เอกสารอ้างอิง

1 กล้าณรงค์ ศรีรอด. 2533. การเตรียมจัดการประชุมนักวิชาการอ้อยและน้ำตาลระหว่างประเทศครั้งที่ 21 ในประเทศไทย. วารสารน้ำตาล ฉบับที่ 6: 33-38.

2 คณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, สำนักงาน. 2534. เปรียบเทียบผลิตผลพลอยได้กับผลผลิตปีต่างๆ. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. (อัดสำเนา)

3 สันติ์ ฉายตระกูล. 2522. เดกซ์แทรนศัตรูสำคัญในกระบวนการผลิตและคุณภาพของน้ำตาลทราย. วารสารน้ำตาล ฉบับที่ 3: 5-9.

4 Jolly, S.C. and Prakash, C. 1987. Removal of dextran from cane juice. Int. Sugar J. 89: 184-186.

5 สันติ์ ฉายตระกูล. 2522. การผลิตน้ำตาลทรายกับพื้นฐานเทคนิคความรู้ทั่วไป. วารสารน้ำตาล ฉบับที่ 2: 1-21.

6 _____. 2522. การผลิตน้ำตาลทรายกับพื้นฐานเทคนิคความรู้ทั่วไป. วารสารน้ำตาล ฉบับที่ 3: 11-28.

7 ปรีชา สุริยะพันธ์ และ สมเกียรติ พัฒนาเมธีกูล. 2523. อ้อย. 3000 เล่ม. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: ธนประดิษฐ์การพิมพ์.

8 บุญส่ง แสงอ่อน และวิวัฒน์ แดงสุภา. 2527. แบคทีเรียในน้ำอ้อยจากกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายในประเทศไทย. วารสารเกษตรศาสตร์ 18: 153-161.

9 Clarke, M.A., Robert, E.J., Godshall, M.A., Brannan, F.G., Carpenter,A., and Coll, E.E.1980. Sucrose loss in the manufacture of cane sugar. Sugar Y. Azucar. 75: 64-68.

10 คณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, สำนักงาน. 2529. เทคนิคกรรมวิธีการผลิตน้ำตาลทราย. กรุงเทพมหานคร:สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. (อัดสำเนา)

11 ปราณี อ่านเปรื่อง. 2533. เอนไซม์ทางอาหารตอนที่ 1. พิมพ์ครั้งที่ 1.สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

12 Day, D.F. 1984. Dextran control in the sugar house. Int Sugar J. 46: 16-17.

13 Imrie, F.K.E., and Tilbury, R.H. 1972. Polysaccharide in sugar cane and its production. Sugar Tech. Rev. 1: 291-361.

14 Chung, C.C, and Mark, W. 1980. Dextran problem in sugar refinery: A critical laboratory evaluation. Proceeding of the 1980 Technical Session on Cane Sugar Refining Research: 1-25.

15 บุญส่ง แสงอ่อน และวิวัฒน์ แดงสุภา. 2528. การควบคุมเชื้อแบคทีเรียในน้ำอ้อยโดยใช้สารเคมี. วารสารเกษตรศาสตร์ 19: 213-220.

16 Inkerman, P.A. 1980. An appraisal of the use of dextranase. Proc. 17 th ISSCT.: 2411-2427.

17 เอก แสงวิเชียร. 2532. เดกซ์แทรนเนส จาก *Penicillium sp.* สายพันธุ์ 61. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย , 2532.

18 Novo. 1983. Product from data information B275C - GB 2000. Enzyme Division. Bagsvarerd,Denmark.

19 Hidi, P., and Staker, R. 1975. Enzymic hydrolysis of dextran in mill, Processing of the Queensland of sugar cane Technologist Forty - second Conference: 331-343.

20 Fulcher,R.P., and Inkerman, P.A. 1976. Dextranase II characterization of the enzyme for use in sugar mill. Proc.Qd. Soc.Sugar Cane Technol.43rd Conf. 295-307.

21 Day,J.C. 1971. The habit modification of sucrose crystal growth in the presence of dextran.M.Sic Thesis,University of Queensland,Brisbane.

22 Cheetham, N.W.H., and Richard, G.N. 1973. Studies on dextranase part 3 Insolubilisation of a bacterial dextranase. Carbohydrate Res. 30: 99-107.

23 Gray, C. J., and Livingstone, C. M. 1977. Properties of enzyme immobilized by the diazotized m-Diaminobenzene method. Biotechnol. Bioeng. 79: 349-364.

24 Kennedy, J. F., and Kay, I. M. 1977. The use of titanium (IV) oxide for the immobilization of carbohydrate-directed enzyme. Carbohydrate Res. 56: 211-218.

25 Kennedy, J. F., and Kay, I. M. 1977. The use of titanium (IV) oxide coated with dizzotised 1,3-diamino-benzene for the immobilization of carbohydrate-directed enzyme. Carbohydrate Res. 59: 553-561.

26 Ramesh, V., and Singh, C. 1980. Bacterial dextranase immobilized on zirconia coated alkylamine glass using glutaraldehyde Biochem. Biophys. Res. 97: 779-786.

27 Madhu, and Prabhu, K. A. 1985. Immobilization of dextranase on bentonite. Enz. Microb. Tech. 7: 279-282.

28 Kobayashi, M., Yanagihara, S., Kitae, T., and Ichishima, E. 1989. Use of water-soluble carbodiimide (EDC) for immobilization of EDC-sensitive dextranase. Biol.Chem. 53: 2211-2216.

29 Byrne, M.J.,and John, D.B. 1974. Studies on the immobilization of β-Galactosidases. Bioch.Soc.Trans. 2: 496-497.

30 Brotherton, J.E., Emery, A., and Redwell, V.W. 1976. Characterization of sand as a support for immobilized enzymes. Biotechnol. Bioeng. 18: 527-543.

31 Puvanakrishnan, R., and Bose, S.M. 1980. Studies on the immobilization of trypsin on sand. Biotechnol. Bioeng. 22: 919-928.

32 Puvanakrishnan, R., and Bose, S.M. 1980. Properties of trypsin immobilized on sand. Biotechnol. Bioeng. 22: 2499-2453.

33 Thomplison, D. K., Angelo, I. A., and Mathur, M. P. 1983. Immobilization of rennet on sand, a preliminary report. The Indian J. Dairy Sci. 36: 328.

34 สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ. 2528. ฟลูอิไดเซชั่น. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

35 Fukumoto, J., Hiraoko, N., Hirose, T., and Tsuru, D.1971.Studies II dextranase production by a strain of *Aspergillus carneus*. Agr. Biol. Chem. 35: 1727-1732.

36 Somogyi, M. 1952. Notes on sugar determination. J. Biol. Chem. 195: 19-23.

37 Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem. 153: 375-380.

38 Hiraoka, N., Fukumoto, J. and Tsura, D. 1971. Purification and some enzymatic properties of *Aspergillus carneus* dextranase. J. Biochem. 71: 57-64.

39 Robert, E. J. 1983. A quantitative method for dextran analysis. Int. Sugar J. 89: 10-13.

40 Treven, D.M. 1980. Immobilized enzyme: An introduction and application in biotechnology. John Willy and son. New York. p. 11-102.

41 ปราณี อ่านเปรื่อง.2534.เอนไซม์ทางอาหารตอนที่ 2.พิมพ์ครั้งที่ 1.สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,กรุงเทพ.

42 Curtin, J.H. and McCowage, R.J. 1980. Dextran measurement in cane product. Int.Sugar J. 86: 755-771.

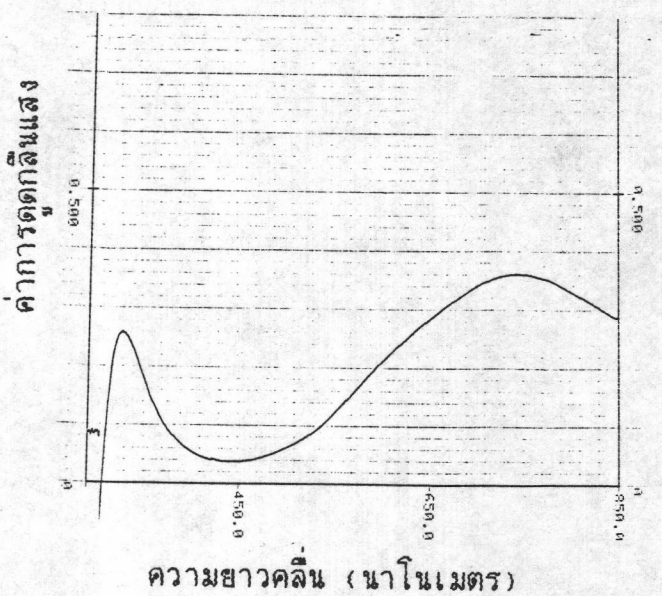
43 Sugiura, M., Ito, A., Ogiso, T., Kato, K., and Asano, H. 1973. Purification of dextranase from *Pennicillium'Funiculosum* and its enzymatic properties. Biochim. Biophy. Acta. 309: 357-362

ภาคผนวก ก
ข้อมูลเพิ่มเติม

ก-1 กราฟมาตรฐานของ D-glucose สำหรับวัดแอคติวิตีเดกซ์แทรนเนสตริงรูป

เตรียมสารละลาย D-glucose ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร นำสารละลายนี้ความเข้มข้นละ 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง

การทดสอบน้ำตาลรีดิวซ์เติมสารละลาย alkali-copper reagent ลงในหลอดทดลองที่บรรจุสารละลาย D-glucose หลอดละ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แช่ในอ่างน้ำเดือด 15 นาที ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง เติม Nelson reagent 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำสารละลายดังกล่าวนี้มา 0.5 มิลลิลิตร ทำให้ปริมาตรครบ 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำขจัดไอออนวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ เพื่อหาความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด (750 นาโนเมตร)

