บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

6.1 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์

เพาะเลี้ยง L. delbrueckii TISTR 108 ในอาหารเหลว GYP ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 ชั่วโมง และ S. rouxii TISTR 5058 ในอาหารเหลว YM ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับใช้เตรียมสารแขวนลอยเซลล์เพื่อใช้ในการตรึงรูปเซลจุลินทรีย์ร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนต

6.2 ภาวะที่เหมาะสมในการตรึงรูปและการทำงานของเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน

ภาวะที่เหมาะสมในการตรึงรูปและการทำงานของเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน สรุปได้ดังตารางที่ 6.1

ตารางที่ 6.1 สรุปภาวะที่เหมาะสมในการตรึงรูปและการทำงานของเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน

ภาวะ	กรณีการหมักกรดแลคติค	กรณีการหมักแอลกอฮอล์	กรณีการหมักกรดแลคติคร่วมกับแอลกอฮอล์
1. ปริมาณเซลล์ L. delbrueckii เริ่มต้น (เซลล์/มิลลิลิตร)	6.8×10^8	6.8×10^8	6.8×10^8
2. ปริมาณเซลล์ S. rouxii เริ่มต้น (เซลล์/มิลลิลิตร)	4.5×10^7	4.5×10^7	4.5×10^7
3. อัตราส่วนของสารแขวนลอยเซลล์ระหว่าง L. delbrueckii กับ S. rouxii	1 : 1	1 : 2	1 : 2
4. ร้อยละของสารแขวนลอยเซลล์จุลินทรีย์ทั้งสองในสารละลายโซเดียมอัลจิเนต (ร้อยละโดยปริมาตร)	2	3	1
5. ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนต (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	3	3	3
6. ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	4	3	2
7. pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน	7.0	4.0	6.0
8. อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน	35 องศาเซลเซียส	30 องศาเซลเซียส	30 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 6.1 (ต่อ)

ภาวะ	กรณีการหมักกรดแลคติด	กรณีการหมักแอลกอฮอล์	กรณีการหมักกรดแลคติดร่วมกับแอลกอฮอล์
9. ความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะต่อการทำงานของเซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกัน	17	16	14
10. การสร้างกรดแลคติดจากอาหารเหลว YM (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	2.16	1.03	1.87
11. การสร้างแอลกอฮอล์จากอาหารเหลว YM (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	1.15	2.20	2.13

6.3 การหมักน้ำซีอิ๊วแบบไม่ต่อเนื่อง

เมื่อทดลองหมักน้ำซีอิ๊วอย่างไม่ต่อเนื่อง โดยใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตเริ่มต้นที่เติมกลูโคสร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก เมื่อการหมักหยุดชงักหรือเกิดผลิตภัณฑ์เพียงเล็กน้อย เติมกลูโคสร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ลงในโปรตีนไฮโดรไลเซตเดิม ทำการหมักจนกระทั่ง pH อยู่ในช่วง 4.0-4.5 โดยเซลล์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนต ระหว่าง L. delbrueckii และ S. rouxii พบว่า

การหมักน้ำซีอิ๊วอย่างไม่ต่อเนื่องโดยเซลล์ตรึงรูปร่วมกัน ในกรณีการหมักกรดแลคติค การหมักดำเนินไปจนถึงวันที่ 22 pH ของสารละลายสำหรับหมักลดลงเหลือ 4.40 เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันผลิตกรดแลคติคได้ 9.36 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รวมแล้วเติมกลูโคสลงไปทั้งสิ้น ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก และมีกลูโคสคงเหลือร้อยละ 2.31 โดยน้ำหนัก

การหมักน้ำซีอิ๊วอย่างไม่ต่อเนื่องโดยเซลล์ตรึงรูปร่วมกัน ในกรณีการหมักแอลกอฮอล์ การหมักดำเนินไปจนถึงวันที่ 20 pH ของสารละลายสำหรับหมักลดลงเหลือ 4.10 เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันผลิตแอลกอฮอล์ได้ 10.45 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รวมแล้วเติมกลูโคสลงไปทั้งสิ้น ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก และมีกลูโคสคงเหลือร้อยละ 2.01 โดยน้ำหนัก

การหมักน้ำซีอิ๊วอย่างไม่ต่อเนื่องโดยเซลล์ตรึงรูปร่วมกัน ในกรณีการหมักกรดแลคติคร่วมกับการหมักแอลกอฮอล์ การหมักดำเนินไปจนถึงวันที่ 21 pH ของสารละลายสำหรับหมักลดลงเหลือ 4.54 เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันผลิตกรดแลคติคและแอลกอฮอล์ได้ 7.74 และ 9.72 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ รวมแล้วเติมกลูโคสลงไปทั้งสิ้น ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก และมีกลูโคสคงเหลือร้อยละ 1.91 โดยน้ำหนัก

6.4 <u>การหมักน้ำซีอิ๊วอย่างต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนต</u>

ในการทดลองหมักน้ำซีอิ๊วอย่างต่อเนื่อง ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์จุลินทรีย์ L. delbrueckii และ S. rouxii ตรึงรูปร่วมกันแบบห่อหุ้มในช่องตาข่ายเจลแคลเซียมอัลจิเนต ขนาด 5.0 x 30 เซนติเมตร ปริมาตรใช้งานต่อเครื่อง 200 มิลลิลิตร รวมทั้ง 3 เครื่องมีปริมาตรรวม 600 มิลลิลิตร ควบคุม retention time ของโปรตีนไฮโดรไลเซตเท่ากับ 4 ชั่วโมง ปริมาณเซลล์ตรึงรูปร่วมกันในแต่ละคอลัมน์ 70 กรัม และปริมาตรของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ไหลเวียนในเครื่องปฏิกรณ์ 2000 มิลลิลิตร เมื่อติดตามการหมักทุก 3 ชั่วโมง พบว่า ชั่วโมงที่ 36 และ 72 ปริมาณกรดแลคติคและแอลกอฮอล์ค่อนข้างคงที่ จึงเติมกลูโคสลงไปร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก เพื่อให้เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปร่วมกันใช้เป็นสับสเตรตในการหมักต่อไป ภายหลังการหมักผ่านไป 108 ชั่วโมง ของเหลวที่ผ่านการหมักมี pH ลดลงจนถึง 4.52 น้ำซีอิ๊วที่ได้มีปริมาณกรดแลคติค 7.81 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แอลกอฮอล์ 9.32 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และมีปริมาณกลูโคสเหลืออยู่ ร้อยละ 0.39 โดยน้ำหนัก รวมปริมาณกลูโคสที่เติมลงไปร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก จากการเปรียบเทียบลักษณะด้านต่างๆ ของน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้กับผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วและน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์พบว่า น้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้มีองค์ประกอบที่สำคัญ คือ กรดแลคติคและแอลกอฮอล์ใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วและน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ อีกทั้งมีสารประกอบให้กลิ่นส่วนใหญ่เหมือนกับผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วและน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ เมื่อทำการทดสอบด้านประสาทสัมผัส พบว่า น้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้มีการยอมรับอยู่ในเกณฑ์ดีเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วและน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์

6.5 ข้อเสนอแนะ

ปัญหาที่เกิดขึ้นกับเจลแคลเซียมอัลจิเนตที่ใช้ห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ในงานวิจัยนี้คือ เจลมีความคงทนต่อโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ใช้เป็นสารละลายสำหรับหมักค่อนข้างน้อย เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเซตมีเกลือโซเดียมคลอไรด์สูง จึงจำเป็นต้องปรับปรุงประสิทธิภาพในการเตรียมเจลโดยเพิ่มเสถียรภาพของเจลแคลเซียมอัลจิเนต ด้วยวิธีใดวิธีหนึ่งต่อไปนี้

(1) การแทนที่อิออนแคลเซียมด้วยอิออนบวกอื่นๆ ที่มี affinity สูงกว่า เช่น Pb^{2+}, Cu^{2+}, Cd^{2+}, Ba^{2+}, Sr^{2+} เป็นต้น อย่างไรก็ตาม Pb^{2+}, Cu^{2+} และ Cd^{2+} มีความเป็นพิษสูงจึงไม่เหมาะจะนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร

(2) การใช้ polycation เช่น polypeptide หรือ chitosan ซึ่งสารประกอบอัลจิเนตที่เกิดจาก polycation เหล่านี้จะไม่ละลายเมื่อมีตัวจับอิออนแคลเซียม (Ca^{2+} chelators)

(3) การเชื่อมขวางด้วยพันธะโควาเลนต์ (covalent cross linking) โดยทำให้เกิดการเชื่อมขวางโดยตรงระหว่างกลุ่มคาร์บอกซิลของอัลจิเนตด้วยโพลิเมอร์สังเคราะห์

เนื่องจากน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้จากการทดลองนี้ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบในการผลิต ซึ่งกรรมวิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลืองนั้นใช้กรด และความร้อนสูงในการย่อยถั่วเหลือง จึงทำให้กลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซตไม่ดีเท่ากับการใช้เอ็นไซม์จากเชื้อราย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลือง ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของกรรมวิธีผลิตน้ำซีอิ๊วแบบธรรมชาติ แต่กรรมวิธีผลิตน้ำซีอิ๊วแบบธรรมชาตินั้นใช้เวลานานกว่า แนวทางหนึ่งที่อาจแก้ปัญหานี้ได้ คือ ใช้กรรมวิธีผลิตน้ำซีอิ๊วแบบธรรมชาติในช่วงโคจิเพื่อเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลือง แทนการใช้กรด จากนั้นจึงนำโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้มาผลิตน้ำซีอิ๊วในในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ตรึงรูปร่วมกัน