หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

การพัฒนา เครื่องหมักแบบคอลัมน์จาก เครื่องหมักแบบหอสูง เป็น เครื่องหมักแบบแอร์ลิฟท์ที่มีการหมุน เวียนของน้ำหมักอัน เนื่องมาจากความหนาแน่นที่แตกต่างกันของน้ำหนักที่ระดับต่าง ๆ ในคอลัมน์ ทำให้ เซลยีสต์ที่อยู่ส่วนบนของ เครื่องหมักมีโอกาสหมุน เวียนมารับอากาศบริสุทธิ์จากหัวกระจายอากาศได้มากขึ้น ดังนั้นประสิทธิภาพในการทำงานจึงดีขึ้น (วิชาพงษ์, 2525) มีการนำ เครื่องหมักนี้มาใช้ในการผลิตยีสต์อาหารสัตว์ Candida utilis ด้วยระบบกึ่งต่อ เนื่อง โดยใช้น้ำสับปะรดที่มีน้ำตาลร้อยละ 2 เป็นสารอาหาร พบว่าได้ยีสต์แห้ง 10.2 กรัมต่อลิตร คิด เป็นปริมาณโปรตีน 5.89 กรัมต่อลิตร ใน เวลา 8 ชั่วโมง ปริมาณการใช้น้ำตาลร้อยละ 96 (อำนวย, 2521) ซึ่งมีประสิทธิภาพการทำงานดีกว่า เครื่องหมักแบบถังกวนที่ผลิตยีสต์แห้งออกมาได้ 9.5 กรัมต่อลิตร คิด เป็นปริมาณโปรตีน 5.65 กรัมต่อลิตร (สุมาลี, 2520) นอกจากนี้ยังมีการนำ เครื่องหมักแบบนี้ที่มีการปรับปรุงหัวกระจายอากาศและระบบหมุน เวียนของน้ำหมักมาทำการผลิต เอทานอลจากน้ำสับปะรดด้วยระบบไม่ต่อ เนื่อง (นิคม, 2523) และระบบกึ่งต่อ เนื่อง (วิชาพงษ์, 2525) เครื่องหมักแบบแอร์ลิฟท์นี้มีส่วนประกอบสำคัญ 4 ส่วน ดังรูปที่ 2-1 (วิชาพงษ์, 2525) ได้แก่ 1) เครื่องพ่นอากาศ และตัวกระจายอากาศ 2) คอลัมน์สำหรับหมักและระบบหล่อ เย็น 3) ระบบการป้อนย้อนกลับ และ 4) ระบบกำจัดฟอง

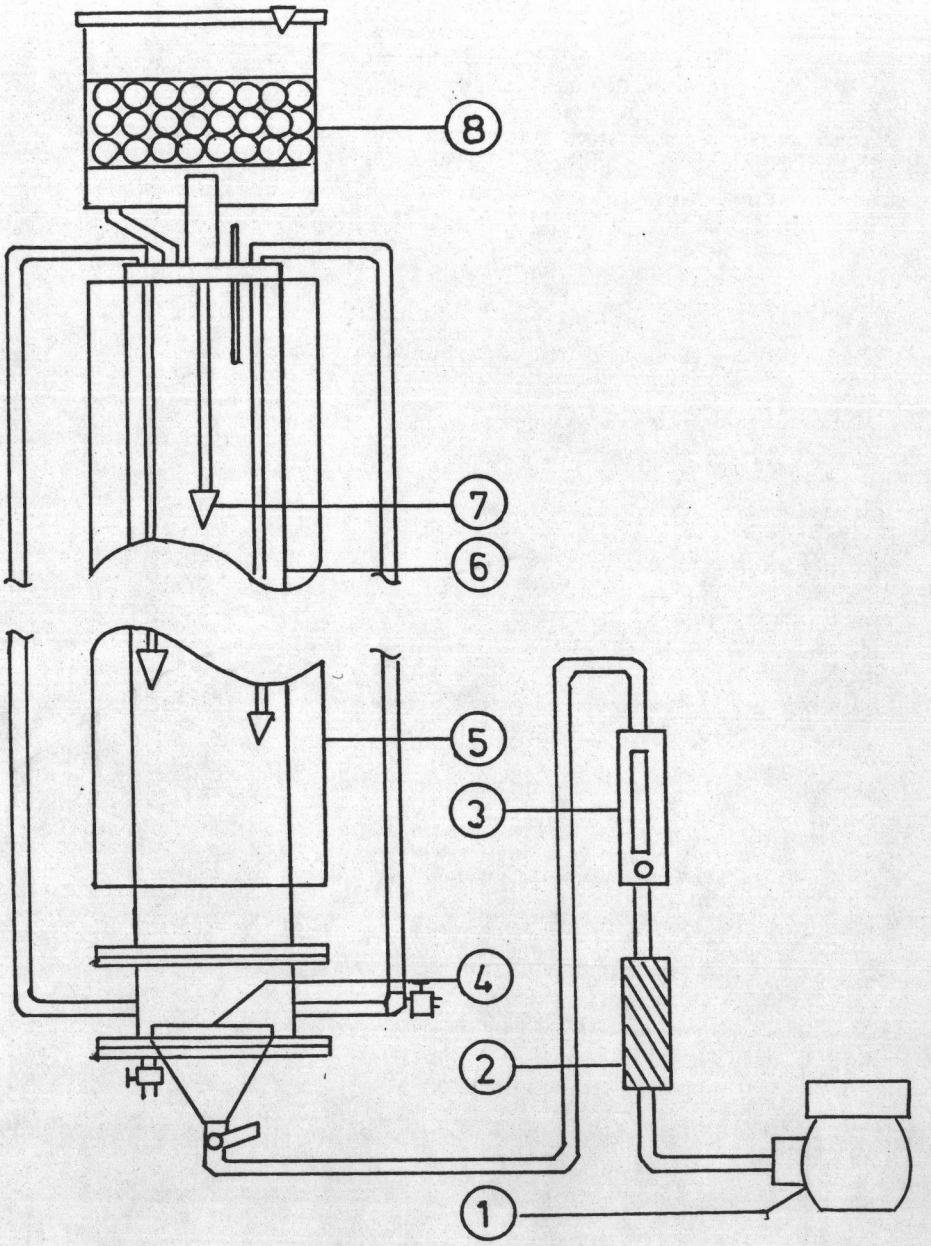
1) เครื่องพ่นอากาศ และตัวกระจายอากาศ ประกอบด้วย เครื่องอัดอากาศ ซึ่งมีที่ปรับความดันติดอยู่ เพื่อควบคุมให้อัตราการไหลของอากาศคงที่ อากาศจะไหลผ่านที่กรองอากาศ เข้า เครื่องวัดอัตราการไหล แล้วผ่านตัวกระจายอากาศที่ทำด้วยตะแกรงส เตน เลส ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง 7 เซนติ เมตร ตั้งอยู่บริ เวณตอนล่างของคอลัมน์

