

มหาวิทยาลัยบูรพา

ภาคผนวก

Burapha University

มหาวิทยาลัยบูรพา  
Burapha University

ภาคผนวก ก  
การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ

### ก.1 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของโคโตซาน

#### ก.1.1. ระดับการกำจัดหมู่อะซีติลของโคโตซาน

วิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะซีติลของโคโตซาน โดยวิธี colloid titration

#### เครื่องมือ อุปกรณ์

1. ขวดรูปชมพู่ 25 ml.
2. กระจกตวง 50 ml.
3. บิวเรต 25 ml.
4. ปิเปต 5 ml.
5. หลอดหยด
6. ขวดวัดปริมาตร 25 ml.

#### สารเคมี

1. สารละลาย 1-n-Hexadecylpyridinium Chloride Monohydrate (CPC) (12.5 ml.

ในสารละลายกรดอะซีติก 0.1 M 25 ml. หรือ ประมาณ 0.05% w/v)

2. สารละลายเกลือ potassium ของ polyvinyl sulfate (PVSK) (25 ml. ในน้ำ 50 ml.

หรือ ประมาณ 1/400 N)

3. สารละลายอินดิเคเตอร์ 0.1% toluidine blue

4. สารละลายโคโตซานตัวอย่าง 1 (ประมาณ 10 mg. ในสารละลายกรดอะซีติก 0.1 M 25 ml. หรือประมาณ 0.04% w/v)

#### วิธีการวิเคราะห์

1. การเตรียม blank

1.1 ปิเปตสารละลายกรดอะซีติก 0.1 M 5 มล. ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 25 มล.

1.2 หยด 0.1% toluidine blue 1-2 หยด จะได้สารละลายสีฟ้า

1.3 ไทเทรตด้วย PVSK จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดงและมีตะกอน

1.4 บันทึกปริมาตร PVSK ที่ใช้ในการไทเทรต และทำซ้ำอีก 2 ครั้ง

2. การหาความเข้มข้นของ PVSK

2.1 ปิเปตสารละลาย 1-n-Hexadecylpyridinium Chloride Monohydrate 5 มล.

ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 25 มล.

2.2 หยด 0.1% toluidine blue 1-2 หยด จะได้สารละลายสีฟ้า

2.3 ไทเทรตด้วย PVSK จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดงและมีตะกอน

2.4 บันทึกปริมาตร PVSK ที่ใช้ในการไทเทรต และทำซ้ำอีก 2 ครั้ง

คำนวณความเข้มข้นของ PVSK จากสูตร

$$N = 50 * C7358 D \dots\dots\dots(g.1)$$

เมื่อ N คือ ความเข้มข้นของ PVSK หน่วยเป็น N

C คือ ความเข้มข้นของ 1-n- Hexadecylpyridinium Chloride Monohydrate  
หน่วยเป็น %

D คือ ผลต่างของปริมาตรที่ได้จากการไทเทรต 1-n-  
Hexadecylpyridinium Chloride Monohydrate และ Blank

3. การวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะซีติล

3.1 ปิเปตสารละลายโคโคซานตัวอย่าง 5 มล. ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 25 มล.

3.2 หยด 0.1% toluidine blue 1-2 หยด จะได้สารละลายสีฟ้า

3.3 ไทเทรตด้วย PVSK จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดงและมีตะกอน

3.4 บันทึกปริมาตร PVSK ที่ใช้ในการไทเทรต และทำซ้ำอีก 2 ครั้ง

คำนวณ ระดับการกำจัดหมู่อะซีติลของโคโคซาน แสดงได้ดังสมการ

$$\%DA = 100 * (50C - 161ND) / (42ND + 50C) \dots\dots\dots(g.2)$$

เมื่อ DA คือ ระดับอะซีติลของโคโคซาน หน่วยเป็น %

N คือ ความเข้มข้นของ PVSK หน่วยเป็น N

D คือ ผลต่างของปริมาตรที่ได้จากการไทเทรตโคโคซาน และ Blank

C คือ ความเข้มข้นของโคโคซานเป็นเปอร์เซ็นต์

$$\%DD = 100 - \%DA \dots\dots\dots(g.3)$$

ก.1.2. วิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโคโคซาน

วิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของโคโคซาน โดยวิธี intrinsic viscosity

เครื่องมือ และ อุปกรณ์

1. เครื่องวัดความหนืด
2. เครื่องชั่งละเอียด
3. เครื่องกวนแม่เหล็ก
4. จุกยาง
5. บิวเรต
6. ขวดวัดปริมาตร 50 ml.
7. นาฬิกาจับเวลา

## สารเคมี

1. กรดอะซีติก
2. โซเดียมคลอไรด์

## วิธีการวิเคราะห์

1. การเตรียม stock solution ของโคโตซาน

1.1 เตรียมสารละลายผสมระหว่างกรดอะซีติก 0.1 M และโซเดียมคลอไรด์ 0.2 M

1.2 เตรียม stock solution ของโคโตซานเข้มข้น  $7.6 \times 10^{-3}$  g/ml. ปริมาตร 50 ml. ( $C_1$ ) โดยชั่งผงโคโตซาน 0.038 g. ละลายในกรดอะซีติก 1 M 5 ml. เติมน้ำกลั่น 30 ml. แล้วคนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กเป็นเวลา 1 คืน จากนั้นเติม โซเดียมคลอไรด์ 1M 10 ml. แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 ml. แล้วคนต่อไปอีกเป็นเวลา 1 คืน

1.3 นำ Stock solution มาทำการเจือจางด้วยตัวทำละลายผสมในข้อ 1 ให้ได้ความเข้มข้น  $2.53 \times 10^{-4}$  g/ml. ( $C_1$ ) โดยปิเปต Stock solution มา 5 ml. เติมตัวทำละลายผสมในข้อ 1 ปริมาตร 10 ml. (ปริมาตรรวมเป็น 15 ml.)

