# คุณค่าทางอาหารและกลิ่นรสของเต้าหู้ยี้ที่หมักแบบธรรมชาติ

# Nutrition and Flavor of Natural Fermented Soybean Curd (Sufu)


**นันทิยา พาหุมันโต**

**Nuntiya Pahumunto**


**วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา**
**วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา**
**มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements**
**for the Degree of Master of Science in Microbiology**
**Prince of Songkla University**
**2552**


**ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์**

**ชื่อวิทยานิพนธ์** คุณค่าทางอาหารและกลิ่นรสของเต้าหู้ยี้ที่หมักแบบธรรมชาติ
**ผู้เขียน** นางสาวนันทิยา พาหุมันโต
**สาขาวิชา** จุลชีววิทยา

---

**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก**

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ สันตินานาเลิศ)

**คณะกรรมการสอบ**

. ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... . .ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรียานุช บวรเรืองโรจน์)

.....กรรมการ
**(รองศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ สันตินานาเลิศ)**

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อโนชา ตั้งโพธิธรรม)

..... กรรมการ
(ดร.อรรถวุฒิ อิ่มพูลทรัพย์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

**ชื่อวิทยานิพนธ์** คุณค่าทางอาหารและกลิ่นรสของเต้าหู้ยี้ที่หมักแบบธรรมชาติ
**ผู้เขียน** นางสาวนันทิยา พาหุมันโต
**สาขาวิชา** จุลชีววิทยา
**ปีการศึกษา** 2552

## บทคัดย่อ

การตรวจวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารโดยประมาณ (proximate analysis) ของตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปจำนวน 4 ตัวอย่างที่ได้รับความพึงพอใจจากผู้ทดสอบ พบว่ามีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่าง 7 - 15 % ปริมาณไขมันอยู่ระหว่ าง 4 - 10% ปริมาณคาร์โบไฮเดรตอยู่ระหว่าง 2 - 16% ปริมาณความชื้นอยู่ระหว่าง 53 - 74 % ปริมาณเถ้าอยู่ระหว่าง 10 -13% ปริมาณเส้นใยอยู่ระหว่าง 0.1 - 1% พลังงานอยู่ระหว่าง 68 -176 กิโลแคลลอรี และปริมาณเกลืออยู่ระหว่าง 10 - 15% การตรวจหาส่วนประกอบกรดอะมิโนของตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปโดยใช้ High Performance Liquid Chromatography Amino Acid Analysis (HPLC, LC-6A) พบว่าปริมาณของกรดอะมิโนของเต้าหู้ยี้แต่ละตัวอย่างแตกต่างกัน ยกเว้น glutamic acid ที่มีปริมาณมากที่สุดในทุกตัวอย่างระหว่าง 430 - 840 mg/100 g ส่วนปริมาณแร่ธาตุของตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป ตรวจด้วย Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) พบว่ามีปริมาณแร่ธาตุ 13 ชนิด โดยเรียงตามลำดับจากปริมาณมากไปน้อยดังนี้ Na, K, Ca, Mg, Al, Fe, Mn, Cu, Zn, As, Ni, Cd และ Cr

การตรวจหากลิ่นรสในรูปแบบของสารระเหยและกรดอินทรีย์ของตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป 9 ตัวอย่างและเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก 3 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค Headspace Solid Phase Micro-Extraction (Head - SPME) และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) พบว่าเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป มีสารระเหยและกรดอินทรีย์ทั้งหมด 74 ชนิด ได้แก่ กรด 12 ชนิด, แอลกอฮอล์ 5 ชนิด, เอสเทอร์ 17 ชนิด , แอลดีไฮด์ 3 ชนิด, แอลเคน 2 ชนิด, เอมีน 5 ชนิด, สารประกอบไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว 12 ชนิด, คีโตน 2 ชนิด, สารประกอบไนโตรเจน 6 ชนิดและ สารประกอบอื่น ๆ 10 ชนิด และเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักมีสารระเหยและกรดอินทรีย์ทั้งหมด 53 ชนิด ได้แก่ กรด 9 ชนิด, แอลกอฮอล์ 5 ชนิด , เอสเทอร์ 24 ชนิด, แอลดีไฮด์ 1 ชนิด, แอลเคน 1 ชนิด, เอมีน 3 ชนิด, สารประกอบไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว 3 ชนิด, ฟูแรน 1 ชนิด, คีโตน 2 ชนิด และสารประกอบอื่น ๆ 4 ชนิด ส่วนการศึกษาบทบาทของโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติก 3 สายพันธุ์ที่แยกได้จากกระบวนการหมักเต้าหู้ยี้และสายพันธุ์มาตรฐาน 2 สายพันธุ์ ตรวจพบสารระเหยและกรดอินทรีย์ทั้งหมด 29 ชนิดโดยพบว่า *Tetragenococcus halophilus* PS1231 ผลิตสาร 4 ชนิด (n-butanol

และเอสเทอร์ 3 ชนิด ), *Lactobacillus acidipiscis* PS1240 ผลิตสาร 6 ชนิด (cyclohexanepropionic acid, lactic acid, n-butanol, เอสเทอร์ 3 ชนิด) และ *Lactobacillus curvatus* PS1243 ผลิตสาร 13 ชนิด (acetic acid, lactic acid, n-butanol, เอสเทอร์ 10 ชนิด) *Pediococcus halophilus* TISTR334 ผลิตสาร 15 ชนิด (acetic acid, lactic acid, เอสเทอร์ 13 ชนิด) และ *Lactobacillus plantarum* TISTR862 ผลิตสาร 12 ชนิด (acetic acid, lactic acid, คีโตน 5 ชนิด, เอสเทอร์ 10 ชนิด) โดยมี acetic acid และ lactic acid เป็นสารที่พบบ่อย

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปโดยวิธี Hedonic test ซึ่งเป็นการทดสอบด้วยการชิมแล้วแสดงความชอบหรือไม่ชอบและรับรู้รสผลิตภัณฑ์โดยรวม โดยใช้ 9 – point hedonic scale วิเคราะห์ด้วย SPSS พบว่าเต้าหู้ยี้ที่มีความชอบรวมระดับความพึงพอใจมากที่สุด และความเป็นไปได้ในการซื้อคือเต้าหู้ยี้ สำเร็จรูป อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร (CSF2, เต้าหู้ยี้แดง)

| | |
|---|---|
| **Thesis Title** | Nutrition and Flavor of Natural Fermented Soybean Curd (Sufu) |
| **Author** | Miss Nuntiya Pahumunto |
| **Major Program** | Microbiology |
| **Academic Year** | 2009 |

## ABSTRACT

The nutritional proximate analysis of 4 commercial Sufu samples having the highest scores of overall acceptance possessed protein content between 7 - 15 %, total fat 4 – 10%, carbohydrate 2 -16 %, moisture 53 -74%, ash 10 -13%, fiber 0.1 - 1%, energy 68 - 176 kcal and salt (NaCl) 10 - 15%. For the amino acid profiles, analyzed by High Performance Liquid Chromatography Amino Acid Analysis (HPLC, LC-6A), the commercial Sufu samples had different amino acid quantities except glutamic acid which showed the highest content between 430 - 840 mg/100 g sample . Quantification of metal ions in the commercial Sufu samples by Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) analysis 13 metal ions were found with varies concentration from high to low as follows Na, K, Ca, Mg, Al, Fe, Mn, Cu, Zn, As, Ni, Cd and Cr.

For the flavor of sufu determined as volatile compounds and organic acids using Headspace Solid Phase Micro-Extraction (Head - SPME) and analyzed by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). The commercial Sufu possessed 74 compounds comprising including of 12 acids, 5 alcohols, 17 esters, 3 aldehydes, 2 alkanes, 5 amines, 12 aromatic compounds, 2 ketone, 6 N-containing compounds and 10 other compounds. In contrast, 3 samples the natural fermenting Sufu showed 53 compounds of 9 acids, 5 alcohols , 24 esters, 1 aldehyde, 1 alkane, 3 amines, 3 aromatic compounds, 1 furan, 2 ketones and 4 other compounds. Additionally, the role of three selected potential probiotic lactic acid bacteria and 2 reference strains were evaluated in the production of flavor. A total 29 compounds were detected as follows: *Tetragenococcus halophilus* PS1231 produced 4 compounds (n-butanol and 3 esters), *Lactobacillus acidipiscis* PS1240 produced 6 compounds (cyclohexanepropionic acid, lactic acid, n-butanol and 3 esters), *Lactobacillus curvatus* PS1243 produced 13

compounds (acetic acid, lactic acid, n-butanol and 10 esters), *Pediococcus halophilus* TISTR334 produced 15 compounds (acetic acid, lactic acid, 13 esters) and *Lactobacillus plantarum* TISTR862 produced 12 compounds (acetic acid, lactic acid, 5 ketones, 10 esters). The most frequently compounds were found as acetic acid and lactic acid.

The sensory evaluation of commercial Sufu using hedoic test of 9 – point hedonic scale and analyzed with SPSS showed the commercial Sufu (CSF2, red Sufu) had the highest score of overall acceptance and the likelyhood of purchase preference.

# กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รศ. ดร. ประเสริฐ สันตินานาเลิศ ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการศึกษาค้นคว้าวิจัยและการเขียนวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ขอขอบพระคุณคณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งประกอบด้วย ผศ. ดร.ปรียานุช บวรเรืองโรจน์ และ ผศ. ดร.อโนชา ตั้งโพธิธรรม ที่กรุณาให้คำแนะนำในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณ ดร.อรรถวุฒิ อิ่มพูลทรัพย์ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้กรุณาแก้ไขปรับปรุงให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อและคุณแม่ที่คอยให้กำลังใจและสนับสนุนทุนการศึกษา ขอบคุณพี่และน้อง เพื่อน ๆ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจและคอยให้คำปรึกษาตลอดมา

การวิจัยในครั้งนี้รับทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ปีงบประมาณ 2550 จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

นันทิยา พาหุมันโต

4 พฤษภาคม 2552

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| สารบัญ | (8) |
| รายการตาราง | (9) |
| รายการรูป | (11) |
| สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ | (12) |
| บทที่ | |
| 1. บทนำ | |
| บทนำต้นเรื่อง | 1 |
| ตรวจเอกสาร | 3 |
| วัตถุประสงค์ | 48 |
| 2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ | |
| วัสดุ | 49 |
| อุปกรณ์ | 51 |
| วิธีการทดลอง | 52 |
| 3. ผลการทดลอง | 63 |
| 4. วิจารณ์ผลการทดลอง | 87 |
| 5. สรุปผลการทดลอง | 97 |
| เอกสารอ้างอิง | 99 |
| ภาคผนวก ก | 111 |
| ภาคผนวก ข | 112 |
| ภาคผนวก ค | 126 |
| ประวัติผู้เขียน | 132 |

# รายการตาราง


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | คุณค่าทางโภชนาการของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป | 7 |
| 2 | ปริมาณกรดอะมิโนของตัวอย่างเต้าหู้ยี้ | 8 |
| 3 | ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในถั่วเหลืองเปรียบเทียบกับปริมาณที่ FAO/WHO แนะนำ | 9 |
| 4 | ปริมาณกรดไขมันในน้ำมันถั่วเหลือง | 10 |
| 5 | ปริมาณแร่ธาตุชนิดต่าง ๆ ในร่างกายคน | 11 |
| 6 | สารระเหยที่ตรวจพบในเต้าหู้ยี้แดงและเต้าหู้ยี้ขาว | 20 |
| 7 | กลิ่นรสของสารประกอบในเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป | 21 |
| 8 | คุณค่าทางอาหารของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป | 64 |
| 9 | ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป | 66 |
| 10 | ปริมาณแร่ธาตุในตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป | 68 |
| 11 | ปริมาณแร่ธาตุในตัวอย่างเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักเปรียบเทียบกับเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1) และตัวอย่างเกลือที่ใช้ในการหมักเต้าหู้ยี้ | 70 |
| 12 | การตรวจหาชนิดและปริมาณของสารระเหยและกรดอินทรีย์ในตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป | 73 |
| 13 | การตรวจหาชนิดและปริมาณของสารระเหยและกรดอินทรีย์ในตัวอย่างเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักเปรียบเทียบกับเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1) | 79 |
| 14 | การตรวจหาชนิดและปริมาณของสารระเหยและกรดอินทรีย์ที่ผลิตจากโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติกที่แยกได้จากกระบวนการหมักเต้าหู้ยี้ที่เพาะเลี้ยงใน MRS broth ที่เติมเต้าหู้บด | 82 |
| 15 | ค่าเฉลี่ยของผลการประเมินทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป | 86 |
| 16 | สารให้กลิ่นรสที่ผลิตจากการย่อยสลายกรดอะมิโนโดยแบคทีเรียแลกติกในสภาวะไร้อากาศ | 89 |
| 17 | กลิ่นรสของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป เต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักและโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติก | 92 |

## รายการตาราง (ต่อ)


| ตารางที่ | หน้า |
|---|---|
| 18 ปริมาณแร่ธาตุในตัวอย่างเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก (ถังสุ่ม 1) เปรียบเทียบกับเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1) และตัวอย่างเกลือที่ใช้ในการหมักเต้าหู้ยี้ | 112 |
| 19 ปริมาณแร่ธาตุในตัวอย่างเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก (ถังสุ่ม 2) เปรียบเทียบกับเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1) และตัวอย่างเกลือที่ใช้ในการหมักเต้าหู้ยี้ | 113 |
| 20 การตรวจหาชนิดและปริมาณของสารระเหยและกรดอินทรีย์ในตัวอย่างเต้าหู้ยี้ ในกระบวนการหมัก (ถังสุ่ม 1) เปรียบเทียบกับเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1) | 114 |
| 21 การตรวจหาชนิดและปริมาณของสารระเหยและกรดอินทรีย์ในตัวอย่างเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก (ถังสุ่ม 2) เปรียบเทียบกับเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1) | 116 |
| 22 ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสโดยใช้วิธีทางสถิติ | 119 |

# รายการรูป


| รูปที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | ขั้นตอนการผลิตเต้าหู้ยี้ | 6 |
| 2 | สารยับยั้งที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลกติก | 15 |
| 3 | ประโยชน์ของการบริโภคโปรไบโอติก | 17 |
| 4 | ประเภทและส่วนประกอบของ SPME | 22 |
| 5 | ขั้นตอนการสกัดด้วย SPME | 23 |
| 6 | ขั้นตอนการปล่อยสารระเหยเข้าสู่เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี | 24 |
| 7 | เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสเปกโตเมสทรี | 25 |
| 8 | องค์ประกอบพื้นฐานของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี | 26 |
| 9 | Interpreting spectra | 27 |
| 10 | Library search results | 28 |
| 11 | องค์ประกอบพื้นฐานของแมสสเปกโตรมิทรี | 29 |
| 12 | แสดงการแตกตัวของสารโดยใช้เทคนิค Electron Ionization | 29 |
| 13 | กลไกการเกิด fragment ของ EI และ CI | 30 |
| 14 | แสดงการแตกตัวของสารโดยใช้เทคนิค Chemical Ionization | 30 |
| 15 | Quadrupole Detector | 31 |
| 16 | Electron Multiplier Schematic | 32 |
| 17 | เต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักจากโรงงานเต้าหู้ยี้ใน อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา | 53 |
| 18 | เต้าหู้ยี้สำเร็จรูปจำนวน 9 ตัวอย่างที่จำหน่ายในอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา | 53 |
| 19 | ลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันของแบคทีเรียแลกติก | 60 |
| 20 | รูปร่าง การจัดเรียงตัว และการติดสีกรัมของแบคทีเรียแลกติก | 60 |
| 21 | ชุดการเสริฟในการประเมินทางประสาทสัมผัส | 62 |
| 22 | Total-ion Chromatogram (TIC) of CSF3 (volatile compound) | 72 |
| 23 | Total-ion Chromatogram (TIC) of PS1243+tofu (organic acid) | 73 |
| 24 | ผลผลิตในเมแทบอลิซึมของ amino acids ของแบคทีเรียแลกติก | 90 |

# สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

| | | |
|---|---|---|
| g | = | กรัม |
| kg | = | กิโลกรัม |
| mg | = | มิลลิกรัม |
| µm | = | ไมโครเมตร |
| CFU | = | Colony forming unit |
| $^{\circ}C$ | = | Degree celcius |
| GC | = | Gas Chromatography |
| GC-MS | = | Gas Chromatography-Mass Spectrometry |
| HPLC | = | High Performance Liquid Chromatography |
| pH | = | Hydrogen ion concentration |
| MRS | = | De, Man Rogosa and Sharpe |
| % | = | Percentage |
| SPME | = | Solid Phase Micro-Extraction |

# บทที่ 1

# บทนำ

## บทนำต้นเรื่อง

เต้าหู้ยี้ หรือ Sufu เป็นอาหารหมักพื้นเมืองของชาวจีน โดยนำมาบริโภคร่วมกับข้าวต้มหรือทำเป็นเครื่องปรุงรสในอาหารประเภทสุกี้ เย็นตาโฟ เต้าหู้ยี้เป็นแหล่งอาหารของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน แร่ธาตุ และวิตามิน เต้าหู้ยี้มีรสช าติ กลิ่น สีที่ดี จึงนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย กระบวนการผลิตเต้าหู้ยี้มีหลายวิธีซึ่งแตกต่างกันไปตามสูตรของแต่ละโรงงานเนื่องจากได้รับการถ่ายทอดมาในระบบครอบครัว แต่สำหรับการผลิตเต้าหู้ยี้แบบธรรมชาติทำโดยการเตรียมหัวเชื้อราจากข้าวที่หุงสุกแล้วทิ้งให้เย็น เกลี่ยลงบนกระด้ง วางทิ้งไว้ 7-15 วันในห้องเฉพาะซึ่งมีเชื้อราประจำถิ่นอยู่ในห้องหรือใส่เชื้อ *Actinomucor elegans* จากนั้นนำเต้าหู้ขาว ไปแช่น้ำเกลือ 6% แล้วตัดเป็นชิ้นเล็กขนาด 3 x 3 x 2.5 เซนติเมตร แล้วนำเต้าหู้และหัวเชื้อที่เตรียมไว้เรียงใส่โอ่งที่มีฝาปิด โดยวางเรียงสลับกันระหว่างเต้าหู้และหัวเชื้อพร้อมโรยเกลือ หมักทิ้งไว้กลางแดดเป็นเวลา 9 เดือน จะได้เต้าหู้ยี้เหลืองที่มีกลิ่นรสชาติดี (ประเสริฐ และคณะ , 2548) ส่วนการผลิตเต้าหู้ยี้แดงให้ใส่เชื้อรา *Monascus purpureus* แล้วบ่มต่ออีก 40-60 วัน ซึ่งให้สารสีแดงของ monascarubrin ซึ่งมีกลิ่นเฉพาะทำให้น่ารับประทานยิ่งขึ้น (ลัดดาวัลย์, 2536)

เชื้อจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในเต้าหู้ยี้ ได้แก่ เชื้อรา *A. elegans*, *Mucor sufu*, *M. hiemalis, M. silvaticus*, *M.subtilissimus* , *A. taiwanensis* (Chou *et al.,* 1988) และ *Rhizopus* sp. (Han *et al.,* 2001) ส่วนสกุลของแบคทีเรียที่ตรวจพบ ได้แก่ *Bacillus* และ *Micrococcus* (Han *et al.,* 2001; Han *et al.,* 2004) ประเสริฐ และคณะ (2548) ได้รายงานชนิดของจุลินทรีย์ที่ตรวจพบจากกระบวนหมักเต้าหู้ยี้ที่หมักแบบธรรมชาติของโรงงานเต้าหู้ยี้จังหวัดสงขลา ได้แก่ *Aspergillus, Penicillium, Rhizopus*, *Bacillus*, *Pediococcus* และ *Saccharomyces* นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียแลกติกที่ทนเกลือ (NaCl) ความเข้มข้น 5-10% ตลอดระยะเวลาหมักในปริมาณ $10^3$ ถึง $10^5$ CFU/กรัม และแบคทีเรียแลกติกที่แยกได้เหล่านี้มีสม บัติการเป็นโปรไบโอติกโดยทนกรด ทนเกลือน้ำดี และผลิตกรดแลกติกในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus* และ *Listeria monocytogenes* (สุพรรษา, 2550)

บทบาทของแบคทีเรียในการผลิตสารประกอบที่ให้กลิ่นรสประเภทสาร non-volatile และ volatile นั้น Monte *et al*. (1998) ได้รายงานเกี่ยวกับอาหารหมักประเภทที่ทำจากเนื้อสัตว์ เช่น เนื้อสด ผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก เป็นต้น ว่าแบคทีเรียเป็นตัวผลิต lactic acid และ acetic acid ซึ่งให้รสเปรี้ยว ส่วนโปรตีนและไขมันในกล้ามเนื้อถูกย่อยสลายเป็น peptide และ fatty acids โดยเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่อยู่ภายในเซลล์ (endogeneous enzymes) และเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ผลิตจากแบคทีเรีย ส่วนแบคทีเรียแลกติกมีกิจกรรมย่อยโปรตีนน้อย แต่จะแสดงกิจกรรมย่อยโปรตีนมากขึ้นเมื่อ pH ลดลง ส่วน *Staphylococcus* สามารถผลิตสาร ester และแบคทีเรียแลกติกสามารถผลิต methyl-branched aldehydes และ alcohols และ acids จาก branched-chain amino acids (isoleucine, leucine และ valine) ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารที่ให้กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นผลผลิตของกระบวนการย่อยสลายกรดอะมิโนอิสระ

ดังนั้นจึงนำมาซึ่งความสนใจในการศึกษาบทบาทของแบคทีเรียแลกติก ในการทำให้เกิดกลิ่นรสของเต้าหู้ยี้ โดยศึกษารูปแบบของสารระเหยที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลกติกเปรียบเทียบกับสารระเหยของผลิตภัณฑ์เต้าหู้ยี้สำเร็จรูป และพร้อมกับการตรวจหาคุณค่าทางอาหารของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป ซึ่งจะเป็นส่วนหนึ่งที่ มีอิทธิพลต่อการยอมรับของผู้บริโภคและให้กลิ่นรสที่แตกต่างกันเพื่อการจำแนกคุณภาพของผลิตภัณฑ์ต่อไป

นอกจากนี้ยังไม่มีรายงานการตรวจหาปริมาณแร่ธาตุในเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการจำแนกชนิดเต้าหู้ยี้ที่ผลิตโดยวิธีธรรมชาติที่ทำให้ทราบการปนเปื้ อนหรือการเติมสีที่ไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคหรืออีกนัยหนึ่ง ทำให้ทราบถึงคุณ ภาพเต้าหู้ยี้ว่าเป็นของแท้ที่ผลิตจากการหมักตามธรรมชาติหรือของปลอมที่เจือสารอื่นที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ

**การตรวจเอกสาร**

1. **ชนิดของเต้าหู้ยี้**

1.1 เต้าหู้ยี้แบ่งตามกระบวนการผลิตได้เป็น 4 ชนิด (Han *et al.*, 2001) คือ

1.1.1 เต้าหู้ยี้ที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อรา (Mould-fermented sufu) การผลิตเต้าหู้ยี้ชนิดนี้มี 4 ขั้นตอนใหญ่ๆ คือ การเตรียมเต้าหู้ การเตรียม pehtze (อ่านว่า pizi) โดยการเติมเชื้อราบริสุทธิ์บนก้อนเต้าหู้ การเติมเกลือ และการหมัก

1.1.2 เต้าหู้ยี้ที่ได้ จากการหมักแบบธรรมชาติ (Naturally fermented sufu) การผลิตเต้าหู้ยี้ชนิดนี้มีขั้นตอนการผลิตคล้ายกับเต้าหู้ยี้ที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อรา แต่การเตรียม pehtze ใช้เชื้อที่มีอยู่ในธรรมชาติแทนเชื้อราบริสุทธิ์

1.1.3 เต้าหู้ยี้ที่ได้จากการหมักด้วยแบคทีเรีย (Bacteria-fermented sufu) การผลิตเต้าหู้ยี้ชนิดนี้ ทำได้โดยนำเต้าหู้ไปแช่น้ำเกลือ ปล่อยให้ก้อนเต้าหู้ดูดซับน้ำเกลือประมาณ 2 วันแล้วเติมเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ เช่น *Bacillus* sp. หรือ *Micrococcus* sp. แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30-38°C เป็นเวลา 7 วัน นำมาทำให้แห้งที่อุ ณหภูมิ 50-60°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วหมักเป็นเวลา 3 เดือน

1.1.4 เต้าหู้ยี้ที่ได้จากการหมักด้วยเอนไซม์ (Enzymatically ripened sufu) เนื่องจากก้อนเต้าหู้ที่ใช้ในการผลิตไม่ได้ผ่านการหมักด้วยจุลินทรีย์มาก่อน ดังนั้นในกระบวนการหมักจึงใช้ระยะเวลาในการหมักค่อนข้างนาน คือ ประมาณ 6-10 เดือน และมีการเติมหัวเชื้อ (koji) เพื่อช่วยในการย่อยสลายสับสเตรทในกระบวนการหมัก

1. 2 เต้าหู้ยี้แบ่งตามสี กลิ่นรส ได้ 4 ชนิด คือ

1.2.1 เต้าหู้ยี้แดง (Red sufu) ส่วนผสมหลักของเต้าหู้ยี้แดงประกอบด้วย เกลือ อังกั๊ก ได้มาจากการหมัก ข้าวด้วยเชื้อราในสกุล *Monascus* spp. เช่น *M. purpureus* ซึ่งเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดกลิ่นเฉพาะ และให้สารสีแดง

1.2.2 เต้าหู้ยี้ขาว (เต้าหู้ยี้เหลือง ) (White sufu) ส่วนผสมของเต้าหู้ยี้ขาวเหมือนกับส่วนผสมของเต้าหู้ยี้แดง แต่แตกต่างกันตรงที่เต้าหู้ยี้ขาวไม่ได้เติ มอังกั๊ก ซึ่งทำให้เต้าหู้ยี้มีสีเหลืองสว่างทั้งภายใน และที่ผิว และเต้าหู้ยี้ขาวมีปริมาณเกลือน้อยกว่าเต้าหู้ยี้แดง

1.2.3 เต้าหู้ยี้เทา (Grey) เต้าหู้ยี้ชนิดนี้มีส่วนผสมของหางนมที่ได้จากการผลิตเต้าหู้ เกลือ และพริก จากการที่เต้าหู้ยี้ชนิดนี้มีการเติมหางนม ในกระบวนการหมัก ทำให้แบคทีเรียและราเติบโตได้ดี ส่งผลทำให้เต้าหู้ยี้ชนิดนี้มีกลิ่นรสที่ดี

1.2.4 เต้าหู้ยี้ทั่ว ๆ ไป (Other sufu) เต้าหู้ยี้ชนิดนี้มีการเติมส่วนผสมหลายชนิดแตกต่างกันไป เช่น ผัก ข้าว เบคอน และแอลกอฮอล์ความเข้มข้นสูง

1.3 แบ่งตามขนาดและรูปร่าง เช่น ขนาดใหญ่ ขนาดเล็ก รูปร่างเป็นสี่เหลี่ยม

**2. กระบวนการผลิตเต้าหู้ยี้**

2.1 วัตถุดิบ

2.1.1 ถั่วเหลือง ควรมีเปลือกบาง ขั้วเมล็ดไม่มีสีดำ อายุไม่เกิน 6 เดือน ถ้าเก่ามากจะได้เต้าหู้ปริมาณน้อย

2.1.2 สารตกตะกอน แบ่งเป็น 4 ชนิด

2.1.2.1 สารประกอบคลอไรด์ ได้แก่ แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2.H_2O$) แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) สารพวกนี้จะได้ผลิตภัณฑ์มีรสหอม เนื้อแข็งเหมาะในการทำเต้าหู้ทอด ปริมาณที่ใช้ประมาณ 3% ของน้ำหนักถั่วเหลืองแห้ง

2.1.2.2 สารประกอบซัลเฟต ได้แก่ แคลเซียมซัลเฟต ($CaSO_4.2H_2O$) นิยมใช้กันมากและมีราคาถูกที่สุด คนจีนเรียกว่า “เจี๊ยะกอ” จะให้เต้าหู้มีเนื้อนิ่มเหมาะในการทำเต้าหู้อ่อน เต้าฮวย ปริมาณที่ใช้ประมาณ 2% ของน้ำหนักถั่วเหลืองแห้ง ส่วนแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$) หรือดีเกลือ เป็นสารสีขาว รสขมเฝื่อน เหมาะในการทำเต้าหู้แข็ง

2.1.2.3 กลูโคโน เดลต้า แลคโตน (Glucono delta lactone) ใช้กันอย่างแพร่หลายมากที่สุดในประเทศญี่ปุ่นโดยเฉพาะอย่างยิ่งการทำเต้าหู้แบบบรรจุถุงหรือเต้าหู้หลอดซึ่งใช้ได้ผลดีกว่าตัวตกตะกอนชนิดอื่น แต่มีราคาแพง ปริมาณที่ใช้ในการทำเต้าหู้หลอด 1% ของน้ำหนักถั่วเหลืองแห้ง ให้สี กลิ่น รสชาติ และเนื้อเต้าหู้ยี้ดีที่สุด

2.1.2.4 กรด ที่นิยมใช้มีทั้งกรดอินทรีย์และกรด อนินทรีย์ เช่น กรดเกลือ กรดมะนาว เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการใช้น้ำผลไม้ในการตกตะกอนอีกด้วย เช่น น้ำส้มคั้น น้ำมะนาว และน้ำสับปะรด ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะกรอบ หักง่าย มีรสเฝื่อนเล็กน้อย

2.2 การผลิตเต้าหู้

2.2.1 การเตรียมน้ำนมถั่วเหลือง (ดัดแปลงจาก ลัดดาวัลย์, 2536) ล้างเมล็ดถั่วเหลือง เอาเปลือกออกหรือไม่ก็ได้ นำไปแช่น้ำค้างคืน 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20°C เติมน้ำลงในถั่วเหลืองในอัตราส่วนของน้ำ : ถั่วเหลือง เป็น 10 : 1 บดจนละเอียด นำน้ำเต้าหู้ (น้ำนมถั่วเหลือง) ที่ได้ไปต้มนาน 20 นาที กรองผ่านผ้าขาวบางสองชั้นเพื่อเอาตะกอนที่ไม่ละลายน้ำออก ได้เป็นน้ำนมถั่วเหลือง ทำให้เย็น 80 - 85°C การต้มมีจุดมุ่งหมาย คือ ทำลายสารบางชนิดในถั่วเหลืองที่ทำให้ร่างกายได้ประโยชน์น้อยลง พบว่าอุ ณหภูมิที่เหมาะสมในการรักษาคุณค่าทางอาหารได้มากที่สุด และไม่ทำให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของเต้าหู้เสียไป คือ การใช้ความร้อนประมาณ 93°C 10-15 นาที ทำให้นมมีกลิ่นดีขึ้น เก็บได้นาน สกัดนมได้ง่าย และเปลี่ยนโปรตีนให้อยู่ในรูปที่ตกตะกอนได้ง่าย

2.2.2 การตกตะกอนโปรตีน เป็นขั้นตอนที่สำคัญที่สุด เพราะมีปัจจัยและสภาวะหลายอย่างที่เกี่ยวข้อง อาจมีผลต่อผลิตภัณฑ์ได้แก่ ปริมาณสารที่ตกตะกอนการใช้ปริมาณที่เหมาะสมทำให้ได้หางนมใส ถ้าน้อยเกินไปหางนมจะขุ่นโปรตีนตกตะกอนไม่หมด

แต่ถ้าใช้มากเกินไปปริมาตรของเต้ าหู้จะลดลงเนื้อแข็งและมีรสขม ความเข้มข้นของนมถั่วเหลืองถ้าข้นมากปริมาณสารที่ใช้ก็มากด้วย อุณหภูมิขณะทำการตกตะกอนถ้าอุณหภูมิสูงจะเกิดปฏิกิริยาเร็ว ถ้าใช้สารตกตะกอนน้อยเต้าหู้ที่ได้มีเนื้อแข็งหยาบ การผสมขณะตกตะกอนต้องไม่แรงมากนักถ้าคนแรงมากตะกอนจะแข็งกระด้างและมีฟองอากาศ

2.2.3 การกำจัดหางนมน้ำใส ๆ ที่เหลือจากการจับตัวเป็นก้อนของโปรตีนต้องกำจัดออกไปส่วนหนึ่ง ก่อนที่จะนำก้อนโปรตีนใส่ลงในแบบพิมพ์ จะทำให้เต้าหู้จับตัวเป็นก้อนได้ดีขึ้น และก่อนเข้าแบบพิมพ์ ทำให้เย็นเหลือ 50°C

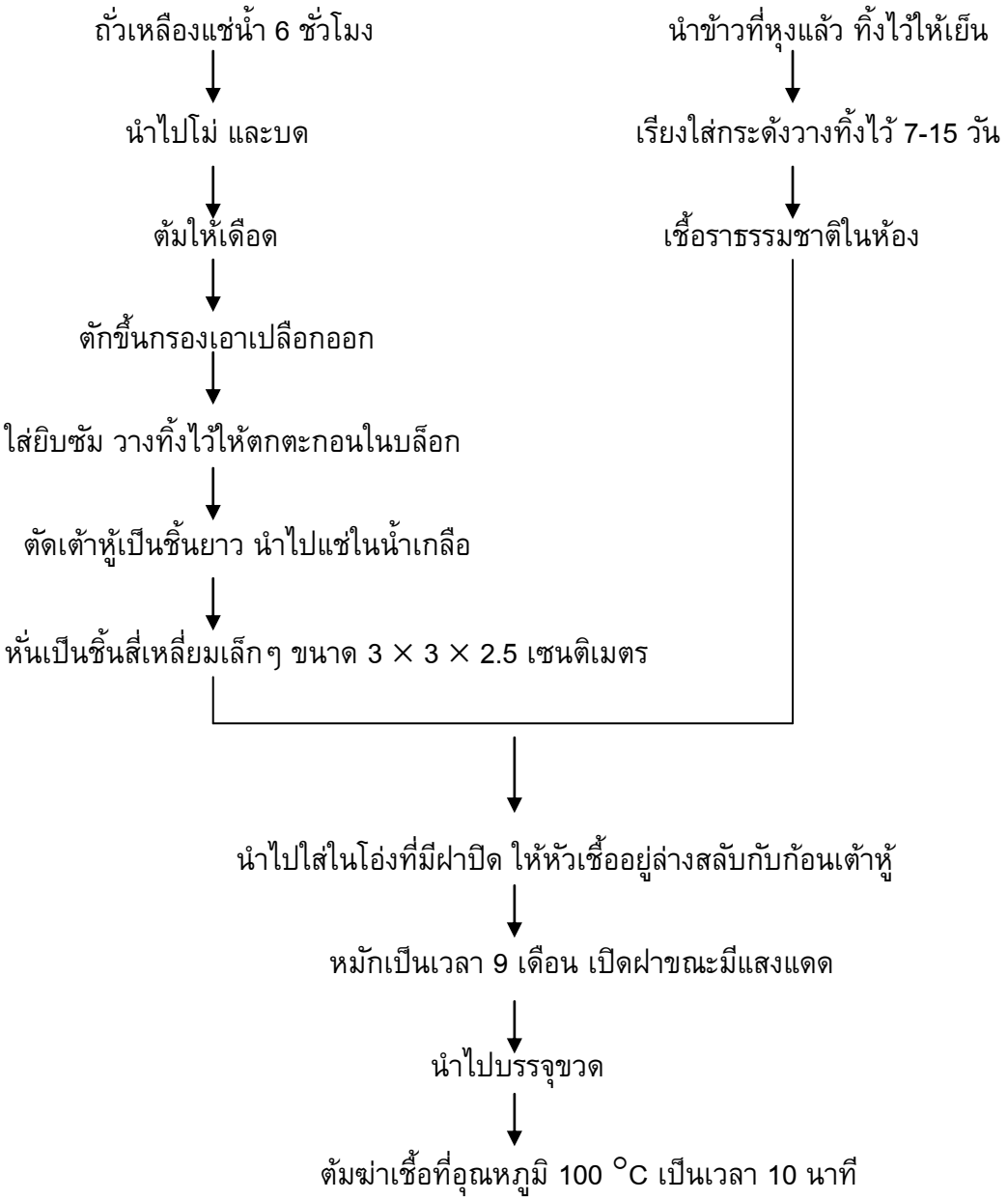
2.2.4 การกดทับ ทำให้โปรตีนจับเป็นก้อนแข็ง ลดความชื้น ระยะแรกกดทับด้วยน้ำหนักน้อยประมาณ 2-4 กรัม/ตารางเซนติเมตร นาน 20-30 นาที หลังจากนั้นยกแบบพิมพ์แช่ลงน้ำเย็น คว่ำเต้าหู้ออก การแช่น้ำจะช่วยให้การแกะออกจากแบบพิมพ์ได้ง่ายโดยไม่ติดผ้า

2.2.5 การผลิตเต้าหู้ยี้ (ประเสริฐ, 2527) ทำได้โดยนำแผ่นเต้าหู้แล้วก็จะนำมาตัดเป็นก้อนที่มีขนาดตามต้องการ จากนั้นจึงนำไปอบฆ่าเชื้อที่ 100°C เป็นเวลา 10 นาที หรือผึ่งแดดจนหมาดๆ จากนั้นก็นำมาใส่เชื้อรา *A. elegans* โดยการเอาเต้าหู้ที่เย็นลงแล้วใส่ในถาดโปร่งปรุเพื่อให้มีอากาศถ่ายเทได้ดี และเพื่อให้เชื้อรา เติบโตรอบก้อนเต้าหู้ จากนั้นนำไปบ่มเพื่อให้เชื้อเติบโตที่อุณหภูมิประมาณ 20°C เป็นระยะเวลา 3 - 7 วัน ซึ่งจะมีเส้นใยของเชื้อราขึ้นเต็มโดยรอบ มีลักษณะสีขาวและมีกลิ่นดี ในช่วงนี้เต้าหู้จะมีความชื้นประมาณ 74% โปรตีนที่ไม่ละลาย 11% โปรตีนละลายได้ 1.3% และไขมันประมาณ 4.3% เมื่อได้เต้าหู้ที่มีเชื้อขึ้นพอดีแล้วก็นำเอาเต้าหู้นี้ไปหมักในน้ำเกลือโดยนำเอาเต้าหู้เรียงในถังหมักโดยรอบข้างและเว้นช่องตรงกลางไว้ การเรียงควรเรียงเป็นชั้นๆ และใช้เกลือโรยรอบๆ เป็นระยะๆ จำนวนเกลือที่ใช้เทียบเป็นปริมาณของน้ำเกลือ 12% และใส่เหล้า องุ่นแดง (หรือไวน์แดง ) ประมาณ 10% และปิดฝาหมักไว้เป็นระยะเวลา 1.5 - 2 เดือน สารเติมแต่งที่อาจใช้เพื่อทำให้เต้าหู้ยี้มีรสดีมากขึ้นและใส่ในช่วงหมักได้แก่ พริกแดง ขิง ผงพะโล้ เต้าเจี้ยวบดและข้าวแดงที่เรียกกันว่า อังกั๊ก เพื่อทำเป็นเต้าหู้ยี้ชนิดสีแดง (ทำจากเ ชื้อ *M. purpureus* ให้สารสีแดงของ Monascarubrin, $C_{22}H_{24}O_5$)

**3. การผลิตเต้าหู้ยี้ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้**

การผลิตเต้าหู้ยี้ ของโรงงานเต้าหู้ยี้ที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้คือ ตัดเต้าหู้แข็งเป็นชิ้นยาว นำไปแช่น้ำเกลือ 6% แล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 3 x 3 x 2.5 เซนติเมตร แล้วเตรียมหัวเชื้อโดยการน้ำข้าวที่หุงสุก วางทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเกลี่ยบนกระด้งวางทิ้งไว้ประมาณ 7 - 15 วัน เพื่อให้เชื้อราตามธรรมชาติในห้องเติบโตได้เต็มที่ นำเต้าหู้และหัวเชื้อเรียงใส่โอ่งที่มีฝาปิด โดยให้ข้าวอยู่ชั้นล่าง วางเรียงสลับกับเต้าหู้ หมักทิ้งไว้ 9 เดือน ระหว่างการหมักเปิดฝา

ขณะมีแสงแดด เติมน้ำที่ผสมน้ำตาลโตนดเป็นระยะ เมื่อครบ 9 เดือน จะได้เต้าหู้ยี้ที่มี กลิ่น รส ดี และมีสีเหลือง นำไปบรรจุขวด แล้วนำไปต้มฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 นาที (รูปที่ 1)




**รูปที่ 1** ขั้นตอนการผลิตเต้าหู้ยี้ของโรงงานเต้าหู้ยี้ จังหวัดสงขลา

**4. คุณค่าทางอาหารของเต้าหู้ยี้**

สารอาหารที่อยู่ในเต้าหู้ยี้ประกอบด้วยโปรตีน ไนโตรเจนมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากพืชตระกูลถั่วชนิดอื่นเช่น miso, natto และสารอาหารที่อยู่ในนมถั่วเหลืองกับเต้าหู้ยี้ล้วนมีความสำคัญต่อผู้บริโภคชาวเอเชียเช่นเดียวกับนมวัวกับชีส ที่มีความสำคัญต่อผู้บริโภคในซีกโลกใต้

คุณค่าทางอาหารของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (ตารางที่ 1) (รายงาน ต่อ100 กรัม น้ำหนักเปียก) ประกอบด้วยโปรตีน 12 - 17 กรัม, ไขมัน 8 - 12 กรัม, เส้นใย 0.2 - 1.5 กรัม, คาร์โบไฮเดรต 6 - 12 กรัม, ขี้เถ้า 4 - 9 กรัม, แคลเซียม 100 - 230 มิลลิกรัม, ฟอสฟอรัส 150 - 300 มิลลิกรัมและเหล็ก 7 - 16 มิลลิกรัม นอกจากนี้ยังมี วิตามิน B1 (thiamine) 0.04 - 0.09 มิลลิกรัม, วิตามิน B2 (riboflavin) 0.13 - 0.36 มิลลิกรัม, วิตามิน B3 (niacin) 0.5 - 1.2 มิลลิกรัมและ วิตามิน B12 (Cyanocobalamine) 1.7 - 2.2 มิลลิกรัม (Han *et al*., 2001)

**ตารางที่ 1** คุณค่าทางอาหารของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป

| Component | Content (% g Sufu fresh weight) |
|---|---|
| Moisture (g) | 58–70 |
| Crude protein (g) | 12–17 |
| Crude lipid (g) | 8–12 |
| Crude fibre (g) | 0.2–1.5 |
| Carbohydrate (g) | 6–12 |
| Ash (g) | 4–9 |
| Calcium (mg) | 100–230 |
| Phosphorus (mg) | 150–300 |
| Iron (mg) | 7–16 |
| Vitamin B1 (Thiamine) (mg) | 0.04–0.09 |
| Vitamin B2 (Riboflavin) (mg) | 0.13–0.36 |
| Vitamin B3 (Niacin) (mg) | 0.5–1.2 |
| Vitamin B12 (Cyanocobalamine) (mg) | 1.7–22 |
| Food energy (KJ) | 460–750 |

ที่มา: Wang and Du (1998) and Su (1986)

**4.1 ปริมาณกรดอะมิโนในเต้าหู้ยี้** มีมากมายหลายชนิดเมื่อผสมรวมอยู่กับเกลือโซเดียมคลอไรด์จะช่วยในด้านรสชาติและรสสัมผัสของเต้าหู้ยี้รวมถึงรสชาติที่ดีในเต้าหู้ยี้ด้วย (Han *et al.,* 2004b)

ปริมาณกรดอะมิโนของเต้าหู้ยี้ (ตารางที่ 2) พบว่า กรดกลูตามิกและกรดแอสพาติกมีปริมาณสูงในเต้าหู้ยี้แดงและเต้าหู้ยี้เทา ซึ่งมีอัตราส่วนระหว่างกรดกลูตามิกและกรดแอสพาติกต่อ ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด อยู่ที่ 30% แสดงว่ากรดอะมิโนทั้ง 2 ชนิดมีบทบาทในการทำให้เกิดกลิ่นรสที่ดีและอร่อยในเต้าหู้ยี้

**ตารางที่ 2** ปริมาณกรดอะมิโนของตัวอย่างเต้าหู้ยี้

| Amino acid | Red Sufu[a] (g/100 g sufu) | Grey Sufu[a] (g/100 g sufu) | Sufu[b] (g/100 g protein) | White Sufu[c] (Molar ratio %) |
|---|---|---|---|---|
| Alanine | 0.32 | 0.70 | 10.0 | 7.0 |
| Arginine | 0.38 | 0.27 | 2.1 | 2.5 |
| Aspartic acid | 1.00 | 0.66 | 5.1 | 13.7 |
| Cystine | 0.59 | 0.20 | 0.4 | - |
| Glutamic acid | 2.15 | 2.08 | 0.6 | 22.0 |
| Glycine | 0.54 | 0.42 | 4.4 | 7.0 |
| Histidine | 0.20 | 0.18 | 1.4 | 1.9 |
| Isoleucine | 0.88 | 0.58 | 4.8 | 4.5 |
| Leucine | 0.81 | 0.95 | 8.8 | 7.6 |
| Lysine | 0.59 | 0.29 | 7.0 | 7.3 |
| Methionine | 0.51 | 0.14 | 0.7 | - |
| Phenylalanine | 0.59 | 0.59 | 4.6 | 2.6 |
| Proline | 0.38 | 0.29 | 2.4 | 7.7 |
| Serine | 0.34 | 0.27 | 2.3 | 5.2 |
| Threonine | 0.45 | 0.23 | 2.0 | 4.1 |
| Tryptophan | 0.09 | 0.05 | 0.6 | - |
| Tyrosine | 0.54 | 0.25 | 2.2 | 1.0 |
| Valine | 0.16 | 0.58 | 5.3 | 5.2 |

ที่มา: [a]Wang (1995) and Wang and Du (1998), [b]Su (1986), [c] Liu and Chou (1994).

