

รายงานวิจัย

เรื่อง

การศึกษาแนวทางการผลิตชีอิ้วจากถั่วมะแฮะ

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. พรพิมล ม่วงไทย

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ประสานมิตร

2550

บทคัดย่อ

การศึกษาวิจัยนี้เพื่อหาแนวทางการผลิตชีอิ้วจากถั่วมะแะโดยทำการศึกษาการแปรผันสูตรของชีอิ้ว 5 สูตร เทียบกับสูตรควบคุม โดยการทดลองนี้ได้เตรียมส่วนผสมของการหมักถั่วมะแะ ต่อ ถั่วเหลืองในอัตราส่วนต่างๆ ได้แก่ สูตรที่ 1 (100:0) สูตรที่ 2 (80:20) สูตรที่ 3 (60:40) สูตรที่ 4 (40:60) สูตรที่ 5 (20:80) และ สูตรที่ 6 (0:100) (สูตรควบคุม) ทุกอัตราส่วนใช้เวลาหมักโคจิ 72 ชั่วโมง หมักโมโรมิใช้เวลา 3 เดือน และได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการหมักโดยติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณเอนไซม์อะไมเลส โปรตีเอส ปริมาณกรดอินทรีย์ ปริมาณจุลินทรีย์ และค่า pH ตลอดจนทำการตรวจสอบคุณภาพตามมาตรฐานอุตสาหกรรมหลังผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ จากผลการศึกษาพบว่าปริมาณต่างๆ เมื่อเทียบกับสูตรที่ 6 แล้วปรากฏว่า ชีอิ้วทั้ง 5 สูตร มีลักษณะต่างๆด้านกายภาพ ตลอดจนกลิ่น สี มีลักษณะคล้ายกับชีอิ้วสูตรที่ 6 แต่อย่างไรก็ตามพบว่าในสูตรที่ 3 ซึ่งมีส่วนผสมของถั่วมะแะร้อยละ 60 ถั่วเหลืองร้อยละ 40 มีลักษณะการเกิดเป็นชีอิ้วที่ดีมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว และดีกว่าชีอิ้วสูตรควบคุม สำหรับผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณเอนไซม์อะไมเลส พบว่า มีกิจกรรมของเอนไซม์เกิดขึ้นในทุกส่วนผสมหมักทุกสูตรโดยมีกิจกรรมมากที่สุดใน สูตรที่ 5 ในช่วง 432.05-803.50 ยูนิตต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก ปริมาณเอนไซม์โปรตีเอสเพิ่มขึ้นตามช่วงระยะเวลาการหมักและมีกิจกรรมได้ดีที่สุดในสูตรที่ 2 อยู่ในช่วง 187.28-683.93 ยูนิตต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก ปริมาณกรดอินทรีย์ที่พบในทุกสูตรมี 2 ชนิด คือ กรดแลกติกและกรดอะซิติก ปริมาณกรดแลกติกที่พบ อยู่ในช่วง 0.01-5.94 กรัมต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก และกรดอะซิติกอยู่ในช่วง 0.62-2.33 กรัมต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก จุลินทรีย์ที่ตรวจพบคือ แบคทีเรีย ราและยีสต์ โดยตรวจพบในช่วงแรกของการหมักในปริมาณสูงและลดลงตามระยะเวลาของการหมัก และค่า pH ที่ตรวจวัดได้ในช่วงแรกอยู่ในระดับสูงและลดลงเมื่อเวลาการหมักผ่านไป 20 วันหลังจากนั้นจะคงที่จนเสร็จสิ้นกระบวนการหมัก ส่วนผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในทุกสูตรพบว่ามีประมาณร้อยละ 5.98 - 6.98 ปริมาณน้ำตาลรวมในทุกสูตรร้อยละ 0.13- 0.19 และปริมาณเกลือในชีอิ้วทุกสูตร ร้อยละ 13.10-13.70 ปริมาณโลหะที่ตรวจทุกสูตร ซึ่งไม่เกินมาตรฐานกำหนด คือ 1 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งพิจารณาปริมาณต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมนั้นจัดว่าไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นถั่วมะแะสามารถนำไปเป็นส่วนหนึ่งของวัตถุดิบหลักที่ใช้ผลิตชีอิ้วได้ โดยถ้าความต้องการจะใช้ถั่วมะแะเป็นวัตถุดิบหลักมากที่สุดก็สามารถนำสูตรที่ 3 ที่ใช้ถั่วมะแะได้สูงถึงร้อยละ 60 โดยน้ำหนักมาเป็นต้นแบบการผลิต

Abstract

This research studied the processing soy sauce from pigeon pea by variation 5 formulas which compared with the controlled formula. Those formulas were varied the ratio of pigeon pea to soy bean as F1(100:0), F2(80:20), F3 (60:40), F4(40 :60) , F5 (20:80) and F6(0:100)(controlled formula). All formulas were fermented as Koji for 72 hours before the Moromi fermentation 3 months. In this work, the activities of amylase and protease enzymes, organic acid contents, microorganisms and pH were monitored in the period of fermentation. The experimental outcome about the physical characteristics as color and order nearly same as controlled formula. However the formula 3 which contained pigeon pea 60 % and soy bean 40 % showed the best characteristic of soysauce. The activity of amylase in all formulas were 361.86-930.49 unit/g , the enzyme protease contents were 108.08-683.93 unit/g . Protease activity in all formula increased as increasing fermentation time. There had only two organic acid (lactic acid and acetic acid) , the lactic acid contents and acetic acid contented were 0.01-5.94 g/g and 0.62-2.33 g/g fermented respectively. Bacteria , fungi and yeast were detected at the initial of fermentation and decreased as increasing fermentation time. The pH value in all formulas showed the low acidity and acidity of each mixed formula increased after 20 days of fermentation. The soy sauces were analysed protein, total sugar, salt and heavy metals content as AOAC method. The results were shown that the protein contents were 5.45-6.98% , total sugar were 0.09-0.19 % and the salt contents were 11.9 – 13.7% , all heavy metal not exceed than 1 ppm. Those formulated soy sauces not differ from the control sauce. The soy sauce that contains pigeon peas 60 % showed the best properties. This work also showed that the pigeon peas could be used to be a raw material to produce soy sauce like soy bean.

ประกาศคุณูปการ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับแรงบันดาลใจตลอดจนพระมหากรุณาธิคุณจากองค์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ที่ทรงมีพระราชดำริที่อยากให้มีการนำถั่วมะแฮะ จากจว.น่านมาใช้ให้เกิดประโยชน์ ผู้วิจัยขอน้อมรำลึกถึงพระมหากรุณาธิคุณในพระองค์ที่ทรงมีพระมหากรุณาดำรินั้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงขอน้อมรับในพระราชดำริอันหาที่เปรียบมิได้มารับปฏิบัติ โดยได้ทำการวิจัยนี้ 2 แห่ง คือ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ และที่ห้องที่อำเภอป้อเกลือ สถานที่บ้านของนิสิตปริญญาโทผู้ช่วยวิจัย

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ได้จัดสรรเงินทุนรายได้ของคณะวิทยาศาสตร์ประจำปี 2549 เพื่อเป็นเงินทุนหลักแก่ผู้วิจัย และทำให้งานวิจัยนี้เกิดเป็นผลงานที่น่าภาคภูมิใจของสถาบัน

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร. ไว ประทุมผาย ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ด้านเครื่องมือวิจัยบางส่วนในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ และขอขอบคุณคุณลาวัลย์ ชตานนท์ จากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบัน วิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยที่ให้ความอนุเคราะห์มอบเชื้อจุลินทรีย์ *Aspergillus oryzae* บริสุทธิ์ เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยกระบวนการหมักในครั้งนี้

ผู้วิจัยต้องขอขอบคุณนิสิตในทีมงานวิจัยทุกคนที่ช่วยดูแลระบบการหมักตั้งแต่เริ่มต้นจนสำเร็จและสามารถผลิตเป็นชีอิ้ว

สารบัญ

หน้า

บทที่ 1	บทนำ	1
บทที่ 2	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
	ซีอีว	3
	ข้อมูลตัวเหลือง	9
	ข้อมูลตัวมะเข้	11
	ข้อมูลพื้นฐานจุลินทรีย์	15
	หลักการวิเคราะห์	17
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	20
บทที่ 3	วิธีการดำเนินงานวิจัย	24
	การหมักซีอีว	26
	การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการหมัก	27
	การวิเคราะห์คุณภาพซีอีว	29
บทที่ 4	ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	31
บทที่ 5	สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	42
	บรรณานุกรม	56
	ภาคผนวก	58

บัญชีตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1	มาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำชีอิ้วของกระทรวงอุตสาหกรรม	7
ตารางที่ 2.2	สารอาหารสำคัญในถั่วมะแฮะและถั่วเหลือง	14
ตารางที่ 2.3	แสดงคุณสมบัติของเอนไซม์อะไมเลสแต่ละประเภท	16
ตารางที่ 4.1	แสดงลักษณะทางกายภาพของน้ำชีอิ้ว	31
ตารางที่ 4.2	แสดงค่า pH ของชีอิ้วแต่ละสูตรตลอดระยะเวลาการหมัก	35



บัญชีภาพประกอบ

	หน้า
รูปที่ 1.1 ต้นถั่วมะแฮะ	12
รูปที่ 4.1 กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์อะไมเลส	32
รูปที่ 4.2 กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์โปรทีเอส	32
รูปที่ 4.3 ปริมาณเอนไซม์อะไมเลสในส่วนผสมหมักแต่ละสูตรที่ระยะเวลาต่างกัน	33
รูปที่ 4.4 ปริมาณเอนไซม์โปรทีเอสในส่วนผสมหมักแต่ละสูตรที่ระยะเวลาต่างกัน	34
รูปที่ 4.5 ปริมาณกรดแลกติกในส่วนผสมหมักแต่ละสูตรที่ระยะเวลาต่างกัน	35
รูปที่ 4.6 ปริมาณกรดอะซิติกในส่วนผสมหมักแต่ละสูตรที่ระยะเวลาต่างกัน	36
รูปที่ 4.7 ปริมาณแบคทีเรียในส่วนผสมหมักแต่ละสูตรที่ระยะเวลาต่างกัน	38
รูปที่ 4.8 ปริมาณราและยีสต์ในส่วนผสมหมักแต่ละสูตรที่ระยะเวลาต่างกัน	38
รูปที่ 4.9 ปริมาณโปรตีนในชีอิ้วแต่ละสูตร	39
รูปที่ 4.10 ปริมาณเกลือในชีอิ้วแต่ละสูตร	40
รูปที่ 4.11 ปริมาณน้ำตาลในชีอิ้วแต่ละสูตร	40
รูปที่ 4.12 ปริมาณโลหะในชีอิ้วทั้ง 6 สูตร	41



บทที่ 1

บทนำ

ซีอิ๊วเป็นอาหารที่ชาวจีนคิดค้นผลิตขึ้นเป็นเวลานานกว่า 3 พันปีมาแล้ว ต่อมาจึงถูกเผยแพร่ไปสู่ประเทศอื่นๆ เช่น ญี่ปุ่นโดยพระชาวญี่ปุ่นที่มาศึกษาพุทธศาสนาในประเทศจีน ได้นำสูตรการทำซีอิ๊ว และเต้าเจี้ยวไปใช้กับประเทศญี่ปุ่นบ้างในปี ค.ศ.1228 เริ่มแรกเขาเรียกเต้าเจี้ยวว่า miso และซีอิ๊วว่า tamari-shoyu ซึ่งต่อมาเหลือเพียง shoyu (โซยุ) โซยุในญี่ปุ่นไม่ใช่ของแพร่หลาย หากแต่เป็นของแพงและหายาก มีใช้กันในชนชั้นสูง เช่น ชามูโร และ โซคุน สูตรและวิธีการผลิตโซยุเป็นของหวงแหนในตระกูลและตกทอดกันมาตามรุ่นเท่านั้น โซยุไม่มีกั๊วรน้ำออกมาขาย และหาซื้อได้ตามร้านตลาดทั่วไป แต่ผลิตใช้กันในบ้าน (ปราสาท) ของตัวเอง โซยุหรือ soy sauce ของญี่ปุ่นจึงมีความหลากหลายแตกต่างกันหลายร้อยชนิดตามแต่ละตระกูล ราวปลายศตวรรษที่ 19 ญี่ปุ่นเริ่มมีการเปิดประเทศค้าขาย ซึ่งมี Professor Lunge และ Langgardt นักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมัน 2 คนที่ทำงานเป็นอาจารย์สอนใน Tokyo Imperial University เดินทางไปยังโนคะ เพื่อศึกษาการผลิตโซยุจากตระกูลโมกิ ต่อมาทั้งสองคนเดินทางกลับไปยังยุโรป และนำสูตรไปผลิต soy sauce เองในชื่อ แมกกี (Maggi) อย่างแพร่หลาย ในเมืองไทยเอง หลังจากนำเข้าซอสแมกกีมาขายจนโด่งดัง มีการผลิตซอสออกมาขายแข่งในหลากหลายยี่ห้อ ไม่ว่าจะเป็น ภูเขาทอง ฉลากทอง จากประวัติย่อๆ ปัจจุบันพบว่า ซีอิ๊วได้รับความนิยมในการนำมาใช้เป็นเครื่องปรุงรส และเป็นซอสปรุงรสที่ใช้กันมากที่สุดในโลก ในการทำซีอิ๊วมีส่วนประกอบต่างๆ โดยมีวัตถุดิบหลักเป็นถั่วเหลือง เป็นแหล่งโปรตีน ข้าวสาลีหรือรำข้าวสาลีเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรต เกลือ และน้ำ เนื่องจากในเมล็ดถั่วเหลืองแก่จะมี สารอาหารต่างๆ ประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต 33.5 กรัม/100 กรัม โปรตีน 34.1 กรัม/100 กรัม ไขมัน 10.0 กรัม/100 กรัม และในไขมันประกอบด้วยกรดไขมันต่างๆ เช่น ลิโนเลอิก โอเลอิก ลิโนเลนิก และปาล์มมิติก กับ สเตียริก (คำนวณจากน้ำหนักแห้ง) นอกจากนี้ยัง ประกอบไปด้วยแคลเซียม ฟอสฟอรัส และวิตามิน A B B₁ B₂ B₆ B₁₂ ในอาซีน วิตามิน D และ E ถั่วเหลืองที่แก่จัดสามารถนำมาแปรรูปได้หลากหลาย เช่น น้ำมันถั่วเหลือง ถั่วเน่า เทมเป้ ซีอิ๊ว เต้าเจี้ยว เนื้อเทียม ไอศกรีม โยเกิร์ตถั่วเหลือง บัตเตอร์ถั่วเหลือง เป็นต้น การที่จะผลิตซีอิ๊วจึงนิยมนำถั่วเหลืองมาใช้เป็นวัตถุดิบหลัก สำหรับในงานวิจัยนี้จะได้ศึกษาการผลิตซีอิ๊วจากถั่วมะแฮะ เนื่องจาก ในเขตทางภาคเหนือ มีต้นถั่วมะแฮะในปริมาณมาก ซึ่งส่วนใหญ่ จะนิยมนำไปเลี้ยงสัตว์ ปัจจุบันกรมส่งเสริมการเกษตรได้มีการส่งเสริมให้ปลูกพืชผักผลไม้และผักสวนครัว เช่น ตำลึง มะละกอ ถั่วมะแฮะ และกล้วยน้ำว้า เป็นต้น โดยเฉพาะมีการส่งเสริมให้ปลูกถั่วมะแฮะมากยิ่งขึ้น(2) และ เป็นการสนองต่อโครงการในพระราชดำริของสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ทางด้านเกษตรกรรม ดังนั้นผู้วิจัยจึงพิจารณาถึง การแปรรูปถั่วมะแฮะเพื่อเพิ่มมูลค่าแก่ผลิตภัณฑ์ถั่วชนิดนี้ซึ่งในประเทศไทยยังมีรายงานการแปรรูปถั่วมะแฮะเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ น้อยมาก ในงานวิจัยนี้จะพยายามที่ศึกษา กระบวนการแปรรูปถั่วมะแฮะให้เป็น ผลิตภัณฑ์ซีอิ๊ว เมื่อศึกษาถึงองค์ประกอบโดยรวมในถั่วมะแฮะซึ่งมีปริมาณคาร์โบไฮเดรต

ค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับถั่วเหลืองที่นิยมนำมาเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิต แต่ถั่วมะแฮะจัดอยู่ในวงศ์เดียวกับถั่วเหลือง ดังนั้นการแปรรูปถั่วมะแฮะให้เป็นชีอิ้วอาจต้องมีการศึกษาส่วนผสม ที่เหมาะสมในการทำให้เกิดเป็นชีอิ้ว

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยจึงทำการศึกษาหาแนวทางการผลิตชีอิ้วจากถั่วมะแฮะโดย ได้ทดลองเปรียบเทียบการหมักชีอิ้วจากถั่วมะแฮะกับชีอิ้วจากถั่วเหลืองที่เป็นวัตถุดิบมาตรฐานและทำการศึกษารองค์ประกอบหลักในชีอิ้วที่ผลิตได้จากถั่วมะแฮะตลอดจนทำการตรวจวิเคราะห์โลหะหนักที่น่าสนใจได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม สารหนู ในผลิตภัณฑ์ชีอิ้วที่ผลิตจากจากถั่วมะแฮะ



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ซีอิ๊วตามความหมายกระทรวงอุตสาหกรรม หมายถึง ผลิตภัณฑ์ของเหลวที่ได้จากการย่อยโปรตีนของถั่วเหลือง การหมัก จะนำมาแต่งรสและหรือสีหรือไม่ก็ได้ตามชนิดของผลิตภัณฑ์นั้นๆ แล้วนำไปผ่านการพาสเจอร์ไรส์ (pasteurization) ในประเทศไทยมีการผลิตซีอิ๊วระดับอุตสาหกรรมส่วนมากมีพื้นที่ตั้งอยู่แถบชานเมืองของกรุงเทพมหานคร ในต่างจังหวัดมีไม่มากมายนัก ทั้งนี้เพราะว่าการหมักทำซีอิ๊ว และเต้าเจี้ยวของไทยเป็นการหมักที่ต้องใช้พื้นที่มาก และอาศัยอุณหภูมิจากแสงแดดเป็นตัวเร่งการบ่มในช่วงการหมัก จากการศึกษาประวัติซีอิ๊วพบว่า ซีอิ๊วเป็นอาหารที่ชาวจีนคิดค้นผลิตขึ้นเป็นเวลานานกว่า 3000 ปีมาแล้ว หลังจากนั้นได้มีการคิดค้นและพัฒนา เมื่อ ปี พ.ศ. 2343 ประเทศญี่ปุ่นมีการผลิตหัวเชื้อซีอิ๊วขาย และประเทศจีนค้นพบว่าวัตถุดิบที่สำคัญในการใช้ผลิตซีอิ๊วได้แก่ ถั่วเหลือง และข้าวสาลี จนถึงปี พ.ศ. 2473 ประเทศญี่ปุ่นค้นพบการผลิตกรดอะมิโนในรูปสารละลาย ซึ่งต่อมาจีนก็เริ่มผลิตเช่นเดียวกัน หลังจากนั้นประเทศญี่ปุ่นเริ่มค้นคว้าเอนไซม์ในซีอิ๊ว ในขณะที่จีนเริ่มเติมของเสียจากผงชูรสในซีอิ๊วและเริ่มผลิตหัวเชื้อซีอิ๊ว ปี พ.ศ. 2488 ประเทศญี่ปุ่นเริ่มใช้จุลินทรีย์ในการหมักซีอิ๊ว และเริ่มนำกากที่เหลือจากการหมักครั้งแรกมาหมักต่อ เริ่มคิดค้นวิธีหมักแบบเร็ว และทดลองหมักแบบกึ่งเคมี ในขณะที่มีการพัฒนาการหมักซีอิ๊วและมีการเติมสารชูรสและสารกันบูดลงไปในซีอิ๊วทำให้เกิดปัญหา กระทรวงสาธารณสุขของประเทศจีนจึงประกาศใช้มาตรฐานซีอิ๊วและเริ่มมีการเติมผงยีสต์ในการหมักซีอิ๊วหลังจากนั้นได้มีการพัฒนาโดยใช้เครื่องมืออุตสาหกรรมช่วยในการ จนในปี 2513 ประเทศจีนมีกำหนดให้โรงงานผู้ผลิตแจ้งให้ผู้บริโภคทราบว่าเป็นซีอิ๊วประเภทหมักหรือเคมี (วิเชียร ,2534)

ประเภทของซีอิ๊ว ซีอิ๊วมี 3 ประเภท ได้แก่ ซีอิ๊วหมัก (fermented soy sauce) ซีอิ๊วเคมี (chemical soy sauce) และ ซีอิ๊วกึ่งเคมี (semichemical soy sauce)

1) ซีอิ๊วหมัก หมายถึงซีอิ๊วที่ได้จากการหมักถั่วเหลืองหรือส่วนผสมของถั่วเหลืองและแป้งสาลีโดยอาศัยการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ 3 ชนิด คือ เชื้อรา แบคทีเรีย และยีสต์ ซึ่งใช้ระยะเวลาในการหมักนานตั้งแต่ 3 เดือน ถึง 1 ปี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอากาศ อุณหภูมิของการหมัก เอนไซม์ชนิดต่างๆ ในเชื้อเริ่มต้น เช่น โปรติเอส อะไมเลส จะทำงานในช่วงเวลาหนึ่ง การหมักจะแบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือระยะแรกการหมักชนิดให้กรดแลกติก โดยกิจกรรมของแบคทีเรียแลกติก และเพดดิโอคอคคัสจะผลิตกรดเพิ่มเติม ระยะที่สอง การหมักชนิดให้แอลกอฮอล์โดยกิจกรรมของยีสต์ และระยะสุดท้ายการทำให้กระบวนการหมักและการบ่มสมบูรณ์หลังจากนั้นนำซีอิ๊วที่ผ่านการหมักไปสกัดเอาแต่น้ำทิ้งให้ตกตะกอนเป็นระยะเวลา 7 วัน แล้วนำไปฆ่าเชื้อ และบรรจุขวดจำหน่าย

2) ซีอิ๊วเคมี หมายถึง ซีอิ๊วที่ได้จากการใช้กรดกลูตาเมตเข้มข้นมาย่อยถั่วเหลืองที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกไปแล้ว ใช้เวลาน้ำกว่าการหมักแบบธรรมชาติโดยทั่วไปจะใช้เวลาประมาณ 3 สัปดาห์

ปริมาณกรดอะมิโนที่ได้จะมากกว่าการหมักแบบธรรมชาติ การผลิตซีอิ๊วเค็มโดยการใช้กรดย่อยโปรตีนแล้วผ่านการทำให้เป็นกลาง จึงได้กรดอะมิโนหลายชนิดออกมาในสารละลายโดยกรดอะมิโนที่มีคุณสมบัติให้รสพิเศษได้แก่ กรดอะมิโนกลูตามิก (glutamic amino acid) กรดอะมิโนชนิดนี้ทำหน้าที่เพิ่มรสชาติ เหมือนกับในผงชูรสซึ่งประกอบ ด้วย โซเดียมกลูตาเมต (sodium glutamate) เป็นส่วนใหญ่ เมื่อใช้กรดเกลือต้มกับถั่วเหลืองก็จะได้กรดอะมิโนหลายชนิด โดยเฉพาะกรดกลูตามิกมากที่สุด รสดี มีกลิ่นหอม การผลิตสารละลายกรดอะมิโนในซีอิ๊วนี้นี้มีระยะเวลาสั้น เพราะเกิดปฏิกิริยาเคมีรวดเร็ว และมีต้นทุนการผลิตต่ำซึ่งเป็นข้อดีของการผลิตซีอิ๊วเค็ม แต่ซีอิ๊วเค็มจะไม่ มีกลิ่นหอมพิเศษเหมือนซีอิ๊วหมัก

3) ซีอิ๊วกึ่งเค็ม หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการดัดแปลงนำเอาวิธีการผลิตซีอิ๊วหมักกับซีอิ๊วเค็มมารวมกันเพื่อให้ได้ซีอิ๊วที่มีคุณภาพ กลิ่น รสดี และใช้ระยะเวลาในการผลิตสั้น โดยแบ่งวิธีการผลิตได้ 2 วิธี คือการผลิตแบบใช้เอนไซม์ช่วยในการผลิตและอีกวิธีหนึ่งคือไม่ใช้เอนไซม์ช่วยในการผลิต

วัตถุดิบและหน้าที่ วัตถุดิบที่สำคัญในการผลิตซีอิ๊วมี 5 ประเภท ได้แก่

1. หัวเชื้อ จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหมักทั้งหมดมี 3 ชนิด ได้แก่

- เชื้อรา ที่สำคัญ คือ *Aspergillus oryzae*

- แบคทีเรีย สำคัญคือ *lactic acid bacteria* *Lactobacillus delbrueckii* หรือ *Pediococcus soyae*

- ยีสต์ ที่สำคัญ เช่น *Saccharomyces rouxii*

เชื้อราจะทำหน้าที่ผลิตเอนไซม์ 3 ชนิด ได้แก่ อะไมเลส(amylase) โปรทีเอส (pretease) และไลเปส (lipase) ออกมาย่อยสลายแป้งและน้ำตาล, โปรตีน, ไขมัน ทำให้ได้สารโมเลกุลเล็กลง กลายเป็นกรดอะมิโน กรดไขมัน เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้ทำให้เกิดกลิ่นรสเฉพาะตัวของซีอิ๊วและเป็นแหล่งอาหารสำหรับเชื้อแบคทีเรีย และยีสต์ ในกระบวนการหมักขั้นต่อไปซึ่งเกิดขึ้นในน้ำเกลือ โดยแบคทีเรียแลคติกจะทำหน้าที่ผลิตกรดแลคติก และกลีซิน แลคติกที่ผลิตออกมาจะทำให้ค่าความเป็นกรดของน้ำหมักซีอิ๊วลดลง อันเป็นการช่วยปรับสภาพให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของยีสต์ ยีสต์เองก็มีความสำคัญโดย จะทำหน้าที่ผลิตแอลกอฮอล์และสารให้กลิ่นรสที่ดีของซีอิ๊ว

2. ถั่วเหลือง เป็นแหล่งอาหาร โปรตีน แป้ง และไขมัน จะกล่าวถึงรายละเอียดตัวนี้ในภายหลัง

3. แป้งสาลี เป็นแหล่งอาหารให้จุลินทรีย์โดยเฉพาะเชื้อรา ซึ่งจะหมักต่อไปจนได้น้ำตาล แอลกอฮอล์และกรดอินทรีย์หลายชนิดโดยเฉพาะกรดกลูตามิก ซึ่งจะช่วยลดความชื้นของถั่วเหลืองให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อราและในขณะเดียวกันช่วยทำให้แบคทีเรีย ที่ไม่ต้องการเจริญเติบโตลดจำนวนลง เพิ่มความสมบูรณ์ของสารอาหารที่จุลินทรีย์ต้องการเจริญเติบโตและสร้างน้ำย่อยสลายโปรตีนในถั่ว จากเอนไซม์ที่ได้จากโคจิให้เป็นไปอย่างรวดเร็ว

4. เกลือ จะใช้ได้ทั้งเกลือทะเลและเกลือสินเธาว์ โดยทั่วไปนิยมใช้เกลือทะเล เป็นสารให้ความเค็ม ป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการปะปนในกระบวนการหมัก

5. น้ำ มีหน้าที่ละลายเกลือให้อยู่ในรูปของสารละลาย

วัตถุดิบหลักที่ใช้ในกระบวนการผลิตซีอิ๊วมีดังนี้

1) หัวเชื้อจุลินทรีย์ ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหมักมี 3 กลุ่ม ได้แก่ เชื้อรา จะทำหน้าที่ผลิตเอนไซม์ 3 ชนิด ได้แก่ อะไมเลส โปรตีเอส และไลเปส ออกมาย่อยสลายแป้ง โปรตีน และไขมัน ทำให้ได้สารโมเลกุลเล็กหลายชนิด เช่น กรดอะมิโน กรดไขมัน เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้ทำให้เกิดกลิ่นรสเฉพาะตัวของซีอิ๊วและเป็นแหล่งอาหารสำหรับเชื้อแบคทีเรียแลคติก เชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลคติก เกิดขึ้นในกระบวนการหมักขั้นตอนการเติมน้ำเกลือ แบคทีเรียแลคติกจะทำหน้าที่ผลิตกรดแลคติกซึ่งมีกลิ่นเฉพาะ กรดที่ผลิตออกมาจะทำให้ค่า pH ของน้ำหมักซีอิ๊วลดลง ช่วยปรับสภาพให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของยีสต์ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ผลิต แอลกอฮอล์และสารให้กลิ่นรสที่ดีแก่ซีอิ๊ว

2) ถั่วเหลือง เป็นแหล่งอาหาร โปรตีน แป้ง และไขมัน โดยปกติในประเทศไทยจะใช้ถั่วเหลือง แต่ในบางประเทศเช่น ประเทศญี่ปุ่นนิยมใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมัน เป็นวัตถุดิบในการผลิตซีอิ๊ว เพราะนอกจากเป็นการลดต้นทุนแล้วยังทำให้ได้ปริมาณของไนโตรเจนในซีอิ๊วสูงกว่าการใช้ถั่วทั้งเมล็ด และ ใช้เวลาในการหมักเร็วกว่า

3) แป้งสาลี ช่วยลดความชื้นในถั่วหนึ่งจากร้อยละ 60 เป็น 45 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อหมัก ในขณะที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ และยัง เป็นแหล่งอาหารให้เชื้อราในโคจิเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ ซึ่งเป็นตัวกลางของน้ำตาล แอลกอฮอล์ และกรดอินทรีย์ หลายชนิดโดยเฉพาะ กรดกลูตามิก ทำให้เกิดสารกลิ่น รส ขึ้นในซีอิ๊ว นอกจากนี้ แป้งยังช่วยเพิ่มคุณสมบัติของสารอาหารที่จุลินทรีย์ต้องการเจริญได้ดีและสร้างน้ำย่อยสลาย โปรตีนในถั่ว ให้ซีอิ๊วเป็นไปอย่างรวดเร็ว

4) เกลือ เกลือเป็นสารอาหารที่สำคัญต่อร่างกายมนุษย์ เกลือเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของซีอิ๊ว สามารถป้องกันการสุกเกินไปของวัตถุดิบ ป้องกันการเกิดการเสื่อมเสีย และเป็นแหล่งให้รสเค็ม

5) น้ำ หน้าที่ละลายเกลือให้อยู่ในรูปของสารละลาย น้ำที่ใช้ต้องเป็นน้ำที่มีคุณภาพดีเพราะเป็นสิ่งสำคัญที่สุดในการผลิตและมีผลต่อ สี-กลิ่นและรส ของผลิตภัณฑ์โดยตรง ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะต้องใช้น้ำที่มีมาตรฐานเป็นไปตามมาตรฐานของน้ำดื่ม

สำหรับขั้นตอนการผลิตซีอิ๊วนั้นสามารถทำได้ดังนี้

การผลิตซีอิ๊วในช่วงแรกก็จะเป็นการเตรียมถั่วเหลืองโดยการนำถั่วเหลืองมาล้างให้สะอาด คัดเลือกเอาส่วนที่ไม่ต้องการออกไป จากนั้นนำไปแช่น้ำนาน 15 ชั่วโมง เมื่อถั่วนิ่มตัวแล้วก็นำเอา ถั่วเหลืองที่นิ่มไปนึ่งหรือต้มให้สุกโดยใช้หม้อต้มความดัน จากนั้นก็นำมาทำให้สะเด็ดน้ำและปล่อยให้

เย็นถึงอุณหภูมิห้อง นำมาถั่วเหลืองกับแป้งสาลีคลุกเข้าด้วยกัน เดิมชื่อ *A. oryzae* และ *A. sojae* ร้อยละ 0.1-0.2 (Hesseltine, 1965 ; Yong and Wood, 1974) ในทางปฏิบัติเชื้อผสมประกอบด้วย *A. oryzae* ร้อยละ 80 และ *A. sojae* ร้อยละ 20 (Yokotsuka, 1960) เทส่วนผสมลงในกระตัง วางบนชั้นในห้องบ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิประมาณ 25-30 °C เชื้อราจะเจริญและมีผลทำให้อุณหภูมิของเชื้อหมักสูงขึ้น ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องกลับเชื้อหมักบ้างประมาณ 2-3 ครั้งต่อวัน (Yokotsuka, 1960) หลังจากเวลาผ่านไป 3 วัน เชื้อราจะมีสีเขียวอมเหลืองตามสีของสปอร์เชื้อราเรียกว่า โคจิ

หลังจากการผ่านการเลี้ยงเชื้อจนได้โคจิแล้วก็จะได้เป็นแผ่นแห้งพอสมควร ซึ่งก็จะนำไปเรียงใส่ในโถงมังกรขนาดใหญ่จนเกือบเต็ม หรือ 3/4 ของโถง จากนั้นก็เตรียมน้ำเกลือความเข้มข้น 17-20% ใส่เข้าไปในโถง โดยให้มีปริมาตรของลูกแป้งต่อน้ำเกลือเป็น 1 ต่อ 1-2 เท่า จากนั้นก็ปิดฝาเพื่อกันแมลงและน้ำฝนเข้า นำโถงไปตั้ง ตากแดดไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการหมัก ซึ่งถ้าเป็นฤดูร้อนก็จะใช้เวลา 3-4 เดือนก็จะได้ที่ แต่ถ้าเป็นฤดูฝนหรือฤดูหนาวก็จะกินเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 4-6 เดือน ในช่วงของการหมักในโถงมังกรนี้เรียกส่วนที่อยู่ในโถง เรียกว่า โมโรมิ อาจเปิดฝามากวนบ้างเป็นบางโอกาส และในช่วงนี้จะเกิดปฏิกิริยาทางเคมีอันเนื่องมาจากน้ำย่อยต่างๆ มากมายรวมทั้งมีจุลินทรีย์อีกบางประเภทรวมด้วยกันเช่น โปรตีนจะถูกย่อยเป็นเปปไทด์ (peptide) และกรดอะมิโนจากน้ำย่อยที่สร้างขึ้นโดยเชื้อรา ในช่วงแรกแป้งจะถูกย่อยเป็นสื่อน้ำตาลจากน้ำย่อยของเชื้อราในที่เลี้ยง ในช่วงแรกน้ำตาลนี้จะถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดแลกติก แอลกอฮอล์ แลคคาร์บอนไดออกไซด์ความเป็นกรดของโมโรมิก็จะเพิ่มขึ้น คือ pH เปลี่ยนจาก 6.5-7 เป็น 4.5-4.8 ปริมาณเกลือที่ใส่เข้าไปโดยมี 17-19% ก็จะกำจัดเชื้อบางตัวออกไป และจะเหมาะสมในการให้เชื้อที่ต้องการเจริญเติบโตอันได้แก่พวก *Lactobacillus delbrueckii*, *Pediococcus holophilus*, *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces hanseni* ซึ่งเชื้อยีสต์และแบคทีเรียเหล่านี้จะสร้างกรดและแอลกอฮอล์ทำให้กลิ่นและรสชาติของชีอิ้วเป็นไปตามที่ชอบมากขึ้น เมื่อผ่านการหมักในช่วงโมโรมิซึ่งสมบูรณ์หรือได้ที่แล้วมีอายุการหมักอย่างน้อย 3 เดือน สามารถนำมาสกัดเอาเฉพาะน้ำ เรียกว่าชีอิ้วดิบ ตั้งชีอิ้วดิบทิ้งไว้ให้ตกตะกอนเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นนำไปผ่านการต้มฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 65-80 °C จากนั้นจึงนำไปกรองเพื่อกำจัดเอาตะกอนที่มีอยู่ออกไปก่อนบรรจุขวดจะได้ชีอิ้วที่มีสีน้ำตาลปนแดงสด กลิ่นหอม รสเค็มพอสมควร และมีรสชาติที่น่ารับประทาน

ชีอิ้วมีถั่วเหลืองเป็นแหล่งของสารอาหารทั้งโปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ และวิตามิน ฉะนั้นการนำถั่วเหลืองมาทำเป็นชีอิ้ว สารอาหารโปรตีนก็ยังเป็นสารอาหารหลัก เพียงแต่ชนิดของโปรตีนจะอยู่ในลักษณะที่ถูกย่อยแล้วให้มีขนาดของโมเลกุลเล็กลง หรือปรากฏในรูปของกรดอะมิโน มากขึ้น อันเป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์จากจุลินทรีย์ ปริมาณของกรดอะมิโนกลูตามิก จะเป็นตัวทำให้เพิ่มรสชาติของผลิตภัณฑ์ให้น่าบริโภคมากขึ้น ขณะเดียวกันกรดไขมันและน้ำตาลในถั่วเหลืองจะถูกย่อยสลายและเปลี่ยนแปลงเป็นสารให้กลิ่นหอม มีสีเหลืองทองหรือสีน้ำตาล ขวนให้น่าบริโภค

ผลจากการที่มีเอนไซม์จากจุลินทรีย์ผลิตขึ้นมาย่อยสารอาหารในถั่วเหลืองทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง สี กลิ่น และเปลี่ยนเป็นรูปสารอาหารที่ถูกย่อยและดูดซึมได้ง่ายขึ้น ซึ่งเป็นผลดีในด้านโภชนาการ คุณสมบัติและองค์ประกอบของซีอิ๊วจึงขึ้นอยู่กับ อัตราส่วนของถั่วเหลืองและแป้งข้าวสาลีที่ใช้ในการหมัก ในการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีระหว่างกระบวนการหมักเป็นการย่อยสลายของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมและการพิจารณาถึงคุณค่าของซีอิ๊วจึงพบว่าซีอิ๊วที่มีการผลิตและจำหน่ายในท้องตลาดของบ้านเราจึงมีอยู่หลายลักษณะดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 มาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วของกระทรวงอุตสาหกรรม

คุณลักษณะ	ชนิด					
	ซีอิ๊วขาว		ซีอิ๊วดำเค็ม		ซีอิ๊วดำ	ซีอิ๊วหวาน
	ชั้นพิเศษ	ชั้นที่หนึ่ง	ชั้นพิเศษ	ชั้นที่หนึ่ง		
ปริมาณของแข็งที่ระเหยไม่ได้ร้อยละของน้ำหนัก	32	32	35	32	50	50
เกลือ (คิดเป็นโซเดียมคลอไรด์)						
ร้อยละของน้ำหนัก	17-23	17-23	17-23	17-23	6-16	ไม่เกิน 1
น้ำตาลทั้งหมด(คิดเป็นน้ำตาลอินเวอर्ट)ไม่เกินร้อยละของน้ำหนัก	7	6	12	10	25	80
ความเป็นกรด – ต่าง (pH)	4.5-5.3	4.5-5.3	4.5-5.3	4.5-5.3	4.5-5.5	4.5-5.5
ความถ่วงจำเพาะที่ อุณหภูมิ 27 ± 3°ซ	ไม่น้อยกว่า 1.20	1.20	1.23	1.23	1.33	ไม่กำหนด

ที่มา: วันชัย สมชิต. (2527)

คุณค่าทางโภชนาการของซีอิ๊ว

เนื่องจากในซีอิ๊วมีถั่วเหลืองเป็นแหล่งของสารอาหารทั้งโปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ และวิตามินที่สูง ฉะนั้นการนำถั่วเหลืองมาทำเป็นซีอิ๊ว สารอาหารโปรตีนก็ยังเป็นสารอาหารหลัก เพียงแต่ชนิดของโปรตีนจะอยู่ในลักษณะที่ถูกย่อยแล้วให้มีขนาดของโมเลกุลเล็กลง หรือปรากฏในรูปของกรดอะมิโน มากขึ้น อันเป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์จากจุลินทรีย์ ปริมาณของกรดอะมิโนกลูตามิกจะเป็นตัวทำให้รสชาติของผลิตภัณฑ์ซีอิ๊วน่าบริโภคมากขึ้น ขณะเดียวกันกับ กรดไขมันและน้ำตาลในถั่วเหลืองจะถูกย่อยสลายและเปลี่ยนแปลงเป็นสารให้กลิ่นหอม มีสีเหลืองทองหรือสีน้ำตาล ชวนให้น่าบริโภค ผลจากการที่มีเอนไซม์ จากจุลินทรีย์ผลิตขึ้นมาย่อยสารอาหารในถั่วเหลืองส่วนน้อยถูกเปลี่ยนแปลงเป็นสี กลิ่น แล้วส่วนใหญ่ก็จะอยู่ในรูปสารอาหารที่ถูกย่อยและดูดซึมได้ง่ายขึ้นป็นผลดี

ในด้านของโภชนาการ ซีอิ๊วเป็นสารซูริสเพื่อก่อให้เกิดการบริโภคอาหารโดยส่วนรวมเพิ่มมากขึ้น ซีอิ๊วมีรสเค็มทำให้การบริโภคมีน้อย ฉะนั้นแม้จะมีปริมาณโปรตีนอยู่สูงแต่ก็ไม่ถือว่าเป็นแหล่งของโปรตีนหลักที่จะให้กับร่างกาย อย่างไรก็ตามเนื่องจากซีอิ๊วเป็นสารที่ให้สี กลิ่นและรส นำมาทำให้การบริโภคอาหารได้ปริมาณเพิ่มขึ้นหรือก่อให้เกิดการอยากบริโภคมากขึ้นโดยที่ตัวซีอิ๊วเองก็มีคุณค่าทางโภชนาการอยู่แล้ว แต่ในซีอิ๊วมีปริมาณเกลืออยู่ด้วย เนื่องจากมีความจำเป็นต้องใช้เป็นตัวจำกัดชนิดของจุลินทรีย์ที่ต้องการ ขณะเดียวกันก็ใช้เป็นสารช่วยยืดอายุในการเก็บรักษาให้มีอายุการเก็บยาวนานขึ้นด้วย ลดปริมาณความร้อนที่จะเข้ามาเกี่ยวข้องเพื่อการเก็บรักษา ความจำเป็นที่ดังกล่าวยังใช้เกลือเป็นสิ่งที่จำกัดต่อบุคคลที่จะบริโภคด้วย ในกรณีของบุคคลที่แพ้ยาลดความเค็มปริมาณการบริโภคเกลือ เช่น คนที่เป็นโรคความดันโลหิตสูง

การพัฒนาทางด้านเทคโนโลยีในการผลิตซีอิ๊วจะเพิ่มความปลอดภัยและคุณภาพที่ดีของซีอิ๊ว ปลอดภัยคือความปลอดภัยจากสารเคมีตกค้างในถั่ว ถั่วเหลืองหรือวัตถุดิบอื่น ๆ ที่นำมาใช้งานควรที่จะผ่านขั้นตอนการทำความสะอาดอย่างถูกวิธี และลดปริมาณของสารตกค้างที่ติดมาในรูปของยาฆ่าแมลงและสารอื่น ๆ ที่ปนเปื้อนมาในช่วงหลังการเก็บเกี่ยว

ความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ เหตุที่ซีอิ๊วจะต้องมีการใช้จุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ อยู่แล้ว ฉะนั้นในบางกรณีเมื่อสภาวะของการใช้เกลือไม่พอเหมาะการใช้ความร้อนไม่พอเหมาะ การดูแลเก็บรักษาไม่ดีพอ ทำให้จุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ปนเปื้อนลงไปและเจริญเติบโตได้ดี จุลินทรีย์บางตัวไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงใด ๆ ที่เกิดขึ้นแต่สามารถสร้างสารพิษที่ทนต่อสภาวะต่าง ๆ ได้ดีและส่งผลเสียแก่ผู้บริโภค

คุณสมบัติในทางเคมีของซีอิ๊ว

คุณสมบัติและองค์ประกอบของซีอิ๊วขึ้นอยู่กับ อัตราส่วนของถั่วเหลืองและแป้งข้าวสาลีที่ใช้ในการหมัก ในการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีระหว่างกระบวนการหมักเป็นการย่อยสลายของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต โดยในตอนแรกจะเป็นการหมักแบบแลคติก (lactic fermentation) ต่อมาจึงเป็นการหมักแบบ alcoholic fermentation โดยยีสต์

สารอินทรีย์ที่พบในซีอิ๊วแบ่งได้ดังนี้

1. สารประกอบพวกไนโตรเจน (Nitrogen Compounds) อยู่ในรูปกรดอะมิโน 40 – 50 % แอมโมเนีย 10-15%, เปปไทด์และ เปปไทน์ 40-50%, โดยกรดอะมิโนในกลูตามิกจะเป็นตัวบ่งบอกว่าซีอิ๊วที่ได้จากการหมักมีระยะเวลาในการหมักที่เหมาะสมและมีคุณภาพดีหรือไม่ กล่าวคือ ถ้ามีปริมาณกรดอะมิโนกลูตามิกมาก แสดงว่าซีอิ๊วนั้นหมักได้นานและมีคุณภาพดี
2. คาร์โบไฮเดรต อยู่ในรูปน้ำตาลต่าง ๆ โดยทั่วไปจะมี กลูโคส 0.75% กาแลคโทส 0.302-0.482% อะราบินอส 0.166-0.387% ซาโลส 0.082-0.341% นอกจากนั้นยังพบมอลโทส และน้ำตาลแอลกอฮอล์ อีกด้วย

3. กรดอินทรีย์ ที่สำคัญได้แก่กรดแลคติก กรดอะซีติก กรดซักซินิก กรดฟอร์มิก ทั้งนี้กรดแลคติกเป็นกรดที่มีปริมาณมากที่สุดและสำคัญมากกว่ากรดชนิดอื่น

4. เบสอินทรีย์ ที่สำคัญได้แก่ แอดีนีน (adenine) กัวนีน (guanine) ไซโทซีน (cytosine) ยูเรซิล (uracil) , ไฮโปแซนทีน (hypoxanthine) และ แซนทีน (xanthine) นอกจากนี้แล้ว ยังมีสารที่ให้กลิ่นและรสชาติ

ข้อมูลของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองมีชื่ออื่นๆ คือ ถั่วพระเหลือง มะถั่วเน่า ถั่วหนัง (ภาคเหนือ) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Glycine max* (L.) Merr. ชื่อสามัญ Soya bean, Soy bean อยู่ในวงศ์ LEGUMINOSAE โดยถั่วเหลืองมีถิ่นกำเนิดที่บริเวณหุบเขาแม่น้ำเหลือง (ประมาณเส้นรุ้งที่ 35 องศาเหนือ) ประเทศจีน การจารึกครั้งแรกเกี่ยวกับถั่วเหลือง เมื่อ 2295 ปีก่อนพุทธกาล ที่หุบเขาแม่น้ำเหลืองจากนั้นถั่วเหลืองได้แพร่กระจายสู่ประเทศเกาหลีและญี่ปุ่น เมื่อ 200 ปีก่อนคริสตกาล แล้วเข้าสู่ยุโรปในช่วงหลัง พ.ศ. 2143 และไปสู่สหรัฐอเมริกาในปี พ.ศ. 2347 จากนั้นกว่า 100 ปี ชาวอเมริกันได้ปลูกถั่วเหลืองเพื่อเป็นอาหารสัตว์ใช้เลี้ยงวัวโดยไม่ได้นำเมล็ดมาใช้ประโยชน์อย่างอื่น จนถึงปี พ.ศ. 2473 สหรัฐอเมริกาได้นำพันธุ์ถั่วเหลืองจากจีนเข้าประเทศกว่า 1,000 สายพันธุ์ เพื่อการผสมและคัดเลือกพันธุ์ ทำให้ได้เมล็ดพันธุ์ที่มีเมล็ดโต ผลผลิตสูง เหมาะแก่การเพาะปลูก

ลักษณะของต้นถั่วเหลืองเป็นพืชล้มลุก สูงประมาณ 1-2 เมตร ลำต้นสีเหลี่ยมปกคลุมด้วยขนสีเทาขาว ใบเป็นใบประกอบแบบนิ้วมือ ใบประกอบด้วยใบย่อย 3 ใบ รูปร่างคล้ายรูปไข่ปลายแหลมใบค่อนข้างหนาผิวมันทั้งด้านบนและด้านล่าง ดอกเป็นช่อสีขาวหรือม่วงแดง ออกดอก เมื่ออายุประมาณ 25-30 วัน เก็บเกี่ยวอายุประมาณ 90-100 วันฝักแบนขาวติดเป็นกระจุกที่ข้อของต้น และ กิ่งในฝักมีเมล็ด 3-5 เมล็ด รูปไข่ เมล็ดกลม ผิวสีเหลืองมัน ดาค่อนข้างเล็ก สีน้ำตาลอ่อน ในประเทศไทยสามารถปลูกถั่วเหลืองได้ทั้งตลอด 3 ฤดูกาล ซึ่งการปลูกอาจต้องปรับสภาพดินให้เหมาะสมก่อน pH ประมาณ 5.5-6.5 และเตรียมเมล็ดโดยมีการผสมกับเชื้อไรโซเบียม ในการผสมกับเชื้อชนิดนี้นิยมใช้กับถั่วเหลืองเท่านั้น ถั่วเหลืองต้องการน้ำประมาณ 300-400 มิลลิเมตรตลอดฤดูปลูก ช่วงที่สำคัญที่ไม่ควรขาดน้ำ คือ ช่วงการงอกและช่วงออกดอกอายุการเก็บเกี่ยวของถั่วเหลืองจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ซึ่งอยู่ในช่วงประมาณ 60 -110 วัน

ถั่วเหลืองขยายพันธุ์โดยเพาะเมล็ด ประเทศไทยสามารถปลูกถั่วเหลืองได้ทั้งปี ปีละ 3 ฤดู การปลูกอาจต้องปรับสภาพดินให้เหมาะสมก่อน pH ประมาณ 5.5 - 6.5 และเตรียมเมล็ดโดยการคลุกเชื้อไรโซเบียม การคลุกเชื้อไรโซเบียมต้องใช้เชื้อที่ใช้กับถั่วเหลืองเท่านั้น ถั่วเหลืองต้องการน้ำ

ประมาณ 300 - 400 มิลลิกรัม ตลอดฤดูปลูก ช่วงที่สำคัญที่ไม่ควรขาดน้ำคือช่วงการงอกและช่วงออกดอก อายุการเก็บเกี่ยวของถั่วเหลืองจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ซึ่งอยู่ในช่วงประมาณ 60-110 วัน

สารอาหารหลักในถั่วเหลืองคือโปรตีน โปรตีนของถั่วเหลืองจะถูกสะสมในเซลล์ของเนื้อถั่วเหลือง โดยสะสมกันเป็นที่เรียกว่า Protein bodies หรือ Storage Proteins ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 2 - 20 ไมครอน แต่ส่วนใหญ่มีขนาด 5 - 8 ไมครอน และมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงของ 200,000-600,000 ในสภาวะธรรมชาติโมเลกุลของโปรตีนขนาดใหญ่เหล่านี้ยังสามารถจับตัวกันเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ได้อีกด้วยการเชื่อมกันของพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide linkage polymer) และโปรตีนที่แยกมาได้เพื่อทำเป็นผลิตภัณฑ์นั้นจะเป็นชนิดของโปรตีนที่เปลี่ยนสภาพ โดยการเกิดปฏิกิริยาที่ซับซ้อนรวมกันอยู่โดยที่อย่างน้อย 7 ชนิด ของโปรตีนจะจับกันเป็นกลุ่มย่อย ซึ่งอาจถูกทำให้โมเลกุลเปลี่ยนขนาดไปโดยสภาวะต่างๆ เนื่องจากโปรตีนในถั่วเหลืองส่วนใหญ่เป็นโปรตีนประเภทก้อนกลม ซึ่งมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำในสภาวะที่มี pH อยู่ในช่วงที่เรียกว่า จุดไอโซอิเล็กทริก ซึ่งเป็นจุดที่มี pH ประมาณ 4.2 - 4.6 ถ้า pH สูงหรือต่ำกว่าจุดไอโซอิเล็กทริก โกลบูลินก็จะยังคงสามารถละลายได้ในสภาวะที่ไม่มีเกลืออยู่ แต่ถ้ามีเกลือโปรตีนก็สามารถละลายน้ำได้เช่นกัน อย่างไรก็ตามโปรตีนถั่วเหลืองนั้นจะไวต่อการเปลี่ยนแปลงในสภาวะการต่างๆ ทั้งทางกายภาพและเคมี

การเปลี่ยนจากสภาพธรรมชาติของโปรตีน(denaturation)ในถั่วเหลืองเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุดังนี้

1) การเปลี่ยนแปลงเนื่องจากความร้อน ในการนำเอาถั่วเหลืองไปแปรรูปเป็นอาหารจำเป็นจะต้องนำไปผ่านขั้นตอนของความร้อนต่างๆซึ่งมีผลทำให้สภาพโปรตีนของถั่วเหลืองเปลี่ยนแปลงไป เช่น การละลายของโปรตีนในน้ำ หรือในสารละลายเกลือ เป็นต้น ซึ่งผลจากการใช้ความร้อนต่อถั่วเหลืองที่มีไขมันและปราศจากไขมันในช่วงเวลาต่างๆและที่ความดันบรรยากาศต่างๆ จะพบว่าโปรตีนจะมีการละลายได้ในน้ำลดลงอย่างรวดเร็ว จากการที่ถูกความร้อน

2) การเปลี่ยนแปลงเนื่องจากกรดเบส การเปลี่ยนแปลง pH จะมีผลให้โปรตีนโกลบูลินในถั่วเหลืองเปลี่ยนสภาพไป ถ้าค่าของ pH สูง เช่น pH 12 จะทำให้เปลี่ยนโครงสร้างโมเลกุลย่อยและเป็นปฏิกิริยาที่ไม่สามารถเกิดย้อนกลับที่เดิม เมื่อปรับสภาวะของ pH ให้เป็นกลาง และถ้าค่า pH ต่ำลง ก็จะทำให้เกิดการแตกตัวของ โครงสร้างจตุรภูมิ และไม่สามารถกลับสภาพเดิมได้เช่นกัน

3) การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเนื่องจากตัวทำละลายต่างๆ เช่น เมทานอล เอทานอล อะซิโตนีมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนโกลบูลิน ตัวทำละลายเหล่านี้ถ้าอยู่ในรูปของสารละลายในน้ำจะมีผลทำให้การเปลี่ยนแปลงได้มากกว่าที่อยู่ในรูปของสารบริสุทธิ์ การทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของตัวทำละลายต่อโปรตีนนั้นจะเกิดขึ้นสมบูรณ์ภายในเวลาประมาณ 5 นาที ความสามารถของแอลกอฮอล์ โมเลกุลต่ำ ที่เปลี่ยนสภาพโปรตีนจะเพิ่มขึ้นตามขนาดความยาวของโมเลกุลเพิ่มขึ้น เกิดจากการที่โครงสร้างของโมเลกุลเป็นลักษณะมีไฮโดรโฟบิก ผังอยู่ด้านในทำให้โมเลกุลทนต่อ

ความร้อนในขณะอยู่ในน้ำแอลกอฮอล์ซึ่งสามารถซึมเข้าไปด้านในของโมเลกุลได้ จึงทำให้แขนของโมเลกุลแตกหักได้เมื่อเทียบกับน้ำซึ่งทำให้แขนของไฮโดรเจนแตกหักได้เฉพาะบริเวณผิวและทำให้เกิดเป็นลักษณะมีขั้วมาก ฉะนั้นน้ำจึงอาจเป็นเหตุผลการที่สารละลายของตัวทำละลายในน้ำมีประสิทธิภาพในการทำให้เปลี่ยนแปลงโปรตีนมากกว่า

นอกจากในถั่วเหลืองจะมีโปรตีนที่เป็นสารอาหารหลักแล้วยังมีคาร์โบไฮเดรตเป็นสารอาหารอีกชนิดหนึ่ง โดยคาร์โบไฮเดรตที่พบในถั่วเหลืองมี 2 ประเภท คือ คาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ ได้แก่ น้ำตาล ต่างๆ เช่น ซูโครส เรฟฟิโนส (raffinose) สตาร์ชีโอส (stachyose) เวอร์บาโคส (verbascose) นอกจากนี้อีกประเภทหนึ่งคือ คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ละลายน้ำ ส่วนใหญ่พบในใบเลี้ยง เป็นสารพวกที่มีโครงสร้างที่ซับซ้อนคือ เป็นน้ำตาลหลายโมเลกุล

ถั่วเหลืองจะมีกลิ่นเฉพาะตัวอันเนื่องมาจากสารอินทรีย์ในถั่วที่ทำให้ถั่วเหลืองมีกลิ่นได้แก่ สารฟีนอลิก (phenolic acid) สารนี้พบในพืชโดยทั่วไป มีปริมาณไม่มาก บทบาทของสารฟีนอลิก ในถั่วเหลืองจัดว่ามีความสำคัญอันหนึ่ง โดยเป็นสารร่วมที่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นในแป้งถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง และสารที่ให้กลิ่นอื่นๆ ส่วนใหญ่แล้วจะเกี่ยวข้องกับสารที่ให้กลิ่นในถั่วเหลือง และสารที่เกิดขึ้นในช่วงของการแปรรูปถั่วเหลือง หรือเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ในธรรมชาติของถั่ว เช่น ลิพิดออกซิเดส (lipidoxidase) นอกจากนี้ยังมีสารประกอบบางประเภท ที่อาจรวมตัวกับโปรตีนหรือหรือสารอื่นๆในถั่วเหลืองอีกด้วย ทำให้ได้สารที่มีสมบัติให้กลิ่นเฉพาะ

แต่อย่างไรก็ตามถั่วเหลืองจัดเป็นวัตถุดิบหลักที่มีความสำคัญต่อวงการอุตสาหกรรมการหมักทั้งผลิตเป็นเต้าเจี้ยว ซีอิ๊วซึ่งยังไม่ค่อยมีปรากฏการรายงานการใช้ถั่วชนิดอื่นๆมาเป็นวัตถุดิบหลักแทน

ข้อมูลถั่วมะแฮะ

ถั่วมะแฮะ (Pigeon Pea) เป็นถั่วชนิดหนึ่งซึ่งมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cajanus cajan* Millsp. ถั่วนี้มีถิ่นกำเนิดที่ทวีปแอฟริกา แล้วมีการแพร่กระจายไปสู่ประเทศในแถบ อเมริกา อินเดีย ออสเตรเลีย ฮาวาย อินเดีย ต้นของถั่วมะแฮะมีลักษณะเป็นไม้พุ่ม มีความสูงประมาณ 1.2 - 3 เมตร ใบมีรูปทรงคล้ายดอก ปลายแคบ (กอง-พฤกษศาสตร์และวัชพืช. 2549: ออนไลน์) ยาวประมาณ 5 - 10 เซนติเมตร และมีขนบางๆ ทั้ง 2 ด้าน ดอกสีเหลืองด้านหลังกลีบดอกมีสีน้ำตาล เส้นผ่านศูนย์กลางดอกประมาณ 2 เซนติเมตร ฝักมีความยาวประมาณ 5 - 7.6 เซนติเมตร ความกว้างประมาณ 1.3 เซนติเมตร ปลายฝักมีขน เมล็ดมีเส้นผ่านศูนย์กลาง ประมาณ 0.6 เซนติเมตร มีสีน้ำตาลและมีรูเล็ก ดังแสดงในรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 ต้นถั่วมะแฮะ

ถั่วมะแฮะสามารถขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด ปลูกง่ายและสามารถปลูกได้เกือบทุกพื้นที่ เนื่องจากเป็นพืชทนแล้งเติบโตเร็ว ในประเทศไทยเรานิยมปลูกถั่วมะแฮะเพื่อใช้ประโยชน์ทางด้านเกษตรกรรมโดยปลูกเป็นพืชคลุมดิน เพื่อปรับ บำรุงสภาพดินและยังนำไปใช้ในการผลิตอาหารสัตว์ เช่น อาหารลูกโคนม อาหารไก่ไข่ เป็นต้น ส่วนในประเทศอื่น เช่น ที่ประเทศอินเดียนิยมปลูกถั่วมะแฮะเพื่อเป็นแหล่งอาหารโปรตีน โดยการใช้เมล็ดแปรรูปเป็นอาหารโปรตีนสำหรับมนุษย์ (Sing Hu.1991)

ลักษณะทางกายภาพของเมล็ดถั่วมะแฮะมีเปลือกห่อหุ้มเมล็ดหนา เนื้อถั่วแข็งการเพาะปลูก ถั่วมะแฮะสามารถปลูกร่วมกับธัญพืชอื่นๆ เช่น ข้าวฟ่าง ข้าวเดือยหรือข้าวโพด การเพาะปลูกถั่วมะแฮะนั้นมีทั้งระยะยาว (5-12 เดือน) กับระยะสั้น (3-4 เดือน) ซึ่งขึ้นอยู่กับความเหมาะสมในการเก็บเกี่ยว และขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ เช่น การใช้ปุ๋ย การชลประทาน และการใช้ยาฆ่าแมลง ซึ่งจะได้ผลผลิตของถั่วมะแฮะต่ำโดยเฉลี่ย 70 กิโลกรัมต่อเฮกเตอร์ ในปัจจุบันมีการพัฒนาการเพาะปลูกใหม่ เนื่องจากมีความต้องการถั่วมะแฮะสูงขึ้น และมีผลกำไรสูงขึ้น ปัจจุบันพื้นที่ผลิตถั่วมะแฮะที่มีอยู่ทั่วโลกสามารถผลิตถั่วมะแฮะได้ประมาณ 46000 ลูกบาศก์กิโลเมตร โดยผลิตได้มากที่สุดที่ประเทศอินเดียซึ่งสามารถผลิตได้ถึงร้อยละ 82 ของปริมาณถั่วมะแฮะทั้งหมด

โดยทั่วไปถั่วมะแฮะสามารถใช้ประโยชน์ได้ตั้งแต่รากถึงยอด และที่พบกันมาก คือนำมา เป็นปุ๋ยพืชสด ปลูกเพื่อปรับสภาพดิน และนำมาเป็นอาหารสัตว์ เป็นผักพื้นเมืองผักอ่อนบริโภค พร้อมกับส้มตำ ใช้จิ้มเมี่ยง ใช้ลวกจิ้มน้ำพริก การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับถั่วมะแฮะเพื่อนำมาประกอบอาหารในประเทศไทยมีหลายประเภท เช่น ปี พ.ศ. 2532 สมชาย ประภาวัต ศึกษาการทำและการ

ยอมรับเต้าส่วนจากถั่วมะแฮะพันธุ์ต่างๆเปรียบเทียบกับถั่วเขียว พ.ศ. 2536 นิรมล ล้อสุริยนต์ ศึกษาการพัฒนาอาหารเข้าสำเร็จรูปชนิดแผ่นจากถั่วมะแฮะ และในปี พ.ศ. 2541 สมชาย ประภาวัต ทำการศึกษาการทำตุ๋นจากถั่วเขียวผิวดำเปรียบเทียบกับถั่วเขียวและถั่วมะแฮะ ทั้งนี้จะเห็นได้ว่ามีการวิจัยเกี่ยวกับการแปรรูปถั่วมะแฮะเพื่อประกอบเป็นอาหารอยู่แล้วบ้าง ส่วนในบางประเทศ เช่น ประเทศอินเดียมีอาหารที่ทำจากถั่วมะแฮะเรียกว่า Turvara Parippu และ Sambhar ประเทศสาธารณรัฐโดมินิแกนและฮาวาย นำถั่วมะแฮะมาแปรรูปเป็นอาหารกระป๋อง เนื่องจากตรวจพบในถั่วมะแฮะที่แก่จัดมีสารอาหารต่างๆ ประกอบด้วย ถั่วมะแฮะสามารถนำไปใช้ได้ทั้งเป็นอาหาร เช่น พวกถั่วแห้ง แป้ง เป็นต้น และยังใช้เป็นอาหารสัตว์เหมือนพวกธัญพืชทั่วไป เมล็ดถั่วที่แห้งอาจนำไปใช้แตกหน่อได้ นำไปทำอาหารซึ่งจะให้รสชาติที่แตกต่างไปจากถั่วชนิดอื่นๆ

ในถั่วมะแฮะมีสารอาหารที่สำคัญโดยจะมี คาร์โบไฮเดรต 63.4 กรัมต่อร้อยกรัม โปรตีน 20.4 กรัมต่อร้อยกรัม ไขมัน 11.5 กรัมต่อร้อยกรัม ของน้ำหนักรวม นอกจากนี้ยัง ประกอบไปด้วย แคลเซียม ฟอสฟอรัส และวิตามิน เอ บี บี1 บี2 และกรดอะมิโน โดยกรดอะมิโนที่สำคัญได้แก่ เมไทโอนีน ไลซีน ทรีโตนเฟน และ ไนอาซิน เมื่อนำถั่วนี้ไปประกอบอาหารร่วมกับพวกธัญพืชอื่น จะให้อาหารที่มีประโยชน์มากขึ้น ถั่วมะแฮะสามารถนำมาใช้ได้เหมือนพวกธัญพืชอื่นๆ (เมล็ดแห้งของธัญพืชนำมาใช้เป็นอาหารได้) เมื่อนำมาใช้เป็นผักต้องให้เมล็ดถั่วเจริญเติบโตได้เต็มที่ยกก่อนแต่ต้องก่อน ที่สีเขียวของถั่วจะหายไปเพราะในชั้นที่เมล็ดถั่วเป็นสีเขียวนี้จะมีสารอาหารมากกว่าถั่วที่เป็นเมล็ดแห้งซึ่งจะมีโปรตีน น้ำตาลและไขมันที่สูง ถ้านำถั่วมะแฮะมาใช้มาเป็นอาหารสัตว์ควรเป็นถั่วมะแฮะที่ปลูกไม่ถึง 5 ปี

นอกจากตัวของถั่วมะแฮะจะนำมาใช้ประโยชน์ในเรื่องอาหารแล้ว ส่วนต่างๆของต้นถั่วมะแฮะไม่ว่าจะเป็นลำต้น ก้าน หรือใบ ก็สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้เช่นกัน เช่นการนำไปใช้เป็นถ่านไม้ รื้อ และ นำมาปลูกหลังคาได้ด้วย ในประเทศไทยได้นำถั่วมะแฮะมาใช้เป็นบ้านของแมลงชนิดต่างๆ เช่น แมลงครั้ง เป็นต้น ต้นถั่วมะแฮะนั้นสามารถใช้นำมาปรับปรุงดินให้อุดมสมบูรณ์มากขึ้นได้ดีกว่าถั่วบางชนิด เพราะเกิดการตรึงไนโตรเจนดีและ ต้นถั่วมะแฮะยังสามารถทนต่อดินที่มีระดับความเข้มข้นของเกลือที่ 0.0005 กรัม / ดิน 1 กรัม ได้จึงเป็นการปรับปรุงดินจาก pH 5 ให้สูงขึ้นเป็น pH 8 นอกจากนี้ต้นไม้ชนิดนี้ยังสามารถต่อต้านสิ่งมีชีวิตพวกนีมาโทด (nematodes) ได้

ถั่วมะแฮะได้รับการสนับสนุนให้ทำการขยายพื้นที่ปลูกในหลายเขต เช่น ในพื้นที่อำเภอบ่อเกลือ จังหวัดน่าน ได้มีการขยายพันธุ์ถั่วมะแฮะ โดยปลูกตามพื้นที่ว่างของชาวบ้านที่อยู่ในเขตบริการของศูนย์การศึกษานอกโรงเรียน เพื่อนำผลผลิตส่วนหนึ่งไปจำหน่ายให้สำนักงานเกษตรอำเภอบ่อเกลือและส่งต่อให้สำนักงานพัฒนาที่ดินจังหวัดน่านไว้เพื่อเตรียมการขยายพันธุ์ และอีกส่วนหนึ่งได้เตรียมไว้เพื่อทดลองทำอาหารเสริมให้เด็กนักเรียน (ปราโมทย์ , 2548)

จากการศึกษาและค้นคว้าข้อมูลของถั่วมะแฮะที่ได้มีการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ นั้น พบว่ามีการแปรรูปของถั่วมะแฮะเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ น้อยมาก เพื่อเพิ่มปริมาณการบริโภคถั่วมะแฮะและเพื่อพัฒนาความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ที่ทำจากถั่วมะแฮะ ถั่วมะแฮะจึงเป็นทางเลือกใหม่เพื่อใช้ทดแทนถั่วเหลืองเพื่อผลิตซีอิ๊ว ซึ่งโดยทั่วไปซีอิ๊วเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากการหมักถั่วเหลืองเป็นหลัก มีรายงานการผลิตซีอิ๊วจากวัตถุดิบชนิดอื่น เช่น ในประเทศฟิลิปปินส์ใช้ถั่วเหลืองผสมจาวมะพร้าว (Soriano et al.,1967) หรือผสมกับเนื้อมะพร้าว (Baens-Arcega.,1966) กับถั่ว mecan pea (Crisostomo et al.,1974) ในประเทศไทยมีรายงานว่ามีการแทนที่ถั่วเหลืองด้วยเมล็ดถั่วมีปีก (winged bean seeds) (Bovounsombat.,1981) เมื่อทำการศึกษาดังกล่าวประกอบโดยรวมของถั่วมะแฮะ พบว่ามีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงกว่าถั่วเหลือง และคุณสมบัติอื่นที่ใกล้เคียงถั่วเหลือง ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำถั่วมะแฮะมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตซีอิ๊ว หรือเพื่อใช้ถั่วมะแฮะในอัตราส่วนที่เหมาะสมในการหมักกับถั่วเหลือง เพื่อให้ได้ซีอิ๊วที่มีรสชาติดีและคุณสมบัติใกล้เคียงกับซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วเหลืองหรือที่มีขายตามท้องตลาด ผลจากการค้นคว้าพบว่าถั่วเหลืองและถั่วมะแฮะมีความแตกต่างกันในเรื่องของปริมาณสารอาหารตามแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 สารอาหารสำคัญในถั่วมะแฮะและถั่วเหลือง

ชนิดสารอาหาร	ถั่วมะแฮะ	ถั่วเหลือง
คาร์โบไฮเดรต (กรัมต่อ 100กรัมของน้ำหนักแห้ง)	63.4	33.5
โปรตีน (กรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง)	20.4	34.1
ไขมัน (กรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง)	11.5	10.0
แคลเซียม	มี	มี
ฟอสฟอรัส	มี	มี
วิตามิน	เอ บี บี1 และบี2	เอ บี บี1 บี2 บี6 บี 12 ดี และอี
กรดอะมิโนสำคัญ	เมทไทโอนีน ไลซีน ทริปโตเฟน	โนอาซีน

ที่มา : ดัดแปลงจาก ศุภชัย สมบัติโค. (2541).

ข้อมูลพื้นฐานจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการวิจัย คือ เชื้อราในสกุลแอสเพอร์จิลลัส ซึ่งพบในธรรมชาติ ฝุ่นละอองในอากาศ ตามผัก ผลไม้ ลักษณะรูปร่างเป็นไมซีเลียมที่แตกแขนง ๆ และมีผนังกัน แต่ละส่วนที่กันแล้วมีนิวเคลียสหลายอัน โคนิดิโอฟอร์เกิดจากฟุตเซลล์ (foot cell) โคนิดิโอฟอร์อาจมีผนังกันหรือไม่ก็ได้ ที่ส่วนปลายของโคนิดิโอฟอร์จะโป่งออกเป็นเวสซิเคิล (Vesicle) และมีส่วนที่ยื่นออกมาเป็นสเตอริกมา (sterigma) ซึ่งอาจมีชั้นเดียว หรือสองชั้นก็ได้ โคนิเดียจะถูกสร้างขึ้นภายในสเตอริกมา โคนิเดียที่สร้างขึ้นภายหลังจะดัน โคนิเดียอันแรก ๆ ออกมาและยังติดต่อกันอยู่จึงเกิดเป็นสายของโคนิเดีย โคนิเดียมีสีต่างๆ กัน และเป็นลักษณะเฉพาะของเชื้อแต่ละชนิดส่วนใหญ่ มีสีดำ น้ำตาล เขียว ในโลกนี้พบว่ามีเชื้อสกุลแอสเพอร์จิลลัส ประมาณ 600 สายพันธุ์ (นงลักษณ์ สุวรรณพิณิจ, 2541) เชื้อราสกุลนี้มีทั้งชนิดที่ให้โทษและให้ประโยชน์จึงมีความสำคัญต่ออาหารหลายด้าน การใช้ประโยชน์จากราสกุลนี้ คือ ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น *A. oryzae* ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการหมักอาหารพื้นเมืองพวกถั่วเหลือง เช่น เมจู ของเกาหลี มิโซ โซยุ ของญี่ปุ่น และเต้าเจี้ยว ซีอิ๊วของจีน และการใช้ผลิตเอนไซม์และกรดอินทรีย์ เช่น *A. niger* ให้ผลิตกรดซิตริก กรดกลูโคนิก กรดทาร์ทาริก กรดออกซาลิก และนอกจากนี้ *A. oryzae* *A. niger* ยังผลิตเอนไซม์อะไมเลส เอนไซม์กลูโคอะไมเลส โดย *A. awamori* เอนไซม์เพคติเนส แล็กเทส กลูโคออกซิเดส คาคะเลส โดย *A. niger* และผลิตเอนไซม์โปรตีเอส โดย *A. oryzae* นอกจากนี้แล้วยังมีราอีกหลายชนิดที่ให้โทษคือ ทำให้อาหารเน่าเสีย เช่น *A. alliaceus* ทำให้หอม กระเทียมเน่าดำ *A. niger* เติบโตในขนมปังสร้างสปอร์สีเขียว น้ำตาล หรือดำ และสร้างสารสีเหลืองแพร่กระจายในขนมปังและ สร้างสารพิษในอาหาร เช่น อะฟลาทอกซิน โดย *A. flavus* *A. parasiticus* ซึ่งพบในอาหารพวกถั่วละสง ข้าวโพด ข้าว ข้าวฟ่าง

ในงานวิจัยนี้ได้คัดเลือกเชื้อราสายพันธุ์ *A. oryzae* บริสุทธิ์จากศูนย์จุลินทรีย์สถาบัน วิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เนื่องจากสมบัติของเชื้อคือสามารถใช้ในอาหารหมัก เพราะช่วยผลิตกรดอินทรีย์ และเอนไซม์ อะไมเลส โปรตีเอส

เอนไซม์อะไมเลสจัดเป็นเอนไซม์ประเภท extracellular enzyme ซึ่งสามารถพบได้ทั้งในพืช สัตว์และจุลินทรีย์หลายชนิด สามารถแบ่งชนิดของเอนไซม์ได้ตามตำแหน่งที่เข้าทำปฏิกิริยา ไฮโดรไลซ์ได้เป็น 2 ประเภท คือ เอนโดอะไมเลสและเอกโซอะไมเลส โดยที่อะไมเลสทั้ง 2 ชนิดมีการทำงานแตกต่างกัน ซึ่งเอนโดอะไมเลสจะไฮโดรไลซ์แป้งแบบสุ่มที่ตำแหน่งพันธะอัลฟา - 1,4 - ไกลโคซิดิก (α -1,4 - glycosidic linkage) ถ้าการย่อยเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์จะได้ผลิตภัณฑ์กลูโคส มอลโตส และเดกซ์ทริน แต่ถ้าการย่อยเกิดขึ้นสมบูรณ์จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นมอลโตสและกลูโคสเท่านั้น เอนไซม์ประเภทนี้เป็นที่รู้จักการในชื่อ อัลฟาอะไมเลส (α - amylase) (จันทนา. 2535) โดยมีชื่อ

ทางการค้าว่า เทอร์มามิล (termamyl) และมีชื่อสามัญว่า ไดเอสเทส (diastase) ชื่อตามระบบ IUPAC คือ α - 1,4 – glucanohydrolase, E.C.3.2.1.1

สำหรับเอนไซม์เอกโซอะไมเลสจะทำหน้าที่นอน-รีดิวซิงก์ (non-reducing) โดยจะย่อยที่ตำแหน่งพันธะอัลฟา - 1,4 - ไกลโคซิดิกและพันธะอัลฟา - 1,6 - ไกลโคซิดิก ได้ผลิตภัณฑ์เป็นดี-กลูโคส (D-glucose) เอนไซม์นี้ รู้จักในนามของเบตา - อะไมเลส (β - amylase) และ กลูโคอะไมเลส (glucoamylase ; amylo (1 -4, 1 - 6) glucosidase) หรือแกรมมา - อะไมเลส (จันทนา ก่อนเก่า. 2535) ชื่อตามระบบ IUPAC คือ α - 1,4 –glucan maltohydrolase,E.C.3.2.1.2 ซึ่งพบในพืชชั้นสูง เช่นข้าวบาร์เลย์ที่กำลังงอกเป็นข้าวมอลท์ ข้าวสาลี ข้าวไรย์ ถั่วเหลือง และมันเทศ มักจะพบร่วมกับอัลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการผลิตสาเก ซึ่งเป็นเครื่องดื่มพื้นเมืองประเภทแอลกอฮอล์ของญี่ปุ่น และมีโซเครื่องปรุงรสอาหารของชาวญี่ปุ่น หรือที่รู้จักกันดีในทางการผลิตกลูโคสเพื่อการค้าจากแป้งเพราะว่าสามารถย่อยแป้งให้กลายเป็นกลูโคสได้อย่างสมบูรณ์ (Mitsue. 1979) สำหรับเอนไซม์แต่ละชนิดมีคุณสมบัติต่างๆที่เปรียบเทียบในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 แสดงคุณสมบัติของเอนไซม์อะไมเลสแต่ละประเภท

คุณสมบัติ	แอลฟา-อะไมเลส	เบตา-อะไมเลส	กลูโคอะไมเลส
กลไกการย่อยแป้ง	ที่กลางโมเลกุลแป้ง	ที่ปลายโมเลกุลแป้ง	ที่ปลายโมเลกุลแป้ง
ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อย	สารผสมของโอลิโกแซคคาไรด์	มอลโตส	กลูโคส
ลักษณะโครงสร้างของไอโซเมอร์	แอลฟา	เบตา	เบตา
ความเร็วในการลดลงของความหนืด	เร็ว	ช้า	ช้า
ความเร็วในการเปลี่ยนปฏิกิริยาการเกิดสีกับสารละลายไอโอดีน	เร็ว	ช้า	ช้า
ปฏิกิริยาที่จุดแยกแขนง	ข้ามจุดที่มีพันธะอัลฟา - 1,6 – ไกลโคซิดิก	ไม่สามารถข้ามพันธะที่มี อัลฟา - 1,6 - ไกลโคซิดิก	สามารถตัดพันธะอัลฟา - 1,6 – ไกลโคซิดิก

ที่มา: ดัดแปลงจาก ศุภชัย สมบัติโค. (2541).

หลักการวิเคราะห์

สำหรับงานวิจัยได้ศึกษาวิเคราะห์หาค่าประกอบต่างๆ ในซีอิ๊วจากถั่วมะแฮและถั่วเหลือง ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันโดยวิเคราะห์ในช่วงระหว่างการหมักเพื่อหาปริมาณ เอนไซม์อะไมเลส โปรตีเอส ปริมาณน้ำตาล และปริมาณกรดอินทรีย์ โดยใช้เทคนิคอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรเมตรี และเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และการหาปริมาณจุลินทรีย์โดยการเลี้ยงบน เพสเคาท์ และการวิเคราะห์คุณภาพซีอิ๊วหลังจากที่หมักเป็นซีอิ๊วแล้วเพื่อหาปริมาณโลหะหนัก คือ ตะกั่ว แคดเมียม ทองแดง สารหนู โดยใช้เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโทรสโกปี และการหา ปริมาณโปรตีนรวม ปริมาณเกลือ โดยเทคนิคการไทเทรต ดังนั้นจึงขอกล่าวถึงหลักการที่ใช้ในการ วิเคราะห์ต่างๆดังนี้

เทคนิคอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรเมตรี

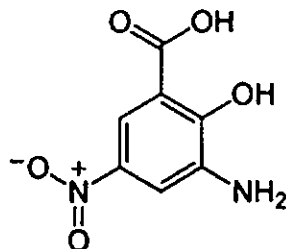
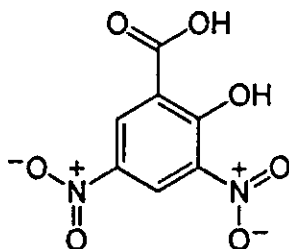
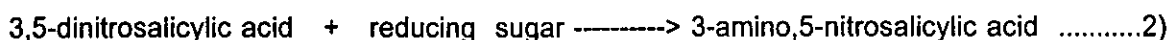
เทคนิคอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรเมตรีเป็นเทคนิคที่มีประโยชน์มากในการวิเคราะห์หา ปริมาณสารที่สนใจทั้งในเชิงคุณภาพวิเคราะห์และปริมาณวิเคราะห์ โดยสามารถวิเคราะห์ สารอินทรีย์และอนินทรีย์ได้ ทั้งนี้อาศัยหลักการที่สารที่จะวิเคราะห์สามารถดูดกลืนแสงในช่วง อัลตราไวโอเลตและแสงวิสิเบิล ซึ่งมีความยาวคลื่นในช่วง 190 – 800 นาโนเมตร พลังงานจากแสง ในช่วงดังกล่าวมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลของสารโดยมีผลกระทบโดยตรง ต่ออิเล็กทรอนิกส์ของวงนอกสุดของสารทำให้มีพลังงานสูงขึ้น จึงเกิดการเปลี่ยนระดับพลังงานของ อิเล็กตรอนจากสถานะปกติ หรือสถานะพื้นไปสู่สภาวะกระตุ้น ซึ่งอิเล็กตรอนนั้นๆ จะมีช่วง ระยะเวลาไม่นานก็เกิดการสลายคายพลังงานส่วนเกินกลับสู่สภาวะปกติดังเดิม ผลการดูดกลืนและ เกิดปรากฏการณ์นี้เองทำให้ถ้ามีการวัดความเข้มของแสงอัลตราไวโอเลตหรือแสงวิสิเบิลก่อนการ ดูดกลืนแสงของโมเลกุลและภายหลังการดูดกลืนแสงพบว่า ความเข้มแสงที่หายไปหรือลดลงนี้แปร ผันตามความเข้มข้นของสารที่จะวิเคราะห์หรือที่ทราบคือ กฎของ เบียร์แลมเบิร์ต (Beer Lambert's Law) ดังสมการที่(1)

$$A = \epsilon bc \qquad \dots\dots\dots(1)$$

- เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง
ε คือ ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงของสาร หรือ เรียกว่า ค่า molar extinction coefficient
b คือ ระยะทางที่แสงผ่านสารตัวอย่าง
c คือ ความเข้มข้นของสารที่สนใจวิเคราะห์

ในการทดลองนี้ได้นำเทคนิคนี้ มาใช้ในการตรวจหาแอคติวิตีของอะไมเลส และ โปรตีเอส โดยให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับสารที่เป็นซับสเตรทซึ่งในการทดลองนี้คือ แป้งในระบบ ซึ่งอาจมาจาก แป้งในองค์ประกอบของถั่วเองและแป้งสาลีที่มีในส่วนผสมของการหมัก โดยอะไมเลสจะมีหน้าที่ ย่อยแป้ง จนได้เป็นน้ำตาลที่มีขนาดเล็กลง โดยอาศัยกลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลที่มีหมู่

รีดิวซ์สามารถทำปฏิกิริยากับสารเคมีคือ 3,5-dinitrosalicylic acid ดังสมการที่ 2 (Miller, 1959)



ซึ่ง สาร 3-amino,5-nitrosalicylic acid มีความสามารถในการดูดกลืนแสงวิสิเบิลได้มากที่สุด ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงหรือที่นิยมเรียกว่า HPLC เป็นเทคนิคการวิเคราะห์สารเชิงคุณภาพวิเคราะห์ (qualitative analysis) และปริมาณวิเคราะห์ (quantitative analysis) ที่นิยมใช้มากวิธีหนึ่ง โดยสามารถใช้กับงานด้านต่าง ๆ อย่างกว้างขวาง เช่นในการวิเคราะห์ทางอาหาร ยา ยาฆ่าแมลง ตัวอย่างสิ่งแวดล้อม ฯลฯ สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณในระดับไมโครกรัม ในกรณีทั่ว ๆ ไป หรือละเอียดถึงพิโคกรัม เมื่อเลือกหน่วยตรวจวัดที่เหมาะสม

HPLC เป็นเทคนิคแยกสารผสมโดยใช้เครื่องสูบล้างดันสูงของเหลวหรือตัวทำละลายซึ่งทำหน้าที่เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ พาสารตัวอย่างที่ถูกฉีดเข้าทางช่องฉีดสารเคลื่อนที่ผ่านอนุภาคที่เป็นวัฏภาคคงที่ ซึ่งบรรจุอยู่ในคอลัมน์ สารผสมเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์แล้วจะถูกแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน ผ่านเข้าสู่เครื่องตรวจวัด สัญญาณที่ตรวจวัดได้ซึ่งอยู่ในรูปสัญญาณไฟฟ้าตามเวลาและปริมาณของสารแต่ละตัวที่ตรวจวัดได้ โดยสัญญาณจะถูกส่งไปยังเครื่องบันทึกสัญญาณแสดงผลออกมาเป็นโครมาโทแกรม ประกอบด้วยพีคของสารที่เป็นองค์ประกอบของสารผสม

หลักการแยกและวิเคราะห์หาปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่างส่วนผสมในระหว่างกระบวนการหมักชีวีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงนี้ กรดอินทรีย์จะถูกแยกด้วยคอลัมน์และชะด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ซึ่งทำการตรวจวัดสัญญาณด้วยดีเทคเตอร์ที่เหมาะสม ผลการทดลองที่ได้เป็นโครมาโทแกรม เมื่อนำพื้นที่ใต้พีค ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดอินทรีย์ ก็สามารถคำนวณหาปริมาณกรดในสารตัวอย่างได้

เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโทรสโกปี (Atomic Absorption Spectroscopy)

เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโทรสโกปี สามารถวิเคราะห์ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ เทคนิคนี้ใช้หลักการศึกษและการวัดการดูดกลืนหรือการเปล่ง (emission) รังสีอุลตราไวโอเลตหรือแสงที่แลเห็นได้ โดยอะตอมของธาตุ

อะตอมมิกแอบซอร์บชันเป็นกระบวนการที่เกิดจากอะตอมเสรีของธาตุดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นอันหนึ่งโดยเฉพาะ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของธาตุ ธาตุแต่ละชนิดมีระดับพลังงานแตกต่างกัน จึงมีการดูดกลืนพลังงานแตกต่างกัน เช่น อะตอมของโซเดียมจะดูดกลืนแสงได้ดีที่มีความยาวคลื่น 589 นาโนเมตร เพราะแสงที่มีความยาวคลื่นนี้เป็นแสงที่มีพลังงานพอดีที่จะทำให้อิเล็กตรอนของโซเดียมอะตอมเกิดการเปลี่ยนสถานะจากสถานะพื้นไปสู่สถานะกระตุ้น ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัวของธาตุแต่ละชนิด ในการทำให้อะตอมของธาตุในสารประกอบเกิดเป็นอะตอมเสรีได้นั้น ต้องมีการดูดกลืนพลังงานเข้าไป ซึ่งอาจจะอยู่ในรูปต่าง ๆ กัน เช่น พลังงานความร้อนจากเปลวไฟ หรือความร้อนจากไฟฟ้า เป็นต้น ความร้อนจะทำให้เกิดกระบวนการแตกตัว หรือเปลี่ยนให้เป็นไอ หรืออาจแตกตัวเป็นอะตอม หรือทำให้อะตอมอยู่ในสถานะกระตุ้น หรืออาจกลายเป็นไอออนก็ได้

การดูดกลืนแสงโดยอะตอมจะเป็นไปตามกฎของแลมเบิร์ตและเบียร์ (Lambert - Beer's law) ซึ่งกล่าวว่าเมื่อความยาวคลื่นของแสงมีค่าคงที่ ปริมาณของแสงที่ถูกดูดกลืนจะมีความสัมพันธ์แบบเอกซโพเนนเชียลกับระยะทางที่แสงเคลื่อนที่ผ่านอะตอมและความเข้มข้นของอะตอมภายในเซลล์ที่ใช้บรรจุอะตอม สมบัติการดูดกลืนแสงของอะตอมเป็นค่าที่แสดงว่าอะตอมนั้นดูดกลืนแสงได้มากน้อยเพียงใด ค่านี้จะขึ้นอยู่กับธรรมชาติของอะตอมและความยาวคลื่นของแสงที่ถูกดูดกลืน

อะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ใช้วัดความเข้มข้นของตะกั่ว แคดเมียม และทองแดง สารหนู เพื่อหาสารเจือปนในซีอิ๊ว

การไทเทรต (Titration)

การไทเทรตเป็นวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารในตัวอย่างที่เป็นสารละลาย โดยการวัดปริมาตรของสารละลายไทเทรนต์ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนซึ่งทำปฏิกิริยาพอดีกับสารละลายตัวอย่าง การไทเทรตแบ่งออกเป็น 4 ประเภทตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นคือ

1. การไทเทรตแบบกรด - เบส (Acid - Base Titration)
2. การไทเทรตแบบตกตะกอน (Precipitation Titration)
3. การไทเทรตแบบเกิดสารเชิงซ้อน (Complex metric Titration)
4. การไทเทรตแบบเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox Titration)

การไทเทรตสามารถแบ่งได้ 3 วิธี คือ

1) การไทเทรตโดยตรง (Direct Titration) เป็นการไทเทรตที่เกิดปฏิกิริยาโดยตรงระหว่างสารตัวอื่นซึ่งมีปริมาณสมมูลกับสารที่ต้องการวิเคราะห์กับสารละลายมาตรฐาน

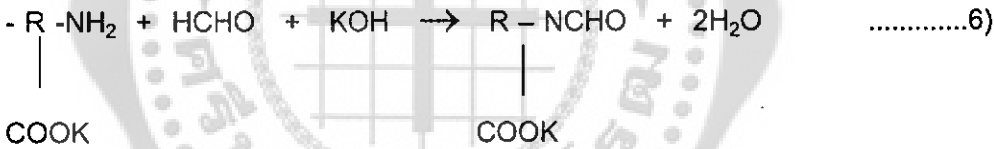
2) การไทเทรตแบบอ้อม (Indirect Titration) เป็นการไทเทรตระหว่างสารละลายมาตรฐานกับสารตัวอื่นซึ่งมีปริมาณสมมูลกับสารที่ต้องการวิเคราะห์

3) การไทเทรตแบบย้อนกลับ (Back Titration) เป็นการเติม reagent ที่ทราบปริมาณหรือความเข้มข้นที่แน่นอนลงในสารละลายที่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์ให้มากเกินไป จากนั้นทำการไทเทรตหาปริมาณ ที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการวิเคราะห์

ในการวิเคราะห์หาปริมาณของคลอไรด์ในซีอิ๊วนี้เป็นการใช้เทคนิคการไทเทรตแบบตกตะกอน ด้วยวิธีการไทเทรตแบบย้อนกลับ (Back Titration) โดยเป็นการเติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต ซึ่งเป็นไทแทรนด์ลงให้มากเกินไปและทราบปริมาณที่แน่นอนแล้วไทเทรตหาปริมาณซิลเวอร์ไนเตรตส่วนเกินที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานของไทโอไซยาเนต ใช้เฟอร์ริกอะลัมเป็นอินดิเคเตอร์ ที่จุดยุติจะเห็นสารละลายแดงของ $Fe(SCN)^{2+}$ ดังสมการ



ส่วนการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนใช้เทคนิคฟอร์มัลดีไฮด์ไทเทรชัน (formaldehyde titration)ซึ่งเป็นเทคนิคการไทเทรตแบบกรดเบส โดยที่สารละลายฟอร์มัลดีไฮด์จะทำปฏิกิริยาที่หมู่ อะมิโนเมื่อนำไปไทเทรตกับสารละลายเบสจะเกิดปฏิกิริยาตามสมการที่ 6



จากการศึกษาทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง ผู้วิจัยได้ศึกษากระบวนการผลิตซีอิ๊วโดยนำกรรมวิธีที่ได้ศึกษามาทดลองทำวิจัยหมักซีอิ๊วจากถั่วมะแฮซึ่งเป็นถั่วในท้องถิ่นโดยได้ทำการหมักซีอิ๊วจากถั่วเหลืองเพื่อสูตรควบคุมควบคุมกันไป และนอกจากนี้ได้ทดลองหาอัตราส่วนผสมของถั่วมะแฮต่อถั่วเหลืองในการหมักซีอิ๊วหลังจากนั้นได้ทำการวิเคราะห์ทั้งระหว่างกระบวนการหมักโดยศึกษาปริมาณของเอนไซม์อะไมเลส โปรตีเอส กรดอินทรีย์ กรดอะมิโน ปริมาณจุลินทรีย์ และค่า pH อีกทั้งได้ศึกษาวิเคราะห์คุณภาพของซีอิ๊วตามมาตรฐานอุตสาหกรรม โดยการใช้เทคนิคการวิเคราะห์ตามที่ได้กล่าวมาข้างต้น

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จารุณี มีจุ้ย และไทกิ คามิจิมา (2536) ทำการศึกษาการเจริญของเชื้อบักเตอรีแลคติก ยีสต์ทั้งหมด และ *Saccharomyces rouxii* ตลอดระยะเวลาการหมักน้ำเกลือของซีอิ๊วเป็นเวลา 3 เดือนพบว่าจำนวนของบักเตอรีแลคติกจะเพิ่มสูงสุด 2.5×10^8 เซลต่อกรัม ภายใน 3 สัปดาห์แรกของการหมักลดลงอย่างรวดเร็ว ส่วนจำนวนยีสต์ทั้งหมดจะลดลงในระยะ 2 สัปดาห์แรกของการหมักหลังจากนั้นจะเพิ่มขึ้นจนตรวจนับได้ในปริมาณสูงสุด 2.7×10^8 เซลต่อกรัม หลังจากการหมักได้น้ำ 6

สปีดาร์ จำนวนยีสต์ *S. rouxii* จะเพิ่มขึ้นในช่วงที่บัคเตเรียแลคติกเริ่มลดลงอย่างช้าๆ จากการศึกษาความสามารถในการเจริญในอาหารที่มีเกลือ *Pediococcus halophilus* จำนวน 26 ไอโซเลต พบว่าบัคเตเรียพวกนี้สามารถเจริญได้ดีที่สุดในอาหารที่มีเกลือ 10 % และไม่สามารถเจริญได้ในอาหารที่ไม่มีเกลือ ส่วนยีสต์ *S. rouxii* จะแสดงความเป็น obligate halophilic ที่อุณหภูมิ 37 และ 40 °C แต่ที่อุณหภูมิห้อง จะแสดงคุณสมบัติเป็น halophile นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสไนโตรเจน น้ำตาลรีดิวซ์ กรด พืเอช และโซเดียมคลอไรด์ พบว่าในช่วงที่การเจริญของบัคเตเรียแลคติกเพิ่มขึ้นนั้น ปริมาณกรดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ pH ลดลงอย่างรวดเร็วจาก 5.70 ลงเหลือ 4.77 ซึ่งในช่วงนี้ *S. Rouxii* จะเพิ่มขึ้นจำนวนมากขึ้น ส่วนปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสไนโตรเจน และน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มขึ้นในช่วง 1-3 สปีดาร์แรกของการหมักและจะค่อยๆ ลดลง ส่วนเกลือโซเดียมคลอไรด์จะมีประมาณคงที่ตลอดระยะเวลาการหมัก

นภา โลทอง. (2531). รายงานถึงจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในระยหมักน้ำเกลือ ซึ่งได้แก่แบคทีเรียสร้างกรดแลคติกที่ทนเกลือ เช่น *Lactobacillus delbrueckii* และ *Pediococcus halophilus* แบคทีเรียทั้งสองชนิดจะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดแลคติก ทำให้ภาวะภายในถังหมักเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ คือ *Saccharomyces rouxii* และ *Torulopsis holmii* ซึ่งจะหมักน้ำตาลให้ได้แอลกอฮอล์และสารให้กลิ่นรสอื่นๆ แบคทีเรียและยีสต์ดังกล่าวมีอยู่ทั่วไปในบรรยากาศ แต่น้ำชีวีที่ผลิตได้รุ่นแรกมีคุณภาพกลิ่นรสไม่ดีนัก เนื่องจากจุลินทรีย์แพร่กระจายน้อย

นิรมล ล้อสุริยนต์ (2536) ได้ศึกษาการนำถั่วมะแะมาพัฒนาเป็นอาหารเข้าสำเร็จรูปชนิดแผ่น จากผลการศึกษาพบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีองค์ประกอบทางเคมีได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เถ้า และเยื่อใย เท่ากับร้อยละ 3.85 16.35 2.12 76.84 3.12 และ 1.57 มิลลิกรัม ตามลำดับ มีปริมาณเกลือแร่และวิตามินได้แก่ ดุลีเหล็ก ไทอามีน โทโปฟาวิน ในอาซีน เท่ากับ 3.65 1.75 0.38 4.40 มิลลิกรัม ตามลำดับ และวิตามิน 216.67 เรตินอล มีจำนวนจะลินทรีย์ทั้งหมด 70 โคโลนีต่อกรัม ยีสต์และราน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อกรัม ผลการศึกษาอายุการเก็บรักษาพบว่าสามารถเก็บได้ทั้งห้องปรับอากาศและห้องธรรมดาเป็นเวลานานาน 10 สปีดาร์ การสำรวจความพึงพอใจของผู้บริโภคจากจำนวน 200 คน พบว่า ความชอบในผลิตภัณฑ์อยู่ในระดับปานกลาง ร้อยละ 81 และพบว่า ร้อยละ 46 ยินดีที่จะซื้อผลิตภัณฑ์

สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์ (2522). รายงานเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่เข้ามามีบทบาทสำคัญในขั้นตอนการหมักน้ำเกลือ คือแบคทีเรียและยีสต์ที่สามารถเจริญในสภาพที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงๆ ได้ แบคทีเรียดังกล่าวเป็นประเภทที่สร้างกรดแลคติกได้จากน้ำตาล โดยผ่านกระบวนการ glycolysis ซึ่งจะทำให้ pH ลดลง แบคทีเรียประเภทนี้ ได้แก่ *Pediococcus halophilus*, *Pediococcus soya* และ *Lactobacillus delbrueckii* สำหรับยีสต์ที่มีหน้าที่สำคัญโดยให้น้ำตาลในน้ำชีวีสร้างเป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งรวมกับสารอื่น เกิดเป็นสารให้กลิ่นรสน้ำชีวี ยีสต์ที่พบมา ได้แก่ *Saccharomyces rouxii* ลำดับต่อมาคือ *Torulopsis* และที่พบบ้างเล็กน้อยคือ *Pichia*, *Debaryomyces* และ *Candida* โดยมีข้อเสนอแนะตามรายงานนี้คือควรใช้สารพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกว่ามีประสิทธิภาพสูงแทนการใช้เชื้อธรรมดา

สถาบันวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. (2527). ใช้วิธีการผลิตน้ำซี้วแบบธรรมชาติโดยการหมักโมโรมิจะเติมน้ำเกลือลงไปโนโคจิ ทำให้ความเข้มข้นของเกลือสูงขึ้นถึงร้อยละ 17-20 จุลินทรีย์บางชนิดถูกกำจัดออกไป และเป็นภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus delbrueckii*, *Pediococcus halophils*, *Saccharomyces rouxii* และ *Hansenula* แบคทีเรียและยีสต์เหล่านี้จะสร้างกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ ทำให้กลิ่นและรสชาติของน้ำซี้วดีขึ้น

สมชาย จอมดวง. (2533) ทำการศึกษาการใช้ข้าวสาลีไทยใน 3 รูปแบบ คือ แป้งข้าสาลีทั้งหมด ข้าวสาลีบดแตกและข้าวสาลีทั้งเมล็ด เปรียบเทียบกับแป้งขนมปัง โดยผสมกับถั่วเหลืองนึ่งสุก และคลุกด้วยเชื้อราผง *A. oryzae* นำส่วนผสมใส่กระดังแล้วเพาะให้เชื้อราเจริญขึ้นเป็นเวลา 72 ชั่วโมง บันทึกรูหนอนเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเพาะ นำส่วนผสมที่ได้ผสมกับน้ำเกลือ ซึ่งมีความเข้มข้นร้อยละ 22 แล้วหมักในโรงหมักเปรียบเทียบกับห้องควบคุมอุณหภูมิ พบว่าในระหว่างการเพาะโคจิอุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นสูงสุดถึง 43 องศาเซลเซียส โคจิที่มีส่วนผสมของข้าวสาลีบดแตกมีคุณภาพดีที่สุด ค่าความเป็นกรด และ pH เปลี่ยนแปลงมากในช่วง 3 สัปดาห์แรกและค่อนข้างคงที่จนหมักครบ 16 สัปดาห์ ความเข้มข้นของเกลือในเต้าเจี้ยวเริ่มต้นมีค่าประมาณร้อยละ 17 เมื่อหมักครบ 16 สัปดาห์มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 20-21 เต้าเจี้ยวที่หมักในโรงหมักจะมีสีเข้มกว่าการหมักในห้องควบคุมอุณหภูมิ เต้าเจี้ยวที่มีส่วนผสมของข้าวสาลีบดแตกมีคุณภาพดีที่สุด

สมชาย ประภาวัต. (2541) ศึกษาการทำลูกก๊ากจากถั่วเขียวผิวดำเปรียบเทียบกับถั่วเขียวและถั่วมะแฮะผลการศึกษาพบว่าสามารถให้แป้งถั่วมะแฮะผสมในแป้งสาลีได้สูงถึงร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก จะได้ปริมาณโปรตีน ไขมัน ร้อยละ 7.56 และ 28.47 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

ซีดับบลิว เฮทเซลไทน์ และ เค ชิบาซากิ (C.W. Hesseltine and K. Shibasaki. 1961)) ได้ศึกษาการหมักเต้าเจี้ยวแบบดั้งเดิมโดยการเติมยีสต์ *S. rouxii* พบว่า คุณภาพดีของเต้าเจี้ยวนั้นนอกจากจะขึ้นอยู่กับ การเตรียมถั่วเหลืองแล้วยังขึ้นกับ การเพิ่มเชื้อ *S. rouxii* โดยเติมยีสต์ในส่วนผสมที่ทำการหมักและแยกเอาเกลือออกก่อน วิธีการนี้สามารถนำมาใช้ในการผลิตเต้าเจี้ยวจำนวนมาก

เอ เค ลุนดา และ เอส ดัส (A.K.Lundu and S.Das .1969) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการผลิตอะไมเลสในของน้ำหมักแบบดั้งเดิมโดยใช้ *A. oryzae* พบว่า สามารถแยกอะไมเลสได้แตกต่างกันตามชนิดของตัวกลาง และ ค่า pH

อมเรศ ภูมิรัตน์ ที่ ดับบลิวเฟลเจล ที่ กลิ่นสุคนธ์ และ ดับบลิว สมพอรัน (A.Bhumiratana, T.W.Flegel, T.Glinsukon and W.Somporan .1980) ได้ทำการแยก *Aspergillus* 5 ชนิด และมี ราเมือก 1 ชนิด เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ *A. oryzae* จากญี่ปุ่นโดยใช้ซับสเตอร์จากประเทศญี่ปุ่น และพบว่า *A. flavus*. Var *columnaris* มีประสิทธิภาพในการผลิต โปรตีนเอสมากที่สุด และสามารถตรวจพบเชื้ออัลฟาโทกซินที่อยู่ในกระบวนการผลิต

อรรถวุธ อิมพูลทรัพย์ อัมเรศ ภูมิรัตน์ และทีโมธี ดับบลิวเฟลเจล (A. Impoolsup, A. Bhumiratana and Timothy W.Flegel. 1981) ได้ศึกษาการแยก proteases ในสภาวะที่เป็นกลางกับ สภาวะเบส จากเชื้อรา *Aspergillus flavus*. Var *columnaris* ในซี้วช่วง การหมักโคจิ และ

ทำให้เชื้อบริสุทธิ์ โดยการใช้การตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ก่อนการแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีที่มี diethylaminoethyl – Sephadex A – 50 , carboxymethylcellulose CM – 52 และ Sephadex G – 100 เป็นตัวแยก พบว่าการอธิบายเกี่ยวกับการหมักชีอิ้วช่วงโคจิ ดังกล่าวข้างต้นจะทำให้ผลของผลผลิตในโรงงานอุตสาหกรรมดีขึ้น

ยัง และวูด (Yong and Wood.) ได้ศึกษาผลของ pH ที่มีต่อการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus delbrueckii*, และ *Saccharomyces rouxii* ในนมโรมิ พบว่าช่วง pH ที่ *Lactobacillus delbrueckii*, มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตสูงสุดคือ 5.0-5.5 และของ *Saccharomyces rouxii* คือ 5.0 pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดคือ pH 5.0

การศึกษางานวิจัยในครั้งนี้จะได้นางานวิจัยที่เกี่ยวข้องนี้ไปเป็นส่วนหนึ่งของศึกษาด้านกระบวนการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักโมโรมิ เพื่อติดตามการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส โปรตีเอส จากการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้เติมลงไปและค่าของ pH ที่มีผลต่อการสร้างกรดอินทรีย์ซึ่งจะทำให้กลิ่นและรสของชีอิ้วดีขึ้น และนอกจากนี้ได้ทราบถึงองค์ประกอบถั่วมะแะเมื่อนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ทางอาหารด้านต่างๆ เพื่อเปรียบเทียบในงานวิจัย

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

ขั้นตอนการดำเนินการทดลองผู้วิจัยได้ทดลองแบ่งออกเป็น 3 ส่วน

1. การทดลองหมักซีอิ๊ว
2. การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการหมัก
3. การวิเคราะห์คุณภาพซีอิ๊ว

อุปกรณ์ วัสดุ สารเคมี และ เครื่องมือ

อุปกรณ์

- ไหดินเคลือบ
- กระดัง
- ผ้าขาวบาง
- หม้อสำหรับนึ่งวัตถุดิบ
- ไม้พาย
- อุปกรณ์เคมีพื้นฐาน

วัสดุ

- ถั่วมะแฮะ จากอำเภอบ่อเกลือ จังหวัดน่าน
- ถั่วเหลืองคัดพันธุ์ ตราไรท์พิพย์ ผลิตโดยบริษัท ไร่ธัญญา จำกัด
- แป้งสาลี ตราบัวแดงผลิตโดยบริษัท ยูนิเท็ดฟลาวมิลล์ จำกัด (มหาชน)
- เกลือ ปรงทิพย์

สารเคมี

- โฟลีนรีเอเจนต์ (Folin reagent) ของบริษัทเมอร์ก ประเทศเยอรมัน
- ไตรคลอโรอะซีติก (Trichloroacetic acid) ของบริษัทเมอร์ก ประเทศเยอรมัน
- โปรตีนมาตรฐานที่แยกจากถั่วเหลือง (Soy Protein Isolate)
- โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) ของบริษัทคาร์โลเอรา ประเทศฝรั่งเศส
- กรดอะมิโนไทโรซีน (Amino tyrosine) ของบริษัทเมอร์ก ประเทศเยอรมัน
- ไดไนโตรซาลิไซลิก (Dinitrosalicylic acid) ของบริษัทฟลูกา ประเทศ
- สวิทเซอร์แลนด์
- กลูโคส (Glucose) ของบริษัทcarlo erba ประเทศฝรั่งเศส
- อาหารเลี้ยงเชื้อโปเตโดเดกซ์โตรอาการ์ (Potato dextrose agar)
- นิวเตรียนอาการ์ (Nutrient agar)

- เพนนิซิลินจีโซเดียม (Penicillin G sodium) ของบริษัทเอ็มแอนเอชเมนูแฟกเจอร์ริงค์ ประเทศไทย
- เชื้อ *A. oryzae* จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย
- กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid) ของบริษัทเมอร์ก ประเทศเยอรมัน
- กรดแลกติกมาตรฐาน (Lactic acid) ของบริษัทซิกมา ประเทศเยอรมัน
- กรดอะซิติกมาตรฐาน (Acetic acid) ของบริษัทคาร์โลเอร่า ประเทศฝรั่งเศส
- กรดซิตริกมาตรฐาน (Citric acid)
- อัลฟากรดอะมิโนบิวไทริก (α -Aminobutyric acid)
- กรดอะมิโนมาตรฐาน (Amino acid standard H) ของบริษัท Pirce ประเทศสหรัฐอเมริกา
- อะซิเตทฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Acetate – Phosphate Buffer pH 5.02) ของบริษัท Waters, ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เอซีซีคิว แทกอีเลนต์ (AccQ Tag Eluent A)
- เอซีซีคิว ฟลูออโรเจนท์คิต (AccQ-FluorTM reagent kit)
- เอบีเอเอ (ABAA) ของบริษัทซิกมา ประเทศสหรัฐอเมริกา
- กรดไตรคลอโรอะซิติก (trichloroacetic acid) ของบริษัทเมอร์ก ประเทศเยอรมัน
- กรดอะมิโนอะลานีน ของบริษัทซิกมา ประเทศสหรัฐอเมริกา
- กรดอะมิโนซิสเตอีนของบริษัทซิกมา ประเทศสหรัฐอเมริกา
- กลูตามีน (glutamine) ของบริษัทซิกมา ประเทศสหรัฐอเมริกา
- กรดอะมิโนฮิสทีดีน (histidine) ของบริษัทซิกมา ประเทศสหรัฐอเมริกา
- กรดอะมิโนโพรลีน (proline) ของบริษัทเมอร์ก ประเทศเยอรมัน
- กรดอะมิโนเมไทโอนีน (methionine) ของบริษัทซิกมา ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เพนนิซิลิน จี (Penicillin G) ของบริษัทซิกมา ประเทศสหรัฐอเมริกา
- ซิลเวอร์ไนเตรท ของบริษัทซิกมา ประเทศสหรัฐอเมริกา
- โซเดียมคลอไรด์ ของบริษัทซิกมา ประเทศสหรัฐอเมริกา
- แคลเซียมคาร์บอเนต ของบริษัทซิกมา ประเทศสหรัฐอเมริกา
- โปตัสเซียมไทโอไซยาเนต ของบริษัทซิกมา ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เฟอร์ริกอะลัม ของบริษัทซิกมา ประเทศสหรัฐอเมริกา
- ไนโตรเบนซีน ของบริษัทเมอร์ก ประเทศเยอรมัน
- ฟอร์มาลดีไฮด์ ของบริษัทซิกมา ประเทศสหรัฐอเมริกา
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ ของบริษัทซิกมา ประเทศสหรัฐอเมริกา
- ฟีนอล์ฟทาลีน ของบริษัทซิกมา ประเทศสหรัฐอเมริกา
- โปตัสเซียมไฮโดรเจนซัลเฟต ของบริษัทซิกมา ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องมือ

- เครื่องอูลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโตรมิเตอร์ ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น 240 UV
- เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ยี่ห้อ Hewett Package รุ่น HP1100
- เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโตรมิเตอร์ ยี่ห้อ Perkin Elmer
- เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Precisa รุ่น 205 A Superbalance series
- เครื่องปั่นไฟฟ้า ยี่ห้อ philip
- เครื่องอบลมร้อน ยี่ห้อ Memmert
- เครื่องผสม Vortex

วิธีการดำเนินการทดลอง

1. การหมักซีอิ๊ว

1. การเตรียมวัตถุดิบและการหมัก นำถั่วเหลือง(ตราเกษตร) ถั่วมะแฮะ(จว.น่าน) แช่น้ำสะอาดประมาณ 10 ชั่วโมง หรือ จนถั่วนิ่ม ลอกเปลือกแต่ละชนิดออกแล้วนำถั่วทั้งสองชนิดไปนึ่งให้สุก เมื่อถั่วเย็นแล้วนำถั่วแต่ละชนิดไปชั่งตามสัดส่วนในสูตร ต่อไปนี้

- สูตรที่ 1 ถั่วมะแฮะ 100 %
 สูตรที่ 2 ถั่วมะแฮะ : ถั่วเหลือง = 80 : 20
 สูตรที่ 3 ถั่วมะแฮะ : ถั่วเหลือง = 60 : 40
 สูตรที่ 4 ถั่วมะแฮะ : ถั่วเหลือง = 40 : 60
 สูตรที่ 5 ถั่วมะแฮะ : ถั่วเหลือง = 20 : 80
 สูตรที่ 6 ถั่วเหลือง 100 % (สูตรควบคุม)

ชั่งถั่วแต่ละชนิดตามสัดส่วนในแต่ละสูตร นำแป้งสาลีมาคลุกเคล้าให้ทั่วกับถั่ว โดยใช้อัตราส่วนถั่ว : แป้ง เท่ากับ 1 : 1 (วิเชียร, 2534) และนำส่วนผสมวางบนกระดาษที่ทำจากไม้สาน เกลี่ยให้ส่วนผสมกระจายทั่วๆ ภาชนะ นำหัวเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ (*Aspergillus oryzae*) โรยทั่วๆ บนส่วนผสมตามปริมาณที่เหมาะสม ต่อจากนั้นประพรมด้วยน้ำให้ทั่ว แล้วคลุมด้วยผ้าขาวบาง นำไปวางในที่อากาศถ่ายเทได้ทั่วถึงเป็นเวลา นาน 2-3 วัน จึงเปิดผ้าคลุมเพื่อตรวจสอบการเจริญของจุลินทรีย์ ถ้าเห็นใยสีเหลืองเกิดกระจายทั่วๆ ภาชนะ แสดงว่าจุลินทรีย์มีการเติบโต รอให้เกิดการเจริญเต็มที่ อีก 2 วันจึงนำส่วนผสมใส่ลงในโหลดินเคลือบ เดิมน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 ในส่วนผสม จนท่วมพอดี ต่อจากนั้นคนส่วนผสมให้เข้ากัน จึงคลุมภาชนะด้วยผ้าขาวบาง วางไว้ในที่มีอากาศถ่ายเท แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเกิดกระบวนการหมักควรอยู่ในช่วง 35 – 40 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงต้องหมั่นนำชุดหมักมาตั้งผึ่งแดดทุกวัน โดยมีการคนส่วนผสมบ้างเป็นครั้งคราว จนกระบวนการหมักนานถึง 3 เดือน

2. การกรองน้ำซีอิ๊วและฆ่าเชื้อ นำสูตรแต่ละสูตรไปกรองด้วยผ้าขาวบาง เพื่อให้ น้ำซีอิ๊วที่ได้แยกจากกากถั่วและแป้ง พยายามคั้นน้ำออกมาให้ได้มากที่สุด และตั้งทิ้งไว้ประมาณ 7 วัน เพื่อให้ น้ำที่กรองได้มีความใสขึ้น ตูดเอาชั้นน้ำซีอิ๊วออกมาใส่ หม้อ ต้มที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน ประมาณ 15- 20 นาที และ ทำให้เย็นทันทีจะได้ น้ำซีอิ๊วที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จึง นำบรรจุขวดแก้ว เพื่อเก็บไว้ตรวจสอบลักษณะทางกายภาพและทางเคมีต่อไป

2. การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการหมัก

เก็บตัวอย่างที่อิระหว่างการผลิตเป็นระยะเวลาต่างๆ ดังนี้ คือ 0 10 20 30 45 60 75 และ 90 วัน ตามลำดับ เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการหมัก นำตัวอย่างทุกช่วง ระยะเวลาที่กำหนดไปวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่ วิเคราะห์หาปริมาณเอนไซม์อะไมเลส โปรตีนเอส ปริมาณกรดอินทรีย์ ปริมาณจุลินทรีย์ วัดค่า pH

2.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเอนไซม์อะไมเลส

1. เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 1% ปิเปตใส่หลอดทดลอง 6 หลอด หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 40 °C เติมเอนไซม์ 0.25 มิลลิลิตร
2. นำไปต้มที่อุณหภูมิ 30 °C เวลา นาน 10 นาที
3. เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร
4. เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร
5. เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรด้วยเครื่องอูลตราไวโอเลต วิสิเลสเปกโตรมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์ อะไมเลส

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 0.75 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร
2. นำไปต้ม 15 นาที แล้วทำให้เย็นทันที
3. เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร
4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรด้วยเครื่องอูลตราไวโอเลต วิสิเลสเปกโตรมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐาน

2.3 การเตรียมกราฟมาตรฐานเอนไซม์ โปรตีนเอส

1. ปิเปตสารละลาย Soy Protein Isolate (SPI) มาตรฐานที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง 6 ไมโครลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 40 °C เติมสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ pH 6.8 ปริมาตร 352 ไมโครลิตร น้ำกลั่น 625 ไมโครลิตร และ เอนไซม์ 100 ไมโครลิตร
2. นำไปต้มที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลานาน 30 นาที
3. เติมไตรคลอโรอะซิติกความเข้มข้น 50 % ปริมาตร 200 ไมโครลิตร แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า
4. นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 5 นาที
5. เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรด้วยเครื่องอุลตราไวโอเลต วิสเลสเปกโตรมิเตอร์ จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์ โปรทีเอส

1. ปิเปตตัวอย่าง 0.75 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดไไดโนโครซาลิกไซลิก 0.75 มิลลิลิตร
2. นำไปต้มเป็นเวลานาน 15 นาที แล้วทำให้เย็นทันที
3. เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร
4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอุลตราไวโอเลต วิสเลสเปกโตรมิเตอร์

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์

นำตัวอย่างที่กรองแล้วมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลและกรดอินทรีย์ สารอินทรีย์ที่เกิดจากการผลิตของเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างซีอิ๊ว คือ กรดซิตริก กรดแลกติก และปริมาณน้ำตาลที่เกิดจากกิจกรรมการย่อยของจุลินทรีย์ ทำการวัดโดยใช้หมักที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมครอนผ่านเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ที่ต่อกับคอลัมน์ Aminex HPX-87 H (BioRad, Hercules, Calif., USA) ที่มี กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 5 mM เป็น mobile phase กรดอินทรีย์จะถูกวัดด้วย Waters 996 Photodiode Array Detector ที่ความยาวคลื่น 210 nm น้ำตาลถูกวัดด้วย Waters 410 Differential Refractometer Detector (Millipore Corp., Milford, MA, USA)

2.6 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์

นำตัวอย่างทั้งหมดตัวอย่างละ 1 กรัมเปียก มาทำการเจือจางด้วยการเตรียมตัวอย่างทั้งหมดที่จะใช้สำหรับนับจำนวนเชื้อแบคทีเรีย รา และ ยีสต์ โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) และ Nutrient Agar (NA) เพื่อใช้เป็นอาหารของราและแบคทีเรีย ตามลำดับ ปรับค่า pH ของอาหาร PDA ด้วยการเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 โมลาร์ และเติม

antibiotic Penicillin G ที่เข้มข้น 100 มิลลิกรัม ต่อ ลิตร จากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างที่ความเจือจางที่เหมาะสมให้ได้ปริมาณจุลินทรีย์ 30–300 CFU ต่อ มิลลิลิตร และใส่ลงในจานเพาะเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตรและเทอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมงสำหรับการนับจำนวนแบคทีเรีย และ 48-72 ชั่วโมงสำหรับการนับจำนวนราและยีสต์

3. การวิเคราะห์คุณภาพชี้อั่ว

การวิเคราะห์คุณภาพชี้อั่วตามมาตรฐานอุตสาหกรรม (มอก.) เก็บตัวอย่างชี้อั่วที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วทำการทดลองวิเคราะห์คุณภาพชี้อั่วตามมาตรฐานอุตสาหกรรม คือ การวิเคราะห์หาปริมาณคลอไรด์ การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล และการวิเคราะห์หาโลหะ คือ แคดเมียม ทองแดง ตะกั่ว สารหนู ตามขั้นตอนการทดลอง ดังนี้

3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณคลอไรด์ ทดลองตามวิธี AOAC

1. ปิเปิดตัวอย่างหนัก 3 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร
3. ปิเปิดสารละลายตัวอย่างมา 10 มิลลิลิตรใส่ขวดรูปชมพู่
4. เติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรดเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จำนวน 20 มิลลิลิตร
5. เติมสารละลายกรดไนตริกเข้มข้น 3.0 ฟอ์มอล จำนวน 5 มิลลิลิตรและเติมสารละลายเฟอร์รัสอะลัม 0.5-1.0 มิลลิลิตร
6. นำไทเทรตกับสารละลายโปตัสเซียมไทโอไซยาเนต เข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนได้สารละลายสีแดงแสดงว่าปฏิกิริยาถึงจุดยุติ บันทึกปริมาตร เพื่อนำไปคำนวณ

3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ทดลองตามวิธี AOAC

1. ปิเปิดตัวอย่าง 1.4 มิลลิลิตร
2. เจือจางด้วยน้ำให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
3. ปิเปิดสารละลายตัวอย่างปริมาตร 12.5 มิลลิลิตร ใส่ ในขวดรูปชมพู่
4. เติมฟอ์มาลดีไฮด์ 37% 14 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที
5. นำไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.5 นอร์มอล โดยใช้ ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ ไทเทรตจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู บันทึกปริมาตรเบสที่ใช้ เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณโปรตีน

3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ทดลองตามวิธี ฟีนอลซัลฟูริก

3.3.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ปิเปิดสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 10 30 50 70 และ 90 ppm ใส่หลอดทดลอง 5 หลอด หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร

2. จากนั้น เติม 4% สารละลายฟีนอล 0.5 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่า

3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.5 มิลลิลิตร แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่า จากนั้นเติมน้ำกลั่น 11.5 มิลลิลิตร

4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรด้วยเครื่องอูลตราไวโอเลตวิสิสเปกโทรมิเตอร์ จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน

3.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล

1. ปิเปตตัวอย่างมา 2 มิลลิลิตร เติมน้ำ 30 มิลลิลิตร แล้วนำไปกรองและปรับปริมาตรสารละลายด้วยน้ำให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง จากนั้น เติม 4% สารละลายฟีนอล 0.5 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่า

3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.5 มิลลิลิตร แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่า จากนั้นเติมน้ำกลั่น 11.5 มิลลิลิตร

4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรด้วยเครื่องอูลตราไวโอเลตวิสิสเปกโทรมิเตอร์ นั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาปริมาณน้ำตาล

3.4 การวิเคราะห์หาโลหะ คือ Cd, Cu, Pb, As ในซีอิ๊ว

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน Cd, Cu, Pb และ As ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ppm นำสารละลายมาตรฐานแต่ละชุดไป ผ่านเข้าเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโทรมิเตอร์ เพื่อบันทึกค่าการดูดกลืนแสง โดย การวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว จะบันทึกการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 217 นาโนเมตร การวิเคราะห์หาปริมาณแคดเมียม จะบันทึกการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 273 นาโนเมตร การวิเคราะห์หาปริมาณทองแดง จะบันทึกการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 324.8 นาโนเมตร การวิเคราะห์หาปริมาณสารหนู จะบันทึกการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 193.7 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปพลอตกราฟมาตรฐานแต่ละชนิด

2. นำตัวอย่างมาทำย่อย โดยปิเปตตัวอย่างซีอิ๊วมา 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดไนตริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปให้ความร้อน จนกระทั่งควันสีน้ำตาลหมดไป

3 นำสารละลายตัวอย่างแต่ละชุดไป ผ่านเข้าเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโทรมิเตอร์ เพื่อบันทึกค่าการดูดกลืนแสง โดย การวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว แคดเมียม ทองแดง สารหนูตามสภาวะในข้อ 1 ในการเตรียมกราฟมาตรฐาน

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

เมื่อทำการหมักครบ 3 เดือน นำส่วนผสมในแต่ละสูตรมารองแยกกากและนำน้ำซีอิ๊วที่ได้ไปทำการพาสเจอร์ไรซ์เพื่อฆ่าเชื้อโรคที่อาจก่อให้เกิดอันตรายได้ ภายหลังการบรรจุขวดจึงจะได้นำไปตรวจสอบต่อไป โดยน้ำซีอิ๊วที่ได้จากกระบวนการหมักแต่ละส่วนผสม เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับน้ำซีอิ๊วควบคุมที่ผลิตจากถั่วเหลืองล้วน 100 % พบว่า มีความแตกต่างกันทั้งในด้านกายภาพ กลิ่น สี และรส ของแต่ละสูตร ผลการตรวจวิเคราะห์ทางลักษณะประสาทสัมผัสทำโดยให้ผู้ชิมทำการทดสอบจำนวน 30 คน และผลการทดสอบได้สรุปรวมแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงลักษณะทางกายภาพของน้ำซีอิ๊ว

สูตรที่	สี	กลิ่น	รส
1	น้ำตาลอ่อน	หอมอ่อนๆ	เค็ม
2	น้ำตาลเข้มข้นปานกลาง	หอมอ่อนๆ	เค็มน้อยกว่าสูตร1
3	น้ำตาลเข้มข้นมาก	หอมมากและมีกลิ่นเฉพาะตัว	เค็มน้อยกว่าสูตร1 และมีรสอมหวานเล็กน้อย
4	น้ำตาลเข้มข้นปานกลาง	หอมปานกลางและมีกลิ่นเฉพาะตัว	เค็มน้อยกว่าสูตร1 และอมหวานเล็กน้อย
5	น้ำตาลเข้มข้นปานกลาง	หอมอ่อนๆ	เค็ม
6	น้ำตาลเข้มข้นมาก	หอมปกติ	เค็ม

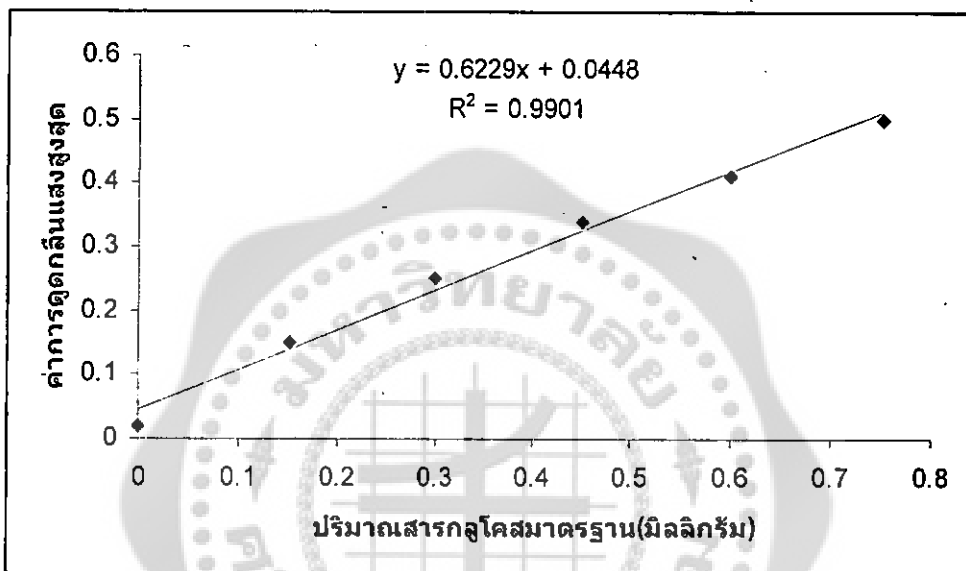
จากการทดลองเตรียมซีอิ๊ว โดยใช้การแปรผันสัดส่วนถั่วเหลืองและถั่วมะแฮะ ครั้งนี้พบว่า การผลิตซีอิ๊วจากถั่วมะแฮะสามารถกระทำได้โดยสัดส่วนที่น่าจะดีที่สุดในช่วงนี้ คือ ส่วนผสมของถั่วเหลืองร้อยละ 40 และถั่วมะแฮะร้อยละ 60 ซึ่งสัดส่วนนี้จะให้ซีอิ๊วที่มีลักษณะทางกายภาพด้านสีดีใกล้เคียงกับสูตรควบคุม และโดยเฉพาะด้านกลิ่นเป็นที่ยอมรับว่า กลิ่นหอมกว่าซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วเหลืองล้วน 100%

ผลการศึกษากการเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการหมัก

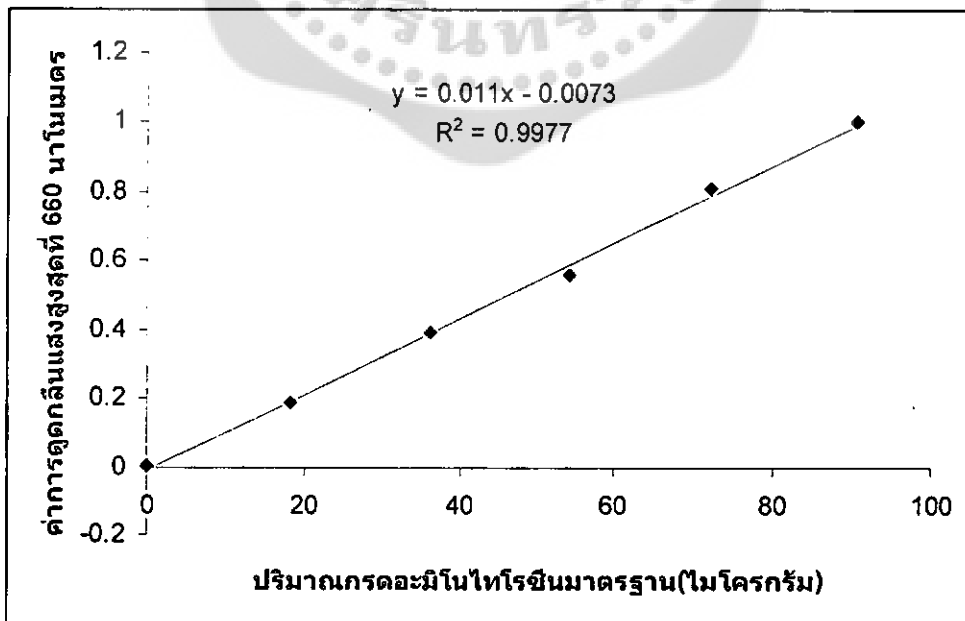
การศึกษากการเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการหมักได้เก็บตัวอย่างในช่วงการหมักโมโรนิตามช่วงระยะเวลาการหมักดังนี้ เริ่มเก็บตัวอย่างที่ 0 10 20 30 45 60 75 และ 90 วัน ตามลำดับ โดยติดตามการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส และโปรตีเอส ปริมาณกรดอินทรีย์ ปริมาณจุลินทรีย์ และค่า pH

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณเอนไซม์อะไมเลส และโปรตีเอส

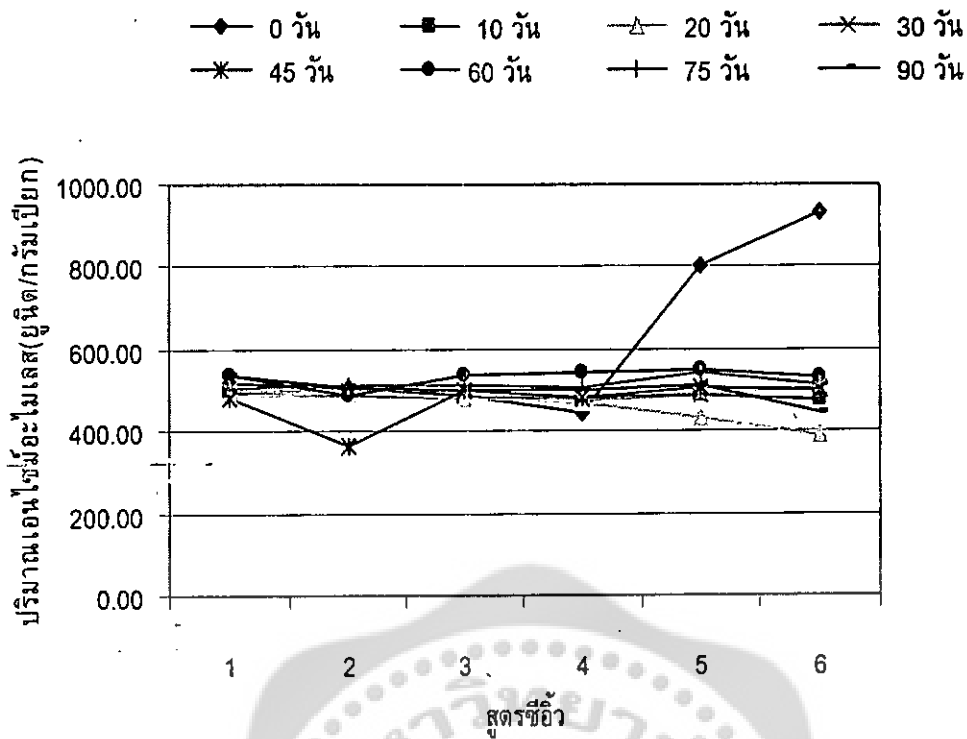
จากการทดลองบทที่ 3 ซึ่งได้วิเคราะห์หาปริมาณเอนไซม์โดยวิธีวิเบิลสเปกโตรเมตรี โดยได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณเทียบกับกราฟมาตรฐานดังรูปที่ 4.1 และ 4.2 เมื่อนำผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดมาเทียบกับกับกราฟมาตรฐานดังกล่าวสามารถคำนวณหาปริมาณเอนไซม์ ได้ผลตามที่แสดงในรูปที่ 4.3 และ 4.4



รูปที่ 4.1 กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์อะไมเลส

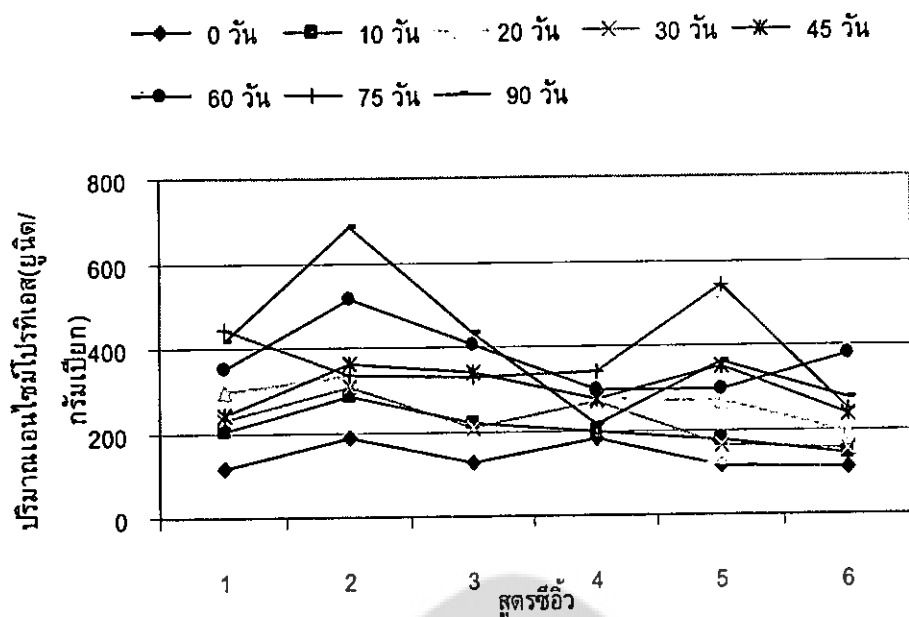


รูปที่ 4.2 กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์โปรตีเอส



รูปที่ 4.3 ปริมาณเอนไซม์อะไมเลสในส่วนผสมหมักแต่ละสูตรที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าปริมาณเอนไซม์อะไมเลสที่ตรวจพบในแต่ละสูตรการหมักมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาที่ทำการศึกษา ซึ่งเอนไซม์อะไมเลสเกิดจากเชื้อ *A. oryzae* ผลิตขึ้นเอนไซม์อะไมเลสจึงทำหน้าที่ย่อยแป้งเป็นน้ำตาล (สุมาลี เหลืองสกุล, 2539: 217-218) ; (Yong and Wood, 1974) ในถั่วมะแฮะมีแป้งเป็นองค์ประกอบมากกว่าในถั่วเหลืองหากจะพิจารณาตามทฤษฎีแล้วกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสหน้าจะเกิดขึ้นกับสูตรที่มีถั่วมะแฮะเป็นองค์ประกอบหลักหรือถั่วมะแฮะล้วนได้มากกว่าในสูตรที่มีถั่วเหลืองล้วนแต่เมื่อพิจารณาจากปริมาณเอนไซม์อะไมเลสในตัวอย่างที่เก็บช่วงเริ่มต้นของการหมัก (0 วัน) ของสูตรที่ 1 ที่มีถั่วมะแฮะ 100 % โดยน้ำหนักพบว่าปริมาณเอนไซม์อะไมเลสเท่ากับ 517.69 หน่วยต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก ซึ่งน้อยกว่าสูตรที่ 6 ที่มีถั่วเหลือง 100 % โดยน้ำหนัก ที่มีเอนไซม์อะไมเลสสูงถึง 930.09 หน่วยต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก การเกิดกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสดังกล่าวนี้ทั้งนี้สันนิษฐานได้ว่ามีผลมาจากโครงสร้างทางกายภาพของเมล็ดถั่วทั้ง 2 ชนิด ที่แตกต่างกัน คือ เมล็ดถั่วมะแฮะมีลักษณะของเปลือกหนาและเนื้อแข็งย่อยยากจึงทำให้การทำงานของเอนไซม์อะไมเลสที่จะเข้าไปย่อยแป้งได้ยากกว่าเมล็ดของถั่วเหลืองที่มีเปลือกบาง เนื้ออ่อนนุ่มกว่า จึงมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวข้างต้นในช่วงแรกของการหมัก แต่เมื่อระยะเวลาการหมักผ่านไปกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสจะมีลักษณะใกล้เคียงกัน เนื่องจากปริมาณที่ตรวจพบมีใกล้เคียงกัน โดยมีปริมาณในช่วง 400 – 600 หน่วย ต่อกรัมเปียก

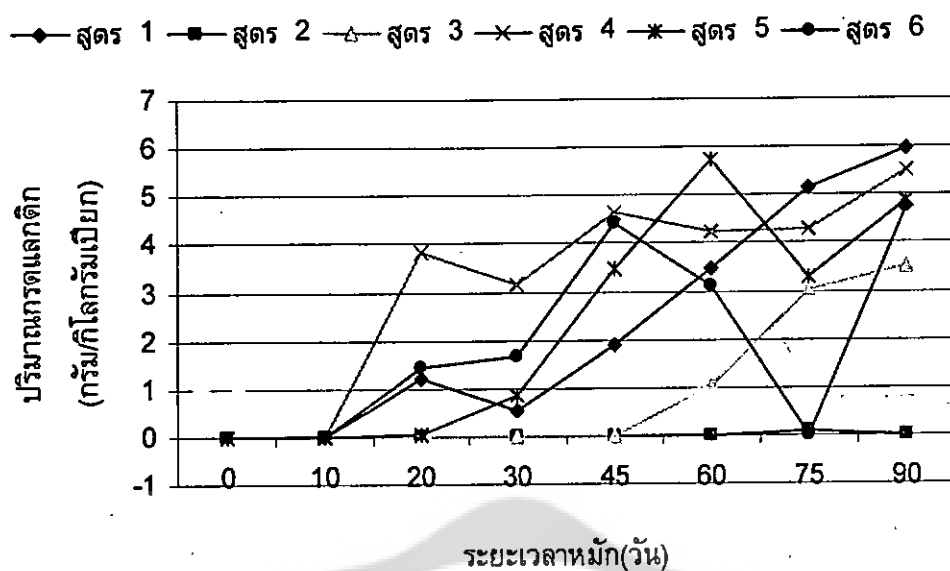


รูปที่ 4.4 ปริมาณเอโนไซมโปรทีเอสในส่วนผลหมักแต่ละสูตรที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน

ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณเอโนไซมโปรทีเอสตามที่แสดงในรูปที่ 4.4 นั้นมีแนวโน้มมากขึ้นตามระยะเวลาการหมัก โดยตรวจวิเคราะห์ตามระยะเวลาของการหมักเป็นช่วงๆ ดังเช่นการเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ปริมาณเอโนไซมอะไมเลส พบว่าปริมาณเอโนไซมโปรทีเอสในสูตรแต่ละสูตรมีการเปลี่ยนแปลงเพราะ เอโนไซมโปรทีเอสจึงมีหน้าที่ย่อยโปรตีนในถั่วให้โมเลกุลเล็กลงได้กรดอะมิโน (สุมาลี เหลืองสกุล. 2539: 217-218) ; (Yong and Wood. 1974) นอกจากนี้โปรตีนที่ถูกย่อยยังเป็นอาหารของแบคทีเรียแลคติก ซึ่งเมื่อสังเกตกิจกรรมของเอโนไซมโปรทีเอสที่เริ่มต้นการหมัก (0 วัน) ของแต่ละสูตรจะมีปริมาณเอโนไซมโปรทีเอสน้อยกว่าในช่วงการหมักสุดท้าย (90 วัน) และผลการทดลองสอดคล้องกับการตรวจหาปริมาณกรดแลคติก เพราะเมื่อเริ่มหมักในตอนแรก เอโนไซมโปรทีเอสมีกิจกรรมการย่อยโปรตีนน้อยจึงไม่สามารถตรวจพบปริมาณกรดแลคติกในช่วง 0-10 วันแรกของการหมักในทุกสูตร

การวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ได้ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณกรดอินทรีย์ 3 ชนิด คือ กรดแลคติก กรดอะซิติก กรดซิตริก โดยทำการทดลองด้วยเทคนิคเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ผลการวิเคราะห์สามารถเทียบได้กับกราฟมาตรฐานของโครมาโทแกรมมาตรฐานแต่ละชนิดดังแสดงในรูปภาคผนวก เมื่อเปรียบเทียบค่าพื้นที่พีคของโครมาโทแกรมทำให้สามารถคำนวณหาปริมาณกรดแต่ละชนิดที่มีในส่วนประกอบหมักแต่ละสูตรของการเก็บตัวอย่างในแต่ละช่วงโดยเริ่มเก็บตัวอย่างที่ 0 10 20 30 45 60 75 และ 90 วัน ได้แสดงผลรวมดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 ปริมาณกรดแลกติกในส่วนผสมหมักแต่ละสูตรที่เก็บในระยะเวลาต่างๆ

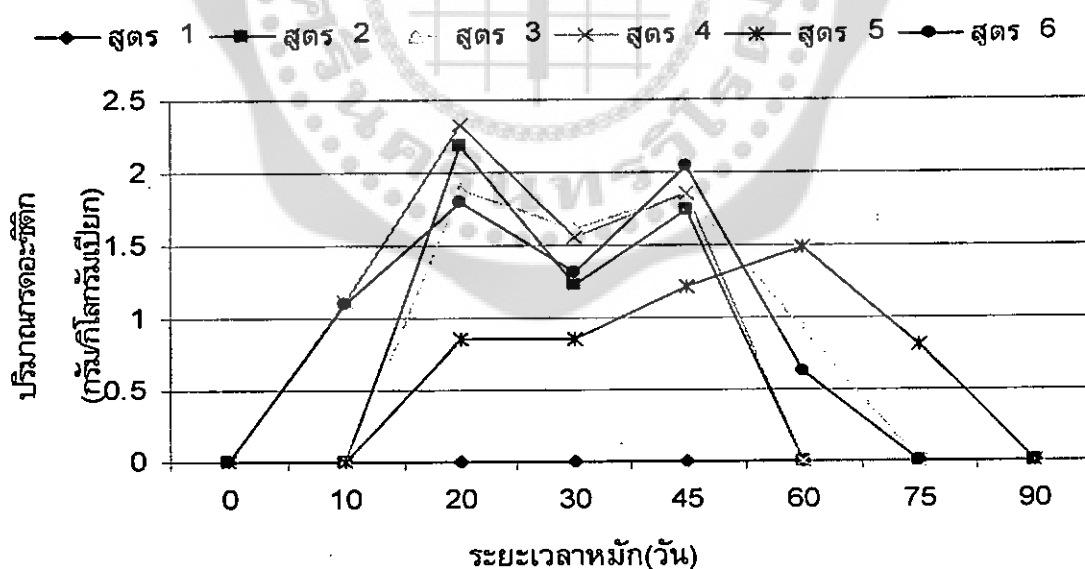
การวิเคราะห์ปริมาณกรดแลกติกในช่วง 0-10 วันแรกของการหมักทุกสูตรไม่พบปริมาณกรดแลกติกอื่นเนื่องมาจากในช่วงแรกยังไม่มีการทำงานของเชื้อแบคทีเรียแลกติกซึ่งประกอบกับ ค่า pH ในแต่ละสูตรของส่วนผสมหมักดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ค่า pH ของชีวแต่ละสูตรตลอดระยะเวลาการหมัก

ช่วงระยะเวลา การหมัก(วัน)	สูตรการหมักชีว ถั่วมะแฮะ : ถั่วเหลือง					
	1	2	3	4	5	6
0	5.46	5.46	5.21	5.36	5.58	5.44
10	4.66	4.79	4.84	5.10	5.47	5.23
20	4.39	4.65	4.79	4.89	5.38	5.10
30	4.37	4.59	4.74	4.73	5.17	4.98
45	4.56	4.68	4.78	4.75	4.89	4.79
60	4.84	4.78	4.85	4.88	4.79	4.77
75	4.67	4.90	4.79	4.87	4.85	4.81
90	4.67	4.83	4.77	4.84	4.77	4.78

พบว่า ค่า pH ไม่เหมาะกับการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลกติก โดยเชื้อแบคทีเรียแลกติกจะเจริญได้ดีในช่วงของ pH 4.5 ในการหมักช่วงระยะเวลาตั้งแต่ 20 30 45 60 75 และ 90 วัน ได้ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลกติกในสูตรที่ 1 อยู่ในช่วง 0.56-5.94 กรัมต่อกิโลกรัมเปียกของถั่วหมัก สูตรที่ 2 อยู่ในช่วง 0.00 - 0.08 กรัมต่อกิโลกรัมเปียกของถั่วหมัก สูตรที่ 3 อยู่ในช่วง 0.00 - 3.50 กรัมต่อกิโลกรัมเปียกของถั่วหมัก สูตรที่ 4 อยู่ในช่วง 3.14 - 5.49 กรัมต่อกิโลกรัมเปียกของถั่วหมัก สูตรที่ 5 อยู่ในช่วง 0.04 - 5.73 กรัมต่อกิโลกรัมเปียกของถั่วหมัก และสูตรที่ 6 อยู่ในช่วง 0.00 - 4.75 กรัมต่อกิโลกรัมเปียกของถั่วหมัก เมื่อพิจารณาแล้วพบว่ามีการทำงานของแบคทีเรียแลกติกเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้นซึ่งทราบได้จากการตรวจพบปริมาณกรดแลกติกที่เพิ่มขึ้นตามช่วงระยะเวลาของการหมักซึ่งสัมพันธ์กับค่า pH ที่อยู่ในช่วงของการเจริญได้ดีของแบคทีเรียแลกติก และเมื่อพิจารณาจากการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียที่สามารถตรวจพบได้เมื่อหมักถึง 90 วัน สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลกติกในสูตรที่ 2 นั้นจะพบว่าตรวจพบปริมาณกรดแลกติกได้น้อยมากเมื่อเทียบกับสูตรอื่นๆ หรือแทบจะไม่พบเลย สาเหตุหนึ่งคือความเป็นไปได้จากข้อผิดพลาดของการทดลองและของเครื่องมือวิเคราะห์และเมื่อพิจารณาปริมาณแบคทีเรียตารางที่ 4.3 พบว่าปริมาณแบคทีเรียที่ตรวจพบโดยเฉลี่ยแล้วน้อยกว่าสูตรอื่นๆ

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิติก ได้แสดงในรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 ปริมาณกรดอะซิติกในส่วนผสมหมักแต่ละสูตรที่เก็บในระยะเวลาต่างๆ

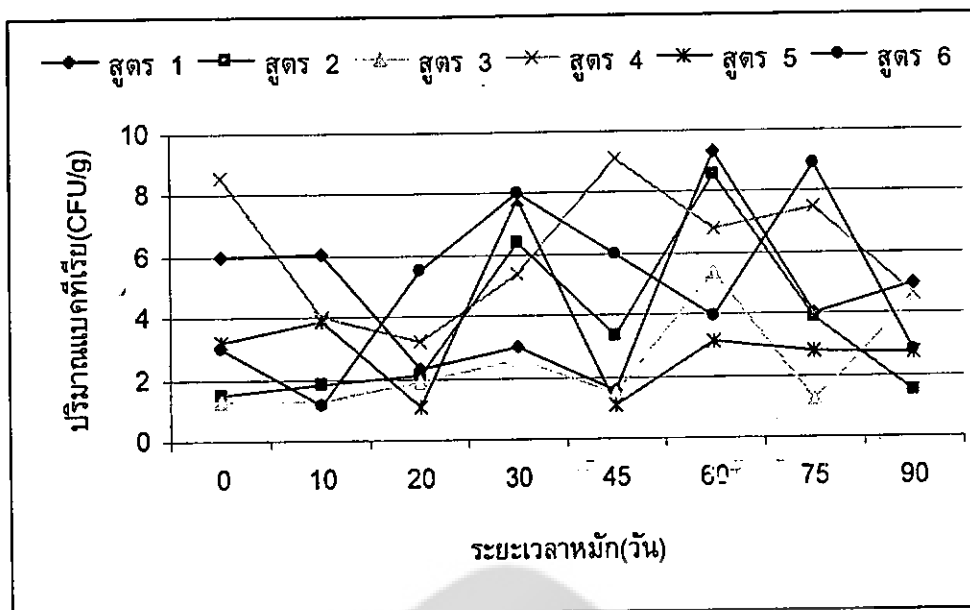
พบว่า ปริมาณกรดอะซิติกในตอนแรกของการหมักไม่สามารถตรวจพบได้ แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปก็สามารถตรวจพบกรดอะซิติกได้ แต่ส่วนใหญ่พบว่า ปริมาณกรดนี้จะเพิ่มมากขึ้นในช่วงกลางของการหมักคือระยะเวลา 20 วัน ขึ้นไป และบางสูตรจะเริ่มลดลงในช่วงการหมัก 60 วัน แต่อย่างไรก็ตามที่ระยะเวลา 90 วัน กรดนี้จะลดลงน้อยมากจนตรวจไม่พบในเกือบทุกสูตร ซึ่ง

โดยทั่วไปแล้วกรดอะซิติกจะถูกผลิตขึ้นจากเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Acetobaacter* และ *Gluconbacter* แบคทีเรียทั้งสองสกุลสามารถออกซิไดส์เอทานอลไปเป็นกรดอะซิติก แต่แตกต่างกันที่ *Acetobaacter* จะเปลี่ยนเอทานอลไปเป็นกรดอะซิติกได้ปริมาณมากกว่าและพวกนี้สามารถออกซิไดส์กรดอะซิติกต่อไปเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ จึงเรียกว่า overoxidise ส่วน *Gluconbacter* เปลี่ยนเอทานอลไปเป็นกรดอะซิติกได้ต่ำกว่าและพวกนี้ไม่สามารถออกซิไดส์กรดอะซิติกต่อไปจึงเรียกว่า underoxidize จากความสามารถในการออกซิไดส์เอทานอลไปเป็นกรดอะซิติกดังกล่าว จึงนิยมนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตน้ำส้มสายชูมากกว่าซึ่งมีรสเปรี้ยวที่เกิดจากการดักดองเป็นส่วนใหญ่ (วิลาวณีย์ เจริญจิตรตระกูล, 2539: 86) ดังนั้นการหมักซีอิ๊วไม่ได้ใช้แบคทีเรียในกลุ่ม *Acetobaacter* และ *Gluconbacter* มาใช้ในการหมักโดยตรง จึงทำให้ผลการทดลองกล่าวพบว่า ปริมาณกรดอะซิติกของการหมัก 0 และ 90 วัน นั้นไม่สามารถตรวจพบได้ซึ่งสามารถบอกถึงความสามารถของการเจริญของจุลินทรีย์ที่ได้ต้องการว่าสามารถเจริญได้ในช่วงไหนบ้างนั้นก็คือจุลินทรีย์อื่นสามารถเจริญได้ในการหมักถึง 75 วันในสูตรที่ 1 และ 5 เจริญได้ถึงการหมัก 60 วัน ในสูตรที่ 3 5 และ 6 ตามลำดับและเจริญได้ในการหมัก 45 วัน ในสูตรที่ 2 และ 4 เท่านั้น ส่วนหลังจากนั้นจุลินทรีย์เหล่านั้นจะถูกยับยั้งการเจริญและถูกกำจัดออกไป ดังนั้นเมื่อหมักครบ 90 วัน จึงไม่สามารถตรวจพบปริมาณกรดอะซิติกอีกซึ่ง นอกจากนี้ปริมาณกรดอะซิติกจะบ่งบอกถึงความพอดีของซีอิ๊วว่าการหมักซีอิ๊วสมบูรณ์หรือไม่

การตรวจวิเคราะห์นี้ไม่ปรากฏปริมาณกรดอะซิติกอันเนื่องมาจากการดักดองจะถูกสร้างจาก *A. niger* (สุมาลี เหลืองสกุล, 2539: 217) ; (วิลาวณีย์ เจริญจิตรตระกูล, 2539: 110) ส่วนมากจะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น เครื่องดื่ม ลูกกวาด หรือใช้เติมในปลาเพื่อการถนอม และใช้ในอุตสาหกรรมยา แต่เนื่องจากการหมักซีอิ๊วใช้เชื้อ *A. oryzae* และหมักในน้ำเกลือ จึงทำให้มาสามารถตรวจพบปริมาณกรดอะซิติกในการทดลองของแต่ละสูตรได้

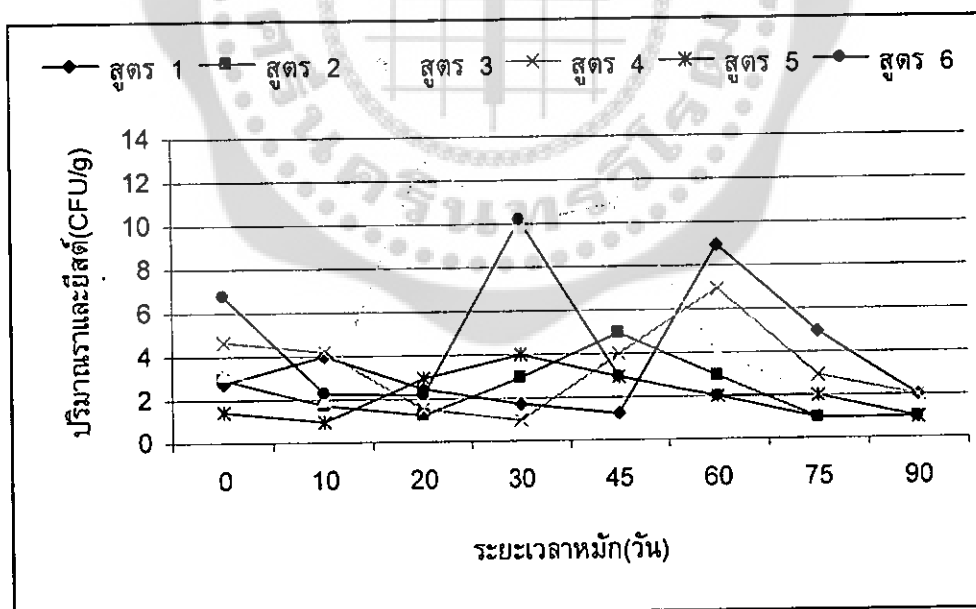
ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ได้ตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ 3 ชนิด คือ แบคทีเรีย รา และยีสต์ จากการเก็บตัวอย่าง 0 10 20 30 45 60 75 และ 90 วัน ตามลำดับ โดยการนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแยกเป็นการเลี้ยงด้วยอาหารสองชนิดคือการเพาะเลี้ยง แบคทีเรียด้วย Nutrient agar และการเพาะเลี้ยงราและยีสต์ด้วย Potato dextrose agar ผลการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียในสูตรต่าง ๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 ปริมาณแบคทีเรียในส่วนผสมหมักแต่ละสูตรที่ระยะเวลาต่างกัน

จะเห็นได้ว่าการทำงานของแบคทีเรียตลอดการทดลองอันส่งผลให้มีการผลิตกรดแลคติกตลอดการทดลองเช่นกัน ส่วนการตรวจปริมาณยีสต์และราได้ผลดังแสดงในรูปภาพที่ 4.8



รูปที่ 4.8 ปริมาณราและยีสต์ในส่วนผสมหมักแต่ละสูตรที่ระยะเวลาต่างกัน

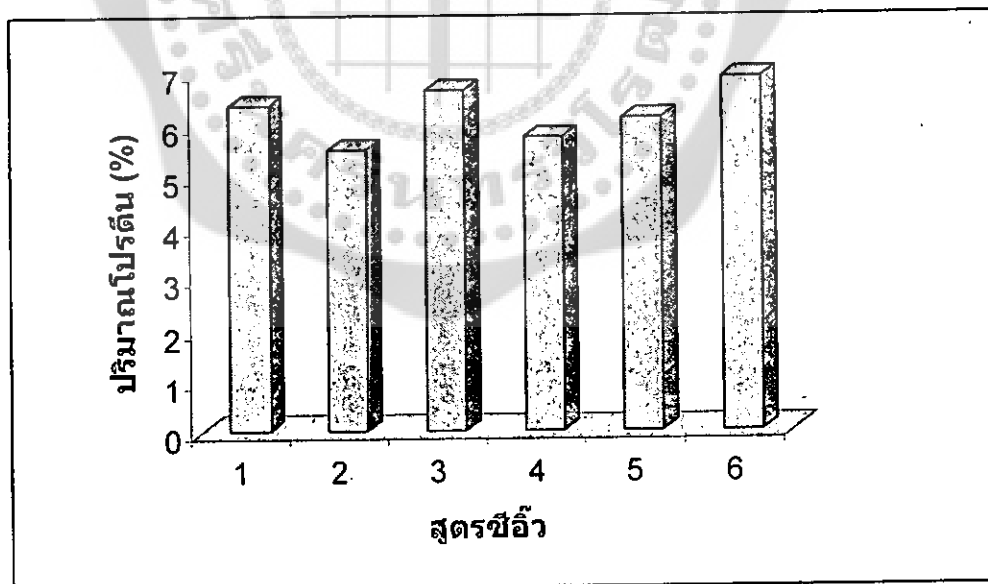
จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าสามารถตรวจพบเชื้อราในช่วงแรกของการหมักได้มากกว่าช่วงการหมักสุดท้ายเมื่อครบ 90 วัน นั้นเนื่องมาจากในการหมักซีอิ๊วได้ใช้หัวเชื้อ *A. oryzae* ในการหมักในช่วงโคจิจึงทำให้ตรวจพบปริมาณราและยีสต์ในช่วงแรกมากกว่าช่วงสุดท้ายนั่นเอง

ผลการวิเคราะห์คุณภาพซีอิ๊วตามมาตรฐานอุตสาหกรรม (มอก.)

การศึกษาวิเคราะห์คุณภาพน้ำซีอิ๊วแต่ละสูตรที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์แล้วไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ปริมาณน้ำตาล ปริมาณเกลือ และปริมาณโลหะหนัก เมื่อทำการทดลองแล้วได้ผลการทดลองดังนี้

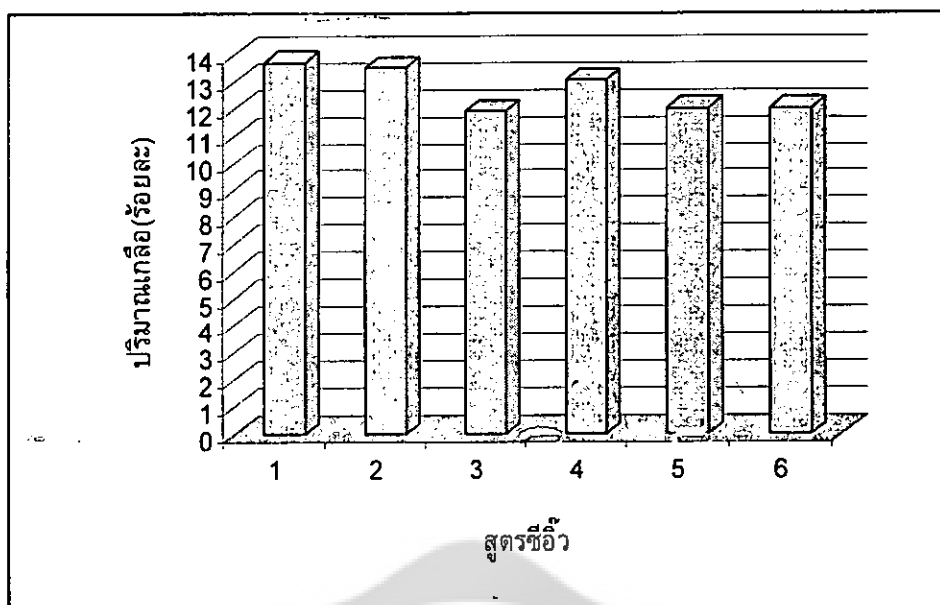
ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยใช้วิธีไทเทรตแบบกรด-เบส ซึ่งได้ทดลองตามวิธี AOAC โดยวิเคราะห์คุณภาพซีอิ๊วที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์แล้วได้ผลคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.9 โดยพบว่า ปริมาณโปรตีน ในสูตรที่ 1-6 มีประมาณร้อยละ 6.98 6.00 6.50 5.80 5.45 และ 6.35 ตามลำดับ ซึ่งปริมาณโปรตีนนี้ได้รวมนี้เป็นผลเนื่องมาจากกิจกรรมของเอนไซม์โปรทีเอสจากกระบวนการหมักจนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือซีอิ๊ว และเมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนระหว่างสูตรที่ 1 ถั่วมะแฮะล้วน และสูตรที่ 6 ถั่วเหลืองล้วนแล้วพบว่า ในสูตรที่ 6 นั้นมีปริมาณโปรตีนมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 6.98 และกว่าสูตรที่ 6 ที่มีเพียงร้อยละ 6.35 ซึ่งสันนิษฐานได้ว่าระหว่างกระบวนการหมักในสูตรที่ 6 เกิดกิจกรรมการย่อยโปรตีนที่สมบูรณ์กว่า และรองลงมาคือจากสูตรที่ 3 คือ ส่วนผสมถั่วมะแฮะร้อยละ 60 ต่อถั่วเหลืองร้อยละ 40 คิดเป็นร้อยละ 6.50 ซึ่งมีมากกว่าสูตรที่ 1



รูปที่ 4.9 ปริมาณโปรตีนของซีอิ๊วในแต่ละสูตร

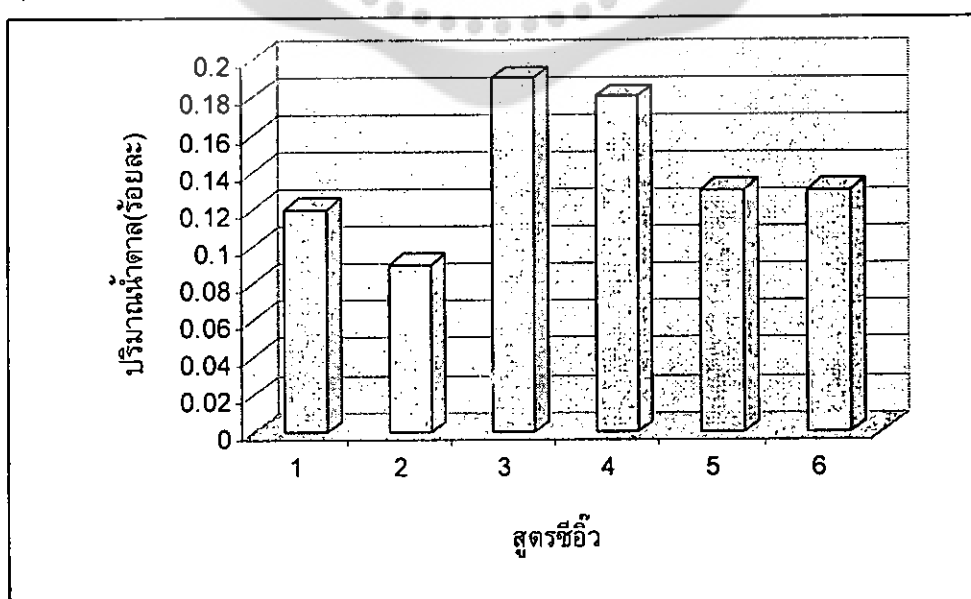
สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเกลือนั้นได้ทดลองตามวิธี AOAC โดยการไทเทรตแบบตกตะกอน ปริมาณเกลือที่พบในซีอิ๊วทั้ง 6 สูตรร้อยละ 13.74 13.54 11.90 13.10 12.05 12.05 ตามลำดับ ตามที่แสดงในรูปที่ 4.10



รูปที่ 4.10 ปริมาณเกลือของซีอิ๊วในแต่ละสูตร

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณเกลือในซีอิ๊วสูตรที่ 1 มีมากที่สุดคือเป็นร้อยละ 13.74 และปริมาณเกลือที่พบน้อยที่สุดในสูตรที่ 3 ร้อยละ 11.90 ซึ่งเมื่อเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วขาวชั้นที่หนึ่งหรือชั้นพิเศษที่กำหนดให้มีปริมาณเกลือคิดเป็นร้อยละของน้ำหนักอยู่ในช่วงร้อยละ 17-23 นั้นปริมาณเกลือในซีอิ๊วที่ได้จากการทดลองทั้ง 6 สูตร ยังมีน้อยกว่า

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลได้ทดลองตามวิธี AOAC ตามที่แสดงในรูปที่ 4.11

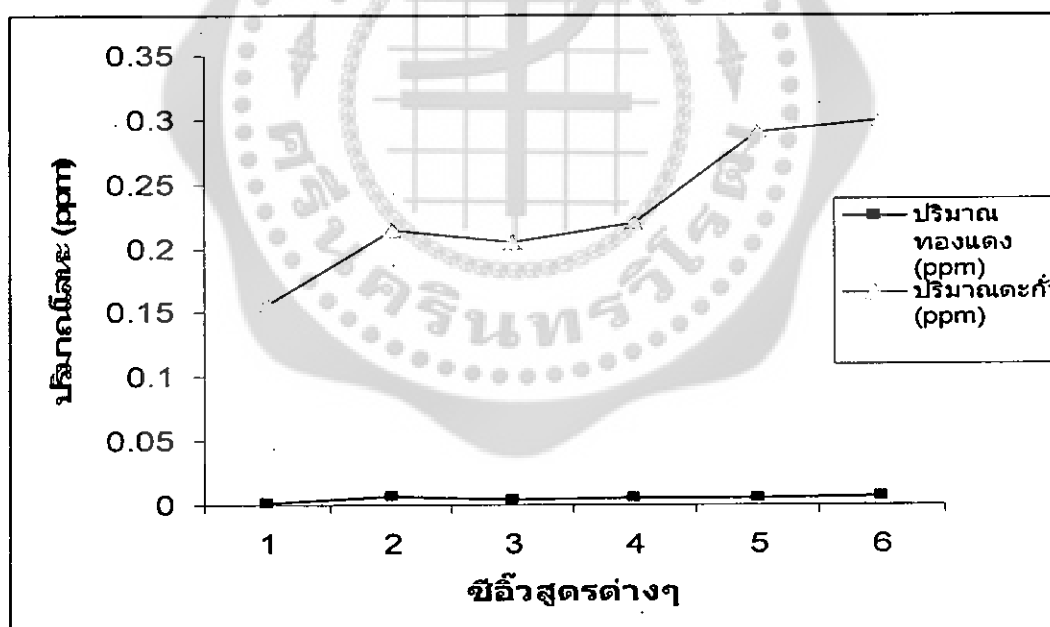


รูปที่ 4. 11 ปริมาณน้ำตาลของซีอิ๊วในแต่ละสูตร

พบว่าปริมาณน้ำตาลในแต่ละสูตรคือสูตรที่ 1-6 ได้ร้อยละ 0.12 0.09 0.19 0.18 0.13 และ 0.13 ตามลำดับจะเห็นได้ว่าปริมาณน้ำตาลจากสูตรที่ 3 คือ ส่วนผสมถั่วมะแะร้อยละ 40 ต่อ ถั่วเหลืองร้อยละ 60 นั้นมีมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 0.19 ซึ่งเมื่อเทียบกับสูตรที่ 6 ที่มีถั่วเหลืองล้วน เป็นวัตถุดิบมาตรฐานการผลิตชีอิ้วนั้นมีปริมาณน้ำตาลเพียงร้อยละ 0.13

ผลการวิเคราะห์โลหะ

ในการทำวิจัยนี้ได้ทำการวิเคราะห์โลหะหนักในชีอิ้วที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ทั้ง 6 สูตร โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณโลหะ คือ ตะกั่ว ทองแดง แคดเมียม สารหนู โดยเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปกโทรสโกปี ดังแสดงในรูปที่ 4.12 ซึ่งพบว่าในการวิเคราะห์ปริมาณโลหะในชีอิ้วแต่ละสูตรนั้นมีการตรวจพบโลหะหนักในชีอิ้วเพียงชนิดเดียว คือ ตะกั่ว ซึ่งปริมาณที่พบทั้ง 6 สูตร อยู่ในช่วง 0.001 – 0.004 ppm เท่านั้น เมื่อเทียบกับมาตรฐานอุตสาหกรรมที่กำหนดไม่ให้มีโลหะหนักในอาหารเกิน 2 ppm นั้นแสดงให้เห็นว่าชีอิ้วจากการทดลองในครั้งนี้ไม่มีโลหะหนักเกินที่มาตรฐานกระทรวงอุตสาหกรรมกำหนดไว้ นั้นแสดงถึงความปลอดภัยในเรื่องสารพิษจากโลหะหนักที่ตกค้าง



รูปที่ 4.12 ปริมาณโลหะในชีอิ้วทั้ง 6 สูตร

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผล

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาระบวนการผลิตชีอิ้วจากถั่วมะแฮะและถั่วเหลือง โดยทำการศึกษาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการหมัก และวิเคราะห์คุณภาพชีอิ้วตามมาตรฐาน อุตสาหกรรม (มอก.) หลังผ่านการพาสเจอร์ไรซ์แล้ว

จากผลการทดลองวิเคราะห์ในด้านต่างๆ สามารถสรุปได้ดังนี้

5.1 ในระหว่างกระบวนการหมักปริมาณปริมาณอะไมเลสที่ตรวจพบในแต่ละสูตรมีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา แสดงว่า มีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสเกิดขึ้นตลอดระยะเวลาการหมักจึงส่งผลให้ สามารถตรวจพบปริมาณกลูโคสในช่วงวันสุดท้ายของการหมัก

5.2 ปริมาณเอนไซม์โปรตีเอสมีแนวโน้มมากขึ้น แสดงว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสเกิดขึ้นตลอดระยะเวลาการหมักเช่นกัน ดังนั้นเมื่อระยะเวลาหมักนานขึ้นก็เกิดกระบวนการย่อยสลายโปรตีนในถั่วมากขึ้น

5.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในกระบวนการหมักนี้ สามารถตรวจพบปริมาณกรดอินทรีย์ได้เพียง 2 ชนิด คือกรดแลกติก และกรดอะซิติก ซึ่งกรดทั้งสองชนิดนี้มีผลส่งผลให้ลักษณะทางประสาทสัมผัสในด้านกลิ่นและรสของชีอิ้วดีขึ้น นอกจากนี้ปริมาณกรดยังแสดงถึงความสมบูรณ์ในกระบวนการหมักชีอิ้วด้วย โดยตรวจพบปริมาณกรดแลกติกในช่วงที่ค่า pH 4.5 – 5

