

ภาคผนวก

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

วิธีการ

1. อบ moisture can ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) และชั่งน้ำหนัก
2. ชั่งตัวอย่างใส่ใน moisture can ประมาณ 2 กรัม แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก
3. นำไปอบอีกครั้งที่สภาวะเดิม ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกว่าน้ำหนักจะคงที่

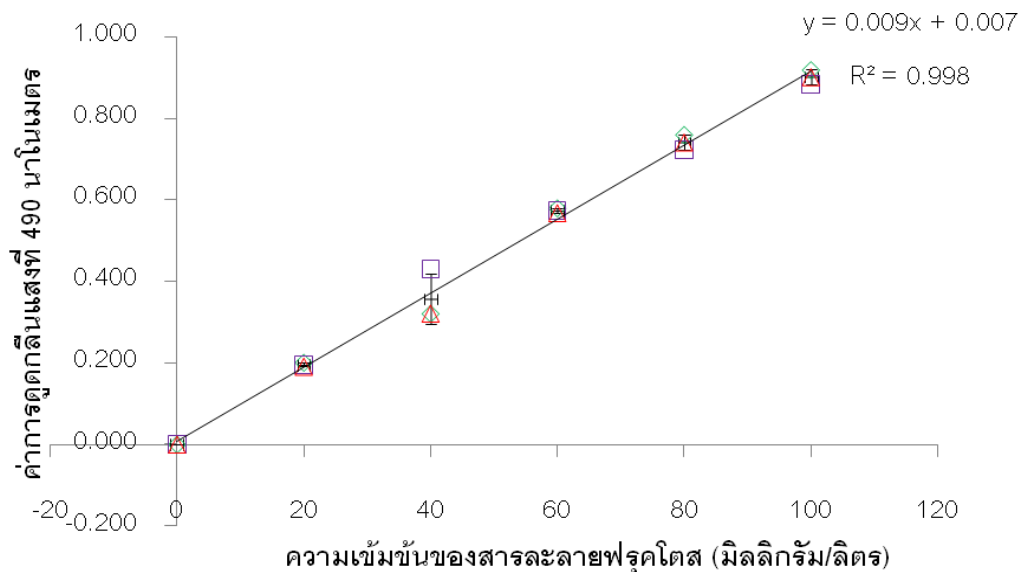
การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักแห้งตัวอย่าง (กรัม)}}$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดด้วยวิธี Phenol-sulfuric (Dubois และคณะ, 1956)

นำตัวอย่างปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 160×15 มิลลิเมตร เติมนิโอรอล (phenol) ร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอด ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ 10 นาที เมื่อครบเวลาให้นำตัวอย่างไปใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำตาลฟรุคโตสเป็นสารละลายมาตรฐาน

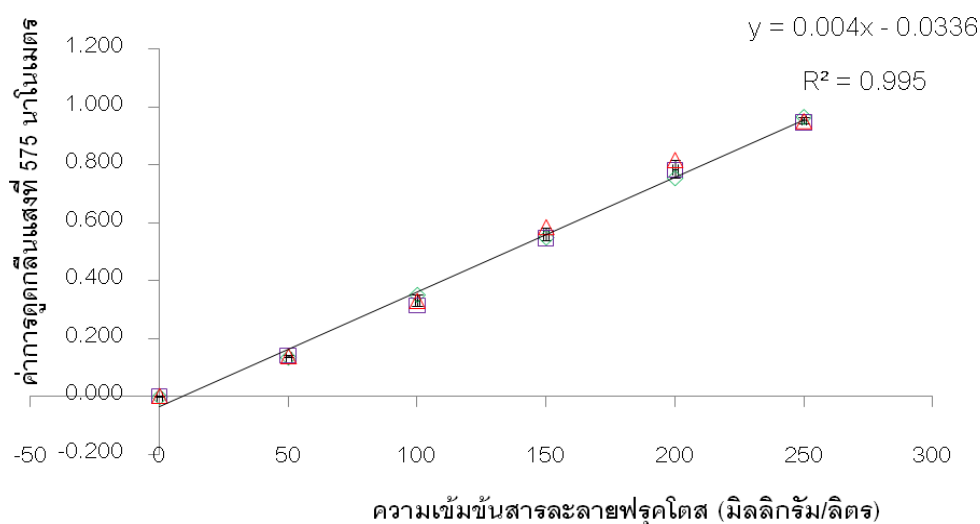
การทำกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรต ใช้ น้ำตาลฟรุคโตสเป็นสารมาตรฐาน เนื่องจากเป็นน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในแก่นตะวัน



ภาพที่ 12 กราฟมาตรฐานคาร์โบไฮเดรตที่วิเคราะห์ด้วยวิธีฟีนอลซัลฟิวริก

3. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (Miller, 1959)

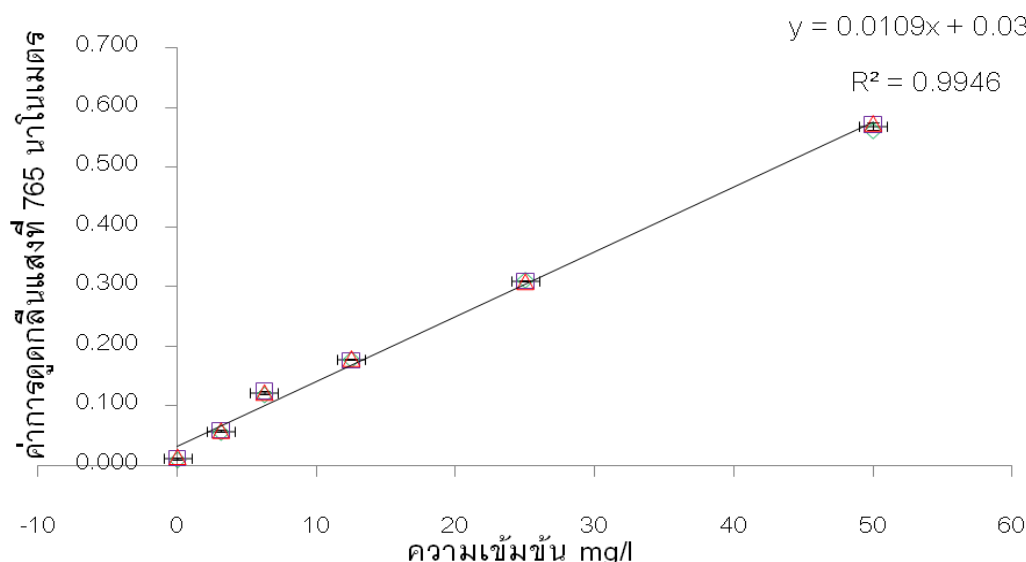
นำตัวอย่างปริมาตร 3 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 160×15 มิลลิเมตร เติม DNS ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน นำไปวางในน้ำที่มีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เมื่อครบเวลาให้นำตัวอย่างออกมาทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร โดยใช้น้ำตาลฟรุคโตสเป็นสารละลายมาตรฐาน



ภาพที่ 13 กราฟมาตรฐานน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic

4. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (Singleton และ คณะ, 1999)

นำตัวอย่างปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย Folin ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที หลังจากนั้นเติม 7.5% Na_2CO_3 ปริมาตร 1.6 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้ gallic acid เป็นสารละลายมาตรฐาน



ภาพที่ 14 กราฟมาตรฐานปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

5. การวิเคราะห์องค์ประกอบอินนูลินด้วยวิธี HPAEC (Saengthongpinit, 2005)

วิเคราะห์ด้วยเครื่อง High performance anion exchange chromatography (HPAEC) column ชนิด CarboPac 200 Analytical (Dionex, ประเทศเยอรมนี) ขนาด 4×250 มิลลิเมตร มีการใช้ตัวพาประกอบด้วยสาร 2 ชนิดคือ ตัวพา A คือ 0.15M Sodium hydroxide (NaOH) และตัวพา B คือ 0.15M Sodium hydroxide(NaOH)/0.50M Sodium acetate (NaAc) ตั้งอัตราการไหลเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตรต่อ นาที แสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 การปรับสัดส่วนของ mobile phase ที่เวลาต่างๆ

เวลา (นาที)	Eluent A (%)	Eluent B (%)
0-15	100	0
15-45	40	60
45-90	10	90
90-110	0	100
110-120	100	0

กรองตัวอย่างผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร ฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง HPAEC 25 ไมโครลิตร

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการศึกษาต่ออินนูลิน ใช้โปรแกรม SAS เวอร์ชัน 9.0 โดยนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวน เพื่อทดสอบอิทธิพลของแอมพลิจูด อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดและวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลผลการศึกษา ได้แก่ ปริมาณฟรุกโตส ปริมาณซูโครส และปริมาณอินนูลินแต่ละระดับการเกิดพอลิเมอร์ในตัวอย่าง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งในที่นี้ยกตัวอย่างการวิเคราะห์อิทธิพลของแอมพลิจูด อุณหภูมิและเวลาของอัลตราซาวด์ต่อปริมาณอินนูลินทั้งหมด

ตัวอย่างโปรแกรม SAS ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอิทธิพลต่างๆ ต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

```
data sugar;
```

```
input time rep temp amp carbo;
```

```
cards;
```

1	1	25	20	0.5854
5	1	25	20	0.5906
10	1	25	20	0.6134
1	1	25	40	0.5796
5	1	25	40	0.5776
10	1	25	40	0.7288
1	1	25	60	0.5922
5	1	25	60	0.5826
10	1	25	60	0.6929
1	1	25	80	0.6442
5	1	25	80	0.6350
10	1	25	80	0.7663
1	1	25	100	0.6615
5	1	25	100	0.6790
10	1	25	100	0.7172
1	1	80	20	0.5833
5	1	80	20	0.5977
10	1	80	20	0.7449
1	1	80	40	0.5944
5	1	80	40	0.6283
10	1	80	40	0.7770
1	1	80	60	0.6192
5	1	80	60	0.6446
10	1	80	60	0.6963
1	1	80	80	0.6646
5	1	80	80	0.7240
10	1	80	80	0.8379
1	1	80	100	0.6906

5	1	80	100	0.7687
10	1	80	100	0.7807
1	2	25	20	0.5644
5	2	25	20	0.5867
10	2	25	20	0.6574
1	2	25	40	0.5990
5	2	25	40	0.6346
10	2	25	40	0.6810
1	2	25	60	0.5887
5	2	25	60	0.6009
10	2	25	60	0.7240
1	2	25	80	0.6216
5	2	25	80	0.6473
10	2	25	80	0.7617
1	2	25	100	0.6867
5	2	25	100	0.8072
10	2	25	100	0.8138
1	2	80	20	0.5803
5	2	80	20	0.6096
10	2	80	20	0.7160
1	2	80	40	0.5992
5	2	80	40	0.6357
10	2	80	40	0.7526
1	2	80	60	0.6192
5	2	80	60	0.6595
10	2	80	60	0.8893
1	2	80	80	0.6626
5	2	80	80	0.7217
10	2	80	80	0.8249
1	2	80	100	0.7147
5	2	80	100	0.8482
10	2	80	100	0.8944

;

```
proc glm data=sugar;
```

```
class time temp amp;
```

```
model carbo=time|temp|amp;
```

```
means time|temp|amp/tukey alpha=0.05;
```

```
run;
```

```
quit;
```

ผลที่ได้จากการวิเคราะห์

The GLM Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
time	3	1 5 10
temp	2	25 80
amp	5	20 40 60 80 100

Number of observations 60

The GLM Procedure
Dependent Variable: carbo

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	29	0.38566391	0.01329876	8.33	<.0001
Error	30	0.04791942	0.00159731		
Corrected Total	59	0.43358333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	carbo Mean
0.889480	5.891652	0.039966	0.678357

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
time	2	0.18276159	0.09138080	57.21	<.0001
temp	1	0.03546829	0.03546829	22.20	<.0001
time*temp	2	0.00764479	0.00382239	2.39	0.1086
amp	4	0.13927979	0.03481995	21.80	<.0001
time*amp	8	0.01598571	0.00199821	1.25	0.3052
temp*amp	4	0.00197077	0.00049269	0.31	0.8700
time*temp*amp	8	0.00255297	0.00031912	0.20	0.9887

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
time	2	0.18276159	0.09138080	57.21	<.0001
temp	1	0.03546829	0.03546829	22.20	<.0001
time*temp	2	0.00764479	0.00382239	2.39	0.1086
amp	4	0.13927979	0.03481995	21.80	<.0001
time*amp	8	0.01598571	0.00199821	1.25	0.3052
temp*amp	4	0.00197077	0.00049269	0.31	0.8700
time*temp*amp	8	0.00255297	0.00031912	0.20	0.9887

การเผยแพร่ผลงานวิจัย

ชุตติมา วันเพ็ญ, บุษราภรณ์ งามปัญญา, สุวัฒนา พุกกะศรี, พิมพ์ชนก จตุรพิริย์ และ ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ.
(2556) ผลของการพรีทรีทเมนต์ด้วยอัลตราซาวด์ต่อการสกัดอินนูลินจากหัวแก่นตะวัน. วารสารวิจัยและ
พัฒนา มจร. ปีที่ 36 ฉบับที่ 2 (เมษายน-มิถุนายน) หน้า 249 - 258.

Chutima Wanpen and Pramote Khuwijitjaru (2012). Effect of ultrasonic pretreatment on hot
water extraction of Jerusalem artichoke. Food Innovation Asia Conference 2012, 14-15 June
2012 BITEC, Bangkok, Thailand (Poster)

ประวัติผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย นายปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ (Pramote Khuwijitjaru)
ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม
โทรศัพท์ 034-219361 โทรสาร 034-272194 e-mail:
khuwijitjaru_p@su.ac.th

ประวัติการศึกษา

- ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีที่จบ 2539
- ปริญญาโท Master of Agricultural Science, Kyoto University ประเทศญี่ปุ่น
ปีที่จบ 2544
- ปริญญาเอก Doctor of Agricultural Science, Kyoto University ประเทศญี่ปุ่น
ปีที่จบ 2547

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1. Klinchongkon, K.; Chanthong, N.; Ruchain, K.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Effect of ethanol addition on subcritical water extraction of pectic polysaccharides from passion fruit peel. Journal of Food Processing and Preservation (in press).
2. Khuwijitjaru, P.; Koomyart, I.; Kobayashi, T.; Adachi, S., Hydrolysis of konjac flour under subcritical water conditions. Chiang Mai Journal of Science (in press).
3. Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Adachi, S., Degradation kinetics of trisaccharides comprising glucose residues in subcritical water. Journal of Carbohydrate Chemistry (in press).
4. Wiboonsirikul, J.; Watanabe, Y.; Omori, A.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Antioxidative properties of stearyl ascorbate in a food matrix system. Journal of Oleo Science 2016, 65, 487-492
5. Watanabe, Y.; Khuwijitjaru, P.; Hamai, Y.; Wiboonsirikul, J.; Adachi, S., Antioxidative property of acyl ascorbate in cookies containing iron. Japan Journal of Food Engineering 2016, 17, 77 - 81.
6. Tamiya, S.; Koomyart, I.; Kobayashi, T.; Shiga, H.; Yoshii, H.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Preparation of liquid and solid seasonings with shrimp-like flavor from Isada krill under subcritical water conditions by steam injection. Food Science and Technology Research 2016, 22, 317-323.
7. Soisangwan, N.; Gao, D.-M.; Kobayashi, T.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Kinetic analysis for the isomerization of cellobiose to cellobiulose in subcritical aqueous ethanol. Carbohydrate Research 2016, 433, 67-72.
8. Soisangwan, N.; Gao, D.-M.; Kobayashi, T.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Production of lactulose from lactose in subcritical aqueous ethanol. Journal of Food Process Engineering 2016, DOI: 10.1111/jfpe.12413.
9. Rungpichayapichet, P.; Mahayothee, B.; Nagle, M.; Khuwijitjaru, P.; Müller, J., Robust NIRS models for non-destructive prediction of fruit ripeness and quality in mango. Postharvest Biology and Technology 2016, 111, 31-40.

10. Mahayothee, B.; Koomyart, I.; Khuwijitjaru, P.; Siriwongwilaichat, P.; Nagle, M.; Müller, J., Phenolic compounds, antioxidant activity, and medium chain fatty acids profiles of coconut water and meat at different maturity stages. *International Journal of Food Properties* 2016, 19, 2041-2051.
11. Koomyart, I.; Nagamizu, H.; Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Shiga, H.; Yoshii, H.; Adachi, S., Using severity factor as a parameter to optimize krill treatment under subcritical water conditions. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 2016, DOI:10.1080/09168451.2016.1204220.
12. Koomyart, I.; Nagamizu, H.; Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Shiga, H.; Yoshii, H.; Adachi, S., Direct treatment of Isada krill under subcritical water conditions to produce seasoning with shrimp-like flavor. *Food Technology and Biotechnology* 2016, DOI: 10.17113/ftb.54.03.16.4271.
13. Khuwijitjaru, P., Utilization of plant-based agricultural waste by subcritical water treatment *Japan Journal of Food Engineering* 2016, 17, 33-39.
14. Wiboonsirikul, J.; Nakata, Y.; Kobayashi, T.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Degradation of disaccharides containing two glucose units in subcritical water. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering* 2015, 10, 681-686.
15. Rungpichayapichet, P.; Mahayothee, B.; Khuwijitjaru, P.; Nagle, M.; Müller, J., Non-destructive determination of β - carotene content in mango by NIR spectroscopy compared with colorimetric measurements. *Journal of Food Composition and Analysis* 2015, 38, 32-41.
16. Koomyart, I.; Nagamizu, H.; Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Shiga, H.; Yoshii, H.; Adachi, S., Compositions, flavour and antiradical properties of products from subcritical water treatment of raw Isada krill. *International Journal of Food Science and Technology* 2015, 50, 1632-1639.
17. Klinchongkon, K.; Khuwijitjaru, P.; Wiboonsirikul, J.; Adachi, S., Extraction of oligosaccharides from passion fruit peel by subcritical water treatment. *Journal of Food Process Engineering* 2015, doi:10.1111/jfpe.12269.
18. Koomyart, I.; Nagamizu, H.; Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Shiga, H.; Yoshii, H.; Adachi, S., Subcritical water treatment for producing seasoning from semidried Isada krill. *Journal of Food Process Engineering* 2014, 37, 567-574.
19. Khuwijitjaru, P.; Suaylam, B.; Adachi, S., Degradation of caffeic acid in subcritical water and on-line HPLC-DPPH assay of degradation products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2014, 62, 1945-1949.
20. Khuwijitjaru, P.; Pokpong, A.; Klinchongkon, K.; Adachi, S., Production of oligosaccharides from coconut meal by subcritical water treatment. *International Journal of Food Science and Technology* 2014, 49, 1946-1952.
21. Khuwijitjaru, P.; Plernjit, J.; Suaylam, B.; Samuhaseneetoo, S.; Pongsawatmanit, R.; Adachi, S., Stability of some phenolic compounds in subcritical water and radical scavenging activity of their degradation products. *Can. J. Chem. Eng.* 2014, 92, 810-815.
22. Wiboonsirikul, J.; Mori, M.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Properties of extract from okara by its subcritical water treatment. *International Journal of Food Properties* 2013, 16, 974-982.
23. Wanpen, C.; Ngampanya, B.; Pruksasri, S.; Jaturapiree, P.; Khuwijitjaru, P., The effect of ultrasonic pretreatment on inulin extraction from Jerusalem artichoke tuber. *KMUTT Research and Development Journal* 2013, 36, 261-270.
24. Murayama, Y.; Wiboonsirikul, J.; Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Adachi, S., Antioxidant characteristics of extracts from cereal residues by their subcritical water treatment. *Journal of Oleo Science* 2012, 61, 465-468.

25. Khuwijitjaru, P.; Watsanit, K.; Adachi, S., Carbohydrate content and composition of product from subcritical water treatment of coconut meal. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 2012, 18, 225-229.
26. Khuwijitjaru, P.; Sayputikasikorn, N.; Samuhasaneetoo, S.; Penroj, P.; Siriwongwilaichat, P.; Adachi, S., Subcritical water extraction of flavoring and phenolic compounds from cinnamon bark (*Cinnamomum zeylanicum*). *Journal of Oleo Science* 2012, 61, 349-355.
27. Leelayuwapan, H.; Hiangratch, K.; Liangpaiboon, T.; Khuwijitjaru, P.; Boonyarattanakalin, S. In Identification of Products Obtained from Subcritical Water Hydrolysis of Coconut Meal, PACCON2011, Thailand, 2011; Thailand, 2011; pp 124-127.
28. Khuwijitjaru, P.; Yuenyong, T.; Pongsawatmanit, R.; Adachi, S., Effects of ferric chloride on thermal degradation of γ -oryzanol and oxidation of rice bran oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* 2011, 113, 652-657.
29. Khuwijitjaru, P.; Anantanasuwong, P.; Adachi, S., Emulsifying and foaming properties of defatted soy meal extracts obtained by subcritical water treatment. *International Journal of Food Properties* 2011, 14, 9-16.
30. Khuwijitjaru, P.; Suthasirisup, T., Properties of breader prepared from rice flour. *KKU Research Journal* 2010, 15, 965-972.
31. Khuwijitjaru, P.; Yuenyong, T.; Pongsawatmanit, R.; Adachi, S., Degradation kinetics of gamma-oryzanol in antioxidant-stripped rice bran oil during thermal oxidation. *Journal of Oleo Science* 2009, 58, 491-497.
32. Khuwijitjaru, P.; Wanpen, C.; Mala, T.; Ariyakriangkrai, M.; Adachi, S., Effect of subcritical water pretreatment on enzymatic digestibility of rice straw, corn stover and sugar cane bagasse. *KKU Research Journal* 2009, 14, 1084-1090 (in Thai).
33. Khuwijitjaru, P.; Chalooddong, K.; Adachi, S., Phenolic content and radical scavenging capacity of kaffir lime fruit peel extract obtained by pressurized hot water extraction. *Food Science and Technology Research* 2008, 14, 1-4.
34. Wiboonsirikul, J.; Khuwijitjaru, P.; Kimura, Y.; Morita, H.; Tsuno, T.; Adachi, S., Production optimization of the extract with high phenolic content and radical scavenging activity from defatted rice bran by subcritical water treatment. *Japan Journal of Food Engineering* 2007, 8, 311-315.
35. Khuwijitjaru, P.; Nualchan, P.; Adachi, S., Foaming and emulsifying properties of rice bran extracts obtained by subcritical water treatment. *Silpakorn University Science and Technology Journal* 2007, 1, 7-12.
36. Fujii, T.; Khuwijitjaru, P.; Kimura, Y.; Adachi, S., Decomposition kinetics of monoacyl glycerol and fatty acid in subcritical water under temperature-programmed heating conditions. *Food Chemistry* 2006, 94, 341-347.
37. Khuwijitjaru, P.; Taengtieng, N.; Changprasit, S., Degradation of gamma-oryzanol in rice bran oil during heating: An analysis using derivative UV-spectrophotometry. *Silpakorn University International Journal* 2004, 4, 154-165.
38. Khuwijitjaru, P.; Kimura, Y.; Matsuno, R.; Adachi, S., Solubility of oleic and linoleic acids in subcritical water. *Food Science and Technology Research* 2004, 10, 261-263.
39. Khuwijitjaru, P.; Kimura, Y.; Matsuno, R.; Adachi, S., Preparation of finely dispersed O/W emulsion from fatty acid solubilized in subcritical water. *Journal of Colloid and Interface Science* 2004, 278, 192-197.

40. Khuwijitjaru, P.; Fujii, T.; Adachi, S.; Kimura, Y.; Matsuno, R., Kinetics on the hydrolysis of fatty acid esters in subcritical water. *Chemical Engineering Journal* 2004, 99, 1-4.
41. Khuwijitjaru, P. Solubility of fatty acids and hydrolysis of their esters in subcritical water. Dissertation, Kyoto University, Kyoto, 2004.
42. Khuwijitjaru, P.; Adachi, S.; Matsuno, R., Solubility of saturated fatty acids in water at elevated temperatures. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 2002, 66, 1723-1726.