2) คอลัมน์สำหรับหมักและระบบหล่อเย็น

คอลัมน์สำหรับหมักทำด้วยพลาสติกใสชนิดทนความร้อนที่อุณหภูมิน้ำเดือดและสารเคมีได้ดี มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 8 เซนติเมตร สูง 120 เซนติเมตร ฝาปิดตอนบนเจาะรูไว้ 7 รู ดังรูปที่ 2-2 รูที่ 1 สำหรับให้ฟองล้นเข้าสู่ระบบกำจัดฟอง รูมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร เมื่อฟองแตกสลายจะไหลกลับลงสู่คอลัมน์ทางรูที่ 2 รูที่ 3 สำหรับเติมกรดหรือด่าง หรือสารอาหาร รูที่ 4, 5 และ 6 สำหรับต่อท่อในระบบการป้อนย้อนกลับ รูที่ 7 สำหรับเทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิภายในคอลัมน์ ส่วนฝาปิดคอลัมน์ตอนล่าง เจาะรูไว้ 2 รู ดังรูปที่ 2-2 รูที่ 1 ต่อเข้ากับตัวกระจายอากาศ รูที่ 2 สำหรับเก็บตัวอย่างและระบายน้ำหมักออกจากคอลัมน์ รอบ ๆ คอลัมน์มีระบบหล่อเย็นทำด้วยพลาสติกใสมีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 15×15×100 เซนติเมตร

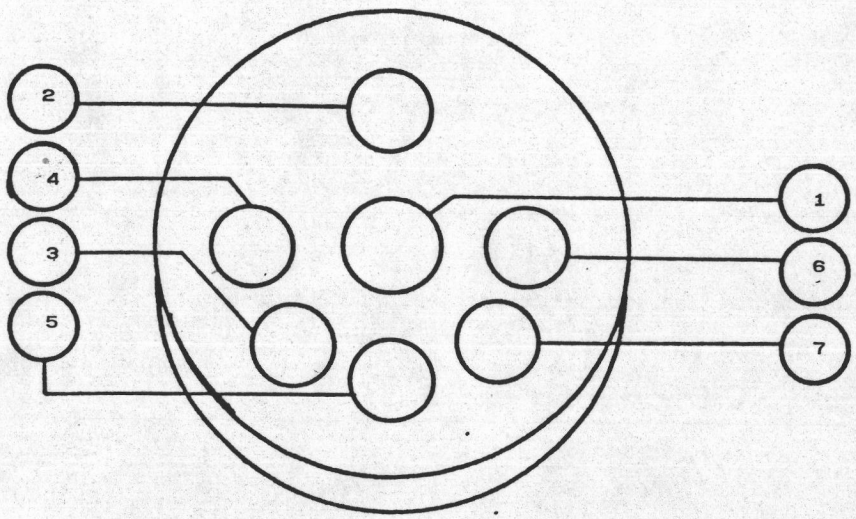
3) ระบบการป้อนย้อนกลับ

อาศัยความแตกต่างของความหนาแน่นของน้ำหมักที่ระดับต่างกัน ทำให้เกิดการไหลหมุนเวียนของน้ำหมักในคอลัมน์โดยใช้ท่อป้อนย้อนกลับทำด้วยสเตนเลส 3 ท่อ เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.7 เซนติเมตร ปลายท่อยึดติดกับกรวยสเตนเลสเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร เพื่อป้องกันอากาศไหลเข้าไป ท่อทั้งสามจะอยู่ต่ำกว่าฝาปิดตอนบน 30, 50 และ 70 เซนติเมตร ส่วนปลายที่โผล่จากตอนบนของตัวคอลัมน์จะทำเป็นท่องอแยกออกเป็น 2 ทาง ทางหนึ่งเป็นท่อมีวาล์วปิดเปิดที่ตรงปลาย สำหรับดูดไล่อากาศทำให้มีการไหลหมุนเวียนเกิดขึ้นได้ ส่วนอีกทางหนึ่ง เป็นท่อต่อขนานกับตัวคอลัมน์ลงมาจนถึงตอนล่างแล้วเจาะทะลุเข้าตัวคอลัมน์ทางด้านข้าง สำหรับปลายล่างทางด้านนอกของท่อป้อนย้อนกลับ ซึ่งอยู่ต่ำกว่าฝาปิดตอนบนที่ระดับ 70 เซนติเมตร จะเจาะรูขนาด 0.8 เซนติเมตร มีวาล์วปิดเปิดที่ปลายท่อ ใช้ในการเก็บตัวอย่างออกมาวิเคราะห์

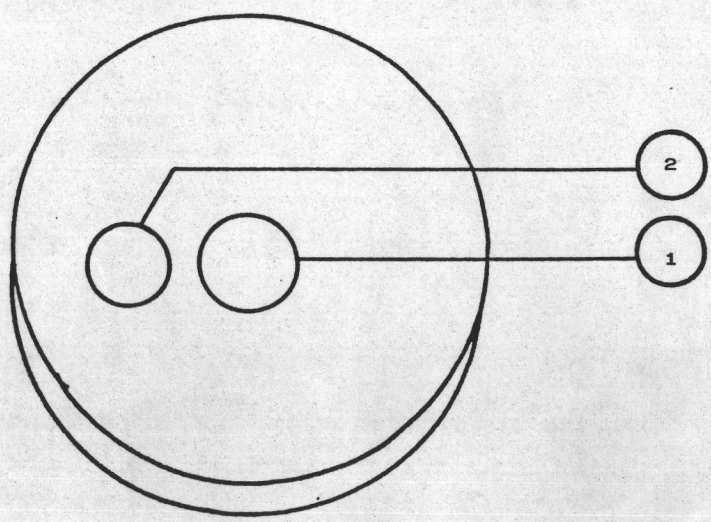


รูปที่ 2-1 ส่วนต่าง ๆ ของเครื่องหมักแบบคอลัมน์

1. เครื่องอัดอากาศ
2. ที่กรองอากาศ
3. เครื่องวัดอัตราการไหลของอากาศ
4. ตัวกระจายอากาศ
5. ระบบหล่อเย็น
6. ตัวคอลัมน์
7. ระบบไหลป่อนย้อนกลับ
8. ระบบกันฟองล้น



ฝาปิดตอนบน



ฝาปิดตอนล่าง

รูปที่ 2-2 ตำแหน่งต่าง ๆ ของรูที่เจาะบนฝาปิด

4) ระบบกำจัดฟอง

ระบบกำจัดฟองล้นทำด้วยพลาสติกใสมีลักษณะ เป็นถังสี่ เหลี่ยม ขนาด 15×15×40 เซนติ เมตร ภายในบรรจุพลาสติกทรงกลมมีตะแกรงส เตน เลสรองรับ เมื่อฟองล้นออกมาจากคอลัมน์กระทบกับลูกพลาสติก จะแตกสลาย เป็นของ เหลวไหลกลับ เข้าสู่คอลัมน์ เดิม

