รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กล้าณรงค์ ศรีรอต. 2520. เกลือ: คุณสมบัติและการใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กำเนิด สุภัณวงษ์. 2534. จุลชีวอุตสาหกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

เกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัย. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. 2527. ถั่วเหลืองและการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: บริษัทสยามออฟเซ็ท.

ไทยเทพรสผลิตภัณฑ์อาหาร จำกัด, บริษัท. สัมภาษณ์. 25 มิถุนายน 2535.

นภา โล่ห์ทอง. 2531. ซีอิ๊ว. วิทยาศาสตร์. 42: 217-224.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2533. เอนไซม์ทางอาหาร ตอนที่ 1. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

_____. 2535. เอนไซม์ทางอาหาร ตอนที่ 1. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พล สาเกทอง. 2526. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับฟลูอิไดเซชัน. กรุงเทพมหานคร: คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2532. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. 2534. ซีอิ๊ว. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

เวคิน นพนิตย์. 2527. จุลทัศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน: การประยุกต์ทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ. กรุงเทพมหานคร: ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์. 2522. บทบาทความสำคัญของเชื้อจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมซีอิ๊วหมัก. เคมีวิศวกรรมเทคโนโลยีทางอาหารและเชื้อเพลิง. 1: 89-95.

สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ. 2528. ฟลูอิดไดเซชั่น. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศุลกากร, กรม. 2531. ข้อมูลสถิติการค้าระหว่างประเทศของไทย. กรุงเทพมหานคร: กรมศุลกากร, กระทรวงการคลัง.

อุตสาหกรรม, กระทรวง. 2513. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 8-2513: น้ำซอสปรุงรส. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.

____. 2530. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 252-2521: น้ำซีอิ๊ว. พิมพ์เพิ่มเติมครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.

ภาษาอังกฤษ

Atlas, R. M., Brown, A. E., Dobra, K. W., and Miller, L. 1984. Experimental microbiology. New York: Macmillan Publishing.

Berlin, R. W. 1989. Fast quailty control by headspace analysis. In Baltes, W. (ed.), Rapid methods for analysis of food and food raw material, 235-245. Pensylvania: Technomic Publishing Company, Inc.

Beuchat, L. R. 1984. Fermented soybean foods. Food Technol. 38 (6): 64-69.

Buchanan, R. E., and Gibbons, N. E., eds. 1975. Burgey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. Baltimore: The Williams and Wilkins Company.

Campbell, I. 1988. Standard media for cultivation of yeasts. In Campbell, I., and Duffus, J. H. (eds.), Appendix I. Yeast: A Practical approach. England: IRL Press Ltd.

Campbell, J., and Chang, T. M. S. 1975. Enzymatic recycling of coenzymes by a multienzyme system immobilized within semipermeable collodion microcapsules. Biochimica et Biophysica Acta. 397: 101-109.

_____. 1976. The recylcing of NAD^+ (free and immobilized) within semipermeable aqueous microcapsules containing a multi-enzyme system. Biochem. Biophys. Res. Commun. 69 (2): 562-569.

Chang, T. M. S. 1964. Semipermeable microcapsules. Science. 146: 524-525.

_____. 1971. Stabilisation of enzymes by microencapsulation with a concentrated protein solution or by microencapsulation followed by cross-linking with glutaraldehyde. Biochem. Biophys. Res. Commun. 44 (6): 1531-1536.

_____. 1973. L-asparaginase immoblized within semipermeable microcapsules: *in vitro* and *in vivo* stability. Enzyme. 14: 95-104.

Chang, T. M. S., MacIntosh, F. C., and Mason, S. G. 1966. Semipermeable aqueous microcapsules. Can. J. Physiol. Pharmacol. 64: 115-128.

Chang, T. M. S., and Poznansky, M. J. 1968. Semipermeable microcapsules containing catalase for enzyme replacement in acatalasaemic mice. Nature. 218: 243-245.

Cheetham, P. S. J. 1980. Developments in the immobilisation of microbial cells and their applications. In Wiseman, A., (ed.), Topics in enzymes and fermentation biotechnology. Vol. 4, 189-238. England: Ellis Horwood.

Chibata, I., and Wingard, L. B., eds. 1983. Immobilized microbial cells. New York: Academic Press, Inc.

Clark, J. M., Jr., and Switzer, R. L. 1977. Experimental biochemistry. 2nd ed. San Francisco: W. H. Freeman.

DiLiello, L. R. 1982. Methods in food and dairy microbiology. Westport Connecticut: The AVI Publishing Company, Inc

E. Merck. 1989. The Merck index. 11th ed. New Jersey: Merck & Co., Inc.

____. 1992/93. Reagents. Diagnostics Chemical. Federal Republic of Germany.

Fluka. 1990/91. Fluka/Chemika-Biochmika. Switzerland.

Goel, S. K. and Wood, B. J. B. 1978. Cellulase and exo-amylase in experimental soy sauce fermentations. J. Fd Technol. 13: 243-247.

Gomori, G. 1989. Preparation of buffers for use in enzyme studies. In Fasman, G. D. (ed.), Practical handbook of biochemistry and molecular biology, 557. Florida: CRC Press, Inc.

Hamada, T., Ishiyama, T., and Motai, H. 1989. Continuous fermentation of soy sauce by immobilized cells of *Zygosaccharomyces rouxii* in an airlift reactor. Appl. Microbiol. Biotechnol. 31: 346-350.

Hawley, G. G., ed. 1981. The condensed chemical dictionary. 10th ed. New York: Van Nostrand Reinhold, Inc.

Horitsu, H., Maseda, Y., and Kawai, K. 1990. A new process for soy sauce fermentation by immobilized yeasts. Agric. Biol. Chem. 54 (2), 295-300.

Horwitz, W., ed. 1975. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 12th ed. Wisconsin: George Banta Company.

Kreger-van Rij, N. J. W., ed. 1984. The yeasts: A taxonomic study. 3rd ed. Netherlands: Elsevier Science Publishers B.V.

Lehninger, A. L. 1975. Biochemistry. 2nd ed. New York: Worth Publishers.

Markley, K. S. 1951. Soybeans and soybean products Vol 2. New York: Interscience Publishers.

Michael, O'Mahony. 1986. Sensory evaluation of food: Statistical methods and procedures. New York: Marcel Dekker, Inc.

Mohan, R. R., and Li, N. R. 1974. Reduction and separation of nitrate and nitrite by liquid membrane-encapsulated enzymes. Biotechnol. Bioeng. 16: 513-523.

_____. 1975. Nitrate and nitrite reduction by liquid membrane-encapsulated whole cells. Biotechnol. Bioeng. 17: 1137-1156.

Mori, T., Sato, T., Matuo, Y., Tosa, T., and Chibata, I. 1972. Preparation and characteristics of microcapsules containing asparaginase. Biotechnol. Bioeng. 14: 663-673.

Mori, T., Tosa, T., and Chibata, I. 1973. Enzymatic properties of microcapsules containing asparaginase. Biochimica et Biophysica Acta 321: 653-661.

Nunomura, N., Saski, M., Asao, Y., and Yokotsuka, T. 1976. Identification in *shoyu* (soy sauce) by gas chromatogrpahy-mass spectrometry. Agr. Biol. Chem. 40 (3): 485-490.

Osaki, K., Okamoto, Y., Akao, T., Nagata, S., and Takamatsu, H. 1985. Fermentation of soy sauce with immobilized whole cells. J. Food Sci. 50: 1289-1292.

Panchal, C. J., and Stewart, G. G. 1981. Regulatory factors in alcohol fermentations. In Stewart, G. G., and Russell, I. (eds.), Advances in biotechnology Vol. IV: Current developments in yeast research, 9-15. Toronto: Pergamon Press Canada Ltd.

Pederson, C. S. 1971. Microbiology of food fermentations. Westport Connecticut: The AVI Publishing.

Shibamoto, T. 1984. Gas chromatography. In Charalambous, B. (ed.), Analysis of foods and beverages: Modern techniques, 93-115. Orlando: Academic Press, Inc.

Skoog, D. A. 1985. Principles of instrumental analylsis. 3rd ed. Florida: Saunders College Publishing.

Skoog, D. A., and West, D. M. 1982. Fundamentals of analytical chemistry. 4th ed. Japan: CBS College Publishing.

Smith, A. K., and Circle, S. J. 1978. Chemical composition of the seed. In Smith, A. K., and Circle, S. J. (eds), Soybeans: chemistry and technology, 61-92, 2nd ed. Westport Connecticut: The AVI Publishing.

Stanbury, P. F., and Whitaker, A. 1984. Principles of fermentation technology. Oxford: Pergamon Press.

Tipayang, P., and Kozaki, M. 1982. Lactic acid production by a new *Lactobacillus* sp., *Lactobacillus vaccinostercus* Kozaki and Okada sp. nov., immobilized in calcium alginate. J. Ferment Technol. 60: 595-598.

Welchar, F. J., ed. 1963. Standard methods of chemical analysis Vol 2: Industrial and natural products and noninstrumental methods Part A. 6th ed. New York: D. Van Nostrand Company, Inc.

William, S., ed. 1984. Official methods of analysis of the association of official analytical chemist. 14th ed. Virginia: The William Byrd, Inc.

Wood, B. J., Cardenas, O. S., Yong, F. M., and McNulty, D. W. 1975. Lactobacilli in production of soy sauce, sour-dough bread and Parisian barm. In Carr, J. G. (ed.), Lactic acid bacteria in beverages and food Vol. 4, 325-330. London: Academic Press.

Yokotsuka, T. 1960. Aroma and flavor of Japanese soy sauce. In Chichester, C. O., Mark, E. M., and Stewart, G. F. (eds.), Adv. Food Res (17), 75-134. New York: Academic Press, Inc.

_____. 1986. Soy sauce biochemistry. In Chichester, C. O., Mark, E. M., and Schweigert, B. S. (eds.), Adv. Food Res (30), 195-329. Florida: Academic Pres, Inc.

Yong, F. M., and Wood, B. J. B. 1976. Microbial succession in experimental soy sauce fermentation. J. Fd Technol. 11: 525-536.

_____. 1977. Biochemical changes in experimental soy sauce koji. J. Fd Technol. 12: 163-175.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

รายละเอียดเกี่ยวกับอาหารเลี้ยงเชื้อและการวิเคราะห์

ก-1 อาหารเหลว GYP (Glucose, Yeast Extract, Peptone)

สูตรของอาหารเหลว GYP ทำตามวิธีที่อธิบายโดย Tipayang และ Kozaki (1982) ซึ่งมีวิธีเตรียมดังต่อไปนี้

ละลายส่วนผสมดังต่อไปนี้ในน้ำเดือด แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

กลูโคส	10	กรัม
สารสกัดจากยีสต์	5	กรัม
เปปโตน (peptone)	10	กรัม
โซเดียมอะซิเตต (sodium acetate)	5	กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	2	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.2	กรัม
แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4.4H_2O$)	0.05	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร
pH	6.8	

ก-2 อาหารเหลว YM (Yeast Extract-Malt Extract)

สูตรของอาหารเหลว YM ทำตามวิธีที่อธิบายโดย Campbell และ Duffus (1988) ซึ่งมีวิธีเตรียมดังต่อไปนี้

ละลายส่วนผสมดังต่อไปนี้ในน้ำเดือด แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สารสกัดจากยีสต์	3	กรัม
สารสกัดจากมอลท์ (malt extract)	3	กรัม
เปปโตน	5	กรัม
กลูโคส	10	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ก-3 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติก

เนื่องจาก *L. delbrueckii* เป็นพวก homofermentative lactic acid bacteria ซึ่งผลิตกรดอินทรีย์พวกกรดแลคติกมากกว่าร้อยละ 90 (Buchanan and Gibbons, 1975) ดังนั้นจึงวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกในรูปของความเป็นกรดทั้งหมดโดยการไทเทรตกับโซเดียมไฮดรอกไซด์

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติกทำตามวิธีที่อธิบายโดย Tipayang และ Kozaki (1982) และ Sidney (1984) ดังนี้คือ

ปิเปตต์สารละลายตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสค์ขนาด 125 มิลลิลิตร (ถ้ามีสีเข้มให้เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มเดือดและเย็นลงไปให้สีจางลง) หยดอินดิเคเตอร์เมธิลีนบลู-เมธิลเรด (methylene blue-methyl red) ลงไป 2-3 หยด นำไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนถึงจุดยุติเมื่อสารละลายในฟลาสค์เปลี่ยนเป็นสีเขียว คำนวณหาร้อยละของกรดทั้งหมดในสารละลายตัวอย่างในรูปกรดแลคติก

การคำนวณ

1 มิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับกรดแลคติก 0.0090 กรัม

ก-3.1 การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติก

ก-3.1.1 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 4 กรัม ในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

ก-3.1.2 อินดิเคเตอร์เมธิลีนบลู-เมธิลเรด

ละลายเมธิลีนบลู จำนวน 0.2 กรัม ในเอธิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 100 มิลลิลิตร และละลายเมธิลเรด จำนวน 0.2 กรัม ในเอธิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 100 มิลลิลิตร จากนั้นผสมสารละลายทั้งสองรวมกันของเมธิลีนบลูต่อเมธิลเรด ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2

ที่มา: Welcher (1963)

ก-3.2 การหาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ก-3.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิโพแทสเซียมไฮโดรเจนพธาเลต

ชั่งโปแตสเซียมไฮโดรเจนพธาเลต (potassium hydrogen phthalate, $HKC_8H_4O_4$ หรือ KHP) ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้ได้น้ำหนักแน่นอนอยู่ระหว่าง 2.0-2.4 กรัม จากนั้นนำไปละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร คำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย KHP โดยมวลโมเลกุลของ KHP เท่ากับ 204.23

ก-3.2.2 การเตรียมอินดิเคเตอร์ฟีนอล์ฟธาลีน

ละลายฟีนอล์ฟธาลีน (phenolphthalein) จำนวน 0.5 กรัม ในเอธิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 80 จำนวน 100 มิลลิลิตร

ก-3.2.3 การหาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ KHP ที่เตรียมได้จากข้อ ก-3.2.1 จำนวน 25 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสค์ขนาด 250 มิลลิลิตร และหยดอินดิเคเตอร์ฟีนอล์ฟธาลีนลงไป 2-3 หยด นำไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ต้องการหาความเข้มข้นที่แท้

จริง (ข้อ ก-3.1.1) จนถึงจุดยุติเมื่อสารละลายในฟลาสค์เปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ตัวอย่างการคำนวณ

ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไทเทรตเฉลี่ยเท่ากับ 20.23 มิลลิลิตร ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ KHP เท่ากับ 25 มิลลิลิตร และความเข้มข้นของสารละลาย KHP เท่ากับ 0.103 โมลาร์ ดังนั้นความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ (25x0.103)/20.23 = 0.127 โมลาร์

ที่มา: Skoog และ West (1982)

ก-4 การวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์โดยวิธี dichromate oxidation

เนื่องจากยีสต์ *Z. rouxii* สามารถสร้างเอธิลแอลกอฮอล์จากกลูโคสโดยผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) เป็นส่วนใหญ่ และสร้างสารให้กลิ่นรสอื่น ๆ อีกจำนวนหนึ่ง (Lehninger, 1975) ดังนั้นจึงวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์

การวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์โดยวิธี dichromate oxidation ทำตามวิธีที่อธิบายโดย Horwitz (1975) ซึ่งมีหลักการสำคัญพอจะอธิบายได้ดังนี้

(1) ไดโครเมตในสภาพที่เป็นกรดจะออกซิไดส์เอธิลแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติกดังสมการต่อไปนี้

$$2Cr_2O_7^{2-} + 16H^+ + 3C_2H_5OH \longrightarrow 4Cr^{3+} + 3CH_3COOH + 11H_2O$$

(2) จากนั้นไดโครเมตที่เหลือจะถูกรีดิวซ์โดยอิออนของเหล็ก ดังสมการต่อไปนี้

$$Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6Fe^{2+} \longrightarrow 2Cr^{3+} + 6Fe^{3+} + 7H_2O$$

โดยมีขั้นตอนการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

ปิเปตต์สารละลายโปแตสเซียมไดโครเมตที่ถูกทำให้เป็นกรด (acidified $K_2Cr_2O_7$) จำนวน 25 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสค์ขนาด 50 มิลลิลิตร นำฟลาสค์ไปรองรับของที่กลั่นได้ (distillate โดยให้ปลายของเครื่องควบแน่น (condenser) จุ่มอยู่ในสารละลายโปแตสเซียมไดโครเมต ปิเปตต์ตัวอย่างที่จะวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแก้วสำหรับกลั่น (ล้างตัวอย่างที่ติดอยู่ในปิเปตต์ให้ลงไปอยู่ในหลอดแก้วด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง

จนปริมาตรของของเหลวมีประมาณ 1 ใน 2 ของปริมาตรหลอดแก้ว) เริ่มกลั่นโดยปล่อยให้ไอน้ำผ่านเข้าไปในตัวอย่าง กลั่นจนกระทั่งของเหลวในฟลาสค์ที่รองรับของที่กลั่นได้มีปริมาตรประมาณ 40 มิลลิลิตร ล้างปลายของเครื่องควบแน่นที่จุ่มอยู่ในของเหลวด้วยน้ำกลั่น ปิดฟลาสค์ด้วยจุกยางและนำไปแช่ในเครื่องอังน้ำที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นานประมาณ 20-25 นาที จากนั้นนำไปไทเทรตกับสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$) จนมีสีเขียวใส (clear green) หยดอินดิเคเตอร์ 1,10-phenanthroline ferrous sulfate ประมาณ 3 หยด และไทเทรตต่อจนถึงจุดยุติ ซึ่งจะเปลี่ยนจากสีเขียวน้ำเงิน (blue-green) เป็นสีน้ำตาล (brown)

<u>การคำนวณ</u>

แอลกอฮอล์ (ร้อยละโดยปริมาตร) = $25.00 - (25 \times V/V')$

เมื่อ V = ปริมาตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไทเทรตกับสารละลายโปแตสเซียมไดโครเมตที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ (มิลลิลิตร)

V′ = ปริมาตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไทเทรตกับ blank (มิลลิลิตร)

ก-4.1 <u>การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์</u>

ก-4.1.1 <u>สารละลายโปแตสเซียมไดโครเมต</u>

เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้นจำนวน 325 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร ที่มีน้ำกลั่นอยู่ประมาณ 400 มิลลิลิตร ผสมและทำให้เย็นจนมีอุณหภูมิประมาณ 80-90 องศาเซลเซียส เติมโปแตสเซียมไดโครเมตจำนวน 33.768 กรัม จากนั้นละลาย ทำให้เย็นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

ก-4.1.2 <u>สารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต</u>

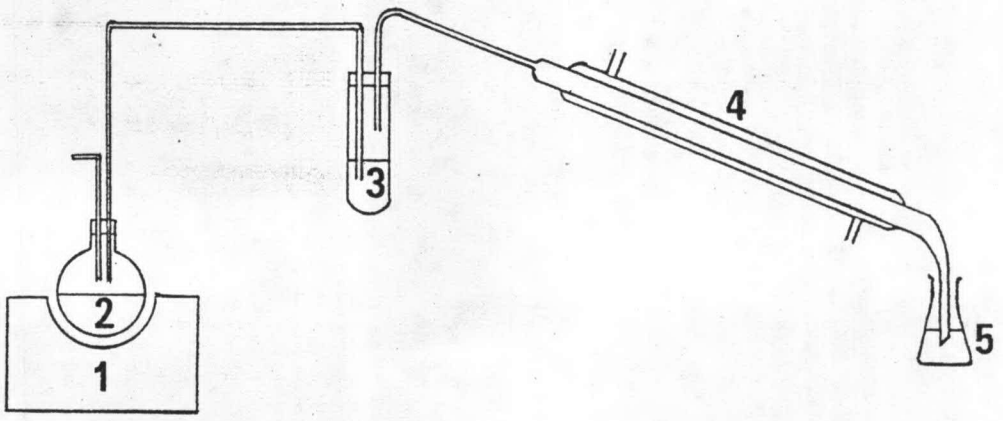
<u>($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$)</u>

ละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต จำนวน 135.5 กรัม ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร ที่มีน้ำกลั่นอยู่ประมาณ 500 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดซัลฟุริกเข้มข้นจำนวน 30 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

ก-4.1.3 <u>อินดิเคเตอร์ 1,10-Phenanthroline ferrous sulfate</u>

ละลาย $FeSO_4.7H_2O$ จำนวน 0.695 กรัม ในน้ำกลั่นประมาณ 50 มิลลิลิตร และเติม o-phenanthroline.H_2O จำนวน 1.485 กรัม ปรับให้มีปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตรโดยใช้น้ำกลั่น

ก-4.2 <u>เครื่องกลั่นแอลกอฮอล์</u> ประกอบขึ้นตามรูปที่ ก-1



รูปที่ ก-1 แผนผังเครื่องกลั่นแอลกอฮอล์

โดย 1 = electromantle

2 = ขวดก้นกลมบรรจุน้ำ

3 = หลอดบรรจุตัวอย่าง

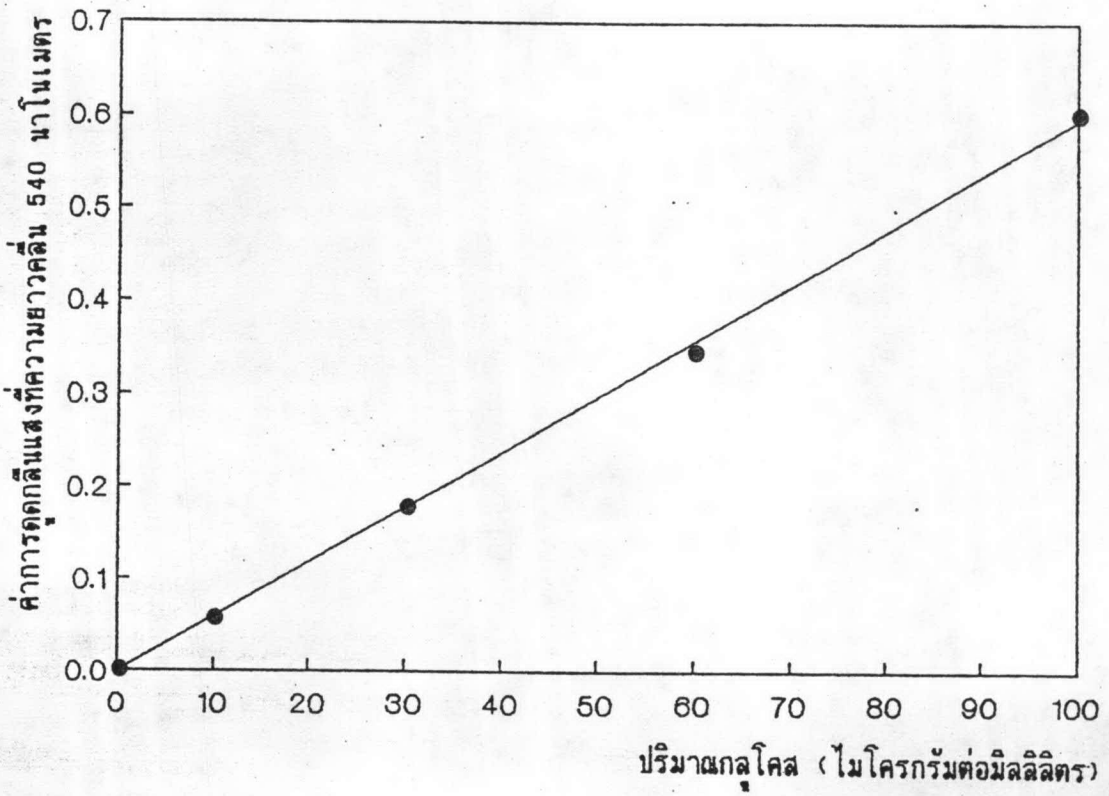
4 = เครื่องควบแน่น

5 = ฟลาสค์บรรจุโปแตสเซียมไดโครเมต

ก-5 การวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสโดยวิธี Somogyi Nelson

การวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสโดยวิธี Somogyi Nelson ทำตามวิธีที่อธิบายโดย Clark และ Switzer (1977) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

ปิเปตต์ตัวอย่างจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย alkali copper 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วแช่ในน้ำเดือด เป็นเวลา 20 นาที และทำให้เย็นทันที จากนั้นเติมสารละลาย Arsenomolybdate จำนวน 1 มิลลิลิตร เขย่าจนตะกอนละลายและตั้งทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที เติมน้ำกลั่นจำนวน 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธีเดียวกันนี้ (รูปที่ ก-2)



รูปที่ ก-2 กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส

การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส

(1) สารละลาย Alkali copper (Nelson's reagent)

ประกอบด้วยสารละลาย A และสารละลาย B ในอัตราส่วน 25:1

(1.1) สารละลาย A ประกอบด้วย

โซเดียมคาร์บอเนต	25 กรัม
โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต	25 กรัม
โซเดียมซัลเฟต	25 กรัม
โปแตสเซียมโซเดียมตาร์เตรต หรือ	
Rochelle's salt	25 กรัม

และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

(1.2) สารละลาย B ประกอบด้วย

คอปเปอร์ซัลเฟต ร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก

กรดซัลฟุริกเข้มข้น 1-2 หยดต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร

(2) สารละลาย Arsenomolybdate

ละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต จำนวน 25 กรัม ในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้นจำนวน 21 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮโดรเจนอาร์ซีเนต ($Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$) (3 กรัมในน้ำ 25 มิลลิลิตร) ลงไป 25 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สารละลายที่ได้ควรมีสีเหลืองและไม่มีสีเขียวปน

(3 สารละลายมาตรฐานกลูโคส

ละลายกลูโคส จำนวน 10 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางให้อยู่ในช่วง 10-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ก-6 การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดทำตามวิธีที่กำหนดไว้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 8-2513 (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2513) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

ย่อยตัวอย่างที่ผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:19 จำนวน 10 มิลลิลิตร ในขวดเคล์ดาล (Kjeldahl flask) ด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาเซเลเนียม (selenium catalyst) จำนวน 0.05 กรัม และกรดซัลฟุริกเข้มข้น จำนวน 20 มิลลิลิตร จนกระทั่งได้สารละลายใสและย่อยต่อไปอีก 1 ถึง 2 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายสารละลายที่ได้ลงในขวดกลั่นให้หมด โดยใช้น้ำกลั่นช่วยล้าง จนได้ปริมาตรประมาณ 200 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 ประมาณ 90 มิลลิลิตร แล้วกลั่นแอมโมเนียที่เกิดขึ้นลงในสารละลายกรดบอริก (boric acid) เข้มข้นร้อยละ 4 จำนวน 50 มิลลิลิตร ซึ่งมีอินดิเคเตอร์เมทธิลเรด-เมทธิลีนบลูอยู่ 2-3 หยด จนกระทั่งปริมาตรของสารละลายในขวดกลั่นเหลืออยู่ประมาณ 1/3 ของปริมาตรเดิม ไทเทรตแอมโมเนียที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดซัลฟุริก ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

การคำนวณ ให้คำนวณน้ำหนักเป็นกรัมของไนโตรเจนจากสูตรต่อไปนี้

$$x = y\ N \times 28$$

เมื่อ x คือ จำนวนกรัมของไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่าง 1 ลิตร

y คือ จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายกรดซัลฟุริกที่ใช้ในการไทเทรต

N คือ ความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายกรดซัลฟุริกที่ใช้ในการไทเทรต

ก-6.1 การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

ก-6.1.1 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 40 กรัม ในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

ก-6.1.2 สารละลายกรดบอริก

ละลายกรดบอริกจำนวน 4 กรัม ในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

ก-6.1.3 สารละลายกรดซัลฟุริก

ละลายกรดซัลฟุริก (ความถ่วงจำเพาะ = 1.84) จำนวน 5.33 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

ก-6.2 การหาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายกรดซัลฟุริก

ปิเปตต์สารละลายกรดซัลฟุริกที่ต้องการหาความเข้มข้นที่แท้จริงจำนวน 25 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสค์ขนาด 250 มิลลิลิตร และหยดอินดิเคเตอร์ฟีนอล์ฟธาลีนลงไป 2-3 หยด จากนั้นนำไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ทราบความเข้มข้นที่แท้จริงจากข้อ ก-3.2 จนถึงจุดยุติเมื่อสารละลายในฟลาสค์เปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน คำนวณหาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายกรดซัลฟุริก

ตัวอย่างการคำนวณ

ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไทเทรตเฉลี่ยเท่ากับ 21.33 มิลลิลิตร และความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 0.127 โมลาร์ ปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟุริกเท่ากับ 25 มิลลิลิตร ดังนั้นความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายกรดซัลฟุริกเท่ากับ (25x0.103)/21.33 = 0.121 นอร์มัล

ที่มา: Skoog และ West (1982)

ก-7 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนไนโตรเจน

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนไนโตรเจนทำตามวิธีที่กำหนดไว้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 8-2513 (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2513) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

กรดอะมิโนไนโตรเจน (amino acid nitrogen) คือ ผลต่างคิดเป็นกรัมระหว่างฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน (formaldehyde nitrogen) กับแอมโมเนียคัลไนโตรเจน (ammonical nitrogen) ในตัวอย่าง 1 ลิตร

ก-7.1 ฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน

เตรียมฟอร์มัลดีไฮด์ให้มี pH 9 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ในตัวอย่างผสมน้ำ (1:19) จำนวน 10 มิลลิลิตร จนได้ pH 7 ผสมฟอร์-

มัลดีไฮด์ที่เตรียมไว้ลงไป จำนวน 10 มิลลิลิตร แล้วไทเทรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนได้ pH 9

<u>การคำนวณ</u> ให้คำนวณน้ำหนักเป็นกรัมของฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจนจากสูตรต่อไปนี้

$$x = y\ N \times 28$$

เมื่อ x คือ จำนวนกรัมของฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจนในตัวอย่าง 1 ลิตร

y คือ จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรต

N คือ ความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรต

<u>หมายเหตุ</u> (1) การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และการหาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ทำตามวิธีในข้อ ก-3.1.1 และ ก-3.2 ตามลำดับ

(2) การวัด pH ทำโดยใช้เครื่องวัด pH แบบกระเป๋าหิ้วและทดลองในตู้ควันตลอด

ก-7.2 <u>แอมโมเนียคัลไนโตรเจน</u>

เติมมักเนเซียมออกไซด์ (magnesium oxide) จำนวน 3 กรัม และน้ำประมาณ 100 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างผสมน้ำ (1:19) จำนวน 50 มิลลิลิตร แล้วกลั่นแอมโมเนียลงในสารละลายกรดบอริก เข้มข้นร้อยละ 4 จำนวน 50 มิลลิลิตร ซึ่งมีอินดิเคเตอร์เมธิลีนบลู-เมธิลเรดอยู่แล้ว 2 หรือ 3 หยด จนกระทั่งปริมาตรของสารละลายในขวดกลั่นเหลืออยู่ประมาณ 1/4 ของปริมาตรเดิม ไทเทรตแอมโมเนียที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดซัลฟุริก ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

<u>การคำนวณ</u> ให้คำนวณน้ำหนักเป็นกรัมของแอมโมเนียคัลไนโตรเจนจากสูตรต่อไปนี้

$$x = y\ N \times 28$$

เมื่อ x คือ จำนวนกรัมของแอมโมเนียคัลไนโตรเจนในตัวอย่าง 1 ลิตร

y คือ จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายกรดซัลฟุริกที่ใช้ในการไทเทรต

N คือ ความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายกรดซัลฟุริกที่ใช้ในการไทเทรต

หมายเหตุ การเตรียมสารละลายกรดบอริก ทำตามวิธีในข้อ ก-6.1.2 อินดิเคเตอร์เมธิลีนบลู-เมธิลเรด ทำตามวิธีในข้อ ก-3.1.2 สารละลายกรดซัลฟุริกทำตามวิธีในข้อ ก-6.1.3 และการหาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายกรดซัลฟุริก ทำตามวิธีในข้อ ก-6.2

ก-8 การวิเคราะห์หาปริมาณเกลือ

การวิเคราะห์หาปริมาณเกลือทำตามวิธีที่กำหนดไว้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 8-2513 (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2513) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

เติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (silver nitrate) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จำนวน 30 มิลลิลิตร สารละลายกรดไนทริก (nitric acid) ความเข้มข้น 6 นอร์มัล จำนวน 5 มิลลิลิตร และอินดิเคเตอร์เฟอร์ริกอลัม (ferric alum indicator) จำนวน 5 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างผสมน้ำ (1:19) จำนวน 10 มิลลิลิตร แล้วไทเทรตสารละลายซิลเวอร์ไนเทรตที่เหลือด้วยสารละลายโปแตสเซียมไธโอไซยาเนต (potassium thiocyanate) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

การคำนวณ ให้คำนวณน้ำหนักเป็นกรัมของโซเดียมคลอไรด์จากสูตรต่อไปนี้

$$x = 117.0\ (30\ N_1 - y\ N_2)$$

เมื่อ x คือ จำนวนกรัมของโซเดียมคลอไรด์ในตัวอย่าง 1 ลิตร

y คือ จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายโปแตสเซียมไธโอไซยาเนตที่ใช้ในการไทเทรต

N_1 คือ ความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตที่ใช้ทำปฏิกิริยากับคลอไรด์

N_2 คือ ความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายโปแตสเซียมไธโอไซยาเนตที่ใช้ในการไทเทรต

ก-8.1 การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเกลือ

ก-8.1.1 สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต

ละลายซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) จำนวน 8.5 กรัม ในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร

ก-8.1.2 สารละลายกรดไนตริก

ละลายกรดไนตริก (ความถ่วงจำเพาะ =.1.40) จำนวน 57 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

ก-8.1.3 อินดิเคเตอร์เฟอร์ริกอลัม

ละลายเฟอร์ริกอลัม จำนวน 40 กรัม ในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร จากนั้นหยดสารละลายกรดไนตริกเข้มข้น 6 นอร์มัล ลงไป 2-3 หยด

ก-8.1.4 สารละลายโปแตสเซียมไธโอไซยาเนต

ละลายโปแตสเซียมไธโอไซยาเนต (KSCN) จำนวน 10 กรัม ในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

ก-8.2 การหาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต

ก-8.2.1 การเตรียมสารเคมีสำหรับหาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต

ก-8.2.1.1 สารละลายมาตรฐานปฐมภูมิโซเดียมคลอไรด์

ชั่งโซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.58 กรัม ซึ่งจะได้ความเข้มข้นใกล้เคียงกับ 0.1 โมลาร์ จากนั้นนำไปละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

ก-8.2.1.2 อินดิเคเตอร์โปแตสเซียมโครเมต-โปแตสเซียมไดโครเมต (K_2CrO_4-$K_2Cr_2O_7$)

ละลายโปแตสเซียมโครเมต จำนวน 4.2 กรัม และโปแตสเซียมไดโครเมต จำนวน 0.7 กรัม ในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

ก-8.2.2 <u>การหาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต</u>

ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานปฐมภูมิโซเดียมคลอไรด์ที่เตรียมได้จากข้อ ก-8.2.1.1 จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสค์ขนาด 250 มิลลิลิตร และเติมอินดิเคเตอร์โปแตสเซียมโครเมต-โปแตสเซียมไดโครเมต ลงไป จำนวน 0.5 มิลลิลิตร นำไปไทเทรตกับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตที่ต้องการหาความเข้มข้นที่แท้จริง (ข้อ ก-8.1.1) โดยเขย่าสารละลายในฟลาสค์อยู่เสมอ และสังเกตดูสีแดงของสารละลายในฟลาสค์เมื่อเติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตลงไป ถ้าใกล้ถึงจุดยุติ สีแดงที่เกิดขึ้นจะค่อย ๆ จางหายไปอย่างช้า ๆ ไทเทรตต่อไปจนได้สารละลายสีแดงอิฐเกิดขึ้นบนตะกอนของซิลเวอร์คลอไรด์และไม่จางหายไปเมื่อเขย่า บันทึกปริมาตรของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต

ก-8.2.3 <u>การทำอินดิเคเตอร์แบลงค์</u>

การทำอินดิเคเตอร์แบลงค์ (indicator blank) ควรทำในเวลาใกล้เคียงกับการหาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต โดยมีวิธีทำดังต่อไปนี้

(1) ปิเปตต์สารละลายซิลเวอร์ไนเตรตที่ต้องการหาความเข้มข้นที่แท้จริง จำนวน 10 มิลลิลิตร จากนั้นทำให้เจือจางลงเป็น 10 เท่าตัว บรรจุสารละลายนี้ลงในบิวเรตต์อีกอันหนึ่ง

(2) ใส่แคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate) ที่ไม่มีคลอไรด์ จำนวนเท่ากับหรือใกล้เคียงกับตะกอนซิลเวอร์คลอไรด์ (silver chloride) ที่เกิดขึ้นในข้อ ก-8.2.2 จากนั้นปรับปริมาตรของสารละลายให้เท่ากันโดยใช้น้ำกลั่น

(3) เติมอินดิเคเตอร์โปแตสเซียมโครเมต-โปแตสเซียมไดโครเมต ลงไป จำนวน 0.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรตกับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตเจือจางจากข้อ (1) จนได้สีใกล้เคียงกับสีของสารละลายที่ได้จากข้อ ก-8.2.2 มากที่สุด ปริมาตรของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตที่ได้นี้คือ อินดิเคเตอร์แบลงค์ ซึ่งจะต้องนำไปหักออกปริมาตรของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตที่ได้จากการไทเทรตในข้อ ก-8.2.2 จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต โดยมวลโมเลกุลของ $AgNO_3$ เท่ากับ 169.87

ก-8.3 <u>การหาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายโปแตสเซียมไธโอไซยาเนต</u>

ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรต (ข้อ ก-8.2.2) จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสค์ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายกรดไนตริกลงไป จำนวน 0.5 มิลลิลิตร และอินดิเคเตอร์เฟอร์ริกอลัมประมาณ 0.5-1.0 มิลลิลิตร นำไปไทเทรตกับกับสารละลายโปแตสเซียมไธโอไซยาเนตที่ต้องการหาความเข้มข้นที่แท้จริง (ข้อ ก-8.1.4) โดยเขย่าสารละลายในฟลาสค์อยู่เสมอ ไทเทรตต่อจนสารละลายในฟลาสค์เปลี่ยนเป็นสีแดงอ่อนและไม่จางหายไปเมื่อเขย่า จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายโปแตสเซียมไธโอไซยาเนต โดยมวลโมเลกุลของ KSCN เท่ากับ 97.18

<u>ที่มา</u>: Skoog และ West (1982)

ก-9 <u>วิธีเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์</u>

วิธีเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5.7-8.0 เตรียมได้ดังตารางที่ ก-1 โดย

สารละลาย A: สารละลาย monobasic sodium phosphate ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ($NaH_2PO_4.H_2O$ จำนวน 27.8 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร)

สารละลาย B: สารละลาย dibasic sodium phosphate ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ($Na_2HPO_4.7H_2O$ จำนวน 53.65 กรัม หรือ $Na_2HPO_4.12H_2O$ จำนวน 71.7 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร)

ผสมสารละลาย A กับสารละลาย B แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 200 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

ตารางที่ ก-1 วิธีเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5.7-8.0 ในลักษณะของสารละลายเข้มข้น (stock soluiton)

ปริมาตรของสารละลาย A (มิลลิลิตร)	ปริมาตรของสารละลาย B (มิลลิลิตร)	pH	ปริมาตรของสารละลาย A (มิลลิลิตร)	ปริมาตรของสารละลาย B (มิลลิลิตร)	pH
93.5	6.5	5.7	45.0	55.0	6.9
92.0	8.0	5.8	39.0	61.0	7.0
90.0	10.0	5.9	33.0	67.0	7.1
87.7	12.3	6.0	28.0	72.0	7.2
85.0	15.0	6.1	23.0	77.0	7.3
81.5	18.5	6.2	19.0	81.0	7.4
77.5	22.5	6.3	16.0	84.0	7.5
73.5	26.5	6.4	13.0	87.0	7.6
68.5	31.5	6.5	10.5	90.5	7.7
62.5	37.5	6.6	8.5	91.5	7.8
56.5	43.5	6.7	7.0	93.0	7.9
51.0	49.0	6.8	5.3	94.7	8.0

ที่มา: Gomori (1989)

ก-10 การหาจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์โดยวิธี Standard Plate Count (SPC)

การหาจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์โดยวิธี SPC ได้ดัดแปลงจากวิธีที่อธิบายไว้โดย DiLiello (1982) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

ก-10.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก-10.1.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับหาจำนวนเซลล์ของ *L. delbrueckii* (Tipayang และ Osaki, 1982)

ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ GYP ตามสูตรในภาคผนวก ก-1 โดยเติมแคลเซียมคาร์บอเนต จำนวน 15 กรัม และวุ้น (agar) จำนวน 15 กรัม จากนั้นนำไปละลายในน้ำเดือด และนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก-10.1.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับหาจำนวนเซลล์ของ *Z. rouxii* (Campbell และ Duffus, 1988)

ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ YM ตามสูตรในภาคผนวก ก-2 และเติมวุ้น จำนวน 15 กรัม จากนั้นนำไปละลายในน้ำเดือด และนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 15 นาที

ก-10.2 การเจือจางตัวอย่างและการเพาะเลี้ยงเชื้อ

ใช้ปิเปตต์เจือจางตัวอย่างให้มีความเข้มข้นเป็น 10^{-1} 10^{-2} 10^{-3} 10^{-4} 10^{-5} จนถึง 10^{-6} ตามลำดับ โดยใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 9 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตต์ตัวอย่างที่ความเข้มข้น 10^{-5} และ 10^{-6} จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อ แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อที่หลอมและทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในจานเลี้ยงเชื้อจานละประมาณ 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและทิ้งให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว สำหรับการหาจำนวนเซลล์ของ *L. delbrueckii* ให้เทอาหารวุ้น เข้มข้นร้อยละ 1 ทับอีกชั้นหนึ่ง และนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สำหรับการหาจำนวนเซลล์ของ *Z. rouxii* ให้เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีในแต่ละจานเลี้ยงเชื้อที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี

หมายเหตุ เพาะเลี้ยงเชื้อจำนวนสองซ้ำในแต่ละความเข้มข้น

ก-10.3 <u>การนับจำนวนเซลล์</u>

คำนวณจำนวนเซลล์ต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร โดยคูณจำนวนโคโลนีด้วยค่า dilution factor ตัวอย่างเช่น ถ้านับจำนวนโคโลนีในจานเลี้ยงเชื้อที่มีตัวอย่างเจือจาง 10^{-6} ได้ 150 โคโลนี จำนวนเซลล์ต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เท่ากับ $150 \times 10^{6} = 1.5 \times 10^{7}$

ภาคผนวก ข

ตัวอย่างแบบทดสอบการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊ว

แบบทดสอบการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊ว

ชื่อ..... วันที่.....

กรุณาทดสอบผลิตภัณฑ์น้ำซีอิ๊วทางด้านประสาทสัมผัสแล้วให้คะแนนตามลำดับความชอบที่ใกล้เคียงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด

รายการ	คะแนนเต็ม
ความใส	25
กลิ่น	25
รส	25
สี	25
รวม	100

หลักเกณฑ์การให้คะแนน

0 - 5	=	ไม่ดี
6 - 10	=	พอใช้
11 - 15	=	ดีพอใช้
16 - 20	=	ดี
21 - 25	=	ดีมาก

ลักษณะ	ตัวอย่างที่		
ความใส			
กลิ่น			
รส			
สี			
ความชอบรวม			

หมายเหตุ .....

.....

.....

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ค-1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน

การวิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลในการทดลองนี้ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป "SPS" และ "STATPAK" หรือใช้วิธีคำนวณดังตารางที่ ค-1, ค-2 และ ค-3

ตารางที่ ค-1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD)

Source of variation (SOV)	degree of freedom (df)	Sum of square (SS)	Mean square (MS)	F calculated	F table
Treatment	t-1	$_{i}EX_{i}.^{2}/r-X..^{2}/rt$	SS_{T}/df_{T}	MS_{T}/MS_{E}	$f(\%sig.,df_{T},df_{E})$
Error	t(r-1)	by subtraction	SS_{E}/df_{E}		
Total	rt-1	$_{ij}EX_{ij}^{2}/r-X..^{2}/rt$			

ตารางที่ ค-2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD)

SOV	df	SS	MS	F calculated	F table
Treatment	t-1	$\sum_i EX_{i.}^2/r - X_{..}^2/rt$	SS_T/df_T	MS_T/MS_E	$f(\%sig., df_T, df_E)$
Block	r-1	$\sum_j EX_{.j}^2/r - X_{..}^2/rt$	SS_{blk}/df_{lk}	MS_{blk}/MS_E	$f(\%sig., df_{lk}, df_E)$
Error	(t-1)(r-1)	by subtraction	SS_E/df_E		
Total	rt-1	$\sum_{ij} EX_{ij}^2 - X_{..}^2/rt$			

ตารางที่ ค-3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลแบบแฟคทอเรียล (Factorial Completely Randomized Design)

SOV	df	SS	MS	F calculated	F table
Factor					
A	(a-1)	$\sum_i EX_{i...}^2/bcr - X_{....}^2/abcr$	SS_A/df_A	MS_A/MS_E	$f(\%sig., df_A, df_E)$
B	(b-1)	$\sum_j EX_{.j..}^2/acr - X_{....}^2/abcr$	SS_B/df_B	MS_B/MS_E	$f(\%sig., df_B, df_E)$
C	(c-1)	$\sum_k EX_{..k.}^2/abr - X_{....}^2/abcr$	SS_C/df_C	MS_C/MS_E	$f(\%sig., df_C, df_E)$
AB	(a-1)	$\sum_{ij} EX_{ij..}^2/cr - X_{....}^2/abcr$	SS_{AB}/df_{AB}	MS_{AB}/MS_E	$f(\%sig., df_{AB}, df_E)$
	(b-1)	$-SS_A - SS_B$			

(ต่อ)

ตารางที่ ค-3 (ต่อ)

SOV	df	SS	MS	F calculated	F table
AC	(a-1)	$\sum_{ik} EX_{i \cdot k \cdot}^2/cr - X....^2/abcr$	SS_{AC}/df_{AC}	MS_{AC}/MS_E	$f(\%sig., df_{AC}, df_E)$
	(c-1)	$-SS_A - SS_C$			
BC	(b-1)	$\sum_{jk} EX_{\cdot jk}^2/cr - X....^2/abcr$	SS_{BC}/df_{BC}	MS_{BC}/MS_E	$f(\%sig., df_{BC}, df_E)$
	(c-1)	$-SS_B - SS_C$			
ABC	(a-1)	$\sum_{ijk} EX_{ijk \cdot}^2/cr - X....^2/abcr$	SS_{ABC}/df_{ABC}	MS_{ABC}/MS_E	$f(\%sig., df_{ABC}, df_E)$
	(b-1)	$-SS_A - SS_B - SS_C - SS_{AB}$			
	(c-1)	$-SS_{AC} - SS_{BC} - SS_{ABC}$			
Error	(abc)(r-1)	by subtraction	SS_E/df_E		
Total	abcr-1	$\sum_{ijkl} EX_{ijkl}^2/CR - X....^2/abcr$			

ค-2 <u>การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test สำหรับการทดลองแบบแฟคทอเรียล</u>

หาค่าเฉลี่ยของข้อมูลแบบแฟคทอเรียล (factorial) ที่ได้สำหรับแต่ละ treatment combination ดังตารางที่ ค-4 แล้วเรียงลำดับค่าเฉลี่ยจากมากไปหาน้อย จากนั้นคำนวณค่า $S_y = (MS_E/r)^{1/2}$ เมื่อ r คือ จำนวนซ้ำ กรณีข้อมูลแบบแฟคทอเรียล = R เปิดตารางหาค่า Significant Studentized Range (SSR) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($SSR_{0.05}$) ตั้งแต่ค่า p = 2 ถึง p = n-1 ที่ df_E (n คือ จำนวนค่าเฉลี่ยทั้งหมดที่ต้องการเปรียบเทียบ) แล้วคำนวณหาค่า LSR = S_y x SSR จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละคู่กับค่า LSR ตามค่า p ถ้าผลต่างของค่าเฉลี่ยดังกล่าวมีค่ามากกว่า LSR แสดงว่าค่าเฉลี่ยคู่นั้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ ค-4 การหาค่าเฉลี่ยของข้อมูลแบบแฟคทอเรียล

ปัจจัย	ค่าเฉลี่ย	R
A	$_{i}EX_{i}..../R$	bcr
B	$_{j}EX._{j}.../R$	acr
C	$_{k}EX.._{k}../R$	abr
AB	$_{ij}EX_{ij}../R$	cr
AC	$_{ik}EX_{i}._{k}./R$	br
BC	$_{jk}EX._{jk}./R$	ar
ABC	$_{ijk}EX_{ijk}./R$	r

ตัวอย่างการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test สำหรับการทดลองแบบแฟคทอเรียล

เช่น จากข้อมูลในตารางที่ 5.4 เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนจะได้ผลดังตารางที่ 5.5 ซึ่งมีค่า $MS_E = 2.00 \times 10^{-6}$

เมื่อแทนค่าใน $S_y = (MS_E/r)^{1/2}$ เมื่อ r คือ จำนวนซ้ำ

จะได้ว่า $S_y = (2.00 \times 10^{-6}/2)^{1/2}$

$= 0.001$

เปิดตารางหา ค่า $SSR_{0.05}$ ตั้งแต่ค่า p = 2 ถึง p = 26 ที่ $df_E = 27$

ตัวอย่างเช่น ที่ค่า p = 2 ค่า $SSR_{0.05} = 2.91$

ที่ค่า p = 3 ค่า $SSR_{0.05} = 3.05$

และ ที่ค่า p = 4 ค่า $SSR_{0.05} = 3.14$ เป็นต้น

คำนวณหาค่า LSR = $S_{\bar{y}}$ x SSR

ตัวอย่างเช่น ที่ค่า p = 2 จะได้ค่า LSR = 0.001x2.91 = $2.91x10^{-3}$

ที่ค่า p = 3 จะได้ค่า LSR = 0.001x3.05 = $3.05x10^{-3}$

ที่ค่า p = 4 จะได้ค่า LSR = 0.001x3.14 = $3.14x10^{-3}$

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยที่เรียงลำดับจากมากไปหาน้อย โดยให้ค่าเฉลี่ยที่มีค่ามากที่สุดแทนด้วย t_{27} และค่าเฉลี่ยที่มีค่าน้อยรองลงมาแทนด้วย t_{26}, t_{25}, t_{24},...,t_1 ตามลำดับ

เช่น เมื่อเปรียบเทียบผลต่างของค่าเฉลี่ยของ t_{27} และ t_{26}

จะได้ว่า $t_{27}-t_{26}$ = 0.682-0.674 = 0.008

ซึ่งมีค่ามากกว่าค่า LSR ที่ p = 2 คือ $2.91x10^{-3}$

แสดงว่า ค่าเฉลี่ยคู่นี้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) ให้กำกับค่าเฉลี่ยที่ t_{27} ด้วยอักษร a โดยตัวเลขที่มีอักษรต่างกันกำกับจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$)

หรือเมื่อเปรียบเทียบผลต่างของค่าเฉลี่ยของ t_{26} และ t_{25}

จะได้ว่า $t_{26}-t_{25}$ = 0.674-0.542 = 0.132

ซึ่งมีค่ามากกว่าค่า LSR ที่ p = 2 คือ $2.91x10^{-3}$

แสดงว่า ค่าเฉลี่ยคู่นี้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) ให้กำกับค่าเฉลี่ยที่ t_{26} ด้วยอักษร b

ที่มา: Michael (1986)

ภาคผนวก ง

รายละเอียดของจุลินทรีย์

จุลินทรีย์สำคัญที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหมักน้ำซีอิ๊ว ได้แก่

1. *Lactobacillus delbrueckii* (Buchanan and Gibbons, 1975)

เป็นแบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์ (asporogeneous bacteria) แกรมบวก (Gram-positive) และมีรูปร่างเป็นแท่ง (rod) จัดอยู่ในวงศ์ (family) Lactobacillaceae และสกุล (genus) *Lactobacillus* ซึ่งมีลักษณะเฉพาะดังนี้

เซลล์รูปแท่งขนาด 0.5-0.8 x 2-9 ไมโครเมตร และมีปลายมน (rounded end) อาจพบเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ หรือต่อกันเป็นสายโซ่สั้น (short chains) ย้อมติดสีเมธิลีนบลู ไม่เคลื่อนที่ ส่วนใหญ่โคโลนีไม่มีสีและหยาบ เมื่อหมักกลูโคสหรือคาร์โบไฮเดรตอื่น ๆ จะเกิดกรดขึ้น แต่ไม่เกิดแก๊ส ผลิตกรดแลคติก (D-lactic acid) เป็นส่วนใหญ่ (มากกว่าร้อยละ 85) สร้างแอมโมเนียได้จากอาร์จินีน ผนังเซลล์ประกอบด้วยกลีเซอรอล (glycerol) กรดไทโคอิก (teichoic acid) และ peptidoglycan ประเภท L-lysine-D-aspartate ต้องการสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตหลายชนิดเช่น แคลเซียม ไนอะซิน (niacin) และ pentothenate แต่ไม่ต้องการพวกไธอะมีน (thiamine) กรดโฟลิก (folic acid) วิตามิน B12 หรือ pyridoxal ไม่มีการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 15 และ 20 องศาเซลเซียส สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 45-52 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 40-44 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปเจริญได้ในอาหารที่มี pH ประมาณ 5.5-5.8 หรือน้อยกว่า จัดเป็นแบคทีเรียที่ทนกรด แยกได้จากกากจากการหมักผักและผลไม้หลายชนิด ที่อุณหภูมิสูงกว่า 41 องศาเซลเซียส มีปริมาณก้วนีนและไซโตซีน (G+C content) ใน DNA 50.0 เปอร์เซนต์โมล

2. *Zygosaccharomyces rouxii* (Krager-van Rij, 1984)

จัดเป็นยีสต์ที่สร้างแอสโคสปอร์ (ascosporogenous yeast) และอยู่ใน subfamily Saccharomycetoideae และสกุล *Zygosaccharomyces* ซึ่งมีลักษณะเฉพาะดังนี้

2.1 การเจริญเติบโตในสารสกัดจากมอลท์

เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เซลล์จะมีลักษณะเป็นรูปรี ขนาดประมาณ 2.5-7.0x4.0-9.5 ไมโครเมตร และอาจมีเซลล์ขนาดยาวเกิดขึ้น นอกจากนี้ยังพบในลักษณะเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรืออยู่รวมเป็นกลุ่มเล็ก ๆ อาจเกิดเป็นตะกอน และบางครั้งก็เกิดเป็นวงแหวนบางหรือแผ่นฟิล์ม และเมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 เดือน จะเกิดเป็นตะกอนและวงแหวนและบางครั้งอาจเกิดเป็นแผ่นฟิล์มขึ้นเช่นกัน

2.2 การเจริญเติบโตบนอาหารวุ้นของมอลท์ (malt agar)

เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1เดือน โคโลนีจะเป็นสีครีมหรือสีแทน โดยอาจพบในลักษณะเรียบ ย่น เป็นจีบ หรือหลุมเว้า อาจมีทั้งลักษณะแบนหรือนูน เป็นเงา (glossy) หรือทึบ ขอบของโคโลนีจะขรุขระเล็กน้อย

2.3 การเกิดแอสโคสปอร์

ส่วนใหญ่เซลล์เกิดการสืบพันธุ์แบบสังยุค (conjugation) และทำให้เกิด asci ที่ประกอบด้วยแอสโคสปอร์ ประมาณ 1-4 แอสโคสปอร์ ซึ่งอาจพบในลักษณะหยาบหรือขรุขระ นอกจากนี้ยังอาจเกิดการสืบพันธุ์แบบสังยุคระหว่างเซลล์กับหน่อของมันเอง ซึ่งเป็นลักษณะเด่นในบางสายพันธุ์ ส่วนการสร้างสปอร์ (sporulation) สังเกตได้บนอาหารวุ้น YM ที่มีเกลือแกงร้อยละ 2 หรือ V8-, Gorodkowa-, potato-, malt- หรือ corn meal agar แต่ส่วนใหญ่มักจะไม่มีความสามารถที่จะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเมื่อมีการเก็บรักษาไว้ในห้องปฏิบัติการ

2.4 ปริมาณก้วนีนและไซโตซีน

มีปริมาณก้วนีนและไซโตซีนใน DNA 39.8-40.0 เปอร์เซนต์โมล จำนวน 4 สายพันธุ์ 40.0 เปอร์เซนต์โมล จำนวน 1 สายพันธุ์ และ 39.0-41.2 เปอร์เซนต์โมล จำนวน 10 สายพันธุ์

ภาคผนวก จ

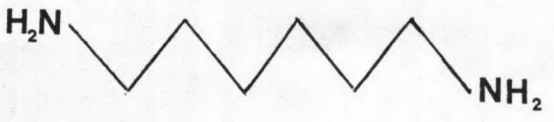
ข้อมูลเพิ่มเติม

จ-1 รายละเอียดเกี่ยวกับมอนอเมอร์ที่ใช้ในการทดลอง

(Hawley, 1981; Fluka, 1990-91; E. Merck, 1992/93)

จ-1.1 1,6-Hexanediamine (Hexamethylenediamine หรือ 1,6-diaminohexane)

1,6-Hexanediamine เป็นมอนอเมอร์ไฮโดรฟิลิกที่มีสูตรโมเลกุลเป็น $NH_2(CH_2)_6NH_2$ หรือ $C_6H_{16}N_2$ มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 116.21 จุดหลอมเหลว 39-42 องศาเซลเซียส จุดเดือด 205 องศาเซลเซียส มีลักษณะเป็นแผ่นบางไม่มีสี (colorless leaflets) ละลายได้ดีในน้ำ (490 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส) และละลายได้เล็กน้อยในแอลกอฮอล์และเบนซีน และสามารถติดไฟได้ (combustible) โดยมีจุดติดไฟ (flash point) ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส โครงสร้างของ 1,6-hexanediamine แสดงดังรูปที่ จ-1



รูปที่ จ-1 โครงสร้างของ 1,6-hexanediamine

การสังเคราะห์ 1,6-hexanediamine ทำได้ดังนี้

(1) เริ่มสังเคราะห์จากปฏิกิริยาของกรดอะดิพิก (adipic acid) และแอมโมเนียในลักษณะ catalytic vapor-phase ซึ่งจะได้ adiponitrile จากนั้นทำปฏิกิริยา liquid-phase catalytic hydrogenation ต่อ ก็จะได้ 1,6-hexanediamine

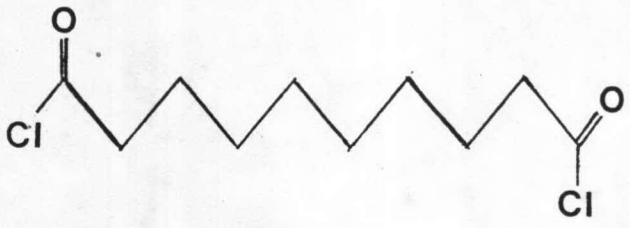
(2) เริ่มสังเคราะห์จากปฏิกิริยาการเติมคลอรีน (chlorination) ของ butadiene ตามด้วยปฏิกิริยาของ sodium cyanide (cuprous chloride catalyst) จะได้ 1,4-dicyanobutylene จากนั้นทำปฏิกิริยา hydrogenation ต่อ ก็จะได้ 1,6-hexanediamine

อันตรายของ 1,6-hexanediamine คือ ถ้าสัมผัสกับผิวหนังจะเกิดอาการระคายเคืองมาก และถ้าได้รับเข้าไปในร่างกาย (ingestion) จะเป็นพิษต่อร่างกายได้

การใช้งานของ 1,6-hexanediamine คือ ใช้ในการสังเคราะห์พอลิเมอร์ (high polymers) เช่น ไนลอน 66 (nylon 66) เป็นต้น

จ-1.2 Sebacoylchloride (n-octane-1,8-dicarboxylic acid dichloride)

Sebacoylchloride เป็นมอนอเมอร์ไฮโดรโฟบิกที่มีสูตรโมเลกุลเป็น $ClOC(CH_2)_8COCl$ หรือ $C_{10}H_{16}Cl_2O_2$ มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 239.14 จุดหลอมเหลว (-5)-(-3) องศาเซลเซียส จุดเดือด 137-140 องศาเซลเซียส มีลักษณะเป็นของเหลวใส ความบริสุทธิ์ ร้อยละ 97 ละลายได้ในสารประกอบไฮโดรคาร์บอนและอีเธอร์ (ethers) สามารถสลายได้อย่างช้า ๆ ในน้ำเย็น โครงสร้างของ sebacoylchloride แสดงดังรูปที่ จ-2

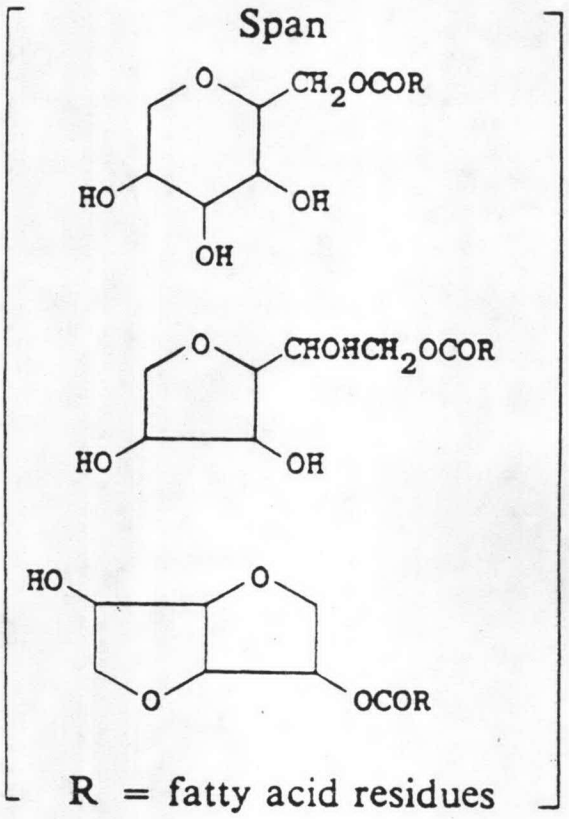


รูปที่ จ-2 โครงสร้างของ sebacoylchloride

จ-3 <u>รายละเอียดของอิมัลซิไฟเออร์กลุ่ม Span ® และ Tween ®</u> (E. Merck, 1989)

อิมัลซิไฟเออร์กลุ่ม Span ® และ Tween ® จัดเป็นกลุ่มของสารลดแรงตึงผิวแบบไม่มีไอออน (nonionic surface active agents) ซึ่งประกอบด้วยเอสเทอร์และ ester-ethers ที่สังเคราะห์จากสารตั้งต้นพวก hexahydride alcohols, alkylene oxides และกรดไขมัน ลักษณะการชอบน้ำ (hydrophilic character) ของสารกลุ่มนี้เกิดขึ้นจากการที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) และ oxyethylene อิสระ ในขณะที่ส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (lipophile portion) เป็นกรดไขมันที่มีสายยาว

Span ® เป็นบางส่วนของเอสเทอร์ (partial esters) ของกรดไขมันทั่วไป เช่น ลอริก (lauric) ปาล์มิติก (palmiitc) สเตียริก (stearic) และโอลิอิก (oleic) และ hexitol anhydrides (hexitans และ hexides) ที่ได้จากซอร์บิทอล (sorbitol) ส่วน Tween ® ได้มาจากการเติมสาย polyoxyethylene ของ Span ® ให้เป็นหมู่ไฮดรอกซิลที่ไม่ถูกเอสเทอริไฟด์ (nonesterified hydroxyls) โดยทั่วไป Span ® จะไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายได้ตัวทำละลายอินทรีย์ส่วนใหญ่ และมีแนวโน้มที่จะละลายในน้ำมัน ในขณะที่ Tween ® จะละลายได้ดีในน้ำ โครงสร้างของ Span ® และ Tween ® แสดงดังรูปที่ จ-3

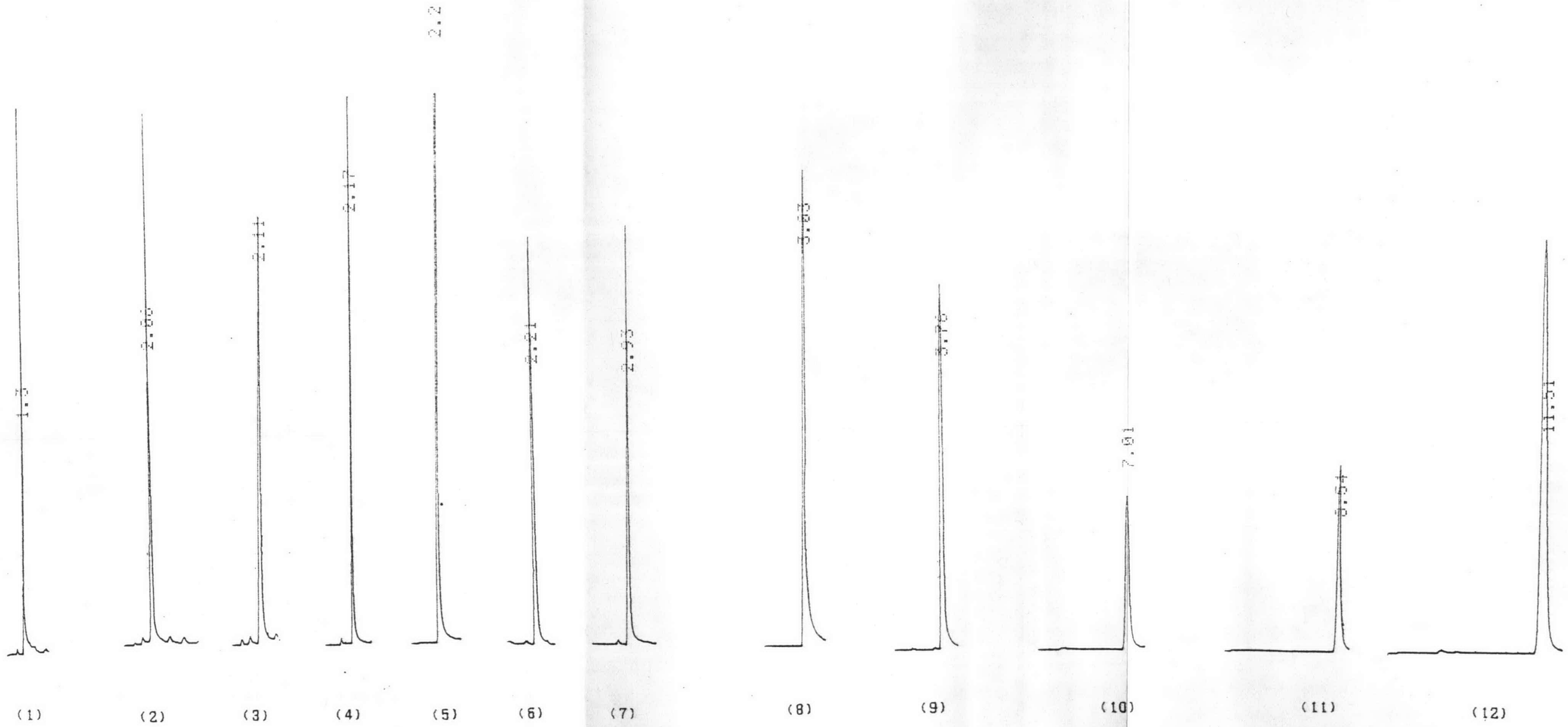


รูปที่ จ-3 โครงสร้างของ Span ® และ Tween ®

ที่มา: E. Merck (1989)

จ-4 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน

โครมาโตแกรมสารมาตรฐานที่เป็นส่วนประกอบที่ให้กลิ่นในช่องว่างเหนือของเหลวเมื่อวิเคราะห์โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟแบบ packed column (ข้อ 4.6.2) แสดงได้ดังรูปที่ จ-4



รูปที่ จ-4 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน

(1) = Acetaldehyde (2) = Isobutyrlaldehyde (3) = 2,3-Pentanedione

(4) = Ethyl formate (5) = Acetone (6) = Methyl acetate

(7) = Ethyl acetate (8) = Methyl alcohol (9) = Ethyl alcohol

(10) = n-Propyl alcohol (11) = Isobutyl alcohol (12) = n-Butyl alcohol

ประวัติผู้เขียน

นางสาวเพ็ญศิริ ศรีบุรี เกิดเมื่อวันที่ 24 มิถุนายน 2510 ที่จังหวัดลำพูน สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับสอง) จากภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อปี พ.ศ. 2532 และเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2532 ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินทุนสมเด็จพระมหิตลาธิเบศรอดุลยเดชวิกรมพระบรมราชชนก ประจำปีการศึกษา 2534 เข้าร่วมกิจกรรมทางวิชาการมีดังนี้ คือ เสนอผลงานวิจัยภาคโปสเตอร์และเข้าร่วมประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 17 ณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อวันที่ 24-26 ตุลาคม 2534 และครั้งที่ 18 ณ ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ เมื่อวันที่ 27-29 ตุลาคม 2535 และมีผลงานทางวิชาการซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของผลงานวิจัยวิทยานิพนธ์ ดังนี้

1. เพ็ญศิริ ศรีบุรี และ ปราณี อ่านเปรื่อง. 2534. ลักษณะของแคปซูลเล็กของ 1,6-เฮกเซนไดอามินและซีบาโคอิลคลอไรด์ บรรจุเซลล์มีชีวิตของ *Lactobacillus delbrueckii* TISTR 108. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 17. หน้า 700-701. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

2. เพ็ญศิริ ศรีบุรี และ ปราณี อ่านเปรื่อง. 2535. การเตรียมและลักษณะของแคปซูลเล็กบรรจุเซลล์มีชีวิตของ *Zygosaccharomyces rouxii* NRRL Y-2547. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 18. หน้า 618-619. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

3. เพ็ญศิริ ศรีบุรี และ ปราณี อ่านเปรื่อง. 2536. เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กสำหรับการหมักน้ำซีอิ๊ว ตอนที่ 1: การเตรียมและลักษณะของแคปซูลเล็กบรรจุเซลล์มีชีวิตของ *Lactobacillus delbrueckii* TISTR 108 และ *Zygosaccharomyces rouxii* NRRL Y-2547. อาหาร. 22(1) (อยู่ในระหว่างการตีพิมพ์).