

บทคัดย่อ

ซีอิ๊วเป็นผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมักที่ใช้ปรุงอาหารและบริโภคกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย โดยเทคโนโลยีการผลิตในอุตสาหกรรมซีอิ๊วของประเทศไทยได้รับการพัฒนามาในระดับหนึ่งแล้วตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ได้แก่ การพัฒนาต้นเชื้อราบริสุทธิ์ (pure starter culture) สำหรับหมักโคจิกจากสายพันธุ์เชื้อ *Aspergillus oryzae* เพื่อลดระยะเวลาในการหมักและให้คุณภาพคงที่ นอกจากนี้กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ได้ทดลองแยกเชื้อและการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria, LAB) และเชื้อยีสต์ในกระบวนการหมักซีอิ๊ว อย่างไรก็ตามการคัดเลือกสายพันธุ์เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อบริสุทธิ์ก็ยังไม่สมบูรณ์ เนื่องจากในเวลานั้นประเทศไทยยังขาดองค์ความรู้เกี่ยวกับสารให้กลิ่นรสของซีอิ๊วซึ่งเป็นข้อมูลสำคัญในการคัดเลือกสายพันธุ์ โครงการวิจัยนี้ได้พัฒนาต้นเชื้อบริสุทธิ์ต้นแบบสำหรับการหมักโมโรมิในกระบวนการหมักซีอิ๊ว โดยในต้นเชื้อประกอบด้วยเชื้อ LAB ได้แก่ *Tetragenococcus halophilus* TS71 จาก collection ที่มีอยู่ซึ่งคัดเลือกไว้ก่อนหน้านี้แล้วที่มีประสิทธิภาพดีกว่าเชื้อที่คัดเลือกได้ในโครงการ ส่วนเชื้อยีสต์ที่ใช้ได้แก่ *Zygosaccharomyces rouxii* A22 ซึ่งจะใช้เพียงตัวเดียวหรือใช้ *Z. rouxii* A22 ร่วมกับ *Pichia guilliermondii* EM1Y52 เพื่อเพิ่มการผลิตสารระเหยให้กลิ่นก็ได้ โดยสายพันธุ์ทั้งสองถูกคัดแยกมาจากตัวอย่างโมโรมิในโรงงานซีอิ๊วและคัดเลือกสายพันธุ์ที่สนใจจากความสามารถในการสร้างสารระเหยให้กลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ของซีอิ๊วไทย โดยเชื้อต่างๆ ที่ถูกคัดเลือกมาจะนำไปศึกษาผลที่มีต่อการหมักโมโรมิในระบบจำลองของการหมักโมโรมิโดยใช้น้ำโมโรมิเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อก่อน แล้วจึงนำไปทดลองลงในกระบวนการหมักซีอิ๊วจริงในระดับกึ่งอุตสาหกรรม (500 ลิตร) ซึ่งพบว่าต้นเชื้อที่คัดเลือกมานั้นสามารถทำให้กลิ่นของซีอิ๊วดิบเปลี่ยนแปลงไปในคุณลักษณะที่ดี เช่น กลิ่นหอมหวาน โดยไม่มีกลิ่นผิดปกติหรือคุณลักษณะทางเคมีกายภาพที่แตกต่างไปจากชุดควบคุม ตลอดจนปริมาณ biogenic amine ที่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม แสดงถึงความปลอดภัยของการใช้ต้นเชื้อเหล่านี้ ผลการวิจัยจากโครงการวิจัยนี้สนับสนุนแนวความคิดที่ว่า เชื้อ LAB นั้นส่งเสริมการเจริญและกิจกรรมของเชื้อยีสต์ ซึ่งการเติมต้นเชื้อ LAB ลงไปก่อนประมาณ 1 สัปดาห์ แล้วจึงเติมต้นเชื้อยีสต์ลงไปน่าจะส่งผลให้ยีสต์เจริญและมีกิจกรรมที่ดี โครงการวิจัยนี้ยังค้นพบบทบาทของเชื้อยีสต์ *P. guilliermondii* ในการผลิตสารจำพวก volatile phenolic compounds และยังมีบทบาทในการส่งเสริมการผลิตสารระเหยให้กลิ่นโดย *Z. rouxii* ซึ่งเดิมทีไม่มีใครให้ความสำคัญมาก่อนอีกด้วย

คำสำคัญ : ซีอิ๊ว ต้นเชื้อ โมโรมิ สารระเหยให้กลิ่นรส *Tetragenococcus halophilus*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Pichia guilliermondii*

ABSTRACT

Soy sauce is fermented soybean product which is widely consumed as a condiment in Thailand. Up to know, technologies related to Thai soy sauce production have been improved, e.g. application of pure starter culture of *Aspergillus oryzae* for koji making which shorten time and lead to constant quality. Apart from this starter culture, development of lactic acid bacteria (LAB) and yeast starter culture for moromi fermentation have been attempted by Food Biotechnology research group at Department of Biotechnology, Faculty of Science, Mahidol University. Knowledge of volatile flavor profile in Thai soy sauce which recently established enables the selection of LAB and yeast strains based on their flavor volatile production. Moromi starter cultures including *Tetragenococcus halophilus* TS71, *Zygosaccharomyces rouxii* A22, and *Pichia guilliermondii* EM1Y52 were developed in this research project. *T. halophilus* has been isolated previously and showed better performances than isolates from the present project. The two yeast strains were isolated from moromi mash. *Z. rouxii* A22 could be individually applied or co-applied with *P. guilliermondii* in moromi fermentation to enhance flavor volatile compound production. The production of volatile flavor compounds of each strain of interest was firstly monitored in a moromi model system containing moromi liquid as culture medium prior to trial in pilot scale soy sauce fermentation. When the strains were applied with soy sauce fermentation (500 litres), good characteristics such as sweet odor, no off-odor, and low biogenic amine content of raw soy sauce were obtained. The results of pilot scale fermentation also supported the concept that LAB enhances growth and activity yeasts. The results suggested that LAB could be inoculated one week prior to yeast inoculation. Moreover, role of *P. guilliermondii* to enhance volatile flavor compound production by *Z. rouxii* has been discovered by this study.

Keywords: Soy sauce, starter culture, moromi fermentation, volatile flavor compounds, *Tetragenococcus halophilus*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Pichia guilliermondii*