เมื่อการเปรียบเทียบกรดอะมิโนที่จำเป็นในถั่วเหลืองกับปริมาณที่ FAO/WHO แนะนำ (ตารางที่ 3) พบว่ากรดอะมิโนในถั่วเหลืองมีปริมาณสูงเนื่องจากในถั่วเหลืองมีโปรตีนสูงถึงร้อยละ 40

**ตารางที่ 3 ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในถั่วเหลืองเปรียบเทียบกับปริมาณที่ FAO/WHO แนะนำ**

| กรดอะมิโน | FAO/WHO<br>มิลลิกรัม/กรัมโปรตีน | ถั่วเหลือง<br>มิลลิกรัม/กรัมโปรตีน |
|---|---|---|
| Isoleucine | 40 | 37 |
| Leucine | 70 | 74 |
| Lysine | 55 | 59 |
| Methionine + Cystine | 35 | 22 |
| Phenylalanine + tyrosine | 60 | 64 |
| Threonine | 40 | 42 |
| Tryptophan | 10 | 15 |
| Valine | 50 | 50 |

ที่มา: http://www.pharm.chula.ac.th/clinic101_5/article/Soy.html

**4.2 ไขมันจากถั่วเหลือง**

ไขมันเป็นส่วนประกอบที่มีปริมาณรองลงมาจากโปรตีน การสะสมปริมาณของไขมันในถั่วเหลืองและปริมาณด้านส่วนประกอบของกรดไขมันในไขมันถั่วเหลืองเป็นผลมาจากคุณสมบัติของพันธุ์ถั่วเหลืองนั้น ๆ สภาพแวดล้อมในช่วงของการสะสมไขมันในเมล็ด โดยเฉลี่ยแล้ว ถั่วเหลือง ที่ผลิตในประเทศไทยจะมีไขมัน 16 - 18 % ซึ่งเมื่อเทียบกับถั่วเหลืองที่ผลิตในสหรัฐอเมริกามีไขมัน18–20%

ปริมาณของกรดไขมันที่พบถั่วเหลืองจะประกอบด้วยไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว และมักจะมีอัตราส่วนค่อนข้างคงที่คือประมาณ 15 ต่อ 85 ดังตารางที่ 4 ในกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว พบว่ามีไขมันชนิดที่ดีและมีประโยชน์ต่อการบริโภค (essential fatty acids) มีอยู่ในปริมาณค่อนข้างสูง คือ 30 - 40 % ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยเฉพาะเป็นพวก oleic acid และ linolenic acid เป็นต้น ไขมันถั่วเหลืองมีคุณค่าทางอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพโดยเมล็ด

ถั่วเหลืองมีเลซิตินสูง 1,480 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม เลซิตินมีประโยชน์ต่อร่างกายของผู้บริโภค คือ ทำหน้าที่เป็นตัวละลายโคเลสเตอรอล ไตรกรีเซอไรด์ และไขมันอื่น ๆ ป้องกันไม่ให้ไขมันไปเกาะติดผนังเลือด ตับและอวัยวะอื่น ๆ ช่วยซ่อมแซมเซลล์ที่สึกหรอ ส่งเสริมการทำงานของเซลล์ให้มีประสิทธิภาพอย่างสม่ำเสมอ ให้ความชุ่มชื้นแข็งแรงโดยเฉพาะกล้ามเนื้อหัวใจ ตับ ไต และต่อมไร้ท่อ ตลอดจนการไหลเวียนของโลหิตดีขึ้น รักษาผิวพรรณ รอยตกกระบนผิวหนัง และป้องกันการเกิดนิ่วในถุงน้ำดี สารสกัดจากเมล็ดถั่วเหลืองชื่อ isoflavones เป็นสารช่วยเพิ่มมวลกระดูกลดความเสี่ยงจากโรคกระดูกพรุน ลดอาการจากสาเหตุการหมดประจำเดือน หรืออาการวัยทอง ลดความเสื่อมจากการเกิดมะเร็งเต้านม มะเร็งต่อมลูกหมากและโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ

**ตารางที่ 4 ปริมาณกรดไขมันในน้ำมันถั่วเหลือง**

| กรดไขมัน | น้ำมันถั่วเหลือง (ร้อยละ) |
|---|---|
| กรดไขมันอิ่มตัว | |
| Palmitic acid ( C 16 : 0) | 11 |
| Stearic acid ( C 18 : 0) | 4 |
| กรดไขมันไม่อิ่มตัว | |
| Oleic acid ( C 18 : 1) | 23 |
| Linoleic acid ( C 18 : 2 w-6) | 51 |
| Linolenic acid ( C 18 : 3 w-3) | 7 |

ที่มา: http://www.pharm.chula.ac.th/clinic101_5/article/Soy.html

**4.3 คาร์โบไฮเดรตในถั่วเหลือง**

สารคาร์โบไฮเดรตที่พบในถั่วเหลืองอาจแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

1. คาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ (water soluble carbohydrates) ส่วนใหญ่ก็จะได้แก่น้ำตาลต่าง ๆ เช่น disaccharide ได้แก่ sucrose ($C_{12}H_{22}O_{11}$), trisaccharide ได้แก่ raffinose ($C_{18}H_{32}O_{16}$), tetrasaccharide ได้แก่ stachyose ($C_{24}H_{42}O_{21}$)
2. คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ละลายน้ำ (water insoluble carbohydrate) ได้แก่ arabinan, arabinogalactan และอาจรวมถึงสารในกลุ่ม pectic

**4.4 แร่ธาตุในถั่วเหลือง**

แร่ธาตุส่วนใหญ่ที่พบในถั่วเหลืองเป็นประเภทโปแทสเซียม, ฟอสฟอรัส, แมกนีเซียม, แคลเซียม, โซเดียม และ ซัลเฟอร์ เป็นต้น โดย แร่ธาตุเป็นสารอาหารอีกประเภทหนึ่งที่ร่างกายต้องการและขาดไม่ได้เพร าะแร่ธาตุบางชนิดเป็นส่วนประกอบของอวัยวะและกล้ามเนื้อบางอย่าง เช่น กระดูก ฟัน เลือด บางชนิดเป็นส่วนของสารต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับการเจริญเติบโตในร่างกาย เช่น ฮอร์โมน เฮโมโกลบิน เอนไซม์ เป็นต้น นอกจากนี้แร่ธาตุยังช่วยในการควบคุมการทำงานของอวัยวะต่าง ๆ ขอ งร่างกายให้ทำหน้าที่ปกติ เช่น ควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อและระบบประสาท การแข็งตัวของเลือด และช่วยควบคุมสมดุลของน้ำในการไหลเวียนของของเหลวในร่างกาย เป็นต้น จากการศึกษาพบว่า ร่างกายคนเรามีแร่ธาตุเป็นส่วนประกอบอยู่ประมาณร้อยละ 4 ของน้ำหนักตัว และต้องกา รแร่ธาตุต่าง ๆ ประมาณ 17 ชนิด ในปริมาณต่างกัน ซึ่งสามารถศึกษาได้จากตารางที่ 5

**ตารางที่ 5** แสดงปริมาณแร่ธาตุชนิดต่าง ๆ ในร่างกายคน ( น้ำหนัก 70 กิโลกรัม )

| แร่ธาตุ | กรัม | แร่ธาตุ | กรัม |
|---|---|---|---|
| แคลเซียม | 1,295 | แมงกานีส | 0.210 |
| ฟอสฟอรัส | 700 | ทองแดง | 0.080 |
| โพแทสเซียม | 245 | ไอโอดีน | 0.028 |
| กำมะถัน | 175 | โคบอลต์ | น้อยมาก |
| โซเดียม | 105 | ฟลูออรีน | น้อยมาก |
| คลอรีน | 105 | โมลิบดินัม | น้อยมาก |
| แมกนีเซียม | 35 | สังกะสี | น้อยมาก |
| เหล็ก | 2.8 | ซีลีเนียม | น้อยมาก |

ที่มา http://www.kr.ac.th/tech/det48m2/f005.html

**5. แบคทีเรียแลกติก**

**5.1 ลักษณะโดยทั่วไป**

แบคทีเรียแลกติกอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียกรัมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างเอนไซม์คาตาเลส ต้องการอากาศน้อย ๆ (microaerophilic) หรือ facultative anaerobe ต้องการอาหารในการเติบโตซับซ้อน ใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งคาร์บอน ทนกรด อุณหภูมิที่เหมาะส มในการเติบโตอยู่ระหว่าง 30 - 44 °C pH ที่เหมาะสม 5.5 - 6.2 นิยมใช้ในกระบวนการผลิตอาหารและผลิตกรดแลกติกเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายในกระบวนการหมัก (du Toit *et al.*, 1998) เซลล์มีรูปร่างกลม หรือเป็นแท่ง บางชนิดเรียงตัวกันสี่เซลล์ เนื่องจากการประยุกต์ใช้ โดยเป็นแบคทีเรียชนิดแรกที่นำมาใช้ในการผลิตทางด้านอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การผลิตผลิตภัณฑ์นมหมัก ผักดอง เนื้อหมัก (Konings, 2002)

**5.2 แหล่งที่พบ**

แบคทีเรียแลกติกมักพบในผลิตภัณฑ์นม ธัญพืช ปลา ไวน์ ผลไม้ น้ำผลไม้ และผักดอง (วิลาวัณย์, 2536) และยังพบเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นในช่องปาก ทางเดินอาหาร และอวัยวะสืบพันธุ์

**5.3 ความต้องการสารอาหาร**

แบคทีเรียแลกติกเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงยากเนื่องจากต้องการอาหารที่เหมาะสมสมบูรณ์ในการเติ บโต (fastidious microorganism) แบคทีเรียแลกติกสามารถใช้น้ำตาลได้หลายประเภทจาก monosaccharide ประเภท pentose (arabinose ribose และ xylose) เป็นต้น และ hexose (frutose และ mannose) disaccharide (maltotriose) และ polymer (แป้ง) นอกจากนี้แบคทีเรียแลกติกสามารถ ใช้คาร์โบไฮเดรตพวก oligosaccharides เช่น raffinose และ fructooligosaccharide เป็นต้น ซึ่งในระบบทางเดินอาหารไม่มีเอนไซม์ที่จะย่อยคาร์โบไฮเดรตชนิดนี้ได้ แบคทีเรียแลกติกต้องการอาหารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบถ้าในอาหารขาดไนโตรเจนทำให้แบคทีเรียแลกติกเติบโตไ ด้น้อยมาก กรดอะมิโนที่แบคทีเรียแลกติกต้องการ คือ serine และ arginine (Salminen and Wright, 1993) วิตามินที่แบคทีเรียแลกติกใช้ในการเติบโตได้แก่ thiamine (B1), riboflavin (B2), pyridoxin (B6), cyanocobalamine (B12) และ nicotinic acid

**5.4 การจัดจำแนกแบคทีเรียแลกติก** (Axelsson, 1993; Kandler and Weiss, 1989)

แบคทีเรียแลกติกประกอบด้วยแบคทีเรียสกุล *Lactobacillus, Lactococcus, Enterococcus, Carnobacterium, Leuconostic, Oenococcus, Pediococcus,*

*Tetragenococcus, Vagococcus*, และ *Weissela* โดยแบคทีเรียแลกติกเหล่านี้แบ่งตามการใช้น้ำตาลได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1. โฮโมเฟอร์เมนเตทีฟแบคทีเรีย (Homofermentative) เป็นแบคทีเรียที่ใช้ (ferment) น้ำตาลกูลโคสผ่าน Embden-Meyerhof-Parnas pathway (EMP) แล้วสร้างกรดแลกติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักปริมาณ ร้อยละ 85 หรือมากกว่าจากการหมักคาร์โบไฮเดรต เติบโตได้ที่ 15 - 45 $^{\circ}$C ได้แก่ *L. sake, L. acidilactici, L.casei* เป็นต้น

2. เฮทเทอโรเฟอร์เมนเตทีฟ (Heterofermentative) เป็นแบคทีเรียพวกที่ใช้น้ำตาลกลูโคสผ่าน phosphogluconate pathway หรือ phosphoketolase pathway แล้วให้กรดแลกติก กรดฟอร์มิก กรด อะซิติ ก เอทธานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ จากการหมักคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ *L. plantarum, L.fermentum, L. brevis* เป็นต้น

## 5.5 โปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติก

### 5.5.1 นิยามโปรไบโอติก

Salminen (2001) ให้คำนิยามโปรไบโอติก คือ อาหารเสริมที่เป็นจุลินทรีย์มีชีวิต มีประโยชน์ต่อมนุษย์ โดยทั่วไปแล้วโปรไบโอติกจะทำงานร่วมกับแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ แบคทีเรียที่นิยมใช้เป็นโปรไบโอติก ได้แก่ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium*

Ljungh และ Wadstrom (2006) ให้คำนิยามโปรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตเข้าไปในร่างกายโดยการกิน และยังคงจำ นวนเดิมในระบบทางเดินอาหาร มีประโยชน์ต่อสุขภาพผู้บริโภค จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติก นอกจากแบคทีเรียแลกติกแล้วยังมียีสต์ เช่น *Saccharomyces boulardii* และแบคทีเรียชนิดอื่น เช่น *Bacillus* sp. และ *Clostridium butyricum*

Parvez และคณะ (2006) ให้คำ นิยามโปรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตบริโภคแล้วก่อให้เกิดผลดีต่อสุข ภาพ โดยมีสมบัติเป็นแหล่งอาหาร ทำให้เกิดสมดุลภายในทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกัน ส่งเสริมการเติบโต และการทำงานของแบคทีเรียในลำไส้ มีการทำงานร่วมกันระหว่างโปรไบโอติก และพรีไบโอติก ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่แบคทีเรียชนิดอื่นไม่สามารถใช้ได้

Ouwehand และคณะ (2002) ให้คำนิยามโปรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตเข้าสู่ร่างกายโดยการกิน มีประโยชน์ต่อสุขภาพผู้บริโภค มีผลเฉพาะที่ หรือระหว่างเดินทางไปยังระบบทางเดินอาหาร โดยทั่วไปแล้วร่างกายควรได้รับโ ปรไบโอติกอย่างน้อย $10^9$ CFU ต่อวัน

**5.5.2 คุณสมบัติหลักของโปรไบโอติก**

5.5.2.1 ทนกรด

ก่อนเข้าสู่ลำไส้ ขั้นแรกโปรไบโอติกแบคทีเรียต้องผ่านกระเพาะอาหาร ซึ่งมีการหลั่งกรดไฮโดรคลอริกและเอนไซม์ ในแต่ละวันกระเพาะอาหารมีการหลั่งกรดมากกว่า 2 ลิตรต่อวัน ส่งผลให้ภายในกระเพาะอาหารมี pH ต่ำกว่า 1.5 เพื่อเป็นการป้องกันแบคทีเรียเข้าสู่ลำไส้ (Morelli, 2000)

5.5.2.2 ทนเกลือน้ำดี

ความสามารถในการอยู่รอดของแบคทีเรียภายใต้สภาวะที่มีเกลือน้ำดีเป็นคุณสมบัติที่สำคัญยิ่งในในการคัดเลือกโปรไบโอติก (Morelli, 2000) เกลือน้ำดีถูกสังเคราะห์ขึ้นที่ตับจากคอเรสเตอรอลแล้วหลั่งไปยังลำไส้เล็กตอนต้น ประมาณ 500 - 700 มิลลิลิตรต่อวัน (Dunne *et al.*, 2001) ความสามารถในการทนเกลือน้ำดีของ *Lactobacilli* ที่แยกจากลำไส้ถึงแม้เป็นชนิดเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์มีความสามารถในการทนแตกต่างกัน

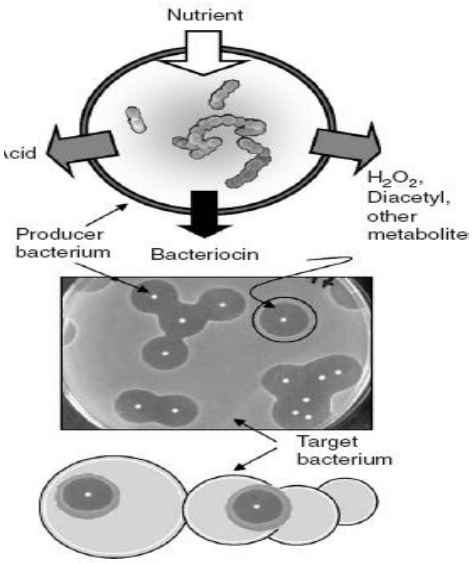
5.5.2.3 เกาะติดผนังลำไส้

ระบบทางเดินอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งลำไส้เล็กมีแรงขับเคลื่อนบีบอัด และมีการไหลเวียนของน้ำย่อยตลอดเวลา ทั้งนี้เพื่อล้างและขับแบคทีเรียที่ปนเปื้อนเข้ามา ดังนั้นความสามารถในการเกาะติดผนังลำไส้ของโปรไบโอติกจึงเป็นสมบัติหนึ่งที่ สำคัญ ในการเพิ่มโอกาสการอยู่รอดและอาศัยอยู่ภายในลำไส้ การเกาะผนังลำไส้ของแบคทีเรียแลกติก มีความสำคัญในการทำให้เกิดสมดุลของแบคทีเรียภายในลำไส้ โดยโปรไบโอติกแบคทีเรียจะไปแย่งจับผนังลำไส้ นอกจากนี้โปรไบโอติกยังช่วยซ่อมแซมเยื่อเมือกที่ถูกทำลาย

5.5.2.4 มีคุณสมบัติเหมาะสมสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ (Ouwehand *et al.*, 2002) โปรไบโอติกที่ดีควรมีคุณสมบัติ 3 ประการ คือไม่มีการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรม ให้ผลผลิตปริมาณมาก ทนออกซิเจน

5.5.2.5 ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค

โปรไบโอติกแบคทีเรียผลิตสารยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนเข้าไปในร่างกายมนุษย์ (Dunne *et al.*, 2001) สารยับยั้งเชื้อก่อโรค (รูปที่ 2) ได้แก่




**รูปที่ 2** สารยับยั้งที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลกติก
**ที่มา**: Deegan และคณะ (2006)

ก. กรดอินทรีย์ (Organic acid)

ชนิดและปริมาณกรดขึ้นกับชนิดและสายพันธุ์ของแบคทีเรียแลกติก ส่วนประกอบของอาหาร สภาวะที่ใช้เลี้ยงเชื้อ (Lindgren and Dobrogosz, 1990) การยับยั้งเชื้อของกรดอินทรีย์เกิดขึ้นเนื่องจากการลดลงของ pH และกรดที่ไม่แตกตัว โดยการลดลงของ pH ทำให้ cytoplasm มีสภาพเป็นกรด ในขณะที่ก รดไม่แตกตัวจะเข้าไปใน cytoplasm ทำให้เสียสมดุลโปรตอนภายในและภายนอกเซลล์ หรือทำให้เยื่อหุ้มเซลล์สูญเสียความสามารถในการควบคุมการเข้าออกของสาร ซึ่งมีผลมาจากการทำลายระบบขนส่งสาร (Russell and Diez-Gonzalez, 1998; Ammor *et al.*, 2006; Makras, 2006)

ข. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$)

แบคทีเรียแลกติกผลิต $H_2O_2$ ในสภาวะที่มีออกซิเจนโดยเอนไซม์ flavoprotein oxidase หรือ nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) peroxidase การยับยั้งเชื้อของ $H_2O_2$ เกิดขึ้นเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยา oxidation ของ sulfhydryl group แล้วส่งผลให้เอนไซม์หลายชนิดถูกทำลาย และจากการเกิดปฏิกิริยา peroxidation ของ membrane lipid ส่งผลให้รูที่เยื่อหุ้มเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น หรือ $H_2O_2$ อาจเป็นสารตัวกลางในการผลิต bactericidal free radicals เช่น superoxide ($O^-_2$) และ hydroxyl ($OH^-$) ซึ่งสามารถทำลาย DNA ของแบคทีเรียก่อโรค (Byczkowski and Gessner, 1988; Ammor *et al.*, 2006)

ค. คาร์บอนไดออกไซด์ ($CO_2$)

คาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลิตภัณฑ์หลักของ heterofermentative lactic acid bacteria กลไกการยับยั้งเชื้อของ $CO_2$ ปัจจุบันยังไม่ทราบแน่ชัด แต่อย่างไรก็ตาม $CO_2$ อาจมี

บทบาทในการเพิ่มสภาวะไร้ออกซิเจน ซึ่งส่งผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ enzymatic decarboxylation และทำให้เกิดการสะสมของ $CO_2$ บริเวณ membrane lipid bilayer แล้วเป็นสาเหตุทำให้การควบคุมการเข้าออกสารมีความผิดพลาด

ง. ไดอะซิทิล (Diacetyl)

ไดอะซิทิล เป็น aroma component ซึ่งมีความสัมพันธ์โดยตรงกับกลิ่นรสของเนยผลิตโดยการใช้ซิเตรตของแบคทีเรียแลกติก ซึ่งมีผลยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียกรัมลบ โดยมีผลต่อ arginine utilization (Ammor *et al.*, 2006) พบว่าแบคทีเรียกรัมลบไวต่อไดอะซิทิลมากกว่าแบคทีเรียกรัมบวก โดยใช้ไดอะซิทิลความเข้มข้น 344 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *Listeria, Salmonella, Yersinia, Escherichia coli* และ *Aeromonas* (Jay, 1982)

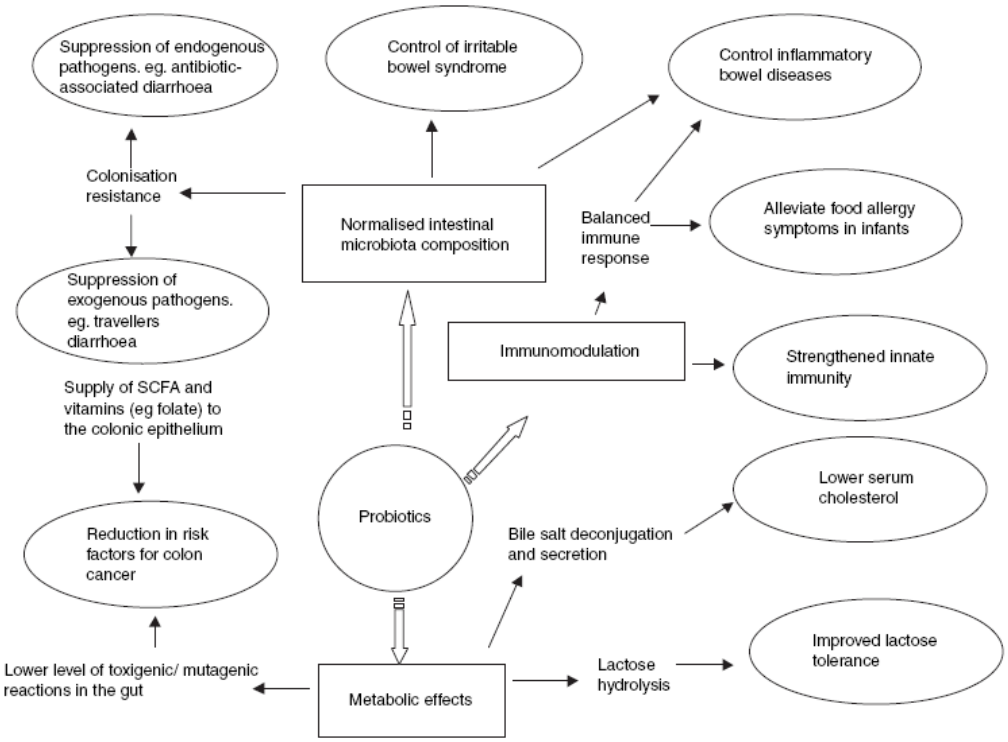
จ. แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin)

แบคเทอริโอซินเป็นสารประเภทโปรตีนสังเคราะห์จากไรโบโซมของแบคทีเรียหลายชนิดโดยเฉพาะแบคทีเรียแลกติก (Klaenhammer *et al.*, 2002) มีความสามารถในการยับยั้งและฆ่าเชื้อก่อโรคทั้งกรัมบวกและกรัมลบ โดยส่วนใหญ่ยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน (Jamuna and Jeevaratnam, 2004; Campos *et al.*, 2006) ในปัจจุบันได้มีการเพิ่มความสนใจใช้แบคเทอริโอซินในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารมากขึ้น เนื่องจากมีความปลอดภัยสูง และเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้ยาปฏิชีวนะ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคเทอริโอซินที่ได้มาจากแบคทีเรียในอาหารหมัก ซึ่งแบคเทอริโอซินสามารถเพิ่มอายุการเก็บรักษาของอาหารได้นานขึ้น โดยจะยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียและแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ เช่น *Pediococcus acidilactici* และ *P. pentosaceus* ที่แยกได้จากชีสผลิต pediocin ที่สามารถยับยั้ง *Lactobacillus lactis* NCDO 176 (Gurira and Buys, 2005), *Enterococcus faecium* OQ31 ที่แยกได้จาก Mexican-style cheese ผลิต enterocin ที่สามารถลดการเจริญของ *L. monocytogenes* (Alvarado *et al.*, 2005), *Leuconostoc mesenteroides* sub sp. *dextranicum* ST 99 ที่แยกได้จากกระบวนการหมักเบียร์ผลิต mesenteriocin ST99 ซึ่งสามารถยับยั้ง *Bacillus subtilis, Enterococcus faecalis, Lactobacillus* spp., *Lactococcus lactis* sub sp.*cremoris, Listeria innocoa, Staphylococcus aureus* และ *Streptocuccus thermophilus* (Todorov and Dicks, 2004)

**5.5.3 ประโยชน์ของโปรไบโอติก** (รูปที่ 3)

ในปัจจุบันมีการนำโปรไบโอติกมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมากมายหลายชนิด เช่น บทบาทของโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติกในนมหมัก คือ ถนอมและรักษาสภาพของนมโดยการผลิตกรดแลกติกและสารชนิดอื่น ๆ เพื่อยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียก่อ

โรคที่อาจปนเปื้อนในกระบวนการหมักนม นอกจากนี้ยังผลิตสาร flavour compounds เช่น acetaldehyde ในโยเกิร์ตและชีส การเพิ่มสารอาหาร เช่น free amino acids และสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นสำหรับร่างกาย มีคุณสมบัติในการรักษาหรือป้องกันโรคมะเร็ง ควบคุมปริมาณคอเรสเตอรอล เพิ่มความสามารถในการย่อยสลายแลกโตสในน้ำนมเป็นต้น (Parvez *et al.*, 2006)




**รูปที่ 3** ประโยชน์ของการบริโภคโปรไบโอติก
**ที่มา**: Parvez และคณะ (2006)

**5.6. การประยุกต์ใช้แบคทีเรียแลกติก** (วิเชียร, 2534)

5.6.1ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารโดยการผลิตจากแบคทีเรียแลกติกเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมเคมี และอาหารมาช้านาน โดยใช้ในการปรับความเป็นกรด นอกจากนี้ยั งใช้ในการถนอมอาหารเช่น อาหารหมักดอง

5.6.2 การปรับปรุงไวน์ แบคทีเรียสามารถกำจัดกรดมาลิกที่ผสมอยู่ในไวน์แดงและไวน์ขาวให้น้อยลงได้ เนื่องจากกรดมาลิกทำให้ไวน์มีรสชาติไม่ดี

5.6.3 การผลิตหญ้าหมัก (sliage) ซึ่งเป็นอาหารของสัตว์โดยใส่แบคทีเรียแลกติกในการหมักทำให้หญ้าหมักมี pH ต่ำซึ่งสามารถเก็บไว้ได้นาน

5.6.4 การป้องกันโรคเรืองแสงในกุ้ง โดยใช้แบคทีเรียแลกติกเพื่อป้องกันโรคเรืองแสงที่ระบาดในกุ้งกุลาดำ ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio harveyi*

**6. เอนไซม์ที่มีความสำคัญในอาหารหมัก**

**6. 1 เอนไซม์ย่อยโปรตีน (Proteolytic enzyme)**

เอนไซม์ย่อยโปรตีน (protease) เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการย่อยอาหาร เช่น เปปซิน ทริปซิน ไคโมทริปซิน เปปติเดส โปรติเอส ทำให้โปรตีนสูงค่าขึ้น และได้นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหมักและอุตสาหกรรมอื่น ๆ หลายประเภท (ปราณี, 2543) เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการสลายพันธะเปปไทด์ด้วยน้ำ แบ่ง 2 กลุ่ม

1. เปปทิเดส (Peptidase) เป็นเอนไซม์ที่เร่งการตัดพันธะเปปไทด์ของกรดอะมิโนที่อยู่บริเวณปลายสายเปปไทด์ (exocleaving peptidase) ได้แก่ อะมิโนเปปทิเดส (amino peptidase) ไดเปปทิเดส (dipetidase) และ คาร์บอกซิเปปทิเดส (carboxy peptidase)

2. โปรติเนส (Proteinase) เป็นเอนไซน์ที่เร่งปฏิกิริยาการตัดพันธะเปปไทด์ภายในสายเปปไทด์ (endoclearing peptidase) ได้แก่ ซีรีนโปรติเนส (serine proteinase) ซีสเตอีนโปรติเนส (cysteine proteinase) แอซิดโปรติเนส (acid proteinase) และมาทาลโลโปรติเนส

**6.2 เอนไซม์ย่อยแป้ง (Amylolytic enzyme)**

เอนไซม์ย่อยแป้งสามารถพบในน้ำลาย ตับอ่อน ข้าวมอลต์ ข้าวบาเลย์และจุลินทรีย์บางสายพันธุ์ (ชาคริยา, 2544) แบ่งออกเป็น 5 ชนิด คือ อัลฟาอะไมเลส ($\alpha$ - amylase) เบต้า-อะไมเลส ($\beta$-amylase) โดยทั้งสองชนิดนี้สามารถย่อยสลายพันธะไกลโคซิลของแป้งที่ $\alpha$ -(1,4), กลูโคอะไมเลส (gluco - amylase) จะย่อยพันธะ $\alpha$ -(1,4) ได้ดีกว่าการย่อยพันธะ $\alpha$ -(1,6) และ $\alpha$-(1,3) ส่วนพรูลาเสส (prulalase) และไอโซอะไมเลส (isoamylase) จะย่อยพันธะ $\alpha$ -(1,6) (ปราณี, 2543)

**6.3 เอนไซม์ย่อยไขมัน (Lipolytic enzyme)**

การย่อยสลายไขมันส่วนใหญ่มักอยู่ในรูปไตรกลีเซอร์ไรด์ จุลินทรีย์ใช้เอนไซม์ไลเปสสลายไขมันเป็นกลีเซอรอลและกรดไขมันโดยกลีเซอรอลเปลี่ยนต่อไปเป็น dihydroxyacetonephosphate ซึ่งเป็นตัวกลางในกระบวนการ Embden-Meyerhof-Parnas pathway (EMP) (วิลาวัณย์, 2539)

**7. กลิ่นรสของเต้าหู้ยี้**

Qvist และ Von Sydow (1974) ได้ตรวจสอบโครงสร้างตัวอย่างของโปรตีนชนิดพิเศษที่มีกลิ่นหอมในตัวมันเอง ในการศึกษานี้ประกอบด้วย การแตกตัวของโปรตีนถั่วเหลืองโดยการต้มกับน้ำ, ต้มและไม่ต้มกับน้ำที่มีไขมันและแป้ง โดยการทดสอบดังกล่าวนักวิจัยพบว่า SPI ที่ถูกต้มด้วยน้ำ , น้ำกับไขมันและแป้ง และน้ำที่อุณหภูมิ 121 $^{\circ}$C สามารถสรุปถึงปริมาณของสารประกอบที่ถูกตรวจพบตอนที่กำลังระเหยได้ จากการต้มดังกล่าวโดยส่วนมากจะพบ aldehydes, furans และ hydrogen sulfide ที่มีความเข้มข้นสูง ในปริมาณมากเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้ต้ม

Boatright และ Lei (1999) ได้ศึกษากลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในโปรตีนถั่วเหลืองที่แตกตัวแล้ว นำมาวิเคราะห์โดย GC/O และ GC/MS และ AEDA พบกลิ่นที่แรงที่สุดในการศึกษา คือ Dimethyl trisulphide และ trans-2,4-decadienal โดย trans-2,4-decadienal รายงานให้มีลักษณะจำเพาะของการ oxidized และกลิ่นไขมัน (Boatright and Lei, 1999) สัดส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในถั่วเหลืองที่สูงมาก และ lipoxygenases ปริมาณมาก คือ ปัจจัยที่สามารถนำพาการพัฒนาในเรื่องรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง (Wolf, 1975) lipoxygenases เป็นตัวกระตุ้นอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของพันธะกรดไขมันไม่อิ่มตัวและผลิต hydroperoxides ซึ่งการย่อยสลายของ hydroperoxides ทำให้เกิดสูตรการระเหยที่แน่นอนของสารประกอบที่ทำหน้าที่เป็นรสถั่ว รสหญ้า ในหลาย ๆ ผลิตภัณฑ์ของถั่วเหลือง (Liu, 1997)

Hwan และ Chou (1999) รายงานสารที่ให้กลิ่นรสของเต้าหู้ยี้ประกอบด้วย เอสเทอร์ 22 ชนิด แอลกอฮอล์ 18 ชนิด คีโตน 7 ชนิด อัลดีไฮด์ 3 ชนิด ไพราซีน 2 ชนิด ฟีนอล 2 ชนิด และสารประกอบของสารระเหยอื่นๆ และ Ho *et al.* (1989) (ตารางที่ 6) ทำการศึกษาสารประกอบของสารระเหยที่ให้กลิ่นรสของเต้าหู้ยี้แดงและเต้าหู้ยี้ขาว พบว่า ในเต้าหู้ยี้แดงส่วนมากพบสารประกอบพวก แอลกอฮอล์ 11 ชนิด เอสเทอร์ 13 ชนิด และสารประกอบอื่นๆ 5 ชนิด ซึ่งสารประกอบของสารระเหยที่ให้กลิ่นรสของเต้าหู้ยี้แดงและเต้าหู้ยี้ขาว กลิ่นรสอาจเกิดจากกระบวนการหมักอังกั๊ก จากเชื้อราโมแนสคัส โดยเอสเทอร์จะทำให้เกิดกลิ่นเฉพาะคือกลิ่นผลไม้ เป็นต้น

**ตารางที่ 6** สารระเหยที่ตรวจพบในเต้าหู้ยี้แดงและเต้าหู้ยี้ขาว

| | |
|---|---|
| Alcohols | Ethanol, 2-Butanol, Propanol, 2-Methylpropanol, Butanol, 3-Methylbutanol, Hexanol, 3-Octanol,2-Ethylhexanol, Benzyl alcohol, Phenylethyl alcohol |
| Esters | Ethyl butyrate, Ethyl 2-methylbutyrate, Ethyl hexanoate, Ethyl heptanoate, Ethyl octanoate, Ethyl benzoate, Ethyl dodecanoate, Phenylethyl propanoate, Ethyl tetradecanoate, Ethyl palmitate, Ethyl stearate, Ethyl oleate, Ethyl linoleate |
| Miscellaneous | Acetic acid, Phenol, 2-Nonanone, 2,6-Dimethylpyrazine, 2-Ethyl-5-methylpyrazine |

ที่มา: Ho *et al.* (1989) and Hwan and Chou (1999).

Chung (1999) ได้ทำการตรวจสารระเหยในตัวอย่างเต้าหู้ยี้ที่วางขายในท้องตลาด 3 ยี่ห้อ ซึ่งสกัดสารระเหยโดยวิธี simultaneous steam distillation and extraction apparatus (SDE) และตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS จากการทดสอบพบสารระเหยทั้งหมด 111 ชนิด สารระเหย 63 ชนิดพบทั้ง 3 ยี่ห้อ สารระเหยส่วนใหญ่เป็นกลุ่มของ alcohols (32) และ esters (25) ต่อมาปี 2005 Chung *et al*. ได้ทำการตรวจวิเคราะห์เต้าหู้ยี้สำเร็จรูป ที่วางขายในท้องตลาดประเทศจีนและฮ่องกง ซึ่งตรวจวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นรสโดยวิธี supercritical fluid extraction (SFE) โดยการสกัดในตัวทำละลาย dichloromethane ที่ความดันและอุณหภูมิที่ควบคุม โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (7,500 psi, 60 $^{\circ}$C) อัตราไหลของก๊าซ (flow rate) 3.0 ml/min รวมเวลาสกัดประมาณ 30 นาที โดยใส่ trimethylpyridine (0.5 ml) เป็น internal standard จากการทดสอบพบว่า สารระเหยส่วนใหญ่เป็น alcohols, acids และ esters โดยมี alcohols จำนวน 17 ชนิด และเป็นสารหลักที่ให้รสชาติเฉพาะและมีปริมาณมาก เช่น ethanol, propane, butanol, hexanol ส่วนกรด มี 15 ชนิด โดยมี acetic acid ให้รสเปรี้ยว (ตารางที่ 7) และ free fatty acids ที่ให้รสคล้าย cheese เช่น butanoic acid, hexanoic acid, และ nonanoic acid และมี เอสเทอร์ 16 ชนิด ให้กลิ่นหอมคล้ายผลไม้ กลิ่นองุ่น กลิ่นรำ เช่น ethyl esters ซึ่งเกิดจากกระบวน esterification ของ free fatty acids และ ethanol เช่น ethyl-3-hydroxybutyrate, ethyl-tetradecanoate เป็นต้น ส่วน แอลดีไฮด์ พบ 7 ชนิด ที่ให้กลิ่นของผักสีเขียว เช่น hexanal, heptenal นอกจากนี้ยังพบสารประกอบอื่น ๆ ได้แก่ แอลเคน, สารประกอบไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว, ฟูแรน และ คีโตน และสรุปรวมสารที่ให้

รสเปรี้ยว หวาน กลิ่นคาวเนื้อและกลิ่นมะพร้าว ที่เกิดจากสาร acetic acid, methional (S-containing compound), ethyl (Z,Z)-9,12-octadecadienoate

**ตารางที่ 7** กลิ่นรสของสารประกอบในเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป

| No. | Compound | RI | ID | Odor descriptor(s) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Acetic acid | 1387 | RI, odor | Sour |
| 6 | 3-methybutanoic acid | 1621 | RI, odor | Sweaty |
| 19 | 1-hexanol | 1303 | RI, odor | Herb-like, sweet |
| 25 | 2-methoxyphenol | 1823 | RI, odor | Alcoholic |
| 30 | Phenol | 1962 | RI, odor | Woody |
| 33 | Hexanal | 1059 | RI, odor | Tea leaf-like |
| 34 | (E)-2-heptanal | 1292 | RI, odor | Sweet, green |
| 35 | (E,E)-2,4-heptadienal | 1463 | RI, odor | Moldy, mushroom-like |
| 37 | Benzeneacetaldehyde | 1618 | RI, odor | Floral |
| 52 | Ethyl dodecanoate | 1811 | RI, odor | Dried seaweed-like |
| 61 | Ethyl (Z)-9-octadecenoate | 2461 | RI, odor | Coconut |
| 62 | Ethyl (Z,Z)-9,12-octadecadienoate | 2519 | RI, odor | Sweet |
| 65 | Ethyl (Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrienoate | 2567 | RI, odor | Pungent |
| 66 | 2-pentyfuran | 1203 | RI, odor | Green |
| 68 | 3-hydroxy-2-butanone | 1248 | RI, odor | Buttery |
| 72 | Naphthalene | 1731 | RI, odor | Paper-like, Dried seaweed-like |
| 82 | methional | 1423 | RI, odor | meaty |

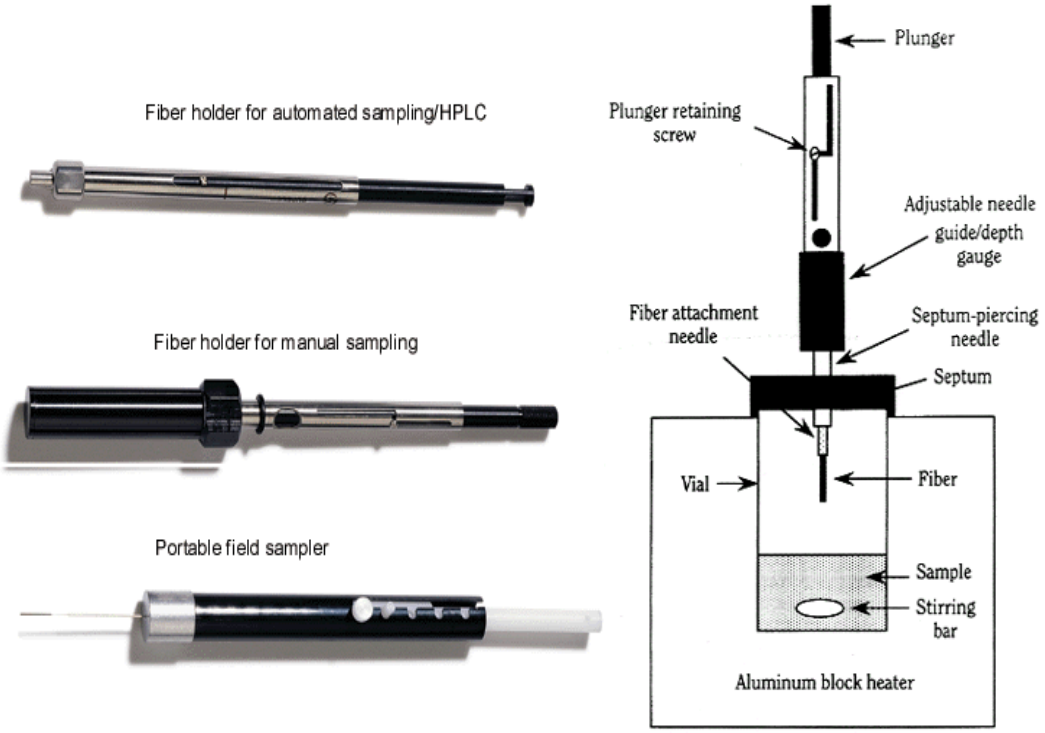
ที่มา: Chung *et al*. (2005)

**8. เครื่องมือวิเคราะห์สารระเหย (กลิ่นรส)**

**8.1 Solid-Phase Microextraction (SPME)**

(เป็นข้อมูลจาก http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/SPME.htm, February 20 2009)

Solid phase microextraction (SPME) (รูปที่ 4) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดสารร่วมกับ headspace และเก็บสารตัวอย่างที่ได้รับความนิยมมากในด้านเคมีวิเคราะห์ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ทำได้ง่าย (Vas and Vekey, 2004) และช่วยประหยัดตัวทำละลายในการสกัดสาร อีกทั้งยังเป็นเทคนิคที่ใช้ได้กับสารตัวอย่างที่มีคุณสมบัติเป็นส ารที่ระเหยได้ (Volatile Compounds) ที่อยู่ในรูปของแก๊ส ของแข็งและของเหลว ส่วนข้อจำกัดของ SPME คือ poor sensitivity for dilute analytes และราคาแพง (Vas and Vekey, 2004)




**รูปที่ 4** ประเภทและส่วนประกอบของ SPME

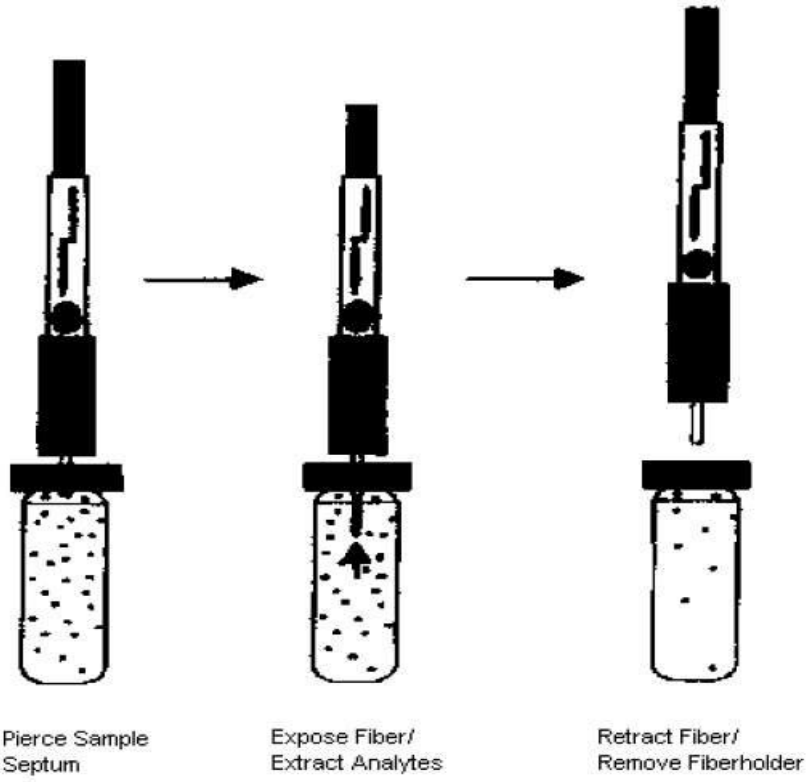
ที่มา: http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/SPME.htm, March 20, 2008)

SPME ได้ถูกเผยแพร่โดย Janus Pawliszyn ในปี 1990 ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเทคโนโลยีการสกัดสารตัวอย่าง หลักการทำงานของ SPME (รูปที่ 5 และ 6) คือ สาร polymer ที่เคลือบบน silica fiber จะทำหน้าที่ absorb สารตัวอย่างที่เป็น volatile compounds ในขวดเก็บตัวอย่าง แล้วนำ fiber ที่ absorb สารตัวอย่างแล้วมาฉีดใน injector port ของ GC หรือ GC-MS ที่ร้อนเพื่อทำการ desorb สารตัวอย่าง และนำมาวิเคราะห์ผลด้วย GC หรือ GC-MS สาร polymer ที่เคลือบบน fiber จะแตกต่างกันในการเลือกใช้งานขึ้นอยู่กับสารตัวอย่างที่เราต้องการวิเคราะห์

ชนิดของสาร polymer ที่เคลือบบน silica fiber เช่น

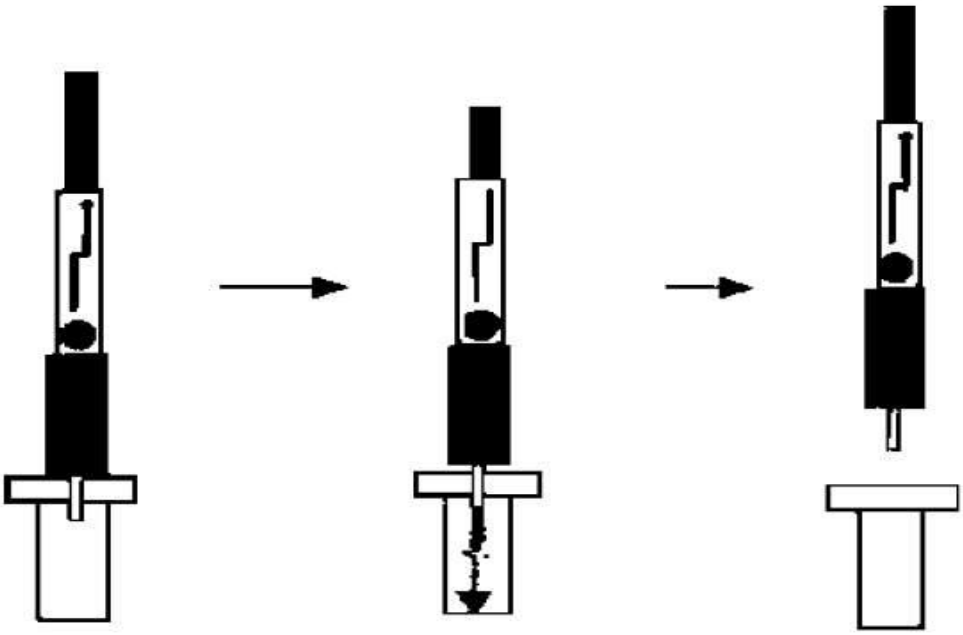
- 100 µm polydimethylsiloxane (100 um PDMS) สำหรับสาร volatile
- 7 µm polydimethylsiloxane สำหรับสารที่เป็น nonpolar high molecular weight compounds
- 85 µm polyacrylate สำหรับสารที่เป็น polarsemivolatile
- 70 µm Carbowax/divinylbenzene สำหรับ alcohols and polar compounds
- 50/30 µm divinylbenzene/Carboxen สำหรับสารที่เป็น odor compound เป็นต้น

ขั้นตอนการทำงานของ SPME




**รูปที่ 5** ขั้นตอนการสกัดด้วย SPME

ที่มา: Iris Stadelmann (EXTRACTION OF ALCOHOLS FROM GASOLINE USING SOLID PHASE MICROEXTRACTION (SPME))



pierce septum in GC inlet. Expose fiber/desorb analytes. Retract fiber/withdraw

**รูปที่ 6** ขั้นตอนการปล่อยสารระเหยเข้าสู่เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

ที่มา: Iris Stadelmann (EXTRACTION OF ALCOHOLS FROM GASOLINE USING SOLID PHASE MICROEXTRACTION (SPME))

**การประยุกต์ใช้ SPME**

1. Foods เช่น Flavors in coffee, Fatty acid in water, Flavors in beer, Off-flavors in milk เป็นต้น

2. Natural products เช่น Volatiles in tobacco, Terpeniod in herbs, Fragrance in flowers เป็นต้น

3. Pharmaceuticals เช่น Components in drug, Solvents in phamaceutical products เป็นต้น

4. Biological matrices เช่น Protein in bovine serum albumin เป็นต้น

5. Toxicology เช่น Anesthetics in blood, Nicotine in urine, Cocaine in urine เป็นต้น

6. Forensics เช่น BTEX Compounds PCBs, solvents in water เป็นต้น

7. Environmental เช่น Rapid Determination of Volatile Organic Compound in Environmentally Hazardous Wastewaters เป็นต้น

**8.2 แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิทรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry)**

ในปัจจุบันนี้ได้มีการนำเทคนิคหลายอย่างมาใช้สำหรับวิเคราะห์หาองค์ประกอบต่าง ๆ ที่มีอยู่ในสารประกอบ ซึ่ง GC-MS (รูปที่ 7) ก็เป็นเทคนิคหนึ่งที่เริ่มนิยมนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายมากขึ้นในขณะนี้ เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถทำนายชนิดขององค์ประกอบที่มีอยู่ในสารได้อย่างค่อนข้างแม่นยำ โดยอาศัยการเปรียบเทียบ fingerprint ของเลขมวล (mass number) ของสารตัวอย่างนั้น ๆ กับข้อมูลที่มีอยู่ นอกจากนี้เทคนิคนี้ยังมีความสามารถใน การวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงปริมาณ (quantitative analysis) และ เชิงคุณ ภาพ (qualitative analysis) ได้อย่างถูกต้อง

GC-MS เป็นเครื่องมือที่ประกอบไปด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนของเครื่อง GC ซึ่งเป็นส่วนที่ทำหน้าที่ในการแยกองค์ประกอบของสารที่มีอยู่ในตัวอย่างให้ออกมาทีละองค์ประกอบก่อนที่จะเข้าสู่ detector และ อีกส่วนคือ เครื่อง MS ซึ่งจะทำหน้าที่เป็น detector ในการตรวจสอบดูว่า องค์ประกอบต่าง ๆ ที่ผ่านออกมาจากเครื่อง GC นั้น มีเลขมวล (mass number) เป็นเท่าไร เพื่อที่จะได้สามารถระบุได้ว่า สารที่เราสนใจอยู่นั้นประกอบด้วยองค์ประกอบใดบ้าง

**รูปที่ 7** เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสเปกโตเมสทรี
**ที่มา:** ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**Gas Chromatograph (GC)**

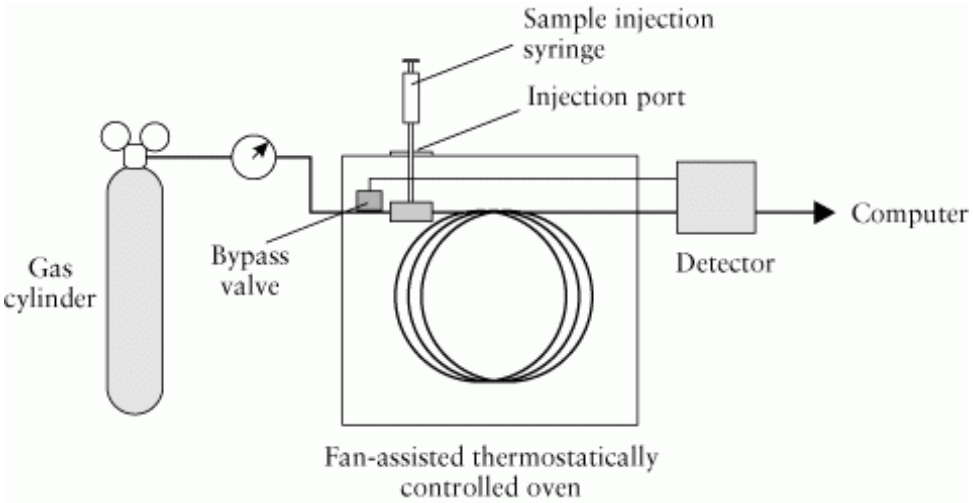
ทำหน้าที่ในการแยกองค์ประกอบของสารที่สามารถระเหยกลายเป็นไอ (volatile organic compounds) ได้กลไกที่ใช้ในการแยกองค์ประกอบต่าง ๆ ในสารตัวอย่าง อาศัยหลักของความชอบที่แตกต่างกันขององค์ประกอบในตัวอย่างที่มีต่อเฟส 2 เฟส คือ stationary phase และ mobile phase

นอกจากการจำแนกประเภทของเทคนิคโครมาโตกราฟีด้วยเฟสเคลื่อนที่ แล้วยังสามารถใช้เฟสอยู่กับที่ ในการ แยกย่อยประเภทของแก๊สโครมาโตกราฟีได้เป็น 2 ประเภท คือ

1. แก๊สโครมาโตกราฟีแบบของแข็ง (Gas-solid chromatography, GSC) โครมาโตกราฟีประเภทนี้จะใช้ของแข็ง เช่น ซิลิกาเจลเป็นเฟสอยู่กับที่ กลไกการแยกสารที่เกิดขึ้นเป็นแบบการดูดซับ ดังนั้นการแยกสารจะดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติการดูดซับของสารที่บรรจุในคอลัมน์ แต่โดยทั่วไปแล้วโครมาโตกราฟีชนิดนี้ไม่นิยมใช้กันมากนัก

2. แก๊สโครมาโตกราฟีแบบของเหลว (Gas-liquid chromatography, GLC) โครมาโตกราฟีประเภทนี้จะใช้ของเหลวเป็นเฟสอยู่กับที่ ดังนั้นจึงต้องทำการเคลือบของเหลวให้เป็นชั้นบาง ๆ บนของแข็งเฉื่อยที่เรียกว่า solid support กลไกการแยกสารที่เกิดขึ้น เป็นแบบพาร์ทิชันซึ่งสามารถใช้ได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้างและให้ผลการทดลองที่ดีกว่า GSC จึงทำให้ GLC เป็นที่นิยมใช้

องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่อง GC สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วน (รูปที่ 8) คือ




**รูปที่ 8** องค์ประกอบพื้นฐานของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

ที่มา: http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/SPME.htm (February 20 2009)

1.) Injector คือ ส่วนที่สารตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าสู่เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีและระเหยเป็นไอก่อนที่จะเข้าสู่ column อุณหภูมิที่เหมาะสมของ injector ควรเป็นอุณหภูมิที่สูงพอที่จะทำให้สารตัวอย่างสามารถระเหยได้ แต่ต้องไม่ทำให้สารสลาย ตัวอย่างของ injector ได้แก่ Split, Splitless, On column

2.) Oven คือ ส่วนที่ใช้สำหรับบรรจุ column และเป็นส่วนที่ควบคุมอุณหภูมิของ column ให้เปลี่ยนไปตามความเหมาะสมกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ซึ่งการควบคุมอุณหภูมิของ oven นั้นมี 2 แบบคือ

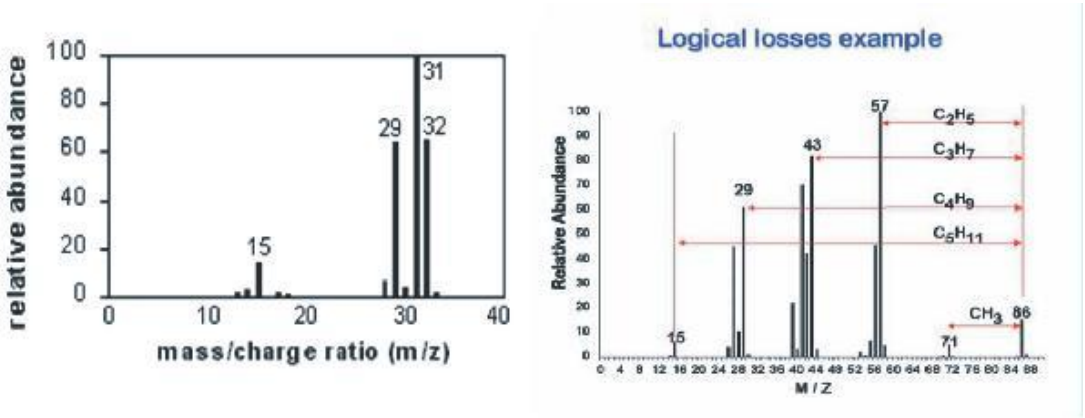
2.1) Isothermal temperature

2.2) Temperature programming ข้อดีของการทำ Gradient temperature คือสามารถใช้กับสารตัวอย่างที่มีจุดเดือดกว้าง (Wide boiling range) และยังช่วยลดเวลาในการวิเคราะห์

3.) Detector คือส่วนที่จะใช้สำหรับตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างและดูว่าสารตัวอย่างชนิดที่เราสนใจมีปริมาณอยู่เท่าใด

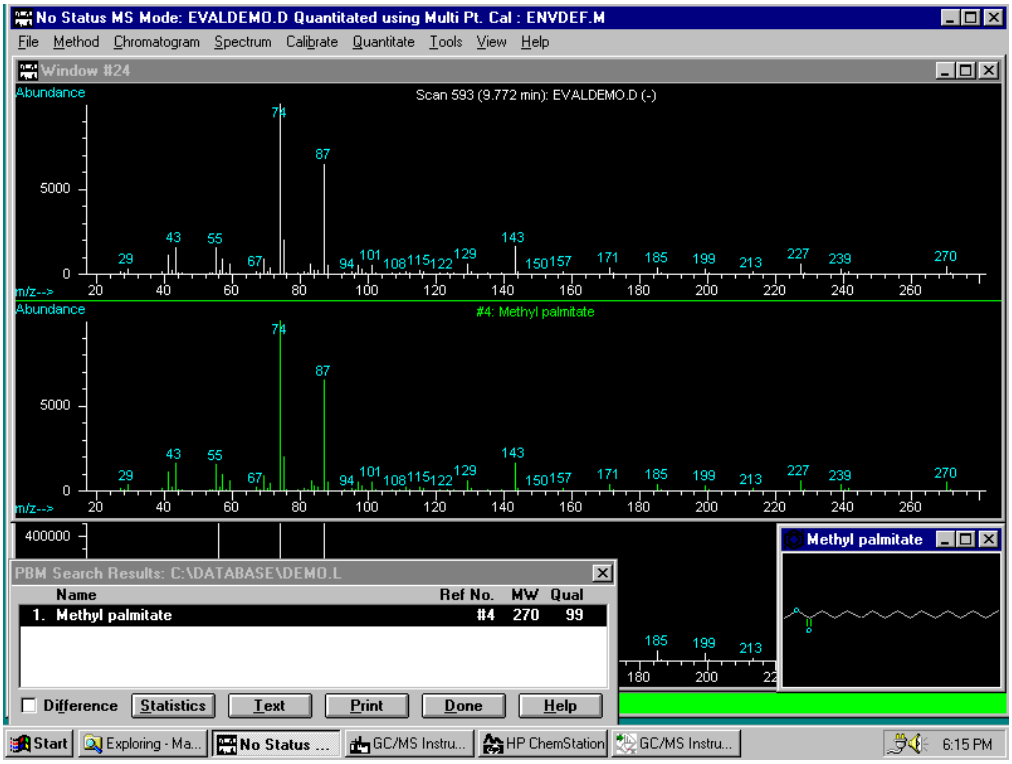
**MS (Mass spectrometer)**

เป็น detector ที่ใช้ตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง โดยอาศัยกลไ กคือโมเลกุลขององค์ประกอบที่ถูกแยกออกมาจากสารตัวอย่างโดยเครื่อง GC จะถูกไอออไนซ์ในสภาวะสุญญากาศแล้วตรวจวัดออกมาเป็นเลขมวล (Mass number) เทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิง Wiley 275.L (รูปที่ 9 และ 10 ) แล้วแปลผลออกมาเป็นชนิดของสารที่ตรวจวัดได้




**รูปที่ 9** Interpreting spectra

ที่มา: http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/SPME.htm (February 20 2009)



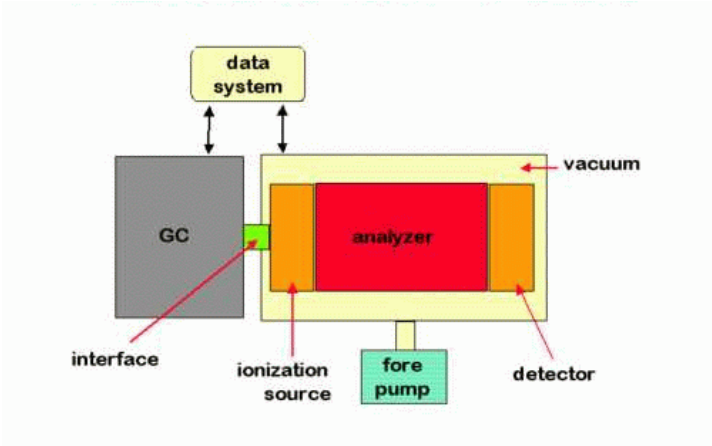

**รูปที่ 10** Library search results

ที่มา: http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/SPME.htm (February 20 2009)

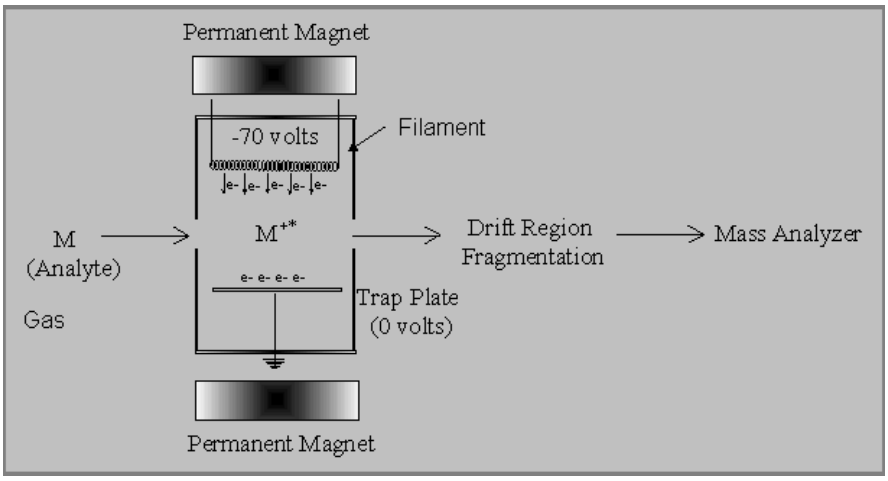
องค์ประกอบสำคัญของ MS (รูปที่ 11) แบ่งออกเป็น

**1. Ionization Source** แบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ

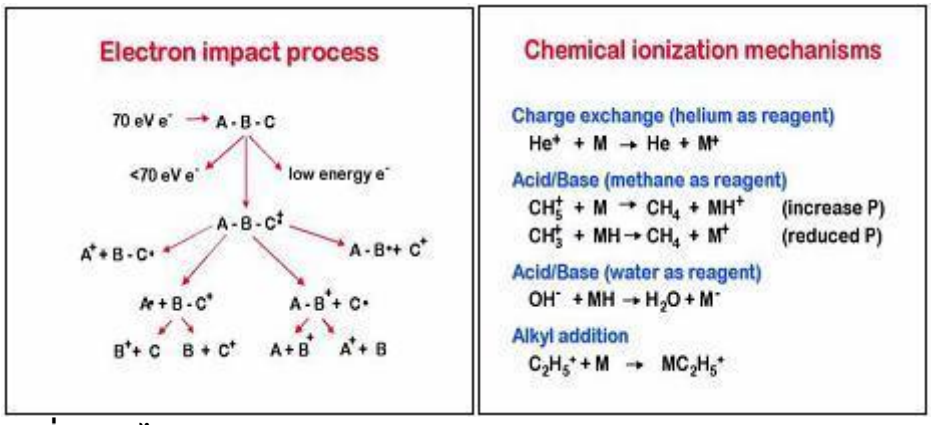
1.1. Electron Ionization (EI) เป็นการทำให้สารเกิด Fragment โดยใช้ลำ Electron ซึ่ง Ionization chamber ต้องมีความดันต่ำประมาณ 10 -8 Torr โดย Electron จาก Filament ที่ร้อนจะถูกโฟกัสผ่านห้องนี้ และถูกดึงเข้าหา repeller voltage ที่มีความต่างศักย์ 70 โวลต์ ซึ่งจะให้พลังงานกับ Electron เป็น 70 eV ทำให้ของผสมที่ซับซ้อนของไอออนเกิดการแตกหัก (Fragmentationion) ที่สามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างและความอุดมสัมพัทธ์ (รูปที่ 12 และ13)




**รูปที่ 11** องค์ประกอบพื้นฐานของแมสสเปกโตรมิทรี
ที่มา: http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/SPME.htm (February 20 2009)



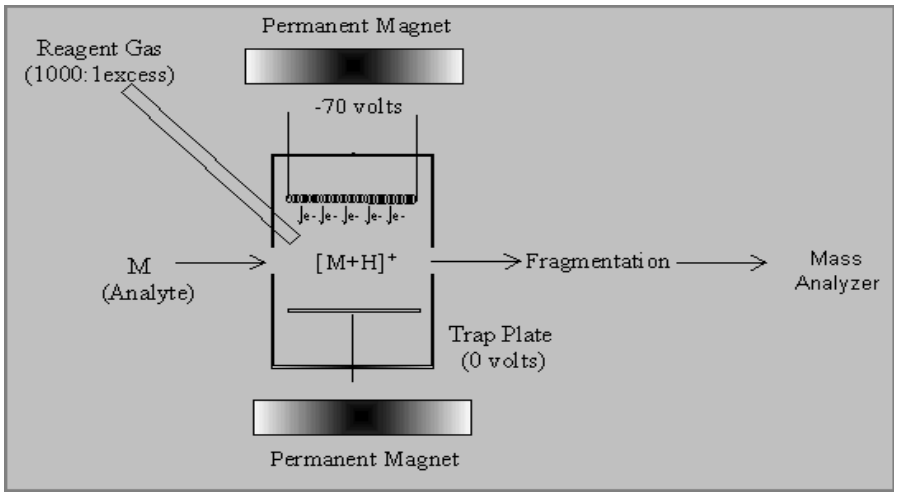

**รูปที่ 12** แสดงการแตกตัวของสารโดยใช้เทคนิค Electron Ionization
ที่มา: http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/SPME.htm (February 20 2009)




**รูปที่ 13** กลไกการเกิด fragment ของ EI และ CI

ที่มา: http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/SPME.htm (February 20 2009)

1.2. Chemical Ionization (CI) เป็นการทำให้สารเกิดการ Fragment ด้วยวิธีทางเคมีโดยผสมสารตัวอย่าง (ความดัน10 - 4Torr) เข้ากับแก๊สที่ทำปฏิกิริยาด้วย (ความดัน 1 Torr) แล้วผ่านสารผสมเข้าไปใน Ionization chamber โดยการทำให้เกิดการ Fragment ด้วยการชนกับ Electron เช่นเดียวกันแก๊สที่ใช้ได้แก่ Methane, Isobutane, Ammonia (รูปที่ 13 และ 14)

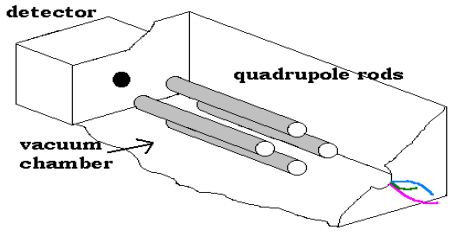



**รูปที่ 14** แสดงการแตกตัวของสารโดยใช้เทคนิค Chemical Ionization

ที่มา: http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/SPME.htm (February 20 2009)

**2. Mass Analyzer**

เป็นเครื่องวิเคราะห์มวล มีหลายแบบ คือ Magnetic-sector analyzer, Electrostatic analyzer, Time-of-flight analyzer, Ion cyclotron resonance analyzer, Quadrupole mass spectrometer (รูปที่ 15) ใช้หลักการวิเคราะห์ด้วยสนามแม่เหล็ก คือ เป็น Path-stability mass spectrometer ซึ่งมีแหล่งผลิต Ion source 2 ส่วนโดยส่วนแรกจะทำให้ตัวอย่างกลายเป็นไอออน และส่วนที่ 2 ทำให้สารมาตรฐานกลายเป็นไอออน ลำไอออนทั้งสองจะถูกบังคับใ ห้ผ่านเครื่องแยกไอออนชุดเดียวกัน ดังนั้นไอออนทั้งหมดจะได้รับอิทธิพลจากสนามแม่เหล็กในสภาวะเดียวกัน แต่ถูกตรวจและวัดด้วยเครื่อง Detector แยกกันซึ่งมีข้อดีคือทำให้สามารถวัดมวลได้อย่างถูกต้องแม่นยำ

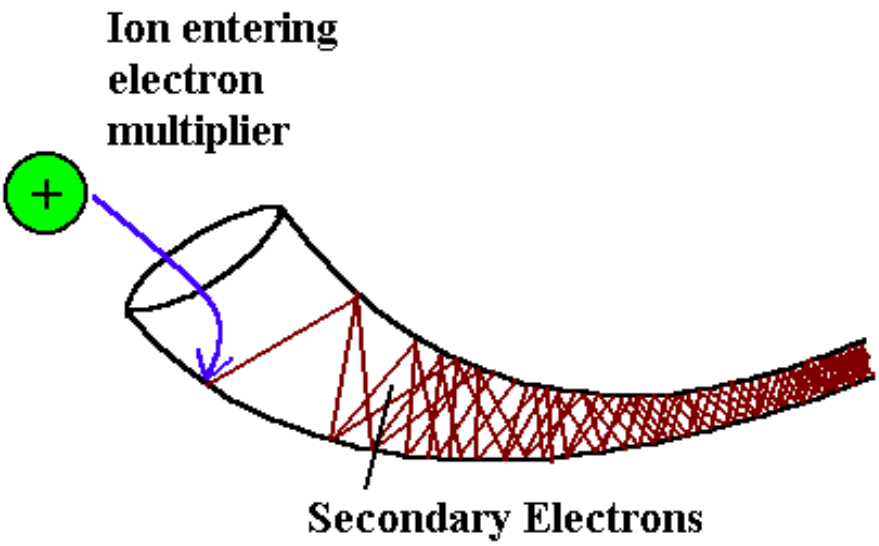


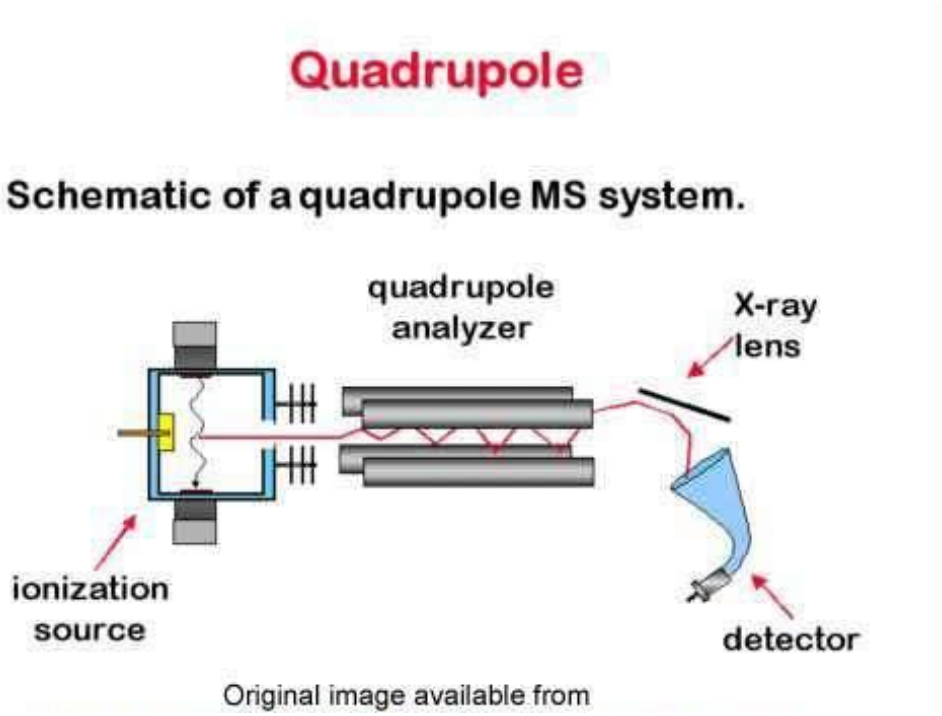

**รูปที่ 15** Quadrupole Detector

ที่มา: http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/SPME.htm (February 20 2009)

**3.Detector**

ที่ใช้โดยทั่วไปมีหลายอย่าง คือ Faraday cup dectector, Electron multiplier detector (รูปที่ 16) , Scintillation counter dectector, Photographic plate dectector




**รูปที่ 16** Electron Multiplier Schematic

ที่มา: http://ull.chemistry.uakron.edu/gcms/MS_detector/index.html

**การทำงานของเครื่อง GC-MS**

เมื่อเตรียมตัวอย่างสารเสร็จเรียบร้อยก็นำมาฉีดเข้าทาง injector ของเครื่อง GC จากนั้นสารก็จะถูกแยกออกเป็นองค์ประกอบต่าง ๆ เมื่อผ่านเข้าสู่ column ที่อยู่ใน oven แต่มีข้อกำหนดอยู่ว่า ตัวอย่างที่จะนำมาฉีดนั้นจะต้องเป็นสารละลายใสไม่มีตะกอน จากนั้นองค์ประกอบใดที่ถูกแยกออกมาจาก column ก่อนก็จะผ่านเข้าไปในส่วนของเครื่อง MS ซึ่งมีสภาวะเป็นสุญญากาศก่อน แล้วเข้าไปเจอกับ ion source ซึ่งจะทำหน้าที่ ionize โมเลกุลที่ผ่านเข้ามาให้กลายเป็นประจุจากนั้นประจุเหล่านี้ก็จะเดินทางผ่านเครื่องคัดเลือกและแยกแยะขนาดของประจุ (mass analyzer) ดูว่าประจุเหล่านั้นประกอบไปด้วยขนาดมวลเท่าใดบ้าง ก่อนที่จะเดินทางเข้าสู่เครื่องตรวจวัดปริมาณประจุ (detector) เพื่อตรวจหาปริมาณของประจุแล้วแปลผลออกมาเป็นปริมาณขององค์ประกอบแต่ละตัวที่มีอยู่ในสารตัวอย่างนั้น ๆ

**ข้อจำกัด**

สารตัวอย่างต้องเป็นสารที่ระเหยง่ายเมื่อฉีดเข้าไปในเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีต้องมีความเสถียร ไม่เกิดการสลายตัวเมื่อถึงอุณหภูมิที่ทำการระเหย นอกจากนี้แก๊สโครมาโตกราฟียังมีข้อจำกัดใน การวิเคราะห์สารโมเลกุลไม่มีขั้วหรือสารที่มีความเป็นขั้วเพียงเล็กน้อย สามารถแยกแยะโมเลกุลของสารอินทรีย์ได้เพียง 20 % แต่สามารถทำให้วิเคราะห์สารต่าง ๆ ได้เพิ่มขึ้นด้วยการทำอนุพันธ์เทคโนโลยีในปัจจุบัน ปัจจุบันเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีได้รับการพัฒนาทุก ๆ ส่วนขององค์ประกอบ รวมไปถึงการพัฒนาโปรแกรมซอฟต์แวร์ที่ใช้ในการควบคุมการทำงาน การวิเคราะห์ และการรายงานผลของเครื่องมือ ในที่นี้เป็นเทคโนโลยีของเครื่องมือที่มีการใช้งานกันในปัจจุบัน

**ข้อดีของ GC-MS**

1. สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งแบบทั่วไปและแบบเฉพาะเจาะจงให้ sensitivity ที่สูง
2. สามารถบ่งชี้ชนิดขององค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างได้
3. สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ

**ข้อเสียของ GC-MS**

1. ราคาแพง และค่าใช้จ่ายในการบำรุงรักษาเครื่องสูง
2. ต้องใช้บุคลากรที่มีความชำนาญสูง

**การประยุกต์ใช้งาน**

**1. การวิเคราะห์มลพิษทางอากาศ**

แก๊สโครมาโตกราฟี เป็นเครื่องมือชนิดหนึ่งที่ใช้ในการวิเคราะห์และจำแนกสารที่เป็นมลพิษทางอากาศ เช่น lead alkyls, hydrocarbon, PAN, CO, aldehyde, ketone, $SO_2$, $H_2S$ และออกไซด์บางชนิดของไนโตรเจน เป็นต้น

**2. การวิเคราะห์ทางด้านคลีนิก**

โดยทั่วไปแล้วงานทางด้านคลีนิกมักเป็นงานที่มีปริมาณหรือจำนวนตัวอย่างมาก การวิเคราะห์และแยกโดยใช้ แก๊สโครมาโตกราฟีนั้น สามารถทำได้สะดวกและรวดเร็ว ตัวอย่างของสารที่แยกและวิเคราะห์โดยแก๊สโครมาโตกราฟี เช่น กรดอะมิโน คาร์โบไฮเดรต คาร์บอนไดออกไซด์ ออกซิเจน กรดไขมัน สารอนุพันธ์ ไตรกลีเซอไรด์ และ เสตอรอยด์

**3. การวิเคราะห์วัสดุสารเคลือบ**

วัสดุสารเคลือบมีมากมายหลายชนิด เช่น ยาง เรซินสังเคราะห์ เป็นต้น ที่สามารถนำมาวิเคราะห์และแยกได้โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟี

**4. การวิเคราะห์สารพวกน้ำมันหอมระเหย**

การวิเคราะห์สารประเภทนี้สามารถทำได้หลายเทคนิค แต่แก๊สโครมาโตกราฟีให้ผลที่ดี สะดวกและรวดเร็ว ตัวอย่างของสารที่ วิเคราะห์ได้โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟี ได้แก่ น้ำมันจากสะระแหน่ น้ำมันจากมะนาว น้ำมันมะกอก เป็นต้น

**5. การวิเคราะห์อาหาร**

การวิเคราะห์อาหารมักจะใช้ TLC ร่วมกับแก๊สโครมาโตกราฟีเสมอ โดยเฉพาะการวิเคราะห์สารจำพวกสารต้านอนุมูลอิสระและสาร preservative นอกจากนี้ยังใช้ในการวิเคราะห์สารปนเปื้อน การสลายตัวของสาร ในอาหารและเครื่องดื่ม

**6. การวิเคราะห์ยาฆ่าแมลง**

การวิเคราะห์และแยกสารพวกยาฆ่าแมลงนิยมใช้เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี เพราะให้ผลการวิเคราะห์ที่ดี มีความถูกต้องสูงโดยเฉพาะยาฆ่าแมลงที่มีสารประกอบพวก halogenated, chlorinated และ organophosphate เป็นส่วนประกอบ

**7. การวิเคราะห์สารปิโตรเลียม**

แก๊สโครมาโตกราฟี เป็นเครื่องมือการแยกและวิเคราะห์ปริมาณส่วนผสมของแก๊สธรรมชาติที่ใช้กันอย่างกว้างขวางผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมที่ใช้เทคนิคนี้ในการวิเคราะห์

**8. การวิเคราะห์ยา**

ปัจจุบันมีการใช้แก๊สโครมาโตกราฟีในการวิเคราะห์สารประกอบต่าง ๆ ทางด้านการผลิตยาเนื่องจากให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องและรวดเร็ว นอกจากนี้ยังใช้ในการวิเคราะห์สารประกอบพวก alkoloids ชนิดต่าง ๆ

**การประเมินทางประสาทสัมผัส**

สถาบันขอ งนักเทคโนโลยีทางด้านอาหาร (The Institute of Food Technologist's ; IFT) ในหน่วยของการประเมินทางด้านประสาทสัมผัส ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้ให้คำนิยามของคำว่า "ประเมินทางด้านประสาทสัมผัส (Sensory Evaluation)" ว่า เป็นกฎเกณฑ์ทางด้านวิทยาศาสตร์ที่ใช้เพื่อวัดค่าวิ เคราะห์ผลและสรุปผลจากปฏิกิริยาต่าง ๆ ต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้รับจากความรู้สึกของมนุษย์ในแง่การมองเห็น การได้รับกลิ่น รสชาติ การสัมผัสและการได้ยิน เป็นต้น ผลของการประเมินทางด้านประสาทสัมผัสสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์การรับรู้ผลิตภัณฑ์ว่ามีความเป็นเอกภาพและมีความสำคัญต่อการยอมรับของมนุษย์ได้ ปฏิกิริยาของมนุษย์ต่อผลิตภัณฑ์สามารถที่จะอธิบายได้ในลักษณะที่คล้ายกับการวิเคราะห์ทางด้านเคมี กายภาพ และหรือทางด้านชีว ภาพของผลิตภัณฑ์ (Stone, 1995) และคำนิยามดังกล่าวยังรวมถึงความจำเป็นที่ต้องใช้ความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์เพื่ อการฝึกปฏิบัติเทคนิคการประเมินทางด้านประสาทสัมผัสด้วย

แนวความคิดง่าย ๆของการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสได้เริ่มนำมาใช้ตั้งแต่ช่วงแรก ๆของการที่มนุษย์เริ่มเรียนรู้กับการอยู่ร่วมกันในสังคมมนุษย์และความคิดริเริ่มของมนุษย์ได้ถูกกำหนดบนพื้นฐานของความรู้สึกและประสบการณ์ในการเลือกหรือแสวงหาอาหารและของใช้ตามที่ต้องการ (Gorman, 1975) แม้ว่าในอดีตวิธีการของมนุษย์ในการประยุกต์ใช้ในชีวิตประจำวันเป็นการแสดงถึงความเจริญรุ่งเรืองมาแล้วก็ตาม แต่แล้วสัญชาตญาณของมนุษย์เพื่อความอยู่รอดเป็นสิ่งหนึ่งที่มนุษย์พยายามเลือกหาความปลอดภัยที่ดีที่สุดเพื่อหลีกเลี่ยงจากโรคภัยไข้เจ็บ การเลือกในสิ่งที่ผิดอาจจะทำให้มนุษย์เกิดความไม่สบายใจหรือไม่พอใจ อาจเกิดการป่วย และสูญเสียชีวิตในที่สุด

จากอดีตถึงปัจจุบันความปรารถนาของมนุษย์และระดับของการเลือกในสิ่งที่ปรารถนาได้มีการเพิ่มขึ้นอย่างมากมายบ นพื้นฐานของการพัฒนาการของมนุษย์ (Wurhman, 1977) ด้วยมนุษย์มีความต้องการผลิตภัณฑ์ในหลายลักษณะและหลายรูปแบบ ดังนั้นผลิตภัณฑ์นานาประเภทจึงได้กำหนดขึ้นอย่างมากมาย โอกาสของการเลือกบริโภคและอุปโภคผลิตภัณฑ์จึงมีสูงขึ้น ไม่เฉพาะแต่เพื่อความอยู่รอดเท่านั้น ยังเป็นการเลือกเพื่อความพอใจอีกด้วย ดังนั้นอายุของผลิตภัณฑ์ในตลาดควรจะต้องคำนึงถึงโดยการวัดจากการใช้ระดับความพอใจของผู้บริโภคเป็นดัชนีในการบ่งชี้ความรู้สึกของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์เป็นสิ่งที่ต้องศึกษาอย่างมาก เพราะจะเป็นสิ่งที่แสดงถึงการเลือกผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภค ซึ่งมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการศึกษาลักษณะที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ที่กระทบต่อความพอใจหรือการยอมรับของผู้บริโภค เช่นลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture) เป็นลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่แสดงถึงความรู้สึกหรือการสัมผัสของผู้บริโภค สี (Color) หรือลักษณะที่ปรากฏต่อสายตา (Appearance) เป็นลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่แสดงถึงการมองเห็นของผู้บริโภค กลิ่นรสชาติ (Flavor) เป็นลักษณะของ

ผลิตภัณฑ์ที่แสดงถึงความรู้สึกของผู้บริโภคทางด้านรสชาติ (Taste) และกลิ่น (Odor) เป็นลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่แสดงถึงการได้รับกลิ่นของผู้บริโภค เป็นต้น ซึ่งแต่ละความรู้สึกของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์นั้นมีความสัมพันธ์กับอวัยวะของการรับรู้ในความรู้สึกนั้น ๆ ของมนุษย์ (Human organ) ด้วยเหตุผลนี้บางครั้งจึงมักใช้คำว่า Organoleptic tests ในงานวิจัยทางด้านประสาทสัมผัสในสมัยก่อน อย่างไรก็ตาม Pangborn (1967) ได้แนะนำว่าคำว่า Organoleptic ไม่เกี่ยวข้องอย่างจริงจังในการศึกษาคุณ ภาพและปฏิกิริยาตอบสนองทางด้านประสาทสัมผัสดังคำนิยามที่ให้ไว้โดย IFT ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ที่มากกว่าการกระตุ้นความรู้สึกของอวัยวะที่รับรู้นั้น ๆ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าคำว่า Sensory evaluation จึงมีการใช้ในขอบ เขตทั่วไปอย่างกว้างขวาง และเป็นคำที่แสดงความหมายได้เหมาะสม และ มีการนำมาใช้มากกว่าคำว่า Organoleptic tests

สิ่งหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการประเมินทางด้านประสาทสัมผัสคือ ได้มีการนำแนวความคิดของ Subjective tests มาใช้ในการประเมินทางด้านประสาทสัมผัส (Klemmer, 1968) ด้วยเหตุผลที่ว่ามนุษย์โดยธรรมชาติที่แท้จริงแล้วไม่มีความสามารถเท่าเครื่องมือที่ใช้ในการวัดค่าต่าง ๆ ในการวัดค่าทางด้านเคมี และกายภาพ เครื่องมือสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ได้อย่างมีประสิทธิ ภาพและเป็นค่าที่น่าเชื่อถือในความถูกต้อง อย่างไรก็ตามในกา รศึกษาอย่างกว้างขวางทางด้านประสาทสัมผัสและเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์ผลมีความเป็นไปได้ที่จะได้รับผลที่ถูกต้องและเป็นที่น่าเชื่อถือเช่นกัน แม้ว่าจะเป็นค่าที่มาจากการประเมินของมนุษย์ก็ตาม นอกจากนี้ยังมีข้อโต้แย้งที่ว่าเครื่องมืออาจจะไม่ใช่การวัดที่แท้จริงเนื่ องจากโดยทั่วไปการวัดจะต้องมีการควบคุมสภาวะของสิ่งแวดล้อมที่ใช้ในเครื่องมือ ซึ่งอาจจะเกิดความคลาดเคลื่อนเนื่องจากเหตุผลดังกล่าว การใช้เครื่องมืออาจจะทำให้เกิดการตัดสินใจที่ผิดพลาดของประสิทธิภาพทางเทคนิคการประเมินทางด้านประสาทสัมผัส (Burgard and Kuznicki, 1990)

**ประเภทของการประเมินทางประสาทสัมผัส**

การประเมินทางประสาทสัมผัสในปัจจุบันประกอบด้วยเทคนิคการวัดค่าที่เกิดจากการสะสมประสบการณ์ของผู้เชี่ยวชาญทางด้านการประเมินทางประสาทสัมผัสที่ทำงานวิจัยเกี่ยวกับอาหารและผลิตภัณฑ์สำหรับผู้บริโภคมาเป็นเวลามากกว่า 50 ปีทั้งในวงการการศึกษาและวงการอุตสาหกรรม โดยสิ่งที่คำนึงถึงเป็นสิ่งแรกในการประเมินทางประสาทสัมผัสของผู้เชี่ยวชาญเหล่านี้คือ การเลือกใช้เทคนิคหรือวิธีการที่เหมาะสมกับคำตอบเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการทราบ ดังนั้นประเภทของการประเมินทางประสาทสัมผัสจึงอาจแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภทตามลักษณะของคำตอบที่ต้องการ คือ (1) การทดสอบความแตกต่าง (Discrimination test) (2) การทดสอบเชิงพรรณนา (Descriptive test) และ (3) การทดสอบความชอบ / การยอมรับ (Affective test) (วิวัฒน์, 2549) ดังนี้

1. การทดสอบความแตกต่าง (Discrimination test) (ธงชัย, 2550)

เป็นการทดสอบเพื่อการวิเคราะห์ตัวอย่างหรือผลิตภัณฑ์ประเภทหนึ่งนั้น สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ การทดสอบความต่าง (Difference test) และ การทดสอบความไว (Sensitivity test) ได้แก่ การเจือจาง , การวัดระดับความเข้มที่ทำให้เกิดความรู้สึก วิธีการทดสอบความต่าง ได้แก่ การเปรียบเทียบตัวอย่างคู่ (Paired comparison test) เป็นวิธีที่มีการเสนอตัวอย่าง 2 ตัวอย่างพร้อมกันเพื่อให้ผู้ทดสอบเปรียบเทียบตัวอย่าง 2 ตัวอย่างในลักษณะทางประสาทสัมผัสเฉพาะที่ต้องการโดยเปรียบเทียบความแตกต่างในทิศทางที่มากกว่าหรือน้อยกว่ากัน เช่น การเปรียบเทียบตัวอย่าง 2 ตัวอย่างให้ผู้ทดสอบเลือกว่าตัวอย่างไหนหวานกว่า เนื่องจากการทดสอบแบบนี้มีจำนวนตัวอย่างให้ทดสอบเพียง 2 ตัวอย่าง และบอกทิศทางของการเลือกตัวอย่างจึงเรียกวิธีการนี้อีกอย่างหนึ่งว่า 2 AFC (Two alternative forced choice test)

