บทที่ 4

ผลการทดลอง

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของน้ำผึ้งที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

น้ำผึ้งที่ใช้ในการวิจัยนี้มี 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ (Eupatorium odoratum) น้ำผึ้งนุ่น (Bombax ceiba Linn.) น้ำผึ้งลิ้นจี่(Litchi chinensis Sonn.)และน้ำผึ้งลำไย (Dimocarpus longan Lour.) ซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง และผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำผึ้งที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

องค์ประกอบทางเคมี	สาบเสือ	นุ่น	ลิ้นจี่	ลำไย
	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
ปริมาณของแข็งละลายน้ำได้ (^{O}brix)	78.00±0.01	76.50±0.01	77.50±0.01	78.00±0.01
ร้อยละความชื้น	13.25±0.55	15.64±0.21	13.81±0.19	13.47±0.04
ร้อยละเถ้า	0.39±0.01	0.51±0.06	0.23±0.02	0.21±0.05
ร้อยละโปรตีน	0.42±0.03	0.56±0.03	0.46±0.01	0.33±0.01
ร้อยละน้ำตาลรีดิวซิ่ง	66.20±0.08	66.50±0.41	66.30±0.85	64.90±0.42
พีเอช (pH)	4.09±0.08	3.70±0.08	3.76±0.12	4.31±0.07
ร้อยละความเป็นกรด (คิดในรูปกรดซิตริค)	0.16±0.01	0.53±0.01	0.22±0.02	0.17±0.03

จากตารางจะเห็นได้ว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของน้ำผึ้งแต่ละชนิดมีค่าอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกัน ในกรณีของความชื้น พบว่า น้ำผึ้งนุ่นมีค่ามากที่สุด ส่วนน้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ และ น้ำผึ้งลำไย มีค่าที่ใกล้เคียงกัน ปริมาณเถ้า พบว่า น้ำผึ้งนุ่นมีค่ามากที่สุด รองลงมาคือ น้ำผึ้งสาบเสือ ส่วนน้ำผึ้งลิ้นจี่และน้ำผึ้งลำไย มีค่าเท่ากัน ปริมาณโปรตีน พบว่า น้ำผึ้งนุ่นมีค่ามากที่สุด รองลงมาคือ น้ำผึ้งลิ้นจี่และน้ำผึ้งสาบเสือ ส่วนน้ำผึ้งลำไยมีค่าน้อยที่สุด ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซิ่ง พบว่าน้ำผึ้งแต่ละชนิดมีค่าใกล้เคียงกัน และสำหรับ pH และความเป็นกรด พบว่าทั้ง 2 ค่านี้มีความสัมพันธ์กัน กล่าวคือ น้ำผึ้งที่มีค่าความเป็นกรดสูง pH ต่ำ ส่วนน้ำผึ้งที่มีค่าความเป็นกรดต่ำ pH สูงจากตาราง พบว่า น้ำผึ้งนุ่น มีค่าความเป็นกรดสูงที่สุดและมีค่า pH ต่ำที่สุด รองลงมา คือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ส่วน น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งลำไย มีค่าใกล้เคียงกัน pH พบว่า น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งนุ่น มีค่า pH ที่ใกล้เคียงกัน

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำองุ่นที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

นำน้ำองุ่นสดที่เตรียมได้ นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีบางประการ ได้แก่ pH ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณกรด วิตามินซี และแทนนิน ผลการวิเคราะห์แสดงได้ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำองุ่นที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

องค์ประกอบทางเคมี	ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
pH	3.83 ± 0.11
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้(^{o}brix)	14.68 ± 1.52
ปริมาณกรด(%ในรูปกรดทาร์ทาริก)	0.46 ± 0.05
วิตามินซี (มก./100 มล. น้ำผลไม้)	12.15 ± 1.06
แทนนิน (มก./มล. น้ำผลไม้)	0.44 ± 0.14

ศึกษาและเปรียบเทียบวิธีการที่เหมาะสมในการหาปริมาณโปรตีน

ในขั้นตอนนี้จะศึกษาหาปริมาณโปรตีนในน้ำผึ้ง 2 วิธี คือ การหาโปรตีนในน้ำผึ้งก่อนการทำ dialysis และหลังการทำ dialysis โดยเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ได้ก่อน และหลังการทำ dialysis เพื่อเปรียบเทียบค่าปริมาณโปรตีนที่ได้ ซึ่งวิธีการหาปริมาณโปรตีนก่อนการทำ dialysis ทำโดยวิธี Kjeldahl ส่วนการหาปริมาณโปรตีนภายหลังการทำ dialysis ทำโดยการนำโปรตีนส่วนที่อยู่ในถุง(bag)นำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยศึกษาเปรียบเทียบวิธีการวัด 3 วิธี คือ Lowry,uv-absorption และ Kjeldahl เพื่อเปรียบเทียบค่าปริมาณโปรตีนที่วัดได้ จากนั้นเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่สูญเสียไปในระหว่างก่อนและหลังทำ dialysis และนำข้อมูลที่ได้นำไปใช้ในการวิจัยต่อไป ผลการทดลองที่ได้ดังตารางที่ 7-13

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่สูญเสียภายหลังการทำ dialysis วิเคราะห์โดยวิธี Kjeldahl

ชนิดของน้ำผึ้ง	ก่อนการทำ dialysis (มก./มล.)	หลังการทำ dialysis (มก./มล.)	ร้อยละของโปรตีนสูญเสียระหว่างการทำ dialysis
สาบเสือ	4.17±0.27	1.72±0.02	58.69±3.24
ลิ้นจี่	4.62±0.13	1.54±0.22	69.24±2.20
ลำไย	3.33±0.10	1.15±0.14	64.86±3.63
นุ่น	5.62±0.32	1.47±0.43	68.35±1.78

จากตารางที่ 7 เมื่อพิจารณาจากค่าปริมาณโปรตีนที่สูญเสียไปในระหว่างการทำ dialysis ของน้ำผึ้งทั้ง 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น พบว่า น้ำผึ้งแต่ละชนิดมีค่าการสูญเสีย (loss)ร้อยละของโปรตีนในช่วงร้อยละ 58-69 แตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำผึ้ง จากตาราง พบว่า น้ำผึ้งลิ้นจี่ และน้ำผึ้งนุ่น มีค่าการสูญเสียร้อยละของ

โปรตีนที่ไม่แตกต่างกัน รองลงมา คือ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งสาบเสือ เป็นน้ำผึ้งที่มีค่าการสูญเสียร้อยละของโปรตีนน้อยที่สุด

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบวิธีการต่างกันในการวัดปริมาณโปรตีนภายหลังการทำ dialysis

ชนิดของน้ำผึ้ง	วิธีการวัดปริมาณโปรตีน (มก./มล.)		
	uv-absorption	Lowry	Kjeldahl
สาบเสือ	11.69±0.01	2.06±0.76	1.72±0.02
ลิ้นจี่	5.52±0.15	2.02±0.14	1.54±0.22
ลำไย	9.64±0.08	1.62±0.22	1.15±0.14
นุ่น	8.47±0.43	2.34±0.56	1.47±0.43

จากตารางที่ 8 เมื่อพิจารณาวิธีการวัดที่ต่างกันในการวัดปริมาณโปรตีนในน้ำผึ้งหลังการทำ dialysis โดยการเปรียบเทียบวิธีการวัดปริมาณโปรตีนทั้ง 3 วิธี คือ วิธี uv-absorption, Lowry และ Kjeldahl พบว่า วิธี uv-absorption เป็นวิธีที่ให้ค่าปริมาณโปรตีนมากกว่าวิธีของ Lowry และ Kjeldahl โดยเฉพาะอย่างยิ่ง น้ำผึ้งสาบเสือให้ค่าปริมาณโปรตีนสูงที่สุด รองลงมาคือ น้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งนุ่น และน้ำผึ้งลิ้นจี่ ส่วนวิธี Lowry และวิธี Kjeldahl พบว่า น้ำผึ้งทั้ง 4 ชนิดให้ค่าปริมาณโปรตีนที่ไม่ต่างกันมาก

ตารางที่ 9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนก่อนการทำ dialysis โดยวิธี Kjeldahl เมื่อ treatment= ชนิดของน้ำผึ้ง

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F-value	
				คำนวณ	ตาราง
treatment	3	5.29	1.76	36.13*	4.35
error	4	0.20	0.05		
total	7	5.49			

หมายเหตุ * หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 9 จะเห็นได้ว่าผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนในน้ำผึ้งก่อนการทำ dialysis พบว่า วิธีการที่ใช้วัดปริมาณโปรตีนก่อนการทำ dialysis โดยวิธี Kjeldahl นั้นเมื่อ treatment คือชนิดของน้ำผึ้งที่ทำใช้ในการทดลองมี 4 ชนิดคือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนหลังการทำ dialysis เมื่อเปรียบเทียบวิธีการต่างกัน เมื่อ A= วิธีการวัด B=ชนิดของน้ำผึ้ง

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F- value	
				คำนวณ	ตาราง
A	2	241.16	120.58	58.15*	3.74
B	7	15.84	2.26	1.09	2.78
error	14	29.03	2.07		
total	23	286.02			

หมายเหตุ * หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 10 จะเห็นได้ว่าผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนในน้ำผึ้งหลังการทำ dialysis พบว่า วิธีการที่ใช้วัดปริมาณโปรตีนในน้ำผึ้งที่ผ่านการทำ dialysis ทั้ง 3 วิธี คือ วิธี uv-absorption,Lowry และ Kjeldahl มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ส่วนชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลองทั้ง 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนที่ใช้วัดในน้ำผึ้งหลังการทำ dialysis เมื่อเปรียบเทียบวิธีการวัดที่ต่างกัน

วิธีการที่ใช้วัด	ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มก./มล.)
uv-absorption	8.80±2.64[b]
Lowry	2.10±0.36[a]
Kjeldahl	1.50±0.25[a]

หมายเหตุ a,b,... ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 11 จะเห็นได้ว่า วิธี uv-absorption ให้ค่าปริมาณโปรตีนสูงที่สุด ส่วนวิธี Lowry และวิธี Kjeldahl นี้ค่าปริมาณโปรตีนที่ได้ทั้ง 2 วิธีนี้ ไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ได้**ก่อนและหลัง**การทำ dialysis เมื่อ A=วิธีการที่ใช้วัด B= ชนิดของน้ำผึ้ง

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F- value	
				คำนวณ	ตาราง
A	1	35.83	35.83	100.64*	5.39
B	7	3.48	0.50	1.43	3.80
error	7	2.49	0.35		
total	15	41.80			

หมายเหตุ * หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 12 จะเห็นได้ว่าผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนในน้ำผึ้ง

ก่อนและหลังการทำ dialysisนั้นพบว่า วิธีการที่ใช้วัดปริมาณโปรตีนในน้ำผึ้งก่อนและหลังการทำ dialysis โดยใช้วิธี Kjeldahl นั้นพบว่า วิธีการวัดปริมาณโปรตีนในน้ำผึ้ง 4 ชนิดคือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น พบว่าวิธีการวัดปริมาณโปรตีนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) ส่วนชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลองทั้ง 4ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

ตารางที่ 13 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนที่หาได้ก่อนและหลังการทำ dialysis

วิธีการ	ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มก./มล.)
ก่อนการทำ dialysis	4.45 ± 0.94^{b}
หลังการทำ dialysis	1.50 ± 0.06^{a}

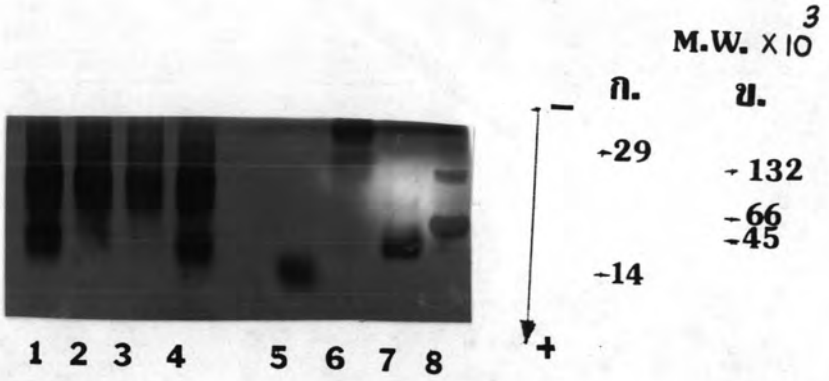
หมายเหตุ a,b,... ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$)

จากตารางที่ 13 จะเห็นได้ว่าและเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนก่อนการทำ dialysis และหลังการทำ dialysis จะเห็นได้ว่าปริมาณโปรตีนหลังการทำ dialysis ของน้ำผึ้งทุกชนิดมีค่าน้อยกว่าปริมาณโปรตีนก่อนการทำ dialysis ประมาณ 3เท่า

ศึกษารูปแบบของโปรตีนโดยวิธี electrophoresis

ในขั้นตอนนี้จะศึกษารูปแบบของโปรตีนโดยการนำตัวอย่างน้ำผึ้ง ที่เตรียมได้โดยไม่ได้ผ่านการทำให้เข้มข้น (unconcentrated) มาศึกษารายละเอียดขององค์ประกอบด้วยวิธี electrophoresis โดยเปรียบเทียบรูปแบบที่แยกได้ 2 วิธี คือ วิธี polyacrylamide gel electrophoresis และวิธี sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis โดยใช้วิธี non-ammonical silver staining ในการย้อมเจล โดยการเปรียบเทียบรูปแบบการแยกโปรตีนที่ได้ เมื่อความเข้มข้นของเจลเท่ากัน พบว่าผลการ

ทดลองดังรูปที่ 1-4 และตารางที่ 14-16



รูปที่ 1 รูปแบบการแยกโปรตีนของน้ำผึ้งทั้ง 4 ชนิด โดยวิธี polyacrylamide gel electrophoesis

(ช่องที่ 1-4 คือ ตัวอย่างน้ำผึ้งทั้ง 4 ชนิดที่ใช้ในการทดลอง)

(ช่องที่ 5-8 คือ โปรตีนมาตรฐาน 4 ชนิดที่ทราบน้ำหนักโมเลกุล)

(ปริมาตรโปรตีนที่หยดทุกช่องเท่ากันคือ 5 µl.)

ช่องที่ 1 น้ำผึ้งสาบเสือ ปริมาณโปรตีน 6.66 µg.

ช่องที่ 2 น้ำผึ้งลิ้นจี่ ปริมาณโปรตีน 7.39 µg.

ช่องที่ 3 น้ำผึ้งลำไย ปริมาณโปรตีน 5.39 µg.

ช่องที่ 4 น้ำผึ้งนุ่น ปริมาณโปรตีน 8.99 µg.

ช่องที่ 5 α-lactalbumin ปริมาณโปรตีน 2.80 µg. น้ำหนักโมเลกุล 14200

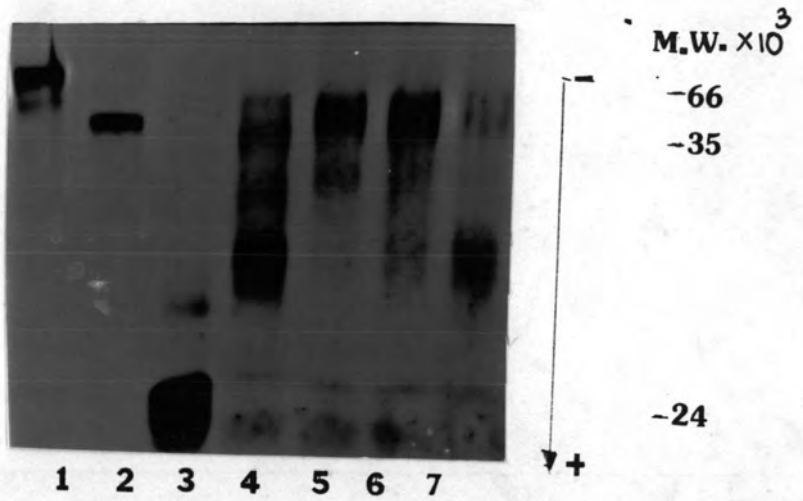
ช่องที่ 6 carbonic anhydrase ปริมาณโปรตีน 2.80 µg. น้ำหนักโมเลกุล 29000

ช่องที่ 7 albumin chicken egg ปริมาณโปรตีน 2.80 µg. น้ำหนักโมเลกุล 45000

ช่องที่ 8 bovine serum albumin ปริมาณโปรตีน 2.80 µg. น้ำหนักโมเลกุล 66000 (monomer), 132000(dimer)

หมายเหตุ ก. โปรตีนมีน้ำหนักโมเลกุล 14200 และ 29000

ข. โปรตีนมีน้ำหนักโมเลกุล 45000, 66000 และ 132000



รูปที่ 2 แสดงรูปแบบการแยกโปรตีนของน้ำผึ้งทั้ง 4 ชนิดโดยวิธี sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoesis

(ช่องที่ 1-3 คือ โปรตีนมาตรฐาน 3 ชนิดที่ทราบน้ำหนักโมเลกุล)

(ช่องที่ 4-7 คือ ตัวอย่างน้ำผึ้งทั้ง 4 ชนิดที่ใช้ในการทดลอง)

(ปริมาตรโปรตีนที่หยดทุกช่องเท่ากันคือ 5 µl.)

ช่องที่ 1 bovine serum albumin ปริมาณโปรตีน 7.50 µg. น้ำหนักโมเลกุล 66000

ช่องที่ 2 pepsin ปริมาณโปรตีน 7.92 µg. น้ำหนักโมเลกุล 34700

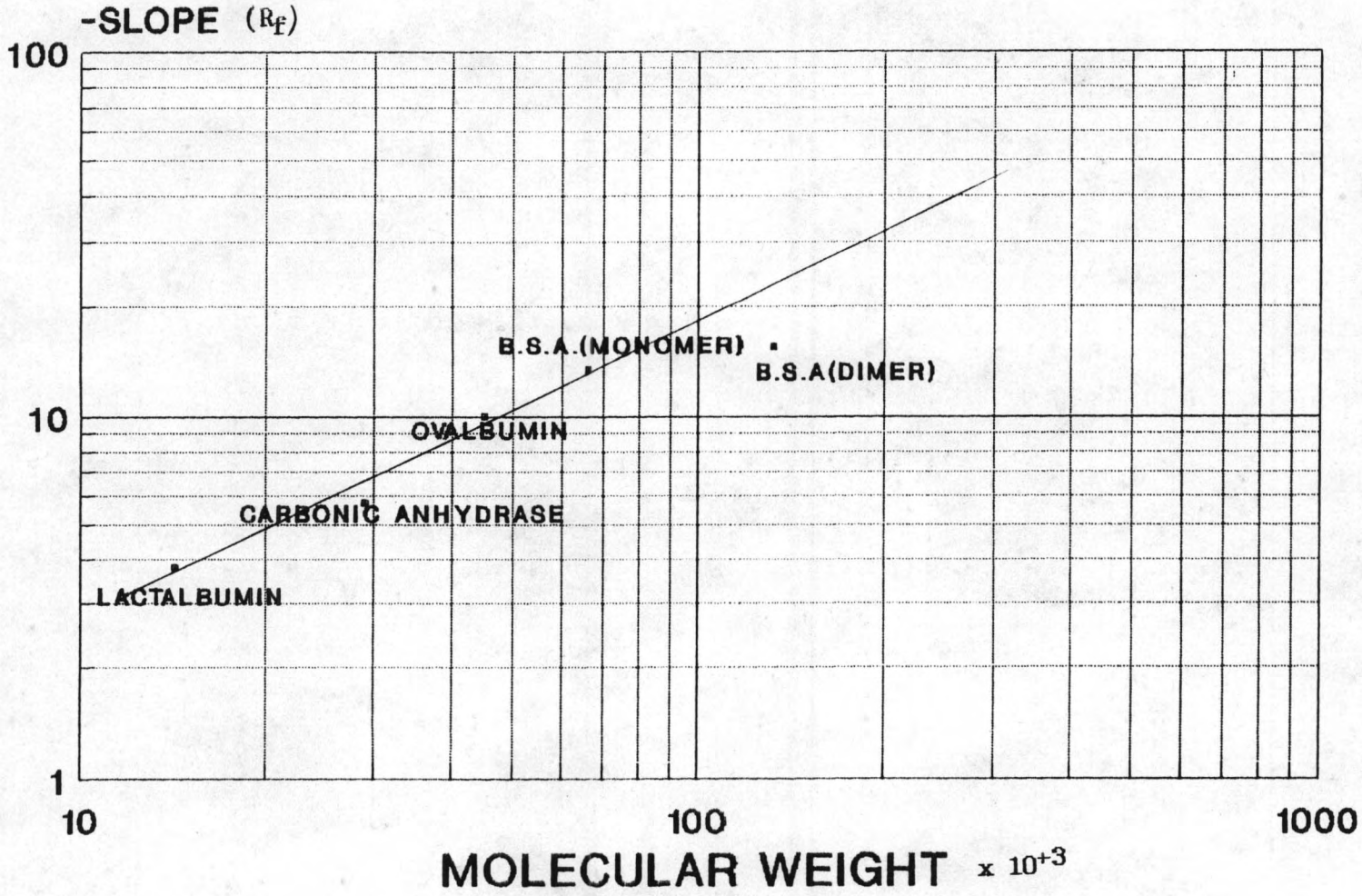
ช่องที่ 3 trypsin ปริมาณโปรตีน 11.25 µg. น้ำหนักโมเลกุล 24000

ช่องที่ 4 น้ำผึ้งนุ่น ปริมาณโปรตีน 11.24 µg.