5.4 ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ได้แก่ แบคทีเรีย รา และยีสต์ พบว่า มีการทำงานของแบคทีเรียตลอดการทดลองอันส่งผลให้มีการผลิตกรดแลกติก นอกจากนี้สามารถตรวจพบเชื้อราในช่วงแรกของการหมักได้มากกว่าช่วงการหมักสุดท้าย แสดงว่า เมื่อครบกำหนดระยะเวลา 90 วัน ของการหมัก ปริมาณจุลินทรีย์ต่างๆ เริ่มมีปริมาณลดลงจนเกือบคงที่ แสดงว่าผลิตภัณฑ์เกิดเป็นชีอิ้วแล้ว

5.5 ผลการวิเคราะห์คุณภาพของชีอิ้ว โดยการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ โปรตีน น้ำตาล เกลือ พบว่า ปริมาณโปรตีนในชีอิ้วสูตรที่ 1-5 มีปริมาณร้อยละ 6.98 6.00 6.50 5.80 และ 5.45 ตามลำดับ ซึ่งในชีอิ้วสูตรควบคุมมีปริมาณโปรตีนรวมร้อยละ 6.35 ปริมาณน้ำตาลในชีอิ้วสูตรที่ 1-5 มีปริมาณเท่ากับร้อยละ 0.12 0.09 0.19 0.18 และ 0.13 ตามลำดับ ส่วนสูตรควบคุมมีน้ำตาลร้อยละ 0.13 ส่วนผลการตรวจหาปริมาณเกลือในชีอิ้วทั้ง 5 สูตร มีค่าร้อยละ 13.74 13.54 11.90 13.10 และ 12.05 ตามลำดับ สูตรควบคุมมีเกลือร้อยละ 12.05 ผลจากการทดลองนี้จะเห็นว่าปริมาณโปรตีน น้ำตาล และเกลือ อยู่ในช่วงเดียวกับสูตรควบคุม

5.6 การตรวจปริมาณโลหะหนักพบเพียงชนิดเดียว คือ ตะกั่ว อยู่ในช่วง 0.001-0.004 ppm เท่านั้น เมื่อเทียบกับกำหนดของมาตรฐานอุตสาหกรรม จัดว่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน

5.7 จากผลการทดลองนี้ พบว่า ถั่วมะแฮสามารถนำมาหมักเป็นผลิตภัณฑ์ซีอิ๊วได้ และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับอัตราส่วนในแต่ละสูตร ซึ่งมีถั่วมะแฮเป็นวัตถุดิบร่วมกับถั่วเหลืองซึ่งนิยมใช้เป็นวัตถุดิบมาตรฐานในการผลิตซีอิ๊วนั้น จะเห็นว่า ส่วนผสมหมักทุกสูตร สามารถทำเป็นซีอิ๊วได้ โดยเป็นผลจากการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองชนิด แต่อย่างไรก็ตาม ถ้าต้องการจะใช้ส่วนผสมที่มีถั่วมะแฮเป็นวัตถุดิบหลักในปริมาณที่มากที่สุดสามารถใช้ถั่วมะแฮได้สูงสุดถึงร้อยละ 60 โดยน้ำหนัก ซึ่งทำให้ได้ซีอิ๊วมีคุณภาพ ไม่แตกต่างจากซีอิ๊วสูตรควบคุม

อภิปรายผล

ในการติดตามกระบวนการหมักครั้งนี้ได้ติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณเอนไซม์อะไมเลส โปรตีเอส ปริมาณกรดอินทรีย์ และปริมาณจุลินทรีย์ โดยการเก็บตัวอย่างเริ่มต้นการหมักช่วงโมโรมิ โดยเริ่มเก็บตัวอย่างที่ 0 10 20 30 45 60 75 และ 90 วัน ซึ่งในช่วงของการหมักโคจินั้นผู้วิจัยได้เติมเชื้อ *A. oryzae* ซึ่งเป็นเชื้อราสำหรับการหมักเต้าเจี้ยวและซีอิ๊ว เชื้อราชนิดนี้จะทำหน้าที่ผลิตเอนไซม์ 3 ชนิด ได้แก่ อะไมเลส โปรตีเอส และไลเปส ออกมาย่อยสลายแป้ง โปรตีน และไขมัน ทำให้ได้สารโมเลกุลเล็กหลายชนิด เช่น กรดอะมิโน กรดไขมัน เป็นต้น (สุมาลี เหลืองสกุล, 2539: 217-218) ; (Yong and Wood, 1974) ซึ่งสารเหล่านี้ทำให้เกิดกลิ่นรสเฉพาะตัวของซีอิ๊วและเป็นแหล่งอาหารสำหรับเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมัก ในขั้นตอนการเติมน้ำเกลือหรือช่วงการหมักโมโรมิ แบคทีเรียแลคติกจะทำหน้าที่ผลิตกรดแลคติกซึ่งมีกลิ่นเฉพาะ กรดที่ผลิตออกมาจะทำให้ค่า pH ของน้ำหมักซีอิ๊วลดลง ช่วยปรับสภาพให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของยีสต์ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ผลิต แอลกอฮอล์และสารให้กลิ่นรสที่ดีแก่ซีอิ๊ว

จากการทดลองพบว่าในระหว่างกระบวนการหมักปริมาณอะไมเลสที่ตรวจพบในแต่ละส่วน ผลสมการหมักมีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษาในถั่วมะแฮมีแบ่งเป็นองค์ประกอบมากกว่าในถั่วเหลือง ซึ่งถ้าพิจารณาตามทฤษฎีแล้ว กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสควรจะมีผลมากกับส่วนผสมหมักที่มีถั่วมะแฮเป็นองค์ประกอบหลักหรือถั่วมะแฮส่วนได้มากกว่าในสูตรที่มีถั่วเหลืองล้วน แต่เมื่อพิจารณาจากปริมาณเอนไซม์อะไมเลสในตัวอย่างที่เก็บช่วงเริ่มต้นของการหมัก (0วัน) ของสูตรที่ 1 ที่มีถั่วมะแฮ 100 % โดยน้ำหนัก พบว่ามีปริมาณเอนไซม์อะไมเลสเท่ากับ 517.69 ยูนิตต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก ซึ่งน้อยกว่าสูตรที่ 6 ที่มีถั่วเหลือง 100 % โดยน้ำหนัก ที่มีเอนไซม์อะไมเลสสูงถึง 930.09 ยูนิต ต่อ กรัมเปียกของถั่วหมัก ในการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส อาจมีผลมาจากโครงสร้างทางกายภาพของเมล็ดถั่วทั้ง 2 ชนิด ที่แตกต่างกัน คือ เมล็ดถั่วมะแฮมีลักษณะของเปลือกหนาและเนื้อแข็ง ทำให้อย่อยได้ยากกว่าถั่วเหลืองจึงทำให้การทำงานของเอนไซม์อะไมเลสที่จะเข้าไปย่อยแป้งได้ยากกว่าเมล็ดของถั่วเหลืองซึ่งมีเปลือกหุ้มที่บางกว่า และมีเนื้อที่อ่อนนุ่มกว่าจึงมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ ถ้าพิจารณาในการหมักโมโรมิทุกสูตรจะพบว่าในช่วง 20 วันแรก ปริมาณเอนไซม์อะไมเลสจะลดลงมากเนื่องจากความเป็นกรดของโมโรมิเพิ่มขึ้น ดังแสดงให้เห็นชัดในตาราง 4 และ 6

ส่วนปริมาณเอนไซม์โปรทีเอสมีแนวโน้มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาหมักนานขึ้นก็เกิดกระบวนการย่อยสลายโปรตีนในถั่วมากขึ้น ตามขั้นตอนการหมักชีอิ้วของเงิน เช็งเหอะ (วิเชียร สีสาวรรมาศ; 2534 : 15 – 39 แปล) เอนไซม์โปรทีเอสมีหน้าที่ย่อยโปรตีนในถั่วให้โมเลกุลเล็กลงได้กรดอะมิโน (สุมาลี เหลืองสกุล. 2539: 217-218) ; (Yong and Wood. 1974) นอกจากนี้โปรตีนที่ถูกย่อยแล้วยังเป็นอาหารสำคัญของแบคทีเรียแลคติก ที่ผลิตกรดแลคติกซึ่งให้กลิ่นเฉพาะตัว จึงมีการทดลองหมักชีอิ้วนานถึง 12 เดือน จากการเติมน้ำเกลือระดับของเอนไซม์โปรทีเอสจะลดลงในช่วงแรกของการหมักและจะเพิ่มขึ้นทั้งนี้เพราะเอนไซม์สูญเสียสภาพธรรมชาติหรือตกตะกอน ติดตามด้วยปฏิกิริยา resolubilization และ/หรือการปล่อยเอนไซม์ใหม่ออก มาจากเส้นใยของราที่ถูกย่อยสลาย (Yong and Wood. 1977b) อย่าง ไรก็ตามภาวะที่เหมาะสมในการหมักโมโรมิเพื่อให้ได้เอนไซม์ที่มีกิจกรรมสูงสุดยังขึ้นกับระดับอุณหภูมิด้วย โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมของกระบวนการหมักควรเท่ากับ 40 °C แต่เนื่องจากระดับอุณหภูมิของอำเภอบ่อเกลือ สถานที่ทำการทดลองหมักชีอิ้วนั้น อาจต่ำกว่าระดับ 40 °C เนื่องจาก สภาพภูมิอากาศแปรปรวน เนื่องจากฝน และอากาศเย็น จึงทำให้ปริมาณของเอนไซม์โปรทีเอสที่ตรวจพบไม่ค่อยสม่ำเสมอ ปริมาณโปรทีเอสที่ตรวจพบ จึงอยู่ในช่วง 108.08 - 683.93 ยูนิต์ต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก ดังแสดงให้เห็นชัดในตาราง 5 ซึ่งเมื่อพิจารณาการเกิดกิจกรรมอย่างสม่ำเสมอจากปริมาณเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด คือ อะไมเลส และโปรทีเอสแล้วพบว่า ในสูตรที่ 3 มีปริมาณเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอ

จากการศึกษาวิจัยได้ตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ 3 ชนิด จากการวิเคราะห์พบว่าพบว่าการตรวจวิเคราะห์ดังกล่าวไม่ปรากฏปริมาณกรดซิตริกอันเนื่องมา จากกรดซิตริกจะถูกสร้างจาก *A. niger* (สุมาลี เหลืองสกุล. 2539: 217) ; (วิลาวัณย์ เจริญจิตรตระกูล. 2539: 110) ส่วนมากจะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น เครื่องดื่ม ลูกกวาด หรือใช้เติมในปลาเพื่อการถนอม และใช้ในอุตสาหกรรมยา แต่เนื่องจากการหมักชีอิ้วใช้เชื้อ *A. oryzae* และหมักในน้ำเกลือ จึงทำให้ไม่สามารถตรวจพบปริมาณกรดซิตริกในการทดลองของแต่ละสูตรได้ ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกในช่วง 0-10 วันแรกของการหมักทุกสูตรไม่พบปริมาณกรดแลคติกอันเนื่องมาจากการเติมน้ำเกลือ ดังนั้นในช่วงแรกยังไม่มีการทำงานของเชื้อแบคทีเรียแลคติกถึงแม้จะมีการตรวจพบปริมาณของแบคทีเรียในช่วงแรกสูงก็ตามแต่ค่า pH ดังแสดงให้เห็นชัดเจนในภาพ ประกอบ 10 ซึ่งไม่เหมาะกับการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคติก ค่า pH ที่เหมาะกับการเจริญของแบคทีเรียแลคติกคือ 4.5 (Yong and Wood. 1977b) ดังนั้นปริมาณปริมาณกรดแลคติกที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 0.01 - 5.94 กรัมต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก นอกจากนี้ยังตรวจปริมาณกรดอะซิติก ซึ่งโดยทั่วไปแล้วกรดอะซิติกจะถูกผลิตขึ้นจากเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Acetobaacter* และ *Gluconbacter* แบคทีเรียทั้งสองสกุลสามารถออกซิไดส์เอทานอลไปเป็นกรดอะซิติก แต่แตกต่างกันที่ *Acetobaacter* จะเปลี่ยนเอทานอลไปเป็นกรดอะซิติกได้ปริมาณมากกว่าและพวกนี้สามารถออกซิไดส์กรดอะซิติกต่อไปเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ส่วน *Gluconbacter* เปลี่ยนเอทานอลไปเป็นกรดอะซิติกได้ต่ำกว่าและพวกนี้ไม่สามารถออกซิไดส์กรดอะซิติกต่อไป จากความสามารถในการออกซิไดส์เอทานอลไปเป็น

กรดอะซิติกดังกล่าว จึงนิยมนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตน้ำส้มสายชู ดังนั้นการหมักซีอิ๊วไม่ได้นำแบคทีเรียในกลุ่ม *Acetobaacter* และ *Gluconbacter* มาใช้ในการหมักโดยตรง จึงทำให้ผลการทดลองกล่าวพบว่าปริมาณกรดอะซิติกของการหมัก 0 และ 90 วัน นั้นไม่สามารถตรวจพบได้ซึ่งสามารถบอกถึงความสามารถของการเจริญของจุลินทรีย์ที่ได้ต้องการ ว่าสามารถเจริญได้ในช่วงใด กล่าวคือ จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ในการหมักถึง 75 วันในสูตรที่ 1 และ 5 เจริญได้ถึงการหมัก 60 วัน ในสูตรที่ 3 5 และ สูตรควบคุม ตามลำดับและเจริญได้ในการหมัก 45 วัน ในสูตรที่ 2 และ 4 เท่านั้น ส่วนหลังจากนั้นจุลินทรีย์เหล่านั้นจะถูกยับยั้งการเจริญและถูกกำจัดออกไป ดังนั้นเมื่อหมักครบ 90 วัน จึงไม่สามารถตรวจพบปริมาณกรดอะซิติกอีกซึ่ง ปริมาณกรดอะซิติก อยู่ในช่วง 0.10 - 2.33 กรัมต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก นอกจากนี้ปริมาณกรดอะซิติกจะบ่งบอกถึงความพอตัวของซีอิ๊วว่าการหมักซีอิ๊วสมบูรณ์หรือไม่ ดังนั้นจากการวิเคราะห์พบว่าในสูตรที่ 4 มีการเกิดกรดอะซิติกได้มากและสิ้นสุดเร็วกว่า ซึ่งแสดงว่าซีอิ๊วสูตรนี้มีความพอเหมาะความสมบูรณ์ของการหมักมากกว่าสูตรอื่น ศึกษาปริมาณน้ำตาลรวมในขั้นตอนการวิเคราะห์คุณภาพซีอิ๊วตามมาตรฐานอุตสาหกรรมพบว่าปริมาณกลูโคสเกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ซึ่งเอนโดอะไมเลสจะไฮโดรไลซ์แป้งแบบสุ่มที่ตำแหน่งพันธะอัลฟา - 1,4 - ไกลโคซิดิก เมื่อการย่อยเกิดขึ้นสมบูรณ์จึงสามารถตรวจพบปริมาณกลูโคสได้ นอกจากเอนโดอะไมเลสจะไฮโดรไลซ์แป้งแล้ว เอนไซม์เอกโซอะไมเลสจะทำหน้าที่นอน-รีดิวซิง (non-reducing) โดยจะย่อยที่ตำแหน่งพันธะอัลฟา - 1,4 - ไกลโคซิดิกและพันธะอัลฟา - 1,6 - ไกลโคซิดิก ได้ผลิตภัณฑ์เป็นดี-กลูโคส เอนไซม์นี้ รู้จักในนามของเบตา - อะไมเลส และ กลูโคอะไมเลส ด้วยเหตุนี้กลูโคอะไมเลสจึงเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการหมักซีอิ๊ว กลูโคสที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 0.00 - 36.38 กรัมต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก ทั้งนี้เมื่อพิจารณาในแต่ละสูตรและเปรียบเทียบกับสูตรที่ 6 ซึ่งเป็นสูตรควบคุมแล้วจะพบว่าเมื่อหมักครบ 90 วัน ปริมาณกลูโคสในสูตรที่ 5 ยังสามารถตรวจพบปริมาณกลูโคสได้ถึง 18.71 กรัมต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก ทั้งนี้สันนิษฐานได้ว่าในสูตรที่ 5 เอนไซม์กลูโคอะไมเลสทำหน้าที่ในการผลิตกลูโคสได้อย่างสมบูรณ์ที่สุดซึ่งเมื่อพิจารณาปริมาณเอนไซม์อะไมเลสของสูตรที่ 5 เมื่อหมักครบ 90 วัน ก็พบว่าปริมาณเอนไซม์อะไมเลสสูงกว่าปริมาณเอนไซม์อะไมเลสในสูตรที่ 6 ซึ่งเป็นสูตรควบคุมเช่นกัน

การศึกษาวิจัยใช้ถั่วเป็นวัตถุดิบหลักในการทดลอง ซึ่งในถั่วถั่วนั้นเป็นแหล่งโปรตีน เมื่อโปรตีนที่ถูกย่อยแล้วให้มีขนาดของโมเลกุลเล็กลง หรือปรากฏในรูปของกรดอะมิโน มากขึ้น อันเป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์จากจุลินทรีย์ พบว่าจากการทำงานของเชื้อ *A.oryzae* ที่เติมลงไปในช่วงโคจินั้นส่งผลให้ มีปริมาณเอนไซม์อะไมเลสสูงถึง 930.09 ยูนิตต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก และปริมาณเอนไซม์โปรตีเอสสูงที่สุดคือ 683.93 ยูนิตต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก จะเห็นได้ว่าในระยะแรกของการหมักปริมาณเอนไซม์โปรตีเอสมีน้อยและเมื่อผ่านไปได้ระยะหนึ่งปริมาณโปรตีเอสและ เอนไซม์โปรตีเอสเพิ่มขึ้น แต่ค่า pH ลดลงซึ่งเหมาะต่อการเจริญของ *Lactobacillus delbrueckii*, *Pediococcus halophilus* และ *Saccharomyces rouxii* ซึ่งมีอยู่ในอากาศ เชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวนี้มีบทบาทสำคัญที่สุดในการหมักโมโรมิเพราะช่วยสร้างกรดแลกติก ทำให้กลิ่นและรสชาติของซีอิ๊วดีขึ้น อีก

ทั้งจุลินทรีย์ดังกล่าวยังมีความสามารถเจริญได้ในสภาพที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงถึงร้อยละ 20 จึงทำให้จุลินทรีย์บางชนิดถูกกำจัดออกไป เมื่อตรวจปริมาณแบคทีเรียจึงทำให้พบมากในช่วงแรกของการหมักและตลอดระยะเวลาที่ได้เก็บตัวอย่างตรวจก็พบแบคทีเรียอยู่ถึงแม้จะลดลงบ้างเพราะเมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้นจุลินทรีย์เหล่านี้ก็จะเริ่มลดลง

การศึกษากระบวนการหมักซีอิ๊วจากถั่วเหลืองและถั่วมะแฮะ เมื่อหมักครบ 90 วัน ทั้งหมด 6 สูตร นำไปกรองเอาน้ำซีอิ๊วไปผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ หลังจากนั้นนำซีอิ๊วไปวิเคราะห์คุณภาพซีอิ๊วตามมาตรฐานอุตสาหกรรมโดยได้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ปริมาณน้ำตาล ปริมาณเกลือ และโลหะหนัก

ซีอิ๊วที่ได้จากการหมักมีถั่วมะแฮะและถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีน การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ในน้ำซีอิ๊วในสูตรต่าง ๆ ทั้ง 6 สูตร เมื่อเทียบสูตรการหมักซีอิ๊วสูตรที่ 1 และสูตรที่ 6 ที่เป็นสูตรควบคุมจะเห็นได้ว่าซีอิ๊วสูตรที่ 1 มีปริมาณโปรตีนร้อยละของน้ำหนักมากกว่าซีอิ๊วสูตรที่ 6 เมื่อพิจารณาจากการวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์โปรตีเอสพบว่าในสูตรที่ 1 มีปริมาณเอนไซม์ที่สม่ำเสมอและสูงกว่าสูตรที่ 6 นั้นแสดงว่าเอนไซม์โปรตีเอสในสูตรที่ 1 มีกิจกรรมดีกว่า ซึ่งแสดงว่ากระบวนการหมักของซีอิ๊วสูตรที่ 1 ในมีการย่อยสลายโปรตีนได้ดีกว่าในสูตรที่ 6 จึงทำให้มีปริมาณโปรตีนมากกว่าและเมื่อเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วของกระทรวงอุตสาหกรรมที่ได้ตั้งเกณฑ์มาตรฐานไว้ว่าซีอิ๊วชั้น 1 (วันชัย สมชิต. 2527: 116) ต้องมีโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 4.5 ของน้ำหนัก นั้นแสดงให้เห็นว่าน้ำซีอิ๊วสูตรที่ 1 มีโปรตีนอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วของกระทรวงอุตสาหกรรม และสามารถเรียงลำดับปริมาณโปรตีนของสูตรต่าง ๆ จากมากไปหาน้อยได้ดังนี้ สูตรที่ 1 3 6 2 4 และ 5 ตามลำดับ

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในน้ำซีอิ๊วทั้ง 6 สูตร เมื่อเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วของกระทรวงอุตสาหกรรมที่ได้ตั้งเกณฑ์มาตรฐานของซีอิ๊วชั้น 1 ปรากฏว่าน้ำซีอิ๊วทั้ง 6 สูตร ยังมาปริมาณน้ำตาลในระดับต่ำกว่ามาตรฐานคือปริมาณน้ำตาลของซีอิ๊วทั้ง 6 สูตรอยู่ในช่วง 0.09 - 0.19 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาตามวิธีของ AOAC อาจมีความคลาดเคลื่อนสูงมาก เป็นผลจากข้อจำกัดของวิธีการตรวจสอบ เนื่องจาก ซีอิ๊วเป็นผลิตภัณฑ์ที่ให้สีเข้ม จึงที่มีผลต่อข้อจำกัดของวิธีการวิเคราะห์ ซึ่งในความเป็นจริงถ้าพิจารณาจากปริมาณกลูโคสแล้วน้ำตาลที่วิเคราะห์ได้น่าจะมีปริมาณสูงกว่าที่วิเคราะห์ได้ในการวิจัยนี้

การวิเคราะห์ปริมาณเกลือในน้ำซีอิ๊วทั้ง 6 สูตร เมื่อเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วของกระทรวงอุตสาหกรรมที่ได้ตั้งเกณฑ์มาตรฐานไว้ว่าในน้ำซีอิ๊วต้องมีปริมาณเกลือร้อยละ 17 - 23 ของน้ำหนัก ซึ่งเมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ปริมาณเกลือในน้ำซีอิ๊วทั้ง 6 สูตร พบว่ามีปริมาณเกลืออยู่ในช่วงร้อยละ 11.90 - 13.74 ของน้ำหนัก ดังนั้นถ้าเทียบกับมาตรฐาน น้ำซีอิ๊วจากการวิจัยจึงมีปริมาณเกลือต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วของกระทรวงอุตสาหกรรม

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ได้ทำการตรวจวิเคราะห์โลหะหนักจำนวน 4 ชนิด คือ ตะกั่ว ทองแดง แคดเมียม และสารหนู ผลการวิเคราะห์พบว่าในน้ำซีอิ๊วทั้ง 6 สูตร โลหะหนักที่ตรวจพบมีเพียงชนิดเดียวคือ ตะกั่ว อยู่ในช่วง 0.001 - 0.004 ppm ซึ่งตามมาตรฐานกระทรวงอุตสาหกรรมที่กำหนดให้

มีปริมาณโลหะหนักในอาหารได้ไม่เกิน 2 ppm ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าน้ำซีอิ๊วจากการทดลองทั้ง 6 สูตร มีความปลอดภัยจากโลหะหนัก

ข้อเสนอแนะ

1. การวิจัยถั่วมะแฮะยังไม่มีปรากฏว่ามีการวิจัยได้ได้ทดลองนำมาผลิตเป็นซีอิ๊วจากถั่วมะแฮะ(สมชาย ประภาวัต. 2541: การศึกษาการทำและการยอมรับได้ส่วนจากถั่วมะแฮะพันธุ์ต่างๆ เปรียบ เทียบกับถั่วเขียว); (นิรมล ล้อสุรินทร์. 2536: การพัฒนาอาหารเข้าสำเร็จรูปชนิดแผ่นจาก ถั่วมะแฮะ); (สมชาย ประภาวัต. 2541: การศึกษาการทำคุกกี้จากถั่วเขียวผิวดำเปรียบเทียบกับถั่วเขียวและถั่วมะแฮะ) จากการท่ววิจัยในครั้งนี้เป็นครั้งแรก จากผลการวิเคราะห์ทั้งในระหว่าง กระบวนการหมักและวิเคราะห์ด้านคุณภาพซีอิ๊ว ควรมีการศึกษาวิจัยต่อไปเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์
2. ในการวิจัยนี้ทำการวิเคราะห์ติดตามผลช่วงระหว่างกระบวนการหมักและการวิเคราะห์ คุณภาพซีอิ๊วตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเท่านั้นการศึกษาขั้นต่อไปควรมีการทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อหาความชอบในผลิตภัณฑ์ และเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ควรมีการคัดเลือกและพิจารณา ศึกษากระบวนการหมักซีอิ๊วจากถั่วมะแฮะในสูตรที่ 3
3. จากการศึกษาวิจัยพบว่าการวิเคราะห์น้ำตาลโดยเทคนิค สเปกโทรเมตรีตามวิธี AOAC ยังมีข้อจำกัด เรื่องความเข้มของสีซีอิ๊ว ดังนั้นในการวิเคราะห์น้ำตาลจากซีอิ๊วควรทำการวิเคราะห์ ด้วยเทคนิค HPLC แต่เนื่องจากปัจจัยข้อจำกัดเรื่องอุปกรณ์คอลัมน์ที่ใช้ตรวจสอบน้ำตาลในห้องปฏิบัติการทดลองยังไม่มีจึงไม่สามารถจะเลือกทดลองด้วยวิธีดังกล่าวได้

บรรณานุกรม

- กองโภชนาการ กรมอนามัย. (ม.ป.ป.). ตารางแสดงคุณค่าอาหารไทยในส่วนที่กินได้ 100 กรัม. กรุงเทพฯ: ม.ป.พ.
- กลุ่มงานพฤกษศาสตร์ กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช. (2549). พฤกษศาสตร์ของผักพื้นเมือง. สืบค้นเมื่อวันที่ 15 ตุลาคม 2549 จาก <http://www.doa.go.th/botany/cajca.html>
- จันทน์ อริยะพงศ์สรรค์ และบรรศักดิ์ ลีลานนท์. (2548) สมบัติทางกายภาพของมะขามจีนจากถั่วมะ และ. วารสารแก่นนคร. 33(3): 242-251
- จันทนา ก่อนเก่า. (2535). การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสโดยเชื้อรา *Aspergillus niger* จากแป้งข้าวเหนียว. ปัญหาพิเศษ. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ วิทยาเขตมหาสารคาม. มหาสารคาม. ถ่ายเอกสาร
- เงิน เข้มเหาะ. (2534). ซีอิ๊ว. แปลโดย วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์
- ณรงค์ นิยมวิทย์. (2539) องค์ประกอบและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของอาหาร. คณะ เกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ: ม.ป.พ.
- นิรม ล้อสุริยนต์. (2536). การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเข้าสำเร็จรูปชนิดแผ่นจากถั่วมะและ ปรีญญาณิพนธ์ วท.ม.(สาขาวิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์. ถ่ายเอกสาร.
- บุญเชิด วิลลสุจรีต. (2543, กรกฎาคม – สิงหาคม). ซีอิ๊วน้ำใจจากถั่วเขียว. วารสารกสิกร. 73(4)
- ประดิษฐ์ มีสุข. (2524). เคมีชีวิต: ชีวิตเคมีเบื้องต้น. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์
- ปราณี อานแป๊ะ. (2535). เอนไซม์ทางอาหาร ตอนที่ 1 และ 2. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย
- ปราโมทย์ หมูปยัคฆ์. (2548). เอกสารรายงานผลการส่งเสริมการปลูกถั่วมะและในเขตพื้นที่ อำเภอบ่อเกลือ. ศูนย์การศึกษานอกโรงเรียนอำเภอบ่อเกลือ อำเภอบ่อเกลือ จังหวัด น่าน
- พันธ์ณรงค์ จันทรแสงสี. (ม.ป.ป.) ซีอิ๊ว ตอนที่ 2 กรรมวิธีการผลิตซีอิ๊ว. วารสารเกษตร นเรศวร. มปพ.
- พันธ์ณรงค์ จันทรแสงสี. (ม.ป.ป.) ซีอิ๊ว ตอนที่ 3 จุลินทรีย์และการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการผลิต ซีอิ๊ว. วารสารเกษตรนเรศวร. มปพ.
- มัน อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. (2534). หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชวนพิมพ์
- วันชัย สมชิต. (2527). ถั่วเหลืองและการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. สถาบันค้นคว้าและพัฒนา ผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ: บริษัทสยามออฟเซ็ทจำกัด

- วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. (2539). จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร. กรุงเทพฯ: โอเอสพรีนติ้ง
แฮ้าส์
- วิสิฐ จະวะสิต และ สิตติมา จิตตินันท์. (2537, ตุลาคม). ซีอิ๊วและเต้าเจี้ยว. วารสารหมอบ้าน.
2537(16): 186
- ศุภชัย สมบัติโต. (2541). การคัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลส.
มหาวิทยาลัยสารคาม. มหาสารคาม: ม.ป.พ.
- สุมาลี เหลืองสกุล. (2539). จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชัยเจริญ
สมณชา วัฒนาสินธุ์. (2545). จุลินทรีย์วิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัย
ธรรมศาสตร์
- สำนักงานเกษตรอำเภอบ่อเกลือ.เอกสารการส่งเสริมการขยายพันธุ์ถั่วมะฮะในพื้นที่อำเภอบ่อ
เกลือ. น่าน: มีนาคม, 2548
- Amarat Bhumiratana; et al. (1980). *Department of microbiology and Physiology*. Bangkok:
Mahidol University
- Attanut Impoolsup, Amarat Bhumiratana and Timothy W. Flegel. (1981) *Department of
Microbiology*. Bangkok: Mahidol University
- Hesseltine, C.W. and Shibasaki, K. (1961). *Miso III Pure Culture Fermentation with
Saccharomyces rouxii*. Northern Regional Research Laboratory, Peoria, Illinois,
and Faculty of the College of Agriculture, Tohoku University, Sendai, Japan: n.p.
- Il-Yong Maing, Ayres J.C., and Koehler P.E. (1973). *Persistence of Aflatoxin During the
Fermentation of Soy Sauce*. Georgia: University of Georgia
- Lundu, A.K. and Das, S. (1969). *Production of Amylase in Liquid Culture by Strain of
Asp. Oryzae*. India: Pharmaceutical Works, Ltd.
- Miller, G.L. (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing
Sugar. *Anal. Chem.*, 31, 426, 1956
- Singh U. and Jambunathan R. (1991). *A Survey of the Methods of Milling and Consumer
Acceptance of Pigeon peas in India*. International Workshop on Pigeon peas, Volume
2. India: n.p.
- Yong, F.M. and B.J.B. Wood. (1975). Sucrase from soy sauce mould. *Transactions of
the British Mycological Society*. 64: 197-247



ภาคผนวก ก
ตารางข้อมูลผลการทดลอง

ตาราง ก.1 ปริมาณเอนไซม์อะไมเลส การหมักแต่ละสูตร

สูตร	ปริมาณเอนไซม์อะไมเลส (ยูนิตต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก)								
	ระยะเวลา (วัน)	0	10	20	30	45	60	75	90
1		517.69	490.94	488.27	502.76	481.56	534.52	505.96	534.58
2		504.41	488.27	491.06	497.49	361.89	485.16	510.99	503.26
3		486.96	479.76	479.02	501.49	499.81	539.14	512.57	502.67
4		446.58	483.27	471.72	476.10	484.11	544.86	508.44	498.08
5		803.50	487.27	432.05	490.41	506.89	550.20	542.03	512.29
6		930.09	474.45	391.51	505.93	502.05	528.00	513.10	444.28

ตาราง ก.2 ปริมาณเอนไซม์โปรทีเอส ในการหมักแต่ละสูตร

สูตร	ปริมาณเอนไซม์โปรทีเอส (ยูนิตต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก)								
	ระยะเวลา(วัน)	0	10	20	30	45	60	75	90
1		115.50	203.57	296.38	228.53	240.08	348.56	441.79	415.18
2		187.28	284.21	332.48	309.17	363.41	514.39	333.92	683.93
3		128.70	217.39	334.54	208.93	338.04	404.87	327.90	430.44
4		182.74	198.41	275.14	269.98	273.49	297.62	337.43	212.44
5		115.09	174.69	266.06	163.76	348.77	297.41	542.03	361.97
6		108.08	143.96	192.23	151.39	234.09	380.33	247.09	274.52

ตาราง ก.3 แสดงปริมาณกรดแลกติกในกระบวนการหมักซีอิ๊ว

สูตร	ปริมาณกรดแลกติก(กรัมต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก)								
	ระยะเวลา(วัน)	0	10	20	30	45	60	75	90
1		0.00	0.00	1.22	0.56	1.88	3.49	5.14	5.94
2		0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00
3		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.03	3.02	3.50
4		0.00	0.00	3.86	3.14	4.67	4.25	4.28	5.49
5		0.00	0.00	0.04	0.85	3.48	5.73	3.30	4.89
6		0.00	0.00	1.44	1.67	4.42	3.14	0.00	4.75

ตาราง ก.4 แสดงปริมาณกรดอะซิติกในกระบวนการหมักซีอิ๊ว

สูตร	ปริมาณกรดอะซิติก(กรัมต่อกรัมเปียกของถั่วหมัก)								
	ระยะเวลาหมัก(วัน)	0	10	20	30	45	60	75	90
1		0.00	0.00	1.10	1.80	1.31	2.05	0.62	0.00
2		0.00	0.00	2.18	1.22	1.74	0.00	0.00	0.00
3		0.00	0.00	1.88	1.61	1.86	0.91	0.00	0.00
4		0.00	1.12	2.33	1.56	1.86	0.00	0.00	0.00
5		0.00	0.00	0.86	0.86	1.22	1.49	0.82	0.00
6		0.00	1.10	1.80	1.31	2.05	0.62	0.00	0.00

ตาราง ก.5 แสดงค่า pH ของชีอิ้วแต่ละสูตรตลอดระยะเวลาการหมัก

ช่วงระยะเวลา การหมัก(วัน)	สูตรการหมักชีอิ้ว ถั่วมะแฮะ : ถั่วเหลือง					
	1	2	3	4	5	6
0	5.46	5.46	5.21	5.36	5.58	5.44
10	4.66	4.79	4.84	5.10	5.47	5.23
20	4.39	4.65	4.79	4.89	5.38	5.10
30	4.37	4.59	4.74	4.73	5.17	4.98
45	4.56	4.68	4.78	4.75	4.89	4.79
60	4.84	4.78	4.85	4.88	4.79	4.77
75	4.67	4.90	4.79	4.87	4.85	4.81
90	4.67	4.83	4.77	4.84	4.77	4.78

ตาราง ก.7 แสดงปริมาณโปรตีน ปริมาณน้ำตาล และปริมาณเกลือในน้ำชีอิ้ว

สูตร	ปริมาณสารวิเคราะห์ (ร้อยละ)		
	โปรตีน	น้ำตาล	เกลือ
1	6.98	0.12	13.74
2	6.00	0.09	13.54
3	6.50	0.19	11.90
4	5.80	0.18	13.10
5	5.45	0.13	12.05
6	6.10	0.13	12.05

ตาราง ก.8 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน Pb , Cu , Cd , As

ความเข้มข้นของสาร มาตรฐาน (ppm)	Absorbance			
	ตะกั่ว	ทองแดง	แคดเมียม	สารหนู
0.25	0.006	0.006	0.028	0.005
0.5	0.011	0.017	0.048	0.015
1.0	0.021	0.035	0.105	0.033
1.5	0.027	0.053	0.156	0.045
2.0	0.037	0.060	0.194	0.051

ตาราง ก.9 แสดงปริมาณโลหะจากซีอิ๊วในแต่ละสูตร

สูตรซีอิ๊ว	ปริมาณโลหะหนัก (ppm)			
	ตะกั่ว	คอปเปอร์	แคดเมียม	สารหนู
1	0.003	0	0	0
2	0.003	0	0	0
3	0.003	0	0	0
4	0.004	0	0	0
5	0.003	0	0	0
6	0.001	0	0	0

ตาราง ก.10 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน

ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน (ppm)	การดูดกลืนแสงสูงสุด
10	0.1192
30	0.4760
50	1.1035
70	1.2991
90	2.0833

ภาคผนวก ข

ข.1 การเตรียมสารละลาย

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.25 N (NaOH)
 - ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5.0281 กรัม ละลายแล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนแผลททาเลต (KHP)
 - ชั่งโพแทสเซียมไฮโดรเจนแผลททาเลต 0.4 กรัม ละลายแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
3. การเตรียมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรดความเข้มข้น 0.1 N (AgNO₃)
 - ชั่งซิลเวอร์ไนเตรด 8.429 กรัม ละลายแล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
4. การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมไทโอไซยาเนตความเข้มข้น 0.1 N (KSCN)
 - ชั่งโพแทสเซียมไทโอไซยาเนต 4.859 กรัม ละลายแล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
5. การเตรียมสารละลายฟีนอล (Phenol) 4 %
 - ชั่งฟีนอล 10 กรัม ละลายแล้วปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
6. การเตรียมสารละลายกรดไนตริกความเข้มข้น 3.0 M (HNO₃)
 - ปิเปตกรดไนตริกเข้มข้น 46.875 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
7. การเตรียมสารละลายมาตรฐานแคดเมียม
 - ปิเปตสารละลายมาตรฐานแคดเมียมความเข้มข้น 1000 ppm มา 0.025, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐานแคดเมียมเข้มข้น 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ppm ตามลำดับ
8. การเตรียมสารละลายมาตรฐานคอปเปอร์
 - ปิเปตสารละลายมาตรฐานคอปเปอร์ความเข้มข้น 1000 ppm มา 0.025, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐานคอปเปอร์เข้มข้น 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ppm ตามลำดับ
9. การเตรียมสารละลายมาตรฐานตะกั่ว
 - ปิเปตสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้น 1000 ppm มา 0.025, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐานตะกั่วเข้มข้น 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ppm ตามลำดับ

10. การเตรียมสารละลายมาตรฐานสารหนู

- ปิเปตสารละลายมาตรฐานสารหนูความเข้มข้น 1000 ppm มา 0.025, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐานตะกั่วเข้มข้น 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ppm ตามลำดับ

ข.2 ตัวอย่างการคำนวณ

การคำนวณหาปริมาณคลอไรด์ในและซีอิ๊ว

ตัวอย่าง ปิเปตซีอิ๊ว 4.1 มิลลิลิตร ไปทำปฏิกิริยากับ AgNO_3 0.1 N ในปริมาณที่มากเกินไปพอ 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเติม 3 M HNO_3 แล้วนำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน KSCN 0.1 N ใช้ปริมาตรไป 5.3 มิลลิลิตร โดยใช้เฟอร์ริกอะลัม 1 มิลลิลิตร เป็นอินดิเคเตอร์

ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้อง



จำนวนโมลของ AgNO_3 เริ่มต้น

$$\begin{aligned} \text{Mol AgNO}_3 &= \frac{\text{CV}}{1000} \\ &= \frac{0.1 \times 20}{1000} = 0.002 \text{ ml} \end{aligned}$$

จำนวนโมลของ KSCN ที่ทำปฏิกิริยา

$$\text{Mol KSCN} = \frac{0.1 \times 5.3}{1000} = 5.3 \times 10^{-4} \text{ mol}$$

จากปฏิกิริยาที่ 2 จะได้จำนวนโมลของ AgNO_3 เหลือจากการทำปฏิกิริยา

$$\text{Mol AgNO}_3 = \frac{0.1 \times 5.3}{1000} = 5.3 \times 10^{-4} \text{ mol}$$

ดังนั้นจำนวนโมลของ AgNO_3 ที่ทำปฏิกิริยากับ KSCN เท่ากับ $0.002 - 5.3 \times 10^{-4} = 0.00147$ mol

จากปฏิกิริยาที่ 1 $\text{Ag}^+ 1 \text{ mol} = \text{Cl}^- 1 \text{ mol}$

ดังนั้น $\text{Ag}^+ 0.00147 = \text{Cl}^- 0.00147 \text{ mol}$

$\text{Cl}^- 0.00147 \text{ mol}$ มาจากสารตัวอย่าง 10 ml

ซึ่งในแต่ละตัวอย่าง 10 ml ถูกเจือจางมาจากสารตัวอย่าง 50 ml

ดังนั้น Cl^- มี $0.00147 \times 5 = 7.35 \times 10^{-3} \text{ mol}$

ในตัวอย่าง 4.1 มิลลิลิตร มี $\text{Cl}^- = 7.35 \times 10^{-3} \text{ mol} = 0.26 \text{ กรัม}$

ซึ่ง Cl^- 35.5 กรัม ได้มาจาก NaCl 58.5 กรัม

Cl^- 0.26 กรัม ได้มาจาก NaCl $\frac{58.5 \times 0.26}{35.5} = 0.42 \text{ กรัม}$

ดังนั้นในตัวอย่าง 4.1170 กรัม มี NaCl 0.42 กรัม

ดังนั้นในตัวอย่าง 100 กรัม มี $\text{NaCl} = 10.20\%$

ดังนั้น ในเต้าเจี้ยวมีปริมาณ NaCl อยู่ร้อยละ 10.20%

การคำนวณหาปริมาณโปรตีนในเต้าเจี้ยวและซีอิ๊ว

ตัวอย่าง ปิเปตซีอิ๊ว 1.42 มิลลิลิตร นำไปทำปฏิกิริยากับ 37% HCHO จำนวน 14 ml จากนั้นนำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน 0.25 N NaOH ซึ่งใช้ปริมาตรไป 1.6 ml โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

ความเข้มข้นที่แน่นอนของ NaOH

ซึ่ง KHP มา 0.4033 g นำมาไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน 0.5 N NaOH

ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ ครั้งที่ 1 3.2 ml

จากสูตร

$$\text{Normality} = \frac{\text{gKHP} \times 1000}{\text{ml NaOH} \times 204.224}$$

ครั้งที่ 1

$$N = \frac{0.4033 \times 1000}{3.2 \times 204.224}$$

ครั้งที่ 2

$$N = \frac{0.4033 \times 1000}{3.3 \times 204.224} = 0.5984$$

ความเข้มข้นของ NaOH เฉลี่ย เท่ากับ $\frac{0.6171 \times 0.5984}{2} = 0.6078 \text{ N}$

ปริมาณโปรตีน

จากสูตร

$$\begin{aligned} \% \text{ ammonical} &= \frac{\text{vol. NaOH (ml)} \times N(\text{NaOH}) \times 1.4007}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \\ &= \frac{1.6 \times 0.6078 \times 1.4007}{1.4226} \\ &= 0.958\% \end{aligned}$$

การคำนวณหาปริมาณน้ำตาล

ซึ่งสารตัวอย่างมา 3.0933 g เติมน้ำกลั่นไป 30 ml จากนั้นนำไปกรองแล้วนำสารละลายที่กรองได้มาปรับปริมาตรให้เป็น 50 ml ด้วยน้ำกลั่น แล้วปิเปตมา 0.5 ml ใส่หลอดทดลอง จากนั้นเติม 4% phenol 0.5 ml เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.5 ml ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 15 ml แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงได้เท่ากับ 0.808

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาหาค่าความเข้มข้นจากสมการกราฟมาตรฐาน ดังนี้

$$Y = 0.0238x - 0.1716$$

$$0.808 = 0.0238x - 0.1716$$

$$X = 41.16 \text{ ppm}$$

จะได้ $x = 41.16 \text{ mg/L}$

$$\begin{aligned} &= \frac{41.16 \times 10^{-3}}{180.16} \text{ g/1000g} \\ &= 2.28 \times 10^{-7} \text{ mol/g} \end{aligned}$$

จากสูตร concentration (mol/g) = $\frac{x(g)}{\text{M.W.} \times \text{น้ำหนักสารตัวอย่าง}}$

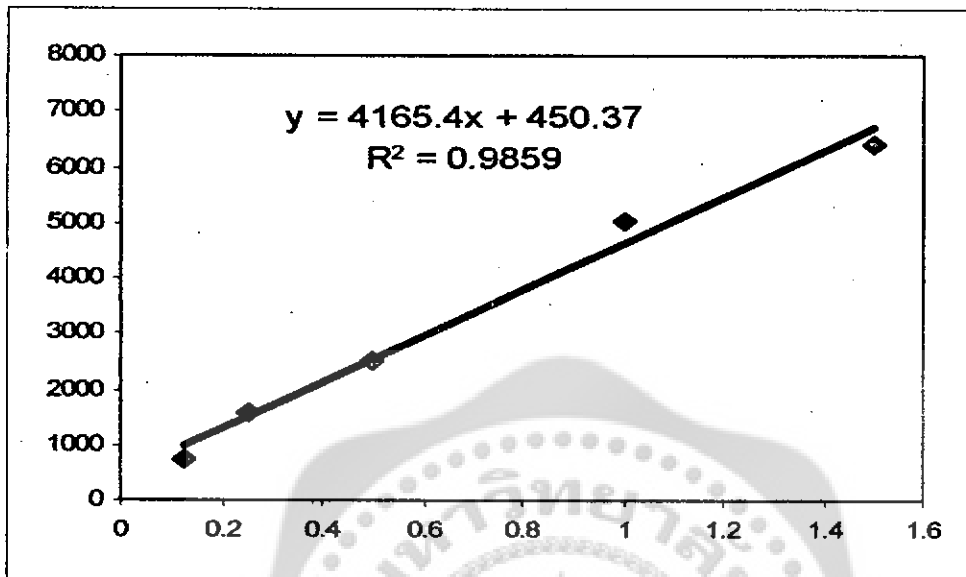
$$2.28 \times 10^{-7} \text{ mol/g} = \frac{x(g)}{180.16 \times 3.0933}$$

$$X(g) = 1.27 \times 10^{-4}$$

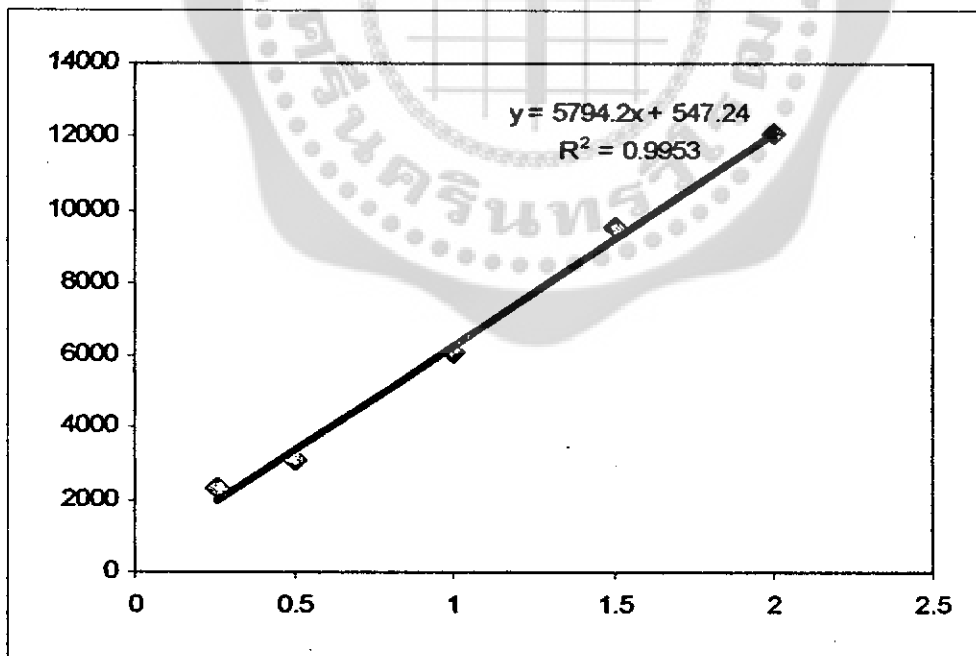
จากสูตร %sugar = $\frac{x(g)}{\text{M.W.} \times \text{น้ำหนักสารตัวอย่าง}} \times 100$

$$\begin{aligned} &= \frac{1.27 \times 10^{-4}}{3.0933} \times 100 \\ &= 4.116 \times 10^{-3} \end{aligned}$$

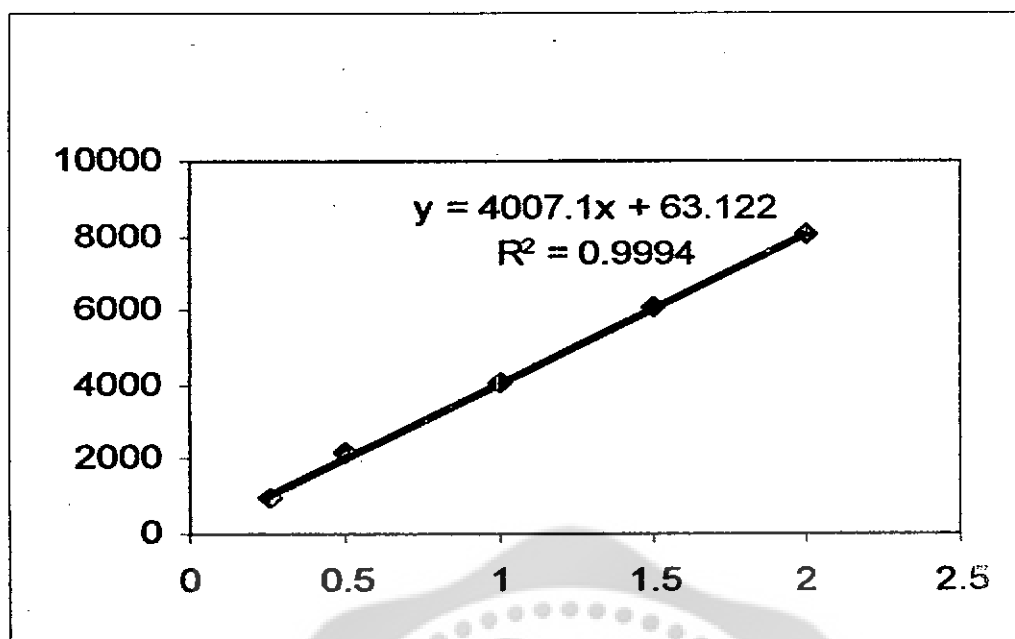
ภาคผนวก ค
กราฟมาตรฐาน และโครมาโทแกรม



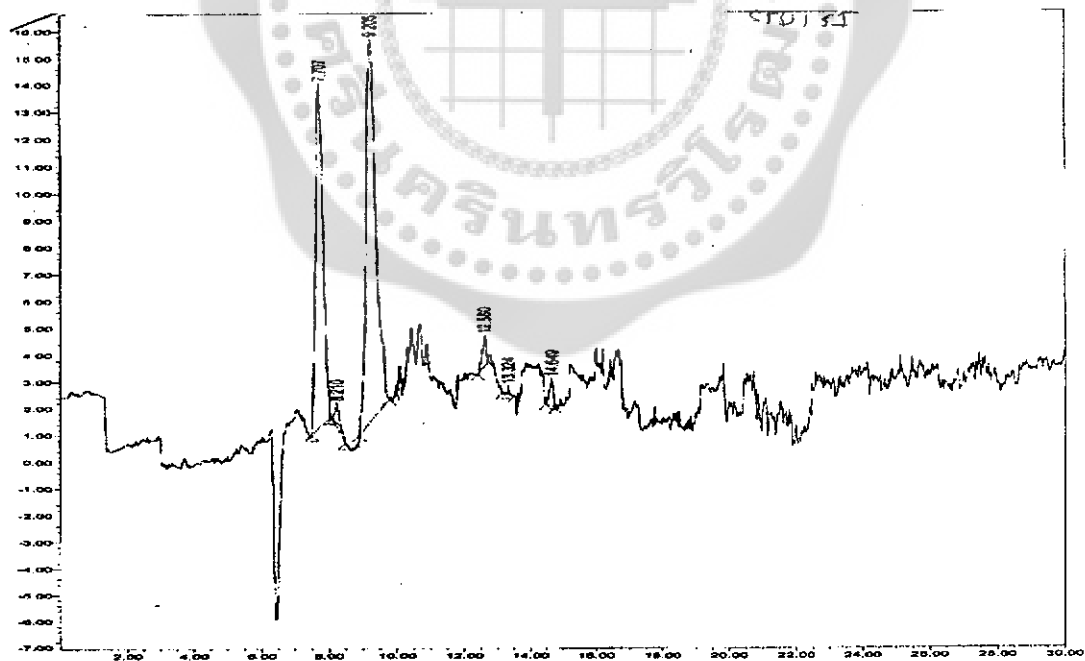
รูปที่ ค.1 กราฟมาตรฐานกรดซิดริก



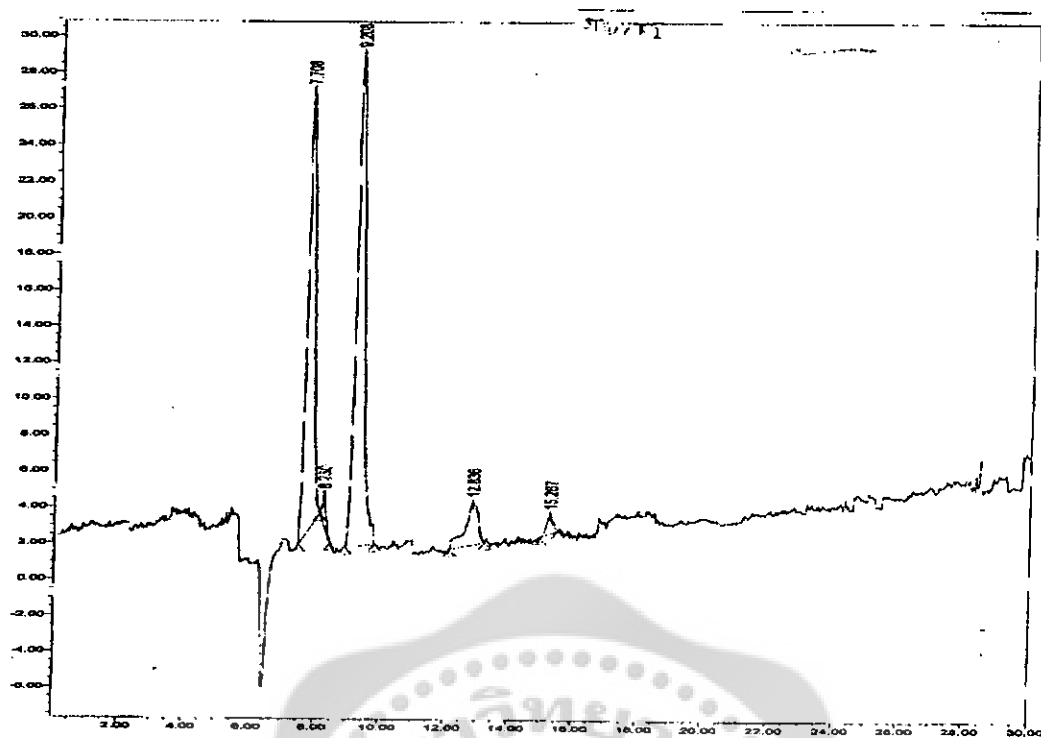
รูปที่ ค.2 กราฟมาตรฐานกรดแลกติก



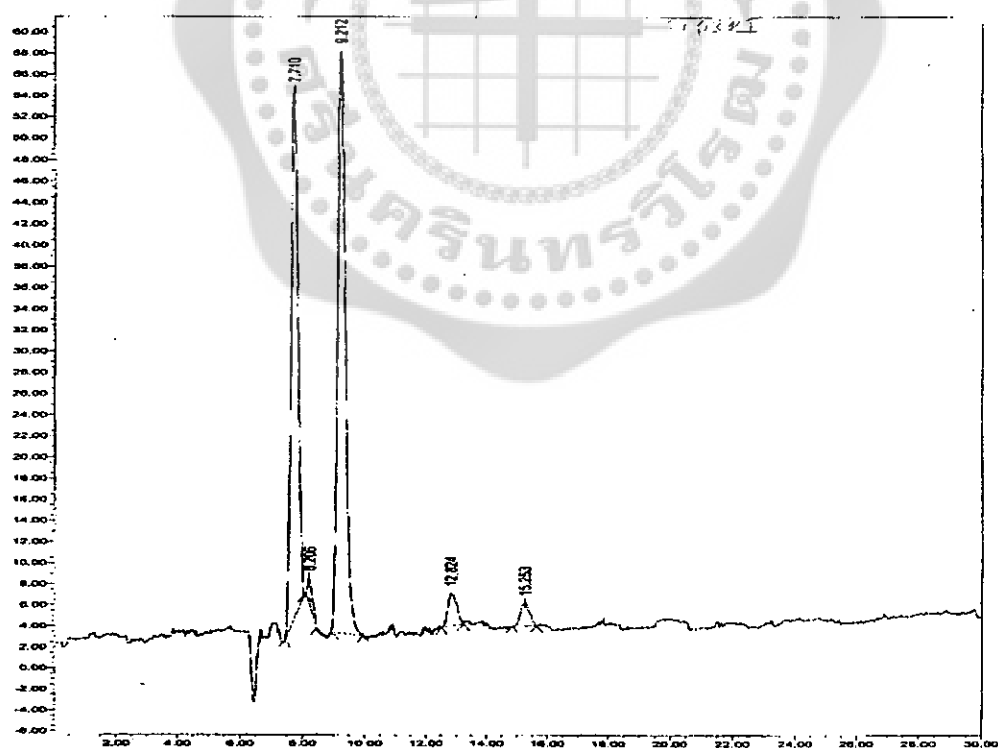
รูปที่ ค.3 กราฟมาตรฐานกรดอะซีติก



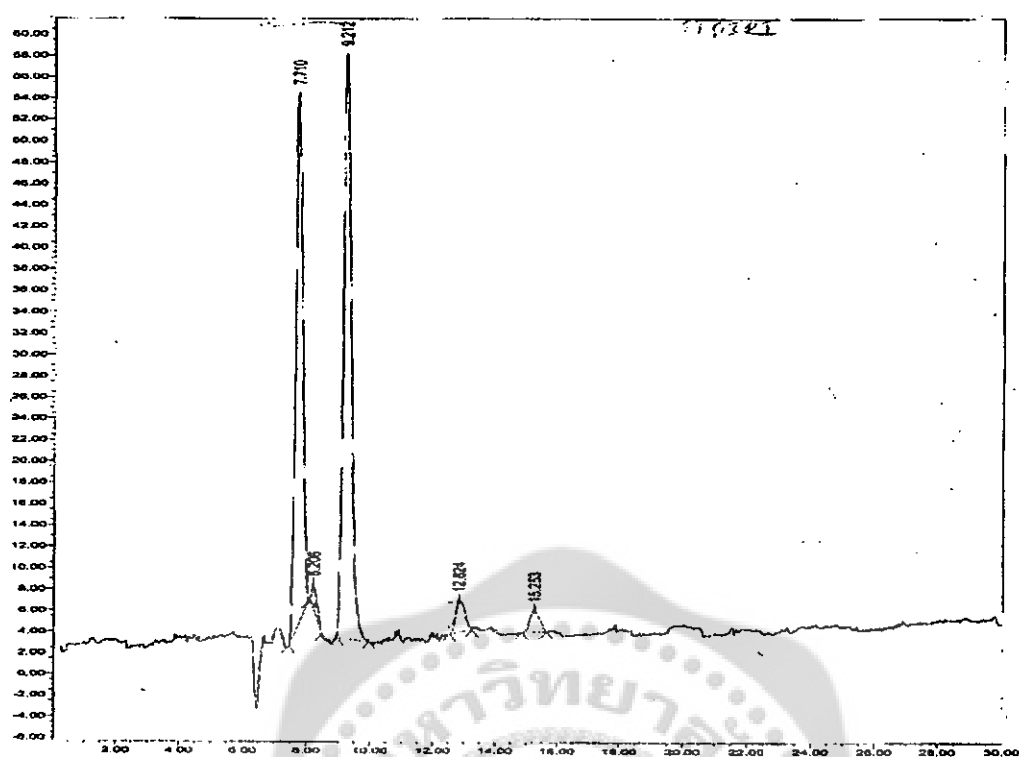
รูปที่ ค.4 โครมาโทแกรมของ กรดอินทรีย์มาตรฐานชุดที่ 1



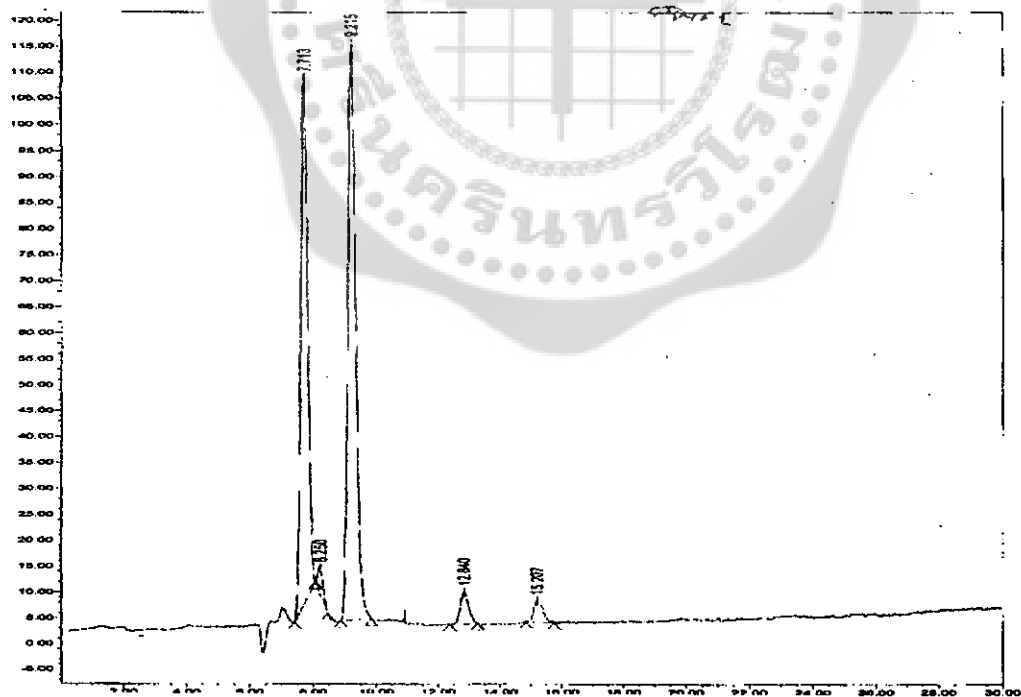
รูปที่ ค.5 โครมาโทแกรมของ กรดอินทรีย์มาตรฐานชุดที่ 2



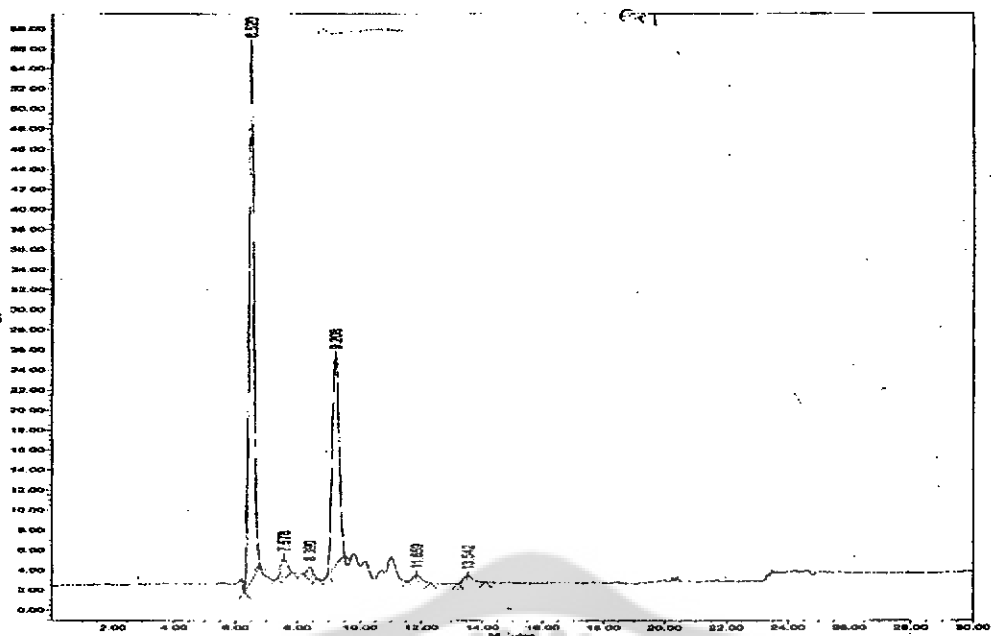
รูปที่ ค.6 โครมาโทแกรมของ กรดอินทรีย์มาตรฐานชุดที่ 3



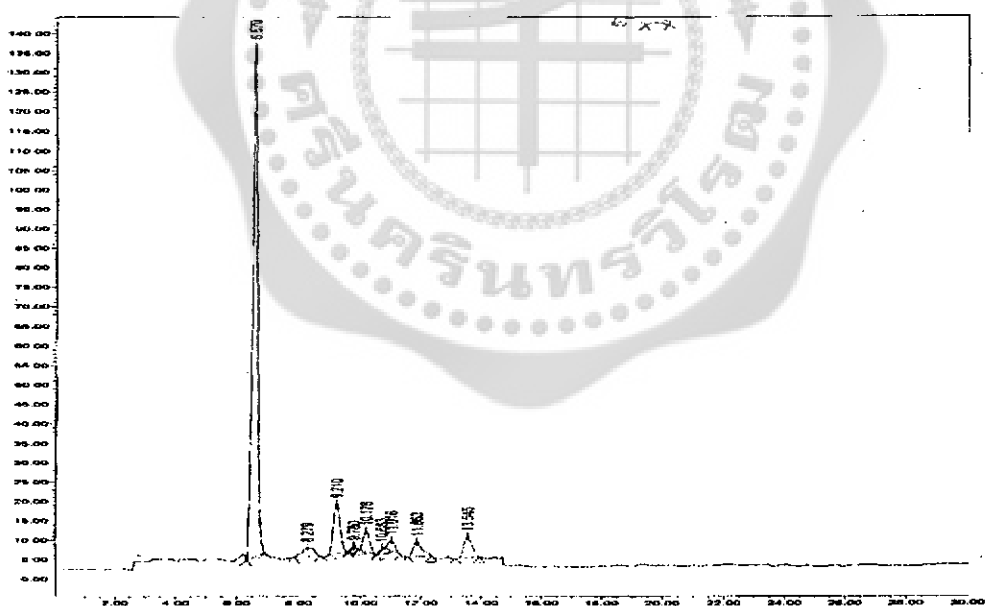
รูปที่ ค.7 โคโรมาโทแกรมของ กรดอินทรีย์มาตรฐานชุดที่ 4



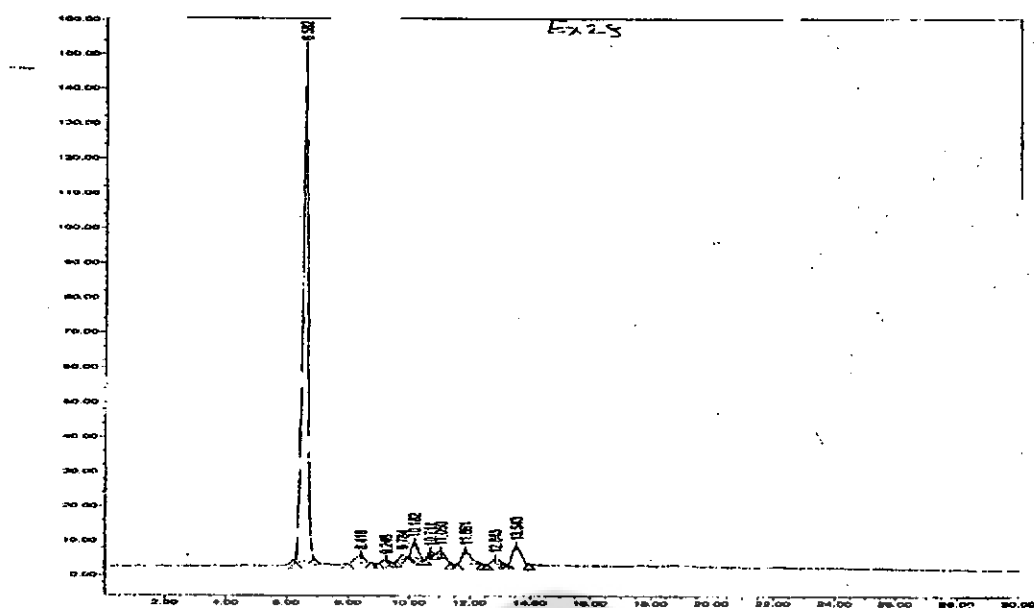
รูปที่ ค.8 โคโรมาโทแกรมของ กรดอินทรีย์มาตรฐานชุดที่ 5



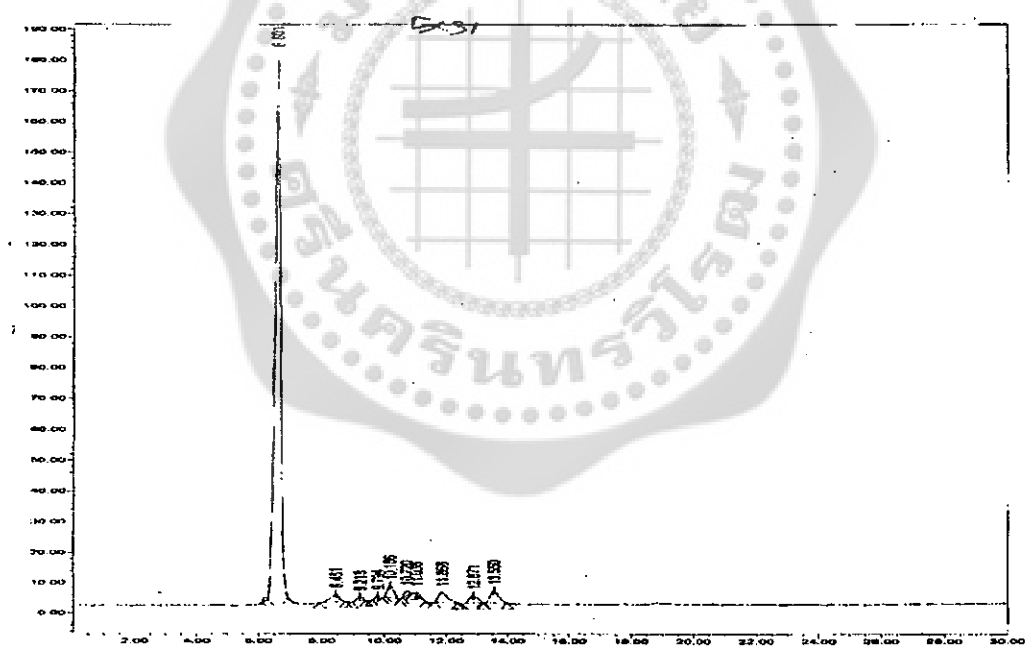
รูปที่ ค.8 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 1 หมักที่ 0 วัน



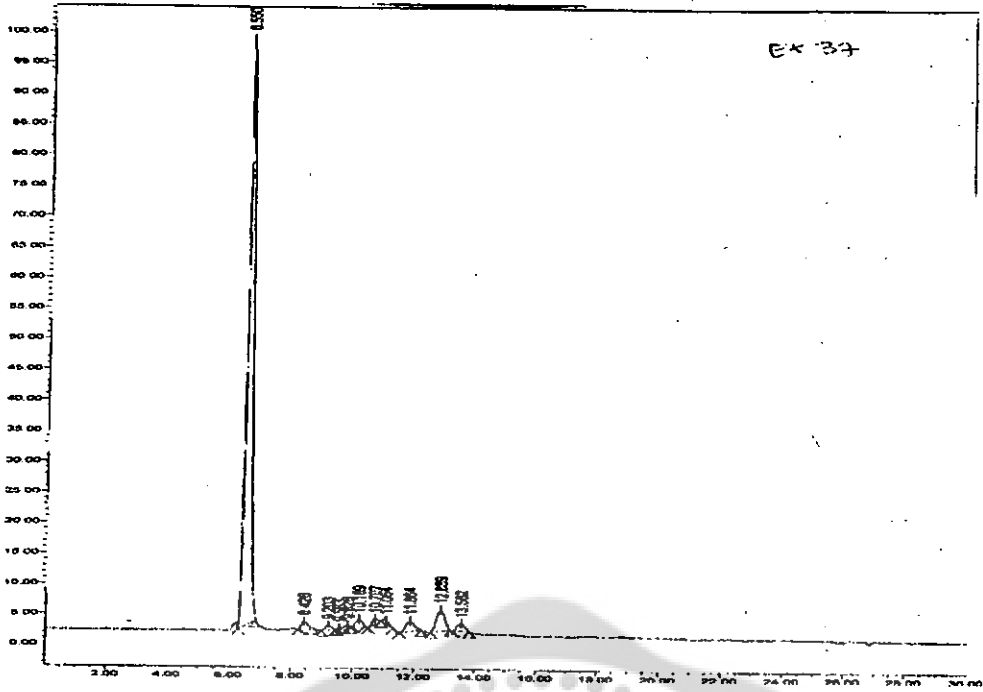
รูปที่ ค.9 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 1 หมักที่ 10 วัน



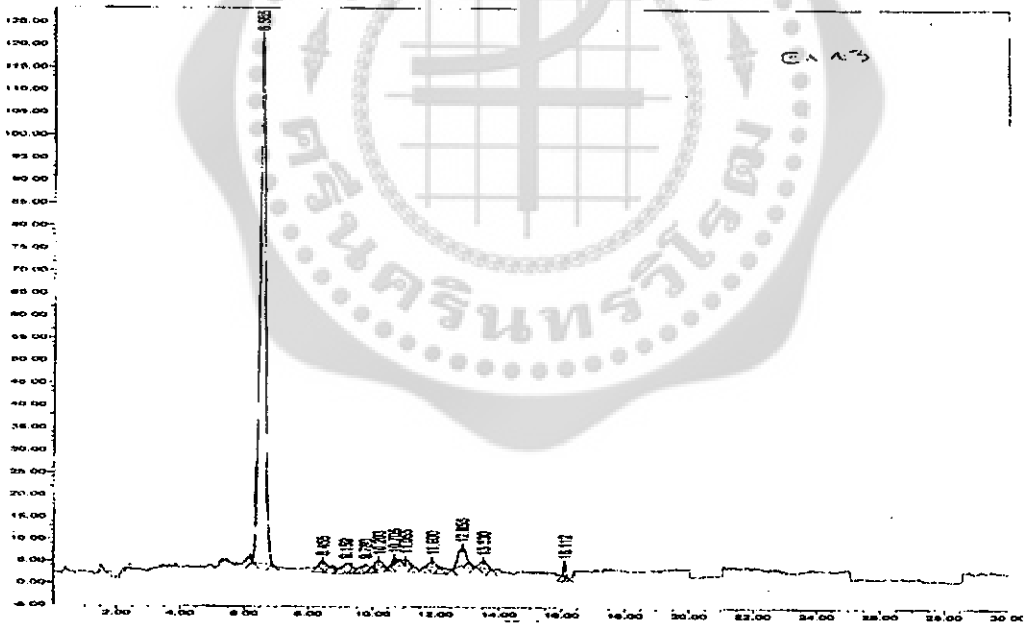
รูปที่ ค.12 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 1 หมักที่ 45 วัน



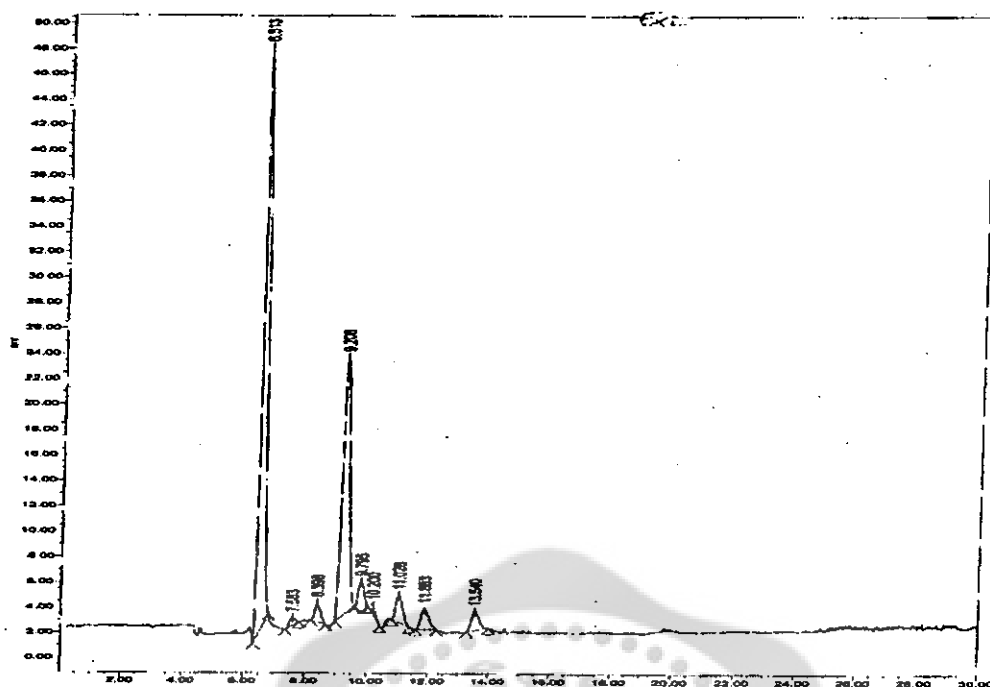
รูปที่ ค.13 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 1 หมักที่ 60 วัน



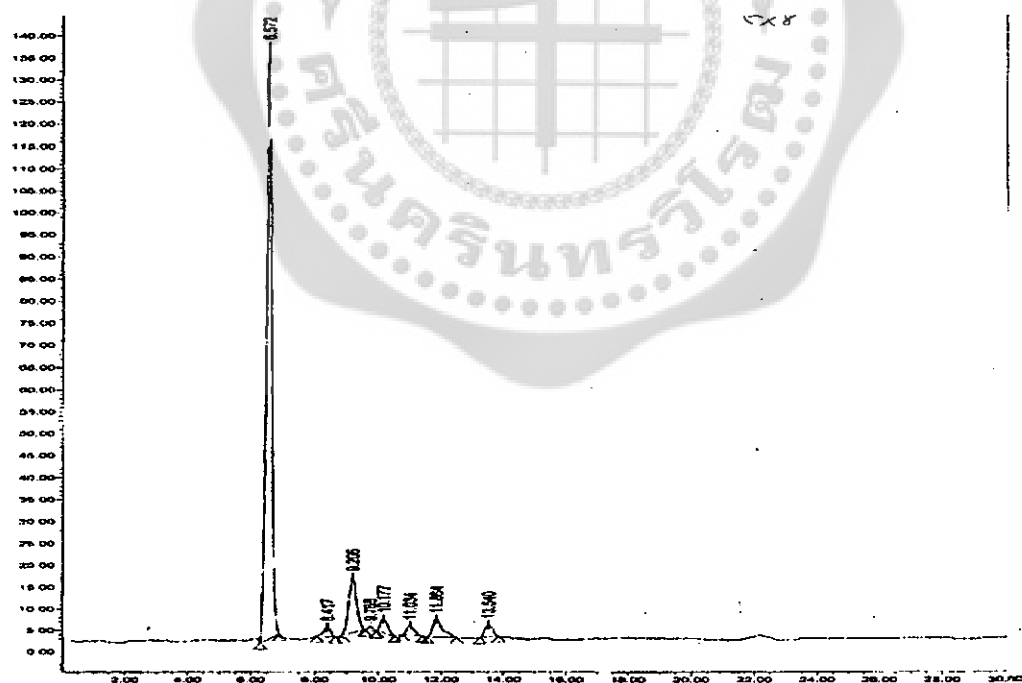
รูปที่ ค.14 โคโรมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 1 หมักที่ 75 วัน



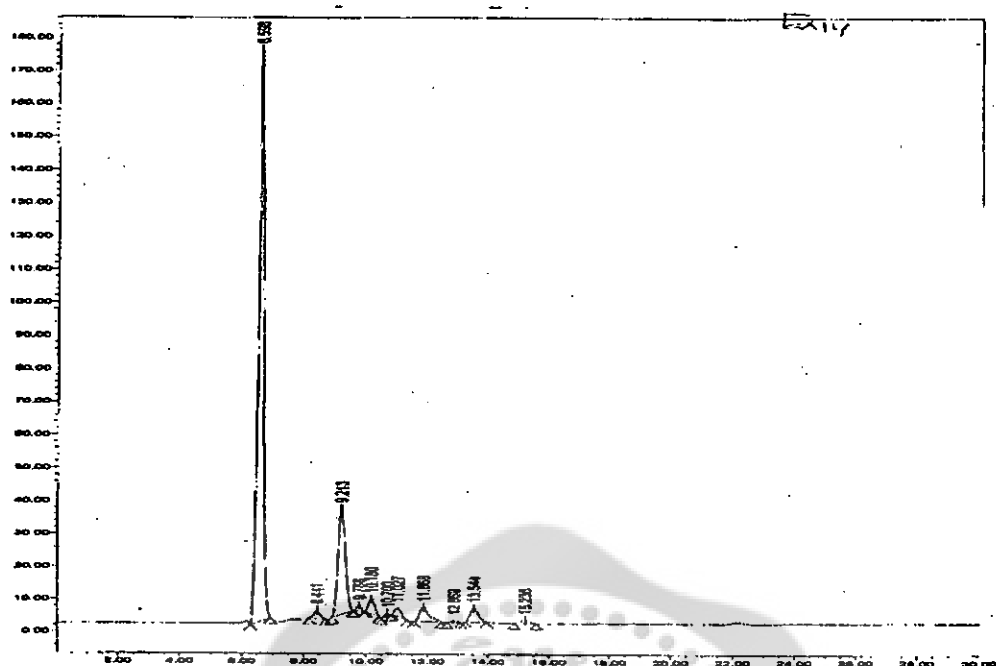
รูปที่ ค.15 โคโรมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 1 หมักที่ 90 วัน



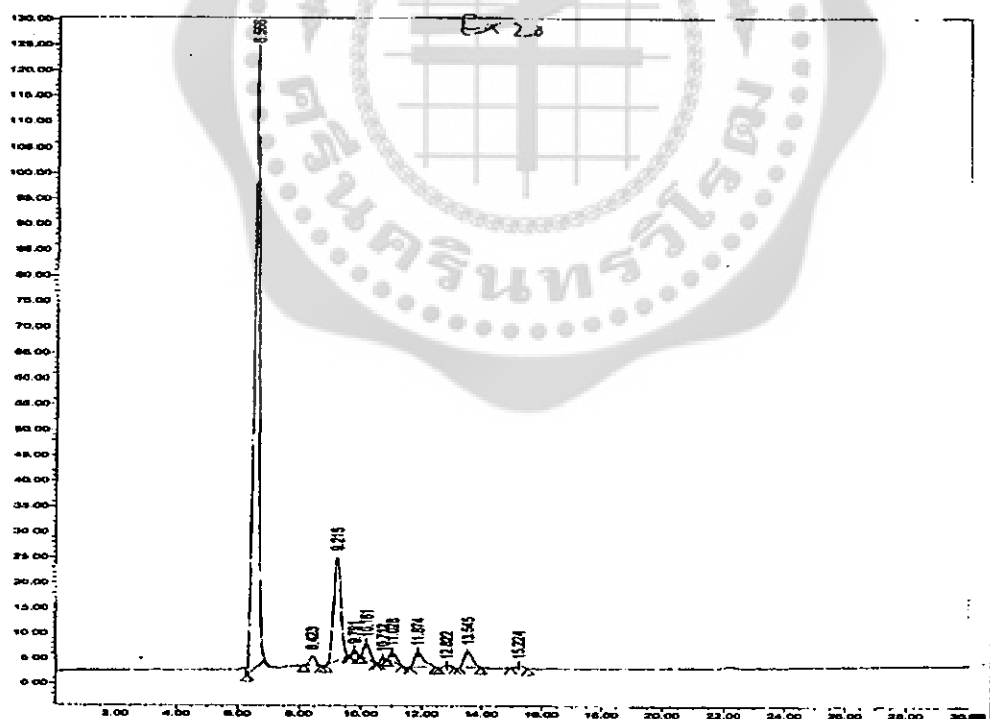
รูปที่ ค.16 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 2 หมักที่ 0 วัน



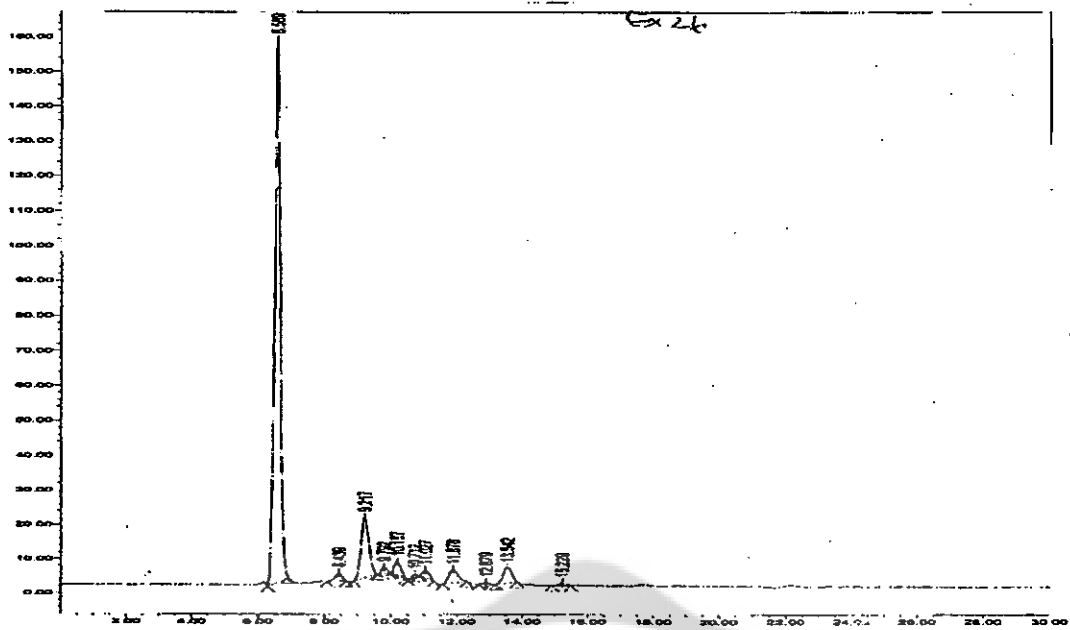
รูปที่ ค.17 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 2 หมักที่ 10 วัน



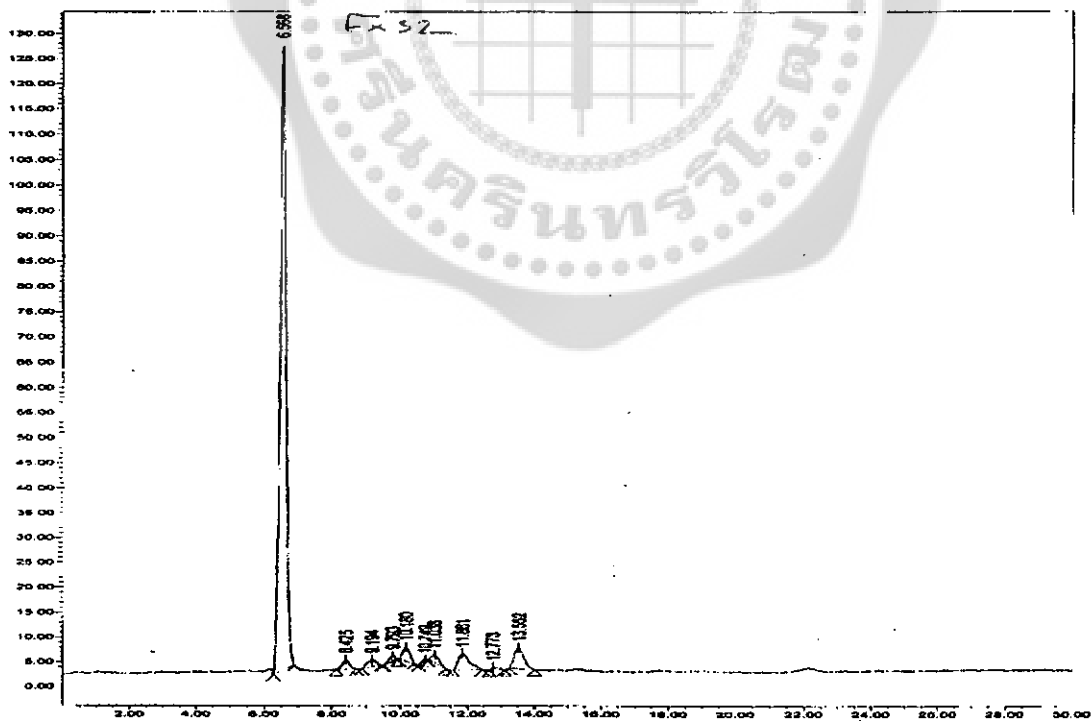
รูปที่ ค.18 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 2 หมักที่ 20 วัน



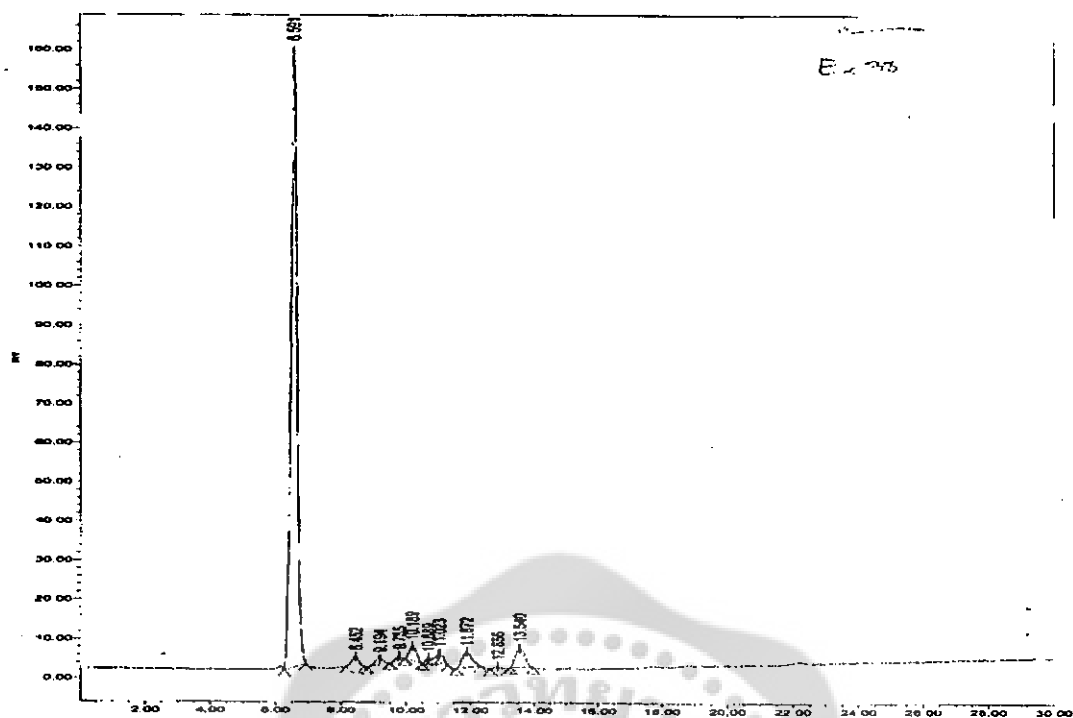
รูปที่ ค.19 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 2 หมักที่ 30 วัน



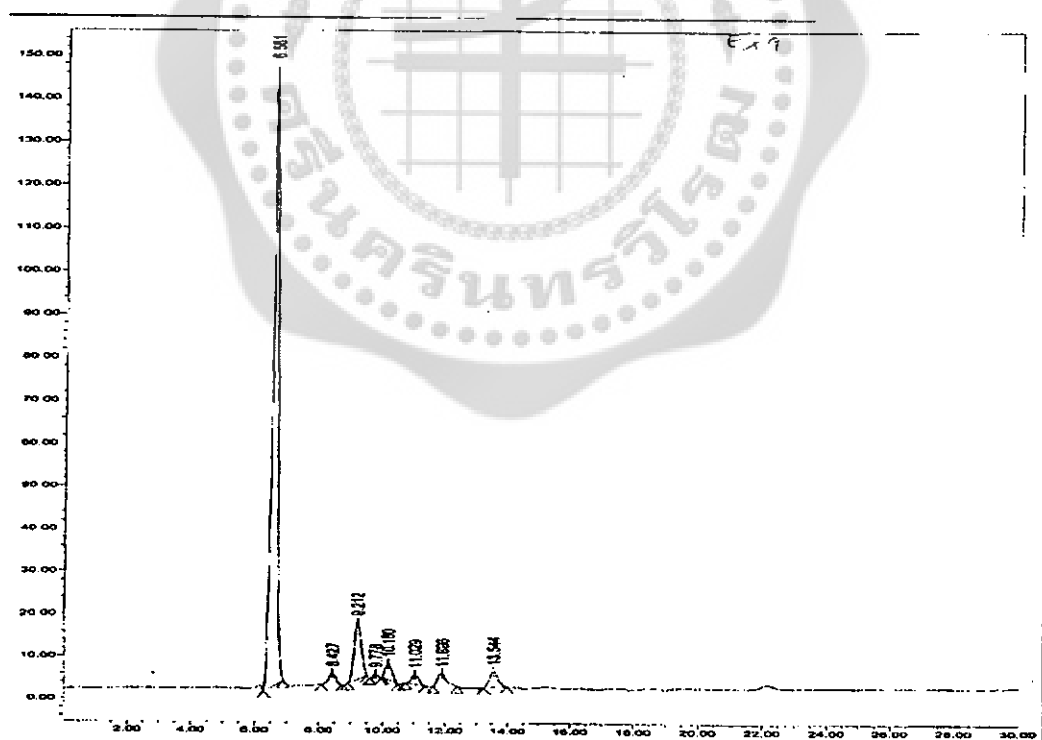
รูปที่ ค.20 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 2 หมักที่ 45 วัน



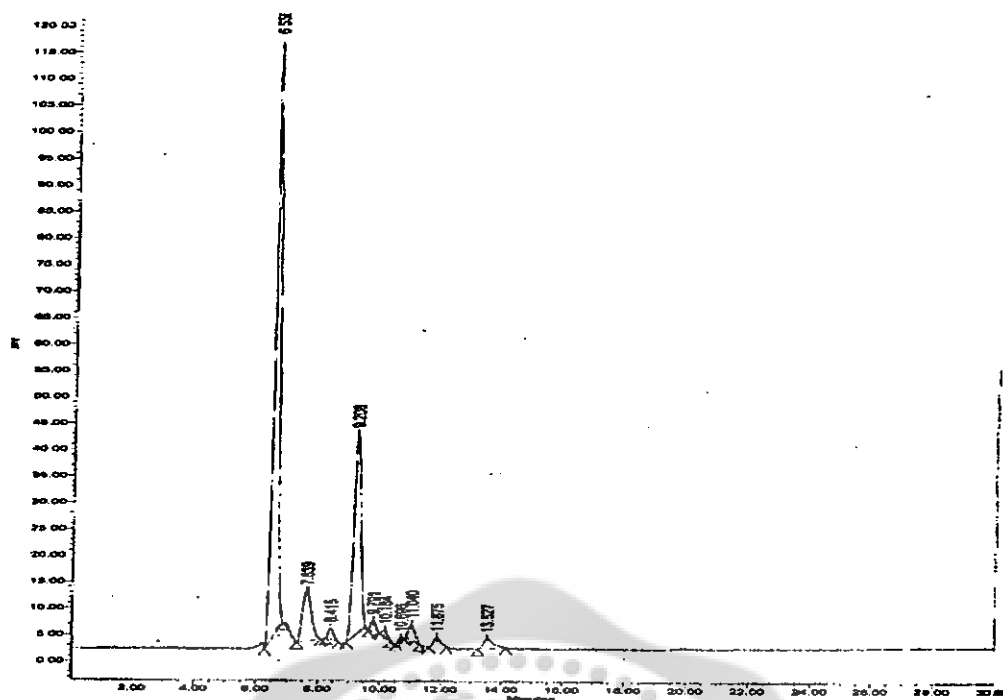
รูปที่ ค.21 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 2 หมักที่ 60 วัน



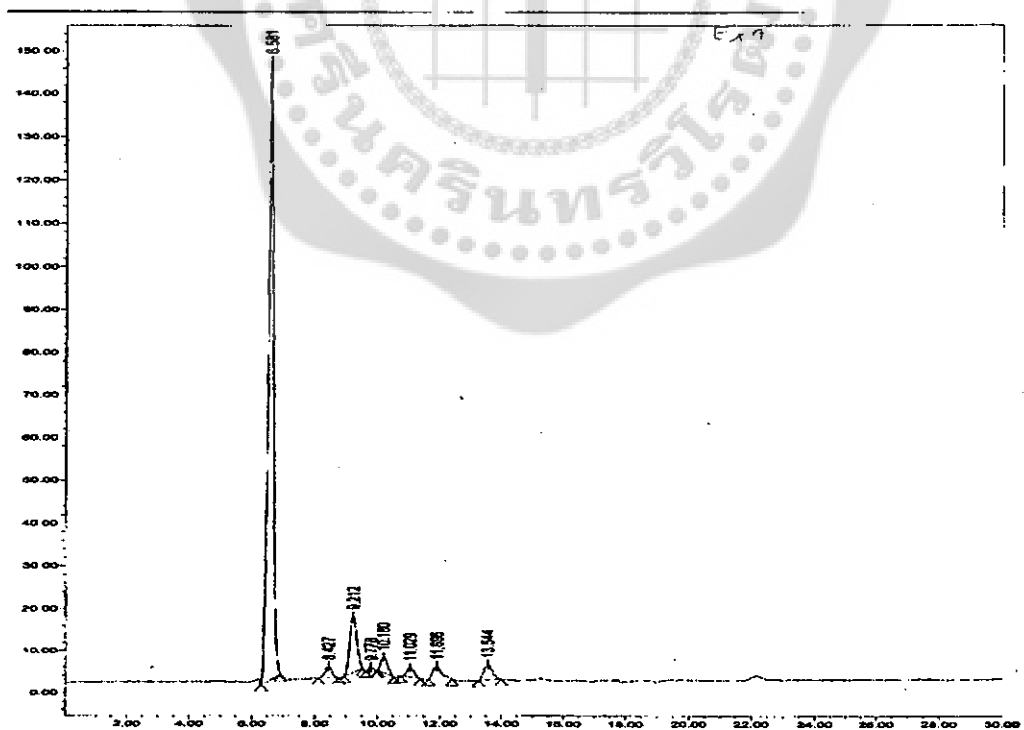
รูปที่ ค.22 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 2 หมักที่ 75 วัน



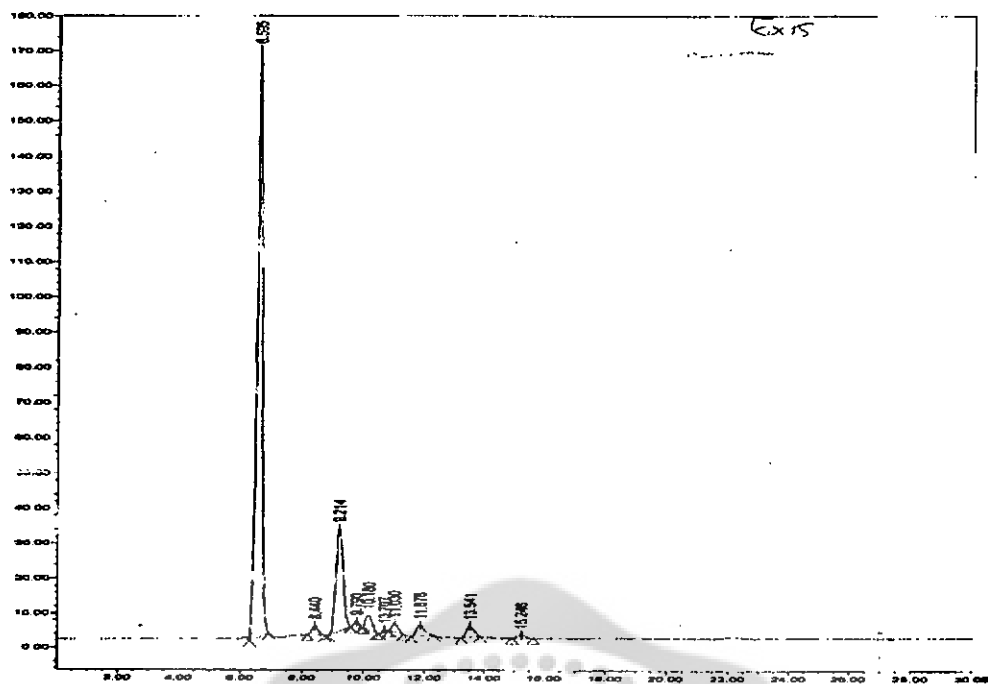
รูปที่ ค.23 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 2 หมักที่ 90 วัน



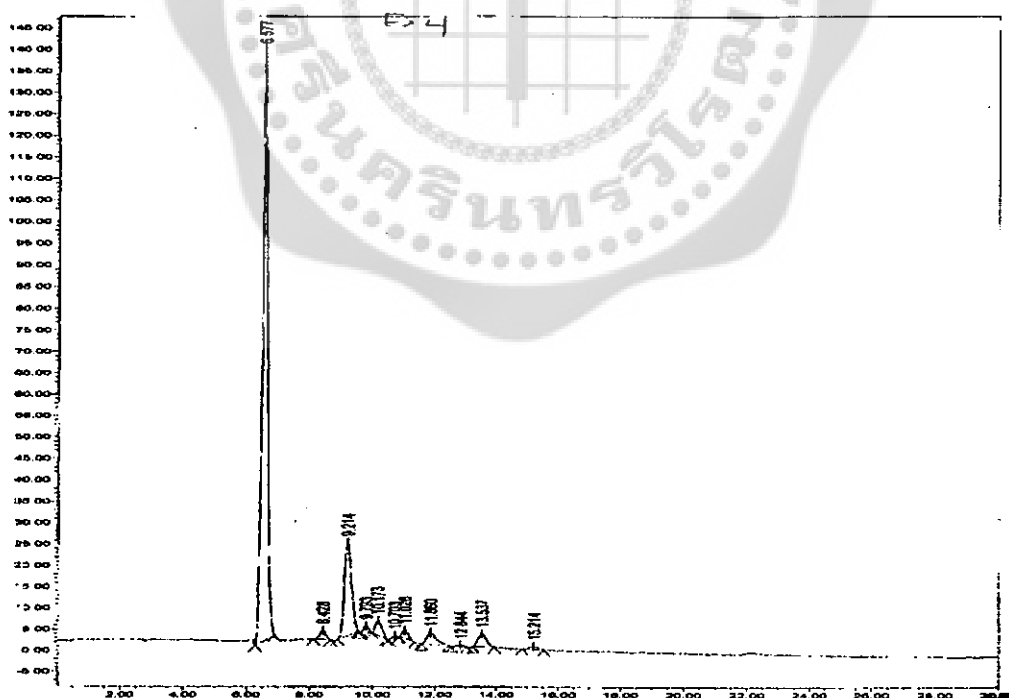
รูปที่ ค.24 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 3 หมักที่ 0 วัน



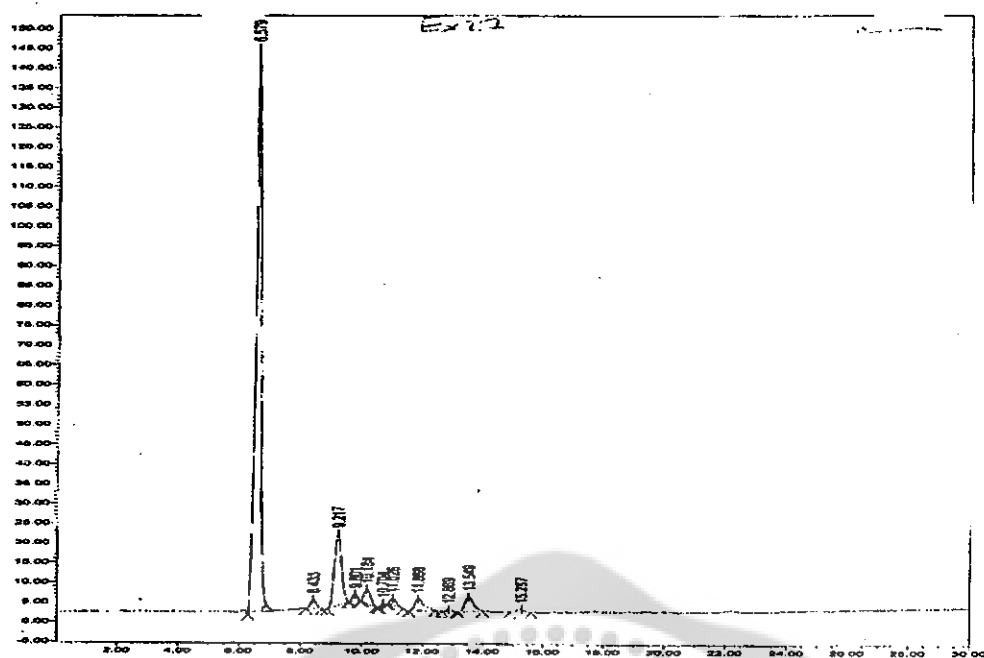
รูปที่ ค.25 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 3 หมักที่ 10 วัน



รูปที่ ค.26 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 3 หมักที่ 20 วัน

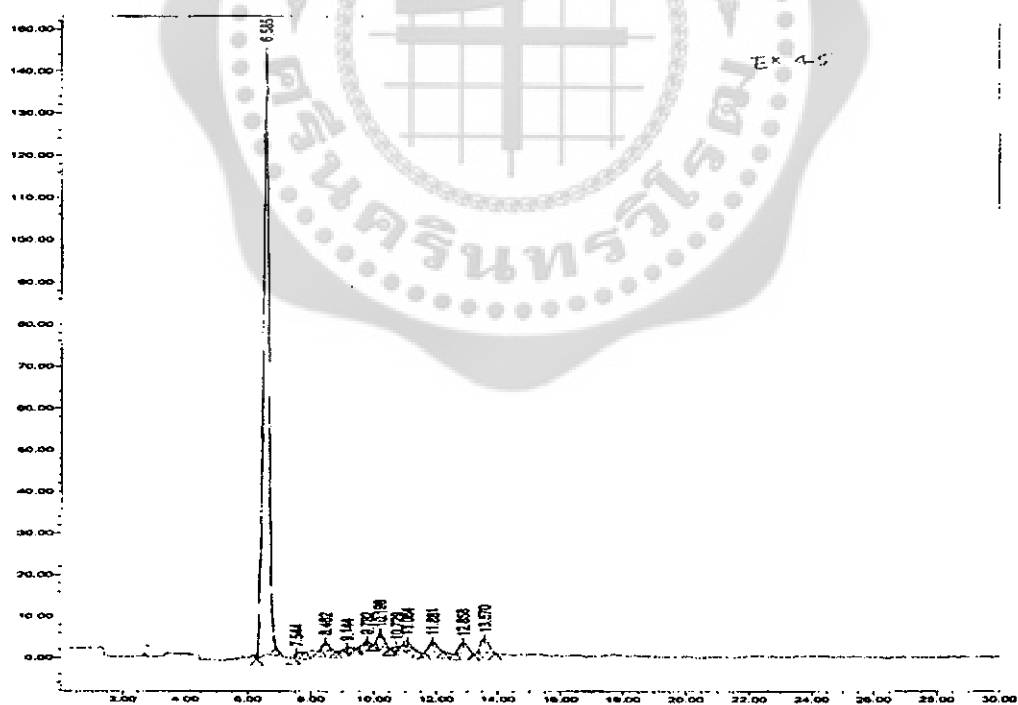


รูปที่ ค.27 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 3 หมักที่ 30 วัน

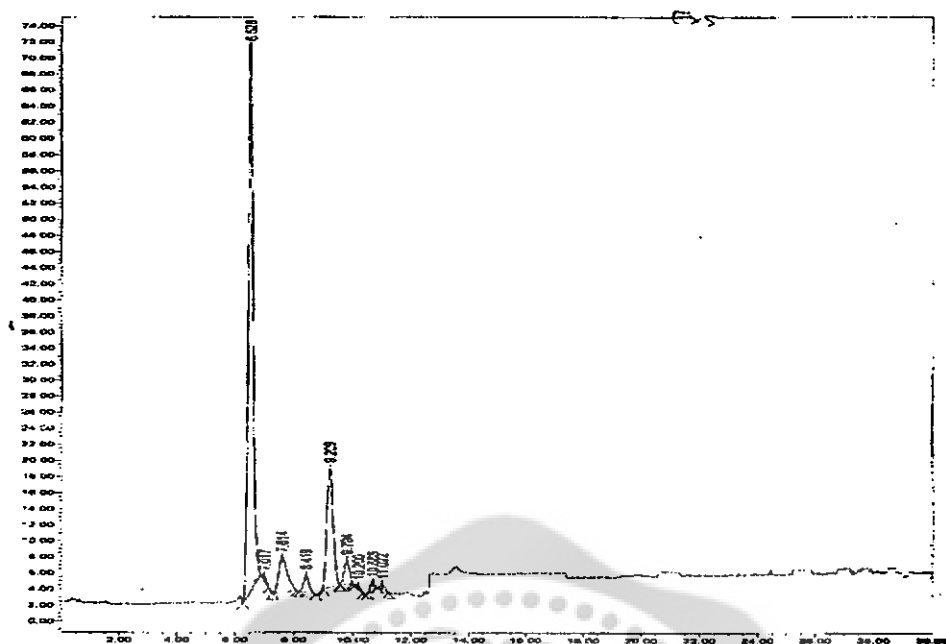




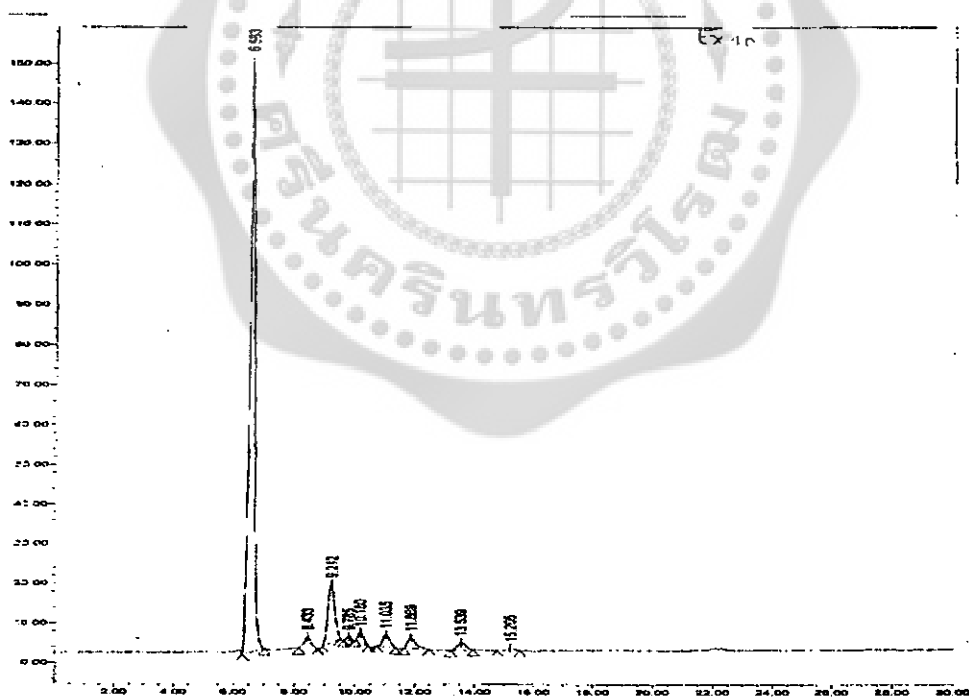
รูปที่ ค.30 โคโรมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 3 หมักที่ 75 วัน



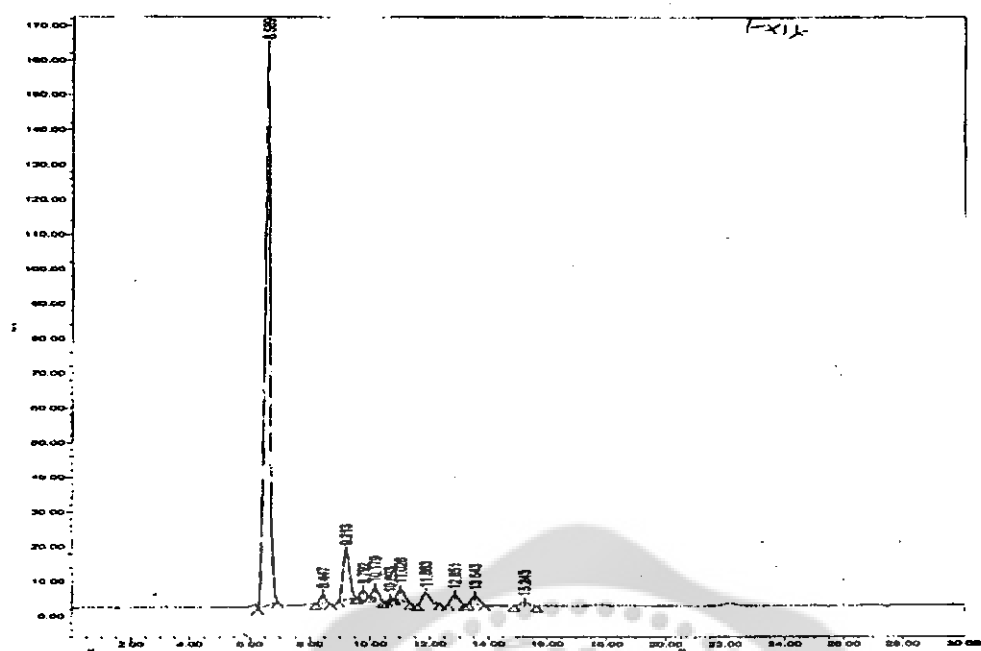
รูปที่ ค.25 โคโรมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 3 หมักที่ 90 วัน



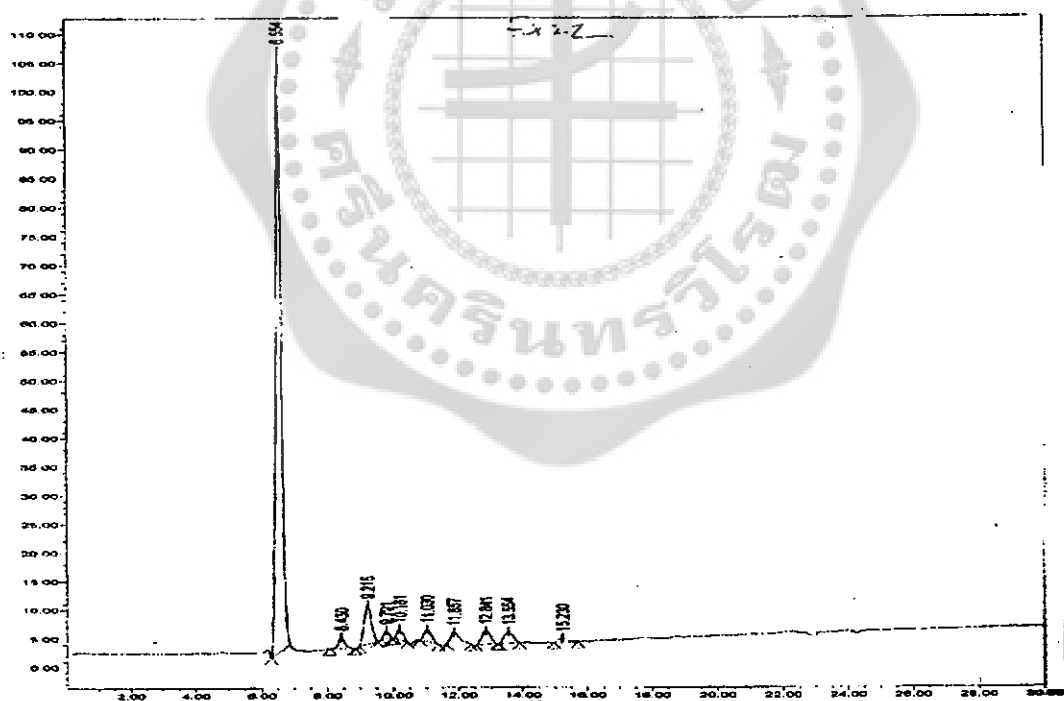
รูปที่ ค.26 โคโรนาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 4 หมักที่ 0 วัน



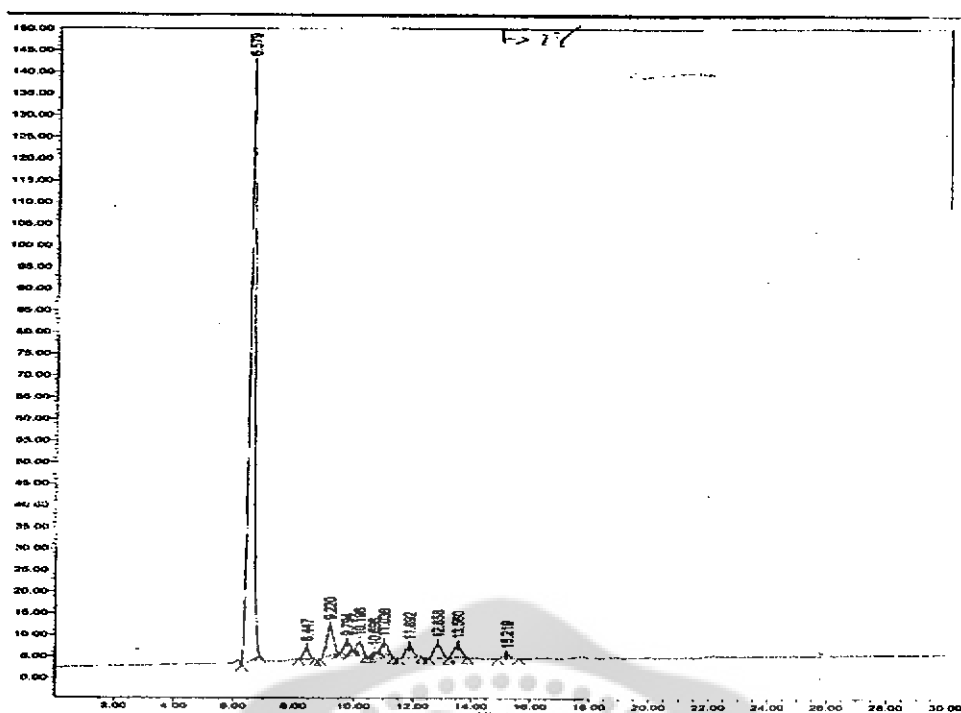
รูปที่ ค.27 โคโรนาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 4 หมักที่ 10 วัน



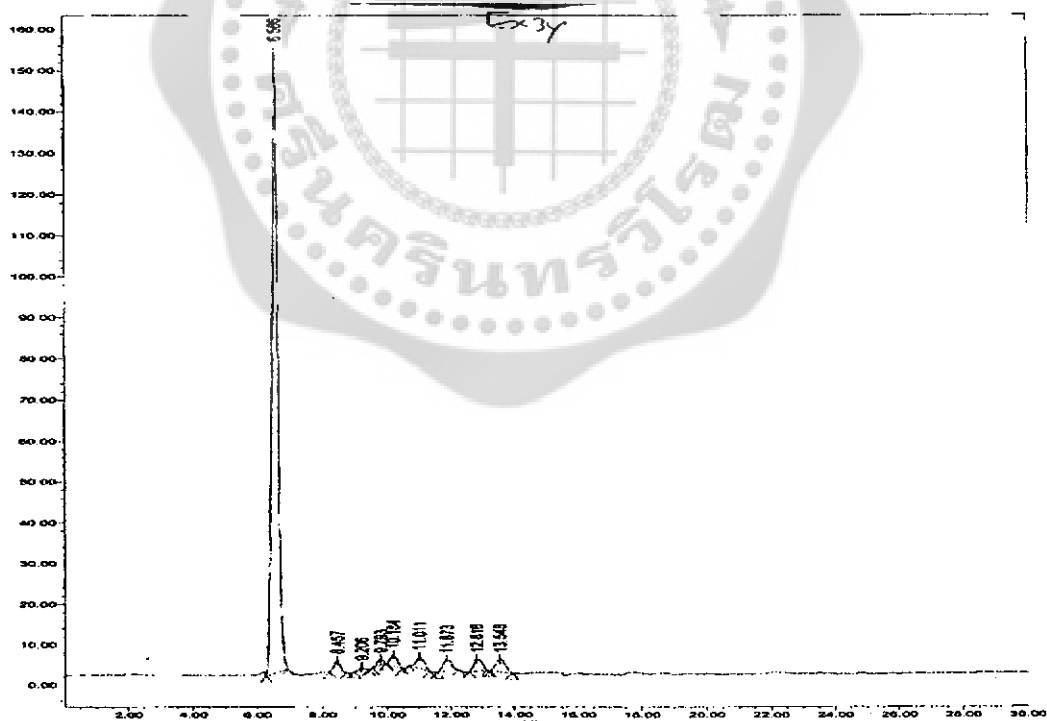
รูปที่ ค.29 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 4 หมักที่ 30 วัน



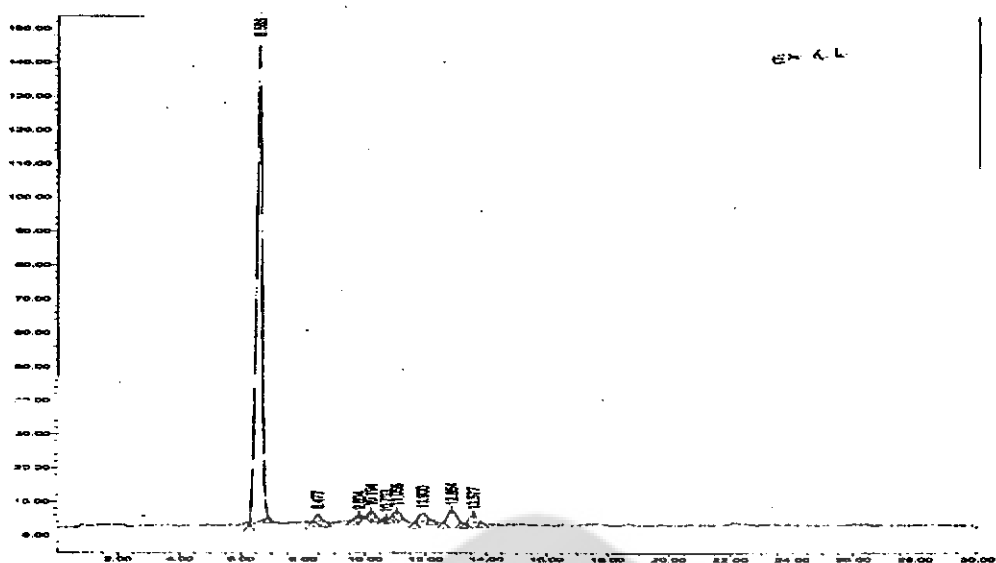
รูปที่ ค.30 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 4 หมักที่ 45 วัน



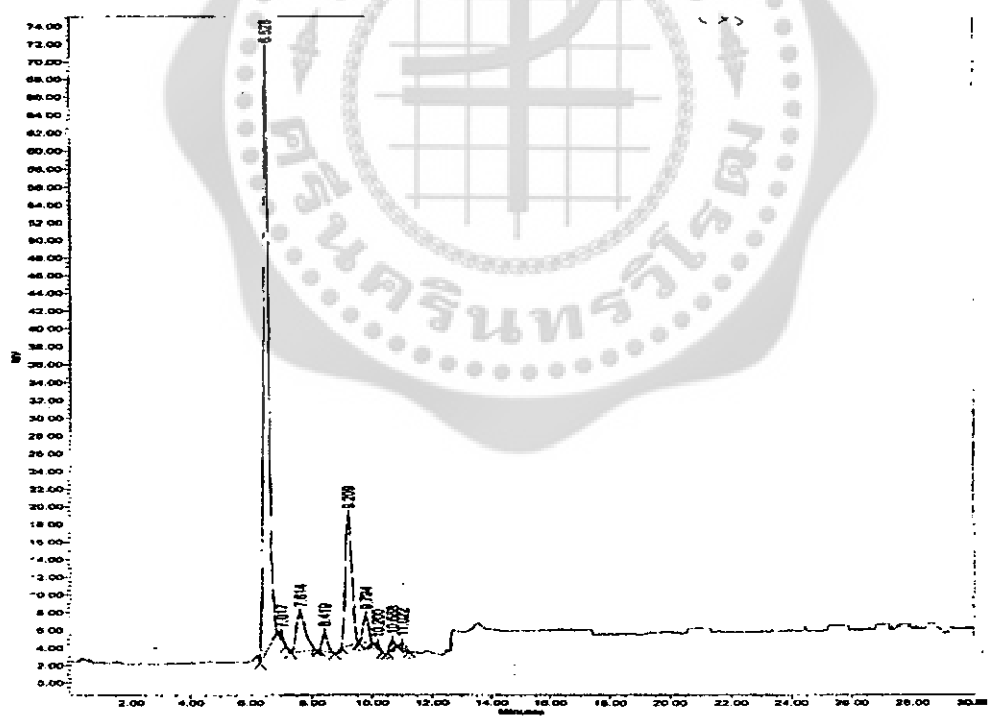
รูปที่ ค.31 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 4 หมักที่ 60 วัน



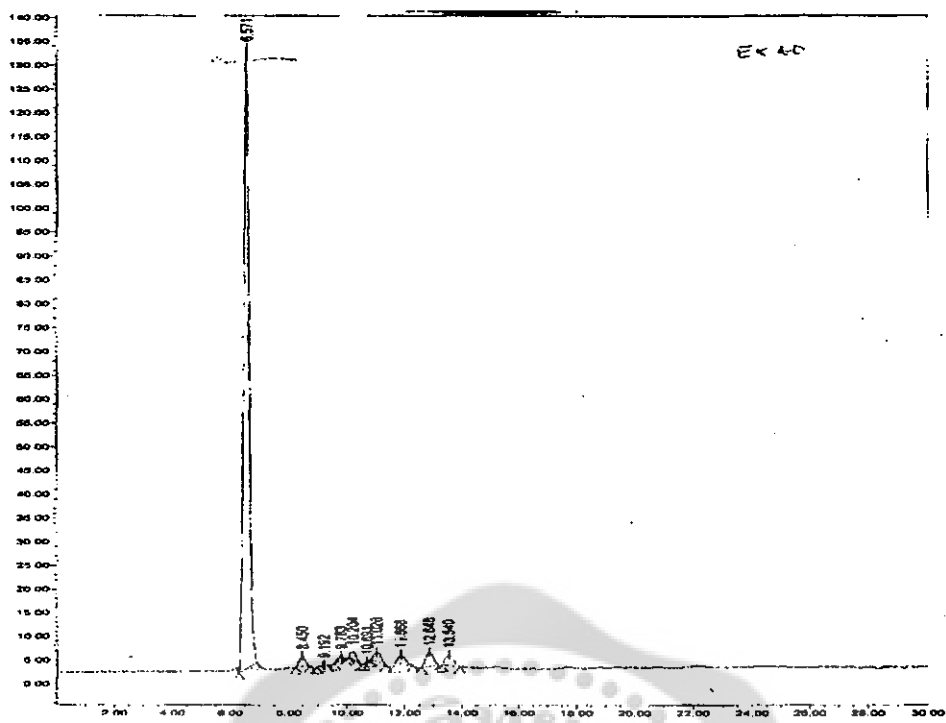
รูปที่ ค.32 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 4 หมักที่ 75 วัน



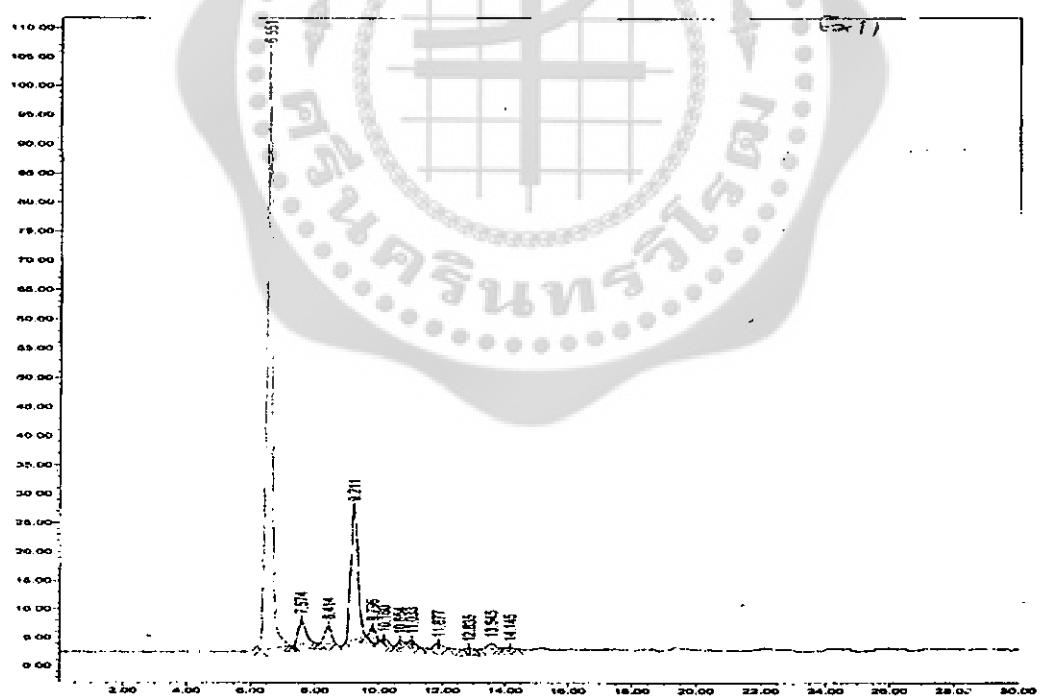
รูปที่ ค.33 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 4 หมักที่ 90 วัน



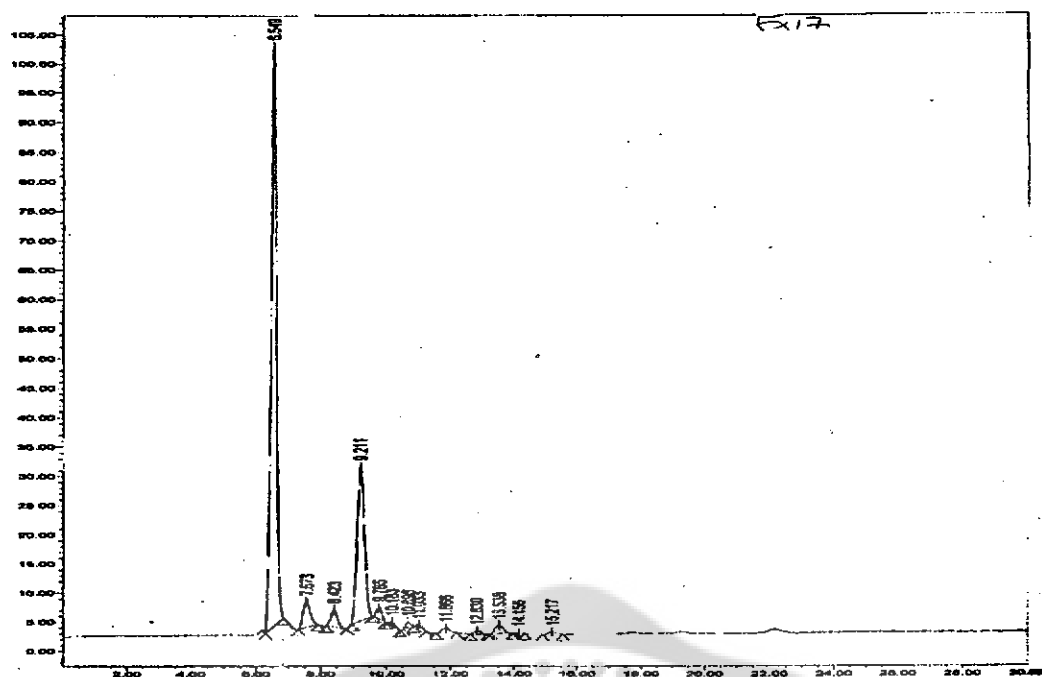
รูปที่ ค.34 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 5 หมักที่ 0 วัน



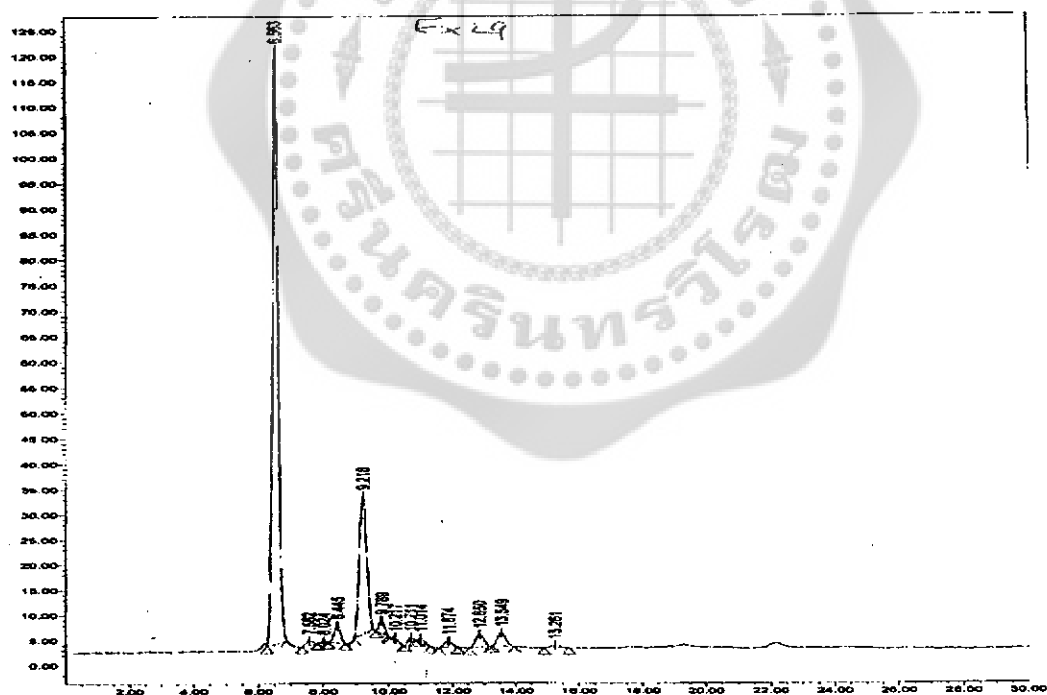
รูปที่ ค.35 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 5 หมักที่ 10 วัน



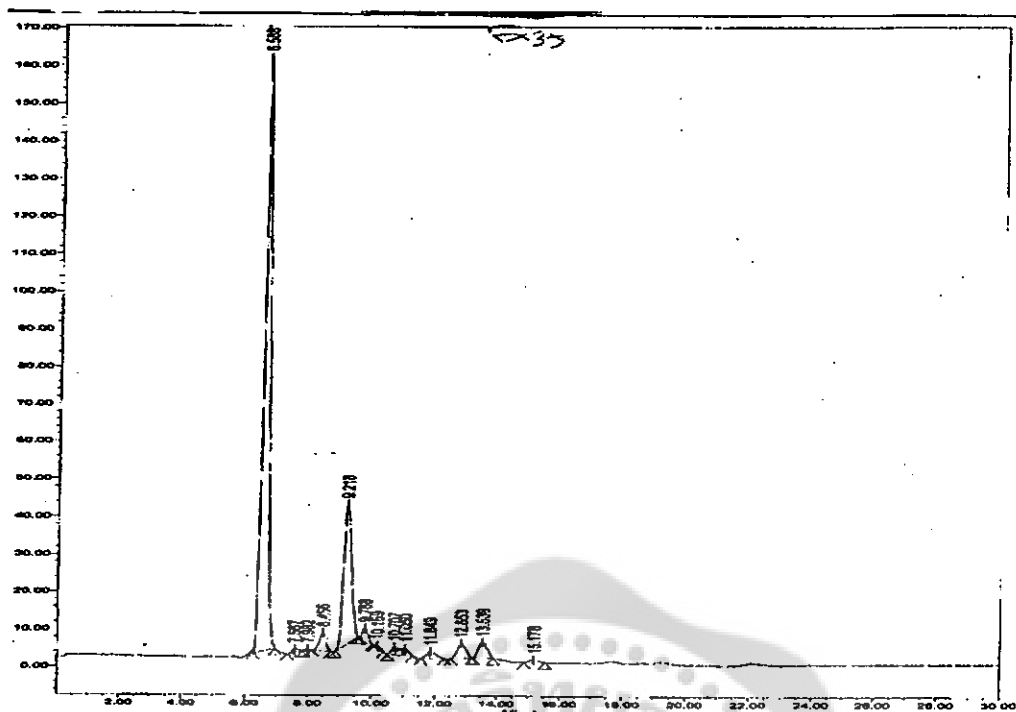
รูปที่ ค.36 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 5 หมักที่ 20 วัน



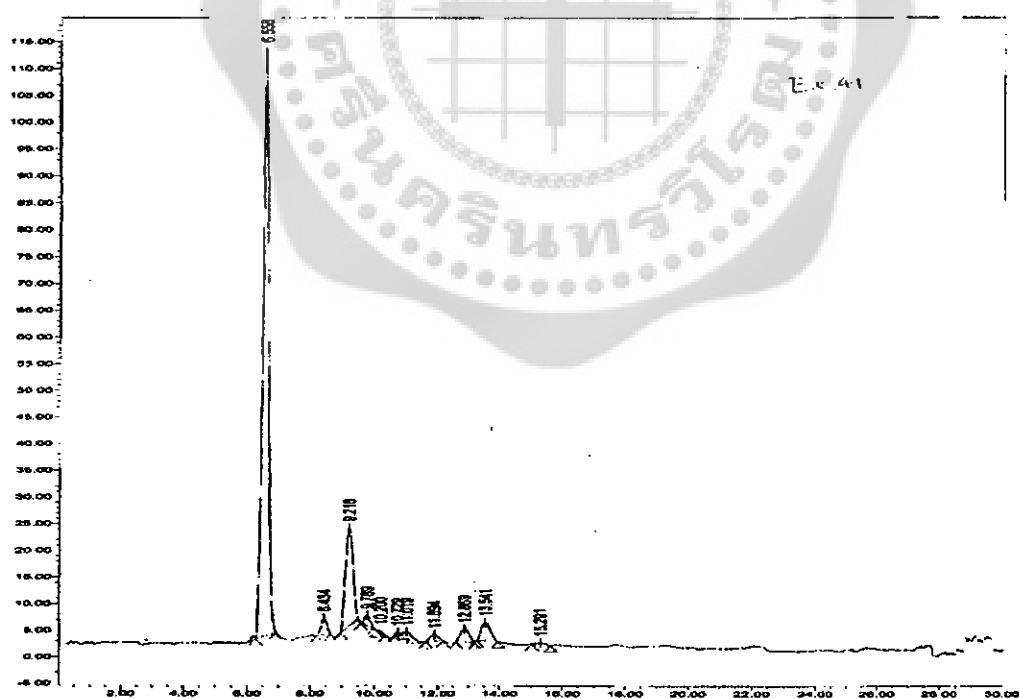
รูปที่ ค.37 โครมาโทแกรมของส่วนผสมทุกส่วนสูตรที่ 5 หมักที่ 30 วัน



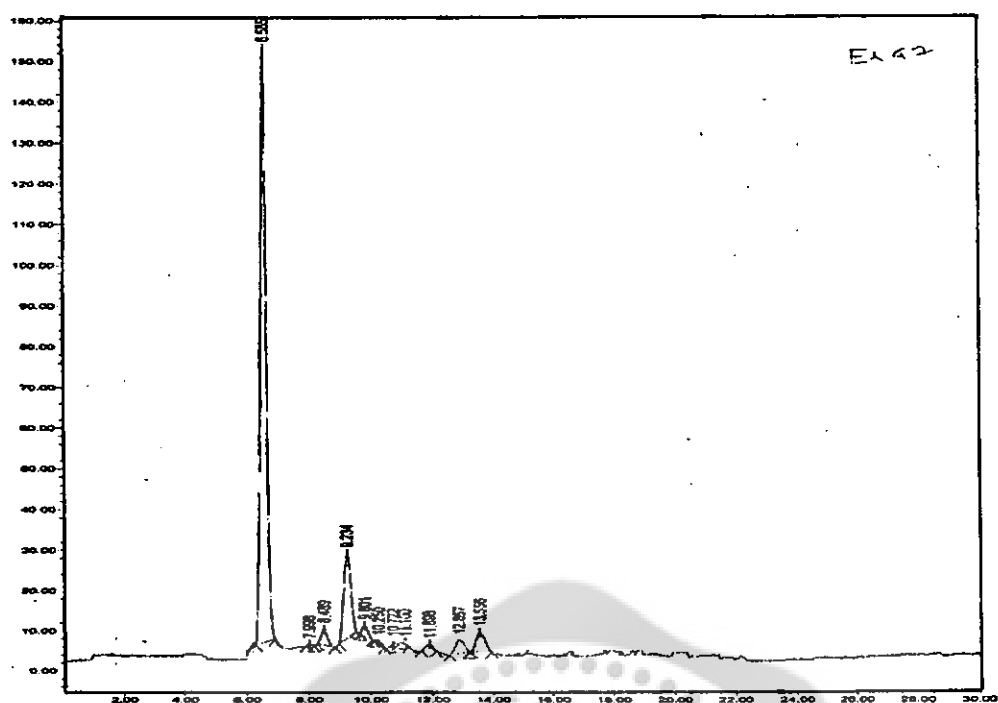
รูปที่ ค.38 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 5 หมักที่ 45 วัน



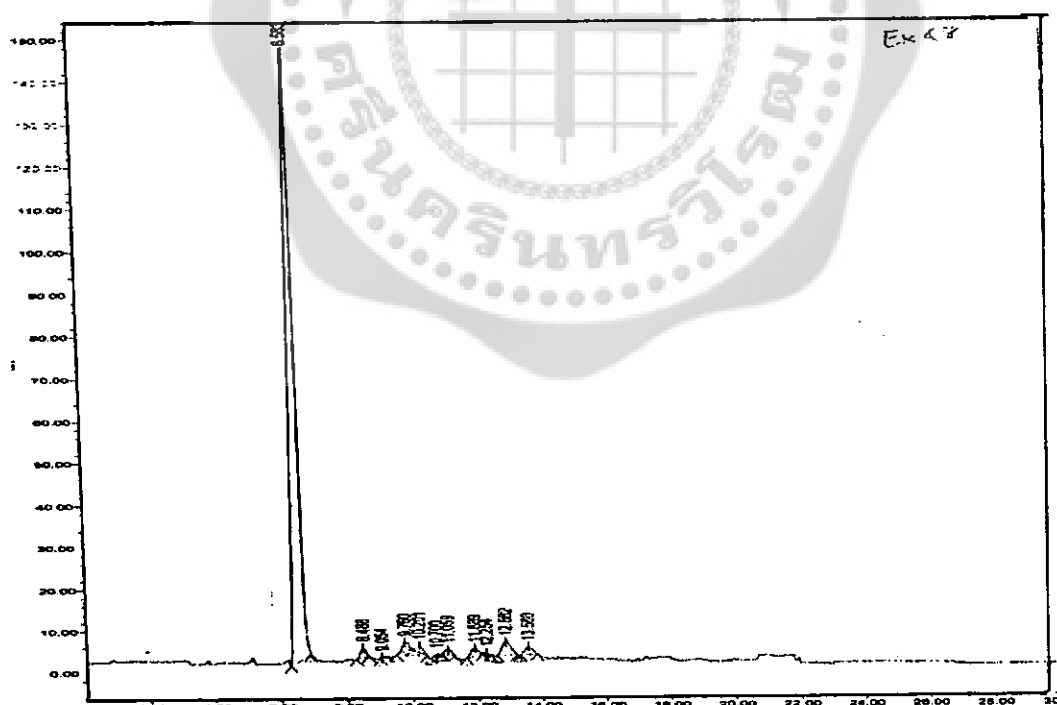
รูปที่ ค.39 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 5 หมักที่ 60 วัน



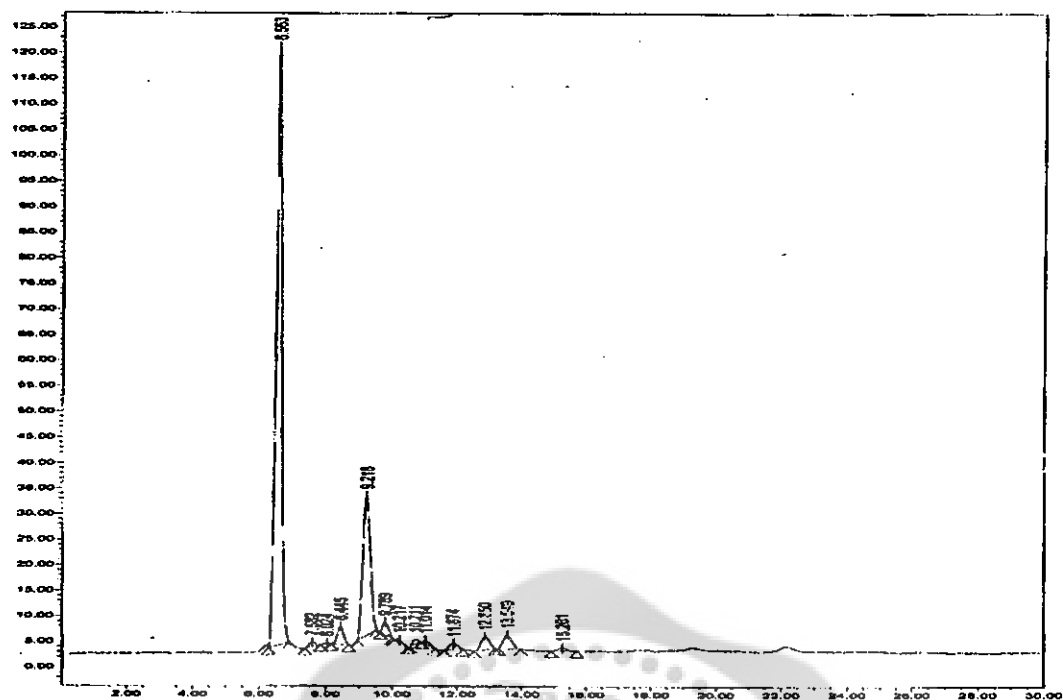
รูปที่ ค.40 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 5 หมักที่ 75 วัน



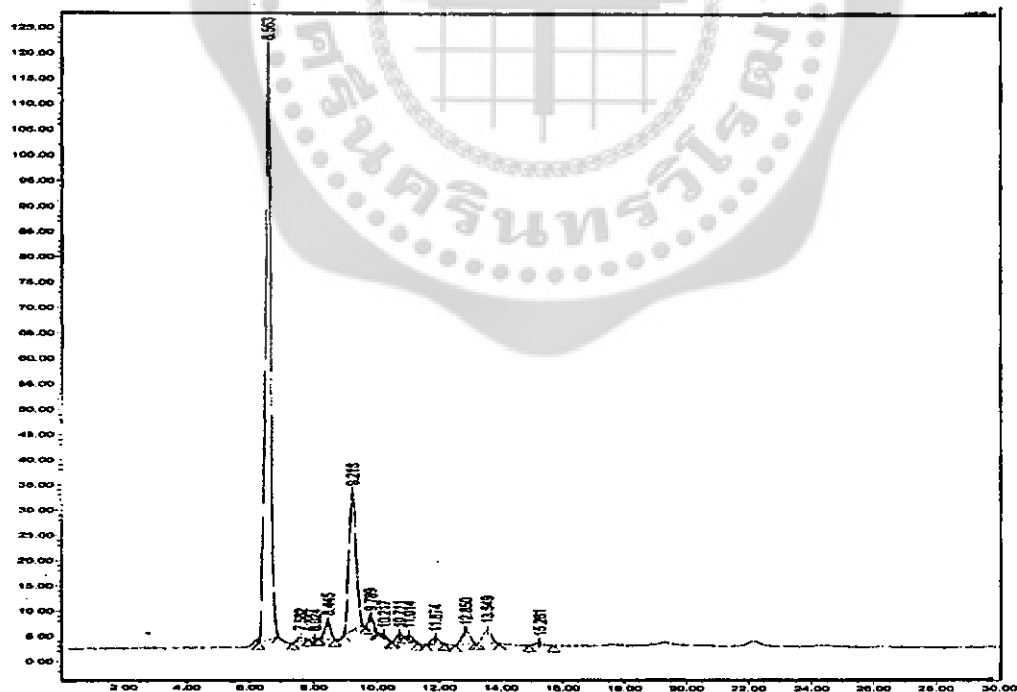
รูปที่ ค.41 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 5 หมักที่ 90 วัน



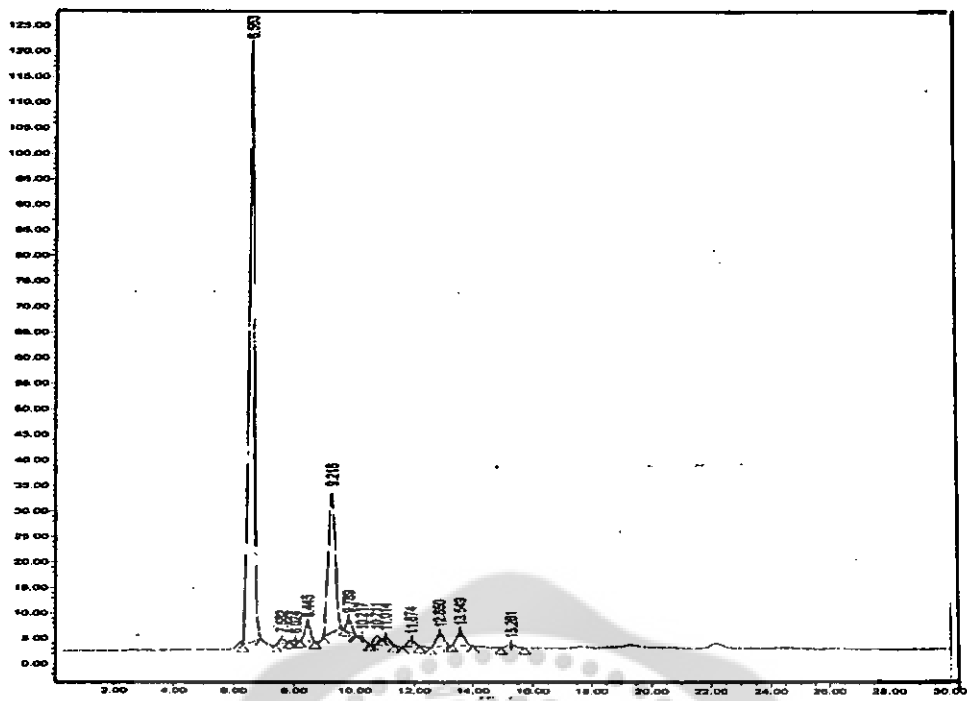
รูปที่ ค.42 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 6 หมักที่ 0 วัน



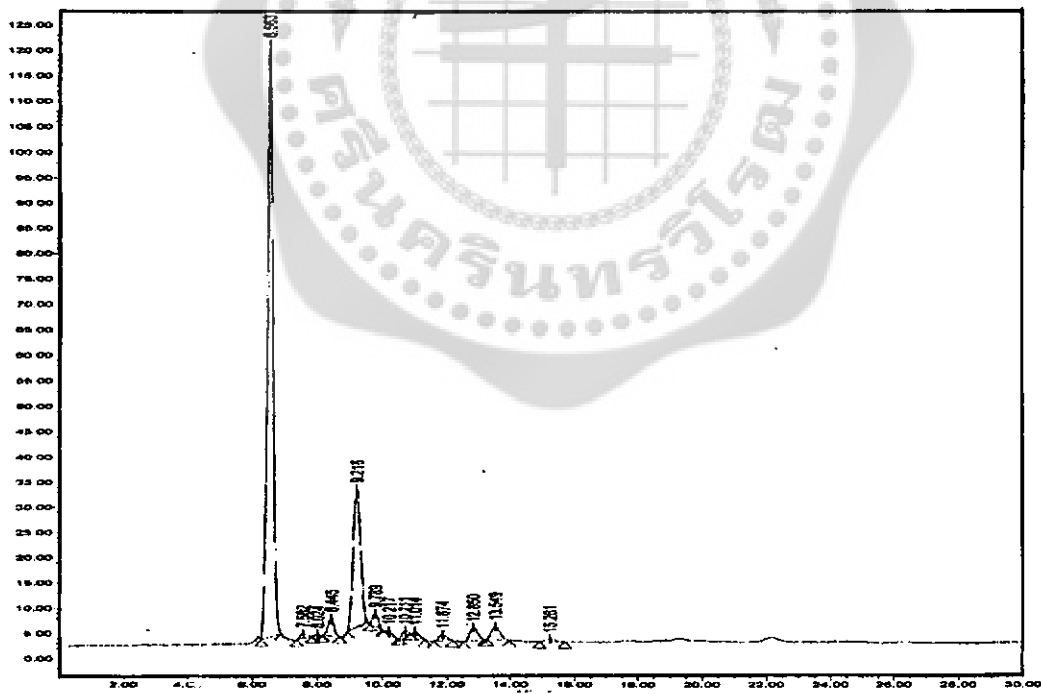
รูปที่ ค.43 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 6 หมักที่ 10 วัน



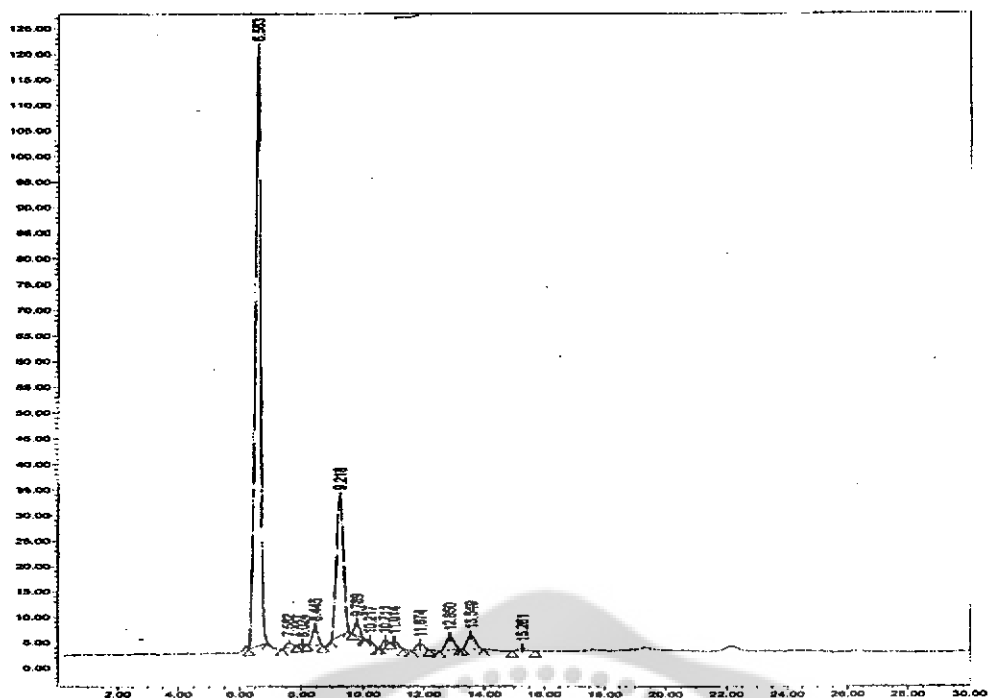
รูปที่ ค.44 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหลักส่วนสูตรที่ 6 หมักที่ 20 วัน



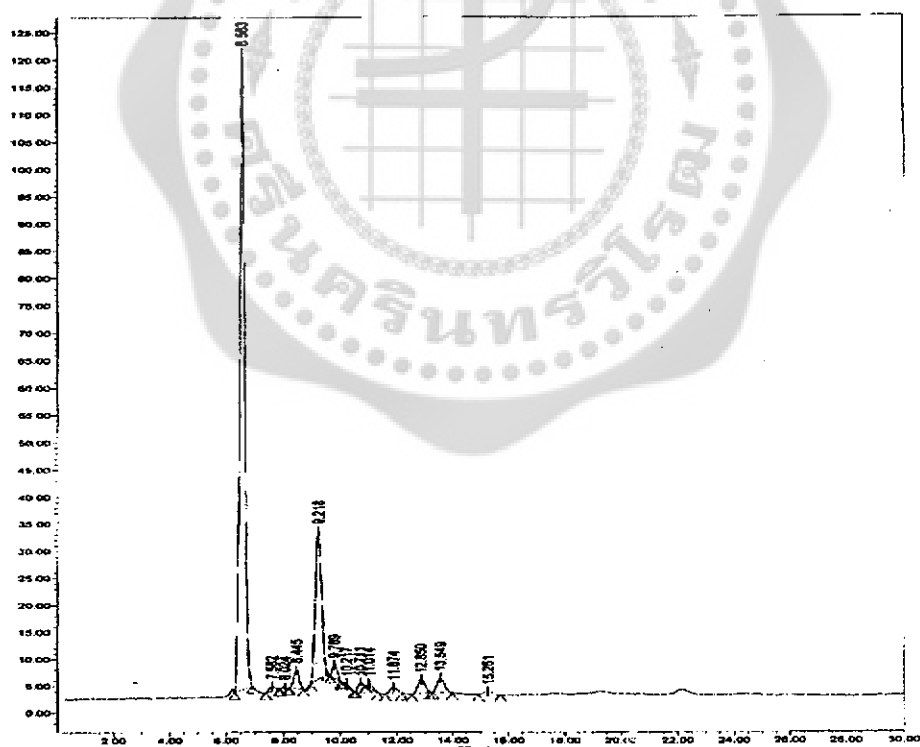
รูปที่ ค.45 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 6 หมักที่ 30 วัน



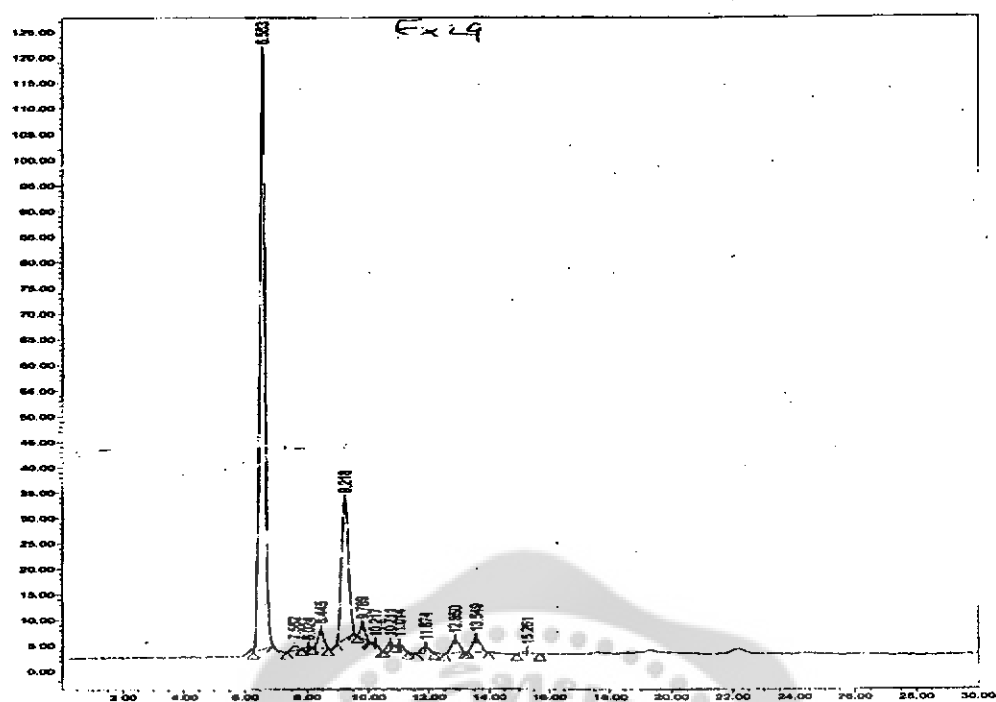
รูปที่ ค.46 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 6 หมักที่ 45 วัน



รูปที่ ค.47 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 6 หมักที่ 60 วัน



รูปที่ ค.48 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 6 หมักที่ 75 วัน



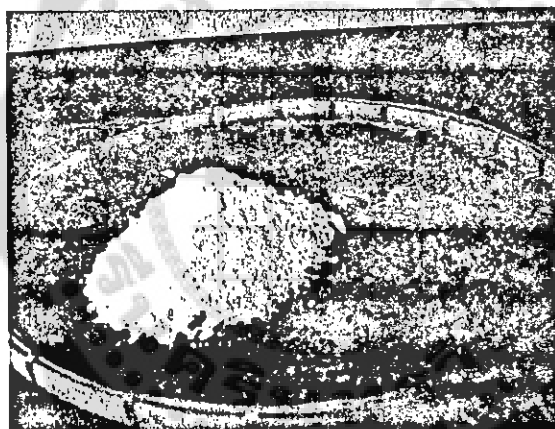
รูปที่ ค.49 โครมาโทแกรมของส่วนผสมหมักส่วนสูตรที่ 6 หมักที่ 90 วัน

ภาคผนวก ง

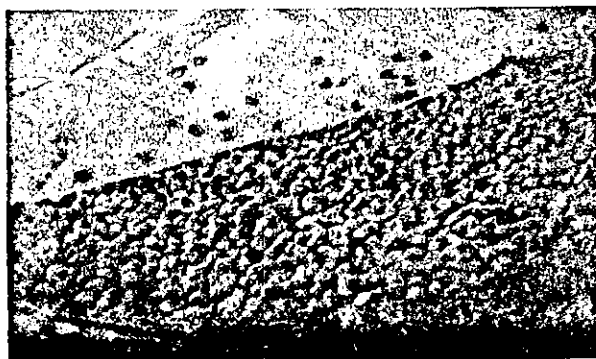
ภาพประกอบการทดลอง และ การเผยแพร่งานวิจัย



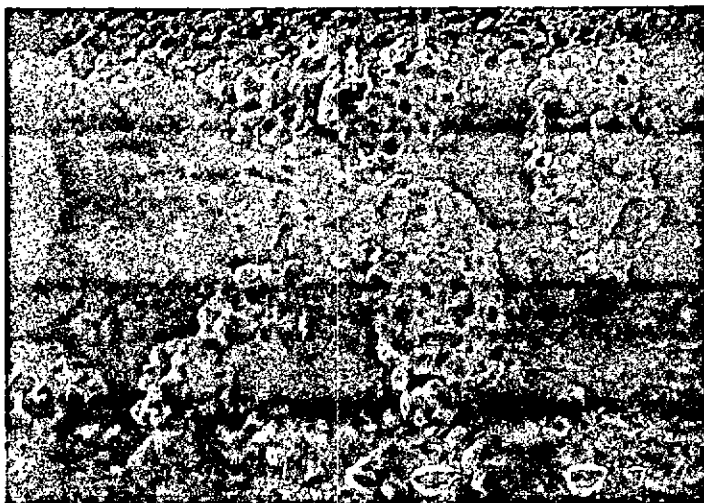
รูปที่ ง.1 ถั่วมะแอะที่ผ่านการต้ม



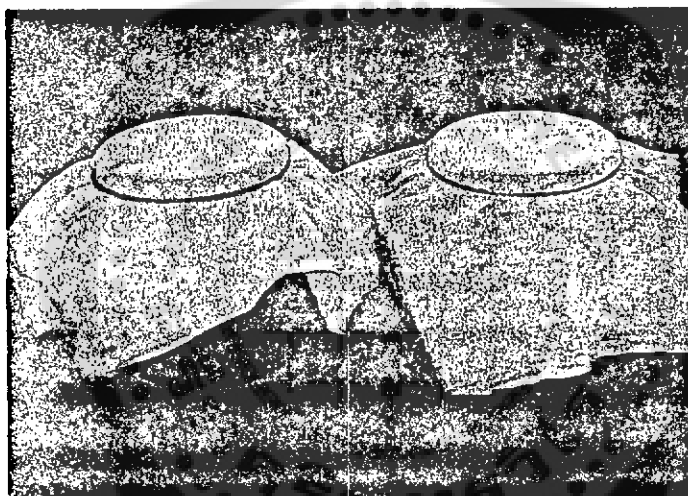
รูปที่ ง.2 ถั่วมะแอะที่ผ่านการต้มเตรียมผสมกับแป้งสาลี



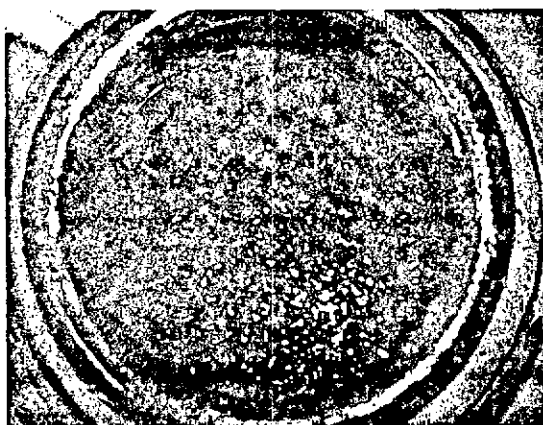
รูปที่ ง.3 ส่วนผสมที่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ *Aspergillus Oryzae*



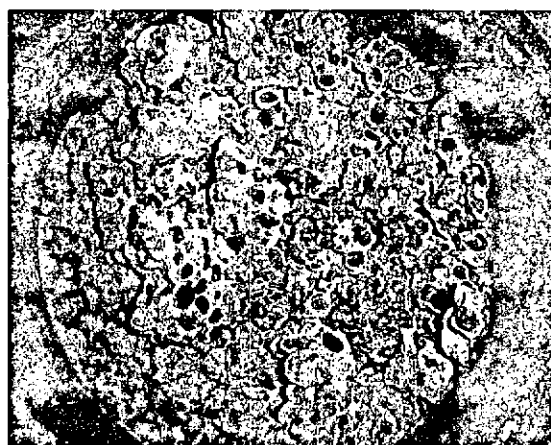
รูปที่ ง. 4 แสดงการตรวจสอบการเจริญของเชื้อช่วงโคจิ



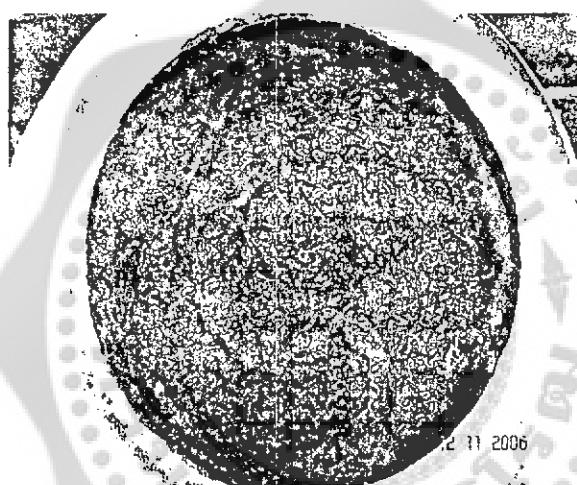
รูปที่ ง. 5 การหมักส่วนผสมไนไฮดินเคลือบ (สถานที่ห้องปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์)



รูปที่ ง. 6 การหมักส่วนผสมโคจิที่ระยะเวลา 1 เดือน



รูปที่ ง. 7 การหมักส่วนผสมโคจิที่ระยะเวลา 2 เดือน



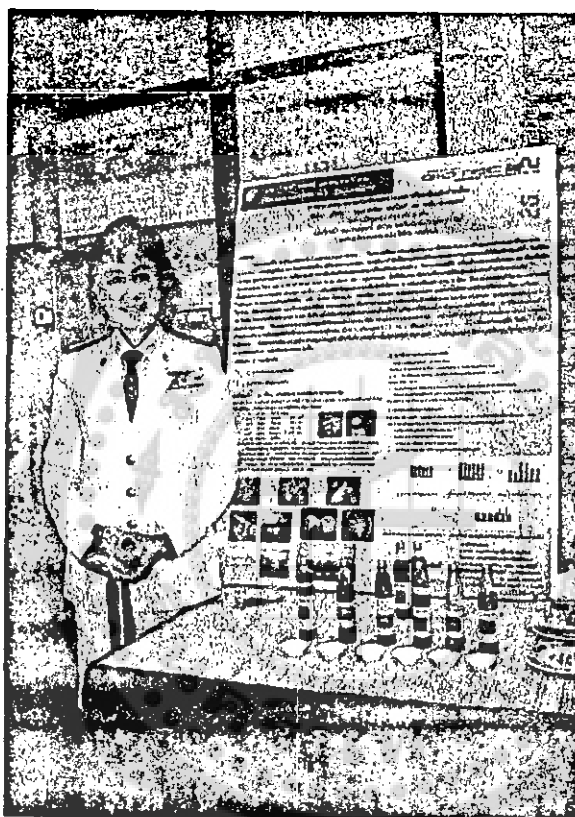
รูปที่ ง. 8 การหมักส่วนผสมโคจิที่ระยะเวลา 3 เดือน



รูปที่ ง. 9 ซีโอวีที่ผลิตจากถั่วมะแฮะและถั่วเหลืองสูตรต่างๆ

การนำเสนอผลงานวิจัย

- ครั้งที่ 1 วันที่ 20 กุมภาพันธ์ 2550
นำเสนอผลงานวิจัย โดยถวายงาน
องค์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารีพร้อมนิสิตช่วยวิจัย
ณ.ศูนย์ภูฟ้า จว.น่าน



- ครั้งที่ 2 นำเสนองานวิจัยแบบโปสเตอร์ ส่วนที่ 2 ณ.ที่ประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์นเรศวร
ครั้งที่ 1 วันที่ 15-16 มีนาคม 2550 เรื่อง
Study Soy Sauce Processing from Pigeon peas
- ครั้งที่ 3 นำเสนองานวิจัยแบบโปสเตอร์ ส่วนที่ 3 ณ.ที่ประชุมวิชาการเกษตรนเรศวรครั้งที่ 3
วันที่ 20 - 21 มิถุนายน 2550 เรื่อง
**Monitoring Study of Amylase Protease Organic Acid and
Microorganism contents in Fermented Processing of Soy sauce from
Pigeon Pea and Soy bean**
(งานนำเสนอครั้งที่ 3 ได้รับให้ลงตีพิมพ์ในวารสารเกษตรนเรศวร)

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	นาง พรพิมล ม่วงไทย
วันเดือนปีเกิด	วันที่ 20 เดือน สิงหาคม ปีพุทธศักราช 2501
สถานที่เกิด	อำเภอบางกะปิ กรุงเทพมหานคร
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 159 /41 ตำบลอนุสาวรีย์ อำเภอบางเขน กรุงเทพฯ 10220
รับราชการ	ตั้งแต่ พศ.2525 - ปัจจุบัน
ตำแหน่งปัจจุบัน	รองศาสตราจารย์ ระดับ 9
สังกัด	ภาควิชาเคมี
การศึกษา	
พ.ศ. 2521	วท.บ. เคมี (เกียรตินิยม อันดับ 2) จากมหาวิทยาลัยศิลปากร
พ.ศ. 2524	วท.ม. เคมีวิเคราะห์ จากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2546	ปร.ด. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์