

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ



เครื่องมือที่ใช้แบ่งเป็น 2 พวกคือ

1. เครื่องหมักเอทานอล
2. เครื่องหมักน้ำส้มสายชู

3.1 เครื่องหมักเอทานอล

ใช้เครื่องหมักแบบคอกซ์มันซึ่งได้สร้างไว้จากงานก่อน (นิคม ตีปะวาโร) จะสามารถผลิตเอทานอลได้ร้อยละ 13 โดยปริมาตร ในเวลา 24 ชั่วโมง

3.2 เครื่องหมักน้ำส้มสายชู

รูปที่ 2 แสดงเครื่องหมักที่ใช้ในการทดลองผลิตน้ำส้มสายชู ซึ่งประกอบด้วย 3 ส่วนใหญ่ ๆ คือ

- คอกซ์มัน
- หัวกระจายอากาศ และหัวกระจายน้ำหมัก
- ระบบการไหลหมุนเวียนและดึงเก็บ

3.2.1 คอกซ์มัน

ทำด้วย พีวีซีใส มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 7.2 เซนติเมตร สูง 100 เซนติเมตร จุบน้ำหมักที่ใช้ในการหมักได้ 5 ลิตร ด้านล่างมีระบบการป้อนย้อนกลับ และหัวกระจายอากาศด้านบนมีหัวกระจายน้ำหมัก และทางให้อากาศออก และติดกับตัวคอกซ์มันจะมีที่สำหรับจับไอของเอทานอล และน้ำส้มสายชู ส่วนภายในคอกซ์มันจะมีตะแกรงที่สามารถปรับความสูงในระดับต่าง ๆ ได้ เพื่อรองรับแพคเบค โดยสอดเข้ามาจากฝาปิด ด้านบนของคอกซ์มัน ส่วนแพคเบคทำด้วยไม้มะค่าทรงกลมขนาดความโตของเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร ซึ่งได้ผ่านการคัดเลือกจากงานของ คุณศิริวรรณ จงจิระศิริ (2)

3.2.2 หัวกระจายอากาศและหัวกระจายน้ำหมัก

หัวกระจายอากาศอยู่ติดกับฐานของคอลัมน์เป็นรูปกรวย ด้านบนปิดด้วยตะแกรง สเตนเลสที่มีขนาดเบอร์ 40 (40 mesh) ใต้หัวกระจายอากาศมีรูเจาะทะลุเพื่อใช้เป็นทางสำหรับน้ำหมักไหลย้อนกลับ

หัวกระจายน้ำหมัก

ติดอยู่กับฝาปิดของคอลัมน์ ด้านบนเป็นรูปกรวย ด้านบนปิดด้วย ฟิวซี สีเทา เจาะรู ขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อเป็นทางออกของน้ำหมัก ที่ฝาปิดด้านบนจะมีช่องให้อากาศออก และอากาศที่ออกจะถูกจับในสำหรับจับไอของเอทานอล และไอน้ำส้มสายชู

3.2.3 ระบบการไหลหมุนเวียนและดึงเก็บ

จากดึงเก็บซึ่งมีขนาดจุ 50 ลิตร น้ำหมักจะถูกส่งขึ้นไปตามท่อไปยังด้านบนของคอลัมน์เข้าสู่หัวกระจายน้ำหมัก โดยมีประตุน้ำเป็นเครื่องช่วยควบคุมอัตราการไหลของน้ำหมัก และน้ำหมักเมื่อตกลงสู่ด้านล่างของคอลัมน์ น้ำหมักนี้จะไหลออกทางท่อป้อนย้อนกลับลงสู่ดึงเก็บอย่างเดิม ภายในตัวดึงเก็บจะมีชุดท่อสำหรับควบคุมอุณหภูมิของระบบ

