ภาคผนวก ก

รูปภาพประกอบการวิจัย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รูป ก-1 ผลส้มสายน้ำผึ้งและเนื้อส้มสายน้ำผึ้งที่ใช้ในงานวิจัย

รูป ก-2 เครื่องกลั่นสุราแบบ pot still ที่ใช้ในงานวิจัย

รูป ก-3 เครื่องกลั่นแบบลำดับส่วนที่ใช้ในที่ใช้ในการวิจัย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตัวอย่างแบบทดสอบทางประสาทสัมผัส ผลิตภัณฑ์สุราส้มสายน้ำผึ้ง

ชื่อ …….. วันที่ …….. ลำดับที่ …….

<u>คำแนะนำ</u> กรุณาทดสอบผลิตภัณฑ์และให้คะแนนในแต่ละคุณลักษณะตามความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยมีระดับคะแนน 1-9 ดังนี้

9 = ชอบมากที่สุด	6 = ชอบเล็กน้อย	3 = ไม่ชอบปานกลาง
8 = ชอบมาก	5 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่	2 = ไม่ชอบมาก
7 = ชอบปานกลาง	4 = ไม่ชอบเล็กน้อย	1 = ไม่ชอบมากที่สุด

	รหัส	…….	……	……	……...
1.	กลิ่นส้ม	……...	……	……	……
2.	รสชาติ	…….	……	……	……
3.	ความชอบรวม	…….	……	……	……

ข้อเสนอแนะ

……

……

……

……

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นโดยวิธีการใช้ตู้อบไฟฟ้า (AOAC, 2000)

1. อบกระป๋องหาความชื้นพร้อมฝาที่ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนัก (W_1)

2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 3 กรัมใส่กระป๋องหาความชื้นที่อบเรียบร้อยแล้ว และชั่งน้ำหนักไว้เรียบร้อยแล้ว (W_2)

3. นำกระป๋องหาความชื้นพร้อมฝา โดยเปิดฝาออกไปอบที่ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง

4. นำกระป๋องหาความชื้นออกจากตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้า โดยปิดฝาทันที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

5. นำไปอบต่ออีก 1 ชั่วโมงจนได้น้ำหนักคงที่ (W_3)

เปอร์เซ็นต์ความชื้น = $\{(W_2 - W_3) \times 100\}/(W_2 - W_1)$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักของกระป๋องหาความชื้น เป็นกรัม

W_2 = น้ำหนักของกระป๋องหาความชื้นและตัวอย่างก่อนอบ เป็นกรัม

W_3 = น้ำหนักของกระป๋องหาความชื้นและตัวอย่างหลังอบ เป็นกรัม

2. การวิเคราะห์ไขมันโดยวิธีซอล์เลต (AOAC, 2000)

1. อบขวดก้นกลมด้วยตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W_1)

2. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบไล่ความชื้นแล้ว โดยใช้เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ปริมาณ 2 กรัม (W) ใส่ในบีกเกอร์ เทผ่านกรวยกรองลงในทิมเบอร์ที่มีกระดาษกรองรองรับภายใน แล้ววางทิมเบอร์ลงในชุดซอล์กเลต

3. สกัดโดยใช้ไดเอทธิลอีเทอร์ ตามเวลาที่กำหนด (ขึ้นกับปริมาณไขมันในตัวอย่าง)

4. เมื่อทำการสกัดครบตามเวลาที่กำหนดแล้ว ให้ระเหยอีเทอร์ เมื่อระเหยหมดแล้วนำไปอบที่ตู้ไฟฟ้าอุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น

5. อบต่ออีกครั้ง ประมาณ 30 นาที จนได้น้ำหนักคงที่ (น้ำหนักคงที่คือผลต่างของการชั่ง 2 ครั้งติดต่อกันมีค่าไม่เกิน 2 มิลลิกรัม) ชั่งน้ำหนัก (W_2)

ปริมาณไขมัน ร้อยละของน้ำหนัก = $\{(W_2 - W_1) \times 100\}/W$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักขวดก้นกลม เป็นกรัม

W_2 = น้ำหนักขวดก้นกลมและไขมัน เป็นกรัม

W = น้ำหนักตัวอย่าง เป็นกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธี Kjedahl method (AOAC, 2000)

1. ชั่งตัวอย่างน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2.0 กรัม และชั่งน้ำหนัก (W_1) ถ่ายตัวอย่างลงในหลอดเคลดาห์ล แล้วชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ที่ถ่ายตัวอย่างออกแล้ว (W_2) ทำ Blank ควบคู่ไปด้วย

2. เติมคะตะลิตส์ จำนวน 8 กรัม และเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร โดยเอียงขวดและค่อยๆรินกรดลงข้างๆหลอดเพื่อล้างตัวอย่างที่อาจติดอยู่ข้างหลอดให้หมดและค่อยๆเขย่าตัวอย่างเบาๆ

3. นำไปย่อยที่ชุดย่อยโปรตีนในตู้ดูดควัน โดยให้ความร้อนระดับ 5 ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วจึงเพิ่มเป็นระดับความร้อน 10 อีกประมาณ 2 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งสารละลายใสจึงปิดชุดย่อย รอจนกระทั่งสารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง ห้ามนำหลอดย่อยไปทำให้เย็นด้วยน้ำเพราะจะทำให้หลอดย่อยแตกได้

4. นำสารละลายที่ได้ต่อกับเครื่องกลั่นโปรตีน โดยนำขวดรูปชมพู่ที่มีกรดบอริกจำนวน 50 มิลลิลิตร และหยดอินดิเคเตอร์ผสmLงไป 3-5 หยด

5. อัตราการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้มีปริมาณมากเกินพอ (ประมาณ 60 มิลลิลิตร) ข้อสังเกต ถ้าปริมาณด่างมากเกินพอ สารละลายจะมีสีดำ ถ้ายังไม่เกิดสีดำให้เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เพิ่มอีก 5-10 หยด

6. เปิดเครื่องเริ่มทำการกลั่น โดยให้ทำ Blank ก่อนตัวอย่าง หลังจากนั้นจึงทำการกลั่นตัวอย่าง

7. นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก จนได้จุดยุติ คือ สังเกตเห็นสีชมพูปรากฏขึ้น และสารละลายสีเทาอมม่วง

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

V_a = ปริมาตรของสารละลายกรดมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ใช้ใน การไทเทรตตัวอย่าง มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

V_b = ปริมาตรของสารละลายกรดมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ใช้การไทเทรต Blank มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

$N.H_2SO_4$ = ความเข้มข้นของสารละลายกรดมาตรฐานกรดซัลฟิวริก มีหน่วยเป็นนอร์มอล

W_1 = น้ำหนักสคูปและตัวอย่าง มีหน่วยเป็นกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

W_2 = น้ำหนักสคูปที่ถ่ายตัวอย่างออกเรียบร้อยแล้ว มีหน่วยเป็นกรัม

ปริมาณโปรตีน ร้อยละโดยน้ำหนัก = ปริมาณไนโตรเจนร้อยละของน้ำหนัก x แฟกเตอร์

หมายเหตุ ค่าแฟกเตอร์ของส้ม 6.25

4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส ถึง 550 องศาเซลเซียส เท่ากับอุณหภูมิที่ใช้เผาตัวอย่าง นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W_1) และใส่ตัวอย่างทันทีในถ้วยกระเบื้องเคลือบ ชั่งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2-3 กรัม (W_2)

2. นำไปเผาไฟอ่อนบนเตาไฟฟ้า โดยเพิ่มความร้อนขึ้นทีละน้อย จนตัวอย่างไหม้เกรียม และเผาต่อด้วยตะเกียงบุนเซนให้ควันหมด ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นของเหลวหรือกึ่งแข็งกึ่งเหลวให้นำตัวอย่างไประเหยแห้งบนเครื่องอังน้ำก่อนนำไปเผาบนเตาไฟฟ้า

3. นำไปเผาต่อในเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส ถึง 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาว (ใช้เวลา 2-3 ชั่วโมง)

4. ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักไว้

5. ถ้าเถ้าที่ได้ไม่ขาว ให้หยดน้ำเล็กน้อยพอเปียกชุ่ม (ระวังอย่าให้เถ้าฟุ้งหรือกระเด็น) นำไประเหยแห้งบนเครื่องอังน้ำ และให้ทำซ้ำตามข้อ 2-4 โดยใช้เวลาในเตาเผาไฟฟ้าเพียง1 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่ (น้ำหนักคงที่ หมายถึง ผลต่างของการชั่ง 2 ครั้งติดกันมีค่าไม่เกิน 2 มิลลิกรัม) ชั่งน้ำหนักที่ได้ (W_3)

ปริมาณเถ้าทั้งหมด ร้อยละของน้ำหนัก = $\{(W_3 - W_1) \times 100\}/(W_2 - W_1)$

5. ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (AOAC, 2000)

ร้อยละคาร์โบไฮเดรต = 100 - (ร้อยละความชื้น - ร้อยละไขมัน – ร้อยละโปรตีน - ร้อยละเถ้า)

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

นำของเหลวจากตัวอย่างน้ำส่าวัดด้วยเครื่อง hand refractometer (ATAGO Model N-1F) ค่าที่อ่านได้มีหน่วยเป็น ^{O}Brix ซึ่งแต่ละตัวอย่างจะทำการวัด 3 ซ้ำทำการ standardized ด้วยน้ำกลั่น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี Lane and Eynon (AOAC, 2000)

สารเคมี

1. สารละลาย Fehling No.1 เตรียมโดยสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulphate, $CuSO_4$) จำนวน 69.278 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

2. สารละลาย Fehling No.2 เตรียมโดยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 100 กรัม และโซเดียมโพแทสเซียมตาร์เตรตจำนวน 346 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

3. สารละลาย Carrez No.1 เตรียมโดยละลายซิงค์อะซิเตต จำนวน 21.9 กรัม ในน้ำกลั่นที่มีกรดอะซิติก (Acetic Acid glacial) จำนวน 3 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

4. สารละลาย Carrez No.2 เตรียมโดยสารละลายโพแทสเซียมเฟอโรไซยาไนด์ จำนวน 10.6 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

5. สารละลายเมทิลีนบลู เข้มข้น 1% เตรียมโดยละลายเมธิลีนบลูจำนวน 1 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

6. สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6.34 นอร์มอล เตรียมโดยตวงกรดไฮโดรคลอริก จำนวน 528.33 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

7. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ นอร์มอล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 200 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร

วิธีทำ

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

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลก่อนการทำอินเวอร์ชั่น (D_1)

นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้ ใส่ในบิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร ไล่ฟองอากาศออกให้หมด ปิเปตสารละลาย Fehling No.1 และ No.2 อย่างละ 5 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาส์ขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่แท่งแม่เหล็ก นำไปตั้งบนเครื่อง hot plate stirrer จนเดือดไตเตรทกับสารละลายน้ำตาลตัวอย่างจนสีน้ำเงินจางลง หยดสารละลายเมธิลีนบลูลงไป 1 หยด ไตเตรทจนสีฟ้าหายไปหมด เหลือตะกอนสีส้มแดง จดปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ใช้ ถ้าปริมาตรของสารละลายที่ใช้อยู่ในช่วง 15-50 มิลลิลิตร แสดงว่าสารละลายตัวอย่างมีความเข้มข้นที่เหมาะสม ทำการไตเตรท

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สารละลายตัวอย่างให้ได้ค่าที่ถูกต้องกับสารละลาย Felhing โดยปล่อยสารละลายน้ำตาลจากบิวเรตลงไปทันที โดยใช้ปริมาตรน้อยกว่าที่ใช้ในการไตเตรทครั้งแรกประมาณ 1-2 มิลลิลิตร ปล่อยให้เดือดนาน 2 นาที หยดสารละลายเมธิลีนบลูลงไป 1 หยด จนสีฟ้าหายไปหมด เหลือตะกอนสีส้มแดง จดปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ใช้ ทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง นำปริมาตรสารละลายน้ำตาลที่ใช้มาหาค่าเฉลี่ย แล้วนำไปเปรียบเทียบหาปริมาณน้ำตาลในสารละลายตัวอย่างจากตารางมาตรฐาน

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลภายหลังการทำอินเวอร์ชั่น (D_2)

ปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 50 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาส์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6.34 นอร์มอล ลงไป 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปไฮโดรไลซ์ใน water bath ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้นนำมาทำให้เย็น แล้วปรับให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 10 นอร์มอล แล้วปรับปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายตัวอย่างนี้ใส่ลงในบิวเรต ทำการไตเตรทกับสารละลาย Felhing เช่นเดียวกับการหาปริมาณน้ำตาลก่อนอินเวอร์ชั่น

ร้อยละน้ำตาลซูโครส (S) = ร้อยละของผลต่าง ($D_2 - D_1$) X 0.95

ร้อยละน้ำตาลทั้งหมด = $D_1 + S$

8. การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดโดยวิธีการไตเตรท

การเตรียมตัวอย่าง

ทำการไล่อากาศออกจากตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร โดยใช้วิธีสุญญากาศจากบุชเนอร์ฟลาสก์ โดยขณะทำสุญญากาศจะต้องทำการเขย่าฟลาสก์ไปด้วยเป็นเวลา 3 นาที

1.ตวงน้ำกลั่นโดยประมาณ 100 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์

2. หยดฟีนอล์ฟทาลีน 3-5 หยด (อินดิเคเตอร์) ลงในฟลาสก์

3. หยดสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1โมล่าร์ จากบิวเรต (โดยปกติจะใช้ไม่กี่หยด และไม่ต้องทำการบันทึกปริมาตรที่ใช้) จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนคงที่เป็นเวลา 30 วินาที

4. ปิเปตตัวอย่างที่ผ่านการไล่อากาศออกแล้วปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ (สีชมพูจะเปลี่ยนเป็นสีใสเหมือนเดิม)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. ทำการไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1โมล่าร์ จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนกลับไปเป็นสีชมพูอ่อนอีกครั้งหนึ่ง โดยให้คงที่เป็นเวลา 30 วินาที

6. บันทึกปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1โมล่าร์ ที่ใช้ไป

สูตรที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมด ในรูปกรดซิตริก

= { 0.7 (โมล่าร์ของด่าง x ปริมาตรด่างที่ใช้)(mL)} / ปริมาตรน้ำส่าที่ใช้

9.การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์โดย Ebulliometer

การ calibration เครื่อง Ebulliometer

1. ล้างทำความสะอาดด้านในของเครื่องด้วยน้ำกลั่น

2. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 50 mL ลงใน boiling chamber

3. ทำการประกอบเครื่อง และไม่ต้องเติมน้ำเย็นในคอนเดนเซอร์

4. ให้ความร้อนด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์ เมื่อน้ำเดือด สังเกตปรอทจะเริ่มวิ่ง และเมื่อปรอทคงที่ให้ปรับสเกลอยู่ที่ 0

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. เติมตัวอย่างปริมาตร 20 mL ลงใน boiling chamber ทำการประกอบเครื่อง มัดระดังและเติมน้ำเย็นในคอนเดนเซอร์

2. ให้ความร้อนด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์ สังเกตปรอทจะเริ่มวิ่ง และเมื่อปรอทคงที่ทำการอ่านค่า ซึ่งค่าที่ได้จะเป็นปริมาณแอลกอฮอล์ของตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์

10. การวิเคราะห์ฟูเซลล์ออยล์ในสุรากลั่น โดยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี (AOAC, 2000) (วิเคราะห์โดยสถานวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ; สวท.มช.)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟยี่ห้อ Agilent technologies รุ่น HP-6890
2. Ethanol Absolute
3. Isobytyl alcohol, AR grade
4. Isoamyl alcohol, AR grade
5. *n*-Bytyl alcohol, AR grade
6. น้ำกลั่น

การเตรียมสารละลาย

1. เตรียม Internal standard stock solution : เจือจาง 10 mL *n*-butanol ด้วย 40% Ethanol ใน Volumetric flask 100 mL

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. เตรียม standard stock solution : เจือจาง 1mL Isobutyl alcohol, 1 mL Isoamyl alcohol, ด้วย 40% Ethanol ใน Volumetric flask 100 mL

3. เตรียมสารละลายมาตรฐาน : ความเข้มข้น 100, 200, 400, 800 และ 1600 ppm และเติม Internal standard 300 µL ทุกความเข้มข้น

สภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟสำหรับตรวจหาฟูเซลล์ออยล์

- Inlet temperature : 200 ^{o}C
- Flame Ionization detector temperature : 250 ^{o}C
- Column temperature : 35 ^{o}C (4min), 35-38 ^{o}C (7/ ^{o}C min), 58-100 ^{o}C (25 ^{o}C / min), 150 ^{o}C (2 min)
- Injection Volume : 1 µL
- Split ratio : 10 : 1
- Carrier gas flow rate (He) : 1 mL/min
- Column : HP-INNOwax (30m x 0.25mm x 0.25µm)

การวิเคราะห์ผล

1. กรณีพบว่าตัวอย่างสุรากลั่นมี *n*-butanol เป็นส่วนประกอบ ทำการหาปริมาณโดยใช้กราฟมาตรฐานแบบ External standard

2. กรณีพบว่าตัวอย่างสุรากลั่นที่ตรวจไม่พบ *n*-butanol เป็นส่วนประกอบ ทำการหาปริมาณโดยใช้กราฟมาตรฐานแบบ Internal standard

11. การวิเคราะห์ปริมาณเมทานอลในสุรากลั่น โดยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี (AOAC, 2000) (วิเคราะห์โดยสถานวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ; สวท.มช.)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟยี่ห้อ Agilent technologies รุ่น HP-6890
2. Ethanol Absolute
3. Methanol, AR grade
4. *n*-Butyl alcohol
5. น้ำกลั่น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเตรียมสารละลาย

1. เตรียม Internal standard stock solution : เจือจาง 10 mL *n*-butanol ด้วย 40% Ethanol ใน Volumetric flask 100 mL

2. เตรียม methanol standard stock solution : เจือจาง 10 mL Isobutyl alcohol, 1 mL Isoamyl alcohol, ด้วย 40% Ethanol ใน Volumetric flask 100 mL

3. เตรียมสารละลายมาตรฐาน methanol : ความเข้มข้น 20, 40, 80, 100 และ 120 ppm และเติม Internal standard 300 µl ทุกความเข้มข้น

สภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟสำหรับตรวจหาเมทานอล

- Inlet temperature : 200 ^{o}C
- Flame Ionization detector temperature : 250 ^{o}C
- Column temperature : 35 ^{o}C (4 min), 35-38 ^{o}C (7/ ^{o}C min), 85 ^{o}C (2 min)
- Injection Volume : 1 µL
- Split ratio : 10 : 1
- Carrier gas flow rate (He) : 1 mL/min
- Column : HP-INNOwax (30m x 0.25mm x 0.25µm)

การวิเคราะห์ผล

1. กรณีพบว่าตัวอย่างสุรากลั่นมี *n*-butanol เป็นส่วนประกอบ ทำการหาปริมาณโดยใช้กราฟมาตรฐานแบบ External standard

2. กรณีพบว่าตัวอย่างสุรากลั่นที่ตรวจไม่พบ *n*-butanol เป็นส่วนประกอบ ทำการหาปริมาณโดยใช้กราฟมาตรฐานแบบ Internal standard

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ง

การคำนวณที่ใช้ในการวิจัย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. การคำนวณผลผลิตเนื้อส้ม

สูตรการคำนวณ

$$\text{ร้อยละผลผลิตเนื้อส้ม} = \frac{A}{B} \times 100$$

A = เนื้อส้มที่ปอกเปลือก (kg)

B = น้ำหนักผลส้ม (kg)

ตัวอย่างการคำนวณผลผลิตเนื้อส้ม

มีส้มทั้งหมด 123.8 kg เมื่อแกะเปลือกแล้วได้เนื้อส้มอยู่ 94.8 kg

$$\text{ร้อยละผลผลิตเนื้อส้ม} = \frac{94.8}{123.8} \times 100$$

$$= 76.58$$

ดังนั้น ได้ผลผลิตเนื้อส้ม ร้อยละ 76.58 โดยน้ำหนัก

2. การคำนวณปริมาณน้ำส่า

สูตรการคำนวณ

$$\text{ร้อยละปริมาณน้ำส่า (v/w)} = \frac{A}{B} \times 100$$

A = ปริมาตรน้ำส่าหลังกรอง (mL)

B = น้ำหนักน้ำหมักเริ่มต้น (g)

ตัวอย่างการคำนวณปริมาณน้ำส่า

ปริมาตรน้ำส่าที่ได้หลังกรองเท่ากับ 2000 mL ได้จากน้ำหมักเริ่มต้น 3500 g

$$\text{ร้อยละปริมาณน้ำส่า} = \frac{2000}{3500} \times 100$$

$$= 57.14$$

ดังนั้น ได้ปริมาณน้ำส่า ร้อยละ 57.14 (v/w)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การคำนวณผลผลิตน้ำส่าจากผลส้ม

สูตรการคำนวณ

ร้อยละผลผลิตน้ำส่าจากผลส้ม = $\frac{A}{B} \times \frac{100}{C} \times 100$

A = น้ำส่าที่หมักได้ก่อนกลั่น (kg)

B = น้ำหนักเนื้อส้ม (kg)

C = ร้อยละผลผลิตเนื้อส้ม

ตัวอย่างการคำนวณผลผลิตน้ำส่าจากผลส้ม

น้ำส่าที่หมักได้ก่อนกลั่น 2.3 kg ได้มาจากการหมักเนื้อส้ม 3.5 kg

ร้อยละผลผลิตน้ำส่าจากผลส้ม = $\frac{2.3}{3.5} \times \frac{100}{76.58} \times 100$

= 85.34

ดังนั้น ได้ผลผลิตน้ำส่าจากผลส้ม ร้อยละ 85.34 (v/w)

4. การคำนวณผลผลิตแอลกอฮอล์จากผลส้ม

สูตรการคำนวณ

ร้อยละผลผลิตแอลกอฮอล์จากผลส้ม = $\frac{A}{B} \times \frac{C}{100} \times 100$

A = ปริมาตรแอลกอฮอล์หลังปรับเป็นร้อยละ 40 (L)

B = น้ำหนักเนื้อส้มที่ใช้ (kg)

C = ร้อยละผลผลิตเนื้อส้ม

ตัวอย่างการคำนวณผลผลิตแอลกอฮอล์จากผลส้ม

ปริมาตรแอลกอฮอล์หลังปรับเป็นร้อยละ 40 ได้ 0.284 L

ร้อยละผลผลิตแอลกอฮอล์จากผลส้ม = $\frac{0.284}{3.5} \times \frac{76.58}{100} \times 100$

= 10.59

ดังนั้น ได้ผลผลิตแอลกอฮอล์จากผลส้ม 10.59 (v/w)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. การคำนวณประสิทธิภาพของการกลั่น

สูตรการคำนวณ

$$\text{ประสิทธิภาพของการกลั่น} = \frac{A}{B} \times \frac{C}{D} \times 100$$

A = ปริมาตรแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ (mL)

B = ปริมาตรน้ำส่าที่กลั่น (mL)

C = ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ (ร้อยละ)

D = ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในน้ำส่า (ร้อยละ)

ตัวอย่างการคำนวณประสิทธิภาพของการกลั่น

ปริมาตรของแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ 242 mL มีความเข้มข้นร้อยละ 47 (v/v) ได้มาจากน้ำส่า 2,300 mL ที่มีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์เท่ากับร้อยละ 11 (v/v)

$$\text{ประสิทธิภาพของการกลั่น} = \frac{242}{2300} \times \frac{47}{11} \times 100$$

$$= 44.96$$

ดังนั้น ได้ประสิทธิภาพของการกลั่น ร้อยละ 44.96

6. การคำนวณต้นทุนการผลิตของสุราส้มสายน้ำผึ้งที่ใช้น้ำตาลต่างชนิดกัน (ตาราง ง-1)

7. การคำนวณต้นทุนการผลิตของสุราส้มสายน้ำผึ้งที่ใช้เครื่องกลั่นต่างชนิดกัน (ตาราง ง-2)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ง-1 การคำนวณต้นทุนการผลิตของสุราส้มสายน้ำผึ้งที่ใช้น้ำตาลต่างชนิดกัน

รายการต้นทุน	ราคาต่อหน่วย (บาท/kg)	น้ำตาลทรายขาว		น้ำตาลทรายแดง		กากน้ำตาล	
		ปริมาณที่ใช้ (kg)	จำนวนเงิน (บาท)	ปริมาณที่ใช้ (kg)	จำนวนเงิน (บาท)	ปริมาณที่ใช้ (kg)	จำนวนเงิน (บาท)
ส้มสายน้ำผึ้งตกเกรด	3*	3.5	10.5	3.5	10.5	3.5	10.5
ยีสต์	3,000	0.002	6	0.002	6	0.002	6
น้ำตาลทรายขาว	22	0.25	5.5	-	-	-	-
น้ำตาลทรายแดง	20	-	-	0.25	5	-	-
กากน้ำตาล	4.5	-	-	-	-	0.6	2.7
KMS	120	0.0007	0.084	0.0007	0.084	0.0014	0.084
DAP	140	0.001	0.14	0.001	0.14	0.002	0.14
รวมต้นทุน		-	21.22	-	21.72	-	19.42
ต้นทุน/ปริมาตรสุราที่ได้		-	21.22/0.275	-	21.72/0.288	-	19.42/0.285
ต้นทุน (บาท/ลิตร)		-	77.16	-	75.41	-	68.14
ต้นทุน (บาท/ขวด 630มล.)		-	48.61	-	47.50	-	42.92

หมายเหตุ : *ราคาส้มสายน้ำผึ้งรวมค่าแรงในการปอกส้มแล้ว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ง-2 การคำนวณต้นทุนการผลิตของสุราส้มสายน้ำผึ้งที่ใช้เครื่องกลั่นต่างชนิดกัน

รายการต้นทุน	ราคาต่อหน่วย (บาท/kg)	เครื่องกลั่นแบบ pot still		เครื่องกลั่นแบบลำดับส่วน	
		ปริมาณที่ใช้ (kg)	จำนวนเงิน (บาท)	ปริมาณที่ใช้ (kg)	จำนวนเงิน (บาท)
ส้มสายน้ำผึ้งตกเกรด	3*	7	21	7	21
ยีสต์	3,000	0.004	12	0.004	12
น้ำตาลทรายขาว	22	0.5	11	0.5	11
KMS	120	0.0014	0.17	0.0014	0.17
DAP	140	0.002	0.28	0.002	0.28
แก๊สหุงต้ม	15.20	0.22	3.34	-	-
ไฟฟ้า	2	-	-	3	6
รวมต้นทุน		-	47.79	-	50.45
ต้นทุน/ปริมาตรสุราที่ได้		-	47.79/0.400	-	50.45/0.655
ต้นทุน (บาท/ลิตร)		-	119.48	-	77.02
ต้นทุน (บาท/ขวด 630 มล.)		-	75.27	-	48.52

หมายเหตุ : *ราคาส้มสายน้ำผึ้งรวมค่าแรงในการปอกส้มแล้ว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก จ

รายงานผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของสุรากลั่น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สถานบริการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (สวท-มช.)
ชั้น 7 อาคาร 30 ปี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์ : 053-943397, 053-941971 โทรสาร : 053-892275 E-mail : stsc@science.cmu.ac.th
Science and Technology Service Center, Chiang Mai University
7th Floor, 30th year Science Building, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

รายงานผลการทดสอบ

TR : 50/0160

เลขที่รับงาน : 094/50

หน้า 1/1

วันที่รายงานผล : 18 เมษายน 2550 **วันที่รับตัวอย่าง** : 14 มีนาคม 2550

ตัวอย่าง : สุรากลั่นส้มสายน้ำผึ้ง

ชื่อของลูกค้า / หน่วยงาน : ศราวุธ คำภิระปาวงศ์

ที่อยู่ : 110 ถนนเจริญประเทศ ตำบลเวียงเหนือ อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง

โทรศัพท์ : 081-8848025

ผลการทดสอบ

ตัวอย่าง	รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย
สุรากลั่นส้มสายน้ำผึ้ง (Treatment 1)	ฟูเซลออยล์	592.68 ± 1.27	ppm
	เมทิลแอลกอฮอล์	522.02 ± 0.14	ppm
สุรากลั่นส้มสายน้ำผึ้ง (Treatment 2)	ฟูเซลออยล์	593.70 ± 5.08	ppm
	เมทิลแอลกอฮอล์	505.58 ± 4.70	ppm

(อาจารย์ อุไร เต็งเจริญกุล)
อาจารย์ที่ปรึกษา

ผลการตรวจสอบ/วิเคราะห์ตามเอกสารข้างต้นนี้ รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้ตรวจวิเคราะห์เท่านั้น ไม่รับรองวัตถุหรือสินค้าที่ใช้เครื่องหมายเดียวกับตัวอย่างนี้ และห้ามใช้รายงานฉบับนี้ในการประกาศ หรือย่อตัดทอน

อนุมัติผลโดย

(รองศาสตราจารย์ ดร. นวลศรี รักอริยะธรรม)
ผู้อำนวยการ
สถานบริการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มช.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ฉ

ข้อมูลผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส (Cellubrix®)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Product Sheet

THE EAST ASIATIC (THAILAND) PUBLIC COMPANY LIMITED
1168/38-120 Lumpini Tower, 33rd Floor,
Rama IV Road, Thungmahamek, Sathorn, Bangkok 10120
Tel. 02679-5993 FAX. 02679-5959-60

novozymes®

Cellubrix® L

Description

Cellubrix is a liquid cellulase and cellobiase preparation produced by separate fermentation of *Trichoderma longibrachiatum* and *Aspergillus niger*. The enzyme catalyzes the breakdown of cellulose into higher glucose polymers and then, due to the cellobiase activity, into glucose. Cellubrix has a pronounced viscosity-reducing effect on cellulosic substrates.

Product Properties

Product type

Cellubrix is a brownish liquid with a slight smell typical of fermented products and a pH of approx. 4.6.

Activity

Cellubrix contains:

Cellulase .....1500 NCU/ml
Cellobiase .....25 CbU/ml

The product is a brown liquid with a density of approx. 1.2 g/ml.

Activity determination

Cellulase

One Novo Cellulase Unit (NCU) is the amount of enzyme which, under the given standard conditions, degrades CMC to reducing carbohydrates with a reduction power corresponding to 1 µmol glucose per minute.

Standard conditions:

Substrate.....CMC (Hercules 7LFD)
Temperature.....40°C (104°F)
pH.....4.8
Reaction time.....20 minutes

Cellobiase

One Cellobiase Unit (CbU) is the amount of enzyme which, under the given standard conditions and with cellobiose as substrate, liberates 2 µmol glucose per minute.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Standard conditions:

Substrate.....D(+) Cellobiose (Sigma C 7252)
Temperature.....40°C (104°F)
pH.....5.0
Reaction time.....15 minutes

Detailed descriptions of the applied analytical methods are available on request.

Solubility
The active components of Cellubrix are readily soluble in water at all concentrations that occur in normal usage. Turbidity which may occur in the enzyme preparation has no influence on the volumetric activity or handling characteristics of the product.

Food-grade status
Cellubrix complies with the recommended purity specifications for food-grade enzymes given by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemicals Codex (FCC). The product is bottled aseptically after sterile filtration and therefore practically germ-free.

Packaging
See the standard Packaging List for more packaging information.

Application

Cellubrix can be used whenever the aim is the breakdown of cellulosic matter for the production of fermentable sugar, a reduction in the viscosity of mashes and pulps or an increase in the extraction yield (Brix) of valuable products of plant origin. The typical applications are as follows:

- Cellubrix is used in mash and/or pomace treatment of fruits and vegetables together with pectinases and hemicellulases for a synergistic reduction in viscosity and increase in Brix, so leading to higher yields after solid/liquid separation.
- Cellubrix is used to improve filter rates with ultra- and microfilters or even plate filters.
- Cellubrix is used to decrease the level of insoluble solids in retentates or sediments of fruit and vegetable juices, so increasing the yield of fermentable sugars.
- Cellubrix reduces fouling of ultra- and microfiltration membranes if added prior to filtration.

The optimal enzyme dosages depend on the reaction conditions, such as pH, temperature, time, substrate and substrate concentration. As a starting dose of Cellubrix we recommend 100 ml per ton (100 ppm).

Reaction Parameters

Activity and Stability
Figures 1 and 2 illustrate the activity of Cellubrix at different pH values and temperatures, using CMC/cellobiose as substrate. The heat and pH stability of the enzyme in aqueous solutions are shown in Figures 3 and 4.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

For practical applications, the optimum working conditions are about 50-60°C (122-140°F).

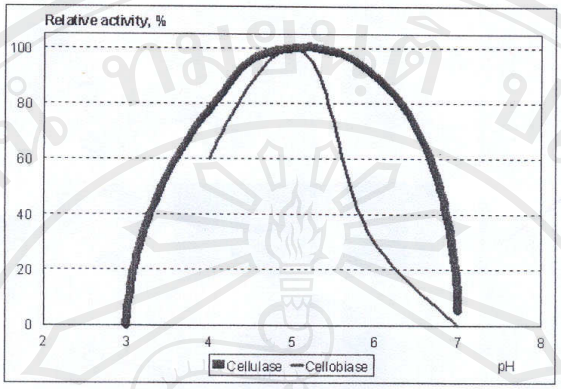

Fig. 1. Influence of pH on the activity of Cellubrix.

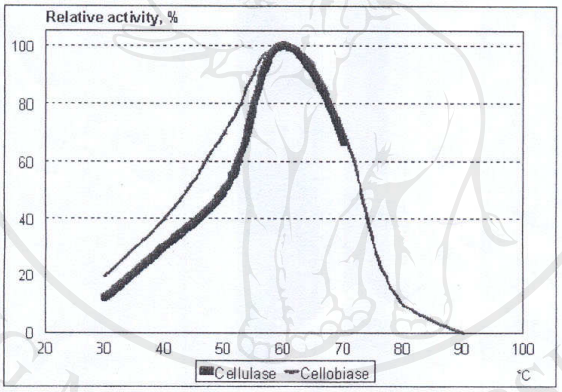

Fig. 2. Influence of temperature on the activity of Cellubrix.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

novozymes®

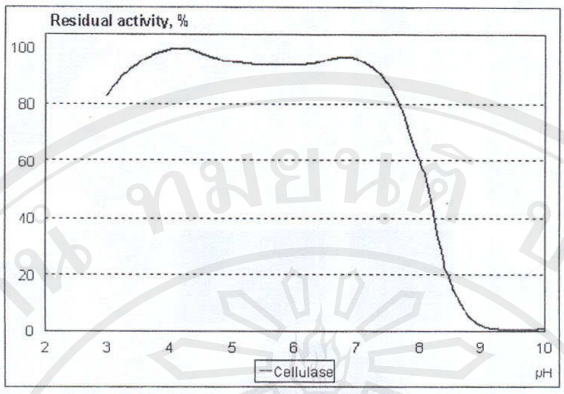

Fig. 3. Influence of pH on the stability of cellulase.

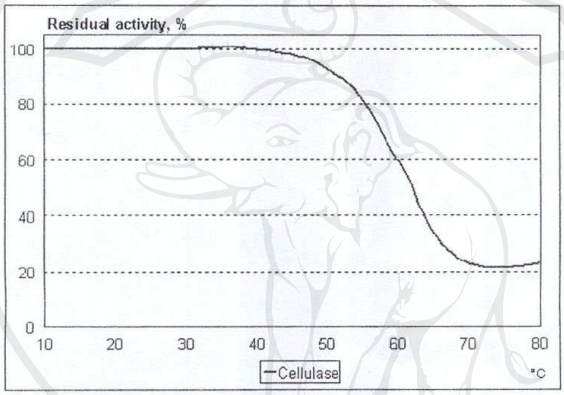

Fig. 4. Influence of temperature on the stability of cellulase.

The balanced blend between cellulase and cellobiase activity has been carefully optimized on plant cell wall material from fruits or vegetables to achieve the best possible depolymerizing effect and so the maximum possible glucose level.

Safety

Enzymes are proteins. Inhalation of dust or aerosols may induce sensitization and may cause allergic reactions in sensitized individuals. Some enzymes may irritate the skin, eyes and mucous membranes upon prolonged contact.

This product may create easily inhaled aerosols if splashed or vigorously stirred. Spilled product may dry out and create dust.

Spilled material should be flushed away with water. Avoid splashing. Left-over material may dry out and create dust. Wear suitable protective clothing, gloves and eye/face protection as prescribed on the warning label. Wash contaminated clothes.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

novozymes®

A Material Safety Data Sheet is supplied with all products. See the Safety Manual for further information regarding how to handle the product safely.

Storage

Enzymes gradually lose activity over time depending on storage temperature. Cool conditions are recommended. When stored in closed containers at 25°C (77°F), the product will maintain its declared activity for 3 months. When stored at 5°C (41°F), the product will maintain its declared activity for 12 months. Extended storage and/or adverse conditions, including higher temperature, may lead to a higher dosage requirement.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

novozymes

Novozymes Switzerland AG
Neumatt
4243 Dittingen
Switzerland

Tel. +41 61 7656111
Fax +41 61 7656333

Novozymes A/S
Krogshoejvej 36
2880 Bagsvaerd
Denmark

Tel. +45 8824 9999
Fax +45 8824 9998
info@novozymes.com
www.novozymes.com

Laws, regulations and third party rights may prevent customers from importing, processing, applying and/or reselling certain products in a given manner. It is the responsibility of the customers that their specific use of products from Novozymes does not infringe relevant laws and regulations and, furthermore, does not infringe patents or other third party rights.
The contents of this document are subject to change without further notice.

Date © Novozymes A/S

ประวัติผู้เขียน

ชื่อสกุล	นาย ศราวุธ คำภิระปาวงศ์
วัน เดือน ปีเกิด	4 มกราคม 2525
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนบุญวาทย์วิทยาลัย จังหวัดลำปาง ปีการศึกษา 2542 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพายัพ ปีการศึกษา 2546

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved