การเกิดสีดำคล้ำในซีอิ๊วที่ได้จากถั่วเหลืองและถั่วมะแฮะ

Browning in Soy Sauce Fermentem from Soybean and Pigeon Peas

วันดี ขามประโคน[1]
พรพิมล ม่วงไทย[2]

[1, 2] **ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ**

บทคัดย่อ

ซีอิ๊ว เป็นผลิตภัณฑ์ของเหลวที่ผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ได้จากการย่อยโปรตีนในถั่วเหลืองด้วยกระบวนการหมัก อย่างไรก็ตามซีอิ๊วจะมีสีดำคล้ำเมื่อเก็บเป็นระยะเวลานานๆ เนื่องจากเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ (5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde, HMF) จึงใช้ HMF เป็นดัชนีในการประเมินการเกิดสีดำคล้ำ (browning) ในซีอิ๊ว งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการวิเคราะห์ปริมาณ HMF ในซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วเหลืองและถั่วมะแฮะ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มถั่วเหลืองล้วน กลุ่มถั่วมะแฮะล้วน และกลุ่มถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองในอัตราส่วน 60:40 แต่ละกลุ่มหมักในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน 6 สูตร คือ ร้อยละ 20 18 16 14 12 และ 10 รวมทั้งสิ้น 18 สูตร หมักเป็นระยะเวลา 3 เดือน หลังจากนั้นนำซีอิ๊วผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ เก็บรักษาที่ 2 สภาวะ คือที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็นเป็นระยะเวลา 6 เดือน แล้ววิเคราะห์ปริมาณ HMF ที่เวลา 0 1 2 3 4 5 และ 6 เดือนของการเก็บรักษา โดยใช้เทคนิคโครมาโทรกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ผลการศึกษาพบว่าที่ระยะเวลาเริ่มต้นไม่พบปริมาณ HMF แต่จะพบได้มากขึ้นเมื่อระยะเวลาผ่านไป ซีอิ๊วที่ได้จากกระบวนการหมักจากถั่วมะแฮะล้วน มีปริมาณ HMF มากที่สุดประมาณ 40.00 ไมโครโมลาร์ ความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ใช้ในกระบวน การหมักมีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลในซีอิ๊ว คือ ความเข้มข้นของน้ำเกลือสูงจะพบปริมาณ HMF สูงกว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำเกลือต่ำ และสภาวะของการเก็บรักษาซีอิ๊วที่อุณหภูมิห้องจะพบปริมาณของสารประกอบ HMF สูงกว่าซีอิ๊วที่เก็บในตู้เย็น

คำสำคัญ : 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ การเกิดสีดำคล้ำ ซีอิ๊ว ถั่วมะแฮะ ถั่วเหลือง

Abstract

Soy sauce is the pasteurized liquid products from digestion of soy protein in fermentation process. However, the soy sauce becomes dark brown during a long storage due to the presence of 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde (HMF) developed. The amount of HMF is normally used as an indication of browning in soy sauce. In this study, the amount of HMF was analyzed in 3 types of soy sauces : 100% soybeans, 100% pigeon peas and a mixture of pigeon peas and soybeans (60:40). All 3 types of peas were fermented in a period of 3 months in 6 formulas different in salt content, 20%, 18%, 16%, 14%, 12% and 10% which gave 18 formulas altogether. After pasteurization, the soy

sauces of various formulas were stored in two conditions, at room temperature and in refrigerators for 6 months. After 0 1 2 3 4 5 and 6 months of storage, the amount of HMF was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). The result revealed the absence of HMF in the sauce at the beginning, but tended to increase after a long storage. The soy sauce from 100% pigeon peas contained highest amount of HMF at 40.00 μM. The concentration of salt in soy sauce fermentation exhibited the role in browning during storage which high salt contents gave higher amount of HMF than the lower ones. And the condition of storage played the effect on the amount of HMF higher upon storing at room temperature than in refrigerators.

