

สำนักงานบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ระดับการประเมินคุณภาพ

☒ ดีเยี่ยม

☐ ดีมาก

☐ ดี

☐ ปานกลาง





กลไกการเกิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยวและการหมักเต้าเจี้ยวรสเค็มน้อย

นนทรี จันทรอนันต์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ชื่อเรื่อง

กลไกการเกิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยวและการหมักเต้าเจี้ยวรสเค็มน้อย

โดย

นนทรี จันทรอนันต์

พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.สิทธิสิน บวรสมบัติ)

วันที่ 25 เดือน ๓๑ พ.ศ. ๕๙

กรรมการที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สฤณี บวรสมบัติ)

วันที่ 15 เดือน ๓๑ พ.ศ. ๕๙

กรรมการที่ปรึกษา

(ดร.วิระศักดิ์ เทพจันทร์)

วันที่ 15 เดือน ๓๑ พ.ศ. ๕๙

ประธานกรรมการประจำหลักสูตร

(อาจารย์ ดร.ฉวีวรรณ พันธุ์ไชยศรี)

วันที่ 25 เดือน ๓๑ พ.ศ. ๕๙

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จำเนียร ยศราช)

ประธานกรรมการบัณฑิตศึกษา

วันที่ 26 เดือน ๓๑ พ.ศ. ๕๕๔

ชื่อเรื่อง	กลไกการเกิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยวและการหมักเต้าเจี้ยวรสเค็มน้อย
ชื่อผู้เขียน	นางสาวนนทรี จันทรอนันต์
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
ประธานกรรมการที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.สิทธิสิน บวรสมบัติ

บทคัดย่อ

ผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวเป็นเครื่องปรุงรสชนิดหนึ่งที่เกิดจากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบ การผลิตเต้าเจี้ยวกระทำโดยอาศัยการหมักด้วยจุลินทรีย์หลายชนิด ปัญหาที่ประสบได้ในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่วางจำหน่ายในท้องตลาดคือ ลักษณะปรากฏที่เป็นจุดหรือกลุ่มวัสดุสีขาวในเนื้อเต้าเจี้ยวและ/หรือรสชาติที่เริ่มจัดเกินไป ซึ่งคุณลักษณะทั้งสองประการนี้เป็นสิ่งที่ผู้บริโภคไม่พึงประสงค์ การศึกษาวิจัยนี้ได้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษากลไกการเกิดจุดสีขาวหรืออนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยว และการผลิตเต้าเจี้ยวรสเค็มน้อย โดยเริ่มต้นจากการผลิตสปอร์ของรา *Aspergillus oryzae* M-01 จำนวนมากบนวัสดุแข็งหลายชนิด เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการหมักโคจิ ซึ่งพบว่าเมล็ดข้าวเจ้าสามารถให้สปอร์ที่ผ่านการทำแห้งและเห็ดรอดชีวิตจำนวนมากถึง $10.15 \log \text{ cfu/g}$

สำหรับกลไกการเกิดจุดขาว จะเริ่มจากการศึกษาความหนาของโคจิที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเอสด้วยรา *Aspergillus oryzae* M-01 พบว่าโคจิที่ระดับความหนา 2.5 เซนติเมตร จะให้กิจกรรมโปรตีนเอสสูงสุดเท่ากับ 52.89 หน่วยต่อกรัม เมื่อหมัก 48 ชั่วโมง เมื่อนำโคจิที่ได้ปริมาณร้อยละ 100 50 และ 30 ไปหมักกับถั่วเหลืองต้มสุกในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 22 หรือเรียกว่าขั้นตอนการหมักโมโรมิแนน 8 สัปดาห์ จะพบอนุภาคสีขาวจำนวนหนึ่งเกิดขึ้นในทุกทริทเมนต์ โดยเฉพาะเต้าเจี้ยวที่หมักโดยใช้โคจิปริมาณร้อยละ 100 จะให้อนุภาคสีขาวมากที่สุด ผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่ผ่านการคัมนาน 30 นาที แล้วบรรจุในขวดแก้วปิดผนึก ยังคงพบอนุภาคสีขาวบ้างซึ่งคำนวณในรูปของร้อยละของพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวต่อพื้นที่ทั้งหมดของผิวขวดแก้วที่ใช้บรรจุ จะมีจำนวนเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยโคจิปริมาณร้อยละ 100 ยังคงให้จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวมากที่สุด แต่ก็ยังได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบชิมในระดับชอบมากที่สุด การลดจำนวนอนุภาคสีขาวสามารถกระทำได้โดยการเติมน้ำสุกลงในเต้าเจี้ยว 0.5 เท่า ซึ่งจะส่งผลให้อนุภาคสีขาวลดลงจากร้อยละ 100 เหลือร้อยละ 1.15 แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังคงมีสัดส่วนของแข็งกับของเหลวอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่วางจำหน่ายในท้องตลาด อนุภาคสีขาวสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท คือ ชนิดแผ่นนุ่ม ชนิดแผ่นแข็ง และชนิดเม็ดเล็กๆ ส่วนประกอบของโครงสร้างของ

อนุภาคสีขาวคือ ผลึกรูปร่างคล้ายเข็มหรือรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้า สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของอนุภาคสีขาว ระบุว่าอนุภาคสีขาวทุกชนิดประกอบด้วยกรดอะมิโนไทโรซีนเป็นส่วนใหญ่หรือทั้งหมด

การศึกษาเกี่ยวกับการหมักเต้าเจี้ยวรสเค็มน้อยโดยใช้โคจิข้าวเหนียว พบว่าระยะเวลาที่ใช้ในการนึ่งข้าวเหนียว และความหนาของโคจิมีผลต่อคุณภาพของโคจิที่ได้ โดยระยะเวลานึ่งนาน 40 นาที และความหนาของข้าวเหนียวในตะกร้าบ่ม โคจิเท่ากับ 5 เซนติเมตร ให้กิจกรรมอะไมเลส และกิจกรรมโปรตีเอสสูงสุดเท่ากับ 58.01 และ 95.06 ยูนิตต่อกรัม ตามลำดับในระยะเวลา 60 ชั่วโมง การหมักเต้าเจี้ยวโดยใช้โคจิข้าวเหนียวปริมาณที่แตกต่างกัน พบว่าโคจิข้าวเหนียวปริมาณร้อยละ 50 ในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 18 นาน 12 สัปดาห์ แล้วผ่านการดม้นาน 30 นาที จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่แตกต่างไปจากเดิม คือเต้าเจี้ยวมีรสเปรี้ยว มีกลิ่นอัลกอฮอล์ และมีรสเค็มน้อย แต่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบชิมในระดับชอบมากที่สุด และสามารถเก็บรักษาได้นานไม่น้อยกว่า 6 สัปดาห์การหมักเต้าเจี้ยวโดยใช้โคจิข้าวเหนียวร้อยละ 50 ในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่าจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่ยังคงเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบชิม และสามารถเก็บรักษาได้นานไม่น้อยกว่า 6 สัปดาห์

Title	Mechanism of white particles formation and the fermentation of less salty fermented soybean (Tao Chieo)
Author	Miss Nonsee Jananan
Degree of	Master of Science in Food Technology
Advisory Committee Chairperson	Associate Professor Dr. Sittisin Bovonsombut

ABSTRACT

Fermented soybean (Tao Chieo) product is a kind of condiment produced from soybean as the main raw material using many types of microorganisms. However, major problems concerned with product quality as observed in the market consisted of the presence of white spots or their clusters and the too salty taste of the product. These two characteristics are negative attributes as disliked by consumers. This research aimed toward the study of the mechanism of white particle occurrence and the method of producing less salty product. The first part of the study was concerned with the massive spore production of *Aspergillus oryzae* M-01 on solid substrates used as starter in koji fermentation. It was shown that rice grains had a high yield of spore survival after drying at $10.15 \log \text{cfu/g}$.

For mechanism of white particles formation, the study started with the trial on the thickness of soybean koji for protease production by *Aspergillus oryzae* M-01. Suitable thickness of soybean koji (2.5cm) was found to produce the highest protease activity at 52.89 unit/g at 48 hours of fermentation time. The koji obtained was mixed with well boiled soybean in the amount of 100, 50 and 30% in 22% salt water (moromi stage) which was made to stand for 8 weeks. Certain amount of white particles occurred in all treatments especially with 100% soybean koji, giving the largest amount of white particles. Some amounts could still be found in the sealed bottle product after boiling for 30 minutes prior to filling in. The amount of white particles was calculated in the percentage area of white particles compared with the total area of bottle surface of the container. The size of area increased with time of storage. One hundred percent of koji gave the highest amount of white particles area but got the highest acceptance from the taste panels. Elimination of white particles could be achieved by adding boiled water into the mash in a

ratio of 0.5:1.0 but which could still be accepted by the taste panel. The white particles could be classified into 3 categories: soft flakes, hard flakes and small grains. Most of their structures were composed of a certain amount of needle-like shape or rectangular-shape crystals. Chemical and physical properties of these white particles indicated that most or all of them were tyrosine amino acid.

The study of producing less salty Tao Chieo by using glutinous rice koji revealed that the steaming time of glutinous rice and the thickness of koji exerted effects on the quality of koji obtained. The steaming time of 40 minutes accompanied with the thickness of 5 cm gave the maximum amylase and protease activities at 58.01 and 95.06 unit/g, respectively, at 60 hours of incubation. The use of different quantities of glutinous rice koji in Tao Chieo making was also investigated and results showed that the product of 50% of glutinous rice koji in 18% salt water as fermented in 12 weeks and then boiled for 30 minutes, caused some changes in their characteristics. The product had a sour taste, alcoholic smell and less salty. However, the product was accepted by taste panel and had a high storage period of at least 6 weeks. The variation of salt concentration for making Tao Chieo with 50% glutinous rice koji found that 16% salt concentration could still give an acceptable product which could have a shelf life of at least 6 weeks.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สิทธิสิน บวรสมบัติ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและแนะนำในการทำวิจัยครั้งนี้ ตลอดจนให้ความสนใจและคอยติดตามการทำวิจัย รวมถึงช่วยตรวจสอบแก้ไขจนกระทั่งงานวิจัยเสร็จสมบูรณ์ส่งออกไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุกัญญา บวรสมบัติ และ ดร. วีระศักดิ์ เทพจันทร์ กรรมการที่ปรึกษา ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา และแนะนำในการทำวิจัย ตลอดจนช่วยตรวจสอบแก้ไขงานวิจัยในครั้งนี้เป็นอย่างดีและส่งผลสำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยิ่งมณี ตระกูลพิ้ว ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ และแก้ไขงานวิจัยเพื่อให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกด้านสถานที่ในการดำเนินการทดลองจนกระทั่งงานวิจัยนี้สำเร็จส่งออกไปได้ด้วยดี รวมถึงบริษัท เลมอนฟาร์ม จำกัด และ กลุ่มแม่บ้านสันป่ายาง ที่สนับสนุนวัตถุดิบและเงินทุนวิจัย และขอขอบคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปี 2553 และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ทุนวิจัยมหัศจรรย์จิตสกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภายใต้โครงการเชื่อมโยงภาคการผลิตกับงานวิจัย ทุนสกว.-อุตสาหกรรม ประจำปี 2553 ในการสนับสนุนทุนวิจัยครั้งนี้ โดยความเห็นในรายงานผลการวิจัยเป็นของผู้รับทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป

ขอกราบขอบพระคุณ คุณเตี้ยอุดมศักดิ์ และ คุณแม่มาลี จันทร์อนันต์ ที่ได้ส่งเสริมสนับสนุน ให้กำลังใจ กำลังทรัพย์ ตลอดจนคอยติดตามงานวิจัยจนกระทั่งงานวิจัยนี้สำเร็จส่งออกไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคนในสาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ช่วยสนับสนุน เป็นกำลังใจและให้ความช่วยเหลือที่ดีเสมอมา

นนทรี จันทร์อนันต์

ตุลาคม 2554

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญภาพ	(12)
สารบัญตารางผนวก	(14)
สารบัญภาพผนวก	(16)
บทที่ 1 บทนำ	
ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
เต้าเจี้ยว	4
วัตถุดิบสำหรับการผลิตเต้าเจี้ยว	5
การผลิตเต้าเจี้ยว	8
จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักเต้าเจี้ยว	9
เอนไซม์ที่มีบทบาทต่อการหมักเต้าเจี้ยว	11
อนุภาคสีขาว	14
ไทโรซีน	15
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	17
วัสดุอุปกรณ์	17
วิธีการวิจัย	20
ตอนที่ 1 ศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยว	20
ตอนที่ 2 การผลิตเต้าเจี้ยวรสเค็มน้อย	28

	(9)
	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัย และวิจารณ์	33
ตอน 1 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยว	33
1. ปริมาณเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตสปอร์ของ <i>A. oryzae</i> M-01	33
2. กิจกรรมของราในระหว่างการหมักโคจิ	35
2.1 อุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างในโคจิถั่วเหลือง	35
2.2 กิจกรรมเอนไซม์ในโคจิถั่วเหลือง	36
3. ปริมาณโคจิถั่วเหลืองต่อการเกิดอนุภาคสีขาวในกระบวนการหมัก	
โมโรมิ	38
3.1 จำนวนยีสต์และราใน โมโรมิ	38
3.2 จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกใน โมโรมิและการสร้างกรด	40
3.3 กิจกรรมเอนไซม์	42
3.4 สีของเต้าเจี้ยว	45
3.5 การเกิดอนุภาคสีขาวในระหว่างการหมัก โมโรมิ	47
3.6 ผลของการหมักโมโรมิระยะเวลาสั้นต่อการเกิดอนุภาคสีขาว	48
3.7 ผลของระยะเวลาในการฆ่าเชื้อเต้าเจี้ยวต่อการเกิดอนุภาคสีขาว	51
3.8 ผลของการการเจือจางเต้าเจี้ยวต่อการเกิดอนุภาคสีขาว	57
3.9 ผลของสัดส่วนของแข็งและของเหลวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวต่อ	63
การเกิดอนุภาคสีขาว	64
4. อนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่วางจำหน่ายในท้องตลาด	64
4.1 คุณลักษณะและสัดส่วนของแข็งและของเหลวของเต้าเจี้ยว	64
4.2 จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวทั้งหมดที่เกิดขึ้นบริเวณพื้นผิว	
ของเนื้อเต้าเจี้ยว	65
4.3 สัดส่วนของแข็งและของเหลวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว	66
4.4 ชนิดและปริมาณของอนุภาคสีขาว	67
5. การระบุชนิดของอนุภาคสีขาว	68
5.1 โครงสร้างทางกายภาพของอนุภาคสีขาว	68
5.2 การทดสอบแป้งของอนุภาค	71
5.3 การทดสอบการละลายในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก	71
5.4 การทดสอบการวัดค่าดูดกลืนแสงส่องกราด	73

	(10)
	หน้า
ตอนที่ 2 การผลิตเต้าเจี้ยวรสเค็มน้อย	74
1. การเตรียมโคจิข้าวเหนียว	74
1.1 ระยะเวลาในการนึ่งข้าวเหนียวที่มีผลต่อสมบัติโคจิ	74
1.2 ความหนาของข้าวเหนียวที่มีผลต่อสมบัติโคจิ	77
2. การหมักโมโรมิ	79
2.1 ปริมาณโคจิที่เหมาะสมต่อการหมักโมโรมิ	79
2.2 ความเข้มข้นน้ำเกลือที่เหมาะสมต่อการหมักโมโรมิ	89
2.3 ผลของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว	98
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	100
สรุปผลการวิจัย	100
ข้อเสนอแนะ	101
บรรณานุกรม	102
ภาคผนวก	106
ภาคผนวก ก ขั้นตอนการผลิตเต้าเจี้ยว	107
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์กายภาพ	109
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ทางเคมี	111
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์จุลชีววิทยา	120
ภาคผนวก จ การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส	124
ภาคผนวก ฉ ข้อมูลการวิเคราะห์ผลการทดลอง	127
ภาคผนวก ช ประวัติผู้วิจัย	154

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 การใช้งานเอนไซม์โปรตีเอส	14
2 จำนวนสปอร์ของรา <i>A. oryzae</i> M-01 ที่เหลือรอดชีวิตบนรำข้าวเจ้าและข้าวเจ้า ภายหลังการอบให้แห้ง เมื่อใช้ปริมาณสปอร์ชั้นแตกต่างกัน	35
3 การเกิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยวที่หมักโดยใช้โคจี้ถั่วเหลืองในปริมาณแตกต่างกัน	47
4 จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวและชนิดอนุภาคสีขาวในตัวอย่างเต้าเจี้ยวที่วาง จำหน่ายในท้องตลาด	48
5 จำนวนผู้ทดสอบที่เรียงลำดับความชอบในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวทั้ง 3 ตัวอย่าง	50
6 ผลสรุปของการเรียงลำดับความชอบผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว จำนวน 3 ตัวอย่าง	51
7 จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่ผ่านการต้มในเวลา ที่แตกต่างกัน	52
8 ชนิดอนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่ผ่านการต้มในเวลาที่แตกต่างกัน	53
9 จำนวนผู้ทดสอบที่เรียงลำดับความชอบในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวทั้ง 3 ตัวอย่าง	57
10 ผลสรุปของการเรียงลำดับความชอบผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว จำนวน 3 ตัวอย่าง	57
11 จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่ผ่านการต้มในเวลา ที่แตกต่างกัน	59
12 ชนิดอนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่ผ่านการต้มในเวลาที่แตกต่างกัน	60
13 จำนวนผู้ทดสอบที่เรียงลำดับความชอบในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวทั้ง 3 ตัวอย่าง	64
14 ผลสรุปของการเรียงลำดับความชอบผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว จำนวน 3 ตัวอย่าง	64
15 ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่วางจำหน่ายในท้องตลาด	65
16 จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวและชนิดอนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่ วางจำหน่ายในท้องตลาด	66
17 ผลการทดสอบแป้งของอนุภาคสีขาว	71
18 ความสามารถในการละลายของอนุภาคสีขาว	72
19 ค่าดูดกลืนแสง(λ_{max}) ของอนุภาคสีขาว	73
	หน้า

ตาราง

20	จำนวนผู้ทดสอบที่เรียงลำดับความชอบในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวทั้ง 3 ตัวอย่าง	88
21	ผลสรุปของการเรียงลำดับความชอบผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว จำนวน 3 ตัวอย่าง	88
22	การเปลี่ยนแปลงของเต้าเจี้ยวระหว่างการเก็บรักษานาน 6 สัปดาห์	98
23	จำนวนผู้ทดสอบที่เรียงลำดับความชอบในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวทั้ง 3 ตัวอย่าง	99
24	ผลสรุปของการเรียงลำดับความชอบผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว จำนวน 3 ตัวอย่าง	99

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 เค้าเขียวพร้อมบริโภคร : เค้าเขียวในบรรจุภัณฑ์ (a) ลักษณะเนื้อเค้าเขียว(b)	4
2 เมล็ดถั่วเหลือง	5
3 โครงสร้างทางเคมีของไทโรซีน	11
4 การผลิตสปอร์ของรา <i>A. oryzae</i> M-01 บนสับสเตรท 2 ชนิด เมื่อหมักโคจิ นาน 72 ชั่วโมง: ราข้าวเจ้า (a) และข้าวเจ้า (b)	33
5 ผงสปอร์ที่ได้จากการเติมสปอร์ซัสเพนชั้นของรา <i>A. oryzae</i> M-01 ในปริมาณ ที่แตกต่างกันบนราข้าวเจ้า: 0.5 มิลลิลิตร (a) 1.0 มิลลิลิตร (b) และ 1.5 มิลลิลิตร (c)	34
6 ผงสปอร์ที่ได้จากการเติมสปอร์ซัสเพนชั้นของรา <i>A. oryzae</i> M-01 ในปริมาณ ที่แตกต่างกันบนข้าวเจ้า: 0.5 มิลลิลิตร (a) 1.0 มิลลิลิตร (b) และ 1.5 มิลลิลิตร (c)	34
7 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในระหว่างการหมักโคจิถั่วเหลืองที่มีความหนา แตกต่างกัน	36
8 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-เบส ในระหว่างการหมักโคจิถั่วเหลือง ที่มีความหนาแตกต่างกัน	36
9 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมอะไมเลสในระหว่างการหมักโคจิถั่วเหลืองที่มี ความหนาแตกต่างกัน	37
10 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมโปรตีเอสในระหว่างการหมักโคจิถั่วเหลืองที่มี ความหนาแตกต่างกัน	38
11 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้ โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน	39
12 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนยีสต์ (a) และรา (b) ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน	40
13 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในระหว่างการหมักโมโรมิ ที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในจำนวนที่แตกต่างกัน	41

ภาพ	หน้า
14 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดแลคติกในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน	41
15 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-เบสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน	42
16 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมอะไมเลสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน	43
17 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน	43
18 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของโปรตีเอสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน	44
19 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดอะมิโนอิสระในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน	45
20 การเปลี่ยนแปลงค่าสี L^* , a^* และ b^* ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน (ร้อยละ): 100 (a) 50 (b) และ 30 (c)	46
21 กิจกรรมโปรตีเอสและปริมาณกรดอะมิโนอิสระในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว	49
22 ค่าสีของผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่หมักด้วยโคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน	50
23 กิจกรรมโปรตีเอสและปริมาณกรดอะมิโนอิสระในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวอายุ 8 สัปดาห์ที่ผ่านการต้มให้เดือดนาน: 20 นาที (a) 30 นาที (b) และ 40 นาที (c)	54
24 ผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่หมักด้วยโคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน (ร้อยละ): 100 (a) 50 (b) และ 30 (c)	55
25 ค่าสีในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่ผ่านการต้มนาน: 20 นาที (a) 30 นาที (b) และ 40 นาที (c)	56
26 ผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่ผ่านการปรับสัดส่วนของเหลวแล้วซึ่งหมักด้วยโคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน (ร้อยละ): 100 (a) 50 (b) และ 30 (c)	58
27 กิจกรรมโปรตีเอสและปริมาณกรดอะมิโนอิสระในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวอายุ 8 สัปดาห์ที่ผ่านการปรับสัดส่วนของเหลวและผ่านการต้มนาน: 20 นาที (a) 30 นาที (b) และ 40 นาที (c)	61
28 ค่าสีของผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่ผ่านการต้มนาน: 20 นาที (a) 30 นาที (b) และ 40 นาที	62

ภาพ	หน้า
29	ตัดส่วนของแข็งและของเหลวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว
30	ตัดส่วนของแข็งและของเหลวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว
31	ตัดส่วนของอนุภาคสีขาวชนิดต่างๆ ที่พบในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่วางจำหน่ายในท้องตลาด
32	อนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่หมักด้วยโคจิปริมาณร้อยละ 100 50 และ 30 ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด 3 มิติ (20X): แบบแผ่นนุ่ม (a) แบบแผ่นแข็ง (b) และแบบเม็ดเล็กๆ (c)
33	อนุภาคสีขาวของเต้าเจี้ยวที่วางจำหน่ายในท้องตลาดส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด 3 มิติ (20X): แบบแผ่นนุ่ม (a), แบบแผ่นแข็ง (b) และแบบเม็ดเล็กๆ (c)
34	ผลึกไทโรซีนบริสุทธิ์และอนุภาคสีขาวชนิดต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (40X): ผลึกไทโรซีนบริสุทธิ์ (a) แบบแผ่นนุ่ม (b) แบบแผ่นแข็ง (c) และแบบเม็ดเล็กๆ (d)
35	ผลึกไทโรซีนบริสุทธิ์และอนุภาคสีขาวชนิดต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด: ผลึกไทโรซีนบริสุทธิ์ (500X) (a), แบบแผ่นนุ่ม (3500X) (b), แบบแผ่นแข็ง (3500X) (c) และแบบเม็ดเล็กๆ (500X) (d)
36	ชิ้นส่วนเปลือกเมล็ดถั่วเหลืองส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 3 มิติ (a) และภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (40X) (b)
37	การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในโคจิที่ใช้ข้าวเหนียวที่ผ่านการนึ่งในเวลาที่แตกต่างกัน
38	การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของโคจิที่ใช้ข้าวเหนียวที่ผ่านการนึ่งในเวลาที่แตกต่างกัน: ค่าความเป็นกรด-เบส (a) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (b) กิจกรรมอะไมเลส (c) และ กิจกรรมโปรตีเอส (d)
39	การเจริญของรา <i>A. oryzae</i> M-01 ในโคจิข้าวเหนียวอายุ 72 ชั่วโมง ความหนา 5 เซนติเมตร (ภาพตัดขวาง)
40	การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิที่หมักด้วยโคจิข้าวเหนียวที่มีความหนาแตกต่างกัน: ค่าความเป็นกรด-เบส (a) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (b) กิจกรรมอะไมเลส (c) และกิจกรรมโปรตีเอส (d)

ภาพ	หน้า
41 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน	80
42 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน: ยีสต์ (a) และรา (b)	81
43 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณอัลกอฮอล์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน	82
44 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-เบสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน	82
45 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดแลกติกและปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติกในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน: ปริมาณกรดแลกติก (a) และปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติก (b)	83
46 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมอะไมเลสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน	84
47 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน	85
48 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมโปรตีเอสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน	86
49 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดอะมิโนอิสระในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน	86
50 การเปลี่ยนแปลงของค่า L^* , a^* และ b^* ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน (ร้อยละ): 30 (a) 40 (b) และ 50 (c)	87
51 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้ น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน	89
52 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้ น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน: ยีสต์ (a) และรา (b)	90
53 การเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรด-เบสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้ น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน	91
54 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณอัลกอฮอล์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้ น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน	92

ภาพ	หน้า
55 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดแลคติกและปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน: ปริมาณกรดแลคติก (a) และจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก (b)	93
56 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมอะไมเลสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน	94
57 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน	94
58 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมโปรตีเอสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน	95
59 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดอะมิโนอิสระในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน	96
60 การเปลี่ยนแปลงของค่าสี L^* , a^* และ b^* ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน (ร้อยละ): 10 (a) 13 (b) และ 16 (c)	97

สารบัญตารางผนวก

ตารางผนวก	หน้า
1 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-เบสของโคจิถั่วเหลืองที่มีความหนาแตกต่างกัน	128
2 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมอะไมเลสและ โปรตีเอส ของที่ใช้น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน	128
3 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ ค่าความเป็นกรด-เบส และปริมาณกรดแลกติก ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน	129
4 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กิจกรรมอะไมเลสและ โปรตีเอส ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน	130
5 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมโปรตีเอสและปริมาณกรดอะมิโน ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน	131
6 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ บีสต์ รา และ แบคทีเรียกรดแลกติก ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน	132
7 การเปลี่ยนแปลงของค่าสี ของโคจิในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน	133
8 ค่าสี กิจกรรมโปรตีเอส กรดอะมิโนอิสระ และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด บีสต์ และ รา ในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว	134
9 ค่าสี กิจกรรมโปรตีเอส กรดอะมิโนอิสระและปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด บีสต์ และ รา ในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่เพิ่มสัดส่วนของเหลว	135
10 ค่าสี กิจกรรมโปรตีเอส กรดอะมิโนอิสระและปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด บีสต์ และ รา ในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่เพิ่มสัดส่วนของเหลว	136
11 สัดส่วนของเหลวและของแข็งในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่วางจำหน่ายในท้องตลาด	137

ตารางผนวก

หน้า

12	การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-เบสของโคจิที่ใช้ข้าวเหนียวที่ผ่านการนึ่งในเวลาที่แตกต่างกัน	138
13	การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และกิจกรรมอะไมเลสของโคจิที่ใช้ข้าวเหนียวที่ผ่านการนึ่งในเวลาที่แตกต่างกัน	139
14	การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมโปรตีนของโคจิที่ใช้ข้าวเหนียวที่ผ่านการนึ่งในเวลาที่แตกต่างกัน	140
15	การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-เบสและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ของโคจิที่มีความหนาแตกต่างกัน	141
16	การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมอะไมเลสและกิจกรรมโปรตีนเอส ของโคจิที่มีความหนาแตกต่างกัน	142
17	การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-เบส ปริมาณกรดแลคติก ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน	143
18	การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลรีดิวซ์ กิจกรรมอะไมเลสและโปรตีนเอส ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน	144
19	การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดอะมิโนอิสระและปริมาณอัลกอฮอล์ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน	145
20	การเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ยีสต์ รา แบคทีเรียกรดแลคติก และของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน	146
21	การเปลี่ยนแปลงของค่าสีของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน	147
22	การเปลี่ยนแปลงของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ ค่าความเป็นกรด-เบส และปริมาณกรดแลคติก ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำเกลือที่แตกต่างกัน	148

23	การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลรีดิวซ์ กิจกรรมอะไมเลสและโปรตีนเอส ของ เต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ แตกต่างกัน	149
24	การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดอะมิโนอิสระ และปริมาณอัลกอฮอล์ ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำเกลือ ที่แตกต่างกัน	150
25	การเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ ยีสต์ รา และแบคทีเรียกรดแลก ติก ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิโดยใช้ความเข้มข้นของ น้ำเกลือที่แตกต่างกัน	151
26	การเปลี่ยนแปลงของค่าสีของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิโดยใช้ ความเข้มข้นของน้ำเกลือที่แตกต่างกัน	152
27	การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และจุลินทรีย์ ของผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว ตลอดอายุการเก็บรักษานาน 6 สัปดาห์	153

สารบัญภาพผนวก

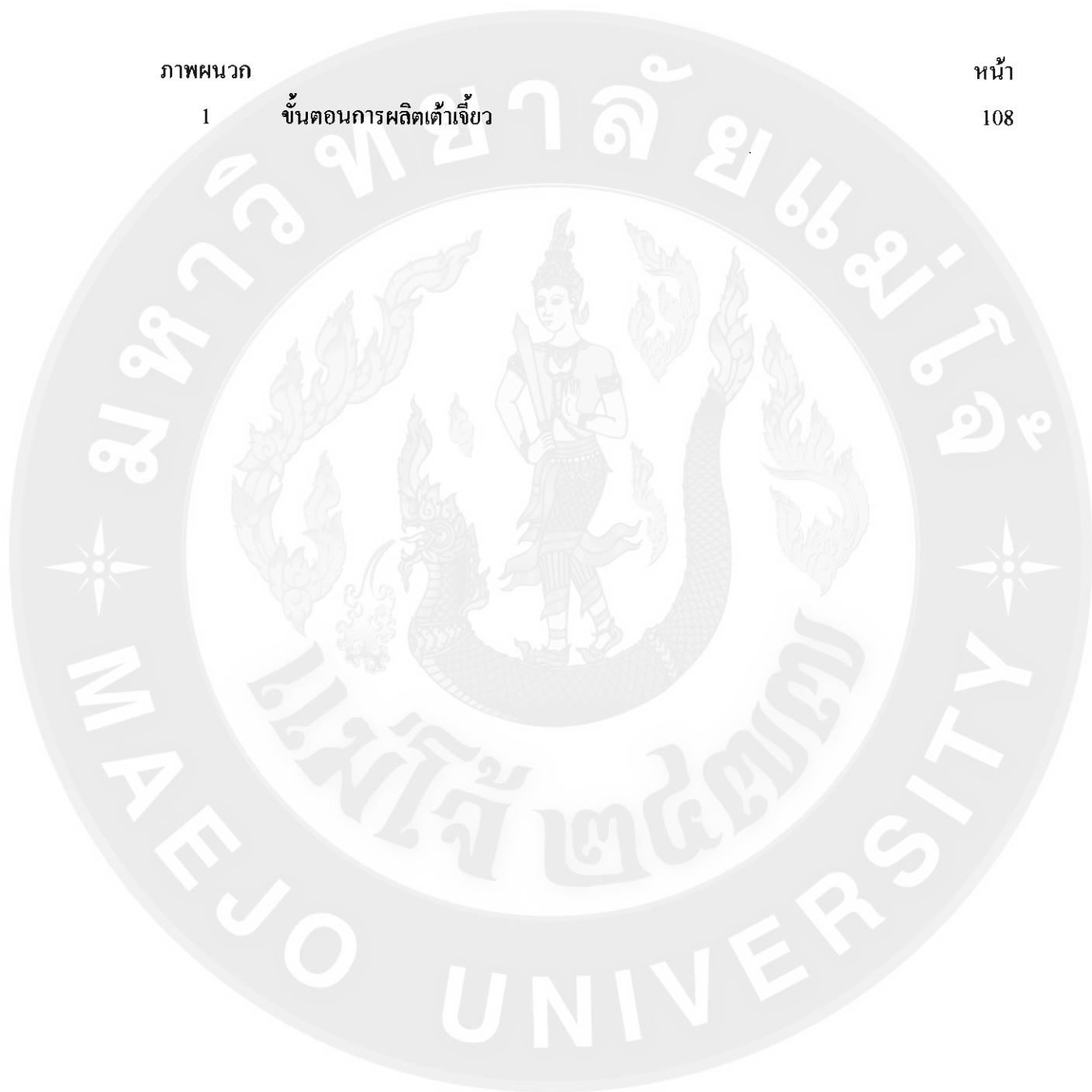
ภาพผนวก

1

ขั้นตอนการผลิตเต้าเจี้ยว

หน้า

108



บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

เต้าเจี้ยว (Tao Chico or soybean paste) จัดเป็นอาหารหมักพื้นเมืองที่นิยมบริโภคกันมากในประเทศแถบเอเชียตะวันออก ลักษณะของเต้าเจี้ยวโดยทั่วไปจะมองเห็นเป็นเม็ดสีขาวเหลือง และเนื้อแป้งสุก ลอยหรือกระจายตัวอยู่ในน้ำเกลือเข้มข้น ยกเว้นเต้าเจี้ยวญี่ปุ่นหรือมิโสะ (miso) ที่เม็ดสีขาวถูกบดพร้อมกับแป้งและเกลือจนมีลักษณะเป็นของกึ่งแข็งกึ่งเหลว ผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่ผลิตในประเทศไทยบางส่วน ได้ประสบกับปัญหาการเกิดอนุภาคสีขาว (white particles) ที่มีขนาดต่างๆ กัน กระจายตัวอยู่ในเนื้อเต้าเจี้ยว อนุภาคเหล่านี้ถ้ามีจำนวนมาก จะทำให้สังเกตเห็นได้ง่าย ซึ่งผู้บริโภคส่วนใหญ่พิจารณาว่าเป็นคำหนิหรือเชื้อรา ที่ทำให้เต้าเจี้ยวไม่เหมาะกับการบริโภค งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดอนุภาคสีขาวดังกล่าวมีน้อยมาก และกล่าวอ้างว่าอนุภาคสีขาวหรือจุดขาวที่พบในเต้าเจี้ยว เกิดจากผลึกของกรดอะมิโนไทโรซีน (tyrosine) ซึ่งกรดชนิดนี้เกิดจากโปรตีนในถั่วเหลืองถูกย่อยสลาย (hydrolyze) ด้วยเอนไซม์โปรตีเอส (protease) ที่ถูกผลิตขึ้น โดยราในสกุล *Aspergillus* ได้แก่ *A. oryzae*, *A. flavus* และ *A. soyae* ในขั้นตอนการหมักโคจิ (koji) (Flegel et al., 1981; Bhumiratana, 1988; Oyashiki et al., 1989)

ปัญหาอีกประการหนึ่งของเต้าเจี้ยวที่วางจำหน่ายในท้องตลาด คือ ปริมาณเกลือที่ใช้ในการหมักเต้าเจี้ยวในขั้นตอนการหมักโมโรมิ (moromi) ซึ่งเป็นขั้นตอนการหมักที่ต่อเนื่องจากการหมักโคจิ มีความเข้มข้นสูงมาก คือประมาณร้อยละ 22 เป็นต้นไป การใช้เกลือที่มีความเข้มข้นสูงมากดังกล่าว มีวัตถุประสงค์เพื่อป้องกันเต้าเจี้ยวไม่ให้เน่าเสีย ในระหว่างการหมักโมโรมิ และในระหว่างการเก็บรักษา แต่เมื่อเป็นผลิตภัณฑ์พร้อมบริโภคปริมาณเกลือที่สูงขนาดนี้ กลับทำให้ผู้บริโภคส่วนใหญ่ปฏิเสธรสชาติที่เค็มจัด นอกจากนี้ผู้ป่วยที่เป็นโรคความดันโลหิตสูงอาจมีความกังวลใจเกี่ยวกับปัญหาสุขภาพ ถ้าต้องบริโภคเต้าเจี้ยวที่มีปริมาณเกลือสูง แนวทางแก้ปัญหารสชาติที่เค็มเกินไปของเต้าเจี้ยว คือ การเติมน้ำตาลลงไปประมาณร้อยละ 5 หรือมากกว่า เพื่อให้ความหวานกลบรสเค็มของเต้าเจี้ยว

ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้มุ่งศึกษากลไกของการเกิดอนุภาคสีขาวเพื่อหาแนวทางป้องกันการเกิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยวสำเร็จรูป และวิธีการหมักเต้าเจี้ยวที่มีรสเค็มน้อย เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ใกล้เคียงกับธรรมชาติโดยมีการเค็มแต่น้อยที่สุด และเพื่อให้ผู้บริโภคได้รับรสชาติดั้งเดิมของเต้าเจี้ยว ทำให้มีการนำเต้าเจี้ยวไปใช้ประกอบอาหารเพิ่มขึ้น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดอนุภาคสีขาวในกระบวนการหมักเต้าเจี้ยว
2. เพื่อศึกษาองค์ประกอบของอนุภาคสีขาวที่เกิดในเต้าเจี้ยว
3. เพื่อศึกษาวิธีการหมักเต้าเจี้ยวที่มีรสเข้มข้น

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ทราบปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยว
2. สามารถลดจำนวนอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยวที่บรรจุขวดแล้ว
3. ได้เต้าเจี้ยวที่มีรสเข้มข้น
4. ได้ผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่มีคุณภาพโดยรวมดีขึ้นกว่าเดิม

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสำคัญกับสุขภาพร่างกายมากขึ้น ดังนั้นจึงมีการคิดค้นอาหารชนิดใหม่จำนวนมากขึ้นมา เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค ทั้งในด้านรสชาติ คุณค่าทางโภชนาการ และความปลอดภัยในการบริโภคอาหาร เค้าเจียวเป็นอีกหนึ่งผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากวัตถุดิบหลักในการทำเค้าเจียว คือถั่วเหลืองซึ่งเป็นแหล่งสารอาหารประเภทโปรตีน ขั้นตอนการผลิตเค้าเจียวมีกระบวนการทางชีวเคมีค่อนข้างซับซ้อน เนื่องจากต้องเกี่ยวข้องกับกิจกรรมของจุลินทรีย์หลายชนิด (สุทธิศักดิ์, 2520; พิมพ์พร, 2521)

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์เค้าเจียวที่วางขายตามท้องตลาดสำหรับผู้ผลิตบางราย ต้องประสบกับปัญหาที่เกี่ยวข้องกับคุณลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ ซึ่งได้แก่ การเกิดอนุภาคสีขาวในเนื้อเค้าเจียว ซึ่งสังเกตเห็นได้ชัดเจนที่มีปริมาณมากในระดับหนึ่ง ปรากฏการณ์ดังกล่าวทำให้ผู้บริโภคเกิดความไม่มั่นใจในคุณภาพของผลิตภัณฑ์ และปฏิเสธการซื้อผลิตภัณฑ์ในที่สุด นอกจากนี้แล้วยังพบว่าเค้าเจียวที่จำหน่ายทั่วไปในท้องตลาดมีรสชาติที่เค็มมากเกินไป ซึ่งการแก้ไขปัญหาดังกล่าวของผู้ประกอบการส่วนใหญ่ ได้แก่การเติมน้ำตาลลงไปในผลิตภัณฑ์ในปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งบางรายอาจสูงถึงร้อยละ 15 ทำให้รสชาติที่ดีของเค้าเจียวลดลง และยังทำให้เค้าเจียวมีสีคล้ำขึ้น

ดังนั้นจึงได้วางแนวทางการศึกษากลไกที่ทำให้เกิดอนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์เค้าเจียว เพื่อทำให้จำนวนและขนาดอนุภาคสีขาวลดลงในระดับที่ยอมรับได้ และทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์เค้าเจียวรสเค็มน้อย เพื่อให้ได้เค้าเจียวที่มีปริมาณเกลือลดลงจากระดับทั่วไป แต่ยังคงมีรสชาติที่ยอมรับได้โดยที่ไม่ต้องเติมน้ำตาลทราย

เต้าเจี้ยว

เต้าเจี้ยว (มิโซะ) เป็นเครื่องปรุงรสอาหารชนิดหนึ่ง ที่ได้จากการหมักถั่วเหลือง และข้าวหรือแป้ง ในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นสูง มีชื่อเรียกกันหลายอย่างตามแต่ละประเทศผลิตกันเช่น chiang (จีน), jang หรือ doenjang (เกาหลี), tauco (อินโดนีเซีย), tao-si (ฟิลิปปินส์), tao-chieo (ประเทศไทย) เป็นต้น (วราวุฒิและรุ่งนภา, 2532) ขั้นตอนการผลิตเต้าเจี้ยวมีความคล้ายคลึงกับกระบวนการผลิตซีอิ๊วเป็นส่วนใหญ่ และมีความเกี่ยวข้องกับกิจกรรมของจุลินทรีย์หลายชนิด ทั้งรา ยีสต์ และแบคทีเรีย ที่มีบทบาทในการเปลี่ยนแปลงสารอาหารต่างๆ ในวัตถุดิบที่ใช้หมัก ให้กลายเป็นสารอาหารที่ร่างกายนำไปใช้ได้ง่าย และกลิ่นหอมที่มีลักษณะเฉพาะตัว (สุทธิศักดิ์, 2520; พิมพ์พร, 2521)

การผลิตเต้าเจี้ยวและซีอิ๊วเกี่ยวข้องกับกระบวนการหมัก 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนการหมักถั่วเหลืองและข้าวสาลีด้วยราในสกุล *Aspergillus* เรียกว่า โคจิ (koji) ซึ่งราจะเจริญและสร้างเอนไซม์หลายชนิดด้วยกันทำให้เกิดการย่อยสลายวัตถุดิบ ให้กลายเป็นสารชีวโมเลกุลที่มีขนาดเล็กลง ขั้นตอนที่ 2 คือขั้นตอนการหมักโคจิที่ได้ในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นสูง เรียกว่า โมโรมิ (moromi) โดยจุลินทรีย์อีก 2 ชนิด คือแบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria) และยีสต์ ควบคู่ไปกับกิจกรรมของเอนไซม์ที่ราสร้างขึ้นในขั้นตอนการหมักโคจิ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่มีกลิ่นหอมและรสชาติดี (Yokotsuka, 1986)



(a)



(b)

ภาพ 1 เต้าเจี้ยวพร้อมบริโภค: เต้าเจี้ยวในบรรจุภัณฑ์ (a) ลักษณะเนื้อเต้าเจี้ยว (b)

ที่มา: lemonfarm, 2011

ผู้บริโภคคนไทยมักนำเต้าเจี้ยว (ภาพ 1) มาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ปรุงรสสำหรับอาหารชนิดต่างๆ เนื่องจากเต้าเจี้ยวช่วยเพิ่มรสชาติให้แก่อาหาร และยังมีคุณค่าทางโภชนาการอีกด้วย ซึ่งประกอบด้วยสารอาหารต่างๆ โปรตีน (protein) ไขมัน (fat) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) และเถ้า (ash) ร้อยละ 19.4 9.4 13.2 และ 13.0 ตามลำดับ (Rehm and Reed, 1983)

วัตถุดิบสำหรับการผลิตเต้าเจี้ยว

ถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine max* (L) Merr. เมล็ดถั่วเหลือง (ภาพ 2) แต่ละพันธุ์จะมีสีเปลือก (seed coat) สีงมุก (hilum) ปริมาณความชื้น โปรตีน และไขมันแตกต่างกัน ถั่วเหลืองของไทยจะมีสีเปลือกเป็นสีเหลืองอ่อน สีงมุกเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำ มีปริมาณความชื้น โปรตีน และไขมันร้อยละ 10 17 และ 34 ตามลำดับ (กองโภชนาการ, 2530)



ภาพ 2 เมล็ดถั่วเหลือง

ที่มา: ประไพศรี, 2553

ถั่วเหลืองจากสหรัฐอเมริกาพันธุ์ต่างๆ มีเปลือกสีน้ำตาล ไม่มันเงา งมุกถั่วเหลืองมีสีเหลือง สีดำ หรือสีเนื้อ มีปริมาณความชื้น โปรตีน และไขมันอยู่ระหว่างร้อยละ 7.7-8.1 45.1 และ 17.9-18.9 ตามลำดับ ในขณะที่ถั่วเหลืองจากญี่ปุ่นพันธุ์ต่างๆ สีของเปลือกมีน้ำตาลอมเขียว งมุกของถั่วเหลืองมีสีน้ำตาลเข้ม สีเหลือง มีปริมาณความชื้น โปรตีน และไขมันอยู่ระหว่างร้อยละ 7.9-8.2 40.8-45.2 และ 17.3-19.4 ตามลำดับ (Wang et al., 1983) องค์ประกอบของถั่วเหลืองมีความ

แตกต่างกันตามสภาพของแหล่งเพาะปลูก (Smith et al., 1960) การใช้ประโยชน์จากถั่วเหลืองในการทำผลิตภัณฑ์อาหาร ในบางครั้งมีความจำเป็นที่จะต้องคัดเลือกใช้สายพันธุ์ให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ เช่น การใช้ถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่มีเปลือกสีเหลืองอ่อน และมีโปรตีนสูงมาทำเป็นเต้าหู้ เป็นต้น

Sakaki (1996) กล่าวว่า ซิอีวที่มีกลิ่นหอมและรสชาติ ส่วนหนึ่งเกิดจากสารประกอบที่มีชื่อเรียกว่า HEMF (4-hydroxy-2(or5)-ethyl-5(or2)-methyl-3(2H)-furanone) สารดังกล่าวเกิดจากสารตั้งต้น (precursor) ที่พบได้ในถั่วเหลืองและข้าวสาลีเท่านั้น และเกิดขึ้นในขั้นตอนการหมักโมโรมิ โดยอาศัยกิจกรรมของยีสต์

ข้าวและแป้ง

ข้าวและแป้ง จัดเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญ และมีความสำคัญเป็นอันดับสองรองจากถั่วเหลือง ในการนำมาหมักเต้าเจี้ยว เนื่องจากสามารถใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตได้จากทั้งเมล็ดข้าวบดหรือแป้งที่ใช้ในการคลุกกับถั่วเหลือง นอกเหนือจากคาร์โบไฮเดรตในถั่วเหลือง ในการหมักเต้าเจี้ยวทางอุตสาหกรรม นิยมใช้แป้งสาลี (wheat flour) หรือแป้งข้าวเจ้า (rice flour) หรืออาจใช้ในรูปของเมล็ดข้าวสาลีหรือเมล็ดข้าวเจ้าก็ได้

อรอนงค์ (2547) ได้กล่าวถึงองค์ประกอบทางเคมีของข้าวว่า มีผลมาจากสายพันธุ์ สภาพการปลูก-การเก็บเกี่ยว และกระบวนการแปรรูปจากข้าวเปลือกเป็นข้าวกล้องและข้าวสาร

ประเทศไทยส่วนใหญ่นิยมใช้แป้งข้าวเจ้ามากกว่าแป้งสาลีเพราะราคาถูกกว่า แต่การใช้แป้งสาลีจะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นรสดี เนื่องจากแป้งสาลีหรือข้าวสาลีมีปริมาณโปรตีนสูง คือประมาณ 8-14 เปอร์เซ็นต์ และประกอบด้วยปริมาณกรดกลูตามิกที่สูงกว่ากรดอะมิโนชนิดอื่นๆ จึงก่อให้เกิดรสชาติที่ดี (ไพบุลย์, 2521) แต่ผลิตภัณฑ์จะมีสีเข้มกว่าการใช้แป้งข้าวเจ้า เพื่อชดเชย ข้อเสียเปรียบของแป้งทั้ง 2 ชนิด จึงอาจมีการใช้แป้งสาลีผสมกับแป้งข้าวเจ้าในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

การใช้ประโยชน์จากข้าวเพื่อให้เป็นแหล่งอาหารของราในกระบวนการหมักโคจิ จึงมีรูปแบบที่หลากหลาย เช่น การใช้ข้าวเหนียวแทนข้าวเจ้าหรือแป้งข้าวเจ้า เช่น ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 ซึ่งเป็นข้าวเหนียวสายพันธุ์ที่มีลำต้นสูง ในเขตภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ เกษตรกรได้รับการส่งเสริมให้ทำการปลูกข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 ในลักษณะเดียวกับการปลูกข้าว

ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 ได้มาจากการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม โดยรังสีแกมมา (γ) ขนาด 20 KRad อาบเมล็ดข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ให้กลายพันธุ์เป็นข้าวเหนียว แล้วนำมาปลูกคัดเลือกที่สถานีทดลองข้าวบางเขน และ

สถานีทดลองข้าวพิมาย จากการคัดเลือกได้ข้าวเหนียวหลายสายพันธุ์ด้วยกัน ในต้นข้าวช่วงที่ 2 แต่สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตมากที่สุดคือ ข้าวดอกมะลิ 105 65-G2 U-68-254 เป็นข้าวเหนียวหอมที่มีคุณภาพดี พันธุ์แรกที่ได้จากการอบรมรังสีปรับตัวได้ดี เป็นที่นิยมปลูกและรับประทานมาก (สถาบันวิจัยข้าวกรมวิชาการเกษตร, 2540)

เกลือ

เกลือเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของการผลิตเต้าเจี้ยว สามารถป้องกันป้องกันการเสื่อมเสีย และเป็นแหล่งให้รสเค็ม นอกจากนี้เกลียวยังเป็นวัตถุดิบในการผลิตสารเคมีบางตัว เกลือมีอยู่ 2 ชนิด คือเกลือสินเธาว์ (rock salt) และเกลือทะเล (sea salt) โดยทั่วไปการผลิตเต้าเจี้ยวจะใช้เกลือทะเลซึ่งมีปริมาณโซเดียมคลอไรด์มากกว่าร้อยละ 95 (Yokotsuka, 1986) โดยโซเดียมคลอไรด์มีหน้าที่เหมือนกับสารยับยั้ง และคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ในขั้นการหมักโมโรมิ นอกจากนี้เกลียวยังช่วยในการปรุงแต่งรสชาติให้กับเต้าเจี้ยวด้วย (Yong and Wood, 1974)

ความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ใช้หมักเต้าเจี้ยวมักกำหนดให้อยู่ในช่วงร้อยละ 18-22 เพราะเป็นความเข้มข้นที่สูงพอที่จะสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นอันตราย และจุลินทรีย์ที่ทำให้เต้าเจี้ยวเน่าเสียได้ ส่วนแบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria: LAB) และยีสต์ที่ทนเกลือได้จะเจริญได้ดี และผลิตสารที่ทำให้เกิดกลิ่นรสที่ดีของชีอิ้ว (Bhumiratana et al., 1988) แต่สำหรับชีอิ้ว ที่ผลิตในประเทศญี่ปุ่น จะผลิตจากเกลือประมาณร้อยละ 17-19 (Yong and Wood, 1974)

ภคิรา (2550) ได้ศึกษาการหมักชีอิ้วจากถั่วมะแสะและถั่วเหลือง โดยใช้น้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 และไม่มีการเติมน้ำตาลทรายลงไป ในผลิตภัณฑ์สุดท้าย พบว่าชีอิ้วที่หมักได้มีรสชาติที่เค็มมาก

ศิริพร (2538) ได้ศึกษาผลของปริมาณเกลือในน้ำเกลือต่อกิจกรรมโปรตีนเอสในกระบวนการหมักชีอิ้ว โดยใช้น้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 26 เติมนลงในโคจิที่มีน้ำผสมอยู่ก่อนแล้ว เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของเกลือในน้ำเกลือเท่ากับร้อยละ 17.53-18.70

น้ำ

น้ำเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเต้าเจี้ยวมาก น้ำที่ใช้กับการผลิตเต้าเจี้ยวใช้มาตรฐานของน้ำดื่มทั่วไป ไม่มีสี กลิ่น รส และใส เช่น น้ำที่ผ่านการกรอง หรือน้ำที่ผ่านการต้ม แต่ถ้าใช้น้ำประปาจะมีผลทำให้ต้องใส่กลัาเชื้อเพิ่มเนื่องจากคลอรีนไปทำลายจุลินทรีย์บางส่วน น้ำที่ใช้ควร

มีสภาพเป็นกลางหรือเป็นด่างเล็กน้อย ดังนั้นจึงต้องควบคุมคุณภาพของน้ำเพราะจะมีผลต่อคุณภาพของเต้าเจี้ยว (วารุณี, 2545)

การผลิตเต้าเจี้ยว

การหมักโคจิ

โคจิ ซึ่งเป็นแหล่งสำคัญของเอนไซม์โปรตีเอส และอะไมเลส สามารถเตรียมได้จากถั่วเหลืองต้มสุก หรือจากข้าวสุก เช่น ข้าวเม็ลคัสตัน หรือข้าวบาร์เลย์ (คุษณี, 2546) ขั้นตอนการเตรียมโคจิจากข้าวหรือจากถั่วเหลืองจะมีความคล้ายคลึงกัน ซึ่งทำได้โดยการนำข้าวมาแช่น้ำข้ามคืน แล้วนึ่งให้ نیم ข้าวต้องสุกพอดี มีความชื้นประมาณร้อยละ 35-40 จากนั้นนำมาแผ่นกระด้งหรือถาดที่รองด้วยผ้าขาวบาง แล้วเกลี่ยให้หนาประมาณ 3-5 เซนติเมตร จากนั้นนำสปอร์ของเชื้อรา *A. oryzae* หรือ *A. sojae* ใส่ให้ทั่ว บ่มที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส ประมาณ 3-5 วัน โคจิที่ดีต้องมีเส้นใยสีขาวคลุมรอบโคจิและต้องไม่มีการปนเปื้อนจากราชนิดอื่น เรียกว่าโคจิข้าว (rice koji)

สำหรับการเตรียมโคจิจากถั่วเหลือง สามารถทำได้โดยนำถั่วเหลืองมาแช่น้ำ เพื่อให้ถั่วเหลืองนุ่มขึ้น และช่วยลดเวลาในการทำให้สุก หลังจากแช่น้ำแล้วถั่วเหลืองจะมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น 2.1-2.15 เท่า (Yokotsuka, 1986; Yong and Wood, 1974; Bhumiratana et al., 1988) หลังจากนั้นจึงต้มถั่วให้สุก แล้วรีบลดอุณหภูมิให้ต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ที่หลงเหลืออยู่ (Yong and Wood, 1974) ทำการเติมผงสปอร์ของราเช่นเดียวกับการเตรียมโคจิจากข้าว

