



เทคโนโลยีการหมัก

FERMENTED FOOD TECHNOLOGY

1205 321 Principle of Food Processing II

- 
1. บทนิยาม และ วัตถุประสงค์
 2. ข้อดี และ ข้อเสีย
 3. ประเภทของการหมัก
 4. ปัจจัยที่ควบคุมการหมัก



1. บทนิยาม และ วัตถุประสงค์

1. นิยามและวัตถุประสงค์

การหมัก กระบวนการแปรรูปอาหาร โดยควบคุมสภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดใดชนิดหนึ่ง เพื่อสามารถควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ โดยจุลินทรีย์ชนิดแรกจะผลิตสารบางชนิดออกมาเช่น แอลกอฮอล์

Biochemistry การสร้างพลังงานจากกระบวนการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์หรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารประกอบอินทรีย์เนื่องจากเอนไซม์ โดยมีสารอินทรีย์เป็นทั้งตัวให้และตัวรับอิเล็กตรอน *ไม่ใช้ O_2

Industrial microbiology กระบวนการผลิตผลผลิตใด ๆ ก็ตามที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์จำนวนมาก *ใช้ / ไม่ใช้ O_2

1. นิยามและวัตถุประสงค์

ความหมาย การหมัก (Fermentation) มาจากภาษาลาตินว่า “Fervere”
คือ การเดือด

บทนิยาม การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (oxidation-reduction) เกิดขึ้นในระหว่างการใช้สารประกอบอินทรีย์ เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักขึ้น



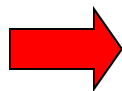
จุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมัก

- เจริญเติบโตได้รวดเร็ว
- รักษาสมบัติทางกายภาพให้คงเดิมได้ตลอดช่วงเวลาของกระบวนการ และสามารถสร้างเอนไซม์ได้มากพอทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้น
- จุลินทรีย์ต้องเติบโตและผลิตผลิตภัณฑ์ได้ดีในสภาวะที่ง่ายไม่ซับซ้อน

จุลินทรีย์ใช้ CHO, Protein, Fat and Mineral



การเจริญเติบโต



Alcohol and Acid

ข้อดี และ ข้อเสีย

ข้อดี

- ไม่ใช่สภาวะรุนแรง อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่างไม่สูง
- ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่น-รส เนื้อสัมผัสเฉพาะตัว
- ใช้พลังงานน้อย
- ลงทุนต่ำ
- เทคโนโลยีไม่ยุ่งยากซับซ้อน

ข้อเสีย

- กระบวนการผลิต โดยใช้สิ่งมีชีวิตอาจปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ
- ผลิตภัณฑ์ที่ได้อาจปนกับผลิตภัณฑ์อื่น
- มีของน้ำทิ้งจำนวนมาก
- กระบวนการหมักค่อนข้างช้า



2. ประเภทของการหมัก

ประเภทของการหมัก

ต้องการอากาศ

- Aerobic fermentation ได้แก่ acetic acid, citric acid
- Anaerobic fermentation ได้แก่ biogas

2. สภาพการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อ

- Septic fermentation สภาพเปิด เช่น น้ำปลา ซี้ฉั่ว
- Semi-septic fermentation กึ่งควบคุม เช่น การหมักแอลกอฮอล์
- Aseptic fermentation ควบคุม เช่น การผลิตยาปฏิชีวนะ

3. ปริมาณน้ำหรือของเหลวที่เติม

- Solid-state fermentation การหมักที่ต้องการน้ำเพื่อปรับความชื้นให้พอเหมาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น α amylase
- Semi-solid fermentation กึ่งเหลว
- Submerged fermentation หมักในอาหารเหลว เช่น การผลิตเอนไซม์

4. ขบวนการที่ใช้

- Batch fermentation ขบวนการหมักที่เติมวัตถุดิบเพียง 1 ครั้ง
- Fed-batch fermentation ขบวนการหมักที่เติมวัตถุดิบมากกว่า 1 ครั้ง
- Continuous fermentation ขบวนการหมักที่เติมวัตถุดิบตลอดเวลา

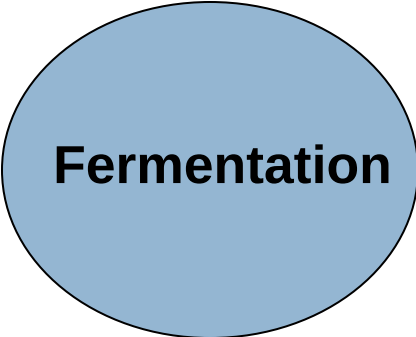


ปัจจัยที่ควบคุมการหมัก

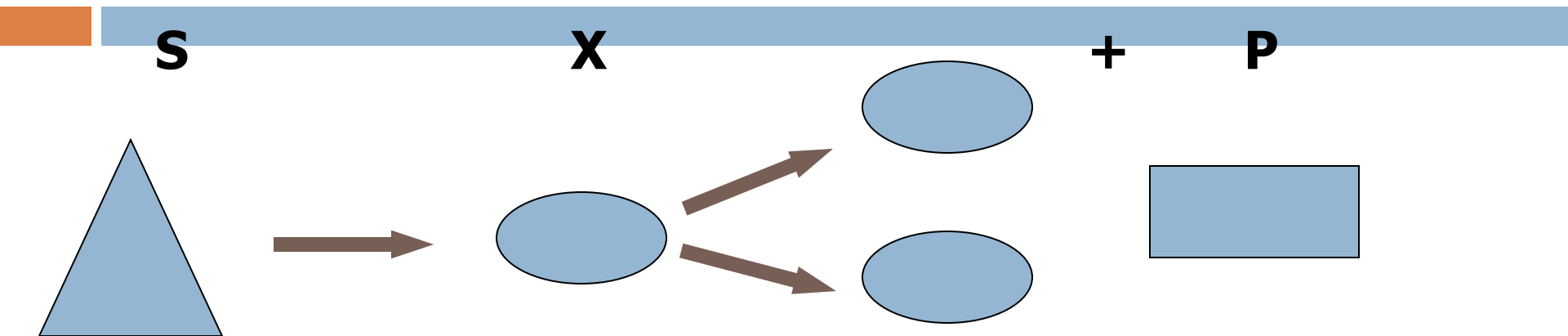
ปัจจัยที่ควบคุมการหมัก

☐ Substrate/material

- ☐ ส่วนประกอบของอาหารที่ใช้
- ☐ การป้องกันการปนเปื้อน
- ☐ การทำให้ผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์ / การแยก
- ☐ การควบคุมปัจจัยระหว่างหมัก
- ☐ ถังหมัก / อุปกรณ์
- ☐ ชนิด / เชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น