3.3 วิธีการทดลอง

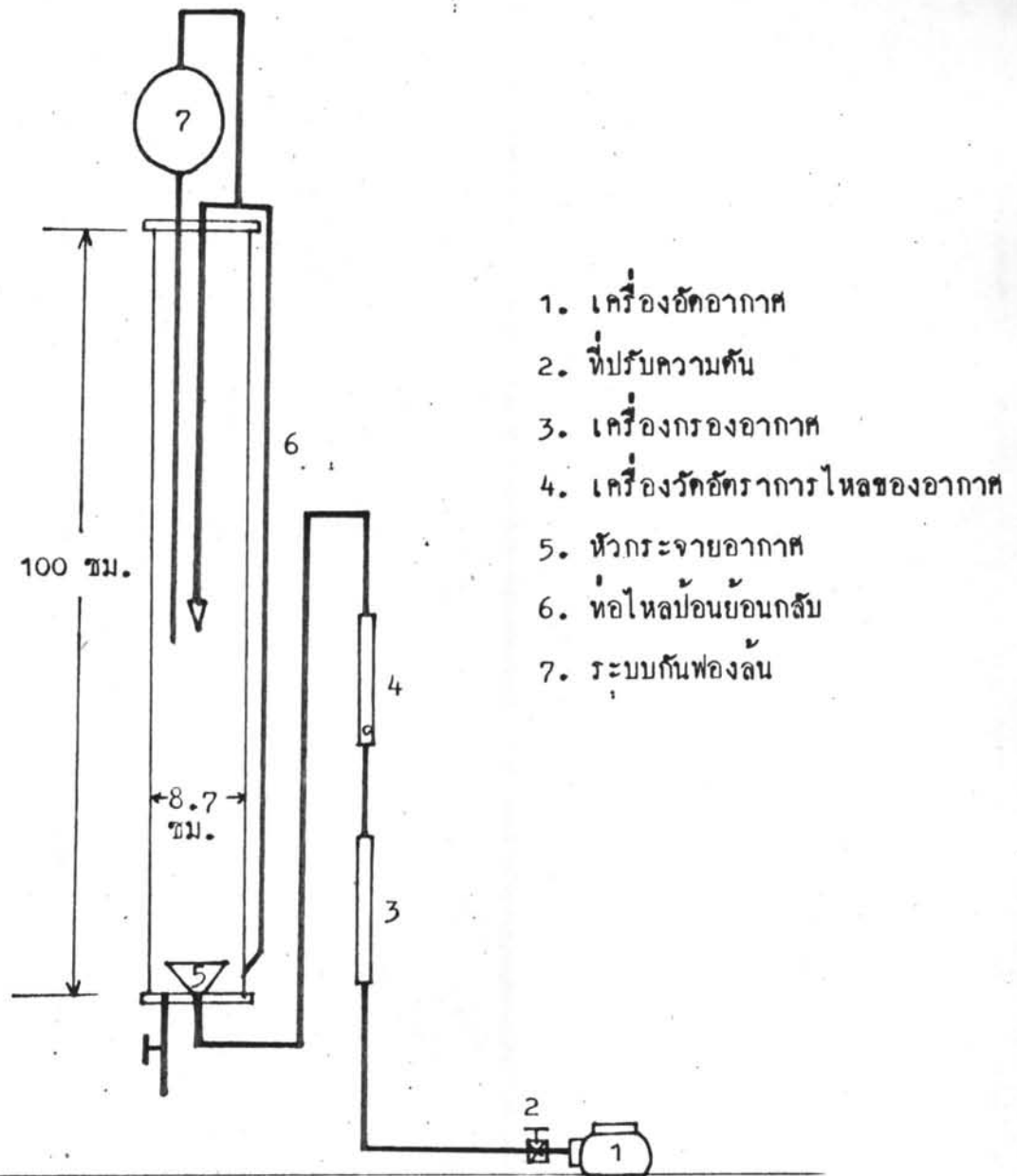
แบ่งออกเป็น 2 ตอน คือ

ตอนที่หนึ่ง การเตรียมไวน์สับปะรด

ตอนที่สอง การหมักน้ำส้มสายชู

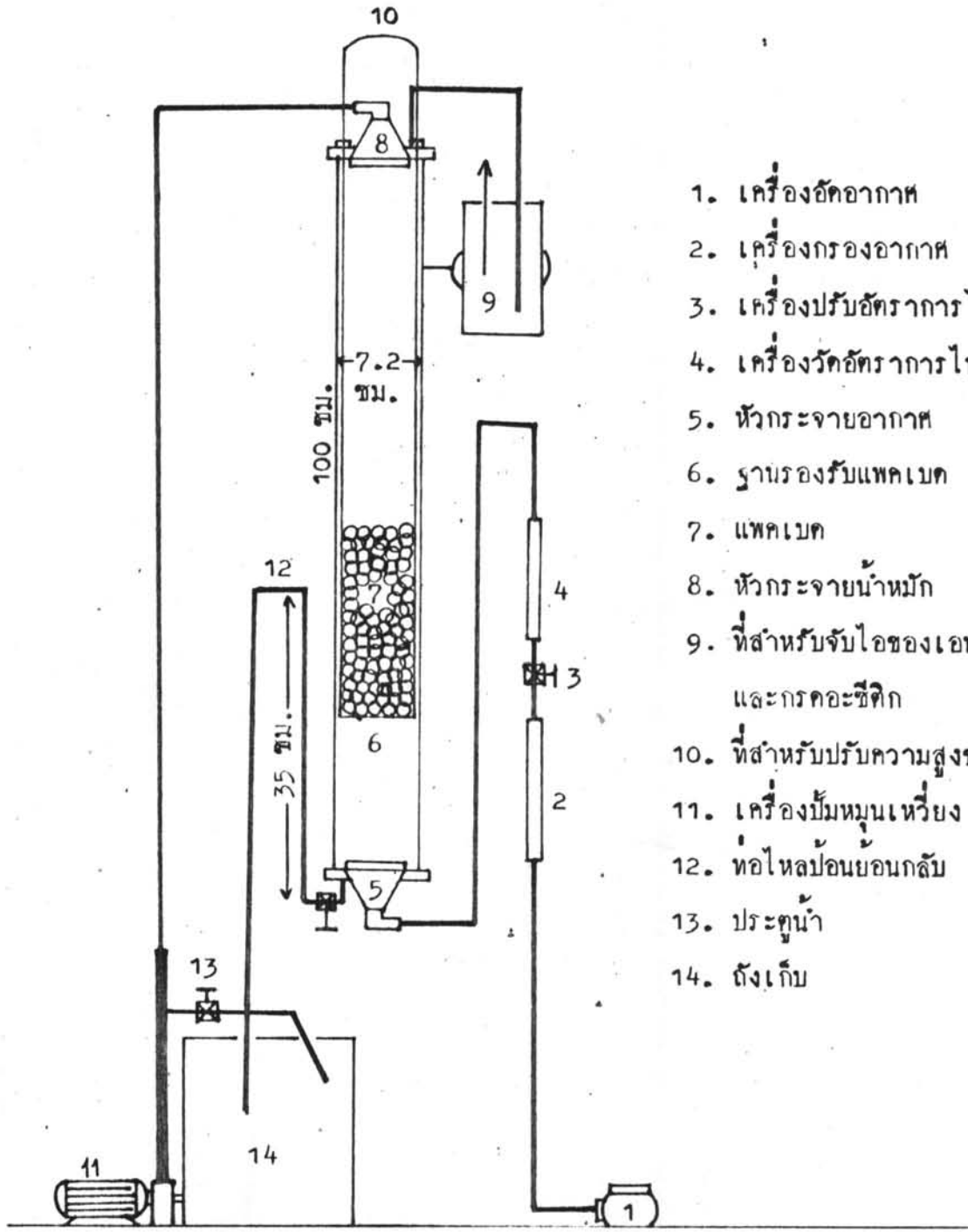
3.3.1 การเตรียมไวน์สับปะรด

ใช้น้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้น 20 องศาบริกซ์ นำไปหมักในคอลัมน์ขนาด 10 ลิตร โดยใช้เชื้อยีสต์ *S. ellipsoides* และใช้ โคแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตร้อยละ 0.05 เป็นสารอาหารเสริม ทำการหมักจนได้ไวน์สับปะรดซึ่งมีเอทานอลร้อยละ 13 โดยปริมาตร หลังจากนั้นจึงนำมาฆ่าเชื้อที่ 60-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักน้ำส้มสายชูต่อไป



1. เครื่องอัดอากาศ
2. ที่ปรับความดัน
3. เครื่องกรองอากาศ
4. เครื่องวัดอัตราการไหลของอากาศ
5. หัวกระจายอากาศ
6. ท่อไหลย้อนกลับ
7. ระบบกันฟองล้น