การเลือกตัวอย่างที่เหมือนกับตัวอย่างอ้างอิงจากตัวอย่างคู่ (Duo-trio test) เป็นการทดสอบความแตกต่างในตัวอย่างที่นำมาทดสอบจำนวน 2 ตัวอย่าง ผู้ทดสอบจะดำเนินการทดสอบตัวอย่าง 2 ตัวอย่าง (A และ B) ที่เรียกว่า ดูโอ (Duo) พร้อมกับอีกหนึ่งตัวอย่างเรียกว่าตัวอย่างมาต รฐาน (R) ที่เลือกมาจากตัวอย่างใดตัวอย่างหนึ่งใน 2 ตัวอย่าง เช่นตัวอย่าง A การสุ่มลำดับการเสนอตัวอย่างให้กับผู้ทดสอบจะเป็นดังนี้ A-AB หรือ A-BA หรือถ้าเป็นตัวอย่าง B การสุ่มลำดับการเสนอตัวอย่างจะเป็นดังนี้ B-AB หรือ B-BA จึงเรียกว่าทรีโอ (Trio) ผู้ทดสอบจะต้องบอกว่าตัวอย่างใดในสองตัวอย่างที่มีลักษณะเหมือนกับตัวอย่างมาตรฐาน การทดสอบวิธีการนี้เป็นวิธีการที่ง่ายสำหรับผู้ทดสอบเนื่องจากใช้ความสามารถในการจดจำตัวอย่างเพื่อแยกแยะความแตกต่างน้อยกว่าการทดสอบแบบไตรแองเกิลเพราะมีตัวอย่างมาตรฐานเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ และความน่าจะเป็นที่ผู้ทดสอบจะมีโอกาสตอบได้ถูกต้องเท่ากับ 1 ใน 2 หรือ 50%

การเลือกตัวอย่างที่แตกต่างจากสามตัวอย่าง (Triangle test) เป็นการทดสอบความแตกต่างในตัวอย่างที่นำมาทดสอบจำนวน 2 ตัวอย่าง เช่นตัวอย่าง A และ Bโดยมีนำการเสนอตัวอย่างพร้อมกันให้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 3 ตัวอย่างที่มีเลขรหัส 3 หลักกำกับ ซึ่งรูปแบบที่นำเสนอให้ผู้ทดสอบแต่ละคนสุ่มเสนอเป็นรูปแบบใดรูปแบบหนึ่งใน 6 รูปแบบคือ AAB ABA BAA ABB BAB หรือ BBA ผู้ทดสอบจะต้องประเมินหาตัวอย่างที่แตกต่างหรือตัวอย่างคี่ (Odd sample) ออกมาจากตัวอย่างคู่ที่เหมือนกัน (Identical samples) การทดสอบนี้นอกจากมีประสิทธิ ภาพในการหาความแตกต่างในตัวอย่างแล้ว สามารถนำการทดสอบนี้ไปใช้ในการคัดเลือกผู้ทดสอบว่ามีความสามารถในการแยกแยะความแตกต่างได้ดีหรือไม่ เพราะโอกาสความน่าจะเป็นที่ผู้ทดสอบจะให้คำตอบที่ถูกต้องมีเพียง 1 ใน 3 เท่านั้น

การจัดลำดับ (Ranking test) การทดสอบนี้เหมาะสำหรับในกรณีที่มีตัวอย่างที่ต้องการเปรียบเทียบความแตกต่างตั้งแต่ 3 ตัวอย่างขึ้นไป ผู้ทดสอบจะประเมินตัวอย่างที่ได้รับตามลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ผู้ดำเนินการทดสอบต้องการศึกษาโดยผู้ทดสอบจะทำการเรียงลำดับความเข้มข องตัวอย่างตามลักษณะทางประสาทสัมผัสนั้น เช่น ผู้ทดสอบได้รับตัวอย่างจำนวน 4 ตัวอย่างที่มีเลขรหัส 3 หลักกำกับอยู่ในแต่ละตัวอย่าง ผู้ดำเนินการทดสอบต้องการให้ผู้ทดสอบเรียงลำดับความหวานจากหวานมากไปหวานน้อยที่สุด

การทดสอบความแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม (Difference-from-control) วิธีนี้มีการเสนอตัวอย่างที่กำหนดให้เป็นตัวอย่างควบคุม หรือตัวอย่างอ้างอิง หรือ ตัวอย่างมาตรฐานให้กับผู้ทดสอบก่อนเพื่อใช้เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ต้องการทดสอบอีก 1 ตัวอย่างหรือมากกว่า วิธีนี้ผู้ทดสอบจะอธิบายความแตกต่างของตัวอย่างเมื่อเปรียบเที ยบกับตัวอย่างควบคุมออกมาเป็นระดับค่าคะแนนความแตกต่างเทียบกับตัวอย่างควบคุมว่ามีความแตกต่างมากน้อยแค่ไหน ตัวอย่างระดับค่าคะแนนความแตกต่างที่ใช้เช่น 0 ถึง 10 โดยที่ 0 หมายถึง ไม่มีความแตกต่างไปจนถึง 10 หมายถึงแตกต่างมากที่สุดจากตัวอย่างควบคุม

2. การทดสอบเชิงพรรณนา (Descriptive test)

การทดสอบเพื่อวิเคราะห์หาลักษณะทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาหรือการทดสอบเชิงพรรณนา เป็นการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่นักวิจัยทางด้านนี้จะสนใจในเรื่องการได้มาซึ่งข้อมูลเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์มากกว่าแค่มีอะไรแตกต่างกัน ดังนั้น วิธีการทดสอบเพื่อหาคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาจะสามารถช่วยในการแยกแยะลักษณะทางประสาทสัมผัสที่มีความสำคัญในผลิตภัณฑ์ และ ยังให้ข้อมูลเกี่ยวกับระดับความเข้มของลักษณะทางประสาทสัมผัสว่ามีอยู่มากน้อยเพียงไรในตัวอย่างที่นำมาประเมิน การทดสอบแบบเชิงพรรณนานี้เป็นการทดสอบเชิงวิเคราะห์จึงนำมาใช้ในงานที่ต้องการศึกษาหาส่วนผสม หรือตัวแปรของกรรมวิธีการผลิต เช่น อุณหภูมิ เวลาว่ามีผลอย่างไรกับคุณลักษณะเฉพาะเจาะจงสำหรับผลิตภัณฑ์ ศึกษาหาข้อมูลเกี่ยวกับส่วนผสมและกรรมวิธีการผลิตในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ ปรับปรุงผลิตภัณฑ์หรือกรรมวิธีการผลิต การตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางประสาทสัมผัสต่าง ๆ ในระหว่างการเก็บรักษา การศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างการประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีการทดสอบทางประสาทสัมผัส กับ การวัดค่าทางกาย ภาพหรือเคมี วิธีการทดสอบเชิงพรรณนาจะให้ข้อมูลรายละเอียดที่เกี่ยวกับตัวอ อย่างที่นำมาทดสอบประกอบด้วย

1. การอธิบายการรับรู้ลักษณะทางประสาทสัมผัสของตัวอย่าง ได้แก่ ลักษณะที่มองเห็น (Appearance) เช่น สี ขนาด รูปร่าง เป็นต้น กลิ่นเฉพาะ (Aroma) เป็นความรู้สึกที่สัมผัสได้ทางจมูก กลิ่นรส (Flavor) เป็นความรู้สึกภายในปากทางด้านกลิ่นรส และ ความรู้สึกอื่น ๆ ที่เกิดขึ้น เช่น ร้อน เผ็ด เย็น เนื้อสัมผัส (Texture) เป็นความรู้สึกทางด้านแรงที่ใช้ในการ

บดเคี้ยวตัวอย่างและลักษณะทางด้านรูปร่าง รูปทรง ของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสัมผัสด้วยมือหรือภายในเยื่อบุช่องปาก เหงือก ลิ้น เพดานปาก ความรู้สึกอื่น ๆ เช่นความรู้สึกที่เกิดขึ้นภายหลังการกลืนตัวอย่าง (Aftertaste)

2. ปริมาณ หรือ ความเข้มของลักษณะทางประสามสัมผัสของตัวอย่าง (Intensity) ว่ามีอยู่ในปริมาณเท่าไรโดยใช้สเกลในการวัดค่าที่กำหนดขึ้นตามมาตรฐานการทดสอบในแต่ละการทดสอบ เช่นแบบ Category scale, Line scale หรือ Magnitude estimation scale เป็นต้น

3. ลำดับการรับรู้ (Order of perception) เป็นลำดับก่อนหลังของความรู้สึกที่รับรู้ได้ในลักษณะทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างทั้งก่อน ขณะ และ หลังชิมตัวอย่าง ซึ่งเป็นความรู้สึกของลักษณะที่หลงเหลืออยู่หลังจากชิมตัวอย่างแล้ว เช่น ความรู้สึกแห้ง ขมติดคอ เป็นต้น

4. ความรู้สึกโดยรวม (Overall impression) เป็นความรู้สึกโดยรวมของกลุ่มลักษณะทางประสาทสัมผัสเช่น ความเข้มของกลิ่นโดยรวม ความเข้มของกลิ่นรสโดยรวม ความเป็นเนื้อเดียวกัน ในการทดสอบเชิงพรรณนาซึ่งเป็นการทำงานในเชิงวิเคราะห์จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องให้คณะผู้ทดสอบที่ได้รับการคัดเลือกและผ่านการฝึกฝนมาแล้วเป็นอย่างดีเป็นผู้ทำการประเมินตัวอย่าง โดยที่คณะผู้ทดสอบจะมีการบันทึกความรู้สึกเกี่ยวกับลักษณะต่าง ๆ ทางประสาทสัมผัสที่มีอยู่ในตัวอย่าง มีการกำหนดคำศัพท์และคำจำกัดความที่ใช้ในอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสร่วมกัน และกำหนดแนวทางในการให้ระดับความเข้มของความรู้สึกซึ่งเป็นสัญลักษณ์หรือตัวหนังสือหรือตัวเลข เป็นต้น สำหรับวิธีการทดสอบเชิงพรรณนามีอยู่หลายวิธี ได้แก่ วิธีการทดสอบหาข้อมูลลักษณะเฉพาะทางกลิ่นรส (Flavor profile method) วิธีการทดสอบหาข้อมู ลลักษณะเฉพาะทางเนื้อสัมผัส (Texture profile method) วิธีวิเคราะห์แบบพรรณนาเชิงปริมาณ (Quantitative descriptive analysis) วิธีวิเคราะห์สเปคตรัมลักษณะทางประสาทสัมผัส (Sensory spectrum analysis) และวิธีการหาข้อมูลลักษณะเฉพาะทางประสาทสัมผัสแบบเลือกอิสระ (Free choice profiling method)

ก) การทดสอบหาข้อมูลลักษณะเฉพาะทางกลิ่นรส (Flavor profile analysis: FPA ) วิธีนี้พัฒนาโดยบริษัท Arthur D. Little, Inc. การทดสอบวิธีนี้จะให้รายละเอียดเพื่ออธิบายลักษณะของกลิ่นและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ ผู้ทดสอบประมาณ 4 - 6 คน จะต้องได้รับการฝึกฝนมาเป็นอย่างดีเพื่อประเมินกลิ่นและกลิ่นรสเพื่อให้ได้ข้อมูลลักษณะเฉพาะทางกลิ่นรสของตัวอย่างดังนี้ 1) คำอธิบายลักษณะกลิ่นและกลิ่นรส (Character notes) ที่ได้ที่เกิดขึ้นขณะดมกลิ่น (Aroma) ขณะรับประทาน (Flavor-by-mouth) และความรู้สึกที่เกิดขึ้นและคงอยู่ภา ยหลังจากการกลืน (Aftertaste) 2) ความเข้ม (Intensity) ของแต่ละคุณลักษณะโดยบอกเป็นสเกล 3) ลำดับที่ความรู้สึกทางประสาทสัมผัส (Order of perception) ที่เกิดขึ้น

ก่อนหลัง 4) ความรู้สึกที่เกิดขึ้นภายหลัง (Aftertaste) การทดสอบตัวอย่างไปแล้วเป็นระยะเวลาหนึ่ง และ 5) คุณภาพรวมทั้งหมด (Amplitude or Overall impression) ของกลิ่น (Aroma) และกลิ่นรส (Flavor) ความสมบูรณ์ของกลิ่นรสที่ผสมผสานกันอยู่ในผลิตภัณฑ์ ลักษณะของข้อมูลที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธี FPA จะเป็นข้อมูลเชิงคุณ ภาพ กึ่งปริมาณ คือจะได้ข้อมูลลักษณะเฉพาะทางกลิ่นรสทั้ง 5 ประการที่กล่าวมา คะแนนความเข้มคุณลักษณะเป็นลักษณะเชิงเปรียบเทียบไม่ใช่ปริมาณความเข้มที่แท้จริงและค่าคะแนนความเข้มได้มาจากการลงมติเห็นชอบร่วมกันในกลุ่มผู้ทดสอบไม่ใช่ค่าเฉลี่ยจากผลรวมคะแนนของผู้ทดสอบหารด้วยจำนวนผู้ทดสอบ

ข) การทดสอบหาข้อมูลลักษณะเฉพาะทางเนื้อสัมผัส (Texture profile analysis : TPA) วิธีการทดสอบนี้พัฒนาขึ้นมาในปี 1963 โดย Brandt และ Szczesniak บริษัท General Foods Corporation ประเทศสหรัฐอเมริกา เพื่อวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสต่างของผลิตภัณฑ์อาหาร การทดสอบแบบ TPA เพื่อหาข้อมูลลักษณะเฉพาะทางเนื้ อสัมผัสจะใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนด้วยตัวอย่างมาตรฐานจนมีความชำนาญในการให้ค่าคะแนนความเข้มลักษณะเนื้อสัมผัสต่าง ๆ ยกตัวอย่างเช่น ค่าคะแนนความแข็งของตัวอย่างที่นำมาทดสอบจะมีการฝึกฝนให้ค่าคะแนนเทียบกับค่าคะแนนความเข้มของตัวอย่างมาตรฐานที่ได้กำหนดไว้ จนมีความชำนาญก่อนที่จะไปประเมินความแข็งในตัวอย่างที่นำมาทดสอบ

สำหรับการประเมินลักษณะทางเนื้อสัมผัสนั้นทดสอบจะประเมินความรู้สึกที่เกี่ยวข้องกับแรง พลังงาน ที่ใช้ในการบดเคี้ยว ลักษณะรูปร่างรูปทรง และอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับเนื้อสัมผัส โดยผู้ทดสอบจะเริ่มลำดับของความรู้ สึกที่เกิดขึ้นก่อนการชิมตัวอย่าง (Nonoral sense) ความรู้สึกที่เกิดขึ้นภายในปาก (Oral sense) ที่มีลำดับความรู้สึกที่เกิดขึ้นตั้งแต่ขณะกัดตัวอย่างครั้งแรก (First bite) ความรู้สึกที่เกิดขึ้นในขณะเคี้ยว (Mastication or Chewing) ไปจนถึงความรู้สึกที่เกิดขึ้นในขณะและหลังกลืน (Residual) โดยค่าคะแนนความเข้มของลักษณะเนื้อสัมผัสที่ได้จะเทียบกับค่าคะแนนของตัวอย่างมาตรฐานที่ได้กำหนดไว้

ค) การวิเคราะห์แบบพรรณนาเชิงปริมาณ (Quantitative descriptive analysis) หรือเรียกย่อๆ ว่า QDA® วิธีนี้พัฒนาโดย Herbert Stone และ Joel Sidel แห่งบริษัท Tragon Corporation ประเทศ สหรัฐอเมริกา ผู้ทดสอบที่ผ่านการคัดเลือก และฝึกฝนประมาณ 10-12 คน จะทำการประเมินลักษณะต่าง ๆ ทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างโดยให้ค่าคะแนนความเข้มของลักษณะประสาทสัมผัสบนสเกลที่เป็นแบบเส้นตรงที่มีความยาว 15 เซนติเมตร หรือ 6 นิ้ว และที่ปลายเส้นทั้งสองห่างเข้ามาข้างละ 1.5 เซนติเมตร ซึ่งจะกำหนดความอ่อนเข้มของแต่ละลักษณะ สำหรับการพัฒนาคำศัพท์และการฝึกฝนผู้ทดสอบวิธี QDA นี้จะมีหัวหน้ากลุ่มผู้ทดสอบ (Panel leader) ที่อำนวยความสะดวก จัดหาตัวอย่างที่นำมาทดสอบและตัวอย่างอ้างอิง ช่วยให้ผู้ทดสอบเกิดการคิดค้นคำศัพท์ในการอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัส

ที่มีความคิดเห็นร่วมกันเพื่อใช้ในการประเมินตัวอย่างจริงต่อไป หลังจากที่ได้คำศัพท์ คำนิยามที่ใช้ในการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสแล้ว และผู้ทดสอบผ่านการฝึกฝนจนมีความเข้าใจในคำศัพท์ดังกล่าวแล้ว ผู้ดำเนินการทดสอบจะดำเนินการเก็บรวบรวมข้อมูลผลการประเมินตัวอย่างจากผู้ทดสอบแต่ละคนโดยที่ หัวหน้ากลุ่มผู้ทดสอบ จะไม่เข้าร่วมในการประเมิน การประเมินจะทำการประเมินซ้ำอย่างน้อย 3 ซ้ำ ข้อมูลที่ได้จากผู้ทดสอบแต่ละคนจะนำมาหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ หาความแปรปรวน (Analysis of variance) และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยต่อไป การรายงานข้อมูลลักษณะทางประสาทสัมผัสของแต่ละตัวอย่างจะอยู่ในรูปกราฟแบบใยแมงมุม (Spider web)

a. การวิเคราะห์สเปคตรัมลักษณะทางประสาทสัมผัส (Sensory spectrum analysis) วิธีสเปคตรัมนี้ออกแบ บโดย Gail V. Civille และพัฒนามาหลายปีโดยความร่วมมือของบริษัทใหญ่ๆหลายแห่ง (Meilgaard *et al*., 1999) ปรัชญาพื้นฐานของวิธีสเปคตรัมมุ่งเน้นที่ปฏิบัติได้ เป็นเครื่องมือที่จะออกแบบวิธีการทดสอบเชิงพรรณนาสำหรับผลิตภัณฑ์ต่างๆ รวมถึงวิธีการให้คะแนนเป็นสเกลมาตรฐานซึ่ งโดยส่วนใหญ่จะใช้สเกล 15 เซนติเมตร และวิธีการฝึกฝนผู้ทดสอบโดยมีตัวอย่างอ้างอิงค่าคะแนนความเข้มที่ประเมินได้ การประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาด้วยวิธีสเปกตรัมนี้เพื่อเลือกระบบที่ปฏิบัติได้ดีที่สุด สามารถเปรียบเทียบผลการประเมินที่ได้เทียบกับห้องปฏิบัติ การอื่นๆที่ใช้ระบบการฝึกฝนที่เป็นมาตรฐานเดียวกันหรือสามารถเปรียบเทียบลักษณะทางประสาทสัมผัสเดียวกันเช่นระดับความเผ็ดในผลิตภัณฑ์ต่างชนิดกันได้ วิธีนี้ผู้ทดสอบต้องได้รับการคัดเลือกและฝึกฝนเป็นระยะเวลานานเพื่อให้รู้จักลักษณะทางประสาทสัมผัสต่างพร้อมกับตัวอย่างอ้ างอิงที่มีลักษณะทางประสาทสัมผัสนั้นพร้อมกับค่าคะแนนความเข้มมาตรฐานที่ได้กำหนดไว้ ยกตัวอย่างเช่นในการประเมินรสหวานในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ของ Meilgaard และคณะ (1999) ผู้ทดสอบต้องผ่านการฝึกฝนจนมีความชำนาญในการให้ค่าคะแนนความเข้มเรื่องรสหวานโดยฝึกฝนจนมีความชำนาญด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครสมีความเข้มข้นเท่ากับ 2.0% มีค่าคะแนนความเข้มรสหวานเท่ากับ 2 ความเข้มข้น 5.0% มีค่าคะแนนความเข้มรสหวานเท่ากับ 5 ความเข้มข้น 10.0% มีค่าคะแนนความเข้มรสหวานเท่ากับ10 และความเข้มข้น16.0% มีค่าคะแนนความเข้มรสหวานเท่ากับ15 เป็นต้น

b. การหาลักษณะทางประสาทสัมผัสแบบทั่วไป (Generic descriptive analysis) วิธีพัฒนาเพื่อให้มีการนำมาประยุกต์ใช้งานได้สะดวกขึ้น ไม่ต้องอ้างอิงวิธีการที่เป็นวิธีมาตรฐานทางการค้าแบบ QDA® หรือ Spectrum® ซึ่งผู้ดำเนินการทดสอบต้องปฏิบัติตามแบบแผนการทำงานที่ได้วางไว้อย่างเคร่งค รัด สำหรับวิธี Generic descriptive analysis มีขั้นตอนทั่วไปในการดำเนินการทดสอบแบบง่ายๆประกอบไปด้วย 3 ขั้นตอน คือ 1) ขั้นตอนการฝึกฝนผู้ทดสอบ สามารถทำได้ 3 แบบ คือ แบบที่ 1 เรียกว่าแบบ Consensus training ซึ่ง

เป็นการฝึกฝน พัฒนา คำศัพท์ รวมทั้งกำหนดตัวอย่างอ้า งอิงในกลุ่มผลิตภัณฑ์เฉพาะที่จะนำมาทดสอบ โดยผู้ทดสอบจะลงความเห็นร่วมกันในการหาคำศัพท์ที่บ่งบอกความแตกต่างที่เกิดขึ้นในกลุ่มตัวอย่างเฉพาะที่นำมาทดสอบ แบบที่ 2 เรียกว่าแบบ Ballot training คือ การฝึกฝนผู้ทดสอบในการพัฒนาคำศัพท์และกำหนดตัวอย่างอ้างอิง รวมทั้งลำดั บการเกิดความรู้สึกจาก การนำเสนอผลิตภัณฑ์หลากหลาย ๆ ชนิดที่อยู่ภายในกลุ่มผลิตภัณฑ์เดียวกัน เพื่อให้ได้รายการคำศัพท์และตัวอย่างอ้างอิงที่เหมาะสมที่สามารถนำไปใช้ประเมินในกลุ่มผลิตภัณฑ์ดังกล่าว และแบบที่ 3 คือแบบผสมผสานของทั้งสองแบบ 2) ขั้นตอนการวัดค่าความแม่นยำในการประเมิน หลังจากผ่านการฝึกฝนมาระยะเวลาหนึ่งจะดำเนินการให้ผู้ทดสอบฝึกการประเมินตัวอย่างจริงหลายๆ ชุดการทดสอบและทำการวัดความแน่นนอนในการประเมินตัวอย่างของผู้ทดสอบว่ามีความแม่นยำหรือไม่ ผลการประเมินที่ได้จะทำให้ทราบว่าจำเป็นต้องฝึกฝนผู้ทดสอบเพิ่มเติมหรือ ไม่ก่อนการดำเนินการทดสอบจริง และ 3) ขั้นตอนการประเมินตัวอย่าง จะดำเนินให้ผู้ทดสอบแต่ละคนประเมินตัวอย่างจริงในคูหาการทดสอบ (Individual booth) และมีการนำเสนอตัวอย่างให้กับผู้ทดสอบแบบสุ่ม ใช้รหัสตัวอย่างและลดอคติทุกอย่างที่คาดว่าจะมีขึ้นในการทดสอบและทำการทดสอบซ้ำการทดลองอย่างน้อย 2-3 ซ้ำ ชุดการทดลองเพื่อให้ได้ข้อมูลที่น่าเชื่อถือก่อนไปวิเคราะห์ผลการทดลองด้วนวิธีการทางสถิติต่อไป

c. วิธีการหาข้อมูลลักษณะเฉพาะทางประสาทสัมผัสแบบเลือกอิสระ (Free choice profiling) วิธีนี้มีความแตกต่างจากวิธีการทดสอบเชิงพรรณนาอื่นคือ ลดความยุ่งยากในการพัฒนาคำศัพท์ที่ใช้ในการพรรณนาลักษณะทางประสาทสัมผัสที่เกิดจากการลงความเห็นร่วมกันในกลุ่มผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน โดยที่วิธีนี้ผู้ทดสอบแต่ละคนมีอิสระในการกำหนดจำนวนและคำศัพท์ที่ใช้ในการอธิบายรวมทั้งวิธีในการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสต่าง ๆ ของตนเอง ไม่จำเป็นต้องใช้วิธีการปรึกษาและตกลงในการใช้กลุ่มคำศัพท์ร่วมกันในกลุ่มผู้ทดสอบ เหมาะสำหรับการทำงานวิจัยทางด้านผู้บริโภคโดยใช้การหาข้อมูล เกี่ยวกับแผนผังตำแหน่งผลิตภัณฑ์ยี่ห้อต่างตาม เกณฑ์ การรับความรู้สึกเกี่ยวกับลักษณะทางประสาทสัมผัส (Perceptual map) สำหรับข้อมูลที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธีนี้จะทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์แบบโปรครัสท์ (Generalized procrustes analysis) ที่สามารถนำข้อมูลที่หลากหลายของแต่ละคนมาประมวลผลทางคณิตศาสตร์ให้เป็นความคิดเห็นร่วมกันโดยแสดงผลออกมาเป็น ภาพมิติผลการวิ เคราะห์ข้อมูลใน 2 หรือ 3 มิติ เกี่ยวกับแผนผังตำแหน่งผลิตภัณฑ์ยี่ห้อต่างตามแกนการรับความรู้สึกเกี่ยวกับลักษณะทางประสาทสัมผัส อย่างไรก็ตามข้อเสียของวิธีการนี้คือค่อนข้างเสียงเวลาในการจัดทำแบบประเมินสำหรับผู้ทดสอบแต่ละคน นอกจากนี้ความสามารถของผู้ทดสอบแต่ละคนใน บัญญัติคำศัพท์ควรเป็นคำที่มีความหมายเฉพาะเข้าใจได้ง่ายเพื่อที่จะได้นำคำศัพท์ของแต่ละคนนั้นไปเปรียบเทียบกันได้ไม่ยากดังนั้นหากผู้ทดสอบขาดความสามารถดังกล่าวจะเป็นการยากในการแปลผลของผู้วิจัย เช่นคำศัพท์ว่า

กลิ่นรสเหมือนแม่ปรุงเอง เป็นคำศัพท์ที่ใช้ไม่ได้ ไม่รู้ว่ามีความหมายอย่างไรยากต่อการนำไปเปรียบเทียบกับผลของผู้ทดสอบคนอื่น ๆ

d. การติดตามการเปลี่ยนแปลงความเข้มลักษณะทางประสาทสัมผัสตามระยะเวลา (Time intensity test) เป็นวิธีการที่เหมาะสมกับลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ไม่ได้เกิดขึ้นทันทีในขณะประเมินแต่มีการเปลี่ยนแปลงค วามเข้มของลักษณะนั้นเพิ่มขึ้นและลดลงตามระยะเวลาที่ตัวอย่างนั้นอยู่ภายในปาก วิธีนี้เหมาะสำหรับการศึกษาการปลดปล่อยกลิ่นรสของสาร หรือสารที่ระเหยได้ในตัวอย่างเพื่อที่จะนำข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาโครงสร้างภายในของอาหาร ผู้ประเมินจะทำการให้คะแนนความเข้มลักษณะทางประสาท ที่ต้องการศึกษาเช่นความเข้มของกลิ่นรสเมนทอลของตัวอย่างหมากฝรั่งที่เกิดขึ้นภายในปากขณะเคี้ยวที่ระยะเวลาต่าง ๆ ข้อมูลที่ได้จากการประเมินจะนำมาวาดเป็นรูปกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับค่าคะแนนความเข้มของลักษณะประสาทสัมผัสที่ทำการศึกษาและทำการคำนวณหาค่าต่างจากกราฟ

3. การทดสอบความชอบ / การยอมรับ (Affective test) เป็นวิธีที่ใช้เพื่อทดสอบความรู้สึกของผู้ทดสอบในแง่ความชอบ หรือ การยอมรับที่มีต่อผลิตภัณฑ์ ผู้ทดสอบในการทดสอบนี้คือ กลุ่มคนทั่วไปที่ไม่จำเป็นต้องได้รับการฝึกฝนการทดสอบคุณ ภาพทางประสาทสัมผัส (Untrained panel) หรือ พูดอีกแง่หนึ่งก็คือ ผู้บริโภคทั่วไป การทดสอบแบบนี้เหมาะสำหรับศึกษาหาความชอบ หรือ การยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ (Consumer test) การสำรวจความต้องการของผู้บริโภค (Consumer Survey) ข้อมูลที่ได้จากการทดสอบนี้จะช่วยทำให้บริษัทนำข้อมูลดังกล่าวไปใช้ในการพัฒนาและปรับปรุงผลิตภัณฑ์ให้ตรงกับความต้องการของผู้บริโภค การศึกษาความเป็นไปได้ที่ผลิตภัณฑ์จะประสบสำเร็จในการวางจำหน่าย สำหรับวิธีการทดสอบหาความชอบหรือการยอมรับสามารถใช้วิธีการเชิงคุณ ภาพ (Qualitative test) เช่นการอภิปรายกลุ่ม (Focus group discussion) และ/หรือใช้วิธีการทดสอบหาความชอบและการยอมรับในเชิงปริมาณ (Quantitative tests) ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ 1) การทดสอบความชอบ (Paired preference test) ได้แก่การเปรียบเทียบตัวอย่างคู่ เพื่อหาความชอบ (Paired comparison) การเรียงลำดับความชอบ (Ranking for preference) เป็นต้นและ 2) การทดสอบการยอมรับ (Acceptance tests) ได้แก่ การทดสอบหาอัตราความชอบ (Hedonic scaling) การทดสอบแบบ Food action scale test

การทดสอบความชอบ (Paired preference test)

1. การทดสอบเปรียบเทียบแบบคู่ (Paired comparison) ในการทดสอบนี้จะมีเงื่อนไขปกติสำหรับการทดสอบผลิตภัณฑ์ที่ประยุกต์ใช้ในการประเมินทางประสาทสัมผัสในห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างที่ให้รหัสควรจะมีลักษณะเหมือนกันในทุก ๆ ลักษณะยกเว้นลักษณะที่ต้องการทราบ และทำการผันแปรลักษณะนั้นๆเป็นสิ่งทดลอง คำถามที่ว่าผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบ

ควรจะมีความแตกต่างอย่างมากเพียงไรในลักษณะปรากฏ ซึ่งขอแนะนำว่าการทดสอบการเปรียบเทียบคู่ควรถูกนำมาใช้ในลักษณะการทดสอบสิ่งกระตุ้นเดี่ยวๆ

2. การทดสอบลำดับความชอบ (Ranking for prerence) เพื่อเป็นการช่วยให้นักพัฒนาผลิตภัณฑ์สามารถสืบค้นสูตรผลิตภัณฑ์สำหรับการทดสอบ ผู้บริโภค ตัวอย่างที่แตกต่างกันจะถูกนำเสนอเพื่อประเมินความชอบกับผู้ทดสอบชิมที่ไม่ได้ทำการฝึกฝนมาก่อน ผู้บริโภคที่มีการทดสอบผลิตภัณฑ์และได้ลำดับผลิตภัณฑ์ที่สูงจะถูกเลือกเป็นผู้บริโภคสุดท้ายในการทดสอบต่อไป โดยมีเหตุผลที่เชื่อว่าผู้บริโภคกลุ่มนี้จะมีสหสัมพั นธ์กับผู้บริโภคในตลาดมากกว่าผู้ทดสอบชิมในระดับห้องปฏิบัติการ (Calvin and Sather, 1959) ผลิตภัณฑ์ที่ถูกลำดับที่สูงสุดโดยผู้บริโภคสามารถถูกนำเสนอเป็นผลิตภัณฑ์ในการประเมินผู้บริโภคเพื่อตรวจสอบความชอบระหว่างผลิตภัณฑ์ด้วยกันหรือกับผลิตภัณฑ์ที่มีอยู่ในท้องตลาด

การทดสอบการยอมรับ (Acceptance tests)

3. การใช้สเกล (Hedonic scaling) เมื่อกล่าวถึงการใช้สเกลแบบ Hedonic scaling ก็ขอย้อนไปที่เกือบ 200 ปีล่วงมาแล้วเมื่อวิธีนี้ถูกใช้ในการตรวจสอบอุณหภูมิของน้ำ ความเร็วของลม เป็นต้น การใช้ได้ขยายวงกว้างขึ้นหลังสงครามโลกครั้ งที่ 2 เมื่อความจำเป็นในการวัดความต้องการอาหารและลักษณะของอาหารที่ต้องการของกองทัพ ในปี 1947 สเกลแบบ 7-point hedonic scaling ได้ถูกนำมาใช้ครั้งแรกโดย สถาบัน Quartermaster Food and ContainerInstitute เพื่อตรวจสอบความชอบของทหารในรายการอาหารที่นำเสนอ ประโยชน์ดังกล่าวได้รับความสนใจ และในปี 1952 สเกล 7 จุดดังกล่าวถูกกำหนดเป็นเครื่องมือในการสำรวจลักษณะของอาหาร (Gatchalian,1981)

พิจารณาถึงแนวโน้มที่สังเกตได้สำหรับผู้บริโภคที่พยายามหลีกเลี่ยงค่าเกินความจริง สเกล 7 จุด อาจจะให้เฉพาะ 5 ทางเลือกอย่างมีประสิทธิรูปในสเกลของชอบ/ไม่ชอบ เพื่อแก้ไขปัญหาข้อบกพร่องดังกล่าว สเกลแบบ 9 - point hedonic scaling ได้ถูกพัฒนาขึ้นในปี 1955 และพบว่ามีความไวมากกว่าสเกลที่สั้น (Cross *et al*., 1978) และต่อมาสเกลแบบ 9 จุดและความแปรปรวนของสเกลดังกล่าวได้รับการยอมรับที่กว้างขวางขึ้น ปัจจุบันการวิจัยมากมายยังคงศึกษาถึงการวัดประสิทธิ ภาพของวิธีนี้ในการสืบค้นการตอบสนองที่ถูกต้องภายใต้สภาวะที่กำหนดให้ (Pffafman *et al*., 1971; Gatchalian, 1981)

วิธีการใช้สเกล Hedonic scaling ในการพรรณนาวิธีการได้รายงานโดย Amerine *et al*. (1965) ว่าเป็นวิธีการ ทดสอบที่อ้างถึงความพอใจทางจิตวิทยาและลำดับของความไม่พอใจของผู้บริโภค ซึ่งได้แสดงถึงว่าเป็นวิธีจำเพาะของการลำดับสเกลเพื่อวัดสภาวะทางจิตวิทยาโดยตรง วิธีดังกล่าวเป็นการวัดการยอมรับอย่างแท้จริงจากปฏิกิริยาของผู้บริโภคในเทอมของระดับการชอบ /ไม่ชอบของผลิตภัณฑ์ที่ กำหนดให้ภายใต้สภาวะที่กำหนดไว้ ปฏิกิริยาของผู้ประเมินจะชี้ให้เห็นถึงคำที่พรรณนาบนสเกล

สำหรับการทดสอบประเภทการพรรณนารูปร่างลักษณะในการประเมินทางประสาทสัมผัส ความแตกต่างหลักอยู่ที่ว่าผู้ประเมินที่ใช้ในการทดสอบแบบ Hedonic scaling เป็นผู้บริโภค ซึ่งเป็นวิธีที่จะคาดคะเนบนพื้นฐานความเชื่อที่ว่าการตอบสนองโดยตรงเป็นความรู้สึกที่มีเหตุมีผลมากกว่าสำหรับการคาดคะเนพฤติกรรมจริงในอาหารมากกว่าการตอบสนองที่ขึ้นอยู่กับเหตุผล (Gatchalian, 1981)

4. การทดสอบแบบ Food Action Scale test วิธีนี้เรียกสั้นๆว่า FACT พบว่าได้มีการนำมาใช้ในกิจกรรมต่างๆเพื่อวัดการยอมรับผลิตภัณฑ์อาหาร (Schutz et al., 1954; Gatchalian, 1981) ประโยชน์หลักคือการวัดความชอบ/ไม่ชอบจากกิริยาท่าทางที่เป็นไปได้ในการบ่งชี้ของการตอบสนองของผู้บริโภค ในแบบสอบถามอื่นๆผู้ประเมินถูกคาดหวังให้ตรวจสอบปฏิกิริยาที่ต้องการทดสอบ ผลิตภัณฑ์ที่ให้รหัสหลาย ๆ ตัวอย่างอาจจะถูกนำเสนอแม้ว่าการนำเสนออาจจะดำเนินการทีละตัวอย่างหรือครั้งละหนึ่งตัวอย่าง

**ลักษณะทางประสาทสัมผัส**

คุณลักษณะประสาทสัมผัสที่ผู้บริโภคสามารถประเมินด้วยประสาทสัมผัสประกอบด้วย ลักษณะปรากฏ กลิ่น เนื้อสัมผัส รส (วรัษฐา, 2549)

1. ลักษณะปรากฏ มักเป็นสิ่งแรกที่จะมีอิทธิพลต่อการตัดสินใจซื้อหรือลองรับประทานอาหารหรือผลิตภัณฑ์อาหารในครั้งแรกของผู้บริโภค แต่หลังจากที่ผู้บริโภคได้รับประทานอาหารหรือผลิตภัณฑ์อาหารนั้นแล้ว การที่ผู้บริโภคจะยอมรับอาหารหรือผลิตภัณฑ์อาหาร และกลับมาซื้อหรือรับประทานซ้ำมักจะได้รับอิทธิพลจากลักษณะอื่น ๆ มากกว่าลักษณะปรากฏ การประเมินคุณ ภาพอาหารโดยประสาทสัมผัสจึงมักมีการควบคุมลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการศึกษาไว้ด้วยวิธีการที่เหมาะสม เพื่อป้องกันอิทธิพลที่ผู้ทดสอบจะได้รับจากการมองเห็นก่อนการทดลองรับประทานตัวอย่างอาหาร

ลักษณะปรากฏของอาหารโดยทั่วไป จะหมายถึงลักษณะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

- สี (color) ซึ่งประกอบด้วย สีหลัก (Hue) ความเข้มของสี (chroma) ความสว่าง (Value) ความสม่ำเสมอของสี (Evenness) สีของอาหารบางชนิดนอกจากจะเป็นสิ่งดึงดูดความสนใจของผู้บริโภคแล้ว ยังสามารถบ่งบอกถึงคุณภาพของอาหารนั้นได้อีกด้วย เช่น เราสามารถใช้สีผิวของผลไม้บางชนิดบอกระดับความสุก ความแก่อ่อน และการเสื่อมเสียได้อย่างชัดเจน เป็นต้น
- ขนาดและรูปร่าง (Size and shape)
- ลักษณะเนื้อสัมผัสที่ผิว (surface texture) เช่น ความด้านหรือความเป็นมัน

วาวที่ผิว (Dullness or roughness) ความเรียบ/ละเอียด หรือ ความขรุขระ /หยาบ (Evenness or rough) ลักษณะผิวดูเปียกหรือแห้ง อ่อนหรือแข็ง กรอบหรือเหนียว (The surface appear wet or dry, soft or hard, crisp or tough or tough)

- ความใส (Clarity) ของของเหลวหรือของแข็งที่มีลักษณะโปร่งแสงที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า

- ลักษณะเนื้อสัมผัสที่สามารถมองเห็นได้ (Visual texture) เช่น ความซ่า (carbonation) ที่สังเกตได้จากปริมาณฟองที่เกิดขึ้นในขณะที่รินเครื่องดื่ม ความหนืด (viscosity) หรือ ลักษณะเหนียวเหนอะหนะ (stickiness) ที่สังเกตได้ในขณะที่เทหรือใช้ช้อนตักของเหลวหรือของกึ่งแข็ง เป็นต้น

- อื่น ๆ เช่น ลักษณะโครงสร้างที่สามารถมองเห็นได้ (visual structure) ลักษณะเฉพาะที่เมื่อมองเห็นแล้วทำให้นึกถึงกลิ่นรสได้ (visual flavour) เป็นต้น

2. กลิ่น เป็นปัจจัยหนึ่งที่อาจมีอิทธิพลต่อการตัดสินใจซื้อหรือลองรับประทานผลิตภัณฑ์อาหารในครั้งแรกของผู้บริโภคได้ในบางกรณี ในภาษาอังกฤษมีคำที่ใช้เพื่อแสดงถึงกลิ่นอยู่หลายคำ โดยแต่ละคำมีความหมายเฉพาะแตกต่างกันออกไปดังนี้ odour หมายถึงสารระเหยที่ถูกสูดเข้าทางจมูกและถูกรับรู้โดยระบบประสาทรับกลิ่น (Olfactory system) aroma หมายถึงกลิ่น (odour) ของอาหาร และ Fragrance หมายถึงกลิ่นของน้ำหอมหรือเครื่องสำอาง aromatics หมายถึง สารระเหยที่รับรู้โดยระบบประสาทรับกลิ่นจากอาหารที่อยู่ในปาก ส่วน smell เป็นคำที่หนังสือส่วนใหญ่มักจะหลีกเลี่ยง เนื่องจากมีความหมายในทางลบสำหรับบางคน ในขณะที่สำหรับบางคนแล้ว smell มีความหมายเช่นเดียวกับ odour

กลิ่นของอาหารหรือผลิตภัณฑ์จะมีมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่ธรรมชาติของสารประกอบนั้น อุณหภูมิ และลักษณะของผิวหน้าของอาหาร (เมื่ออาหารมีผิวหน้าอ่อน เป็นรูพรุนและชื้นจะมีปลดปล่อยกลิ่นได้มากกว่าอาหารที่มีผิวหน้าแข็ง เรียบ และแห้ง) นอกจากนี้ในอาหารบางชนิด โดยเฉพาะพวกผักผลไม้สด จะมีกลิ่นก็ต่อเมื่อมีการทำงานของเอนไซม์ซึ่งเกิดจากการบอบช้ำหรือการผ่าหรือการตัดเท่านั้น

3. ลักษณะเนื้อสัมผัส เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อการยอมรับผลิตภัณฑ์อาหารของผู้บริโภค โดยทั่วไปแล้วเนื้อสัมผัสเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการยอมรับผลิตภัณฑ์มากเป็นอันดับสองรองจากกลิ่นรส โดยลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์อาหารจะมีความแตกต่างกันไปตามลักษณะสถานะของผลิตภัณฑ์อาหารดังนี้

- ความหนืด (Viscosity) เป็นลักษณะเนื้อสัมผัสของ ของเหลวแบบ Homogeneous Newtonian (เช่น น้ำ เบียร์ ) ในการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือ ความหนืดหมายถึง อัตราการไหลของของเหลวตามแนวแรงที่มากระทำ (เช่น แรงดึงดูดของโลก) มีหน่วยวัดเป็น Centipoise

- ความสม่ำเสมอ (Consistency) เป็นลักษณะเนื้อสัมผัสของ ของเหลวแบบ Non – Newtonian หรือ Heterogenous และของกึ่งแข็ง (เช่น ผลไม้ตีปั่น ซอส น้ำผลไม้เข้มข้น) โดยหลักการแล้ว ความสม่ำเสมอเป็นวิธีหนึ่งของการประเมินคุณ ภาพทางประสาทสัมผัส แต่ในทางปฏิบัติได้มีการพยายามใช้เครื่องมือเพื่อวัดความสม่ำเสมอของผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิดเช่นกัน

- เนื้อสัมผัส (Texture) เป็นลักษณะเนื้อสัมผัสของ ของแข็งหรือของกึ่งแข็ง ลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารเป็นลักษณะที่ค่อนข้างซับซ้อนเนื่องจากเป็นลักษณะที่เกี่ยวข้องกับโครงสร้างภายในของผลิตภัณฑ์

4. กลิ่นรส เป็นลักษณะทางประสาทสัมผัสที่มีอิทธิพลต่อการยอมรับอาหารหรือผลิตภัณฑ์อาหารข องผู้บริโภคที่สุด โดยความหมายที่แท้จริงแล้ว กลิ่นรส (Flavour) หมายถึง ลักษณะของอาหาร เครื่องดื่ม และสารปรุงแต่งซึ่งเป็นผลรวมของการรับรู้จากสิ่งเร้าในอาหารที่มีผลต่อปลายประสาทสัมผัสทั้งหมดที่รวมตัวกันอยู่บริเวณทางเข้าของหลอดอาหารและหลอดลม แต่ในงานด้านการประเมินทางประสาทสัมผัส กลิ่นรส หมายถึง การรับรู้ที่เกิดขึ้นเนื่องจากประสาทรับความรู้สึกทางเคมีเมื่ออาหารอยู่ภายในปากซึ่งประกอบไปด้วย 3 ส่วน คือ

- กลิ่นสารระเหยที่รับรู้โดยระบบประสาทรับกลิ่นจากอาหารที่อยู่ในปาก (Aromatics)

- รสชาติ (Tastes) ซึ่งเกิดจากสารที่ละลายได้จากอาหารที่อยู่ในปาก ประกอบด้วย รสชาติพื้นฐาน 4 ชนิด คือ เปรี้ยว หวาน เค็ม และขม

- ปัจจัยความรู้สึกทางเคมี (Chemical feeling factors) ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นของสารประกอบจากอาหารที่มีผลต่อเนื้อเยื่ออ่อน ๆ บริเวณช่องปากและจมูก ตัวอย่างของปัจจัยความรู้ทางเคมี ได้แก่ ความฝาด ความเผ็ด ความเย็น ความแสบ เป็นต้น (วิวัฒน์, 2549)

**วัตถุประสงค์**

1. ตรวจหาปริมาณคุณค่าทางอาหารของตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป
2. ตรวจหาชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนของตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป
3. ตรวจหาชนิดและปริมาณแร่ธาตุของตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป
4. ตรวจหาชนิดและปริมาณของสารระเหย (volatile compounds) และ กรดอินทรีย์ (organic acids) ที่ให้กลิ่นรส ของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปและ เต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก
5. โปรไบติกแบคทีเรียแลกติกที่แยกได้จากกระบวนการหมักเต้าหู้ยี้ในการให้กลิ่นรสของเต้าหู้ยี้
6. การปร ะเมินทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปที่วางจำหน่ายในอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

**ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย**

ทำให้ทราบคุณค่าทางอาหารของเต้าหู้ยี้ทั้งในด้านแร่ธาตุและกรดอะมิโน รวมทั้งบทบาทของโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติกในการให้กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์เต้าหู้ยี้

# บทที่ 2

# วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง คือ De Man Rogosa and Sharp (MRS) (Difco) ซึ่งเป็นอาหารเหลว MRS broth 1,000 มิลลิลิตรประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| Proteose Peptone | 10.0 | กรัม |
| Beef Extract | 10.0 | กรัม |
| Yeast Extract | 5.0 | กรัม |
| Dextrose | 20.0 | กรัม |
| Polysobate 80 | 1.0 | กรัม |
| Ammonium Citrate | 2.0 | กรัม |
| Sodium Acetate | 5.0 | กรัม |
| Magnesium Sulfate | 0.1 | กรัม |
| Manganese Sulfate | 0.05 | กรัม |
| Dipotassium Phosphate | 2.0 | กรัม |
| Distilled water | 1,000.0 | มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมด และนำไปตั้งไฟอ่อน ๆ จนส่วนผสมละลายเข้ากัน ปรับ pH ให้เท่ากับ 6.5 แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที และในกรณีเป็นอาหารแข็ง MRS agar จะมีส่วนผสมของ agar 15 กรัมต่อส่วนประกอบ 1 ลิตร

2. สารเคมี

| รายการ | ยี่ห้อ |
|---|---|
| Acetone (AR grade) | Labscan |
| Catalase | Fluka |
| Dimethylformamide (AR grade) | Labscan |
| Glycerol | Vidhysom |
| Hydrochloric acid | BDH |
| 3% Hydrogenperoxide | BDH |
| Iodine solution | BDH |
| Normal saline solution | Merck |
| Sodium azide | Lab-chem |
| Bromcresol purple | Lab-chem |
| Sodium chloride | Merck |
| Sodium hydroxide | BDH |
| 1,2,3-trichloropropane | Aldrich |

3. อุปกรณ์

| รายการ | ยี่ห้อ |
|---|---|
| Autoclave | Tomy ES-315, SS320 |
| Centrifuge | Harrier 18/80 |
| Electronic balance | Mettler Toledo PB602-L |
| Gas chromatography mass spectrometer(GC-MS) | HP5890 GC-HP5972 MSD, HEWLETT PACKARD, USA |
| Hot air oven | WTB Binder, BD/ED/FD with R3- |
| Hot plate | Fisher sciencetific, USA |
| Incubator | MMM medcenter |
| Inductively Coupled Plasma- Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) | Lachat Quick Them 8000 |
| Laminar air flow cabinet | Micro flow advanced bio safety cabinet |
| Microscope | Olympus Optical 2 Genie |
| Microwave | Sanyo |
| pH meter | Mettler Toledo Seven Easy |
| Autopipette | Eppendorf |
| Solid phase micro extraction holder | Supelco, Shanghai, China |
| Stirring hot plate | Fisher Scientific, R10T3496, USA. |
| Ultrasonic cleaner | Branson |
| Vortex mixer | Vortex-2-genie |
| Water bath | Julabo TW20 |

**วิธีการทดลอง**

1. การเก็บตัวอย่างเต้าหู้ยี้

เก็บตัวอย่างเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก ประมาณ 100 กรัมจากถังหมักของโรงงานทำเต้าหู้ยี้ อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา อายุการหมัก 1, 5 และ 9 เดือน รวม 3 ตัวอย่าง จากถังหมักเดียวกัน (รูปที่ 17) และเก็บตัวอย่างเต้าหู้ยี้ที่มีอายุ การหมัก 1, 5 และ 9 เดือนจากถังหมักอื่นในโรงงานเดียวกันโดนไม่ซ้ำถังหมัก จำนวน 6 ตัวอย่างและเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปที่วางขายตามห้างสรรพสินค้าและตลาดสด จำนวน 9 ตัวอย่าง (รูปที่ 18) รวมตัวอย่างทั้งห มด 18 ตัวอย่างนอกจากนี้ยังเก็บตัวอย่างเกลือที่ใช้ในการหมัก จำนวน 1 ตัวอย่างเพื่อตรวจหาปริมาณและชนิดของเกลือแร่

1.1. เต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักถังเดิม (ถังหมักเดียวกัน) เขียนชื่อย่อว่า FSF (Fermenting Sufu) จำนวน 3 ตัวอย่างดังนี้

FSF1 = เต้าหู้ยี้อายุ 1 เดือน
FSF2 = เต้าหู้ยี้อายุ 5 เดือน
FSF3 = เต้าหู้ยี้อายุ 9 เดือน

1.2. เต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักที่อายุการหมักแตกต่างกันตั้งแต่ 1, 5 และ 9 เดือน โดยไม่ซ้ำถังหมัก จำนวน 6 ตัวอย่าง ดังนี้

FSF4 = เต้าหู้ยี้อายุ 1 เดือน FSF7 = เต้าหู้ยี้อายุ 1 เดือน
FSF5 = เต้าหู้ยี้อายุ 5 เดือน FSF8 = เต้าหู้ยี้อายุ 5 เดือน
FSF6 = เต้าหู้ยี้อายุ 9 เดือน FSF9 = เต้าหู้ยี้อายุ 9 เดือน

1.2. เต้าหู้ยี้สำเร็จรูป เขียนชื่อย่อว่า CSF (Commercial Sufu) จำนวน 9 ตัวอย่างดังนี้

CSF1 = เต้าหู้ยี้เหลือง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา
CSF2 = เต้าหู้ยี้แดง อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร
CSF3 = เต้าหู้ยี้แดง ประเทศจีน
CSF4 = เต้าหู้ยี้แดง แขวงบางมด เขตทุ่งครุ กรุงเทพมหานคร
CSF5 = เต้าหู้ยี้เหลือง ไต้หวัน
CSF6 = เต้าหู้ยี้เหลือง ประเทศจีน
CSF7 = เต้าหู้ยี้แดง ประเทศจีน
CSF8 = เต้าหู้ยี้เหลือง ประเทศจีน
CSF9 = เต้าหู้ยี้แดง ประเทศไทย

**รูปที่ 17** เต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักจากโรงงานเต้าหู้ยี้ใน อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา

**รูปที่ 18** เต้าหู้ยี้สำเร็จรูปจำนวน 9 ตัวอย่าง ที่จำหน่ายในอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

**2. การตรวจคุณค่าทางอาหารของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (Proximate analysis)** วิเคราะห์โดยศูนย์พัฒนาอุตสาหกรรมเพื่อการส่งออก คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

2.1. การวิเคราะห์หาปริมาณ crude protein

การวิเคราะห์หาปริมาณ crude protein ตามวิธี Kjeldahl method (AOAC, 1990) โดยชั่งตัวอย่างเต้าหู้ยี้บนกระดาษกรองประมาณ 1 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน และมีการใส่ indicator $K_2SO_4$ 5 กรัม กับ $CuO_4.5H_2O$ 0.5 กรัม เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (96-98%) หลอดละ 20-25 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน หลังจากนั้นนำเข้าเครื่องย่อยที่อุณหภูมิ 420 $^{\circ}C$ ย่อย 2 ชั่วโมง จนสารละลายในหลอดใสและไม่มีควัน นำหลอดออกจากจานเครื่องย่อยวางในที่วางหลอด และทิ้งไว้ให้สารละลายอุ่นเติมน้ำกลั่นลงไปประมาณ 75 มิลลิลิตร จัดอุปกรณ์กลั่นเปิดสวิตซ์ไฟและเปิดน้ำหล่อเย็นเครื่องควบแน่น เติม 4% boric acid ลงในขวดรูปชมพู่ประมาณ 40 มิลลิลิตร จากนั้นวางลงในเครื่องกลั่นซึ่งพร้อมที่จะกลั่น โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดนี้ นำหลอดตัวอย่างที่ย่อยแล้ววางในที่วางหลอดของเครื่องกลั่นเติม 40% โซเดียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 20 มิลลิลิตร ทำการกลั่นจนสารละลายในขวดรูปชมพู่เปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีเขียว ได้สารละลายที่กลั่นปริมาตร 150 มิลลิลิตรนำสารละลายในขวดรูปชมพู่ที่ได้มาไตเตรตกับกรด 0.1 N กรดไฮโดรคลอริก จนได้จุดยุติเป็นสีชมพู บันทึกปริมาตรกรดที่ใช้ ทำ blank (ใส่กระดาษกรองโดยไม่มีตัวอย่าง) ด้วยวิธีเดียวกันแต่ไม่ใส่ตัวอย่างเต้าหู้ยี้ คำนวณค่าโปรตีน (crude protein) โดยสูตร

$$\text{ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด} = \frac{1.4007 \times N \times (Vs - Vb)}{W}$$

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (Normality)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

Vs = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

Vb = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรตกับ Blank (มิลลิลิตร)

หลังจากนั้นนำมาคำนวณต่อโดย

%โปรตีน = ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด x 5.71 (Protein conversion factor)

2.2. การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

การวิเคราะห์หาปริมาณไขมันตามวิธี Acid hydrolysis method (AOAC, 1990) โดยอบ extraction cup 100 $^{\circ}C$ 1 คืนเพื่อไล่ความชื้นออก จากนั้นนำไปเก็บใน dessicator ชั่งตัวอย่าง 10 กรัมใส่ในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตรเติม 4 N กรดไฮโดรคลอริก 50 มิลลิลิตรต่อ ฟลาสก์ทิ้งไว้ 2-3 ชั่วโมง ให้ความร้อน (ไฟอ่อน ๆ) เขย่าเพื่อให้ตัวอย่างโดนย่อย

อย่างสมบูรณ์จนเกิดสีดำ เริ่มจับเวลา 1 ชั่วโมงครึ่ง เทผ่านกระดาษกรอง ล้างด้วยน้ำกลั่นอุ่น ๆ เพื่อทำให้ตัวอย่างมีสภาพเป็นกลาง อบ 60 °C 1 คืน นำตัวอย่างใส่ extraction thimble ปิดทับด้วยสำลีที่สกัดไขมันแล้วปิด extraction thimble ด้วยปลอกเหล็ก นำ extraction thimble ใส่ในเครื่องสกัดไขมันโดยยกแขวนไว้ในตำแหน่ง rising เตรียม dichloromethane ใส่ในบีกเกอร์ประมาณ 50 มิลลิลิตร สำหรับการสกัดครั้งแรก ครั้งต่อไปใช้ dichloromethane 25 มิลลิลิตร นำ extraction cup เบอร์ตรงกับที่จดน้ำหนักไว้ เติม dichloromethane ใส่ในเครื่องสกัดโดย extraction cup ตั้งบนแผ่นความร้อนปลด extraction thimble ที่แขวนลงจุ่มใน extraction cup เปิด valve 15 นาที เมื่อครบเวลายก extraction thimble ขึ้นในตำแหน่ง rising 45 นาที เมื่อครบเวลาเปิด valve แล้วเปิด air 20 นาทีเมื่อครบเวลา ปิด air นำเอา extraction cup ออก เข้าตู้อบประมาณ 30 นาทีและนำ extraction thimble ออกใส่ตัวอย่างต่อไป นำ extraction cup อบ 100 °C 1 ชั่วโมงครึ่งแล้วนำไปใส่ใน dessicator ทิ้งไว้ในเย็น แล้วนำไปชั่งจดน้ำหนักที่ได้แล้วนำเข้าอบจนตัวอย่างมีน้ำหนักคงที่ หรือห่างกันไม่เกิน 3 มิลลิกรัมนำค่าที่ได้ไปคำนวณไขมันโดยใช้สูตร

$$\% \text{ ไขมัน} = \frac{W_3 - W_1}{W_2} \times 100$$

$W_1$ = น้ำหนัก extraction cup (กรัม)

$W_2$ = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

$W_3$ = น้ำหนัก extraction cup + ไขมันหลังอบ (กรัม)

2.3. การวิเคราะห์หาเถ้า

การวิเคราะห์หาเถ้าตามวิธี Direct method (AOAC, 1990) โดยนำ crucible ไปเผาก่อนที่ 550 °C 1-2 ชั่วโมง นำไปใส่ใน dessicator ทิ้งให้เย็น 30 นาทีชั่งน้ำหนัก crucible และชั่งตัวอย่างเต้าหู้ยี้ 2 กรัมใส่ใน crucible นำตัวอย่างไปอบที่100 °C 1 คืน นำ crucible ที่มีตัวอย่างไปเผาในเตาเผา 5 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 550 °C เมื่อครบ 5 ชั่วโมงรอจนอุณหภูมิลดลง จากนั้นนำ crucible ที่มีตัวอย่างออก ใส่ไว้ใน dessicator ทิ้งให้เย็นแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก จดบันทึกไว้ นำตัวอย่างเข้าเตาเผาอีกจนตัวอย่างมีน้ำหนักคงที่ หรือห่างกันไม่เกิน 3 มิลลิกรัม นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาเถ้า โดยใช้สูตร

$$\% \text{ เถ้า} = \frac{W_3 - W_1}{W_2} \times 100$$

$W_1$ = น้ำหนัก crucible (กรัม)

$W_2$ = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

$W_3$ = น้ำหนัก crucible + ตัวอย่าง (กรัม)

2.4. การวิเคราะห์หาความชื้น

การวิเคราะห์หาความชื้นตามวิธี AOAC (1990) โดยนำ moisture can อบ 100 °C 3 ชั่วโมง แล้วนำมาใส่ dessicator 10 นาที ชั่ง moisture can จดน้ำหนักของ moisture can ไว้ ชั่งตัวอย่าง 2.5 กรัมใส่ moisture can นำ moisture can เข้าเตาอบ จดน้ำหนักที่ได้แล้วนำตัวอย่างเข้าอบจนตัวอย่างมีน้ำหนักคงที่ หรือ ห่างกันไม่เกิน 3 มิลลิกรัมนำค่าที่ได้ไปคำนวณ โดยใช้สูตร

$$\% \text{ ความชื้น} = \frac{W_3 - W_4}{W_2} \times 100,$$

$W_2$ = น้ำหนักตัวอย่าง

$W_3$ = น้ำหนักถ้วยพร้อมตัวอย่างก่อนอบ

$W_4$ = น้ำหนักถ้วยพร้อมตัวอย่างหลังอบ

2.5. การวิเคราะห์หาเส้นใย (Fiber)

การวิเคราะห์หาเส้นใยตามวิธี AOAC (1990) โดยชั่งตัวอย่าง 50 กรัมแล้วนำไปอบ 100 °C 1 คืน นำตัวอย่างไปกำจัดไขมันโดยวิธี Soxhlet method บดตัวอย่างให้ละเอียด นำ crucible ที่ผ่านการอบ 100 °C 1 คืน ชั่งตัวอย่างใส่ crucible 0.4 กรัม แล้วนำเข้าเครื่องสกัด Fiber โดยย่อยด้วยกรดซัลฟูริก 1.25% และให้ความร้อนครึ่งชั่วโมง ล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้งแล้วจึงย่อยด้วย KOH 1.25% และให้ความร้อนครึ่งชั่วโมง ล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้งล้างด้วยอะซีโตนเพื่อกำจัดไขมันที่เหลือ แล้วจึงนำ crucible อบ 100 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมงหรือ 1 คืนชั่งน้ำหนักแล้วนำเข้าเตาเผา 525 °C 2-3 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนัก นำค่าที่หายไปคำนวณ โดยใช้สูตร

$$\% \text{ เส้นใย} = \frac{(W_2 - W_3 - W_4) \times (100 - \%\text{total fat} - \%\text{ moisture})}{W_1}$$

$W_1$ = น้ำหนักตัวอย่าง

$W_2$ = น้ำหนัก crucible พร้อมตัวอย่างหลังอบ

$W_3$ = น้ำหนัก crucible พร้อมตัวอย่างหลังเผา

$W_4$ = น้ำหนัก blank

2.6. การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตและพลังงาน

โดยใช้วิธีการคำนวณ ดังนี้

Carbohydrate = 100% - ( Protein + %Total fat + %Moisture + %Ash)

Energy = (%Protein x 4) + (%Carbohydrate x 4) + ( %Total fat x 9)

**3. การตรวจหาชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนของตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป**

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatograph Amino acid Analysis model LC-6A (Shimadzu) Column: Shim-pack ISC-07/S 1504 Na (pack with cation exchanger consist of sulphonate syrene divinyl benzene copolymer) โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ศูนย์ทดสอบและมาตรวิทยา อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ โดยชั่งตัวอย่างเต้าหู้ยี้ 100 กรัม นำไปย่อยสลายด้วยกรด 6 N กรดไฮโดรคลอริก ที่ 110 °C เป็นเวลา 22 ชั่งโมง ก็จะได้สารละลายของกรดอะมิโน (Amino acid hydrolysate) นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC สำหรับวิเคราะห์กรดอะมิโนโดยเฉพาะ และ condition ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์กรดอะมิโน คือ Flow rate: 0.3 ml/min ยกเว้น tryptophan ใช้ 0.4 ml/min Reaction temperature: 55 °C Mobile phase ประกอบด้วย A = 0.2 N sodium citrate (containing 7% EtOH, pH 3.2), B = 0.6 N sodium citrate + 0.2 N boric acid, pH 10, C = 0.2 N sodium hydroxide ยกเว้น tryptophan ใช้ Mobile phase: 0.6 N sodium citrate + 0.2 N boric acid, pH 9 กรดอะมิโนแต่ละตัวที่ผ่าน Column ทำปฏิกิริยากับ OPA (o-phthalaldehyde) ถูกวัดด้วย Detector: Fluorescence detector ผ่านไปยังเครื่องประมวลผลซึ่งสามารถรายงานผลได้ทั้งด้านปริมาณและคุณภาพโดยเทียบกับกรดอะมิโนมาตรฐานแต่ละชนิด

**4. การตรวจหาชนิดและปริมาณแร่ธาตุในเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักและเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป**

การตรวจวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณแร่ธาตุในเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป แร่ธาตุอาจมาจากวัตถุดิบ เช่น เต้าหู้ เกลือ และน้ำที่ใช้ในกระบวนการหมักเต้าหู้ยี้ แร่ธาตุเป็น cofactor สำหรับเอนไซม์ต่าง ๆ ในปฏิกิริยาย่อยสลายเต้าหู้ และยังเป็นอาหารเสริมบำรุงร่างกายอีกด้วย แร่ธาตุที่ตรวจวิเคราะห์จำนวน 17 ชนิด ได้แก่ Na, K, Li, Mg, Fe, Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, Co, Cr, As, Se, Ca, Mn และ Al ซึ่งตรวจวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุ ICP-OES (Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry)

ชั่งตัวอย่าง 4 กรัมใส่ใน Vycor ที่หน่วยเครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วางบน hot plate ไฟอ่อน ๆ ในตู้ควันจนน้ำระเหยหมดไป เพิ่มความร้อนขึ้นจนตัวอย่างไม่มีควัน (ใช้เวลาไม่น้อยกว่า 5 ชั่วโมง) นำ Vycor ไปเข้า Muffle furnance ที่อุณหภูมิ 450 °C หรือ 550 °C จนกระทั่งตัวอย่างเปลี่ยนจากสีดำเป็นไม่มีสีหรือสีเทาอ่อน (ใช้เวลาประมาณ 8 ชั่วโมง) ทิ้งให้เย็น ละลายด้วยกรดไนตริค หรือไฮโดรคลอริคเจือจาง 1:3 จำนวน 20 มิลลิลิตร ให้ความร้อน กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 42 ลงใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ที่ล้างด้วยกรดแล้วล้าง Vycor ด้วยน้ำร้อน 2-3 ครั้ง ปรับปริมาตรให้

ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ ปราศจากไอออน (deionized water) สารละลายกรดเจือจางที่มีโลหะถูกดูดเข้าเครื่อง ICP-OES เพื่อวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของแร่ธาตุในตัวอย่างโดยเทียบกับกราฟความเข้มข้นต่าง ๆ ของแร่ธาตุมาตรฐานแต่ละชนิด

**5. การตรวจหากลิ่นรสในเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปและเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก**
(ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์)

5.1. ตรวจหาชนิดและปริมาณของสารระเหยที่ให้กลิ่น (Volatile compounds) และกรดอินทรีย์ (Organic acids) ของตัวอย่างเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักและเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป

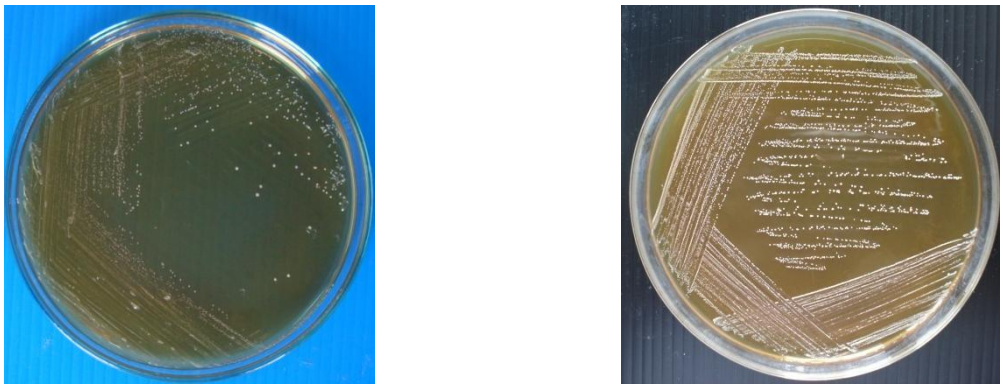
5.1. การตรวจหาสารระเหยที่ให้กลิ่น (volatile compounds) ของเต้าหู้ยี้ ซึ่งทำได้โดยนำเต้าหู้ยี้ 5 กรัม (ส่วนของเนื้อและน้ำ ) บดให้เข้ากัน ใส่ใน Headspace vial ขนาด 20 มิลลิลิตร ให้อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 15 นาทีเพื่อให้เกิดดุลย ภาพของการระเหย แล้วทำการสกัดสารระเหยที่ให้กลิ่นด้วย Solid Phase Micro extraction ไฟเบอร์ชนิด 100 μm polydimethylsiloxane โดยใช้อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 45 นาที ตามวิธีของ Szkudlarz *et al.* (2003) โดยใส่ 1,2,3-trichloropropane (Zhao *et al*., 2007) 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็น internal standard หลังจากนั้นสารระเหยที่อยู่บนไฟเบอร์จะถูกฉีดเข้าเครื่อง GC-MS Chung *et al*. (2005) โดยมีสภาวะการทดลองดังนี้ คอลัมน์ที่ใช้คือ HP-Innowax ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร และความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร โดยใช้อุณหภูมิของหัวฉีดเท่ากับ 250 °C เป็นเวลา 15 นาที และก๊าซ helium เป็นตัวพา สำหรับอุณหภูมิที่ใช้คือ ตั้งอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 40 °C เป็นเวลา 2 นาที แล้วเพิ่มขึ้นด้วยอัต รา 10 °C ต่อนาที จนถึง 200 °C และเพิ่มขึ้นด้วยอัตรา 15 °C ต่อนาที จนถึง 250 °C เป็นเวลา 15 นาที สำหรับ mass range ของเครื่อง mass spectrometer อยู่ในช่วง 35-550 amu และการระบุสารประกอบของ flavour profile โดยเก็บบันทึกข้อมูลด้วยคอมพิวเตอร์ที่มี standard library spectra พร้อมโปรแกรมค้นหา เพื่อใช้เทียบเคียง mass spectrum กับ GC-MS database ชื่อ Wiley 275.L

5.2. การตรวจหากรดอินทรีย์ (Organic acids) ของเต้าหู้ยี้ โดยทำการบดเต้าหู้ยี้ 10 กรัม (ส่วนของเนื้อและน้ำ) บดให้เข้ากัน กรองด้วย membrane 0.2 ไมโครเมตร นำมาเจือจาง 1:10 ด้วย acetone โดยใส่ Dimethylformamide 5.26 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็น internal standard และฉีดเข้าเครื่อง GC-MS ฉีดแบบ Splitless Chung *et al*. (2005) โดยมีสภาวะการทดลองดังนี้ คอลัมน์ที่ใช้คือ HP-Innowax ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร และความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร โดยใช้อุณหภูมิของหัวฉีด

เท่ากับ 240 °C และก๊าซ helium เป็นตัวพา สำหรับอุณหภูมิที่ใช้คือ ตั้งอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 60 °C แล้วเพิ่มขึ้นด้วยอัตรา 4 °C ต่อนาที จนถึง 100 °C และเพิ่มขึ้นด้วยอัตรา 15 °C ต่อนาที จนถึง 250 °C เป็นเวลา 5 นาที สำหรับ mass range ของเครื่อง mass spectrometer อยู่ในช่วง 40-500 amu และการระบุสารประกอบของกรดอินทรีย์โดยเก็บบันทึกข้อมูลด้วยคอมพิวเตอร์ที่มี standard library spectra พร้อมโปรแกรมค้นหา เพื่อใช้เทียบเคียง mass spectrum กับ GC-MS database ชื่อ Wiley 275.L

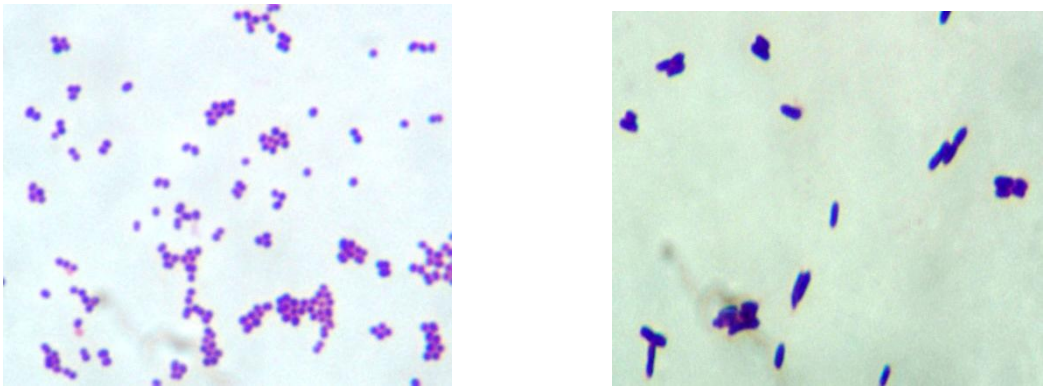
**6. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียแลกติก**

นำเชื้อโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติก ซึ่งแยกจากเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักจากโรงงานเต้าหู้ยี้ อำเภอ เมือง จ ังหวัด สงขลา (สุพรรษา , 2550) ทั้งหมด 3 สายพันธุ์ (PS1231 = *Tetragenococcus halophilus,* PS1240 = *Lactobacillus acidipiscis,* PS1243 = *Lactobacillus curvatus*) และเชื้ออ้างอิงอีก 2 สายพันธุ์ (*Pediococcus halophilus* TISTR 334, *Lactobacillus plantarum* TISTR 862) ที่เก็บไว้ในตู้ -70 °C ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงข ลานครินทร์ ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth บ่มที่อุณหภูมิ 35 °C 24 ชั่วโมงเพื่อเลี้ยงเชื้อให้เติบโตในอาหารที่เชื้อสามารถนำไปใช้ได้ง่ายและทำให้เชื้อแข็งแรงขึ้น นำเชื้อที่เติบโตมา streak บน MRS agar ให้เป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ (รูปที่ 19) และนำมาย้อมแกรมเพื่อดูลั กษณะเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (รูปที่ 20) เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป



(A) (B)

**รูปที่ 19** ลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันของแบคทีเรียแลกติกสายพันธุ์ *Tetragenococcus halophilus* PS1231 (A) และ *Lactobacillus curvatus* PS1243 (B) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MRS agar บ่ม 35 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง



(A) (B)

**รูปที่ 20** รูปร่าง การจัดเรียงตัว และการติดสีกรัมของแบคทีเรียแลกติกที่แยกได้จากเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก (กำลังขยาย 1000 เท่า)

A) รูปร่างแบบ cocci, tetrad formation ของเชื้อสายพันธุ์ *T. halophilus* PS1231

B) รูปร่างแบบ rod ของเชื้อสายพันธุ์ *L. curvatus* PS1243

**7. ตรวจหาชนิดและปริมาณของสารระเหย (Volatile compounds) และ กรดอินทรีย์ (Organic acids) ที่ให้กลิ่น รสที่ผลิตจาก โปรไบโอติ กแบคทีเรียแลกติก ที่แยกได้จาก กระบวนการหมักเต้าหู้ยี้**

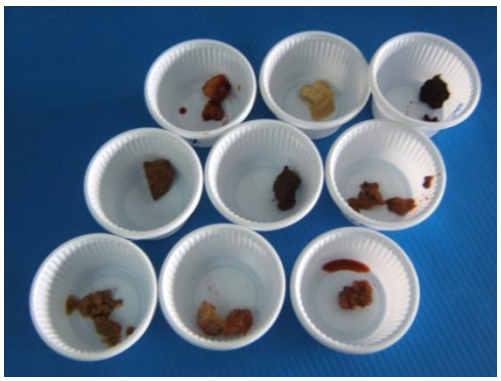
คัดเลือกโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติกที่แยกได้จากกระบวนการหมักเต้าหู้ยี้ที่ตรวจพบบ่อยในกระบวนการหมักเต้าหู้ยี้ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยโปรตีน เอนไซม์ย่อยแป้ง หรือเอนไซม์ย่อยไขมันได้ดี เช่น *Lactobacillus* ซึ่ง ได้เก็บรวบรวมไว้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ได้แก่ โปรไบโอติก แบคทีเรียแลกติก 3 สายพันธุ์ที่ตรวจพบบ่อยในกระบวนการหมักเต้าหู้ยี้และมีศักย ภาพในการผลิตสารยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในทางอาหาร (probiotic bacteria)

การตรวจหาสารระเหยที่ให้กลิ่น (volatile compounds) ที่ผลิตจากโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติกที่แยกจากกระบวนการหมักเต้าหู้ยี้ โดย นำเชื้อโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติกเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เหมาะสม MRS broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่เติม 10 % เต้าหู้บด เป็นแหล่งของโปรตีน ปรับ pH 6.5 แล้วเติมเชื้อเริ่มต้น 10% นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 $^{\circ}$C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างจากของเหลวส่วนบนใส (supernatant) เป็น 3 ช่วงเวลา คือ 0, 24 และ 48 ชั่วโมง (เวลาที่ 0 ชั่วโมง เป็น medium ก่อนใส่เชื้อใช้เป็น control) ทำการสกัดสารระเหย จากแต่ละตัวอย่าง และฉีดเข้าเครื่อง GC-MS ตามวิธีในข้อ 5.1. เปรียบเทียบสารระเหยที่ให้กลิ่นกับรูปแบบที่ตรวจพบจากตัวอย่างเต้าหู้ยี้และทำการตรวจกรดอินทรีย์ (organic acids) โดยนำ supernatant เจือจาง 1:10 ด้วย acetone และฉีดเข้าเครื่อง GC-MS ตามวิธีในข้อ 5.2.

**8. การทดสอบทางประสาทสัมผัส**

การประเมินทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป เตรียม 5 ส่วนต่อข้าวต้ม 100 ส่วน โดยนำตัวอย่ างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป 9 ชนิด (CSF1 – CSF9) ชนิดละ 1.25 กรัม รับประทานร่วมกับข้าวต้ม 25 กรัมรวม 9 ถ้วยและใช้ข้าวต้มเปล่าจำนวน 200 กรัม 1 ถ้วยเพื่อกลบกลิ่นรสของตัวอย่างทั้ง 9 ชนิดที่ได้ชิมไปแล้ว (รูปที่ 21) มาทดสอบการประเมินทางประสาทสัมผัส แบบ Hedonic test โดยมีผู้ทดสอบ 20 คน ซึ่งเป็นนักศึกษาระดับปริญญาตรีและปริญญาโท/เอก อายุระหว่าง 20 – 30 ปี และไม่เคยผ่านการฝึกฝนการทดสอบทางประสาทสัมผัสมาก่อน แล้วให้คะแนนความชอบทั่วไปในด้านสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบรวม โดยให้คะแนน เป็นความแตกต่าง แบบ 9-point hedonic scale คือ คะแนน 9 = ชอบมากที่สุด และคะแนน 1 = ไม่ชอบมากที่สุด สำหรับการยอมรับในการบริโภคให้คะแนนแบบ 5-point just about right scale (แบบฟอร์มการทดสอบ ภาคผนวก ข) แล้วนำข้อมูลมา

วิเคราะห์โดยใช้ตารางค่าสถิติ One Way Anova โปรแกรม SPSS Version 15 ในการวิเคราะห์ (กัลยา, 2546)



(A)

(B)

**รูปที่ 21** ชุดการเสริฟในการประเมินทางประสาทสัมผัส

(A) เต้าหู้ยี้ (5%) 9 ชนิด (CSF1 – CSF9) ชนิดละ 1.25 กรัมใส่ในถ้วยพลาสติก 9 ถ้วย

(B) ข้าวต้ม 25 กรัม ใส่ในถ้วยพลาสติก 9 ถ้วย และ 200 กรัม จำนวน 1 ถ้วย (สำหรับกลบกลิ่นของตัวอย่างที่ได้ชิมไปแล้ว)

# บทที่ 3

## ผลการทดลอง

1. คุณค่าทางอาหารของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป

คัดเลือกตัวอย่างเต้าหู้ ยี้ที่มีกลิ่นรสดีจากการทดสอบประสาทสัมผัส เต้าหู้ยี้เหลือง 2 ตัวอย่างได้แก่ CSF1 และ CSF5 และเต้าหู้ยี้แดง 2 ตัวอย่างได้แก่ CSF2 และ CSF3 รวม 4 ตัวอย่างมาทำการ ตรวจสอบคุณค่าทางอาหารโดยตรวจหาปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ความชื้น เถ้า ไฟเบอร์และพลังงาน (ตารางที่ 8) ปรากฏว่าตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป มีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่าง 7 - 15 % ปริมาณไขมันอยู่ระหว่าง 4 - 10% ปริมาณคาร์โบไฮเดรตอยู่ระหว่าง 2 - 16% ปริมาณความชื้นอยู่ระหว่าง 53 - 74% ปริมาณเถ้าอยู่ระหว่าง 10 - 13% ปริมาณเส้นใยอยู่ระหว่าง 0.1 - 1% พลังงานอยู่ระหว่าง 68 - 176 กิโลแคลลอรี และ ปริมาณเกลืออยู่ 10 - 15% โดยเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป CSF3 เป็นเต้าหู้ยี้แดงที่มีปริมาณโปรตีน ไขมันและคาร์โบไฮเดรตต่ำกว่าตัวอย่าง CSF1, CSF2 และ CSF3 ถึง 1.7 - 2.1 เท่า, 2.0 - 2.6 เท่า และ 1.6 - 7.9 เท่าตามลำดับ

**ตารางที่ 8** คุณค่าทางอาหารของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป

| ชนิดเต้าหู้ยี้ | **CSF1** **(เต้าหู้ยี้เหลือง)** | **CSF2** **(เต้าหู้ยี้แดง)** | **CSF3** **(เต้าหู้ยี้แดง)** | **CSF5** **(เต้าหู้ยี้เหลือง)** |
|---|---|---|---|---|
| Protein (%) | 12 | 15 | 7 | 11 |
| Lipid (%) | 9 | 10 | 4 | 7 |
| Carbohydrate(%) | 3 | 5 | 2 | 16 |
| Moisture (%) | 65 | 58 | 74 | 53 |
| Ash (%) | 10 | 12 | 13 | 12 |
| Fiber (%) | 0.1 | 0.3 | 0.1 | 1 |
| Energy (kcal) | 142 | 166 | 68 | 176 |
| Salt (%NaCl) | 10 | 14 | 15 | 14 |

**2. ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป**

โปรตีนในเต้าหู้มีกรดอะมิโนมาก เช่น aspartic acid, leucine, methionine และ phenylalanine เป็นต้น ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้เป็นสารตั้งต้นของสารที่ให้กลิ่นรส ผลการตรวจวิเคราะห์พบว่า สามารถจัดชนิดและปริมาณ กรดอะมิโน ที่มีอยู่ในเต้าหู้ยี้สำ เร็จรูปได้ 4 กลุ่ม ดังนี้ (ตารางที่ 9) (Nelson and Cox, 2000; Sarkar *et al*., 1997)

1. กลุ่ม Acidic amino acid (aspartic acid และ glutamic acid ) จากการทดลองพบว่าปริมาณกรดอะมิโนในกลุ่ม acidic amino acid สูงทั้งในเต้าหู้ยี้เหลืองและเต้าหู้ยี้แดงมีปริมาณอยู่ระหว่าง 29 - 840 มิลลิกรัม/100 กรัม โดยพบ glutamic acid มีปริมาณสูงทั้งในเต้าหู้ยี้แดงและเหลือง โดย glutamic acid จะมีความสำคัญมากต่อรสชาติและการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยจะให้รสชาติอูมามิ (Liu and Chou, 1994)

2. กลุ่ม Basic amino acid (histidine, arginine และ lysine) มีปริมาณอยู่ระหว่าง 4 - 1,011 มิลลิกรัม/100 กรัม โดยพบ lysine มีปริมาณมากที่สุด

3. กลุ่ม Hydrophilic amino acid (glycine, cystine, tyrosine, threonine และ serine) มีปริมาณอยู่ระหว่าง 62 - 191 มิลลิกรัม/100 กรัม โดยพบ serine มีปริมาณมากที่สุด ซึ่งจากผลการทดลองตรวจไม่พบ cystine ในตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป

4. กลุ่ม Hydrophobic amino acid (alanine, isoleucine, leucine, methionine, phenylalanine, proline, trytophan และ valine) มีปริมาณอยู่ระหว่าง 0.2 - 560 มิลลิกรัม/100 กรัม โดยพบ leucine มีปริมาณมากที่สุด

**ตารางที่ 9** ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป

(ND = not detect)

| **Amino acid** | **CSF1** (เต้าหู้ยี้เหลือง) (มิลลิกรัม/100กรัม) | **CSF2** (เต้าหู้ยี้แดง) (มิลลิกรัม/100กรัม) | **CSF3** (เต้าหู้ยี้แดง) (มิลลิกรัม/100กรัม) | **CSF5** (เต้าหู้ยี้เหลือง) (มิลลิกรัม/100กรัม) |
|---|---|---|---|---|
| 1. Acidic amino acid | | | | |
| Aspartic acid | 256 | 29 | 222 | 457 |
| Glutamic acid | 840 | 617 | 430 | 497 |
| 2. Basic amino acid | | | | |
| Arginine | 4 | 65 | 33 | 116 |
| Histidine | 103 | 86 | 1011 | 81 |
| Lysine | 315 | 232 | 156 | 141 |
| 3. Hydrophilic amino acid | | | | |
| Cystine | ND | ND | ND | ND |
| Glycine | 70 | 81 | 62 | 50 |
| Serine | 177 | 151 | 99 | 122 |
| Threonine | 169 | 141 | 73 | 150 |
| Tyrosine | 101 | 76 | 69 | 191 |
| 4. Hydrophobic amino acid | | | | |
| Alanine | 143 | 206 | 109 | 168 |
| Isoleucine | 187 | 65 | 109 | 133 |
| Leucine | 357 | 196 | 157 | 207 |
| Methionine | 50 | 29 | 21 | 26 |
| Phenylalanine | 264 | 560 | 165 | 182 |
| Proline | 154 | 133 | 106 | 223 |
| Tryptophan | 4 | 13 | 7 | 0.2 |
| Valine | 155 | 81 | 97 | 146 |

**3. การตรวจหาปริมาณแร่ธาตุในตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปและเต้าหู้ ยี้ในกระบวนการหมัก**

เนื่องจากอาหารแต่ละชนิด จะมีองค์ประกอบของแร่ธาตุต่างๆ แตกต่างกัน ขึ้นกับวัตถุดิบที่นำมาใช้ และจากการตรวจหาปริมาณแร่ธาตุ จำนวน 13 ชนิด ในเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป โดยมี CSF1 เป็นเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปที่หมักแบบดั้งเดิมเป็นตัวอย่างควบคุมเพื่อเปรียบเทียบกับเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปอื่นๆ อีก 8 ตัวอย่างได้แก่ CSF2, CSF3, CSF4, CSF5, CSF6, CSF7, CSF8 และ CSF9 ผลการตรวจวิเคราะห์พบว่า สามารถจัดชนิดและปริมาณแร่ธาตุที่มีอยู่ในเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปได้ 3 กลุ่ม ดังนี้ (ตารางที่ 10)

กลุ่ม A เป็นกลุ่มที่มีแร่ธาตุที่มากเป็นอันดับ 1 (>100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ได้แก่ Na (19,000 - 34,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), K (740 - 1,408 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), Ca (107 - 420 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และ Mg (294 -416 มิลลิกรัม/กิโลกรัม)

กลุ่ม B เป็นกลุ่มที่มีแร่ธาตุที่มากอันดับ 2 (1 - 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) โดยมีแร่ธาตุ 5 ชนิด ได้แก่ Al (5 - 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), Fe (6 - 9 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), Mn (2 - 7 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), Cu (0.4 - 6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และ Zn (1 - 4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม)

กลุ่ม C เป็นกลุ่มที่มีแร่ธาตุที่มีปริมาณน้อย < 1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ได้แก่ As, Ni, Cr และ Cd ส่วนจากการตรวจสอบไม่พบ Pb และ Li ในทุกตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป ซึ่งแสดงถึงการปนเปื้อนสารพิษจากสิ่งแวดล้อม

ส่วนตัวอย่างเกลือที่ใช้การหมักพบแร่ธาตุดังนี้ แร่ธาตุที่มี ปริมาณมากที่สุด ได้แก่ Na (350,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และแร่ธาตุอื่น ๆ ได้แก่ Ca (11 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), K ( 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), Mg (3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), Al (1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และ Fe (2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) Zn (0.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), Mn (0.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), Cr (0.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), Ni (0.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), Cd (0.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), As (0.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และ Cu (0.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม)

**ตารางที่ 10** ปริมาณแร่ธาตุในตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป
(ND = not detect)

| แร่ธาตุ | ปริมาณแร่ธาตุ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **CSF1** | **CSF2** | **CSF3** | **CSF4** | **CSF5** | **CSF6** | **CSF7** | **CSF8** | **CSF9** | **เกลือ** |
| กลุ่ม A | | | | | | | | | | |
| Na | 19,000 | 24,200 | 34,300 | 30,100 | 22,100 | 22,300 | 39,300 | 15,700 | 26,700 | 352,000 |
| K | 805 | 740 | 775 | 1,003 | 1,408 | 979 | 930 | 333 | 935 | 5 |
| Ca | 370 | 252 | 420 | 381 | 107 | 252 | 254 | 121 | 278 | 11 |
| Mg | 359 | 222 | 416 | 553 | 294 | 429 | 477 | 171 | 361 | 3 |
| กลุ่ม B | | | | | | | | | | |
| Al | 25 | 9 | 9 | 24 | 5 | 22 | 12 | 9 | 19 | 1 |
| Fe | 9 | 8 | 9 | 13 | 6 | 7 | 9 | 9 | 24 | 2 |
| Mn | 4 | 2 | 4 | 7 | 3 | 5 | 3 | 3 | 3 | 0.06 |
| Cu | 2 | 3 | 4 | 6 | 2 | 3 | 3 | 2 | 0.4 | ND |
| Zn | 2 | 4 | 1 | 3 | 2 | 2 | 1 | 5 | 1 | 0.60 |
| กลุ่ม C | | | | | | | | | | |
| As | 0.11 | 0.06 | 0.06 | 0.08 | 0.06 | 0.07 | 0.06 | 0.07 | 0.09 | ND |
| Ni | 0.07 | 0.03 | 0.10 | 0.05 | 0.16 | 0.12 | 0.08 | 0.06 | 0.05 | 0.04 |
| Cr | 0.02 | 0.01 | 0.02 | 0.03 | 0.03 | 0.02 | 0.01 | 0.02 | 0.02 | 0.06 |
| Cd | 0.02 | 0.08 | 0.08 | 0.03 | 0.01 | 0.02 | 0.02 | 0.02 | 0.06 | 0.02 |

องค์ประกอบของแร่ธาตุจากการตรวจหาปริมาณแร่ธาตุของเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก จำนวน 13 ชนิด โดยมี CSF1 เป็นเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปที่หมักแบบดั้งเดิมเป็นตัวอย่างควบคุม ผลการตรวจวิเคราะห์พบว่า สามารถจัดชนิดและปริมาณแร่ธาตุที่มีอยู่ในเต้าหู้ยี้ ในกระบวนการหมักได้ 3 กลุ่ม ดังนี้ (ตารางที่ 11)

กลุ่ม A เป็นกลุ่มที่มีแร่ธาตุที่มากเป็นอันดับ 1 (>100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ได้แก่ Na (14,500 - 46,400 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), K (639 – 1,358 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), Ca (136 – 983 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และ Mg (595 – 882 มิลลิกรัม/กิโลกรัม)

กลุ่ม B เป็นกลุ่มที่มีแร่ธาตุที่มากอันดับ 2 อยู่ระหว่าง (1-100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) โดยมีแร่ธาตุ 5 ชนิด ที่เป็นตัวบ่งชี้คุณภาพของเต้าหู้ยี้ ได้แก่ Al (17 – 22 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), Fe (1 – 2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), Mn (3 – 7 มิลลิกรัม/กิโลกรัม), Cu (5 – 6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และ Zn (3 – 6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม)

กลุ่ม C เป็นกลุ่มที่มีแร่ธาตุที่มีปริมาณน้อย < 1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ได้แก่ As, Ni, Cr และ Cd ส่วนจากการตรวจสอบไม่พบ Pb และ Li ในทุกตัวอย่างเต้าหู้ยี้ ในกระบวนการหมักซึ่งแสดงถึงการปนเปื้อนสารพิษจากสิ่งแวดล้อม

**ตารางที่ 11** ปริมาณแร่ธาตุในตัวอย่างเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักเปรียบเทียบกับเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1) และตัวอย่างเกลือที่ใช้ในการหมักเต้าหู้ยี้ (ND = not detect)

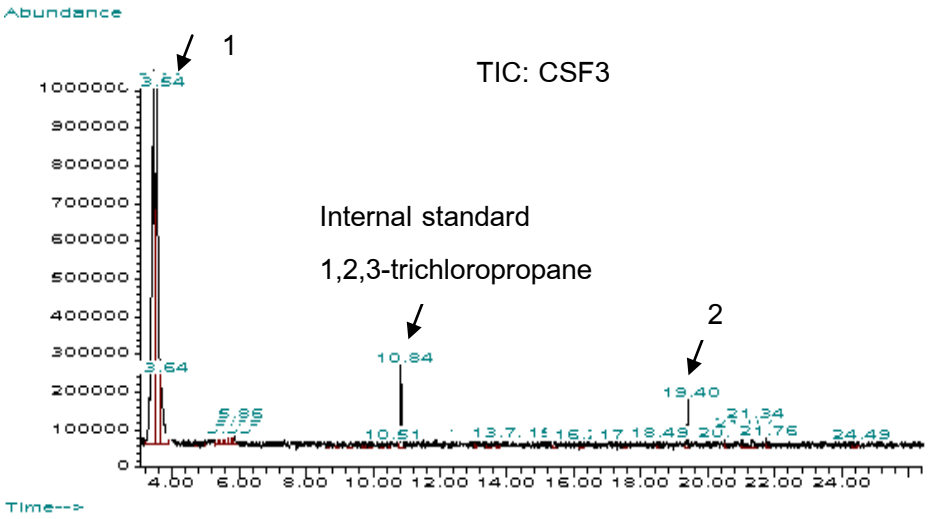
| แร่ธาตุ | ปริมาณแร่ธาตุ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **FSF1** | **FSF2** | **FSF3** | **CSF1** | **เกลือ** |
| กลุ่ม A | | | | | |
| Na | 46,400 | 27,100 | 44,400 | 19,700 | 352,000 |
| K | 639 | 1,358 | 1,165 | 805 | 5 |
| Ca | 136 | 755 | 982 | 370 | 11 |
| Mg | 595 | 882 | 692 | 359 | 3 |
| กลุ่ม B | | | | | |
| Al | 22 | 22 | 17 | 25 | 1 |
| Fe | 2 | 2 | 1 | 9 | 2 |
| Cu | 5 | 6 | 6 | 2 | ND |
| Mn | 5 | 3 | 7 | 4 | 0.06 |
| Zn | 7 | 3 | 6 | 2 | 0.60 |
| กลุ่ม C | | | | | |
| Ni | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.07 | 0.04 |
| As | ND | ND | ND | 0.11 | ND |
| Cd | 0.01 | 0.08 | 0.01 | 0.02 | 0.02 |
| Cr | 0.01 | 0.002 | 0.01 | 0.02 | 0.06 |

ส่วนการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุของตัวอย่างเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก FSF4 – FSF6 จำนวน 6 ตัวอย่างและเมื่อเปรียบเทียบกับเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก (ถังเดิม) และเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1) พบว่ารูปแบบของปริมาณแร่ธาตุเหมือนกับที่ตรวจพบในในกระบวนการหมัก (ถังเดิม) และตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1) (ภาคผนวก ข)

**4. การตรวจหากลิ่นรส (สารระเหยและกรดอินทรีย์ ) จากเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป เต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก และผลิตจากโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติก**

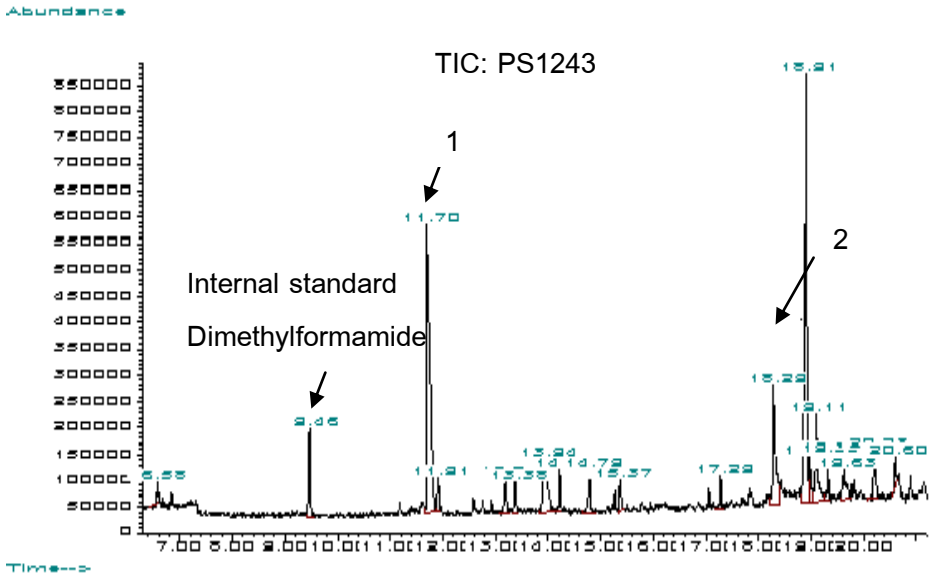
จากการตรวจหาชนิดและปริมาณสารระเหยและกรดอินทรีย์ของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป 9 ตัวอย่างซึ่งตรวจวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง GC-MS และผลของไอออนโครมาโตแกรมทั้งหมดของ สารระเหยและกรดอินทรีย์ (รูปที่ 22 และ 23) แต่บ่งชี้เฉพาะ สารระเหยแล ะกรดอินทรีย์ที่มี % quality (เปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับสารมาตรฐานที่อยู่ในฐานข้อมูล ) มากกว่า 80% และเลือก %Area มากกว่า1.00 สำหรับสารระเหย และกรดอินทรีย์เลือก %Area มากกว่า 2.00 (%Area แสดงถึงปริมาณของสาร แต่ไม่ได้คำนวณเป็นหน่วยปริมาณเนื่องจากไม่มีสารมาตรฐา นของสารแต่ละตัวที่จะนำมาทำ calibration curve แต่มีการใช้ Internal standard เพื่อที่จะใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ) สารระเหยและกรดอินทรีย์ ที่แสดงเป็นตัวอย่าง เช่น Ethanol แสดง peak retention time ที่เวลา 3.54 นาที %Area คือ 33.28 acetic acid แสดง peak retention time ที่เวลา 11.233 นาที % Area คือ 35.61 ผลการวิเคราะห์สามารถ ตรวจพบสารระเหยและกรดอินทรีย์ทั้งหมด 74 ชนิด (ตารางที่ 12 ) ได้แก่สารประเภท กรด 12 ชนิด ได้แก่ acetic acid, butanoic acid, butyric acid, 2,5-dichloro-3,6-dimethoxybenzoic acid, 5,6-dimethoxyphthalaldehydic acid, Hexamethyl-5‘-adenylic acid, lactic acid, linoleic acid, 1-naphthalenepenatnoic acid, o-hydrogenperdeuteriohexadcanoic acid, propanedioic acid และ tetradecanoic acid แอลกอฮอล์ 5 ชนิด ได้แก่ 4-(2-amino ethyl)- phenol, cycloeucalenol, dehydrodieugenol, ethanol และ 1-hexadecanol เอสเทอร์ 17 ชนิด เช่น ethyl n-carbamate และ ethyl hexadecanoate แอลดีไฮด์ 3 ชนิด แอลเคน 2 ชนิด เอมีน 5 ชนิด สารประกอบไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว 12 ชนิด คีโตน 2 ชนิด สารประกอบไนโตรเจน 6 ชนิด และสารประกอบอื่น ๆ 10 ชนิด โดยมีสารที่พบบ่อย ได้แก่ acetic acid (ตรวจพบ 5 ตัวอย่าง ใน CSF1, CSF2, CSF5, CSF7 และ CSF9) lactic acid (ตรวจพบ 7 ตัวอย่าง ใน CSF1, CSF3, CSF4, CSF5, CSF6, CSF8 และ CSF9) butanoic acid (ตรวจพบ 5 ตัวอย่าง ใน CSF2, CSF3, CSF4, CSF7 และ CSF8)

ตัวอย่างการอ่านผล GC-MS




| No. | Compound | Retention Time (min) | % Area |
|---|---|---|---|
| 1 | Ethanol | 3.54 | 33.28 |
| 2 | Hexadecanoic acid, ethyl ester | 19.430 | 2.00 |

**รูปที่ 22** Total-ion Chromatogram (TIC) of CSF3 (volatile compounds)




| No. | Compound | Retention Time (min) | % Area |
|---|---|---|---|
| 1 | Acetic acid | 11.233 | 35.61 |
| 2 | Lactic acid | 18.298 | 1.28 |

**รูปที่ 23** Total-ion Chromatogram (TIC) of PS1243 (organic acids)

**ตารางที่ 12** การตรวจหาชนิดและปริมาณของสาร ระเหยและกรดอินทรีย์ ในตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป 9 ตัวอย่าง (ตัวเลขภายในวงเล็บ = %Area , * = กรดอินทรีย์)

| CSF1 | CSF2 | CSF3 | CSF4 | CSF5 |
|---|---|---|---|---|
| **Acid**<br>1.Acetic acid* (3.27)<br>2.Lactic acid* (0.31)<br>3.Linoleic acid* (1.95)<br>4.2,5-dichloro-3,6-dimethoxy benzoic acid (1.42)<br>5.Hexamethyl-5'-adenylic acid (1.42)<br>**Alkane**<br>6.1,2,4-trithiolane (1.42)<br>**Amine**<br>7.2,3,4,5,6-pentachlorobenzenamine (2.31)<br>**Aromatic compound**<br>8.1,4-diiodo benzene (4.12)<br>9.2,3,5-tribromothiophene (3.16)<br>**Ester**<br>10.Methyl pentanoate (4.88) | **Acid**<br>1.Acetic acid* (23.16)<br>2.Butanoic acid * (0.62)<br>3.Tetradecanoic acid (1.56)<br>4.1-naphthalenepenatnoic acid (1.06)<br>**Alcohol**<br>5.4-(2-amino ethyl)- phenol (1.56)<br>**Ester**<br>6.Hexadecanoic acid, ethyl ester (17.12)<br>7.7,10-hexadecadienoic acid, methyl ester (10.68)<br>**N-containing compound**<br>8.n-hexyl-propanamide (2.31)<br>**Other compound**<br>9.Benzofurazan, 4-bromo-6-methyl- (1.56)<br>10.4-decyne (10.68) | **Acid**<br>1.Butanoic acid* (2.92)<br>2.Lactic acid* (0.49)<br>3.5,6-dimethoxyphthalaldehydic acid (0.39)<br>4.1-naphthalenepenatnoic acid (2.86)<br>**Alcohol**<br>5.4-(2-amino ethyl) - phenol (2.86)<br>6.Cycloeucalenol (1.03)<br>7.Ethanol (33.82)<br>**Amine**<br>8.1-heptanamine (2.86)<br>9.11-hydroxy cephalotaxine (1.03)<br>**Aromatic compound**<br>10.1-azido-2-bromobenzene (8.94)<br>11.beta-chlordene (2.86) | **Acid**<br>1.Butanoic acid* (1.24)<br>2.Lactic acid* (0.20)<br>**Aldehyde**<br>3.(E)-2-butenal (1.00)<br>**Aromatic compound**<br>4.Dinaphthothiophene(2.02)<br>5.1,4-dichloro-2,5-dimethoxy benzene (2.95)<br>6.Hydroxy methapyrilene (2.95)<br>**Ester**<br>7.Akuammilan-17-oic acid, methyl ester (1.55)<br>8.Ethyl n-carbamate (4.71)<br>9.Perdeuterio-methyl doco sanoate (2.95)<br>10.Tetradecanoic acid, trimethylsilyl ester (2.42) | **Acid**<br>1.Acetic acid* (8.12)<br>2.Lactic acid* (0.98)<br>**Alcohol**<br>3.Dehydrodieugenol (7.63)<br>**Amine**<br>4.1,12-dodecan diamine (2.21)<br>5.11-hydroxy cephalotaxine (4.01)<br>6.2,3,4,5,6-pentachlorobenzenamine (2.21)<br>**Aromatic compound**<br>7.1,3-dibutylurea (5.58)<br>**Ketone**<br>8.Miyaconitinone (7.63)<br>**N-containing compound**<br>9.Butanamide, n-hexyl- (5.58) |

**ตารางที่ 12 (ต่อ)**

| CSF1 | CSF2 | CSF3 | CSF4 | CSF5 |
|---|---|---|---|---|
| **Ketone**<br>11.2,2,6,6-d4-cyclohexanone (3.16)<br>**Other compound**<br>12.17-n-acetyl-odiline (2.68)<br>13.N,N'-diacetyl-1,12- diamino dodecane (2.68)<br>14.5-nitro-2-furaldoxime (2.68) | 11.17-n-acetyl-odiline (1.56) | 12.2,6-dimethyl -3-octylnaphtha lene(1.03)<br>13.Hydroxy methapyrilene (8.94)<br>**Ester**<br>14.Ethyl n-car bamate (1.91)<br>15.Hexadecanoic acid, ethyl ester (2.00)<br>16.Octadecatrie noic acid, methyl ester (1.60)<br>**N-containing compound**<br>17.n-butyl-Aceta mide (2.86)<br>18.n-hexyl-propanamide (1.91) | **N-containing compound**<br>11.n-(3-methyl butyl) acetamide (2.95)<br>**Other compound**<br>12.2,3-diphenyl-1-indanone (2.02)<br>13.Dichlorfuroxan (2.95)<br>13.17-n-acetyl-odiline (2.02) | **Other compound**<br>10.17-n-acetyl-odiline (7.63)<br>11.N,N'-di acetyl-1,10-diaminode cane (5.58) |

**ตารางที่ 12 (ต่อ)**

| CSF6 | CSF7 | CSF8 | CSF9 |
|---|---|---|---|
| **Acid**<br>1.Lactic acid*(1.03)<br>2.5,6-dimethoxyphthalaldehydic acid (0.91)<br>3.O-hydrogenperdeuteriohexadcanoic acid (1.05)<br>**Amine**<br>4.2,3,4,5,6-pentachlorobenzenamine (1.05)<br>**Ester**<br>5.Ethyl hexadecanoate (11.20)<br>6.Hexadecanoic acid, ethyl ester (11.20)<br>7.Methyl ethanethiol sulfinate (1.05)<br>**N-containing compound**<br>8.Butanamide, n-hexyl-(3.45)<br>**Other compound**<br>9.Dichlorfuroxan (3.45) | **Acid**<br>1.Acetic acid*(18.99)<br>2.Butanoic acid* (2.21)<br>3.Linoleic acid* (5.40)<br>**Alcohol**<br>4.1-hexadecanol (3.79)<br>**Aldehyde**<br>5.(E,E)-2,4-decadienal (2.37)<br>**Aromatic compound**<br>6.beta-chlordene (2.37)<br>**Ester**<br>7.Hexadecanoic acid, ethyl ester (7.33)<br>**N-containing compound**<br>8.Octadecanamide, n-pentyl (8.25)<br>**Other compound**<br>9.N,N'-diacetyl-1,9-diaminononane (3.31) | **Acid**<br>1.Butanoic acid * (30.59)<br>2.Lactic acid*(0.62)<br>**Aldehyde**<br>3.2-hexenal (1.43)<br>**Aromatic compound**<br>4.beta-chlordene (1.71)<br>5.1,4-dibromo-2,5-dimethylbenzene (1.71)<br>6.1,2-dichloro-4-nitrobenzene (9.06)<br>**Ester**<br>7.Hexadecanoic acid, ethyl ester (2.674)<br>8. Ethyl octadecanoate (2.67)<br>9.Sulfuric acid, diethyl ester (1.43)<br>**Other compound**<br>10.17-n-acetyl-odiline (1.43) | **Acid**<br>1.Acetic acid* (35.70)<br>2.Butyric acid* (7.98)<br>3.Lactic acid* (0.20)<br>4.Propanedioic acid (3.72)<br>**Alkane**<br>5.1,2-dichloroethane (4.88)<br>**Amine**<br>6.4-methyl-3-nitrobenzenamine (3.15)<br>7.2,3,4,5,6-pentachlorobenzenamine (14.60)<br>**Aromatic compound**<br>8.1-azido-2-nitro-benzene(3.72)<br>9.1-butynyl- benzene (3.15)<br>10.Hydroxymethapyrilene (4.88)<br>12.Docosanoic acid, 2-hydro xy-,methyl ester (3.15)<br>13.10,13-eicosadienoic acid, methyl ester (14.60)<br>14.3-hydroxy phenylacetic acid, ethyl ester (3.81) |

**ตารางที่ 12 (ต่อ)**

| CSF6 | CSF7 | CSF8 | CSF9 |
|---|---|---|---|
| - | - | - | 15.Perdeuterio-methyl docosanoate (3.72)<br>13.Stanol acetate (3.15)<br>16.Sulfuric acid, diethyl ester (3.15)<br>**Other compound**<br>17.2-aminobenzonitrile (4.88)<br>18.Dichlorfuroxan (3.15) |

เมื่อเปรียบเทียบกับสารระเหยและกรดอินทรีย์ของตัวอย่างเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก (ตารางที่ 13) พบว่าแต่ละตัวอย่างมีความแตกต่างกันของชนิดของสาร โดยพบสารทั้งหมด 53 ชนิด ประกอบด้วย กรด 9 ชนิด ได้แก่ acetic acid, 6-amino-hexanoic acid, butanoic acid, linoleic acid, (Z)-9-octadecenoic acid, 5,6-dimethoxyphthalaldehydic acid,1-phenanthrenecarboxylic acid, 3-thiophene carboxylic acid และ trifluorodithioacetic acid แอลกอฮอล์ 5 ชนิด ได้แก่ 1,3-benzenedimethanol,2-hydroxy-5- , benzenemethanol, 1-hexadecanol, phenol,2,4,6-tribromo และ phenylethyl alcohol เอสเทอร์ 24 ชนิด เช่น ethyl n-carbamate และ ethyl hexadecanoate แอลดีไฮด์ 1 ชนิด แอลเคน 1 ชนิด เอมีน 3 ชนิด สารประกอบไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว 3 ชนิด คีโตน 2 ชนิด ฟูแรน 1 ชนิด และสารประกอบอื่น ๆ 4 ชนิด อย่างไรก็ตามสิ่งที่เหมือนกันคือกรดอินทรีย์ที่พบบ่อย คือ butanoic acid และ linoleic acid

**ตารางที่ 13** การตรวจหาชนิดและปริมาณของสารระเหยและกรดอินทรีย์ในตัวอย่างเต้าหู้ยี้ ในกระบวนการหมักเปรียบเทียบกับเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1) (ตัวเลขภายในวงเล็บ = %Area , * = กรดอินทรีย์)

| FSF1 (1 เดือน) | FSF2 (5 เดือน) | FSF3 (9 เดือน) | CSF1 |
|---|---|---|---|
| **Acid**<br>1.Acetic acid* (14.37)<br>2.Linoleic acid* (1.42)<br>3.(Z)-9-Octadecenoic acid* (8.87)<br>4.5,6-dimethoxyphthalaldehydic acid (2.49)<br>5.1-phenanthrene carboxylic acid (4.67)<br>6.Trifluorodithioacetic acid (4.67)<br>**Alcohol**<br>7.1,3-ben zenedimethanol,2-hydroxy-5- (2.37)<br>8.1-hexadecanol(2.98)<br>**Amine**<br>9.Benzenepentan amine (1.60)<br>**Aromatic compound**<br>10.beta-chlordene (2.23)<br>11.Hydroxymethapyrilene (2.37)<br>**Ester**<br>12.Dodecanoic acid, methyl ester (4.46)<br>13.Eicosanoic acid, methyl ester (4.46) | **Acid**<br>1.Butanoic acid* (2.93)<br>2. 6-amino-hexanoic acid (3.83)<br>3.3-thiophene carboxylic acid (1.53)<br>**Alcohol**<br>4.Benzenemethanol (3.83)<br>5.Phenol,2,4,6-tribromo (1.42)<br>**Alkane**<br>6.Methane,dichloro (1.06)<br>**Amine**<br>7.1,12-dodecandi amine (3.83)<br>8.2,3,4,5,6-pentachlorobenzenamine (4.73)<br>**Aromatic compound**<br>9.beta-chlordene(4.73)<br>10.Hexachloro benzene (4.73)<br>11.Hydroxymethapyrilene (3.83)<br>**Ester**<br>12.Benzoic acid,3-amino-2,5-dichloro methyl ester (3.83) | **Acid**<br>1.Butanoic acid* (2.21)<br>2.Linoleic acid (5.63)<br>**Alcohol**<br>3.Phenylethyl alcohol (2.52)<br>**Aldehyde**<br>4.9,17-octadecadienal ,(Z)- (5.63)<br>**Ester**<br>5.Butanoic acid,3-methyl-,ethyl ester (7.45)<br>6.*Cis*- linoleic acid methyl ester (2.72)<br>7.Ethyl pentadecanoate (5.54)<br>8.Ethyl myristate(1.15)<br>9.Ethyl linoeate (5.63)<br>10.Ethyl tridecanoate (5.54)<br>11.Hexadecanoic acid, ethyl ester(5.54)<br>12.Hexadecanoic acid, methyl ester (5.44)<br>13.Hexadecanoic acid,2,-methyl-methyl ester (5.54)<br>14.Methylhexadecanoate (5.44) | **Acid**<br>1.Acetic acid* (3.27)<br>2.Lactic acid* (0.31)<br>3.Linoleic acid* (1.95)<br>4.2,5-dichloro-3,6-dimethoxybenzoic acid (1.42)<br>5.Hexamethyl-5'-adenylic acid (1.42)<br>**Alkane**<br>6.1,2,4-trithiolane (1.42)<br>**Amine**<br>7.2,3,4,5,6-pentachlorobenzenamine (2.31)<br>8.1,4-diiodobenzene (4.12)<br>9.2,3,5-tribromothiophene (3.16)<br>**Ester**<br>10.Methyl pentanoate (4.88)<br>**Ketone**<br>11.2,2,6,6-d4-cyclohexanone (3.16) |

**ตารางที่ 13 (ต่อ)**

| FSF1 (1 เดือน) | FSF2 (5 เดือน) | FSF3 (9 เดือน) | CSF1 |
|---|---|---|---|
| 14.Hexadecanoic acid, methyl ester (4.46)<br>15.Methylhexadecanoate (4.46)<br>16.Tridecanoic acid, methyl ester (4.46)<br>**Furan**<br>17.2,3-dihydrofuran (4.67)<br>**Ketone**<br>18.2-hexadecanone (2.95)<br>19.2-propanone, 1,1,1 ,3,3-pentachloro- (1.21)<br>**Other compound**<br>20.N,N'-diacetyl-1,10-diaminododecane (2.98) | 13.Octadecatrienoic acid, methyl ester (1.53)<br>**Other com pound**<br>14.N,N'-di acetyl-1,8-diaminooctane (4.73)<br>15.N,N'-di acetyl-1,9-diaminononane (3.83)<br>16.1,2,15-pentadecanetriol (1.18) | 15.Methyl octadecenoate (3.45)<br>16.Methyl 9-octade cenoate (1.39)<br>17.Octadecanoic acid, ethyl ester (1.51)<br>18.Octanoic acid, ethyl ester (1.41)<br>19.9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (3.45)<br>20.9,11-Octadecadienoic acid, methyl ester (2.72)<br>21.10,13-Octadecadienoic acid, methyl ester (2.72)<br>22.11,14-Octadecadienoic acid, methyl ester (2.72)<br>23.9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester (1.21)<br>24.Tridecanoic acid, methyl ester (5.44) | **Other com pound**<br>12.17-n-acetyl-odiline (2.68)<br>13.N,N'-diacetyl-1,12-diaminododecane (2.68)<br>14.5-nitro-2-furaldoxime (2.68) |

สำหรับการตรวจวิเคราะห์หากลิ่นรส (สารระเหยและกรดอินทรีย์ ) ของเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักของถังหมักอื่น ๆ (ภาคผนวก ข ) พบว่าชนิดของสารระเหยและกรดอินทรีย์เหมือนกันในรูปแบบขอ งสารที่มี กรด แอลกอฮอล์ แอลดีไฮด์ แอลเคน เอมีน สารประกอบไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว เอสเทอร์ สารประกอบไนโตรเจนและสารประกอบอื่น ๆ

ส่วนสารระเหยและกรดอินทรีย์ที่ผลิตจากโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติก 5 สายพันธุ์ ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MRS ที่มีการเติมเต้าหู้บดโดยพบ สารทั้งหมด 29 ชนิด (ตารางที่ 14) โปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติกผลิตสารที่แตกต่างกันออกไปโดยตรวจพบ กรด 3 ชนิด ได้แก่ acetic acid, cyclohexanepropionic acid และ lactic acid แอลกอฮอล์ 1 ชนิด ได้แก่ n-butanol เอสเทอร์ 20 ชนิด เช่น heptadecanoic acid, methyl ester, hexadecanoic acid, methyl ester, octadecanoic acid, methyl ester, tridecanoic acid, methyl ester และ ตีโตน 5 ชนิด ได้แก่ 2-decanone, 2-nonanone, 2-tridecanone, undecanone และ 2-undecanone

โปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติกแต่ละสายพันธุ์สามารถผลิตสารระเหยและกรดอินทรีย์ต่างกันโดยเชื้อ *T. halophilus* PS1231 ผลิตสาร 4 ชนิด, *L. acidipiscis* PS1240 ผลิตสาร 6 ชนิด *L. curvatus* PS1243 ผลิตสาร 13 ชนิด *P. halophilus* TISTR334 ผลิตสาร 15 ชนิด และ *L. plantarum* TISTR862 ผลิตสาร 12 ชนิด

**ตารางที่ 14** การตรวจหาชนิดและปริมาณของสาร ระเหยและกรดอินทรีย์ ที่ผลิตจากโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติกที่แยกได้จากกระบวนการหมักเต้าหู้ยี้ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่เติมเต้าหู้บดบ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง, ตัวเลขภายในวงเล็บ = %Area, * = กรดอินทรีย์, PS1231 = *T. halophilus*, PS1240= *L. acidipiscis*, PS1243 = *L. curvatus,* TISTR 334 = *P. halophilus* TISTR 334, TISTR 862 = *L. plantarum* TISTR 862 และ CSF1 = เต้าหู้ยี้สำเร็จรูป

| PS1231 | PS1240 | PS1243 | TISTR334 | TISTR862 | CSF1 |
|---|---|---|---|---|---|
| **Alcohol**<br>1.n-Butanol (2.12)<br>**Ester**<br>2.Hexadecanoic acid, methyl ester (2.26)<br>3.Methyl hexadecanoate (2.26)<br>4.Tridecanoic acid, methyl ester (2.26) | **Acid**<br>1.Lactic acid* (0.41)<br>2.Cyclohexanepropionic acid (2.08)<br>**Alcohol**<br>3.n-Butanol (1.65)<br>**Ester**<br>4.Heptadecanoic acid, methyl ester (1.52)<br>5.Hexadecanoic acid, methyl ester (1.52)<br>6.Methyl hexadecanoate (1.52) | **Acid**<br>1.Acetic acid* (35.61)<br>2.Lactic acid* (1.28)<br>**Alcohol**<br>3.n-Butanol (1.99)<br>**Ester**<br>4.Hexadecanoic acid, methyl ester (1.31)<br>5.Methyl hexadecanoate (1.31)<br>6.14-methyl – Pentadecanoic cid, methyl ester (1.31)<br>7.6-Octadecenoic acid, methyl ester (1.12) | **Acid**<br>1.Acetic acid*(26.57)<br>2.Lactic acid* (0.76)<br>3.Acetic acid (1.23)<br>**Ester**<br>4.Hexadecanoic acid, methyl ester (4.45)<br>5.Octadecanoic acid, methyl ester (4.45)<br>6.6-Octadecenoic acid, methyl ester (1.65)<br>7.(Z)-6-Octadecenoic acid, methyl ester (1.65)<br>8.7-Octadecenoic acid, methyl ester (1.65) | **Acid**<br>1.Acetic acid*(41.40)<br>2.Lactic acid*(0.93)<br>**Ketone**<br>3.2-Decanone(1.34)<br>4.2-Nonanone(1.34)<br>5.2-Tridecanone (1.58)<br>6.Undecanone (1.58)<br>7.2-Undecanone (1.34)<br>**Ester**<br>8.Heptadecanoic acid, methyl ester (1.25)<br>9.Hexadecanoic acid, methyl ester (1.25) | **Acid**<br>1.Acetic acid*(3.27)<br>2.Lactic acid*(0.31)<br>3.Linoleic acid* (1.95)<br>4.2,5-dichloro-3,6-dimethoxybenzoic acid (1.42)<br>5.Hexamethyl-5'-adenylic acid (1.42)<br>**Alkane**<br>6.1,2,4-trithiolane (1.42)<br>**Amine**<br>7.2,3,4,5,6-pentachlorobenzenamine (2.31)<br>**Aromatic compound**<br>8.1,4-diiodobenzene (4.12) |

**ตารางที่ 14 (ต่อ)**

| PS1231 | PS1240 | PS1243 | TISTR334 | TISTR862 | CSF1 |
|---|---|---|---|---|---|
| - | - | 8.8-Octadecenoic acid, methyl ester (1.12)<br>9.(E)-9-Octadecenoic acid, methyl ester (1.21)<br>10.9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (1.21)<br>11.10-Octadecenoic acid, methyl ester (1.21)<br>12.(Z)-11-Octadecenoic acid, methyl ester (1.21)<br>13.Pentadecanoic acid, methyl ester (1.31) | 9.(E,Z)-9-Octadecenoic acid, methyl ester (1.65)<br>10.10-Octadecenoic acid, methyl ester (1.65)<br>11.(Z)-11-Octadecenoic acid, methyl ester (1.65)<br>12.12-Octadecenoic acid, methyl ester (1.65)<br>13.13-Octadecenoic acid, methyl ester (1.65)<br>14.14-Octadecenoic acid, methyl ester(1.65)<br>15.15-Octadecenoic acid, methyl ester (1.65)<br>16.16-Octadecenoic acid, methyl ester (1.65) | 10.14-methyl-Pentadecanoic acid,methyl ester (1.25)<br>11.Pentadecanoic acid, methyl ester (1.25)<br>12.Undecanoic acid, methyl ester (1.25) | 9.2,3,5-tribromothiophene (3.16)<br>**Ester**<br>10.Methyl pentanoate (4.88)<br>**Ketone**<br>11.2,2,6,6-d4-cyclohexanone (3.16)<br>**Other compound**<br>12.17-n-acetyl-odiline (2.68)<br>13.N,N'-diacetyl-1,12-diamino dodecane (2.68)<br>14.5-nitro-2-furaldoxime (2.68) |

**5. การทดสอบทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป**

ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้ยี้ที่วางขายตามท้องตลาดและห้างสรรพสินค้าใน อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา จากผู้ประเมินทั้งหมด 20 คน มีดังนี้ (ตารางที่ 15)

ในด้านสี พบว่า เต้าหู้ยี้ CSF 2 ได้รับคะแนนสูงสุด (เต้าหู้ยี้แดง อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร มีการผสมข้าวแดง) รองลงมาคือ เต้าหู้ยี้ CSF3, CSF7 และ CSF8 ที่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% สำหรับเต้าหู้ยี้ CSF1, CSF6, CSF5 และ CSF4 ได้คะแนนรองลงมาตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนเต้าหู้ยี้ชนิดที่ 9 (เต้าหู้ยี้แดง) ได้รับคะแนนน้อยที่สุดและมีความแตกต่างจากตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญ

ในด้านกลิ่น พบว่า เต้าหู้ยี้ CSF 2 ได้รับคะแนนสูงสุด (เต้าหู้ยี้แดง อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร มีการผสมข้าวแดง ) สำหรับเต้าหู้ยี้ CSF3, CSF7, CSF1, CSF6, CSF5 และ CSF 4 ได้รับคะแนนรองลงมาตามลำดั บ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% ส่วนเต้าหู้ยี้ CSF8 และ CSF 9 (CSF8 เต้าหู้ยี้เหลืองประเทศจีน มีการผสมพริก , CSF9 เต้าหู้ยี้แดง ) ได้รับคะแนนด้านกลิ่นน้อยสุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ในด้านรสชาติ พบว่า เต้าหู้ยี้ CSF2 ได้รับคะแนนสูงสุด (เต้าหู้ยี้แดง อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร มีการผสมข้าวแดง ) สำหรับเต้าหู้ยี้ CSF1, CSF2, CSF3, CSF4, CSF5, CSF6 และ CSF7 ได้รับคะแนนรองลงมาตามลำดับซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% ส่วนเต้าหู้ยี้ CSF8 และ CSF9 (CSF8 เต้าหู้ยี้เหลืองประเทศจีน มีการผสมพริก, CSF9 เต้าหู้ยี้แดง) ได้รับคะแนนด้านรสชาติน้อยสุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ในด้านเนื้อสัมผัส พบว่า เต้าหู้ยี้ CSF7 ได้รับคะแนนสูงสุด (CSF7 เต้าหู้ยี้แดงประเทศจีน) สำหรับเต้าหู้ ยี้ CSF3, CSF1, CSF2, CSF5, CSF6 และ CSF4 ได้รับคะแนนรองลงมาตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% ส่วนเต้าหู้ยี้ CSF8 และ CSF9 (CSF8 เต้าหู้ยี้เหลือง ประเทศจีน มีการผสมพริก , CSF9 เต้าหู้ยี้แดง) ได้รับคะแนนด้านเนื้อสัมผัสน้อยสุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ในด้านความชอบรวม พบว่า เต้าหู้ยี้ CSF2 ได้รับคะแนนสูงสุด (เต้าหู้ยี้แดง อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร มีการผสมข้าวแดง) รองลงมาคือ เต้าหู้ยี้ CSF3, CSF1, CSF5, CSF 7, CSF6 และ CSF4 ได้รับคะแนนรองลงมาตามลำดับซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% ส่วนเต้าหู้ยี้ CSF8 และ CSF9 (CSF8 เต้าหู้ยี้เหลือง

ประเทศจีน มีการผสมพริก, CSF9 เต้าหู้ยี้แดง) ได้รับคะแนนด้านความชอบรวมน้อยสุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ความเป็นไปได้ในการซื้อ พบว่า เต้าหู้ยี้ CSF2 ได้รับคะแนนสูงสุด (เต้าหู้ยี้แดง อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร มีการผสมข้าวแดง) รองลงมาคือ เต้าหู้ยี้ CSF3, CSF1, CSF5, CSF7 และ CSF6 ได้รับคะแนนรองลงมาตามลำดับซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% ส่วนเต้าหู้ยี้ CSF4, CSF8 และ CSF9 (CSF4 เต้าหู้ยี้แดง แขวงบางมด เขตทุ่งครุ กรุงเทพมหานคร , CSF8 เต้าหู้ยี้เหลือง ประเทศจีน มีการผสมพริก , CSF9 เต้าหู้ยี้แดง ) ได้รับคะแนนด้านความเป็นไปได้ในการซื้อน้อยสุด และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

**ตารางที่ 15** ค่าเฉลี่ยของผลการประเมินทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป

| ชนิดเต้าหู้ยี้ (Type of sufu) | สี (Color) | กลิ่น (Aroma) | รส (Flavor) | เนื้อสัมผัส (Texture) | ความชอบรวม (Overall accep tance) | ความเป็นไปได้ที่จะซื้อ (Likeli hood-to-buy) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| CSF1 | 4.50$^{bc}$ | 5.40$^{bc}$ | 5.50$^{b}$ | 5.30$^{bc}$ | 5.80$^{d}$ | 2.75$^{c}$ |
| CSF2 | 6.20$^{d}$ | 5.85$^{c}$ | 6.05$^{b}$ | 5.15$^{bc}$ | 6.05$^{d}$ | 3.05$^{c}$ |
| CSF3 | 6.10$^{d}$ | 5.70$^{c}$ | 5.65$^{b}$ | 5.35$^{bc}$ | 5.85$^{d}$ | 3.00$^{c}$ |
| CSF4 | 3.60$^{b}$ | 4.30$^{b}$ | 4.90$^{b}$ | 4.60$^{b}$ | 4.30$^{bc}$ | 1.60$^{b}$ |
| CSF5 | 3.95$^{b}$ | 5.25$^{bc}$ | 5.95$^{b}$ | 5.05$^{bc}$ | 5.60$^{d}$ | 2.65$^{c}$ |
| CSF6 | 4.25$^{bc}$ | 5.30$^{bc}$ | 5.10$^{b}$ | 4.65$^{bc}$ | 5.10$^{cd}$ | 2.40$^{c}$ |
| CSF7 | 6.10$^{d}$ | 5.50$^{c}$ | 4.80$^{b}$ | 5.90$^{c}$ | 5.10$^{cd}$ | 2.50$^{c}$ |
| CSF8 | 5.20$^{cd}$ | 2.75$^{a}$ | 3.05$^{a}$ | 3.40$^{a}$ | 3.40$^{ab}$ | 1.40$^{b}$ |
| CSF9 | 2.10$^{a}$ | 2.65$^{a}$ | 2.50$^{a}$ | 2.85$^{a}$ | 2.55$^{a}$ | 0.55$^{a}$ |

หมายเหตุ

- ความชอบทั่วไปในด้านสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบรวมโดยให้คะแนนแบบ 9-point hedoic scale, ความเป็นไปได้ในการซื้อให้คะแนนแบบ 5-point hedoic scale ความเชื่อมั่น 95%, SPSS Duncan
- ตัวเลขคือค่าเฉลี่ยของผู้ทดสอบ 20 คน
- a มีค่าการยอมรับน้อยสุด จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันและมีค่าไม่แตกต่างกัน
- b มีค่าการยอมรับปานกลาง จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันและมีค่าไม่แตกต่างกัน
- c,d มีค่าการยอมรับมากสุด จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันและมีค่าไม่แตกต่างกัน
- ab มีค่าการยอมรับน้อยสุด – ปานกลาง จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันและมีค่าไม่แตกต่างกัน
- bc มีค่าการยอมรับปานกลาง – มากสุดจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันและมีค่าไม่แตกต่างกัน

# บทที่ 4

## วิจารณ์ผลการทดลอง

นักโภชนาการพบว่า ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหารมากเพราะเมล็ดมี โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรท แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก วิตามินบี 1 บี 2 บี 6 และบี 12 วิตามินซี วิตามินดี วิตามินอี สารไนอาซิน และเส้นใยอาหาร มาก เพราะในถั่ว 100 กรัม จะมี โปรตีน 38 กรัม ไขมัน 18 กรัม และให้พลังงาน 355 แคลอรี ในขณะที่เนื้อ 100 กรัม ให้โปรตีน เพียง 9 กรัม ไขมัน 13 กรัม และพลังงาน 195 แคลอรี ดังนั้นจึงเห็นได้ว่า ในกรณีที่น้ำหนัก เท่ากันเนื้อสัตว์ให้โปรตีนน้อยกว่าถั่วเหลืองมาก ดังนั้นจากการตรวจสอบคุณค่าทางอาหารของ ตัวอย่างเต้าหู้ยี้ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของถั่วเหลือง พบว่าในตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปมีปริมาณ โปรตีน ไขมันและคาร์โบไฮเดรตโดยคาร์โบไฮเดรตจะไม่รวมค่าของไฟเบอร์ ประเภท cellulose และ hemicelluloses ค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งสอดคล้องกับ Wang and Du (1998) และ Su (1986) แต่ยกเว้นเต้าหู้ยี้แดงสำเร็จรูป CSF3 ซึ่งอาจเนื่องจากตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป CSF3 เต้าหู้ ที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบมีคุณ ภาพต่ำอาจเกิดจากกระบวนการผลิตเต้าหู้ไม่ได้ควบคุมคุณ ภาพ หรือเต้าหู้ถูกหมักเป็นเวลานานเกินกำหนดทำให้ก้อนเต้าหู้ในเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป CSF3 เปื่อย มากกว่าปกติ อย่างไรก็ตามคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์เต้าหู้ยี้สำเร็จรูปเมื่อเปรียบกับ เต้าหู้ยี้สำเร็จรูปยี่ห้ออื่น ๆ (11 ยี่ห้อ) มีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งสำรวจโดย สุวรรณี (2543) โดย พบว่าเต้าหู้ยี้อื่นมีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่าง 9.9 - 13.3% ปริมาณคาร์โบไฮเดรต 4 - 20.7% ปริมาณไขมัน 2.4 - 7.2% ปริมาณความชื้น 52 - 72.8 % ปริมาณเถ้า 5.9 - 18.8% ปริมาณเส้นใย 0.1 - 0.6% และปริมาณเกลืออยู่ระหว่าง 4.1 - 16.2% และมีคุณค่าทางอาหาร มากกว่าที่ได้เคยมีรายงานมาแล้วคือมีปริมาณโปรตีน 10.04% ไขมัน 3.51% เกลือ 6.72% ความชื้น 70.36% เถ้า 9.47% และเส้นใย 0.35% (ประเสริฐ, 2527) นอกจากนี้ในมาตรฐาน ผลิตภัณฑ์ชุมชนของเต้าหู้ยี้ (มผช.510/2547) (ภาคผนวก ค ) ไม่ได้ระบุขั้นต่ำของปริมาณ โปรตีน คาร์โบไฮเดรตและไขมันของเต้าหู้ยี้ ดังนั้นถ้าระบุปริมาณขั้นต่ำของโปรตีนก็จะเป็น แนวทางหนึ่งของมาตรฐานผลิตภัณฑ์

ส่วนปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างเต้าหู้ยี้เกิดจากระหว่างการหมักผลิตภัณฑ์มี การย่อยสลายโปรตีนเป็น polypeptide, เปปไทด์, กรดอะมิโน, เอมีน และแอมโมเนีย (Han *et al*., 2003) เป็นผลทำให้มีรสชาติดีขึ้น ส่วนประกอบกรดอะมิโนในแต่ละตัวอย่ างของเต้าหู้ยี้นั้น เมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลบทความปริทัศน์ของ Han *et al*. (2001) ปรากฏว่าชนิดของกรดอะมิ โนในส่วนประกอบเต้าหู้ยี้เหลืองและเต้าหู้ยี้แดงมีส่วนประกอบของปริมาณกรดอะมิโนแตกต่าง กัน แต่โดยสรุปที่เหมือนกันคือ เต้าหู้ยี้มี ประมาณ aspartic acid และ glutamic acid

เป็นกรดอะมิโนที่มีปริมาณมากที่สุดทั้งในเต้าหู้ยี้เหลืองและเต้าหู้ยี้แดงโดยมีปริมาณ 28 % ของกรดอะมิโนทั้งหมด ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปพบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกรดอะมิโนที่ทาง FAO/WHO แนะนำ มีปริมาณต่ำกว่า อาจเนื่องมาจากกรดอะมิโน ถูกใช้เป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์และยังเป็นสารตั้งต้นในการผลิตกลิ่นที่ดีต่อผลิตภัณฑ์ ส่วนกรดอะมิโน cystine ถูกทำลายในระหว่างการย่อยสลายด้วยกรด ส่วนกรดอะมิโน methionine และ trypophan ถูกออกซิไดส์ไปบางส่วนทำให้ปริมาณของกรดอะมิโน เหล่านี้ที่ตรวจพบมีปริมาณน้อย ดังนั้นการตรวจหากรดอะมิโนที่สลายง่าย ได้แก่ trypophan ควรย่อยสลายด้วยกรดที่เป็น reducing acid เช่น mercaptoethanesulfonic acid (MESA) 170 $^{\circ}$C – 185 $^{\circ}$C 12.5 นาที ส่วน cystine-cystine และ methionine ย่อยสลายด้วย performic acid 50 $^{\circ}$C 5 นาที ส่วนกรดอะมิโนอีก 2 ตัว asparagine และ glutamine ถูกเปลี่ยนเป็น aspartic acid และ glutamic acid เมื่อย่อยโปรตีนด้วยกรด (http://www.nihs.go.jp/dbcb/Bio-Topic/amino.pdf)

