รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ศูนย์วิจัยกสิกรไทย. พฤษภาคม 2539. เบียร์ไทย : สงครามการตลาดระเบิดแล้ว. กระแสทรรศน์ 2: 1-11.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2535. เอนไซม์ทางอาหารตอนที่ 1. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร. คณะวิทยาศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศุลกากร, กรม. ธันวาคม 2534. ข้อมูลเศรษฐกิจทางการค้าระหว่างประเทศของไทย. กรุงเทพมหานคร: กรมศุลกากร.

ภาษาอังกฤษ

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. Official method of analysis. 15th ed. Verginia: The Association of Official Agricultural Chemists.

American Society of Brewing Chemists (ASBC). 1958. Method of analysis. 6th ed . Wisconsin: American Society of Brewing Chemists.

Banks, W., and Greenwood, C.T. 1966. The fine structure of amylose:The action of pullulanose as evidence of branching. Arch. Biochem. Biophys 117:674

Banks, W., and Greenwood, C.T. 1971. The characterization of starch and its components. Part IV. The specific estimation of glucose using glucose oxidase. Staerk 23: 222

Banks, W., and Greenwood, C.T. 1975. Starch and its components. Edinburgh: Edinburgh University.

Biliaderis, C.G., Page, C.M., Faurice, T.J. and Juliano, B.O. 1986. Thermal characterization of rice starch : a polymeric approach to phase transitions of granular starch. J. Agric. Food Chem 34 : 6-14

Belitz, H.D., and Grosc H, W. Food Chemistry. Translated by D. Hadziyev. Sprinycr-Verlan Berlin: Heidelbery, 1987

Briggs, D.E., Hough, J.S., Stevens, R., and Young, T.W. 1981. Malting and brewing science. Vol. 1 : Malt and sweet wort. 2nd ed. New York: Chapman and Hall

Buch, G.J., and O' Donnell, D.C. 1985. Adjunct used in brewing. Food Technoloyy in Australia 37: 28-30

Chaing, B.Y., and Johnson, J.A. 1977. Measurement of total and gelatinized starch by glucoamylase and O-toluidine reagent. Cereal Chem 54: 429-435.

Donovan, J.W. 1979. Phase transitios of the starch-water system. Biopolymers 18: 263-265.

Frazier, W.C., and Westhoff, D.C. 1979. Food Microbioloy. 3rd ed. New Delhi McGraw - Hill.

Fujii, M., Murakami,S., Yamada, Y., Ona, T., and Nakamura, T. 1981. A kinetic guation for hydrolysis of polysaccharide by mixed exo-and endoenzym systems. Biotechnol. Bioeng 23: 1393-1398.

Fujii, M., and Kawamura, Y. 1985. Synergistic actien of α-amylase and glucoamylase on hydrolysis of starch. Biotechnol. Bioeng 27: 260-265.

Fujii, M., Homma, T., and Taniguchi, M. 1988. Synergism of α-amylase and glucoamylase on hydrolysis of native starch granules. Biotechnol. Boeng 32: 915.

Geiger, K.H. 1985. Process of Brewing with Oan adjunct of highly fermentable sugar. United State Patent. NO. 4,507,325.

Hebeda, R.E., and Stryrlund , C.R. 1986. Starch hydrolysis products as brewing adjuncts. Cereal Food World 31: 685-687.

Hebeda, R.E., and Teagve, W.M. 1994. Starch hydrolyzing enzymes. In R.J. Alexander, and H.F. Zobel(eds.), Developments in corbohydrale Chemistry, pp. 65-85. Verginia: American Association of Cereal Chemists.

Kodayama, K., and Yoshizawaz, K. 1977. Sake. In A.H. Rose. (ed.), Economic microbiology Vol.1 Alcoholic beverages. pp. 312-364. London: Academic Press.

Kusunoki, K., Kawakami, K., Shiraishi,F., Kato, K., and Kai, M. 1982. A Kinetic expression for hydrolysis of soluble starch by glucoamylase. Biotechnol. Bioeng 26: 347-354.

Leach, H.W. 1967. Gelatinization of starch. In R.L. Whister, and E.F. Paschall (eds.), Starch : chemistry and technology, pp. 289-305. New York: Academic Press.

Lloyd, N.E., and Nelson, W.J. 1984. Thcose-and fructose-containg sweetners from starch. In Whitaker, R.L., Bemiller, R.N., and Pashass , E.F (eds.), Starch Chemistry and technology , pp. 611-660. Florida: Academic Press.

Lloyd, W.J.W. 1986. Adjuncts. J. Inst. Brew 92 : 336-345.

Lowery, C.E., Duncombe, G.R., Line, W.F., and Chicoye, E. 1987. Preparation of low calorie beer. United State Patent. No. 4,660,718.

Maiden, A.M. 1970. Food and fermentation applications of starch hydrolysate. In G. G Brigg., L.T. Green, and C.B. Coulson (eds.), Glucose syrup and related carbohydrates , pp. 3-21. London: Elsevier.

Macrace, R., Robinson, R.K., and Sadler, M.J. eds. 1993. Encyclopaedia food science ,food technoloyy and nutrition. Academic Press: London.

Maule, A.P., and Greenshields, R.N. 1970. Technology to brewing carbohydrates. Process Biochem 5: 39-44.

Mitchell, C.R., Mitchell, P.T., and Mitchell, W.A. 1988. Rice syrup sweetener production. United State Patent. No. 4,756,912.

Nelson, N. 1944. A photometric adaption of the Somoyyi Method for the determination of glucose. J. Biol. Chem 153: 380.

