

อุปกรณ์และสารเคมี

3.1 อุปกรณ์

อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง มีดังต่อไปนี้

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (scanning electron microscope) : Jeol
JSM-T20, Japan

แก๊สโครมาโตกราฟ (gas chromatograph) : GC-7AG, Shimadzu, Japan และ
เครื่องตรวจหา (detector) : C-R1A, Shimadzu, Japan

เครื่องกลั่นแอลกอฮอล์ : ประกอบขึ้นเองตามคำอธิบายในภาคผนวก ก-4.2

เครื่องเขย่า (shaker) : Big Bill M49120-26, Thermolyne, Sybron และ
Gerhardt Bonn LS30, West Germany

เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (shaker bath) : Forma Scientific 2563, Ohio,
U.S.A.

เครื่องชั่งหยาบและละเอียด : Satorius 0212-28 และ 2462, West Germany

เครื่องวัด pH (pH-meter) : Orion Research 601 I, West Germany

เครื่องวัด pH แบบกระเป๋าทิ้ง : Crison pH/mV-506, Switzerland

เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ : ประกอบขึ้นเองตามคำอธิบายในข้อ 3.5

เครื่องปั่น (Waring commercial blender) : Waring Products Division,
New Hartford Conn., U.S.A.

เครื่องย่อยและกลั่นไนโตรเจน : Gerhardt Kjeldatherm และ Vapodest 1, West
Germany

เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) : UV-240, Shimadzu,
Japan

เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) : Medifuge, Heraeus Christ, West Germany

เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (refrigerated centrifuge) : Varifuge K,
Heraeus Christ, West Germany

เครื่องอ่างน้ำ (water bath) : Mgw Lauda MS/2 และ Memmert Edelstahl,
Rostfrei, West Germany

เตาอบ (oven) : WTB binder E53

ตู้น้ำเชื้อ (incubator) : Gallenkamp INF20010K และ IH-100

หม้อนึ่งอัดไอ (autoclave) : Tomy SS-320, Seiko, Tokyo

ไฮโดรมิเตอร์ (hydrometer)

Electromantle : Electrothermal, England

3.2 สารเคมี

Acetaldehyde : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany

Acetone : Farmitalia Carlo Erba, Milano

Agar : Gibco Laboratories, Paisley, Scotland

Ammonium chloride : May & Baker Ltd., Dagenham, England

Ammonium ferric sulphate : May & Baker Ltd., Dagenham, England

Ammonium ferrous sulfate hexahydrate : Fluka Chemie, Switzerland

Ammonium molybdate tetrahydrate : Baker J.T. Baker, Inc., U.S.A.

Boric acid : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany

Bromocresol green : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany

n-Butyl alcohol : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany

Calcium carbonate : Farmitalia Carlo Erba, Milano

Casein (sodium salt) : Sigma Chemical Company, St. Louis, U.S.A.

- Chloroform : Baker J.T. Baker, Inc., U.S.A.
- Copper sulphate pentahydrate : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany
- Cyclohexane : Fluka Chemie, Switzerland
- Ethyl acetate : Fluka Chemie, Switzerland
- Ethyl alcohol : Farmitalia Carlo Erba, Milano
- Ethyl formate : Fluka Chemie, Switzerland
- Ferric alum : May & Baker Ltd., Dagenham, England
- Ferrous sulphate heptahydrate : May & Baker Ltd., Dagenham, England
- Formaldehyde 40 % m/v : Farmitalia Carlo Erba, Milano
- D(+)-Glucose anhydrous : Fluka Chemie, Switzerland
- Glutaraldehyde : Fluka Chemie, Switzerland
- 1,6-Hexanediamine : Fluka Chemie, Switzerland (มีรายละเอียดเพิ่มเติมใน
ภาคผนวก จ-1.1)
- Hydrochloric acid : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany
- Isobutyl alcohol : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany
- Isobutyraldehyde : Fluka Chemie, Switzerland
- Magnesium oxide : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany
- Magnesium sulphate heptahydrate : May & Baker Ltd., Dagenham, England
- Malt extract : Difco Laboratories, Detroit, Michigan, U.S.A.
- Manganese sulphate tetrahydrate : May & Baker Ltd., Dagenham, England
- Methyl acetate : Fluka Chemie, Switzerland
- Methyl alcohol : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany
- Methyl red : Riedel-De Haen Ag Seelze-Hannover
- Methylene blue : May & Baker Ltd., Dagenham, England
- Nitric acid : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany
- Nutrient agar : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany

- 2,3-Pentanedione : Fluka Chemie, Switzerland
- Peptone : Gibco Laboratories, Paisley, Scotland
- 1,10-Phenanthroline monohydrate : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany
- Phenolphthalein : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany
- Potassium chromate : BDH Laboratory Chemicals Ltd., Poole, England
- Potassium dichromate : Farmitalia Carlo Erba, Milano
- Potassium hydrogen phthalate : BDH Laboratory Chemicals Ltd, Poole,
England
- Potassium sodium tartrate : Fluka Chemie, Switzerland
- Potassium sulphate : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany
- Potassium thiocyanate : Riedel-De Haen Ag Seelze-Hannover
- n-Propyl alcohol : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany
- Sebacoylchloride : Fluka Chemie, Switzerland (มีรายละเอียดเพิ่มเติมใน
ภาคผนวก จ-1.2)
- Selenium : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany
- Silver nitrate : Fluka Chemie, Switzerland
- Span 85 : Fluka Chemie, Switzerland (มีรายละเอียดเพิ่มเติมในภาคผนวก
จ-2)
- Sodium acetate : Farmitalia Carlo Erba, Milano
- Sodium carbonate anhydrous : Riedel-De Haen Ag Seelze-Hannover
- Sodium chloride : Univar, Ajax Chemical Pty Ltd., Australia
- Sodium dihydrogen orthophosphate : Farmitalia Carlo Erba, Milano
- Sodium hydrogen carbonate : Riedel-De Haen Ag Seelze-Hannover
- di-Sodium hydrogen arsenate : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany
- di-Sodium hydrogen phosphate heptaphosphate: Farmitalia Carlo
Erba, Milano

Sodium hydroxide : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany

Sodium sulfate : Riedel-De Haen Ag Seelze-Hannover

Sulphuric acid : E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany

Yeast extract : Gibco Laboratories, Paisley, Scotland

3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1 *Lactobacillus delbrueckii* TISTR 108

ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมข้อมูลจุลินทรีย์แห่งชาติ
พื้นเอเชียอาคเนย์ (MIRCEN) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย โดยมี
ลักษณะดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 ภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนของ
L. delbrueckii ที่กำลังขยาย 7500 เท่า

3.3.2 *Zygosaccharomyces rouxii* NRRL Y-2547

ได้รับความอนุเคราะห์จาก Agricultural Research Service,
National Center for Agricultural Utilization Research, United States
Department of Agriculture, Illinois, U.S.A. โดยมีลักษณะดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 ภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนของ
Z. rouxii ที่กำลังขยาย 7500 เท่า

3.4 ตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลือง น้ำซีอิ๊ว และน้ำซอสปรุงรสที่ใช้ในการทดลอง

3.4.1 โปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลือง

ตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลืองที่ใช้ในการทดลองหมักน้ำซีอิ๊ว ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ไทยเทพรสผลิตภัณฑ์อาหาร จำกัด โดยเก็บตัวอย่างหลังจากผ่าน เฉพาะขั้นตอนการกรองครั้งแรก (ดูคำอธิบายในข้อ 2.6.3) จากนั้นนำไปพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที และทำให้เย็นทันที ก่อนนำมาใช้ในการทดลอง

