

การผลิตสารให้กลิ่นรสเนื้อมควันจากถั่วเหลือง

PRODUCTION OF SMOKED MEAT FLAVOR FROM SOYBEAN

อิสริยาภรณ์ ชูณหะเพสย์  
ISRIYAPORN CHOONHAPASE

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2546

ISBN 974-324-576-6

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตสารให้กลิ่นรสเนื้อรมควันจากถั่วเหลือง

PRODUCTION OF SMOKED MEAT FLAVOR FROM SOYBEAN



อิสริยาภรณ์ ชูณหะเพสย์

ISRIYAPORN CHOONHAPASE

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2546

ISBN 974-324-576-6

เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน...49620...  
วัน, เดือน, ปี 25 ก.พ. 2547

.b.....  
.i.....

**PRODUCTION OF SMOKED MEAT FLAVOR FROM SOYBEAN**

**ISRIYAPORN CHOONHAPASE**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY  
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

**2003**

**ISBN 974-324-576-6**

**COPYRIGHT 2003**

**SCHOOL OF GRADUATE STUDIES**

**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

**บัณฑิตวิทยาลัย**  
**สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง**  
**ใบรับรองวิทยานิพนธ์**

-----

หัวข้อวิทยานิพนธ์      การผลิตสารให้กลิ่นรสเนื้อรมควันจากถั่วเหลือง  
PRODUCTION OF SMOKED MEAT FLAVOR FROM SOYBEAN

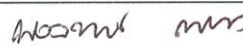
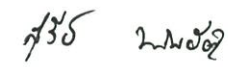


ชื่อนักศึกษา              นางสาวอิสริยาภรณ์ ชุณหเพสย์

รหัสประจำตัว              42065205

ปริญญา                      วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา                    เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์      ผศ.ดร.เรียม      เตชะ โสภณมณี

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.นवलพรรณ	ณ ระนอง	
ผศ.ดร.สุรีย์	นานาสมบัติ	
รศ.อรุณี	คงศักดิ์ไพศาล	
ผศ.ดร.เรียม	เตชะ โสภณมณี	

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 16 พฤษภาคม 2546 เวลา 10.00-12.00 น.

สถานที่สอบ ณ อาคารจุฬารณวลัยลักษณ์ 1 ชั้น 4 ห้อง 424

  
บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว  
(รศ.ดร.บุญวัฒน์ อัครชู)  
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....๒๙.....เดือน.....พฤษภาคม.....พ.ศ. ๒๕๔๖.....

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตสารให้กลิ่นรสเนื้อธัญพืชจากถั่วเหลือง
นักศึกษา	นางสาวอิสริยาภรณ์ ชุณหเพสย์
รหัสประจำตัว	42065205
ระดับการศึกษา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
พ.ศ.	2546
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.เรียม เตชะ โสภณมณี

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะหาวิธีการผลิตสารให้กลิ่นรสเนื้อจากถั่วเหลืองโดยการนำถั่วเหลืองมาย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ 2 ชนิดคือ *Aspergillus oryzae* และ *Bacillus natto* เพื่อให้ได้กรดอะมิโน จากนั้นจึงนำกรดอะมิโนที่ได้มาทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลชนิดต่างๆ ในการย่อยสลายถั่วเหลืองด้วยจุลินทรีย์นั้นในขั้นแรกจะทำการเตรียมโคจิ โดยการนำถั่วเหลืองนึ่งสุกผสมกับสปอร์ของ *A. oryzae* บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำโคจิที่ได้มาใช้ในการหมักขั้นที่ 2 โดยเปรียบเทียบการใช้ส่วนผสมต่างกัน 4 ชนิด ได้แก่ น้ำ น้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30% น้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30% เติมเชื้อ *B.natto* โดยไม่ผ่านการบ่ม และ น้ำถั่วเหลืองเข้มข้นผ่านการหมักโดย *B.natto* นาน 24 ชั่วโมง แบ่งของเหลวที่ได้แต่ละชนิดไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดโดยเปรียบเทียบการทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ กลูโคส ซูโครส มอลโทส แลคโทส และฟรุคโทส โดยทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที วิเคราะห์หาสารประกอบในผลผลิตโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี และแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรเมตรี จากผลการทดลองปรากฏว่าการใช้ของเหลวที่ได้จากการหมักน้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30% ทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลแลคโทสให้สารให้กลิ่นรสเนื้อได้ดีที่สุด โดยพบสารประกอบหลายชนิดในสารให้กลิ่นรสเนื้อดังกล่าว ได้แก่ 4-methyl-3-penten-2-one, ethylbenzene, 1,4-dimethyl-benzene, 1,3-dimethyl-benzene, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-phenol, pyrrolo[1,2-a]piperazine-3,6-dione, pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione และ benzaldehyde

ในการผลิตสารให้กลิ่นควนได้ทำการเปรียบเทียบสารดูดซับกลิ่นควนทั้งหมด 17 ชนิด ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วเหลืองคัม แป้งข้าวโพด แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวเจ้า แป้งมันสำปะหลัง ข้าวโอ๊ตบด ผลิตภัณฑ์นมโปรตีนสูง 60% เกล็ดขนมปัง น้ำตาลไอส์ซิ่ง คริมเทียม น้ำตาลคี-กลูโคส แป้งข้าวกล้อง ข้าวอบแห้ง รำข้าว isolated soy protein และ isolated soy protein with bacon flavor โดยใช้ก้ามมะพร้าวเป็นแหล่งกำเนิดควน จากนั้นนำสารดูดซับกลิ่นควนที่ได้มาเก็บที่อุณหภูมิ 2 ระดับคือ 37 และ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน พบว่าสารดูดซับกลิ่นควนที่

เหมาะสมคือ ข้าวโอ๊ตบด ถั่วเหลือง isolated soy protein with bacon flavor ครีมเทียม ถั่วเหลือง ต้ม isolated soy protein และรำข้าว โดยอุณหภูมิที่เก็บรักษาที่เหมาะสมคือ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นเปรียบเทียบระยะเวลาการรมควันที่เวลา 30 45 และ 60 นาที โดยใช้สารดูดซับกลิ่นควันทั้ง 7 ชนิดดังกล่าว พบว่าสารที่เก็บกลิ่นควันได้ชัดเจนได้แก่ isolated soy protein รมควันนาน 30 นาที และครีมเทียม รมควันนาน 60 นาที จากนั้นนำสารให้กลิ่นรสเนื้อที่ได้จากการทำปฏิกิริยาเมลลาร์ด ระหว่างของเหลวที่ได้จากการหมักน้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30% กับน้ำตาลแลคโทส และสารให้กลิ่น ควันจาก isolated soy protein มาใช้ในการผลิตเบคอนเทียมโดยใช้ถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบหลัก ปรากฏได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสและลักษณะปรากฏที่ดี คาดว่าน่าจะเป็นที่ยอมรับและสามารถนำไป บริโภคหรือประยุกต์ใช้ในอาหารต่างๆ ได้

<b>Thesis Title</b>	Production of Smoked Meat Flavor from Soybean
<b>Student</b>	Miss Isriyaporn Choonhapase
<b>Student ID.</b>	42065205
<b>Degree</b>	Master of Science
<b>Program</b>	Biotechnology
<b>Year</b>	2003
<b>Thesis Advisor</b>	Assistant Professor Ream Techasoponmani

### ABSTRACT

This research study aims to produce meat flavor from soybean by using *Aspergillus oryzae* and *Bacillus natto* to hydrolyze soybean for producing amino acids. Maillard reaction was carried out by interaction between amino acids and various sugars. In the first step of soybean hydrolysis by microorganism, koji was prepared by using cooked soybean mixed with spore of *A. oryzae* and incubated at 28°C for 72 hours. The koji was used for second fermentation by comparing four different ingredients such as water, 30% soy milk, 30% soy milk with *B. natto* added (without incubation) and 30% soy milk with *B. natto* (24-hour incubation). Supernatant fluid obtained from the enzymatic hydrolysis was further mixed with five different sugars, sucrose, glucose, maltose, lactose and fructose and heated at 95°C for 30 minutes in order to obtain Maillard reaction. The products of the Maillard reaction were analyzed by using technique of gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. The results showed that meat flavor produced by using supernatant fluid from 30% soy milk to react with lactose was the best. A various of components in meat flavor was found. Those components were 4-methyl-3-penten-2-one, ethylbenzene, 1,4-dimethyl-benzene, 1,3-dimethyl-benzene, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-phenol, pyrrolo[1,2-a]piperazine-3,6-dione, pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione and benzaldehyde.

In the production of smoked flavor, seventeen encapsulating agents such as soybean, cooked soybean, corn starch, sticky rice starch, rice starch, tapioca starch, milled oat rice, 60% high protein milk, bread flake, icing sugar, imitated cream, D-glucose, brown rice flour, dried rice, rice fiber, isolated soy protein and isolated soy protein with bacon flavor were compared by using coconut husk as a source of smoke. All encapsulating agents were stored at 37 and 4°C for 30 days. The results showed that milled oat rice, soybean, isolated soy protein with bacon

flavors, imitated cream, cooked soybean, isolated soy protein and fiber stored at 37°C were the suitable smoked encapsulating agents; when compared the periods of smoking for 30, 45 and 60 minutes by using those encapsulating agents, the great encapsulating agents were isolated soy protein, smoked for 30 minutes, and imitated cream smoked for 60 minutes. The meat flavor from maillard reaction of supernatant fluid from 30% soy milk and lactose, and smoked flavor from isolated soy protein were used to produce imitated bacon by using soybean as the main raw material. The product obtained had a good flavor and found to be fairly acceptable which could be applied to use in various foods.

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างดี ด้วยคำแนะนำและคำปรึกษาของ ผศ.ดร.เรียม เตชะ โสภณมณี ซึ่งเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์จากท่าน และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่ง

ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกๆเรื่องและให้กำลังใจมา โดยตลอด

ขอขอบพระคุณ รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล ภาควิชาเคมี ที่ให้คำปรึกษาและความรู้ในการ วิเคราะห์ทางเคมี ซึ่งมีส่วนช่วยทำให้ผู้วิจัยเข้าใจในวิธีและหลักการที่ถูกต้อง

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ไสยวิชญ์ วรวินิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ช่วยเหลือแก้ไขและให้คำแนะนำในบางจุดที่ผู้วิจัยคิดปัญหาบางอย่าง ซึ่งมีส่วนช่วยทำให้ผู้วิจัยเข้าใจในปัญหานั้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต ที่ให้คำแนะนำ ปรึกษาในส่วนที่ผู้วิจัยเกิดปัญหาและชี้แจงแนวทางที่ถูกต้อง

ขอขอบคุณ คุณศิริชัย โหมยิตารัตน์, คุณประดัด มีสวัสดิ์ และคุณสุชฎทัย วงศ์สุบิน เจ้าหน้าที่หน่วยเครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้คำปรึกษาและความรู้ในการ ใช้เครื่องมือที่ถูกต้อง

ขอขอบคุณ คุณประเสริฐวิทย์ แพงคำ ที่ให้คำปรึกษาเรื่องเครื่องมือและช่วยซ่อมแซม เครื่องมือจนใช้งานได้เป็นปกติ

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

อิสริยาภรณ์ ชุณหเพสย์

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	X
สารบัญรูป.....	XI
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ถั่วเหลือง.....	4
2.1.1 ส่วนประกอบทางเคมีของถั่วเหลือง.....	4
2.2 นัตโด.....	8
2.2.1 กล้าเชื้อ <i>Bacillus natto</i> .....	9
2.2.2 กล้าเชื้อ <i>Aspergillus oryzae</i> .....	11
2.3 ปฏิกริยาเมลลาร์ด.....	12
2.3.1 กลไกการเกิดปฏิกริยาเมลลาร์ด.....	12
2.4 ควันสำหรับรมอาหาร.....	14
2.4.1 องค์ประกอบทางเคมีของไม้.....	14
2.4.2 ปฏิกริยาความร้อนของไม้.....	20
2.4.3 กลิ่นรสจากควัน.....	28
2.5 การทำแห้งอาหาร.....	30
2.5.1 การอบแห้งแบบการระเหิด.....	31
2.5.2 การอบแห้งแบบพ่นฝอย.....	32

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.6 การวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ.....	35
2.6.1 ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิด โครมาโทกราฟี.....	35
2.6.2 แก๊สโครมาโทกราฟี.....	37
2.6.3 แมสสเปกโทรเมตรี.....	40
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....</b>	<b>44</b>
3.1 อุปกรณ์ วัสดุคิบและสารเคมี.....	44
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	45
3.2.1 การผลิตกลิ่นรสเนื่องจากถั่วเหลือง.....	45
3.2.1.1 การเตรียมสารละลายโปรตีน.....	45
1) การเตรียมถั่วเหลือง.....	45
3.2.1.2 การผลิตกลิ่นรสเนื่องจากถั่วเหลืองโดยการหมัก.....	45
1) การผลิตโคจิ.....	45
2) การวิเคราะห์หาชนิดของกรดอะมิโนที่เป็น ส่วนประกอบในน้ำหมัก.....	47
3) การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำหมัก.....	47
4) การทำแห้งสารให้กลิ่นรสเนื่องจากถั่วเหลือง.....	48
3.2.2 การผลิตสารให้กลิ่นควัน.....	48
3.2.2.1 ศึกษาการผลิตสารดูดซับกลิ่นควันจากวัสดุคิบต่างๆ และอุณหภูมิในการเก็บกลิ่นควัน.....	48
3.2.2.2 ศึกษาผลของระยะเวลาในการรมควันและการละลาย ต่อลักษณะของกลิ่นควัน.....	48
3.2.3 การประยุกต์สารให้กลิ่นรสเนื้อรมควันเพื่อผลิตเบคอนเทียม.....	49
<b>บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปราย.....</b>	<b>50</b>
4.1 การผลิตกลิ่นรสเนื่องจากถั่วเหลือง.....	50
4.1.1 ชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นส่วนประกอบในน้ำหมัก.....	50
4.1.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำหมัก.....	51

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.1.3 การทำแห้งสารให้กลิ่นรสเนื่องจากถั่วเหลือง.....	63
4.2 ผลการผลิตสารให้กลิ่นควัน.....	65
4.2.1 การศึกษาการผลิตสารดูดซับกลิ่นควันจากวัตถุดิบต่างๆและ อุณหภูมิในการเก็บกลิ่นควัน.....	65
4.2.2..ศึกษาผลของระยะเวลาในการรมควันและการละลาย ต่อลักษณะของกลิ่นควัน.....	70
4.2.3 การประยุกต์สารให้กลิ่นรสเนื้อมควันเพื่อผลิตเบคอนเทียม.....	73
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	74
บรรณานุกรม.....	76
ภาคผนวก ก. การหาลักษณะการเจริญของ <i>B.natto</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำถั่วเหลือง เป็นส่วนประกอบ.....	82
ภาคผนวก ข. ศึกษาแหล่งกำเนิดควัน.....	84
ภาคผนวก ค. สภาวะการวิเคราะห์เครื่องไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิด โครมาโทกราฟี.....	86
ภาคผนวก ง. โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์โดยเครื่อง ไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิด โครมาโทกราฟี. ....	90
ภาคผนวก จ. โครมาโทแกรมจากการวิเคราะห์กรดอะมิโน โดยเครื่อง ไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิด โครมาโทกราฟี.....	95
ภาคผนวก ฉ. สภาวะการวิเคราะห์เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี.....	101

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ข. โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์โดยเครื่อง แก๊สโครมาโทกราฟี .....	104
ภาคผนวก ซ. โครมาโทแกรมของสถานะต่างๆ ก่อนนำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ด.....	109
ภาคผนวก ฉ. โครมาโทแกรมของสถานะต่างๆ ที่นำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาล แต่ละชนิด .....	118
ภาคผนวก ช. สถานะการวิเคราะห์เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี.....	161
ภาคผนวก ฅ. โครมาโทแกรมของ AILACTOSE จากการวิเคราะห์เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี- แมสสเปกโตรเมทรี.....	165
ประวัติผู้เขียน.....	184

# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 ความต้องการของกลิ่นรสที่เพิ่มขึ้นทั้งโลกตั้งแต่ปี 1997-2000.....	1
2.1 ส่วนประกอบโดยประมาณของถั่วเหลืองและส่วนของถั่วเหลือง (โดยน้ำหนักแห้ง) .....	5
2.2 อิทธิพลของอุณหภูมิต่อการสลายตัวของไม้.....	20
2.3 อิทธิพลของอุณหภูมิต่อปริมาณของสารที่ได้จากการสลายตัวของเซลลูโลส.....	25
4.1 ปริมาณกรดอะมิโนที่วิเคราะห์จากเครื่องไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิด โครมาโทกราฟี.....	50
4.2 ค่ารีเทนชันไทม์ของสภาวะต่างๆ ที่วัดได้จากเครื่องแก๊ส โครมาโทกราฟี.....	52
4.3 ค่ารีเทนชันไทม์ของสภาวะ X1 นำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลชนิดต่างๆ .....	53
4.4 ค่ารีเทนชันไทม์ของสภาวะ A1 นำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลชนิดต่างๆ.....	53
4.5 ค่ารีเทนชันไทม์ของสภาวะ A2 นำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลชนิดต่างๆ.....	54
4.6 ค่ารีเทนชันไทม์ของสภาวะ B1 นำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลชนิดต่างๆ.....	54
4.7 ค่ารีเทนชันไทม์ของสภาวะ B2 นำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลชนิดต่างๆ.....	55
4.8 ค่ารีเทนชันไทม์ของสภาวะ C1 นำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลชนิดต่างๆ.....	55
4.9 ค่ารีเทนชันไทม์ของสภาวะ C2 นำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลชนิดต่างๆ.....	56
4.10 ค่ารีเทนชันไทม์ของสารมาตรฐานในการวิเคราะห์กลิ่นรสเนื้อ.....	56
4.11 ผลของการวิเคราะห์และการแปรความหมายของข้อมูลที่ได้.....	63
4.12 ผลของอุณหภูมิในการเก็บกลิ่นควันต่อลักษณะของกลิ่นควัน.....	66
4.13 ผลของเวลาในการรมควันต่อลักษณะของกลิ่นควัน.....	71
4.14 การทดสอบการละลายและกลิ่นของควัน.....	73

# สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 ส่วนแบ่งทางการตลาดของกลิ่นรส.....	2
2.1 กระบวนการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด.....	14
2.2 องค์ประกอบของไม้.....	15
2.3 สูตรโครงสร้างของเซลลูโลส.....	16
2.4 โครงสร้างของ 4-โอ-เมทิลกลูคูโรโนไซเลน.....	17
2.5 กลุ่มโครงสร้างที่เชื่อมต่อกลิทิน.....	18
2.6 โครงสร้างของลิทิน.....	19
2.7 สารประกอบที่ได้จากการสลายตัวด้วยความร้อนของเฮมิเซลลูโลส.....	21
2.8 กลไกของกระบวนการของสารประกอบคาร์บอนิล.....	22
2.9 ปฏิกิริยาการสร้างและสลายตัวของเซลลูโลสไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้น จากการให้ความร้อนในสภาวะที่มีอากาศ.....	23
2 10 น้ำตาลแอนไฮโดรที่ได้จากการไพโรไลซิสของเซลลูโลส.....	24
2.11 การไพโรไลซิสและการสันดาปของเซลลูโลส.....	26
2.12 การสลายตัวด้วยความร้อนของเฟอร์รูติก.....	27
2.13 แผนผังเครื่องอบแห้งแบบระเหิด.....	32
2.14 เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยที่มีกระแสไหลสวนทางกัน.....	33
2.15 เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยที่มีกระแสไหลตามกัน.....	33
2.16 เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยที่มีกระแสไหลผสมกัน.....	34
2.17 เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยที่มีการไหลขนานกัน.....	34
2.18 ส่วนประกอบของเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิวิดโครมาโทกราฟี.....	35
2.19 ส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี.....	37
2.20 ส่วนประกอบของเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์.....	41
2.21 เครื่องแยกโมเลกุลที่ใช้ต่อเข้ากับเครื่อง GC-MS.....	42
3.1 ขั้นตอนการผลิตกลิ่นรสเนื้อจากถั่วเหลือง.....	47
3.2 ขั้นตอนการผลิตเบคอนเทียม.....	49
4.1 โครมาโทแกรมของ A1 ทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลแลคโทส.....	57
4.2 โครมาโทแกรมจากการทำ spiking test กับสารมาตรฐาน 2-methyl-1,3-dithiolane.....	58

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.3 เมสสเปกตรัมของเบนซาลดีไฮด์.....	59
4.4 เมสสเปกตรัมของ pyrrolo[1,2-a]piperazine-3,6-dione.....	60
4.5 เมสสเปกตรัมของ pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione.....	60
4.6 เมสสเปกตรัมของ 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-phenol.....	61
4.7 เมสสเปกตรัมของ ethylbenzene.....	62
4.8 เมสสเปกตรัมของ 1,4-dimethyl-benzene.....	62
4.9 เมสสเปกตรัมของ 1,3-dimethyl-benzene.....	63
4.10 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง .....	64
4.11 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำแห้งแบบฉีดพ่นเป็นผง โดยใช้น้ำหมักต่อ มาลโทเด็กซ์ทริน 2 : 1 และ 8 : 1.....	64
4.12 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำแห้งแบบฉีดพ่นเป็นผง โดยใช้น้ำหมักต่อ ครีมเทียม 2 : 1 และ 8 : 1.....	65
4.13 ผลิตภัณฑ์เบคอนเทียม.....	73

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาของงานวิจัย

สารให้กลิ่นรส (Flavor) หมายถึงสารที่ทำให้เกิดความรู้สึกทั้งหมดทางประสาทสัมผัส ได้แก่ กลิ่น รสชาติ และรสสัมผัส หน้าที่ของสารให้กลิ่นรสมีสามประการคือ ประการแรกทำให้อาหารที่มีกลิ่นรสดีมีกลิ่นรสชัดเจนขึ้น ประการที่สองทำให้เกิดการทดแทนกลิ่นรสที่สูญเสียไปจากกระบวนการผลิต และประการที่สามคือช่วยในการปรับปรุงกลิ่นรสในอาหารให้มีความสมดุลย์และเข้มข้นขึ้น ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการปรุงแต่งสารให้กลิ่นรสในอาหารจึงมีความสำคัญยิ่งในอุตสาหกรรมอาหาร ทั้งนี้ก็เพราะสารให้กลิ่นรสจะช่วยเพิ่มความหลากหลายในรสชาติเพื่อให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคกว้างขวางขึ้น อีกทั้งยังเป็นการลดต้นทุนการผลิตทดแทนวัตถุดิบที่มีราคาสูงแต่ขาดความเข้มข้นในคุณสมบัติด้านรสและกลิ่น ตลอดจนช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีการพัฒนารูปแบบที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น สารให้กลิ่นรสจึงเป็นที่ต้องการในอุตสาหกรรมอาหารทวีมากขึ้นในแต่ละปี ดังตารางที่ 1.1 ส่งผลให้อุตสาหกรรมผลิตสารให้กลิ่นรสเจริญรุดหน้าอย่างรวดเร็วทั้งในด้านกำลังผลิตและการพัฒนาทางเทคโนโลยี

ตารางที่ 1.1 ความต้องการของกลิ่นรสที่เพิ่มขึ้นทั้งโลกตั้งแต่ปี 1997-2000

ผลิตภัณฑ์	ค.ศ. 1997 Billion of US Dollars (ส่วนแบ่ง)	ค.ศ. 2000 Billion of US Dollars (ส่วนแบ่ง)	อัตราการเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยปี 2000/1997
Fragrance compounds	2,350 (33.6%)	2,800 (32.6%)	+6.0%
Flavor compounds	2,300 (32.8%)	2,950 (34.4%)	+8.5%
Aroma chemicals	1,250 (17.9%)	1,500 (17.4%)	+6.5%
Essential oils and other natural products	1,100 (15.7%)	1,350 (15.7%)	+7.5%
World Total	7,000 (100.0%)	8,600 (100.0%)	+7.0%

ที่มา : Unger (2001)

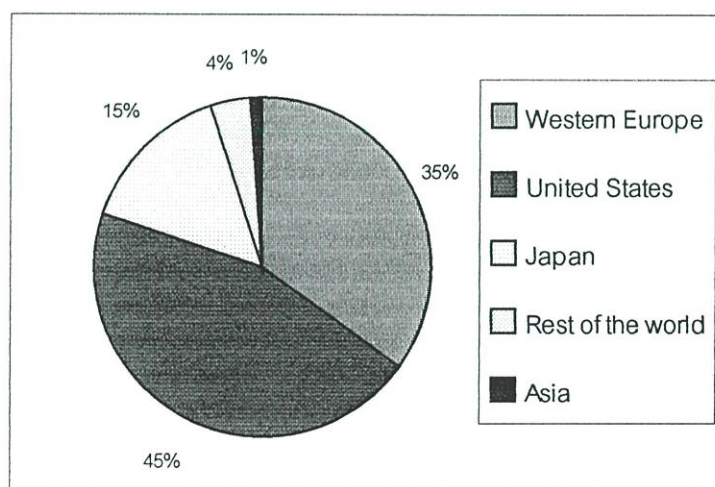
การผลิตสารให้กลิ่นรมีปัจจัยที่สำคัญ 2 ประการคือ วัตถุดิบ และเทคโนโลยี วัตถุดิบ หมายถึงสิ่งที่นำมาใช้เริ่มต้นเพื่อการแปรรูปให้เป็นสารให้กลิ่นรส เช่น พืช ผัก ผลไม้ เนื้อสัตว์ จุลินทรีย์ ฯลฯ ส่วนเทคโนโลยีหมายถึงวิธีการตลอดจนความรู้ที่นำมาใช้เพื่อให้เกิดกระบวนการผลิตและการแปรรูปวัตถุดิบให้เป็นสารให้กลิ่นรสที่เหมาะสม แบ่งออกเป็น 3 วิธี คือ

วิธีแรก เป็นการผลิตสารให้กลิ่นรสจากวัตถุดิบธรรมชาติโดยตรง สารให้กลิ่นรสจากการผลิตเรียกว่า สารให้กลิ่นรสธรรมชาติ (Natural flavor)

วิธีที่สอง เป็นการผลิตโดยการสังเคราะห์สารขึ้นมาจากเลียนแบบธรรมชาติ สารให้กลิ่นรสประเภทนี้ เรียกว่า สารให้กลิ่นรสสังเคราะห์ (Synthetic flavor)

วิธีที่สาม เป็นการนำวัตถุดิบมาแปรรูปโดยอาศัยขั้นตอนที่สกัดจับซ่อนหลายขั้นตอนสารให้กลิ่นรสในกลุ่มนี้ เรียกว่า สารให้กลิ่นรสกระบวนการ (Processed flavor) ซึ่งในการผลิตอาจแบ่งได้อีกเป็น 2 กระบวนการ คือ การใช้กระบวนการเป็นปฏิกิริยาเคมี หรือการใช้ปฏิกิริยาชีวภาพ (Bioreaction)

ประเทศไทยจัดได้ว่าเป็นประเทศเกษตรกรรม มีสภาวะคล้ายคลึงประเทศแถบเอเชียอีกหลายประเทศ คือมีวัตถุดิบธรรมชาติอุดมสมบูรณ์แต่ขาดความรู้ที่เป็นเทคโนโลยีในการผลิต ประเทศเหล่านี้จึงจำเป็นต้องพึ่งพาการนำเข้าสารให้กลิ่นรสจากต่างประเทศมาโดยตลอด ในขณะที่อีกหลายประเทศที่มีเทคโนโลยี สามารถผลิตสารให้กลิ่นรส และทำรายได้ต่อปีมีมูลค่ามหาศาล ดังรูปที่ 1.1 เมื่อเป็นเช่นนี้จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่สมควรจัดการศึกษาค้นคว้าเพื่อให้ได้ความรู้อันจะนำมาสู่การสร้างเทคโนโลยีการผลิตสารให้กลิ่นรสในอนาคต



ที่มา : Unger (2001)

รูปที่ 1.1 ส่วนแบ่งทางการตลาดของกลิ่นรส

โครงการนี้จึงมีจุดประสงค์ที่จะทำการศึกษาค้นคว้าวิธีการผลิตสารให้กลิ่นรสเนื้อจากถั่วเหลือง ด้วยเหตุผล 3 ประการคือ ประการแรก สารให้กลิ่นรสเนื้อมีการใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหารโดยทั่วไป รวมทั้งบะหมี่ ข้าวเกรียบ ชุป ฯลฯ ทำให้เกิดประโยชน์ค้ำค่าในการศึกษาทดลอง ประการที่สอง วัตถุดิบที่ใช้ซึ่งได้แก่ถั่วเหลืองนั้นเป็นพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการ อีกทั้งสามารถทำการเพาะปลูกได้ในประเทศ นับได้ว่าเป็นการเพิ่มค่าให้แก่ผลิตผลทางการเกษตรที่ดี และ ประการที่สาม คือ เป็นการสร้างหรือ เป็นแนวทางการสร้างเทคโนโลยีที่เป็นไปได้

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อทำการศึกษาหาวิธีการผลิตสารให้กลิ่นรสเนื้อจากถั่วเหลือง
- 1.2.2 เพื่อผลิตสารให้กลิ่นควน และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการรมควัน
- 1.2.3 เพื่อประยุกต์ใช้สารให้กลิ่นรสเนื้อรมควันในการผลิตเบคอนเทียม

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.3.1 ศึกษาการผลิตสารปรุงรสกลิ่นเนื้อสัตว์จากถั่วเหลืองซึ่งหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์และปฏิกิริยาเมลลาร์ดพร้อมสภาพที่เหมาะสมเพื่อจะได้สารปรุงรสเนื้อกลิ่นควน
- 1.3.2 เป็นการศึกษาการผลิตสารให้กลิ่นควนโดยการศึกษาวัตถุดิบสภาพแวดล้อมที่ทำให้เกิดการดูดซับกลิ่นควนได้ดีที่สุด

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 เป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์สารปรุงแต่งรสกลิ่น โดยใช้กระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพและเคมีมาประยุกต์ใช้
- 1.4.2 เพื่อช่วยลดการนำเข้าสารปรุงกลิ่นรสจากต่างประเทศ
- 1.4.3 เป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่ทรัพยากรภายในประเทศ เพราะเป็นแนวทางในเชิงพาณิชย์ให้มีการใช้ทรัพยากรภายในประเทศให้เกิดประโยชน์สูงสุด

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Glycine Max (L) Merrill* ซึ่งเป็นพืชที่อยู่ในตระกูลของ Leguminosae มี subfamily *Papilionoideae* ซึ่งเป็นพืชตระกูลถั่วอันเป็นที่รู้จักกันดีโดยเฉพาะเป็นพืชดั้งเดิมของคนในแถบเอเชียในจีน เกาหลี ญี่ปุ่น โดยที่ได้มีการปลูกและนำมาใช้บริโภคเป็นอาหารพื้นเมืองนานาชนิด ลักษณะของถั่วเหลืองนั้นมีขนาดน้ำหนักเมล็ดคราว 0.10-0.20 กรัม สีของเปลือกมีอยู่ด้วยกันหลายสี เช่น สีเหลืองใช้ในอุตสาหกรรมทำอาหารคนโดยทั่วไป สีดำใช้ในอุตสาหกรรมโรงงานสกัดน้ำมัน ส่วนสีเขียวและสีน้ำตาลไม่นิยมนำมาใช้กันมากนัก (Smith and Circle, 1972)

#### 2.1.1 ส่วนประกอบทางเคมีของถั่วเหลือง

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าเมล็ดถั่วเหลืองเป็นแหล่งของโปรตีนและไขมันจากพืชที่มากที่สุดแหล่งหนึ่งปริมาณโดยประมาณของสารอาหารดังแสดงในตารางที่ 2.1 จากตารางพบว่าในถั่วเหลือง โดยเฉพาะส่วนของใบเลี้ยง (ซึ่งมีเป็นร้อยละ 90 เปลือกร้อยละ 7 และยอดอ่อนร้อยละ 3) มีปริมาณโปรตีนและไขมันรวมกันอยู่ในราวร้อยละ 60 ของน้ำหนักทั้งหมด และร้อยละ 30 เป็นพวกคาร์โบไฮเดรตซึ่งรวมถึงพวกน้ำตาลที่มีขนาดโมเลกุลต่างๆ คือ สตาชิโอส (starchyose) มีประมาณร้อยละ 8.8 น้ำตาลราฟิโนส (raffinose) มีประมาณร้อยละ 1.1 และน้ำตาลซูโครสมีประมาณร้อยละ 5.0 ส่วนที่เหลือเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ยังมีสารอาหารประเภทฟอสฟาไทด์ (phosphatides) สเตอรอล (sterols) เถ้าซึ่งจัดเป็นพวกแร่ธาตุและวิตามิน เป็นต้น (สมชาย, 2533)

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบโดยประมาณของถั่วเหลืองและส่วนของถั่วเหลือง (ร้อยละ โดยน้ำหนักแห้ง)

ถั่วเหลืองและ ส่วนของถั่ว เหลือง	โปรตีน (%)	ไขมัน (%)	คาร์โบไฮเดรต (%)	เถ้า (%)
ถั่วเหลืองทั้งเมล็ด	40	21	34	4.9
ใบเลี้ยง	43	23	29	5.0
เปลือกถั่ว	8.8	1	86	4.3
ยอดอ่อน	41	11	43	4.4

ที่มา : สมชาย (2533)

### 2.1.1.1 โปรตีน

โดยทั่วไปแล้วเมื่อเราบริโภคถั่วเหลืองในทางอาหารก็มักจะคิดถึงสารอาหารโปรตีนที่เราจะได้จากถั่วเหลืองเป็นลำดับแรกทั้งนี้เพราะโปรตีนเป็นสารอาหารหลักในถั่วเหลืองด้วยเหตุผลที่ว่าโปรตีนหลายชนิดรวมทั้งโปรตีนถั่วเหลืองนั้นจะไวต่อการเปลี่ยนแปลงโดยสภาวะการต่างๆทั้งทางกายภาพเช่น แรงอัด ความร้อน และทางเคมีเช่น สภาวะความเป็นกรดด่าง ปริมาณอนุมูลโลหะหรือสารเคมีอื่นๆ เป็นต้น ยังผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเช่น ทำให้การละลายตัวลดลง ขนาดของโมเลกุลของโปรตีนเปลี่ยนไปและมีความหนืด เป็นต้น

โปรตีนในถั่วเหลืองจะสะสมอยู่ในเซลล์ของเนื้อถั่วเหลืองโดยสะสมกันเป็นที่เรียกว่าโปรตีนบอดี (protein body) หรือสตอเรจโปรตีน (storage proteins) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 2-20 ไมครอน แต่ส่วนใหญ่มีขนาด 5-8 ไมครอน และมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงระหว่าง 200,000-600,000 ในสภาวะธรรมชาติโมเลกุลของโปรตีนขนาดใหญ่เหล่านี้ยังสามารถจับตัวกันเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ได้อีกด้วยการเชื่อมกันของไดซัลไฟด์ลิงเกจพอลิเมอร์ (disulfide linkage polymer) และโปรตีนที่แยกมาได้เพื่อทำเป็นผลิตภัณฑ์นั้นจะเป็นชนิดของโปรตีนที่เปลี่ยนสภาพโดยการเกิดปฏิกิริยาที่ซับซ้อนรวมกันอยู่โดยที่อย่างน้อย 7 ชนิดของโปรตีนจะจับตัวกันเป็นหน่วยย่อยซึ่งอาจถูกทำให้โมเลกุลเปลี่ยนขนาดไปโดยสภาวะต่างๆ ในส่วนของโปรตีนบอดีนั้นโปรตีนส่วนใหญ่เป็นโปรตีนที่ชื่อว่าโกลบูลิน (globulin) ซึ่งเป็นโปรตีนที่เราสามารถแยกออกมาใช้ได้มีคุณสมบัติเด่นชัดอันหนึ่งคือจะไม่ละลายน้ำในสภาวะที่มีกรดค้างอยู่ในช่วงที่เรียกว่า จุดไอโซอิเล็กทริก (isoelectric points) ซึ่งเป็นจุดที่มีค่ากรดค้างประมาณ 4.2-4.6 แต่จะยังละลายได้ในกรณีที่เติมเกลือของโซเดียมหรือแคลเซียมคลอไรด์ลงไป ถ้าค่ากรดค้างสูงหรือต่ำกว่าจุดไอโซอิเล็กทริกโกลบูลินก็จะยังคงสามารถละลายได้ในสภาวะที่ไม่มีเกลืออยู่ โปรตีนถั่วหรือโกลบูลินนี้สามารถที่จะเปลี่ยนคุณสมบัติการไม่ละลายน้ำที่จุดไอโซอิเล็กทริกได้โดยการใช้เอนไซม์เปปซิน (pepsin)

เอนไซม์นี้จะตัดขนาดของ โมเลกุลเล็กลงซึ่งในการทำเป็น โกลบูลินที่ดัดแปลง (modified globulin) ก็จะมีประโยชน์ในการนำไปใช้ในอาหารที่มีกรดรวมอยู่ด้วย เป็นต้น เนื่องจากโปรตีนในถั่วเหลือง เป็นโปรตีนที่ง่ายต่อการเปลี่ยนแปลง ได้ชนิดหนึ่ง ที่น่าสนใจอยู่มากในคุณสมบัติด้านนี้คือสาเหตุที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน (denature protein) ก็คือผลจากการใช้ความร้อนและผลจากที่ค่าความเป็นกรดต่างเปลี่ยนแปลงที่รุนแรง (ประเทืองศรี และ วิมลศรี, 2523)

จากการวิเคราะห์ของนักวิจัยหลายท่านพบว่าถั่วเหลืองมีสารไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein nitrogen) อยู่บ้างเล็กน้อยอันได้แก่ เปปไทด์และกรดอะมิโนเกิดขึ้นจากการสังเคราะห์เป็นโปรตีนที่ไม่สมบูรณ์หรือเกิดจากการสลายตัวของโปรตีน จากผลการวิเคราะห์ของสารที่ไม่ใช่โปรตีนจากถั่วเหลืองภายหลังจากสกัดเอาส่วนที่เป็นโปรตีนออกไปหมดแล้ว (protein free extract of mature soybean) พบว่ามีปริมาณของสารที่ไม่ใช่โปรตีนอยู่ส่วนหนึ่งอันได้แก่ อะดีนีน (adenine) อาร์จินีน (arginine) โคลีน (choline) ไกลซีน (glycine) ไทรโกเนลลีน (trigonelline) กัวนิติน (guanidine) ทริปโตฟาน (tryptophan) และคานาวานีน (canavanine) เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบสารอื่นๆเช่น กลูตาไทโอน (glutathione) ควาเทอร์นารีเอมีน (quaternary amines) และสารประกอบที่มีอินทรีย์ไนโตรเจนอื่นๆอีกด้วย ปริมาณของสารไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนไม่มีค่าการเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากอิทธิพลของพันธุ์ถั่ว กล่าวคือค่าของไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนจะยังคงเดิมไม่ว่าจะเป็นถั่วพันธุ์ที่ให้โปรตีนสูงหรือให้โปรตีนต่ำแต่ค่าของไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนจะมีค่าเปลี่ยนแปลงไปอันเนื่องมาจากขั้นตอนการปลูกถั่วได้รับความเสียหายจากสภาวะอากาศ เช่น อากาศเย็นหรือร้อนจนเกินไป เป็นต้น อันเป็นผลที่มีต่อความเหมาะสมในการสุกของเมล็ดและอีกช่วงหนึ่งที่ค่าของไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนมีค่าสูงขึ้นคือจากการเก็บเมล็ดถั่วเหลืองที่มีความชื้นสูงไว้เป็นเวลานานในสภาวะที่ไม่เหมาะสม (Wolf and Cowan, 1977)

#### 2.1.1.2 ไขมัน

ไขมันเป็นส่วนประกอบที่มีปริมาณรองลงมาจากโปรตีนที่มีในถั่วเหลือง การสะสมปริมาณของไขมันในถั่วเหลืองและปริมาณด้านส่วนประกอบของกรดไขมันในไขมันถั่วเหลืองเป็นผลมาจากคุณสมบัติของพันธุ์ถั่วเหลืองนั้นๆ และสภาพแวดล้อมในช่วงของการสะสมไขมันในเมล็ด ปริมาณของกรดไขมันที่พบในถั่วเหลืองจะประกอบด้วยกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวและมักจะมีอัตราส่วนที่คงที่คือประมาณ 15 ต่อ 85 ในกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวนี้พบว่ามีไขมันชนิดที่ดีและมีประโยชน์ต่อการบริโภค (essential fatty acids) มีอยู่ในปริมาณค่อนข้างสูงคือประมาณร้อยละ 30-40 ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวโดยเฉพาะเป็นพวกไลโนเลนิก (linolenic) และกรดไลโนเลนิก (linolenic acid) เป็นต้น ในส่วนของไขมันที่ไม่อิ่มตัวซึ่งมีสูงถึงร้อยละ 85 โดยประมาณนั้นก็จะประกอบในด้านกรดไขมันที่มีคาร์บอนจำนวน 18 ตัวอยู่และมีจำนวนของพันธะคู่แตกต่างกันออกไป และจากการที่มีพันธะคู่อยู่มากจึงมีผลต่อการเกิดออกซิเดชัน (oxidation) ได้ง่ายอันจะยังผลให้เกิดผลิตภัณฑ์ในลักษณะที่มีกลิ่นเหม็นหืนดังที่เราพบกันอยู่โดยทั่วไปจากปฏิกิริยาออกซิเด

ชั้นนี้จึงนำมาใช้ในการควบคุมเพื่อป้องกันในช่วงของการเก็บถั่วเหลืองในรูปของเมล็ดหรือน้ำมัน ถั่วเหลืองหรือแม้กระทั่งผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง โดยที่จะต้องกำหนดคุณสมบัติในการเก็บ การกำจัด โลหะหนักโดยเฉพาะทองแดงและปริมาณของน้ำ เป็นต้น

ในไขมันถั่วเหลืองยังประกอบไปด้วยสารหลักอีกชนิดคือสารที่เรียกว่าฟอสโฟไลปิด (phospholipids) หรือฟอสฟาไทด์ (phosphatides) ซึ่งเป็นสารที่คล้ายไขมัน (fat like substances) โดยมีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นส่วนประกอบอยู่ด้วยโดยที่ฟอสฟอรัสอยู่ในรูปของกรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) หรืออินโนซิทอล (inositol) ในโมเลกุลของไขมัน และไนโตรเจนอยู่ในรูปของเลซิทีน (lecithin) หรือเซฟฟาลิน (cephalin) คุณสมบัติของฟอสโฟไลปิดนี้จะมีผลในด้านของการอิมัลซิไฟคิง (emulsifying) ที่ดีโดยที่ตัวมันเองละลายได้ในแอลกอฮอล์แต่ไม่ละลายในอะซิโตน (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, 2527)

### 2.1.1.3 คาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตที่พบในถั่วเหลืองอาจแบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ ประเภทที่ 1 คาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ (water soluble carbohydrates) ส่วนใหญ่แล้วก็จะได้แก่น้ำตาลต่างๆ เช่น ไคแซคคาไรด์ ได้แก่ ซูโครส ไตรแซคคาไรด์ ได้แก่ ราฟฟิโนส เททราแซคคาไรด์ ได้แก่ สตาคิโอส (stachyose) ส่วนเพนทาแซคคาไรด์ ได้แก่ เวอร์บาสโคส (verbascose) ที่พบน้อยมากแต่จะพบในรูปของแป้งในถั่วเหลืองเมล็ดแก่ ในเมล็ดถั่วเหลืองที่ยังอ่อนจะพบน้ำตาลในรูปของโมโนแซคคาไรด์คือกลูโคส และน้ำตาลรีดิวซิงค์อื่นๆอยู่ในปริมาณพอควร แต่จะลดน้อยลงจนไม่มีในสภาพที่ถั่วมีความแก่พอดี ประเภทที่ 2 คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ละลายน้ำ (water insoluble carbohydrates of cotyledons) คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ละลายน้ำในส่วนที่อยู่ในใบเลี้ยงส่วนใหญ่ก็จะได้แก่สารพวกที่มีโครงสร้างของโมเลกุลซับซ้อนคือน้ำตาลที่มีหลายโมเลกุลอันได้แก่พวกอะราบินแนน (arabinan) อะราบินโนกาแลคแตน (arabinogalactan) และอาจรวมไปถึงสารในกลุ่มของเพคติก (pectic) ด้วยปริมาณที่แน่นอนของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ละลายน้ำนี้ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดแต่ก็เชื่อกันว่ามีปริมาณไม่สูงนัก (Smith and Circle, 1972)

### 2.1.1.4 เถ้าและแร่ธาตุ

ปริมาณของเถ้าที่พบในถั่วเหลืองทั้งเมล็ดนั้นได้มีผู้วิเคราะห์เปรียบเทียบในปริมาณของชนิดของพันธุ์รวมทั้งผลจากสภาพการปลูกอื่นๆ พบว่ามีปริมาณของเถ้าที่พบไม่แตกต่างกันมากนักโดยมีอยู่ในช่วงร้อยละ 4.6-5.3 นอกจากนั้นยังพบว่าแร่ธาตุส่วนใหญ่ที่พบเป็นประเภทโปแตสเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม แคลเซียม โซเดียม และซัลเฟอร์ เป็นต้น ส่วนแร่ธาตุอื่นๆที่พบอยู่ในปริมาณน้อยมากได้แก่คลอไรด์ โบรอน แมงกานีส เหล็ก ทองแดง แบเรียม และสังกะสี เป็นต้น ฟอสฟอรัสที่พบอยู่ในถั่วเหลืองจะอยู่ในรูปของอนินทรีย์ฟอสฟอรัส (inorganic phosphorus) เช่น ไฟติน (phytin) ฟอสโฟไลปิดต่างๆ และกรดนิวคลีอิก เป็นต้น (Wanchai, 1977)

### 2.1.1.5 วิตามิน

โดยทั่วไปแล้วการบริโภคถั่วเหลืองจะเป็นการบริโภคพร้อมกับอาหารชนิดอื่นๆ และถั่วเหลืองก็ถือว่าเป็นแหล่งของวิตามินแหล่งหนึ่งของอาหารซึ่งอาจมีไม่ครบถ้วนตามความต้องการของร่างกาย ในส่วนของวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน (fat soluble vitamins) พบว่าถั่วเหลืองมีปริมาณของเบต้าแคโรทีนอยู่ในเมล็ดถั่วเหลืองอ่อนอยู่ 2-7 ไมโครกรัมต่อกรัม แต่ถ้าถั่วเหลืองแก่ปริมาณจะลดลงเหลืออยู่เพียง 0.2-2.4 ไมโครกรัมต่อกรัม ส่วนวิตามินอีพบว่ามีอยู่ในน้ำมันถั่วเหลืองในปริมาณ 1.4 ไมโครกรัมต่อกรัม การนำเอาถั่วเหลืองมาทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักดองต่างๆ เช่น เต้าเจี้ยว เทมเป้ เป็นต้น จะมีสารต่อต้านการออกซิเดชันเกิดขึ้นซึ่งจะป้องกันการเปลี่ยนแปลงของวิตามินอีในผลิตภัณฑ์ (Wanchai, 1977)

### 2.1.1.6 ส่วนประกอบย่อยของสารอินทรีย์อื่นๆ

สารประกอบทางอินทรีย์ส่วนย่อยที่พบในถั่วเหลืองได้แก่กรดฟีนอลิก (phenolic acid) สารนี้พบได้ในพืชโดยทั่วไปและมีปริมาณไม่มากนัก บทบาทของสารฟีนอลิกชนิดนี้ในถั่วเหลืองจัดว่ามีความสำคัญอันหนึ่งโดยเป็นสารร่วมที่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นในแป้งถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองอื่นๆ ได้มีนักวิจัยหลายท่านพยายามสกัดสารนี้และแยกเพื่อทำให้บริสุทธิ์โดยสกัดมาจากส่วนของแป้งถั่วเหลืองที่ปราศจากไขมัน พบว่าสารละลายนี้มักมีกลิ่นที่เรียกว่าฟีนอลิกไลค์ (phenolic like) ที่รุนแรงมากซึ่งจากการแยกส่วนประกอบของสารที่บริสุทธิ์ก็พบว่า เป็นสารพวกต่างๆ คือ ไซริงกิก (syringic) วานิลลิก (vanillic) เฟอรูลิก (ferulic) เจนทิลิก (gentisic) ซาลิไซลิก (salicylic) เป็นต้น สารที่ให้กลิ่นอื่นๆ ส่วนใหญ่แล้วจะเกี่ยวข้องกับสารที่ให้กลิ่นในถั่วเหลืองและสารที่เกิดขึ้นในช่วงของการแปรรูปถั่วเหลืองหรือเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ธรรมชาติ เช่น ไลโปซิเดส (lipoxidase) และยากต่อการแยกออกมาเป็นสารที่แน่ชัดนอกจากนั้นยังมีสารที่เป็นส่วนประกอบที่เล็กน้อยที่อาจรวมตัวกับ โปรตีนหรือสารอื่นๆ ในถั่วเหลืองอีกด้วย (Smith and Circle, 1972)

## 2.2 นัตโต (Natto)

นัตโตเป็นอาหารหมักพื้นบ้านของชาวญี่ปุ่น โดยอาศัยการหมักถั่วเหลืองขึ้นมาแต่ตามปกติแล้วการหมักถั่วเหลืองมักจะใช้เชื้อราเป็นส่วนใหญ่ แต่ในกรณีของนัตโตอาศัยการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus natto* (มีลักษณะคล้าย *B.subtilis*) ดังนั้นลักษณะของนัตโตที่ได้รับหลังจากการหมักจึงมีกลิ่นและรสชาติที่เฉพาะตัว โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลิ่นเหม็นอับ (musty odor) ของ *B.natto* นั่นเอง นอกจากนี้แล้วเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ยังสามารถผลิตเมือกซึ่งเป็นสารโพลีเมอร์ออกมา จึงทำให้ก้อนนัตโตมีเมือกอยู่ที่ผิวโดยรอบอีกด้วย การบริโภคนัตโตในญี่ปุ่นนิยมรับประทานร่วมกับซอสหรือซึอิกับข้าวเป็นอาหารเช้าหรืออาหารค่ำ

การทำนัตโศสามารถทำได้ง่ายและมักทำกันในระดับครัวเรือน โดยเริ่มจากนำถั่วเหลืองที่นึ่งให้สุกมาถ่ายเชื้อแบคทีเรียลงไป จากนั้นจึงนำไปห่อด้วยฟางข้าวและบ่มไว้ในตู้บ่มที่อุณหภูมิค่อนข้างอุ่น (40-43 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 1-2 วันก็จะได้นัตโศที่มีลักษณะต่างๆ ดังที่กล่าวข้างต้น การที่เราเลือกใช้ฟางข้าวห่อถั่วเหลืองไว้ในระหว่างการหมักนี้ฟางข้าวจะช่วยทำให้เชื้อแบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดีและยังให้กลิ่นของฟางข้าวออกมาซึ่งมีผู้บริโภคจำนวนมากที่ชอบกลิ่นนี้ นอกจากนี้แล้วฟางข้าวยังช่วยดูดซับกลิ่นของแอมโมเนียซึ่งเราไม่ต้องการออกไปด้วย (วารุณี และ รุ่งนภา, 2532)

## 2.2.1 กล้าเชื้อ *Bacillus natto*

### 2.2.1.1 จุลชีววิทยาของ *Bacillus natto*

เชื้อ *Bacillus natto* จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่สร้างเอนโดสปอร์ จัดอยู่ในตระกูล Bacillaceae และจีนัส *Bacillus* โดยเอนโดสปอร์เป็นพวกแอโรบิกจนถึงแฟคัลเททีฟแอโรบิก สปอร์เป็นพวกมิไซไฟด์ มีรูปร่างเป็นแท่ง อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตประมาณ 37 องศาเซลเซียส

### 2.2.1.2 ผลิตภัณฑ์นัตโศ

นัตโศ คือ ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมักของญี่ปุ่นซึ่งแบ่งออกเป็นสามชนิดได้แก่ อิโตชิกิ นัตโศ ยูกิวาริ นัตโศ และฮามานัตโศ นัตโศที่มีการผลิตและเป็นที่ยอมรับมากที่สุดได้แก่ อิโตชิกิ นัตโศ ซึ่งจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการหมักได้แก่ *Bacillus natto* (สายพันธุ์หนึ่งของ *B. subtilis*) การผลิตเริ่มโดยแช่ถั่วให้ชุ่มน้ำ นึ่งหรือต้มให้สุกเมื่อถั่วเย็นลงถึงประมาณ 45 องศาเซลเซียสใส่กล้า *Bacillus natto* ซึ่งอยู่ในรูปของสปอร์แบ่งบรรจุภาชนะเช่นกล่องหรือถุงพลาสติกขนาดประมาณ 50-100 กรัม เนื่องจากอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อนี้อยู่ระหว่าง 40-42 องศาเซลเซียส จึงต้องบ่มไว้ในตู้บ่มที่อุณหภูมิดังกล่าวประมาณ 18-20 ชั่วโมง แบคทีเรียจะเจริญและสร้างเมือกเหนียวซึ่งเป็นโพลีเปปไทด์ของกรดกลูตามิกและพอลิเมอร์ของฟรุกโทส ทำให้เมื่อดัดถ้วยคลุมไปด้วยเมือกเหนียวเหล่านี้ ชาวญี่ปุ่นบริโภคนัตโศกับข้าวหรือนำไปปรุงกับอาหารชนิดอื่น (นภา, 2534)

การหมักนัตโศได้เริ่มเปลี่ยนจากการใช้เชื้อจากธรรมชาติมาใช้กล้าเชื้อเมื่อประมาณ ค.ศ.1920 โดยได้มีการคัดเลือก *B.natto* สายพันธุ์ที่สามารถผลิตสารเมือกได้ดี นอกจากนี้ในปัจจุบันยังได้มีการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้เชื้อสามารถผลิตวิตามินบี12 (Okada, 1991) เพื่อเพิ่มวิตามินนี้ในผลิตภัณฑ์ด้วย เนื่องจากบาซิลลัสเป็นแบคทีเรียที่สร้างเอนโดสปอร์ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ทนต่อสภาวะแวดล้อมต่างได้ดีมาก ดังนั้นกล้าที่ผลิตขึ้นจึงอยู่ในรูปของสปอร์ซึ่งในประเทศญี่ปุ่นมีการผลิตกล้านัตโศเป็นการค้าโดยมีทั้งรูปที่เป็นของเหลวและผง โลโอฟิลโลสับรรจุขวดหรือซองจำหน่ายในท้องตลาดสำหรับโรงงานผลิตนัตโศหรือแม่บ้านที่สนใจการหมักอาหารชนิดนี้บริโภคในครัวเรือน การหมักในระดับอุตสาหกรรมนั้นจะใช้กล้าปริมาณน้อยมากคือประมาณ  $10^7-10^8$  สปอร์ต่อถั่วสุก 10 กิโลกรัม (Ohta, 1985)

จากการทดลองของ Matsumoto และคณะ (1993) ทำการบ่มนัตโดที่อุณหภูมิ 30 35 40 และ 45 องศาเซลเซียสตามลำดับ ปริมาณการถ่ายเชื้อที่  $10^2$   $10^4$  และ  $10^6$  เซลล์ต่อกรัมตามลำดับ พบว่าที่อุณหภูมิและปริมาณการถ่ายเชื้อสูงอัตราการเจริญของเชื้อ *B.natto* และอัตราการหมักจะเร็วขึ้น ส่วนในด้านความแข็งของนัตโดจะสูงขึ้นเมื่อเวลาการหมักผ่านไป 30 ชั่วโมง สรุปได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมในการหมักนัตโดคือที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ปริมาณการถ่ายเชื้อที่  $10^4$  –  $10^6$  เซลล์ต่อกรัม หรือที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ปริมาณการถ่ายเชื้อที่  $10^2$  –  $10^4$  เซลล์ต่อกรัม Akimoto และคณะ (1993) ได้ศึกษาการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส เอนไซม์แกรมมากลูตามิลทรานสเปปติเดส ( $\gamma$ -glutamyltranspeptidase,  $\gamma$ -GTP) การทำงานของเอนไซม์ลิวานซูเครส (Levansucrase, L.S.) และความเหนียวของเส้นใย (Stringiness of a viscous substance) ที่อุณหภูมิการบ่ม 30 35 40 และ 45 องศาเซลเซียสตามลำดับ และปริมาณการถ่ายเชื้อที่  $10^2$   $10^4$  และ  $10^6$  เซลล์ต่อกรัมตามลำดับ พบว่าการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสจะสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องระหว่างการหมัก 30 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิต่ำการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสจะช้าลงแต่อัตราการผลิตเอนไซม์โปรติเอสจะเร็วขึ้น ส่วนเอนไซม์แกรมมากลูตามิลทรานสเปปติเดสจะสูงขึ้นเมื่อการหมักผ่านไป 30 ชั่วโมงแต่จะลดลงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส การทำงานของเอนไซม์ลิวานซูเครสจะสูงขึ้นที่ล็อกเฟส (log phase) และจะลดลงหลังจากนั้น ในการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสความเหนียวของเส้นใยจะสูงขึ้นระหว่าง 30 ชั่วโมงในตัวอย่างที่มีปริมาณการถ่ายเชื้อสูง ค่าความเหนียวจะสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 35-45 องศาเซลเซียสและจะลดลงเล็กน้อยหลังจากนั้น สรุปได้ว่าการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสจะสูงขึ้นในการผลิตนัตโดที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส และในการผลิตนัตโดที่อุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียส เวลาการหมัก 18-20 ชั่วโมง การทำงานของเอนไซม์แกรมมากลูตามิลทรานสเปปติเดส และการทำงานของเอนไซม์ลิวานซูเครสจะสูงขึ้น

จากการทดลองของ Akimoto และคณะ (1990) ได้ทำการประเมินผลทางประสาทสัมผัสจาก นัตโด 19 ตัวอย่าง พบว่าการประเมินค่าทางประสาทสัมผัสจะสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสและการละลายของโปรตีนสูงขึ้น หรือเมื่อการทำงานของเอนไซม์แกรมมากลูตามิลทรานสเปปติเดสและความเหนียวของเส้นใยสูงขึ้น การทดลองของ Sulistyو และคณะ (1988) โดยนำกล้าเชื้อ *B.natto* ย้ายลงไปเลี้ยงในอาหารแข็ง 3 ชนิดคือ Soybean extract agar, Phytone agar และ Nutrient agar นำไปบ่มแล้วนำไปผลิตนัตโดพบว่านัตโดที่ผลิตจากเชื้อบาซิลลัสที่เลี้ยงในอาหารแข็ง Soybean extract และ Phytone จะมีคุณภาพดีกว่านัตโดที่เลี้ยงในอาหารแข็ง Nutrient ส่วน Nagai และคณะ (1994) พบว่า *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ NN1 เป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตนัตโดเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสสูงสามารถผลิตนัตโดได้กลิ่นรสที่ดีและสร้างเส้นใยเหนียวจำนวนมาก

## 2.2.2 กล้าเชื้อ *Aspergillus oryzae*

### 2.2.2.1 จุลชีววิทยาของ *Aspergillus oryzae*

เชื้อ *Aspergillus oryzae* จัดอยู่ในดิวิชัน EUMYCOTA ชั้นดิวิชัน Deuteromycotina (Fungi Imperfecti) อันดับ Meniliales ตระกูล Meniliaceae จินัส *Aspergillus* มีไมซีเลียมเป็นแบบมีผนังกันและแตกแขนง มักไม่มีสี โคลโคนีมีลักษณะเป็นโซน โคนิเดียเกาะติดเป็นลูกโซ่มีสีเขียว เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส และจะสร้างเมือกเหนียว ซึ่งเป็นโพลีเปปไทด์ของกรดกลูตามิก และโพลีเมอร์ของฟรุคโทส

### 2.2.2.2 ผลิตภัณฑ์ซีอิ๊ว

เชื้อราที่นิยมใช้ในการหมักซีอิ๊วคือ *Aspergillus oryzae* ซึ่งใช้ในการเตรียมโคจิเพื่อเป็นแหล่งของเอนไซม์ต่างๆเช่น โปรติเอส, เปปติเดส, อไมเลส และไลเปส เป็นต้น เอนไซม์เหล่านี้จะช่วยกันย่อยสลายโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตของวัตถุดิบทั้งถั่วเหลืองและข้าวสาลี ก่อนที่จะทำการหมักสิ่งๆที่จำเป็นก่อนคือ โคจิ ซึ่งใช้เป็นหัวเชื้อ โคจิในที่นี้เรียกว่า seed (tane) koji เตรียมขึ้นมาโดยเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus oryzae* บนข้าวหนึ่งหรือรำข้าวสาลีผสมแป้งถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่งเช่นกัน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3-5 วัน ขั้นตอนการเตรียมโคจิเริ่มจากนำข้าวไปแช่น้ำค้างคืน (เพื่อปรับสภาพความชื้นให้เท่ากับ 35 % โดยประมาณ) นำไปนึ่ง 40-60 นาที แล้วจึงทิ้งให้อุณหภูมิลดลงเหลือประมาณ 35 องศาเซลเซียส โดยแผ่กระจายข้าวหนึ่งในถาดจึงถ่ายสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus oryzae* (ซึ่งเตรียมอยู่ในรูปของโคจิเช่นเดียวกับที่ใช้ในการเตรียม tane koji) ในอัตรา 1 กรัมต่อข้าวหนึ่ง 1 กิโลกรัม คลุกเคล้าให้สปอร์กระจายอย่างดีแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2-3 วัน ทั้งนี้ต้องควบคุมปริมาณออกซิเจน (โดยอาศัยการถ่ายเทอากาศ) และความชื้นเพื่อให้เชื้อเจริญเติบโตได้ดีที่สุด หลังจากนั้นจะได้โคจิที่เหมาะสมที่ใช้ในการหมักซึ่ง พบว่ามีเส้นใยสีขาวของเชื้อราเจริญปกคลุมอยู่เต็มข้าวหนึ่งและจะได้กลิ่นและรสหวานอีกด้วย (วารวูมิและรุ่งนภา, 2532) ตัวอย่างของอาหารหมักโดยใช้เชื้อ *A.oryzae* เช่น ฮาโมนัตโตซึ่งเป็นอาหารหมักพื้นบ้านของชาวญี่ปุ่นอีกชนิดหนึ่งเป็นอาหารหมักที่ได้จากการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อรา *A.oryzae* นอกจากในญี่ปุ่นแล้วยังมีผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะคล้ายกับฮาโมนัตโตแต่มีชื่อเรียกต่างกัันดังนี้คือ toushih (จีน) tao-si (ฟิลิปปินส์) tao-tjo (ประเทศในแถบอินเดียนตะวันออก) ขั้นตอนในการผลิตฮาโมนัตโตเริ่มจากถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำแล้วนำมานึ่งจนกระทั่งเนื้อนุ่มจากนั้นจึงทำให้เย็นและผสมกับแป้งข้าวสาลี (ที่ผ่านการคั่วจนสีค่อนข้างดำ) ให้เป็นเนื้อเดียวกัน ถ่ายสปอร์ของเชื้อรา *A.oryzae* ลงไปนำไปบ่มจนกระทั่งสปอร์ของเชื้อราเจริญขึ้นมาจึงนำเอาถั่วเหลืองนั้นไปหมักต่อโดยการเติมเกลือ เครื่องเทศ ไวน์ และน้ำ เป็นเวลาหลายสัปดาห์หรือหลายเดือนจนกระทั่งได้ผลิตภัณฑ์หรือถั่วเหลืองหมักที่มีสีค่อนข้างดำ (blackish) และมีรสเค็มแต่มีกลิ่นคล้ายกับซีอิ๊ว (Hesseltine and Wang, 1972)

ฮามานัตโตหรือถั่วเหลืองที่หมักได้จะมีลักษณะนุ่มและมีปริมาณความชื้นค่อนข้างสูง ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะคล้ายกันดังที่ได้กล่าวมาเช่น Toushik จะมีปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ที่ได้ต่ำกว่าฮามานัตโต ดังนั้นจึงทำให้เนื้อของผลิตภัณฑ์ค่อนข้างจะแข็งกว่าฮามานัตโต ส่วนในกรณีของ Tao-tjo จะมีรสชาติค่อนข้างหวานเพราะมีการเติมน้ำตาลลงไปในการผลิตผลิตภัณฑ์ ฮามานัตโตนิยมใช้บริโภคเป็นตัวกระตุ้นการเจริญอาหารสำหรับผู้บริโภคที่นิยมรับประทานข้าวต้มหรืออาจใช้เป็นตัวเพิ่มรสชาติโดยใช้ในการประกอบอาหารพวกผัก เนื้อสัตว์ และอาหารทะเล

## 2.3 ปฏิกริยาเมลลาร์ด

### 2.3.1 กลไกการเกิดปฏิกริยาเมลลาร์ด

การเกิดสีน้ำตาลในอาหารจากปฏิกริยาเมลลาร์ดนับเป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่มีความสำคัญมากที่สุดอย่างหนึ่งในอาหารซึ่งมีผลโดยตรงต่อคุณภาพของอาหาร ปฏิกริยาเมลลาร์ดเป็นผลของปฏิกริยาที่มาจากปฏิกริยาหลายขั้นตอนซึ่งกลไกที่แท้จริงยังไม่ทราบเป็นที่แน่นอน นักเคมีชาวฝรั่งเศสชื่อ Maillard เป็นคนแรกที่รายงานการเปลี่ยนแปลงการเกิดสีน้ำตาลของสารละลายน้ำตาลกลูโคส (glucose) กับกรดอะมิโนไกลซีน (glycine) ขณะให้ความร้อน จึงให้ชื่อปฏิกริยานี้ว่าเมลลาร์ด ต่อมาพบว่านอกจากกรดอะมิโนแล้วปฏิกริยาเมลลาร์ดยังเกิดจากปฏิกริยาระหว่างเอมีน (amines) หรือเปปไทด์ (peptide) หรือโปรตีน (proteins) กับน้ำตาลทั้งอัลโดส (aldose) หรือคีโตส (ketose) ได้ (Hodge and Bailey, 1953)

Hodge and Bailey (1953) เสนอขั้นตอนการเกิดปฏิกริยาเมลลาร์ดซึ่งทำการแบ่งขั้นตอนการเกิดปฏิกริยาออกเป็น 7 ส่วนด้วยกัน คือ

1) เกิดปฏิกริยาเมลลาร์ดของน้ำตาลรีดิวซ์กับหมู่อะมิโนของกรดอะมิโนหรือโปรตีน เกิดกลูโคซามีนที่มีไนโตรเจนแทนที่ (N-substituted glucosamine) เป็นปฏิกริยาที่เกิดย้อนกลับได้ ซึ่งเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาเติมหมู่เอมีนกับหมู่คาร์บอนิล (carbonyl) ของน้ำตาลในลักษณะวงเปิด จึงเสียน้ำ 1 โมเลกุลและเกิดวงแหวนใหม่ในโมเลกุลกลูโคซามีน (glucosamine) ปฏิกริยาจะเกิดได้ในอาหารแห้งทำให้อาหารแห้งเกิดสีน้ำตาลได้ง่ายเช่น นมผง ไข่ผง ที่มีทั้งน้ำตาลและโปรตีนสูง (Deman, 1980)

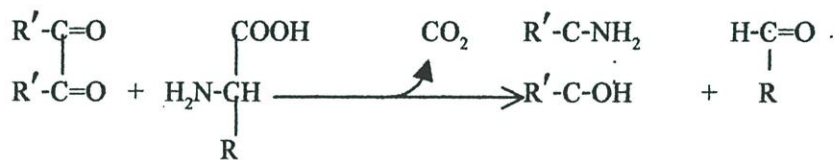
2) การจัดเรียงโครงสร้างอะมาโดริ (Amadori rearrangement) กลูโคซามีนที่เกิดจากปฏิกริยาเมลลาร์ดจะเกิดการจัดเรียงตัวใหม่เกิดเป็นคีโตซามีน (ketosamine) คือ 1-อะมิโน-1-ดีออกซี-2-คีโตส (1-amino-1-deoxy-2-ketose) ที่เริ่มด้วยการที่กลูโคซามีนจะถูกเติมโปรตอนให้กับ N ที่เกาะกับ C ตำแหน่งที่ 1 และเกิดการจัดเรียงตัวใหม่เป็น 1-อะมิโน-1-ดีออกซีคีโตส (1-amino-1-deoxyketose) (Deman, 1980)

3) การสลายตัวของน้ำตาลอะมิโน (amino sugar) โดยการเสียน้ำจาก โมเลกุล ถ้าเกิดในสารละลายที่เป็นกลางหรือเป็นกรดจะได้สารประกอบเฟอฟูราล (furfural) ถ้าเกิด ในสภาพแห้งและมีเอมีนอยู่ด้วยจะได้สารประกอบรีดักโทน (reductones)

คีโตซามีนจะสลายตัวด้วยกลไก 1,2-อินอลไลเซชัน (1,2-enolization) ให้ผล ผลิตภัณฑ์คือไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูราล (hydroxymethyl furfural) ซึ่งเป็นตัวการสำคัญของการ เกิดสาร โมเลกุลใหญ่สีน้ำตาลเมลานอยดิน (Melanoidins) (Yen and Chichester 1989)

4) การเกิดผลิตภัณฑ์ฟิชชัน (fission product) ของน้ำตาลเช่น อะซิโทล (acetol), ไพรูวาลดีไฮด์ (pyruvaldehyde), ไดอะซิโทล (diacetol) เป็นต้น

5) การเกิดการสลายตัวสเตร็กเกอร์ (Strecker degradation) เป็นปฏิกิริยาการ รวมตัวของสารประกอบไดคาร์บอนิล (dicarbonyl) กับกรดอะมิโนและเกิดปฏิกิริยาคาร์บอกซิเลชัน (decarboxylation) เสียคาร์บอนไดออกไซด์ 1 โมเลกุลเกิดเป็นอัลดีไฮด์ (aldehyde) ของกรด อะมิโนที่เข้าทำปฏิกิริยา ดังแสดงในสมการ (Feather, 1989)

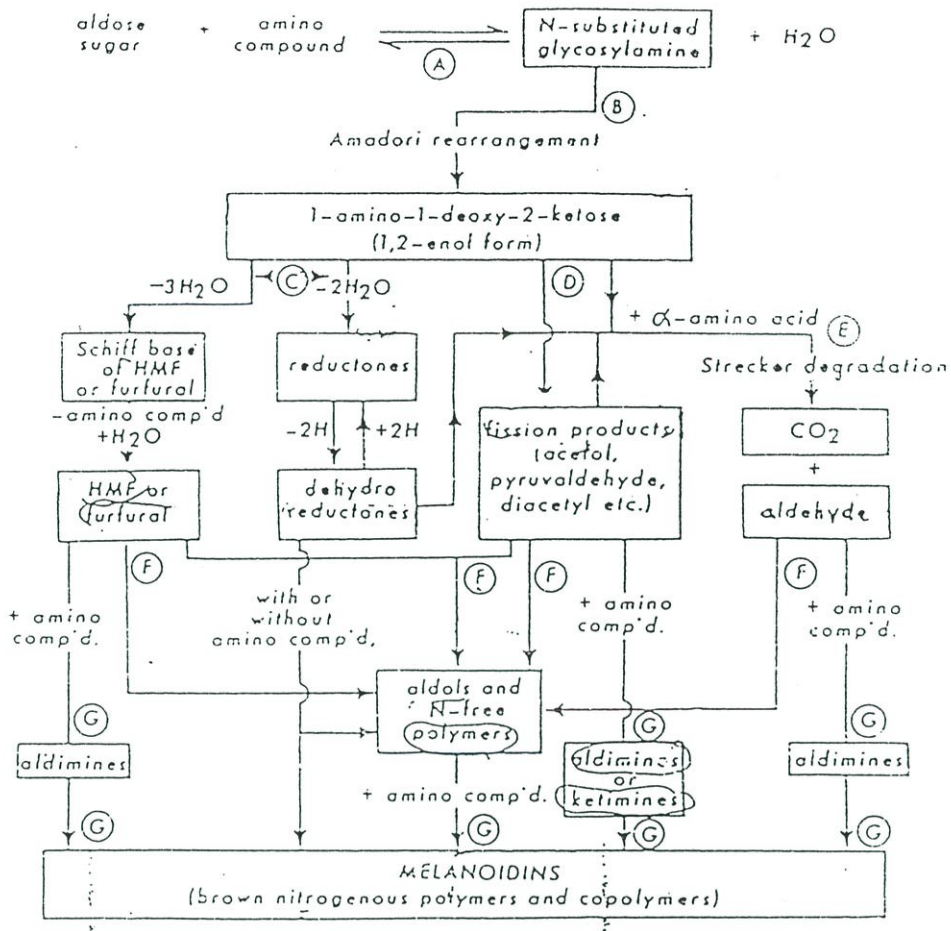


ผลผลิตจากการสลายตัวสเตร็กเกอร์นี้เองเป็นตัวการของการเกิดกลิ่นใน อาหาร จะเห็นได้ว่ากรดอะมิโนเปลี่ยนเป็นอัลดีไฮด์ที่มีคาร์บอนลดลง 1 อะตอม กรดอะมิโนแต่ละ ตัวก็จะให้อัลดีไฮด์ของมันส่วนใหญ่สาร โมเลกุลเล็กก็จะระเหยออกมาเป็นกลิ่นของอาหาร

6) การรวมตัวของสารประกอบอัลดอล (aldol) โดยไม่มีกรดอะมิโนเกิดเป็น พอลิเมอร์

7) การรวมตัวเป็นสาร โมเลกุลใหญ่ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสีน้ำตาล ของอัลดีมีน (aldimines) และ คีติมีน (ketimines) เรียกว่า เมลานอยดิน (Melanoidins)

สรุปได้ว่าปฏิกิริยาเมลลาร์ดเป็นปฏิกิริยาที่เกิดระหว่างอัลดีไฮด์ (น้ำตาลรี ดิวซ์) กับกลุ่มอะมิโนของกรดอะมิโนหรือ โปรตีนและตามด้วยการสลายตัวและรวมตัวของสารทาง ธรรมชาติ ในปฏิกิริยานี้ทั้งกรดอะมิโนและน้ำตาลรีดิวซ์จะหายไปเกิดเป็นสารประกอบใหม่ที่ไม่ เหมือนสารตั้งต้นสารประกอบใหม่นี้จะเป็นสารขนาดใหญ่ที่มีสีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบเรียกว่า เมลานอยดิน (Frather, 1980)



ที่มา : Hodge and Bailey (1953)

รูปที่ 2.1 กระบวนการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด

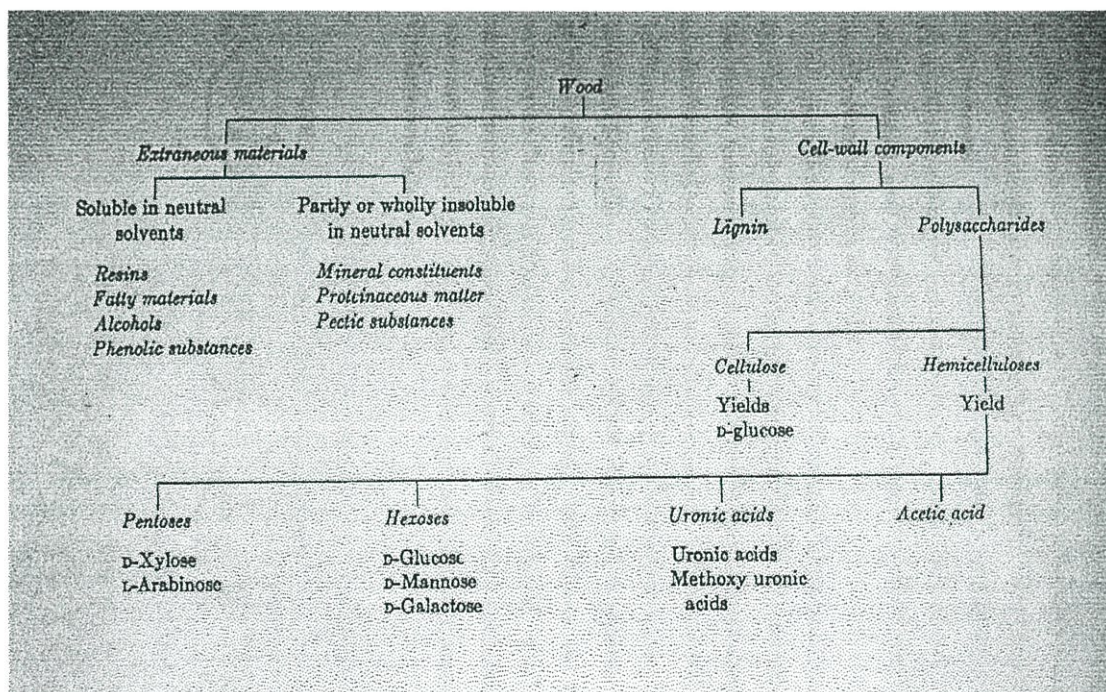
## 2.4 ควีนสำหรับรมอาหาร

การรมควีน (Smoking) เป็นวิธีการถนอมอาหารชนิดหนึ่งที่นิยมใช้มาเป็นเวลานาน เคมีของควีน (Chemistry of smoke) ได้รับความสนใจจากกลุ่มผู้ผลิต แปรรูป และผู้บริโภคปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันว่าไม้ที่ใช้ผลิตควีนและองค์ประกอบของอาหารมีอิทธิพลต่อองค์ประกอบของควีน และผลที่เกิดขึ้นต่ออาหารเช่น รสชาติ เนื้อสัมผัสและคุณค่าอาหาร

### 2.4.1 องค์ประกอบทางเคมีของไม้

ในทางพฤกษศาสตร์สามารถจำแนกไม้ได้อย่างกว้างได้สองประเภทคือ ไม้เนื้อแข็ง (hard woods) และ ไม้เนื้ออ่อน (soft woods) ซึ่งไม้สองประเภทแตกต่างกันคือ ไม้เนื้อแข็งเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ เมล็ดเจริญอยู่ในโครงสร้างของผลซึ่งจัดอยู่ในประเภทแองจิโอสเปิร์ม (angiosperms) ไม้ประเภทนี้มีใบกว้างและผลัดใบในทางตรงกันข้าม ไม้เนื้ออ่อนจัดอยู่ในประเภทจิมโนสเปิร์ม (gymnosperms) เนื่องจากเมล็ดที่เจริญไม่ถูกห่อหุ้มมักเรียกไม้เหล่านี้ว่า โคนิเฟอร์ (conifers) ไม้กลุ่มนี้มีใบเรียวยาวเล็ก คล้ายเข็มและมักเรียกกันทั่วไปว่า เอเวอร์กรีน (evergreen) (Mega, 1988)

เซลล์ของไม้ประกอบด้วยสารประกอบพอลิเมอร์โดยเซลลูโลส (cellulose) เป็นสารประกอบโครงสร้างหลักโดยทั่วไปเนื้อเยื่อไม้ประกอบด้วยกลูโคสที่เกาะกันเป็นเซลลูโลสพอลิเมอร์ องค์ประกอบหลักของไม้ชนิดที่สองคือ เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลที่มีคาร์บอนห้าอะตอมคือ ดี-ไซโลส (D-xylose) แอล-อะราบินโนส (L-arabinose) และชนิดคาร์บอนหกอะตอมคือ ดี-กลูโคส (D-glucose) ดี-แมนโนส (D-mannose) และดี-กาแลคโทส (D-galactose) โดยเฉพาะอย่างยิ่งดี-แมนโนสซึ่งเป็นสารประกอบที่สำคัญในเฮมิเซลลูโลสของไม้เนื้ออ่อนแต่เป็นองค์ประกอบส่วนน้อยในไม้เนื้อแข็ง ส่วนแอล-อะราบินโนส และดี-กาแลคโทสจะพบมากในชั้นแรกของการเจริญเติบโตของเซลล์และจะลดลงเมื่อเซลล์มีอายุมากขึ้น องค์ประกอบหลักของไม้ชนิดที่สามคือ ลิกนิน (lignin) เป็นองค์ประกอบที่มีความสำคัญของไม้ทำหน้าที่เชื่อมเกาะเซลล์ไว้ด้วยกัน ลิกนินมีโครงสร้างแบบสามมิติเป็นโมเลกุลโพลีฟีนอลิก (polyphenolic) ที่ซับซ้อนและมีน้ำหนักโมเลกุลสูง ลิกนินไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำซึ่งเป็นคุณสมบัติที่แตกต่างจากเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลส (Franz and Wilfred, 1968) องค์ประกอบของไม้แสดงดังรูปที่ 2.2



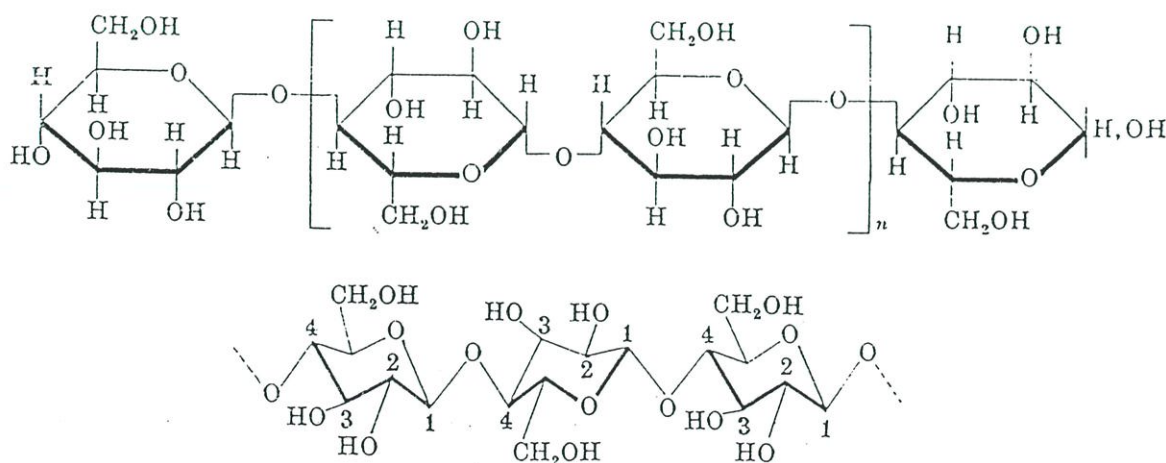
ที่มา : Franz and Wilfred (1968)