Nielsen, B.H. , Jepsen , S.J. , and olesen ,T. 1984. Enzymes and their application in the brewing industry. III. Enzymatic preparation of syrups for beer and soda water. Brygmesteren 41: 279-288.

Palmer, T.J. 1970. Acid and enzyme hydrolysis of Starch. In G.G. Birch, L.T. Green, and C.B. Coulson (eds.), Glucose syrup and related Carbohydrate, pp. 22-30. London: Elseviev.

Pollock, J.R.A., and Weir, M.J. 1977. Method of brewing beer. United State Patent. No. 4,038,420.

Pollock, J.R.A., ed. 1979. Brewing science: Unmalted grains in brewing. London: Academic Press.

Pomeranz, Y. 1991. Functional properties of food components. 2nd ed. New York: Academic Press.

Radley, J.A. 1968. Starch and its derivatives. 4th ed. London: Richard Clay.

Reed, G., and Underkofler, L.A. 1966. Enzyme in food processing. New York: Academic Press.

Reichelt, J.R. 1983. Starch. In T. Godfrey, and J.R. Reichelt (eds.), Industrial Enzymology, pp. 375-396. Hong Kong: Macmillan.

Robert, R.H., and Rainbow, C. 1971. Change in traditional brewing materials and methods in Great Britian. Technical Quarterly. Master Brewing Assiciation of America 8: 1-6.

Satyanarayana, B.A., and Navasimanm, V.V.L. 1975. Adjunct in brewing. Journal of Food Science and Technology 12: 217-220.

Swain, E.F. 1975. The manufacture and use of liquid adjuncts. Technical Quarterly. Master Brewing Assiciation of America 13: 108-113

Whelan, W.J. 1957. The action pattern of starch metabolizing enzyme. Staerke 9: 74.

Wilson, J. 1992. Brewing sugars:the versatile adjunct. Food Manufacture 67: 30-34.

Zobal, H.F. 1984. Gelatinization of starch and mechanical properties of starch pastes. In Whitaker, R.L., Bemiller, R.N., and Pashass , E.F (eds.), Starch chemistry and technology, pp. 611-660. Florida: Academic Press.

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวเจ้า

ก.1 ความชื้น

ตามวิธี AOAC 925.10 (1990)

ก.1.1 วิธีการวิเคราะห์

ก.1.1.1. อบจานโลหะที่ 130± 3 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ ทิ้งให้เย็นในเดสซิคเคเตอร์ แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก

ก.1.1.2. ชั่งตัวอย่างแป้งให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในจานโลหะที่อบแห้งแล้ว

ก.1.1.3. นำจานโลหะอบในตู้อบที่ 130± 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยเปิดฝาในขณะที่อบแห้ง

ก.1.1.4. ปิดฝาจานโลหะแล้วนำมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นใน desiccator

ก.1.1.5. ชั่งน้ำหนักของจานโลหะและตัวอย่างแป้ง

ก.1.2 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น(ร้อยละ)} = \frac{(\text{น้ำหนักจานและตัวอย่างหลังอบแห้ง} - \text{น้ำหนักจาน}) * 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแป้ง}}$$

ก.2 โปรตีน

โดยวิธี Macro Kjeldahl ตามวิธี AOAC 962.09 (1990)

ก.2.1 สารเคมี

คะตะลิสต์ผสม ประกอบด้วยโซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ 95 ส่วน คอปเปอร์ซัลเฟต 3.5 ส่วน และเซเลเนียมไดออกไซด์ 0.5 ส่วน

กรดซัลฟุริกเข้มข้น

สารละลายกรดบอริคเข้มข้นร้อยละ 2

สารละลายเมธิลเรดอินดิเคเตอร์

สารละลายโซเดียมไฮดรอดไซด์เข้มข้นร้อยละ 50

สารละลายกรดซัลฟุริกเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร

ก.2.2 วิธีการวิเคราะห์

ก.2.2.1. ชั่งตัวอย่างแป้งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 3 กรัม ใส่ลงใน Kjeldahl digestion flask เติมคะตะลิสต ผสมลงไป 8 กรัมและกรดัลฟุริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร

ก.2.2.2. นำไปย่อยโดยค่อยๆต้มให้เดือด พยายามวาง digestion flask ให้เอียงเล็กน้อย ต้มจนกระทั่งไม่มีฟอง

ก.2.2.3. เพิ่มความร้อนให้สูงขึ้น เขย่าเป็นครั้งคราวและย่อยจนส่วนผสมใส ประมาณ 2 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

ก.2.2.4. เติมน้ำกลั่นลงไปละลายส่วนผสม แล้วเทใส่ใน distilling flask เติมน้ำกลั่นทั้งหมด 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมเศษกระเบื้องลงใน distillation flask 2-3 ชิ้น

ก.2.2.5. ใส่สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาณ 75 มิลลิลิตร ลงใน flask

ก.2.2.6. เตรียมสารละลายกรดบอริคเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมเมธิลเรดอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด เพื่อดักจับแอมโมเนีย

ก.2.2.7 กลั่นจนได้ของเหลวประมาณ 200 มิลลิลิตร

ก.2.2.8. นำสารละลายที่ได้ทั้งหมดไปไตเตรตกับสารละลายกรดซัลฟุริกเข้มข้น 0.05 โมล ต่อลิตร

ก.2.3 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(\text{ปริมาตรของกรดซัลฟุริก - แบลงค์}) * 0.0014 * 6.25 * 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

หมายเหตุ

สารละลายกรดซัลฟุริกเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร ทำปฏิกิริยาสมมูลย์พอดีกับไนโตรเจน 0.0014 กรัม

ก.3 ไขมัน

ตามวิธี AOAC 920.39 (1990)

ก.3.1 วิธีการวิเคราะห์

ก.3.1.1. อบบีกเกอร์ที่ใช้ในการสกัดไขมันที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน desiccator ชั่งน้ำหนักขวด

ก.3.1.2. ชั่งตัวอย่างแห้งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในกระดาษกรอง Whatman No.1 บันทึกน้ำหนักตัวอย่างไว้

ก.3.1.3. ใส่ห่อตัวอย่างลงในทิมเบิลที่อยู่ในเครื่องสกัด

ก.3.1.4. เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในเครื่องสกัด

ก.3.1.5. สกัดไขมันเป็นเวลา 3 ชั่วโมง

ก.3.1.6. ปั่นแยกปิโตรเลียมอีเทอร์ออกจากน้ำมันที่สกัดได้

ก.3.1.7. อบบีกเกอร์สกัดที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นใน desiccator จึงชั่งน้ำหนักขวดสกัด

การคำนวณ

ปริมาณไขมัน(ร้อยละ)= ปริมาณไขมันที่สกัดได้ * 100 / น้ำหนักตัวอย่าง

ก.4 ปริมาณเส้นใย

ตามวิธี AOAC 962.09 (1990)

ก.4.1. สารเคมี

สารละลายกรดซัลฟุริกเข้มข้นร้อยละ 1.25

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 5

สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 1

อัลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95

ก.4.2. วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างน้ำหนักแน่นอน 5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร
2. เติมกรดซัลฟุริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
3. ให้ความร้อนจนสารละลายเดือดเป็นเวลา 30 นาที ปรับปริมาตรของสารละลายให้คงที่ด้วยการเติมน้ำร้อน
4. กรองสารละลายผ่านผ้าโพลีเอสเทอร์โดยใช้วิธีดูด ล้างบีกเกอร์ ผ้ากรองและตัวอย่างด้วยน้ำร้อนหลาย ๆครั้งจนหมดฤทธิ์กรด
5. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตรโดยการเติมน้ำร้อน
6. ต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาที ปรับปริมาตรให้คงที่ด้วยการเติมน้ำร้อน
7. กรองสารละลายผ่านผ้าโพลีเอสเทอร์และล้างตัวอย่างด้วยน้ำร้อนหลาย ๆ ครั้ง
8. ล้างด้วยกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้นร้อยละ 1 แล้วล้างด้วยน้ำร้อนจนหมดฤทธิ์กรด
9. ล้างด้วยอัลกอฮอล์ร้อยละ 95 ปริมาตรเล็กน้อย
10. นำกากตัวอย่างที่เหลือใส่ใน evaperation dish เพื่อระเหยอัลกอฮอล์ออก
11. อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นใน desiccator

12.เผาในเตาอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส ประมาณ 6 ชั่วโมง จนกระทั่งตัวอย่างเป็นเถ้า

13.ทำให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนักของ crucible

การคำนวณ

ปริมาณแส้นใย(ร้อยละ)

$$= \frac{\text{(น้ำหนักของกากตัวอย่างก่อนเผา-น้ำหนักของเถ้า) * 100}}{\text{น้ำหนักของสารตัวอย่าง}}$$

ก.5 ปริมาณเถ้า

ตามวิธี AOAC 932.03 (1990)

ก.5.1 วิธีการวิเคราะห์

1. เผา crucible ที่ 550 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นใน desiccator แล้วจึงชั่งน้ำหนัก
2. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 1 กรัม ใส่ใน crucible ที่เผาแล้ว
3. เผา crucible ที่มีตัวอย่างบน hot plate ในตู้ควัน จนกระทั่งไม่มีควันออกมาจากตัวอย่างอีก
4. นำมาเผาต่อในเตาเผาที่ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 6 ชั่วโมง จนสารตัวอย่างกลายเป็นสีเทา
5. ตั้งไว้ให้เย็นใน desiccator แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{(น้ำหนัก crucibleและเถ้าหลังการเผา - น้ำหนัก crucible)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์

ข.1 วิเคราะห์หาปริมาณ กลูโคสโดยใช้ Peroxidase glucose oxidase enzyme (PGO enzyme)

โดย Worthington procedure ตามวิธีของ Lineback, Russel และ Rasmussen (1969)

ข.1.1 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

ข.1.1.1 สารละลาย PGO enzyme โดยละลาย PGO enzyme (Catalog NO 510-6 Sigma, peroxidase 100 U/capsule, glucose oxidase 500 U/capsule) 1 แคปซูลในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จำนวน 50 มิลลิตร

ข.1.1.2 สารละลายเกิดสี โดยละลายไดอะนิซิดีน ไดโฮโดรคลอไรด์ จำนวน 50 มิลลิกรัม ในน้ำ 20 มิลลิกรัม

ข.1.1.3 Glucostat Reagent โดยผสมสารละลาย PGO enzyme ปริมาตร 100 มิลลิลิตรและสารละลายเกิดสีจำนวน 1.4 มิลลิลิตรเขย่าผสมกันเบา ๆ

ข.1.2 การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสม

ข.1.2.1 เตรียมสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ข.1.2.2 เจือจางสารละลาย ข้อ 1 ให้มีความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ข.1.2.3 ปิเปตสารละลายจาก ข้อ 2 มา 0.5 มิลลิลิตร เติม glucostat reagent 5 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (20-30องศาเซลเซียส)