3.4.2 น้ำชื้อว

3.4.2.1 ชื้อวขาวตราง่วนเชียง สูตร 1 ผลิตโดยโรงงานชื้อวง่วนเชียง จังหวัดสมุทรปราการ

3.4.2.2 ชื้อวขาวตราเด็กสมบูรณ์ สูตร 1 ผลิตโดยบริษัท หิ้น หว๋ หิ้น จำกัด จังหวัดสมุทรสาคร

3.4.3 น้ำซอสปรุงรส

3.4.3.1 น้ำซอสปรุงรสตราภูเขาทอง ชนิดโปรตีนร้อยละ 15 ผลิตโดยบริษัท ไทยเทพรสผลิตภัณฑ์อาหาร จำกัด จังหวัดสมุทรปราการ

3.4.3.2 น้ำซอสปรุงรสฉลากขาว ตราง่วนเชียง ผลิตโดยโรงงานชื้อวง่วนเชียง จังหวัดสมุทรปราการ

3.5 เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ

ประกอบระบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก ดังแสดงในรูปที่ 3.3 และ 3.4 ซึ่งมีส่วนประกอบและอุปกรณ์ที่ใช้ร่วม ดังนี้

3.5.1 คอลัมน์ มีลักษณะเป็นคอลัมน์แก้ว (Pyrex glass) 2 ชั้น ชั้นนอกสำหรับควบคุมอุณหภูมิโดยใช้น้ำ มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 เซนติเมตร ส่วนชั้นในสำหรับบรรจุเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กและเป็นส่วนที่โปรตีนไฮโดรไลเซตไหลผ่าน มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.0 เซนติเมตร ความสูง 35 เซนติเมตร (วัดจากจุดที่โปรตีนไฮโดรไลเซตไหลเข้าถึงจุดที่ไหลออก) ปริมาตรใช้งานของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเท่ากับ 110 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อคอลัมน์ ดังนั้นปริมาตรใช้งานรวมทั้งสามคอลัมน์เท่ากับ 330 ลูกบาศก์เซนติเมตร ภายในคอลัมน์ตรงจุดที่โปรตีนไฮโดรไลเซตไหลเข้าและไหลออก จะมีตะแกรงสแตนเลส (stainless) กั้นไม่ให้เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กหลุดจากคอลัมน์ ขนาดของรูตะแกรงประมาณ 100 เมช (mesh) (รูปที่ 3.5)

3.5.2 หม้อแปลงไฟฟ้ากระแสสลับ (AC adaptor) ที่มี input AC 110-220 V 50-60 s/c output DC 4.5-12 V 5A (รูปที่ 3.6)

3.5.3 เครื่องสูบ (pump) เป็นเครื่องสูบขนาด 400 แกลลอนต่อชั่วโมง ทำหน้าที่สูบโปรตีนไฮโดรไลเซตหรือน้ำผ่านคอลัมน์ (รูปที่ 3.7)

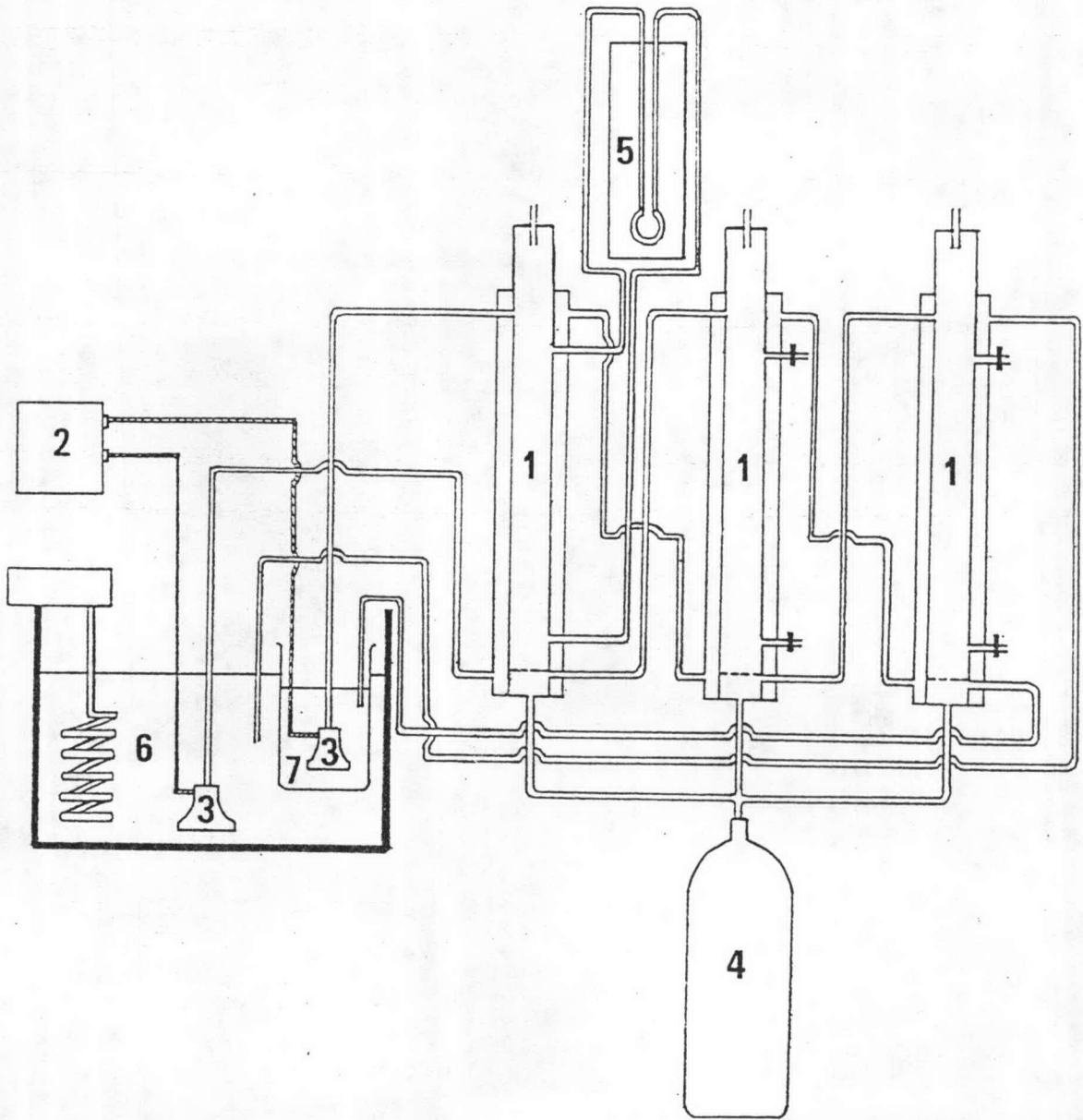
3.5.4 ถังบรรจุแก๊สไนโตรเจน (รูปที่ 3.8) แก๊สไนโตรเจนเป็นของไหลที่ทำให้เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กเกิดฟลูอิดเซชัน

3.5.5 มานอมิเตอร์ (manometer) สำหรับวัดความดันตก (pressure drop) ของของไหลระหว่างจุดสองจุด ข้างในบรรจุปรอทและน้ำ ดังรูปที่ 3.9

3.5.6 เครื่องอังน้ำ ทำหน้าที่ควบคุมอุณหภูมิของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ (รูปที่ 3.10)

3.5.7 ภาชนะบรรจุโปรตีนไฮโดรไลเซต เป็นอ่างสแตนเลส ปากกว้าง

3.5.8 สายยาง สายยางที่เชื่อมการไหลเข้าออกของโปรตีนไฮโดรไลเซตและแก๊สไนโตรเจนเป็นสายยางลาเท็กซ์ (latex) เบอร์ 203 ส่วนสายยางที่เชื่อมการไหลเข้าออกของน้ำเป็นสายยางใส ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 5 มิลลิเมตร โดยมีตัวปิด-เปิดสายยางทำหน้าที่ควบคุมอัตราการไหลของโปรตีนไฮโดรไลเซต



รูปที่ 3.3 แผนผังระบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กสำหรับการหมักน้ำชีอิ้ว

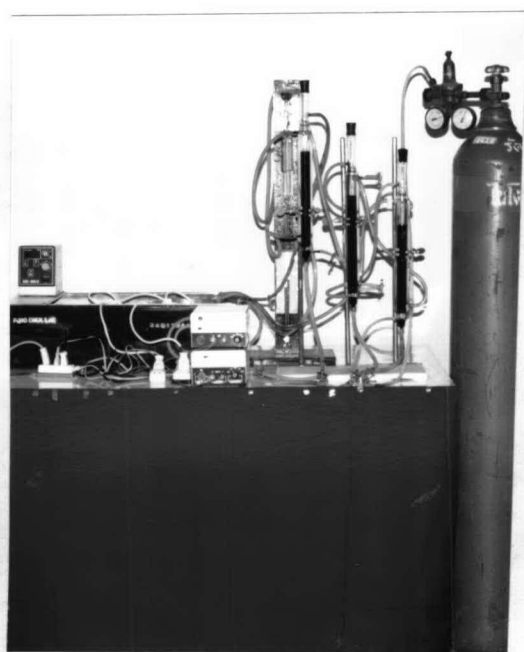
1 = คอลัมน์

2 = หม้อแปลงไฟฟ้ากระแสสลับ 3 = เครื่องสูบล

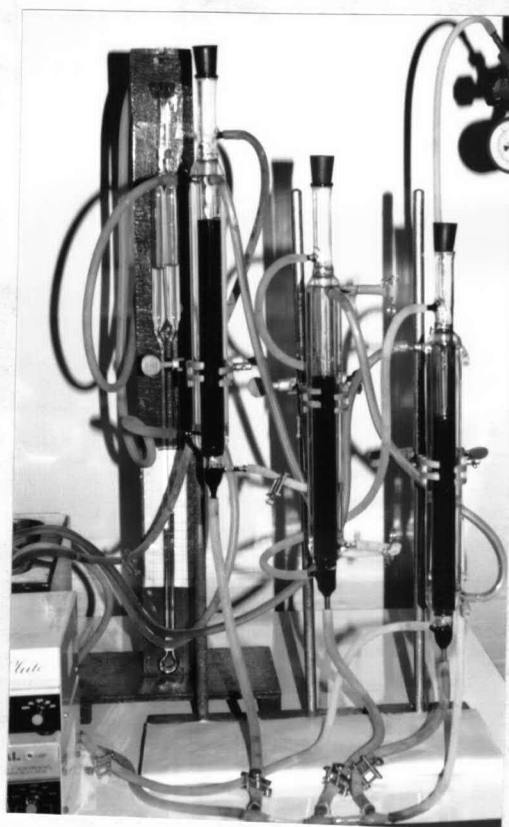
4 = ถังบรรจุแก๊สไนโตรเจน 5 = มานอมิเตอร์

6 = เครื่องอั่งน้ำ

7 = ภาชนะบรรจุโปรตีนไฮโครไลเซต



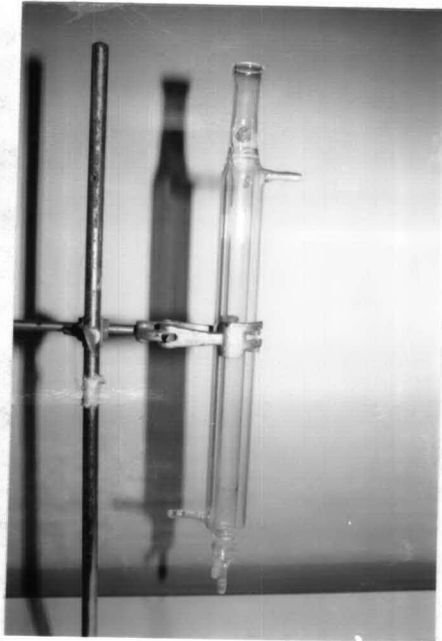
(1)



