ภาคผนวก ที่ 1

อาหารเลี้ยงเชื้อ

ภาคผนวก ที่ 1
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Potato dextrose agar (PDA)

Potato	200	กรัม
Glucose	20	กรัม
Agar	20	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

ปลอกเปลือกมันฝรั่งแล้วนำมาหั่นเป็นแบบสี่เหลี่ยมลูกเต๋าด้านละประมาณ 1 เซนติเมตรจากนั้นนำมันฝรั่งที่ได้ไปต้มกับน้ำกลั่นปริตรมาตร 1000 มิลลิลิตร จนเดือดประมาณ 5–10 นาที่ จากนั้นกรองเอาแต่น้ำเติม glucose และผงวุ้น นำไปต้มต่อจนส่วนผสมละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ทำให้ปลอดเชื้อโดยนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma reesei*

Urea	0.3	กรัม
$(NH4)_2SO_4$	1.4	กรัม
KH_2PO_4	2.0	กรัม
$CaCl_2.2H_2O$	0.4	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.3	กรัม
Peptone	0.75	กรัม
Yeast extract	0.25	กรัม
$FeSO_4.7H_2O$	5.0	มิลลิกรัม
$MnSO_4.4H_2O$	1.6	มิลลิกรัม
$ZnSO_4.7H_2O$	1.4	มิลลิกรัม
$COCl_2.6H_2O$	20.0	มิลลิกรัม
Cellulose powder	7.5	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นนำไปให้ความร้อนจนส่วนผสมต่างๆ ละลายเป็นเนื้อเดียวกันทำให้ปลอดเชื้อโดยนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15นาที

3. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ *Zymomonas mobilis*

Glucose	20	กรัม
Yeast extract	5.0	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นนำไปให้ความร้อนจนส่วนผสมต่าง ๆ ละลายเป็นเนื้อเดียวกันทำให้ปลอดเชื้อโดยนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. สูตรการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับกระบวนการหมักโดยเชื้อรา *Trichoderma reesei*

ซังข้าวโพด	15	เปอร์เซ็นต์
Urea	0.3	กรัม
$(NH4)_2SO_4$	1.4	กรัม
KH_2PO_4	2.0	กรัม
$CaCl_2.2H_2O$	0.4	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.3	กรัม
Peptone	0.75	กรัม
Yeast extract	0.25	กรัม
$FeSO_4.7H_2O$	5.0	มิลลิกรัม
$MnSO_4.4H_2O$	1.6	มิลลิกรัม
$ZnSO_4.7H_2O$	1.4	มิลลิกรัม
$COCl_2.6H_2O$	20.0	มิลลิกรัม
Cellulose powder	7.5	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นนำไปให้ความร้อนจนส่วนผสมต่าง ๆ ละลายเป็นเนื้อเดียวกันทำให้ปลอดเชื้อโดยนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ที่ 2

วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี

ภาคผนวก ที่ 2
วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี

1. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยการใช้ 3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS) Reagent

1.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

1.1.1 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 นอร์มอล์ ปริมาตร 200 มิลลิลตร เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 16 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 50 มิลลิลิตร

1.1.2 สารละลาย dinitrosalicylic acid เตรียมโดยละลาย 3,5-Dinitrosalicylic acid ปริมาณ 10 กรัม ลงในสารละลาย 2 นอร์มอล์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้ดังข้อที่ 1.1.1 จากนั้นเติมโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรด (sodium potassium tartrate) ปริมาตร 300 มิลลิลิตร นำไปอุ่นแล้วคนจนละลายหมด เติมน้ำให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 1000 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

1.2 วิธีการเตรียมกราฟมาตรฐาน (Standard curve)

1.2.1เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเตรียมโดยชั่งกลูโคสมา 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร

1.2.2 นำสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่เตรียมไว้ดังข้อที่ 1.2.1 ไปวิเคราะห์โดยดูดสารละลายกลูโคส (สารละลายมาตรฐาน) ดังกล่าวปริมาตร 0.1–1.0 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองและเติมน้ำกลั่นจนครบ 1 มิลลิลิตร

1.2.3 เติมสารละลาย DNS 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที

1.2.4 ทำให้เย็นอย่างรวดเร็วโดยการนำหลอดทดลองมาแช่ในน้ำแข็งที่ละลายประมาณ 5 นาที หรือใส่ในอ่างน้ำที่เปิดให้น้ำไหลตลอดเวลา

