รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2532. การปลูกหม่อนเลี้ยงไหม. เอกสารทางวิชาการที่ 42. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. โรงพิมพ์. กรุงเทพฯ.

กองศึกษาภาวะเศรษฐกิจอุตสาหกรรม. 2536. อุตสาหกรรมวิสกี้ บรั่นดี และไวน์. รายงานการศึกษาภาวะเศรษฐกิจอุตสาหกรรม. กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ.

เกศินี ระมิงค์วงศ์. 2528. ไม้ผลเมืองร้อน. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

กำเนิด สุภัณวงษ์. 2534. จุลชีววิทยาหมัก. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

เชิดชัย เชี่ยวชีรกุล, ฉกามาศ วงศ์ข้าหลวง และปนัดดา แซ่อึ้ง. 2519. การทำไวน์จากผลไม้เมืองร้อน. อาหาร. ปีที่8. ฉบับที่2. หน้า6-24.

ประดิษฐ์ ครุวัฒฌา. 2520. ไวน์ผลไม้เกษตร. อาหาร. ปีที่7. ฉบับที่1. หน้า2-4.

ประดิษฐ์ ครุวัฒฌา. 2523. หลักเบื้องต้นของการชิมไวน์. อาหาร. ปีที่12. ฉบับที่2. หน้า89-98.

ประดิษฐ์ ครุวัฒฌา,วิภา สุโรจนาเมธากูล และมาลัย บุญรัตนกรกิจ. 2532. ชนิดและปริมาณสารอาหารที่เหมาะสมในการเร่งการหมักไวน์กระเจี๊ยบ. อาหาร. ปีที่19. ฉบับที่2. หน้า106-114.

ปราโมทย์ ธรรมรัตน์. 2531. การปรับความเป็นกรดในการทำไวน์ผลไม้. อาหาร. ปีที่ 18. ฉบับที่ 2. หน้า 1.5-116

ปราโมทย์ ธรรมรัตน์. 2533. หลักการเตรียมน้ำผลไม้หมักไวน์ให้มีรสอร่อย. เทคโนโลยี. ปีที่ 11 ฉบับที่2. หน้า14-23.

พิทยา อดุลยธรรม. 2521. การทำไวน์แดงจากองุ่นสีเขียวโดยเติมสีจากกระเจี๊ยบแดง. ปัญหาพิเศษภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รัชนี ตัณฑะพานิชกุล. 2536. เคมีอาหาร. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

ลักขณา รุจนะไกรกานต์ และ นิชิยา รัตนาปนนท์. 2533. หลักการวิเคราะห์อาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วิโรจน์ แก้วเรือง, กัลยาณี ตันติธรรม, ประทีป มีศิลป์, ฉรงค์ รักษ์รัตนากร, แสงเงิน ไกรสิงห์, สถาพร วงศ์เจริญวนกิจ, สมบูรณ์ โกมลนาค, ประยูร หาสาง และพัจนา ชูหานิช. 2536. การศึกษาคุณค่าทางอาหารของผลหม่อนและการนำมาใช้ประโยชน์. รายงานผลการ

ค้นคว้าวิจัยประจำปี 2535. ศูนย์วิจัยหม่อนไหมอุดรธานี.

วิโรจน์ แก้วเรือง. 3539. หม่อน...พืชสารพัดประโยชน์และผลิตภัณฑ์จากผลหม่อน. สถาบันวิจัยหม่อนไหม กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สมบูรณ์ เตชัญญวรากุล. 2536. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการหมักในการผลิตไวน์น้ำผึ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมสุข ดังเจริญ และอรวินท์ เสาหรัชตนันท์. 2536. คู่มือบาร์เทนเดอร์. ดอกหญ้า. กรุงเทพฯ.

ภาษาอังกฤษ

Ajay, K., Ravi, K., and Gupta, S.P. 1993. Physico Chemical Analysis of Fruit in Some Varietities of Mulberry (*Morus spp.* L.) Journal of Horticultural Science. 22(4) : 266-269.

Amerine, M.A., Berg, H.W., and Cruess, W.V. 1972. The Technology of Wine Making. 3rd ed. Westport Connecticut : AVI.

Amerine, M.A., and Singleton, V.L. 1972. Wine : An Introduction for Americans. 6th ed. Berkeley : University of California Press.

Amerine, M.A., and Ough, G.S. 1974. Wine and Must Analysis. New York : John Wiley & Sons.

Amerine, M.A., Ough, G.S., and Singleton, V.L. 1979. The Tecnology of Wine Making. 4th ed. Westport Connecticut : AVI.

A.O.A.C. 1975. Official Methods of Analysis. 12th ed. Washington D.C. : Association of Official Chemists.

A.O.A.C. 1984. Official Methods of Analysis. 14th ed. Washington D.C. : Association of Official Chemists.

A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Washington D.C. : Association of Official Chemists.

Berry, D.R. 1995. Alcoholic Beverage Fermentation. In A.G.H. Lea, and J.R. Piggott (eds.), Fermented Beverage Production, pp. 32-44. Blackie : Chapman & Hall.

Boulton, R.D., Singleton, V.L., Bisson, L.F., and Kunkee, R.E. 1996. Principle and Practices of Winemaking. New York : Chapman & Hall.

Boyles, M.J., and Wrolstad, R.E. 1993 Anthocyanin Composition of Red Raspberry Juice : Influences of Cultivar, Processing, and Environmental Factors. Journal of Food Science. 58(5) : 1135-1141.

Casteele, K.V., Geiger, H., Loose, R.D., and Sumere, C.F.V., 1983. Separation of Some Anthocynidins, Anthocyanins, Proanthocyanidins and Related Subtances by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography. Journal of Chromatography. 259 : 291-300.

Cole, V.C., and Noble A.C. 1995. Flavor Chemistry and Assessment. In A.G.H. Lea, and J.R. Piggott (eds.), Fermented Beverage Production, pp. 361-385. Blackie : Chapman & Hall.

Cochran, W.G., and Cox, G.M. 1957. Experimental Design. New York : Jonh Wiley & Sons.

Du, C.T., and Francis, F.J. 1973. Anthocyanins of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L). Journal of Food Science. 38 : 810-812.

Gerasopoulos, D., and Stavroulakis, G. 1997. Quality Charateristics of Four Mulberry (*Morus* sp) Cultivars in the Area of Chainia, Greece. Journal of the Science of Food and Agriculture. 73(2) : 261-263.

Harborne, J.B. 1967. Comparative Biochemistry of the Flavonaids. London : Academic Press.

Harborne, J.B. 1973. Phytochemical Methods. London : Chapman & Hall.

Harborne, J.B., Mabry, Y.J., and Mabry, H. 1975. The Flavonoids. Part I. London : Chapman & Hall.

Hendry, G.A.F., and Houghton, J.D. 1996. Natural Food Colorants. 2 nd ed. Blackie Academic & Professional. Chapman and Hall.

Horwitz, W. 1980. Official methods of the analysis of the A.O.A.C. 3rd ed. Washington : The Assosiciation of Officials Analytical Chemists.

Ikan, R. 1967. Natural Products. 2nd ed. London : Academic Press.

Jackson, M.G., Timberlake, C.F., Bridle, P., and Vallis, L. 1978. Red Wine Quality : Correlations between Colour, Aroma and Flavour and Pigment and Other Parameters of Young Beaujolais. Journal of the Science of Food and Agriculture. 29 : 715-727.

Kunkee, R.E., and Amerine, M.A. 1970. The Yeasts Vol III. New York : Academic Press.

Leonard, J. 1972. Some Advances in the Chemistry of Anthocyanin-Type Plant Pigments. In C.O. Chichester (ed), The Chemistry of Plant Pigments. pp. 123-142. New York and London : Academic Press.

Markaris, P. 1982. Stability of Anthocyanin in Food. In C.F. Timberlake, and P. Bridle (eds), Anthocyanins as Food Colors. pp. 128. New York : Academic Press.

Maki,Z., Toshiro,M., and Inamoto,H. 1981. Stability of Anthocyanin pigments of Mulberry. Scientific Reports of the Kyoto Prefectural University, Natural Science and Living Science. 32 : 23-28.

Meilgarrd, M., Civille, G.V., and Carr, B.T. 1990. Sensory Evaluation Techniques. 4th ed. Florida : CRC Press.

Pascal, R.G., Paul, P., and Yves, G. 1983. Some Interpretations of Colour Changes in Young Red Wines During Their Conservation. Journal of the Science of Food and Agriculture. 34 : 505-516.

Reed, G., and Nagodawithana, T.W. 1991. Yeast Technology. New York : AVI.

Robinson, T. 1975. The Organic Constituents of Higher Plants. 3rd ed. Massachusettes : Condus Press.

Rommel, A., Wrolstad, R.E., and Heatherbell, D.A. 1992. Blackberry Juice and Wine : Processing and Storage Effects on Anthocyanin Composition, Color and Apperance. Journal of Food Science. 57(2) : 385-391.

Rose, A.H. 1977. Alcoholic Beverages. London, New York and San Francisco : Academic Press.

Sarni-Manchado, P., Fulcrand, H., Souquet, J-M., Cheynier, V., and Moutounet, M. 1996. Stability and Color of Unreported Wine Anthocyanin-derived Pigments. Journal of Food Science. 61(5) : 938-941.

Schneider, A., Gerbi, V., and Redoglia, M. 1987. A Rapid HPLC Method for Separation and Determination of Major Organic Acids in Grape Must and Wines. American Journal of Enology and Viticulture. 42(1) : 1-5.

Skrede, G. 1985. Color Quality of Blackcurrant Syrups During Storage Evaluated by Hunter L*, a*, b* Values. Journal of Food Science. 50 : 514-517.

Sols, A., Gancedo, C., and Delafuente, G. 1971. The Yeasts Vol II. New York : Academic Press.

Vine, R.P. 1981. Commercial Winemaking. Westport Connecticut : AVI.

Wabb, A.D. 1974. Chemistry of Winemaking. American Chemical Society, Washington, D.C.

Wills, R.B.H., Lim, J.S.K., and Greenfield, H. 1987. Composition of Australian foods. XL. Temperate fruits. Food Technology in Australia ; 39(11) : 520-521,530.