Keyword: 5-hydroxymethy-2-furfuraldehyde, Browning colour, Soy sauce, Pigeon Pea, Soy bean

บทนำ

5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ (5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde, HMF) เป็นผลิตภัณฑ์ตัวหนึ่งที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) เมลลาร์ดเป็นปฏิกิริยาหนึ่งที่ทำให้การเกิดสีน้ำตาลในอาหาร ถือเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญที่สุดในการเกิดสีน้ำตาล และกลิ่น (aroma) เพราะอาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกลิ่น รส และลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหาร (รัชนี ตัณฑะพานิชกุล, 2547) อาหารทุกชนิดที่ผ่านกระบวนการทำให้สุกด้วยความร้อนและอาหารหมักทุกชนิดจะเกิดปฏิกิริยาเคมีดังกล่าว กลไกของปฏิกิริยาเกิดจากกรดอะมิโนทำปฏิกิริยากับน้ำตาลรีดิวซ์ ได้สารประกอบที่เรียกว่าผลิตภัณฑ์อะมาโดริ (Amadori product) (Hodge JE. 1953) สารประกอบดังกล่าวจะเกิดปฏิกิริยาอีนอลไลเซชัน (enolization) เป็นไดคีโตนเอมีนและเกิดปฏิกิริยาไฮเดรชันต่อได้เป็นอนุพันธ์ของฟูแรน ถ้าน้ำตาลรีดิวซ์เป็นน้ำตาลเฮกโซส อนุพันธ์ ฟูแรนคือ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ การเกิดสีของซีอิ๊วเกิดจากกระบวนการหมัก และการฆ่าเชื้อซีอิ๊วด้วยวิธีการพาสเจอร์ไรซ์ ระหว่างกระบวนการหมักซีอิ๊วจะเกิดสีน้ำตาลขึ้นจากปฏิกิริยา นอน-ออกซิเดทีฟ (non-oxidative browning) และการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ (non-enzymatic browning) เป็นหลัก (Yokotuka, T. 1986) สีของซีอิ๊วจะเข้มขึ้นอีกครั้งภายหลังการบรรจุในภาชนะ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นภายหลังนี้จะทำให้คุณภาพของซีอิ๊วด้อยลง ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาการหาปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ของซีอิ๊ว 3 กลุ่ม คือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วน และถั่วมะแฮะผสมกับถั่วเหลืองในอัตราส่วน 60:40 แต่ละกลุ่มหมักในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน 6 สูตร เก็บรักษาในสภาวะที่แตกต่างกันในระยะเวลาที่แตกต่างกัน จากงานวิจัยดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนากระบวนการผลิตซีอิ๊ว และวิธีการเก็บรักษาเพื่อให้ได้ซีอิ๊วที่ดีมีคุณภาพ ชวนให้บริโภคต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์เพื่อเป็นดัชนีบอกการเกิดสารสีน้ำตาลในกระบวนการผลิตซีอิ๊วที่ระยะเวลาต่างๆ และสภาวะการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยมีดังนี้

1. วัตถุดิบในการหมักซีอิ๊ว ได้แก่ ถั่วมะแฮะ ถั่วเหลือง แป้งสาลี และเกลือ

2. อุปกรณ์ในการหมักซีอิ๊ว ได้แก่ ไหดินเคลือบ กระด้ง และผ้าขาวบาง

3. เชื้อราในการหมักซีอิ๊วคือเชื้อรา *Aspergillus oryzae*

4. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์และน้ำตาลกลูโคส ได้แก่ สารละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์, โพแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ไตรไฮเดรต, ซิงค์แอซิเตตไดไฮเดรต, แอซิโตไนไตรล์ และสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

5. เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์และน้ำตาลกลูโคส คือ เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงหรือเครื่อง HPLC ยี่ห้อ Hewlett Packard Agilent 1100 series คอลัมน์ : Reverse phase C-18 Detector คือ DAD ที่ความยาวคลื่น 280 nm และ และ เครื่อง HPLC ยี่ ห้อ Waters รุ่น Waters 2690) คอลัมน์ : Sugar-Pak. (Waters, MA, USA) 30x 65 mm และ Waters 410 Differential Refractometer Detector (Millipore Corp., Milford, MA, USA) ตามลำดับ

วิธีดำเนินการวิจัยมีดังนี้

ตอนที่ 1 การเตรียมซีอิ๊ว

1. นำถั่วมะแฮะและถั่วเหลืองมาคัดแล้วแช่น้ำประมาณ 15 ชั่วโมง นำมานึ่งจนสุก จากนั้นนำมาคลุกด้วยแป้งสาลีในอัตราส่วนถั่ว 3 ส่วน แป้งสาลี 1 ส่วน

2. นำส่วนผสมดังกล่าวไปกระจายในกระด้ง แล้วคลุกด้วยเชื้อรา *Aspergillus oryzae* ที่บริสุทธิ์ พรมด้วยน้ำที่สะอาดเพื่อให้เกิดความชื้นที่เหมาะสม แล้วคลุมด้วยผ้าขาวบาง นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน ซึ่งจะมีสปอร์สีเหลืองแกมเขียวคลุมเมล็ดถั่วเรียกว่า โคจิ

3. นำไปหมักต่อในน้ำเกลือในไหดินเคลือบ เติมน้ำเกลือตามสูตรต่างๆ ดังนี้ ใช้ถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบ ร้อยละ 100 ที่มีความเข้มข้นน้ำเกลือร้อยละ 20 (สูตร 1), 18 (สูตร 2), 16 (สูตร 3), 14 (สูตร4), 12 (สูตร 5) และ 10 (สูตร 6) ใช้ถั่วมะแฮะเป็นวัตถุดิบร้อยละ 100 ที่มีความเข้มข้นน้ำเกลือร้อยละ 20 (สูตร 7), 18 (สูตร 8), 16 (สูตร 9), 14 (สูตร 10), 12 (สูตร 11) และ 10 (สูตร 12) และใช้ถั่วมะแฮะและถั่วเหลืองในอัตราส่วน 60:40 ที่มีความเข้มข้นน้ำเกลือ ร้อยละ 20 (สูตร 13), 18 (สูตร 14), 16 (สูตร 15), 14 (สูตร 16), 12 (สูตร 17) และ 10 (สูตร 18) หมักครบ 3 เดือน

4. นำมากรองและผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ได้ซีอิ๊ว เก็บรักษาตัวอย่างที่สองสภาวะ คืออุณหภูมิห้องและในตู้เย็น เก็บตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์ที่ระยะเวลา 0 เดือน เก็บก่อนและหลังจากการพาสเจอร์ไรซ์ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือนตามลำดับ

ตอนที่ 2 การวิเคราะห์ตัวอย่างการวิเคราะห์ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์

1. เตรียม Reagent เพื่อให้ซีอิ๊วตัวอย่างใส (Clarify) ได้ดังต่อไปนี้ Carrez soln I คือ $K_4Fe(CN)_6.3H_2O$ 15 กรัม / 100 cm^3 และ Carrez soln II คือ $Zn(OAc)_2.2H_2O$ 10 กรัม / 100 cm^3

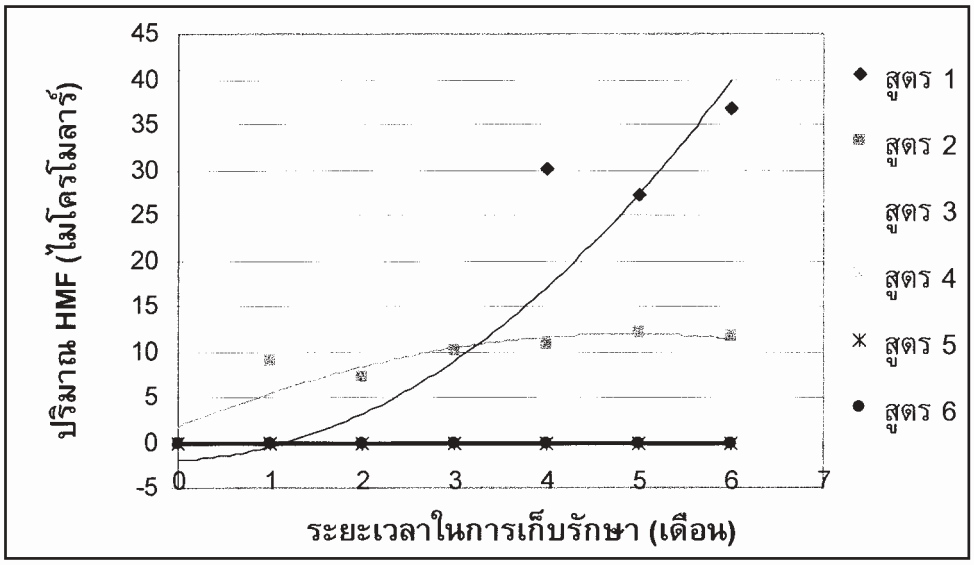
2. ทำการ Clarify ตัวอย่าง ได้ดังต่อไปนี้ คือ ซีอิ๊ว ทำปฏิกิริยากับ Carrez soln I และ Carrez soln II ได้ตะกอนขาวเกิดขึ้น กรองด้วยกระดาษกรอง จะได้สารละลายตัวอย่าง และ เก็บใส่ขวดสีชา นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

3. เตรียมสารละลายมาตรฐาน HMF ที่ความเข้มข้น 0.2 0.5 1 2 4 และ 8 มิลลิกรัม/ลิตร มากรองด้วยแผ่นกรอง (microfilter) ที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ปริมาตร 100 ไมโครลิตร สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ อัตราการไหล 1 mL/min และใช้เฟสเคลื่อนที่เป็น H_2O: Acetonitrile (95:5) บันทึกพื้นที่ของพีค

4. นำพื้นที่ของพีคของสารละลายมาตรฐานที่ได้ไปเขียนกราฟมาตรฐาน แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ของพีคกับความเข้มข้นต่างๆ นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้มากรองด้วยแผ่นกรองที่มีขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC จำนวน 100 ไมโครลิตร จากข้อมูลของตัวอย่างนำไปวิเคราะห์โดยเทียบจากกราฟของสารละลายมาตรฐาน

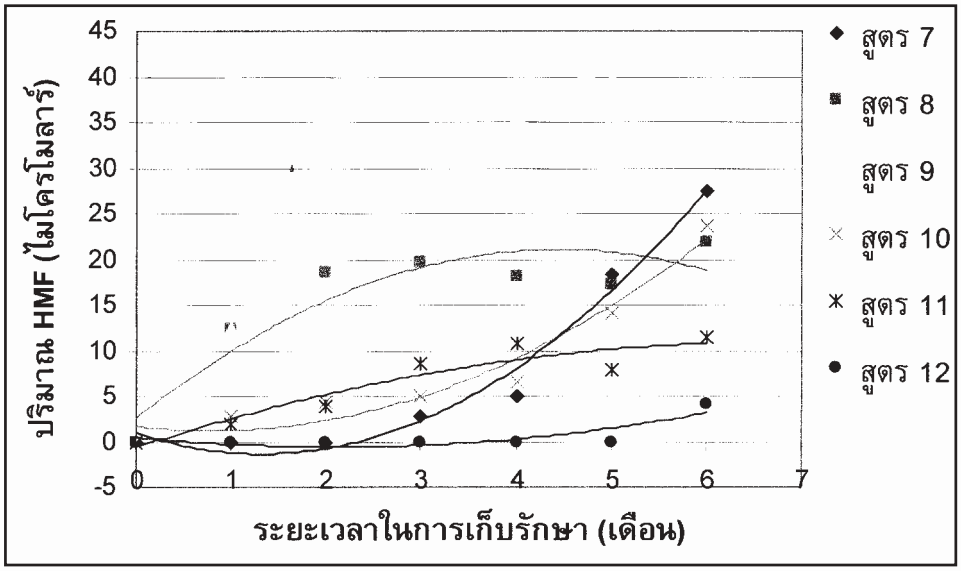
ผลการวิจัย

การวิเคราะห์ปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในตัวอย่างซีอิ๊วในสภาวะการเก็บรักษา ที่แตกต่างกัน และเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ โดยนำซีอิ๊วที่ได้จากกระบวนหมักซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วเหลืองล้วน ถั่วมะแฮะล้วน และถั่วมะแฮะผสมกับถั่วเหลือง มาผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์แล้ว ศึกษาที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่างๆ คือ 0, 1 , 2, 3, 4 , 5 และ 6 เดือน ที่สองสภาวะคืออุณหภูมิห้อง และในตู้เย็น ผลการทดลองแสดงในรูปภาพที่ 1 – รูปภาพที่ 6



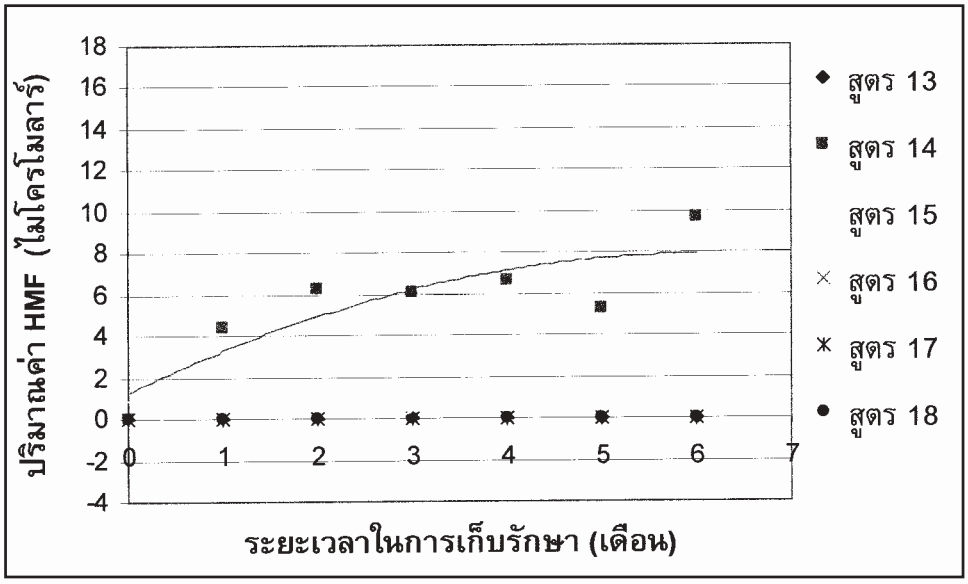
รูปภาพที่ 1 แสดงการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน

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



รูปภาพที่ 2 แสดงการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน

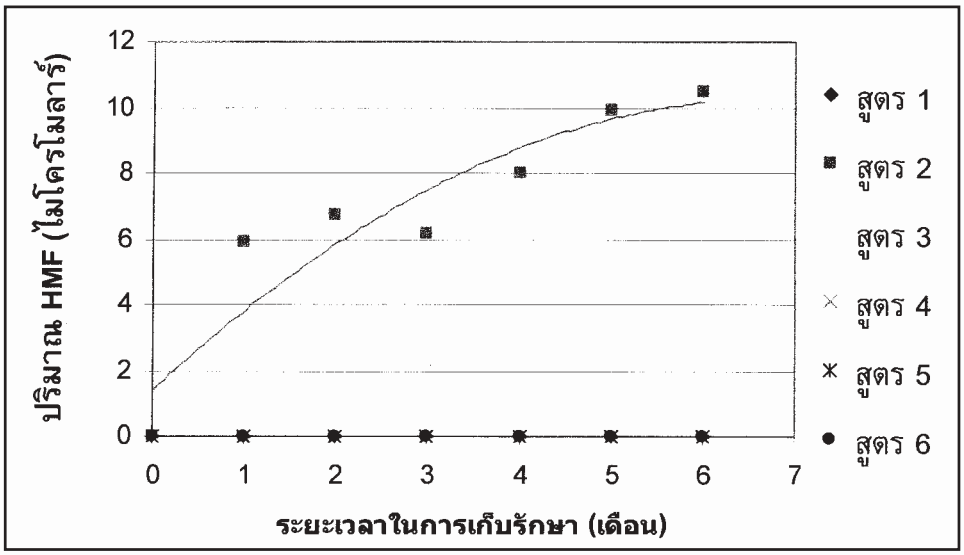
สูตร 7 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 20
สูตร 8 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 18
สูตร 9 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 16
สูตร 10 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 14
สูตร 11 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 12
สูตร 12 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 10



รูปภาพที่ 3 แสดงการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะและถั่วเหลืองในอัตราส่วน 60:40 ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน

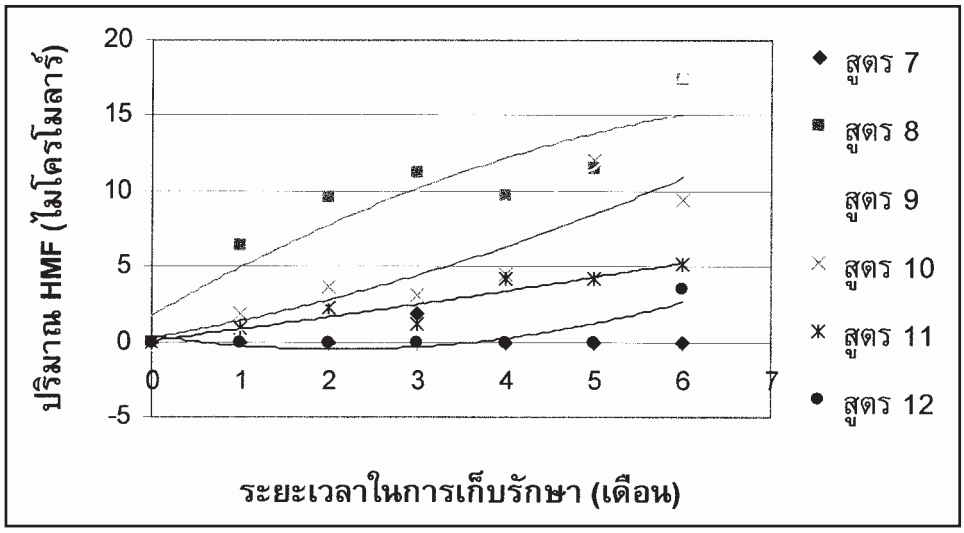
สูตร 13 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 20
สูตร 14 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 18
สูตร 15 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 16
สูตร 16 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 14
สูตร 17 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 12
สูตร 18 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 10

จากการศึกษาปริมาณของสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมลทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ จากน้ำซีอิ๊ว 18 สูตร หลังจากผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ ที่เก็บรักษาไว้ที่สภาวะอุณหภูมิห้องผลการศึกษาแสดงดังรูปที่ 1 - รูปที่ 3 พบว่าซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร เริ่มแรกตรวจ ไม่พบปริมาณสารประกอบ HMF และเริ่มตรวจพบในช่วงเดือนที่ 1 – เดือนที่ 6 โดยปริมาณสารประกอบ HMF มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลานานขึ้น จากการศึกษาพบว่าซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วมะแฮะล้วน คือสูตร 7 – 12 จะตรวจพบปริมาณของสารประกอบ HMF อยู่ในช่วง 0.000 – 40.000 ไมโครโมลาร์ ซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วเหลืองล้วน คือสูตร 1 – 6 ตรวจพบปริมาณสารประกอบ HMF อยู่ในช่วง 0.000 – 36.673 ไมโครโมลาร์ และซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองในอัตราส่วน 60 : 40 คือสูตร 13 – 18 ตรวจพบปริมาณสารประกอบ HMF อยู่ในช่วง 0.000 – 27.456 ไมโครโมลาร์



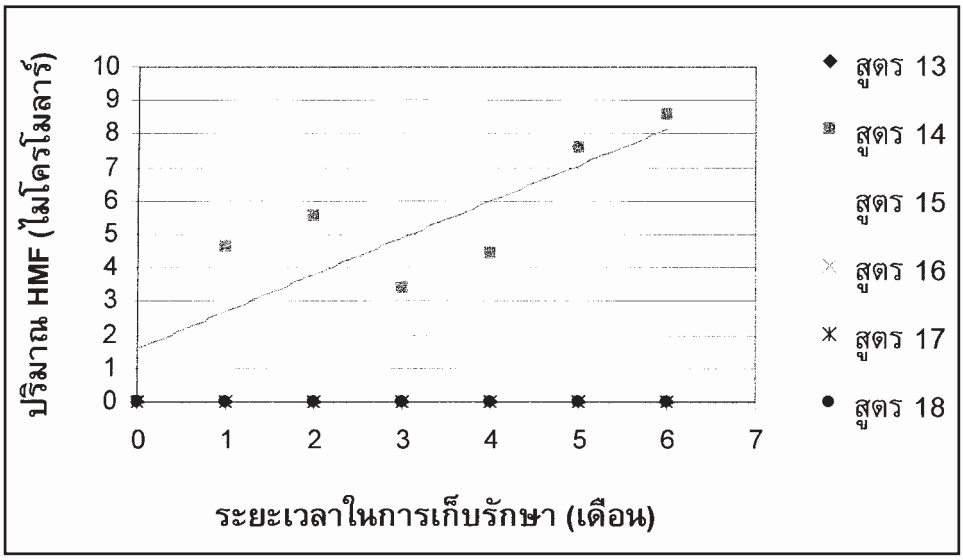
รูปภาพที่ 4 แสดงการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว ที่เตรียมจากถั่วเหลืองล้วน ที่เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน

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



รูปภาพที่ 5 แสดงการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ ในซีอิ๊ว ที่เตรียมจากถั่วมะแฮะล้วน ที่เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 6 เดือน

สูตร 7 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 20
สูตร 8 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 18
สูตร 9 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 16
สูตร 10 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 14
สูตร 11 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 12
สูตร 12 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 10



รูปภาพที่ 6 แสดงการเกิดสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในซีอิ๊วที่เตรียมจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองในอัตราส่วน 60:40 ที่เก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลา 6 เดือน

สูตร 13 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 20
สูตร 14 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 18
สูตร 15 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 16
สูตร 16 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 14
สูตร 17 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 12
สูตร 18 ความเข้มข้นของน้ำเกลือร้อยละ 10

และการศึกษาที่เก็บรักษาไว้ในตู้เย็น ผลการศึกษาแสดงในรูปที่ 4- รูปที่ 6 พบว่าซีอิ๊วทั้ง 18 สูตร เริ่มแรกตรวจไม่พบปริมาณสารประกอบ HMF และเริ่มตรวจพบในช่วงเดือนที่ 1 – เดือนที่ 6 โดยปริมาณสารประกอบ HMF มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลานานขึ้นผลการศึกษาพบว่าซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วมะแฮะล้วน ตรวจพบปริมาณของสารประกอบ HMF อยู่ในช่วง 0.000 – 17.671 ไมโครโมลาร์ ซีอิ๊วที่ ผลิตจากถั่วเหลืองล้วน ตรวจพบปริมาณสารประกอบ HMF อยู่ในช่วง 0.000 – 10.207 ไมโครโมลาร์ และซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วมะแฮะผสมถั่วเหลืองในอัตราส่วน 60 : 40 ตรวจพบปริมาณสารประกอบ HMF อยู่ในช่วง 0.000 – 23.918 ไมโครโมลาร์

จากผลการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของน้ำเกลือมีผลต่อการเกิดสารประกอบ HMF ซีอิ๊วในสูตรที่หมักด้วยน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นสูงซึ่งอยู่ในช่วงความเข้มข้นร้อยละ 20 – 16 จะตรวจพบปริมาณสารประกอบ HMF ส่วนซีอิ๊วที่ได้จากการหมักด้วยน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นต่ำซึ่งอยู่ในช่วงความเข้มข้นร้อยละ 14 – 10 ตรวจไม่พบปริมาณสารประกอบ HMF ตลอดช่วงเวลาของการเก็บรักษาตั้งแต่เดือนที่ 1 – 6 ในบางสูตร และอัตราการเกิดสารประกอบ HMF ในซีอิ๊ว 18 สูตร ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน ที่สภาวะอุณหภูมิห้องและตู้เย็น พบว่าแนวโน้มการเกิดปริมาณสารประกอบ HMF เพิ่มมากขึ้นเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลานานขึ้นโดยในระยะเริ่มแรกจะตรวจไม่พบสารประกอบ HMF เมื่อระยะเวลาผ่านไปเดือนที่ 1 จะตรวจไม่พบหรือตรวจพบได้ในปริมาณที่น้อย เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้นก็จะตรวจพบปริมาณสารประกอบ HMF สูงขึ้นแต่ปริมาณ การเพิ่มขึ้นในอัตราที่ไม่คงที่ จนถึงเดือนที่ 6 จะตรวจพบปริมาณสารประกอบ HMF สูงสุด

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

จากผลการทดลองในงานวิจัยนี้ ทำให้ทราบว่าสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ สามารถเกิดขึ้นได้ในซีอิ๊ว ซึ่งซีอิ๊วที่ผลิตจากวัตถุดิบต่างชนิดกัน เช่นจากการศึกษาซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วมะแฮะและถั่วเหลืองจะพบว่าซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วมะแฮะล้วนมีปริมาณสารประกอบ HMF ในปริมาณที่มากกว่าซีอิ๊วที่ผลิตจากถั่วเหลืองล้วน เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน คือองค์ประกอบของถั่วมะแฮะมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบร้อยละ 60.9 (สถาบันการแพทย์ไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, 2542) ส่วนถั่วเหลืองมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบ 26.7 (กองโภชนาการ กรมอนามัย พ.ศ.2535 อ้างถึงใน สุมาลี ทองแก้ว, 2541) ในกระบวนการหมักซีอิ๊วแป้งจะถูกย่อยสลายให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเช่น น้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ เป็นสารตั้งต้นของการเกิดสารประกอบ HMF และ HMF เป็นผลิตภัณฑ์ตัวหนึ่งที่ได้จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดที่ใช้เป็นดัชนีในการบอกการเกิดสีดำคล้ำในซีอิ๊วได้ จากผลการศึกษาพบว่า ซีอิ๊วบางสูตรตรวจไม่พบปริมาณสารประกอบ HMF เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น แต่เมื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพเช่นสีของน้ำสีอิ๊วมีสีดำคล้ำเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นอาจเนื่องมาก จากปริมาณของสารประกอบ HMF ที่เกิดขึ้นมีปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถตรวจพบด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูงในสภาวะที่ผู้วิจัยทำการศึกษาอยู่ หรืออาจเนื่องจากสารประกอบ HMF เกิดการ สลายตัวในขั้นตอนหรือกระบวนการเตรียมตัวอย่างเพราะคุณสมบัติของสารประกอบ HMF เกิดการสลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกแสงสว่าง (Belitz; and Grosch. 2000) ดังนั้นในขั้นตอนหรือกระบวนการเตรียมตัวอย่างไม่ควรให้อยู่ในที่มีแสงสว่างมาก อุณหภูมิสูงและใช้เวลาในการเตรียมนานเกินไป และควรเก็บตัวอย่างที่เตรียมได้เพื่อรอทำการวิเคราะห์ในขวดสีชา

และจากผลการศึกษาการเก็บรักษาไว้ที่สภาวะแตกต่างกันคือ ณ อุณหภูมิห้องกับตู้เย็น พบว่าการเก็บรักษาที่สภาวะอุณหภูมิห้องตรวจพบปริมาณของสารประกอบ HMF ในปริมาณที่สูงกว่าเก็บรักษาไว้ในสภาวะตู้เย็น เมื่อพิจารณาจากสูตรซีอิ๊วและระยะเวลาเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิสูงจะเร่งปฏิกิริยาเมลลาร์ดให้เกิดเร็วขึ้นส่งผลต่อการเกิดสีดำคล้ำในซีอิ๊วและจะส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนาการที่ทำให้กรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิดเปลี่ยนรูปไป และสีดำคล้ำของซีอิ๊วที่เข้มมากเกินไปทำให้ผู้บริโภคไม่อยากนำมารับประทาน ดังนั้นการเก็บรักษาซีอิ๊วไว้ที่อุณหภูมิต่ำเป็นการช่วยยืดอายุของการเกิดสีดำคล้ำให้ช้าลง และยังช่วยรักษาคุณค่าทางโภชนาการของซีอิ๊วอีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

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

Hodge JE. (1953). *Dehydrated foods; chemistry of browning reaction in model systems.* J Agric Food Chem.

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