จากการทดลองนำ เครื่องหมักแบบแอร์ลิฟท์นี้มาใช้ในกระบวนการผลิต เอทานอลจากน้ำสับปะรดด้วยระบบไม่ต่อ เนื่องและกึ่งต่อ เนื่องพบว่า การผลิตด้วยระบบไม่ต่อ เนื่องให้ผลผลิต เอทานอลต่อหน่วย เวลาต่ำกว่าการผลิตด้วยระบบกึ่งต่อ เนื่อง (วิชาพงษ์, 2525) ทั้งนี้ เป็น เพราะในกระบวนการหมักด้วยระบบไม่ต่อ เนื่อง จุลินทรีย์ที่ใช้จะมีการ เจริญผ่านช่วงระยะต่าง ๆ จนครบวงจรชีวิต (Life cycle) ขณะ เดียวกัน ก็ทำให้น้ำหมัก เกิดการ เปลี่ยนแปลงขึ้น เช่น pH ความ เข้มข้นของสารอาหาร และปริมาณสารอินทรีย์ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้น ซึ่งจะมีผลทำให้อัตราการ เจริญและกิจกรรมของยีสต์หยุดชะงักลง (Aiba, 1965) ต่างกับการผลิตด้วยระบบกึ่งต่อ เนื่องที่จุลินทรีย์จะได้รับสารอาหาร เพียงพอตลอด เวลาและยังมีการถ่าย เทสารอินทรีย์ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้น จึงไม่มีการสะสมมากจนกระทั่งมีผลยับยั้งการ เจริญและกิจกรรมของจุลินทรีย์ (Lyons, 1981) จากวิธีการผลิต เบียร์ที่ เรียกว่า "Krausening process" เบียร์ส่วนหนึ่งที่หมักได้ที่แล้ว จะถูกนำมาผสมกับสารอาหารที่ยังไม่ผ่านการหมัก เพื่อ เป็น เชื้อหมัก เริ่มต้น ช่วยให้ เกิดการหมักต่อไป ในปี ค.ศ. 1904 ได้อาศัยหลักการคล้าย ๆ กันนี้มาใช้ในการผลิต เบียร์ แต่มีการ เพิ่มปริมาณ เซลยีสต์ด้วยการให้อากาศในระยะแรก ลักษณะ เช่นนี้ทำให้ เซลยีสต์มีชีวิตอยู่ได้นานขึ้นอีกด้วย เมื่อหยุดให้อากาศปล่อยให้ เกิดการหมักระยะหนึ่ง หลังจากนั้นถ่ายน้ำหมักครึ่งหนึ่งจากถังหมักแรกไปยังถังหมักที่สอง แล้วใส่สารอาหารที่ยังไม่ผ่านการหมักลงไปในถังหมักทั้งสองจนระดับ เท่า เดิม แล้วปล่อยให้ เกิดการหมักอย่างสมบูรณ์ หลังจากนั้นถ่ายน้ำหมักครึ่งหนึ่งจากถังหมักที่สองไปยังถังหมักที่สามพร้อมกับใส่สารอาหารที่ยังไม่ผ่านการหมักลงไป เช่น เดียวกับครั้งแรก ทำการถ่ายน้ำหมัก เช่นนี้ต่อไปจนกระทั่งสิ้นสุดที่ถังหมักสุดท้าย และในระยะ 70 ปีที่ผ่านมาอุตสาหกรรมการผลิต เบียร์ยังนิยมใช้ระบบกึ่งต่อ เนื่องนี้ เพื่อวัตถุประสงค์ในการ เพิ่มปริมาณ เซลยีสต์และ เพิ่มผลผลิต

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าการผลิตด้วยระบบกึ่งต่อ เนื่องจะมีข้อได้ เปรียบมากกว่าระบบไม่ต่อ เนื่อง แต่ เมื่อการหมักดำ เนินไปนาน ๆ ผลผลิตก็มีโอกาสลดลงไป ทั้งนี้อาจมีสา เหตุเนื่องมาจากปริมาณ เซลยีสต์ลดน้อยลง เป็นผลมาจากมีการถ่าย เทน้ำหมักออกจากถังหมักในอัตราที่ไม่สอดคล้องกับอัตราการ เพิ่มของ เซล และถ้าอัตราการถ่าย เทน้ำหมักมีในปริมาณสูงและรวด เร็ว เกินไป อาจ เป็นสา เหตุหนึ่งที่ทำให้ยีสต์ไม่สามารถ เปลี่ยนน้ำตาล เป็น เอทานอลได้ทันตามความต้องการ เป็นผลให้น้ำตาลสะสมในระบบมากขึ้น (วิชาพงษ์, 2525) ในทางตรงข้าม ถ้าอัตราการถ่าย เทน้ำหมักช้า ระดับความ เข้มข้นของ เอทานอลจะสูงขึ้น อยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 8-15 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ซึ่งอาจจะ เป็นพิษต่อ เซลได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ และช่วงระยะต่าง ๆ ของการ เจริญของ เซลด้วย (Lyons, 1981) ดังนั้นจึงได้มีการพยายามคัด เลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่ให้ผลผลิต เอทานอลสูงสำหรับใช้ในการหมัก Rose (1978) รายงานไว้ว่า การผลิต เอทานอลด้วย เชื้อ Saccharomyces sake สามารถให้ผลผลิต เอทานอลสูงถึงร้อยละ 20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ภายในระยะ เวลา 4 สัปดาห์ แต่โดยทั่วไป อุตสาหกรรมการผลิต เอทานอลจะนำน้ำหมักไป เข้า เครื่องกลั่น เมื่อหมัก เอทานอลได้สูงร้อยละ 8-10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เท่านั้น (Kosaric et al, 1980) อย่างไรก็ตามก็ได้มีการปรับปรุงกรรมวิธีการผลิตโดยมุ่ง เพิ่มประสิทธิภาพของ เครื่องหมัก เนื่องจาก เครื่องหมัก เป็นถังปฏิกิริยาที่สามารถควบคุมสภาวะแวดล้อม ตลอดจนการ เปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่าง ๆ ได้ เช่น ความ เข้มข้นของสารอาหาร อุณหภูมิ pH อัตราการให้อากาศ และที่สำคัญจะต้องมีลักษณะ เหมาะสมสามารถทำให้ปราศจาก เชื้อได้ โดย เฉพาะขณะดึงตัวอย่างออกมา เพื่อวิ เคราะห์ และขณะถ่าย เทน้ำหมัก (Solomon, 1969)

ในปี ค.ศ. 1909 โรงงานผลิต เบียร์ในนิวยอร์คได้นำหลักการถ่าย เทน้ำหมักด้วยระบบกึ่งต่อ เนื่องมาใช้หมัก เบียร์ แต่อาศัยถังหมักวาง เรียงกันหลาย ๆ ใบ ส่วนของ เบียร์ที่หมักได้ที่จะ เป็น เชื้อหมัก เริ่มต้นสำหรับการหมักต่อไป นั่นคือ เมื่อผ่านสารอาหารที่ยังไม่ได้หมักลงไปในถังแรกจนถึงระดับหนึ่ง ส่วนผสมนี้จะไหลล้นไปยังถังหมักถัดไปจนกระทั่งได้ผลผลิตออกมาจากถังหมักสุดท้าย (Hough, 1961) ระบบการหมักแบบใหม่นี้ เรียกว่า "ระบบการหมักแบบต่อ เนื่อง" เมื่อประมาณ 50 ปีมาแล้ว ในประ เทศอังกฤษก็นำระบบการหมักแบบ

ต่อ เนื่องมาใช้ในกระบวนการผลิตยีสต์เพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ และยีสต์สำหรับทำขนมปัง (Olsen, 1961) ในระยะ 20 ปีที่ผ่านมาได้มีการศึกษาค้นคว้า เกี่ยวกับทฤษฎีและรายละ เอียดของกระบวนการหมักด้วยระบบต่อ เนื่อง เช่น การจัดลักษณะ เครื่องมือ กระบวนการควบคุม ตลอดจนปัญหาต่าง ๆ ที่ เกี่ยวข้อง

ในระบบการหมักแบบต่อ เนื่อง หลังจากที่จุลินทรีย์ เจริญ เพิ่มจำนวนขึ้นถึงระดับหนึ่ง ซึ่งปกติ เป็นระดับที่จุลินทรีย์มีอัตราการ เจริญ และอัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ที่สูงที่สุด ปัจจัยที่สำคัญ บางอย่าง เช่น ความ เข้มข้นของ เซล และความ เข้มข้นของสารอาหารหลักอยู่ในระดับที่คงที่ เหมาะสม ซึ่งสามารถทำได้โดยการป้อนสารอาหารที่ผ่านการฆ่า เชื้อแล้ว เข้าสู่ถังหมักพร้อม กับการปล่อยน้ำหมักออกจากถังหมักในอัตรา เดียวกัน และควร เป็นอัตราที่พอ เหมาะที่จะทำให้ จำนวนจุลินทรีย์ที่ เพิ่มขึ้นในถังหมัก เท่ากับจำนวนจุลินทรีย์ที่ไหลออกจากถังหมัก ขณะ เดียวกัน อัตราการ เพิ่มสารอาหาร เข้าสู่ถังหมัก เท่ากับอัตราการใช้สารอาหารโดยจุลินทรีย์ในน้ำหมัก และอัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ เท่ากับอัตราการไหลออกของผลิตภัณฑ์ (Aiba, 1965)

