โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การวิเคราะห์สารโคคูมิกลุ่มกลูตามิลเปปไทด์ในปลาร้า

Analysis of kokumi glutamyl peptides in fermented freshwater fish (Pla-ra)

ชื่อนิสิต นายจิณณวัตร สุวรรณเวลา เลขประจำตัว 6033009923

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2563

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การวิเคราะห์สารโคคูมิกลุ่มกลูตามิลเปปไทด์ในปลาร้า

Analysis of kokumi glutamyl peptides in fermented freshwater fish (Pla-ra)

โดย

นายจิณณวัตร สุวรรณเวลา

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2563

โครงการ การวิเคราะห์สารโคคูมิกลุ่มกลูตามิลเปปไทด์ในปลาร้า

โดย นายจิณณวัตร สุวรรณเวลา

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นวพร วินยเวคิน ประธานกรรมการ
2. อาจารย์ ดร. จัญจุดา อุ่นเรืองศรี กรรมการ
3. ศาสตราจารย์ ดร. ปรีชา ภูวไพรศิริศาล อาจารย์ที่ปรึกษา

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

ปรีชา ภูวไพรศิริศาล .....

(ศาสตราจารย์ ดร. ปรีชา ภูวไพรศิริศาล)
อาจารย์ที่ปรึกษา

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร. วรวีร์ โฮเว่น)
หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่ 14 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2564

ชื่อโครงการ การวิเคราะห์สารโคคูมิกลุ่มกลูตามิลเปปไทด์ในปลาร้า
ชื่อนิสิตในโครงการ นายจิณณวัตร สุวรรณเวลา เลขประจำตัว 6033009923
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ศาสตราจารย์ ดร. ปรีชา ภูวไพรศิริศาล
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปี 2563

บทคัดย่อ

ปลาร้าเป็นภูมิปัญญาท้องถิ่นที่มีถิ่นกำเนิดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ผลิตโดยหมักปลาน้ำจืดขนาดเล็กด้วยเกลือและรำข้าวเป็นเวลาหลายเดือน นิยมนำมาปรุงเป็นอาหารไทยหลายชนิดเช่น ส้มตำและน้ำพริก เพื่อเพิ่มรสชาติของอาหาร รสชาติที่เพิ่มขึ้นนั้นเกิดจากการมีสารโคคูมิ (ภาษาญี่ปุ่นแปลว่า“เข้มข้น”) โดยเฉพาะสารกลุ่มกลูตามิลเปปไทด์ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัย 3 ประการ ได้แก่ ชนิดของปลา สูตรการหมัก และระยะเวลาในการหมักที่มีผลต่อสารโคคูมิ โดยการตรวจวัดปริมาณสารกลุ่มกลูตามิลเปปไทด์โดยใช้เทคนิค Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS / MS) จากผลการศึกษาพบว่าการหมักทั้งปลาหมอและปลากระดี่รวมกันด้วยเกลือและรำข้าวเป็นเวลา 12 เดือนเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักปลาเนื่องจากตรวจพบกลูตามิลเปปไทด์ในปริมาณสูงสุด

คำสำคัญ: กระบวนการหมัก, กลูตามิลเปปไทด์, สารโคคูมิ

Project Title Analysis of kokumi glutamyl peptides in fermented freshwater fish (Pla-ra)

Student Name Jinnawat Suwanvela Student ID 6033009923

Advisor Name Associate Professor Preecha Phuwapraisirisan, Ph.D.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2020

Abstract

Pla-ra is a local intellect native to the Northeast of Thailand. It is produced by marinating small freshwater fish with salt and rice bran over a period of months. It is popularly used in a variety of Thai cuisines such as spicy papaya salad and chili paste to enhance taste of food. The enhanced taste is contributed by the presence of kokumi (Japanese word means “concentrated”) substances, particularly glutamyl peptides. This research aimed to study 3 factors, namely type of fish, fermentation recipes and fermentation time, effecting kokumi substances by quantifying a series of glutamyl peptides using liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The results showed that the climbing gourami and gouramis fermented with salt and rice bran for 12 months was the optimal condition for fish fermentation due to highest total quantity of glutamyl peptides detected.

Keywords: Fermentation, Kokumi Substances, Glutamyl peptide

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. ปรีชา ภูวไพรศิริศาล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่กรุณาให้ความสนับสนุน ความรู้ ความเมตตา คำแนะนำ และแนวทางในการดำเนินงานวิจัย ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในการทำโครงการและรายงานฉบับนี้ เป็นอย่างดียิ่งมาโดยตลอด ทำให้งานวิจัยและรายงานเล่มนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นวพร วินยเวคิน และ อาจารย์ ดร. จัญจุดา อุ่นเรืองศรี ที่กรุณาสละเวลาในการตรวจทานแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ตลอดจนให้คำแนะนำ และให้เกียรติมาเป็นคณะกรรมการในการสอบงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ นายอภินิหาร ผิวพรรณ นักวิจัยและพัฒนา จากบริษัท เบทาโกร จำกัด (มหาชน) ที่ได้อำนวยความสะดวกในการทำปฏิบัติการ ถ่ายทอดประสบการณ์ ความรู้ รวมถึงเทคนิคต่าง ๆ ในการใช้เครื่องมือในสาขาเทคโนโลยีการอาหาร ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในการทำรายงานฉบับนี้ และขอขอบคุณทางบริษัท เบทาโกร จำกัด (มหาชน) ที่ให้โอกาสในการฝึกงานโครงการสหกิจศึกษา ได้มีโอกาสทำงานหลาย ๆ อย่างที่ไม่เคยทำ ยกตัวอย่างเช่น ได้เรียนรู้หลักการและการประกอบชุดเครื่องแก้ว safe และการเตรียมกลิ่นและรสสำหรับงานทดสอบทางประสาทสัมผัส (sensory test)

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ “โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์และโครงการสหกิจศึกษา” คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้ ขอขอบพระคุณ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ถ่ายทอดความรู้ให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการทำวิจัยครั้งนี้และต่อยอดการทำงานในอนาคตได้ และรวมถึงกำลังใจจาก พ่อ แม่ ครอบครัว และ เพื่อน ๆ ในภาควิชาเคมีทุกคน ที่ได้ช่วยเหลือจนงานวิจัยนี้ผ่านลุล่วงไปได้ด้วยดี

จิณณวัตร สุวรรณเวลา

สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ง

กิตติกรรมประกาศ..... จ

สารบัญ..... ฉ

สารบัญรูป..... ซ

สารบัญตาราง..... ฌ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความสำคัญและมูลเหตุจูงใจ..... 1

1.2 วัตถุประสงค์..... 3

1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 3

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 5

บทที่ 2 การทดลอง.....6

2.1 ปลาร้าตัวอย่าง..... 6

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์..... 7

2.3 สารเคมี..... 7

2.4 วิธีการทดลอง..... 8

2.5 Condition เครื่อง LC-MS/MS..... 10

บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง.....11

บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง 26

4.1 สรุปผลการทดลอง..... 26

4.2 ข้อเสนอแนะ..... 26

บรรณานุกรม.....27

ประวัติผู้วิจัย 29

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1.1 ปริมาณสารกลุ่มกลูตามิลเปปไทด์ในตัวอย่างปลาร้าจากแหล่งต่างๆ.....2

ตารางที่ 1.2 ปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly ในน้ำปลาแต่ละยี่ห้อ.....3

ตารางที่ 1.3 ปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly ในซอสถั่วเหลืองแต่ละของแต่ละยี่ห้อ.....4

ตารางที่ 1.4 ปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly ของกะปิแต่ละยี่ห้อ.....5

ตารางที่ 2.1 Gradient table of LC-MS/MS.....10

ตารางที่ 3.1 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลาหมอ ของสูตรเกลือ.....12

ตารางที่ 3.2 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลาหมอ ของสูตรเกลือและข้าวคั่ว.....13

ตารางที่ 3.3 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลาหมอ ของสูตรเกลือและรำข้าว.....14

ตารางที่ 3.4 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลาหมอ ของสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว.....15

ตารางที่ 3.5 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลากระดี่ ของสูตรเกลือ.....16

ตารางที่ 3.6 ปริมาณสารโคคูมิแต่ละเดือนของปลากระดี่ ของสูตรเกลือและข้าวคั่ว.....17

ตารางที่ 3.7 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลากระดี่ ของสูตรเกลือและรำข้าว.....18

ตารางที่ 3.8 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลากระดี่ ของสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว.....19

ตารางที่ 3.9 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลารวม ของสูตรเกลือ.....20

ตารางที่ 3.10 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลารวม ของสูตรเกลือและข้าวคั่ว.....21

ตารางที่ 3.11 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลารวม ของสูตรเกลือและรำข้าว.....22

ตารางที่ 3.12 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลารวม ของสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว.....23

ตารางที่ 3.13 ความแตกต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลปริมาณสารโคคูมิ.....24

คำอธิบายสัญลักษณ์

γ-Glu-Gly	γ-Glutamyl-Glycine
γ-Glu-Ala	γ-Glutamyl-Alanine
γ-Glu-Val	γ-Glutamyl-Valine
γ-Glu-Ile	γ-Glutamyl-Isoleucine
γ-Glu-Gln	γ-Glutamyl-Glutamine
γ-Glu-Glu	γ-Glutamyl-Glutamic Acid
γ-Glu-Met	γ-Glutamyl-Methionine
γ-Glu-His	γ-Glutamyl-Histidine
γ-Glu-Phe	γ-Glutamyl-Phenylalanine
γ-Glu-Val-Gly	γ-Glutamyl-Valyl-Glycine
γ-Glu-Tyr	γ-Glutamyl-Tyrosine
γ-Glu-Trp	γ-Glutamyl-Tryptophan
α-Glu-Gly	α-Glutamyl-Glycine
α-Glu-Ala	α-Glutamyl-Alanine
α-Glu-Val	α-Glutamyl-Valine
α-Glu-Thr	α-Glutamyl-Threonine
α-Glu-Asp	α-Glutamyl-Aspartic Acid
α-Glu-Glu	α-Glutamyl-Glutamic Acid

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและมูลเหตุจูงใจ

ปลาร้า (fermented freshwater fish) เป็นอาหารหลักที่มีการบริโภคกันแพร่หลายในประเทศไทย โดยนำปลาน้ำจืดเช่น ปลาหมอหรือปลากระดี่มาทำการหมักด้วยเกลือและรำข้าว ซึ่งจะมีระยะเวลาการหมัก 7 ถึง 8 เดือน ปลาร้าถูกใช้เป็นวัตถุดิบในการปรุงอาหารเพื่อเพิ่มรสชาติ เช่น ส้มตำ, น้ำพริก [1,2] และหลน เป็นต้น การที่ปลาร้าสามารถเพิ่มรสชาติของอาหารได้เป็นผลมาจากกรดอะมิโนและเปปไทด์สายสั้นซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวเพิ่มรสชาติอูมามิ หวาน เค็ม และโคคูมิ [3]

สารโคคูมิ (kokumi substances) เป็นสารเสริมรสชาติ ซึ่งจะไปส่งเสริม 5 รสชาติหลัก โดยเฉพาะ รสหวาน รสเค็ม และรสอูมามิ แต่ตัวสารโคคูมินั้นเป็นสารที่ไม่มีรสชาติ [4,5] อย่างไรก็ตามสารโคคูมิสามารถเพิ่มรสชาติที่ไม่สามารถอธิบายได้ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ความต่อเนื่องของรสชาติ (continuity) [6] ความกลมกล่อม (thickness) และความรู้สึกเต็มภายในปาก (mouthfulness) สารโคคูมิเป็นสารกลุ่มไดหรือไตรเปปไทด์ ตัวอย่างของสารโคคูมิที่มีการศึกษาอย่างแพร่หลาย คือ สารกลุ่ม γ-glutamyl peptides เช่น γ-Glu-Gly, γ-Glu-Ala และ γ-Glu-Val-Gly เป็นต้น จากการศึกษาพบว่าสาร γ-Glu-Val-Gly เป็นสารโคคูมิที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มรสชาติอาหารมากที่สุดเมื่อเทียบกับสารโคคูมิอื่นๆ จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส (sensory test) γ-Glu-Val-Gly จะกระตุ้นประสาทสัมผัสได้เมื่อใช้สารในปริมาณที่น้อย คือ 66 μmol/kg เมื่อเทียบกับสารโคคูมิตัวอื่นที่ใช้สารปริมาณมากถึง 1,000 μmol/kg[7] ขึ้นไป ดังนั้น γ-Glu-Val-Gly จึงเป็นที่สนใจในการตรวจสอบ สารโคคูมิจะพบมากในอาหารและเครื่องปรุงที่ได้จากกระบวนการบ่มหรือหมักโปรตีน เช่น น้ำปลา [8] ซอสถั่วเหลือง [9] และ กะปิ [10] เป็นต้น โดยกระบวนการดังกล่าวจะย่อยโปรตีนให้เป็นเปปไทด์ที่มีสายสั้นลง

จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ของภินิหาร ผิวพรรณ และคณะ [3] ได้ศึกษาปริมาณ γ-glutamyl peptides จากปลาร้าที่ผลิตจากแหล่งต่างๆ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ซึ่งมีปลาหลากหลายชนิดที่ใช้ในการหมัก เช่น ปลาหมอและปลากระดี่ ใช้ระยะเวลาการหมัก 3 ถึง 12 เดือน จำนวน 10 ตัวอย่าง จาก การตรวจเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า กลุ่มแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (lactic acid bacteria) เช่น *Tetragenococcus sp.* และ *Lentibacillus sp.* ซึ่งแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้จะสัมพันธ์กับปริมาณของ γ-Glu-Val-Gly ซึ่งมีประสิทธิภาพ ในการเพิ่มรสชาติของอาหารสูงสุด จากนั้นนำตัวอย่างปลาร้ามาทำการตรวจวัดปริมาณ glutamyl peptides พบว่าปลาร้าตัวอย่าง B และ E มีปริมาณ γ-Glu-Val-Gly มากที่สุดคือ 2.47 ± 0.07 μmol/kg และ 2.06 ± 1.24 μmol/kg ตามลำดับ ดังตาราง 1.1

ตารางที่ 1.1 ปริมาณสารกลุ่มกลูตามิลเปปไทด์ในตัวอย่างปลาร้าจากแหล่งต่างๆ[3]

Glutamyl peptides	Amount of glutamyl peptides in the samples (μmol/kg)									
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
γ-Glu-Gly	0.00±0.00	0.60±0.04	8.08±10.68	0.04±0.01	0.32±0.04	0.37±0.01	0.10±0.01	0.06±0.05	0.06±0.00	3.88±1.55
γ-Glu-Ala	0.00±0.00	0.36±0.10	0.00±0.00	0.20±0.01	0.78±0.11	0.42±0.05	0.09±0.00	0.00±0.00	0.07±0.01	0.00±0.00
γ-Glu-Val	0.00±0.00	0.06±0.01	2.16±3.03	0.03±0.00	0.05±0.01	0.12±0.02	0.01±0.00	0.01±0.00	0.04±0.00	0.05±0.02
γ-Glu-Ile	0.00±0.00	0.05±0.00	0.01±0.01	0.04±0.01	0.04±0.00	0.09±0.06	0.00±0.00	0.01±0.00	0.02±0.00	0.00±0.00
γ-Glu-Gln	0.00±0.00	1.63±1.54	0.01±0.00	0.89±0.40	0.55±0.31	0.34±0.02	0.31±0.12	0.10±0.00	0.03±0.00	0.40±0.05
γ-Glu-Glu	0.00±0.00	0.14±0.23	0.01±0.01	0.43±0.21	2.48±1.16	1.42±0.28	1.54±0.43	0.36±0.19	0.95±0.44	0.23±0.01
γ-Glu-Met	0.00±0.00	0.00±0.00	0.17±0.09	0.01±0.00	0.08±0.03	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.28±0.11
γ-Glu-His	0.00±0.00	0.21±0.02	0.00±0.00	0.01±0.00	0.28±0.03	0.11±0.04	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.08±0.07
γ-Glu-Phe	0.00±0.00	0.00±0.00	0.07±0.01	0.02±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	1.20±0.49	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
γ-Glu-Val-Gly	0.00±0.00	2.47±0.07	0.03±0.01	0.01±0.00	2.06±1.24	0.06±0.02	0.13±0.09	0.00±0.00	0.00±0.00	0.01±0.00
γ-Glu-Tyr	0.00±0.00	0.02±0.00	0.03±0.01	0.01±0.00	0.03±0.00	0.03±0.01	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	1.08±0.43
γ-Glu-Trp	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
α-Glu-Gly	0.01±0.01	0.00±0.00	9.32±1.30	0.06±0.01	3.61±0.81	0.54±0.03	0.19±0.01	0.00±0.00	2.29±0.94	0.44±0.11
α-Glu-Ala	0.00±0.00	0.31±0.14	0.24±0.16	1.60±0.69	0.53±0.06	1.13±0.07	0.09±0.02	0.05±0.01	0.18±0.06	0.26±0.02
α-Glu-Val	0.00±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00	0.26±0.02	0.16±0.08	0.32±0.02	0.04±0.00	0.02±0.00	1.13±0.56	0.01±0.00
α-Glu-Thr	0.00±0.00	0.75±0.01	0.02±0.02	1.83±0.03	0.09±0.46	0.01±0.84	0.46±0.00	0.04±0.05	0.00±0.55	0.13±0.19
α-Glu-Asp	0.00±0.00	0.01±0.00	0.02±0.01	0.03±0.00	0.46±0.15	0.84±0.09	0.00±0.00	0.05±0.01	0.55±0.13	0.00±0.00
α-Glu-Glu	0.00±0.00	3.95±1.49	1.47±0.40	0.41±0.21	0.55±0.34	0.07±0.00	0.34±0.16	0.02±0.01	0.00±0.00	0.03±0.00