1.2.5 เติมน้ำกลั่นลงไปในหลอดทดลองอีก 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

1.2.6 สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับค่าความเข้มข้นต่างๆ ของสารละลายกลูโคส

1.3 วิธีการวิเคราะห์สารตัวอย่าง

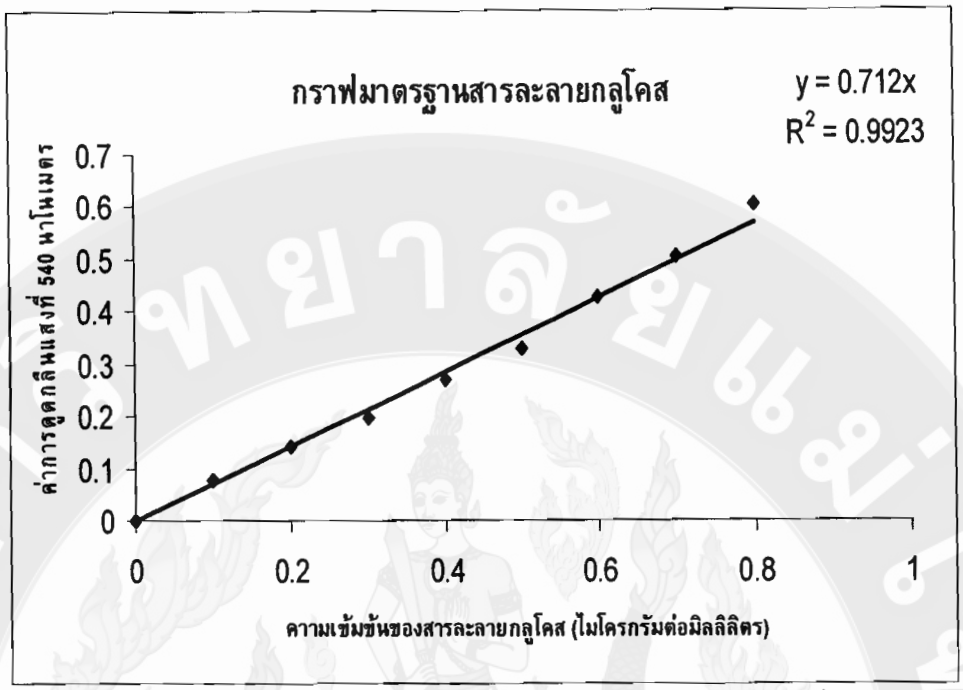
1.3.1 ดูดสารละลายตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มา 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง สำหรับ blank ใช้น้ำกลั่นหรือน้ำปราศจากไอออนแทน

1.3.2 เติมสารละลาย DNS 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที

1.3.3 เติมน้ำกลั่นลงไปในหลอดทดลองอีก 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน

ตารางที่ 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน(%w/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ (A_{540})
0.0	0.078
0.1	0.139
0.2	0.195
0.3	0.268
0.4	0.328
0.5	0.425
0.6	0.502
0.7	0.601



ภาพที่ 1 แสดงกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS

การคำนวณ

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (%) = $\frac{A_{540} \times \text{dilution}}{\text{slop}}$

2. การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของเอนไซม์เซลลูเลส

2.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

สารละลาย 0.05 โมล่าร์ ซิเตรทบัฟเฟอร์ พีเอช 4.8 เตรียมโดย ชั่ง citric acid 10.505 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตรให้เป็นสาร A จากนั่นชั่ง sodium citrate 14.705 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตรให้เป็นสาร B จากนั้นดูดสาร A มา 11.5 มิลลิลิตร และสาร B มา 13.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.2 วิธีการวิเคราะห์สารตัวอย่าง

เติมสารละลาย 0.05 โมล่าร์ ซิเตรทบัฟเฟอร์ พีเอช 4.8 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองดัดกระดาษกรองเป็นชิ้นขนาด 1×6 เซนติเมตร (50 มิลลิกรัม) ใส่ลงไปและนำไปเขย่าด้วยเครื่องผสม (mixer) เพื่อให้กระดาษกรองขดเป็นเกลียวอยู่ในบัฟเฟอร์ หลังจากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์ 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง นำไปบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง ทำการหยุดปฏิกิริยาโดยนำไปต้มในเครื่องอังไอน้ำ นาน 5 นาที และนำไปวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