นอกจากนี้ยังมีรายงานเอมีนจาก 15 ตัวอย่างของเต้าหู้ยี้จากประเทศไต้หวันและจีนพบว่าค่าเฉลี่ยของเอมีนใน in-yu (ทำจาก black soybeans) 8 ตัวอย่างมีค่าสูงกว่าในซีอิ้ว แต่อย่างไรก็ตามไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับของเอมีนและคุณ ภาพของซีอิ้วโดยค่าความแปรปรวนของอาหารเหล่านี้เกิดจากความแตกต่างของส่วนประกอบของวัตถุดิบและวิธีการหมัก จากเหตุผลเหล่านี้จะแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับของเอมีนและกรดอะมิโนของเต้าหู้ยี้ (Yen, 1986) เอมีนในกลุ่ม cadaverine, histamine, β-phenylethylamine, putrescine, tryptamine และ thiamine อาจทำให้เกิดการแพ้ถ้ามีปริมาณสาร เหล่านี้สูงเกินมาตรฐานในเต้าหู้ยี้

เมื่อมีการเปรียบเทียบกรดอะมิโนที่จำเป็นในเต้าหู้ยี้มีกับอาหารที่มีโปรตีนสูง (ไข่และนม) และรูปแบบอ้างอิง (FAO-WHO Expert Consultation, 1990; FAO-WHO-UNU Expert Consultation, 1985 ) จากการเปรียบเทียบพบว่า เต้าหู้ยี้มีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นได้แก่ Cysteine, Isoleucine, Leucine, Methionine, Phenylalanine, Threonine, Valine, Trypophan, Histidine และ Lysine มากกว่าจากผลนี้แสดงให้เห็นว่าเต้าหู้ยี้เป็นแหล่งของกรดอะมิโนที่จำเป็นที่สูงกว่าโปรตีนในไข่และนม

โปรตีนจะมีบทบาทสำคัญเพราะจะมีผลต่อรูปร่างและเนื้อสัมผัสและยังมีบทบาทในการพัฒนากลิ่นรสโดยการผลิตกรดอะมิโนและเปปไทด์จากโปรตีนเพื่อการยอมรับกลิ่นรส กระบวนการย่อยโปรตีนจะมีผลต่อกลิ่นรสหรือใช้เป็นสารตั้งต้นในการเกิดกลิ่นรสระหว่างการเกิดกลิ่น เมื่อเร็ว ๆ นี้มีการศึกษาการใช้กรดอะมิโนของแบคทีเรียแลกติกและผลของกิจกรรมต่อการเกิดกลิ่นรสในระหว่างการบ่มนม กลิ่นรสที่เกิดจากการย่อยสลายกรดอะมิโนโดยแบคทีเรียแลกติกแสดง ดังตารางที่ 16 (Ahmad *et al.,* 2008)

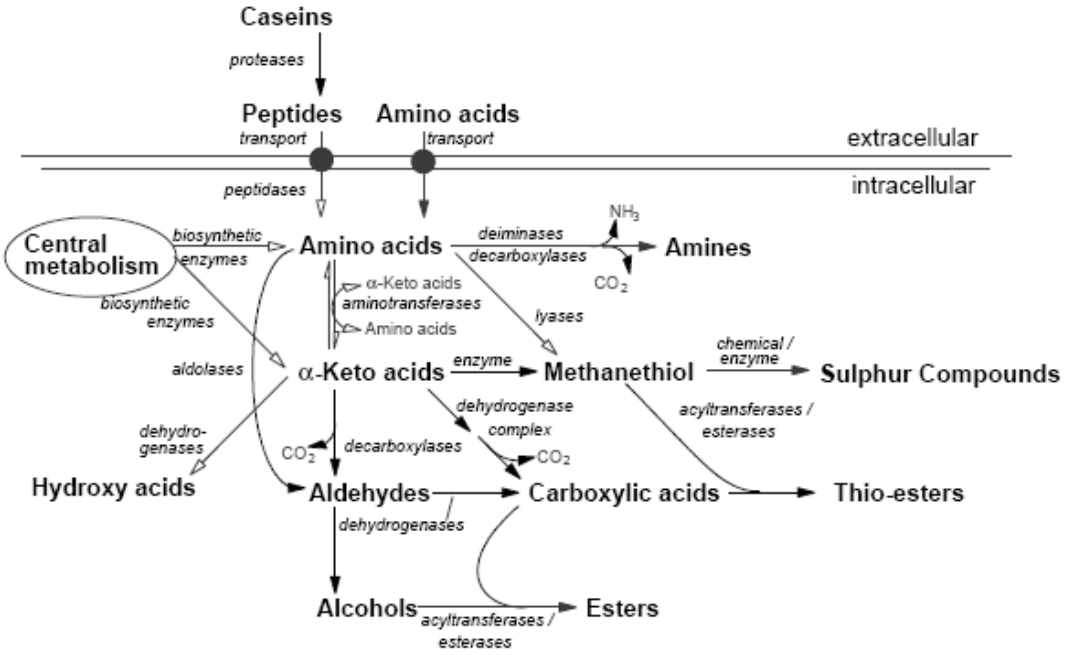
**ตารางที่ 16** สารให้กลิ่นรสที่ผลิตจากการย่อยสลายกรดอะมิโนโดยแบคทีเรียแลกติกในสภาวะไร้อากาศ

Table 3. Flavouring compounds produced through anaerobic catabolism of amino acids by LAB*

| Amino acids | α-Keto acids | Aldehydes | Alcohols | Carboxylic acids | Others |
|---|---|---|---|---|---|
| Leu | α-keto-isocaproate | 3-methylbutanal | 3-methylbutanol | 3-methylbutanoic acid | – |
| Ile | α-keto-β-methylvalerate | 2-methylbutanal | 2-methylbutanol | 2-methylbutanoic acid | – |
| Val | α-keto-isovalerate | 2-methylpropanal | 2-methylpropanol | 2-methylpropanoic acid | – |
| Phe | phenylpyruvate | phenylacetaldehyde | phenylethanol | phenylacetic acid | – |
| Tyr | *p*-OH-phenylpyruvate | *p*-OH-phenylacetaldehyde | *p*-OH-phenylethanol | *p*-OH-phenylacetic acid | *p*-cresol |
| Trp | indolepyruvate | indole-3-acetaldehyde | tryptophol | indol-3-acetic acid | skatole |
| Met | α-keto-butyrate | 3-methylthiopropanal | 3-methylthiopropanol | 3-methylthiopropionic acid | methanethiol |
| Asp | oxaloacetate | – | – | malate | diacetyl, acetoin |

*Courtesy of Y. Ardö (*30*)

อีกนัยหนึ่งสามารถเกิดสารระเหยจากกรดอ ะมิโนโดยการบวนการ decarboxylation, deamination และtransamination (รูปที่ 24) จึงมีความสำคัญต่อรสชาติของเต้าหู้ยี้ น่าจะเป็นสาเหตุหลักสำหรับสารระเหยที่หลากหลายในเต้าหู้ยี้ (Chung, 1999, 2000; Hwan and Chou, 1999)




**รูปที่ 24** ผลผลิตในเมแทบอลิซึมของ amino acids ได้เป็น α- keto acids, aldehydes, alcohols และ esters ของแบคทีเรียแลกติก
ที่มา: Kranenbur *et al*., (2002)

การศึกษาบทบาทของโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติกที่แยกได้จากกระบวนการหมักเต้าหู้ยี้โดยการตรวจวิเคราะห์หาสารระเหยและ กรดอินทรีย์ในเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป เต้าหู้ยี้ ในกระบวนการ หมักและโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติก ที่เพาะเลี้ยง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่มีการเติมเต้าหู้บดพบว่าแต่ละตัวอย่างมีกลิ่นรสซับซ้อน (complex) และมีความแตกต่างกั นของสารระเหยที่ตรวจพบในเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป เต้าหู้ยี้ ในกระบวนการ หมักและสารระเหยที่ผลิตจากโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติก ที่เพาะเลี้ยงใน MRS แต่อย่างไรก็ตามสารระเหยที่ตรวจพบก็มีองค์ประกอบรวมที่เหมือนกันในรูปของประเภทที่จัดเป็นกลุ่มของสารที่เป็น acids, alcohols, aromatic compounds และ esters ที่ให้กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ซึ่งอาจแตกต่างกันไปตามชนิดของสารที่ตรวจพบ ข้อมูลนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Chung *et al*. (2005) ที่ตรวจหาสารระเหยในเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป โดยวิธี Supercritical fluid extraction แล้ววิเคราะห์สารด้วยเครื่อง GC-MS ซึ่งพบสาร ระเหย 83 ชนิดและมี 48 ชนิดที่ตรวจพบบ่อย ได้แก่ กรด 15 ชนิด แอลกอฮอล์ 17 ชนิดและเอสเทอร์ 16 ชนิด โดยสารระเหยที่ตรวจพบในเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปในการทดลองนี้ มี 5 ชนิด ที่เหมือนกับสารที่ตรวจพบโดย Chung *et al*. (2005) ดังนี้ tetradecanoic acid (CSF2), ethanol (CSF3), (E,E)-2,4-decadienal (CSF7), ethyl hexadecanoate (CSF6) และ ethyl octadecanoate (CSF8) อีกประการหนึ่ง การตรวจพบสารระเหยที่แตกต่างกันคือ ในการ ทดลองครั้งนี้ได้เลือกรายงานเฉพาะสารที่มี % quality (เปอร์เซ็นต์ความ

เหมือนกับสารมาตรฐานที่อยู่ในฐานข้อมูล ) มากกว่า 80% ทำให้ไม่ได้บ่งชี้ส ารที่มีปริมาณ % ความเหมือนน้อยกว่านี้ได้ ส่วนกรดอินทรีย์ที่ตรวจพบมากที่สุดในเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป คือ acetic acid (35.70%, CSF9) เต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักมีสารระเหยแตกต่างจากเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1) เนื่องจากปริมาณเกลือในกระบวนหมักและกรดอะมิโนมีผลต่อการผลิตสารระเหยอีกทั้ง จำนวนแบคทีเรียในการผลิตสา รระเหยมี ความแตกต่างจากเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1) เพราะ เต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1) จะมีการพลาสเจอไรส์ก่อนจำหน่ายในแก่ผู้บริโภค ส่วน กรดอินทรีย์ของเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักมีความคล้ายคลึงกับใน เต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1) โดยมี acetic acid (14.37%, FSF1) มากที่สุด แต่โปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติก ที่แยกได้ให้ กรดอินทรีย์ใกล้เคียงกันเนื่องจาก methabolism หลักของแบคทีเรียแลกติกคือการผลิต lactic acid และ acetic acid (พวกเฮทเทอร์โรโทป ) สำหรับสารระเหยที่ผลิ ตจากโปรไบโอติกแบคทีเรียแลก ติกแตกต่างกันออกไปส่วนใหญ่ สารที่ตรวจพบเหมือนกันคือ n-butanol และ hexadecanoic acid, methyl ester โปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติก สามารถผลิ ตสารระเหย มี 2 ชนิด ที่เหมือนกับสารที่ตรวจพบโดย Chung *et al*., (2005) ดังนี้ acetic acid, methyl hexadecanoate ส่วนสารประกอบอื่น ๆ ขึ้นอยู่กับสภาวะ สารอาหารและสายพันธุ์ของเชื้อ เช่น *L. plantaum* และ *P. halophilus* จะมีบทบาทในกระบวนการหมักสามารถผลิต กรดอินทรีย์ได้ถึง 2 ชนิด และสารระเหยได้ถึง 10 และ 14 ชนิดตามลำดับ โดยสารระเหยและกรดอินทรีย์ที่พบในเ ต้าหู้ยี้สำเร็จรูป เต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักและโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติก จะให้กลิ่นรสที่แตกต่าง กัน ดังสรุปในตารางที่ 17 นอกจากนี้ผลการตรวจสารระเหยที่ผลิตจาก โปรไบโอติกแบคทีเรีย แลกติกที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MRS ที่มีการเติมเต้าหู้บดในการทดลองนี้มีชนิดและปริมาณขอ ง สารแตกต่างกันกับตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปซึ่งเหมือนกับการทดลองของภารดา (2550) ที่ได้ คัดเลือกยีสต์ 5 สายพันธุ์ที่ให้กลิ่นเฉพาะคล้ายเต้าหู้ยี้ได้แก่ *C. versatilis* PS1505, *C. parapsilosis* PS1524*, Z. rouxii* PS1578 และ *P. farinosa* PS1534, *P. farinosa* PS15102 ซึ่งพบว่า ยีสต์สามารถผลิตสารระเหยทั้งหมด 19 ชนิด ประกอบด้วย แอลกอฮอล์ 5 ชนิด hydrocarbons 3 ชนิด เอสเทอร์ 8 ชนิด และสารประกอบ อื่น ๆ อีก 3 ชนิด โดยมีสารที่ให้ปริมาณมากที่สุดคือ isoamyl alcohol (14.10%) ethyl octanoate (15.82%) และ isobuthyl phthatate (15.66%)

**ตารางที่ 17** กลิ่นรสของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป เต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักและโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติก
(CSF=Commercial sufu, FSF=Fermenting sufu, LAB=Lactic acid bacteria, + = มี, - = ไม่มี)

| Compounds | CSF | FSF | LAB | Flavors |
|---|---|---|---|---|
| Acetic acid | + | + | + | Sour (Chung *et at*., 2005) |
| Benzenemethanol | - | + | - | Sweet floral (rose-like) |
| 2,3-butanediol | + | - | - | Fruity, cashew และ rubber (Garruti *et al*., 2006) |
| Butanoic acid | + | + | - | Cheesy, sharp, rancid, sweaty และ sour (Chung *et at*., 2005) |
| Butanoic acid ethyl ester | - | + | - | Sweet, fruity odor with hints of banana and pineapple |
| n-butanol | - | - | + | cashew, fermented และ sweet (Garruti *et al*., 2006) |
| (E,E)-2,4-decadienal | + | - | - | seaweed (Acree and Heinrich, 2003) |
| Dichloromethane | - | - | - | sweet |
| Dodecanoic acid,ethyl ester | - | + | - | Dried seaweed-like |
| Ethanol | + | + | - | sweet, ethereal (alcoholic) |
| Ethyl linoleate | + | - | - | emollients |
| Ethyl pentanoate | - | + | - | Fruity, Orange, Grass, Green, Mint |
| 2-hexadecanone | - | + | - | friuty |

**ตารางที่ 17 (ต่อ)**

| Compounds | CSF | FSF | LAB | Flavors |
|---|---|---|---|---|
| 2-hexenal | + | - | - | Apple และ green (Acree and Heinrich, 2003) |
| Isoamyl alcohol | - | + | - | fermented |
| Methyl nonanoate | + | - | - | fruity |
| Methyl pentanoate | + | - | - | fruity |
| Methyl tetradecanoate | + | - | - | waxy |
| Phenethyl alcohol | - | + | - | pleasant floral |
| Tetradecanoic acid | + | - | - | Waxy และ oily (Chung *et at*., 2005) |

กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์อาหารหมักเป็นสารระเหยและสารอินทรีย์ที่อยู่ในอาหารที่สามารถรับรู้ด้วยประสาทสัมผัส ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาการย่อยสล ายของน้ำตาล ไขมัน และโปรตีน ในอาหาร โดยเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นเชื้อหลายชนิดผสมกัน (microbial consortia) ซึ่งอาจเป็น เชื้อรา แบคทีเรีย และยีสต์ กรดที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักอาหาร มาจาก free fatty acid ที่ย่อยสลายสารไขมันโดย เอนไซม์ lipase ที่ผลิตจากเชื้อราและแบคทีเรีย *Staphylococcus* spp.

Alcohol และ ester เป็นกลุ่มของสารประกอบที่พบบ่อย และเป็นผลผลิตใน metabolism ของ amino acids ได้เป็น $\alpha$- keto acids, aldehydes, alcohols และ esters ที่ผลิตจากแบคทีเรียแลกติก

Ethyl ester เป็นสารประกอบที่เกิดจาก esterification of free fatty acids กับ ethanol สารประกอบ furans อาจพบในเต้าหู้ยี้ ให้กลิ่นคล้ายถั่วเขียว แต่ รสหวาน ประเภท fruity, nutty และ caramel-like odors เกิดจาก sugar dehydration หรือ fragmentation from Maillard reaction (Chung *et al.*, 2005)

สารประกอบ ketones มีกลิ่น buttery odor ผลิตโดย enzymatic action หรือ Maillard reaction และ อาจเกิด sulfur-containing compound ที่ให้กลิ่นเฉพาะในอาหาร ที่อาจเกิดจากการย่อยสลาย amino acid ระหว่าง ปฏิกิริยา maillard reaction เช่น methional ที่ผลิตจาก methionine (Kranenbur *et al*., 2002)

นอกจากนี้ในการระเหยของสารที่ใช้อุณหภูมิสูง ของเครื่อง GC injector อาจเกิด artifacts ของสารที่ไม่เกี่ยวกับกลิ่นรส แต่อย่างไรก็ตามสารที่เกิดมีปริมาณน้อย (Chung *et al*., 2005)

กลิ่นรสของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปและเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมักมีกลิ่นเฉพาะ นอกจากนี้จากการตรวจหากลิ่นสารระเหย โดยวิธี GC-FID (Gas chromatography – flame ionization detector – olfactometry analyses) (Chung *et al*., 2005) พบสารที่ให้กลิ่นเฉพาะของเต้าหู้ยี้ คือ acetic acid, methional, ethyl (Z,Z)-9,12-octadecadienoate, ethyl (Z)-9-ocatadecenoate และ 3-methylbutanoic acid ที่ให้กลิ่น sour, meaty, sweet, coconut-like และ sweaty ตามลำดับ

บทบาทของแบคทีเรียในกระบวนการหมักอาหารในการผลิตสารระเหยและกรดอินทรีย์ที่ให้กลิ่นรส ซึ่งสอดคล้องกับ Montel *et al*. (1998) นั้น พบว่า แบคทีเรียแลกติก เช่น *L. curvatus*, *L. plantarum* ให้กรด lactic acid ส่วน acetic acid เป็นรสเปรี้ยวที่พบในอาหารไส้กรอก ประเภท salami ซึ่งผลิตโดย lactic acid bacteria บางสายพันธุ์ และ *Staphylococcus* และอาจเกิดจาก oxidation ของ fatty acid และ alanine catabolism (Montel *et al*., 1998)

แร่ธาตุส่วนใหญ่ที่พบในถั่วเหลืองเป็นประเภท K, P, Mg, Ca, Na และ S เป็นต้น โดยปริมาณแ ร่ธาตุแต่ละตัวมีโดยปริมาณดังนี้ K (1.83%), P (0.78%), Mg (0.31%), Ca (0.24%), Na (0.24%) และ S (0.24%) ส่วนแร่ธาตุอื่น ๆ ที่พบอยู่ในปริมาณที่น้อยมากได้แก่ Cl, B, Mn, Fe, Cu, Ba และ Zn (http://www.science.cmu.ac.th/jou7.html) เมื่อเปรียบเทียบแร่ธาตุที่มีอยู่ในถั่วเหลืองและเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป ซึ่งแร่ธาตุที่ตรวจพบในตัวอย่างเต้าหู้ยี้เป็นตัวบ่งบอกถึงคุณภาพของเต้าหู้ยี้ พบว่าปริมาณแร่ธาตุในถั่วเหลืองมีปริมาณน้อยมาก แสดงว่าแร่ธาตุส่วนใหญ่อาจมาจากองค์ประกอบของวัตถุดิบที่ใช้ทำเต้าหู้ น้ำและเกลือที่ใช้หมัก ดังนั้นจากการตรวจหาปริมาณแร่ธาตุ 13 ชนิด พบว่าธาตุที่พบจำนวนมากที่สุดคือ Na, K, Ca และ Mg โดยในกระบวนการหมักเต้าหู้ยี้มีการเติมเกลือและมีการใช้สาร $MgSO_4$ หรือ $CaSO_4$ เพื่อตกตะกอนโปรตีน และอีกประการหนึ่งคือ ในถั่วเหลืองมีปริมาณ Mg และ Ca จำนวนมาก (Moraghan *et al*., 2006) ส่วนธาตุที่พบ มากเป็นอันดับ 2 คือ Al, Fe, Mn, Cu และ Zn ซึ่งแร่ธาตุเหล่านี้สามารถบ่งชี้ถึงคุณ ภาพ และการปลอมปนของเต้าหู้ยี้ และถ้าพบเป็นจำนวนมากอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ เช่น Al และ Cu ถ้าได้รับเป็นระยะเวลานานอาจเป็นปัจจัยเสี่ยงนำไปสู่โรคทางระบบประสาท เช่น Alzheimer, Parkinson และ Mad cow disease หรือโรคอีกชนิดหนึ่งที่เกิดจาก Cu คือ Wilson ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากร่างกายไม่สามารถขับ Cu ออกจากร่างกายได้และจะสะสมไว้ที่เนื้อเยื่อตับ แต่จากการรายงาน ของ ดร.ขนิษฐา ทานี่ฮิล พบว่า Zn ที่ต้องการแต่ละวัน ประมาณ 15 มิลลิกรัมโดยมีความสำคัญดังนี้ เป็นส่วนประกอบ (cofactor) ของเอ็นไซม์มากกว่า 300 ชนิดและป้องกันตับไม่ให้ถูกทำลายได้ง่ายจากพิษสารเคมี และช่วย

ในการสร้างกระดูก Cr ความต้องการแต่ละวันประมาณ 50 - 200 ไมโครกรัม โดยมีความสำคัญต่อ การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด จำเป็นสำหรับการเผาผลาญน้ำตาลในเลือด Mn แต่ละวันร่างกายต้องการ Mn ประมาณ 2.5-5.0 มิลลิกรัม ส่วนใหญ่อยู่ในกระดูก Mn จำเป็นสำหรับ bone growth, reproduction, skin, ligament formation เป็นต้น (http://www.ams.cmu.ac.th/mt/clinchemwebsite/teaching/Lecture302/3_Other%20trace%20element_KT.doc, May 6, 2009) ส่วนธาตุที่พบปริมาณน้อยได้แก่ As, Ni, Cr, และ Cd โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Cd และ As เป็นธาตุที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมและเชื่อมโยงกับห่วงโซ่อาหารซึ่งถ้ารับประทานสะสมจะเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์ (Yin *et al*., 2005) กระทรวงสาธารณสุขกำหนดให้อาหารมีระดับ As ได้ไม่เกิน 2 มิลลิกรัม /กิโลกรัม (http://gotoknow.org/blog/health2you/49017, May 6, 2009) อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์เต้าหู้ยี้สำเร็จรูปยังคงมีคุณภาพที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค เนื่องจากปริมาณไม่เกินกำหนด มาตรฐานของสหภาพยุโรป (ประเภทอาหารทะเล) มีการกำหนดมาตรฐานสูงสุด โลหะหนัก เพียง 3 ชนิด ได้แก่ Pb, Cd และ Hg ดังนี้ 1.5, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัม /กิโลกรัม wet weight (http://europa.eu.int/ eurlex/pri/en/oj/dat/2002/l Moraghan *et al*., 2006 _037/l _03720020207en00040006.pdf, May 4, 2007)

ส่วนการประเมินทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปโดยวิธี Hedonic test หรือ Affective test เป็นการทดสอบแบบชอบ หรือไม่ชอบ ซึ่งการทดสอบใช้ผู้ทดสอบแบบรับรู้ผลิตภัณฑ์องค์รวม โดยผู้ทดสอบการรับรสซึ่งไม่ได้ผ่านการฝึกฝนการชิมมาก่อน (In-house employee) จำนวน 20 คนประเมินการตอบสนองความชอบหรือการยอมรับในแต่ละด้านคือ สี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส ความชอบรวม และความเป็นไปได้ในการซื้อ พบว่ามีการยอมรับที่แตกต่างกันในเต้าหู้ยี้แต่ละชนิด อาจเนื่องมากจากเต้าหู้ยี้แต่ละชนิดมีส่วนประกอบที่แตกต่างกัน เช่น การเติมข้าวแดง เต้าเจี้ยว หรือพริก เป็นส่วนประกอบส่งผลต่อความชอบของผู้ทดสอบ ดังนี้ในด้านสี รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบรวม พบว่าเต้าหู้ยี้ที่มีส่วนประกอบของข้าวแดงได้รับการยอมรับมากที่สุดอาจเนื่องมาจาก *M. purpureus* ซึ่งขึ้นบนข้าวสามารถย่อยข้าวจนนุ่ม และขณะเดียวกันจะสร้างสารสีแดงคล้ำขึ้นในเมล็ดข้าว ทำให้เกิดสี รสชาติ และลักษณะสัมผัสที่ดีในเต้าหู้ยี้

ในด้านกลิ่น พบว่าเต้าหู้ยี้ที่ มีส่วนประกอบของ ข้าวแดง (CSF2) ให้เกิดกลิ่นหอมที่สุด รองลงมาคือเต้าหู้ยี้ เหลือง (CSF1) ในส่วนของความเป็นไปได้ในการซื้อพบว่าเต้าหู้ยี้ที่มีส่วนประกอบของข้าวแดงได้รับการยอมรับมากที่สุด (CSF2) อาจเนื่องมาจาก มีโปรตีนสูง โดยโปรตีนมีบทบาททำให้มีเนื้อสัมผัสที่ดีขึ้นและมีกลิ่นที่ดีเพราะโปรตีนเป็นสารตั้งต้นในการผลิตกลิ่นจากการย่อยสลายโปรตีนของจุลินทรีย์ ในส่วนเต้าหู้ยี้ที่มีส่วนประกอบของพริก, rice wine และข้าวแดง (เต้าหู้ยี้ที่หมักเป็นเวลานาน) พบว่าได้รับการยอมรับน้อยที่สุดใน

ทุกด้าน อาจเนื่องมาจากการมีแอลกอฮอล์ในส่วนผสมทำให้เกิดสี กลิ่น และรสชาติที่ไม่ดี ทั้งนี้ ปฏิกิริยาในการตอบสนองของผู้ทำการทดสอบอาจมีข้อมูลแปรปรวนเกิดขึ้นโด ยการแปรผันตามปัจจัยที่มีผลต่อกา รประเมินทางประสาทสัมผัส ได้แก่ 1) ปัจจัยทางสรีรวิทยา เช่น การปรับตัวของการรับสัมผัส 2) ปัจจัยทางจิตวิทยา เช่น การขาดแรงจูงใจ 3) ผู้ทดสอบ เช่น ไม่เป็นไข้หวัด ไม่มีปัญหาทางอารมณ์ รวมทั้งบรรยากาศของห้อง แสงสว่าง และเสียง เป็นต้น (วิวัฒน์, 2549) ส่วนจำนวนประชากรที่ประเมินก็มีความสำคัญเนื่องจากสมัยก่อนผู้ชิมควรเป็นผู้เชี่ยวชาญการชิมไวน์แต่ปัจจุบันโดยเฉพาะการชิมอาจแบ่งกลุ่มที่ไม่เคยมีประสบการณ์ชิมผลิตภัณฑ์นั้น ๆ จำนวนผู้ชิมควรเพิ่มมากขึ้นอาจเพื่อการทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

# บทที่ 5

# สรุป

การวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปพบว่ามีคุณค่าทางอาหารเหมาะแก่การรับประทานเนื่องจากมีปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรตและพลังงานที่สูง กรดอะมิโนในตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปพบว่ามีค่าใกล้เคียงกันทั้งในเต้าหู้ยี้แดงและเต้าหู้ยี้เหลืองโดย พบกรดอะมิโนใน กลุ่ม glutamic acid, aspartic acid, leucine, alanine, phenylalanine และ lysine เป็นกลุ่มที่มี ปริมาณมาก อีกทั้งยังพบกรดอะมิโนจำเป็นที่ร่างกายต้องการครบทั้ง 8 ชนิด ส่วนปริมาณแร่ธาตุที่ตรวจพบในตัวอย่างเต้าหู้ยี้มีคุณ ภาพที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคเนื่องจากมีค่าไม่เกินมาตรฐานกำหนด โดยแร่ธาตุเป็น สารอนินทรีย์ ในร่างกายมีอยู่ประมาณ 4-5% ของน้ำหนักตัว จึงมีความสำคัญและจำเป็นสำหรับร่างกายซึ่งต้องบริโภคเข้าไปจัดอยู่ในพวกสารอาหาร (nutrient)

ส่วนกลิ่นรสของเต้าหู้ยี้ในรูปของสารระเหยและกรดอินทรีย์ของตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป 9 ตัวอย่างพบสารระเหยและกรดอินทรีย์ทั้งหมด 74 ชนิด โดยกลิ่นรส ที่สำคัญและเป็นกลุ่มหลัก ๆ ในเต้าหู้ยี้ได้แก่ acetic acid, lactic acid, butanoic acid และ isoamyl alcohol ให้กลิ่น sour, sweaty และ fermented ตามลำดับ เต้าหู้ยี้ในกระ บวนการหมักตรวจพบสารระเหยและกรดอินทรีย์ทั้งหมด 53 ชนิด ส่วนโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติก ผลิตสารระเหยและกรดอินทรีย์ทั้งหมด 29 ชนิด โดยพบสารระเหยในกลุ่ม acid, alcohol และ ester เป็นกลุ่มหลัก แบคทีเรียแลกติกสายพันธุ์ *Lactobacillus curvatus* PS1243 ที่แยกได้มีบทบาท ในการให้ ผลิตสารที่ให้กลิ่นรส ข้อมูลจากการตรวจสาร ระเหยของผลิตภัณฑ์เต้าหู้ยี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดกลุ่มคุณภาพของกลิ่นรสโดยใช้ electric nose จัดกลุ่มประเภทของสารระเหยของผลิตภัณฑ์เพื่อจำแนกเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพมาตรฐานต่อไป (Marilley *et al*., 2004)

การประเมินทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปจากการเปรียบเทียบความพึงพอใจของกลุ่มตัวอย่างที่ได้ทำการสำรวจจากนักศึกษาระดับปริญญาตรี และปริญญาโท /เอก อายุระหว่าง 20 - 30 ปี พบดังนี้ ในด้านสี กลิ่น รสชาติ ความชอบรวมและความเป็นไปได้ในการซื้อพบว่า เ ต้าหู้ยี้สำเร็จรูป อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร (CSF2, เต้าหู้ยี้แดง ) ได้รับคะแนนสูงสุด ในด้านเนื้อสัมผัสพบว่า เต้าหู้ยี้สำเร็จรูป ประเทศจีน (CSF7, เต้าหู้ยี้เหลือง ) ได้รับคะแนนสูงสุด ซึ่งในทุกด้านพบว่าเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป ประเทศไทย (CSF9, เต้าหู้ยี้แดง) ได้รับคะแนนน้อยที่สุด

ข้อเสนอแนะในการทำการทดลองต่อไปคือ การผลิตหัวเชื้อโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติกใส่ในกระบวนการหมักร่วมกับยีสต์ที่ให้กลิ่นรสของเต้าหู้ยี้ที่แยกได้โดยภารดา (2550) เพื่อใช้ในการเร่งกระบวนการหมักเต้าหู้ยี้ต่อไป

# รายการเอกสารอ้างอิง

ธงชัย สุวรรณสิชณน์. 2550. เทคนิคการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสและการวิเคราะห์. หน่วยวิจัยทางประสาทสัมผัส และผู้บริโภคแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 1-12.

ชาคริยา ฉลาด. 2544. จุลชีววิทยาของเต้าหู้ยี้. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 1-47.

ประเสริฐ สายสิทธิ์. 2527. ถั่วเหลืองและการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 123-136.

ประเสริฐ สันตินานาเลิศ, ชาคริยา ฉลาด, สิริพร ภูมะธน, สุวรรณี แสงแก้ว และอำไพทิพย์ สุขหอม. 2548. จุลชีววิทยาของเต้าหู้ยี้ที่หมักแบบดั้งเดิม. วารสารสงขลานครินทร์ วทท. 27(2): 263-375.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2543. เอนไซม์ทางอาหาร. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 149.

ภารดา อุทโท. 2550. บทบาทของยีสต์ที่แยกได้จากกระบวนการหมักเต้าหู้ยี้. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 66-67.

ลัดดาวัลย์ รัศมิทัต. 2536. จุลินทรีย์กับอุตสาหกรรมอาหาร. ชลบุรี: มหาวิทยาลัยบูรพา. หน้า 237- 242.

วรัษฐา แซ่ลือ. 2549. สมบัติหมัก ทางเคมีและการประเมินทางประสาทสัมผัสของน้ำปลาที่โดยใช้เอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Halobacterium salinarum* PB407. โครงงานทางจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 30 – 31.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2536. ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากจุลินทรีย์. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 1–12.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2539. จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร. อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 63-164.

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ . 2534. โพรซีดดิงส์แลกติกแอซิดแบคทีเรียในอุตสาหกรรมอาหารไทย ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน.

วิวัฒน์ หวังเจริญ. 2549. การประเมินคุณภาพอาหารโดยประสาทสัมผัส. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้. หน้า 321.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. หน้า 454.

สุพรรษา อุไรพันธ์ . 2550. บทบาทของแบคทีเรียแลกติกที่แยกได้จากกระบวนการหมักเต้าหู้ยี้. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 43-72.

สุวรรณี แสงแก้ว. 2543. คุณภาพทางจุลชีววิทยาของเต้าหู้ยี้. รายงานโครงงานทางจุลชีววิทยา, สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุวรรณดี เจตน์วราพงศ์ . 2550. การตรวจหา Staphylococcal enterotoxin และการประเมินทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้ยี้. รายงานโครงงานทางจุลชีววิทยา, สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อุราวรรณ แพประสิทธ์. 2547. การแยกเชื้อแบคทีเรียแลกติกทนเกลือจากตัวอย่างซีอิ๊ว. โครงงานทางจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 1.

Acree, T.E. and Heinrich, A.. 2003. Gas chromatography - olfactometry (GCO) of natural products. Flavornet and human Odor space. Available Source: http://www.flavornet.org/flavornet.html, June 27, 2005.

Ahmad, N., Li, L., Yang, X.Q., Ning, Z.X. and Randhawa, M.A. 2008. Improvements in the flavor of Soy cheese. Food Technol. Biotechnol. 46: 252-261.

Axelsson, L.T. 1993. Lactic acid Bacteria. New York, Marcel Dekker. pp. 1-17.

Alvarado, C., Garcia-Almendarez, B.E., Martin, S.E. and Regalado, C. 2005. Anti *Listeria monocytogenes* bacteriocin-like inhibitory substances from *Enterococcus faecium* UQ31 isolated from artisan Mexican-style cheese. CurrMicrobiol. 51: 110-115.

Amerine, M., Pangborn, R.M. and Roessler E.B. 1965. Principles of sensory evaluation of food. Academic Press. New York.

Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E. and Chevallier, I. 2006. Antibacterial activity of Lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1-Screening and characterization of the antibacterial compounds. Food Control. 17: 454-461.

AOAC. 1990. Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. 15th edition. Verginia. The Association of Official Analytical Chemist, Inc. USA.

Belitz, H. D. and Grosch, W. 1999. Fruits and fruit products. In Food chemistry. Berlin: Springer. 748–757.

Boatright W.L. and Lei Q. 1999. Compounds Contributing to the “Beany” Odor of Aqueous Solutions of Soy Protein Isolates. J. food science. 64(4): 667–670.

Burgard, D.R. and Kuznicki, J.T. 1990. Chemometrics: Chemical and sensory data. CRC Press Boca Raton Florida, USA.

Buttris, J. 1997. Nutritional propreties of fermented milk products. Int J. Dairy Technology. 50: 21-27.

Byczkowski, J.Z. and Gessner, T. 1988. Biological role of superoxide ion-radical. Int J. Biochem. 20: 569-580.

Calvin, L.D. and Sather, L.A. 1959. A comparison of student preference panel with household consumer panel. Food Technol. 13(8): 460-472.

Campos, C.A., Rodrı´guez, O., Calo-Mata, P., Prado, M. and Barros-Vela´zquez, J. 2006. Preliminary characterization of bacteriocins from *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecium* and *Enterococcus mundtii* strains isolated from turbot (*Psetta maxima*). Food Research International. 39: 356-364.

Cheftel, J.C., Cuq, J.L., and Lorient, D. 1989. Proteinas alimentarias. Zaragoza: Acribia, S.A.

Chou, C.C., Ho, F.M. and Tsai, C.S. 1988. Effects of temperature and relative humidity on the growth of and enzyme production by *Actinomucor taiwanensis* during sufu pehtze preparation. App Environ Microbiol. 54: 688-692.

Chung, H.Y. 1999. Volatile components in fermented soybean (*Glycine max*) Curds. J. Agri. Food Chem. 47: 2690-2696.

Chung, H.Y. 2000. Volatile Flavor Components in Red Fermented Soybean (*Glycine max*) Curds. J. Agri. Food chem. 48: 1803-1809.

Chung, H.Y., Fung, P.K. and Kim, J.S. 2005. Aroma impact components in commercial plain sufu. J. Agric. Food Chem. 53: 1684-1691.

Cross, H.R. Bernholdt, H.F., Dikleman, M.E., Greene, B.E., Moody, W.G. and West, R.L. 1978. Guidelines for cookery and sensory evaluation of meat. American Meat Science Association, Ad Hoc Committee, Chicago, Illinois.

Deegan, L.H., Cotter, P.D., Hill, C. and Ross, P. 2006. Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. J. Int Dairy. 16: 1058-1071.

Donohue, D.C. and Salminen, S. 1996. Safety of probiotic bacteria. Asia Pacific. J. ClinNutr. 5: 25-28.

Dunne, C., O'Mahony, L., Murphy, L., Thornton, G., Morrissey, D., O'Halloran, S., Feeney, M., Flynn, S., Fitzgerald, G., Daly, C., Kiely, B., O'Sullivan, G.C., Shanahan, F. and Collins, J.K. 2001. In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. Am J ClinNutr. 73: 386-392.

du Toit, M., Franz, C.M., Dicks, L.M., Schillinger, U., Haberer, P., Warlies, B., Ahrens, F. and Holzapfel, W.H. 1998. Characterisation and selection of probiotic lactobacilli for a preliminary minipig feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, faeces pH and faeces moisture content. Int J Food Microbiol. 40: 93-104.

Finot, P. A. 1997. Effects of processing and storage on the nutritional value of food proteins. Inc., New York. pp. 551-577.

Garruti, D.S., Franco, M.R.B., Silva, M.A.A.P., Janzantti, N.S. and Alves, G.L. 2006. Assessment of aroma impact compounds in a cashew apple-based alcoholic beverage by GC-MS and GC-olfactometry. LWT. 39: 372-377.

Gatchalian, M.M. 1981. Sensory evaluation methods with statistical analysis. College of Home Economics, University of the Philippines, Philippines.

Ghrairi, T., Frere, J., Berjeaud, J.M. and Manai, M. 2005. Lactococcin MMT24, a novel two-peptide bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* isolated from rigouta cheese. Int J. Food Microbiol. 105: 389-398.

Gilliland, S.E. and Speck, M.L. 1977. Deconjugation of bile acids by intestinal lactobacilli. Appl Environ Microbiol. 33: 15-18.

Gorman, J. 1975. The taster's puzzling perception. The Senses. Aug.-Sept. 6.

Gurira, O.Z. and Buys, E.M. 2005. Characterization and antimicrobial activity of *Pediococcus* species isolated from South African farm-style cheese. Food Microbiology. 22: 159-168.

Halasz, A., Barath, A., Simon-Sarkadi, L., and Holzapfel, W. 1994. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. Trends in Food Science and Technology. 5(2): 42–49.

Han, B-Z., Breumer, R.R.Rombouts, F.M. and Nout, M.J.R. 2001. Microbiological safety and quality of commercial Sufu-a Chinese fermented soybean food. Food Control. 15: 265-270, 541-547.

Han, B.Z., Rombouts, F.M. and Nout, M.J. 2001. A Chinese fermented soybean food. Int J. Food Microbiol. 65: 1-10.

Han, B.Z., Wang, J.H., Rombouts, F.M. and Nout, M.J.R. 2003. Effect of NaCl on textural changes and protein and lipid degradation during the ripening stage of sufu, a chinese fermented soybean food. J. Sci Food Agri. 83: 899-904.

Han, B.Z., Cao, C.F., Rombouts, F.M. and Nout, M.J.R. 2004a. Microbial changes during the production of Sufu-a Chinese fermented soybean food. Food Control. 15: 265-270.

Han, B.Z., Rombouts, F.M. and Nout, M.J.R. 2004b. Amino acid profile of sufu, a chinese fermented soybean food. J. Food Composition and Analysis. 17: 689-698.

Ho, C.-T., Zhang, Y.-G., Shi, H. and Tang, J. 1989. Flavour chemistry of Chinese food. Food Rev. Int. 5 (3), 253–287.

Hwan, C.H. and Chou, C.C. 1999. Volatile components of the Chinese fermented soybean curd as affected by the addition of ethanol in aging solution. J. Sci. Food Agric. 79: 243-248.

Jamuna, M. and Jeevaratnam, K. 2004. Isolation and characterization of lactobacilli from some traditional fermented foods and evaluation of the bacteriocins. J. Gen Appl Microbiol. 50: 79-90.

Jay, J.M. 1982. Antimicrobial properties of diacetyl. Appl Environ Microbiol. 44: 525-532.

Kandler, O. and Weiss, N. 1986. Regular, Non-Sporing Gram Positive Rods. In Bergeys Manual of Systematic Bacteriology Vol.2 (Sneath, P.H., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G. eds.). 1208-1234. William and Wilkins Co. Baltimore.

Klaenhammer, T., Altermann, E., Arigoni, F., Bolotin, A., Breidt, F., Broadbent, J., Cano, R., Chaillou, S., Deutscher, J., Gasson, M., van de Guchte, M., Guzzo, J., Hartke, A., Hawkins, T., Hols, P., Hutkins, R., Kleerebezem, M., Kok, J.,

Kuipers, O., Lubbers, M., Maguin, E., McKay, L., Mills, D., Nauta, A., Overbeek, R., Pel, H., Pridmore, D., Saier, M., van Sinderen, D., Sorokin, A., Steele, J., O'Sullivan, D., de Vos, W., Weimer, B., Zagorec, M. and Siezen, R. 2002. Discovering lactic acid bacteria by genomics. Antonie Van Leeuwenhoek. 82: 29-58.

Klemmer, E.T. 1968. Psychological principles of subjective evaluation. Basic principles of sensory evaluations. ASTM, STP. 433. American Society for Testing and Materials. 51-57.

Konings, W.N. 2002. The cell membrane and the struggle for life of lactic acid bacteria. Antonie Van Leeuwenhoek. 82: 3-27.

Kranenburg, R., Kleerebezem, M., Hylckama Vlieg, J., Ursing, B.M., Boekhorst, J., Smit, B.A., Ayad, E.H.E., Smit, G. and J. Siezen, R.J. 2002. Flavour formation from amino acids by lactic acid bacteria: predictions from genome sequence analysis. J. Int Dairy. 12: 111-121.

Li, Y.-J. 1997. Sufu-a health soybean food. J. China Brew. Ind.4: 1-4 .

Lindgren, S.E. and Dobrogosz, W.J. 1990. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. FEMS Microbiol Rev. 7: 149-163.

Liu K. 1997. Chemistry and nutritional value of soybean components. In: K. Liu, Editor, Soybeans: Chemistry, technology and utilization, Chapman & Hall, New York. 25–113.

Liu, YH and Chou, CC. 1994. Contents of various types of proteins and water soluble peptides in sufu during aging and the amino acid composition of tasty oligopeptides. J. the Chinese Agricultural Chemical Society 32: 276-283.

Ljungh, A. and Wadström, T. 2006. Lactic acid bacteria as probiotics. CurrIssues Intestinal Microbiol. 7: 73-90.

Mantel, M. C., Masson, F. and Talon R. 1998. Bacterial Role in Flavour Development. All rights reserved. Printed in Great Britain.

Marilley, L., Ampuero, S., Zesiger, T. and G. Casey, M. 2004. Screening of aroma-producing lactic acid bacteria with an electric nose. J. Int Diary . 14: 849-856.

Meilgaard, M., Civille, G.V. and Carr, B.T. 1999. Sensory Evaluation Techniques. CRC Press. Boca Raton Florida, USA.

Moraghan, J.T., Etchevers, J.D. and Padilla, J. 2006. Contrasting accumulations of calcium and magnesium in seed coats and embryos of common bean and soybean. Food Chem. 95: 554-561.

Morelli, L. 2000. In vitro selection of probiotic lactobacilli: a critical appraisal. Curr Issues Intest Microbiol. 1: 59-67.

Nelson, D.-L. and Cox, M.M. 2000. Amino acids, peptides and proteins. In: Nelson, D.-L., Cox, M.M. (Eds.), Lehninger Principles of Biochemistry. Worth Publishers, New York. pp. 115–120.

Omar, M.M. 1984. Microstructure, free amino acids and free fatty acids in Ras cheese. Food Chemistry 5: 19–29.

Ouwehand, A.C., Salminen, S. and Isolauri, E. 2002. Probiotics: an overview of beneficial effects. Antonie Van Leeuwenhoek. 82: 279-289.

Pangborn, R.M. 1967. Use and misuse of sensory measurement. Food Quality. 15: 7-12.

Parvez, S., Malik, K.A., Ah Kang, S. and Kim, H.Y. 2006. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. J. Appl Microbiol. 100: 1171-1185.

Pederson, C.S. and Albury, M.N. 1969. The Sauerkraut Fermentation.Tech. Boll. Bulletin. 824.