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการบ่ม โคจิจะอยู่ระหว่าง 28-35 องศาเซลเซียส และโคจิควรมีความชื้นประมาณร้อยละ 55-60 เพื่อให้เหมาะสมสำหรับการเจริญของรา *A. oryzae* การปล่อยให้ความชื้นของโคจิสูงเกินไป จะทำให้มีโอกาสเกิดการปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียได้ (Beuchat, 1987) การควบคุมอุณหภูมิและความชื้น จัดเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการหมัก เพราะราจะเจริญและสร้างเส้นใยได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 30-35 องศาเซลเซียส เมื่อเส้นใยมีปริมาณมากแล้ว จึงให้ทำการลดอุณหภูมิให้ต่ำกว่า 30 องศาเซลเซียส คือ ประมาณ 25 องศาเซลเซียส เพื่อให้ราสร้างโปรตีนให้มากขึ้น (Wood, 1998)

การหมัก โมโรมิ (moromi)

คุณฉิม (2546) กล่าวถึงวิธีการหมักโมโรมิ ซึ่งทำได้โดยการนำถั่วเหลืองมาแช่น้ำเป็นเวลา 18-22 ชั่วโมงในระหว่างการแช่ต้องเปลี่ยนน้ำหลายๆ ครั้ง เพื่อลดการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย นำถั่วเหลืองไปต้มหรือนึ่งให้สุก หรือนึ่งที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส ประมาณ 20 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น เพื่อร่อนนำไปใช้ในการหมัก โดยอาจใช้อัตราส่วนระหว่างถั่วเหลืองต่อโคจิเท่ากับ 2:1 จากนั้นเติมน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นร้อยละ 17-22 บ่มที่อุณหภูมิห้อง โดยใส่น้ำเกลือต่อโคจิในอัตราส่วน เท่ากับ 2:1 น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นสูงกว่าร้อยละ 16 จะช่วยป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ที่เน่าเสียเจริญได้ในถังหมัก (Yong and Wood, 1974)

ขั้นตอนการหมักโมโรมิ จะเป็นช่วงการทำงานของเอนไซม์ที่เชื้อราสร้างขึ้นควบคู่ไปกับกิจกรรมการหมักโดยจุลินทรีย์ อีก 2 ชนิด คือ แบคทีเรียกรดแลกติก และยีสต์ ทำให้ได้เต้าเจี้ยวที่ได้ในขั้นตอนสุดท้ายมีกลิ่นและรสชาติที่ดี การใช้ปริมาณเกลือที่ความเข้มข้นที่สูงเช่นนี้ จะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสเค็มจัด

Chioua (1999) รายงานว่าสามารถหมักมิโสะโดยการใช้เกลือที่มีความเข้มข้นต่ำ คือมีโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 5 (low sodium chloride) พร้อมกับเติมเอธานอลลงไปร่วมด้วยร้อยละ 7.5 เพื่อป้องกันการเน่าเสียจากแบคทีเรีย

ช่วงของการหมักโมโรมิ ต้องทำการกวนผสมโมโรมิเป็นครั้งคราว เพื่อเป็นการเติมอากาศให้แก่เต้าเจี้ยว โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงสัปดาห์แรกนับว่ามีความจำเป็นอย่างยิ่ง ซึ่งนอกจากจะช่วยให้ส่วนผสมของวัตถุดิบเข้ากันดีแล้ว ยังช่วยทำให้ปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับสับสเตรตเป็นไปได้ดี และยังช่วยทำลายจุลินทรีย์ที่ไม่ทนเกลือที่ติดมากับโคจิได้อีกด้วย (Wood, 1998)

การหมักโมโรมิจะใช้เวลานาน 1-3 เดือน สำหรับการหมักกลางแจ้ง (Bhumiratana et al., 1988) แต่เวลาจะยาวนานออกไปเป็น 3 เดือน-1 ปี ถ้าเป็นการหมักในที่ร่ม (Yong and Wood, 1974)

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการหมักเต้าเจี้ยว

รา

ราที่มีความสำคัญและนิยมใช้ในการผลิตซีอิ๊วและเต้าเจี้ยว คือ *A. oryzae*, *A. flavus* และ *A. soyae* (sojae) จัดเป็นราในสกุล Deuteromycetes (Oyashiki et al., 1980) ซึ่งนิยมใช้ในการทำผลิตภัณฑ์อาหารหมักทั้งในแถบประเทศตะวันตกและตะวันออก (Jones, 1993) มีหน้าที่ในการสร้างเอนไซม์โปรตีเอส (protease) และอะไมเลส (amylase) โดยเอนไซม์โปรตีเอสจะย่อยโปรตีนในถั่ว

เหลืองให้เป็นกรดอะมิโน (amino acids) ซึ่งบางส่วนจะกลายเป็นเกลือของกรดอะมิโน เช่น โซเดียมกลูตาเมต (sodium glutamate) แล้วทำให้เกิดผลดีต่อเต้าเจี้ยวในด้านรสชาติ ส่วนอะไมเลส จะย่อยคาร์โบไฮเดรตในถั่วเหลือง ให้เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลขนาดเล็กลง และสุดท้ายได้เป็น น้ำตาลมอลโทส (maltose) และกลูโคส (glucose) ซึ่งจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน ในการเจริญเติบโตและการหมัก (Rehm and Reed, 1983)

A. oryzae และ *A. sojae* เป็นราสายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญได้ง่าย และพบว่ามี ประสิทธิภาพสูงในการสร้างเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญ และเหมาะสมในการทำโคจิ นอกจากนี้รา *Aspergillus* ยังมีส่วนร่วมในการก่อให้เกิดกลิ่นและรสชาติที่ดีในชีอิ้อีกด้วย (Yokotsuka, 1960a; Yokotsuka, 1986; Yong and Wood, 1974)

Oyashiki *et al.* (1989) ทดลองใช้ราหลายสายพันธุ์ในการเตรียมโคจิจากข้าวที่นึ่งสุก และพบว่า *A. oryzae* สามารถให้เอนไซม์ อัลฟาอะไมเลส (α -amylase) และนิวทรัลโปรตีเอสที่สูง ที่สุด (neutral protease)

Wood (1998) ได้กล่าวถึงสมบัติที่ดีของราสายพันธุ์ที่จะนำมาใช้ในการทำโคจิ ดังนี้ คือ มีความสามารถที่ดีในการให้รสชาติและสีกแก่ผลิตภัณฑ์สุดท้าย มีความสามารถในการสร้าง สปอร์ได้มาก ซึ่งจะมีความสำคัญต่อการเตรียมเป็นเชื้อเริ่มต้น (starter) หรือทานโคจิ (tane koji) ความสามารถในการเจริญได้อย่างรวดเร็วและให้กิจกรรมเอนไซม์ที่สูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายโปรตีน และเอนไซม์ย่อยสลายเนื้อเยื่อพืช มีอัตราการใช้สารอาหารใน ระหว่างการเจริญที่ต่ำ มีความคงตัวทางพันธุกรรมสูง มี conidiophore สั้น ซึ่งจะช่วยให้โคจิไม่จับ ตัวเป็นก้อนแน่นเกินไป ทำให้มีการถ่ายเทอากาศที่ดีกว่า และไม่สร้างสารพิษ

ในอุตสาหกรรมการผลิตเต้าเจี้ยวและชีอิ้ว ราที่คัดเลือกแล้ว จะถูกนำมาเพาะบน สับเสตรท (substrate) ที่เหมาะสม เช่น ปลายข้าวบดหยาบๆ ผสมกับน้ำ แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ก่อนที่ จะเติมสปอร์ของราที่ต้องการลงไป เพื่อผลิตสปอร์จำนวนมากสำหรับใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น ซึ่ง สามารถนำไปใช้ได้ทันที หรือนำไปเก็บรักษาไว้โดยวิธีการที่แตกต่างกัน เช่น การแช่เย็น การอบให้ แห้งในที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส หรืออาจนำไปผสมกับแป้งในอัตราส่วนแป้งต่อผงสปอร์ เท่ากับ 20:1 (วิลาวณิชย์, 2536)

แบคทีเรีย

แบคทีเรียที่พบและมีความสำคัญในการหมักเต้าเจี้ยว ได้แก่ แบคทีเรียที่ผลิตกรด โดยเฉพาะพวกที่ทนเกลือได้สูง ได้แก่ *Pediococcus sojae* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญ ในช่วงการหมักโมโรมิ โดยแบคทีเรียจะใช้น้ำตาลกลูโคส และมอลโทส ที่ได้จากการย่อยสลาย

คาร์โบไฮเดรต เพื่อผลิตกรดอินทรีย์ (organic acids) เอสเทอร์ (esters) เอทานอล (ethanol) และกรดไขมันอิสระ (free fatty acids) ทำให้กลิ่นและรสชาติของเต้าเจี้ยวดีขึ้น (Beuchat, 1987) ลักษณะที่สำคัญที่สุดของแบคทีเรียกลุ่มนี้ คือ สามารถหมักน้ำตาลให้ได้กรดแลคติก ทำให้ค่าความเป็นกรด-เบสของน้ำหมักลดลงจาก 6.0-7.0 เป็น 4.0-5.0 ซึ่งช่วงที่มีความสมดุลการเจริญของยีสต์ ที่มีบทบาทสำคัญในการหมักช่วงต่อไป

ยีสต์

ยีสต์ มีความสำคัญต่อการให้กลิ่นรสในการหมักเต้าเจี้ยว โดยทำการเปลี่ยนน้ำตาลในน้ำหมักให้เป็นเอธิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) บิวทิลแอลกอฮอล์ (butyl alcohol) และเอมิลแอลกอฮอล์ (amyl alcohol) และเมื่อทำปฏิกิริยากับกรดอินทรีย์จะได้เอสเทอร์ ซึ่งช่วยส่งเสริมให้เต้าเจี้ยวมีกลิ่นรสที่ดี (Beuchat, 1987) ยีสต์ที่พบ ได้แก่ *Zygosaccharomyces rouxii*, *Debaryomyces*, *Pichia* และ *Candida*

Sugiyama (1984) ได้แนะนำว่าในการคัดเลือกสายพันธุ์ของยีสต์เพื่อใช้ในการผลิตชีอิ้วแบบญี่ปุ่นควรจะใช้ *Z. rouxii* ซึ่งมีความสามารถในการผลิตแอลกอฮอล์และให้สารประกอบให้กลิ่นรสที่ดีในความเข้มข้นเกลือสูง

เอนไซม์ที่มีบทบาทต่อการหมักเต้าเจี้ยว

กระบวนการหมักโมโรมิ ดำเนินไปภายใต้กิจกรรมของเอนไซม์หลายชนิด แต่บทบาทหลักขึ้นอยู่กับเอนไซม์ 2 กลุ่ม คือ อะไมเลส และ โปรตีเอส ที่จะทำหน้าที่เปลี่ยนสารอาหารขนาดโมเลกุลใหญ่ให้เป็นสาร โมเลกุลขนาดเล็กลง

อะไมเลส

อะไมเลสเป็น extracellular enzyme ซึ่งประกอบด้วย exoamylase และ endomylase (Ingle and Erickson, 1978) สามารถย่อยสลายแป้งให้เป็นกลูโคส พบได้ในแบคทีเรียและราหลายสกุล เช่น *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptomyces* spp., *Actinomyces* spp., *Thermomonospora* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp. และ *Aspergillus* spp. (Upton and Forgaty, 1977)

อะไมเลสที่ผลิตได้จากแบคทีเรียมักเป็นเอนไซม์ชนิด α -amylase ซึ่งเป็น endoamylase ย่อยแป้งได้น้ำตาลมอลโตส และกลูโคส เป็นเอนไซม์ที่ทนความร้อนได้ดี อะไมเลสอีกประเภท

หนึ่งคือ exoamylase ได้แก่ β -amylase ซึ่งจะย่อยแป้งได้มอลโตส และ เด็กสทรีน (dextrin) และถ้าทำงานร่วมกับ glucoamylase จะย่อยแป้งได้อย่างสมบูรณ์ คือ ให้ผลกลูโคสเพียงอย่างเดียว (Medda and Chandra, 1980)

ประเภทของอะไมเลส

อะไมเลสซึ่งได้จากสิ่งที่มีชีวิตหลายชนิด สามารถแบ่งออกได้เป็นหลายประเภท ดังนี้คือ

1. การแบ่งตามชนิดของพันธะที่ถูกย่อยสลาย สามารถแบ่งได้ 2 ประเภท คือ endoamylase และ exoamylase

1.1 Endoamylase

เป็นเอนไซม์ที่จะย่อยสลายพันธะชนิด α -1,4-glucosidic linkage ภายในโมเลกุลของแป้งแบบสุ่ม ได้ผลิตภัณฑ์ dextrin ซึ่งเป็นลูกโซ่ของกลูโคสที่มีขนาดแตกต่างกัน เอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ 1,4-dextrinase และ α -amylase ที่มีชื่อตามระบบสากลว่า α -1,4-glucanglucanohydrolase ชื่อสามัญว่า diastase และชื่อทางการค้าว่า termamyl α -amylase ซึ่งหมายถึง อะไมเลสที่สลายสับสเตรทที่เป็นแป้ง แล้วได้น้ำตาลรีดิคัลที่มี optical α -form และมีค่า mutarotation ต่ำลงกว่าเดิม

กิจกรรมของ α -amylase ต่อการย่อยสลายสับสเตรทที่ประกอบด้วยอะไมโลส (amylose) และอะไมโลเพคติน (amylopectin) จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและเป็นแบบสุ่ม ถ้าเป็นการย่อยสลายอะไมโลส จะส่งผลทำให้ได้สารประกอบที่มีโมเลกุลเล็กลงกว่าเดิมได้แก่ dextrin ซึ่งให้สารสีม่วงแดงเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีน และถ้าปล่อยให้มีการย่อยสลายต่อไป จะทำให้ได้สารประกอบที่มีขนาดโมเลกุลลดลงไปอีกจนในที่สุดได้ maltotriose และ maltose เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย ซึ่งไม่ทำให้สารละลายไอโอดีนเปลี่ยนสีได้ ถ้าเป็นการย่อยสลายอะไมโลเพคติน เอนไซม์ α -amylase จะไม่สามารถย่อยสลายพันธะ α -1,6 glucosidic linkage ได้ทำให้ได้สารประกอบ limit dextrin ที่มีขนาดโมเลกุลเล็กกว่า dextrin

1.2 Exoamylase

เป็นเอนไซม์ที่จะย่อยสลายโมเลกุลของแป้งจากปลายด้าน non-reducing end การย่อยสลายอาจสลายทั้ง α -1,4-glucosidic linkage และ α -1,6-glucodidic linkage เอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ β -amylase และ γ -amylase หรือ glucoamylase เอนไซม์ในกลุ่มนี้สามารถย่อยสลายอะไมโลส และอะไมโลเพคตินในลักษณะที่คล้ายคลึงกันจะได้น้ำตาลรีดิคัลที่เป็น β -form และมีค่า mutarotation ในทางที่สูงขึ้น การย่อยสลายจะกระทำที่พันธะ α -1, 4-glucosidic linkage จากปลายด้าน non-reducing อย่างเป็นลำดับขั้นทีละ 2 โมเลกุล ทำให้ได้น้ำตาล maltose เมื่อการย่อยสลาย

พันธะดำเนินไปจนกระทั่งถึงบริเวณแขนง โมเลกุล เอนไซม์จะหยุดปฏิกิริยาและไม่สลายอีกต่อไป ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้คือ β -maltose กับ limit dextrin ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ ซึ่ง γ -amylase จะย่อยสลาย α -1,4, α -1,6 และ α -1,3-glucosidic linkage โดยสลายพันธะ α -1,6 และสลายพันธะ α -1,3 ได้ร้อยละ 3-5 และ 5-10 ของอัตราการสลายพันธะ α -1,4 ได้ ตามลำดับ รูปแบบของการตัดพันธะจะเกิดขึ้นจากปลายด้าน non-reducing เช่นเดียวกับ β -amylase แต่จะตัดจากด้านปลายเข้าไปครึ่งละ 1 หน่วยกลูโคส และตัดพันธะ α -1,6 อย่างช้าๆ และได้กลูโคสอย่างสมบูรณ์ในที่สุด ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ที่ได้จะเป็น β -configuration เช่น β -D-glucose และ limit dextrin ที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลง

2. การแบ่งโดยอาศัยปรากฏการณ์เปลี่ยนแปลงของสับสเตรท

สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ dextrinizing amylase และ saccharifying amylase โดยที่ dextrinizing amylase สามารถลดความหนืดของแป้งได้อย่างรวดเร็ว ลดสมบัติการเกิดสีน้ำตาลของอะไมโลเพคตินได้อย่างรวดเร็วจนกระทั่งสีจางหายไป และลดความข้นของไกลโคเจนได้อย่างรวดเร็ว ส่วน saccharifying amylase สามารถลดความหนืดของแป้งและลดความข้นของไกลโคเจนได้อย่างช้าๆ สามารถทำให้น้ำเงินของอะไมโลเพคติน กับ ไอโอดีนเปลี่ยนแปลงเป็นสีม่วงอย่างช้าๆ แต่ไม่จางหายไป

โปรตีเอส

โปรตีเอสเป็นกลุ่มเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ (peptide bond) ของโปรตีน จึงถูกเรียกว่าเอนไซม์ย่อยโปรตีน โดยจะย่อยโปรตีนที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ให้กลายเป็นสารโมเลกุลเล็กๆ ตำแหน่งการย่อยในโมเลกุลของโปรตีนขึ้นกับชนิดของเอนไซม์ในกลุ่มนี้ (Reed, 1975 ; Yokotsuka, 1986; Yong and Wood, 1974)

โปรตีเอสสามารถสร้างขึ้นได้โดยจุลินทรีย์หลายชนิดทั้งรา ยีสต์ และแบคทีเรีย เช่น ราในสกุล *Aspergillus* ได้แก่ *A. niger*, *A. parasiticus* และ *A. oryzae* เอนไซม์โปรตีเอสจากรา *A. oryzae* มีอยู่ด้วยกัน 3 ประเภท คือ แอซิดโปรตีเอส (acid protease) นิวทรัล (neutral protease) และอัลคาไลน์โปรตีเอส (alkaline protease)

ราสกุล *Rhizopus* เช่น *R. oryzae* และ *R. oligosporous* หรือจากยีสต์กลุ่ม *Saccharomyces* เช่น *S. cerevisiae*, *S. italicus* และ *S. carlsbergensis* หรือจาก *Candida* เช่น *C. pseudotropicalis* หรือจาก *Bacillus subtilis* ที่สามารถผลิตเอนไซม์กลุ่มโปรตีเอสได้ เช่น โปรตีเอส และเปปติเดส (peptidase) เป็นต้น

โปรตีเอสได้ถูกนำมาใช้งานกันอย่างกว้างขวาง ในงานอุตสาหกรรมหลายชนิด โดยเฉพาะอุตสาหกรรมอาหาร (ตาราง 1)

Wood (1998) รายงานว่าโปรตีนเอสเอย์ละ 80 ที่ผลิตจากราที่ใช้ทำโคจิ จะเป็นอัลคาไลน์โปรตีนเอส ซึ่งทำงานได้ดีที่ช่วงค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 9-10 และที่เหลือจะเป็นส่วนของแอซิดโปรตีนเอส (acid proteases) 3 ชนิด ทำงานได้ดีที่ค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 3 นิวทรอลโปรตีนเอส (neutral proteases) 2 ชนิด ทำงานได้ดีที่ช่วงค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 6-7 และ เซมิอัลคาไลน์ โปรตีนเอส (semi-alkaline protease) อีกหนึ่งชนิด

ตาราง 1 การใช้งานเอนไซม์โปรตีนเอส

เอนไซม์	อุตสาหกรรม	การประยุกต์ใช้
โปรตีนเอส	ขนมอบและแป้งเบียร์	ปรับปรุงเนื้อสัมผัสของแป้งหมัก Chillproofing
	ผลิตภัณฑ์นม	ผลิตโปรตีนสกัด ทำให้นมระเหยมีค่าคงตัว
	อาหารสัตว์	Pig starter rations
	เครื่องหนัง	การย่อยขนและการชักฟอก
	ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์	การทำให้เนื้อนุ่ม การเตรียมโปรตีนจากปลาชนิดเข้มข้น
	เภสัชกรรม	Digestive aids
	การสกัดโปรตีน	การเตรียมโปรตีนเข้มข้น

ที่มา: สารานุกรมและประวัติ (2538)

อนุภาคสีขาว

อนุภาคสีขาว หรือจุดขาว หรืออาจมีชื่อเรียกแบบอื่น คือ ลักษณะปรากฏชนิดหนึ่งที่อาจพบได้ในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว ในปริมาณที่มากหรือน้อยแตกต่างกัน อนุภาคเหล่านี้ถ้ามีจำนวนมาก จะทำให้สังเกตเห็นได้ง่าย ซึ่งผู้บริโภคส่วนใหญ่พิจารณาว่าเป็นตำหนิหรือเชื้อรา ที่ทำให้เต้าเจี้ยวไม่เหมาะกับการบริโภค สาเหตุหลักของการเกิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยว คือ การรวมตัวกันของผลึกไทโรซีน (tyrosine crystal) ที่เกิดจากการย่อยสลายโปรตีนด้วยโปรตีนเอส ที่ถูกผลิตขึ้นในขั้นตอนการหมักโคจิ (koji fermentation) (Flegel et al., 1981 และ Bhumiratana et al., 1988) โดยเชื้อราในสกุล *Aspergillus. Oryzae*, *A. flavus* ; *A. soyae* (Oyashiki et al, 1989) ดังนั้นเมื่อกิจกรรมโปรตีนเอสมีค่าสูงประกอบกับกรดอะมิโนไทโรซีนมีความสามารถในการละลายน้ำได้ต่ำ จึงทำให้เกิดการตกผลึกไทโรซีนในเต้าเจี้ยวได้ง่ายขึ้น และยังมีการพบผลึกสีขาวดังกล่าวในน้ำปลาอีกด้วย (Gilberg, 1984)

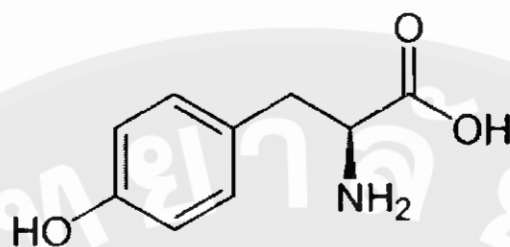
ยุทธนาและจารุณี (2541) รายงานว่า พบผลึกรูปเข็มขาว และผลึกรูปเข็มอ้วนในเต้าเจี้ยว และผลจากการทดสอบ ทำให้สันนิษฐานได้ว่าผลึกทั้งสองชนิด คือผลึกไทโรซีน

สาเหตุที่ไทโรซีนตกผลึกเนื่องจากกิจกรรมที่สูงของเอนไซม์โปรตีเอสร่วมกับการที่ไทโรซีนไม่ละลายน้ำจึงตกผลึกออกมา นอกจากนี้ยังมีข้อมูลว่าการที่ตกผลึกอาจเนื่องมาจากกระบวนการทำเต้าเจี้ยวที่มีลักษณะข้นและการเตรียมวัตถุดิบที่มีการนึ่งถั่วเหลืองที่ใช้เวลานานและความร้อนสูงเกินไป จนเมล็ดถั่วเหลืองมีลักษณะเละ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า การหมักน้ำปลาและเค็มบักนัด กระบวนการหมักที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว (rapid process) จะเกี่ยวข้องกับการใช้โปรตีเอสจากแหล่งต่างๆ เช่น พืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการเร่ง การไฮโดรไลซิสโปรตีน และนำไปสู่ความเข้มข้นสูงๆของกรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) รูปแบบใหม่ (newly form) ในน้ำปลาเช่นเดียวกับรายงานของ Gilberg et al (1984) รายงานว่าผลึกสีขาวนี้เป็นไทโรซีน

กิจกรรมที่สูงของโปรตีเอสร่วมกับการที่ไทโรซีนไม่ละลายน้ำจึงตกผลึกออกมา นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า อาจเนื่องมาจากกระบวนการทำเต้าเจี้ยวที่มีลักษณะข้นและการเตรียมวัตถุดิบที่มีการนึ่งถั่วเหลืองที่ใช้เวลานานและความร้อนสูงเกินไป จนเมล็ดถั่วเหลืองมีลักษณะเละ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า การหมักน้ำปลาและเค็มบักนัด (Thongthai et al., 1973) กระบวนการหมักที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว (rapid process) จะเกี่ยวข้องกับการใช้โปรตีเอสจากแหล่งต่างๆ เช่น พืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการเร่ง การไฮโดรไลซิสโปรตีน และนำไปสู่ความเข้มข้นสูงๆของกรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) รูปแบบใหม่ (newly form) ในน้ำปลาเช่นเดียวกับรายงานของ (Gilberg et al., 1984) รายงานว่าผลึกสีขาวนี้เป็นไทโรซีน

ไทโรซีน (Tyrosine)

ไทโรซีนเป็นกรดอะมิโน (amino acid) ที่มีขั้วแต่ไม่มีประจุ (polar, uncharged) เป็นกรดอะมิโนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) เพราะ หมู่ R มี หมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group, OH) สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจน กับน้ำได้ดี สามารถดูดกลืนแสงในช่วงคลื่นอัลตราไวโอเลตและให้แสงฟลูออเรสเซนส์ได้ในช่วง 250-350 nm จะมีความว่องไวในปฏิกิริยาเคมีมากเพราะมีหมู่ไฮดรอกซิลที่หมู่ข้าง ซึ่งหมู่ไฮดรอกซิลจะทำให้หมู่วงแหวนเกิดปฏิกิริยาการแทนที่ได้ดี สารกลุ่ม นิวคลีโอไพล์เช่น สารกลุ่มไนเครดิงหรือกลุ่มของไอโอไดด์ จะทำปฏิกิริยากับไทโรซีนแล้วเกิดเป็นไนโครไทโรซีนที่ตำแหน่ง 3,5 ทำให้คุณสมบัติการเป็นกรด-เบส ของวงแหวนเปลี่ยนไป โดยมีความเป็นกรดมากขึ้น และยังเกิดพันธะไฮโดรเจนได้จากหมู่ไฮดรอกซิล



ภาพ 3 โครงสร้างทางเคมีของไทโรซีน

ที่มา: Tyrosine_sulfation , 2001

ไทโรซีน เป็นกรดอะมิโนที่มีหมู่ฟีนอล ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวกับเอนไซม์ (enzymatic browning reaction) ในแง่โภชนาการ ไทโรซีน เป็น กรดอะมิโนที่ร่างกายสังเคราะห์ได้ จัดเป็น กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (non essential amino acid) ไทโรซีน เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารประกอบที่สำคัญเช่น Epinephrin และ norepinephine ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ควบคุมเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตและลิปิด

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

- 1.1 ถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 60
- 1.2 ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6
- 1.3 แป้งสาลี (ตราว่าว)
- 1.4 เกลือเม็ด

2. จุลินทรีย์

A. oryzae M-01 คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เก็บรักษาบน PDA slant ที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส

3. วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์

- 3.1 กล้องจุลทรรศน์ (Olympus CO 11, Japan)
- 3.2 กล้องจุลทรรศน์ 3 มิติ (SZ-ST Olympus, Japan)
- 3.3 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Polyscience 8306, U.S.A)
- 3.4 ตู้บ่มเชื้อ (Heraeus B12, Germany)
- 3.5 ตู้อบลมร้อน (WTB Binder BD 115, Germany)
- 3.6 ตู้อบสูญญากาศ (WTB binder 78532 TUTTLINGEN/GERMANY)
- 3.7 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Sorvall RC 5C , U.S.A)
- 3.8 เครื่องย่อยบดอาหาร (Seward stomacher 400, England)
- 3.9 เครื่องวัดค่าสี (Juki Tri-Stimulus Colorimeter JC801, Japan)
- 3.10 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Bio-tek , U.S.A.)
- 3.11 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Metrohm 744 , Switzerland)
- 3.12 เครื่องผสม (Vortex: Genie 2 TM G-560E, U.S.A)
- 3.13 เครื่องชั่งขนาด 1 กิโลกรัม (Kitchen scale, Thailand)
- 3.14 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius LA 230S, Germany)

- 3.15 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius BP 610, Germany)
- 3.16 เทอร์โมคัปเปิล (Thermocouple: Yokogawa 2544 model, Japan)
- 3.17 หม้อนิ่งความดันไฮดรอลิกใช้ไฟฟ้า (Hirayama HV 50, Japan)
- 3.18 หม้อนิ่งความดันไอ (All Americans)
- 3.19 Hand-Held refractomete (Brix 0-32%) (Atago)
- 3.20 Hand-Held refractometer (Salt 0-28%) (Atago)
- 3.21 แผ่นให้ความร้อนพร้อมระบบกวน (Morat M22/1)
- 3.22 ขวดวัดปริมาตรขนาด 5 10 25 50 100 และ 500 มิลลิลิตร
- 3.23 บีกเกอร์ขนาด 50 100 250 600 และ 1000 มิลลิลิตร
- 3.24 กระบอกตวงขนาด 50 100 และ 500 มิลลิลิตร
- 3.25 ฟลากลขนาด 250 มิลลิลิตร
- 3.26 หลอดทดลองขนาด 16×150 มิลลิลิตร
- 3.27 ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 0.2 ,1 และ 5 มิลลิลิตร
- 3.28 จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- 3.29 กระดาษกรอง (Whatman No.1)

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 4.1 Agar (Union science, Thailand)
- 4.2 Yeast extraet (Merck)
- 4.3 Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC) (Merck)
- 4.4 Peptone (Difco)
- 4.5 Plate Count Agar (Merck)

5. สารเคมี

- 5.1 Calcium chloride (Ajax)
- 5.2 Casein from Bovine milk (Fluka)
- 5.3 Calcium carbonate (วิทยาศาสตร์)
- 5.4 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) (Fluka)
- 5.5 D-Glucose (Merck)
- 5.6 Ethanol (Merck)

- 5.7 Ferrous sulphate (Merck)
- 5.8 Folin-Ciocalteu phenol reagent (Merck)
- 5.9 Glacial acetic (Lab-Scan)
- 5.10 Glycine (Ajax)
- 5.11 Hydrochloric acid (Merck)
- 5.12 Hydrindantin (Aldrich)
- 5.13 Maltose (Ajax)
- 5.14 Ninhydrin (Fluka)
- 5.15 O-phenanthroline (Fisher scientific)
- 5.16 Phenolphthalein (Ajax)
- 5.17 Potassium chloride (Ajax)
- 5.18 Potassium chromate (Fisher scientific)
- 5.19 Potassium dichromate (Fisher scientific)
- 5.20 Potassium dihydrogen phosphate (Merck)
- 5.21 Potassium hydrogenphthalate (Ajax)
- 5.22 Potassium persulphate (Ajax)
- 5.23 Potassium sodium tartrate (Ajax)
- 5.24 Silver nitrate (Merck)
- 5.25 Sodium carbonate (Merck)
- 5.26 Sodium chloride (Merck)
- 5.27 Sodium hydroxide (Merck)
- 5.28 Sodium hydrogen phosphate (Merck)
- 5.29 Sodium tartrate (Fluka)
- 5.30 Sodium acetate (Merck)
- 5.31 Starch soluble (BDH)
- 5.32 Sulfuric acid 98% (Merck)
- 5.33 Trichloroacetic acid (Merck)
- 5.34 Tyrosine (Fluka)
- 5.35 Tween 80 (Merck)

วิธีการวิจัย

ตอน 1 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยว

1. ปริมาณเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตสปอร์ของ *A. oryzae* M-01

1.1 นำรำข้าวและข้าวเจ้าอย่างละ 20 กรัม ใส่ในฟลาสก์ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 6 มิลลิลิตร ลงบนข้าวแล้วคลุกผสมให้ทั่วถึง อุดคอขวดด้วยจุกสำลี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงใส่สปอร์ซัสเพนชัน (spores suspension) ของเชื้อ *A. oryzae* M-01 ที่มี tween 80 ผสมอยู่ร้อยละ 0.1 ปริมาตร 0.5 1.0 และ 1.5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง แล้วนำไปอบให้แห้งในตู้อบสูญญากาศที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนได้ความชื้นน้อยกว่าร้อยละ 6 บดข้าวให้มีขนาดเล็กลงด้วยเครื่องปั่นผสม (Waring blender) ที่ปราศจากเชื้อ นำผงสปอร์ที่ได้ไปวิเคราะห์

1.1.1 ปริมาณสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

โดยการใช้ counting chamber (Neubauer)

1.1.2 ปริมาณสปอร์ที่รอดชีวิต (AOAC, 1995)

ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม นำมาทำการเจือจางตัวอย่างแบบอนุกรม จนได้ความเจือจางที่เหมาะสม แล้วทำการ spread plate บนอาหาร DRBC (ภาคผนวก ง) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2. กิจกรรมของราในระหว่างการหมักโคจิ

2.1 อุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างใน โคจิถั่วเหลือง

นำถั่วเหลืองมาแช่น้ำนานประมาณ 12 ชั่วโมง จัดดูเพื่อทำให้เปลือกถั่วเหลืองบางส่วนหลุดลอกออกประมาณร้อยละ 40-60 คั้นให้สุก แล้วทิ้งให้สะเด็ดน้ำบนตะกร้าพลาสติก ถ่ายถั่วเหลืองลงสู่ภาชนะที่เป็นโลหะ แล้วเติมแป้งสาลีที่มีผงสปอร์ผสมอยู่ร้อยละ 0.1 (น้ำหนักน้ำหนัก) ในปริมาณร้อยละ 50 (น้ำหนักน้ำหนักน้ำหนัก) ของน้ำหนักถั่วเหลืองแห้ง คลุกส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน แล้วนำไปโรยลงบนถั่วเหลืองสุกในภาชนะโลหะ แล้วนำไปเกลี่ยลงในตะกร้าพลาสติกชนิดโปร่งที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 28 เซนติเมตร และมีผ้าขาวบางกรออยู่ด้านใน ปรับความสูงของกองถั่วเหลืองประมาณ 2.5 และ 5.0 เซนติเมตร แล้วปิดทับหน้าด้วยผ้าขาวบาง บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 72 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างทุก ๆ 12 ชั่วโมง ดังนี้คือ

2.1.1 วัดอุณหภูมิใจกลางแผ่นโคจิ จำนวน 3 แห่ง ด้วยเทอร์โมคัปเปิล

2.1.2 ค่าความเป็นกรด-เบส (AOAC, 1995)

ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร กวนผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน นำของเหลวส่วนใสมาทำการวัดค่าความเป็นกรด-เบส ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-เบส

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.2 กิจกรรมเอนไซม์ในโคจิฉั่วเหลือง

2.2.1 กิจกรรมอะไมเลส (Nahar et al., 2008)

ชั่งตัวอย่างหนัก 5 กรัม ใส่ลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 0.1 M acetate buffer pH 5.0 ปริมาตร 45 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที นาน 30 นาที นำของผสมทั้งหมดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำสารสกัดเอนไซม์ที่เป็นส่วนใส ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำแป้งที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร บ่มในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เติมน้ำสารละลาย DNS ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปิดปากหลอด แล้วนำหลอดทดลองไปต้มในน้ำเดือดนาน 15 นาที ทำให้เย็นในอ่างน้ำเย็น เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ได้ที่ความยาวช่วงคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบค่าดูดกลืนแสงที่ได้กับกราฟมาตรฐานที่ไซมอลโทสเป็นค่าอ้างอิง (ภาคผนวก ค)

2.2.2 กิจกรรมโปรตีเอส (Anson, 1938 ; Folin and Ciocalteu, 1929)

ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ใส่ลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิโมล potassium phosphate buffer pH 7 ปริมาตร 45 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที นาน 30 นาที นำของผสมทั้งหมดไปปั่นเหวี่ยงที่ 12000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำสารสกัดเอนไซม์ที่เป็นส่วนใส ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย casein ร้อยละ 0.65 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เติมน้ำ TCA 110 มิลลิโมล ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วบ่มต่อไปที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แยกของเหลวที่เป็นส่วนใส ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่สารละลาย Na_2CO_3 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และสารละลาย Folin ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร เปรียบเทียบค่าดูดกลืนแสงที่ได้กับกราฟมาตรฐานที่ใช้ไทโรซีนเป็นค่าอ้างอิง (ภาคผนวก ค)

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3. ปริมาณโคจิถั่วเหลืองต่อการเกิดอนุภาคสีขาวในกระบวนการหมักโมโรมิ

3.1 จำนวนยีสต์และราในโมโรมิ

เตรียมโคจิถั่วเหลืองที่ให้กิจกรรมเอนไซม์โปรตีเอสสูงสุดจากการทดลองข้อ 4.1 โดยใช้อัตราส่วนโคจิ:ถั่วเหลืองคั่วสุก เท่ากับร้อยละ 100 50 และ 30 ถ่ายส่วนผสมทั้งหมดลงในถังพลาสติกขนาด 14 ลิตร เติมน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นประมาณร้อยละ 22 (วัดค่า Hand-Held refractometer (Salt 0-28%) (Atago)) ในอัตราส่วนโคจิและถั่วเหลืองคั่วสุก:น้ำเกลือ เท่ากับ 1:2 คลุกผสมให้แผ่นโคจิดูดซับน้ำเกลือพอสมควร แล้วปิดฝาถัง บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 8 สัปดาห์ โดยทำการคนเค้าเขียวทุกวันใน 2 สัปดาห์แรก และคนวันเว้นวันในสัปดาห์ถัดไปจนสิ้นสุดอายุการหมัก ลุ่มเก็บตัวอย่างเค้าเขียวทุก ๆ สัปดาห์ เพื่อวิเคราะห์

3.1.1 ปริมาณยีสต์และรา (Yeast and Mold) (AOAC, 1995)

ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม นำมาทำการเจือจางตัวอย่างแบบอนุกรม จนได้ความเจือจางที่เหมาะสม แล้วทำการ spread plate บนอาหาร DRBC (ภาคผนวก ง)

3.1.2 ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (คัดแปลงจาก Mohr, 1980)

ชั่งตัวอย่างในส่วนที่เป็นของเหลว 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปริมาตร 25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ครบ 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน นำของเหลวส่วนใสมาปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมสารละลาย K_2CrO_4 เข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ไตรเครทกับสารละลาย $AgNO_3$ (0.1 N) จนถึงจุดยุติ โดยสังเกตจากตะกอนสีแดงอิฐ คำนวณร้อยละของโซเดียมคลอไรด์ (ภาคผนวก ค)

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2 จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในโมโรมิและการสร้างกรดแลคติก

3.2.1 วิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติกด้วยวิธีการ Titration (AOAC, 1995)

ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ลงในฟลasks ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร กวนผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน นำของเหลวส่วนใสมา ปริมาตร 10 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาเลอินประมาณ 3 หยด ไตรเครทกับสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.1 N จนถึงจุดยุติ โดยสังเกตจากสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู คำนวณหาปริมาณกรดในรูปของกรดแลคติก (ภาคผนวก ค)

3.2.2 ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก โดยวิธี (AOAC, 1995)

ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม นำมาทำการเจือจางตัวอย่างแบบอนุกรม จนได้ความเจือจางที่เหมาะสม แล้วทำการ pour plate บนอาหาร GYP (ภาคผนวก ง)

3.2.3 ค่าความเป็นกรด-เบส (AOAC, 1995)

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 2.1.2

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.3 กิจกรรมเอนไซม์

3.3.1 กิจกรรมอะไมเลส (Nahar et al., 2008)

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 2.2.1

3.3.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี DNS (Miller, 1959)

ชั่งตัวอย่างหนัก 10 กรัม ใส่ลงในฟลasks ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที นาน 30 นาที นำของผสมทั้งหมดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที นำของเหลวที่เป็นส่วนใส ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DNS (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปิดปากหลอดแล้วนำหลอดทดลองไปต้มในน้ำเดือดนาน 15 นาที ทำให้เย็นในอ่างน้ำเย็น เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ได้ที่ความยาวช่วงคลื่น 540 นาโนเมตร

3.3.3 กิจกรรมโปรตีนเอส (Anson, 1938 ; Folin and Ciocalteu, 1929)

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 2.2.2

3.3.4 ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด โดยวิธี photometric ninhydrin

ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ใส่ลงในฟลasks ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลาย เอทานอลร้อยละ 50 ปริมาตร 45 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที นาน 20 นาที นำของผสมทั้งหมดไปปั่นเหวี่ยงที่ 12000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำสารสกัดที่เป็นส่วนใส ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย นินไฮดริน (ninhydrin colour reagent) (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองแล้วผสมให้เข้ากัน นำหลอดทดลองไปต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที ทิ้งให้เย็นต่อจากนั้นเติมสารละลาย stabilizing solvent (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไปผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร เปรียบเทียบค่าดูดกลืนแสงที่ได้กับกราฟมาตรฐานที่ใช้ไกลซีนเป็นค่าอ้างอิง (ภาคผนวก ก)

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.4 สีของเต้าเจี้ยว

3.4.1 ค่าสี (colorimeter: tri-stimulus colorimeter)

นำส่วนใสของตัวอย่างไปวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดค่าสี (ภาคผนวก ข)
ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.5 การเกิดอนุภาคสีขาวในระหว่างการหมักโมโรมิ
จากการสังเกตการเกิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักถึงหมักด้วยตาเปล่า

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.6 ผลของการหมักโมโรมิระยะเวลาสั้นต่อการเกิดอนุภาคสีขาว
นำเต้าเจี้ยวที่มีอายุการหมัก 4 สัปดาห์ มาต้มให้เดือดนาน 30 นาที บรรจุใส่ขวดที่ผ่านการลวกด้วยน้ำเดือดแล้วทำแห้ง เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง สุ่มเก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 วัน นาน 15 วัน เพื่อทำการวิเคราะห์

3.6.1 จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวที่เกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว

นำตัวอย่างเต้าเจี้ยว มาสังเกตลักษณะปรากฏ วิเคราะห์จำนวนอนุภาคสีขาว โดยไม่มีการเทตัวอย่างออก ทำการแบ่งพื้นที่ผิวขวดออกเป็นตารางเล็กๆ ขนาด (กว้างxยาว) เท่ากับ 0.5x0.5 เซนติเมตร คิดเป็นพื้นที่ โดยใช้แผ่นพลาสติกใสเป็นอุปกรณ์สำหรับขีดเส้นตาราง แล้วนำไปหุ้มที่ผิวขวดด้านนอก นับจำนวนช่องที่มีอนุภาคสีขาวปรากฏอยู่ คำนวณหาร้อยละของจำนวนช่องที่ตรวจพบอนุภาคสีขาว ทำการตรวจนับ 5 ขวด และทำขวดละ 3 ซ้ำ

3.6.2 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (AOAC, 1995)

ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม นำมาทำการเจือจางตัวอย่างแบบอนุกรม จนได้ความเจือจางที่เหมาะสม แล้วทำการ pour plate บนอาหาร PCA (ภาคผนวก ง)

3.6.3 กิจกรรมโปรตีนเอส (Anson, 1938 ; Folin and Ciocalteu, 1929)

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 2.2.2

3.6.4 ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด โดยวิธี photometric ninhydrin

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.3.4

3.6.5 ค่าสี (colorimeter: tri-stimulus colorimeter)

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.4.1

3.6.6 การทดสอบทางประสาทสัมผัส แบบ Ranking for preference

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.7 ผลของระยะเวลาในการนำเชื้อเห็บเห็บต่อการเกิดอนุภาคสีขาว

นำเห็บเห็บที่มีอายุการหมัก 8 สัปดาห์ มาต้มให้เดือดนาน 20 30 และ 40 นาที บรรจุใส่ขวดที่ผ่านการลวกด้วยน้ำเดือดและแห้ง สุ่มเก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 วัน นาน 15 วัน เพื่อวิเคราะห์

3.7.1 จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวที่เกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวผลิตภัณฑ์เห็บเห็บ

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.6.1

3.7.2 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (AOAC, 1995)

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.6.2

3.7.3 กิจกรรมโปรตีนเอส (Anson, 1938 ; Folin and Ciocalteu, 1929)

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 2.2.2

3.7.4 ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด โดยวิธี photometric ninhydrin

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.3.4

3.7.5 ค่าสี (colorimeter: tri-stimulus colorimeter)

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.4.1

3.7.6 การทดสอบทางประสาทสัมผัส แบบ Ranking for preference

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.6.6

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.8 ผลของการเจือจางเห็บเห็บต่อการเกิดอนุภาคสีขาว

นำเห็บเห็บที่มีอายุการหมัก 8 สัปดาห์ มาต้มให้เดือดนาน 20 30 และ 40 นาที การเจือจางเห็บเห็บ โดยเติมน้ำสะอาดที่ต้มสุกแล้ว 0.5 เท่าของน้ำหนักเห็บเห็บ บรรจุใส่ขวดที่ผ่านการลวกด้วยน้ำเดือดแล้วและแห้ง สุ่มเก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 วัน นาน 15 วัน เพื่อวิเคราะห์

3.8.1 จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวที่เกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวเห็บเห็บ

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.6.1

3.8.2 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (AOAC, 1995)

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.6.2

3.8.3 กิจกรรมโปรตีนเอส (Anson, 1938 ; Folin and Ciocalteu, 1929)

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 2.2.2

3.8.4 ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด โดยวิธี photometric ninhydrin

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.3.4

3.8.5 ค่าสี (colorimeter: tri-stimulus colorimeter)

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.4.1

3.8.6 การทดสอบทางประสาทสัมผัส แบบ Ranking for preference

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.6.6

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.9 ผลของสัดส่วนของแข็งและของเหลวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวต่อการเกิดอนุภาค

สีขาว

นำตัวอย่างเต้าเจี้ยว มาสังเกตลักษณะปรากฏ วิเคราะห์จำนวนอนุภาคสีขาว และปริมาณของแข็งและของเหลวต่อบรรจุภัณฑ์ สังเกตลักษณะปรากฏของเนื้อเต้าเจี้ยวในขวด และทำการหาสัดส่วนของของแข็งต่อของเหลว

3.9.1 โดยการเทเต้าเจี้ยวผ่านกระชอน แล้วปล่อยทิ้งไว้จนประมาณ 5 นาที นำเนื้อเต้าเจี้ยวที่แยกออกได้ไปทำการชั่งพร้อมกับน้ำ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

4. อนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่วางจำหน่ายในท้องตลาด

4.1 คุณลักษณะและสัดส่วนของแข็งและของเหลวของเต้าเจี้ยว

นำตัวอย่างเต้าเจี้ยวที่จำหน่ายในท้องตลาดจำนวน 10 สูตร มาสังเกตลักษณะปรากฏ วิเคราะห์จำนวนอนุภาคสีขาว และปริมาณของแข็งและของเหลวต่อบรรจุภัณฑ์ พบว่าเต้าเจี้ยวแต่ละยี่ห้อจะมีลักษณะปรากฏที่แตกต่างกัน 2 ประการ คือ เต้าเจี้ยวที่มีเมล็ดถั่วกระจายตัวทั่วทั้งบรรจุภัณฑ์ มีลักษณะขึ้นเนื่องจากส่วนที่เป็นของเหลวมีน้อย และมีการใช้แป้งเป็นส่วนผสมมาก และอีกลักษณะคือเมล็ดถั่วลอยตัวอยู่ในของเหลวที่มีปริมาณแตกต่างกัน เนื่องจากมีแป้งเป็นส่วนประกอบน้อยกว่า นำเต้าเจี้ยวที่วางจำหน่ายในท้องตลาด โดยเลือกใช้ตัวอย่างที่มีส่วนผสมแตกต่างกัน 10 สูตร เพื่อทำการวิเคราะห์

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

4.2 จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวทั้งหมดที่เกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวของเนื้อเต้าเจี้ยว
วิธีการเช่นเดียวกับ ข้อ 3.6.1

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

4.3 สัดส่วนของของแข็งและของเหลวของเต้าเจี้ยว

วิธีการเช่นเดียวกับ ข้อ 3.9.1

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

4.4 ชนิดปริมาณของอนุภาคสีขาว

นำผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่วางจำหน่ายในท้องตลาดมา 10 สูตร เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณอนุภาคสีขาวแต่ละชนิดโดยไม่มีการเหตัวอย่างออก การแบ่งพื้นที่ผิวขูดแก้วเพื่อคำนวณปริมาณของอนุภาคสีขาว ทำวิธีการเช่นเดียวกับ ข้อ 3.6.1

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

5. การระบุชนิดของอนุภาคสีขาว

5.1 โครงสร้างทางกายของอนุภาคสีขาว

เทเต้าเจี้ยวออกจากขวด แล้วทำการแยกอนุภาคสีขาวออกโดยใช้พายโลหะและปากคีบ รวบรวมจำนวนจุลขาวที่ได้ ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ กล้องจุลทรรศน์ชนิด 3 มิติ และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope: SEM) เพื่อศึกษาส่วนประกอบของอนุภาคสีขาว ทำการล้างอนุภาคสีขาวเพื่อกำจัดเกลือและสิ่งปนเปื้อนต่างๆ ปล่อยให้แห้ง แล้วนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด 3 มิติ และกล้องจุลทรรศน์ แล้วจึงนำทดสอบคุณสมบัติทางเคมี ดังต่อไปนี้คือ

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

5.2 การทดสอบแป้งในอนุภาคสีขาว

ทำการหยดสารละลายไอโอดีน (ภาคผนวก ค) จำนวน 1-2 หยด ลงบนตัวอย่างอนุภาคสีขาวที่ทำความสะอาดแล้ว ปล่อยให้ไวสักพักหนึ่ง สังเกตปฏิกิริยาการเกิดเป็นสีม่วงหรือสีม่วงน้ำเงิน ทำการทดลองกับอนุภาคสีขาวที่มีลักษณะแตกต่างกัน 3 ประเภท

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

5.3 การทดสอบการละลายในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (ดัดแปลงจาก Flegel, 1981)

ชั่งอนุภาคสีขาวน้ำหนักประมาณ 0.5 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1 นอร์มัล (1N HCl) แล้วนำไปกวนผสมด้วยเครื่องกวนผสม นานไม่น้อยกว่า 15 นาที

ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

5.4 ทดสอบการวัดค่าดูดกลืนแสงส่องกราด

ชั่งอนุภาคสีขาวน้ำหนักประมาณ 0.5 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1 นอร์มัล (1N HCl) แล้วนำไปกวนผสมด้วยเครื่องกวนผสม นานไม่น้อยกว่า 15 นาที นำไปกรองบนกระดาษกรอง นำส่วนที่ใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสง

ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

ตอนที่ 2 การผลิตเต้าเจี้ยวรสเค็มน้อย

1. การเตรียมโคจิข้าวเหนียว

1.1 ระยะเวลาในการนึ่งข้าวเหนียวที่มีผลต่อสมบัติโคจิ

ชั่งข้าวเหนียวหนัก 500 กรัม แช่น้ำประมาณ 12 ชั่วโมง แล้วนำไปนึ่งให้สุกนาน 20 30 40 และ 50 นาที ล้างข้าวเหนียวและทิ้งให้สะเด็ดน้ำ 5 นาที ร่อนข้าวเหนียวมีอุณหภูมิลดลง แล้วจึงเติมแป้งข้าวเจ้า ปริมาตรร้อยละ 3 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ของน้ำหนักข้าวเหนียวแห้ง ซึ่งในแป้งมีผงสปอร์ของรา *A. oryzae* M-01 ผสมอยู่ร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ถ่ายข้าวเหนียวลงในตะกร้าพลาสติกชนิดโปร่งที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 28 เซนติเมตร และมีผ้าขาวบางกรุอยู่ด้านใน โดยปรับให้กองข้าวเหนียวมีความสูงประมาณ 3 เซนติเมตร และปิดคลุมผิวหน้าด้วยผ้าขาวบาง บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างทุก ๆ 12 ชั่วโมง ดังนี้คือ

1.1.1 วัดอุณหภูมิของโคจิจำนวน 3 แห่ง ด้วยเทอร์โมคัปเปิล

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 2.1.1

1.1.2 ค่าความเป็นกรด-เบส (AOAC, 1995)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 2.1.2

1.1.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี DNS (Miller, 1959)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.3.2

1.1.4 กิจกรรมอะไมเลส (Nahar et al., 2008)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 2.2.1

1.1.5 กิจกรรมโปรตีเอส (Anson, 1938 ; Folin and Ciocalteu, 1929)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 2.2.2

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

1.2 ความหนาของข้าวเหนียวที่มีผลต่อสมบัติโคจิ

ชั่งข้าวเหนียวหนัก 800 1100 และ 1400 กรัม แช่น้ำประมาณ 12 ชั่วโมง แล้วนำไปนึ่งตามเวลาที่เหมาะสมในข้อ 2.1 ล้างข้าวเหนียวและทิ้งให้สะเด็ดน้ำ 5 นาที ร่อนข้าวเหนียวมีอุณหภูมิตกลง แล้วจึงเติมแป้งข้าวเจ้า ปริมาตรร้อยละ 3 (น้ำหนักค่อน้ำหนัก) ของน้ำหนักข้าวเหนียวแห้ง ซึ่งในแป้งมีผงสปอร์ของรา *A. oryzae* M-01 ผสมอยู่ร้อยละ 0.1 (น้ำหนักค่อน้ำหนัก) ถ่ายข้าวเหนียวลงในตะกร้าพลาสติกชนิดโปร่งที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 28 เซนติเมตร และมีผ้าขาวบางกรุอยู่ด้านในโดยปรับให้ชั้นข้าวเหนียวมีความหนาประมาณ 5 7 และ 9 เซนติเมตร และปิดคลุมผิวหน้าด้วยผ้าขาวบาง บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง ดังนี้คือ

1.2.1 วัดอุณหภูมิของโคจิจำนวน 3 แห่ง ด้วยเทอร์โมคัปเปิล

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 2.1.1

1.2.2 ค่าความเป็นกรด-เบส (AOAC, 1995)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 2.1.2

1.2.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี DNS (Miller, 1959)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.3.2

1.2.4 กิจกรรมอะไมเลส (Nahar et al., 2008)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 2.2.1

1.2.5 กิจกรรมโปรตีเอส (Anson, 1938 ; Folin and Ciocalteu, 1929)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 2.2.2

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2. การหมักโมโรมิ

2.1 ปริมาณโคจิที่เหมาะสมต่อการหมักโมโรมิ

ชั่งโคจิข้าวเหนียวที่ให้ผลลัพธ์ที่ดีที่สุดจากข้อ 2 ผสมกับถั่วเหลืองคั่วสุกในปริมาณร้อยละ 30 40 และ 50 (น้ำหนักค่อน้ำหนัก) ในถังพลาสติกขนาด 14 ลิตร เติมน้ำเกลือที่มี

