	4.8	4.6	4.4	4.6	171	357	158	163	130	0.54	2.07	3.15	4.28	5.22	8.30	4.71	2.34	0.26	0.00
25.5																	1.84	3.13	4.24	5.18					
43.0	28.0	30.5	31.0	29.5	30.0	5.4	5.0	4.6	4.4	4.6	157	305	208	141	109	0.55	1.74	3.01	4.19	5.14	8.66	5.64	2.95	0.99	0.00
50.5																	1.75	2.92	4.10	5.07					
68.0	27.0	28.0	28.5	27.5	28.0	5.2	5.0	4.6	4.6	4.6	170	350	187	202	166	0.54	1.57	2.73	3.96	5.08	8.26	5.67	3.11	1.00	0.00
73.5																	1.46	2.70	3.82	5.07					
92.5	28.0	30.5	31.0	29.5	30.0	5.0	5.0	4.8	4.6	4.6	116	410	215	189	217	0.68	1.44	2.53	3.67	4.97	7.91	5.86	3.66	1.47	0.00
115.5	29.0	30.5	31.0	30.0	30.5	5.0	5.0	4.8	4.4	4.4	196	302	291	168	134	0.66	1.56	2.38	3.50	4.88	7.76	5.35	3.91	1.93	0.00
163.5	29.5	30.5	31.0	30.0	30.5	4.6	4.8	4.8	4.6	4.6	101	173	129	129	165	0.87	1.49	2.37	3.13	4.40	6.88	5.77	4.13	2.54	0.40
171.0																	1.08	1.96	2.82	4.31					
187.5	29.0	30.0	30.5	29.5	30.0	4.6	4.8	4.6	4.6	4.6	78	133	176	102	78	0.50	1.15	1.87	2.70	4.29	7.57	5.11	4.97	2.37	0.86
191.0																	1.18	1.86	2.59	4.26					
195.0																	1.29	1.90	2.62	4.20					
212.0	28.0	31.0	32.0	30.5	31.0	4.2	4.8	4.8	4.6	4.6	50	144	128	134	212	0.66	1.68	1.90	2.43	4.14	7.13	5.12	4.84	2.45	0.99
218.0																	1.63	1.89	2.32	4.04					
236.0	28.5	30.0	31.0	30.5	31.0	3.8	4.4	4.4	4.6	4.6	50	202	195	228	142	0.55	1.75	1.93	2.23	4.12	6.98	5.42	4.77	2.65	1.06
241.0																	1.60	1.92	2.17	4.10					
262.0																	2.30	2.39	2.49	4.12					

ตารางที่ ข.5 แสดงอุณหภูมิ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณเชื้อ ร้อยละของกรดอะซิติก และร้อยละของเอธานอลต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1, 2, 3 และ 4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่อง โดยใช้อัตราการเจือจางเท่ากับ 0.0350 ชม.$^{-1}$

TIME	TEMPERATURE (deg.C)					TOTAL DISSOLVED SOLID (B)					CONCENTRATION OF CELLS (x1000000 cell/cu.cm.)					I ACETIC ACID (w/v)					I ETHANOL (v/v)				
(hr.)	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4
0.0	32.0	33.5	33.0	33.0	33.5	3.6	3.8	3.8	3.8	4.0	20	120	140	200	220	0.36	2.16	3.16	3.78	5.14	8.21	4.11	3.29	1.86	0.40
22.5	31.5	32.0	32.5	32.75	33.0	3.6	3.6	3.9	4.0	4.0	0	120	110	140	140	0.34	1.38	2.59	3.38	4.53	7.26	5.33	2.88	2.00	0.60
27.5	31.5	33.0	32.5	32.0	33.0	3.6	3.6	3.8	3.8	4.0	20	110	130	120	150	0.34	1.28	2.26	3.00	3.95	8.01	5.63	3.65	2.27	0.20
46.0	30.5	32.0	31.5	32.0	32.0	3.5	3.6	3.6	3.8	4.0	30	110	160	130	130	0.33	1.06	2.10	3.11	4.08	8.03	5.99	3.78	2.14	0.43
51.5		32.0	31.5	32.0	32.0		3.6	3.6	3.8	4.0							1.00	2.13	2.95	4.07					
97.2	31.5	33.0	32.5	33.0	33.0	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	0	100	90	100	80	0.36	0.79	1.79	2.36	3.17	8.01	6.80	4.54	3.57	2.00
142.3	29.5	31.75	31.0	31.25	31.5	3.6	3.5	3.5	3.6	3.8	0	100	100	140	120	0.36	0.86	1.87	2.51	3.27	6.57	6.35	4.54	3.29	1.06
147.5	32.0	34.0	33.5	33.5	33.5	3.2	3.4	3.4	3.4	3.8	0	100	100	130	100	0.38	0.81	1.65	2.21	3.00	7.55	6.12	5.25	4.12	2.94
169.0	29.0	31.0	30.5	30.5	31.25	3.4	3.4	3.6	3.6	3.8	20	90	120	90	90	0.41	0.85	1.69	2.36	3.18	7.74	6.53	4.91	3.92	2.14
173.5																	0.67	1.71	2.43	3.17					
176.5	30.0	32.0	31.25	36.75	32.0	3.4	3.4	3.4	3.6	3.6	10	60	100	120	110	0.38	0.86	1.61	2.42	3.03	7.50	6.08	4.35	3.58	2.27
178.3																	0.84	1.67	2.22	2.93					
197.5																	0.82	1.61	2.18	2.91					
214.5	28.5	30.5	29.5	30.0	30.25	3.6	3.4	3.4	3.6	3.8	0	60	80	80	110	0.43	0.84	1.77	2.34	2.97	8.12	6.08	4.35	3.72	2.54
220.5																	0.84	1.67	2.25	2.89					
266.5	30.75	32.5	32.0	32.25	32.5	3.6	3.4	3.4	3.4	3.4	10	70	70	70	80	0.63	0.97	1.98	2.45	2.90	8.73	6.65	4.54	3.84	2.88
269.7																	0.97	1.94	2.25	2.84					
288.5	32.0	32.0	31.25	31.75	32.0	3.8	3.6	3.4	3.2	3.4	10	50	100	100	80	0.37	0.87	1.73	2.27	2.78	8.56	6.96	4.83	3.92	3.02
293.6																	0.93	1.79	2.32	2.75					
311.0	30.6	32.25	31.5	31.75	32.0	3.6	3.6	3.4	3.4	3.4	0	50	70	70	70	0.37	1.14	1.81	2.27	2.75	8.27	6.45	4.84	4.13	2.95
314.7																	1.23	1.88	2.19	2.63					

ตารางที่ ข.6 แสดงอุณหภูมิ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณเชื้อ ร้อยละของกรดอะซิติก และร้อยละของเอธานอลต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3 และ 4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่อง โดยในชั่วโมงที่ 0-343 ใช้อัตราการเจือจางเท่ากับ 0.0250 ชม.$^{-1}$ จากนั้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 343 เป็นต้นไป มีการนำผลิตภัณฑ์จากถังเก็บน้ำหมักที่ 4 มาป้อนกลับสู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 โดยใช้อัตราส่วนการป้อนกลับจากถังเก็บน้ำหมักที่ 4 สู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 เป็น 1.00

TIME	TEMPERATURE (deg.C)					TOTAL DISSOLVED SOLID (%)					CONCENTRATION OF CELLS (x1000000 cell/cu.cm.)					% ACETIC ACID (w/v)					% ETHANOL (v/v)				
(hr.)	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4
0.0	29.5	30.5	31.0	31.5	30.0	4.4	6.2	5.4	5.2	4.8	39	229	290	184	126	0.22	2.34	3.34	4.41	4.95	7.29	6.48	2.96	0.93	0.00
23.0	26.5	28.0	28.5	29.0	26.0	4.8	5.6	5.4	5.4	4.8	360	256	378	238	126	0.85	1.92	3.07	4.55	5.53	5.95	6.17	2.89	0.26	0.00
47.5	27.5	26.0	28.5	29.0	28.0	4.4	5.0	5.2	5.2	5.0						0.62	1.71	2.90	4.38	5.45	6.02	5.80	3.38	0.86	0.00
72.0	28.0	28.5	29.0	29.5	28.5	4.6	5.0	5.0	5.2	5.0	318	402	464	244	170	0.85	1.65	2.77	4.17	5.28	6.39	5.43	3.73	1.33	0.00
79.0																	1.47	2.72	4.08	5.18					
95.5	27.0	27.5	28.0	28.0	27.5	5.0	5.0	5.0	5.2	5.2						0.84	1.47	2.47	3.89	4.99	6.42	5.30	3.73	1.60	0.00
124.0						5.2	5.4	5.4	5.4	5.2						0.93	1.57	2.36	3.72	4.73	5.99	4.82	3.39	1.66	0.00
147.5						5.8	5.2	5.2	5.4	5.4						0.90	1.47	2.33	3.39	4.48	5.99	5.24	3.39	2.01	0.33
171.0	26.0	27.0	26.0	28.5	27.0	5.8	5.2	5.2	5.2	5.4						0.90	1.75	2.58	3.57	4.62	6.36	4.95	2.97	1.74	0.46
175.0																	1.52	2.35	3.50	4.53					
216.0	25.5	24.5	25.0	24.5	24.0	5.6	5.8	5.4	5.4	5.4	249	319	388	325	178	1.13	1.87	2.60	3.67	4.60	5.55	4.75	2.33	1.34	0.37
223.0																	1.45	2.37	3.63	4.48					
239.5	25.5	25.5	25.0	26.5	25.0	5.6	5.8	5.4	5.4	5.4	215	460	440	252	309	0.68	1.45	2.37	3.55	4.45	7.05	5.76	3.16	1.47	0.49
247.0																	1.53	2.45	3.57	4.42					
263.5	25.5	26.0	26.5	27.0	25.5	5.4	5.2	5.2	5.2	5.4						0.78	1.66	2.69	3.71	4.62	7.42	5.31	2.49	1.20	0.00
269.5																	1.67	2.76	3.79	4.68					
293.0	28.5	29.0	29.5	30.0	28.5	5.4	5.6	5.0	5.0	5.0						1.00	2.11	3.20	4.00	4.75	6.54				
336.0	27.5	28.0	28.5	29.0	27.5	5.0	5.4	5.2	5.0	5.0	250	745	485	520	710	1.03	2.05	2.67	3.43	4.19	6.91	4.64			
342.0																	1.75	2.47	3.35	3.90					
343.0	27.5	26.0	28.5	29.0	27.5	5.0	5.4	5.2	5.0	5.0	250	745	485	520	710	1.03	1.75	2.47	3.35	3.90	6.91	4.64	2.89	1.47	0.40
359.5	28.0	29.0	27.5	30.0	28.5	5.4	5.0	5.0	5.0	5.0	410	605	550	625	545	0.68	2.18	2.73	3.22	3.58	7.05	5.72	2.48	1.46	0.99
367.0																	2.23	2.80	3.14	3.51					
383.5	27.5	28.5	29.0	29.5	28.0	4.6	5.0	5.0	5.0	5.0	420	725	520	1115	555	0.78	2.39	2.82	3.07	3.53	5.78	3.99	3.02	2.27	0.73
408.0	28.0	28.5	29.0	29.5	28.5	4.8	4.9	5.0	5.0	5.0	480	600	445	485	530	0.82	2.45	2.94	3.22	3.43	5.85	3.44	2.41	2.00	0.46
415.0																	2.23	2.68	3.17	3.27					
432.0	27.5	28.0	28.5	29.0	27.5	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	370	750	445	695	470	0.85	2.25	2.72	3.32	3.45	6.54	3.59	2.82	1.93	1.60
437.0																	2.20	2.63	3.10	3.47					
459.0	29.5	30.0	30.5	30.5	30.0	5.0	4.8	4.8	4.8	4.8						0.90	2.58	3.23	3.50	3.62	7.13				
477.0						5.0	5.0	5.0	5.0	4.8	390	600	580	600	545	0.74	2.28	2.68	3.17	3.37	6.98	4.06	3.16	2.14	1.89
480.5																	2.06	2.42	2.95	3.27					
503.0	28.0	28.0	28.5	29.0	28.0	5.2	4.8	4.8	4.9	5.0						0.78	2.33	2.54	3.09	3.43	7.05	3.23	2.95	2.07	1.46
512.0																	2.28	2.52	2.95	3.40					
527.0	27.5	28.0	28.5	29.0	29.0	4.4	5.0	4.8	4.8	4.8	380	415	390	435	410	0.80	2.35	2.50	2.90	3.55	6.23	3.72	3.08	2.27	1.19
535.0																	2.33	2.63	2.91	3.60					
551.0	27.5	28.5	29.0	29.5	28.0	4.0	4.4	4.8	4.8	4.8						0.75	2.28	2.61	2.92	3.53	5.79	3.24	2.82	2.20	1.13
558.5																	2.33	2.65	2.96	3.58					

ตารางที่ ข.7 แสดงอุณหภูมิ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณเชื้อ ร้อยละของกรดอะซิติก และร้อยละของเอธานอลต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3 และ 4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่อง โดยในชั่วโมงที่ 0-284 ใช้อัตราการเจือจางเท่ากับ 0.0250 ชม.$^{-1}$ จากนั้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 284 เป็นต้นไป มีการนำผลิตภัณฑ์จากถังเก็บน้ำหมักที่ 3 มาป้อนกลับสู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 โดยใช้อัตราส่วนการป้อนกลับจากถังเก็บน้ำหมักที่ 3 สู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 เป็น 1.00

TIME	TEMPERATURE (deg.C)					TOTAL DISSOLVED SOLID (B)					CONCENTRATION OF CELLS (x1000000 cell/cu.cm.)					% ACETIC ACID (w/v)					% ETHANOL (v/v)				
(hr.)	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4
0.0		29.5	30.0	30.0	29.5		4.6	4.6	4.6	4.8						0.96	2.32	3.45	3.71	4.23	7.97				
18.5	27.5	28.0	28.5	28.5	28.0	6.2	5.4	5.0	5.2	5.2						0.74	2.27	3.42	3.90	4.63	7.15	3.79	1.06	0.60	0.00
25.5		29.5	30.0	30.0	29.5		5.2	4.6	4.4	4.8							2.19	3.34	3.92	4.66					
42.5	27.5	28.0	28.5	28.5	28.0	5.8	5.4	5.0	5.0	5.0						0.90	1.99	3.16	3.96	5.01	7.31	4.66	2.00	0.46	0.00
50.0		30.5	31.0	31.5	30.5		5.0	4.6	4.6	4.6							1.82	3.09	4.12	4.93					
66.0	27.5	28.0	28.5	28.5	28.0	5.6	5.4	5.0	5.0	5.0						0.92	1.76	3.46	4.48	4.50	7.59	5.64	1.66	0.00	0.00
73.5		30.5	31.0	31.5	30.5		5.0	4.6	4.6	4.6							1.66	3.36	4.33	4.39					
91.0	28.5	29.0	29.5	30.0	29.0	5.4	5.2	5.0	5.0	5.0						0.96	1.63	3.19	4.23	4.56	6.75	4.63	2.14	0.00	0.00
99.5							5.0	4.6	4.6	4.6							1.56	2.97	4.01	4.50					
116.0	29.0	29.5	30.0	30.0	29.5	5.0	5.0	5.0	4.6	4.6						0.90	1.75	3.13	4.24	4.67	6.90				
140.5	29.0	29.5	30.0	30.0	29.5	6.4	5.2	5.0	4.8	4.6						1.37	1.77	2.95	4.10	4.56	5.64				
211.0	28.5	29.0	29.5	30.0	29.0	7.0	5.6	5.4	5.2	5.2						1.47	2.05	2.48	3.17	3.57	5.92	4.55	3.30	1.86	1.26
214.5		30.5	31.0	31.5	30.5		5.4	5.2	5.0	5.0							1.70	2.21	2.99	3.52					
218.0		31.0	31.5	32.0	31.0		5.4	5.2	5.0	5.0							1.56	2.15	2.93	3.49					
236.0	29.5	30.0	30.25	30.5	29.25	5.6	6.0	5.6	5.4	5.2						0.98	1.58	2.16	3.08	3.75	6.67	5.33	3.91	2.14	0.86
259.0	29.0	29.5	29.75	30.0	29.25	5.6	6.0	5.6	5.4	5.2						1.03	1.74	2.23	3.16	4.02	6.37	5.06	3.59	1.80	0.33
266.5							5.8	5.4	5.2	5.2							1.55	2.11	2.94	3.95					
282.5	29.0	29.5	29.75	30.0	29.25	5.0	5.6	5.6	5.6	5.4						0.54	1.61	2.23	3.06	3.92	7.05	5.20	3.72	2.20	0.66
284.0																									
288.5		31.0	31.25	31.5	30.75		5.4	5.2	5.2	5.2							1.58	2.05	2.92	3.73					
308.5	29.5	30.0	30.25	30.5	29.75	5.4	5.4	5.4	5.4	5.4						1.15	2.11	2.26	3.05	3.90					
330.0	29.0	29.5	29.75	30.0	29.25	5.4	5.6	5.4	5.4	5.4	485	560	705	445	610	0.95	2.21	2.19	3.09	3.39	6.47	3.78	3.72	2.00	1.39
335.0		30.5	30.75	31.0	30.25		5.2	5.2	5.2	5.2							1.89	2.08	2.95	3.19					
354.5	29.0	29.5	29.75	30.0	29.25	6.0	5.4	5.4	5.4	5.4	265	665	640	525	465	0.95	2.04	2.29	2.86	3.40					
358.5		30.5	30.75	31.0	30.25		5.2	5.2	5.2	5.2							1.94	2.13	2.68	3.33	6.54	4.20	3.72	2.54	1.59
361.5							5.2	5.2	5.2	5.2							1.92	2.11	2.64	3.32					
378.0	29.0	29.5	29.75	30.0	29.25	5.8	5.4	5.4	5.4	5.4	400	600	570	500	530	1.07	2.05	2.30	2.71	3.45	6.47	4.21	3.78	2.27	1.32
383.0		29.75	30.0	30.25	29.5		5.4	5.4	5.4	5.4							1.90	2.19	2.53	3.28					