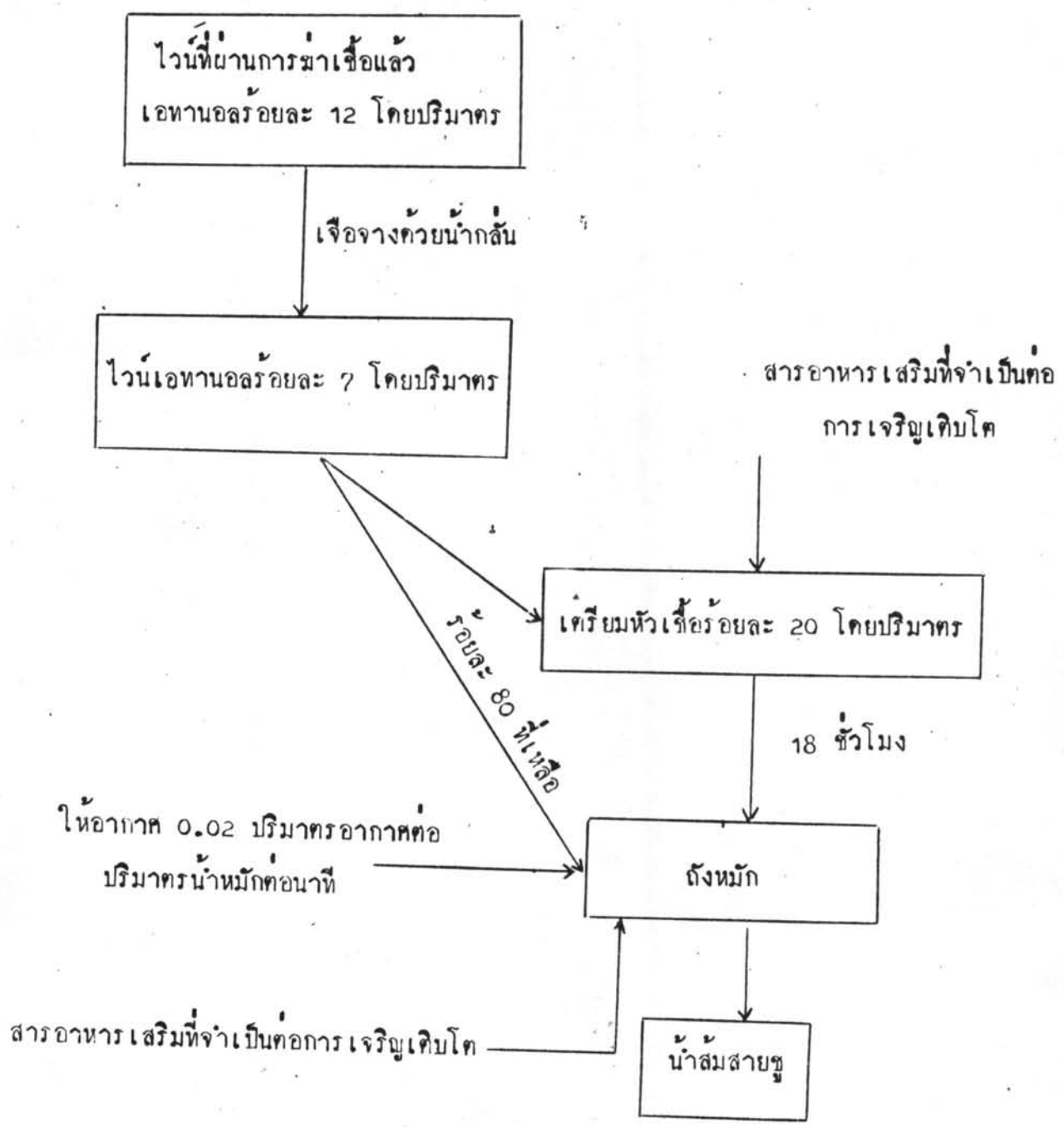
รูปที่ 1 แสดงส่วนต่าง ๆ ของเครื่องหมักแบบคอลัมน์ (นิคม ทิประวาโร 2522)



1. เครื่องฉุดอากาศ
2. เครื่องกรองอากาศ
3. เครื่องปรับอัตราการไหลของอากาศ
4. เครื่องวัดอัตราการไหลของอากาศ
5. หัวกระจายอากาศ
6. ฐานรองรับแพคเบค
7. แพคเบค
8. หัวกระจายน้ำหมึก
9. ที่สำหรับจับไอของเอทานอล และกรดอะซิติก
10. ที่สำหรับปรับความสูงของแพคเบค
11. เครื่องปั๊มหมุนเหวี่ยง
12. ท่อไหลย้อนกลับ
13. ประตูน้ำ
14. ถังเก็บ

รูปที่ 2 แสดงส่วนต่าง ๆ ของเครื่องหมักแบบคอลลิมนซ์ชนิดแพคเบค

รูปที่ 3 ขั้นตอนในการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์ลึบประค



3.3.2 การหมักน้ำผสมสาชู

แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ

- การเตรียมน้ำหมักเริ่มต้น
- การเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้น

3.3.2.1 การเตรียมน้ำหมักเริ่มต้น ใช้โวนัสสปะระคที่ไค้มาเจือจาง ให้ไค้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 7 โดยปริมาตร และเติมกรคอะซีติกเพื่อปรับปริมาณกรคในน้ำหมักให้ไค้ปริมาณกรครวมร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ต่อปริมาตร