ความเข้มข้นร้อยละ 18 (วัดค่า Hand-Held refractometer (Salt 0-28%) (Atago)) ในอัตราส่วน โคจิ และถั่วเหลืองค่อน้ำเกลือ เท่ากับ 2ต่อ1 คลุกให้ผสมให้เข้ากัน แล้วปิดฝาถังตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 12 สัปดาห์ โดยทำการคนได้เจียวทุกวันใน 2 สัปดาห์แรก และคนวันเว้นวันในสัปดาห์ถัดไปจนสิ้นอายุการหมัก สุ่มเก็บตัวอย่างได้เจียวทุก ๆ สัปดาห์เพื่อทำการวิเคราะห์

2.1.1 ค่าความเป็นกรด-เบส (AOAC, 1995)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 2.1.2

2.1.2 ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (ดัดแปลงจาก Mohr, 1980)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.2.1

2.1.3 วิเคราะห์หาปริมาณกรดแลกติกด้วยวิธีการ Titration (AOAC, 1995)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.2.1

2.1.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS (Miller, 1959)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.3.2

2.1.5 กิจกรรมอะไมเลส (Nahar et al., 2008)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 2.2.1

2.1.6 กิจกรรมโปรตีนเอส (Anson, 1938 ; Folin and Ciocalteu. 1929)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 2.2.2

2.1.7 ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด (โดยวิธี photometric ninhydrin)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.3.4

2.1.8 ปริมาณอัลทอกซอล (Amerine and Ough, 1974; AOAC, 1990)

นำตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร ถ่ายตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดแก้วกันกลมของชุดกลั่น เติมสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต (ภาคผนวก ค) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วทำการกลั่นที่อุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียส เก็บของเหลวที่กลั่นได้ให้มีปริมาตร 40 มิลลิลิตร ใน flask ขนาด 125 มิลลิลิตร ปิดปากพลาสติกด้วยจุกยาง แล้วนำไปวางไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที นำตัวอย่างมาใส่สารละลาย 1,10-ฟีแนนโทรลีนเฟอร์รัสซัลเฟต (ภาคผนวก ค) 1 มิลลิลิตร ไตรเอทิลอะมิโนคาร์บอนไดออกไซด์ 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร จนถึงจุดยุติ โดยสังเกตจากสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเขียว แล้วหยดสารละลาย 1,10-ฟีแนนโทรลีนเฟอร์รัสซัลเฟตอีก 3 หยด ไตรเอทิลอะมิโนคาร์บอนไดออกไซด์โดยสังเกตจากสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียว เป็นสีน้ำตาลม่วง แล้วคำนวณปริมาณอัลทอกซอล

2.1.9 ปริมาณยีสต์และรา (Yeast and Mold) (AOAC, 1995)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.1.1

2.1.10 ปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติกโดยวิธี (AOAC, 1995)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.2.2

2.1.11 ค่าสี (colorimeter : tri-stimulus colorimeter)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.4.1

2.1.12 การทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ Ranking for preference

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.6.6

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.2 ความเข้มข้นน้ำเกลือที่เหมาะสมต่อการหมักโมโรมิ

เตรียมโคจิข้าวเหนียวที่ให้ผลลัพธ์ที่ดีที่สุดจากข้อ 2 มาผสมกับถั่วเหลืองคั่วสุก ในอัตราส่วนที่ให้ผลลัพธ์ที่ดีที่สุดจากข้อ 3.1 ในถังพลาสติกขนาด 14 ลิตร เติมน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นร้อยละ 10 13 และ 16 (วัดค่า Hand-Held refractometer (Salt 0-28%) (Atago)) ในอัตราส่วนโคจิและถั่วเหลืองคั่วสุก:น้ำเกลือ เท่ากับ 2:1 คลุกให้ผสมให้เข้ากัน แล้วปิดฝาถังตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 12 สัปดาห์ โดยทำการคนได้แก่ข้าวทุกวันใน 2 สัปดาห์แรก และคนวันเว้นวันในสัปดาห์ถัดไปจนสิ้นอายุการหมัก สุ่มเก็บตัวอย่างได้แก่ข้าวทุก ๆ สัปดาห์ เพื่อวิเคราะห์

2.2.1 ค่าความเป็นกรด-เบส (AOAC, 1995)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 2.1.2

2.2.2 ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (ดัดแปลงจาก Mohr, 1980)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.1.2

2.2.3 วิเคราะห์หาปริมาณกรดแลกติกด้วยวิธีการ Titration (AOAC, 1995)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.2.1

2.2.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS (Miller, 1959)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.3.2

2.2.5 กิจกรรมอะไมเลส (Nahar et al., 2008)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 2.2.1

2.2.6 กิจกรรมโปรตีเอส (Anson, 1938 ; Folin and Ciocalteu, 1929)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 2.2.2

2.2.7 ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด (โดยวิธี photometric ninhydrin)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.3.4

2.2.8 ปริมาณอัลทอซอส์ (Amerine and Ough, 1974; AOAC, 1990)

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 2.1.8

2.2.9 ปริมาณยีสต์และรา (Yeast and Mold) (AOAC, 1995)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.1.1

2.2.10 ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก โดยวิธี (AOAC, 1995)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.2.2

2.2.11 ค่าสี (colorimeter: tri-stimulus colorimeter)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.4.1

2.2.12 การทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ Ranking for preference

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.6.6

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.3 ผลของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว

นำเต้าเจี้ยวที่มีคราบอายุการหมัก 12 สัปดาห์ มาต้มให้เดือดนาน 30 นาที บรรจุใส่ขวดแก้ว เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และทำการสุ่มเก็บตัวอย่างทุก ๆ 2 สัปดาห์ นาน 6 สัปดาห์ เพื่อทำการวิเคราะห์

2.3.1 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (AOAC, 1995)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.6.2

2.3.2 ค่าสี (colorimeter: tri-stimulus colorimeter)

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.4.1

2.3.4 การทดสอบทางประสาทสัมผัส แบบ Ranking for preference

วิธีการเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ข้อ 3.6.6

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

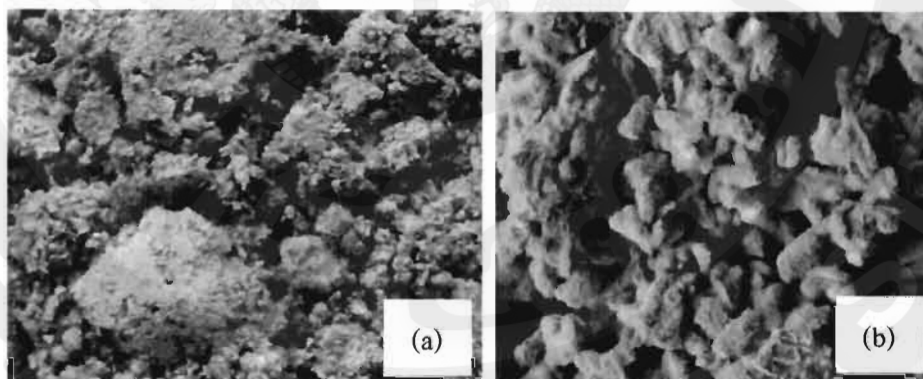
บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์

ตอน 1 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยว

1. ปริมาณเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตสปอร์ของ *A. oryzae* M-01

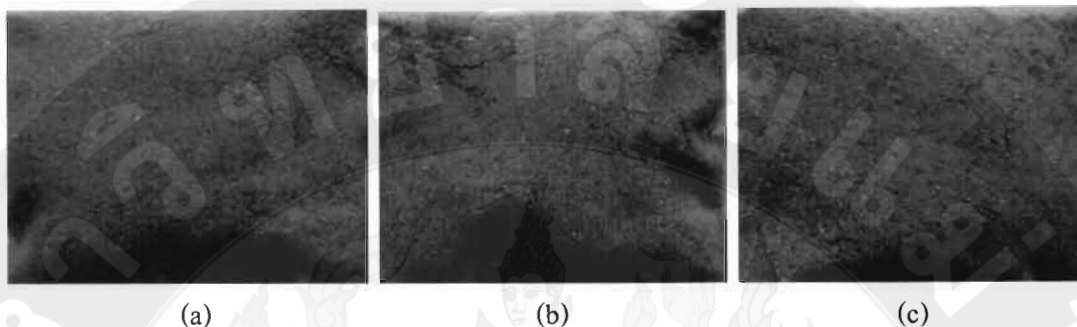
การเติมสปอร์ซัสเพนชันของรา *A. oryzae* M-01 ปริมาณ 0.5 1 และ 1.5 มิลลิลิตร ลงบนรำข้าวเจ้าและข้าวเจ้า พบว่า ทั้งรำข้าวและข้าวเจ้ามีความชื้นสูง เมื่อปล่อยให้ไว้นาน 12 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นการสร้างเส้นใยของราบนผิวของสับสเตรท (substrates) ได้ด้วยตาเปล่า เส้นใยจะแผ่กระจายเพิ่มขึ้น และราเริ่มมีการสร้างสปอร์สีเขียวย่อมนอมเหลืองเป็นบางบริเวณ ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง (ภาพ 4) ในช่วงระยะเวลาดังกล่าว แผ่นโคจิจจะมีลักษณะแห้งลงและมีความแข็งเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากรำข้าวเจ้าและข้าวเจ้าสูญเสียความชื้นออกสู่บรรยากาศอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wood (1998) ที่กล่าวว่าเชื้อราต้องการความชื้นในปริมาณที่ค่อนข้างสูงในช่วงแรกของการหมักโคจิจั่วเหลือง แต่หลังจากที่ราเริ่มสร้างสปอร์แล้ว ภายในระยะเวลาประมาณ 2-3 วัน ความชื้นของโคจิจะมีค่าลดลง



ภาพ 4 การผลิตสปอร์ของรา *A. oryzae* M-01 บนสับสเตรท 2 ชนิด เมื่อหมักโคจิจาน 72 ชั่วโมง: รำข้าวเจ้า (a) และข้าวเจ้า (b)

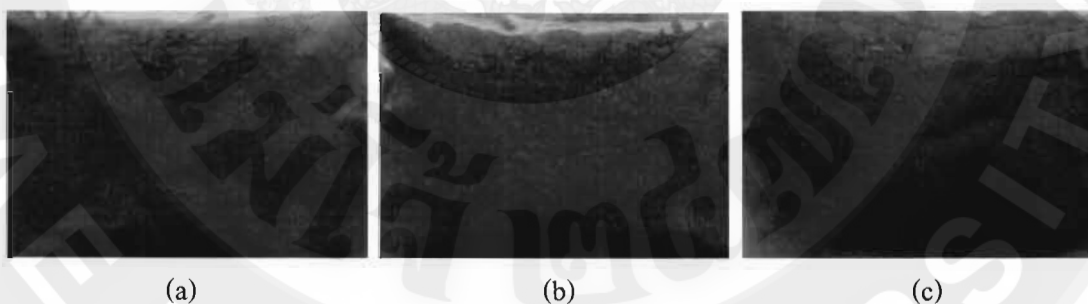
เมื่อนำรำข้าวเจ้าและข้าวเจ้าที่มีสปอร์เจริญอยู่ ไปอบให้แห้งภายใต้ความดันสุญญากาศและบดให้ละเอียด พบว่ารำข้าวเจ้าทุกทริทเมนต์จะให้ผงสปอร์สีเขียวน้ำตาล (ภาพ 5) ในขณะที่ข้าวเจ้าทุกทริทเมนต์จะให้ผงสปอร์ที่มีสีเขียวเข้ม (ภาพ 6) สปอร์ที่ยังมีชีวิตเหลือรอดอยู่บนรำข้าวเจ้ามีจำนวนเท่ากับ 9.36 9.45 และ 9.26 log cfu/g ตามลำดับ และบนข้าวเจ้ามีจำนวน

เท่ากับ 9.98 10.15 และ 9.98 log cfu/g ตามลำดับ (ตาราง 2) ปริมาณสปอร์ที่ได้จากสับเสตรทั้งสองชนิด มีค่า



ภาพ 5 ผงสปอร์ที่ได้จากการเติมสปอร์ซัสเพนชั้นของรา *A. oryzae* M-01 ในปริมาณที่แตกต่างกันบนรำข้าวเจ้า: 0.5 มิลลิลิตร (a) 1.0 มิลลิลิตร (b) และ 1.5 มิลลิลิตร (c)

ใกล้เคียงกัน แต่อย่างไรก็ตามปริมาณสปอร์ซัสเพนชั้น 1 มิลลิลิตร ที่เติมลงบนรำข้าวเจ้า จะให้จำนวนสปอร์ที่เห็ดรอดชีวิตสูงที่สุด จึงมีความเหมาะสมในการนำไปผลิตสปอร์ เพื่อการทดลองในขั้นตอนต่อไป



ภาพ 6 ผงสปอร์ที่ได้จากการเติมสปอร์ซัสเพนชั้นของรา *A. oryzae* M-01 ในปริมาณที่แตกต่างกันบนข้าวเจ้า: 0.5 มิลลิลิตร (a) 1.0 มิลลิลิตร (b) และ 1.5 มิลลิลิตร (c)

ตาราง 2 จำนวนสปอร์ของรา *A. oryzae* M-01 ที่เห็ดออโรคีวิดบนรำข้าวเจ้าและข้าวเจ้า ภายหลังจากการอบให้แห้ง เมื่อใช้ปริมาณสปอร์ชั้นแตกต่างกัน

สปอร์ชั้น (มิลลิลิตร)	จำนวนสปอร์ที่เห็ดออโรคีวิด (log cfu/g)	
	รำข้าวเจ้า	ข้าวเจ้า
0.5	9.36 ± 0.17	9.98 ± 0.15
1.0	9.45 ± 0.4	10.15 ± 0.07
1.5	9.26 ± 0.53	9.98 ± 0.2

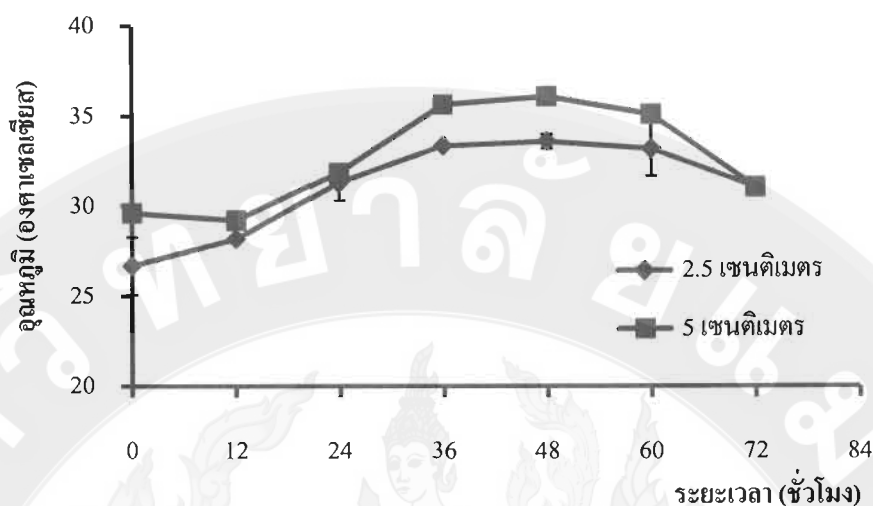
หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2. กิจกรรมของราในระหว่างการหมักโคจิ

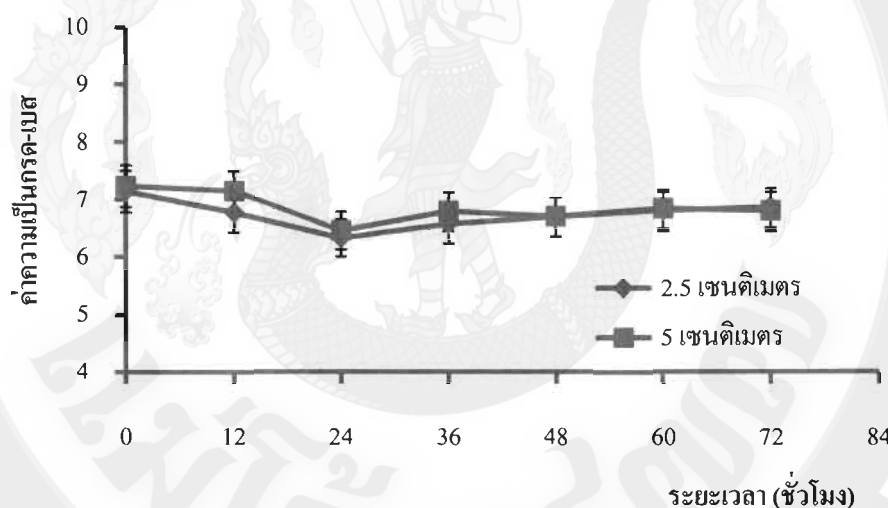
2.1 อุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างในโคจิถั่วเหลือง

จากการเตรียมโคจิถั่วเหลือง โดยปรับความหนาของโคจิให้เท่ากับ 2.5 และ 5.0 เซนติเมตรพบว่า รมีรูปแบบการเจริญที่คล้ายคลึงกันในทุกทริทเมนต์ โดยที่สปอร์ราเริ่มงอกเส้นใย จนมีขนาดที่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่าภายใน 12 ชั่วโมง และดำเนินกิจกรรมการเจริญอย่างต่อเนื่อง ในชั่วโมงที่ 24 เส้นใยของราจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นจนเห็นเป็นปุยสีขาวปกคลุมเมล็ดถั่วเหลืองเป็นส่วนใหญ่ เส้นใยจะเจริญและเริ่มมีการสร้างสปอร์ขึ้นมา ทำให้มองเห็นเป็นหย่อมสีเหลือง กระจายตัวอยู่ในกองโคจิในชั่วโมงที่ 36 หลังจากนั้นการสร้างสปอร์ยังคงดำเนินต่อไป จนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก ในช่วงเวลาดังกล่าว สปอร์บางส่วนเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมเหลือง และเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มทั้งหมดในที่สุด ซึ่งหมายถึงรามีอายุแก่เต็มที่แล้ว การเจริญของราส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในระหว่างการบ่มโคจิตลอดชั่วโมงที่ 0-72 โดยโคจิมีอุณหภูมิสูงสุดเท่ากับ 33.6 และ 36.1 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 48 (ภาพ 7)

การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบสของโคจิถั่วเหลืองพบว่าการเปลี่ยนแปลงน้อยมากโดยค่า ค่าความเป็นกรด-เบส อยู่ในช่วง 6.33-7.23 (ภาพ 8)



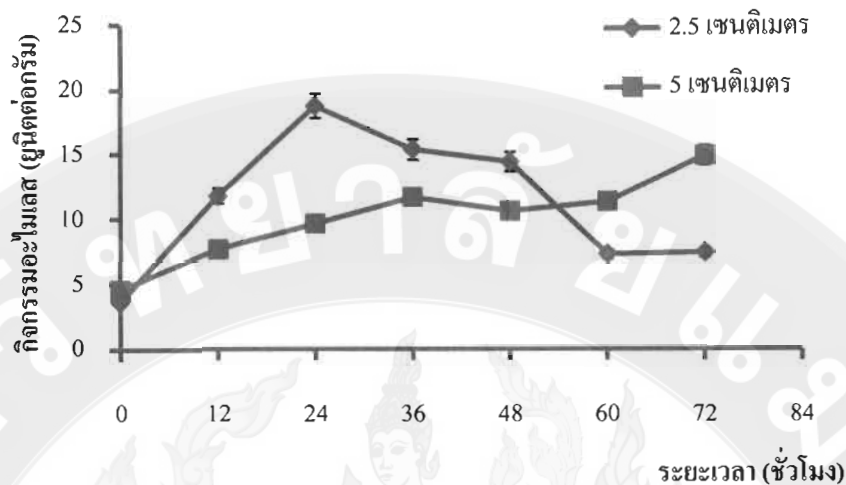
ภาพ 7 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในระหว่างการหมักโคจิดัวเหียงที่มีความหนาแตกต่างกัน



ภาพ 8 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-เบส ในระหว่างการหมักโคจิดัวเหียงที่มีความหนาแตกต่างกัน

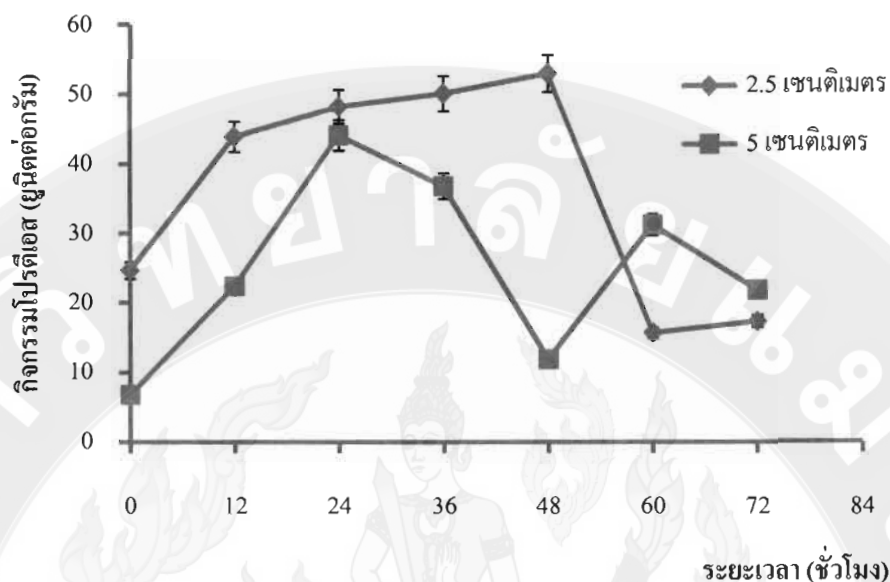
2.2 กิจกรรมเอนไซม์ในโคจิดัวเหียง

เรามีการสร้างเอนไซม์ควบคู่ไปกับการเจริญในระหว่างการหมักโคจิ พบว่ากิจกรรมอะไมเลสของโคจิดัวเหียงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทั้ง 2 ทรีทเมนต์ โดยโคจิที่มีความหนา 2.5 และ 5.0 เซนติเมตร จะให้ กิจกรรมอะไมเลสสูงสุดเท่ากับ 18.74 และ 14.93 ยูนิตต่อกรัม ภายในระยะเวลา 24 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ (ภาพ 9)



ภาพ 9 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมอะไมเลสในระหว่างการหมักโคจิถั่วเหลืองที่มีความหนาแตกต่างกัน

กิจกรรมโปรตีเอสของโคจิมีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงคล้ายคลึงกับกิจกรรมอะไมเลส โดยจะมีค่าสูงสุดเท่ากับ 52.89 และ 44.09 หน่วยต่อกรัม ในเวลา 48 และ 24 ชั่วโมง สำหรับโคจินา 2.5 และ 5.0 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพ 10) การที่ความหนาของโคจิที่ระดับ 2.5 เซนติเมตร ให้กิจกรรมโปรตีเอสสูงกว่าที่ระดับ 5.0 เซนติเมตร อาจเนื่องจากโคจิมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีเอสคือสูงไม่เกิน 35 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wood (1998) ที่ระบุว่าอุณหภูมิช่วง 20-35 องศาเซลเซียส จะส่งเสริมให้รา *A. oryzae* เกิดการสร้างโปรตีเอสได้ดี

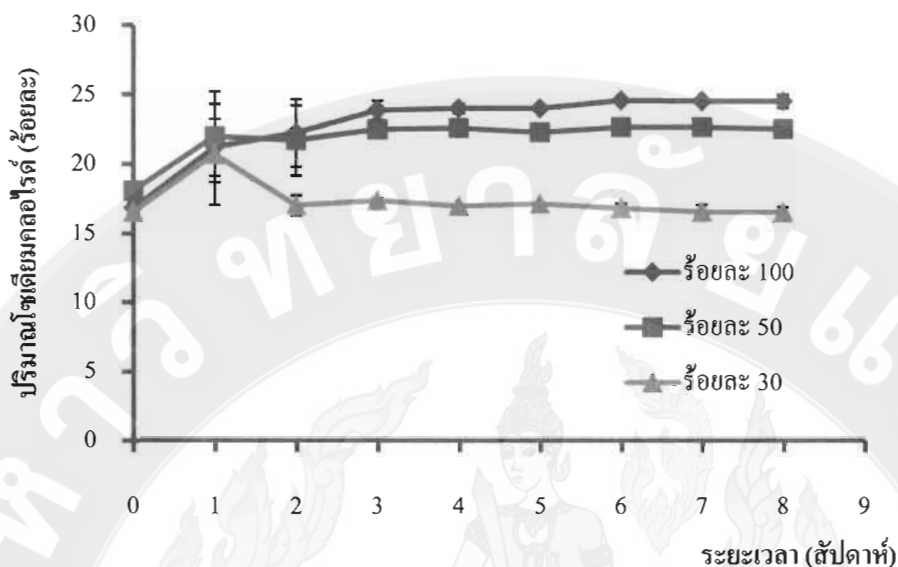


ภาพ 10 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมโปรตีนเอสในระหว่างการหมักโคจิถั่วเหลืองที่มีความหนาแตกต่างกัน

3. ปริมาณโคจิถั่วเหลืองต่อการเกิดอนุภาคสีขาวในกระบวนการหมักโมโรมิ

3.1 จำนวนยีสต์และราในโมโรมิ

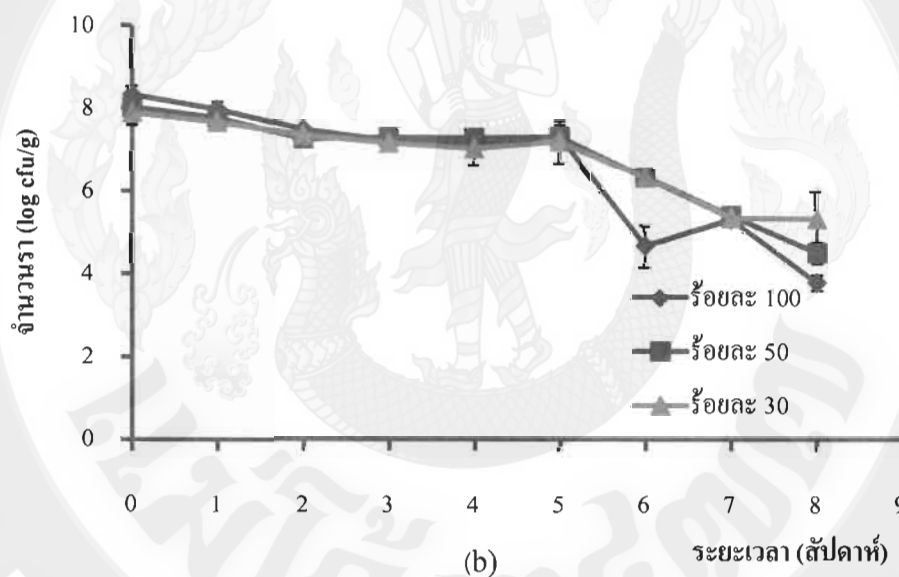
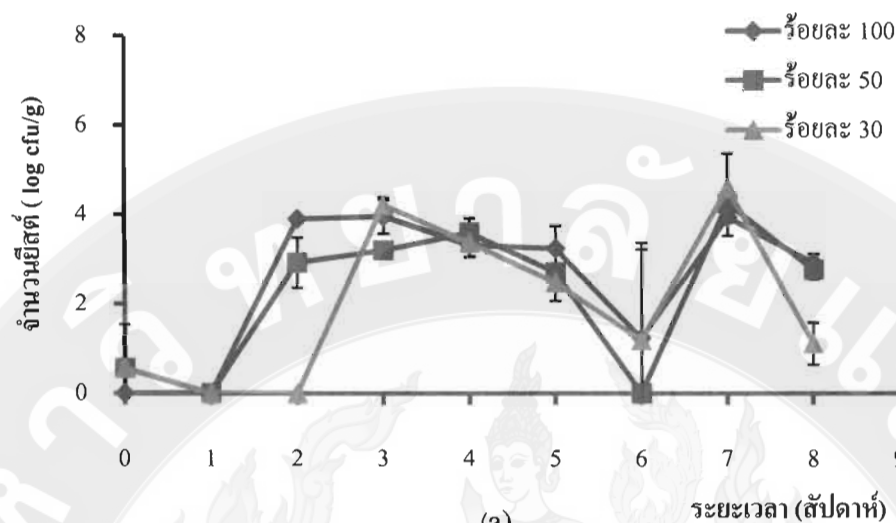
การหมักเต้าเจี้ยวโดยใช้โคจิร้อยละ 100 50 และ 30 ของน้ำหนักรวมทั้งหมด ในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นร้อยละ 22 บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 8 สัปดาห์ พบว่าปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในช่วงระยะเวลา 0-1 สัปดาห์แรก มีค่าเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 16.85 18.09 และ 16.56 ตามลำดับ เป็นประมาณร้อยละ 21.23 21.99 และ 20.72 ตามลำดับ หลังจากนั้นโซเดียมคลอไรด์จึงมีปริมาณลดลงในสัปดาห์ที่ 2 ก่อนที่จะมีค่าเกือบคงที่จนสิ้นสุดระยะการหมัก (ภาพ 11)



ภาพ 11 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณโคลิฟอร์มรวมในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่ต่างกัน

ปริมาณโคลิฟอร์มรวมที่เพิ่มขึ้นในช่วงแรก เกิดขึ้นเนื่องจากน้ำในน้ำเกลือส่วนหนึ่งถูกดูดซับโดยโคจิที่ใช้หมัก เนื่องจากโคจิมีลักษณะที่แห้งมาก หลังจากนั้นจึงมีอัตราเร็วที่ลดลง ในขณะที่ความชื้นจากถั่วเหลืองต่ำสุด ได้เคลื่อนเข้าสู่ น้ำเกลือเข้มข้นเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และทำให้น้ำเกลือกลับมีความเข้มข้นของโคลิฟอร์มรวมลดลง จนเกือบคงที่ซึ่งหมายถึงเกิดภาวะสมดุล

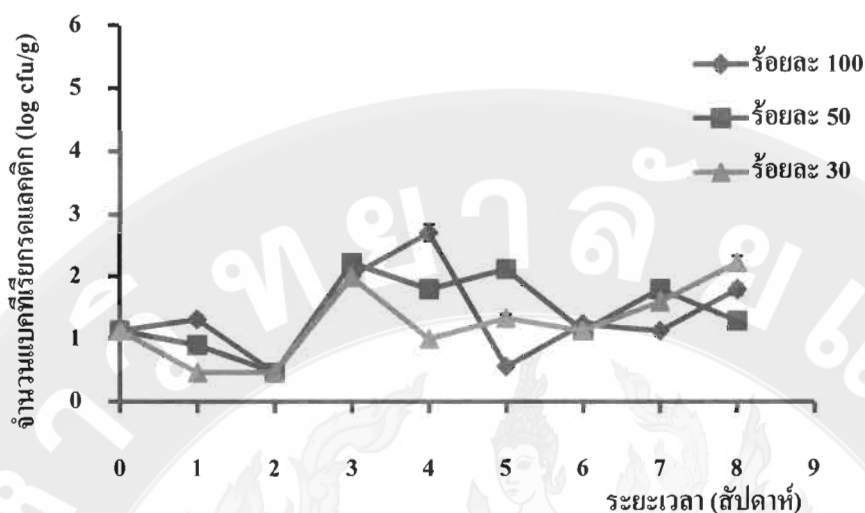
จากการวิเคราะห์จำนวนยีสต์และราในโมโรมิ พบว่า ยีสต์ในช่วงสัปดาห์แรกมีค่าต่ำมาก เนื่องจากค่าความเป็นกรด-ด่างของโมโรมียังคงมีค่าเกินกว่า 5.0 ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญ หลังจากนั้นจำนวนยีสต์กลับมีค่าสูงขึ้นประมาณ 3.94 4.23 และ 4.58 log CFU/g ตามลำดับ เนื่องจากเป็นยีสต์ที่ทนต่อความเข้มข้นสูงๆ ได้ สำหรับรา พบว่าจำนวนราสูงสุดอยู่ที่ระดับ 8.32 8.02 และ 7.88 log CFU/g ตามลำดับ (ภาพ 12) ขึ้นกับปริมาณโคจิที่ใช้ รมีจำนวนลดลงตามลำดับ เนื่องจากสปอร์ราจำนวนมากไม่สามารถทนความเข้มข้นของน้ำเกลือที่สูงได้ วิเชียร (2526) กล่าวว่า ราอาจอยู่รอดได้ในระหว่างกระบวนการหมักซีอิ๊วนานประมาณ 1-2 เดือน



ภาพ 12 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนยีสต์ (a) และรา (b) ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิฉั่ว เหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน

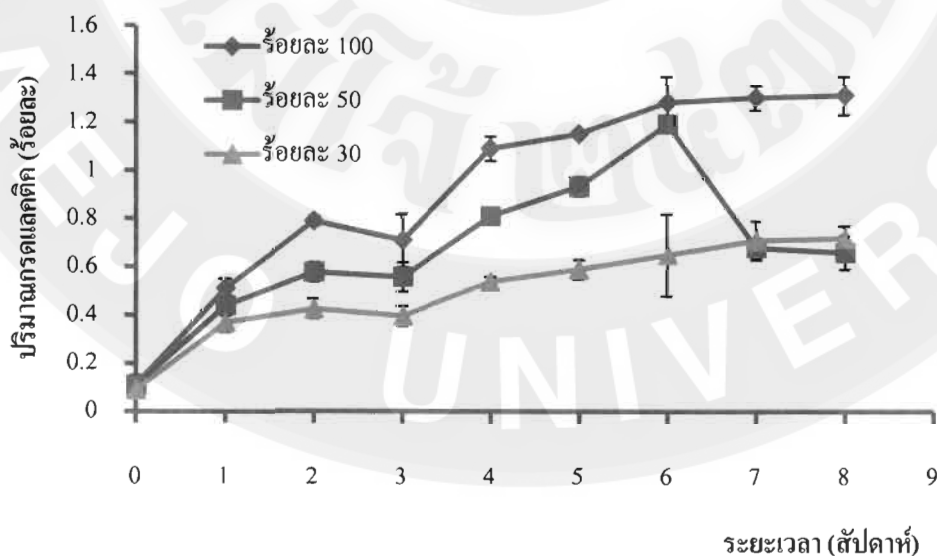
3.2 จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในโมโรมิและการสร้างกรด

แบคทีเรียแลคติกมีการเพิ่มจำนวนอย่างมากโดยเฉพาะในช่วง 3-4 สัปดาห์แรกของการหมักโมโรมิ พบจำนวนแบคทีเรียแลคติกสูงสุด 2.69 2.11 และ 2.21 log CFU/g ตามลำดับ (ภาพ 13)



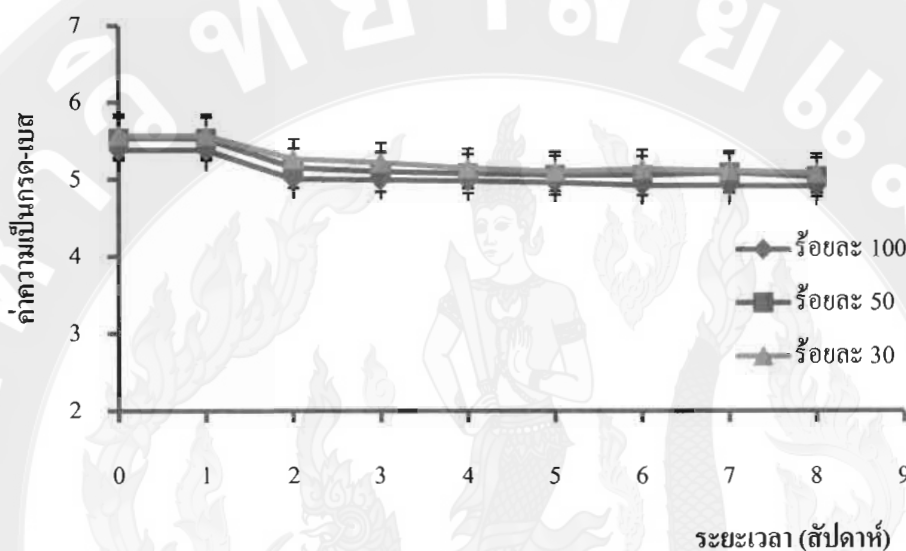
ภาพ 13 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน

แบคทีเรียแลกติกสามารถเจริญได้อย่างดีในเต้าเจี้ยว และผลิตกรดแลกติกออกมาในปริมาณมาก (ภาพ 14) แปรผันตามปริมาณโคจิที่ใช้หมัก คือได้ปริมาณร้อยละเท่ากับ 1.31 1.19 และ 0.72 ตามลำดับ เนื่องจากได้แบคทีเรียกรดแลกติกได้รับสารอาหารที่สามารถนำไปใช้ได้ง่ายจากโคจิ



ภาพ 14 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดแลกติกในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน

ปริมาณกรดแลกติกที่ถูกสร้างขึ้น โดยแบคทีเรียแลกติก ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-เบสของเต้าเจี้ยวลดลงจนมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 4.91 5.04 และ 5.09 ตามลำดับ และมีค่าเกือบคงที่ตลอดอายุการหมัก (ภาพ 15) ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากปริมาณกรดแลกติกที่สะสมในเต้าเจี้ยว ค่าความเป็นกรด-เบส ที่ต่ำลงจะช่วยให้ยีสต์ที่ในเต้าเจี้ยวสามารถเจริญได้ดีขึ้น



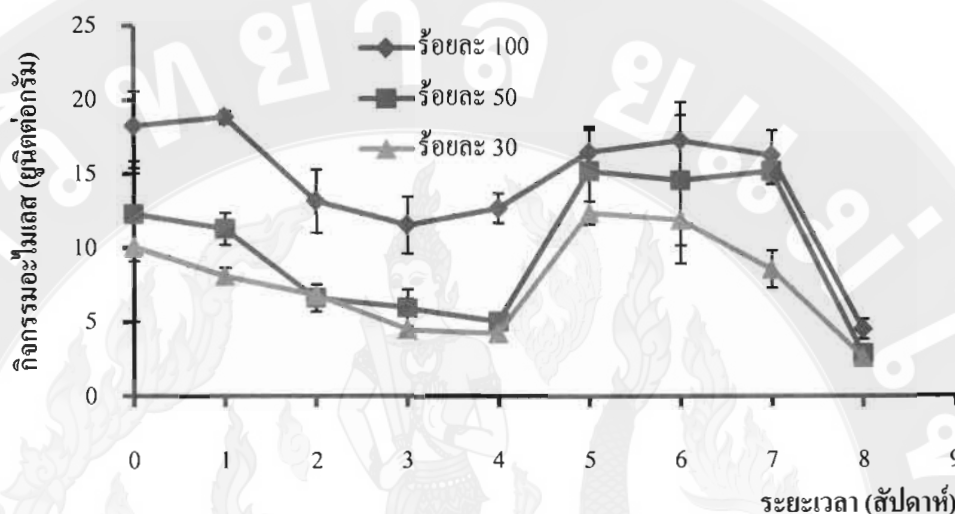
ภาพ 15 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-เบสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลือง ในปริมาณที่แตกต่างกัน

3.3 กิจกรรมเอนไซม์

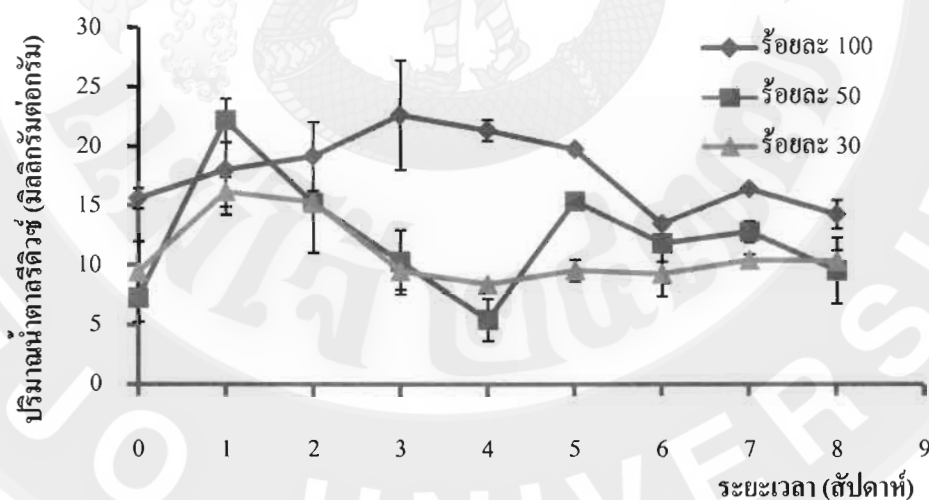
กิจกรรมอะไมเลสเกิดการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาของการหมักโมโรมิ พบว่ากิจกรรมอะไมเลสที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการหมักโคจิ ยังคงหลงเหลืออยู่ในขั้นตอนการหมักโมโรมิ ทำให้สามารถตรวจพบกิจกรรมดังกล่าวได้นับตั้งแต่สัปดาห์ที่ 0 แต่มีแนวโน้มลดลงตลอดช่วงระยะเวลาของการหมัก กิจกรรมอะไมเลสลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 3-4 สัปดาห์แรก หลังจากนั้นจะมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และมีค่าลดลงจนเกือบคงที่ตลอดอายุของการหมัก กิจกรรมอะไมเลสสูงสุดจะมีค่าเท่ากับ 18.84 15.14 และ 12.32 ยูนิตต่อกรัม ตามลำดับ (ภาพ 16) การลดลงของกิจกรรมอะไมเลสสอดคล้องกับรายงานของ Yong and Wood (1974) ที่พบการลดลงของอะไมเลสในกระบวนการหมักซีอิ๊ว

สำหรับน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการหมัก โดยมีค่าสูงสุดเท่ากับ 22.62 22.19 และ 16.16 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ (ภาพ 17) น้ำตาลรีดิวซ์ที่พบส่วนหนึ่งมาจากแป้งในโคจิถูกย่อยสลายด้วยอะไมเลส อีกส่วนหนึ่งเกิดจากการกิจกรรมอะไมเลสที่ยังคงอยู่แม้จะอยู่สภาวะแวดล้อมที่มีเกลือความเข้มข้นสูง น้ำตาลรีดิวซ์ดังกล่าวจะไม่เพิ่มปริมาณ

มากนั้น เนื่องจากกิจกรรมอะไมเลสที่ลดลง และเนื่องจากกิจกรรมของแบคทีเรียกรดแลกติกและยีสต์ในช่วงการหมักโมโรมิ ที่ใช้น้ำตาลรีดิวซ์ในการเจริญแล้วสร้างกรด และอัลกอฮอล์ออกมาในเต้าเจี้ยวตามลำดับ



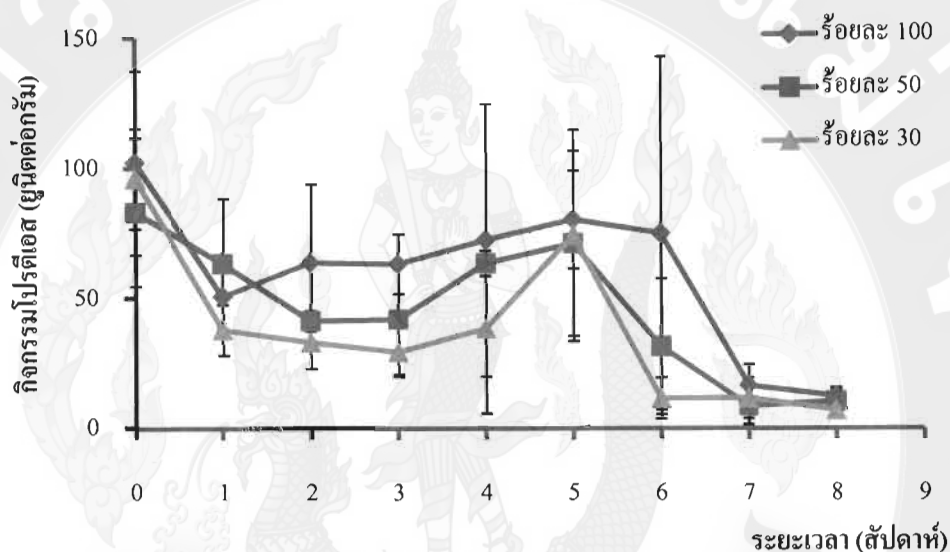
ภาพ 16 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมอะไมเลสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน



ภาพ 17 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน

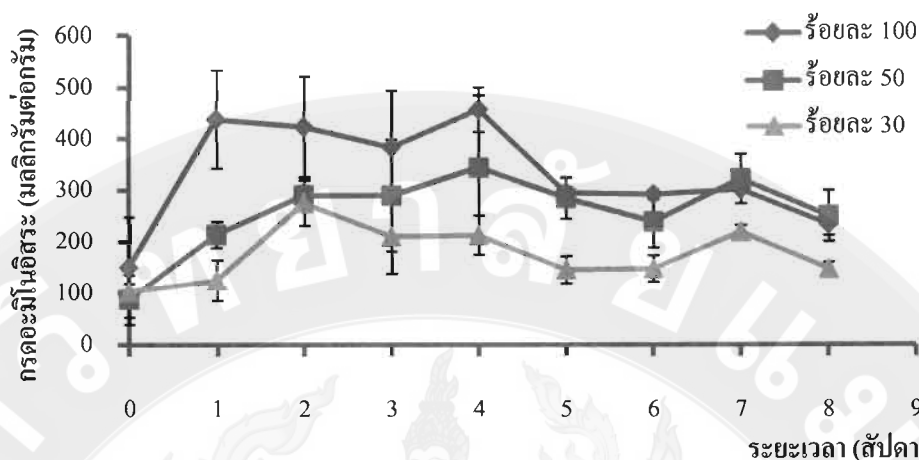
กิจกรรมโปรตีเอสปรากฏขึ้นในสัปดาห์ที่ 0 ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากโปรตีเอสที่ติดค้างอยู่ในโคจิ และหลงเหลือมาอยู่ในขั้นตอนการหมักโมโรมิ แต่อย่างไรก็ตามกิจกรรมโปรตีเอสมีค่าลดลงจากเดิมในช่วง 1-2 สัปดาห์แรกของการหมัก แล้วจึงเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อย โดยค่าสูงสุดที่พบ

คือ 102.12 83.05 และ 95.98 หน่วยต่อกรัม ตามลำดับ (ภาพ 18) การลดลงของโปรตีนเอสเป็นผลเนื่องมาจากการเสื่อมสภาพตามธรรมชาติของโปรตีน (denaturation) และอาจเนื่องมาจากเอนไซม์ไปรวมตัวกับสารประกอบอย่างอื่นที่มีอยู่ในเต้าเจี้ยว ทำให้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายโปรตีนลดลง ส่วนการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมโปรตีนเอสอาจเนื่องมาจากเส้นใยบางส่วนเกิดการย่อยสลายและปลดปล่อยโปรตีนเอสออกมา (Yong and Wood, 1974)



ภาพ 18 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมโปรตีนเอสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ปริมาณโคจิถั่วเหลืองที่แตกต่างกัน

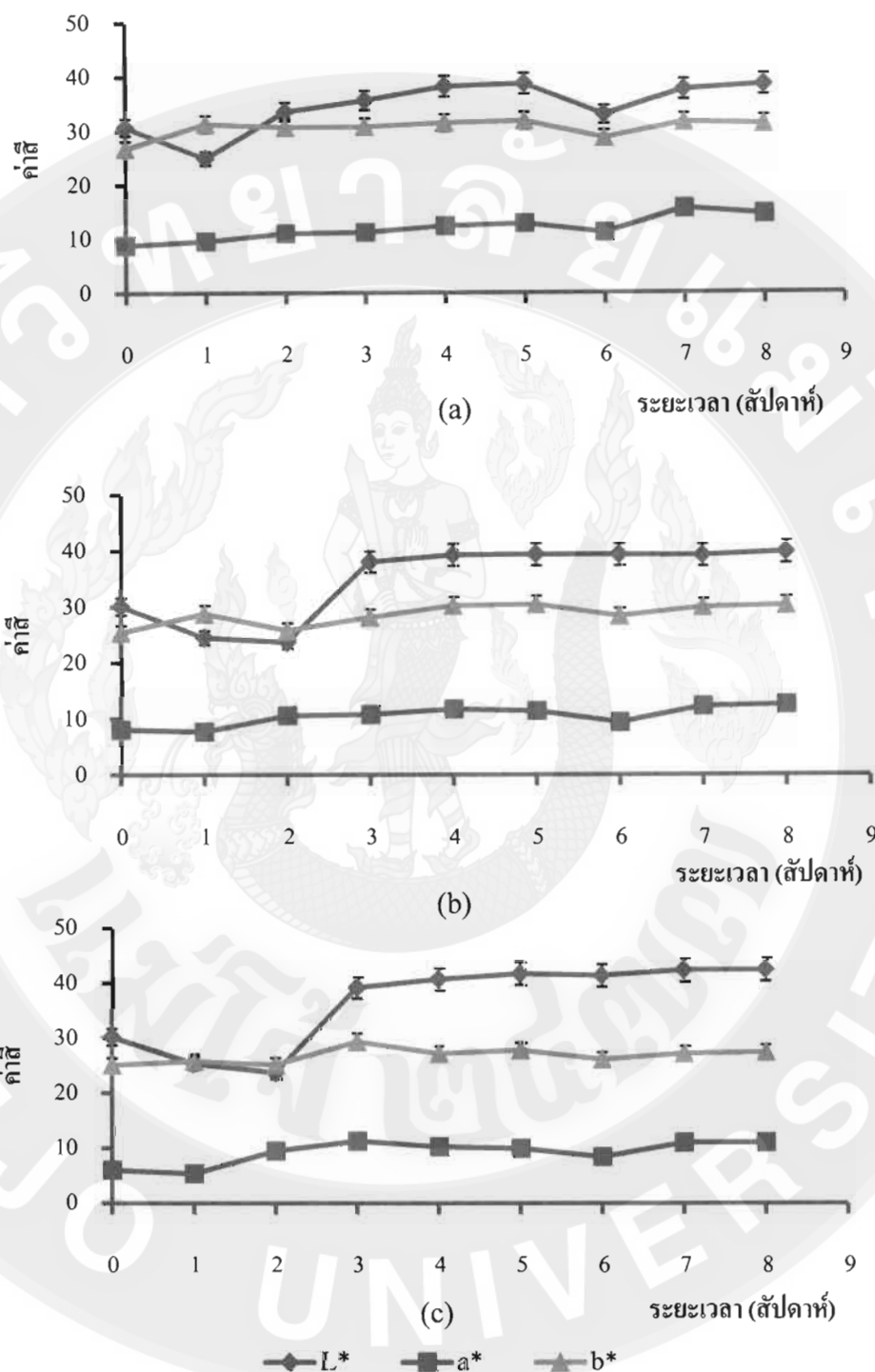
โปรตีนเอสในขั้นตอนการหมักโมโรมิจะย่อยโมเลกุลของโปรตีนในถั่วเหลืองให้กลายเป็นเปปไทด์ที่มีสายสั้นลง (short chain peptides) และกรดอะมิโนจำนวนหนึ่งที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นในเต้าเจี้ยวตลอดอายุการหมัก (ภาพ 19) การเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดสอดคล้องกับกิจกรรมโปรตีนเอสกิจกรรมโปรตีนเอส ซึ่งพบว่าปริมาณกรดอะมิโนอิสระที่สะสมมีค่าสูงสุดประมาณ 465.25 343.75 และ 275.00 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ



ภาพ 19 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดอะมิโนอิสระในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน

3.4 สีของเต้าเจี้ยว

เต้าเจี้ยวที่ผ่านการหมักมานาน 8 สัปดาห์ พบว่าจะมีสีเหลืองของถั่วเหลืองผสมกับสีใสของน้ำเกลือ แต่เมื่ออายุการหมักเพิ่มขึ้น เต้าเจี้ยวจะมีสีเข้มขึ้นเป็นสีน้ำตาลอ่อน และเข้มขึ้นเรื่อยๆ ในทุกพริทเมนต์ เต้าเจี้ยวที่หมักโดยใช้โคจิปริมาณร้อยละ 100 จะให้สีน้ำตาลที่เข้มที่สุดโดยมีค่าสี L^* , a^* และ b^* เท่ากับ 38.61 15.65 และ 31.77 รองลงมาได้แก่การใช้โคจิปริมาณร้อยละ 50 และ 30 ตามลำดับ (ภาพ 20) การเกิดสีน้ำตาลของเต้าเจี้ยวเป็นผลเนื่องจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด ที่เป็นการรวมตัวกันระหว่างกรดอะมิโนและน้ำตาลรีดิวซ์ (Miller, 1959; Yokotsuka, 1986)



ภาพ 20 การเปลี่ยนแปลงค่าสี L^* , a^* และ b^* ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจี้ถั่วเหลืองใน ปริมาณที่แตกต่างกัน (ร้อยละ): 100 (a) 50 (b) และ 30 (c)

3.5 การเกิดอนุภาคสีขาวในระหว่างการหมักโมโรมิ

จากการสังเกตการเกิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยว พบว่า เต้าเจี้ยวที่หมักโดยใช้โคจิในปริมาณร้อยละ 100 จะก่อให้เกิดอนุภาคสีขาวในถังหมักได้ภายในระยะเวลา 2 สัปดาห์ โดยจำนวนและขนาดอนุภาคสีขาวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และมักเกาะติดอยู่กับผนังของถังหมัก อนุภาคสีขาวจะพบมากที่สุดในช่วงสัปดาห์ที่ 6 ในขณะที่เต้าเจี้ยวที่หมักโดยใช้ปริมาณโคจির้อยละ 50 และ 30 จะให้ผลลัพธ์ที่คล้ายคลึงกัน แต่ระยะเวลาการเกิดอนุภาคสีขาวจะช้ากว่าเป็น 4 และ 6 สัปดาห์ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามโคจির้อยละ 30 ยังคงให้อนุภาคสีขาวที่มีปริมาณน้อยที่สุด แม้จะหมักนานถึง 8 สัปดาห์ (ตาราง 3)

ตาราง 3 การเกิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยวที่หมักโดยใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณแตกต่างกัน

ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)	อนุภาคสีขาว									
	ระยะเวลา (สัปดาห์)									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
100	-	-	+	+	++	++	+++	+++	+++	
50	-	-	-	-	+	+	++	++	+++	
30	-	-	-	-	-	-	+	+	++	

หมายเหตุ: - = ไม่พบ

+ = พบเล็กน้อย

++ = พบมาก

การเกิดอนุภาคสีขาวในขั้นตอนการหมักโมโรมิ อาจเนื่องมาจากการใช้โคจิในปริมาณที่มาก ย่อมทำให้ได้กิจกรรมโปรติเอสที่มากตามไปด้วย ซึ่งจะส่งผลให้ได้กรดอะมิโนไทโรซีนจากโปรตีนของถั่วเหลืองจำนวนมาก ไทโรซีนเป็นกรดอะมิโนที่ละลายน้ำได้ยาก ดังนั้นจึงมีแนวโน้มมารวมตัวกันแล้วกลายเป็นผลึกสีขาวที่มีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ Flegel et al. (1981) และ Bhumiratana et al. (1988) รายงานว่าได้มีการพบจุลชีพในเต้าเจี้ยวที่ผลิตในประเทศไทย และกล่าวว่าจุลชีพที่พบคือ ไทโรซีน ที่เกิดจากการย่อยสลายโปรตีนของถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์โปรติเอส

3.6 ผลของการหมักโมโรมิระยะเวลาสั้นต่อการเกิดอนุภาคสีขาว

นำเต้าเจี้ยวอายุ 4 สัปดาห์ บรรจุใส่ขวดแก้วปิดฝาขณะร้อน เพื่อศึกษาการเกิดอนุภาคสีขาว พบว่า ปริมาณโคจิที่ใช้หมักโมโรมิทุกระดับ ส่งผลให้เกิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยวนับแต่เริ่มบรรจุขวด โดยในวันที่ 0 พบอนุภาคสีขาวในทุกทริทเมนต์ แต่จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวและชนิดของอนุภาคสีขาวที่เกิดขึ้นมีความแตกต่างกัน เต้าเจี้ยวที่หมักด้วยโคจิริ้อยละ 100 จะก่อให้เกิดพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวมากกว่าทริทเมนต์อื่นๆ คือ ร้อยละ 4.39 ในขณะที่โคจิริ้อยละ 50 และ 30 ให้จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวที่น้อยกว่า 20-40 เท่า คือเท่ากับร้อยละ 0.21 และ 0.10 ตามลำดับ จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวมีค่าเพิ่มขึ้นแปรผันตามอายุการเก็บรักษาจนกระทั่งถึงวันที่ 9 จำนวนพื้นที่ดังกล่าวมีค่าสูงเกินกว่าร้อยละ 95 ทุกทริทเมนต์ (ตาราง 4)

ตาราง 4 จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวและชนิดอนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวบรรจุขวด

ระยะเวลา (วัน)	จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาว (ร้อยละ)			ชนิดของอนุภาคสีขาว		
	ปริมาณถั่วเหลือง (ร้อยละ)			ปริมาณถั่วเหลือง (ร้อยละ)		
	100	50	30	100	50	30
0	4.39 ± 2.87	0.21 ± 0.19	0.10 ± 0.19	A, B	B	C
1	25.31 ± 6.77	1.12 ± 0.57	0.18 ± 0.12	A, B	B	C
3	4.98 ± 0.73	5.185 ± 3.34	3.17 ± 2.59	A, B	B	C
6	18.12 ± 5.51	18.35 ± 0.03	8.74 ± 4.59	A, B	B	C
9	95.86 ± 0.78	99.96 ± 0.00	96.43 ± 3.23	A, B	B, C	C
12	96.77 ± 1.14	100.00 ± 0.00	97.14 ± 2.52	A, B	B, C	C
15	100 ± 0.00	100.00 ± 0.00	99.13 ± 1.00	A, B	B, C	C

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

A = อนุภาคสีขาวชนิดแผ่นนุ่ม

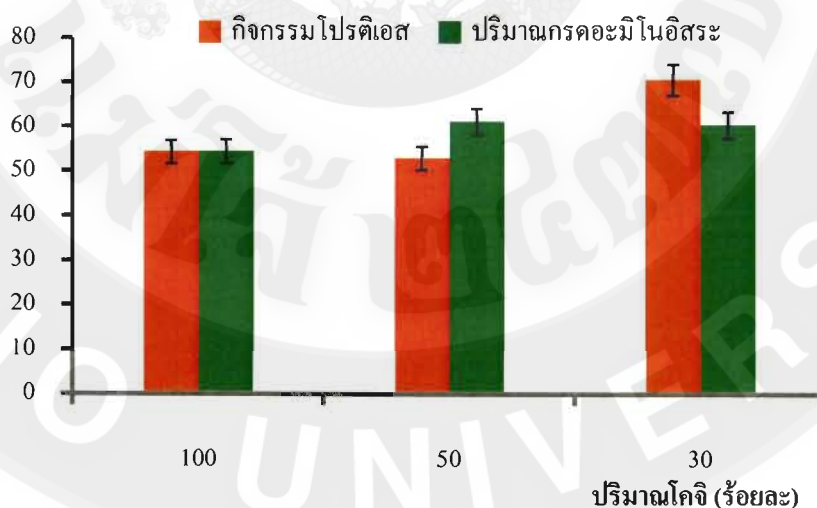
B = อนุภาคสีขาวชนิดแผ่นแข็ง

C = อนุภาคสีขาวชนิดเม็ดเล็กๆ

ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากในช่วงแรกของการเก็บรักษา อนุภาคสีขาวส่วนใหญ่ที่เกิดขึ้นแล้วในถังหมักโมโรมิ ส่วนหนึ่งที่เหลือจากการละลายในช่วงของการต้มเต้าเจี้ยวก่อนการบรรจุ ได้ถูกถ่ายเทต่อมายังขวดบรรจุผลิตภัณฑ์ และในขณะเดียวกันความร้อนในระหว่างการต้มได้ทำให้น้ำบางส่วนระเหยออกจากเนื้อเต้าเจี้ยว ทำให้เนื้อเต้าเจี้ยวเข้มข้นขึ้น นอกจากนี้ยังอาจ

เนื่องมาจากกิจกรรมโปรตีนที่ยังคงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ที่มีค่าเท่ากับ 54.21 52.71 และ 70.49 หน่วยต่อกรัม และทำให้ได้ปริมาณกรดอะมิโนอิสระเท่ากับ 54.27 60.94 และ 60.21 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ (ภาพ 21) ส่งผลให้ปริมาณไทโรซีนในเต้าเจี้ยวที่ต้มแล้วมีค่าเพิ่มขึ้น จึงทำให้เห็นผลึกไทโรซีนซึ่งเป็นสีขาวในวันถัดมา ผลึกดังกล่าวจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นและมีขนาดใหญ่ขึ้นตามระยะเวลาของการเก็บรักษาดังกล่าว

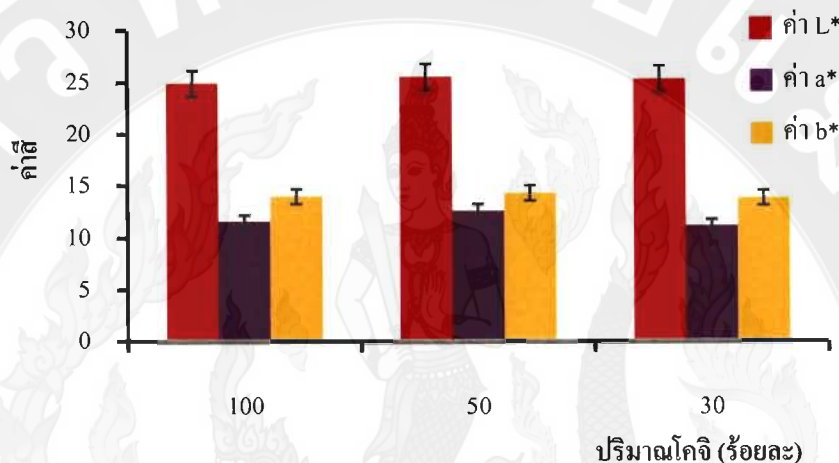
อนุภาคสีขาวที่พบเป็นชนิดแผ่นนุ่มและแผ่นแข็ง แผ่นแข็งและเม็ดเล็กๆ และชนิดเม็ดเล็กๆ สำหรับเต้าเจี้ยวที่หมักจากโคจิริร้อยละ 100 50 และ 30 ตามลำดับ ชนิดของอนุภาคสีขาวจะขึ้นกับปริมาณโคจิที่ใช้หมักเต้าเจี้ยว โดยชนิดแผ่นแข็ง แผ่นนุ่ม และเม็ดเล็กๆ จะเกิดขึ้นได้ง่ายในเต้าเจี้ยวที่หมักจากโคจิปริมาณร้อยละ 100 50 และ 30 ตามลำดับ อนุภาคสีขาวชนิดแผ่นนุ่มจะมีขนาดที่กว้างกว่าชนิดแผ่นแข็ง และแบบเม็ดเล็กๆ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณกิจกรรมโปรตีนในช่วงการหมักโมโรมิที่แตกต่างกัน โดยกิจกรรมโปรตีนในเต้าเจี้ยวที่หมักจากโคจิริร้อยละ 100 จะมีค่าสูงที่สุด ทำให้เกิดการย่อยโปรตีนจนได้กรดอะมิโนไทโรซีนจำนวนมาก กระจายตัวกันอยู่เป็นวงกว้าง เมื่อความเข้มข้นของไทโรซีนมีสูงถึงระดับหนึ่งจึงเกิดการตกผลึก และมีการรวมตัวกันของผลึกจนมีขนาดใหญ่ขึ้นโดยลำดับ การกระจายตัวเป็นวงกว้างของไทโรซีน ทำให้ผลึกส่วนหนึ่งที่เกิดขึ้นไม่สะสมกันจนกลายเป็นแผ่นแข็ง



ภาพ 21 กิจกรรมโปรตีนและปริมาณกรดอะมิโนอิสระในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว

ค่า L^* a^* และ b^* ของผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว หลังจากการต้มเต้าเจี้ยวนาน 20 30 และ 40 นาที (ภาพ 22) พบว่า ระยะเวลาในการต้มให้นานขึ้นสีของเต้าเจี้ยวจะเข้มขึ้นตามลำดับ โดยแต่ละทริทเมนต์เมื่อต้มนาน 40 นาที จะมีค่า L^* a^* และ b^* สูงสุด คือ ค่า L^* เท่ากับ 24.88 25.47 และ

25.24 ตามลำดับ ค่า a^* เท่ากับ 11.62 12.62 และ 11.21 และ ค่า b^* เท่ากับ 13.98 14.29 และ 13.80 ซึ่งค่าสี L^* a^* และ b^* ทั้งสามทริทเมนต์ การที่ผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวมีสีคล้ำขึ้น ส่วนใหญ่เกิดเนื่องจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลชนิดเมลลาร์ด โดยกรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนโดยโปรตีเอส และน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายด้วยอะไมเลส และยังคงหลงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ ทำปฏิกิริยาเคมีกัน



ภาพ 22 ค่าสีของผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่หมักด้วยโคจิปริมาณแตกต่างกัน

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว โดยผู้บริโภคนจำนวน 100 คน ใช้วิธีการทดสอบแบบ Ranking for preference พบว่า ผลของการยอมรับของผู้ทดสอบต่อเต้าเจี้ยวทั้ง 3 สูตร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) พบว่า โคจิปริมาณร้อยละ 100 ได้รับการยอมรับมากที่สุด รองลงมาได้แก่ ปริมาณโคจิร้อยละ 50 และ 30 ตามลำดับ (ตาราง 5-6)

ตาราง 5 จำนวนผู้ทดสอบที่ให้คะแนนเรียงตามลำดับความชอบสำหรับเต้าเจี้ยวจำนวน 3 ตัวอย่าง

ปริมาณโคจิที่ใช้ (ร้อยละ)	ระดับความชอบ สเกล 3 ระดับ		
	1	2	3
100	56	12	32
50	32	45	23
30	34	12	54

หมายเหตุ : สเกลระดับ 1 = ชอบมากที่สุด 2 = ปานกลาง 3 = ไม่ชอบ

ตาราง 6 ผลสรุปของการเรียงลำดับความชอบผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว จำนวน 3 ตัวอย่าง

ปริมาณ โคจิ (ร้อยละ)	สเกล 3 ระดับ	
	ผลรวม ^{ns}	ลำดับ
100	56	1
30	34	2
50	32	3

หมายเหตุ : ^{ns} คือไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในแนวนอน

สเกลระดับ 1 = ชอบมากที่สุด 2 = ปานกลาง 3 = ไม่ชอบ

ซึ่งสอดคล้องกับ Sakaki (1996) กล่าวว่า ซิอีวที่มีกลิ่นหอมและรสชาติ ส่วนหนึ่งเกิดจากสารประกอบที่มีชื่อเรียกว่า HEMF(4-hydroxy-2(or5)-ethyl-5(or2)-methyl-3(2H)-furanone) สารดังกล่าวเกิดจากสารตั้งต้น (precursor) ที่พบได้ในถั่วเหลืองและข้าวสาลีเท่านั้น และเกิดขึ้นในขั้นตอนการหมักโมโรมิ โดยอาศัยกิจกรรมของยีสต์

3.7 ผลของระยะเวลาในการหมักเต้าเจี้ยวต่อการเกิดอนุภาคสีขาว

นำเต้าเจี้ยวที่มีอายุการหมัก 8 สัปดาห์ มาต้มให้เดือดนาน 20 30 และ 40 นาที บรรจุใส่ขวดปิดฝา เก็บรักษานาน 15 วัน พบว่ารูปแบบการเกิดอนุภาคสีขาว และชนิดของอนุภาคสีขาว เป็นไปในลักษณะเดียวกับการเต้าเจี้ยวอายุ 4 สัปดาห์ ที่ผ่านการต้มฆ่าเชื้อนาน 30 นาที โดยระยะเวลาที่ใช้ในการต้มฆ่าเชื้อ ไม่ให้ผลลัพธ์ที่แตกต่างกันคือพื้นที่ที่เกิอนุภาคสีขาว และชนิดของอนุภาคสีขาว โดยอนุภาคสีขาวจะเกิดขึ้นครอบคลุมพื้นที่มากกว่าร้อยละ 95 ตั้งแต่อายุการเก็บรักษานาน 6 วันขึ้นไป (ตาราง 7) อนุภาคสีขาวที่พบเป็นชนิดแผ่นนุ่มและแผ่นแข็ง แผ่นแข็งและเม็ดเล็กๆ และชนิดเม็ดเล็กๆ สำหรับเต้าเจี้ยวที่หมักจากโคจิร้อยละ 100 50 และ 30 ตามลำดับ (ตาราง 8)

ตาราง 7 จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์ได้แก่ข้าวที่ผ่านการต้มในเวลาที่แตกต่างกัน

ระยะ เวลา (วัน)	จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาว (ร้อยละ)								
	ต้มนาน 20 นาที			ต้มนาน 30 นาที			ต้มนาน 40 นาที		
	ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)		
	100	50	30	100	50	30	100	50	30
0	96.98 ± 3.65	3.87 ± 2.04	2.02 ± 2.74	97.49 ± 2.48	1.52 ± 0.7	0.76 ± 0.68	95.72 ± 5.02	1.43 ± 1.29	0.63 ± 0.86
1	96.98 ± 3.65	3.87 ± 2.04	2.02 ± 2.74	97.49 ± 2.48	1.52 ± 0.7	0.76 ± 0.68	95.72 ± 5.02	1.43 ± 1.29	0.63 ± 0.86
3	97.06 ± 4.45	4.09 ± 2.18	2.22 ± 2.87	97.09 ± 2.85	1.57 ± 0.73	0.79 ± 0.64	95.59 ± 4.96	1.50 ± 1.24	0.74 ± 0.86
6	98.84 ± 1.67	96.53 ± 0.57	95.95 ± 1.54	95.93 ± 1.28	97.92 ± 0.55	98.50 ± 0.51	97.85 ± 0.06	97.96 ± 1.45	98.28 ± 1.1
9	98.86 ± 1.64	97.43 ± 0.79	95.95 ± 1.54	97.94 ± 0.87	98.66 ± 0.86	98.88 ± 0.53	97.87 ± 0.59	98.12 ± 0.92	98.72 ± 1
12	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0
15	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

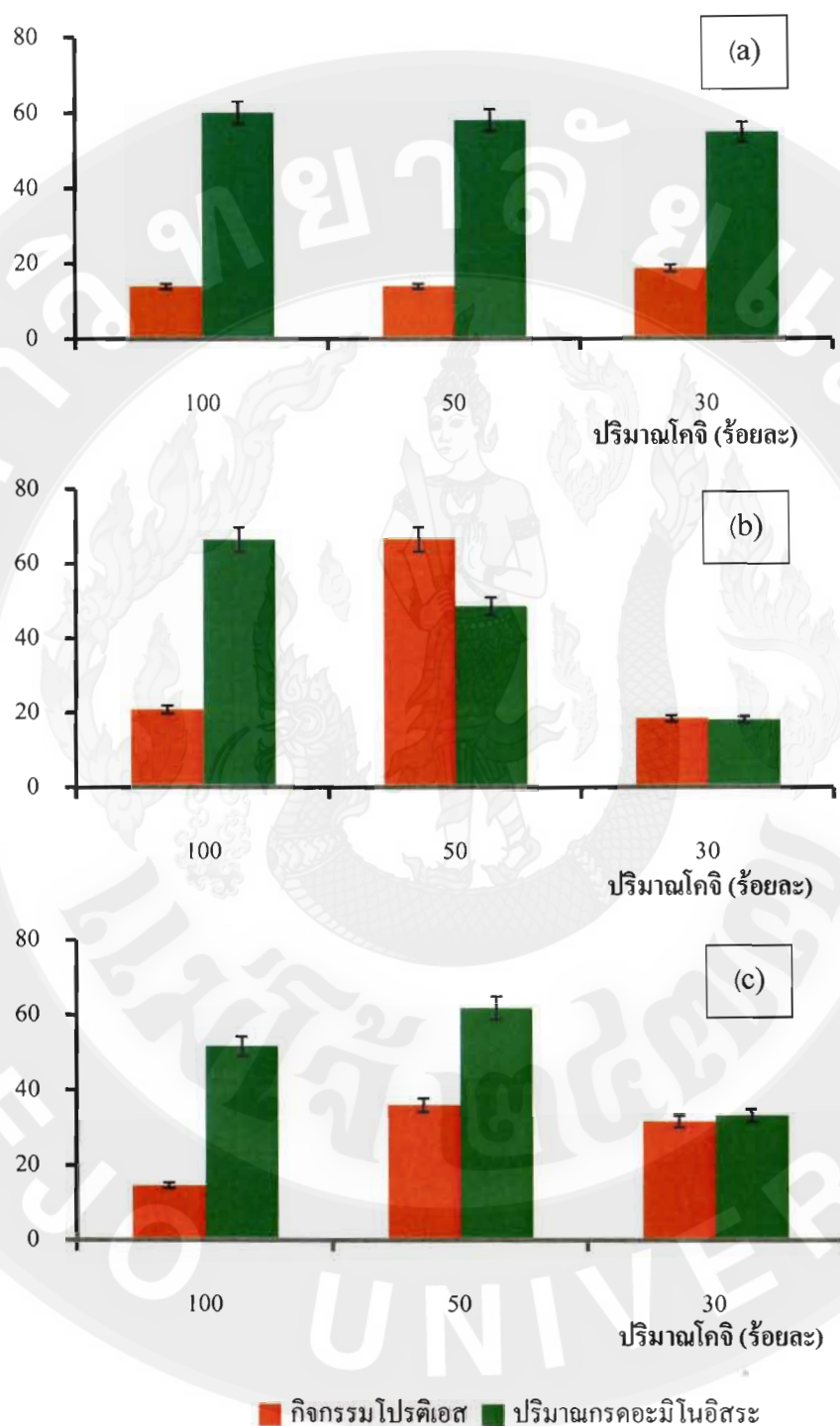
ตาราง 8 ชนิดอนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่ผ่านการต้มในเวลาที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (วัน)	จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาว (ร้อยละ)								
	ต้มนาน 20 นาที			ต้มนาน 30 นาที			ต้มนาน 40 นาที		
	ปริมาณ โคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณ โคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณ โคจิ (ร้อยละ)		
	100	50	30	100	50	30	100	50	30
0	A, B	B	C	A, B	B	C	A, B	B	C
1	A, B	B	C	A, B	B	C	A, B	B	C
3	A, B	B,C	C	A, B	B,C	C	A, B	B,C	C
6	A, B	B,C	C	A, B	B,C	C	A, B	B,C	C
9	A, B	B,C	C	A, B	B,C	C	A, B	B,C	C
12	A, B	B,C	C	A, B	B,C	C	A, B	B,C	C
15	A, B	B,C	C	A, B	B,C	C	A, B	B,C	C

หมายเหตุ : A = อนุภาคสีขาวชนิดแผ่นนุ่ม

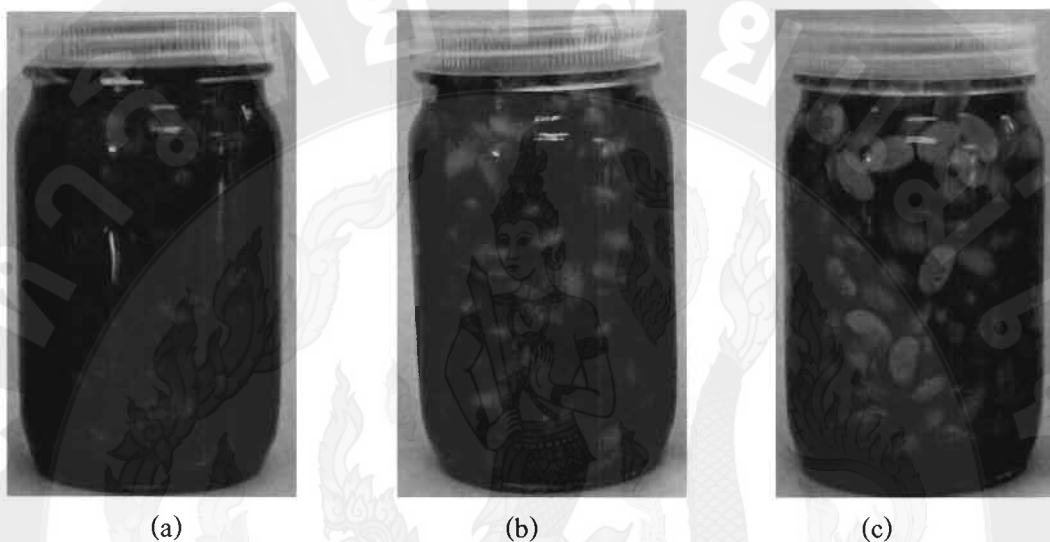
B = อนุภาคสีขาวชนิดแผ่นแข็ง

C = อนุภาคสีขาวชนิดเม็ดเล็กๆ



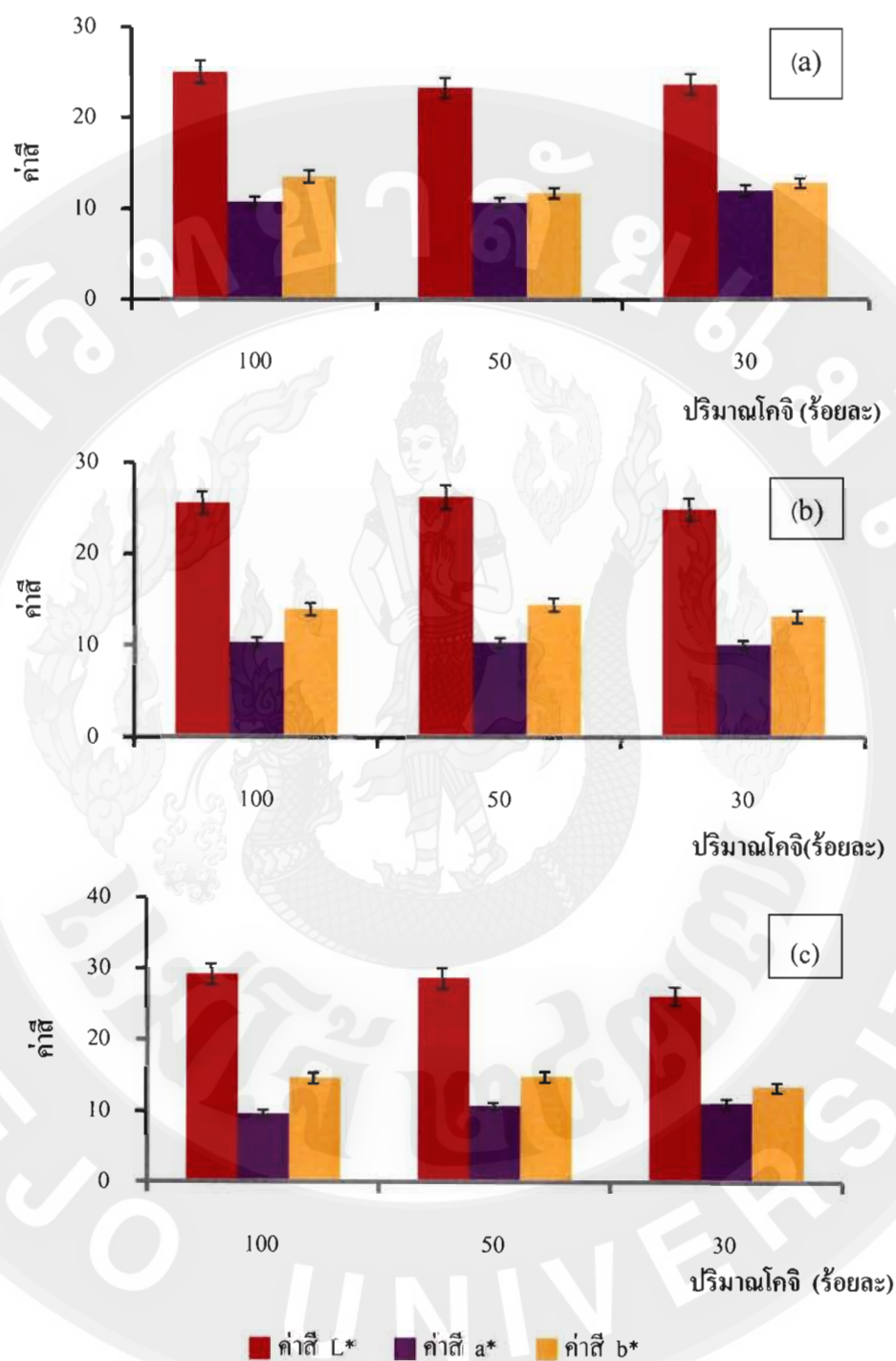
ภาพ 23 กิจกรรมโปรตีนและปริมาณกรดอะมิโนอิสระในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวอายุ 8 สัปดาห์ที่ผ่านการต้มให้เดือด: นาน 20 นาที (a) นาน 30 นาที (b) และนาน 40 นาที (c)

กิจกรรมโปรตีนยังคงพบได้ในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวทุกทริทเมนต์ที่ต้มนาน 20 นาที (ภาพ 23a) โดยมีค่าเท่ากับ 13.93-20.81 ยูนิต์ต่อกรัม ต้มนาน 30 นาที (ภาพ 23b) 13.93-66.46 ยูนิต์ต่อกรัม และต้มนาน 40 นาที (ภาพ 23c) 18.61-31.63 ยูนิต์ต่อกรัม ตามลำดับ



ภาพ 24 ผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว: ปริมาณโคจิริย่อยละ 100 (a) 50 (b) และ 30 (c)

ค่าสี L^* , a^* และ b^* ของผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว (ภาพ 25a) พบว่า ค่า L^* สูงสุด 29.19 28.68 และ 26.15 ตามลำดับ (ภาพ 25b) ค่า a^* สูงสุด 10.17 10.74 และ 11.85 และ (ภาพ 25c) ค่า b^* สูงสุด 14.68 14.87 และ 13.36 ซึ่งค่าสี L^* , a^* และ b^* ทั้งสามทริทเมนต์ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)



ภาพ 25 ค่าสีในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว: ต้มนาน 20 นาที (a) ต้มนาน 30 นาที (b) และ ต้มนาน 40 นาที

(c)

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของเต้าเจี้ยวที่ผลิตได้อายุ 8 สัปดาห์ ดมมานาน 30 นาที โดยผู้บริโภคนาน 100 คน ใช้วิธีการทดสอบแบบ Ranking for preference พบว่า ผลของการยอมรับของผู้ทดสอบต่อเต้าเจี้ยวทั้ง 3 สูตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) พบว่า โคจิปริมาณร้อยละ 100 ได้รับการยอมรับมากที่สุด รองลงมาได้แก่ ปริมาณโคจิร้อยละ 50 และ 30 ตามลำดับ (ตาราง 9-10)

ตาราง 9 จำนวนผู้ทดสอบที่ให้คะแนนเรียงตามลำดับความชอบสำหรับเต้าเจี้ยวจำนวน 3 ตัวอย่าง

ปริมาณโคจิที่ใช้ (ร้อยละ)	ระดับความชอบ		
	สเกล 3 ระดับ		
	1	2	3
100	44	24	28
50	28	50	26
30	28	26	46

หมายเหตุ : สเกลระดับ 1 = ชอบมากที่สุด 2 = ปานกลาง 3 = ไม่ชอบ

ตาราง 10 ผลสรุปของการเรียงลำดับความชอบผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว จำนวน 3 ตัวอย่าง

ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)	สเกล 3 ระดับ	
	ผลรวม	ลำดับ
100	44 ^a	1
50	28 ^b	2
30	28 ^b	3

หมายเหตุ : ^{a,b} คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในแนวนอน

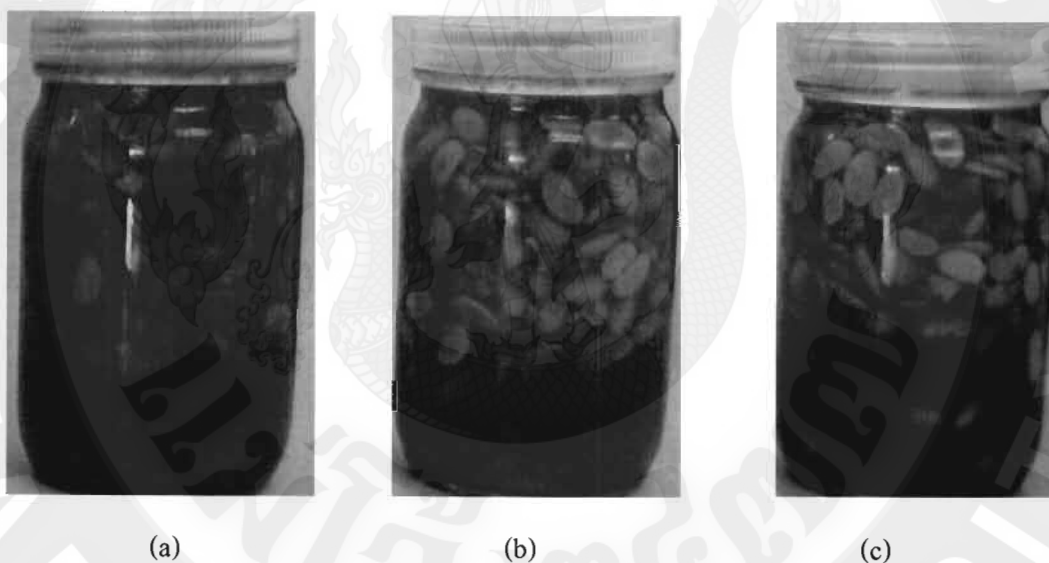
สเกลระดับ 1 = ชอบมากที่สุด 2 = ปานกลาง 3 = ไม่ชอบ

3.8 ผลของการการเจี๊ยะเต้าเจี้ยวต่อการเกิดอนุภาคสีขาว

นำเต้าเจี้ยวที่มีอายุการหมัก 8 สัปดาห์ มาต้มให้เดือดนาน 20 30 และ 40 นาที แล้วเติมน้ำต้มสุกให้ได้สัดส่วนตามที่ต้องการ บรรจุใส่ขวดปิดฝา พบว่าผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวมีลักษณะใกล้เคียงกับเต้าเจี้ยวบางยี่ห้อที่วางจำหน่ายในท้องตลาด นอกจากนี้จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวได้ลดลงอย่างมาก เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีไม่เติมน้ำลงในเต้าเจี้ยวขณะต้มจากผลการทดลองก่อนหน้านี้ ระยะเวลาในการต้ม 40 นาที จะทำให้พื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวลดลงได้ดีที่สุดคือเหลือ

ร้อยละ 0.81 0.48 และ 0.27 ในระยะเวลา 15 วัน สำหรับการหมักด้วยโคจิปริมาณร้อยละ 100 50 และ 30 ตามลำดับ (ตาราง 11) รองลงมาได้แก่ การต้มเห็ดคนาน 30 และ 20 นาที ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามระยะเวลาในการต้ม เห็ดเหี่ยวมีผลต่อจำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวที่ใกล้เคียงกัน (ตาราง 12) ในขณะที่ระยะเวลาในการต้มไม่มีผลต่อชนิดของอนุภาคสีขาวที่เกิดขึ้น

กิจกรรมโปรตีนเอนไซม์ยังคงพบได้ในผลิตภัณฑ์เห็ดเหี่ยวทุกทรีทเมนต์ การต้มเห็ดคนาน 20 นาที (ภาพ 27a) มีค่าเท่ากับ 19.71-41.62 ยูนิตต่อกรัม การต้มเห็ดคนาน 30 นาที (ภาพ 27b) 39.05-90.57 ยูนิตต่อกรัม และการต้มเห็ดคนาน 40 นาที (ภาพ 27c) 58.48-94.69 ยูนิตต่อกรัม ตามลำดับ ทำให้กิจกรรมการย่อยโปรตีนให้กลายเป็นกรดอะมิโนอิสระยังคงดำเนินอยู่ แต่ในอัตราที่ช้าลง



ภาพ 26 ผลิตภัณฑ์ที่เติมน้ำต้มสุกตามสัดส่วนที่ต้องการ: ปริมาณ โคจิร้อยละ 100 (a) 50 (b) และ 30 (c)

ตาราง 11 จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่ผ่านการต้มในเวลาที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (วัน)	จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาว (ร้อยละ)								
	ต้มนาน 20 นาที			ต้มนาน 30 นาที			ต้มนาน 40 นาที		
	ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)		
	100	50	30	100	50	30	100	50	30
0	1.04 ± 2.37	1.08 ± 1.1	0.0 ± 0.0	1.17 ± 0.7	0.3 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.27 ± 0.7	0.03 ± 0.39	0.08 ± 0.5
1	1.04 ± 2.37	1.08 ± 1.1	0.0 ± 0.0	1.17 ± 0.7	0.3 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.27 ± 0.7	0.03 ± 0.39	0.08 ± 0.5
3	0.95 ± 2.22	1.87 ± 1.11	0.0 ± 0.0	1.22 ± 0.82	0.35 ± 0.31	0.0 ± 0.0	0.34 ± 0.74	0.12 ± 0.43	0.11 ± 0.69
6	1.1 ± 2.3	1.89 ± 1.2	0.0 ± 0.0	1.3 ± 0.82	0.55 ± 0.6	0.0 ± 0.0	0.64 ± 0.74	0.34 ± 0.35	0.19 ± 0.59
9	1.1 ± 12.3	2.16 ± 1.3	0.0 ± 0.0	1.31 ± 0.83	0.61 ± 0.51	0.0 ± 0.0	0.75 ± 0.67	0.44 ± 0.28	0.24 ± 0.53
12	1.15 ± 2.39	2.38 ± 1.18	0.0 ± 0.0	1.33 ± 0.79	0.61 ± 0.51	0.0 ± 0.0	0.81 ± 0.62	0.48 ± 0.26	0.27 ± 0.51
15	1.15 ± 2.39	2.38 ± 1.18	0.0 ± 0.0	1.33 ± 0.79	0.61 ± 0.51	0.0 ± 0.0	0.81 ± 0.62	0.48 ± 0.26	0.27 ± 0.51

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

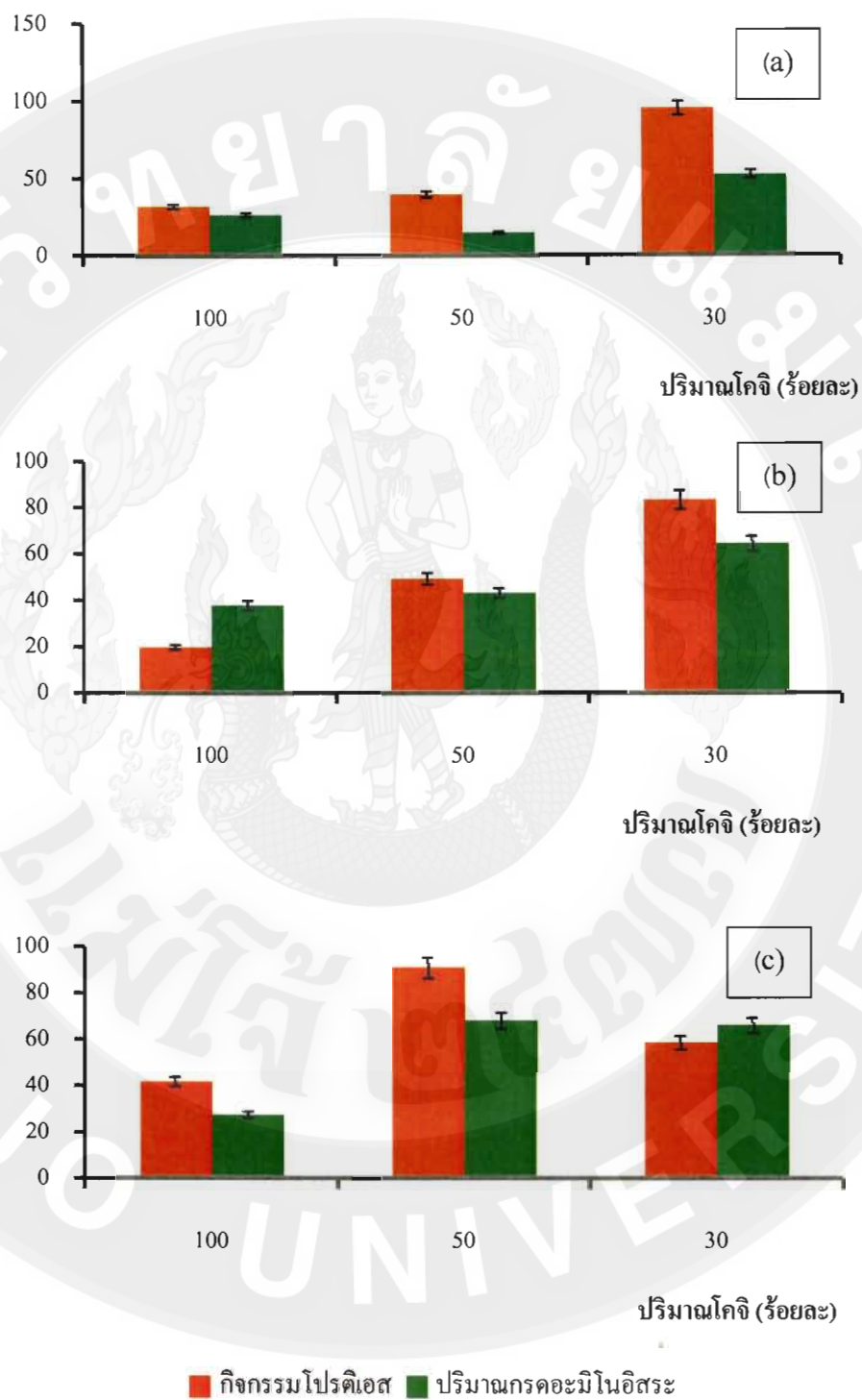
ตาราง 12 ชนิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยวที่ผ่านการดัมในเวลาที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (วัน)	จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาว (ร้อยละ)								
	ดัมนาน 20 นาที			ดัมนาน 30 นาที			ดัมนาน 40 นาที		
	ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)		
	100	50	30	100	50	30	100	50	30
0	A	B	C	A	B	C	A	B	C
1	A	B	C	A	B	C	A	B	C
3	A	B	C	A	B	C	A	B	C
6	A, B	B	C	A, B	B	C	A, B	B	C
9	A, B	B	C	A, B	B	C	A, B	B	C
12	A, B	B	C	A, B	B	C	A, B	B	C
15	A, B	B	C	A, B	B	C	A, B	B	C

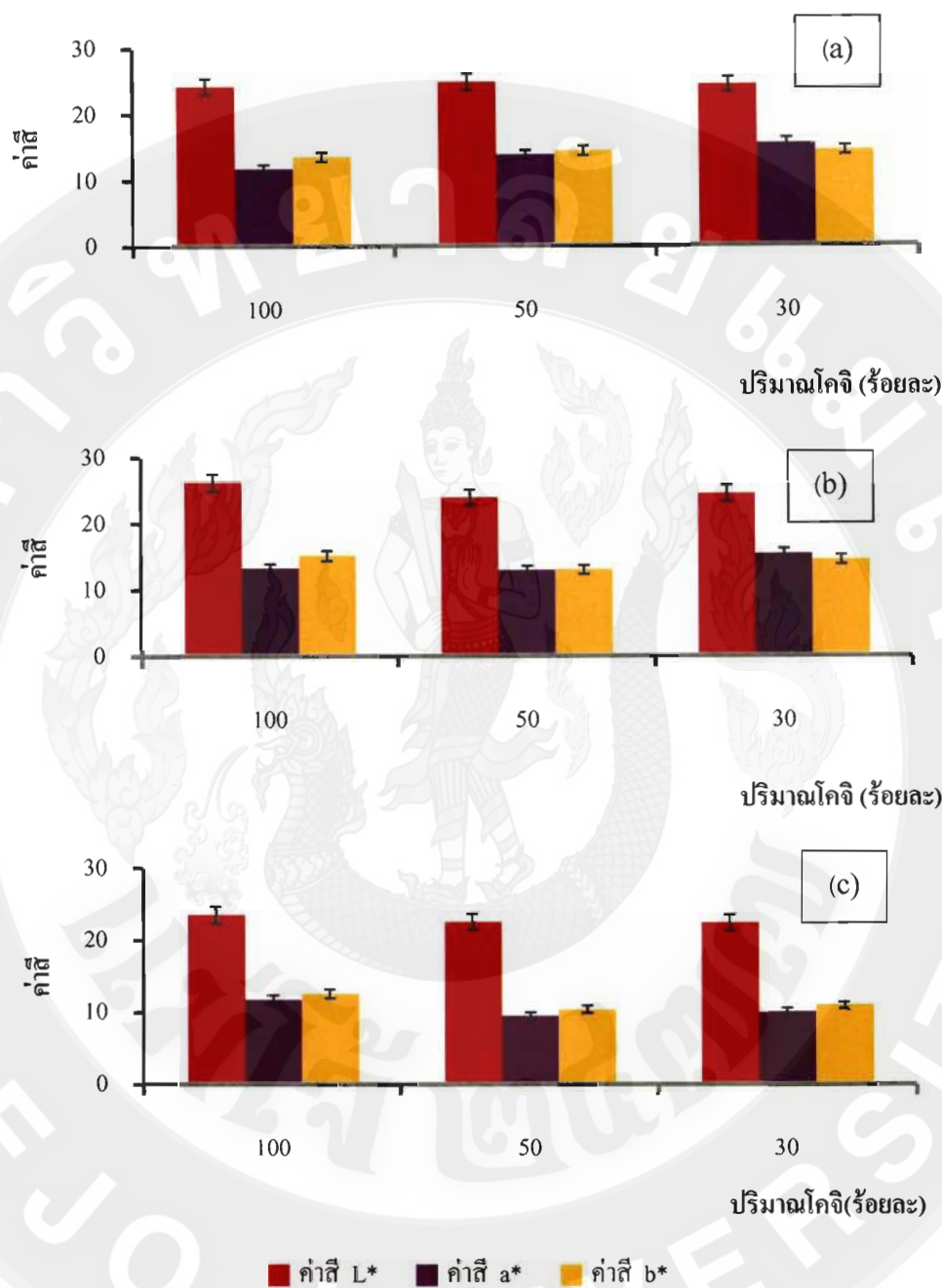
หมายเหตุ : A = อนุภาคสีขาวชนิดแผ่นนุ่ม

B = อนุภาคสีขาวชนิดแผ่นแข็ง

C = อนุภาคสีขาวชนิดเม็ดเล็กๆ



ภาพ 27 กิจกรรมโปรตีนเอสและปริมาณกรดอะมิโนอิสระในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวอายุ 8 สัปดาห์ที่ผ่านการต้มให้เดือดแล้วเติมน้ำสุก: ต้มนาน 20 นาที (a) ต้มนาน 30 นาที (b) และต้มนาน 40 นาที (c)



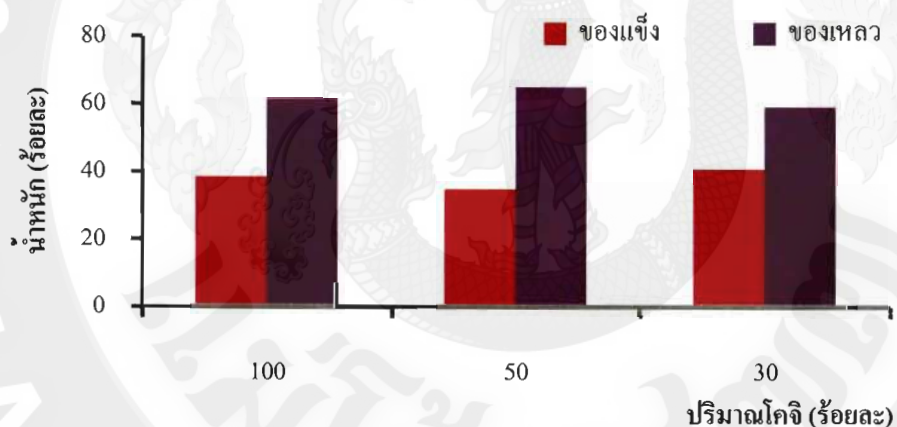
ภาพ 28 ค่าสีในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว: ต้มนาน 20 นาที (a) ต้มนาน 30 นาที (b) และ ต้มนาน 40 นาที (c)

ค่าสี L* a* และ b* ของผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว ต้มนาน 20 นาที (ภาพ 28a) พบว่า ค่า L* สูงสุด 24.20 24.81 และ 24.26 ตามลำดับ ต้มนาน 30 นาที (ภาพ 28b) ค่า a* สูงสุด 11.79 13.79 และ ต้มนาน 40 นาที (ภาพ 28c) 15.34 ตามลำดับและ ค่า b* สูงสุด 13.57 14.39 และ 14.31 ซึ่งค่าสี L* a* และ b* ทั้งสามทริทเมนต์ คือไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

3.9 ผลของสัดส่วนของแข็งและของเหลวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวต่อการเกิด

อนุภาคสีขาว

การศึกษาสัดส่วนของของแข็งและของเหลวของเต้าเจี้ยว พบว่า เต้าเจี้ยวทรีทเมนต์ที่มีสัดส่วนของของแข็งต่อของเหลวที่แตกต่างกัน (ภาพ 29) โดยเต้าเจี้ยวแต่ละทรีทเมนต์มีลักษณะค่อนข้างข้นเล็กน้อยมีการแบ่งแยกชั้นของสัดส่วนของของแข็งและของเหลว ที่ใกล้เคียงกัน กับผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวตามท้องตลาด ซึ่งปริมาณของแข็งอยู่ในช่วงร้อยละ 39.69 37.21 และ 33.17 ปริมาณของเหลวอยู่ในช่วงร้อยละ 60.31 62.79 และ 66.83 นอกจากนี้ยังมีข้อมูลของยุทธนาและจารุณี (2541) กล่าวว่า การที่ตกผลึกอาจเนื่องมาจากกระบวนการทำเต้าเจี้ยวที่มีลักษณะข้นและการเตรียมวัตถุดิบที่มีการนิ่งตัวเหลือทิ้งที่ใช้เวลานานและความร้อนสูงเกินไป จนเมล็ดตัวเหลือทิ้งมีลักษณะและ



ภาพ 29 สัดส่วนของแข็งและของเหลวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของเต้าเจี้ยวที่ผลิตได้ โดยผู้บริโภคนาน 100 คน ใช้วิธีการทดสอบแบบ Ranking for preference พบว่า ผลของการยอมรับของผู้ทดสอบต่อเต้าเจี้ยวทั้ง 3 สูตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) พบว่า โคจิปริมาณร้อยละ 100 ได้รับการยอมรับมากที่สุด รองลงมาได้แก่ ปริมาณโคจির้อยละ 100 50 และ 30 ตามลำดับ (ตาราง 13-14)

ตาราง 13 จำนวนผู้ทดสอบที่ให้คะแนนเรียงตามลำดับความชอบสำหรับเต้าเจี้ยวจำนวน 3 ตัวอย่าง

ปริมาณ โคจิ ที่ใช้ (ร้อยละ)	ระดับความชอบ		
	สเกล 3 ระดับ		
	1	2	3
100	54	34	12
50	28	42	30
30	12	30	45

หมายเหตุ : สเกลระดับ 1 = ชอบมากที่สุด 2 = ปานกลาง 3 = ไม่ชอบ

ตาราง 14 ผลสรุปของการเรียงลำดับความชอบผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว จำนวน 3 ตัวอย่าง

ปริมาณ โคจิ (ร้อยละ)	สเกล 3 ระดับ	
	ผลรวม	ลำดับ
100	54 ^a	1
50	28 ^b	2
30	12 ^b	3

หมายเหตุ : ^{a,b} คือ มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในแนวนอน

สเกลระดับ 1 = ชอบมากที่สุด 2 = ปานกลาง 3 = ไม่ชอบ

4. อนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่วางจำหน่ายในท้องตลาด

4.1 คุณลักษณะและสัดส่วนของแข็งและของเหลวของเต้าเจี้ยว

นำตัวอย่างเต้าเจี้ยวที่จำหน่ายในท้องตลาดจำนวน 10 ยี่ห้อ มาสังเกตลักษณะปรากฏ วิเคราะห์จำนวนอนุภาคสีขาว และปริมาณของแข็งและของเหลวต่อบรรจุภัณฑ์ พบว่าเต้าเจี้ยวแต่ละยี่ห้อจะมีลักษณะปรากฏที่แตกต่างกัน 2 ประการ คือ เต้าเจี้ยวที่มีเมล็ดถั่วกระจายตัวทั่วทั้งบรรจุภัณฑ์ มีลักษณะขึ้นเนื่องจากส่วนที่เป็นของเหลวมีน้อย และมีการใช้แป้งเป็นส่วนผสมมาก และอีกลักษณะคือเมล็ดถั่วลอยตัวอยู่ในของเหลวที่มีปริมาณแตกต่างกัน เนื่องจากมีแป้งเป็นส่วนประกอบน้อยกว่า (ตาราง 15)

ตาราง 15 ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่วางจำหน่ายในท้องตลาด

ตัวอย่าง เต้าเจี้ยว	ลักษณะปรากฏ
ง่วนเซียง	เนื้อเต้าเจี้ยวชั้นหนืด เมื่อเขย่าจะเกิดการกระจายตัวของเนื้อเต้าเจี้ยวเล็กน้อย
เค็กฮ้วน	เนื้อเต้าเจี้ยวชั้นหนืดมากเมื่อเขย่าจะเกิดการกระจายตัวของเนื้อเต้าเจี้ยวน้อยมาก
เค็กสมบุรณ์	เนื้อเต้าเจี้ยวลอยอยู่ด้านบนประมาณ $\frac{1}{2}$ ของของเหลวเมื่อเขย่าจะเกิดการกระจายตัวของเนื้อเต้าเจี้ยวมาก
UFC	เม็ดถั่วเหลืองลอยด้านบนมีส่วนของของเหลวประมาณ $\frac{1}{2}$ เมื่อเขย่าจะเกิดการกระจายตัวของเนื้อเต้าเจี้ยวเล็กน้อย
ปักชี	เนื้อเต้าเจี้ยวชั้นหนืด เมื่อเขย่าจะเกิดการกระจายตัวของเนื้อเต้าเจี้ยวเล็กน้อย
โลดัส	เนื้อเต้าเจี้ยวชั้นหนืด เมื่อเขย่าจะเกิดการกระจายตัวของเนื้อเต้าเจี้ยวเล็กน้อย
เลมอนฟาร์ม	เนื้อเต้าเจี้ยวชั้นหนืดมาก เมื่อเขย่าพบว่าเกิดการกระจายตัวของเนื้อเต้าเจี้ยวมาก
ศูนย์วิจัยพืช ไร่	เนื้อเต้าเจี้ยวชั้นหนืด เมื่อเขย่าจะเกิดการกระจายตัวของเนื้อเต้าเจี้ยวเล็กน้อย
ครัวทอง	เนื้อเต้าเจี้ยวชั้นหนืดมาก เมื่อเขย่าจะเกิดการกระจายตัวของเนื้อเต้าเจี้ยวน้อยมาก
ซ็อนทอง	เนื้อเต้าเจี้ยวชั้นหนืดมาก เมื่อเขย่าจะเกิดการกระจายตัวของเนื้อเต้าเจี้ยวมาก

4.2 จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวทั้งหมดที่เกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวของเนื้อเต้าเจี้ยว

การนับจำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวที่ปรากฏบนพื้นผิวของเต้าเจี้ยวในบรรจุภัณฑ์จำนวน 10 ยี่ห้อ พบว่า เต้าเจี้ยวจำนวน 6 ตัวอย่าง มีจำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวปรากฏอยู่ภายในบรรจุภัณฑ์ และ 2 ตัวอย่างในจำนวนดังกล่าว มีจำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวน้อยมากคือต่ำกว่าร้อยละ 3 นอกเหนือจากนั้นพบสูงกว่าร้อยละ 74 (ตาราง 16) ซึ่งการพบอนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวบางยี่ห้อเป็นไปเช่นเดียวกับรายงานวิจัยของ บุทธนาและจารุณี (2541) ที่พบจุลินทรีย์จำนวนเล็กน้อยในเต้าเจี้ยวของสถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง และเต้าเจี้ยวยี่ห้ออื่นที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด สำหรับเต้าเจี้ยวของสถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง พบจุลินทรีย์จำนวน 11 กลุ่ม ต่อพื้นที่ผิวทั้งหมดของเต้าเจี้ยว 1 ขวด ด้วยการสังเกตด้วยตาเปล่า และพบหลังจากการต้มให้เดือดเต้าเจี้ยวแล้วประมาณ 1-2 สัปดาห์ จุลินทรีย์เกาะติดแน่นกับเมล็ดถั่วเหลือง

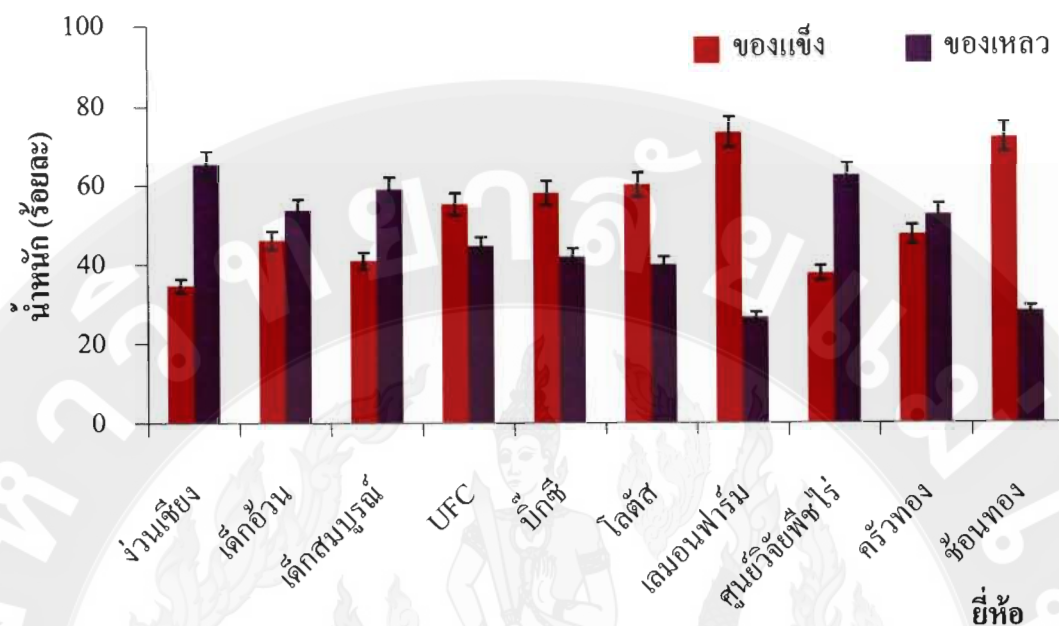
ตาราง 16 จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาวและชนิดอนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่วางจำหน่ายในท้องตลาด

ตัวอย่างเต้าเจี้ยว	จำนวนพื้นที่ที่พบอนุภาคสีขาว (ร้อยละ)
ง่วนเซียง	0.0 ± 0.0
เด็กฮ้วน	0.0 ± 0.0
เด็กสมบูรณ์	0.33 ± 2.54
ยูเอฟซี	0.0 ± 0.0
บิกชี	2.97 ± 4.83
โลดัส	0.0 ± 0.0
เลมอนฟาร์ม	86.38 ± 53.32
ศูนย์วิจัยพืชไร่	74.35 ± 54.59
ครัวทอง	84.22 ± 39.24
ซ็อนทอง	84.55 ± 17.91

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.3 สัดส่วนของแข็งและของเหลวของเต้าเจี้ยว

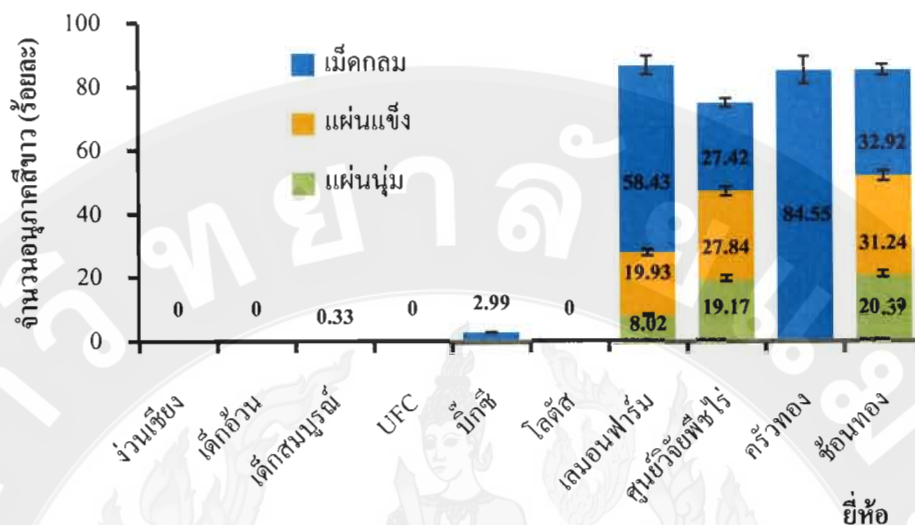
การศึกษาสัดส่วนของแข็งและของเหลวของเต้าเจี้ยว พบว่า เต้าเจี้ยวแต่ละยี่ห้อ มีสัดส่วนของแข็งต่อของเหลวที่แตกต่างกัน (ภาพ 30) โดยเต้าเจี้ยวยี่ห้อ ง่วนเซียง เด็กฮ้วน เด็กสมบูรณ์ ศูนย์วิจัยพืชไร่และครัวทอง มีลักษณะค่อนข้างข้นเล็กน้อยมีการแบ่งแยกชั้นของสัดส่วนของแข็งและของเหลว ที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งปริมาณของแข็งอยู่ในช่วงร้อยละ 34.68-48.18 และของเหลวอยู่ในช่วงร้อยละ 52.57-65.32 เต้าเจี้ยวยี่ห้อ UFC บิกชี และโลดัส มีลักษณะค่อนข้างข้นมีสัดส่วนของแข็งอยู่ในช่วงร้อยละ 55.28-60.04 และของเหลวอยู่ในช่วงร้อยละ 39.96-44.72 ส่วนเต้าเจี้ยวยี่ห้อ เลมอนฟาร์มและซ็อนทอง มีลักษณะค่อนข้างข้นมาก มีสัดส่วนของแข็งอยู่ในช่วงร้อยละ 73.42-71.99และของเหลวอยู่ในช่วงร้อยละ 26.58-28.01 นอกจากนี้ยังมีข้อมูลของบุพทนาและจารุณี (2541) กล่าวว่าการศึกษาที่ดกผลึกอาจเนื่องมาจากกระบวนการทำเต้าเจี้ยวที่มีลักษณะข้นและการเตรียมวัตถุดิบที่มีการนึ่งถั่วเหลืองที่ใช้เวลานานและความร้อนสูงเกินไป จนเมล็ดถั่วเหลืองมีลักษณะและ



ภาพ 30 สัดส่วนของแข็งและของเหลวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว

4.4 ชนิดและปริมาณของอนุภาคสีขาว

อนุภาคทั้ง 3 ชนิดถูกพบในสัดส่วนที่แตกต่างกัน ขึ้นกับยี่ห้อของเต้าเจี้ยวที่นำมาศึกษา โดยพบว่า เต้าเจี้ยวยี่ห้อง้วนเชียง เด็กอ้วน UFC และโลตัส ไม่พบอนุภาคสีขาวเลย ส่วนยี่ห้อเด็กสมบุรณ์ พบน้อยมากประมาณร้อยละ 0.33 ในขณะที่ยี่ห้อบิ๊กซีพบแต่อนุภาคสีขาวชนิดเม็ดเล็กๆ ร้อยละ 2.99 ยี่ห้อเลมอนฟาร์ม ศูนย์วิจัย และช้อนทอง พบอนุภาคสีขาวทั้ง 3 ชนิด แต่ยี่ห้อเลมอนฟาร์ม และช้อนทอง พบอนุภาคสีขาวชนิดเม็ดเล็กๆ มากที่สุดเท่ากับร้อยละ 58.43 และ 32.92 ตามลำดับ สำหรับยี่ห้อครัวทองพบอนุภาคสีขาวชนิดเม็ดเล็กๆ แต่เพียงอย่างเดียว และมีค่าเท่ากับร้อยละ 84.55 (ภาพ 31)



ภาพ 31 สัดส่วนของอนุภาคสีขาวชนิดต่างๆ ที่พบในตัวอย่างเต้าเจี้ยวที่จำหน่ายในท้องตลาด

5. การระบุชนิดของอนุภาคสีขาว

5.1 โครงสร้างทางกายภาพของอนุภาคสีขาว

นำอนุภาคสีขาวจากผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่หมักโดยใช้ปริมาณโคจิร้อยละ 100 50 และ 30 (ภาพ 32) และเต้าเจี้ยวที่วางจำหน่ายท้องตลาดมาศึกษาโครงสร้างทางกายภาพด้วยตาเปล่า และกล้องจุลทรรศน์ชนิด 3 มิติ พบว่า อนุภาคสีขาวทั้งหมดมีลักษณะที่แตกต่างกันที่เด่นชัด 3 รูปแบบ คือ แบบแผ่นนุ่ม แผ่นแข็ง และเม็ดเล็กๆ อนุภาคสีขาวแบบแผ่นแข็ง และเม็ดเล็กๆ มักเกาะติดแน่นกับผิวถั่วเหลือง หรือพื้นผิวของบรรจุภัณฑ์ ปริมาณหรือสัดส่วนของอนุภาคสีขาวชนิดต่างๆ ที่พบมีความแตกต่างกัน

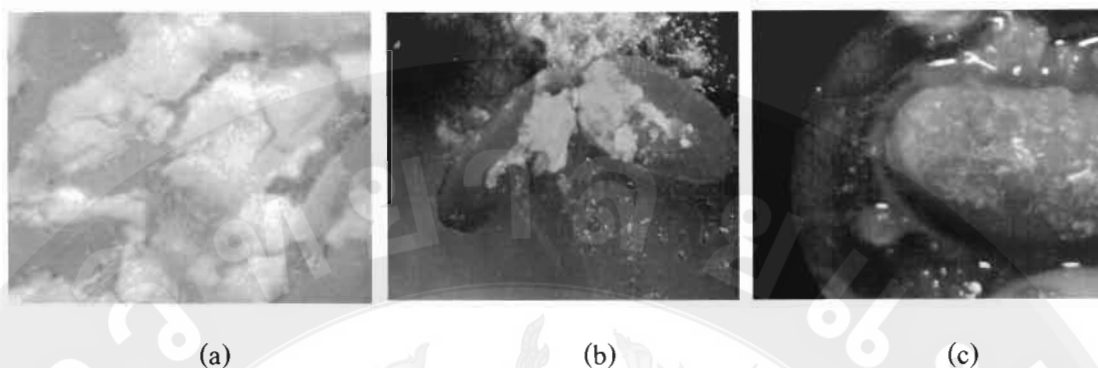


(a)

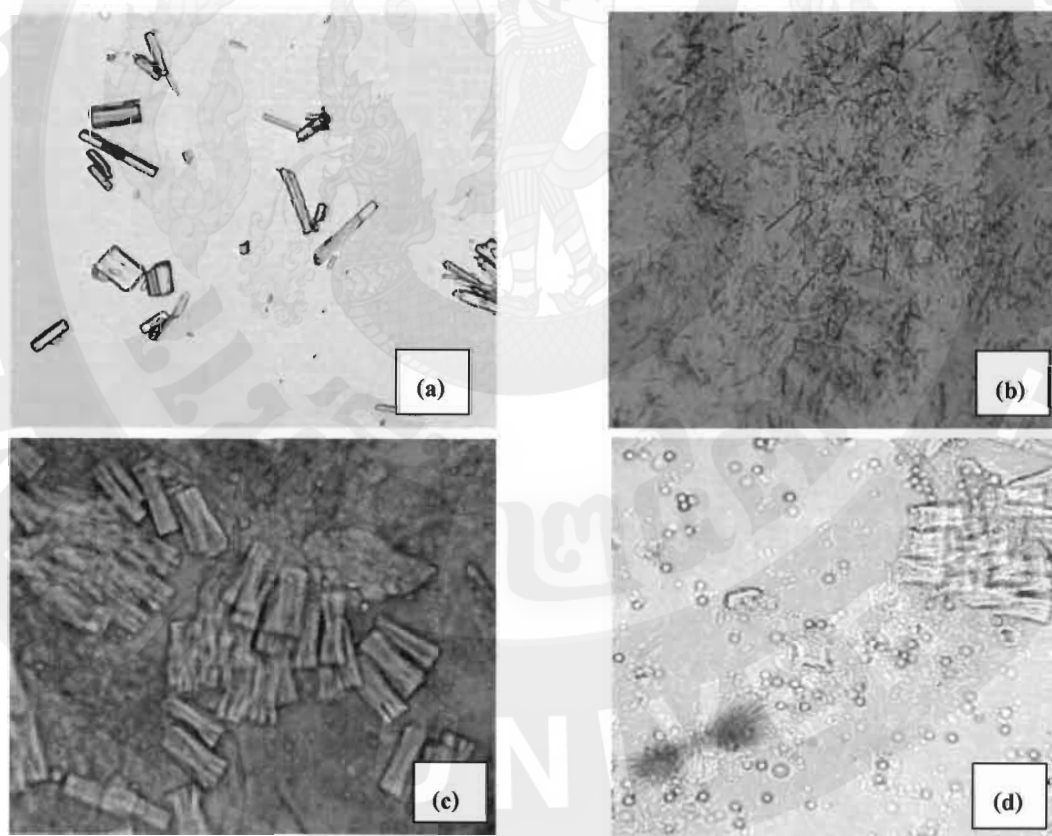
(b)

(c)

ภาพ 32 อนุภาคสีขาวของผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวปริมาณโคจิร้อยละ 100 50 และ 30 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด 3 มิติ (20X): แบบแผ่นนุ่ม (a), แบบแผ่นแข็ง (b) และแบบเม็ดเล็กๆ (c)



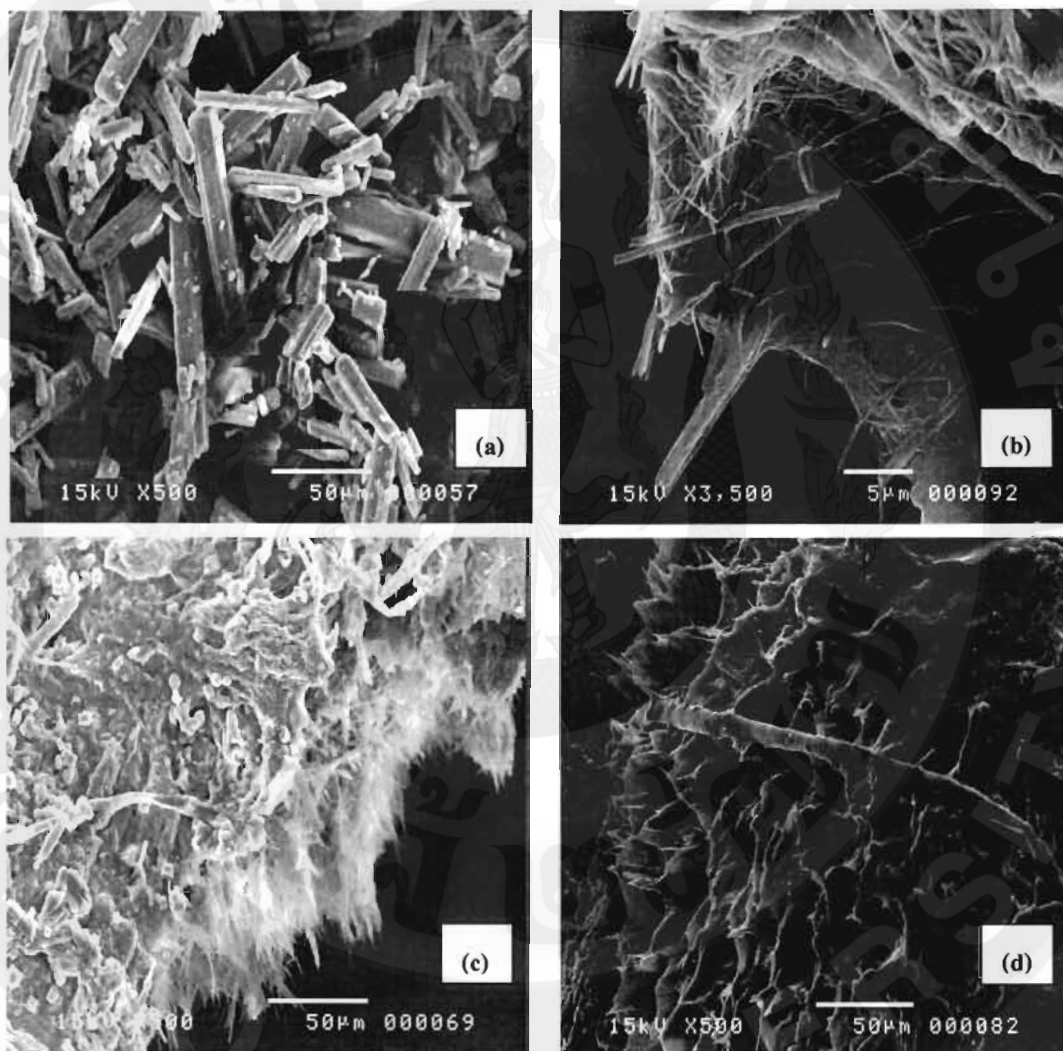
ภาพ 33 อนุภาคสีขาของเต่าเขียวที่วางจำหน่ายในท้องตลาดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด 3 มิติ (20X): แบบแผ่นนุ่ม (a) แบบแผ่นแข็ง (b) และแบบเม็ดเล็กๆ (c)



ภาพ 34 ผลึกไทโรซีนบริสุทธิ์และอนุภาคสีขาชนิดต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (40X): ผลึกไทโรซีนบริสุทธิ์ (a) แบบแผ่นนุ่ม (b) แบบแผ่นแข็ง (c) และแบบเม็ดเล็กๆ (d)

โครงสร้างอนุภาคสีขาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (40X) พบว่าอนุภาคสีขาแบบแผ่นนุ่ม จะประกอบด้วยผลึกใสรูปคล้ายเข็มพอมยาวกระจายตัวอยู่ทั่วไป ส่วนอนุภาคสีขาแบบ

แผ่นแข็ง จะประกอบด้วยผลึกใยรูปท่อนสั้นๆ รวมตัวกันอยู่ และสำหรับอนุภาคสีขาวชนิดเม็ดเล็กๆ จะประกอบด้วยผลึกใยคล้ายเข็มพอมยาว แต่จะรวมตัวกันเป็นมัดๆ อย่างแน่นหนา (ภาพ 34) การพบอนุภาคสีขาวที่แตกต่างกัน 3 ชนิด อาจเนื่องมาจากวิธีการผลิตเต้าเจี้ยวของแต่ละแหล่งผลิตที่ไม่เหมือนกัน



ภาพ 35 ผลึกไทโรซีนบริสุทธิ์และอนุภาคสีขาวชนิดต่างๆภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด: ผลึกไทโรซีนบริสุทธิ์ (500X) (a), แบบแผ่นนุ่ม(3500X) (b), แบบแผ่นแข็ง (3500X) (c) และแบบเม็ดเล็กๆ (500X) (d)

โครงสร้างอนุภาคสีขาวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope: SEM) พบว่า ขนาดของผลึกไทโรซีนบริสุทธิ์ (กว้างxยาว) เท่ากับ 10.34-13.22 x 35.06-127.59 ไมครอน ผลึกของอนุภาคสีขาวชนิดแผ่นนุ่ม (กว้างxยาว) เท่ากับ 0.25-1.17 x 6.67-13.33 ไมครอน แผ่นแข็ง (กว้างxยาว) เท่ากับ 11.67-12.50 x 36.67-62.50 ไมครอน และเม็ดเล็กๆ (กว้างxยาว) เท่ากับ 0.75-1.08 x 0.67-12.08 ไมครอน (ภาพ 35) ลักษณะของผลึกที่พบคล้ายคลึงกับผลึกไทโรซีนบริสุทธิ์ และมีลักษณะใกล้เคียงกับผลึกที่พบในรายงานของยุทธนาและจารุณี (2541) ที่ระบุว่า พบ ผลึกรูปเข็ม (raphide crystal หรือ finne silky needke) มีขนาดต่อแ่งยาว 25.2-51.5 ไมครอน กว้าง 2.0-2.5 ไมครอน ผลึกชนิดนี้พบเกาะติดแน่นกับเมล็ดถั่วเหลือง และมีเนื้อสัมผัสค่อนข้างนุ่ม และผลึกรูปปริซึมหรือแท่งหรือเข็มอ้วน (prismatic crystal หรือ stout needle) ผลึกชนิดนี้เนื้อสัมผัสค่อนข้างแข็ง มีขนาดต่อแ่งยาว 11.5-12.7 ไมครอน กว้าง 2.7-3.1 ไมครอน ซึ่งพบในเต้าเจี้ยวของสถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง และเต้าเจี้ยวยี่ห้ออื่นที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด

5.2 การทดสอบเป้งในอนุภาคสีขาว

นำอนุภาคสีขาวทุกชนิดมาทดสอบเป้งด้วยสารละลายไอโอดีน พบว่า อนุภาคสีขาวทั้ง 3 แบบ คือ แบบแผ่นแข็ง แบบแผ่นนุ่ม และแบบเม็ดเล็กๆ ไม่ทำให้เป้งเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินหรือม่วงซึ่งหมายถึงการไม่มีเป้งเป็นส่วนประกอบ

ตาราง 17 ผลการทดสอบเป้งของอนุภาคสีขาว

อนุภาคสีขาว	ผลทดสอบเป้ง
แบบแผ่นนุ่ม	ไม่พบ
แบบแผ่นแข็ง	ไม่พบ
แบบเม็ดเล็กๆ	ไม่พบ

5.3 การทดสอบการละลายในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

นำอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยวที่จำหน่ายในท้องตลาด และตัวอย่างผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวปริมาณ โคจิริยละ 100 50 และ 30 ไปทดสอบการละลายในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (1N HCl) ผลจากการทดลองในตาราง 4 พบว่า ผลึกไทโรซีนบริสุทธิ์ และอนุภาคสีขาวชนิดแผ่นนุ่ม แผ่นแข็ง และเม็ดเล็กๆ ละลายได้ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ภายในระยะเวลา 3 15 15 และ 9 นาทีตามลำดับ ณ อุณหภูมิห้อง ยกเว้นผลึกชนิดแผ่นนุ่มที่พบว่ายังมีเศษเหลืออยู่เล็กน้อย

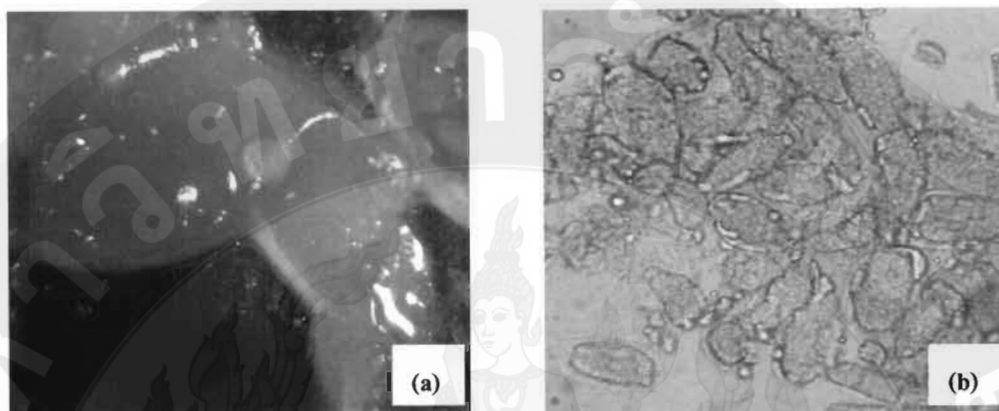
ในน้ำเดือดพบว่า ผลึกไทโรซีนบริสุทธิ์ ละลายได้หมดภายใน 3 นาที อนุภาคสีขาวชนิดแผ่นนุ่ม ละลายได้เกือบหมดใน 15 นาที ชนิดเม็ดเล็กๆ ละลายได้หมดภายใน 9 นาที และแผ่นแข็งละลายได้หมดภายใน 15 นาที แต่ตัวอย่างทั้งหมดไม่ละลายในน้ำบริสุทธิ์ภายในระยะเวลา 15 นาที (ตาราง 18) ซึ่งมีความสอดคล้องกับรายงานของ Flegel (1981); ยุธธนาและจารุณี (2541) ที่พบว่า ผลึกสีขาวที่พบในเค้าเขียว ละลายได้ดีใน 1M HCl ที่อุณหภูมิห้อง

ตาราง 18 ความสามารถในการละลายของอนุภาคสีขาว

สิ่งทดลอง	ตัวทำละลาย	ระยะเวลา (นาที)		
		3	9	15
ผลึกไทโรซีนบริสุทธิ์	น้ำบริสุทธิ์	-	-	-
	น้ำเดือด	+++		
	1N HCl	+++		
อนุภาคสีขาวแบบแผ่นนุ่ม	น้ำบริสุทธิ์	-	-	-
	น้ำเดือด	+	+	++
	1N HCl	+	+	++
อนุภาคสีขาวแบบแผ่นแข็ง	น้ำบริสุทธิ์	-	-	-
	น้ำเดือด	+	+	+++
	1N HCl	+	+	+++
อนุภาคสีขาวแบบเม็ดเล็กๆ	น้ำบริสุทธิ์	-	-	-
	น้ำเดือด	+	+++	
	1N HCl	+	+++	

หมายเหตุ: - = ไม่พบ
 + = พบเล็กน้อย
 ++ = พบมาก
 +++ = พบมาก

เมื่อทำการกรองแยกเศษที่เหลือจากการละลายของอนุภาคสีขาวชนิดแผ่นนุ่ม ไปส่องกล้องจุลทรรศน์พบว่า เป็นเศษเปลือกหุ้มเมล็ดถั่ว (ภาพ 36)



ภาพ 36 เศษชิ้นส่วนเปลือกถั่วเหลืออยู่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 3 มิติ (a) และ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (40X) (b)

5.4 การทดสอบการวัดค่าดูดกลืนแสงส่องกราด

นำผลึกไทโรซีนบริสุทธิ์ และ อนุภาคสีขาวทั้งสามชนิด คือ แผ่นนุ่ม แผ่นแข็ง และเม็ดเล็ก ๆ ละลาย 1N HCl แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงแบบส่องกราด จากตาราง 5 พบว่าผลึกไทโรซีนบริสุทธิ์ มีค่าดูดกลืนแสง (λ_{max}) เท่ากับ 270 นาโนเมตร ในขณะที่อนุภาคสีขาวทั้งสามชนิดมีค่าดูดกลืนแสง (λ_{max}) เท่ากับ 229 247 และ 259 นาโนเมตร ตามลำดับ (ตาราง 19) ซึ่งมีการดูดกลืนแสง (λ_{max}) ในช่วงเดียวกับไทโรซีนบริสุทธิ์ และสอดคล้องกับรายงานของ ขุทธนาและจารุณี (2541) ที่พบว่าผลึกในเต้าเจี้ยวมีอยู่ 2 ชนิด คือ ผลึกรูปเข็มขาว และผลึกเข็มอ้วน ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสง (λ_{max}) 2 ค่า คือ 223 และ 275 ตามลำดับ และสันนิษฐานว่าเป็นผลึกไทโรซีน

ตาราง 19 ค่าดูดกลืนแสง (λ_{max}) ของอนุภาคสีขาว ทดสอบการวัดค่าดูดกลืนแสงสูงสุด

สิ่งทดลอง	ค่าดูดกลืนแสง (นาโนเมตร)
ผลึกไทโรซีนบริสุทธิ์	270 ± 0.21
อนุภาคสีขาวแผ่นนุ่ม	229 ± 0.51
อนุภาคสีขาวแผ่นแข็ง	247 ± 0.42
อนุภาคสีขาวเม็ดเล็ก ๆ	259 ± 0.37

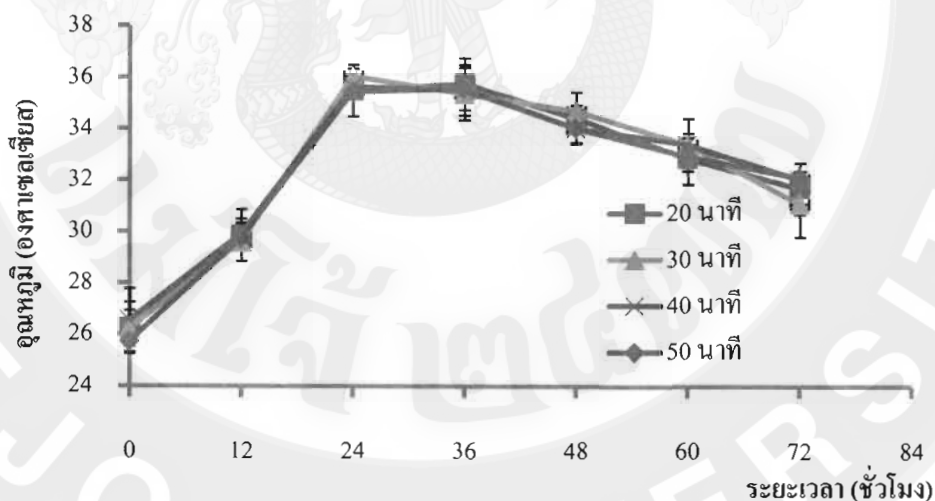
หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตอนที่ 2 การผลิตเต้าเจี้ยวรสเค็มน้อย

1. การเตรียมโคจิข้าวเหนียว

1.1 ระยะเวลาในการนึ่งข้าวเหนียวที่มีผลต่อสมบัติโคจิ

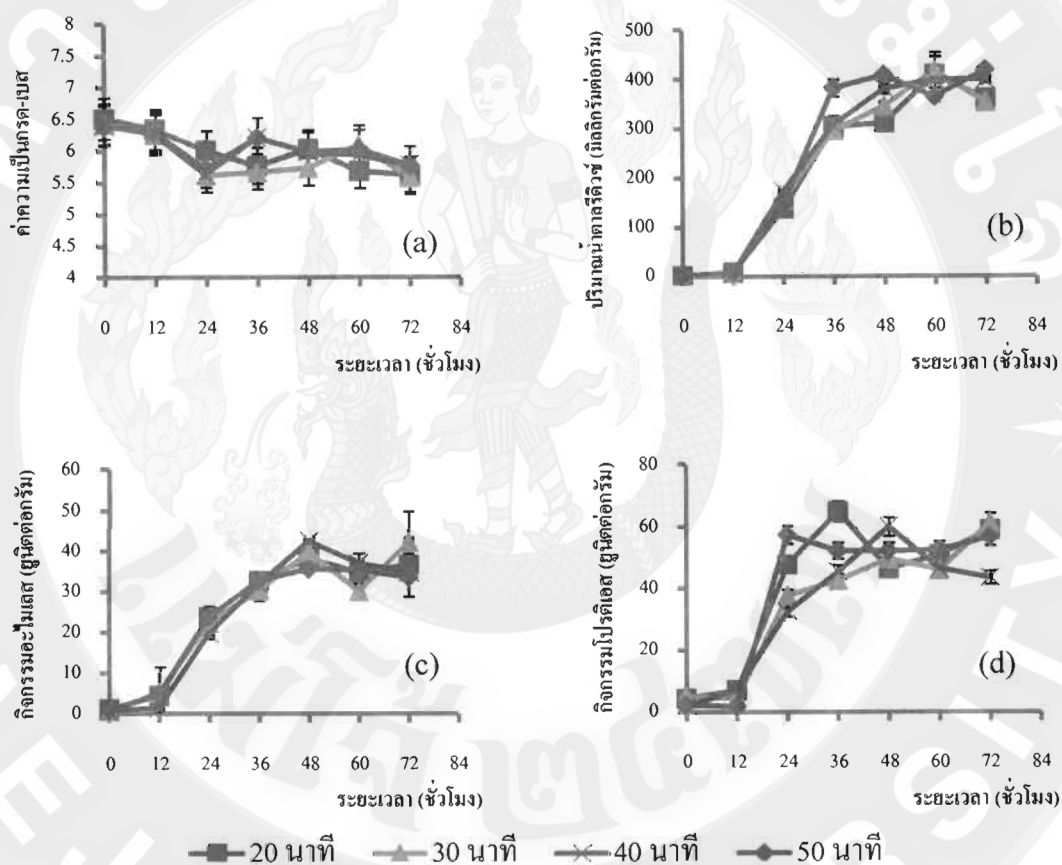
จากการนำข้าวเหนียวไปนึ่งให้สุกนาน 20 30 40 และ 50 นาที รวม 4 ทริทเมนต์ แล้วคลุกผงสปอร์ของรา *A. oryzae* M-01 ปริมาณร้อยละ 0.1 ของน้ำหนักข้าวเหนียวแห้ง พบว่ารูปแบบการเจริญที่คล้ายคลึงกันในทุกทริทเมนต์ โดยที่สปอร์ราเริ่มงอกเส้นใยจนมีขนาดที่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่าภายใน 12 ชั่วโมง และดำเนินกิจกรรมการเจริญอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 24 เส้นใยของราจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นจนเห็นเป็นปุยสีขาวปกคลุมเมล็ดข้าวเกือบจะทั้งหมด เส้นใยจะเจริญและเริ่มมีอายุมากขึ้นจนสร้างสปอร์ใหม่ขึ้นมา ทำให้มองเห็นเป็นหย่อมสีเหลือง กระจายตัวอยู่ในกองโคจิในชั่วโมงที่ 36 หลังจากนั้นการสร้างสปอร์ยังคงดำเนินต่อไปจนกระทั่งสิ้นสุดการหมักในช่วงเวลาดังกล่าว สปอร์บางส่วนเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมเหลือง และเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มทั้งหมดในที่สุด ซึ่งหมายถึงรามีอายุแก่เต็มที่แล้ว การเจริญของราส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติของโคจิ



ภาพ 37 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในโคจิที่ใช้ข้าวเหนียวที่ผ่านการนึ่งในเวลาที่แตกต่างกัน

ซึ่งมีผลจากการทดลอง (ภาพ 37) พบว่า โคจิทุกทริทเมนต์มีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือ อุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นแปรผันตามระยะเวลาการบ่มโคจิในช่วง 24 ชั่วโมงแรก และมีค่าใกล้เคียงกัน ค่าอุณหภูมิสูงสุดที่วัดได้ประมาณ 36.03 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นอุณหภูมิในกองโคจิจึงเริ่มลดลง การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิในกองโคจิเกิดขึ้นเนื่องจากกิจกรรมการเจริญของรา *A. oryzae* M-01 ดังที่กล่าวมาแล้วในตอนต้น ในช่วงเวลาที่รากำลังเจริญ จะมีการผลิตความร้อนออกมา อันสืบเนื่องมาจากระบวนการหายใจแบบใช้อากาศ

อุณหภูมิตรงบริเวณผิวหน้าแผ่นโคจจะมีค่าใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง เนื่องจากความร้อนสามารถถ่ายเทให้แก่บรรยากาศภายนอกได้โดยตรง แต่ในทางตรงกันข้ามอุณหภูมิภายในแผ่น โคจิกลับมีค่าสูงขึ้นกว่าสภาพแวดล้อมภายนอก เนื่องจากความร้อนภายในแผ่นโคจิก่อเกิดที่ออกสู่บริเวณพื้นผิวได้ช้ากว่า ด้วยสาเหตุนี้จึงทำให้อุณหภูมิภายในแผ่นโคจิส่งขึ้นโดยลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการเจริญของรา



ภาพ 38 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของโคจิที่ใช้ที่ใช้ข้าวเหนียวที่ผ่านการนึ่งในเวลาที่แตกต่างกัน: ค่าความเป็นกรด-เบส (a) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (b) กิจกรรมอะไมเลส (c) และ กิจกรรมโปรตีเอส (d)

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับโคจิ ผลดังภาพ 1 พบว่าค่าความเป็นกรด-เบสของโคจิที่หมักจากข้าวเหนียวหนึ่งสุกนานตั้งแต่ 30 นาที เป็นต้นไป ลดลงอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมงแรกของการหมัก โดยมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 5.62 5.64 และ 5.72 ตามลำดับ ในขณะที่ข้าวเหนียวหนึ่งนาน 20 นาที ค่าต่ำสุดที่พบเท่ากับ 5.76 จะเกิดขึ้นภายในระยะเวลา 36 ชั่วโมง (ภาพ 38a) การ

ลดลงของค่าความเป็นกรด-เบสดังกล่าว อาจเป็นผลเนื่องมาจากกรดโคจิก (kojic acid) ที่รา *A. oryzae* M-01 ผลิตขึ้นในระหว่างการเจริญ

การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของโคจิ จะเกิดขึ้นในช่วงแรกของการหมักที่ 0-12 ชั่วโมง สำหรับการทดลองทุกทรีทเมนต์ เนื่องจากราเริ่มมีการเจริญและสร้างเอนไซม์อะไมเลส ออกมาย่อยแป้งให้กลายเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลเล็กลง และน้ำตาลรีดิวซ์ เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโต ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงค่าสูงสุดที่ 408.2 416.85 และ 398.39 มิลลิกรัมต่อกรัม ในช่วงโมเมนต์ 60 ของการบ่มโคจิ สำหรับระยะเวลาการนึ่งข้าวเหนียวนาน 20 30 และ 40 นาที ตามลำดับ ส่วนระยะเวลาการนึ่งข้าวเหนียวนาน 50 นาที จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 417.38 มิลลิกรัมต่อกรัม เมื่อสิ้นสุดการหมักโคจินาน 72 ชั่วโมง(ภาพ 38b)

กิจกรรมอะไมเลสของโคจิมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบ เนื่องจากราสร้างอะไมเลสเพื่อย่อยสลายแป้งที่เป็นสับสเตรท ให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์เพื่อใช้ในกิจกรรมการเจริญ โดยกิจกรรมอะไมเลสมีค่าสูงสุดเท่ากับ 38.59 42.64 และ 36.49 ยูนิตต่อกรัม ในระยะเวลาการบ่มโคจินาน 48 ชั่วโมง ตามลำดับ สำหรับข้าวเหนียวที่นึ่งนาน 20 40 และ 50 นาที และมีค่าสูงสุดเท่ากับ 40.89 ยูนิตต่อกรัม สำหรับข้าวเหนียวที่นึ่งนาน 30 นาที (ภาพ 38c) ผลลัพธ์ที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับรายงานของ Paranthaman (2009) ที่จากการคัดเลือกราที่เหมาะสมในการทำโคจิ ข้าว พบว่ารา *A. oryzae* มีกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสสูงถึง 33.47 ยูนิตต่อกรัม เมื่อเทียบกับราสายพันธุ์อื่น นอกจากนี้อุณหภูมิของโคจิประมาณ 36 องศาเซลเซียส ยังเหมาะสมต่อการผลิตอะไมเลสอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wood (1998) ที่อ้างว่าอุณหภูมิที่สูงกว่า 35 องศาเซลเซียส จะทำให้รา *A. oryzae* ผลิตอะไมเลสได้ดี

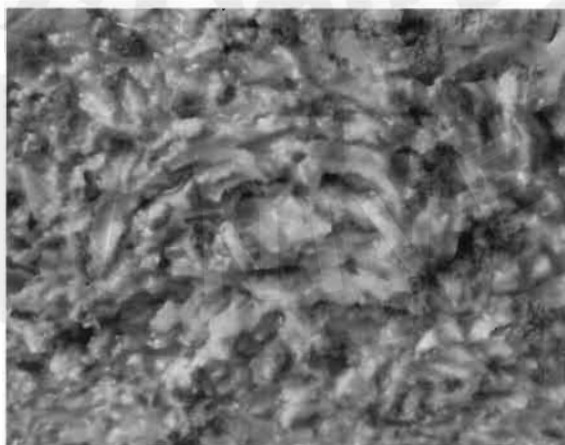
กิจกรรมโปรตีเอสของโคจิมีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงคล้ายคลึงกับกิจกรรมอะไมเลส โดยกิจกรรมอะไมเลสมีค่าสูงสุดเท่ากับ 64.74 61.11 59.79 และ 57.27 หน่วยต่อกรัม ในระยะเวลาการบ่มโคจินาน 36 72 48 และ 24 ชั่วโมง สำหรับข้าวเหนียวที่นึ่งนาน 20 30 40 และ 50 นาที ตามลำดับ (ภาพ 38d) อุณหภูมิของโคจิยังมีค่าใกล้เคียงกับอุณหภูมิสูงสุดที่รา ยังคงสามารถสร้างโปรตีเอสได้ดี จากการศึกษาของ Wood (1998) ระบุว่าอุณหภูมิช่วง 20-35 องศาเซลเซียส จะส่งเสริมให้รา *A. oryzae* เกิดการสร้างโปรตีเอสได้ดี กิจกรรมโปรตีเอสที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับรายงานของ Paranthaman (2009) ที่กล่าวว่ารา *A. oryzae* ให้กิจกรรมเอนไซม์โปรตีเอสสูงสุดเท่ากับ 67.7 ยูนิตต่อกรัม ภายในระยะเวลา 96 ชั่วโมง ที่การบ่ม ณ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

นำผลการนึ่งข้าวเหนียวที่เวลานาน 40 นาที ไปทดลองในขั้นตอนต่อไป เนื่องจากเป็นสภาวะที่อะไมเลสและโปรตีเอสมีค่าสูงที่สุด และภายในระยะเวลา 48 ชั่วโมง

1.2 ความหนาของข้าวเหนียวที่มีผลต่อสมบัติโคจิ

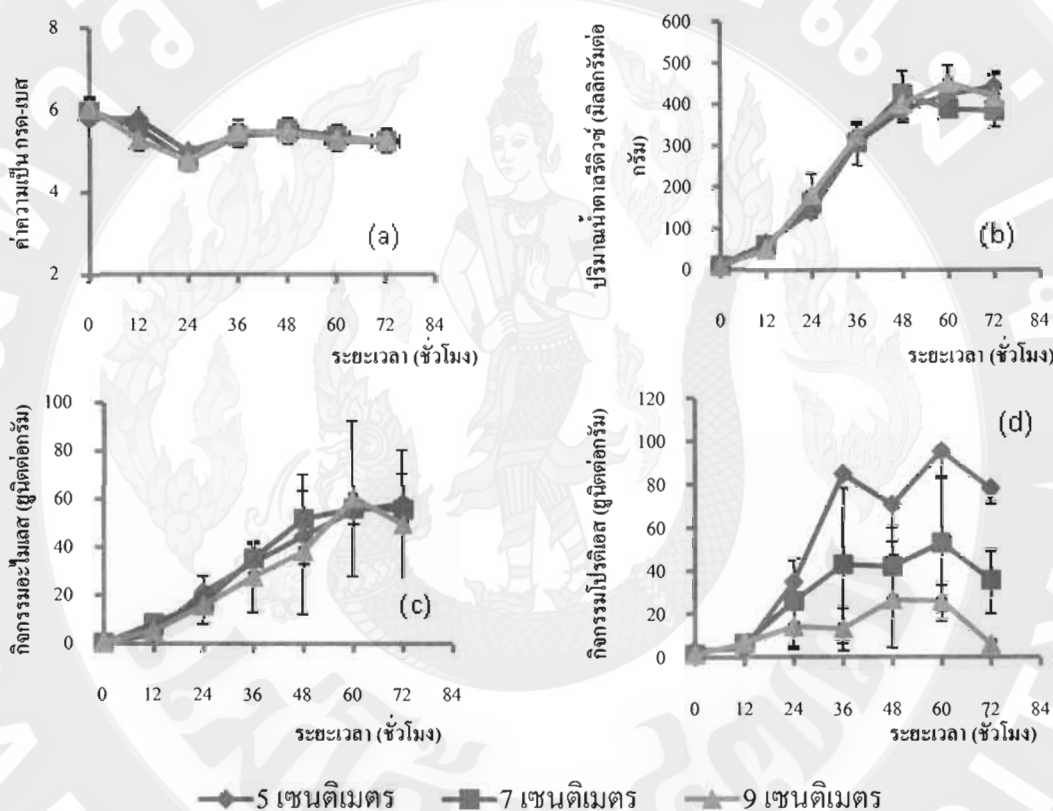
การหมักโคจิที่มีความหนาของข้าวเหนียวที่ระดับ 5 7 และ 9 เซนติเมตร พบว่าการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิภายในโคจิเป็นไปในลักษณะคล้ายกันทุกทรีทเมนต์ คือ อุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นแปรผันตามระยะเวลาการบ่มโคจิในช่วง 24-48 ชั่วโมงแรก อุณหภูมิสูงสุดที่วัดได้เมื่อ 36 ชั่วโมง มีค่าประมาณ 37.25 40.33 และ 41.98 องศาเซลเซียส ตามลำดับ หลังจากนั้นอุณหภูมิในกองโคจิจึงเริ่มลดลง (ภาพ 39) การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิในกองโคจิ เกิดขึ้นเนื่องจากกิจกรรมการเจริญของรา *A. oryzae* M-01 ดังที่กล่าวมาแล้วในตอนต้น ความหนาของโคจิตั้งแต่ 7 เซนติเมตรขึ้นไปจะเป็น อุปสรรคต่อการถ่ายเทความร้อนที่สะสมอยู่ภายใน ทำให้อุณหภูมิของโคจิสูงประมาณ 40-41 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อโอกาสการเกิดการปนเปื้อนของราและแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิสูง สำหรับโคจิที่มีความหนา 5 เซนติเมตร การถ่ายเทอุณหภูมิจะเป็นไปอย่างรวดเร็วกว่าเนื่องจากระยะทางการเคลื่อนที่ของความร้อนสั้นกว่าความหนาที่ระดับอื่น นอกจากนี้ยังปล่อยให้อากาศได้แทรกตัวอยู่ในบริเวณช่องว่างของข้าวเหนียว ทำให้รา *A. oryzae* M-01 เจริญได้อย่างทั่วถึง

จากรายงาน (Ghildyal et al, 1994; Sangsurasak and Mitchell, 1995; Mitchell et al., 1999) เนื่องจากปฏิกิริยาส่วนใหญ่เป็นปฏิกิริยาคายความร้อน การจัดเรียงตัวของของแข็งภายในเบดก่อนข้างหนาแน่น จึงส่งผลต่อการถ่ายเทความร้อนเป็นไปได้น้อย บางครั้งอุณหภูมิในถังแพคเบดตรงส่วนบนอาจสูงกว่าอุณหภูมิของอากาศมากกว่า 20 องศาเซลเซียส (Ashley V.M. et al., 1999) ทำให้การทำงานของจุลินทรีย์ลดลงหรือตายได้ (มณีรัตน์, 2541) เช่น รา *A. oryzae* ต้องการอุณหภูมิในการเจริญประมาณ 30-35 องศาเซลเซียส (Biesebede R.T. et al., 2002)



ภาพ 39 การเจริญของรา *A. oryzae* M-01 ในโคจิข้าวเหนียวอายุ 72 ชั่วโมง ความหนา 5 เซนติเมตร(ภาพตัดขวาง)

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับโคจิ พบว่าค่าความเป็นกรด-เบสของโคจิที่หมักจากข้าวเหนียวลดลงอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมงแรกของการหมัก โดยมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 5.00 4.77 และ 4.77 ตามลำดับ (ภาพ 40 a) แล้วมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังจากนั้น แต่ยังมีค่าต่ำกว่าช่วงเริ่มต้น โดยมีค่าเท่ากับ 5.20 5.23 และ 5.27 ตามลำดับ



ภาพ 40 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิที่หมักด้วยโคจิข้าวเหนียว ที่มีความหนาแตกต่างกัน: ค่าความเป็นกรด-เบส (a) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (b) กิจกรรมอะไมเลส (c) และกิจกรรมโปรตีเอส (d)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของโคจิ จะเกิดขึ้นภายในระยะเวลา 12 ชั่วโมงแรกของการหมัก อัตราการเกิดน้ำตาลรีดิวซ์จะเป็นไปอย่างรวดเร็วจนกระทั่งชั่วโมงที่ 36 แล้วจึงค่อย ๆ มีค่าลดลงเล็กน้อยจนสิ้นสุดการหมักที่ชั่วโมงที่ 72 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดที่ได้จะมีค่าเท่ากับ 438.53 421.15 และ 448.57 มิลลิกรัมต่อกรัม เมื่อเวลาการหมักผ่านไป 72 48 และ 60 ชั่วโมง สำหรับความหนาของโคจิ เท่ากับ 5 7 และ 9 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพ 40 b) การ

เปลี่ยนแปลงกิจกรรมอะไมเลสของโคจิทุกทรีทเมนต์เกิดขึ้นใน 12 ชั่วโมงแรก และดำเนินต่อไปจนมีค่าสูงสุดเท่ากับ 58.01 55.47 และ 60.29 หน่วยต่อกรัม เมื่อโคจิมีอายุได้ 72 60 และ 60 ชั่วโมง สำหรับโคจิหนา 5 7 และ 9 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพ 40c) ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากอุณหภูมิของโคจิทั้งสองทรีทเมนต์หลังที่สูงกว่า 35 องศาเซลเซียส ก็อมีค่าเท่ากับ 38.08 และ 39.73 องศาเซลเซียส ซึ่งเหมาะสมต่อการสร้างอะไมเลสของรา *A. oryzae* (Wood, 1998)

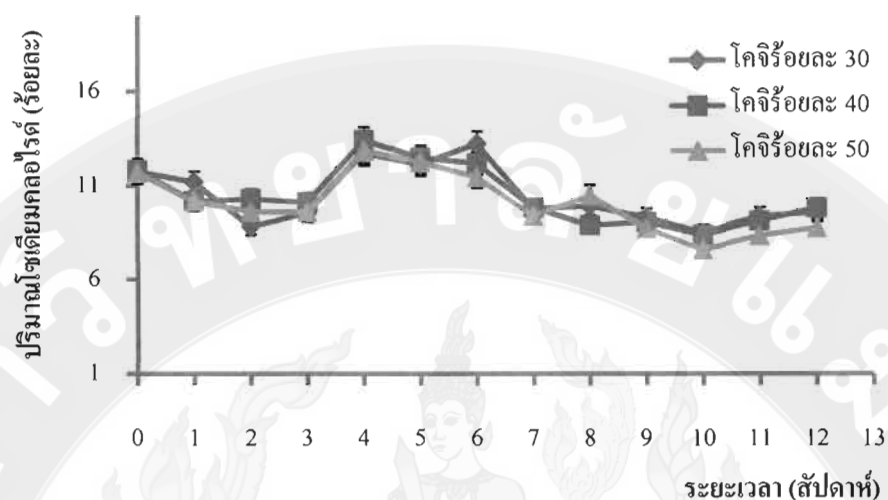
การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมโปรตีเอสของโคจิทุกทรีทเมนต์เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วใน 24 ชั่วโมงแรก และดำเนินต่อไปจนมีค่าสูงสุดเท่ากับ 95.06 52.80 และ 26.22 หน่วยต่อกรัม เมื่อโคจิมีอายุได้ 60 60 และ 48 ชั่วโมง สำหรับโคจิหนา 5 7 และ 9 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพ 40d) การที่โคจิหนา 5 เซนติเมตร ให้ค่ากิจกรรมโปรตีเอสสูงมากกว่าความหนาที่ระดับอื่น อาจเป็นผลเนื่องมาจากอุณหภูมิของโคจิที่ต่ำกว่า 35 องศาเซลเซียส ก็อมีค่าเท่ากับ 33.27 องศาเซลเซียส ซึ่งเหมาะสมต่อการสร้างโปรตีเอสของรา *A. oryzae* (Wood, 1998)

จากผลการทดลองที่กล่าวมาได้คัดเลือกวิธีการเตรียมโคจิโดยใช้ความหนาของชั้นข้าวเหนียว 5 เซนติเมตร และทำการหมักนาน 60 ชั่วโมง เพื่อทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป

2. การหมักโมโรมิ

2.1 ปริมาณโคจิที่เหมาะสมต่อการหมักโมโรมิ

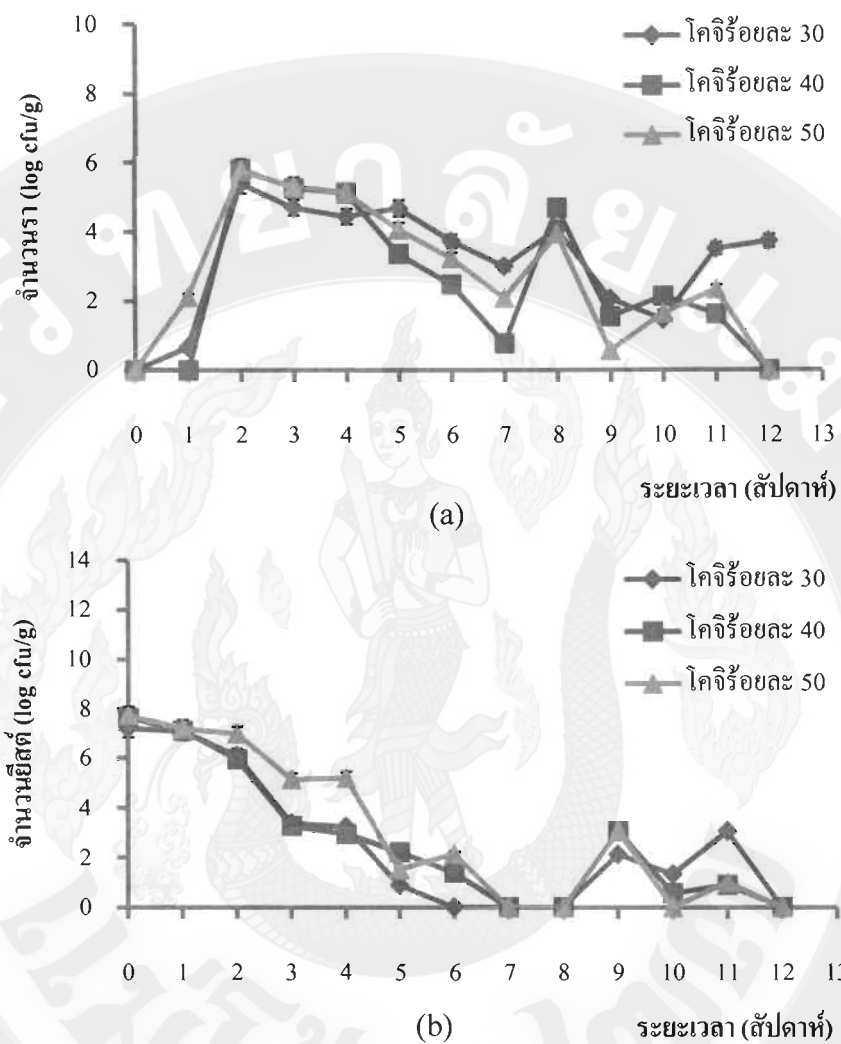
การหมักโคจิผสมกับถั่วเหลืองต้มสุกในสัดส่วนร้อยละ 30 40 และ 50 โดยน้ำหนัก ในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นร้อยละ 18 บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 12 สัปดาห์ พบว่าปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในช่วงระยะเวลา 1-3 สัปดาห์แรก มีค่าลดลงจากร้อยละ 11 เหลือประมาณร้อยละ 9-10



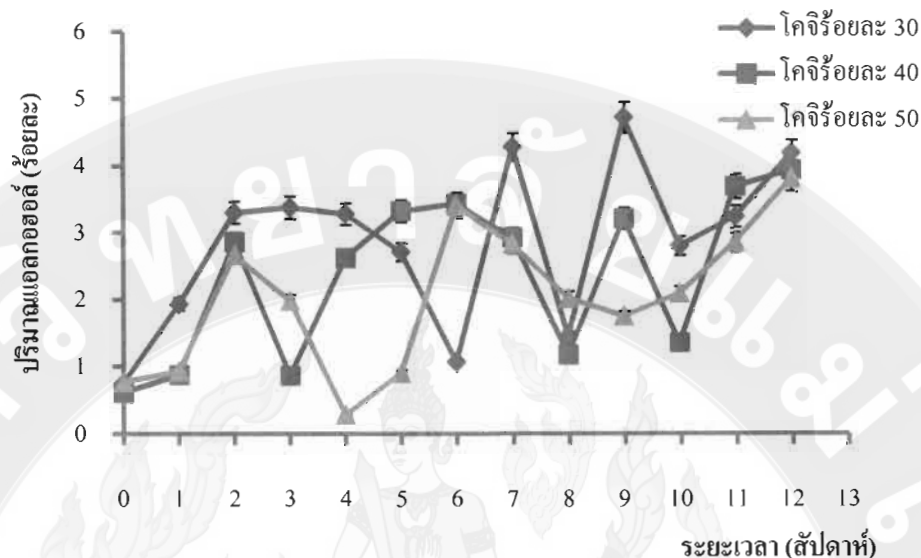
ภาพ 41 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน

หลังจากนั้นโซเดียมคลอไรด์กลับมีปริมาณเพิ่มขึ้นร้อยละ 12 ในสัปดาห์ที่ 4-6 ก่อนที่จะมีค่าลดลงอีกครั้งหนึ่งในช่วงสุดท้ายของการหมักโดยมีค่าเท่ากับ 9.55 9.81 และ 8.74 ตามลำดับ (ภาพ 41)

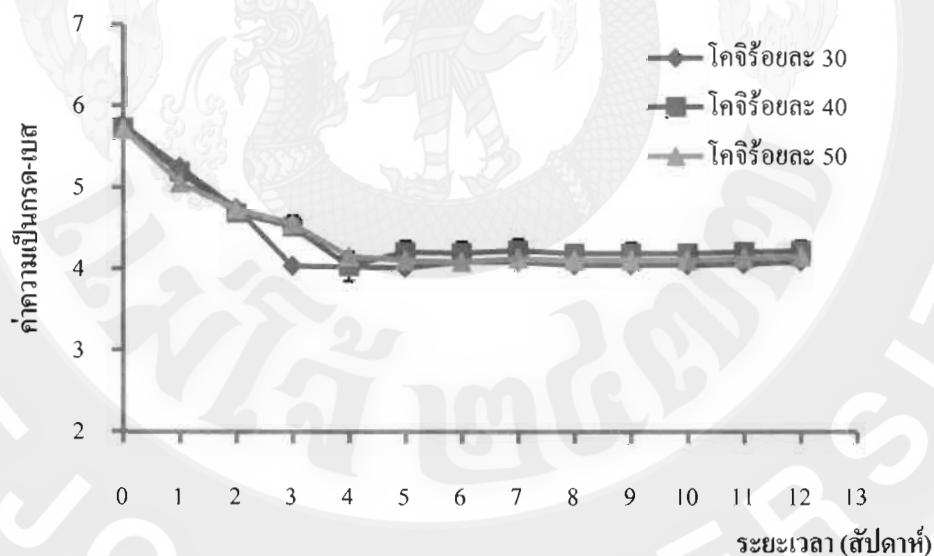
เนื่องจากการหมักในช่วงแรก ถั่วเหลืองต้มสุกและโคจิได้สูญเสียความชื้นบางส่วนให้กับน้ำเกลือเนื่องจากแรงดันออสโมซิส (osmotic pressure) ที่ต่ำกว่า น้ำส่วนที่ถูกดูดซึมออกมาจะทำให้ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในน้ำเกลือลดลงในช่วงระยะเวลาหนึ่ง และเมื่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ยังคงดำเนินต่อไป โดยเฉพาะยีสต์ที่ก่อให้เกิดการหมักแอลกอฮอล์ (ภาพ 42b) พบว่าปริมาณแอลกอฮอล์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นนับตั้งแต่สัปดาห์แรกของการหมัก (ภาพ 43)



ภาพ 42 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน: ยีสต์ (a) และรา (b)



ภาพ 43 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอมโมเนียในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน

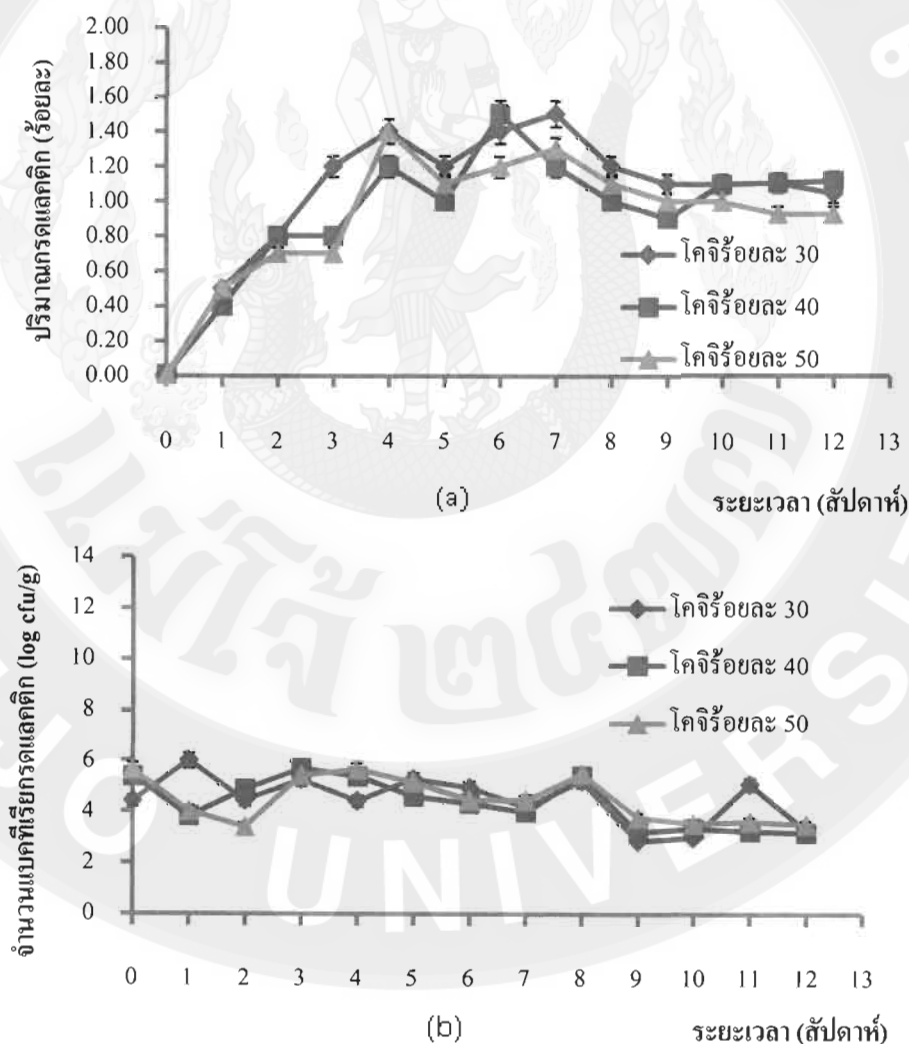


ภาพ 44 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-เบสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน

การเกิดแอมโมเนียเป็นส่วนหนึ่งของกิจกรรมการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนของยีสต์ จึงส่งผลทำให้ยีสต์ผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และความร้อนจำนวนมาก ซึ่งเพียงพอต่อการผลักดันน้ำบางส่วนในระบบให้ระเหยออกสู่บรรยากาศภายนอก ทำให้โซเดียมคลอไรด์มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น (ภาพ 43) หลังจากนั้นโซเดียมคลอไรด์จำนวนหนึ่งในน้ำเกลือจะถูกดูดซึมเข้าสู่

ภายในเมล็ดถั่วเหลืองเป็นส่วนใหญ่ และมีส่วนน้อยที่เข้าซึมเข้าสู่เมล็ดข้าวเหนียวที่ในขณะนี้กลายสภาพเป็นของแข็งกึ่งเหลว

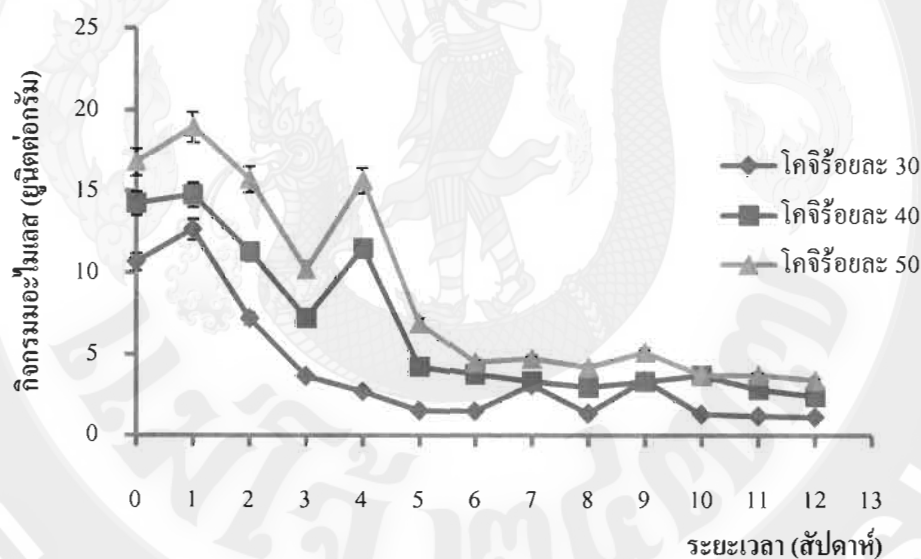
สำหรับเรา พบว่ามีการเจริญที่ลดลงตามลำดับ เนื่องจากสปอร์จำนวนมากไม่สามารถทนความเข้มข้นของน้ำเกลือที่สูงได้ และเจริญได้อย่างลำบากในสภาพแวดล้อมที่เป็นของเหลว โดยเฉพาะของเหลวที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในปริมาณสูง ซึ่งแตกต่างจากยีสต์ที่ทนเกลือที่มีการเจริญที่ดีกว่า เนื่องจากเต้าเจี้ยวมีค่าความเป็นกรด-เบสที่ลดลง (ภาพ 44) จึงทำให้มีสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์



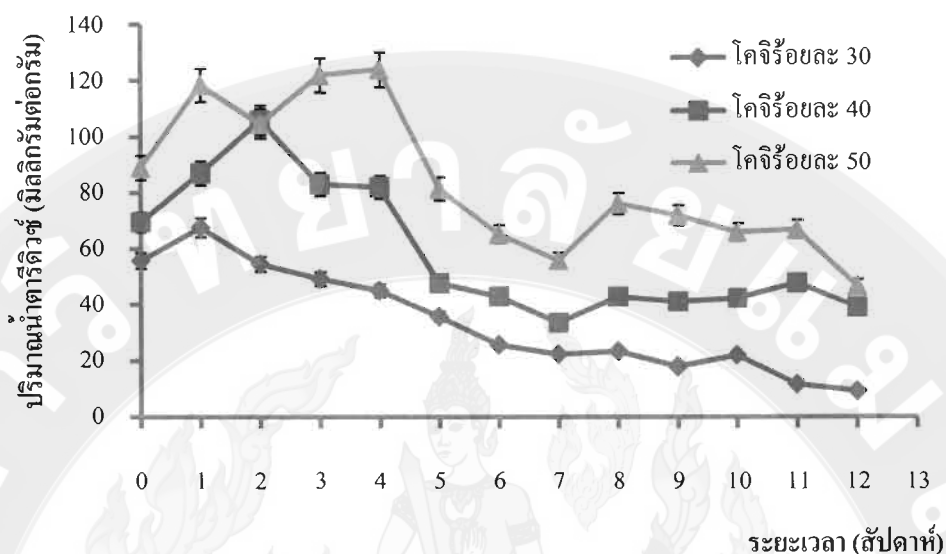
ภาพ 45 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดแลกติกและปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติกในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน: ปริมาณกรดแลกติก (a) และปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติก (b)

ค่าความเป็นกรด-เบสที่ลดลงนี้ เป็นผลเนื่องมาจากแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีการเพิ่มจำนวนอย่างมากโดยเฉพาะในช่วง 1-8 สัปดาห์แรกของการหมักโมโรมิ (ภาพ 45) ทำให้เกิดการผลิตกรดแลกติกออกมาในเต้าเจี้ยว (ภาพ 46) ปริมาณกรดแลกติกที่สะสม

กิจกรรมอะไมเลสเกิดการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาของการหมักโมโรมิ พบว่า อะไมเลสที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการหมักโคจิ ยังคงหลงเหลืออยู่ในขั้นตอนการหมักโมโรมิ ทำให้สามารถตรวจพบกิจกรรมดังกล่าวได้นับตั้งแต่สัปดาห์ที่ 0 แล้วมีแนวโน้มลดลงตลอดช่วงระยะเวลาของการหมัก (ภาพ 46) เนื่องจากความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในเต้าเจี้ยวมีค่าสูงมาก อะไมเลสที่ยังคงมีกิจกรรมอยู่จะทำการย่อยแป้งในถั่วเหลืองและในข้าวเหนียวให้กลายเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลสั้นลง และน้ำตาลรีดิวซ์จำนวนหนึ่ง (ภาพ 47) น้ำตาลรีดิวซ์ส่วนหนึ่งจะถูกใช้ไปในการเจริญของจุลินทรีย์ในเต้าเจี้ยว ทำให้มีค่าลดลงโดยลำดับจนถึงสิ้นสุดอายุการหมัก

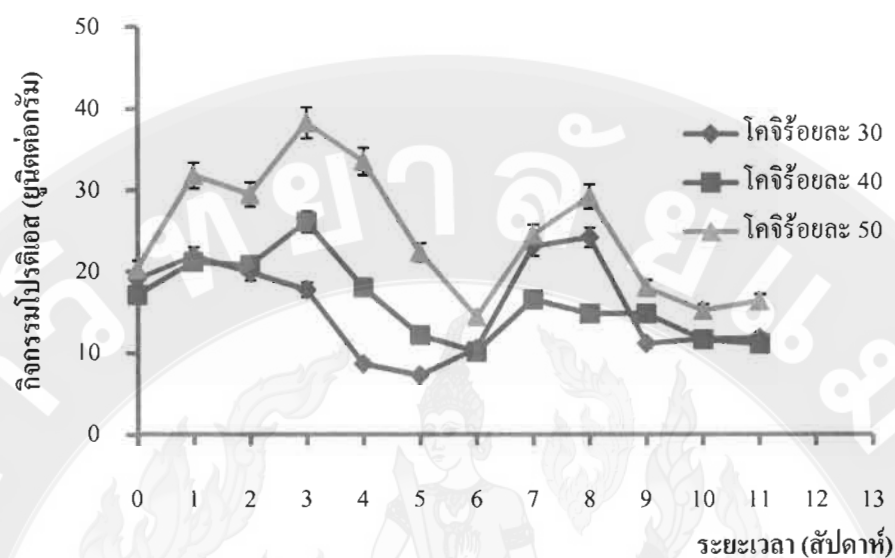


ภาพ 46 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมอะไมเลสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน

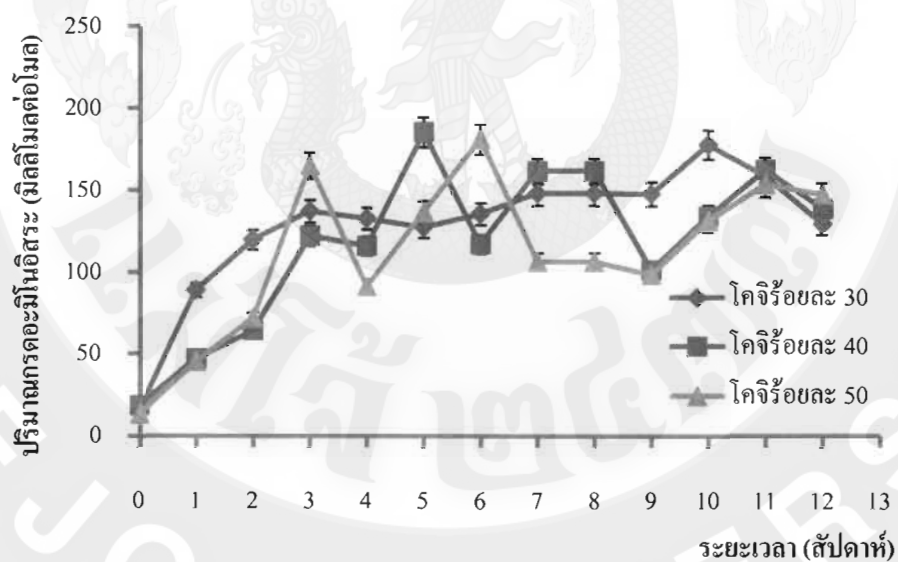


ภาพ 47 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิคซ์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียว ในปริมาณที่แตกต่างกัน

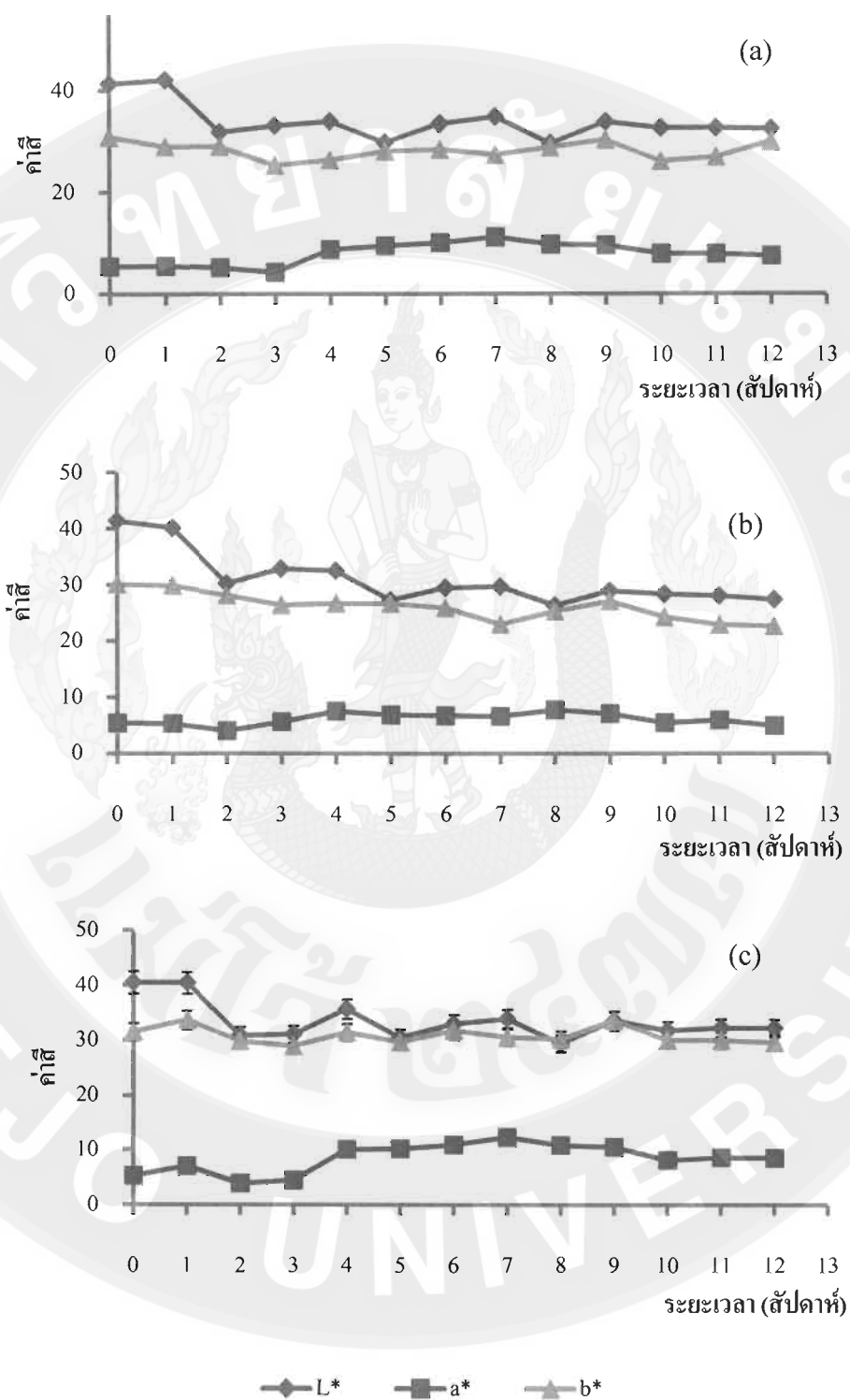
กิจกรรมโปรตีเอส มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่คล้ายคลึงกับกิจกรรมอะไมเลส พบว่า โปรตีเอสที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการหมักโคจิ ยังคงหลงเหลืออยู่ในขั้นตอนการหมักโมโรมิ ทำให้สามารถตรวจพบกิจกรรมดังกล่าวได้นับตั้งแต่สัปดาห์ที่ 0 แล้วมีแนวโน้มลดลงตลอดช่วงระยะเวลาของการหมัก (ภาพ 48) เนื่องจากความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในเต้าเจี้ยวมี ค่าสูงมาก โปรตีเอสในขั้นตอนการหมักโมโรมิจะย่อยโมเลกุลของโปรตีนในถั่วเหลือง ให้กลายเป็นเปปไทด์ที่มีสายสั้นลง (short chain peptides) และกรดอะมิโนจำนวนหนึ่งที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นในเต้าเจี้ยวตลอดอายุการหมัก (ภาพ 49) การเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดสอดคล้องกับกิจกรรมโปรตีเอส



ภาพ 48 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมโปรตีนเอสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิจ้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน



ภาพ 49 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดอะมิโนอิสระในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิจ้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน



ภาพ 50 การเปลี่ยนแปลงของค่า L^* a^* และ b^* ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน (ร้อยละ): 30 (a) 40 (b) และ 50 (c)

การเปลี่ยนแปลงสีของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิ ของเต้าเจี้ยวที่ใช้โคจิริ้อยละ 30 พบว่า ค่า L* อยู่ในช่วง 41.29-29.78 ค่า a* อยู่ในช่วง 5.39-7.33 และ ค่า b* อยู่ในช่วง 30.91-29.96 (ภาพ 50 a) โคจิริ้อยละ 40 พบว่า ค่า L* อยู่ในช่วง 41.35-27.46 ค่า a* อยู่ในช่วง 5.39-4.88 และ ค่า b* อยู่ในช่วง 30.04-22.72 (ภาพ 50b) และโคจิริ้อยละ 50 พบว่า ค่า L* อยู่ในช่วง 40.51-32.16 ค่า a* อยู่ในช่วง 5.16-8.43 และ ค่า b* อยู่ในช่วง 31.49-29.53 (ภาพ 50c) การเปลี่ยนแปลงค่าสีดังกล่าว เนื่องมาจากชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ และปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบเมลลาร์ด (maillard reaction) (Yokotsuka, 1986)

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของเต้าเจี้ยวที่ผลิตได้ โดยผู้บริโภคนจำนวน 100 คน ใช้วิธีการทดสอบแบบ Ranking for preference พบว่า ผลของการยอมรับของผู้ทดสอบต่อเต้าเจี้ยวทั้ง 3 สูตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) พบว่า โคจิริปริมาณร้อยละ 50 ได้รับการยอมรับมากที่สุด รองลงมาได้แก่ ปริมาณโคจิริร้อยละ 30 และ 40 ตามลำดับ (ตาราง 20-21)

ตาราง 20 จำนวนผู้ทดสอบที่ให้คะแนนเรียงตามลำดับความชอบสำหรับเต้าเจี้ยวจำนวน 3 ตัวอย่าง

ตัวอย่าง ปริมาณโคจิริที่ใช้ (ร้อยละ)	ระดับความชอบ		
	สเกล 3 ระดับ		
	1	2	3
30	30	38	32
40	8	36	48
50	62	26	20

หมายเหตุ : สเกลระดับ 1 = ชอบมากที่สุด 2 = ปานกลาง 3 = ไม่ชอบ

ตาราง 21 ผลสรุปของการเรียงลำดับความชอบผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว จำนวน 3 ตัวอย่าง

ปริมาณโคจิริ (ร้อยละ)	สเกล 3 ระดับ	
	ผลรวม	ลำดับ
50	62 ^a	1
30	30 ^b	2
40	8 ^c	3

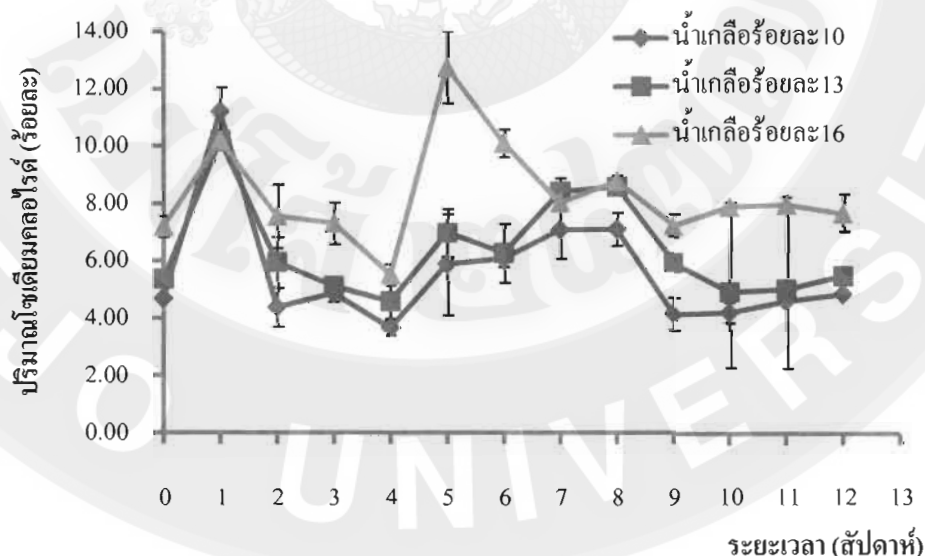
หมายเหตุ : ^{ns} คือไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในแนวนอน

สเกลระดับ 1 = ชอบมากที่สุด 2 = ปานกลาง 3 = ไม่ชอบ

ผู้ทดสอบชิมให้การยอมรับผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่ใช้โคจิร้อยละ 50 ของน้ำหนักรวมทั้งหมดมากที่สุด และระบุว่าเต้าเจี้ยวมีรสชาติที่เข้มข้นกว่าผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่จำหน่ายตามท้องตลาด

2.2 ความเข้มข้นน้ำเกลือที่เหมาะสมต่อการหมักโมโรมิ

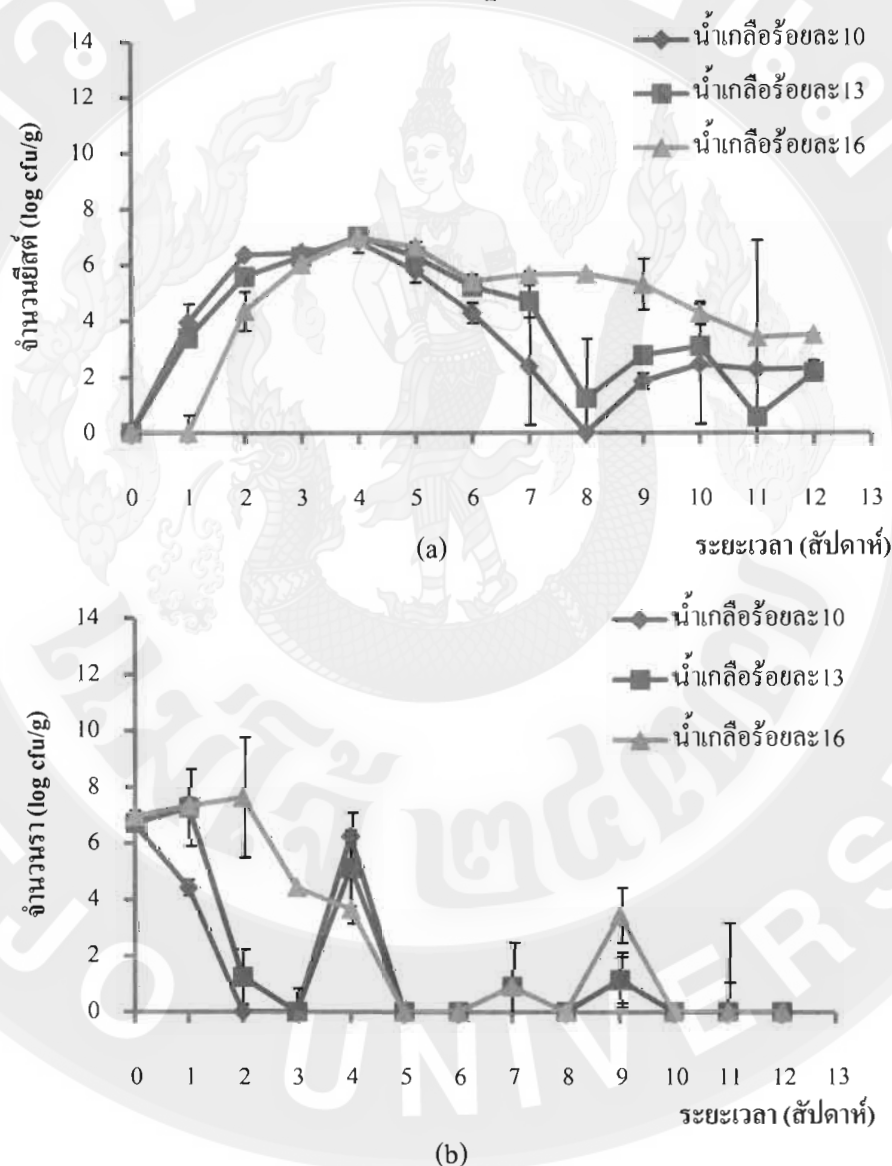
การหมักเต้าเจี้ยวโดยใช้โคจิร้อยละ 50 ของน้ำหนักรวมทั้งหมด ในที่น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นร้อยละ 10 13 และ 16 บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 12 สัปดาห์ พบว่าปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในช่วงระยะเวลา 0-1 สัปดาห์แรก มีค่าเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 4.68 5.36 และ 7.18 ตามลำดับ เป็นประมาณร้อยละ 11.2 10.2 และ 10.18 ตามลำดับ หลังจากนั้นโซเดียมคลอไรด์จึงมีปริมาณลดลงในสัปดาห์ที่ 2-4 ก่อนที่จะมีค่าเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยในช่วงสัปดาห์ที่ 5-8 แล้วค่อยลดลงอีกเล็กน้อยจนเกือบจะคงที่โดยมีค่าเท่ากับ 4.14 5.94 และ 7.23 ตามลำดับ (ภาพ 52) ปริมาณเกลือที่เพิ่มขึ้นในช่วงแรก อาจ เนื่องจากเต้าเจี้ยวได้สูญเสียความชื้นไปบางส่วน ในระหว่างสัปดาห์แรกของการหมัก เนื่องจากต้องทำการกวนผสมทุกวัน ประกอบกับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในน้ำเกลือมีค่าไม่สูงพอที่จะดึงโมเลกุลของน้ำได้ดีเหมือนกับการทดลองที่ผ่านมา



ภาพ 51 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน

ภายหลังจากนั้นเมื่อโซเดียมคลอไรด์มีปริมาณเพิ่มขึ้นในน้ำเกลือ จะก่อให้เกิดแรงดันออสโมซิสสูงขึ้น ทำให้ถั่วเหลืองและโคจิสูญเสียจำนวนหนึ่งออกสู่น้ำเกลือที่ใช้หมัก ใน

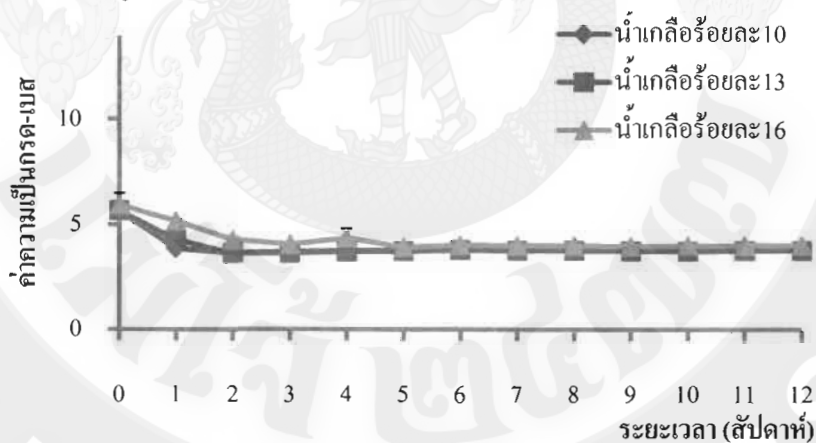
ขณะเดียวกันโซเดียมคลอไรด์จะค่อยๆ ถูกดูดซึมเข้าสู่ภายในเมล็ดหัวเหลืองและเข้าสู่โคจิ ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในตัวอย่างเต้าเจี้ยวจึงลดลง และเมื่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ยังคงดำเนินต่อไป โดยเฉพาะยีสต์ (ภาพ 52a) ที่ก่อให้เกิดการหมักอัลกอฮอล์ พบว่าปริมาณอัลกอฮอล์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นนับตั้งแต่สัปดาห์แรกของการหมัก (ภาพ 52b) การลดลงของโซเดียมคลอไรด์ในเต้าเจี้ยวได้ผลเช่นเดียวกับรายงานของ (พิมพาพร และ กนิษฐา, 2522)



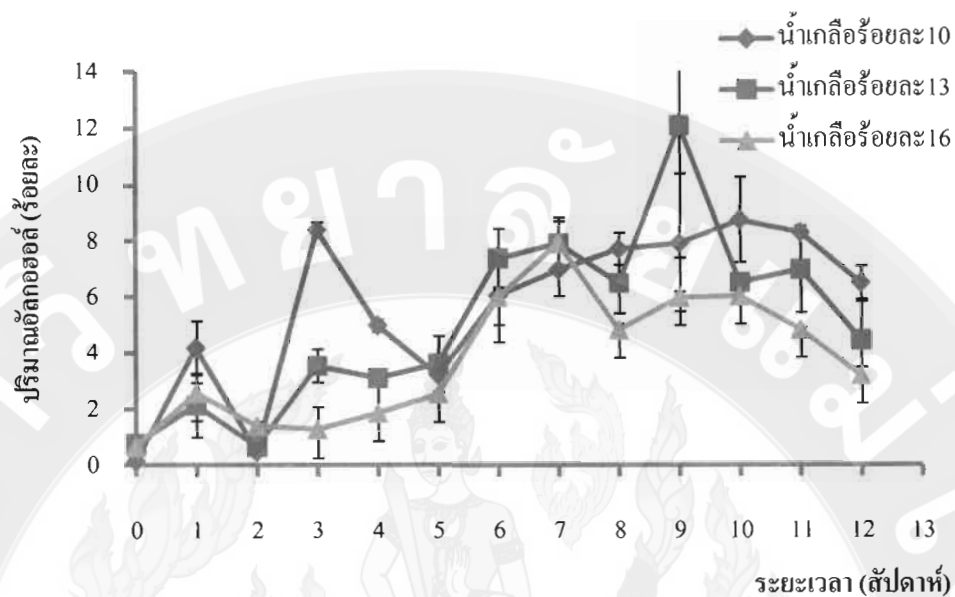
ภาพ 52 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน: ยีสต์ (a) และรา (b)

ยีสต์ผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และความร้อนจำนวนมาก ซึ่งเพียงพอต่อการผลักดันน้ำบางส่วนในระบบให้ระเหยออกสู่บรรยากาศภายนอก ทำให้โซเดียมคลอไรด์ในตัวอย่างเต้าเจี้ยวมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น การดูดซึมโซเดียมคลอไรด์เข้าสู่เมล็ดถั่วเหลืองและข้าวเหนียวยังคงดำเนินต่อไป แต่การระเหยของน้ำกลับมีค่าลดลงเพราะกิจกรรมการหมักของยีสต์ก็ลดลงเป็นอย่างมาก ทำให้โซเดียมคลอไรด์ในตัวอย่างเต้าเจี้ยวมีค่าลดลงเล็กน้อยและมีระดับเกือบคงที่ในช่วงสุดท้ายของการหมัก

สำหรับรา พบว่ามีการเจริญที่ลดลงตามลำดับ เนื่องจากสปอร์จำนวนมากไม่สามารถทนความเข้มข้นของน้ำเกลือที่สูงได้ และเจริญได้อย่างลำบากในสภาพแวดล้อมที่เป็นของเหลว โดยเฉพาะของเหลวที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในปริมาณสูง ซึ่งแตกต่างจากยีสต์ที่ทนเกลือที่มีการเจริญที่ดีกว่า (ภาพ 51) เนื่องจากเต้าเจี้ยวมีค่าความเป็นกรด-เบสที่ 5.64 5.66 และ 5.94 ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 1 ค่าความเป็นกรด-เบส ลดลงอยู่ที่ 3.84 4.26 และ 5.17 ตามลำดับ หลังจาก 1 สัปดาห์ มีค่าความเป็นกรด-เบส เกือบคงที่ตลอดอายุการหมัก (ภาพ 53) จึงทำให้มีสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์

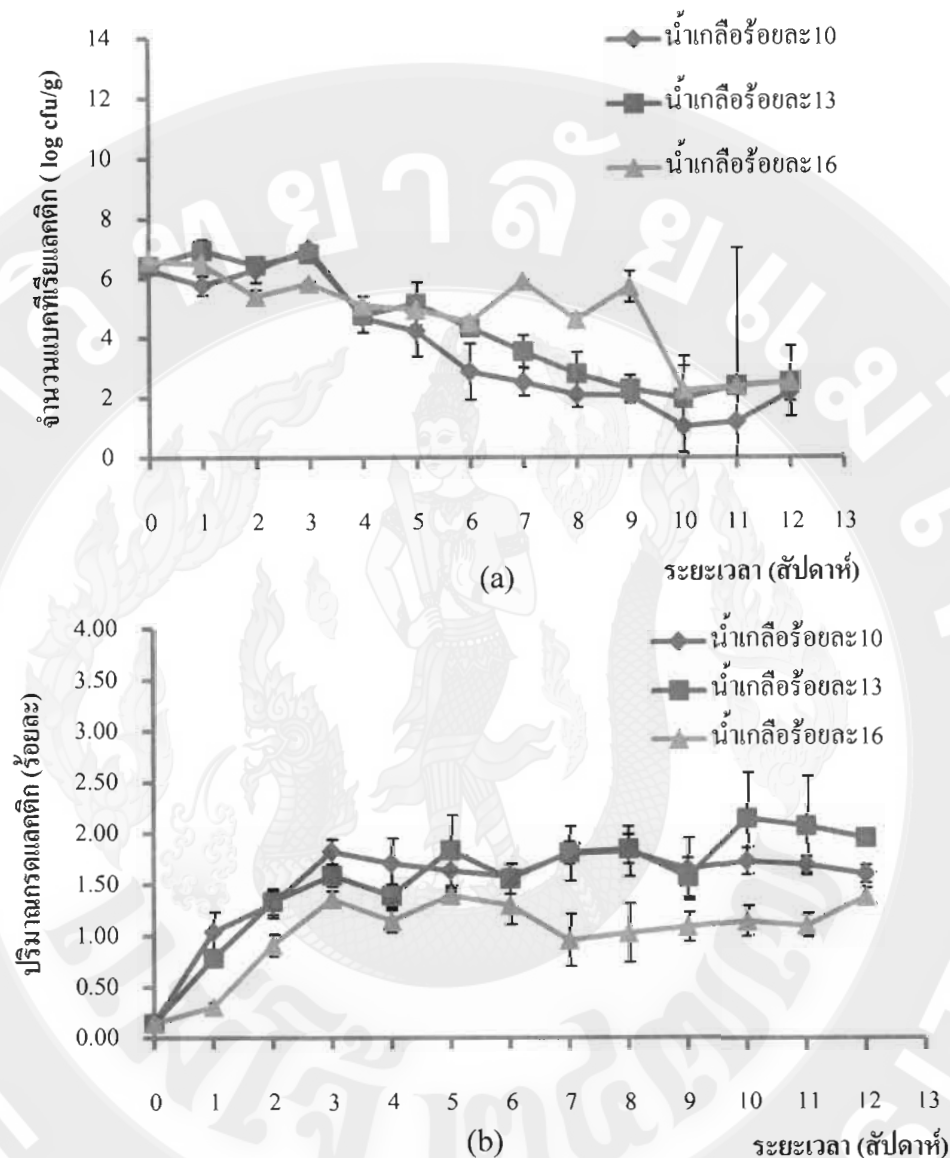


ภาพ 53 การเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรด-เบสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้ น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน



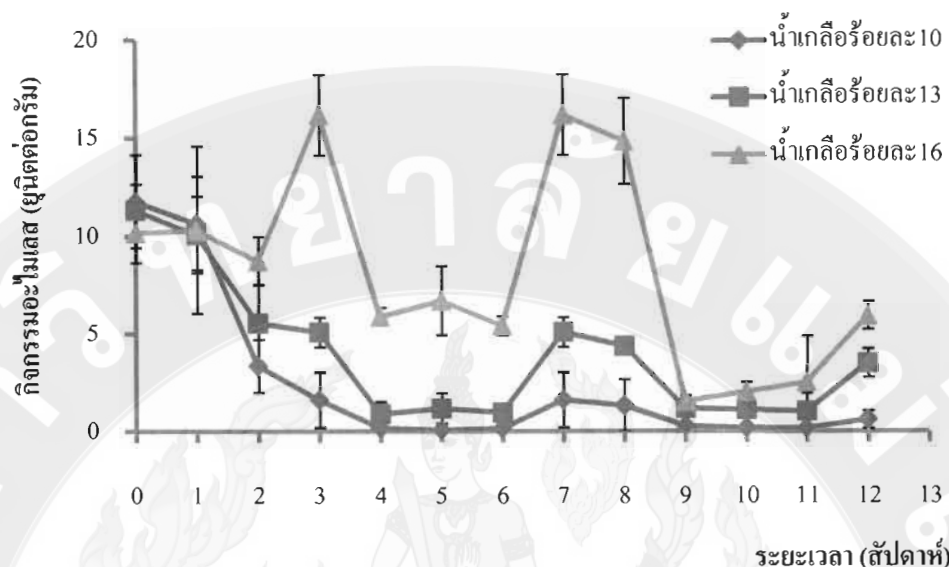
ภาพ 54 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณอัลกอซอลในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน

ค่าความเป็นกรด-เบสที่ลดลงนี้ เป็นผลเนื่องมาจากแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีการเพิ่มจำนวนอย่างมากโดยเฉพาะในช่วง 0-2 สัปดาห์แรกของการหมักโมโรมิ (ภาพ 55a) ทำให้เกิดการผลิตกรดแลคติกออกมาในเต้าเจี้ยว (ภาพ 55b) ปริมาณกรดแลคติกที่สะสมมีค่าสูงสุดประมาณ ร้อยละ 1.82 1.83 และ 1.39 ในสัปดาห์ที่ 8 5 และ 5 ตามลำดับ



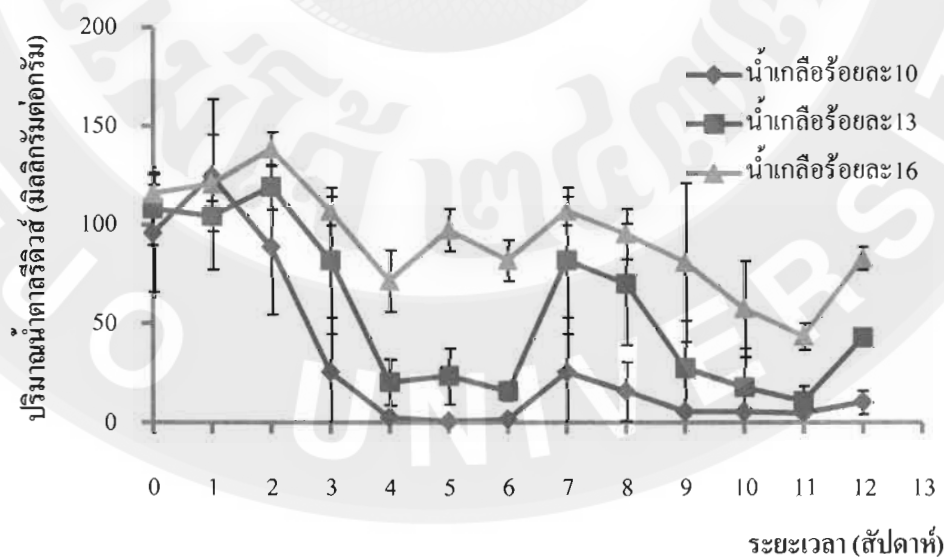
ภาพ 55 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดแลคติกและปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้ น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน: ปริมาณกรดแลคติก (a) และจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก (b)

กิจกรรมอะไมเลสเกิดการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาของการหมักโมโรมิ พบว่า อะไมเลสที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการหมักโคจิ ยังคงหลงเหลืออยู่ในขั้นตอนการหมักโมโรมิ ทำให้สามารถตรวจพบกิจกรรมดังกล่าวได้นับตั้งแต่สัปดาห์ที่ 0 แล้วมีแนวโน้มลดลงตลอดช่วงระยะเวลาของการหมัก กิจกรรมอะไมเลสลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 0-4 สัปดาห์แรก และมีค่ากิจกรรมที่ระดับต่ำเกือบคงที่ตลอดสิ้นอายุของการหมัก (ภาพ 56)



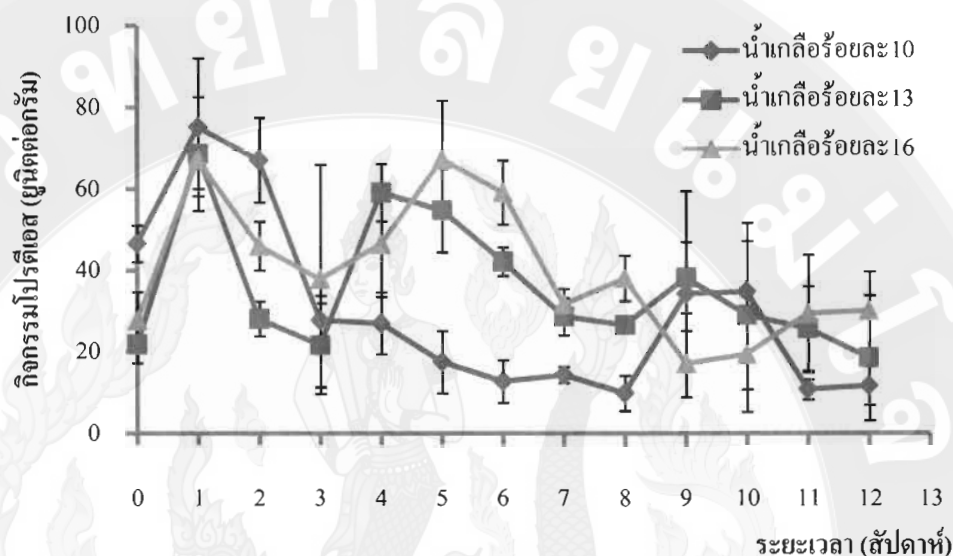
ภาพ 56 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมอะไมเลสในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้ น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน

เนื่องจากความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในเต้าเจี้ยวมีค่าสูงมาก อะไมเลสที่ยังคงมีกิจกรรมอยู่จะทำการย่อยแป้งในถั่วเหลืองและในข้าวเหนียวให้กลายเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลสั้นลง และน้ำตาลรีดิวซ์จำนวนหนึ่ง (ภาพ 57)



ภาพ 57 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้ น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน

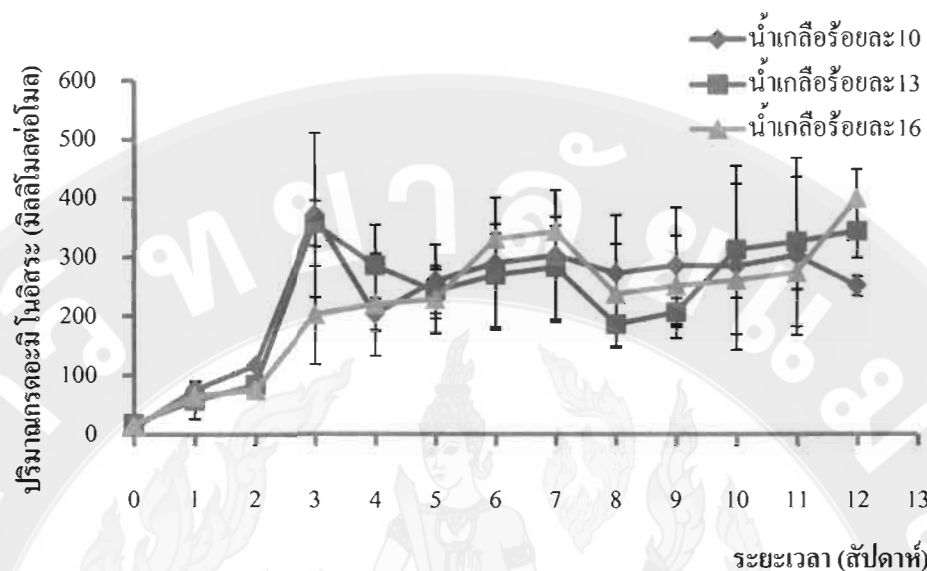
น้ำตาลรีดิวซ์ส่วนหนึ่งจะถูกใช้ไปในการเจริญของจุลินทรีย์ในเต้าเจี้ยว ทำให้มีค่าลดลงโดยลำดับจนถึงสุดอายุการหมัก Yong; Wood (1976) รายงานว่าน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะเวลา 5-6 วันแรกของการหมักในน้ำเกลือ และมีปริมาณลดลงในเวลาต่อมา



ภาพ 58 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมโปรตีนในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้ น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน

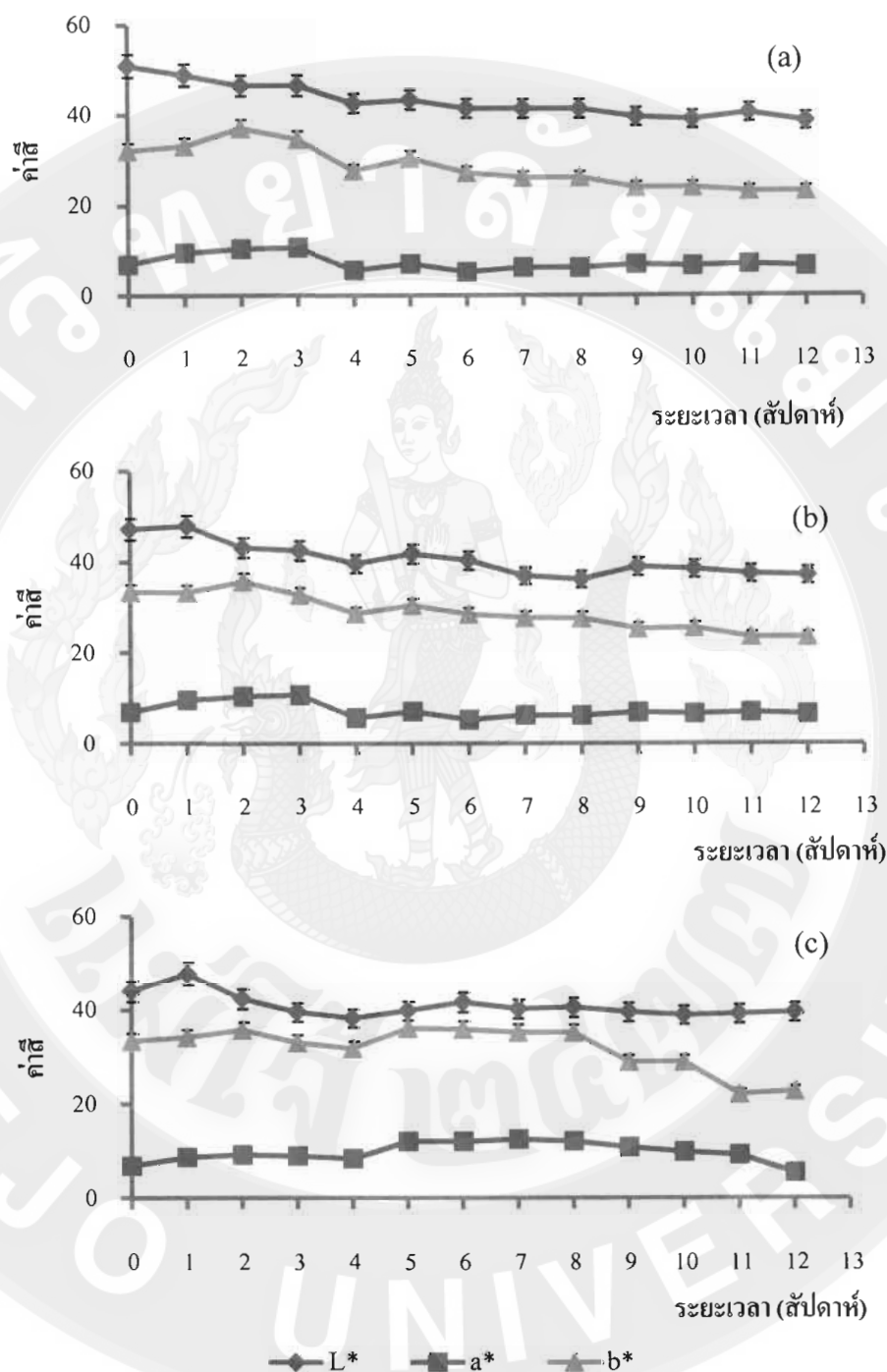
กิจกรรมโปรตีน มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่คล้ายคลึงกับกิจกรรมอะไมเลส พบว่า โปรตีนที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการหมักโคจิ ยังคงหลงเหลืออยู่ในขั้นตอนการหมักโมโรมิ ทำให้สามารถตรวจพบกิจกรรมดังกล่าวได้นับตั้งแต่สัปดาห์ที่ 0 กิจกรรมโปรตีนมีค่าสูงขึ้นในช่วง 0-1 สัปดาห์ แล้วมีแนวโน้มลดต่ำลงตลอดช่วงระยะเวลาของการหมัก (ภาพ 58)

โปรตีนในขั้นตอนการหมักโมโรมิจะย่อยโมเลกุลของโปรตีนในถั่วเหลือง ให้กลายเป็นเปปไทด์ที่มีสายสั้นลง (short chain peptides) และกรดอะมิโนจำนวนหนึ่งที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นในเต้าเจี้ยวตลอดอายุการหมัก (ภาพ 59) การเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด สอดคล้องกับกิจกรรมโปรตีน



ภาพ 59 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดยูเรียไนโตรเจนในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน

การเปลี่ยนแปลงค่าสี L^* a^* และ b^* ในช่วงเวลาต่างๆของการหมักโมโรมิในน้ำเกลือร้อยละ 10 (ภาพ 60a) พบว่าค่า L^* อยู่ในช่วง 50.98-38.44 ค่า a^* อยู่ในช่วง 6.89-6.48 และค่า b^* อยู่ในช่วง 32.19-23.09 น้ำเกลือร้อยละ 13 (ภาพ 60b) พบว่าค่าสี L^* อยู่ในช่วง 47.20-36.98 ค่า a^* อยู่ในช่วง 7.20-6.53 และค่า b^* อยู่ในช่วง 33.38-23.34 น้ำเกลือร้อยละ 16 (ภาพ 60c) พบว่าค่าสี L^* อยู่ในช่วง 44.07-39.56 ค่า a^* อยู่ในช่วง 6.86-5.45 และค่า b^* อยู่ในช่วง 33.40-22.73



ภาพ 60 การเปลี่ยนแปลงของค่าสี L^* a^* และ b^* ในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้ น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน (ร้อยละ) : 10 (a) 13 (b) และ 16 (c)

สีของเต้าเจี้ยวเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม โดยจะมีสีเหลืองอมน้ำตาล จนกลายเป็นสีน้ำตาลเข้มปานกลาง (ภาพ 10) ค่า L^* และ a^* มีค่าลดลงเล็กน้อย

2.3 ผลของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว

เต้าเจี้ยวที่หมักได้เมื่อนำมาคั่วให้เค็มนาน 30 นาที แล้วบรรจุในขวดแก้วที่สะอาด แล้วปิดฝาให้สนิท สามารถเก็บรักษาได้นานถึง 6 สัปดาห์โดยไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด (ตาราง 22) ทั้งนี้เนื่องมาจากค่าความเป็นกรด-เบสที่ต่ำ สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียส่วนใหญ่ และความร้อนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อสามารถทำลายแบคทีเรียกรดแลคติก ยีสต์ และรา ที่อาจหลงเหลืออยู่ในเต้าเจี้ยว ประกอบการบรรจุแบบร้อน (hot fill) ทำให้ที่ว่างเหนืออาหาร (head space) เป็นสุญญากาศ ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญของรา

ตาราง 22 การเปลี่ยนแปลงของเต้าเจี้ยวระหว่างการเก็บรักษานาน 6 สัปดาห์

อายุการ เก็บรักษา (สัปดาห์)	น้ำเกลือ (ร้อยละ)	ปริมาณ จุลินทรีย์ ทั้งหมด (log cfu/g)	ค่าสี		
			L*	a*	b*
0	10	ND	37.66 ± 0.02	10.63 ± 0.18	24.66 ± 0.57
	13	ND	37.48 ± 1.02	11.64 ± 0.43	26.53 ± 0.5
	16	ND	36.12 ± 0.44	12.16 ± 0.93	29.57 ± 0.27
2	10	ND	37.53 ± 0.46	10.46 ± 0.16	25.46 ± 0.16
	13	ND	39.29 ± 0.66	11.67 ± 0.50	26.34 ± 0.33
	16	ND	35.43 ± 0.44	11.89 ± 0.51	29.28 ± 0.04
4	10	ND	38.32 ± 0.37	10.61 ± 0.33	24.81 ± 0.26
	13	ND	37.53 ± 0.65	11.12 ± 0.08	26.29 ± 0.81
	16	ND	35.55 ± 0.12	11.81 ± 0.62	29.57 ± 0.33
6	10	ND	38.51 ± 1.36	11.14 ± 0.35	25.28 ± 0.76
	13	ND	38.22 ± 0.88	11.36 ± 0.06	26.88 ± 0.49
	16	ND	35.82 ± 0.20	12.61 ± 0.22	29.64 ± 0.49

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ND = ไม่พบ

เค้าเจ็วที่มีอายุการเก็บรักษานาน 6 สัปดาห์ เมื่อนำมาทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยผู้บริโภคนาน 100 คน ใช้วิธีการทดสอบแบบ Ranking for preference พบว่า ผลของการยอมรับของผู้ทดสอบต่อเค้าเจ็วทั้ง 3 สูตร ไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$) (ตาราง 23-24)

ตาราง 23 จำนวนผู้ทดสอบที่ให้คะแนนเรียงตามลำดับความชอบสำหรับเค้าเจ็วจำนวน 3 ตัวอย่าง

ความเข้มข้นของน้ำเกลือ (ร้อยละ)	จำนวนผู้ทดสอบ (คน)		
	สเกล 3 ระดับ		
	1	2	3
10	36	46	18
13	48	34	18
16	64	20	16

หมายเหตุ : สเกลระดับ 1 = ชอบมากที่สุด 2 = ปานกลาง 3 = ไม่ชอบ

ตาราง 24 ผลการทดสอบความชอบผลิตภัณฑ์เค้าเจ็วจำนวน 3 ตัวอย่าง

ความเข้มข้นของน้ำเกลือ (ร้อยละ)	สเกล 3 ระดับ	
	ผลรวม ^{ns}	ลำดับ
16	64	1
13	48	2
10	36	3

หมายเหตุ : ^{ns} คือไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในแนวนอน

สเกลระดับ 1 = ชอบมากที่สุด 2 = ปานกลาง 3 = ไม่ชอบ

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สรุปผลงานวิจัย

ข้าวเจ้าเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมในการผลิตสปอร์ของรา *Aspergillus oryzae* M-01 ผงสปอร์ที่ได้จากการอบแห้งภายใต้ความดันสุญญากาศจะมีชีวิตเหลือรอดสูงสุดถึง 10.15 log cfu/g โคจี้ถั่วเหลืองที่ความหนา 2.5 เซนติเมตร จะให้กิจกรรมอะไมเลสสูงสุดเท่ากับ 18.74 ยูนิตต่อกรัม ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง และกิจกรรมโปรตีเอสสูงสุดเท่ากับ 52.89 ยูนิตต่อกรัม ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง

การหมักโมโรมิในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 22 นาน 8 สัปดาห์ แปรผันสัดส่วนของปริมาณโคจี้ถั่วเหลืองดัมสุก 3 ระดับ คือ ร้อยละ 100 50 และ 30 กิจกรรมโปรตีเอสมีค่าลดลงทีละน้อยและมีค่าต่ำสุดประมาณ 12.19 8.34 และ 6.88 ยูนิตต่อกรัม ตามลำดับ ในระหว่างการหมักได้สังเกตพบอนุภาคสีขาวเกิดขึ้นภายในถังหมัก ปริมาณโคจี้ที่ใช้หมักกับถั่วเหลืองดัมสุกร้อยละ 100 50 และ 30 เมื่อหมักนาน 8 สัปดาห์ จะก่อให้เกิดอนุภาคสีขาว และมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามอายุการหมัก

เต้าเจี้ยวที่มีอายุการหมัก 8 สัปดาห์ ดัชนี 30 นาที่ ที่มีอายุการเก็บรักษา 1-15 วัน มีอนุภาคสีขาวมากที่สุดคือเต้าเจี้ยวที่มีปริมาณโคจี้ร้อยละ 100 ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบชิมในระดับชอบมากที่สุด ผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่ได้จากการดัมเต้าเจี้ยว 20 30 และ 40 นาที่ และเก็บรักษานาน 15 สัปดาห์ ยังสามารถพบจุลินทรีย์ได้ในปริมาณมาก แต่อนุภาคสีขาวมีจำนวน ชนิดที่แตกต่างกัน

ผลของการเจือจางเต้าเจี้ยวด้วยการเติมน้ำดัมสุกลงไป 0.5 เท่าของน้ำหนักเต้าเจี้ยวที่ใช้ ปริมาณโคจี้ปริมาณร้อยละ 100 พบว่าอนุภาคสีขาวมีปริมาณลดลงจากร้อยละ 100 เหลือร้อยละ 1.15 เต้าเจี้ยว และได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบชิมในระดับชอบมากที่สุด

การศึกษาสมบัติอนุภาคสีขาวในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวบรรจุขวดที่ผลิตได้ อนุภาคสีขาวที่เกิดขึ้นสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท คือ ชนิดแผ่นนุ่ม ชนิดแผ่นแข็ง และชนิดเม็ดเล็กๆ ซึ่งมีสมบัติทางเคมีและทางกายภาพที่สามารถระบุได้ว่าอนุภาคสีขาวทุกชนิด ประกอบด้วยกรดอะมิโนไทโรซีนเป็นส่วนใหญ่หรือทั้งหมด เศษที่เหลือเล็กน้อย คือ เปลือกหุ้มเมล็ดถั่วเหลือง

การศึกษาเกี่ยวกับการหมักเต้าเจี้ยวรสเข้มข้นโดยใช้โคจี้ข้าวเหนียว พบว่าระยะเวลาที่ใช้ในการนึ่งข้าวเหนียวนาน 40 นาที และความหนาของข้าวเหนียวในตะกร้าบ่มโคจี้เท่ากับ 5

เซนติเมตร จะให้กิจกรรมอะไมเลสสูงสุด 58.01 หน่วยต่อกรัม ในขณะที่กิจกรรมโปรตีเอสสูงสุด 95.06 หน่วยต่อกรัม ในระยะเวลา 60 ชั่วโมง

การหมักเต้าเจี้ยวโดยใช้โคจิจ้าวเหี่ยวปริมาณที่แตกต่างกัน พบว่าโคจิปริมาณร้อยละ 50 ในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 18 นาน 12 สัปดาห์ แล้วผ่านการด่มนาน 30 นาที จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่มีรสเปรี้ยว มีกลิ่นอัลทอสอลล์ แต่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบชิมในระดับชอบมากที่สุด มีรสเค็มน้อย และสามารถเก็บรักษาได้นานไม่น้อยกว่า 6 สัปดาห์

การหมักเต้าเจี้ยวโดยใช้โคจิจ้าวเหี่ยวร้อยละ 50 ในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่าน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 16 นาน 12 สัปดาห์ แล้วผ่านการด่มนาน 30 นาที จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่มีรสเปรี้ยว มีกลิ่นอัลทอสอลล์แต่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบชิมในระดับชอบมากที่สุด และสามารถเก็บรักษาได้นานไม่น้อยกว่า 6 สัปดาห์

ข้อเสนอแนะ

ควรทำการศึกษาสมบัติด้านเคมีของอนุภาคสีขาว โดยการใช้เครื่อง HPLC เพื่อยืนยันองค์ประกอบของผลึก

การหมักเต้าเจี้ยวรสเค็มน้อยที่มีสามารถนำไปดัดแปลงทำเป็นน้ำจิ้มข้าวมันไก่ได้ เนื่องจากมีความเปรี้ยว

บรรณานุกรม

- กนิษฐา สุวรรณเมนะ. 2522. การศึกษาเชื้อราในกระบวนการผลิตซีอิ๊ว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กองโภชนาการ กรมอนามัย. 2530. ตารางแสดงคุณค่าอาหารไทยในส่วนที่กินได้ 100 กรัม. กรุงเทพฯ: กองโภชนาการกรมอนามัย.
- กุลวดี ครอบพาณิชย์. 2517. น้ำปลาฉ่ำเหลือง. วารสารอาหาร 6(4): 11-13.
- โครงสร้างทางเคมีของไทโรซีน. [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา http://en.wikipedia.org/wiki/Tyrosine_sulfation#Function (6 August 2011).
- คุณิณี ธนะบริพัณ. 2537. จุลชีวอุตสาหกรรม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. น. 6-28 – 6-40.
- ประไพศรี สิริจักรวาล. 2553. ถั่วเหลือง. [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา <http://www.thaihealth.in.th> (26 August 2011).
- ผลึกไทโรซีน. [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา <http://www.lemonfarm.com> (6 August 2011).
- พิมพ์พร เทวาทดี. 2521. การศึกษาอีสต์ในซีอิ๊วและเต้าเจี้ยว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ไพโรจน์ วิริยจารี. 2545. การประเมินทางประสาทสัมผัส. เชียงใหม่: ภาควิชาเทคโนโลยีการพัฒนากลิ่นกัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 411 น.
- ภคธีรา อุปจักร. 2550. การศึกษากระบวนการผลิตซีอิ๊วจากถั่วมะแฮะและถั่วเหลือง. สารนิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
- มนิรัตน์ ศรินันทกุล. 2542. การศึกษาทดลองหมักถั่วเหลืองแบบอาหารแข็งในระบบแพคเบด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- บุษนา เชาสุเมรุ และจารุณี มีชัย. 2541. ใน เอกสารการประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 15: เล่มที่ 3 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร และคหกรรมศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 165-177 (271 หน้า)
- วรารุณ คุรุสง และรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2532. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์
- วารุณี ประดิษฐ์ศรีกุล. 2545. ซีอิ๊ว. อาหาร. 19: 58-62.
- วิเชียร ถิลาวัชรมาศ. 2526. กลิ่นหอมซีอิ๊วมาจากไหน. วิทยาศาสตร์การอาหาร. 14(2): 40-45, (3): 33-46.

- วิลาวัลย์ เจริญจิระกุล. 2536. จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร. กรุงเทพฯ: โอเอสพรีนติ้ง เฮาส์.
- ศิริพร เอื้ออังกูร. 2538. การปรับปรุงกระบวนการหมักซีอิ๊วในขั้นตอนการหมักน้ำเกลือ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สถาบันวิจัยข้าวกรมวิชาการเกษตร กระทรวงพาณิชย์. 2540. มาตรฐานข้าวไทย. รายงาน ประจำปี 2540. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร กระทรวงพาณิชย์. 10 น.
- สาโรจน์ ศิริสันสนียกุล และ ประวิทย์ วงศ์คงคาเทพ. 2538. วิศวกรรมเคมีชีวภาพพื้นฐาน 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 251 หน้า.
- สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์. 2520. การศึกษาเชื้อแบคทีเรียในขบวนการหมักซีอิ๊ว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อรอนงค์ นัยวิกุล. 2547. ข้าว: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 366 น.
- Anson, M.L. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physio.* 22: 79-89.
- Ashley V, Mitchell D, Howes T .1999. Evaluating strategies for overcoming overheating problems during solid-state fermentation in packed-bed bioreactors. *Biochem Eng J.* 3:141-150.
- Association of Official Analytical Chemistry (A.O.A.C). 1995. **Official Method of Analysis** 16th ed. Washington. D.C.: Geotage Banto.
- Beuchat, 1987 Ir Beuchat, **Food and Beverage Mycology**, Van Nostrand Reinhold, New York
1987. De La Torre et al., 1999 mj De La Torre, mc Millan, linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160505002710
- Biesebeke R.T. et al. 2002. *Aspergillus oryzae* in solid-state and submerged fermentations progress report on a multi-disciplinary project. **FEMS Yeast Research.** 2: 245-248.
- Bhumiratana, A., Flegel, T.W., Glinsukon, T. and Somporan, W. 1988. Isolation and analysis of molds from soy sauce koji in Thailand. **Applied and Environmental Microbiology.** 39(2): 430-435
- Chiou R.Y.-Y., Ferng S. and Beuchat L.R. 1999. Fermentation of low-salt miso as affected by supplementation with ethanol. **International Journal of Food Microbiology.** 11-20

- Flegel, T.W., Bhumiratana A. and Srisutipruti A. 1981. Problematic occurrence of tyrosine crystals in Thai soybean paste TaoChieo. **Applied and Environmental Microbiology**. 41(3): 746-751
- Folin, O. and Ciocalteau, V .1929. **J. Biol. Chem.** 73, 627-715
- Ghildyal NP, Gowthaman MK, Raghava Rao KSMS, Karenth NG. 1994. Interaction between transport resistances with biochemical reaction in packed-bed solid state fermentors: effect of temperature gradients. **Enzyme Microb Technol.** 16:253–257
- Ingle, M. B., and R. J. Erickson. 1978. Bacterial α -amylase. *Advan. Appl. Microbiol.* 24:257-278.
- Jones. N.R. 1993. Browning reaction in dries fish products. *Rec.Adv. food sci.* 2:74-80
- Medda, G.L. and A.K. Chandra. 1980. New strains of *Bacillus lincheniformis* and *Bacillus coagulans* producing thermostable α -amylase active at alkaline pH. **J. Appl. Bacteriol.** 48, 48-58.
- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid for estimation of reducing sugar. **Analytical Chemistry**. 31: 426-428.
- Mitchell DA, Pandey A, Sangsurasak P, Krieger N .1999. Scale-up strategies for packed-bed bioreactors for solidstate fermentation. **Process Biochem** 35:167–178
- Mohr V. 1980. Enzymes technology in meat and fish industries. **Process Biochem** 80:18-23.
- Nahar.S, F. Hossain, B. Feroza and M. A. Halim. 2008. Production of glucoamylase *Rhizopus* SP. In liquid culture. **Pak. J. Bot.**, 40(4): 1693-1698,
- Nakadai, T. & Nasuno, S. 1976. Enzymatic hydrolysis of protein by various enzyme preparation. **J. Ferment. Technol.** 54: 872-884.
- Okazaki, N., S. Sugama and T. Tanaka. 1980. Mathematical model for surface culture of koji mold. **J.Ferment. Technol.** 58 (5) : 471-476
- Oyashiki, H., M. Uchida, A. Obayashi and S. Oka. 1989. Evaluation of *koji* prepared with various molds for *mirin*making. **J. Ferment. Bioeng.** 67:163-168
- Paranthaman, R., K. Alagusundaram and J. Indhumathi. Production of Protease from Rice Mill Wastes by *Aspergillus niger* in Solid State Fermentation. **World Journal of Agricultural Science**. 5 (3): 308-312, 2009

- Raimbault, M. 1998. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. **Journal of Biotechnology**. 1(3) 174-188.
- Rehm HJ. and Reed G. 1983. Baked goods. In **Biotechnology: food and feed production with microorganism**. 5:1-80.
- Sangsurasak P, Mitchell DA. 1995. Incorporation of deathkinetics into a 2-D dynamic heat transfer model for solid state fermentation. **J Chem Technol Biotechnol**. 64:253-260
- Sasaki, M. 1996. Isolation and identification of precursor of 4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2 H)- furanone from isolated soybean protein and shoyu. **J. Agric. Food Chem**. 44: 230-235.
- Smith, I. D., W. G. Hoekstra, R. H. Grummer and P. H. Phillips. 1960. Studies on serum proteins of normal and parakeratotic pigs. **J. Animal Sci**. 19:580.
- Sugiyama, S. 1984. Selection of microorganisms for use in the fermentation of soy sauce. **Food Microbiol**. 1: 339-347.
- Thongthai C, Sawyer WD. Studies on the virulence of Neisseria gonorrhoeae. 1973. I.Relation of colonial morphology and resistance to phagocytosis by polymorphonuclear leukocytes. **Infect Immun**. Mar;7(3): 373-379
- Upton, M.F. and W.M. Fogarty, 1977. Production and purification of thermostable amylase and protease of thermomonospora vridis. **Appl.Environ. Microbiol.**, 33: 59-64.
- Wood, B. J. B. 1998. Soy sauce and miso. In Rose, A. H. (ed.), **Fermented Food.**, pp. 39-85. London:Academic Press, Inc.
- Yokotsuka, T. 1986. Shoyu conversion and manufacture of Foodstuffs by Micro organisms, processing of the sixth. **Int.Symp**. 117-125.
- Yokotsuka T. 1960. Aroma and flavor of Japanese soy sauce. **Advanced Food Resource**. 10: 75-134.
- Yong, F.M. & Wood, B. J. B. 1974. Microbiology and biochemistry of soy sauce fermentation. **Adv. Appl. Microbiol**. 17: 157-194.



ภาคผนวก



ภาคผนวก ก
ขั้นตอนการผลิตเต้าเจี้ยว

กระบวนการผลิตเต้าเจี้ยว



ภาพผนวก 1 ขั้นตอนการผลิตเต้าเจี้ยว



ภาคผนวก ข
วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

1. การวัดค่าสี

วัดค่าสีตัวอย่างโดยใช้เครื่อง Colorimeter (JUKI, Tri-Stimulus Colorimeter JC801, Tokyo, Japan) โดยทำการวัดค่าสี L^* a^* และ b^* ทั้งหมด 10 ซ้ำ ต่อการทดลอง ค่าที่ได้แสดงในรูปของค่าสี L^* a^* และ b^* โดย

ค่าสี L^* เป็นค่าที่แสดงถึงความสว่าง ถ้าค่าสี L^* เข้าใกล้ 0 หมายถึง ตัวอย่างสีเข้มมาก ถ้าค่าสี L^* เข้าใกล้ 100 หมายถึง ตัวอย่างสีเหลือง ถ้า L^* เท่ากับ 100 หมายถึง ตัวอย่างสว่าง

ค่าสี a^* เป็นค่าแสดงช่วงความแตกต่างของช่วงสีแดง และสีเขียว ถ้าค่าสี a^* เป็นบวก หมายถึง ตัวอย่างมีสีแดง ถ้าค่าสี a^* เป็นลบ หมายถึง ตัวอย่างมีสีเขียว โดยค่าสี a^* มีค่า -60 ถึง +60 และค่าสี a^* หากมีค่าเป็น 0 หมายถึง ตัวอย่างมีสีเทา

ค่าสี b^* เป็นค่าแสดงช่วงความแตกต่างของช่วงสีเหลือง และสีน้ำเงินของ ถ้าค่าสี b^* เป็นบวกมาก หมายถึง ตัวอย่างมีสีเหลือง ถ้าค่าสี b^* เป็นลบ หมายถึง ตัวอย่างมีสีน้ำเงิน โดยค่าสี b^* มีค่าตั้งแต่ -60 ถึง +60



ภาคผนวก ก
วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1. การวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด-เบส

วิธีการวิเคราะห์

ก่อนใช้เครื่องต้องทำการปรับตั้งค่ามาตรฐานของ เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (ความเป็นกรด-เบส meter) โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 7.0 และ 4.0 ตามลำดับ น้ำตัวอย่าง 10 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน นำส่วนใสไปวัดค่าความเป็นกรด-เบส

2. การทดสอบแป้งด้วยไอโอดีน

2.1 การเตรียมสารละลายไอโอดีนความเข้มข้นร้อยละ 0.2

ชั่งไอโอดีน 0.2 กรัม และ potassium iodide (KI) 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรสารละลายทั้งหมดเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดสีชา

3. การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 1995)

3.1 สารเคมี

3.1.1 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

3.1.2 สารละลายฟีนอล์ฟทาเลิน (ความเป็นกรด-เบส enolความเป็นกรด-เบส thalein)

3.1.3 เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol)

3.1.4 โพแทสเซียมไฮโดรเจนทาลเลต (potassium hydrogenความเป็นกรด-เบส thalate : $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$)

3.2 การหาความเข้มข้นของสารละลาย NaOH

3.2.1 ชั่ง potassium hydrogenความเป็นกรด-เบส thalate ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น 30 นาที จากนั้นนำมาชั่ง 0.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นจำนวน 25 มิลลิลิตร

3.2.2 ชั่งฟีนอล์ฟทาเลิน 1 กรัม ผสมกับเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เพื่อใช้เป็นอินดิเคเตอร์

3.2.3 ชั่ง NaOH 4 กรัม แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.2.4 เติมอินดิเคเตอร์ในสารละลาย potassium hydrogenความเป็นกรด-เบส thalate จำนวน 2-3 หยด

3.2.5 ไตรเตรทด้วยสารละลาย NaOH จนถึงจุดยุติ โดยสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู คำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารละลาย NaOH จากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลาย NaOH (N)} = \frac{\text{น้ำหนักของ KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4 \text{ (กรัม)} \times 1000}{204.229 \times \text{ปริมาตรของ NaOH (มิลลิลิตร)}}$$

$$\text{ปริมาณกรดแลกติก (ร้อยละ)} = \frac{V_1 \times N \text{ NaOH} \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)} \times 100 \times 90.08}{V_2 \times \text{ปริมาณที่ใช้ไตรเตรท} \times 1000}$$

V_1 = ปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ (มิลลิลิตร)

V_2 = ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)

4. การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

4.1 การเตรียมสารละลาย DNS solution (Miller, 1959)

ละลาย NaOH 1.6 กรัม ในน้ำ 50 มิลลิลิตร แล้วเติม 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) 1 กรัม กวนผสมให้ละลาย แล้วจึงเติม potassium sodium tartrate 30 กรัม เมื่อทุกอย่างละลายดีแล้ว ให้ปรับปริมาตรสารละลายทั้งหมดเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดสีชาฉนวนไม่เกิน 1 สัปดาห์

4.2 การเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลายมอลโทส

4.2.1 เตรียม stock solution ของมอลโทสความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม โดยชั่งมอลโทส 0.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร สารละลายมอลโทสมีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4.2.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานมอลโทสที่ความเข้มข้นระหว่าง 0-200 มิลลิกรัม โดยถ่ายสารละลาย มอลโทส จาก stock solution ปริมาตร 0 1 2 4 5 6 8 และ 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 10 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นสารละลายมอลโทส เท่ากับ 0 0.2 0.4 0.8 1 1.2 1.6 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

4.2.3 ถ่ายสารละลายมอลโทส ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

4.2.4 เติมสารละลาย DNS ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองในข้อ 4.2.3 ปิดฝาหลอดทดลอง แล้วเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม

4.2.5 ต้มหลอดทดลองในน้ำเดือดนาน 15 นาที นำไปทำให้เย็นทันทีในอ่างน้ำเย็น

4.2.6 เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองข้อ 4.2.5

4.2.7 เตรียม blank โดยใช้ น้ำกลั่นแทนสารละลายมอลโทส แล้วทำการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับข้อ 4.2.4-4.2.6

4.2.8 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวช่วงคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง

4.2.9 สร้างกราฟมาตรฐานจากค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้

4.3 คำนวณหาน้ำตาลรีดิวซ์จากสูตรดังต่อไปนี้

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อกรัม) = น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม) × เท่าของการเจือจาง

5. การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส

5.1 การเตรียมสารละลาย DNS solution (Miller, 1959)

เตรียมตามข้อ 4.1

5.2 การเตรียมสารละลาย acetate puffer 1 โมล ความเป็นกรด-เบส 5.0 (AOAC, 1995)

5.2.1 เตรียมสารละลาย A (1 M acetic acid) นำ glacial acetic acid (CH_3COOH) ปริมาตร 60.24 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

5.2.2 เตรียมสารละลาย B (1 โมล sodium acetate) ชั่ง sodium acetate (CH_3COONa) 82.03 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

5.2.3 นำสารละลาย A ปริมาตร 29.2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย B ปริมาตร 70.8 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไปประมาณ 700 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-เบส ให้ได้เท่ากับ 5.0 ปรับด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

5.3 การเตรียมน้ำแป้งร้อยละ 2 (Bradshaw, 1963)

ชั่ง soluble starch 2 กรัม ละลายใน 1 โมล acetate puffer ความเป็นกรด-เบส 5.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วต้มให้เดือดจนแป้งละลายหมดมองเห็นเป็นของเหลวใส

5.4 การเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลายมอลโทส

5.4.1 เตรียม stock solution ของมอลโทสความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม โดยชั่งมอลโทส 0.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร สารละลายมอลโทสมีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5.4.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานมอลโทสที่ความเข้มข้นระหว่าง 0-200 มิลลิกรัม โดยถ่ายสารละลาย มอลโทส จาก stock solution ปริมาตร 0 1 2 4 5 6 8 และ 10 มิลลิลิตร ลงใน หลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 10 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นสารละลายมอลโทส เท่ากับ 0 0.2 0.4 0.8 1 1.2 1.6 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

5.4.3 ถ่ายน้ำแป้งที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง นำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

5.4.4 ถ่ายตัวอย่างสารละลายมอลโทส ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในน้ำแป้งที่อยู่ใน หลอดทดลอง

5.4.5 เติมสารละลาย DNS ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองในข้อ 5.4.4 ปิดฝา หลอดทดลอง แล้วเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม แล้วนำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่ 40 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

5.4.6 นำหลอดทดลองในข้อ 5.4.5 ไปต้มในน้ำเดือดนาน 15 นาที นำไปทำให้เย็น ทันทีในอ่างน้ำเย็น

5.4.6 เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองข้อ 5.4.6

5.4.7 เตรียม blank โดยใช้สารละลาย acetate puffer 1 โมล ความเป็นกรด-เบส 5.0 แทนตัวอย่าง

5.4.8 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวช่วงคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง

5.4.9 นำค่าที่วัดได้จากเครื่องวัดการดูดกลืนแสงไปสร้างกราฟมาตรฐาน

5.5 คำนวณกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสจากสูตรดังต่อไปนี้

กิจกรรมอะไมเลส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) = $\frac{\text{น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม)} \times \text{จำนวนเท่าของการเจือจาง}}{10}$

10

หมายเหตุ: 1 ยูนิต หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมอลโตส 1 มิลลิกรัม ที่ได้จากการไฮโดรไลซ์สับสเตรท ในระยะเวลา 1 นาที

6. การวิเคราะห์กิจกรรมโปรติเอส

6.1 เตรียมบัฟเฟอร์ 50 มิลลิโมล Potassium phosphate buffer ความเป็นกรด-เบส 7.0

ซึ่ง Potassium phosphate buffer dibasic (K_2HPO_4)หนัก 8.709 กรัม แล้วเติมลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 800 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-เบส ให้ได้เท่ากับ 7.0 ด้วยกรดไฮโดร

คลอริก (HCl) หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

6.2 สารละลายเคซีน (casein) ความเข้มข้น ร้อยละ 0.65

ชั่งเคซีนหนัก 0.65 กรัม มาละลายใน phosphate buffer ความเป็นกรด-เบส 7.0 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80-85 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ปรับค่าความเป็นกรด-เบส ให้ได้เท่ากับ 7.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร โดยชวดปรับปริมาตร

6.3 เตรียมสารละลาย Trichloroacetic acid solution (TCA) ความเข้มข้น 110 มิลลิโมล

ชั่ง TCA 17.9727 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร โดยชวดปรับปริมาตร

6.4 เตรียมสารละลาย Folin -Ciocalteu ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมล

ตวง Folin ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

6.5 เตรียมสารละลาย Sodium Carbonate solution (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 500 มิลลิโมล

ชั่ง Na_2CO_3 หนัก 52.995 กรัม แล้วนำมาละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร โดยชวดปรับปริมาตร

6.6 การเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลายไทโรซีน

6.6.1 เตรียม stock solution ของไทโรซีนให้มีความเข้มข้น 1.1 มิลลิโมล โดยชั่งไทโรซีนหนัก 0.02 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยชวดปรับปริมาตร

6.6.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานไทโรซีนที่ความเข้มข้นระหว่าง 0-200 ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร โดยถ่ายสารละลาย ไทโรซีนความเข้มข้น 1.1 มิลลิโมล จาก stock solution ปริมาตร 0 0.2 0.4 0.8 1.0 1.2 1.6 และ 2 มิลลิลิตร ตามลำดับ เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 10 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นสารละลายไทโรซีนเท่ากับ 0 20 40 80 100 120 160 และ 200 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร

6.6.3 นำสารละลายมาตรฐานไทโรซีนแต่ละความเข้มข้น ในข้อ 6.6.2 มาใส่ Na_2CO_3 5 มิลลิลิตร

6.6.4 นำสารละลายมาตรฐานไทโรซีนแต่ละความเข้มข้น ในข้อ 6.6.3 มาใส่ Folin 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไป incubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 30 นาที

6.6.5 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร

6.7 คำนวณกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส

$$\text{กิจกรรมโปรติเอส} = \frac{(E - E_0) \times 11 \text{ (มิลลิลิตร)}}{E_z \times 1 \text{ (มิลลิลิตร)} \times 2 \text{ (มิลลิลิตร)} \times 10 \text{ (นาที)}}$$

$$\text{กิจกรรมโปรติเอส (ยูนิตต่อกรัม)} = \text{กิจกรรมโปรติเอส} \times \frac{\text{ปริมาณเอนไซม์ทั้งหมด (มิลลิลิตร)}}{\text{น้ำหนักที่ใช้ในการสกัดเอนไซม์ (กรัม)}}$$

กำหนดให้

E = OD ที่วัดได้เมื่อให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้นเคซีนเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

E_0 = OD ที่วัดได้เมื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ก่อนจึงเติมสารตั้งต้นเคซีน

E_z = ค่าคงที่ที่ได้จากความชันของกราฟมาตรฐานไทโรซีน

หมายเหตุ: กิจกรรมโปรติเอส 1 ยูนิต หมายถึง ความสามารถของเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์สารละลายเคซีนที่เป็นสับสเตรตได้กรดอะมิโนในรูปของไทโรซีน 1 ไมโครโมล (μmol) ในเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 7.0

7. การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด โดยวิธี Photometric ninhydrin

7.1 Sodium-acetate buffer 4.0 โมล

เตรียมโดยละลายโซเดียมอะซิเตด (CH_3COONa) 32.81 กรัม และกรดอะซิติกเข้มข้น (CH_3COOH) 10 มิลลิลิตร ใน deionized water 60 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปรับค่าความเป็นกรด-เบสให้ได้ 5.2 ด้วยกรด HCl ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

7.2 Ninhydrin colour reagent

เตรียมโดยละลาย ninhydrin 2 กรัม และ hydrindantin 0.3 กรัม ในสารละลาย DMSO ปริมาตร 75 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย 4M sodium-acetate buffer เก็บไว้ในที่มืด

7.3 Stabilizing solvent

เตรียมโดยละลาย เอทานอล 50 มิลลิลิตร ใน deionized water ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

7.4 Amino-N stock solution ความเข้มข้น 10 มิลลิโมล

เตรียมโดยละลายไกลซีน (glycine) 0.075 กรัม ใน deionized water ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บในที่มืด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

7.5 Amino-N standrad ความเข้มข้น 200 ไมโคร โมล

เตรียมโดยเจือจางสารละลาย Amino-N stock solution 10 มิลลิโมล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย KCl ความเข้มข้น 2 โมล ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

7.6 KCl ความเข้มข้น 2 โมล

เตรียมโดยละลาย KCl 14.9 กรัมใน deionized water ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

7.8 การสร้างกราฟมาตรฐานปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมด

7.8.1 เตรียม amino-N standrad ให้มีความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 0-200 ไมโคร โมล

7.8.2 เติมนinhydrin colour reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ที่มีสารละลาย จากข้อ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บรรจุอยู่ ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวางไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

7.8.3 ทิ้งให้เย็น ณ อุณหภูมิห้อง เติม stabilizing solvent ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร โดยใช้สารละลาย KCl ความเข้มข้น 2 โมล เป็น blank

7.8.4 สร้างกราฟมาตรฐานจากความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมดและค่าความเข้มข้นของสารละลายกรดอะมิโน

7.9 คำนวณปริมาณกรดอะมิโนอิสระได้จากสูตรดังต่อไปนี้

ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ

$$(\text{มิลลิกรัมต่อกรัม}) = (\text{OD กราฟมาตรฐาน} \times \text{OD ตัวอย่าง}) \times \text{จำนวนเท่าของการเจือจาง}$$

8. การวิเคราะห์ปริมาณเกลือ (ดัดแปลงจาก Mohr, 1999)

8.1 สารละลาย K_2CrO_4 เข้มข้นร้อยละ 5 ชั่ง K_2CrO_4 (potassium chromate) 5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ได้สารละลาย K_2CrO_4 เข้มข้นร้อยละ 5

8.2 สารละลาย AgNO_3

ชั่ง AgNO_3 หนัก 16.99 กรัม ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

8.3 Standardization สารละลาย AgNO_3

ชั่ง NaCl (อบแห้งที่ 105 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง) เติมสารละลาย NaCl จากข้อ 8.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์ลงในสารละลาย ปริมาตร AgNO_3 เขย่าให้เข้ากัน ไตเตรต สารละลาย AgNO_3 ด้วยสารละลายจนถึงจุดยุติ สังเกตได้จากการเกิดตะกอนสีแดงอิฐ

คำนวณความเข้มข้นของสารละลาย จากสูตร

$$\text{AgNO}_3 \text{ (M)} = \frac{\text{NaCl (g)} \times 1000}{\text{AgNO}_3 \text{ (มิลลิลิตร)} \times 58.44}$$

8.4 คำนวณปริมาณเกลือ

ปริมาณ NaCl (ร้อยละ) = $\text{AgNO}_3 \text{ (มิลลิลิตร)} \times 0.005844 \times 25 \times$ จำนวนเท่าของการเจือจาง

9. การวิเคราะห์ปริมาณอัลกอฮอลล์ (Amerine and Ough, 1974; AOAC, 1990)

9.1 สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต

เติมกรดกำมะถัน (ซัลฟูริก) เข้มข้น 325 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส เติม $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (โพแทสเซียมไดโครเมต) 33.768 กรัม ปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

9.2 สารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต

ละลาย $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (เฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต) 135.5 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติมกรดกำมะถันเข้มข้น 30 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

9.3 สารละลาย 1,10-ฟีแนโทรลีนเฟอร์รัสซัลเฟต

ละลาย $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (เฟอร์รัสซัลเฟต) 0.695 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติม o-phenanthroline $\cdot \text{H}_2\text{O}$ 1.48 กรัม ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

9.4 การคำนวณปริมาณอัลกอฮอลล์

$$\text{อัลกอฮอลล์ (ร้อยละโดยปริมาตร)} = \frac{25.00 - (25 \times V/V')}{\text{(มิลลิลิตร/100 มิลลิลิตร)}}$$

กำหนดให้

V = มิลลิลิตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ทำปฏิกิริยาพอดี (ไทเทรต) กับสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง (อัลกอฮอลล์)

V' = มิลลิลิตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไทเทรตกับแบลنگก์



ภาคผนวก ง
วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

1. การตรวจนับสปอร์โดย counting chamber

ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มล ที่มีน้ำกลั่นผสม tween 80 ร้อยละ 0.1 ปริมาตร 90 มิลลิลิตร แล้วเขย่าเพื่อให้สปอร์กระจายตัวในน้ำกลั่น ใช้ Pasteur pipette ถ่ายสปอร์ชั้นบนชั้นของรา หยดลงบน counting chamber ปิดทับด้วย cover glass แล้วนับจำนวนสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คำนวณจำนวนสปอร์ต่อหน่วยปริมาตร ทำ 2 ซ้ำ เพื่อหาค่าเฉลี่ย

2. การเตรียมสารละลายเปปโตเนซันร้อยละ 0.1

ชั่งเปปโตเน 1 กรัม ใส่ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร กวนผสมจนเปปโตเนละลายหมด แบ่งบรรจุสารละลายเปปโตเนปริมาตร 9 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง ปิดปากหลอดด้วยฝาพลาสติกทึบร้อน นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

3. การวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) (AOAC, 2005)

3.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (Plate count agar: PCA)

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA จำนวน 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

3.2 การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างเข้าเชื้อให้ได้ 10 กรัม ใส่ในถุงดีปน ที่มีสารละลายเปปโตเน ร้อยละ 0.1 ปริมาตร 90 มิลลิลิตรนำมาทำการเจือจางตัวอย่างแบบอนุกรม จนได้ความเจือจางที่เหมาะสม

3.3 การเพาะเชื้อ

3.3.1 ใช้ micropipette ขนาด 1 มิลลิลิตร ที่ปราศจากเชื้อ ถ่ายสารละลายตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางที่เหมาะสมลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ทำ 2 ซ้ำ

3.3.2 เท PCA ที่หลอมเหลวแล้ว และมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่างอยู่ จานละประมาณ 20 มิลลิลิตร แล้วขยับจานเพาะเชื้อไปในทิศทางต่าง ๆ กัน เพื่อให้จุลินทรีย์กระจายตัว

3.3.3 นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

3.5 การตรวจนับโคโลนี

นับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนในช่วง 30 -300 โคโลนี หากค่าเฉลี่ย แล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (cfu/g)

4. การวิเคราะห์หาปริมาณยีสต์และราทั้งหมด (Yeast and mould) (AOAC, 2005)

4.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC)

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ DRBC จำนวน 30.9 กรัม ละลายน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

4.2 การเตรียมตัวอย่าง

ทำการเตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 3.2

4.3 การเพาะเชื้อ

4.3.1 เทอาหารเลี้ยงเชื้อ DRBC ลงในจานเพาะเชื้อ ประมาณ 20 มิลลิลิตร ปล่อยให้แห้งไว้ให้อาหารแห้งตัว และผิวน้ำแห้ง

4.3.2 ถ่ายสารละลายอาหารที่มีความเจือจางที่เหมาะสม ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงตรงกลางของผิวน้ำอาหาร ทำ 3 ซ้ำ

4.3.3 ใช้แท่งแก้วปลายรูปสามเหลี่ยม ที่ปราศจากเชื้อเกลี่ยเชื้อให้ทั่วผิวน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อ

4.4 การบ่มเชื้อ

นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง โดยหงายจานเพาะเชื้อ

4.5 การตรวจนับจำนวนโคโลนี

ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30 – 300 โคโลนี หากค่าเฉลี่ย แล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (cfu/g)

5. การหาปริมาณแบคทีเรียแลคติก โดยวิธี AOAC (1995)

5.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (Glucose Yeast extract and Peptone; GYP)

ชั่ง glucose, yeast extract, peptone และ calcium carbonate อย่างละ 10 กรัม และ agar จำนวน 15 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

5.2 การเตรียมตัวอย่าง

ทำการเตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 3.2

5.3 การเพาะเชื้อ

5.3.1 ใช้ micropipette ขนาด 1 มิลลิลิตร ที่ปราศจากเชื้อ ถ่ายสารละลายตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางที่เหมาะสมลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ทำ 3 ซ้ำ

5.3.2 เทอาหารเลี้ยงเชื้อ GYP ที่หลอมเหลวแล้ว และมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่างอยู่ จานละประมาณ 20 มิลลิลิตร แล้วขยับจานเพาะเชื้อไปในทิศทางต่าง ๆ กัน เพื่อให้จุลินทรีย์กระจายตัว

5.3.4 นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

5.5 การตรวจนับโคโลนี

นับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนในช่วง 30 -300 โคโลนี หากค่าเฉลี่ยแล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (cfu/g)



ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส

การวิเคราะห์ความแตกต่างการเรียงลำดับความชอบ (Preference Ranking Test) ด้วยวิธีการ ของ Friedman's Test

การทดสอบนี้ จะกำหนดให้ผู้บริโภครีขงลำดับความชอบต่อผลิตภัณฑ์หลายๆ ผลิตภัณฑ์ เป็นการบอกทิศทางความชอบต่อผลิตภัณฑ์ แต่ไม่ได้บอกความสัมพันธ์หรือขนาดความชอบที่แตกต่างกันในแต่ละผลิตภัณฑ์

ผู้ทดสอบจะได้รับตัวอย่าง 1 ชุด ซึ่งประกอบด้วยตัวอย่าง 3 ตัวอย่างขึ้นไปทีละครั้ง ผู้ทดสอบต้องเรียงลำดับความชอบจากมากที่สุด = 1 ไปน้อยที่สุด = n (n = จำนวนตัวอย่าง) ซึ่งควรเป็น 3-6 ตัวอย่างโดยนำเสนอตัวอย่างแบบสุ่ม

นำผลการทดสอบไปคำนวณค่ารวมของ Rank (Rank Sum) ของแต่ละตัวอย่างแล้วนำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ผลซึ่งทำได้หลายวิธี ดังนี้

1. เปิดตารางสำเร็จรูปของ Kramer หรือของ Basker
ตารางจะบอกค่าวิกฤตของความแตกต่างระหว่าง Rank sum
2. ใช้ Friedman's Test

$$\chi^2 = T = \frac{12}{[NK(K+1)]} \sum (T_k)^2 - [3(N)(K+1)]$$

K = จำนวนตัวอย่าง

N = จำนวนผู้ทดสอบตัวอย่าง

T_k = ผลรวมของ Rank สำหรับตัวอย่างที่ k

$K-1 = df$

ถ้าค่า T ที่คำนวณได้มีค่ามากกว่าค่าจากตารางที่ระดับความเชื่อมั่นที่กำหนด และค่า $df = K-1$ สรุปว่าผู้บริโภคมมีความชอบต่อผลิตภัณฑ์แตกต่างกัน เมื่อต้องการทราบความแตกต่างของแต่ละตัวอย่าง สามารถหาได้โดยใช้สูตรหาค่า LSD สำหรับข้อมูล Rank ที่เรียกว่า LSRD หรือ "Least Significant Ranked Difference" ดังนี้

$$LSD_{rank} = (LSRD) = t\sqrt{NK(K+1)/6}$$

ที่ระดับความน่าจะเป็น $P = 0.05$

ค่า t คือ critical t-valued ที่ 5 % และ degree of freedom = $N-1$

ถ้าค่า Rank Sum ของ 2 ตัวอย่างใดมีค่าแตกต่างกันมากกว่าค่า LSD_{rank} ที่คำนวณได้ให้สรุปว่า ผู้บริโภคมมีความชอบต่อ 2 ตัวอย่างแตกต่างกันทางสถิติ

แบบทดสอบ

ผลิตภัณฑ์.....

ชื่อ..... วันที่.....

..... ชุดที่.....

คำแนะนำ : กรุณาชิมตัวอย่าง 3 ตัวอย่างนี้ตามลำดับที่นำเสนอ และเขียนตัวเลขเรียงลำดับความชอบในด้านความหวานของตัวอย่างทั้ง 3 ตัวอย่าง โดย 1 = ชอบที่สุด 2 = ชอบปานกลาง และ 3 = ชอบน้อยที่สุด กรุณาบ้วนปากระหว่างตัวอย่างทุกครั้ง

รหัสตัวอย่าง	434	102	936
ลำดับที่			

ขอขอบคุณค่ะ

การเปิดตารางค่าสถิติ Z

1. จากระดับความเชื่อมั่นที่กำหนด $(1-\alpha)100\%$ หาค่า α
2. นำค่า α ที่ได้ หาร 2 จะได้ค่าพื้นที่ใต้ค่าสถิติ Z (Area beyond $\pm Z$)
3. นำค่าพื้นที่ที่ได้จากข้อ 2 ไปเทียบค่าตัวเลขในตารางค่าสถิติ Z โดยให้ค่าพื้นที่ที่ได้ตรงกับค่าที่แสดงในคอลัมภ์ Area beyond $\pm Z$ ค่าสถิติ $\pm Z$ ที่อยู่ด้านหน้าจะเป็นค่าสถิติ Z ที่ต้องการหาค่า Z ที่กำหนดระดับความเชื่อมั่น 95% ระดับความเชื่อมั่น $(1-\alpha)100\% = 95\% \rightarrow (1-\alpha) = .95 \rightarrow \alpha = .05$ ค่า Area beyond $\pm Z$ ที่ใช้จะเป็น $\alpha/2 = .05/2 = .025$



ภาคผนวก ง

ข้อมูลการวิเคราะห์ผลการทดลอง

ตารางภาคผนวก 1 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-เบสของโคจิถั่วเหลืองที่มี
ความหนาแตกต่างกัน

เวลา (ชั่วโมง)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		ค่าความเป็นกรด-เบส	
	ความหนากองโคจิ (เซนติเมตร)		ความหนากองโคจิ (เซนติเมตร)	
	2.5	5	2.5	5
0	26.70 ± 1.61	29.61 ± 0.1	7.13 ± 0.12	7.23 ± 0.09
12	28.20 ± 0.09	29.21 ± 0.1	6.77 ± 0.13	7.14 ± 0.03
24	31.31 ± 1.02	31.87 ± 0.16	6.33 ± 0.04	6.47 ± 0.04
36	33.35 ± 0.17	35.67 ± 0.44	6.57 ± 0.20	6.80 ± 0.10
48	33.60 ± 0.4	36.12 ± 0.06	6.70 ± 0.27	6.71 ± 0.02
60	33.20 ± 1.56	35.12 ± 0.1	6.80 ± 0.24	6.84 ± 0.01
72	31.08 ± 0.33	31.08 ± 0.33	6.86 ± 0.23	6.80 ± 0.04

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 2 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมอะไมเลสและ โปรตีเอสของที่ใช้ น้ำเกลือ
ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน

เวลา (ชั่วโมง)	กิจกรรมอะไมเลส (ยูนิตต่อกรัม)		กิจกรรมโปรตีเอส (ยูนิตต่อกรัม)	
	ความหนากองโคจิ (เซนติเมตร)		ความหนากองโคจิ (เซนติเมตร)	
	2.5	5	2.5	5
0	3.63 ± 0.12	4.54 ± 1.08	24.66 ± 9.49	9.49 ± 3.0
12	11.84 ± 8.47	7.72 ± 3.77	43.91 ± 11.29	11.29 ± 16.5
24	18.74 ± 2.7	9.71 ± 3.34	48.22 ± 4.05	4.05 ± 18.8
36	15.38 ± 2.04	11.74 ± 4.77	50.05 ± 11.96	11.96 ± 21.6
48	14.45 ± 4.77	10.67 ± 1.56	52.89 ± 9.0	9.00 ± 3.6
60	7.32 ± 1.77	11.39 ± 5.14	15.58 ± 10.71	10.71 ± 9.7
72	7.44 ± 2.3	14.93 ± 1.75	17.23 ± 0.84	0.84 ± 10.3

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 3 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ ค่าความเป็นกรด-เบสและปริมาณกรดแลคติก ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิ
ที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)			ค่าความเป็นกรด-เบส			ปริมาณกรดแลคติก (ร้อยละ)		
	ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)		
	100	50	30	100	50	30	100	50	30
0	16.85 ± 0.42	18.09 ± 0.35	16.56 ± 0.26	5.38 ± 0.02	5.53 ± 0.02	5.57 ± 0.01	0.11 ± 0.04	0.11 ± 0.04	0.09 ± 0.02
1	21.23 ± 2.05	21.99 ± 3.26	20.72 ± 3.64	5.38 ± 0.02	5.53 ± 0.02	5.57 ± 0.02	0.51 ± 0.04	0.44 ± 0.04	0.37 ± 0.04
2	22.28 ± 2.44	21.74 ± 2.53	17.05 ± 0.72	5.01 ± 0.01	5.15 ± 0.02	5.27 ± 0.01	0.79 ± 0.02	0.58 ± 0.04	0.43 ± 0.04
3	23.91 ± 0.69	22.52 ± 0.59	17.39 ± 0.19	5.00 ± 0.01	5.10 ± 0.02	5.22 ± 0.03	0.71 ± 0.11	0.56 ± 0.06	0.40 ± 0.04
4	24.06 ± 0.36	22.62 ± 0.8	17.00 ± 0.04	4.98 ± 0.01	5.08 ± 0.02	5.15 ± 0.03	1.09 ± 0.05	0.81 ± 0.02	0.54 ± 0.02
5	24.06 ± 0.04	22.33 ± 0.22	17.17 ± 0.0	4.96 ± 0.01	5.06 ± 0.02	5.11 ± 0	1.15 ± 0.0	0.93 ± 0.04	0.59 ± 0.04
6	24.64 ± 0.21	22.69 ± 0.53	16.83 ± 0.36	4.93 ± 0.02	5.06 ± 0.02	5.14 ± 0.02	1.28 ± 0.11	1.19 ± 0.03	0.65 ± 0.17
7	24.59 ± 0.15	22.69 ± 0.54	16.58 ± 0.53	4.92 ± 0.01	5.09 ± 0.02	5.12 ± 0.01	1.30 ± 0.05	0.68 ± 0.04	0.71 ± 0.08
8	24.57 ± 0.48	22.55 ± 0.59	16.53 ± 0.4	4.91 ± 0.01	5.04 ± 0.03	5.0 ± 0.03	1.31 ± 0.08	0.66 ± 0.07	0.72 ± 0.05

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 4 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กิจกรรมอะไมเลสและโปรตีนเอส ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิ
ที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อกรัม)			กิจกรรมอะไมเลส (ยูนิตต่อกรัม)		
	ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)		
	100	50	30	100	50	30
0	15.61 ± 0.86	7.27 ± 0.2	9.44 ± 2.54	18.24 ± 2.36	12.28 ± 3.14	10.0 ± 0.65
1	18.03 ± 3.82	22.19 ± 1.84	16.16 ± 1.26	18.84 ± 0.44	11.29 ± 1.09	8.10 ± 0.58
2	19.14 ± 2.89	15.20 ± 0.41	15.27 ± 4.26	13.16 ± 2.14	6.63 ± 0.93	6.79 ± 0.4
3	22.62 ± 4.61	10.25 ± 2.69	9.46 ± 1.52	11.55 ± 1.92	5.95 ± 1.27	4.49 ± 0.15
4	21.33 ± 0.88	5.41 ± 1.77	8.39 ± 0.22	12.68 ± 1.0	5.04 ± 0.58	4.23 ± 0.44
5	19.72 ± 0.37	15.31 ± 0.57	9.53 ± 0.9	16.43 ± 1.5	15.14 ± 2.99	12.32 ± 0.78
6	13.41 ± 0.36	11.76 ± 1.52	9.23 ± 1.85	17.20 ± 2.6	14.52 ± 4.39	11.84 ± 2.92
7	16.38 ± 0.24	12.74 ± 0.88	10.38 ± 0.48	16.19 ± 1.68	15.13 ± 0.87	8.53 ± 1.26
8	14.20 ± 1.21	9.50 ± 2.76	10.29 ± 0.9	4.51 ± 0.67	2.83 ± 0.32	2.57 ± 0.13

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 5 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมโปรตีนและปริมาณกรดอะมิโน ของตัวเจียวในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณ
ที่ แตกต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	กิจกรรมโปรตีน (ยูนิตต่อกรัม)			ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ (มิลลิกรัมต่อกรัม)		
	ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)		
	100	50	30	100	50	30
0	102.12 ± 35.46	83.05 ± 28.63	95.98 ± 19.25	150.00 ± 97.87	150.00 ± 97.87	86.81 ± 48.43
1	50.51 ± 15.85	63.16 ± 25.08	37.58 ± 9.76	437.50 ± 95.29	437.50 ± 95.29	213.89 ± 25.20
2	63.62 ± 0.25	41.16 ± 3.9	32.91 ± 10.17	422.92 ± 97.78	422.92 ± 97.78	290.28 ± 17.96
3	62.98 ± 1.52	41.62 ± 1.29	29.15 ± 9.63	383.33 ± 110.10	383.33 ± 110.10	289.58 ± 108.33
4	72.05 ± 2.46	63.16 ± 4.84	38.133 ± 2.67	456.25 ± 43.35	456.25 ± 43.35	343.75 ± 139.96
5	79.93 ± 18.72	70.77 ± 6.63	73.794 ± 0.66	294.44 ± 10.69	294.44 ± 10.69	284.03 ± 39.87
6	74.62 ± 7.84	31.172 ± 6.09	11.37 ± 7.80	291.67 ± 9.55	291.67 ± 9.55	238.89 ± 50.01
7	16.32 ± 7.80	8.34 ± 6.96	11.46 ± 7.75	300.69 ± 27.11	300.69 ± 27.11	321.53 ± 47.93
8	12.19 ± 3.18	10.18 ± 4.53	6.88 ± 1.46	233.33 ± 21.14	233.33 ± 21.14	250.00 ± 48.99

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 6 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ ยีสต์ รา และ แบคทีเรียกรดแลคติก ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองใน ปริมาณที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	จำนวนยีสต์ (log cfu/g)			จำนวนรา (log cfu/g)			แบคทีเรียกรดแลคติก (log cfu/g)		
	ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)		
	100	50	30	100	50	30	100	50	30
0	0.00 ± 0.0	0.56 ± 0.98	0.56 ± 0.98	8.32 ± 0.22	8.02 ± 0.29	7.88 ± 0.37	1.13 ± 0.98	1.13 ± 0.98	1.13 ± 0.98
1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.00 ± 0.0	7.97 ± 0.18	7.76 ± 0.11	7.65 ± 0.15	1.31 ± 0.15	0.9 ± 0.18	0.46 ± 0.4
2	3.88 ± 0.07	2.92 ± 0.56	0.00 ± 0.0	7.4 ± 80.04	7.25 ± 0.07	7.34 ± 0.11	0.46 ± 0.4	0.46 ± 0.4	0.46 ± 0.4
3	3.94 ± 0.38	3.19 ± 0.20	4.20 ± 0.18	7.21 ± 0.2	7.29 ± 0.14	7.15 ± 0.02	2.00 ± 0.0	2.20 ± 0.17	1.98 ± 0.18
4	3.31 ± 0.25	3.58 ± 0.33	3.360 ± 0.32	7.14 ± 0.12	7.27 ± 0.38	7.02 ± 0.2	2.69 ± 0.0	1.79 ± 1.55	1.00 ± 1.73
5	3.23 ± 0.51	2.70 ± 0.01	2.47 ± 0.4	7.32 ± 0.27	7.30 ± 0.5	7.18 ± 0.17	0.56 ± 0.98	2.11 ± 0.1	1.33 ± 1.19
6	1.23 ± 2.14	0.00 ± 0.0	1.18 ± 2.04	4.66 ± 0.5	6.31 ± 0.12	6.29 ± 0.10	1.23 ± 1.08	1.13 ± 0.98	1.13 ± 0.98
7	3.92 ± 0.4	4.23 ± 0.20	4.58 ± 0.78	5.29 ± 0.12	5.38 ± 0.3	5.32 ± 0.13	1.13 ± 0.9	1.79 ± 0.18	1.59 ± 0.5
8	2.91 ± 0.2	2.76 ± 0.22	1.1 ± 0.47	3.79 ± 0.18	4.49 ± 0.7	5.30 ± 0.25	1.79 ± 0.18	1.29 ± 0.18	2.21 ± 0.08

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 7 การเปลี่ยนแปลงของค่าสี ของโคจิในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ค่าสี								
	ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)								
	100			50			30		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	30.77 ± 0.84	8.87 ± 0.14	26.82 ± 1.69	30.08 ± 1.14	8.00 ± 0.42	25.45 ± 0.01	30.10 ± 0.44	6.01 ± 0.32	25.02 ± 0.30
1	25.00 ± 0.55	9.64 ± 0.39	31.31 ± 0.7	24.58 ± 0.37	7.64 ± 0.27	28.80 ± 2.28	25.27 ± 0.38	5.35 ± 0.56	25.70 ± 1.16
2	33.56 ± 0.15	11.12 ± 0.35	30.72 ± 0.9	23.78 ± 0.58	10.53 ± 0.91	25.84 ± 0.99	23.64 ± 0.34	9.470 ± .73	25.06 ± 0.33
3	35.59 ± 0.34	11.27 ± 0.24	30.75 ± 0.71	38.03 ± 0.08	10.74 ± 0.23	28.16 ± 0.18	39.10 ± 0.53	11.24 ± 0.39	29.26 ± 0.64
4	38.13 ± 0.59	12.43 ± 0.43	31.42 ± 1.08	39.28 ± 0.86	11.67 ± 0.48	30.22 ± 0.17	40.64 ± 0.4	10.22 ± 0.42	27.05 ± 0.47
5	38.61 ± 0.74	12.93 ± 0.67	31.77 ± 1.12	39.36 ± 1.12	11.37 ± 0.36	30.45 ± 0.42	41.62 ± 1.36	9.91 ± 0.20	27.66 ± 0.51
6	32.92 ± 8.43	11.20 ± 0.62	28.65 ± 0.55	39.31 ± 1.23	9.32 ± 0.55	28.33 ± 0.65	41.27 ± 0.91	8.40 ± 0.36	26.01 ± 0.67
7	37.50 ± 0.19	15.65 ± 0.79	31.51 ± 0.21	39.22 ± 0.49	12.22 ± 0.47	29.93 ± 0.73	42.26 ± 1.43	10.97 ± 0.57	27.06 ± 0.45
8	38.37 ± 0.11	14.62 ± 0.62	31.19 ± 1.07	39.80 ± 0.64	12.50 ± 0.66	30.28 ± 0.64	42.36 ± 1.51	11.00 ± 0.4	27.2 ± 70.45

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตาราง 8 ค่าสี กิจกรรมโปรตีนเอส กรดอะมิโนอิสระ และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และ รา ในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว

ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)	ค่าสี			กิจกรรม โปรตีนเอส (ยูนิตต่อกรัม)	กรดอะมิโนอิสระ (มิลลิกรัมต่อกรัม)	จำนวนจุลินทรีย์ (log cfu/g)		
	L*	a*	b*			จุลินทรีย์ ทั้งหมด	ยีสต์	รา
ร้อยละ 100	24.88 ± 0.14	11.62 ± 0.56	13.98 ± 0.52	54.18 ± 9.42	52.27 ± 0.73	ND	ND	ND
ร้อยละ 50	25.47 ± 0.19	12.62 ± 1.04	14.29 ± 0.32	52.17 ± 24.74	60.94 ± 1.03	ND	ND	ND
ร้อยละ 30	25.24 ± 0.22	11.21 ± 0.56	13.80 ± 0.3	70.49 ± 10.51	60.21 ± 1.16	ND	ND	ND

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตาราง 9 ค่าสี กิจกรรมโปรตีนเอส กรดอะมิโนอิสระและปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และ รา ในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว

เวลาในการต้ม (นาทีก)	ปริมาณ โคจิ (ร้อยละ)	ค่าสี			กิจกรรม โปรตีนเอส (ยูนิตต่อกรัม)	กรดอะมิโนอิสระ (มิลลิกรัมต่อกรัม)	จำนวนจุลินทรีย์ (log cfu/g)		
		L*	a*	b*			จุลินทรีย์ ทั้งหมด	ยีสต์	รา
20	100	25.04 ± 0.14	10.77 ± 0.18	13.55 ± 0.24	13.93 ± 7.51	60.10 ± 0.92	ND	ND	ND
	50	23.26 ± 0.16	10.67 ± 0.69	11.73 ± 0.25	13.93 ± 9.23	58.13 ± 7.45	ND	ND	ND
	30	23.65 ± 0.19	11.85 ± 0.14	12.74 ± 0.43	18.61 ± 11.8	54.79 ± 1.46	ND	ND	ND
30	100	25.55 ± 0.13	10.36 ± 0.23	13.97 ± 0.68	20.81 ± 12.0	66.46 ± 0.76	ND	ND	ND
	50	26.23 ± 0.00	10.34 ± 0.58	14.47 ± 0.37	66.46 ± 4.76	48.44 ± 1.80	ND	ND	ND
	30	24.84 ± 0.18	10.11 ± 0.52	13.21 ± 0.31	18.43 ± 3.89	18.02 ± 19.75	ND	ND	ND
40	100	29.19 ± 0.51	9.61 ± 0.51	14.68 ± 0.65	14.58 ± 5.11	51.67 ± 0.51	ND	ND	ND
	50	28.68 ± 0.26	10.74 ± 0.63	14.87 ± 0.38	35.93 ± 2.92	61.77 ± 2.14	ND	ND	ND
	30	26.15 ± 0.23	11.09 ± 0.43	13.36 ± 0.76	31.63 ± 6.99	33.23 ± 0.47	ND	ND	ND

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตาราง 10 ค่าสี กิจกรรมโปรตีนเอส กรดอะมิโนอิสระและจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และ รา ในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่เพิ่มสัดส่วนของของเหลว

เวลา ในการ ต้ม (นาที)	ปริมาณ โคจิ (ร้อยละ)	ค่าสี			กิจกรรม โปรตีนเอส (หน่วยต่อกรัม)	กรดอะมิโนอิสระ (มิลลิกรัมต่อกรัม)	จำนวนจุลินทรีย์ (log cfu/g)		
		L*	a*	b*			จุลินทรีย์ ทั้งหมด	ยีสต์	รา
20	100	24.20 ± 0.15	11.79 ± 0.98	13.57 ± 0.32	31.53 ± 14.7	26.15 ± 0.61	ND	ND	ND
	50	24.81 ± 0.14	13.79 ± 0.49	14.38 ± 1.31	39.05 ± 12.0	14.69 ± 1.17	ND	ND	ND
	30	24.26 ± 0.00	15.34 ± 0.49	14.31 ± 1.15	94.69 ± 19.9	52.08 ± 0.94	ND	ND	ND
30	100	26.2 ± 70.09	13.30 ± 0.51	15.21 ± 0.61	19.71 ± 5.38	37.81 ± 0.86	ND	ND	ND
	50	23.94 ± 0.06	12.98 ± 0.65	13.07 ± 0.13	49.13 ± 14.0	43.02 ± 0.61	ND	ND	ND
	30	24.49 ± 0.18	15.39 ± 0.98	14.52 ± 0.76	83.14 ± 4.8	64.17 ± 0.76	ND	ND	ND
40	100	23.53 ± 0.00	11.78 ± 1.01	12.59 ± 0.36	41.62 ± 8.74	27.29 ± 0.94	ND	ND	ND
	50	22.54 ± 0.19	9.50 ± 0.46	10.39 ± 0.63	90.57 ± 15.4	67.92 ± 2.00	ND	ND	ND
	30	22.39 ± 0.00	9.97 ± 0.61	10.89 ± 0.50	58.48 ± 18.4	65.94 ± 1.57	ND	ND	ND

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตาราง 11 สัดส่วนของของเหลวและของแข็งในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวที่วางจำหน่ายในท้องตลาด

ตัวอย่างเต้าเจี้ยว	ปริมาณของเหลวในเต้าเจี้ยว (ร้อยละ)	ปริมาณของแข็งในเต้าเจี้ยว (ร้อยละ)
ง่วนเซียง	53.82 ± 51.51	48.18 ± 21.65
เด็กฮ้วน	65.32 ± 4.11	34.68 ± 22.59
เด็กสมบูรณ์	58.99 ± 46.98	41.01 ± 25.34
ยูเอฟซี	44.72 ± 4.34	55.28 ± 4.21
บิกซี	41.94 ± 0.47	58.06 ± 0.7
โลดัส	39.96 ± 0.07	60.04 ± 0.16
เลมอนฟาร์ม	26.58 ± 6.31	73.42 ± 7.96
ศูนย์วิจัยพืชไร่	62.31 ± 4.39	37.69 ± 0.60
ครัวทอง	52.57 ± 4.59	47.43 ± 15.26
ซ็อนทอง	28.01 ± 0.50	71.99 ± 0.52

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 12 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-เบสของโคจิที่ใช้ข้าวเหนียวที่ผ่านการนึ่งในเวลาที่แตกต่างกัน

เวลา (ชั่วโมง)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)				ค่าความเป็นกรด-เบส			
	เวลานึ่งข้าวเหนียว (นาที)				เวลานึ่งข้าวเหนียว (นาที)			
	20	30	40	50	20	30	40	50
0	26.25 ± 0.43	26.22 ± 0.78	26.55 ± 0.70	25.72 ± 1.23	6.51 ± 0.41	6.42 ± 0.34	6.40 ± 0.37	6.40 ± 0.31
12	29.85 ± 0.80	29.58 ± 0.66	29.90 ± 0.74	29.72 ± 0.59	6.33 ± 0.32	6.25 ± 0.29	6.27 ± 0.17	6.29 ± 0.13
24	35.48 ± 0.12	36.03 ± 0.30	35.62 ± 0.29	35.43 ± 0.08	6.01 ± 0.22	5.62 ± 0.33	5.64 ± 0.07	5.72 ± 0.11
36	35.73 ± 0.49	35.35 ± 0.82	35.50 ± 1.01	35.55 ± 0.97	5.76 ± 0.35	5.67 ± 0.34	6.20 ± 0.23	6.20 ± 0.41
48	34.42 ± 0.48	34.68 ± 0.49	34.02 ± 0.23	34.02 ± 0.56	6.02 ± 0.21	5.73 ± 0.25	5.99 ± 0.41	5.99 ± 0.12
60	32.83 ± 0.56	33.37 ± 0.24	33.38 ± 0.29	32.92 ± 1.03	5.68 ± 0.26	6.09 ± 0.35	5.93 ± 0.27	6.02 ± 0.27
72	31.67 ± 0.80	31.07 ± 0.58	32.03 ± 1.27	32.08 ± 0.25	5.62 ± 0.32	5.58 ± 0.25	5.77 ± 0.15	5.77 ± 0.19

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 13 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และกิจกรรมอะไมเลสของโคจิที่ใช้ข้าวเหนียวที่ผ่านการนึ่งในเวลาที่แตกต่างกัน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อกรัม)				กิจกรรมอะไมเลส (ยูนิตต่อกรัม)			
	เวลานึ่งข้าว (นาทีก)				เวลานึ่งข้าว (นาทีก)			
	20	30	40	50	20	30	40	50
0	1.15 ± 0.31	2.11 ± 2.37	1.18 ± 0.37	1.15 ± 0.16	1.32 ± 0.72	0.51 ± 0.14	0.7 ± 0.23	0.76 ± 0.12
12	8.24 ± 0.31	7.17 ± 1.89	5.56 ± 3.41	7.89 ± 1.73	5.94 ± 4.83	3.10 ± 3.52	1.43 ± 0.01	3.34 ± 2.34
24	137.63 ± 4.48	155.20 ± 5.56	172.40 ± 2.24	146.42 ± 2.65	25.75 ± 6.47	21.25 ± 1.53	19.64 ± 0.67	32.37 ± 1.03
36	303.05 ± 6.60	295.70 ± 8.88	306.99 ± 4.40	381.72 ± 17.58	33.41 ± 2.27	30.05 ± 0.72	31.83 ± 2.53	32.94 ± 0.16
48	310.75 ± 3.23	344.44 ± 5.90	380.11 ± 7.47	407.35 ± 10.09	38.59 ± 1.33	36.69 ± 1.99	42.64 ± 0.43	36.49 ± 2.09
60	408.42 ± 6.11	416.85 ± 11.05	398.39 ± 35.72	363.62 ± 1.80	33.6 ± 2.75	32.40 ± 2.39	37.41 ± 1.67	35.76 ± 1.09
72	359.50 ± 9.02	351.79 ± 7.32	398.21 ± 7.16	417.38 ± 6.48	37.13 ± 1.74	40.89 ± 2.08	32.39 ± 6.47	35.48 ± 3.34

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 14 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมโปรตีนเอสของโคจิที่ใช้ข้าวเหนียวที่ผ่านการนึ่ง
ในเวลาที่แตกต่างกัน

เวลา (ชั่วโมง)	กิจกรรมโปรตีนเอส (ยูนิตต่อกรัม)			
	เวลานึ่งข้าว (นาที)			
	20	30	40	50
0	4.44 ± 2.73	5.04 ± 3.65	1.71 ± 0.97	2.22 ± 1.26
12	7.06 ± 1.52	4.34 ± 2.78	7.26 ± 2.58	1.92 ± 0.92
24	47.59 ± 32.39	37.61 ± 32.01	32.37 ± 22.19	57.27 ± 34.89
36	64.74 ± 34.40	42.45 ± 22.36	45.17 ± 13.29	52.13 ± 17.21
48	46.18 ± 3.05	49.51 ± 13.36	59.79 ± 18.39	52.03 ± 6.17
60	50.82 ± 12.05	45.88 ± 18.41	46.28 ± 8.49	52.43 ± 13.34
72	58.79 ± 18.88	61.11 ± 17.22	43.26 ± 17.70	56.57 ± 35.39

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 15 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-เบสและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ของโคจิที่มีความหนาแตกต่างกัน

เวลา (ชั่วโมง)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)			ค่าความเป็นกรด-เบส			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อกรัม)		
	ความหนากองโคจิ (เซนติเมตร)			ความหนากองโคจิ (เซนติเมตร)			ความหนากองโคจิ (เซนติเมตร)		
	5	7	9	5	7	9	5	7	9
0	26.63 ± 0.21	26.92 ± 0.39	27.12 ± 0.50	5.79 ± 0.27	5.97 ± 0.20	6.02 ± 0.19	9.32±3.33	9.09±1.06	7.29±1.51
12	26.72 ± 0.68	26.95 ± 0.87	27.38 ± 1.28	5.78 ± 0.13	5.56 ± 0.41	5.29 ± 0.19	63.98±5.30	59.68±3.23	48.75±13.92
24	36.4 ± 1.01	39.7 ± 0.81	41.62 ± 0.50	5.00 ± 0.08	4.77 ± 0.10	4.77 ± 0.09	139.61±5.39	161.83±28.80	179.21±53.25
36	37.25 ± 2.02	40.33 ± 1.05	41.98 ± 0.96	5.37 ± 0.11	5.37 ± 0.03	5.47 ± 0.17	303.76±12.15	305.20±53.46	321.86±30.68
48	36.63 ± 2.89	39.50 ± 0.53	40.88 ± 0.75	5.43 ± 0.05	5.51 ± 0.09	5.45 ± 0.14	381.72±28.41	421.15±60.54	397.67±18.64
60	33.27 ± 1.79	38.08 ± 0.86	39.73 ± 0.26	5.28 ± 0.03	5.36 ± 0.15	5.28 ± 0.12	419.71±16.52	385.13±10.33	448.57±46.54
72	35.20 ± 3.30	38.13 ± 1.64	39.65 ± 1.33	5.20 ± 0.17	5.23 ± 0.22	5.27 ± 0.23	438.53±35.61	380.47±38.41	413.62±54.62

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 16 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมอะไมเลสและกิจกรรมโปรตีเอส ของโคจิที่มีความหนาแตกต่างกัน

เวลา (ชั่วโมง)	กิจกรรมอะไมเลส (ยูนิตต่อกรัม)			กิจกรรมโปรตีเอส (ยูนิตต่อกรัม)		
	ความหนากงโคจิ (เซนติเมตร)			ความหนากงโคจิ (เซนติเมตร)		
	5	7	9	5	7	9
0	0.46±0.31	0.27±0.07	0.47±0.05	3.12±0.88	1.28±1.11	1.19±0.42
12	3.66±0.43	8.32±1.44	5.30±1.57	4.03±4.86	6.23±3.85	6.33±4.05
24	21.04±7.30	16.77±3.28	15.43±7.14	34.56±11.78	25.76±19.92	13.93±9.40
36	33.53±8.88	35.29±6.25	27.63±14.49	84.61±0.69	42.81±35.50	13.11±10.19
48	44.44±9.36	51.61±18.66	37.99±25.66	70.58±16.19	41.89±18.80	26.22±20.97
60	54.80±5.28	55.82±3.44	60.29±32.14	95.06±11.53	52.80±31.57	25.85±8.43
72	58.01±12.46	55.47±2.90	49.14±31.16	77.92±6.05	35.57±14.45	5.96±0.97

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 17 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-เบส ปริมาณกรดแลคติก ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้
โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)			ค่าความเป็นกรด-เบส			ปริมาณกรดแลคติก (ร้อยละ)		
	ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)		
	30	40	50	30	40	50	30	40	50
0	11.76 ± 0.07	11.83 ± 0.46	11.6 ± 0.28	5.77 ± 0.05	5.73 ± 0.06	5.71 ± 0.06	0.007 ± 0.0	0.007 ± 0.0	0.007 ± 0.0
1	11.20 ± 0.84	10.2 ± 0.35	10.18 ± 0.08	5.25 ± 0.05	5.19 ± 0.02	5.05 ± 0.01	0.50 ± 0.03	0.40 ± 0.00	0.50 ± 0.04
2	8.84 ± 0.07	10.32 ± 1.06	9.64 ± 0.79	4.75 ± 0.02	4.68 ± 0.04	4.73 ± 0.04	0.80 ± 0.05	0.80 ± 0.04	0.70 ± 0.10
3	9.57 ± 0.58	10.13 ± 0.66	9.62 ± 0.11	4.03 ± 0.00	4.51 ± 0.06	4.55 ± 0.10	1.20 ± 0.04	0.80 ± 0.02	0.70 ± 0.02
4	12.71 ± 0.76	13.39 ± 0.42	12.83 ± 1.24	4.02 ± 0.00	4.03 ± 0.18	4.15 ± 0.05	1.40 ± 0.08	1.20 ± 0.07	1.40 ± 0.08
5	12.13 ± 0.51	12.47 ± 0.04	12.25 ± 0.28	4.01 ± 0.01	4.20 ± 0.14	4.1 ± 0.02	1.20 ± 0.04	1.00 ± 0.05	1.10 ± 0.04
6	13.17 ± 1.42	12.18 ± 0.87	11.44 ± 1.46	4.08 ± 0.08	4.19 ± 0.14	4.08 ± 0.02	1.40 ± 0.00	1.50 ± 0.00	1.20 ± 0.16
7	9.79 ± 0.51	9.84 ± 2.20	9.40 ± 0.9	4.08 ± 0.01	4.22 ± 0.14	4.12 ± 0.01	1.50 ± 0.07	1.20 ± 0.06	1.30 ± 0.06
8	9.93 ± 0.46	8.91 ± 1.40	10.49 ± 0.62	4.04 ± 0.06	4.18 ± 0.1	4.10 ± 0.00	1.20 ± 0.11	1.00 ± 0.02	1.10 ± 0.04
9	9.33 ± 0.45	9.08 ± 0.22	8.76 ± 1.75	4.04 ± 0.00	4.18 ± 0.14	4.10 ± 0.01	1.10 ± 0.09	0.90 ± 0.16	1.00 ± 0.07
10	8.52 ± 1.09	8.40 ± 0.33	7.62 ± 0.23	4.04 ± 0.00	4.18 ± 0.02	4.10 ± 0.01	1.10 ± 0.07	1.10 ± 0.11	1.00 ± 0.07
11	9.37 ± 0.37	9.11 ± 0.30	8.33 ± 0.37	4.05 ± 0.00	4.20 ± 0.11	4.12 ± 0.01	1.11 ± 0.02	1.11 ± 0.09	0.93 ± 0.16
12	9.55 ± 0.11	9.81 ± 0.11	8.74 ± 0.08	4.08 ± 0.00	4.21 ± 0.13	4.14 ± 0.00	1.05 ± 0.07	1.12 ± 0.07	0.93 ± 0.02

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 18 การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลรีดิวซ์ กิจกรรมอะไมเลสและโปรตีเอส ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้
โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อกรัม)			กิจกรรมอะไมเลส (ยูนิตต่อกรัม)			กิจกรรมโปรตีเอส (ยูนิตต่อกรัม)		
	ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)		
	30	40	50	30	40	50	30	40	50
0	55.73 ± 7.78	69.53 ± 3.24	88.89 ± 5.39	10.65 ± 2.22	14.23 ± 1.61	16.76 ± 2.63	19.07 ± 4.64	17.14 ± 2.46	20.35 ± 2.35
1	67.56 ± 2.17	86.92 ± 3.96	118.46 ± 5.70	12.65 ± 2.48	14.75 ± 0.83	18.92 ± 1.49	21.91 ± 6.1	21.18 ± 3.45	31.81 ± 6.88
2	54.48 ± 5.30	105.91 ± 1.49	104.66 ± 1.35	7.17 ± 0.75	11.27 ± 0.95	15.7 ± 2.58	19.89 ± 2.22	20.81 ± 5.64	29.52 ± 13.46
3	49.14 ± 7.80	82.97 ± 8.98	121.94 ± 8.14	3.65 ± 0.39	7.19 ± 2.75	10.18 ± 2.06	17.78 ± 1.83	26.13 ± 8.1	38.32 ± 4.28
4	44.91 ± 7.60	81.90 ± 9.47	123.98 ± 9.43	2.72 ± 0.34	11.48 ± 1.85	15.64 ± 2.6	8.71 ± 3.09	18.06 ± 2.06	33.55 ± 1.8
5	35.59 ± 4.40	47.56 ± 7.05	81.33 ± 8.80	1.54 ± 0.08	4.23 ± 1	6.86 ± 1.61	7.33 ± 4.45	12.19 ± 3.71	22.37 ± 2.4
6	25.56 ± 3.64	42.80 ± 5.22	65.13 ± 5.75	1.45 ± 0.44	3.69 ± 1.29	4.42 ± 0.93	10.54 ± 2.4	10.18 ± 3.45	14.48 ± 2.67
7	22.26 ± 3.77	33.37 ± 2.73	55.73 ± 7.65	3.04 ± 1.82	3.26 ± 0.96	4.64 ± 0.55	23.1 ± 2.44	16.59 ± 1.95	24.57 ± 3.28
8	23.30 ± 1.34	42.65 ± 4.36	75.99 ± 6.70	1.31 ± 0.33	2.9 ± 0.7	4.1 ± 0.02	24.2 ± 0.78	14.85 ± 2.87	29.24 ± 6.59
9	17.85 ± 2.79	40.93 ± 8.72	71.83 ± 2.95	3.33 ± 3.31	3.25 ± 0.77	5.01 ± 0.51	11.18 ± 0.42	14.85 ± 6.12	18.06 ± 2.21
10	21.90 ± 9.13	42.11 ± 5.09	65.7 ± 4.26	1.28 ± 0.37	3.61 ± 0.72	3.63 ± 1.5	11.73 ± 4.89	11.64 ± 1.24	15.22 ± 4.78
11	11.61 ± 1.04	47.56 ± 2.97	66.67 ± 0.86	1.15 ± 0.1	2.77 ± 0.24	3.65 ± 0.85	11.83 ± 1.8	11.09 ± 3.39	16.41 ± 6.37
12	9.21 ± 1.10	38.85 ± 3.01	46.45 ± 0.39	1.1 ± 0.16	2.35 ± 0.03	3.34 ± 0.87	8.71 ± 1.11	9.35 ± 4.82	11 ± 4.69

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 19 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดอะมิโนอิสระและปริมาณอัลกอฮอล์ ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้
โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ (มิลลิกรัมต่อกรัม)			ปริมาณอัลกอฮอล์ (ร้อยละ)		
	ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)		
	30	40	50	30	40	50
0	15.31 ± 4.60	18.44 ± 10.56	13.23 ± 5.96	0.75 ± 0.1	0.61 ± 0.05	0.77 ± 0.33
1	89.06 ± 26.03	46.88 ± 15.97	44.90 ± 18.66	1.93 ± 0.06	0.87 ± 0.13	0.93 ± 0.14
2	119.69 ± 14.12	63.96 ± 14.72	71.78 ± 23.37	3.3 ± 0.02	2.86 ± 3.74	2.66 ± 0.08
3	137.08 ± 33.49	122.08 ± 25.00	165.31 ± 31.10	3.38 ± 0.08	0.86 ± 0.55	1.98 ± 0.23
4	132.60 ± 13.31	115.94 ± 37.51	91.25 ± 27.18	3.28 ± 0.11	2.62 ± 0.33	0.28 ± 0.08
5	127.19 ± 39.92	185.63 ± 50.60	136.56 ± 37.74	2.71 ± 0.15	3.32 ± 0.93	0.9 ± 0.09
6	135.31 ± 56.67	116.88 ± 16.72	181.25 ± 61.17	1.06 ± 0.1	3.43 ± 0.89	3.4 ± 0.25
7	147.92 ± 5.90	161.67 ± 28.37	106.35 ± 25.57	4.28 ± 0.02	2.92 ± 0.8	2.82 ± 0.31
8	147.92 ± 5.90	161.67 ± 28.37	106.35 ± 25.57	1.44 ± 0.06	1.16 ± 0.33	2.01 ± 0.06
9	147.50 ± 62.43	101.25 ± 68.11	98.33 ± 20.32	4.72 ± 0.18	3.2 ± 0.12	1.74 ± 0.22
10	177.71 ± 18.46	133.85 ± 21.87	131.04 ± 17.96	2.79 ± 0.07	1.34 ± 0.12	2.08 ± 0.09
11	158.54 ± 15.32	162.40 ± 41.37	153.54 ± 15.72	3.23 ± 0.07	3.68 ± 0.6	2.85 ± 0.18
12	129.58 ± 22.93	138.65 ± 13.46	147.29 ± 11.53	4.18 ± 0.13	3.93 ± 0.27	3.8 ± 0.35

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 20 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ยีสต์ รา แบคทีเรียกรดแลคติก และ ของเฝ้าเขียวในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้
โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ยีสต์ (log cfu/g)			รา (log cfu/g)			แบคทีเรียกรดแลคติก (log cfu/g)		
	ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)		
	30	40	50	30	40	50	30	40	50
0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	7.18 ± 0.06	7.62 ± 0.14	7.72 ± 0.25	4.4 ± 0.13	5.35 ± 0.26	5.63 ± 0.15
1	0.67 ± 1.15	0 ± 0	2.11 ± 0.1	7.06 ± 0.07	7.08 ± 0.06	7.16 ± 0.08	5.98 ± 0.19	3.81 ± 0.07	4.01 ± 0.43
2	5.38 ± 0.02	5.8 ± 0.18	5.75 ± 0.07	6.06 ± 0.11	5.92 ± 0.15	6.96 ± 0.07	4.42 ± 0.65	4.85 ± 0.54	3.39 ± 0.27
3	4.7 ± 0.32	5.25 ± 0.62	5.3 ± 0.1	3.37 ± 0.61	3.27 ± 0.56	5.13 ± 0.43	5.23 ± 0.35	5.67 ± 0.16	5.39 ± 0.21
4	4.44 ± 0.5	5.11 ± 0.69	5.13 ± 0.23	3.24 ± 0.13	2.95 ± 0.24	5.19 ± 0.61	4.4 ± 0.13	5.35 ± 0.26	5.63 ± 0.15
5	4.67 ± 0.18	3.35 ± 0.63	4.05 ± 0.37	0.9 ± 1.55	2.23 ± 0.48	1.53 ± 1.33	5.25 ± 0.43	4.57 ± 0.1	5.13 ± 0.33
6	3.72 ± 0.12	2.47 ± 0.07	3.23 ± 0.04	0 ± 0	1.39 ± 1.21	2.16 ± 1.88	4.93 ± 0.07	4.3 ± 0.21	4.44 ± 0.16
7	3 ± 0.23	0.77 ± 1.33	2.08 ± 0.43	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4.16 ± 0.16	3.97 ± 0.19	4.42 ± 0.03
8	4.06 ± 0.28	4.68 ± 1.02	3.92 ± 0.11	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	5.18 ± 0.18	5.38 ± 0.12	5.45 ± 0.17
9	2.06 ± 0.1	1.54 ± 1.47	0.56 ± 0.98	2.14 ± 1.93	3.06 ± 2.69	3.07 ± 2.67	2.84 ± 0.17	3.19 ± 0.24	3.76 ± 0.13
10	1.46 ± 1.28	2.13 ± 0.38	1.64 ± 1.43	1.33 ± 1.15	0.56 ± 0.98	0 ± 0	2.98 ± 0.14	3.33 ± 0.45	3.53 ± 0.44
11	3.5 ± 0.78	1.61 ± 1.4	2.34 ± 0.29	3.06 ± 0.1	0.9 ± 1.55	1 ± 1.73	5.06 ± 0.52	3.23 ± 0.08	3.61 ± 0.22
12	3.72 ± 0.44	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	3.28 ± 0.03	3.17 ± 0.03	3.49 ± 0.16

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 21 การเปลี่ยนแปลงของค่าสีของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิที่ใช้โคจิข้าวเหนียวในปริมาณที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ค่าสี								
	ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)								
	30			40			50		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	41.29 ± 0.19	5.39 ± 0.45	30.91 ± 1.19	41.35 ± 0.7	5.39 ± 0.59	30.04 ± 0.68	40.51 ± 0.51	5.16 ± 0.39	31.49 ± 0.57
1	42.08 ± 1.07	5.52 ± 0.74	29.06 ± 0.99	40.14 ± 0.75	5.31 ± 0.27	29.8 ± 0.08	40.43 ± 1.04	6.95 ± 0.32	33.65 ± 0.98
2	31.84 ± 0.4	5.13 ± 0.92	29.05 ± 1.42	30.33 ± 0.38	3.98 ± 0.48	28.23 ± 1.15	30.85 ± 0.4	3.83 ± 0.46	29.78 ± 1.49
3	33.1 ± 0.19	4.22 ± 0.47	25.44 ± 0.46	32.99 ± 0.66	5.57 ± 0.93	26.47 ± 0.26	31.03 ± 0.21	4.39 ± 0.66	28.92 ± 1.17
4	33.91 ± 1.03	8.61 ± 0.64	26.46 ± 0.85	32.62 ± 0.92	7.43 ± 0.69	26.74 ± 0.32	35.65 ± 0.88	9.99 ± 0.34	31.39 ± 0.46
5	29.78 ± 1.05	9.35 ± 0.42	28.09 ± 0.56	27.36 ± 0.56	6.78 ± 0.55	26.72 ± 1.26	30.44 ± 0.74	10.09 ± 0.5	29.64 ± 0.67
6	33.41 ± 0.09	9.91 ± 0.73	28.46 ± 0.4	29.52 ± 0.97	6.61 ± 0.41	25.96 ± 0.94	32.92 ± 0.95	10.8 ± 0.44	31.68 ± 0.72
7	34.82 ± 0.84	11.02 ± 0.55	27.44 ± 0.43	29.77 ± 1.09	6.52 ± 0.91	23.07 ± 1.06	33.85 ± 0.25	12.2 ± 0.69	30.51 ± 0.88
8	29.58 ± 0.57	9.6 ± 0.67	28.89 ± 0.4	26.36 ± 0.59	7.68 ± 0.97	25.36 ± 0.7	29.38 ± 0.38	10.74 ± 0.57	30.1 ± 0.41
9	33.79 ± 0.57	9.44 ± 0.43	30.31 ± 0.63	29 ± 0.61	7.00 ± 1.02	27.11 ± 0.96	33.5 ± 0.56	10.42 ± 0.35	33.57 ± 0.36
10	32.56 ± 0.27	7.76 ± 0.68	26.14 ± 0.83	28.41 ± 0.42	5.42 ± 1.25	24.37 ± 2.34	31.72 ± 0.1	8.02 ± 0.74	29.89 ± 0.18
11	32.55 ± 0.09	7.72 ± 0.44	26.95 ± 1.82	28.12 ± 0.89	5.91 ± 0.72	23 ± 0.53	32.17 ± 0.58	8.52 ± 0.29	29.88 ± 0.38
12	32.38 ± 0.07	7.33 ± 0.62	29.96 ± 0.44	27.46 ± 0.05	4.88 ± 0.68	22.72 ± 0.02	32.16 ± 0.43	8.43 ± 0.39	29.53 ± 1.12

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 22 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ ค่าความเป็นกรด-เบส และปริมาณกรดแลคติก ของเต้าเจี้ยว
ในระหว่างการหมักโมโรมิโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำเกลือที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)			ค่าความเป็นกรด-เบส			ปริมาณกรดแลคติก 6.48 (ร้อยละ)		
	ความเข้มข้นน้ำเกลือ (ร้อยละ)			ความเข้มข้นน้ำเกลือ (ร้อยละ)			ความเข้มข้นน้ำเกลือ (ร้อยละ)		
	10	13	16	10	13	16	10	13	16
0	4.68 ± 0.07	5.36 ± 0.11	7.18 ± 0.37	5.64 ± 0.10	5.66 ± 0.08	5.94 ± 0.57	0.14 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.14 ± 0.00
1	11.2 ± 0.84	10.2 ± 0.35	10.18 ± 0.08	3.84 ± 0.11	4.26 ± 0.06	5.17 ± 0.08	1.04 ± 0.19	0.78 ± 0.04	0.30 ± 0.04
2	4.38 ± 0.67	5.94 ± 0.88	7.55 ± 1.12	3.63 ± 0.05	3.61 ± 0.02	4.28 ± 0.08	1.31 ± 0.13	1.33 ± 0.13	0.91 ± 0.10
3	4.87 ± 0.30	5.11 ± 0.29	7.31 ± 0.73	3.68 ± 0.05	3.63 ± 0.03	4.03 ± 0.10	1.82 ± 0.12	1.59 ± 0.11	1.35 ± 0.08
4	3.65 ± 0.25	4.58 ± 0.61	5.50 ± 0.37	3.73 ± 0.04	3.68 ± 0.02	4.34 ± 0.51	1.70 ± 0.25	1.39 ± 0.11	1.14 ± 0.11
5	5.87 ± 1.76	6.96 ± 0.84	12.74 ± 1.26	3.75 ± 0.05	3.71 ± 0.02	3.91 ± 0.08	1.63 ± 0.17	1.83 ± 0.35	1.39 ± 0.04
6	6.06 ± 0.29	6.26 ± 1.03	10.08 ± 0.48	3.79 ± 0.04	3.77 ± 0.02	4.01 ± 0.04	1.58 ± 0.07	1.55 ± 0.15	1.30 ± 0.19
7	7.06 ± 1.00	8.40 ± 0.07	8.01 ± 0.86	3.77 ± 0.03	3.74 ± 0.04	3.99 ± 0.05	1.80 ± 0.27	1.81 ± 0.11	0.96 ± 0.25
8	7.09 ± 0.58	8.57 ± 0.04	8.77 ± 0.19	3.77 ± 0.03	3.74 ± 0.04	3.98 ± 0.04	1.82 ± 0.25	1.84 ± 0.14	1.03 ± 0.29
9	4.14 ± 0.57	5.94 ± 0.21	7.23 ± 0.39	3.75 ± 0.04	3.72 ± 0.03	3.95 ± 0.04	1.65 ± 0.30	1.56 ± 0.19	1.09 ± 0.14
10	4.21 ± 0.36	4.93 ± 2.67	7.89 ± 0.13	3.75 ± 0.03	3.71 ± 0.02	3.98 ± 0.05	1.73 ± 0.13	2.14 ± 0.44	1.14 ± 0.14
11	4.60 ± 0.07	5.01 ± 2.77	7.96 ± 0.26	3.76 ± 0.03	3.74 ± 0.03	3.99 ± 0.02	1.69 ± 0.08	2.07 ± 0.48	1.10 ± 0.11
12	4.85 ± 0.04	5.48 ± 0.15	7.65 ± 0.65	3.78 ± 0.03	3.74 ± 0.03	4.00 ± 0.03	1.60 ± 0.09	1.95 ± 0.05	1.38 ± 0.09

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 23 การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลรีดิวซ์ กิจกรรมอะไมเลสและโปรตีนเอส ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำเกลือที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อกรัม)			กิจกรรมอะไมเลส (ยูนิตต่อกรัม)			กิจกรรมโปรตีนเอส (ยูนิตต่อกรัม)		
	ความเข้มข้นน้ำเกลือ (ร้อยละ)			ความเข้มข้นน้ำเกลือ (ร้อยละ)			ความเข้มข้นน้ำเกลือ (ร้อยละ)		
	10	13	16	10	13	16	10	13	16
0	95.81 ± 29.62	108.06 ± 18.35	115.84 ± 4.41	11.77 ± 2.37	11.36 ± 1.30	10.17 ± 1.52	46.57 ± 4.48	21.82 ± 4.61	27.68 ± 7.08
1	124.55 ± 21.21	104.44 ± 7.59	120.57 ± 43.17	10.67 ± 2.39	10.08 ± 1.97	10.30 ± 4.27	75.17 ± 16.90	68.66 ± 13.95	67.28 ± 7.23
2	88.67 ± 33.99	119.07 ± 11.30	138.39 ± 8.66	3.35 ± 1.36	5.55 ± 1.98	8.72 ± 1.24	67.10 ± 10.40	28.14 ± 4.26	46.02 ± 5.98
3	25.48 ± 27.53	81.86 ± 37.03	106.99 ± 7.23	1.60 ± 1.41	5.08 ± 0.76	16.15 ± 2.05	27.78 ± 6.03	21.63 ± 10.32	37.86 ± 28.14
4	2.58 ± 1.12	20.36 ± 11.58	71.58 ± 15.64	0.16 ± 0.04	0.88 ± 0.63	5.87 ± 0.46	27.04 ± 7.64	59.13 ± 7.07	46.38 ± 12.84
5	0.50 ± 0.87	23.51 ± 14.06	97.38 ± 10.68	0.06 ± 0.05	1.16 ± 0.78	6.68 ± 1.77	17.51 ± 7.61	54.82 ± 10.32	67.28 ± 14.39
6	1.54 ± 0.12	15.77 ± 4.73	81.90 ± 10.45	0.14 ± 0.01	0.96 ± 0.12	5.40 ± 0.48	12.74 ± 5.20	42.17 ± 3.48	59.13 ± 7.87
7	25.48 ± 27.53	81.86 ± 37.03	106.99 ± 7.23	1.60 ± 1.41	5.08 ± 0.76	16.15 ± 2.05	14.30 ± 1.98	28.69 ± 4.58	31.63 ± 3.88
8	15.73 ± 14.95	69.96 ± 30.72	95.30 ± 12.73	1.30 ± 1.34	4.35 ± 0.18	14.82 ± 2.18	9.81 ± 4.28	26.58 ± 2.14	38.04 ± 5.62
9	5.36 ± 2.22	27.37 ± 24.13	80.97 ± 39.99	0.25 ± 0.09	1.16 ± 0.41	1.53 ± 0.29	34.19 ± 25.31	38.23 ± 8.73	17.05 ± 8.10
10	5.35 ± 1.12	17.73 ± 19.76	57.45 ± 24.20	0.16 ± 0.06	1.10 ± 0.84	2.01 ± 0.49	34.74 ± 16.89	28.97 ± 18.19	19.34 ± 14.10
11	4.69 ± 0.85	10.68 ± 7.80	43.51 ± 6.60	0.17 ± 0.01	1.03 ± 0.92	2.53 ± 2.32	10.73 ± 2.44	25.67 ± 10.41	29.33 ± 14.47
12	10.22 ± 5.81	42.72 ± 1.25	82.94 ± 5.88	0.60 ± 0.45	3.48 ± 0.74	5.91 ± 0.70	11.64 ± 4.65	18.52 ± 15.34	30.07 ± 9.65

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 24 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดอะมิโนอิสระ และปริมาณอัลกอฮอล์ ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำเกลือที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ (มิลลิกรัมต่อกรัม)			ปริมาณอัลกอฮอล์ (ร้อยละ)		
	ความเข้มข้นน้ำเกลือ (ร้อยละ)			ความเข้มข้นน้ำเกลือ (ร้อยละ)		
	10	13	16	10	13	16
0	10.83 ± 2.66	18.02 ± 4.45	16.04 ± 3.13	0.12 ± 0.03	0.75 ± 0.06	0.64 ± 0.10
1	75.73 ± 14.74	57.81 ± 31.15	65.31 ± 16.10	4.18 ± 0.96	2.13 ± 1.13	2.57 ± 0.37
2	116.98 ± 3.46	84.48 ± 7.20	75.83 ± 10.52	0.47 ± 0.08	0.65 ± 0.08	1.39 ± 0.14
3	372.71 ± 139.11	358.02 ± 38.56	203.02 ± 83.21	8.39 ± 0.28	3.54 ± 0.60	1.27 ± 0.80
4	203.65 ± 27.36	286.25 ± 70.10	220.10 ± 85.50	4.97 ± 0.22	3.10 ± 0.21	1.85 ± 1.32
5	259.69 ± 62.69	242.71 ± 36.88	228.54 ± 56.72	3.21 ± 0.62	3.61 ± 0.99	2.53 ± 0.69
6	289.79 ± 111.59	269.69 ± 87.53	330.63 ± 10.16	6.04 ± 1.66	7.37 ± 1.05	5.99 ± 1.11
7	302.71 ± 111.39	282.71 ± 87.05	343.85 ± 10.34	6.96 ± 0.95	7.91 ± 0.78	7.92 ± 0.90
8	272.29 ± 99.73	185.52 ± 37.59	237.08 ± 86.54	7.70 ± 0.57	6.48 ± 1.09	4.81 ± 0.19
9	285.52 ± 99.87	206.04 ± 24.31	250.52 ± 86.85	7.91 ± 2.45	12.06 ± 4.69	5.97 ± 0.20
10	284.17 ± 139.99	312.40 ± 142.24	260.63 ± 28.69	8.73 ± 1.51	6.51 ± 0.31	6.02 ± 0.17
11	302.29 ± 133.66	325.63 ± 142.35	273.54 ± 28.82	8.28 ± 0.12	6.96 ± 1.55	4.83 ± 0.05
12	251.04 ± 17.04	344.48 ± 45.04	398.96 ± 49.68	6.48 ± 0.61	4.45 ± 1.36	3.19 ± 0.28

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 25 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ ยีสต์ รา และ แบคทีเรียกรดแลกติก ของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำเกลือที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ยีสต์ (log cfu/g)			รา (log cfu/g)			แบคทีเรียกรดแลกติก (log cfu/g)		
	ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)			ปริมาณโคจิ (ร้อยละ)		
	10	13	16	10	13	16	10	13	16
0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	6.64 ± 0.22	6.71 ± 0.19	6.96 ± 0.15	6.30 ± 0.04	6.43 ± 0.04	6.58 ± 0.14
1	3.95 ± 0.66	3.39 ± 0.28	0.00 ± 0.63	4.41 ± 0.28	7.26 ± 0.28	7.32 ± 1.37	5.76 ± 0.33	6.94 ± 0.15	6.48 ± 0.84
2	6.37 ± 0.10	5.58 ± 0.32	4.35 ± 0.69	0.00 ± 0.00	1.23 ± 2.13	7.63 ± 0.98	6.27 ± 0.42	6.45 ± 0.23	5.39 ± 0.23
3	6.45 ± 0.18	6.29 ± 0.08	6.02 ± 0.14	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	4.42 ± 0.83	6.99 ± 0.10	6.83 ± 0.26	5.83 ± 0.06
4	6.85 ± 0.40	7.02 ± 0.14	6.99 ± 0.24	6.21 ± 0.24	5.11 ± 0.11	3.65 ± 1.98	4.67 ± 0.49	4.76 ± 0.27	5.10 ± 0.29
5	5.79 ± 0.42	6.30 ± 0.23	6.65 ± 0.18	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	4.22 ± 0.86	5.14 ± 0.72	4.94 ± 0.12
6	4.28 ± 0.36	5.21 ± 0.14	5.43 ± 0.22	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	2.86 ± 0.95	4.34 ± 0.07	4.53 ± 0.15
7	2.37 ± 2.09	4.70 ± 0.58	5.66 ± 0.11	0.90 ± 1.55	0.90 ± 1.55	0.90 ± 1.55	2.50 ± 0.47	3.54 ± 0.54	5.89 ± 0.03
8	0.00 ± 0.00	1.23 ± 2.13	5.68 ± 0.06	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	2.08 ± 0.43	2.79 ± 0.71	4.59 ± 0.18
9	1.85 ± 0.28	2.77 ± 0.23	5.30 ± 0.91	1.13 ± 0.98	1.13 ± 0.98	3.42 ± 0.83	2.04 ± 0.23	2.27 ± 0.46	5.70 ± 0.52
10	2.45 ± 2.14	3.10 ± 0.14	4.27 ± 0.41	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	1.02 ± 0.89	1.95 ± 1.08	2.25 ± 1.10
11	2.27 ± 0.11	0.56 ± 0.00	3.41 ± 3.46	0.00 ± 1.04	0.00 ± 0.00	0.00 ± 3.14	1.17 ± 1.21	2.40 ± 0.00	2.36 ± 4.62
12	2.31 ± 0.28	2.16 ± 0.27	3.51 ± 0.03	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	2.16 ± 0.27	2.52 ± 1.17	2.52 ± 0.11

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 26 การเปลี่ยนแปลงของค่าสีของเต้าเจี้ยวในระหว่างการหมักโมโรมิโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำเกลือที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ค่าสี								
	ความเข้มข้นของน้ำเกลือ (ร้อยละ)								
	10			13			16		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	50.98 ± 1.86	6.89 ± 0.48	32.19 ± 1.61	47.20 ± 2.53	8.77 ± 0.55	33.38 ± 1.59	44.07 ± 0.76	6.86 ± 0.30	33.40 ± 0.50
1	48.87 ± 0.78	9.51 ± 0.80	33.23 ± 0.34	47.86 ± 1.59	8.95 ± 1.30	33.22 ± 0.93	47.85 ± 0.85	8.72 ± 0.59	34.15 ± 0.36
2	46.47 ± 1.08	10.38 ± 0.72	37.07 ± 0.48	43.12 ± 2.22	8.44 ± 0.55	35.70 ± 0.87	42.40 ± 0.92	9.20 ± 0.60	35.70 ± 0.69
3	46.47 ± 0.56	10.66 ± 1.36	34.66 ± 2.39	42.45 ± 2.39	9.36 ± 0.27	32.69 ± 0.28	39.55 ± 0.93	8.96 ± 0.29	33.04 ± 1.17
4	42.48 ± 0.37	5.60 ± 0.78	27.72 ± 0.74	39.53 ± 3.55	5.44 ± 0.30	28.54 ± 0.27	38.25 ± 1.36	8.38 ± 0.15	31.78 ± 0.34
5	43.22 ± 1.28	7.03 ± 0.30	30.49 ± 3.32	41.69 ± 3.46	7.60 ± 0.45	30.32 ± 0.72	39.84 ± 1.01	12.07 ± 0.40	36.03 ± 1.07
6	41.32 ± 1.11	5.19 ± 0.26	27.26 ± 0.85	40.25 ± 2.20	6.28 ± 0.33	28.43 ± 0.48	41.66 ± 2.34	12.03 ± 0.80	35.84 ± 0.88
7	41.21 ± 0.81	6.19 ± 0.14	26.11 ± 0.65	36.83 ± 0.86	6.57 ± 0.67	28.43 ± 0.48	40.21 ± 0.99	12.50 ± 0.64	35.18 ± 1.44
8	41.21 ± 0.38	6.12 ± 0.17	26.19 ± 0.48	36.12 ± 0.64	6.56 ± 0.55	27.54 ± 0.06	40.55 ± 1.25	12.13 ± 0.79	35.15 ± 1.76
9	39.43 ± 0.73	6.85 ± 0.31	23.98 ± 0.54	38.87 ± 1.40	7.40 ± 0.60	25.25 ± 0.49	39.56 ± 0.23	10.86 ± 0.64	28.96 ± 0.52
10	38.86 ± 0.62	6.54 ± 0.61	24.00 ± 0.58	38.39 ± 2.48	6.83 ± 0.66	25.43 ± 0.16	38.93 ± 0.47	9.88 ± 0.65	28.96 ± 0.52
11	40.30 ± 0.56	6.90 ± 0.26	23.16 ± 0.41	37.35 ± 2.39	6.28 ± 0.38	23.39 ± 1.00	39.18 ± 0.36	9.24 ± 0.22	22.11 ± 0.43
12	38.44 ± 1.01	6.48 ± 0.11	23.09 ± 0.41	36.98 ± 1.79	6.53 ± 0.21	23.34 ± 0.59	39.56 ± 0.26	5.45 ± 0.49	22.73 ± 0.03

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางภาคผนวก 27 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และจุลินทรีย์ ของผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวตลอดอายุการเก็บรักษานาน 6 สัปดาห์

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ความเข้มข้นของ น้ำเกลือ (ร้อยละ)	ค่าสี			จำนวนจุลินทรีย์ (log cfu/g)		
		L*	a*	b*	จุลินทรีย์ทั้งหมด	ยีสต์	รา
0	10	37.66 ± 0.2	10.63 ± 0.18	24.66 ± 0.57	ND	ND	ND
	13	37.48 ± 1.02	11.64 ± 0.43	26.53 ± 0.5	ND	ND	ND
	16	36.12 ± 0.44	12.16 ± 0.93	29.57 ± 0.27	ND	ND	ND
2	10	37.53 ± 0.46	10.46 ± 0.16	25.46 ± 0.16	ND	ND	ND
	13	39.29 ± 0.66	11.67 ± 0.50	26.34 ± 0.33	ND	ND	ND
	16	35.43 ± 0.36	11.89 ± 0.51	29.28 ± 0.04	ND	ND	ND
4	10	38.32 ± 1.37	10.61 ± 0.33	24.81 ± 0.26	ND	ND	ND
	13	37.53 ± 0.65	11.12 ± 0.08	26.92 ± 0.81	ND	ND	ND
	16	35.55 ± 0.12	11.81 ± 0.62	29.57 ± 0.33	ND	ND	ND
6	10	38.51 ± 1.36	11.14 ± 0.35	25.28 ± 0.76	ND	ND	ND
	13	38.22 ± 0.88	11.36 ± 0.06	26.88 ± 0.49	ND	ND	ND
	16	35.82 ± 0.2	12.61 ± 0.22	29.64 ± 0.49	ND	ND	ND

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



ภาคผนวก ข
ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวนนทรี จันทร์อนันต์
เกิดเมื่อ	31 พฤษภาคม 2528
ภูมิลำเนา	จังหวัดกาญจนบุรี
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2546 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนกาญจนาภิเษกวิทยาลัย พ.ศ. 2550 วท.บ. (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ
ผลงาน	พ.ศ. 2553 การผลิตโคจิข้าวเหนียวจากเชื้อ <i>Aspergillus oryzae</i> เพื่อใช้ผลิตเต้าเจี้ยว (PRODUCTION OF GLUTINOUS RICE KOJI FROM <i>Aspergillus oryzae</i>) นำเสนอในการประชุมวิชาการ “การเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 4” ณ ห้องพัสดุเมฆินทร์ อาคาร 25 ปี ธุรกิจการเกษตร คณะบริหารธุรกิจ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ วันที่ 1 กันยายน พ.ศ. 2553 พ.ศ. 2553 ผลของเวลานึ่งข้าวเหนียวต่อการผลิตเอนไซม์อะไมเลสและโปรติเอสของรา <i>Aspergillus oryzae</i> ในระหว่างการหมักโคจิเพื่อใช้ผลิตเต้าเจี้ยว (Effect of steaming time of glutinous rice on amylase and protease productions from <i>Aspergillus oryzae</i> during koji fermentation for production of Tao Chiew) นำเสนอในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 36 (วทท 36) ในหัวข้อ “วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อสังคมที่ดีขึ้น” ณ ศูนย์นิทรรศการและการประชุมไบเทค กรุงเทพฯ วันที่ 26-28 ตุลาคม พ.ศ. 2553

ผลงาน

พ.ศ. 2554

EFFECT OF STEAMING TIME OF GLUTINOUS RICE ON
AMYLASE PRODUCTIONS FROM *ASPERGILLUS*
ORYZAE DURING KOJI FERMENTATION

The 4th Congress of the FEMS will be held in the international
city of Geneva from June 26 - 30, 2011

