

ภาคผนวก ก

รูปภาพประกอบการวิจัย



รูปที่ ก.1 ลักษณะของหัวมันฝรั่ง



รูปที่ ก.2 เครื่องกลั่นที่ใช้ในการทดลอง

ภาคผนวก ข

ตัวอย่างแบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

Ranking Test

ชื่อ-สกุล..... วันที่.....

ผลิตภัณฑ์.....

คำชี้แจง โปรดทำการคมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ละตัวอย่างและให้คะแนนตามความชอบของท่าน โดย
ตัวอย่างที่ชอบมากที่สุดจัดเป็นลำดับแรก และความชอบน้อยที่สุดเป็นระดับสุดท้าย

ลำดับความชอบ

ลำดับที่ 1.....

ลำดับที่ 2.....

ลำดับที่ 3.....

ลำดับที่ 4.....

ข้อเสนอแนะ.....

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ขอขอบคุณทุกท่านที่กรุณาให้ความร่วมมือเป็นอย่างดี

ตัวอย่างแบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

Hedonic Scaling Test

ชื่อ-สกุล..... วันที่.....
ผลิตภัณฑ์.....

คำชี้แจง โปรดทำการชิมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ละตัวอย่างและให้คะแนนความชอบตามคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ โดยทำที่ละตัวอย่าง กำหนดให้

คะแนน = 5 หมายถึง ชอบมากที่สุด

คะแนน = 4 หมายถึง ชอบปานกลาง

คะแนน = 3 หมายถึง เฉยๆ

คะแนน = 2 หมายถึง ไม่ชอบปานกลาง

คะแนน = 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด

รหัสตัวอย่าง				
ความหอมของกลิ่น				
ความนุ่ม				
รสชาติ				
ความขม				
การยอมรับโดยรวม				

ข้อเสนอแนะ.....

.....

ขอขอบคุณทุกท่านที่กรุณาให้ความร่วมมือเป็นอย่างดี



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright © by Chiang Mai University

All rights reserved

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ทางกายภาพ

1. การวัดสีระบบ Hunter Lab

เป็นการวัดค่าสี L* ค่าสี a* และค่าสี b* ของผลิตภัณฑ์ด้วยเครื่องวัดสี Colorimeter ยี่ห้อ รูน โดยค่า L เป็นค่าความสว่าง (lightness) a* เป็นค่าสีแดงและสีเขียว (redness/greenness) และ b* เป็นค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (yellowness/blueness)

L*	คือ ค่าความสว่าง	มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100
a*	คือ ค่าสีแดง และสีเขียว	เมื่อ a* มีค่าบวก เป็นสีแดง เมื่อ a* มีค่าลบ เป็นสีเขียว
b*	คือ ค่าสีเหลือง และสีน้ำเงิน	เมื่อ b* มีค่าบวก เป็นสีเหลือง เมื่อ b* มีค่าลบ เป็นสีน้ำเงิน

ก่อนการวัดสีทุกครั้งต้องการปรับมาตรฐานเครื่อง (Calibration) โดยใช้สีมาตรฐานแล้วจึงวัดสีของผลิตภัณฑ์ โดยทำการวัด 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย

2. ความหนาแน่นของหัวมันฝรั่ง (นิธิยาและลักษณะ, 2536)

โดยวิธีการแทนที่น้ำ ชั่งน้ำหนักมันฝรั่งแต่ละผล (กรัม) แล้วใส่ลงไปใต้น้ำเมื่อน้ำล้นนำมาวัดปริมาตรของน้ำส่วนที่ล้น (มล.) โดย

$$\text{ความหนาแน่น} = \frac{\text{น้ำหนักมันฝรั่ง (กรัม)}}{\text{ปริมาตรน้ำ (มล)}}$$

ทำการทดลอง 3 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย

3. การวัดขนาดหัวมันฝรั่ง

ใช้เวอร์เนียคาร์ลิเปอร์ ทำการวัดความกว้างและความยาวของหัวมันฝรั่งที่สุ่มมาทั้ง 2 สายพันธุ์อย่างละ 3 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย

4. การชั่งน้ำหนักของหัวมันฝรั่ง

ใช้เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง ชั่งมันฝรั่งที่สุ่มมาทั้ง 2 สายพันธุ์ อย่างละ 3 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวสุพรรณษา ชัยสุขเกษม
วัน เดือน ปีเกิด	15 มีนาคม 2523
ประวัติการศึกษา	- สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสุนารีวิทยา จังหวัดนครราชสีมา ปีการศึกษา 2541 - สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการอาหาร และโภชนาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ปีการศึกษา 2545

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1. การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นโดยวิธีการใช้ตู้อบไฟฟ้า (AOAC, 2000)

1. อบกระป๋องอบความชื้นพร้อมฝาที่ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนัก (W1)
2. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนใส่ในกระป๋องอบความชื้นที่อบเรียบร้อยแล้ว และชั่งน้ำหนักไว้เรียบร้อยแล้ว (W2)
3. กระป๋องอบความชื้นพร้อมฝาโดยเปิดฝาทิ้งไปอบที่ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง
4. นำกระป๋องอบความชื้นออกจากตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้า โดยปิดฝาทันที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
5. นำไปอบต่ออีก 1 ชั่วโมงจนได้น้ำหนักที่คงที่ (W3)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \{ (W2-W3) \times 100 \} / W2-W1$$

2. การวิเคราะห์ไขมันโดยวิธีโรส-กอตต์เลียบ (AOAC, 2000)

1. ชั่งตัวอย่างด้วยน้ำหนักที่แน่นอนใส่ในบีกเกอร์ที่มีฝาปิด (W1) ถ่ายตัวอย่างลงในบีกเกอร์
2. ชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ที่มีฝาปิดที่ถ่ายตัวอย่างออกแล้ว (W2) เติมน้ำอุ่นเล็กน้อยเข้าให้ตัวอย่างละลาย เติมน้ำให้ครบ 10 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลายแอมโมเนีย 1.25 มิลลิลิตร เติมเอทิลแอลกอฮอล์ 10 มิลลิลิตรเข้าเบาๆ
4. เติมไดเอทิล อีเทอร์ 25 มิลลิลิตรปิดจุกให้แน่น ทำการสกัดโดยการเขย่าแรงๆ 1 นาทีเปิดจุกอย่างระมัดระวังโดยการค่อยๆเปิด

5. เติมปิโตรเลียม อีเทอร์ 25 มิลลิลิตร ปิดจุกให้แน่น ทำการสกัดโดยการเขย่าแรงๆ 1 นาที เปิดจุกอย่างระมัดระวัง เหมือนเดิม ล้างจุกด้วยสารละลายผสมจำนวนเล็กน้อย
6. ตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายแยกชั้น ถ่ายสารละลายส่วนชั้นบนออก ลงในบีกเกอร์
7. เติมเอทิลแอลกอฮอล์ อีก 1 มิลลิลิตร ทำการสกัดเหมือนเดิมแต่เปลี่ยนปริมาณ ไดเอทิลอีเทอร์และปิโตรเลียมอีเทอร์ เป็นอย่างละ 15 มิลลิลิตร
8. นำบีกเกอร์ไปอังที่เครื่องอังน้ำที่อยู่ในตู้ดูดควัน จนปริมาณ ไดเอทิล อีเทอร์ และปิโตรเลียม อีเทอร์ระเหยออกจนหมด จึงนำไปอบต่อในตู้อบร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมงจากนั้นทำให้เย็นในเคซิเคเตอร์ชั่งน้ำหนัก (W3)
9. นำบีกเกอร์ที่ชั่งน้ำหนักเสร็จเรียบร้อยแล้ว ไปล้างไขมันออก โดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ 3 ครั้งๆละ 15 มิลลิลิตร รินใส่ขวดแล้วนำไปกลั่นเพื่อนำกลับมาใช้ต่อได้
10. นำบีกเกอร์ที่ล้างไขมันออกแล้วไปอบต่อในตู้อบร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นในเคซิเคเตอร์ชั่งน้ำหนัก (W4)

$$\text{ปริมาณเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไขมัน} = \{(W3-W4) \times 100\} / W2-W1$$

3. การวิเคราะห์โปรตีน (AOAC, 2000)

1. ชั่งตัวอย่างน้ำหนักที่แน่นอน โดยใช้บีกเกอร์ใส่ตัวอย่าง 0.5-2.0 กรัม และชั่งน้ำหนัก (W1) ถ่ายตัวอย่างลงในหลอดเคลดดาห์ล แล้วชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ที่ถ่ายตัวอย่างออกแล้ว (W2)
2. เติมคະดะลิตส์ผสม จำนวน 8 กรัม เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร โดยเอียงขวด และค่อยๆ รินกรดลงข้างๆ หลอดเพื่อล้างตัวอย่างที่อาจติดอยู่ข้างหลอดให้หมด และค่อยๆ เขย่าตัวอย่างเบาๆ
3. นำไปย่อยที่ชุดย่อยโปรตีน ในตู้ควัน โดยใช้ความร้อนระดับ 5 ประมาณ 1 ชั่วโมงแล้วจึงเพิ่มเป็นความร้อนระดับ 10 อีกประมาณ 2 ชั่วโมงรอจนกระทั่งสารละลายเย็นลงในอุณหภูมิห้อง ห้ามนำหลอดย่อยไปทำให้เย็นด้วยน้ำเพราะจะทำให้หลอดย่อยแตกได้
4. นำสารละลายที่ได้ต่อกับเครื่องกลั่นโปรตีนโดยนำขวดรูปชมพู่ที่มีกรดบอริกจำนวน 50 มิลลิลิตร และหยดอินดิเคเตอร์ผสมลงไป 3-5 หยด
นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไตเตรตกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกจนได้จุดยุติ คือ สังเกตสีชมพูปรากฏขึ้นและสารละลายสีเทาอมม่วง

ปริมาณไนโตรเจนเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักรวม = $\{(V_a - V_b) \times N.H_2SO_4 \times 1.4007\} / (W_1 - W_2)$

V_a = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่างมีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

V_b = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไทเทรต blank มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

$N.H_2SO_4$ = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก มีหน่วยเป็นนอร์มัล

4. การวิเคราะห์กากโดยวิธีการย่อยด้วยกรดและด่าง (AOAC, 2000)

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน โดยใช้บีกเกอร์ใส่ตัวอย่าง 1 กรัมและชั่งน้ำหนัก (W_1) ถ่ายตัวอย่างลงในบีกเกอร์แล้วชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ที่ถ่ายตัวอย่างออกเรียบร้อยแล้ว (W_2)
2. ตวงสารละลายกรดซัลฟูริก จำนวน 200 มิลลิลิตร ด้วยกระบอกตวงถ่ายใส่บีกเกอร์แล้วนำไปต้มบนเตาไฟฟ้าโดยปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา
3. เมื่อสารละลายกรดซัลฟูริกเริ่มเดือด จึงถ่ายลงในบีกเกอร์ โดยการหมุนบีกเกอร์แล้วใช้กรดซัลฟูริกค่อยๆ ล้างตัวอย่างที่ติดข้างบีกเกอร์ออก
4. นำไปต้มบนเตาไฟฟ้า โดยใช้ขวดกันกรมปิดปากของบีกเกอร์ให้สนิทเพื่อป้องกันการระเหยของสารละลาย เมื่อเริ่มเดือดจับเวลา 30 นาที
5. กรองทันทีด้วยกรวยบุชเนอร์ที่มีผ้ากรองโดยใช้แรงสุญญากาศ
6. ฉีดล้างสิ่งที่เหลือบนบีกเกอร์ ด้วยน้ำร้อนหลายๆ ครั้งลงในกรวยบุชเนอร์
7. ล้างสิ่งที่ตกค้างบนผ้ากรอง ด้วยน้ำร้อนจนหมดกรด ทดสอบด้วยสารละลายที่กรองได้ไม่เปลี่ยนสีกระดาษลิตมัสสีน้ำเงินเป็นแดง
8. ตวงสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 200 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ที่ใช้ต้มต่าง นำไปต้มให้เดือดบนเตาไฟฟ้า แล้วล้างกากบนผ้ากรองลงในบีกเกอร์ใบเดิมให้หมด
9. นำไปต้มบนเตาไฟฟ้า โดยใช้ขวดกันกรมปิดปากของบีกเกอร์ให้สนิทเพื่อป้องกันการระเหยของสารละลาย เมื่อเริ่มเดือดจับเวลา 30 นาที
10. กรองทันทีผ่านกรวยบุชเนอร์ซึ่งบุด้วยกระดาษกรอง ที่ตัดพอดีและฉีดน้ำให้เนบสนิทกับกรวยบุชเนอร์แล้ว
11. ฉีดล้างสิ่งที่เหลือบนบีกเกอร์ ด้วยน้ำร้อนหลายๆ ครั้งลงในกรวยบุชเนอร์
12. ล้างสิ่งที่ตกค้างบนกระดาษกรอง ด้วยน้ำร้อนจนหมดต่าง ทดสอบด้วยสารละลายที่กรองได้ไม่เปลี่ยนสีกระดาษลิตมัสแดงเป็นสีน้ำเงิน

13. ถ่ายกากใส่ถ้วยกระเบื้องที่ทนร้อนด้วยน้ำร้อนจนหมดกากนำไปประเหยน้าออกโดยใช้
อ่างน้ำร้อนจนแห้ง

14. นำไปอบที่ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ทำให้เย็นใน
เดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (W3)

15. เผาด้วยกระเบื้องพร้อมกากที่อบเรียบร้อยแล้วในเตาเผาอุณหภูมิ 550±25 องศาเซลเซียส
นาน 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (W4)

$$\text{ปริมาณกากเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนัก} = \{(W3-W4) (100 - \%H2O - \%fat)\} / (W1-W2)$$

5. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

1. เผาด้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 525-550 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ชั่งน้ำหนัก (W1) และใส่ตัวอย่างทันทีในถ้วยกระเบื้องเคลือบ ชั่งให้ได้
น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2-3 กรัม (W2)

2. นำไปเผาด้วยไฟอ่อนบนเตาไฟฟ้าโดยเพิ่มความร้อนขึ้นทีละน้อยจนตัวอย่างไหม้เกรียม
และเผาต่อด้วยตะเกียงเบนเซนให้หมดควัน ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นของเหลวหรือกึ่งแข็งกึ่งเหลวให้
นำตัวอย่างไปประเหยน้าก่อนนำไปเผาบนเตาไฟฟ้า

3. นำไปเผาต่อในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 525-550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาว

4. ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ชั่งน้ำหนักไว้ (W3)

$$\text{ปริมาณเถ้า (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนัก)} = \{(W3-W1) \times 100\} / (W2-W1)$$

6. ปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยการคำนวณ (AOAC, 2000)

$$\text{เปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรต} = 100 - (\% \text{ ความชื้น/น้ำ} - \% \text{ ไขมัน} - \% \text{ โปรตีน} - \% \text{ กาก} - \% \text{ เถ้า})$$

7. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธี Lane and Eynon (AOAC, 2000)

สารเคมี

1. สารละลาย Carrez No.1 เตรียมโดยละลายซิงอะซิเตต (Zinc Acetate dihydrate AR
Grade) จำนวน 21.9 กรัม ในน้ำกลั่นที่มีกรดอะซิติก (Acetic Acid glacial AR Grade) จำนวน 3
มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

2. สารละลาย Carrez No.2 เตรียมโดยละลายโพแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ (Potassium ferrocyanide AR Grade) จำนวน 10.6 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

3. สารละลาย Fehling No.1 เตรียมได้โดยละลายคอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulphate AR Grade) จำนวน 69.278 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

4. สารละลาย Fehling No.2 เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide NaOH AR Grade) จำนวน 100 กรัม และโซเดียมโพแทสเซียมตาเตรต (Sodium potassium tartrate AR Grade) จำนวน 346 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

5. สารละลายเมทิลีนบลู (Methylene blue AR Grade) ความเข้มข้น 1%

6. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6.34 นอร์มัล (Hydrochloric Acid AR Grade)

7. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10 นอร์มัล (Sodium hydroxide AR Grade)

วิธีทำ

ชั่งตัวอย่างมาจำนวน 1 กรัม เติมน้ำกลั่นลงไปพอประมาณให้ตัวอย่างละลาย เติม clearing agent คือ สารละลาย Carrez No.1 & No. 2 อย่างละ 5 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากันแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 เก็บสารละลายที่กรองได้ไว้ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ น้ำตาล โดย

นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้ใส่ในบิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร ไล่ฟองอากาศออกให้หมด เปิดสารละลาย Fehling No.1 และ No.2 อย่างละ 5 มิลลิลิตรใส่ในฟลาสขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่แท่งแม่เหล็ก นำไปตั้งบนเครื่อง hot plate stirrer จนเดือดไต่เตรทกับสารละลายน้ำตาลตัวอย่าง จนสีน้ำเงินจางลง หยดสารละลายเมทิลีนบลูลงไป 1 หยด ไต่เตรทจนสีฟ้าหายไปหมด เหลือตะกอนสีส้มแดง จดปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ใช้ ถ้าปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ใช้อยู่ในช่วง 15-50 แสดงว่าสารละลายตัวอย่างมีความเข้มข้นเหมาะสม ทำการไต่เตรทสารละลายตัวอย่างให้ได้ค่าที่ถูกต้องกับสารละลาย Fehling โดยปล่อยสารละลายน้ำตาลจากบิวเรต ลงไปทันที โดยใช้ปริมาตรน้อยกว่าที่ใช้ในการไต่เตรทครั้งแรกประมาณ 1-2 มิลลิลิตร ปล่อยให้เดือดนาน 2 นาที หยดสารละลายเมทิลีนบลู 1 หยดไต่เตรทจนสีฟ้าหายไปหมด เหลือตะกอนสีส้มแดง จดปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ใช้ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำปริมาตรสารละลายน้ำตาลที่ใช้มาหาค่าเฉลี่ยแล้วนำไปเปรียบเทียบหาปริมาณน้ำตาลในสารละลายตัวอย่างจากตารางมาตรฐาน

8. การวิเคราะห์หาความเป็นกรด-ด่าง (AOAC, 2000)

นำน้ำหมักไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (Hanna instrument, Model HI 9321) ซึ่งได้มีการปรับค่ามาตรฐานด้วยสารละลายมาตรฐานที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.00 และ 7.00 ตามลำดับแล้ว ทำการวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย

9. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด (Total titrable acidity) (AOAC, 2000)

วิธีวิเคราะห์

1. ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างมา 1 กรัมหรือ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในพลาสติกขนาด 125 มิลลิลิตรเติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร
2. หยดสารละลายฟีนอล์ฟธาลิน ประมาณ 2-3 หยดเป็นอินดิเคเตอร์
3. นำไปไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนสังเกตเห็นจุดยุติเป็นสีชมพูอ่อน บันทึกปริมาณของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ จากนั้นคำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมดในรูปของแลคติกดังนี้

การคำนวณปริมาณกรด (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{ความเข้มข้นของ NaOH} \times \text{ปริมาตร NaOH ที่ใช้ (ml)} \times \text{กรัมสมมูลของกรดแลคติก} \times 100}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้ (ml)} \times 100}$$

10. การวิเคราะห์ปริมาณอะไมโลสโดยวิธี Iodine blue value (Juliano, 1971)

สารเคมี

1. เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์
2. สารละลายโซเดียม ไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มัล
3. กรดเกลซีลอะซิดิก 1 นอร์มัล
4. โปเตโตอะไมโลสบริสุทธิ์ (Potato amylose)
5. สารละลายไอโอดีน ชั่ง 0.2 กรัม ไอโอดีน (I) 0.2 กรัมโปแตสเซียมไอโอไดด์ (KI) ละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

1. การละลายแป้ง ชั่งแป้ง 0.100 กรัม ใส่ในขวดแก้วขนาด 100 มิลลิลิตร ปิเปตเอทิลแอลกอฮอล์ 1 มิลลิลิตร เติมน้ำตัวอย่าง เขย่าเบาๆ เพื่อเกลี่ยแป้งให้กระจายออก ระวังอย่าให้แป้งขึ้นมาเกาะตามผนังขวด ปิเปตแบ่งสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มัล เติมลงไป 9 มิลลิลิตร

พร้อมทั้งล้างแป้งที่เกาะอยู่ตามผนังขวด ต้มใน water bath นาน 10 นาที เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าขวด ตั้งทิ้งไว้ข้างคืน

2. ปิเปตแบ่งสารละลายแป้ง จำนวน 5 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น ประมาณ 70 มิลลิลิตร เติมกรดเกลือเชียลอะซิดิก 1 นอร์มัล 1 มิลลิลิตร แล้เติมสารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าขวด ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที

3. ทำเช่นเดียวกับข้อ 2 แต่ไม่ใส่สารตัวอย่าง เพื่อใช้เป็นแบลนด์ (blank)

4. วัดความเข้มข้นของสีของสารละลาย โดยใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่คลื่นแสง 620 นาโนมิเตอร์ (nm) อ่านค่าเป็นแอบซอร์เบ้นซ์ (absorbance) โดยปรับค่าของแบลนด์ (blank) เป็น 0

การเขียนกราฟมาตรฐาน

1. ชั่งโปเตโตมิโลส (potato amylase) 0.400 กรัม ใส่ในขวดแก้วมีจุกขนาดจุ 100 มิลลิลิตร แล้วดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 1 เป็นสารละลายมาตรฐาน

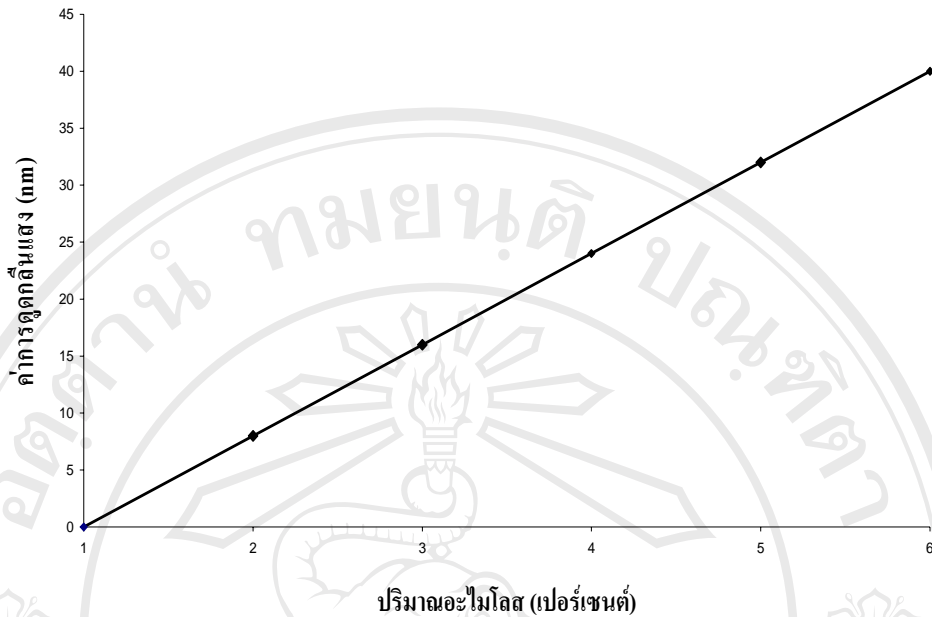
2. ปิเปตแบ่งสารละลายมาตรฐาน 1, 2, 3 และ 4 มิลลิลิตร ใส่ในขวดแก้วขนาดจุ 100 มิลลิลิตร เติมน้ำประมาณ 70 มิลลิลิตร เติมกรดเกลือเชียลอะซิดิก 1 นอร์มอล ปริมาณ 0.2 0.4 0.6 และ 0.8 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วที่มีสารละลายมาตรฐาน ตามลำดับ แล้วเติมสารละลายไอโอดีน 2.0 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

3. วัดค่าแอบซอร์เบ้นซ์ (absorbance) ตามข้อ 4

4. เขียนกราฟระหว่างค่าปริมาณอะไมโลสและค่าแอบซอร์เบ้นซ์ (รูปที่ ง.1)

11. การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solid) (AOAC, 2000)

นำของเหลวจากตัวอย่างน้ำสำมาวัดด้วยเครื่อง Hand refractometer (ATAGO Model N-1F) ค่าที่อ่านได้มีหน่วยเป็น °Brix ซึ่งแต่ละตัวอย่างจะทำการวัด 3 ซ้ำทำการ standardized ด้วยน้ำกลั่น



รูปที่ ง.1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงและปริมาณอะไมโลส

12. การวิเคราะห์หีเมทานอลและฟูเซลออยล์ {สถานบริการวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (สวท-มช)}

วิเคราะห์หีเมทานอล

เตรียมสารมาตรฐานเมทานอล

1. เตรียมความเข้มข้น 10 20 40 80 และ 120 ppm ใน Volumetric flask 10 มิลลิลิตร

1.1 เติม 200 μ l ของ 50 ppm 1-Butanol เป็น Internal standard ทุกขวด

1.2 เตรียมตัวอย่างใน Volumetric flask 10 มิลลิลิตร โดยเติม 50 ppm 1-Butanol

ด้วย

2. ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีโดยใช้สภาวะดังนี้

Column : HP-INNOWAX (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 mm)

GC condition : Inlet 200 $^{\circ}$ C, Detector (FID) 250 $^{\circ}$ C, Carrier gas 1 ml/min (He),

Injection volume 1 μ l (split 50:1), Oven 35 $^{\circ}$ C (4min), 35-85 $^{\circ}$ C (7c/min), 85-

150 $^{\circ}$ C (25c/min), 150 $^{\circ}$ C (2min)

วิเคราะห์หาฟูเซลอยด์

เตรียมสารมาตรฐาน Iso- butyl alcohol และ Iso- amyl alcohol

1. เตรียมความเข้มข้นเดียวกัน 50 100 200 400 และ 1200 ppm. ใน Volumetric flask 10 มิลลิลิตร

1.1 เติม 200 ul ของ 50 ppm 1- Butanol เป็น Internal standard ทุกขวด

2.2 เตรียมตัวอย่าง เช่นเดียวกับวิธี หามทานอล

2. ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยสภาวะการทดลองเช่นเดียวกับการหามทานอล

การคำนวณ

1. กรณีที่พบว่าในตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์มี 1- Butanol ปนอยู่ด้วย การคำนวณหาปริมาณสามารถหาได้จากกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างพื้นที่ใต้พีคของสารกับความเข้มข้น โดยไม่เอาพื้นที่ใต้พีคของ 1- Butanol มาคิด

2. กรณีที่ไม่พบว่าตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ 1- Butanol ปนอยู่ด้วยการคำนวณหาปริมาณสามารถหาได้จากกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่าง

$$\left(\frac{\text{พื้นที่ใต้พีคของสาร}}{\text{พื้นที่ใต้พีคของ 1- Butanol}} \right) \times \text{ความเข้มข้น}$$

13. การวิเคราะห์ปริมาณแป้งโดยวิธี phenol-Sulfuric acid method (Dobois, 1956)

สารเคมี

1. Sulfuric acid , AR (Merk) ความเข้มข้น 95.5 เปอร์เซ็นต์ ความถ่วงจำเพาะ 1.84

2. Phenol , (Merk) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดย หลอมละลาย phenol crystal หลังจากเย็นแล้วชั่ง 50 กรัม เติมน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตรใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร เก็บสารละลายนี้ในขวดสีชา เตรียมใหม่ทุกเดือน

3. Soluble starch , AR (BDH)

Standard soluble starch solution ความเข้มข้น 0.078 0.039 0.020 0.010 และ 0.005 กรัม / 100

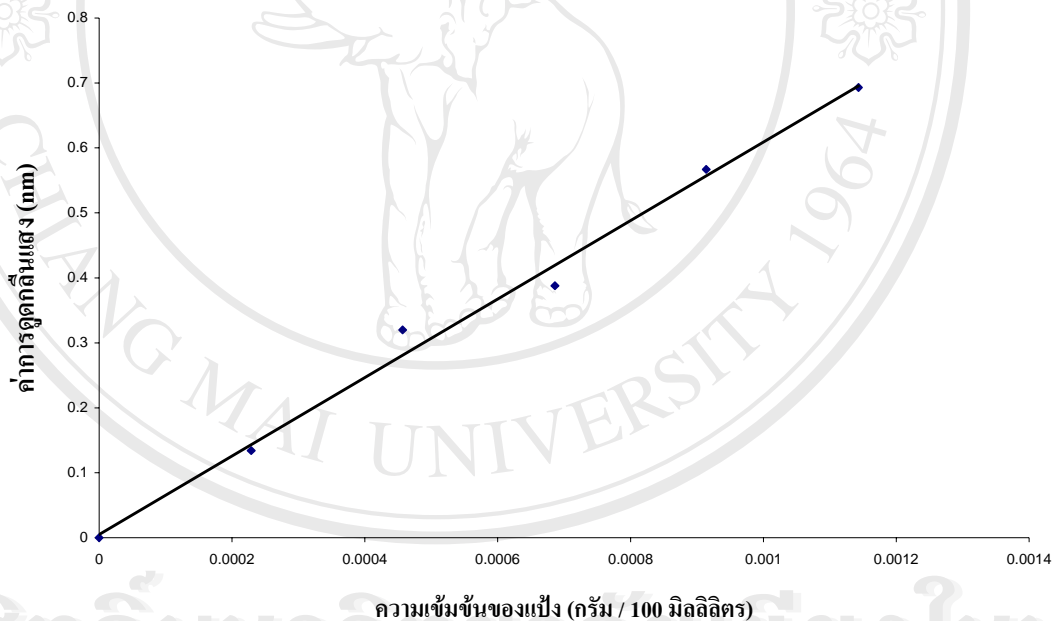
มิลลิลิตร

การเตรียม Standard curve

1. ปิ่เปิด Standard soluble starch solution ความเข้มข้นต่างๆชนิดละ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบขนาด 15× 200 มิลลิเมตร

2. ปิเปต 5 เปอร์เซ็นต์ phenol solution 1 มิลลิตร ลงในหลอดทดสอบที่ใส่ standard soluble starch solution ผสมให้เข้ากัน
3. เติมกรด sulfuric acid เข้มข้น 5 มิลลิตร ให้กรดกระทบกับสารโดยตรง ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ผสมให้เข้ากันแช่น้ำให้เย็น นำไปวัดค่า OD ที่ 490 นาโนเมตร
4. นำค่าความเข้มข้นของน้ำตาลและค่า OD ที่วัดได้ไปวาดกราฟจะได้กราฟ (รูปที่ ๖.2) การวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ปิเปต ตัวอย่างที่เจือจางเหมาะสมแล้วชนิดละ 1 มิลลิตร ลงในหลอดทดสอบขนาด 15× 200 มม.
2. ดำเนินการเช่นเดียวกับการเตรียม standard curve นำค่า OD ที่วัดได้ไปเทียบหาความเข้มข้นของแป้งจากกราฟมาตรฐาน



รูปที่ ๖.2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงและค่าความเข้มข้นของแป้ง

ภาคผนวก จ

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. การเตรียมอาหารวุ้นแข็ง (Potato Dextrose Agar)

อาหารวุ้นแข็งเป็นอาหารที่เตรียมขึ้นเพื่อใช้สำหรับเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น โดยในสารละลายอาหารปริมาตร 1000 มิลลิลิตร จะประกอบด้วยส่วนผสมต่างๆดังนี้

มันฝรั่ง	200 กรัม
น้ำตาลกลูโคส หรือ เด็กโทรส	20 กรัม
ผงวุ้น	15 กรัม
น้ำกลั่น	1000 กรัม

ปอกเปลือกมันฝรั่งแล้วนำมาหั่นให้มีลักษณะเป็นแบบลูกเต๋า ด้านละ 1 เซนติเมตร จากนั้นมันฝรั่งที่ได้ไปต้มในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร จนน้ำเดือดประมาณ 5-10 นาที จากนั้นกรองเอาแต่น้ำนำมาเติมน้ำตาลกลูโคสและผงวุ้น จากนั้นกวน และนำไปต้มจนส่วนผสมละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปบรรจุลงในขวดทดลองนำอาหารที่ได้ไปทำให้ปลอดเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งไอน้ำ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นทำการ pour plate ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นเพื่อนำไปใช้

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อรา

สำหรับอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อที่เตรียมจะใช้สำหรับเลี้ยงเชื้อรา *A. niger* และ *A. oryzae* โดยนำข้าวสารมาแช่น้ำทิ้งไว้ 1 คืน สะเด็ดน้ำออก แล้วกลิ้งกระจายข้าวจำนวน 100 กรัม ให้ทั่วในขวดแบน ปิดด้วยจุกสำลี นำอาหารที่ได้ไปทำให้ปลอดเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งไอน้ำ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นเพื่อนำไปใช้

2.1 การถ่ายเชื้อรา

เชื้อเชื้อจาก stock จำนวน 1 หลั้ว นำไปปลูกบนอาหารวุ้นแข็งที่เตรียมไว้ตามข้อ 1 นำไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จนมองเห็นเส้นใยของเชื้อรา แล้วจึงนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำมาใช้งาน

2.2 การเตรียมกล้าเชื้อรา

เก็บเชื้อจำนวน 4 อันจากข้อ 3 วางให้ทั่วอาหารสำหรับใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นที่เตรียมไว้ข้างต้นในการเก็บเชื้อต้องทำในสภาพปลอดเชื้อ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง สังเกตโดยพบเส้นใยของเชื้อราคลุมทั่วทั้งขวด เมื่อครบตามเวลาจึงถ่ายกล้าเชื้อราลงสู่อาหารที่ใช้สำหรับศึกษากระบวนการหมักต่อไป

3. การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์

นำยีสต์สายพันธุ์ทางการค้า ชนิดผง 3 พันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ได้แก่ Fermevin Fermeblance และ V1116 จำนวน 0.2 กรัมต่อลิตร ผสมลงในน้ำสะอาดอุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส ผสมให้กระจายตัว ทิ้งไว้ 10-15 นาที จนกระทั่งนำไปใช้งาน

ภาคผนวก จ

วิธีการคำนวณที่ใช้ในงานวิจัย

1. ตัวอย่างวิธีการคำนวณปริมาณผลผลิตที่ได้

- ถ้าในแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ มีแอลกอฮอล์ 42 เปอร์เซ็นต์
ดังนั้นแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ทั้งหมด 2500 มิลลิลิตร จะมีแอลกอฮอล์ 1050 มิลลิลิตร
- ใช้มันฝรั่ง 16000 กรัม

จากสูตรคำนวณ ผลผลิตแอลกอฮอล์ที่ได้ (%v/w)

$$= \{ \text{ปริมาตรแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ (มล.)} / \text{น้ำหนักมันฝรั่งหลังการปอกเปลือก (กรัม)} \} \times 100$$
$$= (1050 / 16000) \times 100 = 6.5625 \text{ เปอร์เซ็นต์}$$

2. ตัวอย่างวิธีการคำนวณปริมาณแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้จากน้ำหมัก

- ถ้าน้ำหมัก มีแอลกอฮอล์ 10 เปอร์เซ็นต์
ดังนั้นในน้ำหมักจำนวน 14000 มิลลิลิตร จะมีแอลกอฮอล์ 1540 มิลลิลิตร
- ปริมาตรแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ทั้งหมด 1050 มิลลิลิตร

จากสูตรคำนวณ ปริมาณแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้จากน้ำหมัก (%v/v)

$$= \{ \text{ปริมาตรแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ (มล.)} / \text{ปริมาตรแอลกอฮอล์ในน้ำหมักหลังการหมัก (มล.)} \} \times 100$$
$$= (1050 / 1540) \times 100 = 68.18 \text{ เปอร์เซ็นต์}$$

3. ตัวอย่างวิธีการคำนวณปริมาณแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้จริงจากแป้ง

- ถ้ามันฝรั่ง มีแป้งจำนวน 17.69 เปอร์เซ็นต์
ดังนั้นมันฝรั่งจำนวน 16000 กรัมมีแป้ง 2830.4 กรัม
- ปริมาตรแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ทั้งหมด 1050 มิลลิลิตร

จากสูตรคำนวณ ปริมาณแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้จากแป้ง (%v/w)

$$= \{ \text{ปริมาตรแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ (มล.)} / \text{น้ำหนักแป้งในมันฝรั่งที่ใช้ (กรัม)} \} \times 100$$
$$= (1050 / 2830.4) \times 100 = 37.10 \text{ เปอร์เซ็นต์}$$

4. ตัวอย่างวิธีการคำนวณประสิทธิภาพในการผลิตแอลกอฮอล์

- ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จริงจากแป้ง (%v/w) (จากข้อ 3)
- ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ตามทฤษฎี (%) คือ หากมีแป้งจำนวน 1.7 หน่วย สามารถหมักให้ได้แอลกอฮอล์ จำนวน 1 หน่วย คิดเป็น 58.82 เปอร์เซ็นต์

จากสูตรคำนวณ ประสิทธิภาพในการผลิตแอลกอฮอล์

$$= \left\{ \frac{\text{ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จริงจากแป้ง (\%)} }{\text{ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ตามทฤษฎี (\%)}} \right\} \times 100$$

$$= (37.10 / 58.82) \times 100 = 63.00 \text{ เปอร์เซ็นต์}$$

5. การคำนวณต้นทุนการผลิต

ตารางที่ ๑ การคำนวณต้นทุนการผลิตวอดก้ากลั่นส้มสายน้ำผึ้ง

รายการ	ราคา (บาท) / หน่วย	จำนวนที่ใช้	คิดเป็นเงิน (บาท)
มันฝรั่ง	4 / กก.	100 กก.	400.00
ค่าเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส	300 / กก.	0.04 กก.	12.00
ค่าเอนไซม์กลูโคอะไมเลส	400 / กก.	0.78 กก.	31.20
ค่ายีสต์	200 / 20 กก.	20 กก.	200.00
ถ่านกัมมันต์	60 / กก.	1.54 กก.	92.40
ค่าแรง 30 เปอร์เซ็นต์ของต้นทุน			220.68
		รวมเป็นเงิน	956.28
ผลผลิตที่ได้ 15.4 ลิตร		ดังนั้นต้นทุนในการผลิต / ลิตร	62.09
		ต้นทุนในการผลิต / 750 มิลลิลิตร	46.57