

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์วิตามินซี (2,6-dichlorophenolindophenol titrimetric method: A.O.A.C.,1990)

Ascorbic acid (ไม่มีสี) จะทำปฏิกิริยา oxidation-reduction กับ indicator dye คือ 2,6-dichlorophenolindophenol (สีน้ำเงินเข้ม) เกิดเป็นสารละลายไม่มีสี เมื่อถึง end point unreduced dye ที่เกินพอจะเป็นสีชมพูในสภาพกรด ซึ่งสภาพที่มี $\text{HPO}_3\text{-HOAc}$ หรือ $\text{HPO}_3\text{-HOAc-H}_2\text{SO}_4$ จะรักษา สภาพกรดของปฏิกิริยา และหลีกเลี่ยงการเกิด autooxidation ของ ascorbic acid ที่ pH สูง

ใช้น้ำคั้นผลมะม่วง 2 มิลลิลิตร ใส่ใน flask ที่มี metaphosphoric-acetic acid 5 มิลลิลิตร แล้วไทเทรตด้วย dichlorophenolindophenol (dye solution) จนถึง end point คือสารละลายมีสีชมพู อย่างน้อย 5 วินาที แล้วจึงคำนวณหาปริมาณวิตามินซี โดยใช้สูตร

$$\text{mg ascorbic acid}/100 \text{ ml juice} = (\text{X}-\text{B})(\text{F}/\text{E})(\text{V}/\text{Y}) \times 100$$

X = ปริมาตรของ dye solution ที่ใช้ไทเทรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรเฉลี่ยของ dye solution ที่ใช้ไทเทรตกับ blank (มิลลิลิตร)

F = mg.equivalent ascorbic acid/ 1 ml dye solution

E = ปริมาตร standard ที่ใช้ (มิลลิลิตร)

V = ปริมาตรสารละลายที่ใช้ไทเทรต (มิลลิลิตร)

Y = ปริมาตรสารละลายทั้งหมดที่ใช้ไทเทรต (มิลลิลิตร)

การเตรียมสารละลาย metaphosphoric-acetic acid

ซึ่ง metaphosphoric acid (HPO_3) 15 กรัม, ละลายในสารละลายที่มีกรดอะซิติก (HOAc) 40 มิลลิลิตรและน้ำ 200 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลาย indophenol

ละลายเกลือโซเดียมของ 2,6-dichlorophenolindophenol 50 มิลลิกรัม ในน้ำ 50 มิลลิลิตร ที่มีโซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) 42 มิลลิกรัม กวนจนละลายหมดแล้วเติมน้ำให้ครบ 200 มิลลิลิตร กรองแล้วใส่ขวดสีชาเก็บไว้ในตู้เย็น

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ละลายสาร ascorbic acid 50 มิลลิกรัม ด้วยสารละลาย $\text{HOP}_3\text{-HOAc}$ ปรับปริมาตร เป็น 50 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์คลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด
ตามวิธีดัดแปลงมาจากวิธี Wellburn 1994 Aron (1949) และ Kirk and Allen (1965)

ปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ โดยนำเปลือกมะม่วงหั่นละเอียด มาชั่งน้ำหนักสด 300 มก. แล้วใส่ลงในหลอดทดลองฝาเกลียวที่มีอะซิโตน 80% ปริมาณ 10 มล. วางบนเครื่องเขย่าที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในที่มืด นาน 72 ชั่วโมงแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 g นาน 3 นาที นำ สารละลายที่สกัดได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 480, 645, 663 และ 710 นาโนเมตร นำไป คำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ (เอ และ บี) ตามวิธีการวิเคราะห์ของ Aron (1949) และ แคโรทีนอยด์ ตามวิธีการวิเคราะห์ของ Kirk and Allen (1965) โดยคำนวณจากสูตร ดังต่อไปนี้

$$\text{Chlorophyll a } (\mu \text{ mol g}^{-1}) = \frac{12.7 (A663-A710) - 2.69 (A645-A710) \times 3.5 \times 1.119}{\text{Fresh weight (g)}}$$

$$\text{Chlorophyll b } (\mu \text{ mol g}^{-1}) = \frac{22.9 (A645-A710) - 4.68 (A663-A710) \times 3.5 \times 1.119}{\text{Fresh weight (g)}}$$

$$\text{Carotenoids } (\mu \text{ mol g}^{-1}) = \frac{(A480 + 0.114 (A663-A710) - 0.638 (A645-A710) \times 3.5 \times 1000}{112.5 \times \text{Fresh weight (g)}}$$