

T 149425

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

จากการผลิตรวดแลคติกและแอลกอฮอล์จากโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลือง (SPH) ซึ่งเติมกลูโคสร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก โดยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก 2 ลักษณะคือ แบบไม่ต่อเนื่องและแบบต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ฟลูอิดไรซิงภาวพลเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก พบว่าในกระบวนการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กสามารถผลิตรวดแลคติกได้ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ภายใน 14 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และหลังจากหมักแอลกอฮอล์ต่อด้วยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *Z. rouxii* เป็นเวลาอีก 14 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จะผลิตแอลกอฮอล์จากโปรตีนไฮโดรไลเซตที่หมักกรวดแลคติกแล้วได้ร้อยละ 0.54 โดยปริมาตร และพบว่าการพัฒนาการผลิตรวดแลคติกและแอลกอฮอล์ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลืองเกิดขึ้นโดยการใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มของแบคทีเรียและยีสต์อย่างละ 3 เครื่อง (ขนาด 2.0x35 ซม.) เชื่อมต่อกัน โดยให้อยู่ในลักษณะของการทำงานแบบฟลูอิดไรซิงทั้งหมด กล่าวคือ พบว่าผลผลิตของกรวดแลคติกและแอลกอฮอล์จาก SPH สูงถึง 1.98 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และร้อยละ 0.62 โดยปริมาตร ตามลำดับ ภายใน 72 ชั่วโมง สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ได้ซึ่งเรียกว่า น้ำชีว ที่ผลิตโดยวิธีที่ทดลองนี้ให้ผลการวิเคราะห์ด้านกลิ่น รส และการยอมรับรวมค่อนข้างดี

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 $4.5-10.0 \times 10^8$ 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 $2.0-5.2 \times 10^7$ 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.