ตารางที่ ข.8 แสดงอุณหภูมิ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณเชื้อ ร้อยละของกรดอะซิติก และร้อยละของเอธานอลต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3 และ 4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่อง โดยกำหนดให้จุดที่เริ่มทำการป้อนย้อนกลับเป็น ชั่วโมงที่ 0 ใช้อัตราการเจือจาง 0.0250 ชม.$^{-1}$ อัตราส่วนการป้อนกลับจากถังเก็บน้ำหมักที่ 4 สู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 เป็น 1.00

TIME (hr.)	TEMPERATURE (deg.C)					TOTAL DISSOLVED SOLID (%)					CONCENTRATION OF CELLS (x1000000 cell/cu.cm.)					% ACETIC ACID (w/v)					% ETHANOL (v/v)				
	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4
0.0	27.5	28.0	28.5	29.0	27.5	5.0	5.4	5.2	5.0	5.0	250	745	485	520	710	1.03	1.75	2.47	3.35	3.99	6.91	4.64	2.89	1.47	0.40
15.5	28.0	29.0	29.5	30.0	28.5	5.4	5.0	5.0	5.0	5.0	410	605	550	625	545	0.68	2.19	2.73	3.22	3.58	7.05	3.72	2.48	1.66	0.99
24.0																	2.23	2.80	3.14	3.51					
40.5	27.5	28.5	29.0	29.5	28.0	4.6	5.0	5.0	5.0	5.0	420	725	520	1115	555	0.78	2.39	2.82	3.07	3.53	5.78	3.99	3.02	2.27	0.73
65.0	28.0	28.5	29.0	29.5	28.5	4.8	4.8	5.0	5.0	5.0	490	600	445	485	530	0.82	2.45	2.94	3.22	3.43	5.85	3.44	2.41	2.00	0.46
72.0																	2.23	2.68	3.17	3.27					
89.0	27.5	28.0	28.5	29.0	27.5	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	370	750	445	695	470	0.85	2.25	2.72	3.32	3.45	6.54	3.59	2.82	1.93	1.60
94.0																	2.20	2.63	3.10	3.47					
116.0	29.5	30.0	30.5	30.5	30.0	5.0	4.8	4.8	4.8	4.8						0.90	2.58	3.23	3.50	3.62	7.13				
136.0						5.0	5.0	5.0	5.0	4.8	390	600	580	600	545	0.74	2.28	2.58	3.17	3.37	6.96	4.06	3.16	2.14	1.83
137.5																	2.06	2.42	2.95	3.27					
160.0	28.0	28.0	28.5	29.0	28.0	5.2	4.8	4.8	4.8	5.0						0.78	2.33	2.54	3.09	3.43	7.05	3.23	2.95	2.07	1.46
169.0																	2.28	2.52	2.95	3.40					
184.0	27.5	28.0	28.5	29.0	28.0	4.4	5.0	4.8	4.6	4.8	380	415	390	435	410	0.80	2.35	2.50	2.90	3.55	6.23	3.72	3.08	2.27	1.19
192.0																	2.33	2.63	2.91	3.60					
208.0	27.5	28.5	29.0	29.5	28.0	4.0	4.4	4.6	4.8	4.8						0.75	2.28	2.61	2.92	3.53	5.79	3.24	2.82	2.20	1.13
215.5																	2.33	2.55	2.96	3.58					

ตารางที่ ข.9 แสดงอุณหภูมิ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณเชื้อ ร้อยละของกรดอะซิติก และร้อยละของเอธานอลต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมัก ที่ 1,2,3 และ 4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่อง โดยกำหนดให้จุดที่เริ่มทำการป้อนย้อนกลับเป็นชั่วโมงที่ 0 ใช้อัตราการเจือจาง 0.0310 ชม.$^{-1}$ อัตราส่วนการป้อนกลับจากถังเก็บน้ำหมักที่ 4 สู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 เป็น 0.81

TIME	TEMPERATURE (deg.C)					TOTAL DISSOLVED SOLID (B)					CONCENTRATION OF CELLS (x1000000 cell/cu.cm.)					% ACETIC ACID (w/v)					% ETHANOL (v/v)				
(hr.)	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4
0.0	27.5	28.0	28.25	28.5	27.75	3.0	4.2	4.2	4.2	4.2		595	260	535	505	0.54	2.15	2.57	3.04	4.13	6.10	3.73	2.89	2.41	0.00
3.0		30.25	30.5	30.75	30.0		3.8	4.0	4.0	4.0							2.16	2.26	2.65	4.13					
23.5		29.25	29.5	29.75	29.0		3.8	4.0	4.0	4.0							2.13	2.43	2.67	4.35					
45.5	28.0	28.5	28.75	29.0	28.25	3.2	3.8	4.0	4.0	4.0	85	335	250	495	175	0.24	1.94	2.25	2.65	3.43	5.12	3.65	3.16	2.61	1.26
53.0		30.25	30.5	30.75	30.0		3.6	3.8	4.0	4.0							1.82	2.22	2.58	3.24					
69.0	27.5	28.25	28.5	28.75	28.0	3.4	3.6	3.8	4.0	4.0	200	360	70	160	310	0.25	1.77	2.11	2.50	2.99	5.98	3.25	2.97	2.14	1.73
77.0		30.25	30.5	30.75	30.0		3.6	3.6	3.8	3.8							1.70	2.01	2.47	2.86					
93.0	28.5	29.0	29.25	29.5	28.75	3.4	3.6	3.6	3.8	3.8	235	245	275	590	160	0.34	1.65	2.01	2.52	2.80	6.75	4.42	3.58	2.95	2.54
101.0		31.0	31.25	31.5	30.75		3.6	3.6	3.8	3.8							1.65	2.00	2.41	2.72					
117.0	28.5	29.25	29.5	29.75	29.0	3.4	3.6	3.6	3.8	3.8	150	335	230	155	370	0.47	1.71	1.89	2.34	2.65	5.84	3.84	3.78	3.02	2.66
125.0		31.0	31.25	31.5	30.75		3.6	3.6	3.8	3.8							1.64	1.84	2.34	2.57					
143.0	29.0	29.75	30.0	30.25	29.5	3.2	3.4	3.4	3.4	3.6						0.58	1.60	1.92	2.36	2.56	4.83				
166.0	29.0	29.75	30.0	30.25	29.5	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	350	220	280	255	195	0.40	1.60	1.75	2.22	2.49	6.50	4.27	3.92	3.09	2.54
191.5	29.5	30.25	30.5	30.75	30.0	3.2	3.4	3.4	3.4	3.6						0.47	1.94	2.08	2.40	2.54	5.92				
215.0	29.5	30.5	30.75	31.0	30.25	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	275	160	350	335	220	0.45	1.73	1.75	2.00	2.36	6.07	3.30	3.30	2.82	2.48
221.0		31.0	31.25	31.5	30.75		3.4	3.4	3.4	3.4							1.45	1.60	1.83	2.25					
238.0	29.5	30.25	30.5	30.75	30.0	4.0	3.4	3.4	3.4	3.4	445	285	330	540	265	0.53	1.45	1.68	1.94	2.25	7.03	3.98	3.64	3.22	2.54
244.0		31.0	31.25	31.5	30.75		3.4	3.4	3.4	3.4							1.37	1.57	1.90	2.22					
261.5	29.25	30.0	30.25	30.5	29.75	4.0	3.6	3.4	3.4	3.4	495	330	160	245	260	0.50	1.40	1.62	1.96	2.27	7.21	4.20	3.58	2.82	2.68
270.0		31.0	31.25	31.5	30.75		3.6	3.4	3.4	3.4							1.39	1.57	1.91	2.22					
286.0		30.0	30.25	30.50	29.75		3.6	3.4	3.4	3.4							1.52	1.65	2.04	2.38					

ตารางที่ ข.10 แสดงอุณหภูมิ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณเชื้อ ร้อยละของกรดอะซิติก และร้อยละของเอธานอลต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3 และ 4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่อง โดยกำหนดให้จุดที่เริ่มทำการป้อนย้อนกลับเป็นชั่วโมงที่ 0 ใช้อัตราการเจือจาง 0.0250 ชม.$^{-1}$ อัตราส่วนการป้อนกลับจากถังเก็บน้ำหมักที่ 3 สู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 เป็น 1.00

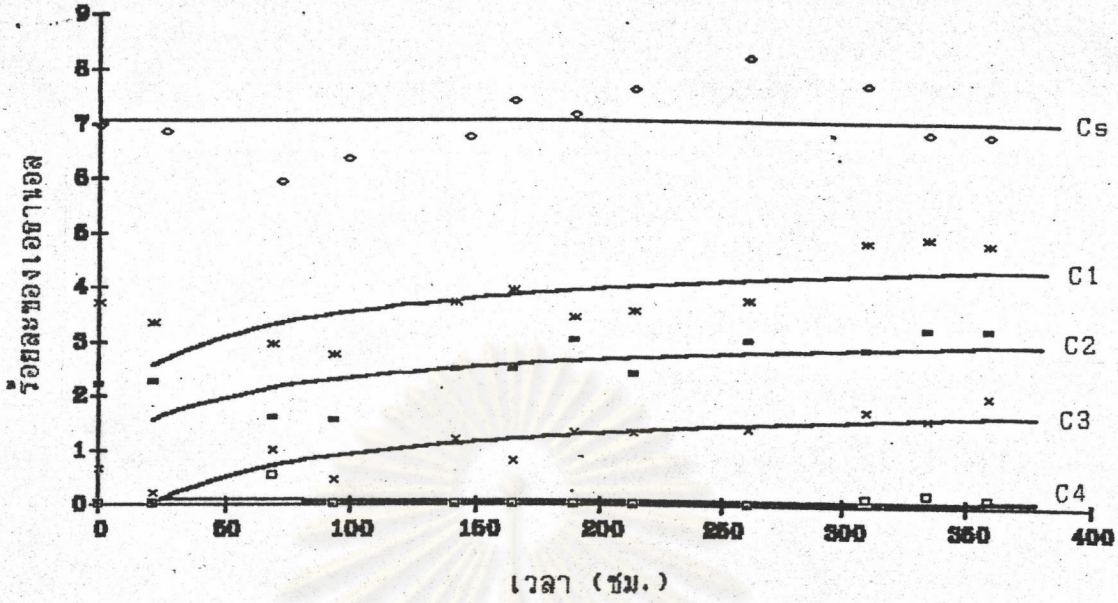
TIME	TEMPERATURE (deg.C)					TOTAL DISSOLVED SOLID (%)					CONCENTRATION OF CELLS (x1000000 cell/cu.cm.)					% ACETIC ACID (w/v)					% ETHANOL (v/v)				
(hr.)	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4
0.0																									
4.5		31.0	31.25	31.5	30.75		5.4	5.2	5.2	5.2							1.58	2.05	2.92	3.73					
24.5	29.5	30.0	30.25	30.5	29.75	5.4	5.4	5.4	5.4	5.4						1.15	2.11	2.26	3.05	3.90					
46.0	29.0	29.5	29.75	30.0	29.25	5.4	5.6	5.4	5.4	5.4	485	560	705	445	610	0.95	2.21	2.19	3.09	3.39	6.47	3.79	3.72	2.00	1.39
51.0		30.5	30.75	31.0	30.25		5.2	5.2	5.2	5.2							1.69	2.08	2.95	3.19					
70.5	29.0	29.5	29.75	30.0	29.25	6.0	5.4	5.4	5.4	5.4	255	665	640	525	485	0.95	2.04	2.29	2.86	3.40					
74.5		30.5	30.75	31.0	30.25		5.2	5.2	5.2	5.2							1.94	2.13	2.69	3.33	6.54	4.29	3.72	2.54	1.59
77.5							5.2	5.2	5.2	5.2							1.92	2.11	2.64	3.32					
94.0	29.0	29.5	29.75	30.0	29.25	5.8	5.4	5.4	5.4	5.4	400	600	570	500	530	1.07	2.05	2.30	2.71	3.45	6.47	4.21	3.78	2.27	1.32
99.0		29.75	30.0	30.25	29.5		5.4	5.4	5.4	5.4							1.90	2.19	2.53	3.28					

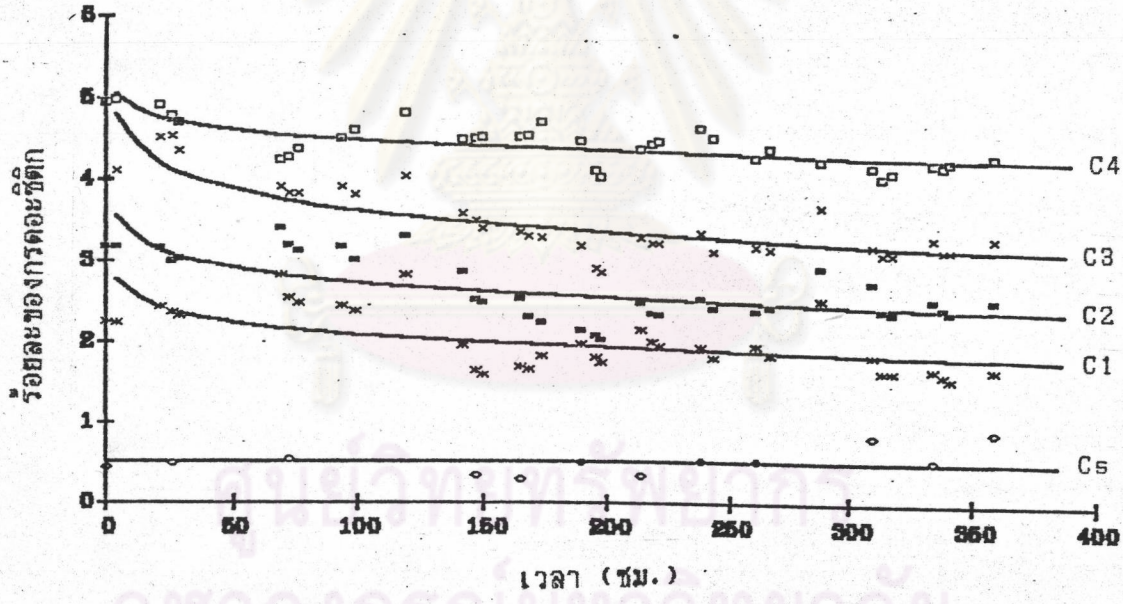
ตารางที่ ข.11 แสดงอุณหภูมิ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณเชื้อ ร้อยละของกรดอะซิติก และร้อยละของเอธานอลต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3 และ 4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่อง โดยกำหนดให้จุดที่เริ่มทำการป้อนย้อนกลับเป็น ชั่วโมงที่ 0 ใช้อัตราการเจือจาง 0.0350 ชม.$^{-1}$ อัตราส่วนการป้อนกลับจากถังเก็บน้ำหมักที่ 3 สู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 เป็น 0.71