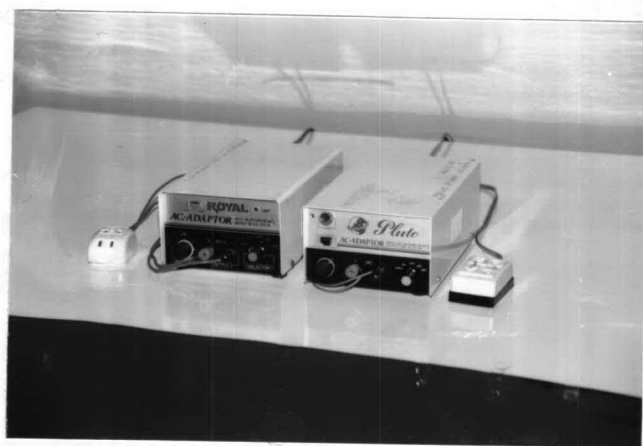
(2)

รูปที่ 3.4 ระบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห้องหมักแบบแคปซูลเล็กสำหรับการหมักน้ำชีอิ้ว

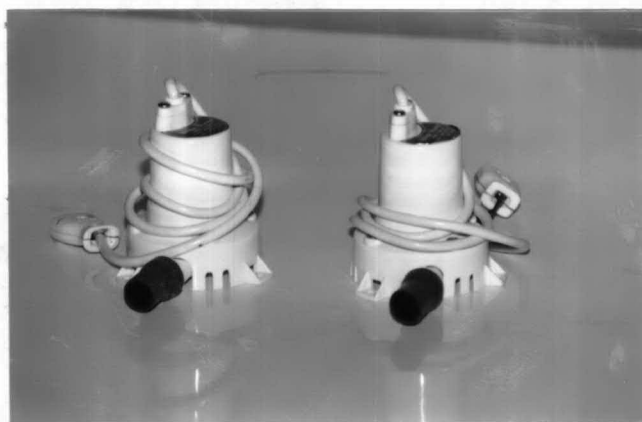
(1) ระบบรวม (2) เฉพาะส่วนเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ



รูปที่ 3.5 คอลัมน์



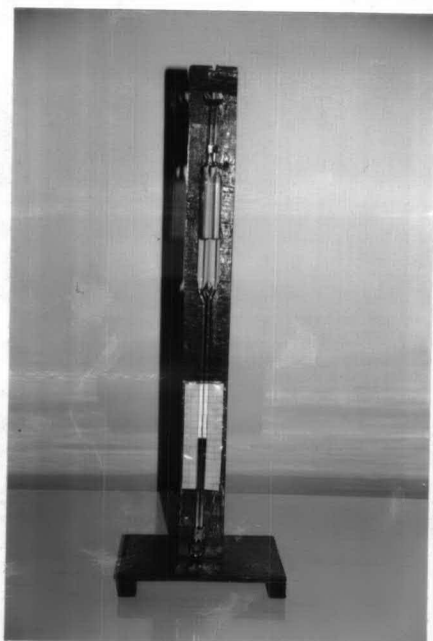
รูปที่ 3.6 หม้อแปลงไฟฟ้ากระแสสลับ



รูปที่ 3.7 เครื่องสูบ



รูปที่ 3.8 ถังบรรจุแก๊สไนโตรเจน



รูปที่ 3.9 มานอมิเตอร์



รูปที่ 3.10 เครื่องอั่งน้ำ