2.3 การคำนวณประสิทธิภาพการย่อยกระดาษกรอง

เนื่องจาก

$$A_F = E_g F_g$$

ฉะนั้น

$$G_F = \frac{A_F}{E_g} = \frac{A_F}{1.066 \times 10^{-3}}$$

เมื่อ

G_F = ความเข้มข้นของกลูโคสในหน่วยไมโครโมล่าร์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยกระดาษกรอง

A_F = แอบซอร์แบนด์ของกลูโคสในส่วนที่เกิดจากการย่อยกระดาษกรอง

E_g = 1.066×10^{-3}

สมการข้างต้นนี้ นำไปใช้หาความเข้มข้นของกลูโคสในหน่วยไมโครโมล่าร์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยกระดาษกรอง และนำไปวิเคราะห์หาประสิทธิภาพการย่อยกระดาษกรองอีกที่หนึ่ง

1 หน่วยเอนไซม์ คือปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสับสเตรทให้เป็นกลูโคส 1 ไมโครโมลในเวลา 1 ชั่วโมง ในสภาพที่ทดสอบ

สารละลาย 1000 มิลลิลิตรมีกลูโคส = G_F ไมโครโมล

สารละลาย 1.5 มิลลิลิตร มีกลูโคส = $\frac{G_F \times 1.5}{1000}$ ไมโครโมล

ปริมาณเอนไซม์ 0.5 มิลลิลิตร ได้กลูโคส = $\frac{G_F \times 1.5}{1000}$ ไมโครโมล

ปริมาณเอนไซม์ 1 มิลลิลิตร ได้กลูโคส = $\frac{G_F \times 1.5}{1000 \times 0.5}$ ไมโครโมล

= $G_F \times 3 \times 10^{-3}$ หน่วย

3. การวิเคราะห์แอลกอฮอล์โดยใช้ Pycnometer (AOAC)

3.1. วัสดุอุปกรณ์

1. ชุดกลั่น (distillation apparatus)
2. Pycnometer
3. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
4. พาสเจอร์ปิเปต (pasture pipet)
5. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

6 กระบอกกดวง (cylinder)

7. ลูกแก้ว (glass beads)

3.2. สารเคมี

1. น้ำกลั่น

3.3. วิธีการทดลอง

3.3.1. ใส่ตัวอย่าง 250 มิลลิลิตรลงในขวดก้นกลม (ขวดกลั่น) แล้วปิดจุกจากนั้นให้ความร้อนโดยตรง (direct heating) สังเกตดูว่าสารที่ต้องการกลั่นอย่าให้เดือดมาก ควรใส่ boiling chip ด้วยเพื่อป้องกันการกระเด็น เก็บสารละลายที่กลั่นได้ (distillates) ประมาณ 150 มิลลิลิตร ก็หยุดการกลั่น จากนั้นจะนำไปหาความถ่วงจำเพาะ (specific gravity) ต่อไป

3.3.2. นำ Pycnometer ขนาด 50 หรือ 100 มิลลิลิตร ไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนกระทั่ง Pycnometer มีน้ำหนักคงที่ เก็บในโถดูดความชื้น

3.3.3. ทำการชั่งน้ำหนัก Pycnometer ที่เก็บไว้ในโถดูดความชื้น บันทึกค่าที่ได้

3.3.4. นำสารละลายที่กลั่นได้มาใส่ใน Pycnometer จนมีปริมาณถึงขีดวัดปริมาตร แล้วชั่งหาน้ำหนักโดยทำควบคู่กับน้ำกลั่นด้วย (จดอุณหภูมิบน Pycnometer ด้วย) นำค่าน้ำหนัก Pycnometer เปล่า ๆ มาลบออกจะได้ค่าน้ำหนักแอลกอฮอล์ และน้ำ นำมาหาค่าความถ่วงจำเพาะ ตามสูตรดังต่อไปนี้

Pycnometer + น้ำกลั่น = Y

Pycnometer + ตัวอย่าง = Z

Pycnometer = X

ดังนั้นความถ่วงจำเพาะของตัวอย่าง $= \frac{Z - X}{Y - X}$

นำค่าที่ได้ไปเปิดตารางเพื่อหาปริมาณแอลกอฮอล์เป็นร้อยละ ณ อุณหภูมิที่ทำการ

ภาคผนวก ที่ 3

ผลการทดลอง

ภาคผนวก ที่ 3
ผลการทดลอง

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยซังข้าวโพดที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้เชื้อรา *T. reesei*

ความเข้มข้นของซังข้าวโพด (%w/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ (A_{540}) อัตราการเจือจาง 10 เท่า				ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (%w/v)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
1	0.026	0.027	0.027	0.027	0.379
3	0.063	0.061	0.062	0.062	0.871
5	0.068	0.070	0.069	0.069	0.969
7	0.073	0.070	0.075	0.073	1.025
9	0.074	0.082	0.079	0.078	1.096
11	0.098	0.112	0.118	0.109	1.531
13	0.214	0.208	0.207	0.209	2.935
15	0.227	0.209	0.226	0.221	3.104

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยซังข้าวโพดที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้เชื้อรา *T. reesei*

ความเข้มข้นของซังข้าวโพด (%w/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ (A_{540}) อัตราการเจือจาง 10 เท่า				ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (%w/v)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
1	0.031	0.029	0.028	0.029	0.407
3	0.056	0.055	0.055	0.055	0.772
5	0.060	0.061	0.060	0.060	0.843
7	0.089	0.090	0.087	0.089	1.250
9	0.080	0.093	0.098	0.090	1.264
11	0.114	0.116	0.998	0.110	1.545
13	0.201	0.205	0.194	0.200	2.809
15	0.252	0.258	0.258	0.256	3.596

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยซังข้าวโพดที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้เชื้อรา *T. reesei*

ความเข้มข้นของซังข้าวโพด (%w/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ (A_{540}) อัตราการเจือจาง 10 เท่า				ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (%w/v)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
1	0.025	0.027	0.025	0.026	0.365
3	0.052	0.054	0.052	0.053	0.744
5	0.055	0.052	0.055	0.054	0.758
7	0.090	0.090	0.089	0.090	1.264
9	0.088	0.093	0.098	0.093	1.306
11	0.125	0.131	0.137	0.131	1.840
13	0.203	0.169	0.149	0.174	2.444
15	0.190	0.230	0.213	0.211	2.963

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเอนไซม์ของน้ำหมักที่ความเข้มข้นของซังข้าวโพดที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้เชื้อรา *T. reesei*

ความเข้มข้นของซังข้าวโพด (%w/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ (A_{540}) อัตราการเจือจาง 10 เท่า				ปริมาณเอนไซม์ (หน่วย)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
1	0.007	0.007	0.009	0.008	0.23
3	0.012	0.010	0.013	0.012	0.34
5	0.017	0.016	0.018	0.017	0.48
7	0.022	0.023	0.025	0.023	0.65
9	0.028	0.030	0.029	0.029	0.82
11	0.034	0.034	0.036	0.035	0.98
13	0.039	0.040	0.042	0.040	1.13
15	0.043	0.042	0.045	0.043	1.21

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเอนไซม์ของน้ำหมักที่ความเข้มข้นของซังข้าวโพดที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้เชื้อรา *T. reesei*

ความเข้มข้นของซังข้าวโพด (%w/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ (A_{540}) อัตราการเจือจาง 10 เท่า				ปริมาณเอนไซม์ (หน่วย)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
1	0.009	0.010	0.009	0.009	0.25
3	0.011	0.010	0.011	0.011	0.31
5	0.017	0.017	0.016	0.017	0.48
7	0.024	0.020	0.017	0.020	0.56
9	0.021	0.024	0.017	0.021	0.59
11	0.031	0.033	0.034	0.033	0.93
13	0.038	0.043	0.045	0.042	1.18
15	0.043	0.046	0.045	0.045	1.27

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเอนไซม์ของน้ำหมักที่ความเข้มข้นของซังข้าวโพดที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้เชื้อรา *T. reesei*

ความเข้มข้นของซังข้าวโพด (%w/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ (A_{540}) อัตราการเจือจาง				ปริมาณเอนไซม์ (หน่วย)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
1	0.006	0.006	0.008	0.007	0.20
3	0.013	0.013	0.012	0.013	0.36
5	0.019	0.019	0.018	0.019	0.53
7	0.021	0.021	0.022	0.021	0.59
9	0.0288	0.029	0.028	0.028	0.79
11	0.035	0.035	0.035	0.035	0.98
13	0.038	0.036	0.039	0.038	1.07
15	0.045	0.044	0.043	0.044	1.24

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์หาน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำหมักที่ความเข้มข้นของซังข้าวโพด 15 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาต่างๆ โดยใช้เชื้อรา *T. reesei*

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ (A_{540}) อัตราการเจือจาง 10 เท่า				ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (%w/v)	pH
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย		
0	0.096	0.096	0.097	0.096	1.348	4.80
6	0.095	0.103	0.105	0.101	1.420	4.82
12	0.105	0.098	0.100	0.101	1.420	4.83
18	0.120	0.096	0.091	0.102	1.433	4.85
24	0.137	0.145	0.140	0.141	1.980	4.84
30	0.212	0.192	0.206	0.203	2.851	4.82
36	0.230	0.231	0.232	0.231	3.244	4.79
42	0.245	0.234	0.225	0.235	3.300	4.80
48	0.261	0.251	0.237	0.250	3.511	4.78
54	0.242	0.253	0.260	0.252	3.540	4.77
60	0.254	0.260	0.255	0.256	3.600	4.79
66	0.285	0.283	0.266	0.278	3.900	4.81
72	0.329	0.311	0.249	0.311	4.368	4.82

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเอนไซม์ของน้ำหมักที่ความเข้มข้นของซังข้าวโพด 15 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาต่างๆ โดยใช้เชื้อรา *T. reesei*

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ (A_{540}) อัตราการเจือจาง 10 เท่า				ปริมาณเอนไซม์ (หน่วย)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
0	0.073	0.070	0.075	0.073	2.054
6	0.082	0.086	0.086	0.081	2.280
12	0.074	0.080	0.100	0.085	2.392
18	0.086	0.086	0.086	0.086	2.420
24	0.099	0.103	0.110	0.104	2.927
30	0.124	0.132	0.133	0.130	3.658
36	0.138	0.133	0.135	0.135	3.799
42	0.134	0.134	0.140	0.136	3.827
48	0.140	0.139	0.143	0.141	3.968
54	0.153	0.149	0.145	0.149	4.193
60	0.151	0.148	0.151	0.150	4.221
66	0.166	0.157	0.152	0.158	4.446
72	0.166	0.158	0.175	0.166	4.672

ตารางที่ 9 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เอทานอล ของน้ำหมักที่ความเข้มข้นของซังข้าวโพด 15 เปอร์เซ็นต์ที่เวลาต่างๆ ในถังหมัก โดยใช้เชื้อ *Z. mobilis*

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (%w/v) อัตราการเจือจาง 10 เท่า				ความถ่วงจำเพาะ	แอลกอฮอล์ (%v/v)	pH
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย			
0	4.368	4.370	4.370	4.368	1.000000	0.000	6.00
12	4.000	4.000	3.999	4.000	0.999358	0.431	6.01
24	3.523	3.520	3.520	3.521	0.998191	1.230	5.98
36	2.898	2.897	2.898	2.898	0.997927	1.410	5.99
48	2.588	2.589	2.590	2.589	0.997618	1.620	6.00
60	2.213	2.211	2.214	2.213	0.997134	1.950	5.97
72	0.988	0.986	0.986	0.987	0.996643	2.331	5.95
84	1.876	1.878	1.880	1.878	0.996659	2.320	5.96
96	0.882	0.884	0.885	0.884	0.996646	2.329	5.99

ตารางที่ 10 แสดงเส้นผ่านศูนย์ลางของเม็ดเจล

เม็ดที่	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (มิลลิเมตร)
1	3.5
2	4.5
3	4.0
4	4.5
5	4.0
6	4.0
7	4.0
8	4.5
9	5.0
10	3.5

ภาคผนวก ที่ 4

ตารางเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

ภาคผนวก ที่ 4
ตารางเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ปริมาตรต่อปริมาตรเทียบกับความถ่วงจำเพาะที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

ความถ่วงจำเพาะ	แอลกอฮอล์ (%v/v)	ความถ่วงจำเพาะ	แอลกอฮอล์ (%v/v)
1.00000	0.00	0.98530	11.0
0.99851	1.00	0.98471	11.50
0.99704	2.00	0.98412	12.0
0.99560	3.00	0.98297	13.00
0.99419	4.00	0.98182	14.00
0.99281	5.00	0.98071	15.00
0.99149	6.00	0.97960	16.00
0.99020	7.00	0.97850	17.00
0.98894	8.00	0.97743	18.00
0.98771	9.00	0.97638	19.00
0.98711	9.50	0.97532	20.00
0.98650	10.00	0.97425	21.00
0.98590	10.50	0.97318	22.00

ที่มา : ตะวัน ฉัตรสูงเนิน และคณะ อ้างถึงใน US. Bureau of Standards Circular NO.19, 1942 : 25