การตรึงรูปร่วมกันของเซลจุลินทรีย์สำหรับทดลองผลิตน้ำซีอิ๊ว

นายพันธ์ณรงค์ จันทร์แสงศรี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2537

ISBN 974-582-462-3

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CO-IMMOBILIZATION OF MICROBIAL CELLS FOR A TRIAL PRODUCTION OF SOY SAUCE

Mr. Punnarong Junsangsree

A Thesis Submitted in Partial Fullfillment of the Requirement

for the Degree of Master of Science

Department of Food Technology

Graduate School

Chulalongkorn University

1994

ISBN 974-582-462-3

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การตรึงรูปร่วมกันของเซลจุลินทรีย์สำหรับทดลองผลิตน้ำซีอิ๊ว
โดย	นายพันธ์ณรงค์ จันทร์แสงศรี
ภาควิชา	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.ปราณี อ่านเปรื่อง

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรรณา ตุลยธัญ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร. พาสวดี ฤทัยยานนท์)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร. สันติ ทิพยางค์)

..... กรรมการ
(นายจักรพงษ์ กาญจนปัญญาคม)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

พันธ์ณรงค์ จันทร์แสงศรี : การตรึงรูปร่วมกันของเซลจุลินทรีย์สำหรับทดลองผลิตน้ำซีอิ๊ว (CO-IMMOBILIZATION OF MICROBIAL CELLS FOR A TRIAL PRODUCTION OF SOY SAUCE) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง, 182 หน้า.
ISBN 974-582-462-3

เมื่อทดลองนำ Lactobacillus delbrueckii TISTR 108 และ Saccharomyces rouxii TISTR 5058 มาตรึงรูปร่วมกันในเม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนตขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร พบว่า ภาวะที่เหมาะสมในการตรึงรูปร่วมกันของเซลล์คือ ใช้โซเดียมอัลจิเนตเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนักและแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก เซลล์ตรึงรูปร่วมกันในเม็ดเจลแคลเซียม-อัลจิเนตที่ได้มีเสถียรภาพสูง ปริมาณเซลล์หลุดออกมาสู่อาหารเหลวน้อย และปริมาณเซลล์ L. delbrueckii และ S. rouxii เป็น 2.34×10^5 และ 1.96×10^5 เซลล์/กรัมเจล ตามลำดับ ปริมาณกรดแลคติคและแอลกอฮอล์จากการหมักโดยใช้เซลล์ตรึงรูปร่วมกันในอาหารเหลวยีสต์สกัด-มอลต์สกัด (ประกอบด้วยกลูโคสร้อยละ 1 ยีสต์สกัดร้อยละ 0.3 และมอลต์สกัดร้อยละ 0.3, pH 6.0) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เท่ากับ 1.87 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 2.13 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการหมักเมื่อใช้เซลล์อิสระ เม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนตจะมีเสถียรภาพดีที่สุดในอาหารเหลวยีสต์สกัด-มอลต์สกัดที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 14 โดยน้ำหนัก เมื่อนำเซลล์ตรึงรูปร่วมกันที่เตรียมจากภาวะเหมาะสมดังกล่าวข้างต้นมาใช้ในการผลิตน้ำซีอิ๊วทั้งกระบวนการแบบไม่ต่อเนื่อง และแบบต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบ เติมกลูโคสลงในโปรตีนไฮโดรไลเซตให้มีความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ผลการทดลองพบว่า ในกระบวนการผลิตน้ำซีอิ๊วแบบไม่ต่อเนื่องใช้เวลาการหมักจนได้น้ำซีอิ๊วที่มี pH เท่ากับ 4.5 เป็นเวลา 21 วัน ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณกรดแลคติค 7.74 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และปริมาณแอลกอฮอล์ 9.72 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนกระบวนการผลิตน้ำซีอิ๊วแบบต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกันแบบ packed bed ขนาด 3.0 x30 เซนติเมตร จำนวน 3 คอลัมน์ โดยบรรจุเซลล์ตรึงรูปร่วมกันคอลัมน์ละ 70 กรัม และมีปริมาตรการใช้งานรวม 600 มิลลิลิตร พบว่าเวลาที่ใช้ในการหมักจนได้น้ำซีอิ๊ว pH เท่ากับ 4.5 คือ 108 ชั่วโมง น้ำซีอิ๊วที่ได้มีปริมาณกรดแลคติค 7.81 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และปริมาณแอลกอฮอล์ 9.32 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และมีคุณสมบัติตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตอุตสาหกรรมน้ำซีอิ๊ว มอก.252-2521 ปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตของ L. delbrueckii และ S. rouxii ในเม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนตที่ผ่านการใช้งานเป็น 5.66×10^7 และ 6.90×10^7 เซลล์/กรัมเจล ตามลำดับ

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เทคโนโลยีการอาหาร ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2536 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

C226314 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY
KEY WORD: CO-IMMOBILIZATION / SOY SAUCE

PUNNARONG JUNSANGSREE : CO-IMMOBILIZATION OF MICROBIAL CELLS FOR A TRIAL PRODUCTION OF SOY SAUCE. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. PRANEE ANPRUNG,Ph.D. 182 pp. ISBN 974-582-462-3

Lactobacillus delbrueckii TISTR 108 and Saccharomyces rouxii TISTR 5058 were co-immobilized in calcium alginate gel of a diameter 3 mm. in size. The optimum conditions for co-immobilized of both microbial cells were determined: 3% sodium alginate and 2% calcium chloride. The obtained sample co-immobilized in calcium alginate gel under such condition were the most stable, minimal leakage of cells into the surrounding medium of yeast extract-malt extract was detected. The lactic acid and alcohol fermentative activity of the co-immobilized were found to be 1.87 mg/ml and 2.13 mg/ml, respectively, and the living cells of L. delbrueckii and S. rouxii in calcium alginate gel were 2.34×10^5 and 1.96×10^5 cells/g gel, respectively, by batch incubation in nutrient medium of yeast extract-malt extract (containing 1.0% glucose, 0.3% yeast extract, 0.3% malt extract, pH 6.0) for 3 days, 30 °C which were higher than that of the free cells. However, calcium alginate gel would have more stability when used in 14% salt-reaction medium. Trial productions of soy sauce using co-immobilized in calcium alginate for both conditions at 30 °C, batch process and continuous process, were carried out. The qauntity of glucose 1% was added in soy protein hydrolysate used as raw material. The results indicateed that the time for producing soy sauce until reach at pH 4.5 in batch process was 21 days. The soy sauce had 7.74 mg/ml of lactic acid and 9.72 mg/ml of alcohol. Whereas in continuous process; co-immobilized cells were applied in packed bed bioreactors with 3.0x30 cm. in size, 3 columns with 70 g each of co-immobilized cells, and total volume 600 ml, was found that the time for producing soy sauce (reach at pH 4.5) was 108 hrs. The qauntity of lactic acid and alcohol in obtained soy sauce were 7.81 mg/ml and 9.32 mg/ml, respectively The soy sauce had good quality, which met the standard for soy sauce set by Thai Indústrail Standard Institute. The living cells of L. delbrueckii and S. rouxii in used calcium alginate gel were 5.66×10^7 and 6.90×10^7 cells/g gel, respectively.

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เทคโนโลยีการอาหาร ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2536 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม –

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้คำแนะนำที่มีค่าอย่างมากต่อการทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรรณา ตุลยธัญ ประธานกรรมการ อาจารย์ ดร. พาสวดี ฤทัยยานนท์ อาจารย์ ดร. สันติ ทิพยางค์ และคุณจักรพงษ์ กาญจนปัญญาคม กรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปีการศึกษา 2534

ขอขอบคุณบริษัทแหลมทองฟู้ดมาร์เก็ต จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์แป้งสาลีจำนวน 100 กิโลกรัม บริษัทไทยเทพรสผลิตภัณฑ์อาหาร จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์โปรตีนไฮโดรไลเซต จำนวน 60 ลิตร คุณอาภัสรา สุขเจริญศักดิ์กุล ที่ให้ความอนุเคราะห์ถั่วเหลือง จำนวน 50 กิโลกรัม อาจารย์ เพ็ญศิริ ศรีบุรี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์สารมาตรฐานสำหรับแก๊สโครมาโตกราฟ

ขอขอบคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ พี่ เพื่อน และน้อง ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยเหลือผู้เขียนตลอดระยะเวลาการศึกษา

ขอขอบคุณอาจารย์ อดิศักดิ์ เอกโสวรรณ หัวหน้าสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร อาจารย์ สิรินาถ เมฆมณี หัวหน้าสาขาวิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมอาหาร คณาจารย์ และเจ้าหน้าที่ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร สาขาวิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมอาหาร และสาขาวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยและการพิมพ์วิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอกราบเท้าขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ คุณตาและคุณย่า ขอบคุณน้องๆ ที่มอบกำลังใจเสมอมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ฐ

สารบัญรูป..... ด

บทที่

1. บทนำ..... 1

2. วารสารปริทัศน์..... 10

2.1 กรรมวิธีการผลิตน้ำซีอิ๊ว..... 11

2.2 น้ำซอสปรุงรส..... 28

2.3 การตรึงรูปเซลล์จุลินทรีย์..... 30

2.4 เครื่องปฏิกรณ์เซลล์ตรึงรูป..... 43

2.5 การใช้ประโยชน์จากเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูป..... 47

3. อุปกรณ์และสารเคมี..... 53

3.1 อุปกรณ์..... 53

3.2 สารเคมี..... 54

3.3 จุลินทรีย์..... 55

3.4 ตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลือง น้ำซีอิ๊ว และ น้ำซอสปรุงรสที่ใช้ในการทดลอง..... 56

3.5 เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 56

บทที่ (ต่อ) หน้า

4. วิธีทดลอง 60
4.1 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ 60
4.2 การเตรียมเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายของเจลแคลเซียมอัลจิเนต 60
4.2.1 วิธีเตรียมสารแขวนลอยเซลล์ 60
4.2.2 วิธีตรึงรูปเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกัน 61
4.3 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการตรึงรูปเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกัน ... 62
4.3.1 อัตราส่วนของสารแแขวนลอยเซลล์ระหว่าง Lactobacillus delbrueckii และ Saccharomyces rouxii และร้อยละของสารแขวนลอยเซลล์จุลินทรีย์ทั้งสองในสารละลายโซเดียมอัลจิเนต 62
4.3.2 ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 62
4.4 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน 63
4.5 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการทำงานระหว่างเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันกับเซลล์จุลินทรีย์อิสระ 64
4.6 การศึกษาประสิทธิภาพการห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ของเจลแคลเซียมอัลจิเนตก่อนนำไปใช้งาน 64
4.6.1 การนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในเจลแคลเซียมอัลจิเนต ... 64
4.5.2 การพิจารณาภาพถ่ายอิเลคตรอนของผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนต 65
4.7 การศึกษาผลกระทบของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่มีต่อเสถียรภาพของเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายของเจลแคลเซียมอัลจิเนต 65

บทที่ (ต่อ)

หน้า

4.8 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฟิสิกส์ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลือง..... 66
4.9 การศึกษากระบวนการหมักน้ำซีอิ๊วอย่างไม่ต่อเนื่องโดยเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายของเจลแคลเซียมอัลจิเนต..... 66
4.10 การศึกษากระบวนการหมักน้ำซีอิ๊วในเครื่องปฏิกรณ์เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายของเจลแคลเซียมอัลจิเนต..... 67
4.10.1 ความสัมพันธ์ระหว่าง retention time กับความดันตก..... 67
4.10.2 การกำหนด retention time ที่เหมาะสมต่อการหมักน้ำซีอิ๊วอย่างต่อเนื่อง..... 67
4.10.3 การหมักกรดแลคติคและแอลกอฮอล์ในน้ำซีอิ๊วโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์เซลล์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายของเจลแคลเซียมอัลจิเนต..... 68
4.11 การศึกษาเสถียรภาพการใช้งานของเซลล์ตรึงรูปร่วมกันในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 68
4.11.1 การนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในเจลแคลเซียมอัลจิเนต... 68
4.11.2 การพิจารณาภาพถ่ายอิเลคตรอนของผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนต..... 68
4.12 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์..... 69
4.12.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฟิสิกส์..... 69
4.12.2 การประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัส..... 69
4.12.3 การวิเคราะห์สารประกอบให้กลิ่น..... 70
5. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 72
5.1 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์..... 72

บทที่ (ต่อ)

หน้า

5.2 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการตรึงรูปเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกัน... 75
5.2.1 อัตราส่วนของสารแขวนลอยเซลล์ระหว่าง Lactobacillus delbrueckii และ Saccharomyces rouxii และร้อยละของสารแขวนลอยเซลล์จุลินทรีย์ทั้งสองในสารละลายโซเดียมอัลจิเนต..... 75
5.2.2 ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์..... 79
5.3 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน..... 91
5.4 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการทำงานระหว่างเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันกับเซลล์จุลินทรีย์อิสระ..... 112
5.5 การศึกษาประสิทธิภาพการห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ของเจลแคลเซียมอัลจิเนตก่อนนำไปใช้งาน..... 119
5.5.1 การนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในเจลแคลเซียมอัลจิเนต... 119
5.5.2 การพิจารณาภาพถ่ายอิเลคตรอนของผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนต..... 120
5.6 การศึกษาผลกระทบของเกลือ (โซเดียมคลอไรด์) ที่มีต่อเสถียรภาพของเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายของเจลแคลเซียมอัลจิเนต..... 123
5.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฟิสิกส์ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลือง..... 126
5.8 การศึกษากระบวนการหมักน้ำซีอิ๊วอย่างไม่ต่อเนื่องโดยเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายของเจลแคลเซียมอัลจิเนต..... 128

บทที่ (ต่อ) หน้า

5.9 การศึกษากระบวนการหมักน้ำซีอิ๊วในเครื่องปฏิกรณ์เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายของเจลแคลเซียมอัลจิเนต..... 133
5.9.1 ความสัมพันธ์ระหว่าง retention time กับความดันตก..... 133
5.9.2 การกำหนด retention time ที่เหมาะสมต่อการหมักน้ำซีอิ๊วอย่างต่อเนื่อง..... 134
5.9.3 การหมักกรดแลคติคและแอลกอฮอล์ในน้ำซีอิ๊วโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์เซลล์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายของเจลแคลเซียมอัลจิเนต..... 136
5.10 การศึกษาเสถียรภาพการใช้งานของเซลล์ตรึงรูปร่วมกันในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 139
5.10.1 การนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในเจลแคลเซียมอัลจิเนต... 139
5.10.2 การพิจารณาภาพถ่ายอิเลคตรอนของผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนต..... 142
5.11 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์..... 144
5.11.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฟิสิกส์..... 144
5.11.2 การประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัส..... 146
5.11.3 การวิเคราะห์สารประกอบให้กลิ่น..... 148
6. สรุปผลการทดลอง..... 152
6.1 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์..... 152
6.2 ภาวะที่เหมาะสมในการตึงรูปและการทำงานของเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน..... 152
6.3 การหมักน้ำซีอิ๊วอย่างไม่ต่อเนื่อง..... 155
6.4 การหมักน้ำซีอิ๊วอย่างต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายของเจลแคลเซียมอัลจิเนต..... 156

บทที่ (ต่อ) หน้า

6.5 ข้อเสนอแนะ..... 157
รายการอ้างอิง..... 158
ภาคผนวก..... 164
ภาคผนวก ก..... 165
ภาคผนวก ข..... 175
ภาคผนวก ค..... 177
ประวัติผู้เขียน..... 182

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	ผลผลิต ความต้องการ และการใช้ประโยชน์ของถั่วเหลือง ในอุตสาหกรรมต่างๆ (หน่วยเป็นตัน).....	2
1.2	สถิติเปรียบเทียบการนำเข้าและส่งออกถั่วเหลืองของประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2525-2531.....	3
1.3	สถิติเปรียบเทียบการนำเข้าและส่งออกน้ำซีอิ๊วของประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2525-2531.....	5
1.4	ลำดับของประเทศคู่ค้าที่สำคัญในการนำเข้าและส่งออกน้ำซีอิ๊วของ ประเทศไทยในปี พ.ศ. 2530 และ 2531.....	6
1.5	สถานประกอบการอุตสาหกรรมผลิตน้ำซีอิ๊วตามภาคต่างๆ ในประเทศไทย จำแนกตามขนาดของจำนวนบุคคลทำงาน พ.ศ. 2530.....	7
2.1	ลักษณะทางเคมีของน้ำซีอิ๊ว.....	23
2.2	ผลการวิเคราะห์ทางปริมาณของสารปรุงแต่งกลิ่นรสในน้ำซีอิ๊ว (หน่วยเป็น พีพีเอ็ม.).....	26
2.3	ชนิดของยีสต์ที่แยกได้จากน้ำซีอิ๊วช่วงโมโรมิและความสามารถใน การเปลี่ยนกรด feruric เป็น 4-ethylguaiacal (4EG).....	27
2.4	ลักษณะที่ต้องการของน้ำซอสปรุงรส.....	29
2.5	การเปรียบเทียบลักษณะต่างๆ ของการตรึงรูปเซลล์แต่ละวิธี.....	41
5.1	ปริมาณกรดแลคติค แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อตรึงรูปเซลจุลินทรีย์ร่วมกันโดยใช้อัตราส่วนของ สารแขวนลอยเซลล์ระหว่าง L. delbrueckii และ S. rouxii และร้อยละของสารแขวนลอยเซลล์จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดในสารละลาย โซเดียมอัลจิเนต.....	76

ตารางที่ (ต่อ) หน้า

5.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าของกรดแลคติค แอลกอฮอล์ และการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อตรึงรูปเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกันโดยใช้อัตราส่วนของสารแขวนลอยเซลระหว่าง L. delbrueckii และ S. rouxii และร้อยละของสารแขวนลอยเซลล์จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดในสารละลายโซเดียมอัลจิเนต..... 77

5.3 ปริมาณกรดแลคติค แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อตรึงรูปเซลจุลินทรีย์ร่วมกันโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค..... 81

5.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าของกรดแลคติค แอลกอฮอล์ และการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อตรึงรูปเซลจุลินทรีย์ร่วมกัน โดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค..... 82

5.5 ปริมาณกรดแลคติค แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อตรึงรูปเซลจุลินทรีย์ร่วมกันโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์..... 84

5.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าของกรดแลคติค แอลกอฮอล์ และการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อตรึงรูปเซลจุลินทรีย์ร่วมกัน โดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์..... 85

5.7 ปริมาณกรดแลคติค แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อตรึงรูปเซลจุลินทรีย์ร่วมกันโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์.. 87

ตารางที่ (ต่อ) หน้า

5.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าของกรดแลคติค แอลกอฮอล์ และการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อตรึงรูปเซลจุลินทรีย์ร่วมกัน โดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ 88

5.9 ปริมาณกรดแลคติค แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันทำงาน ณ pH และอุณหภูมิต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค 92

5.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าของกรดแลคติค แอลกอฮอล์ และการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร เมื่อเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันทำงาน ณ pH และอุณหภูมิต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค 95

5.11 ปริมาณกรดแลคติค แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันทำงาน ณ pH และอุณหภูมิต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ 98

5.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าของกรดแลคติค แอลกอฮอล์ และการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันทำงาน ณ pH และอุณหภูมิต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ 101

5.13 ปริมาณกรดแลคติค แอลกอฮอล์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันทำงาน ณ pH และอุณหภูมิต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ .. 104

5.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าของกรดแลคติค แอลกอฮอล์ และการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันทำงาน ณ pH และอุณหภูมิต่างๆ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ 106

5.15 การเปรียบเทียบผลผลิตกรดแลคติคและแอลกอฮอล์ระหว่างเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน และเซลจุลินทรีย์อิสระ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค 112

ตารางที่ (ต่อ) หน้า

5.16 การเปรียบเทียบผลผลิตกรดแลคติคและแอลกอฮอล์ระหว่างเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน และเซลจุลินทรีย์อิสระ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์..... 114

5.17 การเปรียบเทียบผลผลิตกรดแลคติคและแอลกอฮอล์ระหว่างเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน และเซลจุลินทรีย์อิสระ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติคร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์..... 116

5.18 จำนวนเซลที่มีชีวิต Lactobacillus delbrueckii และ Saccharomyces rouxii ในเจลแคลเซียมอัลจิเนต สำหรับกรณีต่างๆ..... 117

5.19 องค์ประกอบทางเคมีและฟิสิกส์ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลือง..... 126

5.20 ความสัมพันธ์ระหว่าง retention time อัตราการไหล และความดันตกที่เกิดขึ้นในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายของเจลแคลเซียมอัลจิเนต..... 133

5.21 องค์ประกอบของน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้และผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วและผลิตภัณฑ์น้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์..... 144

5.22 คะแนนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้ ตัวอย่างที่ 1 ตัวอย่างที่ 2 และตัวอย่างที่ 3..... 146

5.23 การเปรียบเทียบสารประกอบให้กลิ่นที่พบในน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้ ตัวอย่างที่ 1 ตัวอย่างที่ 2 และตัวอย่างที่ 3 เมื่อวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโตกราฟ..... 150

6.1 สรุปภาวะที่เหมาะสมในการตรึงรูปและการทำงานของเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน..... 153

ค-1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD)..... 177

ค-2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลแบบแฟคทอเรียล (Factorial Completely Randomized Design)..... 178

ค-3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD)..... 179

ค-4 การหาค่าเฉลี่ยของข้อมูลแบบแฟคทอเรียล..... 180

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ขั้นตอนการผลิตน้ำซีอิ๊ว	22
2.2	กระบวนการเกิดสีของน้ำซีอิ๊วระหว่างการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน	25
2.3	การจำแนกวิธีตรึงรูปเซลล์จุลินทรีย์	31
2.4	การตรึงรูปเซลล์โดยวิธีห่อหุ้ม	34
2.5	โครงสร้างของกรด D-mannuronic (a) และกรด L-guluronic (b)	36
2.6	โครงสร้างของอัลจิเนต	36
2.7	แบบจำลอง "กล่องไข่"	37
3.1	แผนผังระบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกันในเจลแคลเซียมอัลจิเนต สำหรับการหมักน้ำซีอิ๊ว	58
3.2	ระบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกันในเจลแคลเซียมอัลจิเนต สำหรับการหมักน้ำซีอิ๊ว	59
5.1	การเจริญเติบโตของ L. delbrueckii ในอาหารเหลว GYP ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	73
5.2	การเจริญเติบโตของ S. rouxii ในอาหารเหลว YM ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	74
5.3	pH- และ temperature-activity profile ของเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค	97
5.4	pH- และ temperature-activity profile ของเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์	103
5.5	pH- และ temperature-activity profile ของเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน กรณีติดตามผลผลิตกรดแลคติค สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติคและการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์	109
5.6	pH- และ temperature-activity profile ของเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน กรณีติดตามผลผลิตแอลกอฮอล์ สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติคและการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์	110

รูปที่ (ต่อ) หน้า

5.7 การเปรียบเทียบผลผลิตกรดแลคติคระหว่างเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันและเซลล์จุลินทรีย์อิสระ ในกรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค..... 113

5.8 การเปรียบเทียบผลผลิตแอลกอฮอล์ ระหว่างเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันและเซลล์จุลินทรีย์อิสระ ในกรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค..... 113

5.9 การเปรียบเทียบผลผลิตกรดแลคติค ระหว่างเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันและเซลล์จุลินทรีย์อิสระ ในกรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์..... 115

5.10 การเปรียบเทียบผลผลิตแอลกอฮอล์ ระหว่างเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันและเซลล์จุลินทรีย์อิสระ ในกรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์..... 115

5.11 การเปรียบเทียบผลผลิตกรดแลคติค ระหว่างเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันและเซลล์จุลินทรีย์อิสระ ในกรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์..... 117

5.12 การเปรียบเทียบผลผลิตแอลกอฮอล์ ระหว่างเซลจุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันและเซลจุลินทรีย์อิสระ ในกรณีที่เลือกสำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์..... 117

5.13 ภาพถ่ายอิเลคตรอนของผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนตซึ่งห่อหุ้มเซลจุลินทรีย์ร่วมกัน สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค..... 121

5.14 ภาพถ่ายอิเลคตรอนของผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนตซึ่งห่อหุ้มเซลจุลินทรีย์ร่วมกัน สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์..... 121

5.15 ภาพถ่ายอิเลคตรอนของผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนตซึ่งห่อหุ้มเซลจุลินทรีย์ร่วมกัน สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดอักอฮอล์..... 122

5.16 ผลกระทบของเกลือความเข้มข้นต่างๆ ที่มีต่อเสถียรภาพของเซลล์ตรึงรูปร่วมกัน สำหรับกรณีการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค กรณีการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ และกรณีการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติคร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ โดยแสดงในรูปการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร..... 125

รูปที่ (ต่อ) หน้า

5.17 ปริมาณกรดแลคติค กลูโคส และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อหมักน้ำซีอิ๊วอย่างไม่ต่อเนื่องโดยเซลล์ตรึงรูปร่วมกันในกรณีการหมักกรดแลคติค.. 130

5.18 ปริมาณแอลกอฮอล์ กลูโคส และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อหมักน้ำซีอิ๊วอย่างไม่ต่อเนื่องโดยเซลล์ตรึงรูปร่วมกันในกรณีการหมักแอลกอฮอล์.. 131

5.19 ปริมาณกรดแลคติค แอลกอฮอล์ กลูโคส และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เมื่อหมักน้ำซีอิ๊วอย่างไม่ต่อเนื่องโดยเซลล์ตรึงรูปร่วมกัน ในกรณีการหมักกรดแลคติคร่วมกับการหมักแอลกอฮอล์..... 132

5.20 ปริมาณกรดแลคติค แอลกอฮอล์ และกลูโคส เมื่อแปร retention time ต่างๆ ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนต..... 135

5.21 ปริมาณกรดแลคติค แอลกอฮอล์ กลูโคส และ pH จากการหมักน้ำซีอิ๊วอย่างต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนต..... 137

5.22 ปริมาณเซลล์ L. delbrueckii และ S. rouxii ที่มีชีวิตในเจลแคลเซียมอัลจิเนต และเซลล์อิสระที่หลุดออกจากเจล ในระหว่างที่กระบวนการหมักน้ำซีอิ๊วอย่างต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน..... 140

5.23 ภาพถ่ายอิเลคตรอนของผิวเจลแคลเซียมอัลจิเนตซึ่งห่อหุ้มเซลจุลินทรีย์ร่วมกัน สำหรับการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค ร่วมกับการหมักเพื่อให้เกิดอัลกอฮอล์ ภายหลังการหมักอย่างต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเสร็จสิ้นลง..... 143

5.24 โครมาโตแกรมแสดงสารประกอบให้กลิ่นในโปรตีนไฮโดรไลเซตเริ่มต้น น้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้ ตัวอย่างที่ 1 ตัวอย่างที่ 2 และ ตัวอย่างที่ 3 149

ก-1 เครื่องกลั่นระดับจุลภาคสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์..... 168