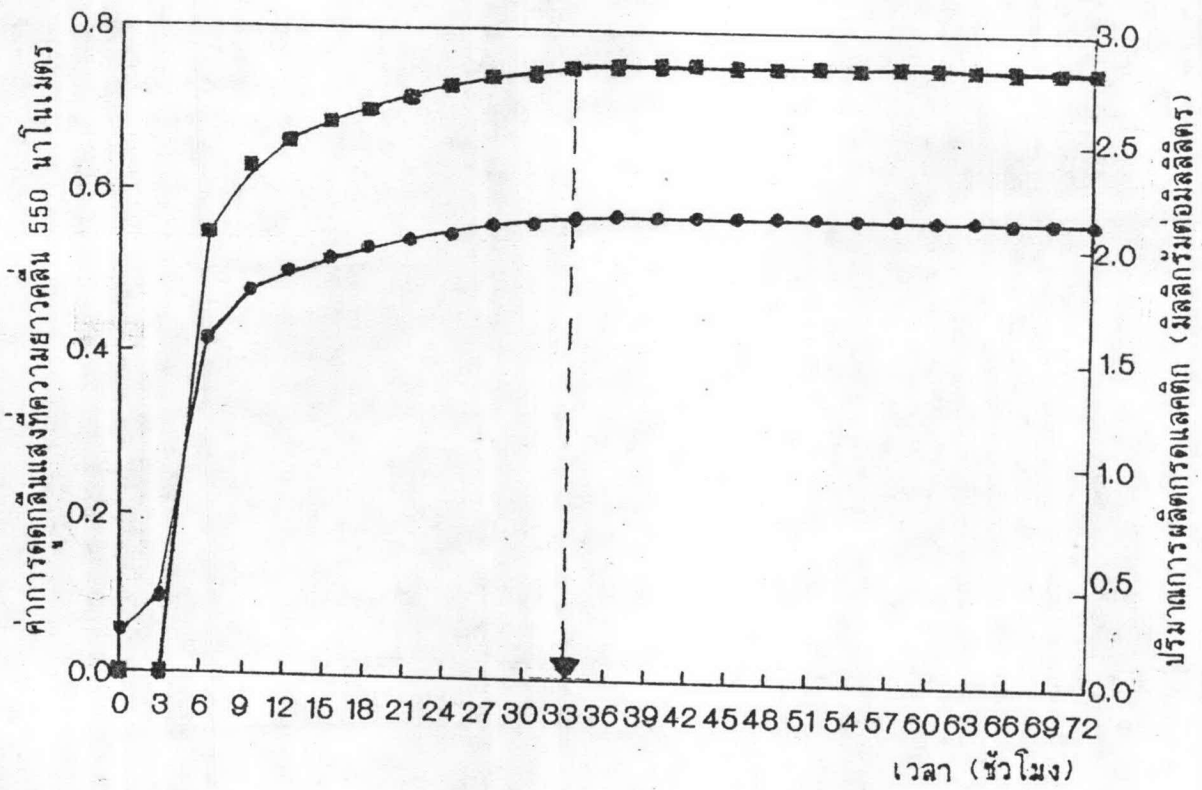


บทที่ 5

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

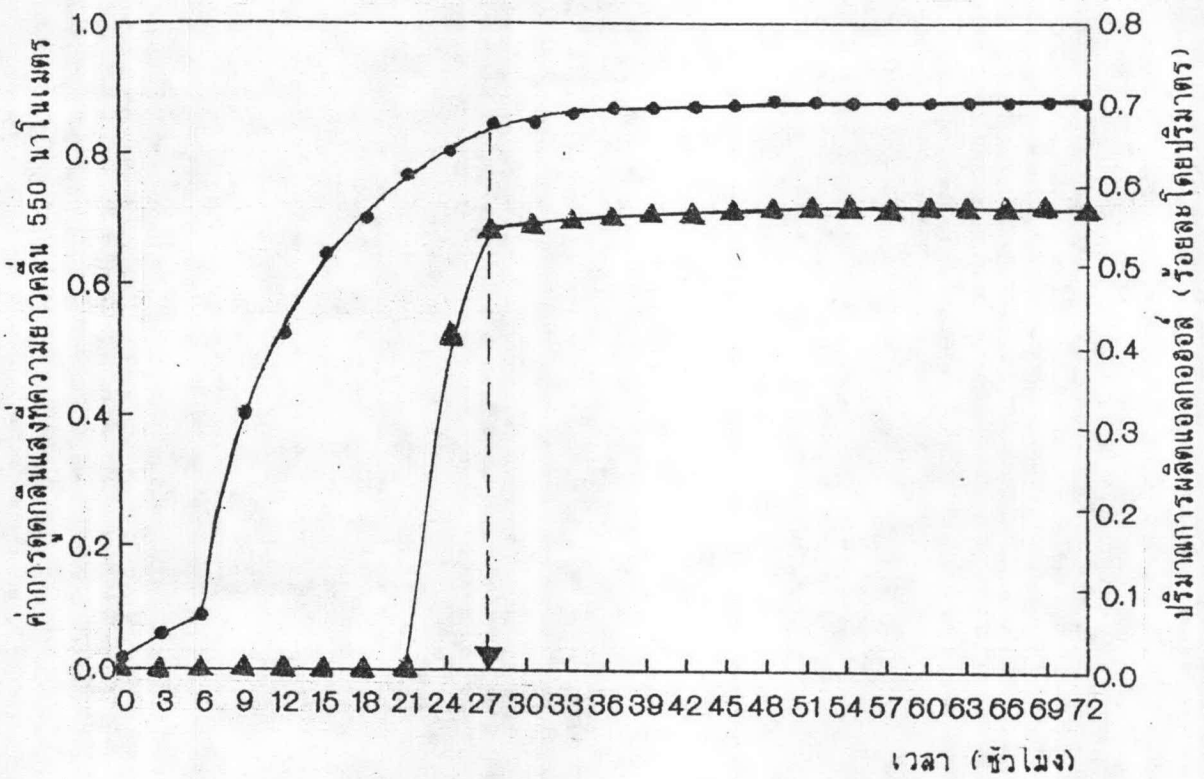
5.1 จลินทรีย์และการเพาะเลี้ยง

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของ *L. delbrueckii* ในอาหารเหลว GYP ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร และปริมาณการผลิตกรดแลคติก ที่เวลาต่าง ๆ ให้ผลการทดลองดังรูปที่ 5.1 และจากการศึกษาการเจริญเติบโตของ *Z. rouxii* ในอาหารเหลว YM ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร และปริมาณการผลิตแอลกอฮอล์ที่เวลาต่าง ๆ ให้ผลการทดลองดังรูปที่ 5.2



- = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร
- = ปริมาณการผลิตกรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

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



- = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร
- ▲—▲ = ปริมาณการผลิตแอลกอลออล (ร้อยละโดยปริมาตร)

รูปที่ 5.2 การเจริญเติบโตของ *Z. rouxii* และปริมาณการผลิตแอลกอลออล
เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

จากผลการทดลองดังรูปที่ 5.1 และ 5.2 แสดงให้เห็นว่า เมื่อเพาะเลี้ยง *L. delbrueckii* ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 33 ชั่วโมง และ *Z. rouxii* ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 27 ชั่วโมง จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดจะมีการเจริญเติบโตในอัตราที่ค่อนข้างคงที่และมีการสร้างผลิตภัณฑ์ในปริมาณสูงสุด ดังนั้นเพื่อให้จุลินทรีย์สร้างผลิตภัณฑ์ได้เร็วและมากที่สุด จึงเก็บเกี่ยวเซลล์ของ *L. delbrueckii* และ *Z. rouxii* หลังจากบ่มไว้ในอาหารเหลว GYP เป็นเวลา 33 และ YM เป็นเวลา 27 ชั่วโมง ตามลำดับ เพื่อใช้เป็นเซลล์มีชีวิตในการศึกษาการหมักในแคปซูลเล็กต่อไป

สำหรับเหตุผลในการเลือกใช้แบคทีเรียแลคติกพวก *L. delbrueckii* และยีสต์พวก *Z. rouxii* ในการทดลองนี้ ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียและยีสต์ดังกล่าวเป็นจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่พบและมีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องในกระบวนการหมักน้ำชีว โดย *L. delbrueckii* จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรดแลคติก (lactic acid fermentation) ทำให้ภาวะในถังหมักมีความเป็นกรดมากขึ้น ซึ่งเอื้ออำนวยให้ยีสต์ที่ทนเกลือได้พวก *Z. rouxii* เจริญได้ดี และหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ เอสเทอร์ และสารอื่น ๆ (alcohol fermentation) ซึ่งสารเหล่านี้จะกลายเป็นกลิ่นรสเฉพาะตัวของน้ำชีว ตามรายงานของ Markley (1951); Pederson (1971); Wood และคณะ (1975) สุกธัคคี สุกในศิลป์ (2522); นภา โล่ห์ทอง (2531) อย่างไรก็ตาม Wood และคณะ (1975) กล่าวว่า มักมีปัญหาเสมอเกี่ยวกับการเลือกชนิดของจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการหมัก ทั้งนี้เนื่องจากผู้วิจัยแต่ละคนก็จะมีหลักเกณฑ์ในการวินิจฉัยชนิดของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องแตกต่างกัน

5.2 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมของการเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก

5.2.1 การกำหนดความเข้มข้นของ 1,6-hexanediamine, sebacylchloride และอัตราส่วนของตัวทำละลายผสม cyclohexane-chloroform ที่เหมาะสม สำหรับการเตรียมแคปซูลเล็กห่อหุ้มเซลล์ของ *L. delbrueckii*

จากการเตรียมแคปซูลเล็กห่อหุ้มเซลล์ของ *L. delbrueckii* ตามวิธีในข้อ 4.2 โดยแปรความเข้มข้นของ 1,6-hexanediamine เป็นร้อยละ 1, 2 และ 3 โดยน้ำหนัก แปรความเข้มข้นของ sebacylchloride เป็นร้อยละ 3, 4 และ 5 โดยปริมาตร และอัตราส่วนของ cyclohexane-chloroform เป็น 1:1, 3:1 และ 5:1 วัดปริมาณการผลิตกรดแลคติกหลังจากบ่มเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กในอาหารเหลว GYP ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 ค่าเฉลี่ยปริมาณการผลิตกรดแลคติกจากอาหารเหลว GYP โดยเซลล์อิสระ
เปรียบเทียบกับเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *L. delbrueckii* ที่ภาวะการ
ห่อหุ้มต่าง ๆ กัน

การทดลอง ที่	ความเข้มข้นของมอนอเมอร์		อัตราส่วนของ cyclohexane: chloroform	ปริมาณการผลิต กรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร)
	1,6-hexanediamine (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	sebacylchloride (ร้อยละโดยปริมาตร)		
1	1	3	1:1	0 ^c
2	1	3	3:1	0 ^c
3	1	3	5:1	0 ^c
4	1	4	1:1	0 ^c
5	1	4	3:1	0 ^c
6	1	4	5:1	0 ^c
7	1	5	1:1	0 ^c
8	1	5	3:1	0 ^c
9	1	5	5:1	0 ^c
10	2	3	1:1	0 ^c
11	2	3	3:1	0 ^c
12	2	3	5:1	0 ^c
13	2	4	1:1	0 ^c
14	2	4	3:1	0 ^c

(ต่อ)

ตารางที่ 5.1 (ต่อ)

การทดลอง ที่	ความเข้มข้นของมอนอเมอร์		อัตราส่วนของ cyclohexane: chloroform	ปริมาณการผลิต กรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร)
	1,6-hexanediamine (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	sebacoylchloride (ร้อยละโดยปริมาตร)		
15	2	4	5:1	0 ^c
16	2	5	1:1	0 ^c
17	2	5	3:1	0.20 ^b
18	2	5	5:1	0.98 ^a
19	3	3	1:1	0 ^c
20	3	3	3:1	0 ^c
21	3	3	5:1	0 ^c
22	3	4	1:1	0 ^c
23	3	4	3:1	0 ^c
24	3	4	5:1	0 ^c
25	3	5	1:1	0 ^c
26	3	5	3:1	0 ^c
27	3	5	5:1	0 ^c
28	เซลล์อิสระ (4.5-10.0x10 ⁸ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)			2.85

a, b, c, ... ตัวเลขที่มีอักษรต่างกันกำกับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 5.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลปริมาณการผลิตกรดแลคติกโดยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *L. delbrueckii* เมื่อห่อหุ้มโดยใช้ความเข้มข้นของ 1,6-hexanediamine, sebacylchloride และอัตราส่วนของตัวทำละลายผสม cyclohexane-chloroform ต่าง ๆ กัน

ปัจจัย	df	SS	MS	ค่า F
ความเข้มข้นของ				
1,6-hexanediamine (A)	2	0.21	0.10	6960.98*
ความเข้มข้นของ				
sebacylchloride (B)	2	0.21	0.10	6960.98*
อัตราส่วนของตัวทำละลายผสม				
cyclohexane-chloroform (C)	2	0.12	0.060	4021.41*
AB	4	0.41	0.10	6960.48*
AC	4	0.24	0.060	4021.41*
BC	4	0.24	0.060	4021.41*
ABC	8	0.48	0.060	4021.41*
ERROR	27	0.0004	0.000015	

จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลระหว่างอิทธิพลร่วมของทั้งสามปัจจัยดังตารางที่ 5.2 พบว่า ความเข้มข้นของ 1,6-hexanediamine, sebacylchloride และอัตราส่วนของตัวทำละลายผสม cyclohexane-chloroform มีผลต่อปริมาณการผลิตกรดแลคติกโดยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *L. delbrueckii* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังนั้นจึงพิจารณาทั้งสามปัจจัยร่วมกัน

จากตารางที่ 5.1 จะเห็นได้ว่า ภาวะการทดลองที่ 18 ซึ่งใช้ 1,6-hexanediamine เข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก ร่วมกับ sebacoylchloride เข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร และอัตราส่วนของตัวทำละลายผสม cyclohexane-chloroform 5:1 โดยปริมาตร มีผลให้เกิดเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กซึ่งผลิตกรดแลคติกสูงสุด และแตกต่างกับภาวะการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกภาวะดังกล่าวนี้ในการเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *L. delbrueckii* ต่อไป อย่างไรก็ตามเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กผลิตกรดแลคติกได้น้อยกว่าเซลล์อิสระ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าภาวะในการเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กมีผลกระทบต่อแอกติวิตีขององค์ประกอบในเซลล์ค่อนข้างรุนแรง (ปราณี อานเป็รื่อง, 2533) ในที่สุดอาจทำลายเซลล์ที่มีชีวิตของ *L. delbrueckii* บางเซลล์ได้ จึงทำให้เซลล์ที่มีชีวิตหลงเหลืออยู่ในแคปซูลเล็กเพียงเล็กน้อย ดังนั้นถ้าจะให้เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กผลิตกรดแลคติกในปริมาณที่ใกล้เคียงกับเซลล์อิสระ อาจต้องมีการเพิ่มปริมาณเซลล์อิสระก่อนการเตรียมแคปซูลเล็กหรือเพิ่มปริมาณเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก ซึ่งจากผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 5.3 พบว่า การเพิ่มปริมาณเซลล์อิสระในการห่อหุ้มถึง 3 เท่า ก็ไม่ทำให้ปริมาณการผลิตกรดแลคติกเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารเคมีที่ใช้ในการห่อหุ้มเซลล์มีความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับเซลล์ปริมาณหนึ่งเท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มปริมาณของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กให้ผลดีกว่าการเพิ่มปริมาณเซลล์อิสระก่อนการห่อหุ้ม โดยเมื่อเพิ่มปริมาณของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กเป็น 3 เท่า จะให้ปริมาณการผลิตกรดแลคติกใกล้เคียงเซลล์อิสระ

ตารางที่ 5.3 ค่าเฉลี่ยปริมาณการผลิตกรดแลคติกจากอาหารเหลว GYP โดยการเพิ่มปริมาณเซลล์อิสระก่อนการเตรียมแคปซูลเล็กเปรียบเทียบกับการเพิ่มปริมาณของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *L. delbrueckii* ที่ภาวะการห่อหุ้มที่เหมาะสม หลังจากบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

ปริมาณการผลิตกรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
จากการเพิ่มปริมาณเซลล์อิสระ			จากการเพิ่มปริมาณเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก		
1 เท่า	2 เท่า	3 เท่า	1 เท่า	2 เท่า	3 เท่า
0.95 ^c	0.94 ^c	0.97 ^c	0.96 ^c	1.69 ^b	2.82 ^a

a, b, c, ... ตัวเลขที่มีอักษรต่างกันกำกับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

5.2.2 การกำหนดความเข้มข้นของ 1,6-hexanediamine, sebacylchloride และอัตราส่วนของตัวทำละลายผสม cyclohexane-chloroform ที่เหมาะสม สำหรับการเตรียมแคปซูลเล็กห่อหุ้มเซลล์ของ *Z. rouxii*

จากการเตรียมแคปซูลเล็กห่อหุ้มเซลล์ของ *Z. rouxii* ตามวิธีในข้อ 4.2 โดยแปรความเข้มข้นของ 1,6-hexanediamine เป็นร้อยละ 6, 7 และ 8 โดยน้ำหนัก แปรความเข้มข้นของ sebacylchloride เป็นร้อยละ 6, 7 และ 8 โดยปริมาตร และอัตราส่วนของ cyclohexane-chloroform เป็น 1:1, 3:1 และ 5:1 วัดปริมาณการผลิตแอลกอฮอล์หลังจากบ่มเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กในอาหารเหลว YM ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 5.4

ตารางที่ 5.4 ค่าเฉลี่ยปริมาณการผลิตแอลกอฮอล์จากอาหารเหลว YM โดยเซลล์อิสระ
เปรียบเทียบกับเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *Z. rouxii* หลังจากเพาะเลี้ยง
ในอาหารเหลว YM เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ที่ภาวะการห่อหุ้มต่าง ๆ กัน

การทดลอง ที่	ความเข้มข้นของมอนอเมอร์ 1,6-hexanediamine (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	sebacylchloride (ร้อยละโดยปริมาตร)	อัตราส่วนของ cyclohexane: chloroform	ปริมาณการผลิต แอลกอฮอล์ (ร้อยละโดย ปริมาตร)
1	6	6	1:1	0.364 ^e
2	6	6	3:1	0.026 ^u
3	6	6	5:1	0.542 ^c
4	6	7	1:1	0.041 ^r
5	6	7	3:1	0.031 st
6	6	7	5:1	0.095 ⁿ
7	6	8	1:1	0.032 ^s
8	6	8	3:1	0.023 ^v
9	6	8	5:1	0.045 ^q
10	7	6	1:1	0.457 ^d
11	7	6	3:1	0.177 ^j
12	7	6	5:1	0.682 ^a
13	7	7	1:1	0.065 ^p
14	7	7	3:1	0.017 ^w

(ต่อ)

ตารางที่ 5.4 (ต่อ)

การทดลอง ที่	ความเข้มข้นของมอนอเมอร์		อัตราส่วนของ	ปริมาณการผลิต
	1,6-hexanediamine (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	sebacylchloride (ร้อยละโดยปริมาตร)	cyclohexane: chloroform	แอลกอฮอล์ (ร้อยละโดย ปริมาตร)
15	7	7	5:1	0.044 ^q
16	7	8	1:1	0.103 ^m
17	7	8	3:1	0.300 ^f
18	7	8	5:1	0.249 ⁱ
19	8	6	1:1	0.065 ^p
20	8	6	3:1	0.029 ^f
21	8	6	5:1	0.131 ^l
22	8	7	1:1	0.291 ^g
23	8	7	3:1	0.088 ^o
24	8	7	5:1	0.261 ^h
25	8	8	1:1	0.149 ^k
26	8	8	3:1	0.261 ^h
27	8	8	5:1	0.674 ^b
28	เซลล์อิสระ (2.0-5.2x10 ⁷ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)			0.575

a, b, c, ... ตัวเลขที่มีอักษรต่างกันกำกับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

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

ปัจจัย	df	SS	MS	ค่า F
ความเข้มข้นของ				
1,6-hexanediamine (A)	2	0.10	0.0051	25695.64*
ความเข้มข้นของ				
sebacylchloride (B)	2	0.27	0.13	66677.88*
อัตราส่วนของตัวทำละลายผสม				
cyclohexane-chloroform (C)	2	0.36	0.18	90029.06*
AB	4	0.74	0.19	92569.56*
AC	4	0.0024	0.00060	3009.13*
BC	4	0.25	0.00063	31594.90*
ABC	8	0.31	0.039	19365.72*
ERROR	27	5.39E-05	2.00E-06	

จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลระหว่างอิทธิพลร่วมของทั้งสามปัจจัยดังตารางที่ 5.5 พบว่า ความเข้มข้นของ 1,6-hexanediamine, sebacylchloride และอัตราส่วนของตัวทำละลายผสม cyclohexane-chloroform มีผลต่อปริมาณการผลิตแอลกอฮอล์โดยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *Z. rouxii* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังนั้นจึงพิจารณาทั้งสามปัจจัยร่วมกัน

จากตารางที่ 5.4 จะเห็นได้ว่า ภาวะการทดลองที่ 12 ซึ่งใช้ 1,6-hexanediamine เข้มข้นร้อยละ 7 โดยน้ำหนัก ร่วมกับ sebacylchloride เข้มข้นร้อยละ 6 โดยปริมาตร และอัตราส่วนของตัวทำละลายผสม cyclohexane-chloroform 5:1 โดยปริมาตร มีผลให้เกิดเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กซึ่งผลิตแอลกอฮอล์สูงสุด และแตกต่างกับภาวะการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวนี้ในการเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *Z. rouxii* ต่อไป นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณการผลิตแอลกอฮอล์โดยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กมีมากกว่าที่ผลิตได้โดยเซลล์อิสระ ทั้งนี้เนื่องมาจากสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมแคปซูลเล็กวิธีนี้ต้องใช้ Span 85 ซึ่งเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันชนิดหนึ่ง (รายละเอียดในภาคผนวก จ-4) มีส่วนช่วยเร่งอัตราการปล่อย (excretion rate) แอลกอฮอล์จากเซลล์ยีสต์ โดยผลการทดลองดังกล่าวนี้สอดคล้องกับผลจากรายงานของ Panchal และ Stewart (1981) ซึ่งศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ เช่น ลิพิดไม่อิ่มตัว (unsaturated lipids) หรือแรงดันออสโมติก (osmotic pressure) เป็นต้น โดยยีสต์ที่ใช้ศึกษาได้แก่ *Saccharomyces uvarum* (carlsbergensis) และ *S. cerevisiae* อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ได้แก่ wort medium, yeast nitrogen base (YNB) medium หรือ peptone-yeast extract-nitrogen (PYN) medium การหมักในอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้ถังหมักแบบ Bioflo bench top ที่มีปริมาตรใช้งาน 250 มิลลิลิตร และทำงานที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ส่วนการหมักในเวิร์ท (wort fermentation) ทำในเครื่องปฏิกรณ์ขนาด 40 ลิตร ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส โดยไม่มีการกวน ผลการทดลองพบว่า แรงดันออสโมติกที่เพิ่มขึ้นจากการเพิ่มความเข้มข้นของสับสเตรตในอาหารเลี้ยงเชื้อ จะมีผลยับยั้งการปล่อย (excretion) แอลกอฮอล์จากเซลล์ยีสต์ ส่วนระดับของแอลกอฮอล์ที่อยู่ในเซลล์ (intracellular ethanol) ที่เพิ่มขึ้นจะเป็นพิษต่อเซลล์ยีสต์เอง จึงทำให้ยีสต์มีชีวิตรอดน้อยลง ส่งผลให้มีการลดลงของอัตราการหมักด้วย นอกจากนี้ยังพบอีกว่า หนทางหนึ่งที่จะช่วยยับยั้งแรงสั่นเทือนออสโมติก (osmotic shock) คือ เปลี่ยนแปลงภาวะการป้อนสับสเตรตหรือใช้สารเจือปน (additives) หรือโคแฟกเตอร์ (cofactor) เช่น กรดไขมันไม่อิ่มตัว พวกกรดลิโนเลอิก (linoleic) หรือโอเลอิก (oleic) ซึ่งจะมีส่วนช่วยเพิ่ม fluidity ของเยื่อบางของเซลล์ยีสต์ โดยเชื่อว่ามันจะเข้าไปรวมกับ (incorporate) ในเซลล์เมมเบรน ดังนั้น

จึงอาจกล่าวได้ว่า fluidity ของเยื่อบางจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะช่วยเพิ่มทั้งการไหลออก (efflux) ของแอลกอฮอล์จากเซลล์ยีสต์ และเพิ่มการไหลเข้า (influx) ของกลูโคสไปในเซลล์ยีสต์ด้วย นอกจากนี้การเจือจางอาหารเลี้ยงเชื้อจะช่วยลดแรงดันออสโมติกของอาหารเลี้ยงเชื้อเอง และการเติม Tween 80 ซึ่งเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันชนิดหนึ่งจะช่วยเพิ่มการซึมผ่าน (permeability) ของเซลล์เมมเบรน ดังนั้นจึงช่วยให้แอลกอฮอล์ที่อยู่ภายในเซลล์ถูกปล่อยออกมา

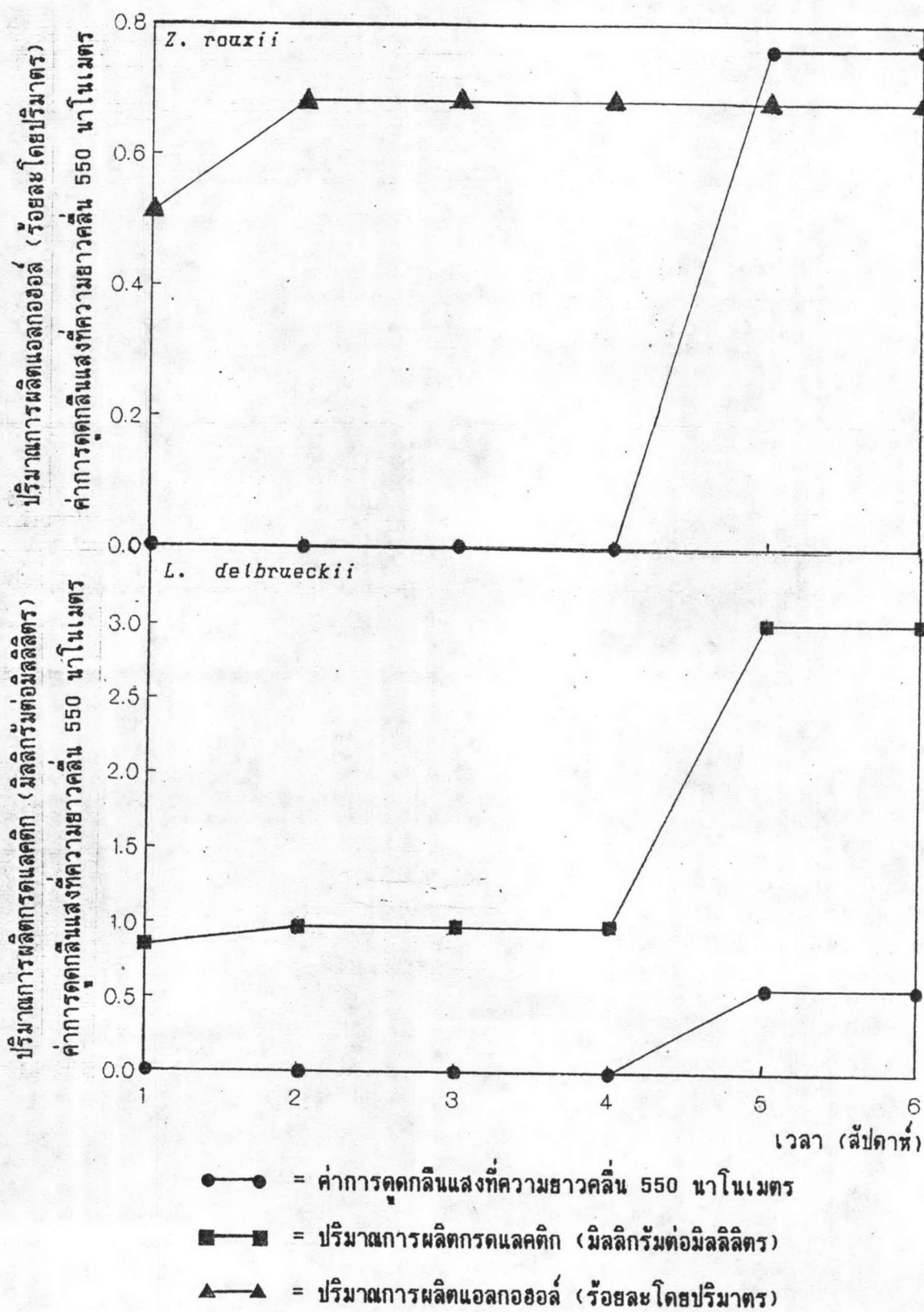
จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า การเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กโดยวิธี interfacial polymerization วิธีที่เลือกมานี้มีข้อได้เปรียบทั้งในด้านการเพิ่มผลผลิตของแอลกอฮอล์และมีส่วนช่วยป้องกันการตายของเซลล์โดยเฉพาะพวกจุลินทรีย์ที่มีผนังเซลล์หนา อาทิเช่น ยีสต์ ได้ดีกว่ากรณีของกลุ่มจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียแลคติก

5.3 การศึกษาลักษณะของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก

ก่อนที่จะนำเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กไปใช้งานในกระบวนการหมักทั้งแบบไม่ต่อเนื่องและแบบต่อเนื่อง ได้มีการศึกษาลักษณะของแคปซูลเล็กในด้านต่าง ๆ ดังนี้

5.3.1 การตรวจสอบการหลุดของเซลล์แบคทีเรียและยีสต์ที่มีชีวิตจากแคปซูลเล็ก

จากเพาะเลี้ยงเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กแต่ละชนิดในอาหารเหลว แล้วติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ปริมาณการผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ในอาหารเหลว ทุก ๆ 1 สัปดาห์ ให้ผลการทดลองดังรูปที่ 5.3

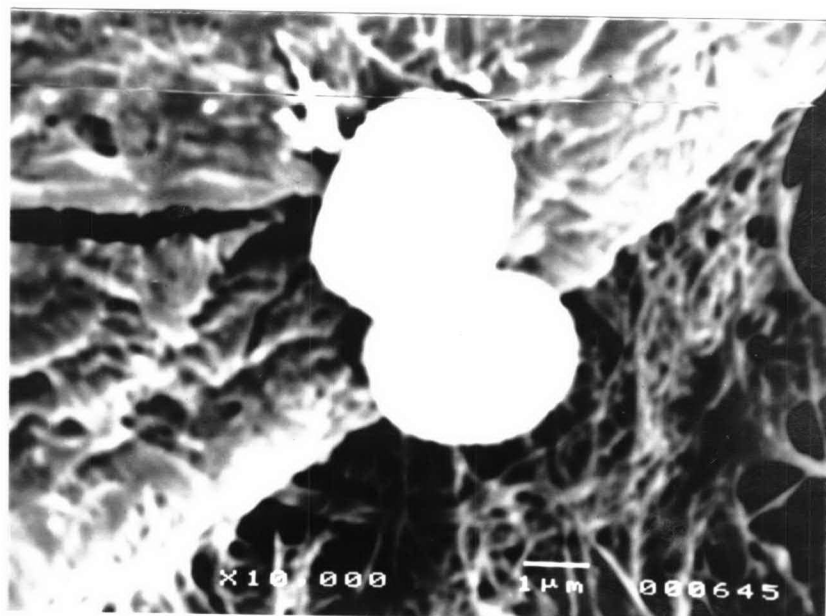


รูปที่ 5.3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง ปริมาณการผลิตกรดแลคติก และ ปริมาณการผลิตแอลกอฮอล์ จากอาหารเหลวโดยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก ของ *L. delbrueckii* และ *Z. rouxii*

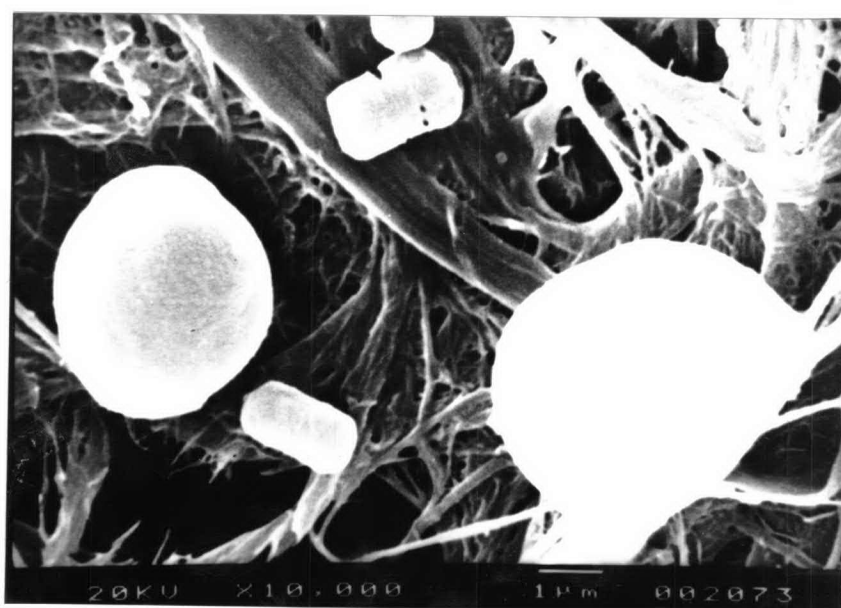
จากรูปที่ 5.3 แสดงให้เห็นว่า หลังจากเพาะเลี้ยงเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของทั้ง *L. delbrueckii* และ *Z. rouxii* ในอาหารเหลว GYP และ YM ตามลำดับไว้เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า เริ่มมีการหลุดของเซลล์อิสระออกจากแคปซูลเล็กโดยตรวจสอบได้จากความขุ่นหรือค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ของสารละลายเมื่อกรองแยกเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กออกไปแล้ว รวมทั้งจากค่าปริมาณการผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้น กล่าวคือ เซลล์อิสระหลุดออกจากแคปซูลเล็กไปอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อจะเจริญเติบโตต่อในอาหารเลี้ยงเชื้ออีกระยะหนึ่งเหมือนเช่นเซลล์อิสระทั่วไป มีผลให้สารละลายขุ่นเนื่องจากการทวีจำนวนของเซลล์และผลผลิตจากการหมักเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด และพบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงไว้ในระยะเวลา 1 เดือน ไม่พบค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณการผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น แสดงว่า เชื้อบางที่ห่อหุ้มเซลล์ดังกล่าวมีความทนทานต่อภาวะการหมักได้ดีภายในระยะเวลาดังกล่าว 1 เดือน ดังนั้นอายุการใช้งานของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กคือ ประมาณ 1 เดือน ซึ่งความทนทานของเชื้อบางของแคปซูลเล็กจากการเตรียมโดยวิธี interfacial polymerization วิธีนี้ สอดคล้องกับรายงานของ Chang และ Poznansky (1968) ที่ศึกษาการเตรียมแคปซูลเล็กห่อหุ้มคysteine และ Mori และคณะ (1972) ที่ศึกษาการเตรียมแคปซูลเล็กห่อหุ้มแอลพาราจีเนส แคปซูลเล็กห่อหุ้มเอนไซม์จากรายงานของผู้นวิจัยดังกล่าว ได้มีการนำไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดโรค โดยพบว่า เชื้อบางของแคปซูลเล็กมีความทนทานต่อแรงเสียดทานทางกลหรือการทำลายจากโคโมทริปซิน นอกจากนี้เชื้อบางของแคปซูลเล็กยังช่วยรักษาสภาพธรรมชาติของเอนไซม์ให้คงตัวอยู่ได้และยังคงบทบาทของเอนไซม์ด้วย

5.3.2 การนิยามลักษณะของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของแบคทีเรียและยีสต์จากภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน

ผลจากการใช้ภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนตรวจดูลักษณะของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของแบคทีเรียและยีสต์หลังจากเตรียมเสร็จใหม่ ๆ แสดงดังรูปที่ 5.4 และ



รูปที่ 5.4 ภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนของเซลล์ที่หุ้มแบบแคปซูลเล็ก
ของ *L. delbrueckii* ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า



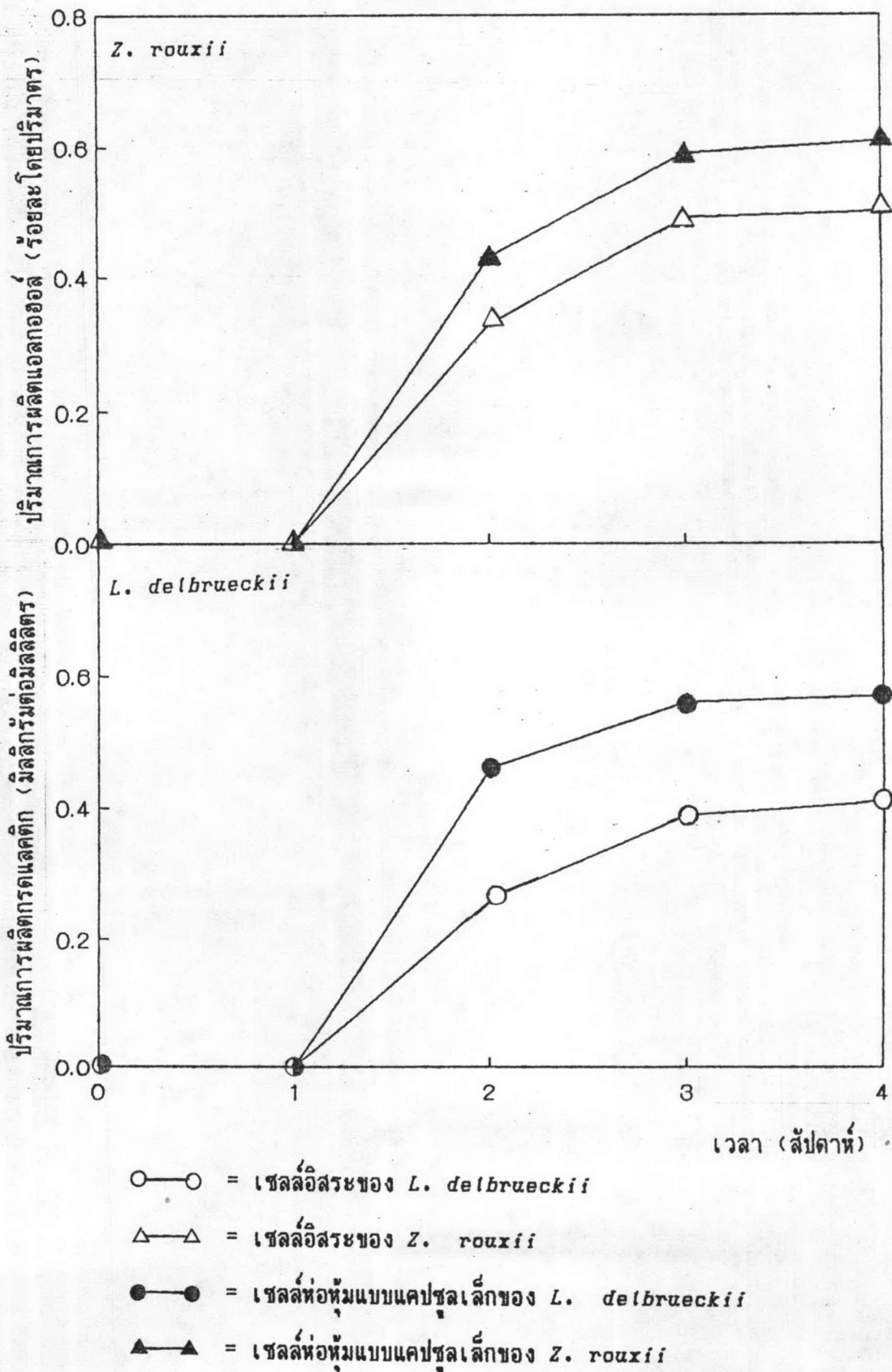
รูปที่ 5.5 ภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนของเซลล์ที่หุ้มแบบแคปซูลเล็ก
ของ *Z. rouxii* ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า

จากภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนที่กำลังขยาย 10,000 เท่า ตามรูปที่ 5.4 และ 5.5 พบว่า เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กทั้งสองชนิดมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ยเท่ากันคือประมาณ 4 ไมครอน ทั้งนี้เนื่องจากการเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กโดยวิธี interfacial polymerization นี้ได้มีการควบคุมอัตราเร็วของเครื่องปั่น ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ทำให้การเกิดอิมัลชัน และควบคุมความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์ คือ ความเข้มข้นของ Span 85 ร้อยละ 1 โดยปริมาตร ให้เท่ากับกับวิธีที่ Chang และ Poznansky (1968) และ Mori และคณะ (1972) ใช้ในการเตรียมแคปซูลเล็กห่อหุ้มเอนไซม์เพื่อใช้ในการบำบัดโรค

นอกจากนี้การควบคุมให้เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กทั้งสองชนิดมีขนาดเท่ากัน จะมีผลดีในลักษณะตัวเร่งของแข็ง (solid catalyst) ทั่วไป สำหรับกรณีแคปซูลเล็กที่เตรียมได้นี้มีขนาดใกล้เคียงกับเซลล์อิสระมาก กล่าวคือ ขนาดของเซลล์อิสระ *L. delbrueckii* ประมาณ 0.5-0.8x2.0-9.0 ไมครอน (Buchanan and Gibbons, 1975) และขนาดของเซลล์อิสระ *Z. rouxii* ประมาณ 2.5-7.0x4.0-9.5 ไมครอน (Kraeger-van Rij, 1984) และสามารถห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ได้ทั้งเซลล์ และอาจจะมีเซลล์หลายเซลล์รวมในแคปซูลเดียวกันก็ได้

5.3.3. ความทนทานของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กต่อเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก

จากการบ่มเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของแบคทีเรียและยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก แล้วติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ปริมาณการผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ในอาหารเหลวทุก ๆ 1 สัปดาห์ ให้ผลการทดลองดังรูปที่ 5.6



รูปที่ 5.6 การเปรียบเทียบปริมาณการผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์จากอาหารเหลวที่มีเกล็ดือ
 เข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก โดยเซลล์อิสระและเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก

เนื่องจากการใช้งานของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กทั้งสองชนิดคือ การนำไปทดลองหมักกรดแลคติกและแอลกอฮอล์จากโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลืองที่มีเกลืออยู่ประมาณร้อยละ 18-22 โดยน้ำหนัก ดังนั้นจึงทดสอบความทนทานต่อเกลือของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กทั้งสองชนิดเปรียบเทียบกับเซลล์อิสระ

จากรูปที่ 5.6 จะเห็นว่า เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของทั้ง *L. delbrueckii* และ *Z. rouxii* ผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์จากอาหารเหลวที่มีเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก ได้มากกว่าเซลล์อิสระอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ตลอดระยะเวลาการบ่ม 4 สัปดาห์ ข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า เยื่อบางของแคปซูลเล็กอาจช่วยป้องกันไม่ให้เซลล์สัมผัสโดยตรงกับอออนของโซเดียมและคลอไรด์ที่มีปริมาณสูง จึงทำให้เซลล์ไม่ถูกทำลายโดยอออนเหล่านี้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mori และคณะ (1972) ที่ได้ทดลองเตรียมแคปซูลเล็กห่อหุ้มแอลพาราจิเนสในภาวะที่คล้ายกันนี้ และได้รายงานว่า เยื่อบางของแคปซูลเล็กที่ห่อหุ้มเอนไซม์ดังกล่าวมีความทนทานต่อแรงเสียดทานทางกลและป้องกันการทำลายจากโคโมทริปซินได้ดี

แต่อย่างไรก็ตามการผลิตกรดแลคติกจากเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กและเซลล์อิสระมีปริมาณน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีเกลือ กล่าวคือ เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กผลิตกรดแลคติกลดลงคิดเป็นประมาณร้อยละ 58 ในขณะที่เซลล์อิสระผลิตกรดแลคติกลดลงเหลือเพียงประมาณร้อยละ 14 ส่วนการผลิตแอลกอฮอล์จากเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กและเซลล์อิสระมีปริมาณลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีเกลือ และนอกจากนี้เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กยังใช้เวลาในการผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ให้ได้ปริมาณสูงสุด ค่อนข้างนานถึง 4 สัปดาห์ ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์ต้องใช้เวลาส่วนหนึ่งในการปรับตัว (lag period) ให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง ๆ ดังนั้นในการทดลองสำหรับการหมักน้ำชีวี จึงต้องเพิ่มขึ้นตอนของการบ่มเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ก่อน แล้วจึงนำไปสู่กระบวนการหมักกรดแลคติกและแอลกอฮอล์จากโปรตีนไฮโดรไลเซตเพื่อผลิตน้ำชีวีดังอธิบายในข้อ 4.5

5.4 การหมักน้ำซี้ว

5.4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฟิสิกส์ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจาก ถั่วเหลือง

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซตก่อนที่จะนำมาใช้ในการหมักน้ำซี้ว ตามข้อ 4.5.1 ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 5.6

ตารางที่ 5.6 องค์ประกอบทางเคมีและฟิสิกส์ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลือง

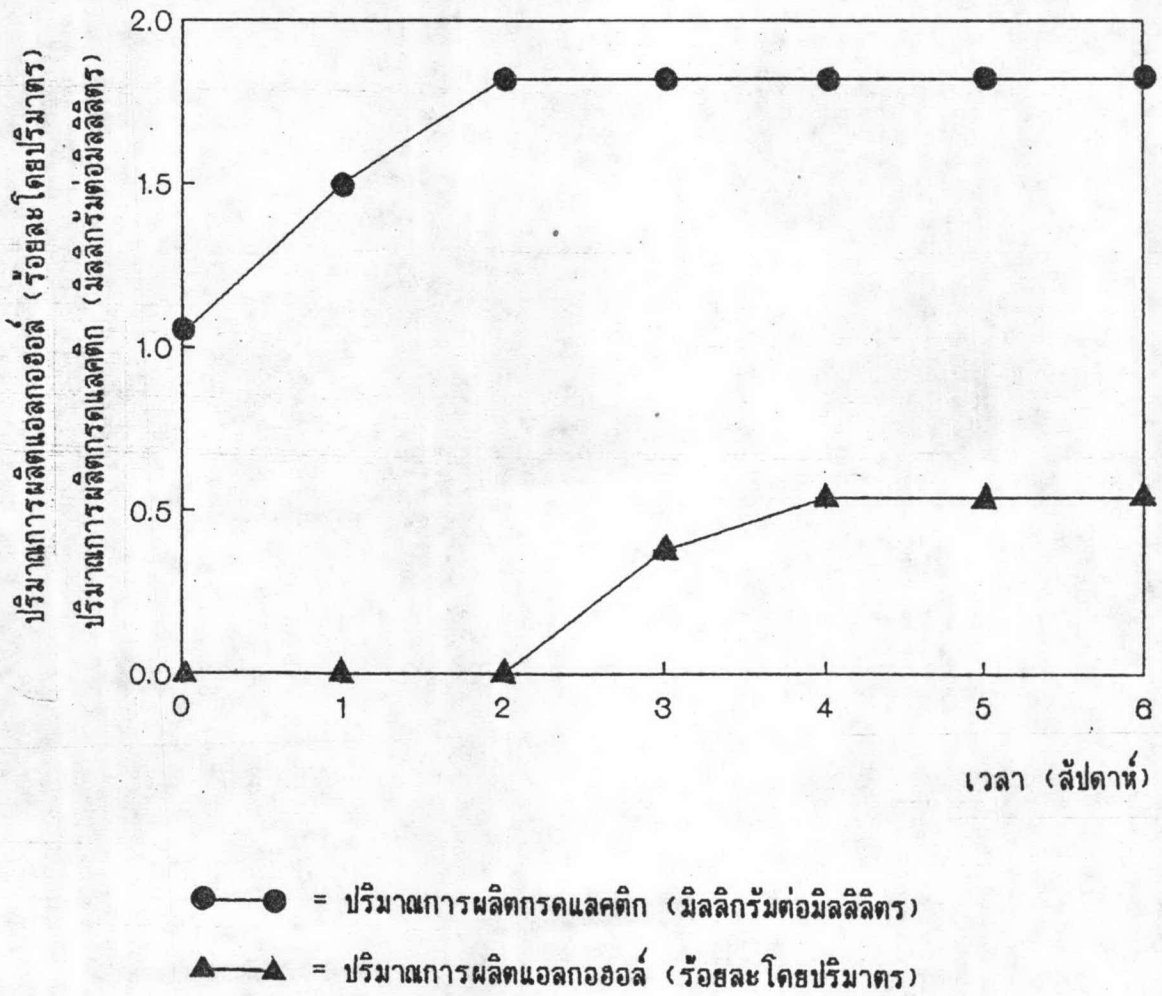
องค์ประกอบ	ค่าเฉลี่ย*
กรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	1.04
แอลกอฮอล์ (ร้อยละโดยปริมาตร)	0
กลูโคส (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	0.072
ไนโตรเจนทั้งหมด (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	3.03
กรดอะมิโนไนโตรเจน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	2.29
เกลือ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	21.17
ความถ่วงจำเพาะ (ที่อุณหภูมิ 27±3 องศาเซลเซียส)	1.22
pH (ที่อุณหภูมิ 27±3 องศาเซลเซียส)	4.96

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ

จากตารางที่ 5.6 เมื่อพิจารณาเฉพาะองค์ประกอบที่สำคัญ 3 ประการ คือ ปริมาณกรดแลคติก แอลกอฮอล์ และกลูโคส พบว่า ตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซตมีกรดแลคติกอยู่ประมาณ 1.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีแอลกอฮอล์ แต่มีกลูโคส ร้อยละ 0.072 โดยน้ำหนัก ดังนั้นเพื่อให้ภาวะในการทำงานของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กใกล้เคียงกับที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อและให้มีสัณฐานในการเจริญเติบโตและสร้างผลิตภัณฑ์ จึงมีการเติมกลูโคสในตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซตก่อนนำไปทดลองหมักน้ำซีอิ๊ว

5.4.2 การหมักน้ำซีอิ๊วแบบไม่ต่อเนื่อง

จากการทดลองหมักน้ำซีอิ๊วแบบไม่ต่อเนื่องโดยใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่เติมกลูโคสร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก เป็นเวลาทั้งหมด 6 สัปดาห์ โดยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *L. delbrueckii* และ *Z. rouxii* ให้ผลการทดลองดังรูปที่ 5.7



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

จากรูปที่ 5.7 เมื่อทดลองหมักน้ำชีวีวแบบไม่ต่อเนื่องโดยใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลืองที่มีปริมาณกรดแลคติก 1.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และไม่มีแอลกอฮอล์ แต่เติมกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ซึ่งเท่ากับที่มีในอาหารเลี้ยงเชื้อ (ภาคผนวก ก-1 และ ก-2) เป็นสารละลายสำหรับหมัก พบว่า เมื่อหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *L. delbrueckii* ผลิตกรดแลคติกได้ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อนำสารละลายที่ได้ไปหมักต่อโดยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *Z. rouxii* ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กดังกล่าวผลิตแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 0.54 โดยปริมาตร แต่อย่างไรก็ตามระยะเวลาที่ใช้ในการผลิตเพื่อให้เกิดกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ยังค่อนข้างนาน เนื่องจากเป็นการหมักในภาวะอยู่กับที่ (stationary conditions) จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มและความเป็นไปได้ที่ลดระยะเวลาดังกล่าวลงโดยทดลองหมักแบบต่อเนื่องใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก

5.4.3 การหมักน้ำชีวีวโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก

5.4.3.1 การกำหนดความเร็วต่ำสุดของการเกิดฟลูอิดไอเซชัน

จากการทดลองข้อ 4.5.3.1 ในการกำหนดความเร็วต่ำสุดของการเกิดฟลูอิดไอเซชันของแก๊สไนโตรเจนในคอลัมน์ที่บรรจุเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กและมีการไหลวนเข้าออกของโปรตีนไฮโดรไลเซต ให้ผลดังตารางที่ 5.7 และรูปที่ 5.8

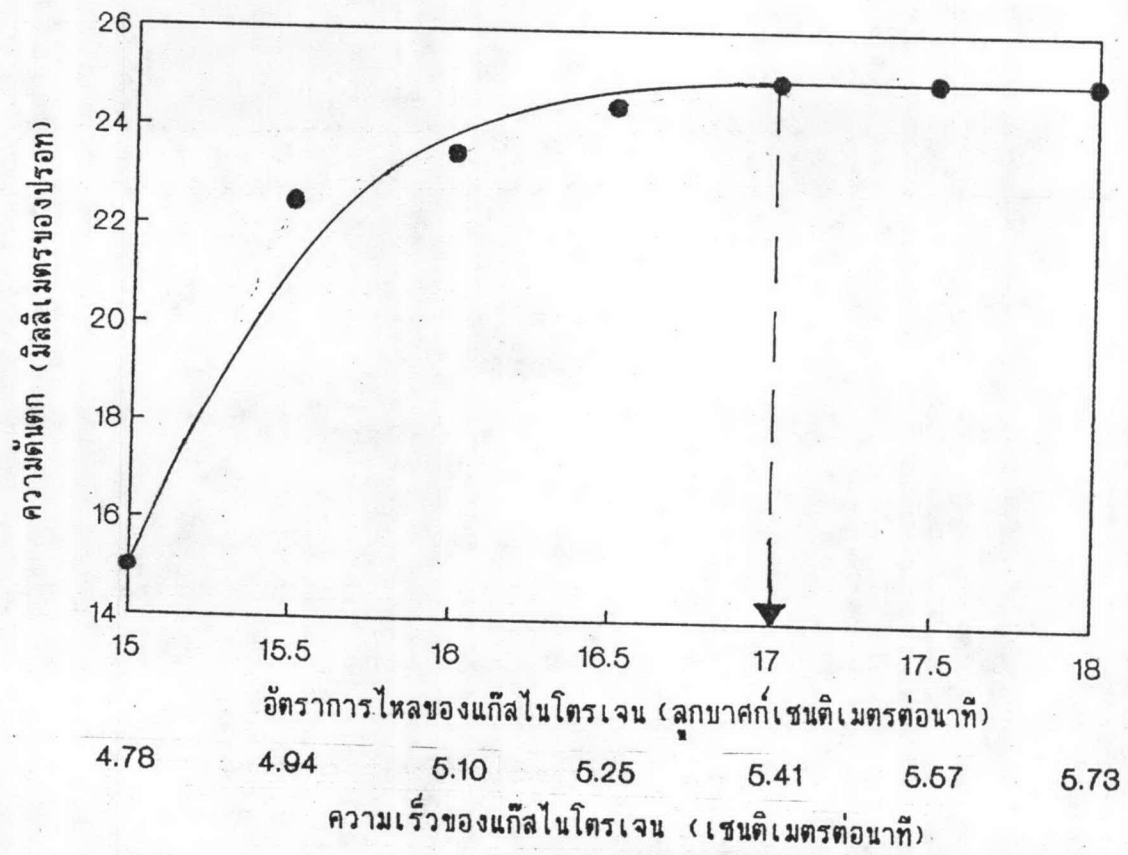
ตารางที่ 5.7 อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจนและความดันตก จากการทดลองหาความเร็วต่ำสุดของการเกิดฟลูอิดไอเซชัน

อัตราการไหลของ แก๊สไนโตรเจน (Q) (ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อนาที)	ความดันตก (ΔP) (มิลลิเมตรของปรอท)	ความเร็วของแก๊สไนโตรเจน (V)* (เซนติเมตรต่อนาที)
15.0	15.0	4.78
15.5	22.5	4.94
16.0	23.5	5.10
16.5	24.5	5.25
17.0	25.0	5.41
17.5	25.0	5.57
18.0	25.0	5.73

* $V = Q/A$ เมื่อ V = ความเร็วของแก๊สไนโตรเจน (เซนติเมตรต่อนาที)

Q = อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจน (ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อนาที)

A = พื้นที่หน้าตัดของคอลัมน์ = 3.14 ตารางเซนติเมตร



รูปที่ 5.8 ความสัมพันธ์ระหว่างความดันตกและความเร็วของแก๊สไนโตรเจน
ในการทดลองหาความเร็วต่ำสุดของการเกิดฟลูอิดเซชัน

การหาความเร็วต่ำสุดของการเกิดฟลูออโดเซชันในกรณีที่อนุภาคของแข็งมีขนาดเล็กและมีความหนาแน่นต่ำ สามารถทำได้ทั้งจากการคำนวณจากสูตรตามสมการที่

5.1

$$V_{mf} = \frac{D_p (\rho_s - \rho_f) g}{1650 \rho_f} \dots\dots\dots 5.1$$

- โดยที่ V_{mf} คือ ความเร็วต่ำสุดของการเกิดฟลูออโดเซชัน
- D_p คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคของแข็ง
- ρ_s คือ ความหนาแน่นของของแข็ง
- ρ_f คือ ความหนาแน่นของของไหล
- g คือ แพลเตอร์เปลี่ยนหน่วยของแรงและน้ำหนัก

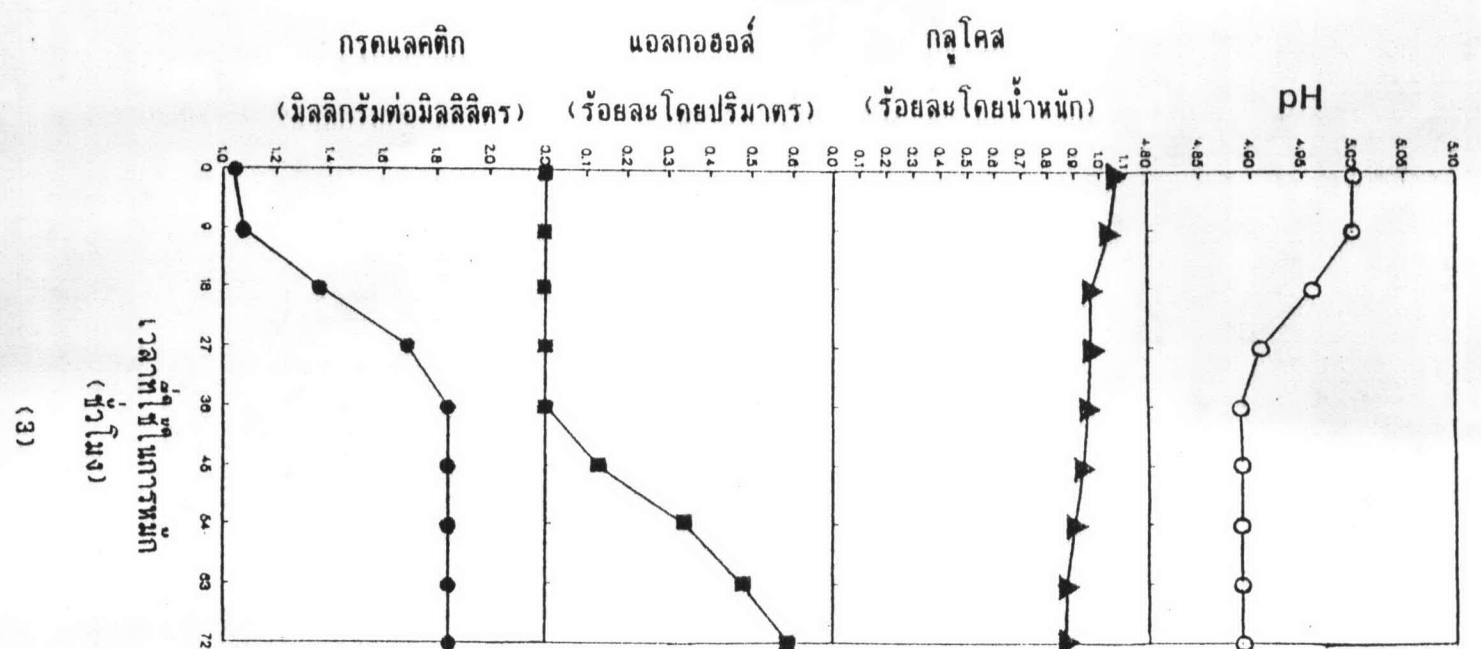
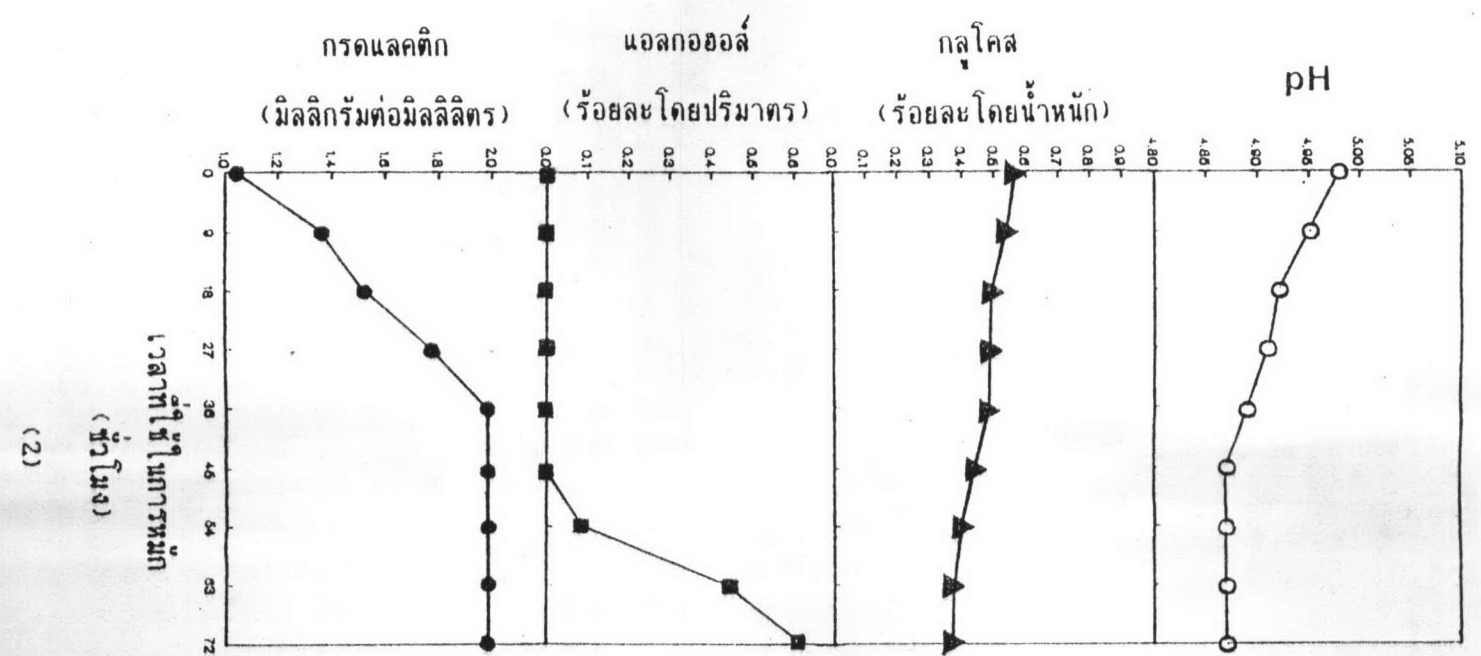
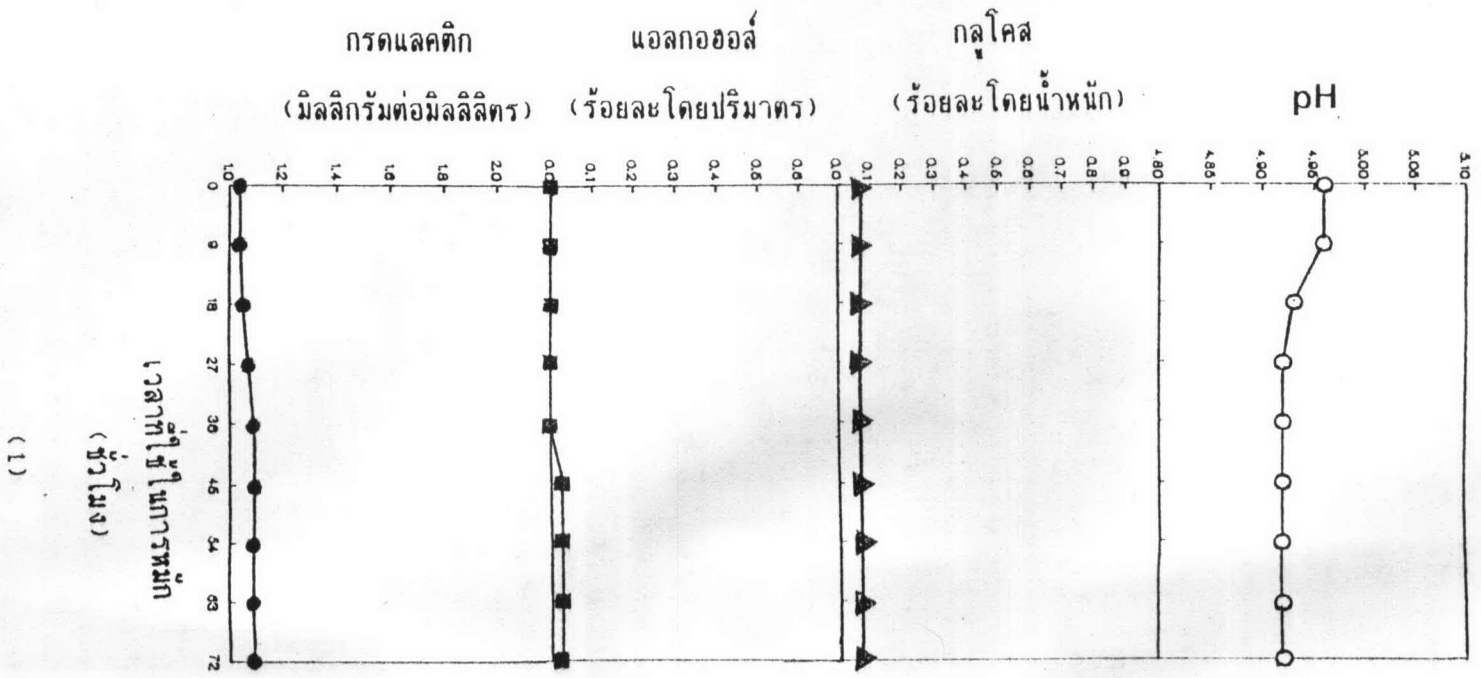
และจากการทดลองตามข้อ 4.5.3.1 ซึ่งมีวิธีการที่ง่ายและสะดวกกว่า จึงเลือกใช้วิธีดังกล่าวนี้ในการหาความเร็วต่ำสุดของการเกิดฟลูออโดเซชัน โดยจะต้องมีบันทึกค่าที่สำคัญคือ อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจนและความดันตก สำหรับอัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจนนั้นจำเป็นต้องแปลงให้เป็นความเร็วของแก๊สไนโตรเจนก่อนที่จะนำไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ของความดันตกและความเร็ว เพื่อคำนวณหาความเร็วต่ำสุดของการเกิดฟลูออโดเซชันของแก๊สไนโตรเจนจากกราฟอีกครั้ง

จากรูปที่ 5.8 จะได้ว่า ความเร็วต่ำสุดของการเกิดฟลูออโดเซชันของแก๊สไนโตรเจน (V_{mf}) เท่ากับ 5.41 เซนติเมตรต่อวินาที ดังนั้นในการนำเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กไปใช้งาน ความเร็วต่ำสุดของการเกิดฟลูออโดเซชันจะเท่ากับค่าดังกล่าวนี้เสมอไม่ว่าจะให้กับคอลัมน์ขนาดใดก็ตาม ถ้าเป็นของไหลและของแข็งชนิดเดียวกัน (ผล สาเกตอง,

5.4.3.2 การหมักกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ในน้ำซีอิ๊วโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *L. delbureckii* และ *Z. rouxii*

จากการทดลองหมักกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ในน้ำซีอิ๊วโดยแปรปริมาณกลูโคสในโปรตีนไฮโดรไลเซตเป็นร้อยละ 0, 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กตามข้อ 4.5.3.2 และ 4.5.3.6 ให้ผลดังรูปที่ 5.9

รูปที่ 5.9 ปริมาณการผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ ปริมาณกลูโคส และ pH จากการหมัก น้ำซั้วโดยใช้ปริมาตรไฮโดรไลเซตที่มีความเข้มข้นของกลูโคสร้อยละ 0 (1) ร้อยละ 0.5 (2) และร้อยละ 1.0 (3) โดยน้ำหนัก ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ เชลล์หมักแบบแคปซูลเล็ก



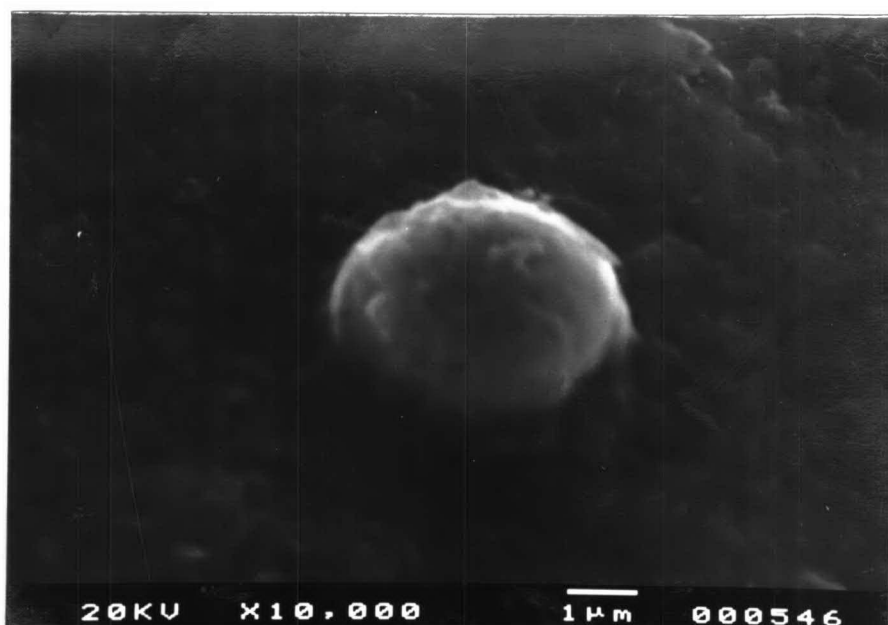
จากการทดลองใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก ทั้งสามเครื่องในการทดลองหมักน้ำชีอิ้ว โดยแปรปริมาณกลูโคสในโปรตีนไฮโดรไลเซตเริ่มต้น 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0, 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก ความคุมอัตราการไหลของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ 20 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อนาที ความคุมปริมาณเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กในแต่ละคอลัมน์เป็น 10 กรัม และกำหนดปริมาตรของโปรตีนไฮโดรไลเซตคงที่ เท่ากับ 1000 ลูกบาศก์เซนติเมตร และเวลาในการหมักในแต่ละคอลัมน์เท่ากับ 12 ชั่วโมง ดังนั้นจำนวนรอบในการวนซ้ำ เท่ากับ 14.4 รอบต่อคอลัมน์ เหตุผลที่ต้องให้มีการวนซ้ำเพราะต้องการให้กระบวนการหมักเกิดขึ้นมากที่สุดภายในระยะเวลาที่จำกัด

เมื่อเวลาในการหมักเป็น 72 ชั่วโมงเท่ากัน แล้ววิเคราะห์หาปริมาณการผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ ปริมาณกลูโคสที่เหลือ และ pH ในของเหลวที่ได้จากเครื่องปฏิกรณ์เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก ดังแสดงในรูปที่ 5.9, 5.10 และ 5.11 จะพบว่ากระบวนการหมักที่จะให้เกิดกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ในปริมาณค่อนข้างสูงแล้ว ต้องใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่เติมกลูโคสร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก กล่าวคือ จะผลิตกรดแลคติกในช่วง 1.84-1.98 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และผลิตแอลกอฮอล์ในช่วงร้อยละ 0.59-0.62 โดยปริมาตร ในขณะที่เมื่อใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ไม่เติมกลูโคสลงไป จะผลิตกรดแลคติกได้เพียง 1.09 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และผลิตแอลกอฮอล์ได้เพียงร้อยละ 0.30 โดยปริมาตร ซึ่งแทบจะไม่เพิ่มจากเดิมเลย ทั้งนี้เนื่องจากการใช้กลูโคสของจุลินทรีย์เป็นส่วนสำคัญโดยตรงกับการสร้างกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ (Hamada, Ishiyama and Motai, 1989) อย่างไรก็ตามกระบวนการหมักจัดเป็นปฏิกิริยาทางชีวเคมี ซึ่งการเพิ่มความเข้มข้นของสับสเตรตจะเป็นการผลักดันให้ปฏิกิริยาดำเนินไปในทิศทางที่จะให้ผลิตภัณฑ์เพิ่มมากขึ้น แต่เมื่อพิจารณาร้อยละของการเปลี่ยน (% conversion) ของกลูโคสเริ่มต้นไปเป็นผลิตภัณฑ์แล้ว พบว่า มีความสัมพันธ์ผกผันกับความเข้มข้นของสับสเตรตกล่าวคือ เมื่อใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่เติมกลูโคสร้อยละ 0.5 จะมีค่าร้อยละของการเปลี่ยนประมาณ 30 ซึ่งสูงกว่าของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่เติมกลูโคสร้อยละ 1.0 ที่มีค่าร้อยละของการเปลี่ยนประมาณ 18 แสดงให้เห็นว่า การใช้สับสเตรตที่มีความเข้มข้นสูง ๆ นั้น แม้จะมีผลให้อัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการสูงขึ้น แต่ปริมาณสับสเตรตที่ใช้ไปเมื่อเทียบกับปริมาณสับสเตรตเริ่มต้นนั้นต่ำกว่า ดังนั้นการใช้กลูโคสที่ร้อยละ 0.5 จึงให้ค่าร้อยละของการเปลี่ยนสูง

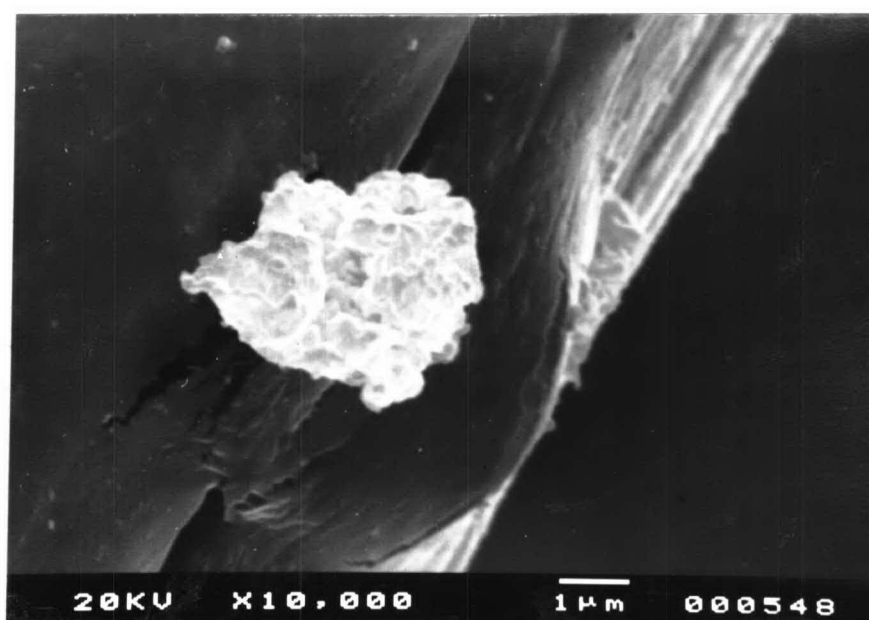
กว่าการใช้กลูโคสที่ร้อยละ 1.0 สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะอิทธิพลของการยับยั้งจาก
 สับสเตรต (substrate inhibition) ถึงแม้ว่าปริมาณกลูโคสร้อยละ 1.0 นี้จะเท่ากับที่มีใน
 อาหารเลี้ยงเชื้อ GYP หรือ YM ก็ตาม แต่ทั้งนี้เนื่องจากขั้นตอนในการเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบ
 แคปซูลเล็กนั้นได้นำจุลินทรีย์ที่มีการเพาะเลี้ยงในระยะ stationary phase มาใช้ ซึ่งเป็น
 ระยะที่จุลินทรีย์ผ่านระยะการเจริญเติบโตอย่างเต็มที่ (log phase) มาแล้ว ดังนั้นปริมาณ
 กลูโคสส่วนหนึ่งจึงไม่ถูกใช้ในการสร้างส่วนประกอบของเซลล์แต่นำมาใช้เฉพาะการสร้างผลิตภัณฑ์
 เท่านั้น (กำเนิด สุกนวงศ์, 2534) นอกจากนี้แล้วการที่มีกลูโคสในสับสเตรตค่อนข้างมากนี้
 อาจจะทำให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับการถ่ายโอนมวลสาร (mass transfer) ได้เช่นกัน (Stanbury
 and Whitaker, 1984) ซึ่งมีผลให้ค่าร้อยละของการเปลี่ยนไม่สูงเท่าที่ควร

5.4.3.3 การนิยามลักษณะของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กหลังการหมัก น้ำชีวีโดยภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน

จากภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนของเซลล์ห่อหุ้มแบบ
 แคปซูลเล็กหลังการใช้หมักน้ำชีวีในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเป็นระยะเวลา 36 ชั่วโมง ดังแสดง
 ในรูปที่ 5.10 และ 5.11 พบว่า เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของแบคทีเรียและยีสต์ที่มีการใช้งาน
 ไป 36 ชั่วโมง มีลักษณะแตกต่างจากก่อนใช้งานเล็กน้อยคือ พื้นผิวของแคปซูลค่อนข้างขรุขระ
 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากลักษณะของเครื่องปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลองเป็นลักษณะของฟลูอิดเซชันแบบ
 ชุลมุนและเป็นฟลูอิดเซชันสามสถานะ (สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ, 2528) ซึ่งเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูล
 เล็กมีการเคลื่อนที่ในสภาพที่ค่อนข้างรุนแรง จึงอาจส่งผลให้เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กเปลี่ยน
 แปลงรูปร่างไปได้ นอกจากนี้แล้วอาจมีการเจริญเติบโตของเซลล์จุลินทรีย์ขึ้นภายในแคปซูลเล็ก
 ได้เช่นกัน อย่างไรก็ตามถึงแม้เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กจะถูกใช้งานในสภาพที่ค่อนข้างรุนแรง
 และใช้เป็นเวลานาน แต่ก็ไม่มีการแตก (lysis) ของแคปซูลเล็กที่ห่อหุ้มเซลล์ไว้ ข้อมูลดังกล่าว
 นี้ น่าจะชี้ให้เห็นว่า การห่อหุ้มเซลล์โดยวิธี interfacial polymerization โดยใช้มอนอเมอร์
 พวก 1,6-hexanediamine และ sebacylchloride นี้ จะทำให้เกิดแคปซูลเล็กที่มีความ
 ทนทานต่อสารละลายยปฏิกริยาที่มีเกลือสูงและมีการเคลื่อนที่ของอนุภาคในเครื่องปฏิกรณ์ตลอดเวลา
 ตลอดทั้งผลผลิตของการหมักค่อย ๆ เพิ่มขึ้น ดังผลการทดลองในหัวข้อที่ผ่านมา



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



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

5.5 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์

5.5.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฟิสิกส์ของตัวอย่างน้ำชีอีวและน้ำซอส ปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำชีอีวที่ได้จากงานวิจัยนี้เปรียบเทียบกับ
ตัวอย่างที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ดังต่อไปนี้ ให้ผลดังตารางที่ 5.8

ตารางที่ 5.8 ค่าเฉลี่ยองค์ประกอบของน้ำชีอีวที่ผลิตได้และตัวอย่างของน้ำชีอีวและน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์

องค์ประกอบ	น้ำชีอีว ที่ผลิตได้	ตัวอย่างที่			
		1	2	3	4
กรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	1.98	2.12	0.04	1.04	0.05
แอลกอฮอล์ (ร้อยละโดยปริมาตร)	0.62	0.25	0.34	0.48	0.14
กลูโคส (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	0.37	0.13	0.22	0.21	0.35
ไนโตรเจนทั้งหมด (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	3.42	3.53	3.46	3.43	3.46
กรดอะมิโนไนโตรเจน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	2.64	1.67	1.48	2.64	2.60
เกลือ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	21.44	20.00	22.97	22.44	22.85
ความถ่วงจำเพาะ	1.22	1.16	1.20	1.22	1.22
pH	4.87	4.73	5.22	4.92	5.14

หมายเหตุ

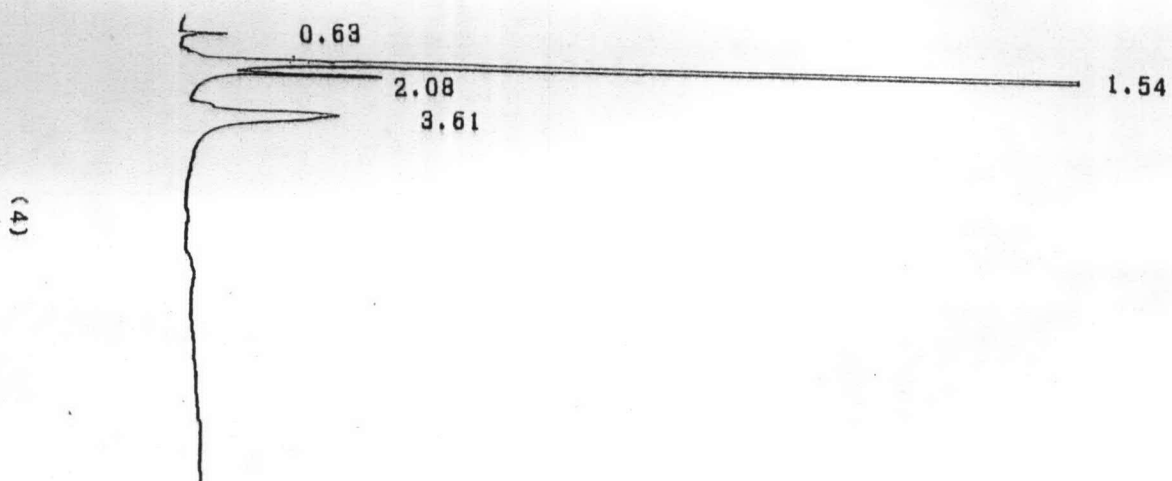
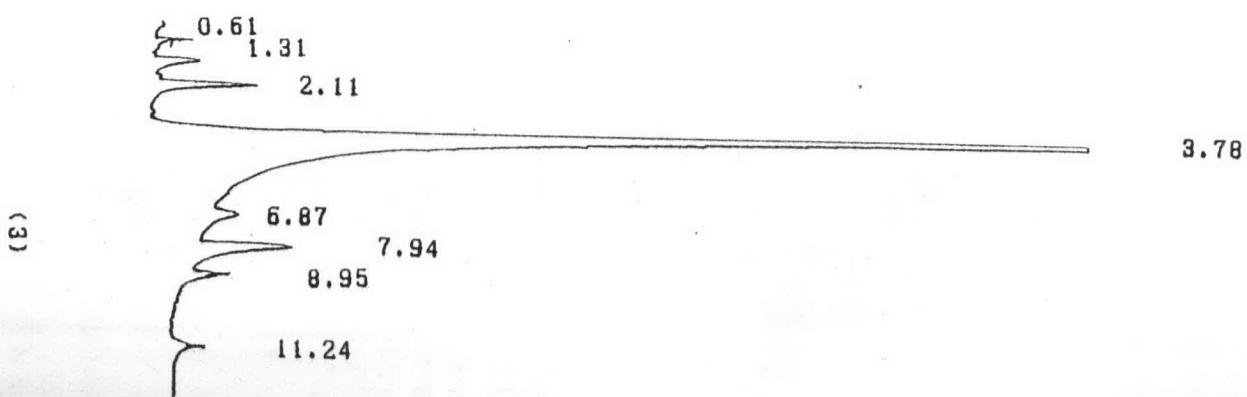
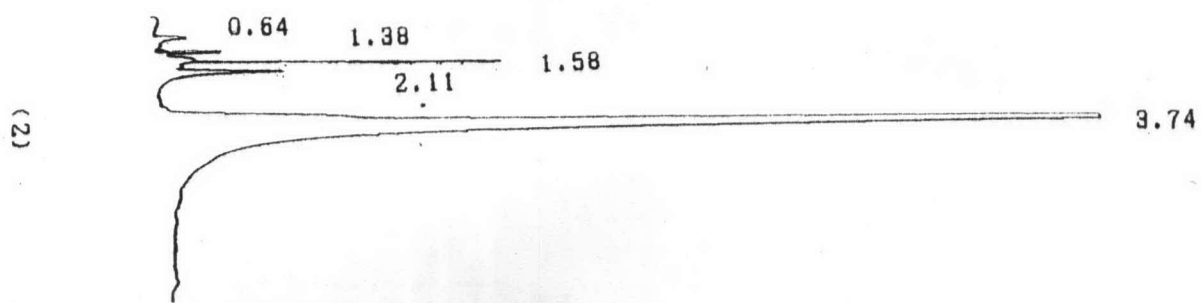
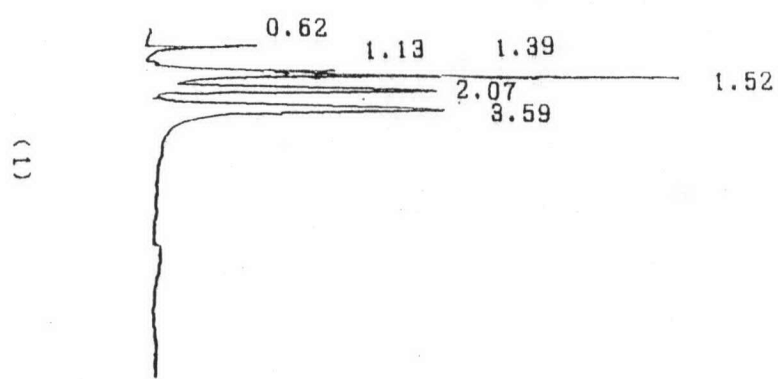
- (1) น้ำชีอีวที่ผลิตได้ หมายถึง น้ำชีอีวที่ผลิตได้จากภาวะที่เหมาะสมและผ่านการพาสเจอร์ไรส์
 - ตัวอย่างที่ 1 หมายถึง ผลิตรัณฑ์น้ำชีอีวที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ชนิดที่ 1
 - ตัวอย่างที่ 2 หมายถึง ผลิตรัณฑ์น้ำชีอีวที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ชนิดที่ 2
 - ตัวอย่างที่ 3 หมายถึง ผลิตรัณฑ์น้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ชนิดที่ 1
 - ตัวอย่างที่ 4 หมายถึง ผลิตรัณฑ์น้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ชนิดที่ 2
- (2) ค่าเฉลี่ยองค์ประกอบได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ
- (3) ความถ่วงจำเพาะและ pH วิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 27 ± 3 องศาเซลเซียส

จากตารางที่ 5.8 จะเห็นว่า เมื่อพิจารณาในส่วนของปริมาณกรดแลคติกและ แอลกอฮอล์ของน้ำชีวีวที่ผลิตได้จากการหมักโดยใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่เติมกลูโคสร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก และใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *L. delbrueckii* และ *Z. rouxii* จะมีปริมาณกรดแลคติกน้อยกว่าตัวอย่างที่ 1 แต่มากกว่าตัวอย่างที่ 2, 3 และ 4 แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำชีวีวที่ผลิตได้จะมากกว่าทุก ๆ ตัวอย่างที่เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่า การทำงานของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *Z. rouxii* มีประสิทธิภาพค่อนข้างสูง จากผลการทดลองดังกล่าวนี้ ได้เลือกตัวอย่างที่ 1 ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์น้ำชีวีวที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ชนิดที่ 1 และมีปริมาณกรดแลคติกใกล้เคียงกับน้ำชีวีวที่ผลิตได้ และเลือกตัวอย่างที่ 3 ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์น้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ชนิดที่ 1 และมีปริมาณแอลกอฮอล์ใกล้เคียงกับน้ำชีวีวที่ผลิตได้ในการเปรียบเทียบชนิดของส่วนประกอบที่กลั่น โดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในการทดลองต่อไป

5.5.2 การวิเคราะห์ส่วนประกอบที่ให้กลิ่นโดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี

จากการทดลองตามข้อ 4.6.2 ได้วิเคราะห์ส่วนประกอบที่ให้กลิ่นจากส่วนของช่องว่างเหนือของเหลวของโปรตีนไฮโดรไลเซตเริ่มต้น น้ำชีวีวที่ผลิตได้และตัวอย่างน้ำชีวีวที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (ตัวอย่างที่ 1) และตัวอย่างน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (ตัวอย่างที่ 3) จากข้อ 5.5.1 ให้ผลดังรูปที่ 5.12

รูปที่ 5.12 โครมาโทแกรมของส่วนประกอบที่สกัดจากโปรตีนไฮโดรไลเสตเริ่มต้น (1) นำตัวอย่างผลึกได้ (2) ตัวอย่างที่ 1 (3) และตัวอย่างที่ 3 (4)



เมื่อพิจารณารูปแบบของกลิ่น (aroma pattern) จากโครมาโตแกรมดังรูปที่ 5.12 สามารถบอกได้ว่า น้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้มีชนิดของส่วนประกอบที่ให้กลิ่นน้อยกว่าและแตกต่างจากตัวอย่างน้ำซีอิ๊วที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (ตัวอย่างที่ 1) แต่มีรูปแบบของกลิ่นที่เหมือนกับโปรตีนไฮโดรไลเซตเริ่มต้น และแตกต่างเล็กน้อยจากตัวอย่างน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (ตัวอย่างที่ 3) และเมื่อเปรียบเทียบชนิดของส่วนประกอบที่ให้กลิ่นในทุก ๆ ตัวอย่างกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐานที่เป็นส่วนประกอบที่ให้กลิ่นในน้ำซีอิ๊วตามรายงานของ Osaki และคณะ (1985) ดังแสดงในภาคผนวก ๑-4 แล้ว จะเห็นว่าที่ retention time ระหว่าง 3.74-3.78 วินาที ซึ่งควรจะเป็น retention time ของเอซิลแอลกอฮอล์มาตรฐาน (retention time = 3.76 วินาที) แสดงว่า น้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้และตัวอย่างน้ำซีอิ๊วที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์มีเอซิลแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบที่ให้กลิ่น แต่โปรตีนไฮโดรไลเซตเริ่มต้นและตัวอย่างน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ไม่มีเอซิลแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบที่ให้กลิ่น นอกจากนี้ยังสามารถบอกอย่างคร่าว ๆ ได้ว่า เมื่อเปรียบเทียบความสูงของ peak ที่ retention time ของเอซิลแอลกอฮอล์ จะเห็นว่า ปริมาณของเอซิลแอลกอฮอล์ในน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้มีมากกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตเริ่มต้นและตัวอย่างน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า การหมักน้ำซีอิ๊วโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก และใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่มีกลูโคสร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก เป็นสารละลายสำหรับหมัก จะทำให้ได้น้ำซีอิ๊วที่มีปริมาณเอซิลแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น นอกจากนี้แล้วจากโครมาโตแกรมในรูปที่ 5.12 ยังสามารถบอกส่วนประกอบที่ให้กลิ่นชนิดอื่นนอกเหนือจากเอซิลแอลกอฮอล์ได้เช่นกัน กล่าวคือ น้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้และตัวอย่างน้ำซีอิ๊วที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ มี 2,3-pentanedione เป็นส่วนประกอบที่ให้กลิ่น (retention time = 2.11 วินาที) และอาจมีอยู่ในตัวอย่างน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (retention time = 2.08) และพบว่าอาจมี acetaldehyde เป็นส่วนประกอบที่ให้กลิ่น (retention time ระหว่าง 1.31-1.38 วินาที) ด้วยเช่นกัน และในตัวอย่างน้ำซีอิ๊วที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์อาจมี isobutyl alcohol และ n-butyl alcohol เป็นส่วนประกอบที่ให้กลิ่น (retention time = 8.95 และ 11.24 วินาที)

การวิเคราะห์ส่วนประกอบที่ให้กลิ่นโดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟีในการทดลองนี้ เป็นการวิเคราะห์แก๊สในช่องว่างเหนือของเหลว (headspace analysis) ซึ่งจัดเป็นวิธีแบบเร็ว (rapid method) ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการวิเคราะห์กลิ่น (aroma analysis) (Berlin, 1985) โดยจากการทดลองนี้เป็นวิเคราะห์ส่วนประกอบที่ให้กลิ่นในด้านคุณภาพ (qualitative analysis) ซึ่งข้อมูลของ retention time จากโครมาโตแกรมที่ได้จะช่วยในการระบุหรือบ่งบอกชนิดของส่วนประกอบที่ให้กลิ่นได้เช่นเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากการวิเคราะห์โดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟีแบบ packed column นี้ ยังมีข้อจำกัดอยู่บางประการ (Skog, 1985) เช่น จากผลการทดลองนี้จะเห็นว่า โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานที่เป็นส่วนประกอบที่ให้กลิ่นพวก isobutyraldehyde, 2,3-pentanedione, ethyl formate, acetone, methyl acetate ที่มี retention time ระหว่าง 2.06-2.21 วินาที จะมี retention time ที่ใกล้เคียงกันมาก การวิเคราะห์โดยการเติมสารมาตรฐานเหล่านี้ลงในตัวอย่าง (external standard) ไม่สามารถที่จะช่วยในการระบุชนิดของส่วนประกอบที่ให้กลิ่นที่อาจมีในตัวอย่างน้ำช็อคโกแลตได้อย่างแน่นอน นอกจากนี้แล้วยังมีข้อจำกัดในการที่ไม่สามารถหาสารมาตรฐานที่เป็นส่วนประกอบที่ให้กลิ่นได้ครบทุกชนิด ตัวอย่างเช่น จากรูปที่ 5.12 จะเห็นว่า ที่ retention time ประมาณ 0.61-0.64 วินาที จะปรากฏส่วนประกอบที่ให้กลิ่นด้วยเช่นกัน แต่เนื่องจากไม่สามารถจัดหาสารมาตรฐานได้ทุกช่วงเวลาดังกล่าวได้ จึงไม่อาจระบุชนิดของส่วนประกอบที่ให้กลิ่นในช่วงเวลาดังกล่าวได้ ดังนั้นจึงมีแนวโน้มที่จะแก้ไขปัญหาหรือข้อจำกัดดังกล่าว โดยการประยุกต์ใช้วิธีแก๊สโครมาโตกราฟีร่วมกับวิธีอื่น ๆ ที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้น เช่น จากรายงานวิจัยของ Nunomura และคณะ (1976) โดยได้วิเคราะห์ส่วนประกอบที่ระเหยได้ (volatile components) ในน้ำช็อคโกแลต โดยใช้วิธีแก๊สโครมาโตกราฟีแบบ capillary column ร่วมกับการใช้ mass spectrometry (GC-MS) ผลการทดลองพบว่า มีการตรวจพบส่วนประกอบที่ให้กลิ่นรสในน้ำช็อคโกแลตถึง 50 ชนิด และในจำนวนนี้มีส่วนประกอบที่ให้กลิ่นรสจำนวน 15 ชนิดที่ไม่เคยมีการรายงานมาก่อนว่าพบในน้ำช็อคโกแลต

5.5.3 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

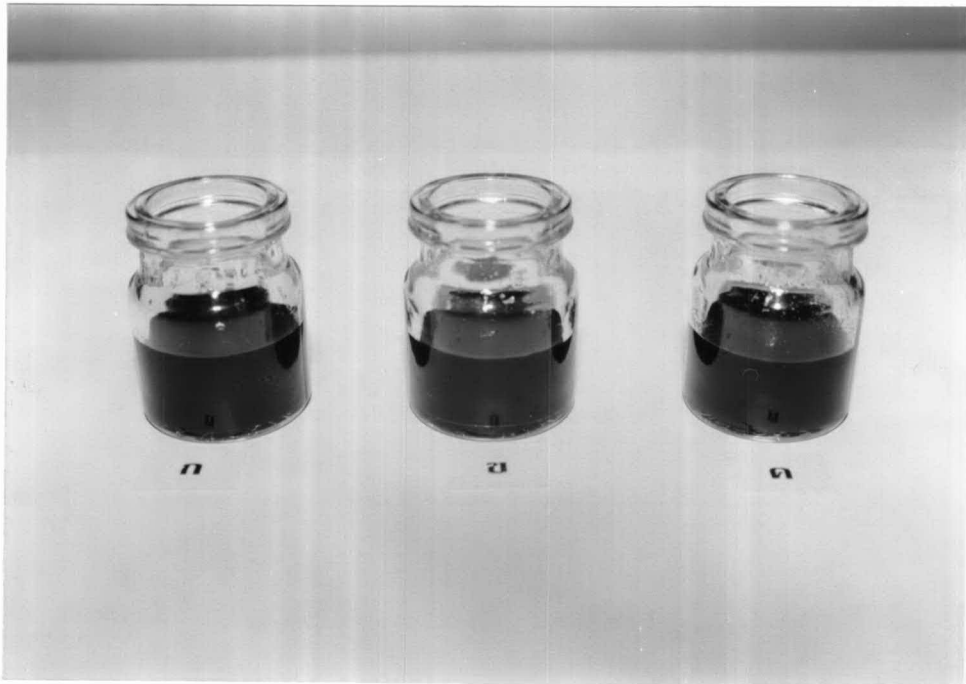
จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำช็อคโกแลตที่ผลิตได้ และตัวอย่างน้ำช็อคโกแลตที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (ตัวอย่างที่ 1) และตัวอย่างน้ำช็อคโกแลตปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (ตัวอย่างที่ 3) โดยให้คะแนนทุกลักษณะเต็ม 25 คะแนน ให้ผลดังตารางที่ 5.9 และรูปที่ 5.13

ตารางที่ 5.9 คะแนนเฉลี่ยการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำช็อคโกแลตที่ผลิตได้ ตัวอย่างที่ 1 และตัวอย่างที่ 3

ลักษณะ	คะแนนเฉลี่ย+ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	น้ำช็อคโกแลตที่ผลิตได้	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 3
ความใส	ns 18.21 _± 1.62	ns 18.50 _± 1.76	ns 19.86 _± 1.68
กลิ่น	ns 16.93 _± 1.18	ns 17.79 _± 1.54	ns 18.14 _± 1.85
รส	ns 18.04 _± 1.58	ns 17.71 _± 4.34	ns 18.57 _± 1.12
สี	a 18.57 _± 1.64	b 16.57 _± 1.51	a 19.57 _± 1.64
ความชอบรวม	ns 18.75 _± 1.78	ns 17.50 _± 1.11	ns 19.07 _± 1.60

a, b, c, ... ตัวเลขที่มีอักษรต่างกันกำกับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ns = ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 5.13 ลักษณะของน้ำชีอิ้วที่ผลิตได้ (1) ตัวอย่างที่ 1 (2) และตัวอย่างที่ 3 (3)

จากตารางที่ 5.9 จะได้ว่า คະแนนจากความชอบรวมของทุก ๆ ตัวอย่าง ไม่ว่าจะเป็นน้ำชีอิ้วที่ผลิตได้หรือตัวอย่างน้ำชีอิ้วและน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีการยอมรับอยู่ในช่วงดี คือ คະแนน 16-20 (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2530) และเมื่อนิยามารณาลักษณะด้านความใส กลิ่น และรส จะมีคະแนนการยอมรับของทุก ๆ ตัวอย่างไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ลักษณะด้านสีพบว่า น้ำชีอิ้วที่ผลิตได้และตัวอย่างน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (ตัวอย่างที่ 3) จะแตกต่างจากตัวอย่างน้ำชีอิ้วที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (ตัวอย่างที่ 1) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยตัวอย่างที่ 1 จะมีคະแนนการยอมรับน้อยกว่าน้ำชีอิ้วที่ผลิตได้และตัวอย่างน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ ซึ่งเมื่อนิยามารณาร่วมกับรูปที่ 5.13 (2) พอจะบอกได้ว่า สีของตัวอย่างน้ำชีอิ้วที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์มีสีเข้มน้อยกว่า แต่อย่างไรก็ตามคະแนนการยอมรับก็ยังอยู่ในช่วงดีเช่นเดียวกันกับตัวอย่างอื่น ๆ

ข้อมูลดังกล่าวอาจจะช่วยชี้ให้เห็นว่า น้ำชีอีวที่ได้ทดลองผลิตขึ้นโดยวิธีการผสมผสานนี้มีค่าการยอมรับจากประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสไม่ต่างไปจากตัวอย่างน้ำชีอีวและน้ำชอลปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ที่ได้เลือกมาเปรียบเทียบเท่าใดนัก อย่างไรก็ตามข้อมูลในส่วนนี้แม้จะเป็นข้อมูลประกอบส่วนหนึ่งของผลการวิจัยที่กล่าวถึงไว้ในตอนต้น ก็น่าจะนำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ดีทางหนึ่งในอุตสาหกรรมประเภทเดียวกันนี้