3.3.2.2 การเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้น เชื้อเชื้อ A. aceti ลงสู่สารอาหารเหลวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วประกอบด้วย ยีสต์แอกแทรกต์ เปปโตน แมนนิทอล และ โคแอมโมเนียมไฮโครเจนฟอสเฟทร้อยละ 0.05, 0.03, 0.05 และ 0.3 ตามลำดับลงในขวดรูปกรวยขนาด 500 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่องเขย่าที่ 240 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 18 ชั่วโมง ตามวิธีของ Richardson K.C.(1967) แล้วจึงนำส่วนนี้ไปผสมกับโวนัสไค้ลงในคอสมันเพื่อเตรียมหัวเชื้อ (Starter) ให้ไค้ร้อยละ 20 โดยปริมาตรของน้ำหมักทั้งหมดเป็นเวลา 18 ชั่วโมง ตามวิธีของ Richardson K.C.(1967) ต่อจากนั้นเติมส่วนที่เหลืออีกร้อยละ 80 ลงไป เปิดปั้มและให้อากาศพร้อมทั้งปรับอัตราการไหลเข้าของน้ำหมัก และอากาศให้ไค้ตามต้องการ

3.4 การศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่าง ๆ ในการผลิต

ตัวแปรที่ศึกษาคือ

- ความเข้มข้นของเอทานอลและกรคอะซีติกที่เติมเข้าไปก่อนที่จะทำการหมัก
- สารอาหารเสริมที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต
- แพลกเบคและความสูงของแพลกเบค
- การไหลหมุนเวียนของน้ำหมัก
- อัตราการให้อากาศ
- อัตราการไหลเข้าของน้ำหมัก

3.5 วิธีวิเคราะห์และการวัด

3.5.1 วิธีวิเคราะห์

การวิเคราะห์ในระบบการหมักนี้แบ่งเป็น 2 พวกคือ

การวิเคราะห์หาเอทานอล

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดน้ำส้มสายชูในรูปของกรดรวมทั้งหมด

3.5.1.1 การวิเคราะห์หาเอทานอล ใช้วิธีการบด (A.O.A.C., 1980) โดยใช้น้ำหนัก 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดกลั่นขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำลงไปอีก 50 มิลลิลิตร นำไปกลั่นโดยกลั่นให้ได้ปริมาณทั้งหมด 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปหาความถ่วงจำเพาะโดยใช้ขวดหาความถ่วงจำเพาะ (Pycnometer) ขนาด 25 มิลลิลิตร ซึ่งจากค่าความถ่วงจำเพาะที่ได้นี้จะนำไปหาปริมาณเอทานอล เป็นเปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร จากตารางในภาคผนวก

3.5.1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิติก ในรูปของกรดรวมทั้งหมด ปริมาณกรดวิเคราะห์ได้จากการไตเตรทด้วยสารละลายค่างมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 นอร์มอล ใช้สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

วิธีวิเคราะห์ โดยนำตัวอย่างน้ำส้มสายชู 10 มิลลิลิตร ทำให้เจือจางด้วยน้ำ 20 มิลลิลิตร จากนั้นทำการไตเตรทจนได้สารละลายสีชมพูอ่อน แล้วคำนวณหาปริมาณของกรดได้ (A.O.A.C., 1980)

1 มิลลิลิตรของ 0.5 N = 0.0300 กรัมกรดอะซิติก

3.5.2 การวัด

ในระบบการหมักนี้ได้มีการวัด

3.5.2.1 วัดหาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid) หาได้โดยใช้แฮนด์รีแฟรคโตมิเตอร์ (hand refractometer) ในช่วง 0-32 องศาบริกซ์

3.5.2.2 วัดหาความหนาแน่นของน้ำหมัก หาได้โดยใช้ขวดหาความถ่วงจำเพาะขนาด 25 มิลลิลิตร

3.5.2.3 วัดค่าสภาพการดูดกลืนแสง (Absorbance) วัดค่าสภาพการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer UV. M. JEAN. et.R. CONSTANT No.5347 ทำการวัดที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ใช้เซลล์ควอทซ์ขนาด 1 x 1 เซนติเมตร

3.5.2.4 วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH) หาความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter) ELECTRONIC INSTRUMENTS LIMITED, serial No.:7010/582

3.5.2.5 วัดอุณหภูมิ ใช้เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิในระหว่างการหมัก ในหน่วย องศาเซลเซียส