Zoecklein, B.W., Fugelsang, K.C., Gump, B.H., and Nury, F.S. 1995. Wine Analysis and Production. New York : Chapman & Hall.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์และวิธีเตรียมวัตถุดิบ

ก.1 <u>การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น</u>

ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC , 1990

<u>อุปกรณ์</u>

ตู้อบลมร้อนของ WTE Binder รุ่น E 53

<u>วิธีทดลอง</u>

1. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2-5 กรัมใส่ในภาชนะอลูมิเนียมซึ่งแห้งสนิท
2. นำตัวอย่างไปอบในตู้อบโดยควบคุมอุณหภูมิ 110 $\pm$ 3 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง
3. นำออกจากตู้อบใส่ desiccator ทิ้งให้เย็น
4. ชั่งน้ำหนัก
5. นำไปอบต่ออีก 15-30 นาที จนน้ำหนักคงที่
6. คำนวณความชื้น

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบ (กรัม) - น้ำหนักหลังอบ (กรัม) X 100}}{\text{น้ำหนักก่อนอบ (กรัม)}}$$

ก.2 <u>ปริมาณโปรตีน</u>

ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC , 1990

<u>อุปกรณ์</u>

Gerhardt Kjeldatherm Digestion Unit และ Gerhardt Vapodest

<u>สารเคมี</u>

1. สารละลายกรดซัลฟุริกเข้มข้น
2. สารละลายกรดซัลฟุริกความเข้มข้น 0.1 N.
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 50 %
4. สารละลายกรดบอริกความเข้มข้น 4 %

5. คะตะลิสท์ (ส่วนผสมของโปแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 10 กรัม + คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 . 5H_2O$) 0.5 กรัม ผสมกัน)

6. อินดิเคเตอร์ (สารละลายเมทธิลเรดและสารละลายโบโมครีซอลกรีนในแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในอัตราส่วน 1: 5)

<u>วิธีทดลอง</u>

1. ชั่งน้ำหนักที่ทราบแน่นอนประมาณ 2 กรัม กรณีเป็นของเหลวใช้ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

2. ใส่ใน Kjeldahl flask ขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วใส่ antibumping beads ลงไป 2-3 เม็ด

3. เติมคะตะลิสต์ 1 กรัม (โปแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 10 กรัม + คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 . 5H_2O$) 0.5 กรัม ผสมกัน) และกรดซัลฟุริกเข้มข้น 4 มิลลิลิตร

4. นำไปย่อยด้วยเครื่อง Kjeldatherm ซึ่งควบคุมอุณหภูมิในการย่อยเป็น

ช่วงที่ 1 ใช้อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-20 นาที

ช่วงที่ 2 ใช้อุณหภูมิ 380 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30-45 นาที

ช่วงที่ 3 ใช้อุณหภูมิ 380 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-30 นาที เพิ่มจากช่วงที่ 2 การเพิ่มอุณหภูมิในการย่อยต้องค่อยๆเพิ่ม ย่อยตัวอย่างจนใส เป็นสีฟ้าอ่อนหรือไม่มีสี

5. ทิ้งให้เย็น แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ต่อ Kjeldahl flask เข้ากับเครื่อง Vapodest

6. รอรับสารที่กลั่นด้วยสารละลายกรดบอริกที่มีความเข้มข้น 4 % ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ซึ่งเติมเมทธิลโบรโมครีซอลกรีน อินดิเคเตอร์ (สารละลายเมทธิลเรดและสารละลายโบรโมครีซอลกรีนในแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในอัตราส่วน1: 5) 3-4 หยด

7. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในขวดกลั่น กลั่นจนในขวดรองรับมีสารละลายปริมาตร 250 มิลลิลิตร

8. หยุดกลั่นนำสารละลายในขวดรองรับมาไตเตรทด้วยสารละลายกรดซัลฟุริกความเข้มข้น 0.1 N.จนสารละลายเปลี่ยนจากสีฟ้าเป็นสีแดง

9. คำนวณหาปริมาณไนโตรเจนและปริมาณโปรตีน

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด = <u>ปริมาณกรดซัลฟุริกที่ไตเตรท (ml) x ความเข้มข้นกรดซัลฟุริก x 14</u>
น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม) x 10

ปริมาณโปรตีน(ร้อยละ) = ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด x 6.25

ก.3 ไขมัน

ตามวิธีของ AOAC , 1990

อุปกรณ์

Soxhlet

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบ 2 กรัม แล้วห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1
2. ใส่ใน Thimble สกัดไขมันด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์
3. ใช้เครื่องมือวิเคราะห์ไขมันใช้เวลาสกัด 6-8 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาระเหยปิโตรเลียม-อีเธอร์ออก
4. นำน้ำมันที่ได้ไปอบที่ 100 องศาเซลเซียส 30 นาที
5. ทิ้งให้เย็นใน desiccator
6. ชั่งน้ำหนักคำนวณหาปริมาณไขมัน

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักน้ำมันที่สกัดได้ (\%) X 100}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

ก.4 เส้นใยทั้งหมด

ตามวิธีของ AOAC , 1990

สารเคมี

1. สารละลายกรดซัลฟุริกความเข้มข้น 1.25 %
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.25 %

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการสกัดไขมันด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์แล้ว 2 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร
2. เติมกรดซัลฟุริกความเข้มข้น 1.25 % ที่ต้มเดือดปริมาณ 200 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์
3. ย่อยตัวอย่างเป็นเวลา 30 นาที โดยให้สารละลายเดือดตลอดเวลา
4. กรองผ่านกระดาษ Whatman No. 41
5. ล้างด้วยน้ำร้อนจนหมดฤทธิกรด
6. นำมาย่อยต่อด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.25 % ที่ต้มเดือดปริมาตร 200 มิลลิลิตร

7. กรองผ่านกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักแน่นอนและล้างด้วยน้ำร้อนจนหมดฤทธิ์ด่าง

8. อบที่ 130 ± 2 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง

9. ทิ้งให้เย็นใน desiccator

10. ชั่งน้ำหนัก

11. นำตัวอย่างพร้อมกระดาษกรองใส่ใน crucible แล้วเผาที่อุณหภูมิ 600 ± 15 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง

12. ทิ้งให้เย็นใน desiccator

13. ชั่งน้ำหนักคำนวณหาปริมาณความชื้น

$$\text{ปริมาณเส้นใย (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม) - น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

ก.5 เถ้า

ตามวิธีของ AOAC , 1990

อุปกรณ์

Muffle Furnace Carbolite รุ่น Mel 11-2

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างทราบน้ำหนักแน่นอน 2 กรัม ใส่ในครูซิเบิลที่เผาทราบน้ำหนักแน่นอน

2. นำตัวอย่างไปเผาจนหมดควัน

3. นำไปเผาต่อใน muffle furnace ที่ 600 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง จนได้เถ้าสีขาว

4. ทิ้งให้เย็นใน desiccator

5. ชั่งน้ำหนักคำนวณหาปริมาณเถ้า

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักหลังเผา (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

ก.6 วิธีวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ตามวิธีของ Lane and Eynon (Amerine & Ough , 1974)

อุปกรณ์

burette 50 มิลลิลิตร

hot plate

<u>สารเคมี</u>

1. decolorizing charcoal

2. infusorial earth filter aid เช่น Hyflo Super-Cel

3. Fehling's copper sulfate solution : ละลาย $CuSO_4.5H_2O$ 34.639 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ใน volumetric flask

4. Fehling's alkaline tartrate solution : ละลาย Rochelle salts (sodium potassium tartrate) 173 กรัม และ NaOH 50 กรัม ในน้ำกลั่น เจือจางเป็น 500 มิลลิลิตร และกรองถ้าจำเป็น

5. methylene blue solution : ละลาย 1 กรัม ของ methylene blue ในน้ำปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

6. สารละลายกลูโคสมาตรฐาน : ละลาย 0.500 กรัม ของ . anhydrous glucose ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร (ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้)

7. สารละลายอิ่มตัวของ lead acetate : ละลาย 20 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร

8. glacial acetic acid

<u>วิธีทดลอง</u>

การเตรียมตัวอย่างไวน์ :

1. นำตัวอย่างไวน์ 50 มิลลิลิตร ใส่ flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม 2 หรือ 3 ช้อนชา ของ decolorizing charcoal

2. นำไปต้มให้เดือด เพื่อลดปริมาตรให้เหลือประมาณ 20 มิลลิลิตร

3. ทำให้เย็น และเติมสารละลายอิ่มตัวของ lead acetate 3 มิลลิลิตร และ glacial acetic acid หลายหยด , Hyflo Super-Cel 1 ช้อนชา หรือ filter aid แล้วเขย่า

4. ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ใน volumetric flask

5. นำไปกรองผ่านกระดาษกรองบนกรวยกรองแก้ว ถ้ากรองแล้วยังมี charcoal อยู่ให้กรองหลายๆ ครั้ง ส่วนที่กรองได้ ควรจะใส ไม่มีสี

(ขั้นตอนนี้เป็นการแยกส่วน acids , proteins , tannin , coloring matter และส่วนอื่นที่ copper-reducing substances)

6. เติม 0.4 กรัม ของ sodium oxalate crystals เพื่อตกตะกอนส่วน lead ที่มากเกินพอ

การเตรียมทำมาตรฐานสารละลาย Soxhlet :

1. ปิเปต Fehling's copper sulfate 50 มิลลิลิตร และสารละลาย Fehling's alkaline tartrate 50 มิลลิลิตร ใส่ flask และผสมให้เข้ากัน (ควรจะใส, มีสีฟ้าเข้ม)

2. ปิเปตสารละลายผสม Fehling มา 10 มิลลิลิตร ใส่ flask เติมน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร

3. ใส่สารละลายมาตรฐาน glucose 0.5 กรัม / 100 มิลลิลิตร ใน burette

4. นำ flask วางบน hot plate เติมสารละลาย glucose ลงไป 4 - 5 มิลลิลิตร จาก burette ต้มจนเดือด นาน 15 - 20 วินาที เขย่าด้วยคีมคีบระหว่างฟองเดือด

5. เติม 2 - 3 มิลลิลิตร ของสารละลาย glucose ต้มเดือดอีกครั้งนาน 15 - 20 วินาที

6. เติมอินดิเคเตอร์ลงไป 5 - 6 หยด ให้ส่วนของเหลวมใน flask เดือด และเติมสารจาก burette ลงไปอย่างช้าๆ ต้มให้เดือด 3 - 4 วินาทีแต่ละหยด จนกว่าจะเปลี่ยนสีจากฟ้าเป็นสีแดงอิฐ (full brick red)

7. ทำซ้ำอีกครั้ง เติมสารละลาย glucose ประมาณ 90 % ของที่ใช้ทันที

8. หลังจากสารละลายเดือด ทำการไตเตรทจนได้จุดยุติ ซึ่งจะต้องไม่เกิน 2 นาที หลังจากสารละลายเริ่มเดือดและหลังการเติมสารละลาย glucose จนกระทั่งถึงจุดยุติ

9. จะได้ glucose equivalent ของ Fehling solution

การวิเคราะห์ตัวอย่างไวน์

1. เติมสารละลายผสม Fehling 10 มิลลิลิตร + น้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร + ตัวอย่างของไวน์ที่ทำให้ใสแล้ว 10 มิลลิลิตร

2. ต้ม 20 - 30 วินาที เติม methylene blue ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกลูโคส ต้มเดือดหลังการเติม จนกระทั่งถึงหยดที่เปลี่ยนสีจากฟ้าเป็นแดงอิฐ