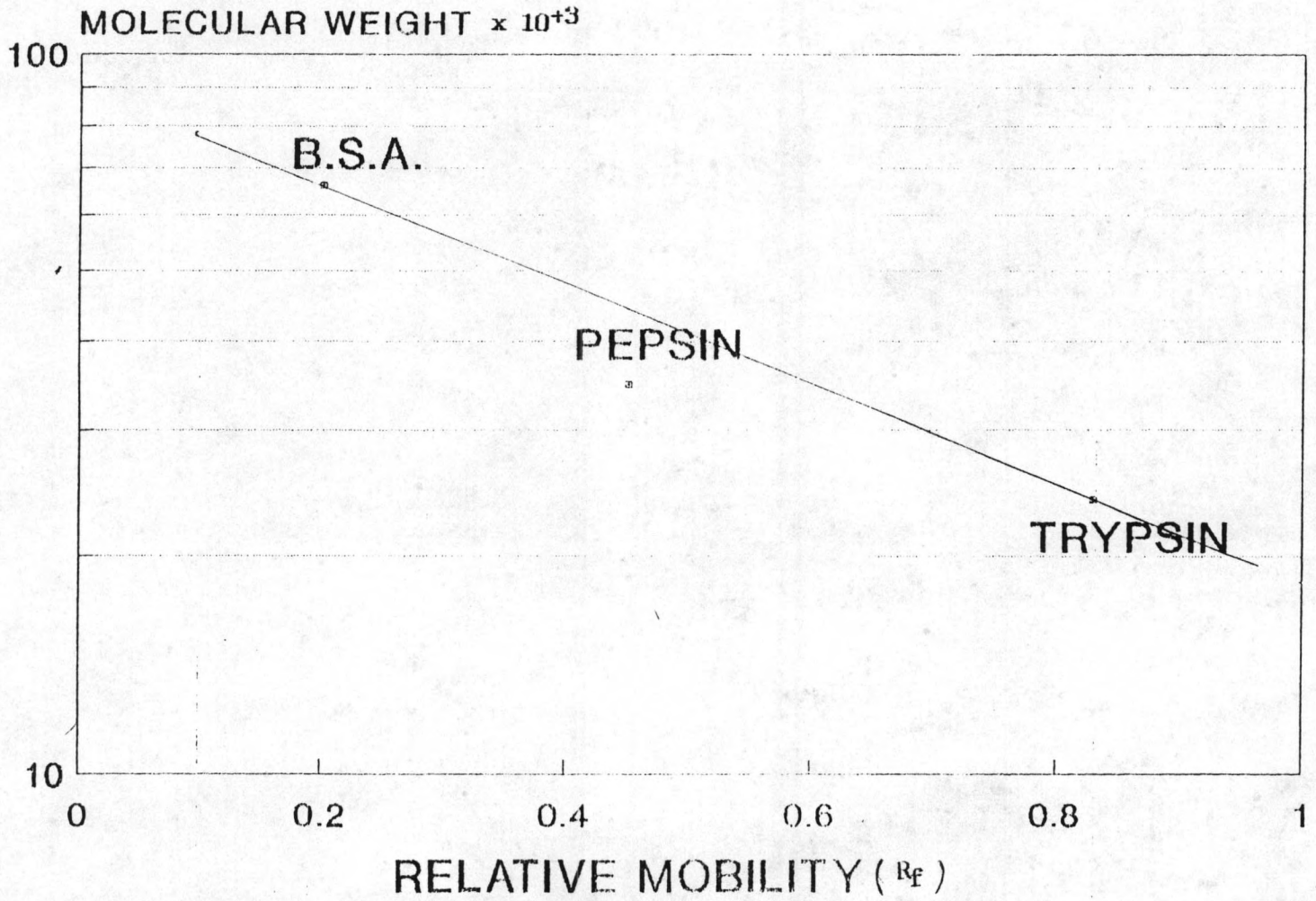
ช่องที่ 5 น้ำผึ้งลำไย ปริมาณโปรตีน 6.74 µg.

ช่องที่ 6 น้ำผึ้งลิ้นจี่ ปริมาณโปรตีน 9.24 µg.

ช่องที่ 7 น้ำผึ้งสาบเสือ ปริมาณโปรตีน 8.33 µg.



รูปที่ 3 กราฟมาตรฐานการหาน้ำหนักโมเลกุลโปรตีนวิธี polyacrylamide gel electrophoresis



รูปที่ 4 กราฟมาตรฐานการหาน้ำหนักโมเลกุลโปรตีนโดยวิธี sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis

ตารางที่ 14 จำนวนแถบเข้ม ค่า R_f และน้ำหนักโมเลกุลของน้ำผึ้งทั้ง 4 ชนิด ที่แยกโดยวิธี polyacrylamide gel electrophoresis

ชนิดของน้ำผึ้ง	ปริมาณโปรตีน (µg)	จำนวนแถบเข้ม	R_f value	น้ำหนักโมเลกุล
สาบเสือ	6.66	2	0.28,0.54	58000,31000
ลิ้นจี่	7.39	1	0.28	58000
ลำไย	5.39	1	0.28	58000
นุ่น	8.99	2	0.28,0.54	58000,31000

จากรูปที่ 1 แสดงรูปแบบของโปรตีนที่แยกได้โดยใช้ตัวอย่างน้ำผึ้ง 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น โดยเทียบกับโปรตีนมาตรฐานที่ทราบน้ำหนักโมเลกุล 4 ชนิด คือ α-lactalbumin น้ำหนักโมเลกุล 14200,carbonic anhydrase น้ำหนักโมเลกุล 29000,albumin chicken egg น้ำหนักโมเลกุล 45000 และ bovine serum albumin น้ำหนักโมเลกุล 66000 (monomer) 132000 (dimer)โดยการสร้างกราฟระหว่างค่า R_f (ความชัน) และน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐานแต่ละชนิด (ดังรูปที่ 3)จากรูป แสดงลักษณะของแถบที่ได้ พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่แยกได้ในน้ำผึ้งแต่ละชนิดแตกต่างกัน โดยลักษณะของแถบที่ได้มีจำนวนมาก และพบอยู่ในช่วงใกล้กันมาก (ตารางที่ 14)

-น้ำผึ้งสาบเสือและน้ำผึ้งนุ่น พบแถบที่มีลักษณะเข้ม 2 แถบคือ ที่ตำแหน่งค่า R_f เท่ากับ 0.28 น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 58000 และ R_f 0.54 น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 31000

-น้ำผึ้งลิ้นจี่และน้ำผึ้งลำไย พบแถบที่มีลักษณะเข้ม 1 แถบคือ ที่ตำแหน่งค่า R_f เท่ากับ 0.28 น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 58000

ตารางที่ 15 ค่า R_f ของโปรตีนมาตรฐานที่แยกโดยวิธี sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis

โปรตีนมาตรฐาน	ความเข้มข้น(µg)	น้ำหนักโมเลกุล	R_f value
bovine serum albumin	7.50	66000	0.12
pepsin	7.92	34700	0.23
trypsin	11.25	24000	0.80

ตารางที่ 16 ค่า R_f และน้ำหนักโมเลกุลโปรตีนที่แยกได้ของน้ำผึ้งทั้ง 4 ชนิด โดยวิธี sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis

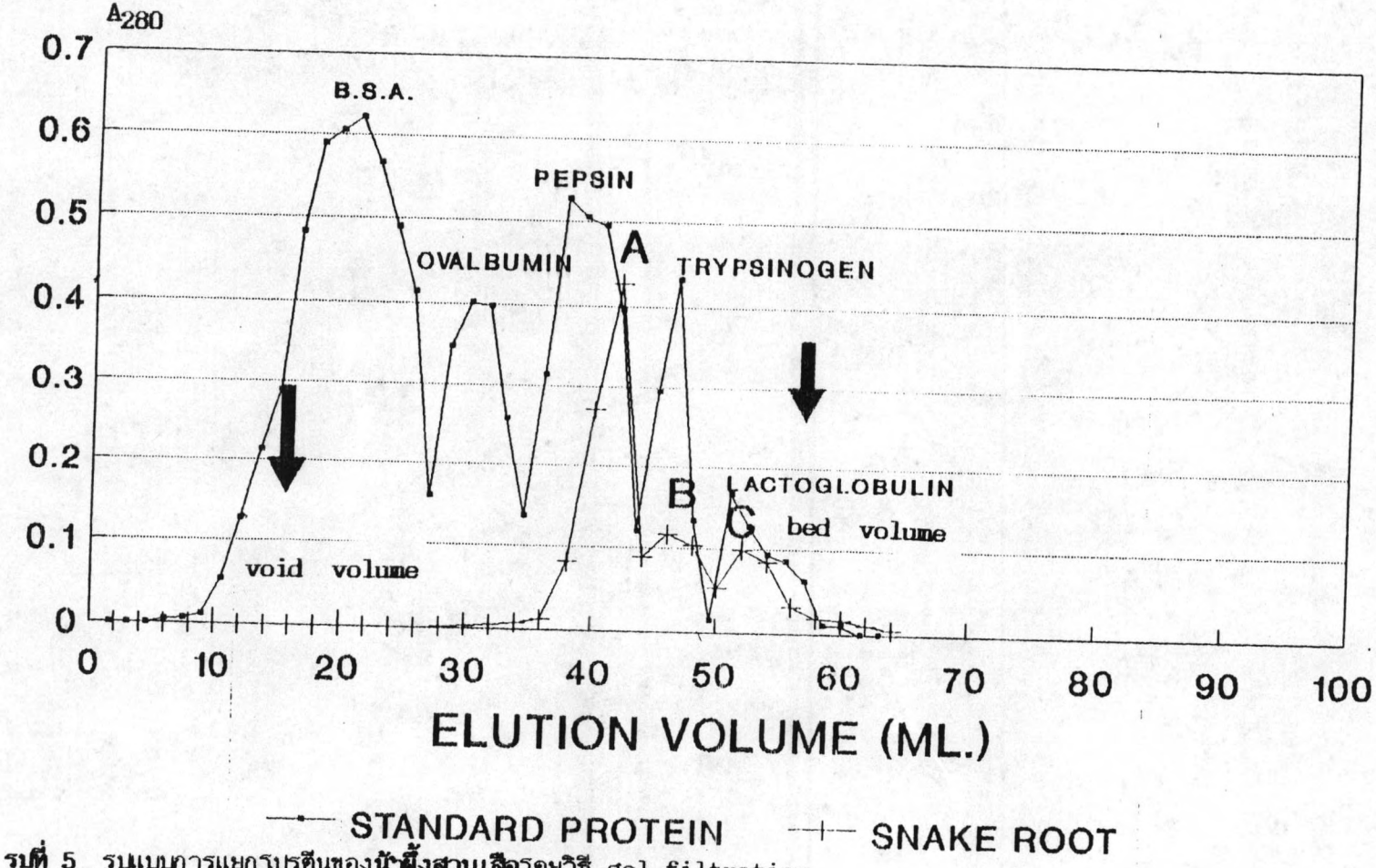
ชนิดของน้ำผึ้ง	ความเข้มข้น(µg)	R_f value	น้ำหนักโมเลกุล
สาบเสือ	8.33	0.22,0.58,0.73,0.80	57000,35000,27000, 23000
ลิ้นจี่	9.24	0.22,0.38,0.58,0.73 0.80	57000,45000,35000, 27000,23000
ลำไย	6.74	0.22,0.38,0.73,0.80	57000,45000,27000, 23000
นุ่น	11.24	0.22,0.41,0.58,0.73 0.80	57000,43000,35000, 27000,23000

จากรูปที่ 2 แสดงรูปแบบของโปรตีนที่แยกได้ทำการศึกษาโดยใช้ตัวอย่างน้ำผึ้ง 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่นโดยเปรียบเทียบกับโปรตีนมาตรฐานที่ทราบน้ำหนักโมเลกุล 3 ชนิด (ตารางที่ 15) คือ trypsin น้ำหนักโมเลกุล 24000 ที่ R_f

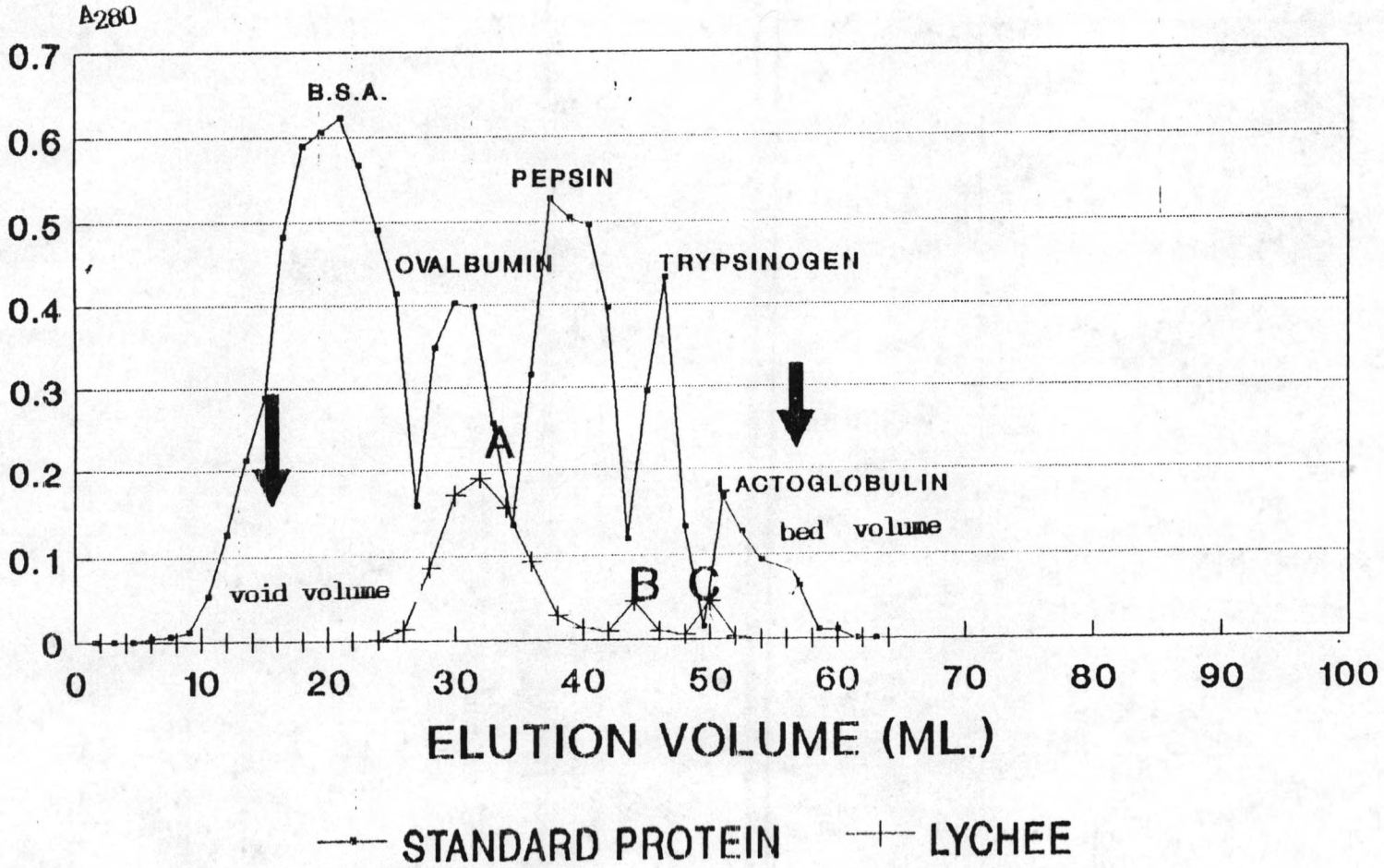
เท่ากับ 0.12,pepsin น้ำหนักโมเลกุล 34700 ที่ R_fเท่ากับ 0.23 และ bovine serum albumin น้ำหนักโมเลกุล 66000 ที่ R_f เท่ากับ 0.80 จากรูปแสดงลักษณะแถบที่ได้ของน้ำผึ้งทั้ง 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น จะเห็นได้ว่า น้ำผึ้งสาบเสือพบแถบเข้ม 4 แถบ คือ ที่ R_fเท่ากับ 0.22 R_fเท่ากับ 0.58 R_fเท่ากับ 0.73 และR_fเท่ากับ 0.80 น้ำผึ้งลิ้นจี่ พบแถบเข้ม 5 แถบ คือ ที่ R_fเท่ากับ 0.22 R_f เท่ากับ 0.38 R_f เท่ากับ 0.58 R_fเท่ากับ 0.73 และ R_fเท่ากับ 0.80 น้ำผึ้งลำไย พบแถบเข้ม 4 แถบ คือ R_f เท่ากับ 0.22 R_fเท่ากับ 0.38 R_fเท่ากับ 0.73 และ R_fเท่ากับ 0.80 และน้ำผึ้งนุ่น พบแถบเข้ม 5 แถบ คือ ที่ R_fเท่ากับ 0.22 R_fเท่ากับ 0.41 R_f เท่ากับ 0.58 R_fเท่ากับ 0.73 และ R_f เท่ากับ 0.80 จากผลที่ได้สังเกตได้ว่า น้ำผึ้งทุกชนิดที่ใช้ในการทดลองให้แถบเข้มที่ตำแหน่ง R_f เท่ากับ 0.22 (ตารางที่ 16)

ศึกษารูปแบบของโปรตีนโดยวิธี gel filtration

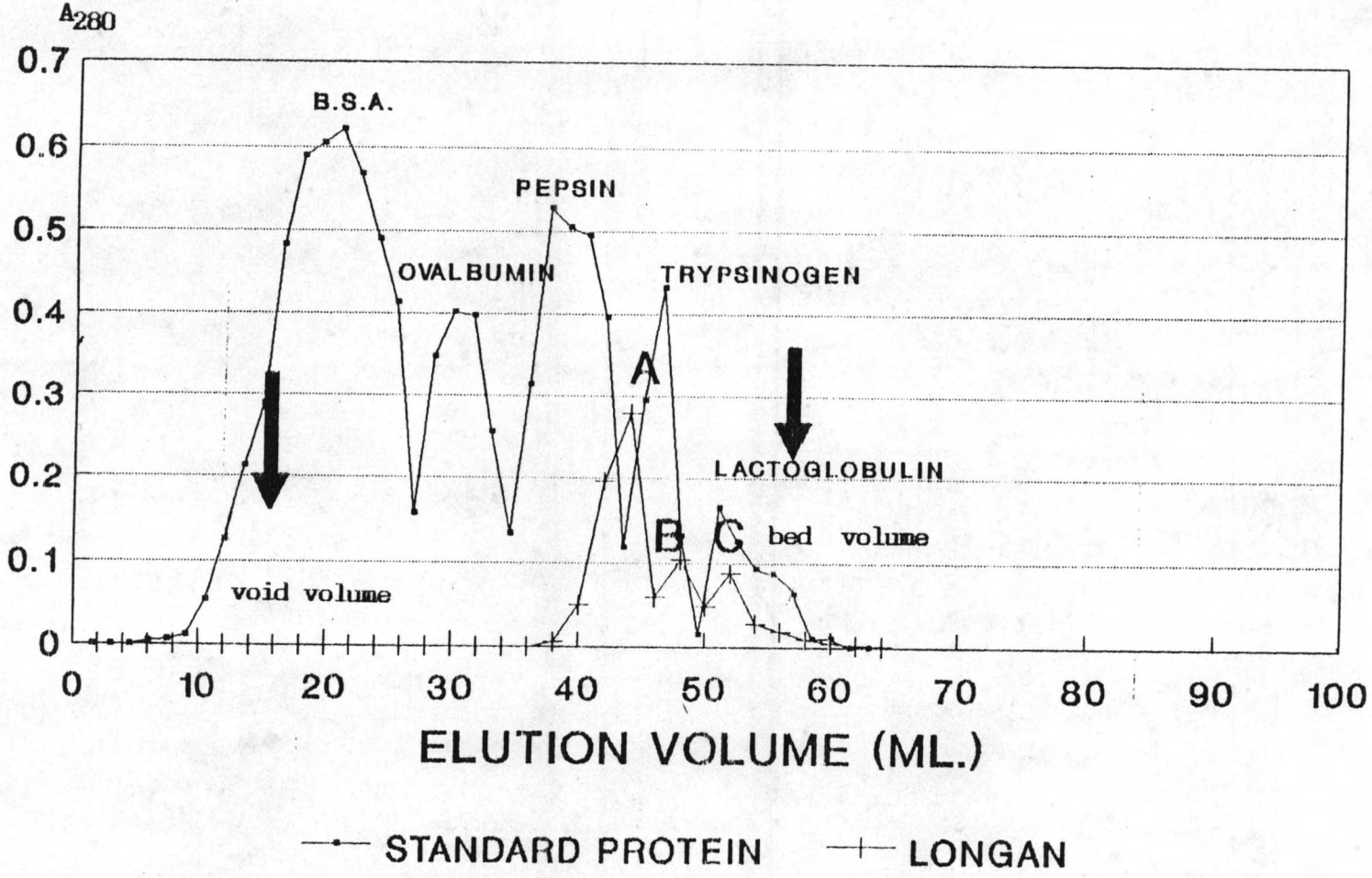
รูปแบบของโปรตีนที่แยกได้โดยวิธี electrophoresis สามารถบอกช่วงมวลโมเลกุลของโปรตีนที่พบแต่ยังไม่สามารถบ่งบอกรายละเอียดเกี่ยวกับสมบัติของโปรตีนที่พบได้ ดังนั้น การทดลองต่อไปนี้จะแยกโปรตีนให้บริสุทธิ์โดยใช้วิธี gel filtration โดยการนำตัวอย่างน้ำผึ้งที่ผ่านการทำ dialysis มาผ่านลงในคอลัมน์ที่ประกอบด้วย sephadex G-150 ที่ประกอบด้วย 0.01m. potassium phosphate buffer pH 6.5 เพื่อศึกษาหาช่วงมวลโมเลกุลและปริมาณโปรตีนที่พบ จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นม. พบว่าผลการทดลองดังตารางที่ 17-20 และรูปที่ 5-9