2. การวัดความหนืด

ปิเปตสารละลายผสม 3 ml. เติมลงใน Ostwald viscometer ( $C_0$ ) ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ใช้จุกยางดูดสารละลายขึ้นมาให้เหนือจุด a เล็กน้อย ปล่อยจุกยาง บันทึกเวลาที่สารละลายเคลื่อนจาก ถึง 3 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ย

ปิเปตสารละลาย  $C_1$  ปริมาตร 3 ml. ลงใน Ostwald viscometer ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส แล้วทำการทดลองเหมือนข้อ 1

เตรียมสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น  $5.43 \times 10^{-4}$  g/ml ( $C_2$ ) โดยนำ stock solution ( $C_1$ ) 5 ml. เติมตัวทำละลายผสมปริมาตร 2 ml. ดำเนินการทดลองเหมือนข้อ 1

เตรียมสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น  $3.80 \times 10^{-4}$  g/ml ( $C_3$ ) โดยนำ Stock solution ( $C_1$ ) 5 ml. เติมตัวทำละลายผสมปริมาตร 5 ml. ดำเนินการทดลองเหมือนข้อ 1

ปิเปตสารละลาย  $C_4$  ปริมาตร 3 ml. ลงใน Ostwald viscometer ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส แล้วทำการทดลองเหมือนข้อ 1

เตรียมสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น  $1.81 \times 10^{-4}$  กรัมต่อลิตร ( $C_5$ ) โดยนำ stock solution ( $C_1$ ) 5 ml. เติมตัวทำละลายผสมปริมาตร 2 ml. ดำเนินการทดลองเหมือนข้อ 1

เตรียมสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น  $1.26 \times 10^{-4}$  g/ml ( $C_6$ ) โดยนำ Stock solution ( $C_1$ ) 5 ml. เติมตัวทำละลายผสมปริมาตร 5 ml. ดำเนินการทดลองเหมือนข้อ 1

นำข้อมูลที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นกับ  $\eta_{sp}/C$  นำจุดตัดแกน y

มาคำนวณหาโมเลกุล (M<sub>v</sub>)

โดยกำหนดให้ relative viscosity ;  $\eta_r \approx t_{\text{solution}} / t_{\text{solvent}}$

specific viscosity ;  $\eta_{\text{sp}} = \eta_r - 1$

intrinsic viscosity;  $[\eta] = \eta_{\text{sp}} (C = 0)$

$t_{\text{solution}}$  และ  $t_{\text{solvent}}$  คือ ระยะเวลาที่ตัวทำละลายและสารละลายเคลื่อนที่  
การคำนวณ น้ำหนักโมเลกุลของโคโตะซาน แสดงได้ดังสมการที่ ก.4

$$[\eta] = KM_v^a \dots\dots\dots (ก.4)$$

เมื่อ M<sub>v</sub> คือ น้ำหนักโมเลกุลของโคโตะซาน (ดาลตัน)

[η] คือ จุดตัดแกน y

K คือ 1.8\*10<sup>-3</sup> กรัมต่อมด.

a คือ 0.93

## ก.2. การวิเคราะห์การติดตามผลการตกตะกอนส่วนใส

### ก.2.1. การวิเคราะห์ความขุ่น

เครื่องมือ อุปกรณ์

1. เครื่องวัดความขุ่น

สารเคมี

1. น้ำกลั่น

2. สารละลายความขุ่นมาตรฐาน

- สารละลายที่ 1 ละลาย 1.00 กรัม ไฮโดรซิงซัลเฟต (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ในน้ำกลั่น แล้วเจือจางจนครบ 100 มิลลิลิตร เตรียมใหม่ทุก 6 เดือน

- สารละลายที่ 2 ละลาย 10.000 กรัม เฮกซะเมธิลีนเตตระมีน (CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>N<sub>4</sub> ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางจนครบ 100 มิลลิลิตร

ดูด 5 มิลลิลิตรของสารละลายที่ 2 ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร

เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง 25±3 องศาเซลเซียส แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

สารละลายความขุ่นมาตรฐานนี้มีค่าความขุ่น 400 NTU สารละลายความขุ่นมาตรฐานนี้เก็บรักษาได้ 1 เดือน

3. สารละลายความขุ่นมาตรฐาน ดูดสารละลายความขุ่นมาตรฐาน 10.00 มิลลิลิตรแล้วเติมน้ำจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร สารละลายนี้มีความขุ่น 40 NTU

4. เจือจางสารละลายความขุ่นมาตรฐานด้วยน้ำกลั่นให้มีความขุ่น 5, 10, 20, 30

และ 40 NTU เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

### วิธีการวิเคราะห์

1. ปรับตั้งเครื่องวัดความขุ่นตามคู่มือของเครื่อง และทำกราฟมาตรฐานจากสารละลายความขุ่นมาตรฐานที่เตรียมไว้
2. ถ้าตัวอย่างน้ำมีความขุ่นตามคู่มือต่ำกว่า 40 NTU ให้ผสมตัวอย่างน้ำให้เข้ากันแล้วเทลงในหลอดวัดความขุ่น วัดค่าจากเครื่องวัดความขุ่น
3. ถ้าตัวอย่างน้ำมีค่าความขุ่นสูงกว่า 40 NTU ให้เจือจางตัวอย่างน้ำด้วยน้ำกลั่นจนได้ความขุ่นไม่เกิน 40 NTU และนำไปวัดค่าจากเครื่อง

การคำนวณ

$$NTU = A * (B+C) / C$$

เมื่อ A = NTU ที่อ่านได้

B = ปริมาตรของน้ำที่ใช้เจือจาง (มล.)

C = ปริมาตรของตัวอย่างน้ำ (มล.)

ก.2.2. วิเคราะห์หาค่าของแข็งแขวนลอย (suspended solid; SS)

เครื่องมือ อุปกรณ์

1. กระดาษกรองใยแก้ว (Whatman GF/C) เส้นผ่านศูนย์กลาง 47 mm.
2. กรวยบุคเนอร์
3. บั้มสูญญากาศ
4. เตาอบลมร้อน (Hot Air Oven)
5. โถดูดความชื้น (Desicator)
6. เครื่องชั่งละเอียด
7. กระบอกตวง ขนาด 100 ml.

สารเคมี

1. น้ำกลั่น

วิธีการวิเคราะห์

1. อบกระดาษกรองให้แห้งที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก (A) เก็บกระดาษกรองไว้ในโถดูดความชื้นจนกว่าจะใช้ในการทดลอง

2. วางกระดาษกรองลงในกรวยบุคเนอร์ ซึ่งต่อเข้ากับบีบสูญญากาศใช้น้ำกลั่นฉีดกระดาษกรองให้เปียกแล้วเปิดบีบสูญญากาศ เพื่อให้กระดาษกรองแนบติดกับกรวยบุคเนอร์

3. ตวงปริมาตรน้ำตัวอย่างที่ผสมเข้ากันดีแล้ว 50-100 ml. แล้วเทตัวอย่างลงในกรวยบุคเนอร์และเปิดบีบสูญญากาศจนน้ำแห้ง แล้วล้างเครื่องกรองด้วยน้ำกลั่น 10 ml. เปิดเครื่องทิ้งไว้ 3 นาที

4. เมื่อแห้งแล้วนำกระดาษกรองออกวางในภาชนะเดิม แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนัก (B)

การคำนวณ

$$\text{ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (mg/l)} = \frac{(B-A) \times 10^6}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง(ml)}}$$

เมื่อ A = น้ำหนักของกระดาษกรองและของแข็งแขวนลอย (g)

B = น้ำหนักของกระดาษกรอง(g)

ก.2.3. วิเคราะห์หาค่าของแข็งทั้งหมด (total suspended solid; TSS)

เครื่องมือ อุปกรณ์

1. จานระเหย
2. เครื่องอังไอน้ำ (Steam bath)
3. โถดูดความชื้น (Desicator)
4. เตาอบลมร้อน (Hot Air Oven)
5. เครื่องชั่งละเอียด

สารเคมี

1. น้ำกลั่น

วิธีการวิเคราะห์



1. อบจานระเหยที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก (A) เก็บจานระเหยไว้ในโถดูดความชื้นจนกว่าจะใช้ในการทดลอง
2. ตวงปริมาตรน้ำตัวอย่างที่ผสมเข้ากันดีแล้ว 50-100 ml. แล้วเทตัวอย่างลงในจานระเหยแล้วนำไปตั้งบนเครื่องอังไอน้ำ ปลดปล่อยให้น้ำระเหยจนแห้ง แล้วนำจานระเหยนี้ไปอบที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง
3. นำจานระเหยใส่ในโถดูดความชื้นแล้วปล่อยให้เย็นและชั่งน้ำหนัก (B)
4. ทำซ้ำโดยนำจานระเหยไปอบที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส ปลดปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักอีก ทำจนกระทั่งน้ำหนักที่ลดลงน้อยกว่า 4% ของการชั่งครั้งที่แล้ว

การคำนวณ

$$\text{ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (mg/l)} = \frac{(B-A) \times 10^6}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง(ml)}}$$

เมื่อ A = น้ำหนักของตัวอย่างและจานระเหย(g)

B = น้ำหนักของจานระเหย(g)

#### ก.2.4. ประสิทธิภาพการตกตะกอน (OD<sub>600</sub>)

ใช้วิธีจาร์เทสต์ในการตกตะกอนสาหร่าย (Lubian, 1989) มีขั้นตอนการคำนวณ ดังนี้

1. ทำการวัดค่าดูดกลืนแสงของสาหร่ายเริ่มต้นก่อนการตกตะกอน (OD เริ่มต้น)
2. ทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรของสาหร่ายหลังตกตะกอน (OD หลังตกตะกอน)

การคำนวณ

$$\% \text{ Flocculation efficiency} = \frac{(\text{OD เริ่มต้น} - \text{OD หลังตกตะกอน})}{\text{OD เริ่มต้น}} \times 100$$

#### ก.2.5. วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Lowry Assay)

## สารเคมี

Lowry Reagent

วิธีเตรียม Lowry Reagent ดังนี้คือ

Reagent A : ละลาย  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  100 กรัม ในสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.5 นอร์มอล

Reagent B : ละลาย  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  1 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

Reagent C : ละลายโพแทสเซียมทาร์เทรต 2 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

นำสารละลายเก็บไว้ เมื่อทำการทดลองจะนำ รีเอเจนต์ A 15 มิลลิลิตร รีเอเจนต์ B 0.75 มิลลิลิตร และ รีเอเจนต์ C 0.75 มิลลิลิตร มาผสมกันเป็น Lowry Reagent

สารละลาย BSA 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Folin-phenol reagent เข้มข้น 2 นอร์มอล

## อุปกรณ์

1. Cuvette
2. Test tube 16 x 150 mm
3. Vortex mixer

## วิธีการวิเคราะห์

1. ปิเปตสารละลาย BSA (bovine serum albumin) ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง 10 หลอด ปริมาตร 0 0.1 0.2 0.3 0.4 0.5 0.6 0.7 0.8 0.9 และ 1 มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนอีก 3 หลอด ใส่ตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร
2. ปรับปริมาตรทุกๆ หลอดเป็น 1 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
3. เติม Lowry Reagent ในหลอด 1 มิลลิลิตร ใช้ Vortex mixer ผสมสารให้เข้ากัน
4. ตั้งหลอดทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 15 นาที
5. ในระหว่างที่ตั้งหลอดทดลองทิ้งไว้ เติม Folin-phenol reagent เข้มข้น 2 นอร์มอล ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
6. เมื่อครบเวลาที่ตั้งหลอดทดลองทิ้งไว้ให้นำสารละลายที่ได้จากข้อ 5 โดยปิเปตมา 3 มิลลิลิตร ใส่ในแต่ละหลอด ผสมให้เข้ากัน
7. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 45 นาที
8. ดูการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
9. คำนวณข้อมูลที่ได้ จะได้ค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง

### ก.3. การวิเคราะห์ส่วนตะกอน

#### ก.3.1 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl Method ตามวิธี AOAC ข้อ 920.105 (AOAC, 1990)

-สารเคมี

1. คตะลิสต์ผสม (selenium reagent mixture)
2. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
3. สารละลายกรดบอริกเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)
4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)
5. สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.1 นอร์มอล
6. เชียร์อินดิเคเตอร์

-วิธีวิเคราะห์

1. การย่อยสลาย (Digestion)

ซึ่งตัวอย่างประมาณ 0.7-2.2 กรัม ใส่ในขวดกลั่นเติมคตะลิสต์ผสม 10 กรัม เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร นำขวดกลั่นไปตั้งบนเตาย่อยทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้แน่ใจว่าปฏิกิริยาสมบูรณ์ และถ้าที่คอขวดมีจุดดำทิ้งไว้จนเย็นล้างด้วยน้ำกลั่น ย่อยต่อไปจนสมบูรณ์