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะต่อยอดโครงการของอภินิหาร ผิวพรรณ โดยการออกแบบสูตรการหมักของปลาร้าโดยใช้ปัจจัยแตกต่างกัน ได้แก่ชนิดของปลา สูตรของการหมัก และระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก เพื่อที่จะสามารถนำไปหาความสัมพันธ์กับปริมาณของสารโคคูมิ เพื่อให้ได้สูตรของปลาร้าที่มีปริมาณสารโคคูมิสูงสุด

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อหาปัจจัยที่เหมาะสมในการหมักปลาร้า ได้แก่ ชนิดของปลา สูตรการหมัก และระยะเวลาการหมัก เพื่อให้ได้ปริมาณสารโคคูมิที่มากที่สุด

1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการสืบค้นรายงานการตรวจวัดปริมาณสารกลุ่มกลูตามิลเปปไทด์ พบว่ามีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการรายงานผลของสารโคคูมิจำนวนมาก โดยพบว่าการเพิ่มขึ้นของสารโคคูมิ จะพบในอาหารที่มีการหมัก เช่น

Motonaka Kuroda และ คณะ (2013) ทำการตรวจวัดปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly ในน้ำปลาที่นำมาจากแหล่งต่างๆ ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าปริมาณ γ-Glu-Val-Gly มีมากในน้ำปลาเวียดนาม (Nuoc Mum) และน้ำปลาไทย (Nampra) ในทางกลับกันระดับของเปปไทด์นี้ลดลงในน้ำปลาจากฟิลิปปินส์ จีน เกาหลี ญี่ปุ่นและอิตาลีความแตกต่างของปริมาณ γ-Glu-Val-Gly นี้น่าจะสะท้อนให้เห็นความแตกต่างของพันธุ์ปลาและสูตรการหมักน้ำปลาที่ใช้ในแต่ละประเทศ

ตารางที่ 1.2 ปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly ในน้ำปลาแต่ละยี่ห้อ[8]

samples	country of origin	contents of γ-Glu-Val-Gly (mg/dL)
Nampra A	Thailand	0.27
Nampra B	Thailand	0.12
Nampra C	Thailand	0.31
Nampra D	Thailand	0.20
Nampra E	Thailand	0.23
Nuoc Mum A	Vietnam	1.20
Nuoc Mum B	Vietnam	1.26
Nuoc Mum C	Vietnam	1.23
Nuoc Mum D	Vietnam	1.06
Nuoc Mum E	Vietnam	1.04
Patis	Philippines	<LOQ[a]
Yu-lu A	China	<LOQ
Yu-lu B	China	0.11
Myoruchi extract	Korea	<LOQ
Kanari extract	Korea	<LOQ
Shottsuru A	Japan	0.28
Shottsuru B	Japan	<LOQ
Yoshiru	Japan	<LOQ
Ikanago-shoyu	Japan	0.05
Garum	Italy	0.04

[a]LOQ: limit of quantification.

Motonaka Kuroda และคณะ (2013) ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณของสาร γ-Glu-Val-Gly ในซอสถั่วเหลืองของแต่ละยี่ห้อที่ผลิตในญี่ปุ่น และจากผลการทดลองสามารถตรวจพบสาร γ-Glu-Val-Gly ได้ในซอสถั่วเหลืองทุกยี่ห้อ โดยใน koikuchi-shoyu มีปริมาณของ γ-Glu-Val-Gly ตั้งแต่ 0.31 - 0.61 mg/dl ในขณะที่ usukuchi-shoyu มีค่าตั้งแต่ 0.34 - 0.37 mg/dl และใน shiro-shoyu มีค่า 0.15 mg/dl ผลลัพธ์เหล่านี้บ่งชี้ว่า γ-Glu-Val-Gly สามารถพบเจอได้ในในซอสถั่วเหลืองของประเทศญี่ปุ่น

ตารางที่ 1.3 ปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly ในซอสถั่วเหลืองแต่ละของแต่ละยี่ห้อ[9]

Samples	Manufacturer	Grade	Contents of γ-Glu-Val-Gly (mg/dl)
Dark-coloured soy sauce A	P	Super	0.52
Dark-coloured soy sauce B	Q	Super	0.53
Dark-coloured soy sauce C	Q	Ordinary	0.43
Dark-coloured soy sauce D	R	Ordinary	0.31
Dark-coloured soy sauce E	Q	Ultrasuper	0.61
Dark-coloured soy sauce F	S	Super	0.36
Light-coloured soy sauce A	T	Ordinary	0.37
Light-coloured soy sauce B	P	Ordinary	0.34
White soy sauce	T	Ordinary	0.15

Naohiro Miyamura และคณะ (2014) ทำการตรวจวัดปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly ในกะปิที่ผลิตจากแหล่งต่างๆ โดยใน กะปิอินโดนีเซีย (Terasi) จะพบสาร γ-Glu-Val-Gly 5.2 µg / g กะปิฟิลิปปินส์ (Bagoong) 1.0 µg / g และ กะปิจีน (Xiajiang) 0.9 µg / g จากการทดลองพบสาร γ-Glu-Val-Gly มากที่สุดในกะปิอินโดนีเซีย (Terasi) ความแตกต่างของปริมาณเปปไทด์นี้น่าจะเกิดจากความแตกต่างของสายพันธุ์กุ้ง จุลินทรีย์ และสูตรการหมัก

ตารางที่ 1.4 ปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly ของกะปิแต่ละยี่ห้อ[10]

Samples	Country of Origin	Contents of γ-Glu-Val-Gly* (µg/g)
Terasi	Indonesia	5.2 ± 0.33
Bagoong	Philippines	1.0 ± 0.06
Xiajiang	China	0.9 ± 0.05

*: Mean ± standard deviation (n=3)

จากงานวิจัยข้างต้น สาร γ-Glu-Val-Gly เป็นสารที่ถูกนำมาประยุกต์ใช้มากในด้านเทคโนโลยีการอาหาร เนื่องจากเป็นสารที่สามารถช่วยเพิ่มรสชาติของอาหารได้ จึงได้ศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly ซึ่งปัจจัยหลักที่พบมากที่สุดจะเกิดจากกระบวนการหมัก ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่มีการผลิตกรดแลคติก ทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจในการออกแบบสูตรการหมักปลาร้าเพื่อให้ได้ปริมาณสารโคคูมิสูงสุด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ทราบถึงสูตรการหมักปลาร้าที่ให้ปริมาณสารโคคูมิสูงที่สุด

บทที่ 2
การทดลอง

2.1 ปลาร้าตัวอย่าง

ปลาร้าที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ เป็นปลาร้าที่ได้จากการออกแบบการหมัก ซึ่งจะมีการหมักใส่ไหและมีการปิดไหด้วยการห่อพลาสติกเพื่อควบคุมคุณภาพ โดยมีปัจจัยที่แตกต่างกันดังนี้

1. ระยะเวลาการหมักทั้ง 9 ระยะ ได้แก่ การหมักระยะเวลา 1 3 5 7 8 9 10 11 และ 12 เดือน โดยในโครงการนี้จะเริ่มนับเดือนที่ 1 คือ มกราคม 2562 ซึ่งในโครงการสหกิจศึกษานี้จะทำการตรวจวัดสารในกลุ่ม glutamyl peptide (KOKUMI) ในตัวอย่างปลาร้า

2. ชนิดของปลาแบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ ปลาหมอ (MO) ปลากระดี่ (KD) และทั้งปลาหมอและกระดี่ (MIX) ในอัตรา 1:1 ตามลำดับ โดยปลาแต่ละชนิดจะมีกระบวนการทำความสะอาด คือ การล้าง ขอดเกล็ด ควักไส้ และตัดหัว

3. สูตรการหมักแบ่งออกเป็น 4 สูตร ได้แก่

3.1 หมักด้วยเกลือ (CT) จะทำการเตรียมสารละลายเกลือ โดยใช้เกลือหนัก 150 กรัม ในน้ำปริมาตร 720 มิลลิลิตร (สารละลายเกลือเข้มข้น 20% โดยมวล/ปริมาตร) และใช้น้ำหนักปลา ประมาณ 600 กรัม หรือ ปลา:เกลือ ในอัตราส่วน 4:1 โดยน้ำหนัก เพื่อใช้เป็นตัวควบคุม (control)

3.2 หมักด้วยเกลือและข้าวคั่ว (RR) จะทำการเตรียมคล้ายกับการหมักด้วยเกลือ แต่จะเติมข้าวคั่วหนักประมาณ 120 กรัม (สารละลายที่มีข้าวคั่ว 16% โดยมวล/ปริมาตร) หรือ ปลา:เกลือ:ข้าวคั่ว ในอัตราส่วน 4:1:1 โดยน้ำหนัก

3.3 หมักด้วยเกลือและรำข้าว (BN) จะทำการเตรียมคล้ายกับการหมักด้วยเกลือ แต่จะเติมรำข้าวหนักประมาณ 120 กรัม (สารละลายที่มีรำข้าว 16% โดยมวล/ปริมาตร) หรือ ปลา:เกลือ:รำข้าว ในอัตราส่วน 4:1:1 โดยน้ำหนัก

3.4 หมักด้วยเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว (MIX) จะทำการเตรียมคล้ายกับการหมักด้วยเกลือ แต่จะเติมข้าวคั่วหนัก 60 กรัม และเติมรำข้าวหนัก 60 กรัม (สารละลายที่มีข้าวคั่ว 8% โดยมวล/ปริมาตร และมีรำข้าว 8% โดยมวล/ปริมาตร) หรือ ปลา:เกลือ:ข้าวคั่ว:รำข้าว ในอัตราส่วน 4:1:0.5:0.5 โดยน้ำหนัก

ซึ่งการหมักปลาร้าได้รับความอนุเคราะห์ด้านสถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์ และกำลังคนจากบริษัท สยามพรีเสิร์ฟฟู้ดส์ จำกัด ตำบลเจ็ดเสมียน อำเภอโพธาราม จังหวัดราชบุรี

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Ultraperformance LC–MS/ MS system (QTRAP 5500, SCIEX, Framingham, MA, U.S.A.)

2. Analytical Column ยี่ห้อ Agilent InfinityLab Poroshell 120 150 × 2.1 mm inner diameter, 1.9 µm

3. Magnetic stirrer (IKA C-MAG HS7, IKA, Oxford, U.K.)

4. Rotary evaporator (Hei-VAP Core, Schwabach, Germany)

5. Centrifuge (Sorvall WX+ Ultra series, Thermo Scientific, Waltham, MA, U.S.A.),

6. Freeze dryer (FreeZone 4.5L, Labconco, Kansas City, MO, U.S.A.)

7. บีกเกอร์ (beaker)

8. ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)

9. กระบอกตวง (cylinder)

10. ไมโครปิเปตต์ (micropipette)

11. สปาตูลา (spatula)

12. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง (analytical balance 4 digit)

2.3 สารเคมี

1. อะซิโตไนไตรล์ (Acetonitrile)

2. กรดฟอร์มิก (Formic acid)

3. เมทานอล (Methanol, MeOH)

2.4 วิธีการทดลอง

1. ศึกษา สืบค้นข้อมูลสารสนเทศ งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และเตรียมปลาร้าตัวอย่าง
2. นำปลาร้าตัวอย่างมาทำการแยกส่วนของเนื้อปลา และน้ำปลาร้าออกจากกัน
3. นำส่วนของเนื้อปลา มาปั่นให้ละเอียด
4. นำส่วนของเนื้อปลาที่ปั่นมาผสมกับน้ำปลาร้าในอัตราส่วน 70:30 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ
5. นำของผสมที่ได้มาสกัดด้วยเมทานอล 100-200 mL ต่อของผสม 50 g
6. นำมาคนด้วย Magnetic stirrer เป็นเวลา 45 min
7. นำมาผ่านกระบวนการ Ultra-centrifuge 8,000 rpm เป็นเวลา 15 min

    7.1 นำส่วนที่เป็นตะกอนนำไปสกัดด้วยเมทานอล

    7.2 นำส่วนของเหลวนำไป Rotary Evap 200 mBar เพื่อระเหยเมทานอลออก

8. นำส่วนของเหลวจากขั้นตอน 7.2 มาปรับปริมาตรเป็น 40 ml ด้วยน้ำ Milli-Q
9. นำสารละลายไป Freeze dry
10. การเตรียมสารเพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ LC-MS/MS

    10.1 ละลายตัวอย่างปลาร้า 0.35 g ในน้ำ Milli-Q 3.5 mL

    10.2 นำของผสมที่ได้มาทำการกรองด้วย Syringe เพื่อแยกแต่ส่วนสารละลายออกมา

    10.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูตามิลเปปไทด์ทั้ง 18 ชนิด ในหลอดเดียวกัน ซึ่งสารมาตรฐานกลูตามิลเปปไทด์ แต่ละตัวจะมีความเข้มข้น 5.5555 ng/ml

    10.4 ปิเปตต์สารตัวอย่างในข้อ 10.1 มา 500 µL ใส่ขวดไวแอล 2 ขวด ทำซ้ำ 3 ครั้ง

        10.4.1 ขวดที่ 1 ปิเปตต์สารมาตรฐาน Glutamyl peptide 500 µL

        10.4.2 ขวดที่ 2 ปิเปตต์น้ำ Milli-Q 500 µL

11 นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ LC-MS/MS

12. นำข้อมูลที่ได้ ไปคำนวณข้อมูลทางสถิติ โดยมีวิธีคำนวณดังนี้

    12.1 จากข้อ 10.4 สารกลูตามิลเปปไทด์แต่ละตัวจะมีความเข้มข้น 2.7778 ng/mL ส่วนตัวอย่างจะมีความเข้มข้น 50 mg/ml

12.2 การทดสอบด้วยเครื่อง LC-MS เป็นแบบเติมสารมาตรฐานเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้เติม ดังนี้

พื้นที่ใต้กราฟตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน (A) – พื้นที่ใต้กราฟตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารมาตรฐาน (B) = พื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐาน (C)

12.3 จากข้อ 12.2 จะได้ว่า พื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานแต่ละตัวเป็นเท่าไรแล้วจึงนำไปเปรียบเทียบกับพื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารมาตรฐาน

12.4 จากข้อ 12.3 เมื่อทราบว่าสารแต่ละตัวมีปริมาณเท่าไดก็คำนวณกลับไปหาควาเข้มข้นของสารนั้นๆ ในตัวอย่าง โดยคำนวณในหน่วยของ µM / Kg sample

12.5 ตัวอย่างการคำนวณ

G-Glu-Met :

มีพื้นที่ (A) = 4.2014×10^5 ที่อ่านได้จากตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน (std)

มีพื้นที่ (B) = 3.2514×10^5 ที่อ่านได้จากตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน

ดังนั้นพื้นที่ (C) = A – B = 9.5×10^4 ซึ่งเทียบเป็นสาร G-Glu-Met ที่มีความเข้มข้น 2.7778 ng/ml เปรียบเทียบว่า G-Glu-Met ความเข้มข้น 2.7778 ng/ml มีพื้นที่ 9.5×10^4 ถ้ามีพื้นที่เท่ากับ (B) 3.2514×10^5 จะคิดเป็นความเข้มข้น = $3.2514 \times 10^5 \times 2.7778 / 9.5 \times 10^4$ = 9.50 ng/ml

ตัวอย่าง 50 mg มีสารอยู่ 9.5 ng ถ้าสาร 1 กรัม จะมีสารอยู่ = 9.5 x 1000 / 50 = 0.190 µg สาร G-Glu-Met มี MW = 302.34

ดังนั้น จึงมีสารอยู่ = 0.190 / 302.34 = 0.0006284 µMole สาร 0.0006284 µMole มาจากตัวอย่าง 1 g

ถ้าตัวอย่าง 1000 g จะมีสาร = 0.6284 µmol / Kg sample

13. วิเคราะห์ข้อมูล สรุปผล และเขียนรายงาน

2.5 Condition เครื่อง LC-MS/MS

2.5.1 การเตรียม Mobile Phase (MP)

MP A: 0.1% Formic acid in Acetonitrile

MP B: 0.1% Formic acid in Milli-Q water

2.5.2 Condition เครื่อง LC-MS/MS

Injection Volume: 5.000 µl

Flow rate: 0.2 mL/min

Gradient Table

ตารางที่ 2.1 Gradient table of LC-MS/MS

	Total Time (min)	Flow Rate (µl/min)	A (%)	B (%)
0	0.00	200	0.0	100.0
1	6.00	200	0.0	100.0
2	10.00	200	10.0	90.0
3	14.00	200	100.0	0.0
4	19.00	200	100.0	0.0
5	21.00	200	0.0	100.0
6	30.00	200	0.0	100.0

บทที่ 3
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

ความแตกต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อปริมาณสารโคคูมิ

จากการตรวจวัดปริมาณสารโคคูมิกลุ่มกลูตามิลเปปไทด์ในปลาร้าที่หมักด้วยปัจจัยที่แตกต่างกัน ได้แก่ ชนิดของปลา สูตรการหมัก และระยะเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าการหมักปลาหมอด้วยสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 1, 8 และ 12 เดือนจะได้ผลการทดลองดังนี้

1. ระยะเวลาการหมัก 1 เดือน สูตรที่ให้ปริมาณสารโคคูมิมากที่สุดคือ สูตรเกลือและข้าวคั่ว ซึ่งให้ปริมาณสารโคคูมิเท่ากับ 12.527 ± 4.267 μmol/kg.sample
2. ระยะเวลาการหมัก 8 เดือน สูตรที่ให้ปริมาณสารโคคูมิมากที่สุดคือ สูตรเกลือ ซึ่งให้ปริมาณสารโคคูมิเท่ากับ 14.908 ± 5.794 μmol/kg.sample
3. ระยะเวลาการหมัก 12 เดือน สูตรที่ให้ปริมาณสารโคคูมิมากที่สุดคือ สูตรเกลือและรำข้าว ให้ปริมาณสารโคคูมิเท่ากับ 105.808 ± 51.377 μmol/kg.sample

ตารางที่ 3.1 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลาหมอ ของสูตรเกลือ

สาร	ปริมาณสารโคคูมิ (µmol/kg.sample)		
	1 เดือน	8 เดือน	12 เดือน
A-Glu-Ala	0.023 ± 0.02	0.319 ± 0.093	0.000 ± 0.000
A-Glu-Asp	0.293 ± 0.239	0.232 ± 0.177	0.000 ± 0.000
A-Glu-Glu	0.047 ± 0.012	1.097 ± 0.955	0.630 ± 0.065
A-Glu-Gly	0.185 ± 0.259	0.600 ± 0.202	0.455 ± 0.036
A-Glu-Thr	0.010 ± 0.010	0.311 ± 0.136	4.014 ± 0.887
A-Glu-Val	0.046 ± 0.005	0.419 ± 0.059	7.768 ± 2.413
G-Glu-Ala	0.974 ± 0.559	0.540 ± 0.356	0.000 ± 0.000
G-Glu-Gln	0.068 ± 0.043	1.813 ± 1.011	0.594 ± 0.373
G-Glu-Glu	0.032 ± 0.023	0.229 ± 0.056	3.947 ± 2.037
G-Glu-Gly	0.496 ± 0.788	0.364 ± 0.016	3.669 ± 2.000
G-Glu-His	0.784 ± 0.440	0.533 ± 0.137	0.415 ± 0.203
G-Glu-Ile	0.020 ± 0.022	1.510 ± 0.286	16.368 ± 2.873
G-Glu-Met	2.034 ± 1.184	0.216 ± 0.063	2.103 ± 0.933
G-Glu-Phe	1.172 ± 1.098	0.677 ± 0.066	2.254 ± 1.501
G-Glu-Trp	0.043 ± 0.003	0.000 ± 0.000	0.548 ± 0.287
G-Glu-Tyr	1.622 ±1.402	0.574 ± 0.088	0.603 ± 0.298
G-Glu-Val-Gly	0.215 ± 0.223	0.500 ± 0.317	0.748 ± 0.687
G-Glu-Val	1.292 ± 1.096	4.977 ± 1.776	1.425 ± 1.056

ตารางที่ 3.2 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลาหมอ ของสูตรเกลือและข้าวคั่ว

สาร	ปริมาณสารโคคูมิ (µmol/kg.sample)		
	1 เดือน	8 เดือน	12 เดือน
A-Glu-Ala	0.026 ± 0.001	0.241 ± 0.186	0.000 ± 0.000
A-Glu-Asp	0.041 ± 0.001	1.376 ± 0.913	1.706 ± 0.600
A-Glu-Glu	0.049 ± 0.003	1.171 ± 0.020	2.724 ± 0.206
A-Glu-Gly	3.191 ± 0.773	2.728 ± 3.339	0.028 ± 0.008
A-Glu-Thr	0.497 ± 0.046	1.579 ± 1.239	0.509 ± 0.130
A-Glu-Val	0.879 ± 0.088	0.302 ± 0.262	26.579 ± 6.463
G-Glu-Ala	1.169 ± 0.928	0.697 ± 0.489	0.000 ± 0.000
G-Glu-Gln	0.000 ± 0.000	0.262 ± 0.227	0.830 ± 0.611
G-Glu-Glu	2.158 ± 1.087	0.389 ± 0.144	6.636 ± 1.691
G-Glu-Gly	0.170 ± 0.115	0.483 ± 0.340	3.884 ± 2.948
G-Glu-His	0.000 ± 0.000	1.211 ± 0.557	1.729 ± 0.305
G-Glu-Ile	0.156 ± 0.197	0.254 ± 0.220	3.844 ± 1.690
G-Glu-Met	0.044 ± 0.002	0.000 ± 0.000	2.248 ± 0.492
G-Glu-Phe	1.230 ± 0.363	0.050 ± 0.040	6.111 ± 2.723
G-Glu-Trp	0.049 ± 0.006	0.000 ± 0.000	0.734 ± 0.606
G-Glu-Tyr	2.642 ± 0.613	0.067 ± 0.038	4.296 ± 4.351
G-Glu-Val-Gly	0.170 ± 0.043	0.346 ± 0.054	0.915 ± 0.219
G-Glu-Val	0.055 ± 0.002	0.000 ± 0.000	15.342 ± 3.899

ตารางที่ 3.3 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลาหมอ ของสูตรเกลือและรำข้าว

สาร	ปริมาณสารโคคูมิ (µmol/kg.sample)		
	1 เดือน	8 เดือน	12 เดือน
A-Glu-Ala	0.028 ± 0.001	0.349 ± 0.329	1.867 ± 0.615
A-Glu-Asp	0.035 ± 0.006	0.668 ± 0.439	5.517 ± 1.753
A-Glu-Glu	0.181 ± 0.237	0.000 ± 0.000	20.775 ± 5.001
A-Glu-Gly	0.023 ± 0.019	0.750 ± 0.108	0.564 ± 0.172
A-Glu-Thr	0.064 ± 0.035	0.486 ± 0.101	0.450 ± 0.278
A-Glu-Val	0.048 ± 0.002	0.369 ± 0.302	7.949 ± 2.711
G-Glu-Ala	0.042 ± 0.006	0.448 ± 0.375	0.385 ± 0.000
G-Glu-Gln	0.041 ± 0.009	0.000 ± 0.000	1.074 ± 0.542
G-Glu-Glu	0.036 ± 0.015	0.451 ± 0.091	3.879 ± 1.485
G-Glu-Gly	0.035 ± 0.012	0.231 ± 0.121	4.096 ± 1.621
G-Glu-His	0.066 ± 0.004	0.000 ± 0.000	6.257 ± 4.059
G-Glu-Ile	0.541 ± 0.332	0.000 ± 0.000	19.249 ± 12.461
G-Glu-Met	0.040 ± 0.003	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
G-Glu-Phe	0.040 ± 0.000	0.343 ± 0.238	6.681 ± 1.761
G-Glu-Trp	0.044 ± 0.014	0.282 ± 0.181	1.181 ± 0.245
G-Glu-Tyr	0.033 ± 0.009	0.000 ± 0.000	2.143 ± 0.811
G-Glu-Val-Gly	0.392 ± 0.607	0.340 ± 0.160	0.573 ± 0.239
G-Glu-Val	0.053 ± 0.005	0.000 ± 0.000	23.169 ± 17.623

ตารางที่ 3.4 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลาหมอ ของสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว

สาร	ปริมาณสารโคคูมิ (µmol/kg.sample)		
	1 เดือน	8 เดือน	12 เดือน
A-Glu-Ala	0.018 ± 0.010	0.259 ± 0.041	0.439 ± 0.320
A-Glu-Asp	0.031 ± 0.012	0.019 ± 0.010	0.982 ± 0.316
A-Glu-Glu	0.092 ± 0.098	0.044 ± 0.003	2.358 ± 1.162
A-Glu-Gly	0.033 ± 0.023	0.375 ± 0.010	2.934 ± 0.392
A-Glu-Thr	0.022 ± 0.021	0.454 ± 0.185	3.079 ± 2.554
A-Glu-Val	0.027 ± 0.033	0.519 ± 0.233	2.626 ± 0.903
G-Glu-Ala	0.027 ± 0.015	1.623 ± 1.154	0.741 ± 0.950
G-Glu-Gln	0.036 ± 0.023	0.659 ± 0.414	0.851 ± 0.588
G-Glu-Glu	0.044 ± 0.032	0.619 ± 0.403	3.020 ± 2.442
G-Glu-Gly	0.023 ± 0.019	0.307 ± 0.113	1.235 ± 0.734
G-Glu-His	0.047 ± 0.001	0.000 ± 0.000	1.021 ± 0.569
G-Glu-Ile	0.131 ± 0.219	0.000 ± 0.000	0.143 ± 0.036
G-Glu-Met	0.042 ± 0.019	0.467 ± 0.173	0.530 ± 0.205
G-Glu-Phe	0.356 ± 0.011	4.374 ± 2.323	28.894 ± 12.800
G-Glu-Trp	0.041 ± 0.031	0.465 ± 0.230	2.875 ± 0.877
G-Glu-Tyr	0.057 ± 0.040	0.688 ± 0.255	4.470 ± 2.262
G-Glu-Val-Gly	0.037 ± 0.021	0.223 ± 0.092	4.245 ± 1.135
G-Glu-Val	0.046 ± 0.029	0.546 ± 0.104	4.375 ± 2.627

การหมักปลากระดี่ด้วยสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 1, 8 และ 12 เดือน พบผลการทดลองเป็นดังนี้

1. ระยะเวลาการหมัก 1 เดือน สูตรที่ให้ปริมาณสารโคคูมิมากที่สุดคือ สูตรเกลือและข้าวคั่ว ซึ่งให้ปริมาณสารโคคูมิเท่ากับ 14.672 ± 9.755 μmol/kg.sample
2. ระยะเวลาการหมัก 8 เดือน สูตรที่ให้ปริมาณสารโคคูมิมากที่สุดคือ สูตรเกลือและรำข้าว ซึ่งให้ปริมาณสารโคคูมิเท่ากับ 27.116 ± 13.375 μmol/kg.sample
3. ระยะเวลาการหมัก 12 เดือน สูตรที่ให้ปริมาณสารโคคูมิมากที่สุดคือ สูตรเกลือและรำข้าว ซึ่งให้ปริมาณสารโคคูมิเท่ากับ 144.108 ± 71.291 μmol/kg.sample

ตารางที่ 3.5 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลากระดี่ ของสูตรเกลือ

สาร	ปริมาณสารโคคูมิ (μmol/kg.sample)		
	1 เดือน	8 เดือน	12 เดือน
A-Glu-Ala	0.289 ± 0.367	0.279 ± 0.039	0.723 ± 0.453
A-Glu-Asp	0.190 ± 0.293	0.326 ± 0.104	3.864 ± 1.992
A-Glu-Glu	0.415 ± 0.141	0.332 ± 0.083	12.747 ± 6.829
A-Glu-Gly	0.135 ± 0.082	0.258 ± 0.199	2.569 ± 0.249
A-Glu-Thr	0.250 ± 0.433	0.283 ± 0.188	0.562 ± 0.401
A-Glu-Val	1.131 ± 0.622	0.456 ± 0.002	25.370 ± 17.930
G-Glu-Ala	0.461 ± 0.502	0.000 ± 0.000	0.411 ± 0.036
G-Glu-Gln	0.388 ± 0.012	0.405 ± 0.064	13.113 ± 3.990
G-Glu-Glu	1.502 ± 1.252	1.122 ± 0.634	7.866 ± 3.432
G-Glu-Gly	1.147 ± 0.364	0.258 ± 0.160	10.198 ± 2.556
G-Glu-His	1.252 ± 0.815	0.556 ± 0.177	1.026 ± 0.495
G-Glu-Ile	0.914 ± 0.751	0.384 ± 0.000	8.912 ± 6.716
G-Glu-Met	0.328 ± 0.251	0.392 ± 0.039	29.069 ± 16.364
G-Glu-Phe	0.327 ± 0.104	0.364 ± 0.000	2.515 ± 1.227
G-Glu-Trp	0.875 ± 0.540	0.412 ± 0.001	5.525 ± 3.739
G-Glu-Tyr	0.520 ± 0.201	0.447 ± 0.068	0.597 ± 0.155
G-Glu-Val-Gly	1.415 ± 1.018	0.345 ± 0.011	0.324 ± 0.067
G-Glu-Val	1.040 ± 0.546	0.467 ± 0.012	15.253 ± 1.200

ตารางที่ 3.6 ปริมาณสารโคคูมิแต่ละเดือนของปลากระดี่ ของสูตรเกลือและข้าวคั่ว

สาร	ปริมาณสารโคคูมิ (µmol/kg.sample)		
	1 เดือน	8 เดือน	12 เดือน
A-Glu-Ala	0.009 ± 0.012	0.792 ± 0.090	0.402 ± 0.052
A-Glu-Asp	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
A-Glu-Glu	1.480 ± 0.425	1.843 ± 1.024	13.252 ± 1.882
A-Glu-Gly	1.364 ± 1.210	0.047 ± 0.065	4.222 ± 1.191
A-Glu-Thr	0.484 ± 0.475	3.169 ± 2.849	0.282 ± 0.240
A-Glu-Val	0.214 ± 0.180	4.188 ± 3.063	3.442 ± 1.583
G-Glu-Ala	2.046 ± 0.512	0.000 ± 0.000	0.242 ± 0.135
G-Glu-Gln	0.330 ± 0.251	0.448 ± 0.198	3.586 ± 2.098
G-Glu-Glu	1.777 ± 1.523	5.882 ± 1.767	1.807 ± 1.551
G-Glu-Gly	1.288 ± 0.877	0.228 ± 0.158	1.994 ± 0.737
G-Glu-His	0.105 ± 0.038	0.425 ± 0.000	2.049 ± 0.735
G-Glu-Ile	0.683 ± 0.115	0.304 ± 0.182	1.459 ± 0.719
G-Glu-Met	0.664 ± 0.589	1.497 ± 1.110	1.126 ± 0.641
G-Glu-Phe	1.130 ± 0.927	2.215 ± 1.384	4.869 ± 1.430
G-Glu-Trp	0.551 ± 0.149	0.000 ± 0.000	27.794 ± 12.641
G-Glu-Tyr	0.733 ± 0.595	0.597 ± 0.527	5.492 ± 1.254
G-Glu-Val-Gly	0.798 ± 0.716	2.017 ± 0.738	25.783 ± 17.916
G-Glu-Val	1.016 ± 1.162	0.612 ± 0.251	14.825 ± 3.211

ตารางที่ 3.7 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลากระดี่ ของสูตรเกลือและรำข้าว

สาร	ปริมาณสารโคคูมิ (µmol/kg.sample)		
	1 เดือน	8 เดือน	12 เดือน
A-Glu-Ala	0.790 ± 0.706	4.478 ± 3.330	0.486 ± 0.572
A-Glu-Asp	0.297 ± 0.272	0.604 ± 0.283	3.864 ± 1.992
A-Glu-Glu	1.630 ± 0.998	4.294 ± 1.801	12.747 ± 6.829
A-Glu-Gly	0.272 ± 0.203	0.036 ± 0.013	2.569 ± 0.249
A-Glu-Thr	0.185 ± 0.280	1.202 ± 0.330	0.947 ± 0.274
A-Glu-Val	0.053 ± 0.086	2.307 ± 1.996	25.370 ± 17.930
G-Glu-Ala	0.847 ± 0.772	0.000 ± 0.000	0.274 ± 0.239
G-Glu-Gln	0.349 ± 0.213	1.500 ± 0.607	13.113 ± 3.990
G-Glu-Glu	1.368 ± 0.086	2.587 ± 1.442	7.866 ± 3.432
G-Glu-Gly	0.747 ± 0.255	0.788 ± 0.241	10.198 ± 2.556
G-Glu-His	0.980 ± 0.655	0.000 ± 0.000	1.026 ± 0.495
G-Glu-Ile	0.728 ± 0.622	4.132 ± 1.242	8.912 ± 6.716
G-Glu-Met	0.160 ± 0.214	0.644 ± 0.133	29.069 ± 16.364
G-Glu-Phe	0.006 ± 0.004	0.733 ± 0.085	3.129 ± 0.652
G-Glu-Trp	0.007 ± 0.004	0.000 ± 0.000	5.525 ± 3.739
G-Glu-Tyr	0.167 ± 0.177	3.776 ± 1.860	0.597 ± 0.155
G-Glu-Val-Gly	0.000 ± 0.000	0.035 ± 0.013	0.296 ± 0.069
G-Glu-Val	0.484 ± 0.430	0.000 ± 0.000	18.120 ± 5.038

ตารางที่ 3.8 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลากระดี่ ของสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว

สาร	ปริมาณสารโคคูมิ (µmol/kg.sample)		
	1 เดือน	8 เดือน	12 เดือน
A-Glu-Ala	0.240 ± 0.000	1.692 ± 0.387	0.000 ± 0.000
A-Glu-Asp	1.470 ± 0.649	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
A-Glu-Glu	0.004 ± 0.000	0.687 ± 0.085	25.431 ± 6.525
A-Glu-Gly	1.529 ± 1.171	2.325 ± 0.837	3.734 ± 1.279
A-Glu-Thr	0.093 ± 0.019	0.281 ± 0.237	0.416 ± 0.155
A-Glu-Val	0.442 ± 0.322	2.652 ± 1.119	6.541 ± 3.451
G-Glu-Ala	1.992 ± 0.900	0.000 ± 0.000	0.750 ± 0.105
G-Glu-Gln	1.225 ± 1.343	0.375 ± 0.208	8.553 ± 5.082
G-Glu-Glu	1.438 ± 0.867	3.121 ± 0.689	12.691 ± 7.960
G-Glu-Gly	1.926 ± 1.587	1.697 ± 0.462	4.073 ± 0.918
G-Glu-His	1.255 ± 1.071	0.000 ± 0.000	0.345 ± 0.097
G-Glu-Ile	1.284 ± 1.472	3.120 ± 1.111	2.750 ± 2.253
G-Glu-Met	0.644 ± 0.603	0.988 ± 0.532	1.901 ± 0.751
G-Glu-Phe	0.013 ± 0.017	2.257 ± 1.125	1.291 ± 0.578
G-Glu-Trp	0.209 ± 0.363	0.000 ± 0.000	5.285 ± 2.402
G-Glu-Tyr	0.156 ± 0.217	1.756 ± 0.973	2.296 ± 1.453
G-Glu-Val-Gly	0.000 ± 0.000	0.427 ± 0.029	0.751 ± 0.677
G-Glu-Val	0.647 ± 0.601	2.514 ± 1.225	34.933 ± 14.645

การหมักปลารวมซึ่งประกอบด้วยปลาหมอและปลากระดี่ด้วยสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 1, 8 และ 12 เดือน พบผลการทดลองเป็นดังนี้ดังนี้

1. ระยะเวลาการหมัก 1 เดือน สูตรที่ให้ปริมาณสารโคคูมิมากที่สุดคือ สูตรเกลือและข้าวคั่ว ซึ่งให้ปริมาณสารโคคูมิเท่ากับ 3.203 ± 2.011 μmol/kg.sample
2. ระยะเวลาการหมัก 8 เดือน สูตรที่ให้ปริมาณสารโคคูมิมากที่สุดคือ สูตรเกลือ ซึ่งให้ปริมาณสารโคคูมิเท่ากับ 41.301 ± 16.743 μmol/kg.sample
3. ระยะเวลาการหมัก 12 เดือน สูตรที่ให้ปริมาณสารโคคูมิมากที่สุดคือ สูตรเกลือและรำข้าว ซึ่งให้ปริมาณสารโคคูมิเท่ากับ 248.801 ± 48.342 μmol/kg.sample

ตารางที่ 3.9 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลารวม ของสูตรเกลือ

สาร	ปริมาณสารโคคูมิ (μmol/kg.sample)		
	1 เดือน	8 เดือน	12 เดือน
A-Glu-Ala	0.331 ± 0.284	0.610 ± 0.229	1.054 ± 0.091
A-Glu-Asp	0.055 ± 0.064	2.228 ± 0.267	0.290 ± 0.088
A-Glu-Glu	0.018 ± 0.018	5.150 ± 3.145	0.593 ± 0.298
A-Glu-Gly	0.046 ± 0.024	1.323 ± 0.114	0.056 ± 0.027
A-Glu-Thr	0.035 ± 0.027	4.026 ± 1.055	3.754 ±1.837
A-Glu-Val	0.000 ± 0.000	1.636 ± 0.736	6.107 ± 1.960
G-Glu-Ala	0.514 ± 0.223	1.649 ± 0.939	6.380 ± 0.777
G-Glu-Gln	0.345 ± 0.244	3.557 ± 0.923	1.137 ± 0.498
G-Glu-Glu	0.048 ± 0.015	2.906 ± 0.789	22.763 ± 10.731
G-Glu-Gly	0.025 ± 0.021	2.576 ± 1.319	2.598 ± 0.956
G-Glu-His	0.076 ± 0.055	2.033 ± 1.240	0.618 ± 0.130
G-Glu-Ile	0.059 ± 0.054	3.169 ± 1.268	2.042 ± 0.920
G-Glu-Met	0.027 ± 0.023	0.000 ± 0.000	5.124 ± 1.806
G-Glu-Phe	0.024 ± 0.018	1.564 ± 0.434	3.227 ± 1.182
G-Glu-Trp	0.043 ± 0.023	2.765 ± 0.765	2.006 ± 0.399
G-Glu-Tyr	0.042 ± 0.003	0.829 ± 0.221	1.873 ± 0.682
G-Glu-Val-Gly	0.036 ± 0.012	0.000 ± 0.00	0.269 ± 0.147
G-Glu-Val	0.028 ± 0.020	5.282 ± 3.298	30.772 ± 16.327

ตารางที่ 3.10 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลารวม ของสูตรเกลือและข้าวคั่ว

สาร	ปริมาณสารโคคูมิ (μmol/kg.sample)		
	1 เดือน	8 เดือน	12 เดือน
A-Glu-Ala	0.031 ± 0.011	0.486 ± 0.308	0.373 ± 0.132
A-Glu-Asp	0.267 ± 0.181	0.894 ± 0.693	0.519 ± 0.159
A-Glu-Glu	0.025 ± 0.005	0.500 ± 0.256	6.665 ± 2.830
A-Glu-Gly	0.051 ± 0.017	0.070 ± 0.012	2.434 ± 1.056
A-Glu-Thr	0.311 ± 0.194	0.625 ± 0.486	0.571 ± 0.302
A-Glu-Val	0.002 ± 0.002	0.602 ± 0.325	12.671 ± 4.651
G-Glu-Ala	0.304 ± 0.114	0.257 ± 0.223	0.053 ± 0.031
G-Glu-Gln	0.571 ± 0.290	2.592 ± 2.437	18.539 ± 7.816
G-Glu-Glu	0.038 ± 0.032	2.264 ± 1.113	5.697 ± 2.244
G-Glu-Gly	0.004 ± 0.001	0.000 ± 0.000	0.050 ± 0.026
G-Glu-His	0.433 ± 0.424	0.000 ± 0.000	7.362 ± 0.582
G-Glu-Ile	0.046 ± 0.006	5.868 ± 3.339	0.954 ± 0.725
G-Glu-Met	0.371 ± 0.301	0.462 ± 0.064	0.368 ± 0.000
G-Glu-Phe	0.056 ± 0.019	0.501 ± 0.147	2.354 ± 0.514
G-Glu-Trp	0.021 ± 0.006	0.273 ± 0.236	2.692 ± 0.069
G-Glu-Tyr	0.059 ± 0.013	0.524 ± 0.146	23.773 ± 12.755
G-Glu-Val-Gly	0.582 ± 0.366	0.205 ± 0.179	0.608 ± 0.174
G-Glu-Val	0.033 ± 0.029	0.611 ± 0.179	54.678 ± 22.535

ตารางที่ 3.11 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลารวม ของสูตรเกลือและรำข้าว

สาร	ปริมาณสารโคคูมิ (μmol/kg.sample)		
	1 เดือน	8 เดือน	12 เดือน
A-Glu-Ala	0.069 ± 0.033	1.050 ± 0.687	0.266 ± 0.119
A-Glu-Asp	0.016 ± 0.014	0.688 ± 0.336	4.360 ± 3.252
A-Glu-Glu	0.054 ± 0.052	0.582 ± 0.403	27.135 ± 9.845
A-Glu-Gly	0.023 ± 0.019	0.529 ± 0.081	69.780 ± 0.827
A-Glu-Thr	0.049 ± 0.024	0.535 ± 0.002	5.113 ± 2.150
A-Glu-Val	0.035 ± 0.030	0.542 ± 0.120	7.944 ± 2.429
G-Glu-Ala	0.032 ± 0.028	0.558 ± 0.245	0.444 ± 0.358
G-Glu-Gln	0.034 ± 0.013	4.760 ± 2.939	14.557 ± 3.958
G-Glu-Glu	0.047 ± 0.003	0.856 ± 0.371	14.287 ± 4.944
G-Glu-Gly	0.007 ± 0.010	0.668 ± 0.379	6.795 ± 2.494
G-Glu-His	0.046 ± 0.035	0.352 ± 0.104	0.181 ± 0.045
G-Glu-Ile	0.045 ± 0.012	0.312 ± 0.184	1.877 ± 0.947
G-Glu-Met	0.035 ± 0.005	0.305 ± 0.141	3.872 ± 1.953
G-Glu-Phe	0.004 ± 0.000	0.000 ± 0.000	3.197 ± 1.229
G-Glu-Trp	0.025 ± 0.021	0.000 ± 0.000	15.518 ± 2.557
G-Glu-Tyr	0.047 ± 0.009	1.605 ± 0.303	9.584 ± 4.604
G-Glu-Val-Gly	0.046 ± 0.025	0.339 ± 0.016	0.441 ± 0.099
G-Glu-Val	0.054 ± 0.001	0.344 ± 0.171	63.451 ± 6.532

ตารางที่ 3.12 ปริมาณสารโคคูมิในแต่ละเดือนของปลารวม ของสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว

สาร	ปริมาณสารโคคูมิ (µmol/kg.sample)		
	1 เดือน	8 เดือน	12 เดือน
A-Glu-Ala	0.034 ± 0.040	0.367 ± 0.242	0.291 ± 0.032
A-Glu-Asp	0.025 ± 0.012	0.464 ± 0.131	0.292 ± 0.095
A-Glu-Glu	0.082 ± 0.047	0.662 ± 0.313	4.927 ± 2.067
A-Glu-Gly	0.062 ± 0.035	4.520 ± 2.225	3.239 ± 2.887
A-Glu-Thr	0.001 ± 0.001	0.822 ± 0.556	0.329 ± 0.167
A-Glu-Val	0.005 ± 0.001	0.458 ± 0.385	8.676 ± 5.011
G-Glu-Ala	0.011 ± 0.006	1.182 ± 0.947	0.393 ± 0.041
G-Glu-Gln	0.057 ± 0.016	0.694 ± 0.412	6.477 ± 4.145
G-Glu-Glu	0.481 ± 0.083	1.510 ± 1.240	2.951 ± 0.864
G-Glu-Gly	0.047 ± 0.047	1.049 ± 0.222	6.220 ± 2.660
G-Glu-His	0.569 ± 0.438	0.553 ± 0.251	5.486 ± 4.134
G-Glu-Ile	0.101 ± 0.072	0.000 ± 0.000	6.287 ± 4.229
G-Glu-Met	0.029 ± 0.010	0.460 ± 0.081	0.441 ± 0.070
G-Glu-Phe	0.004 ± 0.001	0.228 ± 0.191	2.530 ± 0.698
G-Glu-Trp	0.262 ± 0.248	0.000 ± 0.000	3.098 ± 2.612
G-Glu-Tyr	0.003 ± 0.001	0.402 ± 0.225	2.340 ± 1.296
G-Glu-Val-Gly	0.003 ± 0.002	0.634 ± 0.431	0.556 ± 0.354
G-Glu-Val	0.046 ± 0.029	0.087 ± 0.021	0.504 ± 0.117

จากการตรวจวัดปริมาณสารโคคูมิ พบว่า ปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณสารโคคูมิมากที่สุดคือ เวลาที่ใช้ในการหมัก โดยปริมาณสารโคคูมิที่เพิ่มขึ้นจะแปรผันตรงกับระยะเวลาในการหมัก แต่เนื่องจากงานวิจัยนี้ไม่มีการตรวจเชื้อแบคทีเรีย จึงไม่สามารถสรุปได้ว่าปัจจัยที่ในส่วนของชนิดของปลาและสูตรการหมักส่งผลต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ทำหน้าที่ย่อยโปรตีนในเนื้อปลาให้เป็นสารโคคูมิได้อย่างไร ซึ่งถือได้ว่าเป็นข้อจำกัดของงานวิจัยนี้

ตารางที่ 3.13 ความแตกต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลปริมาณสารโคคูมิ

ระยะเวลาการหมัก	ชนิดของปลา	สูตรการหมัก	ปริมาณสารโคคูมิ (µmol/kg.sample)
1 เดือน	ปลาหมอ	เกลือ	9.357 ± 7.409
		เกลือ + ข้าวคั่ว	12.527 ± 4.267
		เกลือ + รำข้าว	1.741 ± 1.316
		เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว	1.111 ± 0.638
	ปลากระดี่	เกลือ	12.579 ± 8.296
		เกลือ + ข้าวคั่ว	14.672 ± 9.755
		เกลือ + รำข้าว	9.071 ± 5.976
		เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว	14.568 ± 11.201
	ปลาหมอ + ปลากระดี่	เกลือ	1.752 ± 1.127
		เกลือ + ข้าวคั่ว	3.203 ± 2.011
		เกลือ + รำข้าว	0.668 ± 0.335
		เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว	1.821 ± 1.085
8 เดือน	ปลาหมอ	เกลือ	14.908 ± 5.794
		เกลือ + ข้าวคั่ว	11.157 ± 8.067
		เกลือ + รำข้าว	4.719 ± 2.445
		เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว	11.641 ± 5.742
	ปลากระดี่	เกลือ	7.086 ± 1.782
		เกลือ + ข้าวคั่ว	24.265 ± 13.405
		เกลือ + รำข้าว	27.116 ± 13.375
		เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว	23.892 ± 9.018
	ปลาหมอ + ปลากระดี่	เกลือ	41.301 ± 16.743
		เกลือ + ข้าวคั่ว	16.735 ± 10.143
		เกลือ + รำข้าว	14.025 ± 6.481
		เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว	14.092 ± 7.872

ระยะเวลาการหมัก	ชนิดของปลา	สูตรการหมัก	ปริมาณสารโคคูมิ (µmol/kg.sample)
12 เดือน	ปลาหมอ	เกลือ	45.538 ± 15.648
		เกลือ + ข้าวคั่ว	78.114 ± 26.942
		เกลือ + รำข้าว	105.808 ± 51.377
		เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว	64.816 ± 30.875
	ปลากระดี่	เกลือ	140.644 ± 67.833
		เกลือ + ข้าวคั่ว	112.626 ± 48.466
		เกลือ + รำข้าว	144.108 ± 71.291
		เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว	111.742 ± 48.330
	ปลาหมอ + ปลากระดี่	เกลือ	90.663 ± 38.856
		เกลือ + ข้าวคั่ว	140.361 ± 56.600
		เกลือ + รำข้าว	248.801 ± 48.342
		เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว	55.039 ± 31.479

บทที่ 4
สรุปผลการทดลอง

4.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้สนใจที่จะพัฒนาสูตรการหมักปลาร้าเพื่อให้ได้ปริมาณสารโคคูมิมากที่สุด จากการศึกษาปัจจัยในการหมักพบว่าการหมักปลาร้าด้วยปลากระดี่จะให้ปริมาณสารโคคูมิมากว่าการหมักปลาร้าด้วยปลาหมอ และการหมักปลาด้วยสูตรเกลือและรำข้าวจะให้ปริมาณของสารโคคูมิมากกว่าการหมักปลาด้วยสูตรอื่น จึงสามารถสรุปได้ว่าสูตรที่ให้ปริมาณของสารโคคูมิมากที่สุดคือ สูตรการหมักที่ใช้ทั้งปลาหมอและปลากระดี่หมักรวมกันด้วยเกลือและรำข้าว พบปริมาณสารโคคูมิ 248.801 ± 48.342 μmol/kg.sample

4.2 ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากโครงการของนายอภินิหาร ผิวพรรณ เป็นโครงการระยะยาวโดยศึกษาปริมาณสารโคคูมิที่ได้จากการหมักปลาร้าระยะเวลา 12 เดือน แต่เนื่องจากโครงการนี้ได้ใช้ระยะเวลาในงานวิจัยอย่างจำกัด จึงทำให้ไม่เห็นแนวโน้มทั้งหมด ดังนั้นจึงควรทำการตรวจวัดปริมาณสารโคคูมิในเดือนอื่นๆเพิ่มเติมซึ่งคาดว่าจะเห็นแนวโน้มมากยิ่งขึ้น
2. ควรเพิ่มขั้นตอนการตรวจเชื้อไปในการทดลองด้วย เพื่อที่จะทำให้สามารถอธิบายปัจจัยในการหมักที่จะส่งผลต่อแบคทีเรียที่ทำหน้าที่ย่อยโปรตีนจากเนื้อปลาให้เป็นสารโคคูมิ
3. นอกจากการเลือกสูตรปลาร้าไปใช้ในการหมักเพื่อให้ได้ปริมาณสารโคคูมิที่มากที่สุดแล้ว ปัจจัยอีกอย่างที่ควรคำนึงถึงคือควรมีกลิ่นและรสชาติที่ความเหมาะสม

บรรณานุกรม

[1] Adams, M. R.; Cook, R. D.; Rattagool, P. Fermented fish products of South East Asia. *Trop. Sci.* 1985, *25*, 61– 73

[2] Marui, J.; Boulom, S.; Panthavee, W.; Momma, M.; Kusumoto, K. I.; Nakahara, K.; Saito, M. Culture-independent bacterial community analysis of the salty-fermented fish paste products of Thailand and Laos. *Biosci. Microbiota, Food Health* 2015, *34*, 45– 52, DOI: 10.12938/bmfh.2014-018

[3] Phewpan, A., Phuwapraisirisan, P., Takahashi, H., Ohshima, C., Ngamchuachit, P., Techaruvichit, P., Dirndorfer, S., Dawid, C., Hofmann, T., Keeratipibul, S., Investigation of kokumi substances and bacteria in fermented Thai freshwater fish (Pla-ra), *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. Retrieved from. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b06107

[4] Dunkel, A.; Köster, J.; Hofmann, T. Molecular and sensory characterization of γ-glutamyl peptides as key contributors to the kokumi taste of edible beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Agric. Food Chem.* 2007, *55* (16), 6712– 6719, DOI: 10.1021/jf071276u

[5] Toelstede, S.; Dunkel, A.; Hofmann, T. A series of kokumi peptides impart the long-lasting mouthfulness of matured Gouda cheese. *J. Agric. Food Chem.* 2009, *57* (4), 1440– 1448, DOI: 10.1021/jf803376d

[6] Simone, T., Andreas, D., Thomas, H., A Series of Kokumi Peptides Impart the Long-Lasting Mouthfulness of Matured Gouda Cheese, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2009, 57(4), 1440-1448

[7] Meyer, S.; Dunkel, A.; Hofmann, T. Sensomics-assisted elucidation of the tastant code of cooked crustaceans and taste reconstruction experiments. *J. Agric. Food Chem.* 2016, *64* (5), 1164– 1175, DOI: 10.1021/acs.jafc.5b06069

[8] Kuroda, M.; Kato, Y.; Yamazaki, J.; Kai, Y.; Mizukoshi, T.; Miyano, H.; Eto, Y. Determination and quantification of γ-glutamyl-valyl-glycine in commercial fish sauces. *J. Agric. Food Chem.* 2012, *60*, 7291– 7296, DOI: 10.1021/jf3012932

[9] Kuroda, M.; Kato, Y.; Yamazaki, J.; Kai, Y.; Mizukoshi, T.; Miyano, H.; Eto, Y. Determination and quantification of γ-glutamyl-valyl-glycine in commercial soy sauces. *Food Chem.* 2013, *141*, 823– 828, DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.03.070

[10] Miyamura, N.; Kuroda, M.; Kato, Y.; Yamazaki, J.; Mizukoshi, T.; Miyano, H.; Eto, Y. Determination and quantification of a kokumi peptide, γ-glutamyl-valyl-glycine, in fermented shrimp paste condiments. *Food Sci. Technol. Res.* 2014, *20* (3), 699– 703, DOI: 10.3136/fstr.20.699

ประวัติผู้วิจัย

นายจิณณวัตร สุวรรณเวลา เกิดเมื่อวันที่ 3 เดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2541 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนบดินทรเดชา (สิงห์ สิงหเสนี) ๒ จังหวัดกรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2559 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2560 เคยได้รับรางวัลชนะเลิศการแข่งขันกีฬามหาวิทยาลัย ประเภท E-sports เมื่อ พ.ศ. 2563 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 10/192 แขวงคลองกุ่ม เขตบึงกุ่ม จังหวัดกรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10240 อีเมล jinnawat3@hotmail.co.th