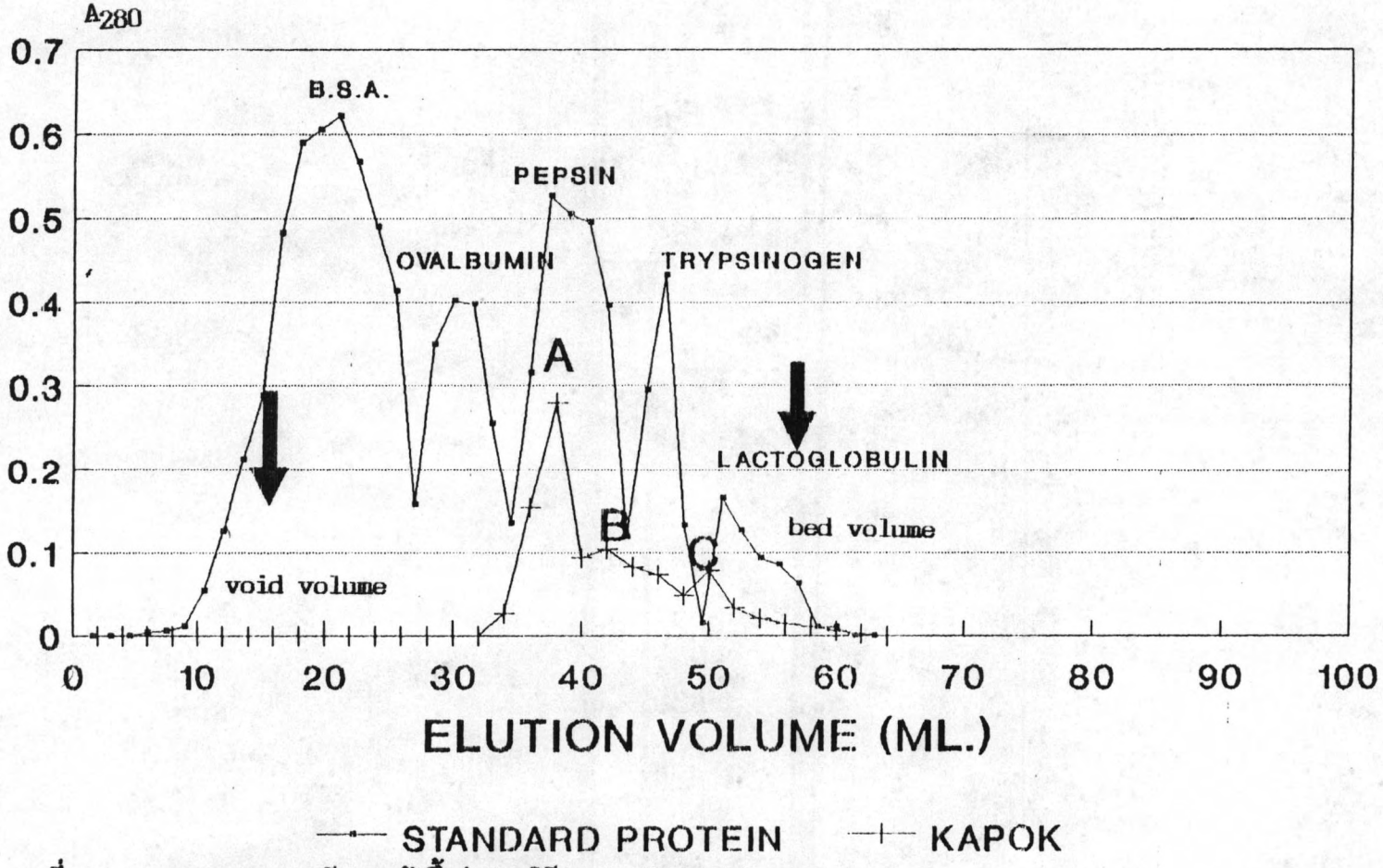
รูปที่ 5 รูปแบบการแยกโปรตีนของน้ำผึ้งสาบเสือโดยวิธี gel filtration



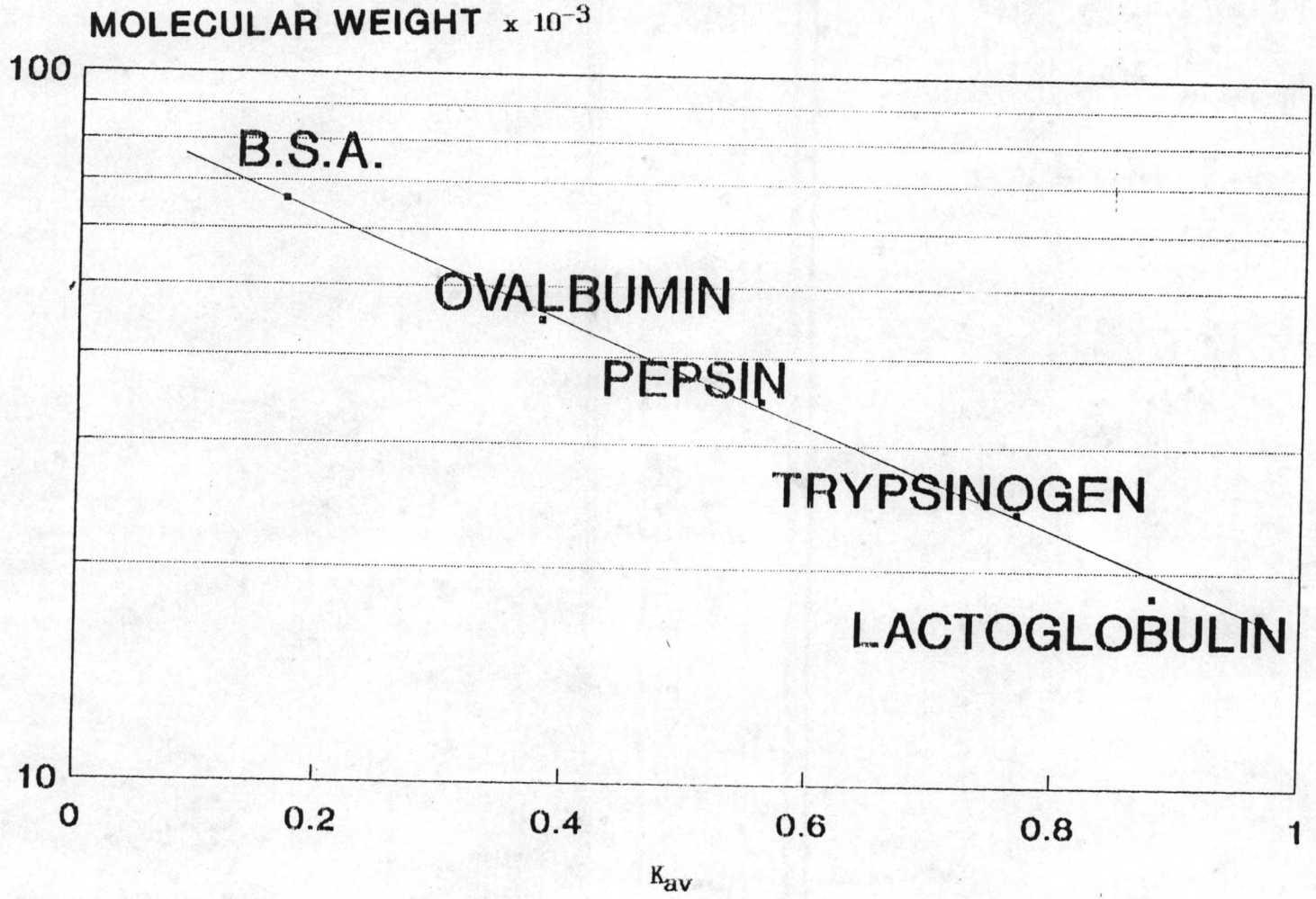
รูปที่ 6 รูปแบบการแยกโปรตีนของน้ำผึ้งลิ้นจี่โดยวิธี gel filtration



รูปที่ 7 รูปแบบการแยกโปรตีนของน้ำผึ้งลำไยโดยวิธี gel filtration



รูปที่ 8 รูปแบบการแยกโปรตีนของน้ำผึ้งนุ่นโดยวิธี gel filtration



รูปที่ 9 กราฟมาตรฐานการหามวลโมเลกุลโดยวิธี gel filtration

จากรูปที่ 5-9 จะเห็นได้ว่าน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลองทั้ง 4ชนิดคือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น ให้รูปแบบการแยกที่แตกต่างกันไป และจากกราฟพบว่ารูปแบบการแยกโปรตีนในน้ำผึ้งแต่ละชนิดสามารถแยกลำดับส่วน (fraction) ออกได้เป็น 3 ชนิด ให้ชื่อว่า ลำดับส่วน A,ลำดับส่วน B และ ลำดับส่วน C ตามลำดับ โดยที่ค่าปริมาณโปรตีนที่วัดได้ A_{280} ในลำดับส่วนทั้ง 3 ชนิดนี้แตกต่างกันไป จากกราฟสังเกตได้ว่า ปริมาณโปรตีนที่วัดได้ในน้ำผึ้งทั้ง 4 ชนิด ที่แยกได้จากลำดับส่วน A มีค่ามากที่สุด รองลงมา คือ ลำดับส่วน B และลำดับส่วน C มีค่าน้อยที่สุด และจากผลการทดลองสามารถวัดค่า elution volume (V_e) ของน้ำผึ้งแต่ละชนิดได้โดยเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน 5 ชนิดที่ทราบมวลโมเลกุล คือ bovine serum albumin มวลโมเลกุล 66000 ดาลตัน,albumin chicken egg มวลโมเลกุล 45000 ดาลตัน,pepsin มวลโมเลกุล 34700 ดาลตัน,trypsin มวลโมเลกุล 24000 ดาลตัน β-lactoglobulin มวลโมเลกุล 18400 ดาลตัน แล้วทำการชะสารละลายโปรตีนมาตรฐานออกด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ 0.01 m.potassium phosphate buffer pH 6.5 พบว่า โปรตีนมาตรฐานแต่ละชนิดจะถูกชะออกมาด้วย elution volume ที่แตกต่างกัน คือ bovine serum albumin เท่ากับ 21 มล., albumin chicken egg เท่ากับ 30 มล., pepsin เท่ากับ 37.5 มล., trypsin เท่ากับ 46.5 มล. และ β-lactoglobulin เท่ากับ 51 มล. โดยมีค่า void volume (V_0) เท่ากับ 14 มล. และ bed volume (V_t)เท่ากับ 56 มล. จากกราฟ พบว่าโปรตีนในน้ำผึ้งสาบเสือถูกชะออกที่ 42,46,52 มล. ตามลำดับ น้ำผึ้งลิ้นจี่ถูกชะออกที่ 32,44, 50 มล. ตามลำดับ น้ำผึ้งลำไยถูกชะออกที่ 44,48,52 มล.ตามลำดับ และน้ำผึ้งนุ่นถูกชะออกที่ 38,44,50 มล. ตามลำดับ จากค่า elution volume ที่ได้นี้ สามารถนำไปคำนวณหาค่า K_{av} และ นำค่า K_{av} ที่คำนวณได้นี้เทียบหามวลโมเลกุลของโปรตีนได้ดังรูปที่ 9 ดังนั้น จึงสามารถสรุปค่า K_{av} และมวลโมเลกุลที่ได้จากลำดับส่วนทั้ง 3 ชนิด คือ ลำดับส่วน A,ลำดับส่วน B และลำดับส่วน C ดังตารางที่ 17

ตารางที่ 17 ค่า K_{av} และมวลโมเลกุลโปรตีนที่ได้จากลำดับส่วนทั้ง 3 ชนิด

ชนิดของน้ำผึ้ง	K_{av} value			มวลโมเลกุล (ดาลตัน)		
	A	B	C	A	B	C
สาบเสือ	0.67	0.76	0.90	29000	26000	19000
ลิ้นจี่	0.43	0.71	0.86	43000	28000	22000
ลำไย	0.71	0.81	0.90	28000	24000	19000
นุ่น	0.57	0.71	0.86	35000	28000	22000

ตารางที่ 18 ค่า K_{av} และมวลโมเลกุลโปรตีนมาตรฐาน

โปรตีนมาตรฐาน	มวลโมเลกุล(ดาลตัน)	K_{av} value
bovine serum albumin	66000	0.17
albumin chicken egg	45000	0.38
pepsin	34700	0.56
trypsin	24000	0.77
β-lactoglobulin	18400	0.88

จากตารางที่ 17 จะเห็นว่าค่า K_{av} และค่ามวลโมเลกุลที่คำนวณได้จากลำดับส่วนทั้ง 3 ชนิด คือ ลำดับส่วน A, ลำดับส่วน B และลำดับส่วน C ในน้ำผึ้งแต่ละชนิดมีค่าที่แตกต่างกันไป ค่า K_{av} ในน้ำผึ้งแต่ละชนิดอยู่ในช่วงประมาณ 0.40-0.90 โดยคิดเทียบกับโปรตีนมาตรฐานที่ทราบมวลโมเลกุล (ตารางที่ 18) ซึ่งค่า K_{av} ที่แตกต่างกันนี้ ทำให้มวลโมเลกุลที่คำนวณได้แตกต่างกันไป ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง มวลโมเลกุลที่คำนวณได้ในลำดับส่วน

A, ลำดับส่วน B และลำดับส่วน C อยู่ในช่วงประมาณ 19000-43000 ดาลตัน

ตารางที่ 19 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนที่ผ่านคอลัมน์โดยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นม. เมื่อ treatment=ชนิดของน้ำผึ้ง

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F-value	
				คำนวณ	ตาราง
treatment	3	5.40×10^{-4}	1.80×10^{-4}	496.51*	6.59
error	4	1.45×10^{-6}	3.63×10^{-7}		
total	7	5.42×10^{-4}			

หมายเหตุ * หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 20 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนที่วัดได้ เมื่อชนิดน้ำผึ้งต่างกัน

ชนิดของน้ำผึ้ง	ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
สาบเสือ	0.0718 ± 0.00^{b}
ลิ้นจี่	0.0622 ± 0.00^{a}
ลำไย	0.0799 ± 0.00^{c}
นุ่น	0.0836 ± 0.00^{d}

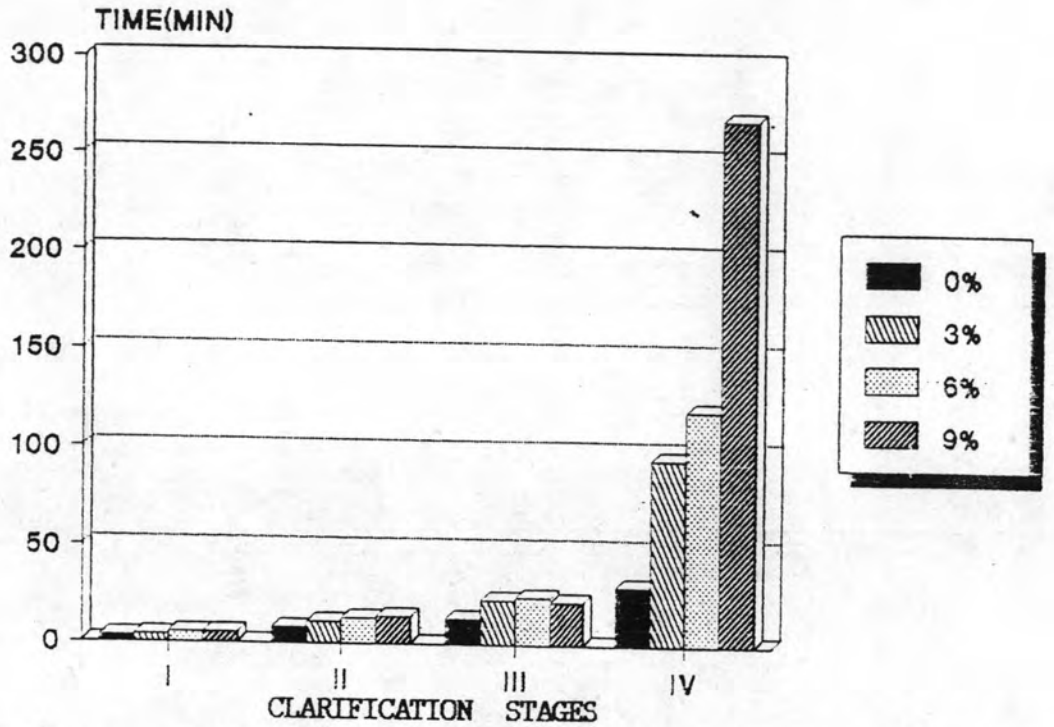
หมายเหตุ a,b,c,... ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 19-20 พบว่า วิธีการที่ใช้วัดปริมาณโปรตีนโดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นม.มีผลต่อชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลองทั้ง 4ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่นอย่างชัดเจน ($P \leq 0.05$)

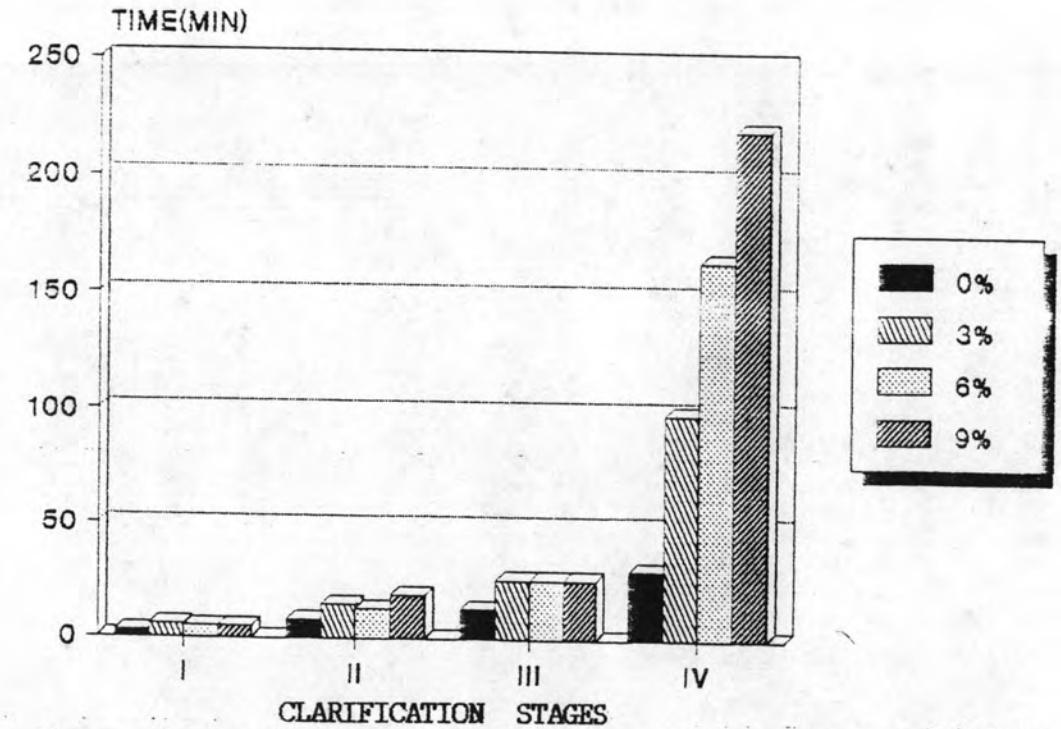
ศึกษาปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนในน้ำผึ้งและปริมาณแทนนิน(ในรูปเกรดแทนนิค)ที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส

<u>-ศึกษาเวลาในแต่ละช่วงที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส</u>

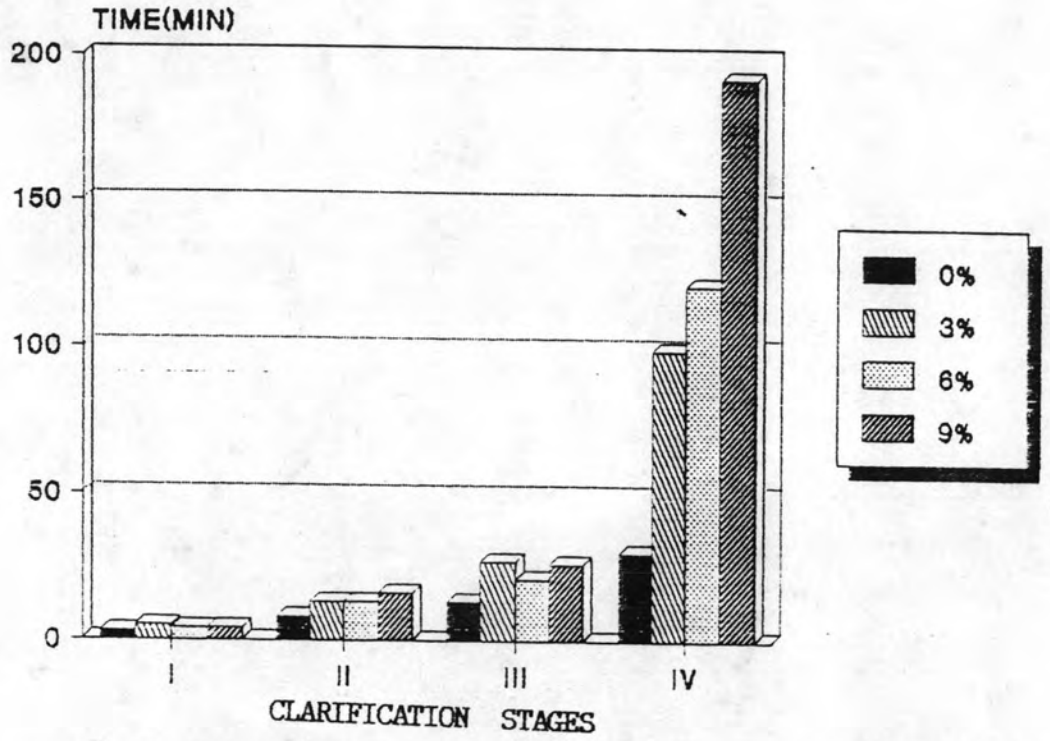
สำหรับในขั้นตอนนี้จะศึกษาปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนในน้ำผึ้งต่างชนิดกัน 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และ น้ำผึ้งนุ่น และความเข้มข้นของน้ำผึ้ง 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0,3,6 และ 9 ที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส โดยการศึกษา เวลา (นาที) ที่ใช้ในแต่ละช่วงของการตกตะกอนซึ่งจะมี 4 ช่วง คือ ช่วงที่ I เริ่มตกตะกอน ช่วงที่ II เริ่มตกตะกอนอย่างหนัก ช่วงที่ III ตะกอนที่เกิดขึ้นเริ่มมีการกระจายตัว และ ช่วงที่ IV ตกตะกอนทั้งหมด เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้และความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ใช้ พบว่าผลการทดลองที่ได้ดังรูปที่ 10-13 และตารางที่ 21-22



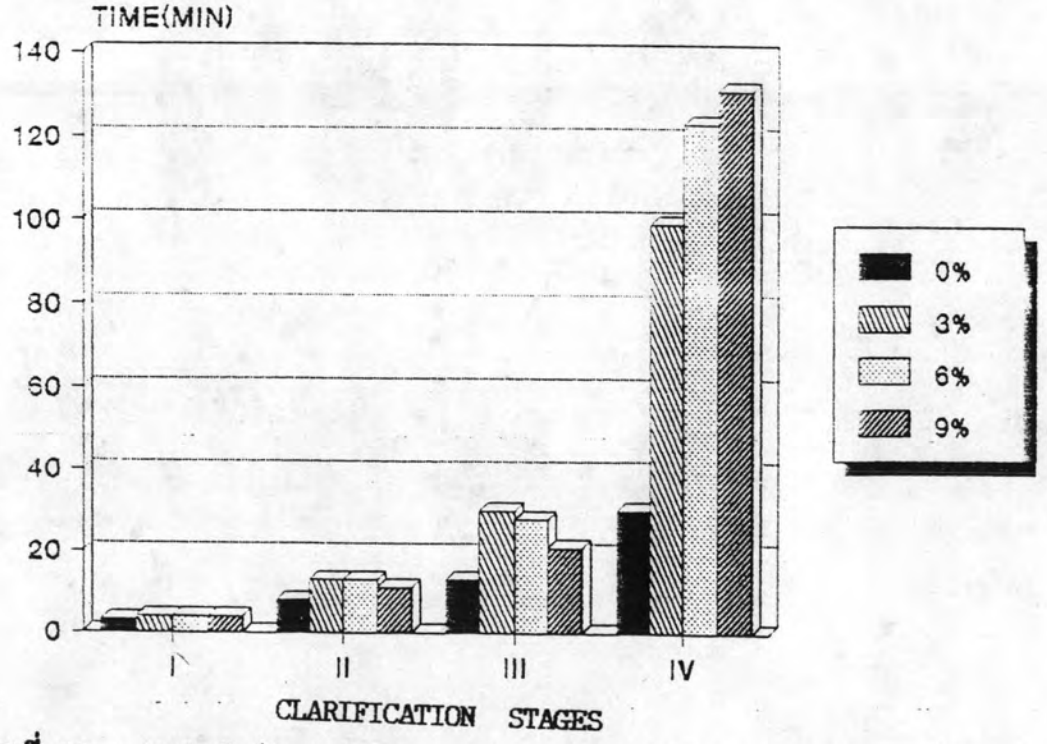
รูปที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา (นาที) กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งสาบเสือ เมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน



รูปที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา (นาที) กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งลิ้นจี่ เมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน



รูปที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา (นาที) กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งลำไย เมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน



รูปที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา (นาที) กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งนุ่น เมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน

จากรูปที่ 10-13 เป็นความสัมพันธ์ระหว่างช่วงเวลาการเปลี่ยนแปลงการทำน้ำองุ่นให้ใส และเวลา (นาที) ของน้ำผึ้ง 4 ชนิดคือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น เมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0,3,6 และ 9มีผลทำให้เวลาในแต่ละช่วงของการทำน้ำองุ่นให้ใสแตกต่างกัน พบว่า เวลาที่ใช้ในการทำน้ำองุ่นให้ใสในช่วง I ช่วง II และช่วง III มีค่าค่อนข้างใกล้เคียงกัน แต่เวลาในช่วงที่ IV ของการทำน้ำองุ่นให้ใส แตกต่างกัน เวลาที่ใช้ในการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งแต่ละชนิดนี้เป็นดังนี้ คือ น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งลิ้นจี่ จะใช้เวลาในการทำให้ใสนานกว่าน้ำผึ้งลำไย ส่วนน้ำผึ้งนุ่นใช้เวลาในการทำให้ใสน้อยที่สุด โดยส่วนใหญ่เวลาที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงจะอยู่ในช่วงประมาณ 140-300 นาที แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ใช้ นอกจากนี้ ยังขึ้นกับชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งการใช้น้ำผึ้งที่มีความเข้มข้นมากจะทำให้เวลาในการทำน้ำองุ่นให้ใส (ช่วงที่ IV) เพิ่มมากขึ้นด้วย

ตารางที่ 21 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนเวลาใน **ช่วงที่** I II III และ IV ของการทำน้ำองุ่นให้ใส เมื่อ A=ชนิดของน้ำผึ้ง B=ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง

SOV	D.F.	F-value				
		ช่วงI	ช่วง II	ช่วง III	ช่วง IV	ตาราง
A	3	8.47*	8.07*	12.92*	53.48*	3.29
B	3	2.16	1.24	0.52	2.59	3.29
AxB	9	0.60	0.81	0.53	2.42	2.64
block	1	7.34*	20.23*	14.69*	1.33	4.54

หมายเหตุ * หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 21 เป็นผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาใน ช่วงที่ I ช่วงที่ II ช่วงที่ III และช่วงที่ IV และความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0,3,6

และ 9 ที่มีต่อเวลาในการทำน้ำองุ่นให้ใส 4 ช่วง คือ ช่วงที่ I จนถึงช่วงที่ IV พบว่า เวลาที่ใช้ในการทำน้ำองุ่นให้ใสนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง ($P \leq 0.05$)ส่วนความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลองนั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาในแต่ละช่วงของการทดลองทั้ง 4ช่วง คือ ช่วงที่ I ช่วงที่ II ช่วงที่ III และช่วงที่ IV พบว่า ค่านี้จะมีค่าเพิ่มขึ้นตามลำดับจาก ช่วงเวลาตั้งแต่ ช่วงที่ I จนถึงช่วงที่ IV โดยเฉพาะอย่างยิ่งเวลาในช่วงที่ IV มีค่า MS_E สูงที่สุด

ตารางที่ 22 ค่าเฉลี่ยของเวลาในแต่ละช่วงของการตกตะกอน เมื่อแปรชนิดและความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน

วิธีการ	เวลา (นาที)± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	ช่วงที่ I	ช่วงที่ II	ช่วงที่ III	ช่วงที่ IV
A:ชนิดของน้ำผึ้ง				
สาบเสือ	4±0.80^{a}	12±2.31^{a}	21±5.78^{a}	129±7.43^{b}
สิ้นจี่	5±0.70^{b}	14±2.40^{b}	23±4.34^{b}	128±6.54^{b}
ลำไย	4±0.75^{a}	13±1.23^{ab}	22±4.12^{ab}	110±5.67^{ab}
นุ่น	4±0.78^{a}	11±1.87^{a}	23±3.21^{b}	96±7.80^{a}
B:ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง(ร้อยละ)				
0	3±1.12	8±1.45	13±2.56	30±7.65
3	5±1.23	13±1.34	27±3.87	98±5.67
6	5±2.01	13±1.23	25±2.10	132±6.78
9	5±1.87	15±1.34	24±2.54	203±6.56

หมายเหตุ a,b,... ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 22 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสิ่งทดลองแต่ละชนิด คือ

น้ำผึ้ง 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น และความเข้มข้นของน้ำผึ้ง 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0,3,6 และ 9 พบว่า ไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของน้ำผึ้ง($P>0.05$) แต่ขึ้นกับชนิดของน้ำผึ้งทั้ง 4 ชนิดที่ใช้ในการทดลอง คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น

-ศึกษาปริมาณแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค)ที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส

สำหรับในขั้นตอนนี้จะศึกษาปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนในน้ำผึ้งต่างชนิดกัน 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และ น้ำผึ้งนุ่น และความเข้มข้นของน้ำผึ้ง 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0,3,6 และ 9 ที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส โดยการศึกษาปริมาณแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค) ภายหลังสิ้นสุดปฏิกิริยาการทำน้ำองุ่นให้ใส เพื่อเปรียบเทียบค่าปริมาณแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค)ที่วัดได้ เมื่อ treatment แตกต่างกัน พบว่าผลการทดลองที่ได้ดังตารางที่ 23-25

ตารางที่ 23 ปริมาณแทนนิน(ในรูปกรดแทนนิค)ในน้ำองุ่นที่วัดได้เมื่อแปรชนิด และความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่แตกต่างกัน

ชนิดของน้ำผึ้ง	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มก./มล.)
สาบเสือ	0	0.44± 0.14
ลิ้นจี่		0.44± 0.14
ลำไย		0.44± 0.14
นุ่น		0.44± 0.14
สาบเสือ	3	0.43± 0.12
ลิ้นจี่		0.46± 0.10
ลำไย		0.43± 0.11
นุ่น		0.39± 0.12
สาบเสือ	6	0.38± 0.06
ลิ้นจี่		0.39± 0.04
ลำไย		0.41± 0.12
นุ่น		0.37± 0.01
สาบเสือ	9	0.53± 0.03
ลิ้นจี่		0.38± 0.11
ลำไย		0.40± 0.04
นุ่น		0.49± 0.18

จากตารางที่ 23 แสดงค่าปริมาณแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค)ที่วัดได้ในน้ำองุ่นจะเห็นได้ว่า ปริมาณแทนนินที่พบในน้ำองุ่นเมื่อแปรชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้แตกต่างกันทั้ง 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น และความเข้มข้นของน้ำผึ้ง 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0,3,6 และ 9 พบว่าค่าปริมาณแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค) ที่วัดได้ไม่แตกต่างกันมาก

ตารางที่ 24 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแทนนิน(ในรูปกรดแทนนิค)เมื่อ A=ชนิดของน้ำผึ้ง B= ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F-value	
				คำนวณ	ตาราง
A	3	3.07×10^{-2}	1.02×10^{-2}	0.92	3.29
B	3	3.81×10^{-3}	1.27×10^{-3}	0.12	3.29
AxB	9	3.34×10^{-2}	3.71×10^{-3}	0.34	2.64
block	1	0.015	0.015	1.36	4.54
error	15	0.168	0.011		

พิจารณาจากตารางที่ 24 เป็นผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค) สรุปได้ว่า ปริมาณแทนนินที่วัดได้ไม่ขึ้นกับชนิดของน้ำผึ้ง($P>0.05$) และความเข้มข้นของน้ำผึ้ง ($P>0.05$)

ตารางที่ 25 ค่าเฉลี่ยของปริมาณแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค)โดยเฉลี่ย เมื่อแปรชนิด และความเข้มข้นของน้ำฝึ้งต่างกัน

วิธีการ	ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มก./มล.)
A: ชนิดของน้ำฝึ้ง	
สาบเสือ	0.45± 0.06
ลิ้นจี่	0.42± 0.04
ลำไย	0.42± 0.02
นุ่น	0.42± 0.05
B: ความเข้มข้นของน้ำฝึ้ง(ร้อยละ)	
0	0.44± 0.14
3	0.43± 0.03
6	0.39± 0.02
9	0.45± 0.07

เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 25 พบว่าทั้ง ชนิดของน้ำฝึ้งที่ใช้ในการทดลองทั้ง 4 ชนิด คือ น้ำฝึ้งสาบเสือ น้ำฝึ้งลิ้นจี่ น้ำฝึ้งลำไย และน้ำฝึ้งนุ่น และความเข้มข้นของน้ำฝึ้งที่ใช้ในการทดลอง 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0,3,6 และ 9 ไม่มีผลต่อปริมาณแทนนิน ($P>0.05$)

-<u>ประเมินประสิทธิภาพของการทำน้ำองุ่นให้ใสโดยการวัด %transmittance</u>

สำหรับในขั้นตอนนี้จะศึกษาปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนในน้ำฝึ้งต่างชนิดกัน 4 ชนิด คือ น้ำฝึ้งสาบเสือ น้ำฝึ้งลิ้นจี่ น้ำฝึ้งลำไย และ น้ำฝึ้งนุ่น และความเข้มข้นของน้ำฝึ้ง 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0,3,6 และ 9 ที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส โดยการศึกษา %transmittance ภายหลังสิ้นสุดปฏิกิริยาการทำน้ำองุ่นให้ใส เพื่อเปรียบเทียบค่า %transmittance ที่วัดได้ เมื่อ

treatment แตกต่างกัน พบว่าผลการทดลองที่ได้ดังตารางที่ 26-28

ตารางที่ 26 %transmittance ของน้ำองุ่นเมื่อแปรชนิดและความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน

ชนิดของน้ำผึ้ง	ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
สาบเสือ	0	69.05± 0.92
ลิ้นจี่		69.05± 0.92
ลำไย		69.05± 0.92
นุ่น		69.05± 0.92
สาบเสือ	3	63.85± 0.78
ลิ้นจี่		68.30± 0.99
ลำไย		66.90± 4.52
นุ่น		67.60± 0.57
สาบเสือ	6	63.40± 0.99
ลิ้นจี่		66.30± 1.56
ลำไย		67.65± 2.47
นุ่น		63.75± 0.35
สาบเสือ	9	58.10± 2.40
ลิ้นจี่		68.90± 0.00
ลำไย		66.00± 2.55
นุ่น		60.25± 0.21

จากตารางที่ 26 แสดงค่า %transmittance ที่วัดได้ของน้ำองุ่น เมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0,3,6 และ 9 และชนิดของน้ำผึ้ง 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น พบว่า ค่า %transmittanceที่วัดได้นี้มีค่าแตกต่างกันไป และจากตารางสังเกตได้ว่า เมื่อความเข้มข้นของน้ำผึ้งเพิ่มมากขึ้น ค่า %transmittance มีแนวโน้มลดลงเรื่อย ๆ

ตารางที่ 27 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน %transmittance เมื่อ A= ชนิดของน้ำผึ้ง B= ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F-value	
				คำนวณ	ตาราง
A	3	139.75	46.58	15.02*	3.29
B	3	103.75	34.58	11.15*	3.29
AxB	9	94.36	10.48	3.38*	2.64
block	1	1.22	1.22	0.39	4.54
error	15	46.49	3.10		

หมายเหตุ * หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 27 ซึ่งเป็นผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า %transmittance จะเห็นว่า ค่า %transmittance นั้นขึ้นอยู่กับ ชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง ($P \leq 0.05$) และ ความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง ($P \leq 0.05$) และมี interaction ระหว่างชนิดของน้ำผึ้งและความเข้มข้นของน้ำผึ้ง

ตารางที่ 28 ค่าเฉลี่ยของ %transmittance เมื่อ แปรชนิดและความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน

วิธีการ	ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
A: ชนิดของน้ำผึ้ง	
สาบเสือ	63.60± 4.47[a]
ลิ้นจี่	68.14± 1.27[b]
ลำไย	67.40± 1.29[b]
นุ่น	65.16± 3.97[b]
B: ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง(ร้อยละ)	
0	69.05± 0.92[c]
3	66.66± 1.96[b]
6	65.28± 2.04[a]
9	63.31± 5.00[a]

หมายเหตุ a,b,c,... ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

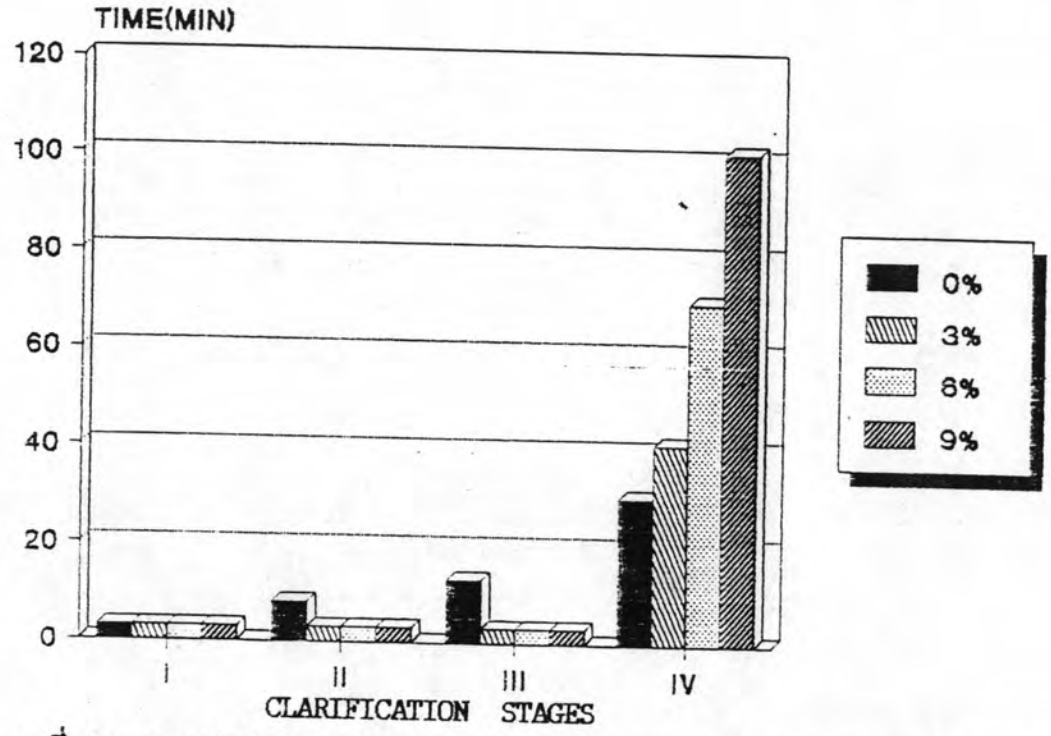
จากตารางที่ 28 เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของค่า %transmittance ที่วัดได้ในน้ำองุ่น พบว่า ค่าเฉลี่ยของ %transmittance ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำผึ้งและความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง ($P \leq 0.05$)

ศึกษาผลของสารประกอบบางชนิดที่มีต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส

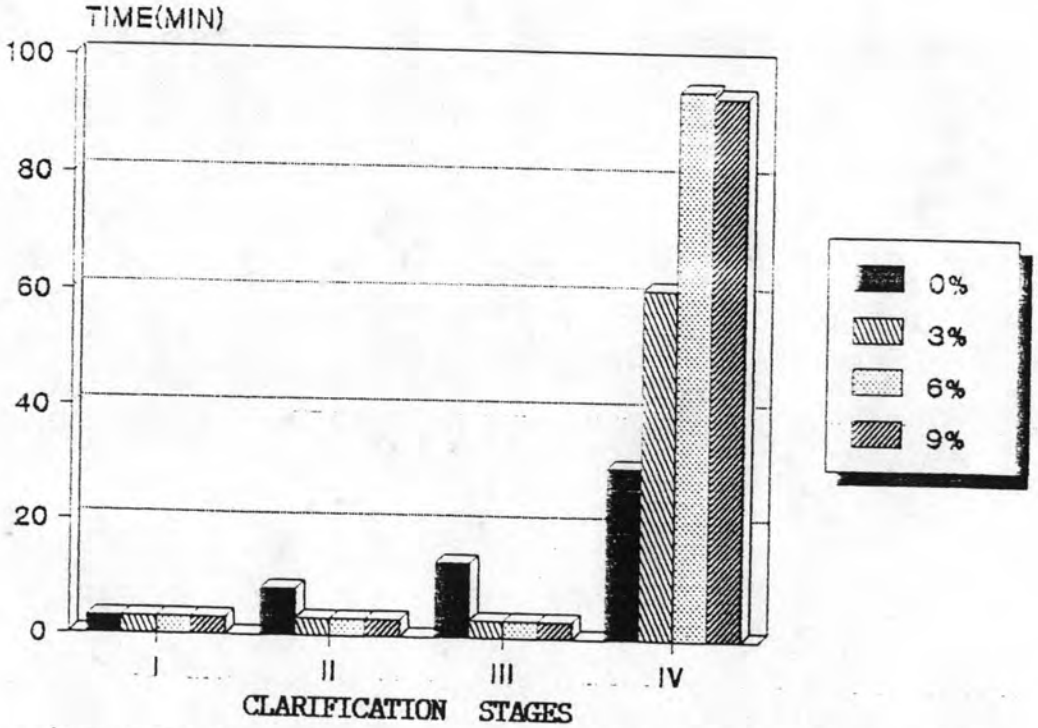
-ศึกษาเวลาที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส

สำหรับในขั้นตอนนี้จะศึกษาผลของสารประกอบ 2 ชนิด คือ trichloroacetic acid และ 2-mercaptoethanol ที่มีผลต่อโปรตีนในน้ำผึ้งที่ทำให้โปรตีนเสียสภาพไป (denature)

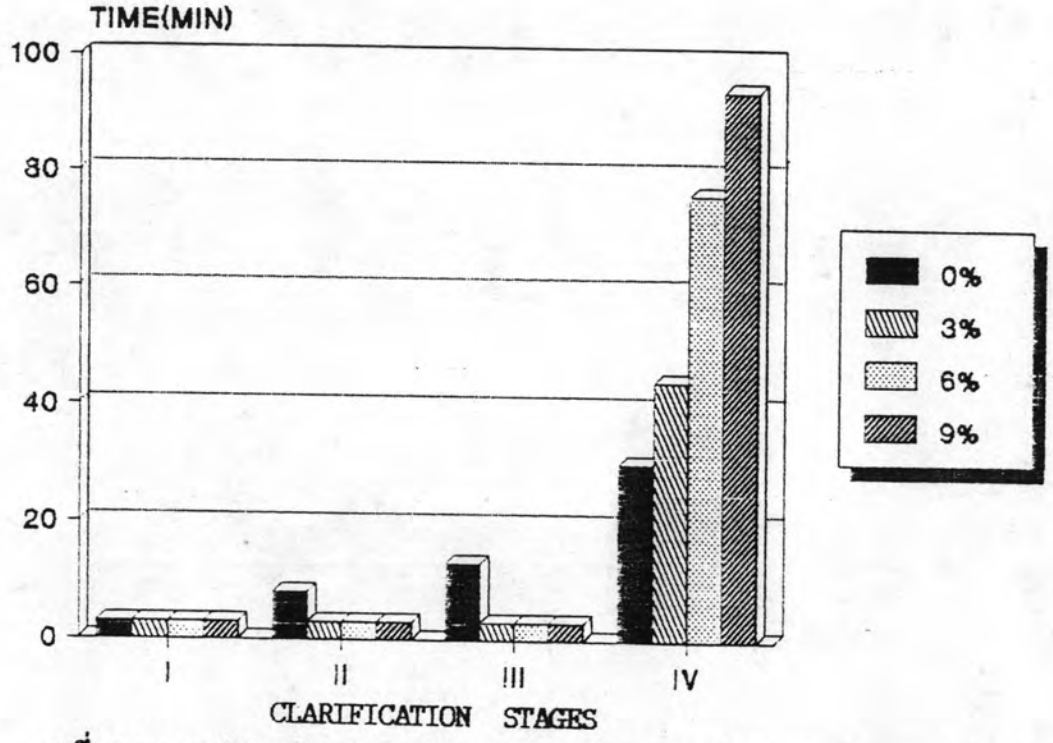
และเพื่อพิสูจน์สมมติฐานที่ว่าโปรตีนที่เสียสภาพไปนี้มีผลทำให้เวลาในการเกิดปฏิกิริยาเร็วขึ้น โดยเปรียบเทียบกับน้ำผึ้งที่ไม่เติมสารประกอบดังกล่าว แต่นำไปต้มแทนเพื่อเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้ สำหรับวิธีการและตัวแปรที่ใช้ศึกษา ทำนองเดียวกันกับหัวข้อปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนในน้ำผึ้งและแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค)ที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส พบว่าผลการทดลองที่ได้ดังรูปที่ 14-25 และตารางที่ 29-30



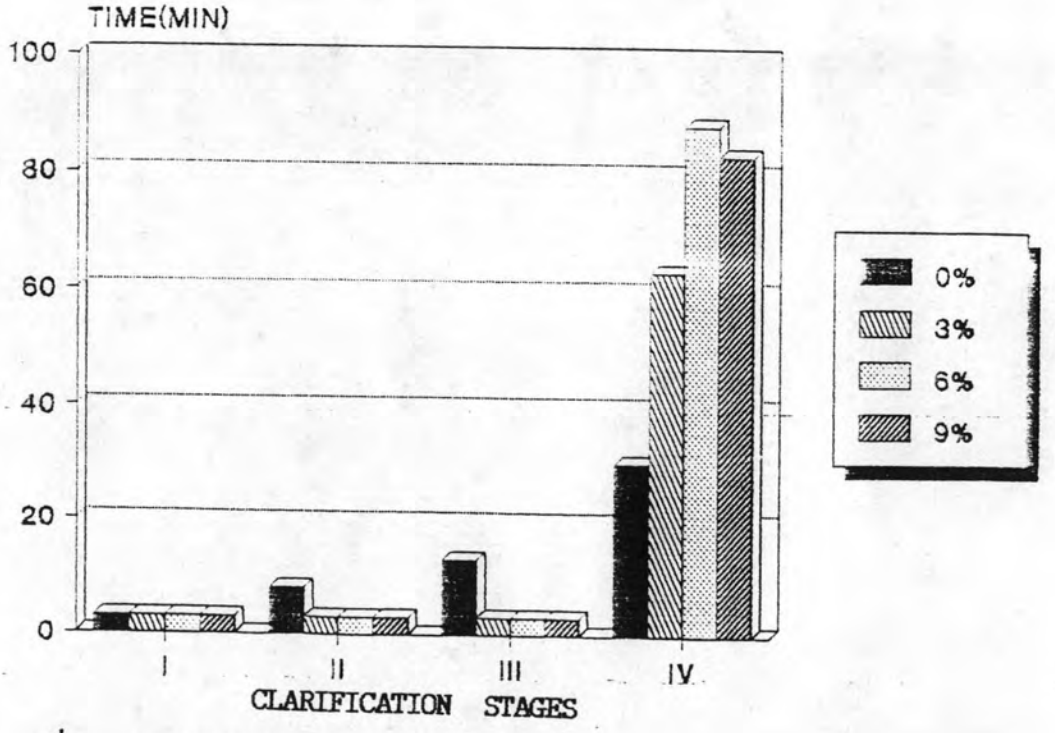
รูปที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา (นาที) กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งสาบเสือที่ผ่านการต้มเมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน



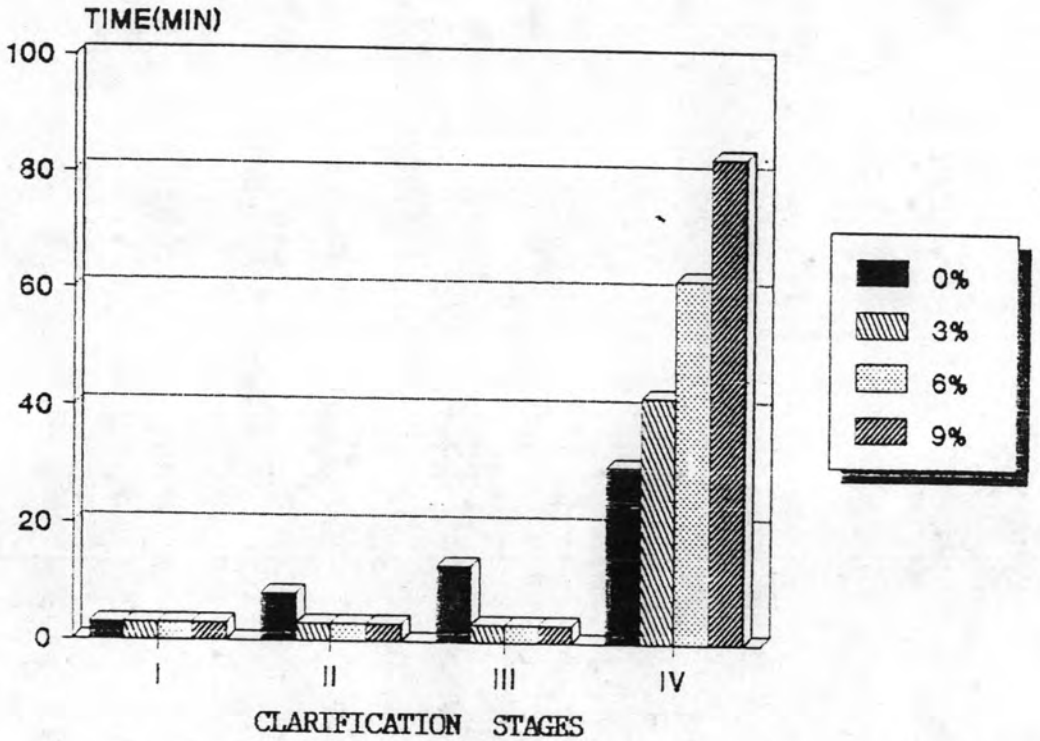
รูปที่ 15 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา (นาที) กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งลิ้นจี่ที่ผ่านการต้มเมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน



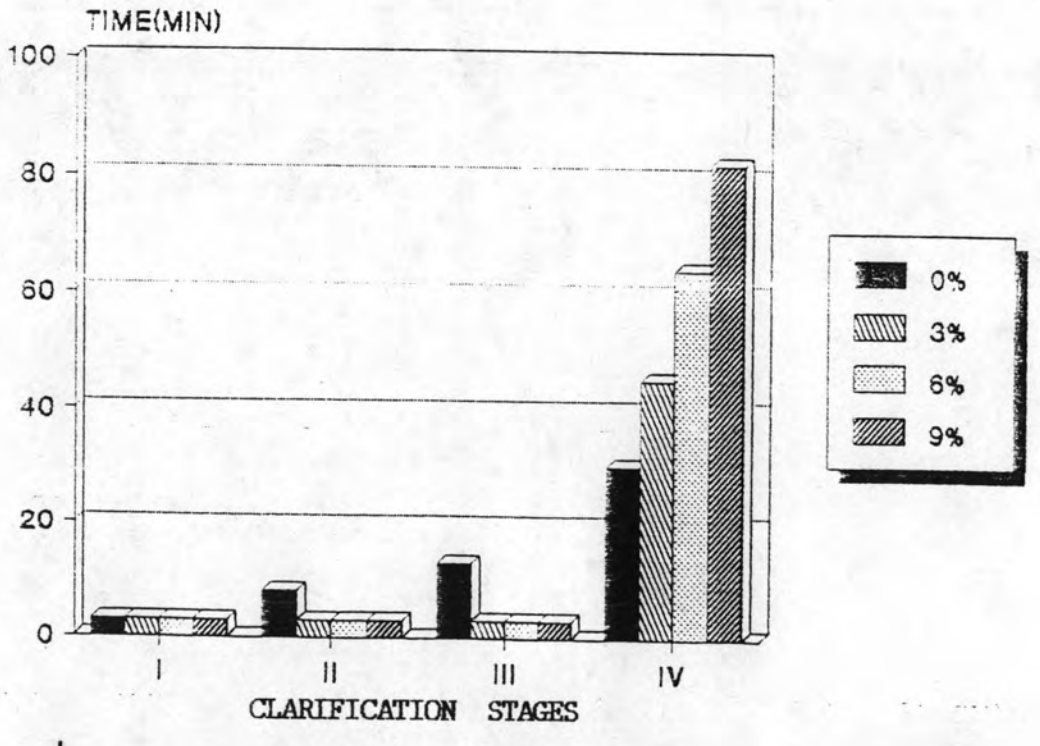
รูปที่ 16 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา (นาที) กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งลำไยที่ผ่านการคัมเมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน



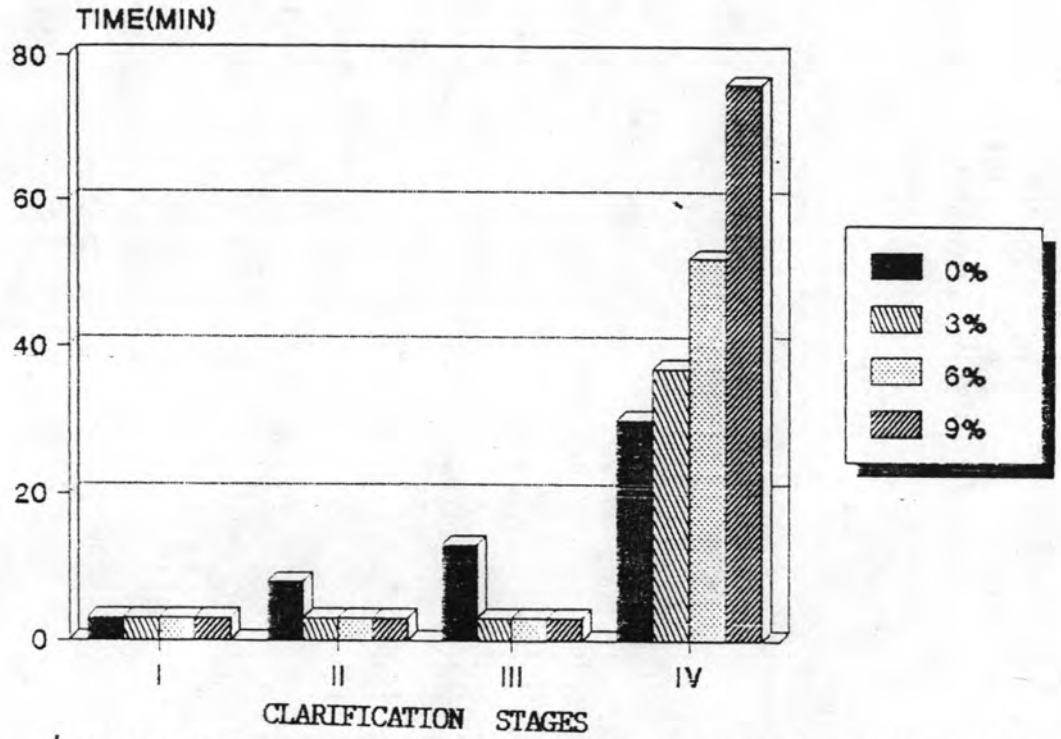
รูปที่ 17 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา (นาที) กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งนุ่นที่ผ่านการคัมเมื่อความเข้มข้นน้ำผึ้งต่างกัน



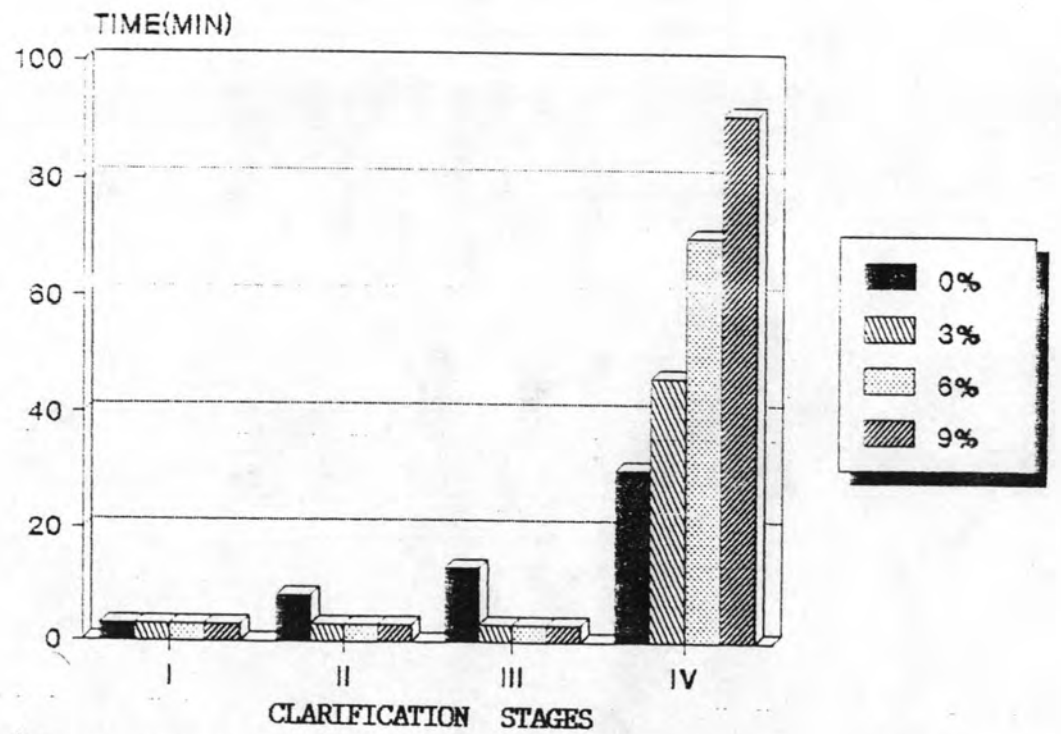
รูปที่ 18 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา (นาที) กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งสายเลือดที่ผ่านการเติม 2-mercaptoethanol เมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน



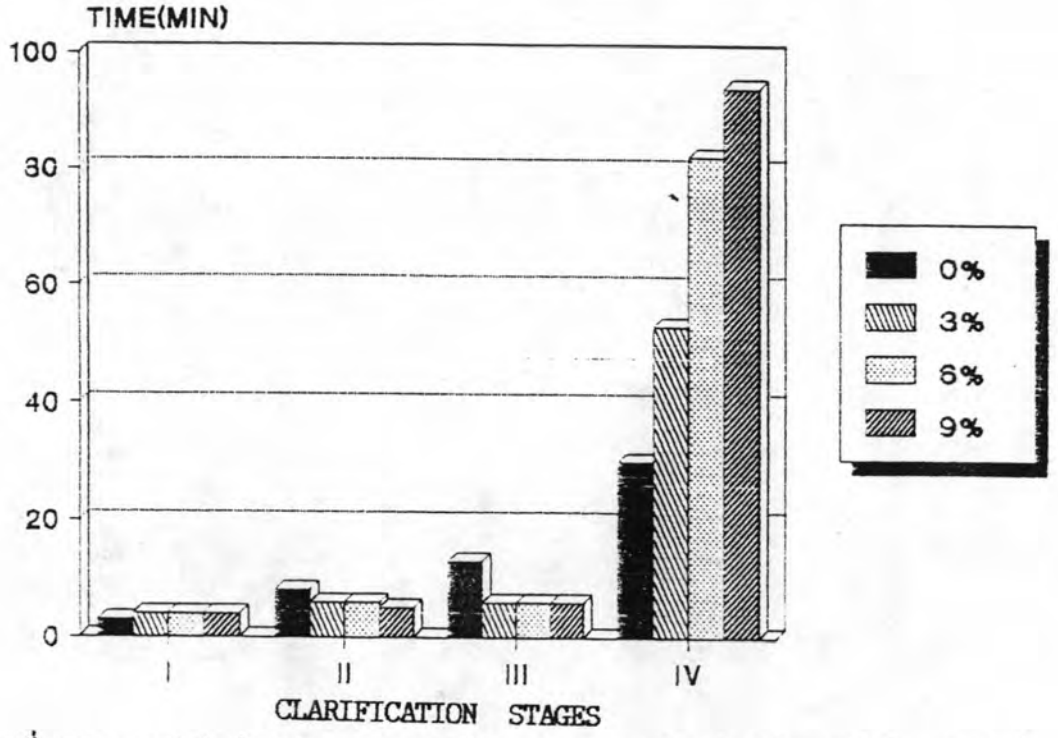
รูปที่ 19 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา (นาที) กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งลิ้นจี่ที่ผ่านการเติม 2-mercaptoethanol เมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน



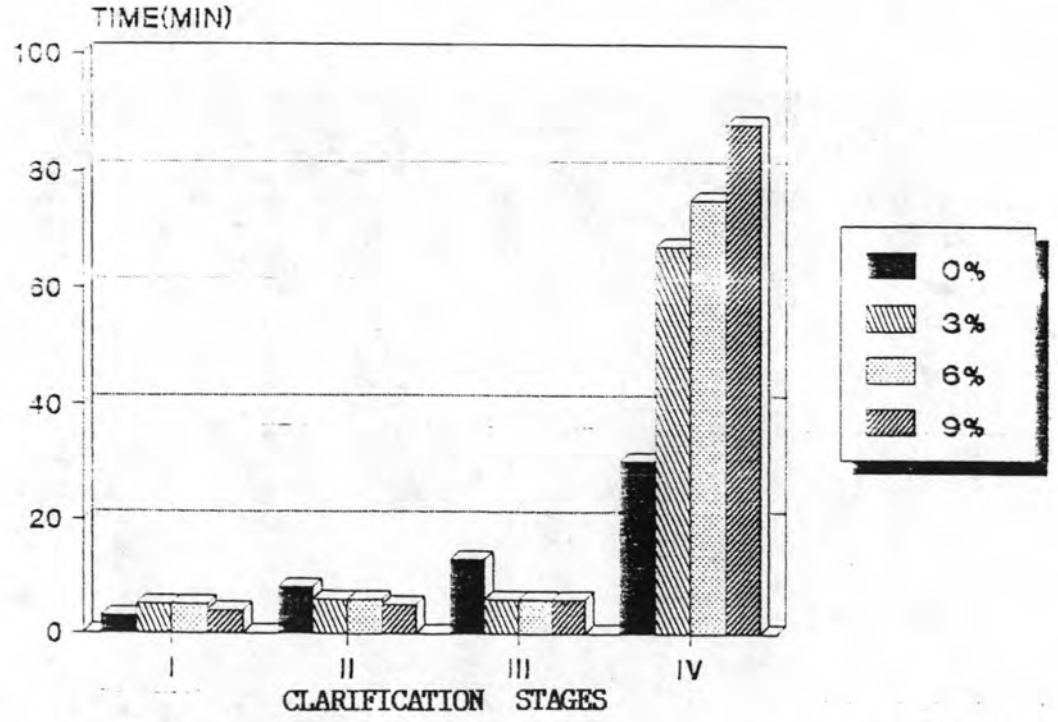
รูปที่ 20 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา(นาที) กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งลาไยที่ผ่านการเติม 2-mercaptoethanol เมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน



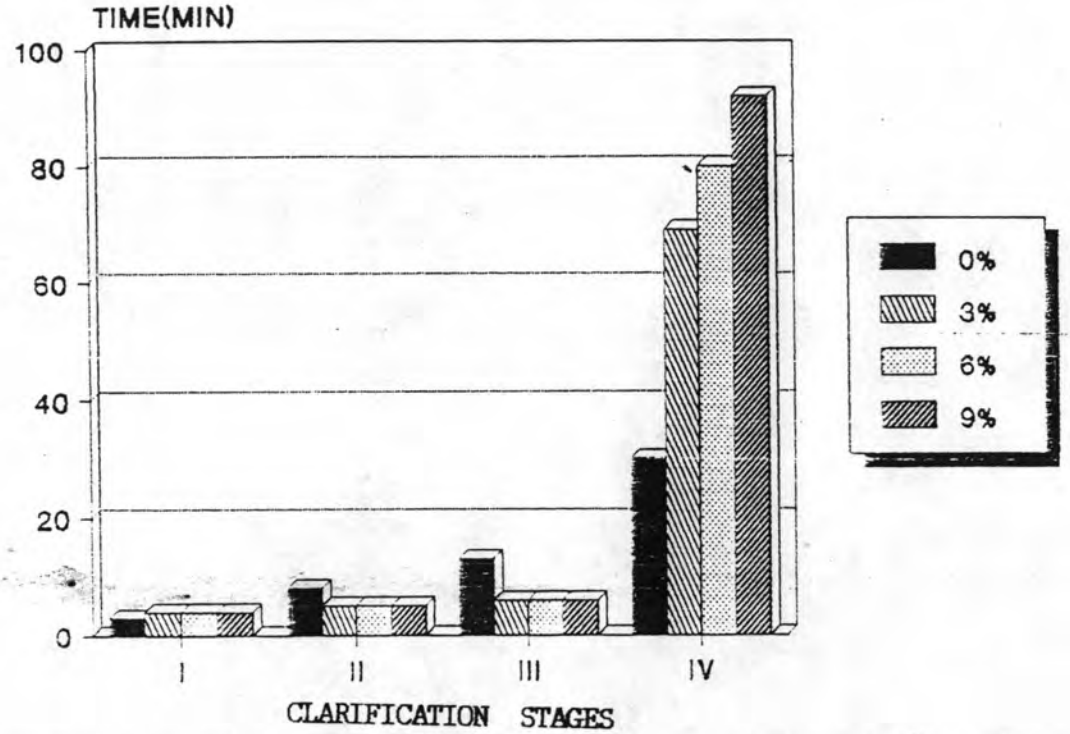
รูปที่ 21 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา (นาที) กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งปุนที่ผ่านการเติม 2-mercaptoethanol เมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน



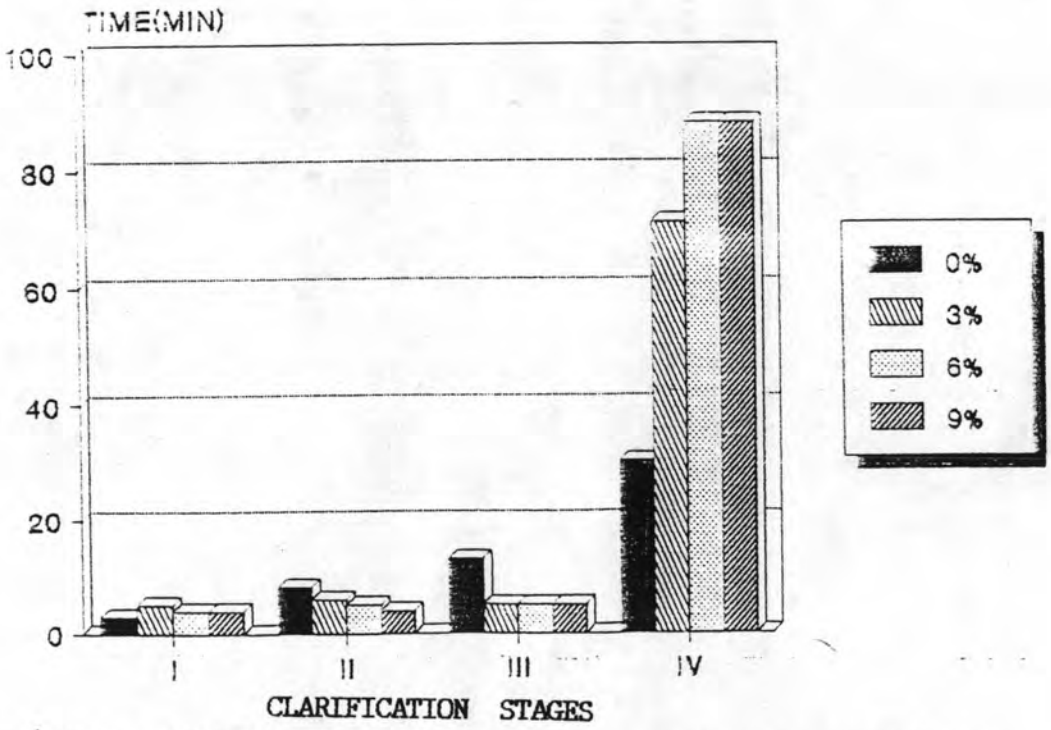
รูปที่ 22 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา (นาที) กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งสาบเสือที่ผ่านการเติม **trichloroacetic acid** เมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน



รูปที่ 23 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา(นาที) กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งลิ้นจี่ที่ผ่านการเติม **trichloroacetic acid** เมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน



รูปที่ 24 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา(นาที) กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งสายไหที่ผ่านการเติม **trichloroacetic acid** เมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน



รูปที่ 25 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา(นาที) กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสของน้ำผึ้งบุ่นที่ผ่านการเติม **trichloroacetic acid** เมื่อแปรความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน

เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 14-25 สังเกตได้ว่า น้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลองที่ผ่านการเติม 2-mercaptoethanol และต้ม จะใช้เวลาในการทำน้ำองุ่นให้ใสได้เร็วที่สุด (ช่วงที่ IV) คือในช่วงเวลาประมาณ 30-80 นาที รองลงมา คือ น้ำผึ้งที่ผ่านการเติม trichloroacetic acid และต้ม ใช้เวลาประมาณ 50-90 นาที ส่วนน้ำผึ้งที่ผ่านการต้มอย่างเดียวใช้เวลาประมาณ 40-90 นาที ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำผึ้ง และความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลองด้วย และจากกราฟซึ่งสังเกตได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของเวลาใน ช่วงที่ I ช่วงที่ II และช่วงที่ III ของการทำน้ำองุ่นให้ใสเกิดขึ้นได้เร็วมาก ซึ่งทำให้สังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงได้ยาก ส่วนเวลาในช่วงที่ IV ของการทำน้ำองุ่นให้ใสจะเกิดขึ้นได้ช้ากว่าช่วงอื่น ๆ (ช่วงที่ I-ช่วงที่ III)

ตารางที่ 29 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาใน **ช่วงที่ I II III IV** ของการทำน้ำองุ่นให้ใส เมื่อ A=วิธีการ B=ชนิดของน้ำผึ้ง C=ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง

SOV	D.F.	F-value				
		ช่วง I	ช่วง II	ช่วง III	ช่วง IV	ตาราง
A	2	62.60*	40.44*	45.03*	3.19	3.20
B	3	1.24	70.36*	210.50*	58.18*	2.80
C	3	1.24	0.56	0.06	0.32	2.80
AxB	6	7.53*	5.20*	5.10*	0.91	2.31
AxC	6	1.24	0.28	0.06	0.48	2.31
BxC	9	0.67	0.19	0.03	0.39	2.15
AxBxC	18	0.67	0.24	0.03	0.20	2.15
block	1	37.04*	27.84*	34.96*	0.21	1.86

หมายเหตุ * หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 29 เป็นผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาในช่วงที่ I ถึง ช่วงที่ IV พบว่า เวลาที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใสนั้นจะขึ้นอยู่กับวิธีการ 3 วิธีที่แตกต่างกัน คือ น้ำผึ้ง

ที่ผ่านการต้ม น้ำผึ้งที่ผ่านการเติม trichloroacetic acid และต้ม และน้ำผึ้งที่ผ่านการเติม 2-mercaptoethanol และต้ม ($P \leq 0.05$) และชนิดของน้ำผึ้งที่ทำใช้ในการทดลองทั้ง 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น ($P \leq 0.05$) แต่ไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ทำใช้ในการทดลอง 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0,3,6 และ 9 ($P > 0.05$)

ตารางที่ 30 ค่าเฉลี่ยของเวลา(นาที)ในแต่ละช่วงของการตกตะกอน เมื่อแปรวิธีการ ชนิดของน้ำผึ้ง และความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน

วิธีการ	เวลา (นาที)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	ช่วงที่ I	ช่วงที่ II	ช่วงที่ III	ช่วงที่ IV
A:วิธีการ				
ต้ม	3±0.91^{a}	4±1.21^{a}	6±2.25^{a}	64±4.12
เติมtrichloroacetic acid	4±0.85^{b}	6±1.54^{b}	8±3.10^{b}	67±3.56
เติม2-mercaptoethanol	3±0.85^{a}	4±1.58^{a}	6±1.85^{a}	54±3.12
B:ชนิดของน้ำผึ้ง				
สาบเสือ	3±0.75	5±2.12^{a}	6±2.15^{a}	60±4.32^{a}
ลิ้นจี่	3±0.78	7±1.58^{b}	6±3.45^{a}	63±6.45^{b}
ลำไย	3±1.12	5±1.25^{a}	8±2.45^{b}	59±4.56^{a}
นุ่น	3±1.21	5±1.45^{a}	6±3.48^{a}	65±6.09^{c}
C:ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง(ร้อยละ)				
0	3±1.24	8±1.54	13±3.12	30±7.12
3	4±0.90	4±1.78	4±2.45	53±7.89
6	3±0.12	4±2.12	4±2.45	75±7.08
9	3±0.00	4±2.12	4±2.47	89±6.16

หมายเหตุ a,b,c,... ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 30 พบว่า เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ เวลา (นาที)ของการทำน้ำองุ่นให้ใสนั้น เวลาที่ใช้ในการทำน้ำองุ่นให้ใสขึ้นกับ วิธีการที่แตกต่างกัน ($P \leq 0.05$) ชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง ($P \leq 0.05$) แต่ไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง ($P > 0.05$)

<u>-ศึกษาปริมาณแทนนิน (ในรูปเกรดแทนนิค)ที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส</u>

สำหรับในขั้นตอนนี้จะศึกษาผลของสารประกอบ 2 ชนิด คือtrichloroacetic acid และ 2-mercaptoethanol ที่มีผลต่อโปรตีนในน้ำผึ้งที่ทำให้โปรตีนเสียสภาพไป (denature) และเพื่อพิสูจน์สมมติฐานที่ว่าโปรตีนที่เสียสภาพไปนี้มีผลทำให้เวลาในการ เกิดปฏิกิริยา เร็วขึ้น โดยเปรียบเทียบกับน้ำผึ้งที่ไม่เติมสารประกอบดังกล่าว แต่นำไปต้มแทน เพื่อเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้ สำหรับวิธีการและตัวแปรที่ใช้ศึกษา ทำนองเดียวกันกับหัวข้อปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนในน้ำผึ้งและแทนนิน (ในรูปเกรดแทนนิค)ที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส พบว่า ผลการทดลองที่ได้ดังตารางที่ 31-33

ตารางที่ 31 เปรียบเทียบปริมาณแทนนิน (ในรูปทรดแทนนิค) ที่ต่างกัน เมื่อน้ำน้ำผึ้งมาผ่านวิธีการ ชนิด และ ความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่แตกต่างกัน

ชนิดของน้ำผึ้ง	ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มก./มล)		
		ต้ม	2-mercaptoethanol	trichloroacetic acid
สาบเสือ	0	0.44± 0.14	0.44± 0.14	0.44± 0.14
ลิ้นจี่		0.44± 0.14	0.44± 0.14	0.44± 0.14
ลำไย		0.44± 0.14	0.44± 0.14	0.44± 0.14
นุ่น		0.44± 0.14	0.44± 0.14	0.44± 0.14
สาบเสือ	3	0.39± 0.00	0.32± 0.00	0.42± 0.17
ลิ้นจี่		0.36± 0.00	0.27± 0.05	0.31± 0.03
ลำไย		0.35± 0.00	0.32± 0.00	0.40± 0.13
นุ่น		0.43± 0.03	0.31± 0.06	0.26± 0.06
สาบเสือ	6	0.44± 0.09	0.31± 0.03	0.40± 0.13
ลิ้นจี่		0.33± 0.06	0.38± 0.05	0.30± 0.02
ลำไย		0.44± 0.00	0.36± 0.14	0.60± 0.02
นุ่น		0.44± 0.01	0.34± 0.04	0.29± 0.05
สาบเสือ	9	0.34± 0.02	0.31± 0.02	0.33± 0.04
ลิ้นจี่		0.40± 0.02	0.33± 0.05	0.31± 0.00
ลำไย		0.36± 0.02	0.31± 0.03	0.34± 0.06
นุ่น		0.32± 0.00	0.35± 0.01	0.31± 0.03

จากตารางที่ 31 เมื่อเปรียบเทียบค่าแทนนิน(ในรูปกรดแทนนิค) ที่วัดได้เมื่อเปรียบเทียบวิธีการ 3 วิธีที่ต่างกัน คือ น้ำผึ้งที่ผ่านการต้ม น้ำผึ้งที่ผ่านการเติม 2-mercaptoethanol และต้ม และ น้ำผึ้งที่ผ่านการเติม trichloroacetic acid และต้ม ชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และ น้ำผึ้งนุ่น และความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0,3,6 และ 9 จะเห็นได้ว่า ปริมาณแทนนินที่วิเคราะห์ได้มีค่าใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 32 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค) เมื่อ A=วิธีการ B=ชนิดของน้ำผึ้ง C=ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F-value	
				คำนวณ	ตาราง
A	2	3.20×10^{-2}	1.60×10^{-2}	3.20	3.20
B	3	0.30	9.96×10^{-2}	19.92*	2.80
C	3	2.78×10^{-2}	9.27×10^{-3}	1.85	2.80
AxB	6	2.08×10^{-2}	3.46×10^{-3}	0.69	2.31
AxC	6	4.83×10^{-2}	8.05×10^{-3}	1.61	2.31
BxC	9	5.36×10^{-2}	5.96×10^{-3}	1.19	2.15
AxBxC	18	7.63×10^{-2}	4.24×10^{-3}	0.85	2.15
block	1	0.106	0.106	21.20*	1.86
error	47	0.233	0.005		

หมายเหตุ * หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$)

เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 32 เป็นผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค) ที่วัดได้ พบว่า ปริมาณแทนนินขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำผึ้งทั้ง 4ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น ($P\leq0.05$) ส่วนความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง 4

ระดับ คือ ร้อยละ 0,3,6 และ 9 และวิธีการ 3 วิธีที่แตกต่างกัน คือ น้ำผึ้งที่ผ่านการต้ม น้ำผึ้งที่ผ่านการเติมtrichloroacetic acid และต้ม และน้ำผึ้งที่ผ่านการเติม2-mercaptoethanol และต้ม ไม่มีผลต่อค่าปริมาณแทนนิน (ในรูปกรดแทนิค) ที่วัดได้ ($P>0.05$)

ตารางที่ 33 ค่าเฉลี่ยของปริมาณแทนนิน (ในรูปกรดแทนิค) โดยเฉลี่ยเมื่อแปรวิธีการ ชนิดของน้ำผึ้ง และความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน

วิธีการ	ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มก./มล.)
A:วิธีการ	
ต้ม	0.40± 0.05
เติม trichloroacetic acid	0.38± 0.09
เติม 2-mercaptoethanol	0.36± 0.06
B:ชนิดของน้ำผึ้ง	
สาบเสือ	0.38± 0.06^{ab}
ลิ้นจี่	0.36± 0.06^{a}
ลำไย	0.40± 0.08^{b}
นุ่น	0.37± 0.07^{a}
C:ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง(ร้อยละ)	
0	0.44± 0.14
3	0.35± 0.06
6	0.39± 0.09
9	0.33± 0.03

หมายเหตุ a,b,... ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$)

จากตารางที่ 33 พบว่า เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสิ่งทดลอง คือ วิธีการ 3 วิธีที่แตกต่างกัน คือ น้ำผึ้งที่ผ่านการต้ม น้ำผึ้งที่ผ่านการเติม trichloroacetic acid และต้ม และน้ำผึ้งที่ผ่านการเติม 2-mercaptoethanol และต้ม พบว่า ค่าปริมาณแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค) ไม่มีความแตกต่าง($P>0.05$) และไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลองทั้ง 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0,3,6 และ 9 ($P>0.05$) แต่ ขึ้นกับชนิดของน้ำผึ้งทั้ง 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และ น้ำผึ้งนุ่น($P\leq0.05$)

-<u>ประเมินประสิทธิภาพของการทำน้ำองุ่นให้ใสโดยการวัด %transmittance</u>

สำหรับในขั้นตอนนี้จะศึกษาผลของสารประกอบ 2 ชนิด คือtrichloroacetic acid และ 2-mercaptoethanol ที่มีผลต่อโปรตีนในน้ำผึ้งที่ทำให้โปรตีนเสียสภาพไป (denature) และเพื่อพิสูจน์สมมติฐานที่ว่าโปรตีนที่เสียสภาพไปนี้มีผลทำให้เวลาในการเกิดปฏิกิริยาเร็วขึ้น โดยเปรียบเทียบกับน้ำผึ้งที่ไม่เติมสารประกอบดังกล่าว แต่นำไปต้มแทน เพื่อเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้ สำหรับวิธีการและตัวแปรที่ใช้ศึกษา ทำนองเดียวกันกับหัวข้อปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนในน้ำผึ้งและแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค)ที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส พบว่า ผลการทดลองที่ได้ดังตารางที่ 34-36

ตารางที่ 34 เปรียบเทียบค่า %transmittance เมื่อนำน้ำผึ้งมาแปรวิธีการ ชนิด และความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ต่างกัน

ชนิดของน้ำผึ้ง	ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
		ต้ม	2-mercaptoethanol	trichloroacetic acid
สาบเสือ	0	69.05± 0.92	69.05± 0.92	69.05± 0.92
สิ้นจี่		69.05± 0.92	69.05± 0.92	69.05± 0.92
ลาไย		69.05± 0.92	69.05± 0.92	69.05± 0.92
นุ่น		69.05± 0.92	69.05± 0.92	69.05± 0.92
สาบเสือ	3	72.40± 2.40	77.90± 0.99	59.30± 4.24
สิ้นจี่		72.55± 3.61	78.00± 1.70	64.50± 2.12
ลาไย		75.05± 0.07	76.60± 2.26	66.15± 4.45
นุ่น		73.60± 1.41	76.20± 2.55	70.45± 0.21
สาบเสือ	6	67.60± 1.56	73.40± 1.27	63.75± 5.44
สิ้นจี่		73.70± 2.12	79.05± 1.34	70.05± 0.21
ลาไย		71.85± 1.20	76.50± 2.26	73.50± 0.28
นุ่น		69.45± 1.91	76.10± 0.99	70.85± 1.63
สาบเสือ	9	64.15± 2.33	71.15± 2.19	62.25± 4.03
สิ้นจี่		74.55± 1.20	76.95± 1.77	68.35± 1.06
ลาไย		72.15± 3.18	76.35± 1.06	69.10± 0.00
นุ่น		66.05± 1.48	71.75± 0.35	68.15± 1.63

จากตารางที่ 34 เมื่อเปรียบเทียบค่า %transmittance ที่วิเคราะห์ได้ พบว่า ค่าที่ได้อยู่ในช่วงที่กว้างมากประมาณร้อยละ 59-78 ซึ่งจะแตกต่างกันไป

ตารางที่ 35 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน % transmittance เมื่อ A=วิธีการ B=ชนิดของน้ำผึ้ง C=ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F-value	
				คำนวณ	ตาราง
A	2	672.16	336.08	82.98*	3.20
B	3	158.94	52.98	13.08*	2.80
C	3	229.31	76.44	18.87*	2.80
AxB	6	356.94	59.49	14.69*	2.31
AxC	6	96.53	16.09	3.97*	2.31
BxC	9	116.22	18.47	4.56*	2.15
AxBxC	18	86.78	4.82	1.19	2.15
block	1	1.83	1.83	0.45	1.86
error	47	190.36	4.05		

หมายเหตุ * หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 35 เมื่อพิจารณาการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า %Transmittance พบว่า ค่านี้ขึ้นอยู่กับวิธีการ 3 วิธีที่แตกต่างกัน คือ น้ำผึ้งที่ผ่านการต้ม น้ำผึ้งที่ผ่านการเติม 2-mercaptoethanol และต้ม น้ำผึ้งที่ผ่านการเติม trichloroacetic acid และต้ม ($P \leq 0.05$) ชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลองทั้ง 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น ($P \leq 0.05$) และความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลองทั้ง 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0,3,6 และ 9 ($P \leq 0.05$) นอกจากนี้ยังมี interaction ระหว่างวิธีการ 3 วิธีที่แตกต่างกัน คือ ชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง($P \leq 0.05$) และความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง

($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 38 ค่าเฉลี่ยของ % transmittance เมื่อแปรวิธีการ ชนิด และความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน

วิธีการ	ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
A:วิธีการ	
ต้ม	70.58± 3.13^{b}
เติมtrichloroacetic acid	67.66± 3.60^{ab}
เติม2-mercaptoethanol	74.13± 3.69^{a}
B:ชนิดของน้ำผึ้ง	
สาบเสือ	68.25± 5.22^{a}
ลิ้นจี่	72.07± 4.47^{b}
ลำไย	72.03± 3.58^{b}
นุ่น	70.80± 3.11^{a}
C:ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง(ร้อยละ)	
0	69.05± 0.92^{a}
3	71.89± 5.85^{ab}
6	72.15± 4.19^{b}
9	70.08± 4.62^{a}

หมายเหตุ a,b,... ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

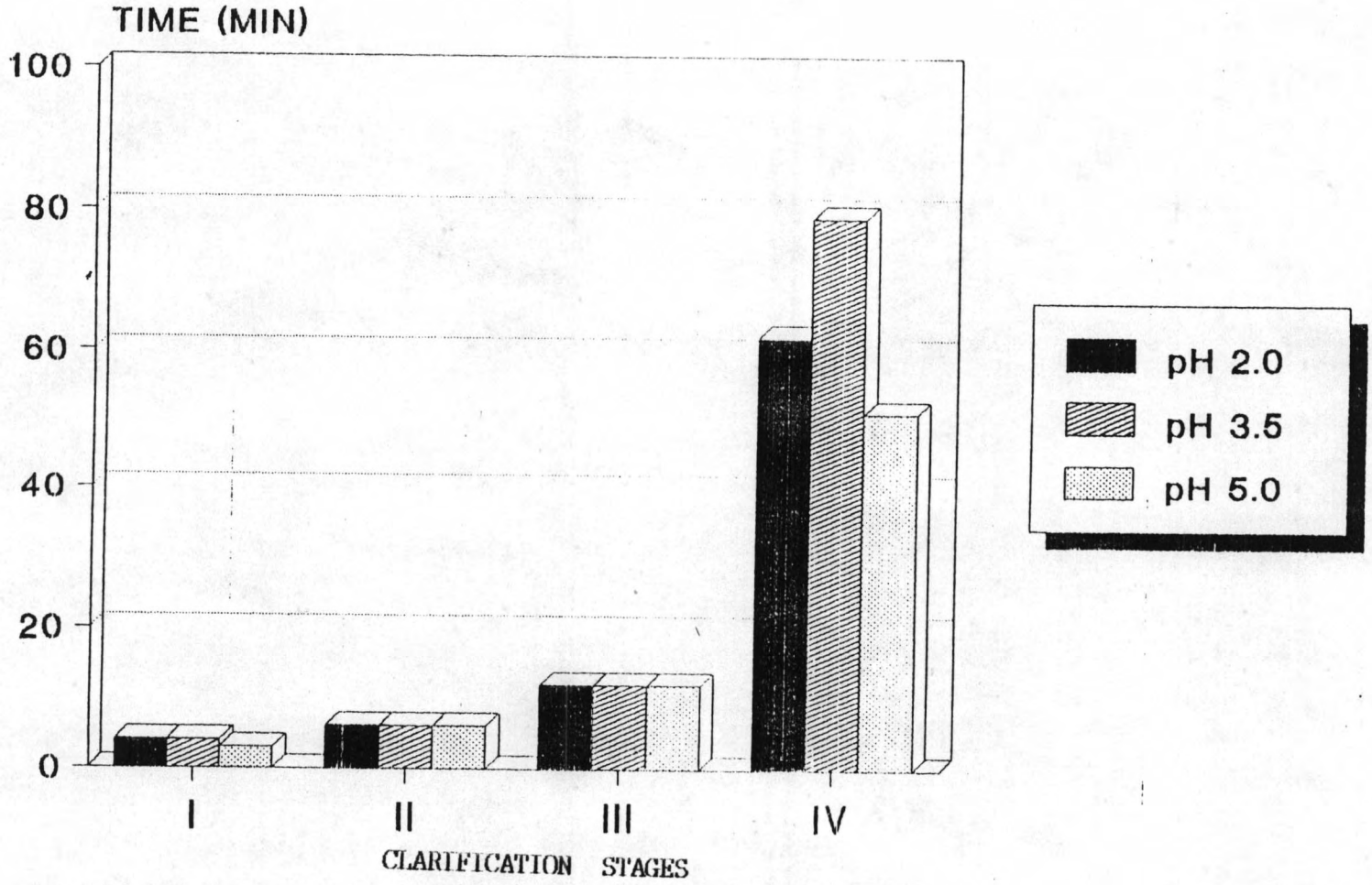
พิจารณาจากตารางที่ 36 จะเห็นได้ว่าเมื่อเปรียบเทียบค่า %transmittance ที่ได้พบว่า ขึ้นกับ วิธีการ 3 วิธีที่แตกต่างกัน คือ น้ำผึ้งที่ผ่านการต้ม น้ำผึ้งที่ผ่านการเติม 2-mercaptoethanol และต้ม น้ำผึ้งที่ผ่านการเติม trichloroacetic acid และต้ม ชนิด

ของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลองทั้ง 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งปุน และ ความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0,3,6 และ 9 ($P \leq 0.05$)

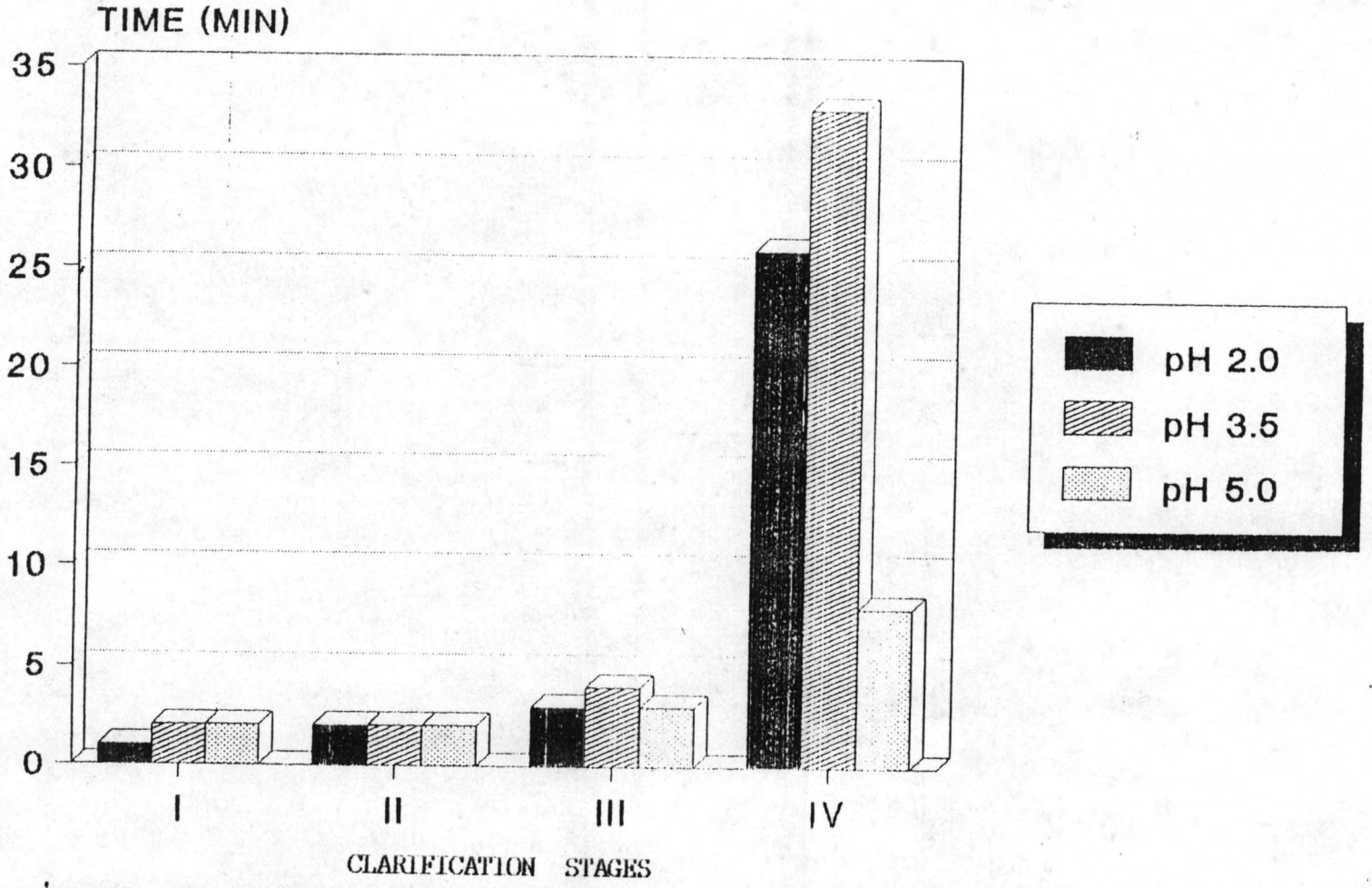
ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใสโดยใช้น้ำผึ้ง

ศึกษาเวลาในแต่ละช่วงที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส

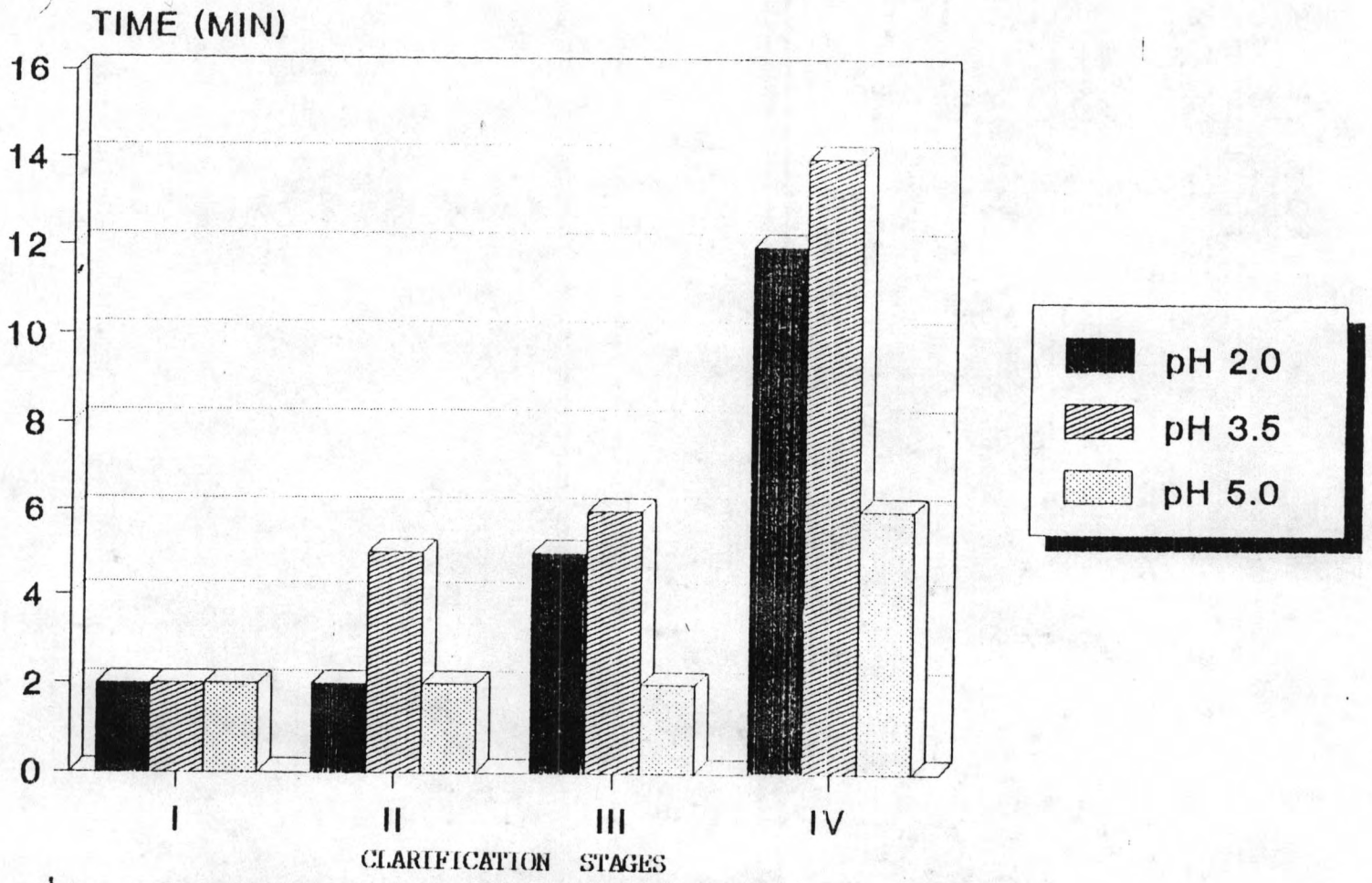
ในขั้นตอนนี้จะศึกษาถึงตัวแปรหลักที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส คือ pH ที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 2.0,3.5 และ 5.0 และอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 3 ระดับคือ 40°ซ.,60°ซ.และ 80°ซ. โดยการเลือกสภาวะที่ดีที่สุดจากหัวข้อศึกษาปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนในน้ำผึ้งกับแทนนิน (ในรูปเกรดแทนิค)ในน้ำองุ่น และหัวข้อศึกษาผลของสารประกอบบางชนิดที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส มา 1 สภาวะ ผลการทดลองที่ได้ดังรูปที่ 26-28 และตารางที่ 37-38



รูปที่ 26 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลา(นาที) กับช่วงของการทำน้ำองุ่นให้เสที่อุณหภูมิ 40^{o}ซ. เมื่อแปร pH ต่างกัน



รูปที่ 27 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลา(นาที) กับช่วงของการทำน้ำองุ่นให้ใสที่อุณหภูมิ 60°ซ. เมื่อแปร pH ต่างกัน



รูปที่ 28 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา(นาที) กับช่วงของการทำน้ำองุ่นให้ใสที่อุณหภูมิ 80°ซ. เมื่อแปร pH ต่างกัน

จากรูปที่ 25-27 จะเห็นได้ว่า ที่อุณหภูมิและ pH ที่ต่างกัน ปฏิกิริยาการทำน้ำอ้อยให้ใสจะแตกต่างกันไป เมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิที่ต่างกัน 3 ระดับคือ 40°ซ.,60°ซ.และ 80°ซ.พบว่าเวลาที่ใช้ในการทำให้น้ำอ้อยให้ใสแตกต่างกัน คือ ที่อุณหภูมิ 80°ซ.ใช้เวลาสั้นที่สุด คือ ใช้เวลาในช่วงประมาณ 2-14 นาที น้ำอ้อยก็ใสได้ รองลงมา คือ ที่อุณหภูมิ 60°ซ. คือ ใช้เวลาในช่วงประมาณ 5-32 นาที น้ำอ้อยก็ใสได้ และที่อุณหภูมิ 40°ซ. คือใช้เวลาในช่วงประมาณ 50-80 นาที ซึ่งที่อุณหภูมิ 40°ซ.ใช้เวลานานที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิ 80°ซ.และ 60°ซ.

ตารางที่ 37 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาใน **ช่วงที่ I II III IV** ของการทำน้ำอ้อยให้ใส เมื่อแปร pH และอุณหภูมิแตกต่างกัน (เมื่อ A=อุณหภูมิ B=pH)

SOV	D.F.	F-value				
		ช่วงI	ช่วงII	ช่วงIII	ช่วง IV	ตาราง
A	2	23.40*	69.50*	2487.00*	2829.23*	4.26
B	2	0.60	6.00*	63.00*	320.63*	4.26
AxB	4	0.60	8.00*	48.00*	49.18*	3.63

หมายเหตุ * หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 37 เป็นผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาในการทำน้ำอ้อยให้ใส ช่วงที่ I-ช่วงที่ IV เมื่อแปรอุณหภูมิต่างกัน 3 ระดับคือ 40°ซ.,60°ซ. และ 80°ซ. และ pH ต่างกัน 3 ระดับ คือ 2.0,3.5 และ 5.0 จะเห็นว่า เวลาในช่วงที่ I ของการทำน้ำอ้อยให้ใสจะขึ้นอยู่กับ pH อย่างเดียว ($P \leq 0.05$) ส่วนเวลาในช่วงที่ II-ช่วงที่ IV ของการทำน้ำอ้อยให้ใส จะขึ้นอยู่กับ pH อุณหภูมิ และมี interaction กัน ระหว่าง pH และอุณหภูมิ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 38 ค่าเฉลี่ยของเวลา(นาที)ในแต่ละช่วงของการตกตะกอน เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน

วิธีการ	เวลา(นาที)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	ช่วงที่ I	ช่วงที่ II	ช่วงที่ III	ช่วงที่ IV
A: อุณหภูมิ				
40°ซ.	4±0.21^{b}	6±1.21^{b}	12±1.85^{c}	64±3.21^{c}
60°ซ.	2±0.00^{a}	2±1.85^{a}	3±2.14^{a}	22±4.56^{b}
80°ซ.	2±0.10^{a}	3±1.52^{ab}	4±2.47^{b}	11±2.13^{a}
B: pH				
2.0	2±0.00	3±0.85^{a}	7±2.14^{b}	33±2.56^{b}
3.5	3±0.80	4±1.41^{b}	7±1.54^{b}	42±4.32^{c}
5.0	2±0.87	3±1.85^{a}	6±1.45^{a}	22±3.89^{a}

หมายเหตุ a,b,c,...อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 38 ค่าเฉลี่ยของเวลา(นาที)ของการทำน้ำองุ่นให้ใสเมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน จะเห็นได้ว่า เมื่อเปรียบเทียบเวลาในแต่ละช่วงกับความแตกต่างระหว่างสิ่งทดลอง (treatment) พบว่าเวลาในช่วงที่ I ของการทำน้ำองุ่นให้ใสไม่ขึ้นอยู่กับ pH และอุณหภูมิ ($P>0.05$) ส่วนเวลาในช่วงที่ II-ช่วงที่ IV ของการทำน้ำองุ่นให้ใสขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิ pH และ interactionกันระหว่าง pH และ อุณหภูมิ ($P \leq 0.05$)

-<u>ศึกษาตัวแปรที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส</u>

ในขั้นตอนนี้จะศึกษาถึงตัวแปรหลักที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส คือ pH ที่แตกต่างกัน 3

ระดับ คือ 2.0,3.5 และ 5.0 และอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 3 ระดับคือ 40°ซ.,60°ซ.และ 80°ซ. โดยการเลือกสภาวะที่ดีที่สุดจากหัวข้อศึกษาปฏิกิริยาระหว่างโบรตีนในน้ำผึ้งกับแทนนิน (ในรูปทรดแทนนิค)ในน้ำองุ่น และหัวข้อศึกษาผลของสารประกอบบางชนิดที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส มา 1 สภาวะ ตัวแปรที่ทำการศึกษา ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ค่าสี ปริมาณแทนนิน (ในรูปทรดแทนนิค) %transmittance วิตามินซี ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล และ pH ผลการทดลองที่ได้ดังตารางที่ 39-59

ตารางที่ 39 ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของน้ำองุ่น เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ	pH	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (°brix)
40°ซ.	2.0	18.20 ± 0.00
	3.5	18.10 ± 0.14
	5.0	18.00 ± 0.28
60°ซ.	2.0	19.20 ± 0.28
	3.5	19.10 ± 0.42
	5.0	18.45 ± 0.49
80°ซ.	2.0	22.30 ± 0.42
	3.5	20.00 ± 1.41
	5.0	21.70 ± 0.42

จากตารางที่ 39 แสดงค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำในน้ำองุ่นที่วัดได้ เมื่อแปร pH ต่างกัน 3 ระดับ คือ 2.0,3.5 และ 5.0 และอุณหภูมิต่างกัน 3 ระดับคือ 40°ซ.,60°ซ. และ 80°ซ. จะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิต่างกัน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ทำให้ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มีค่าแตกต่างกัน และจากตารางสังเกตได้ว่า ที่อุณหภูมิ 80°ซ. ค่าปริมาณของแข็งที่

ละลายน้ำได้มีแนวโน้มสูงกว่าที่อุณหภูมิ 60°ซ.และอุณหภูมิ 40°ซ.และค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ที่อุณหภูมิ 60°ซ.และอุณหภูมิ 40°ซ.มีค่าใกล้เคียงกัน และที่อุณหภูมิเดียวกันแต่ pH ต่างกัน ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ไม่แตกต่างกันมาก

ตารางที่ 40 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน เมื่อ A= อุณหภูมิ B= pH

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F-value	
				คำนวณ	ตาราง
A	2	30.84	15.42	46.81*	4.26
B	2	2.12	1.06	3.22	4.26
AxB	4	4.51	1.13	3.42	3.63
error	9	2.96	0.33		

หมายเหตุ * หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 41 ค่าเฉลี่ยปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของน้ำองุ่น เมื่อ แปรpH และอุณหภูมิต่างกัน

วิธีการ	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (^{o}brix)
A: อุณหภูมิ	
40^{o}ซ.	18.30 ± 0.26^{a}
60^{o}ซ.	18.92 ± 0.41^{a}
80^{o}ซ.	21.33 ± 1.19^{b}
B: pH	
2.0	19.90 ± 2.14
3.5	19.07 ± 0.95
5.0	19.58 ± 1.83

หมายเหตุ a,b,...อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P\leq0.05$)

จากตารางที่ 40-41 เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ พบว่า ค่านี้ขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิ ($P\leq0.05$) แต่ค่านี้ไม่ขึ้นอยู่กับ pH ($P>0.05$)

ตารางที่ 42 สีของน้ำองุ่น เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ	pH	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
		สีน้ำเงิน	สีเหลือง	สีแดง
40°ซ.	2.0	0.25±0.35	4.80±2.83	1.65±0.36
	3.5	0.15±0.21	3.75±0.07	2.10±0.00
	5.0	0.95±0.35	4.35±0.07	3.40±0.57
60°ซ.	2.0	0.55±0.07	5.90±2.69	2.80±0.28
	3.5	0.55±0.07	4.05±0.07	3.10±0.14
	5.0	1.00±0.57	3.50±0.00	2.80±0.57
80°ซ.	2.0	1.10±0.14	7.95±0.64	2.75±0.78
	3.5	0.60±0.85	6.85±2.19	4.25±0.78
	5.0	0.15±0.07	4.75±1.91	3.10±0.14

จากตารางที่ 42 แสดงค่าสีที่วัดได้ในน้ำองุ่นมี 3 สีคือ สีน้ำเงิน สีเหลือง และสีแดง เมื่อแปร pH ต่างกัน 3 ระดับคือ 2.0,3.5 และ 5.0 และอุณหภูมิต่างกัน 3 ระดับ คือ 40°ซ., 60°ซ.และ 80°ซ. จะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิแตกต่างกัน และ pH แตกต่างกัน พบว่า ค่าสีที่อ่านได้ 3 สี คือ สีน้ำเงิน สีเหลือง และสีแดง ที่วัดได้ในน้ำองุ่นมีค่าแตกต่างกันไป จากตารางพบว่า สีเหลือง เป็นสีที่อ่านค่าได้มากที่สุด รองลงมาคือ สีแดง และสีน้ำเงิน เป็นสีที่อ่านค่าได้น้อยที่สุด

ตารางที่ 43 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน **สีน้ำเงิน สีเหลือง และสีแดง** เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน เมื่อ A= อุณหภูมิ B= pH

SOV	D.F.	F-value			
		สีน้ำเงิน	สีเหลือง	สีแดง	ตาราง
A	2	0.64	3.39	6.35*	4.26
B	2	0.76	2.35	4.99*	4.26
AxB	4	2.80	0.50	4.30*	3.63

หมายเหตุ * หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 44 ค่าเฉลี่ยสีของน้ำองุ่น เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน

วิธีการ	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	สีน้ำเงิน	สีเหลือง	สีแดง
A: อุณหภูมิ			
40°ซ.	0.45±0.44	4.30±0.53	2.38±0.91[a]
60°ซ.	0.70±0.26	4.48±1.26	2.90±0.17[a]
80°ซ.	0.62±0.48	6.52±1.63	3.37±0.78[b]
B: pH			
2.0	0.63±0.43	6.22±1.60	2.40±0.65[a]
3.5	0.43±0.25	4.88±1.71	3.15±1.08[b]
5.0	0.70±0.48	4.20±0.64	3.10±0.30[b]

หมายเหตุ a,b,...อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 43-44 เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าสีทั้ง 3 ชนิด คือ สีน้ำเงิน สีเหลือง และสีแดง พบว่า เมื่อแปรอุณหภูมิต่างกัน 3 ระดับคือ 40°ซ.,60°ซ. และ 80°ซ. และ pH ต่างกัน 3 ระดับคือ 2.0,3.5 และ 5.0 ค่าสีน้ำเงินและสีเหลืองที่วัดได้ในน้ำองุ่นไม่มีความแตกต่าง ($P>0.05$) ส่วนค่าสีแดงที่วัดได้ในน้ำองุ่นนี้ พบว่า มีความแตกต่าง ($P\leq0.05$) ซึ่งค่าสีที่วัดได้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิ pH และมี interactionระหว่างอุณหภูมิ และ pH ($P\leq0.05$)

ตารางที่ 45 ปริมาณแทนนิน(ในรูปกรดแทนนิค)ของน้ำองุ่น เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ	pH	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มก./มล.)
40°ซ.	2.0	0.34 ± 0.00
	3.5	0.38 ± 0.03
	5.0	0.36 ± 0.02
60°ซ.	2.0	0.42 ± 0.01
	3.5	0.36 ± 0.02
	5.0	0.33 ± 0.02
80°ซ.	2.0	0.56 ± 0.02
	3.5	0.52 ± 0.06
	5.0	0.44 ± 0.00