2. การกลั่น (Distillation)

นำตัวอย่างที่ย่อยเสร็จทิ้งให้เย็น ต่อขวดกลั่นเข้าเครื่องกลั่นให้ปลายข้างหนึ่งของคอนเดนเซอร์ จุ่มในสารละลายกรดบอริก 2 เปอร์เซ็นต์ 60 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 45 มิลลิลิตรและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์ 90 มิลลิลิตร ลงในขวดกลั่น กลั่นเป็นเวลา 3 นาที

3. การไตเตรท (Titration)

นำตัวอย่างที่กลั่นมาเติมเชียร์อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด แล้วนำไปไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.2 นอร์มัล และคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และปริมาณโปรตีน

-การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละ)} = (X \times N \times 14 \times 100) / (W \times 100)$$

เมื่อ X คือ ปริมาณของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไตเตรต ใช้หน่วยเป็นมิลลิลิตร

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก ใช้หน่วยเป็นนอร์มัล

W คือ น้ำหนักหรือปริมาตรของตัวอย่าง ใช้หน่วยเป็นกรัม

ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ) = ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (ร้อยละ)  $\times$  6.25

### ก.3.2 ปริมาณเถ้า

วิเคราะห์ความเถ้าโดยดัดแปลงจาก AOAC ข้อ 935.42 (AOAC, 1990)

#### เครื่องมือ อุปกรณ์

1. ครุชีเบิ้ล
2. เตาเผา
3. hotplate
4. เครื่องชั่งแบบละเอียด
5. เดซิเคเตอร์

#### วิธีการวิเคราะห์

เผาครุชีเบิ้ลที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จนมีน้ำหนักคงที่ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ประมาณ 20 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของครุชีเบิ้ล ซึ่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ให้น้ำหนักที่แน่นอนใส่ในครุชีเบิ้ล เเผาโดยใช้ hot-plate จนไม่มีควันดำ นำไปเผาต่อที่เตาเผาอุณหภูมิประมาณ 600 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เถ้าสีขาวประมาณ 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ 20 นาทีแล้วชั่งน้ำหนัก

#### การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้าทั้งหมด} = \frac{\text{น้ำหนักครุชีเบิ้ลและเถ้า} - \text{น้ำหนักครุชีเบิ้ล}}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง}} \times 100$$

### ก.3.3. ปริมาณความชื้น

วิเคราะห์ความชื้นโดยดัดแปลงจาก AOAC ข้อ 977.11 (AOAC, 1990)

#### เครื่องมือ อุปกรณ์

1. จานอะลูมิเนียม
2. ตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส
3. เครื่องชั่งแบบละเอียด
4. เดซิเคเตอร์

#### วิธีการวิเคราะห์

นำจานอะลูมิเนียมมาอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ บันทึกน้ำหนักของ porcelain dish ซึ่งน้ำหนักตัวอย่างลงในจานอะลูมิเนียม ประมาณ 5 กรัม จากนั้นไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นานประมาณ 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบ และปล่อยให้เย็นในเดซิเคเตอร์ นำไปอบซ้ำหลาย ๆ ครั้ง จนได้น้ำหนักคงที่ ไม่แตกต่างกันเกิน 0.05 กรัม ซึ่งหาน้ำหนักของของแข็งที่เหลืออยู่ คำนวณหาน้ำหนักที่หายไป และคำนวณหาร้อยละความชื้น

การคำนวณ

$$\text{ความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

มหาวิทยาลัยบูรพา  
Burapha University

ภาคผนวก ข  
สูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงไดอะตอม

ปฏิกิริยา F/2 หรือ Guillard's Media (1975)

สาร	ปริมาณสารใน อาหาร 1 ลิตร (มก./ล)	สารละลายเข้มข้น กรัม/1,000 มล.	ปริมาณที่ใช้ต่อ อาหาร 1 ลิตร (มล./ล)
ธาตุอาหารหลัก (Macronutrient)		สต็อก (Stock) ( $\times 10^3$ )	
โซเดียมไนเตรต( $\text{NaNO}_3$ )	75.0	75.0	1 มล.
โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )	5.0	5.0	
ธาตุอาหารรอง (Micronutrient)		กรัม/1,000 มล. ( $\times 10^3$ )	
ไดโซเดียมเอ็ดทีเอ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ )	4.36	4.36	
เฟอร์ริคคลอไรด์( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )	3.15	3.15	
คอปเปอร์ (II) ซัลเฟต( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )	0.01	0.01	
ซิงค์ซัลเฟต( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.022	0.022	1 มล.
โคบอลท์คลอไรด์( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )	0.01	0.01	
แมงกานีสคลอไรด์( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )	0.18	0.18	
โซเดียมโมลิบเดต( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.006	0.006	
วิตามิน (Vitamin)	(ไมโครกรัม/ลิตร)	มก./200 มล. ( $\times 10^4$ )	
ไทอะมีน[Thiamine-HCl ( $\text{B}_1$ )]	100.0	200.0	100 ไมโครลิตร
ไซยาโนโคบาลามิน [Cyanocobalamin( $\text{B}_{12}$ )]	0.5	1.0	
ไบโอติน(Biotin)	0.5	1.0	
สำหรับเพาะเลี้ยงไดอะตอม		กรัม/1,000 มล. ( $\times 10^3$ )	
โซเดียมซิลิเกต( $\text{Na}_2\text{SiO}_3$ )	15.0	15.0	1 มล.

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม MINITAB



### ค.1 ระดับการกำจัดหมู่อะซิติกของโคโคซาน

ค.1.1. ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ระดับการกำจัดหมู่อะซิติกของโคโคซาน pH และความเข้มข้นของโคโคซาน ต่อร์้อยละการลดลงของความชุ่มจากการตกตะกอนสำหรับยาคีโตเซอร์อส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Type	2	979.9	979.9	490.0	92.31	0.000*
pH	2	112180.9	112180.9	56090.4	10567.46	0.000*
conc.	5	39318.1	39318.1	7863.6	1481.51	0.000*
Type*pH	4	1291.9	1291.9	323.0	60.85	0.000*
Type*conc	10	797.0	797.0	79.7	15.01	0.000*
pH*conc.	10	29368.7	29368.7	2936.9	553.31	0.000*
Type*pH*conc.	20	1557.0	1557.0	77.9	14.67	0.000*
Error	108	573.2	573.2	5.3		
Total	161	186066.7				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ค.1.2. ตารางการวิเคราะห์ regression ของพื้นที่ผิวตอบสนอง ต่อร์้อยละการลดลงของความชุ่มจากการตกตะกอนสำหรับยาคีโตเซอร์อส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
Regression	9	157216	157216	17468.5	92.03	0.000*
Linear	3	135181	133508	44502.6	234.46	0.000*
Square	3	11302	11302	3767.3	19.85	0.000*
Interaction	3	10733	10733	3577.6	18.85	0.000*
Residual Error	152	28851	28851	189.815.01		
Lack-of-Fit	44	28277	28277	642.7	121.08	0.000*
Pure Error	108	573	573	5.3		
Total	161	186067				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ค.1.3. ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ระดับการกำจัด  
หมู่อะซิติลของโคโคซาน pH และความเข้มข้นของโคโคซาน ต่อร้อยละการลดลงของของแข็ง  
แขวนลอยจากการตกตะกอนสำหรับคีโตเซอรอส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Type	2	34.490	34.490	17.245	22.49	0.000 <sup>*</sup>
pH	2	293.176	293.176	146.588	191.18	0.000 <sup>*</sup>
conc.	5	180.221	180.221	36.044	47.01	0.000 <sup>*</sup>
Type*pH	4	6.128	6.128	1.532	2.00	0.000 <sup>*</sup>
Type*conc	10	7.066	7.066	0.707	0.92	0.516 <sup>ns</sup>
pH*conc.	10	17.708	17.708	1.771	2.31	0.017 <sup>*</sup>
Type*pH*conc.	20	12.024	12.024	0.601	0.78	0.727 <sup>ns</sup>
Error	108	82.808	82.808	0.767		
Total	161	633.622				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

ค.1.4. ตารางการวิเคราะห์ regression ของพื้นที่ผิวตอบสนอง ต่อร้อยละการลดลงของ  
ของแข็งแขวนลอยจากการตกตะกอนสำหรับคีโตเซอรอส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	517.193	517.193	57.466	75.02	0.000 <sup>*</sup>
Linear	3	428.061	404.968	134.989	176.23	0.000 <sup>*</sup>
Square	3	79.236	79.236	26.412	34.48	0.000 <sup>*</sup>
Interaction	3	9.895	9.895	3.298	4.31	0.006 <sup>*</sup>
Residual Error	152	116.429	116.429	0.766		
Lack-of-Fit	44	33.621	33.621	0.764	1.00	0.491 <sup>ns</sup>
Pure Error	108	82.808	82.808	0.767		
Total	161	633.622				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

ค.1.5. ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ระดับการกำจัดหมู่อะซีติลของโคโคซาน pH และความเข้มข้นของโคโคซาน ต่อร้อยละการลดลงของของแข็งทั้งหมดจากการตกตะกอนสำหรับยาคีโตเซอรอส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Type	2	30.5368	59.9060	29.9530	283.82	0.000*
pH	2	35881.0	35881.0	15.2684	144.68	0.000*
conc.	5	119.5398	119.5398	23.9080	226.54	0.000*
Type*pH	4	3.2456	3.2456	0.8114	7.69	0.000*
Type*conc	10	6.7002	6.7002	0.6700	6.35	0.000*
pH*conc.	10	23.6195	23.6195	2.3620	22.38	0.000*
Type*pH*conc.	20	6.6496	6.6496	0.3325	3.15	0.000*
Error	108	11.3978	11.3978	0.1055		
Total	161	56892.5				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ค.1.6. ตารางการวิเคราะห์ regression ของพื้นที่ผิวตอบสนอง ต่อร้อยละการลดลงของของแข็งทั้งหมดจากการตกตะกอนสำหรับยาคีโตเซอรอส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	221.388	221.388	24.5986	92.99	0.000*
Linear	3	195.454	187.193	62.3978	235.89	0.000*
Square	3	8.583	8.583	2.8610	10.82	0.000*
Interaction	3	17.351	17.351	5.7837	21.86	0.000*
Residual Error	152	40.208	40.208	0.2645		
Lack-of-Fit	44	28.810	28.810	0.6548	6.20	0.000*
Pure Error	108	11.398	11.398	0.1055		
Total	161	261.595				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ค.1.7. ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ระดับการกำจัดหมู่อะซิติกของโคโตซาน pH และความเข้มข้นของโคโตซาน ต่อร้อยละการลดลงของค่า OD<sub>600</sub> จากการตกตะกอนสำหรับยาคีโตเซอรอส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Type	2	126.7	126.7	63.3	264.38	0.000*
pH	2	104815.8	104815.8	52407.9	218801.68	0.000*
conc.	5	41674.9	41674.9	8335.0	34798.29	0.000*
Type*pH	4	233.4	233.4	333.3	243.56	0.000*
Type*conc	10	480.2	480.2	48.0	200.47	0.000*
pH*conc.	10	25661.2	25661.2	2566.1	10713.47	0.000*
Type*pH*conc.	20	1544.6	1544.6	77.2	322.44	0.000*
Error	108	25.9	25.9	0.2		
Total	161	174562.5				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ค.1.8. ตารางการวิเคราะห์ regression ของพื้นที่ผิวตอบสนอง ต่อร้อยละการลดลงของค่า OD<sub>600</sub> จากการตกตะกอนสำหรับยาคีโตเซอรอส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	147425	147425	16380.6	91.75	0.000*
Linear	3	130926	127627	42542.3	238.29	0.000*
Square	3	10426	10426	3475.5	19.47	0.000*
Interaction	3	6073	6073	2024.3	11.34	0.000*
Residual Error	152	27137	27137	178.5		
Lack-of-Fit	44	27111	27111	616.2	2572.47	0.000*
Pure Error	108	26	26	0.2		
Total	161	174562				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ค.1.9. ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ระดับการกำจัดหมู่อะซิติกของโคโคซาน pH และความเข้มข้นของโคโคซาน ต่อร้อยละการลดลงของปริมาณโปรตีนจากการตกตะกอนสำหรับยีสต์โตเซอร์ออส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Type	2	1697.07	1697.07	848.54	931.99	0.000*
pH	2	1485.66	1485.66	742.83	815.88	0.000*
conc.	5	808.24	808.24	161.65	177.54	0.000*
Type*pH	4	1032.69	1032.69	258.17	283.56	0.000*
Type*conc	10	416.34	416.34	41.63	45.73	0.000*
pH*conc.	10	356.73	356.73	35.67	39.18	0.000*
Type*pH*conc.	20	287.52	287.52	14.38	15.79	0.000*
Error	108	98.33	98.33	0.91		
Total	161	6182.58				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ค.1.10. ตารางการวิเคราะห์ regression ของพื้นที่ผิวตอบสนอง ต่อร้อยละการลดลงของปริมาณโปรตีน จากการตกตะกอนสำหรับยีสต์โตเซอร์ออส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	4191.90	4191.90	465.767	35.56	0.000*
Linear	3	2149.73	1913.08	637.692	48.69	0.000*
Square	3	1742.25	1742.25	580.751	44.34	0.000*
Interaction	3	299.92	299.92	99.975	7.63	0.000*
Residual Error	152	1990.67	1990.67	13.097		
Lack-of-Fit	44	1892.34	1892.34	43.008	47.24	0.000*
Pure Error	108	98.33	98.33	0.910		
Total	161	6182.58				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

## ค.2 น้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน

ค.2.1. ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ น้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน pH และความเข้มข้นของโคโตซาน ต่อร์้อยละการลดลงของความชุ่มจากการตกตะกอนสำหรับยี่ห้อไซโรรส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Type	2	243.0	243.0	121.5	58.66	0.000*
pH	2	124196.4	124196.4	62098.2	29984	0.000*
conc.	5	21565.9	21565.9	4313.2	2082.62	0.000*
Type*pH	4	590.4	590.4	147.6	71.27	0.000*
Type*conc	10	278.5	278.5	27.8	13.45	0.000*
pH*conc.	10	28645.3	28645.3	2864.5	1383.14	0.000*
Type*pH*conc.	20	614.0	614.0	30.7	14.82	0.000*
Error	108	223.7	223.7	2.1		
Total	161	176357.1				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ค.2.2. ตารางการวิเคราะห์ regression ของพื้นที่ผิวตอบสนอง ต่อร์้อยละการลดลงของความชุ่มจากการตกตะกอนสำหรับยี่ห้อไซโรรส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	151860	151860	16873.3	104.70	0.000*
Linear	3	117758	117758	39296.1	243.82	0.000*
Square	3	24597	24597	8198.9	50.87	0.000*
Interaction	3	9505	9505	3168.5	19.66	0.000*
Residual Error	152	24497	24497	161.2		
Lack-of-Fit	44	24274	24274	551.7	266.37	0.000*
Pure Error	108	224	224	2.1		
Total	161	176357				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ค.2.3. ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ น้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน pH และความเข้มข้นของโคโตซาน ต่อร้อยละการลดลงของของแข็งแขวนลอยจากการตกตะกอนสำหรับยาคีโตเซอรอส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Type	2	362.795	362.795	181.397	81.10	0.000*
pH	2	177.386	177.386	88.693	39.65	0.000*
conc.	5	196.512	196.512	39.302	17.57	0.000*
Type*pH	4	8.506	8.506	2.127	0.95	0.438 <sup>ns</sup>
Type*conc	10	5.674	5.674	0.567	0.25	0.989 <sup>ns</sup>
pH*conc.	10	22.783	22.783	2.278	1.02	0.433 <sup>ns</sup>
Type*pH*conc.	20	11.440	11.440	0.572	0.26	0.999 <sup>ns</sup>
Error	108	241.559	241.559	2.237		
Total	161	1026.654				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

ค.2.4. ตารางการวิเคราะห์ regression ของพื้นที่ผิวตอบสนอง ต่อร้อยละการลดลงของของแข็งแขวนลอยจากการตกตะกอนสำหรับยาคีโตเซอรอส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	746.34	746.34	82.927		0.000*
Linear	3	645.03	641.58	213.861		0.000*
Square	3	90.26	90.26	30.088	16.32	0.000*
Interaction	3	11.05	11.05	3.682	2.00	0.117 <sup>ns</sup>
Residual Error	152	280.31	280.31	1.844		
Lack-of-Fit	44	38.76	38.76	0.881	0.39	1.000 <sup>ns</sup>
Pure Error	108	241.56	241.56	2.237		
Total	161	1026.65				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

ค.2.5. ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ น้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน pH และความเข้มข้นของโคโตซาน ต่อร้อยละการลดลงของของแข็งทั้งหมดจากการตกตะกอนสำหรับยาคีโตเซอรอส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Type	2	42.1310	42.1310	21.0655	187.19	0.000
pH	2	0.4742	0.4742	0.2371	2.11	0.127 <sup>ns</sup>
conc.	5	9.9620	9.9620	1.9924	17.70	0.000
Type*pH	4	9.359	9.359	2.3398	20.79	0.000
Type*conc	10	12.6648	12.6648	1.2665	11.25	0.000
pH*conc.	10	8.8433	8.8433	0.8843	7.86	0.000
Type*pH*conc.	20	5.6855	5.6855	0.2843	2.53	0.001
Error	108	12.1536	12.1536	0.1125		
Total	161	101.2738				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

ค.2.6. ตารางการวิเคราะห์ regression ของพื้นที่ผิวตอบสนอง ต่อร้อยละการลดลงของของแข็งทั้งหมดจากการตกตะกอนสำหรับยาคีโตเซอรอส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	71.291	71.291	7.9212	40.16	0.000
Linear	3	49.040	48.941	16.3135	82.70	0.000
Square	3	1.565	1.565	0.5216	2.64	0.051 <sup>ns</sup>
Interaction	3	20.686	20.686	6.8955	34.96	0.000
Residual Error	152	29.983	29.983	0.1973		
Lack-of-Fit	44	17.829	17.829	0.4052	3.60	0.000
Pure Error	108	12.154	12.154	0.1125		
Total	161	101.274				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )



ค.2.7. ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ น้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน pH และความเข้มข้นของโคโตซาน ต่อย่อยละการลดลงของค่า OD<sub>600</sub> จากการตกตะกอนสาหร่ายคีโอโตเซอร์อส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Type	2	2005.3	2005.3	1002.6	336.20	0.000*
pH	2	86579.0	86579.0	43289.5	14515.66	0.000*
conc.	5	21105.6	21105.6	4221.1	1415.41	0.000*
Type*pH	4	1455.3	1455.3	363.8	122.00	0.000*
Type*conc	10	397.2	397.2	39.7	13.32	0.000*
pH*conc.	10	20690.0	20690.0	2069.0	693.77	0.000*
Type*pH*conc.	20	613.8	613.8	30.7	10.29	0.000*
Error	108	322.1	322.1	3.0		
Total	161	133168.3				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ค.2.8. ตารางการวิเคราะห์ regression ของพื้นที่ผิวตอบสนอง ต่อย่อยละการลดลงของค่า OD<sub>600</sub> จากการตกตะกอนสาหร่ายคีโอโตเซอร์อส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	112865	112865	12540.6	93.88	0.000*
Linear	3	94320	94754.3	31584.8	236.46	0.000*
Square	3	12101	12101	4033.6	30.20	0.000*
Interaction	3	6444	6444.2	2148.1	16.08	0.000*
Residual Error	152	20303	20303.3	133.6		
Lack-of-Fit	44	19981	19981.2	454.1	152.27	0.000*
Pure Error	108	322	322.1	3.0		
Total	161	133168				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ค.2.9. ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ น้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน pH และความเข้มข้นของโคโตซาน ต่อร้อยละการลดลงของปริมาณโปรตีนจากการตกตะกอนสำหรับยาคีโตเซอรอส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Type	2	21.4048	21.4048	10.7024	26.40	0.000*
pH	2	60.3030	60.3030	30.1515	74.37	0.000*
conc.	5	18.9701	18.9701	3.7940	9.36	0.000*
Type*pH	4	20.6526	20.6526	5.1632	12.73	0.000*
Type*conc	10	3.4126	3.4126	0.3413	0.84	0.590 <sup>ns</sup>
pH*conc.	10	17.5567	17.5567	1.7557	4.33	0.000*
Type*pH*conc.	20	16.9819	16.9819	0.8491	2.09	0.008*
Error	108	43.7885	43.7885	0.4054		
Total	161	203.0702				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

ค.2.10. ตารางการวิเคราะห์ regression ของพื้นที่ผิวตอบสนอง ต่อร้อยละการลดลงของปริมาณโปรตีนจากการตกตะกอนสำหรับยาคีโตเซอรอส

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	120.536	120.536	13.3928	24.66	0.000*
Linear	3	96.449	97.278	32.4259	59.72	0.000*
Square	3	3.632	3.632	1.2108	2.23	0.087 <sup>ns</sup>
Interaction	3	20.454	20.454	6.8182	12.56	0.000*
Residual Error	152	82.535	82.535	0.5403		
Lack-of-Fit	44	38.746	38.746	0.8806	2.17	0.001*
Pure Error	108	43.789	43.789	0.4054		
Total	161	203.070				

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

มหาวิทยาลัยบูรพา  
Burapha University

ภาคผนวก ง  
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS

### ง.1 องค์ประกอบทางเคมีของโคโตซาน

ง.1.1. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของโคโตซาน ต่อปริมาณโปรตีน ปริมาณเถ้า และปริมาณความชื้น

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PROTEIN	Between Groups	0.128	2	0.064	0.697	0.534 <sup>ns</sup>
	Within Groups	0.552	6	0.092		
	Total	0.680	8			
ASH	Between Groups	0.000	2	0.000	0.487	0.637 <sup>ns</sup>
	Within Groups	0.000	6	0.000		
	Total	0.000	8			
MOISTURE	Between Groups	0.199	2	0.099	713.201	0.000
	Within Groups	0.001	6	0.000		
	Total	0.199	8			

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

ง.1.2. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน ต่อปริมาณโปรตีน ปริมาณเถ้า และปริมาณความชื้น

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PROTEIN	Between Groups	0.568	2	0.284	2.275	0.184 <sup>ns</sup>
	Within Groups	0.749	6	0.125		
	Total	1.317	8			
ASH	Between Groups	0.014	2	0.007	706.034	0.000
	Within Groups	0.000	6	0.000		
	Total	0.014	8			
MOISTURE	Between Groups	0.157	2	0.078	480.475	0.000
	Within Groups	0.001	6	0.000		
	Total	0.158	8			

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

ง.1.3. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับการกำจัดหมู่อะซิติก และน้ำหนัก  
โมเลกุลของโคโคซาน ต่อปริมาณโปรตีน ปริมาณเถ้า และปริมาณความชื้น

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PROTEIN	Between Groups	3.187	5	0.637	5.878	0.006*
	Within Groups	1.301	12	0.108		
	Total	4.488	17			
ASH	Between Groups	0.024	5	0.005	160.213	0.000*
	Within Groups	0.000	12	0.000		
	Total	0.025	17			
MOISTURE	Between Groups	0.570	5	0.114	757.088	0.000*
	Within Groups	0.002	12	0.000		
	Total	0.572	17			

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

## ง.2 สภาวะที่เหมาะสมในการตกตะกอน

### ง.2.1. ระดับการกำจัดหมู่อะซิดิลของโคโคซาน

ง.2.1.1. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ระดับการกำจัดหมู่อะซิดิลของโคโคซาน pH และความเข้มข้นของโคโคซาน ต่อย่อยละการลดลงของความขุ่นของแข็งแขวนลอย ของแข็งทั้งหมด ค่า OD<sub>600</sub> และปริมาณโปรตีน (Lowry) ที่เวลาต่าง ๆ จากการตกตะกอนสำหรับคีโตเซอรอส

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TUR	Between Groups	8.982	3	2.994	8.600	0.007 <sup>*</sup>
	Within Groups	2.785	8	0.348		
	Total	11.767	11			
SS	Between Groups	66.133	3	22.044	47.793	0.000
	Within Groups	3.690	8	0.461		
	Total	69.823	11			
TSS	Between Groups	46.024	3	15.341	146.689	0.000 <sup>*</sup>
	Within Groups	0.837	8	0.105		
	Total	46.860	11			
OD	Between Groups	23.748	3	7.916	16.892	0.001 <sup>*</sup>
	Within Groups	3.749	8	0.469		
	Total	27.497	11			
PROTEIN	Between Groups	9.682	3	3.227	4.339	0.043 <sup>*</sup>
	Within Groups	5.951	8	0.744		
	Total	15.634	11			