TIME (hr.)	TEMPERATURE (deg.C)					TOTAL DISSOLVED SOLID (B)					CONCENTRATION OF CELLS (x1000000 cell/cu.cm.)					% ACETIC ACID (w/v)					% ETHANOL (v/v)				
	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4
0.0	29.0	29.75	30.0	30.25	29.5	5.8	5.4	5.4	5.4	5.4	400	600	570	500	530	1.07	1.90	2.19	2.53	3.28	6.47	4.36	3.92	3.02	1.73
2.5		30.0	30.25	30.5	29.75		5.4	5.4	5.4	5.4							1.85	2.16	2.55	3.30					
18.5	29.0	29.5	29.75	30.0	29.25	5.6	5.4	5.4	5.4	5.4	410	1315	840	775	850	0.79	1.83	2.13	2.53	3.24	7.36	4.36	3.92	3.02	1.73
22.0		29.75	30.0	30.25	29.5		5.4	5.4	5.4	5.4							1.75	2.04	2.37	3.20					
27.0		30.5	30.75	31.0	30.25		5.4	5.4	5.4	5.4							1.65	2.00	2.35	3.25					
42.0	28.5	29.25	29.5	29.75	29.0	5.2	5.4	5.4	5.6	5.6	440	805	520	595	640	0.97	1.75	1.99	2.29	3.39	6.68	5.42	4.46	3.65	1.46
47.0		30.5	30.75	31.0	30.25		5.4	5.4	5.4	5.4							1.63	1.91	2.27	3.23					
50.5		31.0	31.25	31.5	30.75		5.4	5.4	5.4	5.4							1.56	1.85	2.21	3.25					
67.5	29.0	29.5	29.75	30.0	29.25	7.4	5.6	5.6	5.6	5.4					735	0.43	1.61	1.85	2.25	3.22	6.30	5.27	4.70	3.85	2.00
95.5	30.0	31.0	31.25	31.5	30.75	7.2	5.6	5.4	5.4	5.4	225	525	630	580		0.50	1.99	2.07	2.47	3.23	6.23				

ตารางที่ ข.12 แสดงอุณหภูมิ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณเชื้อ ร้อยละของกรดอะซิติก และร้อยละของเอธานอลต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3 และ 4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่อง โดยกำหนดให้จุดที่เริ่มทำการป้อนย้อนกลับเป็นชั่วโมงที่ 0 ใช้อัตราการเจือจาง 0.0395 ชม.$^{-1}$ อัตราส่วนการป้อนกลับจากถังเก็บน้ำหมักที่ 3 สู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 เป็น 0.54

TIME	TEMPERATURE (deg.C)					TOTAL DISSOLVED SOLID (%)					CONCENTRATION OF CELLS (x1000000 cell/cu.cm.)					% ACETIC ACID (w/v)					% ETHANOL (v/v)				
(hr.)	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4	Cs	C1	C2	C3	C4
0.0	30.5	31.0	31.25	31.5	30.75	4.6	4.6	4.8	4.8	4.8	230	415	620	605	495	0.83	2.02	2.26	2.94	3.29	6.74	4.66	3.30	1.93	1.13
18.0		29.75	30.0	30.25	29.5		4.6	4.8	5.0	5.0		420	455	630	655		1.73	2.05	2.70	3.34		4.72	3.79	2.62	1.26
21.0						4.0					220					0.38					8.40				
25.5		30.75	31.0	31.25	30.5		4.4	4.6	4.8	4.8							1.59	1.95	2.50	3.32					
42.0	29.0	29.75	30.0	30.25	29.5	4.4	4.6	4.6	4.8	4.8	380	590	530	575	765	0.82	1.50	1.87	2.39	3.34	8.16	4.43	3.79	2.76	0.79
49.0		30.75	31.0	31.25	30.5		4.4	4.6	4.8	4.8							1.44	1.70	2.23	2.88					
66.5	29.5	30.0	30.25	30.5	29.75	4.4	4.4	4.6	4.6	4.6	185	520	1000	1595	785	0.30	1.39	1.76	2.24	3.02	8.76	5.84	4.78	3.52	1.67
69.5		30.5	30.75	31.0	30.25		4.4	4.4	4.6	4.6							1.25	1.62	2.21	2.90					
74.0		30.25	30.5	30.75	30.0		4.4	4.4	4.6	4.6							1.25	1.58	2.18	3.04					
90.0	29.5	30.0	30.25	30.5	29.75	4.2	4.4	4.6	4.6	4.6	215	540	1270	615	595	0.26	1.30	1.62	2.12	3.04	7.99	6.09	5.06	3.93	1.80
97.5		30.75	31.0	31.25	30.5		4.2	4.2	4.4	4.4							1.21	1.53	1.83	3.05					
115.0	29.0	29.75	30.0	30.25	29.5	4.2	4.2	4.4	4.6	4.6	200	290	770	505	1065	0.23	1.27	1.55	1.94	2.96	7.90	6.16	5.06	4.14	1.86
120.0		31.25	31.5	31.75	31.0		4.2	4.2	4.2	4.2							1.19	1.50	1.82	2.90					
141.5		30.75	31.0	31.25	30.5		4.2	4.2	4.2	4.2							1.42	1.62	1.88	2.76					
164.5	30.0	30.5	30.75	31.0	30.25	4.2	4.2	4.2	4.4	4.4	210	565	290	305	425	0.20	1.24	1.51	1.74	2.51	7.44	6.00	5.93	4.77	3.23
170.0		31.25	31.5	31.75	31.0		4.2	4.2	4.2	4.2		320	545	375	825		1.02	1.30	1.62	2.42					
186.5	28.5	29.25	29.5	29.75	29.0		4.0	4.0	4.0	4.0							1.04	1.35	1.69	2.47	7.44	5.80	5.29	4.79	3.03



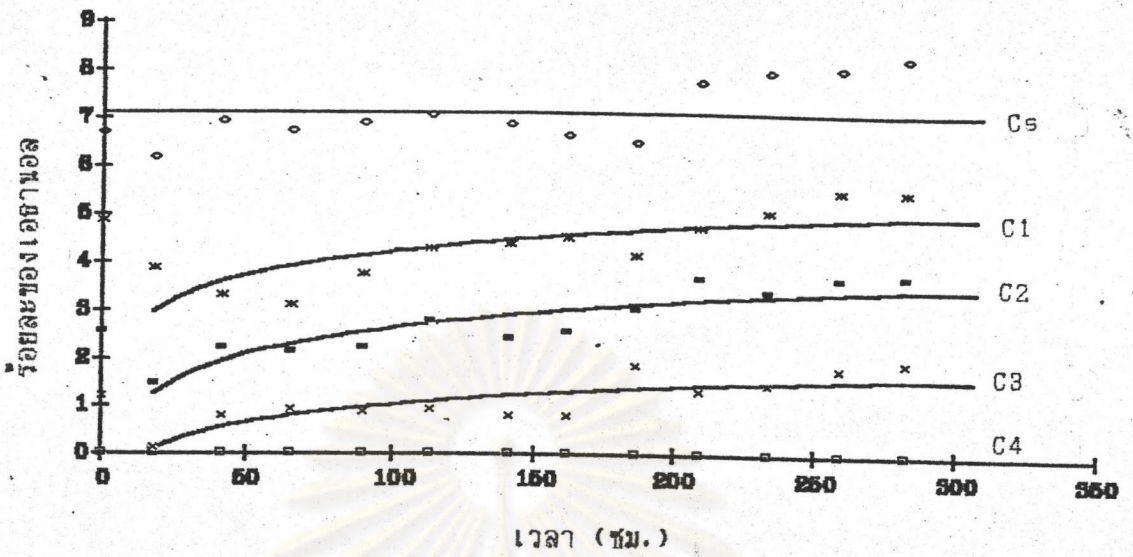


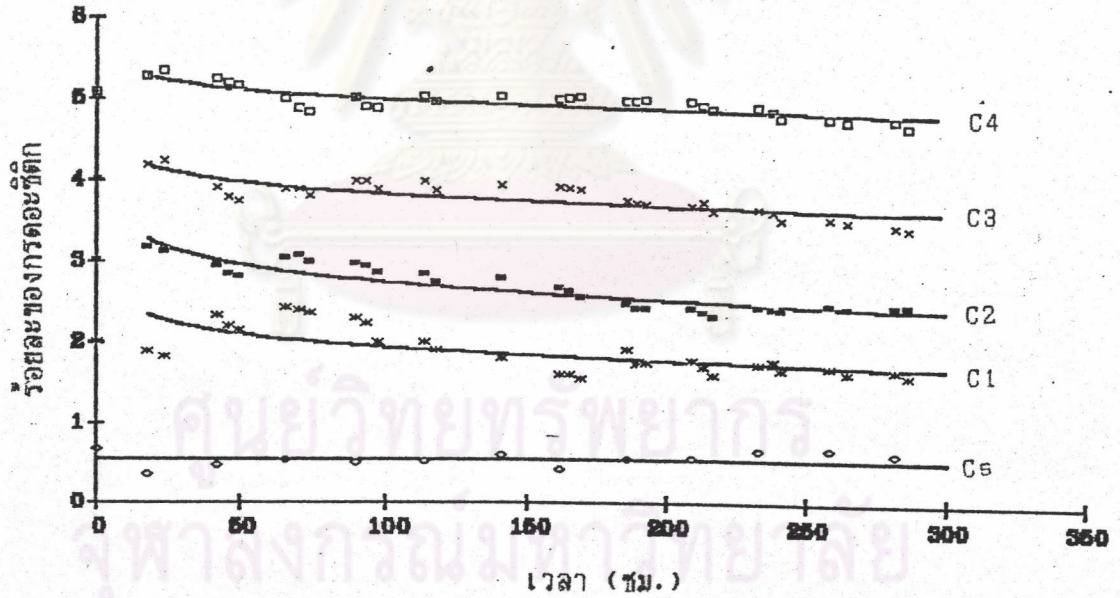
รูปที่ ข.1 แสดงปริมาณเอธานอลและกรดอะซิติกต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3,4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่องโดยใช้อัตราการเจือจาง 0.0225 ชม.$^{-1}$

สัญลักษณ์ : Cs แทน ถังเก็บไวน์

C1,C2,C3,C4 แทน ถังเก็บน้ำหมักที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



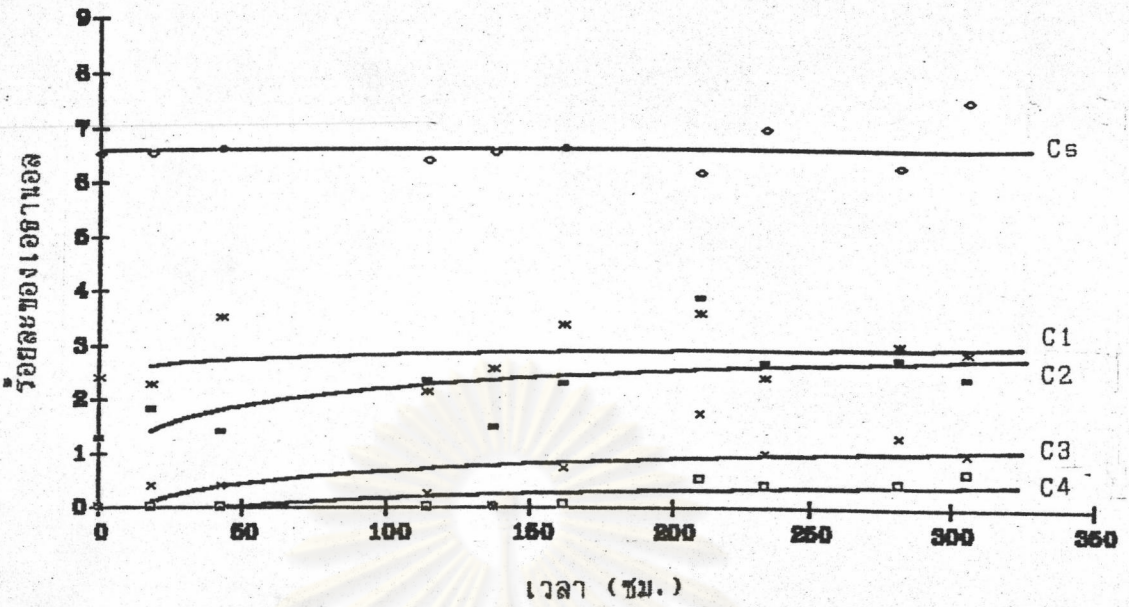


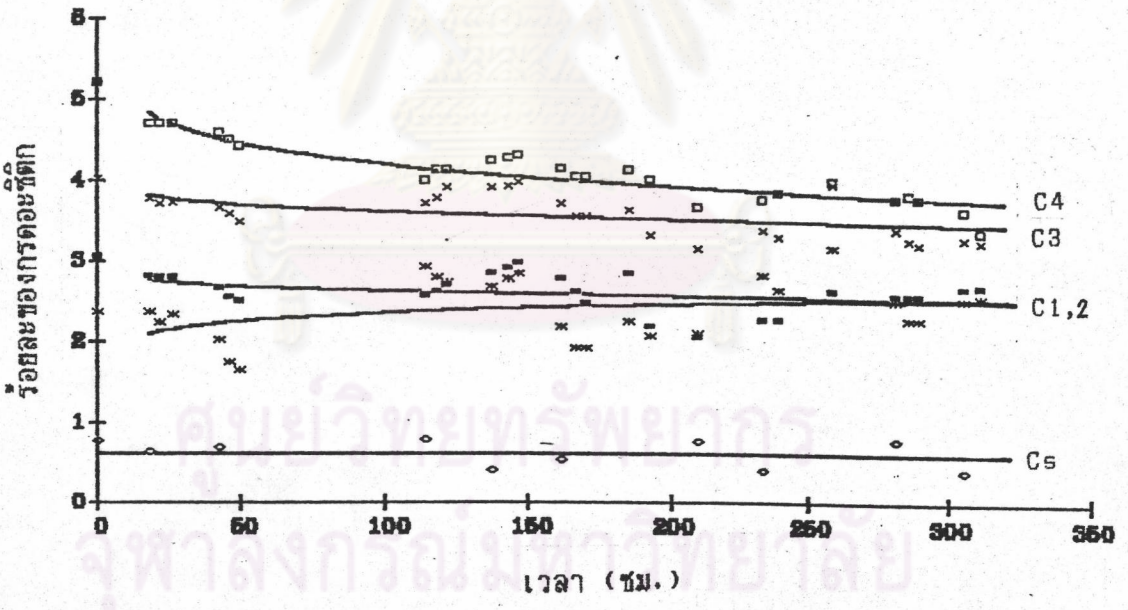
รูปที่ ข.2 แสดงปริมาณเอธานอลและกรดอะซิติกต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3,4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่องโดยใช้อัตราการเจือจาง 0.0225 ชม. $^{-1}$ (ทำการทดลองซ้ำ)

สัญลักษณ์ : Cs แทน ถังเก็บไวน์

C1,C2,C3,C4 แทน ถังเก็บน้ำหมักที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

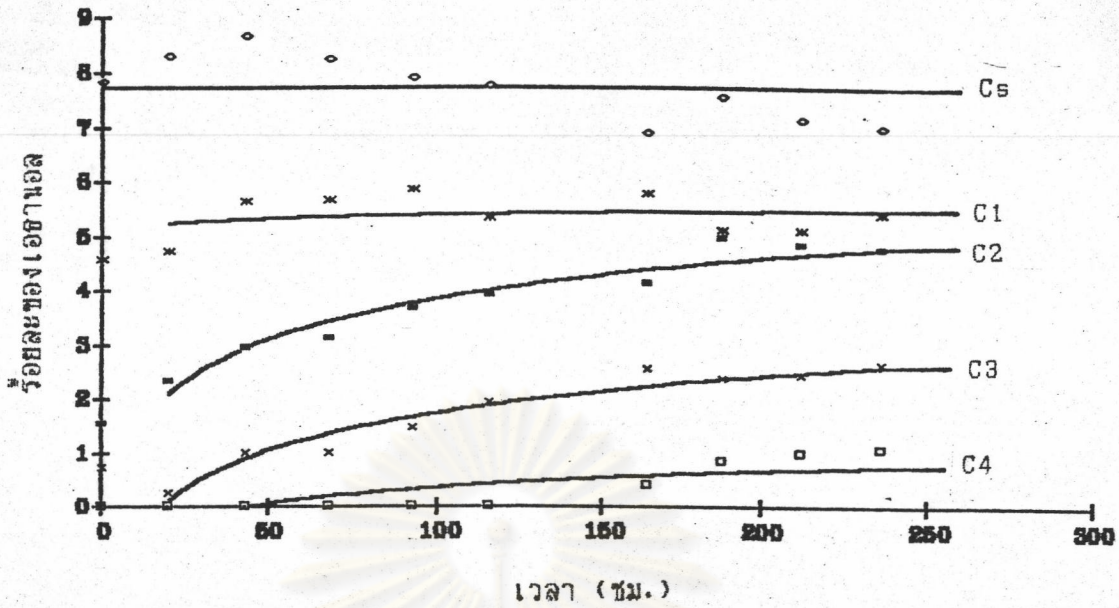


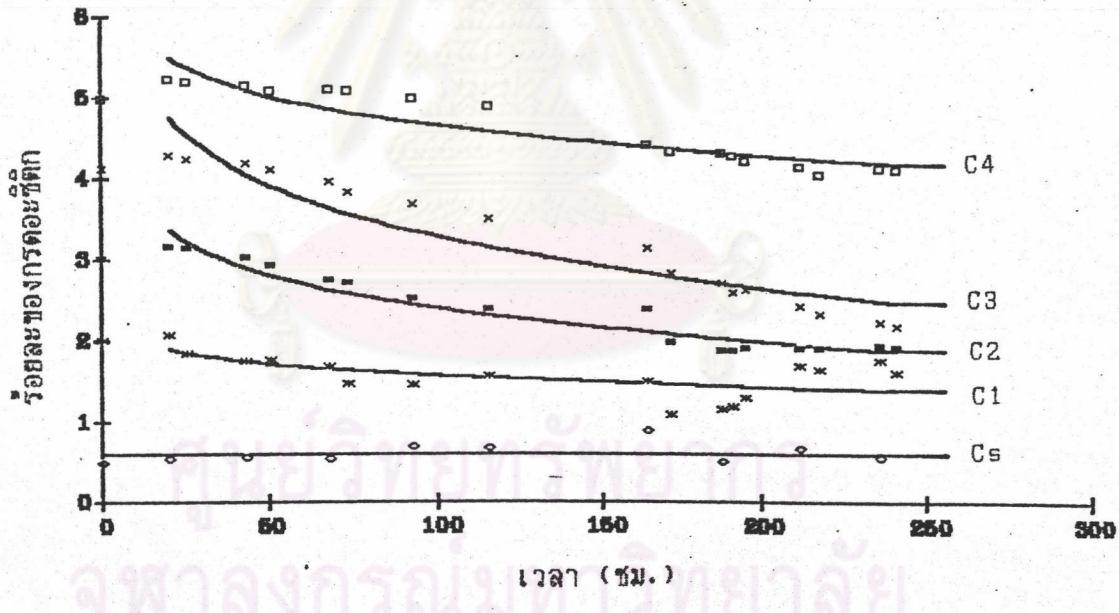


รูปที่ ข.3 แสดงปริมาณเอธานอลและกรดอะซิติกต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3,4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่องโดยใช้อัตราการเจือจาง 0.0250 ชม.$^{-1}$

สัญลักษณ์ : Cs แทน ถังเก็บไวน์

C1,C2,C3,C4 แทน ถังเก็บน้ำหมักที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ



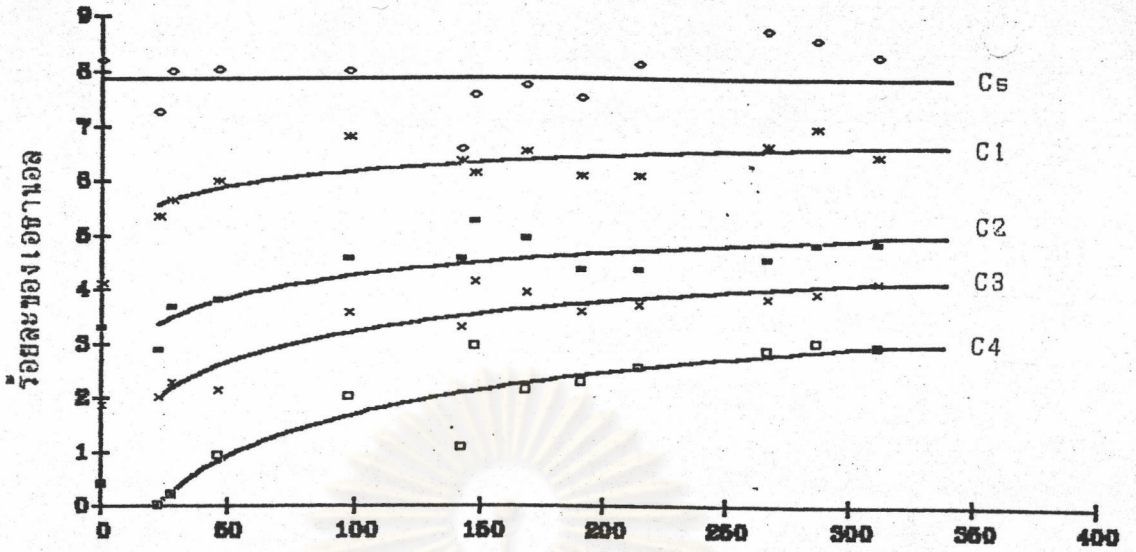


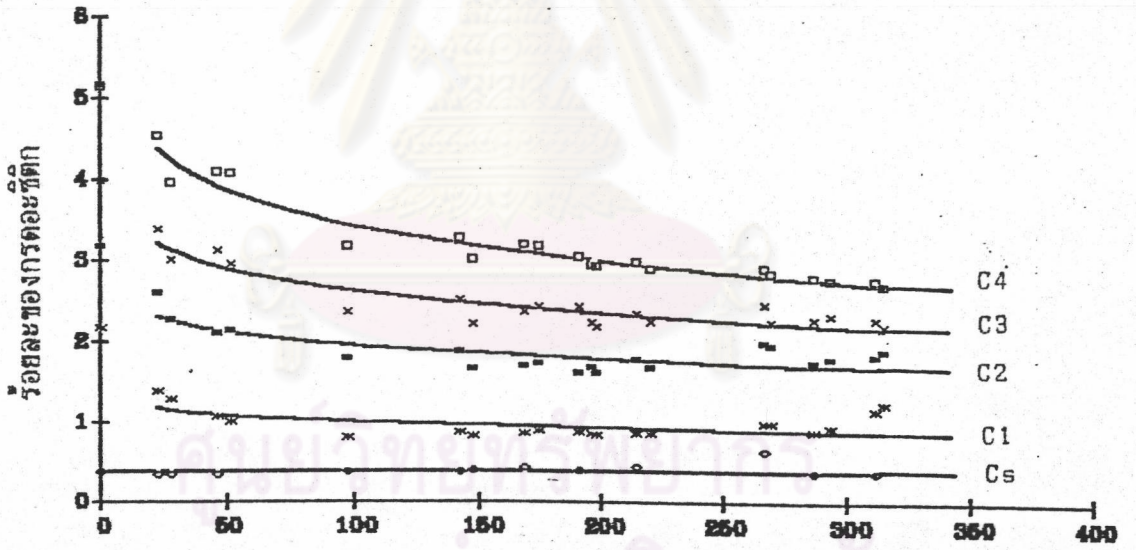
รูปที่ ข.4 แสดงปริมาณเอธานอลและกรดอะซิติกต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3,4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่องโดยใช้อัตราการเจือจาง 0.0250 ชม. $^{-1}$ (ทำการทดลองซ้ำ)

สัญลักษณ์ : Cs แทน ถังเก็บไวน์

C1,C2,C3,C4 แทน ถังเก็บน้ำหมักที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



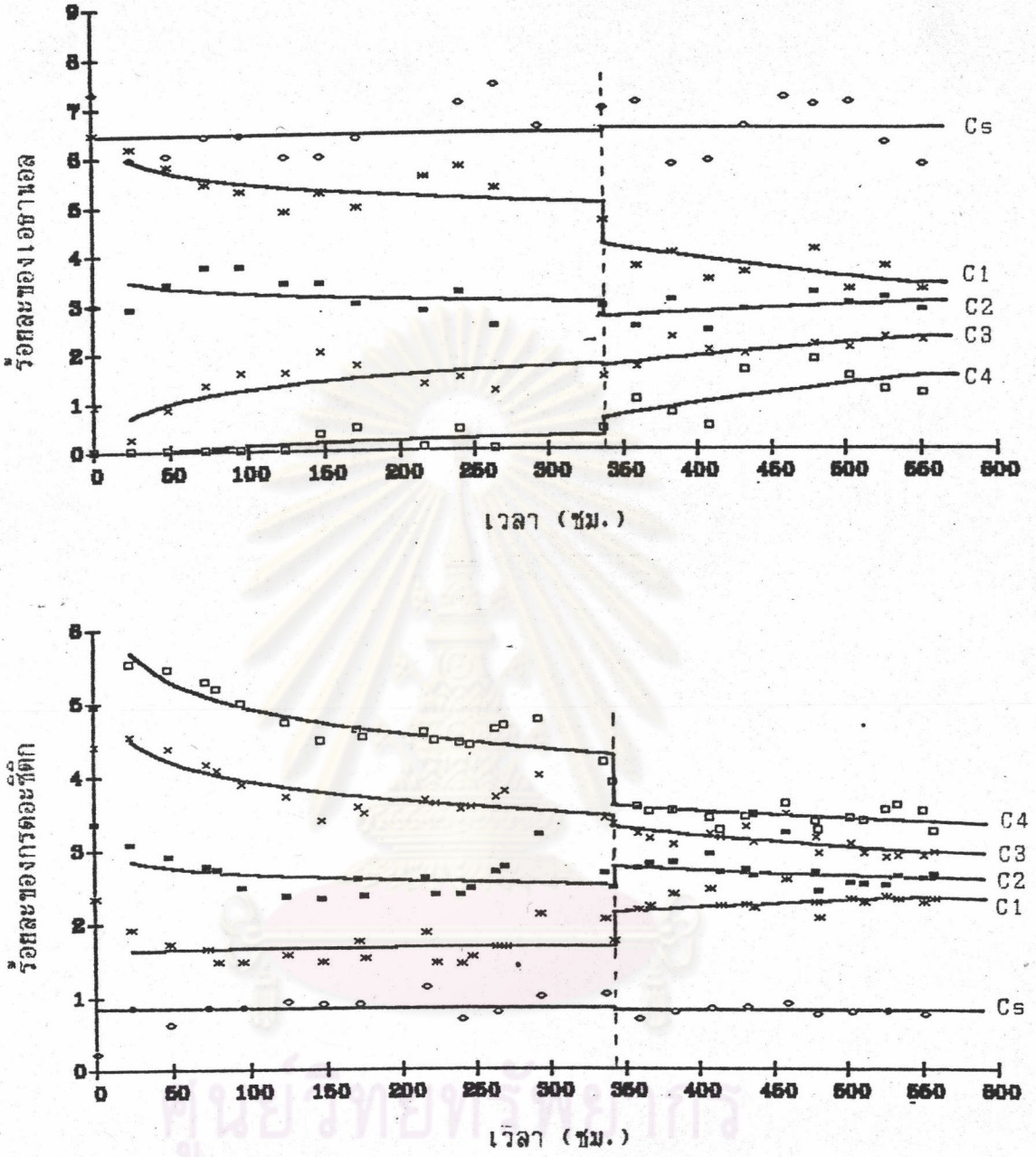


รูปที่ ข.5 แสดงปริมาณเอธานอลและกรดอะซิติกต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3,4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่องโดยใช้อัตราการเจือจาง 0.0350 ชม.$^{-1}$

สัญลักษณ์ : Cs แทน ถังเก็บไวน์

C1,C2,C3,C4 แทน ถังเก็บน้ำหมักที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ

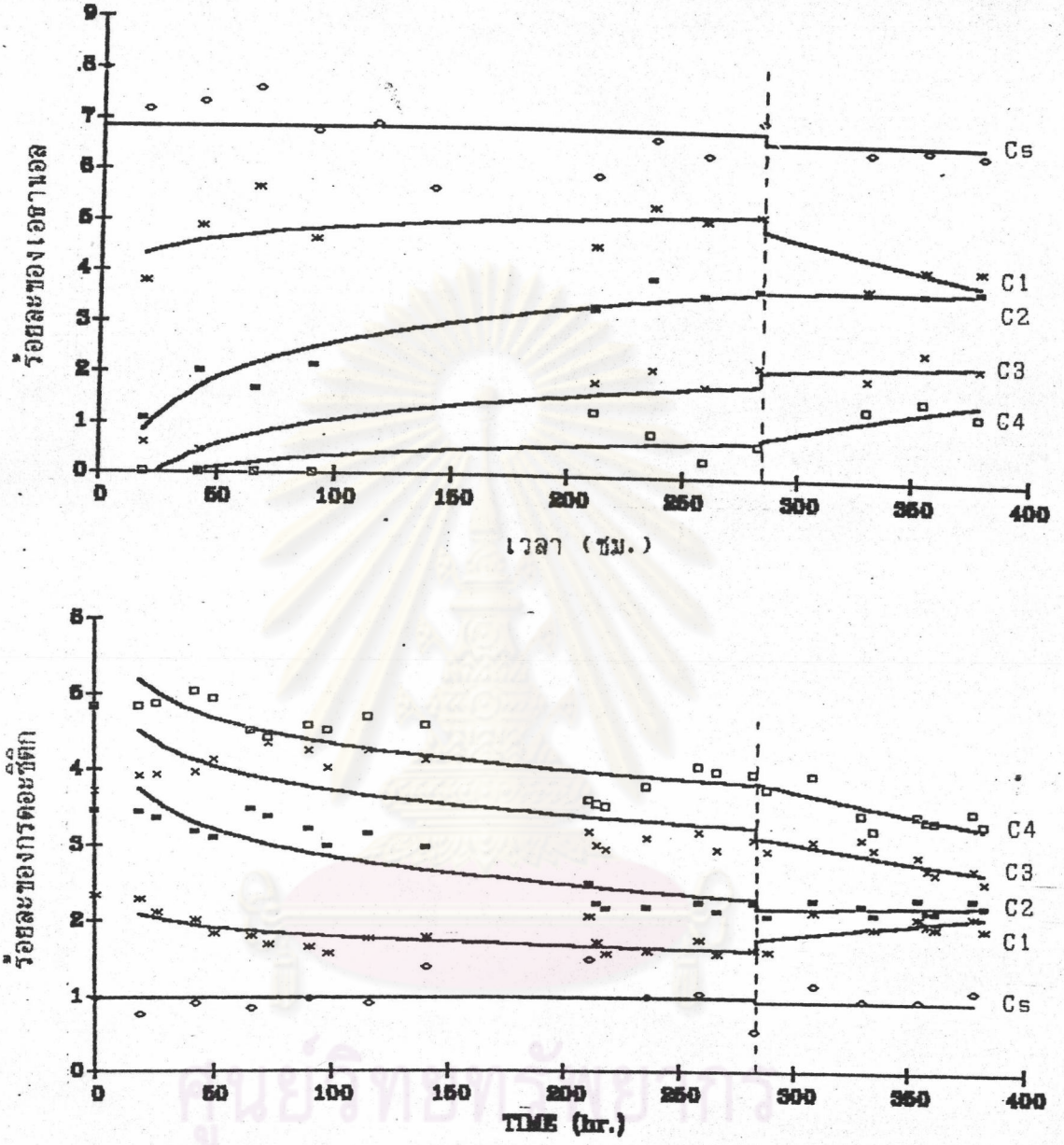
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ ข.6 แสดงปริมาณเอธานอลและกรดอะซิติกต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3,4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่องโดยในชั่วโมงที่ 0-343 ใช้อัตราการเจือจางเท่ากับ 0.0250 ชม.$^{-1}$ จากนั้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 343 เป็นต้นไป มีการนำผลิตภัณฑ์จากถังเก็บน้ำหมักที่ 4 มาป้อนกลับสู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 โดยใช้อัตราส่วนการป้อนกลับจากถังเก็บน้ำหมักที่ 4 สู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 เป็น 1.00

สัญลักษณ์ : Cs แทน ถังเก็บไวน์

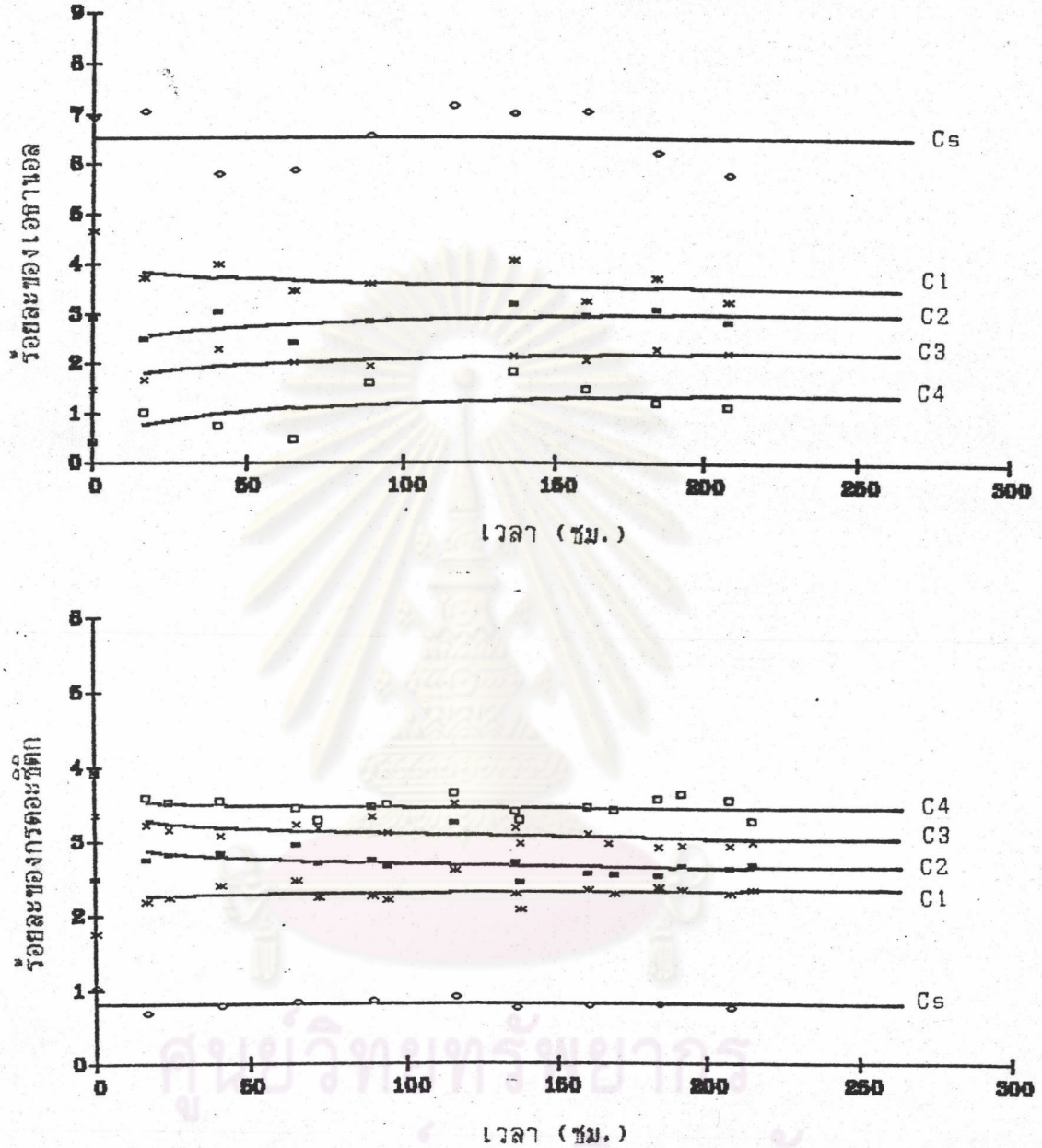
C1,C2,C3,C4 แทน ถังเก็บน้ำหมักที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ



รูปที่ ข.7 แสดงปริมาณเอธานอลและกรดอะซิติกต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3,4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่องโดยในชั่วโมงที่ 0-284 ใช้อัตราการเจือจางเท่ากับ 0.0250 ชม.$^{-1}$ จากนั้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 284 เป็นต้นไป มีการนำผลิตภัณฑ์จากถังเก็บน้ำหมักที่ 3 มาป้อนกลับสู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 โดยใช้อัตราส่วนการป้อนกลับจากถังเก็บน้ำหมักที่ 3 สู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 เป็น 1.00

สัญลักษณ์ : Cs แทน ถังเก็บไวน์

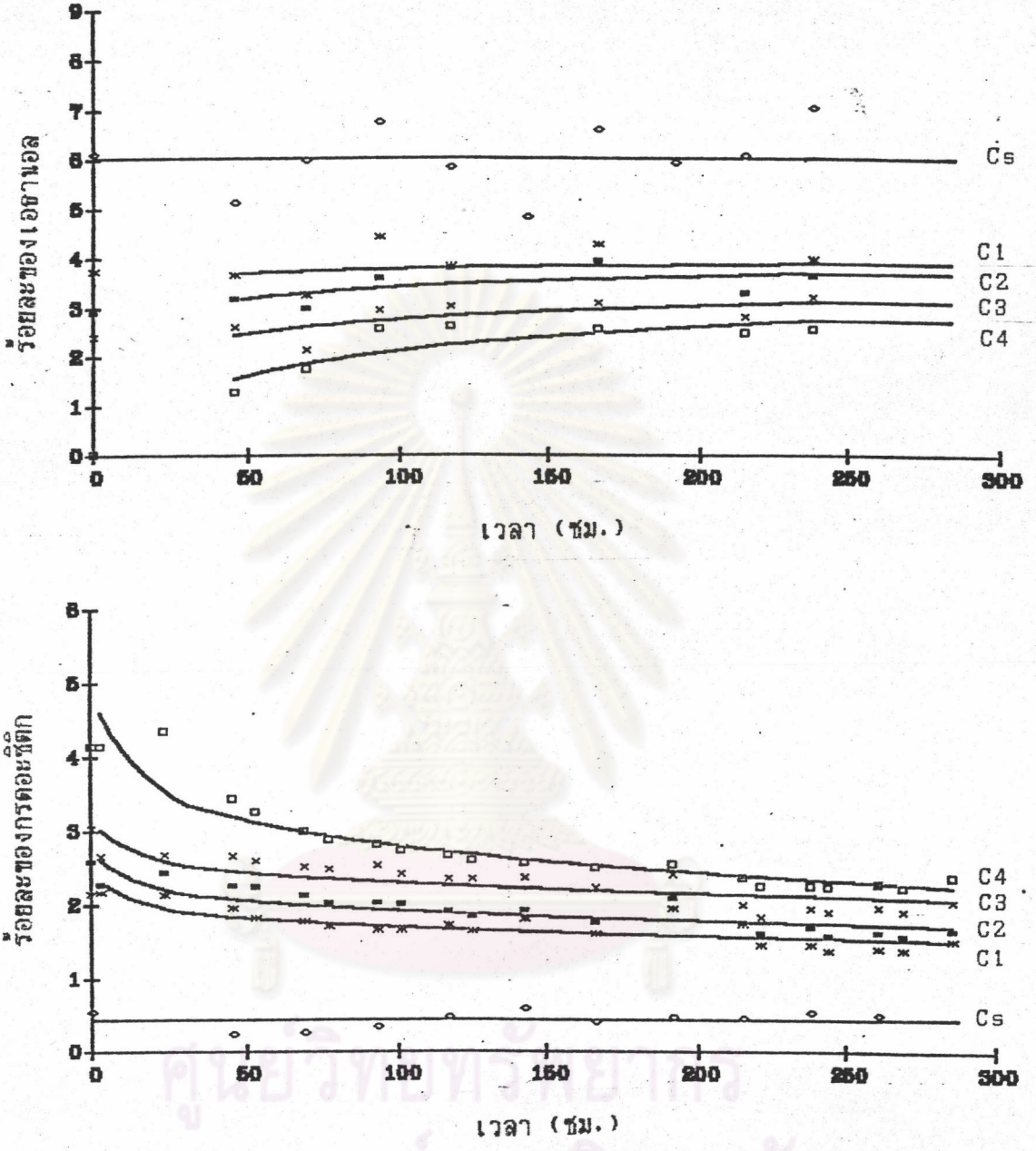
C1,C2,C3,C4 แทน ถังเก็บน้ำหมักที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ



รูปที่ ข.8 แสดงปริมาณเอธานอลและกรดอะซิติกต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3,4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่องโดยกำหนดให้จุดที่เริ่มทำการป้อนย้อนกลับเป็นชั่วโมงที่ 0 ใช้อัตราการเจือจางเท่ากับ 0.0250 ชม.$^{-1}$ อัตราส่วนการป้อนกลับจากถังเก็บน้ำหมักที่ 4 สู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 เป็น 1.00

สัญลักษณ์ : Cs แทน ถังเก็บไวน์

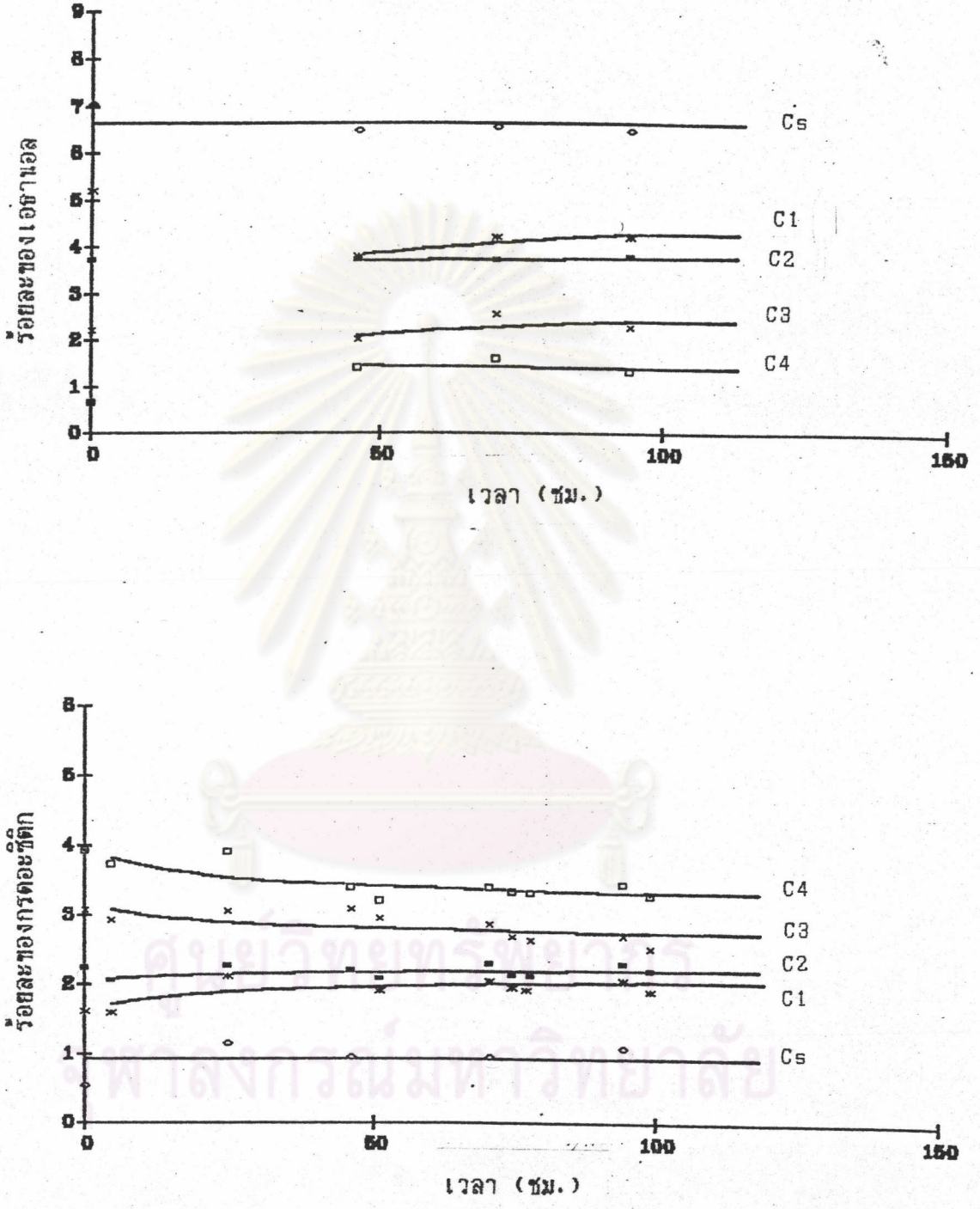
C1,C2,C3,C4 แทน ถังเก็บน้ำหมักที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ



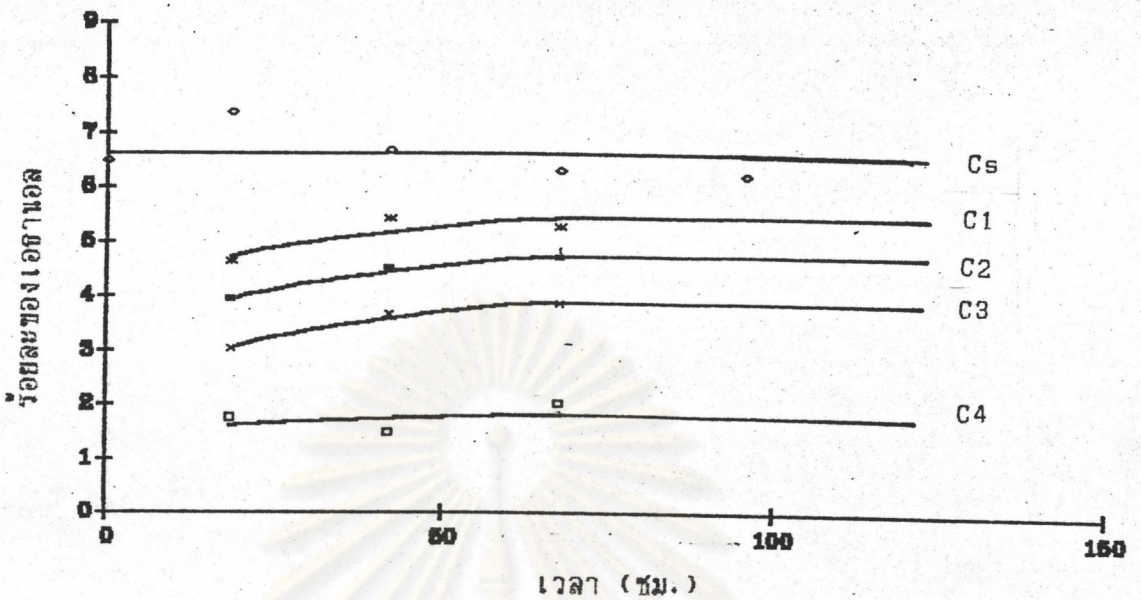
รูปที่ ข.9 แสดงปริมาณเอธานอลและกรดอะซิติกต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3,4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่องโดยกำหนดให้จุดที่เริ่มทำการป้อนย้อนกลับเป็นชั่วโมงที่ 0 ใช้อัตราการเจือจาง 0.0310 ชม.$^{-1}$ อัตราส่วนการป้อนกลับจากถังเก็บน้ำหมักที่ 4 สู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 เป็น 0.81

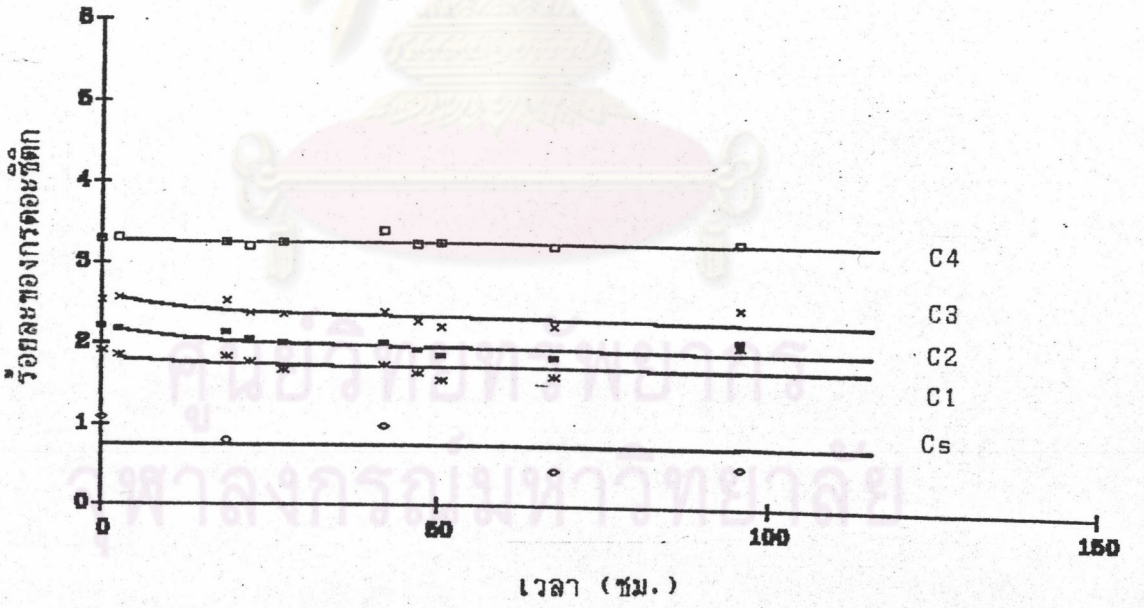
สัญลักษณ์ : Cs แทน ถังเก็บไวน์

C1,C2,C3,C4 แทน ถังเก็บน้ำหมักที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ

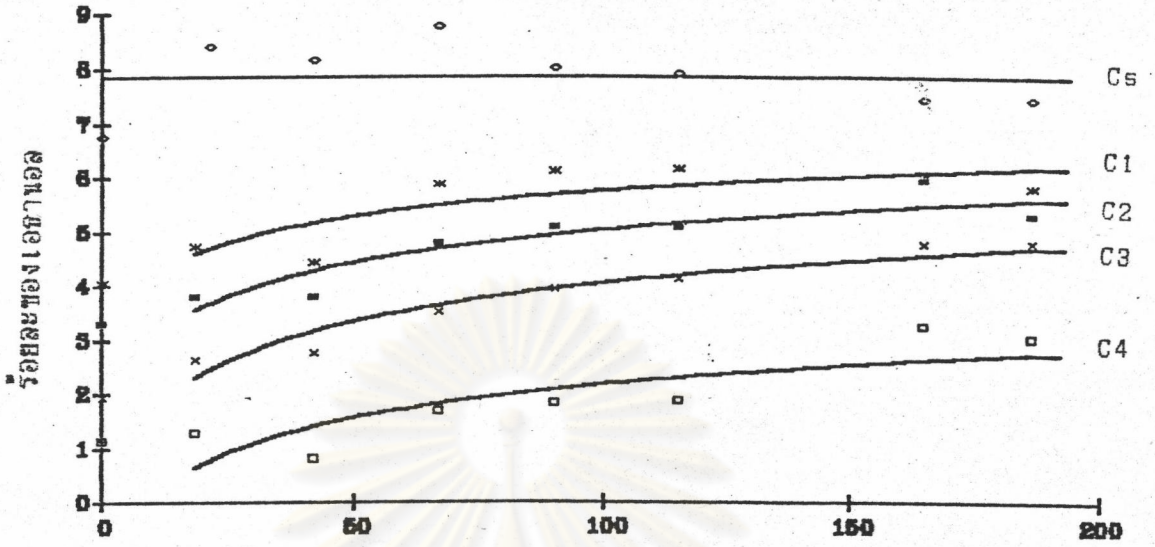


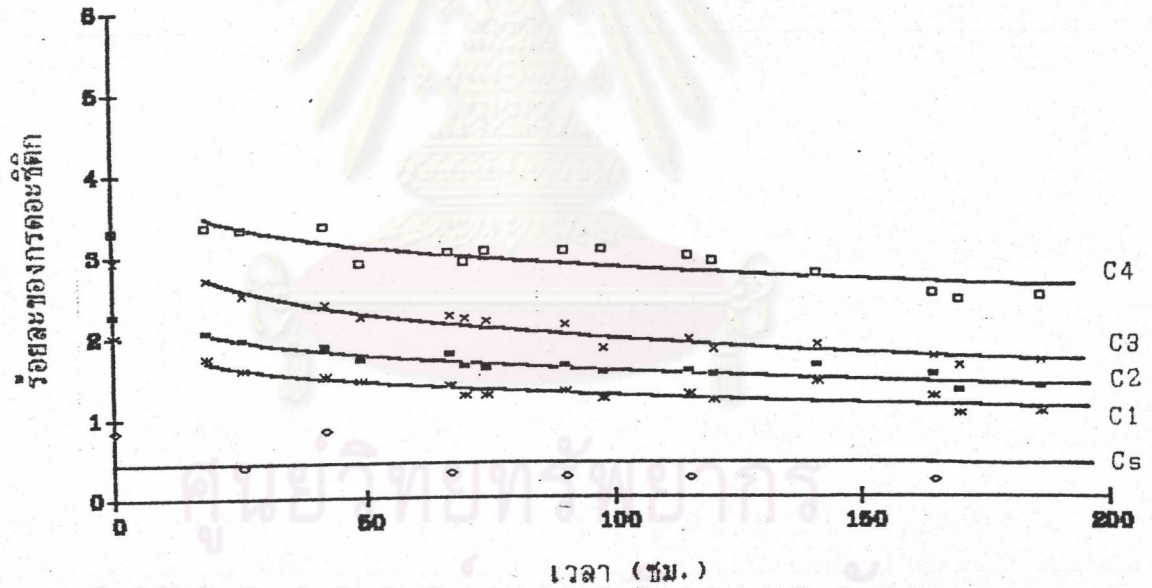
รูปที่ ข.10 แสดงปริมาณเอธานอลและกรดอะซิติกต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3,4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่องโดยกำหนดให้จุดที่เริ่มทำการป้อนย้อนกลับเป็นชั่วโมงที่ 0 ใช้อัตราการเจือจาง 0.0250 ชม.$^{-1}$ อัตราส่วนการป้อนกลับจากถังเก็บน้ำหมักที่ 3 สู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 เป็น 1.00





รูปที่ ข.๑๑ แสดงปริมาณเอธานอลและกรดอะซิติกต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3,4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่องโดยกำหนดให้จุดที่เริ่มทำการป้อนย้อนกลับเป็นชั่วโมงที่ 0 ใช้อัตราการเจือจาง 0.0350 ชม.$^{-1}$ อัตราส่วนการป้อนกลับจากถังเก็บน้ำหมักที่ 3 สู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 เป็น 0.71





รูปที่ ข.12 แสดงปริมาณเอธานอลและกรดอะซิติกต่อเวลาของถังเก็บไวน์ และถังเก็บน้ำหมักที่ 1,2,3,4 ในการเดินเครื่องผลิตน้ำส้มสายชูอย่างต่อเนื่องโดยกำหนดให้จุดที่เริ่มทำการป้อนย้อนกลับเป็นชั่วโมงที่ 0 ใช้อัตราการเจือจาง 0.0395 ชม.$^{-1}$ อัตราส่วนการป้อนกลับจากถังเก็บน้ำหมักที่ 3 สู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1 เป็น 0.54

สัญลักษณ์ : Cs แทน ถังเก็บไวน์

C1,C2,C3,C4 แทน ถังเก็บน้ำหมักที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ

ภาคผนวก ค

วิธีการวิเคราะห์

ค.1 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิติก

ปริมาณกรดอะซิติกหาได้โดยพิจารณาจากกรดทั้งหมด (total acid) เป็นร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร การวิเคราะห์ทำได้โดยการไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นประมาณ 0.2 นอร์มัล โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

ปิเปตน้ำหมัก 10 มิลลิลิตร เติมอินดิเคเตอร์แล้วไตเตรทด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 นอร์มัล จุดยุติ (end point) จะมีสีชมพูอ่อนมาก ๆ นำค่าปริมาณของโซเดียมไฮดรอกไซด์ไปคำนวณหาร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตรของกรดอะซิติก

ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตรของกรดอะซิติก = $(N \times V \times M.W.)/100$

โดยที่ N = นอร์มัลของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

V = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (มิลลิลิตร)

M.W. = น้ำหนักโมเลกุลของกรดอะซิติก

= 60

= $(N \times V \times 60)/100$

= $(N \times V \times 6)/10$

หมายเหตุ : ทำการหาปริมาณกรดอะซิติก 2 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย

ค.2 การวิเคราะห์หาปริมาณเอธานอล

การวิเคราะห์หาปริมาณเอธานอลหาเป็นร้อยละโดยปริมาตร โดยใช้น้ำหมัก 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดกลั่นขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไปอีก 50 มิลลิลิตร กลั่นจนได้สารละลาย (distilate) ปริมาณ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปหาความถ่วงจำเพาะโดยใช้ขวดหาความถ่วงจำเพาะขนาด 50 มิลลิลิตร ซึ่งจากค่าความถ่วงจำเพาะที่ได้นี้ไปหาปริมาณเอธานอลเป็นร้อยละโดยปริมาตรจากตารางที่ ค. 1

ตารางที่ ค. 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอธานอล (ร้อยละโดยปริมาตร) กับความถ่วงจำเพาะที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน

Percentages by volume at 15.56°C (60°F) of ethyl alcohol corresponding to apparent specific gravity at various temperatures[a]

Apparent Specific Gravity	15.56 / 15.56	20/20	22/22	24/24	25/25	26/26	28/28	30/30	32/32	34/34	35/35	36/36
1.0000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.9999	.07	.07	.07	.07	.07	.07	.07	.07	.07	.07	.07	.07
98	.13	.13	.13	.13	.13	.13	.13	.13	.13	.13	.13	.13
97	.20	.20	.20	.20	.20	.20	.20	.20	.20	.20	.20	.20
96	.27	.26	.26	.26	.26	.26	.26	.26	.26	.26	.26	.26
95	.33	.33	.33	.33	.33	.33	.33	.33	.33	.33	.33	.33
94	.40	.40	.40	.40	.40	.40	.40	.40	.40	.40	.40	.40
93	.47	.46	.46	.46	.46	.46	.46	.46	.46	.46	.46	.46
92	.53	.53	.53	.53	.53	.53	.53	.53	.53	.53	.53	.53
91	.60	.60	.60	.60	.60	.60	.60	.60	.60	.60	.60	.60
90	.67	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66
89	.73	.73	.73	.73	.73	.73	.73	.73	.73	.73	.73	.73
88	.80	.80	.80	.80	.80	.80	.79	.79	.79	.79	.79	.79
87	.87	.87	.87	.87	.87	.87	.86	.86	.86	.86	.86	.86
86	.93	.93	.93	.93	.93	.93	.93	.93	.93	.93	.93	.93
85	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	.99	.99	.99	.99	.99	.99
84	.07	.07	.07	.07	.07	.07	1.06	1.06	1.06	1.06	1.06	1.06
83	.14	.14	.14	.13	.13	.13	.13	.13	.13	.13	.13	.13
82	.20	.20	.20	.20	.20	.20	.20	.19	.19	.19	.19	.19
81	.27	.27	.27	.27	.27	.27	.26	.26	.26	.26	.26	.26
80	.34	.34	.34	.34	.34	.33	.33	.32	.32	.32	.32	.32
79	.41	.41	.41	.40	.40	.40	.40	.39	.39	.39	.39	.39
78	.48	.48	.48	.47	.47	.47	.47	.46	.46	.46	.46	.46
77	.54	.54	.54	.54	.54	.53	.53	.53	.53	.53	.52	.52
76	.61	.61	.61	.60	.60	.60	.60	.59	.59	.59	.59	.59
75	.68	.68	.68	.67	.67	.67	.67	.66	.66	.66	.66	.66
74	.75	.75	.75	.74	.74	.73	.73	.73	.73	.72	.72	.72
73	.82	.81	.81	.81	.81	.80	.80	.80	.80	.79	.79	.79
72	.88	.88	.88	.87	.87	.87	.86	.86	.86	.85	.85	.85
71	.95	.95	.95	.94	.94	.94	.93	.93	.93	.92	.92	.92
70	2.02	2.02	2.02	2.01	2.01	2.01	2.00	2.00	2.00	.99	.99	.99
69	.09	.09	.09	.08	.08	.08	.07	.07	.06	2.05	2.05	2.05
68	.16	.15	.15	.14	.14	.14	.14	.14	.13	.12	.12	.12
67	.23	.22	.22	.21	.21	.21	.20	.20	.20	.19	.19	.19
66	.30	.29	.29	.28	.28	.28	.27	.27	.27	.26	.26	.26
65	.37	.36	.36	.35	.35	.35	.34	.34	.33	.32	.32	.32
64	.43	.43	.43	.42	.42	.42	.41	.41	.40	.39	.39	.39
63	.50	.50	.50	.49	.49	.49	.48	.48	.47	.46	.46	.46
62	.57	.57	.57	.56	.56	.56	.55	.54	.54	.53	.53	.53
61	.64	.64	.64	.63	.63	.63	.62	.61	.60	.60	.59	.59
60	.71	.70	.70	.70	.70	.70	.69	.68	.67	.67	.66	.66
59	.78	.77	.77	.77	.77	.77	.76	.75	.74	.74	.73	.73
58	.85	.84	.84	.83	.83	.83	.82	.82	.81	.81	.80	.80
57	.92	.91	.91	.90	.90	.90	.89	.88	.87	.87	.86	.86
56	.99	.98	.98	.97	.97	.97	.96	.95	.94	.94	.93	.93
55	3.06	3.05	3.05	3.04	3.04	3.04	3.03	3.02	3.01	3.01	3.00	3.00
54	.13	.12	.12	.11	.11	.11	.10	.09	.08	.08	.07	.07
53	.20	.19	.19	.18	.18	.18	.17	.16	.15	.15	.14	.14
52	.27	.26	.26	.25	.25	.25	.24	.23	.22	.22	.21	.21
51	.34	.33	.33	.32	.32	.32	.31	.30	.29	.28	.27	.27
50	.41	.40	.40	.39	.39	.39	.38	.37	.36	.35	.34	.34
49	.49	.47	.47	.46	.46	.46	.45	.44	.43	.42	.41	.41
48	.56	.54	.54	.53	.53	.53	.52	.51	.50	.49	.48	.48
47	.63	.62	.61	.60	.60	.60	.59	.58	.57	.56	.55	.55
46	.70	.68	.68	.67	.67	.67	.66	.65	.64	.63	.62	.62
45	.77	.76	.75	.74	.74	.74	.73	.72	.70	.69	.68	.68
44	.84	.83	.82	.81	.81	.81	.79	.78	.77	.76	.75	.75
43	.91	.90	.89	.88	.88	.88	.86	.85	.84	.83	.82	.82
42	.99	.97	.96	.95	.95	.95	.93	.92	.91	.90	.89	.89
41	4.06	4.04	4.03	4.02	4.02	4.02	4.00	.99	.98	.97	.96	.96
40	.13	.11	.10	.10	.09	.09	.07	4.06	4.05	4.04	4.03	4.03
39	.20	.18	.17	.17	.16	.16	.14	.13	.12	.11	.10	.10
38	.28	.26	.25	.25	.24	.23	.21	.20	.19	.18	.17	.17
37	.35	.33	.32	.32	.31	.30	.28	.27	.26	.25	.24	.24
36	.42	.40	.39	.39	.38	.37	.36	.35	.33	.32	.31	.30
35	.50	.48	.47	.46	.45	.44	.43	.42	.40	.39	.38	.37
34	.57	.55	.54	.53	.52	.51	.50	.49	.47	.46	.45	.44
33	.64	.62	.61	.60	.59	.58	.57	.56	.54	.53	.52	.51
32	.71	.69	.68	.67	.66	.65	.64	.63	.61	.60	.59	.58
31	.79	.77	.76	.75	.74	.73	.72	.70	.68	.67	.66	.65

(Continued)

[a] Compiled at National Bureau of Standards. Table is based on data published in *Bull. Natl. Bur. Std.* 9(3) (1913), (Sci. Paper No. 197).

ตารางที่ ค.1 (ต่อ)

Percentages by volume at 15.56°C (60°F) of ethyl alcohol corresponding to apparent specific gravity at various temperatures°—*Continued*.

Apparent Specific Gravity	15.56 / 15.56	20/20	22/22	24/24	25/25	26/26	28/28	30/30	32/32	34/34	35/35	36/36
0.9930	4.86	4.84	4.83	4.82	4.81	4.80	4.79	4.77	4.75	4.74	4.73	4.72
29	.93	.91	.90	.89	.88	.87	.86	.84	.82	.81	.80	.79
28	5.01	.98	.97	.96	.95	.94	.93	.91	.89	.88	.87	.86
27	.08	5.06	5.04	5.03	5.02	5.01	5.00	.98	.96	.95	.94	.93
26	.16	.13	.12	.11	.10	.09	.07	5.05	5.03	5.02	5.01	5.00
25	.23	.21	.19	.18	.17	.16	.14	.12	.10	.09	.08	.07
24	.31	.28	.26	.25	.24	.23	.21	.20	.18	.16	.15	.14
23	.39	.36	.34	.33	.32	.31	.29	.27	.25	.23	.22	.21
22	.46	.43	.41	.40	.39	.38	.36	.34	.32	.30	.29	.28
21	.54	.51	.49	.48	.47	.46	.44	.42	.40	.38	.37	.36
20	.61	.58	.56	.55	.54	.53	.51	.49	.47	.45	.44	.43
19	.69	.66	.64	.62	.61	.60	.58	.56	.54	.52	.51	.50
18	.77	.73	.71	.70	.69	.68	.66	.64	.62	.59	.58	.57
17	.84	.81	.79	.77	.76	.75	.73	.71	.69	.66	.65	.64
16	.92	.88	.86	.85	.84	.83	.80	.78	.76	.74	.73	.72
15	.99	.96	.94	.92	.91	.90	.87	.85	.83	.81	.80	.79
14	6.07	6.03	6.01	6.00	.99	.98	.95	.93	.91	.88	.87	.86
13	.15	.11	.09	.07	6.06	6.05	6.02	6.00	.98	.95	.94	.93
12	.23	.18	.16	.15	.14	.13	.10	.08	6.05	6.02	6.01	6.00
11	.30	.26	.24	.22	.21	.20	.17	.15	.12	.10	.09	.08
10	.38	.34	.32	.30	.29	.28	.25	.23	.20	.17	.16	.15
09	.46	.41	.39	.37	.36	.35	.32	.30	.28	.25	.24	.23
08	.54	.49	.47	.45	.44	.43	.40	.38	.35	.32	.31	.30
07	.62	.57	.55	.53	.52	.51	.48	.45	.42	.39	.38	.37
06	.70	.65	.63	.60	.59	.58	.55	.53	.50	.47	.46	.45
05	.77	.73	.71	.68	.67	.66	.63	.60	.57	.54	.53	.52
04	.85	.80	.78	.75	.74	.73	.70	.68	.65	.62	.60	.59
03	.93	.88	.86	.83	.82	.81	.78	.75	.72	.69	.68	.67
02	7.01	.96	.93	.90	.89	.88	.85	.83	.80	.77	.75	.74
01	.09	7.04	7.01	.98	.97	.95	.92	.90	.87	.84	.82	.81
00	.17	.12	.09	7.06	7.05	7.03	7.00	.98	.94	.91	.90	.88
0.9899	.25	.19	.16	.13	.12	.10	.07	7.05	7.01	.98	.97	.95
98	.33	.27	.24	.21	.20	.18	.15	.13	.09	7.06	7.04	7.02
97	.41	.35	.32	.29	.28	.26	.23	.21	.17	.14	.12	.10
96	.50	.43	.40	.37	.36	.34	.31	.28	.24	.21	.19	.17
95	.58	.51	.48	.45	.44	.42	.39	.36	.32	.29	.27	.25
94	.66	.59	.56	.53	.52	.50	.47	.44	.40	.36	.34	.32
93	.74	.67	.64	.60	.59	.57	.54	.51	.47	.44	.42	.40
92	.82	.75	.72	.68	.67	.65	.62	.59	.55	.51	.49	.47
91	.90	.82	.79	.76	.75	.73	.70	.66	.62	.59	.57	.55
90	.98	.90	.87	.84	.83	.81	.78	.74	.70	.66	.64	.62
89	8.07	.98	.95	.92	.91	.89	.86	.82	.78	.74	.72	.70
88	.15	8.06	8.03	8.00	.98	.96	.93	.89	.85	.81	.79	.77
87	.23	.15	.11	.08	8.06	8.04	8.01	.97	.93	.89	.87	.85
86	.32	.23	.19	.16	.14	.12	.09	8.05	8.01	.96	.94	.92
85	.40	.31	.27	.24	.22	.20	.16	.12	.08	8.04	8.02	8.00
84	.48	.39	.35	.32	.30	.28	.24	.20	.16	.11	.09	.07
83	.57	.47	.43	.40	.38	.36	.32	.27	.23	.19	.17	.15
82	.65	.55	.51	.48	.46	.44	.40	.35	.31	.26	.24	.22
81	.73	.63	.59	.56	.54	.52	.48	.43	.39	.34	.32	.30
80	.82	.71	.67	.63	.61	.59	.55	.50	.46	.41	.39	.37
79	.90	.79	.75	.71	.69	.67	.63	.58	.54	.49	.47	.45
78	.98	.88	.84	.79	.77	.75	.71	.66	.61	.56	.54	.52
77	9.07	.96	.92	.87	.85	.83	.78	.73	.69	.64	.62	.60
76	.15	9.04	9.00	.95	.93	.91	.86	.81	.76	.71	.69	.67
75	.24	.13	.08	9.03	9.01	.99	.94	.89	.84	.79	.77	.75
74	.32	.21	.16	.11	.09	9.07	9.02	.96	.91	.86	.84	.82
73	.40	.29	.24	.19	.17	.15	.10	9.04	.99	.94	.92	.90
72	.49	.38	.33	.27	.25	.23	.18	.12	9.07	9.02	.99	.97
71	.57	.46	.41	.35	.33	.31	.26	.20	.15	.10	9.07	9.05
70	.66	.54	.49	.43	.41	.38	.33	.27	.22	.17	.14	.12
69	.74	.62	.57	.51	.49	.46	.41	.35	.30	.25	.22	.19
68	.82	.70	.65	.59	.57	.54	.49	.43	.37	.32	.29	.26
67	.91	.79	.74	.68	.65	.62	.57	.51	.45	.40	.37	.34
66	.99	.87	.82	.76	.73	.70	.65	.59	.53	.47	.44	.41
65	10.08	.95	.90	.84	.81	.78	.72	.66	.60	.54	.51	.48
64	.16	10.03	.98	.92	.89	.86	.80	.74	.68	.62	.59	.56
63	.25	.11	10.06	10.00	.97	.94	.88	.82	.76	.69	.66	.63
62	.33	.20	.14	.08	10.05	10.02	.96	.90	.84	.77	.74	.71
61	.42	.28	.22	.16	.13	.10	10.04	.98	.91	.84	.81	.78

(*Continued*)

ค.3 การหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

การหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในงานวิจัยนี้ได้กำหนดใช้วิธีนับโดยตรง (direct count) โดยนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เห็นในกล้องจุลทรรศน์จากแผ่นนับเชื้อเฮมาไซโตมิเตอร์ ซึ่งรู้ปริมาณที่แน่นอนของของเหลวที่ผสมอยู่กับเชื้อจุลินทรีย์ ในการเตรียมน้ำหมักก่อนนับเชื้อ ทำการเจือจาง (dilution) โดยใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อให้ปริมาณจุลินทรีย์ไม่มากเกินไปจนไม่เหมาะสมในการนับ

ค.3.1. วิธีการนับเชื้อโดยใช้เฮมาไซโตมิเตอร์

- เตรียมแผ่นนับเชื้อให้สะอาดแล้ววางแผ่นแก้วปิด (cover slip) บนแผ่นนับเชื้อให้เรียบร้อย

- ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรดูดน้ำหมักหยดที่ขอบของแผ่นแก้วปิดทั้ง 2 ข้าง พยายามอย่าให้มีฟองอากาศ และอย่าให้น้ำหมักที่หยดล้นลงไปในช่องของแผ่นนับเชื้อทั้ง 2 ข้าง (ดูรูปที่ ค. 1)

- นำไปนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า ปรับโฟกัสให้เห็นตารางเล็ก ๆ ในแผ่นนับเชื้อ ดังรูปที่ ค.2 (อักษร B) ซึ่ง 1 ช่องมีตารางเล็ก ๆ ภายในอีก 16 ช่อง ให้นับทั้งหมด 5 ช่อง (อักษร B) อาจนับในแนวทะแยงมุมก็ได้

- ถ้าหากมีเซลของจุลินทรีย์อยู่คาบเส้นระหว่างช่อง (คือเส้นทั้ง 3 เส้นขนานกัน) ให้นับในแนวตั้งฉากมุมใดมุมหนึ่ง ทั้ง 5 ช่องเหมือนกัน ตัวอย่างในรูป ค.2 ให้นับเซลล์ที่อยู่คาบเส้นในแนวตั้งฉาก ก. หรือ ข. เลือกเอาแบบใดแบบหนึ่ง

ค.3.2. วิธีคำนวณ

แผ่นนับเชื้อมีระยะห่างระหว่างแชมเบอร์ (chamber) ถึงแผ่นแก้วปิด (cover slip) เท่ากับ 1/10 มิลลิลิตร

พื้นที่ของ 5 ช่องที่นับ = 5 x 1/5 x 1/5

= 1/5 ตร.มม.

ปริมาตร 5 ช่องที่นับ = 1/5 x 1/10

= 1/50 ลบ.มม.

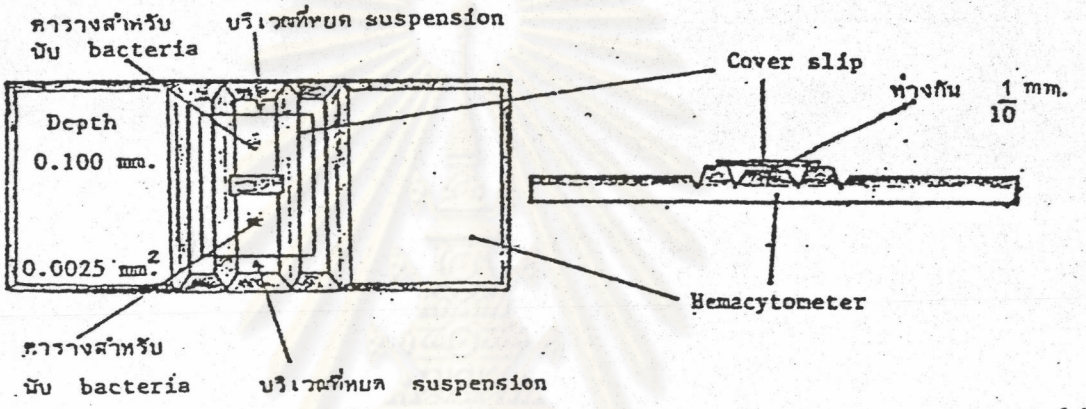
สมมติว่าใน 5 ช่องนับเชื้อจุลินทรีย์ได้ = Z เซล

ปริมาณ 1/50 ลบ.มม. นับได้ = Z เซล

ถ้าปริมาตร 1 ลบ.ซม. จะนับได้ = Z x 10 X 10 x 10 x 50

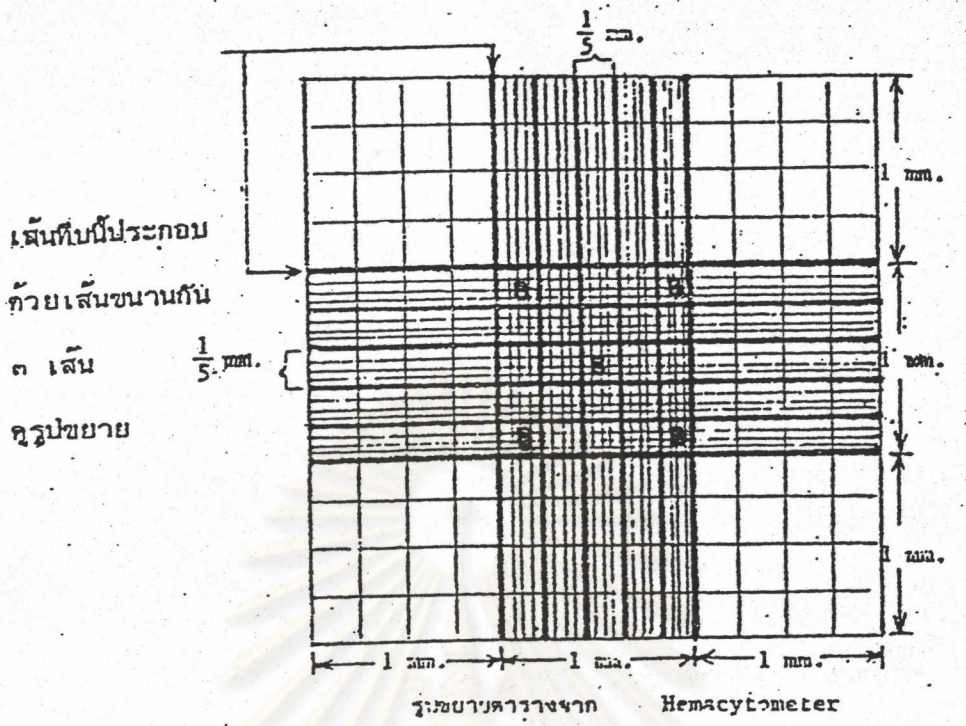
นั่นคือน้ำหมัก 1 ลบ.ซม. มีเชื้อจุลินทรีย์ = 50,000 Z เซล

หมายเหตุ : ในกรณีที่ทำการเจือจาง ต้องนำค่าแฟคเตอร์การเจือจาง (dilution factor) มาคูณด้วย เช่น เจือจาง 1:10,000 (10^{-4}) มีจำนวนเชื้อ 57 เซลต่อ ลบ.ซม. ดังนั้นจำนวนเชื้อที่ไม่ได้เจือจางในน้ำหมักเท่ากับ 57 x 10^{-4} เซลต่อ ลบ.ซม.

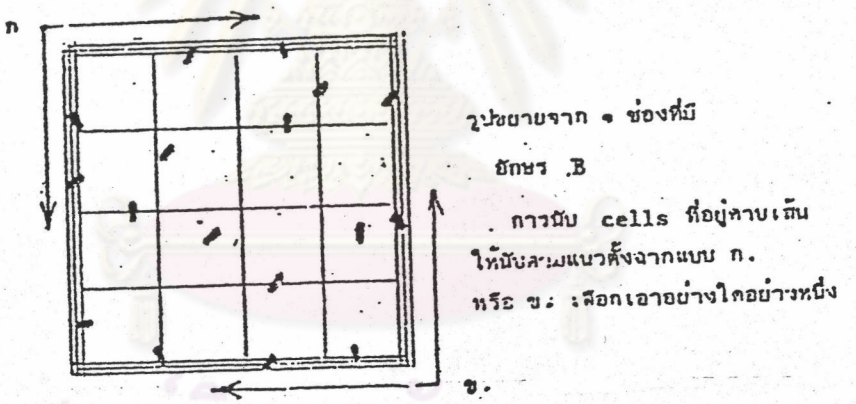


รูปที่ ค.1 ลักษณะของเฮมาไซโตมิเตอร์ด้านหน้าและภาคตัด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปขยายตารางจาก Hemacytometer



รูปที่ ค.2 รูปขยายตารางของเฮมาไซโตมิเตอร์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง

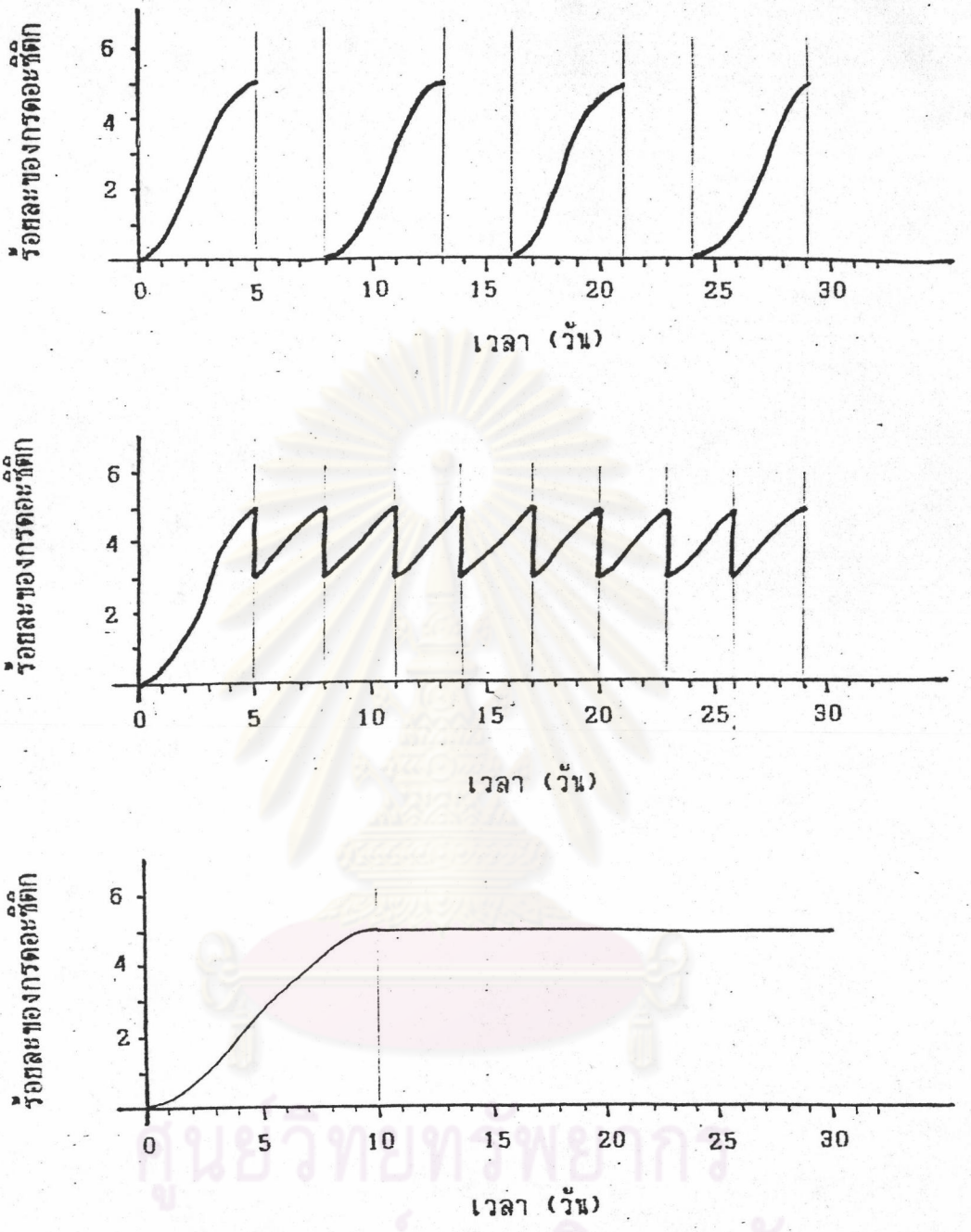
การเปรียบเทียบกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูแบบเป็นครั้ง แบบกึ่งต่อเนื่อง และแบบต่อเนื่อง

จากการทดลองเปรียบเทียบกำลังการผลิตของกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูแบบเป็นครั้ง, แบบกึ่งต่อเนื่อง และแบบต่อเนื่อง โดยใช้เครื่องหมักน้ำส้มสายชูที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ พบว่า เมื่อทำการหมักแบบเป็นครั้งโดยใช้เครื่องหมักน้ำส้มสายชู 1 ชุด มีความจุ 12 ลิตร ทำการหมักสารละลายอัลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นของเอธานอลต่อกรดอะซิติกเป็น 7 ต่อ 1 (ร้อยละโดยปริมาตร ต่อ ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ให้น้ำส้มสายชูที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติกประมาณร้อยละ 5 ภายในเวลา 5 วัน จากนั้นต้องใช้เวลา 3 วันในการล้างทำความสะอาดเครื่องและเตรียมการหมักครั้งต่อไป ส่วนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องนั้น ทำการทดลองในเครื่องหมัก 1 ชุดที่มีความจุ 12 ลิตรเช่นกัน หลังจากเวลาผ่านไป 5 วัน ได้น้ำส้มสายชูที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติกร้อยละ 5 แล้วจึงทำการดึงน้ำหมักออกครึ่งหนึ่ง (6 ลิตร) แล้วเติมสารละลายเอธานอลที่มีปริมาณเอธานอลประมาณร้อยละ 7 ลงไปให้ครบ 12 ลิตร น้ำหมักรวมจะมีความเข้มข้นของกรดอะซิติกประมาณร้อยละ 3 ใช้เวลาประมาณ 3 วันจะได้น้ำส้มสายชูที่มีความเข้มข้นประมาณร้อยละ 5 แล้วทำการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องซ้ำไปได้เรื่อย ๆ และสำหรับการหมักแบบต่อเนื่องโดยใช้ระบบหมักน้ำส้มสายชูแบบต่อเนื่องที่ประกอบด้วยเครื่องหมัก 4 ชุดต่ออนุกรมกันและเครื่องหมักแต่ละชุดมีความจุ 12 ลิตร ระบบดังกล่าวต้องใช้เวลาในการเตรียมเครื่องก่อนทำการป้อนสารละลายอัลกอฮอล์เข้าในระบบอย่างต่อเนื่องรวมทั้งสิ้น 10 วัน หลังจากนั้นทำการหมักแบบต่อเนื่องที่อัตราการเจือจาง 0.0216 ชม.$^{-1}$ และอัตราส่วนการป้อนกลับเป็น 0.20 ซึ่งเป็นสภาวะที่ดีที่สุดที่ได้จากการทดลองของประพนธ์ (2531) จะได้น้ำส้มสายชูร้อยละ 5 ออกมาวันละ 6.22 ลิตร

อาจกล่าวโดยสรุปว่า เมื่อใช้กระบวนการหมักแบบเป็นครั้งนั้นจะได้น้ำส้มสายชูที่มีปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 5 จำนวน 12 ลิตรในเวลา 5 วัน และต้องใช้เวลาล้างทำความสะอาดเครื่องสำหรับการหมักในครั้งต่อไป 3 วัน เมื่อใช้กระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องนั้น หลังจากใช้เวลา 5 วันในการเตรียมระบบหมักสำหรับการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องแล้ว จะได้น้ำส้มสายชูที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติกร้อยละ 5 จำนวน 6 ลิตรทุก ๆ 3 วัน และสำหรับกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง หลังจากใช้เวลา 10 วันในการเตรียมระบบหมักสำหรับการ

หมักแบบต่อเนื่องแล้ว จะได้น้ำส้มสายชูที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติกร้อยละ 5 จำนวน 6.22 ลิตรต่อวัน นั่นคือถ้าต้องการผลิตน้ำส้มสายชูปริมาณน้อย ๆ เช่น 12 ลิตร ควรใช้การหมักแบบเป็นครั้ง แต่เมื่อต้องการหมักน้ำส้มสายชูในปริมาณมากควรทำการหมักแบบต่อเนื่องจะได้เปรียบกว่า ตัวอย่างเช่น เมื่อใช้เวลาในการหมักทั้งสิ้น 29 วัน (ดังแสดงเปรียบเทียบในรูปที่ จ.1) พบว่า การหมักแบบเป็นครั้ง, แบบกึ่งต่อเนื่อง และแบบต่อเนื่องได้น้ำส้มสายชูที่มีปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 5 รวมทั้งสิ้น 48, 60 และ 130 ลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้การหมักแบบต่อเนื่องยังมีข้อได้เปรียบอื่นๆอีก เช่น ถ้าเกิดการปนเปื้อนจาก A. xylinum ในเครื่องหมักแล้วสามารถล้างทำความสะอาดเครื่องหมักเฉพาะชุดที่เกิดการอุดตันมากเพียงชุดเดียว โดยที่เครื่องหมักชุดอื่นยังสามารถเดินเครื่องได้ตามปกติ และสามารถเอาเครื่องหมักสำรองเข้าแทนที่ได้ทันที และทำการหมักแบบต่อเนื่องได้ในเวลาอันรวดเร็ว แต่ถ้าเกิดการปนเปื้อนขึ้นในระบบหมักแบบเป็นครั้ง หรือกึ่งต่อเนื่องแล้ว มีวิธีแก้ไขวิธีเดียวเท่านั้นคือ หยุดเครื่องแล้วล้างทำความสะอาด จากนั้นจึงเริ่มต้นการหมักใหม่

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ ง.1 แสดงการเปรียบเทียบกำลังการผลิตของกระบวนการหมักน้ำส้มสายชู (ก) แบบเป็นครั้ง (ข) แบบกึ่งต่อเนื่อง (ค) แบบต่อเนื่อง โดยแสดงเป็นความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของกรดอะซิติกกับเวลา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก จ

วิธีวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์

จ.1 การชั่งน้ำหนักแห้งของเซล

วิธีที่ใช้กันทั่วไปในการวัดการเจริญของจุลินทรีย์ก็คือ การนำเซลที่รู้ปริมาตรแน่นอนไปทำให้แห้งอย่างช้า ๆ จนกระทั่งมีน้ำหนักคงที่ สำหรับเซลที่ตกตะกอนง่าย เช่น เซลยีสต์ จะใช้วิธีตกตะกอนเซลโดยการเซนตริฟิวจ์ ($4-6x10^3$ รอบต่อนาที) แล้วนำไปล้างด้วยไอโซโทนิคเซไลน์ (isotonic saline) แล้วนำไปเซนตริฟิวจ์อีกครั้งที่ความเร็ว $4-6x10^3$ รอบต่อนาที แล้วนำเซลเข้มข้นดังกล่าวไปอบที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสนานประมาณ 20 ชั่วโมง หรือ 105 องศาเซลเซียสนานประมาณ 6-10 ชั่วโมง จนกระทั่งมีน้ำหนักคงที่

สำหรับเซลแบคทีเรียซึ่งยากในการทำให้เซลเข้มข้นด้วยการเซนตริฟิวจ์ ดังนั้นจึงนำสารตัวอย่างไปกรองผ่านไฮโดรฟิลิคเมมเบรน (hydrophilic membrane) ซึ่งมีความพรุน (pore size) 0.2 ไมโครเมตร เซลจะค้างอยู่บนแผ่นกรองซึ่งต้องนำไปล้างด้วยไอโซโทนิคเซไลน์ แล้วแผ่นกรองไปอบที่อุณหภูมิ 90 หรือ 105 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ โดยทั่วไปรายงานน้ำหนักแห้งของเซลเป็น กรัมต่อลิตร

ข้อผิดพลาดในการหาน้ำหนักแห้งทั่วไป เกิดจากเซลแห้งและหลอดเซนตริฟิวจ์หรือเมมเบรนดูดความชื้นจากบรรยากาศระหว่างที่ทิ้งไว้ให้เย็น ซึ่งสามารถแก้ไขได้โดยการทิ้งไว้ให้เย็นในเดสซิเคเตอร์ หรือบางครั้งข้อผิดพลาดอาจเกิดจากการมีของแข็งปะปนอยู่ในสารตัวอย่างซึ่งพบบ่อยในระดับอุตสาหกรรม ต้องหักน้ำหนักของแข็งออกจากน้ำหนักแห้งของเซลที่ชั่งได้ด้วยจึงจะถูกต้องยิ่งขึ้น (Marison,1988)

ข้อเสียของวิธีนี้ คือ ช้า ต้องใช้เวลานานเพราะต้องใช้สารตัวอย่างปริมาณมาก แต่อย่างไรก็ตามยังเป็นวิธีที่นิยม เนื่องจากสะดวก และง่าย

จ.2 การชั่งน้ำหนักเปียกของเซล

วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย แต่ยังต้องอาศัยการเซนตริฟิวจ์หรือการกรองสารตัวอย่าง แล้วนำไปชั่งน้ำหนักโดยตรง แม้ว่าจะเป็นวิธีที่รวดเร็วแต่เกิดข้อผิดพลาดได้มาก เนื่องจากเป็นการวัดน้ำที่อยู่ภายในและภายนอกเซลรวมเข้าไปด้วย

จ.3. <u>การหาจำนวนเซล</u>

การหาการเจริญของเซล อาจรายงานในเทอมของจำนวนเซลต่อลิตร การหาจำนวนเซลทั้งหมดทำได้โดยการนำสารตัวอย่างมาเจือจาง แล้วหยดลงบนสไลด์สำหรับนับจำนวนเซลจุลินทรีย์ เช่น เฮลเบอร์สไลด์ (Helber slides) หรือ เฮมาไซโตมิเตอร์ แล้วนำไปนับจำนวนเซลโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ช่วย วิธีดังกล่าวรวดเร็วและแม่นยำ แต่ไม่สามารถแยกแยะเซลเป็นและเซลตายได้

ถ้าต้องการวัดจำนวนเซลเป็นเท่านั้น สามารถทำได้โดยนำสารตัวอย่างมาเจือจาง แล้วนำสารที่เจือจางแล้วปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรไปเลี้ยงกระจายบนวุ้นที่มีสารอาหารเหมาะสม แล้วนำไปบ่ม (incubate) ตามเวลาที่กำหนดก็นำมานับจำนวนโคโลนีได้ โดยสมมติว่าแต่ละโคโลนีเกิดจากเซลเดี่ยว 1 เซล นอกจากวิธีดังกล่าวจะต้องใช้เวลานานประมาณ 24 ชั่วโมงเพื่อให้โคโลนีเจริญแล้ว วิธีนี้ยังต้องใช้เทคนิคที่ฆ่าเชื้อแล้วและความระมัดระวังในการเจือจางสารตัวอย่างด้วย แต่อย่างไรก็ตาม อาจกล่าวได้ว่าเป็นวิธีที่ให้ค่าจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตได้ถูกต้องที่สุด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ฉ

ตารางแสดงรายละเอียดวิธีการคำนวณหาน้ำหนักเซลเปียกและแห้ง
ของจุลินทรีย์ในแต่ละคอลัมน์หมัก

ตารางที่ ฉ.1 แสดงข้อมูลที่ได้จากการทดลองหาน้ำหนักเซลแห้งและเปียกของจุลินทรีย์ในแต่ละคอลัมน์หมัก โดยทำการวิเคราะห์หลังจากเสร็จสิ้นการทดลองเมื่อทำการหมักแบบต่อเนื่องและไม่มีการนำผลิตภัณฑ์มาป้อนย้อนกลับ

สิ่งที่ทำการวิเคราะห์	C1	C2	C3	C4
1. น้ำหนักบีกเกอร์ (กรัม)	6.03	6.90	6.45	7.15
2. น้ำหนักบีกเกอร์+วัสดุบรรจุ 18 ลูก +แบคทีเรีย(เปียก) (กรัม)	59.99	58.83	59.76	60.16
3. น้ำหนักบีกเกอร์+วัสดุบรรจุ 18 ลูก +แบคทีเรีย(แห้ง) (กรัม)	32.69	32.01	33.41	33.54
4. น้ำหนักบีกเกอร์+วัสดุบรรจุ 18 ลูก (เปียก) (กรัม)	53.35	52.23	54.49	54.58
5. น้ำหนักบีกเกอร์+วัสดุบรรจุ 18 ลูก (แห้ง) (กรัม)	30.73	30.66	30.22	31.81
6. น้ำหนักวัสดุบรรจุ 18 ลูก+แบคทีเรีย (เปียก) (กรัม)	53.96	51.93	53.31	53.01
7. น้ำหนักวัสดุบรรจุ 18 ลูก+แบคทีเรีย (แห้ง) (กรัม)	26.66	25.11	26.96	26.39
8. น้ำหนักวัสดุบรรจุ 18 ลูก (เปียก) (กรัม)	47.32	45.33	48.04	47.43
9. น้ำหนักวัสดุบรรจุ 18 ลูก (แห้ง)(กรัม)	24.70	23.76	23.77	24.66
10. น้ำหนักแบคทีเรีย(เปียก) (กรัม)	6.64	6.60	5.27	5.58
11. น้ำหนักแบคทีเรีย(แห้ง) (กรัม)	1.96	1.35	3.19	1.73
12. น้ำหนักเซลเปียก (กรัมต่อกรัมวัสดุบรรจุ)	0.140	0.145	0.110	0.118
13. น้ำหนักเซลแห้ง (กรัมต่อกรัมวัสดุบรรจุ)	0.079	0.057	0.134	0.070

ตารางที่ ฉ.2 แสดงข้อมูลที่ได้จากการทดลองหาน้ำหนักเซลแห้งและเปียกของจุลินทรีย์ในแต่ละคอลัมน์หมัก โดยทำการวิเคราะห์หลังจากเสร็จสิ้นการทดลองนำผลิตภัณฑ์จากถังเก็บน้ำหมักที่ 4 มาป้อนกลับสู่ถังเก็บน้ำหมักที่ 1

สิ่งที่ทำการวิเคราะห์	C1	C2	C3	C4
1. น้ำหนักบีกเกอร์ (กรัม)	515.54	382.34	438.52	418.16
2. น้ำหนักบีกเกอร์+วัสดุบรรจุ 180 ลูก +แบคทีเรีย(เปียก) (กรัม)	1415.77	1526.08	1290.98	1321.16
3. น้ำหนักบีกเกอร์+วัสดุบรรจุ 180 ลูก +แบคทีเรีย(แห้ง) (กรัม)	800.80	668.73	719.52	689.62
4. น้ำหนักบีกเกอร์+วัสดุบรรจุ 180 ลูก (เปียก) (กรัม)	919.14	791.01	846.81	813.55
5. น้ำหนักบีกเกอร์+วัสดุบรรจุ 180 ลูก (แห้ง) (กรัม)	739.54	604.60	663.50	642.67
6. น้ำหนักวัสดุบรรจุ 180 ลูก+แบคทีเรีย (เปียก) (กรัม)	900.23	1143.74	852.46	903.00
7. น้ำหนักวัสดุบรรจุ 180 ลูก+แบคทีเรีย (แห้ง) (กรัม)	285.34	286.39	281.00	271.46
8. น้ำหนักวัสดุบรรจุ 180 ลูก (เปียก) (กรัม)	403.60	408.67	408.29	395.39
9. น้ำหนักวัสดุบรรจุ 180 ลูก (แห้ง) (กรัม)	224.00	222.26	224.98	224.51
10. น้ำหนักแบคทีเรีย(เปียก) (กรัม)	496.63	735.07	444.17	507.61
11. น้ำหนักแบคทีเรีย(แห้ง) (กรัม)	61.34	64.13	56.02	46.95
12. น้ำหนักเซลเปียก (กรัมต่อกรัมวัสดุบรรจุ)	1.230	1.800	1.088	1.284
13. น้ำหนักเซลแห้ง (กรัมต่อกรัมวัสดุบรรจุ)	0.274	0.288	0.249	0.209

ประวัติผู้เขียน

นางสาวอัมพาวดี ศรีสัจจะเลิศวาจา เกิดวันที่ 23 พฤษภาคม พ.ศ. 2508 ที่อำเภอป้อมปราบ จังหวัดกรุงเทพฯ สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีวิศวกรรม ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2530 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีเทคนิค ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2531 โดยได้รับทุนผู้ช่วยวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย