

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
วิธีวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

ปริมาณความชื้น (AOAC Method 925.09, 1990)

วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมี

1. ภาชนะสำหรับหาความชื้น (Moisture Can)
2. ตู้อบลมร้อน
3. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
4. เคนซิเคเตอร์

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. อบภาชนะพร้อมฝา (Moisture Can) ที่อุณหภูมิ 105 ± 3 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ ทิ้งให้เย็นในเคนซิเคเตอร์ แล้วนำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ภาชนะที่อบแห้งแล้ว
3. นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 ± 3 องศาเซลเซียสจนน้ำหนักคงที่ ขณะอบเปิดฝาทิ้งไว้ หลังจากอบ ปิดฝาให้สนิท นำออกจากตู้อบ
4. นำไปใส่ในเคนซิเคเตอร์ เพื่อให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนักที่เหลือ นำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณความชื้นตามสมการที่ (ก-1)

$$\text{ปริมาณเด้า (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(m_1 - m_2)}{m} \times 100 \quad (\text{ก-1})$$

หมายเหตุ m คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

m_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างและภาชนะก่อนอบ (กรัม)

m_2 คือ น้ำหนักตัวอย่างและภาชนะหลังอบ (กรัม)

ตัวอย่างการคำนวณ

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์)} &= \frac{(18.7622 - 18.5607)}{2.0082} \times 100 \\ &= 10.03 \end{aligned}$$

ดังนั้น ชั่งขบวนการมีความชื้น 10.03 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ m คือ น้ำหนักชั่งขบวนการ 2.0082 กรัม

m_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างและภาชนะก่อนอบ 18.7622 กรัม

m_2 คือ น้ำหนักตัวอย่างและภาชนะหลังอบ 18.5607 กรัม

ปริมาณเต้า (AOAC Method 923.03, 1990)

วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมี

1. ครูซิเบิ้ลพร้อมฝา
2. เตาเผาไฟฟ้า (Hot plate)
3. เตาเผา (Muffle Furnace)
4. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
5. เดซิเคเตอร์

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. เตาครูซิเบิ้ลพร้อมฝา ที่อุณหภูมิประมาณ 550 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของครูซิเบิ้ล
2. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2-3 กรัม ใส่ลงในครูซิเบิ้ล เตาใหม่ ตัวอย่างดังกล่าวโดยใช้เตาไฟฟ้า (Hot Plate) จนไม่มีควันดำเสียก่อน
3. นำไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิประมาณ 550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว
4. นำไปทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนักเถ้า คำนวณหาเปอร์เซ็นต์เถ้าทั้งหมดตามสมการที่ (ก-2)

$$\text{ปริมาณเต้า (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(m_2 - m_1)}{m} \times 100 \quad (\text{ก-2})$$

หมายเหตุ m คือ น้ำหนักแห้งตัวอย่าง (กรัม)

m_1 คือ น้ำหนักครูซิเบิ้ลก่อนอบ (กรัม)

m_2 คือ น้ำหนักครูซิเบิ้ลและเถ้าหลังอบ (กรัม)

ตัวอย่างคำนวณ

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณเต้า (เปอร์เซ็นต์)} &= \frac{(31.3306 - 31.2710)}{2.2348} \times 100 \\ &= 2.67 \end{aligned}$$

ดังนั้น ชั่งขมุนมีปริมาณเต้า 2.67 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง

หมายเหตุ m คือ น้ำหนักแห้งของขมุน 2.2348 กรัม (หักลบความชื้น 10.016 เปอร์เซ็นต์)

m_1 คือ น้ำหนักภาชนะก่อนอบ 31.2710 กรัม

m_2 คือ น้ำหนักภาชนะหลังอบ 31.3306 กรัม

ปริมาณโปรตีน (AOAC Method 920.57, 1990)

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องย่อยสาร (Digestion Unit, Buchi K-424, Switzerland)
2. เครื่องกำจัดไอกโรค (Scrubber Unit, Buchi B-414, Switzerland)
3. เครื่องกลั่นสาร (Distillation Unit, Buchi B-324, Switzerland)
4. คตะลิสต์ผสม (Catalyst Mixture) ประกอบด้วยโซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ 96 เปอร์เซ็นต์ คอปเปอร์ซัลเฟต 3.5 เปอร์เซ็นต์ และซีเลเนียม ไดออกไซด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์
5. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (H_2SO_4)
6. สารละลายกรดบอริกเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) เตรียมโดยชั่งกรดบอริก 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร
7. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร
8. สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เตรียมโดยตวงกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 2.78 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรกับน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร
9. เซียร์อินดิเคเตอร์ (Shear Indicator) ประกอบด้วยเมทิลเรด 0.016 เปอร์เซ็นต์ และโบรโมครีซอลกรีน 0.083 เปอร์เซ็นต์ในเอทิลแอลกอฮอล์

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. การย่อยสลาย (Digestion)
ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.7-2.2 กรัมใส่ในขวดกลั่นเติมคตะลิสต์ผสม 10 กรัม เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร นำขวดกลั่นไปตั้งบนเตาย่อยทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้แน่ใจว่า ปฏิกิริยาสมบูรณ์และถ้าที่คอขวดมีจุดดำทิ้งไว้จนเย็นล้างด้วยน้ำกลั่น ย่อยต่อไปจนสมบูรณ์
2. การกลั่น (Distillation)
นำตัวอย่างที่ย่อยเสร็จทิ้งให้เย็นต่อขวดกลั่นเข้าเครื่องกลั่นให้ปลายข้างหนึ่งของคอนเดนเซอร์ จุ่มในสารละลายกรดบอริก 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 60 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 45 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ลงในขวดกลั่น กลั่นเป็นเวลา 3 นาที
3. การไตเตรท (Titration)

นำตัวอย่างที่กลั่นมาเติมเชื้ออินดิเคเตอร์ 2-3 หยด แล้วนำไปไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก 0.2 นอร์มัล และคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ตามสมการที่ (ก-3) และปริมาณโปรตีนตามสมการที่ (ก-4)

$$\text{ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด} = \frac{(X \times N \times 14 \times 100)}{(W \times 1,000)} \quad (\text{ก-3})$$

หมายเหตุ X คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไตเตรท (มิลลิลิตร)

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก (นอร์มัล)

W คือ น้ำหนักแห้งตัวอย่าง (กรัม)

ปริมาณ โปรตีน (เปอร์เซ็นต์) = ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด \times Conversion Factor

เมื่อ Conversion Factor เท่ากับ 6.25 (ก-4)

ตัวอย่างการคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด} = \frac{(12.3 \times 0.1 \times 14 \times 100)}{(2.22 \times 1,000)}$$

$$= 0.78$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์)} = 0.7760 \times 6.25$$

$$= 4.85$$

ดังนั้น เปลือกขุ่นมีโปรตีน 4.85 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง

หมายเหตุ X คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ใช้ไตเตรท 12.3 มิลลิลิตร

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ใช้ไตเตรท 0.1 นอร์มัล

W คือ น้ำหนักแห้งของเปลือกขุ่น 2.22 กรัม (หักลบความชื้น 10.03 เปอร์เซ็นต์)

ปริมาณไขมัน (AOAC Method 920.39, 1990)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. ชุดวิเคราะห์ไขมัน (Extraction Unit, Gerhardt S 306 AK, Germany)

2. ปีโตรเลียมอีเทอร์จุดเดือด 40-60 องศาเซลเซียส

3. Celite

4. Sea Sand

5. กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 4 นอร์มัล เตรียมโดยตวงกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

ปริมาตร 343.31 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์
2. อบบีกเกอร์ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์นำไปชั่งบนตึกน้ำหนัก
3. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งให้ได้น้ำหนักแน่นอน 5 กรัม (เทคนิค 4 ตำแหน่ง) และชั่ง Celite ให้ได้น้ำหนักแน่นอน 5 กรัม (เทคนิค 4 ตำแหน่ง) ใส่ในบีกเกอร์ไฮโดรไลซิส
4. เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 4 นอร์มัล จำนวน 50 มิลลิลิตรเพื่อละลายตัวอย่าง และ Celite แล้วเขย่าบีกเกอร์ เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 4 นอร์มัล จำนวน 50 มิลลิลิตรอีกครั้งเพื่อชะล้างตัวอย่างและ Celite ที่ติดอยู่ข้างบีกเกอร์
5. นำบีกเกอร์จาก ข้อ 4 มาวางบน Hot Plate ของเครื่องไฮโดรไลซิสให้ความร้อนจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจึงหยุดให้ความร้อน
6. กรองสารละลายขณะร้อนผ่านกระดาษกรองที่มี Sea Sand ประมาณ 5 กรัมในตู้ดูดควัน
7. ล้างตะกอนที่ติดอยู่ข้างในบีกเกอร์ด้วยน้ำกลั่นร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสผ่านกระดาษกรองโดยให้สารละลายที่กรองได้มีปริมาตรรวมประมาณ 250 มิลลิลิตร
8. ร่อนตะกอนในกระดาษกรองแห้ง ห่อกระดาษกรองที่มีตะกอนใส่ในทิมเบิ้ล (Paper Extraction Thimble) และใส่ลงใน Soxhlet ที่มีปิโตรเลียมอีเทอร์ 140 มิลลิลิตรประกอบกับชุดเครื่องกลั่น
9. ให้ความร้อน 200 องศาเซลเซียส เพื่อให้ปิโตรเลียมอีเทอร์ระเหยขึ้นไปเป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง
10. เมื่อปิโตรเลียมอีเทอร์ระเหยไปหมดแล้ว ทิ้งขวดสกัดให้เย็นในเดซิเคเตอร์ นำไปชั่งน้ำหนัก คำนวณหาปริมาณไขมันตามสมการที่ (ก-5)

$$\text{ปริมาณไขมัน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(m_1 - m_2)}{m} \times 100 \quad (\text{ก-5})$$

หมายเหตุ m คือ น้ำหนักแห้งตัวอย่าง (กรัม)

m_1 คือ น้ำหนักบีกเกอร์ก่อนสกัด (กรัม)

m_2 คือ น้ำหนักบีกเกอร์หลังสกัด (กรัม)

4.3 ตัวอย่างการคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(144.38 - 144.36)}{5.56} \times 100$$

$$= 0.36$$

ดังนั้น เปลือกขนุนมีไขมัน 0.36 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง

หมายเหตุ m คือ น้ำหนักแห้งเปลือกขนุน 5.56 กรัม (หักลบความชื้น 10.03 เปอร์เซ็นต์)

m_1 คือ น้ำหนักขวดสกัดหลังสกัด 144.38 กรัม

m_2 คือ น้ำหนักขวดสกัดก่อนสกัด 144.36 กรัม

การวิเคราะห์หาน้ำหนักสมมูลย์ (Equivalent Weight; Eq.Wt.) (Ranganna, 1986)

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 นอร์มัล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร
2. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)
3. ฟีนอลเรด อินดิเคเตอร์ เตรียมโดยละลายฟีนอล 0.1 กรัม ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 นอร์มัล ปริมาตร 28.2 มิลลิลิตร ทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 250 มิลลิลิตร
4. น้ำกลั่นปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์ เตรียมโดยต้มน้ำกลั่นให้เดือดนาน 15 นาที ปิดภาชนะให้สนิทเพื่อป้องกันคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศ ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. ชั่งผงเพกทินที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 0.5 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่นที่ไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แล้ว 100 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนให้เพกทินละลาย
2. เติมโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ลงไป 1 กรัม เพื่อให้เห็นจุดยุติชัดเจนขึ้น
3. หยดฟีนอลเรดอินดิเคเตอร์ 6 หยด นำไปไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 นอร์มัล จนกระทั่งอินดิเคเตอร์เปลี่ยนสี (pH 7.5) (สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู เป็นเวลาอย่างน้อย 30 วินาที) บันทึกปริมาตรสารละลายมาตรฐานที่ใช้ คำนวมน้ำหนักสมมูลย์ตามสมการที่ (ก-6)

$$\text{น้ำหนักสมมูลย์} = \frac{1000S}{NV} \quad (\text{ก-6})$$

หมายเหตุ S คือ น้ำหนักแห้งเพกทินที่ใช้ (กรัม)

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไตเตรท (นอร์มัล)

V คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

5.3 ตัวอย่างการคำนวณ

$$\begin{aligned} \text{น้ำหนักสมมูลย์} &= \frac{1000 \times 0.5563}{0.1 \times 6.0} \\ &= 927.17 \end{aligned}$$

ดังนั้น น้ำหนักสมมูลย์ของเพกทินเท่ากับ 927.17

หมายเหตุ S คือ น้ำหนักแห้งเพกทินที่ใช้ 0.5563 กรัม (หักลบความชื้น 10.035 เปอร์เซ็นต์)

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรท

0.1 นอร์มัล

V คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรท

6.0 มิลลิลิตร

การวิเคราะห์หาปริมาณเมทอกซิล (Methoxyl Content; %MeO) (Ranganna, 1986)

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 นอร์มัล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 1000 ลิตร
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.25 นอร์มัล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 1000 ลิตร
3. กรดไฮโดรคลอริก (HCl) 0.25 นอร์มัล เตรียมโดยตวงกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ปริมาตร 21.16 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. นำสารละลายที่ผ่านการหาน้ำหนักสมมูลย์มาเติม โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.25 นอร์มัล 25 มิลลิลิตร แล้วเขย่าทันทีให้เข้ากัน สารละลายจะเป็นสีม่วง
2. ปิดจุกฟลาสวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เกิดปฏิกิริยานาน 30 นาที
3. เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.25 นอร์มัล 25 มิลลิลิตร เขย่าจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง

4. นำมาไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล จนกระทั่งถึงจุดยุติ (End Point) เหมือนการหาน้ำหนักสมมูลย์ บันทึกปริมาตรสารละลายมาตรฐานที่ใช้คำนวณน้ำหนักสมมูลย์ตามสมการที่ (ก-7)

$$\text{ปริมาณเมทอกซิล (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{NVE}{1000S} \times 100 \quad (\text{ก-7})$$

หมายเหตุ N คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไตเตรท (นอร์มัล)

V คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไตเตรท (นอร์มัล)

E คือ น้ำหนักสมมูลย์ของเมทอกซิล เท่ากับ 31

S คือ น้ำหนักแห้งของเพกทินที่ใช้ (กรัม)

ตัวอย่างการคำนวณ

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณเมทอกซิล (เปอร์เซ็นต์)} &= \frac{0.1 \times 5.5 \times 31}{1000 \times 0.56} \times 100 \\ &= 3.04 \end{aligned}$$

ดังนั้น เพกทินมีปริมาณเมทอกซิลเท่ากับ 3.04 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ N คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ไตเตรท 0.1 นอร์มัล

V คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรท 5.5

มิลลิลิตร

E คือ น้ำหนักสมมูลย์ของเมทอกซิล เท่ากับ 31

S คือ น้ำหนักแห้งของเพกทินที่ใช้ 0.56 กรัม (หักลบความชื้น 10.04 เปอร์เซ็นต์)

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดยูโรนิก (Anhydrouronic Acid Content; %AUA)

(Blumenkrantz and Asboe-Hansen, 1973)

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง (ทำความสะอาดด้วยกรด และชะล้างด้วยน้ำที่ถูกกำจัดไอออน)
2. บีเปิดขนาด 20 และ 200 ไมโครลิตร
3. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
4. อ่างน้ำแข็ง
5. เครื่องผสม (Vortex Mixer)
6. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และคิวเวต ขนาด 1 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. เมตา-ไฮดรอกซีไดฟีนอล ($C_{12}H_{10}O$) เตรียมโดยละลายเมตา-ไฮดรอกซีไดฟีนอล 0.15 เปอร์เซ็นต์ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่มีความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ บรรจุใส่ในภาชนะที่ห่อด้วยอลูมิเนียมฟอยล์เพื่อป้องกันแสง และเก็บในตู้เย็นไม่เกิน 1 เดือน

2. กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4)/ได-โซเดียมเตตระโบเรต ($Na_2C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$) เตรียมโดยละลายได-โซเดียมเตตระโบเรตในกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (36 นอร์มัล) ให้มีความเข้มข้น 0.0125 โมลาร์

3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร (สำหรับเตรียมเบลงก์)

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. สร้างกราฟมาตรฐานกรดยูโรนิก

โดยเตรียมสารละลายกรดกาแลกทูโรนิก (Galacturonic Acid) ความเข้มข้น 0.1 mg/ml และทำการเจือจาง ดังรายละเอียดในตารางภาคผนวก ก-1 (Stock Solution)

ตารางภาคผนวก ก-1 การเตรียมสารละลายกรดกาแลกทูโรนิกเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานกรดยูโรนิก

	Uronic Acid (ml) (0.1 mg/ml)	Deionized Water (ml)	Uronic Acid Content ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Uronic Acid (μg)
Blank	0	1000	0	0
Standard 1	100	900	0.01	2
Standard 2	200	800	0.02	4
Standard 3	300	700	0.03	6
Standard 4	400	600	0.04	8
Standard 5	500	500	0.05	10
Standard 6	600	400	0.06	12
Standard 7	700	300	0.07	14
Standard 8	800	200	0.08	16
Standard 9	900	100	0.09	18

วัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร พลอตกราฟจากสารละลายมาตรฐาน โดยที่แกน X แทนปริมาณกรดยูโรนิก (ไมโครกรัม) แกน Y แทน OD (Std)-OD (Blank) จากกราฟมาตรฐานสามารถคำนวณหาปริมาณกรดยูโรนิก (ไมโครกรัม) โดยแทนค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละตัวอย่างในสมการ

2. วิธีวัดปริมาณกรดยูโรนิก (Blumenkrantz and Asboe-Hansen, 1973)

ปริมาณกรดยูโรนิกที่มีอยู่ในตัวอย่างหาได้ดังนี้

2.1 เติมกรดซัลฟิวริก/ไค-โซเดียมเตตระโบเรต 2.2 กรัม (ประมาณ 2.5 มิลลิลิตร) ลงในหลอดทดลอง (ซึ่งทำความสะอาดด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นก่อนใช้) และเก็บในช่องแช่แข็งจนกระทั่งเติมสารเคมีลงไป

2.2 เติมตัวอย่างเพกทิน หรือสารละลายมาตรฐานกรดกลูโคสโรนิก 0.4 มิลลิลิตร (400 μ l) โดยใช้ Pipet Tip ค่อย ๆ เติม ลงไปด้านข้างหลอดทดลองที่แช่อยู่ในอ่างน้ำแข็งบด เพื่อหลีกเลี่ยงการเผาไหม้ของกรด

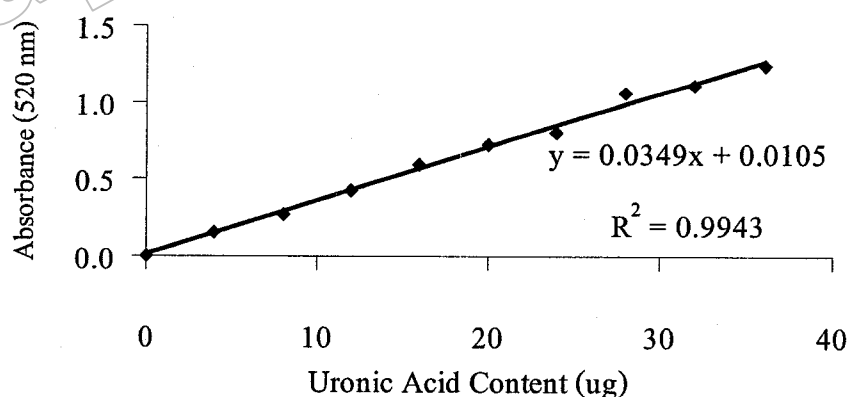
2.3 นำหลอดทดลองปิดด้วยอลูมิเนียมฟอยล์เข้าเครื่องผสม (Vortex Mixer) และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที โดยใช้อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

2.4 ทิ้งให้เย็นบนอ่างน้ำแข็งจนกระทั่งหลอดทดลองมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง

2.5 เติมสารละลายเมตา-ไฮดรอกซีไคฟีนอล 40 μ l ส่วนของแบลنگก์เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 40 μ l

2.6 นำหลอดทดลองเข้าเครื่องผสม วัดค่าการดูดกลืนแสง 520 นาโนเมตร และอ่านที่ 3 นาที (จับเวลาตั้งแต่เติมสารเสร็จ)

กราฟมาตรฐาน



ภาพภาคผนวก ก-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดยูโรนิกกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร

ตัวอย่างการคำนวณ

แทนค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสารละลายเพกทินในสมการกราฟมาตรฐาน (ก-8)

$$y = 0.0349x + 0.0105 \quad (\text{ก-8})$$

หมายเหตุ y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร

x คือ ปริมาณกรดยูโรนิก (ไมโครกรัม)

ตัวอย่างการคำนวณ เมื่อค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง คือ 0.652

$$0.652 = 0.0349x + 0.0105$$

$$x = (0.652 - 0.0105)/0.0349$$

$$x = 18.381$$

ดังนั้น เพกทินมีปริมาณกรดยูโรนิก 18.381 ไมโครกรัม

ตัวอย่างสารละลายเพกทินที่ใช้ 0.4 มิลลิลิตร (400 ไมโครลิตร) จึงมีปริมาณกรดยูโรนิกเท่ากับ

$$\text{กรดยูโรนิก} = 18.381 \mu\text{g}/400 \mu\text{l}$$

$$= 0.0459 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

ดังนั้น ตัวอย่างความเข้มข้นของสารละลายเพกทิน 0.1 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร จึงมีปริมาณกรดยูโรนิกเท่ากับ 0.0459 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร ถ้าความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร มีปริมาณกรดยูโรนิกคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้โดย

$$\text{ปริมาณกรดยูโรนิก (เปอร์เซ็นต์)} = (100 \times 0.0459)/0.1$$

$$= 45.90$$

ดังนั้น เพกทินมีปริมาณกรดยูโรนิก 45.90 เปอร์เซ็นต์

ระดับการเกิดเอสเทอร์ (Degree of Esterification; %DE) (Schultz, 1976)**วิธีการคำนวณ**

คำนวณหาระดับการเกิดเอสเทอร์ได้ตามสมการที่ (ก-9)

$$\text{ระดับการเกิดเอสเทอร์ (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{176 \times \% \text{MeO}}{31 \times \% \text{AUA}} \times 100 \quad (\text{ก-9})$$

หมายเหตุ 176 คือ มวลโมเลกุลของกรดยูโรนิก

31 คือ น้ำหนักสมมูลของเมทอกซิล

ตัวอย่างการคำนวณ

$$\text{ระดับการเกิดเอสเทอร์ (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{176 \times 3.04}{31 \times 45.90} \times 100$$

$$= 39.40$$

ดังนั้น เพกทินมีระดับการเกิดเอสเทอร์ 39.40 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ %MeO ของเพกทิน คือ 3.04 เปอร์เซ็นต์

%AUA ของเพกทิน คือ 45.90 เปอร์เซ็นต์

176 คือ มวลโมเลกุลของกรดยูโรนิก

31 คือ น้ำหนักสมมูลของเมทอกซิล

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

วิเคราะห์ความแข็งแรงของเจล (Gel Strength) (ดัดแปลงจากวิธีของณรงค์ ศิริรัมย์, 2546)

วิธีการวัดความแข็งแรงของเจล

วัดความแข็งแรงของเจลโดยใช้เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส Texture Analyzer รุ่น TA-XT2 ใช้หัววัด (Probe) รูปทรงกลมชนิด 0.25 มิลลิเมตร (p / 0.25s) มีลักษณะเป็นสแตนเลสทรงกลม (Ball Probe) ทิ่มทะลุเนื้อเจล โดยเครื่องจะบันทึกกราฟเป็นระยะทางตั้งแต่เริ่มทิ่มจนเกิดค่าแรงสูงสุด ซึ่งค่าความแข็งแรงของเจล คือ ค่าผลคูณระหว่างระยะทาง และค่าแรงสูงสุด

เครื่องมือ

วิธีการใช้เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer) (TA-XT2, England)

1. เริ่มทำงาน

- 1.1 เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์และเครื่อง Texture Analyzer
- 1.2 เลือกโปรแกรม Texture Expert U.S English ซึ่งปรากฏอยู่ที่ Desktop
- 1.3 จากนั้นไปที่ File → New project จะปรากฏหน้าต่างของ Project (ถ้าใช้เป็นครั้งแรก) หรือถ้าไม่ต้องการจะตั้ง Project → Restart → จะปรากฏหน้าต่างของกราฟ
- 1.4 กรณีมีข้อมูลแล้ว ให้คลิกที่ Open icon จะปรากฏหน้าต่างของ Open ให้เลือกชื่อไฟล์ตามต้องการ โดยเปลี่ยนชนิดของไฟล์ได้ที่ List First of Type โดย *.ARC คือ ไฟล์ที่เป็นกราฟ *.RES คือ ไฟล์ที่เป็นตารางข้อมูล *.PRJ คือ ไฟล์ที่เป็น Project Document .MAC คือ ไฟล์ที่เป็น Marco และ *.LIS คือ ไฟล์ที่เป็นข้อมูลดิบ

2. การปรับเทียบ (Calibration)

- 2.1 จะต้อง Calibrate Force ทุกครั้งที่ทำการทดสอบ
โดยไปที่ T.A. บน Menu Bar → Calibrate Force จะปรากฏหน้าต่างของ Force Calibration ตรวจสอบให้แน่ใจว่าไม่มีหัววัด (probe) ติดอยู่ที่ Calibration platform จากนั้นให้คลิก OK จากนั้นจะปรากฏหน้าต่างใหม่ของ Force Calibration ให้วางตุ้มน้ำหนัก 5 กิโลกรัม บน Calibration platform จากนั้นให้คลิก OK
เมื่อปรากฏข้อความว่า Calibration Successful ให้ยกตุ้มน้ำหนักลงแล้วคลิก OK
- 2.2 จากนั้นทำการ Calibrate Probe ทุกครั้งที่ทำการทดสอบ

โดยไปที่ T.A. บน Menu Bar → Calibrate Probe จะปรากฏหน้าต่างของ Probe Calibration กำหนดระยะทางให้ probe เคลื่อนที่ขึ้นหลังจากสัมผัสตัวอย่าง แล้วคลิก OK

3. การทำ T.A Setting

3.1 ไปที่ T.A. Setting (หรือ F4) จะปรากฏหน้าต่างของ Texture Analyzer Setting ตั้งค่าพารามิเตอร์ (ตามคู่มือการวัดความแข็งของเจลของซูริมิ)

ตารางภาคผนวก ข 1 ภาวะที่ใช้วัดความแข็งแรงของเจล

Model	Measure Force in Compression
Option	Return to Start
Pre-Test Speed	10.0 mm/s
Test Speed	1.1 mm/s
Post Test Speed	10.0 mm/s
Distance	15.0 mm
Trigger Force	Auto-10 g
Data Acquisition Rate	200 pp

3.2 ถ้าต้องการบันทึกข้อมูลให้คลิก Save กรณีจะใช้ข้อมูลเดิมให้คลิก Load

3.3 เมื่อจะทำขั้นต่อไปให้กด Update

4. การทำ Run a Test

4.1 เมื่อวางตัวอย่างบนแท่นทดสอบหรือ Probe ชุดล่างเรียบร้อยแล้ว ให้เลือก T.A. บน menu bar → Run a Test (หรือ F2) จะปรากฏหน้าต่างของ Run a Test พารามิเตอร์ต่างๆ มีความหมาย ดังนี้

Auto Save: บันทึกข้อมูลโดยอัตโนมัติตาม drive หรือ path ที่ตั้งไว้

File Id: ตั้งชื่อไฟล์ สำหรับกราฟแสดงผล (5 ตัวอักษร)

File No: ตั้งหมายเลขไฟล์ (จำเป็นในครั้งแรกเพราะจะเพิ่มขึ้นเองโดยอัตโนมัติ หลังจากทีแต่ละไฟล์ถูกบันทึก)

Drive: ตำแหน่งที่จะให้บันทึกข้อมูลไว้

Title: ตั้งชื่อกราฟแสดงผล

Note: บันทึกรายละเอียดของตัวอย่างนำมาทดสอบ

Probe and Product Data: เลือกชนิดของ Probe ให้ตรงกับที่นำมาใช้

Configure: ใส่ Production dimension

Delay Start: เมื่อต้องการเลื่อนเวลาในการเริ่มการวัดออกไป

Clear Previous Graph: เมื่อต้องการให้การทดสอบแต่ละครั้งปรากฏกราฟเพียงเส้นเดียว (เป็นการลบ ARC file เดิมออกเพื่อให้ ARC file ใหม่เข้ามาแทน)

Run Macro: เมื่อต้องการวิเคราะห์ผลโดยอัตโนมัติ

PPS: อัตราเร็วในการบันทึกข้อมูลลงในหน่วยความจำของคอมพิวเตอร์ โดยทั่วไปใช้ 200 PPS

4.2 เมื่อตั้งค่าต่าง ๆ เรียบร้อยแล้ว ให้คลิก OK เครื่องจะเริ่มทำการทดสอบพร้อมกับปรากฏเส้นกราฟบนหน้าต่างกราฟ ส่วนการทดสอบขั้นต่อไป ถ้าไม่มีการเปลี่ยนสภาวะ ให้เลือก T.A. บน Menu Bar → Quick Test Run (หรือกดแป้น Ctrl + Q)

4.3 การอ่านค่าที่ได้จากกราฟ

กรณีอ่านค่า Firmness

เลือก Go to บน Menu Bar → Min Time → Max Force → เลือก Process Data บน Menu Bar → Mark Force → Mark Time

การคำนวณ

ความแข็งแรงของเจล = ค่าแรงกดสูงสุด (N) × ระยะทาง (mm) (ข-1)

ตัวอย่างการคำนวณ

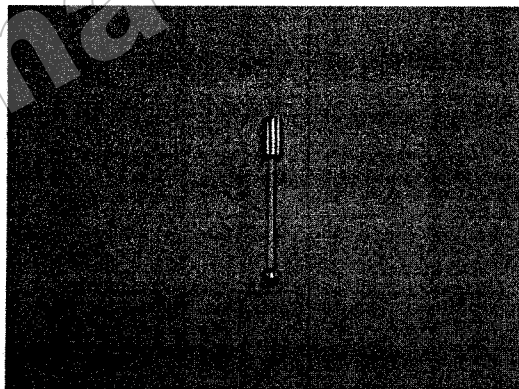
$$\begin{aligned} \text{ความแข็งแรงของเจล} &= 0.85 \times 2.57 \\ &= 2.19 \text{ N.mm} \end{aligned}$$

ดังนั้น ความแข็งแรงของเจลเฉลี่ย เท่ากับ 32.60 นิวตัน.มิลลิเมตร

ภาพประกอบการทดลอง

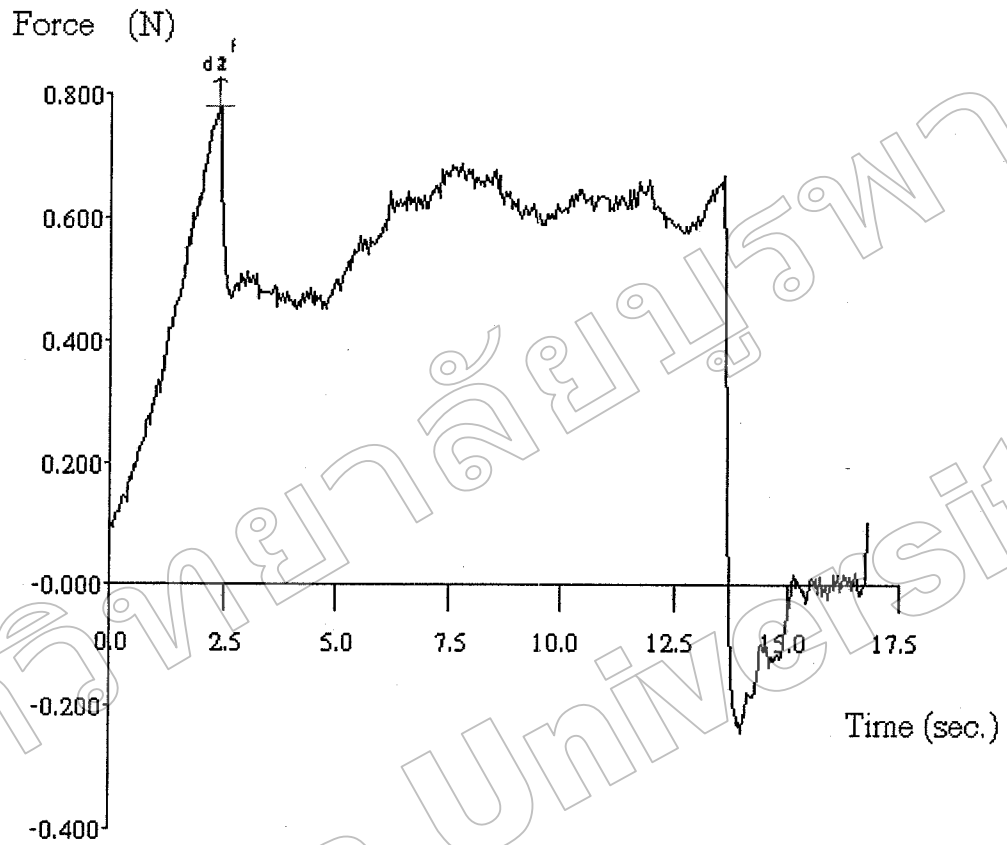


ภาพภาคผนวก ข-1 เครื่อง Texture Analyzer รุ่น TA-XT2

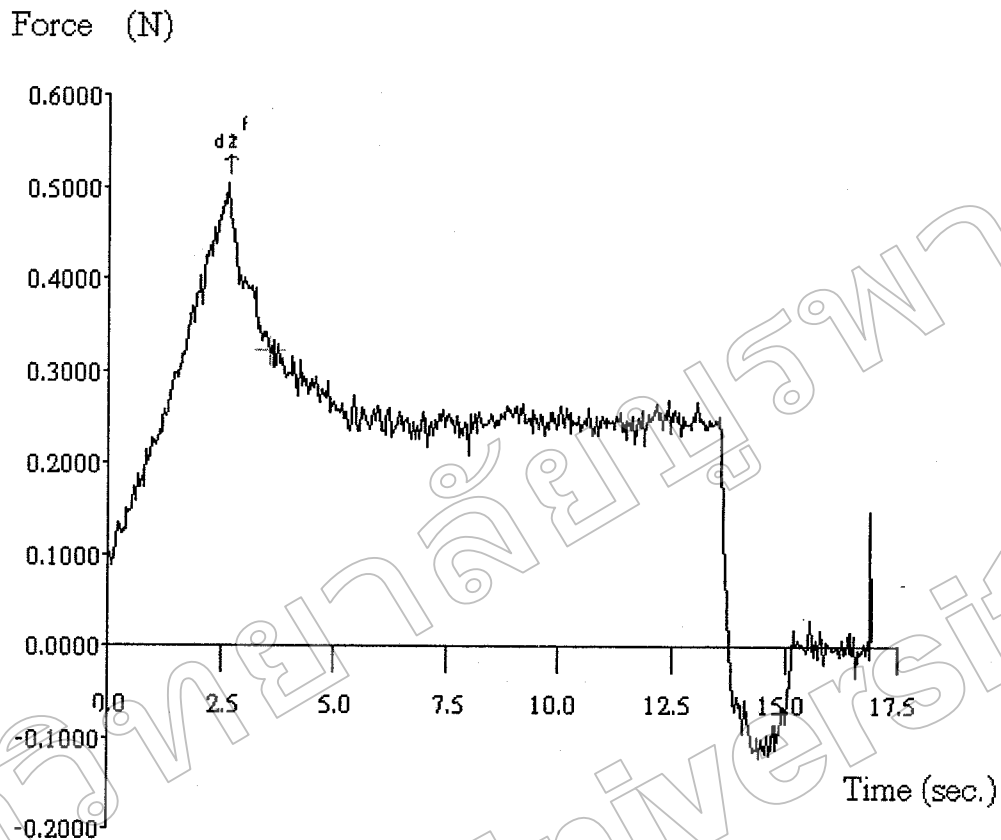


ภาพภาคผนวก ข-2 หัววัดทรงกลมขนาด 0.25 มิลลิเมตร (p0.25/S)

กราฟที่ได้จากการวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของเยลลี่



ภาพภาคผนวก ข-3 ลักษณะเนื้อสัมผัสของเยลลี่ที่เตรียมจากเพกทินทางการค้าชนิดเมทอกซิลต่ำ



ภาพภาคผนวก ข-4 ลักษณะเนื้อสัมผัสของเยลลี่ที่เตรียมจากเพกทินที่สกัดได้จากของเหลือทิ้งของขนุน

ข-2 วิเคราะห์ค่าสีในระบบ CIE (ตัดแปลงจากวิธีของณรงค์ ศิริรัมย์, 2546)

การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกันกับวิธีวัดความแข็งแรงของเจล

วิธีการวิเคราะห์

โดยทำการเปรียบเทียบมาตรฐานของเครื่องวัดสี (Calibration) ก่อน จากนั้นนำตัวอย่างเจลที่เตรียมได้มาวัดค่าสีโดยใช้เครื่องวัดสี Handy Colorimeter รายงานผลเป็นค่าความสว่าง (Lightness; L^*) ค่าความเป็นสีแดง (Redness; a^*) ค่าความเป็นสีเหลือง (Yellowness; b^*) ค่าเฉดสี (Hue; h^*) และค่าความเข้มของสี (Chroma; C^*) โดยแต่ละตัวอย่างจะทำการวัด 3 ครั้ง โดยค่าที่วัดได้มีความหมายดังนี้

ค่าสี L^* หมายถึง ค่าความสว่าง มีช่วงตั้งแต่ 0 (สีดำ) จนถึง 100 (สีขาว)

ค่าสี a^* หมายถึง ค่าสีเขียว-แดง มีค่าเป็นลบหมายถึงสีเขียว ถ้าเป็นบวก หมายถึง สีแดง

ค่าสี b^* หมายถึง ค่าน้ำเงิน-เหลือง มีค่าเป็นลบหมายถึงสีน้ำเงิน ถ้าเป็นบวก หมายถึง สีเหลือง แต่ละตัวอย่างจะทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ จากนั้นจึงนำมาหาค่าเฉลี่ย

ค่า Hue (h^*) หมายถึง ค่าเฉดสี คำนวณได้ตามสมการที่ (ข-11)

$$\text{Hue } (h^*) = \tan^{-1} (b^*/a^*) \quad (\text{ข-11})$$

ค่า Chroma (C^*) หมายถึง ค่าความเข้มสี คำนวณได้ตามสมการที่ (ข-12)

$$\text{Chroma } (C^*) = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (\text{ข-12})$$

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ค

สมบัติของเพกทินทางการค้ามาตรฐานชนิดเมทอกซิลต่ำ

ตารางภาคผนวก ค-1 สมบัติของเพกทินมาตรฐานชนิดเมทอกซิลต่ำ

SPECIFICATION PECTIN	Red Ribbon Pure
Characterization	
Brand Name	OBIPEKTIN®
Chemical Structure	Polygalacturonic Acid, Low Methoxyl Standardized
Identification	see FAO Food and Nutrition Paper 52 (1992)
Function	gelling agent for food
Typical Application	milk pudding
Declaration	Pectin E 440
Manufacturing Method	acid, aqueous extraction, precipitation with alcohol, deesterification
Appearance	fine, free-flowing power, light brown
Flavour	almost neutral
Solubility	in water up to approx. 30 g/l almost insoluble in ethanol
Packaging	cardboard box with PE-bag, 25 kgs net
Storage	cool and dry
Shelf life	2 year upon delivery
Disposal	bio-degradable
Ingredients	
Pectin (%)	90-100
Sucrose for Standardizing Purposes (%)	0-10
Buffering Salt (%)	Ø

ตารางภาคผนวก ค-1 (ต่อ)

SPECIFICATION PECTIN	Red Ribbon Pure
Physico-chemical parameters	
Characterizing feature	
Gel Strength	standardized in practical trials No international grading method exists
Gelling Speed	Not standardized
Viscosity (mPa.s) (2% solution, 25 °C)	Not standardized
Degree of Esterification (%) (number of methoxylated groups)	Not specified, typical value 37
Degree of Amidation (%) (number of amidated groups)	Ø
pH (1% solution, 25 °C)	Not specified, typical value 4.2
Particle Size	Max. 5% > 315µ
Density, Tapped (g/cm ³)	0.5-0.9
Dietary Fiber (%) (of not standardized pectin)	Not specified, typical value 80
Energy (kj/100g) (of sugar, acids salts only)	0-170
Legislative requirements	
Polygalacturonic Acid (%) (after washing with acid alcohol, Calculated on ash and moisture-free pectin)	Min. 65
Loss on Drying (%) (2 hours, 105 °C)	Max. 12
Acid-Insoluble Ash (%)	Max. 1
Alcohol Content (%)	Max. 1

ตารางภาคผนวก ก-1 (ต่อ)

SPECIFICATION PECTIN	Red Ribbon Pure
Nitrogen (%) (after washing with acid and alcohol)	Max. 0.5
SO ₂ (ppm)	Max. 10
Sugars and Organic Acids (mg)	Max. 0.1
Sodium methyl Sulfate (%)	conform to the legal requirements
Heavy Metals	
Microbiology	
Total Plate Count 30 °C (aerobic, mesophilic cfu)	Max. 1,000/g
Mould Propagules	Max. 100/g
Yest Colony Count	Max. 100/g
Enterobacteriaceae	
Coliforms	not detectable/g
<i>Escherichia coli</i>	not detectable/g
Salmonellae	not detectable/10g

ภาคผนวก ง
วิธีการทำเยลลี่สับประรดเคลอรีต้า

วัตถุดิบ

1. สับประรด
2. โซเดียมแซคคาริน
3. กรดเบนโซอิก (C_6H_5COOH)
4. แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$)
5. เพกตินจากของเหลือทิ้งของขนุน
6. เพกตินชนิดเมทอกซิลต้า (Pectin E440, Red Ribbon Pure, Obipktin, ประเทศ

อังกฤษ)

สูตรการทำเยลลี่เคลอรีต้า

น้ำผลไม้	275.00	กรัม
โซเดียมแซคคาริน	0.40	กรัม
เพกตินชนิดเมทอกซิลต้า	6.50	กรัม
กรดเบนโซอิก	0.35	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์	1.30	กรัม
น้ำ	225.00	กรัม

วิธีทำ

1. นำสับประรดมาทำการปอกเปลือกและแยกแกนออก บดเนื้อสับประรดให้ละเอียด กรองแต่น้ำสับประรด นำมาเคี่ยวด้วยไฟอ่อน ๆ
2. เติมโซเดียมแซคคาริน กรดเบนโซอิก และน้ำตามสูตร แล้วเคี่ยวต่อจนส่วนผสมละลายเข้ากัน
3. ค่อย ๆ เติมเพกตินลงไปช้า ๆ คนให้เพกตินละลายจนหมด เคี่ยวต่อไปจนเดือด
4. ตักฟองที่ลอยหน้าทิ้ง
5. ละลายแคลเซียมคลอไรด์กับน้ำ แล้วเติมลงไปช้า ๆ คนให้เข้ากัน จากนั้นบรรจุลง

ภาชนะ

ภาคผนวก จ ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติในการคัดเลือกชนิดของส่วนเหลือทิ้ง (เปลือก
ซัง และแกนขนุน) ที่มีผลต่อปริมาณเพกทินที่สกัดได้

ตารางภาคผนวก จ-1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเพกทินที่สกัดจากเปลือก ซัง และ
แกนขนุน ภายใต้ภาวะความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก 0.3 นอร์มัล
อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อปริมาณกรดเป็น 1: 15 อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส
เวลา 60 นาที

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected model	0.335	2	0.168	2.910	0.000
Intercept	438.344	1	438.344	7616.883	1.307
Type	0.335	2	0.168	2.910 ^{ns}	
Error	0.345	6	0.058		
Total	439.024	9			
Corrected total	0.680	8			

หมายเหตุ ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติในการคัดเลือกปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณและ
คุณภาพของเพกทินที่สกัดได้จากของเหลือทิ้งของขนุน

ตารางภาคผนวก จ-2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณเพกทินที่สกัดได้

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	72.086	16	4.505	692.357	0.000
Intercept	376.308	1	376.308	57828.520	0.000
Conc.	0.059	1	0.059	9.000	0.040
Temp.	12.996	1	12.996	1997.146	0.000
Time	0.150	1	0.150	23.075	0.009
Ratio	0.227	1	0.227	34.819	0.004
Conc.×Temp.	3.595	1	3.595	552.428	0.000
Conc.×Time	0.825	1	0.825	126.838	0.000
Conc.×Ratio	1.985	1	1.985	305.085	0.000
Temp.×Time	0.016	1	0.016	2.459	0.192
Temp.×Ratio	0.578	1	0.578	88.762	0.001
Time.×Ratio	0.288	1	0.288	44.232	0.003
Conc.×Temp.×Time	0.004	1	0.004	0.639	0.469
Conc.×Temp.×Ratio	0.019	1	0.019	2.927	0.162
Conc.×Time×Ratio	0.062	1	0.062	9.490	0.037
Temp.×Time×Ratio	0.009	1	0.009	1.372	0.306
Conc.×Temp.×Time×Ratio	0.059	1	0.059	9.037	0.040
Error	0.026	4	0.007		
Total	466.203	21			
Corrected Total	72.112	20			

หมายเหตุ ระดับนัยสำคัญที่ 0.05, $R^2 = 1.000$ (Adjust $R^2 = 0.998$)

ตารางภาคผนวก จ-3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณน้ำหนักรวมมูลฝอย

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	505306.698	16	31581.669	716.385	0.000
Intercept	9484866.570	1	9484866.570	215150.600	0.000
Conc.	27741.900	1	27741.900	629.285	0.000
Temp.	248116.063	1	248116.063	5628.157	0.000
Time	9194.413	1	9194.413	208.562	0.000
Ratio	120758.335	1	120758.335	2739.230	0.000
Conc.×Temp.	65.732	1	65.732	1.491	0.289
Conc.×Time	235.699	1	235.699	5.346	0.082
Conc.×Ratio	2242.496	1	2242.496	50.868	0.002
Temp.×Time	11254.239	1	11254.239	255.286	0.000
Temp.×Ratio	39546.692	1	39546.692	897.060	0.000
Time×Ratio	36805.847	11	36805.847	834.888	0.000
Conc.×Temp.×Time	606.243	1	606.243	13.752	0.021
Conc.×Temp.×Ratio	0.575	1	0.575	0.013	0.915
Conc.×Time×Ratio	52.933	1	52.933	1.201	0.335
Temp.×Time×Ratio	52.071	1	52.071	1.181	0.338
Conc.×Temp.×Time×Ratio	9.753	1	9.753	0.221	0.663
Error	176.339	4	44.085		
Total	10056612.300	21			
Corrected Total	505483.037	20			

หมายเหตุ ระดับนัยสำคัญที่ 0.05, $R^2 = 1.000$ (Adjust $R^2 = 0.998$)

ตารางภาคผนวก จ-4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณเมทอกซิล

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	28.883	16	1.805	3516.855	0.000
Intercept	239.413	1	239.413	466419.000	0.000
Conc.	0.000	1	0.000	0.095	0.773
Temp.	3.484	1	3.484	6787.107	0.000
Time	0.831	1	0.831	1618.609	0.000
Ratio	0.207	1	0.207	403.322	0.000
Conc.×Temp.	0.727	1	0.727	1415.851	0.000
Conc.×Time	0.118	1	0.118	229.870	0.000
Conc.×Ratio	0.012	1	0.012	23.146	0.009
Temp.×Time	0.000	1	0.000	0.125	0.749
Temp.×Ratio	23.199	1	23.199	45195.153	0.000
Time×Ratio	0.011	1	0.011	21.275	0.010
Conc.×Temp.×Time	0.003	1	0.003	5.472	0.079
Conc.×Temp.×Ratio	0.004	1	0.004	7.368	0.053
Conc.×Time×Ratio	0.000	1	0.000	0.059	0.820
Temp.×Time×Ratio	0.000	1	0.000	0.859	0.406
Conc.×Temp.×Time×Ratio	0.001	1	0.001	1.527	0.284
Error	0.002	4	0.001		
Total	270.097	21			
Corrected Total	28.885	20			

หมายเหตุ ระดับนัยสำคัญที่ 0.05, $R^2 = 1.000$ (Adjust $R^2 = 1.000$)

ตารางภาคผนวก จ-5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณกรดยูโรนิก

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1627.670	16	101.729	79.121	0.000
Intercept	42944.324	1	42944.324	33400.252	0.000
Conc.	24.550	1	24.550	19.094	0.012
Temp.	351.553	1	351.553	273.423	0.000
Time	1.074	1	1.074	0.835	0.412
Ratio	228.561	1	228.561	177.765	0.000
Conc.×Temp.	48.494	1	48.494	37.716	0.004
Conc.×Time	0.007	1	0.007	0.006	0.943
Conc.×Ratio	39.385	1	39.385	30.632	0.005
Temp.×Time	378.332	1	378.332	294.250	0.000
Temp.×Ratio	24.818	1	24.818	19.302	0.012
Time.×Ratio	35.674	1	35.674	27.746	0.006
Conc.×Temp.×Time	5.138	1	5.138	3.996	0.116
Conc.×Temp.×Ratio	28.534	1	28.534	22.193	0.009
Conc.×Time×Ratio	1.929	1	1.929	1.500	0.288
Temp.×Time×Ratio	9.445	1	9.445	7.346	0.054
Conc.×Temp.×Time×Ratio	3.676	1	3.676	2.859	0.166
Error	5.143	4	1.286		
Total	45240.933	21			
Corrected Total	1632.813	20			

หมายเหตุ ระดับนัยสำคัญที่ 0.05, $R^2 = 0.997$ (Adjust $R^2 = 0.984$)

ตารางภาคผนวก จ-6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยที่มีผลต่อระดับการเกิดเอสเทอร์

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5527.747	16	345.484	554.601	0.000
Intercept	39182.044	1	39182.044	62898.413	0.000
Conc.	4.320	1	4.320	6.935	0.058
Temp.	0.219	1	0.219	0.351	0.585
Time	170.943	1	170.943	274.412	0.000
Ratio	848.499	1	848.499	1362.084	0.000
Conc.×Temp.	59.560	1	59.560	95.611	0.001
Conc.×Time	15.441	1	15.441	24.787	0.008
Conc.×Ratio	1.777	1	1.777	2.852	0.167
Temp.×Time	431.746	1	431.746	693.076	0.000
Temp.×Ratio	3731.011	1	3731.011	5989.342	0.000
Time×Ratio	0.144	1	0.144	0.232	0.655
Conc.×Temp.×Time	6.368	1	6.368	10.223	0.033
Conc.×Temp.×Ratio	22.973	1	22.973	36.878	0.004
Conc.×Time×Ratio	6.360	1	6.360	10.210	0.033
Temp.×Time×Ratio	54.023	1	54.023	86.722	0.001
Conc.×Temp.×Time×Ratio	1.798	1	1.798	2.887	0.165
Error	2.492	4	0.623		
Total	466.203	21			
Corrected Total	5530.239	20			

หมายเหตุ ระดับนัยสำคัญที่ 0.05, $R^2 = 1.000$ (Adjust $R^2 = 0.998$)

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณและคุณภาพของ
เพกทินที่สกัดได้จากของเหลือทิ้งของขนุนในภาวะที่เหมาะสม

ตารางภาคผนวก จ-7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณเพกทินที่สกัดได้
ในภาวะที่เหมาะสม

Source	SS	df	MS	F	p
Conc. (L)	0.153	1	0.153	23.266	0.009
Conc. (Q)	4.996	1	4.996	759.254	0.000
Temp. (L)	20.980	1	20.980	3188.165	0.000
Temp. (Q)	11.947	1	11.947	1815.525	0.000
Time (L)	0.239	1	0.239	36.262	0.004
Time (Q)	47.607	1	47.607	7234.603	0.000
Ratio (L)	0.503	1	0.503	76.545	0.001
Ratio (Q)	35.826	1	35.826	5444.268	0.000
Conc. (L)×Temp. (L)	3.724	1	3.724	565.890	0.000
Conc. (L)×Time (L)	0.888	1	0.888	134.912	0.000
Conc. (L)×Ratio (L)	1.891	1	1.891	287.422	0.119
Temp. (L)×Time (L)	0.026	1	0.026	3.901	0.001
Temp. (L)×Ratio (L)	0.528	1	0.528	80.157	0.002
Time (L)×Ratio (L)	0.325	1	0.325	49.412	0.002
Lack of Fit	0.256	10	0.026	3.884	0.101
Pure Error	0.026	4	0.007		
Total SS	101.967	28			

หมายเหตุ ระดับนัยสำคัญที่ 0.05, $R^2 = 0.997$ (Adjust $R^2 = 0.994$)

ตารางภาคผนวก จ-8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณน้ำหมักสมมูลย์
ในภาวะที่เหมาะสม

Source	SS	df	MS	F	p
Conc. (L)	39887.004	1	39887.004	904.779	0.000
Conc. (Q)	48863.550	1	48863.550	1108.399	0.000
Temp. (L)	370300.089	1	370300.089	8399.726	0.000
Temp. (Q)	47453.495	1	47453.495	1076.414	0.000
Time (L)	8549.411	1	8549.411	193.931	0.000
Time (Q)	22.131	1	22.131	0.502	0.518
Ratio (L)	175171.167	1	175171.169	3973.506	0.000
Ratio (Q)	47680.089	1	47680.089	1081.554	0.000
Conc. (L)×Temp. (L)	65.729	1	65.729	1.491	0.289
Conc. (L)×Time (L)	235.697	1	235.697	5.346	0.081
Conc. (L)×Ratio (L)	2242.452	1	2242.492	50.868	0.002
Temp. (L)×Time (L)	11254.251	1	11254.251	255.287	0.000
Temp. (L)×Ratio (L)	39546.808	1	39546.808	897.063	0.000
Time (L)×Ratio (L)	36805.898	1	36805.898	834.889	0.000
Lack of Fit	2588.430	10	258.843	5.871	0.051
Pure Error	176.339	4	44.085		
Total SS	856825.880	28			

หมายเหตุ ระดับนัยสำคัญที่ 0.05, $R^2 = 0.977$ (Adjust $R^2 = 0.944$)

ตารางภาคผนวก จ-9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณเมทอกซิล
ในภาวะที่เหมาะสม

Source	SS	df	MS	F	p
Conc. (L)	0.000	1	0.000	0.050	0.833
Conc. (Q)	0.236	1	0.236	458.080	0.000
Temp. (L)	5.105	1	5.105	9898.587	0.000
Temp. (Q)	0.359	1	0.359	696.609	0.000
Time (L)	1.349	1	1.349	2614.739	0.000
Time (Q)	0.147	1	0.147	284.288	0.000
Ratio (L)	0.326	1	0.326	632.035	0.000
Ratio (Q)	0.000	1	0.000	0.058	0.821
Conc. (L)×Temp. (L)	0.754	1	0.754	1461.697	0.000
Conc. (L)×Time (L)	0.107	1	0.107	208.283	0.000
Conc. (L)×Ratio (L)	0.009	1	0.009	16.860	0.015
Temp. (L)×Time (L)	0.000	1	0.000	0.116	0.750
Temp. (L)×Ratio (L)	23.351	1	23.351	45275.832	0.000
Time (L)×Ratio (L)	0.014	1	0.014	28.037	0.006
Lack of Fit	0.029	10	0.003	5.534	0.057
Pure Error	0.002	4	0.001		
Total SS	31.642	28			

หมายเหตุ ระดับนัยสำคัญที่ 0.05, $R^2 = 0.969$ (Adjust $R^2 = 0.928$)

ตารางภาคผนวก จ-10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณกรดยูโรนิก
ในภาวะที่เหมาะสม

Source	SS	df	MS	F	p
Conc. (L)	33.315	1	33.315	25.897	0.007
Conc. (Q)	48.743	1	48.743	37.891	0.004
Temp. (L)	422.136	1	422.136	328.148	0.000
Temp. (Q)	448.716	1	448.716	348.809	0.000
Time (L)	0.673	1	0.673	0.523	0.510
Time (Q)	195.238	1	195.238	151.768	0.000
Ratio (L)	313.615	1	313.615	243.789	0.000
Ratio (Q)	170.756	1	170.756	132.737	0.000
Conc. (L)×Temp. (L)	49.543	1	49.543	38.513	0.003
Conc. (L)×Time (L)	0.026	1	0.026	0.020	0.894
Conc. (L)×Ratio (L)	38.448	1	38.448	29.887	0.005
Temp. (L)×Time (L)	375.419	1	375.419	291.831	0.000
Temp. (L)×Ratio (L)	25.570	1	25.570	19.877	0.011
Time (L)×Ratio (L)	36.578	1	36.578	28.434	0.006
Lack of Fit	69.608	10	6.961	5.411	0.059
Pure Error	5.146	4	1.286		
Total SS	1981.372	28			

หมายเหตุ ระดับนัยสำคัญที่ 0.05, $R^2 = 0.962$ (Adjust $R^2 = 0.925$)

ตารางภาคผนวก จ-11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยที่มีผลต่อระดับการเกิดเอสเทอร์
ในภาวะที่เหมาะสม

Source	SS	df	MS	F	p
Conc. (L)	8.102	1	8.102	13.007	0.023
Conc. (Q)	0.001	1	0.001	0.001	0.977
Temp. (L)	16.397	1	16.397	26.323	0.007
Temp. (Q)	128.421	1	128.421	206.166	0.000
Time (L)	317.026	1	317.026	508.952	0.000
Time (Q)	63.779	1	63.779	102.391	0.001
Ratio (L)	1061.029	1	1061.029	1703.371	0.000
Ratio (Q)	187.652	1	187.652	301.255	0.000
Conc. (L)×Temp. (L)	59.556	1	59.556	95.611	0.001
Conc. (L)×Time (L)	15.440	1	15.440	24.787	0.008
Conc. (L)×Ratio (L)	1.776	1	1.776	2.851	0.167
Temp. (L)×Time (L)	431.734	1	431.734	693.104	0.000
Temp. (L)×Ratio (L)	3730.971	1	3730.971	5989.683	0.000
Time (L)×Ratio (L)	0.144	1	0.144	0.232	0.655
Lack of Fit	162.952	10	16.295	26.160	0.003
Pure Error	2.492	4	0.623		
Total SS	6113.597	28			

หมายเหตุ ระดับนัยสำคัญที่ 0.05, $R^2 = 0.973$ (Adjust $R^2 = 0.946$)

ผลการวิเคราะห์ความถดถอยเชิงพหุระหว่างปัจจัยที่ทำการศึกษากับปริมาณและคุณภาพของเพกทินเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมโดยการสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์

ตารางภาคผนวก จ-12 ผลการวิเคราะห์ความถดถอยเชิงพหุของปริมาณเพกทินที่สกัดได้

Model	Regr. Coefficient (β)	Std. Error	t	p
Constant	-55.615	0.758	-73.367	0.000
X ₁	67.033	1.646	40.728	0.000
X ₂	0.648	0.012	51.298	0.000
X ₃	0.387	0.006	53.435	0.000
X ₄	1.741	0.033	52.901	0.000
X ₁ ²	-43.882	1.593	-27.555	0.000
X ₂ ²	-0.003	0.000	-42.609	0.000
X ₃ ²	-0.003	0.000	-85.056	0.000
X ₄ ²	-0.047	0.001	-73.785	0.000
X ₁ X ₂	-0.322	0.014	-23.788	0.000
X ₁ X ₃	-0.105	0.009	-11.615	0.000
X ₁ X ₄	-0.688	0.041	-16.954	0.000
X ₂ X ₄	-0.002	0.000	-8.953	0.001
X ₃ X ₄	0.001	0.000	7.029	0.002

หมายเหตุ ระดับนัยสำคัญที่ 0.05, R² = 0.997 (Adjust R² = 0.994)

ตารางภาคผนวก จ-13 ผลการวิเคราะห์ความถดถอยเชิงพหุของปริมาณน้ำหนักสมมูลย์

Model	Regr. Coefficient (β)	Std. Error	t	p
Constant	2824.281	60.219	46.900	0.000
X ₁	1840.975	93.703	19.647	0.000
X ₂	-41.431	0.992	-41.771	0.000
X ₃	0.584	0.556	1.049	0.353
X ₄	-51.241	2.694	-19.018	0.000
X ₁ ²	-4339.680	130.350	-33.293	0.000
X ₂ ²	0.190	0.006	32.809	0.000
X ₃ ²	-0.002	0.003	-0.709	0.518
X ₄ ²	-1.715	0.052	-32.887	0.000
X ₁ X ₄	23.677	3.320	7.132	0.002
X ₂ X ₃	-0.079	0.005	-15.978	0.000
X ₂ X ₄	0.663	0.022	29.951	0.000
X ₃ X ₄	0.426	0.015	28.894	0.000

หมายเหตุ ระดับนัยสำคัญที่ 0.05, R² = 0.976 (Adjust R² = 0.944)

ตารางภาคผนวก จ-14 ผลการวิเคราะห์ความถดถอยเชิงพหุของปริมาณเมทอกซิล

Model	Regr. Coefficient (β)	Std. Error	t	p
Constant	-13.169	0.212	-62.053	0.000
X ₁	-3.359	0.461	-7.289	0.002
X ₂	0.246	0.003	72.485	0.000
X ₃	0.024	0.002	15.154	0.000
X ₄	1.188	0.009	128.860	0.000
X ₁ ²	-9.542	0.446	-21.403	0.000
X ₂ ²	-0.001	0.000	-26.393	0.000
X ₃ ²	0.0001	0.000	-16.861	0.000
X ₄ ²	0.00004	0.000	0.242	0.821
X ₁ X ₂	0.145	0.004	38.232	0.000
X ₁ X ₃	-0.036	0.003	-14.432	0.000
X ₁ X ₄	0.047	0.011	4.106	0.015
X ₂ X ₄	-0.016	0.000	-212.781	0.000
X ₃ X ₄	-0.0003	0.000	-5.295	0.006

หมายเหตุ ระดับนัยสำคัญที่ 0.05, R² = 0.969 (Adjust R² = 0.928)

ตารางภาคผนวก จ-15 ผลการวิเคราะห์ความถดถอยเชิงพหุของปริมาณกรดยูโรนิก

Model	Regr. Coefficient (β)	Std. Error	t	p
Constant	3.479	11.131	0.312	0.770
X ₁	-40.469	21.383	-1.893	0.131
X ₂	1.425	0.179	7.975	0.001
X ₃	-0.539	0.095	-5.673	0.005
X ₄	3.228	0.460	7.014	0.002
X ₁ ²	-137.064	22.267	-6.156	0.004
X ₂ ²	-0.018	0.001	-18.676	0.000
X ₃ ²	-0.005	0.000	-12.319	0.000
X ₄ ²	-0.103	0.009	-11.521	0.000
X ₁ X ₂	1.173	0.189	6.026	0.003
X ₁ X ₄	3.100	0.567	5.467	0.005
X ₂ X ₃	0.014	0.001	17.083	0.000
X ₂ X ₄	-0.017	0.004	-4.458	0.011
X ₃ X ₄	0.013	0.003	5.332	0.006

หมายเหตุ ระดับนัยสำคัญที่ 0.05, R² = 0.962 (Adjust R² = 0.930)

ตารางภาคผนวก จ-16 ผลการวิเคราะห์ความถดถอยเชิงพหุของระดับการเกิดเอสเทอร์

Model	Regr. Coefficient (β)	Std. Error	t	p
Constant	-118.200	7.540	-15.677	0.000
X ₁	-73.094	14.879	-4.913	0.008
X ₂	2.169	0.124	17.445	0.000
X ₃	0.706	0.066	10.671	0.000
X ₄	10.713	0.273	39.240	0.000
X ₁ ²	0.482	15.494	0.031	0.977
X ₂ ²	0.010	0.001	14.358	0.000
X ₃ ²	0.003	0.000	10.119	0.001
X ₄ ²	0.108	0.006	17.357	0.000
X ₁ X ₂	1.286	0.132	9.778	0.001
X ₁ X ₃	-0.437	0.088	-4.979	0.008
X ₂ X ₃	-0.015	0.001	-26.327	0.000
X ₂ X ₄	-0.204	0.003	-77.393	0.000

หมายเหตุ ระดับนัยสำคัญที่ 0.05, R² = 0.973 (Adjust R² = 0.952)

ผลการทดสอบความแม่นยำของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์

ตารางภาคผนวก จ-17 ผลการวิเคราะห์ Independent Sample t-Test ในขั้นตอนการทดสอบความแม่นยำของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของปริมาณเพกทินที่สกัดได้

ภาวะ	ระดับปัจจัยที่ศึกษา (โดยการสุ่มเลือก)				ปริมาณเพกทิน (%น้ำหนักแห้ง)		df	t	p
	Conc.	Temp.	Time	Ratio	ทดลอง	ทำนาย			
1	0.24	89	70	1: 15	7.730	7.578	1	1.186	0.446
2	0.10	60	90	1: 20	2.096	2.150	1	-1.065	0.480
3	0.15	89	70	1: 15	7.316	7.249	1	0.586	0.662
4	0.25	75	90	1: 20	4.348	4.285	1	0.083	0.948
5	0.30	100	50	1: 5	1.682	1.739	1	-1.712	0.337