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ง.2.1.2. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ระดับการกำจัด หมู่อะซิติลของโคโคซาน 89.98 เปอร์เซ็นต์ pH 6 และความเข้มข้นของโคโคซาน 500 มิลลิกรัมต่อ ลิตร ต่อร้อยละการลดลงของความขุ่น ของแข็งแขวนลอย ของแข็งทั้งหมด ค่า OD<sub>600</sub> และปริมาณ โปรตีน (Lowry) ที่เวลาต่าง ๆ จากการตกตะกอนสาหร่ายค็ิตโตเซอรอส

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TUR	Between Groups	8.982	3	2.994	8.600	0.007
	Within Groups	2.785	8	0.348		
	Total	11.767	11			
SS	Between Groups	79.325	3	26.442	40.232	0.000
	Within Groups	5.258	8	0.657		
	Total	84.583	11			
TSS	Between Groups	31.356	3	10.452	254.053	0.000
	Within Groups	0.329	8	0.041		
	Total	31.686	11			
OD	Between Groups	26.797	3	8.932	24.607	0.000
	Within Groups	2.904	8	0.363		
	Total	29.701	11			
PROTEIN	Between Groups	132.802	3	44.267	27.816	0.000
	Within Groups	12.731	8	1.591		
	Total	145.533	11			

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

## ง.2.2. น้ำหนักโมเลกุลของโคโคซาน

ง.2.2.1. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ น้ำหนักโมเลกุลของโคโคซาน pH และความเข้มข้นของโคโคซาน ต่อร้อยละการลดลงของความชุ่มชื้นของแข็งแขวนลอยของแข็งทั้งหมด ค่า OD<sub>600</sub> และปริมาณโปรตีน (Lowry) ที่เวลาต่าง ๆ จากการตกตะกอนสาหร่ายค็ิตโตเซอรอส

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TUR	Between Groups	520.592	3	173.531	115.433	0.000 <sup>*</sup>
	Within Groups	12.026	8	1.503		
	Total	532.619	11			
SS	Between Groups	230.643	3	76.881	22.804	0.000 <sup>*</sup>
	Within Groups	26.971	8	3.371		
	Total	257.615	11			
TSS	Between Groups	18.655	3	6.218	54.883	0.000 <sup>*</sup>
	Within Groups	0.906	8	0.113		
	Total	19.561	11			
OD	Between Groups	33.007	3	11.002	5.156	0.028 <sup>*</sup>
	Within Groups	17.073	8	2.134		
	Total	50.081	11			
PROTEIN	Between Groups	45.431	3	15.144	31.432	0.000 <sup>*</sup>
	Within Groups	3.854	8	0.482		
	Total	49.286	11			

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )



ง.2.2.2. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ น้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน  $3.0 \times 10^5$  ดาลตัน pH 6 และความเข้มข้นของโคโตซาน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อย่อยผลการลดลงของความขุ่น ของแข็งแขวนลอย ของแข็งทั้งหมด ค่า  $OD_{600}$  และปริมาณโปรตีน (Lowry) ที่เวลาต่าง ๆ จากการตกตะกอนสำหรับยาคีโตเซอรอส

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TUR	Between Groups	520.592	3	173.531	115.433	0.000 <sup>*</sup>
	Within Groups	12.026	8	1.503		
	Total	532.619	11			
SS	Between Groups	79.157	3	26.386	5.512	0.024 <sup>*</sup>
	Within Groups	38.298	8	4.787		
	Total	117.455	11			
TSS	Between Groups	14.778	3	4.926	43.666	0.000 <sup>*</sup>
	Within Groups	0.902	8	0.113		
	Total	15.680	11			
OD	Between Groups	33.007	3	11.002	5.156	0.028 <sup>*</sup>
	Within Groups	17.073	8	2.134		
	Total	50.081	11			
PROTEIN	Between Groups	41.975	3	13.992	30.927	0.000 <sup>*</sup>
	Within Groups	3.619	8	0.452		
	Total	45.594	11			

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

### ง.3 องค์ประกอบทางเคมีของส่วนตะกอน

ง.3.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของโคโคซาน ต่อปริมาณโปรตีน ปริมาณเถ้า และปริมาณความชื้น ของตะกอนจากการตกตะกอนสำหรับ คีโตเซอรอส

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PROTEIN	Between Groups	5.557	2	2.779	352.129	0.000*
	Within Groups	0.047	6	0.008		
	Total	5.604	8			
ASH	Between Groups	0.326	2	0.163	1.566	0.284 <sup>ns</sup>
	Within Groups	0.624	6	0.104		
	Total	0.950	8			
MOISTURE	Between Groups	1.532	2	0.766	9.509	0.014*
	Within Groups	0.483	6	0.081		
	Total	2.015	8			

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

ง.3.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน ต่อปริมาณโปรตีน ปริมาณเถ้า และปริมาณความชื้น จากการตกตะกอนสำหรับยาคีโตเซอรอส

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PROTEIN	Between Groups	7.620	2	3.810	25.758	0.001
	Within Groups	0.887	6	0.148		
	Total	8.507	8			
ASH	Between Groups	88.929	2	44.465	134.833	0.000
	Within Groups	1.979	6	0.330		
	Total	90.908	8			
MOISTURE	Between Groups	3.200	2	1.600	13.480	0.006
	Within Groups	0.712	6	0.119		
	Total	3.913	8			

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ง.3.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับการกำจัดหมู่อะซิติล และน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน ต่อปริมาณโปรตีน ปริมาณเถ้า และปริมาณความชื้น ของตะกอนจากการตกตะกอนสำหรับยาคีโตเซอรอส

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PROTEIN	Between Groups	14.893	5	2.979	38.218	0.000
	Within Groups	0.935	12	0.078		
	Total	15.828	17			
ASH	Between Groups	290.457	5	58.091	267.836	0.000
	Within Groups	2.603	12	0.217		
	Total	293.059	17			
MOISTURE	Between Groups	21.814	5	4.363	43.791	0.000
	Within Groups	1.196	12	0.100		
	Total	23.010	17			

\* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )