

การผลิตซอสปรุงรสจากถั่วเหลืองและแป้งสาลีโดยใช้หัวเชื้อ
โยเกิร์ต

SEASONING SAUCE PRODUCTION FROM SOYBEAN AND
WHEAT FLOUR BY YOGHURT STARTER



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ส่วนตัวเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ปีการศึกษา 2560
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SEASONING SAUCE PRODUCTION FROM SOYBEAN AND WHEAT FLOUR BY YOGHURT STARTER



CHUTIMA NILSONTHI
NAREERAT JONGTONG

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ACADEMIC YEAR 2017
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การผลิตขอสปรงรจากถั่วเหลืองและแป้งสาลีโดยใช้หัวเชื้อ โยเกิร์ต
ชื่อนักศึกษา	นางสาวชุตินา นิลสนธิ รหัสนักศึกษา 57050679 นางสาวนริรัตน์ จงทอง รหัสนักศึกษา 57050709
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี

บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้เป็นการผลิตขอสปรงรจากถั่วเหลืองและแป้งสาลี โดยใช้เอนไซม์ แอลฟาอะไมเลสย่อยแป้งในถั่วเหลืองและแป้งสาลี เพื่อลดระยะเวลาของกระบวนการผลิตขอสปรงร วิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Somogyi ใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 2.5 ในการย่อยแป้ง ที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 0.0701 กรัมต่อ มิลลิลิตร หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์จึงทำการเติมหัวเชื้อโยเกิร์ต แล้วนำไปหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่า มีการสร้างกรดแลคติกสูงสุดร้อยละ 0.7961 ที่เวลา 96 ชั่วโมง ในระหว่างการหมักกรดแลคติก ทำการวิเคราะห์หาสารระเหยให้กลิ่นหอมโดยวิธี GC/MS พบว่า หลังจาก การหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีกลิ่นหอมที่น่าสนใจ เช่น กลิ่นดอกคาโมไมล์ กลิ่นพีช และกลิ่นกุหลาบ ถูกสร้างขึ้น ดังนั้นจึงนำน้ำหมักที่เวลา 48 ชั่วโมง มาใช้ในการเตรียมขอสปรงร ซึ่งเตรียมโดยการ ผสมเกลือร้อยละ 7 และน้ำตาลกรวดร้อยละ 3 ในน้ำหมักร้อยละ 80 นำผลิตภัณฑ์ตั้งทิ้งไว้ที่ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน พบว่า เกิดการปนเปื้อนเชื้อราในผลิตภัณฑ์

คำสำคัญ : ขอสปรงร ถั่วเหลือง แป้งสาลี หัวเชื้อโยเกิร์ต เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Seasoning sauce production from soybean and wheat flour by yoghurt starter
Students	Miss Chutima Nilsonthi Student ID 57050679 Miss Nareerat Jongtong Student ID 57050709
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2017
Advisor	Asst. Prof. Dr. Pana Lohasupthawee

Abstract

This special project is to produce a seasoning sauce from soybean and wheat flour. Alpha amylase was used to digest starch in soybean and wheat flour in order to reduce the time of the making process. Reducing sugar was determined by Somogyi method. Using 2.5% alpha amylase to digest starch at 60°C for 48 hours gave a maximum reducing sugar content at 0.0701 g/mL. After enzymatic digestion, yoghurt starter was added. During fermentation, a maximum lactic acid content was 0.7961% after 96 hours at 37°C. During lactic acid fermentation, volatile aroma compounds were analyzed by GC/MS. We found that after 48 hours of fermentation, desirable aroma such as chamomile, peach and rose odour were produced, so it was used to prepare seasoning sauce. Seasoning sauce had been prepared by mixing 7% salt and 3% rock sugar in 80% fermented broth. The products were placed at room temperature for 14 days then we found fungal contamination in our product.

Keywords : Seasoning sauce, Soybean, Wheat flour, Yoghurt starter,
Alpha amylase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องมาจากความกรุณาและความร่วมมือของทุก ๆ ท่าน ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี ที่คอยให้คำปรึกษาดูแลอย่างใกล้ชิดและให้ความช่วยเหลือแนะนำที่ดีในการปรับปรุงข้อบกพร่องในการทำโครงการพิเศษ และขอขอบพระคุณ กรรมการสอบโครงการพิเศษ คือ ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์ และ ผศ.ดร.สรัญญา พันธุ์พฤษ์ ที่ให้ข้อคิดเห็นและคำแนะนำในการทำโครงการพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการและเจ้าหน้าที่ห้องธุรการ สาขาวิชาชีววิทยา ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำโครงการพิเศษให้สำเร็จไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ บิดา-มารดา ที่ได้ให้การศึกษา ตลอดจนคอยเลี้ยงดูและอบรมสั่งสอน และเป็นกำลังใจเป็นแรงผลักดันในการทำโครงการพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี รวมถึงเพื่อน ๆ และบุคคลอื่น ๆ ที่ไม่ได้กล่าวมา ผู้จัดทำโครงการขอขอบคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ชุตินา นิลสนธิ
นรีรัตน์ จงทอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและที่มาของโครงการพิเศษ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ซอสปรุงรส (Seasoning sauce).....	3
2.1.1 วัตถุดิบผลิตซอสปรุงรส.....	4
2.1.2 ส่วนประกอบในซอสปรุงรส.....	4
2.1.3 คุณค่าทางโภชนาการของซอสปรุงรส.....	5
2.1.4 วิธีการผลิตซอสปรุงรส.....	6
2.1.5 ประโยชน์ของซอสปรุงรส.....	7
2.1.6 อันตรายของซอสปรุงรส.....	7
2.2 ถั่วเหลือง.....	7
2.2.1 ส่วนประกอบของเมล็ดถั่วเหลือง.....	7
2.3 แป้งสาลี.....	9
2.3.1 ชนิดของแป้งสาลี.....	9
2.3.2 องค์ประกอบของแป้งสาลี.....	10
2.3.3 การประยุกต์ใช้แป้งสาลีในการทำซีอิ๊ว.....	12
2.4 เอนไซม์อะไมเลส.....	12
2.4.1 ชนิดของเอนไซม์อะไมเลส.....	13
2.4.2 การแบ่งเอนไซม์อะไมเลสตามการเข้าทำปฏิกิริยากับแป้ง.....	14
2.4.3 การประยุกต์ใช้เอนไซม์อะไมเลสในอุตสาหกรรม.....	14

เอกสารนี้เป็นเอกสารทสงานไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5 แบคทีเรียกรดแลคติก.....	15
2.5.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดแลคติกโดยเชื้อจุลินทรีย์.....	21
2.5.2 กรดแลคติก.....	23
2.5.3 ประโยชน์ของกรดแลคติก.....	24
2.6 การวิเคราะห์สารระเหย.....	24
2.6.1 Gas chromatography (GC).....	24
2.6.2 Gas chromatography-Mass spectrometer (GC-MS).....	29
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	30
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	34
3.1 วัสดุอุปกรณ์.....	34
3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์.....	34
3.1.2 วัตถุดิบ.....	34
3.1.3 อุปกรณ์.....	34
3.1.4 เครื่องมือ.....	35
3.1.5 สารเคมี.....	35
3.2 วิธีการทดลอง.....	36
3.2.1 ศึกษาปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเวลาที่ใช้ในการย่อยแป้ง ในถั่วเหลืองและแป้งสาลี.....	36
3.2.2 ศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลง การสร้างกรดแลคติกในระหว่าง การหมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ต และการวิเคราะห์หาสารประกอบ.....	37
3.2.3 ผลิตและปรุงแต่งรสชาติของซอสปรุงรส.....	39
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	41
4.1 ผลศึกษาปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเวลาที่ใช้ในการย่อยแป้ง ในถั่วเหลืองและแป้งสาลี.....	41
4.2 ผลการศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลง การสร้างกรดแลคติก และการวิเคราะห์หาสารประกอบ.....	42
4.2.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลงและการสร้างกรดแลคติก.....	42
4.2.2 การวิเคราะห์หาสารประกอบด้วยวิธี Solid Phase Microextraction (SPME) และ Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS).....	44

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 การผลิตและปรุงแต่งรสชาติของซอสปรุงรส.....	53
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	54
5.1 สรุปผลการวิจัย	54
5.2 ข้อเสนอแนะ	54
เอกสารอ้างอิง	55
ภาคผนวก.....	64
ภาคผนวก ก การเตรียมสารเคมี.....	65
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์.....	67



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 คุณค่าทางโภชนาการของซอสปรุงรส.....	5
2.2 องค์ประกอบของแป้งสาลี.....	10
2.3 ปริมาณวิตามินบีต่าง ๆ ในข้าวสาลีและแป้ง (ร้อยละ).....	11
2.4 คุณสมบัติทางกายภาพของกรดแลคติก.....	24
2.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่แตกต่างกัน (ร้อยละ)	31
4.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ปริมาณน้ำตาลในตัวอย่างที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ แอลฟาอะไมเลสที่ต่างกัน และระยะเวลาในการย่อยแป้ง 72 ชั่วโมง	41
4.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อ โยเกิร์ตเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน).....	43
4.3 ร้อยละของกรดแลคติกในตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน)	43
4.4 สารประกอบในตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี SPME	46
4.5 สารประกอบในตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี SPME	47
4.6 สารประกอบในตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS	48
4.7 สารประกอบในตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ซอสปรุงรส (Seasoning sauce).....	3
2.2 แผนภาพการผลิตซอสปรุงรส.....	6
2.3 ส่วนประกอบของเมล็ดถั่วเหลือง.....	8
2.4 โครงสร้างของโอลิโกแซคคาไรด์ที่พบในถั่วเหลือง.....	9
2.5 การหมักกรดแลคติกจากกลูโคสแบบ Homolactic fermentation ผ่านกระบวนการ ไกลโคไลซิส.....	16
2.6 การหมักกรดแลคติกจากกลูโคสแบบ Heterolactic fermentation ผ่านทาง Phosphoketolase pathway.....	17
2.7 การหมักกรดแลคติกจากกลูโคสแบบ Mixed acid fermentation.....	18
2.8 Tagatose 6-phosphate pathway ของแบคทีเรียกรดแลคติก.....	19
2.9 Leloir pathway ของแบคทีเรียกรดแลคติก.....	20
2.10 สูตรโครงสร้างของกรดแลคติก.....	23
2.11 ส่วนประกอบของแก๊สโครมาโตกราฟี.....	27
2.12 แสดงเฟสต่าง ๆ ในขวดเก็บตัวอย่าง (ไวแอล).....	28
2.13 ขั้นตอนการสกัดและการดูดซับสารวิเคราะห์โดยใช้ SPME.....	29
2.14 องค์ประกอบของเครื่อง GC-MS.....	30
4.1 กราฟปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0 ร้อยละ 1.5 และร้อยละ 2.5 โดยใช้ระยะเวลาในการย่อยแป้ง 72 ชั่วโมง.....	42
4.2 กราฟปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตและร้อยละของกรดแลคติก โดยใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ 288 ชั่วโมง (12 วัน).....	44
4.3 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี SPME.....	46
4.4 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี SPME.....	47
4.5 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS.....	48
4.6 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS.....	50
4.7 ผลึกภัณฑ์ซอสปรุงรส.....	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ต่อแหล่งอื่นและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการพิเศษ

จากผลิตภัณฑ์แบบหมักชาวตะวันออกหลายชนิด ซอสปรุงรสเป็นที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายในประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลี และประเทศอื่น ๆ ในเอเชีย เป็นเครื่องปรุงรสและสารแต่งสีในการเตรียมอาหารและสำหรับใช้เป็นเครื่องปรุงตั้งโต๊ะ เป็นของเหลวสีน้ำตาลเข้ม มีเสถียรภาพที่อุณหภูมิปกติซึ่งไม่ต้องใช้เครื่องทำความเย็นในระหว่างการผลิต เก็บรักษา เนื่องจากมีกิจกรรมของน้ำ (water activity) ต่ำและมีปริมาณเกลือสูง (Luh, 1995)

ซอสปรุงรส (Seasoning sauce) เป็นอาหารประเภทเครื่องชูรส มีลักษณะคล้ายน้ำปลา ใช้เป็นเครื่องจิ้มหรือเครื่องปรุงรสอาหารได้เกือบทุกประเภท (Underriner และ Hume, 1994) รสชาติหลักคือความเค็ม นอกจากนั้นยังมีกลิ่นรสเฉพาะตัว (Pintauro, 1976) มีกลิ่นหอมและรสชาติที่คล้ายเนื้อ (Otero และคณะ, 1998; Hwan และ Chou, 1999) อันเป็นสิ่งที่ช่วยเสริมให้อาหารมีรสชาติอร่อยมากยิ่งขึ้นและยังให้คุณค่าทางโภชนาการ เช่น โปรตีนจากพืชและกรดอะมิโนที่สำคัญอีกหลายชนิด

จากกระบวนการผลิตซอสปรุงรสแบบดั้งเดิมเราจะเห็นได้ว่าต้องใช้เวลานาน เช่น 3 เดือน ถึง 6 เดือน หรือ 1 ปี จึงมีความสนใจที่จะปรับปรุงวิธีการผลิตโดยลดระยะเวลาของกระบวนการให้สั้นลง เพื่อที่จะผลิตซอสปรุงรสให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาไม่นาน การใช้เอนไซม์มาช่วยย่อยแบ่งจากถั่วเหลืองและแป้งสาลี โดยไม่ต้องรอการเจริญเติบโตของเชื้อรา เพื่อให้เชื้อราผลิตเอนไซม์ออกมาช่วยย่อยในขั้นตอนการทำโคจิจ และได้เปลี่ยนจุลินทรีย์ในการหมักโมโรมิเป็นหัวเชื้อโยเกิร์ตเพื่อทำการหมักให้เกิดกรดแลคติก ซึ่งจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิห้องและสภาวะที่เป็นกลาง ในขั้นตอนการหมักโมโรมิจึงไม่มีการเติมเกลือลงไป ซึ่งปกติขั้นตอนนี้จะมีการเติมเกลือลงไปความเข้มข้นร้อยละ 18-20 ตามวิธีแบบดั้งเดิม แต่จะนำเกลือมาปรุงรสหลังจากกระบวนการหมักเสร็จสิ้นแล้ว ทำให้สามารถปรุงรสชาติความเค็มน้อยลงได้ตามต้องการ ซึ่งสามารถใช้เป็นทางเลือกให้แก่ผู้ที่หลีกเลี่ยงการรับประทานอาหารที่มีความเค็มได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อลดระยะเวลาของกระบวนการผลิตซอสปรุงรส
- 2) เพื่อศึกษาการผลิตซอสปรุงรสโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและหัวเชื้อโยเกิร์ตในการหมัก
- 3) เพื่อผลิตซอสปรุงรสที่มีความเข้มข้นของเกลือต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในการย่อยแป้งจากถั่วเหลืองและแป้งสาลีให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดโดยใช้ระยะเวลาให้น้อยที่สุด การใช้หัวเชื้อจากโยเกิร์ตในการหมักเพื่อศึกษากลิ่นรสที่ได้ ซึ่งสามารถพัฒนาขอสปรูรอสให้มีรสชาติที่น่าสนใจมากขึ้นจากสูตรดั้งเดิม โดยในทุกขั้นตอนทำการทดลองโดยปราศจากเชื้อจุลินทรีย์จากภายนอก

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) สามารถผลิตขอสปรูรอสได้ปริมาณมากโดยใช้ระยะเวลาไม่นาน
- 2) สามารถผลิตขอสปรูรอสที่ใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและใช้หัวเชื้อโยเกิร์ตในการหมักได้
- 3) สามารถผลิตขอสปรูรอสที่มีความเข้มข้นของเกลือต่ำได้เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกรับประทานอาหารที่มีความเค็มน้อย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ซอสปรุงรส (Seasoning sauce) (สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช, 2556)

ซีอิ๊วและซอสปรุงรส หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเหลวได้จากการย่อยโปรตีนของถั่วเหลืองด้วยการหมักหรือกรรมวิธีอื่นที่เหมาะสม และจะแต่งรสหรือสีหรือไม่ก็ได้ ซึ่งจากข้อจำกัดความดังกล่าว ทำให้เราสามารถแยกซอสปรุงรสออกจากซีอิ๊วได้ กล่าวคือ ซีอิ๊วคือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักถั่วเหลือง ส่วนซอสปรุงรสได้มาจากการสกัดโปรตีนในถั่วเหลืองด้วยสารเคมีหรือด้วยกรดเข้มข้น ดังนั้นจึงมีหลายคนเรียกซอสปรุงรสว่า ซีอิ๊วเคมี

ซอสปรุงรส (ภาพที่ 2.1) เป็นอาหารประเภทปรุงแต่งเพื่อช่วยให้อาหารมีรสชาติกลมกล่อมและกลิ่นหอมชวนรับประทานมากขึ้น จัดว่าเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เพราะมีส่วนประกอบของโปรตีน วิตามิน เกลือแร่ และสารซุสพวกกลูตาเมต ทำให้มีรสชาติดีขึ้น (สิริพร และ เศรษฐศิลป์, 2530)



ภาพที่ 2.1 ซอสปรุงรส (Seasoning sauce)

ที่มา : Nguyen (2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 วัตถุดิบผลิตซอสปรุงรส (สุพรรณพันธ์ และ ชูตินุช, 2557)

วัตถุดิบในการผลิตซอสปรุงรสแบ่งออกเป็น 2 ประเภท โดยมีสถานะในการผลิตและคุณภาพแตกต่างกันไปตามลักษณะของแต่ละโรงงาน ได้แก่

- 1) วัตถุดิบจากพืช ได้แก่ กากถั่วเหลือง ถั่วลันเตาที่ปราศจากไขมัน ข้าวสาลี ข้าวโพด กากซีอิ๊ว และโปรตีนถั่วเขียวที่เหลือจากโรงงานทำวุ้นเส้น
- 2) วัตถุดิบจากสัตว์ ได้แก่ เนื้อสัตว์ เคซีน (โปรตีนนม) น้ำนิ่งปลาทูน่า และ หอยต่าง ๆ

2.1.2 ส่วนประกอบในซอสปรุงรส (วิสิฐ, 2536)

1) โปรตีน

โปรตีนที่ใช้เป็นแหล่งของกรดอะมิโน ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการให้สี กลิ่น และรสของผลิตภัณฑ์ มักจะบุนจนมากกว่า โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง ซอสถั่วเหลือง ถั่วเหลืองบีนน้ำมันหรือถั่วเหลือง ซึ่งมีความหมายเดียวกัน คือ ใช้ถั่วเหลืองซึ่งผ่านการสกัดไขมันออกแล้ว (กระบวนการผลิตซีอิ๊วเคมิไม่ใช้วัตถุดิบที่มีไขมันปนอยู่มาก เพราะจะทำให้มีกลิ่นเหม็นของไขมันที่ถูกย่อย) มาผลิตเป็นซีอิ๊วเคมิแล้วจึงนำมาปรุงรสชาติ นอกจากนี้ยังพบว่า มีการใช้โปรตีนจากแหล่งอื่นด้วย เช่น ถั่วลันเตา ข้าวโพด เคซีน เป็นต้น

2) น้ำตาล

ซอสปรุงรสที่จำหน่ายในท้องตลาดส่วนใหญ่เติมน้ำตาลในปริมาณที่แตกต่างกัน ตั้งแต่ร้อยละ 1.2-10 น้ำตาลที่เติมลงไปเพื่อช่วยในเรื่องรสชาติและอาจจะมีผลทำให้สีของผลิตภัณฑ์ดีขึ้นด้วย

3) เกลือ

โดยทั่วไปซอสปรุงรสมีปริมาณเกลืออยู่ร้อยละ 18-21 เกลือใช้เพื่อให้รสเค็ม และควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย (microbial spoilage) และจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen)

4) วัตถุปรุงแต่งรสอาหาร

อาจมีส่วนผสมของวัตถุเจือปนอาหารเพื่อช่วยในการปรุงแต่งรส เช่น ไดโซเดียม-5'-อิโนซิเนต (disodium-5'-inosinate) และไดโซเดียม-5'-กัวนิเลต (disodium-5'-guanylate) ซึ่งเป็นวัตถุปรุงแต่งรสอาหารชนิดใหม่ที่นิยมกันมากขึ้น เรียกสั้น ๆ ว่า ไอพลัสจี (I plus G) ซึ่งนอกจากช่วยในการปรุงแต่งรสอาหารแล้วยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการปรุงแต่งรสอาหารของผงชูรสอีกด้วย ส่วนวัตถุกันเสียไม่จำเป็นต้องเติมในผลิตภัณฑ์นี้ เนื่องจากมีปริมาณเกลือที่สูงมากพอที่จะถนอมไว้ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 คุณค่าทางโภชนาการของซอสปรุงรส

ซอสปรุงรสมีคุณค่าทางโภชนาการสูงทั้งโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน และแร่ธาตุ แสดงในตารางที่ 2.1 โดยเฉพาะวิตามินบี 2 (ไรโบฟลาวิน) วิตามินบี 6 เหล็ก โพแทสเซียม และยังเป็นแหล่งที่ดีของโปรตีน ไนอะซิน แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส และแมงกานีส

ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางโภชนาการของซอสปรุงรส

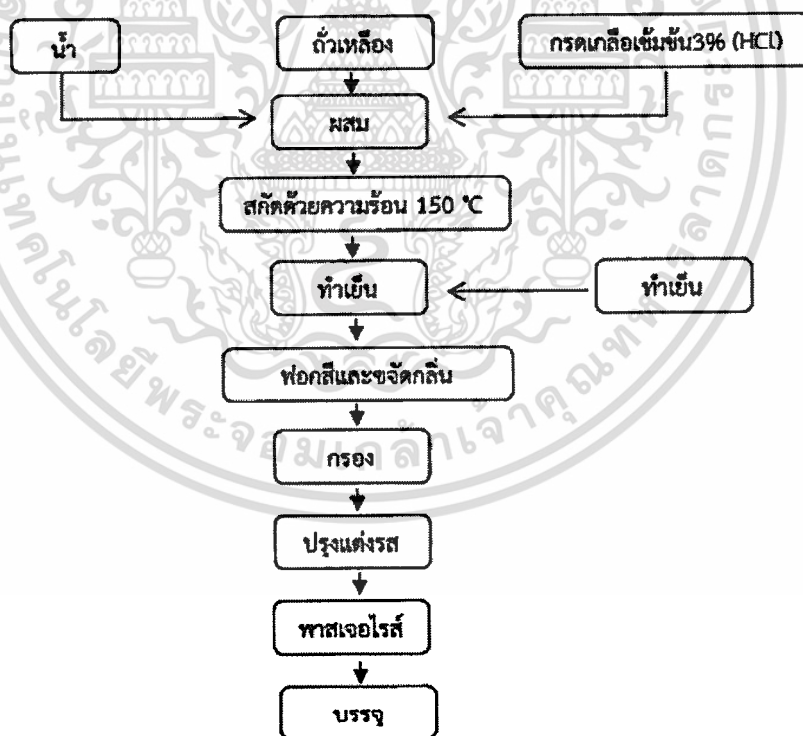
สารอาหาร	คุณค่าทางโภชนาการต่อ 1 หน่วยบริโภค (15 มิลลิลิตร)
พลังงาน	7 กิโลแคลอรี
คาร์โบไฮเดรต	1.4 กรัม
โปรตีน	0.4 กรัม
ไขมัน	0 กรัม
เกลือ	2.5 กรัม
วิตามิน	
วิตามินบี 2	0.02 มิลลิกรัม
ไนอะซิน	0.50 มิลลิกรัม
วิตามินบี 6	0.01 มิลลิกรัม
โพแทสเซียม	2.30 ไมโครกรัม
แร่ธาตุ	
เหล็ก	0.3 มิลลิกรัม
แมกนีเซียม	1.1 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	16.7 มิลลิกรัม
โพแทสเซียม	37.4 มิลลิกรัม
โซเดียม	1024 มิลลิกรัม
แมงกานีส	0.1 มิลลิกรัม

ที่มา : กองควบคุมอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 วิธีการผลิตซอสปรุงรส

การนำถั่วเหลืองหรือกากถั่วเหลืองมาเติมกรดเข้มข้นภายใต้อุณหภูมิสูง (Fellows, 2000) เพื่อให้เกิดกระบวนการย่อยโปรตีนในกรดเข้มข้น (Acid Hydrolysis) ซึ่งโดยทั่วไปใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว (ภาพที่ 2.2) จากนั้นจึงปรับลดสภาพความเป็นกรดด้วยการเติมด่าง ซึ่งนิยมใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์หรือโซดาไฟ จะได้เกลือแองหรือโซเดียมคลอไรด์เป็นผลพลอยได้นอกเหนือไปจากน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งและกรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยโปรตีน สามารถกล่าวโดยสรุปได้ว่า ในกระบวนการผลิตซอสปรุงรสนั้นจะได้เกลือโปรตีน และน้ำตาลออกมา โดยสีน้ำตาลเข้มของซอสปรุงรสเกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (non enzymatic browning reaction) คือ ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์และกรดอะมิโนที่เกิดจากการย่อย เมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำตาลจะทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดสีน้ำตาลเข้ม และระดับโปรตีนในซอสปรุงรสมีหลายระดับ เช่น ร้อยละ 10 ร้อยละ 15 และร้อยละ 20 ซึ่งจะใช้เป็นเกณฑ์กำหนดเกรดและราคาของซอสปรุงรส (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2553)



ภาพที่ 2.2 แผนภาพการผลิตซอสปรุงรส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5 ประโยชน์ของซอสปรุงรส

ช่วยปรับแต่งรสชาติอาหารให้ดีขึ้น อร่อยขึ้น ซอสปรุงรสที่มีขายในท้องตลาดจะให้รสชาติเค็ม ดังนั้นการใช้ซอสปรุงรสเป็นการเพิ่มความเค็มให้อาหารแทนการใช้เกลือ น้ำปลา หรือซีอิ๊วขาว เพียงแต่จะให้รสชาติที่ดีกว่า อร่อยกว่า และมีกลิ่นหอมมากกว่า นอกจากนี้ซอสปรุงรสนี้ยังประกอบไปด้วยโปรตีนหรือกรดอะมิโนที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายอีกด้วย

2.1.6 อันตรายของซอสปรุงรส

ในกระบวนการผลิตซอสปรุงรสที่ใช้วิธีการย่อยสลายโปรตีนของถั่วเหลืองโดยการใช้กรดเกลือที่มีความเข้มข้นสูงในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง จะได้สารเคมีซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง คือ 3-MCPD ซึ่งอันตรายมากออกมาด้วยเสมอ และเป็นอันตรายของซอสปรุงรสที่ผู้บริโภคต้องระมัดระวัง Wittmann (1991) รายงานว่า การผลิตซอสปรุงรสด้วยการใช้กรดเกลือที่มีความเข้มข้นสูงในสภาวะอุณหภูมิสูงนั้น พบสารที่กระตุ้นการสร้างเซลล์มะเร็งในหนูทดลอง เช่น สารที่อยู่ในกลุ่มของ chlorohydrins เช่น 2,3-dichloro-1-propanol หรือ 1,3-dichloro-2-propanol (DCP), 3-monochloro-propanediols (3-MCPD) และ 3-chloro-1-propanol โดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (2545) กำหนดไว้ว่า ซอสปรุงรสต้องมีสาร 3-MCPD ปนเปื้อนไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อผลิตภัณฑ์ปรุงรสที่ได้จากการย่อยโปรตีนของถั่วเหลือง 1 กิโลกรัม หรือ 1 ppm

2.2 ถั่วเหลือง

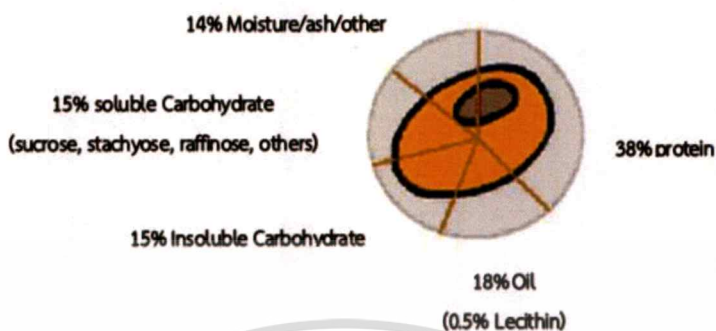
ถั่วเหลืองมีชื่อสามัญว่า Soya bean, Soja bean, Chinese pea, Manchurian bean และ Soybean ในจำนวนชื่อสามัญทั้งหมดนี้ Soybean เป็นที่นิยมเรียกและยอมรับมากที่สุด ถั่วเหลืองอยู่ใน family *Leguminosae*, subfamily *Papilionodeae*, genus *Glycine* และ species *max* มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine max*.(L.) Merrill (Liu, 1997) มีถิ่นกำเนิดในแถบภูมิภาคเอเชียตอนใต้ ต่อมาได้แพร่กระจายไปยังทวีปต่าง ๆ ซึ่งในปัจจุบันประเทศสหรัฐอเมริกาเป็นผู้ผลิตถั่วเหลืองรายใหญ่ที่สุดของโลก ในประเทศไทยส่วนมากปลูกแถบภาคเหนือและภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง แพร่ สุโขทัย กำแพงเพชร พิจิตร พิษณุโลก ชัยนาท สิงห์บุรี อ่างทอง และกาญจนบุรี (สำนักงานเกษตรจังหวัดแม่ฮ่องสอน, 2524)

2.2.1 ส่วนประกอบของเมล็ดถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองเป็นแหล่งของสารอาหารโปรตีน ไขมัน โดยมีส่วนประกอบทางเคมีที่สำคัญแสดงดังภาพที่ 2.3 คือ โปรตีนประมาณร้อยละ 38 ไขมันประมาณร้อยละ 18 (Saidu, 2005) ในกลุ่มธัญพืชและพืชตระกูลถั่วอื่น ๆ มีปริมาณโปรตีนสูงสุด (ประมาณร้อยละ 40) ส่วนธัญพืชมีโปรตีนอยู่ในช่วงร้อยละ 8-15 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลืองมีความแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น เมื่อผู้ยืมได้เห็นแจ้งเรียบร้อยแล้วให้นำคืน
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขึ้นอยู่กับแหล่งที่ปลูก นอกจากนี้ถั่วเหลืองยังมีน้ำมันประมาณร้อยละ 20 ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงเป็นอันดับสองในบรรดาพืชตระกูลถั่วทั้งหมด (Liu, 1997)

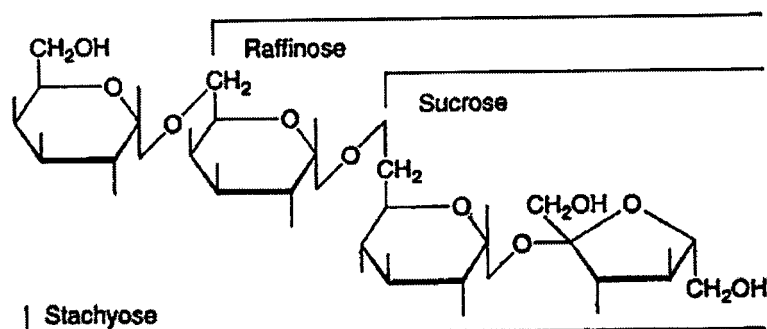


ภาพที่ 2.3 ส่วนประกอบของเมล็ดถั่วเหลือง
ที่มา : Saidu (2005)

โดยไขมันที่พบส่วนใหญ่จะเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว เช่น กรดลิโนลีนิก (linoleic acid) กรดลิโนลินิก (linolenic acid) กรดโอเลอิก (oleic acid) และกรดปาล์มติก (palmitic acid) เป็นต้น ซึ่งพบกรดลิโนลีนิกร้อยละ 45-62 กรดลิโนลินิกร้อยละ 43-56 และกรดโอเลอิกร้อยละ 15-33 (Markley และ Goss, 1944) และยังมี lecithin ซึ่งเป็นไขมันที่มีบทบาทสำคัญต่อเซลล์สมองและเซลล์ประสาท ที่สำคัญคือในถั่วเหลืองไม่มีคลอเลสเทอรอล (คัคนางค์, 2542)

ในถั่วเหลืองมีคาร์โบไฮเดรตประมาณร้อยละ 30 ซึ่งประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ (soluble carbohydrate) ประกอบด้วย monosacharides เช่น glucose, arabinose และ disaccharides เช่น sucrose ร้อยละ 2.5-8.2 และ oligosaccharides เช่น raffinose ร้อยละ 0.1-0.9 stachyose ร้อยละ 1.4-4.1 ดังแสดงในภาพที่ 2.4 ซึ่งร่างกายของมนุษย์ไม่มีเอนไซม์ที่ใช้อยู่ raffinose และ stachyose จึงทำให้น้ำตาลดังกล่าวตกค้างและถูกย่อยโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซมีเทนออกมา ส่งผลให้ผู้บริโภครู้สึกอึดอัด (Garcia และคณะ, 1997) ส่วนคาร์โบไฮเดรตชนิดที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble carbohydrate) ประกอบด้วย cellulose hemicellulose pectin และแป้งปริมาณเล็กน้อย อีกทั้งในถั่วเหลืองยังมีปริมาณเถ้าอยู่ถึงร้อยละ 4.4 (Liu, 1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของโอลิโกแซคคาไรด์ที่พบในถั่วเหลือง

ที่มา : Liu (1997)

นอกจากนี้ในถั่วเหลืองประกอบด้วยวิตามินและเกลือแร่หลายชนิด ได้แก่ วิตามินเอ วิตามินดี วิตามินอี วิตามินเค และยังมีวิตามินบีในปริมาณสูง แต่เมื่อนำถั่วเหลืองไปผ่านความร้อนสูงจะส่งผลให้ปริมาณวิตามินลดลงครึ่งหนึ่ง ส่วนเกลือแร่ที่สำคัญ ได้แก่ โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และฟอสฟอรัส สารประกอบในถั่วเหลืองที่มีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบ คือ phytin ซึ่งเป็นแหล่งที่มีฟอสฟอรัสมากที่สุด (Saidu, 2005)

2.3 แป้งสาลี (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2561)

แป้งข้าวสาลี (wheat flour) เป็นแป้งที่ได้จากเมล็ดของข้าวสาลี (wheat) โดยใช้ส่วนที่เป็นเอนโดสเปิร์มนำมาโม่ (milling) ให้เป็นผงละเอียด โปรตีนในแป้งสาลีทำให้แป้งสาลีมีสมบัติเฉพาะที่ต่างจากแป้งชนิดอื่น ประกอบด้วยโปรตีนกลูเตนิน (glutenin) และไกลอะดีน (gliadin) ในสัดส่วนเท่า ๆ กัน จะสร้างพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) ทำให้ได้กลูเตน (gluten) ซึ่งมีลักษณะเหนียวและยืดหยุ่น สามารถเก็บกักก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ผลิตขึ้นโดยสารที่ทำให้ขึ้นฟู (leavening agent) เช่น ยีสต์ (yeast) หรือผงฟู (baking powder) เอาไว้ได้

2.3.1 ชนิดของแป้งสาลี (อรอนงค์, 2532)

1) แป้งเค้ก (Cake Flour/Soft Flour)

แป้งเค้กมีโปรตีนประมาณร้อยละ 7-9 โม่จากข้าวสาลีชนิดอ่อนพวก Soft Wheat และ Soft Red Winter ใช้ทำเค้ก คุณก็ ลักษณะของแป้งเมื่อถูด้วยนิ้วจะรู้สึกอ่อนนุ่มละเอียด มีสีขาว เมื่อกดนิ้วลงไปบนแป้ง แป้งจะเกาะรวมกันเป็นก้อน และคงรอยนิ้วมือไว้

2) แป้งขนมปัง (Bread Flour/Strong Flour/Hard Flour)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับ แป้งขนมปังมีโปรตีนสูงถึงร้อยละ 12-14 โม่จากข้าวสาลีชนิดแข็งพวก Hard Red Spring หรือ Hard Red Winter ใช้ทำผลิตภัณฑ์พวกขนมปังจืดหรือ

หวาน และผลิตภัณฑ์ที่หมักด้วยยีสต์ ลักษณะของแป้งเมื่อถูด้วยมือจะรู้สึกกระคายมือ หยาบเหมือนทราย มีสีครีม เมื่อกดนิ้วลงไปบนแป้ง แป้งจะไม่เกาะตัวกัน

3) แป้งอเนกประสงค์ (All Purpose Flour/Plain Flour)

แป้งอเนกประสงค์มีโปรตีนสูงปานกลางร้อยละ 10-11 เป็นแป้งที่ได้จากการผสมข้าวสาลีชนิดแข็งกับข้าวสาลีชนิดอ่อนเข้าด้วยกันในสัดส่วนที่เหมาะสม ใช้ทำผลิตภัณฑ์ได้หลาย ๆ อย่าง เช่น ขนมปังจืด ขนมปังหวาน ขนมเค้กบางชนิด ปาท่องโก๋ บะหมี่ และเพสตรี ลักษณะของแป้งชนิดนี้จะมีลักษณะของแป้งขนมปัง และแป้งเค้กรวมกัน

2.3.2 องค์ประกอบของแป้งสาลี

แป้งสาลีที่ได้จากการโม่ โดยแยกส่วนของแป้งในเอนโดสเปิร์มออกมาแล้ว ประกอบด้วยองค์ประกอบต่าง ๆ โดยเฉลี่ย ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบของแป้งสาลี

องค์ประกอบ	ร้อยละ
คาร์โบไฮเดรต	70
โปรตีน	11.5
น้ำตาล	1
ไขมัน	1
ความชื้น	15
แร่ธาตุ (เถ้า)	0.4
อื่น ๆ	2

ที่มา : จิตธนา และ อรอนงค์ (2549)

1) คาร์โบไฮเดรต

เป็นองค์ประกอบสำคัญและมีปริมาณมากที่สุดในแป้งสาลี คือ ประมาณร้อยละ 70 คาร์โบไฮเดรตที่มีในแป้งสาลี ได้แก่ แป้ง เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพนโทเซน และน้ำตาล

2) โปรตีน

ปริมาณโปรตีนในแป้งสาลีชนิดต่าง ๆ นั้นไม่เท่ากัน อยู่ในเกณฑ์ร้อยละ 8-13 โดยทั่วไปแป้งทำขนมปังจะมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 12-13 แป้งอเนกประสงค์มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 10-11 แป้งเค้กมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 8-9

3) ไขมัน

ปริมาณไขมันที่พบในแป้งข้าวสาลีมีปริมาณร้อยละ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้ภายในหน่วยงานนี้ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) วิตามิน

ชนิดวิตามินที่พบในข้าวสาลีส่วนมาก คือ วิตามินบีรวมและวิตามินอี ส่วนวิตามินเอพบในปริมาณที่น้อยมาก (ตารางที่ 2.3)

5) แร่ธาตุ

ในแป้งสาลีจะประกอบไปด้วยแร่ธาตุ ได้แก่ แมกนีเซียม แมงกานีส โคบอลต์ ฟอสฟอรัส แคลเซียม โพแทสเซียม สังกะสี ทองแดง และโซเดียม

ตารางที่ 2.3 ปริมาณวิตามินปีต่าง ๆ ในข้าวสาลีและแป้ง (ร้อยละ)

วิตามิน	ข้าวสาลี	แป้ง
โทอะมีน	0.40	0.104
ไรโบฟลาวิน	0.16	0.035
ไนอะซิน	6.95	1.38
ไบโอติน	0.016	0.0021
โคลีน	216.0	208.0
กรดเพนโทติก	1.37	0.59
กรดโฟลิก	0.049	0.011
อินโนซิทอล	370.0	47.0
กรดพารา-อะมีโนเบนโซอิก	0.51	0.050

ที่มา : อรอนงค์ (2532)

Guo และคณะ (2018) รายงานว่า แป้งสาลีประกอบด้วยแป้งเป็นส่วนใหญ่ (ประมาณร้อยละ 70-75) และโปรตีน (ประมาณร้อยละ 8-14) ส่วนประกอบบางอย่าง เช่น ไขมัน (ประมาณร้อยละ 2) โพลีแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้ง (ประมาณร้อยละ 2-3) เกลือแร่ วิตามิน สารต้านอนุมูลอิสระ และสารอาหารอื่น ๆ มีอยู่ในแป้งสาลี ซึ่งแป้งเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตหลักในอาหารของมนุษย์และเป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากข้าวสาลี โดยการบริโภคอาหารประเภทแป้งมากเกินไป อาจทำให้เสี่ยงต่อโรคเบาหวานและภาวะเกี่ยวกับโรคหัวใจและหลอดเลือด ถือเป็นความกังวลด้านโภชนาการอย่างมาก (Willett และคณะ, 2002; Taylor และคณะ, 2014; Tian และคณะ, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 การประยุกต์ใช้แป้งสาลีในการทำซีอิ๊ว (กองควบคุมอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2553)

แป้งสาลีทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่เป็นสารตั้งต้นของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ แอลกอฮอล์ และกรดอินทรีย์อีกหลายชนิด นอกจากนี้แป้งสาลียังเป็นแหล่งของลิกนินและไกลโคไซด์ ซึ่งจะเปลี่ยนไปเป็นสารกลิ่นวานิลลิก (Vanillic flavor) ทำให้ซีอิ๊วมีความกลมกล่อมมากยิ่งขึ้น อีกทั้งเป็นแหล่งของกรดกลูตามิกซึ่งมีส่วนสำคัญในการสร้างกลิ่นรสที่ดีในซีอิ๊วเช่นกัน โรงงานในประเทศไทยนิยมใช้แป้งสาลีโปรตีนต่ำ เนื่องจากมีราคาถูกและอาจมีการใช้ร่วมกับแป้งข้าวเจ้า หรือใช้แป้งข้าวเจ้าแทนแป้งสาลีเพื่อลดต้นทุนการผลิต

2.4. เอนไซม์อะไมเลส (วิราสิณี และ นพพล, 2556)

อะไมเลส (Amylase) เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม Hydrolases และเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) ในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลโดยไฮโดรไลซ์พันธะ 1,4-glycosidic ในโมเลกุลของแป้งให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลง ทำให้ได้เป็นเดกซ์ทริน (dextrin) และน้ำตาลไดแซ็กคาไรด์ เช่น มอลโทส (maltose) มอโนแซ็กคาไรด์ เช่น กลูโคส มีการค้นพบเอนไซม์อะไมเลสในหลายแหล่งด้วยกันทั้งในพืช สัตว์พวก prokaryote และ eukaryote เช่น ในสัตว์พที่น้ำลายและลำไส้ ในสิ่งมีชีวิตจุลินทรีย์พบในพวก เห็ด รา และแบคทีเรีย

แหล่งของอะไมเลสโดยทั่วไปได้จากพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ปัจจุบันไม่นิยมใช้การผลิตอะไมเลสจากพืชและสัตว์ เนื่องจากต้องใช้วัตถุดิบเป็นจำนวนมากและต้นทุนในการผลิตสูง จึงมีการผลิตอะไมเลสจากจุลินทรีย์ เพราะเป็นแหล่งเอนไซม์ที่มีปริมาณไม่จำกัด จุลินทรีย์ได้รับความนิยมใช้ในอุตสาหกรรมเป็นอย่างมาก ได้แก่ แบคทีเรีย เนื่องจากเลี้ยงง่าย ต้องการอาหารไม่ซับซ้อนมากนัก สะดวกในการเก็บเชื้อได้นานโดยไม่ต้องถ่ายเชื้อบ่อยและการแปรผันของเชื้อในการผลิตเอนไซม์จากเชื้อแบคทีเรียน้อยกว่าเชื้อรา ทั้งนี้การผลิตอะไมเลสจากแบคทีเรียจึงนับว่ามีความน่าสนใจอย่างยิ่ง (อำพรพรณ และ สาวิตรี, 2552)

ในการผลิตเอนไซม์จากจุลินทรีย์จะต้องคำนึงถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์และการผลิตเอนไซม์ ได้แก่ สายพันธุ์ของเชื้อ ปริมาณกล้าเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิ และระยะเวลาในการบ่มเชื้อ นอกจากนี้เอนไซม์จะทำงานได้ดีเมื่ออยู่ในภาวะที่เหมาะสม เช่น มีค่าความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ Riaz และคณะ (2003) รายงานว่า อะไมเลสที่ผลิตได้จาก *Bacillus subtilis* สามารถทนต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.5-8.0 และช่วงอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

2.4.1 ชนิดของเอนไซม์อะไมเลส

1) แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2546)

มีชื่อทางการค้าเป็นที่รู้จักกันว่า Termamyl® และมีชื่อสามัญว่า ไดแอสเทส (diastase) และมีชื่อตามระบบว่า α -1,4-glucan 4-glucanohydrolase รหัสเอนไซม์คือ 3.2.1.1 เป็นเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์หรือย่อยพันธะไกลโคไซด์ภายในสายพอลิเมอร์ของโมเลกุล แป้งและไกลโคเจน (glycogen) ที่ตำแหน่งแอลฟา 1-4 แบบสุ่ม ทำให้โมเลกุลของแป้งและไกลโคเจนถูกย่อยได้เป็นน้ำตาลอย่างรวดเร็ว เช่น น้ำตาลมอลโทส (maltose) กลูโคส (glucose) และ oligosaccharide ในอุตสาหกรรมอาหารใช้เอนไซม์นี้ในการการย่อยแป้ง (starch hydrolysis) ในขั้นตอนการทำ liquefaction เพื่อลดความหนืดของน้ำแป้งภายหลังการเกิดเจลาติไนซ์ (gelatinization) เพื่อผลิตน้ำเชื่อมกลูโคส

เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสพบทั่วไปในระบบการย่อยอาหาร (digestive system) ของมนุษย์และสัตว์ เช่น ในน้ำลายและน้ำย่อยจากตับอ่อน และสามารถพบได้ในจุลินทรีย์ เช่น *Aspergillus oryzae* (Brzozowski และ Davies, 1997), *Aspergillus niger* (Boel และ คณะ, 1990) *Paecilomyces variotii* (Michelin และ คณะ, 2010) *Monascus anka* (Yoshizaki และคณะ, 2010) และพบได้มากในธัญพืชต่าง ๆ เช่น ข้าวมอลต์ เมล็ดถั่วเขียว (Bharagava และ Chandra, 2010) เมล็ดถั่วเหลือง (Kumari และคณะ, 2010) นอกจากนี้ยังพบได้ในแมลง เช่น มอดข้าวเปลือก มอดเมล็ดถั่ว (Priya และคณะ, 2010) และสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยนม

2) เบต้าอะไมเลส (β -amylase) (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2546)

มีชื่อเรียกตามระบบว่า α -1,4-glucan maltohydrolase รหัสเอนไซม์คือ 3.2.1.2 เป็นเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์แป้งที่พันธะไกลโคไซด์ที่ตำแหน่งแอลฟา-1,4 เฉพาะส่วนปลายสายที่ไม่รีดิวซ์ (non reducing end) ที่ละ 2 หน่วย ทำให้ได้น้ำตาลมอลโทส (maltose) ซึ่งเอนไซม์นี้ไม่พบในน้ำย่อยของมนุษย์แต่พบในราและแบคทีเรีย เช่น *Bacillus cereus* พบในผลไม้ระหว่างการสุกทั้งแอลฟาและเบต้าอะไมเลส ทั้งยังพบในธัญพืช เช่น ข้าวสาลีและข้าวบาร์เลย์ เป็นต้น ในการผลิตเบียร์มีการเพาะเมล็ดธัญพืชให้งอก (malting) แล้วจึงเตรียมน้ำเวอร์ต (wort) โดยระหว่างนี้เอนไซม์อะไมเลสในข้าวมอลต์จะย่อยแป้ง หากการย่อยได้น้ำตาลมากเมื่อนำไปหมักก็จะได้อัลกอฮอล์สูง ที่อุณหภูมิสูงแอลฟาอะไมเลสทำงานได้ดีกว่าเบต้าอะไมเลสทำให้ได้เดกซ์ทรินสูงแต่ปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำ ถ้าอุณหภูมิต่ำเบต้าอะไมเลสทำงานได้ดีจึงได้น้ำตาลมอลโทสมากและเดกซ์ทรินต่ำ ซึ่งเมื่อนำไปหมักจะได้ปริมาณแอลกอฮอล์สูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) แกมมาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส หรืออะมิโลกลูโคซิเดส (γ -amylase, glucoamylase, amyloglucosidase) (วิราสิณี และ นพพล, 2556)

ชื่อตามระบบ γ -1,4-glucan glucohydrolase รหัสเอนไซม์คือ 3.2.1.3 เป็นเอนไซม์ที่ไฮโดรไลสสายพอลิเมอร์ของแป้งได้ทั้งที่พันธะไกลโคไซด์ที่ตำแหน่งแอลฟา 1,4 และแอลฟา 1,6 จึงสามารถไฮโดรไลสโมเลกุลของอะไมโลเพกทิน (amylopectin) ซึ่งโมเลกุลเป็นกิ่งก้านสาขา โดยจะไฮโดรไลสจากส่วนปลายด้านนอนรีดิวส์ (non reducing end) เข้ามาทีละ 1 หน่วย ได้น้ำตาลกลูโคส ผลิตได้โดยราและแบคทีเรีย

2.4.2 การแบ่งเอนไซม์อะไมเลสตามการเข้าทำปฏิกิริยากับแป้ง

Van der Maarel และคณะ (2002) ได้ทำการแบ่งเอนไซม์อะไมเลสตามการเข้าทำปฏิกิริยากับแป้งเป็น 4 ชนิด ดังนี้

1) เอนไซม์เอนโด-อะไมเลส (endo-amylase)

จะเข้าทำการย่อยสลายภายในพันธะ α -1,4 ไกลโคซิดิกของอะไมโลส หรืออะไมโลเพกทิน ได้แก่ แอลฟาอะไมเลส

2) เอนไซม์เอ็กโซ-อะไมเลส (exo-amylase)

จะเข้าทำการย่อยสลายภายนอกที่พันธะ α -1,4 ได้แก่ เบต้าอะไมเลส หรือย่อยสลายที่พันธะ α -1,4 และ α -1,6 ได้แก่ แกมมาอะไมเลส หรือ กลูโคอะไมเลส

3) เอนไซม์ดีبرانซิงค์ (debranching enzyme)

ได้แก่ เอนไซม์ไอโซอะไมเลส (isoamylase) และเอนไซม์พูลูลานเนส (Pullulanase) สามารถย่อยพันธะ α -1,6 ไกลโคซิดิก ของอะไมโลเพกทิน ไกลโคเจนเดกซ์ทรินที่มีกิ่งก้านและโอลิโกแซคคาไรด์ได้ แต่ไม่สามารถย่อยพันธะ α -1,6 ไกลโคซิดิกของพูลูลแลน (pullulan) และเบต้า-ลิมิทเด็กซ์ทรินได้

4) เอนไซม์ทรานเฟอร์เอส (transferases)

ได้แก่ เอนไซม์อะไมโลมอลเตส (amylomaltase) และเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทริน ไกลโคซิลทรานเฟอร์เอส (cyclodextrin glycosyltransferase) สามารถย่อยพันธะ α -1,4 ไกลโคซิดิก ระหว่างตัวให้กับตัวรับของพันธะไกลโคซิดิกใหม่

2.4.3 การประยุกต์ใช้เอนไซม์อะไมเลสในอุตสาหกรรม

ปัจจุบันเอนไซม์ได้เข้ามามีส่วนร่วมในวงการอุตสาหกรรมเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากช่วยลดต้นทุนในการผลิตและยังสามารถควบคุมวิธีการผลิตให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น สารเคมีสังเคราะห์ที่มีราคาสูงบ่อยครั้งสารเคมีเหล่านั้นเป็นอันตรายแก่ผู้บริโภคและยังทำลายสิ่งแวดล้อมในทางอ้อมอีกด้วย (บุญพา, 2548)

อะไมเลสมีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ได้แก่ อุตสาหกรรมอาหาร โดยในประเทศไทยที่มีการใช้เอนไซม์ในการแปรรูปแป้งและผลิตไซรัป อุตสาหกรรมเบเกอรี่และขนมปังกรอบ (cracker) อุตสาหกรรมสารปรุงแต่งรสชาติอาหาร อุตสาหกรรมการผลิต

เครื่องดื่มและนม (dairy) อุตสาหกรรมเครื่องดื่มและน้ำผลไม้ อุตสาหกรรมการผลิต แอลกอฮอล์ การทำกระดาษ การผลิตน้ำเชื่อม กลูโคสไซรับและฟรุคโตสไซรับ (กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม, 2553)

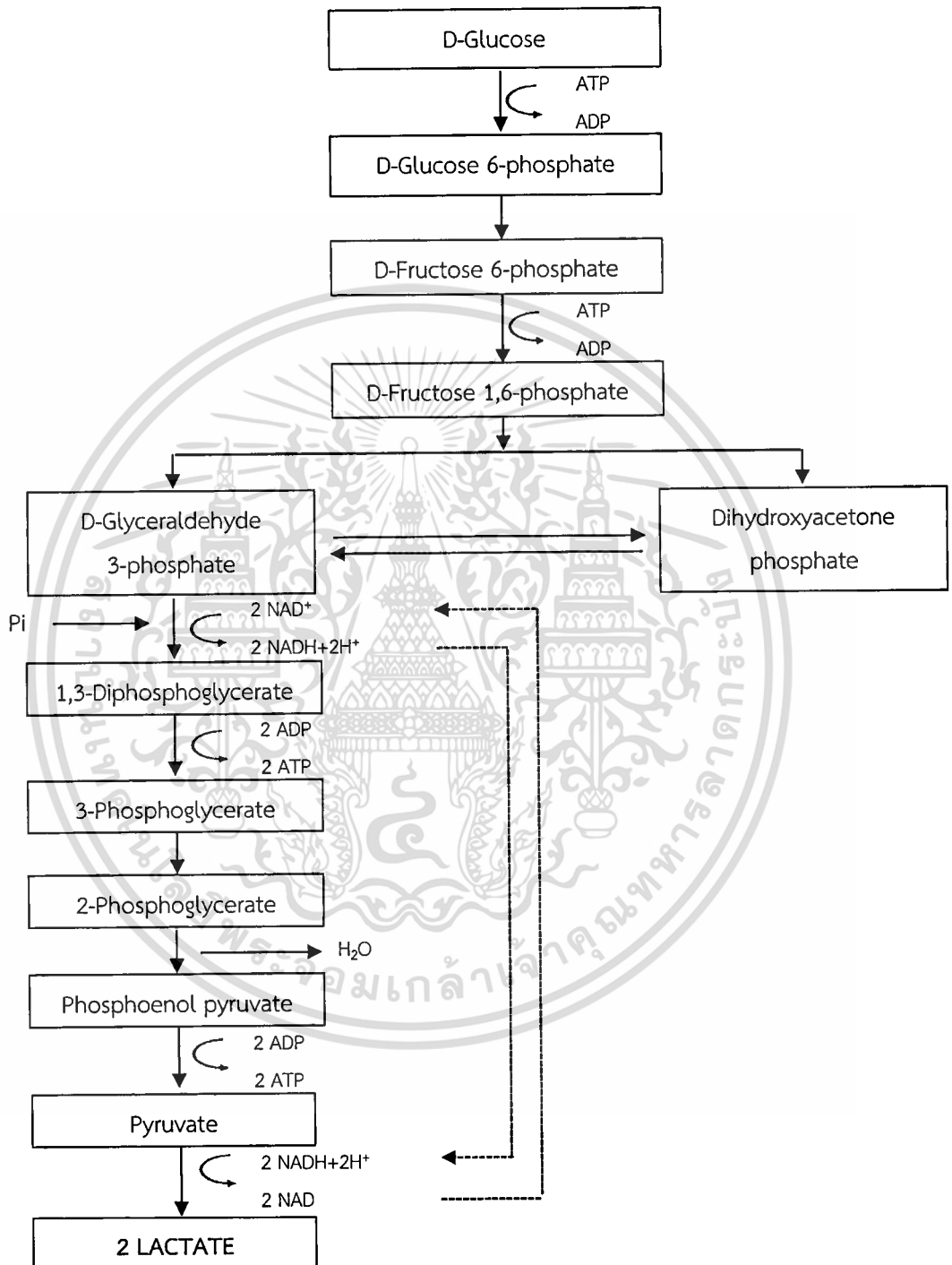
2.5. แบคทีเรียกรดแลคติก

แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นแบคทีเรียแกรมบวกไม่สร้างสปอร์ ไม่มีเอนไซม์คะตะเลส แต่บางชนิดอาจมีเอนไซม์คะตะเลสเทียม (psudocatalase) ไม่มีไซโตโครม สามารถทนต่ออากาศได้ ทนต่อความเป็นกรดและสามารถผลิตกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักโดยกระบวนการหมักน้ำตาล โดยทั่วไปแบคทีเรียกรดแลคติกอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีสารอาหารอุดมสมบูรณ์ เช่น นม เนื่อ และผัก แต่บางชนิดเป็นแบคทีเรียประจำถิ่น (normal flora) อาศัยอยู่ในปาก ลำไส้ และช่องคลอดของมนุษย์และสัตว์

ลักษณะเด่นที่มีความสำคัญมากที่สุดของแบคทีเรียกรดแลคติก คือ การไม่สังเคราะห์กลุ่มพอร์ไฟริน (porphyrin group) เช่น ฮีม (heme) จึงทำให้แบคทีเรียกรดแลคติกขาดเอนไซม์คะตะเลสที่แท้จริงและไซโตโครม ภายใต้สภาวะปกติแบคทีเรียกรดแลคติกไม่มีกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอนจึงอาศัยกระบวนการหมักในการสร้างพลังงาน เช่น substrate-level phosphorylation และเนื่องจากการไม่มีฮีมทำให้ไม่มีเอนไซม์คะตะเลสที่แท้จริง แบคทีเรียกรดแลคติกบางชนิดจึงสร้างเอนไซม์คะตะเลสเทียม (psudocatalase) ขึ้น (Whittenbury, 1964; Kono และ Fridovich, 1983) ซึ่งการขาดไซโตโครมเป็นลักษณะเบื้องต้นที่ใช้ในการทดสอบเอนไซม์คะตะเลส อย่างไรก็ตามถ้ามีการเติมฮีมัติน (hematin) หรือฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ลงในอาหารที่ใช้สำหรับการเจริญ อาจทำให้แบคทีเรียกรดแลคติกบางชนิดสร้างเอนไซม์คะตะเลสที่แท้จริงและไซโตโครมขึ้นมาได้ ซึ่งในบางกรณีส่งผลให้เกิดการหายใจโดยกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอน (Jones และ Whittenbury 1969; Ritchey และ Seeley 1976; Wolf และคณะ, 1991)

แบคทีเรียกรดแลคติกอาศัยการหมักน้ำตาลผ่านกระบวนการที่ต่างกันเป็นผลทำให้เกิดการหมักแบบ Homofermentation (ภาพที่ 2.5) Heterofermentation (ภาพที่ 2.6) และ Mixed acid fermentation (ภาพที่ 2.7) Homofermentation เป็นการหมักเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรด-แลคติกเพียงชนิดเดียว จากการสลายน้ำตาลกลูโคสโดยกระบวนการไกลโคไลซิส การหมักแบบ Heterofermentation ทำให้ได้กรดแลคติก คาร์บอนไดออกไซด์ และเอทานอล หรือกรดอะซิติกจากน้ำตาลกลูโคสผ่านทาง Phosphoketolase pathway อัตราส่วนของเอทานอลและกรดอะซิติกขึ้นอยู่กับ redox potential ของระบบ ส่วน Mixed acid ถูกสร้างขึ้นโดยพวก Homofermentation เช่น แลคโตคอคไค ในระหว่างกลูโคสมืออยู่อย่างจำกัดหรือในระหว่างที่มีการเจริญเติบโตโดยใช้น้ำตาลอื่น ๆ เช่น การเจริญของ *Lactobacillus lactis* ในน้ำตาลมอลโตส น้ำตาลแลคโตส และน้ำตาลกาแลคโตส หรือจากการที่ค่าพีเอชเพิ่มขึ้นและอุณหภูมิลดลงส่งผลให้เกิดการสร้างเอทานอล กรดอะซิติก และกรดฟอर्मิกเพิ่มขึ้น โดยการหมักแบบ Mixed acid fermentation

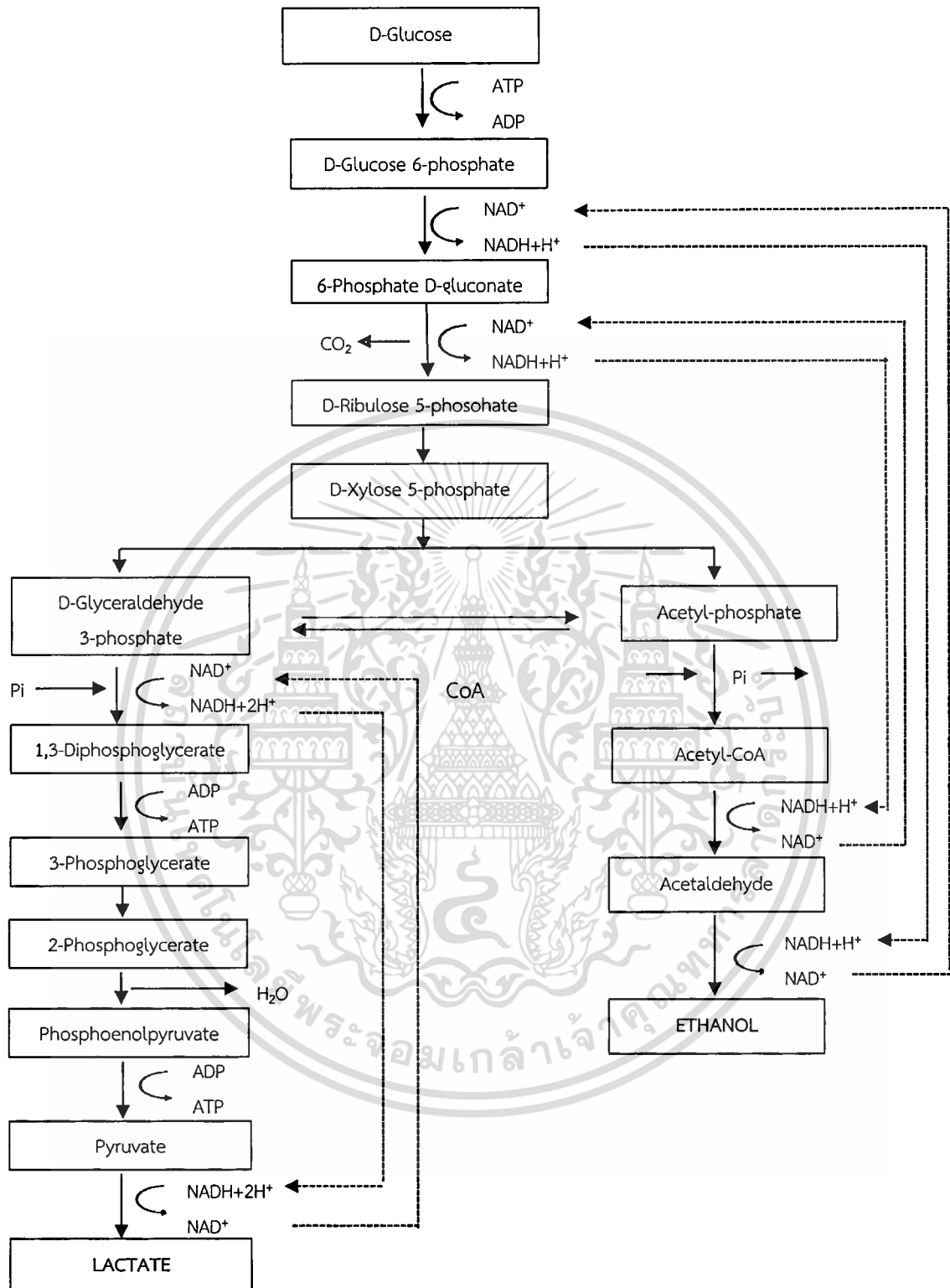
อาศัย Homofermentation pathway เช่นเดียวกับการหมักแบบ Homofermentation แต่มีความแตกต่างในขั้นตอนการสลายไพรูเวท ทำให้กรดแลคติกเปลี่ยนเป็นกรดฟอร์มิกและอะซิติลโคเอนไซม์ เอ (acetyl-CoA)



ภาพที่ 2.5 การหมักกรดแลคติกจากกลูโคสแบบ Homolactic fermentation ผ่านกระบวนการ

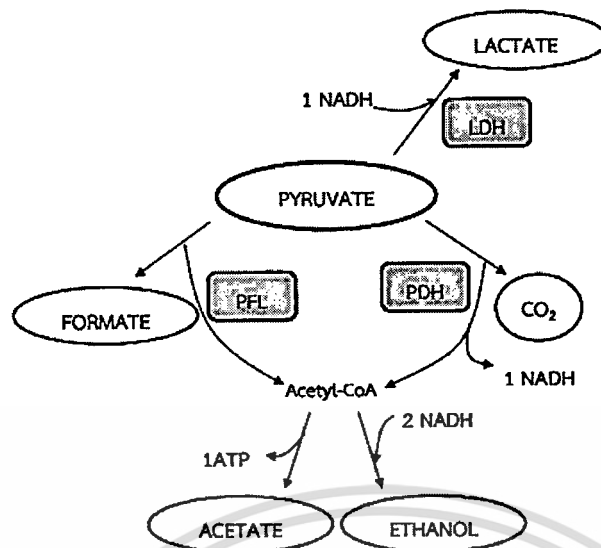
ไกลโคไลซิส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ที่มา : Axelsson (2004)
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



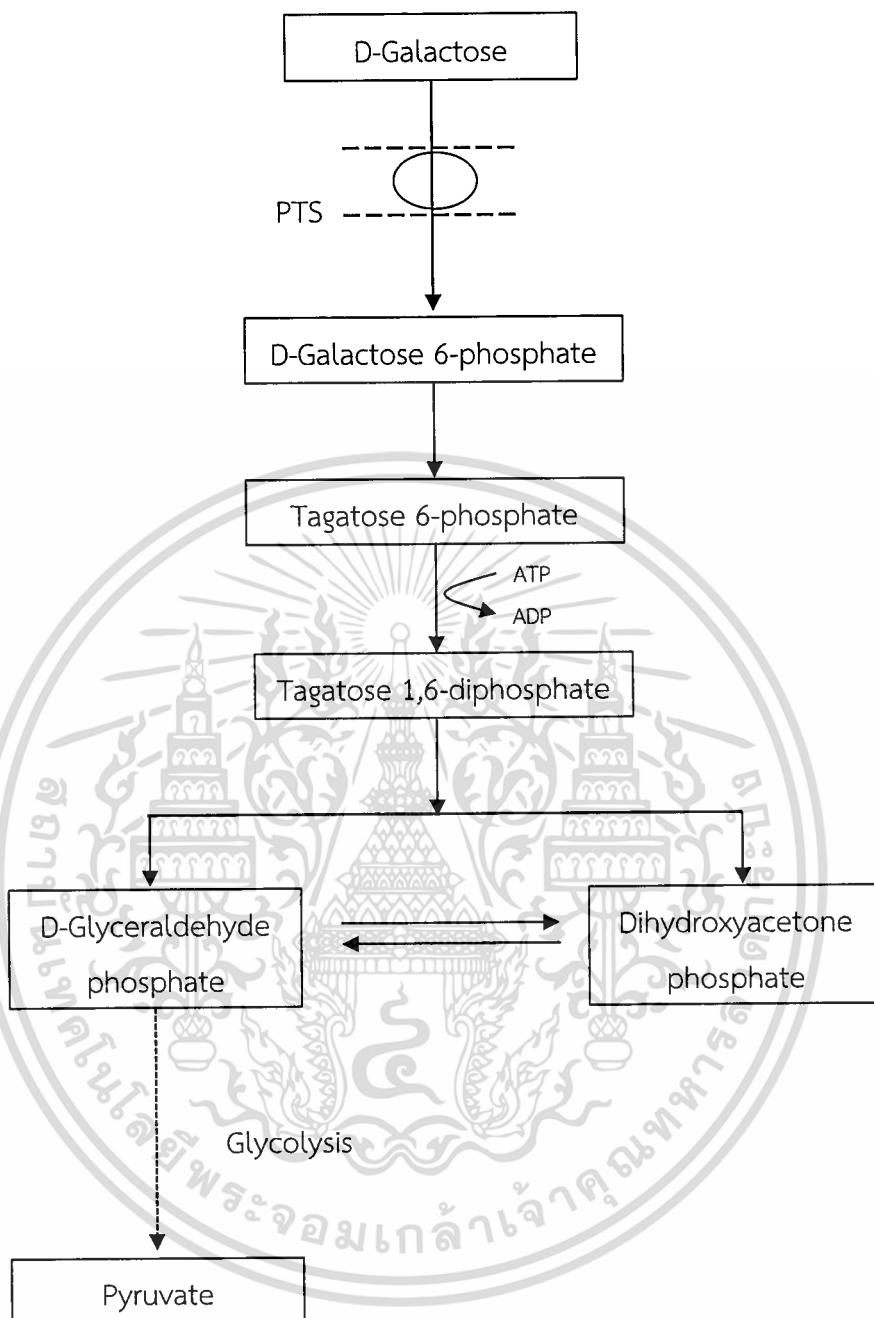
ภาพที่ 2.6 การหมักกรดแลคติกจากกลูโคสแบบ Heterolactic fermentation ผ่านทาง Phosphoketolase pathway

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ที่มา : Axelsson (2004)
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



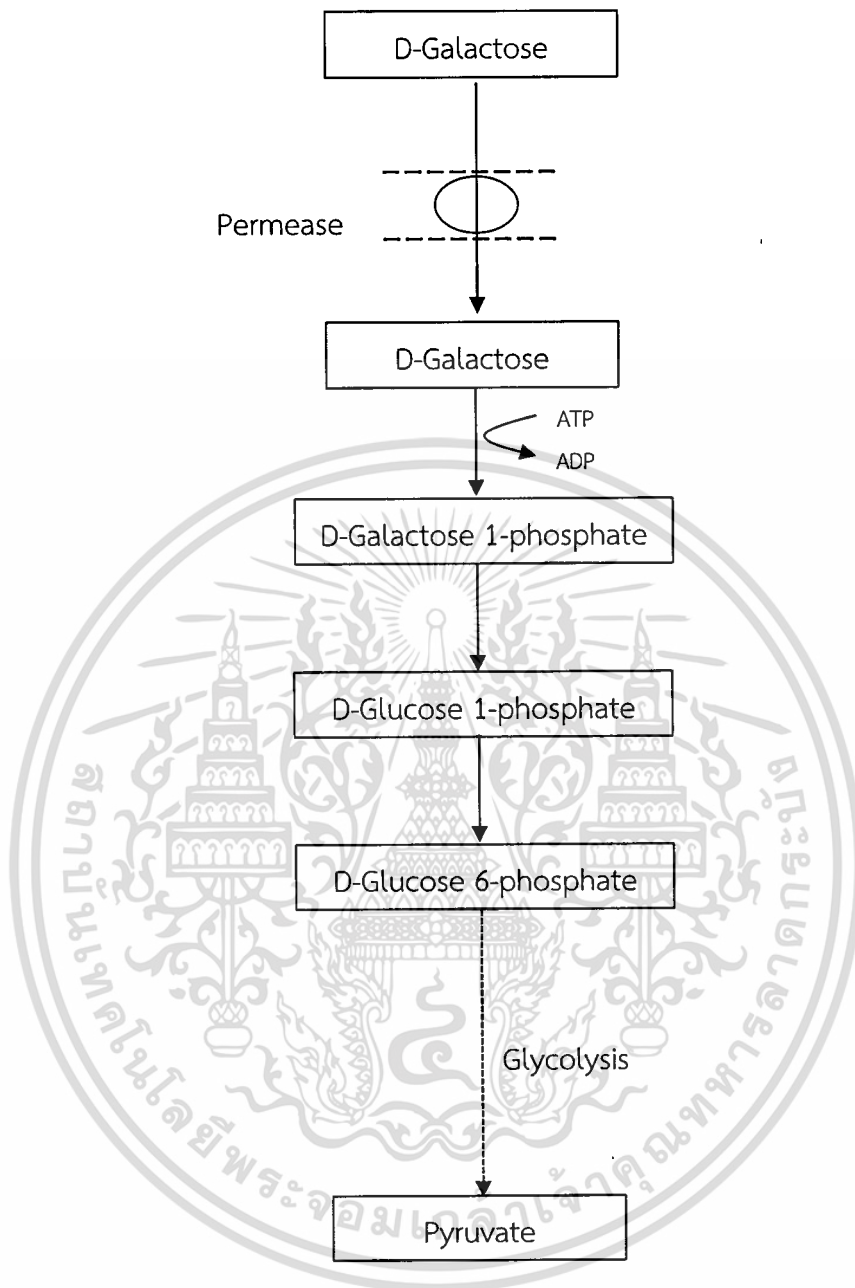
ภาพที่ 2.7 การหมักกรดแลคติกจากกลูโคสแบบ Mixed acid fermentation
ที่มา : Hofvendahl และ Hahn-Hagerdal (2000)

ในการหมักกรดแลคติกโดยเมตาบอลิซึมของไพรูเวทนั้น เอนไซม์ pyruvate formate lyase (PFL) ซึ่งถูกกระตุ้นโดยออกซิเจนทำให้เกิดการสลายไพรูเวทไปเป็นฟอร์มेटและ acetyl-CoA การสลายไพรูเวทอีกทางหนึ่ง คือ การกระตุ้นผ่านเอนไซม์ pyruvate dehydrogenase (PDH) เป็นผลให้มีการสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ acetyl-CoA และ NADH แบคทีเรียกรดแลคติกอาจมีการสร้างผลิตภัณฑ์ที่ให้กลิ่นรส เช่น diacetyl และ acetoin หรือ bacteriocin (Hofvendahl และ Hahn-Hagerdal, 2000) ในกรณีของแหล่งน้ำตาลเป็นน้ำตาลกาแลคโตส แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถสลายน้ำตาลได้โดยผ่าน Tagatose 6-phosphate pathway (ภาพที่ 2.8) หรือ Leloir pathway (ภาพที่ 2.9) (Axelsson, 2004)



ภาพที่ 2.8 Tagatose 6-phosphate pathway ของแบคทีเรียกรดแลคติก
ที่มา : Axelsson (2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.9 Leloir pathway ของแบคทีเรียกรดแลคติก
ที่มา : Axelsson (2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดแลคติกโดยเชื้อจุลินทรีย์

ในการผลิตกรดแลคติกเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงสุดจะต้องคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1) สายพันธุ์ของจุลินทรีย์

สายพันธุ์ที่ให้ความเข้มข้นของกรดแลคติกและผลผลิตที่สูง มักจะแสดงถึงความสามารถในการสร้างผลผลิตต่อหน่วยเวลาที่สูงด้วย สายพันธุ์ที่ใช้ในการผลิตกรดแลคติกต้องสามารถสร้างกรดแลคติกได้มาก มีความสม่ำเสมอในการผลิต มีความคงตัวของสายพันธุ์และมีความเป็นไปได้ที่จะปรับปรุงพันธุกรรม มีความสามารถในการสร้างผลผลิตต่อหน่วยเวลาที่สูง สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ง่ายและให้กรดชนิดอื่นที่ไม่ต้องการน้อย

จุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการผลิตมีด้วยกันสองกลุ่ม คือ แบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งสามารถผลิตกรดแลคติกได้ทั้งกรดแลคติกโครงสร้างรูป L รูป D และรูป DL ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก เช่น แบคทีเรียกรดแลคติกที่อยู่ในสกุล *Streptococcus* สร้างกรดแลคติกโครงสร้างรูป L แบคทีเรียกรดแลคติกที่อยู่ในสกุล *Lactococcus* สร้างกรดแลคติกโครงสร้างรูป D และแบคทีเรียกรดแลคติกที่อยู่ในสกุล *Lactobacillus* สร้างกรดแลคติกได้ทั้งโครงสร้างรูป L, D และ DL ซึ่งเชื้อราสามารถผลิตกรดแลคติกได้เฉพาะโครงสร้างรูป L เท่านั้น เช่น เชื้อราในสกุล *Rhizopus* โดยกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติกมีข้อดีคือ มีผลผลิตกรดแลคติกต่อหน่วยเวลาสูง แต่ต้องการสารอาหารในการเจริญและผลิตกรดแลคติกค่อนข้างมาก จึงทำให้สิ้นเปลืองต้นทุนในการผลิตกรดแลคติก ส่วนเชื้อรามีผลผลิตกรดแลคติกต่อหน่วยเวลาต่ำ แต่มีข้อดีคือ ใช้สารอาหารในการเจริญเติบโตและผลิตกรดแลคติกต่ำ ทำให้ใช้ต้นทุนในการผลิตกรดแลคติกที่ต่ำกว่า โดย Hofvendahl และ Hahn-Hagerdal (2000) ได้รายงานว่าการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีการตัดแต่งพันธุกรรมจะมีการผลิตกรดแลคติกได้ดีกว่าสายพันธุ์ทั่วไป

2) แหล่งคาร์บอน

สารตั้งต้นหลาย ๆ ชนิดถูกใช้ในการผลิตกรดแลคติกโดยเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ผลิตภัณฑ์ที่บริสุทธิ์จะได้รับการใช้แหล่งน้ำตาลที่มีความบริสุทธิ์ในการหมัก ซึ่งทำให้มีค่าใช้จ่ายในการเก็บเกี่ยวผลผลิตต่ำ อย่างไรก็ตามแหล่งน้ำตาลที่มีความบริสุทธิ์นั้นมีราคาแพงจึงไม่คุ้มทุน ทำให้มีการใช้ผลผลิตที่เป็นของเหลือทิ้งจากการเกษตรและอุตสาหกรรมมาใช้ให้เกิดประโยชน์ เช่น เว้ย และกากน้ำตาล เป็นต้น (Hofvendahl และ Hahn-Hagerdal, 2000)

3) แหล่งของไนโตรเจน

ในองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรดแลคติกนั้น จำเป็นต้องเติมสารแหล่งไนโตรเจน เช่น สารสกัดจากยีสต์หรือเปปโตน (Chiarini และคณะ, 1992) การเติมสารแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นสูงเพียงพอ จะให้ผลที่ดีต่อการผลิตกรดแลคติก อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร MRS ซึ่งมีทั้งสารสกัดจากยีสต์ เปปโตน และสารสกัดจากเนื้อ จะดีกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเพียงสารสกัดจากมอลท์ (Hofvendahl และ Hahn-Hagerdal, 2000) ดังนี้จึงสะท้อนให้เห็นว่า เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมีความต้องการสารอาหารค่อนข้างซับซ้อน อย่างไรก็ตาม อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดจากยีสต์เพียงชนิดเดียวที่ความเข้มข้นสูง จะมีการผลิตกรดแลคติกสูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดจากยีสต์และเปปโตนที่ความเข้มข้นต่ำ แต่จะให้ผลตรงกันข้ามเมื่อให้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากยีสต์คงที่และมีการเติมเปปโตนเสริมเข้าไป (Amrane และ Prigent, 1997)

4) เกลืออนินทรีย์

เกลืออนินทรีย์หลายชนิดส่งผลต่อกระบวนการหมักกรดแลคติก เช่น แมงกานีส Ohkouchi และ Inoue (2006) ได้รายงานไว้ว่า แมงกานีสเป็นปัจจัยที่จำเป็นต่อกระบวนการหมักกรดแลคติก โดยมีบทบาทสำคัญต่อการทำงานของ Lactate dehydrogenase ในแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Lactobacillus casei*

5) ค่าพีเอช

ในกระบวนการหมักกรดแลคติก ถ้ามีการควบคุมค่าพีเอชให้เหมาะสมแล้ว จะทำให้มีการสร้างกรดได้ดีขึ้น โดยทั่วไปค่าพีเอชที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลคติก จะอยู่ในช่วง 5-7 (Hofvendahl และ Hahn-Hagerdal, 2000) และ Kashket (1987) รายงานไว้ว่า ที่ระดับของค่าพีเอชต่ำกว่า 5.7 เหมาะสำหรับสายพันธุ์ของ *Lactobacillus* ซึ่งมีช่วงระดับของค่าพีเอชในการผลิตกรดแลคติกที่ต่ำกว่า *Lactococci*

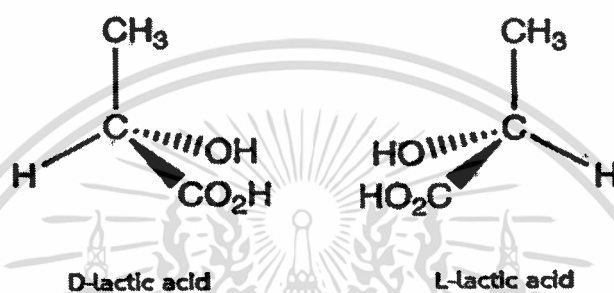
6) อุณหภูมิ

การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความสามารถในการสร้างผลผลิตต่อหน่วยเวลาของแบคทีเรียกรดแลคติกนั้น มีการศึกษาน้อยกว่าผลของอุณหภูมิต่อความเข้มข้นของกรดแลคติกและผลผลิตกรดแลคติกที่ได้ Yumoto และ Ikeda (1995) ได้รายงานไว้ว่าเชื้อ *Lactobacillus amylophilus* มีอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 25-35 องศาเซลเซียส ซึ่งทำให้ความสามารถในการสร้างผลผลิตต่อหน่วยเวลาและผลผลิตสูงสุด สำหรับเชื้อ *Lactobacillus casei* และ *Lactobacillus paracasei*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ มีอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 37-44 องศาเซลเซียส ได้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 กรดแลคติก

กรดแลคติกค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1780 โดย Scheele นักเคมีชาวสวีเดน พบว่าเป็นกรดที่ทำให้นมหมักมีรสเปรี้ยว ต่อมาในปี ค.ศ. 1857 Pasteur ค้นพบว่า กรดแลคติกไม่ได้เป็นส่วนประกอบของนม แต่เป็นสารที่จุลินทรีย์บางชนิดผลิตโดยการหมัก (Benninga, 1990) และในปี ค.ศ. 1971 Holton และคณะ ได้แบ่งโครงสร้างของกรดแลคติกออกเป็น 2 โครงสร้าง ดังภาพที่ 2.10 ตามคุณสมบัติการหักเหของลำแสงคือ L(+) และ D(-) (Litchfield, 1996)



ภาพที่ 2.10 สูตรโครงสร้างของกรดแลคติก

ที่มา : Narayanan และคณะ (2004)

กรดแลคติกเป็นกรดอินทรีย์มีชื่อทางเคมีตามระบบ IUPAC คือ 2-hydroxy propionic acid หรือ 2-hydroxypropanoic acid หรือ α -hydroxypropanoic acid สูตรโมเลกุลคือ $C_3H_6O_3$ หรือ $CH_3CHOHCOOH$ ประกอบด้วยโมเลกุลของคาร์บอน 3 อะตอม เรียงต่อกันที่คาร์บอนตัวกลางมีหมู่เมทิล ($-CH_3$) และหมู่คาร์บอกซี ($-COOH$) มาเกาะอยู่ (กนกวรรณ, 2556) กรดแลคติกสามารถละลายได้ในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ที่ละลายในน้ำได้ แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์อื่น ๆ มีการระเหยต่ำ ซึ่งคุณสมบัติทางกายภาพของกรดแลคติกแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 คุณสมบัติทางกายภาพของกรดแลคติก

น้ำหนักโมเลกุล	90.08
จุดหลอมเหลว	16.8 °C
จุดเดือด	82 °C ที่ 0.5 mm Hg 122 °C ที่ 14 mm Hg
ค่า Dissociation constant, K_a ที่ 25 องศาเซลเซียส	1.37×10^{-4}
ความร้อนจากการเผาไหม้, DH_c	1361 KJ/mole
ความร้อนจำเพาะ, C_p ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส	190 J/mole/°C

ที่มา : Narayanan และคณะ (2004)

2.5.3 ประโยชน์ของกรดแลคติก (สมคิด และ อรุณี, 2556)

กรดแลคติกสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้มากมายในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ได้แก่ ในอุตสาหกรรมอาหาร โดยนำกรดแลคติกเป็นส่วนผสมในอาหารและเครื่องดื่มชนิดต่าง ๆ เพื่อปรับความเป็นกรด-ด่าง และแต่งกลิ่นรสของอาหาร หรือเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าบูด ในทางการแพทย์และเภสัชกรรมใช้กรดแลคติกในการรักษาผู้ป่วยที่ขาดแคลเซียม โดยให้ในรูปของแคลเซียมแลคเตต และยังสามารถใช้กรดแลคติกในอุตสาหกรรมอื่น ๆ อีก เช่น อุตสาหกรรมฟอกหนัง อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมโพลีเมอร์ และอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ปัจจุบันกรดแลคติกสามารถนำไปผ่านกระบวนการให้กลายเป็นพอลิแลคติกแอซิด (Polylactic acid, PLA) ซึ่งนำไปสังเคราะห์พลาสติกที่ย่อยสลายได้ง่ายด้วยจุลินทรีย์ในธรรมชาติ เช่น ใช้ในการผลิตถุงขยะ พลาสติกที่ใช้ในการเกษตร และชิ้นส่วนของคอมพิวเตอร์และรถยนต์

2.6 การวิเคราะห์สารระเหย

2.6.1 Gas chromatography (GC) (Mcnair และ Miller, 1997)

แก๊สโครมาโตกราฟีเป็นเทคนิคการวิเคราะห์เพื่อใช้ในการแยกและวิเคราะห์สารระเหยที่มีมวลโมเลกุลระหว่าง 2-1,000 ดาลตัน ซึ่งสามารถเลือกใช้คอลัมน์ในการวิเคราะห์สารได้หลายแบบ แต่ที่นิยมมากที่สุด คือ capillary column เนื่องจากเป็นคอลัมน์ที่ให้ผลที่แม่นยำสูงและสามารถแยกสารออกจากกันได้ดี เนื่องจากมี sensitivity สูง โดยสามารถแยกสารที่มีความแตกต่างกันได้มากกว่า 450 ชนิด สำหรับ detector ที่นิยมใช้คือ flame ionization detector (FID) ซึ่งไม่ไวต่อสารอินทรีย์ทุกชนิด อย่างไรก็ตามมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ionization detector โดยสามารถตรวจจับสารได้ที่ระดับความเข้มข้นเพียง 50 ไมโครกรัมต่อลิตร

แก๊สโครมาโตกราฟีเป็นเทคนิคที่ใช้ก๊าซเป็นเฟสเคลื่อนที่ ซึ่งนิยมใช้ในการวิเคราะห์สารอย่างแพร่หลาย เนื่องจากสามารถทำได้ง่ายและรวดเร็วในระยะเวลาอันสั้น วิธีการนี้เป็นวิธีการแยกสารที่อาศัยการแบ่งละลายระหว่างสารตัวอย่างใน 2 เฟส คือ เฟสคงที่ (stationary phase) ที่มีพื้นที่ผิวขนาดใหญ่ เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการดูดซับสารตัวอย่างได้ดี และเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่จะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ ตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์อาจเรียกว่า solute หรือ analyte วิธีการนี้คือการแยกสารออกจากกันโดยอาศัยความสัมพันธ์ของความดันไอและความเข้ากันได้ของสารตัวอย่างต่อเฟสคงที่ ซึ่งกระบวนการของโครมาโตกราฟีนี้เรียกว่า elution

การพิจารณาว่าสารตัวอย่างใดจะออกมาจากคอลัมน์ก่อน สามารถพิจารณาได้จากกฎเคมีที่ว่า “like dissolved like” กล่าวคือ สารที่มีความเป็นขั้วใกล้เคียงกันจะดึงดูดกัน ดังนั้นเทคนิคการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้จึงมีความจำเป็นที่จะต้องให้เฟสคงที่และเฟสเคลื่อนที่มีความเป็นขั้วต่างกัน ตัวอย่างที่สามารถละลายในเฟสคงที่ได้ดีกว่าจะถูกเฟสเคลื่อนที่ชะออกจากคอลัมน์ช้ากว่าอีกตัวอย่างที่สามารถละลายในเฟสคงที่ได้น้อยกว่า ตัวอย่างเช่น ถ้าหากเฟสคงที่คือคอลัมน์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารไม่มีขั้วและใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นก๊าซฮีเลียม สารตัวอย่างใดที่ความไม่เป็นขั้วก็จะใช้เวลาอยู่ในคอลัมน์นาน เนื่องจากสามารถละลายในเฟสคงที่ได้นั่นเอง นอกจากนี้การแยกสารแต่ละชนิดในตัวอย่างไม่ออกจากกัน ต้องอาศัยความสามารถในการละลายต่อเฟสคงที่และความดันไอของตัวอย่างอีกด้วย

สิ่งที่ต้องคำนึงถึงอื่น ๆ คือ เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่ใช้ต้องไม่ทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง อุณหภูมิของ injection port ต้องไม่สูงเกินไปจนทำให้สารตัวอย่างเกิด chemical rearrangement แต่ก็ไม่ควรต่ำเกินไป เนื่องจากจะทำให้สารตัวอย่างระเหยไม่หมด อย่างไรก็ตามเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีมีข้อเสียคือ จำกัดปริมาณสารระเหย ตัวอย่างที่จะทำการวิเคราะห์โดยทั่วไปไม่เหมาะกับตัวอย่างที่ไม่ทนต่อความร้อน ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างมีความยุ่งยากและต้องอาศัยเครื่อง spectroscopy ในการจำแนกสาร

สภาวะที่ใช้การวิเคราะห์ควรใช้เป็นสภาวะเดียวกันทุกครั้ง หากต้องการเปรียบเทียบผลที่วิเคราะห์ออกมาได้ เนื่องจากแม้จะใช้คอลัมน์และก๊าซชนิดเดียว แต่หากเราเปลี่ยนอุณหภูมิของคอลัมน์ให้สูงมากขึ้น จะส่งผลให้ retention time ของสารที่วิเคราะห์มีค่าต่ำลง ดังนั้นเพื่อให้ประสิทธิภาพการแยกดีขึ้นควรคำนึงถึงอุณหภูมิของ detector เนื่องจากถ้าหากใช้อุณหภูมิต่ำเกินไปจะก่อให้เกิดการควบแน่นของตัวอย่างใน detector ทำให้พิคกว้างและพิคบางส่วนหายไป ข้อมูลที่วิเคราะห์ได้จากแก๊สโครมาโตกราฟีนั้น ได้จาก detector โดย

แยกสารนี้เป็น data system จะทำหน้าที่ประมวลผลจาก analog เป็น digital (A-to-D) ได้ผลมาในรูปว่ากรณิในรูปแบบกราฟที่รายงานเป็น retention time และพื้นที่ใต้พิค เรียกว่า chromatogram ข้อดี

ของแก๊สโครมาโตกราฟฟีคือ เป็นการวิเคราะห์ที่สามารถทำได้อย่างรวดเร็วในระดับนาที่ มีประสิทธิภาพ มีความแม่นยำสูง (ค่า RSD ร้อยละ 1-5) มีความไวต่อการวิเคราะห์ (วิเคราะห์ได้ในระดับมิลลิกรัมต่อลิตรถึงไมโครกรัมต่อลิตร) ใช้ปริมาณตัวอย่างน้อย (ไมโครลิตร) เชื่อถือได้และเสียค่าใช้จ่ายไม่สูงนัก

1) ส่วนประกอบของแก๊สโครมาโตกราฟฟี (ต้นกล้า, 2558)

ส่วนประกอบที่สำคัญของแก๊สโครมาโตกราฟฟีมี 6 ส่วน แสดงดังภาพที่ 2.11

1.1) Carrier gas หรือแก๊สพา

มีหน้าที่นำแก๊สตัวอย่างจากจุดฉีด (injection port) ผ่านเข้าสู่คอลัมน์และไปยัง detector แก๊สที่ใช้งานกับเครื่อง GC เป็นแก๊สเฉื่อยที่ไม่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของสารตัวอย่าง เช่น แก๊สฮีเลียม ไฮโดรเจน หรือไนโตรเจน

1.2) Sample inlet (injection port)

เป็นส่วนที่ใช้ในการฉีดสารตัวอย่างเข้าคอลัมน์ โดยทั่วไปส่วนที่ฉีดสารตัวอย่างเข้าไป (inlet) มักจะมีตัวให้ความร้อน (heater) ติดตั้งอยู่ด้วย เพื่อให้สารตัวอย่างกลายเป็นไอ การเลือกใช้งานว่าจะใช้ inlet แบบใดนั้นขึ้นอยู่กับสารตัวอย่าง หากสารตัวอย่างเป็นแก๊สมักจะฉีดตัวอย่างเข้าไปด้วย gas sampling valve หากสารตัวอย่างเป็นของเหลวโดยมากจะใช้ micro syringe ฉีดสารตัวอย่างขึ้นมาตามปริมาตรที่ต้องการแล้วฉีดผ่าน silicone septum ที่ injection port ไปยังปลายของคอลัมน์

1.3) Oven

ใช้สำหรับบรรจุ column และเป็นส่วนควบคุมอุณหภูมิของ column ให้เหมาะสมกับสารตัวอย่างที่ถูกฉีดเข้าไป ซึ่งอุณหภูมิของ oven สามารถปรับเปลี่ยนได้ 2 แบบคือ gradient temperature และ isocratic temperature ขึ้นอยู่กับความต้องการของผู้วิเคราะห์ ข้อดีของ gradient temperature คือ สามารถใช้กับสารตัวอย่างที่มีจุดเดือดกว้างได้และยังลดเวลาในการวิเคราะห์

1.4) Columns

เป็นส่วนที่ใช้แยกสารตัวอย่าง คอลัมน์ที่ใช้กันทั่วไปใน GC นั้นมีอยู่ 2 ประเภท คือ packed column และ capillary column การเลือกใช้คอลัมน์แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารผสม ซึ่งไม่สามารถระบุได้อย่างชัดเจน

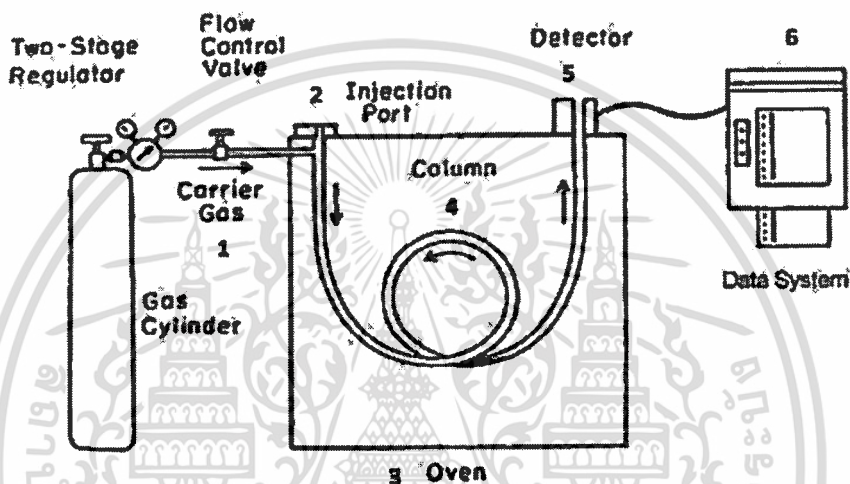
1.5) Detector หรือส่วนตรวจวัด

เป็นอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับตรวจวัดสารเชิงเดี่ยวที่ถูกแยกออกมาจากคอลัมน์แล้วส่งสัญญาณไฟฟ้าไปยังระบบประมวลผล ชนิดของ detector ที่ใช้นั้นมีอยู่หลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่อย่างง่าย เช่น thermal conductivity detector, flame ionization detector, ราคาค่า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น electron capture detector และ mass spectrometry สารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.6) Data system หรือระบบประมวลผล

เป็นส่วนที่ประมวลผลและข้อมูลต่าง ๆ ด้วยระบบคอมพิวเตอร์ ซึ่งคำนวณและรายงานผลเป็น retention time คือเวลาที่สารแต่ละชนิดใช้ผ่านคอลัมน์จากจุดเริ่มต้นถึงจุดสูงสุดของของพีคที่ได้จากโครมาโทแกรม retention time สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ เพื่อระบุว่าเป็นสารชนิดใดเมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน นอกจากนี้ลักษณะและขนาดของพีคที่ได้จากโครมาโทแกรมใช้เป็นข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณได้



ภาพที่ 2.11 ส่วนประกอบของแก๊สโครมาโทกราฟี
ที่มา : McNair และ Miller (1997)

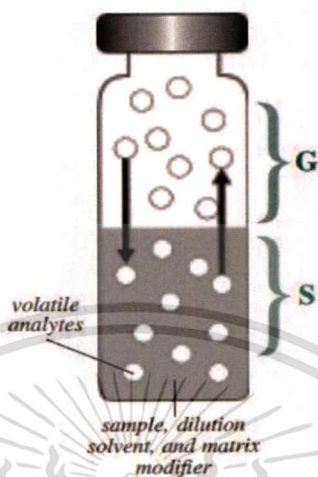
2) การเก็บตัวอย่าง (McNair และ Miller, 1997)

ในการเก็บตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์ จำเป็นต้องคำนึงเสมอว่าเทคนิค GC เป็นเทคนิคที่ใช้วิเคราะห์สารระเหยเท่านั้น แต่โดยธรรมชาติของตัวอย่างแล้วจะมีทั้งสารที่ระเหยและสารที่ไม่ระเหยอยู่ปะปนกันไป ซึ่งสารที่ไม่สามารถระเหยได้จะไม่สามารถฉีดเข้าสู่คอลัมน์ได้ เนื่องจากจะส่งผลให้คอลัมน์เกิดความเสียหาย ดังนั้นขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างต้องมีประสิทธิภาพพอที่จะแยกสารระเหยออกจากสารไม่ระเหยได้ ซึ่งมีอยู่หลายวิธีการด้วยกันคือ liquid-liquid extraction, solid phase microextraction (SPME), supercritical Fluid extraction (SFE), solid phase extraction (SPE) และ headspace

2.1) การเก็บตัวอย่างแบบ headspace

เป็นวิธีการที่ทำได้ง่าย โดยการบรรจุตัวอย่างลงในภาชนะปิดสนิทจากนั้นให้ความร้อน ความร้อน ณ สภาวะอุณหภูมิและระยะเวลาที่กำหนด จากนั้นสารระเหยจะแบ่งไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ละลายใน sample phase (S) และ gas phase (G) จนถึงสภาวะสมดุล (ภาพที่ 2.12)

2.12) โดยระยะเวลาที่ทิ้งให้ตัวอย่างถึงจุดสมดุลต้องเพียงพอให้สารระเหยทั้งหมดออกมาจากตัวอย่าง ขั้นตอนต่อมาคือการเก็บสารระเหยที่อยู่ใน gas phase (G) ฉีดเข้าสู่คอลัมน์เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป



ภาพที่ 2.12 แสดงเฟสต่าง ๆ ในขวดเก็บตัวอย่าง (ไวแอล)

ที่มา : Krasowski และคณะ (1991)

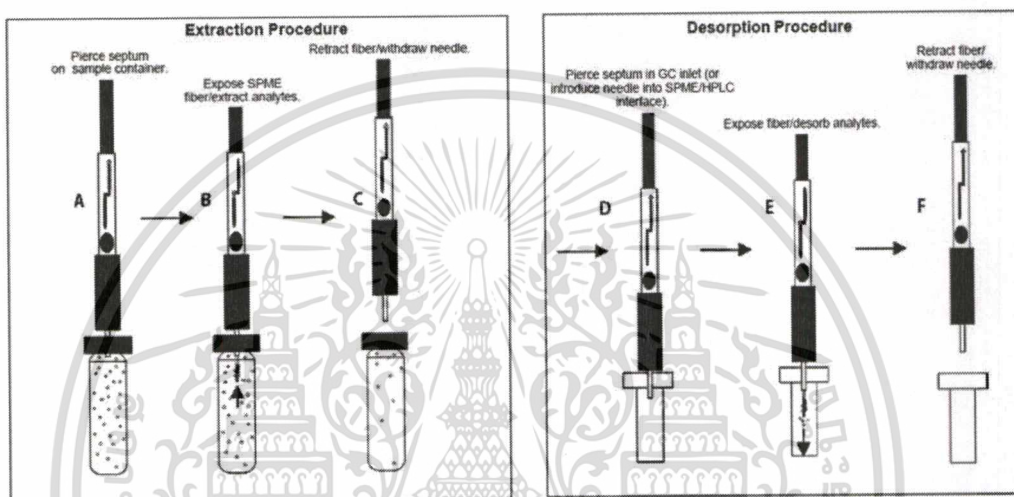
2.2) การเก็บตัวอย่างแบบ solid phase microextraction (SPME)

เป็นเทคนิคการเก็บตัวอย่างแบบใหม่ที่ทำได้ง่าย ไม่ต้องใช้ตัวทำละลายและไม่ต้องสกัดตัวอย่างซึ่งจะอาศัยไฟเบอร์ชนิดไม่มีขั้ว (non-polar) ซึ่งไฟเบอร์ที่นิยมใช้ทั่วไปคือ dimethylpolysiloxane (MPS) เพื่อใช้ในการสกัดสารที่ต้องการวิเคราะห์ออกจาก polar matrix (โดยทั่วไปจะเป็นของเหลว) แกนไฟเบอร์ทำจาก fused silica ที่เคลือบด้วยแผ่นฟิล์มบาง ๆ (ขนาด 7, 30 หรือ 100 ไมโครเมตร) ของเฟสคงที่ (stationary phase) ขั้นตอนการเก็บสารระเหยจะใส่ไฟเบอร์ในส่วน headspace ของภาชนะบรรจุ ส่งผลให้สารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ถูกดูดซับ (สกัด) ออกจากตัวอย่างที่ต้องการศึกษา

กลไกการทำงานของ solid phase micro extraction (SPME) ประกอบไปด้วย 2 ขั้นตอนหลัก คือ extraction (การดูดซับตั้งแต่ขั้นตอน A-C) และ desorption (การคายการดูดซับตั้งแต่ขั้นตอน D-F) ดังแสดงในภาพที่ 2.13 เริ่มจากบรรจุตัวอย่างเข้าไปในขวดไวแอล หรือภาชนะอื่นที่เหมาะสมที่ปิดผนึก โดยไฟเบอร์ที่นำมาใช้จะต้องทำความสะอาดก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์ตัวอย่าง เพราะชั้นของโพลิเมอร์สามารถดูดกลืนที่มีอยู่ในอากาศและสร้าง background สูงใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของกรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์ เมื่อผู้ยืมได้เห็นว่าไม่เหมาะสมขอคืนการดำเนินการ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ยี่สิบห้า พ.ค. ๒๕๖๓

ของเหลวเข็ม SPME ที่ผ่านผนังกันและยื่นไฟเบอร์ออกมา จากปลายเข็มและเข้าไปในสารละลายระหว่างช่องว่างด้านบนของตัวอย่าง ไฟเบอร์ยื่นออกมาในส่วนที่เป็นไอเหนือตัวอย่างที่เป็นของเหลวหรือของแข็ง เทคนิคเตรียมตัวอย่างจะเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ลงไปในการละลายซึ่งจะทำให้เข้าสู่จุดสมดุลมากขึ้น ในชั้นสารอินทรีย์ของไฟเบอร์ SPME ในการใช้จะต้องฝึกฝนเป็นพิเศษในการเจาะผ่านแผ่นกัน เพราะว่าจุดที่เข็ม SPME ปักนั้นมีความเหนียว ควรใช้เข็มเจาะเป็นรูเอาไว้ก่อนแล้วค่อยใส่ไฟเบอร์ SPME เพื่อป้องกันเข็มงอ



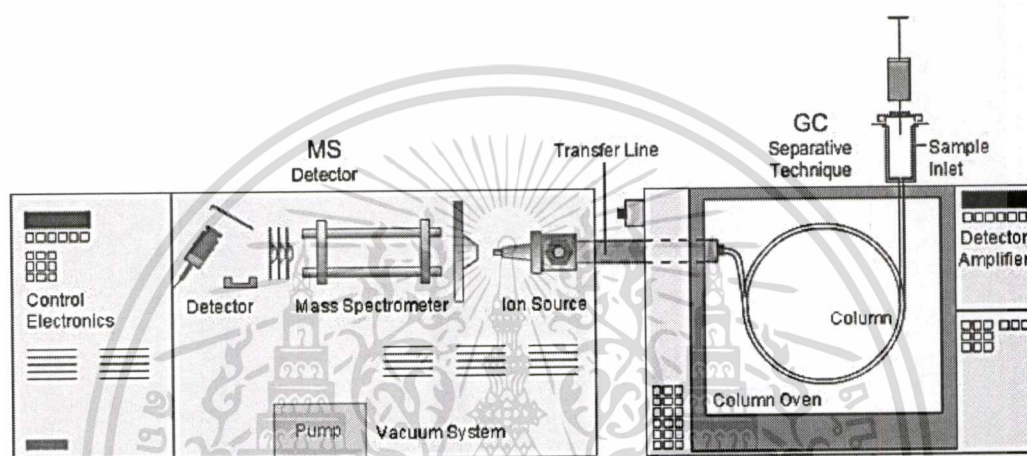
ภาพที่ 2.13 ขั้นตอนการสกัดและการดูดซับสารวิเคราะห์โดยใช้ SPME
ที่มา : McNair และ Miller (1997)

2.6.2 Gas chromatography-Mass spectrometer (GC-MS)

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (GC-MS) เป็นเทคนิคที่เริ่มนิยมนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถทำนายชนิดขององค์ประกอบที่มีอยู่ในสารได้ค่อนข้างแม่นยำ โดยอาศัยการเปรียบเทียบ fingerprint ของเลขมวล (mass number) ของสารตัวอย่างนั้น ๆ กับข้อมูลที่มีอยู่ กลไกที่ใช้ในการแยกองค์ประกอบต่าง ๆ ในสารตัวอย่างจะอาศัยหลักของความชอบที่แตกต่างกันขององค์ประกอบในตัวอย่งที่มีต่อเฟส 2 เฟส คือเฟสคงที่และเฟสเคลื่อนที่ นอกจากนี้เทคนิคนี้ยังมีความสามารถในการวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงปริมาณ (quantitative analysis) และเชิงคุณภาพ (qualitative analysis) (สุมาลี, 2554)

หลักการการทำงานของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ เริ่มจากฉีดตัวอย่างเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) จากนั้นสารตัวอย่างจะถูกแยกเป็นองค์ประกอบต่าง ๆ ผ่านเข้าสู่คอลัมน์ที่อยู่ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ (oven) โดยองค์ประกอบที่

แยกออกมาจากคอลัมน์ก่อน จะผ่านเข้าไปในส่วนเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ (MS) ที่มีสถานะเป็นสุญญากาศ ไปเจอกับ Ion source ทำหน้าที่ไอออไนซ์โมเลกุลที่ผ่านเข้ามาให้กลายเป็นประจุ จากนั้นประจุเหล่านี้จะเดินทางผ่านเครื่องคัดเลือกและแยกขนาดของประจุ (mass analyzer) เพื่อดูว่าประจุที่ผ่านเข้ามาประกอบด้วยขนาดมวลเท่าใดบ้าง ก่อนที่จะเข้าสู่เครื่องตรวจวัด (detector) เพื่อทำการตรวจหาปริมาณของประจุ แล้วแปลผลออกมาเป็นปริมาณขององค์ประกอบแต่ละตัวที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง (Mcmaster, 1998) แผนภาพของเครื่อง GC-MS แสดงดังภาพที่ 2.14



ภาพที่ 2.14 องค์ประกอบของเครื่อง GC-MS

ที่มา : Hussain และ Maqbool (2014)

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Luh (1995) นำเทคโนโลยีชีวภาพและพันธุวิศวกรรมมาใช้เพื่อลดระยะเวลาการหมักด้วยน้ำเกลือในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขั้นตอนแรกคือ การย่อยสลายถั่วเหลืองที่ปราศจากไขมันโดยเอนไซม์ proteolytic และ amylase ในโคจี้ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ในน้ำเกลือร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ผลที่ได้หลังจากเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่เกิดขึ้นจะหมักในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพที่มี *P. halophilus* ตรีงรูปในแคลเซียมอัลจินेट พบว่า จำนวนเซลล์ตรีงรูปทำงานได้เพิ่มขึ้น 1,000-10,000 เท่า ที่มีระยะเวลา 40 ชั่วโมง การผลิตกรดแลคติกสูงถึง 10 กรัมต่อลิตร หลังจากผ่านไป 28 วัน ในการหมักแอลกอฮอล์ด้วย *Z. rouxii* หรือ *Candida versatilis* โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ มีการผลิตเอทานอลประมาณร้อยละ 2 อย่างต่อเนื่องในช่วง 40-80 ชั่วโมง ขณะที่ระดับ pH อยู่ที่ 4.8-5.2 แสดงให้เห็นว่า ทั้งการหมักกรดแลคติกและการหมักแอลกอฮอล์สามารถทำได้ในระยะเวลาสั้น ๆ โดยมีระดับการผลิตที่น่าพอใจ อย่างไรก็ตามกลิ่นหอมของตัวอย่างน้ำหมักแตกต่างกันเล็กน้อยเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ภายในของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ไม่ควรเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
แม้ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

isoamyl alcohol และ 2-phenylethanol สูง แต่มี HEMF (4-hydroxy-2 (or 5)-ethyl-5 (or 2)-methyl-3 (2H)-furanone) ลดลง ซึ่ง HEMF เป็นส่วนประกอบสำคัญของซอสถั่วเหลืองทางการค้าที่มีคุณภาพดี

คงศักดิ์ และ สมบัติ (2544) พัฒนาการรวมวิธีการผลิตน้ำซอสปรุงรสจากกากถั่วเหลืองโดยใช้เอนไซม์ เพื่อทดแทนกรรมวิธีการผลิตแบบเดิมที่ใช้กรดเกลือเข้มข้นภายใต้อุณหภูมิสูง ซึ่งในการผลิตซอสปรุงรสใช้เวลาน้อยกว่าการหมักซีอิ๊วและมีปริมาณกรดอะมิโนสูง ได้แก่ ไลซีน (lysine), ทริптоเฟน (tryptophan), ลูซีน (leucine), อาร์จินีน (arginine), วาลีน (valine) และกรดกลูตามิก (glutamic acid) แต่จะมีกลิ่น กลิ่นรส และรสชาติที่ด้อยกว่าการหมักซีอิ๊วแบบธรรมชาติ โดยจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายประกอบคาร์โบไฮเดรตโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.00, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 ชั่วโมง (ตารางที่ 2.5) พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.50 และ 0.75 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มมีค่าคงที่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) จึงเลือกความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.5 เป็นความเข้มข้นเหมาะสม เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการย่อยคาร์โบไฮเดรต มีค่าใกล้เคียงเอนไซม์ที่ระดับร้อยละ 0.75 แต่มีปริมาณการใช้ต่ำกว่า ซึ่งช่วยลดต้นทุนของเอนไซม์ในระบบการผลิต สำหรับที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 1.00 แม้จะช่วยเพิ่มการย่อยคาร์โบไฮเดรตได้มากขึ้น แต่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ได้ยังมีค่าใกล้เคียงกับระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เลือกไว้คือ ร้อยละ 0.50

ตารางที่ 2.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่แตกต่างกัน (ร้อยละ)

น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์ เซนติเมตร)	ร้อยละเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส				
	0.00	0.25	0.50	0.75	1.00
	0.16 ^c	5.35 ^b	10.08 ^a	10.16 ^a	10.85 ^a
	(0.05)	(0.11)	(0.05)	(0.05)	(0.07)

ค่าในแถวที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ที่มา : คงศักดิ์ และ สมบัติ (2544)

Achouri และคณะ (2006) ได้นำเทคนิค SPME มาประยุกต์ใช้กับการวิเคราะห์สารระเหยของถั่วเหลือง มีการรายงานว่ามีสารระเหยที่ให้กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ที่ทำจากถั่วเหลืองประกอบด้วย pentanol, hexanol, heptanol, hexanal และ ethyl vinylketone อันเนื่องมาจากเอนไซม์ lipoxygenase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบในถั่วเหลือง ที่จะทำหน้าที่เปลี่ยน polyunsaturated fatty acids เป็น hydroperoxides ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการแตกตัวของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวนี้เองที่ทำให้เกิดกลิ่นผิดปกติ (off-flavours) สารตั้งต้นของการเกิดในถั่วเหลืองคือ linoleate (C18:2) ที่ให้สารระ

ผลิตภัณฑ์เป็น hexanal และ linolenate (C18:3) สารตัวกลาง hexenal ให้สารผลิตภัณฑ์เป็น 2-hexenal และ 3-hexenol วัตถุประสงค์ในการศึกษาของ Achouri และคณะ (2006) คือ เพื่อพัฒนาและหาสภาวะของ SPME ที่เหมาะสมที่สุด เพื่อศึกษากลิ่นรสในนมถั่วเหลืองโดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการดูดซึมของ SPME fibers 3 ชนิด คือ carbowax-divinyl benzene (CWAX-DVB ขนาด 65 ไมโครเมตร), polydimethylsiloxane-divinyl benzene (PDMS-DVB ขนาด 70 ไมโครเมตร) และ carboxen-polydimethylsiloxane (CAR-PDMS ขนาด 85 ไมโครเมตร) โดยพิจารณาถึงการ recovery ของสารมาตรฐานที่เลือกใช้ และศึกษาถึงอิทธิพลของอุณหภูมิในการบ่มระยะเวลาการบ่ม รวมไปถึงปริมาตรสารตัวอย่างต่อ volatile recovery ซึ่งจากการทดลองแสดงให้เห็นว่า ไฟเบอร์ที่มีความเหมาะสมมากที่สุดสำหรับการนำมาสกัดเพื่อทำการวิเคราะห์กลิ่นถั่วเหลือง คือ carboxen-polydimethylsiloxane เนื่องจากให้ค่า reproducibility ดีที่สุด สำหรับสภาวะการบ่มนมถั่วเหลืองและการสกัดกลิ่นนั้นควรใช้การบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 45 นาที จากนั้นจึงทำการดูดซึมกลิ่นที่ระเหยออกมาจากนมถั่วเหลืองด้วยไฟเบอร์เป็นระยะเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิเดียวกัน

Akacha และ Gargouri (2015) การสังเคราะห์สารให้กลิ่นหอมทางเทคโนโลยีชีวภาพเป็นทางเลือกที่น่าสนใจมาก โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพและเซลล์จุลินทรีย์แบบเฉพาะ ซึ่งมีศักยภาพในการผลิตกลิ่นรสที่หลากหลาย นอกจากนี้ยังพิจารณาถึงความเป็นไปได้ในการใช้สารตั้งต้นจากแหล่งธรรมชาติ เพื่อเป็นแนวทางในการปรับปรุงกระบวนการสังเคราะห์สารให้กลิ่นหอม โดยรสชาติและกลิ่นเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งสำหรับอุตสาหกรรมอาหาร อาหารสัตว์ เครื่องสำอาง สารเคมี และเภสัชกรรม มีความต้องการผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติแทนการสังเคราะห์มากขึ้น โดยการสังเคราะห์ทางเคมีเป็นวิธีที่ไม่พึงประสงค์ในการผลิตรสชาติ เช่น การเกิดปฏิกิริยาที่ไม่ดี นำไปสู่ปฏิกิริยาที่ไม่พึงประสงค์ ผลผลิตต่ำ มลพิษ และค่าใช้จ่ายสูง ทำให้เกิดความสนใจสารปรุงแต่งกลิ่นรสทางชีวภาพ โดยปกติมักได้จากพืช แต่ความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์น้อยและการใช้งานขึ้นอยู่กับปัจจัยทางธรรมชาติที่ยากต่อการควบคุม เช่น สภาพอากาศและโรคพืช ดังนั้นกลิ่นรสจากแหล่งธรรมชาติจึงไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ซึ่งความสนใจผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติส่งเสริมให้อุตสาหกรรมกลิ่นรสพัฒนากระบวนการผลิตเทคโนโลยีชีวภาพใหม่ ๆ เพื่อให้ได้กลิ่นหอมตามธรรมชาติ แต่ส่วนใหญ่ยังไม่ได้นำมาประยุกต์ใช้กับการผลิตในเชิงอุตสาหกรรม เนื่องจากผลผลิตต่ำและมีค่าใช้จ่ายในกระบวนการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์สูง ส่งผลให้ราคาของสารประกอบที่ผลิตตามธรรมชาติเพิ่มขึ้น 10-100 เท่า ซึ่งสูงกว่าสารสังเคราะห์ทางเคมี อีกทางเลือกที่ใช้คือ การสังเคราะห์ทางชีวภาพของจุลินทรีย์หรือการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ (bioconversion) การพัฒนาวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพในการผลิตกลิ่นรสอาจเป็นเรื่องที่ยาก เนื่องจากกลิ่นรสทางธรรมชาติส่วนใหญ่ประกอบด้วยสารประกอบหลายร้อยชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับของ Akacha และ Gargouri (2015) เพื่อประยุกต์ใช้กระบวนการทางชีวภาพในการผลิตสารให้กลิ่นรสแบบธรรมชาติ โดยเน้นวิธีการที่ใช้ในการเพิ่มผลผลิตและเก็บเกี่ยว

ผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะการสังเคราะห์สารให้กลิ่นรสด้วยจุลินทรีย์และเอนไซม์ โดยการสร้างสารให้กลิ่นหอมด้วย enzymatic biotransformation การใช้เอนไซม์มีข้อดี เช่น มีความจำเพาะสูง ประสิทธิภาพสูง เกิดปฏิกิริยาเร็ว และมีกิจกรรมการเร่งปฏิกิริยาทั้งสองทิศทาง การใช้เอนไซม์ทำให้ผลิตสารให้กลิ่นหอมได้สูงกว่าเมื่อเทียบกับการสกัดโดยตรงจากพืช แต่มีข้อเสียบางประการ เช่น ขั้นตอนที่ซับซ้อนในการแยกเอนไซม์และการทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งกลุ่มของเอนไซม์ที่นิยมใช้ในกระบวนการเทคโนโลยีชีวภาพ คือ hydrolytic enzymes, transferases, oxidoreductases และ lyases โดยในกลุ่มของ oxidoreductases มีเอนไซม์ที่ใช้สำหรับสร้างกลิ่นรส เช่น alcohol dehydrogenases, peroxidase รวมทั้ง chloroperoxidase, lipoxygenase, amine oxidase และ vanillyl alcohol oxidase ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวนิยมนำมาใช้ในการผลิตสารให้กลิ่นรสและมีส่วนร่วมในการเสริมสร้างคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสอีกด้วย

Singracha และคณะ (2017) ศึกษาการลดความเค็มในการหมักซอสถั่วเหลือง โดยลดเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เหลือร้อยละ 12 ในการหมัก ซึ่งทำให้ได้ผลิตภัณฑ์แบบลดเกลือที่มีความปลอดภัย โดยทำการทดลองหมักแบบลดเกลือและเปลี่ยนแปลงชนิดของจุลินทรีย์ พร้อมตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีและทางชีวเคมี เป็นเวลา 3 เดือน ซึ่งความรู้ที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่อการผลิตซอสถั่วเหลืองแบบลดเกลือและพัฒนากระบวนการหมักให้รวดเร็ว โดยสภาวะความเข้มข้นของเกลือต่ำเป็นตัวส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ halotolerant รวมถึงแบคทีเรียกรดแลคติกในการหมัก เนื่องจากจุลินทรีย์ใช้เวลาน้อยในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมโดยรอบ และ endospores ของ *Bacillus* spp. ไม่ถูกทำลายภายใต้การหมักแบบลดเกลือ อย่างไรก็ตามการใช้ความร้อนก่อนบรรจุขวดสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ได้ นอกจากนี้แบคทีเรียกรดแลคติกยังเพิ่มจำนวนขึ้นและทำให้น้ำตาลกลูโคสเปลี่ยนเป็นกรดอินทรีย์ ค่า pH จึงลดลงหลังจากเดือนแรกของการหมัก เนื่องจาก pH และความเข้มข้นกรดทั้งหมด สอดคล้องกับการเจริญเติบโตและการผลิตกรดของแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งวิธีการเพื่อผลิตซอสปรุงรสแบบลดเกลือ เช่น การใช้ความเข้มข้นของสารละลายในน้ำเกลือน้อยที่สุดเท่าที่จะทำได้ หรือการขจัดเกลือด้วยวิธี electro dialysis, membrane treatment ion exchange และการสกัด เป็นต้น นอกจากนี้มีการเติมโพแทสเซียมคลอไรด์ และกรด gamma-aminobutyric ในซอสถั่วเหลือง เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่มีเกลือโซเดียมต่ำ การลดเกลือด้วยวิธีทางกายภาพเหล่านี้อาจส่งผลเสียต่อกลิ่นรสและรสชาติได้ เช่น เกิดความขม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์

3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

- 1) โยเกิร์ตตราโยลิตา

3.1.2 วัสดุดิบ

- 1) เกลือปนตราปรุงทิพย์
- 2) ถั่วเหลืองตราไร่ทิพย์
- 3) น้ำตาลกรวดตราวังขนาย
- 4) แป้งสาลีเอนกประสงค์ตราประมิต
- 5) เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

3.1.3 อุปกรณ์

- 1) กระดาษกรองสาร
- 2) กระดาษชั่งสาร
- 3) กระบอกตวงขนาด 50, 100, และ 500 มิลลิลิตร
- 4) กรวยกรองแก้ว
- 5) ขวดดูแรน
- 6) ขวดปรับปริมาตรขนาด 100, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
- 7) ขวดรูปชมพูขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
- 8) ขวดสีชา
- 9) ซ้อนตักสาร
- 10) ฐานตั้งเหล็ก
- 11) ตะแกรงใส่หลอดทดลอง
- 12) ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 13) ที่จับบิวเรต
- 14) แท่งแก้วคนสาร
- 15) บิวเรต
- 16) ปีกเกอร์ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ 17) ปิเปตแก้วขนาด 1, 5, 10 และ 25 มิลลิลิตร มีอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น 18) ฟาสเจอร์ปิเปต ปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 19) ลูกยางบีบเปิด
- 20) สำลีและผ้าก๊อซ
- 21) หลอดเซนติพีวักพลาสติกขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร
- 22) หลอดทดลอง

3.1.4 เครื่องมือ

- 1) เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ-แมสสเปกโทรสโกปี (GC-MS) ยี่ห้อ Agilent รุ่น GC G1530N รุ่น MS G2573A
 - 2) เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator Shaker) ยี่ห้อ Gallenkamp
 - 3) เครื่องชั่งน้ำหนัก ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BSA224S-CW
 - 4) เครื่องปั่น ยี่ห้อ Philips
 - 5) เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ HERMLE Labortechnik Gmbh รุ่น Z326K
 - 6) เครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer) ยี่ห้อ Sciencetific Industries รุ่น G560E
 - 7) เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ยี่ห้อ Thermo Sciencetific รุ่น 10S UV-Vis
 - 8) เครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter) ยี่ห้อ SevenCompact รุ่น S220-Kit
 - 9) ชุดกรองแก้วสุญญากาศ (Filtration system)
 - 10) ตู้ปลอดเชื้อ (Larminar air flow) ยี่ห้อ Heal Force รุ่น AlphaClean 1300
 - 11) ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ CONTHERM รุ่น THERMOTEC 2000
- OVEN
- 12) โถดูดความชื้น (Desiccator)
 - 13) หม้อนิ่งความดันไอ ยี่ห้อ HIRAYAMA รุ่น HV-25/50/85/110
 - 14) อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ยี่ห้อ Menmert รุ่น WNE29

3.1.5 สารเคมี (ภาคผนวก ก)

- 1) ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)
- 2) สารละลายคอปเปอร์ (Copper reagent)
- 3) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล
- 4) สารละลายเนลสัน (Nelson's Arsenomolybdate color reagent)
- 5) สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (KHP)
- 6) สารละลายมาตรฐานกลูโคส (Glucose standard)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ 3.2 วิธีการทดลอง ห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.1 ศึกษาปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเวลาการย่อยแป้งในถั่วเหลืองและแป้งสาลี

1) ชั่งถั่วเหลืองมา 50 กรัม ล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง นำไปแช่ในน้ำกรองให้น้ำเลย ถั่วมาครึ่งหนึ่งของปริมาณถั่ว ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2) เมื่อครบ 24 ชั่วโมง เทน้ำที่แช่ถั่วเหลืองออกให้หมด จากนั้นชั่งถั่วเหลือง 30 กรัม แป้งสาลี 15 กรัม และน้ำ 60 มิลลิลิตร ในอัตราส่วน 2:1:4

3) ปั่นผสมให้เข้ากัน เทใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทำทั้งหมด 3 ชุด

4) ปิดจุกสำลี หุ้มกระดาษ แล้วนำไปเข้าเครื่องนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบ เวลานั้นนำออกมาตั้งทิ้งไว้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

5) ขวดรูปชมพู่ชุดที่ 1 เติมน้ำกรองลงไป 180 มิลลิลิตร กวนส่วนผสมของถั่วเหลือง แป้งสาลี และน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำมาแล้วให้ผสมกับน้ำกรองที่เติมลงไป ทั้งหมดคือตัวอย่างที่ 1

ขวดรูปชมพู่ชุดที่ 2 เติมน้ำละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 1.5 โดยชั่ง เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 2.8 กรัม ละลายในน้ำกรอง 180 มิลลิลิตร กวนส่วนผสมของถั่ว เหลือง แป้งสาลี และน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำมาแล้วให้ผสมกับน้ำละลาย เอนไซม์ที่เติมลงไป ทั้งหมดคือตัวอย่างที่ 2

ขวดรูปชมพู่ชุดที่ 3 เติมน้ำละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 2.5 โดยชั่ง เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 4.5 กรัม ละลายในน้ำกรอง 180 มิลลิลิตร กวนส่วนผสมของถั่ว เหลือง แป้งสาลี และน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำมาแล้วให้ผสมกับน้ำละลาย เอนไซม์ที่เติมลงไป ทั้งหมดคือตัวอย่างที่ 3

6) นำทั้ง 3 ตัวอย่างไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วัน เริ่มจากชั่วโมงที่ 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi Nelson (Nelson, 1944) (ภาคผนวก ข)

7) เมื่อค่าน้ำตาลที่วัดได้เพิ่มขึ้นจนเริ่มคงที่ นำตัวอย่างไปเข้าเครื่องนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งไว้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

8) ใส่หัวเชื้อโยเกิร์ตที่มีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องลงในตัวอย่างทั้ง 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 53 กรัม โดยทำในตู้ปลอดเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้ในการเรียนการสอนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9) นำทั้ง 3 ตัวอย่างไปเข้าเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator Shaker) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 วัน

10) เมื่อครบเวลา 2 วัน นำแต่ละตัวอย่างไปใส่ในหลอดเซนติฟิวก์พลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร เข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดการแยกชั้น จากนั้นใช้พาสเจอร์ปีเปตดูดส่วนที่เป็นส่วนใส แล้วนำไปกรองด้วยชุดกรองแก้วสุญญากาศ (Filtration system) ที่มีกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อกำจัดเศษตะกอนที่ไม่ต้องการออก และบรรจุแต่ละตัวอย่างลงในขวดแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อและอบแห้งแล้ว นำไปเข้าเครื่องนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทำการเปรียบเทียบลักษณะของสีและกลิ่นที่น่าสนใจ

3.2.2 ศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลง การสร้างกรดแลคติกในระหว่างการหมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ต และวิเคราะห์หาสารประกอบ

1) ชั่งถั่วเหลืองมา 50 กรัม ล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง นำไปแช่ในน้ำกรองให้น้ำเลยกัวมาครึ่งหนึ่งของปริมาณถั่ว ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2) เมื่อครบ 24 ชั่วโมง เทน้ำที่แช่ถั่วเหลืองออกให้หมด จากนั้นชั่งถั่วเหลือง 30 กรัม แบ่งสาเล 15 กรัม และน้ำ 60 มิลลิลิตร ในอัตราส่วน 2:1:4

3) ปั่นผสมให้เข้ากันเทใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทำทั้งหมด 2 ชุด

4) ปิดจุกสาเล หุ้มกระดาษ แล้วนำไปเข้าเครื่องนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลานำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

5) ขวดรูปชมพู่ทั้ง 2 ชุด เติมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 2.5 โดยชั่งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 4.5 กรัม ละลายในน้ำกรอง 180 มิลลิลิตร กวนส่วนผสมของถั่วเหลือง แบ่งสาเล และน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำมาแล้วให้ผสมกับสารละลายเอนไซม์ที่เติมลงไป ทั้งหมดคือตัวอย่างที่ 1 และ 2

6) นำตัวอย่างทั้ง 2 ชุด ไปต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน

7) เมื่อครบเวลา นำตัวอย่างไปเข้าเครื่องนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

8) ใส่หัวเชื้อโยเกิร์ตที่มีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องลงในตัวอย่างทั้ง 2 ตัวอย่าง

ตัวอย่างละ 53 กรัม โดยทำในตู้ปลอดเชื้อ ศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9) นำทั้ง 2 ตัวอย่างไปเข้าเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator Shaker) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ตัวอย่างที่ 1 เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นเก็บตัวอย่าง โดยนำไปใส่ในหลอดเซนต์ปีฟาร์กลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร เข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดการแยกชั้น จากนั้นใช้พาสเจอร์ปีเปตดูดส่วนที่เป็นส่วนใส แล้วนำไปกรองด้วยชุดกรองแก้วสุญญากาศ (Filtration system) ที่มีกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อกำจัดเศษตะกอนที่ไม่ต้องการออก และบรรจุแต่ละตัวอย่างลงในขวดแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อและอบแห้งแล้ว ไปเข้าเครื่องนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เก็บไว้ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส

10) ตัวอย่างที่ 2 หลังจากใส่โยเกิร์ตไปแล้วทำการเก็บตัวอย่างทุก 48 ชั่วโมง เป็นเวลา 12 วัน จากนั้นนำไปวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลงด้วยวิธี Somogyi Nelson (Nelson, 1944) (ภาคผนวก ข) และหาร้อยละของกรดแลคติกที่เกิดขึ้น (AOAC, 1990) (ภาคผนวก ข)

11) เก็บตัวอย่างโดยการนำตัวอย่างไปใส่ในหลอดเซนต์ปีฟาร์กลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร เข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดการแยกชั้น จากนั้นใช้พาสเจอร์ปีเปตดูดส่วนที่เป็นส่วนใส แล้วนำไปกรองด้วยชุดกรองแก้วสุญญากาศ (Filtration system) ที่มีกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อกำจัดเศษตะกอนที่ไม่ต้องการออก และบรรจุแต่ละตัวอย่างลงในขวดแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อและอบแห้งแล้ว ไปเข้าเครื่องนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

12) นำตัวอย่างที่ 1 (เลี้ยงเชื้อ 2 วัน) และตัวอย่างที่ 2 (เลี้ยงเชื้อ 12 วัน) ไปวิเคราะห์หาสารประกอบด้วยวิธี Solid Phase Microextraction (SPME) โดยนำแต่ละตัวอย่างใส่ขวดไวแอลที่ปิดสนิท ปริมาตรครึ่งหนึ่งของขวด แล้วใช้เข็ม SPME ที่มีไฟเบอร์ชนิด 100 μm Polydimethylsiloxane (PDMS) ที่มลงไปในขวดไวแอลโดยไม่ให้โดนส่วนของของเหลว ทำการดูดซับกลับ เป็นเวลา 30 นาที พร้อมกับการกวนอัตโนมัติ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรสโกปี (GC-MS)

สภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีคือ เครื่อง GC ยี่ห้อ Agilent รุ่น GC G1530N แคปิลลารีคอลัมน์ ขนาด 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm ปริมาตรของสารตัวอย่าง 1 ไมโครลิตร (Autosampler) Injector อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส ใช้ Temperature Program เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาที เพิ่ม 10 องศาเซลเซียสต่อนาที จนกระทั่งอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่ 250 องศาเซลเซียส 10 นาที และใช้

เฮลียมเป็น Carrier gas

เอกสารนี้เป็นเอกสารประกอบการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สภาวะของเครื่องแมสสเปกโตรสโกปี คือ เครื่อง MS ยี่ห้อ Agilent รุ่น MS G2573A Electron impact (EI) mode Electron energy 70 eV Ion source temperature 230 องศาเซลเซียส Quadrupole temperature 150 องศาเซลเซียส Mass range m/z 30-500

13) นำตัวอย่างที่ 1 (เลี้ยงเชื้อ 2 วัน) และตัวอย่างที่ 2 (เลี้ยงเชื้อ 12 วัน) ไปวิเคราะห์หาสารประกอบด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (GC-MS) โดยผสมเอทิลอะซิเตตกับตัวอย่างในอัตราส่วน 1:1 เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที รอให้แยกชั้นแล้วดูดส่วนที่เป็นเอทิลอะซิเตต (ชั้นบน) มาวิเคราะห์หาสารประกอบด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรสโกปี (GC-MS) ซึ่งใช้สภาวะของเครื่อง GC-MS เหมือนกับวิธี SPME

14) เปรียบเทียบสารประกอบให้กลิ่นที่น่าสนใจที่ได้จาก SPME และ GC-MS

3.2.3 ผลิตและปรุงแต่งรสชาติของซอสปรุงรส

1) ชั่งถั่วเหลืองมา 200 กรัม ล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง นำไปแช่ในน้ำกรองให้น้ำเลยกัวมาครึ่งหนึ่งของปริมาณถั่ว ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2) เมื่อครบ 24 ชั่วโมง เทน้ำที่แช่ถั่วเหลืองออกให้หมด จากนั้นชั่งถั่วเหลือง 55.56 กรัม แป้งสาลี 27.78 กรัม และน้ำ 111.11 มิลลิลิตร ในอัตราส่วน 2:1:4

3) ปั่นผสมให้เข้ากันเทใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทำทั้งหมด 6 ชุด

4) ปิดจุกสำลี หุ้มกระดาษ แล้วนำไปเข้าเครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลานำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

5) เติมน้ำตาลละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 2.5 โดยชั่งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 8.33 กรัม ละลายในน้ำกรอง 333.33 มิลลิลิตร กวนส่วนผสมของถั่วเหลือง แป้งสาลี และน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอมานำมาให้ผสมกับสารละลายเอนไซม์ที่เติมลงไป

6) นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน

7) เมื่อครบเวลา นำตัวอย่างไปเข้าเครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

8) ใส่หัวเชื้อโยเกิร์ตที่มีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องลงในขวดรูปชมพู่ทุกชุด ชุดละ

เอกสารนี้เป็น 97.23 กรัม โดยทำในตู้ปลอดเชื้อ เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9) นำไปเข้าเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator Shaker) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 วัน

10) จากนั้นเก็บผลิตภัณฑ์ โดยนำไปใส่ในหลอดเซนต์ปีฟว์พลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร เข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดการแยกชั้น จากนั้นใช้พาสเจอร์ปีเปตดูดส่วนที่เป็นส่วนใส แล้วนำไปกรองด้วยชุดกรองแก้วสุญญากาศ (Filtration system) ที่มีกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อกำจัดเศษตะกอนที่ไม่ต้องการออกและบรรจุแต่ละตัวอย่างลงในขวดแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อและอบแห้งแล้ว ไปเข้าเครื่องนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

11) นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ 1,800 มิลลิลิตร เติมน้ำดื่ม 450 มิลลิลิตร เจือจางเป็นความเข้มข้นร้อยละ 80 แล้วนำไปต้ม ประจุแต่งรสชาติด้วยเกลือป่นร้อยละ 7 (157.5 กรัม) และน้ำตาลกรวดร้อยละ 3 (67.5 กรัม) จนส่วนผสมทุกอย่างละลายจึงยกออกจากเตา

12) บรรจุผลิตภัณฑ์ลงขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อและอบแห้งมาแล้วและปิดฝา

13) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องและสังเกตการเปลี่ยนแปลงภายนอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

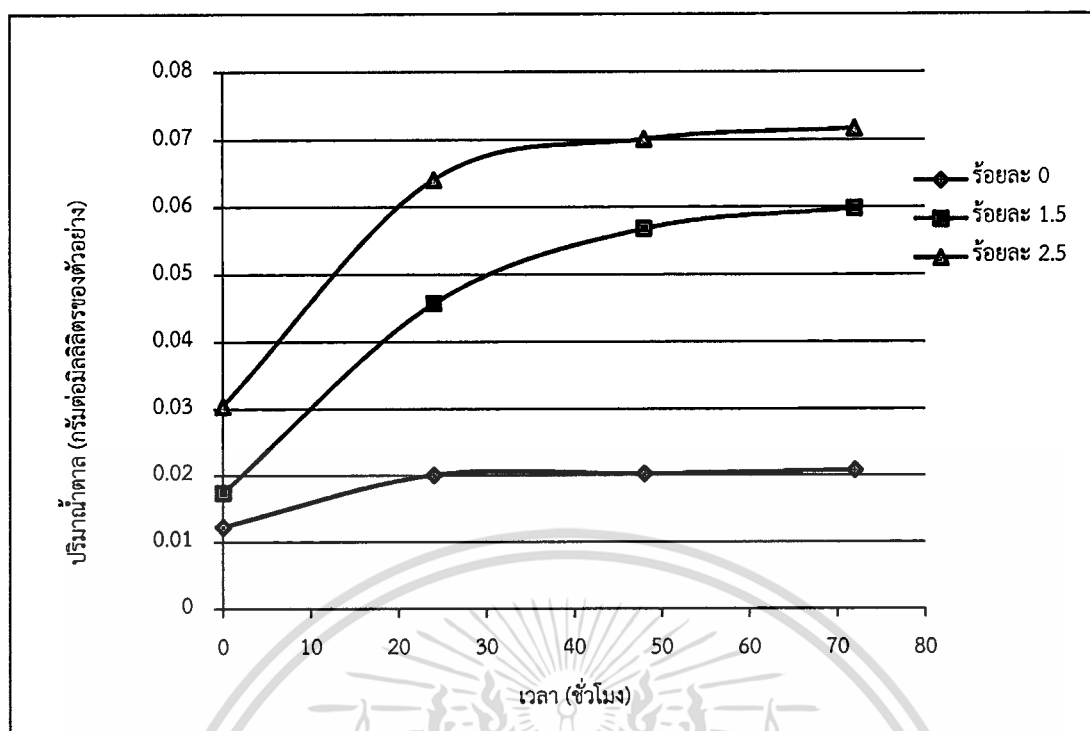
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลศึกษาปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเวลาการย่อยแป้งในถั่วเหลืองและแป้งสาลี

ใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสย่อยแป้งในถั่วเหลืองและแป้งสาลีให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสคือ 60 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3 ระดับ คือร้อยละ 0 ร้อยละ 1.5 และร้อยละ 2.5 ระยะเวลาในการย่อย 72 ชั่วโมง (3 วัน) แสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่า ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 2.5 มีการย่อยแป้งได้น้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด (0.0304, 0.0641, 0.0701 และ 0.0786 กรัมต่อมิลลิลิตร) จากภาพที่ 4.1 พบว่า ชั่วโมงที่ 24-48 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์คงที่ ดังนั้นจึงเลือกใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 2.5 และระยะเวลาในการย่อยแป้ง 48 ชั่วโมง (2 วัน) ในการผลิตผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 4.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ปริมาณน้ำตาลในตัวอย่างที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ต่างกัน และระยะเวลาในการย่อยแป้ง 72 ชั่วโมง

ตัวอย่างที่มีเอนไซม์ แอลฟาอะไมเลส	ชั่วโมง	ค่าการดูดกลืนแสง โดยเฉลี่ยที่ 520 นาโนเมตร	น้ำตาล (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)	น้ำตาล (กรัมต่อมิลลิลิตร)
ร้อยละ 0	0	0.106	12,282.60	0.0123
	24	0.178	20,108.69	0.0201
	48	0.180	20326.09	0.0203
	72	0.185	20869.57	0.0208
ร้อยละ 1.5	0	0.1535	17,445.65	0.0174
	24	0.414	45,760.86	0.0457
	48	0.516	56,847.82	0.0568
	72	0.544	59891.30	0.0598
ร้อยละ 2.5	0	0.278	30,455.55	0.0304
	24	0.581	64,122.22	0.0641
	48	0.635	70,122.22	0.0701
	72	0.653	71739.13	0.0717



ภาพที่ 4.1 กราฟปริมาณน้ำตาลรีตวซ์ในตัวอย่าง (กรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0 ร้อยละ 1.5 และร้อยละ 2.5 โดยใช้ระยะเวลาในการย่อยแปง 72 ชั่วโมง

4.2 ผลการศึกษาปริมาณน้ำตาลรีตวซ์ที่ลดลง การสร้างกรดแลคติกในระหว่างการหมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ต และการวิเคราะห์หาสารประกอบ

4.2.1 ปริมาณน้ำตาลรีตวซ์ที่ลดลงและการสร้างกรดแลคติก

เลี้ยงเชื้อโยเกิร์ตเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) และ 288 ชั่วโมง (12 วัน) ในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 2.5 ที่เข้าเครื่องนึ่งความดันไอแล้ว ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที โดยในระหว่างการหมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน) จะทำการเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีตวซ์และร้อยละของกรดแลคติกหลังจากใส่เชื้อจากโยเกิร์ต ดังตารางที่ 4.2 พบว่า ชั่วโมงที่ 96 ปริมาณน้ำตาลรีตวซ์ลดลงอย่างรวดเร็ว (จาก 0.0657 กรัมต่อมิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 0 เป็น 0.0047 กรัมต่อมิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 96) และหลังจาก 96 ชั่วโมงเป็นต้นไป ปริมาณน้ำตาลรีตวซ์ลดลงจนเริ่มคงที่ (ภาพที่ 4.2)

การสร้างกรดแลคติก ทำการวิเคราะห์โดยไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (AOAC, 1990) พบว่า มีการสร้างกรดแลคติกสูงสุดร้อยละ 0.7961 ที่เวลา 96 ชั่วโมง แสดงในตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

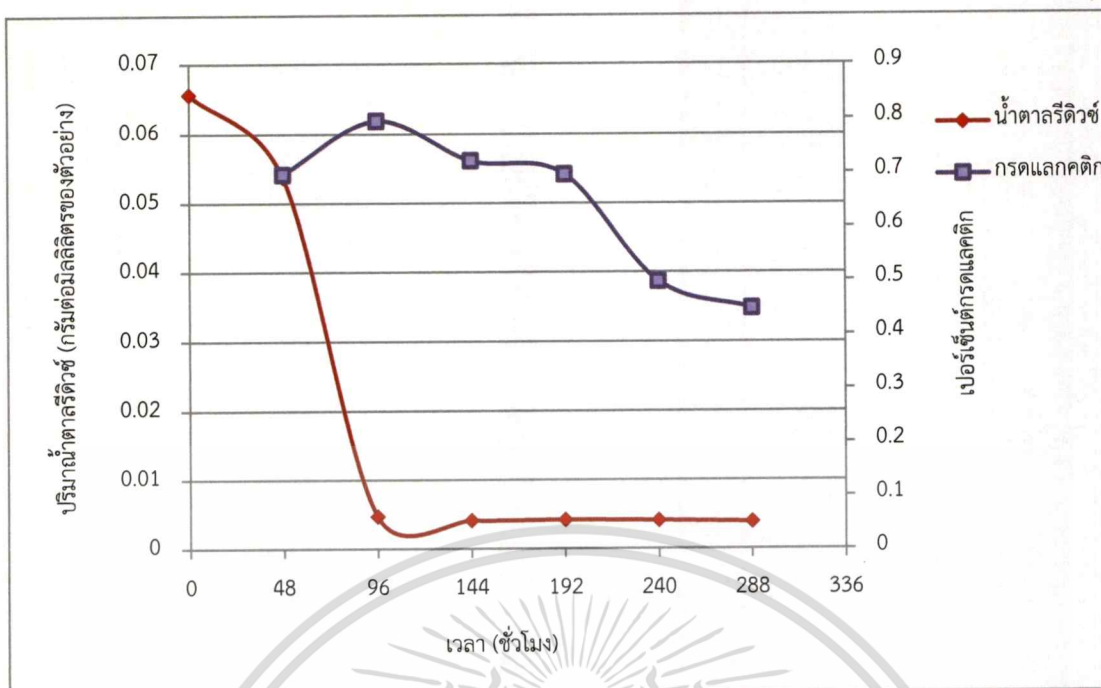
ตารางที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน)

ตัวอย่าง	ชั่วโมง	ค่าการดูดกลืนแสง โดยเฉลี่ยที่ 520 นาโนเมตร	น้ำตาล (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)	น้ำตาล (กรัมต่อ มิลลิลิตร)
หลังใส่เชื้อโยเกิร์ต	0	2.964	65,780	0.0657
	48	2.426	53,824.44	0.0538
	96	0.2155	4,702.22	0.0047
	144	0.189	4,113.33	0.0041
	192	0.196	4,268.89	0.0042
	240	0.19	4,180	0.0041
	288	0.179	3,891.11	0.0039

ตารางที่ 4.3 ร้อยละของกรดแลคติกในตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน)

ตัวอย่าง	ชั่วโมง	กรดแลคติก (ร้อยละ)
หลังใส่เชื้อโยเกิร์ต	0	-
	48	0.6966
	96	0.7961
	144	0.7215
	192	0.6966
	240	0.4975
	288	0.4478

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 กราฟปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ในตัวอย่าง (กรัมต่อมิลลิตร) ที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ต และร้อยละของกรดแลคติก โดยใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ 288 ชั่วโมง (12 วัน)

4.2.2 การวิเคราะห์หาสารประกอบด้วยวิธี Solid Phase Microextraction (SPME) และ Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS)

หลังจากทำการเก็บตัวอย่างที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) และ 288 ชั่วโมง (12 วัน) เข้าเครื่องนึ่งความดันไอล้วน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที โดยนำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาสารประกอบด้วยวิธี SPME และ GC-MS

การวิเคราะห์สารประกอบด้วยวิธี Solid Phase Microextraction ในตัวอย่างที่เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) ดังภาพที่ 4.3 และตารางที่ 4.4 พบว่า มีสารให้กลิ่นที่น่าสนใจ คือ Isovaleraldehyde ให้กลิ่นคล้ายแอปเปิ้ล (ร้อยละ 0.185) ในตัวอย่างที่เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน) ดังภาพที่ 4.4 และตารางที่ 4.5 มีสารให้กลิ่นที่น่าสนใจ คือ Ethanol ให้กลิ่นหอมอ่อน ๆ (ร้อยละ 94.667) และ Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester ให้กลิ่นผลไม้ (ร้อยละ 0.246) แต่จะพบสารให้กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ คือ 1-Butanol, 3-methyl- ให้กลิ่นเหม็น (ร้อยละ 3.626) และ Isobutanol ให้กลิ่นเหม็นอับ (ร้อยละ 1.428)

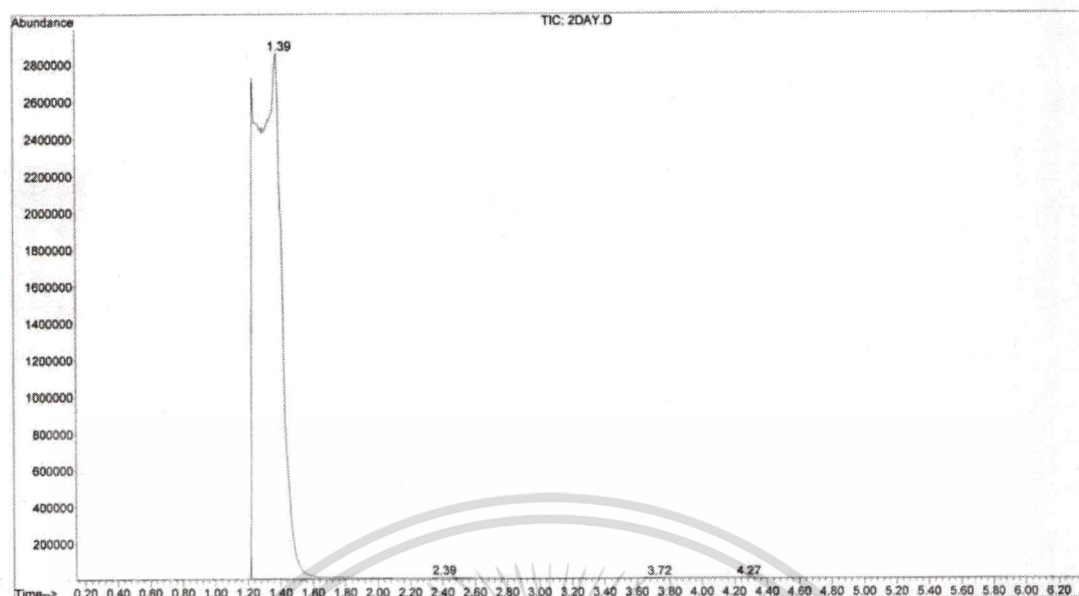
การวิเคราะห์สารประกอบด้วยวิธี Gas Chromatograph - Mass Spectrometer ในตัวอย่างที่เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) ดังภาพที่ 4.5 และตารางที่ 4.6 พบว่า มีสารให้กลิ่นที่น่าสนใจ คือ 2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)- ให้กลิ่นดอกคาโมไมล์ (ร้อยละ 35.612), ALPHA.TERPINEOL ให้กลิ่นดอกไม้และกลิ่นพืช (ร้อยละ

12.345) และ Nonanal ให้กลิ่นดอกกุหลาบ กลิ่นดอกไม้ และกลิ่นสดชื่นจากใบไม้ (ร้อยละ 4.075) ส่วนในตัวอย่างทีเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน) ดังภาพที่ 4.6 และตารางที่ 4.7 มีสารให้กลิ่นที่น่าสนใจ คือ Benzeneethanol ให้กลิ่นคล้ายดอกกุหลาบอ่อน ๆ (ร้อยละ 50.288), Pentanoic acid, 2-methyl- ให้กลิ่นนม (ร้อยละ 14.412), และ Benzeneethanol, 4-hydroxy- ให้กลิ่นหอมอ่อน ๆ ซึ่งพบในไวน์ขาว ไวน์แดง และเบียร์ (ร้อยละ 7.701) แต่จะพบสารให้กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ คือ Butanoic acid, 3-methyl- ให้กลิ่นฉุนและกลิ่นเหม็น (ร้อยละ 13.654), Triethylamine ให้กลิ่นคาวปลาและกลิ่นแอมโมเนีย (ร้อยละ 0.958), Ethyl linoleate ให้กลิ่นไขมัน (ร้อยละ 0.226) และ Ethyl palmitate ให้กลิ่นขี้ผึ้ง (ร้อยละ 0.213)

โดยสารที่มีกลิ่นไม่พึงประสงค์จะพบในการหมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตที่เวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน) แต่ไม่พบในการหมักที่เวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) ดังนั้นจึงเลือกการหมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตที่เวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) ในการผลิตผลิตภัณฑ์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

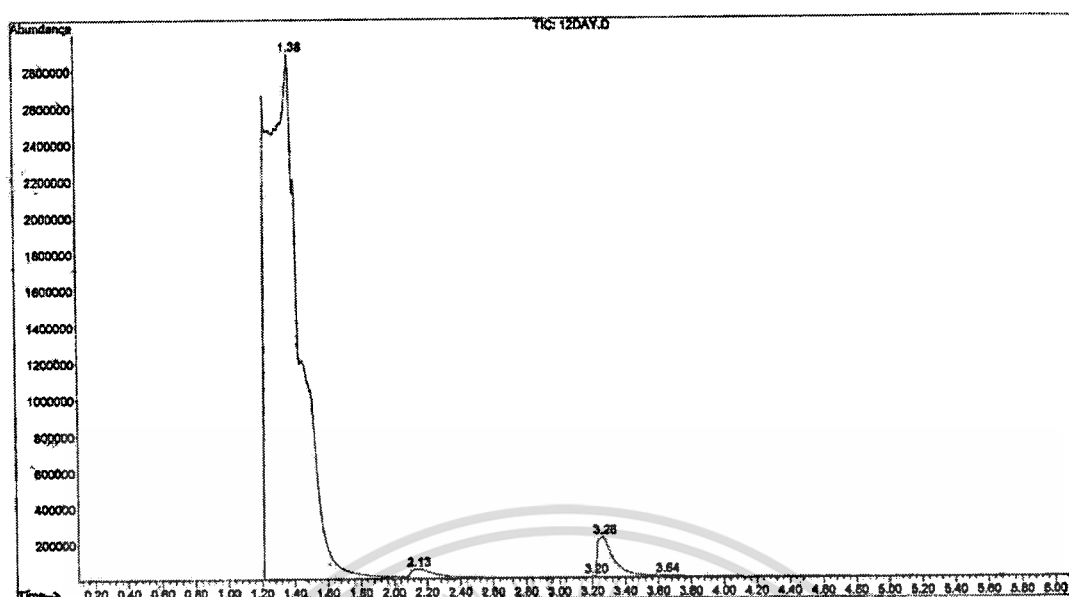


ภาพที่ 4.3 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี SPME

ตารางที่ 4.4 สารประกอบในตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี SPME

Peak number	R.T. (min)	% of total	สารประกอบ	กลิ่นรส	ที่มา
1	1.386	99.754	Cyclobutanol	-	-
2	2.390	0.185	Isovaleraldehyde	กลิ่นคล้าย แอปเปิ้ล	Lewis, 2007a
3	3.717	0.042	2-Pyridinepropanoic acid, .alpha.-methyl-.beta.-oxo-, ethyl ester	-	-
4	4.268	0.019	5-Amino-2H-tetrazole	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

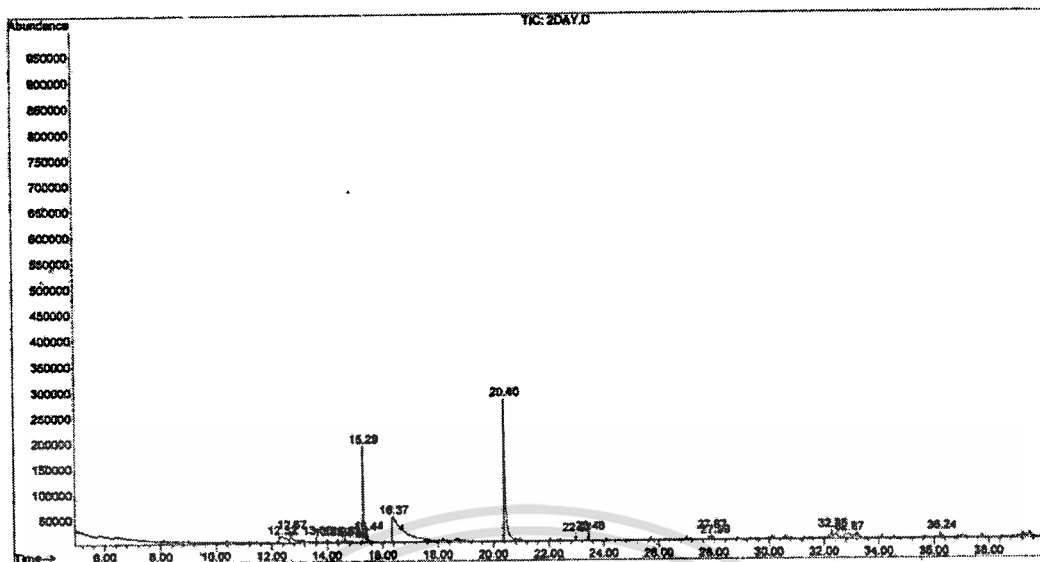


ภาพที่ 4.4 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี SPME

ตารางที่ 4.5 สารประกอบในตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี SPME

Peak number	R.T. (min)	% of total	สารประกอบ	กลิ่นรส	ที่มา
1	1.381	94.667	Ethanol	กลิ่นหอมอ่อน ๆ	U.S. Coast Guard, 1984
2	2.131	1.428	Isobutanol	กลิ่นเหม็นอับ	National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), 2016
3	3.205	0.033	2,4,5-Trimethyl-1,3-dioxolane	พบในไวน์และพืชคล้ายโกโก้	Knox, 2018b
4	3.259	3.626	1-Butanol, 3-methyl-	กลิ่นเหม็น	Budavari, 1989
5	3.636	0.246	Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	กลิ่นผลไม้	NOAA Cameo Staff, 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งาน ester ศึกษานี้เท่านั้น ไม่อนุญาตให้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS

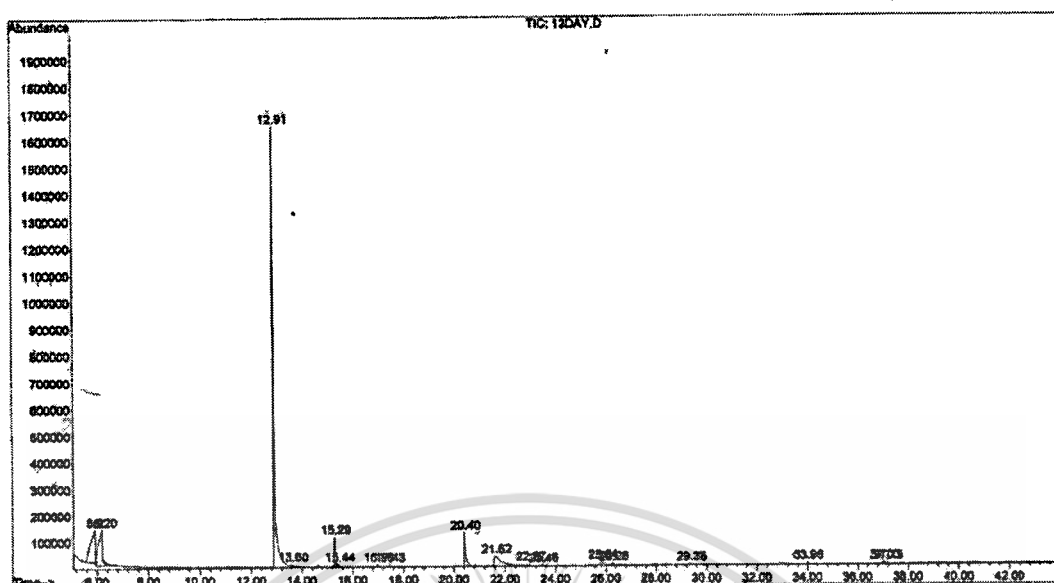
ตารางที่ 4.6 สารประกอบในตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS

Peak number	R.T. (min)	% of total	สารประกอบ	กลิ่นรส	ที่มา
1	12.324	5.215	4,5-Dimethyl-2-formylfuran	-	-
2	12.675	4.075	Nonanal	กลิ่นดอกกุหลาบ และดอกไม้	Lewis, 2007b
3	13.597	1.049	3-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	เป็นส่วนประกอบของออริกาโนเปลิอิกมะนาว และส้มแมนดาริน	Knox, 2018c
4	13.991	0.671	.beta.-Terpineol	กลิ่นหอมสุขุม พบในกระวาน	Flavor and Extract Manufacturers Association FEMA, 2018a
5	14.369	0.407	Isoborneol	กลิ่นสนและการบูร	Fenaroli's, 1975b

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้ใช้ภายในเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 สารประกอบในตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS (ต่อ)

Peak number	R.T. (min)	% of total	สารประกอบ	กลิ่นรส	ที่มา
6	14.628	0.552	Borneol	กลิ่นการบูร	Burdock, 2010
7	14.876	0.344	4-Carvomenthenol	กลิ่นสน	Centers for Disease Control and Prevention, 2014
8	15.286	12.345	.ALPHA.TERPINEOL	กลิ่นดอกไม้และพืช	Yao และคณะ, 2005
9	15.443	1.369	.gamma.-Terpineol	กลิ่นหอม พบในอบเชย	Knox, 2018e
10	16.371	35.612	2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)-	กลิ่นดอกคาโมไมล์	O'Neil, 2006
11	20.401	28.365	Chloroxylenol	กลิ่นน้ำยาฆ่าเชื้อโรค	Wishart, 2018
12	22.970	0.756	Octadecane	กลิ่นเหมือนเชื้อเพลิง	Chung และคณะ, 1993b
13	23.461	0.897	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	-	-
14	27.874	1.124	Octadecane, 1-iodo-	-	-
15	27.987	0.771	.alpha.-Benzoyllysylglycine	-	-
16	32.261	1.248	Heneicosane	ไม่มีกลิ่น	Chung และคณะ, 1993a
17	32.870	3.624	Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	รสขม	Knox, 2018g
18	36.237	1.575	Octacosane	พบในแอปเปิ้ล มะพร้าว และมะนาว	Knox, 2018f



ภาพที่ 4.6 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS

ตารางที่ 4.7 สารประกอบในตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS

Peak number	R.T. (min)	% of total	สารประกอบ	กลิ่นรส	ที่มา
1	5.921	13.654	Butanoic acid, 3-methyl-	กลิ่นฉุน และ กลิ่นเหม็น	Katsutoshi, 2006
2	6.197	14.412	Pentanoic acid, 2-methyl-	กลิ่นนม	Flavor and Extract Manufacturers Association FEMA, 2018c
3	12.914	50.288	Benzeneethanol	กลิ่นคล้าย กุหลาบอ่อน ๆ	Fenaroli's, 1975a
4	13.605	0.612	HYDROCINNAMALDEHYDE-.ALPHA.-D2	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 สารประกอบในตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS (ต่อ)

Peak number	R.T. (min)	% of total	สารประกอบ	กลิ่นรส	ที่มา
5	15.294	2.897	.ALPHA.TERPINEOL	กลิ่นดอกไม้และพืช	Yao และคณะ, 2005
6	15.445	0.344	1-P-MENTHEN-8-YL ACETATE	รสมะกรูดและส้ม	EPA Chemical Testing Staff, 2018
7	16.977	0.255	Phenethyl acetate	กลิ่นกุหลาบและน้ำผึ้ง พบในแอปเปิ้ล	Flavor and Extract Manufacturers Association FEMA, 2018d
8	17.430	0.192	Octane, 2,4,6-trimethyl-	กลิ่นคล้ายก๊าซ	NIST, 2015
9	20.403	5.439	Chloroxylenol	กลิ่นน้ำยาฆ่าเชื้อโรค	Wishart, 2018
10	21.617	7.701	Benzeneethanol, 4-hydroxy-	กลิ่นหอมอ่อน ๆ พบในไวน์ขาว, ไวน์แดง และเบียร์	Knox, 2018d
11	22.971	0.241	Octadecane	กลิ่นเหมือนเชื้อเพลิง	Chung และคณะ, 1993b
12	23.462	0.079	Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)	-	-
13	25.836	1.400	Tetrahydrofuran-2-one, 5-[1-hydroxyhexyl]-	-	-
14	26.263	0.958	Triethylamine	กลิ่นคาวปลาและแอมโมเนีย	Larranaga, 2016
15	29.349	0.898	1H-Indole-3-ethanol	พบในไวน์และเบียร์	Knox, 2018a

ตารางที่ 4.7 สารประกอบในตัวอย่างที่หมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS (ต่อ)

Peak number	R.T. (min)	% of total	สารประกอบ	กลิ่นรส	ที่มา
16	33.978	0.213	Ethyl palmitate	กลิ่นซี่ผึ้ง	Flavor and Extract Manufacturers Association FEMA, 2018b
17	37.027	0.226	Ethyl linoleate	กลิ่นไขมัน	EU Food Improvement Agents Staff, 2018
18	37.151	0.193	E-11-Hexadecenoic acid, ethyl ester	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การผลิตและปรุงแต่งรสชาติของซอสปรุงรส

ในการผลิตผลิตภัณฑ์ทำการเลือกใช้สภาวะที่ดีที่สุดจากการศึกษาในหัวข้อที่ 4.1 และ 4.2 คือใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสสร้อยละ 2.5 ระยะเวลาในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ 48 ชั่วโมง (2 วัน) และระยะเวลาในการหมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ต 48 ชั่วโมง (2 วัน) จากนั้นทำการปรุงแต่งรสชาติของผลิตภัณฑ์ด้วยเกลือป่นร้อยละ 7 และน้ำตาลกรวดร้อยละ 3 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องและสังเกตการเปลี่ยนแปลงภายนอก พบว่า ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสมีการตกตะกอน ซึ่งในซอสปรุงรสที่ดีไม่ควรมีตะกอนหรือสิ่งแปลกปลอมเกิดขึ้น (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2549) และเกิดเชื้อราที่บริเวณผิวหน้าของซอสปรุงรส ภายในระยะเวลา 14 วัน โดยเชื้อรามีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาว

(ก)



(ข)



ภาพที่ 4.7 ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรส

(ก) ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสที่ผลิตได้ (ข) ซอสปรุงรสตั้งทิ้งไว้ 14 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

1) ศึกษาปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเวลาในการย่อยแป้งในถั่วเหลืองและแป้งสาลี

สามารถสรุปได้ว่า การใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ในเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) เป็นสภาวะที่ดีที่สุดในการย่อยแป้ง จึงเลือกใช้สภาวะนี้ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป

2) ศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ การสร้างกรดแลคติกในระหว่างการหมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ต และการวิเคราะห์สารประกอบในตัวอย่างที่เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) และ 228 ชั่วโมง (12 วัน)

สรุปได้ว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอย่างรวดเร็วในเวลา 96 ชั่วโมง (4 วัน) ร้อยละของกรดแลคติกเพิ่มขึ้นสูงสุดในเวลา 96 ชั่วโมง (4 วัน) และการวิเคราะห์สารประกอบในตัวอย่างที่เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 288 ชั่วโมง (12 วัน) พบกลิ่นไม่พึงประสงค์ที่ไม่มีอยู่ในตัวอย่างที่เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) จึงเลือกใช้ระยะเวลาในการหมักด้วยหัวเชื้อโยเกิร์ตเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) ในการผลิตผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรส

3) การผลิตและปรุงแต่งรสชาติของซอสปรุงรส

การผลิตซอสปรุงรสในปริมาณมากที่มีความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 7 และความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 3 บรรจุในขวดแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน พบว่า มีการตกตะกอนและบางขวดมีเส้นใยสีขาวเกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าของซอสปรุงรส ดังนั้นผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจึงยังไม่สามารถนำมาบริโภคได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

- 1) ควรใช้เอนไซม์โปรติเอสร่วมกับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ซึ่งอาจจะให้กลิ่นรสที่ดียิ่งขึ้น
- 2) ควรนำวัตถุดิบชนิดอื่นมาทดลองแทนในถั่วเหลือง เช่น ถั่วเขียว ถั่วลิสง และข้าวโพด ในแป้งสาลี เช่น ข้าวไรซ์เบอร์รี่ กล้วยดิบ และแป้งมันสำปะหลัง
- 3) ควรนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปพาสเจอร์ไรซ์และตรวจคุณค่าทางโภชนาการ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ ยอดอินทร์. 2556. การผลิตกรดแลคติกจากแป้งด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติก. *วารสารอาหาร*. 43(4) : 40-46.

กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. 2553. เอนไซม์กับการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.itforsme.net/knc_detail.php?id=148 (9 มิถุนายน 2561)

กองควบคุมอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. 2553. โครงการศึกษาข้อมูลเพื่อรองรับการบังคับการเติมไอโอดีนในซีอิ๊วและซอสปรุงรส. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://iodinethailand.fda.moph.go.th/iodinethailand/index.php?option=com_content&view=article&id=43&Itemid=9&lang=en (5 มิถุนายน 2561)

คงศักดิ์ สหะศักดิ์มนตรี และ สมบัติ ขอทวีวัฒนา. 2544. “การพัฒนากรรมวิธีการผลิตน้ำซอสปรุงรสโดยใช้เอนไซม์เพื่อลดสาร 3-MCPD.” หน้า 347-354. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

คัตนงค์ ทองสุก. 2542. “ถั่วเหลืองอาหารสุขภาพ.” *วารสารอาหาร*. 2542(3) : 212-213.

จิตธนา แจ่มเมฆ และ อรอนงค์ นัยวิกุล. 2549. เบเกอรี่เทคโนโลยีเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 8. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ต้นกล้า อินสว่าง. 2558. เครื่องแกงโครมมาโทรกราฟี. จดหมายข่าวศูนย์เครื่องมือวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2(7) : 1-8.

บุญพา วณิชชาพลอย. 2548. “การคัดเลือกเชื้อรา *Rhizopus* sp. ทนร้อนที่ผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสและปัจจัยที่มีผลต่อการผลิต.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. 2546. ชนิดของเอนไซม์อะไมเลส. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1174/amylase%E0%B8%AD%E0%B8%B0%E0%B9%84%E0%B8%A1%E0%B9%80%E0%B8%A5%E0%B8%AA> (8 มิถุนายน 2561)

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. 2553. Chemical soy sauce: ซอสปรุงรส. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3581/chemical-soy-sauce-%E0%B8%8B%E0%B8%AD%E0%B8%AA%E0%B8%9B%E0%B8%A3%E0%B8%B8%E0%B8%87%E0%B8%A3%E0%B8%AA> (5 มิถุนายน 2561)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนานพนธ์. 2561. Wheat flour: แป้งข้าวสาลี. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1378/wheat-flour-%E0%B9%81%E0%B8%9B%E0%B9%89%E0%B8%87%E0%B8%AA%E0%B8%B2%E0%B8%A5%E0%B8%B5> (7 มิถุนายน 2561)
- วิราสิณี จันทร์เป็ง และ นพพล เล็กสวัสดิ์. 2556. อะไมเลส (Amylase). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.agro.cmu.ac.th/absc/data/57/57-025.pdf> (8 มิถุนายน 2561)
- วิสิฐ ว่าจะสิต. 2536. รู้จักอาหารจากฉลาก: ขอสปรงรส. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.doctor.or.th/article/detail/3259> (4 มิถุนายน 2561)
- สมคิด ตีจรง และ อรุณี คงดี. 2556. การแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติกจากแป้งโดยตรงเพื่อลดต้นทุนการผลิตพลาสติกชีวภาพ. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- สำนักงานเกษตรจังหวัดแม่ฮ่องสอน. 2524. วิธีการปลูกถั่วเหลือง. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://sopmoei.maehongson.doe.go.th/page21.html> (6 มิถุนายน 2561)
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2545. สารพิษ 3-MCPD ในขอสปรงรส. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://elib.fda.moph.go.th/2008/default.asp?page2=subdetail&id_L1=27&id_L2=15704&id_L3=1424 (5 มิถุนายน 2561)
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2549. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำขอสปรงรส. กรุงเทพฯ : กระทรวงอุตสาหกรรม
- สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2556. หลักเกณฑ์และมาตรฐานประกอบการตรวจรับรองสินค้าเกษตรด้านพืช. นททบุรี : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- สิริพร แก้วสุริยะ และ เศรษฐศิลป์ อัมมวรรณ. 2530. การปรับปรุงคุณภาพขอสปรงรส. สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา.
- สุพรรณพันธ์ โลหะลักษณะเดช และ ชุตินุช สุจริต. 2557. “การผลิตขอสปรงรสกะเพราจากน้ำหมักกะปิ.” หน้า 427-432. ใน การประชุมวิชาการการพัฒนาชนบทที่ยั่งยืน ครั้งที่ 4. ตัง : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.
- สุมาลี ปัญญาจิรวุฒิ. 2554. “การคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียแลคติกที่สามารถลดกลิ่นถั่วและลดน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดอาการท้องอืด ท้องเฟ้อในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มจากนมถั่วเหลือง.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- อรอนงค์ นัยวิกุล. 2532. ข้าวสาลี: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อำพรพรณ ชัยกุลเสรีวัฒน์ และ สาวิตรี ลำเหลือหลาย. 2552. “การผลิตเอนไซม์อะไมเลสจาก *Bacillus* sp. ไอโซเลต A.” *วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม*. 5(1) : 47-53.

Achouri, A., Boye, J.I. and Zamani, Y. 2006. “Identification of volatile compounds in soymilk using solid-phase microextraction-gas chromatography.” *Food Chemistry*. 99(4) : 759-766.

Akacha, N.B. and Gargouri, M. 2015. “Microbial and enzymatic technologies used for the production of natural aroma compounds: Synthesis, recovery modeling, and bioprocesses.” *Food and Bioprocesses Processing*. 94 : 675-706.

Amrane, A. and Prigent, Y. 1997. “Growth and lactic acid production coupling for *Lactobacillus helveticus* cultivated on supplemented whey: influence of peptidic nitrogen deficiency.” *Journal of Biotechnology*. 55(1) : 1-8.

AOAC. 1990. *Official methods of the analysis*. 15th ed. Arlington : Association of Official Analytical Chemists

Axelsson, L. 2004. “Lactic acid bacteria: classification and physiology.” 1-66. In Salminen, S., Von Wright, A. and Ouweland, A. (eds.). *Advance in Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. New York : Marcel Dekker.

Benninga, H. 1990. *A History of Lactic Acid Making*. Netherlands : Kluwer Academic Publ.

Bharagava, R.N. and Chandra, R. 2010. “Effect of bacteria treated and untreated post-methanated distillery effluent (PMDE) on seed germination, seedling growth and amylase activity in *Phaseolus mungo* L.” *Journal of Hazardous Materials*. 180(1-3) : 730-734.

Boel, E., Brady, L., Brzozowski, A.M., Derewenda, Z., Dodson, G.G., Jensen, V.J., Petersen, S.B., Swift, H., Thim, L. and Woldike, H.F. 1990. “Calcium binding in α -amylases: an X-ray diffraction study at 2.1- Å resolution of two enzymes from *Aspergillus*.” *Biochemistry* 29(26) : 6244-6249.

Brzozowski, A.M. and Davies, G.J. 1997. “Structure of the *Aspergillus oryzae* α -amylase complexed with the inhibitor acarbose at 2.0 Å resolution.” *Biochemistry* 36(36) : 10837-10845.

Budavari, S. 1989. **1-butanol, 3-methyl**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : [https://pubchem](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3-Methyl-1-butanol)

[ncbi.nlm.nih.gov/compound/3-Methyl-1-butanol](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3-Methyl-1-butanol) (14 พฤษภาคม 2561) ยกเว้นด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Burdock, G.A. 2010. **Borneol**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Borneol#section=Odor> (14 พฤษภาคม 2561)
- Centers for Disease Control and Prevention. 2014. **4-Carvomenthenol**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Carvomenthenol#section=Computed-Properties> (14 พฤษภาคม 2561)
- Chiarini, L., Mara, L. and Tabacchioni, S. 1992. "Influence of growth supplements on lactic acid production in whey ultrafiltrate by *Lactobacillus helveticus*." *Applied Microbiology and Biotechnology*. 36(46) : 461-464.
- Chung, TY และคณะ. 1993a. **Heneicosane**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/heneicosane> (14 พฤษภาคม 2561)
- Chung, TY และคณะ. 1993b. **Octadecane**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/octadecane> (14 พฤษภาคม 2561)
- EPA Chemical Testing Staff. 2018. **1-P-MENTHEN-8-YL ACETATE**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6631#section=Food-Additives-and-Ingredients> (14 พฤษภาคม 2561)
- EU Food Improvement Agents Staff. 2018. **Ethyl linoleate**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ethyl_linoleate#section=Food-Additives-and-Ingredients (14 พฤษภาคม 2561)
- Fellows, P.J. 2000. **Food Processing Technology Principles and Practice**. 2nd ed. England : Woodhead Publ.
- Fenaroli's. 1975a. **Benzeneethanol**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2-phenylethanol#section=Odor> (14 พฤษภาคม 2561)
- Fenaroli's. 1975b. **Isoborneol**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/61060> (14 พฤษภาคม 2561)
- Flavor and Extract Manufacturers Association FEMA. 2018a. **.beta.-Terpineol**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/beta-terpineol#section=Chemical-Vendors> (15 พฤษภาคม 2561)
- Flavor and Extract Manufacturers Association FEMA. 2018b. **Ethyl palmitate**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ethyl_palmitate (15 พฤษภาคม 2561)
- Flavor and Extract Manufacturers Association FEMA. 2018c. **Pentanoic acid, 2-methyl**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2-Methylpentanoic_acid (15 พฤษภาคม 2561)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้เพื่อการพาณิชย์อื่น ๆ ได้

- Flavor and Extract Manufacturers Association FEMA. 2018d. **Phenethyl acetate**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://en.m.wikipedia.org/wiki/Phenethyl_acetate (15 พฤษภาคม 2561)
- Garcia, M.C., Torre, M., Marina, M.L. and Laborda, F. 1997. "Composition and Characterization of Soyabean and Related Products." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 37(4) : 361-391.
- Guo, P., Yu, J., Copeland, L., Wang, S. and Wang, S. 2018. "Mechanisms of starch gelatinization during heating of wheat flour and its effect on *in vitro* starch digestibility." *Food Hydrocolloids*. 82 : 370-378.
- Hofvendahl, K. and Hahn-Hagerdal, B. 2000. "Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources." *Enzyme and Microbial Technology*. 26(2-4) : 87-107.
- Hussain, S.Z. and Maqbool, K. 2014. "GC-MS: Principle, technique and its application in Food Science." *International Journal of Current Science*. 13(3) : 116-126.
- Hwan, C.H. and Chou, C.C. 1999. "Volatile components of the Chinese fermented soya bean curd as affected by the addition of ethanol in aging solution." *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 79(2) : 243-248.
- Jones, D.G.B., and Whittenbury, R. 1969. "Haematin-dependent oxidative phosphorylation in *Streptococcus faecalis*." *Journal of general microbiology*. 58(2) : 247-260.
- Kashket, E.R. 1987. "Bioenergetics of lactic acid bacteria: cytoplasmic pH and osmotolerance." *FEMS Microbiology Letters*. 46(3) : 233-244.
- Katsutoshi, A., Masakatsu, H., Syunichi, A., Kenzo, K., Koichi, O., Toyoki, H., Tetsuro, K. and Fusao, T. 2006. **Butanoic acid, 3-methyl**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://en.m.wikipedia.org/wiki/3-Methylbutanoic_acid (15 พฤษภาคม 2561)
- Knox, C. 2018a. **1H-Indole-3-ethanol**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tryptophol#section=Top> (16 พฤษภาคม 2561)
- Knox, C. 2018b. **2,4,5-Trimethyl-1,3-dioxolane**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_4_5-Trimethyl-1_3-dioxolane (16 พฤษภาคม 2561)
- Knox, C. 2018c. **3-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)**. [ออนไลน์]. เข้าถึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้เฉพาะในวงจำกัดเท่านั้น และผู้จัดทำขอสงวนสิทธิ์ในการค้า
ไม่ว่ากรณีใด (พฤษภาคม 2561) และมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Knox, C. 2018d. **Benzeneethanol, 4-hydroxy**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tyrosol> (16 พฤษภาคม 2561)
- Knox, C. 2018e. **Gamma.terpineol**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/gamma-Terpineol> (16 พฤษภาคม 2561)
- Knox, C. 2018f. **Octacosane**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/octacosane> (16 พฤษภาคม 2561)
- Knox, C. 2018g. **Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4dione hexahedron-3-(2-methylpropyl)**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/102892#section=Top> (16 พฤษภาคม 2561)
- Kono, Y. and Fridovich, I. 1983. "Isolation and characterization of the pseudocatalase of *Lactobacillus plantarum*." *Journal of Biological Chemistry*. 258(10) : 6015-6019.
- Krasowski, J.A., Dinh, H., O'Hanlon, T.J. and Lindauer, R.F. 1991. "A technical guide for static headspace analysis using GC." *Pharmacopoeial Forum*. 17(3) : 1963-1968.
- Kumari, A., Rosenkranz, T., Kayastha, A.M. and Fitter, J. 2010. "The effect of calcium binding on the unfolding barrier: A kinetic study on homologous α -Amylases." *Biophysical Chemistry*. 151(1-2) : 54-60.
- Larranaga ,M.D., Lewis, R.J. and Lewis, R.A. 2016. **Triethylamine**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/triethylamine> (16 พฤษภาคม 2561)
- Lewis, R.J. 2007a. **Isovaleraldehyde**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3-Methylbutanal> (16 พฤษภาคม 2561)
- Lewis, R.J. 2007b. **Nonanal**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/nonanal> (16 พฤษภาคม 2561)
- Litchfield, J.H. 1996. "Microbiological Production of Lactic acid." 45-88. In Neidleman, S.L. and Laskin, A.I. (eds.). **Advances in Applied Microbiology**. London : Academic Press.
- Liu, K. 1997. **Soybean: Chemistry, Technology and Utilization**. New York : Chapman and Hall.
- Luh, B.S. 1995. "Industrial production of soy sauce." *Journal of industrial*

เอกสารนี้เป็น *Microbiology*. 14(6) : 467-471. เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Markley, K.S. and Goss, W.H. 1944. *Soybean Chemistry and Technology*. New York : Chemical.

Mcmaister, M. and Mcmaister, C. 1998. "GC/MS: A practical user's guide." *Journal of Chemical Education*. 77(10) : 1282.

Mcnaair, H.M. and Miller, J.M. 1997. *Basic Gas Chromatography*. 2nd ed. New York : John wiley and sons.

Michelin, M., Silva, T.M., Benassi, V.M., Peixoto-Nogueira, S.C., Moraes, L.A.B., Leao, J.M., Jorge, J.A., Terenzi, H.F. and Polizeli, M.L.T.M. 2010. "Purification and characterization of a thermostable α -amylase produced by the fungus *Paecilomyces variotii*." *Carbohydrate Research*. 345(16) : 2348-2353.

Narayanan, N., Roychoudhury, P.K. and Srivastava, A. 2004. "L (+) lactic acid fermentation and its product polymerization." *Electronic Journal of Biotechnology*. 7(2) : 167-179.

National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). 2016. **Isobutanol**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://en.m.wikipedia.org/wiki/Isobutanol> (16 พฤษภาคม 2561)

Nelson, N. 1944 "A Photometric Adaptation of the Somogyi Method for the Determination of Glucose." *Journal of Biological Chemistry*. 153 : 375-380.

Nguyen, A. 2015. **Maggi Seasoning Sauce: Real vs. Knockoffs**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.vietworldkitchen.com/blog/2015/08/maggi-seasoning-sauce-vietnam.html> (9 มิถุนายน 2561)

NIST. 2015. **Octane, 2,4,6-trimethyl**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_4_6-Trimethyloctane#section=Top (16 พฤษภาคม 2561)

NOAA Cameo Staff. 2018. **propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ethyl_isobutyrate (14 พฤษภาคม 2561)

Ohkouchi, Y. and Inoue, Y. 2006. "Direct production of L(+)-lactic acid from starch and food wastes using *Lactobacillus manihotivorans* LMG18011." *Bioresource Technology* 97(13) : 1554-1562.

O'Neil, M.J. 2006. **2-Furancaboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5-hydroxymethylfurfural#section=Odor> (14 พฤษภาคม 2561) และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Otero, M.A., Cabello, A.J., Vasallo, M.C., Garcia, L. and Lopez, J.C. 1998. "Preparation of an Imitation soy sauce from hydrolyzed dried yeast *Candida utilis*." *Journal of Food Processing and Preservation*. 22(5) : 419-432.
- Pintauro, P. 1976. *Food Flavoring Processes*. New Jersey : Noyes Data.
- Priya, S., Kaur, N. and Gupta, A.K. 2010. "Purification, characterization and inhibition studies of α -amylase of *Rhizopertha dominica*." *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 98(2) : 231-237.
- Riaz, N., Haq, I.U. and Qadeer, M.A. 2003. "Characterization of α -Amylase by *Bacillus subtilis*." *Journal of Agriculture and Biology*. 5(3) : 249-252.
- Ritchey, T.W., and Seeley, H.W.J. 1976. "Description of cytochrome-like respiration in *streptococci*." *Journal of general microbiology*. 93(2) : 195-203.
- Saidu, J.E.P. 2005. "Development, evaluation and characterization of protein-isoflavone enriched soymilk." Ph.D. dissertation, Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College.
- Singracha, P., Niamsiri, N., Visessanguan, W., Lertsiri, S. and Assavanig, A. 2017. "Application of lactic acid bacteria and yeasts as starter cultures for reduced-salt soy sauce (moromi) fermentation." *LWT-Food Science and Technology*. 78 : 181-188.
- Taylor, J.R.N., Emmambux, M.N. and Kruger, J. 2014. "Developments in modulating glycaemic response in starchy cereal foods." *Starch*. 67(1-2) : 79-89.
- Tian, J., Chen, J., Ye, X. and Chen, S. 2016. "Health benefits of the potato affected by domestic cooking." *Food Chemistry*. 202 : 165-175
- U.S. Coast Guard. 1984. **Ethanol**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ethanol> (14 พฤษภาคม 2561)
- Underriner, E.W. and Hume, I.R. 1994. *Handbook of Industrial Seasoning*. London : Chapman and Hall.
- Van der Maarel, M.J.E.C., van der Veen, B., Uitdehaag, J.C.M., Leemhuis, H. and Dijkhuizen, L. 2002. "Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family." *Journal of Biotechnology* 94(2) : 137-155.
- Whittenbury, R. 1964. "Hydrogen peroxide formation and catalase activity in the lactic acid bacteria." *Journal of general microbiology*. 35(1) : 13-26.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Willett, W., Manson, J. and Liu, S. 2002. "Glycemic index, glycemic load, and risk of type 2 diabetes." *The American Journal of Clinical Nutrition*. 76(1) : 274-280.
- Wishart, D. 2018. Chloroxyleneol. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Chloro-3_5-dimethylphenol (14 พฤษภาคม 2561)
- Wittmann, R. 1991. "Determination of dichloropropanols and monochloropropanediols in seasonings and seasoned foods." *Z Lebensm Unters Forsch*. 193(3) : 224-229.
- Wolf, G., Strahl, A., Meisel, J. and Hammes, W.P. 1991. "Heme-dependent catalase activity of *Lactobacilli*." *International Journal of Food Microbiology*. 12(2-3) : 133-140.
- Yao, S., Guo, W., Lu, Y. and Jiang, Y. 2005. Alpha.terpineol. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://en.m.wikipedia.org/wiki/Terpeneol> (15 พฤษภาคม 2561)
- Yoshizaki, Y., Susuki, T., Takamine, K., Tamaki, H., Ito, K. and Sameshima, Y. 2010. "Characterization of glucoamylase and α -amylase from *Monascus anka*: Enhanced production of α -amylase in red koji." *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 110(6) : 670-674.
- Yumoto, I. and Ikeda, K. 1995. "Direct fermentation of starch to L-(+)-lactic acid using *Lactobacillus amylophilus*." *Biotechnology Letters*. 17(5) : 543-546.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายคอปเปอร์ (Copper reagent)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	3.9997	กรัม
คอปเปอร์ (II) ซัลเฟต 10% (CuSO ₄ ·5H ₂ O)	8	กรัม
โซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต โดเดคะไฮเดรต (Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O)	71	กรัม
โซเดียมโพแทสเซียมทาร์ทเรต (NaKC ₄ H ₄ O ₆ ·4H ₂ O)	40	กรัม
โซเดียมซัลเฟต (Na ₂ SO ₄)	180	กรัม

เตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล 3.9997 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เตรียมคอปเปอร์ (II) ซัลเฟต 10% (CuSO₄·5H₂O) 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารละลายฟอสเฟตทาร์ทเรต โดยชั่งโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต โดเดคะไฮเดรต (Na₂HPO₄·12H₂O) 71 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร เติมโซเดียมโพแทสเซียมทาร์ทเรต (NaKC₄H₄O₆·4H₂O) 40 กรัม เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร พร้อมกับคอปเปอร์ (II) ซัลเฟต 10% ปริมาตร 80 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันทำให้ร้อนปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร ถ้ามีตะกอนให้กรองและเก็บในขวดสีชา

2. สารละลายเนลสัน (Nelson's Arsenomolybdate color reagent)

แอมโมเนียมเฮปตะโมลิบเดต (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	50	กรัม
กรดซัลฟิวริก (H ₂ SO ₄)	21	มิลลิลิตร
ไดโซเดียมอาร์ซิเนตเฮปตะไฮเดรต (Na ₂ AsO ₄ ·7H ₂ O)	6	กรัม

ชั่งแอมโมเนียมเฮปตะโมลิบเดต (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 50 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริก (H₂SO₄) 21 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน เติมไดโซเดียมอาร์ซิเนตเฮปตะไฮเดรต (Na₂AsO₄·7H₂O) 6 กรัม คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร ถ้ามีตะกอนให้กรองและเก็บในขวดสีชา

3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (0.1 N NaOH)

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร

4. สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (KHP)

ชั่งโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (KHP) 0.8 กรัม ใส่กระจกนาฬิกาไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 1-2 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นในตู้ดูดความชื้น (Desiccator) จากนั้นนำมาละลายในน้ำกลั่นที่ปราศจากคาร์บอนเนตโดยการนำน้ำกลั่นไปต้มก่อนเป็นเวลา 20-30 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น 25 มิลลิลิตร

5. สารละลายกลูโคสมาตรฐาน (Glucose standard) เข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ชั่งกลูโคส 0.01 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์

1. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Somogyi Nelson (Nelson, 1944)

สารเคมี

1. สารละลายคอปเปอร์ (Copper reagent) (ภาคผนวก ก)
2. สารละลายเนลสัน (Nelson's Arsenomolybdate color reagent) (ภาคผนวก ก)

วิธีการวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (ภาคผนวก ก) จากนั้นนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 0 20 40 60 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. บีบตัวอย่างมาตัวอย่างละ 5 มิลลิลิตร ด้วยปิเปตแก้ว ใส่ในหลอดเซนต์ปีฟว์พลาสติกขนาด 15 มิลลิลิตร ไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ด้วยความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
3. ใช้พาสเจอร์ปิเปตดูดส่วนใสออกมาเจือจางเป็น 10 50 100 500 และ 1,000 เท่า ด้วยน้ำกลั่น
4. ใช้ปิเปตแก้วดูดตัวอย่างที่ทำการเจือจางในการเจือจางต่าง ๆ และสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาอย่างละ 1 มิลลิลิตร
5. ใส่สารละลายคอปเปอร์ (Copper reagent) (ภาคผนวก ก) 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
6. ต้มในน้ำเดือดประมาณ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และปิดด้วยลูกแก้ว
7. เมื่อครบเวลานำมาแช่ในอ่างน้ำแข็งให้หายร้อน
8. ใส่สารละลายเนลสัน (Nelson's Arsenomolybdate color reagent) (ภาคผนวก ก) 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที
9. เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
10. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร
11. นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ไปสร้างกราฟมาตรฐาน และนำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่มีค่าอยู่ระหว่าง 0.2-0.8 นาโนเมตร มาเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของกลูโคสในสารละลายตัวอย่าง ซึ่งคำนวณได้จาก

$$x = \left(\frac{y \pm b}{a} \right) \times d \times 10^{-6}$$

เมื่อ x = ความเข้มข้นของกลูโคส (กรัมต่อมิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ห้ามมิให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

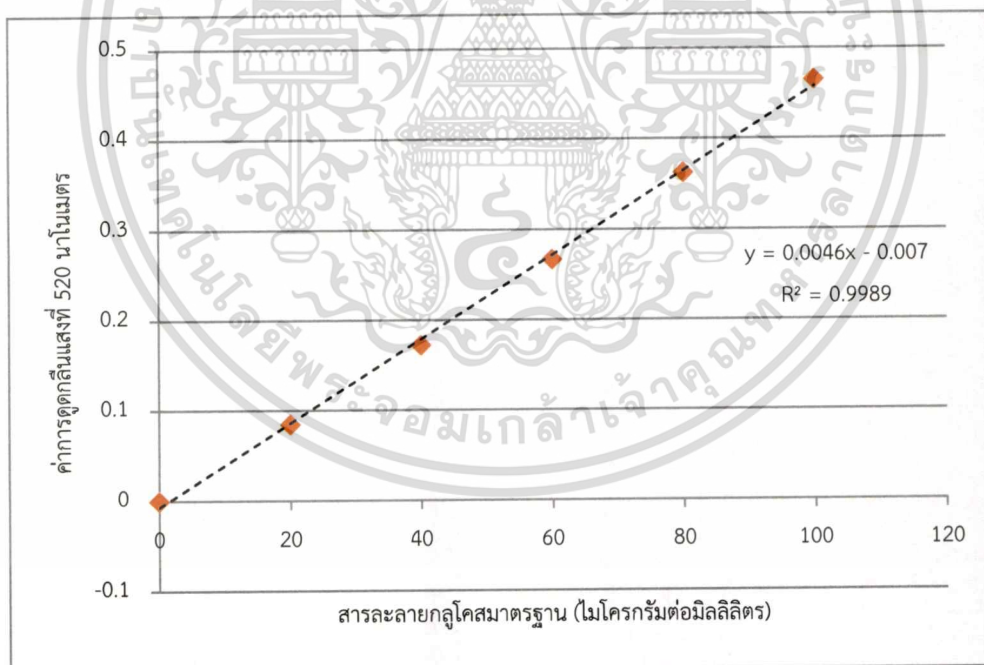
b = จุดตัดแกน y

a = ความชันของกราฟมาตรฐาน

d = ค่าการเจือจาง

1.1 กราฟนำตาลูกกลมมาตรฐาน (เทียบกับตารางที่ 4.1)

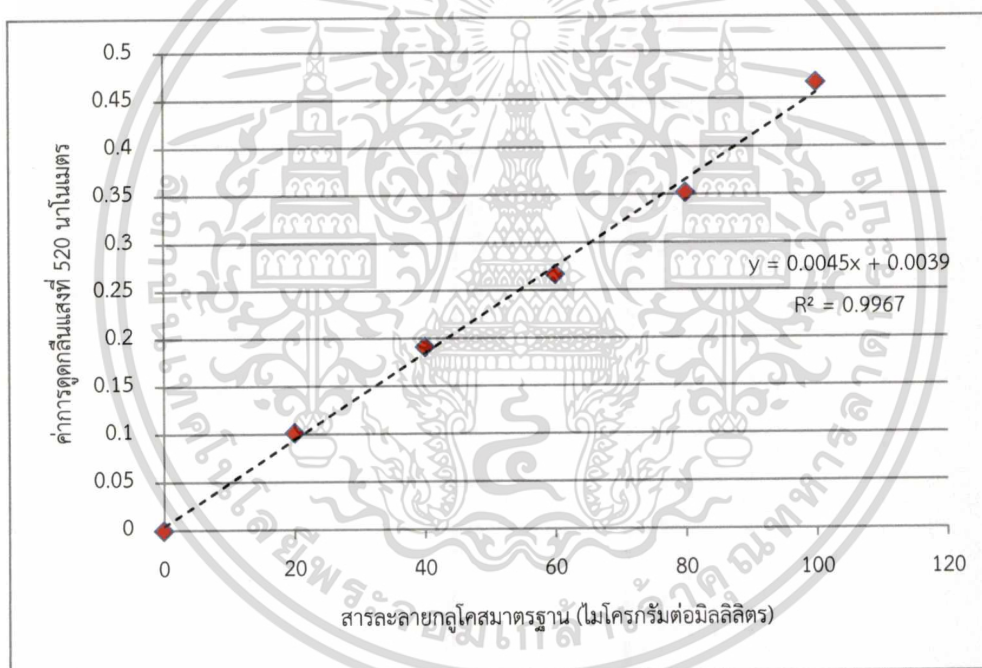
กลูโคสมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร		ค่าการดูดกลืนแสงโดยเฉลี่ยที่ 520 นาโนเมตร
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
0	0	0	0
20	0.085	0.085	0.085
40	0.172	0.173	0.1725
60	0.267	0.267	0.267
80	0.363	0.362	0.3625
100	0.465	0.465	0.465



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 กราฟน้ำตาलगูโคสมাত্রฐาน (เทียบกับตารางที่ 4.2)

กลูโคสมাত্রฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร		ค่าการดูดกลืนแสงโดยเฉลี่ยที่ 520 นาโนเมตร
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
0	0	0	0
20	0.101	0.102	0.1015
40	0.191	0.191	0.191
60	0.267	0.267	0.267
80	0.352	0.352	0.352
100	0.467	0.467	0.467



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ปริมาณเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก (AOAC, 1990)

สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (ภาคผนวก ก)
2. สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (KHP) (ภาคผนวก ก)
3. ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)

วิธีการวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (KHP) (ภาคผนวก ก) 25 มิลลิลิตร ไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (ภาคผนวก ก) โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein) เป็นอินดิเคเตอร์

2. คำนวณความเข้มข้นมาตรฐานของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

$$N_1 = \frac{N_2 \times V_2}{V_1}$$

เมื่อ N_1 = ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มอล)
 V_1 = ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)
 N_2 = ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (นอร์มอล)
 V_2 = ปริมาตรสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)

3. ปิเปตตัวอย่างมาตัวอย่างละ 5 มิลลิลิตร ด้วยปิเปตแก้ว ใส่ในหลอดเซนต์ปีฟว์พลาสติกขนาด 15 มิลลิลิตร ไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ด้วยความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

4. ดูดส่วนใสมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำปราศจากคาร์บอนเนต 50 มิลลิลิตร

5. หยดฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein) 2 หยด

6. ไทเทรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มอล (ภาคผนวก ก)

7. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกในสารละลายตัวอย่างได้จาก

$$\% \text{ Lactic} = \frac{\text{M. W. lactic acid} \times V_n \times C_n \times 100}{1,000 \times V_s}$$

เมื่อ M.W. Lactic acid = 90.8 กรัมต่อโมล

V_n = ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)

C_n = ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่คำนวณได้ (นอร์มอล)

V_s = ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้