ว
วิ๒๕.๔๙
ก๒๙๓

การศึกษาการเกิดสีดำคล้ำในซีอิ๊วที่ได้จากถั่วเหลืองและถั่วมะแฮะ

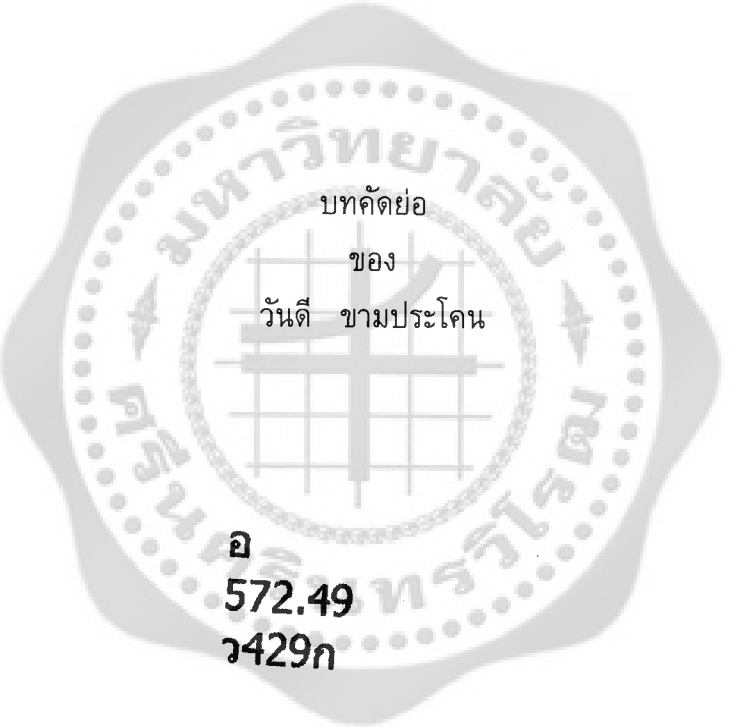
สารนิพนธ์
ของ
วันดี ขามประโคน

14 พค. 2552

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของ
การศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
มีนาคม 2552
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

S 34734

การศึกษาการเกิดสีดำคล้ำในซีอิ๊วที่ได้จากถั่วเหลืองและถั่วมะแฮะ



บทคัดย่อ

ของ

วันดี ขามประโคน

อ
572.49
ว429ก

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของ
การศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
มีนาคม 2552

วันดี ขามประโคน. (2552) *การศึกษาการเกิดสีดำคล้ำในซีอิ๊วที่ได้จากถั่วเหลืองและถั่วมะแฮะ.* สารนิพนธ์ กศ.ม.(เคมี). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. พรพิมล ม่วงไทย

ซีอิ๊ว เป็นผลิตภัณฑ์ของเหลวซึ่งเกิดจากการย่อยโปรตีนในถั่วเหลืองด้วยกระบวนการหมักแล้วนำไปผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ เมื่อเก็บเป็นระยะเวลานานๆ ซีอิ๊วจะมีสีดำคล้ำ เนื่องจากเกิดสารสีน้ำตาลจากกระบวนการเมลลาร์ดโดยสารที่นิยมนำมาเป็นดัชนีในการประเมินการเกิดสีดำคล้ำ (browning) คือ สารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ (5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde, HMF) งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วเหลืองและถั่วมะแฮะ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มถั่วเหลืองล้วน กลุ่มถั่วมะแฮะล้วน และกลุ่มถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองในอัตราส่วน 60:40 แต่ละกลุ่มหมักในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ ร้อยละ 20 18 16 14 12 และ 10 รวมทั้งสิ้น 18 สูตร หมักเป็นระยะเวลา 3 เดือน หลังจากนั้นนำซีอิ๊วผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ และเก็บรักษาที่ 2 สภาวะ คือ ที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็นเป็นระยะเวลา 6 เดือน ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ที่เวลา 0 1 2 3 4 5 และ 6 เดือนของการเก็บรักษา โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ผลการศึกษาพบว่าที่ระยะเวลาเริ่มต้นไม่พบปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วทุกสูตรและมีแนวโน้มพบมากขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ซีอิ๊วที่ได้จากกระบวนการหมักจากถั่วมะแฮะล้วน มีปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์สูงที่สุดประมาณ 40.00 ไมโครโมลาร์ และซีอิ๊วที่ได้จากกระบวนการหมักถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองมีปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ต่ำที่สุดประมาณ 27.46 ไมโครโมลาร์ ความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ใช้ในกระบวนการหมักมีผล ต่อการเกิดสีน้ำตาลในซีอิ๊ว ความเข้มข้นของน้ำเกลือสูงจะพบปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ สูงกว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำเกลือต่ำ ส่วนผลการเก็บรักษาพบปริมาณของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เก็บที่อุณหภูมิห้องสูงกว่าซีอิ๊วที่เก็บในตู้เย็น นอกจากนี้ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และปริมาณโปรตีน เพื่อเป็นข้อมูลในการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ จากผลการศึกษาพบว่าค่า pH มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ น้อยมาก ผลการศึกษาปริมาณน้ำตาลกลูโคส และโปรตีน พบว่าในระยะเริ่มต้นจะตรวจพบน้ำตาลกลูโคสและโปรตีนในซีอิ๊วทุกสูตรและเมื่อระยะเวลาผ่านไปแนวโน้มของปริมาณที่ตรวจพบมีปริมาณลดลง จากการทดลองนี้แสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสและโปรตีนมีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์

A STUDY ON THE OCCURRENCE OF DARK COLOR IN SOY SAUCE FROM SOY BEAN AND PIGEON PEA

AN ABSTRACT

BY

WANDEE KHAMPRAKONE

Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the

Master of Education degree in Chemistry

at Srinakharinwirot University

March 2009

Wandee Khamprakone. (2009). *A study on the occurrence of dark color in soy sauce from Soy bean and Pigeon pea.* Master' s Project, M.Ed. (Chemisthy).
Bangkok: Graduated School, Srinakharinwirot University.
Project Advisor: Assoc. Prof. Dr.Pornpimol Mungthai.

Soy sauce is the pasteurized liquid products from digestion of soy protein in fermentation process. However, the soy sauce becomes dark brown during a long storage due to the presence of 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde (HMF). The amount of 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde is normally used as an indicator of browning color in soy sauce. In this study, the amount of 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde was analyzed in 3 types of soy sauces : 100% soybeans, 100% pigeon peas and a mixture of pigeon peas and soybeans (60:40) as 18 formulas which different of salt content, 20%, 18%, 16%, 14%, 12% and 10%. All those peas were fermented for 3 months. After pasteurization, the soy sauces of various formulas were stored in two conditions, at room temperature and in refrigerators for 6 months. After 0 1 2 3 4 5 and 6 months of storage, the amount of 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde was analyzed by high performance liquid chromatography. The result revealed the absence of 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde in the sauce at the beginning, but tended to increase after a long storage. The soy sauce from 100% pigeon peas contained highest amount of 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde at 40.00 μM while the soy sauce from mixed pigeon peas and soybeans contained the lowest at 27.46 μM. The concentration of salt in soy sauce fermentation exhibited the role in browning during storage which high salt contents gave higher amount of 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde than the lower ones. And the condition of storage played the effect on the amount of 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde higher upon storing at room temperature than in refrigerators. Although the following of development is in the pH of value in the amount of glucose and the protein so that. It was the detail in the development to be analyzed of 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde. In the study, the result was the amount of pH in the lowest was reduce to have the effective of development of 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde. Glucose and protein content in soy sauces tended to reduce as increasing storage time. This experiment showed that both glucose and protein related to the occurrence of 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde in soy sauces.

อาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์ ประธานคณะกรรมการบริหารหลักสูตร และคณะกรรมการการสอบได้พิจารณาสารนิพนธ์เรื่อง การศึกษาการเกิดสีดำคล้ำในซีอิ๊วที่ได้จากถั่วเหลืองและถั่วมะแฮะ ของ วันดี ขามประโคน ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้

อาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย)

ประธานคณะกรรมการบริหารหลักสูตร

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธารารัตน์ ศุภศิริ)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธาน

(รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย)

.....กรรมการสอบสารนิพนธ์

(รองศาสตราจารย์ ภาณี วัฒนโอพาร)

.....กรรมการสอบสารนิพนธ์

(ดร.วินัย อวงพิพัฒน์)

อนุมัติให้รับสารนิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ของมหาวิทยาลัยศรีนครินวิโรฒได้

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิเชียร มากตุ่น)

วันที่...12...เดือน...มี.ค.....พ.ศ. 2552

ประกาศคุณูปการ

สารนิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับการสนับสนุนจากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ในการให้ความอนุเคราะห์การใช้เครื่องมือ สารเคมี อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้องในการทดลอง และห้องวิจัย เพื่อให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย ที่ปรึกษาสารนิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำ คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางในการแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นในงานวิจัย รวมทั้งท่านยังให้การช่วยเหลือ และให้กำลังใจแก่ผู้วิจัย ท่านเป็นที่ปรึกษาที่เพียบพร้อมด้วยความรู้ และความเสียสละต่องาน ดูแลเอาใจใส่ต่อนิสิตทำให้ท่านเป็นที่รักและยกย่องของนิสิตทุกคน

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ธารารัตน์ ศุภศิริ ในการเป็นประธานสอบเค้าโครงสารนิพนธ์ ท่านได้ให้คำแนะนำการจัดทำสารนิพนธ์ที่ถูกต้อง และขอขอบพระคุณในฐานะที่ท่านเป็นที่ปรึกษานิสิตหลักสูตรการศึกษามหาบัณฑิตสาขาเคมี ซึ่งท่านได้แนะนำในด้านการเรียนการจัดหลักสูตร และคอยให้คำปรึกษาในทุกเรื่องแก่นิสิตตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ภาณี วัฒนโอพาร ในการเป็นที่ปรึกษาร่วมในงานวิจัย เป็นกรรมการสอบเค้าโครงสารนิพนธ์ และเป็นกรรมการสอบปากเปล่าสารนิพนธ์ ท่านได้ให้คำแนะนำในการแก้ไขสารนิพนธ์ให้ถูกต้อง เพื่อให้การจัดทำสารนิพนธ์ของผู้วิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.ไว ประทุมผาย ในการให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ผลการทดลองที่เป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) ที่เอื้อเฟื้อเครื่องมือ สารเคมี และอุปกรณ์ในการทดลอง ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.วินัย อวงพิพัฒน์ ในการเป็นกรรมการสอบปากเปล่าสารนิพนธ์ และได้ให้คำแนะนำในการแก้ไขสารนิพนธ์ให้ถูกต้อง ท่านได้เสียสละเวลาอันมีค่าของท่าน เพื่อให้การสอบและจัดทำสารนิพนธ์ได้ครบถ้วนและสมบูรณ์สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ท้ายที่สุดข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ได้ให้การอบรมเลี้ยงดูและให้การศึกษาที่ดีแก่ข้าพเจ้า ทั้งให้กำลังใจที่ดีตลอดมา รวมทั้งพี่น้อง เพื่อนๆ ทุกคนที่ได้ให้การช่วยเหลือ และให้กำลังใจที่ดีเสมอมาตลอดระยะเวลาที่ศึกษา และทำงานวิจัย

วันดี ขามประโคน

สารบัญ

บทที่ หน้า

1 บทนำ

ภูมิหลัง 1
จุดประสงค์ของการวิจัย 2
ความสำคัญของงานวิจัย 2
แนวทางในการดำเนินการวิจัย 3
ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย 4
สถานที่ดำเนินการวิจัย 4
ขอบเขตของงานวิจัย 4
นิยามศัพท์เฉพาะ 5

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์ 6
ปฏิกิริยาเมลลาร์ด 7
ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยา 7
ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยา 11
ผลที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดในอาหาร 12
งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับปฏิกิริยาเมลลาร์ดและสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ 13
ซีอิ๊ว 16
วัตถุดิบ 16
กระบวนการหมัก 21
ลักษณะของน้ำซีอิ๊ว 23
กระบวนการเกิดสีน้ำตาลในซีอิ๊ว 24
ปัจจัยที่มีผลต่อคุณประโยชน์และความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ซีอิ๊ว 25
เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
หลักการ และการทำงาน 25
การวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณสารตัวอย่าง 27
การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยเทคนิคฟอร์แมลไทเทรชัน 28

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ **หน้า**

3 วิธีดำเนินการวิจัย

การดำเนินการวิจัยและการเก็บรวบรวมข้อมูล

สารเคมี วัตถุดิบ วัสดุและอุปกรณ์การทดลอง 30

การเตรียมตัวอย่าง 31

วิธีดำเนินการทดลอง 34

ตอนที่ 1 วิเคราะห์หาปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ 34

ตอนที่ 2 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในซีอิ๊ว 35

ตอนที่ 3 วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน 36

4 ผลการวิจัย

ตอนที่ 1 ผลการวิเคราะห์ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว 37

ตอนที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส 56

ตอนที่ 3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน 60

5 สรุป อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง 64

อภิปรายผลการทดลอง 66

ข้อเสนอแนะ 69

บรรณานุกรม 70

ภาคผนวก 74

ประวัติย่อผู้วิจัย 122

บัญชีตาราง

ตาราง หน้า

1 แสดงปริมาณสารอาหารในถั่วเหลือง 100 กรัม 16
2 แสดงปริมาณสารอาหารในถั่วมะแฮะ 100 กรัม 18
3 ลักษณะทางเคมีของน้ำซีอิ๊ว..... 22
4 แสดงค่า pH ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็น
เวลา 6 เดือน..... 75
5 แสดงค่า pH ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลา 6 เดือน..... 76
6 แสดงปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว
18 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน..... 77
7 แสดงปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว
18 สูตร เก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลา 6 เดือน..... 78
8 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคส ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็น
เวลา 6 เดือน..... 79
9 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคส ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาในตู้เย็นเป็น
เวลา 6 เดือน..... 80
10 แสดงปริมาณโปรตีนของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็น
เวลา 6 เดือน..... 81
11 แสดงปริมาณโปรตีนของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาในตู้เย็นเป็น
เวลา 6 เดือน..... 82

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ **หน้า**

1 ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด..... 8
2 ขั้นตอนแรกในการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด..... 9
3 การเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดขั้นกลาง..... 9
4 สารผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดขั้นกลาง..... 10
5 สูตรโครงสร้าง 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์..... 10
6 ขั้นตอนการผลิตซีอิ๊ว..... 23
7 กระบวนการเกิดสีของน้ำซีอิ๊วระหว่างการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน..... 24
8 แผนภาพส่วนประกอบต่างๆ ของเครื่อง HPLC ที่ใช้ในปัจจุบัน..... 26
9 แสดงกราฟมาตรฐานจากสารมาตรฐาน..... 28
10 แสดงกระบวนการหมักน้ำซีอิ๊ว..... 33
11 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาที่สภาวะ
อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน..... 37
12 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาในตู้เย็น
เป็นเวลา 6 เดือน..... 38
13 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว
ที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง
หมัก ในน้ำเกลือ เข้มข้นร้อยละ 20 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง
เป็นเวลา 6 เดือน..... 39
14 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ใน
ซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง
หมักในน้ำเกลือ เข้มข้นร้อยละ 18 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง
เป็นเวลา 6 เดือน..... 40
15 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ใน
ซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง
หมักในน้ำเกลือ เข้มข้นร้อยละ 16 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง
เป็นเวลา 6 เดือน..... 40
16 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ใน
ซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง
หมักในน้ำเกลือ เข้มข้นร้อยละ 14 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง
เป็นเวลา 6 เดือน..... 41

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ **หน้า**

17 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 12 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน..... 41

18 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือ เข้มข้นร้อยละ 10 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน..... 42

19 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือ เข้มข้นร้อยละ 20 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน..... 43

20 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือ เข้มข้นร้อยละ 18 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน..... 44

21 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือ เข้มข้นร้อยละ 16 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน..... 44

22 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองหมักในน้ำเกลือ เข้มข้นร้อยละ 14 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน..... 45

23 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือ เข้มข้นร้อยละ 12 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน..... 45

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ **หน้า**

24 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือ เข้มข้นร้อยละ 10 เก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลา 6 เดือน..... 46

25 เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ที่เวลา 0 เดือน..... 48

26 เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ที่เวลา 1 เดือน..... 48

27 เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว 18 สูตรเก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ที่เวลา 2 เดือน..... 49

28 เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ที่เวลา 3 เดือน..... 49

29 เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ที่เวลา 4 เดือน..... 50

30 เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ที่เวลา 5 เดือน..... 50

31 เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ที่เวลา 6 เดือน..... 51

32 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊วสูตร 2 ที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน เก็บที่อุณหภูมิห้อง นาน 6 เดือน..... 52

33 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊วสูตร 8 ที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน เก็บที่อุณหภูมิห้อง นาน 6 เดือน..... 52

34 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊วสูตร 14 ที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง เก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 6 เดือน..... 53

35 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊วสูตร 2 ที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน เก็บในตู้เย็น นาน 6 เดือน..... 54

36 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊วสูตร 8 ที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน เก็บในตู้เย็น นาน 6 เดือน..... 54

37 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊วสูตร 14 ที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง เก็บในตู้เย็นนาน 6 เดือน..... 55

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ **หน้า**

38 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน..... 56

39 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน..... 56

40 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองในอัตราส่วน 60:40 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน..... 57

41 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน..... 58

42 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน..... 58

43 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองในอัตราส่วน 60:40 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน..... 59

44 แสดงปริมาณโปรตีน ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน..... 60

45 แสดงปริมาณโปรตีน ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน..... 60

46 แสดงปริมาณโปรตีน ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองในอัตราส่วน 60:40 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน..... 61

47 แสดงปริมาณโปรตีน ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน..... 62

48 แสดงปริมาณโปรตีน ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน..... 62

49 แสดงปริมาณโปรตีน ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองในอัตราส่วน 60:40 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน..... 63

50 กราฟมาตรฐานสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์..... 87

51 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส..... 87

52 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร..... 88

53 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร..... 88

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ **หน้า**

54 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร..... 89

55 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เข้มข้น 2 มิลลิกรัม/ลิตร..... 89

56 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เข้มข้น 4 มิลลิกรัม/ลิตร..... 90

57 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เข้มข้น 8 มิลลิกรัม/ลิตร..... 90

58 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส เข้มข้น 1.25 กรัม/ลิตร..... 91

59 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส เข้มข้น 2.5 กรัม/ลิตร..... 91

60 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส เข้มข้น 5 กรัม/ลิตร..... 92

61 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส เข้มข้น 10 กรัม/ลิตร..... 92

62 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส เข้มข้น 15 กรัม/ลิตร..... 93

63 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส เข้มข้น 20 กรัม/ลิตร..... 93

64 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 เดือน..... 94

65 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 เดือน..... 94

66 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 เดือน..... 94

67 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน..... 95

68 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 เดือน..... 95

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ **หน้า**

69 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 เดือน..... 95

70 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน..... 96

71 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 เดือน..... 96

72 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 เดือน..... 96

73 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 เดือน..... 97

74 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน..... 97

75 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 เดือน..... 97

76 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 เดือน..... 98

77 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน..... 98

78 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 เดือน..... 98

79 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 เดือน..... 99

80 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 เดือน..... 99

81 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน..... 99

82 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 เดือน..... 100

83 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 เดือน..... 100

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ **หน้า**

84 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน..... 100

85 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 0 เดือน..... 101

86 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 1 เดือน..... 101

87 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 2 เดือน..... 101

88 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 3 เดือน..... 102

89 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 4 เดือน..... 102

90 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 5 เดือน..... 102

91 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน..... 103

92 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 0 เดือน..... 103

93 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 1 เดือน..... 103

94 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 2 เดือน..... 104

95 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 3 เดือน..... 104

96 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 4 เดือน..... 104

97 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 5 เดือน..... 105

98 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว สูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน..... 105

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ **หน้า**

99 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 0 เดือน..... 105

100 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 1 เดือน..... 106

101 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 2 เดือน..... 106

102 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 3 เดือน..... 106

103 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 4 เดือน 107

104 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 5 เดือน..... 107

105 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน..... 107

106 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 เดือน..... 108

107 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 เดือน..... 108

108 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 เดือน..... 108

109 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน..... 109

110 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 เดือน..... 109

111 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 เดือน..... 109

112 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน..... 110

113 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 เดือน..... 110

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ **หน้า**

114 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 เดือน..... 110

115 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 เดือน..... 111

116 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน..... 111

117 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 เดือน..... 111

118 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 เดือน..... 112

119 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน..... 112

120 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 เดือน..... 112

121 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 เดือน..... 113

122 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 เดือน..... 113

123 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน..... 113

124 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 เดือน..... 114

125 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 เดือน..... 114

126 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน..... 114

127 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 0 เดือน..... 115

128 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 1 เดือน..... 115

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ **หน้า**

129 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 2 เดือน..... 115
130 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 3 เดือน..... 116
131 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 4 เดือน..... 116
132 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 5 เดือน..... 116
133 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน..... 117
134 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 0 เดือน..... 117
135 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 1 เดือน..... 117
136 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 2 เดือน..... 118
137 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 3 เดือน..... 118
138 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 4 เดือน..... 118
139 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 5 เดือน..... 119
140 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน..... 119
141 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 0 เดือน..... 119
142 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 1 เดือน..... 120
143 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 2 เดือน..... 120

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ **หน้า**

144 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น
เป็นเวลา 3 เดือน..... 120
145 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น
เป็นเวลา 4 เดือน..... 121
146 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น
เป็นเวลา 5 เดือน..... 121
147 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น
เป็นเวลา 6 เดือน..... 121

บทที่ 1
บทนำ

ภูมิหลัง

ซีอิ๊ว เป็นเครื่องปรุงรสที่หลายคนนิยมนำมาบริโภคเนื่องจากเป็นแหล่งของสารอาหารทั้ง โปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ และวิตามินที่สูง (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ; บุญปลุก บุญเลิศ; และ สุรีย์พร แสงหิรัญ. 2542) สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ได้ให้ความหมายของซีอิ๊วไว้ว่า "น้ำซีอิ๊ว" หมายถึง ผลิตภัณฑ์ของเหลวที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนของถั่วเหลืองด้วยกระบวนการหมัก จะนำมาทำการแต่งรสและ/หรือสีกลิ่น หรือ ไม่ก็ได้ตามชนิดของผลิตภัณฑ์นั้นๆ แล้วนำไปผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ (pasturization) (สำหนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์ อุตสาหกรรม. 2521) ซึ่งน้ำซีอิ๊วของโรงงานอุตสาหกรรมทั่วๆ ไป จะใช้วัตถุดิบหลักในการผลิต คือ ถั่วเหลือง แป้งสาลี หรือแป้งข้าวเจ้า เกลือและน้ำ (สถาบันวิจัยพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. 2527) ซึ่งมีกระบวนการผลิตอยู่ 3 ขั้น คือ ขั้นตอนการเตรียมเชื้อบนลูกแป้งและถั่ว ที่เรียกว่า โคจิ (Koji) ใช้เวลาประมาณ 1 สัปดาห์ ขั้นตอนการหมักโมโรมิ (moromi) ซึ่งจะนำโคจิใส่ในโอ่งและเติมน้ำเกลือลงไป ใช้เวลาประมาณ 6-12 เดือน และขั้นตอนการพาสเจอร์ไรซ์โดยทำการกรองโมโรมิคั้นเอาแต่น้ำเพื่อพาสเจอร์ไรซ์และบรรจุขวดเป็นผลิตภัณฑ์ (พันธ์ณรงค์ จันทร์แสงศรี. 2539) ลักษณะกายภาพทั่วไปของซีอิ๊วมีสีน้ำตาลอ่อน มีกลิ่น และรสชาติชวนให้น่าบริโภค ซึ่งสีของซีอิ๊วมีความสำคัญต่อการยอมรับของผู้บริโภค ถ้าซีอิ๊วที่มีสีเข้มมากเกินไปจะทำให้ผู้บริโภคไม่นิยมนำมาบริโภค โดยปัจจัยซึ่งมีผลต่อการเกิดสี คือ การหมัก และการฆ่าเชื้อน้ำซีอิ๊วด้วยวิธีการพาสเจอร์ไรซ์ ระหว่างกระบวนการหมักน้ำซีอิ๊ว สีของซีอิ๊วจะเกิดจากปฏิกิริยา นอน-ออกซิเดทีฟ (non-oxidative) และการเกิดปฏิกิริยาแบบไม่ใช้เอนไซม์เป็นหลัก แต่อาจมีบางส่วนที่เกิดสีน้ำตาลจากปฏิกิริยา แบบใช้เอนไซม์ (enzymatic browning) ระหว่างสารประกอบอะมิโนกับน้ำตาล สีของซีอิ๊วจะเข้มขึ้นอีกครั้งภายหลังการบรรจุในภาชนะ ถ้าภาชนะมีการรั่วทำให้เกิดปฏิกิริยาดังกล่าวข้างต้น ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนี้จะทำให้คุณภาพของน้ำซีอิ๊วด้อยลง (Yokotsuka. 1986)

ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในอาหารจะแบ่งออกเป็นสองประเภทคือ การเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ และแบบใช้เอนไซม์ การเกิดสีน้ำตาลปฏิกิริยาแบบไม่ใช้เอนไซม์นั้นเป็นปฏิกิริยาเคมีระหว่างองค์ประกอบต่างๆ ของอาหาร ได้แก่ การเกิดออกซิเดชัน การเกิดคาราเมลไลเซชัน (caramelization) และปฏิกิริยาเคมีระหว่างกรดอะมิโนกับน้ำตาลรีดิวซ์ที่เรียกว่าปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยาที่สำคัญที่สุดในการเกิดสีน้ำตาล และกลิ่น (aroma) ทำให้ผลิตภัณฑ์ของอาหารมักเป็นสิ่งไม่พึงปรารถนา เพราะอาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกลิ่น รส และลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหาร (รัชนี ตัณฑะพานิชกุล. 2547) อาหารทุกชนิดที่ผ่านกระบวนการทำให้สุกด้วยความร้อนและอาหารหมักทุกชนิดจะเกิดปฏิกิริยาเคมีนี้ ในแง่ของกลไกทางเคมี

เมื่อกรดอะมิโนทำปฏิกิริยากับน้ำตาลรีดิวซ์แล้วจะได้สารประกอบที่เรียกว่าผลิตภัณฑ์อะมาโดริ (Amadori product) สารประกอบดังกล่าวจะเกิดปฏิกิริยาอีนอลไลเซชัน (enolization) ต่อได้เป็นไดคีโตนเอมีน และเกิดปฏิกิริยาไฮเดรชันต่อได้เป็นอนุพันธ์ของฟูแรน ถ้าเป็นน้ำตาลเฮกโซสอนุพันธ์ฟูแรนคือ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ (5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde, HMF) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ตัวหนึ่งที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด ในการศึกษาปฏิกิริยาเมลลาร์ดนี้เราสามารถติดตามการเกิดใหม่ของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ได้

จากปัญหาดังกล่าว งานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงได้สนใจในการศึกษาหาปริมาณของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ของซีอิ๊ว 3 กลุ่ม ที่เกิดจากการหมักของถั่วเหลือง ถั่วมะแฮะ และถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง ซึ่งในซีอิ๊วแต่ละกลุ่มจะใช้น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน และช่วงระยะเวลาในการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน จากงานวิจัยดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนากระบวนการผลิตซีอิ๊ว และวิธีการเก็บรักษาเพื่อให้ได้ซีอิ๊วที่ดี มีคุณภาพชวนให้บริโภคต่อไป

จุดประสงค์ของการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยมีจุดประสงค์ของการวิจัยดังต่อไปนี้

1) เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในการเป็นดัชนีบอกการเกิดสารสีน้ำตาลในกระบวนการผลิตซีอิ๊วและการเก็บรักษา

2) เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์ซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วเหลืองและถั่วมะแฮะในระหว่างการเก็บรักษา

ความสำคัญของงานวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ทั้งผู้วิจัยและผู้ศึกษางานวิจัยจะได้รับประโยชน์ดังต่อไปนี้

1) ทราบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ที่เป็นสารพิษชนิดหนึ่ง

2) ทราบการเปลี่ยนแปลงการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์เพื่อเป็นข้อมูลในการเก็บรักษาซีอิ๊วประเภทนี้

แนวทางในการดำเนินการวิจัย

1. ศึกษาข้อมูลพื้นฐาน

1.1) ศึกษาข้อมูลพื้นฐานการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ

1.2) ศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ของซีอิ๊ว ประกอบด้วย วัตถุที่ใช้ในการผลิต กระบวนการผลิต และปัจจัยที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ของซีอิ๊วมีคุณภาพด้อยลง

2. วางแผนการดำเนินการวิจัย

2.1) วางแผนเกี่ยวกับกระบวนการผลิตซีอิ๊ว วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตซีอิ๊ว

2.2) วางแผนเกี่ยวกับวิธีการวิเคราะห์สารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล และการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

2.3) วางแผนการหมักซีอิ๊วเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่ม 1 ใช้วัตถุดิบเป็นถั่วเหลือง

กลุ่ม 2 ใช้วัตถุดิบเป็นถั่วมะแฮะ

กลุ่ม 3 ใช้วัตถุดิบเป็นถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองในอัตราส่วน 60:40

ในแต่ละกลุ่มหมักด้วยน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นร้อยละ 20, 18, 16, 14, 12 และ 10

2.4) เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ น้ำตาล และโปรตีน ที่ระยะก่อนพาสเจอร์ไรซ์และหลังพาสเจอร์ไรซ์ และระหว่างการเก็บรักษาที่ 2 สภาวะ คือ ที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็นโดยตรวจวิเคราะห์ทุกเดือนเป็นระยะเวลา 6 เดือน

3. ดำเนินการทดลอง

3.1) ทำการหมักซีอิ๊วตามสูตรต่างๆ และวิธีการทดลองที่ได้วางแผนไว้

3.2) เมื่อหมักครบ 3 เดือน กรอง ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน นำส่วนที่เป็นน้ำใสๆ ไปทำการพาสเจอร์ไรซ์ บรรจุขวดเป็นซีอิ๊ว

3.3) เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ของซีอิ๊วทุกเดือนเป็นระยะเวลา 6 เดือน

3.4) นำตัวอย่างที่เก็บไว้ไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ปริมาณน้ำตาล และปริมาณโปรตีน

3.5) ทำการวิเคราะห์ข้อมูล

3.6) สรุปและรายงานผลการวิจัย

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย

ระยะเวลาที่ใช้เป็นเวลานาน 1 ปี 4 เดือน เริ่มตั้งแต่ วันที่ 1 กรกฎาคม 2550 ถึง 30 พฤศจิกายน 2551

สถานที่ทำการทดทอง

1) ห้องวิจัยเคมีวิเคราะห์และห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2) ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค)

ขอบเขตของงานวิจัย

1. ตัวแปรที่ต้องการศึกษา

1.1 ตัวแปรต้น ได้แก่

1) ซีอิ๊วสูตรต่างๆ 18 สูตร คือ

สูตร 1	ถั่วเหลือง	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	20
สูตร 2	ถั่วเหลือง	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	18
สูตร 3	ถั่วเหลือง	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	16
สูตร 4	ถั่วเหลือง	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	14
สูตร 5	ถั่วเหลือง	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	12
สูตร 6	ถั่วเหลือง	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	10
สูตร 7	ถั่วมะแฮะ	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	20
สูตร 8	ถั่วมะแฮะ	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	18
สูตร 9	ถั่วมะแฮะ	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	16
สูตร 10	ถั่วมะแฮะ	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	14
สูตร 11	ถั่วมะแฮะ	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	12
สูตร 12	ถั่วมะแฮะ	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	10
สูตร 13	ถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	20
สูตร 14	ถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	18
สูตร 15	ถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	16
สูตร 16	ถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	14
สูตร 17	ถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	12
สูตร 18	ถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง	หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ	10

2) ระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ของซีอิ๊ว 6 เดือน โดยศึกษาการเก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น (ประมาณ 10 องศาเซลเซียส)

1.2 ตัวแปรตาม ได้แก่

ปริมาณของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ปริมาณน้ำตาล และปริมาณโปรตีน ที่มีในผลิตภัณฑ์ของซีอิ๊ว

2. กลุ่มตัวอย่าง

ซีอิ๊วที่ได้จากกระบวนการหมักจำนวน 18 สูตร

นิยามศัพท์เฉพาะ

1) ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล คือ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิตอาหารซึ่งแบ่งได้เป็นสองประเภท คือ การเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ และแบบใช้เอนไซม์

2) ปฏิกิริยาเมลลาร์ด คือ ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์ ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างหมู่คาร์บอนิลจากโมเลกุลของน้ำตาลรีดิวซ์กับหมู่เอมีนที่อยู่ในโมเลกุลของแอมโมเนีย กรดอะมิโน หรือโปรตีน เป็น ปฏิกิริยาคาร์บอนิลเอมีน (carbonyl-amine reaction)

3) สารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ คือ ผลิตภัณฑ์หนึ่งที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ของอาหารมีการเปลี่ยนสี เป็นสีน้ำตาลเข้มขึ้น

4) น้ำตาล คือ น้ำตาลกลูโคสที่แพร่ออกมาจากโคจิที่แช่อยู่ในน้ำเกลือในช่วงการหมัก

5) โปรตีน คือ โปรตีนที่แพร่ออกมาจากโคจิที่แช่อยู่ในน้ำเกลือในช่วงการหมัก

6) กระบวนการหมักซีอิ๊ว คือ การนำถั่วเหลือง ถั่วมะแฮะ และถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองมาผสมกับแป้งข้าวสาลี เติมหัวเชื้อ หมักในน้ำเกลือ ครบ 3 เดือน กรอง พาสเจอร์ไรซ์สุดท้ายได้ซีอิ๊ว

7) โคจิ หมายถึง ขั้นตอนของการเตรียมเชื้อบนลูกแป้งและถั่ว นำเชื้อรา *A. oryzae* แผ่กระจายไว้ในกระด้ง สังเกตจะมีสปอร์ของเชื้อคลุมเมล็ดถั่วเป็นสีเหลืองแกมเขียว เรียกว่า ลูกแป้ง

8) โมโรมิ คือ ขั้นตอนของการนำลูกแป้งในช่วงโคจิลงหมักในภาชนะไหดินเคลือบเติมน้ำเกลือ นำโอ่งไปตั้ง ตากแดด คนเป็นครั้งคราว ระยะเวลาหมักนาน 3 เดือน

9) น้ำซีอิ๊วดิบ คือ น้ำซีอิ๊วส่วนใสๆที่ได้จากการกรอง โดยยังไม่ผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์

10) ซีอิ๊ว คือ น้ำซีอิ๊วที่ได้ผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์เรียบร้อยแล้ว ด้วยอุณหภูมิ 80 - 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็วถึง 10 องศาเซลเซียส แล้วบรรจุขวด

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

1. ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์
2. ปฏิกิริยาเมลลาร์ด
   - 2.1 ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยา
   - 2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยา
   - 2.3 ผลที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดในอาหาร
   - 2.4 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับปฏิกิกิริยาเมลลาร์ดและสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์
3. ซีอิ๊ว
   - 3.1 วัตถุดิบ
   - 3.2 กระบวนการหมัก
   - 3.3 ลักษณะของน้ำซีอิ๊ว
   - 3.4 กระบวนการเกิดสีน้ำตาลในซีอิ๊ว
   - 3.5 ปัจจัยที่มีผลต่อคุณประโยชน์และความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ซีอิ๊ว
4. เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
   - 4.1 หลักการ
   - 4.2 การวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณสารตัวอย่าง
5. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยเทคนิคฟอร์แมลไทเทรชัน

1. ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์

ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ สามารถจำแนกย่อยออกได้เป็น 2 แบบ คือ การเกิดคาราเมลไลเซชัน และการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด เป็นปฏิกิริยาระหว่างหมู่คาร์บอนิลจากโมเลกุลของน้ำตาลรีดิวซ์กับหมู่เอมีนที่อยู่ในโมเลกุลของแอมโมเนีย กรดอะมิโน หรือโปรตีน เป็นปฏิกิริยาคาร์บอนิลเอมีน

อย่างไรก็ตาม ทั้งสองปฏิกิริยามีสารมัธยันตร์และผลิตภัณฑ์สุดท้ายเหมือนกัน ซึ่งในงานวิจัยนี้จะกล่าวถึงการเกิดสีน้ำตาลประเภทที่ 2 คือ ปฏิกิริยาเมลลาร์ด

2. ปฏิกิริยาเมลลาร์ด

ในปี ค.ศ.1912 หลุยส์ เมลลาร์ด (Louis Maillard) นักเคมีชาวฝรั่งเศส เป็นบุคคลแรกที่อธิบายเกี่ยวกับการเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) และสารประกอบอะมิโน และพบว่าสารประกอบเมลานอยดินส์ (melanoidins) เป็นสารประกอบสีน้ำตาล เมื่อให้ความร้อนแก่สารละลายกลูโคสและไกลซีน จึงเรียกปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลนี้ว่าปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Owusu Apenten. 2002)

เมื่ออาหารได้รับความร้อนจะมีการสูญเสียน้ำ เกิดการสลายตัว และมีการรวมตัวกันของหมู่อะมิโนของโปรตีนกับหมู่รีดิวซ์ ของน้ำตาล เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนมีสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาล สารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีผลให้อาหารมีกลิ่นและรสชาติต่างๆ

2.1 ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยา (Deman. 1990) ;(Bemiller; Whistler. 1996).

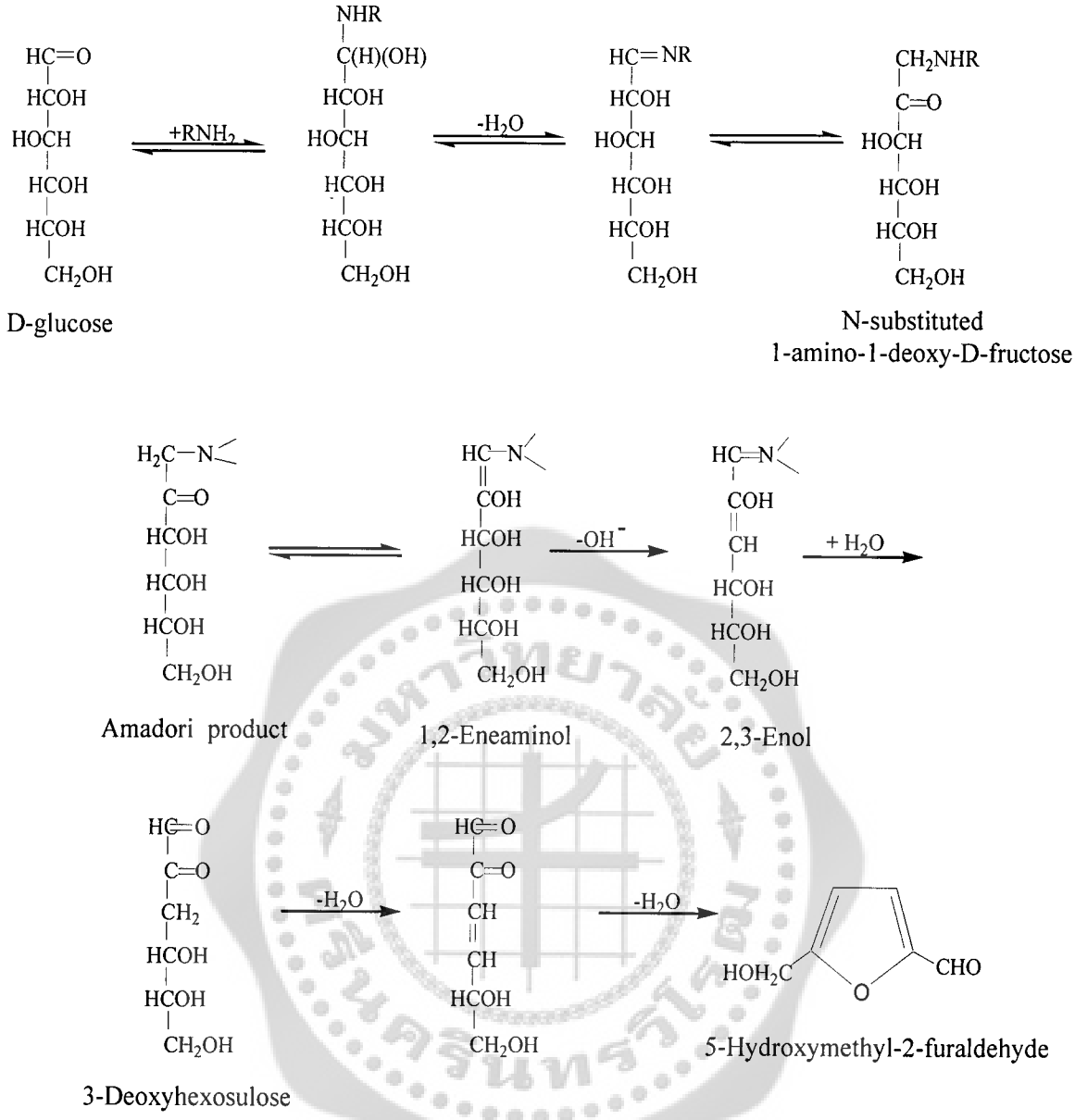
1) หมู่รีดิวซ์ทั้งคีโตสและแอลโดส ในน้ำตาลจะรวมตัวกับหมู่อะมิโนได้สารไกลโคซิลามีน

2) เกิดปฏิกิริยาดีไฮเดรชันได้เป็นอิมีน (imines หรือ Schiff base) และมีการเรียงตัวใหม่ซึ่งมีชื่อเรียกว่า การจัดเรียงตัวใหม่ของสาร เกิดเป็นแอลโดสเอมีน (aldoseamine) หรือ คีโตสเอมีน (ketoseamine) เรียกว่า ผลิตภัณฑ์อะมาโดริ

3) ผลิตภัณฑ์อะมาโดริจะเกิดปฏิกิริยาอีนอลไลเซชัน ของเกิดเป็นสารประกอบคีโตสเอมีน หรือไดอะมิโนซูการ์ เช่น 3-ดีออกซีเฮกโซซูโลส

4) สารประกอบคีโตสเอมีน หรือไดอะมิโนซูการ์เกิดปฏิกิริยาดีไฮเดรชันต่อได้เป็นอนุพันธ์ของฟิวแรน (furan) กรณีที่เป็นน้ำตาลเฮกโซส อนุพันธ์ฟูแรนที่เกิด คือ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์

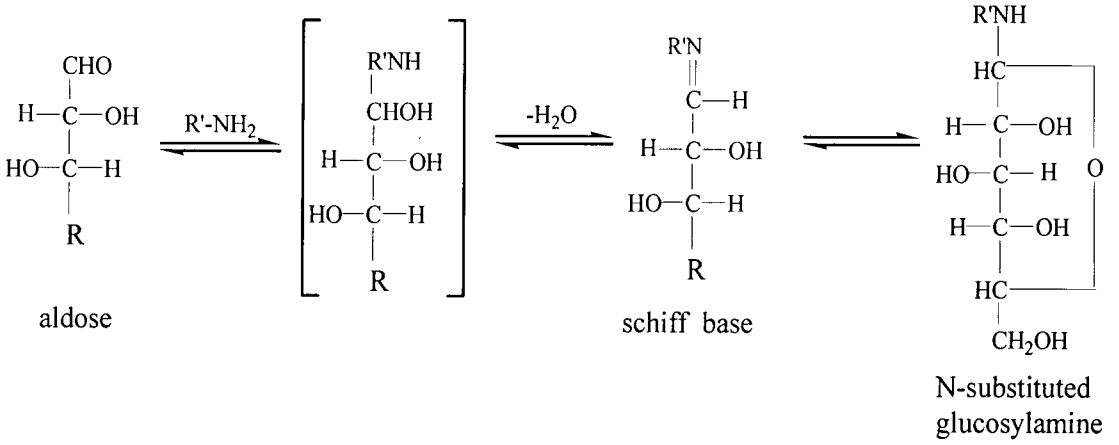
5) อนุพันธ์วงแหวนฟิวแรน เช่น 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ จะเกิดพอลิเมอร์ไรซ์อย่างรวดเร็วได้เป็นสารสีน้ำตาลที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วยและไม่ละลายน้ำ ซึ่งต่างจากการเกิดคาราเมไลเซชันซึ่งมีน้ำตาลเพียงอย่างเดียว สารสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นเรียกว่าเมลานอยดินส์ ดังนั้นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด จึงมีทั้งพอลิเมอร์ที่ละลายและไม่ละลายในน้ำ และพบได้ในอาหารที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ กรดอะมิโน โปรตีน หรือสารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ อยู่รวมกัน จากที่กล่าวข้างต้นอาจแสดงขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด ดังภาพประกอบ 1



ภาพประกอบ 1 ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด

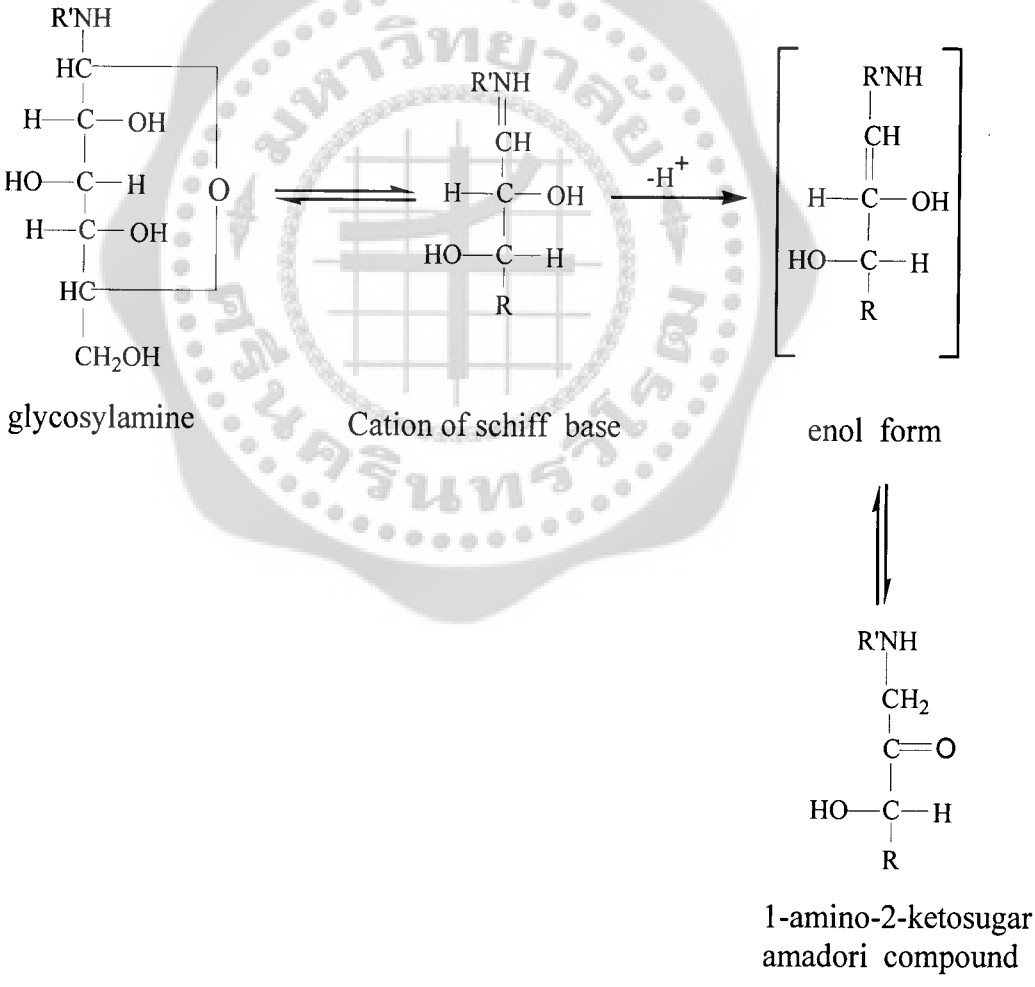
ที่มา : Bemiller; Whistler. (1996).

สามารถสรุปขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดได้ตาม ภาพประกอบ 2 - 3 ในขั้นตอนสุดท้ายสารประกอบอะมาโดริ เกิดการเปลี่ยนแปลงได้หลายแบบซึ่งให้ผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้แก่ ฟูโรซีน (furosine) ไฮดรอกซีเมทิลเทอร์ฟิวราล ไพริโดซีน (pyridosine) คาร์บอกซีเมทิลไลซีน (carboxymethyllysine) และเพนโทซิดีน (pentosidine) เป็นต้น ดังภาพประกอบ 4



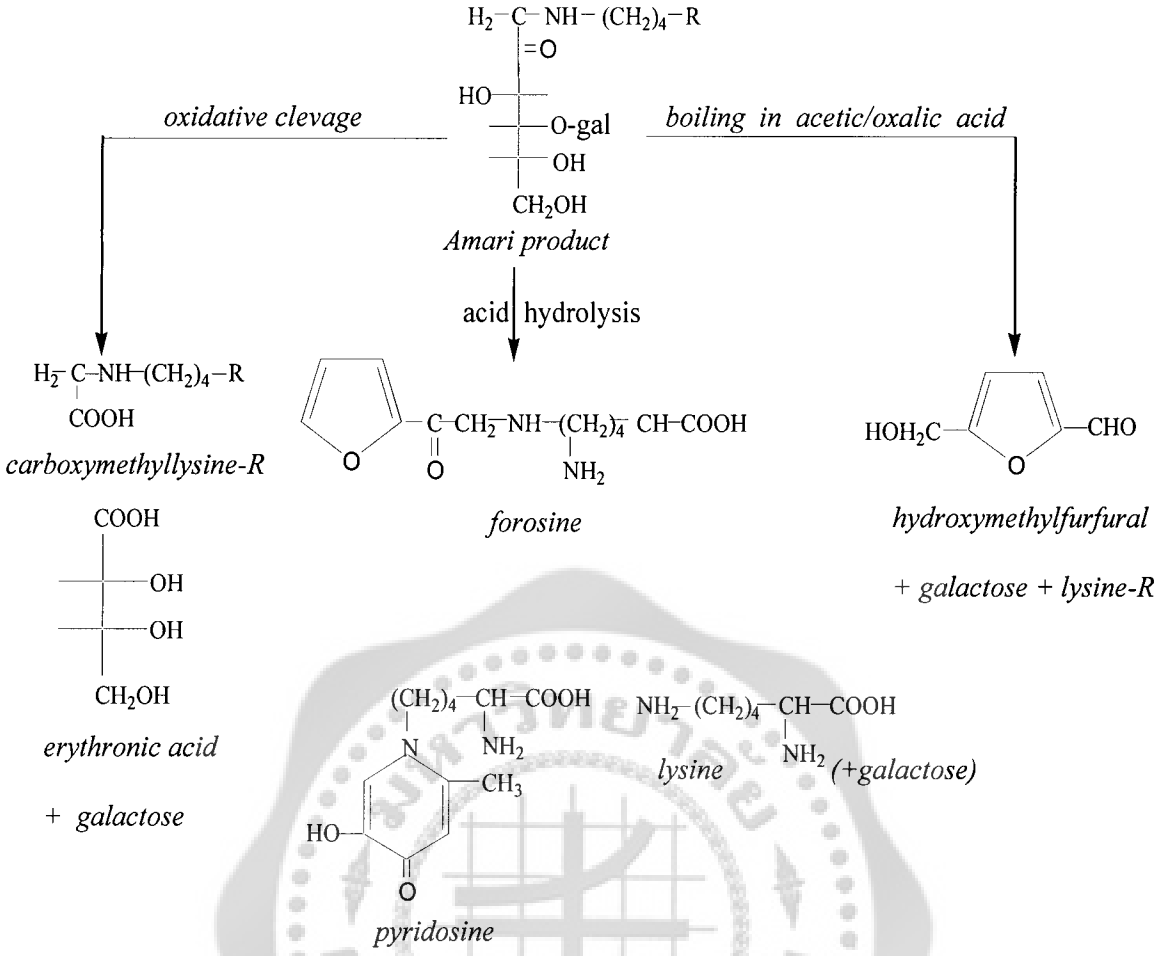
ภาพประกอบ 2 ขั้นตอนแรกในการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด

ที่มา : Walstra; Jenness. (1997).



ภาพประกอบ 3 การเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดขั้นกลาง

ที่มา : Walstra; Jenness. (1997).

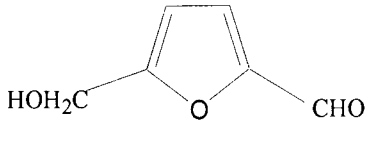


ภาพประกอบ 4 สารผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดขั้นกลาง

ที่มา : Boekel. (1998).

ปฏิกิริยาเมลลาร์ดอาจเกิดขึ้นได้ในระหว่างขั้นตอนการผลิต และเก็บรักษา ดังนั้นจากกลไกการเกิดปฏิกิริยานี้ ทำให้ได้สารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ หรือ HMF นับว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่ม

HMF เป็นสารที่ไวต่อแสง สูตรโมเลกุล $C_6H_6O_3$ มวลโมเลกุล 126.11 จุดหลอมเหลว 28-34 องศาเซลเซียส จุดเดือด 88-91 องศาเซลเซียส มีสูตรโครงสร้างดัง ภาพประกอบ 5 (Belitz; Grosch. 2000)



ภาพประกอบ 5 สูตรโครงสร้าง 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์

ที่มา : Berlitz; Grosch. (2000).

2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยา

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดมีหลายปัจจัย ได้แก่ ชนิดของกรดอะมิโน ชนิดของน้ำตาล ค่าความเป็นกรด-เบส อุณหภูมิ ความชื้น ออกซิเจน โลหะ ฟอสเฟต และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ดังนี้

1) ชนิดของกรดอะมิโน กรดอะมิโนที่แตกต่างกันก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่อัตราต่างกัน เนื่องจากความแตกต่างของโครงสร้างและหมู่อะมิโนอิสระของกรดอะมิโน กรดอะมิโนที่มีความสำคัญในการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด คือ ไกลซีน เพราะมีขนาดเล็กและเป็นกรดอะมิโนชนิดแอลฟา สำหรับกรดอะมิโนชนิดโอเมก้าจะเกิดปฏิกิริยาเร็วขึ้นเมื่อความยาวของสายโมเลกุลเพิ่มขึ้น เช่น ออร์นิทิน หมู่อะมิโนในโมเลกุลของไลซีนเกิดปฏิกิริยาเร็วที่สุด เนื่องจากมีหมู่อะมิโนที่พร้อมจะเกิดปฏิกิริยา 2 หมู่ (Labuza; Baisier. 1992)

2) ชนิดของน้ำตาล น้ำตาลที่เกิดปฏิกิริยาได้คือน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลต่างชนิดกันจะให้อัตราของปฏิกิริยาที่แตกต่างกันตามลำดับดังนี้ อัลโดเพนโทส > อัลโดเฮกโซส > คีโตเฮกโซส > ไดแซคคาไรด์ (Naranjo *et al.* 1998)

3) pH มีความสำคัญมากในการเกิดปฏิกิริยา pH ที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับ pK_a ของโปรตีน ที่ pH สูงกว่า pK_a กรดอะมิโนเกิดปฏิกิริยากับน้ำตาลรีดิวซ์ได้มาก อาหารส่วนมากมี pH ประมาณ 6 หรือต่ำกว่า จึงสามารถเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดได้น้อย และที่ค่า pH ต่ำน้ำตาลจะมีความคงรูปมากที่สุดในรูปวงไพราโนส เฮมิอะซีตัล (pyranose hemiacetal ring) เมื่อ pH สูงขึ้นน้ำตาลจะเปลี่ยนเป็นรูปอะไซคลิก แอลดีไฮด์ ที่มีความว่องไว(reactive acyclic aldehyde) ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาการรวมตัวระหว่างน้ำตาลและเอมีนได้อย่างรวดเร็ว การที่ค่า pH ต่ำทำให้การเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดช้าลง (นิธิยา รัตนาปนนท์. 2549) แต่มีปัจจัยอื่นที่ก่อให้เกิดสีน้ำตาลในอาหาร เช่น ความเข้มข้นของหมู่อะมิโน และอื่นๆ ที่ก่อให้เกิดการแตกตัวของกรดอะมิโน

4) อัตราส่วนของน้ำตาลต่อกรดอะมิโน เมื่อเพิ่มสัดส่วนของกรดอะมิโน อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้น และที่อัตราส่วนเดียวกัน เมื่อความเข้มข้นมากขึ้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้น

5) อุณหภูมิ อุณหภูมิที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ดีขึ้นอยู่กับลักษณะของอาหาร อาหารที่มีลักษณะแห้งหรือมีน้ำในอาหารน้อยเกิดปฏิกิริยาที่ต่ำกว่าอาหารที่มีน้ำในอาหารสูง และที่อุณหภูมิสูงจะเร่งปฏิกิริยาให้เกิดเร็วขึ้น (Labuza; Baisier. 1992)

6) น้ำ หรือ a_w เป็นอีกปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อปฏิกิริยาเมลลาร์ด เช่น ในสภาวะแห้งน้ำตาลกลูโคสกับกรดอะมิโนไกลซีนจะคงตัวและไม่เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดถึงแม้จะมีอุณหภูมิสูงถึง 50 องศาเซลเซียส ก็ตาม แต่เมื่อมีน้ำปริมาณน้อยปฏิกิริยาเมลลาร์ดก็จะเกิดขึ้นทันที ดังนั้นที่อุณหภูมิต่ำ การเกิดปฏิกิริยานี้จึงขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนรูปของน้ำตาลเป็นรูปอัลดีไฮด์ ที่ไวต่อปฏิกิริยา แต่ที่อุณหภูมิสูงการสูญเสียน้ำออกจากโมเลกุลของน้ำตาลจะเป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด เพราะ

ทำให้มีน้ำเกิดขึ้น อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะช้าลงอีกครั้งเมื่อมีปริมาณน้ำมากจนทำให้ซับสเตรตเจือจางลง ซึ่งปริมาณน้ำสูงสุดสำหรับปฏิกิริยาสีน้ำตาล คือประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ (นิธิยา. 2545)

7) ออกซิเจนไม่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด นอกจากออกซิเจนจะช่วยออกซิไดส์สารอื่นให้เป็นรูปที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ดังนั้นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลนี้จึงเกิดขึ้นได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ส่วนแร่ธาตุที่มีผลต่อปฏิกิริยาเมลลาร์ด ได้แก่ ไอออนทองแดง เหล็ก และสังกะสี (นิธิยา. 2545)

2.3 ผลที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดในอาหาร

2.3.1 โภชนาการ

ในการผลิตอาหาร ที่ใช้ความร้อน มีผลให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดและทำให้ได้สารผลิตภัณฑ์หลายชนิด สารที่เกิดขึ้นมีผลต่อคุณค่าทางโภชนาการหรืออาจมีผลต่อสมบัติทางหน้าที่สารอาหาร เช่น โปรตีน ซึ่งอาจเป็นสิ่งที่ต้องการให้เกิดขึ้นในอาหารหรืออาจไม่ต้องการให้เกิดขึ้นได้ (Rizzi. 1994) อาจสรุปผลจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอาหารดังนี้

1) การเกิดสีน้ำตาล ปฏิกิริยาเมลลาร์ดก่อให้เกิดสีน้ำตาล ได้แก่ เมลานอยดินส์ และไปรบกวนสารให้สีอื่นๆ ทำให้สีของอาหารเปลี่ยนแปลงไป

2) การเปลี่ยนแปลงสารให้กลิ่นรส ระหว่างการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดมีการสร้างสารประกอบอะมาโดริที่ประกอบด้วยสารให้กลิ่นรสหลายชนิด

3) การสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ เมื่อเกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนและน้ำตาลรีดิวซ์ กรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิดถูกเปลี่ยนไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งไลซีนและทริปโตเฟน นอกจากนี้มีการสูญเสียวิตามินซี หรือกรดแอสคอร์บิคด้วย

แม้ว่าปฏิกิริยาเมลลาร์ดจะเป็นปฏิกิริยาที่ไม่ต้องการให้เกิดในผลิตภัณฑ์อาหารส่วนมาก แต่มีผลิตภัณฑ์หลายชนิดที่ต้องการให้เกิดปฏิกิริยาเพื่อให้อาหารมีสี กลิ่น และรสชาติดี เช่น ผลิตภัณฑ์ขนมอบ อาหารขบเคี้ยว ถั่ว เนื้ออบ และบาร์บีคิว

2.3.2 ความเป็นพิษ

นอกจากสารที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดแล้ว หากอาหารเป็นอาหารที่มีโปรตีนสูงและได้รับความร้อนสูงด้วย ผลิตภันฑ์เกิดขึ้นจะเป็นสารเฮเทอร์โรไซคลิกเอมีน (heterocyclic amine) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง (นิธิยา. 2545) และยังมีสารที่ก่อเกิดโทษต่อร่างกาย เช่น อิมิดาโซควิโนลีน (imidazoquiolines , IQs) ซึ่งเป็นสารพิษและก่อมะเร็ง (Rizzi. 1994)

2.4 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับปฏิกิริยาเมลลาร์ดและสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์

รุ้งดาว เมืองมา. (2543). ทำการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดในซีอิ๊วของไทย ในการศึกษาถึงกลไกของเมลลาร์ดในซีอิ๊วไทยระหว่างการผลิตและเก็บรักษานั้นได้ศึกษาถึง การเปลี่ยนแปลงของสีน้ำตาล น้ำตาลรีดิวซ์ หมู่อะมิโน โปรตีน สารประกอบอะมาโดริ และ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ จากการทดลองพบว่าปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลนั้นเริ่มต้นตั้งแต่กระบวนการหมักโมโรมิ ซึ่งการเกิดขั้นนี้เป็นกลไกสองขั้นที่ต่อเนื่องกัน ขั้นแรกเกิดขึ้นในช่วง 3 วันแรกของการหมัก โดยสีน้ำตาล น้ำตาลรีดิวซ์ หมู่อะมิโนและสารประกอบอะมาโดริเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่ค่าพีเอชลดลง ส่วนขั้นที่สองมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นอย่างช้าๆ โดยการเพิ่มขึ้นของ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ตลอดระยะเวลาของการหมัก เป็นตัวบ่งชี้ถึงการเกิดขึ้นของปฏิกิริยาเมลลาร์ด หลังจากการหมักโมโรมิแล้วนำซีอิ๊วดิบ ซีอิ๊วพาสเจอร์ไรซ์ (ไม่ปรุงรส) และซีอิ๊ว (ผ่านการปรุงรสและพาสเจอร์ไรซ์) มาศึกษาถึงการดำเนินไปของปฏิกิริยาในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน ปฏิกิริยาเมลลาร์ดในซีอิ๊วดิบเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องมาจากขั้นการหมักโมโรมิในลักษณะเดียวกัน แต่ในซีอิ๊วที่ผ่านการปรุงรสและพาสเจอร์ไรซ์นั้น 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ และโปรตีนที่ตกตะกอนด้วย 5% TCA เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในซีอิ๊วตลอดการเก็บรักษา แสดงให้เห็นว่าการปรุงรสและการให้ความร้อนกับซีอิ๊วนั้นเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเมลลาร์ด

สิทธิวัฒน์ เลิศศิริ. (2544). ทำการศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในกระบวนการผลิตซีอิ๊วและเต้าเจี้ยวของไทย พบว่าการเกิดสีน้ำตาลในการหมักโมโรมิเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 3 วันแรก ความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดสีน้ำตาลและเวลาในการหมักจะเป็นไปตามรูปแบบของสมการถดถอยแบบยกกำลัง ในขณะที่ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงการดำเนินไปของปฏิกิริยาเมลลาร์ด การดำเนินไปของปฏิกิริยานี้เพิ่มขึ้นแบบเชิงเส้น นอกจากนั้นการเกิดสีน้ำตาลของซีอิ๊วยังพบการเกิดสีน้ำตาลแบบใช้เอนไซม์ ซึ่งผู้วิจัยตรวจพบเอนไซม์ พารา-ไดฟีนอลออกซิเดส *(para*-diphenol oxidase, DPO) ในโมโรมิโดยมีต้นกำเนิดมาจากเชื้อรา *Aspergillus* ที่ใช้ทำโคจิ ส่วนการเกิดสีน้ำตาลในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ซีอิ๊วและเต้าเจี้ยวนั้นเป็นไปในลักษณะความสัมพันธ์เชิงเส้นกับเวลาการเก็บรักษาและปริมาณ 5-ไฮดรอกเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ในรูปแบบของปฏิกิริยาอันดับศูนย์เทียม (Pseudo-zeroth order reaction) เพราะไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงของสารตั้งต้นของปฏิกิริยาอย่างเด่นชัด

พรพิมล ม่วงไทย; ยงยุทธ ตันฑุลเวส และวราดุล ฉัตรทอง. (2547). ทำการศึกษาและวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในน้ำหมักชีวภาพโดยทำการศึกษากับน้ำหมักลูกยอ และมะเกี๋ยงหมัก พบว่าน้ำมะเกี๋ยงหมักมีโอกาสตรวจพบสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ มากกว่าน้ำหมักลูกยอ และเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิแตกต่างคือ

ที่อุณหภูมิห้องและที่เย็น 4 องศาเซลเซียส มากกว่า 30 วัน พบว่าพบสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ทั้งสองสภาวะ ซึ่งผลการตรวจสอบประสิทธิภาพการทดลองครั้งนี้มีค่าร้อยละการกลับคืนสูง ประมาณ 98% และวิธีการใช้ในการตรวจสอบนี้สามารถหาสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ได้ต่ำสุดถึง 0.0299 ppm

พรพิมล ม่วงไทย และคณะ. (2547). ได้ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดต้นแบบที่เกิดขึ้นในน้ำตาลมาตรฐานกลูโคส แลคโทส ซูโครส กับ กรดอะมิโนมาตรฐาน ไลซีน ซิสเตอีน ที่นำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ เพื่อศึกษาความไวในการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด โดยวิเคราะห์หาปริมาณ สารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงพบว่า กรดอะมิโนซิสเตอีนมีความไวในการทำปฏิกิริยากับน้ำตาลทั้ง 3 ชนิด มากกว่ากรดอะมิโนไลซีน ที่สภาวะเดียวกัน

สมวิภา พวงมณี. (2547). ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและโครงสร้างของโปรตีนแอลฟาแลคตัลบูมินด้วยปฏิกิริยาเมลลาร์ด ผลการศึกษาปฏิกิริยาเมลลาร์ดระหว่างโปรตีนแอลฟาแลคตัลบูมินกับน้ำตาล 2 ชนิด ได้แก่ กลูโคส และฟรุกโตส พบว่าอัตราส่วนของโปรตีนและน้ำตาลฟรุกโตส ที่ 1:20 และ 1:40 โมล เกิดไดเมอร์ และ ไตรเมอร์ ของโปรตีนมากกว่าที่อัตราส่วน 1:10 เมื่อได้รับความร้อนเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับ 12 ถึง 24 ชั่วโมงการเกิดไดเมอร์ และไตรเมอร์มากขึ้น แต่หลังจาก 24 ชั่วโมง ปฏิกิริยามีแนวโน้มค่อนข้างคงที่

สุนิธานี บุญเชียงมา และคณะ. (2550). งานวิจัยนี้ได้ศึกษา 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ในน้ำผึ้งด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อ การเกิด 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ซึ่งเป็นสารมัธยันต์ของปฏิกิริยาเมลลาร์ดของน้ำผึ้ง ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ แสงสว่าง เวลา และอุณหภูมิ นอกจากนี้ได้ศึกษาปริมาณของน้ำตาล และ กรดอะมิโน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาเมลลาร์ด การวิเคราะห์น้ำตาลใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูงชนิดแลกเปลี่ยนไอออน และตรวจวัดด้วยเครื่องอินทิเกรตพัลส์แอมเพอโรเมตรีและวิเคราะห์กรดอะมิโนหลังจากการทำอนุพันธ์ด้วย 9-ฟลูออรีนิลเมทิล คลอโรฟอร์เมท (FMOC-Cl) โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่าสีและปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ของตัวอย่างน้ำผึ้งเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บไว้นานและเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่เก็บ ในขณะที่น้ำตาลรีดิวซ์ (กลูโคส และฟรุกโตส) และกรดอะมิโนมีปริมาณลดลง

Filippo Lo Coco; และคณะ. (1996). ทำการวิเคราะห์ปริมาณของ 2-ฟูแรลดีไฮด์ และ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในน้ำผึ้ง โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยอาศัยการเกิด 2,4-ไดไนโตรฟีนิลไฮดราซีนของสารประกอบคาร์บอนิล สารอนุพันธ์ที่ได้จากการใช้สารละลายกรด 2,4-ไดไนโตรฟีนิลไฮดราซีน ในอะซีโตรไนทริล อนุพันธ์ที่ได้จะทำการแยกต่อโดยใช้รีเวอร์สเฟส จากการศึกษาพบว่าวิธีที่ใช้มีความแม่นยำสูง ร้อยละการกลับคืน 95 – 99 % ความสามารถต่ำสุดที่ทำการวิเคราะห์ได้คือ 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และความสามารถในการทำซ้ำ (n=6) พบ 2-ฟูแรลดีไฮด์ เป็น ± 3 % และ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์เป็น ± 2 %

E. Ferrer และคณะ. (2002). ทำการศึกษาปริมาณสารเฟอร์ฟูแรลในสูตรนมของทารกโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง สารประกอบเฟอร์ฟูแรลจะเกิดการเปลี่ยนแปลงไประหว่างการให้ความร้อนและการเก็บรักษา (1 ปี เก็บที่ 27 และ 30 องศาเซลเซียส) จากการศึกษาตรวจไม่พบสาร 2-ฟูแรลเมทิลคีโตน และ 5-เมทิล-2-ฟูแรลดีไฮด์ ในตัวอย่าง แต่ตรวจพบสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ 2-ฟูแรลดีไฮด์ และ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ รวมกับ 2-ฟูแรลดีไฮด์ ในตัวอย่างปริมาณมาก และพบในปริมาณที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษาจะมีผลต่อปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ และระยะเวลาในการเก็บรักษาจะมีผลต่อปริมาณของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์รวม และ 2-ฟูแรลดีไฮด์ ด้วย

Burdurla; Karadeniz. (2003). ได้ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดในน้ำแอปเปิ้ล โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 20 37 50 และ 65 องศาเซลเซียส วิเคราะห์หาปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ และศึกษาอัตราการเกิดปฏิกิริยา พบว่าอับดับการเกิดปฏิกิริยาเป็นศูนย์ (zero order) ซึ่งมีค่าพลังงานกระตุ้น 21.0-33.7 กิโลแคลอรี่ต่อโมล

M. Zappala'; และคณะ. (2006). ทำการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์สารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในน้ำผึ้ง โดยใช้วิธีทาง Internation Honey Commission. (1999) โดยใช้ 3 วิธี คือ การวิเคราะห์โดยวิธีไวท์สเปกโทรโฟโทเมทรี และวิธีวิงเลอร์สเปกโทรโฟโทเมทรี และโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง จากการศึกษาพบว่าปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ที่พบในน้ำผึ้งจากดอกไม้โดยใช้วิธีวิเคราะห์โดยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และโดยวิธีไวท์สเปกโทรโฟโทเมทรี จะตรวจพบปริมาณสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ใกล้เคียงกัน ยกเว้นน้ำผึ้งที่ได้จากยูคาลิปตัสจะตรวจพบสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ด้วยวิธีวิงเลอร์สเปกโทรโฟโทเมทรี สูงกว่าอีกสองวิธี

Angela Alca'zar; และคณะ. (2006). ศึกษาปริมาณสาร 2-ฟูแรลดีไฮด์ และ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์ โดยใช้วิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้คอลัมน์ C-18 เฟสเคลื่อนที่เป็นอะซีโตรไนทริลและน้ำ การชะเป็นแบบไอโซเครติก และตรวจวัดที่ 280 นาโนเมตร พบว่าวิธีที่ใช้ให้ความจำเพาะสูง ปริมาณต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้คือ 0.005 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ร้อยละการกลับคืน 94 – 103 % ความแม่นยำในการวิเคราะห์ในช่วง 2 เดือน ของ 2-ฟูแรลดีไฮด์ เป็น ± 0.4% และ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เป็น ± 0.8%

การเกิดสีน้ำตาลมีความสำคัญต่อการยอมรับของผู้บริโภคโดยมีปัจจัยซึ่งมีผลต่อการเกิดสี คือ การหมักและการฆ่าเชื้อน้ำซีอิ๊วด้วยวิธีพาสเจอร์ไรซ์ การเกิดสีน้ำตาลนี้จะทำให้คุณภาพของน้ำซีอิ๊วด้อยลงทั้งสี กลิ่น และรสชาติ ซึ่งในงานวิจัยนี้จะขอกล่าวถึง สิ่งสำคัญที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ซีอิ๊ว ดังต่อไปนี้

3. ซีอิ๊ว (Soy souce)

ซีอิ๊ว (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2521) กำหนดไว้ใน มอก. 252-2521 หมายถึง ผลิตภัณฑ์ของเหลวที่ได้จากการย่อยโปรตีนของถั่วเหลืองด้วยการหมักจะนำมาแต่งรสและแต่งสี หรือไม่ก็ได้ตามชนิดของผลิตภัณฑ์นั้นๆ แล้วนำไปผ่านการพาสเจอร์ไรส์ และตามมาตรฐานเดียวกันนี้ "น้ำซีอิ๊ว" หมายถึง น้ำซีอิ๊วที่ไม่ได้แต่งรสและสี

การผลิตน้ำซีอิ๊วของโรงงานอุตสาหกรรมในประเทศไทยทั่วๆไป ใช้วัตถุดิบหลักในการผลิต คือ ถั่วเหลืองทั้งเมล็ด แป้งข้าวสาลี หรือแป้งข้าวเจ้า เกลือและน้ำ ส่วนอุปกรณ์ที่ใช้จะมีโอ่งหม้อนึ่งความดัน กระด้งไม้ไผ่ ผ้ากรอง และอุปกรณ์อื่นๆ (พันธ์ณรงค์ จันทร์แสงศรี. 2539) ซึ่งจะขอกล่าวถึงส่วนวัตถุดิบที่สำคัญดังต่อไปนี้

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ถั่วเหลือง

3.1.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ถั่วเหลืองมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine Max (L) Merrill* ซึ่งเป็นพืชที่อยู่ในตระกูลของ *Leguminosae, subfamily papilionoideae* ซึ่งเป็นพืชตระกูลถั่วเป็นที่รู้จักกันดีอยู่แล้ว โดยเฉพาะเป็นพืชดั้งเดิมของคนในแถบเอเชีย เช่น จีน เกาหลี ญี่ปุ่น ตลอดจนคนไทยเรา โดยที่ได้มีการปลูกและนำมาใช้บริโภคเป็นอาหารพื้นเมืองนานาชนิด ถั่วเหลืองของไทยที่มีปลูกกันในแถบจังหวัดในภาคต่างๆ ลักษณะของถั่วเหลืองนั้นมีขนาดน้ำหนักเมล็ดในราว 0.10 - 0.20 กรัม สีของเปลือกมีอยู่ด้วยกันหลายสี เช่น สีเหลือง ใช้ในอุตสาหกรรมทำอาหารคนโดยทั่วไป สีดำใช้ในอุตสาหกรรมโรงงานสกัดน้ำมันพืช สีเขียวและสีน้ำตาล ซึ่งไม่นิยมนำมาใช้กันมากนัก จมูกของถั่วเหลือง เปลือกถั่วเหลืองมักมีสีน้ำตาล บางพันธุ์มีจมูกเป็นสีขาว ใบเลี้ยง (Cotyledenus) ซึ่งมีสองใบอยู่ภายใต้เปลือกมักมีสีเหลืองและสีเขียว ถั่วเหลืองที่ปลูกจะมีอายุเก็บเกี่ยวได้ในช่วง 90-100 วัน ซึ่งแล้วแต่พันธุ์และสภาพแวดล้อมที่ปลูก (วันชัย สมชิต. 2527)

3.1.1.1 ส่วนประกอบทางเคมี

เมล็ดถั่วเหลืองเป็นแหล่งของโปรตีน และไขมัน จากพืชที่มากที่สุดแหล่งหนึ่ง ปริมาณโดยประมาณของอาหารดังแสดงในตาราง 1

ตาราง 1 แสดงปริมาณสารอาหารในถั่วเหลือง 100 กรัม

สารอาหาร	ปริมาณ	หน่วย
โปรตีน	34-40	กรัม
ไขมัน	18.7	กรัม
คาร์โบไฮเดรต	26.7	กรัม
เหล็ก	10.0	มิลลิกรัม
แคลเซียม	245	มิลลิกรัม

ตาราง 1 (ต่อ)

สารอาหาร	ปริมาณ	หน่วย
ฟอสฟอรัส	500	มิลลิกรัม
วิตามินเอ	1751	หน่วย
วิตามินบี 1	0.73	มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	0.31	มิลลิกรัม
วิตามินบี 6	0.26	มิลลิกรัม
วิตามินบี 12	1.50	ไมโครกรัม
ไนอาซิน	1.50	ไมโครกรัม
วิตามินดี	176	ไมโครกรัม
วิตามินอี	10	หน่วย
เลซิทิน	2.11	มิลลิกรัม

ที่มา : กองโภชนาการ กรมอนามัย พ.ศ. 2535 อ้างถึงใน สุมาลี ทองแก้ว. 2541.

ตามปกติถั่วเหลืองมีคุณค่าทางโภชนาการไม่น้อยไปกว่าเนื้อสัตว์ แต่สารบางชนิดในถั่วเหลืองอาจทำให้ผู้บริโภคไม่ประทับใจที่จะบริโภคอาหารแปรรูปจากถั่วเหลือง สารอื่นๆ ที่พบในถั่วเหลือง ได้แก่

สารไลพอกซี่จิเนส (lipoxygenase) เป็นเอนไซม์ที่พบในถั่วเหลือง และทำให้ถั่วเหลืองมีกลิ่นหืน เนื่องจากเอนไซม์ชนิดนี้มีน้ำอยู่ด้วย และมันจะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัว ทำให้เกิดสารประกอบที่ระเหยง่ายพวก แอลดีไฮด์ และ คีโตน ปัญหานี้จะเกิดในกรณีที่ต้องแช่ถั่วในน้ำ เพื่อทำให้ถั่วนุ่มก่อนการหุงต้ม หรือแม้เมื่อถั่วสุกแล้ว กลิ่นเฉพาะตามธรรมชาตินี้ก็ยังคงอยู่

สารฮีแมกกลูตินิน (hemagglutinins) เป็นสารที่ทำให้เม็ดเลือดแดงจับกันเป็นลิ่มเป็นก้อน และเป็นตัวลดการดูดซึมสารอาหารในลำไส้ เพราะสารฮีแมกกลูตินินนี้ จะถูกทำลายโดยเอนไซม์เปปซินในกระเพาะอาหารและโดยความร้อน ดังนั้นจึงไม่มีปัญหาสำหรับผู้ที่กินถั่วสุก หากเป็นถั่วดิบและกินในปริมาณมาก จะเป็นอันตรายต่อร่างกาย

สารประกอบพวกฟีนอล (phenol) ที่สำคัญคือ แทนนิน เป็นสารที่มีสีน้ำตาล ทำให้ถั่วมีสีคล้ำ และมีผลต่อการย่อยของโปรตีนมาก เนื่องจากมันทำปฏิกิริยากับโปรตีน แล้วเกิดเป็นสารประกอบที่ย่อยยาก สารนี้มีรสขมและฝาด จึงทำให้ถั่วมีกลิ่นและรสเฉพาะตัวที่หลายๆ คนอาจไม่ชอบ สารชนิดนี้ทนต่อความร้อนสูง ไม่ละลายในน้ำและน้ำมัน ถั่วแดงหลวงมีสารชนิดนี้น้อย จึงย่อยได้ง่ายกว่าถั่วเหลือง ถั่วแดง และถั่วดำ

สารยับยั้งทริปซินในลำไส้เล็ก (trypsin inhibitor) ทริปซินเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทมากในการย่อยโปรตีน เนื่องจากเป็นน้ำย่อยตัวแรกในลำไส้เล็ก ที่ทำหน้าที่ย่อยโปรตีน และทำให้น้ำย่อยตัวอื่นสามารถทำงานได้อย่างต่อเนื่อง แต่ถั่วเหลืองจะมีสารที่ขัดขวางน้ำย่อยทริปซินมากกว่าถั่วอื่นๆ อย่างไรก็ตาม สารชนิดนี้จะถูกทำลายได้ง่ายโดยใช้ความร้อนเพราะฉะนั้นถ้ากินถั่วเหลืองสุกก็จะไม่เกิดปัญหาใดๆ ยกเว้นถ้ากินถั่วเหลืองดิบในปริมาณมาก จะทำให้โปรตีนไม่ถูกย่อย ผลที่ตามมาคือ อาการท้องอืดหรือท้องเดิน และถึงแม้จะเป็นโปรตีนจากเนื้อสัตว์หรือไข่ ถ้าหากกินแบบสุกๆ ดิบๆ ก็จะเกิดปัญหาโปรตีนไม่ถูกย่อยเช่นเดียวกัน

3.1.2 ถั่วมะแฮะ

3.1.2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ถั่วมะแฮะ เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cajanus canja (L) Millsp.* ชื่อสามัญ Pigeon Pea อยู่ในวงศ์ Leguminosae มีชื่ออื่นๆ ว่า Kadios ถั่วมะแฮะ นิเวศวิทยาแหล่งกำเนิดมีอยู่เองในธรรมชาติ แต่พบว่าปลูกมากในประเทศอินเดียและขยายพื้นที่ปลูก ไปยังทวีปอัฟริกาตะวันออกและแถบแคริบเบียนสามารถเจริญเติบโตข้ามปี 2 - 3 ปี สูง 1 - 5 เมตร รูปทรงผันแปรตามลักษณะของพันธุ์มีรากแก้วหยั่งลึกในดิน ลักษณะใบเป็นใบรวมมีใบย่อย 3 ใบ รูปยาวรีคล้ายหอกปลายแหลมขอบใบเรียบ มีขน ด้านบนสีเขียวเข้ม ส่วนด้านล่างของใบเป็นสีเงินดอกสีเหลืองหรือสีแดง ออกเป็นช่อขนาดแตกต่างกันตามพันธุ์ยาวตั้งแต่ 3 - 10 เซนติเมตร ขนาดดอกยาว 2.8 - 2.9 เซนติเมตร ฝักมีลักษณะแบน เมื่อฝักอ่อนมีสีเขียวลายแดงเมื่อแก่จะเป็นสีน้ำตาลดำ ยาว 5.5 - 10 เซนติเมตร กว้าง 0.6 - 0.9 เซนติเมตร ภายในมีเมล็ดกลมหรือรูปไข่มีหลายสีจำนวน 3 -5 เมล็ด (เต็ม สมิตินันทน์. 2523)

3.1.2.1 ส่วนประกอบทางเคมี

ถั่วมะแฮะมีส่วนประกอบที่สำคัญ ตามตาราง 2

ตาราง 2 แสดงปริมาณสารอาหารในถั่วมะแฮะ 100 กรัม

สารอาหาร	ปริมาณ	หน่วย
โปรตีน	19.4	กรัม
ไขมัน	5.6	กรัม
คาร์โบไฮเดรต	60.9	กรัม
เหล็ก	2.2	มิลลิกรัม
แคลเซียม	114	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	384	มิลลิกรัม
วิตามินบี 1	0.46	มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	0.20	มิลลิกรัม

ตาราง 2 (ต่อ)

สารอาหาร	ปริมาณ	หน่วย
ไนอาซิน	1.2	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	387	มิลลิกรัม
เหล็ก	2.2	มิลลิกรัม
ไฟเบอร์	2.5	กรัม

ที่มา : สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2542.

3.1.2.1 การใช้ประโยชน์

ใบของถั่วมะแฮะจึงนำมาใช้เป็นปุ๋ยบำรุงดินได้เป็นอย่างดี จึงนิยมปลูกเป็นพืชแซม เช่น แซมกับ ธัญพืช แซมกับถั่วลิสง ใช้เป็นพืชร่มเงากับพืชยืนต้นในช่วงแรก ๆ 2 - 3 ปี เช่น ไม้ผล ชา กาแฟ โกโก้ ในภาคเหนือใช้ถั่วมะแฮะปลูกร่วมกับกระถินในอัตราเมล็ด 1 : 1 แล้วนำไปโรยเป็นแถวขวางความลาดเท ระยะห่างของแถวตามค่าต่างระดับในแนวดิ่ง 1 - 3 เพื่อป้องกันการชะล้างพังทลายของดิน ซึ่งถั่วมะแฮะจะโตได้เร็วกว่ากระถินในระยะ 1 - 2 ปีแรก หลังจากนั้นถั่วมะแฮะจะตายคงเหลือแต่แนวกระถินเป็นแนวถาวรต่อไป ถั่วมะแฮะสามารถใช้เป็นพืชอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มโปรตีนในอาหารสัตว์ ลำต้นใช้เป็นฟืนเป็นแหล่งเชื้อเพลิงได้

3.1.3 จุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหมักทั้งหมดมี 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus oryzae* แลคติกแอซิด แบคทีเรีย (*Lactobacillus delbrueckii* หรือ *Pediococcus soyaell*) และยีสต์ (*Saccharomyces rouxii*) จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีหน้าที่ดังต่อไปนี้ เชื้อรา จะทำมีหน้าที่ผลิตน้ำย่อย 3 ชนิด ได้แก่ อะไมเลส โปรทีเอส และไลเปส ออกมาย่อยสลายแป้งและน้ำตาล โปรตีน ไขมัน ทำให้ได้สารโมเลกุลเล็กลงหลายชนิด เช่น กรดอะมิโน กรดไขมัน เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้ทำให้เกิดกลิ่นรสเฉพาะตัวของซีอิ๊วและเป็นแหล่งอาหารสำหรับเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ในกระบวนการหมักขั้นต่อไป ซึ่งเกิดขึ้นในน้ำเกลือ แลคติกแอซิด แบคทีเรีย จะทำหน้าที่ผลิตกรดแลคติก และกลิ่นกรดแลคติกที่ผลิตออกมาจะทำให้ค่า pH ของน้ำหมักซีอิ๊วลดลง ช่วยปรับสภาพให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของยีสต์ และยีสต์ จะทำหน้าที่ผลิต แอลกอฮอล์ และสารให้กลิ่น รสที่ดีของซีอิ๊ว
(นภา โล่ห์ทอง. 2534)

3.1.4 แป้งสาลี

การผลิตของไทยจะนิยมใช้แป้งสาลีหรือแป้งสาลีผสมกับแป้งข้าวเจ้า แต่ของต่างประเทศจะใช้แป้งสาลีบด ซึ่งแป้งที่ใช้ในกระบวนการผลิตมีใช้สำหรับเป็นแหล่งอาหารให้จุลินทรีย์โดยเฉพาะเชื้อราซึ่งจะถูกหมักต่อไปจนได้น้ำตาลแอลกอฮอล์ และกรดอินทรีย์ หลายชนิดโดยเฉพาะกรดกลูตามิก นอกจากนั้นยังช่วยลดความชื้นของถั่วเหลืองให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อรา และในขณะเดียวกันยังช่วยทำให้แบคทีเรียที่ไม่ต้องการให้เจริญเติบโตลดจำนวนลง และยังเพิ่มความสมบูรณ์ของสารอาหารที่จุลินทรีย์ต้องการใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างน้ำย่อยสลายโปรตีนในถั่ว จากเอนไซม์ที่ได้จากโคจิให้เป็นไปอย่างรวดเร็ว (วราวุฒิ ครูส่ง; รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2532)

3.1.5 เกลือ

เกลือ ถือว่าเป็นส่วนประกอบที่สำคัญ สามารถป้องกันการสุกเกินไปของวัตถุดิบ ป้องกันการเกิดการเสื่อมเสีย และให้รสเค็ม จะใช้ได้ทั้งเกลือทะเลและเกลือสินเธาว์ โดยทั่วไปนิยมใช้เกลือทะเล หน้าที่ของเกลือเป็นสารให้ความเค็ม และป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการปะปนในกระบวนการหมัก ซึ่งเกลือมีหน้าที่เสมือนกับสารยับยั้งและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ในขั้นการหมัก น้ำเกลือ (Yong; Wood. 1974) องค์ประกอบที่สำคัญของเกลือคือ โซเดียมคลอไรด์ บริสุทธิ์จะอยู่ในรูปผลึกหกเหลี่ยม ไม่มีสี ใส เกลือบริสุทธิ์ ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีความถ่วงจำเพาะ 2.161 แต่เกลือที่ใช้ในการทำซีอิ๊วควรมีความถ่วงจำเพาะ 2.1 – 2.3 จุดเดือด 800 – 803 องศาเซลเซียส การละลายของเกลือขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในน้ำ 100 มิลลิลิตร เกลือจะละลายได้ในระดับต่างๆกัน ขณะที่อุณหภูมิเปลี่ยนแปลง (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. 2534) ในกระบวนการหมักซีอิ๊วโดยทั่วไปจะใช้เกลือที่มีความเข้มข้น 20 – 22 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในงานวิจัยได้ศึกษารายงานการวิจัยผลของปริมาณเกลือที่มีต่อการหมักซีอิ๊วจากถั่วมะแฮะและถั่วเหลืองในปริมาณเกลือร้อยละ 20 ของ ภคธีรา อุปจักร (2550) พบว่าซีอิ๊วที่ได้มีความเค็มมาก รสชาติไม่ชวนให้นำมารับประทาน และการบริโภคอาหารหรือเครื่องปรุงรสที่มีความเค็มมากก็ยังส่งผลเสียต่อร่างกาย ดั้งนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาปริมาณความเข้มข้นของเกลือที่ใช้ในกระบวนการหมักซีอิ๊ว ส่งผลต่อการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ อย่างไร เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตซีอิ๊วที่มีรสชาติดีไม่เค็มมากเกินไป

3.1.6 น้ำ

น้ำมีหน้าที่ละลายเกลือให้อยู่ในรูปของสารละลาย ในซีอิ๊วมีน้ำเป็นส่วนประกอบถึงร้อยละ 60 – 70 ดังนั้นน้ำจึงมีผลต่อคุณภาพของซีอิ๊วมาก น้ำที่ใช้หมักซีอิ๊วจะใช้มาตรฐานเดียวกับน้ำดื่มทั่วๆ ไป แต่ถ้าน้ำมีส่วนประกอบของธาตุเหล็กมากเกินไปจะทำให้คุณภาพของซีอิ๊วทางด้าน รส กลิ่น และสีต่างไป ดั้งนั้นน้ำที่ใช้ควรมีธาตุเหล็กอยู่ต่ำๆ และไม่ควรมีสารอินทรีย์ แอมโมเนีย และสารแขวนลอยอื่นๆ (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. 2534)

ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาซีอิ๊วที่ได้จากกระบวนการหมักที่ใช้ถั่วต่างชนิดกัน คือถั่วมะแฮะและถั่วเหลือง เป็นวัตถุดิบในการหมัก และปริมาณความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ระดับความเข้มข้น

ต่างๆ ที่มีผลต่อการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในการเป็นดัชนีบอกการเกิดสารสีน้ำตาลในกระบวนการผลิตซีอิ๊วและการเก็บรักษา

3.2 กระบวนการหมัก

การผลิตซีอิ๊วของโรงงานอุตสาหกรรมในประเทศไทยทั่วๆไป ใช้วัตถุดิบหลักในการผลิต คือ ถั่วเหลืองทั้งเมล็ด แป้งข้าวสาลี หรือแป้งข้าวเจ้า เกลือและน้ำ ส่วนอุปกรณ์ที่ใช้จะมีโอ่ง หม้อนึ่งความดัน กระด้งไม้ไผ่ ผ้ากรอง และอุปกรณ์อื่นๆ (สถาบันวิจัยพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. 2527) ขั้นตอนการผลิตแบ่งออกเป็น 3 ช่วง (พันธ์ณรงค์ จันทร์แสงศรี. 2539:6-9) คือ

1. ช่วงเตรียมโคจิ
2. ช่วงการหมักโมโรมิ
3. ช่วงการกรองและบรรจุขวดเป็นผลิตภัณฑ์

ขั้นตอนการผลิตซีอิ๊ว

1. การเตรียมโคจิ

การเตรียมถั่วเหลือง นำถั่วเหลืองที่ทำความสะอาดแล้วแช่น้ำให้นิ่ม โดยอาจแช่น้ำค้างคืน หรือ 2-3 ชั่วโมง นำไปนึ่งหรือต้มให้สุก โดยใช้หม้อความดันเป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ตั้งไว้ให้สะเด็ดน้ำและปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปคลุกกับแป้งสาลีในอัตราส่วน 1 : 1 แป้งที่ใช้จะเป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์และลดความชื้นที่มีอยู่ในถั่วให้อยู่ในระดับที่พอเหมาะกับการเจริญเติบโตของเชื้อรา อัตราส่วนของแป้งและถั่วเหลืองมีผลต่อคุณภาพและลักษณะของซีอิ๊ว นอกจากนี้ยังอาจใช้ถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากโรงงานผลิตน้ำมันถั่วเหลืองแทนการใช้ถั่วทั้งเมล็ด เพื่อช่วยลดต้นทุน และยังช่วยให้การย่อยสลายโปรตีนจากถั่วเหลืองเร็วขึ้นและได้ปริมาณโปรตีนมากกว่า แต่กลิ่นอาจแตกต่างไปบ้าง การเพาะเลี้ยงเชื้อราบนเมล็ดถั่ว นำหัวเชื้อที่เตรียมไว้เชื้อราที่นิยมใช้ คือ แอสเพอร์จิลลัสออไรเซ ผสมกับส่วนผสมของถั่วเหลืองและแป้งสาลีที่เตรียมไว้คลุกเคล้าให้ทั่ว นำไปเกลี่ยให้มีความหนาประมาณ 1-1.5 นิ้ว บนกระด้งไม้ไผ่หรือภาชนะที่มีก้นตื้นและมีรูให้อากาศผ่านได้ นำไปบ่มโดยไม่มีการรบกวนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-7 วัน ระหว่างนั้นควรมีการพลิกกลับถั่ว 2-3 ครั้ง เพื่อระบายความร้อนที่เกิดจากการทำงานของเชื้อรา และจะต้องระวังไม่ให้เชื้อราชนิดอื่นที่ไม่ต้องการเจริญเติบโต เพราะจะมีผลทำให้ได้ซีอิ๊วมีคุณภาพแตกต่างไป ในระดับอุตสาหกรรมจะทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราในห้องที่สามารถควบคุมอุณหภูมิ ความชื้น และการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ได้ ส่วนที่ได้เรียกว่า “โคจิ” จะสังเกตเห็นเชื้อราสร้างเส้นใยยึดเมล็ดถั่วและแป้งให้จับกันเป็นก้อนหรือแผ่น มีสีเหลืองแกมเขียวและสีเทาขึ้นปกคลุม และไม่ควรมีสีดำปะปน

S 367347 0

2. การหมักโมโรมิ

การหมักโคจิในน้ำเกลือ นำแผ่นโคจิไปเรียงในโอ่งขนาดใหญ่ประมาณ 3 ใน 4 ของโอ่ง เติมน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นร้อยละ 17 - 20 โดยใช้อัตราส่วนถั่วต่อน้ำเกลือเท่ากับ 1 : 1-2 เมื่อผสมกันแล้วความเข้มข้นของเกลือควรประมาณร้อยละ 18 หากต่ำกว่านี้จะทำให้เกิดการเสื่อมเสีย และหากสูงกว่านี้มากจะมีผลในการลดปฏิกิริยาของเอนไซม์ ปิดฝาโอ่งเพื่อป้องกันแมลง ฝุ่นละออง และน้ำฝน นำไปตากแดดเพื่อเร่งปฏิกิริยาการหมัก ตั้งหมักไว้เป็นเวลา 6 - 8 เดือน ในช่วงฤดูร้อนหรือ 8 – 12 เดือนในช่วงฤดูฝนหรือหนาว และควรมีการคนเป็นครั้งคราว ผลิตภัณฑ์ในช่วงนี้มีชื่อเรียกว่า "โมโรมิ"

3. การกรองและบรรจุขวด

การกรองและบรรจุขวด การหมักที่สมบูรณ์จะให้น้ำซีอิ๊วที่มีสีน้ำตาลปนแดงสด รสเค็ม มีกลิ่นหอม ดูดน้ำซีอิ๊วออกจากโอ่ง นำไปต้มที่อุณหภูมิ 65 – 80 องศาเซลเซียส เพื่อฆ่าเชื้อและตกตะกอนโปรตีน กรองเอาตะกอนออกก่อนนำไปบรรจุขวด นอกจากนี้การใช้ความร้อนยังช่วยให้สีและกลิ่นดีขึ้นและทำลายเอนไซม์ที่เหลือเพื่อป้องกันไม่ให้ซีอิ๊วที่ได้เกิดการเปลี่ยนแปลง ขั้นตอนการหมักซีอิ๊วแสดงดังภาพประกอบ 6

3.3 ลักษณะของน้ำซีอิ๊ว

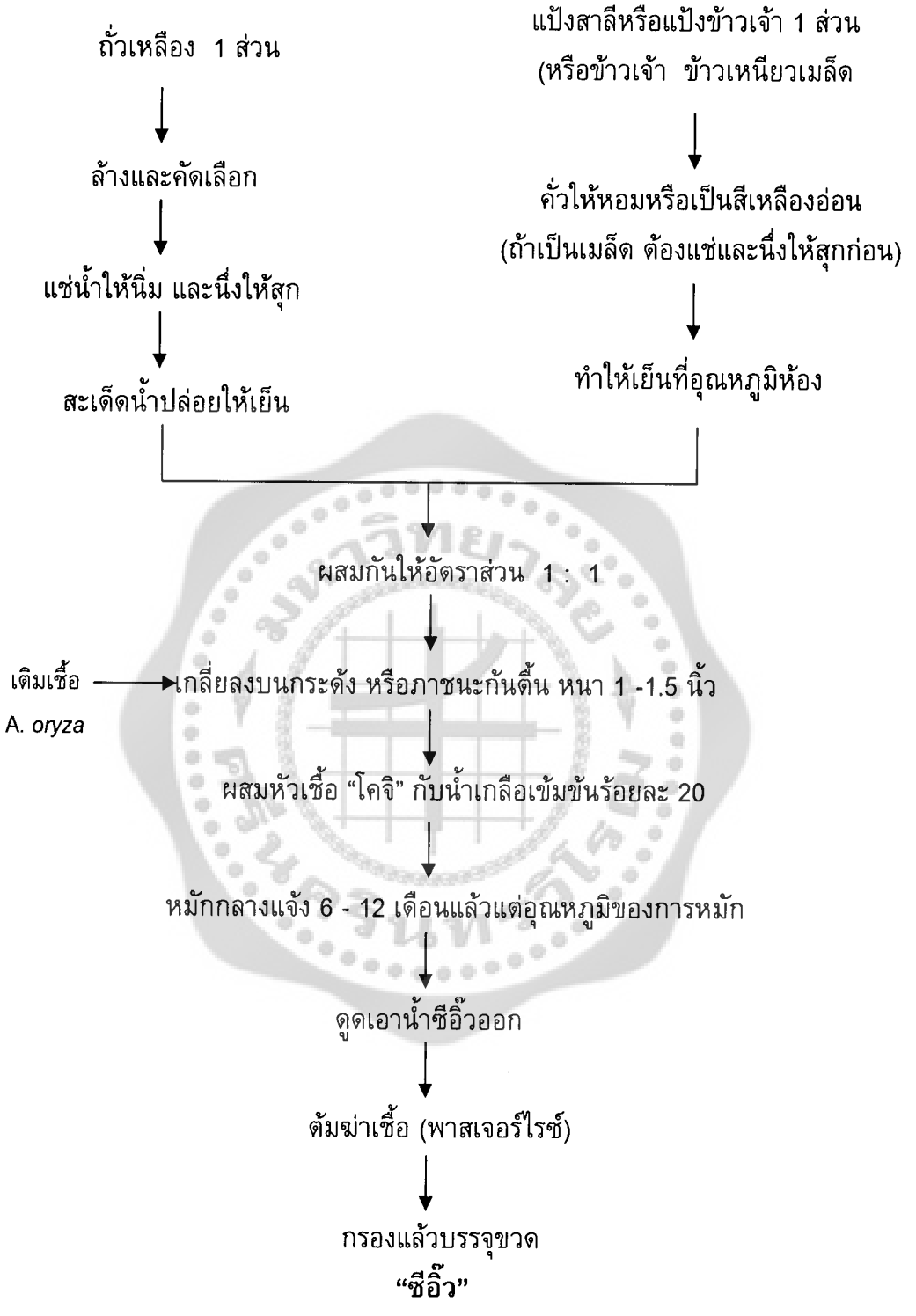
ลักษณะที่ต้องการของน้ำซีอิ๊ว (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2521) ต้องเป็นไป ดังนี้

1) ความใส (clearness) กลิ่น รส และสี
   ความใส : ต้องใส ปราศจากตะกอนนอนก้น
   กลิ่น : น้ำซีอิ๊วต้องมีกลิ่นรสเฉพาะของน้ำซีอิ๊วตามส่วนประกอบที่ใช้เท่านั้น
   สี : สีน้ำตาลอมแดงไปจนถึงสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ
2) ปราศจากสิ่งแปลกปลอมอื่นใดที่มิได้เกิดจากกรรมวิธีการผลิต
3) ลักษณะทางเคมีให้เป็นไปตามตาราง 3

ตาราง 3 ลักษณะทางเคมีของน้ำซีอิ๊ว

ลักษณะทางเคมีของน้ำซีอิ๊ว	
1. โปรตีน (ไนโตรเจน x 6.25) ไม่น้อยกว่าร้อยละของน้ำหนัก	5.5
2. ปริมาณของแข็งที่ระเหยไม่ได้ ไม่น้อยกว่าร้อยละของน้ำหนัก	32.0
3. เกลือ (คิดเป็นโซเดียมคลอไรด์) ร้อยละของน้ำหนัก	17 ถึง 23
4. น้ำตาลทั้งหมด (คิดเป็นน้ำตาลอินเวอร์ต) ไม่เกินร้อยละของน้ำหนัก	7.0
5. ความเป็นกรด – ด่าง	4.5 ถึง 5.3
6. ความถ่วงจำเพาะที่อุณหภูมิ 27 ± 3 องศาเซลเซียส ไม่น้อยกว่า	1.20

ที่มา : สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อตสาหกรรม. 2521.



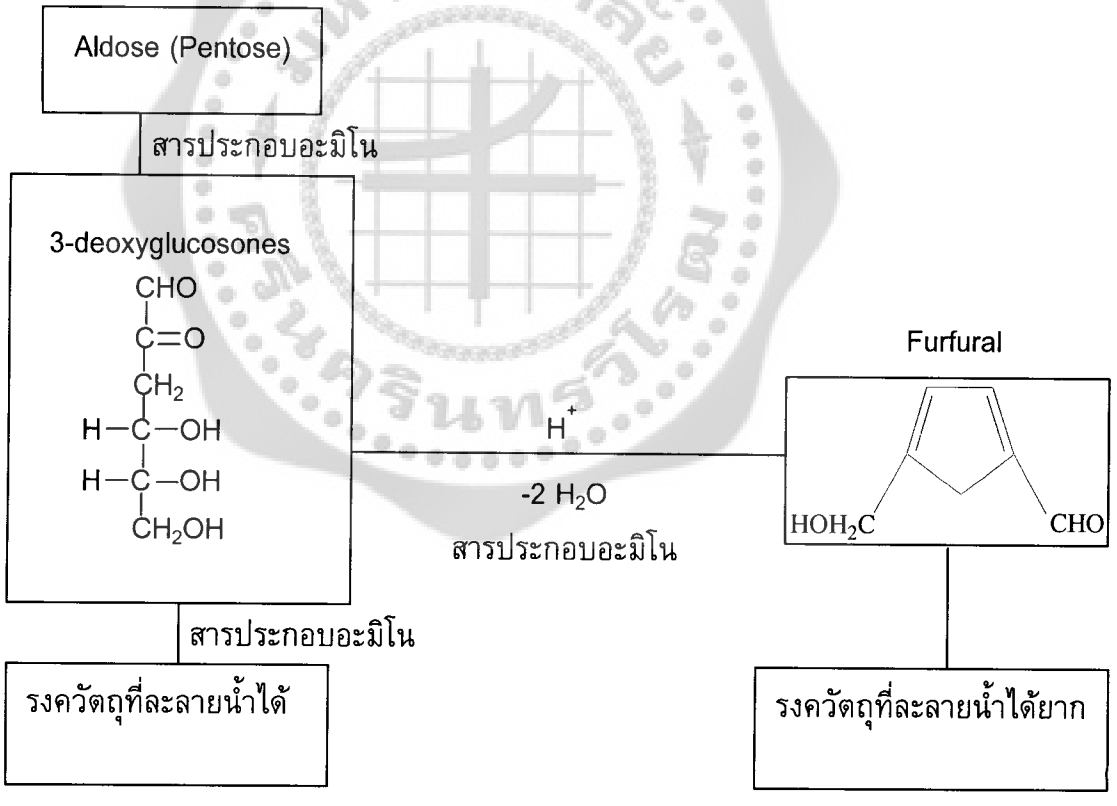
ภาพประกอบ 6 ขั้นตอนการผลิตซีอิ๊ว

ที่มา : สถาบันวิจัยและพัฒนาอาหาร. 2527

3.4 กระบวนการเกิดสีน้ำตาลในซีอิ๊ว

การหมักและการฆ่าเชื้อน้ำซีอิ๊วด้วยวิธีพาสเจอร์ไรซ์ ก่อให้เกิดสีน้ำตาลนับว่ามีความสำคัญต่อการยอมรับของผู้บริโภคโดยการเกิดสีสามารถเกิดได้ระหว่างกระบวนการหมักซีอิ๊ว ด้วยปฏิกิริยานอน-ออกซิเดทีฟ และการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ เป็นหลัก และมีบางส่วนที่เกิดปฏิกิริยาเกิดสีน้ำตาลแบบใช้เอนไซม์ระหว่างสารประกอบอะมิโนกับน้ำตาล แต่อย่างไรก็ตามสีของน้ำซีอิ๊วอาจเข้มขึ้นอีกครั้งภายหลังการบรรจุลงในภาชนะ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นภายหลังนี้จะทำให้คุณภาพของน้ำซีอิ๊วด้อยลง (Yokotsuka. 1986)

เมื่อวิเคราะห์สารที่ทำให้เกิดสีระหว่างการหมักน้ำซีอิ๊ว พบรงควัตถุเมลานอยดินส์ จำนวน 8 ชนิด แต่ที่สำคัญ 2 ชนิด คือ $C_{27}H_{17}N_3O_{13}$ และ $C_{27}H_{15}N_3O_{12}$ รงควัตถุดังกล่าวสามารถเตรียมได้โดยให้ความร้อนแก่สารละลายผสมของกรดอะมิโนไกลซีนกับไซโลส ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สำหรับกระบวนการเกิดสีระหว่างการฆ่าเชื้อน้ำซีอิ๊ว เริ่มจากแอลโดส ทำปฏิกิริยากับสารประกอบอะมิโน โดยมีความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเกิดเป็นรงควัตถุให้สีในที่สุด กระบวนการดังกล่าวแสดงดังภาพประกอบ 7



ภาพประกอบ 7 กระบวนการเกิดสีของน้ำซีอิ๊วระหว่างการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน

ที่มา : Yokotsuka. (1986).

3.5 ปัจจัยที่มีผลต่อคุณประโยชน์และความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ซีอิ๊ว

(วิเชียร ลีลาวัชรมาศ; บุญปลุก บุญเลิศ; และ สุรีย์พร แสงหิรัญ. 2542).

1) ซีอิ๊วเป็นสารชูรสเพื่อก่อให้เกิดการบริโภคอาหารโดยส่วนรวมเพิ่มมากขึ้น ซีอิ๊วมีรสเค็ม ทำให้การบริโภคมีน้อย แม้ซีอิ๊วจะมีปริมาณโปรตีนอยู่สูงแต่ก็ไม่ถือว่าเป็นแหล่งของโปรตีนหลักที่ให้กับร่างกาย อย่างไรก็ตามเนื่องจากซีอิ๊วเป็นสารที่ให้สี กลิ่นและรส มีผลต่อการบริโภคได้ปริมาณเพิ่มขึ้นหรือก่อให้เกิดการอยากบริโภคมากขึ้นโดยที่ตัวซีอิ๊วเองก็มีคุณค่าทางโภชนาการอยู่แล้วจึงทำให้เกิดความสมบูรณ์ของการบริโภคอาหารหลักดีขึ้นด้วย

2) ซีอิ๊วมีปริมาณเกลืออยู่ด้วย เนื่องจากมีความจำเป็นต้องใช้เป็นตัวจำกัดชนิดของจุลินทรีย์ที่ต้องการ ขณะเดียวกันก็ใช้เป็นสารช่วยยืดอายุในการเก็บรักษาให้มีอายุการเก็บยาวนานขึ้น ลดปริมาณความร้อนที่จะเข้ามาเกี่ยวข้องเพื่อการเก็บรักษา ความจำเป็นที่ต้องมีการใช้เกลือเป็นสิ่งจำกัดต่อบุคคลที่จะบริโภค ในกรณีของบุคคลที่แพทย์ควบคุมปริมาณการบริโภคเกลือ เช่น คนที่เป็นโรคความดันโลหิตสูง

3) การพัฒนาทางด้านเทคโนโลยีในการผลิตซีอิ๊วจะเพิ่มความปลอดภัยและคุณภาพที่ดีของซีอิ๊ว ความปลอดภัยคือความปลอดภัยจากสารเคมีตกค้างในถั่ว ถั่วเหลืองหรือวัตถุดิบอื่น ๆ ที่น่าจะมาใช้งานควรที่จะผ่านขั้นตอนการทำความสะอาดอย่างถูกวิธี และลดปริมาณของสารตกค้างที่ติดมาในรูปของยาฆ่าแมลงและสารอื่น ๆ ที่ปนเปื้อนมาในช่วงหลังการเก็บเกี่ยว

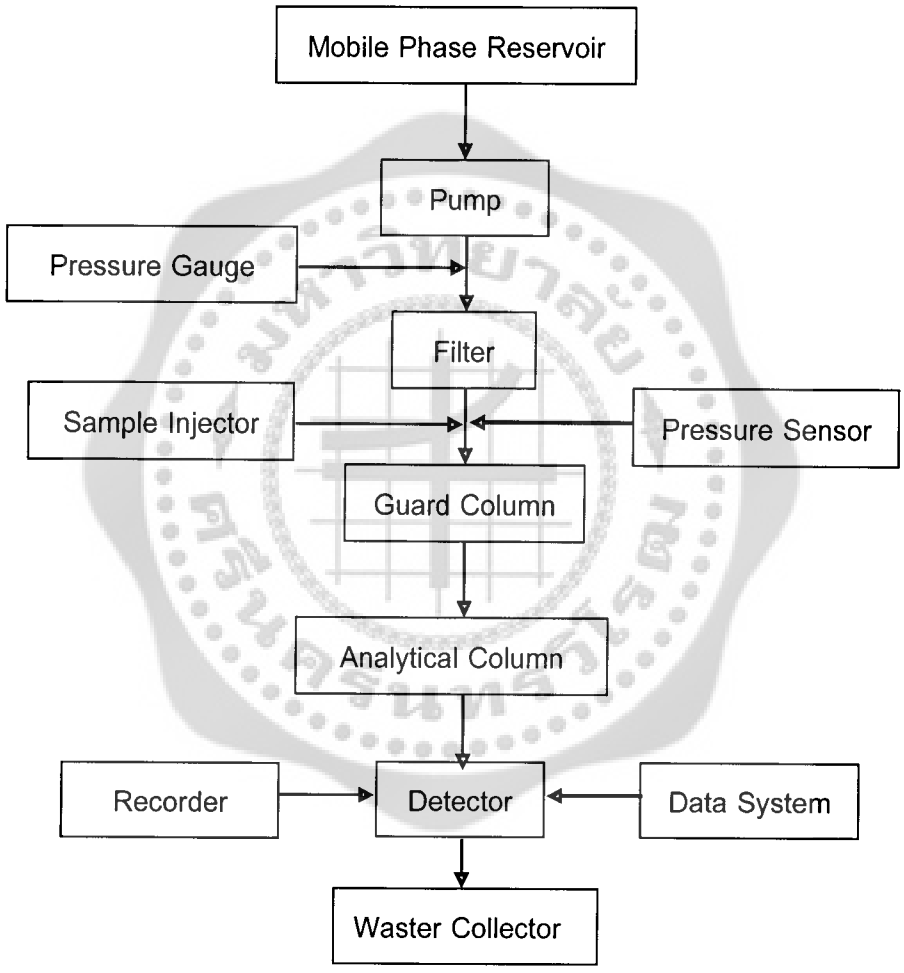
4) ความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ เหตุที่ซีอิ๊วจะต้องมีการใช้จุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ อยู่แล้วฉะนั้นในบางกรณีเมื่อสภาวะของการใช้เกลือไม่พอเหมาะการใช้ความร้อนไม่พอเหมาะ การดูแลเก็บรักษาไม่ดีพอ ทำให้จุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ปนเปื้อนลงไปและเจริญเติบโตได้ดี จุลินทรีย์บางตัวไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงใด ๆ ที่เกิดขึ้นแต่สามารถสร้างสารพิษที่ทนต่อสภาวะต่าง ๆ ได้ดีและส่งผลเสียแก่ผู้บริโภค

4. โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

4.1 หลักการ และการทำงาน

โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง เป็นเทคนิคการแยกสารประกอบ โดยอาศัยหลักการความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบเฟสคงที่ ของคอลัมน์โดยมีเฟสเคลื่อนที่ เป็นตัวพาไป เมื่อต่อเข้ากับดีเทคเตอร์ จะสามารถตรวจวัดสารที่ออกมาจากคอลัมน์ได้อย่างต่อเนื่องสามารถวิเคราะห์สารได้ทั้งเชิงคุณภาพวิเคราะห์ และปริมาณวิเคราะห์ ซึ่งเครื่อง HPLC มีสามารถวิเคราะห์สารได้หลายชนิด เช่น สารอินทรีย์ สารประกอบทางชีวภาพ พอลิเมอร์ คู่อิแนนทิโอเมอร์ สารประกอบที่เสียสภาพได้ง่าย สารประกอบที่ระเหยยาก ไอออนขนาดเล็ก ไมโครโมเลกุล ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ต้องเป็นของแข็งหรือของเหลว ต้องละลายได้ 100 %

โดยมีการทำงาน ดังนี้ เครื่องสูบแรงดันสูง (high pressure pump) สูบตัวทำละลายซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) พาสารตัวอย่างที่ถูกฉีดเข้าทางช่องฉีดสาร (injector) ผ่านอนุภาคที่เป็นเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) ซึ่งบรรจุอยู่ในคอลัมน์ (column) สารผสมตัวอย่างจะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์และถูกแยกออกมา ผ่านเข้าสู่เครื่องตรวจวัด (detector) ในเวลาที่ต่างกัน สัญญาณที่วัดได้จะอยู่ในรูปสัญญาณไฟฟ้าตามเวลาและปริมาณของสารแต่ละตัวที่ตรวจวัดได้ จากนั้นสัญญาณจะถูกส่งไปยังเครื่องบันทึกสัญญาณ เพื่อแสดงผลออกมาเป็นโครมาโทแกรม (chromatogram) แสดงแผนภาพโดยทั่วไปของเครื่อง HPLC ซึ่งประกอบด้วยส่วนต่างๆ ที่สำคัญ ดังภาพประกอบ 8



ภาพประกอบ 8 แผนภาพส่วนประกอบต่างๆ ของเครื่อง HPLC ที่ใช้ในปัจจุบัน
ที่มา : แม้น อมรสิทธิ์; และ อมร เพชรสม. 2535:740.

โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูงสามารถจำแนกได้เป็นเฟสปกติ (normal phase chromatography) คือเฟสคงที่มีสภาพมีขั้ว เช่น อะมิโนโพรพิล (aminopropyl) มากกว่าเฟสเคลื่อนที่ เช่น เฮกเซน (hexane) ในบางกรณีการชะล้างตัวถูกละลายจะมีลักษณะคล้ายกับ LSC ที่ใช้ ซิลิกาเจล (silica gel) เป็นคอลัมน์ สารประกอบที่ไม่มีขั้ว (non-polar compounds) ชอบที่จะ

ละลายเฟสเคลื่อนที่มากกว่า ดังนั้นสารพวกนี้จะผ่านออกมาจากคลอลัมน์เป็นอันดับแรกๆ และสารประกอบที่มีขั้วจะถูกหน่วงเหนี่ยวให้อยู่ในคอลัมน์ได้นาน เนื่องจากเกิดอันตรกิริยากับเฟสคงที่ซึ่งมีสภาพมีขั้ว ทำให้มันถูกชะล้างออกจากคอลัมน์ทีหลัง และรีเวอร์สเฟส (reverse phase chromatography) คือเฟสคงที่จะเป็นพวกไม่มีขั้ว (non-polar) เช่น ออกตะเดซิล ไซเลน (octadecyl silane) และเฟสเคลื่อนที่เป็นพวกมีขั้ว (polar) เช่น น้ำ เมทานอล อะซิโตไนไทรล์ เป็นต้น ลำดับของการชะล้างตัวถูกละลายจะมีลักษณะตรงกันข้ามกับที่เกิดในเฟสปกติ ดังนั้น สารประกอบที่มีขั้วจะถูกชะล้างออกมาก่อน เนื่องจากมันชอบที่จะละลายในเฟสเคลื่อนที่ ส่วนสารประกอบที่ไม่มีขั้วจะถูกยึดอยู่ในคอลัมน์ทำให้ถูกชะล้างออกมาทีหลัง เทคนิคนี้จะเหมาะสมอย่างมากกับสารประกอบที่ไม่ละลาย หรือละลายได้เล็กน้อยในน้ำ แต่สามารถละลายได้ในแอลกอฮอล์หรือตัวทำละลายอินทรีย์ตัวอื่นๆ ที่ละลายในน้ำได้ดี เนื่องจากสารประกอบอินทรีย์เป็นจำนวนมากมีพฤติกรรมของการละลายในลักษณะนี้

ในงานวิจัยนี้ใช้หลักการวิเคราะห์ประเภทรีเวอร์เฟสโครมาโทกราฟี ในการวิเคราะห์ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ คลอลัมน์ที่ใช้บรรจุเฟสกับที่ชนิด C-18 โดยสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ จะถูกแยกด้วยสาร C-18 และถูกชะโดยสารตัวทำละลายระหว่าง น้ำ : อะซีโตรไนทริล (95 : 5) ตัวตรวจวัดใช้เป็นไดโอดแอเรย์ ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ส่วนน้ำตาลกลูโคสคอลัมน์ที่ใช้บรรจุเฟสกับที่ชนิด cation-exchange gel in calcium from (Sugar Pak Column) น้ำตาลหรือสารตัวอย่างจะเกิดการแลกเปลี่ยนประจุกับเฟสอยู่กับที่และถูกชะด้วยตัวทำละลายคือ น้ำ ตัวตรวจวัดที่ใช้คือ Waters 410 Differential Refractometer Detector

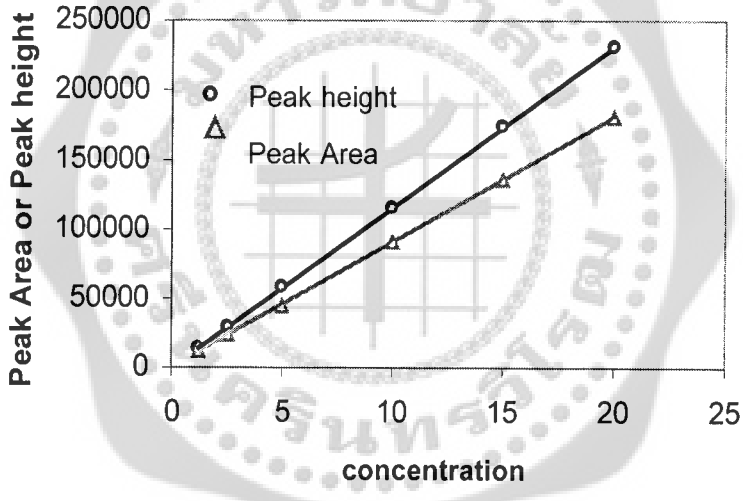
4.2 การวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณสารตัวอย่าง

การวิเคราะห์คุณภาพของสารเพื่อวิเคราะห์สารตัวอย่างว่าเป็นสารอะไร มีกี่ชนิดและเป็นสารใดบ้าง โดยทั่วไปในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC นั้น มักจะใช้วิธีเปรียบเทียบค่าระยะเวลารีเทนชั่นของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน โดยเริ่มต้นด้วยการวิเคราะห์สารตัวอย่างเสียก่อนจนได้การแยกที่ดี แล้วจึงใช้สารมาตรฐานวิเคราะห์ที่สภาวะเดียวกันเพื่อเปรียบเทียบ การเปรียบเทียบนี้อาจจะเป็นเพียงการใช้ข้อมูลขั้นแรกเท่านั้น เพราะสารต่างชนิดกันอาจจะให้ค่าระยะเวลารีเทนชั่น เท่ากันได้ ดังนั้นอาจจะต้องวิเคราะห์อีกครั้งหนึ่งโดยใช้ค่าพารามิเตอร์ต่างกัน คือ ใช้คอลัมน์ใหม่ ตัวทำละลายใหม่ และอัตราเร็วของการไหลใหม่ หรืออาจจะใช้เทคนิคอื่นเป็นการ cross-check เช่น LSC, reverse-phase BPC หรืออาจใช้เทคนิคอื่น เช่น GC หรือ TLC เพื่อเปรียบเทียบ

ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารตัวอย่างโดยทั่วไปวิธีที่นิยมใช้ในการคำนวณหรือหาปริมาณของสาร คือการทำกราฟมาตรฐาน ซึ่งใช้วิธีต่างๆ กัน คือ

1. Normalization method
2. Internal standard method
3. External standard method
4. Standard addition method

ในการวิจัยนี้คำนวณหาปริมาณของสารโดยวิธี External standard method วิธีวิเคราะห์ใช้การทำกราฟมาตรฐานจากสารมาตรฐานที่ใช้ความเข้มข้นต่างๆ กันกับความความสูงของพีคหรือพื้นที่ใต้พีค การหาปริมาณของสารตัวอย่างนั้น ทำการวิเคราะห์โดยใช้สภาวะเดียวกับสารมาตรฐาน ความสูงของพีคหรือพื้นที่ใต้พีคนำไปอ่านค่าจากกราฟมาตรฐานได้เลย ลักษณะของกราฟมาตรฐานมีลักษณะดังภาพประกอบ 9



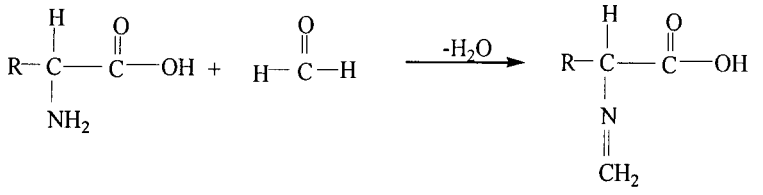
ภาพประกอบ 9 แสดงกราฟมาตรฐานจากสารมาตรฐาน

5. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยเทคนิคฟอร์แมลไทเทรชัน

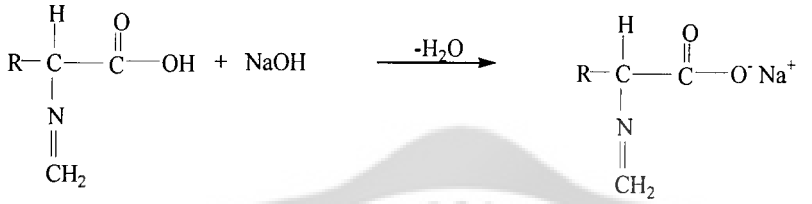
Ceirwyn S. James. (1995) วิธีการวิเคราะห์โปรตีนในอาหารนั้นสามารถทำการวิเคราะห์ได้หลายวิธี เช่น วิธีเคลดาลห์ (Kjeldahl method) วิธีการกลั่นโดยตรง วิธีการเผาด้วยความร้อน (Thermal combustion methods) วิธีการเติมสารมีสี (Dye-Binding methods) วิธีฟอร์แมลไทเทรชัน (Formal Titration) และวิธีทางสเปกโทรสโคปิค (Spectroscopic methods) ในการวิจัยนี้ผู้วิจัยใช้การวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธีฟอร์แมลไทเทรชัน เนื่องจากเป็นวิธีวิเคราะห์คุณภาพซีอิ๊วตามมาตรฐานอุตสาหกรรม (มอก.)

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนใช้เทคนิคฟอร์แมลไทเทรชัน ซึ่งเป็นเทคนิคการไทเทรตแบบกรดเบส โดยฟอร์มัลดีไฮด์ ที่มากเกินพอสามารถรวมกับหมู่อะมิโนที่ไม่สามารถแตกตัว (NH_2) เกิด

เป็นอนุพันธ์เมธิลออล (methylol derivative) เมื่อนำไปไทเทรตกับสารละลายเบสจะเกิดปฏิกิริยาตามสมการที่ (1) และ (2)



..... (1)



..... (2)

การคำนวณหาปริมาณปริมาณโปรตีนโดยคำนวณได้จากสูตร

$$\%\text{ammonical} = \frac{\text{vol.NaOH(ml)xN(NaOH)x1.4007}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง(กรัม)}} \quad \text{..... (3)}$$

$$\text{โปรตีน (ร้อยละโดยมวล)} = \text{ไนโตรเจน x 6.25} \quad \text{..... (4)}$$

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

ในงานวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

การดำเนินการวิจัยและการเก็บรวบรวมข้อมูล

1. สารเคมี วัตถุดิบ วัสดุและอุปกรณ์การทดลอง

1.1 สารเคมี และวัตถุดิบ

1) โพแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ไตรไฮเดรต ชนิด Analytical Grade ของบริษัท Carlo Erba ประเทศฝรั่งเศส

2) ซิงอะซิเตรทไดไฮเดรต ชนิด Analytical Grade ของบริษัท Fluka ประเทศเยอรมัน

3) 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ของบริษัท Fluka ประเทศเยอรมัน

4) อะซีโตไนไทรล์ ชนิด HPLC Grade ของบริษัท Carlo Erba ประเทศฝรั่งเศส

5) ฟอร์มาลดีไฮด์ ชนิด Analytical Grade ของบริษัท ของบริษัท UNIVAR ประเทศออสเตรเลีย

6) โพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต ชนิด Analytical Grade ของบริษัท UNIVAR ประเทสออสเตรเลีย

7) โซเดียมไฮดรอกไซด์ ชนิด Analytical Grade ของบริษัท Carlo Erba ประเทศฝรั่งเศส

8) ฟีนอลฟ์ทาลีน

9) เกลือไอโอดีน (ปรุงทิพย์)

10) ถั่วมะแฮะ จากอำเภอบ่อเกลือ จังหวัดน่าน

11) แป้งสาลี ตราบัวแดงผลิตโดยบริษัทยูไนเต็ดฟลาวมิลล์ จำกัด (มหาชน)

12) ถั่วเหลืองคัดพันธุ์ ตราไร่ทิพย์ ผลิตโดย บริษัทไร่ธัญญะ จำกัด

13) เชื้อ *A. oryzae* จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

1.2 วัสดุและอุปกรณ์การทดลอง

1) เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ยี่ห้อ Hewlett Packard Agilent 1100 series และเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ยี่ห้อ Waters รุ่น Waters 2690

2) pH meter (Mettler Toledo รุ่น MP220)

3) เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Precisa รุ่น 205 A Superbalance series

4) ไหดินเคลือบ กระด้ง ผ้าขาวบาง

2. การเตรียมตัวอย่าง

2.1 การหมักซีอิ๊ว

1) ศึกษาข้อมูล รวบรวมผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2) วางแผนการทำงาน

3) จัดเตรียมวัตถุดิบอื่นๆที่ต้องใช้ในกระบวนการหมัก แป้งสาลี เกลือ น้ำสะอาด และเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ สายพันธุ์ *A. oryzae*

4) จัดเตรียมภาชนะสำหรับทำการหมัก คือ ไหดินเคลือบ/โหลแก้ว ผ้าขาวบาง กระดัง ตามจำนวนสูตรที่วางแผนไว้

5) การดำเนินการหมักซีอิ๊วตามสูตรต่างๆ ดังต่อไปนี้

กลุ่ม A ใช้ถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบร้อยละ 100

สูตร 1 ถั่วเหลือง หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 20
สูตร 2 ถั่วเหลือง หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 18
สูตร 3 ถั่วเหลือง หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 16
สูตร 4 ถั่วเหลือง หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 14
สูตร 5 ถั่วเหลือง หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 12
สูตร 6 ถั่วเหลือง หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 10

กลุ่ม B ใช้ถั่วมะแฮะเป็นวัตถุดิบร้อยละ 100

สูตร 7 ถั่วมะแฮะ หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 20
สูตร 8 ถั่วมะแฮะ หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 18
สูตร 9 ถั่วมะแฮะ หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 16
สูตร 10 ถั่วมะแฮะ หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 14
สูตร 11 ถั่วมะแฮะ หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 12
สูตร 12 ถั่วมะแฮะ หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 10

กลุ่ม C ใช้ถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบในอัตราส่วน 60 : 40

สูตร 13 ถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 20
สูตร 14 ถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 18
สูตร 15 ถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 16
สูตร 16 ถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 14
สูตร 17 ถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 12
สูตร 18 ถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 10

ดำเนินการหมัก ดังต่อไปนี้

5.1) แช่ถั่วเหลือง ถั่วมะแฮะที่คัดสรรแล้วในน้ำสะอาด เป็นเวลา 15 ชั่วโมง และนำไปนึ่งจนสุก

5.2) นำถั่วที่นึ่งแล้วมาใส่บนกระด้งคลุกเคล้ากับแป้งสาลีในอัตราส่วน 3:1

5.3) นำเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ สายพันธุ์ *A. oryzae* มาผสม คลุกเคล้าให้ทั่ว พร้อมพรมน้ำสะอาดเพื่อให้เกิดความชื้นที่เหมาะสม ก่อนจะคลุมด้วยผ้าขาวบางที่สะอาดผ่านการฆ่าเชื้อ เก็บส่วนผสมในที่มีอากาศถ่ายเท บ่มไว้นาน 72 ชั่วโมง เรียกว่าการหมักช่วง โคจิ

5.4) นำส่วนผสมที่ได้มาตรวจดูการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ *A. oryzae* เมื่อเชื้อราเจริญ จะสังเกตเห็นสีเขียวอ่อนเกิดขึ้น จึงจะนำไปผ่านกระบวนการหมักต่อ (ประมาณ 3-5 วัน)

5.5) นำไปบรรจุลงในโอ่งดินเคลือบ เติมน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นต่างๆ ตามสูตรที่ได้กำหนดไว้ปิดฝาโอ่งด้วยผ้าขาวบาง นำไปตากแดดเพื่อเร่งปฏิกิริยาการหมัก ทำการคนเป็นระยะๆ ในช่วงนี้เรียกว่าการหมักช่วงโมโรมิ

5.6) เมื่อครบกำหนดเวลา 90 วัน นำส่วนผสมมากรองด้วยผ้าขาวบาง จนได้น้ำซีอิ๊วดิบ ตั้งทิ้งไว้ 7 วัน เพื่อให้ตกตะกอน

5.7) ดูดเอาน้ำใสๆ ของซีอิ๊วดิบ ไปทำการพาสเจอร์ไรซ์โดยต้มที่อุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

5.8) เก็บตัวอย่างน้ำซีอิ๊วที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์บรรจุขวด

แสดงกระบวนการหมักซีอิ๊ว ดังภาพประกอบ 10

2.2 การวางแผนการเก็บตัวอย่างซีอิ๊ว

การเก็บตัวอย่างซีอิ๊วดิบและซีอิ๊ว เพื่อจะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์, โปรตีน และน้ำตาล ดังรายละเอียดต่อไปนี้

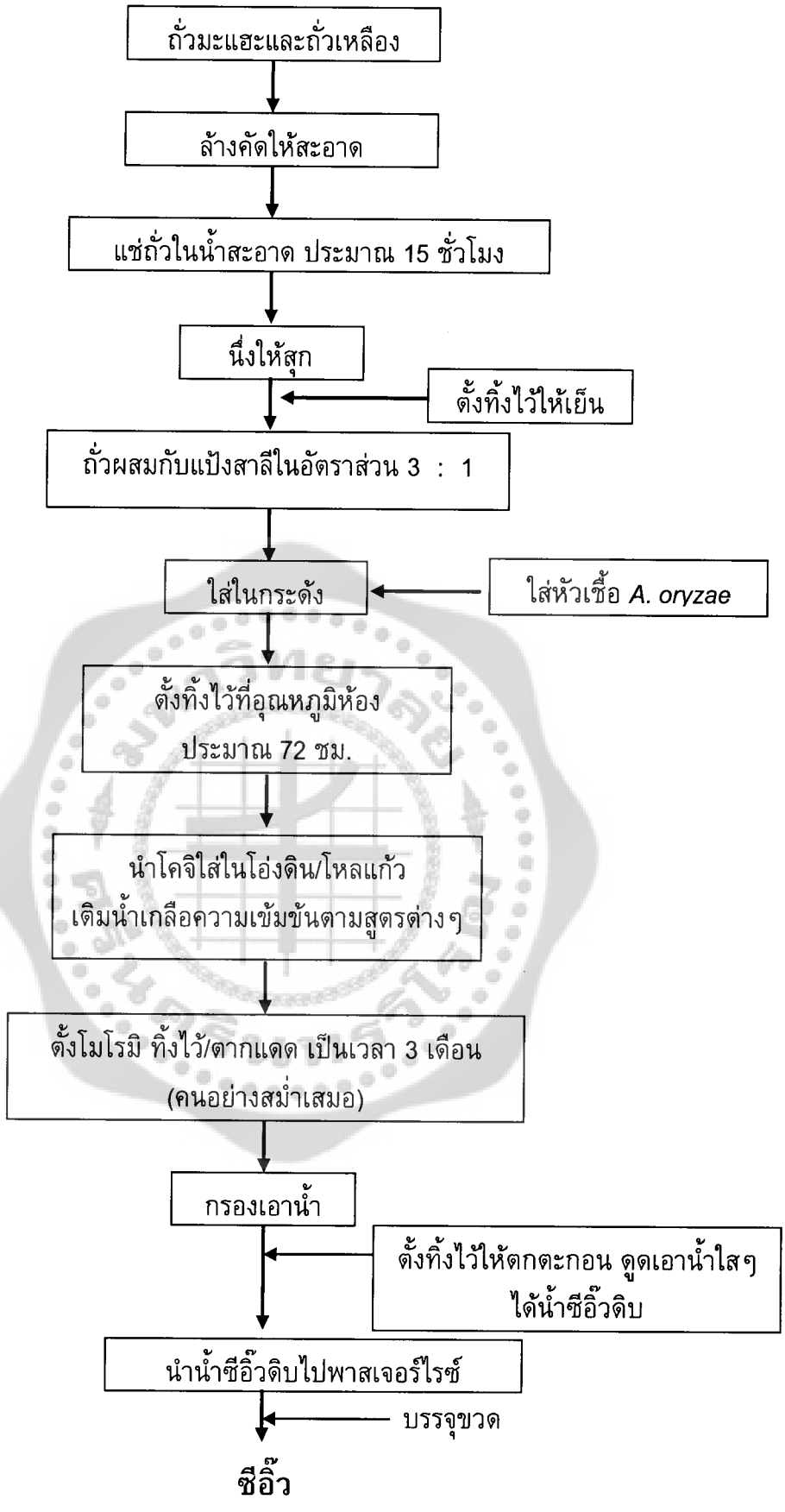
1) เก็บตัวอย่างซีอิ๊วก่อนและหลังการพาสเจอร์ไรซ์ทุกสูตร เก็บไว้ในตู้แช่เย็นที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส

2) การเก็บตัวอย่างซีอิ๊วทุกเดือนเป็นระยะเวลา 6 เดือน 2 ส่วน ดังนี้

<u>ส่วนที่ 1</u> ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

<u>ส่วนที่ 2</u> เก็บไว้ในตู้เย็น

3) เก็บตัวอย่างซีอิ๊วทุกสูตรในแต่ละส่วน ทุก 1 เดือน ครบ 6 เดือน ตัวอย่างละ 10 มิลลิลิตร



ภาพประกอบ 10 แสดงกระบวนการหมักน้ำซีอิ๊ว

3. วิธีดำเนินการทดลอง

ในการวิเคราะห์หาปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์, น้ำตาล และโปรตีน วิธีดำเนินการวิจัยจะประกอบด้วย 3 ขั้นตอน

ตอนที่ 1 วิเคราะห์หาปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ด้วยเทคนิคโครมาโทรกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และวัดค่า pH ในตัวอย่างซีอิ๊ว

ตอนที่ 2 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในน้ำซีอิ๊ว ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ในซีอิ๊ว

ตอนที่ 3 วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างซีอิ๊ว

ตอนที่ 1 วิเคราะห์หาปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และวัดค่า pH ในตัวอย่างซีอิ๊ว

ขั้นที่ 1. การเตรียมตัวอย่าง ดัดแปลงจาก AOAC. 1990.

1) นำตัวอย่างซีอิ๊วไปวัดค่าความเป็นกรด – เบส ด้วย pH-meter

2) ทำการเตรียมสารเคมี ได้ดังต่อไปนี้

2.1) Carrez soln I เตรียมโดยชั่ง $K_4Fe(CN)_6.3H_2O$ 15 กรัม ละลายในน้ำและปรับปริมาตรด้วยน้ำในขวดปริมาตรขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2.2) Carrez soln II เตรียมโดยชั่ง $Zn(OAc)_2.2H_2O$ 10 กรัม ละลายในน้ำและปรับปริมาตรด้วยน้ำในขวดปริมาตรขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

3) ปิเปตตัวอย่างซีอิ๊ว ใส่ลงในบีกเกอร์ จากนั้นเติมสารละลาย Carrez soln I 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตรและ Carrez soln II 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปรับด้วยน้ำกลั่น

4) สารละลายที่ได้จะมีตะกอนขาวเกิดขึ้น กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ได้สารละลายใสใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

5) หลังจากกรองแล้วจะได้สารละลายตัวอย่างที่เป็นสารละลายใส และ เก็บสารละลายใส่ขวดสีชา นำไปวิเคราะห์

ขั้นที่ 2. การวิเคราะห์หา 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์

ดัดแปลงจาก Ferrer et al. (2000)

1) การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

1.1) เตรียมสารละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ที่ความเข้มข้น 0.2 0.5 1 2 4 และ 8 มิลลิกรัม/ลิตร เตรียมโดยเจือจางจากสารละลายมาตรฐานตั้งต้น

1.2) นำสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ ที่เตรียมข้างต้น มากรองด้วยแผ่นกรอง (microfilter) ที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC ปริมาตร 100 ไมโครลิตร

ในการทดลองนี้ใช้สภาวะดังนี้

คอลัมน์ : Reverse phase C-18

ตัวตรวจวัด : DAD ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

เฟสเคลื่อนที่ : Acetonitrile : H_2O (5 : 95)

อัตราการไหล : 1 มิลลิลิตร/นาที

2) บันทึกข้อมูลทั้งเวลาที่สารถูกชะออกมา และพื้นที่ของพีค

3) นำพื้นที่ของพีคของสารละลายมาตรฐานที่ได้ไปเขียนกราฟมาตรฐาน แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ของพีค กับความเข้มข้นต่างๆ

4) นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้มากรองด้วย แผ่นกรองที่มีขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC จำนวน 100 ไมโครลิตร จากข้อมูลของตัวอย่าง นำไปวิเคราะห์โดยเทียบจากกราฟของสารละลายมาตรฐาน

ตอนที่ 2 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในน้ำซีอิ๊ว ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

1) การเตรียมสารละลายตัวอย่างปิเปตสารละลายตัวอย่าง (ซีอิ๊ว) มา 1 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร กรองด้วยแผ่นกรองที่มีขนาด 0.45 ไมโครเมตร

2) เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส ดังต่อไปนี้

2.1) เตรียมกลูโคส 120 กรัม/ลิตร เป็นสารละลายตั้งต้น

2.2) เตรียมสารละลายมาตรฐานจากสารละลายตั้งต้น ความเข้มข้นต่างๆ 20 15 10 5 2.5 1.25 กรัม/ลิตร

2.3) นำสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ ที่เตรียมข้างต้น มากรองด้วยแผ่นกรอง(microfilter) ที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ในการทดลองนี้ใช้สภาวะดังนี้

คอลัมน์ : Sugar-Pak. (Waters, MA, USA) 30x 65 มิลลิลตร
อุณหภูมิคอลัมน์ : 90 องศาเซลเซียส
ตัวตรวจวัด : Waters 410 Differential Refractometer Detector (Millipore Corp., Milford, MA, USA)
เฟสเคลื่อนที่ : H_2O
อัตราการไหล : 0.5 มิลลิลิตร/นาที

2.4) บันทึกข้อมูลทั้งเวลาที่สารถูกชะออกมา และพื้นที่ของพีค

2.5) นำพื้นที่ของพีคของสารละลายมาตรฐานที่ได้ไปเขียนกราฟมาตรฐาน แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ของพีค กับความเข้มข้นต่างๆ

2.6) นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้มากรองด้วย แผ่นกรองที่มีขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC จำนวน 20 ไมโครลิตร จากข้อมูลของตัวอย่าง นำไปวิเคราะห์โดยเทียบจากกราฟของสารละลายมาตรฐาน

2.7) จากข้อมูลของตัวอย่าง นำไปวิเคราะห์โดยเทียบจากกราฟของสารละลายมาตรฐาน

<u>ตอนที่ 3</u> วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างซีอิ๊ว ตามวิธีมาตรฐานอุตสาหกรรม (มอก.)

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน มีวิธีการทดลองดังต่อไปนี้

1) ชั่งซีอิ๊ว 1.4 กรัม

2) เจือจางด้วยน้ำให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

3) ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 12.5 มิลลิลิตร ใส่ ในขวดรูปชมพู่

4) เติมฟอร์มาลดีไฮด์ 37% 14 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที

5) นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.5 นอร์มอล โดยใช้ฟีนอล์ทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ ไทเทรตจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู บันทึกปริมาณเบสที่ใช้

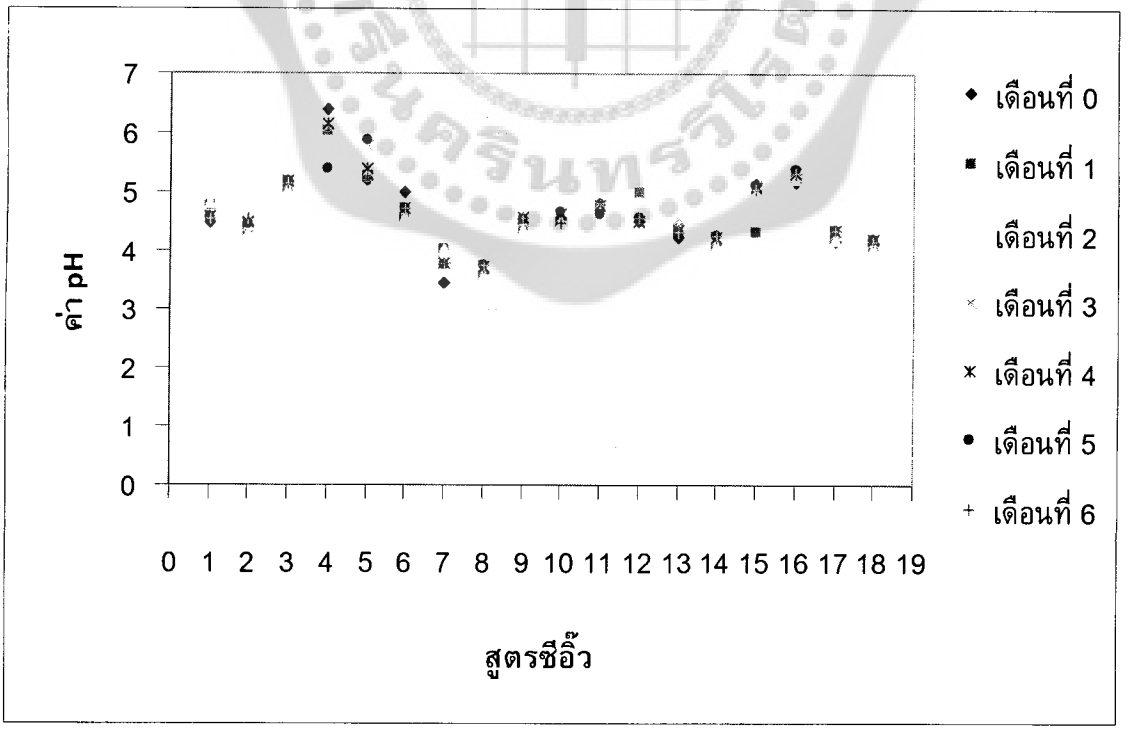
6) คำนวณหาปริมาณโปรตีน

บทที่ 4
ผลการวิจัย

จากผลการศึกษาการเกิดสีดำคล้ำในซีอิ๊วที่ได้จากกระบวนการหมักจากถั่วเหลืองและถั่วมะแฮะ โดยผู้วิจัยทำการศึกษาปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมลทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ที่เป็นดัชนีบอกการเกิดสารสีดำคล้ำในซีอิ๊วที่ได้จากการหมักถั่วเหลืองและถั่วมะแฮะ เมื่อหมักครบ 3 เดือน นำซีอิ๊วที่ได้มาผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ หลังจากนั้นเก็บรักษาที่สภาวะแตกต่างกัน คือที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ทำการศึกษาสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ทุกเดือน คือ 0 (เริ่มต้น), 1 , 2, 3, 4 , 5 และ 6 เดือน จากการทดลองได้ทำการวัดค่า pH ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และปริมาณโปรตีนของซีอิ๊ว 18 สูตร เพื่อเป็นข้อมูลในการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมลทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ที่เกิดขึ้นในระบบ

ตอนที่ 1 ผลการวิเคราะห์หา 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว

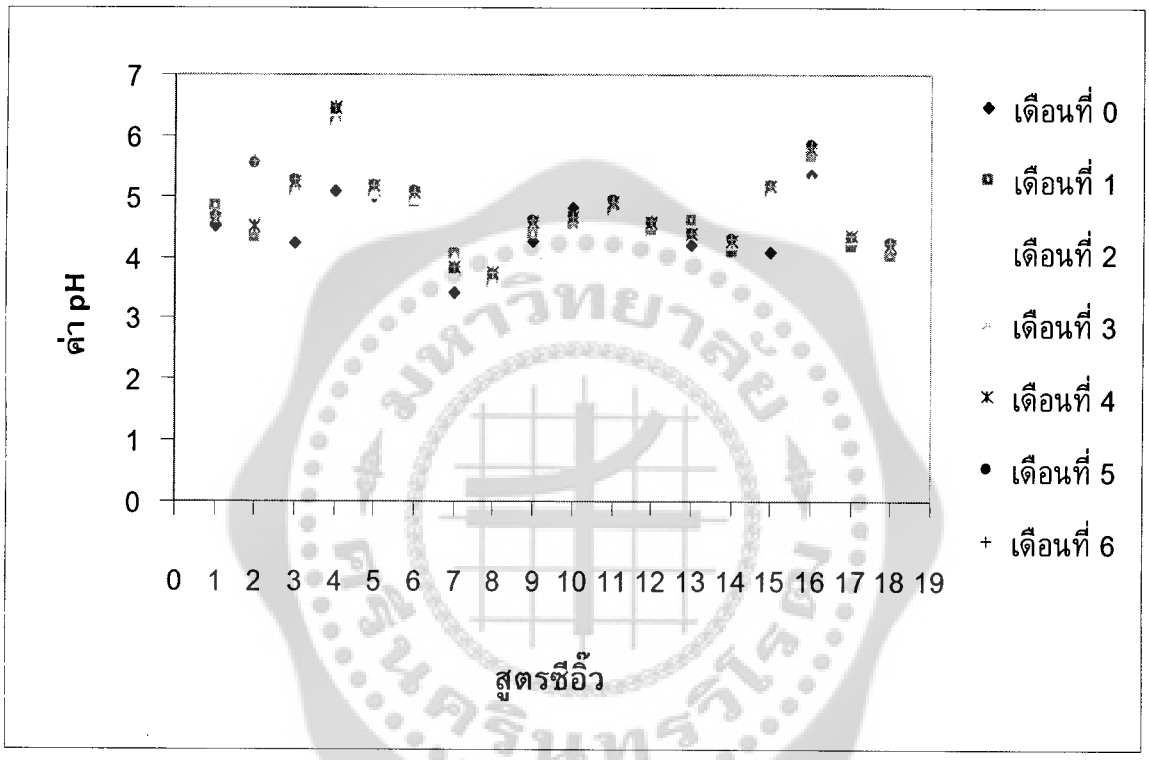
จากการศึกษาหาปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ผู้ทำการวิจัยได้ทำการศึกษาค่า pH ของซีอิ๊ว 18 สูตร ทุก 1 เดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน ด้วยเครื่อง pH meter ผลการศึกษาซีอิ๊วที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง แสดงดังภาพประกอบ 11



ภาพประกอบ 11 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาที่สภาวะอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน

จากภาพประกอบ 11 พบว่าค่า pH ของซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร อยู่ในช่วง 3.45 – 6.40 ซีอิ๊ว และพบว่าซีอิ๊วสูตร 3 มีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ตั้งแต่เริ่มต้นถึงเดือนสุดท้ายน้อยที่สุด อยู่ในช่วง 5.04 – 5.18 และซีอิ๊วสูตร 15 การเปลี่ยนแปลงของค่า pH ตั้งแต่เริ่มต้นถึงเดือนสุดท้ายมากที่สุด อยู่ในช่วง 4.33 – 5.14 เมื่อพิจารณาค่าการเปลี่ยนแปลงของซีอิ๊วทั้ง 18 สูตรพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ผลการศึกษาค่า pH แสดงให้เห็นชัดเจนตามตารางที่ 4

ผลการศึกษาค่า pH ของซีอิ๊ว 18 สูตร ที่เก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลา 6 เดือน ผลการศึกษาแสดงดังภาพประกอบ 12



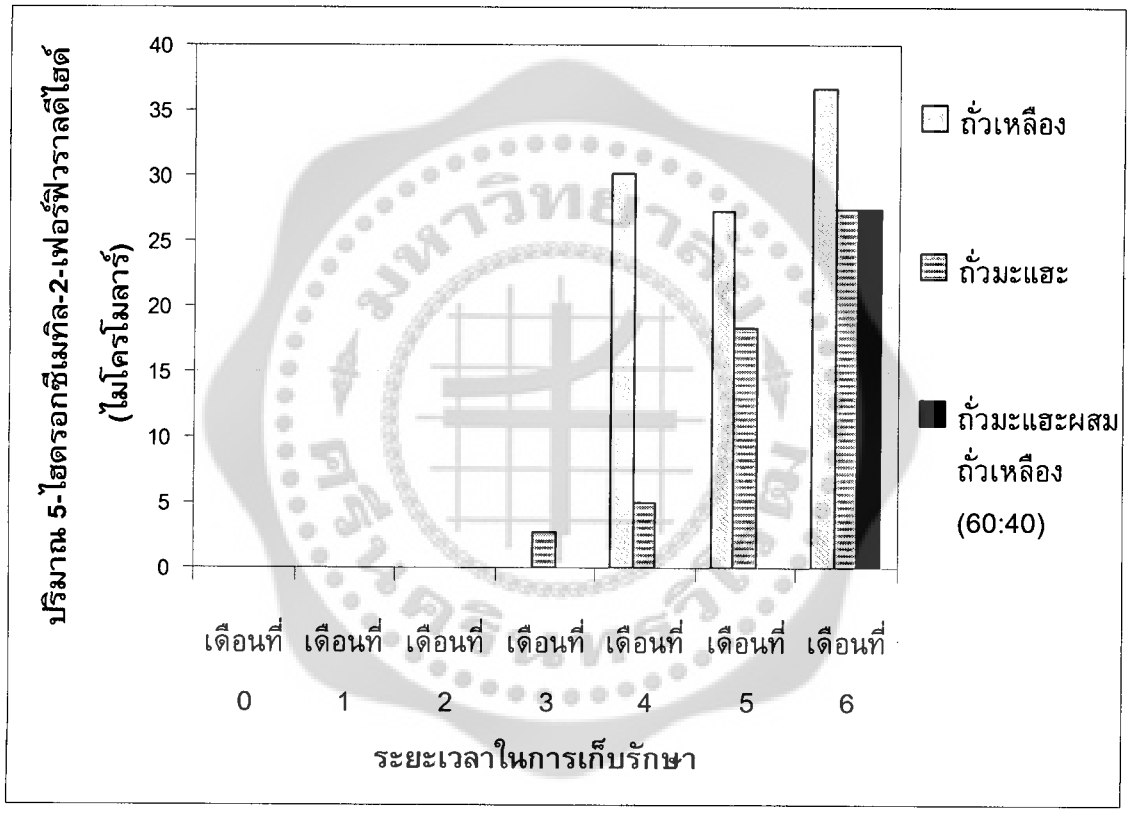
ภาพประกอบ 12 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน

จากภาพประกอบ 12 พบว่าค่า pH ซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร อยู่ในช่วง 3.40 - 6.47 และพบว่าซีอิ๊วสูตร 12 มีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ตั้งแต่เริ่มต้นถึงเดือนสุดท้ายน้อยที่สุด อยู่ในช่วง 4.44 – 4.59 และซีอิ๊วสูตร 2 การเปลี่ยนแปลงของค่า pH ตั้งแต่เริ่มต้นถึงเดือนสุดท้ายมากที่สุด อยู่ในช่วง 4.33 – 5.60 เมื่อพิจารณาค่าการเปลี่ยนแปลงของซีอิ๊วทั้ง 18 สูตรพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก แสดงให้เห็นชัดเจนดังตาราง 5

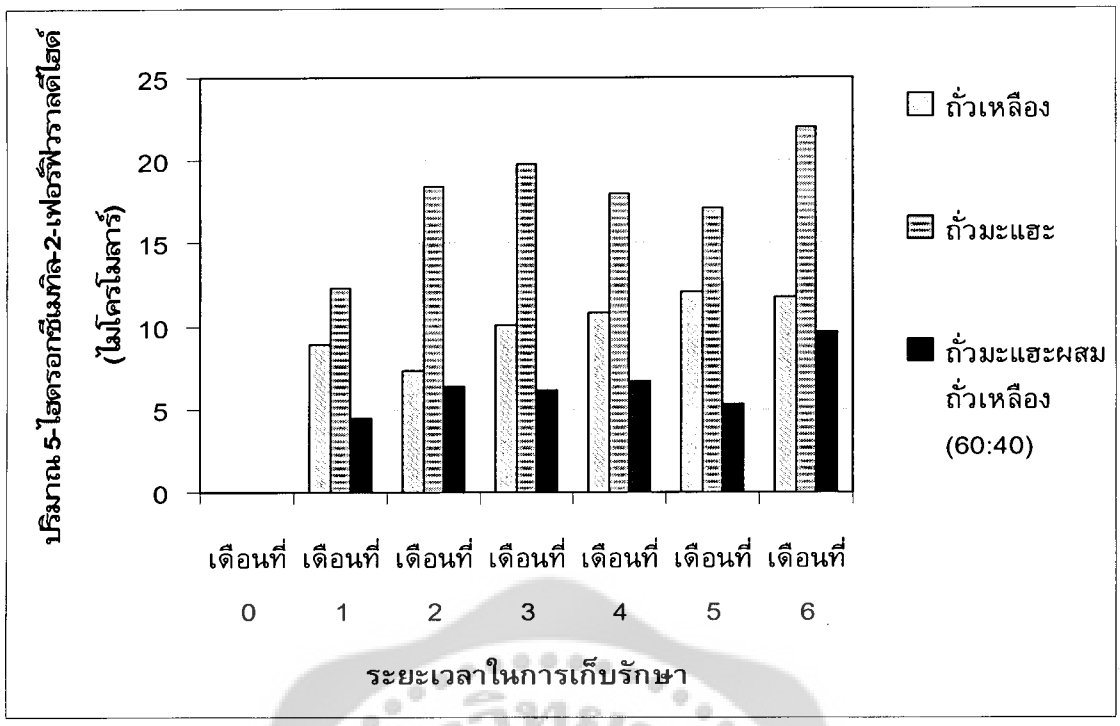
จากผลการศึกษาพบว่าซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร ทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีสภาวะเป็นกรด คือมีค่า pH อยู่ในช่วง 3.40 - 6.47 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าซีอิ๊วในแต่ละสูตรมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก และเมื่อพิจารณาค่า pH ของซีอิ๊วที่เก็บในตู้เย็นมีค่า pH ต่ำกว่าที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง

จากผลการศึกษาปริมาณการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ที่พบในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วต่างชนิดกัน 3 กลุ่ม คือ ถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วน และถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง ซึ่งในแต่ละกลุ่มหมักด้วยน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้น้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 18 16 14 12 และ10 หลังจากผ่านกระบวนการหมักนำมากรองและผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ได้ซีอิ๊ว แบ่งออกเป็น 2 ชุด คือ ชุดที่ 1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและชุดที่ 2 เก็บรักษาในตู้เย็น โดยทำการวิเคราะห์ทุกเดือน เป็นเวลา 6 เดือน

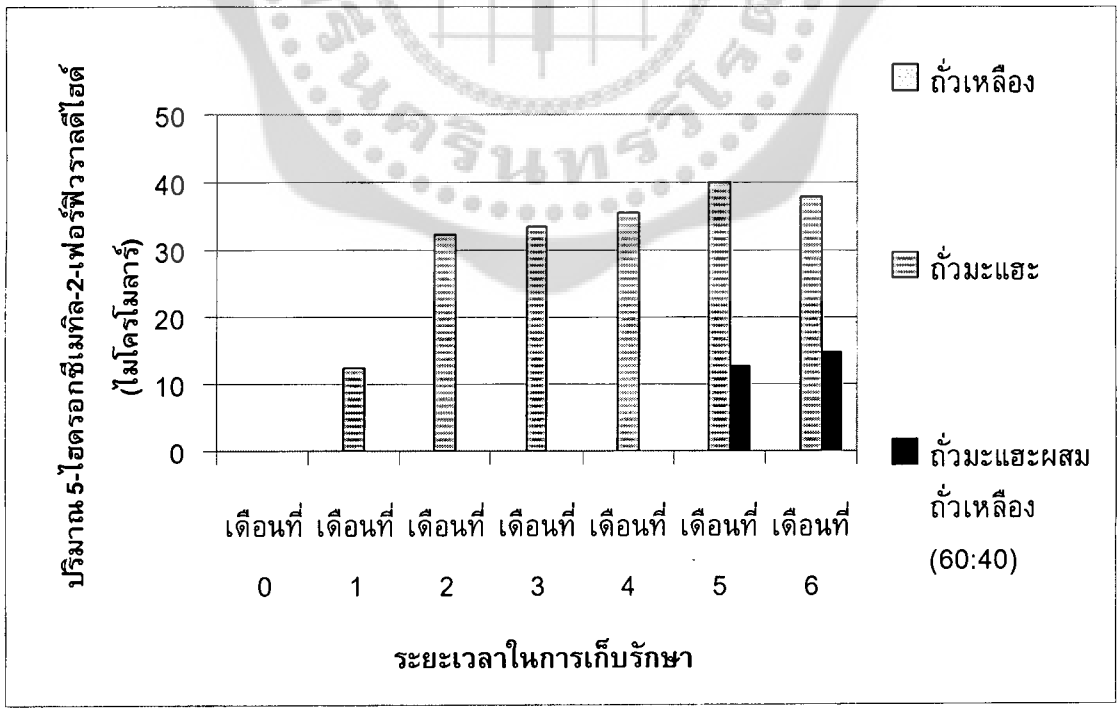
ผลการศึกษาปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ที่อุณหภูมิห้องแสดงดังภาพประกอบ 13 – 18



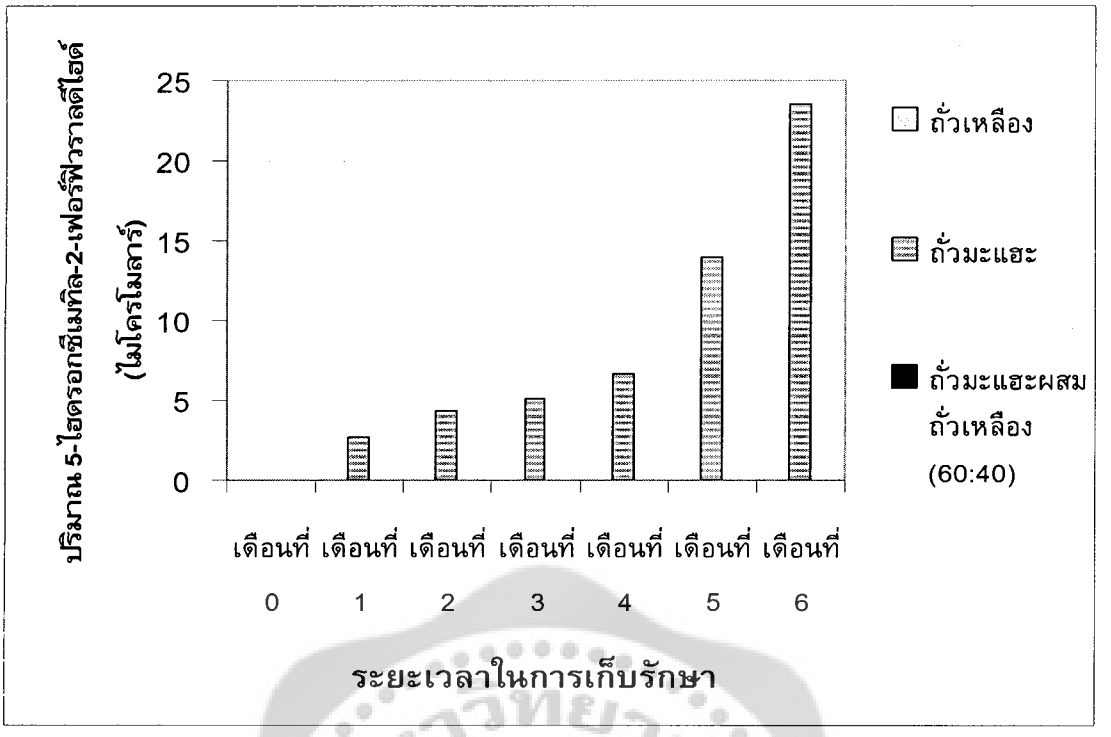
ภาพประกอบ 13 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน



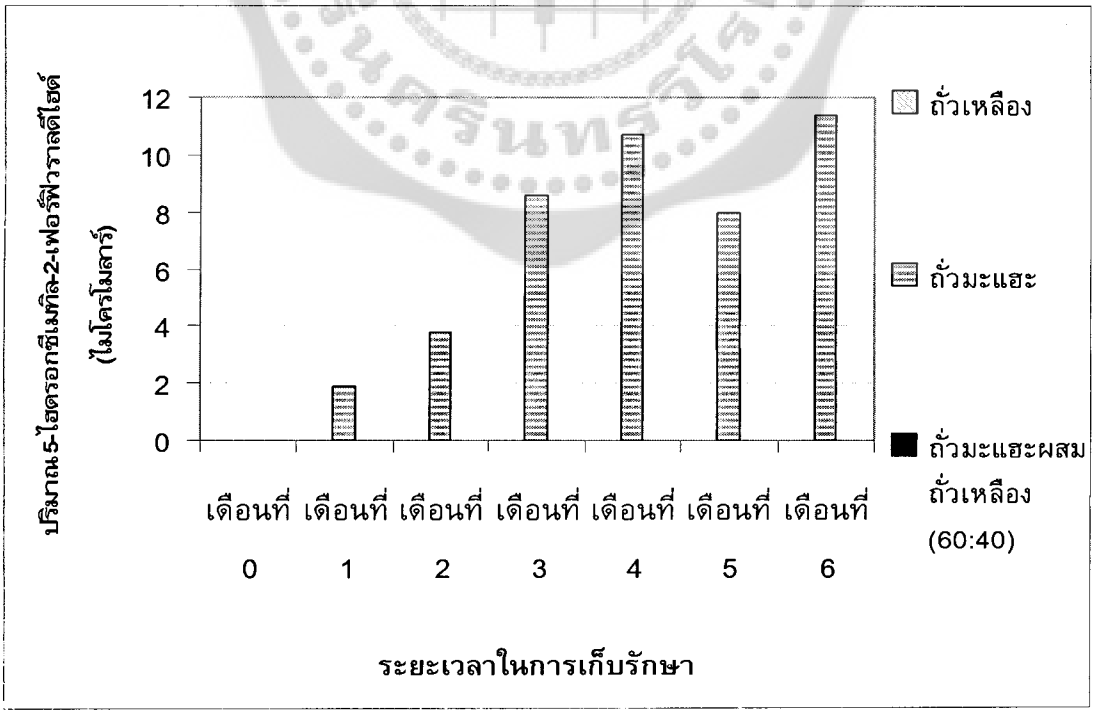
ภาพประกอบ 14 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 18 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน



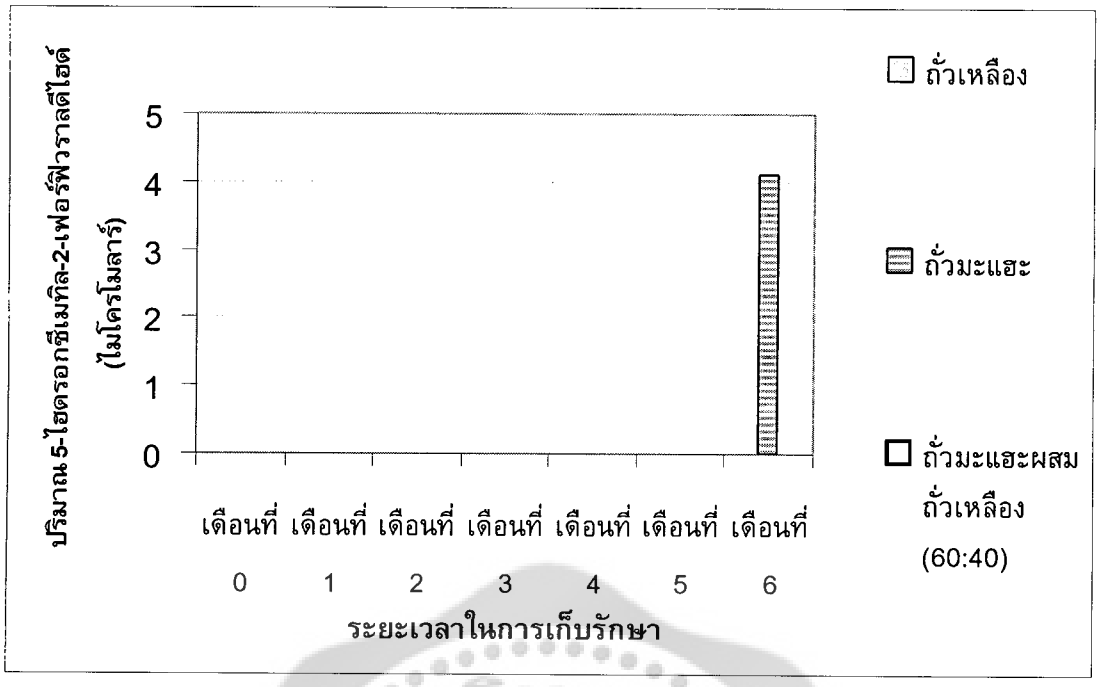
ภาพประกอบ 15 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 16 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน



ภาพประกอบ 16 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 14 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน



ภาพประกอบ 17 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 12 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน

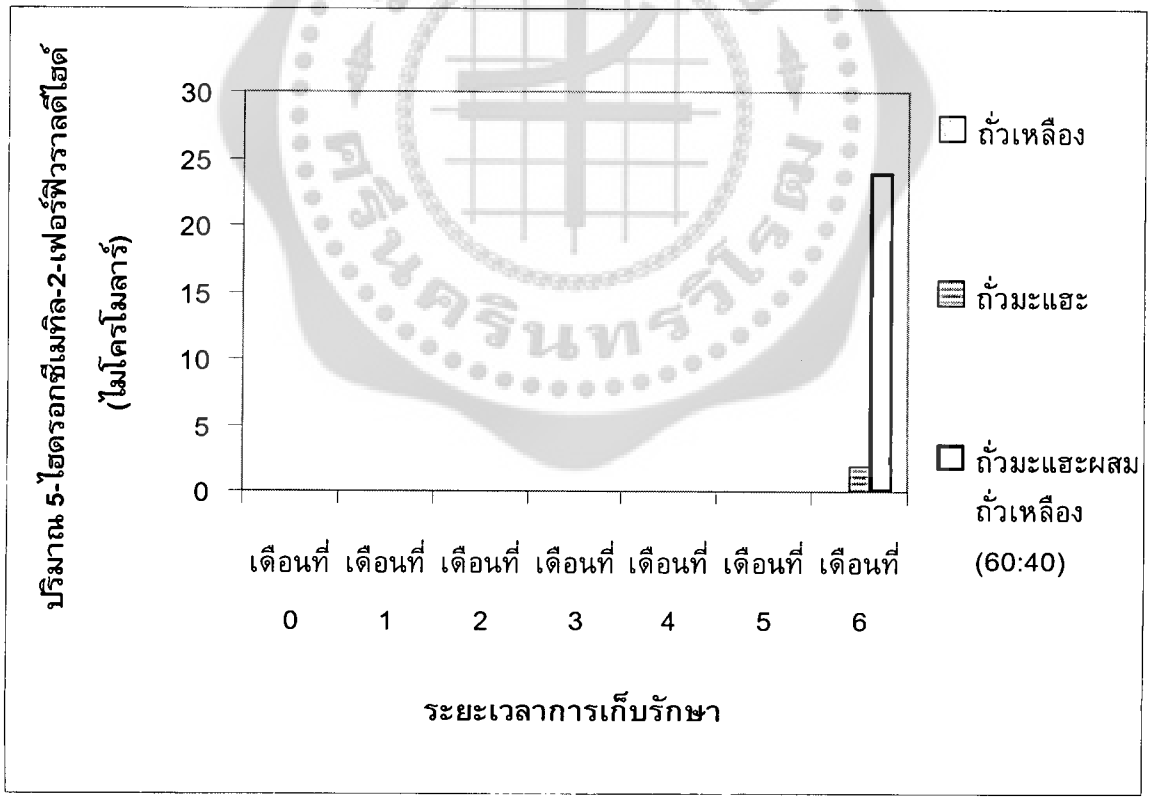


ภาพประกอบ 18 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 10 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน

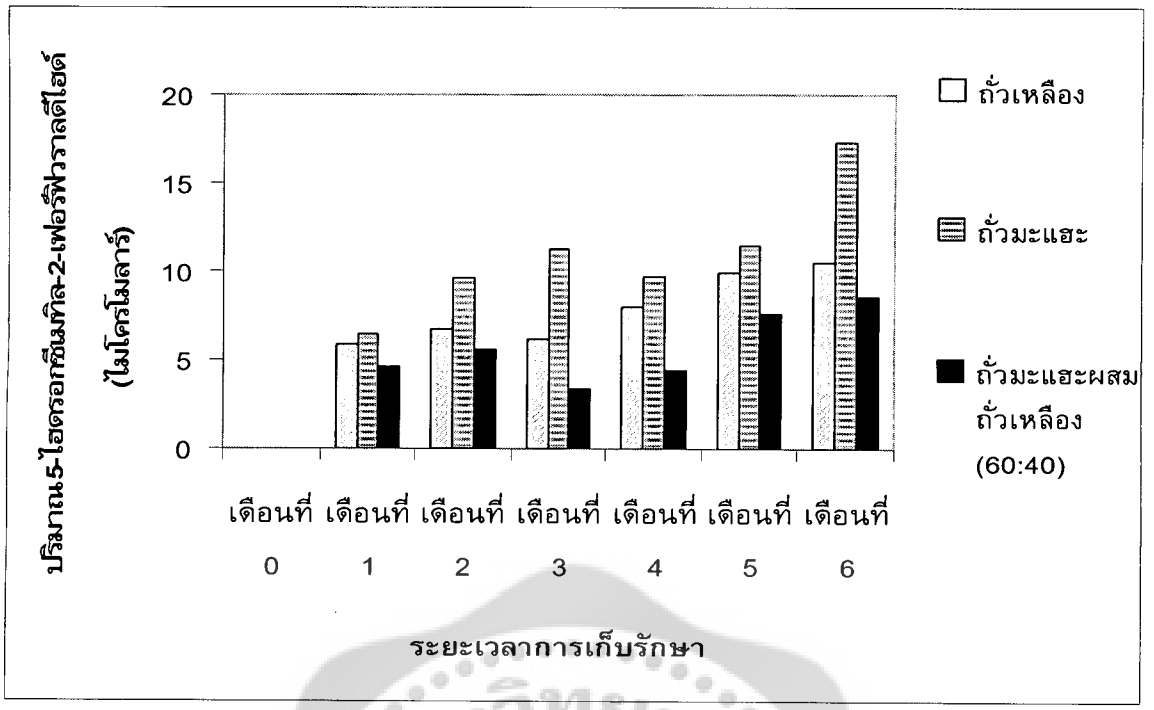
จากภาพประกอบ 13 – 18 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วน และถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง แต่กลุ่มหมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 18 16 14 12 และ 10 เก็บที่อุณหภูมิห้อง พบว่าซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลือง พบอยู่ในช่วง 0.00 – 36.67 ไมโครโมลาร์ ถั่วมะแฮะล้วน พบในช่วง 0.00 – 40.00 ไมโครโมลาร์ และถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง พบในช่วง 0.00 – 27.46 ไมโครโมลาร์ เมื่อวิเคราะห์ผลการศึกษาพบว่าซีอิ๊วที่หมักด้วยน้ำเกลือทุกความเข้มข้นจะตรวจไม่พบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในระยะเริ่มต้น และจะเริ่มตรวจเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น เมื่อพิจารณาตามความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ใช้ในการหมักพบว่า ซีอิ๊วที่หมักด้วยน้ำเกลือเข้มร้อยละ 20 ที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วนจะเริ่มตรวจตั้งแต่เดือนที่ 4 – 6 ซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วนจะเริ่มตรวจพบตั้งแต่เดือนที่ 3 – 6 และซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองจะตรวจพบในเดือนที่ 6 เท่านั้น และพบว่าปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ที่ตรวจพบในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วนจะตรวจพบปริมาณมากที่สุด ซีอิ๊วที่หมักด้วยน้ำเกลือเข้มร้อยละ 18 ที่เตรียมได้จากถั่วทั้ง 3 กลุ่ม เริ่มตรวจพบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ตั้งแต่เดือนที่ 1 – 6 และพบว่าปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ที่ตรวจพบในซีอิ๊วที่เตรียมจากมะแฮะล้วนจะตรวจพบปริมาณมากที่สุด ซีอิ๊วที่หมักด้วยน้ำเกลือเข้มร้อยละ 16 ที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วนจะตรวจไม่พบสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วนจะเริ่มตรวจพบตั้งแต่เดือนที่ 1 – 6 และซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองจะเริ่มตรวจพบตั้งแต่เดือนที่ 5 – 6 และพบว่าปริมาณ

สารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ที่ตรวจพบในซีอิ๊วที่เตรียมจากมะแฮะล้วนจะตรวจพบปริมาณมากที่สุด ซีอิ๊วที่หมักด้วยน้ำเกลือเข้มร้อยละ 14 และ 12 ที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง จะตรวจไม่พบสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ตลอดระยะการเก็บรักษา ส่วนซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะจะเริ่มตรวจพบตั้งแต่เดือนที่ 1 – 6 และซีอิ๊วที่หมักด้วยน้ำเกลือเข้มร้อยละ 10 ที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง จะตรวจไม่พบสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ตลอดระยะการเก็บรักษา ส่วนซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะจะตรวจพบเฉพาะในเดือนที่ 6 เท่านั้น และจากผลการวิเคราะห์ข้อมูลของซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร พบว่าซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะจะตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ปริมาณสูงสุด และถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองพบในปริมาณสารต่ำที่สุด ดังแสดงให้เห็นชัดเจนในตาราง 6

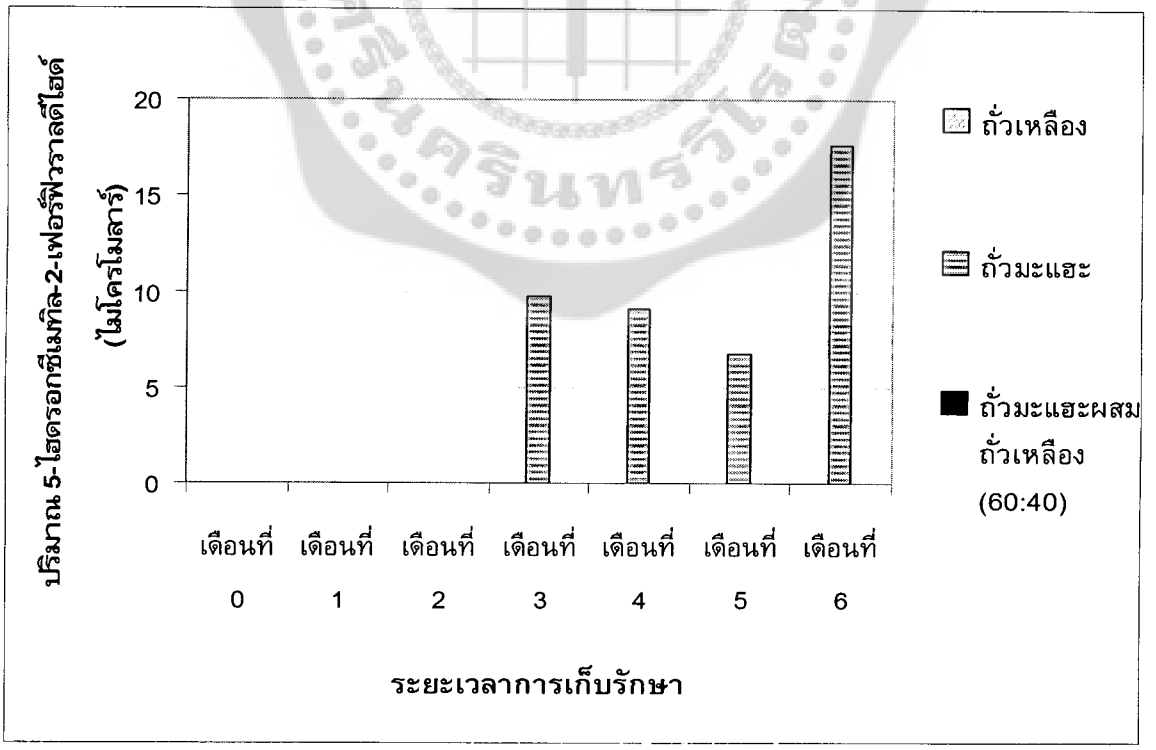
จากผลการศึกษาปริมาณการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ที่พบในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วต่างชนิดกัน 3 กลุ่ม คือ ถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วน และถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง ซึ่งหมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 18 16 14 12 และ10 ที่เก็บในตู้เย็น แสดงดังภาพประกอบ 19 – 24



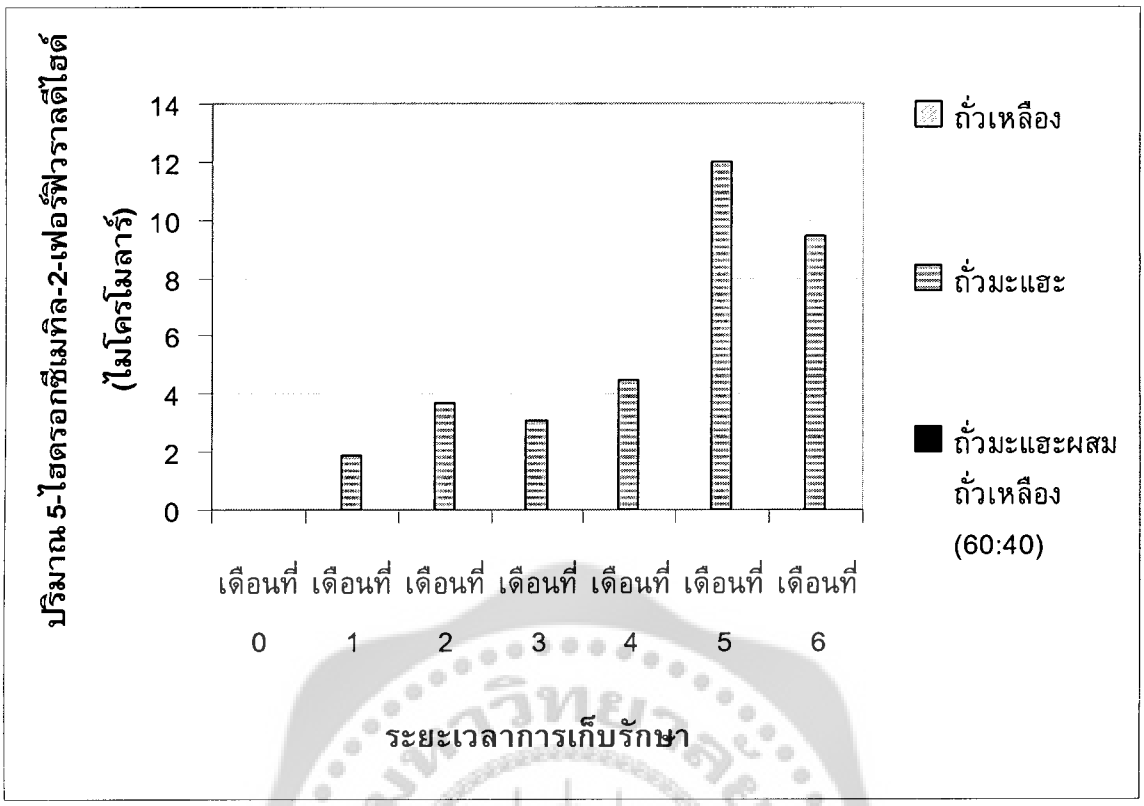
ภาพประกอบ 19 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน



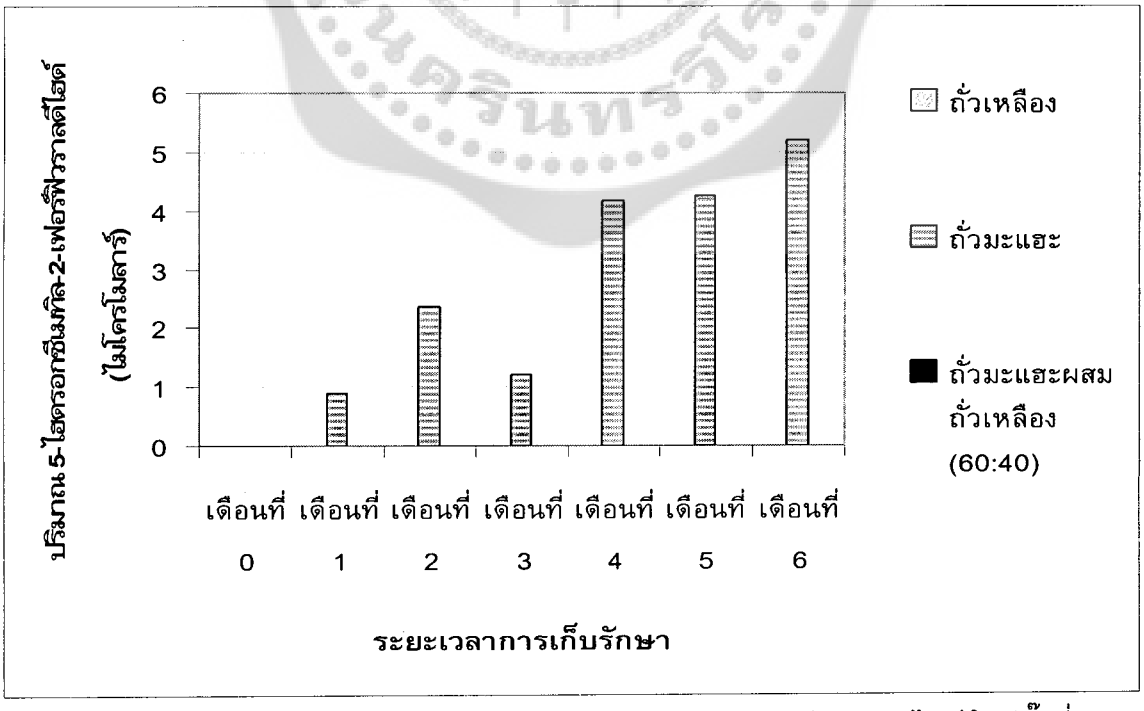
ภาพประกอบ 20 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 18 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน



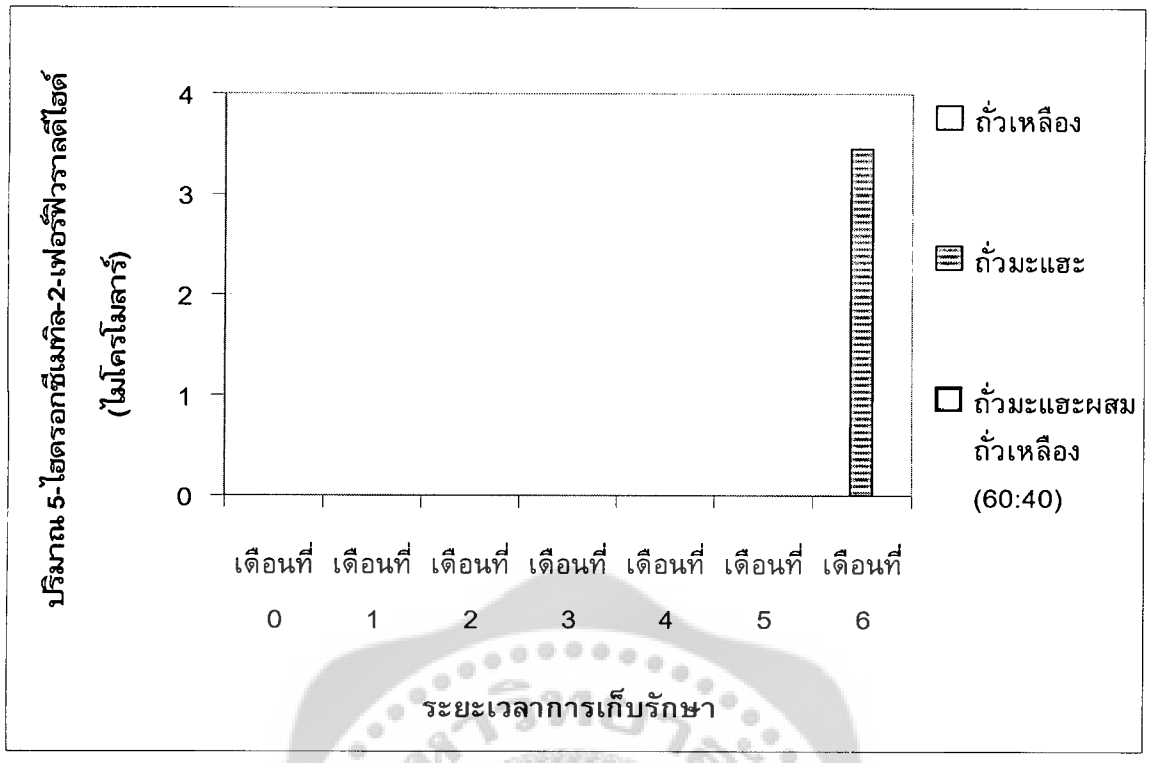
ภาพประกอบ 21 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 16 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน



ภาพประกอบ 22 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 14 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน



ภาพประกอบ 23 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 12 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน



ภาพประกอบ 24 แสดงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง หมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 10 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน

จากภาพประกอบ 19 – 24 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วน และถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง แต่กลุ่มหมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 18 16 14 12 และ 10 เก็บที่อุณหภูมิห้อง พบว่าซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลือง พบอยู่ในช่วง 0.00 – 10.51 ไมโครโมลาร์ ถั่วมะแฮะล้วน พบในช่วง 0.00 – 17.67 ไมโครโมลาร์ และถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง พบในช่วง 0.00 – 23.92 ไมโครโมลาร์

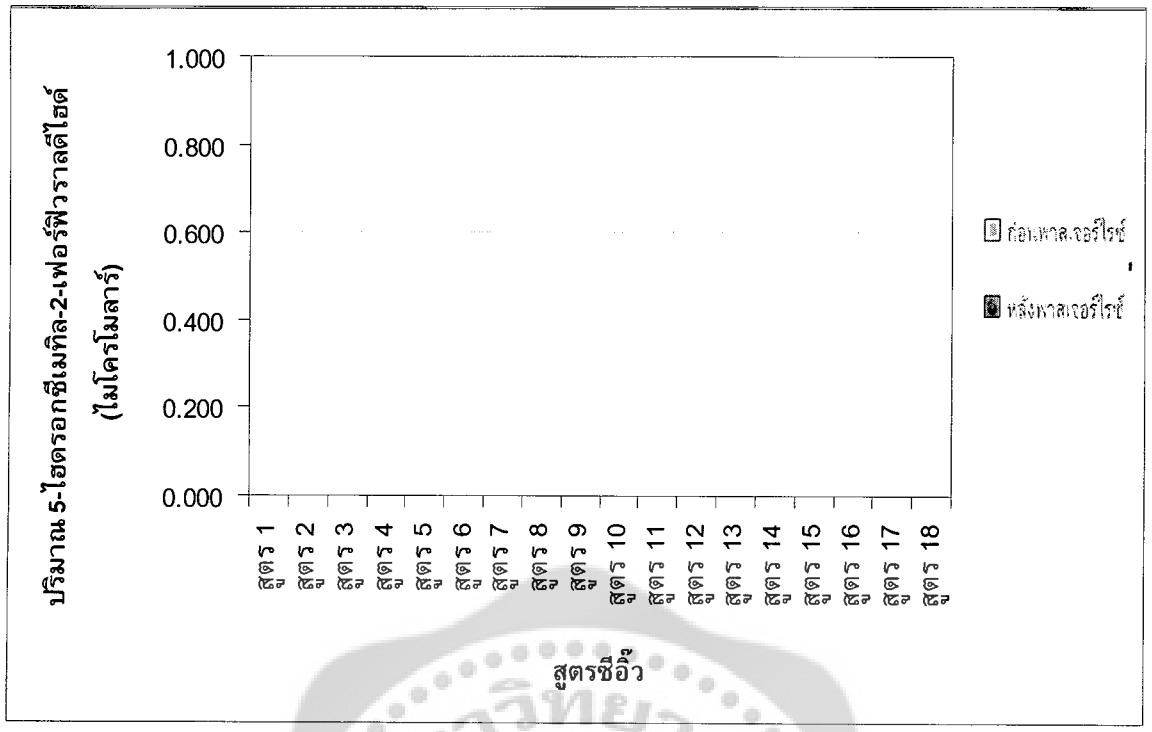
จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วทั้ง 3 กลุ่ม พบว่าซีอิ๊วที่หมักด้วยน้ำเกลือทุกความเข้มข้นจะตรวจไม่พบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในระยะเริ่มต้น และจะเริ่มตรวจพบเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น เมื่อพิจารณาตามความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ใช้ในการหมักผลการศึกษาดังนี้ ซีอิ๊วที่หมักด้วยน้ำเกลือเข้มร้อยละ 20 ที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วนจะตรวจไม่พบตลอดช่วงการเก็บรักษา ส่วนซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน ถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง จะตรวจพบในเดือนที่ 6 เท่านั้น และพบว่าปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ที่ตรวจพบในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วนจะตรวจพบปริมาณมากที่สุด ซีอิ๊วที่หมักด้วยน้ำเกลือเข้มร้อยละ 18 ที่เตรียมได้จากถั่วทั้ง 3 กลุ่มจะเริ่มตรวจพบตั้งแต่เดือนที่ 1 – 6 และพบว่าปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ที่ตรวจพบในซีอิ๊วที่เตรียมจากมะแฮะล้วนจะตรวจพบปริมาณมากที่สุด ซีอิ๊วที่หมักด้วยน้ำเกลือเข้มร้อยละ 16 ที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง จะตรวจไม่พบสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-

เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วนจะเริ่มตรวจพบตั้งแต่เดือนที่ 3 - 6 ซีอิ๊วที่หมักด้วยน้ำเกลือเข้มร้อยละ 14 และ 12 ที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง จะตรวจไม่พบสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ตลอดระยะการเก็บรักษา ส่วนซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะจะเริ่มตรวจพบตั้งแต่เดือนที่ 1 – 6 และซีอิ๊วที่หมักด้วยน้ำเกลือเข้มร้อยละ 10 ที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง จะตรวจไม่พบสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ตลอดระยะการเก็บรักษา ส่วนซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะจะตรวจพบเฉพาะในเดือนที่ 6 เท่านั้น และจากผลการวิเคราะห์ข้อมูลของซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร เก็บรักษาในตู้เย็น พบว่าซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองจะตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ปริมาณสูงสุด และถั่วเหลืองพบในปริมาณสารต่ำที่สุดดังแสดงให้เห็นชัดเจนในตาราง 7

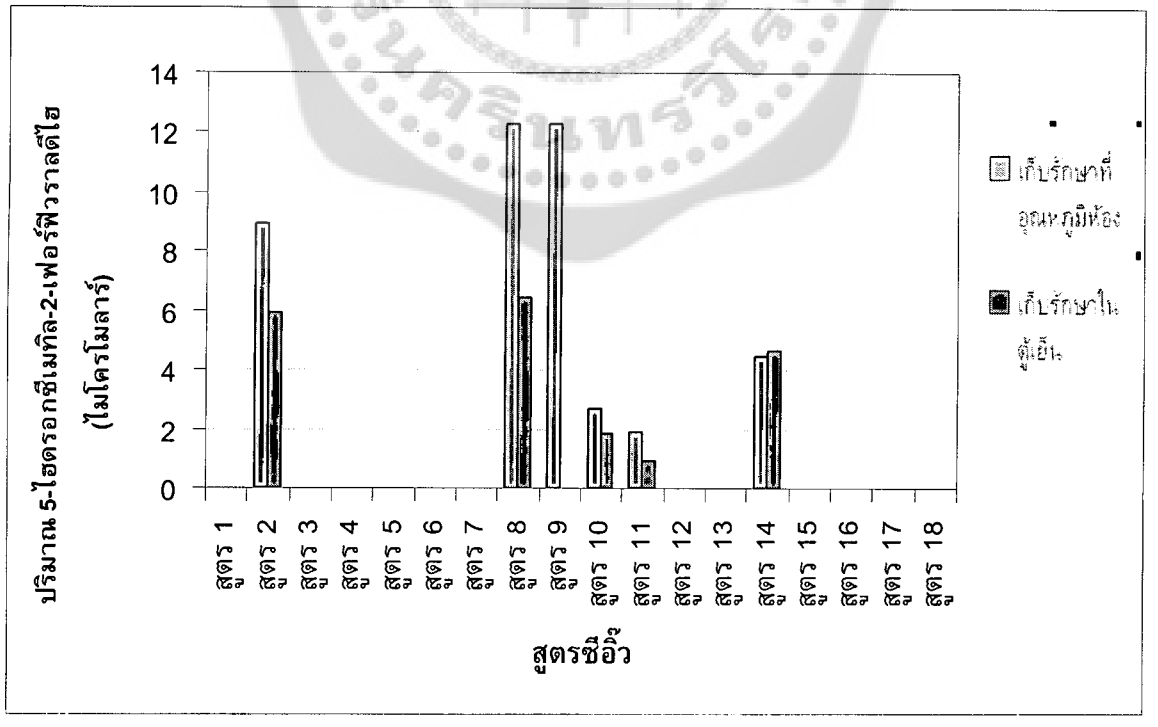
จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลจากภาพประกอบ 13 - 24 ว่าซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่ว 3 กลุ่ม คือ ถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วน และถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง ซึ่งแต่ละกลุ่มหมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้น 20 18 16 14 12 และ 10 เมื่อทำการพาสเจอร์ไรซ์ แบ่งเป็น 2 ชุด แล้วนำไปเก็บรักษาที่สภาวะแตกต่างกันคือ ที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น พบว่าซีอิ๊วเตรียมจากถั่วต่างชนิดกันจะตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในปริมาณที่แตกต่างกัน คือ ซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วนจะตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในปริมาณมากที่สุด พบในช่วง 0.00 - 40.00 ไมโครโมลาร์ รองลงมาซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลือง พบในช่วง 0.00 – 36.67 ไมโครโมลาร์ และซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองจะตรวจพบในปริมาณน้อยที่สุด พบในช่วง 0.00 – 27.47 ไมโครโมลาร์

ผลการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของน้ำเกลือมีผลต่อการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ของซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วทั้ง 3 กลุ่ม คือ น้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 เริ่มต้นจะตรวจไม่พบและจะเริ่มตรวจพบตั้งแต่เดือนที่ 3 – 6 น้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 18 จะเริ่มตรวจพบตั้งแต่เดือนที่ 1 – 6 และซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองหมักในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 16 14 12 และ 10 จะตรวจไม่พบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา ยกเว้นซีอิ๊วในกลุ่มที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วนที่หมักด้วยน้ำเกลือทุกความเข้มข้นจะตรวจพบประมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์

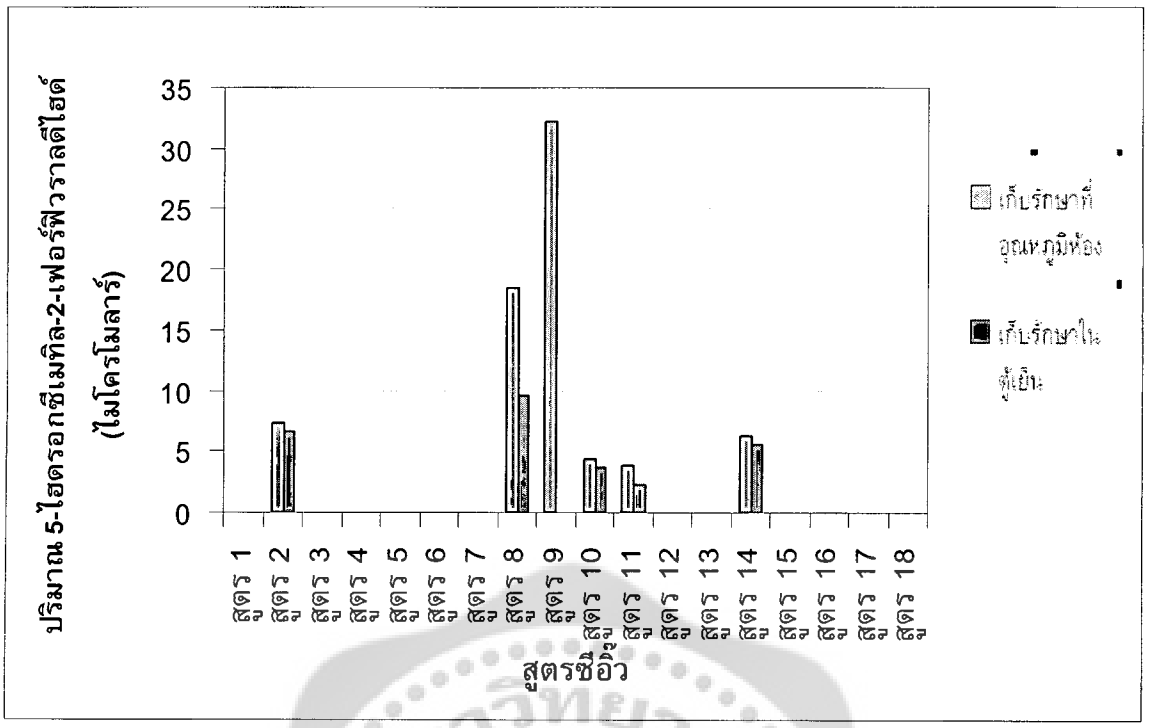
จากผลการศึกษาสภาวะการเก็บรักษาซีอิ๊วที่ สภาวะแตกต่างกัน 2 สภาวะ คือ ที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ในซีอิ๊ว 18 สูตร ที่มีผลต่อการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ทุกระยะเวลา 1 เดือน ตั้งแต่ 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน แสดงดังภาพประกอบ 25 – 31



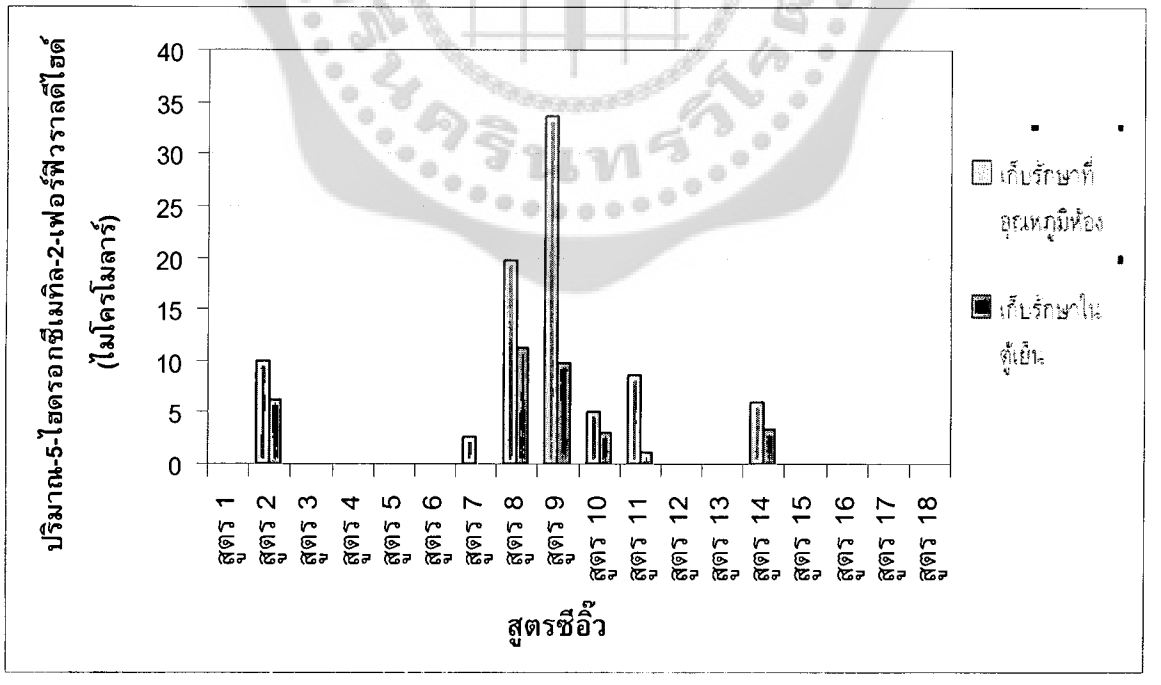
ภาพประกอบ 25 เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ที่เวลา 0 เดือน



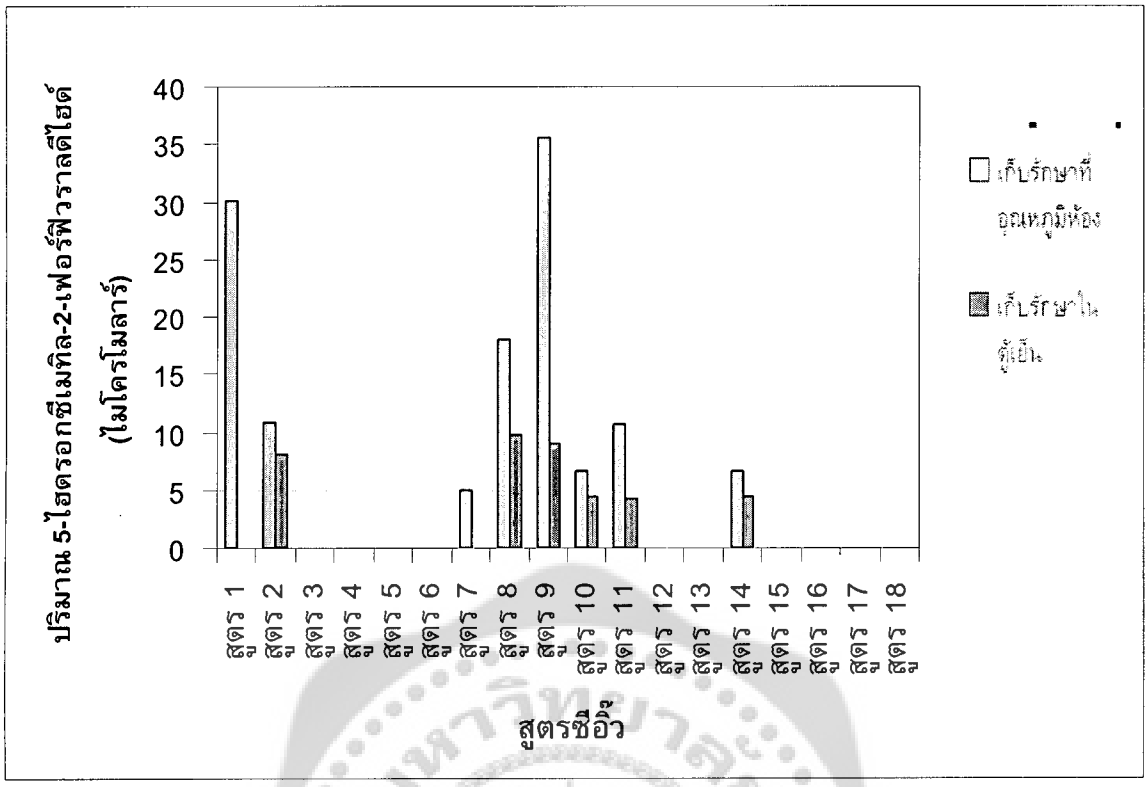
ภาพประกอบ 26 เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ที่เวลา 1 เดือน



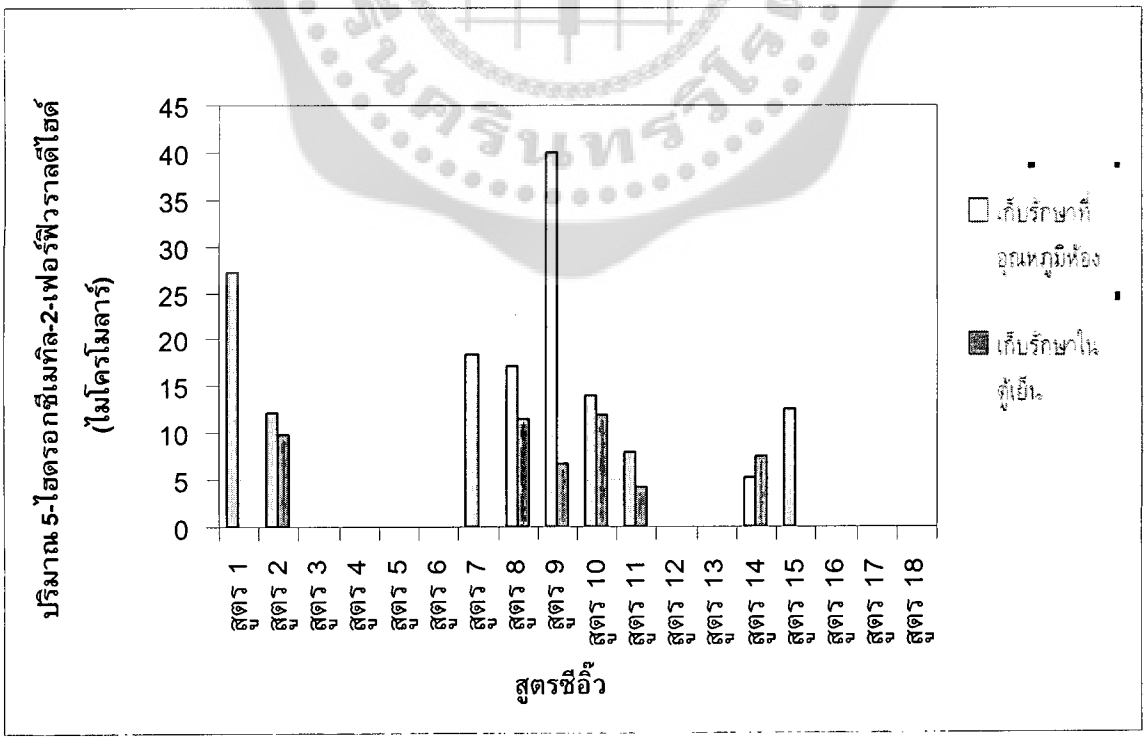
ภาพประกอบ 27 เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ที่เวลา 2 เดือน



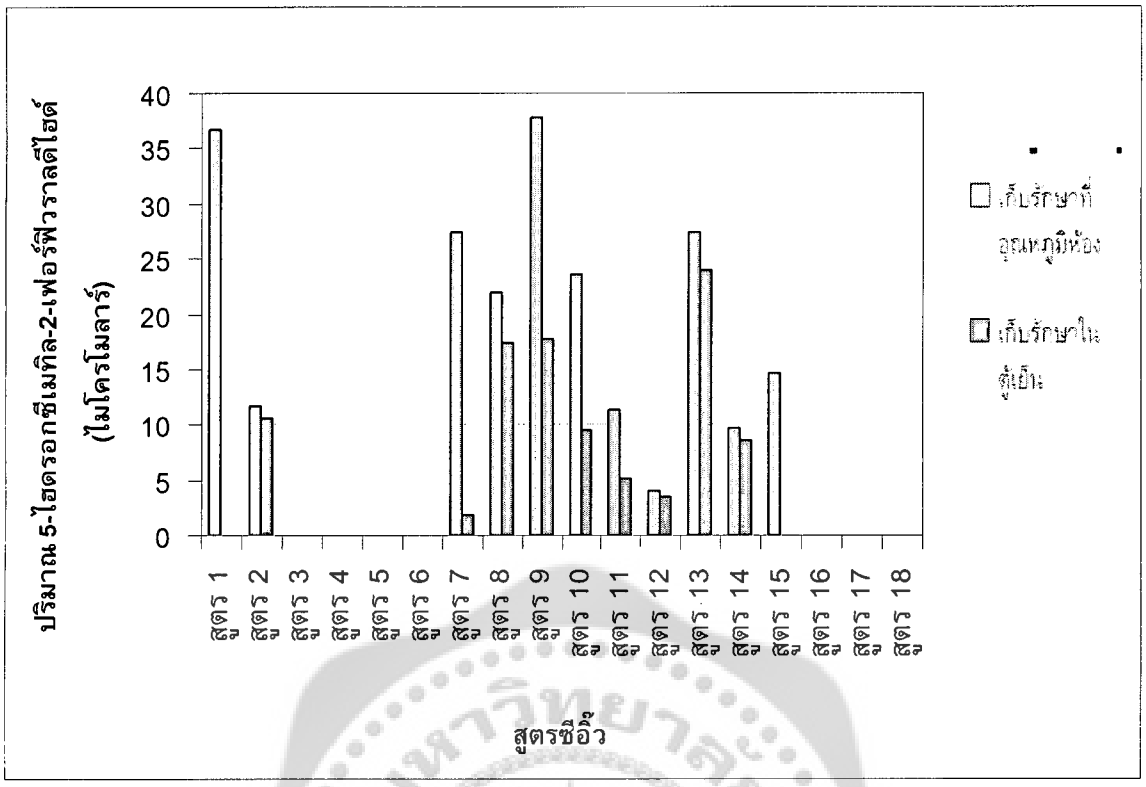
ภาพประกอบ 28 เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ที่เวลา 3 เดือน



ภาพประกอบ 29 เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ที่เวลา 4 เดือน



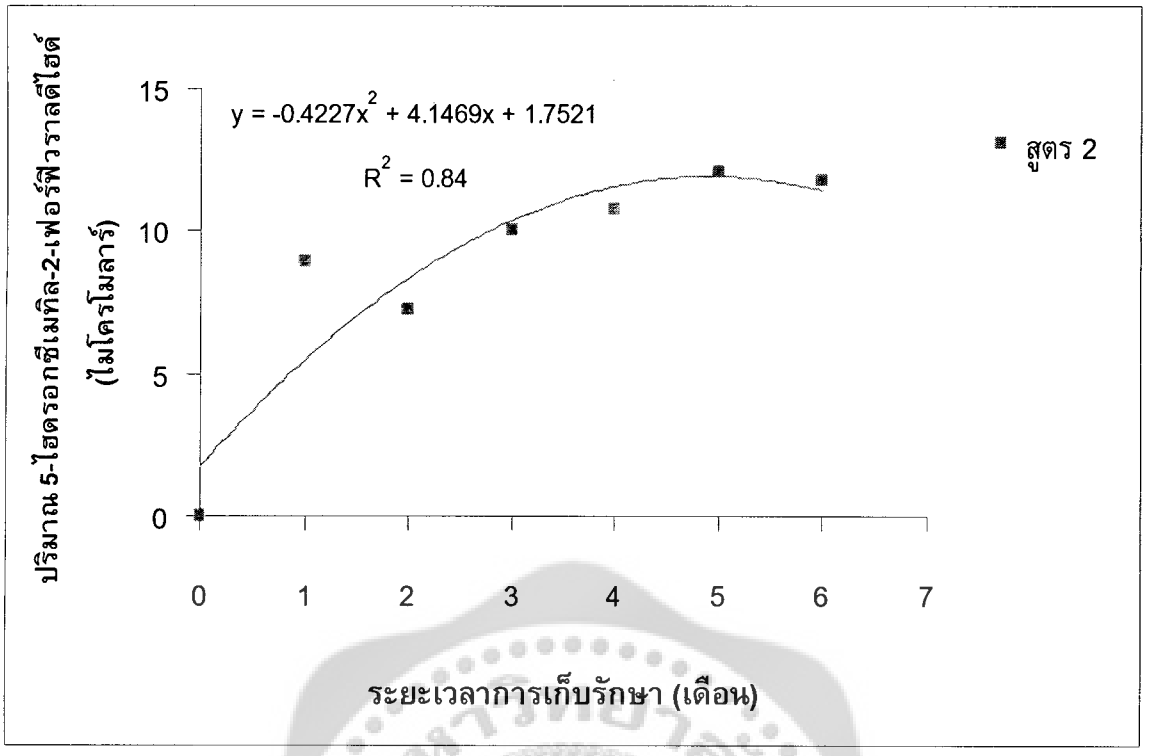
ภาพประกอบ 30 เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ที่เวลา 5 เดือน



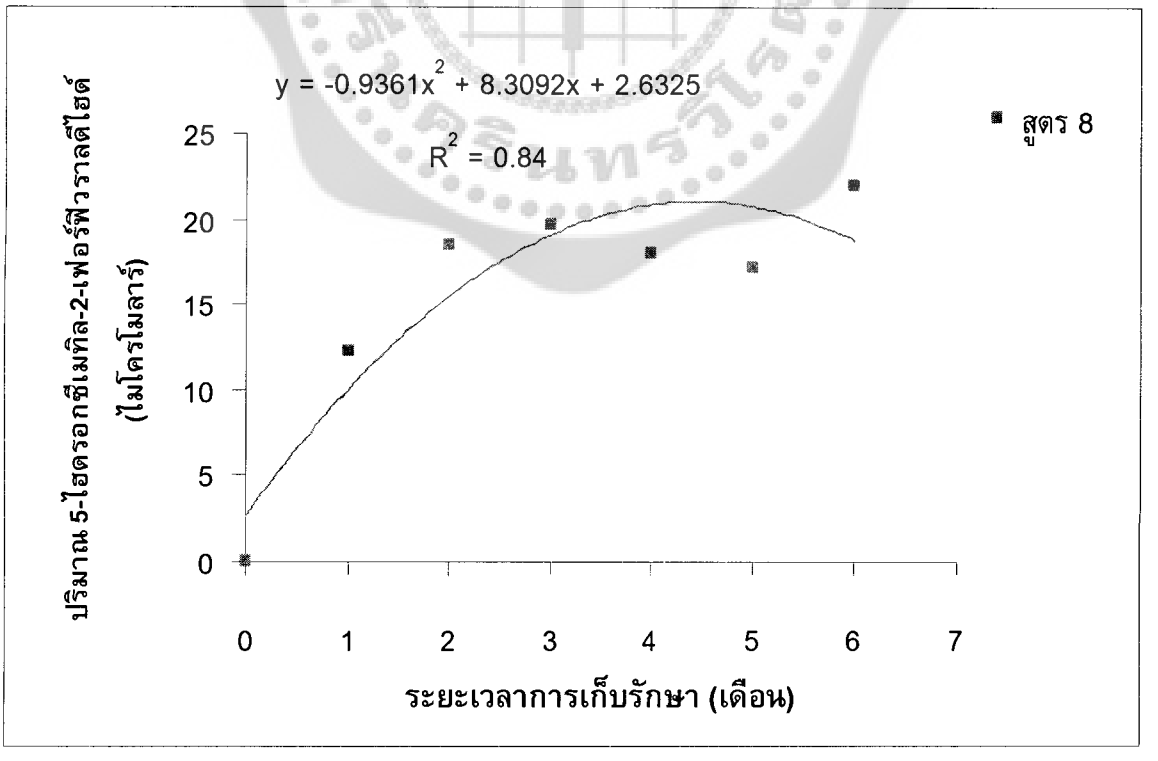
ภาพประกอบ 31 เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ที่เวลา 6 เดือน

จากภาพประกอบ 25 – 31 ผลการศึกษาสภาวะของการเก็บรักษาซีอิ๊ว ที่มีผลต่อการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เมื่อพิจารณาซีอิ๊วในสูตรเดียวกันเก็บรักษาในสภาวะแตกต่างกันพบว่า ซีอิ๊วที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องตรวจพบปริมาณของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ พบในช่วง 0.00 – 40.00 ไมโครโมลาร์ สูงกว่าปริมาณของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไอด์ ที่เก็บรักษาในตู้เย็น พบในช่วง 0.00 – 23.92 ไมโครโมลาร์ และพบว่าปริมาณของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในระยะเวลาเริ่มต้นก่อนพาสเจอร์ไรซ์และหลังพาสเจอร์ไรซ์ จะตรวจไม่พบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ แต่เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้นตั้งแต่เดือนที่ 1 - 6 จะตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น

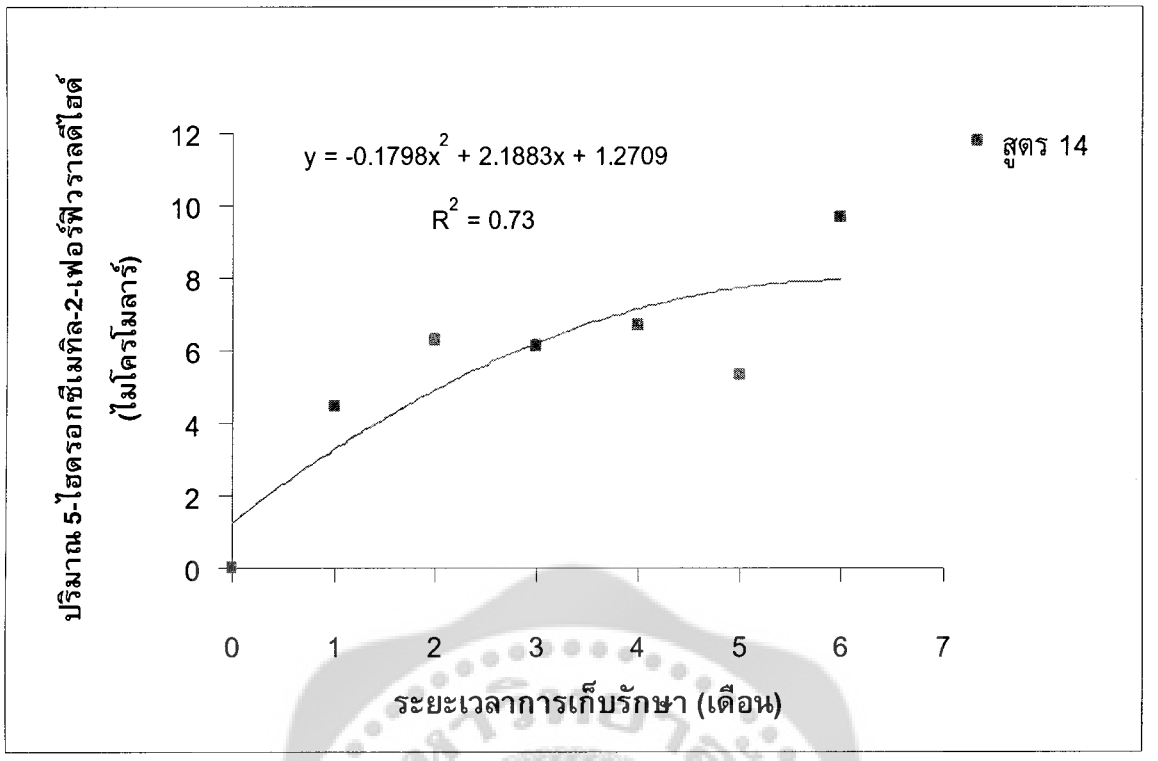
การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ กับระยะเวลาการเก็บรักษา ผู้ทำการวิจัยได้ศึกษาในซีอิ๊วสูตร 2 8 และ 14 ซึ่งเป็นตัวแทนของซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร เนื่องจากพบว่าการเกิดมีการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัด ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น โดยทำการวิเคราะห์ทุก 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือน เป็นเวลา 6 เดือน ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ กับระยะเวลา ของซีอิ๊วที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง แสดงดังภาพประกอบ 32 – 34



ภาพประกอบ 32 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ของซีอิ๊วสูตร 2 ที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน เก็บที่อุณหภูมิห้อง นาน 6 เดือน



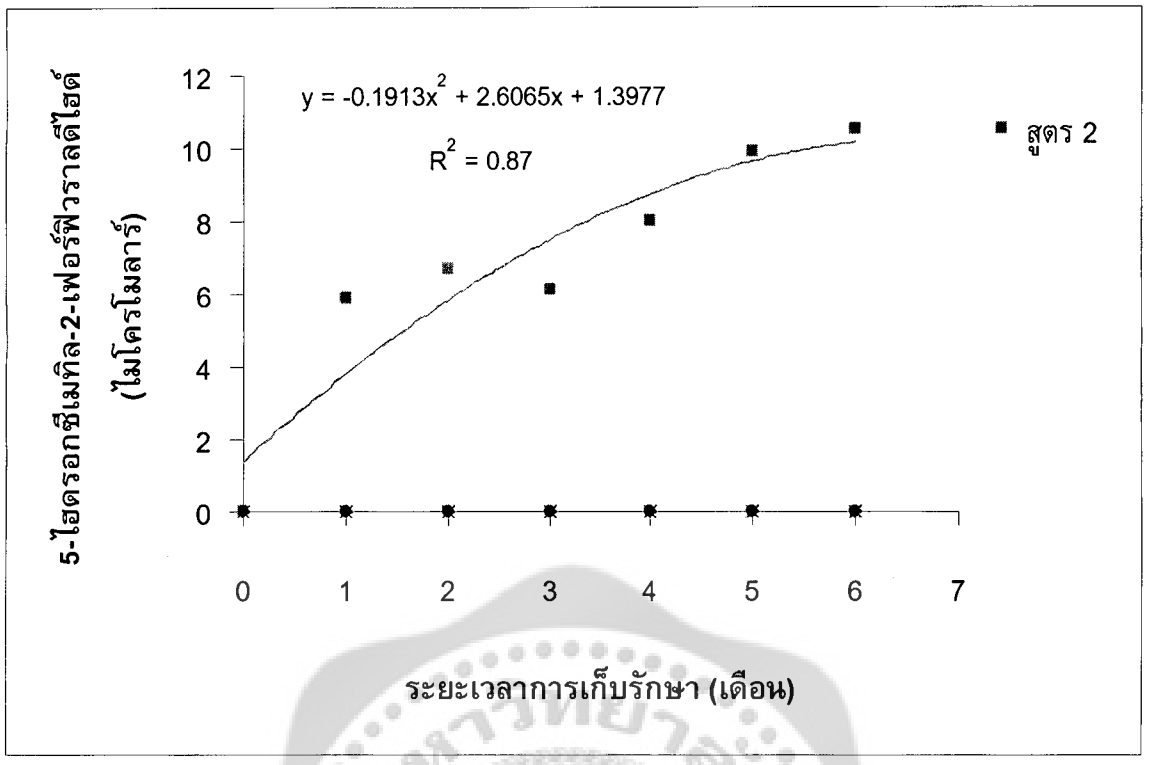
ภาพประกอบ 33 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ของซีอิ๊วสูตร 8 เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน เก็บที่อุณหภูมิห้อง นาน 6 เดือน



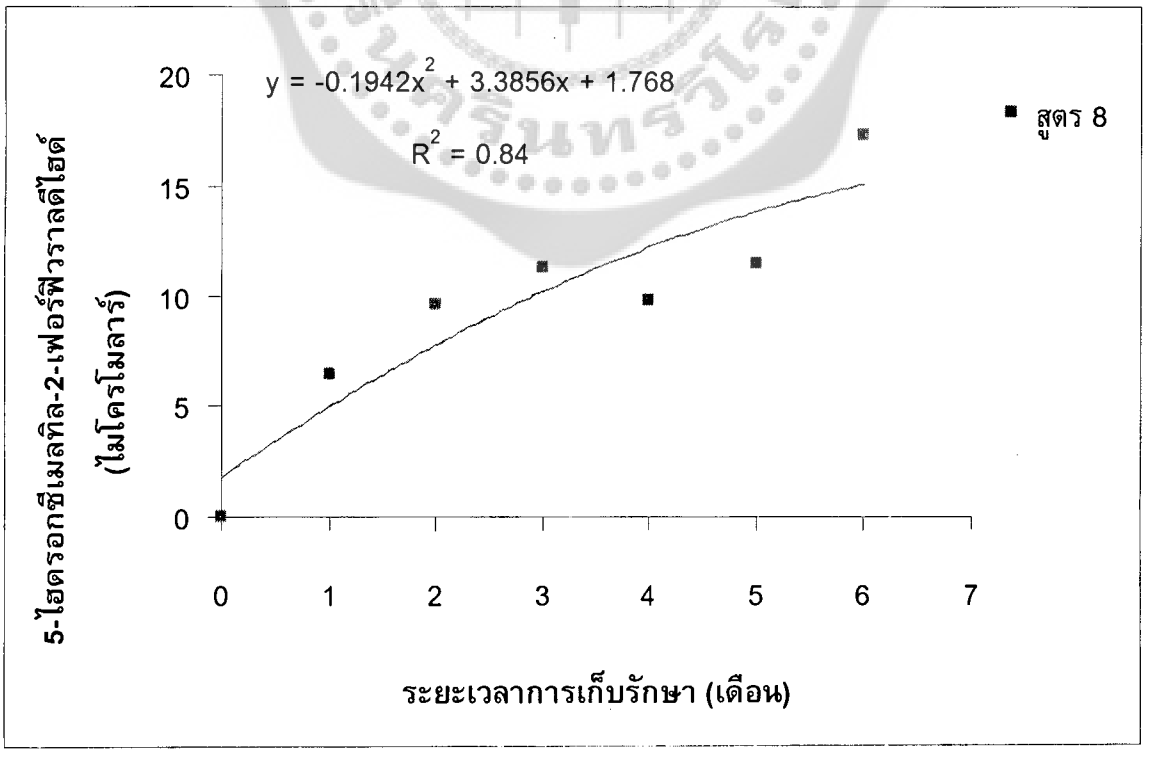
ภาพประกอบ 34 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ของซีอิ๊วสูตร 14 ที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง เก็บที่อุณหภูมิห้อง นาน 6 เดือน

จากผลศึกษาดังภาพประกอบ 32 – 34 จะเห็นว่าแนวโน้มการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ของซีอิ๊วสูตร 2 8 และ 14 โดยมีสมการของความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ กับระยะเวลาการเก็บรักษา มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) อยู่ในช่วง 0.73 – 0.84 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาการเก็บรักษา

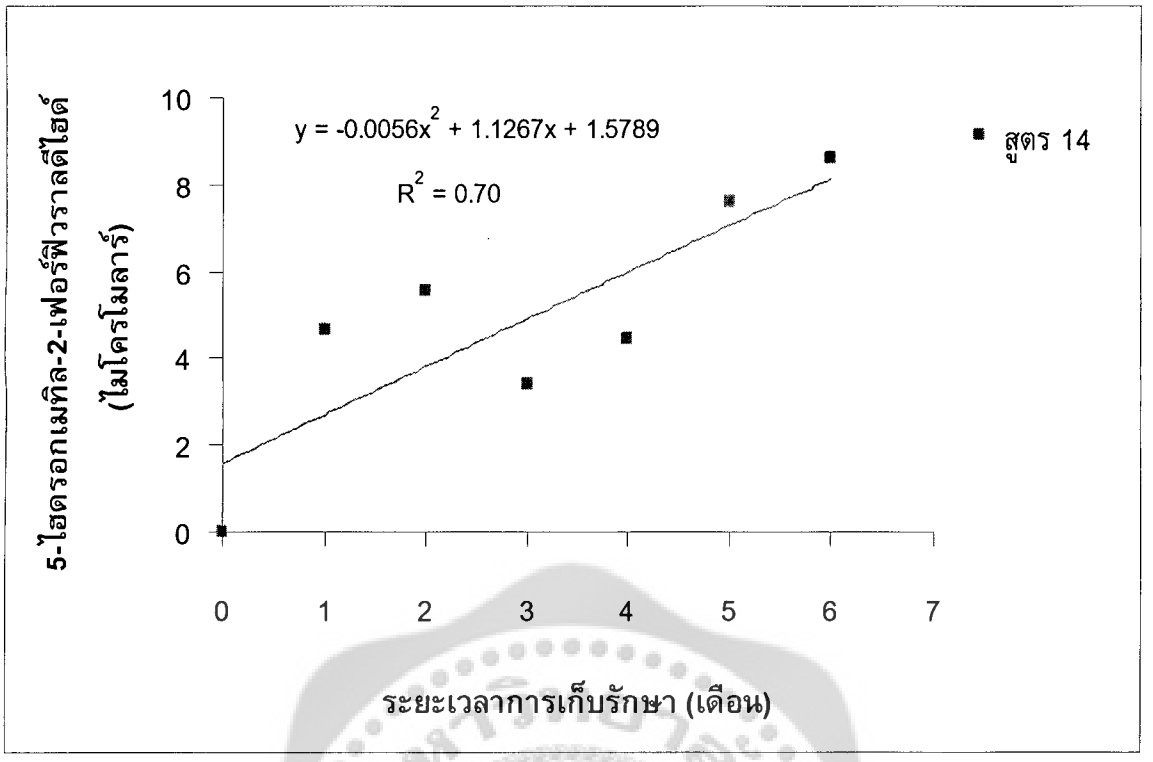
ผลการการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ กับระยะเวลาการเก็บรักษา โดยทำการวิเคราะห์ทุก 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือน เป็นเวลา 6 เดือน ของซีอิ๊วสูตร 2 8 และ14 ที่เก็บรักษาในตู้เย็น ดังแสดงในภาพประกอบ 35 - 37



ภาพประกอบ 35 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ของซีอิ๊วสูตร 2 ที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน เก็บในตู้เย็น นาน 6 เดือน



ภาพประกอบ 36 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ของซีอิ๊วสูตร 8 ที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน เก็บในตู้เย็น นาน 6 เดือน



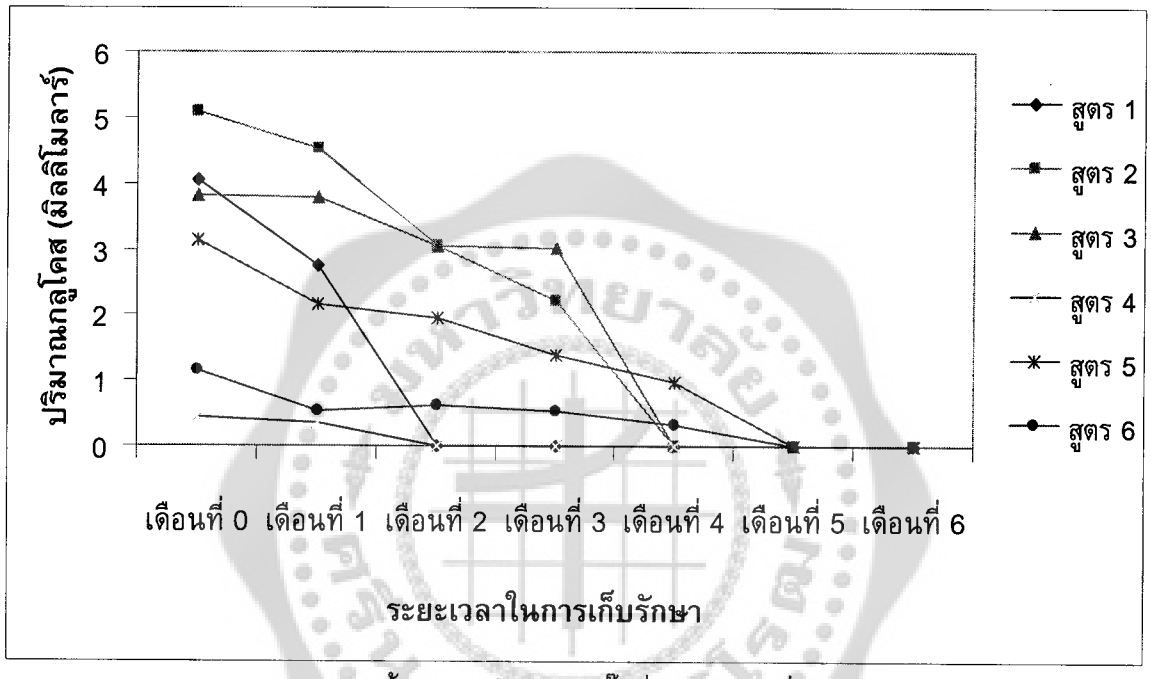
ภาพประกอบ 37 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ของซีอิ๊วสูตร 14 ที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง เก็บในตู้เย็น นาน 6 เดือน

จากผลศึกษาดังภาพประกอบ 35 - 37 จะเห็นว่าแนวโน้มการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เก็บรักษาในตู้เย็น โดยมีสมการของความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ กับระยะเวลาการเก็บรักษา มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ อยู่ในช่วง 0.70 – 0.87 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาการเก็บรักษา

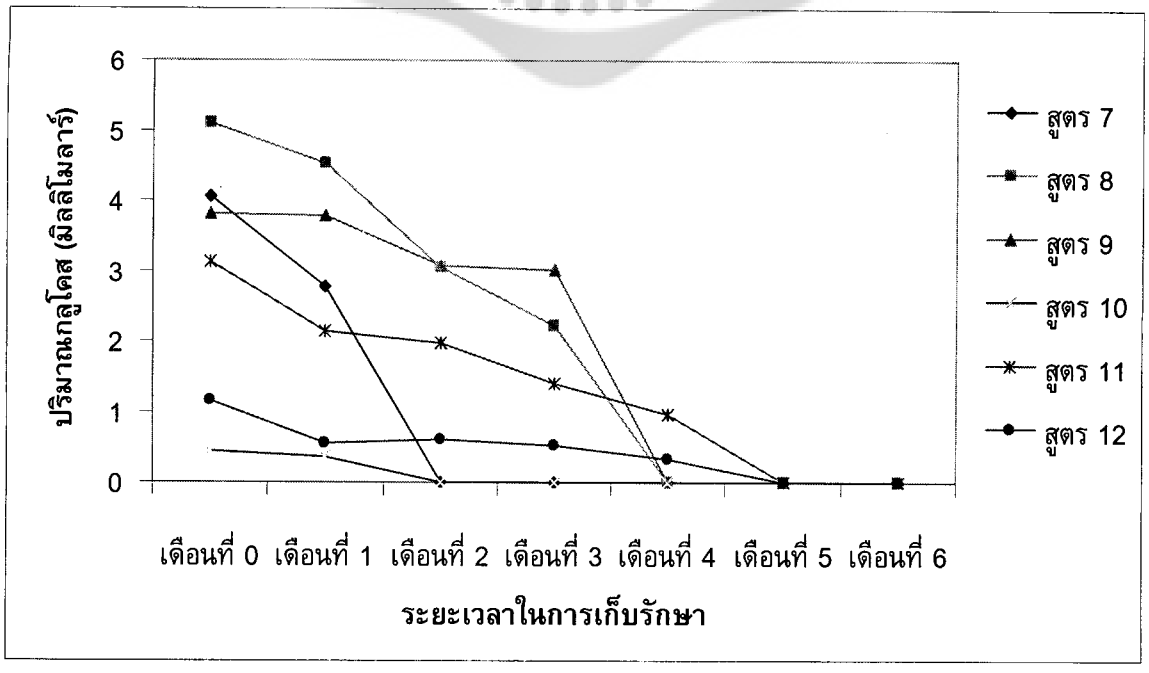
จากภาพประกอบ 32 – 37 ผลการศึกษาแนวโน้มการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ กับระยะเวลาในการเก็บรักษาของซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร ที่เก็บรักษา 2 สภาวะแตกต่างกัน คือที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น พบว่าของแต่ละสูตรเป็นแบบโพลิโนเมียล โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.70 – 0.87 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาการเก็บรักษาจริง

ตอนที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส

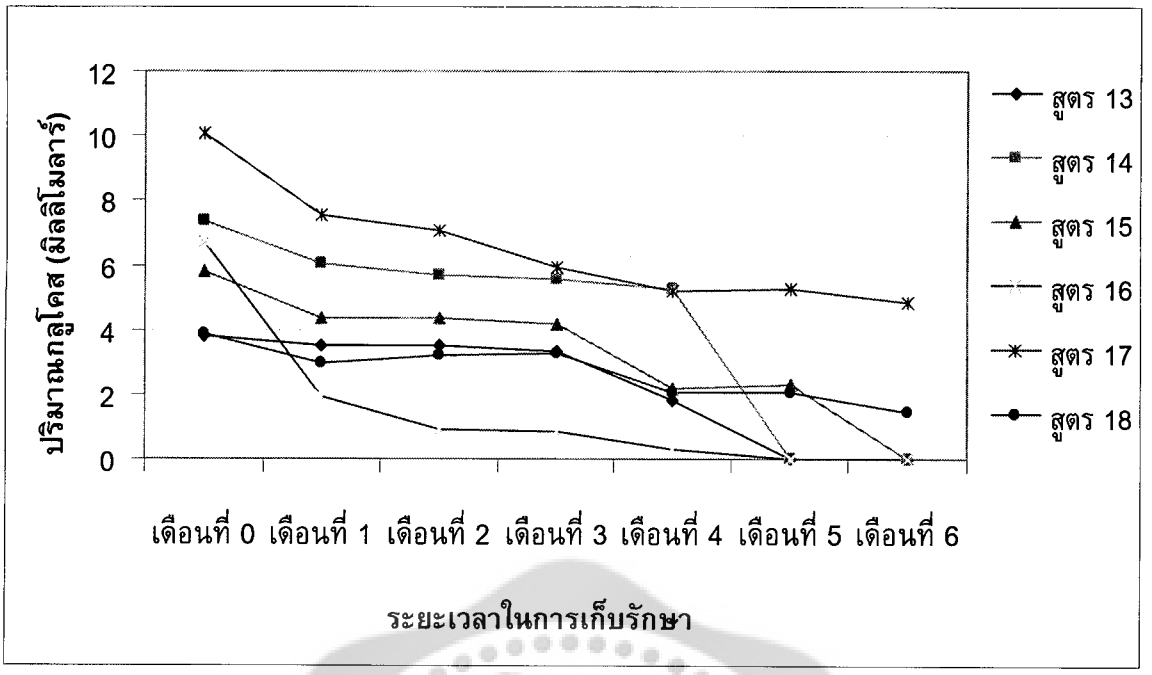
จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลกลูโคสจากซีอิ๊ว 18 สูตร ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ คือ 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือน โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ชุด และเก็บรักษาที่สภาวะแตกต่างกัน คือ อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูง ผลการวิเคราะห์นำความสูงของพีคเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน ผลการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลกลูโคสในซีอิ๊วที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง ทั้ง 18 สูตร ทำการวิเคราะห์เป็นเวลา 6 เดือน แสดงดังภาพประกอบ 38 - 40



ภาพประกอบ 38 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน



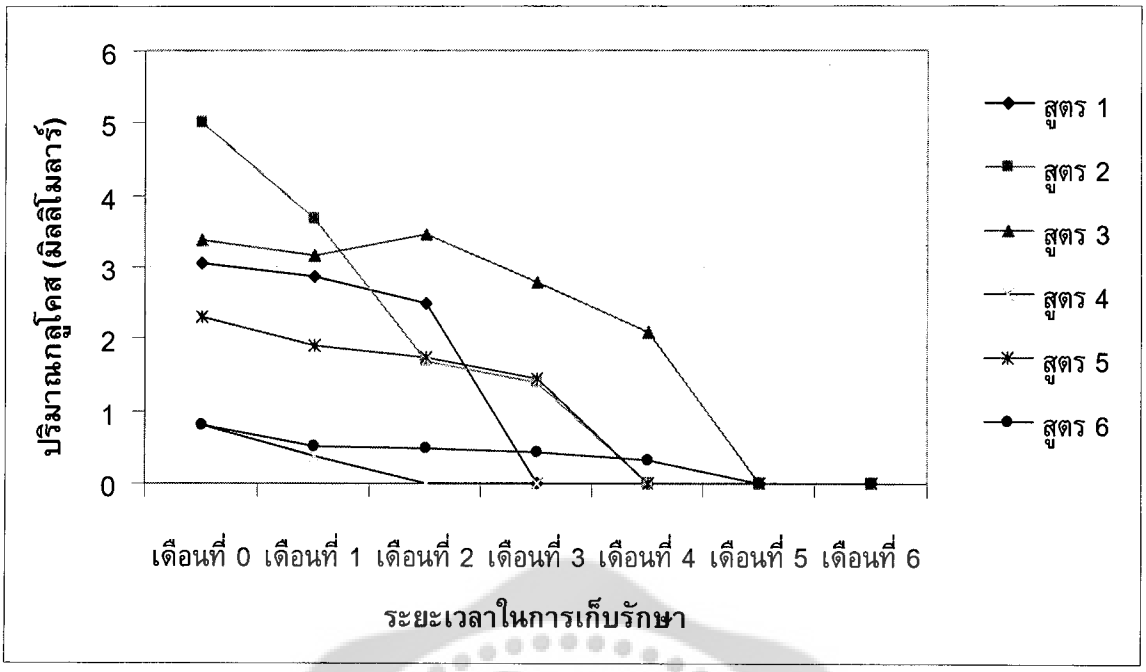
ภาพประกอบ 39 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน



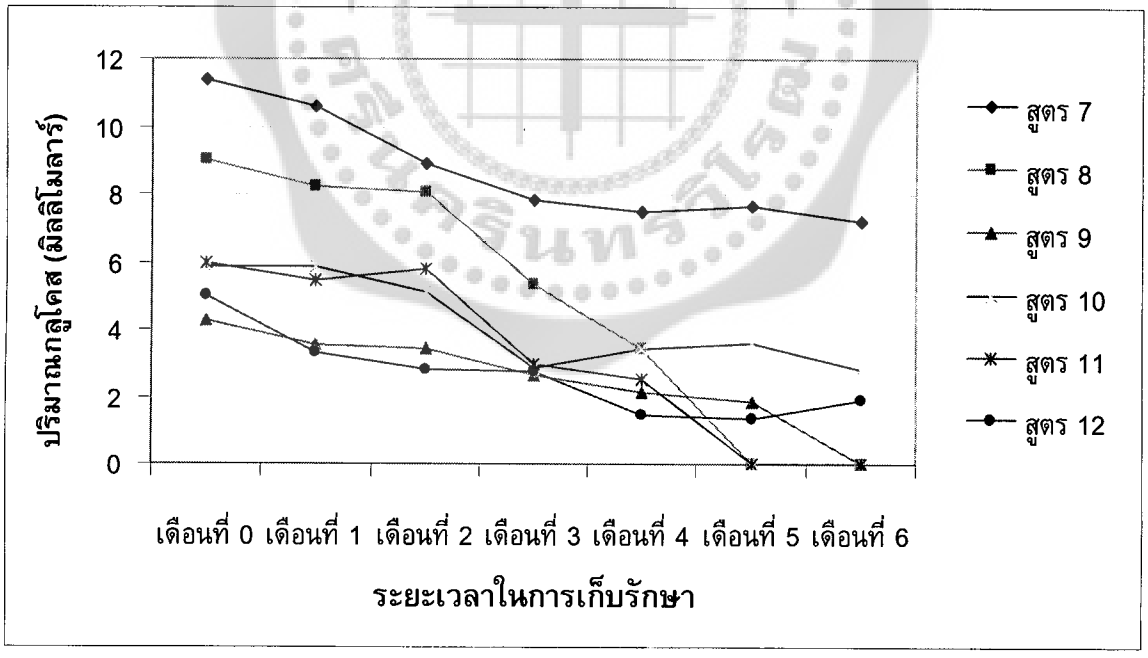
ภาพประกอบ 40 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง ในอัตราส่วน 60:40 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน

จากภาพประกอบ 38 – 40 จากผลการศึกษาพบว่าซีอิ๊วที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ทั้ง 18 สูตร ตรวจพบปริมาณของน้ำตาลกลูโคส อยู่ในช่วง 0.000 – 17.53 มิลลิโมลาร์ และซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วนคือ สูตร 1 – สูตร 6 พบปริมาณน้ำตาลกลูโคสอยู่ในช่วง 0.00 – 5.09 มิลลิโมลาร์ ซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน คือ สูตร 7 – สูตร 12 พบปริมาณน้ำตาลกลูโคสอยู่ในช่วง 0.00 – 17.53 มิลลิโมลาร์ และซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง คือ สูตร 13 – สูตร 18 พบปริมาณน้ำตาลกลูโคสอยู่ในช่วง 0.00 – 10.06 มิลลิโมลาร์ จากผลการวิเคราะห์พบว่าซีอิ๊วที่ผลิตจาก ถั่วมะแฮะล้วน ตรวจพบปริมาณของน้ำตาลกลูโคสมากที่สุด ส่วนซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วเหลืองล้วน จะตรวจพบปริมาณของน้ำตาลกลูโคสน้อยที่สุด ดังแสดงให้เห็นชัดเจนในตาราง 8

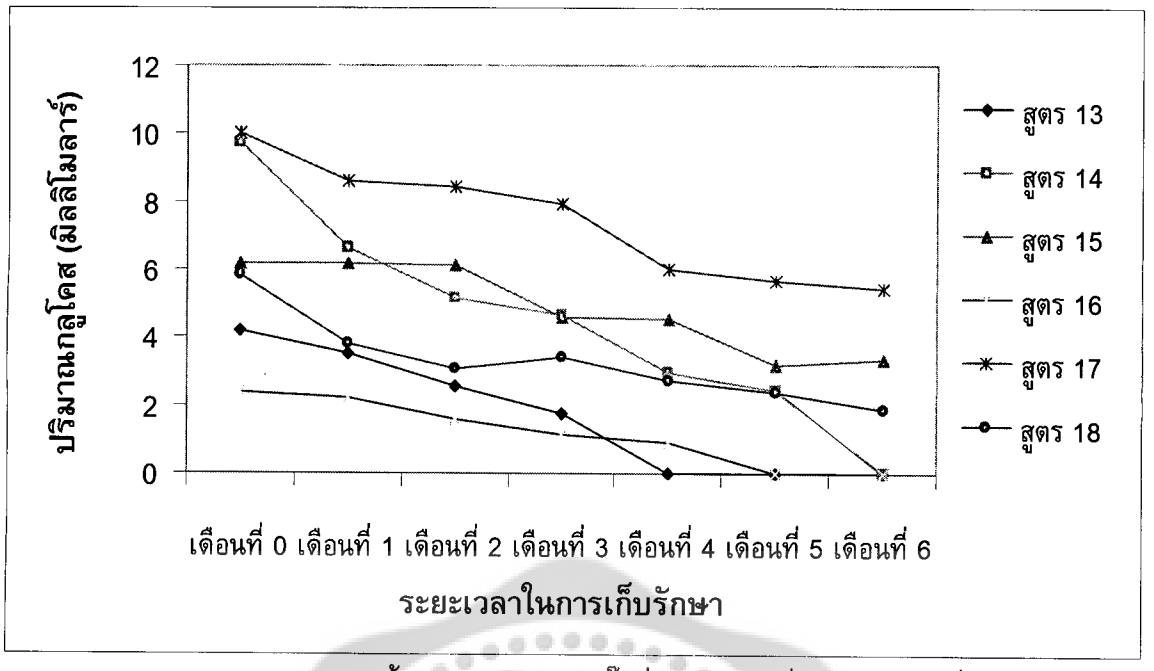
จากการศึกษาปริมาณน้ำตาลกลูโคสของซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร ที่เก็บรักษาในตู้เย็น ดังแสดงในภาพประกอบ 41 – 43



ภาพประกอบ 41 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน



ภาพประกอบ 42 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน



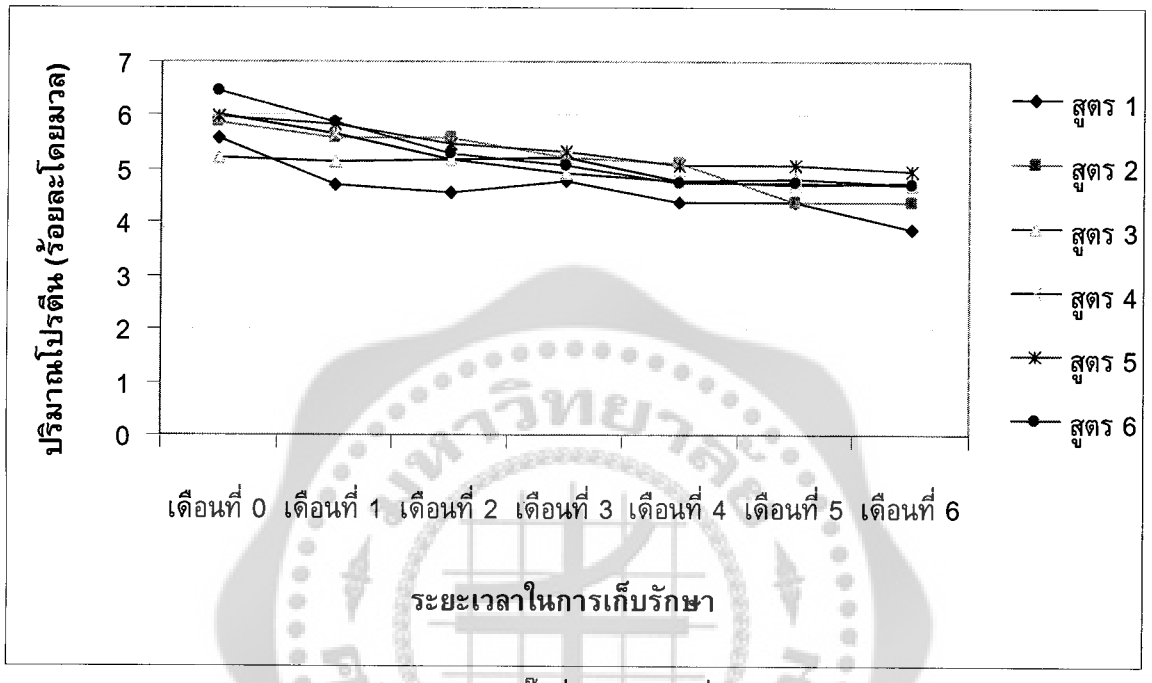
ภาพประกอบ 43 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง ในอัตราส่วน 60:40 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน

ภาพประกอบ 41 – 43 จากผลการศึกษาซีอิ๊วที่เก็บรักษาในตู้เย็น ทั้ง 18 สูตร ตรวจพบปริมาณของน้ำตาลกลูโคสอยู่ในช่วง 0.00 – 11.70 มิลลิโมลาร์ ซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วนคือ สูตร 1 – สูตร 6 ตรวจพบปริมาณน้ำตาลกลูโคสอยู่ในช่วง 0.00 – 5.00 มิลลิโมลาร์ ซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน คือสูตร 6 – สูตร 12 ตรวจพบปริมาณน้ำตาลกลูโคสอยู่ในช่วง 0.00 – 11.36 มิลลิโมลาร์ และซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง คือสูตร 13 – สูตร 18 ตรวจพบปริมาณกลูโคสอยู่ในช่วง 0.00 – 10.03 มิลลิโมลาร์ จากผลการวิเคราะห์พบว่าซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วนจะตรวจพบปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงที่สุด ส่วนซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองตรวจพบปริมาณน้ำตาลกลูโคสต่ำที่สุด ดังแสดงให้เห็นชัดเจนในตาราง 9

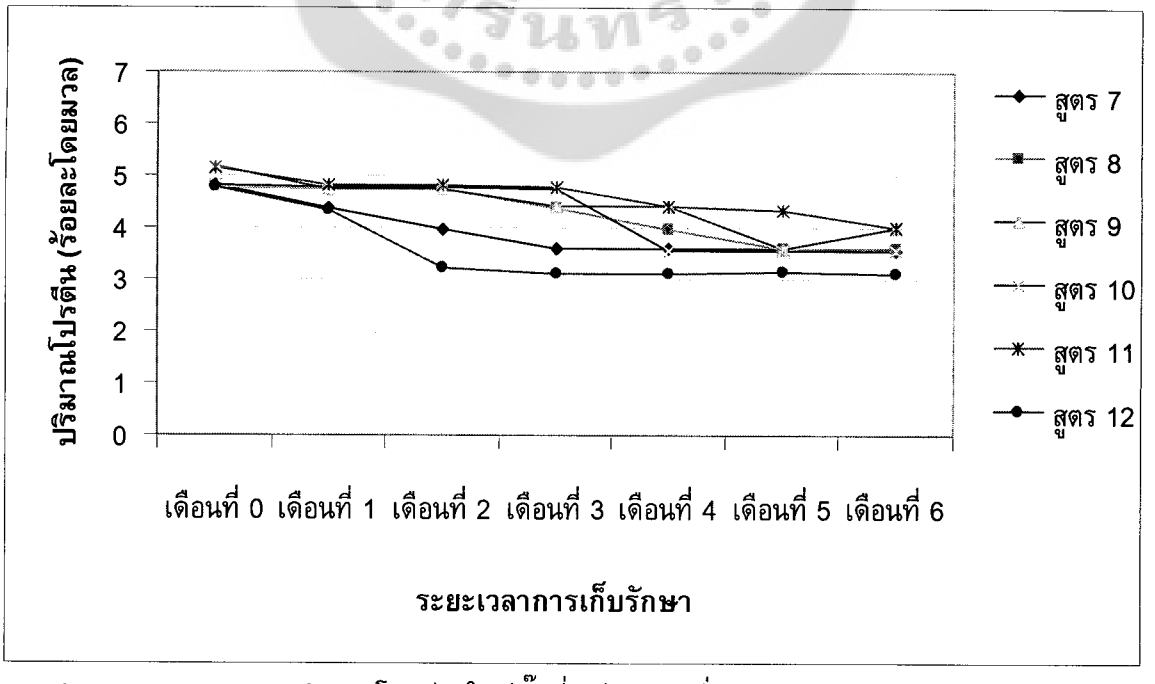
จากผลการศึกษาพบว่าซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร ทั้ง 2 ชุดการทดลอง พบปริมาณน้ำตาลกลูโคสอยู่ในช่วง 0.000 – 17.50 มิลลิโมลาร์ เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคส ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าในระยะเริ่มต้นจะตรวจพบปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงสุดเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น พบว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลงและพบในปริมาณต่ำสุดเมื่อถึงเดือนที่ 6

ตอนที่ 3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

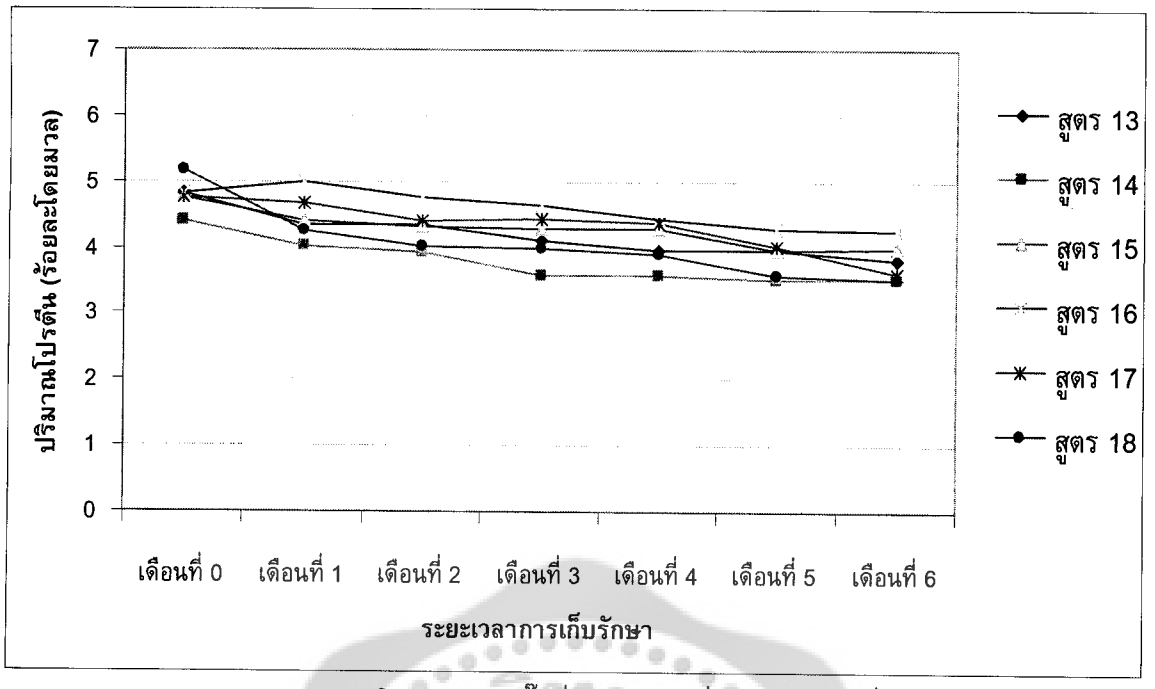
จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีน จากซีอิ๊ว 18 สูตร ที่ระยะเวลาต่างๆ คือ 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟอร์แมลไทเทรชัน ผลการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง แสดงดังภาพประกอบ 44 – 46



ภาพประกอบ 44 แสดงปริมาณโปรตีน ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน



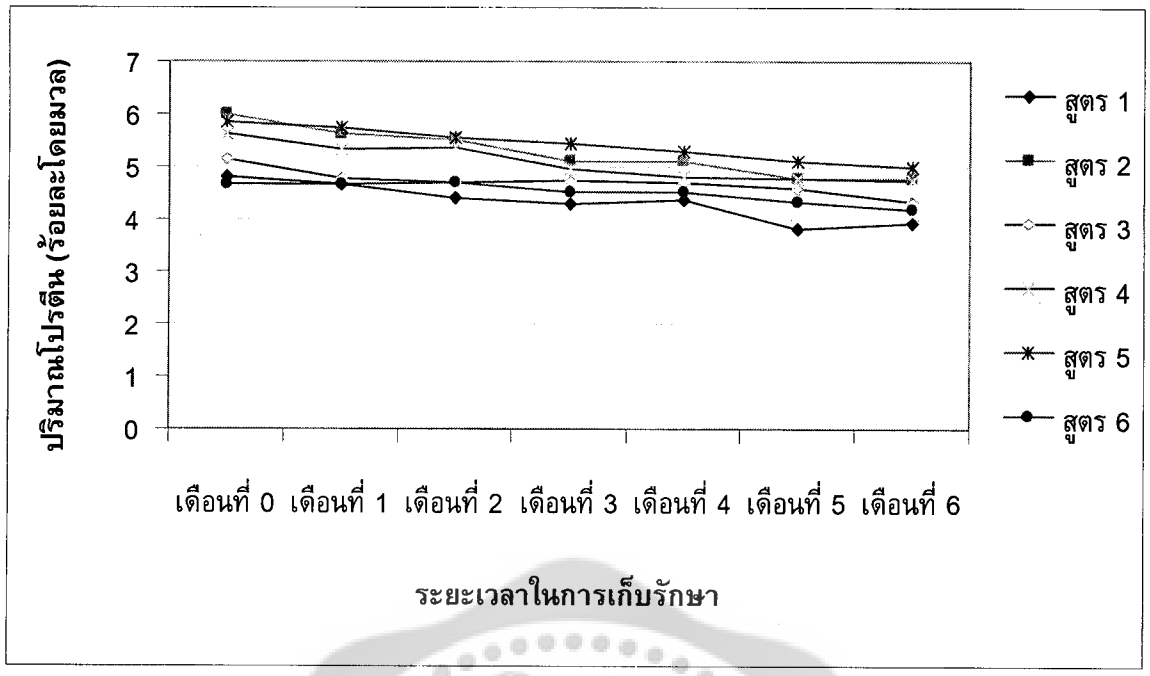
ภาพประกอบ 45 แสดงปริมาณโปรตีน ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน



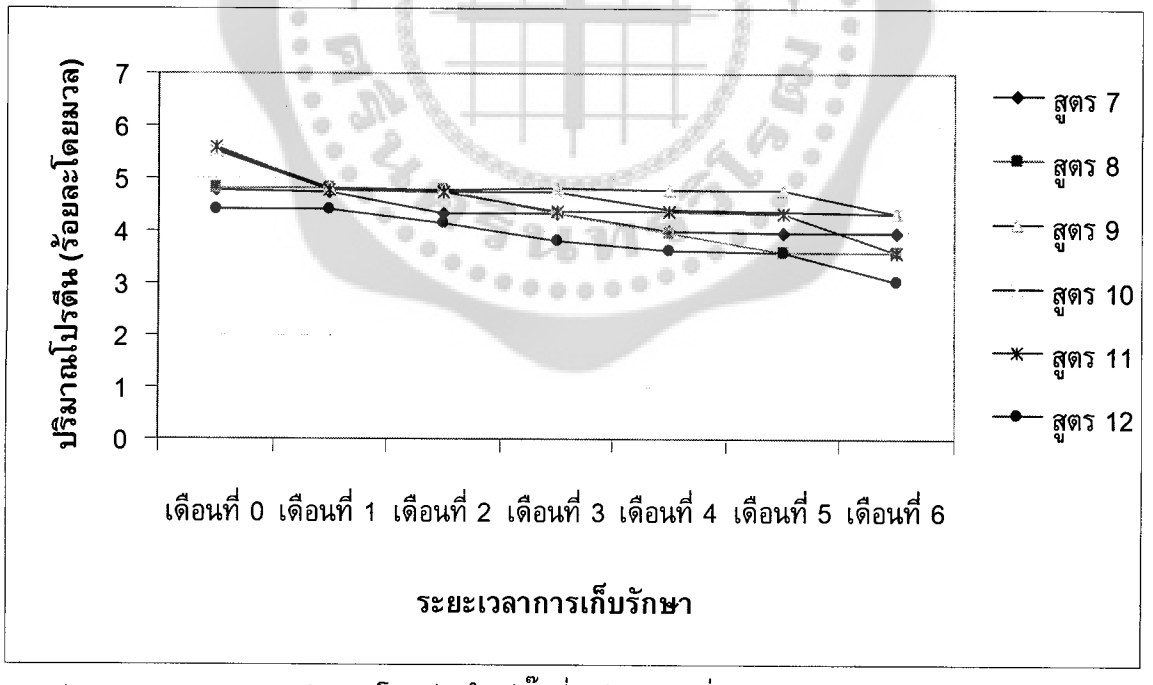
ภาพประกอบ 46 แสดงปริมาณโปรตีน ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง ในอัตราส่วน 60:40 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน

ภาพประกอบ 44 – 46 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง พบว่าตรวจพบปริมาณโปรตีนในช่วงร้อยละ 3.10 – 6.44 โดยมวล และปริมาณโปรตีนที่พบในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ตรวจพบในช่วง 3.85 – 6.44 โดยมวล ปริมาณโปรตีนที่ตรวจพบในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน ตรวจพบในช่วง 3.10 – 5.20 โดยมวล และปริมาณโปรตีนที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง ตรวจพบในช่วง 3.52 – 5.18 โดยมวล จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าซีอิ๊วที่ตรวจพบปริมาณของโปรตีนมากที่สุด คือซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ส่วนซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองตรวจพบในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน ดังแสดงให้เห็นชัดเจนในตาราง 10

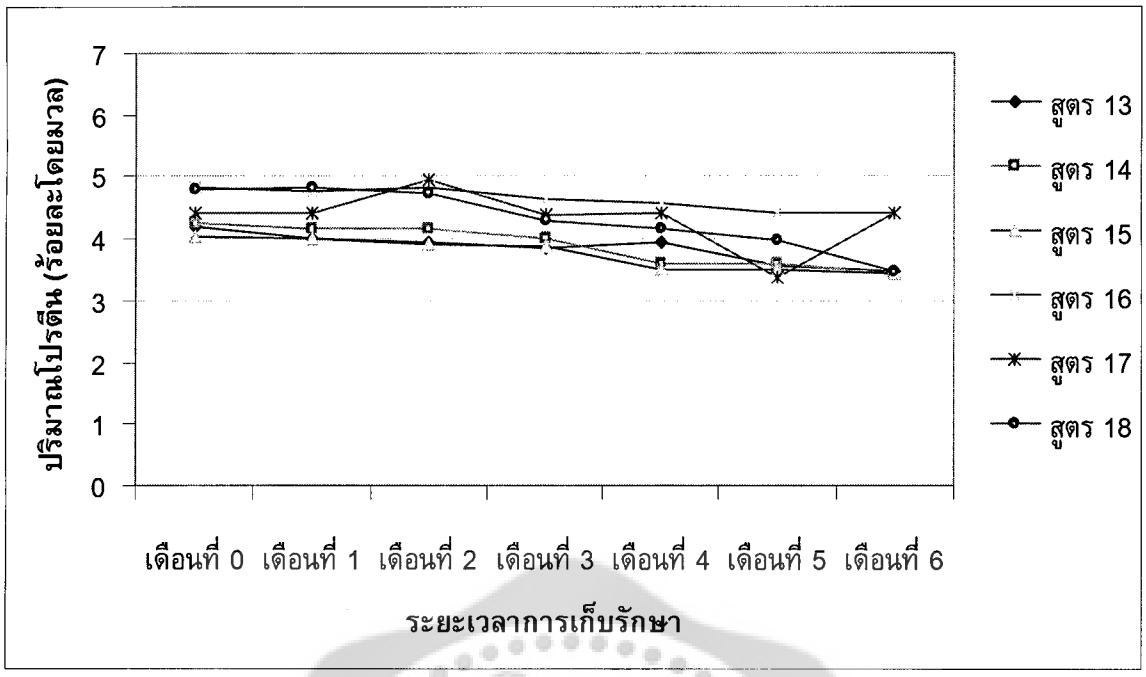
และผลการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร ที่เก็บรักษาในตู้เย็น ทำการวิเคราะห์เป็นเวลา 6 เดือน แสดงดังภาพประกอบ 47 – 49



ภาพประกอบ 47 แสดงปริมาณโปรตีน ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน



ภาพประกอบ 48 แสดงปริมาณโปรตีน ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน



ภาพประกอบ 49 แสดงปริมาณโปรตีน ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง ในอัตราส่วน 60:40 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน

ภาพประกอบ 47 – 49 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร ที่เก็บรักษาในตู้เย็น พบว่าตรวจพบปริมาณโปรตีนในช่วงร้อยละ 3.03 – 6.01 โดยมวล และปริมาณโปรตีนที่พบในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ตรวจพบในช่วง 3.83 – 6.01 โดยมวล ปริมาณโปรตีนที่ตรวจพบในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน ตรวจพบในช่วง 3.03 – 5.60 โดยมวล และปริมาณโปรตีนที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง ตรวจพบในช่วง 3.37 – 4.82 โดยมวล จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าซีอิ๊วที่ตรวจพบปริมาณของโปรตีนมากที่สุด คือซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ส่วนซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองตรวจพบในปริมาณน้อยที่สุด ดังแสดงให้เห็นชัดเจนในตาราง 11

จากภาพประกอบ 44 – 49 ผลการศึกษาพบว่าซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร ทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง ร้อยละ 3.03 – 6.44 โดยมวล เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าในระยะเริ่มต้นจะตรวจพบปริมาณโปรตีนเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นพบว่าปริมาณโปรตีนมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงลดลง

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาหาปริมาณของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในการเป็นดัชนีบอกการเกิดสีน้ำตาลในกระบวนการผลิตซีอิ๊วและการเก็บรักษา ได้ทำการศึกษาอัตราการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วเหลืองและถั่วมะแฮะ โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง รวมทั้งได้ทำการศึกษาค่า pH ปริมาณน้ำตาลกลูโคสโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และปริมาณโปรตีนโดยใช้เทคนิคฟอร์แมลไทเทรชัน ทำการศึกษาจากตัวอย่างซีอิ๊ว 18 สูตร ที่ได้ผ่านกระบวนการหมักโดยวิธีธรรมชาติเป็นระยะเวลา 3 เดือน หลังจากนั้นนำมากรองและผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์แล้วนำมาทำการศึกษาทุกระยะเวลาต่างๆ คือระยะเริ่มต้น (0 เดือน) เดือนที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 จะศึกษาตัวอย่างซีอิ๊วที่เก็บรักษาไว้ที่สองสภาวะที่แตกต่างกัน คือที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น จากผลการศึกษาสามารถเขียนรายงานผลการศึกษาเป็นหัวข้อต่างๆ ดังนี้

1. สรุปผลการทดลอง
2. อภิปรายผลการทดลอง
3. ข้อเสนอแนะ

1. สรุปผลการทดลอง

จากผลการศึกษาสามารถสรุปในด้านต่างๆ ได้ดังต่อไปนี้

1. จากการวัดค่าความเป็นกรด – เบส ของซีอิ๊วทั้ง 18 สูตรที่ระยะเวลาต่าง ๆ และเก็บรักษาไว้สองสภาวะพบว่าค่า pH ที่วัดได้อยู่ในช่วง 3.40 – 6.48 จะเห็นได้ว่าซีอิ๊วมีความเป็นกรดตั้งแต่ในระดับสูงถึงต่ำ เมื่อทำการศึกษาทุก 1 เดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือนและเก็บรักษาที่สภาวะแตกต่างกันพบว่าค่า pH ของซีอิ๊วมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ดั้งนั้นระยะเวลากับสภาวะการเก็บรักษาจึงมีผลน้อยมากต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า pH

2. จากการศึกษาปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ จากซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร ที่ระยะเวลาต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้สองสภาวะที่แตกต่างกัน พบว่าในระยะเริ่มต้น คือก่อนและหลังจากกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ ไม่สามารถตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ เมื่อระยะเวลาผ่านไปจะสามารถตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ และจะตรวจพบในปริมาณที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นโดยจะตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ สูงสุดในเดือนสุดท้าย คือเดือนที่ 6

3. จากการศึกษาชนิดของถั่วที่ใช้ในการหมักมีผลต่อการเกิดปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ คือซีอิ๊วที่ได้จากกระบวนการหมักจากถั่วมะแฮะล้วน

จะตรวจพบปริมาณของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ สูงที่สุด พบในช่วง 0.00 – 40.00 ไมโครโมลาร์ รองลงมาคือถั่วเหลืองล้วน พบในช่วง 0.00 – 36.67 ไมโครโมลาร์ และถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง จะตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ พบในช่วงน้อยที่สุด คือ 0.00 - 27.46 ไมโครโมลาร์

4. จากการศึกษาความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ใช้ในกระบวนการหมักซีอิ๊วมีผลต่อการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ พบว่าน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นสูง คือร้อยละ 20 – 16 โดยมวล จะตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในปริมาณที่สูงกว่าความเข้มข้นของน้ำเกลือต่ำ คือ ร้อยละ 14 – 10 โดยมวล จากผลการศึกษาพบว่าซีอิ๊วที่ได้จากการหมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 16 โดยมวล ตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ สูงที่สุดคือ 40.00 ไมโครโมลาร์ ส่วนซีอิ๊วที่หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 14 - 10 โดยมวล ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วนและถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองตรวจไม่พบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ใช้ในการหมักมีผลต่อปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดขึ้น

5. จากผลการศึกษาสภาวะของการเก็บรักษา คือ ที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็นพบว่า ซีอิ๊วสูตรเดียวกัน ณ เวลาการตรวจวัดปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์เดียวกัน ซีอิ๊วเก็บที่อุณหภูมิห้องจะตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในปริมาณที่สูงกว่าซีอิ๊วที่เก็บในตู้เย็นแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิมีผลต่อเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ส่งผลให้ซีอิ๊วที่เก็บรักษา ณ อุณหภูมิของห้องมีสีดำคล้ำเข้มกว่าซีอิ๊วที่เก็บในตู้เย็น

6. จากผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในน้ำซีอิ๊วกับระยะเวลาการเก็บรักษาในทั้งสองสภาวะ พบว่ารูปแบบความสัมพันธ์มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ เป็นแบบโพลิโนเมียล โดยมีค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.70 – 0.87 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ขึ้นกับระยะเวลา การเก็บรักษาของซีอิ๊วในสองสภาวะ คือแสดงให้เห็นว่าเมื่อเก็บรักษาไว้ระยะเวลานานขึ้นการตรวจพบปริมาณของ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ สูงขึ้นส่งผลต่อการเกิดสีดำคล้ำในซีอิ๊วจะสีเข้มขึ้น

7. การศึกษาปริมาณน้ำตาลกลูโคสในซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร อยู่ในช่วง 0.00 –17.53 มิลลิโมลาร์ และพบว่าในระยะเริ่มต้นจะตรวจพบน้ำตาลกลูโคสในซีอิ๊วทุกสูตรและเมื่อระยะเวลาผ่านไปแนวโน้มของปริมาณที่ตรวจพบมีปริมาณลดลงในอัตราที่ไม่คงที่ และพบว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ตรวจพบจากซีอิ๊วที่ได้จากการหมักถั่วมะแฮะล้วน จะมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงสุด อยู่ในช่วง 0.00 – 17.53 มิลลิโมลาร์ รองลงมาคือซีอิ๊วที่ได้จากการหมักถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง อยู่ในช่วง 0.00 – 10.06 มิลลิโมลาร์ และซีอิ๊วที่ได้จากการหมักถั่วเหลืองล้วน ตรวจพบปริมาณน้ำตาลกลูโคสต่ำที่สุดอยู่

ในช่วง 0.00 – 5.09 มิลลิโมลาร์ แสดงให้เห็นว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสมีผลต่อการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์

8. จากการศึกษาปริมาณโปรตีนในซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร พบว่าอยู่ในช่วงร้อยละ 3.03 – 6.44 โดยมวล ปริมาณโปรตีนที่ตรวจพบในซีอิ๊วเมื่อเก็บรักษานานขึ้นการเปลี่ยนแปลงมีแนวโน้มลดลง และพบว่าปริมาณโปรตีนที่ตรวจพบในซีอิ๊วที่ได้การหมักถั่วเหลืองล้วน มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด อยู่ในช่วงร้อยละ 3.83 – 6.44 โดยมวล รองลงมาคือซีอิ๊วที่ได้จากการหมักถั่วมะแฮะล้วน อยู่ในช่วงร้อยละ 3.03 – 5.60 โดยมวล และซีอิ๊วที่ได้จากการหมักถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลือง ตรวจพบปริมาณโปรตีนต่ำที่สุด อยู่ในช่วงร้อยละ 3.37 – 5.18 โดยมวล

การผลการศึกษาพบว่าค่า pH มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ น้อยมากและเมื่อพิจารณาชนิดของถั่วที่ใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมักซีอิ๊ว พบว่าซีอิ๊วที่ได้จากการหมักถั่วมะแฮะจะตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ มากกว่าซีอิ๊วที่ได้จากกระบวนการหมักถั่วเหลือง ความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ใช้ในการหมักก็มีผลต่อการเกิดปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ คือความเข้มข้นของน้ำเกลือสูงจะตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ มากกว่าความเข้มข้นของน้ำเกลือต่ำ การเก็บรักษาที่สภาวะแตกต่างมีผลต่อการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ คือการเก็บรักษาซีอิ๊วที่อุณหภูมิห้องจะตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ สูงกว่าเก็บในตู้เย็น และจากผลการศึกษาปริมาณน้ำตาลกลูโคสและโปรตีน ในซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร พบ ในระยะเริ่มต้นจะตรวจปริมาณน้ำตาลกลูโคสและโปรตีนสูง เมื่อระยะเวลาผ่านไปปริมาณสารทั้งสองมีแนวโน้มลดลง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลกลูโคสและโปรตีนที่เป็นสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดมีผลต่อการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์

2. อภิปรายผลการทดลอง

จากผลการทดลองในงานวิจัยนี้ ทำให้ทราบว่าสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ จากผลการศึกษาพบว่าซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร มีสภาวะที่เป็นกรด เนื่องจากเชื้อรา *A.oryzae* ที่ใช้ในกระบวนการหมักมีการปล่อยกรดอินทรีย์ออกมาเพื่อช่วยในการย่อยสลายโปรตีนที่อยู่ในถั่ว ซึ่งค่า pH มีความสำคัญมากในการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด ที่ค่า pH ต่ำน้ำตาลจะมีความคงรูปมากที่สุดในรูป วงไพราโนส เฮมิอะซีตัล เมื่อ pH สูงขึ้นน้ำตาลจะเปลี่ยนเป็นรูป อะไซคลิก แอลดีไฮด์ ที่มีความว่องไว ทำให้เกิดปฏิกิริยาการรวมตัวระหว่างน้ำตาลและเอมีนได้อย่างรวดเร็ว (นิธิยา รัตนาปนนท์. 2549) แต่ซีอิ๊วที่ทำการศึกษามีค่า pH อยู่ในช่วง 3.40 – 6.48 จึงมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดน้อย แต่ถึงอย่างไรยังมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดในอาหารได้เช่น ความเข้มข้นของหมู่อะมิโนหรือ ชนิดของน้ำตาล หรืออัตราส่วนของน้ำตาลต่อกรดอะมิโน เป็นต้น

เมื่อพิจารณาน้ำตาลรีดิวซ์และกรดอะมิโนซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด ผู้วิจัยได้ศึกษาปริมาณน้ำตาลกลูโคสและปริมาณโปรตีน ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักซีอิ๊วโดยเชื้อรา A.*Oryzae* จะปล่อยเอนไซด์อะไมเลสมาย่อยถั่วและแป้งที่ใช้ในกระบวนการหมัก ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ใช้วัตถุดิบ คือถั่วต่างชนิดกันจากการศึกษาองค์ประกอบของถั่วต่างชนิดกันจะพบว่ามีปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในปริมาณที่แตกต่างกัน คือถั่วมะแฮะมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบร้อยละ 60.9 และโปรตีน 19.4 กรัม ต่อ 100 กรัม (สถาบันการแพทย์ไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2542) ซึ่งสูงกว่าถั่วเหลืองที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบ 26.7 และโปรตีน 30 – 40 กรัมต่อ 100 กรัม (กองโภชนาการ กรมอนามัย พ.ศ.2535 อ้างถึงใน สุมาลี ทองแก้ว. 2541) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่ว มะแฮะตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในปริมาณที่มากกว่าซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วเหลือง เนื่องจากถั่วมะแฮะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงว่าถั่วเหลือง เมื่อถั่วผ่านกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลสจะได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่มีขนาดเล็กลงซึ่งเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ที่เป็นสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด และจากผลการศึกษาปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ตรวจพบเมื่อระยะเริ่มต้นจะตรวจพบในปริมาณที่สูงแต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปจะตรวจพบน้ำตาลกลูโคสมีปริมาณลดลง จากผลการพิจารณาปริมาณโปรตีนในซีอิ๊วที่ได้จากการย่อยสลายของเอนไซม์ โปรทีเอสที่เชื้อรา A.*oryzae* สร้างขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักซีอิ๊วโดยเอนไซม์จะเข้าไปตัดพันธะเปปไทด์ของโปรตีนจนได้หน่วยย่อยที่สุดของโปรตีน คือ กรดอะมิโน เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนกับปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ที่เกิดขึ้นพบว่าซีอิ๊วที่ได้จากถั่วต่างชนิดกันซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบต่างกันคือ ถั่วเหลืองมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าถั่วมะแฮะ แต่ปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ พบว่าสอดคล้องกับปริมาณของโปรตีนที่พบในถั่วเหลืองมีปริมาณมากกว่าถั่วมะแฮะ เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนที่พบมีการเปลี่ยนแปลงลดลง แสดงให้เห็นว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสและปริมาณโปรตีนมีผลต่อการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ เนื่องจากสารทั้งสองชนิดเป็นสารตั้งต้นของการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด

พิจารณาความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ใช้ในกระบวนการหมักซีอิ๊วซึ่งถือว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการหมัก คือโซเดียมคลอไรด์มีหน้าที่เสมือนสารยับยั้งและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ในขั้นการหมักน้ำเกลือ (Yong; Wood. 1974) เมื่อวิเคราะห์ผลการทดลองความเข้มข้นของน้ำเกลือสูง พบว่ามีปริมาณการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ สูงกว่าความเข้มข้นต่ำ เนื่องจากความเข้มข้นของน้ำเกลือสูงจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นตัวผลิตกรดแลคติกออกมา ดังนั้นเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำเกลือต่ำจุลินทรีย์จึงผลิตกรดแลกติกออกมามากทำให้ค่า pH ของน้ำหมักซีอิ๊วลดลงซึ่ง pH ต่ำกว่า pK_a กรดอะมิโนเกิดปฏิกิริยากับน้ำตาลรีดิวซ์ได้น้อย จึงทำเกิดปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ น้อยมากจนไม่สามารถตรวจพบได้ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงที่สภาวะผู้วิจัยใช้ทำการทดลอง และเมื่อเก็บซีอิ๊วที่อุณหภูมิห้องจะตรวจพบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ สูงกว่า

ในตู้เย็นเนื่องจากอุณหภูมิสูงจะเร่งให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดให้เกิดเร็วขึ้น (Labuza; Baisier. 1992) กว่าอุณหภูมิต่ำ

สารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เป็นผลิตภัณฑ์ตัวหนึ่งที่ได้จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดที่ใช้เป็นดัชนีในการบอกการเกิดสีดำคล้ำในซีอิ๊วได้ จากผลการศึกษาพบว่าซีอิ๊วบางสูตรตรวจไม่พบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น แต่เมื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพเช่นสีของซีอิ๊วมีสีดำคล้ำเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากปริมาณของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ที่เกิดขึ้นมีปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถตรวจพบด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ในสภาวะที่ผู้วิจัยทำการศึกษา หรืออาจเนื่องจากสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เกิดการสลายตัวในขั้นตอนหรือกระบวนการเตรียมตัวอย่าง เพราะคุณสมบัติของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เกิดการสลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกแสงสว่าง (Belitz; Grosch. 2000) ดังนั้นในขั้นตอนหรือกระบวนการเตรียมตัวอย่างไม่ควรให้อยู่ในที่มีแสงสว่าง อุณหภูมิสูงใช้เวลาในการเตรียมนานเกินไป และควรเก็บตัวอย่างที่เตรียมได้เพื่อรอทำการวิเคราะห์ในขวดสีชา

จากการศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในกระบวนการผลิตซีอิ๊วและเต้าเจี้ยวของไทย (สิทธิวัฒน์ เลิศศิริ. 2544) พบว่าการเกิดสีน้ำตาลในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ซีอิ๊วเป็นไปในลักษณะความสัมพันธ์เชิงเส้นกับเวลา ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในงานวิจัยนี้เป็นไปในลักษณะความสัมพันธ์เชิงเส้นกับเวลาเป็นแบบโพลิโนเมียล ผลการวิจัยของ สิทธิวัฒน์ เลิศศิริ พบปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในผลิตภัณฑ์ซีอิ๊วในปริมาณที่มากกว่าผลการวิจัยนี้เนื่องจากการวิจัยของนายสิทธิวัฒน์ เลิศศิริ ได้สุ่มตัวอย่างจากโรงงานผลิตซีอิ๊วโดยตรงซึ่งเป็นไปได้ว่าทางโรงงานอาจจะมีการเติมน้ำตาลลงไปด้วยเพื่อเพิ่มรสชาติของซีอิ๊ว แต่จากผลการทดลองนี้ผู้วิจัยได้ทำการเตรียมตัวอย่างขึ้นเองโดยใช้วิธีการหมักโดยวิธีธรรมชาติ ไม่มีการเติมน้ำตาลและในกระบวนการผลิตในปริมาณที่น้อยกว่าโรงงานอุตสาหกรรมที่การผลิตแต่ละครั้งในปริมาณที่มากการกวนหรือคนจึงไม่ทั่วถึง การคนที่เป็นไปได้ทั่วถึงจะมีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลของซีอิ๊วแบบใช้เอนไซม์ซึ่งเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดสีดำคล้ำขึ้นในอาหาร

การเกิดสีดำคล้ำในซีอิ๊วส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนาการที่ทำให้กรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิดเปลี่ยนรูปไป (Rizzi. 1994) และสีดำคล้ำของซีอิ๊วที่เข้มมากเกินไปทำให้ผู้บริโภคไม่นิยมนำมาบริโภค ดังนั้นในการผลิตซีอิ๊วโดยใช้ปริมาณความเข้มข้นของน้ำเกลือต่ำจะทำให้การเกิดปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ น้อยลง และการเก็บรักษาซีอิ๊วไว้ที่อุณหภูมิต่ำเป็นการช่วยยืดอายุของการเกิดสีดำคล้ำให้ช้าลง และยังช่วยรักษาคุณค่าทางโภชนาการของซีอิ๊วอีกด้วย

3. ข้อเสนอแนะ

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาหาปริมาณของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในการเป็นดัชนีบอกการเกิดสีน้ำตาลในกระบวนการผลิตซีอิ๊ว การเก็บรักษาที่สภาวะแตกต่างกัน และได้ทำการศึกษาอัตราการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วเหลืองและถั่วมะแฮะ ทุกเดือนเป็นเวลา 6 เดือน โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงเป็นเทคนิคที่ต้องอาศัยทักษะและความชำนาญสูงในการใช้เครื่องมือและระยะเวลาก่อนการวิเคราะห์ในแต่ละครั้งใช้เวลาค่อนข้างนาน ดังนั้นเพื่อให้การวิจัยใช้เวลาน้อยลงและประหยัดงบประมาณในการวิจัย ควรมีการพัฒนาวิธีในการตรวจวิเคราะห์โดยเทคนิคอื่นที่มีความแม่นยำถูกต้องใกล้เคียงกันแต่ใช้เวลาน้อยในการวิเคราะห์ และศึกษาการควบคุมและป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในน้ำซีอิ๊ว

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

เต็ม สมิตินันทน์. (2523). *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง).* กรมป่าไม้. หน้า 379.

นภา โล่ห์ทอง.(2534). *กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต.* ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิธิยา รัตนาปนนท์. (2545). *เคมีอาหาร.* สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพมหานคร.

พรพิมล ม่วงไทย, ยงยุทธ ตันฑุลเวส และวราดุล ฉัตรทอง (2547). *การศึกษาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลในน้ำหมักชีวภาพ.* คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. กรงเทพฯ.

พรพิมล ม่วงไทย และคณะ. (2547). *การศึกษาปฏิกิริยาเมลลาร์ดในระบบต้นแบบระหว่างน้ำตาลและกรดอะมิโนมาตรฐาน.* การประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 30. กรุงเทพฯ.

พันธ์ณรงค์ จันทร์แสงศรี. (ต.ค.-ธ.ค. 2539). ซีอิ๊ว ตอนที่ 2 กรรมวิธีการผลิตซีอิ๊ว. *เกษตรนเรศวร.* 2(4):6-9.

พันธ์ณรงค์ จันทร์แสงศรี. (ต.ค. – ธ.ค. 2541). ซีอิ๊ว ตอนที่ 4 : ลักษณะของน้ำซีอิ๊ว. *เกษตรนเรศวร.* 2(4):6-9.

ภคธีรา อุปจักร์. (2550). *การศึกษากระบวนการผลิตซีอิ๊วจากถั่วเหลืองและถั่วมะแฮะ.* สารนิพนธ์ กศ.ม. (วิทยาศาสตร์ศึกษา). กรุงเทพมหานคร: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

รัชนี ตัณฑะพานิชกุล. (2547). *เคมีอาหาร.* พิมพ์ครั้งที่ 2 กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

รุ้งดาว เมืองมา. (2543). *การศึกษาการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลแบบ Millard ในซีอิ๊วของไทย.* ปริญญานิพนธ์ วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ) กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล.

วันชัย สมชิต. (2527). *ถั่วเหลืองและการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย.* กรุงเทพ: บริษัทสยามออฟเซ็ท จำกัด.

วราวุฒิ ครูส่งและรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต.(2532). *เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม.* ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเหล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. (2534). *ซีอิ๊ว.* สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพมหานคร.

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ; บุญปลุก บุญเลิศ และ สุรีย์พร แสงหิรัญ. (2542). *สมุดบันทึกการอบรมวิชาชีพฤดูร้อน 2542 การผลิตซีอิ๊ว เต้าเจี้ยว เต้าหู้และเต้าฮวย.* สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม,. (2521). *มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมมอก. 252-2521 ซีอิ๊ว.* กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์กระทรวงอุตสาหกรรม.

สมวิภา พวงมณี. (2547). *การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและโครงสร้างของโปรตีนแอลฟา แลคตัลบูมินด้วยปฏิกิริยาเมลลาร์ด.* ปริญญานิพนธ์ วท.ม. (วิทยาศาสตร์การอาหาร) กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ถ่ายเอกสาร.

สิทธิวัฒน์ เลิศศิริ. (2544). *การศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในกระบวนการผลิตซีอิ๊วและเต้าเจี้ยวของไทย.* ปริญญานิพนธ์ วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ) กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล.

สุมาลี ทองแก้ว; วลัยทิพย์ สาชลวิจารณ์. (2541). *ถั่วเหลืองพืชมหัศจรรย์ของแผ่นดิน.* กรุงเทพฯ: หมอชาวบ้าน.

สุธาสินี บุญเชียงมา และคณะ. (2550). *การวิเคราะห์เชิงปริมาณของไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลในน้ำผึ้ง.* ฐานข้อมูลงานวิจัยในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 33.

สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. (2542). ผักพื้นบ้านภาคเหนือ หน้า 280.

---------. (2551). *ซีอิ๊ว.* สถาบันอาหาร. สืบค้นวันที่ 4 เมษายน 2551, จาก http://www.nfi.or.th/recycle/pdffile/P00037.pdf

---------. (2551). *High Performance Liquid Chromatography (HPLC.).* สืบค้นวันที่ 24 ตุลาคม 2551, จาก http://las.perkinelmer.com/local/Thailand/AS_HPLC.htm

Angela Alca'zar, et al. (2006). HPLC determination of 2-furaldehyde and 5-hydroxymethyl-2-Furaldehyde in alcoholic beverages. *Microchemical Journal.* 82: 22-28.

AOAC. (1990). Food Composition. Additive Nutural Contaminants. Vol 2. Procedure. 953.08. *In Officail Methods of Analysis of the AOAC. International.* 15th ed. AOAC Washington, D.C. USA.

Burdulu; & Karadeniz; F. (2003). Kinetic model of nonezymatic browning in apple puree.

Belitz, H. D. and W. Grosch. (2000). *Food Chemistry.* 2nd ed. Springer Verlag. Berlin Heidelberg, Germany.

Boekel, V. (1998). Effect of heating on Maillard reactions in milk. *Food Chem.*

Bemiller, J. N. and Whistler, R. L. (1996). Carbohydrates. In *Food Chemistry.* 3rd ed. (Fennema, O. R. ed.), Marcel Inc., New York.

Deman, J. M. (1990). *Principles of Food Chemistry.* 2nd ed., Van Nostrand Reinhold, New York.

E. Ferrer et al. (2002). High-performance liquid chromatographic determination of furfural Compounds in infant formalas Changes during heat treatment and storage. *Journal of Chromatography.* 947: 85-95.

Ferrer, E.; A. Alegria; G. Courtois and R. Farre. (2000). High performance liquid Chromatography determination of maillard compounds in stored brand and Name brand ultra high temperature treated Com' milk. *Journal of Chromatography.* 881:599-606.

Filippo Lo Coco, et al. (1996). High-performance liquid chromatographic determination of 2-furaldehyde and 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in honey. *Journal of Chromatograph.* 749:92-102.

Labuza, P. T. and W. M. Baisier. (1992). The kinetic of nonenzymatic browning. In G.H. Schwartzbery and R. W. Hartel, eds. *Physical Chemistry of Foods.* Marcel Dekker, Inc, New York.

M. Zappala', et al. (2005). Methods for the determination of HMF in honey: a comparison. *Food control.* 16:273-277.

Nanjaro, G .B., L. S. Malec and M. S. Vigo. (1998). Reducing sugars effect on available lysine loss of casein by moderate heat treatment. *Food Chem.* 62(3):309-313.

Owusu Apenten, R. K. (2002). *Food Protein Analysis : Quantitative Effects on Processing.* Marcel Dekker, Inc. New York.

Raminez et al. (2001). Effect of poasting time on the browning of sliced bread. *Journal Of food science.* 81(5).513-518.

Rizzi, G. P. (1994). The maillard reaction in food. pp. 11-19. In T.P. Labuza, G.A. Reineccius, V. M. Monnier, J. O. Brien and J. W. Baynes, eds. *Maillard Reaction in Chemistry Food, and Health.* The Royal Society of Chemistry, Cambridge.

Walstra, P. and R. Jeness. (1997). *Dairy Chemistry and Physics.* John Wiley & Son, New York.

Yokotuka, T. (1986). *Soy sauce biochemistry.* Adv. Food Res. 30: 195-329.

Yong, F.M.; Wood, B. J. B. (1974a). Microbiology and biochemistry of soy sauce Fermentation. *Adv. Appli. Microbiol.* 17: 157-194.

ภาคผนวก ก

ตารางข้อมูลผลการทดลอง

ภาคผนวก ก

ตารางข้อมูลผลการทดลอง

ตาราง 4 แสดงค่า pH ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน

เดือน / สูตร	ค่า pH ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน						
	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
สูตร 1	4.50	4.76	4.82	4.60	4.58	4.57	4.56
สูตร 2	4.41	4.29	4.30	4.43	4.48	4.44	4.55
สูตร 3	5.18	5.05	5.04	5.18	5.18	5.17	5.16
สูตร 4	6.40	6.02	4.58	6.12	6.14	6.08	6.08
สูตร 5	5.20	5.25	5.38	5.78	5.40	5.89	5.36
สูตร 6	4.99	4.57	4.58	4.72	4.74	4.72	4.74
สูตร 7	3.45	4.02	4.03	3.81	3.80	3.77	3.78
สูตร 8	3.64	3.57	3.58	3.73	3.73	3.76	3.75
สูตร 9	4.49	4.37	4.37	4.51	4.59	4.55	4.59
สูตร 10	4.58	4.49	4.49	4.64	4.64	4.67	4.49
สูตร 11	4.81	4.69	4.59	4.75	4.78	4.64	4.82
สูตร 12	4.51	5.01	4.26	4.52	4.52	4.58	4.59
สูตร 13	4.23	4.39	4.40	4.59	4.35	4.33	4.33
สูตร 14	4.16	4.10	4.10	4.24	4.23	4.28	4.28
สูตร 15	5.14	4.33	4.96	5.11	5.09	5.11	5.06
สูตร 16	5.18	5.23	5.23	5.36	5.33	5.39	5.33
สูตร 17	4.19	4.20	4.20	4.35	4.37	4.36	4.35
สูตร 18	4.14	4.04	4.05	4.19	4.20	4.21	4.19

ตาราง 5 แสดงค่า pH ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลา 6 เดือน

เดือน / สูตร	ค่า pH ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลา 6 เดือน						
	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
สูตร 1	4.50	4.83	4.65	4.64	4.64	4.65	4.66
สูตร 2	4.42	4.33	4.50	4.53	4.51	5.54	5.6
สูตร 3	4.24	5.07	5.08	5.26	5.24	5.27	5.28
สูตร 4	5.08	6.22	6.24	6.47	6.46	6.43	6.48
สูตร 5	4.98	5.01	5.04	5.18	5.18	5.18	5.17
สูตร 6	5.08	4.91	4.95	5.07	5.06	5.07	5.06
สูตร 7	3.40	4.06	3.98	3.81	3.84	3.80	3.82
สูตร 8	3.64	3.56	3.58	3.73	3.73	3.72	3.75
สูตร 9	4.26	4.37	4.60	4.61	4.56	4.59	4.60
สูตร 10	4.80	4.52	4.42	4.68	4.66	4.67	4.67
สูตร 11	4.80	4.74	4.75	4.92	4.91	4.93	4.90
สูตร 12	4.48	4.44	4.58	4.59	4.58	4.58	4.59
สูตร 13	4.19	4.59	4.40	4.39	4.39	4.39	4.39
สูตร 14	4.13	4.09	4.24	4.25	4.26	4.29	4.30
สูตร 15	5.08	5.02	5.04	5.17	5.18	5.18	5.18
สูตร 16	5.37	5.66	5.26	5.79	5.79	5.84	5.81
สูตร 17	4.22	4.16	4.32	4.33	4.34	4.32	4.34
สูตร 18	4.08	4.03	4.20	4.20	4.21	4.23	4.22

ตาราง 6 แสดงปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมลทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน

เดือน / สูตร	ปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมลทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ (ไมโครโมลาร์)						
	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
สูตร 1	0.00	0.00	0.00	0.00	30.11	27.23	36.67
สูตร 2	0.00	8.94	7.27	10.04	10.78	12.09	11.77
สูตร 3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 7	0.00	0.00	0.00	2.71	5.05	18.35	27.46
สูตร 8	0.00	12.28	18.47	19.77	18.04	17.21	21.99
สูตร 9	0.00	12.28	32.24	33.63	35.58	40.00	37.82
สูตร 10	0.00	2.71	4.29	5.08	6.63	14.01	23.60
สูตร 11	0.00	1.89	3.78	8.59	10.73	7.96	11.39
สูตร 12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.11
สูตร 13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	27.46
สูตร 14	0.00	4.44	6.31	6.10	6.68	5.32	9.65
สูตร 15	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	12.55	14.69
สูตร 16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 18	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

ตาราง 7 แสดงปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมลทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลา 6 เดือน

เดือน / สูตร	ปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมลทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ (ไมโครโมลาร์)						
	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
สูตร 1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 2	0.00	5.88	6.70	6.13	7.99	9.90	10.51
สูตร 3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.85
สูตร 8	0.00	6.43	9.62	11.22	9.74	11.48	17.33
สูตร 9	0.00	0.00	0.00	9.74	9.07	6.75	17.67
สูตร 10	0.00	1.85	3.66	3.09	4.46	12.02	9.47
สูตร 11	0.00	0.89	2.34	1.21	4.15	4.25	5.20
สูตร 12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.46
สูตร 13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	23.92
สูตร 14	0.00	4.65	5.53	3.38	4.44	7.61	8.59
สูตร 15	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 18	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

ตาราง 8 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคส ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน

เดือน / สูตร	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ของน้ำซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน (มิลิโมลาร์)						
	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
สูตร 1	4.06	2.75	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 2	5.09	4.52	3.05	2.22	0.00	0.00	0.00
สูตร 3	3.80	3.78	3.06	3.02	0.00	0.00	0.00
สูตร 4	0.44	0.36	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 5	3.13	2.15	1.96	1.40	0.96	0.00	0.00
สูตร 6	1.16	0.55	0.62	0.52	0.32	0.00	0.00
สูตร 7	10.57	10.22	8.30	8.36	8.41	7.64	7.36
สูตร 8	17.53	15.56	11.41	12.18	8.19	9.05	6.95
สูตร 9	5.49	5.25	4.70	4.59	2.41	3.79	1.77
สูตร 10	6.82	4.66	4.66	3.50	3.87	3.19	2.39
สูตร 11	7.45	4.47	4.08	3.67	3.04	2.20	2.93
สูตร 12	5.73	3.51	2.23	3.51	1.32	0.00	0.00
สูตร 13	3.81	3.52	3.48	3.34	1.83	0.00	0.00
สูตร 14	7.34	6.01	5.67	5.53	5.25	0.00	0.00
สูตร 15	5.780	4.35	4.37	4.17	2.18	2.29	0.00
สูตร 16	6.72	1.92	0.88	0.83	0.33	0.00	0.00
สูตร 17	10.06	7.55	7.08	5.92	5.18	5.26	4.81
สูตร 18	3.89	2.97	3.21	3.29	2.05	2.07	1.45

ตาราง 9 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคส ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลา 6 เดือน

เดือน / สูตร	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลา 6 เดือน (มิลิโมลาร์)						
	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
สูตร 1	3.04	2.86	2.48	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 2	5.00	3.68	1.68	1.40	0.00	0.00	0.00
สูตร 3	3.37	3.17	3.47	2.78	2.08	0.00	0.00
สูตร 4	0.81	0.37	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
สูตร 5	2.29	1.89	1.74	1.44	0.00	0.00	0.00
สูตร 6	0.81	0.51	0.47	0.43	0.32	0.00	0.00
สูตร 7	11.36	10.60	8.92	7.83	7.51	7.64	7.21
สูตร 8	9.04	8.20	8.07	5.37	3.41	0.00	0.00
สูตร 9	4.27	3.54	3.43	2.64	2.13	1.87	0.00
สูตร 10	5.88	5.86	5.15	2.90	3.44	3.58	2.83
สูตร 11	5.99	5.46	5.81	3.01	2.53	0.00	0.00
สูตร 12	5.04	3.30	2.81	2.77	1.45	1.36	1.92
สูตร 13	4.18	3.52	2.56	1.74	0.00	0.00	0.00
สูตร 14	9.73	6.61	5.13	4.63	2.92	2.42	0.00
สูตร 15	6.17	6.14	6.10	4.57	4.53	3.17	3.37
สูตร 16	2.38	2.22	1.60	1.11	0.91	0.00	0.00
สูตร 17	10.03	8.63	8.43	7.93	5.98	5.65	5.45
สูตร 18	5.81	3.82	3.05	3.41	2.70	2.38	1.85

ตาราง 10 แสดงปริมาณโปรตีนของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน

เดือน / สูตร	ปริมาณโปรตีนของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน (ร้อยละโดยมวล)						
	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
สูตร 1	5.59	4.69	4.56	4.77	4.37	4.38	3.85
สูตร 2	5.86	5.58	5.57	5.21	5.12	4.39	4.37
สูตร 3	5.20	5.14	5.19	4.93	4.77	4.81	4.72
สูตร 4	6.00	5.64	5.16	5.20	4.78	4.72	4.73
สูตร 5	5.99	5.84	5.47	5.32	5.08	5.05	4.96
สูตร 6	6.44	5.87	5.29	5.06	4.74	4.74	4.70
สูตร 7	4.80	4.37	3.95	3.60	3.58	3.58	3.55
สูตร 8	4.77	4.73	4.73	4.37	3.95	3.58	3.60
สูตร 9	5.20	4.74	4.73	4.40	4.40	3.58	4.00
สูตร 10	4.80	4.77	4.77	4.74	3.55	3.55	3.57
สูตร 11	5.13	4.80	4.80	4.77	4.40	4.34	4.00
สูตร 12	4.77	4.33	3.21	3.12	3.12	3.13	3.10
สูตร 13	4.80	4.34	4.34	4.12	3.95	3.97	3.80
สูตร 14	4.40	4.03	3.94	3.56	3.58	3.52	3.52
สูตร 15	4.76	4.40	4.30	4.28	4.28	3.95	3.98
สูตร 16	4.80	4.98	4.76	4.65	4.43	4.27	4.26
สูตร 17	4.77	4.66	4.40	4.43	4.37	4.02	3.61
สูตร 18	5.18	4.26	4.01	3.98	3.89	3.58	3.52

ตาราง 11 แสดงปริมาณโปรตีนของซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลา 6 เดือน

เดือน / สูตร	ปริมาณโปรตีนซีอิ๊ว 18 สูตร เก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลา 6 เดือน (ร้อยละโดยมวล)						
	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
สูตร 1	4.80	4.68	4.42	4.30	4.38	3.83	3.93
สูตร 2	6.01	5.62	5.51	5.11	5.10	4.77	4.77
สูตร 3	5.15	4.77	4.70	4.73	4.72	4.58	4.33
สูตร 4	5.63	5.32	5.37	4.98	4.82	4.77	4.75
สูตร 5	5.84	5.75	5.56	5.43	5.28	5.10	5.01
สูตร 6	4.68	4.67	4.69	4.52	4.53	4.34	4.20
สูตร 7	4.77	4.73	4.34	4.34	4.00	3.97	3.97
สูตร 8	4.80	4.80	4.77	4.34	3.97	3.58	3.59
สูตร 9	5.56	4.80	4.77	4.80	4.77	4.77	4.34
สูตร 10	5.52	4.77	4.73	4.73	4.40	4.36	4.34
สูตร 11	5.60	4.77	4.73	4.37	4.37	4.34	3.59
สูตร 12	4.39	4.39	4.16	3.82	3.62	3.61	3.03
สูตร 13	4.19	4.02	3.95	3.85	3.93	3.56	3.47
สูตร 14	4.25	4.15	4.16	4.00	3.60	3.61	3.44
สูตร 15	4.03	4.00	3.92	3.87	3.50	3.51	3.45
สูตร 16	4.82	4.77	4.82	4.62	4.58	4.41	4.40
สูตร 17	4.80	4.40	4.95	4.39	4.41	3.37	4.28
สูตร 18	4.80	4.82	4.72	4.30	4.15	3.96	3.48

ภาคผนวก ข

การคำนวณการวิเคราะห์

ภาคผนวก ข

การคำนวณการวิเคราะห์

ความเข้มข้นที่แน่นอนของ NaOH

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต 0.2 N มา ปริมาตร 10 ml นำมาไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน 0.5 N NaOH

จากสูตร

$$\text{Normality.NaOH} = \frac{\text{vol.KPN(ml)xN(KPN)}}{\text{vol.NaHO(ml)}}$$

ครั้งที่ 1 ปริมาตร NaOH 4.3 ml

$$\text{Normality.NaOH} = \frac{10\text{mlx}0.2\text{N}}{4.3\text{ml}}$$
$$= 0.4651\ \text{N}$$

ครั้งที่ 2 ปริมาตร NaOH 4.3 ml

$$\text{Normality.NaOH} = \frac{10\text{mlx}0.2\text{N}}{4.3\text{ml}}$$
$$= 0.4651\ \text{N}$$

ครั้งที่ 3 ปริมาตร NaOH 4.3 ml

$$\text{Normality.NaOH} = \frac{10\text{mlx}0.2\text{N}}{4.2\text{ml}}$$
$$= 0.4762\ \text{N}$$

ความเข้มข้นของ NaOH เฉลี่ย เท่ากับ $\frac{0.4651 + 0.4651 + 0.4762}{3} = 0.4688\ \text{N}$

ปริมาณโปรตีน จากสูตร

$$\%\text{ammonical} = \frac{\text{vol.NaOH(ml)xN(NaOH)x1.4007}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง(กรัม)}}$$

$$= \frac{2.45x0.4688x1.4007}{1.4121}$$

$$= 1.14$$

โปรตีน = ไนโตรเจน x 6.25

ใน NH_3 17 กรัม มี N 14 กรัม

ใน NH_3 1.14 กรัม มี N $\frac{14 \times 1.14}{17} = 0.94$

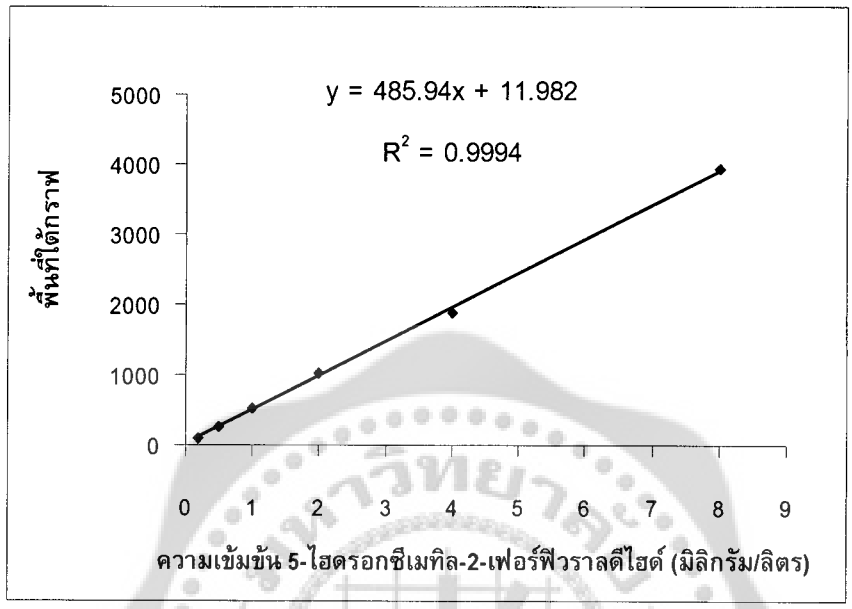
โปรตีน = 0.94 x 6.25 = 5.87

ภาคผนวก ค

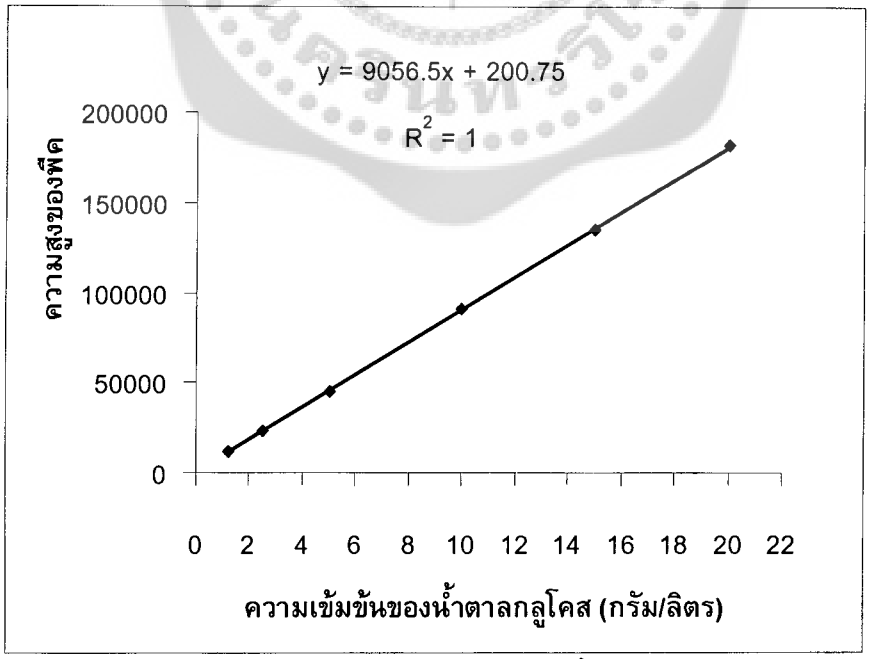
แสดงกราฟมาตรฐานและโครมาโทแกรมจากการวิเคราะห์

ภาคผนวก ค

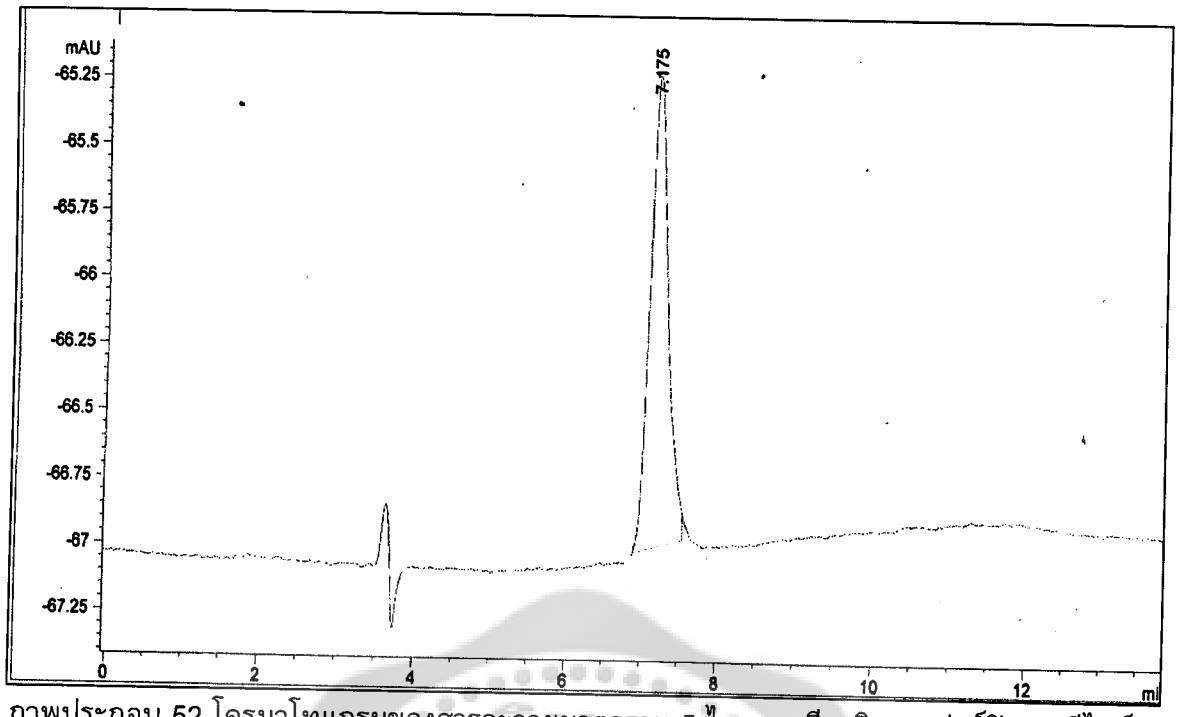
แสดงกราฟมาตรฐานและโครมาโทแกรมจากการวิเคราะห์



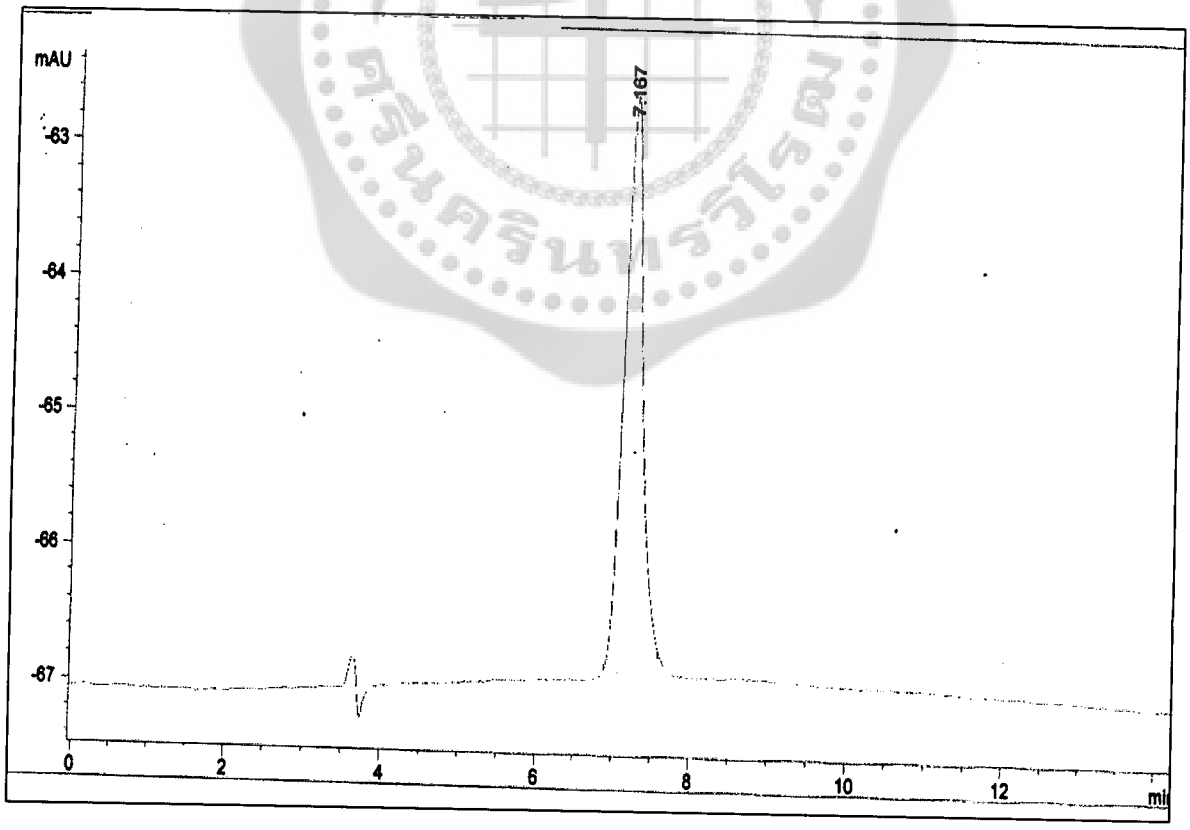
ภาพประกอบ 50 กราฟมาตรฐานสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์



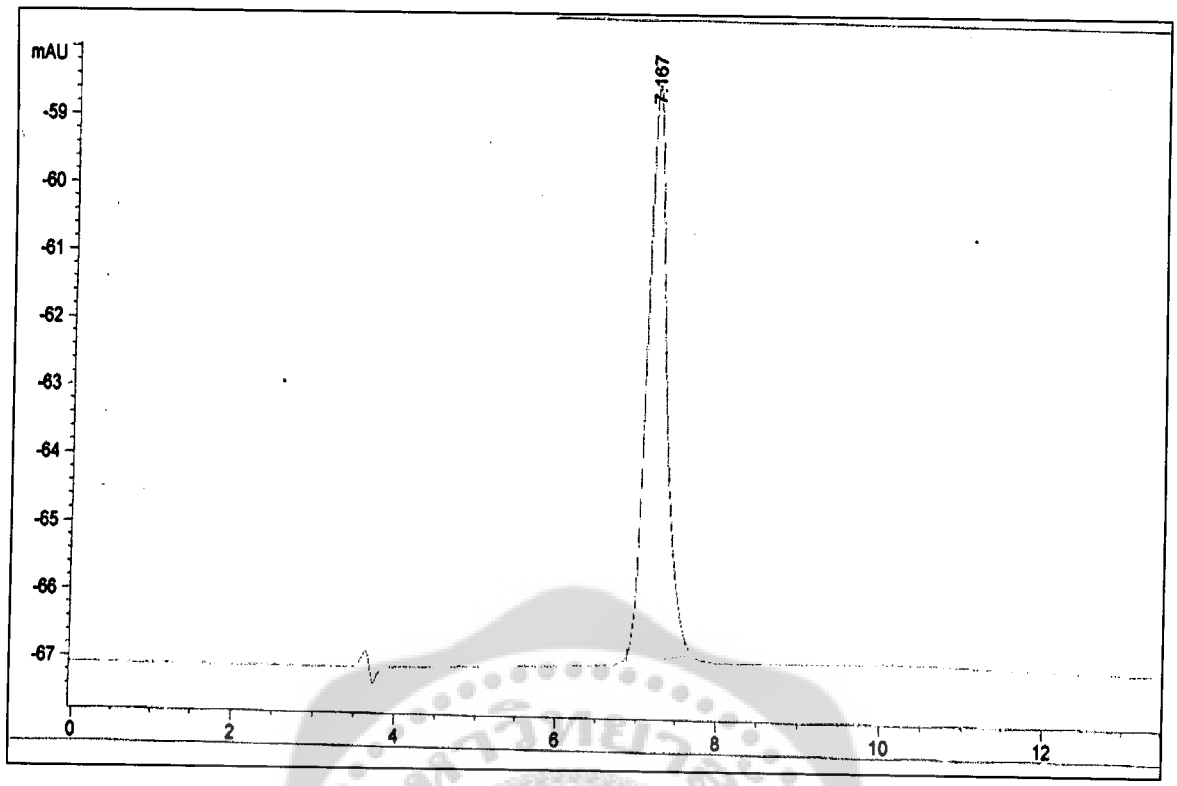
ภาพประกอบ 51 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส



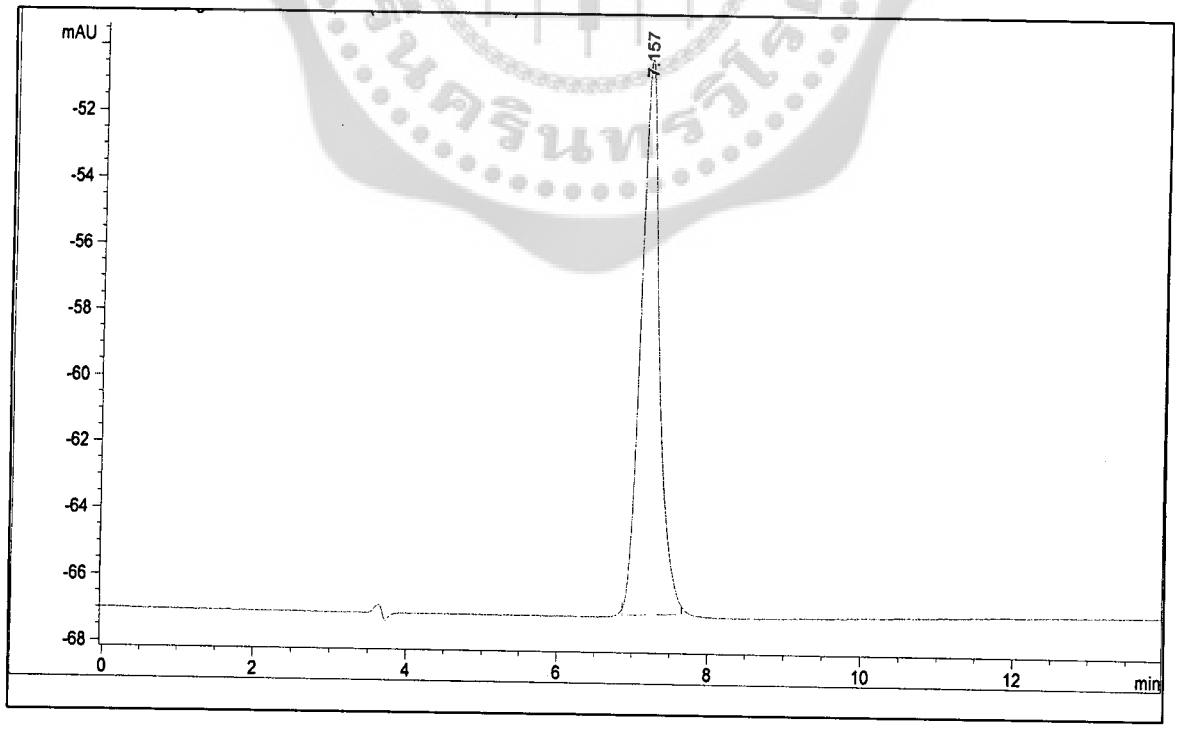
ภาพประกอบ 52 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร



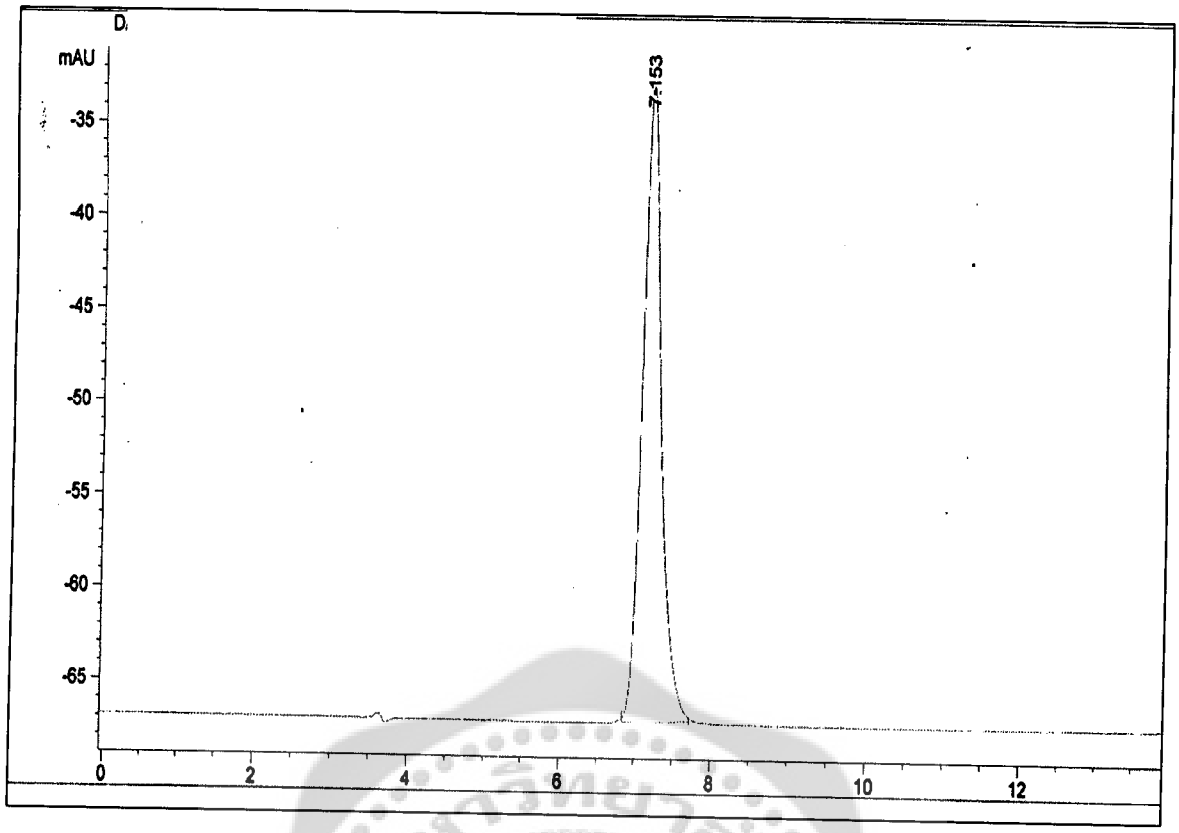
ภาพประกอบ 53 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร



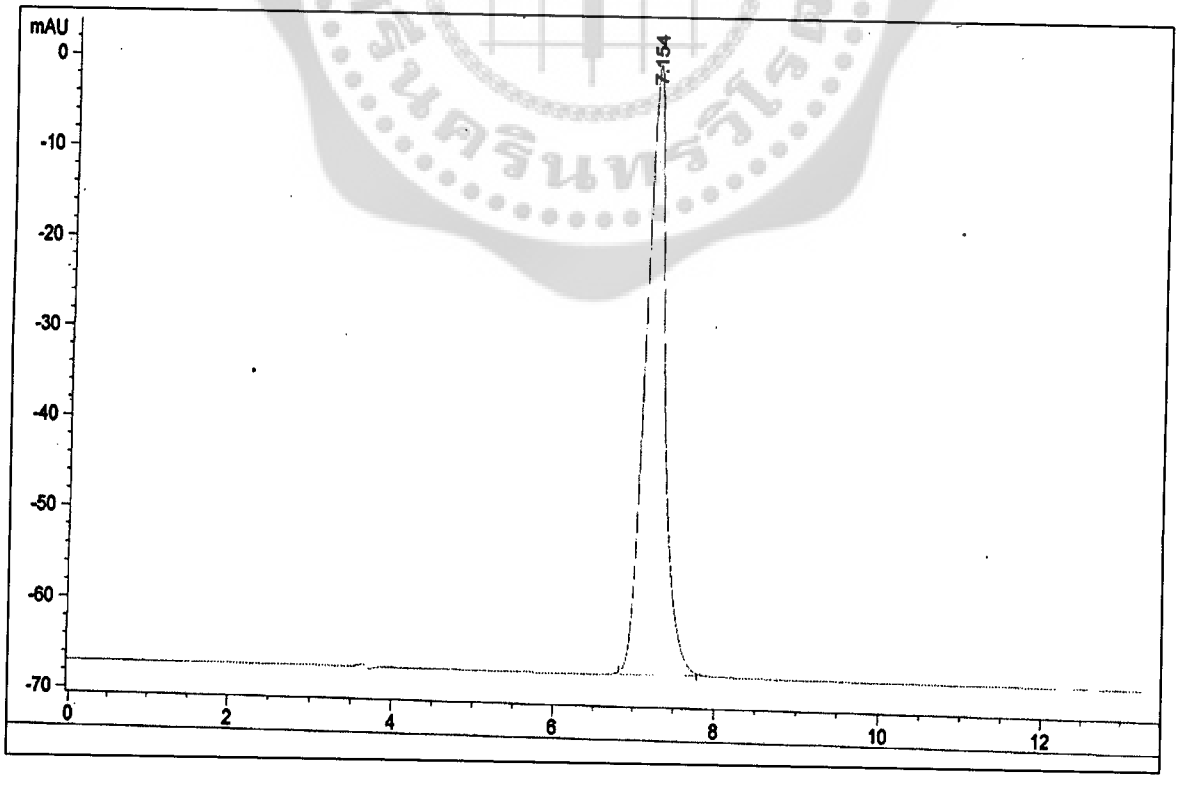
ภาพประกอบ 54 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร



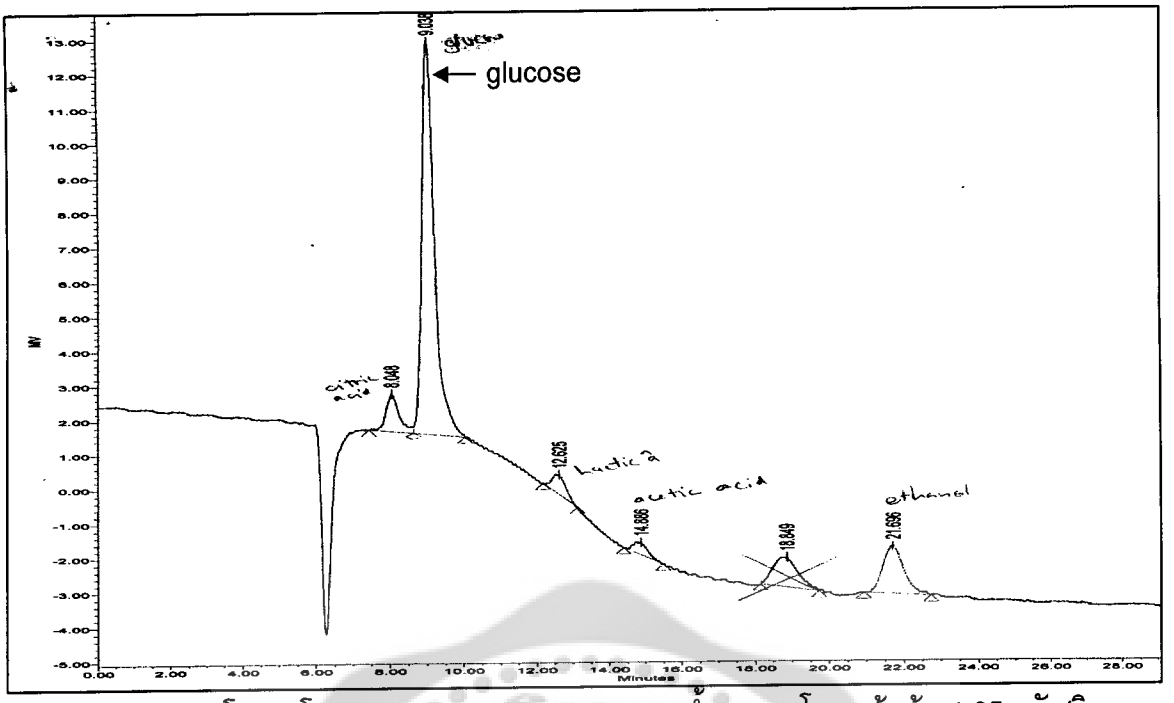
ภาพประกอบ 55 โครมาโทแกรมของละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เข้มข้น 2 มิลลิกรัม/ลิตร



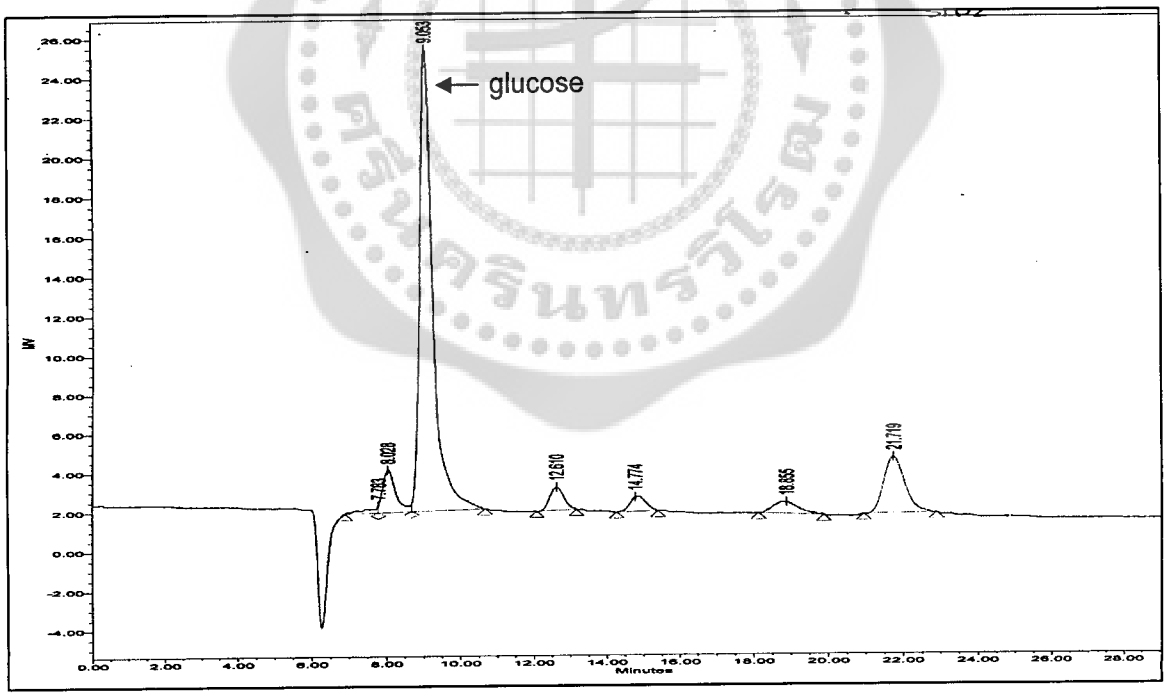
ภาพประกอบ 56 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เข้มข้น 4 มิลลิกรัม/ลิตร



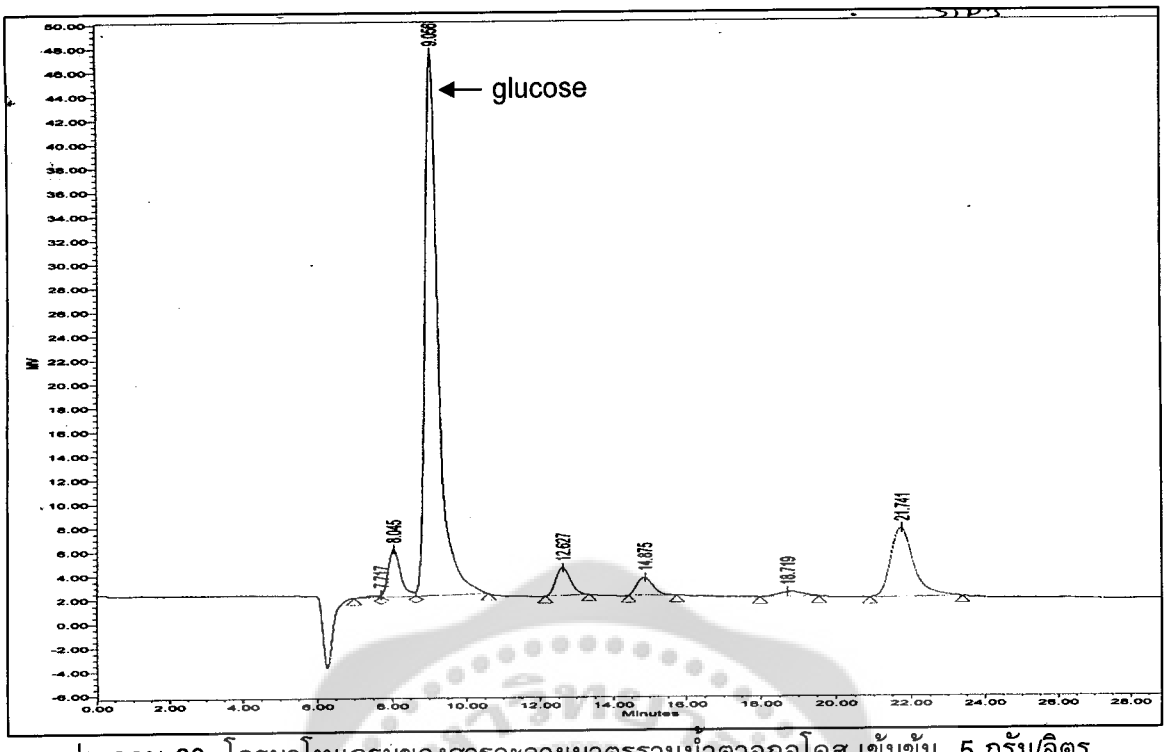
ภาพประกอบ 57 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ เข้มข้น 8 มิลลิกรัม/ลิตร



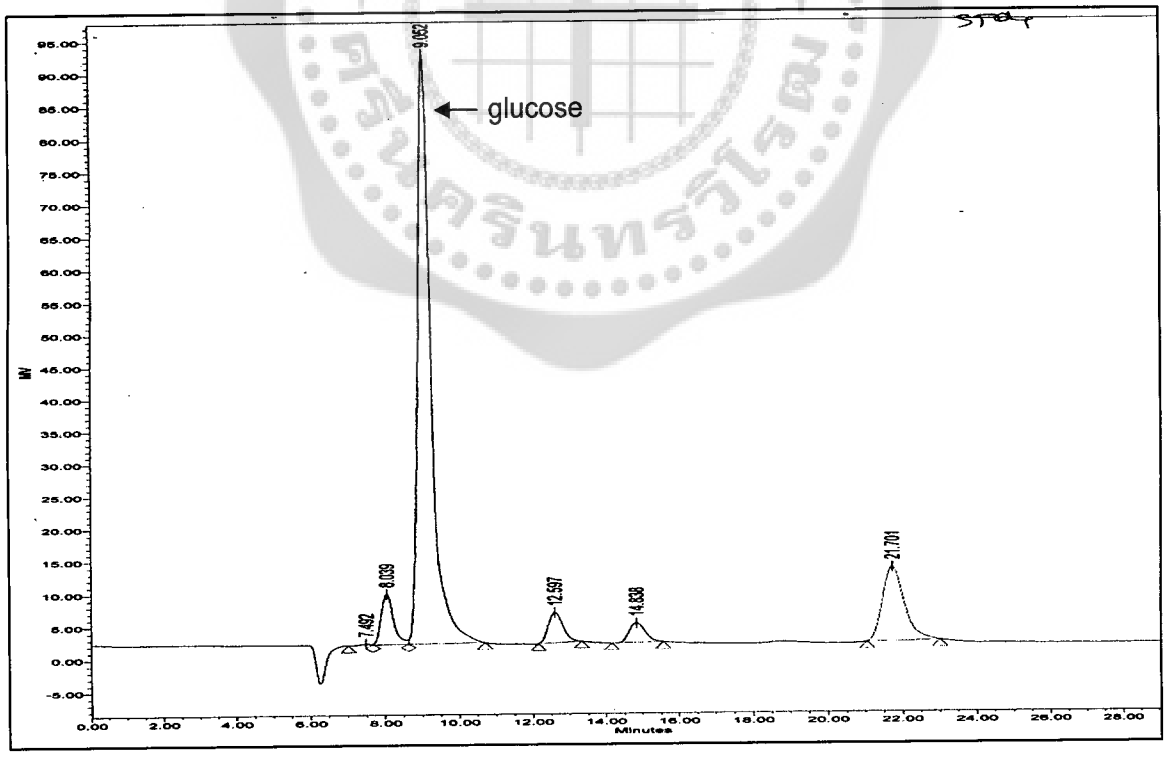
ภาพประกอบ 58 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส เข้มข้น 1.25 กรัม/ลิตร



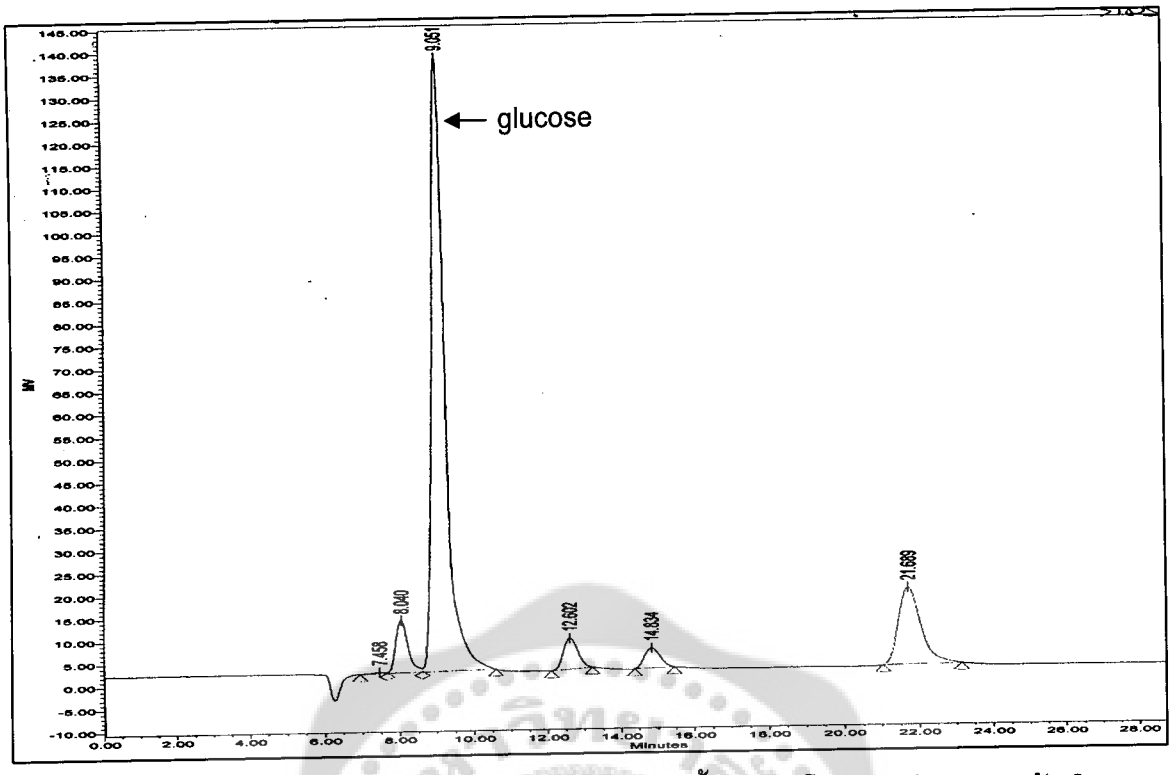
ภาพประกอบ 59 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส เข้มข้น 2.5 กรัม/ลิตร



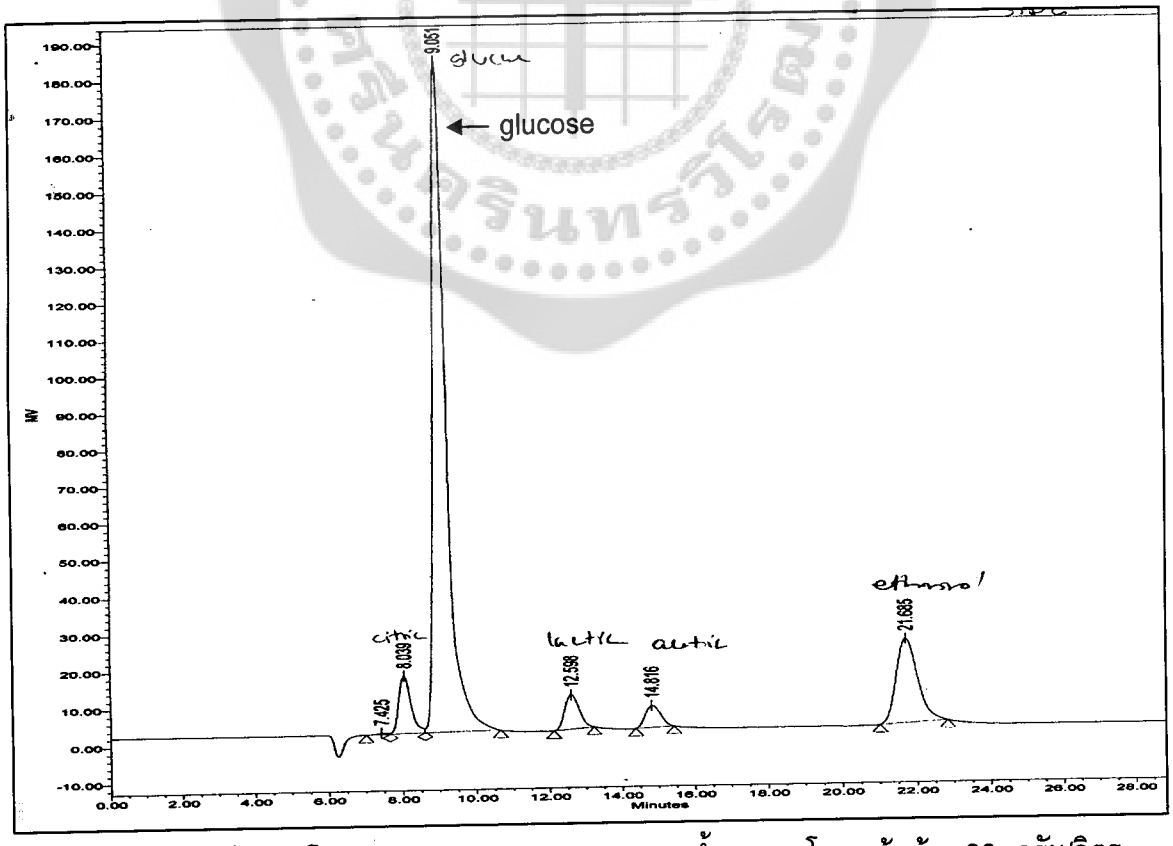
ภาพประกอบ 60 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส เข้มข้น 5 กรัม/ลิตร



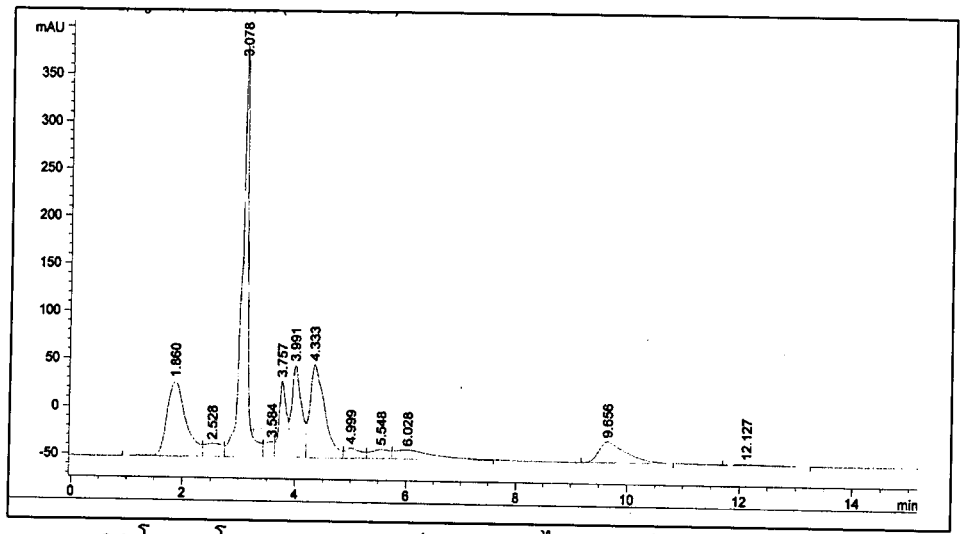
ภาพประกอบ 61 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส เข้มข้น 10 กรัม/ลิตร



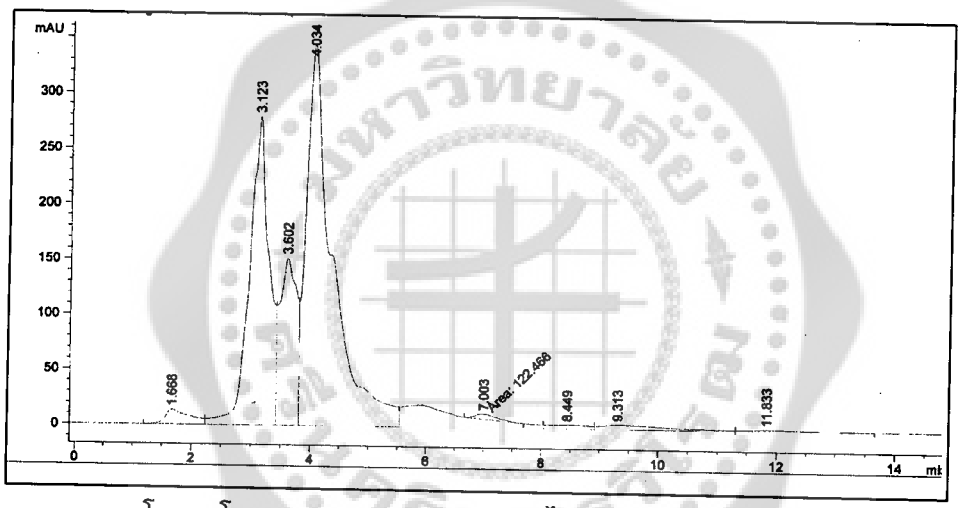
ภาพประกอบ 62 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส เข้มข้น 15 กรัม/ลิตร



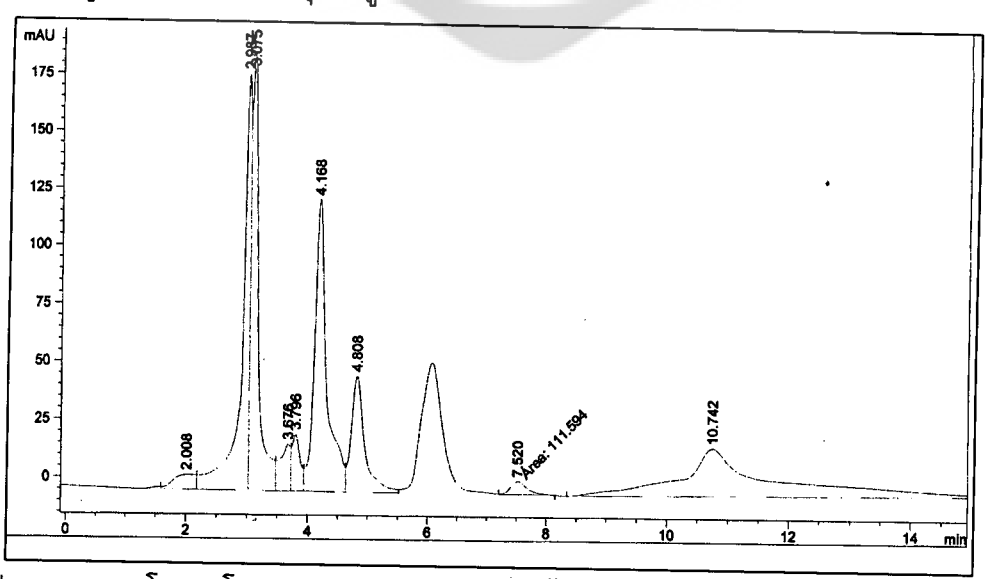
ภาพประกอบ 63 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส เข้มข้น 20 กรัม/ลิตร



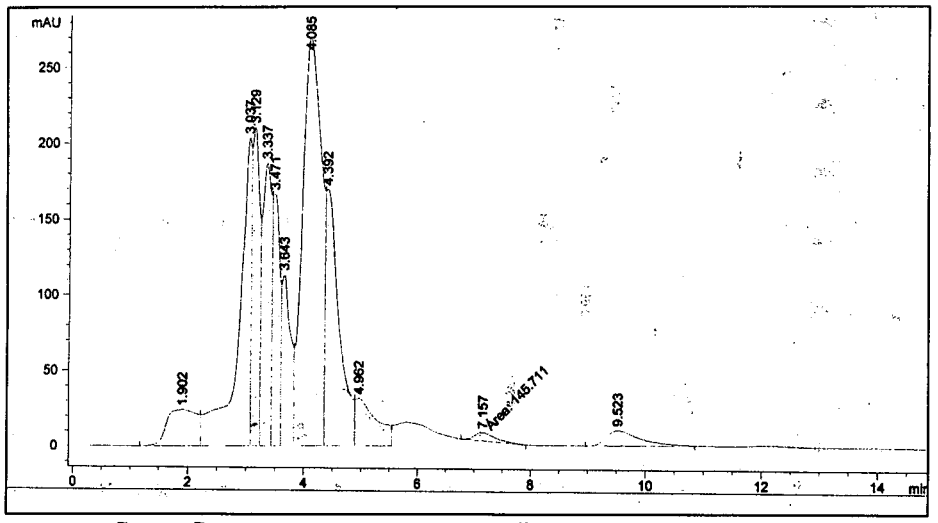
ภาพประกอบ 64 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 เดือน



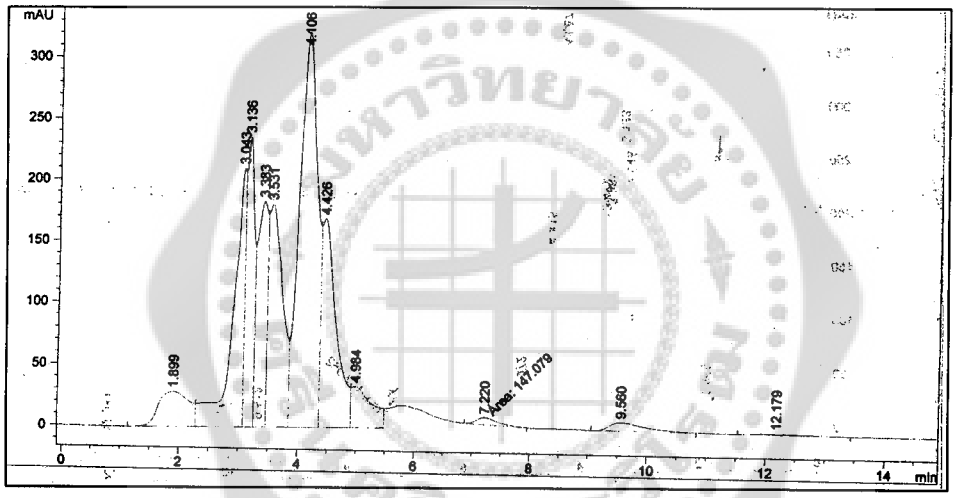
ภาพประกอบ 65 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 เดือน



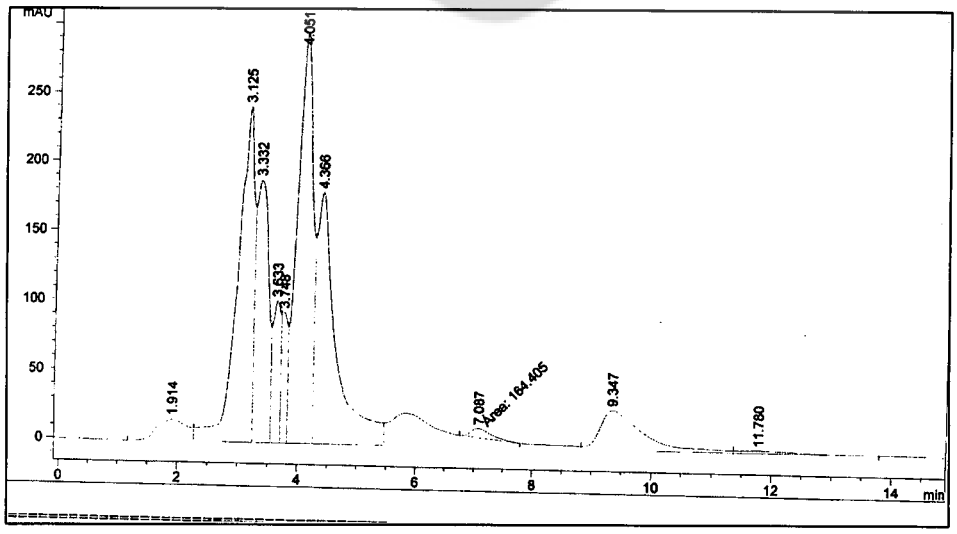
ภาพประกอบ 66 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 เดือน



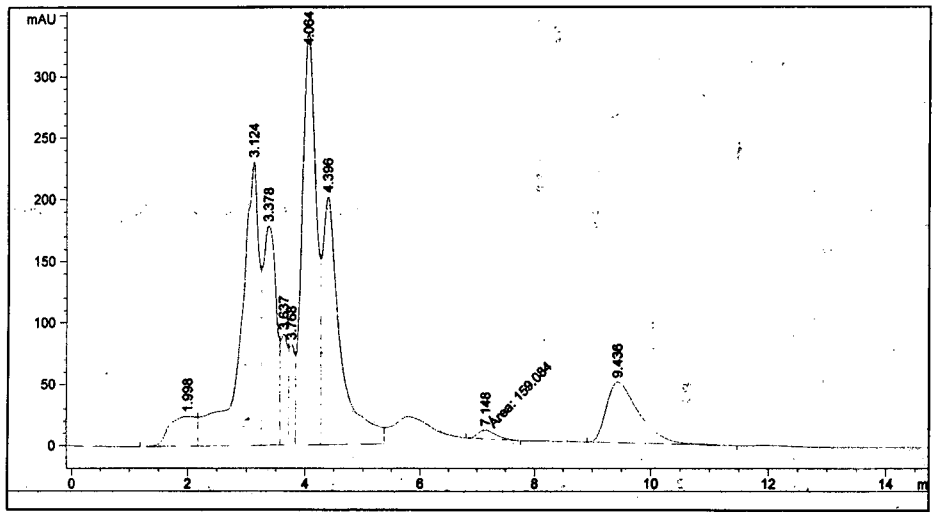
ภาพประกอบ 67 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน



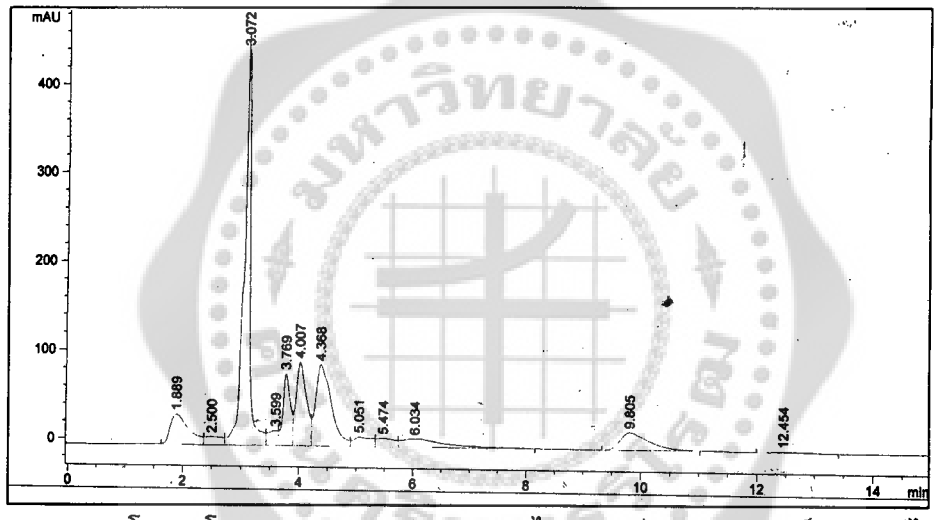
ภาพประกอบ 68 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 เดือน



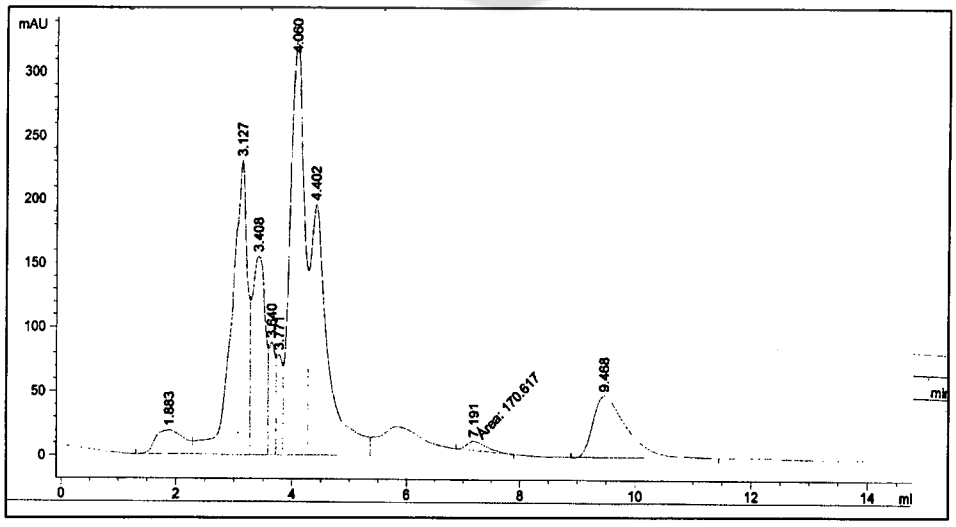
ภาพประกอบ 69 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 เดือน



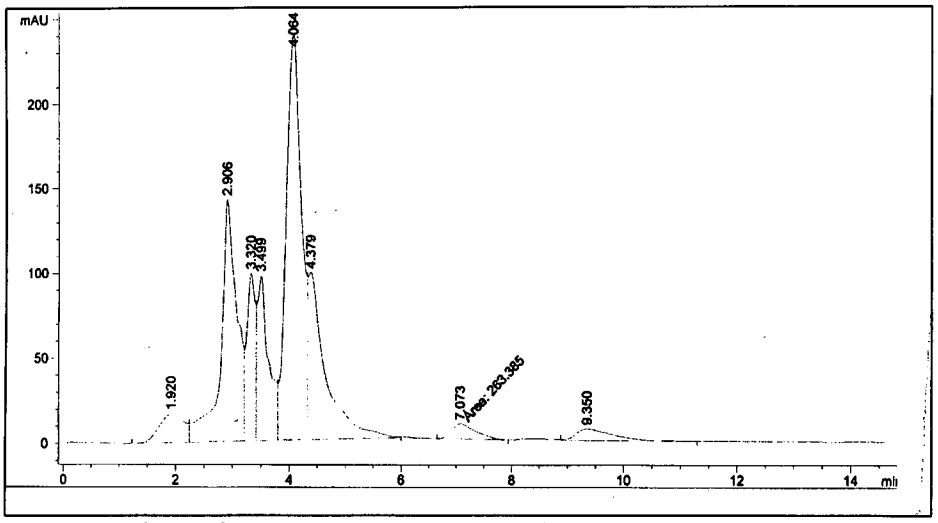
ภาพประกอบ 70 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน



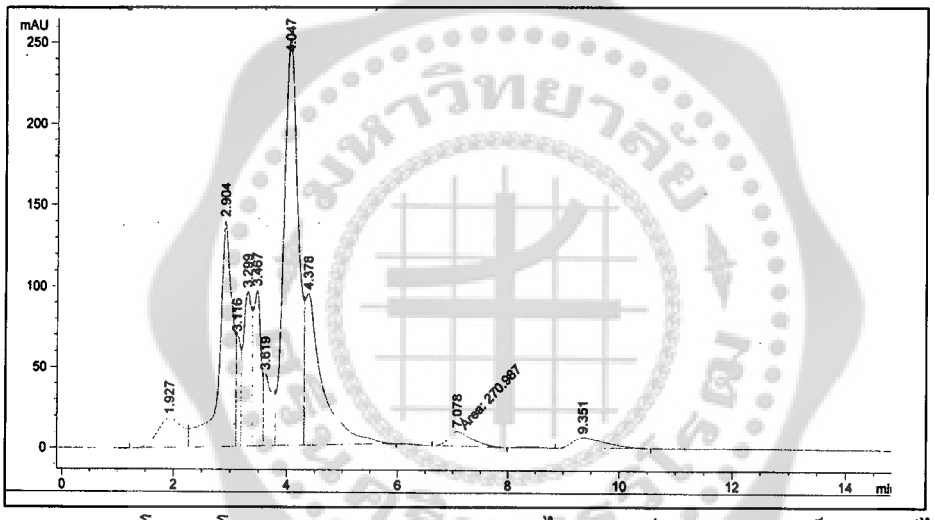
ภาพประกอบ 71 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 เดือน



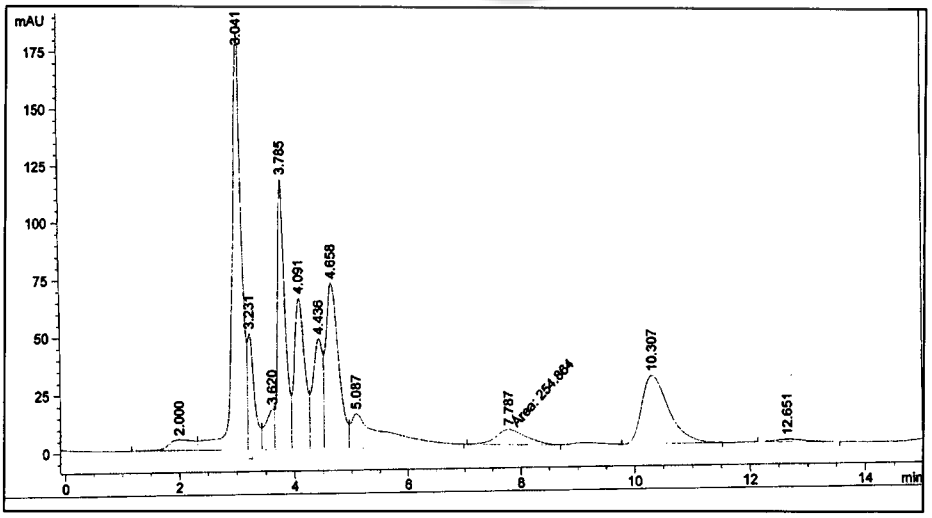
ภาพประกอบ 72 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 เดือน



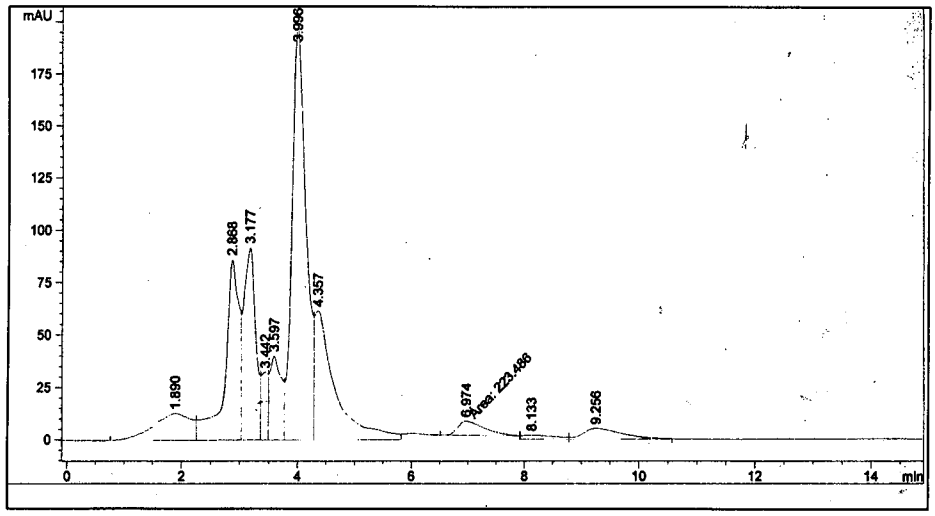
ภาพประกอบ 73 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 เดือน



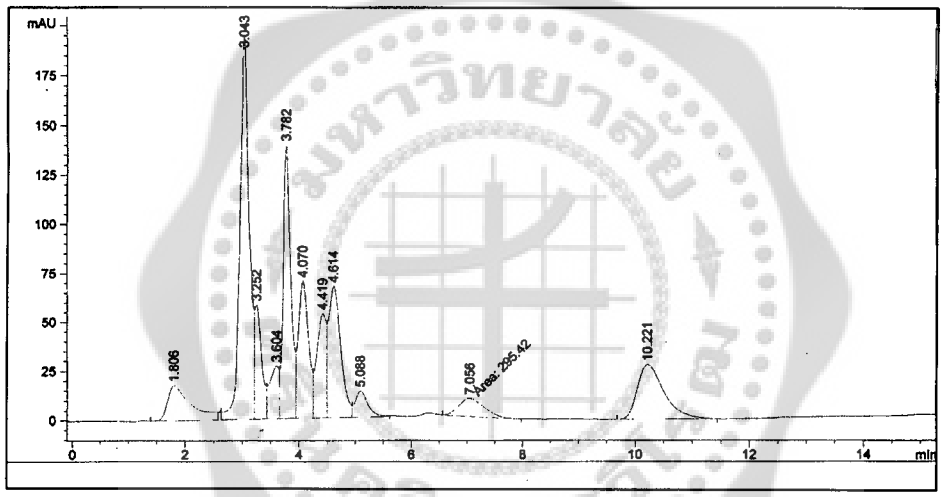
ภาพประกอบ 74 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน



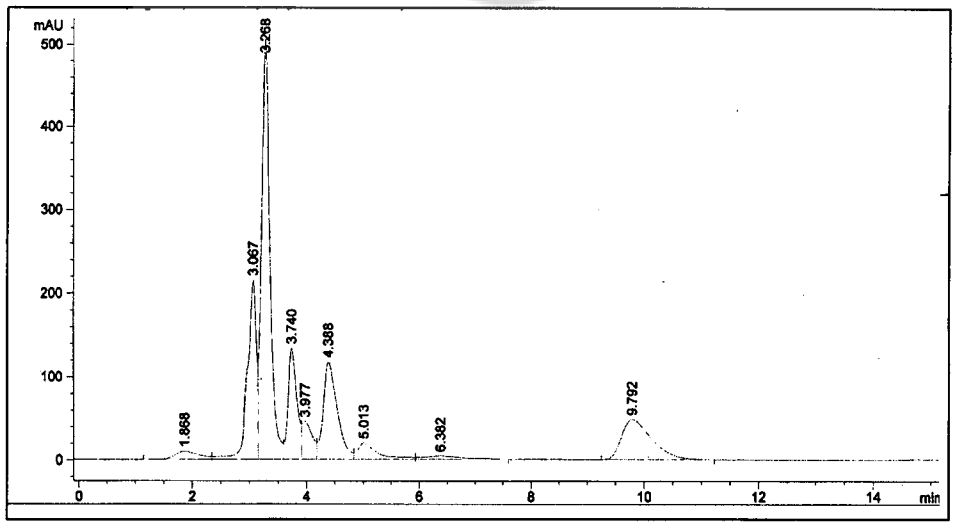
ภาพประกอบ 75 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 เดือน



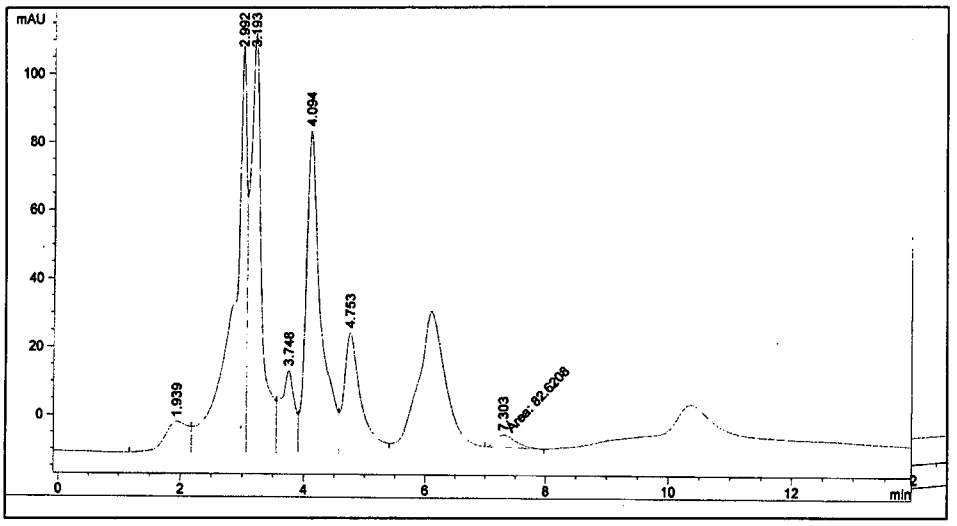
ภาพประกอบ 76 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 เดือน



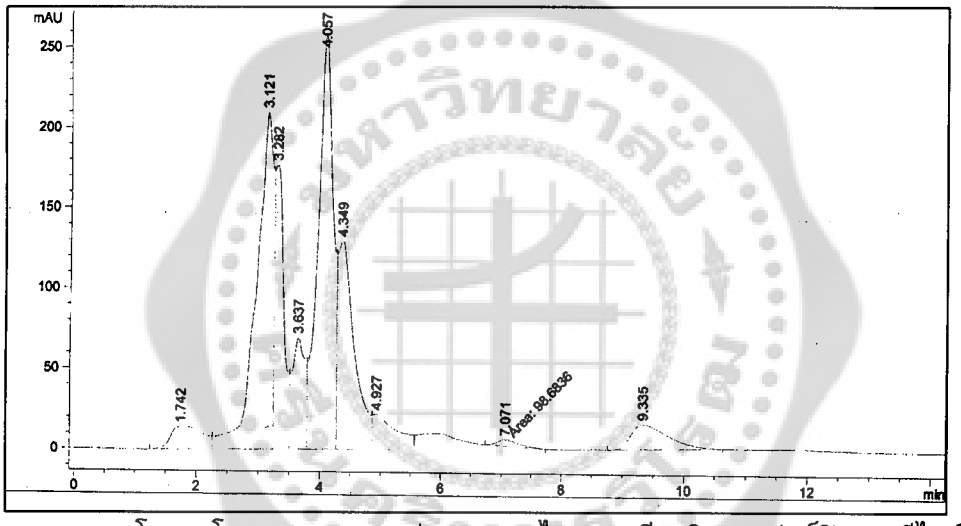
ภาพประกอบ 77 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน



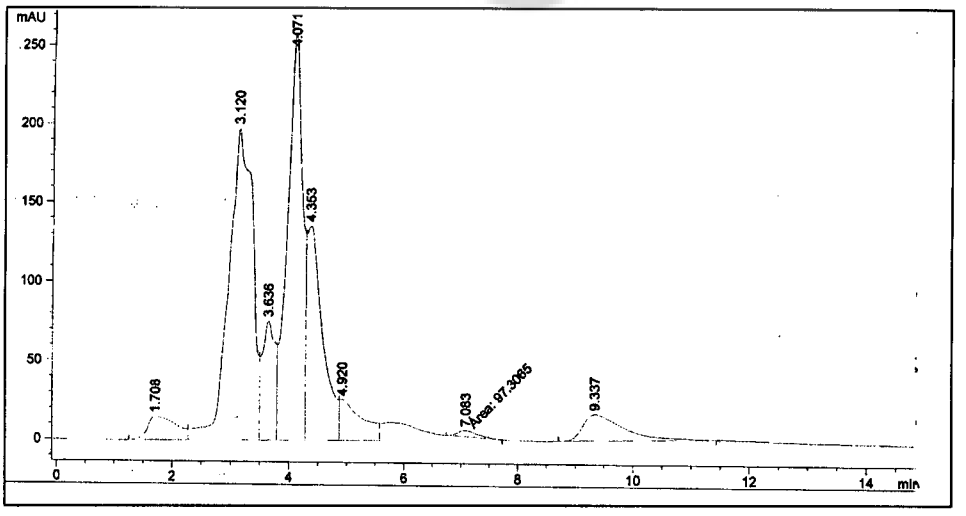
ภาพประกอบ 78 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 เดือน



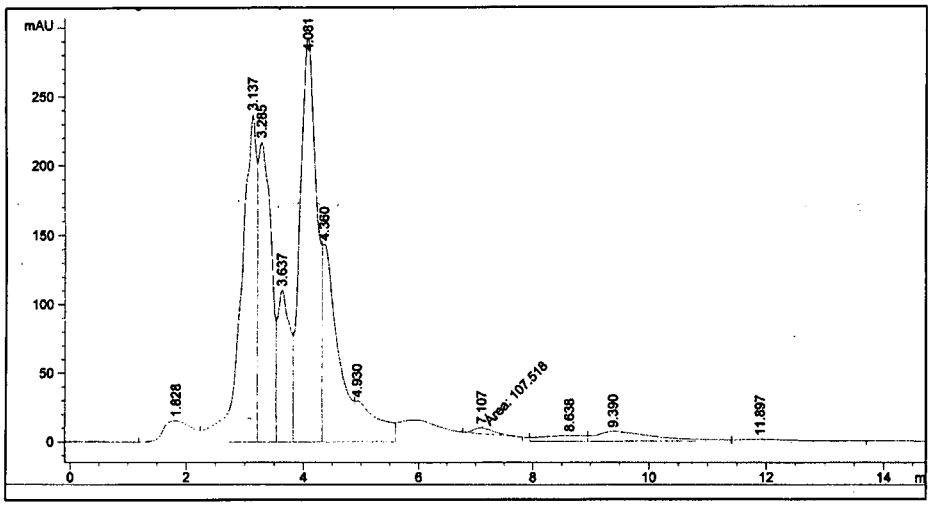
ภาพประกอบ 79 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 เดือน



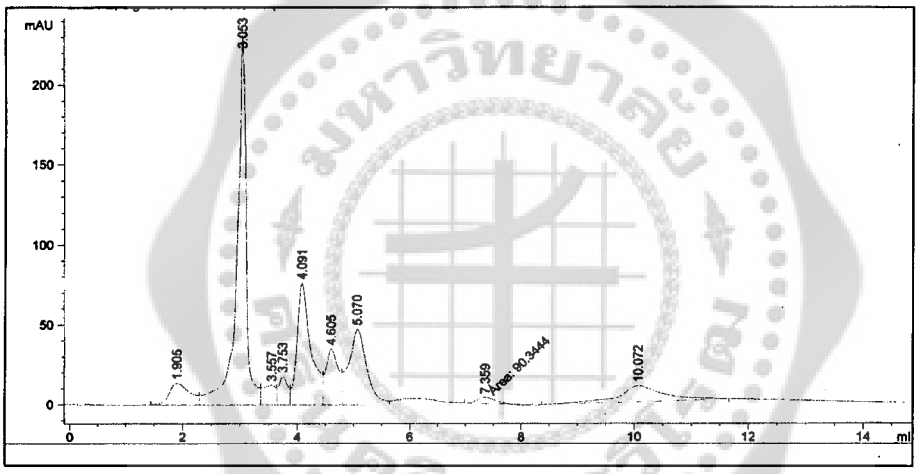
ภาพประกอบ 80 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 เดือน



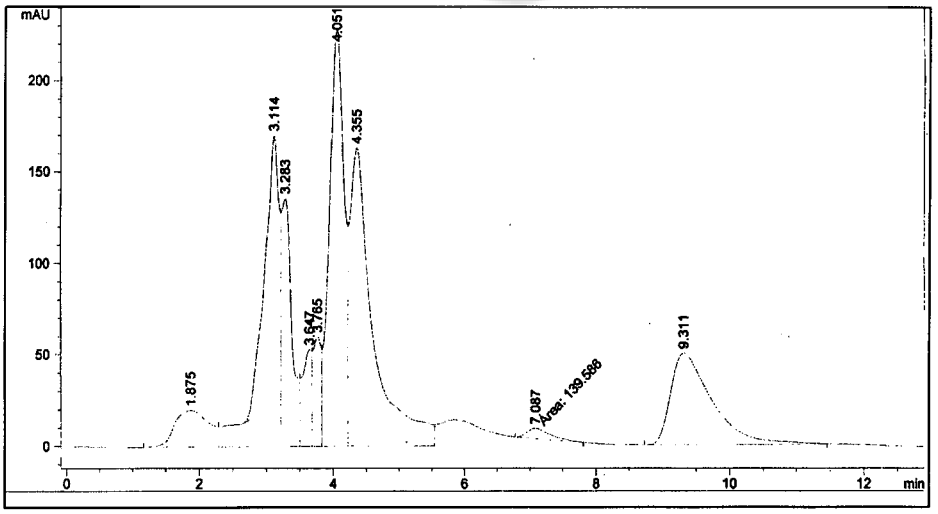
ภาพประกอบ 81 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน



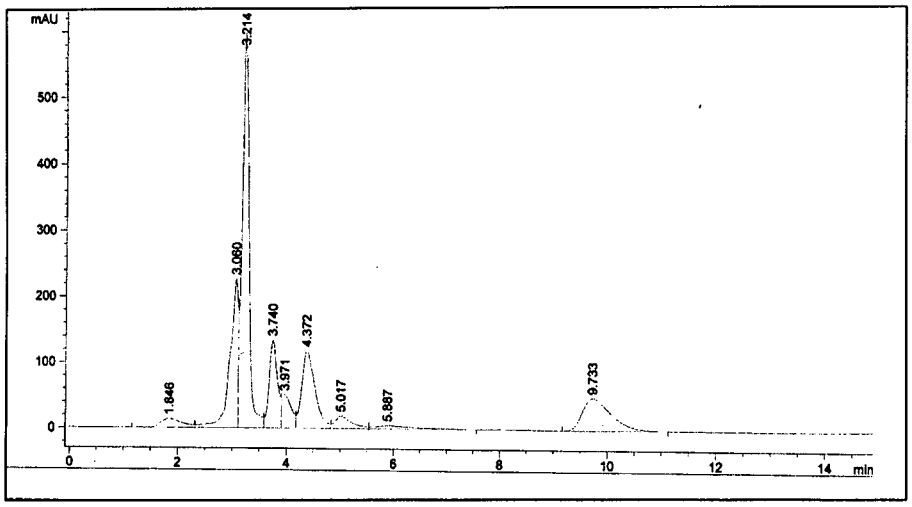
ภาพประกอบ 82 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 เดือน



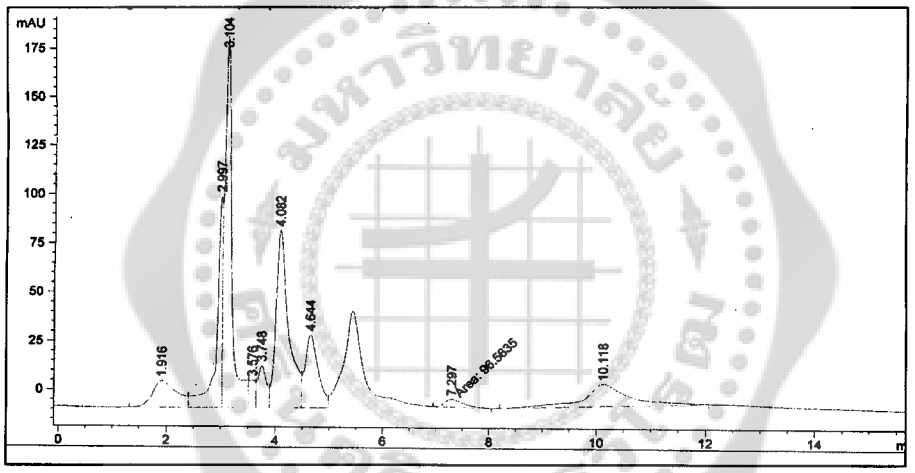
ภาพประกอบ 83 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 เดือน



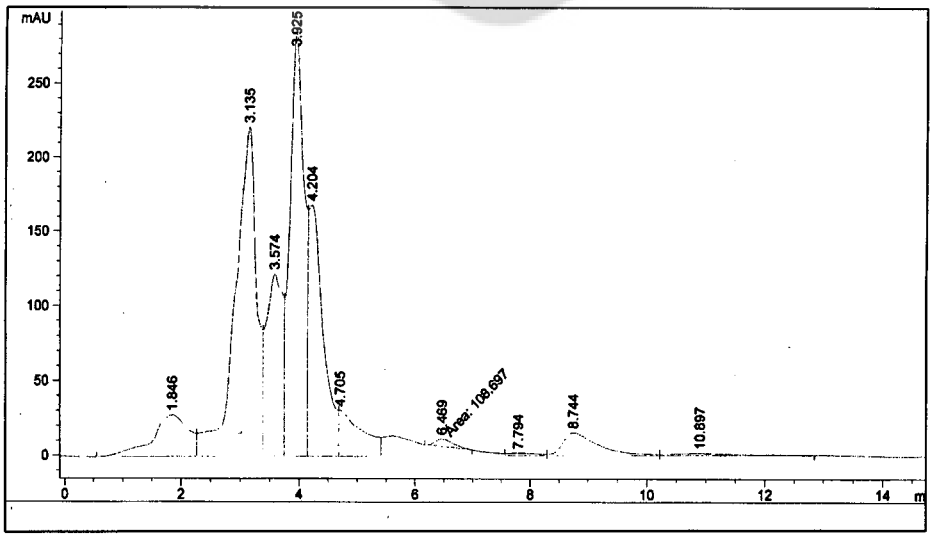
ภาพประกอบ 84 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน



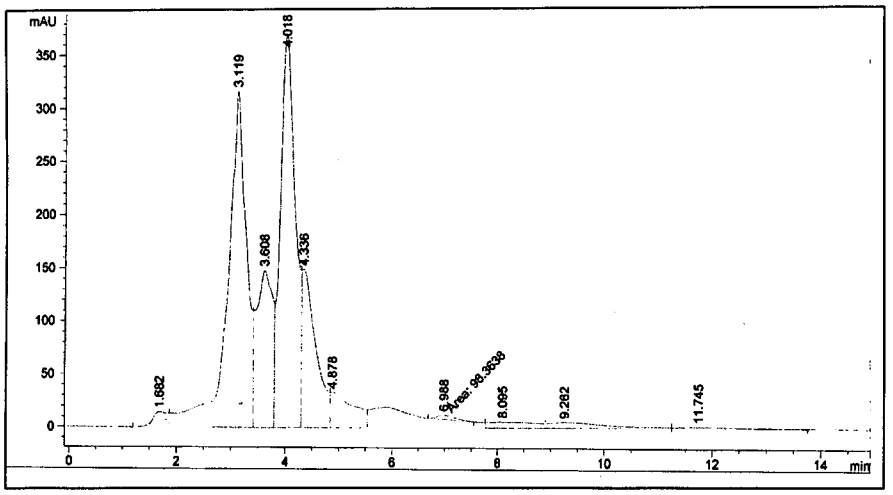
ภาพประกอบ 85 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 0 เดือน



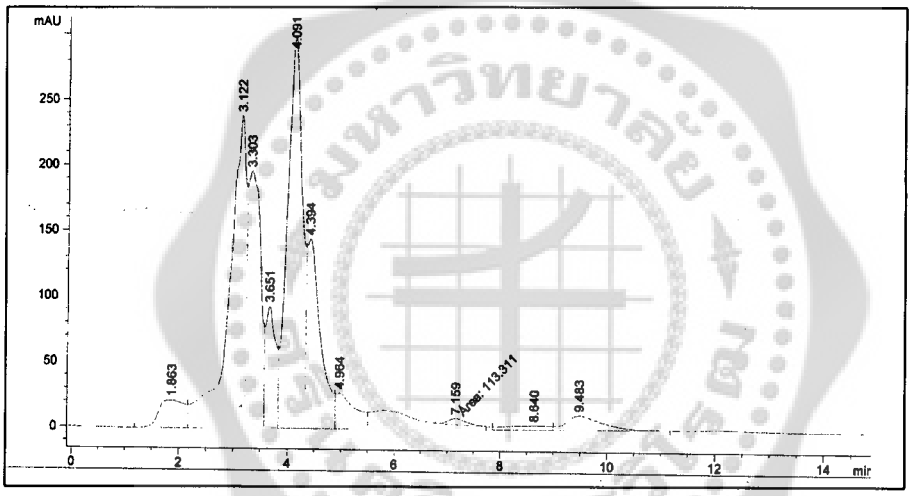
ภาพประกอบ 86 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 1 เดือน



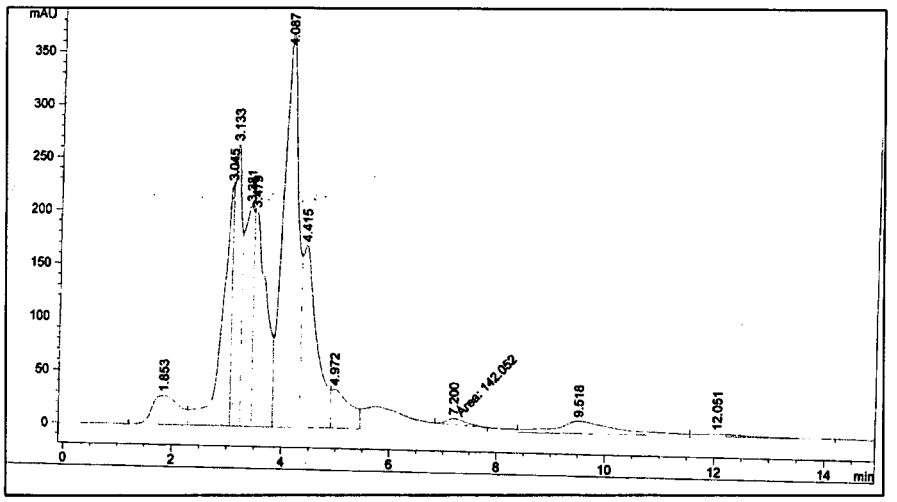
ภาพประกอบ 87 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 2 เดือน



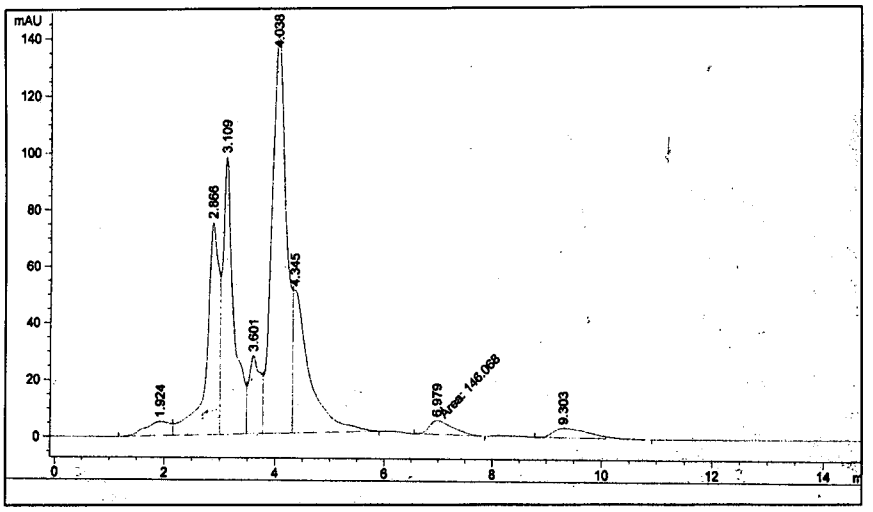
ภาพประกอบ 88 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 3 เดือน



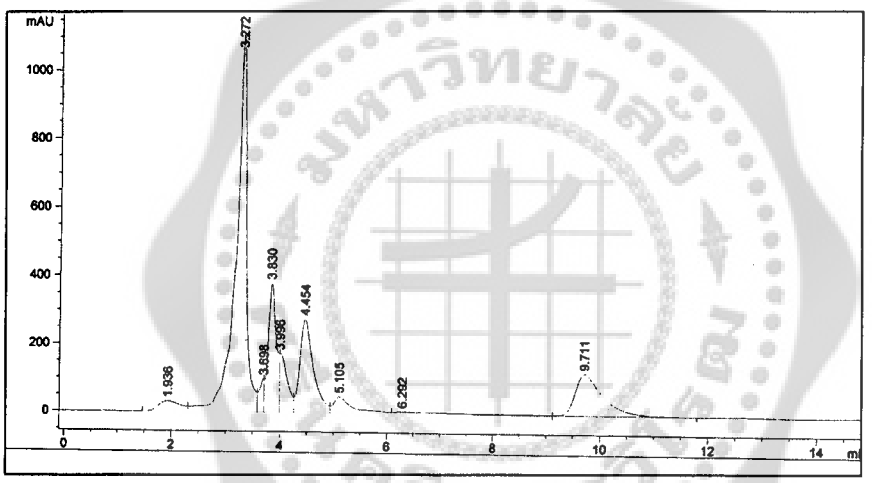
ภาพประกอบ 89 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 4 เดือน



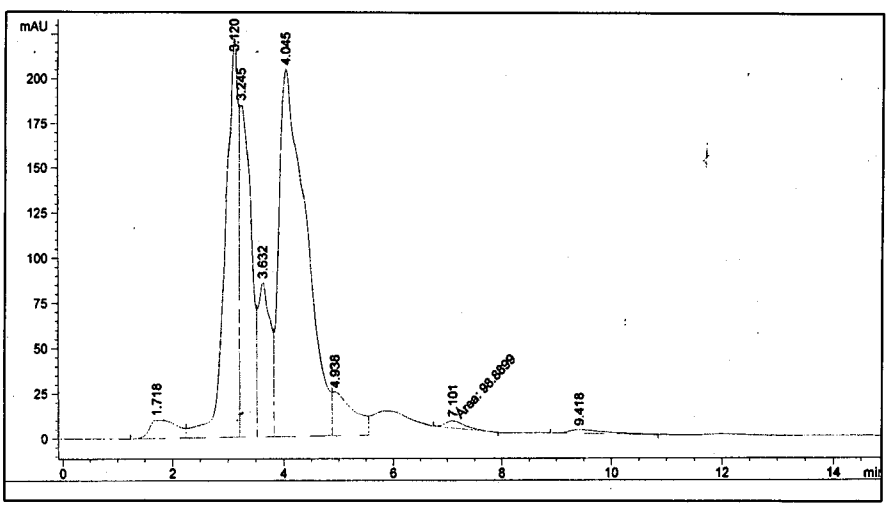
ภาพประกอบ 90 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 5 เดือน



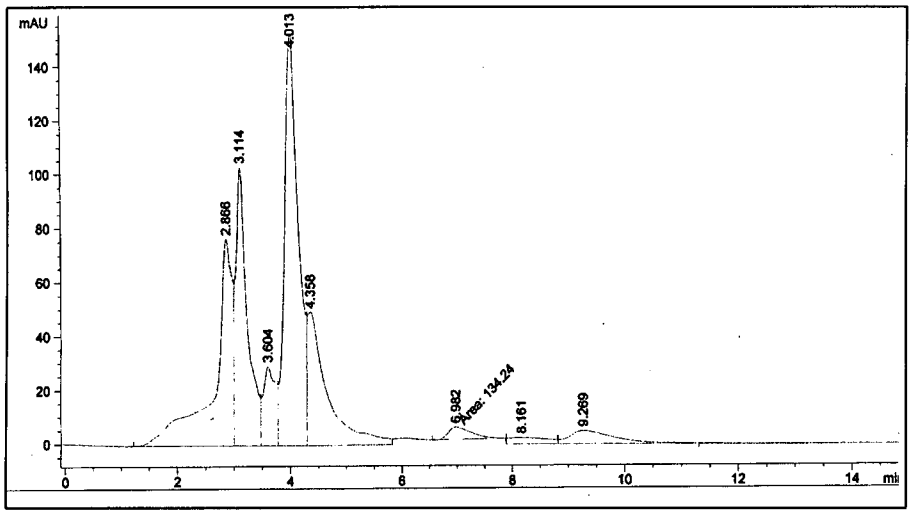
ภาพประกอบ 91 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน



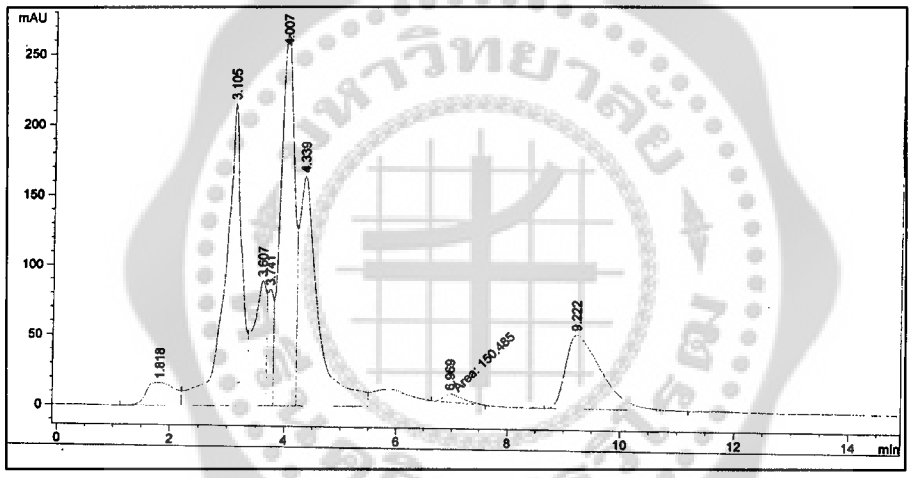
ภาพประกอบ 92 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 0 เดือน



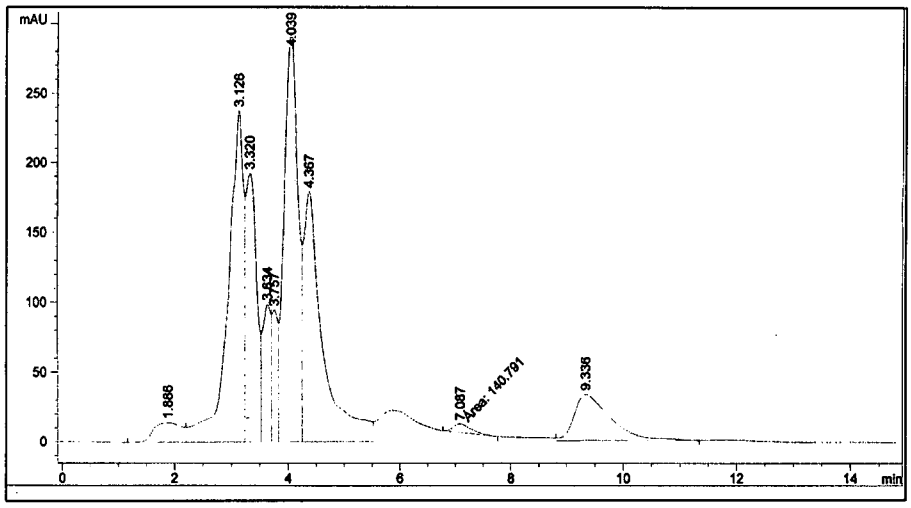
ภาพประกอบ 93 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 1 เดือน



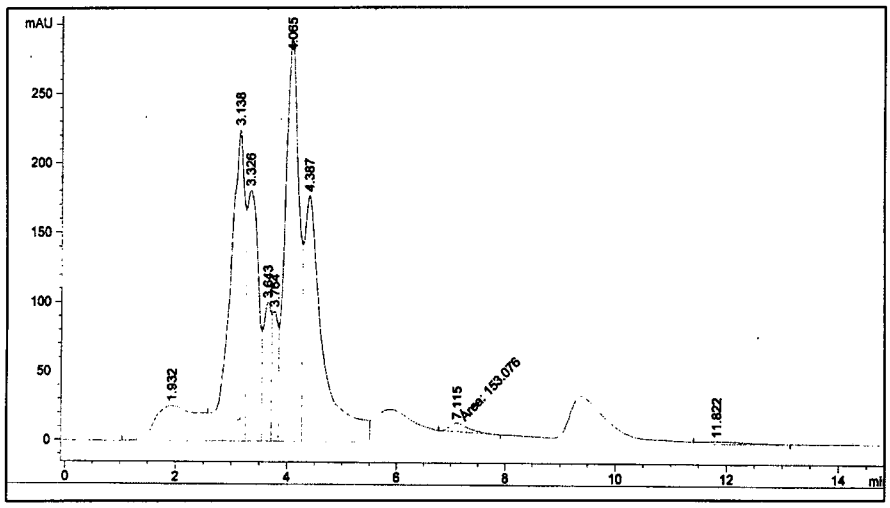
ภาพประกอบ 94 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 2 เดือน



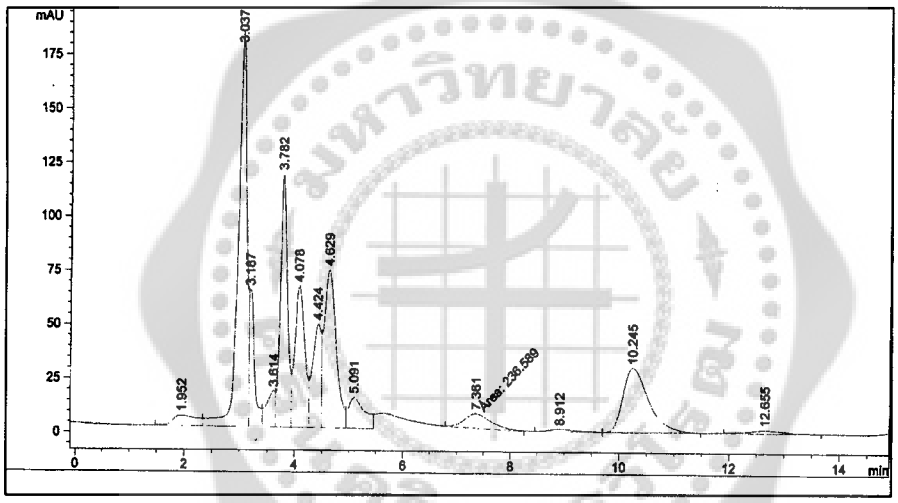
ภาพประกอบ 95 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 3 เดือน



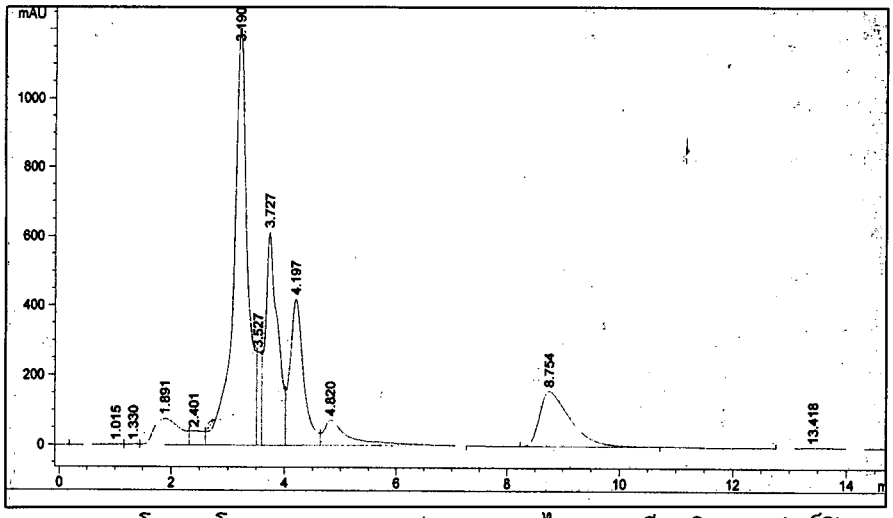
ภาพประกอบ 96 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 4 เดือน



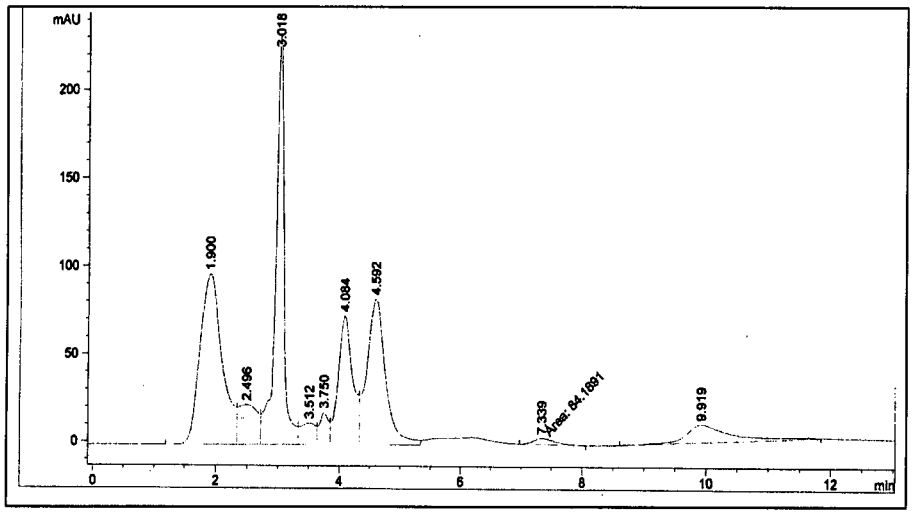
ภาพประกอบ 97 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 5 เดือน



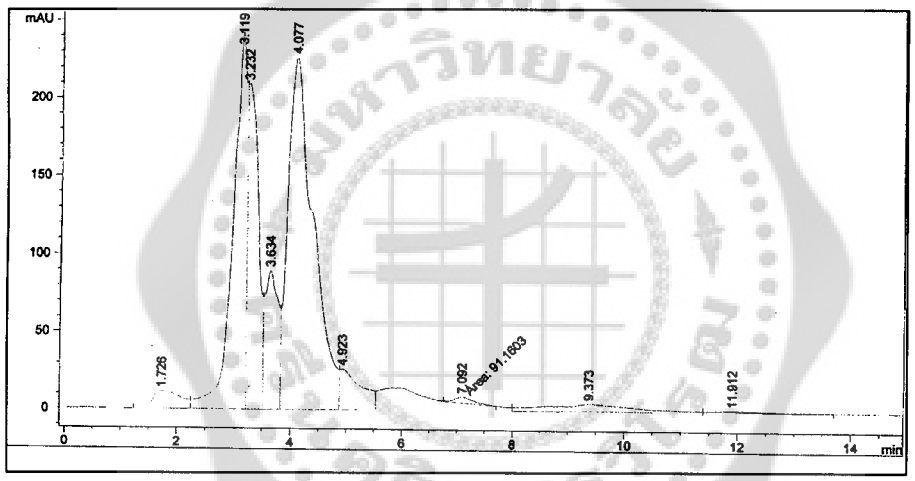
ภาพประกอบ 98 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน



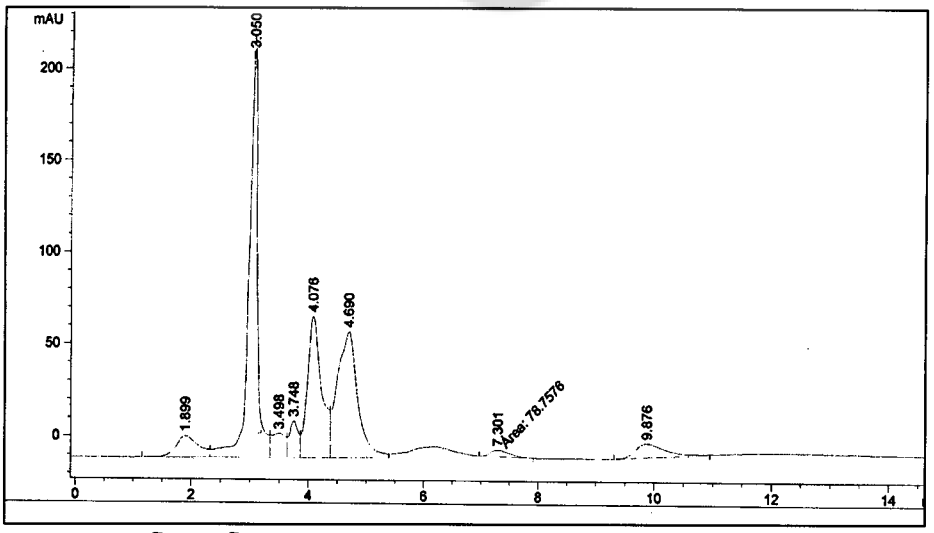
ภาพประกอบ 99 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 0 เดือน



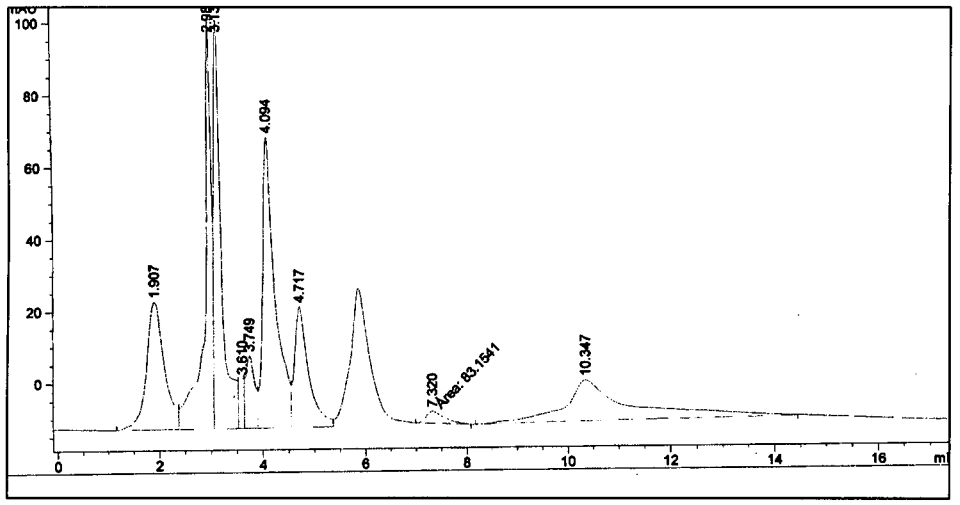
ภาพประกอบ 100 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 1 เดือน



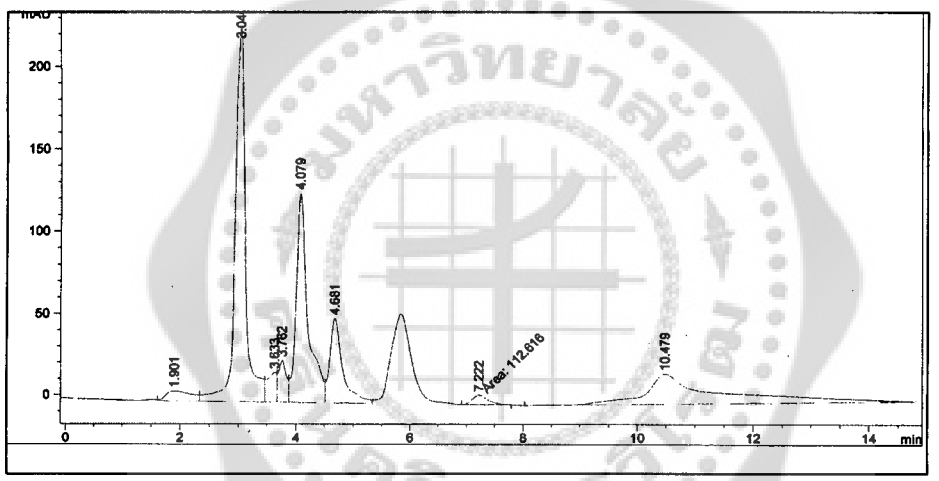
ภาพประกอบ 101 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 2 เดือน



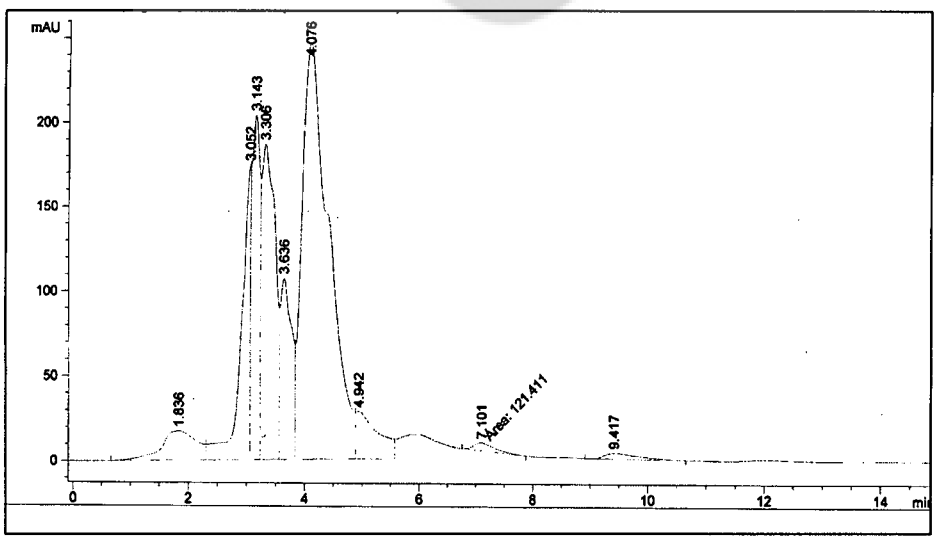
ภาพประกอบ 102 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 3 เดือน



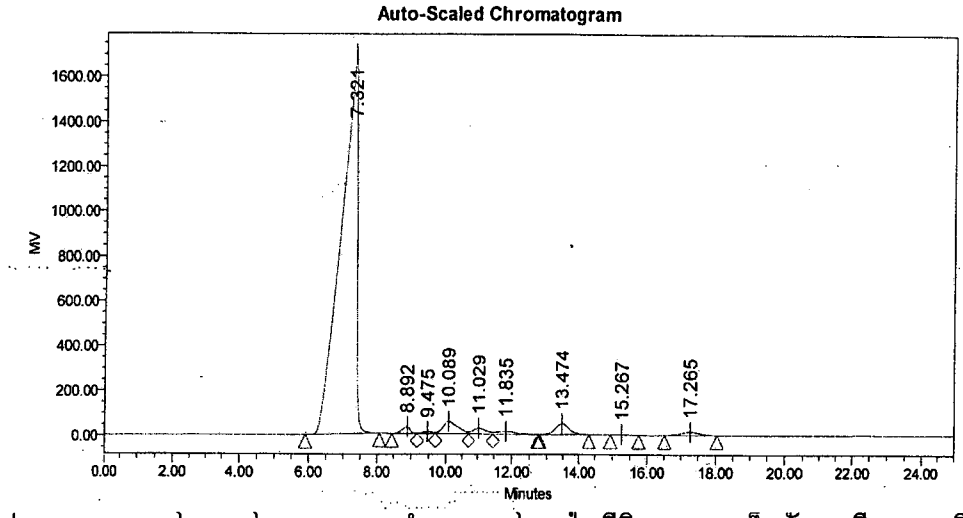
ภาพประกอบ 103 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 4 เดือน



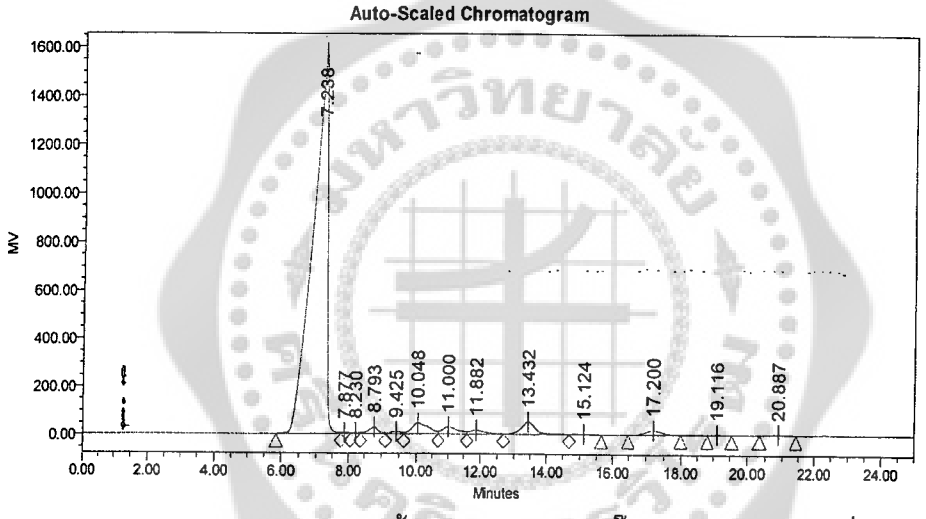
ภาพประกอบ 104 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 5 เดือน



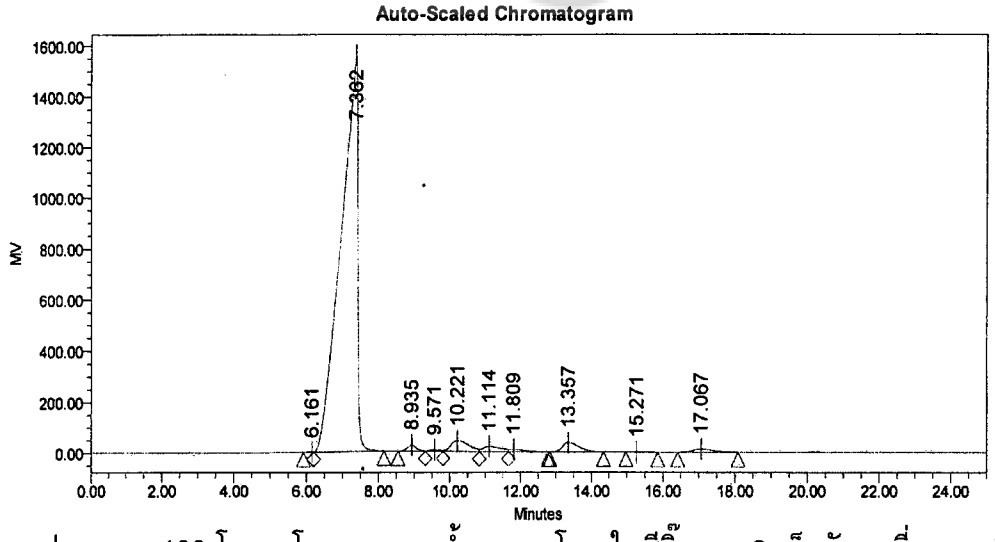
ภาพประกอบ 105 โครมาโทแกรมของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน



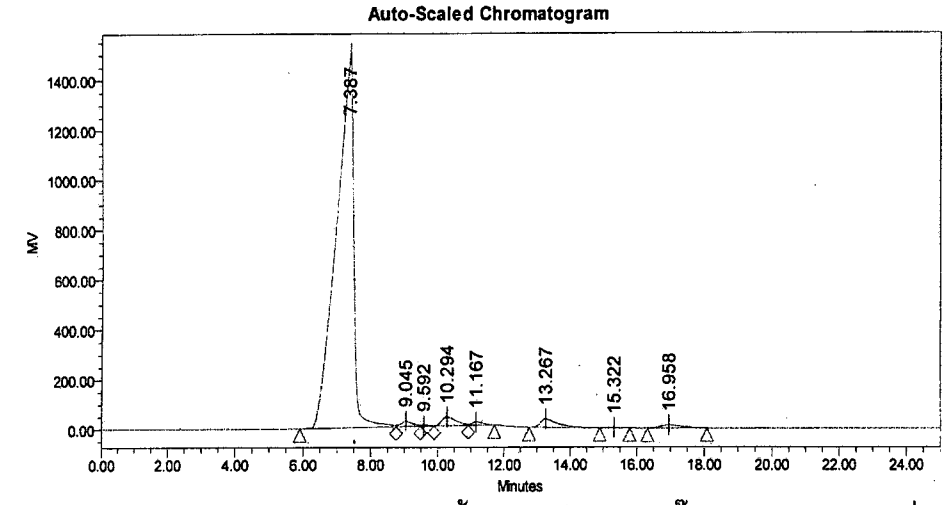
ภาพประกอบ 106 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิวสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 เดือน



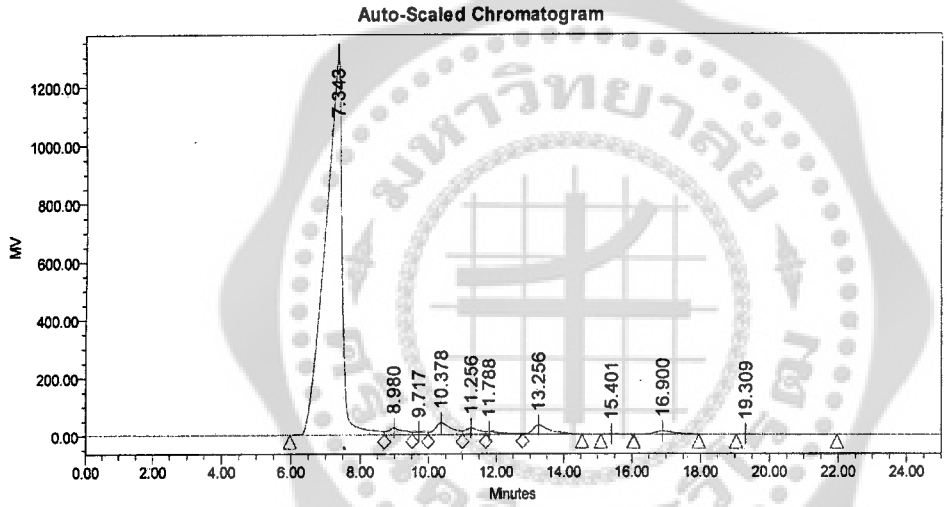
ภาพประกอบ 107 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 เดือน



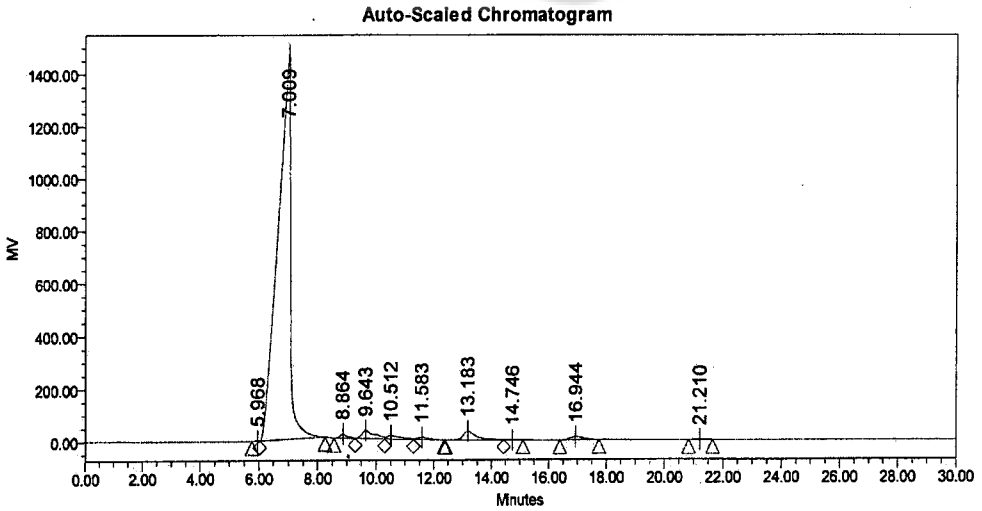
ภาพประกอบ 108 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 เดือน



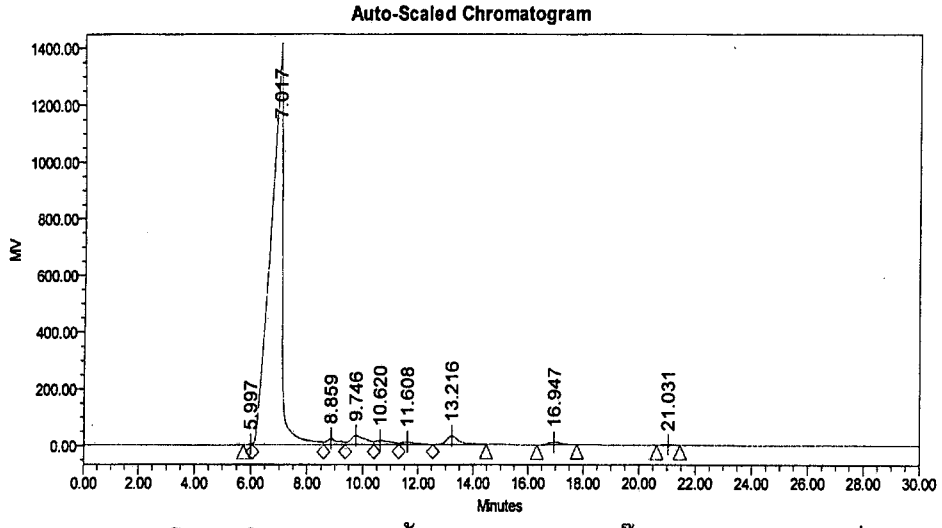
ภาพประกอบ 109 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน



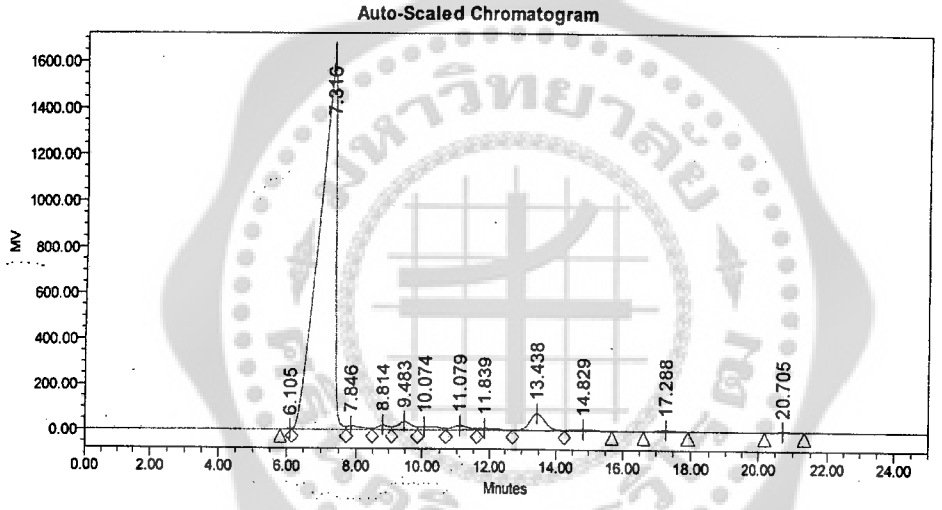
ภาพประกอบ 110 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 เดือน



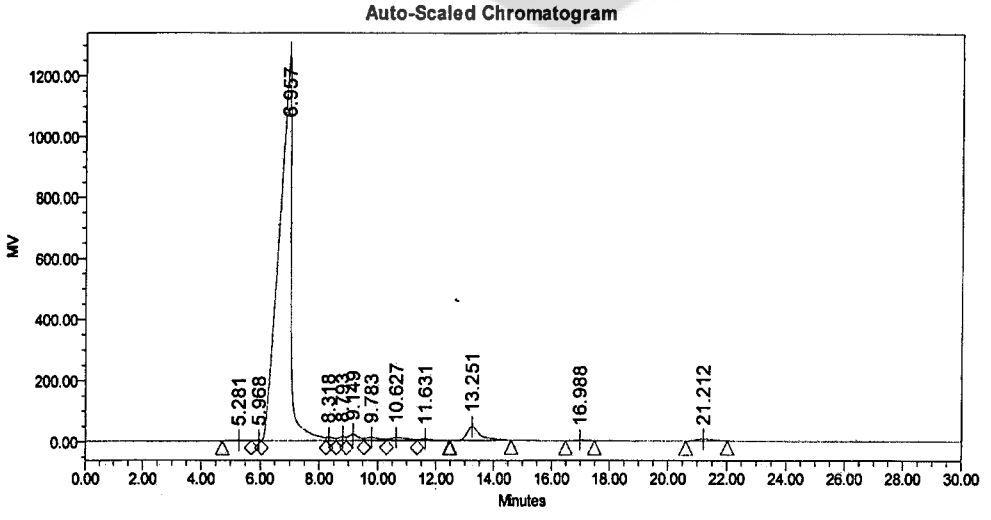
ภาพประกอบ 111 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 เดือน



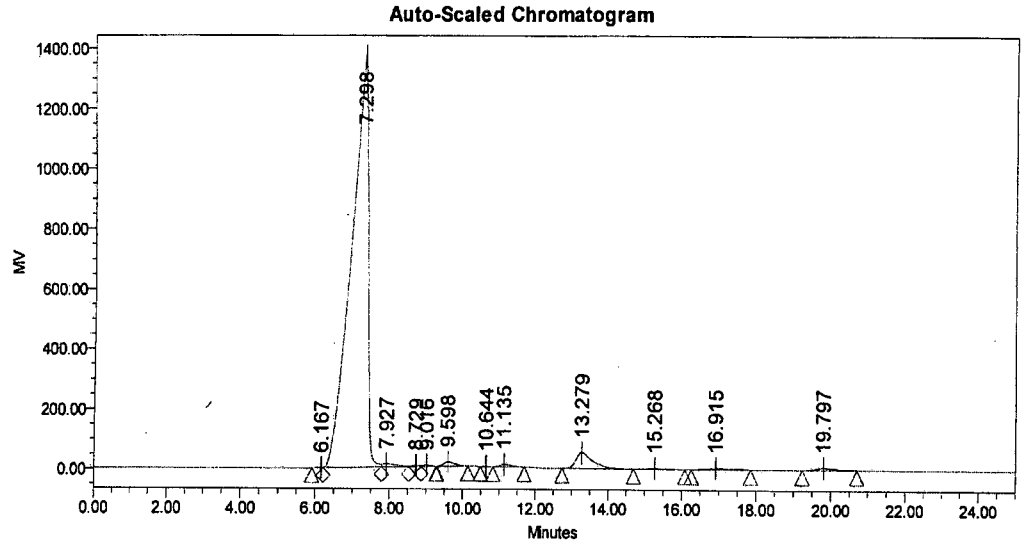
ภาพประกอบ 112 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน



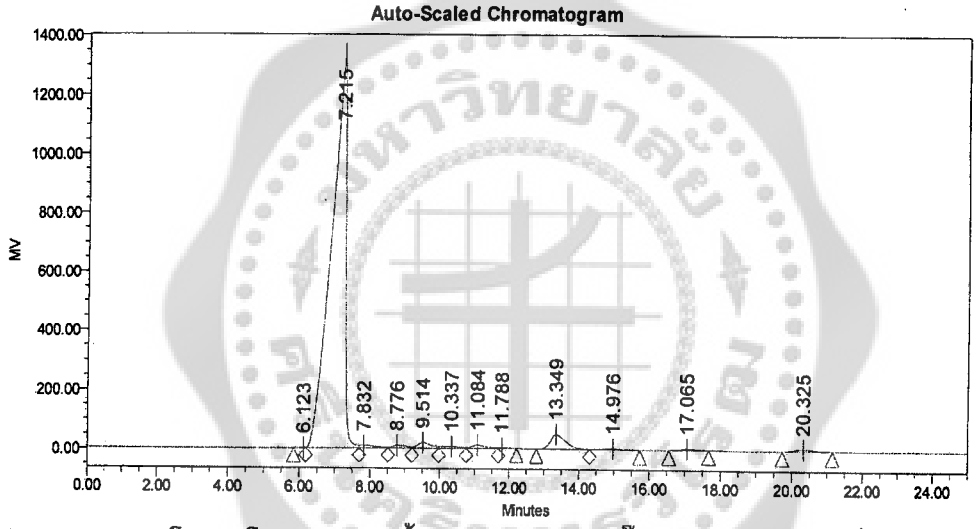
ภาพประกอบ 113 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 เดือน



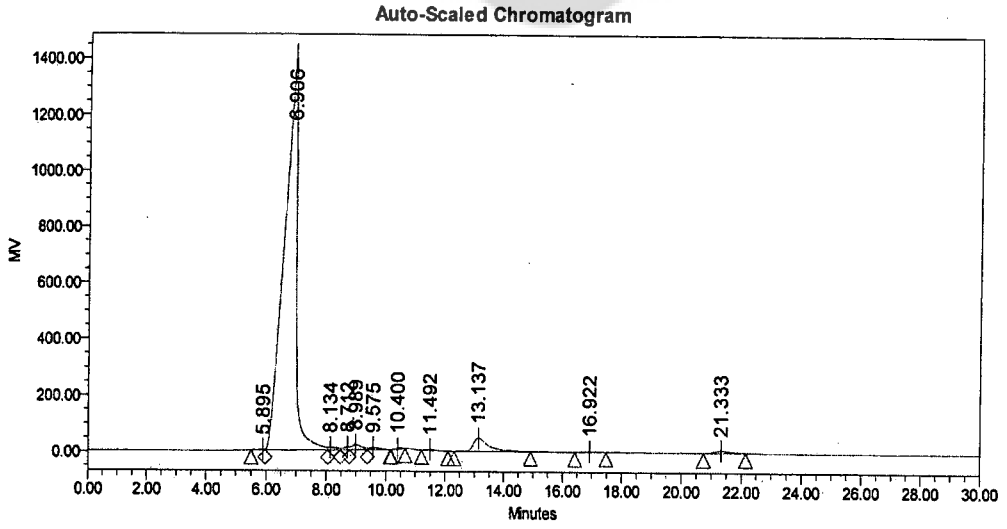
ภาพประกอบ 114 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 เดือน



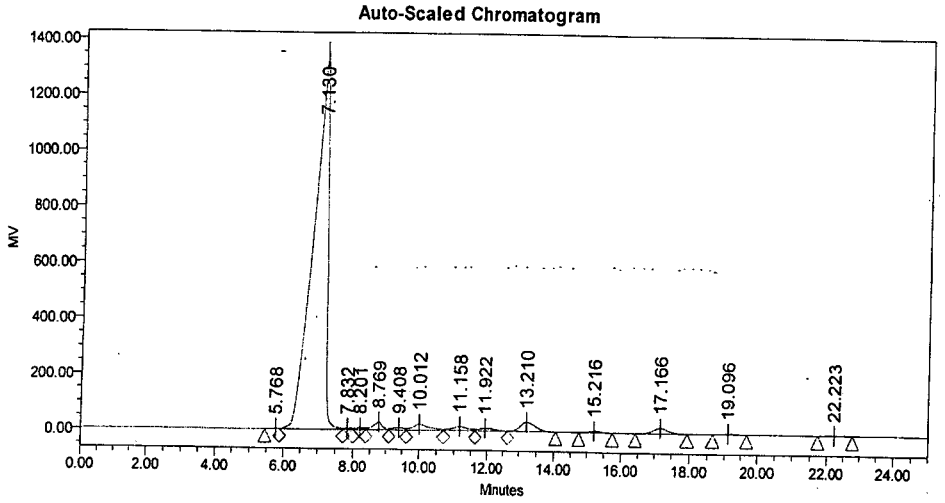
ภาพประกอบ 115 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 เดือน



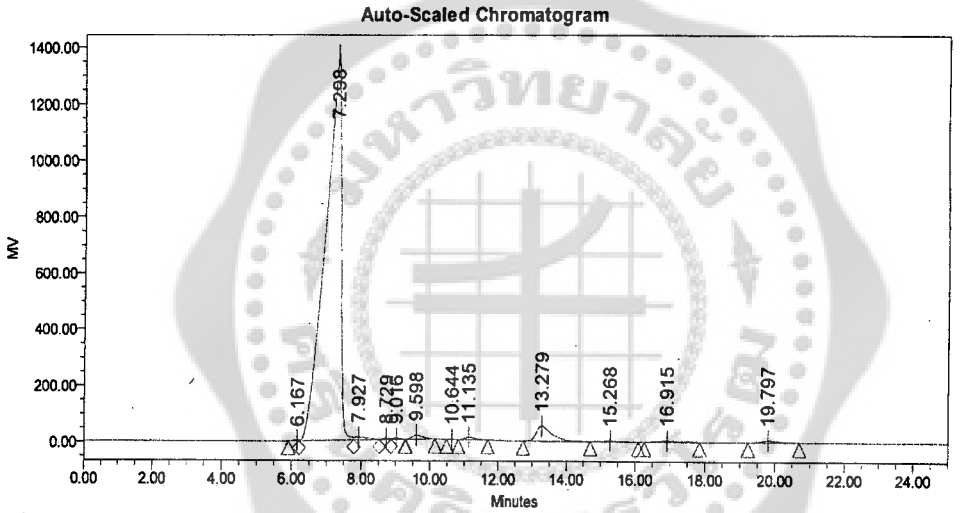
ภาพประกอบ 116 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน



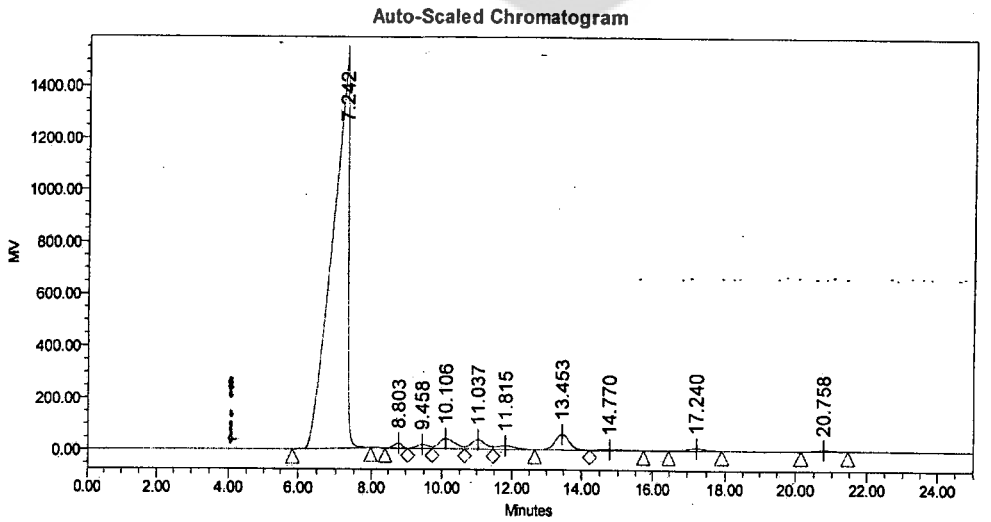
ภาพประกอบ 117 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 เดือน



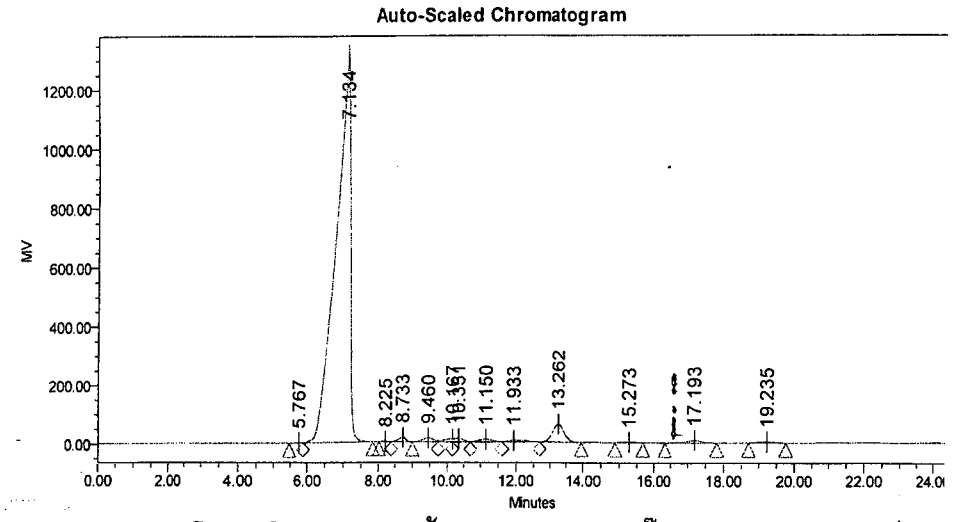
ภาพประกอบ 118 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 เดือน



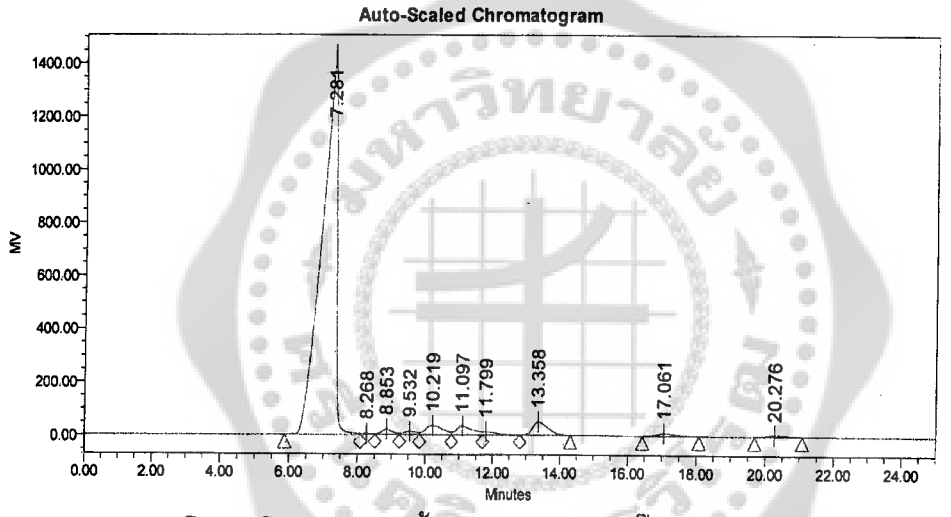
ภาพประกอบ 119 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน



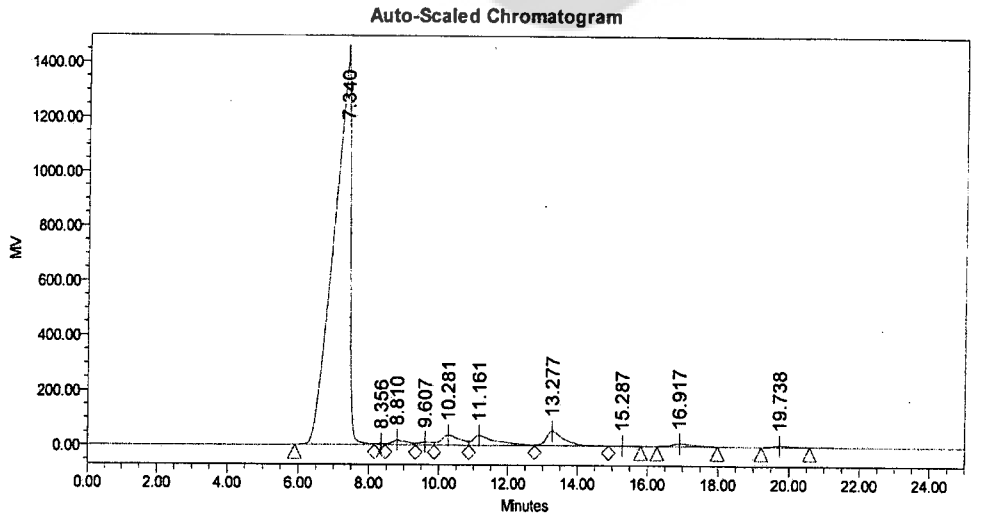
ภาพประกอบ 120 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 เดือน



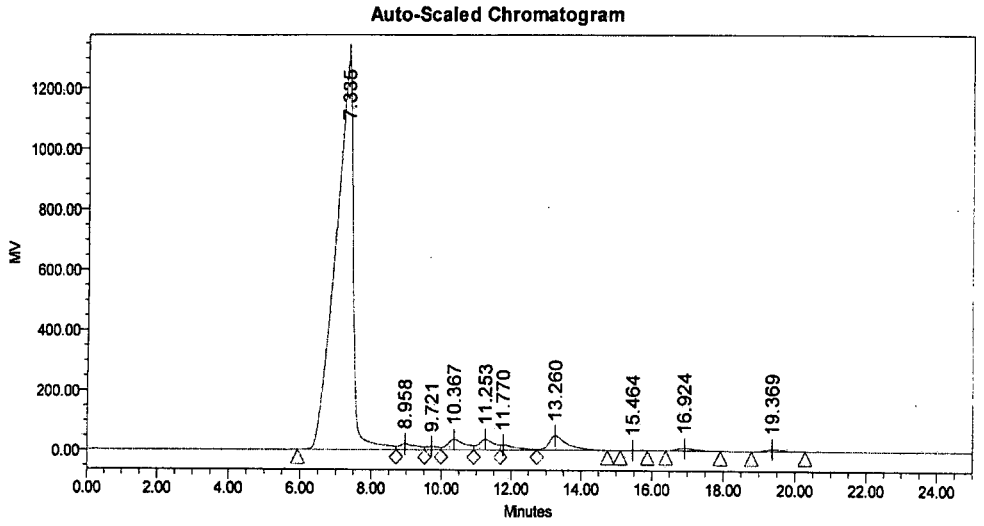
ภาพประกอบ 121 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 เดือน



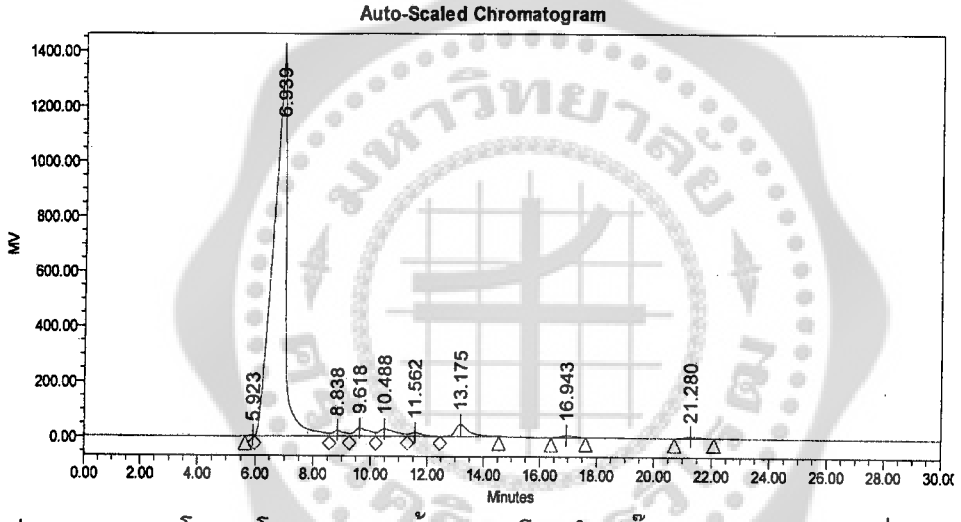
ภาพประกอบ 122 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 เดือน



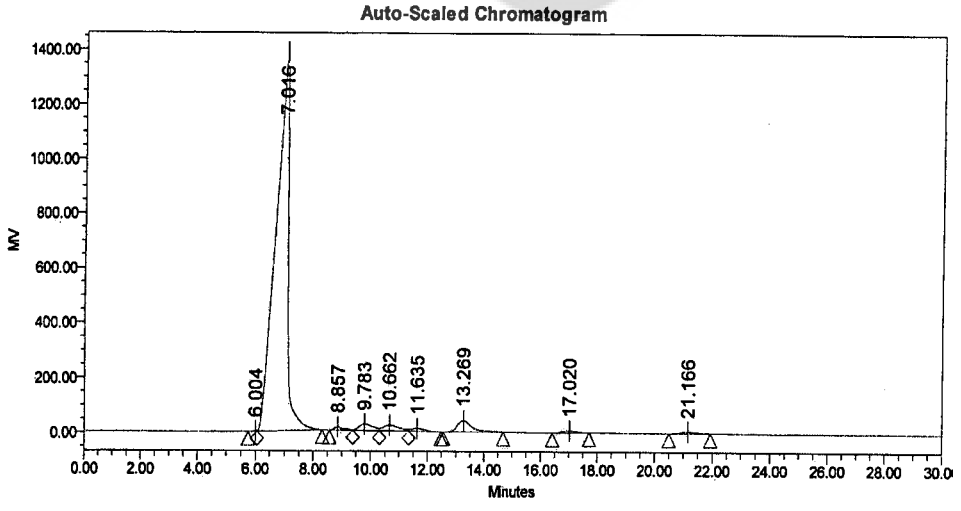
ภาพประกอบ 123 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน



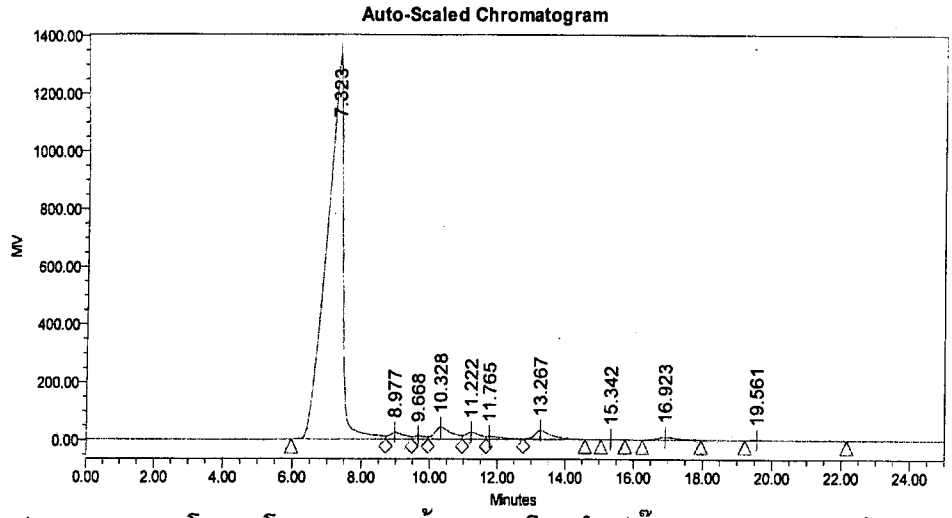
ภาพประกอบ 124 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 เดือน



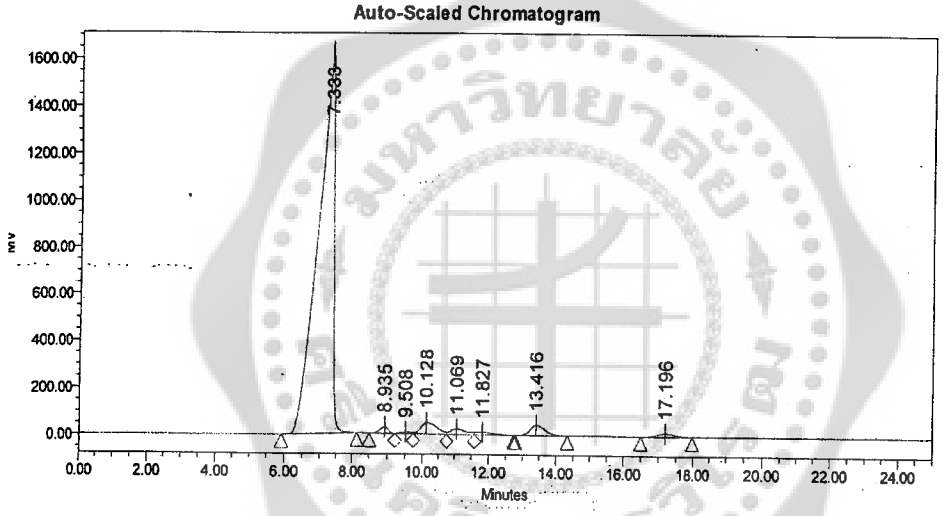
ภาพประกอบ 125 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 เดือน



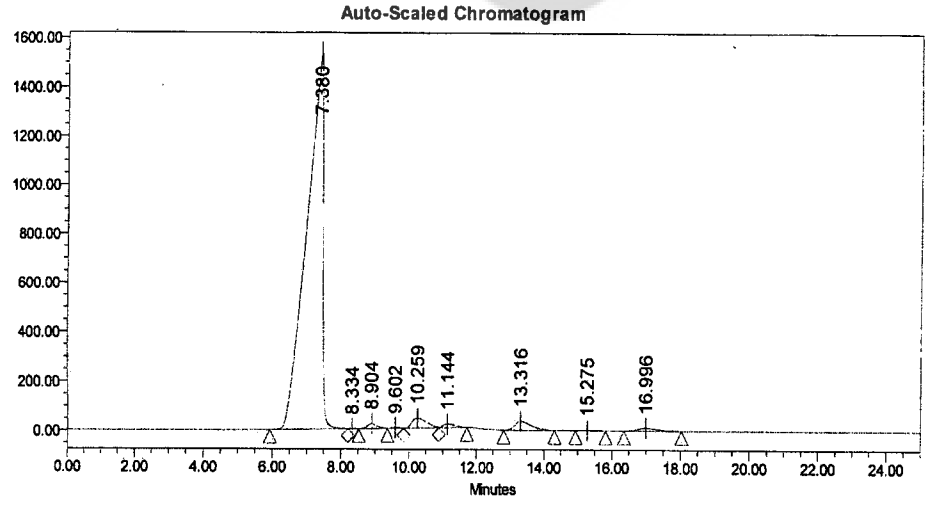
ภาพประกอบ 126 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน



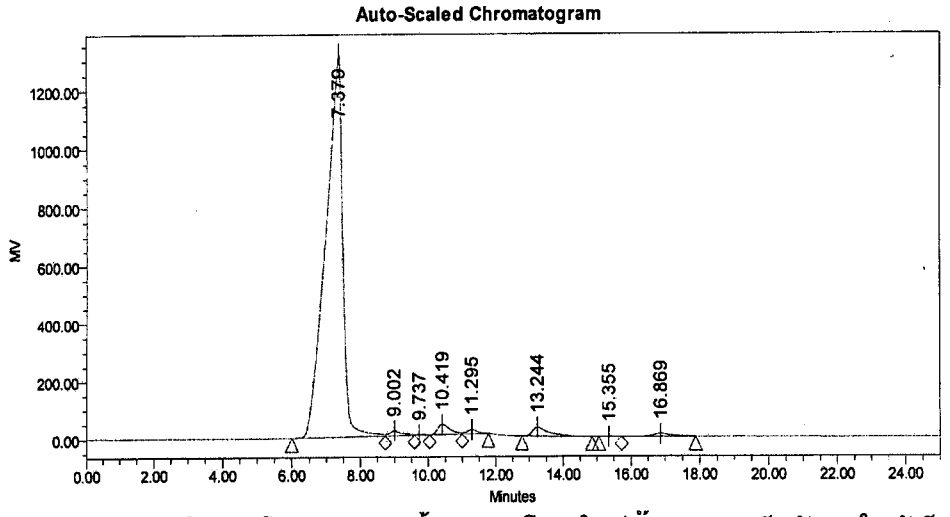
ภาพประกอบ 127 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 0 เดือน



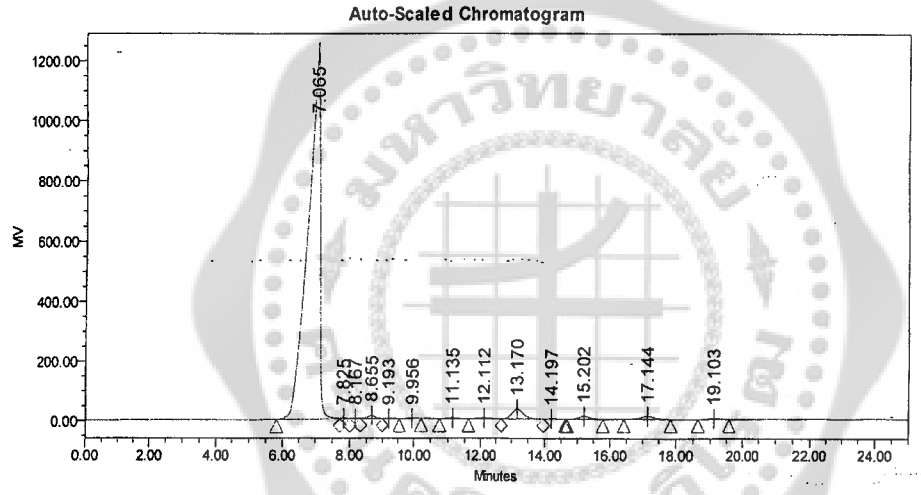
ภาพประกอบ 128 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 1 เดือน



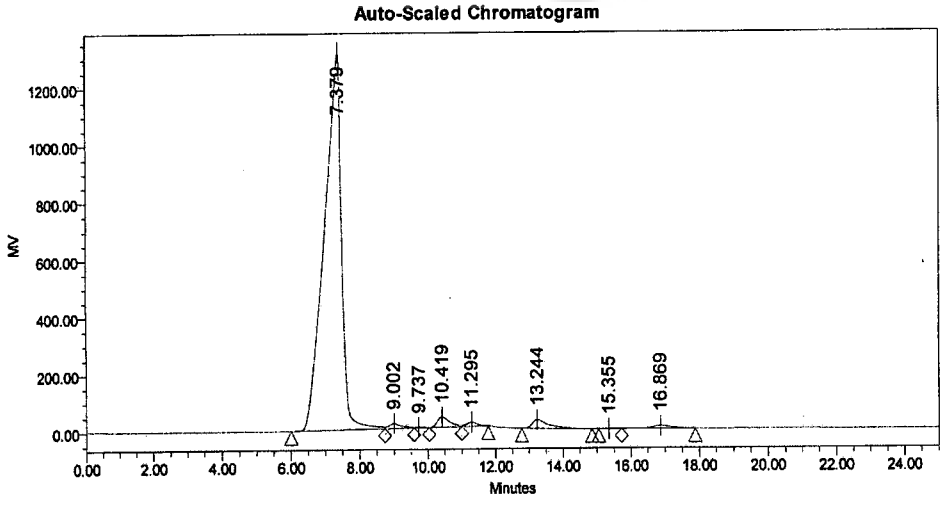
ภาพประกอบ 129 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 2 เดือน



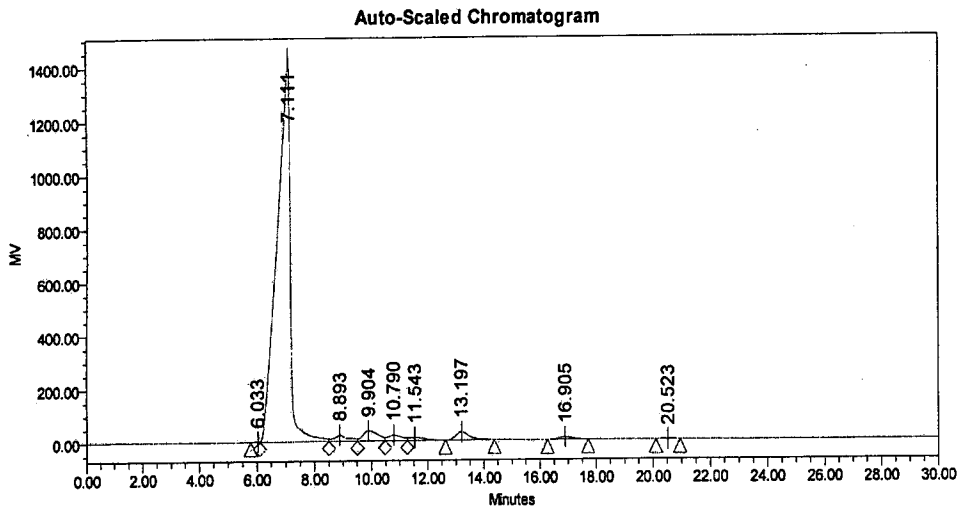
ภาพประกอบ 130 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 3 เดือน



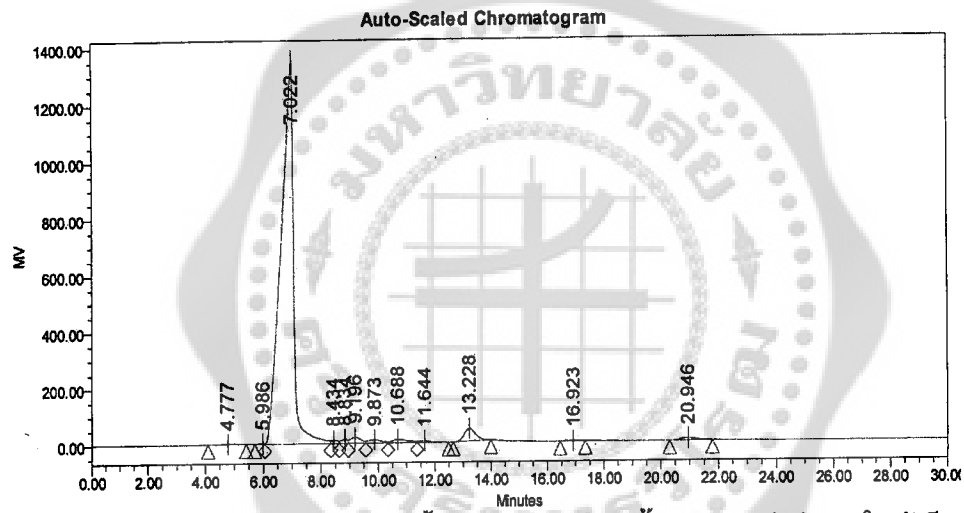
ภาพประกอบ 131 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 4 เดือน



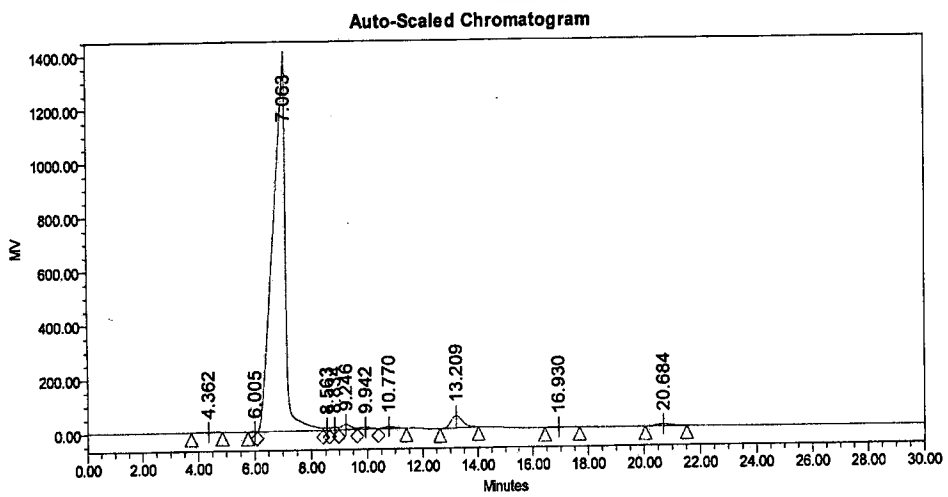
ภาพประกอบ 132 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 5 เดือน



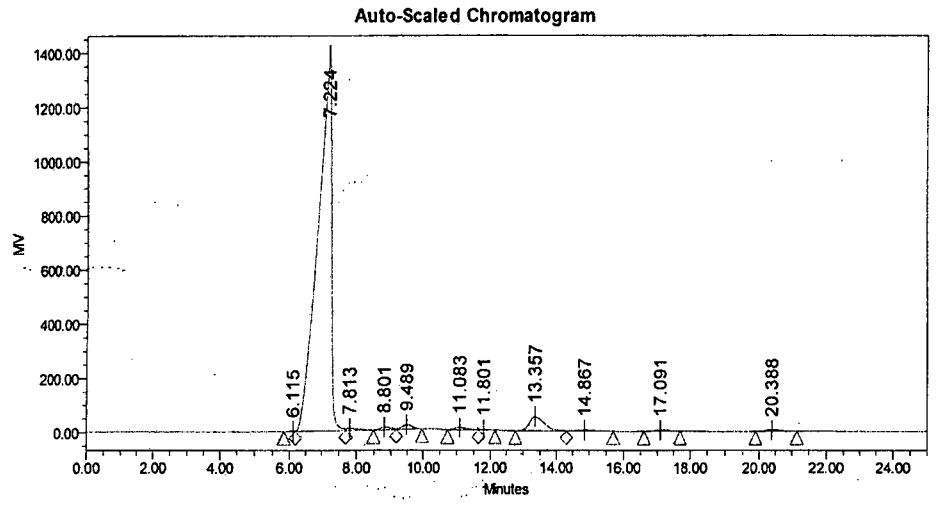
ภาพประกอบ 133 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 2 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน



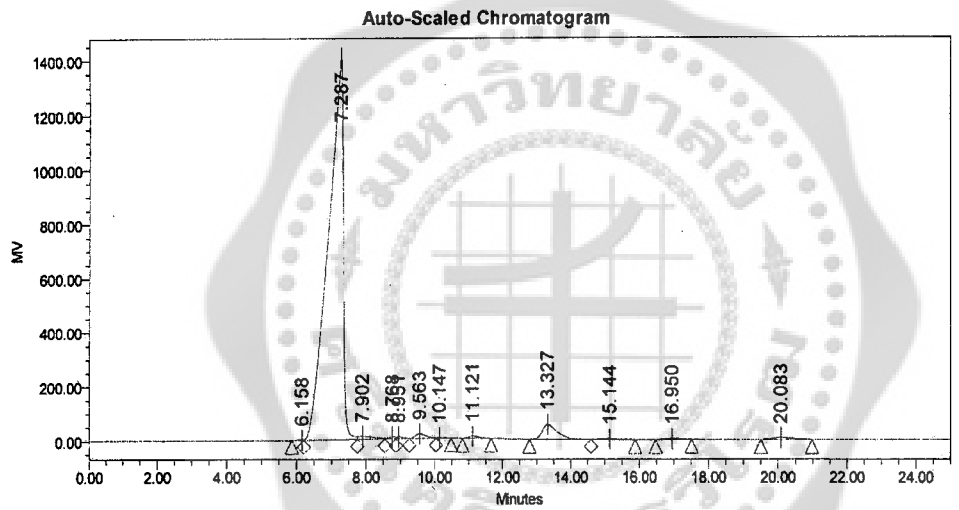
ภาพประกอบ 134 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 0 เดือน



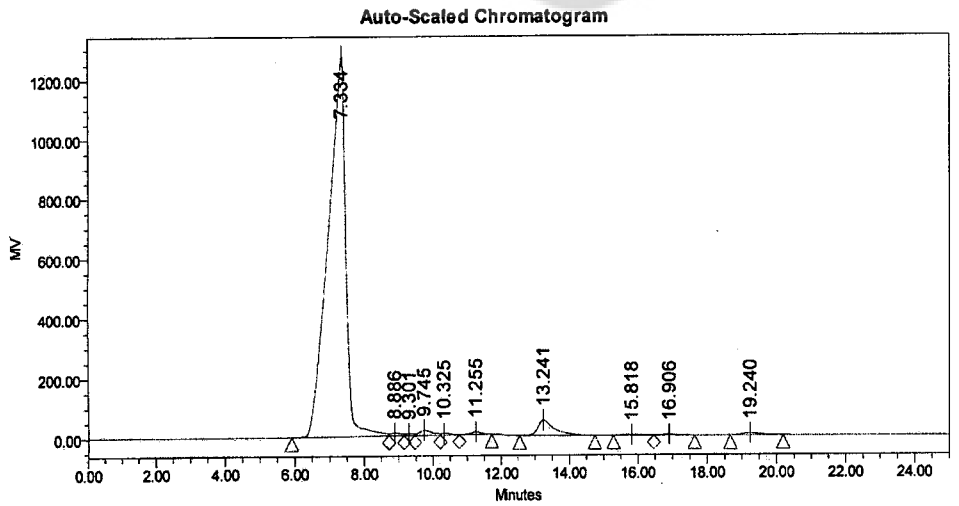
ภาพประกอบ 135 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 1 เดือน



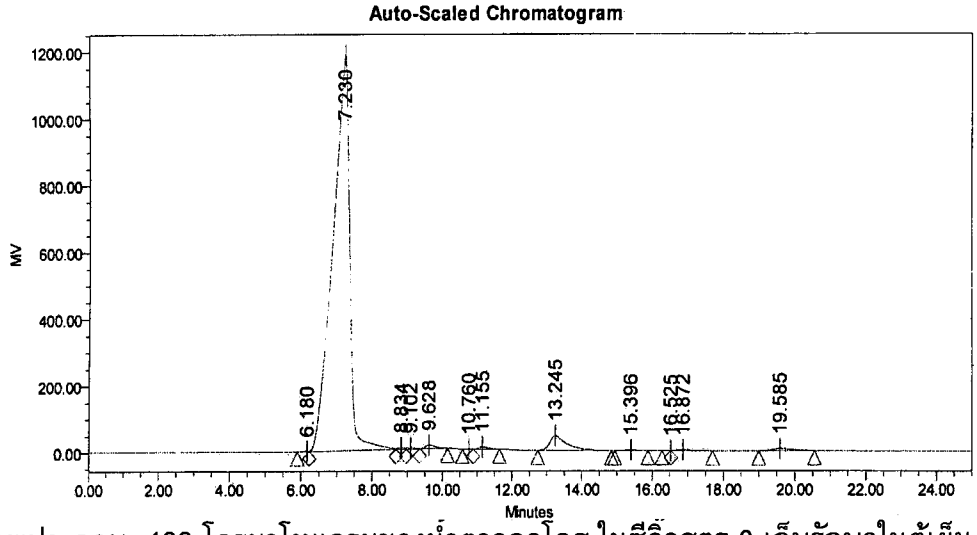
ภาพประกอบ 136 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 2 เดือน



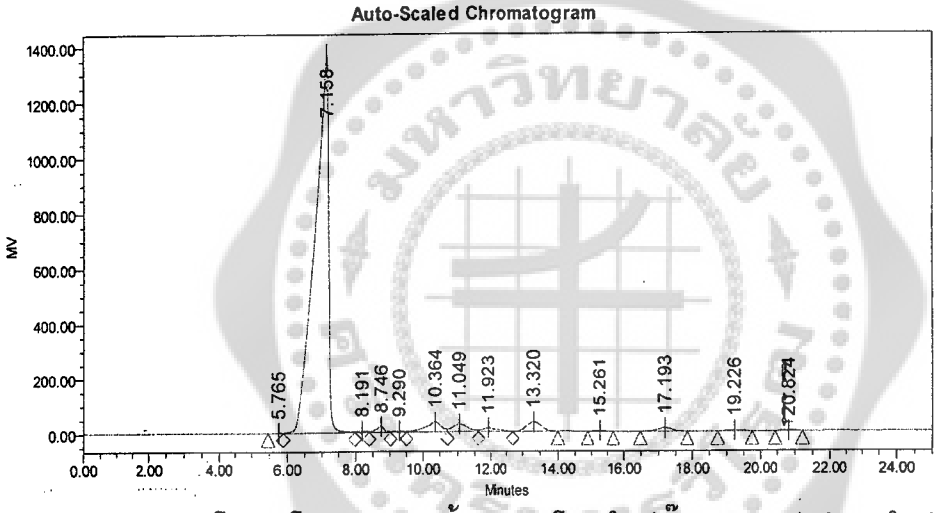
ภาพประกอบ 137 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 3 เดือน



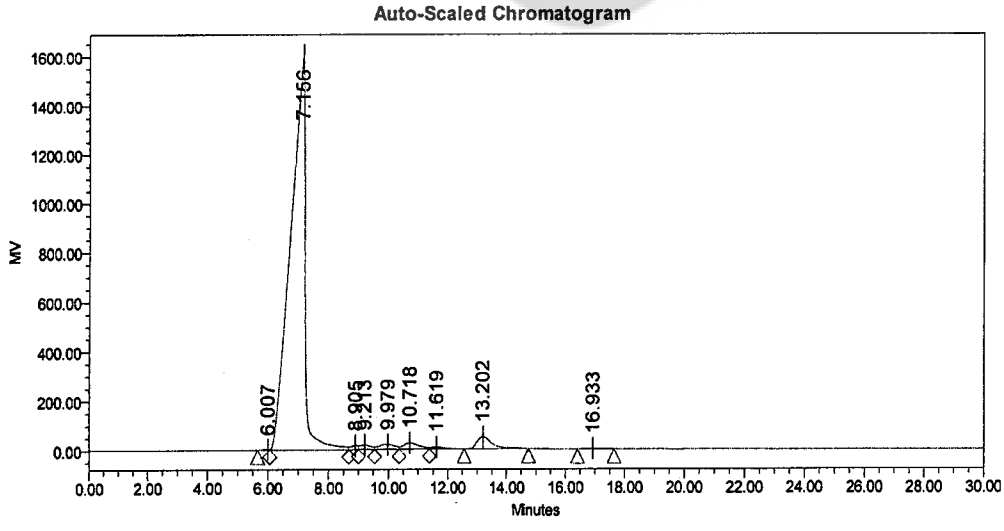
ภาพประกอบ 138 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 4 เดือน



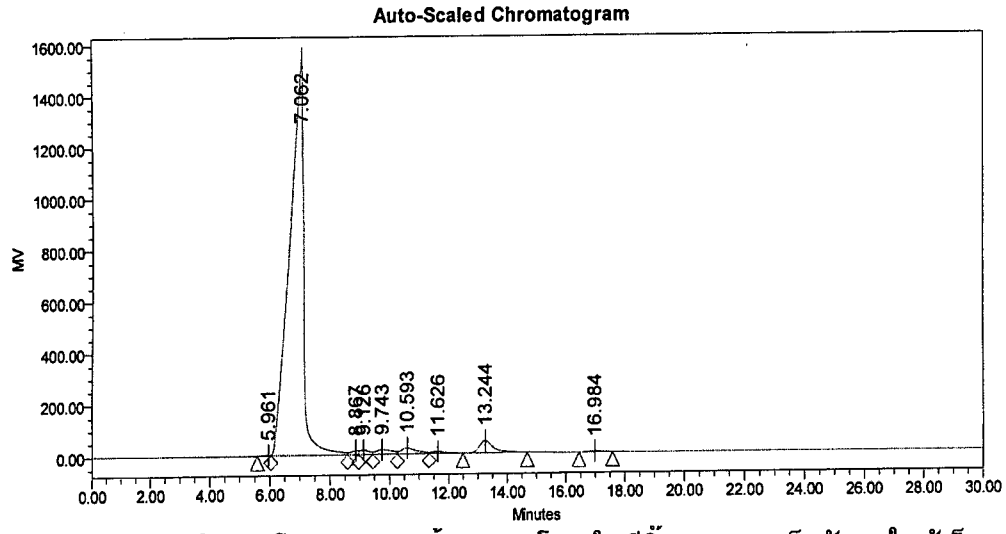
ภาพประกอบ 139 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 5 เดือน



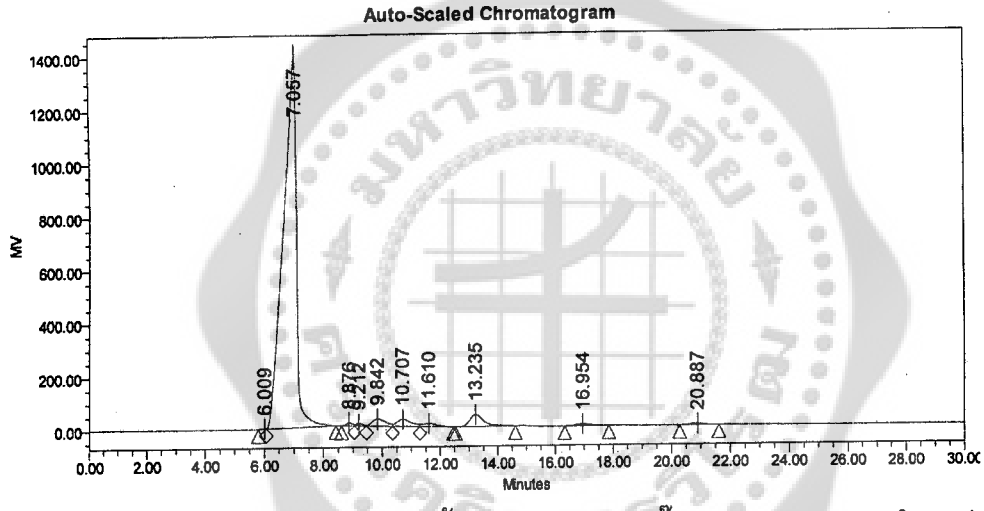
ภาพประกอบ 140 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 8 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน



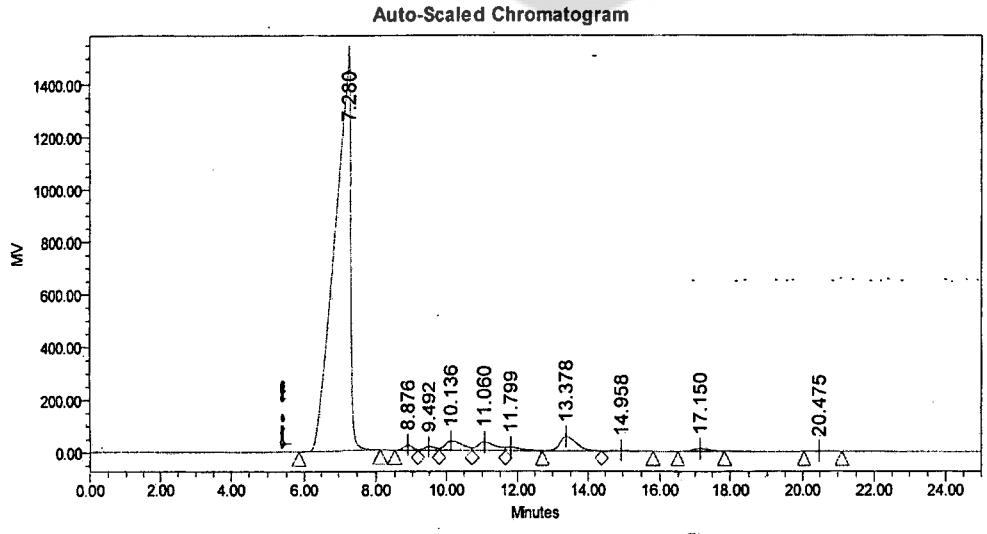
ภาพประกอบ 141 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 0 เดือน



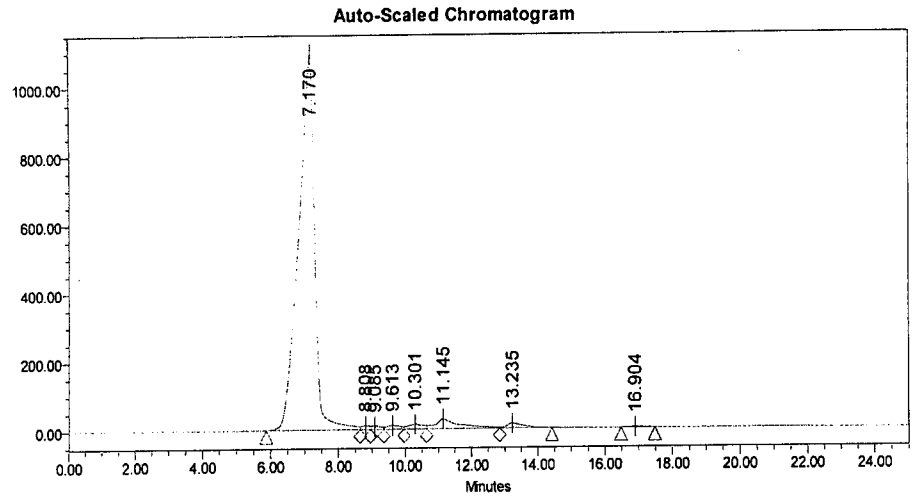
ภาพประกอบ 142 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 1 เดือน



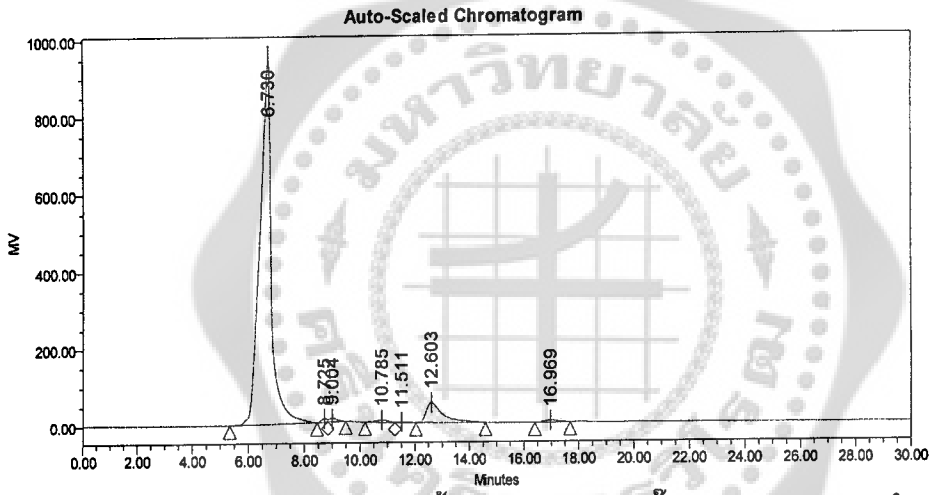
ภาพประกอบ 143 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 2 เดือน



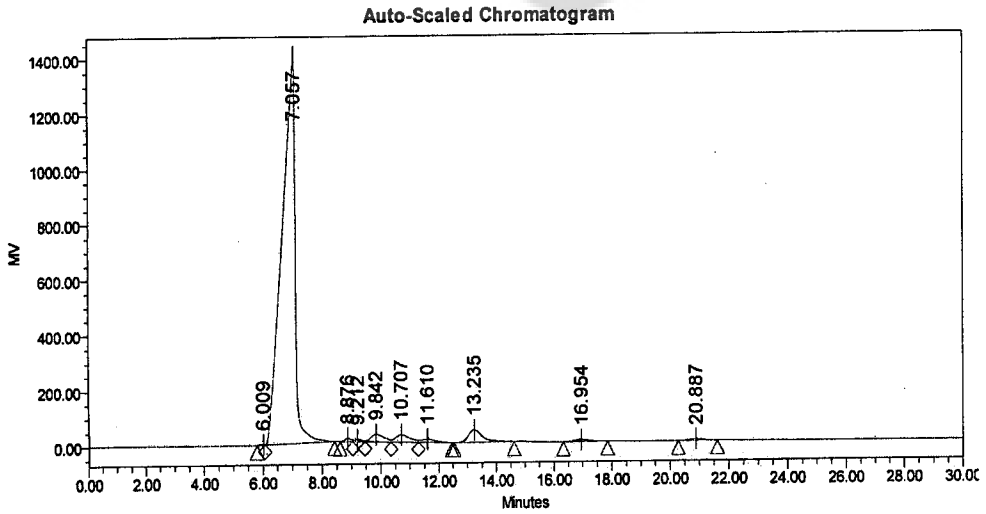
ภาพประกอบ 144 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 3 เดือน



ภาพประกอบ 145 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 4 เดือน



ภาพประกอบ 146 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 5 เดือน



ภาพประกอบ 147 โครมาโทแกรมของน้ำตาลกลูโคส ในซีอิ๊วสูตร 13 เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน

ประวัติย่อผู้ทำสารนิพนธ์

ประวัติย่อผู้ทำสารนิพนธ์

ชื่อ ชื่อสกุล	นางสาววันดี ขามประโคน
วันเดือนปีเกิด	วันที่ 13 เดือนกันยายน ปีพุทธศักราช 2523
สถานที่เกิด	อ. กิ่งประจักษ์ศิลปาคม จังหวัดอุดรธานี
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	ประชานิเวศน์อพาร์ทเม้นท์ เลขที่ 218 ถนนเทศบาลรังรักษ์เหนือ ซอย 10 แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	ครู คศ.1 โรงเรียนมัธยมประชานิเวศน์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	โรงเรียนมัธยมประชานิเวศน์ ถนนเทศบาลนิมิตรเหนือ แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

ประวัดการศึกษา

พ.ศ.2539	มัธยมศึกษาตอนต้น จากโรงเรียนนาม่วงพิทยานุกูล จังหวัดอุดรธานี
พ.ศ.2542	มัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียนประจักษ์ศิลปาคาร จังหวัดอุดรธานี
พ.ศ.2546	ปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมี จากสถาบันราชภัฏอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี
พ.ศ.2547	ประกาศนียบัตรบัณฑิตวิชาชีพครู จากสถาบันราชภัฏอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี
พ.ศ.2552	ปริญญาโทการศึกษามหาบัณฑิต สาขาเคมี จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