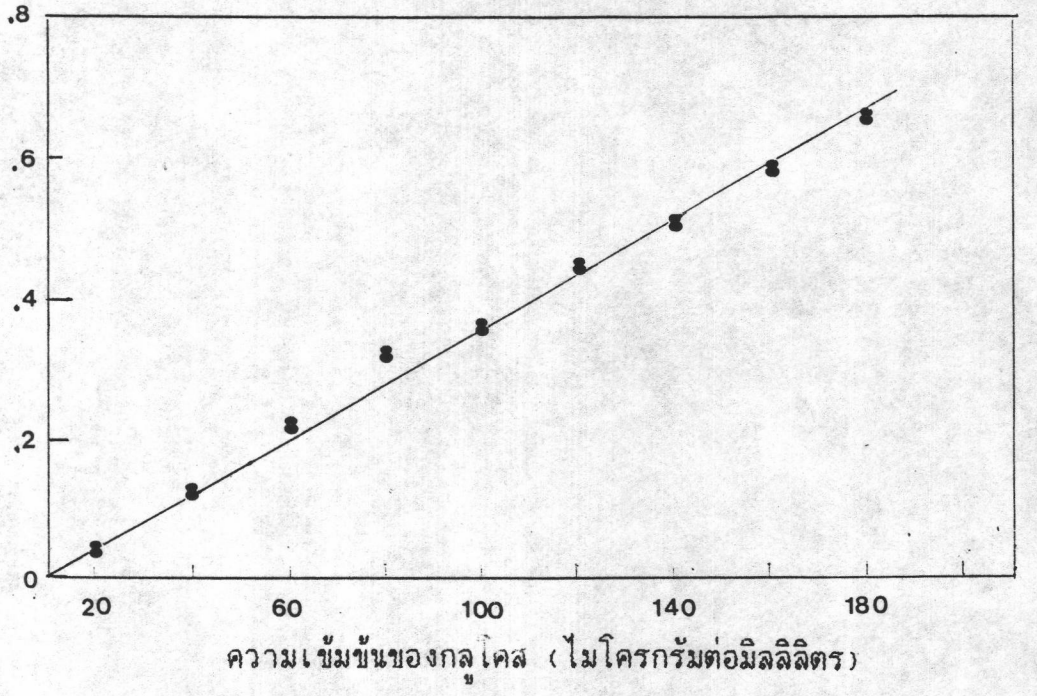


รูปที่ ก-1.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆของสารละลาย D-glucose

ตารางที่ ก-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐาน D-glucose ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของ D-glucose (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร
20	0.070
40	0.130
60	0.221
80	0.324
100	0.362
120	0.446
140	0.506
160	0.582
180	0.654
200	0.668

ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

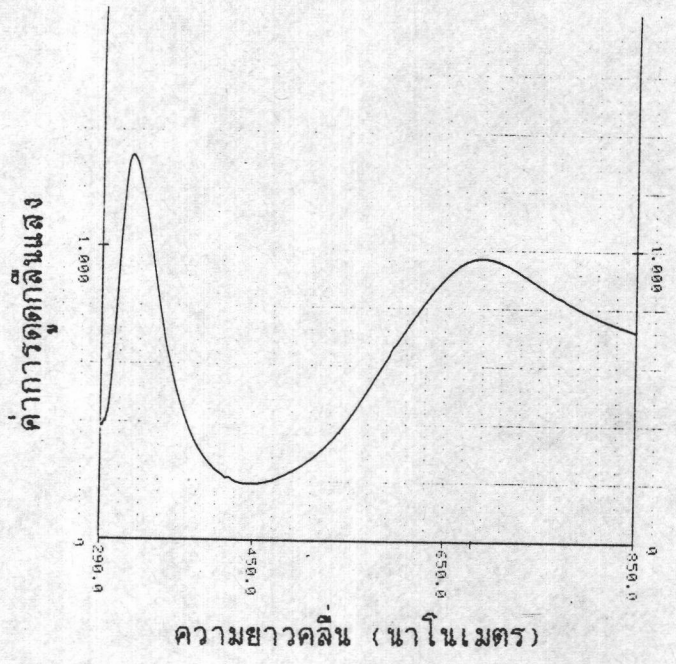


รูปที่ ก-1.2 กราฟมาตรฐานของกลูโคสสำหรับหาแอคติวิตีของเดกซ์แทรนเนสตรึงรูป

ก-2 <u>กราฟมาตรฐานของ D-glucose สำหรับวัดแอคติวิตีเดกซ์แทรนเนสอิสระ</u>

เตรียมสารละลาย D-glucose ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 และ 200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร นำสารละลายนี้ความเข้มข้นละ 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติมสารละลายเดกซ์แทรนเนสความเข้มข้น ร้อยละ 0.1 ในอะซีเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 5.5 ที่ผ่านการยับยั้งปฏิกิริยา โดยการแช่ในน้ำเดือด 15 นาทีจำนวน 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองที่บรรจุสารละลาย D-glucose ดังกล่าว

การทดสอบน้ำตาลรีดิวซ์ เติมสารละลาย alkali-copper reagent ลงในหลอดทดลองที่บรรจุสารละลาย D-glucose หลอดละ 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แช่ในอ่างน้ำเดือด 15 นาที ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง เติม Nelson reagentหลอดละ 2 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำสารละลายดังกล่าวมา 0.5 มิลลิลิตรทำให้ปริมาตรครบ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำขจัดไอออนวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ เพื่อหาความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด(690 นาโนเมตร)



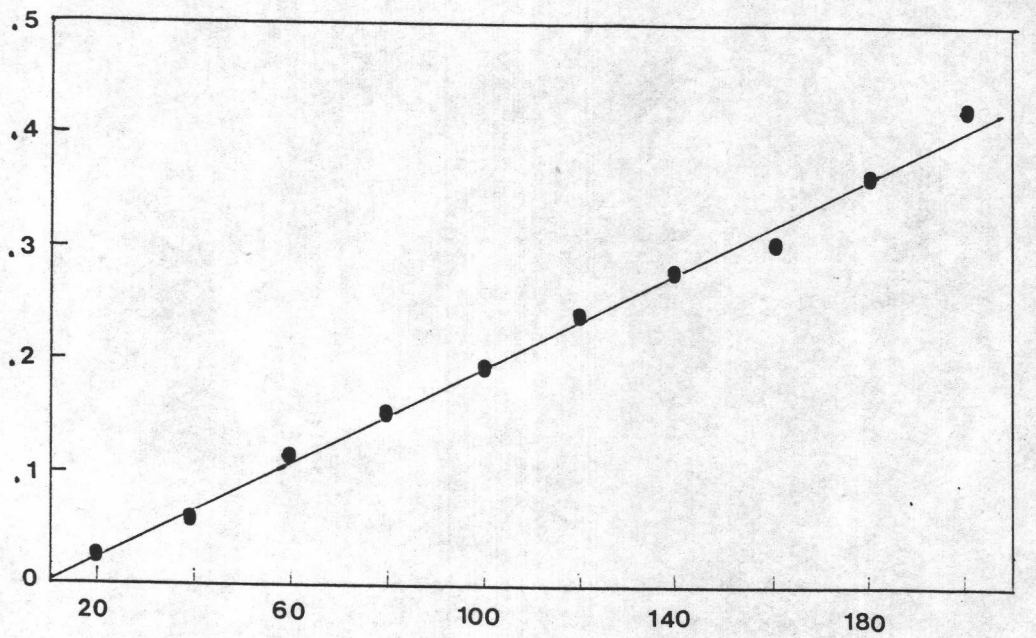
รูปที่ ก-2.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆของสารละลาย D-glucose

ตารางที่ ก-2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐาน D-glucose ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ[a]

ความเข้มข้นของ D-glucose (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร
20	0.029
40	0.061
60	0.120
80	0.156
100	0.195
120	0.245
140	0.280
160	0.305
180	0.364
200	0.427

a เติมสารละลายเดกซ์แทรนเนสความเข้มข้น ร้อยละ 0.1โดยปริมาตรในสารละลายอะซีเตท บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร พีเอช 5.5 ที่ผ่านการยับยั้งแอคติวิตีแล้ว จำนวน 50 ไมโครลิตร

ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร



รูปที่ ก-2.2 กราฟมาตรฐานของ D-glucose สำหรับหาแอคติวิตีของเดกซ์แทรนเนสอิสระ

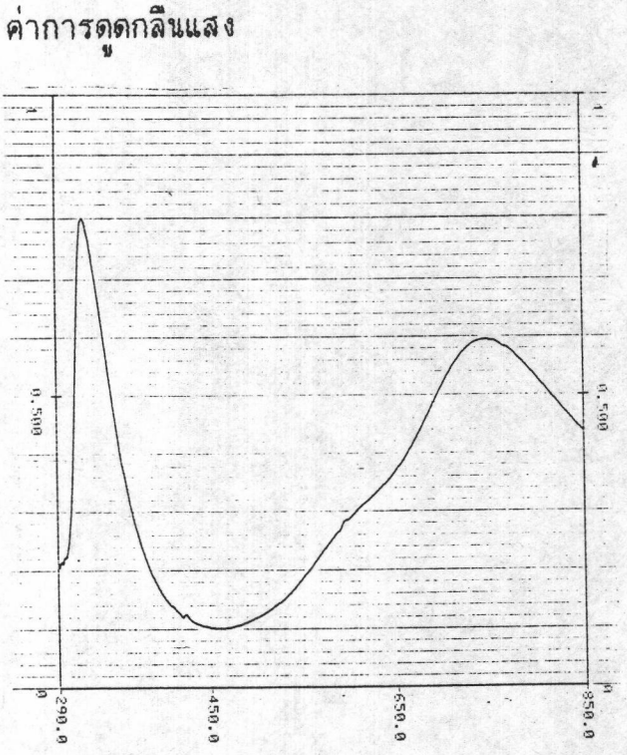
ก-3 <u>วิธีวัดค่าแอคติวิตีของเดกซ์แทรนเนสตรึงรูป (15)</u>

ชั่งเดกซ์แทรนเนสตรึงรูป ใส่หลอดทดลองหลอดละ 0.3 กรัม เติมอะซีเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.5 จำนวน 2 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ปิเปตสารละลายเดกซ์แทรนความเข้มข้นร้อยละ 0.625 ในอะซีเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05โมลาร์ พีเอช 5.5 และผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เช่นกัน เติมลงในหลอดทดลองที่บรรจุเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปผสมให้เข้ากัน บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยนำหลอดทดลองแช่ในน้ำเดือด เป็นเวลา 15 นาที

สำหรับหลอดควบคุมโดยชั่งเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปใส่หลอดทดลอง 0.3 กรัมเติม

บัฟเฟอร์พีเอช 5.5 จำนวน 2 มิลลิลิตร แช่หลอดควบคุมในน้ำเดือด 15 นาที ก่อนนำไปทดสอบแอคติวิตีตามวิธีดังกล่าวข้างต้น

การทดสอบน้ำตาลรีดิวซ์ โดยปิเปตส่วนผสมของปฏิกิริยามาหลอดละ 1 มิลลิลิตร ทดสอบน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีในข้อ ก-1 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆเพื่อหาความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด (750 นาโนเมตร)



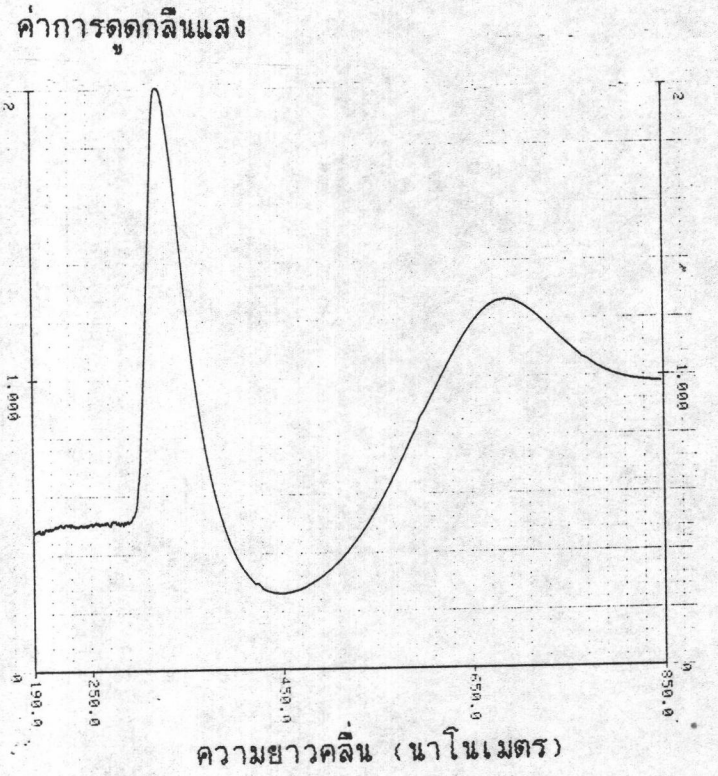
รูปที่ ก-3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของส่วนผสมปฏิกิริยาจากการวัดค่าแอคติวิตีของเดกซ์แทรนเนสตริงรูป

ก-4 วิธีวัดค่าแอคติวิตีของเดกซ์แทรนเนสอิสระ

ปิเปตสารละลายเดกซ์แทรน ความเข้มข้น ร้อยละ 0.625 ในสารละลายอะซีเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.5 จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายเดกซ์แทรนเนสความเข้มข้น ร้อยละ 0.1 ซึ่งถูกเจือจางด้วยอะซีเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.5 จำนวน 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองที่บรรจุสับสเตรท ผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยแช่ลงในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 15นาที

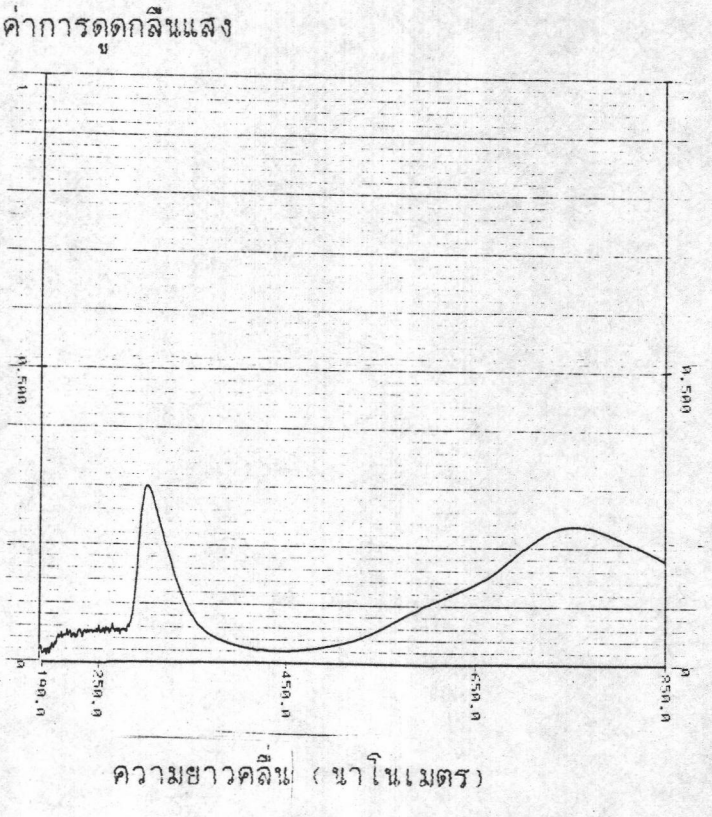
สำหรับหลอดควบคุม นำสารละลายเดกซ์แทรนเนส จำนวน 50 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดลองแช่ในอ่างน้ำเดือด 15 นาที ก่อนนำไปทดสอบแอคติวิตี ตามวิธีดังกล่าวข้างต้น

การทดสอบน้ำตาลรีดิวซ์ โดยนำส่วนผสมของปฏิกิริยามาทดสอบน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีในข้อ ก-2 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆเพื่อหาความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด (690 นาโนเมตร)



รูปที่ ก-4.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆของส่วนผสมปฏิกิริยาจากการวัดค่าแอคติวิตีของเดกซ์แทรนเนสอิสระ

พบว่าการที่เอนไซม์อิสระให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร ซึ่งแตกต่างจากค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสและค่าการดูดกลืนแสงของส่วนผสมปฏิกิริยาของเอนไซม์ตริงรูปอาจเนื่องมาจากสารปนเปื้อนอื่นๆในเอนไซม์อิสระ เช่น กรดเบนโซอิค ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยนแปลงไป จากการทดสอบแอคติวิตีของเอนไซม์อิสระที่หลุดจากตัวพยุง พบว่าให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร เช่นเดียวกับสารละลายกลูโคส



รูปที่ ก-4.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆของส่วนผสมปฏิกิริยาจากการวัดค่าแอคติวิตีของเดกซ์แทรนเนสอิสระ (หลุดจากตัวพยุง)

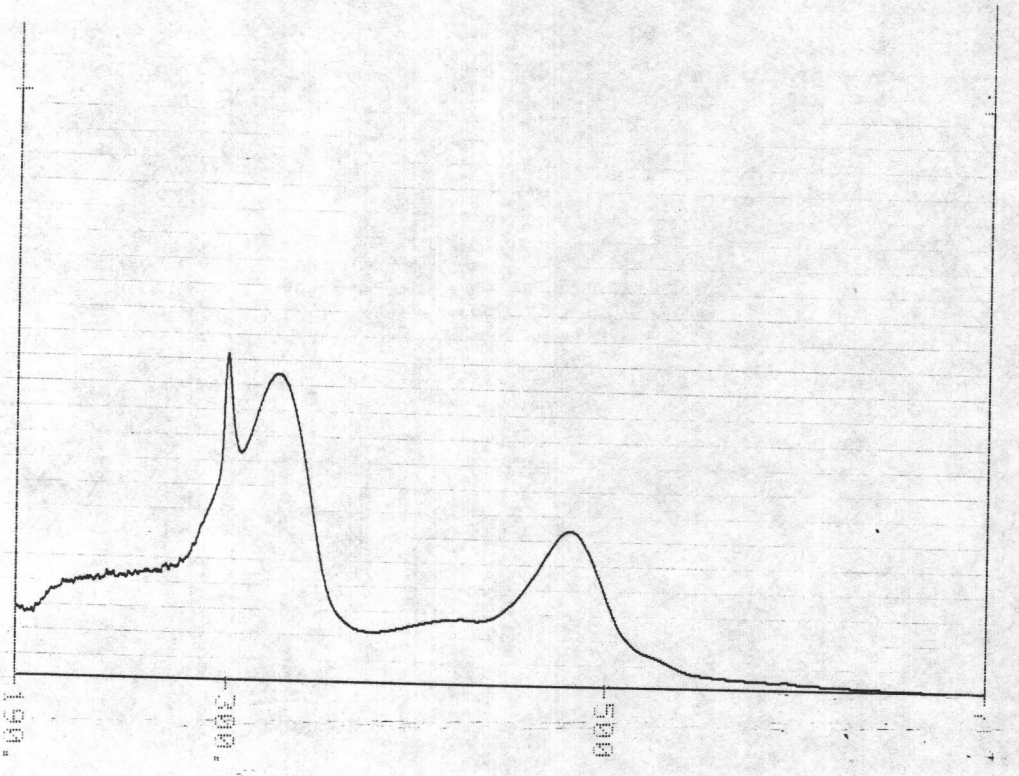
1 หน่วยเอนไซม์ (unit enzyme) คือปริมาณเอนไซม์เปลี่ยนสับสเตรทเดกซ์แทรนน้ำหนักโมเลกุล 2,000,000 ไปเป็นผลิตภัณฑ์ (คำนวณเทียบกับ D-glucose 1 ไมโครกรัม) ในเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ก-5 การเตรียมกราฟมาตรฐานของเดกซ์แทรนน้ำหนักโมเลกุล 2,000,000

เตรียมสารละลายเดกซ์แทรน น้ำหนักโมเลกุล 2,000,000 ความเข้มข้น 0.01,0.02,0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำมา ความเข้มข้นละ 10 มิลลิลิตร ใส่หลอด เซนตริฟิวจ์ เติม NaOH เข้มข้น 2.5 นอร์มัล หลอดละ 2 มิลลิลิตร และเติม copper reagent หลอดละ 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันต้มในน้ำเดือด 5 นาที ทิ้งให้เย็น นำมาเข้าเครื่องเซนตริฟิวจ์ ด้วยความเร็วรอบ 5000 g เป็นเวลา 20-30 นาที รินส่วนใสออกเติมสารละลายสำหรับล้าง 10 มิลลิลิตร เขย่าให้ตะกอนกระจายทั่วสารละลาย เซนตริฟิวจ์ อีกครั้งหนึ่ง รินส่วนใสออกนำส่วนของตะกอนมาละลายด้วยกรด H_2SO_4 ความเข้มข้น 2 นอร์มัล จำนวน 4 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตร 10 มิลลิลิตรทำให้ปริมาตรครบ 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

การวิเคราะห์ปริมาณเดกซ์แทรน ทำโดยนำ Dextran copper complex มา 2 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองเติมสารละลาย phenol ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 1 มิลลิลิตร เติมกรดกำมะถันเข้มข้น จำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันต้มในน้ำเดือด 2 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆเพื่อหาความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด (480 นาโนเมตร) โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank แทนสารละลาย Dextran copper complex

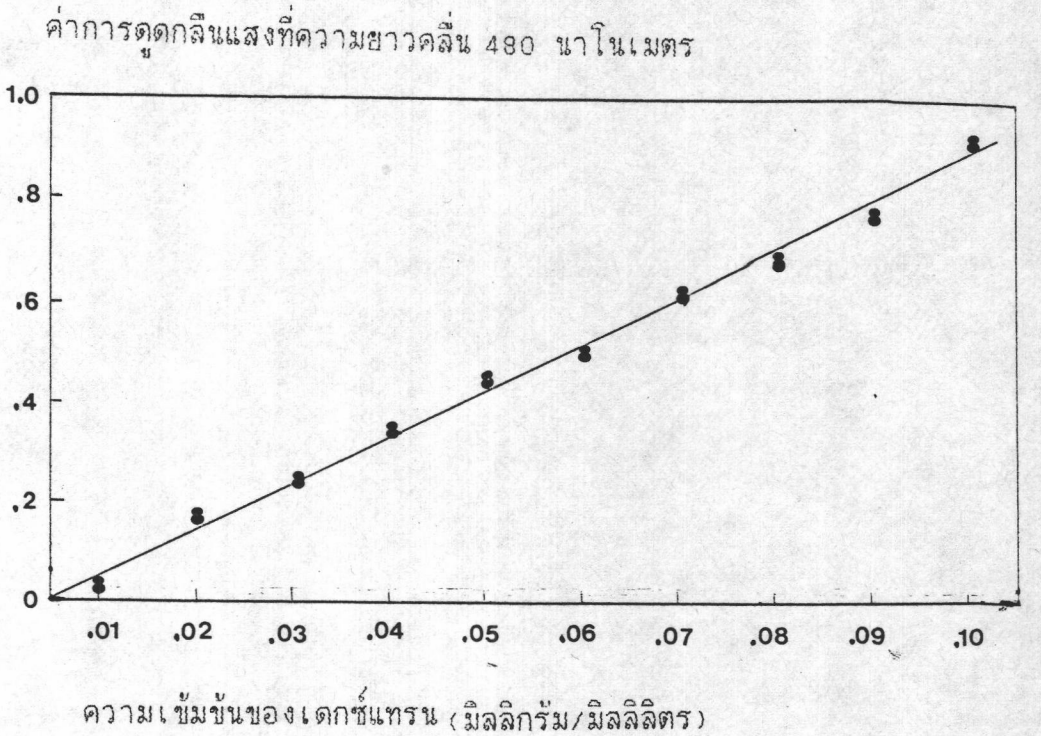
ค่าการดูดกลืนแสง



รูปที่ ก-5.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆของสารละลายเดกซ์แทรน (น้ำหนักโมเลกุล 2,000,000)

ตารางที่ ก-5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานเดกซ์แทรน (น้ำหนักโมเลกุล 2,000,000) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของเดกซ์แทรน (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร
0.01	0.033
0.02	0.169
0.03	0.237
0.04	0.345
0.05	0.459
0.06	0.495
0.07	0.625
0.08	0.679
0.09	0.745
0.10	0.915



รูปที่ ก-5.2 กราฟมาตรฐานของเดกซ์แทรน สำหรับวิเคราะห์ปริมาณเดกซ์แทรนในน้ำอ้อย

ก-6 <u>การวิเคราะห์ปริมาณเดกซ์แทรนในน้ำอ้อย</u>

วัดความเข้มข้นของน้ำตาล (องศาบริกซ์) ในน้ำอ้อยรวมและนำน้ำอ้อยรวมปริมาตร 10 มิลลิลิตร มาเติม analytical filter aid จำนวน 0.3-0.4 กรัม เติมกรดไตรคลอโรอะซีติคความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเติม absolute ethyl alcohol จำนวน 40 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 2 ล้างส่วนของตะกอนด้วย ethyl alcohol ความเข้มข้น ร้อยละ 80 โดยปริมาตรจำนวนครั้งละ 15 มิลลิลิตร 5 ครั้ง นำส่วนของตะกอนมาละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรสุดท้าย 25 มิลลิลิตร นำมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 42 ส่วนของเหลวที่ผ่านการกรองแล้วจำนวน 10 มิลลิลิตรนำมาวิเคราะห์ปริมาณเดกซ์แทรน ตามวิธีในข้อ ก-5

การวิเคราะห์หาปริมาณเดกซ์แทรนในน้ำอ้อย

สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\text{Dextran (ppm)} = F \times E \times \frac{C}{D} \times \frac{1}{B} \times \frac{1}{A} \times 10^5$$

เมื่อ A = ความเข้มข้นของน้ำตาล (องศาบริกซ์)

B = ปริมาตรน้ำอ้อยรวมที่นำมาเติม absolute ethanol (มิลลิลิตร)

C = ปริมาตรของสารละลาย เมื่อนำส่วนที่ตกตะกอนโดย absolute ethanol มาละลายน้ำ (มิลลิลิตร)

D = ปริมาตรของสารที่ผ่านการกรองแล้วนำมาเพื่อตกตะกอน Dextran - copper complex

E = ปริมาตรของสารละลายเมื่อละลายตะกอนของ dextran copper complex ด้วยกรด H_2SO_4 ความเข้มข้น 2 นอร์มัล

F = ความเข้มข้นของเดกซ์แทรน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่อ่านจากกราฟมาตรฐาน

รูปที่ ก-6.1 ตะกอนเดกซ์แทรน

รูปที่ ก-6.2 ตะกอนเดกซ์แทรนก่อนและหลังกำจัดด้วยเดกซ์แทรนเนสตริงรูป

ก-7 น้ำอ้อยรวม

ก-7.1 ส่วนประกอบในน้ำอ้อยที่ได้จากส่วนต่าง ๆ ของลำต้นอ้อย

สำหรับรายละเอียดของส่วนประกอบ ในน้ำอ้อยที่ได้จากส่วนต่าง ๆ ของลำต้น แสดงดังตารางที่ ก-7.1 ถึง ก-7.7

ตารางที่ ก-7.1 องค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตตามส่วนต่าง ๆ ของอ้อย (พันธุ์ CP 65-357)

ส่วนของลำต้น	ร้อยละของทั้งหมด	ร้อยละของน้ำที่สกัดได้	องค์ประกอบในน้ำอ้อย (mg/ml)*				
			แป้ง	น้ำตาลที่ละลายน้ำได้	ซูโครส	ฟรุคโตส	กลูโคส
Leaf blade	11.1	40.0	0.32	5.40	7.72	3.85	6.76
leaf shelth	4.3	38.6	0.05	4.03	14.20	3.33	5.92
leaf roll	2.0	48.2	0.09	5.58	6.85	7.56	13.60
stem tip	1.6	47.6	0.08	5.90	14.82	12.94	17.52
<u>ส่วนลำต้นที่ใช้หีบ</u>							
ปล้องบนสูง 60 ซม.	14.0	69.3	0.07	1.81	130.46	6.88	9.84
ปล้องที่ 2 สูง 60 ซม.	14.8	71.3	0.06	1.45	154.88	5.38	0.08
ปล้องที่ 3 สูง 60 ซม.	17.8	73.0	0.04	1.47	181.85	3.03	4.04
ปล้องที่ 4 สูง 60 ซม.	19.3	71.1	0.03	1.30	185.10	0.06	2.80
โคนต้น	9.3	65.3	0.07	2.01	152.50	3.01	5.94
ราก**	1.3	27.2	0.00	1.28	8.76	1.25	2.50
ใบแห้ง	4.3	37.1	0.00	5.42	0.00	0.00	0.00

หมายเหตุ

* (1) แป้ง วิเคราะห์โดยวิธี iodometrically

(2) น้ำตาลที่ละลายได้วัดโดยวิธี alcohol insoluble reactant โดยวิธี phenol sulphuric acid

(3) น้ำตาลแต่ละชนิดแยก และวัดโดยใช้วิธี high pressure liquid chromatography (HPLC)

** รากไม่ได้ใช้หีบอ้อย ดังนั้นส่วนที่ติดกับ stubble เท่านั้นที่นำมาทดสอบ

ตารางที่ ก-7.2 แร่ธาตุที่เป็นส่วนประกอบของน้ำอ้อย น้ำเชื่อม และโมลาส

องค์ประกอบ	ความเข้มข้น (%ของแข็ง)			
	น้ำอ้อยรวม	น้ำอ้อยพักใส	น้ำเชื่อม	โมลาส
โปแตสเซี่ยม (K_2O)	0.4 -1.4	0.3 -1.0	0.7 -1.0	2.3 -6.5
โซเดียม (Na_2O)	0.03-0.10	0.03-0.09	0.02-0.04	0.03-0.06
ซัลเฟต (SO_3)	0.11-0.52	0.16-0.44	0.20-0.61	1.10-3.34
คลอไรด์ (Cl)	0.10-0.29	0.10-0.26	0.16-0.46	0.13-1.11
แคลเซียม (CaO)	0.17-0.32	0.27-0.55	0.35-0.37	0.86-1.64
แมกนีเซียม (MgO)	0.20-0.33	0.20-0.40	0.03-0.32	0.68-1.47
ซิลิกา (SiO_2)	0.06-0.71	0.71-0.33	0.01-0.07	0.05-1.41
ฟอสเฟต (P_2O_4)	0.01-0.40	0.02-0.08	0.01-0.02	0.04-0.07
เหล็ก (Fe_2O_3)	0.06-0.14	0.01-0.03	0.007-0.01	0.04-0.07
เถ้าซัลเฟต	3.6 -4.4	2.8 -2.9	3.1-6.5	12.0 -19.0
เถ้าที่นำไฟฟ้า (conductivity ash)	3.4 -4.4	3.7 -4.3	3.9-4.2	14.2 -17.7

หมายเหตุ (1) เถ้าซัลเฟต (sulphated ash) เผาสารตัวอย่างผสมกรดกำมะถัน

(2) เถ้านำไฟฟ้า (conductivity ash) ใช้วิธีวัดค่าความนำไฟฟ้าของสารละลายด้วยเครื่องวัดความนำไฟฟ้า (concuctivity meter)

ตารางที่ ก-7.3 เถ้านำไฟฟ้า (conductivity ash) ของลำต้นอ้อยส่วนต่าง ๆ (สายพันธุ์ P65-357)

ส่วนของลำต้น	% น้ำอ้อยที่สกัดได้	เถ้าของน้ำสกัด (mhos x 10^{-5})
leaf blade	60.0	1378
leaf sheath	38.6	1269
leaf roll	48.2	1320
stem top	47.6	927
<u>ลำต้นอ้อยที่ใช้หีบ</u>		
ปล้องบนสูง 60 ซม.	69.3	480
ปล้องที่ 2 สูง 60 ซม.	71.3	408
ปล้องที่ 3 สูง 60 ซม.	73.6	311
ปล้องที่ 4 สูง 60 ซม.	71.1	249
โคนต้น (stubble)	65.3	238
ใบแห้ง (dead leaves)	37.1	229

ตารางที่ ก-7.4 โลหะหนักที่พบในน้ำตาลทรายดิบ

ชนิดของโลหะหนัก	ปริมาณ (ppm)
เหล็ก	5.0 - 13.0
แมงกานีส	1.0 - 6.0
คอปเปอร์	0.22-1.22
สังกะสี	0.5 -1.0
โมลิบดินัม	0.08-0.30
แบเรียม	0.01-0.12
นิคเกิ้ล	0.03-0.13
โครเมียม	0.004-0.07
โคบอลท์	0.05-0.06
ตะกั่ว	0.0005-0.0006
แคดเมี่ยม	0.0002-0.001
เงิน	0.0002

ตารางที่ ก-7.5 สารให้สี สารก่อสี และองค์ประกอบอื่น ๆ ที่มีปริมาณน้อยในอ้อย และผลิตภัณฑ์จากอ้อย

Acetic acid	Malic acid	Erculin
Aconitic acid	Meraconic acid	Vanilic acid
Caffeic acid	Oleic acid	Isomaltol
Citric acid	Oxalic acid	Kaempferol
Chlorogenic acid	Palmitic acid	Maltol
p-Coumaric acid	Propionic acid	Umbilliferone
2,3-Dihydroxybenzoic acid	Quinic acid	Vanillin
3,4-Dihydroxybenzoic acid	Acetol	Salicylic acid
Feruiic acid	Butyrolactone	Shilimic acid
Fumaric acid	Coniferin	Sinapic acid
Gentisic acid	Coumarin	Succinic acid
Glycolic acid	Dihydroxybenzaldehyde	Syringic acid
p-Hydroxybenzoic acid	Dimethoxy methane	
Isobutyric acid	Dimethylformamide	
Isobutyric acid	Erculin	
Lactic acid	Hydroxymethyl furfural	
Levulinic acid	Hydroxybenzaldhyde	

ตารางที่ ก-7.6 กรดฟีนอลลิกในน้ำอ้อย และน้ำตาลทราย วิเคราะห์โดยวิธี HPLC

กรดฟีนอลิก	น้ำอ้อย (ppm)	น้ำตาลทรายดิบ (ppm)	น้ำตาลทรายบริสุทธิ์ (ppm)
Caffeic acid	15.0	2.0-15.0	trace-0.1
p-Coumaric acid	0.8	trace-2.5	trace-0.6
3,4-Dihydroxybenzoic acid	0.6	2.6-15.0	trace-0.1
2,3-Dihydroxybenzoic acid	60.0	1.0-12.0	0.8-0.2
Ferulic acid	0.1	0.1-0.1	trace
p-Hydroxybenzoic acid	0.3	trace-6.2	trace-0.2
3,4 Dihydroxybenzaldehyde	0.2	2.0-6.0	0.5-2.0

ตารางที่ ก-7.6 สารที่ระเหยได้ในอ้อย และผลิตภัณฑ์น้ำตาล

ในใบอ้อยสดที่ผ่านการให้ความร้อน

Acetaldehyde	Dimethylsulfide
Ethanol	3-Hexemol (leaf alcohol)
Acetonitrile	2,4-Hexadienol
2-Propanol	1-Hexan-2-ol
Acetone	2,4-Heptadienol

ในน้ำตาลทรายดิบ

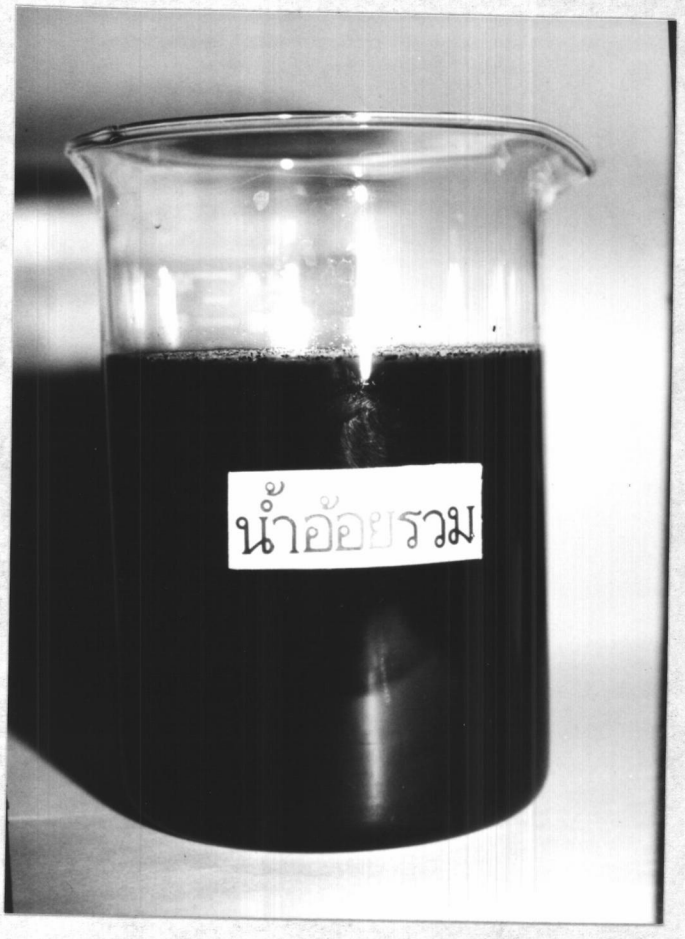
Acetaldehyde	Hexanol
Ethanol	Heptanol
Pentane	Furfural
Dimethylsulfide	2-Pentyl furan
2-Methylpropanol	Hexanol
Diacetyl	3-Hexen-1-ol
3-Methylbutanol	Nonanol
Pentanol	2,4-Nonadienol
3-Methylhexane	

ในโมลาส

Methanol	Ethyl acetate
Acetaldehyde	2-Methylbutanol
Sulfur dioxide	Dimethylfuran
Ethanol	2,3-Pentanodione
Furan	Acetoin
Carbondisulfide	Furfural
2-methyl propanal	Furfuryl alcohol
Hexane	Dimethyl pyrazine

ตารางที่ ก-7.6 สารที่ระเหยได้ในอ้อย และผลิตภัณฑ์น้ำตาล(ต่อ)

Methylfuran	2-Acetylfuran
Diacetyl	Furyl ethyl ketone
Acetone	



รูปที่ ก-7.1 น้ำอ้อยรวม

ก-8 รายละเอียดของเดกซ์แทรนเนส

เดกซ์แทรนเนสที่ใช้ในงานในงานวิจัยนี้คือ เดกซ์แทรนเนสโนโว 50 แอล (dextranasr Novo 50 L , DN 50 L)

ก-8.1 คุณสมบัติของเดกซ์แทรนเนสโนโว 50 แอล (DN 50L)

DN 50 L เป็นเดกซ์แทรนเนสจากสายพันธุ์คัดเลือกของรา *Pennicillium lilacinum* ซึ่งผลิตจากกระบวนการหมักแบบแช่ (submerged fermentation)

DN 50 L เป็นเอนไซม์ชนิดเอนโด-เดกซ์แทรนเนส ซึ่งจะย่อยพันธะ α-1,6 กลูโคซิดิกในโมเลกุลของเดกซ์แทรน ได้ผลผลิตของการย่อยสลายอยู่ในรูปของน้ำตาล isomaltose และ isomaltotriose เป็นส่วนใหญ่

DN 50 L เป็นของเหลวสีน้ำตาล มีกลิ่นของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมัก มีความหนาแน่น 1.25 กรัมต่อมิลลิลิตร และมีพีเอชอยู่ในช่วง 5-7 ความสามารถในการละลาย ละลายน้ำได้ทุกความเข้มข้นตามลักษณะการใช้งาน ความขุ่นที่เกิดขึ้นจากการเตรียมเอนไซม์นี้จะไม่มีผลต่อการใช้งาน และแอคติวิตีของเอนไซม์ การเก็บรักษาต้องเก็บในห้องเย็น อุณหภูมิ 4-12 องศาเซลเซียส โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากต้องการเก็บนานกว่า 3 เดือน

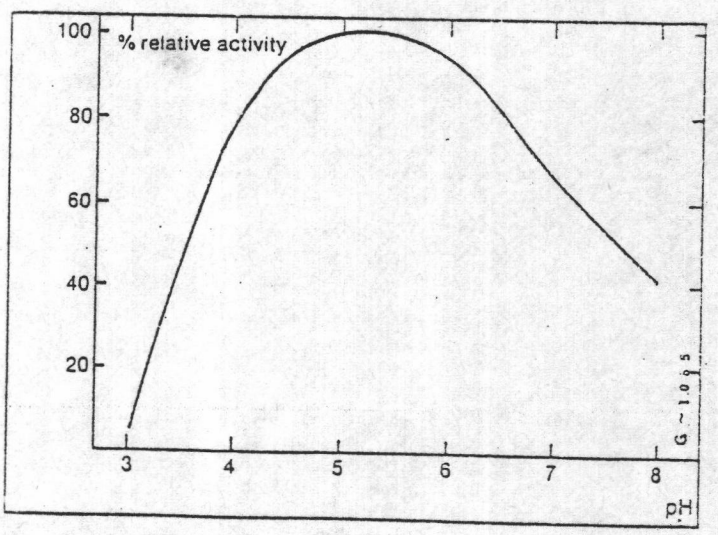
ก-8.2 การวิเคราะห์แอคติวิตี

DN 50 L มีแอคติวิตี 50 กิโลเดกซ์แทรนเนสยูนิตต่อกรัม (Kilo Dextranase Unit/gram , 50 KDU/g)

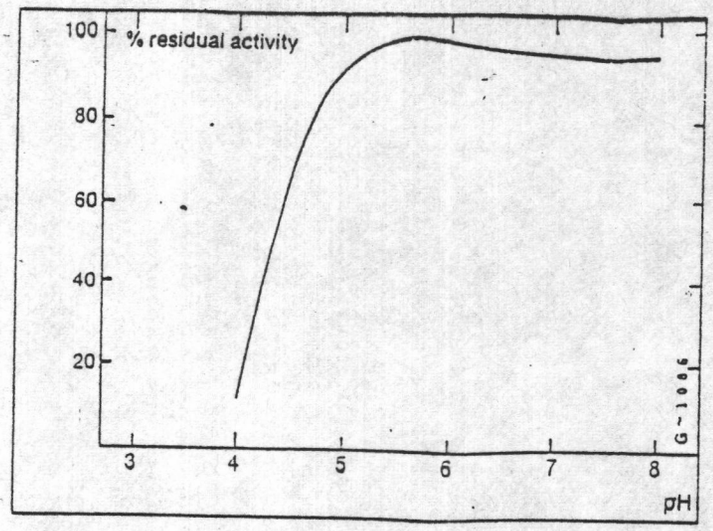
โดยกำหนดว่า 1 กิโลเดกซ์แทรนเนสยูนิต (1 KDU คือปริมาณเอนไซม์ซึ่งย่อยสลายเดกซ์แทรนไปเป็นน้ำตาลรีดิวส์ เทียบเท่า 1 กรัมของน้ำตาล maltose ต่อ 1 ชม. โดยภาวะมาตรฐานที่ใช้วิเคราะห์แอคติวิตีมีดังนี้

สับสเตรท	เดกซ์แทรน 500 (Farmacia)
เวลาการทำปฏิกิริยา	20 นาที
อุณหภูมิ	40 องศาเซลเซียส
พีเอช	5.4

พีเอช และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเดกซ์แทรนเนส และเสถียรภาพต่อพีเอชและอุณหภูมิของเดกซ์แทรนเนสแสดงดังรูป ก-8.1 , ก-8.2 และ ก-8.3 ตามลำดับ

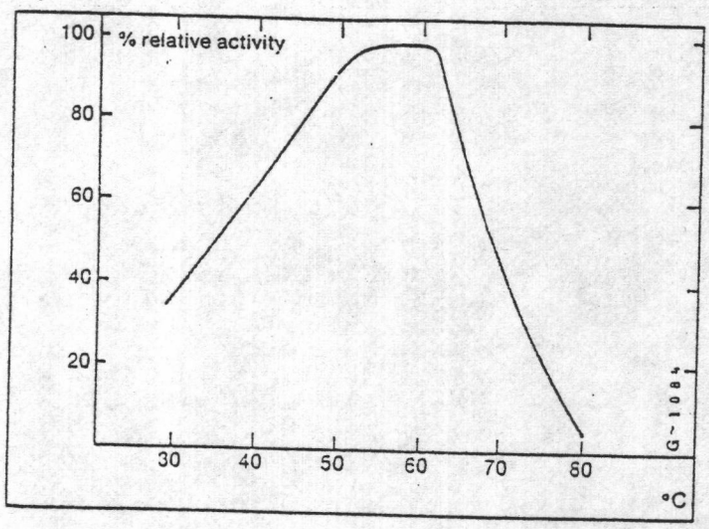


รูปที่ ก-8.1 ผลของพีเอชต่อแอคติวิตีของ DN 50 L

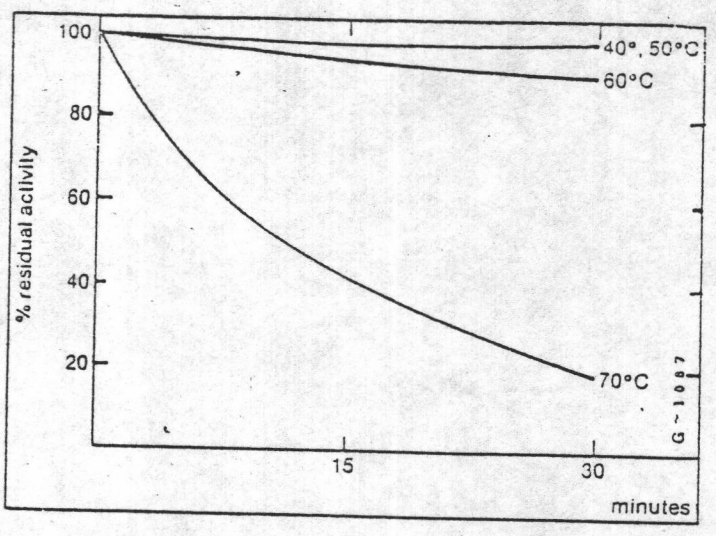


รูปที่ ก-8.2 ผลของพีเอชต่อเสถียรภาพของ DN 50 L

ความเข้มข้นของเอนไซม์	2.5 KDU/I
อุณหภูมิ	50 องศาเซลเซียส
เวลา	30 นาที



รูปที่ ก-8.3 ผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของ DN 50 L



รูปที่ ก-8.4 ผลของอุณหภูมิต่อต่อเสถียรภาพของ DN 50 L

ความเข้มข้นของเอนไซม์ 2.5 KDU/l

พีเอช 5.4

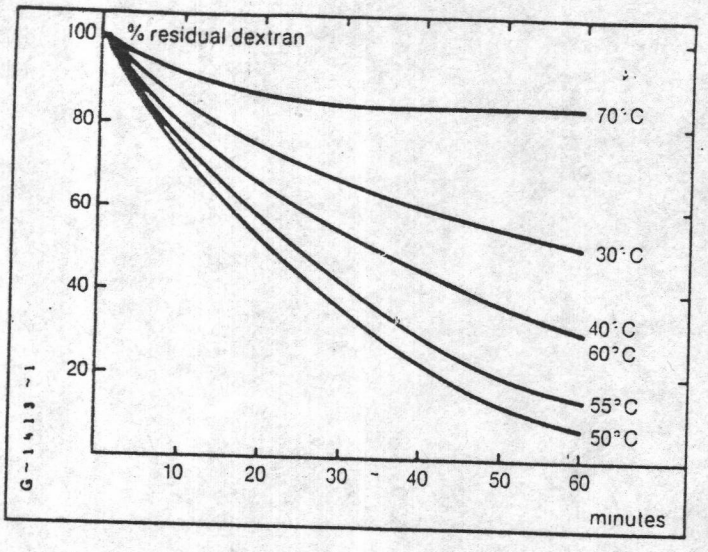
ความเข้มข้นของซูโครส 20 ร้อยละ (W/V)

ก-8.3 การย่อยสลายเดกซ์แทรนในน้ำอ้อย

ก-8.3.1 การเติมเดกซ์แทรนเนสในน้ำอ้อยรวม

การเติมขั้นตอนนี้มีข้อดีคือ สามารถกำจัดเดกซ์แทรนได้ตั้งแต่ขั้นต้นของกระบวนการผลิต และมีผลดีต่อขั้นตอนการทำน้ำอ้อยใสและการเคี่ยวระเหย การเติมในขั้นตอนนี้จะสะดวกมากขึ้น หากมี holding tank ระหว่างการให้ความร้อนน้ำอ้อยสกัดขั้นแรก และน้ำอ้อยสกัดขั้นที่สอง ซึ่งแท็งค์นี้จะช่วยจำกัดการผสมกลับระหว่างน้ำอ้อยกับเอนไซม์ด้วย

การเติม DN 50 L ลงในน้ำอ้อยรวมที่อุณหภูมิต่าง ๆ แสดงดังรูป ก-8.5

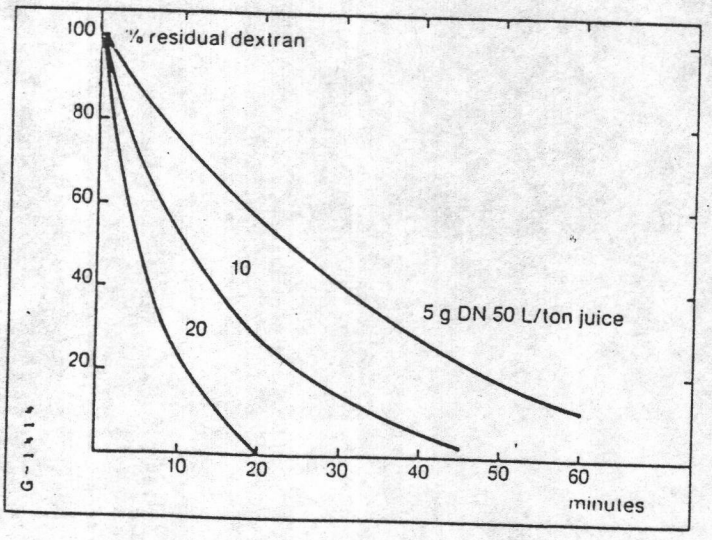


รูปที่ ก-8.5 การย่อยสลายเดกซ์แทรนในน้ำอ้อยรวมที่อุณหภูมิต่างๆ

สารละลายซูโครสความเข้มข้น	20 องศาบริกซ์
พีเอช	5.0
เดกซ์แทรน	10,000 ppm
DN 50 L	5 กรัมต่อเมตริกซ์ตันน้ำอ้อย

การวิเคราะห์ปริมาณเดกซ์แทรน ที่เวลาต่าง ๆ วิเคราะห์โดยวิธี ICUMSA-CSR Haze method

ผลของปริมาณ DN 50 L ที่ใช้ย่อยสลายเดกซ์แทรน พบว่าเมื่อใช้ DN 50 L 10 กรัม ย่อยสลายเดกซ์แทรนในน้ำอ้อย 1 เมตริกซ์ตัน ย่อยสลายเดกซ์แทรนได้ร้อยละ 85 ภายในเวลา 30 นาที



รูปที่ ก 8.6 การย่อยสลายเดกซ์แทรนที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ต่าง ๆ กัน

ความเข้มข้นของกลูโคส	20	องศาบริกซ์
พีเอช	5.5	
อุณหภูมิ	55	องศาเซลเซียส
เดกซ์แทรน	10000	ppm
DN 50 L	5-20	กรัมต่อเมตริกซ์ตันน้ำอ้อย

โดยทั่วไปถ้าพีเอชของน้ำอ้อยอยู่ในช่วง 5.0-5.5 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไม่ขึ้นกับพีเอชของน้ำอ้อย แต่พบว่าประสิทธิภาพการย่อยสลายจะลดลงเล็กน้อยถ้าเอชต่ำกว่า 4.5 โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ถ้าเวลานานกว่า 30 นาที

ดังนั้นที่เวลาน้อยกว่า 30 นาที เป็นเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ถ้าอุณหภูมิ หรือ พีเอช ขณะการย่อยสลายนั้นต่ำกว่าช่วงพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงาน ของเอนไซม์จำเป็นต้องใช้ ปริมาณเอนไซม์จำนวนมากกว่าเดิม และสำหรับน้ำอ้อยที่มีเดกซ์แทรนต่ำกว่า 10000 ppm (ต่อองศาบริกซ์) ปริมาณของ DN 50 L ที่ใช้จะต่ำลงเป็นสัดส่วน แม้ว่าประสิทธิภาพของเอนไซม์ที่สังเกตได้จากการลดลงจะมีระดับต่ำกว่าอัตราความเข้มข้นที่ใช้กับ น้ำอ้อยที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียสก็ตาม

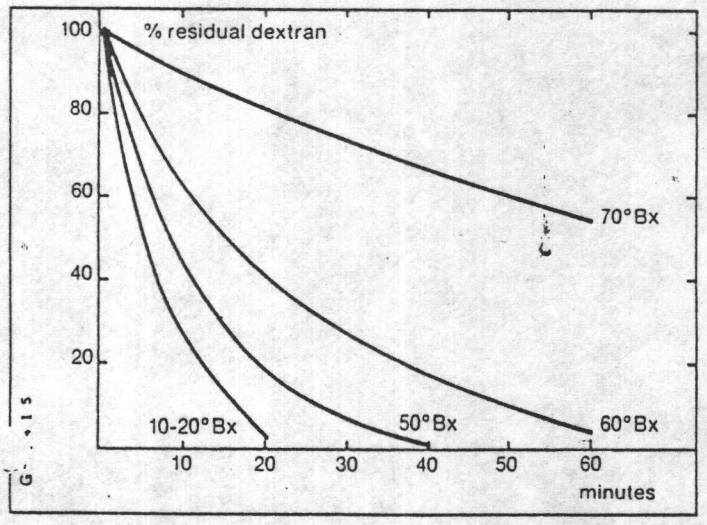
ตาราง ก-8.1 ปริมาณของ DN 50 L กรัม ต่อเมตริกตันของน้ำอ้อยที่ระดับความเข้มข้นของเดกซ์แทรน (ppm) ต่าง ๆ กัน

เวลา (นาที)	ระดับความเข้มข้นของเดกซ์แทรน (ppm)			
	2,000	5,000	10,000	15,000
15	5	10	20	30
30	2.5	5	10	15
60	1.5	2.5	5	7.5

ก-8.3.2 การเติมเดกซ์แทรนเนสในน้ำเชื่อม

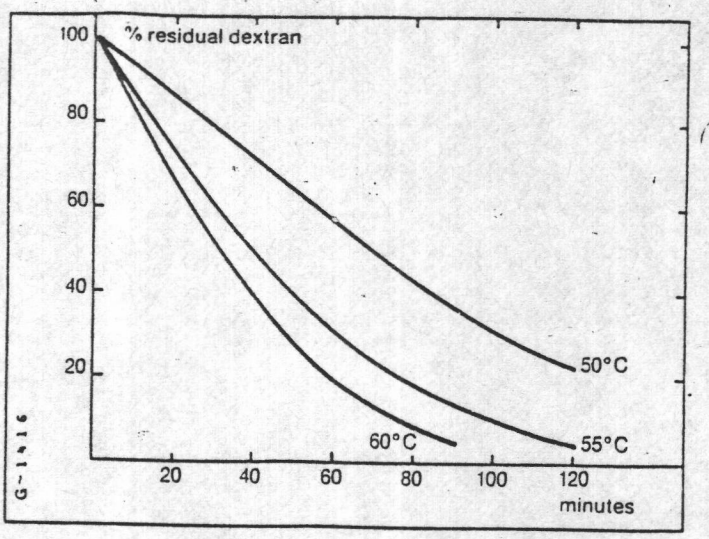
สำหรับในโรงงานที่ไม่สะดวกในการเติม DN 50 L ลงในน้ำอ้อย การกำจัดเดกซ์แทรนสามารถทำในแท๊งค์ที่ใส่น้ำเชื่อม ก่อนที่จะนำไปตกผลึก

โดยทั่วไปแอคติวิตีของเอนไซม์จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของของแข็งมากขึ้น หรือความเข้มข้นของซูโครสสูงขึ้นนั่นเอง ดังแสดงในรูป ก-8.7 ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเพิ่มระยะเวลาการย่อยสลาย หรือเพิ่มปริมาณเอนไซม์เพื่อที่จะให้เหมาะสมต่อการย่อยสลายเดกซ์แทรนในน้ำเชื่อม



รูปที่ ก-8.7 การย่อยสลายเดกซ์แทรนที่ระดับความเข้มข้นของซูโครส (Bx) ต่าง ๆ กัน

ความเข้มข้นของซูโครส	10-70	บริกซ์
พีเอช	5.5	
อุณหภูมิ	60	องศาเซลเซียส
เดกซ์แทรน	10,000	ppm
DN 50 L	100	กรัมต่อเมตริกซ์ตันของของแข็ง



รูปที่ ก-8.8 การย่อยสลายเดกซ์แทรนในน้ำเชื่อม ที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน

ความเข้มข้นของซูโครส	65	บริกซ์
พีเอช	7.0	
เดกซ์แทรน	10,000	ppm
DN 50 L	100	กรัมต่อเมตริกซ์ตันของน้ำเชื่อม

จากรูปที่ ก-8.8 การย่อยสลายเดกซ์แทรนในน้ำเชื่อม ความเข้มข้น 65 บริกซ์ ความเข้มข้นของเดกซ์แทรน 10,000 ppm ปริมาณของ DN 50 L ที่ใช้ 100 กรัม ต่อเมตริกซ์ตันของน้ำเชื่อมสามารถกำจัดเดกซ์แทรนได้ ร้อยละ 90 ภายในเวลา 90 นาที ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปแล้วปริมาณของ DN 50 L ที่ใช้เป็นสัดส่วนกลับกับเวลาของการย่อยสลาย ถึงแม้ว่าในภาวะที่มีความเข้มข้นของเดกซ์แทรนต่ำอุณหภูมิสูง ปริมาณของ DN 50 L ที่ใช้จะต่ำลงด้วย

ตามปกติ ปริมาณของ DN 50 L ที่ใช้ในน้ำเชื่อม 60-65 บริกซ์ อุณหภูมิ 55-60 องศาเซลเซียส เป็นดังตารางที่ ก-8.2

ตาราง ก-8.2 ปริมาณของ DN 50 L ที่ใช้ (กรัมต่อเมตริกซ์ตันน้ำเชื่อม) เมื่อความเข้มข้นของเดกซ์แทรนต่าง ๆ กัน

เวลาการทำปฏิกิริยา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเดกซ์แทรน (ppm)			
	2,000	5,000	10,000	15,000
1	40	75	150	225
2	20	40	75	115
4	10	20	40	60

ก-9 <u>การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์</u>

ก-9.1 การเตรียมสารละลายอะซีเตทบัฟเฟอร์พีเอช 3.7-5.6 ดังตาราง ก-9.1

X = ปริมาตรของสารละลาย $CH_3COONa.3H_2O$ เข้มข้น 0.2 โมลาร์

Y = ปริมาตรของสารละลาย CH_3COOH เข้มข้น 0.2 โมลาร์

ตาราง ก-9.1 การเตรียมสารอะซีเตทบัฟเฟอร์พีเอช 3.7-5.6 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

พีเอช	X มิลลิลิตร	Y มิลลิลิตร
3.7	10.0	90.0
3.8	12.0	88.0
4.0	18.0	82.0
4.2	26.5	73.5
4.4	37.0	63.0
4.6	49.0	51.0
4.8	59.0	41.0
5.0	70.0	30.0
5.2	79.0	21.0
5.4	86.0	14.0
5.6	91.0	9.0

ก-9.2 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 5.8-8.0 ดังตาราง ก-9.2

X = ปริมาตรของสารละลาย $Na_2HPO_4.12H_2O$ เข้มข้น 0.2 โมลาร์

Y = ปริมาตรของสารละลาย $NaH_2PO_4.2H_2O$ เข้มข้น 0.2 โมลาร์

นำสารละลาย $Na_2HPO_4.12H_2O$ จำนวน X มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย $NaH_2PO_4.2H_2O$ จำนวน Y มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

ตารางที่ ก-9.2 การเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 5.8-8.0 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

พีเอช	X มิลลิลิตร	Y มิลลิลิตร
5.8	4.0	46.0
6.0	6.15	43.8
6.2	9.25	40.75
6.4	13.25	36.75
6.6	18.75	31.25
6.8	24.5	25.5
7.0	30.5	19.5
7.2	36.0	14.0
7.4	40.5	9.5
7.6	43.5	6.5
7.8	45.75	4.25
8.0	47.35	2.65

ก-9.3 การเตรียมสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.1-10.7

ก-9.3.1 การเตรียมสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์พีเอช 8.1-9.0

ดังตาราง ก-9.3.1

X = ปริมาตรของสารละลาย HCl ความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์

นำสารละลาย $Na_2B_4O_7.10H_2O$ เข้มข้น 0.025 โมลาร์ จำนวน 50 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย HCl เข้มข้น 0.1 โมลาร์ จำนวน X มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

ตารางที่ ก-9.3.1 การเตรียมสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.1-9.0 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

พีเอช	X มิลลิลิตร
8.1	19.7
8.2	18.8
8.3	17.7
8.4	16.6
8.5	15.2
8.6	13.5
8.7	11.6
8.8	9.4
8.9	7.1
9.0	4.6

ก-9.3.2 การเตรียมสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์พีเอช 9.3-10.7 ดังตาราง ก-9.3.2

X = ปริมาตรของสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

นำสารละลาย $Na_2B_4O_7.10H_2O$ เข้มข้น 0.025 โมลาร์ จำนวน 50 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย NaOH เข้มข้น 0.1 โมลาร์ จำนวน X มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

ตารางที่ ก-9.3.2 การเตรียมสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ พีเอช 9.3-10.7 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

พีเอช	X มิลลิลิตร
9.3	3.6
9.4	6.2
9.5	8.8
9.6	11.1
9.7	13.1
9.8	15.0
9.9	16.7
10.0	18.3
10.1	19.5
10.2	20.5
10.3	21.3
10.4	22.1
10.5	22.7
10.6	23.3
10.7	23.8

ก-9.4 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 11.0-11.9 ดังตาราง ก-9.4

X = ปริมาตรของสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

นำสารละลาย Na_2HPO_4 เข้มข้น 0.5 โมลาร์ จำนวน 50 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย NaOH เข้มข้น 0.1 โมลาร์ จำนวน X มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

ตารางที่ ก-9.4 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 11.0-11.9 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

พีเอช	X มิลลิลิตร
11.0	4.1
11.1	5.1
11.2	6.3
11.3	7.6
11.4	9.1
11.5	11.1
11.6	13.5
11.7	16.2
11.8	19.4
11.9	23.0

ภาคผนวก ข

ตัวอย่างการวิเคราะห์และคำนวณข้อมูล

ข-1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล แบบสุ่มตลอดสำหรับการทดลองแบบแฟคทอเรียล 2 ปัจจัย

ทำได้โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป "Stat Pak" หรือ ใช้วิธีคำนวณดังตารางที่ ข-1

ตารางที่ ข-1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสุ่มตลอด สำหรับการทดลองแบบแฟคทอเรียล 2 ปัจจัย

$$CT = \left(\sum_{i=1}^{a} \sum_{j=1}^{b} \sum_{k=1}^{r} y_{ijk} \right)^2 / n$$

เมื่อ A และ B คือ ปัจจัยที่ศึกษา

a และ b คือ จำนวนระดับทั้งหมดของปัจจัย A และ B ตามลำดับ

r คือ จำนวนของการทำซ้ำ (replication) ของแต่ละ treatment

n คือ จำนวนข้อมูลทั้งหมด = abr

y_{ijk} คือ แต่ละระดับ ของปัจจัย A และ B ตามลำดับ

k คือ แต่ละค่าของการทำซ้ำ

คือ การรวมค่าของข้อมูลตามแนวอักษรนั้น ๆ ในทุกระดับของปัจจัย

เช่น y_{ij} หมายถึงการรวมค่าของข้อมูลที่ได้จากการทำซ้ำในแต่ละทรีทเมนต์ คอมบิเนชั่น (treatment combination) ของปัจจัย A และ B

ข-2 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี Duncan's new multiple range test สำหรับการทดลองแบบแฟคทอเรียล

การหาค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่ได้แต่ละทรีทเมนต์คอมบิเนชั่น แล้วเรียงลำดับจากน้อยไปหามาก คำนวณค่า SN = $(MSE/r)^{1/2}$ เมื่อ r คือ จำนวนการทำซ้ำ เปิดตารางหาค่า Significant studentized Range (SSR) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตั้งแต่ค่า P = 2 ถึง P = n-1 ที่ df_E (n คือ จำนวนค่าเฉลี่ยทั้งหมดที่ต้องการเปรียบเทียบ แล้วคำนวณค่า LSR = S_N X SSR จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างของเฉลี่ย แต่ละคู่กับค่า LSR ตามค่า p ถ้าผลต่างของค่าเฉลี่ยดังกล่าวนี้มากกว่า LSR แสดงว่าค่าเฉลี่ยคู่นั้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$)

ข-3 ตัวอย่างการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบสุ่มตลอด และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูล โดยวิธี Duncan's new multiple range test สำหรับการทดลองแบบแฟคทอเรียล 2 ปัจจัย

จากการทดลองในข้อกำหนดความเข้มข้นของเอพีทีเอส และกลูตารัลดีไฮด์ที่เหมาะสม โดยใช้การทดลองแบบแฟคทอเรียลขนาด 4x3

เมื่อ A คือ ความเข้มข้นของเอพีทีเอส 4 ระดับ คือ 1,3,5 และ 7 โดยปริมาตร

B คือ ความเข้มข้นของกลูตารัลดีไฮด์ 3 ระดับคือ 1,3 และ 5 โดยปริมาตร

โดยทำการทดลองสองซ้ำ

ข้อมูลการทดลองดังแสดงในตารางที่ ข-2

ตารางที่ ข-2 ข้อมูลจากการแปรความเข้มข้นของสารละลาย เอพีทีเอส และกลูตารัลดีไฮด์ต่าง ๆ กัน

ความเข้มข้น เอพีทีเอส (ร้อยละ)	ความเข้มข้นของกลูตารัลดีไฮด์ (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยแอคติวิตีต่อกรัมเดกซ์แทรนเนสตรึงรูป (ยูนิต)
1	1	99.50
	3	128.53
	5	106.50
3	1	121.91
	3	121.41
	5	130.08
5	1	139.83
	3	146.08
	5	146.40
7	1	88.66
	3	96.25
	5	90.24

ตารางที่ข-3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสุ่มตลอดโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป stat pak

ปัจจัย	df	SS	MS	ค่า F	F ตาราง
อุณหภูมิ (A)	3	8746.25	2915.417	32.46**	3.49
เวลา (B)	2	450.59	225.2969	2.50	3.88
ปัจจัยร่วม(AB)	6	682.78	113.796	1.26	3.00
Error	12	1077.68	89.80		

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีทเมนท์ ทำได้โดยคำนวณ

$$LSR = SSR \sqrt{MSE/r}$$

$$= SSR \times \sqrt{89.8/2x3}$$

$$= SSR \times 3.868$$

n, df = 12

p	2	3	4
SSR	3.08	3.23	3.33
LSR	11.91	12.49	12.88

เรียงลำดับค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีทเมนท์จากน้อยไปหามาก

APTS (%)	ค่าเฉลี่ยแอคติวิตี (ยูนิต)
1	111.51[c]
3	124.46[b]
5	144.10[a]
7	91.71[d]

ประวัติผู้เขียน

นางสาวพรทิพย์ จารุพันธ์ สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในปี พ.ศ.2531 เข้าทำงานในตำแหน่งพนักงานผลิตภัณฑ์ 4 องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค.) สังกัดกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ปี พ.ศ.2531 ถึง 2534 และเข้าศึกษาต่อ ระดับปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตั้งแต่ ปีการศึกษา 2533.