

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

1. การหาปริมาณค่า pH (กรด-เบส)

โดยใช้มาตรฐานค่า pH ของไวน์อยู่ระหว่าง 3.0-4.0 มาเปรียบเทียบโดยใช้เครื่องมือ pH meter ทำการวัดตั้งแต่วันแรกของการหมักจนถึงวันสุดท้ายของการบ่มก่อนที่จะมีการประเมินคุณภาพด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์

2. การหาปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมด (Total soluble solid (°Brix))

วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ซึ่งส่วนมากจะประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส โดยใช้ปิเปตที่ปราศจากเชื้อดูดตัวอย่างมา 0.2 มิลลิลิตร นำมาวัดด้วยเครื่อง Hand refractometer ใช้วิธีวัดแบบดัชนีหักเห แสดงผลเป็นองศาบริกซ์ (°Brix)

3. การหาปริมาณเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์โดยปริมาตร (ดีกรี)

โดยมาตรฐานไวน์แล้วแอลกอฮอล์จะอยู่ที่ 8-14 เปอร์เซ็นต์ (v/v) วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Ebulliometer ตามขั้นตอนในภาคผนวก ข

4. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด (Total Titration Acidity, TA)

ค่ามาตรฐานของปริมาณกรดทั้งหมดในไวน์จะอยู่ที่ 0.4-0.9 เปอร์เซ็นต์ หรือ ร้อยละ 4-9 โดยคิดในรูปของ Tartaric acid มีวิธีการดังนี้

นำพลาสติกขนาด 250 ml



ใส่น้ำร้อนประมาณ 100 ml เพื่อไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออก



ใส่น้ำตัวอย่างไวน์ปริมาตร 5 ml + น้ำกลั่น 95 ml



หยด Phenolphthalein 2-3 หยด



ไตเตรทด้วย 0.1 N NaOH จุดยุติจะเป็นสีชมพู ซึ่งจะไม่จางไปใน 2 นาที

$$\%TA \text{ (Tartaric/100 ml)} = \frac{V \times N \times 75 \times 100}{1,000 \times V}$$

เมื่อ V คือ ปริมาตร NaOH 0.1 N

N คือ ความเข้มข้นของ NaOH (N)

V คือ ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้

5. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เป็นการตรวจหาความเป็นอิสระของกลุ่ม OH ในตำแหน่งคาร์บอนตัวที่หนึ่ง ซึ่งสามารถรีดิวซ์เกลือของโลหะในสารละลายต่าง เช่น Cu^{2+} , Ag^{2+} และ Hg^{2+} และสามารถถูกออกซิไดซ์โดย oxidising agent อย่างเช่นสารละลาย Fehling (Cu^{2+} ใน NaOH และเกลือทาร์เทรต) สารละลายเบนเนดิกซ์ (Cu^{2+} ใน NaHCO_3 และเกลือซิเตรท) จะออกซิไดซ์ Monosaccharide ได้ตะกอนสีอิฐของ Cu_2O

การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS method (Dinitrosalicylic acid method)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. สารละลายตัวอย่างสูตรต่างๆ เข้มข้น 0.1%
2. Spectrophotometer
3. สารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid
4. ปิเปต

การเตรียมสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid (ทองสุข พละมา. 2546)

ก. ละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid 10 กรัม ในสารละลาย 2 โมลต่อลิตร โซเดียมไฮดรอกไซด์ 200 มิลลิลิตร

ข. ละลายโพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต 300 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร

ค. สารละลาย ก และ ข มาผสมกันแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร

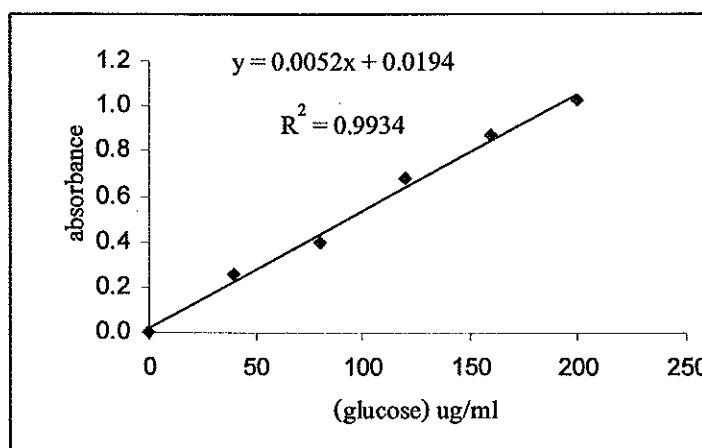
วิธีการ

1. นำตัวอย่างไวน์ที่กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42 เจือจางสารละลายตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น 2 เท่า หรือให้อยู่ในช่วงที่สามารถวิเคราะห์ได้
2. ดูดสารละลายที่เจือจางแล้วใส่หลอด จำนวน 0.5 มิลลิลิตร
3. ดูดสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic ผสมลงไปจำนวน 0.5 มิลลิลิตร
4. นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที
5. หยุดปฏิกิริยาด้วยการแช่ในน้ำเย็น แล้วเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร
6. สารละลายน้ำตาลชนิดใดที่มีคุณลักษณะเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ จะให้สีแดงน้ำตาลบันทึกผลและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร โดยใช้ blank เป็นสารละลายเปรียบเทียบ

7. คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน

ตารางที่ ก.1 ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำตาลกลูโคสแต่ละความเข้มข้น

ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส ($\mu\text{g/ml}$)	ค่าการดูดกลืน 540 นาโนเมตร
0.00	0.000
40.0	0.258
80.0	0.395
120.0	0.675
160.0	0.865
200.0	1.029



ภาพประกอบ ก.1 กราฟมาตรฐานกลูโคส

6. การคำนวณหาปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์

การคำนวณหาปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระ

ดูดสารตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในพลาสติกขนาด 250 ml เติมน้ำแบ่ง 5 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดกำมะถัน (กรด : น้ำ = 1 : 3) 10 มิลลิลิตร แล้วเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) ลงไปเล็กน้อยเพื่อไล่อากาศ จากนั้นไตเตรดกับสารละลายไอโอดีนชนิด 0.02 N จุดสุดท้ายได้สารละลายสีน้ำเงินซึ่งคงอยู่ 1-2 นาที (ถ้าตัวอย่างเป็นไวน์แดงให้ใช้ฟอสเฟตเหลืองส่อง เพื่อสังเกตจุดสุดท้ายได้ดีขึ้น) จากนั้นคำนวณหาปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระจากสูตร

$$\text{ซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระ} = \frac{(N)(V)(32)(1000)}{v} \text{ mg/l}$$

- เมื่อ N คือ นอร์มอลลิตีของไอโอดีนที่ใช้ (N)
 V คือ ปริมาตรของสารละลายไอโอดีนที่ใช้ (ml)
 32 คือ สมมูลย์ของซัลเฟอร์ไดออกไซด์
 v คือ ปริมาตรตัวอย่าง
 1,000 คือ การเปลี่ยนค่าจาก มิลลิลิตร เป็น ลิตร

7. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

7.1 การเตรียมสารมาตรฐาน

7.1.1 การเตรียม DPPH

1) เตรียม DPPH ที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิโมล โดยชั่งสารมาตรฐาน DPPH มา 0.04 กรัม ละลายด้วยเมทานอล 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้เป็น 100 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปิดด้วยพาราฟิล์มและหุ้มด้วยฟรอยด์เพื่อหลีกเลี่ยงไม่ให้โดนแสง นำไปเก็บที่อุณหภูมิ-20 องศาเซลเซียส เพื่อรอนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

2) เมื่อต้องการใช้ DPPH นำ DPPH ที่เตรียมได้ในข้อ 1 มาทำการเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมล โดยเปิดสารละลาย DPPH ที่เตรียมไว้ในข้อ 1 มา 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้เป็น 100 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนนำไปทำปฏิกิริยาการสกัดสารที่ต้องการทดสอบ

7.1.2 การเตรียมกรดแอสคอร์บิก

การเตรียมกรดแอสคอร์บิกที่มีความเข้มข้นต่างๆ ทำได้โดยชั่งกรดแอสคอร์บิกมา 0.01 กรัม ละลายด้วยเมทานอล แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร จะได้กรดแอสคอร์บิกที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางให้มีความเข้มข้นต่างๆ คือ 50, 25, 12.5, 6.25 และ 3.125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเปิดสารละลายกรดแอสคอร์บิกจากขวดที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาปริมาตร 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625 และ 0.7813 มิลลิลิตร ตามลำดับ เติมนลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำแต่ละขวดไปปรับปริมาตรให้ครบเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยเมทานอล จะได้กรดแอสคอร์บิกที่มีความเข้มข้น 50, 25, 12.5, 6.25 และ 3.125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

7.2 การทดสอบต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกรดแอสคอร์บิก นำเปลือกและแกนผลไม้ ให้นำจากเปลือกและแกนผลไม้ ทำได้ดังนี้

1) บีเปตสารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมล มา 5 มิลลิตร และบีเปตสารละลายกรดแอสครอบิกที่ต้องการทดสอบหรือตัวอย่างน้ำเปลือกและแกนผลไม้ ใวน้จากเปลือกและแกนผลไม้ ที่กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42 แต่ละความเข้มข้น มาปริมาตร 5 มิลลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปเก็บในที่มืดให้ทำปฏิกิริยานาน 30 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร

2) ในการวัดค่าดูดกลืนแสงจาก กรดแอสครอบิก+DPPH และตัวอย่างใวน้+DPPH ใช้เมทธานอลเป็น blank และ control คือสารละลาย DPPH

ภาคผนวก ข

การใช้งานเครื่องหาปริมาณแอลกอฮอล์อย่างย่อ (Ebulliometer)

ก่อนการใช้งานเครื่องหาปริมาณแอลกอฮอล์ ควรจะปรับเทียบแผ่นสเกลปริมาณแอลกอฮอล์ (Ebulliometer disc) ก่อน เพื่อให้ทราบตำแหน่งที่ 0 ของแผ่นล่าง (ปริมาณแอลกอฮอล์) ตรงกับตำแหน่งที่เท่าใดของแผ่นบน (ค่าอุณหภูมิของจุดเดือด) โดยการหาจุดเดือดของน้ำ

วิธีการหาจุดเดือดของน้ำ

1. เตรียมตะเกียงแอลกอฮอล์ให้เรียบร้อย
2. ถ้าง Boiler ให้ทั่ว เทน้ำออกผ่านทางท่อ F
3. ใช้กระบอกแก้วตวงน้ำให้ถึงขีด EAU (น้ำ) กรอกใส่ช่อง A
4. จุดตะเกียงแล้ววางใต้กระบอก E หลังจากนั้นปรอทจะสูงขึ้น และมีไอน้ำ

ระเหยออกจากส่วนของเครื่องมือ เมื่อระดับปรอทอยู่นิ่งแล้ว สมมติว่าอ่านได้ 100.1 องศา ให้หมุนแผ่นวงกลมใช้บนที่อุณหภูมิ 100.1 องศา ไปที่ศูนย์ขีดกรีของแผ่นล่าง เมื่อทำดังนี้แล้ว เครื่องก็พร้อมที่จะตรวจสอบ และ (Ebulliometer disc) ได้ถูกปรับเทียบแล้ว

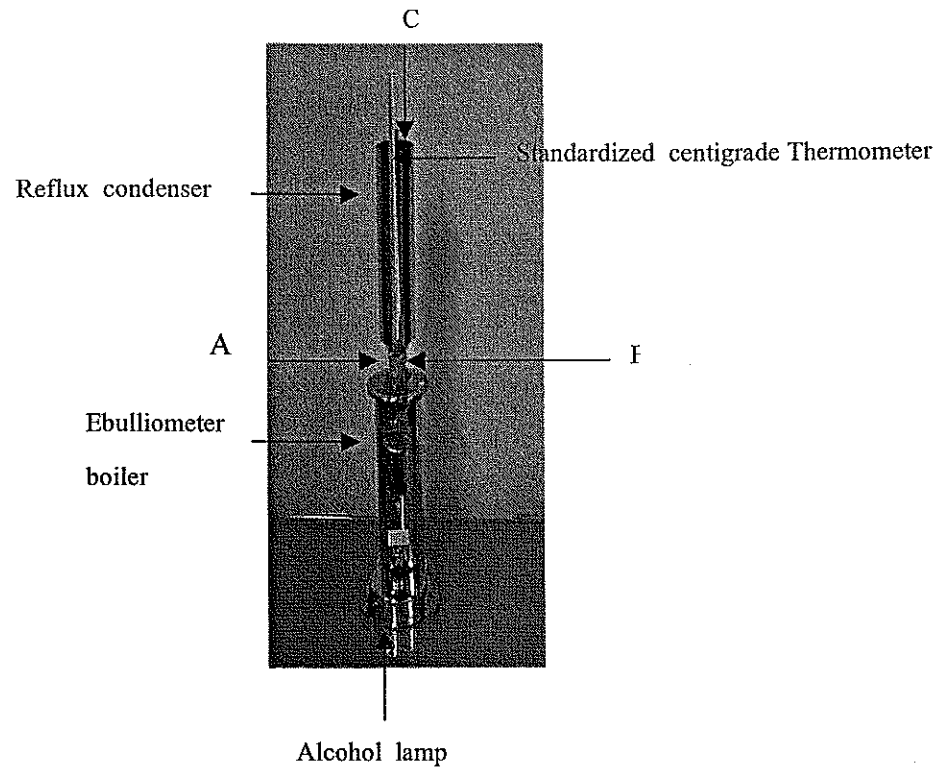
*หมายเหตุ ถ้าอากาศไม่แปรปรวนก็ไม่ต้องการจุดเดือดหลายครั้งในแต่ละวัน

วิธีตรวจสอบแอลกอฮอล์

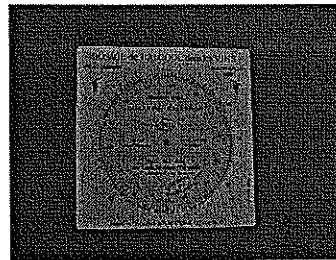
1. เปิดก๊อก F ให้น้ำออกให้หมด ใช้แอลกอฮอล์ที่จะทดสอบล้างแก้วคอ Boiler แล้วเทออกให้หมด เป่าลมผ่านทางท่อ C เพื่อไล่ไอน้ำที่ตกค้าง
2. เติมแอลกอฮอล์ที่จะทดสอบลงใน Boiler ช่อง A ด้วยกระบอกตวงแก้วตามขีดที่บอก แอลกอฮอล์ใส่เทอร์โมมิเตอร์ แล้วเติมน้ำเย็นในกระบอก E หลังจากนั้นจุดตะเกียงไม่ช้าอุณหภูมิจะสูงขึ้น รอจนปรอทค่อนข้างคงที่ จึงอ่านอุณหภูมิที่กระเพื่อมสูงสุด สมมติว่าอ่านอุณหภูมิได้ 90.7°C ตรงกับแผ่นล่างที่ 13.5 เปอร์เซ็นต์ แอลกอฮอล์เป็นดิน นั่นคือเปอร์เซ็นต์ของแอลกอฮอล์ในน้ำหมักที่ตรวจสอบ

ข้อควรระวัง

1. ไม่ควรใช้ตรวจสอบแอลกอฮอล์ที่คาดว่าจะสูงกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ถ้าจะหาควรทำการเจือจางกับน้ำเสียก่อนแล้วคำนวณกลับ แต่จะมีความผิดพลาดสูง
2. อย่างวางเทอร์โมมิเตอร์ที่มีอุณหภูมิก่อนข้างสูงลงบนพื้นที่ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน



ภาพประกอบ ข.1 เครื่องหาปริมาณแอลกอฮอล์อย่างง่าย



ภาพประกอบ ข.2 แผ่นสเกลปริมาณแอลกอฮอล์

ภาคผนวก ก
แบบการประเมินคุณภาพไว้

ในการตัดสินคุณภาพของไวน์ มีวิธีการที่สำคัญ 4 อย่าง คือ

1. Difference Test เป็นวิธีให้ผู้ชิมตัดสินว่าไวน์ที่ชิมนั้นมีความแตกต่างหรือเหมือนกับไวน์ที่เป็น Control
2. Ranking test ตัดสินโดยให้ผู้ชิมเรียงลำดับ อาจเรียงจากสูงไปต่ำหรือต่ำไปสูงในเรื่องใดเรื่องหนึ่ง เช่น ความหวาน เป็นต้น
3. Scoring Test ตัดสินโดยผู้ชิมให้คะแนนด้วยการเปรียบเทียบกับ Control ซึ่งมีคุณภาพที่ได้รับการยอมรับเป็นมาตรฐาน ผู้ชิมต้องตัดสินใจว่าดีกว่าหรือเลวกว่า
4. Hedonic Test เป็นแบบที่ง่ายที่สุดเพราะเป็นการให้คะแนนโดยความชอบของผู้ชิม

ประยุกต์ใช้วิธีการ Hedonic taste ซึ่งเป็นวิธีการชิมไวน์ที่ง่ายที่สุด โดยให้ผู้ชิมบอกว่าชอบหรือไม่ชอบ

หลักในการชิมไวน์ ถือหลัก 3 ค ได้แก่

1. ค ดู ความใสและสีของไวน์จะต้องเป็นประกายและเป็นมาตรฐาน ถือดูว่าเป็นสีอะไร มีความเข้มมากน้อยเพียงไร เช่น สีเหลือง อาจจะมี ความเข้มข้นของสีมากหรือน้อย ทำให้เป็นสีเหลืองอ่อนหรือสีเหลืองเข้มก็ได้
2. ค ดม ดมกลิ่นของไวน์ (Swirl) เบาๆ แล้วสูดดมกลิ่นว่ามีกลิ่นแรงมากน้อยเพียงใด มีกลิ่นไม่ประสงค์อื่นๆ หรือไม่ เช่น กลิ่นน้ำส้มสายชู กลิ่นออกซิเดชั่น และกลิ่นอื่นๆ เป็นต้น
3. ค ดื่ม ในที่นี้หมายถึงการจิบ จิบครั้งแรกเป็นการจิบล้างปาก พยายามใช้ลิ้นเลียไวน์ให้กระจายทั่วปากหรือเคี้ยวแล้วบ้วนทิ้ง จิบครั้งที่ 2 และ 3 เพื่อดูว่าไวน์นั้นเปรี้ยวหรือหวานมากน้อยเพียงใด ฝาดเผื่อนมากหรือน้อย และปริมาณแอลกอฮอล์อยู่ในระดับไหน มีความกลมกล่อมหรือไม่ แล้วจึงนำมาประเมินด้วยตนเองว่าไวน์นั้นมีคุณภาพพอใจหรือไม่ ดังแสดงในแบบฟอร์ม Hedonic taste

แบบทดสอบการประเมินทางด้านประสาทสัมผัส แบบ Hedonic 7 Scales Test

ชื่อผู้ทดสอบ เพศ อายุ

คำชี้แจง กรุณาประเมินตัวอย่างไวน์ในด้านความใส สี กลิ่น รสชาติ และการยอมรับรวมของ

ไวน์แต่ละตัวอย่าง และให้คะแนนที่อธิบายความรู้สึกของท่านได้ดีที่สุด

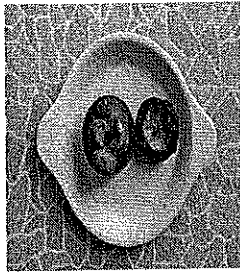
- | | |
|--------------------|-----------------|
| 1 = ไม่ชอบมาก | 5 = ชอบเล็กน้อย |
| 2 = ไม่ชอบปานกลาง | 6 = ชอบปานกลาง |
| 3 = ไม่ชอบเล็กน้อย | 7 = ชอบมาก |
| 4 = เฉย ๆ | |

คุณลักษณะ	รหัสผลิตภัณฑ์			
	618	594	498	856
ความใส				
สี				
กลิ่น				
รสชาติ				
การยอมรับรวม				

ข้อเสนอแนะ.....

ภาคผนวก ง

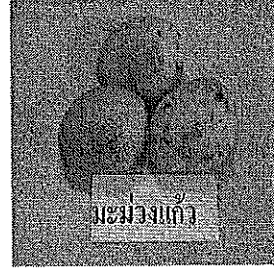
วัสดุดิบ และขั้นตอนการผลิตไวน์จากเปลือกและแกนผลไม้



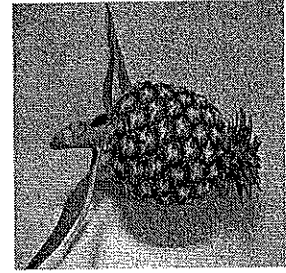
มังคุด



แก้วมังกร



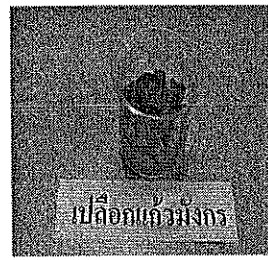
มะม่วงแก้ว



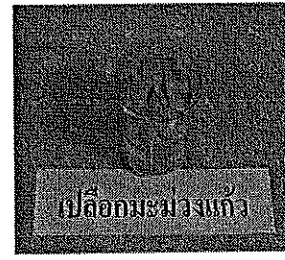
สับปะรด



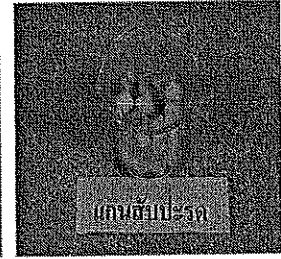
เปลือกมังคุด



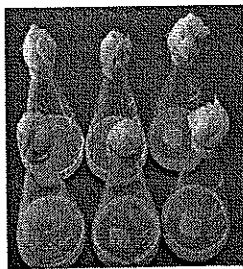
เปลือกแก้วมังกร



เปลือกมะม่วงแก้ว



แกนสับปะรด



การเตรียมหัวเชื้อ



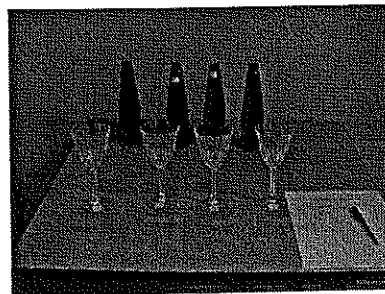
ขั้นตอนการหมัก



การระเหย KMS



ขั้นตอนการบ่ม



การทดสอบชิมไวน์

ภาพประกอบ ง.1 วัตถุประสงค์ และขั้นตอนการผลิตไวน์จากเปลือกและแกนผลไม้

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way Analysis of Variance)

ตารางที่ จ.1 ผลการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระของไวน์จากเปลือกและ
แกนผลไม้ที่เกิดจาก DPPH ที่ใช้เปลือกและแกนผลไม้ต่างกัน

ด้านที่เปรียบเทียบ	Source	SS	df	MS	F	Sig.
วันที่ 0	Between Groups	55.111	3	18.370	4.18	.100
	Within Groups	17.578	4	4.395		
	Total	72.689	7			
การหมักวันที่ 15	Between Groups	207.956	3	69.319	4.657	.086
	Within Groups	59.5333	4	14.883		
	Total	267.489	7			
หลังบ่ม 1 เดือน	Between Groups	512.485	3	170.828	20.257	.007*
	Within Groups	33.732	4	8.433		
	Total	546.217	7			

* มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05

ตารางที่ จ.2 ผลการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระของไวน์จากเปลือกและ
แกนผลไม้ที่เกิดจาก DPPH ที่ระยะเวลาต่างกัน

ด้านที่เปรียบเทียบ	Source	SS	df	MS	F	Sig.
เปลือกมังคุด	Between Groups	18.455	2	9.227	2.250	.253
	Within Groups	12.302	3	4.101		
	Total	30.757	5			
เปลือกแก้วมังกร	Between Groups	252.621	2	126.311	16.254	.025*
	Within Groups	23.313	3	7.771		
	Total	275.934	5			
เปลือกมะม่วง	Between Groups	70.682	2	35.341	2.620	.220
	Within Groups	40.467	3	13.489		
	Total	111.149	5			
แกนสับปะรด	Between Groups	294.337	2	147.168	12.701	.034*
	Within Groups	34.761	3	11.587		
	Total	329.098	5			

* มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05

ตารางที่ ๑.3 ผลการเปรียบเทียบการทดสอบการยอมรับไว้น้ำจากเปลือกและแกนผลไม้

ด้านที่เปรียบเทียบ	Source	SS	df	MS	F	Sig.
ความใส	Between Groups	50.438	3	16.813	24.361	.000*
	Within Groups	52.450	76	.690		
	Total	102.888	79			
สี	Between Groups	72.438	3	24.146	66.852	.000*
	Within Groups	27.450	76	.361		
	Total	99.888	79			
กลิ่น	Between Groups	15.037	3	5.012	6.809	.000*
	Within Groups	55.950	76	.736		
	Total	70.987	76			
รสชาติ	Between Groups	11.737	3	3.912	4.037	.010*
	Within Groups	73.650	76	.969		
	Total	85.388	79			
การยอมรับรวม	Between Groups	19.037	3	6.346	13.839	.000*
	Within Groups	34.850	76	.456		
	Total	53.887	79			

* มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05