รูปที่ 2.2 องค์ประกอบของไม้

### 2.4.1.1 เซลลูโลส

เซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลักของไม้ทุกชนิด เซลลูโลสจะถูกเชื่อมกับ เบตา-ดี-กลูโคไกลแคน ( $\beta$ -D-glucoglycan) ซึ่งประกอบด้วย เบตา-ดี-กลูโคไพราโนส ( $\beta$ -D-glucopyranose) ซึ่งจะถูกรวมเข้าด้วยกันมีลักษณะเป็นเส้นตรง กลูโคสยึดเกาะกันด้วยพันธะเบตา-1,4-ไกลโคซิดิก ( $\beta$ -1,4-glycosidic) สูตรโครงสร้างของเซลลูโลสแสดงดังรูปที่ 2.3 (Ott และคณะ, 1954; Hermans, 1949; Honeyman, 1959) กลูโคสที่ปลายทั้งสองของเซลลูโลสแตกต่างกันโดยด้านหนึ่งประกอบด้วยกลุ่มรีดิวซ์ซิงฮีมิอะเซทิล (reducing hemiacetyl group) จึงเรียกปลายด้านนี้ว่า กลุ่มรีดิวซ์ซิงเอนด์ (reducing end) ขณะที่ปลายอีกด้านหนึ่งจะมีหมู่ไฮดรอกซิลเพิ่มมาหนึ่งหมู่จึงเรียกว่ากลุ่มนอนรีดิวซ์ซิงเอนด์ (non-reducing end)

คุณสมบัติของเซลลูโลสแตกต่างจากแป้งคือเซลลูโลสไม่สามารถละลายน้ำ เนื่องจากมีพันธะไฮโดรเจนจำนวนมาก สารที่สามารถละลายเซลลูโลสได้ เช่น สารละลายคอปเพอร์ โมเนียมไฮดรอกไซด์ (cuprammoniumhydroxide) คูไพโรเอทีลีนไดเอมีน (cupriethylenediamine) และแคดเมียมไตรเอทิลไดเอมีน (cadmium triethylenediamine) ซึ่งตัวทำละลายนี้มีลักษณะเด่นที่ดีคือไม่มีสีและมีความคงตัว (Henley, 1960; Reimer, 1962) ในสารละลายต่างเซลลูโลสจะมีการแตกตัวได้หลายทางที่อุณหภูมิต่ำ และในสภาวะที่มีออกซิเจนพันธะไกลโคซิดิกจะแตกตัวโดยปฏิกิริยาถูกโซ่ซึ่งเกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระ (Entwistle และคณะ, 1949; Whistler and Bemiller, 1958) ที่อุณหภูมิสูงและในสภาวะที่เป็นด่างสามารถทำลายพันธะไกลโคซิดิกได้ ส่วนในสภาวะที่เป็นกรดเซลลูโลสสามารถละลายในกรดแก่ได้เช่น กรดซัลฟูริกร้อยละ 72 กรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 41 และกรดฟอสฟอริกร้อยละ 85 การแตกตัวจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรดซัลฟูริกและกรดไฮโดรคลอริก

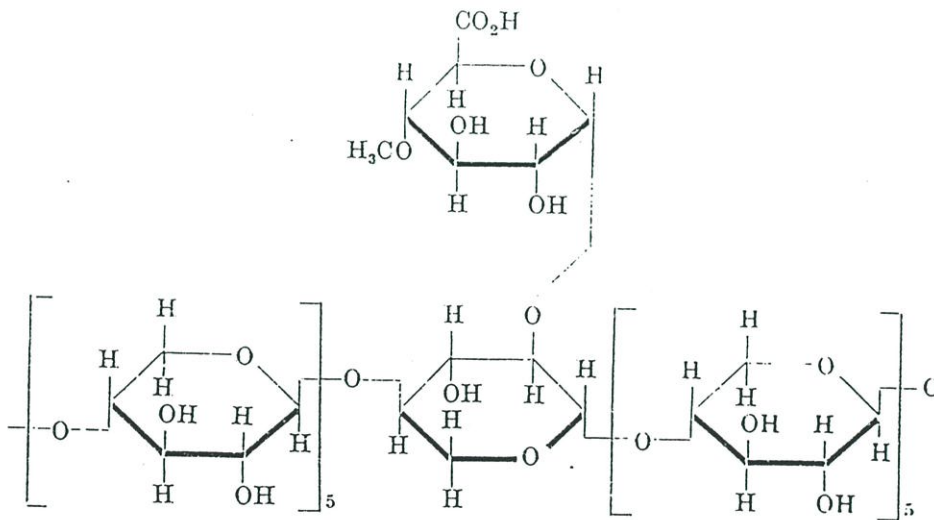


รูปที่ 2.3 สูตรโครงสร้างของเซลลูโลส

2.4.1.2 เฮมิเซลลูโลส

เฮมิเซลลูโลสมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำเป็นนอนเซลลูโลซิกโพลีแซคคาไรด์ (non-cellulosic polysaccharides) ซึ่งจะมีอยู่ในผนังเซลล์พืชร่วมกับลิกนินและเซลลูโลส มีโซ่ข้างเคียง (side chains) สั้นๆจำนวนมาก และส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นเส้นตรง เฮมิเซลลูโลสอยู่ร่วมกับเซลลูโลสด้วยพันธะไฮโดรเจนและแรงวันเดอร์วาลส์ (Vander Wal's forces) ประกอบขึ้นเป็นโครงสร้างของไม้พบเฮมิเซลลูโลสในปริมาณสูงเมื่อไม้อยู่ในสภาวะแห้งซึ่งจะถูกไฮโดรไลซ์ด้วยกรดได้ง่าย (Gardner and Blackwell, 1974)

เฮมิเซลลูโลสประกอบด้วย ดี-ไซโลส ดี-แมนโนส ดี-กลูโคส ดี-กาแลคโทส แอล-อะราบิโนส จะพบหน่วยของกรดเมทิลกลูคูโรนิก (methylglucuronic acid) เป็นบางครั้ง และบางครั้งจะพบกรดดี-กลูคูโรนิก (D-glucuronic) แอล-รามโนส (L-rhamnose) แอล-ฟรุคโทส (L-fructose) และน้ำตาลเมทิลอื่นๆในปริมาณเล็กน้อย เฮมิเซลลูโลสมักจะประกอบด้วยน้ำตาลมากกว่า 150-200 ชนิดในโมเลกุล แม้ว่าเฮมิเซลลูโลสในไม้ของแองจิโอสเปอร์มและจิมโนสเปอร์มจะไม่เหมือนกันแต่ โพลีแซคคาไรด์ของจิมโนสเปอร์มจะมีความซับซ้อนมากกว่าเฮมิเซลลูโลสในไม้เนื้อแข็ง จะพบไซแลน (xylan) ซึ่งเป็นโครงสร้างพื้นฐาน ดังแสดงในรูปที่ 2.4 ส่วนเฮมิเซลลูโลสในไม้เนื้ออ่อนจะประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลส 2 ชนิด คือ อะซิติกอะราบิโนไซแลน (acidic arabinoxylan) และกาแลคโตกลูโคแมนแนน (galactoglucomannan) (Timell, 1961)

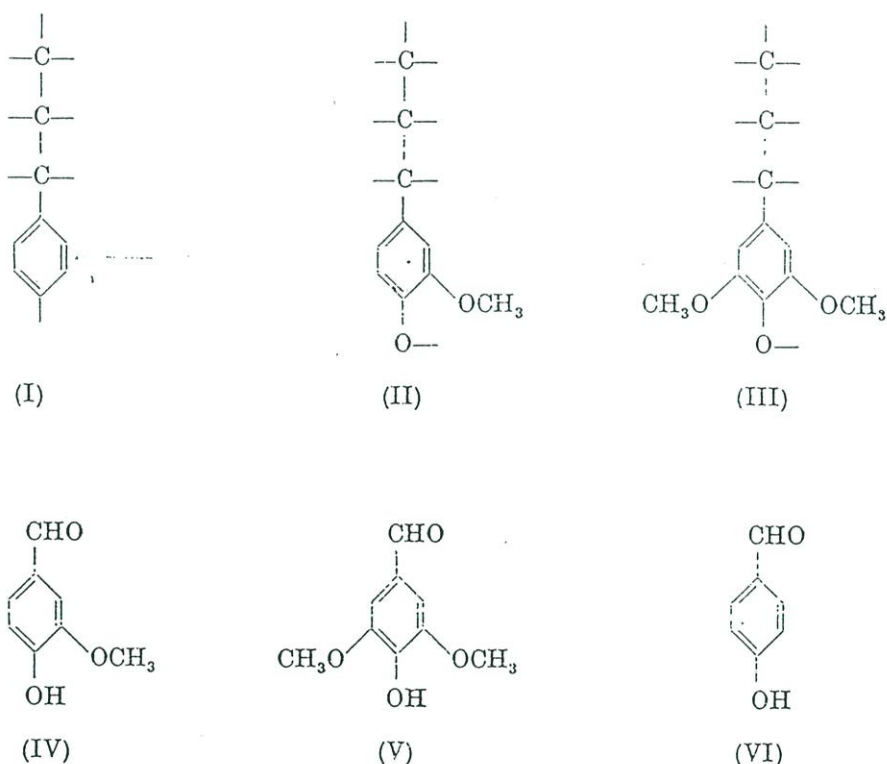


ที่มา : Timell (1961)

รูปที่ 2.4 โครงสร้างของ 4-โอ-เมทิลกลูคูโรโนไซแลน (4-O-Methylglucuronixylan)

### 2.4.1.3 ลิกนิน

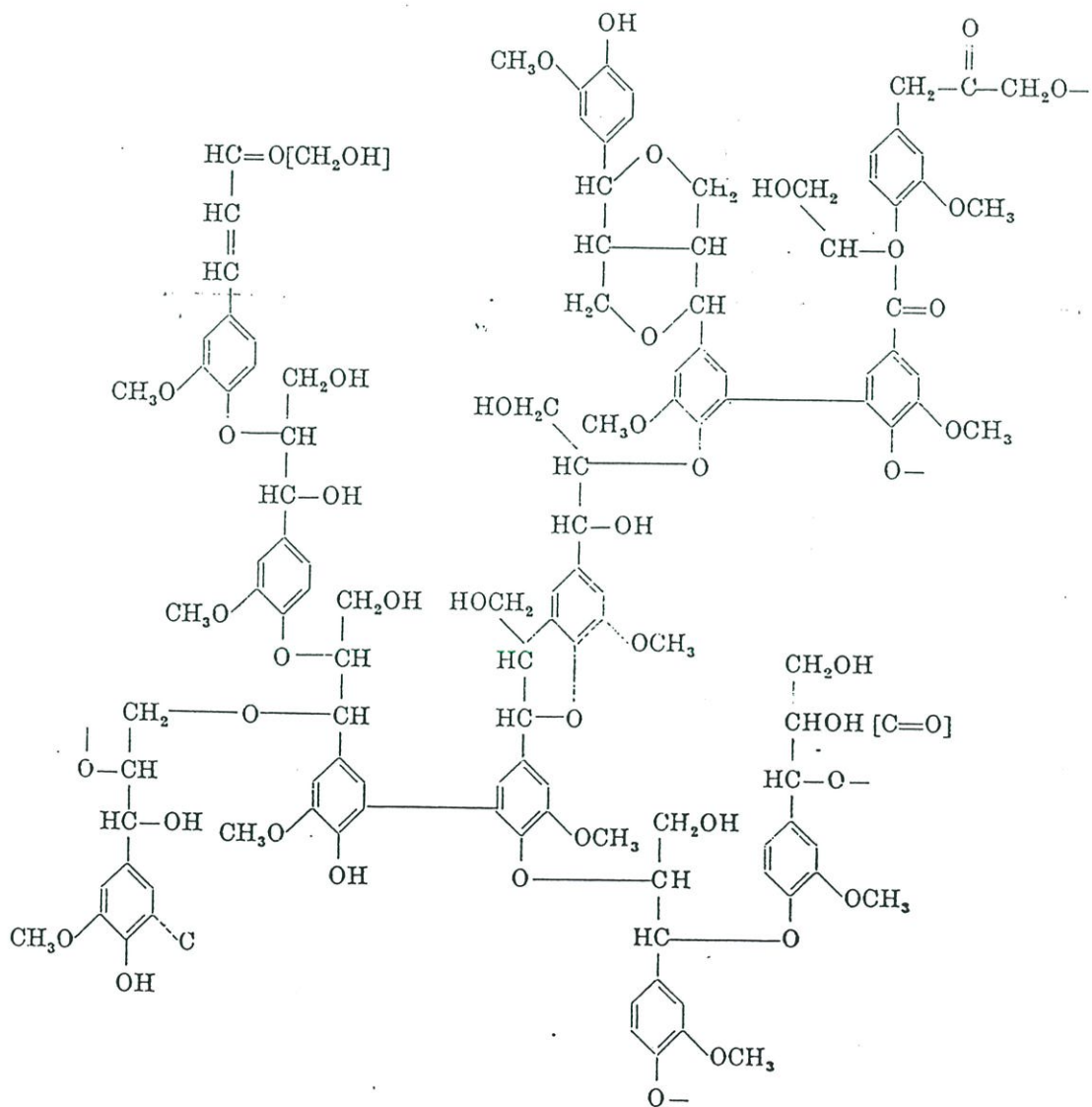
ลิกนินเป็นองค์ประกอบหลักชนิดที่สามของไม้เป็นโพลิเมอร์ที่มีลักษณะเป็นโครงสร้างสามมิติประกอบด้วยหน่วยของฟีนิลโพรเพน (phenylpropane unit)(I) ถูกเชื่อมต่อโดย C-O-C และ C-C ในไม้เนื้ออ่อนแต่ละหน่วยจะประกอบด้วยฟีนอลิกออกซิเจน 1 หน่วย และกลุ่มเมทอกซิล (methoxyl group)(II) อีก 1 หน่วย ในขณะที่ไม้เนื้อแข็งจะมีองค์ประกอบเหล่านี้เพียงครึ่งหนึ่งเท่านั้นและมีการเติมหมู่เมทอกซิล (III) เข้าไปอีกหนึ่งหน่วย การแตกตัวของลิกนินด้วยไนโตรเบนซีน ด้วยค่าที่อุณหภูมิสูงในไม้เนื้ออ่อนจะได้ วานิลลิน (vanillin)(IV) และ ในไม้เนื้อแข็งจะได้วานิลลิน และไซริงอัลดีไฮด์ (syringaldehyde)(V) จะพบพี-ไฮดรอกซีเบนซาลดีไฮด์ (p-hydroxybenzaldehyde)(VI) เพียงเล็กน้อย กลุ่มโครงสร้างที่เชื่อมต่อลิกนิน แสดงดังรูปที่ 2.5 (Franz and Wilfred, 1968)



ที่มา : Franz and Wilfred (1968)

รูปที่ 2.5 กลุ่ม โครงสร้างที่เชื่อมต่อลิกนิน

ในไม้เนื้ออ่อนและไม้เนื้อแข็งลิกนินจะประกอบด้วยเมทอกซิล (methoxyl) ร้อยละ 15-16 และ 21 ตามลำดับ ลิกนินเป็นสารประกอบที่ซับซ้อนเมื่อพิจารณาถึงโครงสร้างในธรรมชาติซึ่งแบ่งออกเป็นสองประเภทตามโครงสร้างคือ กัวเอซิลลิกนิน (guaiacyl lignin) ซึ่งพบบ่อยในไม้เนื้ออ่อนเป็นสารประกอบที่ได้จากโพลีเมอไรเซชันของ โคนิเฟอร์ิลแอลกอฮอล์ กัวเอซิล-ไซริงิลลิกนิน (guaiacy-syringyl lignin) เป็นลิกนินประเภทที่สองที่พบในไม้เนื้อแข็งข้อเท็จจริงลิกนินไม่เหมือนโพลีแซคคาไรด์ไม่สามารถย่อยสลายด้วยกรดซึ่งเป็นการยากที่จะแยกลิกนินออกจากไม้ได้ โครงสร้างของลิกนิน ดังแสดงในรูปที่ 2.6 (Adler, 1961) คุณสมบัติของลิกนินคือไม่มีสีเป็นสารมีรูปร่างไม่แน่นอน ควบแน่นรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 280 มิลลิไมโครเมตร น้ำหนักโมเลกุลภายในโครงสร้างของไม้ไม่แน่นอน (Goring, 1962)



ที่มา : Adler (1961)

รูปที่ 2.6 โครงสร้างของลิกนิน

## 2.4.2 ปฏิกิริยาความร้อนของไม้

ปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของไม้ด้วยความร้อนเช่น อุณหภูมิ องค์ประกอบของไม้ ปริมาณออกซิเจน และปริมาณความชื้นในระหว่างการเผาไหม้โดยอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 2.2 เซมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบกลุ่มแรกที่ถูกทำให้สลายตัวในขณะที่ ลิกนินสามารถทนต่อการสลายตัวได้มากที่สุด โดยทั่วไปการสลายตัวของไม้ด้วยความร้อนจะ สมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส (Baltes และคณะ, 1981)

ตารางที่ 2.2 อิทธิพลของอุณหภูมิต่อการสลายตัวของไม้

อุณหภูมิ (°C)	ปฏิกิริยา
สูงกว่า 170	Loss of water, drying
200-260	Decomposition of hemicellulose
260-310	Decomposition of cellulose
310-500	Decomposition of lignine
สูงกว่า 500	Secondary reactions including oxidation, polymerization, condensation and pyrolysis

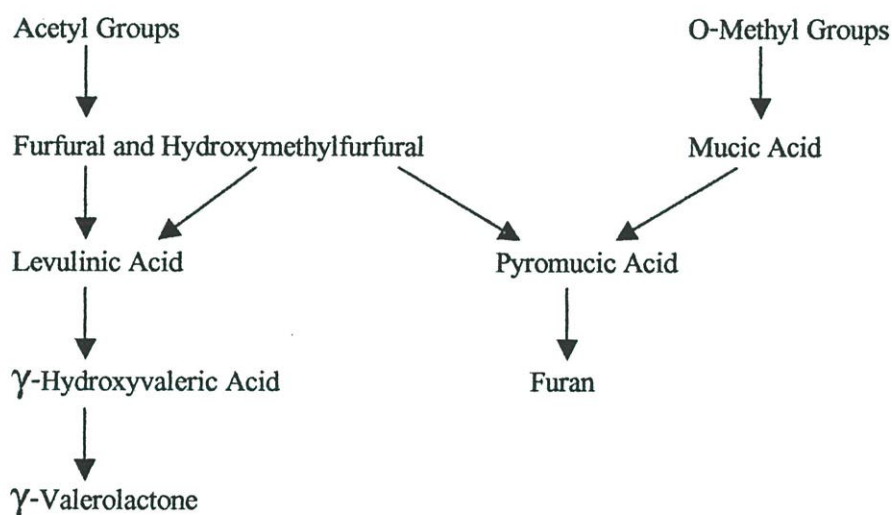
ที่มา : Baltes และคณะ (1981)

ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 100 องศาเซลเซียสเพียงเล็กน้อยจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ ไม้คือ น้ำอิสระ (free water) จะเกิดการระเหยและบาวด์วอเตอร์ (bound water) จะหลุดออกจาก พันธะที่เกาะกัน ที่อุณหภูมิต่ำกว่านี้จะเกิดการสร้างกรดอะซิติก ในขณะที่อุณหภูมิสูงขึ้น (200-280 องศาเซลเซียส) จะมีการสร้างกรดอะซิติกและกรดฟอร์มิกขึ้น และที่อุณหภูมิสูงกว่า 280 องศาเซลเซียส ปฏิกิริยาจะเป็นแบบเอกโซเทอร์มิก (exothermic) (Wistreich, 1977) จากการศึกษา วิเคราะห์ที่อุณหภูมิต่างๆ แสดงให้เห็นว่าระหว่างการสลายตัวของไม้ด้วยความร้อนปฏิกิริยาเป็นแบบเอนโดเทอร์มอล (endothermic) ที่อุณหภูมิสูงสุดเกิดขึ้นที่ 120-150 องศาเซลเซียส เนื่องจากการระเหยของน้ำ จากนั้นก็ตามด้วยปฏิกิริยาแบบเอกโซเทอร์มอล (exothermic) ในช่วงอุณหภูมิ ประมาณ 200-250 , 280-320 และ 400 องศาเซลเซียสซึ่งจะทำให้เกิดการสลายตัวของเซมิเซลลูโลส เซลลูโลสและลิกนินตามลำดับ (Fengel and Wegner, 1984)

### 2.4.2.1 การสลายตัวของเซมิเซลลูโลสด้วยความร้อน

เซมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบแรกที่ผ่านกระบวนการสลายตัวด้วยความร้อน (Fengel and Wegner, 1984) การสลายตัวของเซมิเซลลูโลสจะได้อนุพันธ์ฟูราน (furan) เป็นผลผลิตหลักจากการแตกตัวของกรดอะลิฟาติกคาร์บอกซาลิก (aliphatic carboxylic acid) (Gilbert and

Knowles, 1975) ซึ่งสารประกอบนี้จะให้กลิ่นรสขม และเนื่องจากไม้เนื้อแข็งประกอบด้วยเพนโตซานเบสเฮมิเซลลูโลส (pentosan-based hemicellulose) จำนวนมากเมื่อเปรียบเทียบกับไม้เนื้ออ่อน ดังนั้นจึงสร้างกรดดังกล่าวได้มากในระหว่างการสลายตัวนั้นคือเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ต่ำกว่า 260 องศาเซลเซียส และใช้ไม้เนื้อแข็งก็สามารถผลิตควันที่มีฟูรานจำนวนมาก และไม่มีความเสถียรจึงมักเกิดการออกซิเดชันต่อไป ในระหว่างการสลายตัวของเฮมิเซลลูโลสทั้งอะเซทิล (acetyl) และกลุ่มโอ-เมทิล (O-methyl) สามารถทำปฏิกิริยาและสร้างสารระเหยต่างๆ จะเห็นว่าอนุพันธ์ฟูรานเป็นสารตัวกลางหลักในปฏิกิริยา ดังรูปที่ 2.7 แสดงสารประกอบที่ได้จากการสลายตัวด้วยความร้อนของเฮมิเซลลูโลส



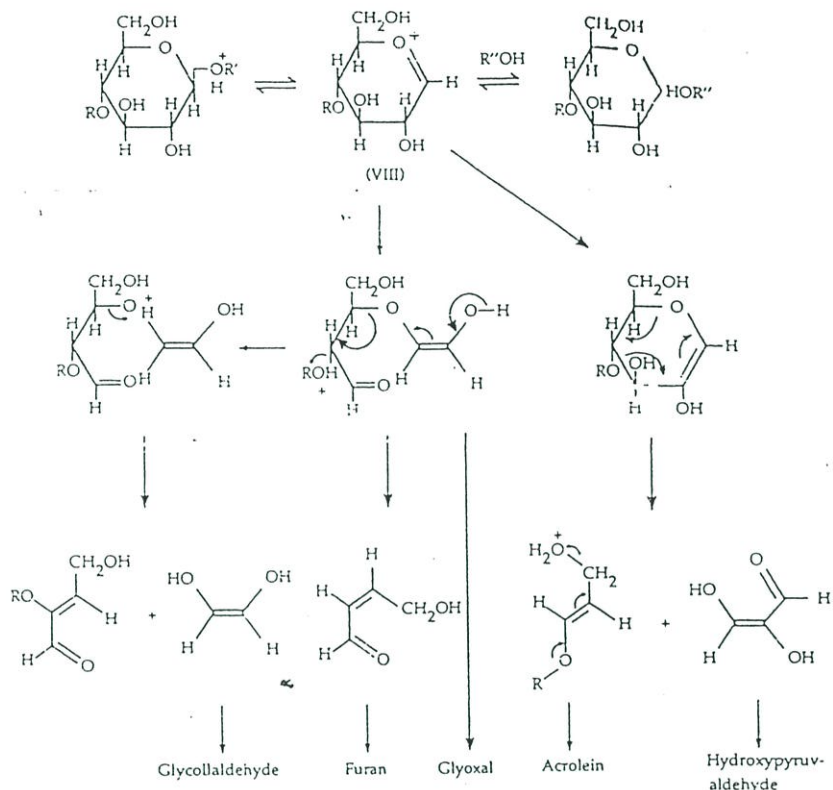
ที่มา : Fengel and Wegner (1984)

รูปที่ 2.7 สารประกอบที่ได้จากการสลายตัวด้วยความร้อนของเฮมิเซลลูโลส

#### 2.4.2.2 การสลายตัวของเซลลูโลสด้วยความร้อน

เซลลูโลสเป็นส่วนประกอบหลักในไม้เป็นส่วนใหญ่และเป็นองค์ประกอบของไม้อันดับที่สองที่จะถูกย่อยสลายด้วยความร้อน จำนวนของผลผลิตที่เกิดจากการไพโรไลซิสของเซลลูโลสมีจำนวนมากมายและหลากหลายไปตามชนิดของไม้ (Shafizadeh, 1984) ได้แสดงถึงสารประกอบหลักที่เกิดขึ้นจากการไพโรไลซิสของเซลลูโลสที่ 600 องศาเซลเซียส พบว่ากรดอะลิฟาติก (aliphatic acids) และอัลดีไฮด์ (aldehyde) เป็นสารประกอบที่สำคัญในกลิ่นรสขมที่ได้จากการแตกตัวของเซลลูโลส กลไกการแตกตัวของเซลลูโลสไปเป็นสารประกอบอัลดีไฮด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเล็กๆ ถูกศึกษาโดย (Byrne และคณะ, 1966) ดังรูปที่ 2.8 พบว่าอัลดีไฮด์เป็นตัวการในกระบวนการเกิดสีของควันในการผลิตเนื้อสัตว์ และในอาหารชนิดอื่นๆ โดยอาศัยวิถีทางสองทางที่

แตกต่างกัน คือ วิธีแรกจะเกิดในอุณหภูมิต่ำกว่า 300 องศาเซลเซียส และวิธีที่สองจะเกิดที่อุณหภูมิสูงกว่า 300 องศาเซลเซียส



ที่มา : Byrne และคณะ(1966)

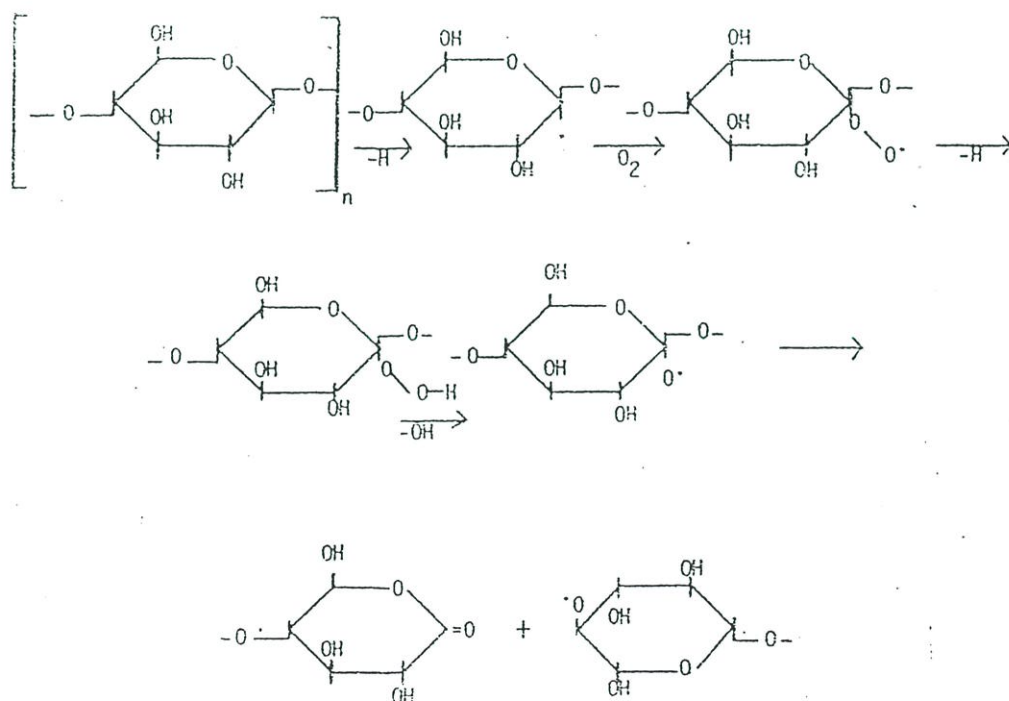
รูปที่ 2.8 กลไกของกระบวนการของสารประกอบคาร์บอนิล

1) วิธีที่หนึ่ง (First pathway)

วิธีที่หนึ่งนี้มักเกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 300 องศาเซลเซียส เซลลูโลสถูกย่อยสลายโดยการลดระดับของโพลิเมอร์ไรเซชัน (degree of polymerization) นั่นก็คือการตัดพันธะ การกำจัดโมเลกุลน้ำ สร้างอนุพลีอัสคาร์บอนิล คาร์บอกซิล และไฮโดรเปอร์ออกไซด์ การสร้างคาร์บอนมอนอกไซด์ และคาร์บอนไดออกไซด์ รวมทั้งผลิตภัณฑ์ (char) และกากเหลือทิ้ง (Shafizadeh, 1984) การลดระดับของโพลิเมอร์ไรเซชันของเซลลูโลสสามารถเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 150-190 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มีหรือไม่มีอากาศ ซึ่งเคยถูกวิเคราะห์โดยวิธีวัดความหนืด จากการวิเคราะห์บ่งชี้ว่าที่อุณหภูมิต่ำจะมีการแตกของพันธะในอากาศมากกว่าในไนโตรเจน การแตกหรือการตัดพันธะ และการสร้างคาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนมอนอกไซด์ สามารถเกิดขึ้นได้ในอัตราความเร็วที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับว่าสภาวะนั้นมีอากาศประกอบอยู่ด้วยหรือไม่ อัตราการสร้างแก๊สทั้งสองชนิดนี้จะสูงขึ้นในสภาวะที่มีอากาศมากกว่าไม่มีอากาศ อย่างไรก็ตามในสภาวะที่มีไนโตรเจนอยู่อัตราการแตกของพันธะย่อมมีมากกว่าอัตราการเกิดคาร์บอนไดออกไซด์ และ

คาร์บอนมอนอกไซด์ (Shafizadeh, 1984) แก๊สทั้งสองชนิดผลิตได้จากปฏิกิริยาคาร์บอกซิเลชัน (decarboxylation) และ ดีคาร์บอนิลเลชัน (decarbonylation) ตามลำดับ

Shafizadeh (1984) ได้เสนอไว้ว่าการสลายตัวของเซลลูโลสด้วยความร้อน อาจเกี่ยวข้องกับกลไกของอนุมูลอิสระ แม้ว่าจะไม่เคยมีการแยกเอาอนุมูลอิสระอื่นเนื่องจากการสร้างและการสลายของอนุพันธ์ดังกล่าวเกิดขึ้นพร้อมๆกัน เข้าใจว่าเป็นอนุพันธ์ที่มีผลสำคัญต่อการแตกของพันธะแต่ยังสามารถที่จะควบคุมการเกิดสารประกอบของกลุ่มไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide) จากการให้ความร้อนกับเซลลูโลสในอากาศ ดังนั้นวิถีของการสลายตัวของเซลลูโลสในอุณหภูมิต่ำจึงอาจเกี่ยวข้องกับสามขั้นปฏิกิริยาอันเนื่องจากอนุมูลอิสระ คือ การสลายด้วยความร้อน การกระจายและเพิ่มปริมาณของปฏิกิริยา และการผลิตสารประกอบจากการสลายดังกล่าวออกซิเจนและสารอนินทรีย์ที่ปนเปื้อนจะช่วยเร่งการสร้างอนุมูลอิสระซึ่งมีผลต่อการแตกพันธะ การออกซิเดชันและการสลายของเซลลูโลสให้ได้เป็นถ่าน รวมทั้งน้ำ คาร์บอนมอนอกไซด์ และคาร์บอนไดออกไซด์ ปฏิกิริยาทั้งหมดของการสร้างสารประกอบและสลายของเซลลูโลสไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (cellulose hydroperoxide) ในอากาศ ดังแสดงในรูปที่ 2.9 ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้คล้ายๆกัน ยกเว้นแลคโตน (lactone) อาจจะมีผลผลิตได้จากการจัดเรียงตัวใหม่ก่อนที่จะเกิดปฏิกิริยาดิไฮเดรชัน (dehydration) และ ดีคาร์บอกซิเลชัน



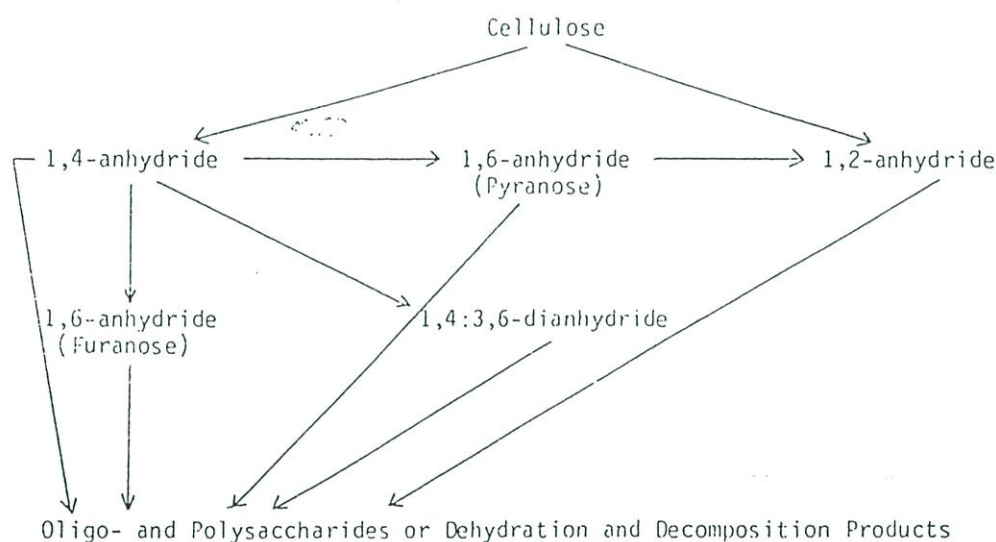
ที่มา : Shafizadeh (1984)

รูปที่ 2.9 ปฏิกิริยาการสร้างและสลายตัวของเซลลูโลสไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากการให้ความร้อนในสภาวะที่มีอากาศ

## 2) วิธีที่สอง (Secondary pathway)

วิธีที่สองนี้มักเกิดขึ้นที่อุณหภูมิตั้งแต่ 300 องศาเซลเซียสขึ้นไป ปฏิกริยาเบื้องต้นในวิธีนี้เกี่ยวข้องกับการแตกของโมเลกุลโดยปฏิกริยาทรานสไกลโคซิเลชัน (transglycosylation) ฟิชชัน (fission) ตลอดจน ปฏิกริยาดีสโพรพอร์ชันเนต (disproportionate reaction) ทำให้ได้สารสีดำของน้ำตาลแอนไฮโดร (anhydro sugars) และสารระเหยโมเลกุลเล็กๆ (Shafizadeh, 1984)

ขั้นตอนแรกประกอบด้วยปฏิกริยาดีโพลิเมอร์ไรเซชันโดยทรานสไกลโคซิเลชันได้เป็นลิโวกลูโคซาน (levoglucosan หรือ 1,6-anhydro- $\beta$ -D-glucopyranose) ฟูแรนโนสไอโซเมอร์ (furanose isomer หรือ 1,6-anhydro- $\beta$ -D-glucofuranose) และน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ (oligosaccharide) ที่เกาะกันอย่างอิสระ ดังแสดงในรูปที่ 2.10



ที่มา : Shafizadeh (1984)

รูปที่ 2.10 น้ำตาลแอนไฮโดรที่ได้จากการไพโรไลซิสของเซลลูโลส

อินเตอร์โมเลกุลาร์ (intermolecular) และอินทราโมเลกุลาร์ทรานสไกลโคซิเลชัน (intramolecular transglycosylation) จากในรูปนี้ปฏิกริยาดีไฮเดรชันตามมาด้วยฟิชชัน และปฏิกริยาดีสโพรพอร์ชันเนตเกิดขึ้นในชั้นของแก๊ส (gas phase) ขณะที่ปฏิกริยาการสลายตัวและการกลั่นเกิดขึ้นในชั้นของของแข็ง (solid phase) ผลิตภัณฑ์และสารระเหยจำนวนมากหลายชนิดรวมทั้งถ่าน เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นปฏิกริยาการเกิดน้ำมันดินจะถูกกระตุ้นอย่างรวดเร็ว และไปลดการผลิตถ่านและแก๊สซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลแอนไฮโดรที่สามารถแตกตัวได้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นจาก 300-500 องศาเซลเซียส ลิโวกลูโคซานเป็นน้ำตาลแอนไฮโดรหลัก ซึ่งมีถึงร้อยละ 50 (Goos, 1952) นอกจากนี้ถ้าใช้อุณหภูมิสูงขึ้นไปอีกสารประกอบที่ได้จากปฏิกริยาก็จะแตกต่างกันไป ดังแสดงในตารางที่ 2.3 นั่นคือปริมาณของน้ำมันดิน น้ำตาลรีดิวซ์ ลิโวกลูแคน

และฟูแรน โนสไอโซเมอร์ของลิวโกลูแคนจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นในขณะที่ปริมาณของถ่านลดลง น้ำมันดินประกอบด้วยอนุพันธ์ของน้ำตาลแอนไฮโดรซึ่งสามารถแตกตัวได้เป็นน้ำตาลรีดิคซ์ การระเหยของลิวโกลูแคนและสารระเหยที่ได้จากการสลายด้วยความร้อนโดยมากเป็นแบบเอนโดเทอร์มิก (endothermic) โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่อุณหภูมิสูง กล่าวได้ว่ากระบวนการไพโรไลซิสสามารถควบคุมได้ด้วยอัตราการส่งผ่านความร้อนมากกว่าจลนศาสตร์ปฏิกิริยาเคมี

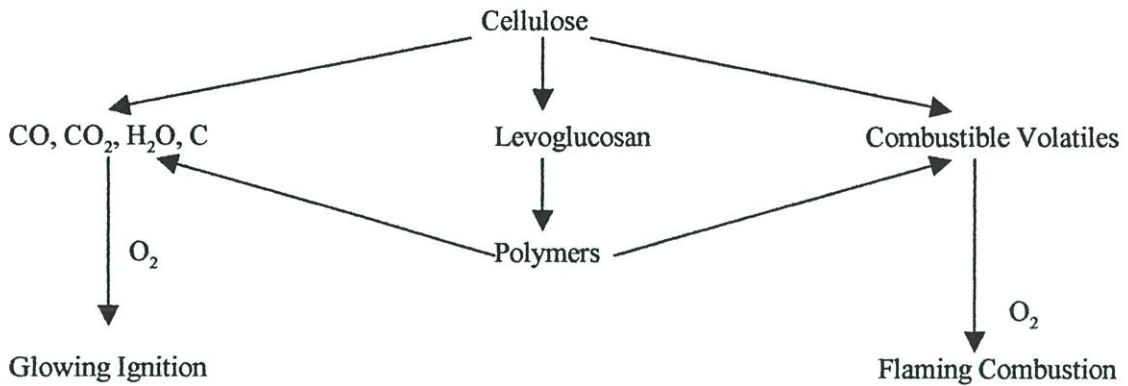
ตารางที่ 2.3 อิทธิพลของอุณหภูมิต่อปริมาณของสารที่ได้จากการสลายตัวของเซลลูโลส

(%)					
Temp (°C)	Tar	Reducing sugar	Levoglucosan	Furanose isomer	Char
300	59	40	28	-	20
325	70	58	37	-	10
350	71	57	38	-	9
375	71	62	38	-	7
400	76	63	38	7	6
425	76	62	40	7	6
450	76	62	39	6	6
475	77	62	39	8	5
500	77	62	39	8	5

ที่มา : Shafizadeh (1984)

ความดันก็มีอิทธิพลต่อปริมาณของสารประกอบที่เกิดจากการสลายตัวของเซลลูโลส ทั้งนี้หากไม่แยกสารระเหยที่ได้จากช่วงต้นของปฏิกิริยาออกมาก่อนสารดังกล่าวอาจเข้าทำปฏิกิริยาต่อกันและเกิดการสลายตัวของสารดังกล่าวเพิ่มขึ้น

Reiner (1977) พบว่ามีสารประกอบมากกว่า 300 ชนิดที่สามารถตรวจสอบได้ แต่สารประกอบหลักที่ตรวจพบ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก 45 ชนิด คาร์บอนิล คีโตน และอัลดีไฮด์มากกว่า 70 ชนิด กรด ฟูแรน 20 และ 11 ชนิด ตามลำดับ แอลกอฮอล์และเอสเทอร์ 13 ชนิด แล็กโตน โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน 13 และ 27 ชนิด ตามลำดับ และสารประกอบที่มีโครงสร้างใหญ่ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการกลั่นของสารที่ได้จากการสลายตัวของเซลลูโลส Shafizadeh (1984) ได้แสดงถึงปฏิกิริยาการแยกสลายด้วยความร้อนและการสันดาปของเซลลูโลสดังแสดงในรูปที่ 2.11



ที่มา : Shafizadeh (1984)

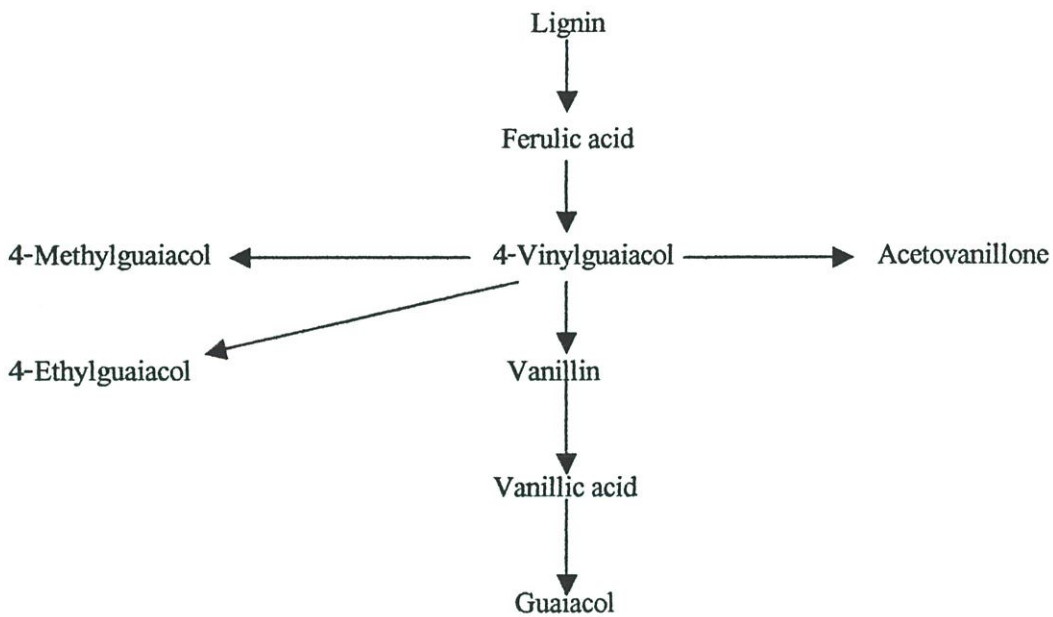
### รูปที่ 2.11 การไฟโรไลซิสและการสันดาปของเซลลูโลส

Fengel and Wegner (1984) สรุปถึงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นขณะเซลลูโลสถูกสลายด้วยความร้อนดังนี้คือ ขั้นแรกเกิดดีโพลีเมอไรเซชันด้วยปฏิกิริยาทรานสโกลโคซิลเลชัน (transglycosylation) ซึ่งเกิดที่อุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียส ได้เป็นของผสมของลิโวกลูโคซาน (levoglucosan) อนุพันธ์ของโมโนแซคคาไรด์อื่น โพลีแซคคาไรด์ที่เกาะกันอย่างไม่มีระบบแน่นอนของผสมรวมนี้เรียกว่าน้ำมันดิน (tar) ตามด้วยดีไฮเดรชันของน้ำตาลทำให้ได้สารประกอบไม่อิ่มตัวหลายชนิดรวมทั้งสารประกอบฟูรานด้วย และที่อุณหภูมิสูงขึ้นเกิดการแตกแยกของโมเลกุลน้ำตาลให้เป็นสารประกอบคาร์บอนิล จากนั้นเกิดการกลั่นตัวของสารประกอบไม่อิ่มตัวและการแยกของโซ่ข้างเคียง (side chains) ทำให้ได้เป็นสารประกอบคาร์บอนที่มีความว่องไว

#### 2.4.2.3 การสลายตัวของลิกนินด้วยความร้อน

ไม้เนื้อแข็งที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้วจะมีปริมาณลิกนินอยู่ร้อยละ 20-25 การสลายตัวของลิกนินด้วยความร้อนมีบทบาทสำคัญต่อกลิ่นของควันโดยผลผลิตจากการไฟโรไลซิสของลิกนินส่วนใหญ่คือสารประกอบฟีนอลิก ลิกนินจะเริ่มสลายตัวจากการแตกที่เฮเทอโรไซคลิกฟูแรนวงแหวนฟูแรน และการเชื่อมต่อนของอีเทอร์ได้เป็นกัวเอียคอล (guaiacol) ซึ่งจะสลายตัวต่อไปเป็นฟีนอลและครีซอล (cresols) (Goos, 1952) กรดเฟอร์รูลิก (ferulic acid) เป็นสารตัวกลางที่สำคัญจากการสลายตัวของลิกนินสารดังกล่าวสามารถเกิดปฏิกิริยาคาร์บอกซิเลชันต่อไปให้เป็นสารประกอบหลายชนิด Gilbert and Knowles (1975) ได้ศึกษาถึงกระบวนการผลิตฟีนอลิกจากลิกนินพบว่าไซลิงกอล (syringol) ทูซิกไดเมทอกซีฟีนอล (2,6-dimethoxyphenol) เป็นสารประกอบฟีนอลที่ผลิตออกมาได้เป็นจำนวนมากโดยไซลิงกอล (syringol) และสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆจะให้กลิ่นรสควันในอาหาร ส่วนสารประกอบฟีนอลชนิดอื่นๆที่พบในควันเหลว คือ ยูจีนอล (eugenol) ไอโซยูจีนอล (isoeugenol) กัวเอียคอล และ ครีซอล เป็นต้น และยังพบว่ามีสารประกอบที่มีออกซิเจนอยู่ด้วย เช่น วานิลลิน (vanillin) กรควานิลิก (vanillic acid) และ อะซิโตนานิลิน

(acetovanillone) ซึ่งมักพบในปฏิกิริยาที่เกิดภายใต้บรรยากาศ สรุปลงได้ว่าการสลายของลิกนินสามารถควบคุมได้และให้สารสุดท้ายตามต้องการ โดยวิธีควบคุมสภาวะของอากาศในระหว่างเกิดปฏิกิริยา ดังแสดงในรูปที่ 2.12



ที่มา : Gilbert and Knowles (1975)

รูปที่ 2.12 การสลายตัวด้วยความร้อนของเฟอร์รูติก

Fenner and Lephardt (1981) ศึกษาการสลายตัวของลิกนินโดยใช้อุณหภูมิที่แตกต่างกันพบว่า ลิกนินเริ่มสลายตัวที่อุณหภูมิตั้งแต่ 120 จนถึง 300 องศาเซลเซียส สารประกอบที่ได้จากปฏิกิริยาดังกล่าวได้แก่ กรดฟอร์มิก ฟอร์มัลดีไฮด์ คาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ ซึ่งได้จากการแตกของพันธะเดี่ยวของฟีนิลโพรเพน (phenyl-propane) การสลายตัวของลิกนินดำเนินต่อไปและจะเพิ่มขึ้นที่อุณหภูมิ 385 องศาเซลเซียส ซึ่งในช่วงนี้จะได้สารประกอบแตกต่างกัน เช่น เมธานอล คาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนมอนอกไซด์ น้ำ มีเทน ฟีนิลที่มีหมู่กัวเอียคอลทูเมทอกซีฟิอิลดีล(2-methoxy-4-alkyl-substituted phenyl) อะซิโตน และกรดอะซิติก เป็นต้น ซึ่งเข้าใจว่าเมธานอล ที่เกิดขึ้นมาจากเมธอกซิล (methoxyl) ในลิกนินในขณะที่สารอื่นๆ ได้จากการแตกของพันธะที่สำคัญให้ได้เป็นหน่วยโมโนเมอร์ฟีนอล (monomeric phenol units) ในชั้นสารระเหย ซึ่งก็สามารถสลายตัวต่อไปได้อีก อุณหภูมิที่พบว่าทำให้ได้สารฟีนอลิกมากที่สุดคือที่ 320 องศาเซลเซียส และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นกว่านี้จะได้ผลผลิตที่ได้จากการแตกตัวครั้งที่สอง ดังนั้นควรใช้อุณหภูมิที่ไม่สูงเกินกว่า 320 องศาเซลเซียสหากต้องการจะให้ปริมาณสารฟีนอลิกในควันมากที่สุด ถึงแม้ว่าลิกนินยังสามารถสลายตัวต่อไปจนถึงอุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียสก็ตาม

### 2.4.3 กลิ่นรสจากควัน

ควันไม้มีสารประกอบทางเคมีมากมายและยังไปมีผลต่อคุณลักษณะของอาหาร เมื่อ 30 ปีที่แล้ว งานวิจัยส่วนมากจะเกี่ยวข้องกับการแยกส่วนประกอบของควันซึ่งแบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ๆ เช่น สารประกอบที่ทำให้เกิดสภาพความเป็นกรดจะให้กลิ่นรส สารประกอบฟีนอลิกมีความสามารถในการถนอมอาหารและให้กลิ่นรส และคาร์บอนิลจะทำปฏิกิริยากับโปรตีนและแหล่งไนโตรเจนอื่นๆเพื่อที่จะให้สีของอาหารออกมา โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (polycyclic aromatic hydrocarbon ,PAH) มีโครงสร้างที่ยังไม่ค่อยเป็นที่เข้าใจกันมากนักแต่เป็นที่ทราบกันว่าเป็นสารก่อมะเร็ง ในการผลิตควันเหลวสารที่ไม่ละลายน้ำ อินทรีย์สารเล็กๆ และโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจะมีระดับที่ลดลง พบว่าเรซิน (resin) จะเป็นตัวช่วยกำจัดโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในควันให้มีระดับที่ลดลง (Underwood และ Rozum ,1995)

ได้มีงานวิจัยอีกมากมายที่วิเคราะห์เกี่ยวกับสารประกอบในควัน เช่น Kim และคณะ (1974) ได้ศึกษากลิ่นรสของสารประกอบฟีนอลิกในควันพบว่าสารประกอบฟีนอลิกในควันจะแตกต่างกันตามชนิดของไม้ ซึ่งแหล่งของไม้ที่ใช้ส่วนใหญ่ คือ ฮิคคอรี่ (hickory) และเมสควิท (mesquite) ควันไม้เป็นแหล่งของสารฟีนอลิกจำนวนมาก Komreich และ Issenberg (1972) พบว่าความเข้มข้นของสารฟีนอลิกในควันเป็น 10-60 เท่าของเฟสที่เป็นไอ (vapour phase) ของอาหารรมควัน ดังนั้นวิธีรมควันจึงมีอิทธิพลต่อความเข้มข้นของสารฟีนอลิกตลอดจนกลิ่นรสของอาหาร Lustre และ Issenberg (1970) รายงานว่าแม้จะพบสารฟีนอลิกหลายชนิดในควันแต่มีบางส่วนเท่านั้นที่พบในอาหารรมควัน เช่น คอนนิเฟอร์อัลดีไฮด์ (Coniferaldehyde) และไซแนปาลดีไฮด์ (Sinapaldehyde) ซึ่งสารสองชนิดนี้พบในปริมาณมากเนื่องจากโครงสร้างของสารข้างต้นประกอบด้วยหมู่คาร์บอนิลและพันธะคู่ที่มีความว่องไวจึงมักเกิดปฏิกิริยาการเพิ่ม (addition) ดังนั้นสรุปได้ว่าสารดังกล่าวสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนในเนื้อสัตว์ได้เป็นสารประกอบใหม่ อย่างไรก็ตาม Radecki และ Grzybowski (1981) พบไซแนปาลดีไฮด์ในอาหารรมควันหลายชนิดซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารบางชนิดที่พบในอาหารรมควันอาจจะอยู่ในสถานะที่ยังไม่ได้ทำปฏิกิริยากับสารอื่น Duan (1972) ได้แยกสารฟีนอลิกออกจากส่วนของไอและส่วนของอนุภาคที่แขวนลอยในควัน เมื่อนำมาเจือจางและตรวจสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อหาค่าเทสโฮลด์ (threshold) ตลอดจนระดับความเข้มข้นที่ต้องการมากที่สุดสรุปได้ว่าเทสโฮลด์ของกลิ่นรสในส่วนของไอจะสูงกว่าในส่วนของอนุภาคที่แขวนลอย แสดงให้เห็นว่าในส่วนที่แขวนลอยของควันประกอบกับสารฟีนอลิกมากกว่า ดังนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดจากส่วนที่แขวนลอยย่อมต่ำกว่าส่วนของไอ

จากการศึกษาของ Guillen และ Ibargoitia (1996) โดยเปรียบเทียบสารระเหยที่เกิดขึ้นจาก *Vitis vinifera* L shoots และ *Fagus sylvatica* L wood ในการผลิตกลิ่นรสควันเหลวโดยใช้ไดคัลโลโรมีเทนเป็นตัวสกัดแล้วนำมาวิเคราะห์โดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรี (Gas chromatography-Mass spectrometry ,GC-MS) พบว่าจะมีสารประกอบคาร์บอนิลเกิดขึ้นใน

ปริมาณมากกว่าสารประกอบฟีนอล โดยพบว่าคาร์บอนิลจะเป็นสารประกอบหลักที่ตรวจพบใน กลิ่นรสควันเหลวที่ได้จากไม้ทั้ง 2 ชนิด ซึ่งจะให้กลิ่นรสที่คล้ายกลิ่นน้ำตาลไหม้และกลิ่นคาราเมล (Fiddler et al., 1970) โดยสารประกอบหลักๆที่พบคือ ทูฟูรานคาร์บอกซาลดีไฮด์ (2-furancarboxaldehyde) ทูไฟว์ไฮโดรเจนฟูรานโนน (2(5H)-furanone) วันอะซีทอกซีโพรพาน ทูไอออน (1-acetoxy-propan-2-one) และ ทรีเมททิลไซโครเพนเทนวันทูไดโอน (3-methyl-cyclopentane-1,2-dione) สารประกอบอื่นๆจะพบในปริมาณน้อย ส่วนสารประกอบฟีนอล กัวเอียคอลล ไชริงกอล และสารประกอบอื่นๆ ส่วนใหญ่จะเกิดจากการไพโรไลซิสของลิกนิน (Kim et al., 1974) ซึ่งใน *Vitis vinifera* L shoots จะให้กลิ่นรสควันมากกว่า *Fagus sylvatica* L wood อัตราส่วนความเข้มข้นของคาร์บอนิลและฟีนอลนี้ไม่สามารถระบุได้ขึ้นอยู่กับชนิดของไม้และ ปริมาณสารระเหยที่ผลิตได้จะขึ้นอยู่กับปริมาณของไม้ที่ใช้ในการเผาไหม้ด้วย

จากการศึกษากลิ่นรสควันเหลวที่ใช้ในทางการค้าโดยใช้โคคลอโรมีเทนเป็นตัวสกัด ส่วน ด้านคุณภาพและปริมาณของสารที่สกัดได้จะถูกนำไปวิเคราะห์โดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ แมสสเปกโตรเมทรีและเครื่องฟอร์เรียทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโคปี (Fourier transform infrared spectroscopy ,FTIR) ตามลำดับพบว่านอกจากจะมี เบนโซอัลฟาไพรีน (benzo[*a*]pyrene) และสารประกอบโพลีไซคลิกอะโรมาติก (polycyclic aromatic) ที่มีคุณสมบัติทำให้เกิดสาร ก่อมะเร็งแล้ว ยังพบสารประกอบอัลคิลและคาร์บอนิลของ ไชริงกอลและกัวเอียคอลลในปริมาณ ร้อยละ 65 ของสารระเหยทั้งหมดที่โคคลอโรมีเทนสกัดออกมาได้ ส่วนเทคนิคฟอร์เรียทรานสฟอร์ม อินฟราเรดสเปกโทรสโคปีจะใช้ศึกษาปริมาณและคุณภาพของสารประกอบกลุ่มหลักๆ เช่น สาร ประกอบอะโรมาติกที่เด่นๆ ไชริงกอลที่เกิดขึ้นจะมีความเข้มข้นมากกว่ากัวเอียคอลล โดยอัตราส่วน ประมาณ 3 ต่อ 1 สารประกอบคาร์บอนิล ฟูราน ไพราน จะเป็นสารประกอบหลักที่เกิดขึ้นจากการ ไพโรไลซิสของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส (Fiddler และคณะ., 1967)

สารประกอบ เช่น ทูซิกไดเมททอกซีฟีนอล (2,6-dimethoxyphenol) ทูซิกไดเมททอกซี โฟเมททิลฟีนอล (2,6-dimethoxy-4-methylphenol) ทูซิกไดเมททอกซีโฟเอททิลฟีนอล (2,6-dimethoxy-4-ethylphenol) ทูซิกไดเมททอกซีโพรพิลฟีนอล (2,6-dimethoxy-4-propylphenol) ซิสทรานไอโซเมอร์ (cis and trans isomer) ของทูซิกไดเมททอกซีโพรพิลฟีนอล (2,6-dimethoxy-4-(1-propenyl)phenol) ที่ตรวจได้พบว่าเป็นสารประกอบที่มีคุณสมบัติเป็นสารป้องกันการเกิดกลิ่นหืนในควันเหลว (Mega ,1988) ซึ่งจากการวิเคราะห์จากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ แมสสเปกโตรเมทรีสามารถสรุปได้ว่าสารประกอบกลิ่นรสหลักๆในกลิ่นรสควันเหลวนี้คือ กัวเอียคอลล ไชริงกอล และสารประกอบคาร์บอนิลจำนวนเล็กน้อยซึ่งส่วนใหญ่คือไซโครทีน Kim และคณะ (1974) รายงานไว้ว่าฟูรานมีบทบาทต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสและมีส่วนทำให้ กลิ่นรสของสารฟีนอลิกนุ่มนวลขึ้น Rodecki และคณะ (1977) ได้รายงานในทำนองเดียวกันว่า

ฟูรานที่กลิ่นได้จากควันเหลวมีอยู่ 6 ชนิดซึ่งให้กลิ่นหอมหวานและกลิ่นดอกไม้ซึ่งช่วยให้ควันมีกลิ่นนุ่มนวล

จากการศึกษากลิ่นรสควันและควันเหลวจากพืชที่มีกลิ่นหอม *Thymus vulgaris* L. ของ Guillen and Manzanos (1999) โดยกลิ่นรสควันได้มาจากการไพโรไลซิสของ *Thymus vulgaris* L. ที่ 488 องศาเซลเซียสนำมาสกัดโดยไดคลอโรมีเทนแล้วนำมาวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณโดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรีและเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ซึ่งจากการทดลองสามารถแยกสารประกอบออกมาได้ทั้งหมด 90 ชนิด และกลิ่นรสควันโดยทั่วไปจะพบสารประกอบ เช่น อัลดีไฮด์ คีโตน ไดคีโตน เอสเทอร์ กรด ฟูราน ไพราน อัลคิล แอริลอีเทอร์ ฟีนอล กัวเอียคอล ไชริงกอล และสารประกอบเทอร์พีนิค พบว่าจะเกิดสารประกอบพวกอัลดีไฮด์ เอสเทอร์ กัวเอียคอล และสารประกอบเทอร์พีนิคขึ้นมากกว่าสารประกอบพวก คีโตน ฟูราน ไพราน กรด ฟีนอล และ ไชริงกอล

พบว่าสารประกอบคาร์บอนิลจะเป็นสารประกอบหลักในกลิ่นรสควันโดยทั่วไป (Fiddler และคณะ., 1970) และสารประกอบหลักคือฟูรานคาร์บอกซาลดีไฮด์ (2-furancarboxaldehyde) ซึ่งมีกลิ่นรสคล้ายกับขมปังและคาราเมล ฟูรานเมทานอล (2-furanmethanol) ทริเมทิลวันทูไซโครเพนเทนไดโอน (3-methyl-1,2-cyclopentanedione) และทริเมทิลทูบิวทานอน (3-methyl-2-butanone) (Toth และ Potthast, 1984) สารประกอบฟีนอลที่เกิดขึ้นจากการแตกตัวของลิกนิน ก็พบโดยทั่วไปในกลิ่นรสควัน สารประกอบหลักที่สกัดได้จากกลิ่นรสควันเหลวคือกัวเอียคอล อัลคิลกัวเอียคอล ไชริงกอล ฟีนอล และสารประกอบที่เกิดจากการรวมตัวระหว่างอัลคิลฟีนอล กับคาร์บอนิล คือทริเมทอกซีไพโรแคเทคอล (3-methoxyprocatechol) และโฟเอทิลเบนซีนไดโอน (4-ethylbenzenediol) ซึ่งเป็นสารยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน ยังพบสารประกอบพวกอัลคิล เอริลอีเทอร์ (alkyl aryl ethers) เช่นเมทิลไพราซีน (methylpyrazine) และทูไฟว์ไดเมทิลไพราซีน (2,5-dimethylpyrazine) เป็นสารประกอบที่ให้กลิ่นรสควันอย่างชัดเจน (Mega และ Chen, 1985)

## 2.5 การทำแก๊สอาหาร

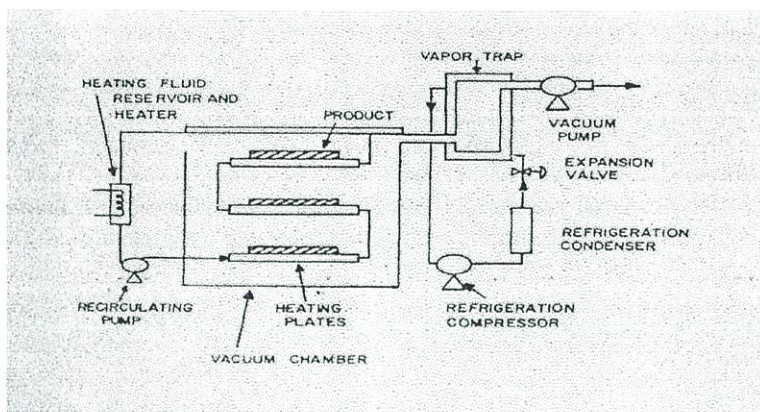
การทำแก๊สอาหารหมายถึงการกำจัดความชื้นออกจากอาหาร วัตถุประสงค์ที่สำคัญในการทำแก๊สคือเพื่อเก็บรักษานอมผลิตภัณฑ์ระหว่างการยืดอายุการเก็บ โดยลดปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์จนถึงระดับที่สามารถป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หรือปฏิกิริยาอื่นๆ วัตถุประสงค์อีกประการหนึ่งคือ การลดปริมาณของผลิตภัณฑ์ซึ่งช่วยในการขนส่งและการเก็บรักษาองค์ประกอบที่สำคัญของผลิตภัณฑ์อาหารกระทำได้อย่างมีประสิทธิภาพ และวัตถุประสงค์สุดท้ายของการทำแก๊สเพื่อผลิตภัณฑ์ซึ่งสะดวกต่อการใช้ของผู้บริโภค

### 2.5.1 การอบแห้งแบบการระเหิด (Freeze drying)

ในการอบแห้งด้วยวิธีอื่น ๆ มักจะมีปัญหาในเรื่องการใช้ความร้อนที่ทำให้อาหารแห้งทำให้คุณภาพที่ได้ลดลงหรือสูญเสียคุณค่าทางอาหารบางอย่างไป โดยเฉพาะพวกวิตามิน ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาการกำจัดความร้อนออกจากผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีการอบแห้งแบบระเหิด (freeze drying หรือ sublimation drying หรือ lyophilization) ซึ่งเป็นกระบวนการระเหิดน้ำในสถานะแช่แข็งโดยตรงไปเป็นสถานะไอ ข้อดีของกระบวนการอบแห้งแบบการระเหิดคือการกำจัดความชื้นสามารถกระทำได้โดยไม่จำเป็นต้องให้ผลิตภัณฑ์สัมผัสกับอุณหภูมิสูงเกินไป นอกจากนี้ยังสามารถรักษาโครงสร้างของผลิตภัณฑ์ในสภาพที่เป็นที่ยอมรับทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูง โดยทั่วไปกระบวนการนี้ประกอบด้วย การแช่แข็งก่อนแล้วจึงให้ความร้อนแก่ผิวผลิตภัณฑ์ ทำให้น้ำแข็งระเหิด ณ จุดนั้นแล้วไอจะถูกกำจัดออกไปทันที การระเหิดและการกำจัดไอน้ำจะทำให้ผิวหน้าของน้ำแข็งลดน้อยลงขณะที่ผิวหน้าของน้ำแข็งเคลื่อนห่างจากผิวผลิตภัณฑ์จะมีการถ่ายเทความร้อนและการแพร่กระจายของไอซึ่งเป็นตัวบ่งบอกอัตราการอบแห้งแบบระเหิดของผลิตภัณฑ์ (รุ่งนภา, 2535)

องค์ประกอบพื้นฐานของเครื่องอบแห้งแบบระเหิด ได้แก่ เครื่องระเหยซึ่งความร้อนที่เกิดขึ้นจะใช้เป็นแหล่งพลังงานของการอบแห้งและเครื่องคอนเดนเซอร์ซึ่งจะรวบรวมไอที่ได้จากผลิตภัณฑ์ ทั้งเครื่องระเหยและเครื่องคอนเดนเซอร์จะวางอยู่ในห้องสุญญากาศและสภาวะสุญญากาศเกิดขึ้นโดยการใช้ปั๊มสุญญากาศ การทำแห้งจะต้องเกิดขึ้นที่ความดันต่ำเพื่อให้ น้ำกลายเป็น ไอจากสถานะของแข็งเพื่อให้การทำแห้งด้วยการระเหิดเกิดขึ้น ได้ดีจะต้องรักษาความดันสัมบูรณ์ภายในห้องอบแห้งอย่างน้อย 620 Pa (Charm, 1978)

ดังรูปที่ 2.13 แสดงแผนผังของเครื่องทำแห้งด้วยการระเหิด ความดันสัมบูรณ์ภายในห้องอบแห้งทราบได้จากอุณหภูมิที่ตัวจับไอ (vaportrap) ความดันนี้จะตรงกับความดันไอเหนือน้ำแข็งที่อุณหภูมิของตัวจับไอ ปั๊มสุญญากาศออกแบบมาเพื่อดูดอากาศจากห้องสุญญากาศให้หมดเมื่อเริ่มดำเนินการทำงานและเพื่อกำจัดแก๊สที่ไม่ควมแน่นและอากาศที่อาจเล็ดลอดเข้าสู่ระบบปริมาตรของน้ำที่กลายเป็นไอน้ำจะมีปริมาณมากที่ความดันต่ำในระบบการทำแห้งแบบระเหิดนี้ ดังนั้นถ้ากำจัดไอโดยใช้ปั๊มสุญญากาศอย่างเดียวจำเป็นต้องใช้ปั๊มขนาดใหญ่จึงใช้วิธีควมแน่นไอน้ำในรูปของน้ำแข็งในตัวจับไอซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงในการลดปริมาณแก๊สที่ต้องกำจัดออกจากระบบ โดยปั๊มสุญญากาศ ความร้อนที่ให้แก่ออาหารเพื่อทำแห้งเป็นพลังงานความร้อนของการเป็นไอโดยการใช้ชั้นกลางซึ่งมีของเหลวที่ถูกทำให้ร้อนหมุนเวียนอยู่ภายใน อุณหภูมิของชั้นนี้สามารถควบคุมได้โดยการควบคุมอุณหภูมิหรือปริมาณของตัวกลางแลกเปลี่ยนความร้อน อาหารที่อบแห้งจะวางอยู่บนแผ่นที่ร้อนนี้การถ่ายเทความร้อนเกิดขึ้นได้ทั้งจากการนำความร้อนจากแผ่นความร้อน การพาความร้อนจากอากาศภายในห้องอบแห้ง ไปยังผิวอาหารและการแผ่รังสีความร้อน (Toledo, 1980)



ที่มา : Toledo (1980)

รูปที่ 2.13 แผนผังเครื่องอบแห้งแบบระเหิด

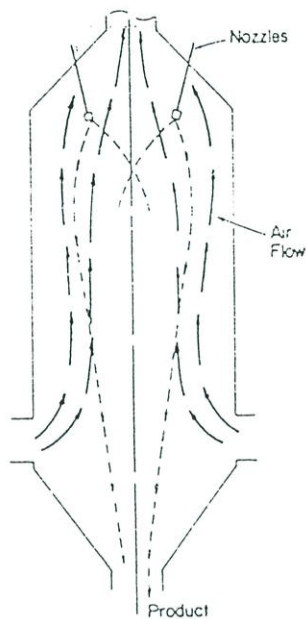
### 2.5.2 การอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying)

กระบวนการอบแห้งที่ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารที่มีปริมาณความชื้นเริ่มต้นสูงและอยู่ในสภาพเริ่มต้นเป็นของเหลวได้ดีที่สุดคือ การอบแห้งแบบพ่นฝอย กระบวนการนี้ใช้ครั้งแรกกับการอบแห้งนมในเวลาสั้นๆ วิธีนี้ใช้กับผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเหลวในตอนต้นและไม่ทนต่อความร้อนหรือไวต่อความร้อนนั่นเอง ลักษณะเฉพาะของการอบแห้งแบบพ่นฝอยคือ วงจรการอบแห้งจะเร็วเวลาที่ผลิตภัณฑ์อยู่ในห้องอบแห้งสั้นและผลิตภัณฑ์สุดท้ายพร้อมที่จะบรรจุทันทีขณะที่ออกจากเครื่องอบแห้ง

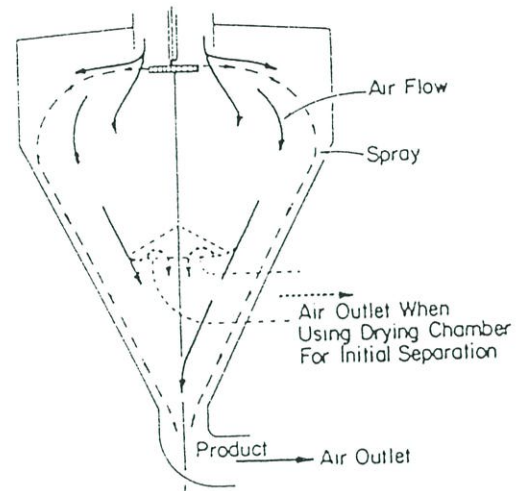
เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยมีหลายแบบโดยทั่วไปแล้วสามารถแบ่งได้เป็น 4 แบบ แบบแรกได้แก่ ชนิดกระแสสวนทางกัน (counter-current) ดังแสดงในรูปที่ 2.14 เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยชนิดกระแสสวนทางกันของเหลวจะถูกพ่น (atomized) ใกล้กับส่วนบนของห้องอบแห้ง (drying chamber) และตกลงมา ขณะที่อากาศจะนำเข้าสู่เครื่องใกล้กับด้านล่างของห้องอบแห้งและเคลื่อนที่คู่ด้านบนผ่านหยดของเหลว (liquid droplets) ผลิตภัณฑ์ที่แห้งจะออกจากด้านล่างของห้อง ขณะที่อากาศจะถูกกำจัดใกล้ส่วนบนของห้องอบแห้ง อากาศที่เข้าซึ่งมีอุณหภูมิค่อนข้างสูงจะสัมผัสโดยตรงกับผลิตภัณฑ์ซึ่งแห้งหรือเกือบแห้ง แต่ข้อเสียของเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยชนิดนี้คือคุณภาพของผลิตภัณฑ์จะลดลงเนื่องจากความร้อนที่มีต่อผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้อัตราการไหลของอากาศต้องค่อนข้างต่ำเพื่อหลีกเลี่ยงผลิตภัณฑ์ติดไปกับอาหารในปริมาณมากเมื่ออากาศถูกกำจัดออกไปที่ด้านบนของห้องอบแห้ง (รุ่งนภา, 2535)

เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยชนิดกระแสตามกัน (co-current spray dryer) ดังแสดงในรูปที่ 2.15 จะมีการผสมอากาศที่เข้ากับหยดของเหลวที่เกิดขึ้นใหม่ที่เครื่องอะตอมไมเซอร์ (atomizer) หลังจากการผสมตอนต้นแล้ว ผลิตภัณฑ์และอากาศจะเคลื่อนไปในทิศทางเดียวกันขณะที่กระบวนการทำแห้งดำเนินต่อไป ผลิตภัณฑ์และอากาศส่วนใหญ่จะออกจากห้องอบแห้งที่ทางออกด้านล่างและเคลื่อนไปยังระบบแยก (separation system) การจัดตัวเช่นนี้อาจจะดีที่สุดสำหรับผลิตภัณฑ์

อาหารที่ไวต่อความร้อนเนื่องจากผลิตภัณฑ์เหลวจะสัมผัสกับอากาศเข้าอุณหภูมิสูงและผลิตภัณฑ์แห้งจะสัมผัสกับอากาศหลังจากอุณหภูมิลดลงอย่างมาก (Patsavas, 1963)



รูปที่ 2.14 เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยที่มี  
กระแสไหลสวนทางกัน

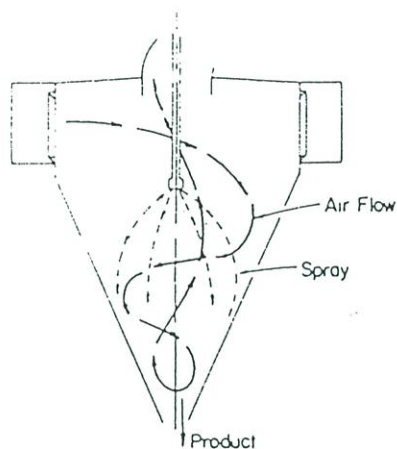


รูปที่ 2.15 เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยที่มี  
กระแสไหลตามกัน

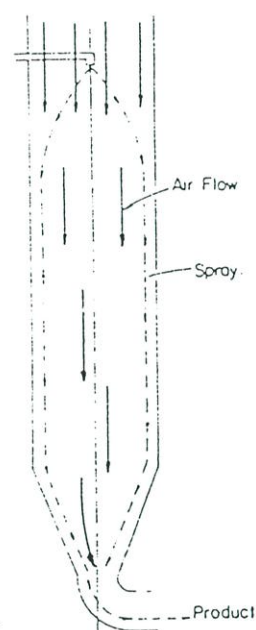
การไหลของผลิตภัณฑ์และอากาศผ่านเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยชนิดที่มีการไหลผสมกัน (mixed flow pattern) ดังแสดงในรูปที่ 2.16 จะเห็นว่าผลิตภัณฑ์เข้าสู่เครื่องด้วยตัวอะตอมไมเซอร์ที่อยู่ใกล้กับศูนย์กลางของห้องอบแห้ง อากาศที่เข้าสู่ส่วนบนจะเคลื่อนลงมาด้านล่างของห้องอบแห้งซึ่งจะสัมผัสกับผลิตภัณฑ์ก่อนที่จะเคลื่อนที่เคลื่อนที่ขึ้นด้านบนไปยังช่องอากาศออก ผลิตภัณฑ์จะออกจากเครื่องทางออกใกล้กับด้านล่างของห้องอบแห้ง ถ้าอุณหภูมิของอากาศที่เข้าเครื่องสูงอาจทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ลดลงนี้ต่อระบบนี้จะมีความสามารถในการระเหยต่อหน่วยปริมาตรสูง (Patsavas, 1963)

เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยที่มีการไหลขนานกัน (parallel flow) ในรูปที่ 2.17 จะเห็นว่าในการจัดเรียงตัวเช่นนี้การไหลของผลิตภัณฑ์และอากาศค่อนข้างจะเป็นเส้นสม่ำเสมอจากด้านบนสู่ด้านล่างของห้องอบแห้งที่แคบ ผลิตภัณฑ์และอากาศจะออกจากห้องอบแห้งด้วยกันแล้วเคลื่อนที่ไปยังส่วนที่ใช้แยกของระบบลักษณะของเครื่องอบแห้งแบบนี้จะแตกต่างจากชนิดกระแสไหลตามกันคือความเร็วลมที่ใช้สูงทำให้อุณหภูมิที่เข้าสู่ ความเร็วลมนี้โดยทั่วไปจะอยู่ในช่วง 2-3 เมตร/วินาที

โดยทั่วไปเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยจะพิจารณาว่าเป็นกระบวนการ 2 ขั้นตอน ขั้นแรกคือการอะตอมไมเซชันหรือการเกิดหยดของเหลว ขณะที่ขั้นที่สองคือการอบแห้งหรือการระเหยความชื้นจริงๆ เพื่อให้เกิดอนุภาคผลิตภัณฑ์ของแข็ง หน้าที่ของอะตอมไมเซชันคือก่อให้เกิดหยดเล็กๆ ซึ่งจะได้พื้นที่ผิวสำหรับการระเหยความชื้นจำนวนมาก นอกจากนี้ยังเป็นตัวควบคุมอัตราการไหลของผลิตภัณฑ์ไปยังเครื่องอบแห้ง ตัวอะตอมไมเซชันจะส่งของเหลวไปยังกระแสน้ำในลักษณะที่ค่อนข้างสม่ำเสมอและให้ขนาดของหยดของเหลวที่เหมาะสมเพื่อที่จะได้ขนาดของอนุภาคผลิตภัณฑ์แห้งตามต้องการหลังสิ้นสุดกระบวนการ (Tate, 1965)



รูปที่ 2.16 เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยที่มีกระแสไหลผสมกัน



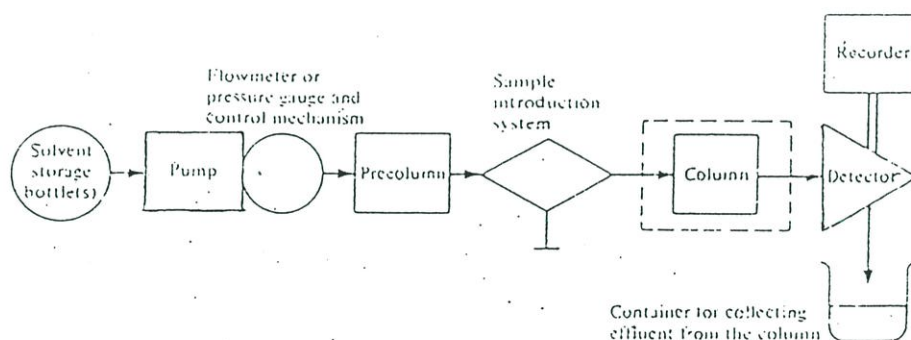
รูปที่ 2.17 เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยที่มีการไหลขนานกัน

## 2.6 การวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ

ในปัจจุบันนี้งานทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทั้งหลายจำเป็นต้องอาศัยข้อมูลทางเคมีวิเคราะห์อย่างมากเพื่อนำผลการทดลองนั้นไปปรับปรุงคุณภาพและพัฒนากระบวนการผลิตให้มีประสิทธิภาพและเป็นผลดียิ่งขึ้น ตลอดจนแก้ปัญหาต่างๆ ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เทคนิคต่างๆที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมีสมัยใหม่ควรจะสามารถทำการวิเคราะห์ให้ได้ผลออกมาอย่างรวดเร็ว แม่นและมีความเที่ยงตรงสูง บางเทคนิคอาจต้องสามารถทำการวิเคราะห์สารปริมาณน้อยๆ ได้อีกด้วย ดังนั้นเทคนิคเหล่านี้ล้วนต้องใช้เครื่องมือต่างๆ ที่ทันสมัยเข้าช่วยจึงจะได้ผลตามที่ต้องการ

### 2.6.1 ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี

ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) เป็นเทคนิคหนึ่งของลิกวิดโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ที่สามารถแยกได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ เพราะใช้ความดันช่วย และของแข็งที่บรรจุในคอลัมน์มีขนาดเล็ก การใช้ความดันช่วยทำให้เฟสที่เคลื่อนที่ไหลได้เร็วขึ้นจะไม่ทำให้ประสิทธิภาพของคอลัมน์ลดลง เนื่องจากการทำ HPLC ต้องใช้ความดันช่วยจึงต้องมีเครื่องมือสำหรับปั๊มตัวอีลูท และเนื่องจากปริมาณสารตัวอย่างที่ใช้จำนวนน้อย หลังจากทีสารตัวอย่างถูกอีลูทออกจากคอลัมน์ต้องมีเครื่องมือที่เรียกว่า ดีเทคเตอร์ วัดปริมาณสารน้อยๆ ที่ถูกอีลูทออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่วนประกอบของเครื่อง HPLC สรุปดังรูปที่ 2.18



ที่มา : แม้น และ อมร (2534)

รูปที่ 2.18 ส่วนประกอบของเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี

#### 1. ถังใส่ตัวทำละลายที่เคลื่อนที่ (Solvent reservoir)

ถังใส่ตัวทำละลายจะทำด้วยแก้วหรือสแตนเลสก็ได้ มีขนาดบรรจุ 1-2 ลิตร ตามปรกติควรต่อกับตัวทำละลายแก๊ส (degassing system) เพื่อดูดแก๊สไนโตรเจน ตัวทำละลายแก๊สประกอบด้วยเครื่องปั๊มสุญญากาศ ส่วนให้ความร้อน ตัวคนสารละลาย และส่วนทำการกลั่น (distillation system) แต่ถ้าต้องใช้ตัวทำละลายผสมในการอีลูทต้องมีเครื่องมือ 2 ชุดต่อเชื่อมกันเพื่อให้ตัวทำละลายผสมกัน

และเปลี่ยนโพลาไรตีได้อย่างต่อเนื่อง (gradient elution) ซึ่งเรียกว่า การโปรแกรมตัวทำละลาย (solvent programming)

การอีลูทโดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมเพียงตัวเดียว (isocratic condition) จะทำให้ใช้เวลาในการแยกนาน และสารตัวอย่างที่ถูกอีลูทออกมาที่หลังมักจะมีหาง แต่ถ้าเปลี่ยนตัวอีลูทโดยการโปรแกรมตัวทำละลาย การแยกจะใช้เวลาอันน้อยลงลักษณะพีกที่ได้ดีขึ้น

## 2. เครื่องปั๊ม (Pump)

ทำหน้าที่ปั๊มตัวทำละลายเข้าคอลัมน์ด้วยความดันอย่างน้อย 1000 psi (lbs/in<sup>2</sup>) ความดันที่เหมาะสมและใช้ได้คือ 4000-6000 psi ซึ่งทำให้อัตรการไหลของตัวทำละลายมีค่าเท่ากับ 3 ลบ.ซม/นาที่ อัตราการไหลควรควบคุมให้คงที่ เบี่ยงเบนได้ไม่เกิน  $\pm 2\%$  เนื่องจากการไหลมีผลโดยตรงต่อเวลาที่ใช้ในการแยก

## 3. 프리คอลัมน์ (Precolumn)

เครื่องมือ HPLC บางครั้งต้องมีคอลัมน์เพิ่มขึ้นอีก 1 อัน เรียกว่า 프리คอลัมน์ มีสารบรรจุอยู่เหมือนกับคอลัมน์ที่ใช้งานแต่ขนาดสารที่บรรจุอยู่ใหญ่กว่าเพื่อไม่ให้ความดันของตัวทำละลายที่ไหลผ่านคอลัมน์นี้ลดลง คอลัมน์นี้มีหน้าที่แยกเอาสิ่งที่ไม่ต้องการที่ติดอยู่ในตัวทำละลายออกไปหรือทำให้ตัวทำละลายที่ใช้เป็นตัวอีลูทที่บริสุทธิ์ขึ้น

## 4. ส่วนฉีดสารตัวอย่าง (Sample injection system)

สารตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าทางวาล์วโดยเข็มฉีดจนกระทั่งสารตัวอย่างอยู่ในทิศทางการไหลของตัวอีลูท

## 5. คอลัมน์ (Column)

คอลัมน์สำหรับใช้ในงานวิเคราะห์ HPLC ทำด้วยหลอดแก้วอย่างหนาหรือสเตส มีขนาดความยาว 15-150 ซม. เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 2-3 มิลลิเมตร คอลัมน์ขนาดที่ยาวเป็นเมตรก็สามารถใช้ได้เช่นกัน โดยขดเป็นวงกลม ของแข็งดูดซับที่นิยมใช้ใน HPLC คือ ซิลิกาและอะลูมินา สามารถจัดแบ่งตามประเภทของสารที่นำมาวิเคราะห์ได้ดังนี้

- ก) ถ้าเป็นสารประเภทกรด (acidic compound) ควรใช้อะลูมินาเป็นตัวดูดซับ
- ข) ถ้าเป็นสารที่เป็นเบสเล็กน้อย ควรใช้ซิลิกาเป็นตัวดูดซับ
- ค) โมเลกุลที่ไม่อัมพล เช่น อะโรมาติก ควรใช้อะลูมินาเป็นตัวดูดซับ
- ง) โมเลกุลที่ไม่อัมพล โลเจน ควรใช้อะลูมินาเป็นตัวดูดซับ
- จ) สารที่เป็นเบสควรใช้ซิลิกาเป็นตัวดูดซับ

## 6. ส่วนควบคุมอุณหภูมิ (Temperature Control)

ตามปรกติการทำลิควิด โครมาโทกราฟีต่างๆ ไปนิยมที่อุณหภูมิห้อง อาจเพิ่มอุณหภูมิให้แก่คอลัมน์ก็ได้เช่นเดียวกับแก๊สโครมาโทกราฟีโดยใช้เตา (oven) ที่ควบคุมอุณหภูมิได้

## 7. คีเทคเตอร์ (Detector)

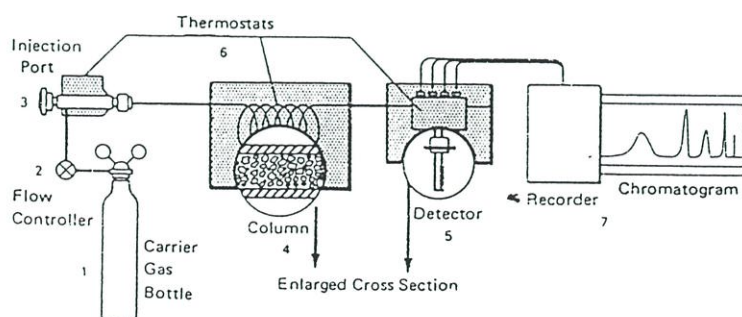
คีเทคเตอร์ที่ใช้ใน HPLC ไม่มีชนิดที่มีความไวสูงแบบแก๊สโครมาโทกราฟี คีเทคเตอร์จะเป็นชนิดใดขึ้นอยู่กับสารตัวอย่าง

### 2.6.2 แก๊สโครมาโทกราฟี

แก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography, GC) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารผสมที่ระเหยได้ง่าย สารผสมจะถูกฉีดเข้าไปในคอลัมน์ (column) ที่บรรจุด้วยสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวยึดจับ ซึ่งเรียกว่าเฟสคงที่ (stationary phase) และมีแก๊สพา (carrier gas) เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เคลื่อนที่ไปตามคอลัมน์เข้าสู่เครื่องตรวจวัด (detector) สัญญาณที่เครื่องตรวจวัดได้รับจะถูกบันทึกเป็นโครมาโทแกรม (chromatogram) โดยเครื่องบันทึก (recorder) (แมนและอมร, 2534)

เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ในทาง GC เรียกว่า แก๊สโครมาโทกราฟ (Gas chromatograph) โดยหลักทั่วไปมีส่วนประกอบดังรูปที่ 2.19

1. ถังแก๊สที่ใช้บรรจุตัวพา (carrier gas) เพื่อจะพาไอของสารตัวอย่างผ่านเข้าไปยังคอลัมน์ ได้แก่ ไนโตรเจน ฮีเลียม และอาร์กอน เป็นต้น
2. ส่วนที่ใช้ควบคุมการไหลของแก๊สต่างๆ (flow controller) ได้แก่ ไฮโดรเจน อากาศ และไนโตรเจน เป็นต้น
3. ส่วนที่จะฉีดสารตัวอย่างเข้าไป (injection port)
4. คอลัมน์ (column) ซึ่งเป็นส่วนที่สำคัญที่สุดที่ใช้สำหรับแยกสาร
5. คีเทคเตอร์ (detector) เป็นส่วนที่ใช้สำหรับตรวจสอบวัดสารแต่ละชนิดที่ถูกแยกออกมาจากคอลัมน์
6. ส่วนที่ใช้ควบคุมอุณหภูมิ (Thermostat) ให้กับคอลัมน์คีเทคเตอร์ และ injector
7. ส่วนที่ใช้ประมวลผลและข้อมูลต่างๆ ได้แก่ อินทริเกรเตอร์ เครื่องบันทึกโครมาโทแกรม หรือ data processor หรือ คอมพิวเตอร์



ที่มา : แมน และ อมร (2534)

รูปที่ 2.19 ส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

### 1. แก๊สพา (carrier gas)

แก๊สพาใน GC นี้จะทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่เพื่อที่จะผลักดันสารให้หลุดจากเฟสคงที่ และเนื่องจากสารแต่ละตัวมีความสามารถในการยึดเกาะกับเฟสเคลื่อนที่ได้ด้วยแรงไม่เท่ากัน แก๊สพาจึงพาสารแต่ละตัวให้หลุดออกจากคอลัมน์ได้เร็วไม่เท่ากันทำให้สารค่อยๆ แยกเป็นสารบริสุทธิ์ออกจากคอลัมน์เข้าสู่เครื่องตรวจวัดซึ่งต่อไว้ที่ปลายข้างหนึ่งของคอลัมน์

### 2. เครื่องควบคุมการไหลของแก๊สต่างๆ (flow controller)

เครื่องควบคุมความดันและอัตราการความเร็วของแก๊สจะสามารถปรับให้แก๊สพาเข้าสู่เครื่อง GC ได้โดยมีปุ่มสำหรับปรับความดันของแก๊สซึ่งพอเหมาะที่จะเข้าสู่เครื่อง GC ควรมีค่าประมาณ 40 psi หรือ bar

### 3. ส่วนที่จะฉีดสารตัวอย่างเข้าไป (injection port)

การวิเคราะห์ใน GC สารตัวอย่างที่เราต้องการวิเคราะห์จะถูกฉีดเข้าไปในส่วนที่จะฉีดสารตัวอย่างเข้าไปอย่างรวดเร็ว เนื่องจากสารที่ต้องการวิเคราะห์จะต้องระเหยได้ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำให้ส่วนนี้มีอุณหภูมิสูงขึ้นมากๆ โดยการให้ความร้อน ปกติทั่วไปอุณหภูมิของส่วนที่จะฉีดสารตัวอย่างเข้าไปนี้จะสูงกว่าอุณหภูมิของคอลัมน์ประมาณ 30-50 องศาเซลเซียส

### 4. คอลัมน์ (column)

คอลัมน์เป็นองค์ประกอบที่สำคัญสำหรับงานด้าน GC มาก วัสดุที่ใช้ทำคอลัมน์มีหลายชนิด เช่น ทองแดง เหล็กสแตนเลส (stainless-steel) อลูมิเนียมหรือแก้ว ลักษณะของคอลัมน์อาจเป็นเส้นตรง โค้ง หรือขดเป็นรูป coil

การเลือกใช้วัสดุที่ใช้ทำคอลัมน์นั้นต้องพิจารณาถึงความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารตัวอย่างด้วย คอลัมน์ที่ทำด้วยแก้วนั้นเหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารเกือบทุกชนิดยกเว้นสารที่สามารถกัดกร่อนเช่นพวก halogens และในการหาปริมาณจำนวนน้อยมากๆ ของพวกสารประกอบซัลเฟอร์ คอลัมน์ที่ทำจากเหล็กสแตนเลสสามารถจะใช้ในการวิเคราะห์สารพวกไฮโดรคาร์บอนและสารที่มีขั้วเช่น เอสเทอร์ ส่วนคอลัมน์ที่ทำจากทองแดงและอลูมิเนียมนั้นอาจจะใช้ไม่ให้เกิดผลดีสำหรับการแยกสารพวกเอมีน สเตอรอยด์ และเทอร์พีน เพราะออกไซด์ของโลหะเหล่านี้จะเป็นตัวดูดซับทำให้เกิด absorption จึงทำให้เกิดพิกัดได้และอาจทำปฏิกิริยาเคมีกับสารที่จะทำการวิเคราะห์ได้ ในคอลัมน์จะบรรจุไว้ด้วยสารที่ใช้เป็น solid support และ stationary phase

#### 4.1 Solid support

Solid support เป็นส่วนที่ใช้เพื่อให้ stationary phase เกาะและกระจายตัวสม่ำเสมออยู่บนผิวหน้าของ solid support (เช่น  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  และ Teflon-6) คุณสมบัติ solid support ที่ดีมีดังนี้

- 1) มีความเฉื่อย ไม่มี adsorption หรือทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการวิเคราะห์
- 2) มีความแข็งแรงพอควรสามารถทนต่อแรงอัดเมื่อใช้ความดัน

3) มีพื้นที่ผิวมาก (1-20 ตารางเมตร/กรัม)  
 4) มีขนาดของอนุภาคสม่ำเสมอเท่าๆกัน และมีรูปร่างเหมือนกันทุกอนุภาคการบรรจุในคอลัมน์สม่ำเสมอ

5) มีรูพรุนบนอนุภาคสม่ำเสมอและขนาดประมาณ 10  $\mu\text{m}$  หรือเล็กกว่า

4.2 Stationary phase หรือ Liquid phase

Stationary phase เป็นส่วนที่สำคัญที่สุดของคอลัมน์เพราะการแยกของสารจะเกิดขึ้นดีหรือไม่ขึ้นขึ้นอยู่กับ Stationary phase ที่ใช้ว่าจะจับสารนั้นไว้ได้มากน้อยต่างกันเท่าใด คุณสมบัติของ Stationary phase ที่ดีมีดังนี้

- 1) มีความเฉื่อยคือไม่ทำปฏิกิริยาเคมีใดๆกับสารอื่น
- 2) ต้องละลายในตัวทำละลายได้ดี ซึ่งคุณสมบัตินี้จำเป็นมากในการ

เคลือบ Stationary phase บน solid support

3) ต้องมีความดันไอน้อยมากในอุณหภูมิที่ทำการทดลองคือ ไม่ระเหยกลายเป็นไอง่าย

4) ต้องทนความร้อนได้ดี นั่นคือ Stationary phase จะต้องเสถียรที่อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลอง โดยทั่วไป Stationary phase จะเป็นของเหลวที่มีจุดเดือดสูงหรืออาจเป็น โพลีเมอร์

#### 5. เครื่องตรวจวัด (detector)

ดีเทคเตอร์ คือเครื่องมือที่วัดจำนวนสารตัวอย่างที่แยกโดยคอลัมน์จะถูกพามาด้วยแก๊สพาดีเทคเตอร์จะต้องมีความร้อนพอที่จะระเหยสารตัวอย่างและผ่านออกไปไม่ให้เกิดค้างอยู่ในดีเทคเตอร์ โดยอุณหภูมิของดีเทคเตอร์ต้องสูงกว่าของคอลัมน์ ดีเทคเตอร์ทั่วไปที่นิยมใช้มากที่สุดมี 2 ชนิดคือ Flame ionization detector (FID) และ Thermal conductivity detector (TCD) สำหรับดีเทคเตอร์ชนิดอื่นๆ เช่น Electron capture detector (ECD) ซึ่งใช้วัดสารเฉพาะบางกลุ่มเท่านั้นส่วนมาใช้วิเคราะห์สารจำพวกยาฆ่าแมลง

Flame ionization detector (FID) ดีเทคเตอร์ชนิดนี้เป็นที่นิยมใช้กันมากเพราะมีความไวสูงหลักการโดยทั่วไปของดีเทคเตอร์ชนิดนี้คือ มีการใช้แก๊สไฮโดรเจนและอากาศมาจุดเป็นเปลวไฟที่บริเวณตรงกลางเปลวไฟจะมีอิเล็กโทรดซึ่งมีไฟฟ้ากระแสตรงผ่าน กระแสไฟฟ้านี้จะใช้วัดการนำไฟฟ้าของเปลวไฟเมื่อแก๊สพามาสารที่แยกออกมาผ่านไปเปลวไฟจะเกิดการเผาไหม้ขึ้นทำให้สารแตกตัวเป็นประจุไอออนและอิเล็กตรอน อิเล็กตรอนนี้จะวิ่งเข้าสู่อิเล็กโทรดทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้นแล้วขยายเป็นสัญญาณ สัญญาณไฟฟ้าที่เพิ่มขึ้นเป็นสัญญาณที่นำไปเข้าเครื่องบันทึกและบันทึกออกเป็นโครมาโทแกรม ขนาดของกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจะแปรตามอัตราเร็วของการเคลื่อนที่ของสารที่ผ่านเปลวไฟ สารต่างชนิดกันจะให้กระแสไฟฟ้าต่างกัน

## 6. เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Thermostat)

เทอร์โมสแตท เป็นส่วนที่ทำหน้าที่ควบคุมอุณหภูมิของ injection port, คอลัมน์ และ ดีเทคเตอร์ อุณหภูมิมีความสำคัญมากในการใช้ GC การทดลองแต่ละครั้งจะต้องมีการกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเสมอ อุณหภูมิของ injection port จะต้องสูงพอที่จะทำให้สารที่ต้องการวิเคราะห์นั้นระเหยได้แต่ไม่ควรสูงมากจะกระทั่งทำให้สารนั้นเกิดการสลายตัว ปกติแล้วอุณหภูมิของ injection port ควรสูงกว่าอุณหภูมิของคอลัมน์ประมาณ 20-50 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของดีเทคเตอร์ขึ้นอยู่กับชนิดของดีเทคเตอร์ที่ใช้ซึ่งจะมีค่าแตกต่างกันตามปกติอุณหภูมิของดีเทคเตอร์ควรสูงกว่าอุณหภูมิของคอลัมน์ประมาณ 30 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิของคอลัมน์จะถูกควบคุมโดยตู้ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์เพื่อให้ได้อุณหภูมิตามที่กำหนดไว้ในสภาวะการทดลองนั้น การตั้งอุณหภูมิคอลัมน์ควรคำนึงถึงอุณหภูมิสูงสุดของคอลัมน์ที่สามารถใช้ได้ด้วย ถ้าอุณหภูมิของคอลัมน์ต่ำจะทำให้ partition coefficient สูงขึ้น ดังนั้นการแยกสารที่จะวิเคราะห์จะได้ผลดี แต่ถ้าอุณหภูมิต่ำมากเกินไปอาจจะไม่มี partition เกิดขึ้นเพราะสารที่ต้องการวิเคราะห์ไม่ระเหยจึงไม่กระจายตัวเข้าไปในแก๊สพาหุวิเคราะห์จึงต้องเลือกอุณหภูมิของคอลัมน์ให้เหมาะสม

## 7. เครื่องบันทึก (Recorder)

เครื่องบันทึกเป็นส่วนที่บันทึกผลออกมาเป็นโครมาโทแกรมโดยใช้สัญญาณที่ได้มาจากดีเทคเตอร์ เครื่องบันทึกนี้สามารถนำไปใช้กับเครื่องมืออื่นๆ ได้ วิธีการใช้เครื่องบันทึกนี้จะมีค่าแตกต่างกันไปตามชนิดของเครื่องบันทึก อินทิเกรเตอร์ (Integrator) เป็นเครื่องสำหรับคำนวณหาปริมาณพื้นที่ของพีคที่ได้จากเครื่องบันทึก อินทิเกรเตอร์บางชนิดมีเครื่องบันทึกและส่วนที่คำนวณพีคอยู่ร่วมกันเช่น computing integrator (ปรานอม, 2540)

### 2.6.3 แมสสเปกโทรเมทรี

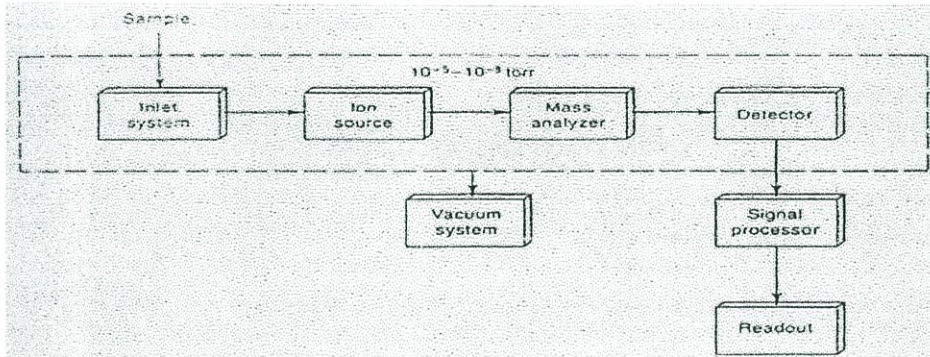
เป็นเทคนิคที่ใช้ศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับ โครงสร้างและมวลของสาร โดยอาศัยการทำให้โมเลกุลของสารเกิดการแตกตัวเป็นไอออนโดยรับพลังงานที่มากพอคือ 50-70 eV (1eV = 23.06Kcal/mole) แล้วแตกตัวเป็นไอออนขึ้น

หลักการคือทำให้โมเลกุลแตกตัวเป็นไอออน ทำการแยกไอออนและตรวจสอบไอออนที่เกิดขึ้นด้วยการใช้ m/z ซึ่งประจุมักมีค่าเท่ากับ 1



ถ้าไอออนยังมีพลังงานมากพอก็สามารถแตกตัวต่อไปอีกเป็นไอออนย่อยๆ จากแมสสเปกตรัมจะได้ชิ้นส่วนย่อยๆ ของสเปกตรัม (fragmentation spectrum) ของโมเลกุลซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของสารประกอบแต่ละชนิด การแตกตัวของโมเลกุลขึ้นอยู่กับชนิดของสาร พลังงานที่ใช้ โครงสร้างของโมเลกุล เวลาระหว่างการเกิด และการตรวจพบไอออน เครื่องแมสสเปกโทรมิเตอร์ประกอบด้วย 4 ส่วนใหญ่ๆ ดังรูปที่ 2.20

1. ระบบการใส่ตัวอย่างเพื่อทำให้กลายเป็นไอ (inlet systems for vaporization)
2. แหล่งทำให้เกิดเป็นไอออน (ionization chamber)
3. วิธีการแยกไอออน (ions separation)
4. ระบบการตรวจไอออน (ions detection)



ที่มา : แม้น และ อมร (2534)

## รูปที่ 2.20 ส่วนประกอบของเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์

1. ระบบการใส่ตัวอย่าง

ระบบการใส่ตัวอย่างของเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์มีหลายวิธีทั้งนี้ระบบการใส่ตัวอย่างจะต้องเลือกให้เหมาะสมกับชนิดของสารตัวอย่างและแหล่งที่มาของตัวอย่าง

- 1.1 ระบบการใส่ตัวอย่างทุกชนิดเข้าในเครื่องพร้อมกัน (Batch inlet system)

ตัวอย่างต้องถูกทำให้กลายเป็นไอภายนอกก่อนเข้าสู่แหล่งรับตัวอย่างใช้ได้ ทั้งแก๊สและของเหลวที่มีจุดเดือดประมาณ 500 องศาเซลเซียส

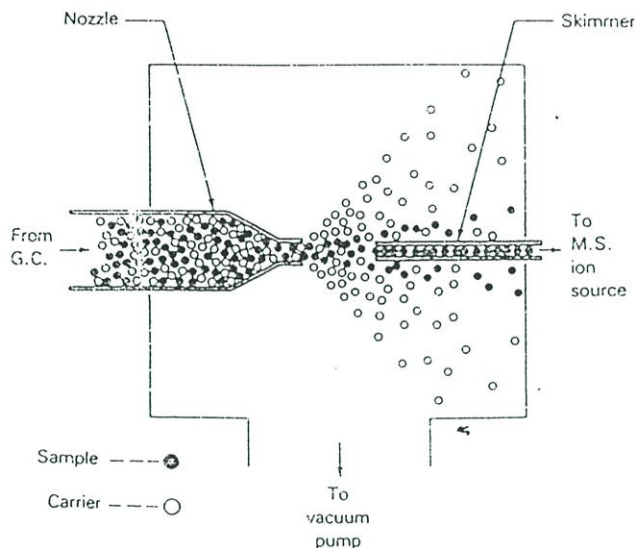
- 1.2 ระบบการใส่สารตัวอย่างเข้าไปทำให้เกิดเป็นไอออนโดยตรง (Direct probe inlet system)

ใช้กับของแข็งและของเหลวที่ไม่ระเหย ใส่เข้าไปโดยตรงตัวอย่างที่ใช้จะต้องน้อยกว่า 1 นาโนกรัม

- 1.3 ระบบการใส่สารตัวอย่างผ่านเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีหรือ โคนการใส่ผ่านเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิด โครมาโทกราฟี (Chromatographic inlet system)

ในเครื่อง GC ซึ่งมีคอลัมน์อยู่จะทำหน้าที่แยกสารผสมออกเป็นสารประกอบแต่ละชนิดแล้วจึงผ่านเข้าไปยังเครื่องแยกโมเลกุล (molecular separation) เพื่อแยกเอาแก๊สที่ใช้เป็นตัวพา คือ แก๊สฮีเลียมหรือ ไฮโดรเจนออกไปจากแก๊สผสม โดยอาศัยหลักการแพร่ผ่านเมมเบรน (teflon membrane หรือ porous glass) ซึ่งจะทำให้สารตัวอย่างมีความเข้มข้นขึ้น ดังรูปที่ 2.21 เครื่องแยกโมเลกุลนี้มักจะอยู่ในตู้อบที่มีอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิของคอลัมน์เล็กน้อย ถ้าคอลัมน์เป็นแบบ capillary อัตราการไหลของแก๊สจะต่ำอย่างมาก (คือใช้ 1-2 มิลลิลิตร/นาที) จึงจำเป็นต้องใช้

interface ต่อระหว่าง GC กับ MS หลังจากนั้นจึงทำให้สารตัวอย่างผ่านเข้าเครื่อง ไอออนไนเซชันต่อไป



รูปที่ 2.21 เครื่องแยกโมเลกุล (molecular separation หรือ jet separation) ที่ใช้ต่อเข้ากับเครื่อง GC-MS

ในปัจจุบันนี้เครื่อง GC-MS เป็นเครื่องมือที่ได้รับความนิยมและมีความสำคัญอย่างมากในการวิเคราะห์สารตัวอย่างทั่วไปทั้งทางด้านชีวภาพและกายภาพ (เม้นและอมร, 2534)

### 2. แหล่งทำให้เกิดเป็น ไอออน (ionization chamber)

แหล่งผลิตไอออนเป็นแหล่งที่ทำให้โมเลกุลของสารตัวอย่างเกิดเป็นไอออนและเกิดการแตกตัวซึ่งแหล่งนี้ถือได้ว่าเป็นหัวใจสำคัญของเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ เวลาที่ใช้ในการแตกตัวน้อยมาก (ประมาณ  $10^{-6}$  วินาที) ดังนั้นแมสสเปกตรัมจึงหาได้อย่างรวดเร็ว เครื่องบางชนิดสามารถผลิตสเปกตรัมได้ถึง 1000 สเปกตรัมต่อวินาที วิธีการที่ทำให้เกิด ไอออนไนเซชัน ได้มีดังนี้

2.1 ใช้อิเล็กตรอนอิมแพคท์ (Electron-Impact, EI)

2.2 ใช้การทำให้เกิดไอออนด้วยวิธีทางเคมี (Chemical Ionization, CIMS)

2.3 ใช้ฟิลด์ไอออนไนเซชัน และฟิลด์ดีซอร์ปชัน (Field Ionization และ Field

Desorption)

2.4 ใช้วิธีการชนด้วยอนุภาค (Particle Bombardment Methods)

2.5 ใช้สปาร์กทำให้เกิดไอออน (Spark Source)

### 3. การแยกไอออน (ions separation)

การแยกไอออนกระทำได้โดยอาศัยความแตกต่างของมวลต่อประจุจากการใช้สนามแม่เหล็กหรือสนามไฟฟ้าอย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้งสองอย่างร่วมกันก็ได้ ดังนั้นความสามารถและประสิทธิภาพของเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ที่แตกต่างกันจึงอยู่ในลักษณะของการทำให้เกิดสนาม

แม่เหล็กหรือสนามไฟฟ้าซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่ใช้ในการแยกไอออนเหล่านั้น เครื่องวิเคราะห์มวล (Mass analyzer) ส่วนวิเคราะห์มวลในเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์นั้นจะติดตั้งอยู่ระหว่างแหล่งผลิตไอออนกับเครื่องตรวจจับ เครื่องวิเคราะห์มวลที่สำคัญๆ มีอยู่หลายแบบซึ่งได้แก่

- 3.1 เครื่องวิเคราะห์ชนิดที่มีส่วนแม่เหล็ก (Magnetic analyzer)
- 3.2 เครื่องวิเคราะห์ชนิดอิเล็กโตรสตาติก (Electrostatic analyzer)
- 3.3 เครื่องวิเคราะห์ชนิดไทม์ออฟไฟลท์ (Time-of-flight analyzer)
- 3.4 เครื่องวิเคราะห์ชนิดควอดรูโพล (Quadrupole analyzer)
- 3.5 เครื่องวิเคราะห์ชนิดไอออนไซโคลตรอนเรโซแนนซ์ (ion cyclotron resonance analyzer)

resonance analyzer)

#### 4. ตรวจจับ (Detector)

ตรวจจับที่ใช้กันทั่วไปในเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์มีหลายอย่างคือ

- 4.1 ฟาราเดย์คัพ (Faraday Cup)
- 4.2 อิเล็กตรอนมัลติพลายเออร์ (Electron Multiplier)
- 4.3 ซินทิลเลชันเคาน์เตอร์ (Scintillation Counter)
- 4.4 แผ่นฟิล์มถ่ายรูป (Photographic Counter)

## บทที่ 3

# วิธีการดำเนินงานวิจัย

### 3.1 อุปกรณ์

เครื่องมือที่ใช้ ได้แก่ ตู้บ่ม (BINDER control E2) เครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี (WATER Alliance 2695) เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Agilent model 68920N) เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี (Agilent model 5973) ตู้เขี่ยเชื้อ (ISSCO model BVT123) เครื่องทำแห้งแบบฉีดพ่นเป็นผง (Spray dryer) (Buchi190) หม้อนึ่งความดัน (TOMY, SS-325) อ่างน้ำร้อน (Mettler) Ultra-low temperature freezer (Sanyo) เครื่องแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer) (Labconco, Lyph-lock6) เครื่องหมุนเหวี่ยง (FALCON 6/300) และ ตู้อบลมร้อน (SHEL LAB 1375FX)

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ ได้แก่ *Bacillus natto* (TISTR 001) และ *Aspergillus oryzae* (TISTR 5013) ได้มาจาก ศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

วัตถุดิบที่ใช้ ได้แก่ ถั่วเหลือง แป้งข้าวโพด แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวเจ้า แป้งมันสำปะหลัง ข้าวโอ๊ตบด ผลิตภัณฑ์นมโปรตีนสูง 60% เกล็ดขนมปัง น้ำตาลไอส์ซิง คริมเทียม น้ำตาลดี-กลูโคส แป้งข้าวกล้อง ข้าวอบแห้ง ข้าวสาลี รำข้าว soy protein isolate และ soy protein isolate with bacon flavor

สารเคมีที่ใช้ ได้แก่ แอลกอฮอล์ 70 % และ 95 % ไคคลอโรมีเทน (J.T. Baker Inc., USA) กรดไฮโดรคลอริก (Merck, Germany) AccQ-Fluor reagent (Water, USA) อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy agar (HiMedia, India) ผงซีอิ๊วหมัก (Soy sauce powder) (SSP 720, Givaudan, France) โปรตีนจากพืชที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ (Hydrolyze vegetable protein (HVP)) (HVP 003, Flavor Force, Switzerland) กลิ่นรสเนื้อวัว (Beef flavor) (RF-b/K, Givaudan, France) 2-methyl-1,3-dithiolane (18116DO, Adrich Chem. Co., USA) น้ำตาลกลูโคส (Difco laboratories, USA) น้ำตาลซูโครส (Difco laboratories, USA) น้ำตาลมอลโทส (Sigma Chemical Co., USA) น้ำตาลแลคโทส (APS Chemicals limited, Australia) น้ำตาลฟรุคโทส (Greater poly Mfg. Co.,Ltd, Thailand) มอลโทเด็กซ์ทริน (Maltodextrin) และ ปองโซเรด (Ponceu red)

## 3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

### 3.2.1 การผลิตกลี้นรสเนื้อจากถั่วเหลือง

#### 3.2.1.1 การเตรียมสารละลายโปรตีน

##### 1) การเตรียมถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองที่ใช้แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

##### 1 ถั่วเหลืองทั้งเมล็ด

เตรียมโดยนำเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการคัดเมล็ดเสียออกแล้วน้ำหนัก 1

กิโลกรัมมาแช่น้ำ 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยเปลี่ยนน้ำทุกๆ 4 ชั่วโมง จากนั้นนำถั่วมาล้างให้สุกประมาณ 4 ชั่วโมง ทดสอบโดยบีบเมล็ดถั่วแล้วมีความนุ่มแต่ไม่เละแล้วนำถั่วสุกผึ่งลมในตะแกรงเพื่อให้อุณหภูมิเย็นลงประมาณ 37 องศาเซลเซียส

##### 2 น้ำถั่วเหลืองเข้มข้น

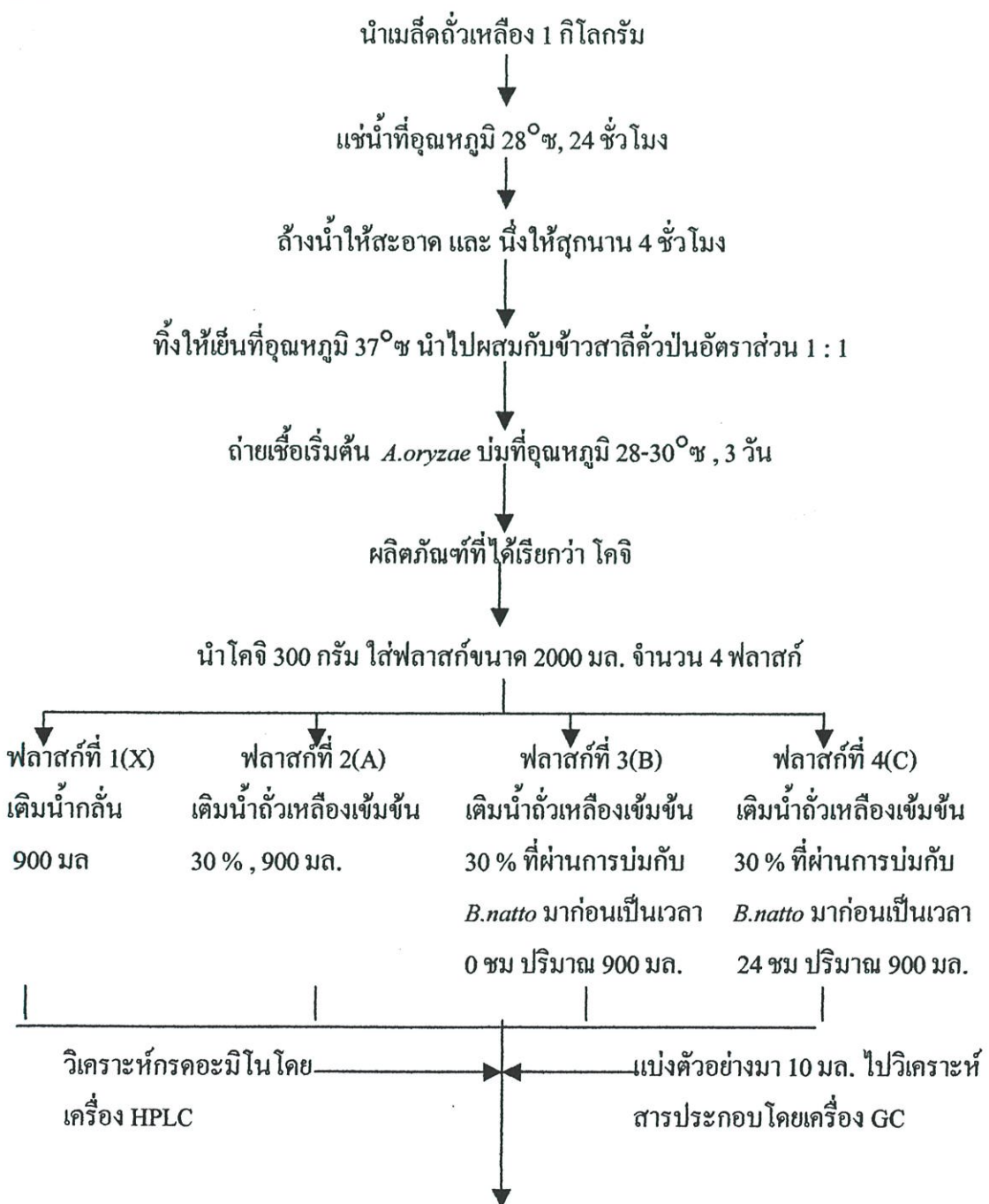
นำเมล็ดถั่วเหลือง 300 กรัม มาแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงนำมาผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำเข้าเครื่องคั้นน้ำโดยผสมกับน้ำปริมาตร 1 ลิตร จะได้น้ำถั่วเหลืองเข้มข้น แล้วนำไปต้มให้เดือดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะได้น้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์

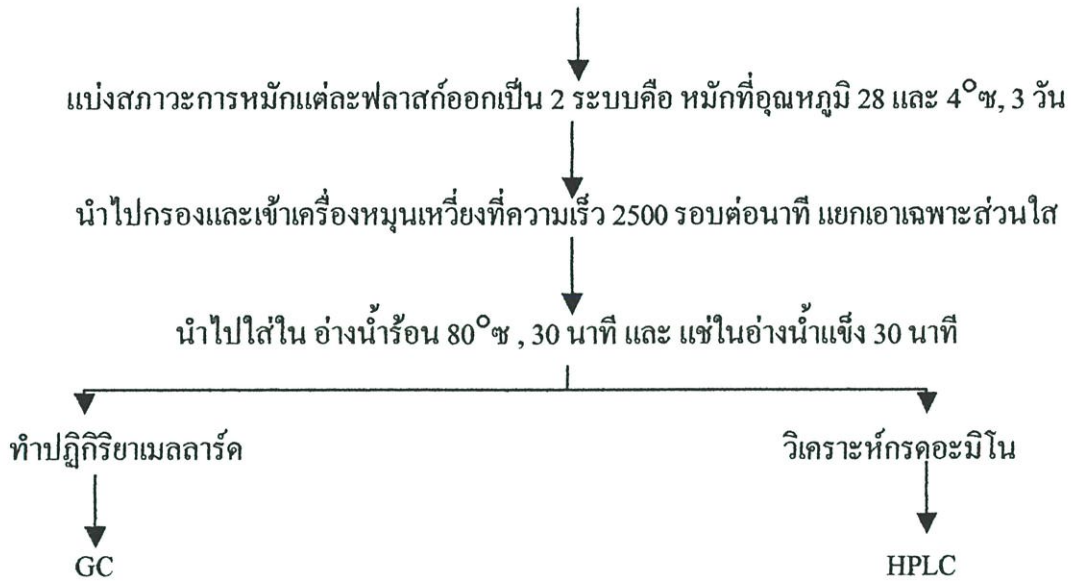
#### 3.2.1.2 การผลิตกลี้นรสเนื้อจากถั่วเหลืองโดยการหมัก

##### 1) การผลิตโคจิ

นำเมล็ดถั่วเหลือง 1 กิโลกรัมมาแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงโดยเปลี่ยนน้ำทุก 6 ชั่วโมง นำมาล้างในน้ำให้สะอาดจากนั้นนำไปผึ่งให้สุกเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วนำไปผสมกับข้าวสาลีคั่วป่นในอัตราส่วน 1 : 1 จากนั้นถ่ายเชื้อเริ่มต้นของ *A.oryzae* ลงไปบ่มที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน (เรียกผลิตภัณฑ์ที่ได้ว่า โคจิ) ตามวิธีของ วิเชียร (2524) การหมักนำโคจิจำนวน 300 กรัมแบ่งใส่ลงในพลาสติกขนาด 2000 มิลลิลิตร จำนวน 4 พลาสติก โดยพลาสติกที่ 1 เติมน้ำกลั่นลงไป 900 มิลลิลิตร(X) พลาสติกที่ 2 เติมน้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30 % ลงไป 900 มิลลิลิตร(A) พลาสติกที่ 3 เติมน้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30 % ที่ผ่านการบ่มกับ *B.natto* มาก่อนเป็นเวลา 0 ชม ปริมาณ 900 มิลลิลิตร(B) พลาสติกที่ 4 เติมน้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30 % ที่ผ่านการบ่มกับ *B.natto* มาก่อนเป็นเวลา 24 ชม ปริมาณ 900 มิลลิลิตร(C) ตามลำดับ นำตัวอย่างไปวิเคราะห์กรดอะมิโนโดยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีโดยใช้สถานะเครื่องคั่งภาคผนวก ค. และแบ่งตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตรไปวิเคราะห์หาสารประกอบโดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้สถานะเครื่องคั่งภาคผนวก ฉ. จากนั้นแบ่งสภาวะการหมักแต่ละพลาสติกออกเป็น 2 ระบบคือ หมักที่อุณหภูมิ 28 และ 4 องศาเซลเซียส ตามลำดับเป็นเวลา 3 วัน โดยเมื่อนำโคจิมาหมักในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 28/ 4 องศาเซลเซียส (X1/X2), นำโคจิมาหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่อุณหภูมิ 28/ 4 องศาเซลเซียส (A1/A2), นำโคจิมาหมักใน

นำถั่วเหลืองเข้มข้นที่หมักด้วยเชื้อ *B.natto* เป็นเวลา 0 ชั่วโมง. ที่อุณหภูมิ 28/ 4 องศาเซลเซียส (B1/B2), นำโคจิมาหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่หมักด้วยเชื้อ *B.natto* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง. ที่อุณหภูมิ 28/ 4 องศาเซลเซียส (C1/C2) จากนั้นนำไปกรองเอาส่วนใสนำไปใส่เครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2500 รอบต่อนาที แยกเอาส่วนใสแล้วนำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีแล้วนำไปแช่ในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 30 นาที แล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นำส่วนใสที่ได้ในแต่ละพลาสติกมา 50 กรัม เติมน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโทส มอลโทส แลคโทส กลูโคส และน้ำกลั่น ปริมาณ 5 กรัม นำไปให้ความร้อนในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ดังรูปที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการผลิตกลิ่นรสเนื่องจากถั่วเหลือง





รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตกลิ่นรสเนื่องจากถั่วเหลือง

### 2) การวิเคราะห์หาชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นส่วนประกอบในน้ำหมัก

นำสารละลายที่ได้จากการหมักมาวิเคราะห์กรดอะมิโน 15 ชนิด ได้แก่ กรดแอสพาทิก ซีรีน กรดกลูตามิก ไกลซีน ฮิสทีดีน อาร์จินีน ทรีโอนีน อะลานีน โพรลีน ไทโรซีน วาลีน โลซีน ไอโซลูซีน ลูซีน และฟีนิลอะลานีน โดยเปิดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรเติมกรดไฮโดรคลอริก 6 นอร์มอล จำนวน 4 มิลลิลิตร นำไปย่อยที่อุณหภูมิ 112 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 22 ชั่วโมง แล้วนำไป ดีริวาไทซ์ (Derivatize) ด้วย AccQ-Fluor reagent จากนั้นนำไปวิเคราะห์โดยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี โดยใช้สภาวะของเครื่องดังภาคผนวก ค โดยโคจรมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30% (A), โคจรมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30% ที่หมักด้วยเชื้อ *B.natto* เป็นเวลา 0 และ 24 ชั่วโมง (B,C) ตามลำดับ และน้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30% (D)

### 3) การวิเคราะห์หาองค์ประกอบของน้ำหมัก

นำสารละลายที่ได้จากการทำปฏิกิริยาเมทิลเลอร์ดมาสกัดโดยใช้ไดคลอโรมีเทนต่อตัวอย่าง 10 ต่อ 5 นำไปวิเคราะห์โดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้สภาวะเครื่องดังภาคผนวก ฉ. และเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี โดยใช้สภาวะเครื่องดังภาคผนวก ฉ. โดยเปรียบเทียบกับสารให้กลิ่นรสเนื้อ คือ โปรตีนจากพืชที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ ผงซีอิ๊วหมักกลิ่นรสเนื้อวัว และ 2-methyl-1,3-dithiolane ทำการคัดเลือกตัวอย่างที่มีกลิ่นรสคล้ายเนื้อมากที่สุด โดยการเปรียบเทียบโครมาโทแกรมที่ได้กับสารให้กลิ่นรสเนื้อมาตรฐาน

#### 4) การทำแห้งสารให้กลั่นรสนี้จากถั่วเหลือง

นำตัวอย่างที่มีกลั่นรสคล้ายเนื้อมาทำแห้งโดยใช้เครื่องแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer) และเครื่องทำแห้งแบบฉีดพ่นเป็นผง (Spray dryer) เพื่อคัดเลือกและเปรียบเทียบตัวอย่างที่ได้จากการทำแห้งทั้งสองวิธี โดยการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสโดยการดมและดูลักษณะสี

##### 4.1) การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

นำตัวอย่างที่มีกลั่นรสคล้ายเนื้อปริมาณ 200 มิลลิลิตรนำเข้าเครื่อง ultra-low temperature freezer ที่อุณหภูมิ  $-80$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วนำไปใส่เครื่องแช่เยือกแข็ง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

##### 4.2) การทำแห้งแบบฉีดพ่นเป็นผง

นำตัวอย่างที่มีกลั่นรสคล้ายเนื้อปริมาณ 200 มิลลิลิตรผสมกับสารจับกลั่น (encapsulating agent) ได้แก่ มาลโทเด็กซ์ทริน และครีมเทียม ในอัตราส่วนสารละลายตัวอย่างต่อมาลโทเด็กซ์ทริน 2 ต่อ 1 และ 8 ต่อ 1 กรัม ตามลำดับ สารละลายตัวอย่างต่อครีมเทียม 2 ต่อ 1 และ 8 ต่อ 1 ตามลำดับ ผสมให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันแล้วนำไปเข้าเครื่องทำแห้งแบบฉีดพ่นเป็นผง โดยใช้อุณหภูมิเข้าและอุณหภูมิออก 140 และ 93 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

### 3.2.2 การผลิตสารให้กลิ่นควัน

ศึกษาสภาวะการรมควันดังต่อไปนี้

3.2.2.1 ศึกษาการผลิตสารดูดซับกลิ่นควันจากวัตถุดิบต่างๆ และอุณหภูมิในการเก็บกลิ่นควัน

นำวัตถุดิบต่างๆ คือ ถั่วเหลือง ถั่วเหลืองต้ม แป้งข้าวโพด แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวเจ้า แป้งมันสำปะหลัง ข้าวโอ๊ตบด ผลิตภัณฑ์นมโปรตีนสูง 60% เกล็ดขนมปัง น้ำตาลไอศซิง ครีมเทียม น้ำตาลดี-กลูโคส แป้งข้าวกล้อง ข้าวอบแห้ง รำข้าว soy protein isolate และ soy protein isolate with bacon flavor จำนวน 100 กรัมมารวมกันโดยใช้กามมะพร้าวเป็นแหล่งกำเนิดควันที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียสนาน 30 นาที และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 และ 4 องศาเซลเซียส โดยแบ่งเป็นเก็บในสภาวะปิด (หมายถึงเก็บในขวดแก้วที่มีฝาปิดมิดชิด) และเก็บในสภาวะเปิด (หมายถึงเก็บในขวดแก้วที่เปิดฝาขวด) เป็นเวลา 30 วัน เพื่อเปรียบเทียบและคัดเลือกสารที่สามารถดูดซับกลิ่นควันได้ดี

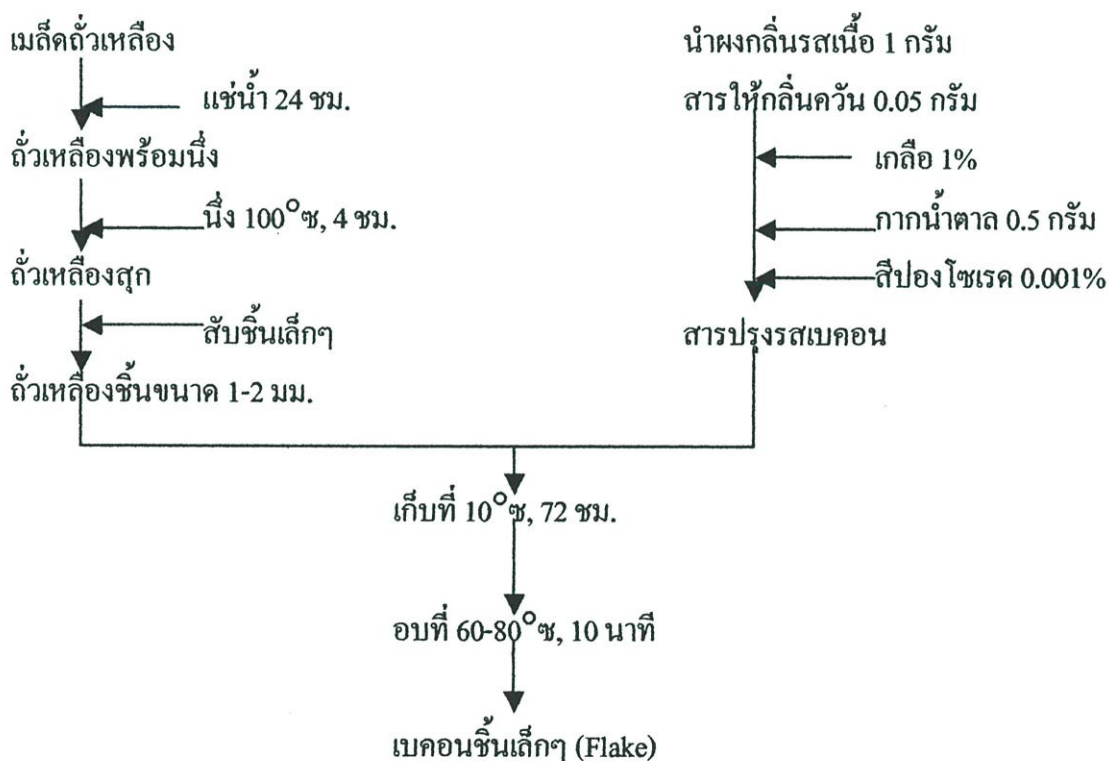
3.2.2.2..ศึกษาผลของระยะเวลาในการรมควันและการละลายต่อลักษณะของกลิ่นควัน

โดยนำวัตถุดิบต่างๆ ที่คัดเลือกมาจากการศึกษาการผลิตสารดูดซับกลิ่นควัน และอุณหภูมิในการเก็บกลิ่นควัน มารวมกันโดยต่อเนื่องที่เวลา 30 45 และ 60 นาที ตามลำดับ เปรียบเทียบความเข้มของกลิ่นควันจากการดม และสีของวัตถุดิบ จากนั้นนำวัตถุดิบต่างๆ ที่เหมาะสม

สมจำนวน 1 กรัม ละลายในน้ำจำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันสังเกตการละลายและกลิ่นของควัน โดยการคม

### 3.2.3 การประยุกต์สารให้กลิ่นรสเนื้อนมควันเพื่อผลิตเบคอนเทียม

นำถั่วเหลือง 500 กรัม มาแช่น้ำนาน 24 ชั่วโมงโดยเปลี่ยนน้ำทุกๆ 6 ชั่วโมง นำมานึ่งให้สุกที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง จากนั้นนำมาสับเป็นชิ้นเล็กๆ จะได้ถั่วเหลืองชิ้นขนาดประมาณ 1-2 มิลลิเมตร นำมาผสมกับผงกลิ่นรสเนื้อ (AILACTOSE) 1 กรัมและสารให้กลิ่นควันที่คูดซับด้วย soy protein isolate 0.05 กรัม เติมนเกลื่อ 1%, กากน้ำตาล 0.5% และแต่งสีด้วยปองโซเรด (Ponceu red) 0.001% จะได้ถั่วเหลืองปรุงรสเบคอน นำถั่วเหลืองปรุงรสดังกล่าวเก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60-80 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จะได้เบคอนเทียมชิ้นเล็กๆ (Flake) ดังรูปที่ 3.2 สำหรับใช้โรยบนสลัดผัก



รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการผลิตเบคอนเทียม

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและอภิปราย

#### 4.1 การผลิตกลิ่นรสเนื้อจากถั่วเหลือง

##### 4.1.1 ชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นส่วนประกอบในน้ำหมัก

จากการวิเคราะห์กรดอะมิโน 15 ชนิดคือ กรดแอสพาทิก, ซีรีน, กรดกลูตามิก, ไกลซีน, ฮิสทีดีน, อาร์จินีน, ทรีโอนีน, อะลานีน, โพรลีน, ไทโรซีน, วาลีน, ไลซีน, ไอโซลูซีน, ลูซีน และ ฟีนิลอะลานีน โดยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี พบว่าน้ำหมักทุกชุดคือ โคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30% (A), โคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30% ที่หมักด้วยเชื้อ *B.natto* เป็นเวลา 0 และ 24 ชั่วโมง (B,C) ตามลำดับ และน้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30% (D) จะตรวจพบกรดอะมิโนทั้ง 15 ชนิด ในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยในสภาวะ C จะพบปริมาณกรดกลูตามิกสูงที่สุด คือ 0.44 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และในสภาวะ A,B และ C จะพบปริมาณไทโรซีนน้อยที่สุด คือ 0.01 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณกรดอะมิโนที่วิเคราะห์จากเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี

ตารางที่ 4.1 ปริมาณกรดอะมิโนที่วิเคราะห์จากเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี

ชนิดของกรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน (กรัม/100 มล.)			
	A	B	C	D
Aspartic acid	0.08	0.07	0.09	0.17
Serine	0.02	0.02	0.02	0.08
Glutamic acid	0.36	0.29	0.44	0.28
Glycine	0.04	0.03	0.06	0.06
Histidine	0.04	0.03	0.06	0.04
Arginine	0.03	0.04	0.05	0.14
Threonine	0.01	0.01	0.02	0.06
Alanine	0.10	0.10	0.08	0.07
Proline	0.02	0.02	0.02	0.08
Tyrosine	0.01	0.01	0.01	0.05
Valine	0.07	0.06	0.10	0.05
Lysine	0.03	0.03	0.04	0.10

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

ชนิดของกรด อะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน (กรัม/100 มล.)			
	A	B	C	D
Isoleucine	0.05	0.04	0.08	0.04
Leucine	0.08	0.07	0.12	0.11
Phenylalanine	0.05	0.04	0.07	0.08

A = โคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30%

B = โคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30% ที่หมักด้วยเชื้อ *B.natto* เป็นเวลา 0 ชั่วโมง

C = โคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30% ที่หมักด้วยเชื้อ *B.natto* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

D = น้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30%

#### 4.1.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำหมัก

ในการหมักเมื่อใส่เชื้อเริ่มต้นของ *A.oryzae* ลงไปบ่มที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียสทิ้งไว้ประมาณ 3 วันจะเกิดเป็นสปอร์สีเขียวมีลักษณะเป็นเส้นใยแทงซอนไซไปทั่วเมล็ดถั่วเหลืองและมิกลินเหมีนอับ เมล็ดถั่วเหลืองจะมีสีน้ำตาลที่เข้มข้นและแห้งซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้เราเรียกว่า โคจิ จากการวิเคราะห์โดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี เมื่อนำโคจิมาหมักในน้ำถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 28/ 4 องศาเซลเซียส (X1/X2), นำโคจิมาหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่อุณหภูมิ 28/ 4 องศาเซลเซียส (A1/A2), นำโคจิมาหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่บ่มด้วยเชื้อ *B.natto* เป็นเวลา 0 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 28/ 4 องศาเซลเซียส (B1/B2), นำโคจิมาหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่บ่มด้วยเชื้อ *B.natto* เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 28/ 4 องศาเซลเซียส (C1/C2) ทำการหมักทิ้งไว้ 3 วัน จากโครมาโทแกรมพบว่าที่สถานะ X1 จะมีพีกเพิ่มขึ้นมาคือพีกที่ 5 มีคาร์เทินชันใหม่ ( $R_f$ ) 4.05 ซึ่งจะไม่พบในสถานะ X2 คาดว่าเป็นเพราะที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *A.oryzae* ทำให้เชื้อไม่สามารถเจริญเติบโตและผลิตเอนไซม์และสารประกอบต่างๆ ได้ และเมื่อเปรียบเทียบสถานะที่ใช้น้ำถั่วถั่วกับสถานะที่ใช้น้ำถั่วเหลืองเข้มข้นในการหมักพบว่าการหมักในน้ำถั่วถั่วจะมีพีกขึ้นมา 2 พีกคือที่ค่า  $R_f$  3.03 และ 4.05 ส่วนการหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นจะมีพีกขึ้นมาแค่ 1 พีกคือที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 3.02-3.03 และเมื่อเปรียบเทียบค่า  $R_f$  ของสถานะ A B และ C พบว่า  $A > C > B$  ซึ่งมีค่า  $3.032 > 3.029 > 3.027$  ตามลำดับซึ่งมีค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยมาก ดังตารางที่ 4.2 แสดงคาร์เทินชันใหม่ของสถานะต่างๆ ที่วัดได้จากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

เมื่อนำสถานะ X1, A1, A2, B1, B2, C1 และ C2 มาทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลซูโครส, ฟรุคโทส, กลูโคส, มอลโทส, แลคโทส และน้ำ ดังนี้ A1SUCROSE, A1FRUCTOSE, A1GLUCOSE, A1MALTOS, A1LACTOSE, A1WATER / A2SUCROSE, A2FRUCTOSE,

A2GLUCOSE, A2MALTOSE, A2LACTOSE, A2WATER / B1SUCROSE, B1FRUCTOSE, B1GLUCOSE, B1MALTOSE, B1LACTOSE, B1WATER / B2SUCROSE, B2FRUCTOSE, B2GLUCOSE, B2MALTOSE, B2LACTOSE, B2WATER / C1SUCROSE, C1FRUCTOSE, C1GLUCOSE, C1MALTOSE, C1LACTOSE, C1WATER / C2SUCROSE, C2FRUCTOSE, C2GLUCOSE, C2MALTOSE, C2LACTOSE, C2WATER ตามลำดับแล้วนำไปวิเคราะห์โดยเครื่องเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ดังตารางที่ 4.3-4.9 แสดงค่า  $R_f$  ของสภาวะ X1, A1, A2, B1,B2, C1 และ C2 นำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลชนิดต่างๆ ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 ค่ารีเทนชันใหม่ของสภาวะต่างๆ ที่วัดได้จากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ

สภาวะ	หมายเลขพีค	$R_f$ (นาที)	พื้นที่
X1	2	3.031	181.81665
X1	5	4.050	688.98840
X2	2	3.034	123.77435
A1	2	3.032	1213.71118
A2	2	3.032	370.30093
B1	2	3.028	1237.39453
B2	2	3.027	535.24341
C1	2	3.029	729.45831
C2	2	3.029	578.20270

X1 = โคจิหมักในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 28<sup>o</sup>ซ

X2 = โคจิหมักในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 4<sup>o</sup>ซ

A1 = โคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่อุณหภูมิ 28<sup>o</sup>ซ

A2 = โคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่อุณหภูมิ 4<sup>o</sup>ซ

B1 = โคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่บ่มด้วยเชื้อ *B.natto* เป็นเวลา 0 ชั่วโมง.ที่อุณหภูมิ 28<sup>o</sup>ซ

B2 = โคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่บ่มด้วยเชื้อ *B.natto* เป็นเวลา 0 ชั่วโมง.ที่อุณหภูมิ 4<sup>o</sup>ซ

C1 = โคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่บ่มด้วยเชื้อ *B.natto* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.ที่อุณหภูมิ 28<sup>o</sup>ซ

C2 = โคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่บ่มด้วยเชื้อ *B.natto* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.ที่อุณหภูมิ 4<sup>o</sup>ซ

ตารางที่ 4.3 ค่ารีเทนชันไทม์ของสภาวะ X1 นำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลชนิดต่างๆ

สภาวะ	หมายเลขพีก	R <sub>t</sub> (นาที)	พื้นที่
X1WATER	2	3.031	131.26628
	5	4.054	699.84607
X1LACTOSE	2	3.035	142.29474
	5	4.058	702.75372
X1SUCROSE	2	3.035	157.84099
	5	4.059	706.35968
X1GLUCOSE	2	3.032	136.73491
	5	4.055	754.55566
X1FRUCTOSE	2	3.033	136.88947
	5	4.054	366.45813
X1MALTOSE	2	3.034	100.20913
	5	4.057	693.58771

X1 = โคลจิหมักในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 28<sup>o</sup>ซ

ตารางที่ 4.4 ค่ารีเทนชันไทม์ของสภาวะ A1 นำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลชนิดต่างๆ

สภาวะ	หมายเลขพีก	R <sub>t</sub> (นาที)	พื้นที่
A1WATER	2	3.068	177.04283
	7	4.092	621.23566
A1LACTOSE	2	3.056	148.41570
	7	4.078	331.04352
	9	10.941	401.56847
A1SUCROSE	2	3.059	413.04575
	7	4.082	601.61969
A1GLUCOSE	2	3.057	282.10471
	7	4.079	587.38165
A1FRUCTOSE	2	3.058	207.85297
	6	4.081	536.91260
A1MALTOSE	2	3.056	319.36340
	7	4.078	633.67657

A1 = โคลจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่อุณหภูมิ 28<sup>o</sup>ซ

ตารางที่ 4.5 ค่ารีเทนชันไทม์ของสภาวะ A2 นำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลชนิดต่างๆ

สภาวะ	หมายเลขพีท	R <sub>t</sub> (นาที)	พื้นที่
A2WATER	2	3.070	119.35013
	6	4.093	573.69171
A2LACTOSE	2	3.074	171.99188
	7	4.097	598.85583
A2SUCROSE	2	3.080	131.27635
	7	4.105	570.62830
A2GLUCOSE	2	3.077	147.19165
	7	4.102	558.95288
A2FRUCTOSE	2	3.078	241.03197
	7	4.103	609.56799
A2MALTOSE	2	3.077	138.96306
	7	4.102	589.32861

A2 = โคลิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่อุณหภูมิ 4<sup>o</sup>ซ

ตารางที่ 4.6 ค่ารีเทนชันไทม์ของสภาวะ B1 นำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลชนิดต่างๆ

สภาวะ	หมายเลขพีท	R <sub>t</sub> (นาที)	พื้นที่
B1WATER	2	3.069	188.59293
	6	4.093	575.80377
B1LACTOSE	2	3.058	320.62170
	7	4.081	611.15143
B1SUCROSE	2	3.064	411.48102
	7	4.088	591.78040
B1GLUCOSE	2	3.062	225.60359
	7	4.085	613.31708
B1FRUCTOSE	2	3.064	284.02893
	7	4.087	580.89052
B1MALTOSE	2	3.061	308.60336
	7	4.084	593.36932

B1 = โคลิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่บ่มด้วยเชื้อ *B.natto* เป็นเวลา 0 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 28<sup>o</sup>ซ

ตารางที่ 4.7 ค่ารีเทนชันไทม์ของสภาวะ B2 นำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลชนิดต่างๆ

สภาวะ	หมายเลขพีท	R <sub>t</sub> (นาที)	พื้นที่
B2WATER	2	3.071	257.99792
	7	4.095	588.61536
B2LACTOSE	2	3.081	165.72302
	7	4.106	595.09296
B2SUCROSE	2	3.081	195.18851
	7	4.107	597.59875
B2GLUCOSE	2	3.081	235.33679
	7	4.107	566.52856
B2FRUCTOSE	2	3.082	151.47118
	7	4.108	566.38458
B2MALTOSE	2	3.081	183.32384
	7	4.106	580.68188

B2 = โคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่บ่มด้วยเชื้อ *B.natto* เป็นเวลา 0 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4<sup>o</sup>ซ

ตารางที่ 4.8 ค่ารีเทนชันไทม์ของสภาวะ C1 นำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลชนิดต่างๆ

สภาวะ	หมายเลขพีท	R <sub>t</sub> (นาที)	พื้นที่
C1WATER	2	3.069	150.31571
	7	4.094	617.94110
C1LACTOSE	2	3.065	222.01868
	7	4.088	602.62054
C1SUCROSE	2	3.068	325.44171
	7	4.093	583.93414
C1GLUCOSE	2	3.065	209.25040
	7	4.089	630.97089
C1FRUCTOSE	2	3.066	279.40863
	6	4.091	571.66962
C1MALTOSE	2	3.064	179.76001
	7	4.087	575.73627

C1 = โคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่บ่มด้วยเชื้อ *B.natto* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28<sup>o</sup>ซ

ตารางที่ 4.9 ค่ารีเทนชันไทม์ของสภาวะ C2 นำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลชนิดต่างๆ

สภาวะ	หมายเลขพีก	R <sub>t</sub> (นาที)	พื้นที่
C2WATER	2	3.073	126.90798
	7	4.098	594.76508
C2LACTOSE	2	3.082	172.23151
	7	4.108	297.98431
C2SUCROSE	2	3.084	184.84210
	7	4.111	590.91858
C2GLUCOSE	2	3.084	145.93503
	7	4.110	587.84290
C2FRUCTOSE	2	3.085	128.56564
	7	4.111	581.08966
C2MALTOSE	2	3.084	129.07092
	6	4.109	531.29211

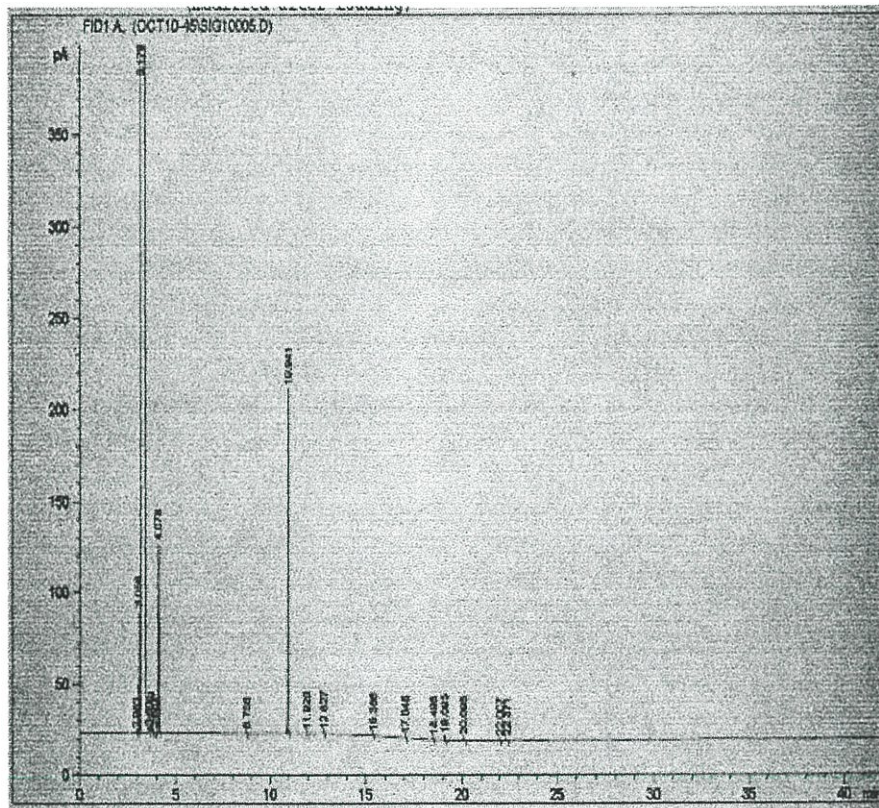
C2 = โคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่บ่มด้วยเชื้อ *B.natto* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40°C

พบว่าสภาวะที่ให้กลิ่นคล้ายเนื้อคือ โคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสและทำเมลลาร์ดกับน้ำตาลแลคโทส (A1LACTOSE) ซึ่งมีโครมาโทแกรมและค่ารีเทนชันไทม์คล้ายคลึงกับสารมาตรฐานมากที่สุดคือให้ค่ารีเทนชันไทม์ 4.08 และ 10.94 ซึ่งเป็นสภาวะเดียวที่มี พีกขึ้นตรงกับ 2-methyl-1,3-dithiolane ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐานที่ให้กลิ่นรสเนื้อมี และยังมีค่ารีเทนชันไทม์และโครมาโทแกรมคล้ายคลึงกับสารมาตรฐานตัวอื่นด้วยคือผงซีอิ๊วหมัก, โปรตีนจากพืชที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ และกลิ่นรสเนื้อวัว ดังตารางที่ 4.10 แสดงค่ารีเทนชันไทม์ของสารมาตรฐานในการวิเคราะห์กลิ่นรสเนื้อ

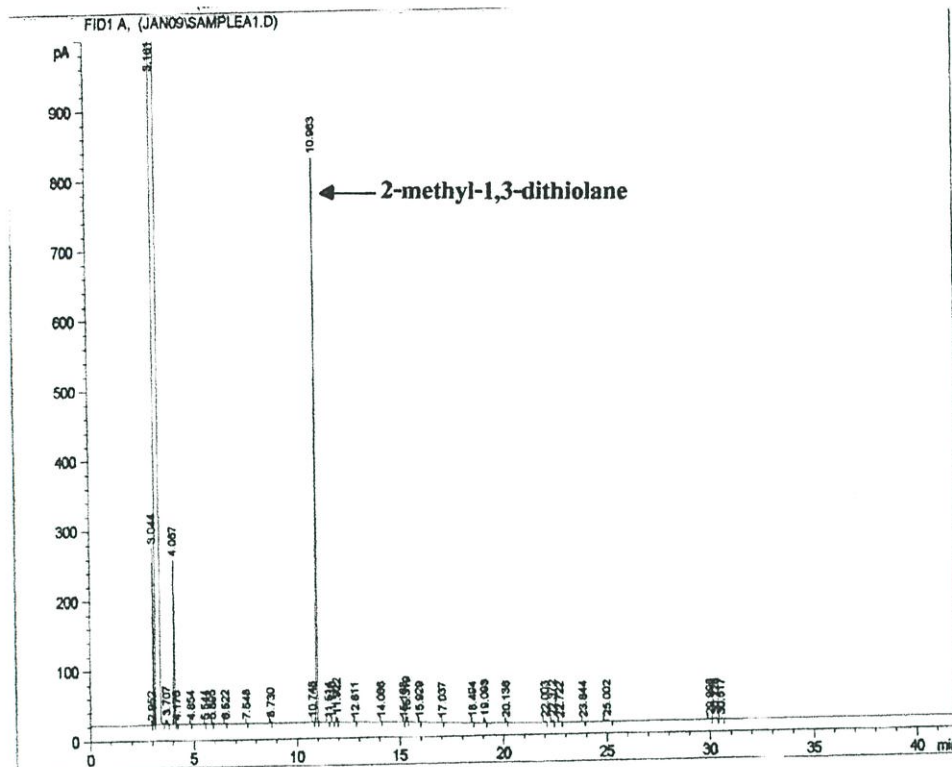
ตารางที่ 4.10 ค่ารีเทนชันไทม์ของสารมาตรฐานในการวิเคราะห์กลิ่นรสเนื้อ

สารมาตรฐาน	หมายเลขพีก	R <sub>t</sub> (นาที)	พื้นที่
Soya sauce	7	4.076	585.22723
Beef HVP	8	4.077	590.36389
	12	9.901	411.91080
Roast beef	7	4.078	653.33868
2-methyl-1,3-dithiolane	4	10.944	875.67163

เมื่อนำไปทำ spiking test (วิธีการทดสอบเพื่อยืนยันว่าพิกของตัวอย่างเป็นพิกที่ขึ้นตรงกับสารมาตรฐานโดยการฉีดสารมาตรฐานผสมกับสารตัวอย่างและทำการฉีดในสภาวะเดียวกัน) โดยใช้ AILACTOSE : 2-methyl-1,3-dithiolane ในอัตราส่วน 1 : 0.5  $\mu\text{l}$  จะให้พิกสูงเพิ่มขึ้น 619.49 pA ณ.ที่ตำแหน่งเดียวกันของทั้ง 2 โครมาโทแกรมซึ่งเป็นการยืนยันว่าพิกที่เกิดขึ้นจากการวิเคราะห์ AILACTOSE เป็นพิกเดียวกับสารมาตรฐาน 2-methyl-1,3-dithiolane ณ.ที่สภาวะในการวิเคราะห์ของเครื่องแบบเดียวกัน ดังรูปที่ 4.1 และ 4.2 แสดงโครมาโทแกรมของ AILACTOSE และ โครมาโทแกรมจากการทำ spiking test กับสารมาตรฐาน 2-methyl-1,3-dithiolane ตามลำดับ



รูปที่ 4.1 โครมาโทแกรมของ A1 ทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลแลคโทส

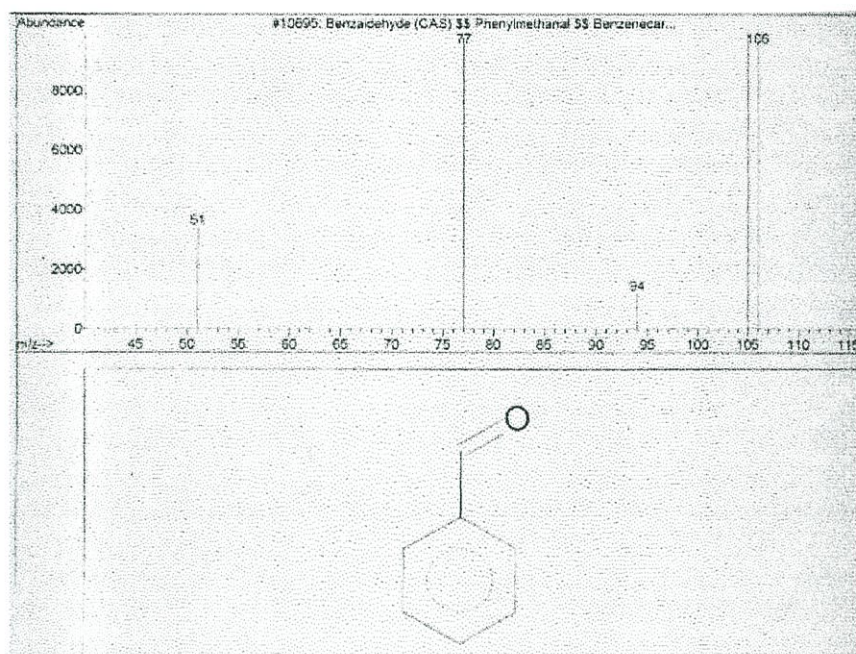


รูปที่ 4.2 โครมาโทแกรมจากการทำ spiking test กับสารมาตรฐาน 2-methyl-1,3-dithiolane

เมื่อนำ AILACTOSE ไปวิเคราะห์โดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี พบว่าสามารถแบ่งสารประกอบหลักๆ ออกเป็น 4 ประเภทคือ อัลดีไฮด์ ไพร่าซีนและไทอาโซล ฟีนอล และเบนซีนอยด์

#### 1 อัลดีไฮด์ (Aldehyde)

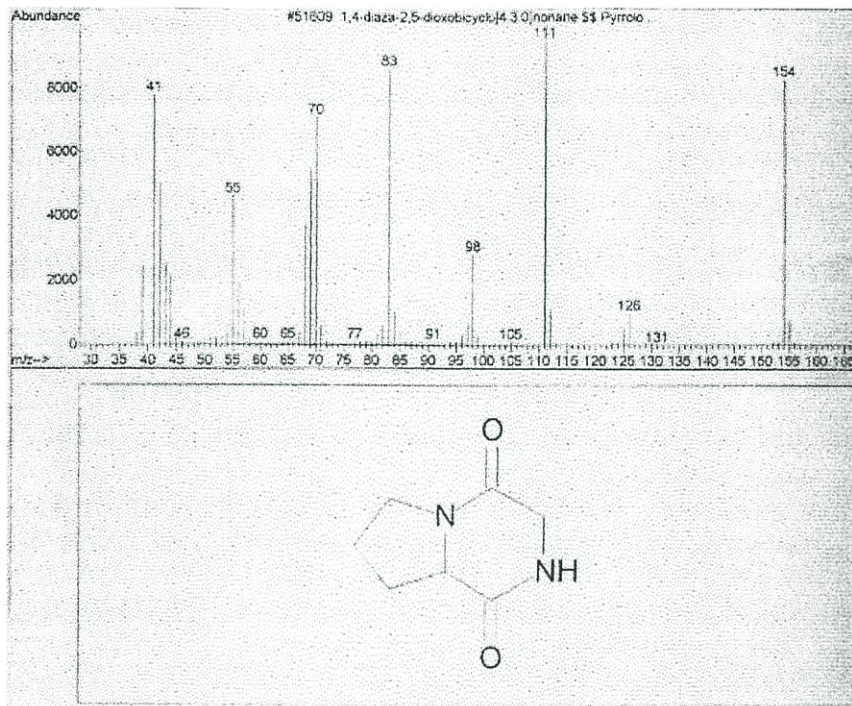
สารประกอบอัลดีไฮด์ที่พบ คือ เบนซาลดีไฮด์ (benzaldehyde) ดังรูปที่ 4.4 ซึ่งเกิดจากการสลายตัวของไขมันโดยการแตกตัวของสายโซ่ของอัลคิลที่ไม่อิ่มตัวของไขมัน ซึ่งรวมไปถึงกลไกการเกิดสารอนุมูลอิสระและการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เป็นสารตัวกลาง (Frankel, 1980) การแตกตัวของสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ยังเกี่ยวข้องกับผลผลิตที่ได้จากการกระบวนการที่ไม่มีอนุมูลซึ่งรวมไปถึงสารประกอบที่ระเหยง่าย (Forss, 1972 ; Grosch, 1982)



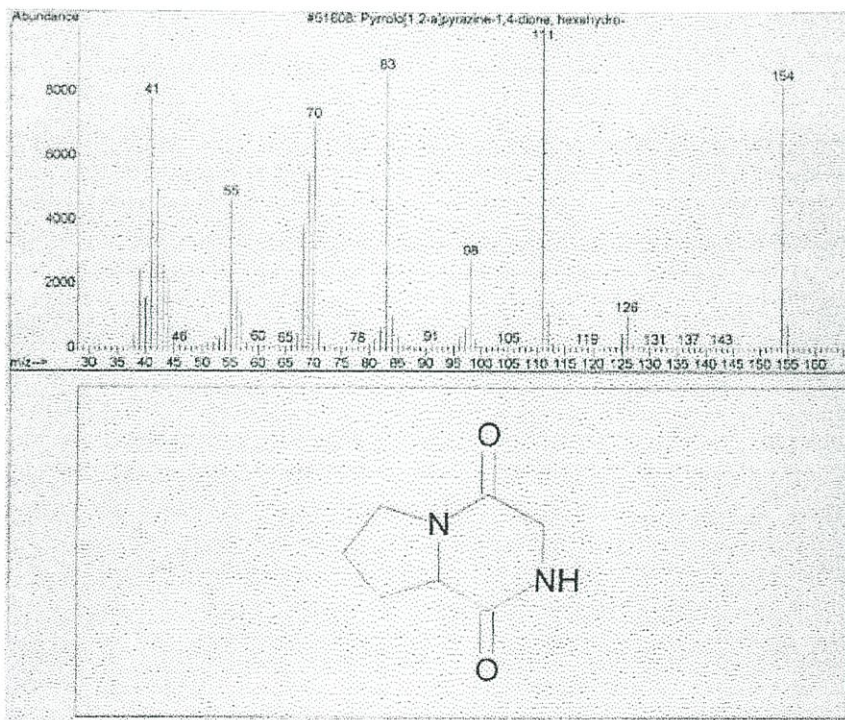
รูปที่ 4.3 แมสสเปกตรัมของเบนซาลดีไฮด์

## 2 ไพราซีนและไทอาโซล (Pyrazines and thiazoles)

สารประกอบไพราซีนและไทอาโซลที่พบคือ pyrrolo[1,2-a]piperazine-3,6-dione, pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione ดังรูปที่ 4.4 และ 4.5 ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากในขั้นตอนสุดท้ายของปฏิกิริยาเมลลาร์ดจะเกิดสารประกอบเฮเทอโรไซคลิกขึ้นซึ่งให้กลิ่นรสคล้ายกลิ่นปิ้งย่าง และจะเกิดสารประกอบอัลคิลไพราซีนขึ้นมากมาย ซึ่งพบสารประกอบไบไซคลิก (bicyclic) 2 ชนิดที่เป็นที่น่าสนใจคือ 6,7-dihydro-5(H)-cyclopentapyrazines และ pyrrolo[1,2-a]pyrazines (Flament et al., 1976,1977) ซึ่งเป็นกลิ่นรสเฉพาะตัวของเนื้อย่างและเนื้ออบ (Maarse and Visscher, 1989) สารประกอบไพราซีนเกิดขึ้นจากกรดอะมิโนเช่น กลูตามีนซึ่งเกิดจากการระเหยของแอมโมเนียเมื่อโดนความร้อน (Sohn and Ho, 1995) ส่วนในกระบวนการอื่นๆ คาดว่าอาจจะเกิดจากการไพโรไลซิสของกรดอะมิโนบีต้า-ไฮดรอกซี (β-hydroxy amino acids) เช่น ซีรีน และทรีโอนีน หรืออาจจะเกิดจากการที่อัลฟา-อะมิโนคาร์บอนิล (α-amino carbonyls) ทำปฏิกิริยากับสารประกอบไพราซีนที่เกิดขึ้นในสภาวะที่ไม่มีน้ำตาลรีดิคัลระหว่างกระบวนการที่ทำให้ความร้อน (Wang and Odell, 1973 ; Baltes and Bochmann, 1987)



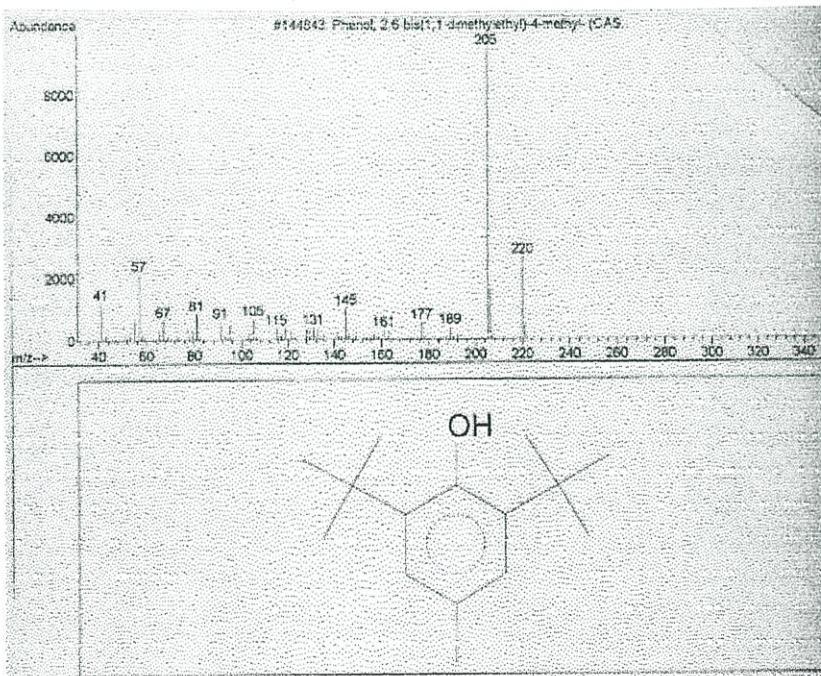
รูปที่ 4.4 แมสสเปกตรัมของ pyrrolo[1,2-a]piperazine-3,6-dione



รูปที่ 4.5 แมสสเปกตรัมของ pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione

### 3 ฟีนอล (Phenol)

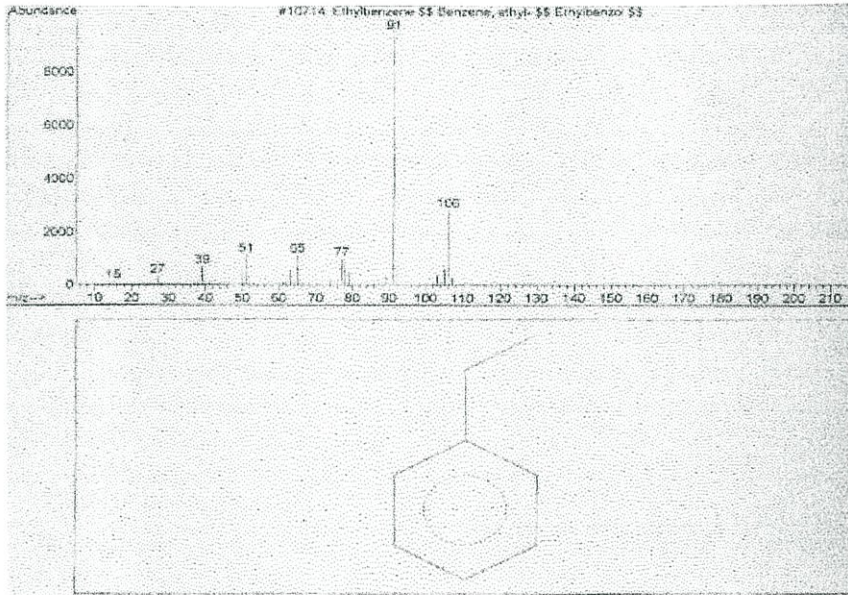
สารประกอบฟีนอลที่พบคือ 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-phenol ดังรูปที่ 4.6 Ha and Lindsay (1991) เสนอข้อคิดเห็นว่าสารระเหยอัลคิลฟีนอลที่อยู่ในไขมันจะให้กลิ่นรสเนื้อแกะมากกว่ากลิ่นรสเนื้อสัตว์ชนิดอื่นๆ Brennan and Lindsay (1992) พบว่าคุณภาพของกลิ่นรสและอิทธิพลของไทโอฟีนอล (thiophenol) จะให้กลิ่นคล้ายกลิ่นกำมะถันใหม่ซึ่งเป็นกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในอาหารและยังมีอิทธิพลต่อสีของเนื้อแกะอีกด้วย อัลคิลฟีนอลถูกพบในอาหารหลายชนิด (Badings and Neeter, 1980 ; Heil and Lindsay, 1988) แม้แต่ในไวน์แดง (Chatonnet et al., 1992) Brennan and Lindsay (1992) พบว่าถึงแม้จะละลายอยู่ในน้ำก็ยังคงให้กลิ่นคล้ายเนื้อสุกซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลอิสระในระหว่างการประกอบอาหารหรือตั้งแต่มีการเปลี่ยนแปลงของความร้อน (Kao et al, 1979 ; Lopez and Lindsay, 1993a,b) Young et al (1997) พบสารประกอบฟีนอลหลายชนิดโดยใช้เทคนิคง่าย ๆ โดยพบว่าเมทิลฟีนอล (methylphenol) มีความสัมพันธ์กับกลิ่นของสัตว์และยังพบว่า 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methylethyl-4-methylphenol เป็นสารประกอบที่พบเฉพาะในไก่เท่านั้น (Ramarathnam et al., 1993a,b)



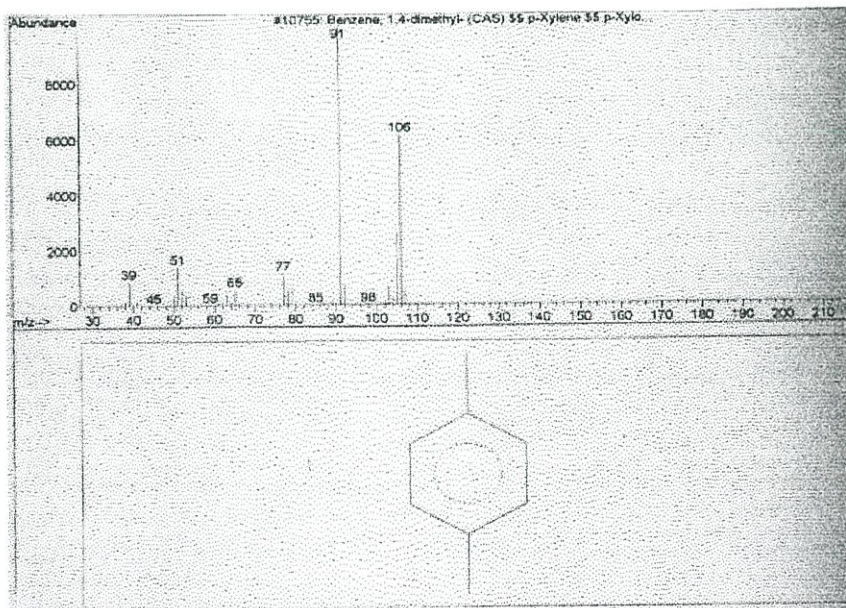
รูปที่ 4.6 แมสสเปกตรัมของ 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-phenol

#### 4 เบนซีนอยด์ (Benzenoids)

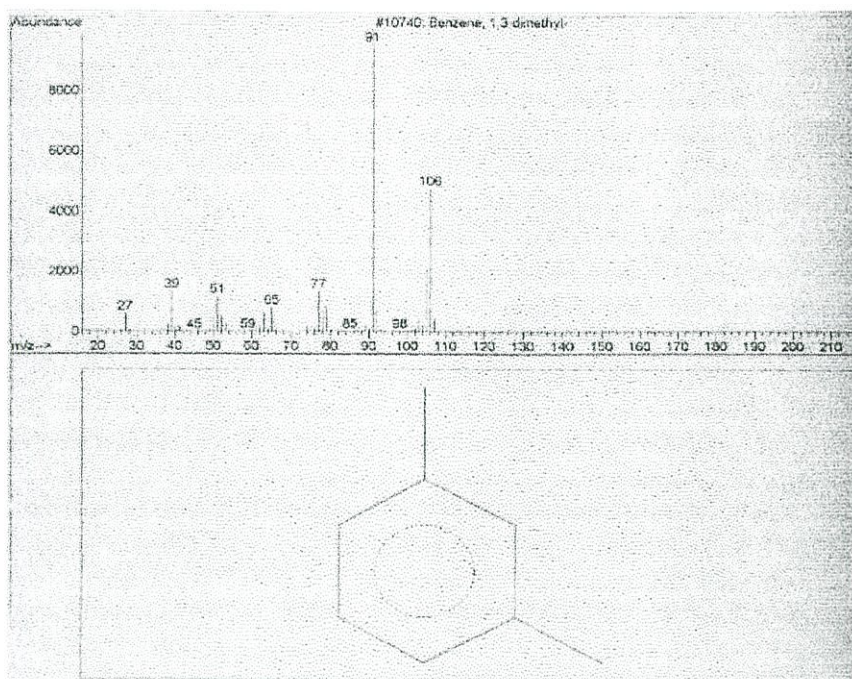
สารประกอบเบนซีนอยด์ที่พบคือ ethylbenzene, 1,4-dimethyl-benzene, 1,3-dimethyl-benzene ดังรูปที่ 4.7, 4.8 และ 4.9 ตามลำดับ Maarse and Visscher (1989) พบว่า 1,2-dimethylbenzene, 1,4-dimethylbenzene, 1,3,5-trimethylbenzene, 4-ethyl-1,2-dimethylbenzene จะเกิดเฉพาะในกลิ่นของเนื้อวัว



รูปที่ 4.7 แมสสเปกตรัมของ ethylbenzene



รูปที่ 4.8 แมสสเปกตรัมของ 1,4-dimethyl-benzene



รูปที่ 4.9 แมสสเปกตรัมของ 1,3-dimethyl-benzene

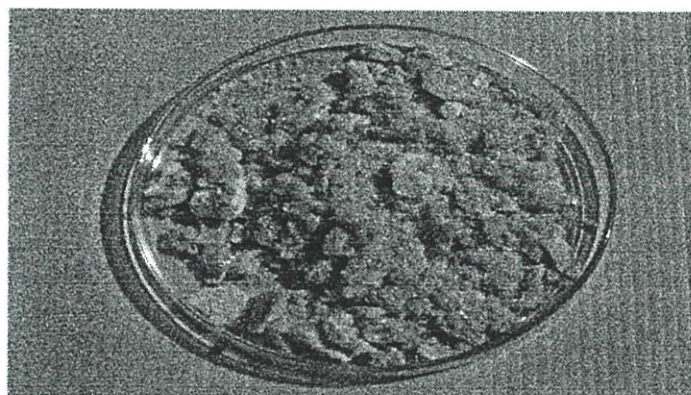
ตารางที่ 4.11 ผลของการวิเคราะห์และการแปลความหมายของข้อมูลที่ได้

สารประกอบ	แนวโน้มความเป็นไปได้ (%)
benzaldehyde	90
pyrrolo[1,2-a]piperazine-3,6-dione	91
pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione	91
2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-phenol	96
ethylbenzene	56
1,4-dimethyl-benzene	80
1,3-dimethyl-benzene	91

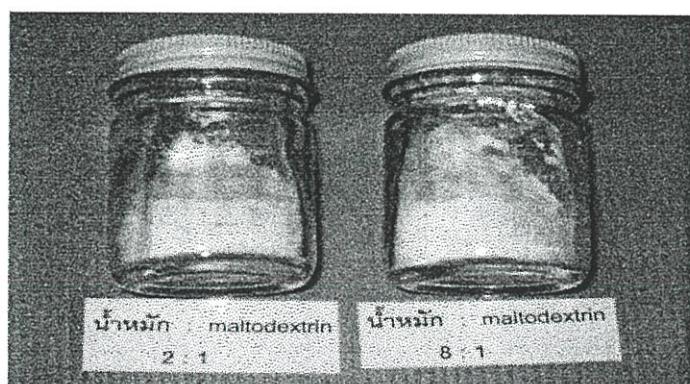
#### 4.1.3 การทำแห้งสารให้กลิ่นรสเนื้อจากถั่วเหลือง

จากการวิเคราะห์ผลการทดลองโดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี และ เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี เพื่อทำการคัดเลือกสภาวะที่ให้กลิ่นรสเนื้อได้ดีที่สุด พบว่าสภาวะโคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสและทำเมลลาร์ดกับน้ำตาลแลคโตส (AILACTOSE) เป็นสภาวะที่ให้กลิ่นเนื้อดีที่สุด จากนั้นจึงนำมาทำแห้งแบ่งออกเป็น 2 กระบวนการคือ การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และการทำแห้งแบบฉีดพ่นเป็นผง เพื่อเปรียบเทียบหาวิธีการทำแห้งที่ให้ผลิตภัณฑ์ออกมาดีที่สุด โดยพบว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะให้ผลิตภัณฑ์ออกมา

เป็นเกล็ดแห้งๆ ขนาดเล็กคล้ายขนมปังอบกรอบ มีสีน้ำตาลอ่อนมากและมีกลิ่นเนื้อที่เจือจาง ละลายน้ำได้ดี ดังรูปที่ 4.10 อีกทั้งการทำแห้งวิธีนี้เป็นวิธีการที่ใช้ต้นทุนสูงและใช้พลังงานมากจึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาผลิตผลิตภัณฑ์ในแง่ธุรกิจ ส่วนการทำแห้งแบบฉีดพ่นเป็นผงพบว่าเมื่อนำน้ำหมักผสมกับสารจับกลิ่น (Encapsulating agent) คือมาลโทเด็กซ์ทรินในอัตราส่วน 2 : 1 และ 8 : 1 พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ออกมาจะเป็นผงสีขาวมีลักษณะละเอียดมากคล้ายแป้ง ละลายน้ำได้ดี ที่อัตราส่วน 2 : 1 จะมีกลิ่นรสเนื้อที่เจือจางมากจนแทบไม่ได้กลิ่น แต่ที่อัตราส่วน 8 : 1 มีกลิ่นรสเนื้อที่ชัดเจน ดังรูปที่ 4.11 ส่วนเมื่อนำน้ำหมักผสมกับครีมเทียมที่อัตราส่วน ส่วน 2 : 1 และ 8 : 1 พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ออกมาจะมีสีน้ำตาลอ่อน ละลายน้ำได้ดี ที่อัตราส่วน 2 : 1 แทบไม่มีกลิ่นรสเนื้อแต่มีกลิ่นของนมที่ชัดเจนมาก และที่อัตราส่วน 8 : 1 ให้กลิ่นรสเนื้อที่เข้มข้นแต่ยังคงมีกลิ่นนมที่ชัดเจนอยู่ ดังรูปที่ 4.12 จากการทำแห้งทั้ง 2 วิธีสรุปได้ว่าการทำแห้งแบบฉีดพ่นเป็นผงโดยใช้สารละลายตัวอย่างผสมกับมาลโทเด็กซ์ทรินในอัตราส่วน 8 : 1 จะให้กลิ่นรสเนื้อและลักษณะของผลิตภัณฑ์ออกมาได้ดีที่สุด



รูปที่ 4.10 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง



รูปที่ 4.11 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำแห้งแบบฉีดพ่นเป็นผงโดยใช้น้ำหมักต่อมาลโทเด็กซ์ทริน 2 : 1 และ 8 : 1



รูปที่ 4.12 ผลึกภัณฑ์ที่ได้จากการทำแห้งแบบฉีดพ่นเป็นผงโดยใช้น้ำหมักต่อครีมเทียม 2 : 1 และ 8 : 1

## 4.2 การผลิตสารให้กลิ่นควัน

### 4.2.1 การศึกษาการผลิตสารดูดซับกลิ่นควันจากวัตถุดิบต่างๆ และอุณหภูมิในการเก็บกลิ่นควัน

จากการศึกษาสารดูดซับกลิ่นควันโดยนำเอาวัตถุดิบต่างๆ คือ ถั่วเหลือง ถั่วเหลืองต้ม แป้งข้าวโพด แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวเจ้า แป้งมันสำปะหลัง ข้าวโอ๊ตบด ผลึกภัณฑ์นมโปรตีนสูง 60% เกล็ดขมนมผง น้ำตาลไอส์ซิ่ง ครีมเทียม น้ำตาลดี-กลูโคส แป้งข้าวกล้อง ข้าวอบแห้ง รำข้าว soy protein isolate และ soy protein isolate with bacon flavor จำนวน 100 กรัมมารวมกันอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 30 นาทีโดยใช้กามมะพร้าวเป็นแหล่งกำเนิดควันและศึกษาสถานะการเก็บกลิ่นควันที่อุณหภูมิ 37 และ 4 องศาเซลเซียส และคัดเลือกวัตถุดิบที่สามารถดูดซับกลิ่นควันได้ดี ดังตารางที่ 4.12 แสดงผลของสถานะการเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ ต่อกลิ่นควัน พบว่าถั่วเหลือง ถั่วเหลืองต้ม ข้าวโอ๊ตบด ครีมเทียม soy protein isolate รำข้าว และ soy protein isolate with bacon flavor เป็นวัตถุดิบที่สามารถดูดซับกลิ่นควันได้ดี และเมื่อนำวัตถุดิบที่ผ่านการรมควันไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในสถานะปิด (หมายถึงเก็บในขวดแก้วที่มีฝาปิดมิดชิด) เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บมากที่สุดคือยังคงให้กลิ่นควันที่เข้มข้นเหมาะสมตลอดระยะเวลาการเก็บ 30 วัน และลักษณะสีของผลึกภัณฑ์ไม่เปลี่ยนแปลง ส่วนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส กลิ่นควันจะเจือจางลงเล็กน้อย สีของผลึกภัณฑ์ไม่เปลี่ยนแปลง และการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสทั้งยังเป็น การสิ้นเปลืองพลังงาน

ตารางที่ 4.12 ผลของอุณหภูมิในการเก็บกลิ่นควันต่อลักษณะของกลิ่นควัน

ชนิด ของ วัตถุ ดิบ	ลักษณะก่อน รมควัน	ลักษณะหลังรมควัน			
		37 <sup>o</sup> ซ		4 <sup>o</sup> ซ	
		สภาวะปิด	สภาวะเปิด	สภาวะปิด	สภาวะเปิด
1. ถั่ว เหลือง	สีเหลืองปน น้ำตาลอ่อน ลักษณะเมล็ด มีทั้งหยาบ และป่น มี กลิ่นหอม เหมือนถั่ว เหลือง	สีเหลืองปน น้ำตาลอ่อน มี กลิ่นควันที่ ชัดเจนและได้ กลิ่นถั่วเหลือง ที่หอม	สีเหลืองปน น้ำตาลอ่อน มี กลิ่นควันเบา บางมาก และ ได้กลิ่นถั่ว เหลืองที่ ชัดเจน	สีเหลืองปน น้ำตาลอ่อน มีกลิ่นควันที่ ชัดเจนมาก ผสมกับกลิ่น ของถั่วเหลือง	สีเหลืองปน น้ำตาลอ่อน ไม่ค่อยมีกลิ่น ควัน และมี กลิ่นถั่วเล็ก น้อย
2. ถั่ว เหลือง ต้ม	สีเหลืองอ่อน ปนน้ำตาล มี กลิ่นถั่ว มี ความชื้นเล็กน้อย มีทั้ง เมล็ดหยาบ และละเอียด	สีเหลืองอ่อน ปนน้ำตาล มี กลิ่นควันที่ ชัดเจนกว่าใน ถั่วเหลือง แต่ ไม่ค่อยได้ กลิ่นถั่ว	สีเหลืองอ่อน ปนน้ำตาล มี กลิ่นควันและ กลิ่นถั่วเล็ก น้อย	สีเหลืองอ่อน ปนน้ำตาล มี กลิ่นควันและ กลิ่นถั่วที่รุนแรง	สีเหลืองอ่อน ปนน้ำตาล มี กลิ่นควันที่ เบาบางและ กลิ่นถั่วเพียง เล็กน้อย
3. แป้ง ข้าว โพด	สีขาวละเอียด มีกลิ่น หวาน เล็กน้อย เหมือนข้าว โพด	สีขาว มีกลิ่น ของควันที่ ชัดเจนมีกลิ่น แป้งเล็กน้อย	สีขาว ไม่มีกลิ่น	สีขาว มีกลิ่น ควันชัดเจน มาก ไม่มีกลิ่น แป้ง	สีขาว ไม่มี กลิ่นควัน บาง ครั้งไม่มีกลิ่น
4. แป้ง ข้าว เหนียว	ผงสีขาว ละเอียด มี กลิ่นแป้งข้าว เหนียว	สีขาว มีกลิ่น ควันที่รุนแรง มาก มีกลิ่น แป้งที่ชัดเจน	สีขาว ไม่มี กลิ่นควัน แต่ มีกลิ่นแป้ง ชัดเจน	สีขาว มีกลิ่น ควันและกลิ่น แป้งที่รุนแรง มาก	สีขาว ไม่มี กลิ่นควันมี กลิ่นแป้ง ชัดเจน

ตารางที่ 4.12 (ต่อ)

ชนิด ของ วัตถุ คิบ	ลักษณะก่อน รมควัน	ลักษณะหลังรมควัน			
		37°C		4°C	
		สภาวะปิด	สภาวะเปิด	สภาวะปิด	สภาวะเปิด
5.แป้ง ข้าวเจ้า	ผงละเอียดสี ขาว ไม่มีกลิ่น	สีขาว มีกลิ่น ควันชัดเจน แต่ไม่รุนแรง นัก	สีขาว ไม่มีกลิ่น	สีขาว มีกลิ่น ควันชัดเจน มีกลิ่นแป้งเบา บาง	สีขาว มีกลิ่น แป้งเล็กน้อย จนบางครั้งไม่ มีกลิ่น
6.แป้ง มันสำ ปะ หลัง	ผงสีขาว ละเอียด ไม่มี กลิ่น	สีขาว มีกลิ่น ควันชัดเจน และกลิ่นแป้ง เล็กน้อย	สีขาว ไม่มีกลิ่น	สีขาว มีกลิ่น ควันที่รุนแรง และหอมหวาน มีกลิ่นแป้ง เล็กน้อย	สีขาว ไม่มีกลิ่น
7.ข้าว โอ๊ต บด	สีขาวปนเทา อ่อนลักษณะ เป็นผงค่อนข้าง ละเอียดมี กลิ่นหืนเล็ก น้อย	สีขาวปนเทา อ่อน มีกลิ่น ควันที่รุนแรง และกลิ่นข้าว โอ๊ตเล็กน้อย	สีขาวปนเทา อ่อน มีกลิ่น ควันเบาบาง ปนกับกลิ่น หืนเล็กน้อย	สีขาวปนเทา อ่อนกลิ่นของ ควันรุนแรง มี กลิ่นหืนเล็ก น้อย	สีขาวปนเทา อ่อน มีกลิ่น ควันเล็กน้อย
8.ผลิต ภัณฑ์ ของ นม โปรตี นสูง	ผงละเอียด มากสีเหลือง อ่อน มีกลิ่น คล้ายนมผง	สีเหลืองอ่อน มีกลิ่นควันที่ รุนแรงและได้ กลิ่นของนม เล็กน้อย	สีเหลืองอ่อน ไม่ค่อยได้ กลิ่นควันแต่ ได้กลิ่นของ นมผงชัดเจน	สีเหลืองเข้ม ขึ้นเล็กน้อย มี กลิ่นควันชัด เจนมีกลิ่นนม เล็กน้อย	สีเหลืองเข้ม ขึ้นเล็กน้อย ไม่มีกลิ่นควัน เลยมีกลิ่นนม ชัดเจน
9.เกลือ ขนม ปัง	สีขาวเป็นผง และแผ่น กรอบๆ ไม่มีกลิ่น	สีขาว มีกลิ่น ควันเล็กน้อย และกลิ่น คล้ายขนมปัง ทอด	สีขาว ไม่มีกลิ่นควัน	สีขาว ไม่ค่อย มีกลิ่นควัน และมีกลิ่น คล้ายขนมปัง ทอด	สีขาว ไม่มีกลิ่น

ตารางที่ 4.12 (ต่อ)

ชนิด ของ วัตถุ ดิบ	ลักษณะก่อน รมควัน	ลักษณะหลังรมควัน			
		37°C		4°C	
		สภาวะปิด	สภาวะเปิด	สภาวะปิด	สภาวะเปิด
10. น้ำ ตาล ไอส์ซิ่ง	ผงสีขาว ละเอียด ไม่มีกลิ่น	สีขาว มีกลิ่น ควันชัดเจน มี กลิ่นหวาน เล็กน้อย	สีขาว มีกลิ่น ควันชัดเจน	สีขาว มีกลิ่น ควันที่ชัดเจน และมีกลิ่น หอมของ น้ำตาล	สีขาว มีกลิ่น ควันเบาบาง มาก
11. ครี มเทียม	ผงสีขาว ละเอียดมาก มีกลิ่นหอม ของครีม	สีครีม มีกลิ่น ควันชัดเจนมี กลิ่นหอมของ ครีม	สีครีม ไม่มี กลิ่นควันแต่มี กลิ่นครีมที่ ชัดเจน	สีครีม มีกลิ่น ควันชัดเจน และ กลิ่น หอมของครีม	สีครีม ไม่มี กลิ่นควัน มี กลิ่นครีม เล็กน้อย
12. D- glucos e	ผงสีขาว ละเอียดมาก ไม่มีกลิ่น	สีขาว มีกลิ่น ควันชัดเจน	สีขาว มีกลิ่น ควันเล็กน้อย	สีขาว มีกลิ่น ควันรุนแรง	สีขาว มีกลิ่น ควันเล็กน้อย
13. แป้ง ข้าว กล้อง	สีเทาขาว ละเอียดมาก มีกลิ่นของ แป้ง	สีเทาขาว มี กลิ่นควัน และกลิ่นแป้ง ชัดเจน	สีเทาขาว ไม่มี กลิ่นควัน มีกลิ่นแป้ง เล็กน้อย	สีเทาขาว มี กลิ่นควันรุน แรงปนกับ กลิ่นแป้ง	สีเทาขาว ไม่มี กลิ่นควันมี กลิ่นแป้ง เบาบาง
14. ข้าว อบ แห้ง	เมล็ดสีขาว หยาบๆ เม็ด ค่อนข้างใหญ่ มีกลิ่นข้าว	สีเหลืองอ่อน มีกลิ่นควัน เบาบางผสม กับกลิ่นข้าว	สีเหลืองอ่อน ไม่มีกลิ่นควัน มีกลิ่นข้าว ชัดเจน	สีเหลืองอ่อน น้อย มีกลิ่น ควันชัดเจน มี กลิ่นข้าว เล็กน้อย	สีเหลืองอ่อน น้อย มีกลิ่น ควันและกลิ่น ข้าวเพียง เบาบาง

ตารางที่ 4.12 (ต่อ)

ชนิด ของ วัตถุ ดิบ	ลักษณะก่อน รมควัน	ลักษณะหลังรมควัน			
		37 <sup>o</sup> ซ		4 <sup>o</sup> ซ	
		สภาวะปิด	สภาวะเปิด	สภาวะปิด	สภาวะเปิด
15.soy protein isolate	ผงละเอียด เหมือนแป้ง สี ขาวครีมมี กลิ่นหืนชัด เจน	ผงละเอียด เหมือนแป้ง สี ขาวครีมที่เข้ม ขึ้น มีกลิ่น ควันที่ชัดเจน ไม่มีกลิ่นหืน	ผงละเอียด เหมือนแป้ง สี ขาวครีมเข้ม ขึ้น กลิ่นควัน เจือจาง ไม่มี กลิ่นหืน	ผงละเอียด สี ขาวครีมอ่อน ลง ไม่ค่อยมี กลิ่นหืน กลิ่น ควันจางลง	ผงละเอียด สี ขาวครีมจาง ลงมาก กลิ่น ควันอ่อนมาก มีกลิ่นหืนเด็ก น้อย
16.soy protein isolate with bacon flavor	กลิ่นคล้าย ซ้อสถั่ว เหลืองรุนแรง มากเป็นแผ่น ขาวเล็กๆมี ครีมสีน้ำตาล เหนียวติดอยู่ กับแผ่น	ลักษณะเป็น ผงกรอบๆสี น้ำตาลเข้มใน บางส่วน แผ่น เล็กๆสีขาว ปนน้ำตาลมี กลิ่นควัน อ่อนๆ	ลักษณะเริ่ม เป็นชิ้น เหนียวๆสีน้ำ ตาลเข้มใน บางส่วน มี กลิ่นควันที่ จางลงเล็ก น้อย	ลักษณะเป็น ผงกรอบๆชิ้น เล็กๆสีน้ำตาล เข้มในบาง ส่วนมีกลิ่น คล้ายกะปิ กลิ่นควันจาง ลงเล็กน้อย	ลักษณะเป็น ชิ้นเล็ก เหนียวๆเกาะ ติดกันเป็น แผ่นสีน้ำตาล เข้มกลิ่นควัน จางลงแทบไม่ มีกลิ่น
17.รำ ข้าว	ผงละเอียด คล้ายแป้ง สี น้ำตาลอ่อน ปนเหลือง มี กลิ่นหืนรุนแรง	ผงละเอียด คล้ายแป้ง สี น้ำตาลเข้มขึ้น เล็กน้อย มี กลิ่นควันที่ชัด เจน ไม่มีกลิ่น หืน	ผงละเอียดแต่ บางส่วนติด กันเป็นก้อน สีน้ำตาลเข้ม ขึ้นเล็กน้อย กลิ่นควันจาง ลง มีกลิ่นหืน	ผงละเอียด คล้ายแป้ง สี น้ำตาลอ่อน ลงเล็กน้อย มี กลิ่นควันที่ จางลงเล็ก น้อย มีกลิ่น หืน	ผงละเอียด สี น้ำตาลอ่อน แทบไม่มีกลิ่น ควัน มีกลิ่น หืนชัดเจน

#### 4.2.2 ศึกษาผลของระยะเวลาในการรมควันต่อลักษณะของกลิ่นควันและการละลายของสารดูดซับกลิ่นควัน

จากการศึกษาการผลิตสารดูดซับกลิ่นควันและอุณหภูมิในการเก็บกลิ่นควันสามารถคัดเลือกวัตถุดิบที่เหมาะสมได้ 7 ชนิด คือ ข้าวโอ๊ตบด ครีมเทียม ถั่วเหลือง ถั่วเหลืองคัม soy protein isolate ร้าข้าว และ soy protein isolate with bacon flavor จากนั้นนำมาศึกษาผลของระยะเวลาในการรมควันต่อลักษณะของกลิ่นควันและการละลายของสารดูดซับกลิ่นควัน พบว่าการรมควัน ข้าวโอ๊ตบด ครีมเทียม ถั่วเหลือง ถั่วเหลืองคัม soy protein isolate with bacon flavor ที่เวลา 60 นาที และเก็บในสภาวะปิดกลิ่นควันจะมีความเข้มข้นมากที่สุด แต่การรมควัน soy protein isolate และ ร้าข้าว ที่เวลา 30 นาทีจะให้กลิ่นควันที่มีความเข้มข้นมากที่สุด ดังตารางที่ 4.13 แสดงผลของเวลาในการรมควันต่อวัตถุดิบต่างๆ และจากการทดสอบการละลายและกลิ่นของควัน พบว่า soy protein isolate และครีมเทียมสามารถละลายน้ำได้ดีและยังคงให้กลิ่นควันที่ชัดเจน ซึ่งเหมาะสมที่จะนำมาผลิตกลิ่นรสและทำเป็นผลิตภัณฑ์ได้ดีเพราะคุณสมบัติของกลิ่นรสที่ดีคือ ควรจะละลายน้ำได้ดีเพื่อง่ายที่จะนำไปผสมกับอาหาร ส่วนวัตถุดิบตัวอื่นๆ ถึงแม้ว่าจะให้กลิ่นควันที่ดีแต่ยังขาดคุณสมบัติการละลายจึงไม่เหมาะสมต่อการนำมาผลิตกลิ่นรส ดังตารางที่ 4.14 แสดงผลจากการทดสอบการละลายและกลิ่นของควัน

ตารางที่ 4.13 ผลของเวลาในการรมควันต่อลักษณะของกลิ่นควัน

ตัวอย่าง	ลักษณะก่อนรมควัน	ลักษณะหลังรมควัน		
		30 นาที	45 นาที	60 นาที
1. ข้าวโอ๊ตบด	สีขาวปนเทาอ่อนเป็นผงละเอียดมีกลิ่นหืนเล็กน้อย	สีขาวเป็นผงหยาบ มีกลิ่นควันและกลิ่นของข้าว	สีขาวเป็นผงหยาบ มีกลิ่นควันชัดเจน มีกลิ่นข้าวเล็กน้อย	สีน้ำตาลอ่อน มีกลิ่นควันชัดเจนแต่ไม่หอม มีกลิ่นข้าวเล็กน้อย
2. ถั่วเหลือง	สีเหลืองปนน้ำตาลอ่อน ลักษณะเม้คมีทั้งหยาบและป็นมีกลิ่นหอมเหมือนนมถั่วเหลือง	สีเหลืองอ่อนเป็นผงละเอียดปนหยาบมีกลิ่นควันชัดเจนมีกลิ่นถั่วเหลืองเล็กน้อย	สีเหลืองอ่อนเป็นผงละเอียดปนหยาบมีกลิ่นควันที่รุนแรงมีกลิ่นถั่วเหลืองเล็กน้อย	สีเหลืองปนสีน้ำตาล ผงละเอียดปนหยาบมีกลิ่นควันชัดเจนมีกลิ่นของถั่ว
3. soy protein isolate with bacon flavor	มีกลิ่นคล้ายซอสถั่วเหลืองและกะปิ ลักษณะเป็นแผ่นขาวเล็กๆมีครีมสีน้ำตาลเหนียวติดกับแผ่นขาว	เป็นผงกรอบขึ้นเล็กน้อยมีกลิ่นหอมของควันอ่อนๆ มีรสเค็มและ กรอบ	เป็นผงกรอบขึ้นเล็กน้อยมีกลิ่นสีน้ำตาลเข้มไม่ค่อยมีกลิ่นควัน มีกลิ่นควันและเค็มกรอบ	เป็นผงกรอบขึ้นเล็กน้อยมีกลิ่นสีน้ำตาลเข้มมีกลิ่นควันที่ชัดเจนหอมมีรสเค็ม
4. ครีมเทียม	ผงสีขาวละเอียดมีกลิ่นหอมของครีม	ผงสีขาวละเอียดมีกลิ่นควันชัดเจนมีกลิ่นครีมเล็กน้อย	ผงสีขาวละเอียดมีกลิ่นควันเบาบางและมีกลิ่นครีมเล็กน้อย	ผงสีขาวละเอียดที่เข้มข้นเล็กน้อยมีกลิ่นควันชัดเจนและกลิ่นครีมเล็กน้อย

ตารางที่ 4.13 (ต่อ)

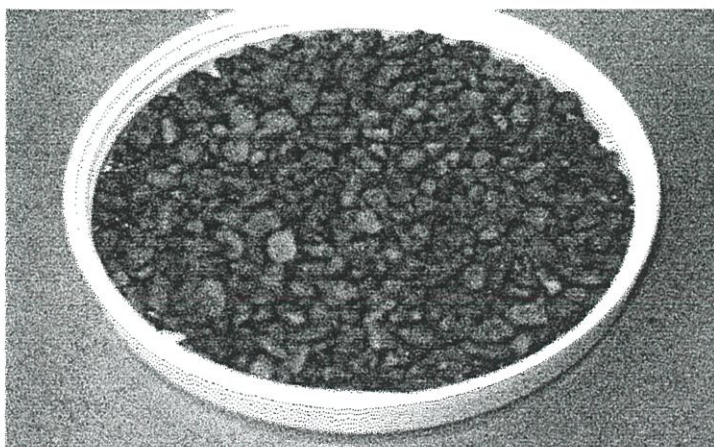
ตัวอย่าง	ลักษณะก่อน รวมวัน	ลักษณะหลังรวมวัน		
		30 นาที	45 นาที	60 นาที
5. ถั่ว เหลืองคั่ว	สีเหลืองอ่อน เม็ดหยาบ แข็งๆ มีกลิ่น ถั่วเหลืองชัด เจน	สีเหลืองเข้มปนสี น้ำตาลเม็ดหยาบ แข็ง มีกลิ่นคว้นชัด เจนและกลิ่นถั่ว เหลืองเล็กน้อย	สีเหลืองเข้มปนสี น้ำตาล เม็ดหยาบ แข็งแห้ง มีกลิ่น คว้นที่ไม่หอมผสม กับกลิ่นถั่วเหลือง เล็กน้อย	สีน้ำตาลที่เข้มขึ้น แข็งแห้ง มีกลิ่น คว้นที่ชัดเจนไม่มี กลิ่นถั่วเหลือง
6. Soy protein isolate	ผงละเอียด คล้ายแป้งสี ขาวครีมมี กลิ่นหืน	ผงละเอียดคล้าย แป้ง สีขาวครีมเข้ม ขึ้นเล็กน้อย มีกลิ่น คว้นชัดเจนไม่มี กลิ่นหืน	ผงละเอียดคล้าย แป้ง สีขาวครีมมี กลิ่นคว้นชัดเจนแต่ ไม่หอม	ผงละเอียดคล้าย แป้ง สีขาวครีมเข้ม ขึ้นเล็กน้อย มีกลิ่น คว้นไม่รุนแรง มี กลิ่นหืนเล็กน้อย
7.รำข้าว	ผงค่อนข้าง ละเอียดสีน้ำ ตาลอ่อน บาง ชิ้นติดกันเป็น ก้อนมีกลิ่น หืนรุนแรง	ผงค่อนข้างละเอียด สีน้ำตาลเข้มขึ้นมี กลิ่นของคว้นชัด เจน ไม่มีกลิ่นหืน	ผงค่อนข้างละเอียด สีน้ำตาลเข้มขึ้นมี กลิ่นของคว้นชัด เจน มีกลิ่นไหม้เล็ก น้อย ไม่มีกลิ่นหืน	ผงค่อนข้างละเอียด สีน้ำตาลแดงเข้ม ขึ้นเล็กน้อย มีกลิ่น คว้นและกลิ่นไหม้ ที่แรง

ตารางที่ 4.14 การทดสอบการละลายและกลิ่นของควัน

ชนิดของสารดูดซับกลิ่นควัน	ลักษณะการละลายและกลิ่นควัน
ถั่วเหลือง	กลิ่นควันชัดเจน ละลายน้ำไม่ได้
ถั่วเหลืองคั่ว	กลิ่นควันรุนแรง ละลายน้ำไม่ได้แต่ดีกว่าถั่วเหลือง
ข้าวโอ๊ตคั่ว	กลิ่นควันชัดเจน ละลายน้ำไม่ได้ ตั้งทิ้งไว้ตกตะกอน
ครีมเทียม	ละลายน้ำได้หมด มีกลิ่นควันพอสมควร มีกลิ่นครีมชัดเจน
Soy protein isolate	กลิ่นควันชัดเจน ละลายน้ำได้หมด
Soy protein isolate with bacon flavor	กลิ่นควันและกลิ่นเบคอนชัดเจน ไม่ละลายน้ำ
รำข้าว	กลิ่นควันชัดเจน ละลายน้ำได้เล็กน้อย ตั้งทิ้งไว้จะตกตะกอน

#### 4.2.3 การประยุกต์ใช้สารให้กลิ่นรสเนื้อนมควันเพื่อผลิตเบคอนเทียม

เมื่อนำตัวอย่างกลิ่นรสเนื้อที่ดีที่สุดคือ เมื่อนำโคจิมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่อุณหภูมิ 28°C ทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลแลคโตส (LACTULOSE) 1 กรัม และสารให้กลิ่นควัน 0.05 กรัม เติมน้ำเกลือ 1% , กากน้ำตาล 0.5% และ 0.001% จะได้สารปรุงรสเบคอน จากนั้นนำถั่วเหลืองมาล้างน้ำและนึ่งให้สุกที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมงนำไปสับหยาบ จะได้ถั่วเหลืองชิ้นขนาด 1-2 มิลลิเมตรนำมาคลุกกับสารปรุงรสเบคอน หมักที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมงแล้วนำไปทำแห้งใน ตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60-80 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จะได้ผลิตภัณฑ์เบคอนชิ้นเล็กๆ (Flake) ดังรูปที่ 4.13 คาดว่าเป็นที่ยอมรับและสามารถนำไปบริโภคหรือประยุกต์ใช้ในอาหารต่างๆ ได้เมื่อเปรียบเทียบกับเบคอนเทียมเชิงพาณิชย์



รูปที่ 4.13 ผลิตภัณฑ์เบคอนเทียม

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การทดลองนี้ได้ใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการหมัก 2 ชนิด คือ *Aspergillus oryzae* และ *Bacillus natto* โดยใช้ถั่วเหลืองและน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นเป็นแหล่งอาหารในการเจริญเติบโตของเชื้อในการเตรียมกล้าเชื้อตามลำดับ เมื่อบ่มเชื้อ *A.oryzae* เป็นเวลา 3 วันพบว่าจะเกิดเป็นสปอร์สีเขียวเกิดขึ้น ส่วนในการเตรียมกล้าเชื้อของ *B.natto* ได้ใช้น้ำถั่วเหลืองเข้มข้น เนื่องจากเชื้อ *B.natto* จะสามารถนำสารอาหารที่มีอยู่ในรูปของกรดอะมิโนหรือโมเลกุลของโปรตีนขนาดเล็กในรูปของน้ำถั่วเหลืองไปใช้ในการเจริญเติบโตและผลิตเอนไซม์ได้ง่ายกว่าอยู่ในรูปของถั่วเหลืองทั้งเมล็ด จากการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อ *B.natto* พบว่าในช่วง 3 ชั่วโมงแรกเป็นช่วงที่มีการเจริญเติบโตสูงสุด และในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *A.oryzae* จะเกิดเป็นสปอร์สีเขียวที่มีลักษณะเป็นเส้นใยแทงซอนไปทั่วเมล็ดถั่วเหลืองและมีกลิ่นเหม็นอับ เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์จะสร้างเอนไซม์ขึ้นมาหลายชนิดเช่น อะไมเลสที่จะย่อยแป้งเป็นน้ำตาล , โปรติเอส เพื่อย่อยโปรตีนในถั่วให้เกิดเป็นกรดอะมิโน เป็นต้น เพื่อใช้เป็นสารอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ และจากการวิเคราะห์กรดอะมิโนทั้ง 15 ชนิด คือ กรดแอสพาทิก ซีรีน กรดกลูตามิก ไกลซีน ฮิสทิดีน อาร์จินีน ทรีโอนีน อะลานีน โพรลีน ไทโรซีน วาลีน ไกลซีน ไอโซลูซีน ลูซีน และฟีนิลอะลานีน โดยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี พบว่าจะพบกรดอะมิโนทั้ง 15 ชนิดในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยจะพบกรดกลูตามิกในปริมาณมากที่สุด คือ 0.44 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

จากการทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลซูโครส ฟรุคโทส มอลโทส กลูโคส และแลคโทส และวิเคราะห์โดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีโดยใช้สารมาตรฐานทั้ง 4 ชนิดคือ ผงซีอิ๊วหมัก โปรตีนจากพืชที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ กลิ่นรสเนื้อวัว และ 2-methyl-1,3-dithiolane พบว่าเมื่อนำโคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่อุณหภูมิ 28°C (A1) เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะอื่นๆจะมีโครมาโทแกรมที่ใกล้เคียงกับสารมาตรฐานคือ 4.082, 4.081 , 4.079 และ 4.078 ตามลำดับและในระบบ A1, A2 ,B1 ,B2,C1 และ C2 พบว่าจะมีค่า R<sub>f</sub> ใกล้เคียงกันมากซึ่งค่าเฉลี่ยโดยประมาณคือที่ 3.070 และ 4.094 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเชื้อ *B.natto* ไม่มีผลในการเพิ่มกลิ่นรสเนื้อเมื่อทำการหมักควบคู่กับ *A.oryzae* และการหมักที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำให้อัตราการหมักช้าลงและคาดว่าไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทั้งสองเพราะอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตคือที่ 28-37 องศาเซลเซียส ซึ่งมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์เอนไซม์และผลิตกลิ่นรส ระบบที่เหมาะสมในการผลิตกลิ่นรสเนื้อคือ โคจิหมักในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้นที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสและทำเมลลาร์ดกับน้ำตาลแลคโทส (AILACTOSE) เพราะเป็นระบบเดียวที่มีโครมาโทแกรมขึ้นตรงกับ 2-methyl-1,3-dithiolane ซึ่ง

เป็นสารมาตรฐานที่ให้กลิ่นรสเนื้อมบ เมื่อนำไปทำแห้งแบบฉีดพ่นเป็นผงโดยใช้มาลโทเด็กซ์ทรีน และครีมเทียมเป็นสารจับกลิ่นจะให้ผลิตภัณฑ์ออกมามีกลิ่นรสเนื้อและลักษณะสัมผัสที่ดี จากการวิเคราะห์โดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี พบสารประกอบเกิดขึ้นหลายชนิด เช่น 4-methyl-3-penten-2-one, ethylbenzene, 1,4-dimethyl-benzene, 1,3-dimethyl-benzene, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-phenol, pyrrolo[1,2-a]piperazine-3,6-dione, pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione และ benzaldehyde

จากการผลิตสารให้กลิ่นควันพบว่ากรรมควัน soy protein isolate และครีมเทียมอย่างค่อนเนื่องเป็นเวลา 30 และ 60 นาที ตามลำดับ โดยใช้กาบมะพร้าวเป็นแหล่งกำเนิดควันและเก็บในสภาวะปิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสจะให้กลิ่นควันที่ดี

จากการประยุกต์สารให้กลิ่นรสเนื้อมบวันเพื่อผลิตภัณฑ์เบคอนเทียม จะได้ผลิตภัณฑ์เบคอนชิ้นเล็กๆ (Flake) คาดว่าจะเป็นที่ยอมรับและสามารถนำไปบริโภคหรือประยุกต์ใช้ในอาหารต่างๆ ได้

ผลงานวิจัยนี้นับได้ว่าเป็นจุดเริ่มต้นที่สำคัญสำหรับการนำข้อมูลที่ได้จากปฏิกิริยาทางเทคโนโลยีชีวภาพซึ่งอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ เชื้อรา *A. oryzae* และแบคทีเรีย *B. natto* ทำการปลดปล่อยเอนไซม์เพื่อย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลือง ให้ได้กรดอะมิโนหลายชนิด แต่ที่สำคัญและมีปริมาณมากที่สุด คือ กรดกลูตามิก ซึ่งจะทำปฏิกิริยาเมลลาร์ดค่อนกับน้ำตาลชนิดต่างๆ ได้เป็นสารเคมีอินทรีย์เชิงซ้อนที่มีคุณสมบัติเป็นสารให้กลิ่นเนื้อในลักษณะคล้ายคลึงกับผงซีอิ้วโปรตีนไฮโดรไลซ์จากพืช หรือสารให้กลิ่นเนื้อสังเคราะห์เลียนแบบธรรมชาติ 2-methyl-1,3-dithiolane ที่นิยมใช้กัน ในอุตสาหกรรมอาหารปัจจุบัน อย่างไรก็ตาม งานวิจัยขั้นต่อไปในเรื่องนี้ ยังมีความจำเป็น เพื่อให้เกิดการพัฒนาในการขยายกำลังการผลิตสู่ระดับถึงโรงงานต้นแบบ เพื่อที่จะได้พัฒนาเป็นเทคโนโลยีต่อไป

## บรรณานุกรม

- นภา โล่ห์ทอง. 2534. กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต. 1. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.  
ประเทืองศรี สิ้นชัยศรี และ วิมลศรี เทวผลิน. 2523. “การศึกษาปริมาณไขมันและโปรตีนในถั่ว  
เหลืองบางพันธุ์.”วารสารอาหาร. 12(4) : 314-326.
- ปรานอม ขาวเมฆ. 2540. แก๊สโครมาโทกราฟี. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยรังสิต.
- แม่น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสมใจ 2534. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. พิมพ์  
ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : ชวนพิมพ์.
- รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2535. วิศวกรรมแปรรูปอาหาร. กรุงเทพฯ : โอ.เอส.พรีนติ้ง เฮ้าส์.  
รวารุณี ครุสง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2532. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. 1.  
กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- วิเชียร ติลาวัชรมาศ, 2524. ซีอีว. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ
- สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. 2527. ถั่วเหลืองและการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย.  
กรุงเทพฯ : บริษัทสยามออฟเซ็ทจำกัด.
- สมชาย ประภาวัต. 2533. “การใช้ประโยชน์จากถั่วเหลืองเป็นอาหารในประเทศ.” วารสารอาหาร.  
20(3).
- Adler, T.E. 1957. **Molecular Properties of Seven Wood Celluloses.** Tappi. 40 : 25-29.
- Akimoto, T.; Yamada, S. and Matsumoto, I. 1990. “The Relation between Protease and  
 $\gamma$ -Glutamyltranspeptidase Activities and Qualities of Natto.” **Nippon Shokuhin Kogyo  
Gakkaishi.** 37 : 872-877.
- Akimoto, T.; Matsumoto, I. and Imai, S. 1993. “Effect of Temperature and Inoculum Size on  
Natto’s Enzyme activities during Fermentation.” **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.**  
40 : 83-90.
- Badings, H.T. and Neeter, R. 1980. “Recent advances in the study of aroma compounds of milk  
and dairy products.” **Neth. Milk. Dairy J.** 34 : 9-30.
- Baltes, W.; Wittkowski, R.; Sochtig, I.; Block, H. and Toth, L. 1981. **The Quality of Food and  
Beverages.** New York : Academic Press.
- Baltes, W. and Bochmann, G. 1987. **Model reaction on roast aroma formation. IV. Mass  
spectrometric identification of pyrazines from the reaction of serine and threonine  
with sucrose under the conditions of coffee roasting.** Z. Lebensm. Unters. Forsch. 184  
: 485-493.

- Brennand, C.P. and Lindsay, R.C. 1992. **Influence of cooking on concentration of species related flavor compounds in mutton.** *Lebensm. Wiss. U. Technol.*, 25 : 357-364.
- Byrne, G.A.; Gardener, D. and Holmes, F.H. 1966. "The Pyrolysis of Cellulose and The Action of Flame Retardants." *J. Appl.Chem.* 16 : 81-87.
- Charm, S.E. 1978. **The Fundamentals of Food Engineering.** 2. Westport : AVI.
- Chatonnet, P.; Dubourdieu, D.; Boidron, J.N. and Pons, M. 1992. The origin of ethylphenol in wines. *J. Sci. Food Agric.* 60 :141-174.
- Daun, H. 1972. **Sensory Properties of Phenolic Compounds Isolated From Curing Smoke As Influenced By Its Generation Parameters.** 5. *Lebensm : Wiss Technol.*
- Demam, J.M. 1980. "Protein." **Principles of Food Chemistry.** AVI Publishing Co. Inc., Westport, Connecticut.: 86-134.
- Entwistle, D.; Cole, E.H. and Wooding, N.S. 1949. "The Autoxidation of Alkali Cellulose I. An Experimental Study of The Kinetics of the Reaction." *Textile Res. J.* 19 : 527-546.
- Feather, M.S. 1989. "D-glucose-L-alanine interaction : their role in Maillard reaction." **Protein Quality and the Effect of Processing.** R.D. Phillips and J.W. Finley (eds.). Marcel Dekker Inc., New York. : 63-72.
- Frather, C. D. 1980. **Maillard Reaction in Food.** American Chemical Society., Washington DC
- Fengel, D. and Wegener, G. 1984. **Wood Chemistry.** Berlin : Walter de Gruyter.
- Fenner, R.A. and Lephardt, L.O. 1981. "Examination of The Thermal Decomposition of Kraft Pine Lignin By Fourier Transform Infrared Evolved Gas Analysis." *J. Agric.Food Chem.* 29 : 846-850.
- Fiddler, W.; Parker, W.E.; Wasserman, A.E. and Doerr, R.C. 1967. "Thermal Decomposition of Ferulic Acid." *J.Agric.Food Chem.* 15 : 757.
- Fiddler, W.; Wasserman, A.E. and Doerr, R.C. 1970. "A Smoke Flavour Fraction of a Liquid Smoke Solution." *J.Agric.Food Chem.* 18 : 934-396.
- Flament, I.; Kohler, M. and Aschiero, R. 1976. **Sur l'arome de viande de boeuff grille'e. II Dihydro-6,7-5H-cyclopenta-[b]pyrazines, identification et mode de formation.** *Helv. Chim. Acta*, 59,2308-2313.
- Flamment, I.; Sonnay, P. and Ohloff, G. 1977. **Sur l'arome de viande de boeuff grille'e.II Pyrrolo[1,2a] pyrazines, identification et synthe'se.** *Helv. Chim. Acta*,60, 1872-1883.

- Forss, D.A. 1972. **Odour and flavour compounds from lipids**. Prog. Chem. Fats other Lipids. 16, 181-258.
- Frankel, E.N. 1980. **Lipid oxidation**. Prog. Lipid Res., 19,1-22.
- Franz, F.P. and Wilfred, A. 1968. **Principles of Wood Science and Technology**. Heidelberg : Springer-Verlag Berlin.
- Frather, C.D. 1980. **Maillard Reaction in Food**. American Chemical Society., Washington DC.
- Gardner, K.H. and Blackwell, J. 1974. **The Structure of Lignin**. Biophys Acta.
- Gilbert, J. and Knowles, M.E. 1975. "The Chemistry of Smoke Foods." **J.Food Technol.** 10 : 245-251.
- Goos, A.W. 1952. **The Thermal Decomposition of Wood**. New York : Reinhold.
- Goring, D.A.I. 1962. "The Physical Chemistry of Lignin." **Pure Appl. Chem.** 5 : 233-254.
- Grosch, W. 1982. **Lipid degradation products and lavours**. In Food Flavours, eds. I.D. Morton and A.J. MacLeod. Elsevier Amsterdam, 325-398.
- Guillen, M.D. and Ibargoitia, M.L. 1996. "Volatile Components of Aqueous Liquid Smokes from *Vitis vinifera* L Shoots and *Fagus sylvatica* L Wood." **J.Sci.Food Agric.** 72 : 104-110.
- Guillen, M.D. and Manzanos, M.J. 1999. "Smoke and Liquid Smoke. Study of an Aqueous Smoke Flavouring From the Aroma Plant *Thymus vulgaris* L." **J.Sci.Food Agric.** 79 : 1267-1274.
- Ha, J.K. and Lindsay, R.C. 1991. "Volatile alkylphenols and thiophenol in species related characterizing flavors of red meats". **J.Food Sci.**, 56 : 1197-1202.
- Heil, T.P. and Lindsay, R.C. 1988. "Volatile compounds in flavor-tained fish from the upper Wiscinsin river". **J. Environ. Sci. Health.** B.23, 489-512.
- Henley, D. 1960. **The Cellulose Solvent Cadoxen, a Preparation, and a Viscometric Relationship with Cupriethylenediamine**. Svensk Papperstid.
- Hermans, P.H. 1949. **Physics and Chemistry of Cellulose Fibres**. New York : Elsevier Publishing Co.
- Hesseltine, C.W. and Wang, H.L. 1972. **Fermented Soybean Food Products in Soybeans**. Westport : AVI.
- Hodge, J. E. and Bailey, M.E. 1953. **The Maillard Reaction in Foods and Nutrition**. Chem. Soc., Washington DC.

- Honeyman, J. 1959. **Recent Advances in the Chemistry of Cellulose and Starch**. London : Heywood and company.
- Kao, J.; Bridges, J.W. and Faulkner J.K. 1979. **Metabolism of [14c]phenol by sheep, pig and rat**. *Xenobiotica*, 9 : 141-147.
- Kim, K.; Kurata, T. and Fujmaki, M. 1974. "Identification of Flavour Constituents in Carbonyl, Non-Carbonyl, Neutral and Basic Fractions of Aqueous Smoke Condensates." **Agric.Biol.Chem.** 38(1) : 53-63.
- Kornreich, M.R. and Issenberg, P. 1972. "Determination of Phenolic Wood Smoke Components as Trimethylsilyl Esters." **J.Agric.Food Chem.** 20 : 1109.
- Lopez, V. and Lindsay, R.C. 1993a. Metabolic conjugates as precursors for characterizing flavor compounds in ruminant milks. **J. Agric. Food Chem.**, 41, 446-454.
- Lopez, V. and Lindsay, R.C. 1993b. Thermal stability of some metabolically conjugated potential precursors of flavor components in meat and milk. **J. Food Sci.**, 58, 292-298.
- Lustre, A.O. and Issenberg, P. 1970. "Volatile Components of Hardwood Sawdust Smoke." **J.Agric.Food Chem.** 17 : 1387.
- Maarse, H. and Visscher, C.A. 1989. **Volatile compounds in Food Qualitative and Quantitative Data**. TNO-CIVO, Zeist, The Netherlands.
- Matsumoto, I.; Akimoto, T. and Imai, S. 1993. "Effect of Temperature and Inoculum Size on Natto's Appearance, Number of *B.natto*, Temperature, Hardness and Color Tone during Fermentation." **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.** 40 : 75-82.
- Mega, J.A. and Chen, Z. 1985. "Pyrazine Composition of Wood Smoke as Influenced by Wood Source and Smoke Generation Variables." **J.Flavour Fragr.** 1 : 37-42.
- Mega, J.A. 1988. **Smoke in Food Processing**. Boca Raton : CRC Press.
- Nagai, T.; Nishimura, K.; Suzuki, H.; Banba, Y.; Sasaki, H. and Kiuchi, K. 1994. "Isolation and Characterization of a *Bacillus subtilis* Strain Production Natto with Strong Umami-Taste and High Viscosity." **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.** 41 : 123-128.
- Ohta, T. 1985. **Natto**. Boca Raton : CRC Press.
- Okada, N. 1991. **National Food Research Institute**. Tsukuba. Japan.
- Ott, E.; Spurlin, H.M. and Grafflin, M.W. 1954. **Cellulose and Cellulose Derivatives**. New York : Interscience Publishers.
- Patsavas, A.C. 1963. **The spray dryer**. *Chem. Eng. Progr.* 59 : 65-70.

- Radecki, A. and Grzybowski, J. 1981. **Method for Determination of Phenolic Compounds in Smoked Products.** 14. Toksykol : Bromatol. Chem.
- Ramarathnam, N.; Rubin, L.J. and Diosady, L.L. 1993a. "Studies on meat flavor.3. A novel method for trapping volatile components from uncured and cured pork". **J. Agric. Food Chem.**,41, 933-938.
- Ramarathnam, N.; Rubin, L.J. and Diosady, L.L. 1993b. "Studies on meat flavor.4. Fractionation, characterization and quantitation of volatiles from uncured and cured beef and chicken." **J. Agric. Food Chem.**, 41, 939-945.
- Reimer,H. 1962. Ein Verinfachtes Verfahren zur Herstellung von Triathylendiamin Cadmium (II)-hydroxid. **Papier.**
- Reiner, H. 1977. "Analysis of Smoke and Smoked Foods." **Pure and Appl.Chem.** 49 : 1655-1666.
- Rodecki, A.; Grzybowski, J.; Halkiewicz, J. and Lamparczyk, H. 1977. **Isolation and Identification of Some Components of the Lower-Boiling Fraction of a Commercial Smoke Flavouring.** 3. Acta Aliment.
- Shafizadeh, F. 1984. **The Chemistry of Pyrolysis and Combustion.** Washington, D.C. : American chemical society.
- Smith, A.K. and Circle, S.J. 1972. **Soybean Chemistry and Technology.** AVI.
- Sohn, M.G. and Ho, C.T. 1995. "Ammonia generation during thermal degradation of amino acids". **J. Agric. Food Chem.** 43 : 3001-3003.
- Sulistyo, A.K. and Circle, S.J. 1972. **Soybean Chemistry and Technology.** AVI.
- Tate, R.W. 1965. **Sprays and spraying for process use. I. Type and principle II. Applications and selection.** Chem. Eng. July. 157
- Timell, T.E. 1957. **Molecular Properties of Seven Wood Celluloses.** Tappi. 40 : 25-29.
- Toledo, R.T. 1980. **Fundamentals of Food Process Engineering.** Westport : AVI.
- Toth, L. and Potthast, K. 1984. "Chemical Aspects of the Smoking of Meat and Meat Products." **Adv.Food Res.** 29 : 87-158.
- Underwood, G.L. and Rozum, J.J. 1995. **Method of Removing Hydrocarbons from Liquid Smokes and Flavouring Composition.** U.S patent no. 8 536 948.
- Unger, L. 2001. **Basic business trends in the worldwide flavor and fragrance industry.** Perf. Flav. 14 : 42-45.

- Wanchai Somchit. 1977. "Amino Acid Composition and Nutritional Value of Soybean Sprout."  
Thesis Michigan State University USA.
- Wang, P.S. and Odell, G.V. 1973. Formation of pyrazines from thermal treatment of some amino-hydroxy compound. **J.Agric Food Chem.** 21, 868-870.
- Whistler, R.L. and Bemiller, J.N. 1958. **Advance Carbohydrate Chemistry.** New York : Academic Press.
- Wistreich, H.E. 1977. **Smoking of Meats.** Chicago.
- Wolf, W.J. and Cowan, J.C. 1977. **Soybean as Food Source.** RCR Press.
- Yen, G., T. Lee and Chichester, C. O. 1989. "Effect of Maillard reaction on the chemical properties of various proteins." **Protein Quility and the Effects of Processing.** R.D. Phillips and J.W. Finley (eds.). MerceL Dekker, Inc., New York. : 73-89.
- Young, O.A.; Berdgau'e, J.L.; Viallon, C.; Rousset-Akrim, S. and Theriez, M. 1997. **Fat borne volatiles and sheepmeat odour.** *Meat Sci.* ,45, 169-181.

ภาคผนวก ก

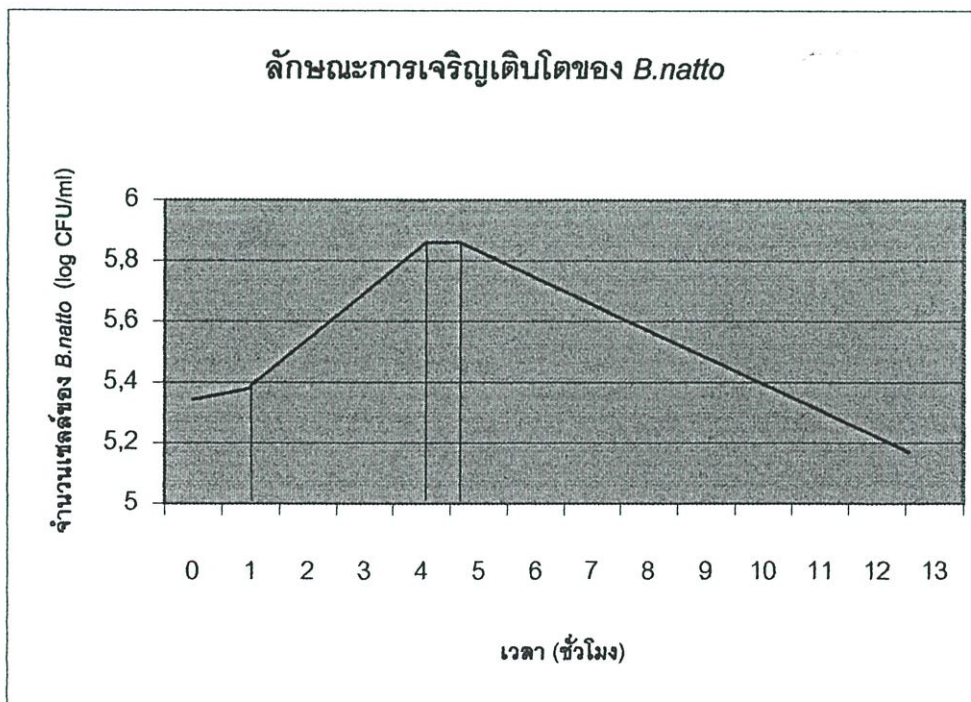
**การหาลักษณะการเจริญของ *B .natto* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำ  
ถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบ**

### วิธีการทดลอง

นำน้ำถั่วเหลืองเข้มข้น 30% จำนวน 100 มิลลิลิตร เติมน้ำตาลกลูโคส 1.5 กรัม และปรับค่าความเป็นกรดค่าประมาณ 7.2-7.4 แล้วนำเข้าหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็น จากนั้นถ่ายเชื้อ *B.natto* บริสุทธิ์ลงไป นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจนับจำนวนเซลล์ด้วยเทคนิค pour plate ด้วยอาหาร TSA จนครบ 24 ชั่วโมง โดยคูดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงใน 0.85% NaCl จำนวน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และเจือจางความเข้มข้นของตัวอย่างที่ระดับ  $10^{-1}$ - $10^{-5}$  จากนั้นคูดตัวอย่างมา 0.1 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเลี้ยงแล้วทออาหาร trypticase soy agar (TSA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมงและนับจำนวนโคโลนี

### ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus natto* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบ

จากการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อ *B.natto* ในน้ำถั่วเหลืองเข้มข้น พบว่าในระยะแล็กเฟส(lag phase) จะอยู่ในช่วง 1 ชั่วโมงแรก ในช่วงล็อกเฟส (log phase) จะอยู่ในช่วงชั่วโมงที่ 1-4 ส่วนในช่วงสแตชันนารีเฟส (stationary phase) จะอยู่ในช่วงแคบๆ คือชั่วโมงที่ 4-5 และช่วงเดทเฟส (death phase) จะอยู่ในช่วงชั่วโมงที่ 5-13 ดังรูปแสดงลักษณะการเจริญเติบโตของ *B.natto* จะเห็นว่าเชื้อ *B.natto* จะเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในช่วง 3 ชั่วโมงแรก



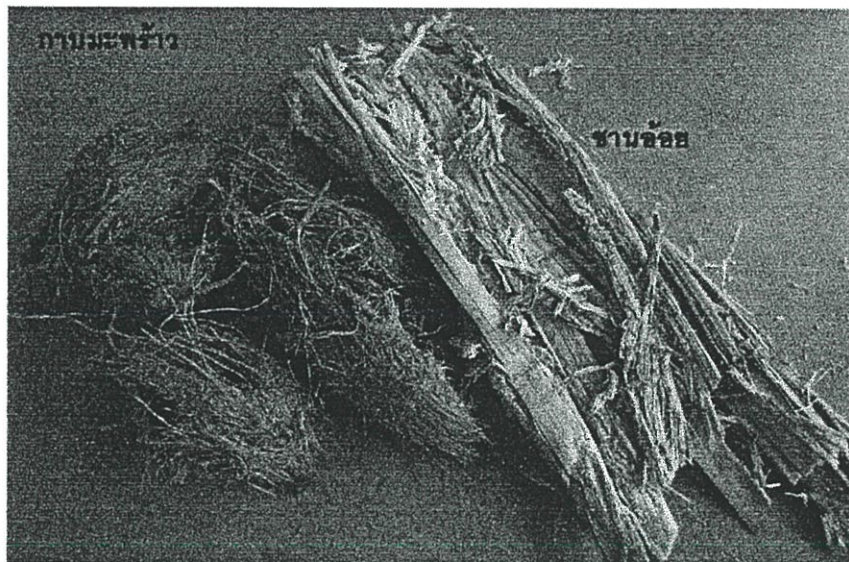
ภาคผนวก ข  
ศึกษาแหล่งกำเนิดควัน

### วิธีการทดลอง

โดยนำ soy protein isolate จำนวน 100 กรัมมารวมควนอย่างต่อเนื่อง 30 นาที ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียสเพื่อหาแหล่งกำเนิดควนที่ให้กลิ่นควนที่ดีที่สุดโดยใช้ชานอ้อยและกาบมะพร้าวเป็นแหล่งกำเนิดควน

### ผลการศึกษาเปรียบเทียบแหล่งกำเนิดควน

พบว่ากาบมะพร้าวจะให้กลิ่นควนได้ดีกว่าชานอ้อยโดยกลิ่นควนที่ได้จากชานอ้อยจะมีกลิ่นที่ค่อนข้างหวาน แต่ไม่ค่อยหอม อีกทั้งกลิ่นยังไม่ค่อยติดทนซึ่งกลิ่นจะค่อยๆจางไป แต่กลิ่นควนที่ได้จากกาบมะพร้าวจะมีกลิ่นหอมมันคล้ายกลิ่นของมะพร้าวซึ่งเป็นกลิ่นที่นุ่มนวลกว่าชานอ้อย และกลิ่นยังติดทนนานซึ่งกาบมะพร้าวจะให้กลิ่นของควนได้ดีกว่าชานอ้อย อีกทั้งกาบมะพร้าวเป็นวัตถุดิบที่หาได้ง่ายตลอดทั้งปีแต่ชานอ้อยจะหาได้เฉพาะในช่วงที่มีการปลูกอ้อยเท่านั้น



ภาคผนวก ก

สภาวะการวิเคราะห์เครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์

ลิกวิดโครมาโทกราฟี

## AMINO ACID ANALYSIS

Method of analysis : AccQ•Tag method

Apparatus : - High performance liquid chromatography (WATERS Alliance 2695)  
- Fluorescence Detector (Waters 2475 EX : 250 , EM : 395)  
- AccQ • Tag Amino acid analysis column (Dimensions 3.9 X 150 mm  
particle size 4  $\mu\text{m}$ )  
- Control Temp  $37 \pm 1^\circ\text{C}$

Mobile phase : buffer pH 5

Acetonitrile

Deionized water

### Procedure

- pipette 1 ml of sample and add 6N HCl
- Hydrolyse ( at  $112^\circ\text{C}$ , 22 hrs)
- Derivatize with AccQ•Fluor reagent
- Analysis by HPLC

### References

1. Waters AccQ-Tag Instruction Manual (Manual No.WAT052874,REV0 April, 1993)
2. H.J.Liu, B.Y. Chang,H.W. Yan,F.H.Yu,and X.X.Liu,JAOAC Vol.78 No.3 1995

# Central Instrument Facility

## Faculty of science Mahidol University

### Instrument Method: AccQ Tag SAT IN

Stored: 06-Nov-2002 17:17:45

#### Method Information

##### Comments

Modified User System  
 Locked No  
 Method Id 7705  
 Method Version 5  
 Edit User

#### W2690/5 Instrument Setup

Type	W2690/5	Bubble Detect	True
Instrument Status	On	Pre Column Volume	0.0
Channel Name	2690	Sample Temp Target	-1.0
Description		Sample Temp Range	5.0
Use Channel Monitor	Off	Sparge A	0.0
Monitor Parameter	System Pressure	Sparge B	0.0
Stroke Volume	Auto	Sparge C	0.0
Chart Out	%A	Sparge D	0.0
Syringe Draw Rate	Normal	Column Temp Target	37.0
Depth Of Needle	1.0	Column Temp Range	1.0
Degas Mode	On	Flow Ramp	2.00
Pump Mode	Gradient	Sw itch 1	No Change
Flow	1.000	Sw itch 2	No Change
%A	100.0	Sw itch 3	No Change
%B	0.0	Sw itch 4	No Change
%C	0.0	Use Events	False
%D	0.0	Solvent A	
High Limit	3500.0	Solvent B	
Low Limit	0.0	Solvent C	
Enable Sample Temp	False	Solvent D	
Enable Column Temp	True		

**W2690/5 Gradient Table**

	Time	Flow	%A	%B	%C	%D	Curve
1		1.00	100.0	0.0	0.0	0.0	
2	0.50	1.00	99.0	1.0	0.0	0.0	11
3	21.00	1.00	95.0	5.0	0.0	0.0	6
4	22.00	1.00	91.0	9.0	0.0	0.0	6
5	32.50	1.00	83.0	17.0	0.0	0.0	6
6	38.00	1.00	0.0	60.0	40.0	0.0	11
7	41.00	1.00	100.0	0.0	0.0	0.0	11
8	50.00	1.00	100.0	0.0	0.0	0.0	6

# Central Instrument Facility

## Faculty of science Mahidol University

### SAT/IN Instrument Setup

Type	SAT/IN	Sampling Rate	2
Instrument Status	On	Use BCD	No
Channel name	SATIN	BCD Polarity	-
Units	mV	Use Events	No
Description		Event Start	On Injection
Unit Scaling	1000.0		

### Revision History

Version 1 11/6/2002 1:53:31 PM User System Created method 'AccQ Tag SAT IN'.

### Method Version Summaries

	Name	Type	Comments	Date	Modified User	Locked	Method Id
1	AccQ Tag SAT IN	Instrument		06-Nov-2002 17:17:45	System	No	7705
2	AccQ Tag SAT IN	Instrument		06-Nov-2002 16:10:28	System	No	7701
3	AccQ Tag SAT IN	Instrument		06-Nov-2002 14:19:39	System	No	7694
4	AccQ Tag SAT IN	Instrument		06-Nov-2002 14:15:36	System	No	7693
5	AccQ Tag SAT IN	Instrument		06-Nov-2002 13:53:31	System	No	7686

### Method Version Summaries

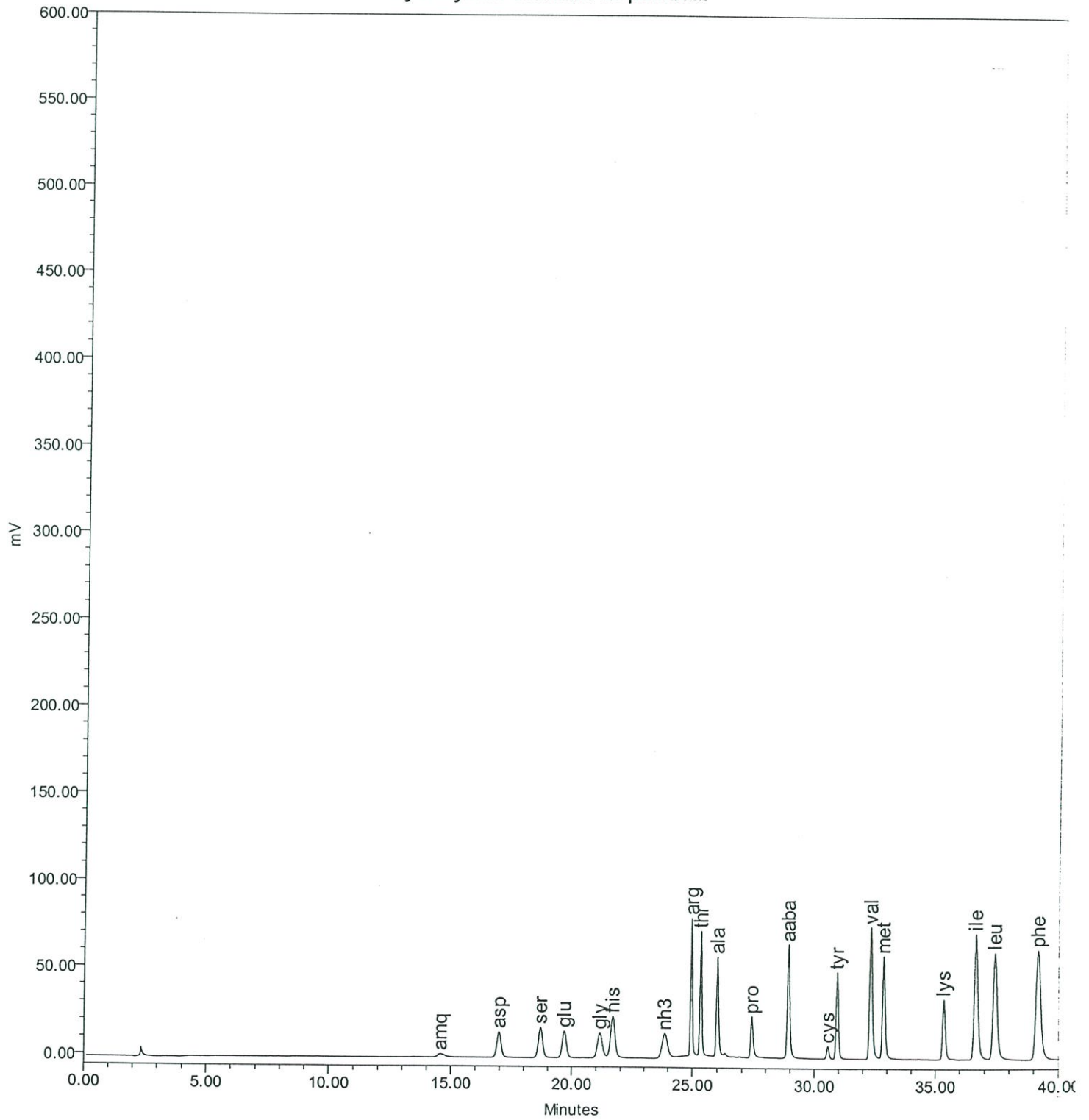
Method Version
1
2
3
4
5

ภาคผนวก ง

โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์โดยเครื่อง  
ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี

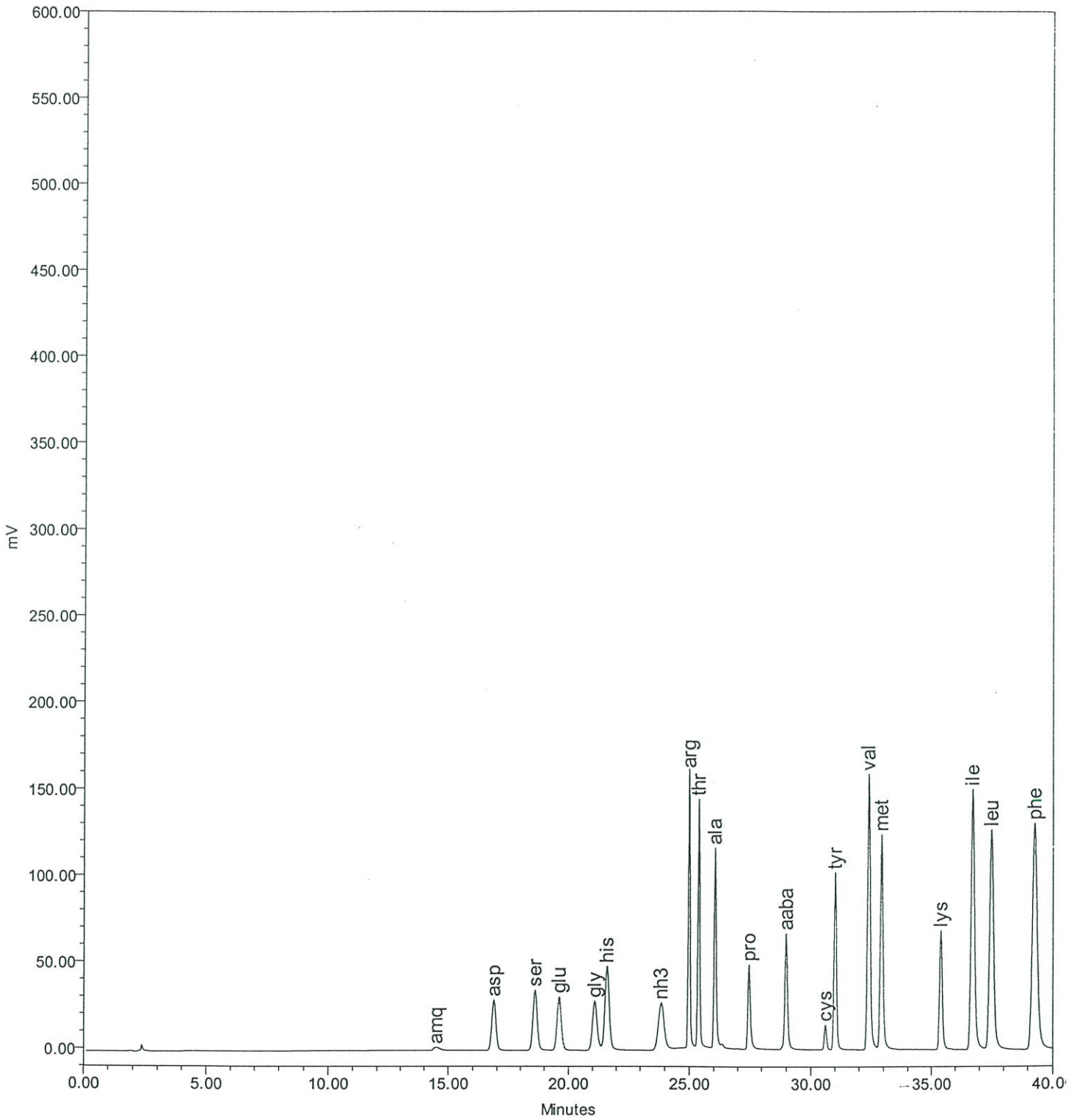
Central Instrument Facility  
Faculty of science Mahidol University

Hydrolysate Standard 25 pmol/5ul



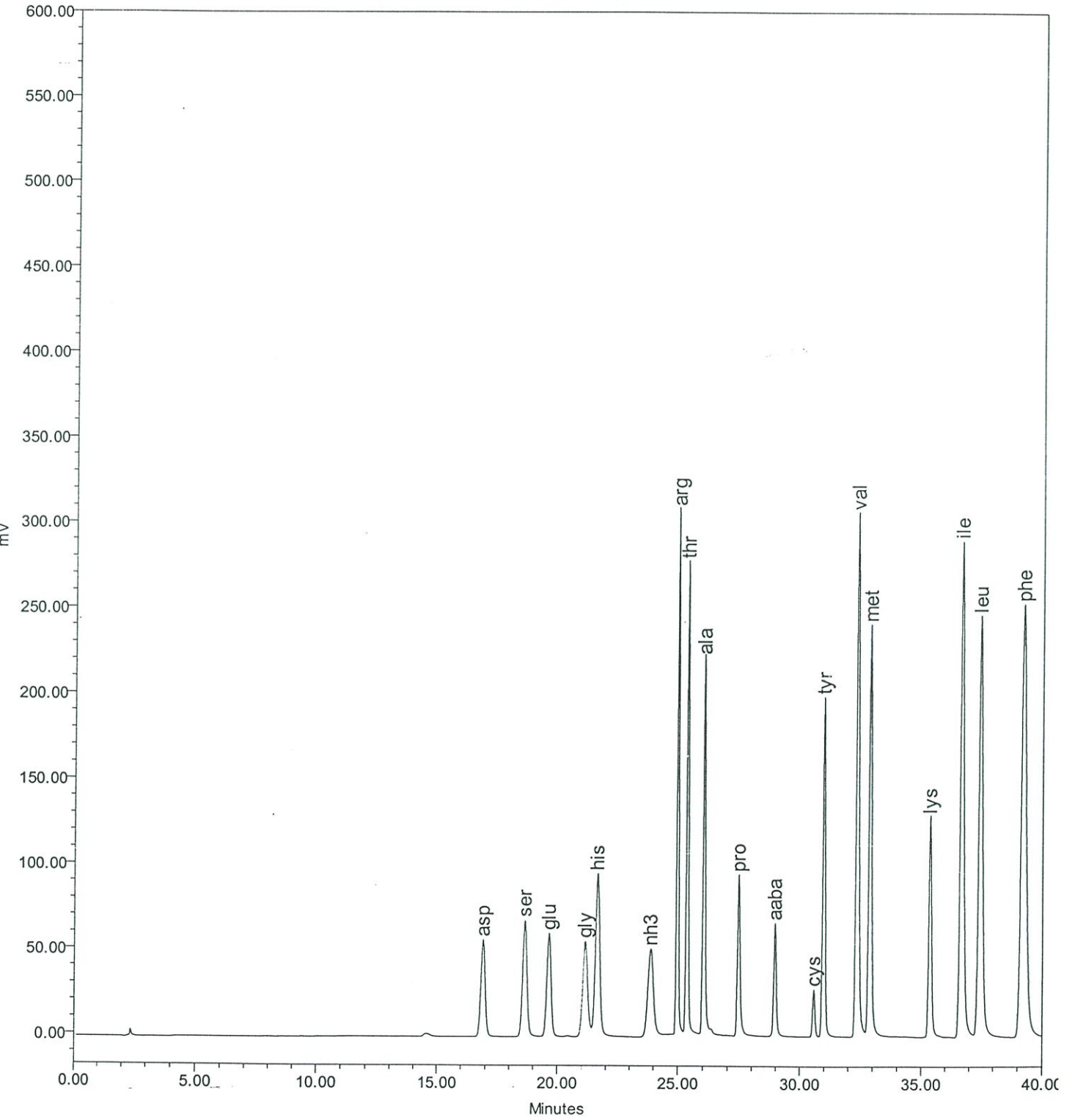
Central Instrument Facility  
Faculty of science Mahidol University

Hydrolysate Standard 50 pmol/5ul



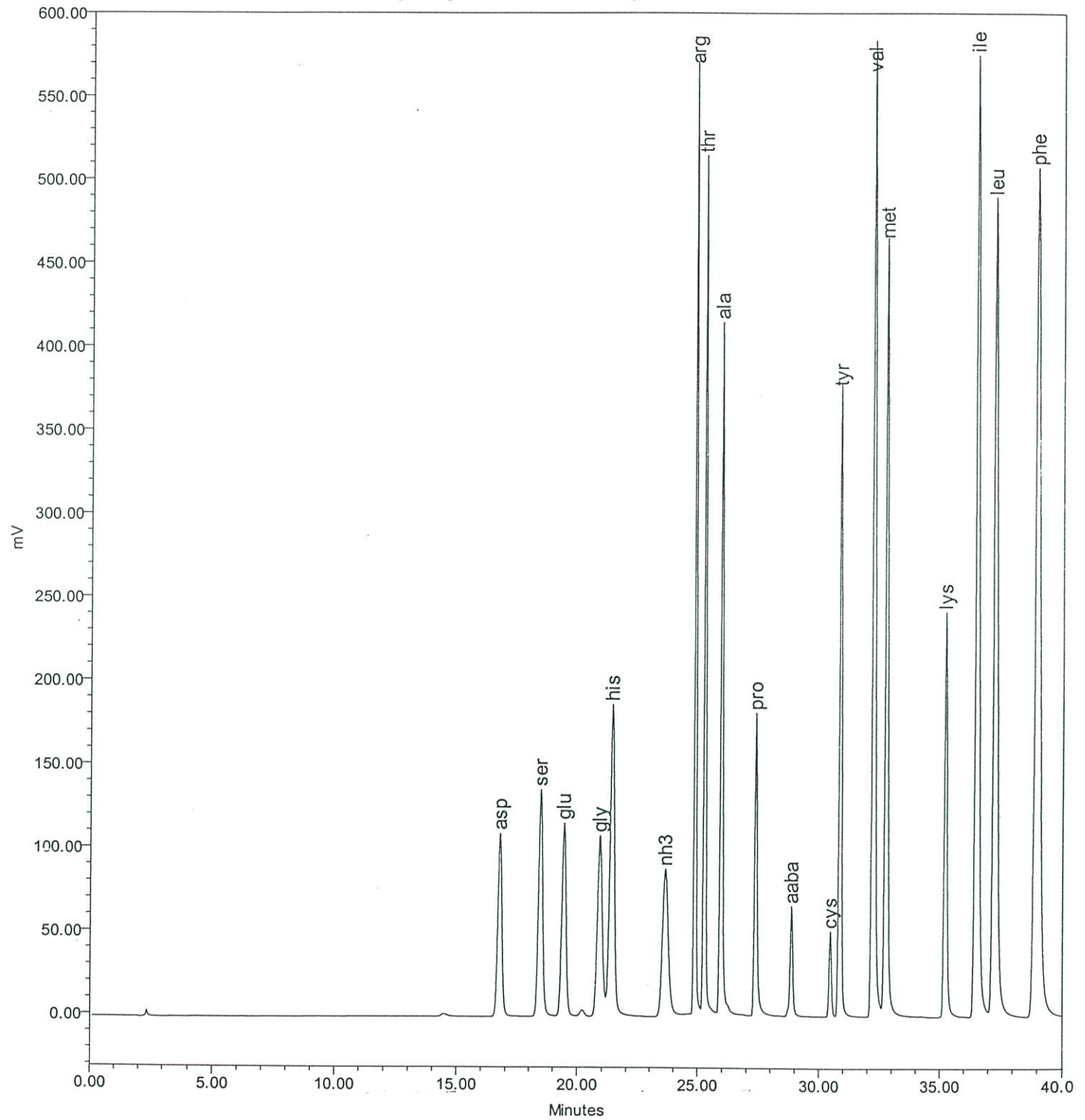
# Central Instrument Facility Faculty of science Mahidol University

Hydrolysate Standard 100 pmol/5ul



Central Instrument Facility  
Faculty of science Mahidol University

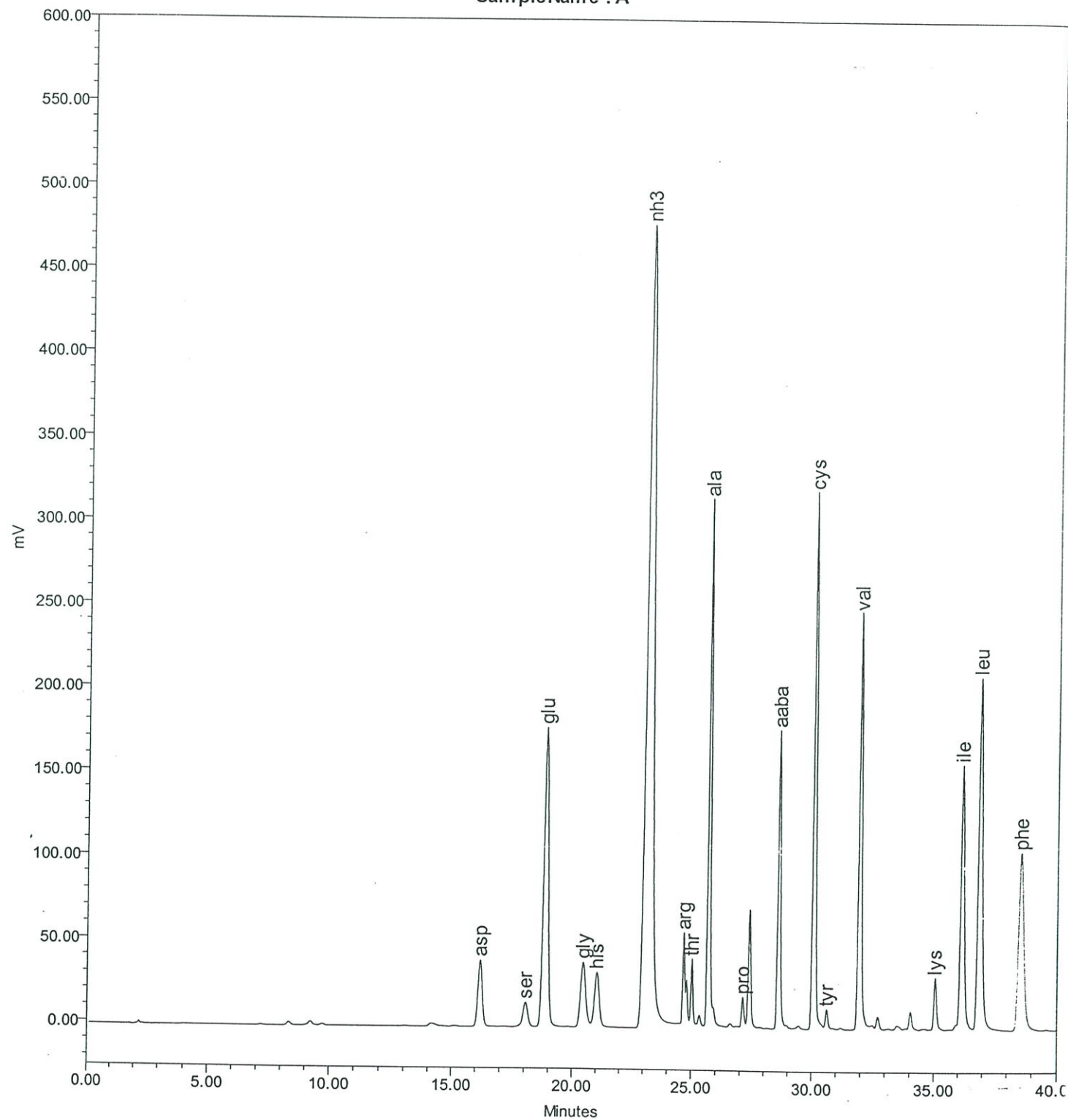
Hydrolysate Standard 200 pmol/5ul



ภาคผนวก จ

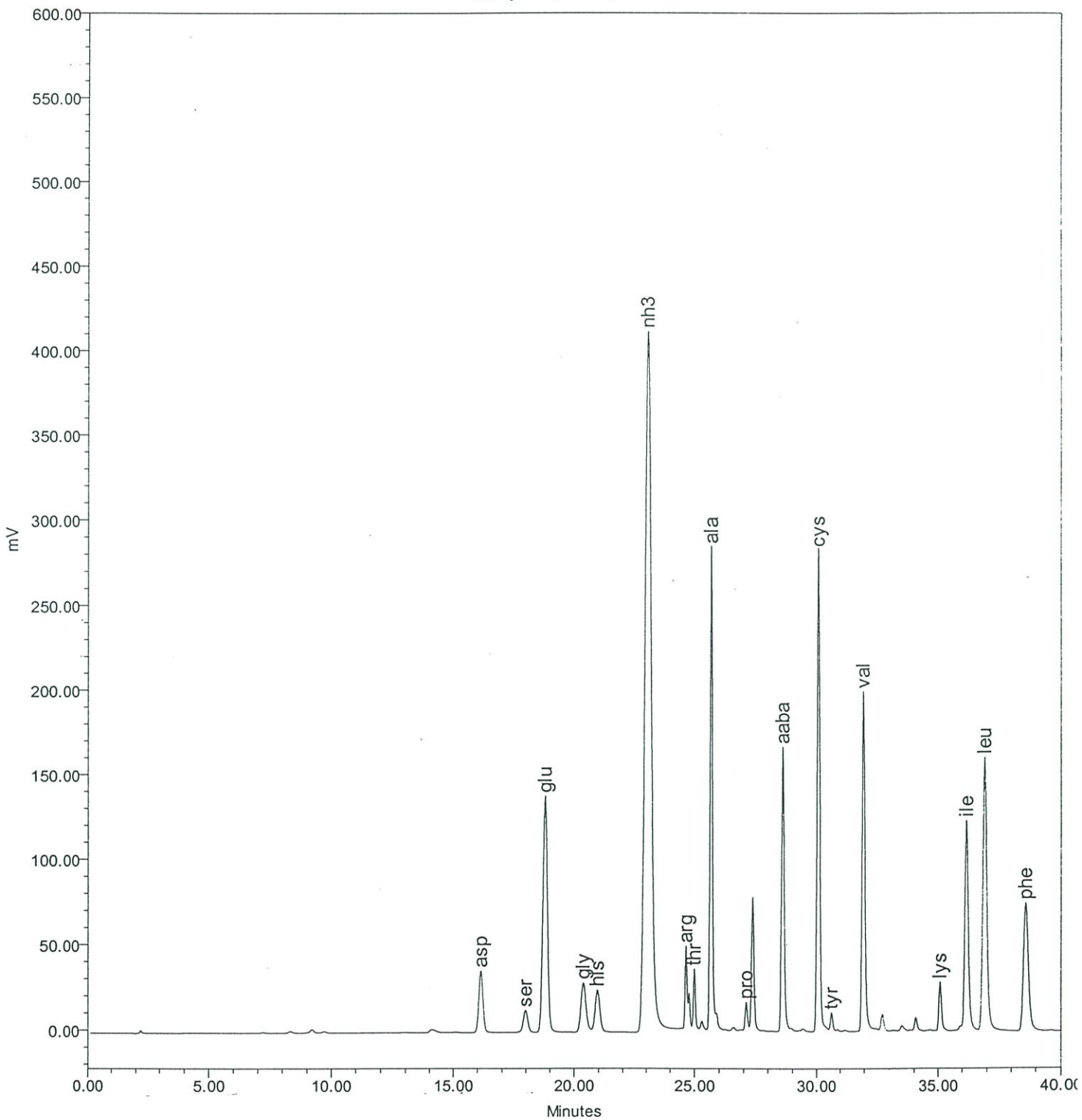
โครมาโทแกรมจากการวิเคราะห์กรดอะมิโนโดยเครื่อง  
ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี

SampleName : A



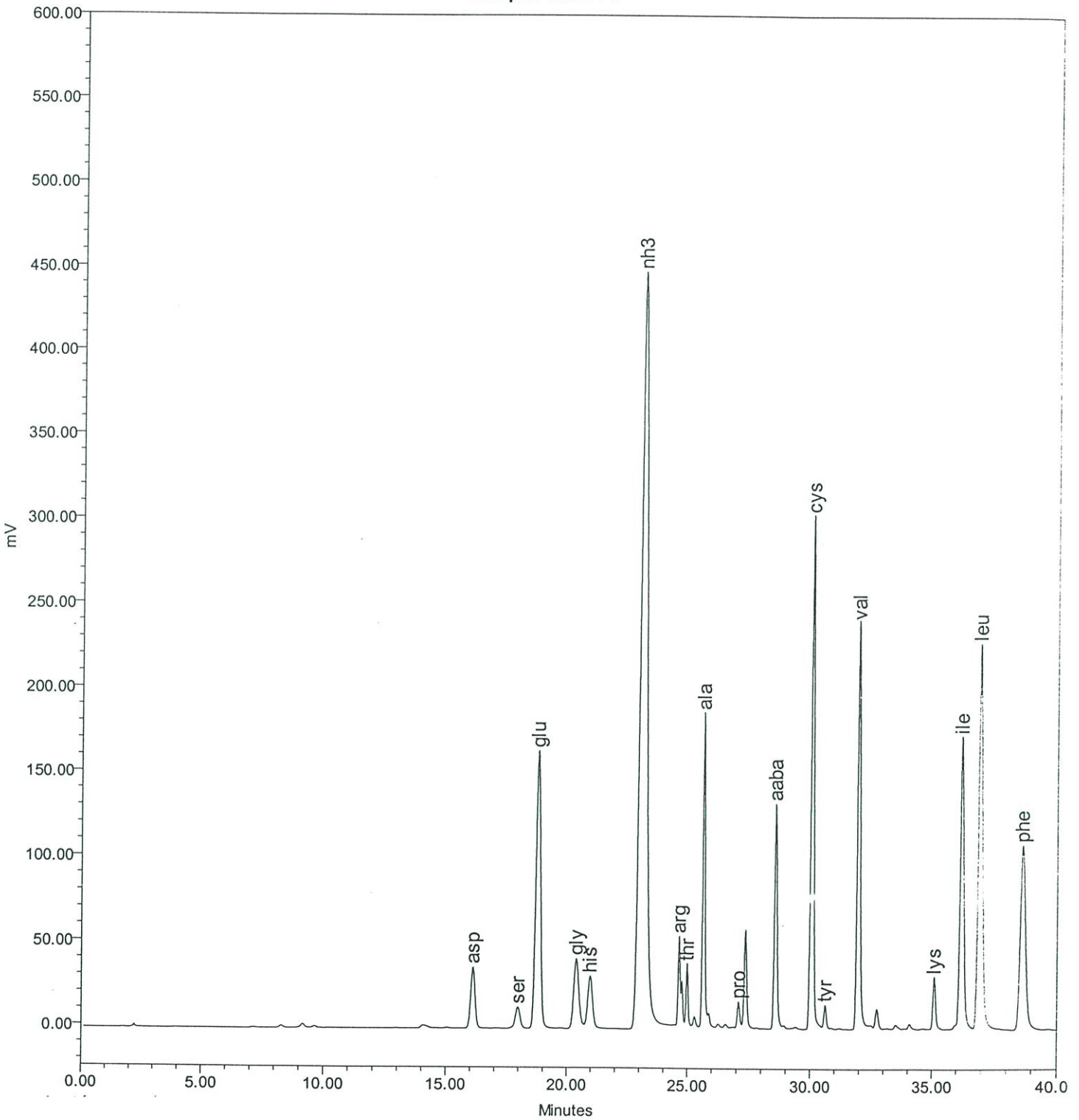
Central Instrument Facility  
Faculty of science Mahidol University

SampleName : B



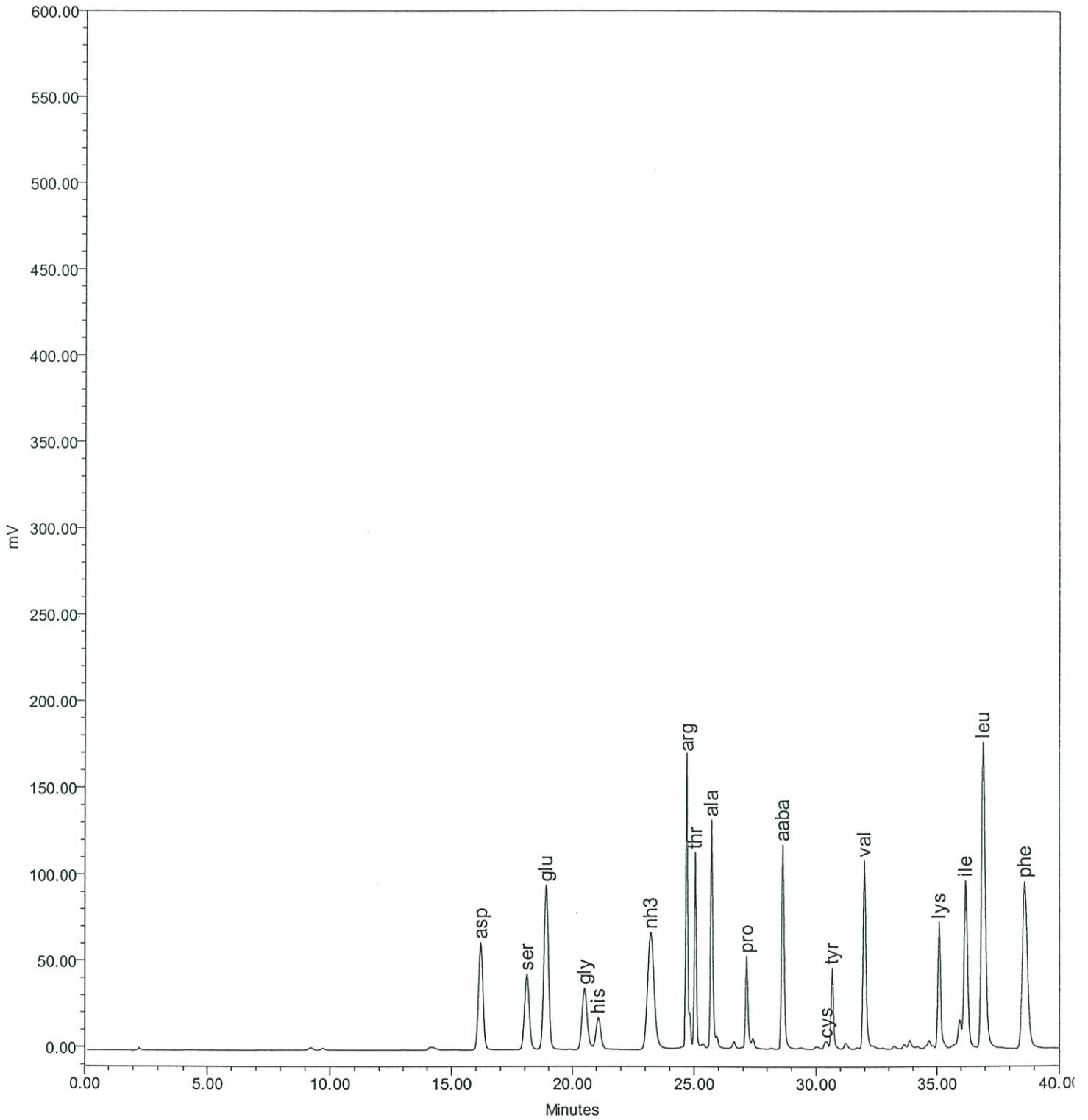
Central Instrument Facility  
Faculty of science Mahidol University

SampleName : C



Central Instrument Facility  
Faculty of science Mahidol University

SampleName : D





## AMINO ACID ANALYSIS REPORT

Customer's name : Isriyaporn Choonhapase

Sample's name : น้ำถั่วเหลืองหมัก

Analysis completed on : 19 March 2003

AMINO ACIDS	g/100ml			
	A	B	C	D
Apartic acid	0.08	0.07	0.09	0.17
Serine	0.02	0.02	0.02	0.08
Glutamic acid	0.36	0.29	0.44	0.28
Glycine	0.04	0.03	0.06	0.06
Histidine	0.04	0.03	0.06	0.04
Arginine	0.03	0.04	0.05	0.14
Threonine	0.01	0.01	0.02	0.06
Alanine	0.10	0.10	0.08	0.07
Proline	0.02	0.02	0.02	0.08
Tyrosine	0.01	0.01	0.01	0.05
Valine	0.07	0.06	0.10	0.05
Lysine	0.03	0.03	0.04	0.10
Isoleucine	0.05	0.04	0.08	0.04
Leucine	0.08	0.07	0.12	0.11
Phenylalanine	0.05	0.04	0.07	0.08

ANALYST ..... สุรสิทธิ์ วงศ์สุบิน .....  
 (นางสาวสุชฎทัย วงศ์สุบิน)

ภาคผนวก ฉ

## สภาวะการวิเคราะห์เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ



Derive from front detector

Derive from back detector

POST RUN

Post Time: 3.00 min

Oven Temperature: 250 °C

Column 1 Flow: 1.0 mL/min

ME TABLE

Time	Specifier	Parameter & Setpoint
------	-----------	----------------------

GC Injector

Front Injector:

Sample Washes	3	
Sample Pumps	3	
Injection Volume	1.0 microliters	
Syringe Size	10.0 microliters	
PostInj Solvent A Washes	3	
PostInj Solvent B Washes	3	
Viscosity Delay	0 seconds	
Plunger Speed	Fast	
PreInjection Dwell	0.00 minutes	
PostInjection Dwell	0.00 minutes	

Back Injector:

parameters specified

ภาคผนวก ข

โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์โดย  
เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

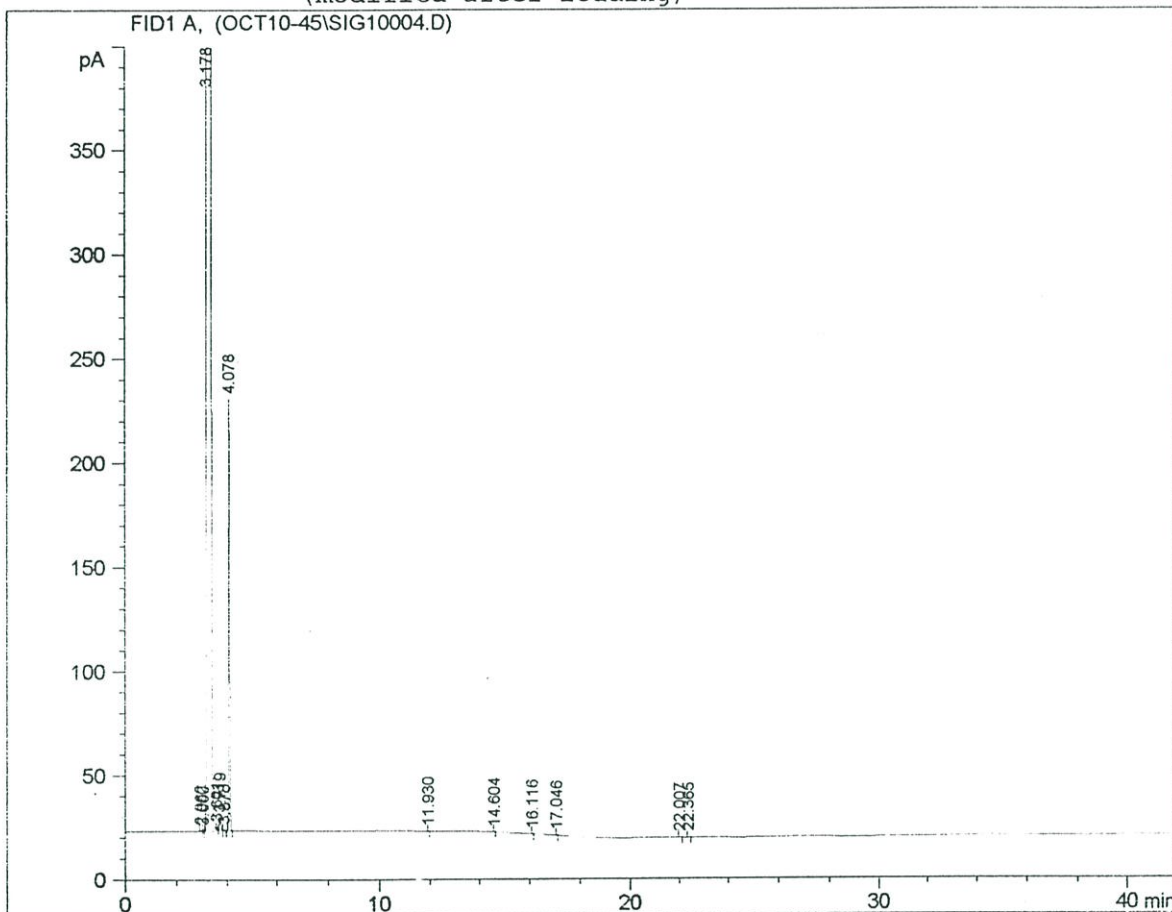




```

=====
Injection Date   : 10/10/02 7:25:40 PM      Seq. Line :    4
Sample Name     : Roast beef                Location  : Vial 4
Acq. Operator   : CIF                      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:26:22 PM by CIF
                (modified after loading)
=====
    
```



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.962	BB	0.0356	1.50727	6.60328e-1	0.00051
2	3.060	BP	0.0320	3.86593e-1	1.88067e-1	0.00013
3	3.178	VB S	0.0725	2.93848e5	4.96581e4	99.76744
4	3.601	BV X	0.0350	2.91149	1.28260	0.00099
5	3.719	VV X	0.0538	21.22162	6.29395	0.00721
6	3.878	VB X	0.0412	1.66102	6.53470e-1	0.00056
7	4.078	BP	0.0508	653.33868	207.34979	0.22182
8	11.930	BB	0.0220	2.22363e-1	1.40460e-1	7.550e-5
9	14.604	BB	0.0245	2.91503e-1	1.94858e-1	9.897e-5
10	16.116	PP	0.0282	3.36227e-1	1.65721e-1	0.00011
11	17.046	BB	0.0310	6.19560e-1	2.62703e-1	0.00021
12	22.007	BB	0.0461	1.14990	3.07910e-1	0.00039
13	22.365	PB	0.0482	1.31148	3.24397e-1	0.00045



ภาคผนวก ช

โครมาโทแกรมของสถานะต่างๆ ก่อนนำไปทำปฏิกิริยาเมลลาร์ด

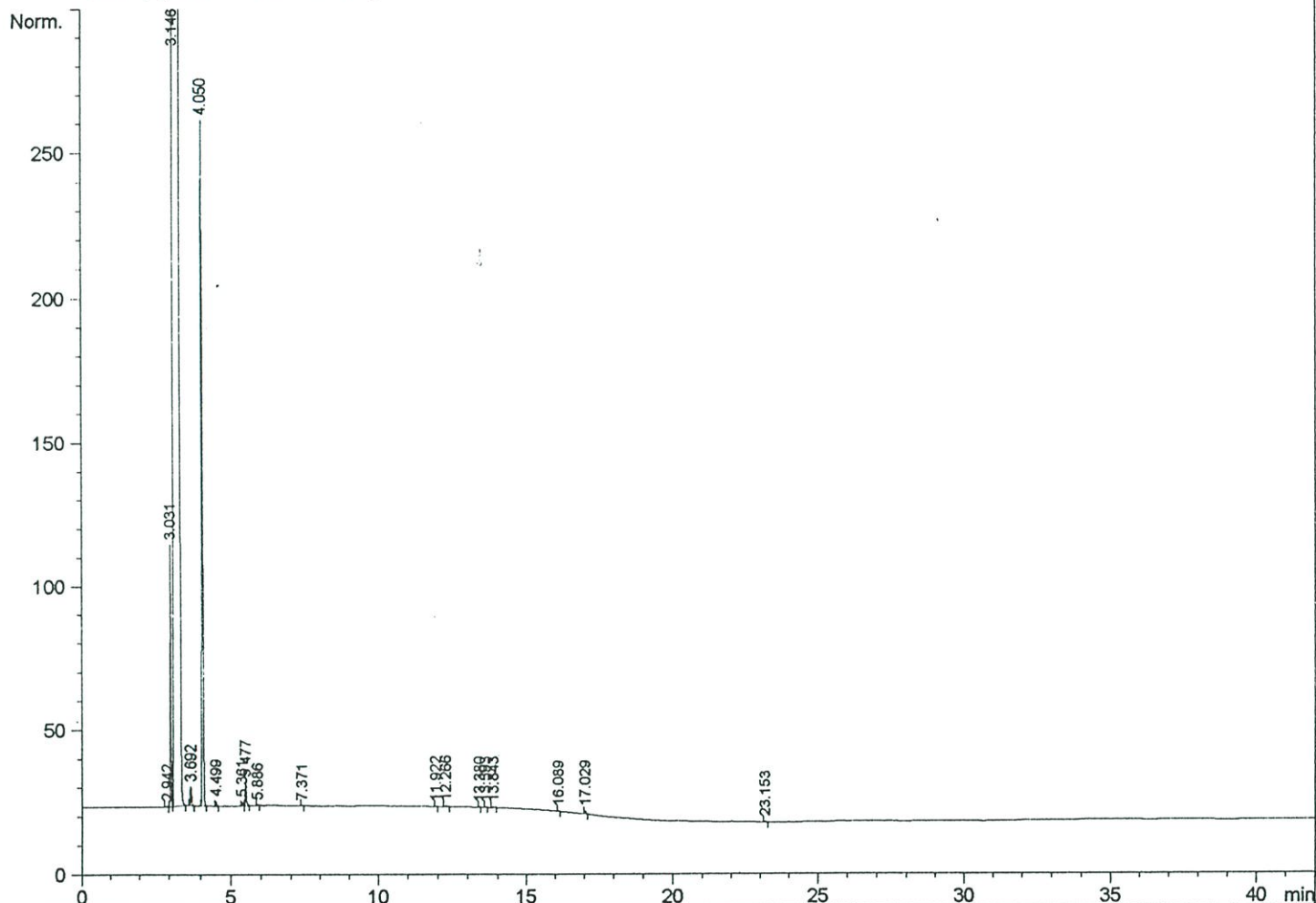
Injection Date : 11/18/02 6:17:22 PM  
Sample Name : X1  
Acq. Operator : CIF

Seq. Line : 1  
Location : Vial 51  
Inj : 1  
Inj Volume : 1 µl

110

Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
Last changed : 11/18/02 6:13:11 PM by CIF  
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
Last changed : 11/19/02 1:09:58 PM by CIF  
(modified after loading)

FID1 A, (OCT11-45\051F0101.D)



Area Percent Report

Sorted By : Signal  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

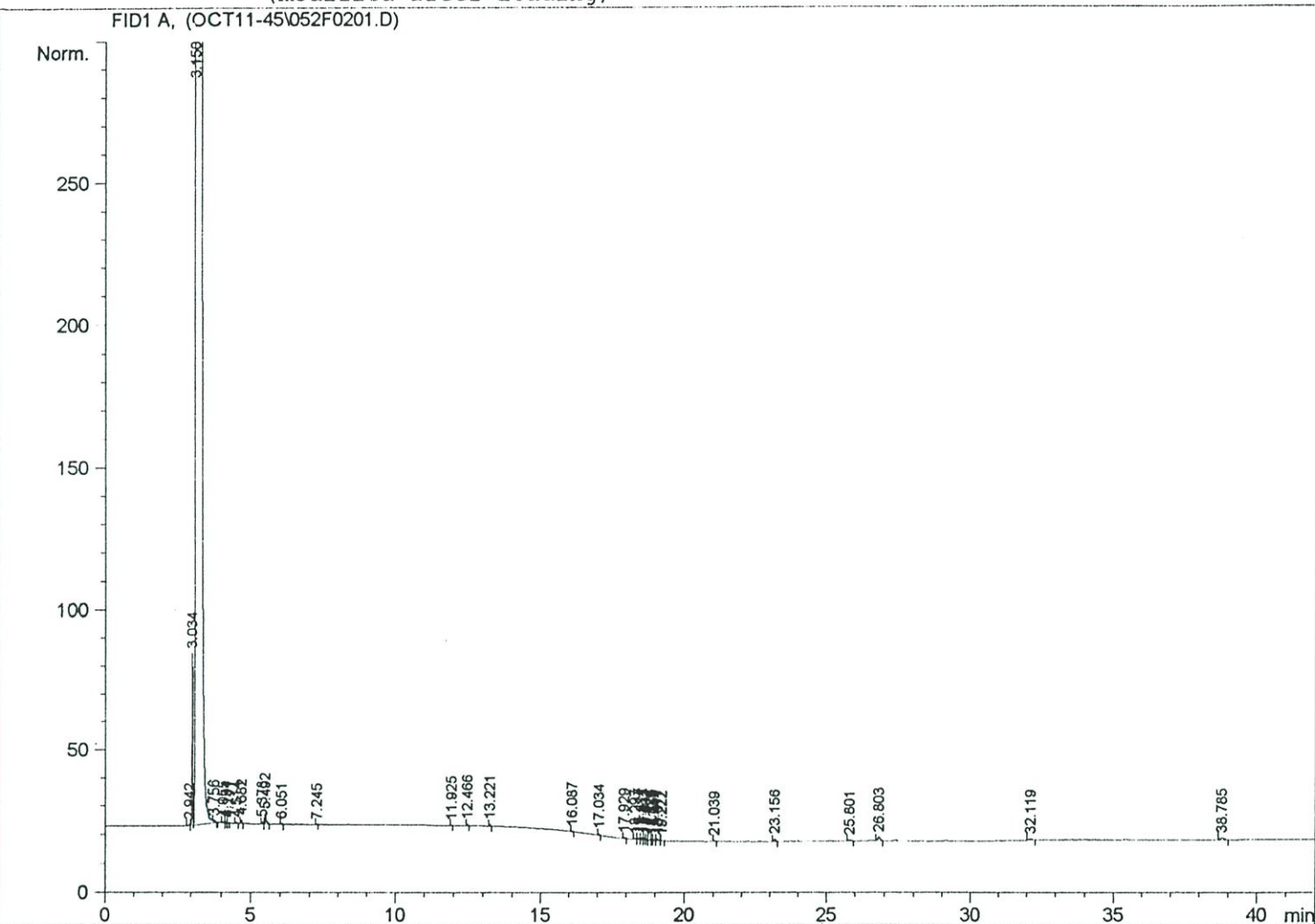
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.942	BP	0.0427	1.22963	3.96601e-1	0.00039
2	3.031	VV	0.0308	181.81665	90.96311	0.05737
3	3.146	VB S	0.0744	3.15988e5	5.19718e4	99.70583
4	3.692	PB	0.0492	20.59842	6.63080	0.00650
5	4.050	BP	0.0463	688.98840	237.51526	0.21740
6	4.499	PB	0.0365	4.10989	1.74221	0.00130
7	5.361	PP	0.0358	3.75765	1.57479	0.00119
8	5.477	VB	0.0377	21.50979	8.44385	0.00679
9	5.886	PB	0.0288	5.67756e-1	2.46944e-1	0.00018
10	7.371	PP	0.0336	6.72373e-1	3.06904e-1	0.00021

Injection Date : 11/18/02 7:12:31 PM  
Sample Name : X2  
Acq. Operator : CIF

Seq. Line : 2  
Location : Vial 52  
Inj : 1  
Inj Volume : 1 µl

111

Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
Last changed : 11/18/02 6:13:11 PM by CIF  
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
Last changed : 11/19/02 1:09:58 PM by CIF  
(modified after loading)



Area Percent Report

Sorted By : Signal  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

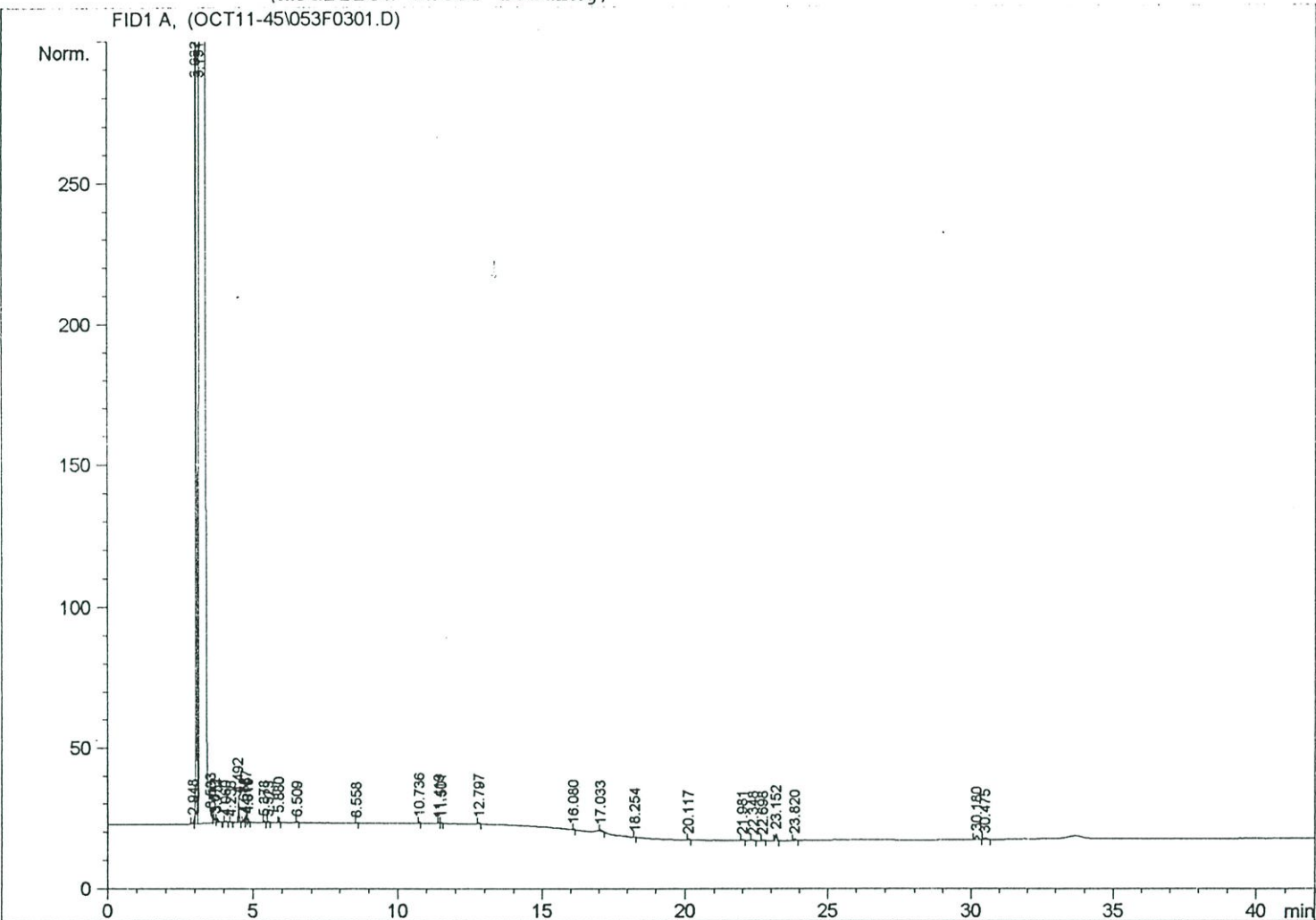
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.942	BP	0.0446	1.61297	5.13980e-1	0.00051
2	3.034	VV	0.0310	123.77435	61.42971	0.03950
3	3.150	VB S	0.0739	3.13154e5	5.22942e4	99.93731
4	3.756	BB X	0.0354	1.02670	4.14526e-1	0.00033
5	4.055	BP	0.0355	1.07359	3.74323e-1	0.00034
6	4.154	VB	0.0312	8.88932e-1	3.75036e-1	0.00028
7	4.241	BB	0.0305	5.06460e-1	2.18690e-1	0.00016
8	4.514	PB	0.0368	1.13676	4.69004e-1	0.00036
9	4.682	BB	0.0405	3.47594	1.33144	0.00111
10	5.378	PB	0.0331	1.62812	7.00079e-1	0.00052

Injection Date : 11/18/02 8:07:30 PM  
Sample Name : A1  
Acq. Operator : CIF

Seq. Line : 3  
Location : Vial 53  
Inj : 1  
Inj Volume : 1 µl

112

Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
Last changed : 11/18/02 6:13:11 PM by CIF  
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
Last changed : 11/19/02 1:09:58 PM by CIF  
(modified after loading)



Area Percent Report

Sorted By : Signal  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

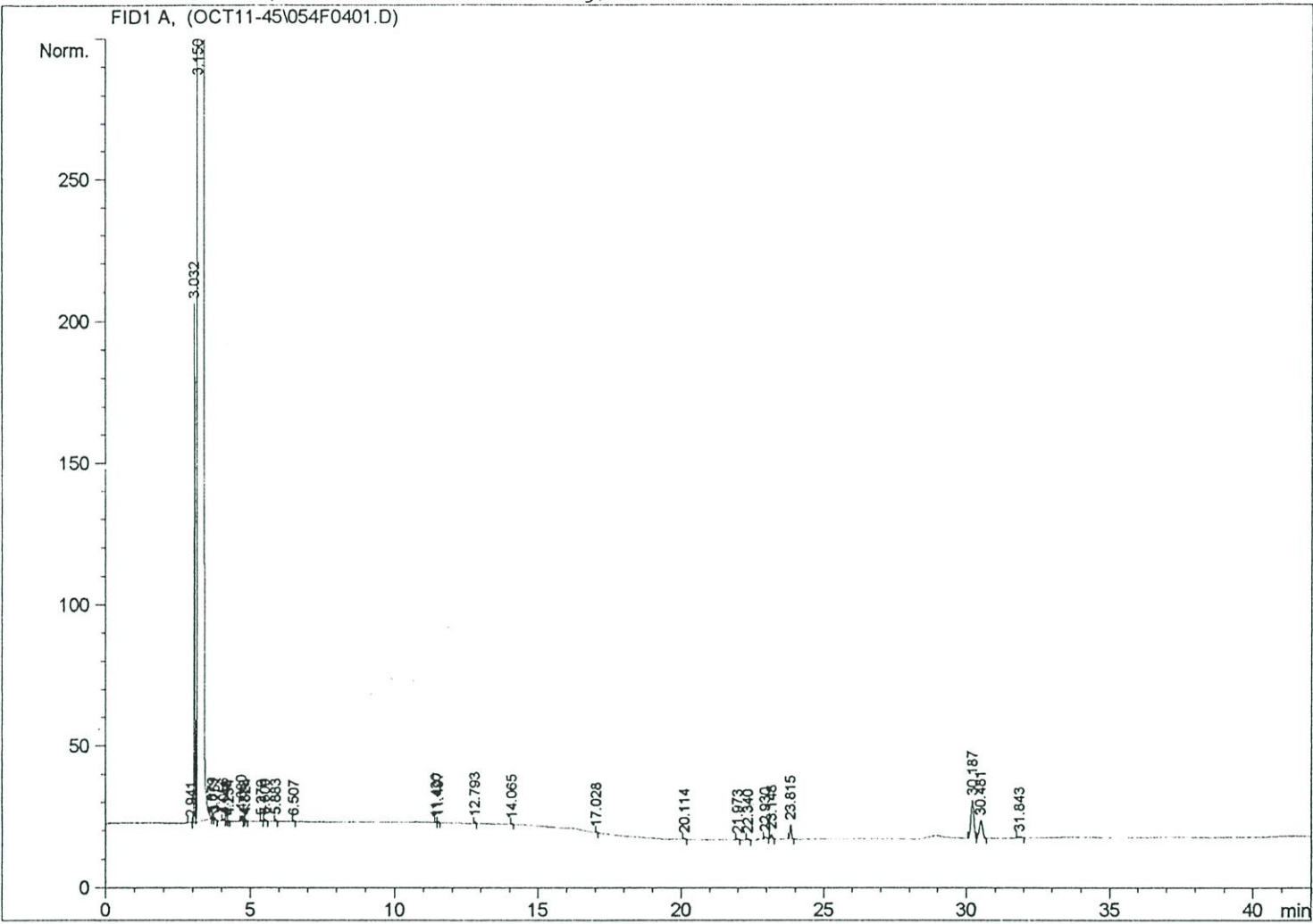
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.948	BV	0.0349	3.35028	1.42497	0.00109
2	3.032	VV	0.0314	1213.71118	591.23840	0.39389
3	3.151	VB S	0.0727	3.06822e5	5.17299e4	99.57369
4	3.533	BB X	0.0524	4.92536	1.56799	0.00160
5	3.672	BV X	0.0356	1.36157	6.09378e-1	0.00044
6	3.751	VB X	0.0343	2.35318	1.04550	0.00076
7	4.060	BB	0.0319	9.28205e-1	3.88679e-1	0.00030
8	4.236	PB	0.0365	4.51916e-1	1.75945e-1	0.00015
9	4.492	BB	0.0360	19.99868	8.47831	0.00649
10	4.682	PV	0.0414	3.85421	1.50536	0.00125

Injection Date : 11/18/02 9:02:33 PM  
 Sample Name : A2  
 Acq. Operator : CIF

Seq. Line : 4  
 Location : Vial 54  
 Inj : 1  
 Inj Volume : 1 µl

113

Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
 Last changed : 11/18/02 6:13:11 PM by CIF  
 Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
 Last changed : 11/19/02 1:09:58 PM by CIF  
 (modified after loading)



Area Percent Report

Sorted By : Signal  
 Multiplier : 1.0000  
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

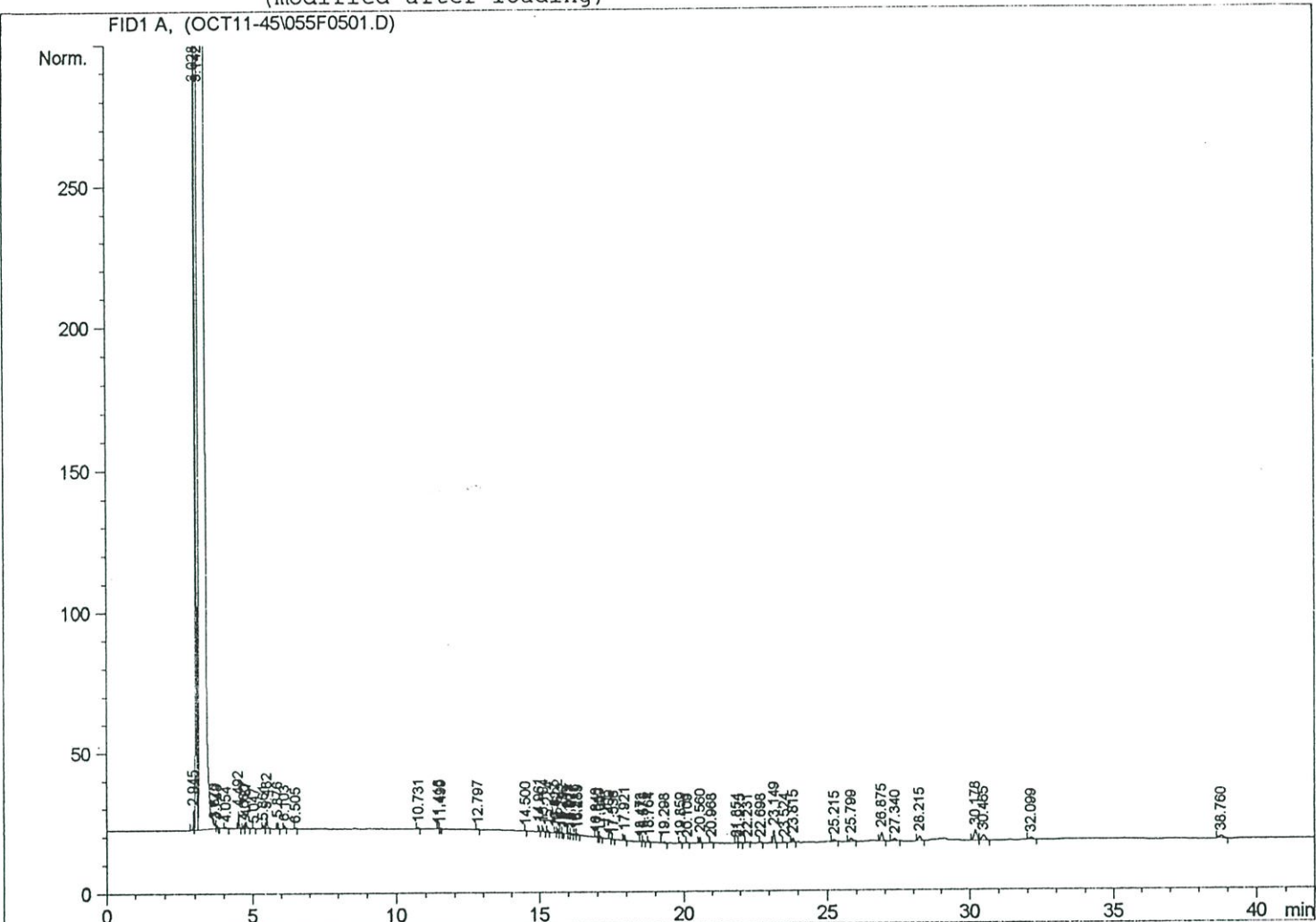
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.941	PP	0.0543	1.13334	2.55407e-1	0.00037
2	3.032	VV	0.0311	370.30093	183.13602	0.11960
3	3.150	VB S	0.0731	3.09032e5	5.18241e4	99.81186
4	3.679	BV	0.0323	7.17562e-1	3.31479e-1	0.00023
5	3.751	VP	0.0342	1.49711	7.21494e-1	0.00048
6	4.056	BP	0.0457	2.39711	8.18679e-1	0.00077
7	4.148	VB	0.0288	4.76327e-1	2.07255e-1	0.00015
8	4.234	BB	0.0330	6.42343e-1	2.63406e-1	0.00021
9	4.680	BP	0.0407	5.43969	2.10112	0.00176
10	4.778	VV	0.0275	5.02864e-1	2.73094e-1	0.00016

Injection Date : 11/18/02 9:57:32 PM  
 Sample Name : B1  
 Acq. Operator : CIF

Seq. Line : 5  
 Location : Vial 55  
 Inj : 1  
 Inj Volume : 1 µl

114

Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
 Last changed : 11/18/02 6:13:11 PM by CIF  
 Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
 Last changed : 11/19/02 1:09:58 PM by CIF  
 (modified after loading)



Area Percent Report

Sorted By : Signal  
 Multiplier : 1.0000  
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

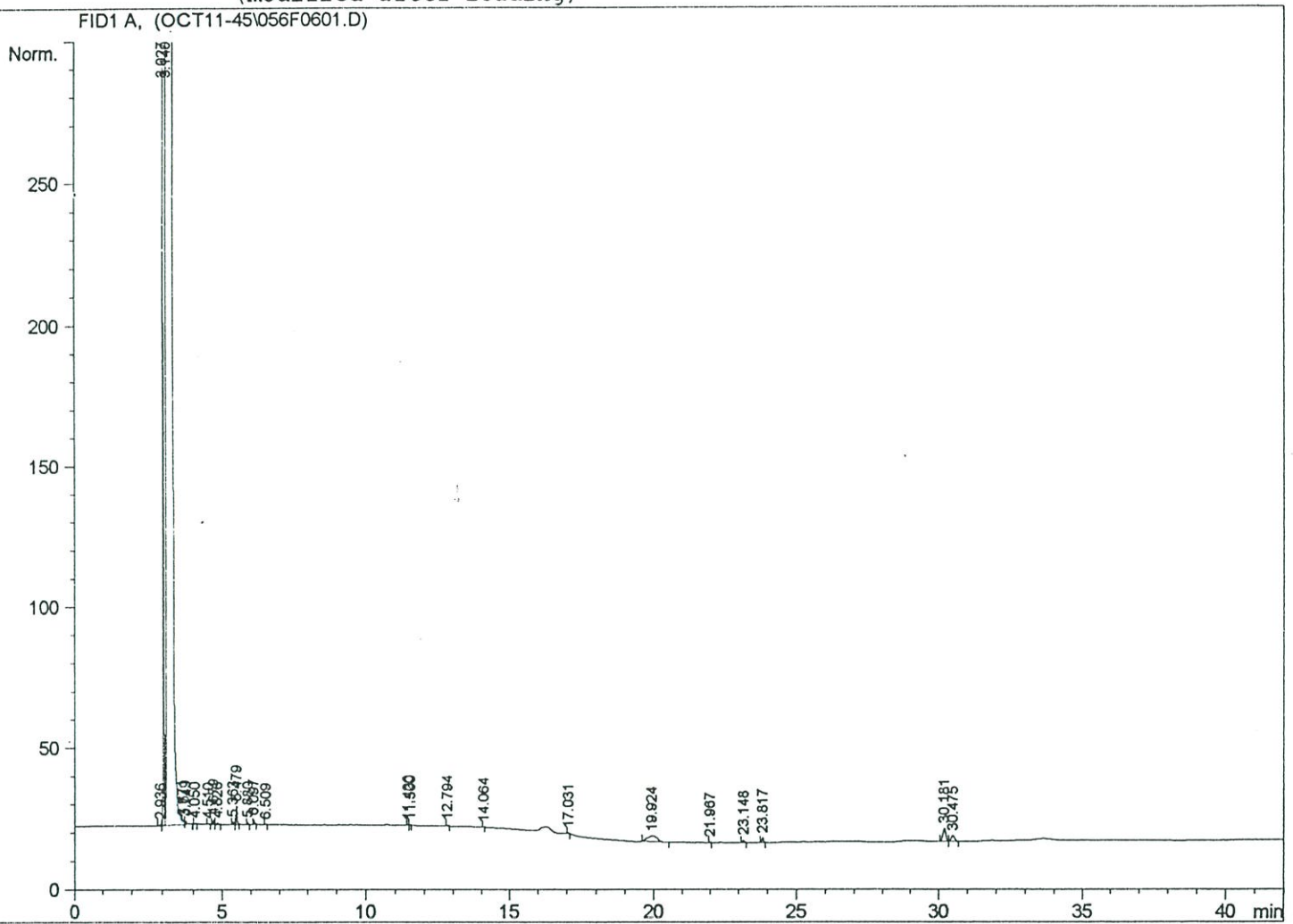
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.945	BV	0.0329	15.06534	7.04547	0.00447
2	3.028	VV	0.0308	1237.39453	620.45795	0.36712
3	3.142	VB S	0.0759	3.35557e5	5.44555e4	99.55677
4	3.670	BV X	0.0334	1.54828	7.25250e-1	0.00046
5	3.748	VB X	0.0359	1.82351	7.49954e-1	0.00054
6	4.054	PB	0.0433	1.90094	6.18909e-1	0.00056
7	4.492	BB	0.0362	14.45914	6.20196	0.00429
8	4.680	PV	0.0420	3.80425	1.40677	0.00113
9	4.767	VB	0.0445	7.70447	2.46193	0.00229
10	5.047	BB	0.0278	5.18874e-1	2.53922e-1	0.00015

Injection Date : 11/18/02 10:52:36 PM  
 Sample Name : B2  
 Acq. Operator : CIF

Seq. Line : 6  
 Location : Vial 56  
 Inj : 1  
 Inj Volume : 1 µl

115

Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
 Last changed : 11/18/02 6:13:11 PM by CIF  
 Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
 Last changed : 11/19/02 1:09:58 PM by CIF  
 (modified after loading)



Area Percent Report

Sorted By : Signal  
 Multiplier : 1.0000  
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.936	BV	0.0409	1.34149	4.82394e-1	0.00040
2	3.027	VV	0.0308	535.24341	267.84854	0.15809
3	3.140	VB S	0.0765	3.37877e5	5.39794e4	99.79769
4	3.671	BV X	0.0279	6.63964e-1	3.10585e-1	0.00020
5	3.749	VB X	0.0212	6.01060e-1	5.31391e-1	0.00018
6	4.050	PP	0.0338	7.86531e-1	3.08256e-1	0.00023
7	4.510	BB	0.0350	7.37280e-1	3.12607e-1	0.00022
8	4.679	PV	0.0410	4.18064	1.57110	0.00123
9	4.826	VB	0.0494	1.91765	5.15746e-1	0.00057
10	5.363	BP	0.0339	2.28158	1.02689	0.00067

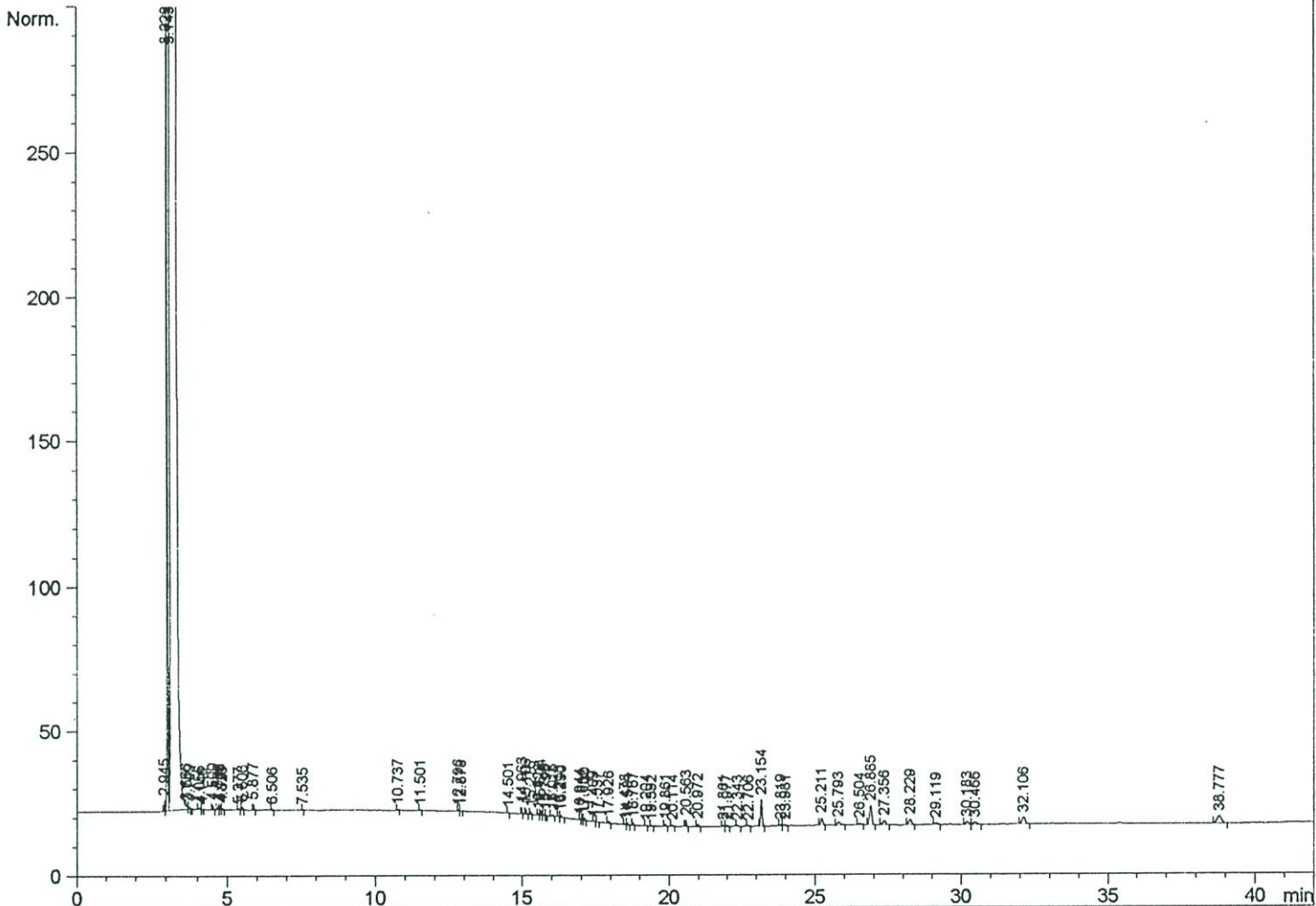
Injection Date : 11/18/02 11:47:35 PM  
 Sample Name : C1  
 Acq. Operator : CIF

Seq. Line : 7  
 Location : Vial 57  
 Inj : 1  
 Inj Volume : 1 µl

116

Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
 Last changed : 11/18/02 6:13:11 PM by CIF  
 Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
 Last changed : 11/19/02 1:09:58 PM by CIF  
 (modified after loading)

FID1 A, (OCT11-45\057F0701.D)



Area Percent Report

Sorted By : Signal  
 Multiplier : 1.0000  
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.945	BV	0.0318	7.66240	3.75279	0.00230
2	3.029	VV	0.0307	729.45831	366.68729	0.21900
3	3.143	VB S	0.0755	3.32067e5	5.38038e4	99.69577
4	3.666	BV X	0.0310	7.60192e-1	3.77661e-1	0.00023
5	3.749	VB X	0.0329	1.23035	5.53697e-1	0.00037
6	4.056	PP	0.0404	1.62705	5.85678e-1	0.00049
7	4.148	VP	0.0191	2.09464e-1	1.51792e-1	6.289e-5
8	4.500	PB	0.0352	3.78871	1.65485	0.00114
9	4.680	PV	0.0390	3.59109	1.44718	0.00108
10	4.768	VV	0.0360	3.62156	1.56224	0.00109

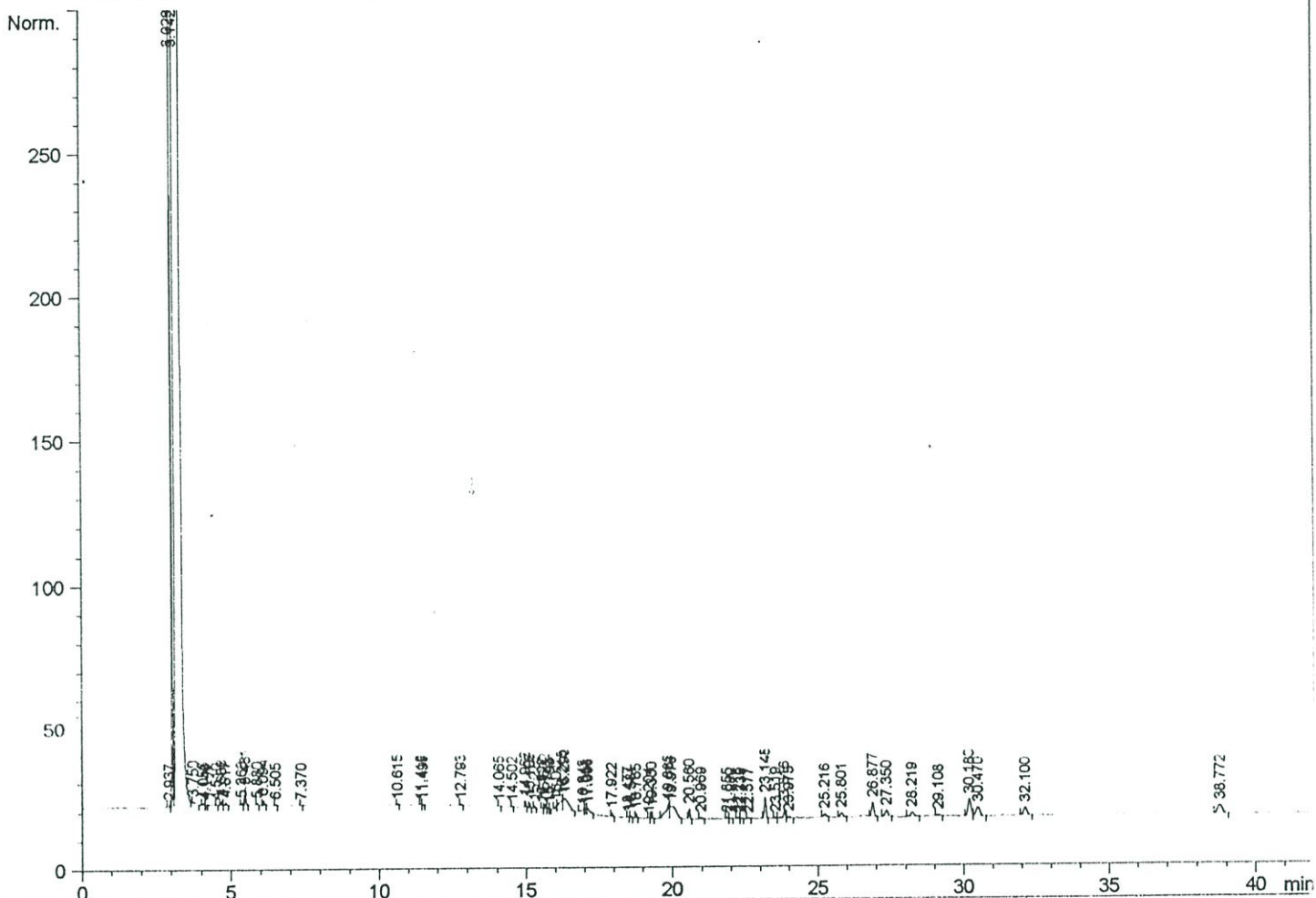
Injection Date : 11/19/02 12:42:35 AM  
 Sample Name : C2  
 Acq. Operator : CIF

Seq. Line : 8  
 Location : Vial 58  
 Inj : 1  
 Inj Volume : 1 µl

117

Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
 Last changed : 11/18/02 6:13:11 PM by CIF  
 Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
 Last changed : 11/19/02 1:09:58 PM by CIF  
 (modified after loading)

FID1 A, (OCT11-45V058F0801.D)



Area Percent Report

Sorted By : Signal  
 Multiplier : 1.0000  
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.937	BP	0.0392	1.78465	6.89338e-1	0.00053
2	3.029	VV	0.0310	578.20270	286.87686	0.17051
3	3.142	VB S	0.0768	3.37990e5	5.41631e4	99.67037
4	3.750	PP	0.0159	2.63662e-1	4.47486e-1	7.775e-5
5	4.053	PP	0.0456	1.51846	4.91278e-1	0.00045
6	4.148	VP	0.0246	2.57014e-1	1.49507e-1	7.579e-5
7	4.510	PB	0.0340	5.84503e-1	2.43571e-1	0.00017
8	4.680	PV	0.0426	3.78705	1.42049	0.00112
9	4.817	VB	0.0422	2.51873	8.22976e-1	0.00074
10	5.363	BB	0.0325	2.08844	9.36094e-1	0.00062

ภาคผนวก ฅ

โครมาโทแกรมของสถานะต่างๆ ที่นำไปทำปฏิกิริยามอลดาร์ด  
กับน้ำตาลแต่ละชนิด

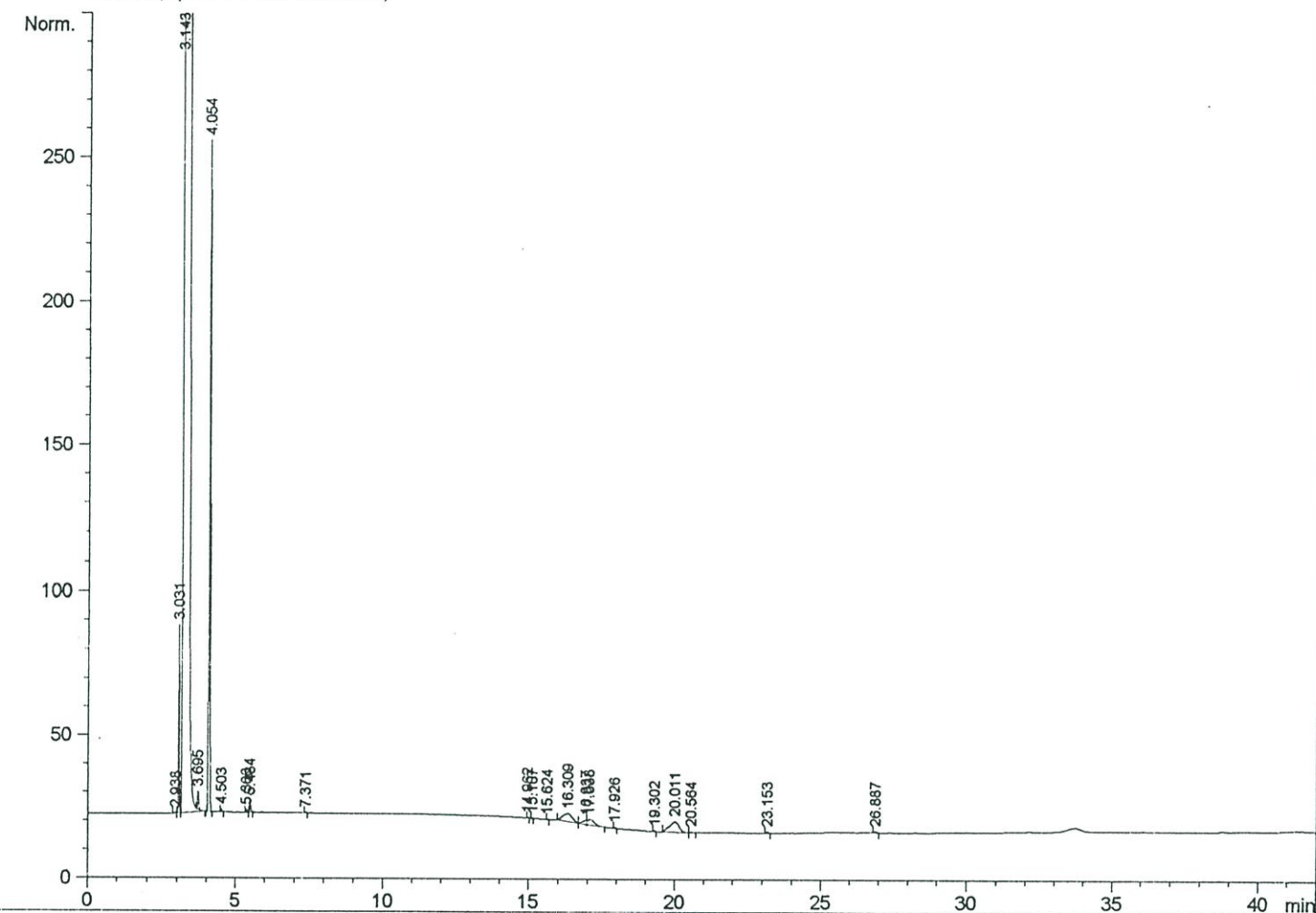
Injection Date : 11/19/02 1:37:31 AM  
 Sample Name : X1WATER  
 Acq. Operator : CIF

Seq. Line : 9  
 Location : Vial 59  
 Inj : 1  
 Inj Volume : 1 µl

119

Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
 Last changed : 11/18/02 6:13:11 PM by CIF  
 Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
 Last changed : 11/19/02 1:09:58 PM by CIF  
 (modified after loading)

FID1 A, (OCT11-45V059F0901.D)



Area Percent Report

Reported By : Signal  
 Multiplier : 1.0000  
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.938	BP	0.0441	1.24884	3.72957e-1	0.00037
2	3.031	VV	0.0308	131.26628	65.72454	0.03853
3	3.143	VB S	0.0760	3.39592e5	5.42473e4	99.68636
4	3.695	BB X	0.0482	19.12163	6.33976	0.00561
5	4.054	BB	0.0481	699.84607	232.69066	0.20544
6	4.503	BP	0.0360	2.69638	1.14376	0.00079
7	5.366	PB	0.0324	1.96724	8.86029e-1	0.00058
8	5.484	PB	0.0376	11.20244	4.48658	0.00329
9	7.371	PB	0.0257	5.24367e-1	2.75226e-1	0.00015
10	14.962	PB	0.0271	3.77397e-1	2.13309e-1	0.00011

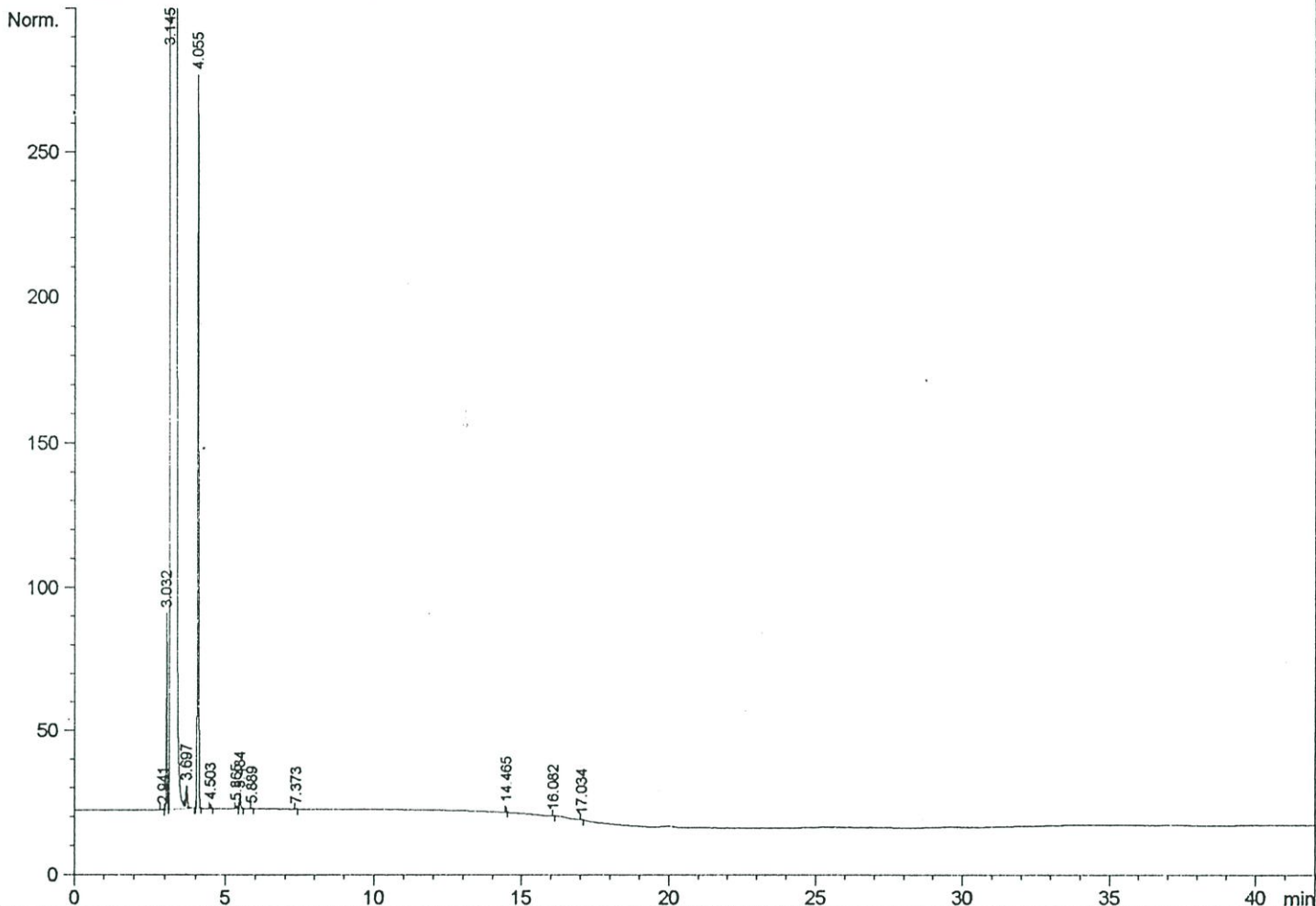
Injection Date : 11/19/02 3:27:31 AM  
Sample Name : X1GLUCOSE  
Acq. Operator : CIF

Seq. Line : 11  
Location : Vial 61  
Inj : 1  
Inj Volume : 1 µl

120

Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
Last changed : 11/18/02 6:13:11 PM by CIF  
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
Last changed : 11/19/02 1:09:58 PM by CIF  
(modified after loading)

FID1 A, (OCT11-45V061F1101.D)



Area Percent Report

Sorted By : Signal  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.941	BP	0.0480	1.19016	3.01607e-1	0.00035
2	3.032	VV	0.0307	136.73491	68.69280	0.04061
3	3.145	VB S	0.0766	3.35727e5	5.39600e4	99.72087
4	3.697	BB X	0.0482	21.80259	7.22140	0.00648
5	4.055	BB	0.0472	754.55566	253.92281	0.22413
6	4.503	PB	0.0359	3.35867	1.43058	0.00100
7	5.365	PB	0.0358	2.59117	1.08681	0.00077
8	5.484	BB	0.0373	13.62530	5.43042	0.00405
9	5.889	BP	0.0277	4.63644e-1	2.10253e-1	0.00014
10	7.373	PB	0.0309	6.26342e-1	2.57635e-1	0.00019



Injection Date : 11/19/02 5:17:26 AM

Seq. Line : 13

122

Sample Name : XILACTOSE

Location : Vial 63

Acq. Operator : CIF

Inj : 1

Inj Volume : 1 µl

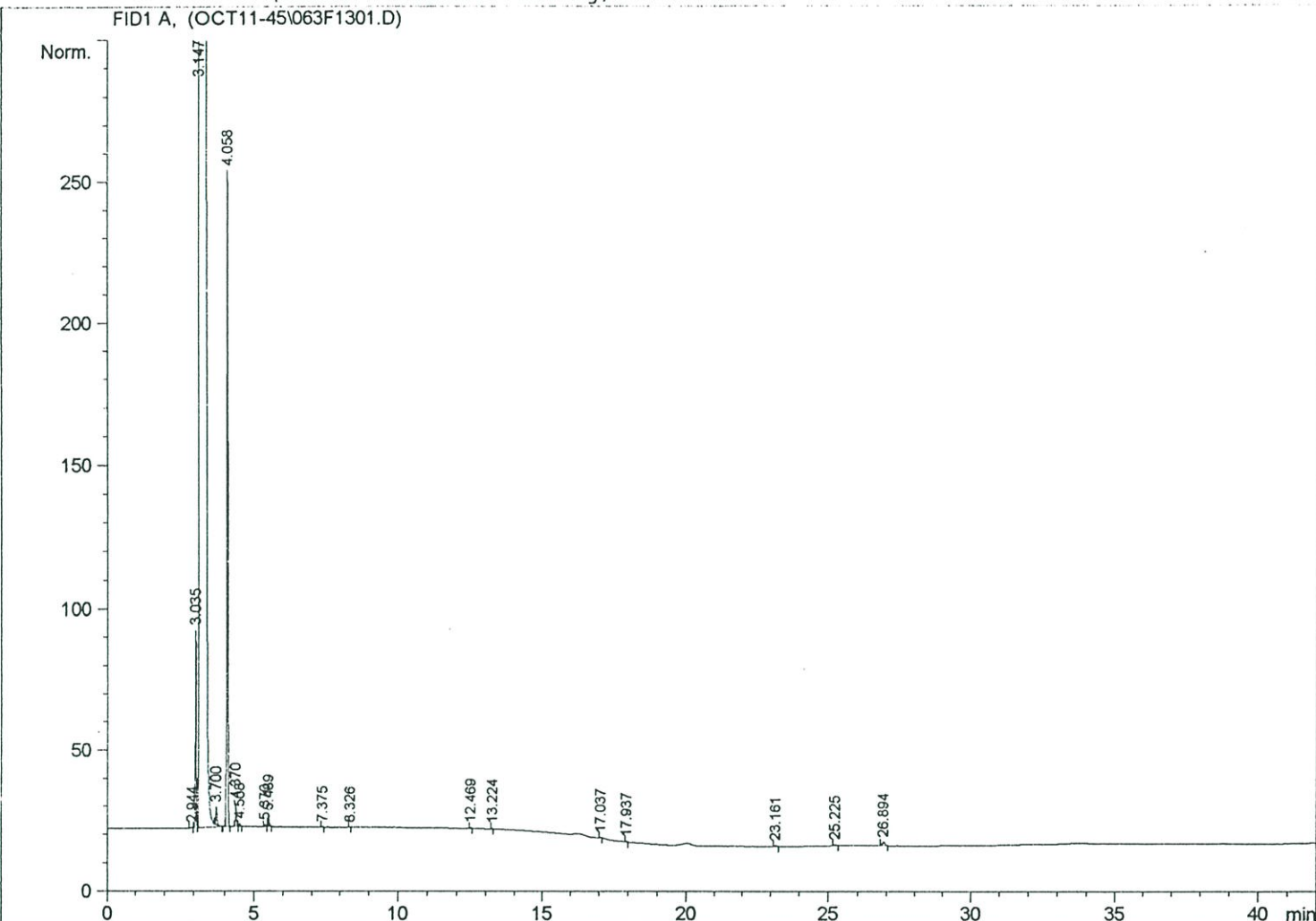
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M

Last changed : 11/18/02 6:13:11 PM by CIF

Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M

Last changed : 11/19/02 1:09:58 PM by CIF

(modified after loading)



=====  
 Area Percent Report  
 =====

Sorted By : Signal  
 Multiplier : 1.0000  
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.944	BP	0.0512	1.42162	3.66678e-1	0.00042
2	3.035	VV	0.0312	142.29474	70.15809	0.04172
3	3.147	VB S	0.0805	3.40152e5	5.39820e4	99.73063
4	3.700	BB X	0.0505	20.21208	6.36912	0.00593
5	4.058	BB	0.0485	702.75372	231.19087	0.20604
6	4.370	BP	0.0421	22.11588	8.28492	0.00648
7	4.508	BP	0.0345	2.66364	1.12961	0.00078
8	5.370	PB	0.0359	1.94900	8.14758e-1	0.00057
9	5.489	BB	0.0377	10.65499	4.25496	0.00312
10	7.375	PB	0.0249	3.91928e-1	2.09264e-1	0.00011

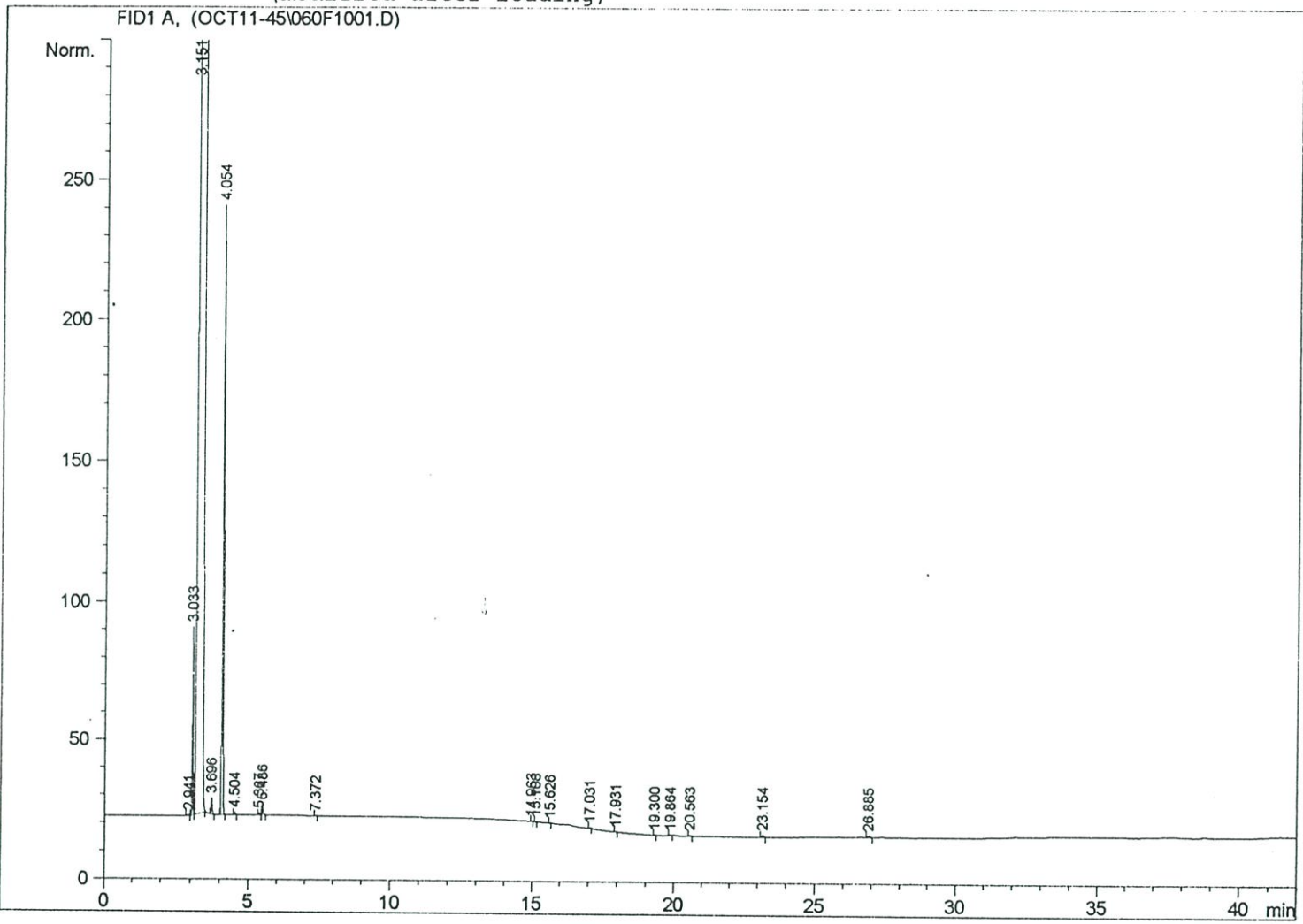
```

Injection Date : 11/19/02 2:32:32 AM      Seq. Line : 10
Sample Name    : X1FRUCTOSE                Location  : Vial 60
Acq. Operator  : CIF                      Inj      : 1
                                           Inj Volume : 1 µl

Acq. Method   : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed  : 11/18/02 6:13:11 PM by CIF
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed  : 11/19/02 1:09:58 PM by CIF
                (modified after loading)

```

123



=====  
Area Percent Report  
=====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution      : 1.0000

```

Signal 1: FID1 A,

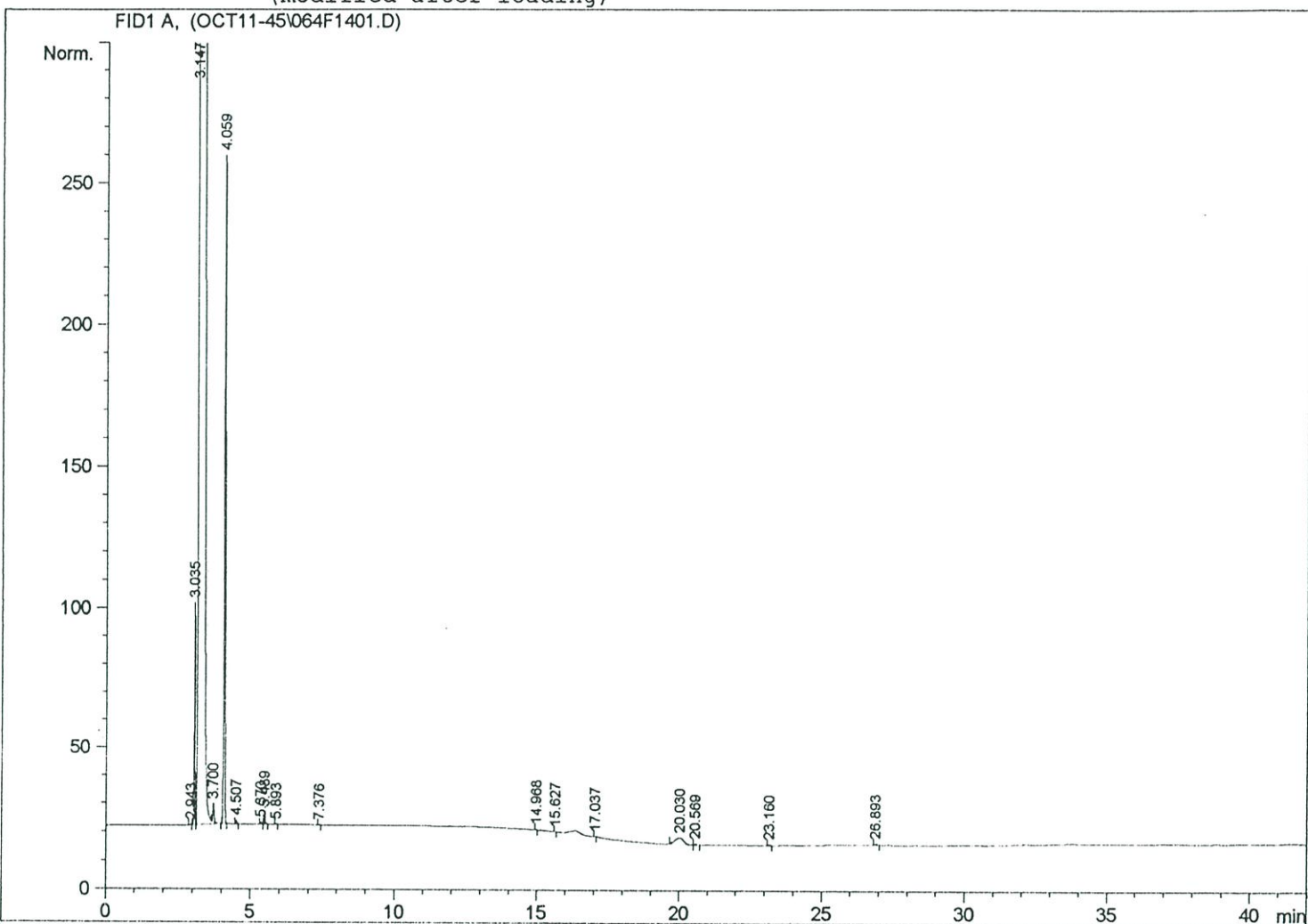
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.941	BP	0.0430	1.28406	3.99891e-1	0.00042
2	3.033	VP	0.0309	136.88947	68.31914	0.04447
3	3.151	VB S	0.0736	3.06976e5	5.14751e4	99.73454
4	3.696	PB	0.0486	18.62594	6.01581	0.00605
5	4.054	BP	0.0464	633.45813	218.30444	0.20581
6	4.504	BP	0.0355	2.72482	1.13645	0.00089
7	5.367	PB	0.0342	1.86958	7.87588e-1	0.00061
8	5.486	BB	0.0381	10.01136	3.94761	0.00325
9	7.372	PB	0.0280	4.25888e-1	2.07184e-1	0.00014
10	14.963	BB	0.0260	5.08113e-1	2.89112e-1	0.00017

Injection Date : 11/19/02 6:12:26 AM  
Sample Name : X1SUCROSE  
Acq. Operator : CIF

Seq. Line : 14  
Location : Vial 64  
Inj : 1  
Inj Volume : 1 µl

124

Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
Last changed : 11/18/02 6:13:11 PM by CIF  
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
Last changed : 11/19/02 1:09:58 PM by CIF  
(modified after loading)



Area Percent Report

Sorted By : Signal  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000

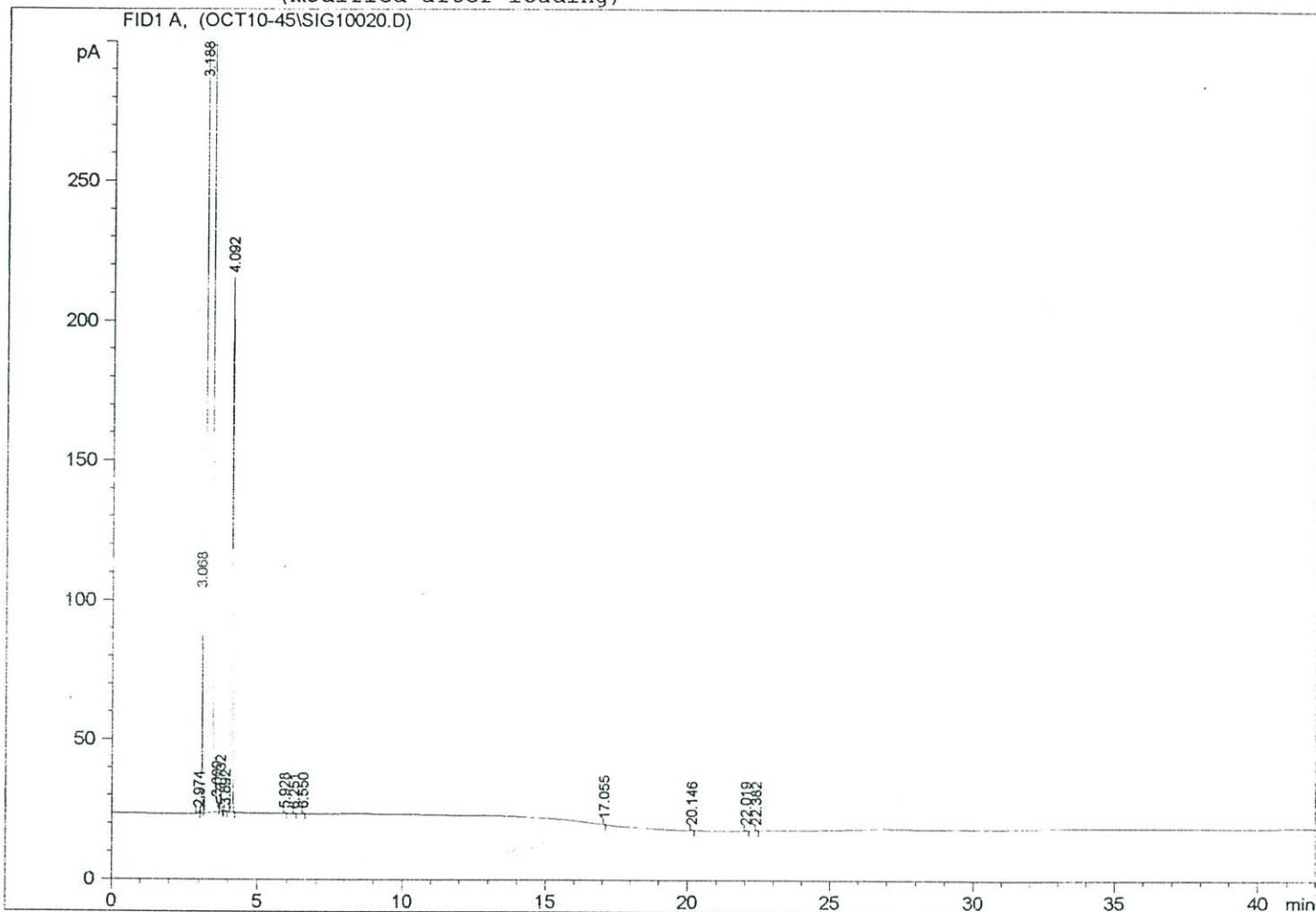
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.943	BP	0.0464	1.24483	3.77791e-1	0.00037
2	3.035	VV	0.0307	157.84099	79.49075	0.04673
3	3.147	VB S	0.0763	3.36827e5	5.39863e4	99.71629
4	3.700	BB X	0.0481	19.33224	6.51283	0.00572
5	4.059	BB	0.0477	706.35968	237.16299	0.20911
6	4.507	PB	0.0354	3.26257	1.41516	0.00097
7	5.370	PB	0.0361	2.10140	9.06249e-1	0.00062
8	5.489	BB	0.0379	11.30304	4.48761	0.00335
9	5.893	PB	0.0314	4.24593e-1	1.91329e-1	0.00013
10	7.376	PB	0.0337	5.23550e-1	2.37694e-1	0.00015

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 10:02:28 AM      Seq. Line : 20
Sample Name     : A1-WATER                   Location  : Vial 20
Acq. Operator  : CIF                        Inj       : 1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:48:18 PM by CIF
                (modified after loading)
=====
    
```



=====  
Area Percent Report  
=====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.974	BP	0.0445	1.52910	4.95428e-1	0.00049
2	3.068	VV	0.0346	177.04283	79.03729	0.05703
3	3.188	VB S	0.0741	3.09595e5	5.15177e4	99.73379
4	3.609	BV X	0.0307	2.24576	1.08364	0.00072
5	3.732	VB X	0.0558	17.95039	5.26592	0.00578
6	3.892	BP	0.0407	1.19061	4.75531e-1	0.00038
7	4.092	BB	0.0523	621.23566	191.57750	0.20013
8	5.928	BB	0.0330	5.85977e-1	2.78726e-1	0.00019
9	6.251	BB	0.0312	4.25461e-1	1.93069e-1	0.00014
10	6.550	BP	0.0374	5.91079e-1	2.47113e-1	0.00019

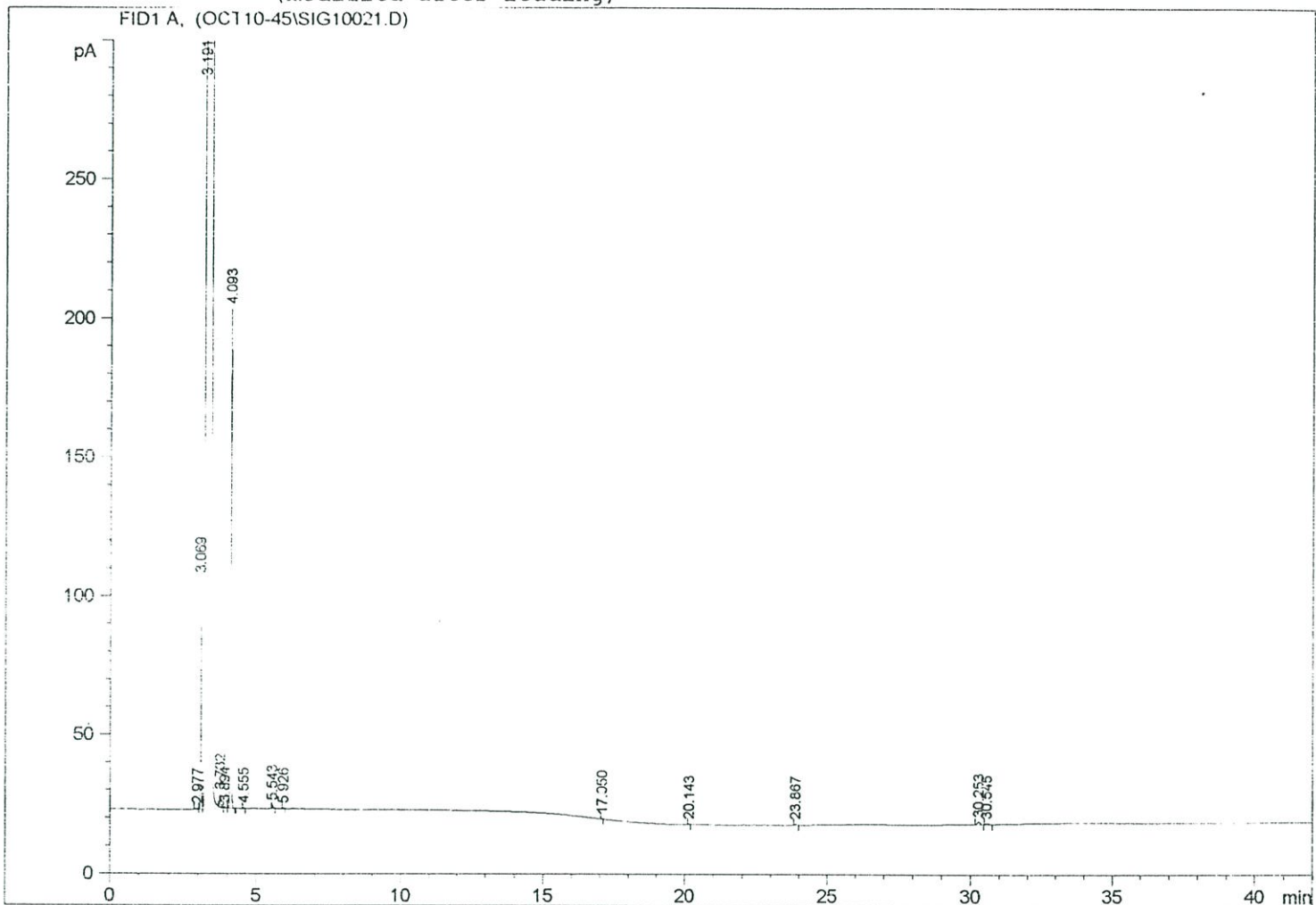
126

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 10:57:22 AM      Seq. Line :   21
Sample Name     : B1-WATER                  Location  : Vial 21
Acq. Operator   : CIF                      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:48:39 PM by CIF
                (modified after loading)
=====

```



```

=====
                          Area Percent Report
=====

```

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000

```

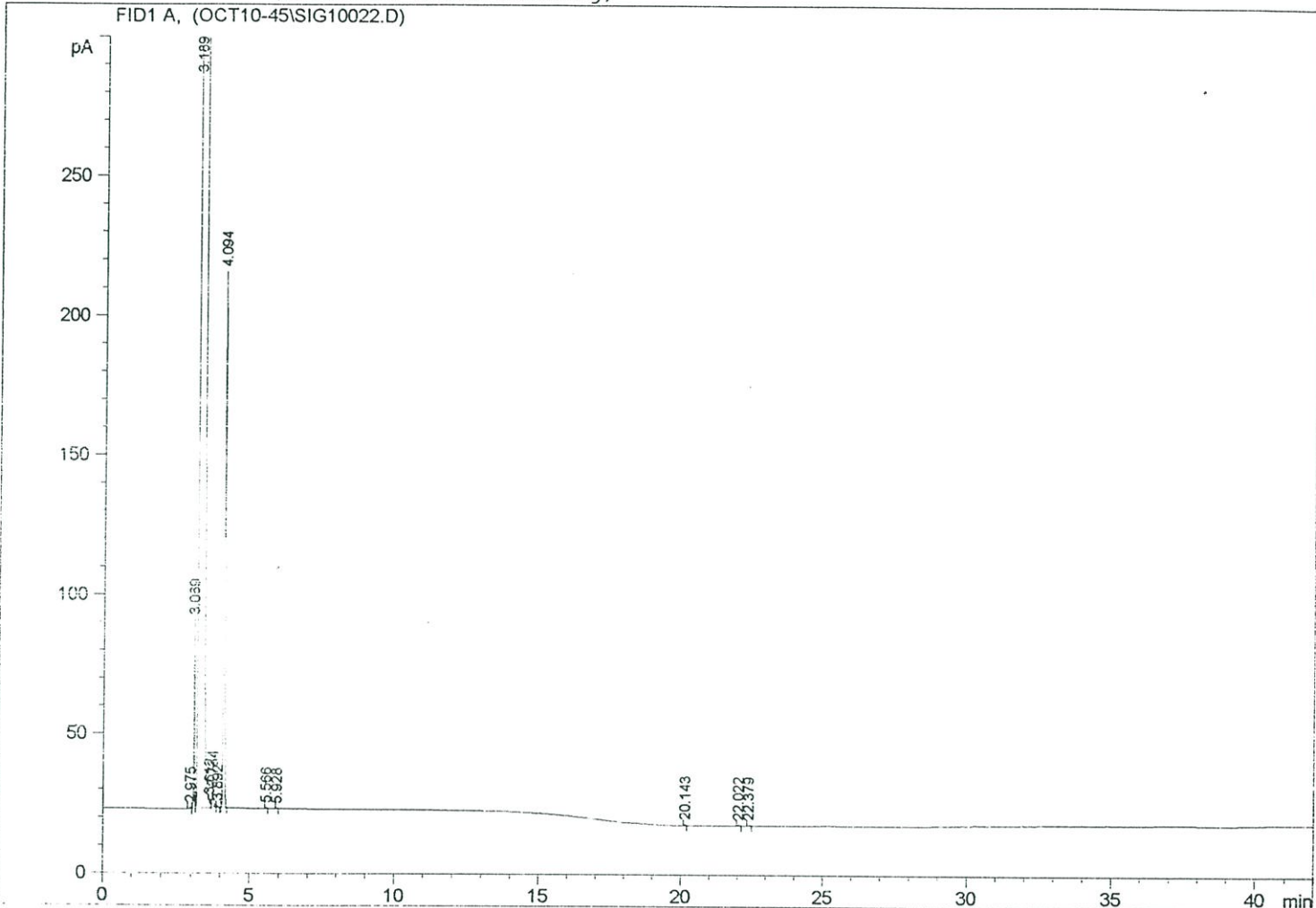
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.977	BV	0.0521	1.55034	3.96398e-1	0.00052
2	3.069	VV	0.0348	188.59293	83.55181	0.06322
3	3.191	VB S	0.0729	2.97501e5	5.00004e4	99.73137
4	3.732	BV X	0.0565	16.75942	4.88556	0.00562
5	3.894	VV X	0.0382	1.12176	4.25882e-1	0.00038
6	4.093	VB X	0.0513	575.80377	179.89391	0.19303
7	4.555	PP	0.0319	8.27544e-1	3.27964e-1	0.00028
8	5.543	BB	0.0401	3.77433	1.39133	0.00127
9	5.926	BP	0.0284	7.57851e-1	3.77138e-1	0.00025
10	17.050	PB	0.0261	3.60109e-1	1.82253e-1	0.00012

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 11:52:10 AM           Seq. Line : 22           127
Sample Name     : C1-WATER                       Location  : Vial 22
Acq. Operator  : CIF                             Inj       : 1
                                                    Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:48:54 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

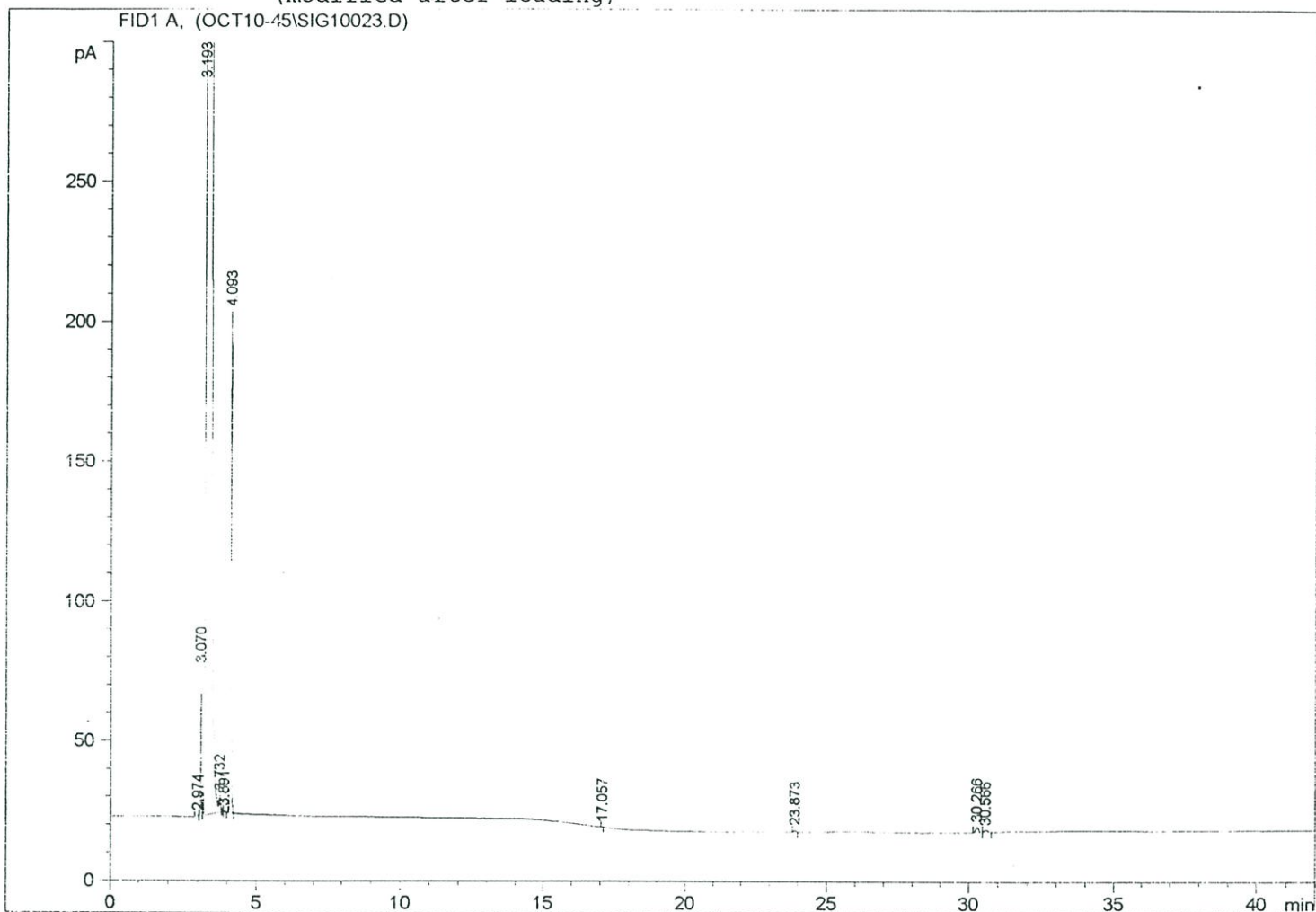
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.975	BP	0.0414	1.45501	4.73099e-1	0.00047
2	3.069	VV	0.0343	150.31581	67.94887	0.04880
3	3.189	VB S	0.0742	3.07248e5	5.07351e4	99.74151
4	3.612	BV X	0.0326	2.33952	1.13042	0.00076
5	3.734	VV X	0.0529	17.88275	5.29936	0.00581
6	3.892	VB X	0.0405	1.41792	5.16430e-1	0.00046
7	4.094	PP	0.0520	617.94110	192.25087	0.20060
8	5.566	BB	0.0315	8.40795e-1	3.77414e-1	0.00027
9	5.928	BB	0.0284	6.71952e-1	3.08407e-1	0.00022
10	20.143	BP	0.0367	1.09061	3.83361e-1	0.00035

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 12:47:05 PM      Seq. Line :   23
Sample Name     : A2-WATER                  Location  : Vial 23
Acq. Operator   : CIF                      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:49:05 PM by CIF
                (modified after loading)
=====
    
```



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

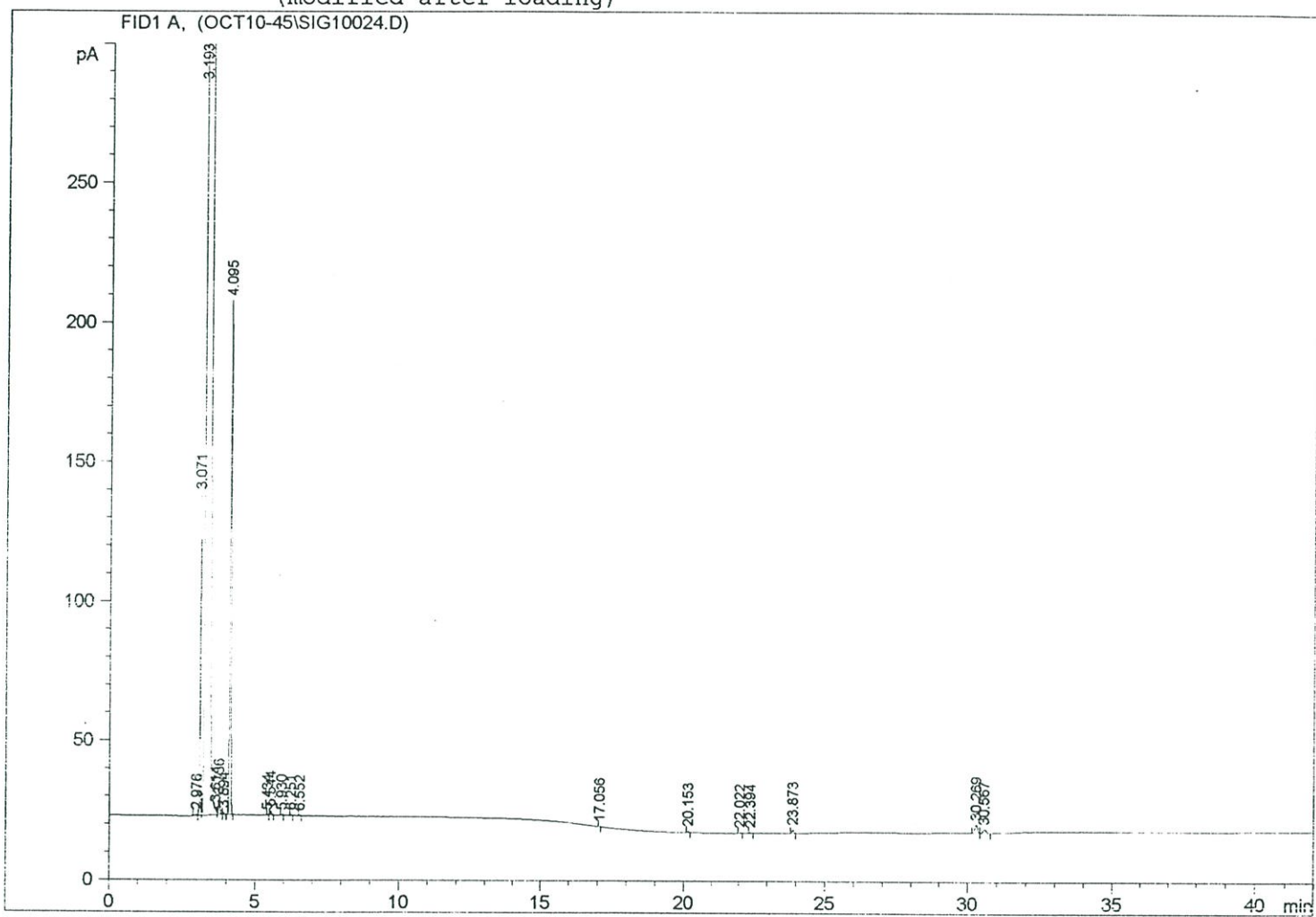
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.974	BP	0.0456	1.29200	3.80952e-1	0.00044
2	3.070	VV	0.0347	119.35013	53.21132	0.04051
3	3.193	VB S	0.0727	2.93847e5	4.95462e4	99.75005
4	3.732	BB X	0.0551	16.32875	4.87713	0.00554
5	3.891	BP	0.0331	8.73057e-1	3.98473e-1	0.00030
6	4.093	BP	0.0518	573.69171	179.45013	0.19475
7	17.057	PB	0.0239	3.70897e-1	2.02114e-1	0.00013
8	23.873	BB	0.0513	3.23080	7.88518e-1	0.00110
9	30.266	BB	0.0869	14.06727	2.02787	0.00478
10	30.566	BB	0.0908	7.09504	9.37166e-1	0.00241

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 1:41:56 PM      Seq. Line :   24
Sample Name     : B2-WATER                  Location  : Vial 24
Acq. Operator   : CIF                      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:49:22 PM by CIF
                (modified after loading)
=====
    
```



Area Percent Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

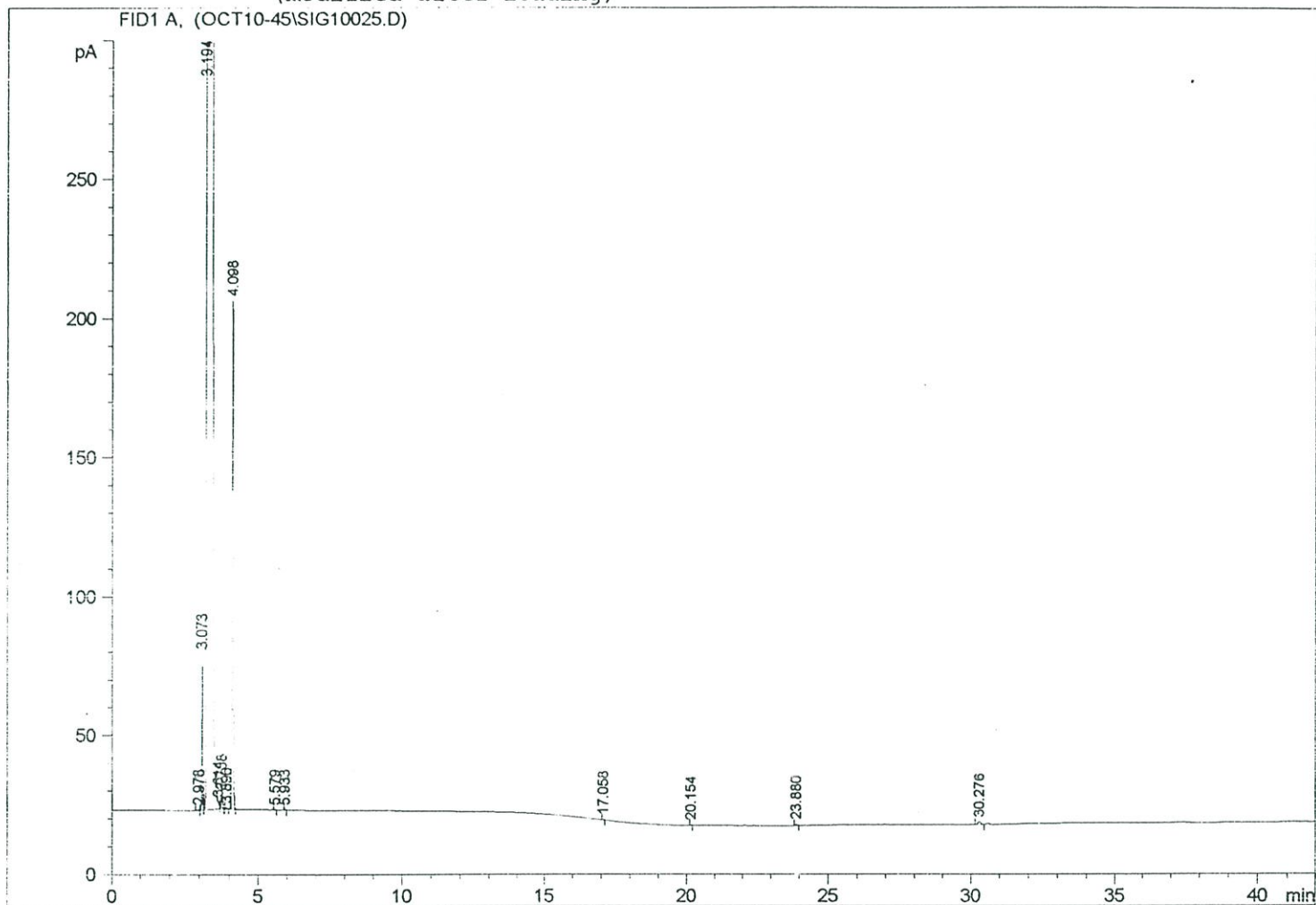
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.976	BV	0.0450	1.66631	4.85495e-1	0.00056
2	3.071	VV	0.0346	257.99792	115.32520	0.08695
3	3.193	VB S	0.0736	2.95791e5	4.95588e4	99.69114
4	3.614	BV X	0.0344	2.49472	1.12459	0.00084
5	3.736	VV X	0.0552	17.38413	5.11289	0.00586
6	3.894	VB X	0.0369	1.34200	5.06983e-1	0.00045
7	4.095	BP	0.0512	588.61536	184.45969	0.19838
8	5.434	PB	0.0267	5.22078e-1	2.62968e-1	0.00018
9	5.544	PP	0.0414	4.35636	1.54676	0.00147
10	5.930	BB	0.0286	6.04610e-1	3.05291e-1	0.00020

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 2:36:52 PM      Seq. Line :   25
Sample Name     : C2-WATER                  Location  : Vial 25
Acq. Operator   : CIF                      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:49:39 PM by CIF
                (modified after loading)
=====
    
```



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.978	BP	0.0507	1.35289	3.73878e-1	0.00045
2	3.073	VV	0.0348	126.90798	56.26909	0.04199
3	3.194	VB S	0.0754	3.01450e5	5.03370e4	99.75094
4	3.614	BV X	0.0321	1.19697	6.21254e-1	0.00040
5	3.738	VB X	0.0557	16.47727	4.83970	0.00545
6	3.896	BP	0.0387	1.13688	4.54874e-1	0.00038
7	4.098	BB	0.0525	594.76508	182.76602	0.19681
8	5.579	PB	0.0378	5.63453e-1	2.09774e-1	0.00019
9	5.933	PB	0.0314	4.51025e-1	2.11243e-1	0.00015
10	17.058	BB	0.0355	3.73227e-1	1.64475e-1	0.00012

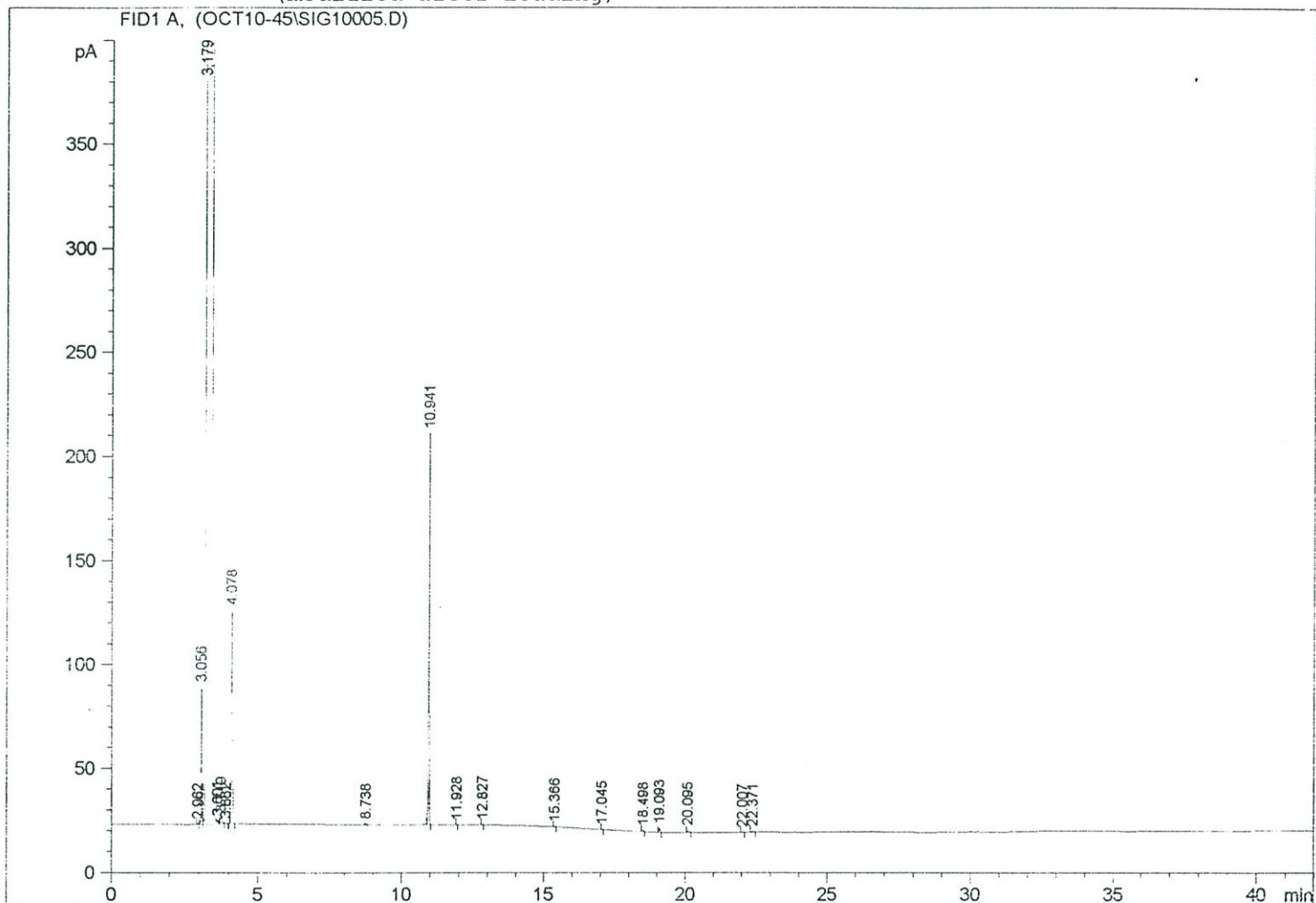
131

```

=====
Injection Date   : 10/10/02 8:20:34 PM      Seq. Line :    5
Sample Name     : A1-lactose                Location  : Vial 5
Acq. Operator   : CIF                      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:30:11 PM by CIF
                (modified after loading)
=====

```



```

=====
                          Area Percent Report
=====

```

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000

```

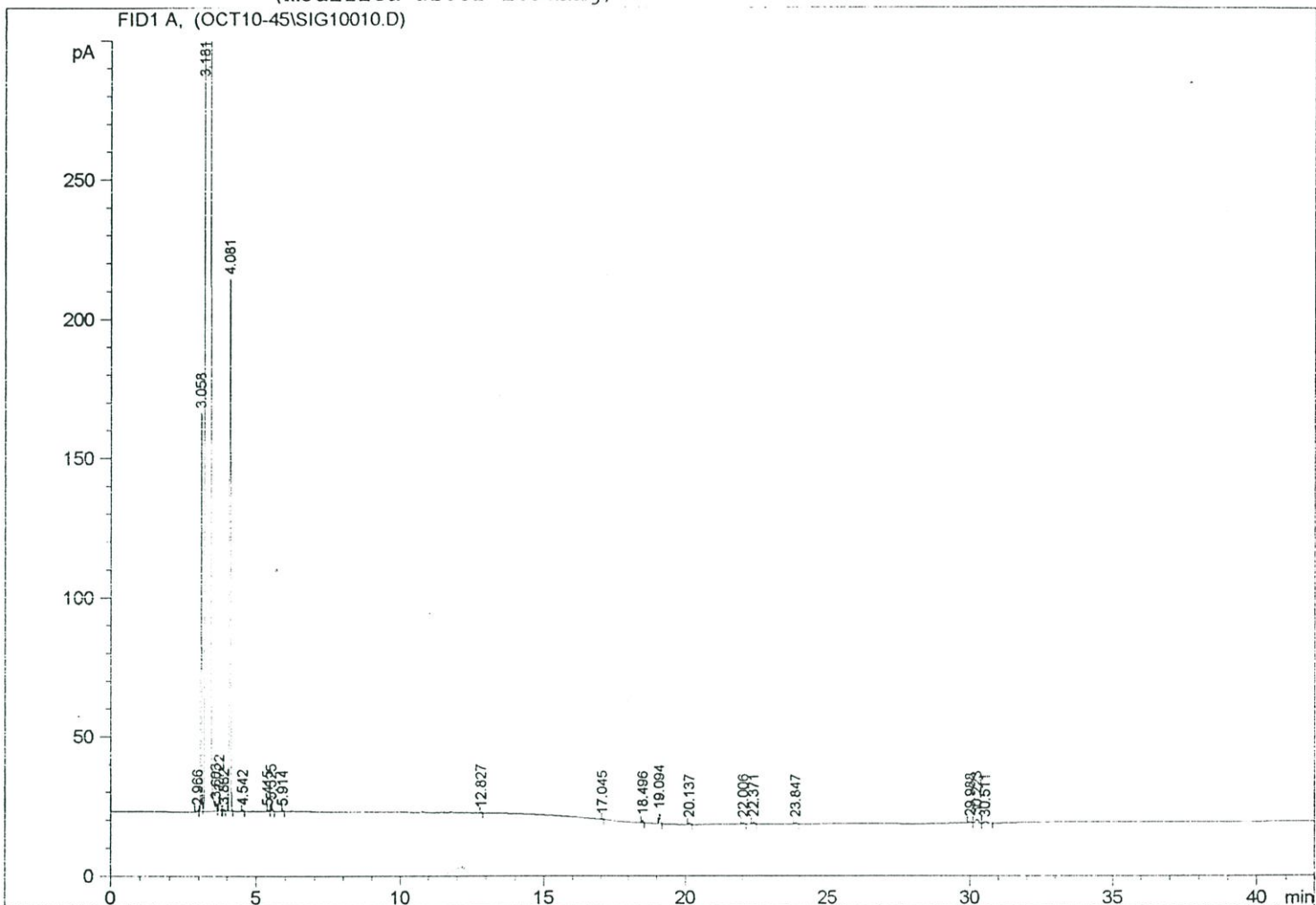
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.962	BP	0.0329	8.56306e-1	3.78064e-1	0.00029
2	3.056	VV	0.0347	148.41570	66.18143	0.05024
3	3.179	VB S	0.0724	2.94481e5	4.98767e4	99.69102
4	3.601	BV X	0.0329	1.58801	7.16378e-1	0.00054
5	3.719	VV X	0.0547	10.95228	3.17925	0.00371
6	3.882	VB X	0.0418	8.85270e-1	2.92715e-1	0.00030
7	4.078	BB	0.0520	331.04352	102.92228	0.11207
8	8.738	PB	0.0327	1.10054	5.00351e-1	0.00037
9	10.941	BP	0.0334	401.56857	188.46120	0.13594
10	11.928	PB	0.0239	3.29701e-1	1.83703e-1	0.00011

```

Injection Date : 10/11/02 12:54:15 AM      Seq. Line : 10
Sample Name    : B1-lactose                 Location  : Vial 10
Acq. Operator  : CIF                       Inj      : 1
                                                Inj Volume: 1 µl

Acq. Method   : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed  : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed  : 10/15/02 2:33:35 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
    
```

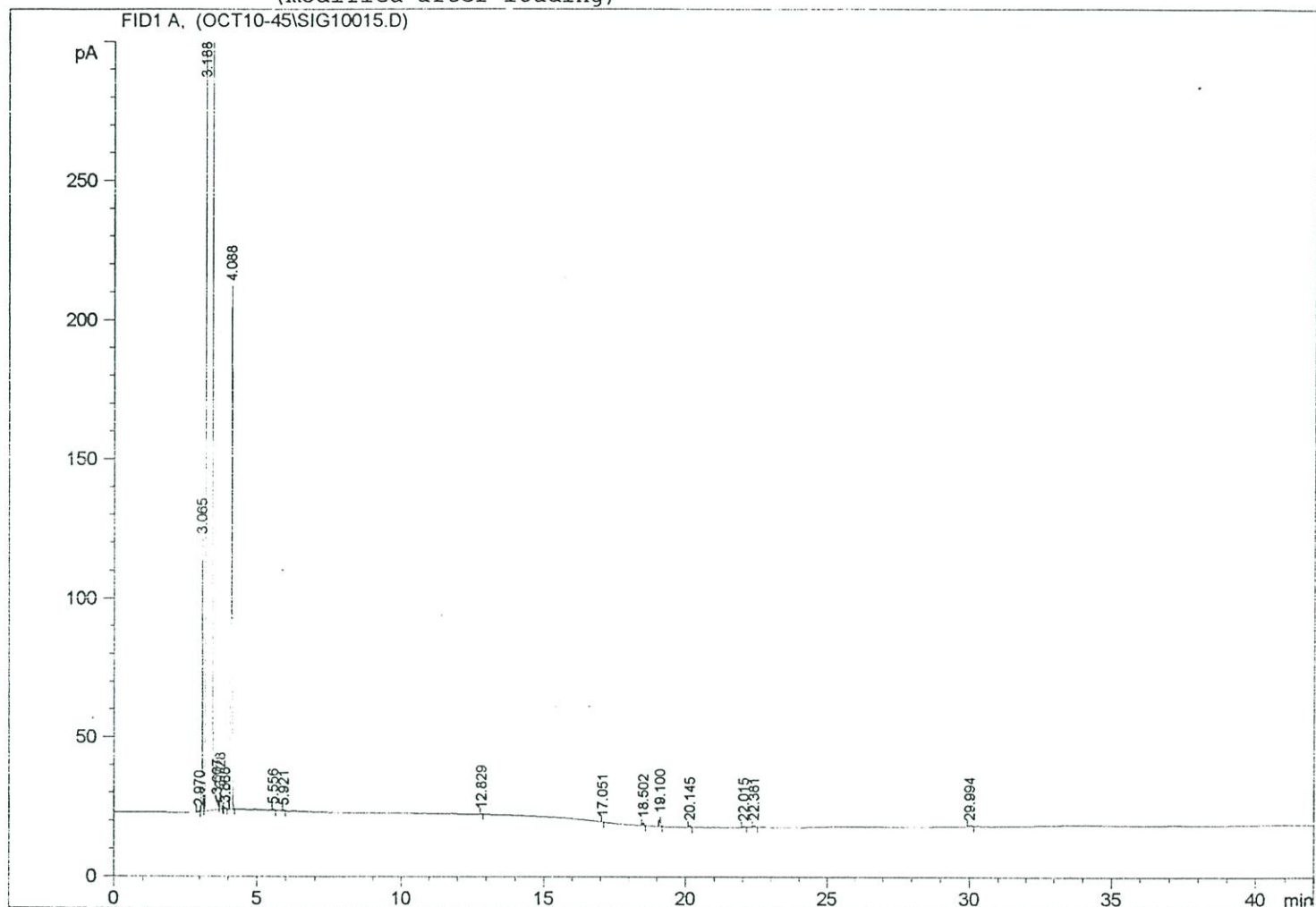
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.966	BV	0.0397	1.76174	6.09033e-1	0.00059
2	3.058	VV	0.0346	320.62170	143.18239	0.10730
3	3.181	VB S	0.0733	2.97796e5	5.01489e4	99.66212
4	3.603	BV X	0.0337	3.51866	1.59706	0.00118
5	3.722	VB X	0.0548	18.25771	5.34667	0.00611
6	3.882	BB	0.0358	1.36106	5.51265e-1	0.00046
7	4.081	BB	0.0518	611.15143	191.10625	0.20453
8	4.542	PB	0.0371	1.32463	5.50876e-1	0.00044
9	5.415	PP	0.0331	1.06554	4.51000e-1	0.00036
10	5.525	BB	0.0400	7.55041	2.79222	0.00253

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 5:27:58 AM      Seq. Line :   15
Sample Name     : C1-lactose                Location  : Vial 15
Acq. Operator   : CIF                      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:36:12 PM by CIF
                (modified after loading)
=====
    
```



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

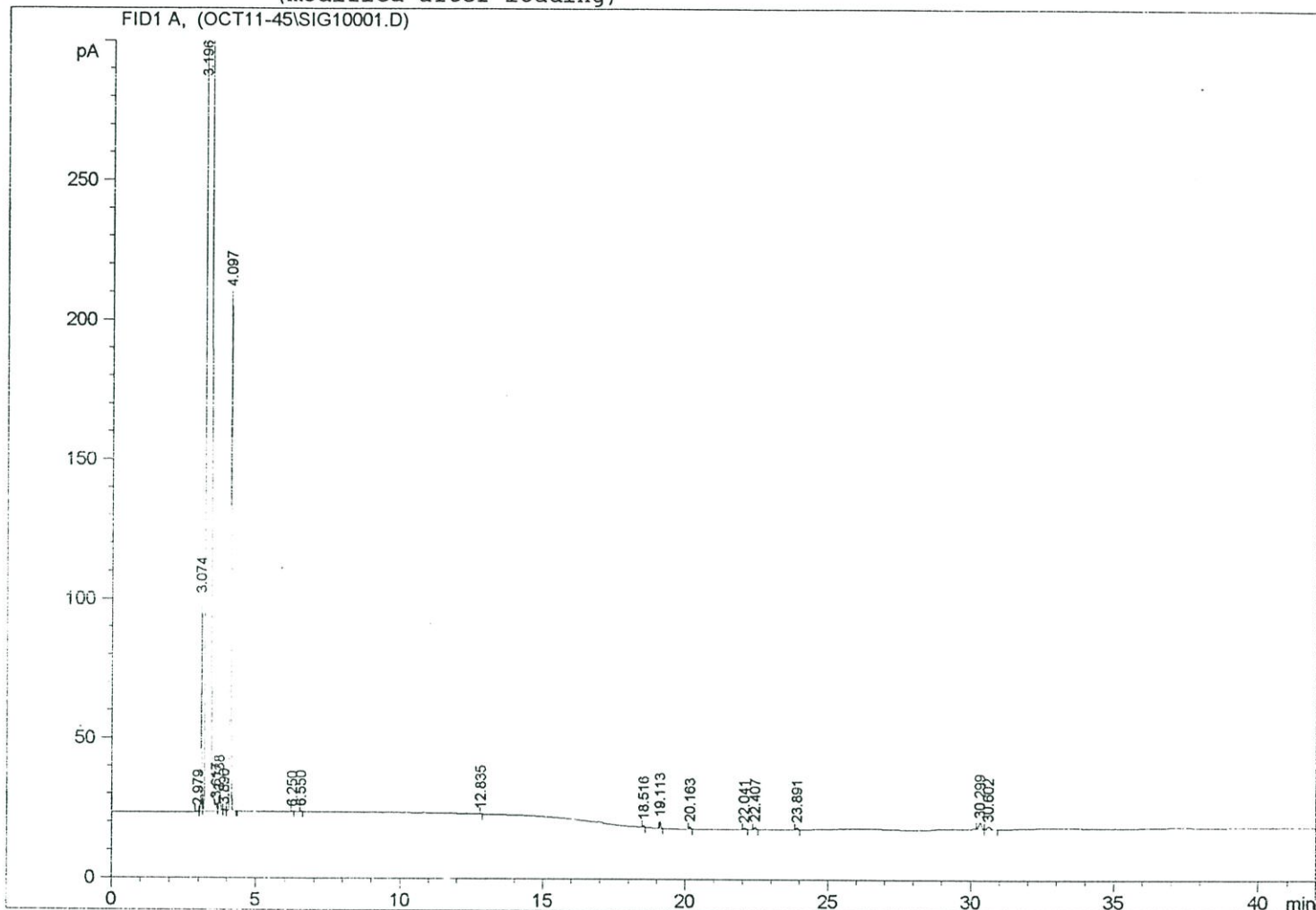
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.970	BP	0.0424	1.59893	5.57702e-1	0.00054
2	3.065	VV	0.0349	222.01868	98.29069	0.07564
3	3.188	VB S	0.0724	2.92651e5	4.99107e4	99.70183
4	3.607	BV X	0.0326	3.30804	1.56607	0.00113
5	3.728	VB X	0.0544	17.73662	5.24722	0.00604
6	3.888	BP	0.0414	1.26832	5.02959e-1	0.00043
7	4.088	BB	0.0519	602.62054	188.14771	0.20530
8	5.556	PB	0.0397	1.45832	5.54331e-1	0.00050
9	5.921	BB	0.0356	7.89017e-1	3.39385e-1	0.00027
10	12.829	BB	0.0322	4.71160e-1	2.14141e-1	0.00016

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 5:49:44 PM           Seq. Line :    1
Sample Name     : A2-LACTOSE                     Location  : Vial 26
Acq. Operator   : CIF                           Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/11/02 5:47:51 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:49:53 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

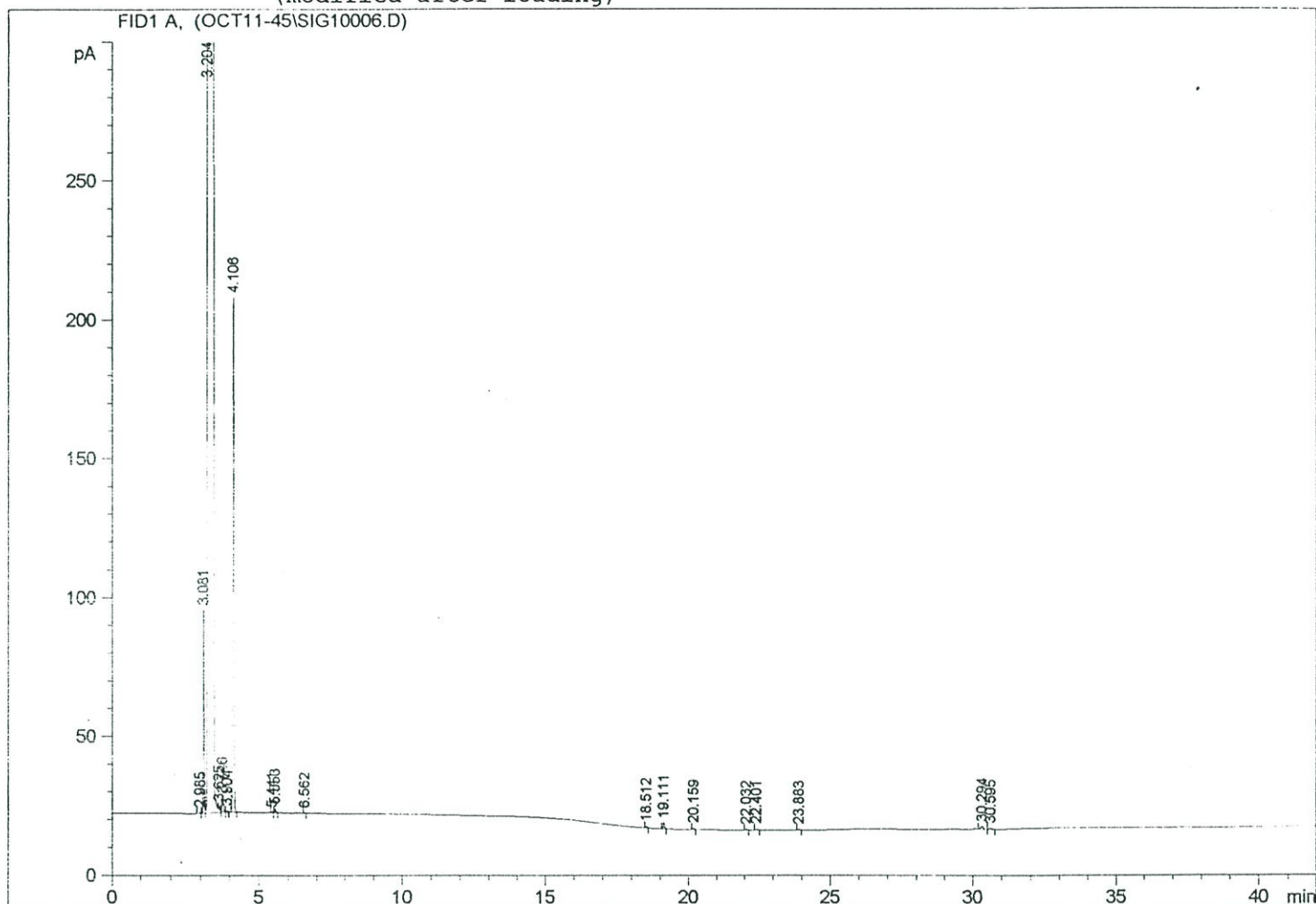
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.979	BV	0.0471	1.83414	5.68878e-1	0.00062
2	3.074	VV	0.0342	171.99188	76.65314	0.05792
3	3.196	VB S	0.0750	2.96111e5	4.93515e4	99.71563
4	3.617	BV X	0.0328	2.65422	1.24915	0.00089
5	3.738	VV X	0.0564	17.87212	5.09618	0.00602
6	3.896	VV X	0.0368	1.47207	5.48243e-1	0.00050
7	4.097	VB X	0.0520	598.85583	186.29326	0.20166
8	6.250	BB	0.0341	4.12439e-1	1.80990e-1	0.00014
9	6.550	PP	0.0348	8.51579e-1	3.64046e-1	0.00029
10	12.835	PB	0.0311	4.14269e-1	2.00508e-1	0.00014

```

Injection Date   : 10/11/02 10:22:56 PM      Seq. Line :    6
Sample Name     : B2-LACTOSE                 Location  : Vial 31
Acq. Operator   : CIF                       Inj       :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/11/02 5:47:51 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:54:24 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

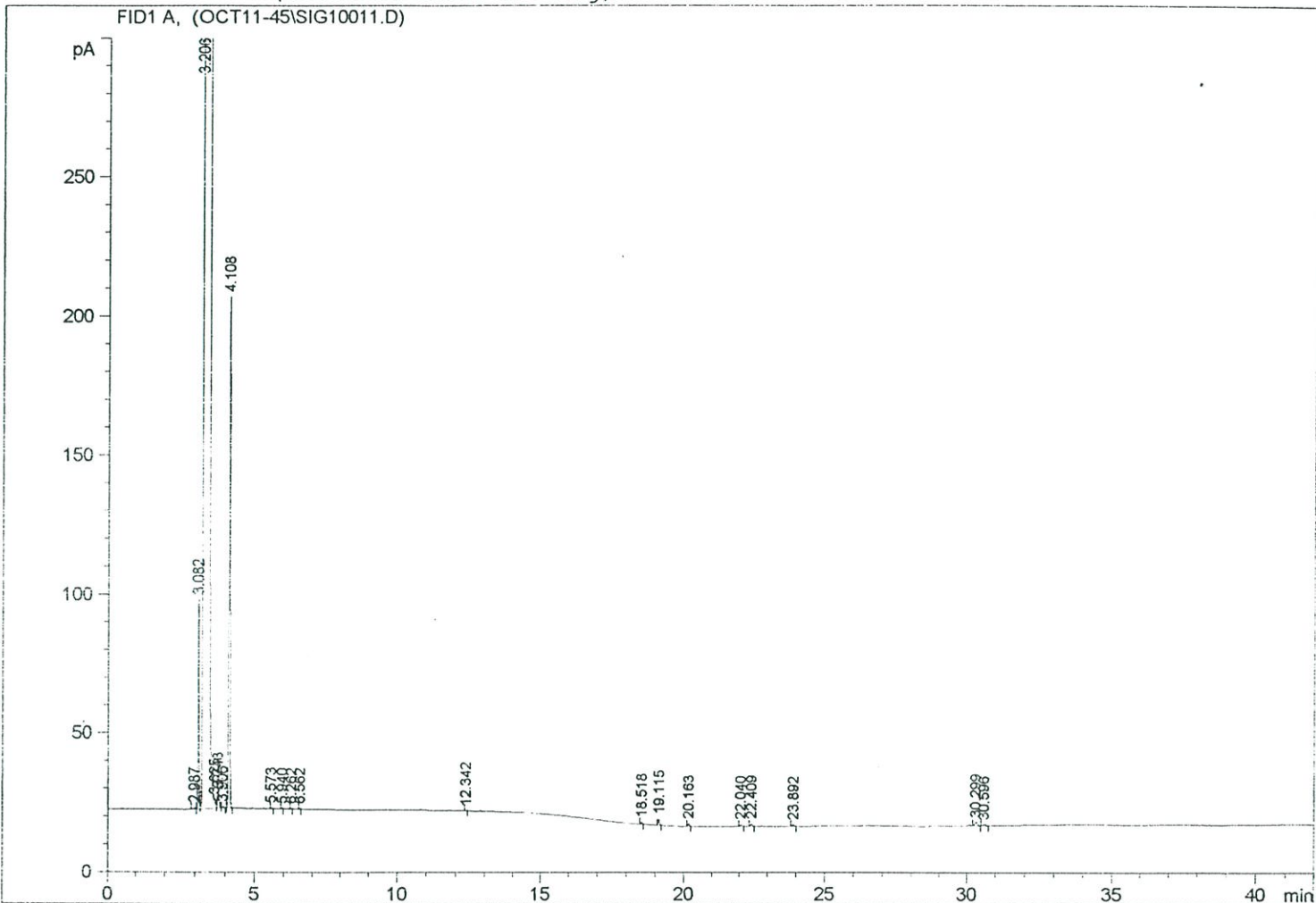
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.985	BV	0.0421	1.44748	4.94900e-1	0.00050
2	3.081	VV	0.0349	165.72302	73.21880	0.05684
3	3.204	VB S	0.0726	2.90725e5	4.90510e4	99.72049
4	3.625	BV X	0.0347	3.05550	1.36282	0.00105
5	3.746	VV X	0.0557	17.63912	5.12520	0.00605
6	3.904	VB X	0.0391	1.19215	4.77896e-1	0.00041
7	4.106	BP	0.0520	595.09296	185.26953	0.20412
8	5.441	PB	0.0312	4.88358e-1	2.26313e-1	0.00017
9	5.553	BB	0.0383	3.67292	1.41608	0.00126
10	6.562	PB	0.0310	4.38506e-1	1.82473e-1	0.00015

```

=====
Injection Date   : 10/12/02 2:56:08 AM      Seq. Line : 11
Sample Name     : C2-LACTOSE                Location  : Vial 36
Acq. Operator   : CIF                      Inj       : 1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/11/02 5:47:51 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:56:34 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```



Area Percent Report

```

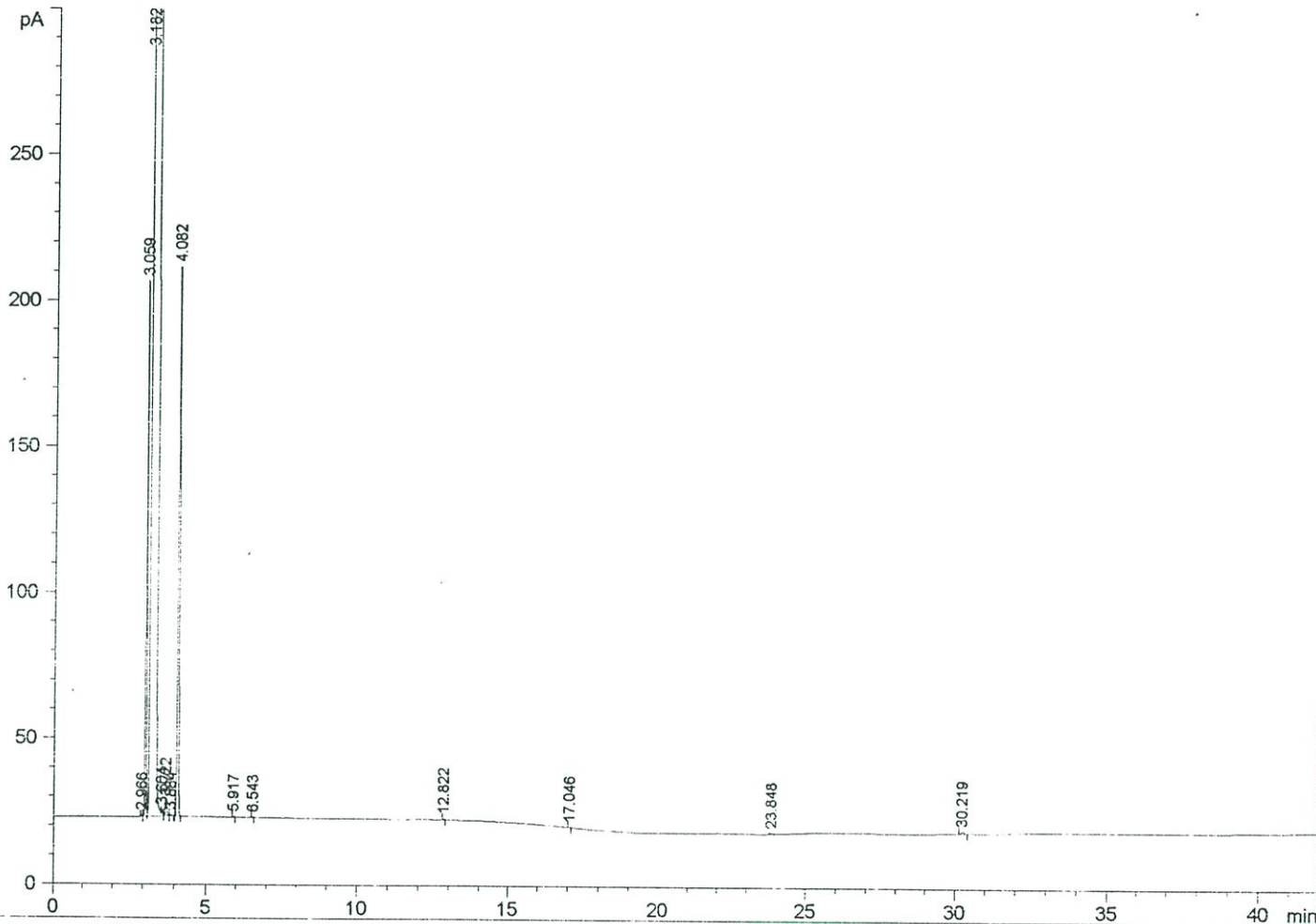
Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.987	BP	0.0431	1.65363	5.12476e-1	0.00057
2	3.082	VV	0.0351	172.23151	75.48089	0.05896
3	3.206	VB S	0.0733	2.91307e5	4.90746e4	99.71553
4	3.625	BV X	0.0344	2.80027	1.31379	0.00096
5	3.748	VV X	0.0566	17.34484	4.98749	0.00594
6	3.906	BV X	0.0416	1.54941	5.01130e-1	0.00053
7	4.108	BB	0.0524	597.98431	183.91092	0.20469
8	5.573	PB	0.0353	9.16226e-1	3.47022e-1	0.00031
9	5.940	BB	0.0290	5.98141e-1	2.97063e-1	0.00020
10	6.262	PP	0.0312	5.55819e-1	2.38405e-1	0.00019

Injection Date : 10/10/02 11:59:32 PM      Seq. Line : 9  
 Sample Name : Al-sucrose      Location : Vial 9  
 Operator : CIF      Inj : 1  
                                  Inj Volume : 1 µl  
 Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
 Last changed : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF  
 Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M  
 Last changed : 10/15/02 2:33:13 PM by CIF  
 (modified after loading)

FID1 A, (OCT10-45\SIG10009.D)



Area Percent Report

Reported By : Signal  
 Multiplier : 1.0000  
 Resolution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

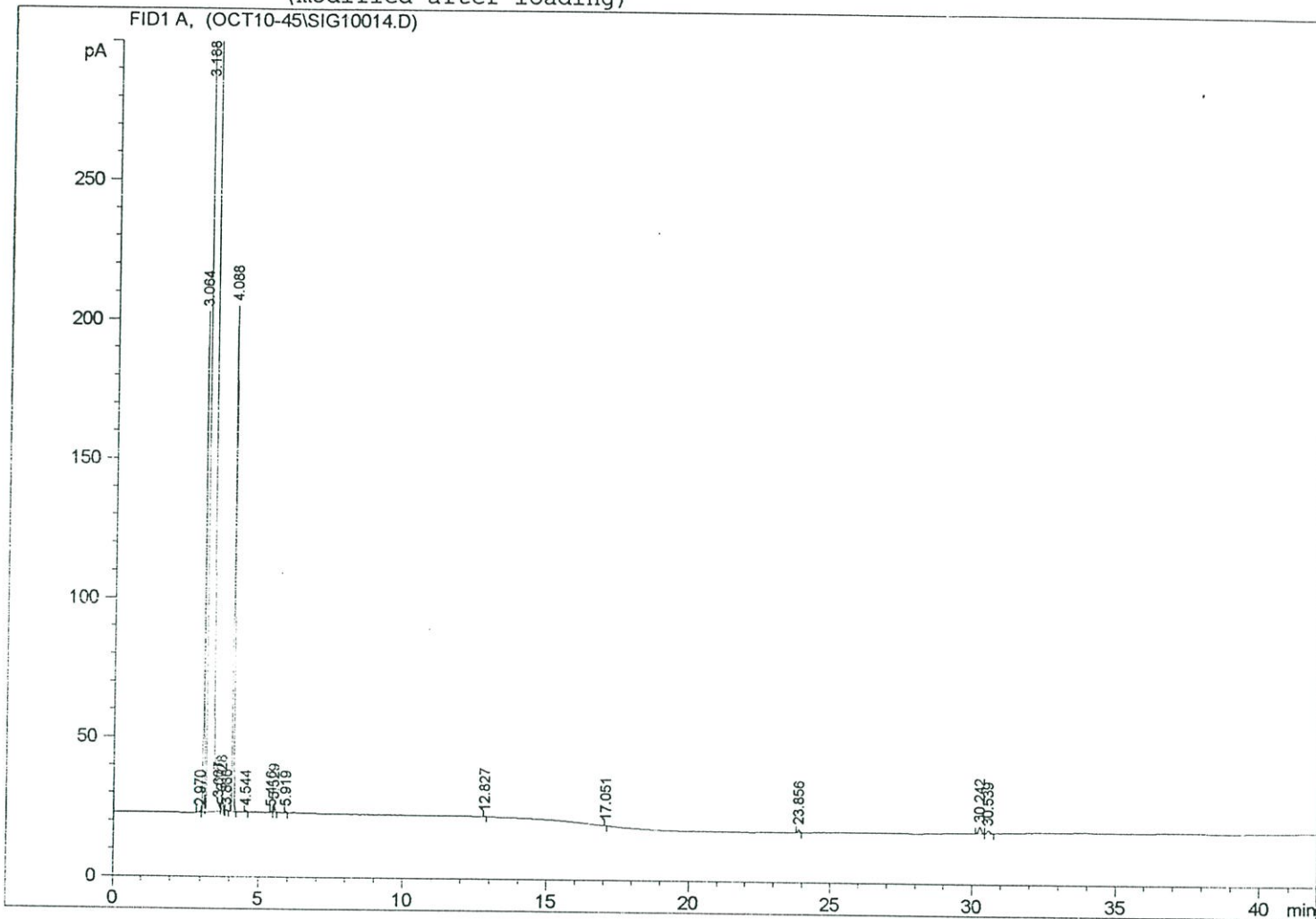
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.966	BP	0.0349	1.17440	5.28918e-1	0.00040
2	3.059	VV	0.0347	413.04575	183.62160	0.13972
3	3.182	VB S	0.0718	2.94583e5	5.03048e4	99.64550
4	3.604	BV X	0.0361	3.25468	1.42529	0.00110
5	3.722	VV X	0.0567	18.35393	5.25686	0.00621
6	3.884	VB X	0.0412	1.25275	4.84049e-1	0.00042
7	4.082	BP	0.0513	601.61969	188.11130	0.20350
8	5.917	BB	0.0332	9.54343e-1	4.33839e-1	0.00032
9	6.543	PB	0.0316	4.62722e-1	2.06643e-1	0.00016
10	12.822	BB	0.0336	9.30260e-1	4.15528e-1	0.00031

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 4:33:11 AM           Seq. Line : 14
Sample Name     : B1-sucrose                     Location  : Vial 14
Acq. Operator  : CIF                             Inj       : 1
                                                    Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:35:38 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```

138



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

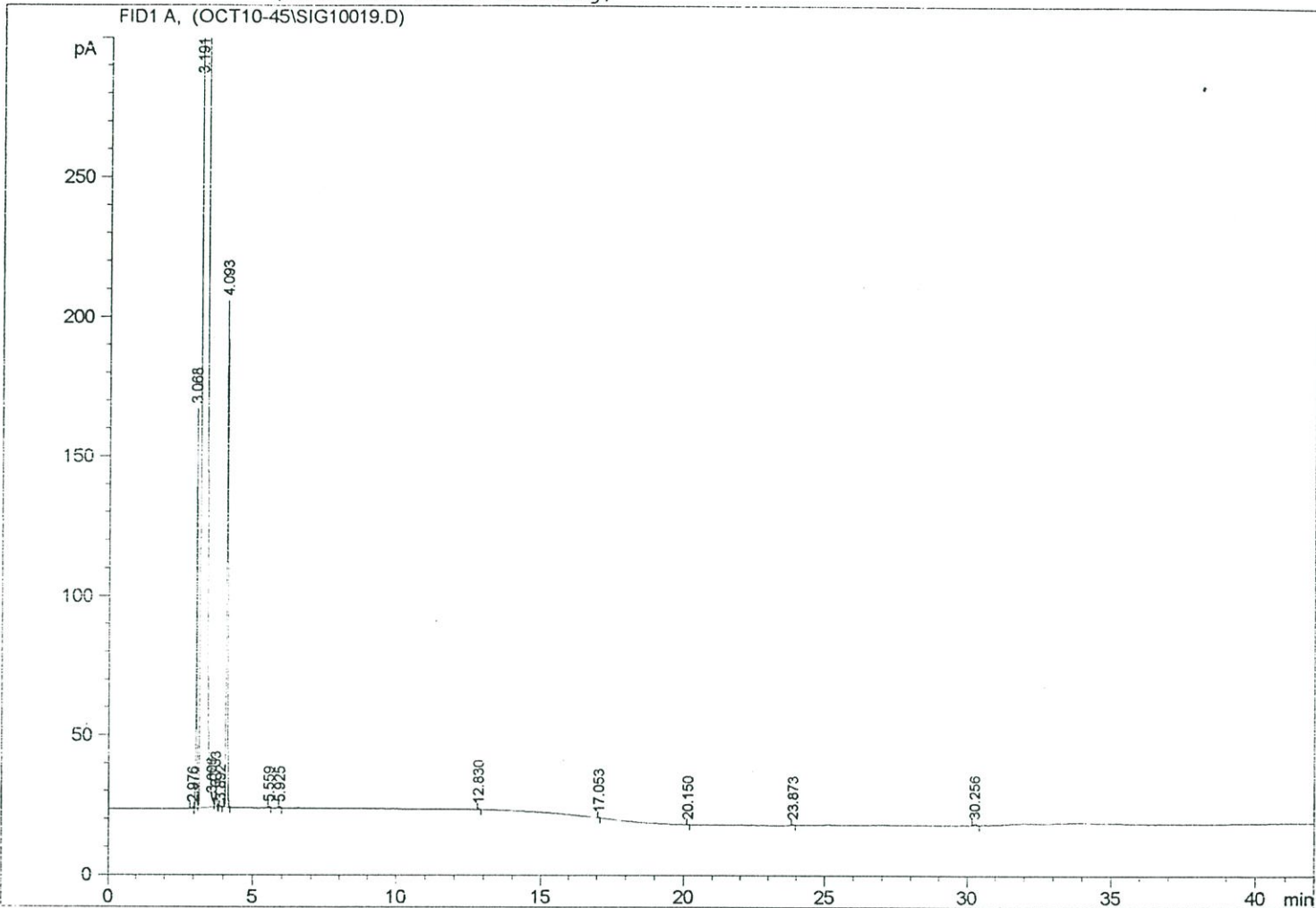
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.970	BP	0.0427	1.94966	6.85879e-1	0.00066
2	3.064	VV	0.0352	411.48102	179.88953	0.13914
3	3.168	VB S	0.0736	2.94660e5	5.00800e4	99.63782
4	3.607	VB X	0.0348	2.80971	1.24819	0.00095
5	3.728	VB X	0.0560	17.73976	5.11192	0.00600
6	3.888	BP	0.0415	1.29990	4.89850e-1	0.00044
7	4.088	BP	0.0525	591.78040	181.51555	0.20011
8	4.544	BB	0.0370	1.65952	6.79206e-1	0.00056
9	5.416	PB	0.0338	1.15515	5.23346e-1	0.00039
10	5.529	BB	0.0390	8.21704	3.14399	0.00278

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 9:07:26 AM      Seq. Line :   19
Sample Name     : Cl-sucrose                Location  : Vial 19
Acq. Operator   : CIF                      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed    : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed    : 10/15/02 2:48:02 PM by CIF
                 (modified after loading)
    
```



=====  
Area Percent Report  
=====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
    
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.976	BP	0.0413	1.60452	5.37522e-1	0.00054
2	3.068	VV	0.0350	325.44171	143.51622	0.11023
3	3.191	VB S	0.0722	2.94291e5	4.99997e4	99.68185
4	3.606	BV X	0.0356	1.49989	7.02432e-1	0.00051
5	3.733	BV X	0.0556	16.71966	4.92911	0.00566
6	3.892	BP	0.0350	1.11662	4.56835e-1	0.00038
7	4.093	BB	0.0525	583.93414	181.52545	0.19779
8	5.559	PB	0.0347	1.29951	5.29169e-1	0.00044
9	5.925	PB	0.0337	1.35942	5.82665e-1	0.00046
10	12.830	PB	0.0327	7.29083e-1	2.86378e-1	0.00025

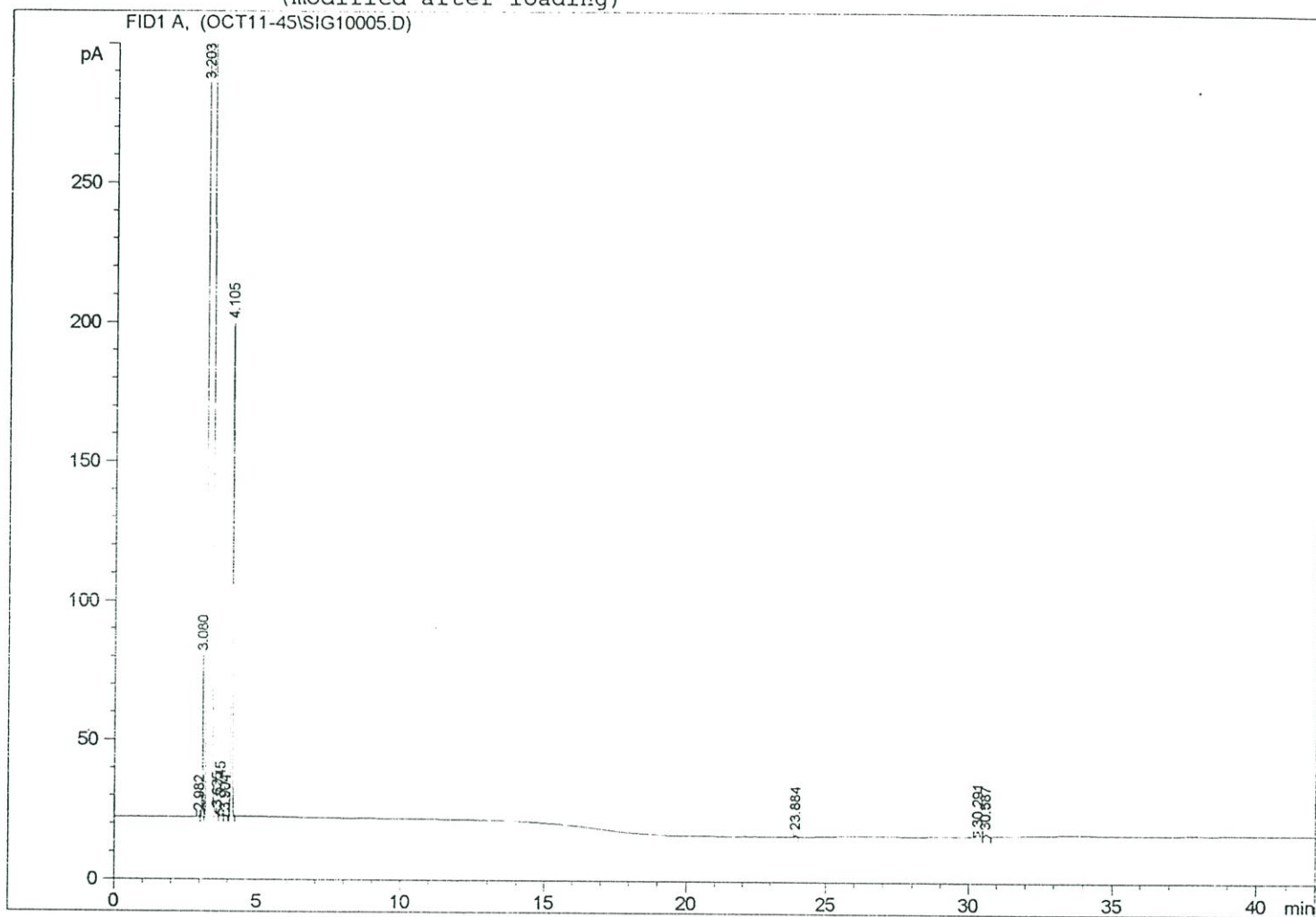
```

=====
Injection Date   : 10/11/02 9:28:27 PM          Seq. Line :    5
Sample Name     : A2-SUCROSE                   Location  : Vial 30
Acq. Operator   : CIF                          Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/11/02 5:47:51 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:54:04 PM by CIF
                (modified after loading)
=====

```

140



```

=====
Area Percent Report
=====

```

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000

```

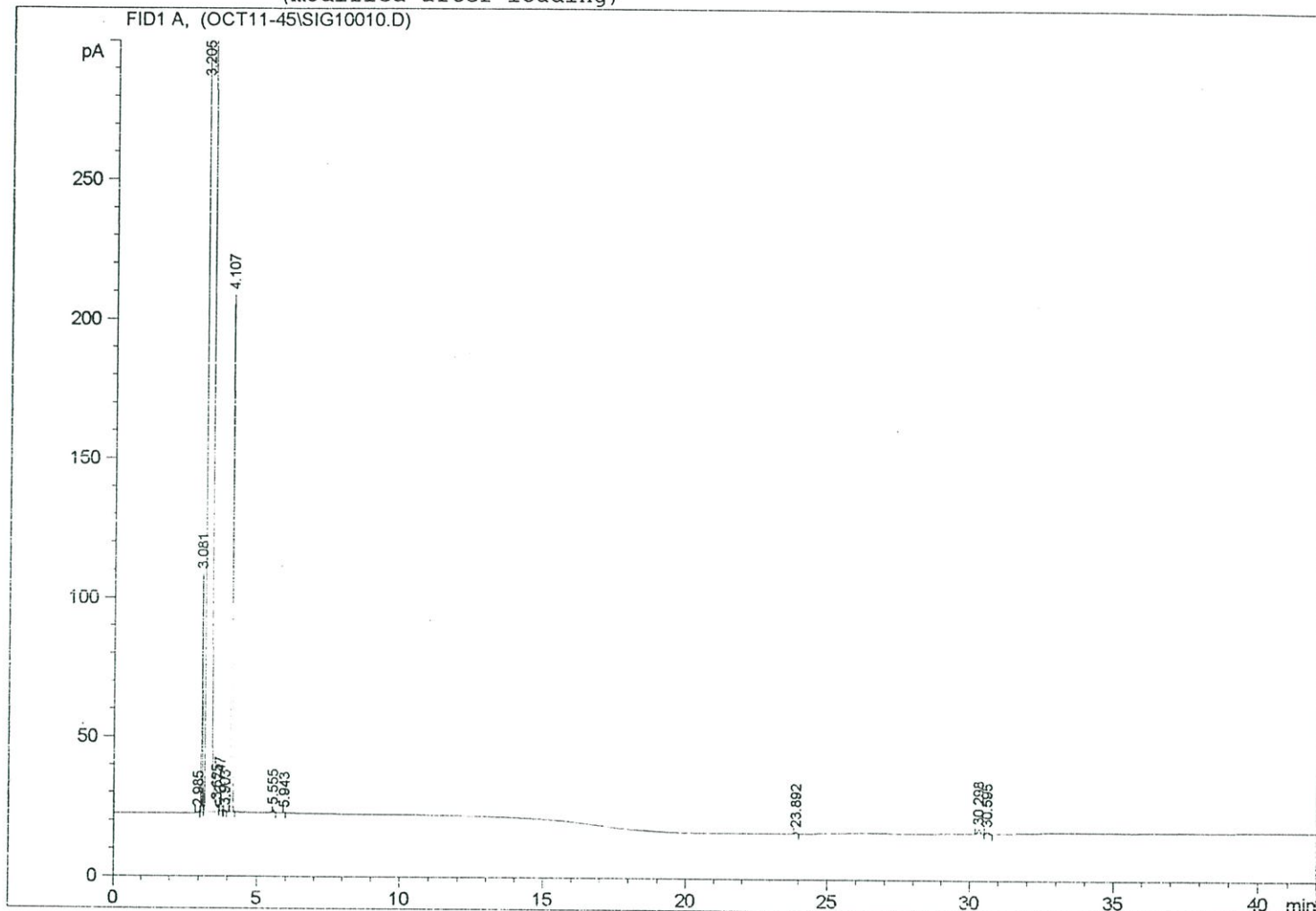
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.982	BP	0.0500	1.29750	3.64802e-1	0.00044
2	3.080	VV	0.0349	131.27635	57.90503	0.04494
3	3.203	VB S	0.0722	2.91347e5	4.94966e4	99.74401
4	3.625	BV X	0.0367	2.04937	8.94216e-1	0.00070
5	3.745	VV X	0.0560	16.77726	4.83883	0.00574
6	3.904	VB X	0.0409	1.19811	4.45863e-1	0.00041
7	4.105	BP	0.0521	570.62830	176.87155	0.19536
8	23.884	BB	0.0561	3.23385	7.76742e-1	0.00111
9	30.291	BB	0.0886	14.07613	2.08969	0.00482
10	30.587	BB	0.0935	7.18515	9.15971e-1	0.00246

```

=====
Injection Date   : 10/12/02 2:01:25 AM      Seq. Line :   10
Sample Name     : B2-SUCROSE                Location  : Vial 35
Acq. Operator   : CIF                      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/11/02 5:47:51 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:56:04 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

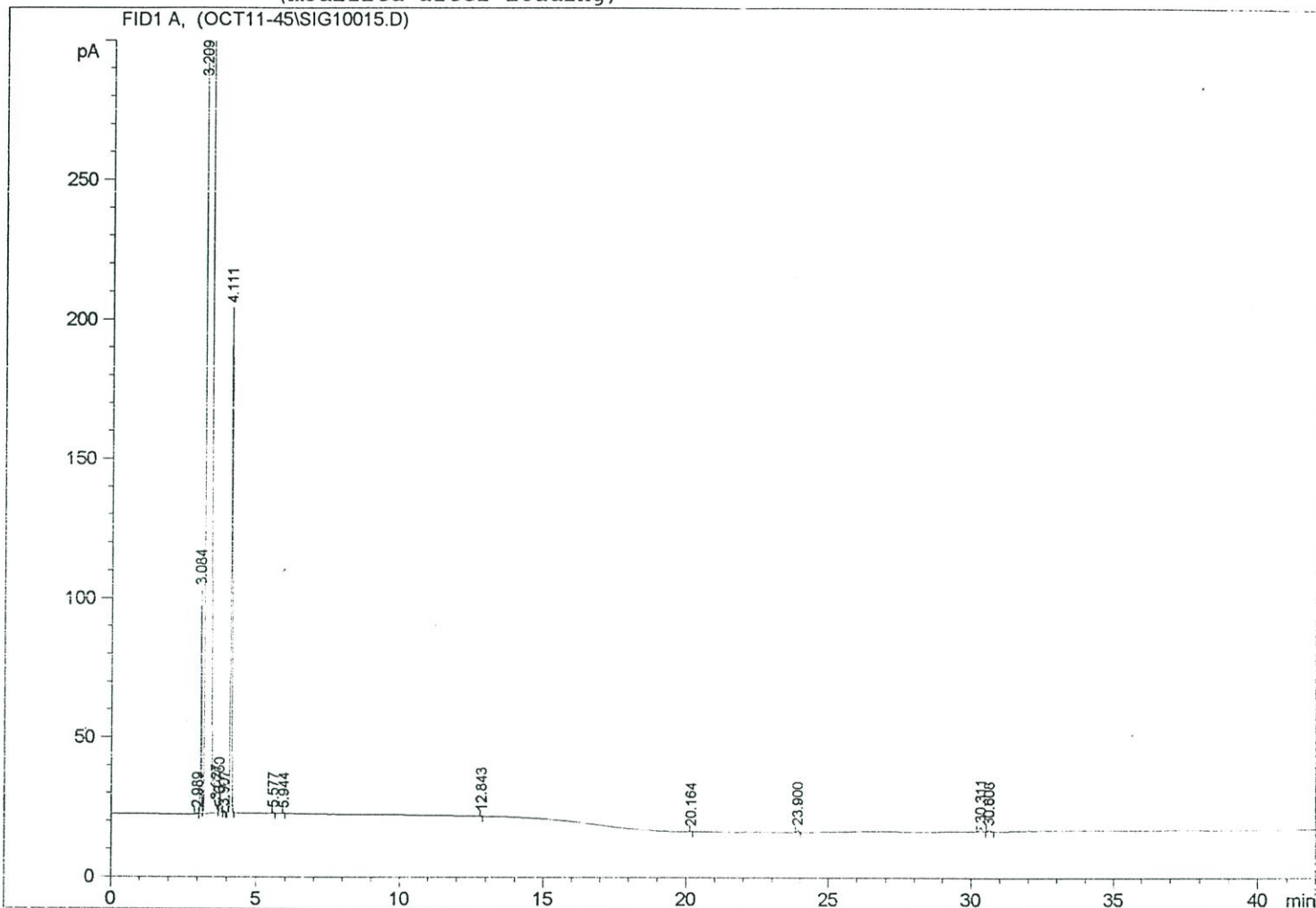
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.985	BP	0.0425	1.43638	4.41348e-1	0.00049
2	3.081	VV	0.0350	195.18851	85.82231	0.06703
3	3.205	VB S	0.0737	2.90347e5	4.93059e4	99.71161
4	3.625	BV X	0.0341	2.63786	1.22652	0.00091
5	3.747	VB X	0.0553	16.89346	4.89001	0.00580
6	3.903	BP	0.0346	1.09888	4.41106e-1	0.00038
7	4.107	BP	0.0520	597.59875	185.79158	0.20523
8	5.555	BB	0.0399	3.37137	1.29375	0.00116
9	5.943	PB	0.0276	3.94303e-1	1.83359e-1	0.00014
10	23.892	PB	0.0540	2.66225	6.53961e-1	0.00091

```

=====
Injection Date   : 10/12/02 6:34:43 AM      Seq. Line :   15
Sample Name     : C2-SUCROSE                Location  : Vial 40
Acq. Operator   : CIF                      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed    : 10/11/02 5:47:51 PM by CIF
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed    : 10/15/02 2:58:48 PM by CIF
                 (modified after loading)
    
```



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

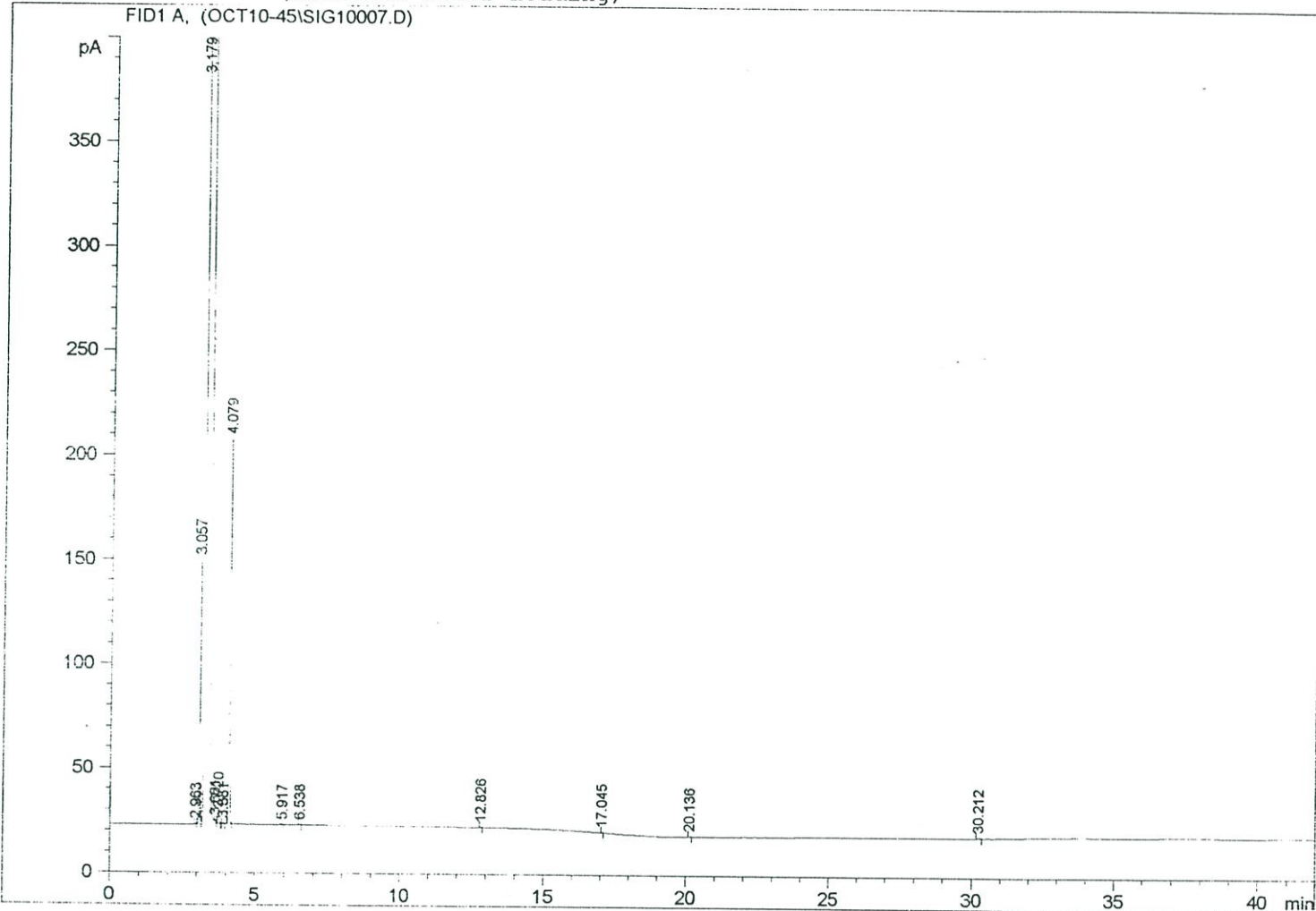
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.989	BV	0.0440	1.54762	4.88455e-1	0.00053
2	3.084	VV	0.0358	184.84210	80.40142	0.06340
3	3.209	VB S	0.0744	2.90740e5	4.89054e4	99.71840
4	3.627	BV X	0.0346	2.83414	1.26800	0.00097
5	3.750	VV X	0.0573	17.29046	4.94674	0.00593
6	3.907	VB X	0.0402	1.35933	5.07532e-1	0.00047
7	4.111	BB	0.0526	590.91858	181.13058	0.20267
8	5.577	PB	0.0371	9.28716e-1	3.72127e-1	0.00032
9	5.944	BB	0.0281	5.96964e-1	3.21897e-1	0.00020
10	12.843	PB	0.0307	4.19896e-1	1.73688e-1	0.00014

```

=====
Injection Date   : 10/10/02 10:10:06 PM      Seq. Line :    7
Sample Name     : Al-glucose                 Location  : Vial 7
Acq. Operator   : CIF                       Inj       :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:30:59 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: FID1 A,

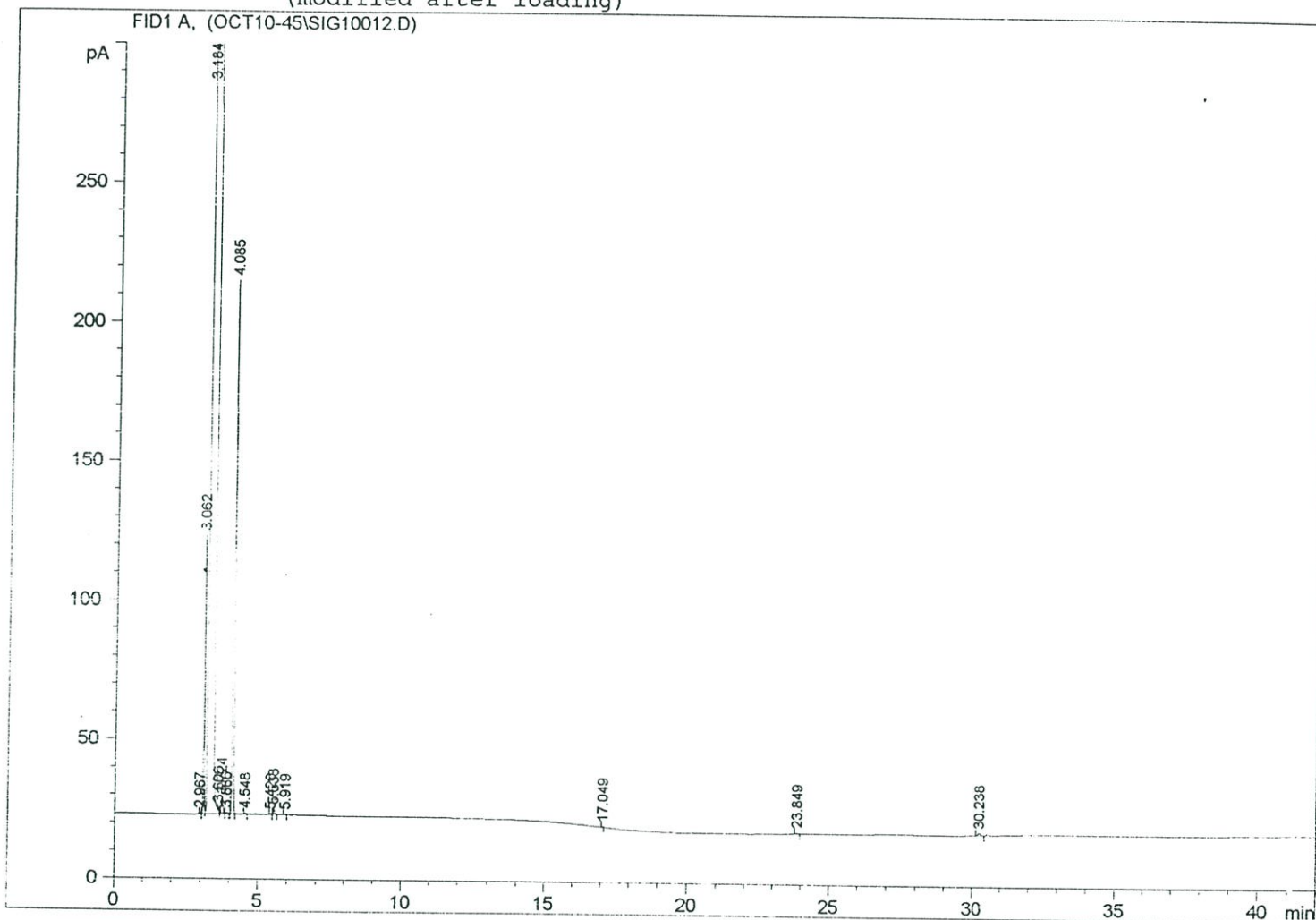
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.963	BP	0.0349	9.87381e-1	4.45602e-1	0.00033
2	3.057	VV	0.0344	282.10471	126.98580	0.09449
3	3.179	VB S	0.0742	2.97663e5	5.02032e4	99.69962
4	3.601	BV X	0.0337	2.13704	9.53071e-1	0.00072
5	3.720	VB X	0.0542	17.44644	5.12953	0.00584
6	3.881	BP	0.0404	1.20366	4.69303e-1	0.00040
7	4.079	BB	0.0511	587.38165	184.61212	0.19674
8	5.917	BB	0.0349	7.34154e-1	3.12112e-1	0.00025
9	6.538	BB	0.0347	5.01154e-1	2.19389e-1	0.00017
10	12.826	BB	0.0367	5.82057e-1	2.49698e-1	0.00019

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 2:43:44 AM           Seq. Line : 12
Sample Name     : B1-glucose                     Location  : Vial 12
Acq. Operator  : CIF                            Inj       : 1
                                                    Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:35:07 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```

144



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: FID1 A,

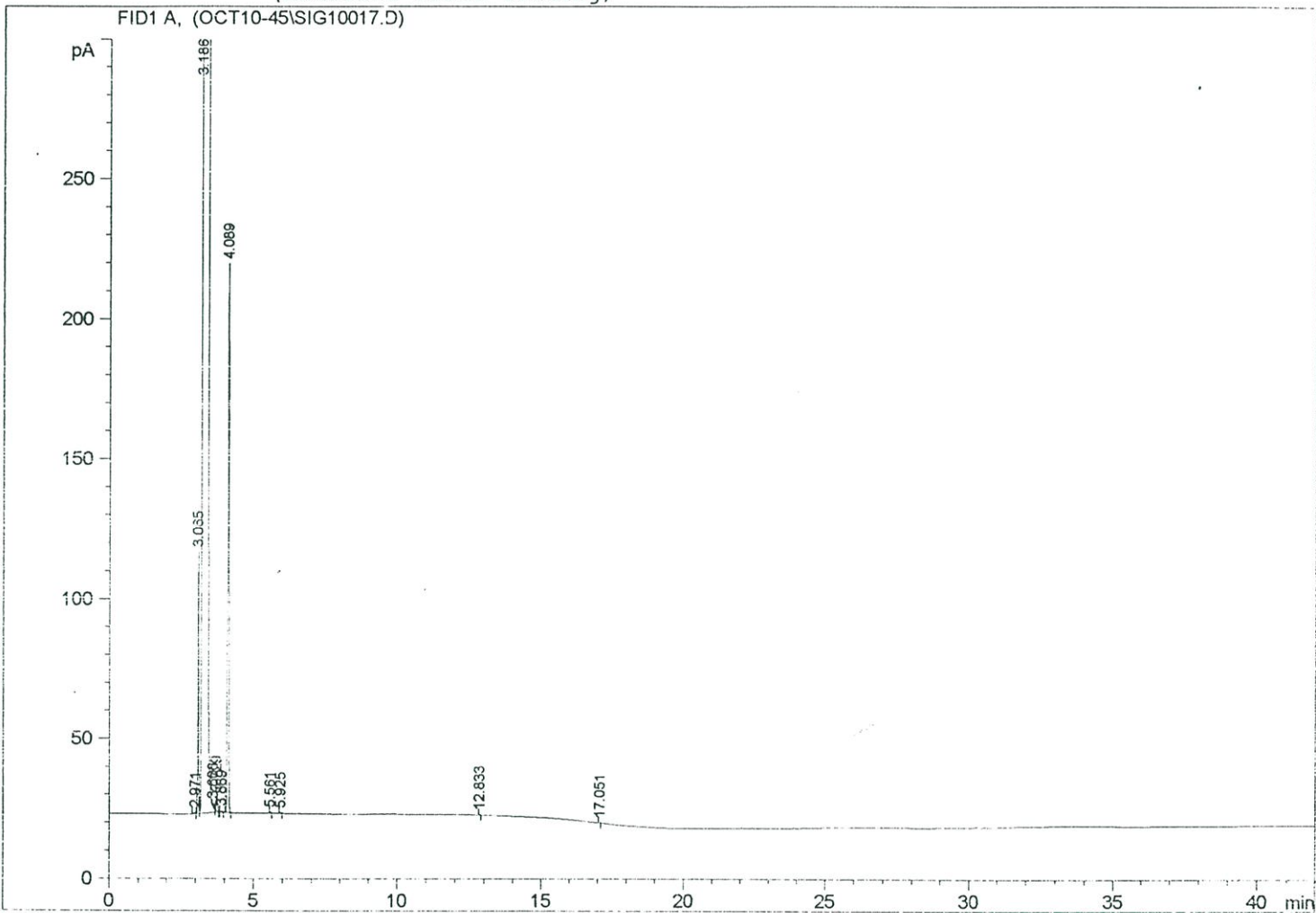
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.967	BP	0.0344	1.08199	4.87196e-1	0.00036
2	3.062	VV	0.0348	225.60359	100.18469	0.07584
3	3.184	VB S	0.0738	2.96579e5	4.99097e4	99.70480
4	3.606	BV X	0.0351	3.01316	1.34577	0.00101
5	3.724	VV X	0.0553	17.70207	5.18322	0.00595
6	3.886	VB X	0.0398	1.33220	4.81088e-1	0.00045
7	4.085	BP	0.0514	613.31708	191.54550	0.20619
8	4.548	PP	0.0388	9.18678e-1	3.59059e-1	0.00031
9	5.426	PB	0.0318	6.77293e-1	3.06661e-1	0.00023
10	5.533	PB	0.0411	5.41595	2.00056	0.00182

145

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 7:17:28 AM      Seq. Line : 17
Sample Name     : C1-glucose                Location  : Vial 17
Acq. Operator  : CIF                       Inj      : 1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:37:13 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```



Area Percent Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: FID1 A,

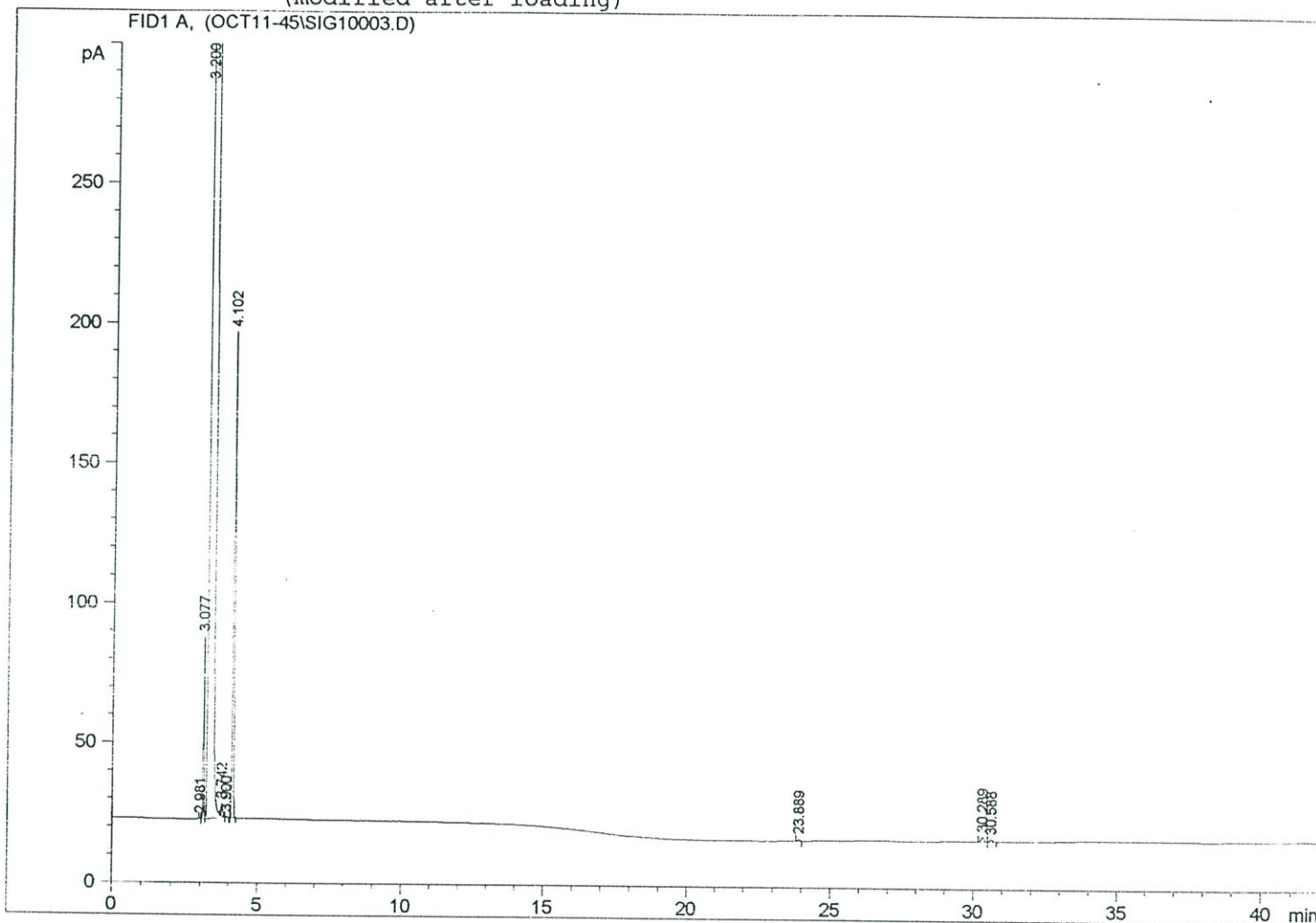
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.971	BP	0.0452	1.63990	5.14494e-1	0.00053
2	3.065	VV	0.0346	209.28040	93.69398	0.06818
3	3.186	VB S	0.0739	3.06079e5	5.06942e4	99.71761
4	3.608	BV X	0.0335	2.98259	1.39041	0.00097
5	3.729	VB X	0.0555	17.89367	5.28583	0.00583
6	3.889	BB	0.0401	1.27967	5.04845e-1	0.00042
7	4.089	BB	0.0520	630.97089	196.22299	0.20556
8	5.561	BB	0.0381	1.05713	4.03263e-1	0.00034
9	5.925	BB	0.0366	8.56811e-1	3.69061e-1	0.00028
10	12.833	PB	0.0268	4.19124e-1	1.97129e-1	0.00014

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 7:39:19 PM           Seq. Line :    3
Sample Name     : A2-GLUCOSE                     Location  : Vial 28
Acq. Operator  : CIF                             Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/11/02 5:47:51 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:53:17 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```

146



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.981	BP	0.0300	7.12735e-1	3.13447e-1	0.00024
2	3.077	VV	0.0348	147.19165	65.36079	0.05002
3	3.200	VB S	0.0727	2.93503e5	4.94629e4	99.74605
4	3.742	BV X	0.0550	16.28744	4.69662	0.00554
5	3.900	VB X	0.0344	1.26666	4.62798e-1	0.00043
6	4.102	BB	0.0521	558.95288	173.65753	0.18996
7	23.889	BP	0.0575	2.98841	7.34602e-1	0.00102
8	30.289	BB	0.0847	13.23081	1.89982	0.00450
9	30.588	BB	0.0960	6.61159	8.52482e-1	0.00225

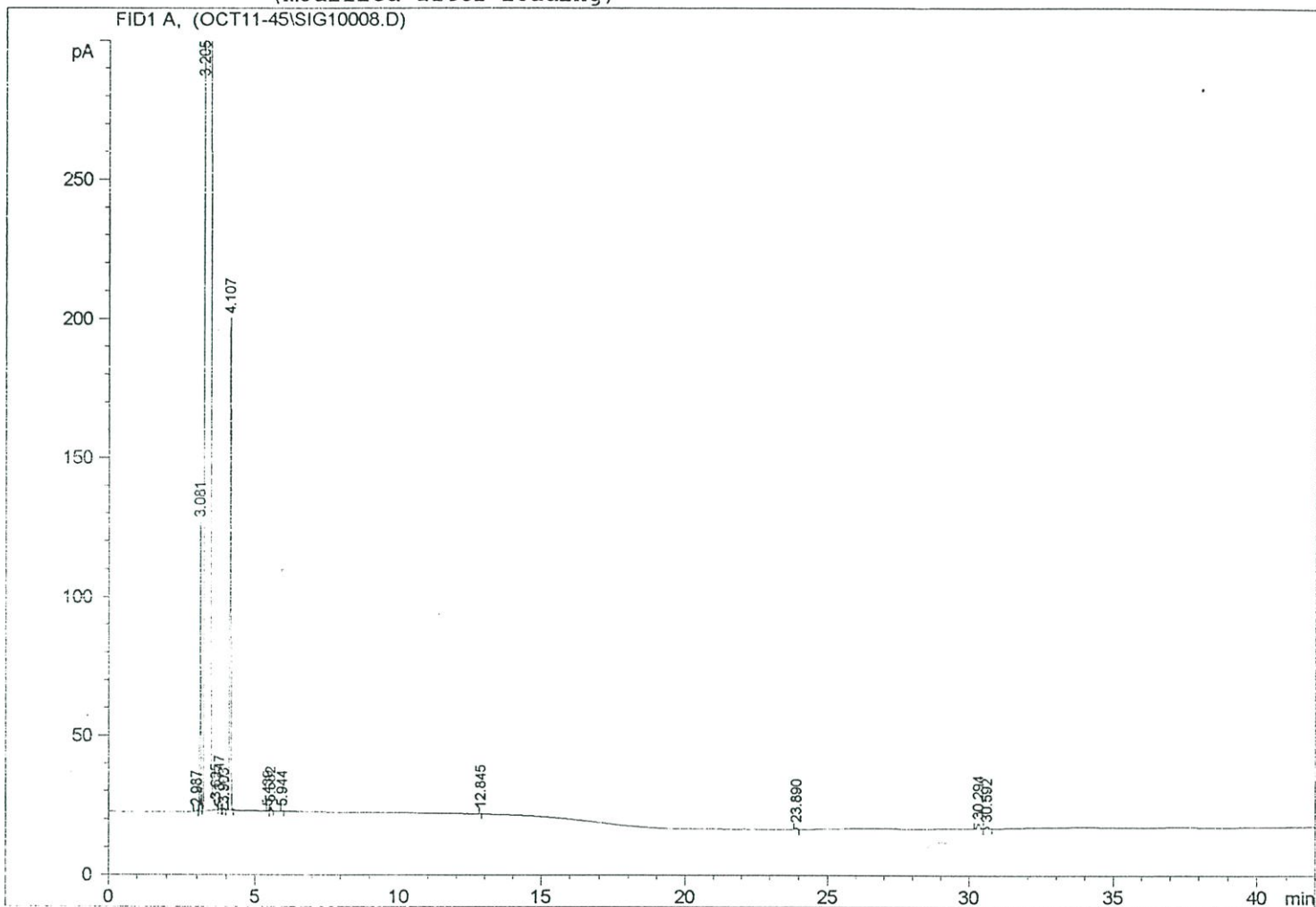
147

```

=====
Injection Date   : 10/12/02 12:12:09 AM      Seq. Line :    8
Sample Name     : B2-GLUCOSE                 Location  : Vial 33
Acq. Operator   : CIF                       Inj       :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/11/02 5:47:51 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:55:20 PM by CIF
                (modified after loading)
=====

```



```

=====
                          Area Percent Report
=====

```

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000

```

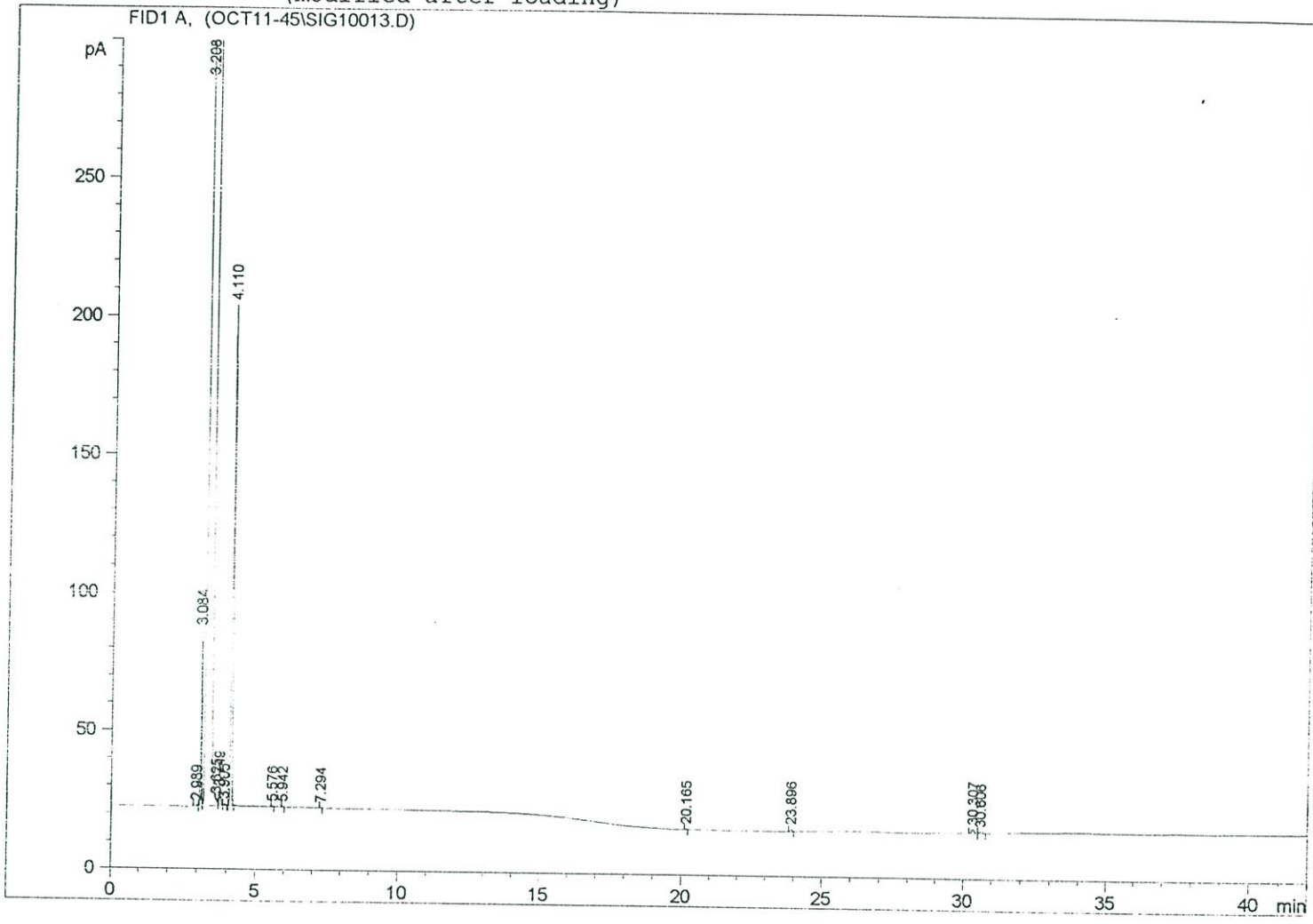
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.987	BP	0.0481	1.34614	4.06409e-1	0.00046
2	3.081	VV	0.0349	235.33679	104.14658	0.08103
3	3.205	VB S	0.0728	2.89582e5	4.91385e4	99.70688
4	3.625	BV X	0.0350	1.79901	8.06998e-1	0.00062
5	3.747	VB X	0.0544	16.32684	4.77940	0.00562
6	3.903	BB	0.0376	1.04837	4.13043e-1	0.00036
7	4.107	BB	0.0514	566.52856	176.87856	0.19506
8	5.439	PB	0.0360	6.31681e-1	2.63535e-1	0.00022
9	5.552	BB	0.0401	4.17922	1.56851	0.00144
10	5.944	BB	0.0367	4.63702e-1	1.95187e-1	0.00016

```

=====
Injection Date   : 10/12/02 4:45:27 AM           Seq. Line : 13           148
Sample Name     : C2-GLUCOSE                     Location  : Vial 38
Acq. Operator   : CIF                            Inj       : 1
                                                    Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/11/02 5:47:51 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:58:04 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: FID1 A,

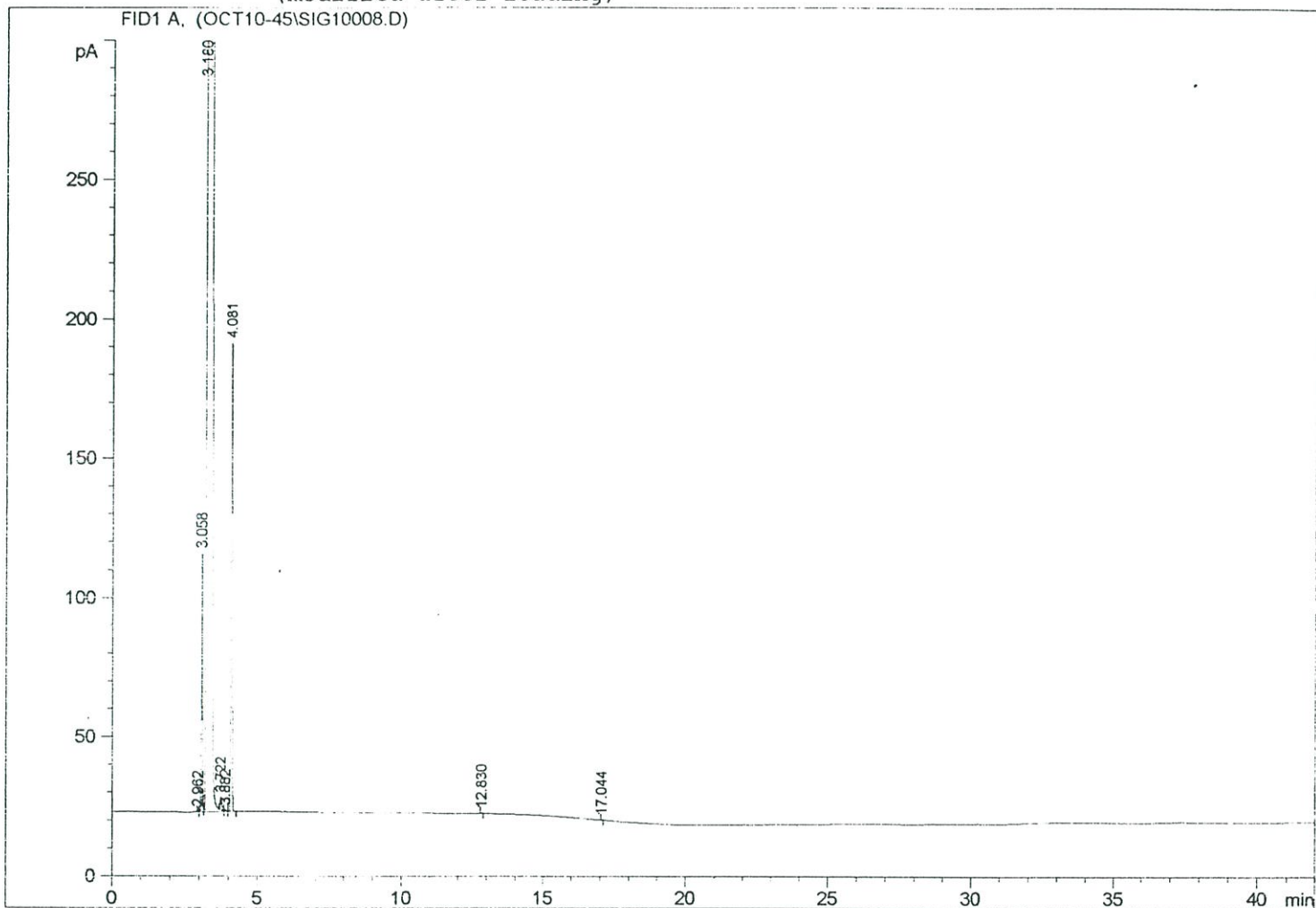
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.989	BV	0.0480	1.75793	5.06763e-1	0.00060
2	3.084	VV	0.0352	145.93503	63.79821	0.05003
3	3.208	VB S	0.0725	2.90939e5	4.91980e4	99.73375
4	3.625	BV X	0.0339	1.82589	8.23881e-1	0.00063
5	3.749	VV X	0.0543	16.95869	4.85329	0.00581
6	3.905	VB X	0.0367	1.22263	4.57379e-1	0.00042
7	4.110	BP	0.0524	587.84290	181.06627	0.20151
8	5.576	PB	0.0334	7.90886e-1	3.18844e-1	0.00027
9	5.942	BB	0.0279	5.61732e-1	2.68428e-1	0.00019
10	7.294	BP	0.0330	6.78444e-1	2.59696e-1	0.00023

149

```

Injection Date : 10/10/02 11:04:45 PM      Seq. Line : 8
Sample Name    : Al-fructose                Location  : Vial 8
Acq. Operator  : CIF                       Inj      : 1
                                                Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:32:16 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
    
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.962	BP	0.0322	5.21728e-1	2.24103e-1	0.00018
2	3.058	VV	0.0345	207.85297	93.11115	0.06988
3	3.180	VB S	0.0721	2.96684e5	5.04817e4	99.74350
4	3.722	BV X	0.0553	15.84085	4.64032	0.00533
5	3.882	VV X	0.0376	9.71451e-1	3.70063e-1	0.00033
6	4.081	VB X	0.0518	536.91260	168.03700	0.18051
7	12.830	PB	0.0298	3.95510e-1	1.75325e-1	0.00013
8	17.044	BB	0.0332	4.64381e-1	2.10774e-1	0.00016

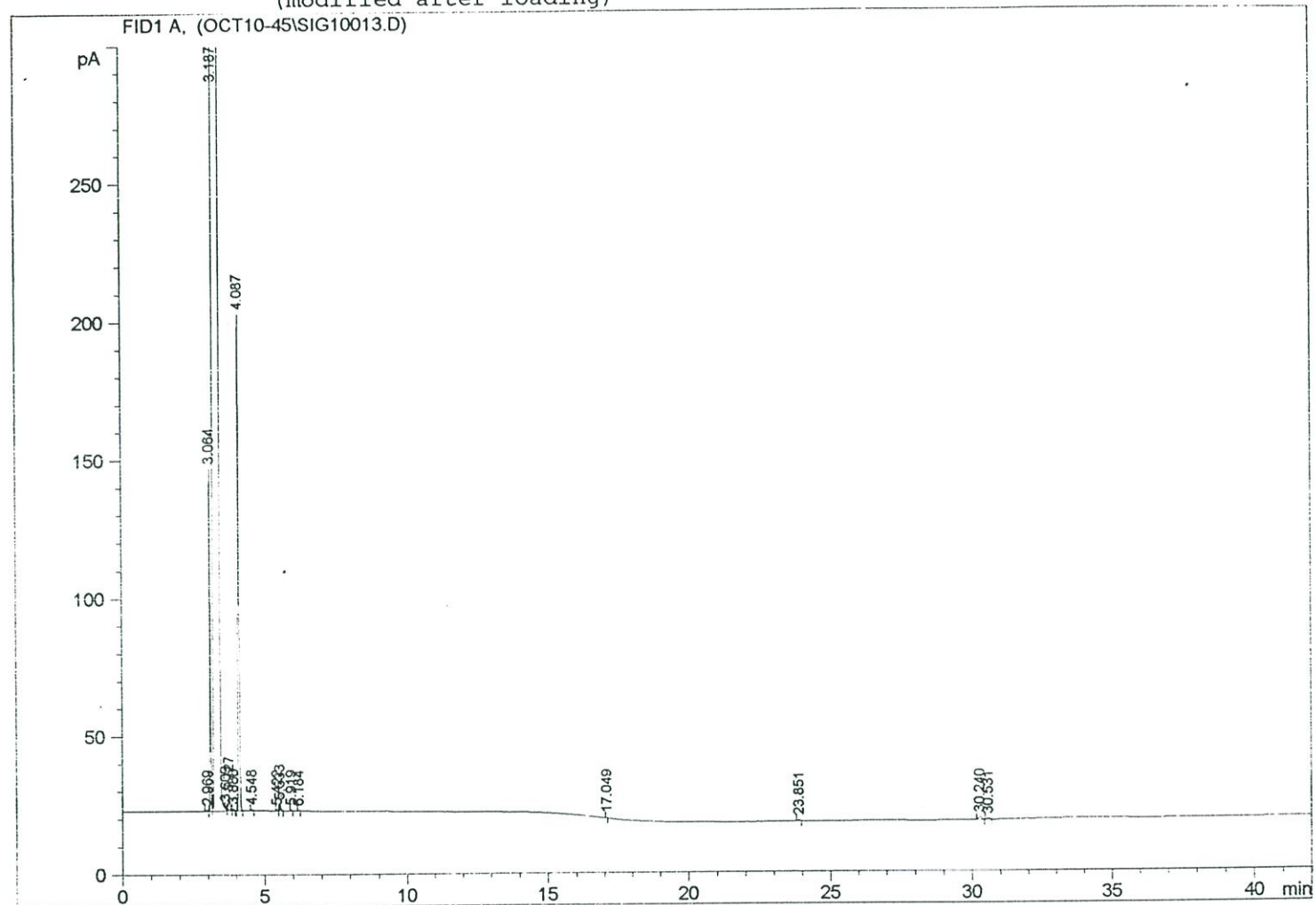
Totals : 2.97447e5 5.07485e4

```

=====
Injection Date : 10/11/02 3:38:30 AM      Seq. Line : 13
Sample Name    : B1-fructose              Location  : Vial 13
Acq. Operator  : CIF                      Inj      : 1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method   : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed  : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed  : 10/15/02 2:35:19 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```

150



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

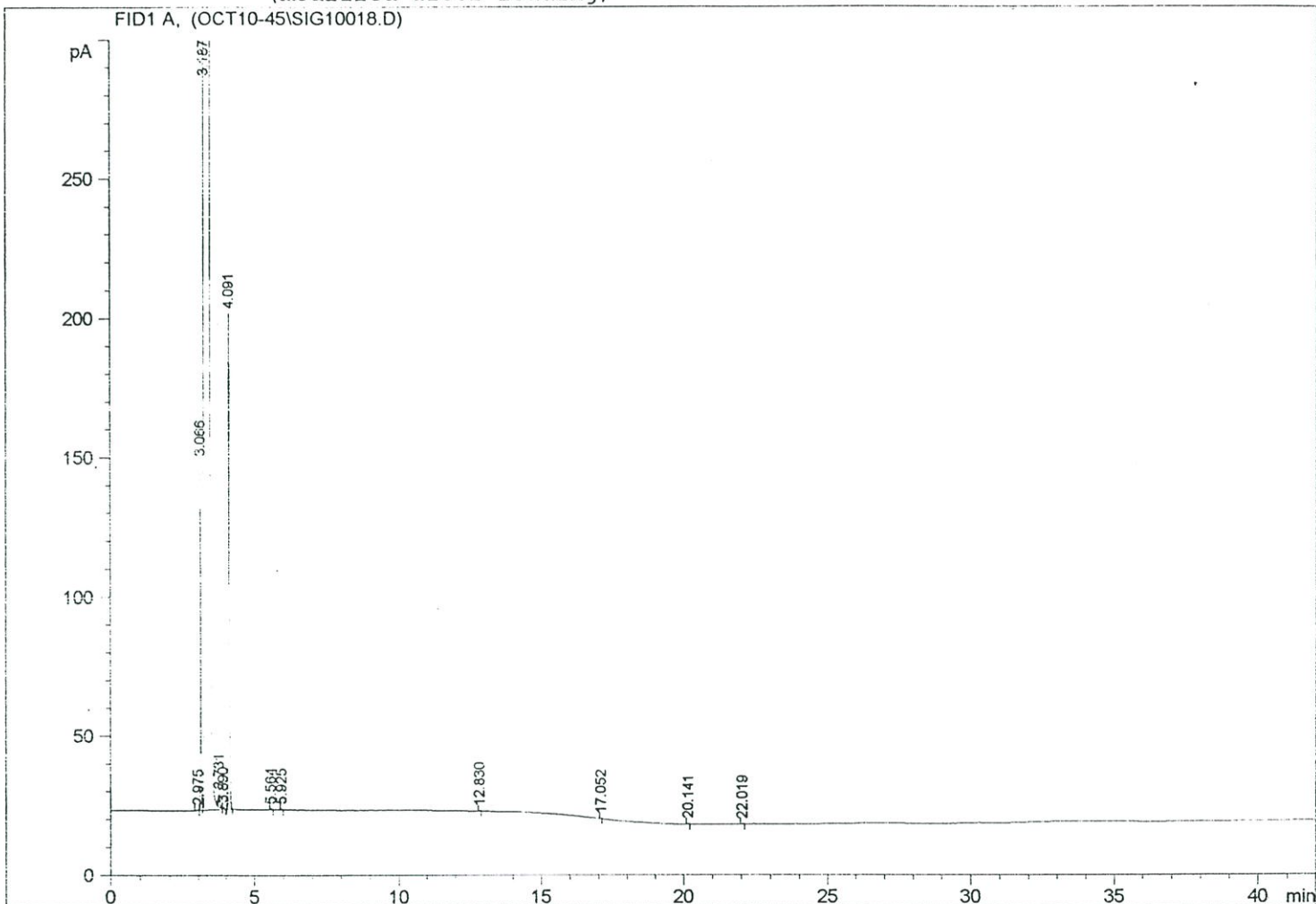
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.969	BV	0.0461	1.54586	4.61709e-1	0.00053
2	3.064	VV	0.0357	284.02893	123.96587	0.09661
3	3.187	VB S	0.0731	2.93096e5	4.94919e4	99.69062
4	3.609	BV X	0.0375	2.15707	9.31385e-1	0.00073
5	3.727	VV X	0.0569	17.48365	4.99282	0.00595
6	3.888	VB X	0.0425	1.25037	4.49408e-1	0.00043
7	4.087	BP	0.0522	580.89050	179.57915	0.19758
8	4.548	PB	0.0371	1.14606	4.36262e-1	0.00039
9	5.422	BB	0.0340	8.81933e-1	3.96013e-1	0.00030
10	5.533	PB	0.0396	6.12225	2.29640	0.00208

```

Injection Date : 10/11/02 8:12:19 AM      Seq. Line : 18
Sample Name    : C1-fructose                Location  : Vial 18
Acq. Operator  : CIF                       Inj      : 1
                                                Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:37:33 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: FID1 A,

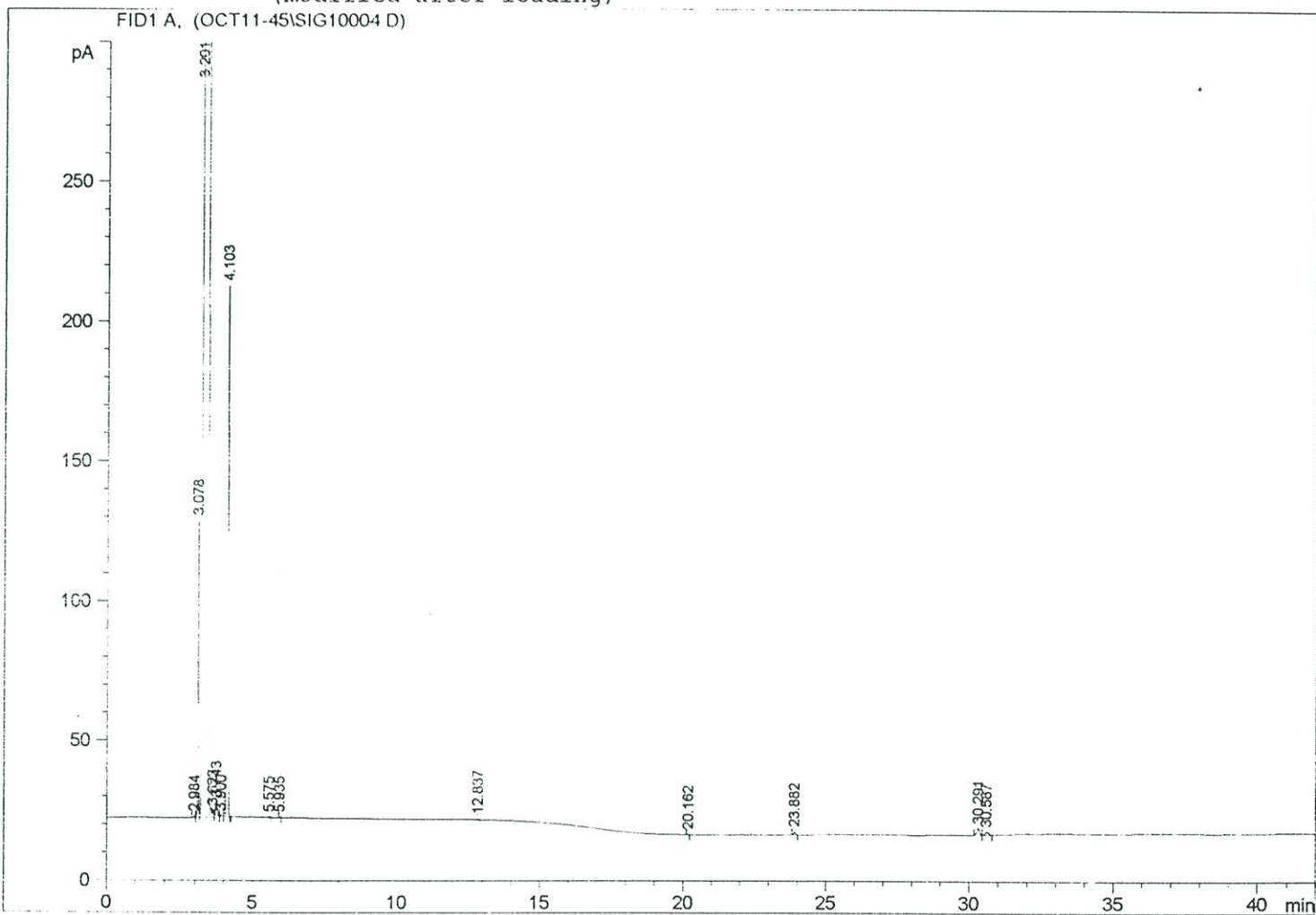
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.975	BP	0.0534	1.37789	3.53876e-1	0.00044
2	3.066	VV	0.0345	279.40863	125.61717	0.09022
3	3.187	VB S	0.0744	3.08832e5	5.08452e4	99.71754
4	3.731	BV X	0.0542	16.55135	4.86340	0.00534
5	3.890	VB X	0.0369	1.02620	4.21156e-1	0.00033
6	4.091	BB	0.0515	571.66962	177.90280	0.18458
7	5.564	BB	0.0391	1.11318	4.11362e-1	0.00036
8	5.925	PB	0.0318	9.83627e-1	4.63186e-1	0.00032
9	12.830	PP	0.0330	4.87776e-1	2.14546e-1	0.00016
10	17.052	PP	0.0295	4.23623e-1	1.83030e-1	0.00014

152

```

Injection Date : 10/11/02 8:33:50 PM      Seq. Line : 4
Sample Name    : A2-FRUCTOSE                Location  : Vial 29
Acq. Operator  : CIF                       Inj      : 1
                                                Inj Volume: 1 µl

Acq. Method   : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed  : 10/11/02 5:47:51 PM by CIF
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed  : 10/15/02 2:53:33 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: FID1 A,

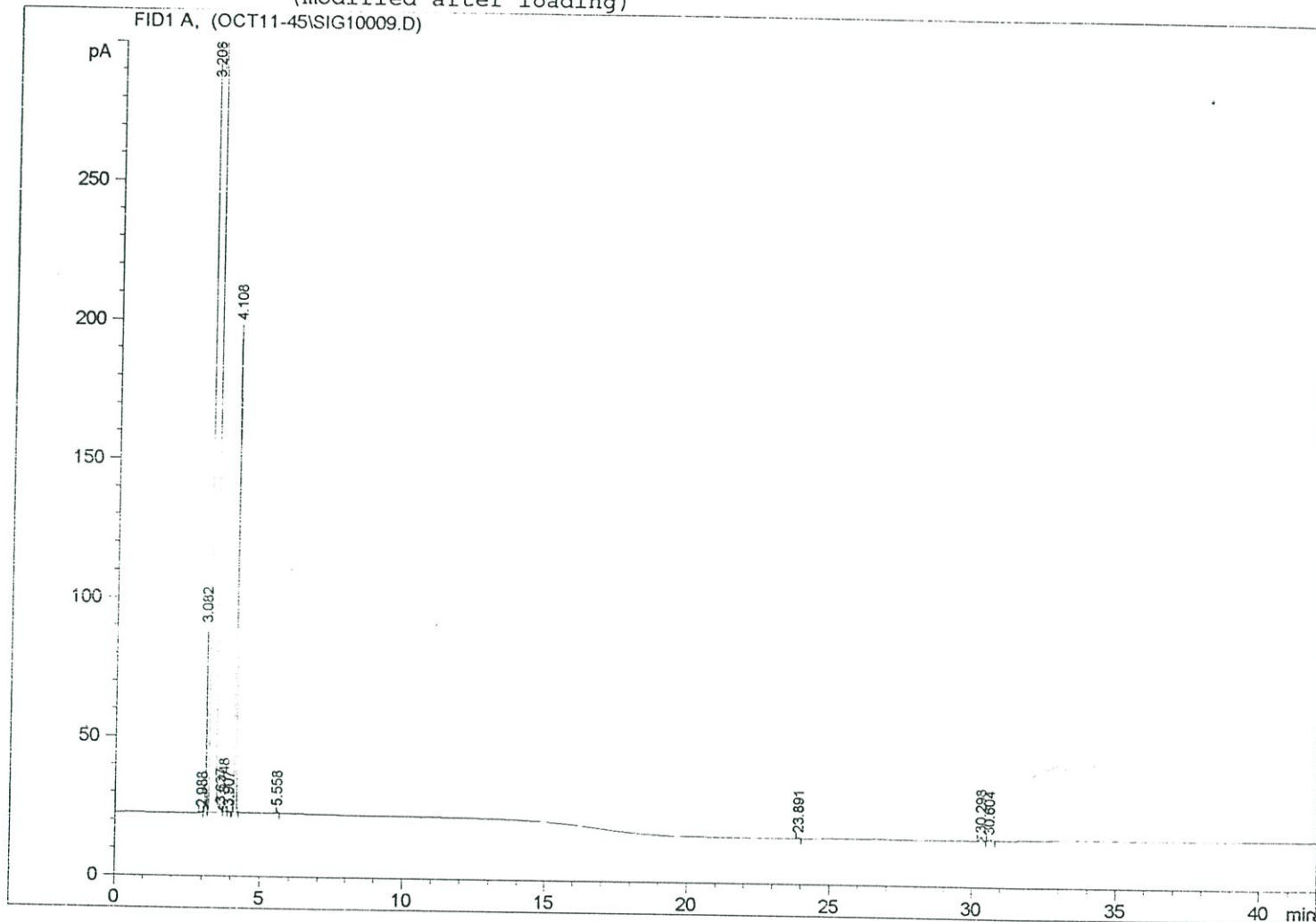
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.984	BV	0.0448	1.84920	5.85703e-1	0.00063
2	3.078	VV	0.0349	241.03197	106.55448	0.08234
3	3.201	VB S	0.0724	2.91824e5	4.94128e4	99.68944
4	3.623	BV X	0.0362	3.71983	1.59557	0.00127
5	3.743	VV X	0.0555	17.71866	5.10080	0.00605
6	3.900	VV X	0.0354	1.34470	4.92530e-1	0.00046
7	4.103	VB X	0.0519	609.56799	189.92564	0.20823
8	5.575	PB	0.0318	7.50000e-1	3.04243e-1	0.00026
9	5.935	BB	0.0287	8.46686e-1	3.92731e-1	0.00029
10	12.837	BB	0.0315	5.31426e-1	2.38605e-1	0.00018

```

=====
Injection Date   : 10/12/02 1:06:49 AM      Seq. Line :    9
Sample Name     : B2-FRUCTOSE              Location  : Vial 34
Acq. Operator   : CIF                      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/11/02 5:47:51 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:55:43 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```

153



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
    
```

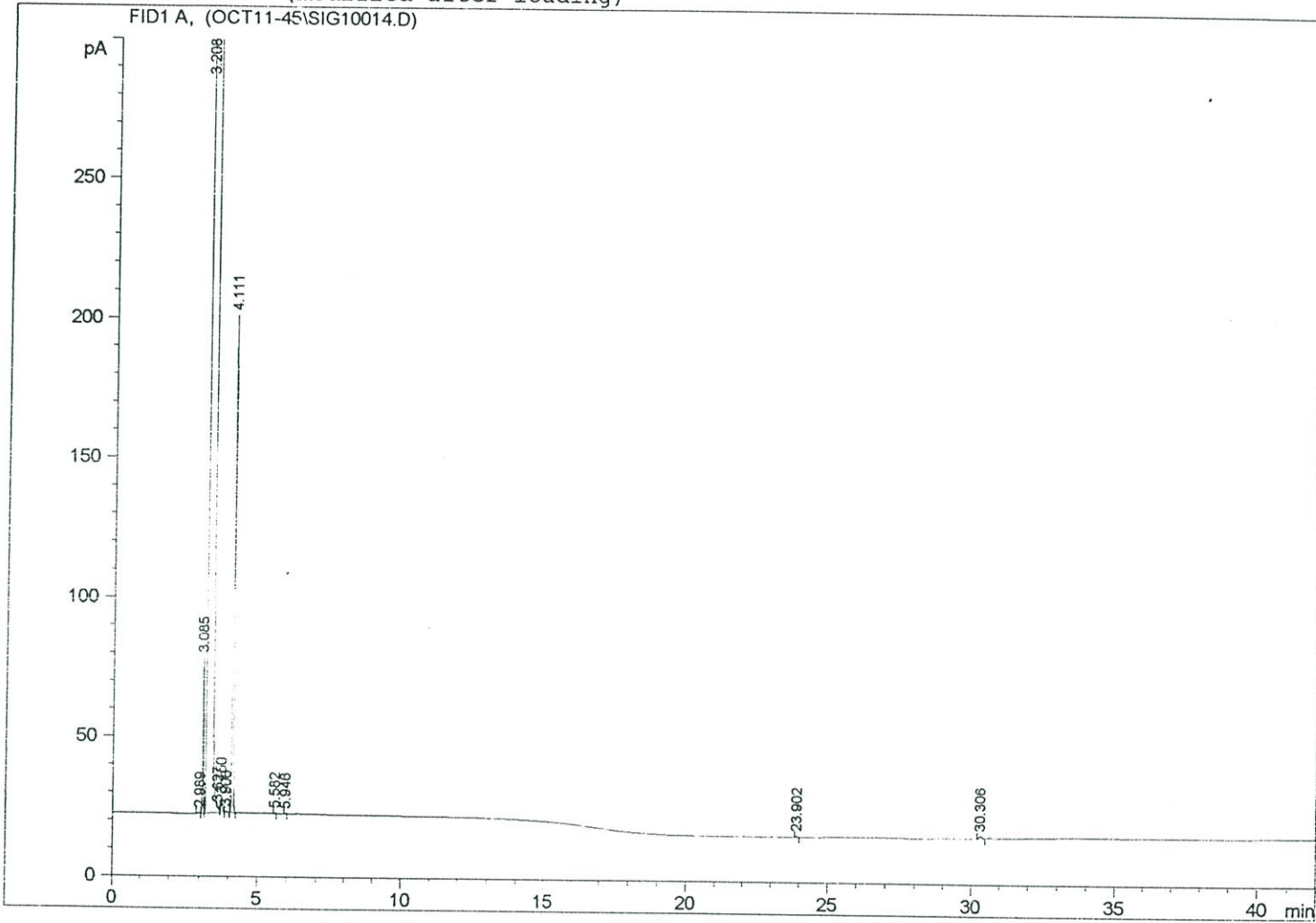
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.988	BV	0.0543	1.54349	3.76331e-1	0.00053
2	3.082	VV	0.0350	151.47118	66.63985	0.05189
3	3.206	VB S	0.0727	2.91172e5	4.90749e4	99.74012
4	3.627	BV X	0.0348	1.57532	6.86770e-1	0.00054
5	3.748	VV X	0.0562	16.46572	4.72433	0.00564
6	3.907	VB X	0.0407	1.19009	4.37532e-1	0.00041
7	4.108	BP	0.0517	566.38458	175.45706	0.19401
8	5.558	BB	0.0406	2.88648	1.10080	0.00099
9	23.891	BP	0.0525	2.31524	5.35335e-1	0.00079
10	30.298	BP	0.0837	9.85787	1.43476	0.00338

```

=====
Injection Date   : 10/12/02 5:40:02 AM      Seq. Line : 14
Sample Name     : C2-FRUCTOSE                Location  : Vial 39
Acq. Operator   : CIF                       Inj       : 1
                                           Inj Volume: 1 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/11/02 5:47:51 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:58:27 PM by CIF
                (modified after loading)
=====
    
```

154



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

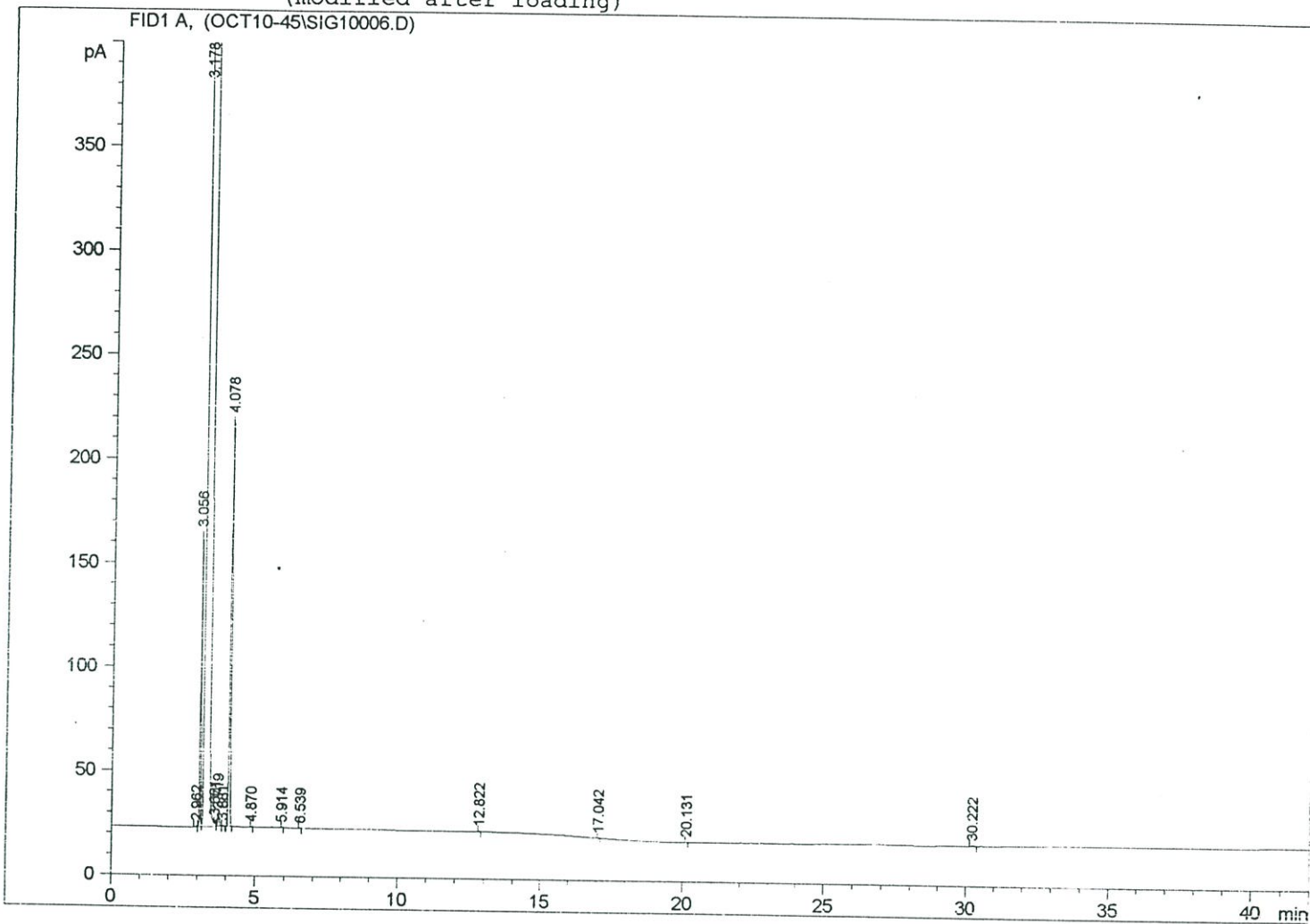
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.989	BV	0.0430	1.24933	3.64242e-1	0.00043
2	3.085	VV	0.0353	128.56564	55.93139	0.04400
3	3.208	VB S	0.0726	2.91457e5	4.92088e4	99.74681
4	3.627	BV X	0.0343	1.20932	5.86855e-1	0.00041
5	3.750	VV X	0.0564	16.83794	4.80478	0.00576
6	3.908	VB X	0.0433	1.32544	4.64486e-1	0.00045
7	4.111	BB	0.0531	581.08966	178.00220	0.19887
8	5.582	PB	0.0365	6.07274e-1	2.28775e-1	0.00021
9	5.946	PB	0.0330	4.64312e-1	2.04186e-1	0.00016
10	23.902	BB	0.0484	1.88935	4.80172e-1	0.00065

```

=====
Injection Date   : 10/10/02 9:15:16 PM           Seq. Line :    6           155
Sample Name     : Al-maltose                     Location  : Vial 6
Acq. Operator   : CIF                           Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:30:39 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
    
```

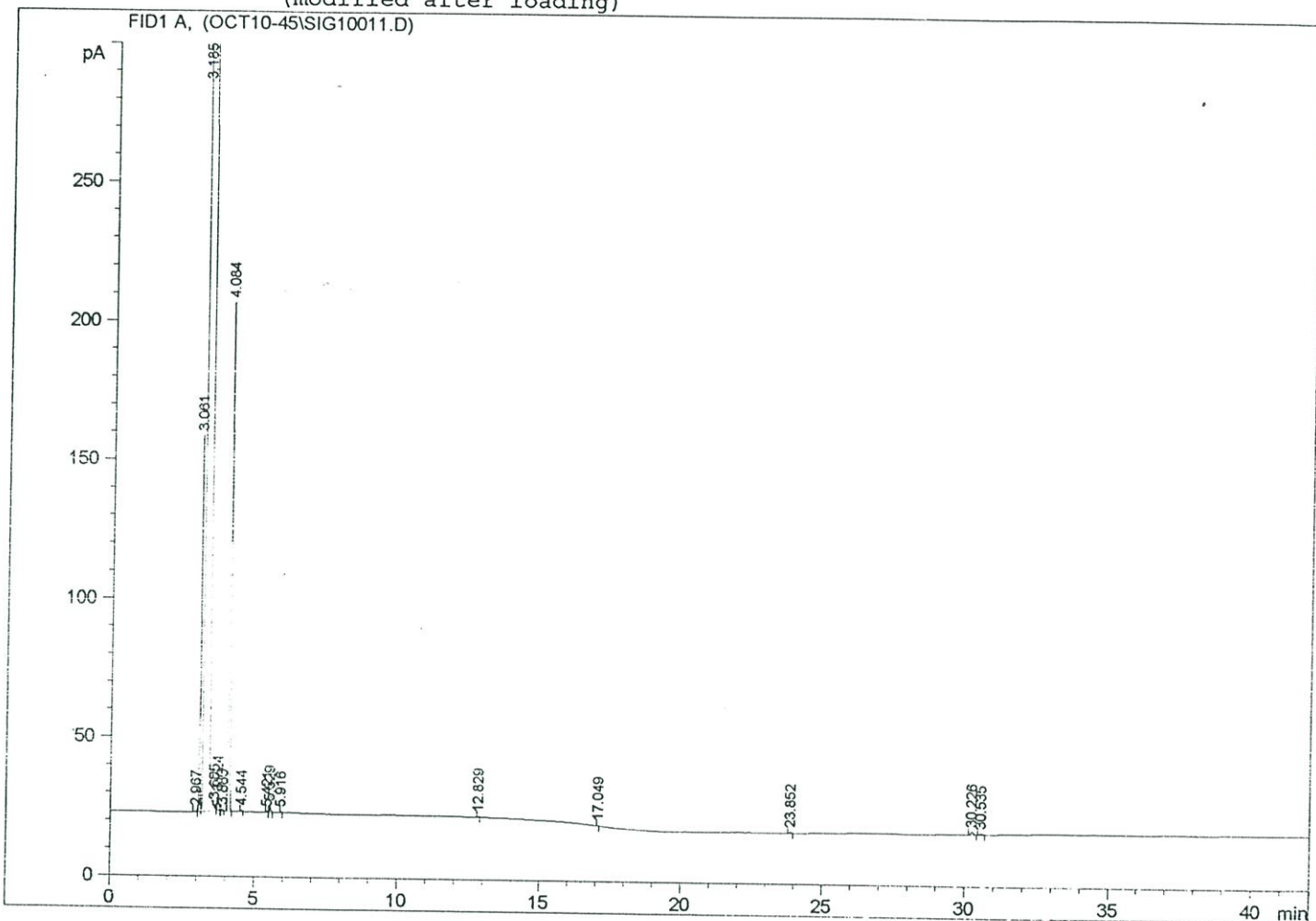
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.962	BV	0.0399	2.19215	8.02134e-1	0.00073
2	3.056	VV	0.0347	319.36340	141.97183	0.10660
3	3.178	VB S	0.0752	2.98603e5	5.06933e4	99.67035
4	3.601	BV X	0.0354	3.81130	1.68361	0.00127
5	3.719	VV X	0.0561	19.75631	5.68185	0.00659
6	3.881	VB X	0.0416	1.65976	5.59918e-1	0.00055
7	4.078	BP	0.0516	633.67657	196.72903	0.21151
8	4.870	PB	0.0317	7.16857e-1	3.07670e-1	0.00024
9	5.914	BB	0.0315	8.09719e-1	3.78421e-1	0.00027
10	6.539	BP	0.0309	4.54120e-1	1.93109e-1	0.00015

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 1:49:04 AM           Seq. Line :   11           156
Sample Name     : B1-maltose                     Location  : Vial 11
Acq. Operator   : CIF                           Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 1 µl

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed    : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed    : 10/15/02 2:34:41 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: FID1 A,

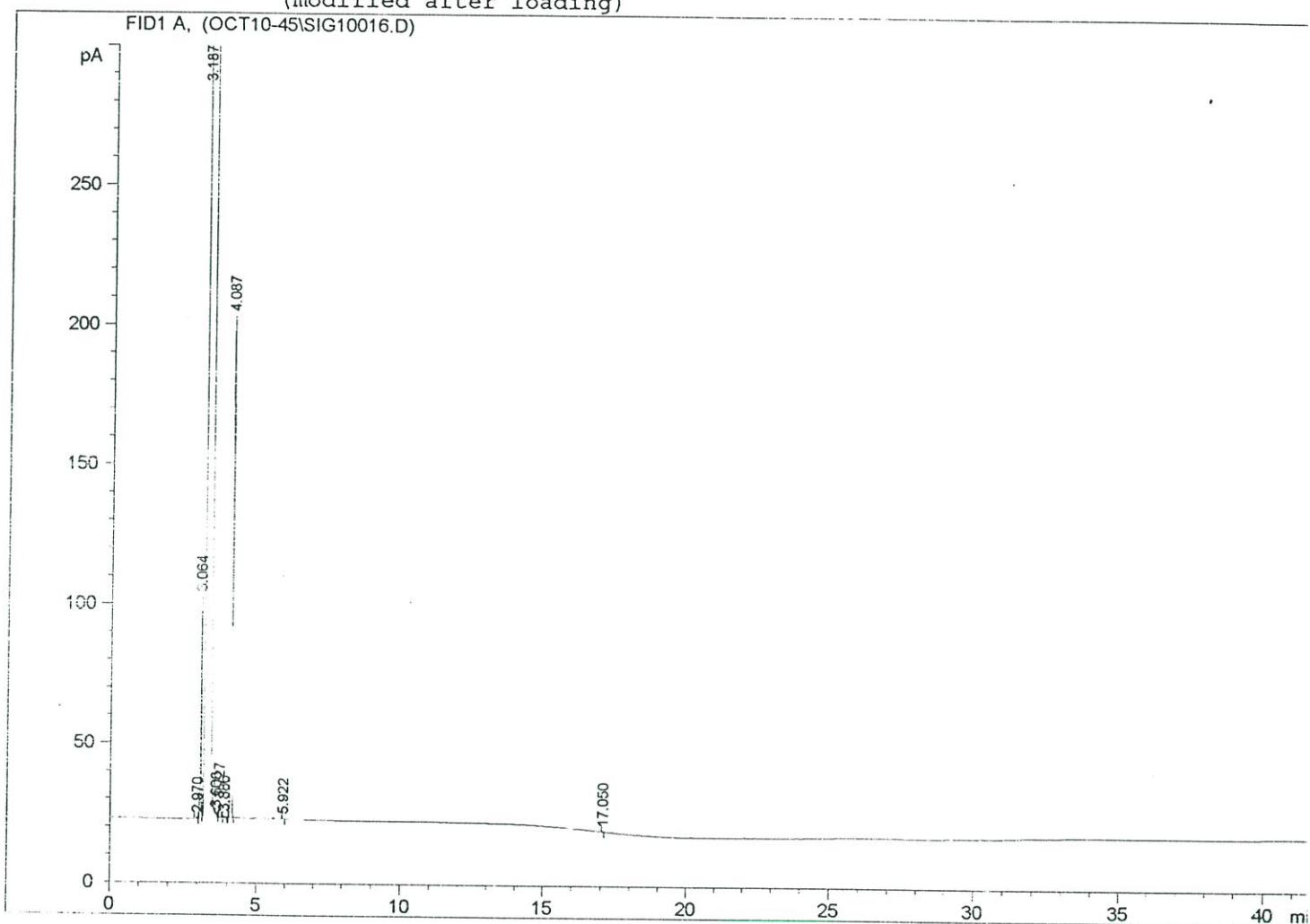
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.967	BV	0.0449	1.53184	4.71091e-1	0.00052
2	3.061	VV	0.0350	308.60336	135.68974	0.10420
3	3.185	VB S	0.0742	2.95212e5	4.97522e4	99.67991
4	3.605	BV X	0.0357	2.68802	1.19890	0.00091
5	3.724	VB X	0.0560	17.54224	5.11830	0.00592
6	3.883	BB	0.0389	1.18019	4.75658e-1	0.00040
7	4.084	BB	0.0522	593.36932	183.39175	0.20035
8	4.544	PB	0.0393	1.19959	4.77941e-1	0.00041
9	5.421	PB	0.0330	8.90129e-1	3.91935e-1	0.00030
10	5.529	BB	0.0390	6.42196	2.37915	0.00217

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 6:22:36 AM           Seq. Line : 16           157
Sample Name     : C1-maltose                     Location  : Vial 16
Acq. Operator   : CIF                           Inj       : 1
                                                    Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/10/02 4:36:47 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:36:55 PM by CIF
                (modified after loading)
=====

```



```

=====
Area Percent Report
=====

```

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000

```

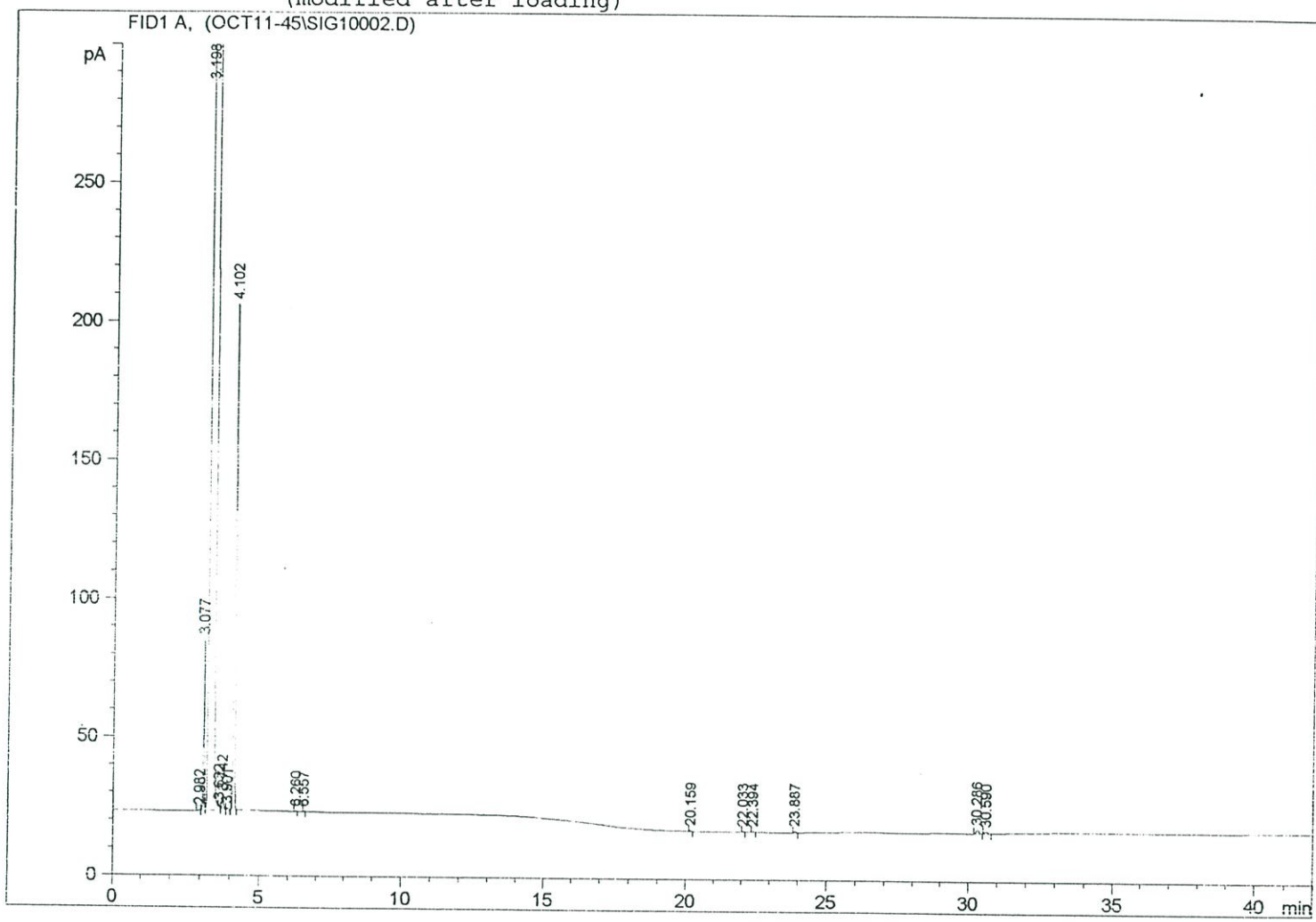
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.970	BP	0.0474	1.54308	4.39972e-1	0.00052
2	3.064	VV	0.0348	179.76001	79.75548	0.06075
3	3.187	VB S	0.0738	2.95103e5	4.96837e4	99.73695
4	3.608	BV X	0.0338	1.96190	8.88280e-1	0.00066
5	3.727	VV X	0.0547	16.87170	4.95949	0.00570
6	3.886	VB X	0.0394	1.31790	4.96878e-1	0.00045
7	4.087	BB	0.0514	575.73627	179.80415	0.19458
8	5.922	PB	0.0300	7.27687e-1	3.15003e-1	0.00025
9	17.050	BB	0.0324	3.90083e-1	1.79236e-1	0.00013

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 6:44:36 PM           Seq. Line :    2           158
Sample Name     : A2-MALTOSE                     Location  : Vial 27
Acq. Operator   : CIF                           Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/11/02 5:47:51 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:52:59 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
    
```

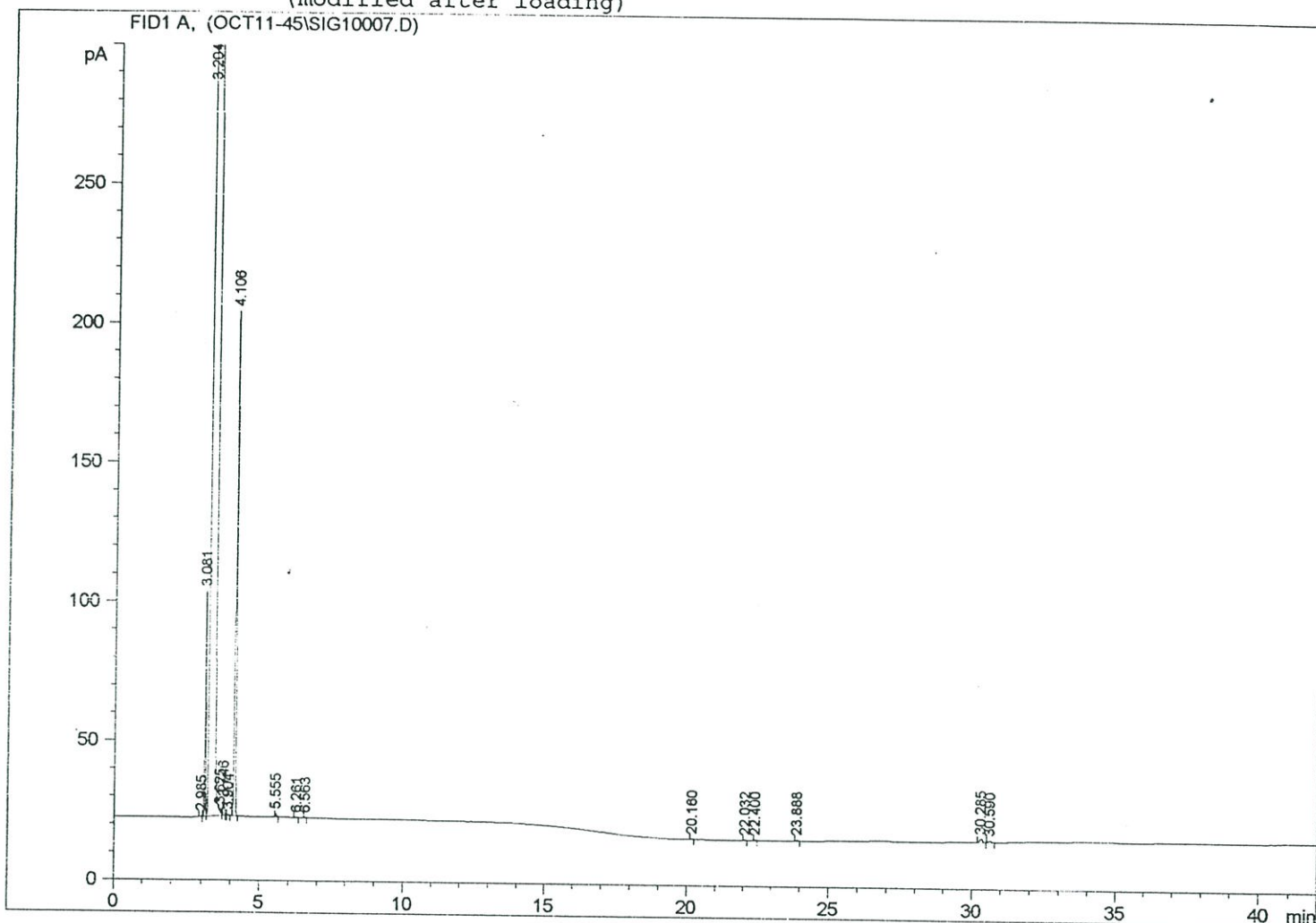
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.982	BV	0.0439	1.42476	3.87206e-1	0.00047
2	3.077	VV	0.0347	138.96306	61.86824	0.04627
3	3.198	VB S	0.0732	2.99550e5	5.01329e4	99.74275
4	3.622	BV X	0.0334	1.89572	9.07983e-1	0.00063
5	3.742	VV X	0.0548	17.14526	4.96070	0.00571
6	3.901	VB X	0.0435	1.41009	4.91287e-1	0.00047
7	4.102	BP	0.0517	589.32861	182.47955	0.19623
8	6.260	PP	0.0381	7.17826e-1	2.38526e-1	0.00024
9	6.557	PB	0.0289	6.02717e-1	2.61647e-1	0.00020
10	20.159	BB	0.0427	1.09818	3.58484e-1	0.00037

```

=====
Injection Date   : 10/11/02 11:17:32 PM           Seq. Line :    7           159
Sample Name     : B2-MALTOSE                     Location  : Vial 32
Acq. Operator   : CIF                             Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 1 µl

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed    : 10/11/02 5:47:51 PM by CIF
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed    : 10/15/02 2:54:59 PM by CIF
                  (modified after loading)
    
```



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier     :      1.0000
Dilution      :      1.0000
    
```

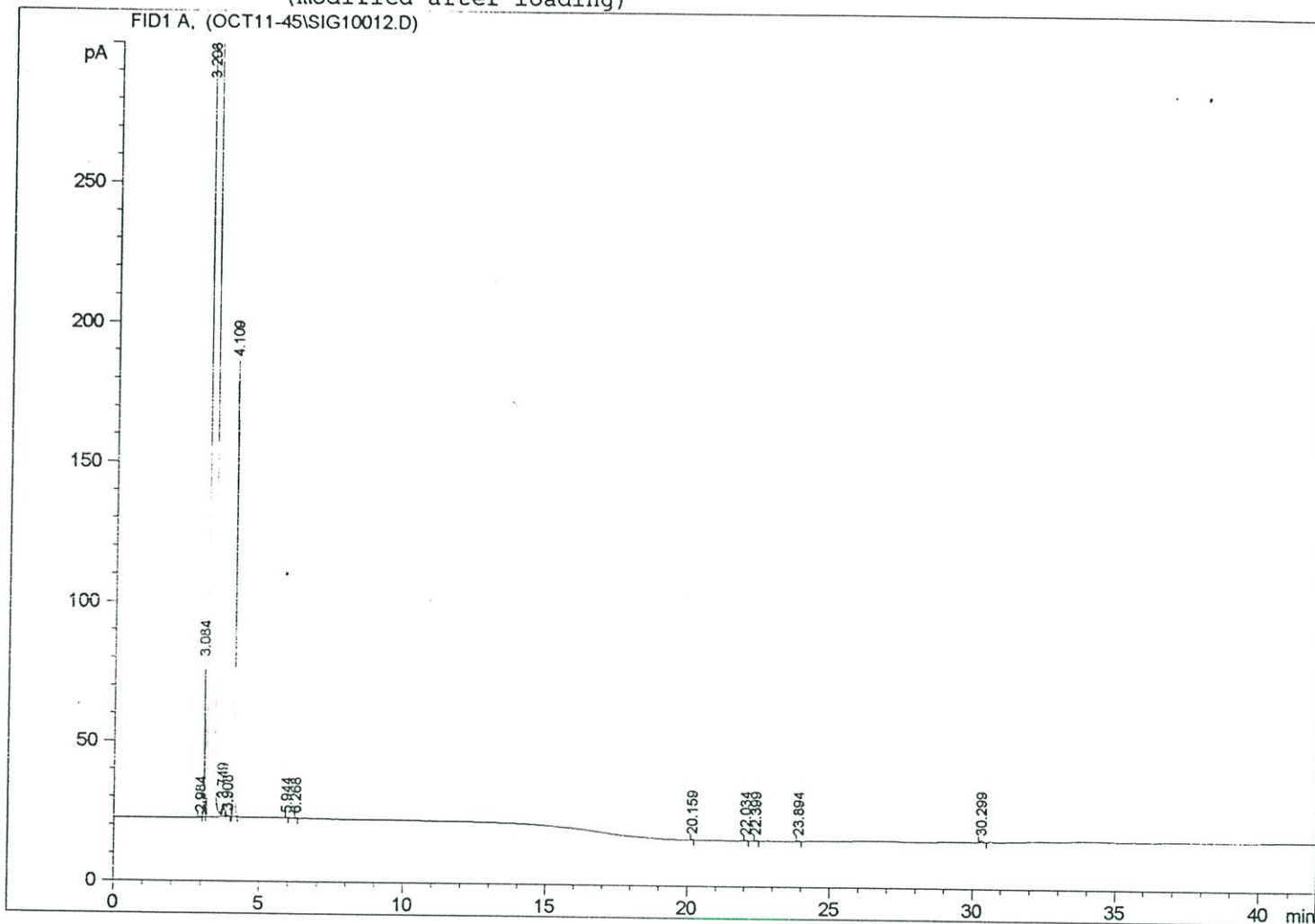
Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.985	BP	0.0462	1.29074	3.93922e-1	0.00044
2	3.081	VV	0.0349	183.32384	81.10995	0.06277
3	3.204	VB S	0.0726	2.91257e5	4.92096e4	99.72322
4	3.625	BV X	0.0345	2.49345	1.14249	0.00085
5	3.746	VB X	0.0555	16.62716	4.90572	0.00569
6	3.904	BP	0.0404	1.16923	4.64543e-1	0.00040
7	4.106	BB	0.0519	580.68188	181.29298	0.19882
8	5.555	BB	0.0396	3.09325	1.19868	0.00106
9	6.261	BB	0.0454	7.25342e-1	2.23058e-1	0.00025
10	6.563	PB	0.0352	4.29161e-1	1.87333e-1	0.00015

```

=====
Injection Date : 10/12/02 3:50:44 AM      Seq. Line : 12      160
Sample Name    : C2-MALTOSE                Location  : Vial 37
Acq. Operator  : CIF                       Inj       : 1
                                           Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/11/02 5:47:51 PM by CIF
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\MEATFLA.M
Last changed   : 10/15/02 2:56:54 PM by CIF
                (modified after loading)
    
```



=====  
 Area Percent Report  
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
    
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.984	BV	0.0536	1.15920	2.64785e-1	0.00040
2	3.084	VV	0.0359	129.07092	55.99083	0.04437
3	3.208	VB S	0.0745	2.90201e5	4.90823e4	99.76270
4	3.749	BV X	0.0571	15.54987	4.41539	0.00535
5	3.908	VB X	0.0405	1.08482	3.95623e-1	0.00037
6	4.109	BB	0.0525	531.29211	163.18784	0.18264
7	5.944	BB	0.0352	4.24820e-1	1.78968e-1	0.00015
8	6.268	BP	0.0342	4.63997e-1	1.85419e-1	0.00016
9	20.159	BB	0.0377	1.18388	4.09372e-1	0.00041
10	22.034	PP	0.0494	1.32609	3.37184e-1	0.00046

ภาคผนวก ญ

สภาวะการวิเคราะห์เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี

Method Information For: C:\MSDCHEM\2\METHODS\FLAVOUR.M

Method Sections To Run:

- ( ) Save Copy of Method With Data
- ( ) Pre-Run Cmd/Macro =
- (X) Data Acquisition
- (X) Data Analysis
- ( ) Post-Run Cmd/Macro =

Method Comments:  
meat flavour

END OF TOPLEVEL PARAMETERS

INSTRUMENT CONTROL PARAMETERS

Sample Inlet: GC  
Injection Source: GC ALS  
Mass Spectrometer: Enabled

=====

6890 GC METHOD

=====

OVEN

Initial temp: 50 'C (On)	Maximum temp: 325 'C
Initial time: 2.00 min	Equilibration time: 0.50 min
Ramps:	
# Rate Final temp Final time	
1 10.00 200 25.00	
2 0.0 (Off)	
Post temp: 250 'C	
Post time: 3.00 min	
Run time: 42.00 min	

FRONT INLET (SPLIT/SPLITLESS)

Mode: Split  
Initial temp: 200 'C (On)  
Pressure: 7.61 psi (On)  
Split ratio: 10:1  
Split flow: 10.0 mL/min  
Total flow: 13.5 mL/min  
Gas saver: On  
Saver flow: 15.0 mL/min  
Saver time: 2.00 min  
Gas type: Helium

BACK INLET (SPLIT/SPLITLESS)

Mode: Split  
Initial temp: 50 'C (Off)  
Pressure: 5.01 psi (On)  
Split ratio: 50:1  
Split flow: 55.3 mL/min  
Total flow: 59.1 mL/min  
Gas saver: Off  
Gas type: Helium

COLUMN 1

Capillary Column  
Model Number: Agilent 19091S-433  
HP-5MS, 0.25mm \* 30m \* 0.25um  
Max temperature: 350 'C  
Nominal length: 30.0 m  
Nominal diameter: 250.00 um  
Nominal film thickness: 0.25 um  
Mode: constant pressure  
Pressure: 7.61 psi  
Nominal initial flow: 1.0 mL/min  
Average velocity: 36 cm/sec  
Inlet: Front Inlet  
Outlet: MSD  
Outlet pressure: vacuum

FRONT DETECTOR (TCD)

Temperature: 250 'C (Off)  
Reference flow: 20.0 mL/min (Off)  
Mode: Constant makeup flow  
Makeup flow: 7.0 mL/min (On)  
Makeup Gas Type: Helium  
Filament: Off  
Negative polarity: Off

SIGNAL 1

Data rate: 50 Hz  
Type: front detector  
Save Data: Off  
Zero: 0.0 (Off)  
Range: 0  
Fast Peaks: Off  
Attenuation: 0

COLUMN COMP 1

Derive from front detector

THERMAL AUX 2

Use: MSD Transfer Line Heater  
Description:  
Initial temp: 280 'C (On)  
Initial time: 0.00 min  
# Rate Final temp Final time  
1 0.0 (Off)

COLUMN 2

Capillary Column  
Model Number: Agilent 163  
HP-1  
Max temperature: 325 'C  
Nominal length: 25.0 m  
Nominal diameter: 320.00 um  
Nominal film thickness: 0.52 um  
Mode: constant pressure  
Pressure: 5.01 psi  
Nominal initial flow: 1.1 mL/min  
Average velocity: 21 cm/sec  
Inlet: Back Inlet  
Outlet: Front Detector  
Outlet pressure: ambient

BACK DETECTOR (uECD)

Temperature: 250 'C (Off)  
Mode: Constant makeup flow  
Makeup flow: 5.0 mL/min (On)  
Makeup Gas Type: Nitrogen  
Electrometer: Off

SIGNAL 2

Data rate: 20 Hz  
Type: back detector  
Save Data: Off  
Zero: 0.0 (Off)  
Range: 0  
Fast Peaks: Off  
Attenuation: 0

COLUMN COMP 2

Derive from back detector

POST RUN

Post Time: 3.00 min  
Oven Temperature: 250 'C  
Column 1 Pressure: 18.7 psi  
Column 2 Pressure: 5.0 psi

TIME TABLE

Time Specifier Parameter & Setpoint

7673 Injector

Front Injector:

Sample Washes 5  
 Sample Pumps 5  
 Injection Volume 1.0 microliters  
 Syringe Size 10.0 microliters  
 PostInj Solvent A Washes 5  
 PostInj Solvent B Washes 5  
 Viscosity Delay 0 seconds  
 Plunger Speed Fast  
 PreInjection Dwell 0.00 minutes  
 PostInjection Dwell 0.00 minutes

164

Back Injector:

No parameters specified

MS ACQUISITION PARAMETERS

General Information

-----

Tune File : atune.u  
 Acquisition Mode : Scan

MS Information

-----

Solvent Delay : 3.30 min  
 EM Absolute : False  
 EM Offset : 0  
 Resulting EM Voltage : 1152.9

[Scan Parameters]

Low Mass : 50.0  
 High Mass : 300.0  
 Threshold : 50  
 Sample # : 2 A/D Samples 4  
 Plot 2 low mass : 50.0  
 Plot 2 high mass : 300.0

[MSZones]

MS Quad : 150 C maximum 200 C  
 MS Source : 230 C maximum 250 C  
 Timed Events

-----

[Timed MS Detector Entries]

Time (min) State (MS on/off)  
 3.30 On

END OF MS ACQUISITION PARAMETERS

END OF INSTRUMENT CONTROL PARAMETERS

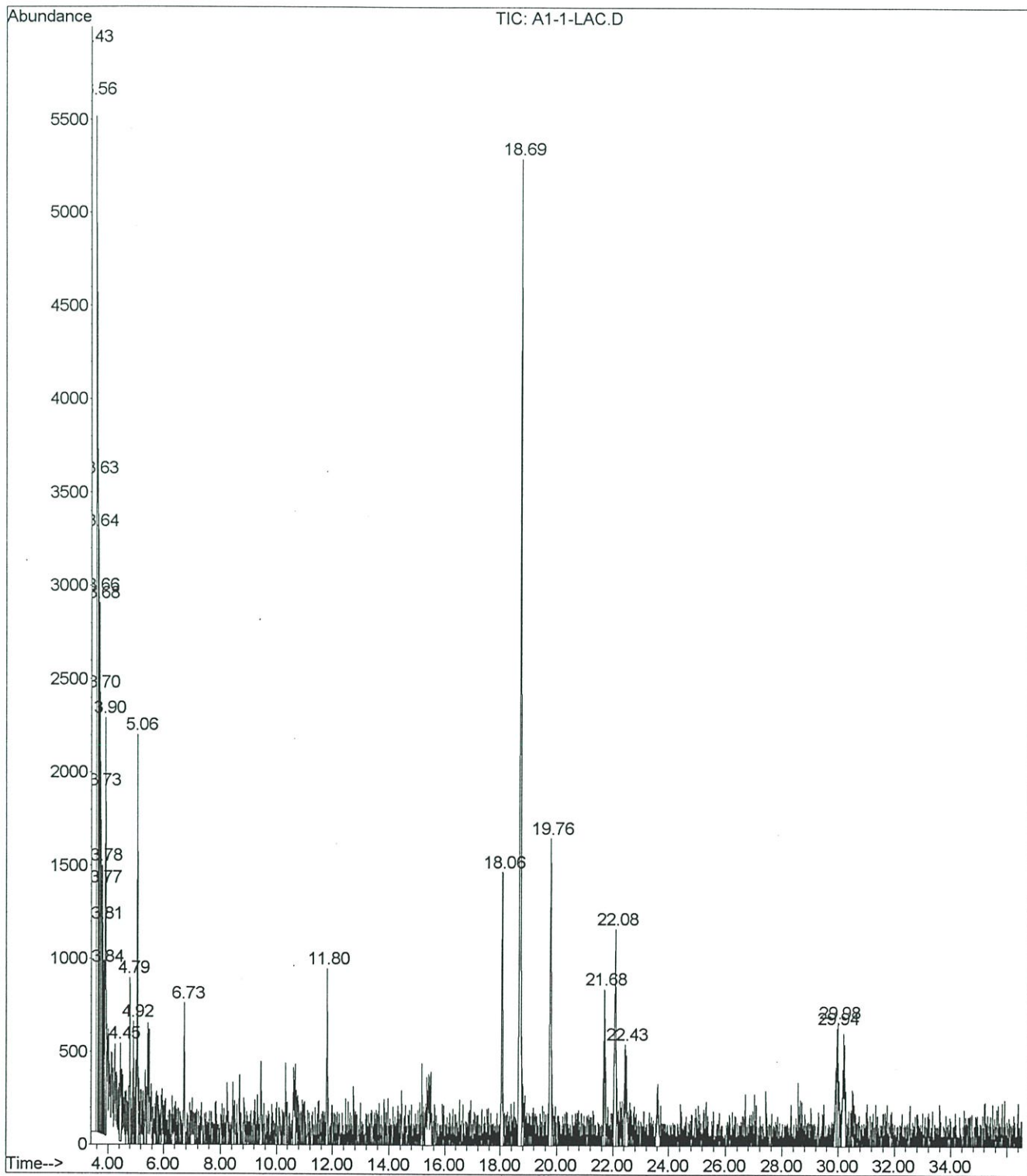
-----

ภาคผนวก ฎ

โครมาโทแกรมของ A1LACTOSE จากการวิเคราะห์เครื่องแก๊ส

โครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี

File : D:\MS-DATA\OCT29-2002\A1-1-LAC.D  
Operator :  
Acquired : 29 Oct 2002 14:21 using AcqMethod FLAVOUR  
Instrument : Instrumen  
Sample Name: A1 Lactose2ul  
Misc Info :  
Vial Number: 1



Data File : D:\MS-DATA\OCT29-2002\A1-1-LAC.D  
 Acq On : 29 Oct 2002 14:21  
 Sample : A1 Lactose2ul  
 Misc :

Vial: 167  
 Operator:  
 Inst : Instrumen  
 Multiplr: 1.00  
 Sample Amount: 0.00

MS Integration Params: autoint1.e

Method : C:\MSDCHEM\2\METHODS\NEW.M (Chemstation Integrator)  
 Title :

Signal : TIC

peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	3.425	3	14	56	PH 4	18583	1088740	100.00%	54.457%
2	3.559	56	58	79	VV 4	5513	181097	16.63%	9.058%
3	3.629	79	81	84	VV 4	3521	28626	2.63%	1.432%
4	3.644	84	86	91	VV 6	3205	37917	3.48%	1.897%
5	3.663	91	92	95	VV 3	2856	20668	1.90%	1.034%
6	3.681	95	98	103	VV 7	2777	34878	3.20%	1.745%
7	3.702	103	105	112	VV 6	2371	32569	2.99%	1.629%
8	3.730	112	114	124	VV 8	1796	31773	2.92%	1.589%
9	3.766	124	126	130	VV 3	1317	12120	1.11%	0.606%
10	3.785	130	132	134	VV 3	1426	10526	0.97%	0.526%
11	3.812	138	141	145	VV 3	1115	11380	1.05%	0.569%
12	3.839	145	150	153	VV 4	902	12068	1.11%	0.604%
13	3.900	164	170	182	VV 3	2223	42606	3.91%	2.131%
14	4.446	336	349	359	VV 5	518	12508	1.15%	0.626%
15	4.785	452	460	470	VV 5	886	14604	1.34%	0.730%
16	4.919	492	504	511	VV 2	682	10897	1.00%	0.545%
17	5.059	540	550	565	VV 3	2204	41167	3.78%	2.059%
18	6.730	1089	1098	1108	VV 3	733	14311	1.31%	0.716%
19	11.797	2751	2760	2776	VV 4	943	18631	1.71%	0.932%
20	18.057	4788	4813	4826	PV 5	1465	40616	3.73%	2.032%
21	18.685	5000	5019	5041	VV 5	5149	157320	14.45%	7.869%
22	19.761	5358	5372	5390	VV 5	1612	50449	4.63%	2.523%
23	21.685	6001	6003	6016	VV 3	815	17101	1.57%	0.855%
24	22.078	6115	6132	6141	VV 2	1151	36514	3.35%	1.826%
25	22.435	6229	6249	6250	VV	545	12254	1.13%	0.613%
26	29.944	8707	8712	8722	VV 2	611	13696	1.26%	0.685%
27	29.981	8722	8724	8742	VV 3	645	14236	1.31%	0.712%

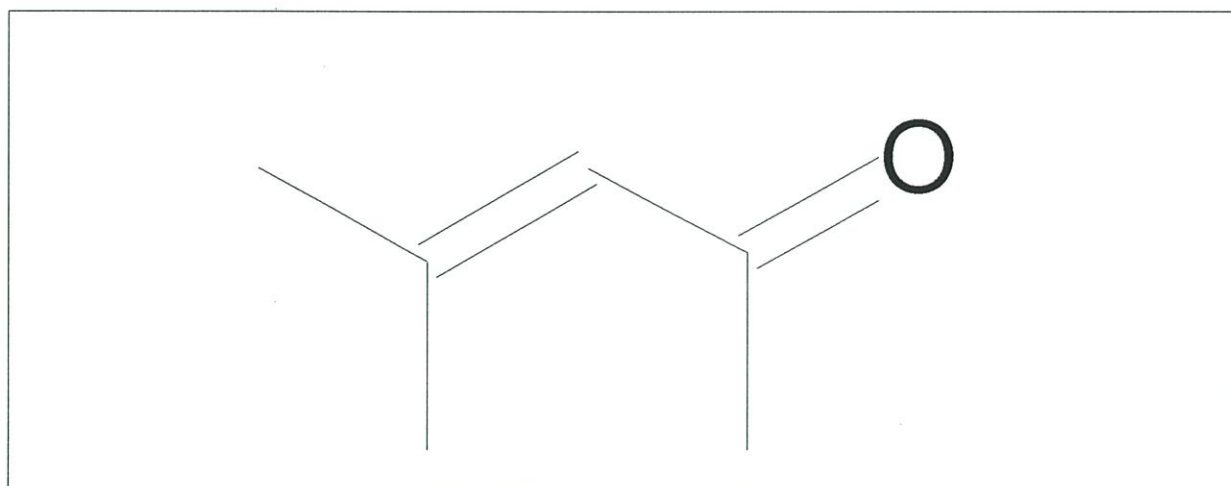
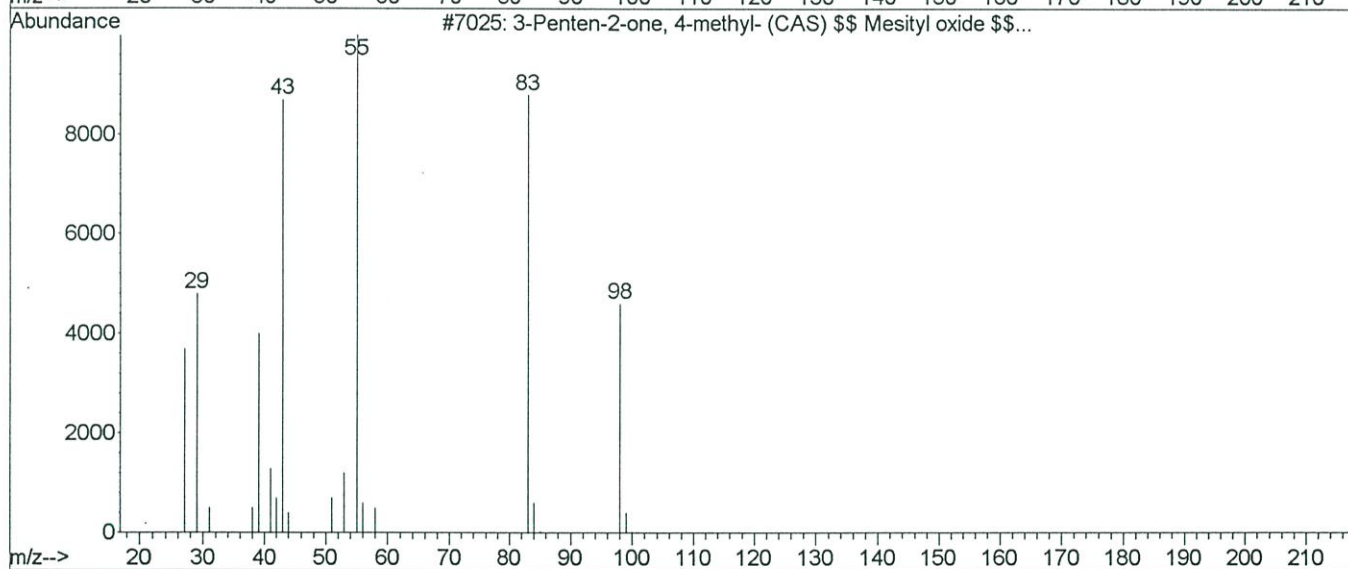
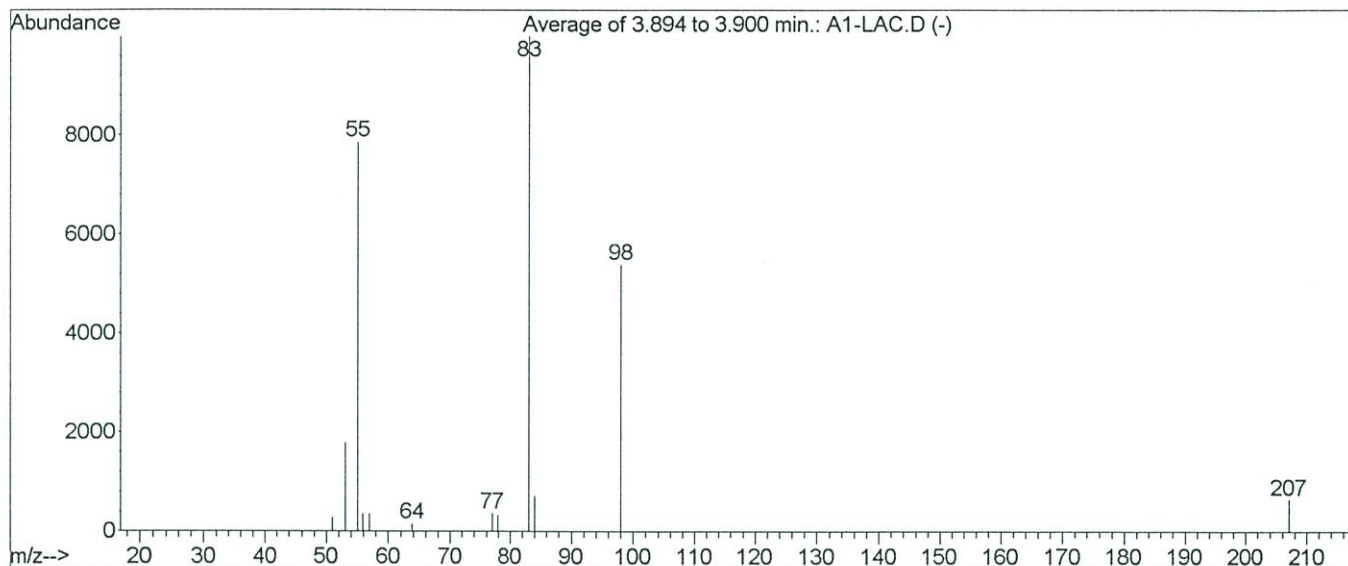
Sum of corrected areas: 1999271

Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 86

168

ID : 3-Penten-2-one, 4-methyl- (CAS) \$\$ Mesityl oxide \$\$  
2-METHYLPENT-2-EN-4-ONE \$\$ Isopropylideneacetone \$  
\$ Methyl isobutenyl ketone \$\$ Acetone, isopropylide  
ne- \$\$ Isobutenyl methyl ketone \$\$ 4-Methyl-3-pente  
n-2-one \$\$ Methyl 2-methyl-1-propenyl ketone \$\$ Met



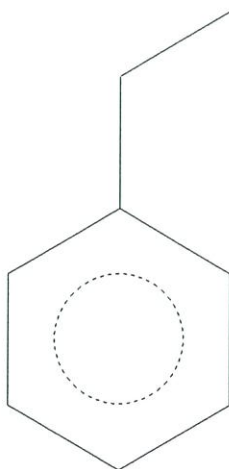
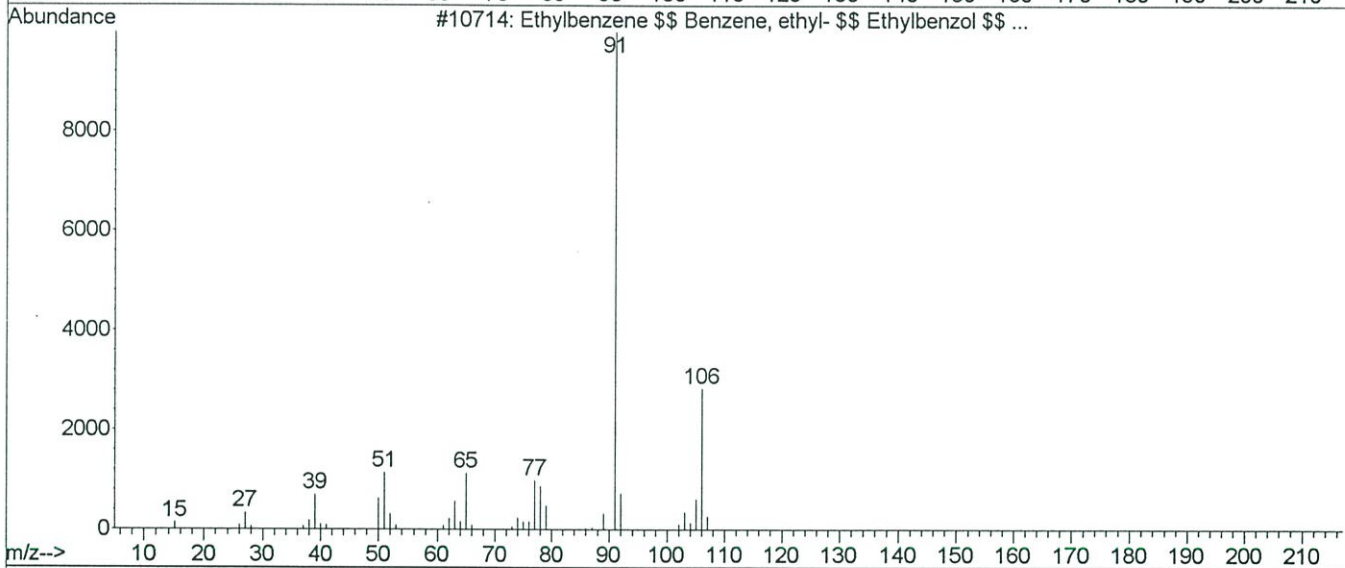
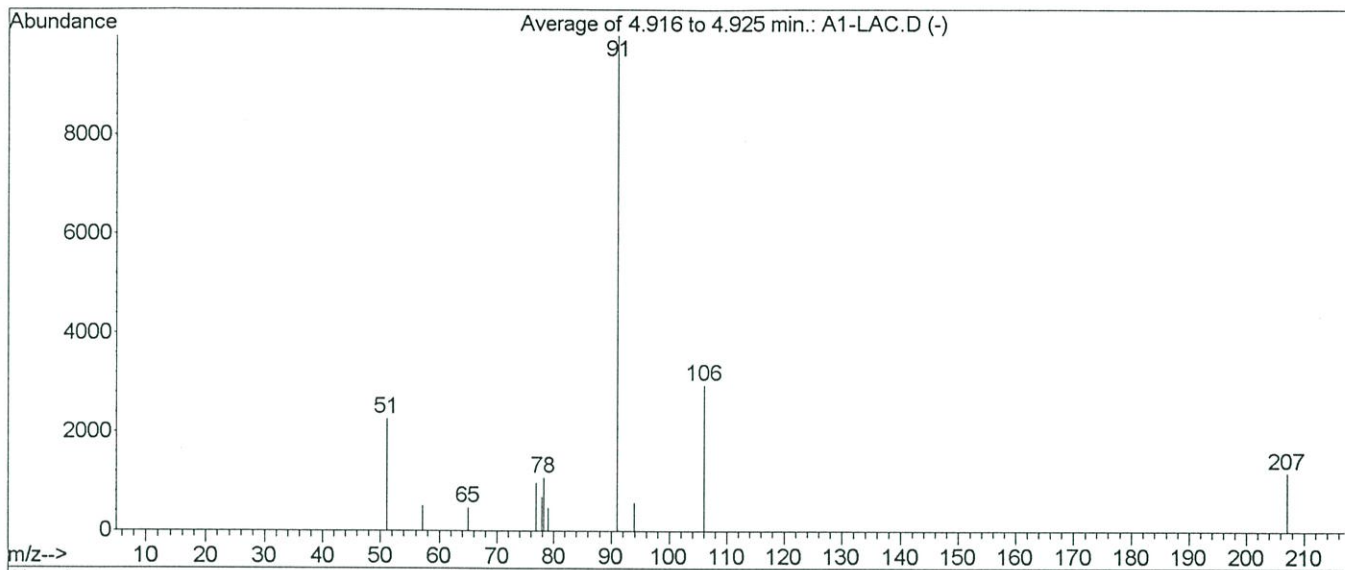
Name	3-Penten-2-one, 4-methyl- (CAS)	\$\$	Mesityl oxide
CAS Number		000141-79-7	
Entry Number		7025	
Molecular Formula		C6H10O	
Misc Information	QI=501, Source=LQ-1992-555-0		
Match Quality		86	
Company ID		0	
Retention Index		0	
Melting Point			
Boiling Point			
Molecular weight			98.07

Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 56

170

ID : Ethylbenzene \$\$ Benzene, ethyl- \$\$ Ethylbenzol \$\$ E  
B \$\$ Phenylethane \$\$ Aethylbenzol \$\$ Ethylbenzeen \$  
\$ Etilbenzene \$\$ Etylobenzen \$\$ NCI-C56393 \$\$ UN 11  
75 \$\$ .alpha.-Methyltoluene



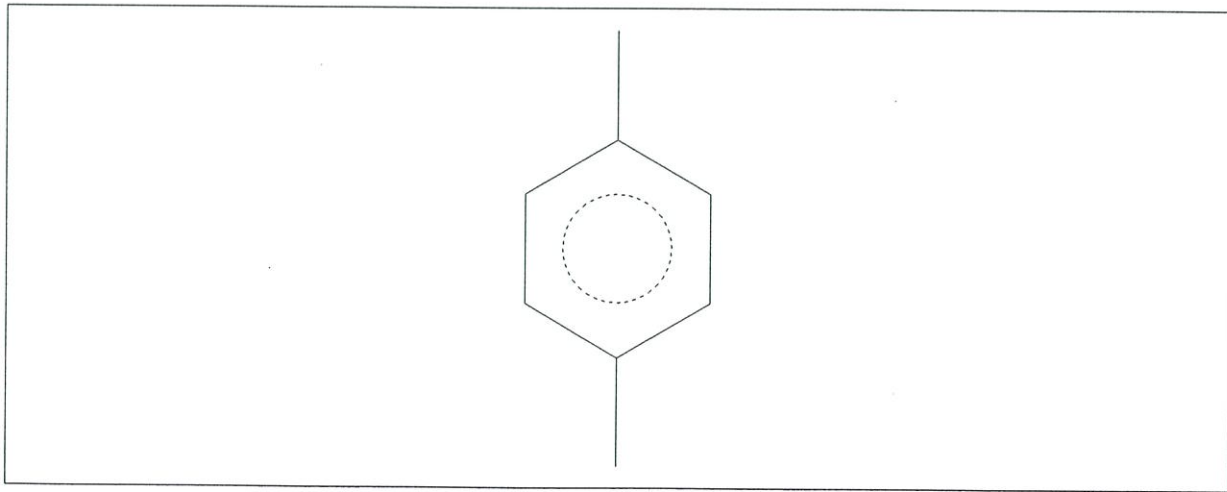
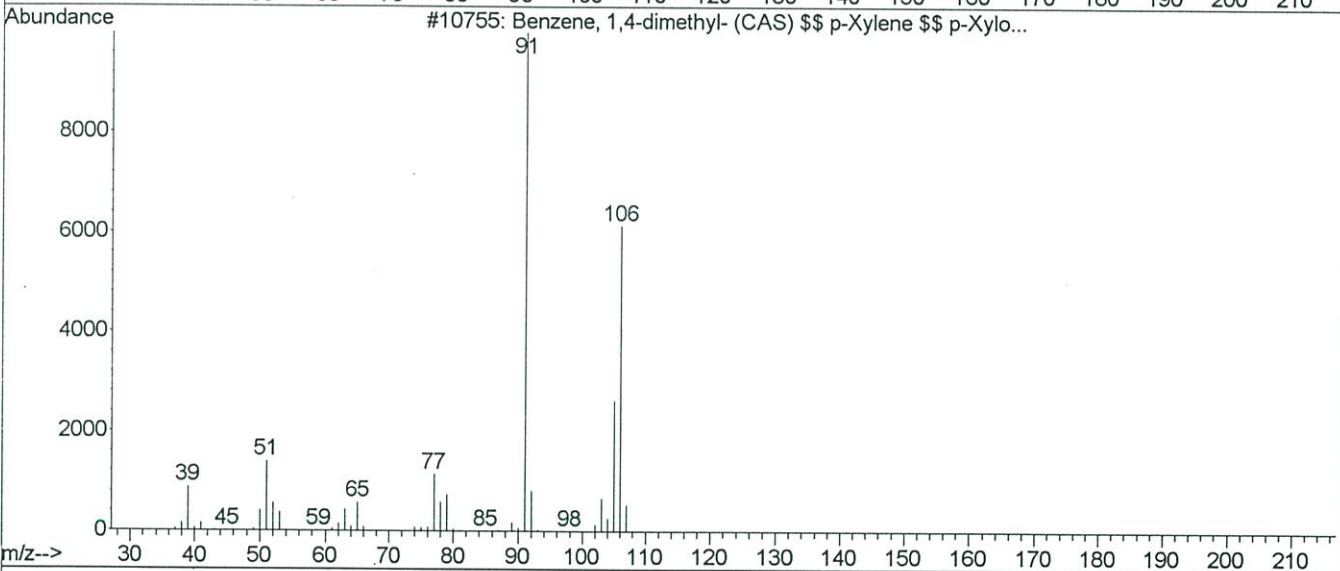
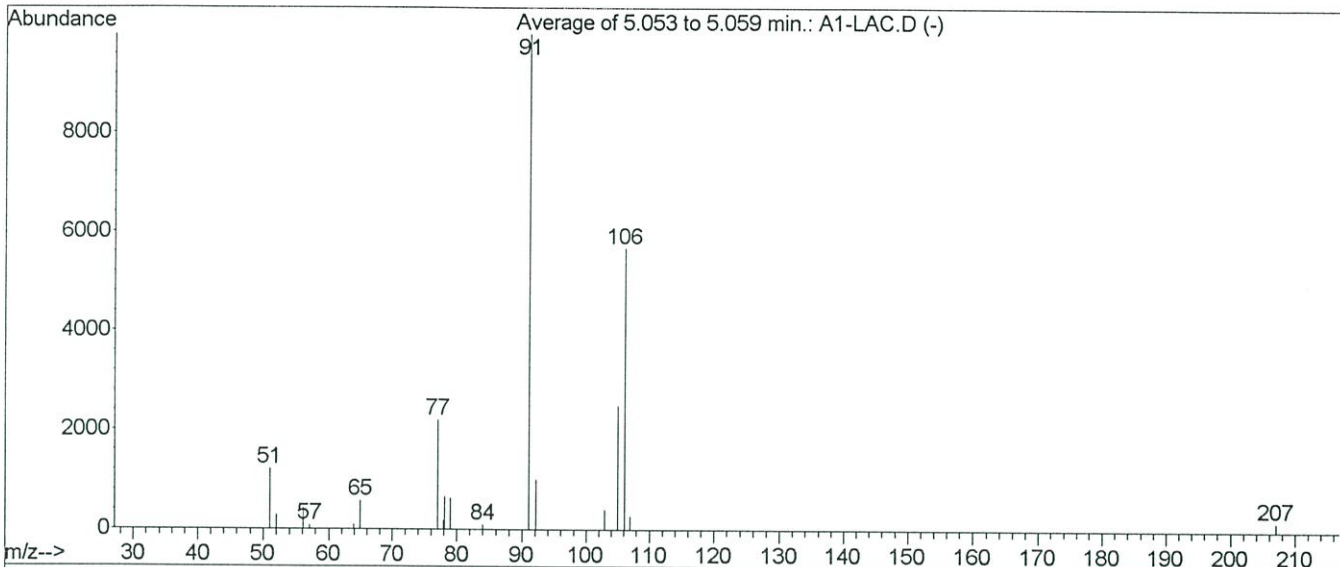
Name	Ethylbenzene	\$\$ Benzene, ethyl-	\$\$ Ethylbenzol	\$\$
CAS Number			000100-41-4	
Entry Number			10714	
Molecular Formula			C8H10	
Misc Information		QI=898, Source=NS-0-2448-0		
Match Quality			56	
Company ID			0	
Retention Index		0		
Melting Point				
Boiling Point				
Molecular weight			106.08	

Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 80

172

ID : Benzene, 1,4-dimethyl- (CAS) \$\$ p-Xylene \$\$ p-Xylol  
\$\$ 1,4-Xylene \$\$ p-Dimethylbenzene \$\$ 1,4-Dimethyl  
benzene \$\$ p-Methyltoluene \$\$ 4-Methyltoluene \$\$ 1,  
4-Dimethyl-benzene \$\$ 1,4-DIMETHYLBENZENE (P-XYLENE)  
\$\$ 1,4-DIMETHYLBENZENE (P-XYLENE) \$\$ para-Xylene \$



Name	Benzene, 1,4-dimethyl- (CAS)	\$\$ p-xylene	\$\$ p-xyl
CAS Number		000106-42-3	
Entry Number		10755	
Molecular Formula		C8H10	
Misc Information	QI=899, Source=PR-929-0-0		
Match Quality		80	
Company ID		0	
Retention Index		0	
Melting Point			
Boiling Point			
Molecular weight		106.08	

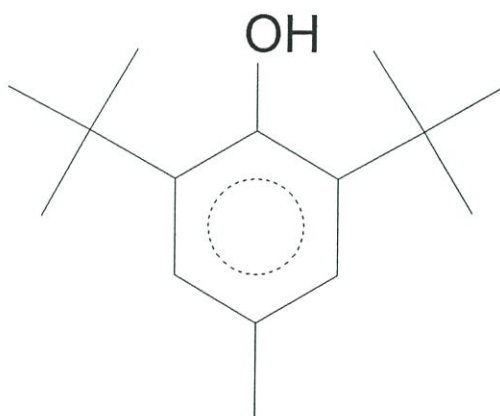
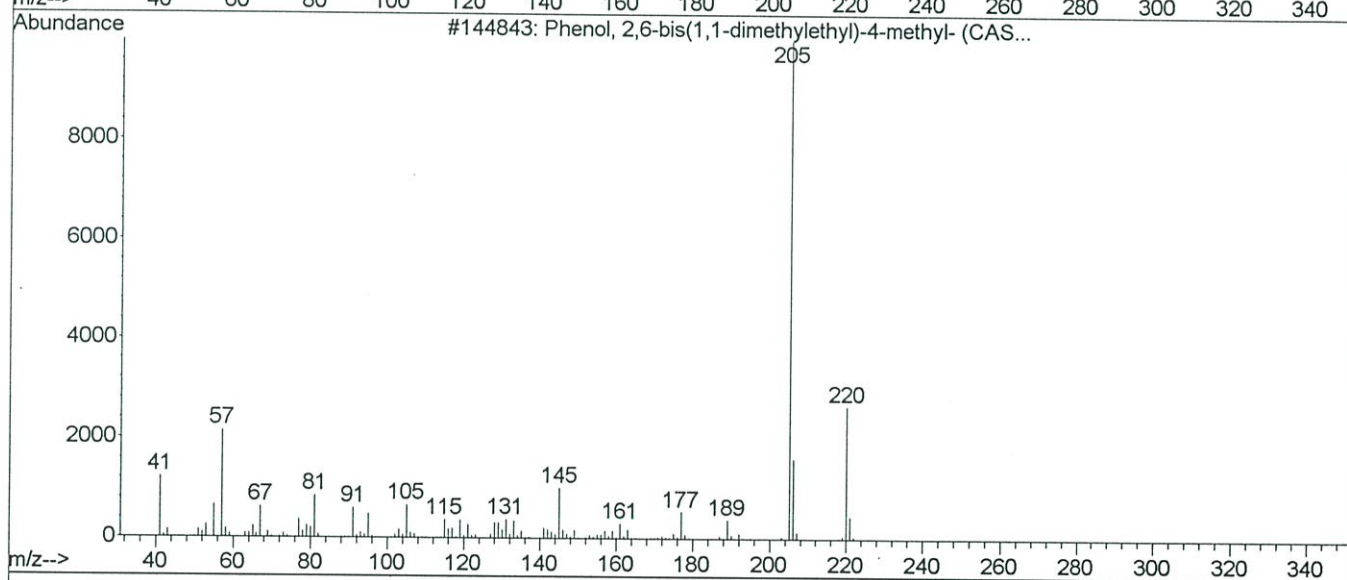
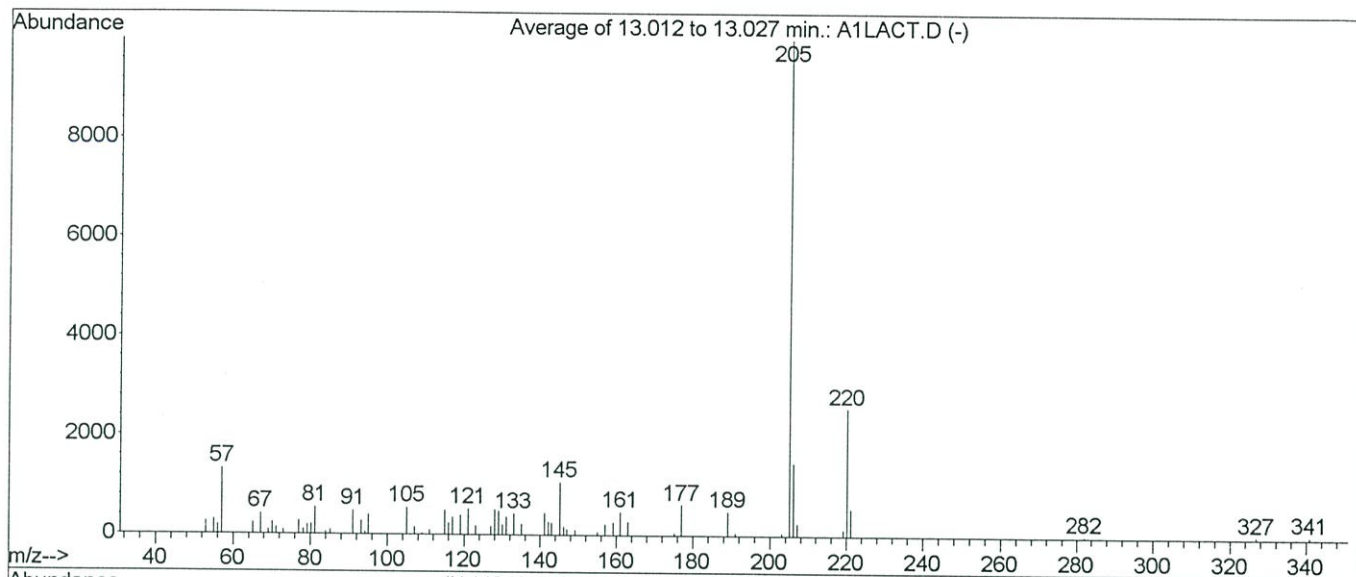
Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 96

ID

174

: Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl- (CAS)  
\$\$ 4-Methyl-2,6-di-tert-butylphenol \$\$ BHT \$\$ P 21  
\$\$ CAO 3 \$\$ AO 29 \$\$ CAO 1 \$\$ AO 4K \$\$ DBPC \$\$ P 21  
\$ \$\$ 2,6-DI-TERT-4-METHYLPHENOL \$\$ Buks \$\$ Ional \$  
\$ Ionole \$\$ Deenax \$\$ Dalpac \$\$ Stavox \$\$ Vianol \$\$



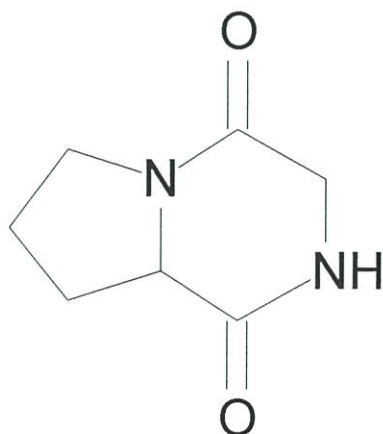
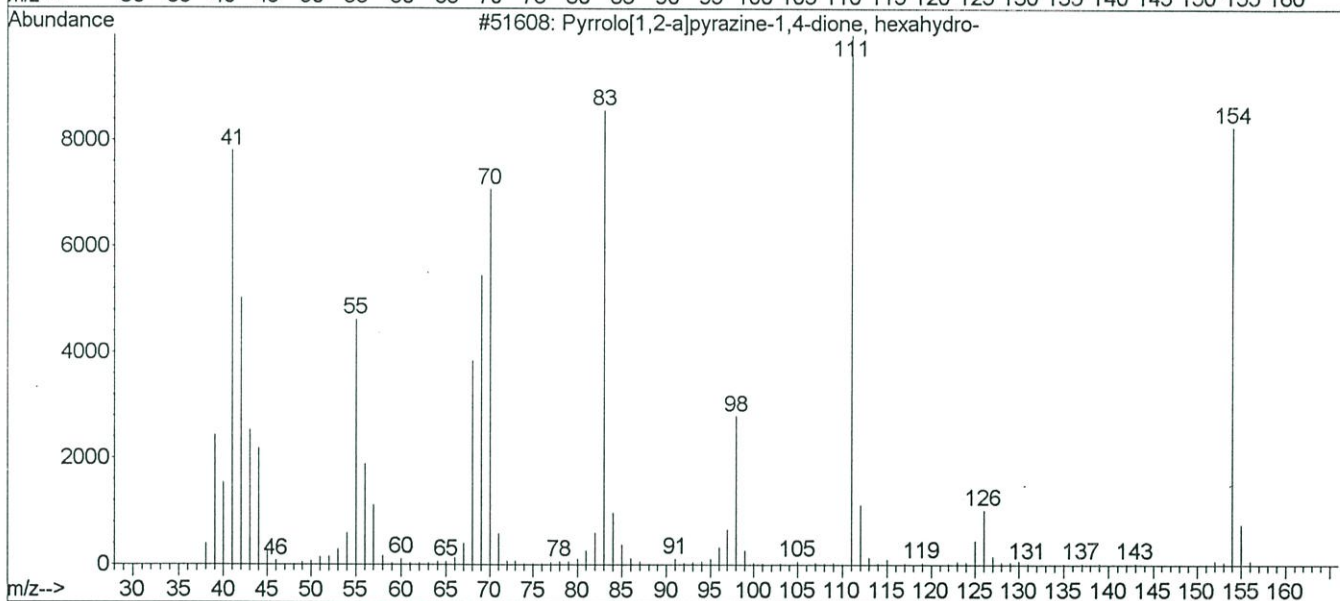
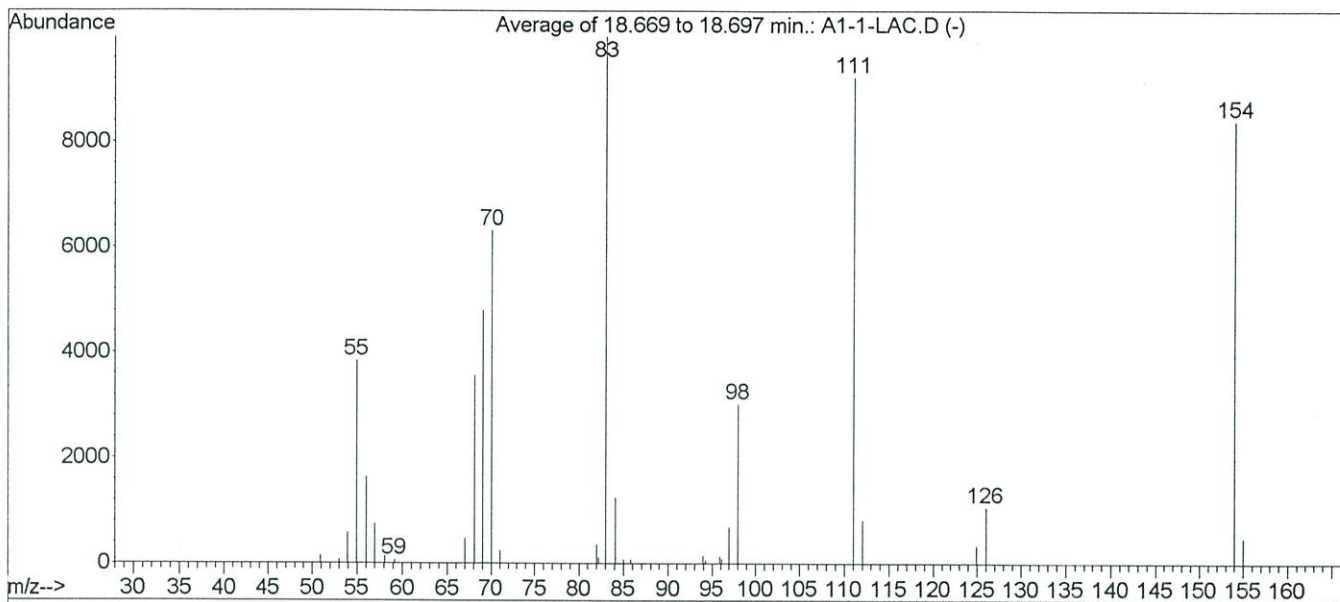
Name	Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-	(CAS
CAS Number	000128-37-0	
Entry Number	144843	
Molecular Formula	C15H24O	
Misc Information	QI=880, Source=WS-1986-123-0, WLN=1X&&R BQ E CX	
Match Quality	96	
Company ID	0	
Retention Index	0	
Melting Point		
Boiling Point		
Molecular Weight	220.18	

Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 91

176

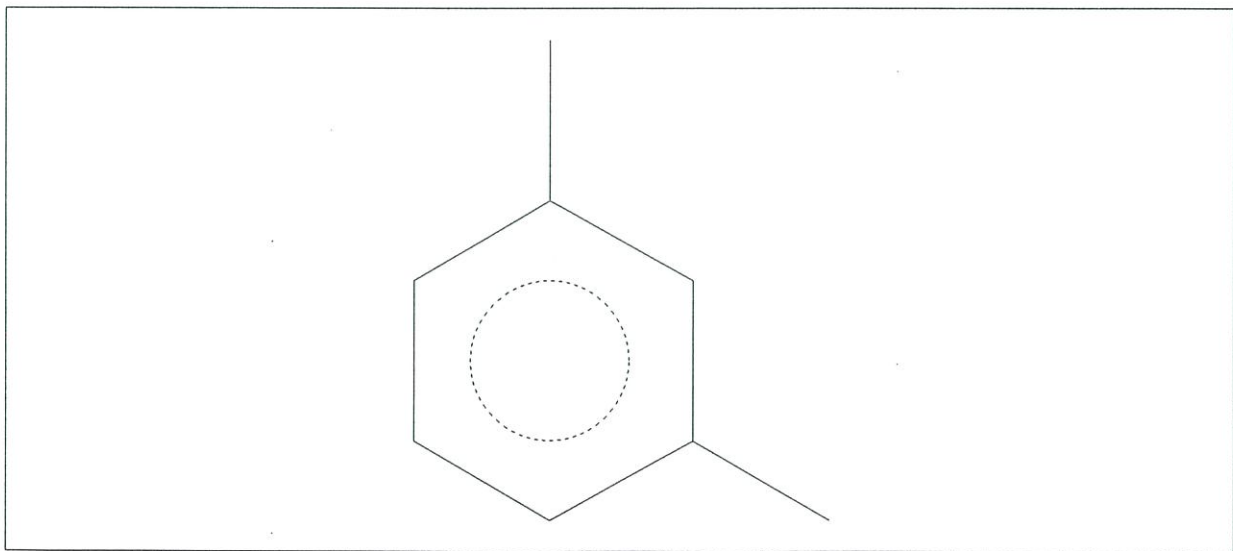
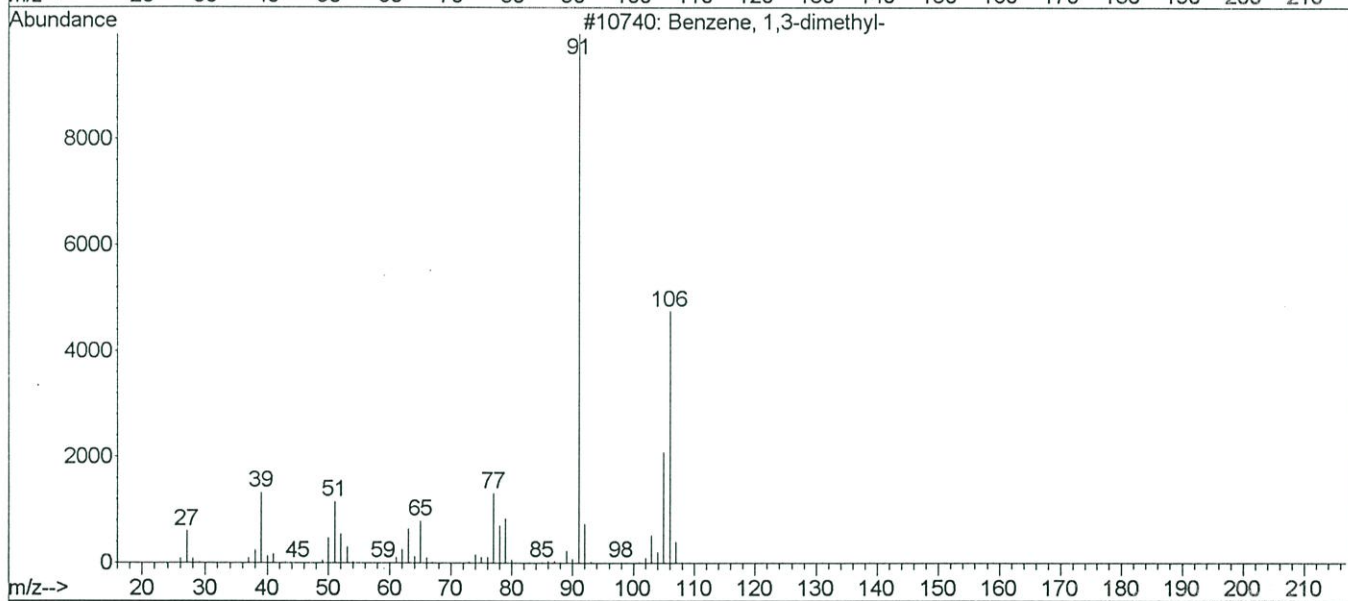
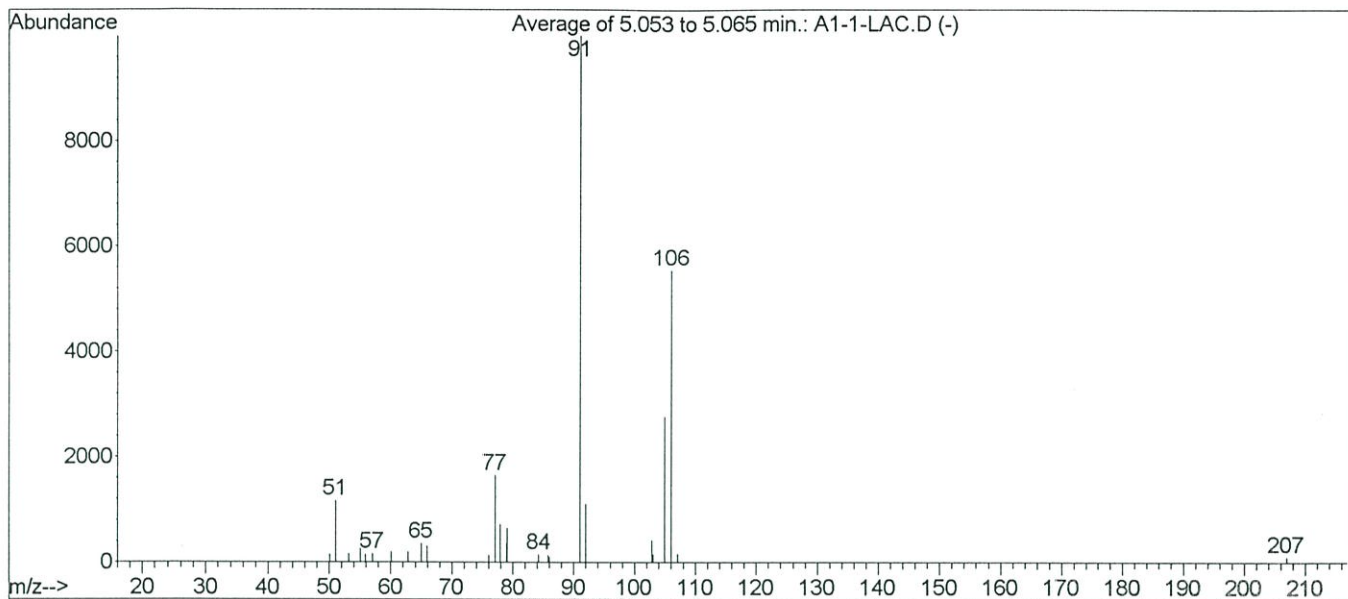
ID : Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-



Name	1,4-diaza-2,5-dioxobicyclo[4.3.0]nonane	\$\$ Pyrro]
CAS Number	019179-12-5	
Entry Number	51609	
Molecular Formula	C7H10N2O2	
Misc Information	QI=897, Source=LQ-1992-2342-0	
Match Quality	91	
Company ID	0	
Retention Index	0	
Melting Point		
Boiling Point		
Molecular weight	154.07	

Library Searched : C:\Database\wiley7n.1  
Quality : 91  
ID : Benzene, 1,3-dimethyl-

178



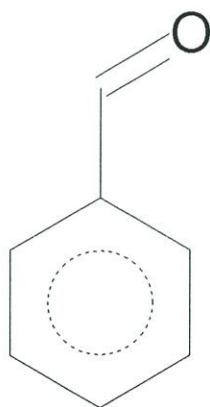
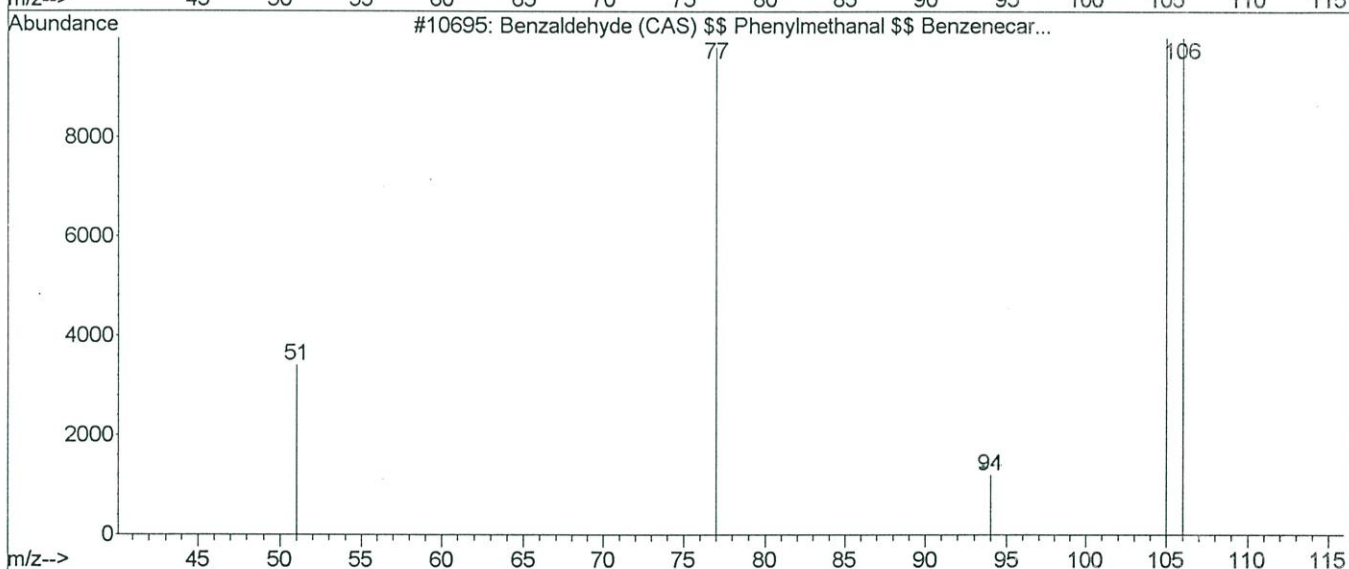
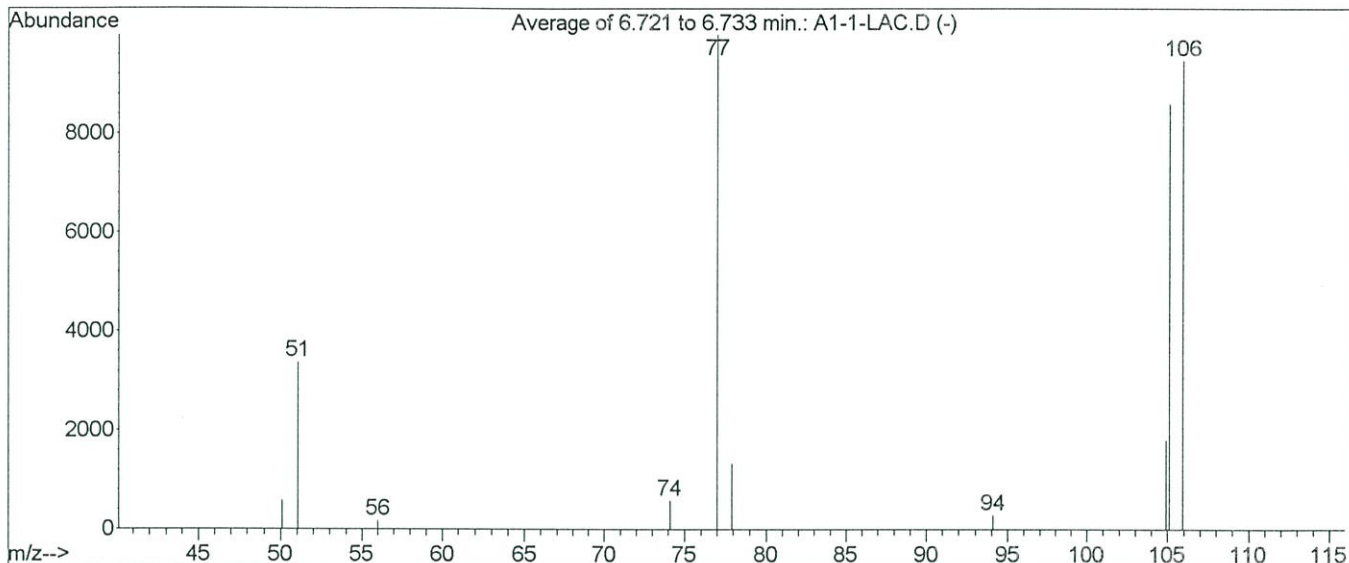
Name	Benzene, 1,3-dimethyl-
CAS Number	000108-38-3
Entry Number	10740
Molecular Formula	C8H10
Misc Information	QI=900, Source=NS-11-12-0
Match Quality	91
Company ID	0
Retention Index	0
Melting Point	
Boiling Point	
Molecular weight	106.08

Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 90

180

ID : Benzaldehyde (CAS) \$\$ Phenylmethanal \$\$ Benzenecarboxaldehyde \$\$ Benzaldehyde FFC \$\$ Benzoic aldehyde \$\$ Artificial Almond Oil \$\$ Benzenecarboxaldehyde \$\$ Almond artificial essential oil \$\$ Phenylmethanal benzenecarboxaldehyde \$\$ Benzaldehyde \$\$ NCI-C56133 \$\$ Oil



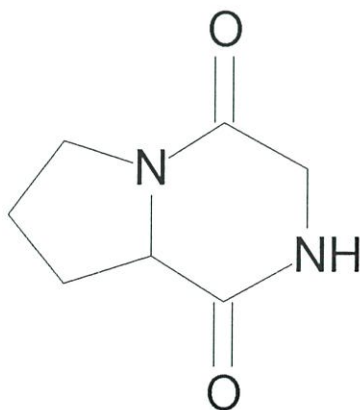
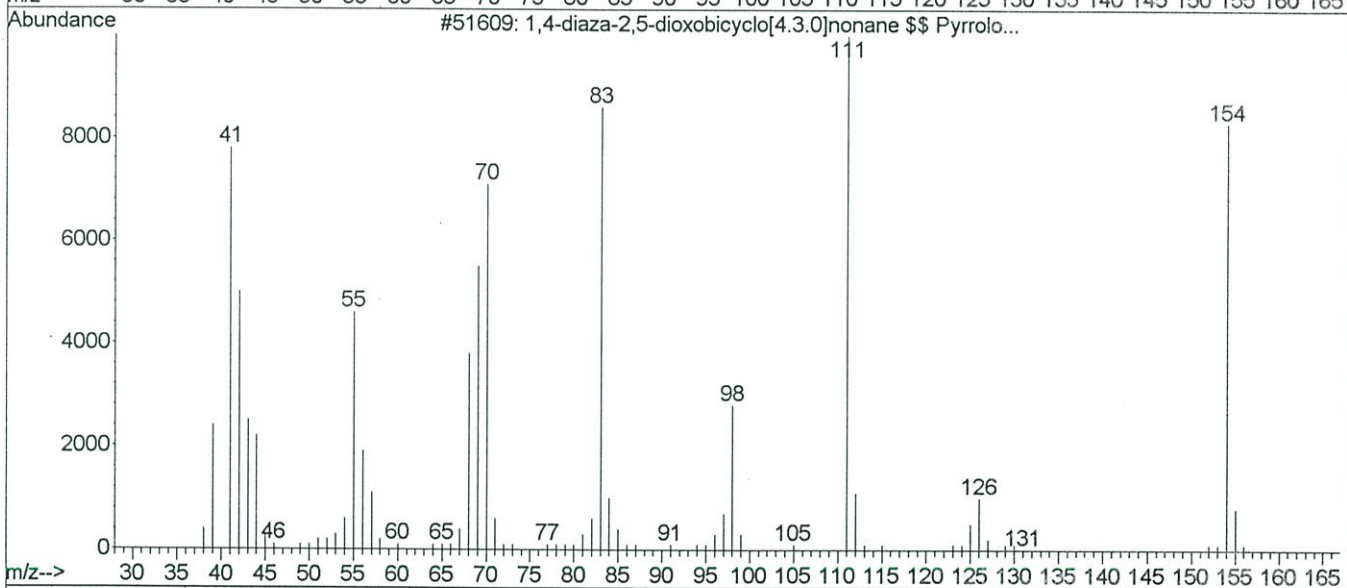
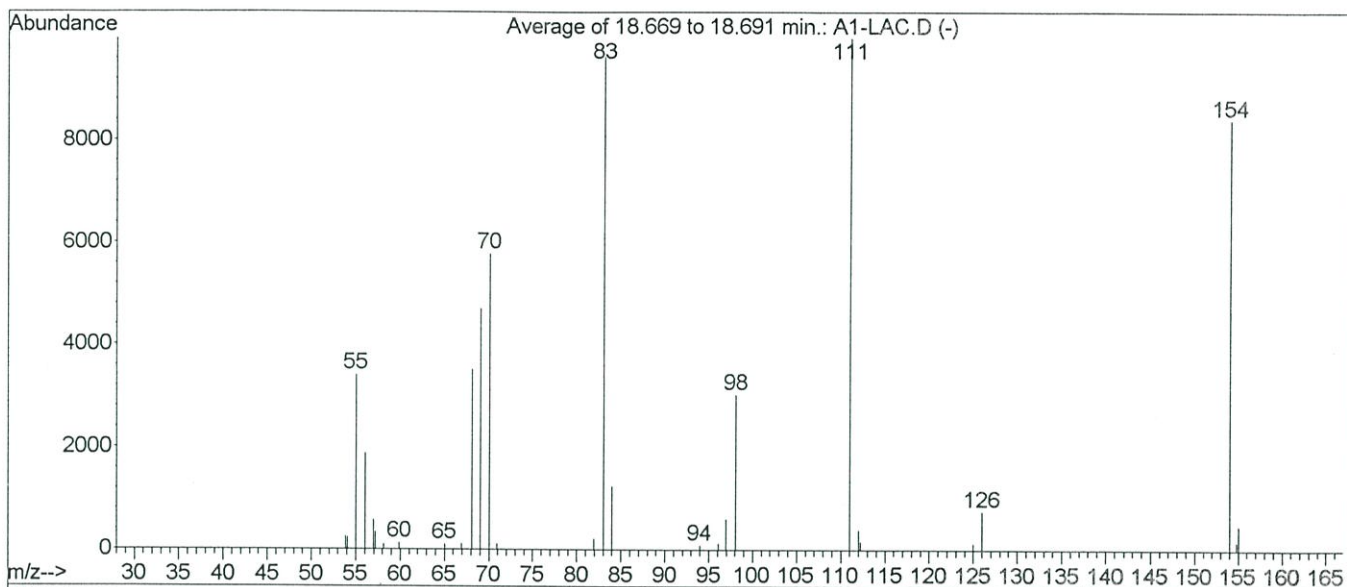
Name	Benzaldehyde (CAS)	Phenylmethanal	Benzeneca
CAS Number		000100-52-7	
Entry Number		10695	
Molecular Formula		C7H6O	
Misc Information	QI=107, Source=J-61-7800-1		
Match Quality		90	
Company ID		0	
Retention Index		0	
Melting Point			
Boiling Point			
Molecular Weight		106.04	

Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 91

182

ID : 1,4-diaza-2,5-dioxobicyclo[4.3.0]nonane \$\$ Pyrrolo[1,2-a]piperazine-3,6-dione \$\$ Pyrrolo[1,2-a]pyrazin  
e-1,4-dione, hexahydro-



Name	Pyrrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-
CAS Number	019179-12-5
Entry Number	51608
Molecular Formula	C7H10N2O2
Misc Information	QI=899, Source=NS-1-4761-0
Match Quality	91
Company ID	0
Retention Index	0
Melting Point	
Boiling Point	
Molecular Weight	154.07

## ประวัติผู้เขียน

นางสาวอิสริยาภรณ์ ชุณหเพสย์ เกิดเมื่อวันที่ 29 กันยายน 2520 ที่จังหวัดกรุงเทพฯ  
สำเร็จการศึกษาวិทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะเทคโนโลยีชีวภาพ  
มหาวิทยาลัยรังสิต ปีการศึกษา 2541