3. ถ้าใช้ไวน์ 10 มิลลิลิตร + Fehling 10 มิลลิลิตร แล้วสีฟ้าหายไปก่อนการเติม glucose จะต้องทำการเจือจางไวน์ก่อนใช้ด้วยน้ำกลั่น และไตเตรทอีกครั้ง ใช้สารละลายเจือจาง 10 มิลลิลิตรแทน

การคำนวณ (คิดเป็น glucose , กรัม/100 มิลลิลิตร)

$$\text{Reducing sugar (กรัม/ 100 มิลลิลิตร)} = \frac{(A - B)(0.005)(100)}{v}$$

A = ปริมาตรของ 0.5 กรัม/ 100 มิลลิลิตร glucose solution ที่ใช้ titrate สาร Soxhlet (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรของ 0.5 กรัม/ 100 มิลลิลิตร glucose solution ที่ใช้ titrate ตัวอย่างไวน์ (มิลลิลิตร)

v = ปริมาตรของตัวอย่างไวน์ ใน final aliquot (มิลลิลิตร)

ก.7 <u>วิธีวิเคราะห์กรดอินทรีย์</u>

ดัดแปลงจากวิธีของ Schneider, Gerbi และ Redoglia (1987)

<u>อุปกรณ์</u>

Shimadzu Lipuid Chromatogram LC รุ่น 3A

<u>สารเคมี</u>

1. formic acid ความเข้มข้น 0.2 M
2. citric acid
3. malic acid
4. succinic acid
5. tataric acid

<u>วิธีทดลอง</u>

การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์

1. นำผลหม่อนมาคั้นน้ำ โดยการบีบคั้น
2. นำสารละลายไป centrifuge เพื่อแยกเอาตะกอนออก
3. กรองผ่าน Millipore filter ขนาด 0.45 μm ก่อนนำไปฉีดเข้าคอลัมน์

คำนวณปริมาณของกรดอินทรีย์จากพื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่าง นำไปคิดกับกราฟมาตรฐานของกรดอินทรีย์ (รูปที่ ก.2,ก.4,ก.6 และก.8)

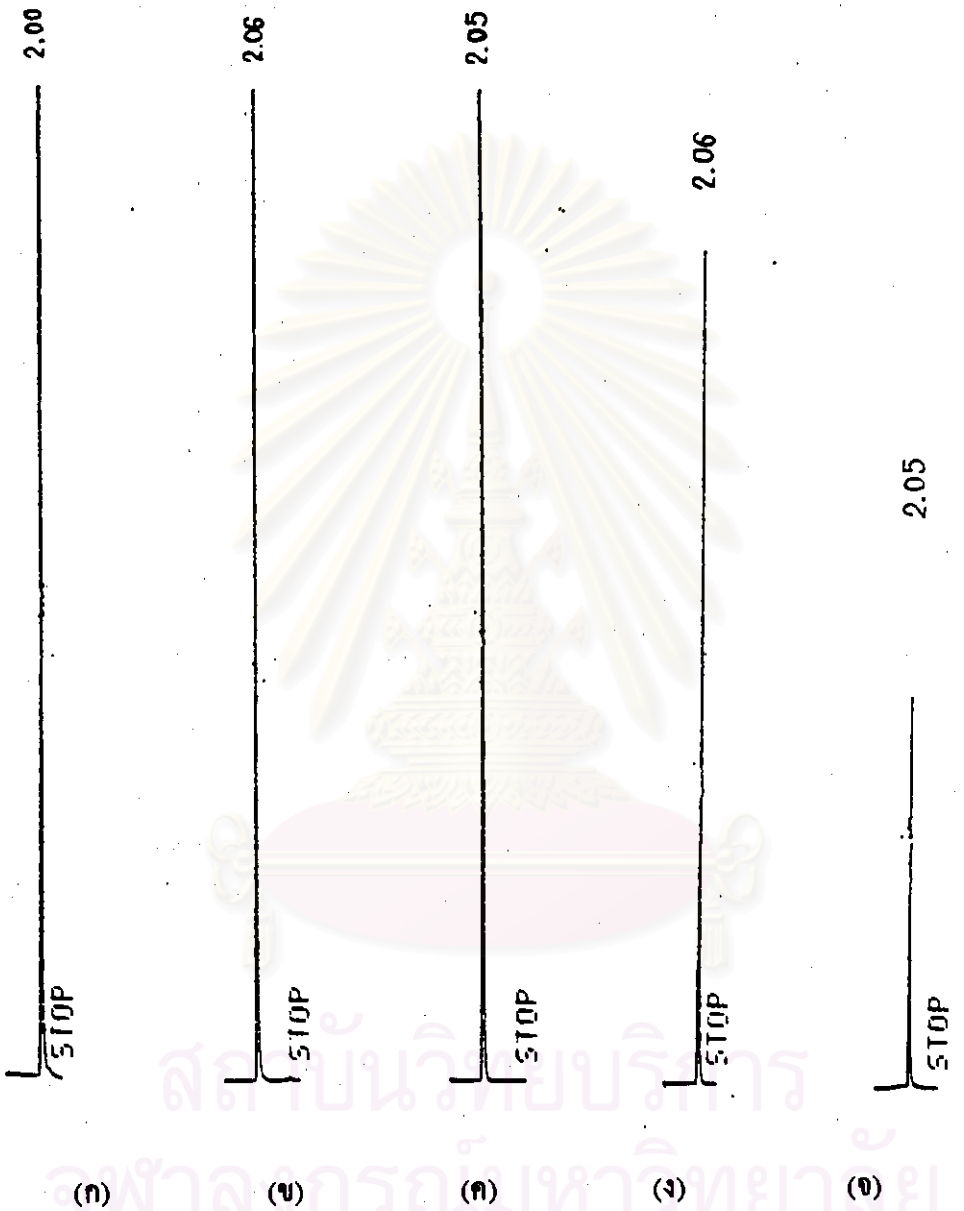
การสร้างกราฟมาตราฐานของสารละลายมาตรฐานกรดอินทรีย์

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดมาลิก กรดซัคซินิก และกรดทาร์ทาริก โดยเตรียมความเข้มข้น 1.0 0.8 0.6 0.4 และ 0.2% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ส่วนกรดซิตริก เตรียมที่ความเข้มข้น 10.0 8.0 6.0 4.0 และ 2.0% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร
2. กรองสารละลายผ่าน Millipore filter ขนาด 0.45 μm ก่อนนำไปฉีดเข้าคอลัมน์
3. พล็อตกราฟระหว่างพื้นที่ใต้กราฟ กับความเข้มข้นของกรดอินทรีย์

ภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์กรดอินทรีย์โดยวิธี HPLC

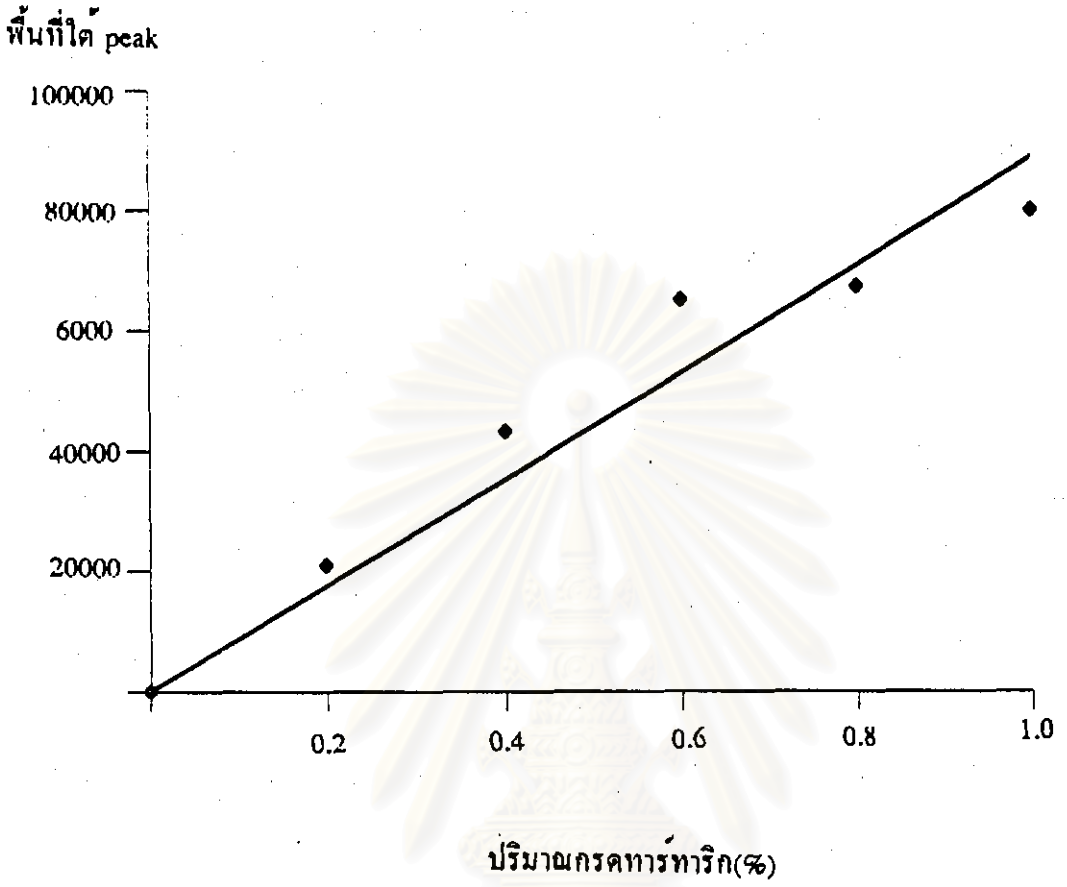
Column	: LiChrospher® 100 RP-8 5μm 125x4 mm. i.d.
Mobile phase	: H_3PO_4 เข้มข้น 0.2 M.
Flow rate	: 0.8 ml/min.
Detector	: UV 210 nm.

ส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



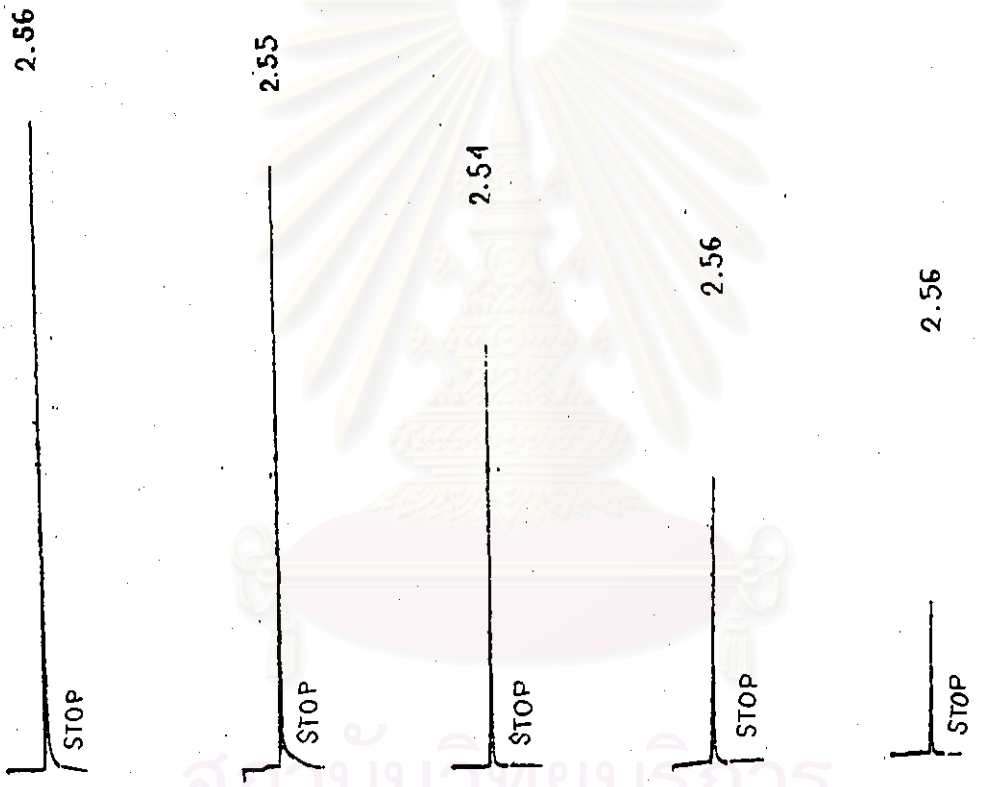
รูปที่ ก.1 โครมาโทแกรมของกรดอินทรีย์มาตรฐานทาร์ทาริก ความเข้มข้น (ก) 1.0% (ข) 0.8% (ค) 0.6% (ง) 0.4% และ (จ) 0.2% ตามลำดับ

หมายเหตุ ตัวเลขที่แสดงในรูปเป็นค่า retention time ของกรดทาร์ทาริกเมื่อใช้ภาวะตามข้อ 3 (ภาคผนวก ก.7)



รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับปริมาณกรดทาร์ทาริก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

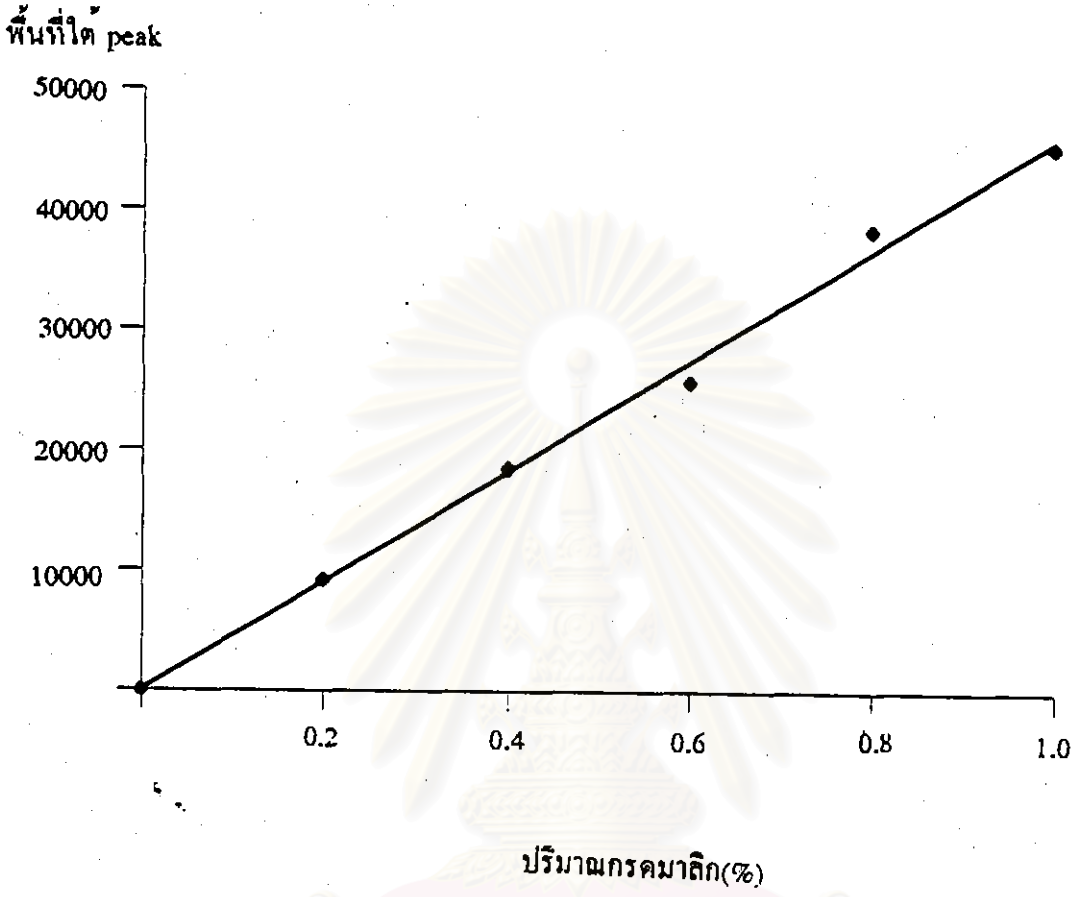


(ก) (ข) (ค) (ง) (จ)

รูปที่ ก.8 โครมาโทแกรมของกรดอินทรีย์มาตรฐานมาลิก ความเข้มข้น (ก) 1.0% (ข) 0.8% (ค) 0.6% (ง) 0.4% และ (จ) 0.2% ตามลำดับ

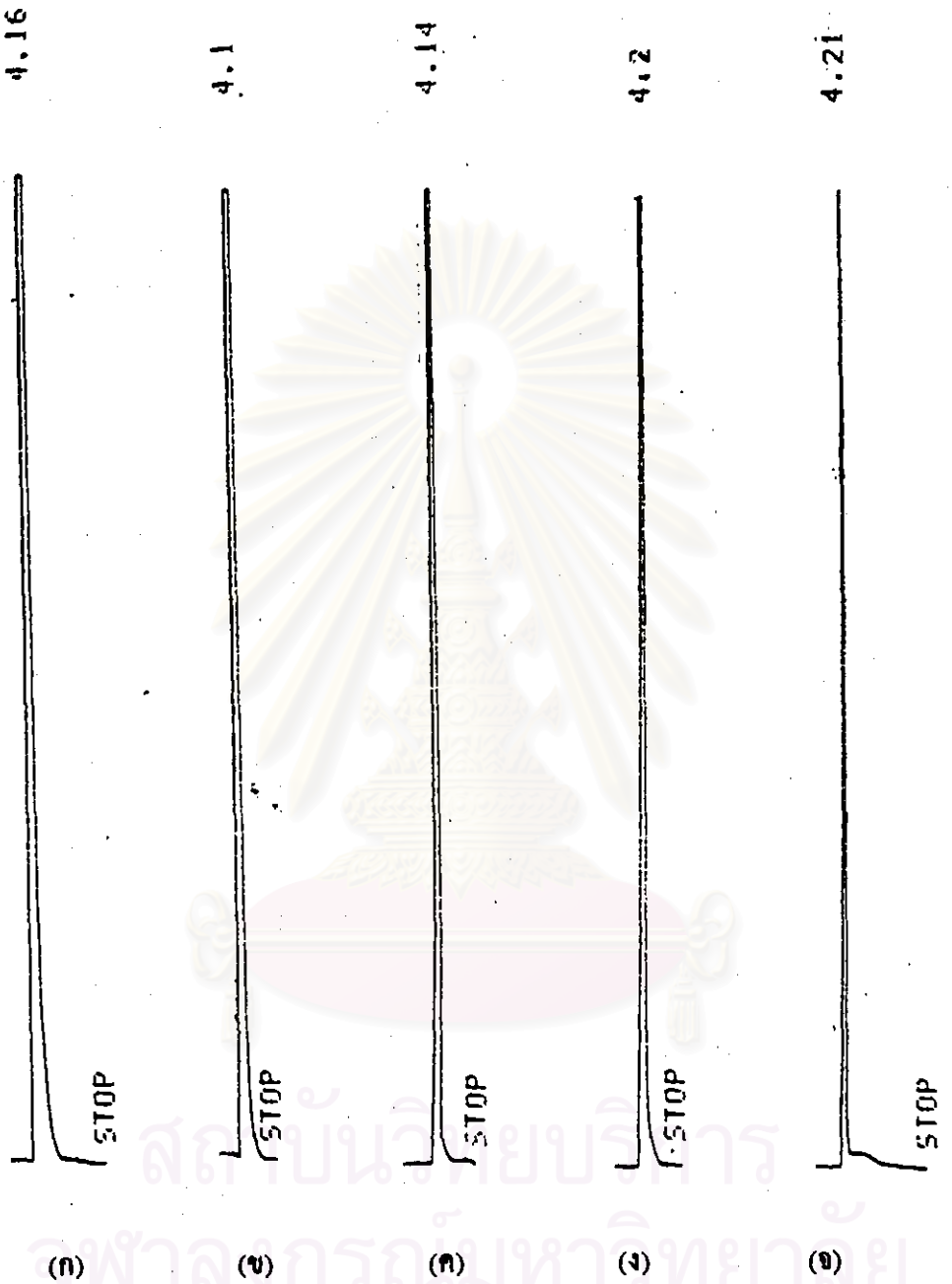
หมายเหตุ ตัวเลขที่แสดงในรูปเป็นค่า retention time ของกรดมาลิกเมื่อใช้ภาวะตามข้อ 3 (ภาคผนวก ก.7)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



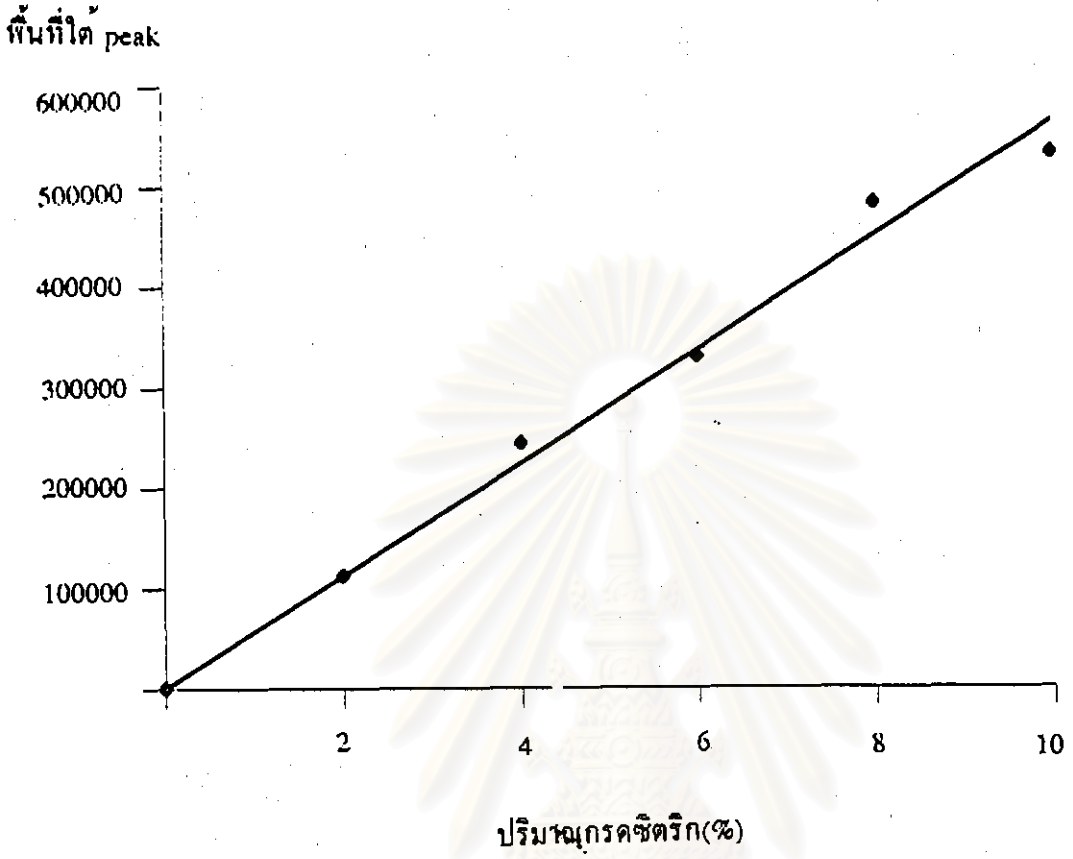
รูปที่ ก.4 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับปริมาณกรดมาลิก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



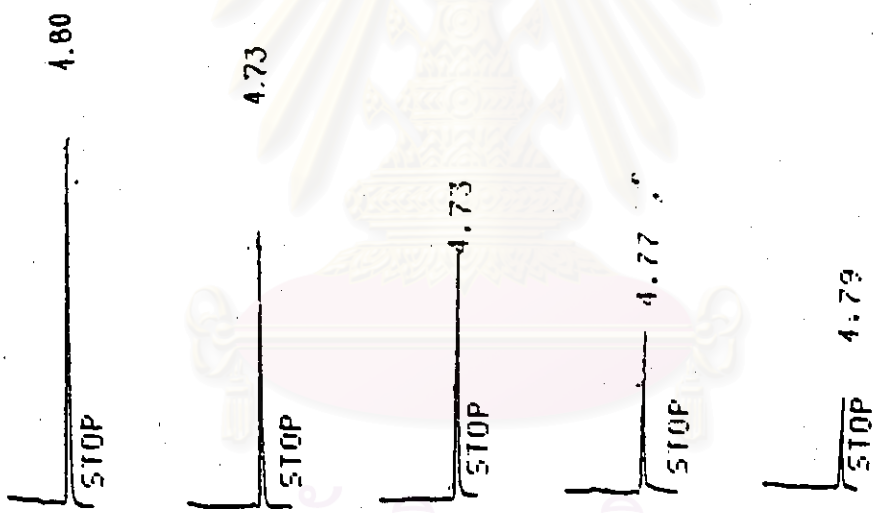
รูปที่ ก.5 โครมาโทแกรมของกรดอินทรีย์มาตรฐานซิตริก ความเข้มข้น (ก) 10.0% (ข) 8.0% (ค) 6.0% (ง) 4.0% และ (จ) 2.0% ตามลำดับ

หมายเหตุ ตัวเลขที่แสดงในรูปเป็นค่า retention time ของกรดซิตริกเมื่อใช้ภาวะตามข้อ 3 (ภาคผนวก ก.7)



รูปที่ ก.6 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับปริมาณกรดซิตริก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

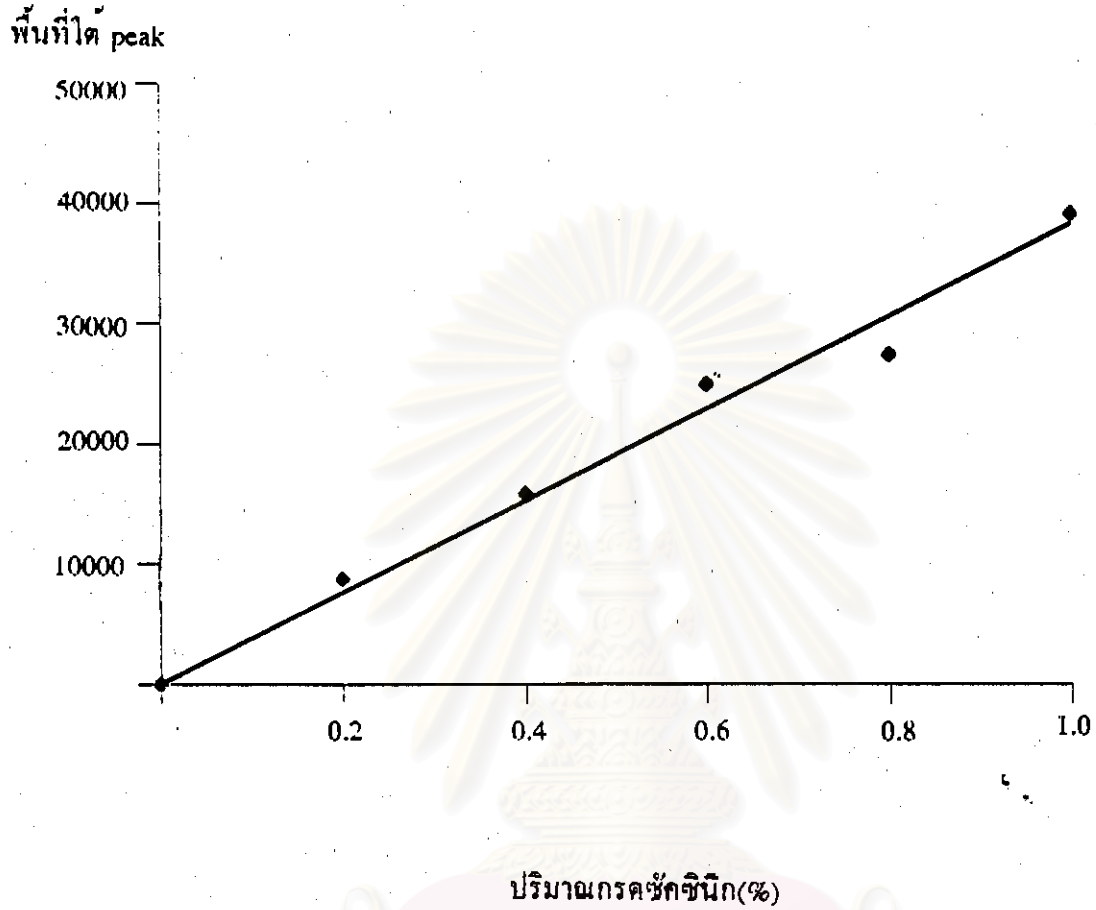


(ก) (ข) (ค) (ง) (จ)

รูปที่ ก.7 โครมาโทแกรมของกรดอินทรีย์มาตรฐานซัคซินิก ความเข้มข้น (ก) 1.0% (ข) 0.8% (ค) 0.6% (ง) 0.4% และ (จ) 0.2% ตามลำดับ

หมายเหตุ ตัวเลขที่แสดงในรูปเป็นค่า retention time ของกรดซัคซินิกเมื่อใช้ภาวะตามข้อ 3 (ภาคผนวก ก.7)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ ก.8 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับปริมาณกรดซัคซินิก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก.8 <u>คุณสมบัติของสีในภาวะความเป็นกรด-ด่าง</u> (Ikan ,1976)

<u>อุปกรณ์</u>

pH meter

<u>สารเคมี</u>

1. สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 25%

<u>วิธีทดลอง</u>

1. นำผลหม่อนมา 10 กรัม สกัดด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2. นำสารละลายที่ได้ไปวัด pH และทำการทดสอบโดยการหยดสารละลายแอมโมเนียม-ไฮดรอกไซด์ 25% ลงไป จนสารละลายมี pH เป็นกลาง สังเกตสีที่เปลี่ยนแปลงไป

3. เติมแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ลงไปอีก จนสารละลายมี pH เป็นด่าง สังเกตสีของสารละลายที่เปลี่ยนแปลงไป

ก.9 <u>การตรวจสอบรงควัตถุโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบกระดาษ</u> (Du and Francis, 1973)

<u>อุปกรณ์</u>

กระดาษ Whatman No.1

TLC tank

<u>สารเคมี</u>

1. ethanol 95%
2. hydrochloric acid
3. ethyl acetate
4. acetic acid
5. formic acid
6. N-butanol

<u>วิธีทดลอง</u>

การเตรียมตัวอย่างเพื่อหาชนิดของแอนโธไซยานิน

1. นำผลหม่อนมา 10 กรัม สกัดสารสีโดยการต้มกับเอธานอล 95% ที่มี HCl อยู่ 1% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 นาที ใน blender

2. กรองสารละลายที่ได้ นำไป spot บนกระดาษกรองWhatman No.1

3. ใช้ developing solvent คือ BAW และ BuHCl

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์หาชนิดของแอนโธไซยานิดิน

1. นำผลหม่อนมาสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 2 N โดยใส่ในหลอดทดลอง แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 40 นาที

2. กรองส่วนเนื้อเยื่อออก ทำให้เย็น ล้างด้วย ethyl acetate 2 ครั้ง เพื่อเอาส่วย flavones ออก (ชั้นของ ethyl acetate จะถูกทิ้งไป) เอาส่วน aqueous ไว้

3. ต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที เพื่อเอาส่วน ethyl acetate ออก

4. นำส่วนสารสกัดไปใส่บนกระจกนาฬิกาแล้วให้ความร้อนบน water bath (เดือด) จนแห้ง

5. ละลายด้วย methanolic HCl 2-4 หยด นำไป spot บนกระดาษกรองWhatman No.1

6. ใช้ developing solvent คือ Forestal และ Formic

$$\text{ค่า Rf} = \frac{\text{ระยะทางที่สารตัวอย่างเคลื่อนที่}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่}}$$

การเตรียม developing solvent

BAW ; N-butanol : acetic acid : H_2O (4:1:5 ; upper layer)

BuHCl ; N-butanol : HCl 1N (1:1)

Forestal; acetic acid : HCl : H_2O (10:3:30)

Formic ; formic acid : HCl : H_2O (5:2:3)

ตารางที่ ก.1 ค่า Rf ของสารแอนโธไซยานิดินชนิดต่างๆ (Harborne, 1967)

แอนโธไซยานิดิน	ค่า Rf ใน developing solvent	
	Forestal	Formic
Pelargonidin	0.68	0.33
Cyanidin	0.49	0.22
Peonidin	0.63	0.30
Delphinidin	0.32	0.13
Petunidin	0.46	0.20
Malvidin	0.60	0.27

ตารางที่ ก.2 ค่า Rf ของสารแอนโธไซยานินชนิดต่างๆ (Harborne, 1967)

Glycosides	ค่า Rf ใน developing solvent	
	BAW	BuHCl
Monoglucoside		
Pelargonidin 3-glucoside	0.44	0.38
Cyanidin 3-glucoside	0.38	0.25
Peonidin 3-glucoside	0.41	0.30
Delphinidin 3-glucoside	0.26	0.11
Petunidin 3-glucoside	0.25	0.14
Malvidin 3-glucoside	0.38	0.15
Diglucoside		
Pelargonidin 3,5-glucoside	0.31	0.14
Cyanidin 3,5-glucoside	0.28	0.06
Peonidin 3,5-glucoside	0.31	0.10
Delphinidin 3,5-glucoside	0.15	0.03
Petunidin 3,5-glucoside	0.24	0.04
Malvidin 3,5-glucoside	0.31	0.03

ก.10 การตรวจสอบโดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

ดัดแปลงจากวิธีของ Casteele , Geiger , Loose และ Sumere (1983)

อุปกรณ์

Shimadzu Lipuid Chromatogram LC รุ่น 3A

สารเคมี

1. formic acid
2. methanol

วิธีทดลอง

ภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ชนิดของรงควัตถุ

Column : LiChrocart RP-18 5 μm 125 x 4 mm. i.d.

Mobile phase : 5% formic acid (A) , methanol (B)

Elution profile : 0 - 2 นาที , 17% B ใน A (isocratic)

2 - 7 นาที , 17 - 23% B ใน A (linear gradient)

7 - 27 นาที , 23 - 80% B ใน A (linear gradient)

27 - 29 นาที , 80% B ใน A (isocratic)

Flow rate : 1.5 ml/min.

Detector : UV 280 nm.

โดยส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่ ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก.11 <u>วิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์</u> (Zoecklien, Fugelsang, Gump and Nury, 1995)

<u>อุปกรณ์</u>

เครื่อง Ebulliometer (รูปที่ ก.9)

<u>วิธีทดลอง</u>

การหาจุดเดือดของน้ำ :

1. เติมน้ำกลั่นปริมาณ 30 มิลลิลิตร ลงในส่วน boiling chamber "A" ในขณะเดียวกันเติมน้ำเย็นลงไปในส่วนของ condenser "D"

2. นำเทอร์โมมิเตอร์ "C" ใส่ลงไปในตำแหน่งตามรูปที่ ก.9 จุดตะเกียงแอลกอฮอล์ "B"

3. อ่านค่าอุณหภูมิจากเทอร์โมมิเตอร์เมื่อมีค่าคงที่ประมาณ 15-30 วินาที ซึ่งเป็นจุดเดือดของน้ำ

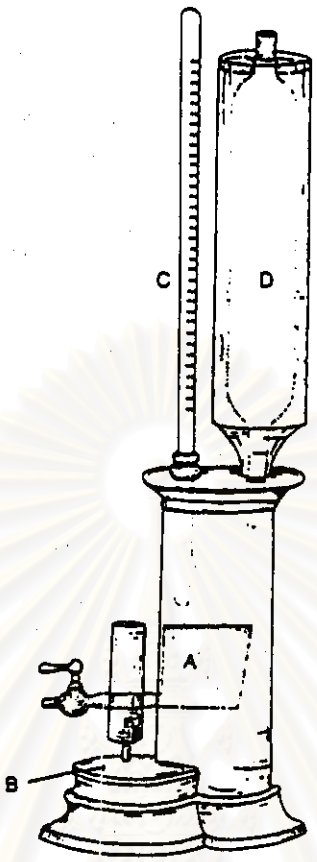
4. ทิ้งให้เย็นและล้างเครื่องมือ

การหาจุดเดือดของไวน์ :

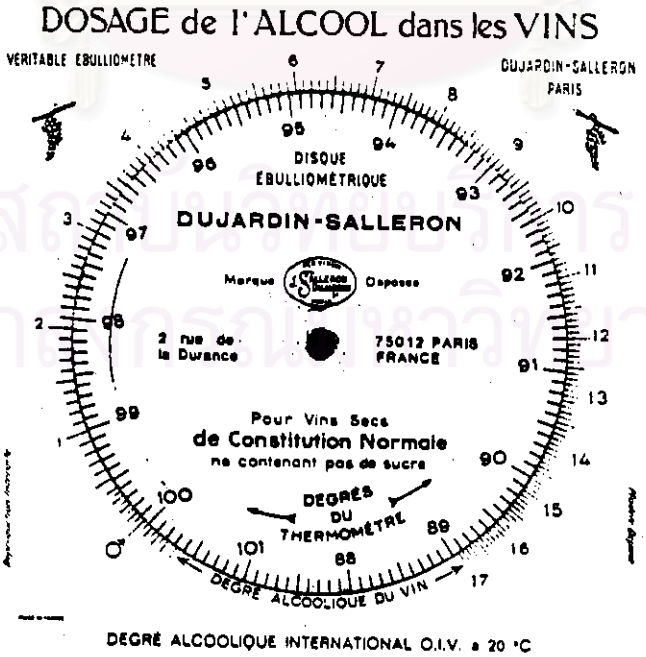
5. rinse ส่วนของ boiling chamber ด้วยไวน์ที่นำมาวิเคราะห์

6. ทำตามข้อ 2. - 4. อีกครั้งแต่เปลี่ยนจากการเติมน้ำกลั่นเป็นตัวอย่างไวน์ที่ต้องการวิเคราะห์ปริมาณ 50 มิลลิลิตร บันทึกจุดเดือดของไวน์ที่ได้

7. การคำนวณจะเทียบจากแผ่นสเกล (รูปที่ ก.10)โดยให้จุดเดือดของน้ำกลั่นมาอยู่ที่ตำแหน่ง 0 ของ Degre Alcoolique Du Vin จากจุดเดือดของไวน์ที่นำมาวิเคราะห์ ให้เทียบสเกลด้านใน (Degres Du Thermometre) แล้วอ่านค่าปริมาณแอลกอฮอล์ (% vol/vol) ที่สเกลด้านนอก ตัวอย่างเช่น อุณหภูมิจุดเดือดของน้ำกลั่นเท่ากับ 99.95 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิจุดเดือดของไวน์ตัวอย่างเท่ากับ 93.0 องศาเซลเซียส ปริมาณของแอลกอฮอล์ที่มีในไวน์คือ 9.0โดยปริมาตร



รูปที่ ก.9 เครื่อง Ebulliometer



รูปที่ ก.10 แผ่นเปรียบเทียบอุณหภูมิที่ใช้ในการหาปริมาณแอลกอฮอล์โดยเครื่อง Eulliometer

ก.12 <u>วิธีวิเคราะห์กรดทั้งหมด</u> (ลักขณา รุจนะไกรกานต์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2533)

<u>อุปกรณ์</u>

ชุดกลั่น reflux

<u>สารเคมี</u>

1. สารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.1 N

2. phenolphthalein indicator

<u>วิธีทดลอง</u>

1. ปิเปตไวน์ 25 ml ใส่ใน flask นำไปกลั่น reflux นานประมาณ 20 นาที ล้างปลาย condenser ด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย

2. นำไปไตเตรทขณะร้อนกับสารละลาย NaOH 0.1 N โดยใช้ phenolphthalein เป็นอินดิเคเตอร์

คำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก

$$\% \text{ กรดซิตริก} = \frac{(V)\,(N)\,(64)\,(100)}{1000\ v}$$

V = ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

v = ปริมาตรของตัวอย่างไวน์ (มิลลิลิตร)

N = normality ของ NaOH

ก.13 <u>วิธีวิเคราะห์กรดระเหย</u> (ลักขณา รุจนะไกรกานต์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2533)

<u>อุปกรณ์</u>

ชุดกลั่น

<u>สารเคมี</u>

1. สารละลาย NaoH ความเข้มข้น 0.1 N

2. phenolphthalein indicator

<u>วิธีทดลอง</u>

1. ปิเปตตัวอย่างไวน์ ใส่ในเครื่องกลั่น เติมน้ำพอประมาณ เชื่อมต่อกับ condenser

2. วาง flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ไว้ใต้ condenser outlet

3. ทำการกลั่นจนได้ condensate ประมาณ 60 มิลลิลิตร

4. นำ flask ที่บรรจุ condensate ไปวางบน hot plate ต้มจนเริ่มเดือด (อย่าให้เดือดนานเกิน 30 นาที)

5. เติม phenolphthalein 3 หยด แล้วไตเตรทด้วย NaOH 0.1 N ในขณะที่ยังร้อนอยู่ จนได้จุดยุติสีชมพู

คำนวณหาปริมาณกรดระเหยในรูปของกรดอะซิติก

$$\% \text{ กรดอะซิติก} = \frac{(V)(N)(60)(100)}{1000\ v}$$

V = ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

v = ปริมาตรของตัวอย่างไวน์ (มิลลิลิตร)

N = normality ของ NaOH

ตารางที่ ก.3 ปริมาณกรดระเหย*มากที่สุดที่ยอมให้มีในไวน์ (Amerine and Ough, 1974)

Types	U.S. Federal	California
red table wines	0.140	0.120
white table wines	0.120	0.110
all other wines	0.120	0.110

* g of acetic acid per 100 ml of wine.