การหมักด้วยระบบต่อ เนื่องที่มีการดำ เนินงานไปแล้ว ได้แก่ การผลิต เบียร์ในคานาดา (Geiger, 1957) และนิวซีแลนด์ (Stewart, 1959) การผลิตยีสต์เพื่อใช้เป็นอาหาร สัตว์ โดยอาศัยสารอาหารจากน้ำทิ้งของโรงงานผลิต เยื่อกระดาษ การทดลองผลิตยีสต์ Candida utilis โดยใช้เครื่องหมักแบบแอร์ลิฟท์ (Rosario, 1984) และการผลิต ยีสต์ทำขนมปังจากกากน้ำตาลในประ เทศอังกฤษ (Sher, 1961) การผลิตน้ำส้มสายชูและ การกำจัดน้ำ เสียจากโรงงานอุตสาหกรรม เป็นต้น ในตารางที่ 2-1 และ 2-2 แสดงถึงชนิดของจุลินทรีย์และผลิตภัณฑ์ที่ เกิดจากการหมักที่มีการศึกษาในระบบต่อ เนื่อง

ตารางที่ 2-1 ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักด้วยระบบต่อเนื่อง (Aiba, 1965)

ชนิดของจุลินทรีย์ (Organisms)	สกุล (Genera)
Actinomycetes	Streptomyces
Algae	Chlorella
	Euglena
	Scenedesmus
Bacteria	Aerobacter
	Azotobacter
	Bacillus
	Brucella
	Clostridium
	Salmonella
Fungi	Ophiostoma
	Penicillium
Protozoa	Tetrahymena
Yeast	Saccharomyces
	Torula

ตารางที่ 2-2 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักด้วยระบบต่อเนื่อง (Aiba, 1965)

ผลิตภัณฑ์ที่ได้สัมพันธ์โดยตรงกับการเจริญของจุลินทรีย์ (Growth-associated)	ผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่มีความสัมพันธ์กับการเจริญของจุลินทรีย์ (Non-growth associated)
Acetic acid	Acetone
Butanediol	Butanol
Ethanol	Glycogen
Gluconic acid	Subtilin
Hydrogen sulfide	Chloramphenicol
Lactic acid	Penicillin
	Streptomycin
	Vitamin B_{12}

กระบวนการหมักด้วยระบบต่อ เนื่องมีข้อได้ เปรียบการหมักระบบอื่นหลายประการ เช่น

1. สามารถศึกษาสรีรวิทยาของจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะแวดล้อมคงที่ชนิดใดชนิดหนึ่งได้

2. ตามทฤษฎีแล้วให้ผลผลิตและประสิทธิภาพในการผลิตผลิตภัณฑ์สูงกว่าในกระบวนการหมักด้วยระบบไม่ต่อ เนื่อง

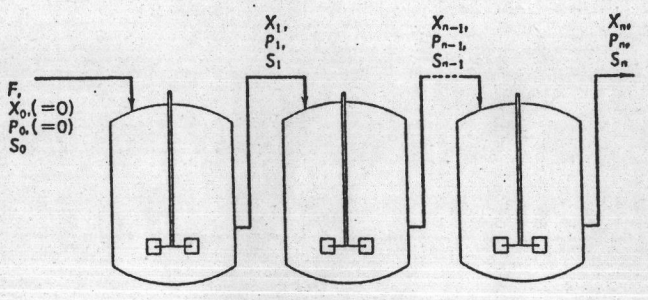
3. ประหยัด เนื้อที่ในการติดตั้ง เครื่องมือ และประหยัดแรงงาน

4. สามารถจัดระบบควบคุมแบบอัตโนมัติได้

ทำให้กระบวนการหมักระบบนี้ได้รับความสนใจจากนักวิทยาศาสตร์มาก เป็นพิ เศษ

<u>ทฤษฎีของกระบวนการหมักด้วยระบบต่อ เนื่อง</u>

เมื่อนำ เครื่องหมักที่มีปริมาตร v ลิตร เท่ากัน ทั้งหมด n ตัว มาต่อกันดังรูปที่ 2-3 ปล่อยให้น้ำหมักผ่าน เครื่องหมัก เหล่านี้ ด้วยอัตรา F ลิตรต่อชั่วโมง สามารถ เขียนสมการของความสมดุลย์ของมวลสาร (Mass balance equation) ในรูปของน้ำหนัก เซล (X) ความ เข้มข้นของผลิตภัณฑ์ (P) และความ เข้มข้นของสารอาหาร (S) ได้ดังนี้ (Aiba, 1965)



รูปที่ 2-3 แสดงถึง เครื่องหมัก n ตัว โดย

X = น้ำหนักของ เซล P = ความ เข้มข้นของผลิตภัณฑ์

S = ความ เข้มข้นของสารอาหาร F = อัตราการไหลของน้ำหมัก

X : $$\frac{V\,dX_n}{dt} = FX_{n-1} - FX_n + V\left(\frac{dX_n}{dt}\right)$$ การเจริญเติบโตในเครื่องหมักตัวที่ n (2.1)

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

$$\frac{dX_n}{dt} = D\,(X_{n-1} - X_n) + \mu_n X_n \qquad (2.2)$$

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

$=$ ช่วงเวลาของการไหลในเครื่องหมักแต่ละตัว

$$\mu_n = \frac{1}{X_n}\,\frac{dX_n}{dt}$$ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

P : $$\frac{dP_n}{dt} = \frac{F}{V}\,(P_{n-1} - P_n) + \left(\frac{dP_n}{dt}\right)$$ การผลิตในเครื่องหมักตัวที่ n (2.3)

$$\frac{dP_n}{dt} = D\,(P_{n-1} - P_n) + Y_{p/x}\,\mu_n\,X_n \qquad (2.4)$$

เมื่อ $Y_{p/x} = \Delta P/\Delta X$

$=$ ปริมาณผลผลิตที่ได้เมื่อเทียบกับน้ำหนักเซล (Yield of product base on cell mass)

S : $$\frac{d S_n}{dt} = \frac{F}{V}(S_{n-1} - S_n) + \left(\frac{d S_n}{dt}\right) \qquad (2.5)$$

การใช้สารอาหารในเครื่องหมักตัวที่ n

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

$$\frac{d S_n}{dt} = D (S_{n-1} - S_n) - \frac{Y_{p/x}}{Y_{p/s}} \mu_n X_n \qquad (2.6)$$

เมื่อ $Y_{x/s} = - \Delta X/\Delta S$

= ปริมาณเซลที่เจริญเติบโตเมื่อเทียบกับสารอาหารที่จำกัด

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

= ปริมาณผลผลิตเมื่อเทียบกับสารอาหารที่จำกัด

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

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

สมมุติว่า น้ำหมักไหลจากเครื่องหมักตัวที่ (n - 1) ไปยังเครื่องหมักตัวที่ n ถูกผสมกันอย่างสมบูรณ์ทันทีใน เครื่องหมักตัวที่ n ค่า $Y_{x/s}$, $Y_{p/x}$ และ $Y_{p/s}$ ในสมการถูกสมมุติให้เป็นค่าคงที่ ภายใต้สภาวะคงที่ (Steady-state) ทางด้านซ้ายของสมการ (2.1) - (2.6) จะเป็นศูนย์

จากสมการ (2.2) ได้

$$X_n = \frac{DX_{n-1}}{D - \mu_n} \qquad (n \neq 1) \qquad (2.7)$$

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

$$\vdots \qquad\qquad \vdots$$

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

$$\cdots\cdots = \frac{D^{n-1} X_1}{\prod_{i=2}^{n} (D - \mu_i)} \qquad (2.8)$$

จากสมการ (2.8) นี้ สามารถหาค่า X_n ใน เครื่องหมักตัวที่ n ได้ และค่า μ หาจากค่า X_n, X_{n-1}, ... เป็นต้น สำหรับ เครื่องหมัก 1 ตัว ($n = 1$) ค่า X_0 ในสมการ (2.2) จะมีค่า เท่ากับศูนย์

$$0 = -DX_1 + \mu_1 X_1 \qquad (2.9)$$

$$0 = (-D + \mu_1) X_1$$

$$D = \mu$$

$$D = \mu_{max} \frac{S_1}{K_s + S_1} \qquad (2.10)$$

009685

μ_{max} = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด เมื่อความเข้มข้นของสารอาหารไม่มีขอบเขตจำกัด

K_s = ค่าคงที่ (Saturated constant), มิลลิกรัมต่อลิตร

เนื่องจากค่า $\frac{S_1}{K_s + S_1} < 1$ ดังนั้นค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดในเครื่องหมักตัวที่ 1 จะมีค่าน้อยกว่าค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดในทางทฤษฎีเสมอ ($D < \mu_{max}$) ซึ่งไม่เป็นความจริงในกรณีเมื่อเครื่องหมักผสมกันไม่สมบูรณ์ หรือเมื่อมีอิทธิพลของความเข้มข้นมาเกี่ยวข้อง หรือเมื่อมีระบบการไหลหมุนเวียน (Recycling) แต่กรณีที่สนใจในการพิจารณาคือ เมื่อมีระบบการไหลหมุนเวียนของเชื้อจุลินทรีย์

ให้ r = อัตราส่วนของมวลสารที่หมุนเวียน (Fraction of the mass recycled)

ดังนั้น $$\frac{dX_1}{dt} = D_1(rX_1 - X_1) + \mu_1 X_1 \qquad (2.11)$$

ในสถานะภาพคงที่ (Steady state)

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

$$= \mu_{max} \frac{S_1}{(K_s+S_1)(1-r)} \qquad (2.12)$$

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

สำหรับ P

$$P_n = \frac{DP_{n-1} + Y_{p/x} \mu_n X_n}{D} \quad (2.13)$$

กรณีเครื่องหมัก 1 ตัว

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

$$= Y_{p/x} X_1 \quad (2.14)$$

สำหรับ S เมื่อสถานะภาพคงที่ (Steady state)

$$S_n = S_{n-1} - \frac{Y_{p/x} X_n \mu_n}{D Y_{p/s}} \quad (2.15)$$

$$= S_{n-1} - \frac{\mu_n X_n}{D Y_{x/s}} \quad (2.16)$$

กรณีเครื่องหมัก 1 ตัว

$$S_1 = S_o - \frac{Y_{p/x} \mu_1 X_1}{D Y_{p/s}} \quad (2.17)$$

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

$$S_1 = S_o - \frac{X_1}{Y_{x/s}} \quad (2.18)$$

การเปรียบเทียบความสามารถของการหมัก

การเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตระหว่างการหมักไม่ต่อเนื่องกับการหมักแบบต่อเนื่อง (Batch productivity compared to continuous productivity)

ค่าความสามารถในการผลิต (Productivity) จะแสดงในรูปของจำนวนกรัมของผลิตภัณฑ์ต่อลิตรต่อชั่วโมง (Aiba, 1965) ในการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง 1 รอบใช้เวลาทั้งหมด ดังนี้คือ

$$t_c = t_m + t_o + t_1 + t_2 \qquad (2.19)$$

$$= t_m + t_e$$

$$= \frac{1}{\mu_{max}} \ln \frac{X_m}{X_i} + t_e \qquad (2.20)$$

t_m = เวลาที่ใช้ในช่วง Exponential phase

t_o = Harvest period

t_1 = เวลาที่ใช้ในการเตรียมระหว่างที่จะทำการหมักต่อไป

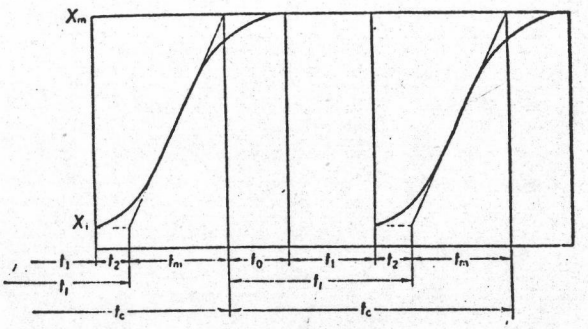
t_2 = เวลาที่ใช้ในการปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อม

t_e = $t_o + t_1 + t_2$

X_i = น้ำหนักเซลเริ่มแรก (Initial cell concentration)

X_m = น้ำหนักเซลสูงสุด (Maximum cell concentration)

μ_{max} = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด เมื่อความเข้มข้นของสารไม่มีขอบเขตจำกัด



รูปที่ 2-4 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลกับเวลาที่ใช้ในการหมักไม่ต่อเนื่อง (Aiba, 1965)

จากสมการของปริมาณการเจริญเติบโต (yield of growth)

$$Y_{x/s} = - \Delta X / \Delta S \qquad (2.21)$$

$$Y_{x/s} S_o = X_m - X_i \qquad (2.22)$$

ฉะนั้นอัตราการเกิดเซลในการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง (γ_{batch}), มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อชั่วโมง คือ

$$\gamma_{batch} = \frac{Y_{x/s} S_o}{\frac{1}{\mu_{max}} \ln \frac{X_m}{X_i} + t_e} \qquad (2.23)$$

ส่วนอัตราการเกิดเซลในการหมักแบบต่อเนื่อง (γ_{cont}), มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อชั่วโมง คือ

$$\gamma_{cont} = DX \qquad (2.24)$$

หรือ $$(\gamma_{cont})_{max} = D_m X_m \qquad (2.25)$$

โดย $$D_m = \mu_{max}\left(1-\sqrt{\frac{K_s}{K_s+S_o}}\right) \qquad (2.26)$$

$$X_m = Y_{x/s}\left\{S_o + K_s - \sqrt{K_s(S_o+K_s)}\right\} \qquad (2.27)$$

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

K_s = ค่าคงที่ (Saturated constant) มิลลิกรัมต่อลิตร

S_o = ความเข้มข้นของสารอาหารเริ่มต้น (Substrate concentration)

ฉะนั้น

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

$$= Y_{x/s}\ \mu_{max}\ S_o\left\{\sqrt{\frac{K_s+S_o}{S_o}} - \sqrt{\frac{K_s}{S_o}}\right\}^2 \qquad (2.28)$$