Pfaffman, C., Bartoshuk, L. and McBurney, D. 1971. Taste Psychophysics. Handbook of Sensory Physiology. 4(2): 113.

Qvist I.H. and Von Sydow E.C.F. 1974. Unconventional proteins as aroma precursors Chemical analysis of the volatile compounds in heated soy, casein, and fish protein model systems. J. Agric. Food Chem. *22*: 1077–1084.

Russell, J.B. and Diez-Gonzalez, F. 1998. The effects of fermentation acids on bacterial growth. Adv Microb Physiol. 39: 205-234.

Salminen, S and Wright, A .V. 1993. Lactic acid bacteria. New York: Marcel Dekker Inc. 442.

Salminen, S. 2001. Human studies on probiotics: Aspects of scientific documentation. Scand J. Nutr. 45: 8-12.

Sarkar, P.K., Jones, L.J., Craven, G.S., Somerset, S.M. and Palmer, C. 1997. Amino acid profiles of kinema, a soybeanfermented food. Food Chemistry 59: 69–75.

Schultz, A. and Bradley, J. F. 1954. Effects of bias on preference in the difference preference test. Food acceptance and testing methodology. Advisory board on quartermaster research and development committee on foods. Chicago, U.S.A.

Schwass, D. E., and Finley, J. W. 1984. Heat and alkaline damage to proteins: racemization and lysinoalanine formation. J. Agri and Food Chem. 32: 1377–1382.

Sohn, M., and Ho, C. T. 1995. Ammonia generation during thermal degradation of amino acids. J. Agri and Food Chem. 43(12): 3001–3003.

Stone, H. 1995. Sensory evaluation workshops at Kasetsart University, Bangkok, Thailand. Tragom Corporation, Redwood City, CA., U.S.A.

Stern, N.J., Svetoch, E.A., Eruslanov, B.V., Perelygin, V.V., Mitsevich, E.V., Mitsevich, I.P., Pokhilenko, V.D., Levchuk, V.P., Svetoch, O.E. and Seal, B.S. 2006. Isolation of a *Lactobacillus salivarius* strain and purification of its bacteriocin, which is inhibitory to *Campylobacter jejuni* in the chicken gastrointestinal system. Antimicrob Agents Chemother. 50: 3111-3116.

Su, Y.C. 1986. In: Reddy, N.R., Pierson, M.D. and Salunkhe, D.K. Eds., Sufu. Legume-based Fermented Foods CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 69–83.

Szkudlarz, S., Jelen,H., Wojtasiak, Z. and Wasowicz, E. 2003. Application of headspace-solid phase microextraction and multivariate analysis for plant oils differentiation. Food Chemistry. 83: 515- 522.

Todorov, S.D. and Dicks, L.M. 2004. Characterization of mesentericin ST99, a bacteriocin produced by *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* ST 99 isolated from boza. J. Ind Microbiol Biotechnol. 31: 323-329.

Vas, G., and K.Vekey. 2004. Solid-phase microextraction: A powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. J. mass spectrometry. 39: 54-233.

Yamaguchi, S. and Ninomiya, K. 2000. The use and utility of glutamates as flavoring agents in food—umami and food palatability. J. Nutrition 130: 921S–926S.

Yang, D. and Woes, C.R. 1989. Phylogenetic structure of the *Leuconostocs* and interesting case of a rapidly evolving organism. System Appl. Microbiol. 12: 145-149.

Yen, G.C. 1986. Studies on biogenic amines in foods: I. Determination of biogenic amines in fermented soybean foods by HPLC. J. Agri Chem Soci 24: 211-227.

Walf, W.J. 1975. Lipoxygenase and flavor of soybean protein products. J. Agri. Food Chem. 23: 136-141.

Wang, R.-Z. 1995. Sufu quality and ripening (postfermentation) control. J. China Brew. Ind. 2, 31–35.

Wang, R.-Z., and Du, X.-X. 1998. The Production of Sufu in China. China Light Industry Press, Beijing, China.

Wurhmann, J.J. 1977. Importance of organoleptic parameters in Food technology. Nestle research news. Nestle Products Technical Assistance Co., Ltd. Switzerland.

Zhao, D., Tang, J. and Ding, X. 2007. Analysis of volatile components during potherb mustard (*Brassica juncea, Coss*.) pickle fermentation using SPME-GC-MS. LWT. 40: 439-447.

# ภาคผนวก

# ภาคผนวก ก

**1. น้ำยาทดสอบคะตาเลส (3% $H_2O_2$)**

| | | |
|---|---|---|
| 35% $H_2O_2$ | 8.6 | มิลลิลิตร |
| Distilled water | 1,000.0 | มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันเก็บไว้ในขวดสีชาแล้วแช่ตู้เย็น

**2. สารเคมีที่ใช้ในการย้อมสีกรัม**

1. Crystal violet

- สารละลาย A : ละลาย crystal violet 2.0 กรัม ใน 95% ethyl alcohol ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

- สารละลาย B : ละลาย ammonium oxalate 0.8 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 80 มิลลิลิตรผสมสารละลาย A และ B เข้าด้วยกัน ทิ้งไว้ 24 ชม. กรองผ่านกระดาษกรองได้เป็น crystal violet staining reagent

2. 95% ethyl alcohol

3. Gram iodine (mordant)

บดไอโอดีน 1.0 กรัม และ potassium iodine 2.0 กรัม เข้าด้วยกันแล้วค่อยๆ เติมน้ำกลั่นลงไปผสมจนกระทั่งไอโอดีนละลาย เติมน้ำกลั่นปริมาตร 300 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา

4. Safranin (counterstain)

ละลาย safranin O 2.5% (w/v) ใน 95% ethylalcohol ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

**3. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาสารระเหยและสารอินทรีย์**

1. Dimethylformamide ใช้เป็น Internal standard สำหรับการวิเคราะห์สารอินทรีย์โดยคำนวณหาความเข้มข้นที่เหมาะสม แล้วผสมในตัวอย่างฉีดเข้าเครื่อง GC-MS

2. 1,2,3-trichloropropane ใช้เป็น Internal standard สำหรับการวิเคราะห์สารระเหยโดยคำนวณหาความเข้มข้นที่เหมาะสม แล้วผสมในตัวอย่างฉีดเข้าเครื่อง GC-MS

3. Acetone ใช้เป็นสารละลายเพื่อเจือจางตัวอย่างก่อนฉีดเข้าเครื่อง GC-MS

# ภาคผนวก ข

**ตารางที่ 18** ปริมาณแร่ธาตุในตัวอย่างเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก (ถังสุ่ม 1) เปรียบเทียบกับเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1) และตัวอย่างเกลือที่ใช้ในการหมักเต้าหู้ยี้ (ND = not detect)

| แร่ธาตุ | ปริมาณแร่ธาตุ (mg/kg) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **FSF4** | **FSF5** | **FSF6** | **CSF1** | **เกลือ** |
| กลุ่ม A | | | | | |
| Na | 37,800 | 20,300 | 23,400 | 19,700 | 352,000 |
| Ca | 618 | 899 | 738 | 805 | 5 |
| K | 1,277 | 233 | 218 | 370 | 11 |
| Mg | 633 | 396 | 316 | 359 | 3 |
| กลุ่ม B | | | | | |
| Al | 15 | 6 | 4 | 25 | 1 |
| Fe | 2 | 7 | 6 | 9 | 2 |
| Cu | 0.17 | 5 | 4 | 2 | ND |
| Zn | 0.61 | 1 | 1 | 2 | 0.06 |
| Mn | 0.20 | 1 | 0.72 | 4 | 0.60 |
| กลุ่ม C | | | | | |
| Cd | 0.01 | 0.09 | 0.05 | 0.02 | 0.04 |
| Ni | ND | 0.08 | 0.05 | 0.07 | ND |
| Cr | 0.01 | 0.02 | 0.01 | 0.02 | 0.06 |
| As | 0.004 | ND | 0.01 | 0.11 | 0.02 |

**ตารางที่ 19** ปริมาณแร่ธาตุในตัวอย่างเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก (ถังสุ่ม 2) เปรียบเทียบกับเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1) และตัวอย่างเกลือที่ใช้ในการหมักเต้าหู้ยี้ (ND = not detect)

| แร่ธาตุ | ปริมาณแร่ธาตุ (mg/kg) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **FSF7** | **FSF8** | **FSF9** | **CSF1** | **เกลือ** |
| กลุ่ม A | | | | | |
| Na | 21,700 | 14,500 | 16,800 | 19,700 | 352,000 |
| Ca | 1,381 | 742 | 26 | 370 | 11 |
| K | 1,290 | 689 | 371 | 805 | 5 |
| Mg | 663 | 422 | 38 | 359 | 3 |
| กลุ่ม B | | | | | |
| Al | 26 | 19 | 0.63 | 25 | 1 |
| Fe | 18 | 17 | 0.99 | 9 | 2 |
| Cu | 5 | 6 | 0.22 | 2 | ND |
| Zn | 5 | 0.35 | 0.15 | 2 | 0.60 |
| Mn | 6 | 5 | 0.17 | 4 | 0.06 |
| กลุ่ม C | | | | | |
| Cd | 0.01 | 0.01 | 0.004 | 0.02 | 0.02 |
| Ni | 0.01 | 0.03 | 0.01 | 0.07 | 0.04 |
| Cr | 0.01 | 0.01 | 0.004 | 0.02 | 0.02 |
| As | ND | ND | ND | 0.11 | ND |

**ตารางที่ 20** การตรวจหาชนิดและปริมาณของสารระเหยและกรดอินทรีย์ในตัวอย่างเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก (ถังสุ่ม1) เปรียบเทียบกับเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1)
(ตัวเลขภายในวงเล็บ = %Area * = กรดอินทรีย์)

| FSF4 (1 เดือน) | FSF5 (5 เดือน) | FSF6 (9 เดือน) | CSF1 |
|---|---|---|---|
| **Acid**<br>1.Acetic acid*(12.41)<br>2.3-amino-2,5-dichloro-benzoic acid (1.52)<br>3.4-bromo benzene acetic acid (1.52)<br>4.Trichloroacetic acid (2.66)<br>**Aromatic compound**<br>5.4-chloro-2-methoxy-1-nitroben zene (1.52)<br>**Ester**<br>6.Benzoic acid,3-amino-2,5-dichloro methyl ester (1.52)<br>7.Carbamic acid, ethylnitroso-,ethyl ester (2.09)<br>87.Hexacosanoic acid,9-oxo-,methyl ester (1.31)<br>9.Sulfuric acid,diethyl ester (1.47)<br>**N-containing compound**<br>10.Aceta mide, N-hexyl(1.31)<br>11.Butanamide,N-hexyl (2.09) | **Acid**<br>1.Butyric acid (4.08)<br>2.2-Thio phenecar boxilic acid (4.31)<br>**Aromatic compound**<br>3.Hydroxymethapyri lene (2.37)<br>**Ester**<br>4.Methyleriostoate (4.31) | **Acid**<br>1.Butanoic acid (3.63)<br>2.Isobutyric acid (1.11)<br>3. (Z,Z)-9,12-octade cadienoic acid (2.12)<br>**Alcohol**<br>4.Benzeneethanol (1.52)<br>5.Ethanol (1.33)<br>6.Isoamylalcohol (1.52)<br>7.3-methylmetane-1-ol (1.52)<br>8.Phenylethyl alcohol (1.52)<br>**Aldehyde**<br>9.9,12-octadecadienal (2.12)<br>10.(Z)-9,17-octadecadienal (2.12)<br>**Ester**<br>11.Butanoic acid,ethyl ester (3.79)<br>12.Butanoic acid,3-methyl-,ethyl ester (5.01)<br>13.2-Chloroethyl linoleate (2.12)<br>14.Dodecanoic acid, ethyl ester (2.57) | **Acid**<br>1.Acetic acid*(3.27)<br>2.Lactic acid*(0.31)<br>3.Linoleic acid* (1.95)<br>4.2,5-dichloro-3,6-di me thoxy benzoic acid (1.42)<br>5.Hexamethyl-5'-adenylic acid (1.42)<br>**Alkane**<br>6.1,2,4-trithiolane (1.42)<br>**Amine**<br>7.2,3,4,5,6-penta chlorobenzenamine (2.31)<br>8.1,4-diiodobenzene (4.12)<br>9.2,3,5-tribromothio phene (3.16)<br>**Ester**<br>10.Methyl pentanoate (4.88)<br>**Ketone**<br>11.2,2,6,6-d4-cyclohexanone (3.16)<br>**Other com pound**<br>12.17-n-acetyl-odiline (2.68) |

**ตารางที่ 20 (ต่อ)**

| FSF4 (1 เดือน) | FSF5 (5 เดือน) | FSF6 (9 เดือน) | CSF1 |
|---|---|---|---|
| **Other compound**<br>12.Dichlorofuraxan (2.29)<br>13.N,N'-diacetyl-1,8-diaminooctane (2.41) | - | 15.Ethyl linoleate (2.12)<br>16.Ethyl 9-octadeca noate (1.34)<br>17.Ethyl pentadeca noate (2.57)<br>18.Ethyl pentanoate (5.01)<br>19.Ethyl3- phenyl propionate (2.21)<br>20.Ethyl tridecanoate (2.57)<br>21.Hexadecanoic acid, ethyl ester(2.57)<br>22.9-Octadecenoic acid(Z)-,ethyl ester (1.34)<br>23.9,12-octadecadienoic acid, methyl ester (2.12)<br>24.Tetradecanoic acid, ethyl ester (2.57) | 13.N,N'-diacetyl-1,12-diaminododecane (2.68)<br>14.5-nitro-2-furaldoxime (2.68) |

**ตารางที่ 21** การตรวจหาชนิดและปริมาณของสารระเหยและกรดอินทรีย์ในตัวอย่างเต้าหู้ยี้ในกระบวนการหมัก (ถังสุ่ม 2) เปรียบเทียบกับเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป (CSF1)
(ตัวเลขภายในวงเล็บ = %Area * = กรดอินทรีย์)

| FSF7 (1 เดือน) | FSF8 (5 เดือน) | FSF9 (9 เดือน) | CSF1 |
|---|---|---|---|
| **Acid**<br>1.Acetic acid* (19.71)<br>2.Isovaleric acid* (4.45)<br>**Alcohol**<br>3.2-Indolizine methanol (1.01)<br>**Amine**<br>4.Benzeneethanamine (1.73)<br>3.2,3,4,5,6-pentachlorobenzena mine(1.73)<br>5.1-Dodecanamine (1.73)<br>6.2,2,2-trifluoro ethylamine (2.75)<br>7.2,4,5- tri ethylamine (1.01)<br>**Aromatic compound**<br>8.Beta-chlordene (1.01)<br>9.Hexachloro benzene (1.64)<br>10. Hydroxy methapyrilene (1.73)<br>11.1 ,2,4-trifluoro-5-nitrobenzene(1.69)<br>**Ester**<br>12.Sulfuric acid, diethyl ester (2.02) | **Aldehyde**<br>1.2-Hexanal (1.22)<br>**Amine**<br>2.2,3,4,5,6-pentachlorobenzenamine (5.41)<br>3.1-Hepta namine (1.63)<br>**Aromatic compound**<br>4.Hydroxymethapyrilene(1.22)<br>**Ester**<br>5.Dodeca noic acid, methyl ester(4.18)<br>**Other compound**<br>6.N'N di acetyl-1,10-diaminode cane(7.92) | **Alcohol**<br>1.3-phenolprop-2-yn-1-ol (3.70)<br>**Amine**<br>2.2,3,4,5,6-pentachlorobenzenamine (2.43)<br>**Aromatic compound**<br>3.Benzene,1-ethoxy-2,4-dinitro (2.88)<br>4.Hydroxymethapyrilene (3.70)<br>**Ester**<br>5.Benzoic acid,3-amino-2,5-dichloro-,methyl ester (3.70)<br>6.Heneicosanoic acid, methyl ester (6.14)<br>7.Heptanoic acid, methyl ester (3.87)<br>8.Hexadecanoic acid, methyl ester (6.14)<br>9.Pentanoic acid, methyl ester (6.14)<br>10.Pentanoic acid, methyl ester (6.14)<br>11.Tetradecanoic acid, methyl ester (6.14)<br>12.Tridecanoic acid, methyl ester (6.14) | **Acid**<br>1.Acetic acid*(3.27)<br>2.Lactic acid*(0.31)<br>3.Linoleic acid* (1.95)<br>4.2,5-dichlo ro-3,6-di me thoxy benzoic acid (1.42)<br>5.Hexamethyl-5'-adenylic acid (1.42)<br>**Alkane**<br>6.1,2,4-trithiolane (1.42)<br>**Amine**<br>7.2,3,4,5,6-pentachlorobenzena mine (2.31)<br>8.1,4-diiodobenzene (4.12)<br>9.2,3,5-tribromothiophene (3.16)<br>**Ester**<br>10.Methyl pentanoate (4.88)<br>**Ketone**<br>11.2,2,6,6-d4-cyclohexa none (3.16) |

**ตารางที่ 21 (ต่อ)**

| FSF10 (1 เดือน) | FSF14 (5 เดือน) | FSF18 (9 เดือน) | CSF1 |
|---|---|---|---|
| **Other compound**<br>13.17-n-acetyl-odiline (1.69) | - | **N-containing compound**<br>13.Benzamide,2-chloro-4-nitro (2.88) | **Other compound**<br>12.17-n-acetyl-odiline (2.68)<br>13.N,N'-diacetyl-1,12-diamino dode cane (2.68)<br>14.5-nitro-2-furaldoxime (2.68) |

**แบบฟอร์มการทดสอบทางประสาทสัมผัส**

ผลิตภัณฑ์.....ผู้ทดสอบ.....

**คำแนะนำ** กรุณาชิมตัวอย่างตามลำดับที่นำเสนอ และให้คะแนนตามลำดับความชอบที่มีต่อผลิตภัณฑ์ กรุณาล้างปากด้วยข้าวต้มเปล่าก่อนชิมตัวอย่างต่อไปทุกครั้ง

| | | | |
|---|---|---|---|
| ชอบมากที่สุด | 9 | ชอบมาก | 8 |
| ชอบปานกลาง | 7 | ชอบเล็กน้อย | 6 |
| บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ | 5 | ไม่ชอบเล็กน้อย | 4 |
| ไม่ชอบปานกลาง | 3 | ไม่ชอบมาก | 2 |
| ไม่ชอบมากที่สุด | 1 | | |

| ตัวอย่างเต้าหู้ยี้ | สี | กลิ่น | รสชาติ | เนื้อสัมผัส | ความชอบรวม |
|---|---|---|---|---|---|
| ตัวอย่าง 1 | | | | | |
| ตัวอย่าง 2 | | | | | |
| ตัวอย่าง 3 | | | | | |
| ตัวอย่าง 4 | | | | | |
| ตัวอย่าง 5 | | | | | |
| ตัวอย่าง 6 | | | | | |
| ตัวอย่าง 7 | | | | | |
| ตัวอย่าง 8 | | | | | |
| ตัวอย่าง 9 | | | | | |

หมายเหตุ ตัวอย่างเต้าหู้ยี้ 9 ชนิดแต่ละชนิดหนัก 1.25 กรัม ใช้รับประทานกับข้าวต้มถ้วยละ 25 กรัม

## แบบฟอร์มการตัดสินใจบริโภค

| | | |
|---|---|---|
| ซื้อแน่นอน | = | 5 |
| ซื้อ | = | 4 |
| อาจจะซื้อ | = | 3 |
| อาจจะไม่ซื้อ | = | 2 |
| ไม่ซื้อ | = | 1 |
| ไม่ซื้อแน่นอน | = | 0 |

ตัวอย่าง 1.....
ตัวอย่าง 2.....
ตัวอย่าง 3.....
ตัวอย่าง 4.....
ตัวอย่าง 5.....
ตัวอย่าง 6.....
ตัวอย่าง 7.....
ตัวอย่าง 8.....
ตัวอย่าง 9.....

**ข้อเสนอแนะ**

**.....**
**.....**
**.....**

**ขอขอบคุณที่ให้ความร่วมมือในการตอบแบบสอบถาม**

**ตารางที่ 22** ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสโดยใช้วิธีทางสถิติ

**Descriptives**

**Color**

| ชนิดเต้าหู้ยี้ | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| csf1 | 20 | 4.5000 | 1.9057 | 0.4261 | 3.6081 | 5.3919 | 1.00 | 8.00 |
| cfs2 | 20 | 6.2000 | 1.7045 | 0.3811 | 5.4023 | 6.9977 | 3.00 | 9.00 |
| csf3 | 20 | 6.1000 | 1.3727 | 0.3069 | 5.4576 | 6.7424 | 3.00 | 8.00 |
| csf4 | 20 | 3.6000 | 1.7592 | 0.3934 | 2.7767 | 4.4233 | 1.00 | 9.00 |
| csf5 | 20 | 3.9500 | 1.6051 | 0.3589 | 3.1988 | 4.7012 | 2.00 | 8.00 |
| csf6 | 20 | 4.2500 | 1.8317 | 0.4096 | 3.3927 | 5.1073 | 1.00 | 8.00 |
| csf7 | 20 | 6.1000 | 1.6827 | 0.3763 | 5.3125 | 6.8875 | 2.00 | 9.00 |
| csf8 | 20 | 5.2000 | 2.5047 | 0.5601 | 4.0277 | 6.3723 | 1.00 | 8.00 |
| csf9 | 20 | 2.1000 | 1.7137 | 0.3832 | 1.2980 | 2.9020 | 1.00 | 7.00 |
| Total | 180 | 4.6667 | 2.1970 | 0.1638 | 4.3435 | 4.9898 | 1.00 | 9.00 |

**Color Duncan[a]**

| sufu | N | Subset for alpha = .05 | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| csf9 | 20 | 2.10 | | | |
| csf4 | 20 | | 3.60 | | |
| csf5 | 20 | | 3.95 | | |
| csf6 | 20 | | 4.25 | 4.25 | |
| csf1 | 20 | | 4.50 | 4.50 | |
| csf8 | 20 | | | 5.20 | 5.20 |
| csf3 | 20 | | | | 6.10 |
| csf7 | 20 | | | | 6.10 |
| csf2 | 20 | | | | 6.20 |
| Sig. | | 1 | 0.1553 | 0.1190 | 0.1133 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

**Descriptives**

**Aroma**

| ชนิดเต้าหู้ยี้ | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| csf1 | 20 | 5.4000 | 1.9574 | 0.4376 | 4.4838 | 6.3161 | 3.00 | 9.00 |
| csf2 | 20 | 5.8500 | 1.3869 | 0.3101 | 5.2008 | 6.4991 | 3.00 | 8.00 |
| csf3 | 20 | 5.7000 | 1.3803 | 0.3086 | 5.0539 | 6.3460 | 3.00 | 8.00 |
| csf4 | 20 | 4.3000 | 1.8381 | 0.4110 | 3.4396 | 5.1603 | 1.00 | 8.00 |
| csf5 | 20 | 5.2500 | 1.8027 | 0.4031 | 4.4062 | 6.0937 | 2.00 | 8.00 |
| csf6 | 20 | 5.3000 | 1.7800 | 0.3980 | 4.4669 | 6.1330 | 2.00 | 8.00 |
| csf7 | 20 | 5.5000 | 1.7320 | 0.3872 | 4.6893 | 6.3106 | 3.00 | 8.00 |
| csf8 | 20 | 2.7500 | 1.9701 | 0.4405 | 1.8279 | 3.6720 | 1.00 | 8.00 |
| csf9 | 20 | 2.6500 | 1.5652 | 0.3500 | 1.9174 | 3.3825 | 1.00 | 6.00 |
| Total | 180 | 4.7444 | 2.0527 | 0.1530 | 4.4425 | 5.0463 | 1.00 | 9.00 |

**Aroma Duncan[a]**

| sufu | N | Subset for alpha = .05 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 |
| csf9 | 20 | 2.65 | | |
| csf8 | 20 | 2.75 | | |
| csf4 | 20 | | 4.30 | |
| csf5 | 20 | | 5.25 | 5.25 |
| csf6 | 20 | | 5.30 | 5.30 |
| csf1 | 20 | | 5.40 | 5.40 |
| csf7 | 20 | | | 5.50 |
| csf3 | 20 | | | 5.70 |
| csf2 | 20 | | | 5.85 |
| Sig. | | 0.8548 | 0.0663 | 0.3466 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

**Descriptives**

**Flavor**

| ชนิดเต้าหู้ยี้ | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| csf1 | 20 | 5.5000 | 1.7622 | 0.3940 | 4.6753 | 6.3247 | 3.00 | 8.00 |
| csf2 | 20 | 6.0500 | 1.6694 | 0.3733 | 5.2687 | 6.8313 | 3.00 | 9.00 |
| csf3 | 20 | 5.6500 | 1.6944 | 0.3789 | 4.8570 | 6.4430 | 3.00 | 9.00 |
| csf4 | 20 | 4.9000 | 1.6827 | 0.3763 | 4.1125 | 5.6875 | 1.00 | 8.00 |
| csf5 | 20 | 5.9500 | 1.8489 | 0.4134 | 5.0847 | 6.8153 | 2.00 | 9.00 |
| csf6 | 20 | 5.1000 | 2.1981 | 0.4915 | 4.0713 | 6.1287 | 1.00 | 9.00 |
| csf7 | 20 | 4.8000 | 1.8806 | 0.4205 | 3.9198 | 5.6802 | 1.00 | 8.00 |
| csf8 | 20 | 3.0500 | 1.7313 | 0.3871 | 2.2397 | 3.8603 | 1.00 | 7.00 |
| csf9 | 20 | 2.5000 | 1.8778 | 0.4199 | 1.6211 | 3.3789 | 1.00 | 7.00 |
| Total | 180 | 4.8333 | 2.1390 | 0.1594 | 4.5187 | 5.1479 | 1.00 | 9.00 |

**Flavor Duncan** [a]

| sufu | N | Subset for alpha = .05 | |
|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 |
| csf9 | 20 | 2.50 | |
| csf8 | 20 | 3.05 | |
| csf7 | 20 | | 4.80 |
| csf4 | 20 | | 4.90 |
| csf6 | 20 | | 5.10 |
| csf1 | 20 | | 5.50 |
| csf3 | 20 | | 5.65 |
| csf5 | 20 | | 5.95 |
| csf2 | 20 | | 6.05 |
| Sig. | | 0.3414 | 0.0618 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

**Descriptives**

**Texture**

| ชนิดเต้าหู้ยี้ | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| csf1 | 20 | 5.3000 | 1.7800 | 0.3980 | 4.4669 | 6.1331 | 2.00 | 8.00 |
| csf2 | 20 | 5.1500 | 2.2542 | 0.5041 | 4.0950 | 6.2050 | 1.00 | 9.00 |
| csf3 | 20 | 5.3500 | 1.4609 | 0.3267 | 4.6663 | 6.0337 | 3.00 | 8.00 |
| csf4 | 20 | 4.6000 | 1.6351 | 0.3656 | 3.8347 | 5.3653 | 2.00 | 8.00 |
| csf5 | 20 | 5.0500 | 1.5720 | 0.3515 | 4.3143 | 5.7857 | 2.00 | 7.00 |
| csf6 | 20 | 4.6500 | 1.4609 | 0.3267 | 3.9663 | 5.3337 | 2.00 | 7.00 |
| csf7 | 20 | 5.9000 | 1.9167 | 0.4286 | 5.0030 | 6.7970 | 1.00 | 9.00 |
| csf8 | 20 | 3.4000 | 1.9841 | 0.4437 | 2.4714 | 4.3286 | 1.00 | 7.00 |
| csf9 | 20 | 2.8500 | 1.8144 | 0.4057 | 2.0008 | 3.6992 | 1.00 | 6.00 |
| Total | 180 | 4.6944 | 1.9721 | 0.1470 | 4.4044 | 4.9845 | 1.00 | 9.00 |

**Texture Duncan[a]**

| sufu | N | Subset for alpha = .05 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 |
| csf9 | 20 | 2.85 | | |
| csf8 | 20 | 3.40 | | |
| csf4 | 20 | | 4.60 | |
| csf6 | 20 | | 4.65 | 4.65 |
| csf5 | 20 | | 5.05 | 5.05 |
| csf2 | 20 | | 5.15 | 5.15 |
| csf1 | 20 | | 5.30 | 5.30 |
| csf3 | 20 | | 5.35 | 5.35 |
| csf7 | 20 | | | 5.90 |
| Sig. | | 0.3303 | 0.2529 | 0.0521 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

**Descriptives**

**Acceptance**

| ชนิดเต้าหู้ยี้ | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| csf1 | 20 | 5.8000 | 1.4725 | 0.3292 | 5.1108 | 6.4891 | 3.00 | 8.00 |
| csf2 | 20 | 6.0500 | 1.5035 | 0.3361 | 5.3463 | 6.7536 | 3.00 | 9.00 |
| csf3 | 20 | 5.8500 | 1.3869 | 0.3101 | 5.2008 | 6.4991 | 4.00 | 9.00 |
| csf4 | 20 | 4.3000 | 1.4903 | 0.3332 | 3.6025 | 4.9974 | 2.00 | 7.00 |
| csf5 | 20 | 5.6000 | 2.0365 | 0.4553 | 4.6468 | 6.5531 | 1.00 | 9.00 |
| csf6 | 20 | 5.1000 | 1.7740 | 0.3966 | 4.2697 | 5.9302 | 2.00 | 8.00 |
| csf7 | 20 | 5.1000 | 1.6511 | 0.3692 | 4.3272 | 5.8727 | 1.00 | 7.00 |
| csf8 | 20 | 3.4000 | 2.3485 | 0.5251 | 2.3008 | 4.4991 | 1.00 | 9.00 |
| csf9 | 20 | 2.5500 | 1.9049 | 0.4259 | 1.6584 | 3.4415 | 1.00 | 7.00 |
| Total | 180 | 4.8611 | 2.0626 | 0.1537 | 4.5577 | 5.1644 | 1.00 | 9.00 |

**Acceptance Duncan[a]**

| sufu | N | Subset for alpha = .05 | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| csf9 | 20 | 2.55 | | | |
| csf8 | 20 | 3.40 | 3.40 | | |
| csf4 | 20 | | 4.30 | 4.30 | |
| csf6 | 20 | | | 5.10 | 5.10 |
| csf7 | 20 | | | 5.10 | 5.10 |
| csf5 | 20 | | | | 5.60 |
| csf1 | 20 | | | | 5.80 |
| csf3 | 20 | | | | 5.85 |
| csf2 | 20 | | | | 6.05 |
| Sig. | | .128 | .107 | .177 | .139 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

**Descriptives**

**Decision of consumer**

| ชนิดเต้าหู้ยี้ | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| csf1 | 20 | 2.7500 | 1.0699 | 0.2392 | 2.2493 | 3.2507 | 1.00 | 4.00 |
| csf2 | 20 | 3.0500 | 1.0990 | 0.2458 | 2.5356 | 3.5644 | 0.00 | 5.00 |
| csf3 | 20 | 3.0000 | 1.1239 | 0.2513 | 2.4740 | 3.5260 | 1.00 | 5.00 |
| csf4 | 20 | 1.6000 | 1.2312 | 0.2753 | 1.0238 | 2.1762 | 0.00 | 4.00 |
| csf5 | 20 | 2.6500 | 1.5313 | 0.3424 | 1.9334 | 3.3666 | 0.00 | 5.00 |
| csf6 | 20 | 2.4000 | 1.3917 | 0.3112 | 1.7487 | 3.0513 | 0.00 | 5.00 |
| csf7 | 20 | 2.5000 | 1.2773 | 0.2856 | 1.9022 | 3.0978 | 0.00 | 4.00 |
| csf8 | 20 | 1.4000 | 1.4290 | 0.3195 | 0.7312 | 2.0688 | 0.00 | 5.00 |
| csf9 | 20 | 0.5500 | 0.8870 | 0.1983 | 0.1349 | 0.9651 | 0.00 | 3.00 |
| Total | 180 | 2.2111 | 1.4531 | 0.1083 | 1.9974 | 2.4248 | 0.00 | 5.00 |

**Decision of consumer Duncan[a]**

| sufu | N | Subset for alpha = .05 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 |
| csf9 | 20 | 0.55 | | |
| csf8 | 20 | | 1.40 | |
| csf4 | 20 | | 1.60 | |
| csf6 | 20 | | | 2.40 |
| csf7 | 20 | | | 2.50 |
| csf5 | 20 | | | 2.65 |
| csf1 | 20 | | | 2.75 |
| csf3 | 20 | | | 3.00 |
| csf2 | 20 | | | 3.05 |
| Sig. | | 1 | 0.6111 | 0.1526 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

# ภาคผนวก ค

มผช.๕๑๐/๒๕๔๗

## มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน
## เต้าหู้ยี้

**1. ขอบข่าย**

1.1 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ครอบคลุมเต้าหู้ยี้ที่บรรจุในภาชนะบรรจุ

**2. บทนิยาม**

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ มีดังต่อไปนี้

2.1 เต้าหู้ยี้ หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำก้อนเต้าหู้มาหมักด้วยเชื้อราแล้วหมักดองในน้ำปรุงรสที่ทำจากส่วนประกอบต่างๆ เช่น น้ำตาล เกลือ ผงพะโล้ ไวน์ อาจมีพริกแดง ข้าวแดง ขิง อยู่ด้วย หรือนำก้อนเต้าหู้มาหมักดองในเต้าเจี้ยว

**3 คุณลักษณะที่ต้องการ**

3.1 ลักษณะทั่วไป

ต้องเป็นก้อน ไม่เละ ส่วนที่เป็นของเหลวต้องไม่แยกชั้น ส่วนประกอบต่างๆ ต้องกระจายตัวค่อนข้างสม่ำเสมอ

3.2 สี

ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้

3.3 กลิ่นรส

ต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้

3.4 ลักษณะเนื้อสัมผัส

ต้องเนียนละเอียดเมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามข้อ 8.1 แล้ว ต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคน ไม่น้อยกว่า ๓ คะแนน และไม่มีลักษณะใดได้1 คะแนน จากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

3.5 สิ่งแปลกปลอม

ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ดิน ทราย กรวด หรือชิ้นส่วนสิ่งปฏิกูลจากสัตว์

3.6 วัตถุเจือปนอาหาร

3.6.1 ห้ามใช้สีสังเคราะห์ทุกชนิด

3.6.2 หากมีการใช้วัตถุกันเสีย ให้ใช้ได้ตามชนิดและปริมาณที่กฎหมายกำหนด

3.7 ความเป็นกรด-ด่าง ต้องอยู่ระหว่าง 4.0 ถึง 6.0

3.8 เกลือ (คำนวณเป็นโซเดียมคลอไรด์)
ต้องอยู่ระหว่างร้อยละ 12 ถึงร้อยละ 20โดยน้ำหนัก

3.9 จุลินทรีย์

3.9.1 โคลิฟอร์ม โดยวิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม

3.9.2 ยีสต์และรา ต้องไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

**4. สุขลักษณะ**

4.1 สุขลักษณะในการทำเต้าหู้ยี้ ให้เป็นไปตามคำแนะนำตามภาคผนวก ก.

**5. การบรรจุ**

5.1 ให้บรรจุเต้าหู้ยี้ในภาชนะบรรจุที่สะอาด แห้ง ปิดได้สนิท และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกภายนอกได้

5.2 น้ำหนักสุทธิของเต้าหู้ยี้ในแต่ละภาชนะบรรจุ ต้องไม่น้อ ยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก

**6. เครื่องหมายและฉลาก**

6.1 ที่ภาชนะบรรจุเต้าหู้ยี้ทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมีเลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดต่อไปนี้ให้เห็นได้ง่าย ชัดเจน

(1) ชื่อเรียกผลิตภัณฑ์ เช่น เต้าหู้ยี้ เต้าหู้ยี้แดง

(2) ส่วนประกอบที่สำคัญ

(3) ชนิดและปริมาณวัตถุเจือปนอาหาร (ถ้ามี)

(4) น้ำหนักสุทธิ

(5) วัน เดือน ปีที่ทำ และวัน เดือน ปีที่หมดอายุ หรือข้อความว่า“ควรบริโภคก่อน (วัน เดือน ปี)”

(6) ข้อแนะนำในการเก็บรักษา เช่น ควรเก็บไว้ในตู้เย็น

(7) ชื่อผู้ทำ หรือสถานที่ทำ พร้อมสถานที่ตั้ง หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

**7. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน**

7.1 รุ่น ในที่นี้ หมายถึง เต้าหู้ยี้ที่มีส่วนประกอบเดียวกัน ทำในระยะเวลาเดียวกัน

7.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้

7.2.1 การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบสิ่งแปลกปลอม การบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 3 หน่วย

ภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่าง ต้องเป็นไปตามข้อ 3.5 ข้อ 5 และข้อ 6 จึงจะถือว่าเต้าหู้ยี้รุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

7.2.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบลักษณะทั่วไป สี กลิ่น รส และลักษณะเนื้อสัมผัส ให้ใช้ตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบตามข้อ 7.2.1 แล้ว จำนวน 3 หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตาม ข้อ 3.1 ถึงข้อ 3.4 จึงจะถือว่าเต้าหู้ยี้รุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

7.2.3 การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบวัตถุเจือปนอาหาร ความเป็นกรด-ด่าง และเกลือ ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 3 หน่วยภาชนะบรรจุ เพื่อ
ทำเป็นตัวอย่างรวม โดยมีน้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า 200 กรัม กรณีที่ตัวอย่างไม่พอให้ชักตัวอย่างเพิ่มโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันให้ได้ตัวอย่างที่มีน้ำหนักรวมตามที่กำหนด เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 3.6 ถึงข้อ 3.8 จึงจะถือว่าเต้าหู้ยี้รุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

7.2.4 การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบจุลินทรีย์ ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 3 หน่วยภาชนะบรรจุ เพื่อทำเป็นตัวอย่างรวม โดยมีน้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า 200 กรัม กรณีที่ตัวอย่างไม่พอให้ชักตัวอย่างเพิ่มโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันให้ได้ตัวอย่างที่มีน้ำหนักรวมตามที่กำหนด เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 3.9 จึงจะถือว่าเต้าหู้ยี้รุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

7.3 เกณฑ์ตัดสิน ตัวอย่างเต้าหู้ยี้ต้องเป็นไปตามข้อ 7.2.1ข้อ 7.2.2 ข้อ 7.2.3 และข้อ7.2.4 ทุกข้อ จึงจะถือว่าเต้าหู้ยี้รุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้

**8. การทดสอบ**

8.1 การทดสอบลักษณะทั่วไป สี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัส

8.1.1 ให้แต่งตั้งคณะผู้ตรวจสอบ ประกอบด้วยผู้ที่มีความชำนาญในการตรวจสอบเต้าหู้ยี้อย่างน้อย 5 คนแต่ละคนจะแยกกันตรวจและให้คะแนนโดยอิสระ

8.1.2 เทตัวอย่างเต้าหู้ยี้ลงใ นจานกระเบื้องสีขาว ตรวจสอบโดยการตรวจพินิจและชิม

8.1.3 หลักเกณฑ์การให้คะแนน ให้เป็นไปตามตารางที่ 1

**ตารางที่ 1 หลักเกณฑ์การให้คะแนน**

(ข้อ 9.1.3)

ระดับการตัดสิน (คะแนน) ดีมาก ดี พอใช้ ต้องปรับปรุง (4, 3, 2 และ 1)

- ลักษณะที่ตรวจสอบ เกณฑ์ที่กำหนด
- ลักษณะทั่วไป ต้องเป็นก้อน ไม่เละ ส่วนที่เป็นของเหลว ต้องไม่แยกชั้น ส่วนประกอบต่างๆ ต้องกระจายตัวค่อนข้างสม่ำเสมอ สี ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบ ที่ใช้ (4, 3, 2 และ 1)
- กลิ่นรส ต้องมีกลิ่นรส ที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้ (4, 3, 2 และ 1)
- ลักษณะเนื้อสัมผัส ต้องเนียน ละเอียด (4, 3, 2 และ 1)

8.2 การทดสอบสิ่งแปลกปลอม ภาชนะบรรจุ และเครื่องหมายและฉลากให้ตรวจพินิจ

8.3 การทดสอบวัตถุเจือปนอาหาร ความเป็นกรด -ด่าง และเกลือ ให้ใช้วิธีทดสอบตาม AOAC หรือวิธีทดสอบอื่นที่เป็นที่ยอมรับ

8.4 การทดสอบจุลินทรีย์ให้ใช้วิธีทดสอบตาม AOAC หรือ BAM หรือวิธีทดสอบอื่นที่เป็นที่ยอมรับ

8.5 การทดสอบน้ำหนักสุทธิให้ใช้เครื่องชั่งที่เหมาะสม

**ภาคผนวก ก.**

**สุขลักษณะ**

(ข้อ 4.1)

ก.1 สถานที่ตั้งและอาคารที่ทำ

ก.1.1 สถานที่ตั้งตัวอาคารและที่ใกล้เคียง อยู่ในที่ที่จะไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ทำเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย โดย

ก.1.1.1 สถานที่ตั้งตัวอาคารและบริเวณโดยรอบ สะอาด ไม่มีน้ำขังแฉะและสกปรก

ก.1.1.2 อยู่ห่างจากบริเวณหรือสถานที่ที่มีฝุ่น เขม่า ควัน มากผิดปกติ

ก.1.1.3 ไม่อยู่ใกล้เคียงกับสถานที่น่ารังเกียจ เช่น บริเวณเพาะเลี้ยงสัตว์ แหล่งเก็บหรือกำจัดขยะ

ก.1.2 อาคารที่ทำมีขนาดเหมาะสม มีการออกแบบและก่อสร้างในลักษณะที่ง่ายแก่การบำรุงรักษา การทำความสะอาด และสะดวกในการปฏิบัติงาน โดย

ก.1.2.1 พื้น ฝาผนัง และเพดานของอาคารที่ทำ ก่อสร้างด้วยวัสดุที่คงทน เรียบ ทำความสะอาด และซ่อมแซมให้อยู่ในสภาพที่ดีตลอดเวลา

ก.1.2.2 แยกบริเวณที่ทำออกเป็นสัดส่วน ไม่อยู่ใกล้ห้องสุขา ไม่มีสิ่งของที่ไม่ใช้แล้วหรือไม่เกี่ยวข้องกับการทำอยู่ในบริเวณที่ทำ

ก.1.2.3 พื้นที่ปฏิบัติงานไม่แออัด มีแสงสว่างเพียงพอ และมีการระบายอากาศที่เหมาะสม

ก.2 เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ในการทำ

ก.2.1 ภาชนะหรืออุปกรณ์ในการทำที่สัมผัสกับผลิตภัณฑ์ ทำจากวัสดุมีผิวเรียบ ไม่เป็นสนิม ล้างทำความสะอาดได้ง่าย

ก.2.2 เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่ใช้ สะอาด เหมาะสมกับการใช้งาน ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนติดตั้งได้ง่าย มีปริมาณเพียงพอ รวมทั้งสามารถทำความสะอาดได้ง่ายและทั่วถึง

ก.3 การควบคุมกระบวนการทำ

ก.3.1 วัตถุดิบและส่วนผสมในการทำ สะอาด มีคุณภาพดี มีการล้างหรือทำความสะอาดก่อนนำไปใช้

ก.3.2 การทำ การเก็บรักษา การขนย้าย และการขนส่ง ให้มีการป้องกันการปนเปื้อนและการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์

ก.4 การสุขาภิบาล การบำรุงรักษา และการทำความสะอาด

ก.4.1 น้ำที่ใช้ล้างทำความสะอาดเครื่องมือ เครื่องจักร อุปกรณ์ และมือของผู้ทำเป็นน้ำสะอาดและมีปริมาณเพียงพอ

ก.4.2 มีวิธีการป้องกันและกำจัดสัตว์นำเชื้อ แมลงและฝุ่นผง ไม่ให้เข้าในบริเวณที่ทำตามความเหมาะสม

ก.4.3 มีการกำจัดขยะ สิ่งสกปรก และน้ำทิ้ง อย่างเหมาะสม เพื่อไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนกลับลงสู่ผลิตภัณฑ์

ก.4.4 สารเคมีที่ใช้ล้างทำความสะอาด และใช้กำจัดสัตว์นำเชื้อและแมลง ใช้ในปริมาณที่เหมาะสม และเก็บแยกจากบริเวณที่ทำ เพื่อไม่ให้ปนเปื้อนลงสู่ผลิตภัณฑ์ได้

ก.5 บุคลากรและสุขลักษณะของผู้ทำ ผู้ทำทุกคน ต้องรักษาความสะอาดส่วนบุคคลให้ดี เช่น สวมเสื้อผ้าที่สะอาด มีผ้าคลุมผมเพื่อป้องกันไม่ให้เส้นผมหล่นลงในผลิตภัณฑ์ ไม่ไว้เล็บยาว ล้างมือให้สะอาดทุกครั้งก่อนปฏิบัติงาน หลังการใช้ห้องสุขาและเมื่อมือสกปรก

# ประวัติผู้เขียน

**ชื่อ สกุล** นางสาวนันทิยา พาหุมันโต

**รหัสประจำตัวนักศึกษา** 5010220063

**วุฒิการศึกษา**

| วุฒิ | ชื่อสถาบัน | ปีที่สำเร็จการศึกษา |
|---|---|---|
| วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยา) | มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ | 2549 |

**ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)**

รับทุนผู้ช่วยสอนภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน**

Pahumunto, N., Bovornreungroj, P., Sukkoom, A. and Suntinanalert, P. 2009. Nutrition and flavor of natural fermented soybean curd (Sufu). Proceeding of the 4th Graduate Research Conference. Burapa University, March 13, 2009.