ก.14 <u>วิธีวิเคราะห์กรดไม่ระเหย</u> (ลักษณะ รุจนะไกรกานต์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2533)

คำนวณโดยนำค่าปริมาณกรดที่ระเหยได้ (ก.11) ไปลบออกจากปริมาณกรดทั้งหมด (ก.12) คิดในรูปกรดซิตริก

ก.15 <u>วิธีวิเคราะห์ปริมาณกลีเซอรอล</u>

ตามวิธีของ AOAC 11.010 (1975)

<u>อุปกรณ์</u>

water bath

porcelain dish ขนาด 100 มิลลิลิตร

vacuum pump

สารเคมี

1. milk of lime (CaO 15 กรัม/ 100 มิลลิลิตร)

2. absolute alcohol

3. alcohol 90 %

4. anhydrous ether

วิธีการทดลอง

1. นำไวน์ 100 มิลลิลิตร ใส่ใน porcelain dish ระเหยบน water bath ที่อุณหภูมิ 85 - 90 องศาเซลเซียส ให้เหลือไวน์ประมาณ 10 มิลลิลิตร

2. ชั่งทรายละเอียด 5 กรัม และ milk of lime 4 - 5 มิลลิลิตร ใส่ลงรวมกับไวน์ที่ระเหยได้ นำไประเหยต่อจนเกือบแห้ง

3. เติม alcohol 90% ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ให้ความร้อนบน water bath จนของผสมเดือด พร้อมทั้งคนอย่างสม่ำเสมอ

4. เทของผสมที่ได้ลงใน flask โดยผ่านกระดาษกรอง ล้างส่วนที่ติดกับ porcerain dish ด้วย alcohol 90% ที่ร้อน จนกระทั่งได้ fitrate ประมาณ 150 มิลลิลิตร

5. ระเหย fitrate ที่ได้บน porcelain dish จนข้นหนืด

6. เทของผสมที่ได้ลงใน flask ล้างส่วนที่เหลือด้วย absolute alcohol 20 มิลลิลิตร และ anhydrous ether 3 ครั้งๆ ละ 10 มิลลิลิตร พร้อมทั้งเขย่าหลังจากการเติมแต่ละครั้ง

7. ตั้งทิ้งไว้จนใส เทผ่านกระดาษกรอง ล้าง flask ด้วยของผสมระหว่าง absolute alcohol - anhydrous ether (2:3) เทผ่านกระดาษกรอง

8. ระเหย fitrate จนข้นหนืด แล้วอบที่ 98 - 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

9. ชั่งน้ำหนักแล้วจุดไฟเผา (ignite) ชั่งน้ำหนักอีกครั้ง

น้ำหนักกลีเซอรอล (กรัม) = น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม) - น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)

ตารางที่ ก.4 ปริมาณกลีเซอรอลที่พบในไวน์ประเทศต่างๆ(Amerine and Ough, 1974)

Country	Number of samples	Concentration , g/L.	
		range	average
U.S.A., California	37	1.86 - 8.20	5.41
U.S.A., New York	63	2.60 - 14.70	8.30
Italy	38	4.12 - 10.80	7.18
Australia	72	1.36 - 9.94	6.55
general	1972	1.10 - 26.00	8.05

ก.16 <u>วิธีวิเคราะห์ปริมาณเอทธิลอะซีเตท</u>

ตามวิธีของ AOAC 9.067 (1984)

<u>อุปกรณ์</u>

ชุดกลั่น reflux

<u>สารเคมี</u>

1. สารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.1 N
2. carborundum
3. สารละลาย H_2SO_4 ความเข้มข้น 0.1 N

<u>วิธีทดลอง</u>

1. นำไวน์ 200 มิลลิลิตร ใส่ flask เติมน้ำ 35 มิลลิลิตร และ carborundum ลงไปเล็กน้อย กลั่นช้าๆ จนได้ distillate ประมาณ 200 มิลลิลิตร

2. นำ distillate 100 มิลลิลิตร ใส่ flask เติมสารละลาย NaOH 0.1 N ให้มากเกินพอ กลั่น reflux นาน 2 hr. ทิ้งไว้ให้เย็น

3. ไตเตรทด่างที่มากเกินพอด้วยกรด H_2SO_4 0.1 N แล้วคำนวณเอสเทอร์ในรูปของเอทธิลอะซีเตท

ก.17 <u>วิธีวิเคราะห์ปริมาณอะเซทาลดีไฮด์</u>

ตามวิธีของ Amerine & Ough , 1974

<u>อุปกรณ์</u>

ชุดกลั่น

<u>สารเคมี</u>

1. สารละลายอิ่มตัว borax ($Na_2B_4O_7.H_2O$) 0.2 กรัม/100 มิลลิลิตร

2. starch indicator solution

3. สารละลาย iodine 0.1 N

4. สารละลาย iodine 0.05 N

5. solution A : 15 กรัม potassium metabisulfite ($K_2S_2O_4$) ละลายใน conc. HCl 70 มิลลิลิตร เจือจางเป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

6. solution B : ละลาย trisodium phosphate ($Na_3PO_4.12H_2O$) 200 กรัม + disodium ethylenediamine tetraacetate (EDTA) 4.0 กรัม ในน้ำ และปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

7. solution C : เจือจาง conc. HCl 250 มิลลิลิตร เป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น (3N)

8. solution D : ผสม boric acid 100 กรัม + NaOH 170 กรัม เจือจางเป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

<u>วิธีทดลอง</u>

1. ปิเปตตัวอย่างไวน์ 50 มิลลิลิตร ใส่ Kjeldahl flask + สารละลายอิ่มตัว borax 50 มิลลิลิตร + boiling chips ต่อเข้ากับชุดกลั่น

2. เติมน้ำเดือด 300 มิลลิลิตร + สารละลาย A , B อย่างละ 10 มิลลิลิตร ใน flask เพื่อรับส่วน distillate จับให้ปลาย tube อยู่ใต้สารละลายผสมนี้

3. กลั่นให้ได้ distillate 50 มิลลิลิตร ใน flask , ปิดจุก , ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

4. เติมสารละลาย C 10 มิลลิลิตร และ starch solution 10 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากัน และเติม 0.1 N iodine เพื่อทำลาย bisulfite ที่มากเกินพอ และจะให้สารละลายมีจุดยุติสีฟ้าใส

5. เติมสารละลาย D 10 มิลลิลิตร และไตเตรท bisulfite ที่ปลดปล่อยด้วย 0.05 N iodine จนได้จุดยุติสีฟ้าใส เขย่าตลอดเวลา

$$\text{Acetadehyde(มิลลิกรัม/ลิตร)} = \frac{(V)\,(N)\,(22)\,(1000)}{v}$$

V = ปริมาตรของ iodine ที่ใช้ไตเตรทครั้งสุดท้าย (มิลลิลิตร)

N = normality ของ iodine ที่ใช้ไตเตรทครั้งสุดท้าย (มิลลิลิตร)

v = ปริมาตรของตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

ตารางที่ ก.5 ปริมาณอะเซทาลดีไฮด์ที่พบในไวน์(table wine)ประเทศต่างๆ (Amerine and Ough, 1974)

Country	Number of samples	Concentration , g/L.	
		range	average
U.S.A., California	4	32-91	69.3
Germany	4	33-79	58.2
France	40	14-71	24.6
general	764	3-494	54.4

ก.18 <u>วิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอล</u>

ตามวิธีของ Amerine & Ough , 1974

<u>อุปกรณ์</u>

เครื่อง spectophotometer

<u>สารเคมี</u>

1. Folin - Ciocalteu reagent :

1.1 ละลาย sodium molybdate ($Na_2MoO_4.2H_2O$) 25 กรัม + sodium tungstate ($Na_2WO_4.2H_2O$) 100 กรัม ในน้ำ 700 มิลลิลิตร ในขวกก้นกลมขนาด 2 ลิตร

1.2 เติม กรด HCl เข้มข้น 100 มิลลิลิตร และ 85% phosphoric acid 50 มิลลิลิตร

1.3 เติม glass bead ต่อชุด reflux และ reflux นาน 10 ชั่วโมง

1.4 rinse ส่วน condenser เติม lithium monohydrate 150 กรัม + bromine หลายหยด แล้วต้มจนเดือด 15 นาที ใน hood

1.5 ทำให้เย็นจะได้สารละลายสีเหลือง ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร กรองเก็บในขวดสีชา

2. สารละลาย sodium carbonate : ละลาย Na_2CO_3 20กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร

3. สารละลายมาตรฐาน gallic acid : ละลาย gallic acid แห้ง 0.5000 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

<u>วิธีทดลอง</u>

1. เตรียม calibration curve : ปิเปตสารละลาย gallic acid 0 , 1 , 2 , 3 , 4 และ 10 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นได้ความเข้มข้น 0 , 50 , 100 , 150, 250 และ 500 มิลลิกรัม/ลิตร

2. ปิเปตแต่ละ solution มา 1 มิลลิลิตร + น้ำ 60 มิลลิลิตร + Folin-Ciocalteu reagent 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

3. เติม (หลัง 30 วินาที และก่อน 8 นาที) 15 มิลลิลิตร ของสารละลาย sodium carbonate ผสม ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

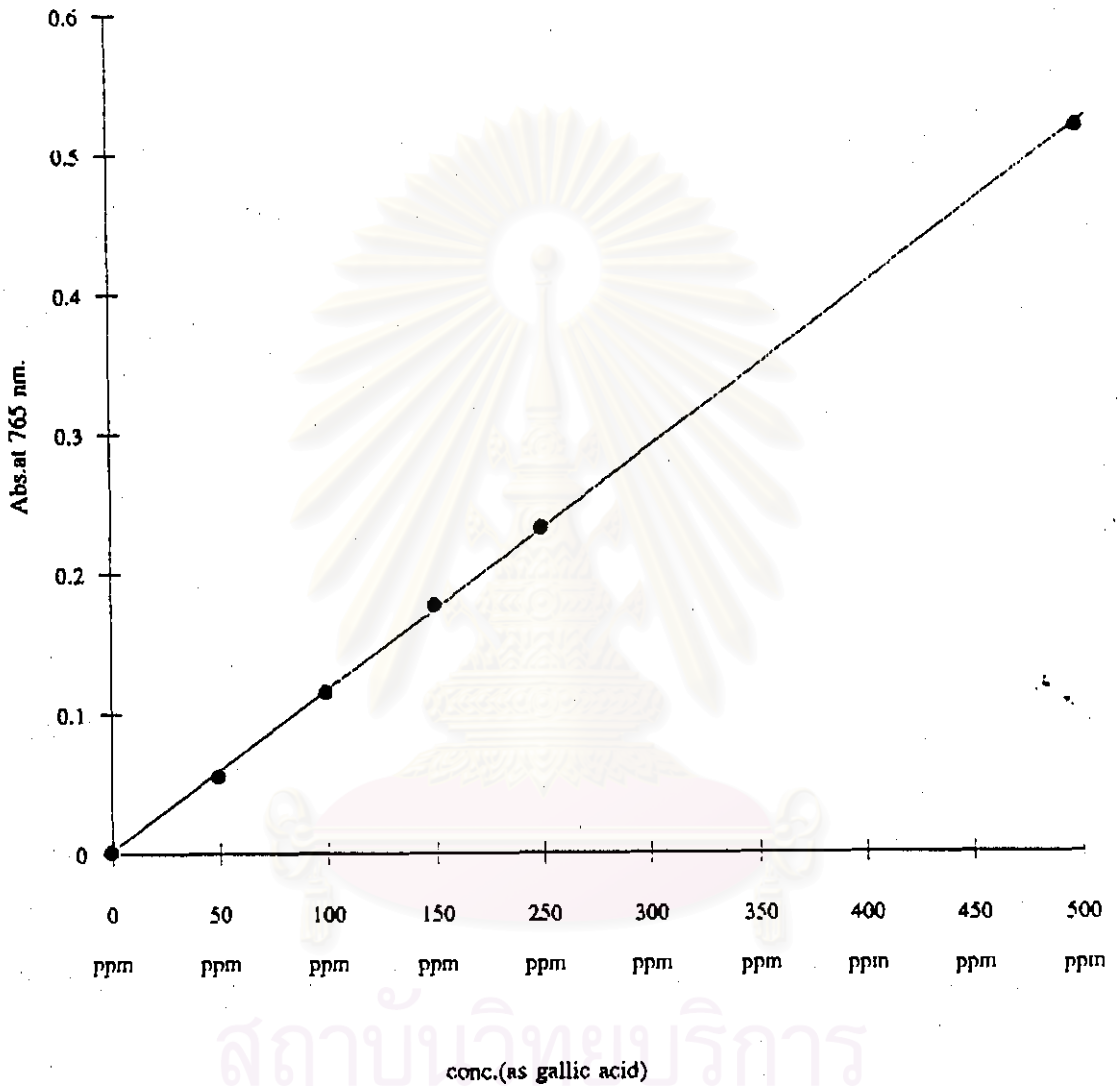
4. วัดค่า absorbance ที่ 765 nm. หลังจาก 2 ชั่วโมง ที่ 23.9 องศาเซลเซียส (75 องศา-ฟาเรนไฮต์) ใช้น้ำกลั่นเป็น blank

5. plot ค่าที่วัดได้ วาด standard curve (รูปที่ ก.11)

6. การวิเคราะห์ตัวอย่างไวน์ : ไวน์แดงต้องทำการเจือจางเป็น 1 : 10 ปิเปตตัวอย่างไวน์ที่เจือจางแล้วมา 1 มิลลิลิตร ทำการทดลอง ตามข้อ 2. - 4.