สมมุติว่า $K_s << S_o$ ฉะนั้นสมการ 2.29 จะได้

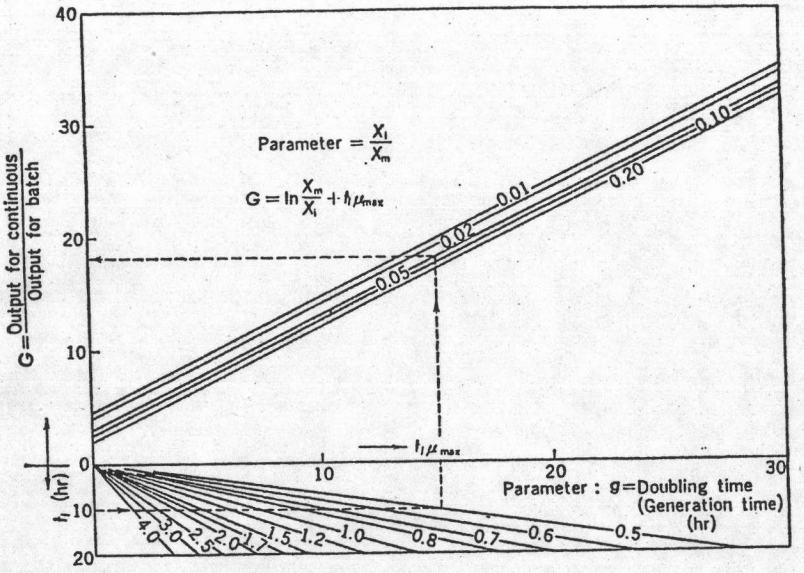
$$(r_{cont})_{max} = Y_{x/s}\ \mu_{max}\ S_o \qquad (2.29)$$

กำหนดให้ $G = \dfrac{(r_{cont})_{max}}{r_{batch}}$ (2.30)

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

$$\frac{(r_{cont})_{max}}{r_{batch}} = \ln \frac{X_m}{X_i} + t_e\ \mu_{max} \qquad (2.31)$$

จากสมการ 2.31 สามารถแสดงในกราฟรูปที่ 2-5 โดยให้ปริมาณเซลที่เติมลงไป (Inoculum size) 5 % $X_i/X_m = 0.05$, $t_e = 10$ ชั่วโมง, Doubling time (t_d) = 0.05 ชั่วโมง ซึ่งถ้าเปลี่ยนการหมักแบบไม่ต่อเนื่องไปเป็นการหมักแบบต่อเนื่อง ค่า G จะมีค่าเท่ากับ 18 นั่นคือค่า G จะได้รับอิทธิพลจากค่า t_d, t_e มากกว่าค่า X_i/X_m มาก แสดงให้เห็นว่า ปรากฏการณ์การหมักแบบต่อเนื่องจะให้ประโยชน์สำหรับเซลที่มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว (รูปที่ 2-5 นี้จะแสดงในรูปของการผลิตเซล ซึ่งสามารถนำมาใช้กับการเกิดผลิตภัณฑ์เช่นกัน)



รูปที่ 2-5 การเปรียบเทียบการหมักไม่ต่อเนื่อง กับการหมักแบบต่อเนื่อง (Aiba, 1965)

ในทำนองเดียวกัน เมื่อแทนค่าพารามิเตอร์ X_i/X_m = 0.05, t_e = 10 ชั่วโมง ลงในสมการที่ 2.31 สามารถหาค่าของความสามารถในการผลิตระหว่างการหมักไม่ต่อเนื่องกับการหมักต่อเนื่องที่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่าง ๆ กัน (Wang, 1979) ดังแสดงในตารางที่ 2-3

ตารางที่ 2-3 การเปรียบเทียบผลผลิตในการหมักไม่ต่อเนื่อง กับการหมักแบบต่อเนื่อง

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

จากตารางนี้พอสรุปได้ว่า การหมักแบบต่อเนื่องจะให้ผลผลิตดีกว่าการหมักไม่ต่อเนื่อง และจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตที่เร็วกว่าจะเหมาะกับการหมักแบบต่อเนื่องมากยิ่งขึ้น

การเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตระหว่างการหมักไม่ต่อเนื่องกับการหมักกึ่งต่อเนื่อง (Batch productivity compared to semicontinuous productivity)

อัตราการเกิดเซลในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (γ_{semi}) มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์-เซนติเมตรต่อชั่วโมง คือ

$$\gamma_{semi} = \tfrac{1}{2}\left\{ Y_{x/s}\ \mu_{max}\ S_o + \frac{Y_{x/s} S_o\ \mu_{max}}{\ln \frac{X_m}{X_i} + t_e\ \mu_{max}} \right\} \qquad (2.32)$$

$$= \tfrac{1}{2} Y_{x/s} \mu_{max} S_o \left\{ \frac{\ln \frac{X_m}{X_i} + t_e \mu_{max} + 1}{\ln \frac{X_m}{X_i} + t_e \mu_{max}} \right\} \qquad (2.33)$$

กำหนด $Q = \dfrac{\gamma_{semi}}{\gamma_{batch}}$ (2.34)

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

$$= \tfrac{1}{2} \left\{ \ln \frac{X_m}{X_i} + t_e \mu_{max} + 1 \right\} \qquad (2.35)$$

เมื่อแทนพารามิเตอร์ $\% X_i/X_m = 0.05$ $t_e = 10$ ชั่วโมง ลงในสมการ (2.45) สามารถหาค่าอัตราส่วนของความสามารถในการผลิตระหว่างการหมักไม่ต่อเนื่องกับการหมักกึ่งต่อเนื่อง ที่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่าง ๆ กัน ดังแสดงในตาราง ที่ 2-4

ตารางที่ 2-4 การเปรียบเทียบผลผลิตในการหมักไม่ต่อเนื่องกับการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

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

จากตารางจะเห็นว่าการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องจะให้ผลดีกว่าการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง และเมื่อเทียบกับตารางที่ 2-3 จะพบว่าการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องจะให้ผลอยู่ระหว่างการหมักแบบต่อเนื่องกับการหมักไม่ต่อเนื่อง

การจัดจำแนกระบบกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง

ระบบกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องอาจจำแนกได้หลายแบบ ถ้าใช้ลักษณะธรรมชาติของการเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยาและชีวเคมีในกระบวนการหมักชนิดนั้น ๆ เป็นพื้นฐาน ก็แบ่งกระบวนการหมักได้เป็น 2 ลักษณะ (Wang, 1979) คือ เป็นการหมักเพื่อ

1. ผลิตเซลของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์หลักที่ต้องการ

2. ผลิตสารเคมีบางอย่าง ซึ่งอาจจะเกิดจากการสังเคราะห์ขึ้นโดยจุลินทรีย์ หรืออาจได้จากการย่อยสลายสารอาหารในน้ำหมักไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

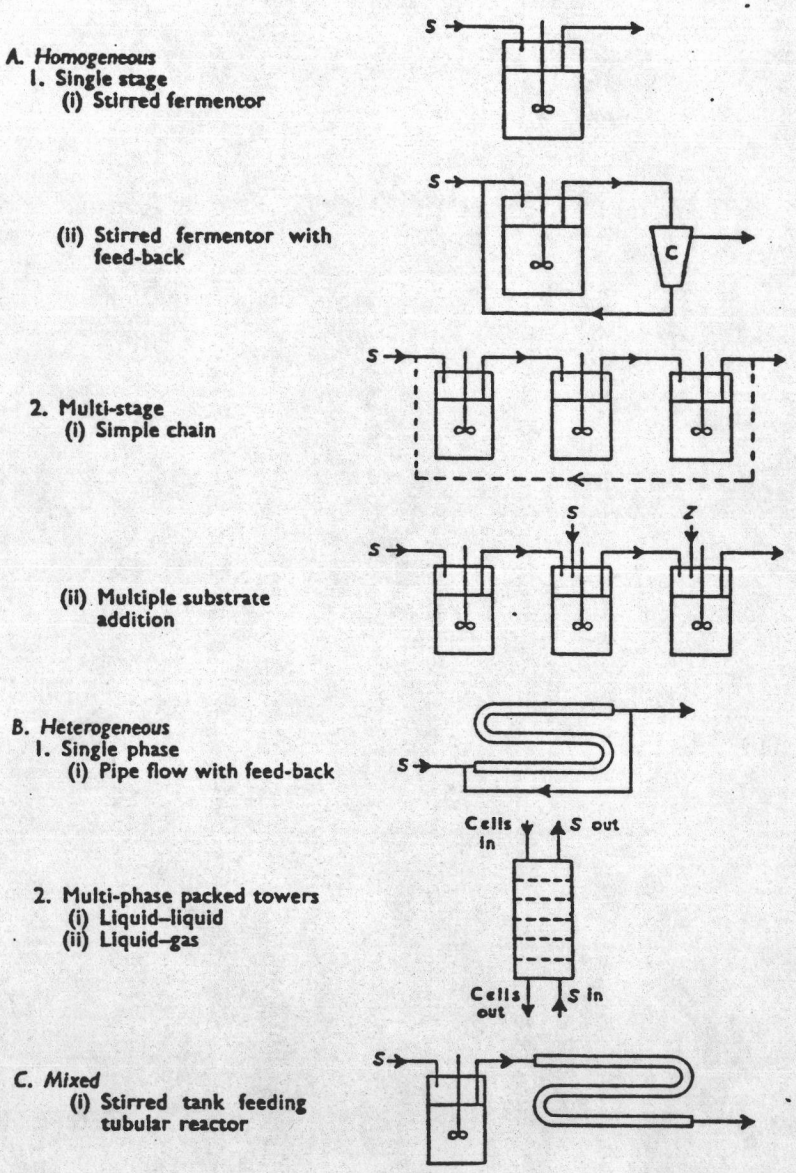
ในแง่ของวิศวกรรมเคมี อาจจำแนกได้เป็น 2 ระบบ (Herbert, 1961) คือ

1. Homogeneous system ระบบนี้จัดได้ว่ามีส่วนประกอบต่าง ๆ ในน้ำหมักกระจายอย่างสม่ำเสมอ จุลินทรีย์มีลักษณะทางสรีรวิทยาเท่าเทียมกันโดยตลอดในขณะที่การหมักอยู่ในสภาวะสมดุลย์ (ตัวอย่างเช่น การหมักด้วยเครื่องหมักระบบแอร์ลิฟท์)

2. Heterogeneous system ในระบบนี้ถึงแม้ว่าจะอยู่ในสภาวะสมดุลย์ ความเข้มข้นของเซล ความเข้มข้นของสารอาหาร และผลิตภัณฑ์ในแต่ละจุดจะแตกต่างกัน และจุลินทรีย์ที่กระจายอยู่ตามตำแหน่งต่าง ๆ ในระบบก็มีความแตกต่างกันทั้งทางด้านสรีรวิทยาและความสามารถในการเจริญเติบโต หรือการผลิตผลิตภัณฑ์ ซึ่งความแตกต่างกันนี้คล้าย ๆ กับว่าอยู่ในช่วงต่าง ๆ ของวงจรชีวิต

นอกจากนี้ Herbert, D. (1961) ได้จำแนกระบบกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องเป็น 2 ระบบใหญ่ ๆ คือ ระบบเปิด (Open system) และ ระบบปิด (Closed system) ดังแสดงในรูปที่ 2-6 และ 2-7

1. ระบบเปิด หมายถึงระบบที่จุลินทรีย์ในน้ำหมักจะไหลออกมาพร้อมกับผลิตภัณฑ์ตลอดเวลา

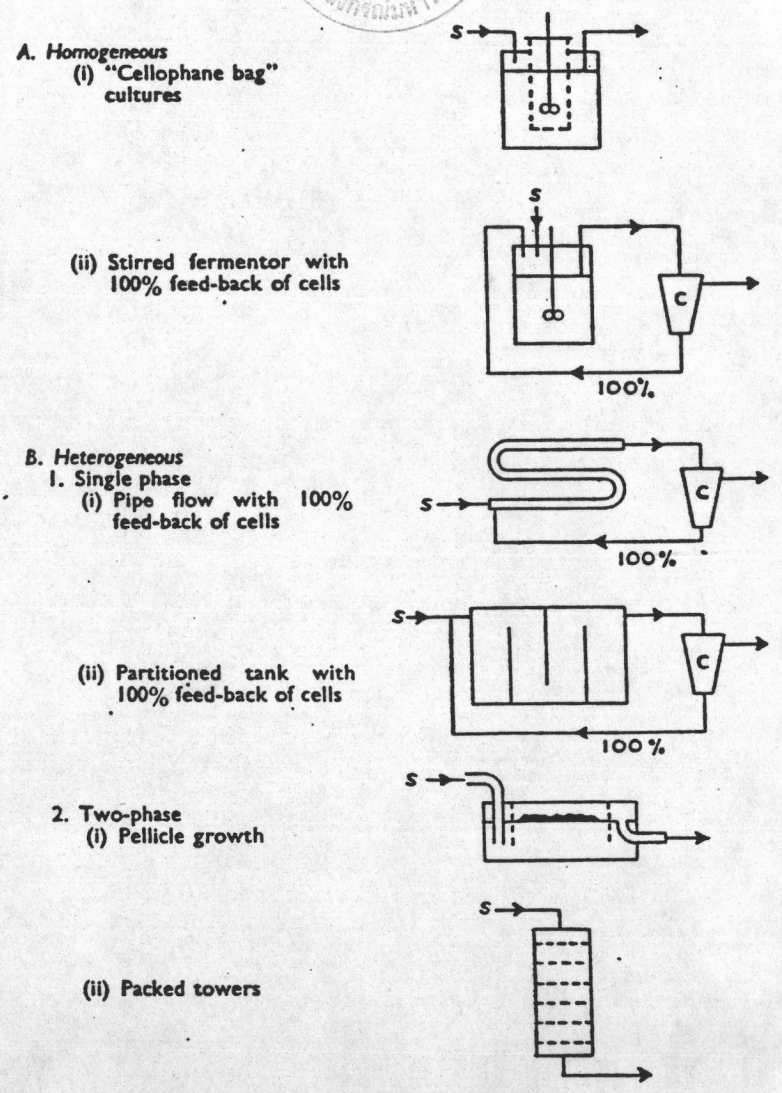


รูปที่ 2-6 การจัดจำแนกกระบวนการหมักแบบต่อ เนื่องในระบบ เปิด

S, Z = การไหล เข้าของสารอาหาร

C = เครื่อง เหวี่ยงแบบต่อ เนื่อง หรือถังตกตะกอน

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2-7 การจัดจำแนกกระบวนการหมักแบบต่อ เนื่องในระบบปิด

S = การไหล เข้าของสารอาหาร

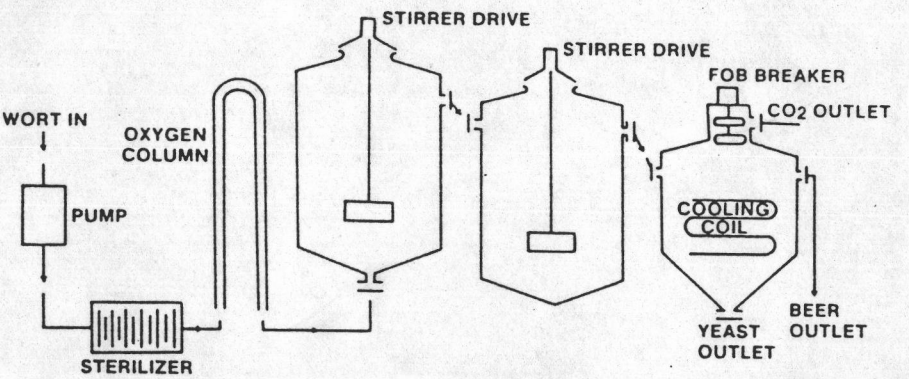
C = เครื่อง เหวี่ยงแบบต่อ เนื่อง หรือถังตกตะกอน

2. ระบบปิด จุลินทรีย์จะถูกกักให้อยู่ภายในเครื่องหมัก ทั้งนี้อาจจะใช้วิธีกรองไม่ให้จุลินทรีย์ผ่านออกมากับผลิตภัณฑ์ หรือทำให้จุลินทรีย์กลับเข้าสู่ถังหมักตลอดเวลา

ซึ่งกระบวนการหมักทั้ง 2 ระบบนี้สามารถแบ่งย่อยออกไปเป็นระบบ homogeneous ระบบ heterogeneous และระบบผสม ซึ่งในแต่ละระบบจัดให้เป็นแบบ Single stage หรือ multi-stage ก็ได้

<u>ชนิดของเครื่องหมักในระบบต่อเนื่อง</u> (Lyons, 1981)

1. เครื่องหมักระบบขั้นบันได หรือระบบไหลล้น (Cascade system or overflow continuous fermentation system) ระบบนี้สารอาหารจะไหลเข้าสู่ถังหมักแรกจนถึงระดับที่จะเกิดการไหลล้น น้ำหมักก็จะไหลไปยังถังหมักถัดไป รูปแบบของระบบดังแสดงในรูปที่ 2-8



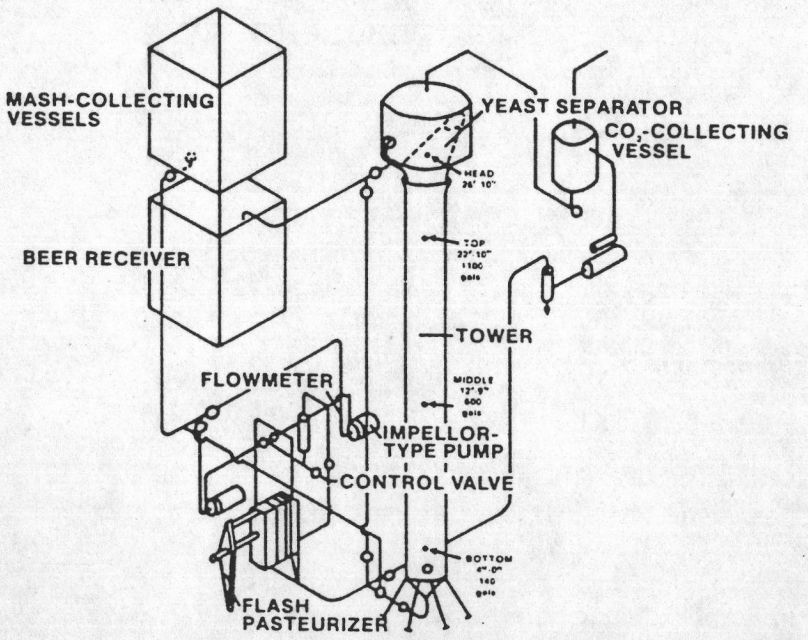
(From Hough, 1971)

รูปที่ 2-8 เครื่องหมักระบบขั้นบันได หรือระบบไหลล้น

2. เครื่องหมักระบบหอสูง (Continuous tower fermentor system)

มีลักษณะโดยทั่วไป เป็นทรงกระบอกตั้งในแนวดิ่ง จุลินทรีย์ที่ใช้หมักจะแขวนลอยอยู่ในน้ำหมัก อากาศและน้ำหมักมีทิศทางการไหลไปทางเดียวกัน ทำให้เกิดการผสมผสานกันของน้ำหมักอย่างสม่ำเสมอ ลักษณะการทำงานของเครื่องหมักระบบหอสูง ก็โดยให้อากาศที่ผ่านการกรองหรือฆ่าเชื้อแล้ว ผ่านหัวกระจายอากาศซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นเจาะรูพรุน หรือเป็นทรงกลมติดอยู่บริเวณฐานของเครื่องหมัก เกิดเป็นกลุ่มของฟองอากาศลอยตัวขึ้นไป

ขณะ เดียวกันมีการละลายของออกซิ เจนจากฟองอากาศลงสู่น้ำหมัก ลักษณะ เช่นนี้ เป็นการกวน ให้น้ำหมัก อากาศ และ เซลจุลินทรีย์ มีโอกาสผสมผสานกันได้โดยไม่ต้องอาศัย เครื่องกวน เหมือน เครื่องหมักแบบถังกวน (Imrie and Greenshields, 1973) รูปแบบ เครื่องหมักระบบหอสูง ดังแสดงในรูปที่ 2-9



รูปที่ 2-9 เครื่องหมักระบบหอสูง

การนำเซลยีสต์กลับมาใช้งานใหม่

เมื่อการทดลองดำเนินไปถึงระยะหนึ่ง ยีสต์ที่ไหลไปกับน้ำหมักผ่านคอลัมน์ต่าง ๆ จนกระทั่งคอลัมน์หลัง ๆ กิจกรรมของยีสต์ในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นเอทานอลจะลดลง และเซลเริ่มจับตัวกันเป็นกลุ่มก้อน เมื่อปริมาณเอทานอลสูงมากขึ้นถึงร้อยละ 11-12 จะมีผลต่อเซลของยีสต์ ทำให้สร้างเอทานอลออกมาจากเซลน้อยลง ประกอบกับอาหารในน้ำหมักมีไม่เพียงพอ ทำให้ยีสต์ในช่วงหลัง inactive ดังนั้นจึงมีวิธีการนำยีสต์ที่ติดไปกับผลิตภัณฑ์มากระตุ้นให้ active ใหม่ ซึ่งทำได้หลายวิธี ดังนี้

1. ล้างด้วยกรด โดยการนำตะกอนยีสต์ (Yeast slurry) ใส่ในกรดทาร์ทาริก กรดฟอสฟอริก หรือกรดซัลฟูริก เพื่อปรับ pH ให้มีประมาณ 2-3 เป็นการป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ทิ้งไว้ 2-6 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปใส่ในคอลัมน์แรก

แต่วิธีนี้มีข้อเสีย เนื่องจาก pH ต่ำมาก อาจทำให้การทำงานของยีสต์เปลี่ยนแปลงไปในระยะเริ่มทำการหมักใหม่ ๆ โดยยีสต์เหล่านี้จะผลิตก๊าซไฮโดรเจน ซัลไฟด์ ได้ (Harrison, 1970)

2. ให้อากาศ ในปริมาณเพียงเล็กน้อยตลอดเวลา คือประมาณ 30 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง (0.04 - 0.06 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที) ก็จะช่วยกระตุ้นการทำงานของยีสต์ได้โดยไม่มีผลกระทบต่อเอทานอลในระบบ (Lyons, 1981) ในการผลิตเบียร์พบว่า ภายใต้สภาวะไม่มีอากาศ อัตราการผลิตเบียร์จะต่ำ (Ricketts & Hough, 1961)