ข.1.2.4 นำสารละลายจาก ข้อ 3 Scan หาค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมในช่วง 425 ถึง 475 นาโนเมตร

ข.1.3 การเตรียมกราฟมาตรฐานของกลูโคส

ข.1.3.1 เตรียมสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ข.1.3.2 เจือจางสารละลาย ข้อ 1 ให้มีความเข้มข้น 1,3,5,10 และ30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ข.1.3.3 ปิเปตสารละลายจาก ข้อ 2 มา 0.5 มิลลิลิตร เติม glucostat reagent 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (20-30องศาเซลเซียส)

ข.1.3.4 นำสารละลายวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร

ข.1.3.5 ทำ หลอดควบคุมเปรียบเทียบโดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายกลูโคส

ข.1.3.6 สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกลุโคสและค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร ดังรูปที่ ข-1

ก.1.4 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส

ข.1.4.1 เตรียมสารตัวอย่างโดยการปั่นแยกสารละลายตัวอย่าง 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

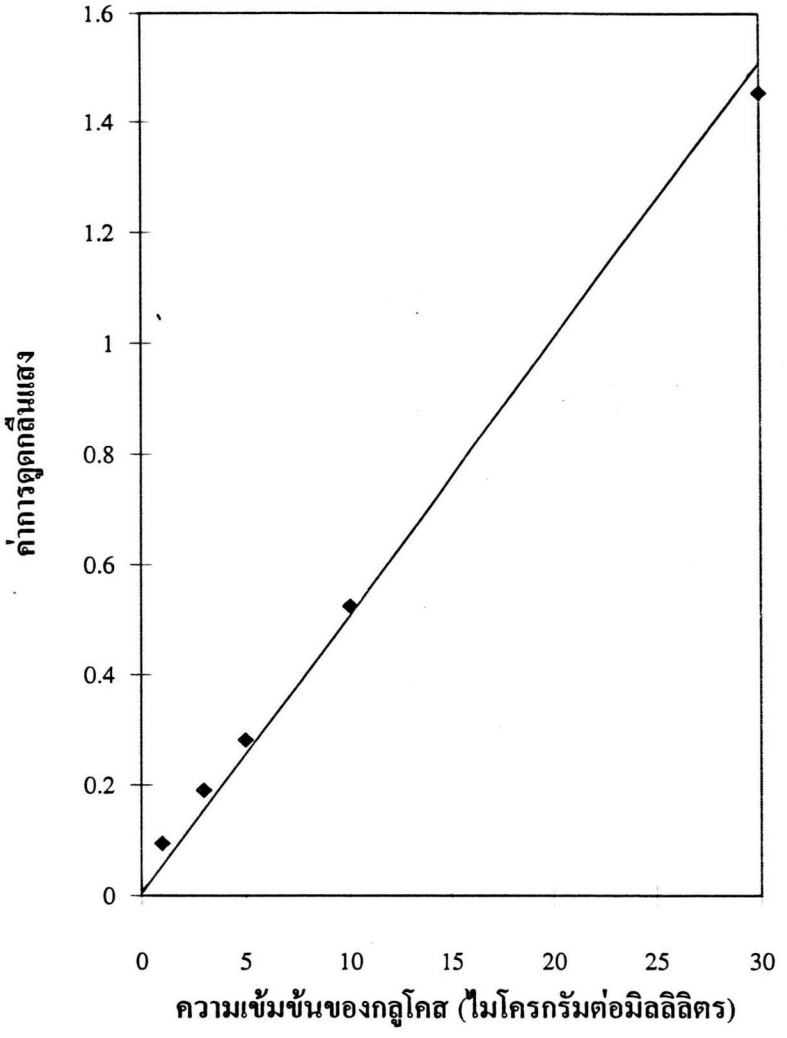
ข.1.4.2 เจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีปริมาณกลุโคสอยู่ในช่วง 1 ถึง 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ข.1.4.3 ปิเปตสารตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองเติมสารละลาย Glucostat Reagent 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

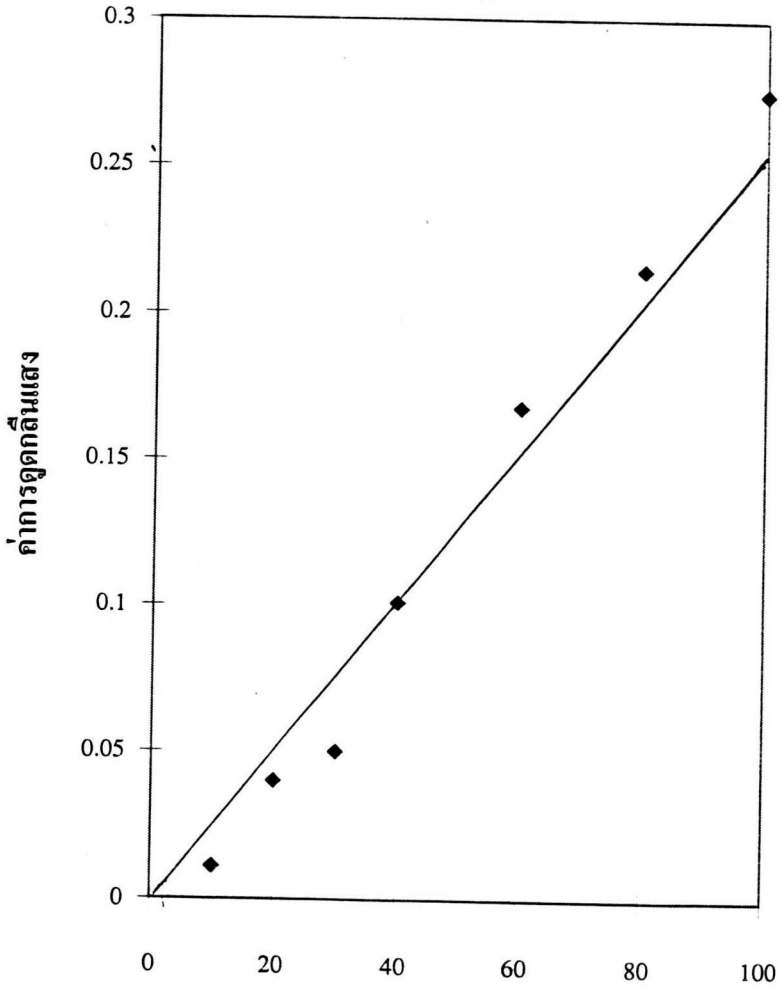
ข.1.4.4 นำสารละลายจาก ข้อ 3 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร

ข.1.4.5 เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับกราฟมาตรฐาน

ข.1.4.6 ทำหลอดควบคุม เปรียบเทียบโดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายตัวอย่าง



รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานในการคำนวณค่ากลูโคส



รูปที่ ข-2 กราฟมาตรฐานในการคำนวณค่า DE

ข.2 วิเคราะห์หาน้ำตาลรีดิวซ์ และ ค่าสมมูลย์กลูโคส

โดย Somogyi method ตามวิธีของ Nelson (1944)

ข.2.1 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

ข.2.1.1 สารละลาย A: ละลายโซเดียมคาร์บอเนต 25 กรัม โปแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต เตตระไฮเดรต 25 กรัม โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต 20 กรัม โซเดียมซัลเฟต 200 กรัม ในน้ำ 800 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร กรองด้วยกระดาษกรองเก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส

ข.2.1.2 สารละลาย B : เตรียมคอปเปอร์ซัลเฟตร้อยละ 15เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น 1-2 หยด ต่อ 100 มิลลิลิตร

ข.2.1.3 สารละลายอาร์ซิโนโมลิบเดท : ละลายแอมโมเนียมโมลิบเดท 25 กรัมในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น 21 มิลลิลิตร เติมสารละลายไดโซเดียมไฮโดรอาร์เซเนต 3 กรัม ในน้ำ 25 กรัม ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

ก.2.2 การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสม

ข.2.2.1 เตรียมสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ข.2.2.2 เจือจางสารละลาย ข้อ 1 ให้มีความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ข.2.2.3 ปิเปตสารละลาย ข้อ 2 มา 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสมของสารละลาย A กับ สารละลาย B (25:1) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าผสมกัน

ข.2.24 ต้มในอ่างน้ำเดือด 20 นาที

ข.2.25 ทำให้เย็นทันทีโดยแช่ในอ่างน้ำผสมน้ำแข็ง

ข.2.2.6 เติมสารละลายอาร์ซิโนโมลิบเดท 1 มิลลิลิตร

ข.2.2.7 เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุทธิ 25 มิลลิลิตร

ข.2.2.8 นำสารละลายจาก ข้อ 7 Scan หาค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสม ในช่วง 400 นาโนเมตรถึง 800 นาโนเมตร ซึ่งจากการทดลองนี้ได้ค่า 748 นาโนเมตร

ข.2.3 เตรียมกราฟมาตรฐานของกลูโคส

ข.2.3.1 เตรียมสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ข.2.32 เจือจางสารละลาย ข้อ 1 ให้มีความเข้มข้น 10,20,30,40,60, 80, และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ข.2.33 ปิเปตสารละลายจาก ข้อ 2 ความเข้มข้นละ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง 7 หลอดตามลำดับความเข้มข้น

ข.2.34 เติมสารละลายผสมของสารละลายA กับสารละลายB (25 : 1) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าผสมกัน

ข.2.35 ต้มในอ่างน้ำเดือด 20 นาที

ข.2.36 ทำให้เย็นทันทีโดยแช่ในอ่างน้ำผสมน้ำแข็ง

ข.2.3.7 เติมสารละลายอาร์ซิโนโมลิบเดท 1 มิลลิลิตร

ข.2.3.8 เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุทธิ 25 มิลลิลิตร

ข.2.39 นำสารละลายวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 748 นาโนเมตร

ข.2.3.10 ทำหลอดควบคุมเปรียบเทียบ โดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายกลูโคส

ข.2.3.11 สร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกลูโคส และค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร ดังรูปที่ ข-2

ข.2.4 การวิเคราะห์ค่าน้ำตาลรีดิวซ์และค่าสมมูลย์กลูโคส (DE)

ข.2.4.1 เจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ อยู่ในช่วง 10 ถึง 100 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร

ข.2.42 ปิเปตสารละลาย ข้อ 1 มา 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสมของสารละลาย A กับ สารละลายB (25 : 1) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรเขย่าผสมกัน

ข.2.4.3 ต้มในอ่างน้ำเดือด 20 นาที

ข.2.4.4 ทำให้เย็นทันทีโดยแช่ในอ่างน้ำผสมน้ำแข็ง

ข.2.4.5 เติม สารละลายอาร์ซีโนโมลิบเดท 1 มิลลิลิตร

ข.2.4.6 เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุทธิ 25 มิลลิลิตร

ข.2.4.7 นำสารละลายวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 748 นาโนเมตร

ข.2.4.8 เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับกราฟมาตรฐาน

ข.2.4.9 ทำ ทลอดควบคุมเปรียบเทียบโดยใช้น้ำกลั่น แทนสารละลายตัวอย่าง

ข.2.5 วิธีการคำนวณ

$$DE = \frac{\{(AxDILUTION)xVOLUME\}}{1{,}000} \frac{x100}{B}$$

เมื่อ A คือ ความเข้มข้นของกลูโคสที่อ่านได้จากกราฟ

B คือ ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ที่มีในแป้ง

ข.3 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณของแข็ง (Extract)

ดัดแปลงจากวิธีของ ASBC (ASBC,1958)

ข.3.1 วิธีวิเคราะห์

ข.3.1.1 เตรียมสารละลาย ตัวอย่างเจือจางร้อยละ 10 โดยชั่งตัวอย่าง

50 กรัม (± 0.001)

ข.3.1.2 ละลายตัวอย่างในน้ำอุ่นและปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร ในขณะที่สารละลายมีอุณหภูมิ 20° C

ข.3.1.3 วัดค่าหักเหของแสง ของสารละลายเจือจางร้อยละ 10 ด้วย รีแฟกโตมิเตอร์

ข.3.1.4 เปลี่ยน ดีกรีบริกซ์ให้เป็น ความถ่วงจำเพาะที่ 20/20° C โดย ใช้ตาราง 942.33 ของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ข)

ข.3.2 วิธีการคำนวณ

$$\text{ของแข็ง (ร้อยละ)} = \frac{500PB}{W}$$

เมื่อ P = ของแข็ง (ร้อยละ)= ของสารละลายเจือจางร้อยละ 10

B = ความถ่วงจำเพาะของสารละลายร้อยละ 10

W = น้ำหนักของตัวอย่าง

ข.4 วิธีวิเคราะห์ค่าความชื้น

โดยวิธีของ ASBC (ASBC, 1958)

หาได้จากการคำนวณ

ความชื้น (ร้อยละ) =100 - ของแข็ง (ร้อยละ)

ข.5 วิธีวิเคราะห์เถ้า

โดยวิธีของ ASBC (ASBC, 1958)

ข.5.1 วิธีการวิเคราะห์

ข.5.1.1 เผาจานโลหะ ที่ 550 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ ทิ้งให้เย็น ใน เดสซิเคเตอร์ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

ข.5.1.2 ชั่งตัวอย่าง 2-5 กรัม (±0.0001 กรัม) ลงในจานโลหะ

ข.5.1.3 เผาจานโลหะที่บรรจุตัวอย่างที่ความร้อนต่ำอย่างช้า ๆ จนเกิดการไหม้

ข.5.1.4 เติมน้ำมันมะกอกบริสุทธิ์ 2-3 หยด ลดการพองตัวของตัวอย่าง

ข.5.1.5 เผาจานโลหะ ต่อจนไม่มีควัน

ข.5.1.6 นำจานโลหะเผาที่ 550° C จนมีน้ำหนักคงที่

ข.5.1.7 นำจานตัวอย่างใส่ เดสซิเคเตอร์ทิ้งให้เย็น นำไปชั่งน้ำหนัก

ข.5.2 วิธีการคำนวณ

เถ้า (ร้อยละ) = (น้ำหนักของเถ้า x 100)/น้ำหนักตัวอย่าง

ข.6 วิธีวิเคราะห์หาโปรตีน

โดยวิธีของ ASBC (ASBC,1958)

ข.6.1 วิธีวิเคราะห์

ข.6.1.1 เตรียมสารละลาย ตัวอย่าง 10 %

ข.6.1.2 นำมา 25 มิลลิลิตร ใส่ลงใน หลอดเจดาลท์

ข.6.1.3 เติมกรดซัลฟุริก 1-2 มิลลิลิตร

ข.6.1.4 ระเหยน้ำในตัวอย่างจนมีความหนืดสูง

ข.6.1.5 เติม คะตะลิสต์ผสม (เมอร์คิวริกออกไซด์ 0.7 กรัม โปแตสเซียมซัลเฟต 10 กรัม)

ข.6.1.6 เติมกรดซัลฟุริก 25 มิลลิลิตร

ข.6.1.7 ย่อยตัวอย่างด้วยความร้อนจนตัวอย่างใส (อย่างน้อย 30 นาที)

ข.6.1.8 ทำตัวอย่างให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

ข.6.1.9 กลั่นสารละลายใน หลอดเจดาลท์ด้วยเครื่องกลั่น

ข.6.1.10 เตรียมดักจับแอมโมเนียด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.1

นอร์มอล 25 มิลลิลิตรหยดเมธิลเรด 2-3 หยด

ข.6.1.1.11 กลั่นประมาณ 6 นาที จากนั้นนำสารละลายทั้งหมดไตเตรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล

ข.6.2 วิธีการคำนวณ

$$P = \frac{17.5(Va - Vb)}{W}$$

เมื่อ P = ร้อยละของโปรตีนในตัวอย่างตั้งต้น

V_a = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ดีกลับแอมโมเนีย 0.1 นอร์มอล

V_b = ปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล

W = น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้เตรียมสารละลายเจือจางร้อยละ 10

ค่า 17.5 = $\frac{14x6.25x500x100}{10x1000x25}$

ข. 7 วิเคราะห์ค่าของแข็งที่หมักได้ (Fermentable extract)

โดยวิธีของ ASBC (1958)

ข.7.1 วิธีวิเคราะห์

ข.7.1.1 เตรียมสารละลายตัวอย่างเจือจางร้อยละ 10 ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

ข.7.1.2 เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ โปแทสเซียมฟอสเฟต 0.8 กรัม แอมโมเนียไดฟอสเฟต1 กรัม และ ยีสต์แอกแทรกซ์0.5 กรัม ลงในสารละลายตัวอย่างเจือจางร้อยละ 10

ข.7.1.3 เติม bottom brewers' yeast 5 กรัม

ข.7.1.4 หมักที่อุณหภูมิ 15-25° C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ข.7.1.5 ในระหว่างการหมัก ต้องเขย่าฟลาสก์ วันละหลาย ๆ ครั้ง

ข.7.2 วิธีคำนวณ

$$\text{ของแข็งที่หมักได้ (ร้อยละ)} = \frac{100(P - N)}{P}$$

เมื่อ P = ของแข็งของสารตัวอย่างเจือจางร้อยละ 10 ก่อนเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ

P = ของแข็งของสารตัวอย่างเจือจางร้อยละ 10 ก่อนหมัก

N = ของแข็งของสารตัวอย่างเจือจางร้อยละ 10 หมัก

ข.8 วิเคราะห์สัดส่วนของคาร์โบไฮเดรต

โดยใช้ High Performance Liquid Chromatography

ภาวะในการวิเคราะห์

Column :phenometer spherisorb $-NH_2$

Detector : RID (LDC refracto monitor IV)

Eluen : acetonitile : water = 75 : 25

Flow rate : 1.8 ml / min

Infaction volumn : 1 ml

ข.8.2 วิธีการวิเคราะห์

ข.8.2.1 เตรียมสารมาตรฐานของกลูโคส มอลโตส มอลโตไตรโอส ซูโครส และ ฟรุกโตส เข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

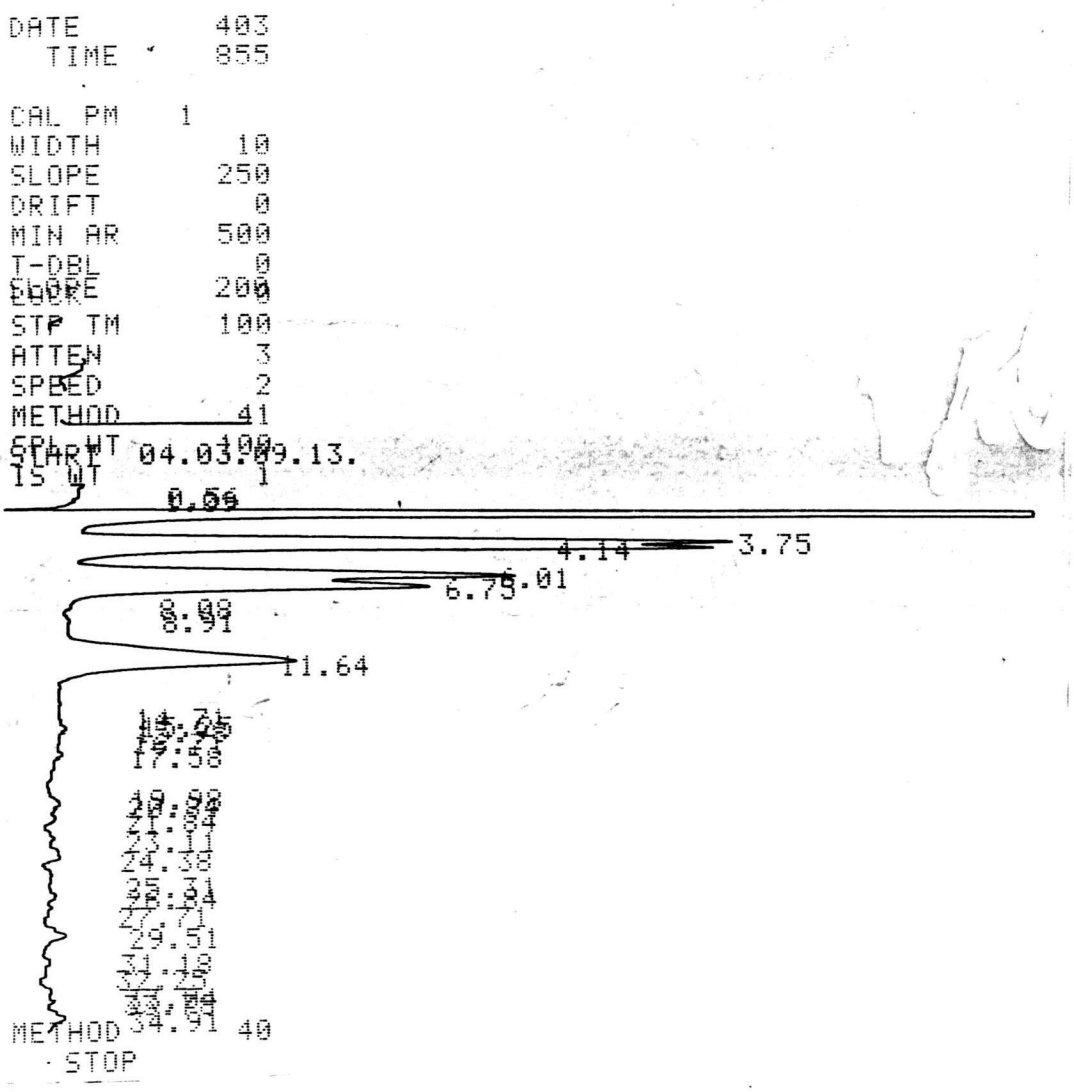
ข.8.2.2 เตรียมสารตัวอย่าง โดยนำไปปั่นแยกที่ 15,000 รอบต่อนาที 60นาที

ข.8.2.3 กรองด้วย เยื่อกรองขนาด 0.2 ไมครอน

ข.8.2.4 ฉีดสารมาตรฐาน ตัวอย่างละ 1 ไมโครลิตร

ข.8.2.5 ฉีดสารตัวอย่างในปริมาตร 1 ไมโครลิตร

ข.8.2.6 ดูพื้นที่ใต้กราฟของสารตัวอย่างเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน คำนวณอัตราส่วนของน้ำตาลชนิดต่างๆ



ชนิดของน้ำตาล	retention time (นาที)
ฟรุคโตส	3.75
กลูโคส	4.14
ซูโครส	5.01
มอลโตส	6.79
มอลโตไตรโอส	11.64

รูปที่ ก-3 retention time ของสารละลายน้ำตาลมาตรฐานจากการวิเคราะห์ด้วย HPLC

ภาคผนวก ค

วิธีการคำนวณ

1. การคำนวณปริมาณแป้งทั้งหมด (total starch)ของแป้งข้าวเจ้า

แป้งข้าวเจ้า 62.5 ไมโครกรัมในสารละลาย DMSO 1 มิลลิลิตร

กลูโคสที่อ่านค่าได้จากกราฟ ก-1 เท่ากับ 53.56 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

คาร์โบไฮเดรทของแป้งข้าวเจ้า เท่ากับ ร้อยละ 80.78 (ตารางที่ 5)

conversion factor ในการคำนวณกลูโคสไปเป็นแป้ง เท่ากับ 0.9

ร้อยละของแป้งทั้งหมด =(กลูโคส×0.9×100)÷ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในแป้ง

$$=(53.56\times0.9\times100)\div50.4875$$

$$= 95.45$$

2. ตัวอย่างการคำนวณ Fermentable

ร้อยละของแข็งในตัวอย่าง (Extract %) (E) = 83.3

ร้อยละของแข็งในสารละลาย 10 % (P) = 8.305

ร้อยละของแข็งในสารละลาย 10 % หลังจากเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ, (P) = 8.980

ของแข็งหลังการหมัก (N) = 3.464

$$\text{Fermentable extract, dry basis, \%} = \frac{(8.980 - 3.464)*100}{8.305} = 66.4$$

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน

ตารางที่ ง-1 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ของของแข็ง (ร้อยละ) ของสารเสริมการผลิตสุราที่ผลิตโดยการย่อยแป้งความเข้มข้นร้อยละ 40 pH 5.5 อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ผลิตเมื่อ เวลาความเข้มข้นของกลูโคอะมิเลสและแอลฟา-อะมิเลส ที่ระดับต่างๆ

SOV	df	SS	MS	F-value
MAIN EFFECT				
A(เวลา)	4	469.55	117.388	129.24*
B(กลูโคอะมิเลส)	2	2.42	1.209	1.33ns
C(แอลฟา-อะมิเลส)	2	36.48	18.238	20.08*
INTERACTIONS				
AB	8	19.96	2.495	2.75*
AC	8	10.03	1.253	1.38ns
BC	4	10.25	2.563	2.82*
ABC	16	16.90	1.056	1.16ns
ERROR	44	39.96	0.908	

หมายเหตุ ns คือ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* คือ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ ง-2 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าของแข็งที่หมักได้ของสารเสริมการผลิตสุราที่ผลิตโดยการย่อยแป้งความเข้มข้นร้อยละ 40 pH 5.5 อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ผลิตเมื่อ เวลาความเข้มข้นของกลูโคอะมิเลสและ แอลฟา-อะมิเลสที่ระดับต่าง ๆ

SOV	df	SS	MS	F-value
MAIN EFFECT				
A(เวลา)	4	8091.60	2022.899	884.51*
B(กลูโคอะมิเลส)	2	1580.53	790.263	345.54*
C(แอลฟา-อะมิเลส)	2	1255.53	627.766	274.49*
INTERACTIONS				
AB	8	85.08	10.635	4.65*
AC	8	335.20	41.900	18.32*
BC	4	38.32	9.581	4.19*
ABC	16	92.47	5.779	2.53*
ERROR	44	100.63	2.287	

หมายเหตุ * คือ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ ง-3 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสมมูลย์กลูโคสของสารเสริมการผลิตสุราที่ผลิตโดยการย่อยแป้งความเข้มข้นร้อยละ 40 pH 5.5 อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ผลิตเมื่อ เวลาความเข้มข้นของกลูโคอะมิเลสและ แอลฟา-อะมิเลสที่ระดับต่าง ๆ

SOV	df	SS	MS	F-value
MAIN EFFECT				
A(เวลา)	4	8319.16	2079.790	816.97*
B(กลูโคอะมิเลส)	2	1271.18	635.591	249.67*
C(แอลฟา-อะมิเลส)	2	843.76	421.878	165.72*
INTERACTIONS				
AB	8	195.32	24.415	9.59*
AC	8	609.18	76.147	29.91*
BC	4	43.47	10.867	4.27*
ABC	16	156.92	9.807	3.85*
ERROR	44	112.01	2.546	

หมายเหตุ * คือ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ประวัติผู้เขียน

นางสาวอังคณา น้อยสุวรรณ เกิดวันที่ 18 เมษายน พ.ศ. 2514 ที่อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ วิทยาเขตมหาสารคาม ในปีการศึกษา 2535 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2536