ตารางที่ ก.6 ปริมาณของฟีนอลทั้งหมดในไวน์บางชนิด (Amerine and Ough, 1974)

Types	Total phenol, mg/L.	
	range	average
white table	40-1300	360
red table	190-3800	2000
white dessert	100-1100	350
red dessert	400-3300	900



รูปที่ ก.11 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณฟีนอล

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบทดสอบการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสไวน์หม่อนแบบ Scoring test

วัน/เดือน/ปี..... ชื่อ-นามสกุล.....

โปรดพิจารณาคุณลักษณะและชิมไวน์ที่เสนอ และให้คะแนนตามรายละเอียดที่กำหนดซึ่งตรงกับความคิดเห็นของท่านมากที่สุด [ระบุ] หมายถึง โปรดระบุว่า เข้ม/อ่อน/มาก/น้อย

คุณลักษณะ	รายละเอียด		รหัสตัวอย่าง	
ความใส (15 คะแนน)	ขุ่นเล็กน้อย (cloudy)	(1 - 5)		
	ใสแต่มีตะกอนเล็กน้อย (clear)	(6 - 10)		
	ใสเป็นประกาย (brilliant)	(11 - 15)		
สี (15 คะแนน)	สีเข้ม/อ่อนเกินไป [ระบุ]	(1 - 7)		
	สีดีแล้ว	(8 -15)		
กลิ่น (30 คะแนน)	กลิ่นผลไม้			
	ไม่มีกลิ่นผลไม้	(1 - 5)		
	มีกลิ่นผลไม้เล็กน้อย	(6 - 9)		
	มีกลิ่นผลไม้แรง	(11 - 15)		
	มีกลิ่นผลไม้แรงมาก	(16 - 20)		
	กลิ่นน้ำส้มสายชู/กลิ่นแปลกปลอม: SO_2 , ยีสต์ฯ			
	มีกลิ่นดังกล่าวชัดเจน	(1 - 5)		
	มีกลิ่นดังกล่าวเล็กน้อย	(6 - 9)		
	ไม่มีกลิ่นดังกล่าว	(10)		
รส (30 คะแนน)	รสเปรี้ยว			
	มีรสเปรี้ยวมาก/น้อย เกินไป [ระบุ]	(1 - 5)		
	มีรสเปรี้ยวพอเหมาะ	(6 - 10)		
	รสหวาน			
	มีรสหวานมาก/น้อย เกินไป [ระบุ]	(1 - 5)		
	มีรสหวานดีแล้ว	(6 - 10)		
	ความเฝื่อน			
	ไม่มีความเฝื่อน/มีมากเกินไป [ระบุ]	(1 - 5)		
	มีความเฝื่อนเล็กน้อย	(6 - 10)		
บอดี้ (10 คะแนน)	คล้ายน้ำผสมแอลกอฮอล์	(1 - 5)		
	เป็นไวน์มีกรดและแอลกอฮอล์	(6 - 10)		

ข้อเสนอแนะ.....

ภาคผนวก ค

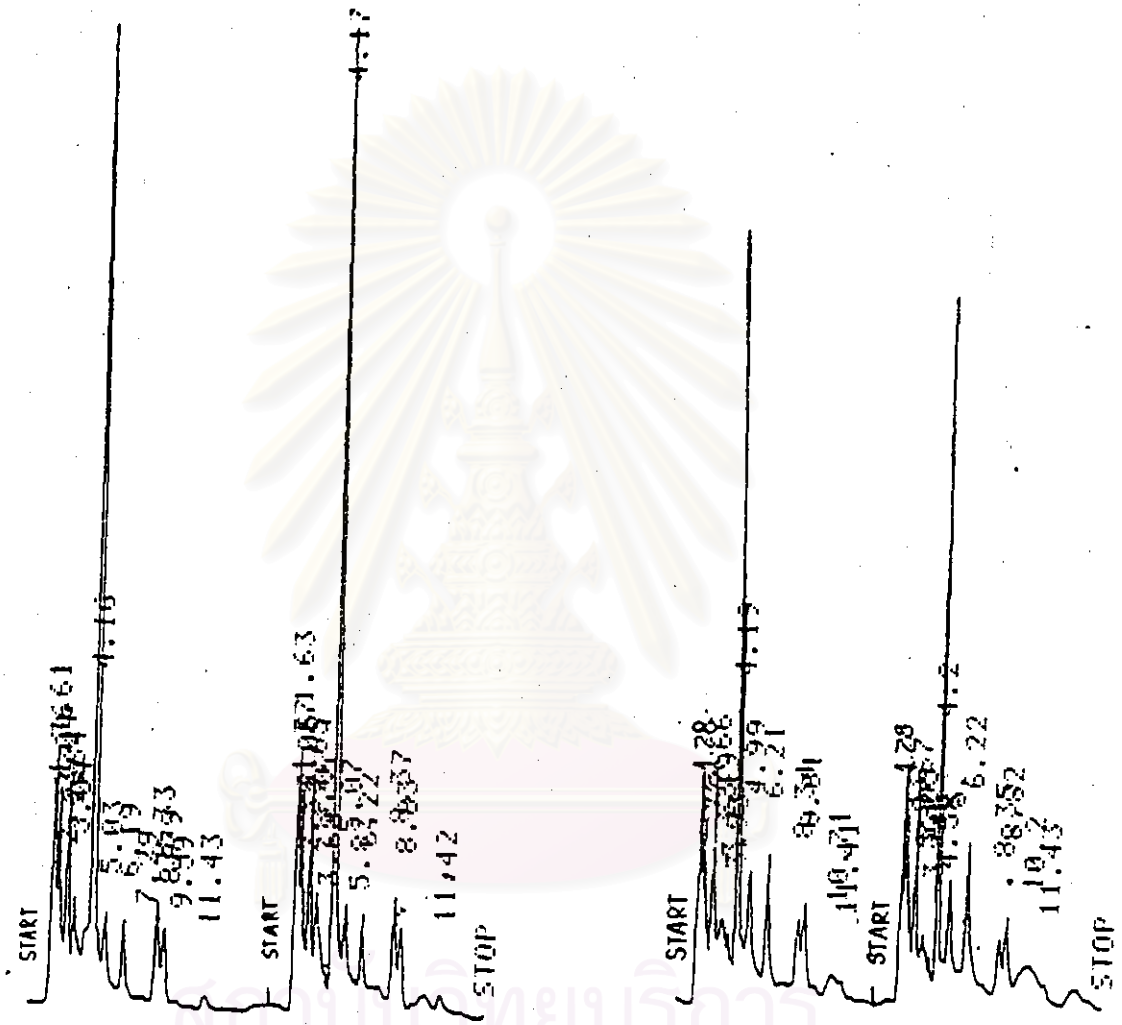
รูปภาพประกอบ

(ก) ผลหม่อนสีม่วง

(ข) ผลหม่อนสีแดง

รูปที่ ค.1 ผลหม่อนสดที่ใช้ในงานวิจัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

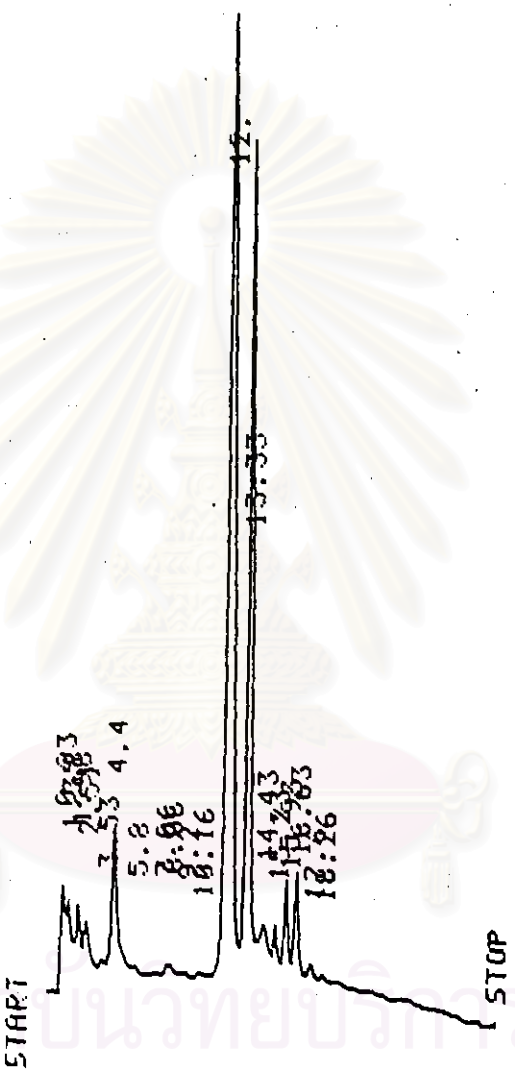


(ก) ผลหม่อนสีแดง (ข) ผลหม่อนสีม่วง

รูปที่ ค.2 โครมาโทแกรมของกรดอินทรีย์ในผลหม่อน โดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

รูปที่ ค.3 โครมาโทแกรมของสารสกัดสีจากผลหม่อน โดยวิธีโครมาโทกราฟีกระดาษ แบบ1-dimentional ใน developing solvents ต่างๆ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ ค.4 โครมาโทแกรมของรงควัตถุจากผลหม่อน โดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางสาว ศิริพร แก้วแดง เกิดวันที่ 5 พฤษภาคม 2513 ที่จังหวัดชลบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อปีการศึกษา 2535

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย