เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กสำหรับการหมักน้ำซีอิ๊ว

นางสาวเพ็ญศิริ ศรีบุรี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2536

ISBN 974-582-169-1

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

MICROENCAPSULATED CELLS BIOREACTOR FOR FERMENTATION OF SOY SAUCE

Miss Pensiri Sriburi

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Food Technology

Graduate School

Chulalongkorn University

1993

ISBN 974-582-169-1

หัวข้อวิทยานิพนธ์	เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กสำหรับการหมักน้ำซีอิ๊ว
โดย	นางสาวเพ็ญศิริ ศรีบุรี
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรรณา ตุลยธัญ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง)

..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์)

..... กรรมการ

(ดร. สันติ ทิพยางค์)

เพ็ญศิริ ศรีบุรี : เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กสำหรับการหมักน้ำซีอิ๊ว
(MICROENCAPSULATED CELLS BIOREACTOR FOR FERMENTATION OF SOY SAUCE)
อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง, 165 หน้า.
ISBN 974-582-169-1

ภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมแคปซูลเล็กบรรจุเซลล์มีชีวิตของ *L. delbrueckii* TISTR 108 ที่ห่อหุ้มโดยวิธี interfacial polymerization คือใช้ 1,6-hexanediamine เข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก sebacoylchloride เข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร เป็นมอนอเมอร์ไฮโดรฟิลิคและไฮโดรโฟบิค ตามลำดับ อัตราส่วนของตัวทำละลายผสม cyclohexane-chloroform ที่มี Span 85 เป็นอิมัลซิไฟเออร์ เท่ากับ 5:1 และปริมาณเซลล์เริ่มต้นเป็น 4.5-10.0 x 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยเติมเคซีนและทำปฏิกิริยาที่ pH 7.0 เป็นเวลา 3 นาที ภายใต้ภาวะดังกล่าวเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก ผลิตกรดแลคติกได้ 0.98 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ GYP ในขณะที่เซลล์อิสระผลิตกรดแลคติกได้ 2.85 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *Z. rouxii* NRRL Y-2547 คือใช้ 1,6-hexanediamine เข้มข้นร้อยละ 7 โดยน้ำหนัก sebacoylchloride เข้มข้นร้อยละ 6 โดยปริมาตร อัตราส่วนของตัวทำละลายผสมเท่ากับ 5:1 และปริมาณเซลล์เริ่มต้นเป็น 2.0-5.2 x 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยผลิตแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 0.68 โดยปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ YM ซึ่งมากกว่าเซลล์อิสระที่ผลิตแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 0.58 โดยปริมาตร เมื่อพิจารณาจากภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กสีขาวของแบคทีเรียและยีสต์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 ไมครอน แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าเซลล์ถูกห่อหุ้มอย่างสมบูรณ์ เนื่องจากเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กที่ได้จากเซลล์ทั้งสองชนิดจะเสถียร และไม่มีเซลล์อิสระหลุดเข้าไปในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อบ่มไว้เป็นเวลา 1 เดือน นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ในแคปซูลเล็กทั้งสองชนิดทนต่อเกลือที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก ได้ดีกว่าเซลล์อิสระ ตลอดระยะเวลาที่ทดสอบด้านการผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์

จากการผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์จากโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลือง (SPH) ซึ่งเติมกลูโคสร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก โดยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก 2 ลักษณะคือ แบบไม่ต่อเนื่องและแบบต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ฟลูอิไดซ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก พบว่าในกระบวนการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กสามารถผลิตกรดแลคติกได้ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ภายใน 14 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และหลังจากหมักแอลกอฮอล์ต่อด้วยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *Z. rouxii* เป็นเวลาอีก 14 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จะผลิตแอลกอฮอล์จากโปรตีนไฮโดรไลเซตที่หมักกรดแลคติกแล้วได้ร้อยละ 0.54 โดยปริมาตร และพบว่าการพัฒนาการผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลืองเกิดขึ้นโดยการใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มของแบคทีเรียและยีสต์อย่างละ 3 เครื่อง (ขนาด 2.0x35 ซม.) เชื่อมต่อกัน โดยให้อยู่ในลักษณะของการทำงานแบบฟลูอิไดซ์ทั้งชุด กล่าวคือ พบว่าผลผลิตของกรดแลคติกและแอลกอฮอล์จาก SPH สูงถึง 1.98 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และร้อยละ 0.62 โดยปริมาตร ตามลำดับ ภายใน 72 ชั่วโมง สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ได้ซึ่งเรียกว่า น้ำซีอิ๊ว ที่ผลิตโดยวิธีที่ทดลองนี้ให้ผลการวิเคราะห์ด้านกลิ่น รส และการยอมรับรวมค่อนข้างดี

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร ลายมือชื่อนิสิต เพ็ญศิริ ศรีบุรี
สาขาวิชา เทคโนโลยีการอาหาร ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ปราณี อ่านเปรื่อง
ปีการศึกษา 2535 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

C226295 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY
KEY WORD : MICROENCAPSULATED CELLS/ BIOREACTOR/ FERMENTATION/ SOY SAUCE
PENSIRI SRIBURI : MICROENCAPSULATED CELLS BIOREACTOR FOR FERMENTATION OF SOY SAUCE. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. PRANEE ANPRUNG, Ph.D. 165 pp. ISBN 974-582-169-1

The optimum conditions for preparation of microcapsules containing of living cells of *L. delbrueckii* TISTR 108 by the interfacial polymerization method were with 2 % by weight of 1,6-hexanediamine and 5 % by volume of sebacoylchloride as hydrophilic and hydrophobic monomers, respectively, a mixed solvent with volume ratio of 5:1 of cyclohexane-chloroform mixture containing Span 85 as an emulsifier, and 4.5-10.0x10^8 cells/ml of cell suspension, react at pH 7.0 for 3 min with stirring in the presence of casein. Under such conditions the prepared microencapsulated cells (MC) of lactic acid bacteria could produced 0.98 mg of lactic acid/ml of GYP medium while the free cells could produced 2.85 mg/ml of lactic acid. Furthermore, the MC of *Z. rouxii* NRRL Y-2547 prepared from 7% by weight of 1,6-hexanediamine, 6 % by volume of sebacoylchloride and a mixed solvent with volume ratio of 5:1 of cyclohexane-chloroform mixture and 2.0-5.2x10^7 cells/ml, were found to produce 0.68 % by volume of alcohol in the YM medium which was more than that of free cells (0.58 % by volume of alcohol). The SEM micrograph of the white MC of bacteria and yeasts of 4 microns in diameter clearly shows that whole cells are well encapsulated. The reason for this was examined, and it was found that the both MC obtained were stable and no leakage of both cells into surrounding medium when incubation for 1 month. It was also found that the whole cells in the both microcapsules were more resistant to 20 % by weight of sodium chloride than free cells under lactic acid and alcohol fermentative condition.

Production of lactic acid and alcohol from soy protein hydrolysate (SPH) with addition of 1% by weight of glucose by MC was carried out in both a batch system and continuous system under fluidized MC reactors. Under the batch system, the MC of *L. delbrueckii* was found to produce 0.78 mg/ml of lactic acid after statically incubation in the SPH for 14 days at 40 °C. Introduction of the MC of *Z. rouxii* into the above lactic fermented SPH caused 0.54 % by volume of alcohol to be produced within 14 days at 25 °C. The development of lactic acid and alcohol fermentation of SPH was found via 3-connected reactors containing MC of bacteria and yeasts. The three reactors (2.0x35 cm) were operated in fluidized-bed manner. Lactic acid and ethanol productivities as high as 1.98 mg/ml and 0.62% (v/v), respectively, were achieved within 72 hrs in SPH. Organoleptic tests on the lactic acid and alcohol fermented SPH, so called soy sauce produced using the proposed method showed good ratings for aroma, taste and total acceptance.