Fermentation



Substrate

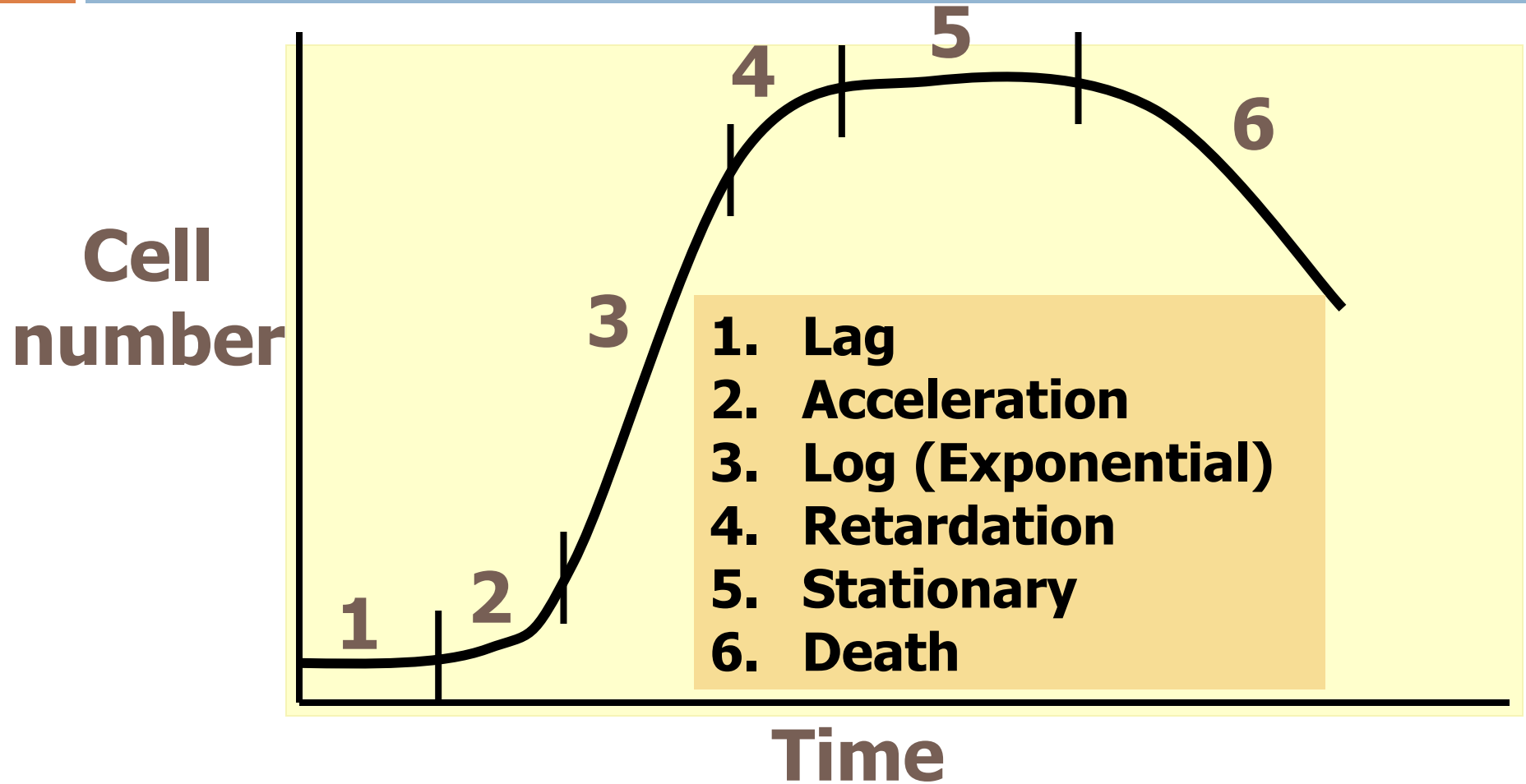
- ▣ Carbon
- ▣ Nitrogen
- ▣ Oxygen
- ▣ Trace elements
- ▣ Growth factors

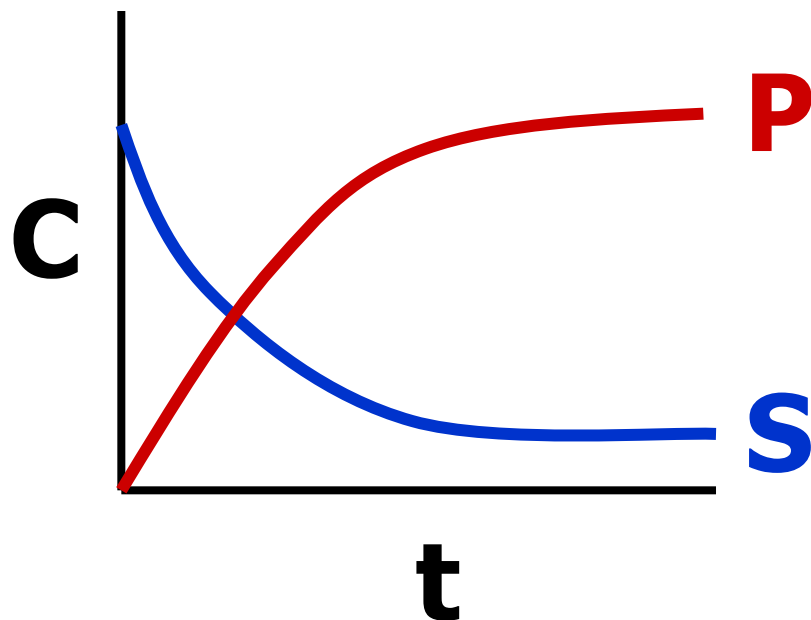
Biomass (cell)

Products

- ▣ Useful products
- ▣ Waste products
- ▣ Heat

Microbial growth curve





$$C = Y (S_o - S_r)$$

C = คชข ของจุลินทรีย์

Y = yield factor

S_o = คชข เริ่มต้นของสารอาหาร

S_r = คชข สารอาหารที่เหลือ

จุลินทรีย์ที่สำคัญในการหมัก

➤ Lactic acid bacteria

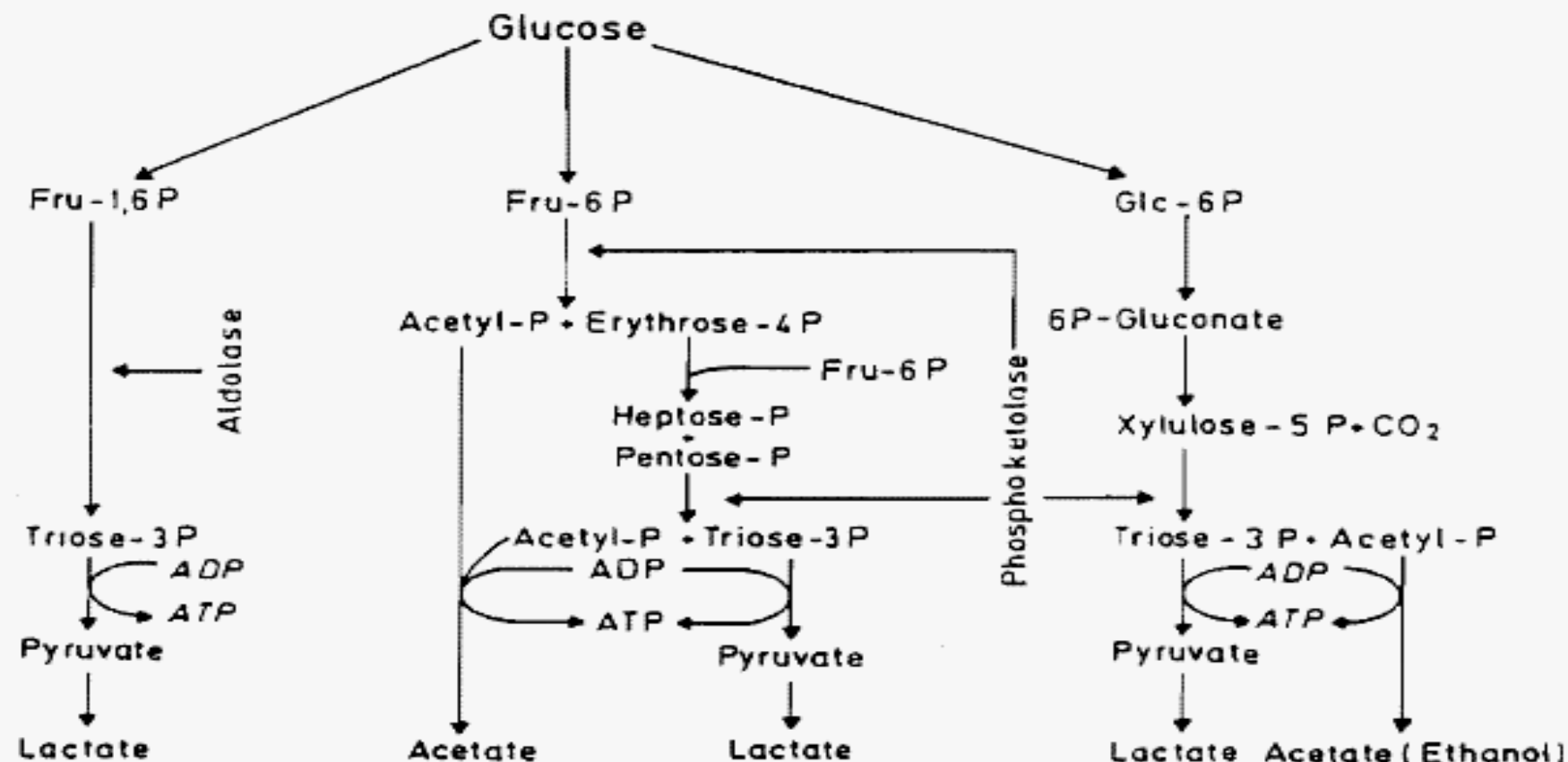
➤ Yeast

➤ Mold

Yeast	Lactic acid bacteria	Yeast & Lactic acid bacteria
European beer	Yoghurt	Sourdough bread
Bread	Sauerkraut	Soy sauce
Wine	Salami	African beer
Cider	Cheese	Lambic beer

Lactic acid bacteria

Genus	Cell Morphology	Fermentation
<i>Lactococcus</i>	Cocci in chains	Homofermentaion
<i>Leuconostoc</i>	Cocci	Heterofermentation
<i>Pediococcus</i>	Cocci	Homofermentaion
<i>Lactobacillus</i>	Rods	Homo/heterofermentaion
<i>Streptococcus</i>	Cocci in chains	Homofermentaion



Glycolysis

Bifidus pathway

6 P-Gluconate pathway

Phosphoketolase pathways

(Homofermentation)

(Heterofermentation)

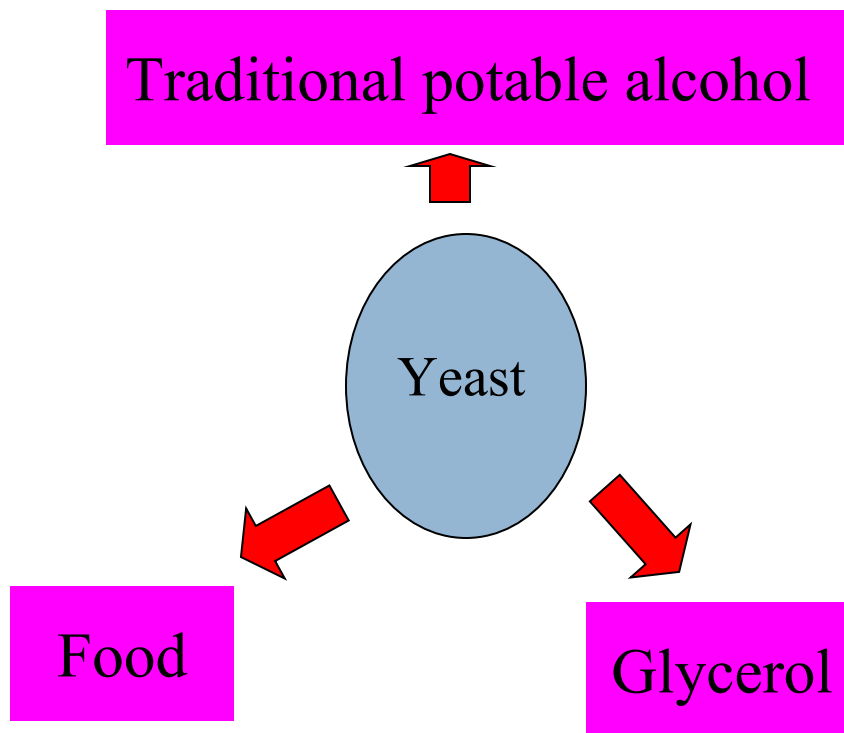
a.

b.

Yeast

Saccharomyces cerevisiae

มักใช้หมักในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก เครื่องดื่ม ต่างๆ เช่น wine
beer



Mold

Aspergillus oryzae ลักษณะเป็นเส้นใยบางๆ ฟู กระจายที่ผิวหน้าวัตถุดิบที่เจริญ มีความสำคัญในการหมักอาหารแข็ง เช่น Koji และ Tempeh



บทบาทของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมัก

- เพื่อเก็บรักษาได้นานขึ้น และ กลิ่นรสดี เช่น เนยแข็ง หมักไส้กรอก ผักดอง
- เพิ่มปริมาณสารอาหารของอาหารระหว่างการหมัก ทำให้เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ เช่น โยเกิร์ต
- เพิ่มรสชาติอาหาร มีกลิ่นรสที่ดี
- ผลการหมักดอง ทำให้อาหารต่างไปจากเดิม
- เกิดอาหารชนิดใหม่

การหมักอาหาร

1. Alcohol fermentation

2. Acetic fermentation

3. Lactic fermentation

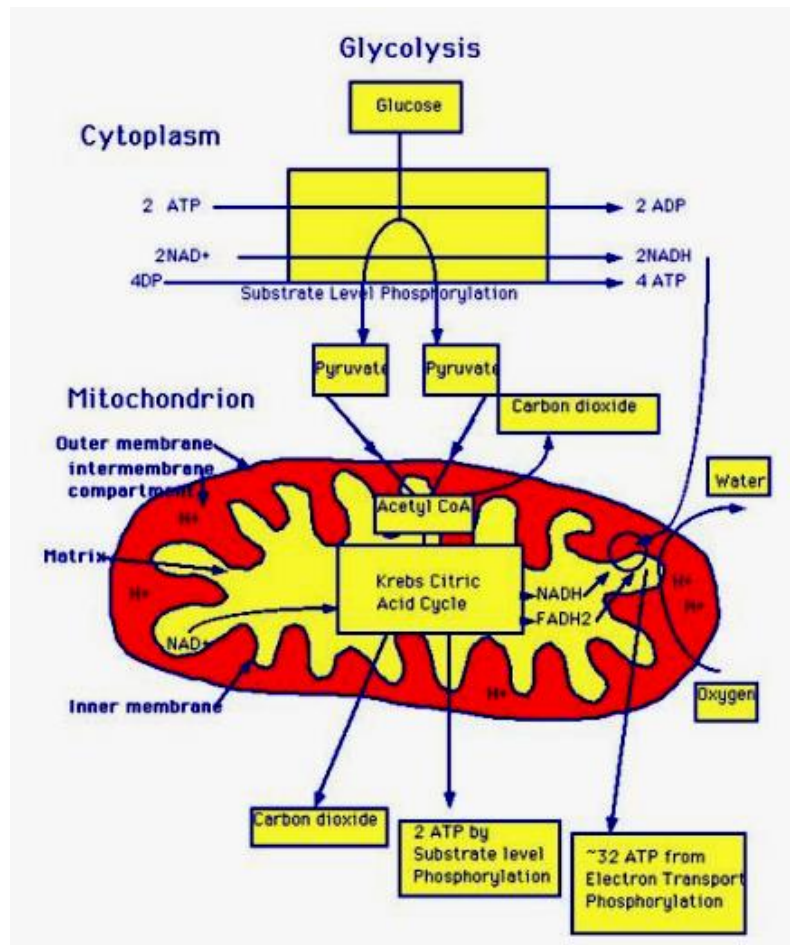
Alcohol fermentation การหมักโดย yeast (*Saccharomyces*) เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลเป็น ethanol ในสถานะที่ไม่มีอากาศ



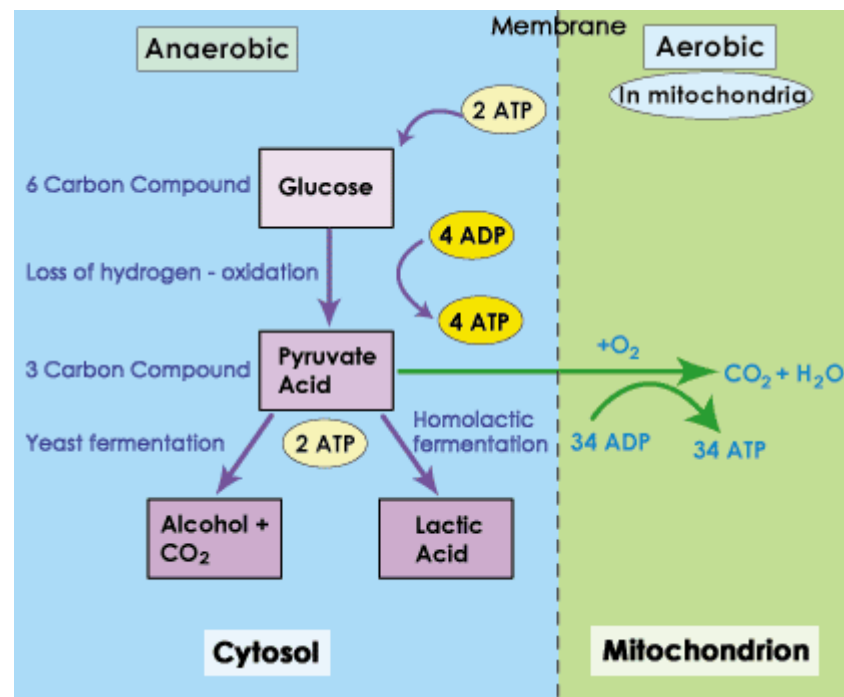
Sugar $\implies$ Alcohol + Carbon dioxide gas

(Glucose) (Ethyl alcohol)

Aerobic Respiration



Anaerobic Pathways



Wine



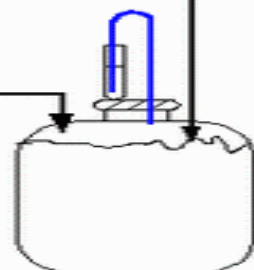
ล้าง ทำความสะอาด เอาส่วนที่ไม่ต้องการออก

บด หั่น

กลั่นน้ำ

ปรับน้ำตาล

ปรับกรด



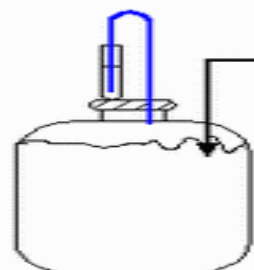
ถึงน้ำ 20 ลิตร

ต้ม

กลั่นน้ำ

ปรับน้ำตาล

ปรับกรด



ถึงน้ำ 20 ลิตร

ขณะร้อนอยู่

รอจนเย็น

ยีสต์ 2 ข้อนได้ะ

ต้องคำนวณน้ำตาล
และ
เครื่องวัดความหวาน

เติม เค เอ็ม เอส
0.18 กรัมต่อไวน์ 1 ลิตร

เติม เค เอ็ม เอส

ทิ้งไว้ 6 - 24 ชั่วโมง
ยีสต์ 2 ข้อนได้ะ

เติม น้ำตาล
200 กรัมต่อไวน์ 1 ลิตร

อุณหภูมิ 20 - 25°C

หมักจนไม่มีฟองอากาศ

แยกตะกอน

ทำให้ใส



บ่ม



2. Acetic fermentation

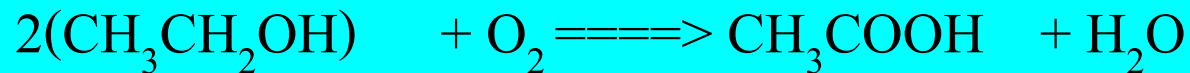
Vinegar *Acetobacter & Gluconobacter*



1

Sugar $\Longrightarrow$ Alcohol + Carbon dioxide gas

(Glucose) (Ethyl alcohol)

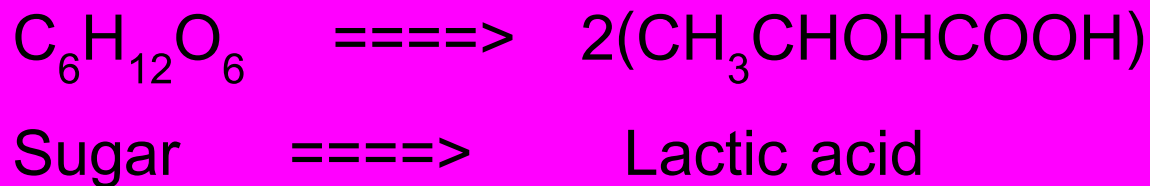


2

(Ethyl alcohol) (Oxygen) (Acetic acid) (water)

3. Lactic acid fermentation

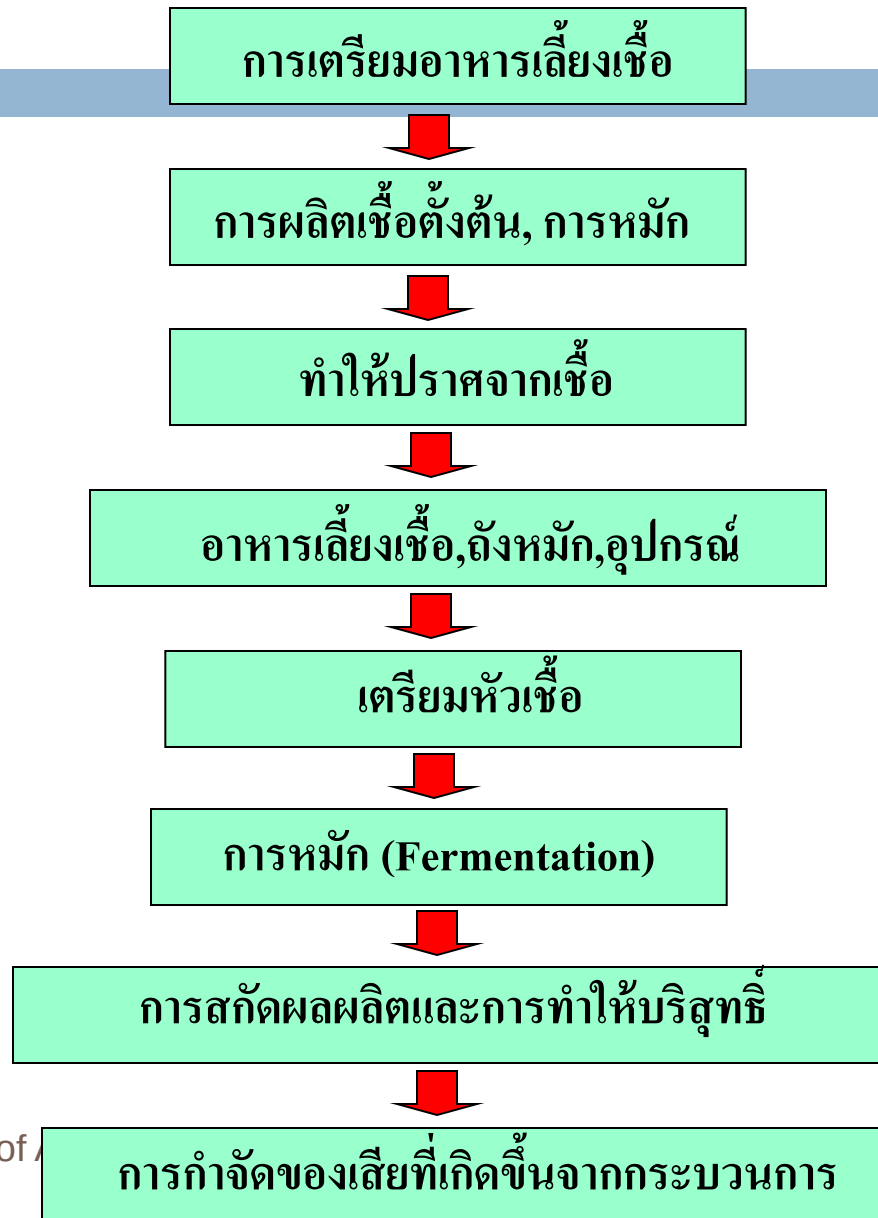
☐ <i>Streptococcus</i>	→	Homolactic
☐ <i>Pediococcus</i>		
☐ <i>Leuconostoc</i>	→	Heterolactic
☐ <i>Lactobacillus</i>	→	Homo-heterolactic





ขั้นตอนในกระบวนการหมัก

ขั้นตอนในกระบวนการหมัก



การขยายขนาดสำหรับการหมัก

SCREEN



PILOT PLANT



PLANT

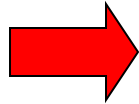


Size: Slant to 500 ml shake flasks 5-40-200 L. 5000-100,000 L.

Function: Strain selection medium Optimization of Bring process
 development environmental to economic
 factors



Ampoule

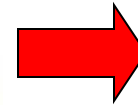


Slant

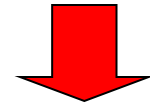


Broth

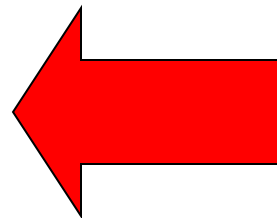
Stock culture



Shake flask



Fermenter



Seed fermenter

การพิจารณาคัดเลือกจุลินทรีย์ในการหมัก

1. ความต้องการอาหาร (ราคาถูก; อาหารที่ต้องการให้ใช้)
2. อุณหภูมิเหมาะสม
3. ไม่เกิดปฏิกิริยากับเครื่องมือ
4. ความคงตัวของจุลินทรีย์ & สามารถปรับปรุงพันธุ์กรรมได้
5. ความสามารถในการสร้างผลผลิต
6. การเก็บเกี่ยวผลผลิตทำได้ง่าย
7. ไม่เป็นพิษ
8. ระยะเวลาในการหมักสั้น
9. มีความต้านทานต่อไวรัส

ขั้นตอนการคัดเลือกเชื้อ

1. การคัดเลือกรุ่นแรก (Primary screening)

แยกจากเชื้อที่มีอยู่ในธรรมชาติ

แยกจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารที่ต้องการ

2. การคัดเลือกรุ่นที่สอง (Secondary screening)

หาสภาวะที่เหมาะสม : การเจริญ, การผลิตผลิตภัณฑ์

จำแนกจุลินทรีย์ (Classification)

คุณสมบัติของหัวเชื้อ (Inoculum)

1. สภาพแข็งแรงและว่องไว (Active) **Lag phase ↓, Log phase ↑**
2. มีปริมาณมากพอที่ใช้เป็น Inoculum 3-10 % v/v
3. มีรูปแบบโครงสร้าง (Morphological form) เหมาะสมต่อการหมัก
4. ไม่ปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ
5. คงความสามารถในการสร้างผลิตภัณฑ์ที่ต้องการได้ดี

ระบบ انگหมักที่ใช้ และ อุปกรณ์

ระบบถังหมักที่ใช้

1. ถังหมักระบบปิด

- ❑ Closed fermentor system

2. ถังหมักระบบเปิด

- ❑ Open fermentor system
- ❑ Continuous fermentation



อุปกรณ์การหมัก

1. ถังหมัก (Fermentor / Bioreactor)

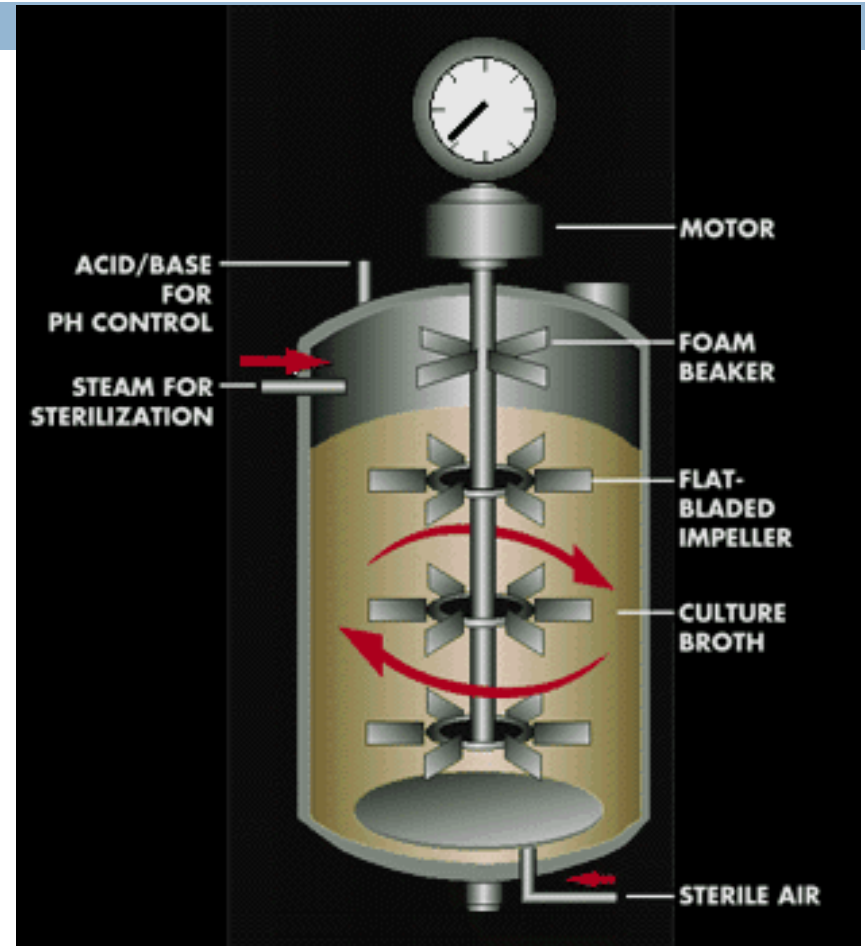
2. ระบบการควบคุม

- การให้อากาศ (Aeration)
- การกวน (Agitation)
- การควบคุมอุณหภูมิ (Temperature control)
- การควบคุม pH (pH control)
- การควบคุมออกซิเจน (Oxygen control)
- การป้องกันฟอง (Antifoam)

3. ระบบการเก็บเกี่ยวหลังการหมัก

1. ถังหมัก (Fermentor)

ทำให้สภาพแวดล้อมที่ควบคุมได้
สำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
เพื่อให้ได้ผลผลิตตามต้องการ



อุปกรณ์การหมัก

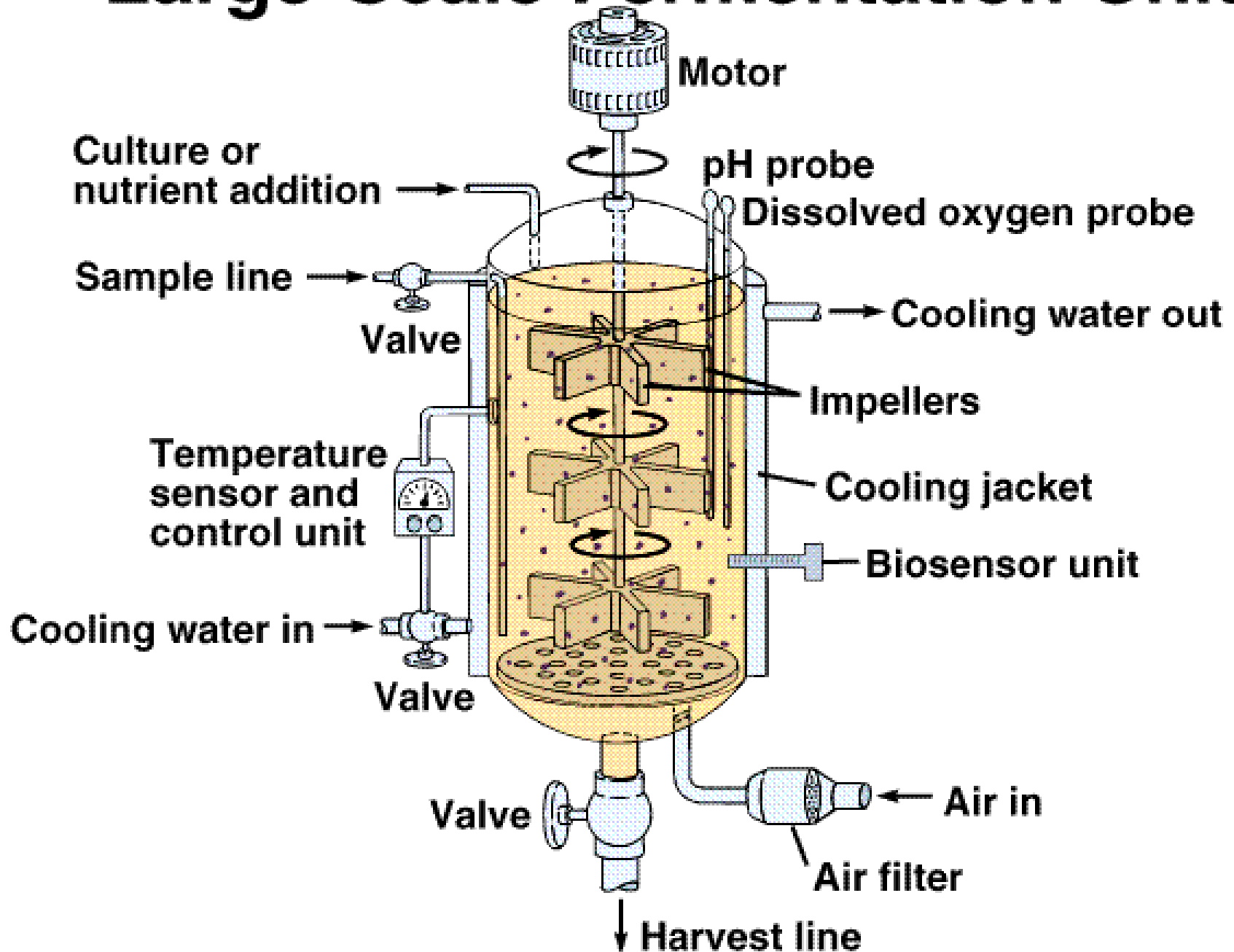
1. ถังหมัก (Fermentor / Bioreactor)

2. ระบบการควบคุม

- ☐ การให้อากาศ (Aeration)
- ☐ การกวน (Agitation)
- ☐ การควบคุมอุณหภูมิ (Temperature control)
- ☐ การควบคุม pH (pH control)
- ☐ การควบคุมออกซิเจน (Oxygen control)
- ☐ การป้องกันฟอง (Antifoam)

3. ระบบการเก็บเกี่ยวหลังการหมัก

Large-Scale Fermentation Unit



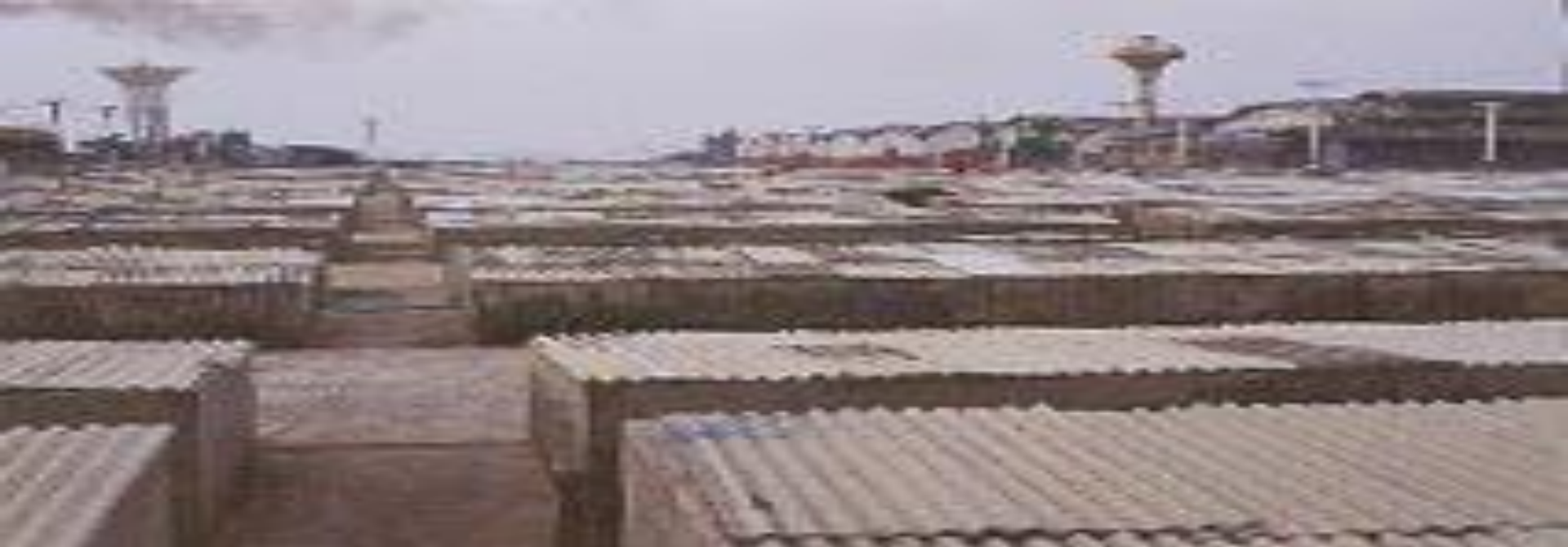
คุณสมบัติของถังหมัก

1. มีความแข็งแรง ทนความร้อน ความดัน และการกัดกร่อน
2. มีระบบการกวน ระบบควบคุมพีเอช อุณหภูมิ และ การเกิดฟองที่ดี
3. มีที่เก็บตัวอย่าง
4. มีการสูญเสียจากการระเหยได้น้อย
5. ด้านในควรมีผิวเรียบ
6. ทำจากวัสดุราคาถูก

ตัวอย่างวัสดุที่ใช้

เหล็กกล้าไร้สนิม (Stainless steel) หรือบุด้วย Stainless steel

เหล็กอ่อนบุด้วยแก้วหรือ Phenolic epoxy พลาสติก, ไม้, คอนกรีต



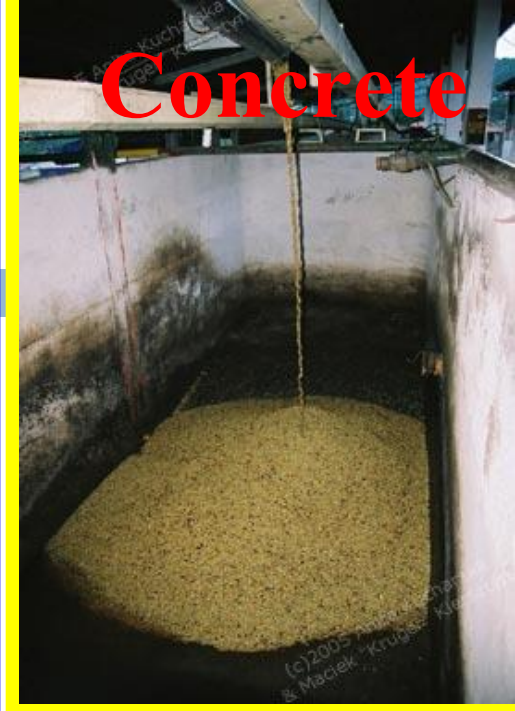
Faculty of Agriculture, Ubonratchathani University, Thailand



Glass



Oak



Concrete



Fiber glass, stainless steel



2. ระบบควบคุมการหมัก

2.1. การให้อากาศ (Aeration)

วัตถุประสงค์ : ให้จุลินทรีย์ได้รับ O_2 เพียงพอ

1. ระดับห้องปฏิบัติการ : Shaker

Reciprocal shaker, 100-120 rpm

Rotary shaker, 250-300 rpm



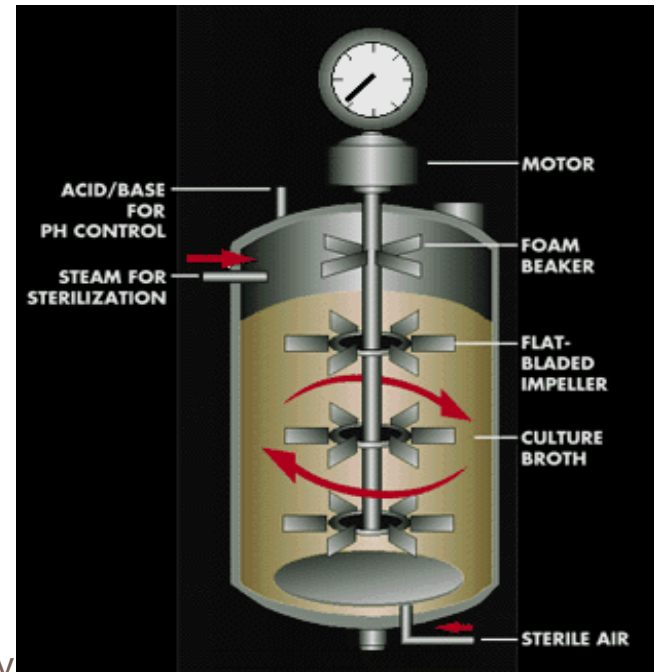
2. ระดับ Pilot plant และ Factory

เครื่องกวน & การให้อากาศโดยเครื่อง
ปั๊มอากาศ



2.2 การกวน (Agitation)

วัตถุประสงค์: ให้จุลินทรีย์ และสารอาหารกระจายสม่ำเสมอ
หน้าที่ของไบปัด: ลดขนาดฟองอากาศ และ รักษาสภาวะสิ่งแวดล้อม
ในถังหมักให้สม่ำเสมอ



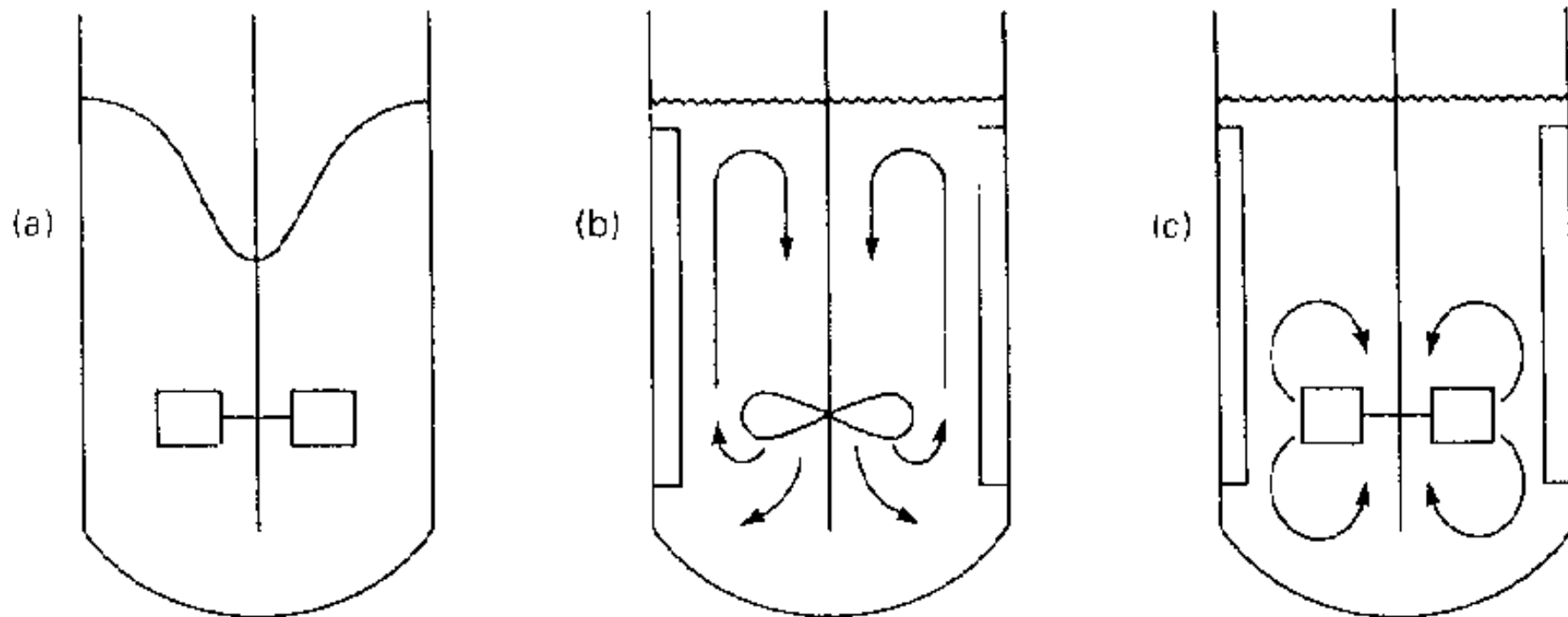


Figure 16. (a) Turbine impeller; large vortex, no baffles. (b) Marine impeller; axial flow with baffles. (c) Turbine impeller; radial flow with baffles.

2.3. Temperature control

□ Fermentor - Lab scale

□ Cooling : Water bath

□ ↑ T : Internal heating coil

□ Fermentor - Industry

□ Cooling : Internal cooling coils

2.4. pH control: pH sensing electrode

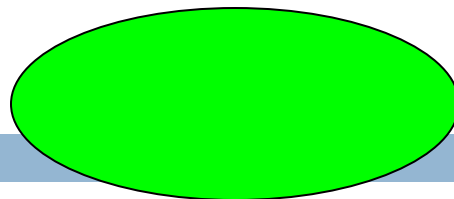
2.5. Oxygen control

Dissolve oxygen (D.O.)

- ควบคุมปริมาณแก๊ส
- ควบคุมอัตราการการกวน

6. การกำจัดฟอง (Antifoam)

สาเหตุ โปรตีนที่รอยต่อระหว่างของเหลวกับอากาศ



อาหารมีค

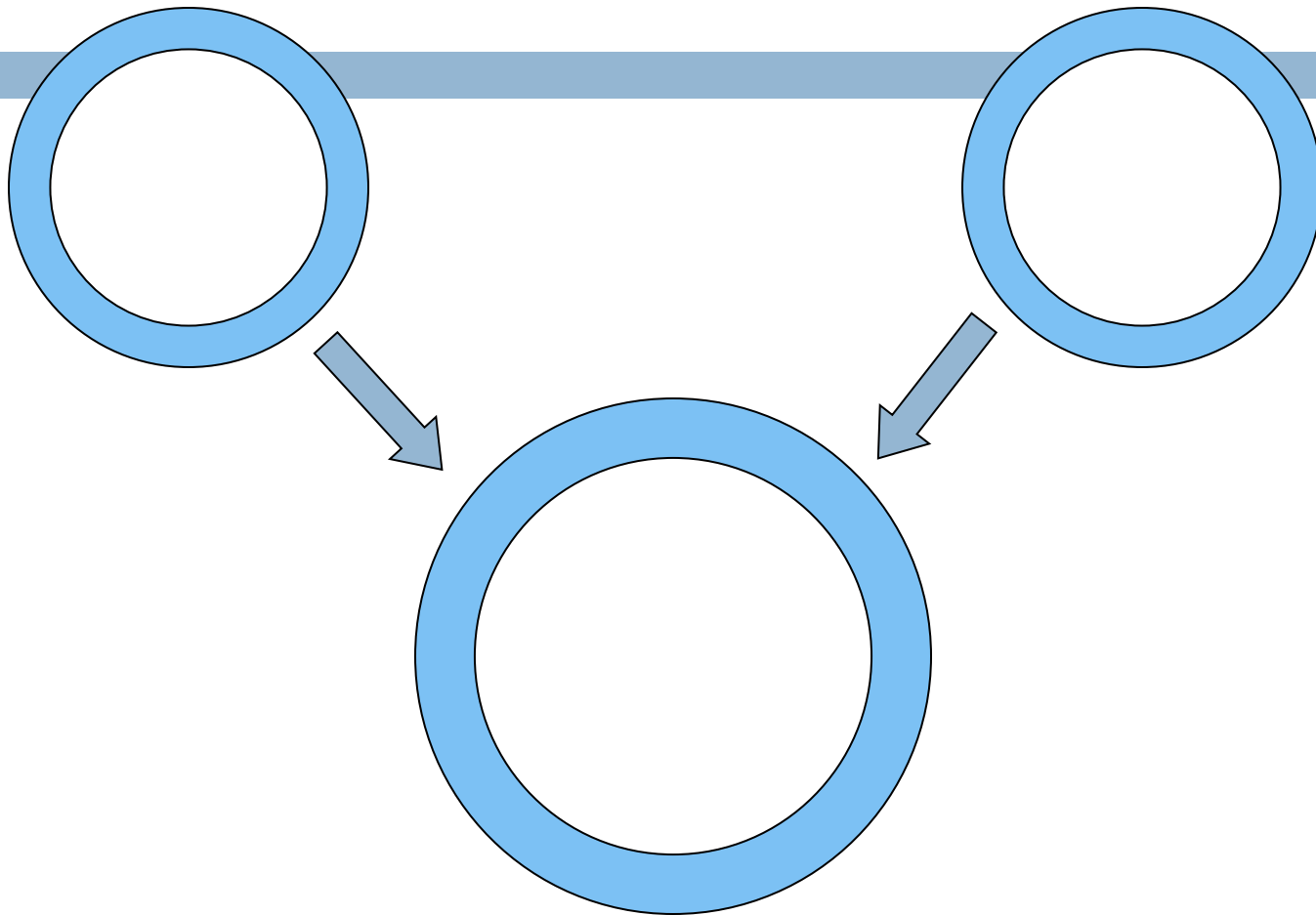


มหนักสูง

ประสิทธิภาพการถ่ายเทอากาศลดต่ำลง
โอกาสปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ภายนอก
อาจสูญเสียการผลิต



Antifoam surrounding gas liquid interface



✦ The presence of antifoam in the gas liquid interface encourages coalescece of the bubbles

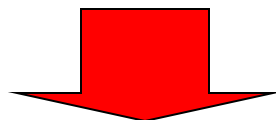


Bubble
– No antifoam



Bubble
– Antifoam

3. ขั้นตอนหลักของการแยก และการทำให้บริสุทธิ์



Product recovery

20-60% ของต้นทุนการผลิตทั้งหมด

การเลือกกระบวนการ

□ ทฤษฎี

1. มีประสิทธิภาพ
2. ใช้เวลาน้อย
3. ให้ Product คุณภาพสูง
4. ใช้เครื่องมือที่เหมาะสม – ชนิด, ขนาด
5. ค่าใช้จ่ายน้อยที่สุด

□ ปฏิบัติ

1. กรรมวิธีขึ้นอยู่กับชนิดของ Product
2. เครื่องมือที่มีอยู่หรือสามารถหาใช้ได้

ขั้นตอนหลักของการแยกและการทำให้บริสุทธิ์

1. Separation of insoluble products

▣ การแยกอนุภาคที่ไม่ละลาย

■ ทำให้สารละลายใส

■ แยก Cell

Filtration
Centrifugation
Sedimentation

2. Separation of solute

▣ การแยกตัวละลาย

Solvent extraction

Precipitation

Absorption

Membrane filtration

Aqueous two-phase

system

3. Purification

- ▣ การทำให้บริสุทธิ์
 - แยกสารปนเปื้อนออก
 - ทำให้สารเข้มข้น

4. Finishing steps for purification

- Centrifuge
- Drying
- Packing

Fractional
precipitation
Chromatography

Electrophoresis

ผลต่ออาหาร

รสชาติ

1. รสหวานจะลดลงและความเป็นกรดเพิ่มขึ้น
2. รสเค็มเพิ่มขึ้น จากการเติมเกลือ
3. อาหารบางชนิดรสขมลดลง

สี

1. สารเคมีที่เติมลงไปทำให้สีเพิ่มขึ้น
2. การทำงานของเอนไซม์มีผลต่อรงควัตถุ
3. สร้างรงควัตถุโดยจุลินทรีย์

ความปลอดภัยในอาหารหมัก

- ความปลอดภัยของอาหาร (Food Safety)
 - ▣ อันตรายทางชีวภาพ (Biological Hazard)
 - ▣ อันตรายทางเคมี (Chemical Hazard)
 - ▣ อันตรายทางกายภาพ (Physical Hazard)

สาเหตุของการปนเปื้อนในอาหาร

การปนเปื้อนกับอาหารสัตว์