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร ลายมือชื่อนิสิต เพ็ญศิริ ศรีบุรี

สาขาวิชา เทคโนโลยีการอาหาร ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ประ อ่วนพริ้ง

ปีการศึกษา 2535 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่อรองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง อาจารย์ที่ปรึกษาหลักสูตรและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้คำสอนตลอดจนคำแนะนำอันมีค่าและยังประโยชน์อย่างยิ่งต่อผู้เขียนและความสมบูรณ์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ชัยยุทธ ธัญพิทยากุล หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรรณา ตุลยธัญ ประธานกรรมการ อาจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์ และ ดร. สันติ ทิพยางค์ กรรมการประเมินผลการสอบวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร. เกรียงศักดิ์ ไชยโรจน์ ที่ได้ให้คำแนะนำและช่วยเหลือผู้เขียนมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินทุนสมเด็จพระมหิตลาธิเบศรอดุลยเดชวิกรมพระบรมราชชนก ประจำปีการศึกษา 2534

ขอขอบคุณศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมข้อมูลจุลินทรีย์แห่งภาคพื้นเอเชียอาคเนย์ที่ให้ความอนุเคราะห์ *Lactobacillus delbrueckii* TISTR 108 และ National Center for Agricultural Utilization Research, U.S.A. ที่ให้ความอนุเคราะห์ *Zygosaccharomyces rouxii* NRRL Y-2547 บริษัทแหลมทองฟู้ดมาร์เก็ตติ้ง จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์แป้งสาลีจำนวน 100 กิโลกรัม บริษัทไทยเทพรสผลิตภัณฑ์อาหาร จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์โปรตีนไอโดรไลเซต จำนวน 60 ลิตร และเครื่องมือที่จำเป็นต่อการศึกษาวิจัยนี้ คุณอาภัสรา สุขเจริญศักดิ์กุล ที่ให้ความอนุเคราะห์ถั่วเหลืองจำนวน 50 กิโลกรัม คุณสนิท ปรีนคร ภาควิชาเคมีเทคนิค ที่ช่วยเหลือในการสร้างเครื่องปฏิกรณ์ และขอขอบคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ พี่ เพื่อน และน้อง ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกคนที่ให้กำลังใจและช่วยเหลือแก่ผู้เขียนอย่างอบอุ่นตลอดระยะเวลา 4 ปี ในจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สุดท้ายนี้ ขอกราบเท้าขอบพระคุณคุณพ่อคุณแม่ ขอบคุณพี่ชายและน้องสาว ที่ร่วมให้กำลังใจและสนับสนุนผู้เขียนจนประสบความสำเร็จในการศึกษา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ฎ

สารบัญรูป..... ฑ

บทที่

1. บทนำ..... 1

2. วารสารปริทัศน์..... 4

2.1 ความหมายของน้ำซีอิ๊ว..... 4

2.2 ประวัติของน้ำซีอิ๊ว..... 6

2.3 กรรมวิธีการผลิตน้ำซีอิ๊ว..... 7

2.4 สมบัติทางเคมีของน้ำซีอิ๊ว..... 17

2.5 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหมักน้ำซีอิ๊ว..... 20

2.6 น้ำชอสปรุงรส..... 22

2.7 การตริงรูปเซลล์..... 24

2.8 การทำแคปซูลเล็ก..... 26

2.9 การประยุกต์ใช้เทคนิคการห่อหุ้ม..... 33

2.10 การประยุกต์ใช้เซลล์จุลินทรีย์ตริงรูปในการผลิตน้ำซีอิ๊ว..... 39

2.11 เครื่องปฏิกรณ์ฟลูอิไดซ์..... 41

บทที่ (ต่อ) หน้า

3. อุปกรณ์และสารเคมี..... 47
3.1 อุปกรณ์..... 47
3.2 สารเคมี..... 48
3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง..... 51
3.4 ตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลือง น้ำซีอิ๊ว และน้ำซอสปรุงรสที่ใช้ในการทดลอง..... 52
3.5 เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 53
4. วิธีทดลอง..... 60
4.1 จุลินทรีย์และการเพาะเลี้ยง..... 60
4.2 วิธีเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก..... 61
4.3 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมของการเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก..... 65
4.3.1 การกำหนดความเข้มข้นของ 1,6-hexanediamine, sebacoylchloride และอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมของ cyclohexane-chloroform ที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมแคปซูลเล็กห่อหุ้มเซลล์ของ *L. delbrueckii*..... 65
4.3.2 การกำหนดความเข้มข้นของ 1,6-hexanediamine, sebacoylchloride และอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมของ cyclohexane-chloroform ที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมแคปซูลเล็กห่อหุ้มเซลล์ของ *Z. rouxii*..... 65
4.4 การศึกษาลักษณะของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก..... 66
4.4.1 การตรวจสอบการหลุด (leakage) ของเซลล์แบคทีเรียและยีสต์ที่มีชีวิตจากแคปซูลเล็ก..... 66

บทที่ (ต่อ) หน้า

4.4.2 การพิจารณาลักษณะของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของแบคทีเรียและยีสต์จากภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน..... 67

4.4.3 ความทนทานของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กต่อเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก..... 67

4.5 การหมักน้ำซีอิ๊ว..... 68

4.5.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฟิสิกส์ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลือง..... 68

4.5.2 การหมักน้ำซีอิ๊วแบบไม่ต่อเนื่อง..... 68

4.5.3 การหมักน้ำซีอิ๊วโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก..... 69

4.6 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์..... 71

4.6.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้และตัวอย่างน้ำซีอิ๊วและน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์..... 71

4.6.2 การวิเคราะห์ส่วนประกอบที่ให้กลิ่นโดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟ..... 72

4.6.3 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส..... 74

5. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 76

5.1 จุลินทรีย์และการเพาะเลี้ยง..... 76

5.2 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมของการเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก..... 80

บทที่ (ต่อ) หน้า

5.2.1 การกำหนดความเข้มข้นของ 1,6-hexanediamine, sebacoylchloride และอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมของ cyclohexane-chloroform ที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมแคปซูลเล็กห่อหุ้มเซลล์ของ *L. delbrueckii*..... 80

5.2.2 การกำหนดความเข้มข้นของ 1,6-hexanediamine, sebacoylchloride และอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมของ cyclohexane-chloroform ที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมแคปซูลเล็กห่อหุ้มเซลล์ของ *Z. rouxii*..... 85

5.3 การศึกษาลักษณะของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก..... 90

5.3.1 การตรวจสอบการหลุดของเซลล์แบคทีเรียและยีสต์ที่มีชีวิตจากแคปซูลเล็ก..... 90

5.3.2 การพิจารณาลักษณะของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของแบคทีเรียและยีสต์จากภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน..... 92

5.3.3 ความทนทานของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กต่อเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก..... 94

5.4 การหมักน้ำซีอิ๊ว..... 97

5.4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฟิสิกส์ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลือง..... 97

5.4.2 การหมักน้ำซีอิ๊วแบบไม่ต่อเนื่อง..... 98

5.4.3 การหมักน้ำซีอิ๊วโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก..... 101

บทที่ (ต่อ) หน้า

5.5 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์..... 109
5.5.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำซีอิ๊วและตัวอย่างน้ำซีอิ๊วและน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์..... 109
5.5.2 การวิเคราะห์ส่วนประกอบที่ให้กลิ่นโดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟ..... 111
5.5.3 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส..... 115
6. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 118
6.1 สรุปผลการทดลอง..... 118
6.2 ข้อเสนอแนะ..... 122
รายการอ้างอิง..... 125
ภาคผนวก..... 132
ภาคผนวก ก..... 133
ภาคผนวก ข..... 152
ภาคผนวก ค..... 153
ภาคผนวก ง..... 158
ภาคผนวก จ..... 160
ประวัติผู้เขียน..... 165

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	ปริมาณการนำเข้าและส่งออกน้ำซีอิ๊ว (2531).....	2
2.1	ลักษณะของน้ำซีอิ๊วแต่ละชนิดที่ผลิตในประเทศไทย.....	5
2.2	องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลือง (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง).....	8
2.3	กรดอะมิโนในถั่วเหลือง.....	8
2.4	ปริมาณแร่ธาตุในถั่วเหลือง.....	9
2.5	องค์ประกอบทางเคมีของข้าวสาลี.....	10
2.6	ส่วนประกอบที่ให้กลิ่นรสและให้กลิ่นในน้ำซีอิ๊ว.....	18
2.7	ลักษณะที่ต้องการสำหรับน้ำซอสปรุงรส.....	22
2.8	ตัวอย่างมอนอเมอร์ไฮโดรฟิลิคและไฮโดรโฟบิค.....	28
2.9	ตัวอย่างวัสดุที่ทำให้เกิดการแยกชั้น.....	31
5.1	ค่าเฉลี่ยปริมาณการผลิตกรดแลคติกจากอาหารเหลว GYP โดยเซลล์อิสระเปรียบเทียบกับเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *L. delbrueckii* ที่ภาวะการห่อหุ้มต่าง ๆ กัน.....	81
5.2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลปริมาณการผลิตกรดแลคติกโดยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *L. delbrueckii* เมื่อห่อหุ้มโดยใช้ความเข้มข้นของ 1,6-hexanediamine, sebacoylchloride และอัตราส่วนของตัวทำละลายผสม cyclohexane-chloroform ต่าง ๆ กัน.....	83
5.3	ค่าเฉลี่ยปริมาณการผลิตกรดแลคติกจากอาหารเหลว GYP โดยการเพิ่มปริมาณเซลล์อิสระก่อนการเตรียมแคปซูลเล็กเปรียบเทียบกับการเพิ่มปริมาณของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *L. delbrueckii* ที่ภาวะการห่อหุ้มที่เหมาะสม หลังจากบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์.....	85

ตารางที่ (ต่อ) หน้า

5.4 ค่าเฉลี่ยปริมาณการผลิตแอลกอฮอล์จากอาหารเหลว YM โดยเซลล์อิสระเปรียบเทียบกับเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *Z. rouxii* หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว YM เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ที่ภาวะการห่อหุ้มต่าง ๆ กัน..... 86

5.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลปริมาณการผลิตแอลกอฮอล์โดยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *Z. rouxii* เมื่อห่อหุ้มโดยใช้ความเข้มข้นของ 1,6-hexanediamine, sebacoylchloride และอัตราส่วนของตัวทำละลายผสม cyclohexane-chloroform ต่าง ๆ กัน..... 88

5.6 องค์ประกอบของทางเคมีและฟิสิกส์ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลือง.... 97

5.7 อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจนและความดันตก จากการทดลองหาความเร็วต่ำสุดของการเกิดฟลูอิไดเซชัน..... 101

5.8 ค่าเฉลี่ยองค์ประกอบของน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้และตัวอย่างของน้ำซีอิ๊วและน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์..... 110

5.9 ค่าเฉลี่ยคะแนนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้..... 115
ตัวอย่างที่ 1 และตัวอย่างที่ 3

6.1 สรุปภาวะที่เหมาะสมของการเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก..... 119

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	แผนภูมิกรรมวิธีการผลิตน้ำซีอิ๊วของโรงงานในประเทศไทย.....	16
2.2	วิธีตรึงรูปเซลล์จุลินทรีย์ (1) การเชื่อมกับตัวพยุง (2) การเชื่อมขวาง (3) การห่อหุ้ม.....	25
2.3	ปฏิกิริยาการทำแคปซูลเล็กแบบ interfacial polymerization.....	28
2.4	ปฏิกิริยาการทำแคปซูลเล็กแบบ liquid drying.....	29
2.5	ปฏิกิริยาการทำแคปซูลเล็กแบบ phase separation.....	31
2.6	ระดับของเบดในหอทดลอง.....	42
2.7	ภาชนะบรรจุในขั้นตอนการหมักโมโรมิเพื่อผลิตน้ำซีอิ๊วในระดับครัวเรือน.....	46
2.8	ภาชนะบรรจุในขั้นตอนการหมักโมโรมิเพื่อผลิตน้ำซีอิ๊วในเชิงพาณิชย์.....	46
3.1	ภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนของ *L. delbrueckii* ที่กำลังขยาย 7500 เท่า.....	51
3.2	ภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนของ *Z. rouxii* ที่กำลังขยาย 7500 เท่า.....	52
3.3	แผนผังระบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กสำหรับการหมักน้ำซีอิ๊ว 1 = คอลัมน์ 2 = หม้อแปลงไฟฟ้ากระแสสลับ 3 = เครื่องสูบ 4 = ถังบรรจุแก๊สไนโตรเจน 5 = มานอมิเตอร์ 6 = เครื่องอังน้ำ 7 = ภาชนะบรรจุโปรตีนไฮโดรไลเซต.....	55
3.4	ระบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กสำหรับการหมักน้ำซีอิ๊ว (1) ระบบรวม (2) เฉพาะส่วนเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ.....	56

รูปที่ (ต่อ) หน้า

3.5 คอลัมน์..... 57

3.6 หม้อแปลงไฟฟ้ากระแสสลับ..... 57

3.7 เครื่องสูบ..... 58

3.8 ถังบรรจุแก๊สไนโตรเจน..... 58

3.9 มานอมิเตอร์..... 59

3.10 เครื่องอังน้ำ..... 59

4.1 แผนภูมิขั้นตอนการเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก
โดยวิธี interfacial polymerization..... 62

4.2 ภาพแสดงขั้นตอนการเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก
โดยวิธี interfacial polymerization..... 64

4.3 การเก็บตัวอย่างโดยใช้กระบอกฉีดดูดแก๊สในช่องว่างเหนือของเหลว
โดย 1 = ขวดบรรจุตัวอย่าง 2 = ฝาปิด (septum)
3 = กระบอกฉีด (gas-tight syringe)..... 73

5.1 การเจริญเติบโตของ *L. delbrueckii* และปริมาณการผลิตกรดแลคติก
เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง..... 77

5.2 การเจริญเติบโตของ *Z. rouxii* และปริมาณการผลิตแอลกอฮอล์
เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง..... 78

5.3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง ปริมาณการผลิตกรดแลคติก และ
ปริมาณการผลิตแอลกอฮอล์ จากอาหารเหลวโดยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ
L. delbrueckii และ *Z. rouxii*..... 91

5.4 ภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก
ของ *L. delbrueckii* ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า..... 93

5.5 ภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก
ของ *Z. rouxii* ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า..... 93

รูปที่ (ต่อ) หน้า

5.6 การเปรียบเทียบปริมาณการผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์จากอาหารเหลว ที่มีเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก โดยเซลล์อิสระ และเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก..... 95

5.7 ปริมาณการผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์โดยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *L. delbrueckii* และ *Z. rouxii* ตามลำดับ เมื่อทดลองหมักน้ำซีอิ๊วแบบไม่ต่อเนื่อง..... 99

5.8 ความสัมพันธ์ระหว่างความดันตกและความเร็วของแก๊สไนโตรเจนในการทดลองหาความเร็วต่ำสุดของการเกิดฟลูอิไดเซชัน..... 102

5.9 ปริมาณการผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ ปริมาณกลูโคส และ pH) จากการหมักน้ำซีอิ๊วโดยใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่มีความเข้มข้นของกลูโคสร้อยละ 0 (1) ร้อยละ 0.5 (2) และร้อยละ 1.0 (3)โดยน้ำหนักในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก..... 105

5.10 ภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *L. delbrueckii* หลังการใช้งาน ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า..... 108

5.11 ภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *Z. rouxii* หลังการใช้งาน ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า..... 108

5.12 โครมาโตแกรมของส่วนประกอบที่ให้กลิ่นจาก (1) โปรตีนไฮโดรไลเซตเริ่มต้น (2) น้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้ (3) ตัวอย่างที่ 1 (4) ตัวอย่างที่ 3..... 112

5.13 ลักษณะของน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้ (1) ตัวอย่างที่ 1 (2) และตัวอย่างที่ 3 (3)..... 116

6.1 การเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์โดยเทคนิค HSGC..... 124