จากตารางที่ 45 แสดงค่าแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค) ที่วัดในน้ำองุ่น เมื่อแปร pH ต่างกัน 3 ระดับ คือ 2.0,3.5 และ 5.0 และอุณหภูมิต่างกัน 3 ระดับ คือ 40°ซ.,60°ซ.และ 80°ซ. จะเห็นได้ว่า ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน และ pH แตกต่างกัน ค่าปริมาณแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค)ในน้ำองุ่นที่วัดได้มีค่าแตกต่างกันไป

ตารางที่ 46 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแทนนิน(ในรูปกรดแทนนิค) เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน เมื่อ A=อุณหภูมิ B= pH

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F-value	
				คำนวณ	ตาราง
A	2	7.33×10^{-2}	3.87×10^{-2}	53.98*	4.26
B	2	1.31×10^{-2}	6.57×10^{-3}	9.17*	4.26
AxB	4	1.28×10^{-2}	3.20×10^{-3}	4.46*	3.63
error	9	6.45×10^{-3}	7.17×10^{-4}		

หมายเหตุ * หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 47 ค่าเฉลี่ยปริมาณแทนนิน(ในรูปกรดแทนนิค)ของน้ำองุ่น เมื่อแปร pHและอุณหภูมิต่างกัน

วิธีการ	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มก./มล.)
A: อุณหภูมิ	
40°ซ.	0.36 ± 0.02[a]
60°ซ.	0.37 ± 0.05[b]
80°ซ.	0.51 ± 0.06[c]
B: pH	
2.0	0.44 ± 0.11[b]
3.5	0.42 ± 0.09[ab]
5.0	0.38 ± 0.06[a]

หมายเหตุ a,b,c,... อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 46-47 เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า ค่าปริมาณแทนนิน(ในรูปกรดแทนนิค)ที่วัดได้ขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ pH และมี interaction ระหว่างอุณหภูมิ และ pH ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 48 %transmittance ของน้ำองุ่น เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ	pH	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
40°ซ.	2.0	82.20 ± 0.85
	3.5	70.50 ± 3.25
	5.0	55.45 ± 7.14
60°ซ.	2.0	82.85 ± 1.20
	3.5	77.50 ± 0.85
	5.0	73.95 ± 1.20
80°ซ.	2.0	75.80 ± 2.69
	3.5	73.05 ± 2.05
	5.0	65.20 ± 2.40

จากตารางที่ 48 แสดงค่า % transmittance ที่วัดได้ในน้ำองุ่น เมื่อแปร pH ต่างกัน 3 ระดับ คือ 2.0,3.5 และ 5.0 และ อุณหภูมิต่างกัน 3 ระดับ คือ 40°ซ.,60°ซ. และ 80°ซ. จะเห็นได้ว่า ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน และที่ pH ต่างกันมีผลทำให้ค่า %transmittance ที่ได้แตกต่างกันอย่างชัดเจนอยู่ในช่วงกว้างมาก ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้อยู่กับการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่แตกต่างกัน และ pH ที่แตกต่างกัน จากตาราง จะเห็นได้ว่า ที่ pH 2.0 นี้ มีค่า %transmittance สูงกว่าที่ pH 3.5 และ pH 5.0

ตารางที่ 49 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน% transmittance ของน้ำองุ่นเมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน เมื่อ A= อุณหภูมิ B= pH

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F-value	
				คำนวณ	ตาราง
A	2	250.18	125.06	13.71*	4.26
B	2	716.32	358.16	39.25*	4.26
AxB	4	201.52	50.38	5.52*	3.63
error	9	82.12	9.12		

หมายเหตุ * หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 50 ค่าเฉลี่ย %transmittance ของน้ำองุ่น เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน

วิธีการ	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
A: อุณหภูมิ	
40°ซ.	69.38 ±13.41[a]
60°ซ.	78.10 ± 4.48[b]
80°ซ.	71.35 ± 5.50[ab]
B: pH	
2.0	80.28 ± 3.90[b]
3.5	73.68 ± 3.54[ab]
5.0	64.87 ± 9.25[a]

หมายเหตุ a,b,...อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 49-50เป็นผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า %transmittance ที่วัดในน้ำองุ่น ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่า %transmittance นี้ขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิ pH และinteraction ระหว่างอุณหภูมิกับ pH ($P \leq 0.05$) และเมื่อพิจารณาจากค่าสรุปค่า %transmittance ที่วัดได้ พบว่า ที่อุณหภูมิต่างกัน 3 ระดับ คือ 40°ซ., 60°ซ. และ 80°ซ.ค่า %transmittance ที่วัดได้แตกต่างกันอย่างชัดเจน ($P \leq 0.05$) และที่ pH ต่างกัน 3 ระดับ คือ 2.0,3.5 และ 5.0 พบว่า ค่า %transmittance ที่วัดได้แตกต่างกันอย่างชัดเจน ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 51 วิตามินซีของน้ำองุ่น เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ	pH	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน(มก./100มล.)
40°ซ.	2.0	0.48 ± 0.04
	3.5	0.46 ± 0.23
	5.0	0.48 ± 0.11
60°ซ.	2.0	1.38 ± 0.15
	3.5	0.64 ± 0.04
	5.0	0.35 ± 0.08
80°ซ.	2.0	0.59 ± 0.11
	3.5	0.84 ± 0.23
	5.0	0.24 ± 0.15

จากตารางที่ 51 แสดงค่าวิตามินซีที่วัดได้ในน้ำองุ่น เมื่อแปร pH ต่างกัน 3 ระดับคือ 2.0,3.5 และ 5.0 และอุณหภูมิต่างกัน 3 ระดับคือ 40°ซ.,60°ซ. และ 80°ซ.จะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิแตกต่างกัน และ pH ต่างกัน นี้มีผลทำให้ค่าปริมาณวิตามินซีที่วัดได้มีค่าแตกต่างกันไป

ตารางที่ 52 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน วิตามินซี เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน เมื่อ A= อุณหภูมิ B= pH

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F-value	
				คำนวณ	ตาราง
A	2	0.32	0.16	7.69*	4.26
B	2	0.64	0.32	15.53*	4.26
AxB	4	0.83	0.21	9.98*	3.63
error	9	0.19	2.07×10^{-2}		

หมายเหตุ * หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 53 ค่าเฉลี่ยวิตามินซีของน้ำองุ่น เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน

วิธีการ	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มก./100 มล.)
A: อุณหภูมิ	
40°ซ.	0.47 ± 0.01[a]
60°ซ.	0.79 ± 0.53[b]
80°ซ.	0.56 ± 0.30[ab]
B: pH	
2.0	0.82 ± 0.49[b]
3.5	0.65 ± 0.19[ab]
5.0	0.36 ± 0.12[a]

หมายเหตุ a,b, ...อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 52-53 เป็นผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิตามินซี พบว่า ค่าวิตามินซีที่วัดได้นี้ขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิ pH และมี interaction ระหว่างอุณหภูมิ และpH ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 54 ปฏิกิริยาสีน้ำตาลของน้ำองุ่น เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ	pH	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
40°ซ.	2.0	0.05 ± 0.00
	3.5	0.04 ± 0.00
	5.0	0.06 ± 0.01
60°ซ.	2.0	0.04 ± 0.00
	3.5	0.03 ± 0.00
	5.0	0.03 ± 0.00
80°ซ.	2.0	0.06 ± 0.00
	3.5	0.06 ± 0.00
	5.0	0.07 ± 0.00

จากตารางที่ 54 แสดงค่าปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่วัดได้ในน้ำองุ่น เมื่อแปร pH ต่างกัน 3 ระดับ คือ 2.0,3.5 และ 5.0 และอุณหภูมิต่างกัน 3 ระดับ คือ 40°ซ.,60°ซ. และ 80°ซ. จะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิแตกต่างกัน และpH ต่างกัน พบว่าปฏิกิริยาการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในน้ำองุ่นมีค่าต่างกันไปขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ pH ที่ใช้ในการทดลอง ($P \leq 0.05$) และจากตารางสังเกตได้ว่าที่อุณหภูมิ 80°ซ. จะเห็นได้ว่าแนวโน้มการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลสูงกว่าที่อุณหภูมิ 60°ซ. และอุณหภูมิ 40°ซ.

ตารางที่ 55 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปฏิกิริยาสีน้ำตาลของน้ำองุ่น เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน เมื่อ A=อุณหภูมิ B=pH

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F-value	
				คำนวณ	ตาราง
A	2	2.15×10^{-3}	1.07×10^{-3}	32.68*	4.26
B	2	1.97×10^{-4}	9.87×10^{-5}	3.00	4.26
AxB	4	3.41×10^{-4}	8.53×10^{-5}	2.59	3.63
error	9	2.96×10^{-4}	3.29×10^{-5}		

หมายเหตุ * หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 56 ค่าเฉลี่ยปฏิกิริยาสีน้ำตาลของน้ำองุ่น เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน

วิธีการ	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
A: อุณหภูมิ	
40^{o}ซ.	0.05 ± 0.01^{ab}
60^{o}ซ.	0.03 ± 0.00^{a}
80^{o}ซ.	0.06 ± 0.00^{b}
B: pH	
2.0	0.05 ± 0.01
3.5	0.04 ± 0.02
5.0	0.05 ± 0.02

หมายเหตุ a,b,...อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 55-56 ซึ่งเป็นผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในน้ำองุ่น พบว่าค่าปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลนี้ขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิ อย่างเดียว ($P \leq 0.05$) และไม่ขึ้นกับ pH ($P > 0.05$)

ตารางที่ 57 ค่า pH ของน้ำองุ่นที่วัดได้เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ	pH	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
40°ซ.	2.0	2.20 ± 0.06
	3.5	3.89 ± 0.00
	5.0	5.17 ± 0.02
60°ซ.	2.0	2.29 ± 0.02
	3.5	4.10 ± 0.00
	5.0	5.11 ± 0.04
80°ซ.	2.0	2.25 ± 0.00
	3.5	3.87 ± 0.04
	5.0	5.01 ± 0.01

จากตารางที่ 57 แสดงค่า pH ของน้ำองุ่นที่วัดได้เมื่อแปร pHต่างกัน 3 ระดับ คือ 2.0,3.5 และ 5.0 และอุณหภูมิต่างกัน 3 ระดับ คือ 40°ซ.,60°ซ. และ 80°ซ.จะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิแตกต่างกัน และ pH แตกต่างกันมีผลทำให้ค่า pH ในน้ำองุ่นที่วัดได้มีค่าแตกต่างกันไป

ตารางที่ 58 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า pH เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน เมื่อ A= อุณหภูมิ B= pH

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F-value	
				คำนวณ	ตาราง
A	2	0.05	0.02	23.73*	4.26
B	2	24.72	12.36	12654.17*	4.26
AxB	4	5.29×10^{-2}	1.32×10^{-2}	13.52*	3.63
error	9	8.79×10^{-3}	9.77×10^{-4}		

หมายเหตุ * หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 59 ค่าเฉลี่ย pH ของน้ำองุ่น เมื่อแปร pH และอุณหภูมิต่างกัน

วิธีการ	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
A: อุณหภูมิ	
40°ซ.	3.75 ± 1.49^{ab}
60°ซ.	3.83 ± 0.00^{b}
80°ซ.	3.71 ± 0.00^{a}
B: pH	
2.0	2.25 ± 0.05^{a}
3.5	3.95 ± 0.13^{b}
5.0	5.10 ± 0.08^{c}

หมายเหตุ a,b,c,... อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 58-59 เป็นผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า pH ที่วัดได้ พบว่า ค่า pH ที่วัดได้ในน้ำองุ่นมีค่าแตกต่างกัน ($P \leq 0.05$) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิ pH และ interaction ระหว่าง อุณหภูมิและpH ($P \leq 0.05$)

ศึกษาสมมติฐานที่ว่าโปรตีนที่มีมวลโมเลกุลสูงที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส

ในขั้นตอนนี้จะนำโปรตีนที่แยกได้จากวิธี gel filtration ได้แก่ **ลำดับส่วน A ลำดับส่วน B และลำดับส่วน C** ที่ได้จากน้ำผึ้งทั้ง 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น ทดสอบสมมติฐานที่ว่า โปรตีนที่มีมวลโมเลกุลสูงมีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใสได้ตามวิธีของ Lee และคณะ (1985,1990) โดยการคำนวณหาปริมาณโปรตีนที่ได้และใส่ลงในน้ำองุ่นที่เตรียมไว้ให้มีความเข้มข้น 2 ระดับ คือ ร้อยละ 0 และร้อยละ 3 วิธีการประเมินผลทำนองเดียวกันกับหัวข้อปฏิกิริยาระหว่างแทนนิน (ในรูปทรดแทนนิค) กับโปรตีนในน้ำผึ้ง และผลของสารประกอบบางชนิดที่มีผลต่อการทำน้ำองุ่นให้ใส และสังเกตผลการทดลองที่ได้ดังตารางที่ 60-70 และรูปที่ 29

ตารางที่ 60 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่หาได้จาก **ลำดับส่วน A** โดยวิธีการวัดที่แตกต่างกัน

ชนิดของน้ำผึ้ง	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มก.)	
	uv-absorption	Lowry
สาบเสือ	2.53± 0.00	0.69± 0.00
ลิ้นจี่	2.10± 0.00	0.48± 0.04
ลำไย	2.24± 0.00	0.47± 0.00
นุ่น	2.37± 0.00	0.62± 0.02

จากตารางที่ 60 จะเห็นได้ว่าวิธีการวัดปริมาณโปรตีนจากลำดับส่วน A ทั้ง 2 วิธี คือ uv-absorption และวิธี Lowry ซึ่งวิธี uv-absorption เป็นวิธีที่ให้ค่าปริมาณโปรตีนที่มากกว่าวิธี Lowry ในน้ำผึ้งทุกชนิดที่ทำการทดลอง

ตารางที่ 61 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนที่หาได้จากลำดับส่วน A เมื่อ A = วิธีการวัด B=ชนิดของน้ำผึ้ง

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F-value	
				คำนวณ	ตาราง
A	1	12.17	12.17	2181.31*	5.59
B	7	0.26	0.04	6.17*	3.80
error	7	0.04	0.006		
total	15	12.47			

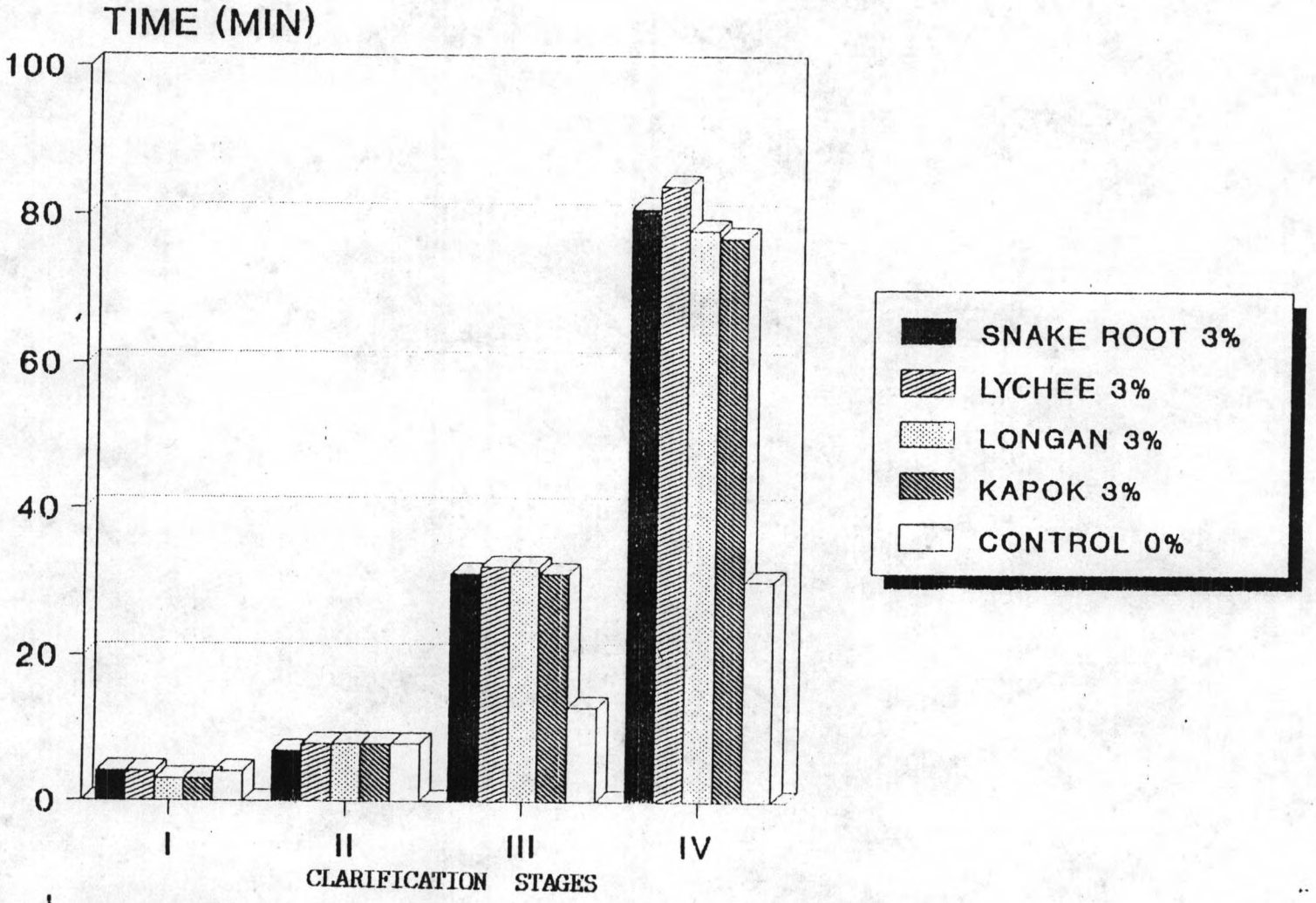
หมายเหตุ * หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 62 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของ **ลำดับส่วน A**ที่วัดได้เมื่อเปรียบเทียบวิธีการวัดที่ต่างกัน

วิธีการที่ใช้วัด	ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มก.)
uv-absorption	2.31 ± 0.18^{b}
Lowry	0.57 ± 0.11^{a}

หมายเหตุ a,b,... ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 61-62 เป็นผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีน พบว่า ทั้งวิธีการวัดปริมาณโปรตีนที่ต่างกัน 2 วิธี คือ uv-absorption และวิธี Lowry และชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลองทั้ง 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และ น้ำผึ้งนุ่น มีผลต่อค่าปริมาณโปรตีนที่วัดได้ ($P \leq 0.05$) ในลำดับส่วน A ซึ่งวิธี uv-absorption ให้ค่าปริมาณโปรตีนสูงกว่าวิธี Lowry ประมาณ 4 เท่า



รูปที่ 29 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (นาที)กับช่วงการทำน้ำองุ่นให้ใสเมื่อแปรความเข้มข้นของโปรตีนที่แยกได้จาก gel filtration

จากรูปที่ 29 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างน้ำผึ้งที่ใส่โปรตีน ร้อยละ 0 และ 3 พบว่า เวลาในการทำให้น้ำองุ่นใสในช่วงที่ I ช่วงที่ II ไม่ค่อยแตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาจาก ช่วงที่ III ช่วงที่ IVของการทำน้ำองุ่นให้ใส พบว่า แตกต่างโดยเฉพาะเวลาในช่วงที่ IV จะแตกต่างอย่างชัดเจน ($P \leq 0.05$) และ จากผลการทดลองสังเกตได้ว่า น้ำองุ่นที่ใส่โปรตีนจากน้ำผึ้งทุกชนิดที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 จะใช้เวลาในการทำให้ใสมากกว่าน้ำองุ่นที่ไม่ใส่โปรตีน (ความเข้มข้นร้อยละ 0)

ตารางที่ 63 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาใน **ช่วงที่ I II III IV** ของการทำน้ำองุ่นให้ใส เมื่อ A= ความเข้มข้นของโปรตีน B= ชนิดของน้ำผึ้ง

SOV	D.F.	F-value				
		ช่วงI	ช่วงII	ช่วงIII	ช่วงIV	ตาราง
A	1	0.01	0.08	0.11	0.17	5.59
B	3	1.28	0.29	849.21*	377.27*	4.35
AxB	3	3.00	0.51	1.30	0.44	4.35
block	1	0.64	0.08	2.79	0.34	5.59

หมายเหตุ * หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 64 ค่าเฉลี่ยของเวลา(นาที)ในแต่ละช่วงของการตกตะกอน เมื่อแปรชนิด และความเข้มข้นของโปรตีนต่างกัน

วิธีการ	เวลา(นาที)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	ช่วงที่ I	ช่วงที่ II	ช่วงที่ III	ช่วงที่ IV
A: ความเข้มข้นของโปรตีน(ร้อยละ)				
0	3±0.50	8±1.21	13±1.52	30±5.25
3	4±0.25	8±1.41	32±2.15	80±5.85
B: ชนิดของน้ำผึ้ง				
สาบเสือ	4±0.88	8±1.21	22±2.52^{a}	56±5.21^{ab}
ลิ้นจี่	3±0.80	8±2.45	22±2.85^{a}	57±6.21^{b}
ลำไย	3±0.50	8±2.34	23±3.41^{b}	54±5.85^{a}
นุ่น	4±0.47	8±3.12	23±2.52^{b}	54±5.25^{a}

หมายเหตุ a,b,... ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 63-64 เป็นผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาในช่วงที่ I ถึงช่วงที่ IV ของการทำน้ำองุ่นให้ใส เมื่อแปรชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลองต่างกัน 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น และความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่างกัน 2 ระดับ คือ ร้อยละ 0 และ 3 พบว่า เวลาในช่วงที่ I ช่วงที่ IIของการทำน้ำองุ่นให้ใสไม่มีแตกต่างกัน ($P>0.05$) ส่วนเวลาในช่วงที่ III,ช่วงที่ IVของการทำน้ำองุ่นให้ใส พบว่าแตกต่าง($P \leq 0.05$) จากตาราง พบว่าเวลาที่ใช้ในการทำน้ำองุ่นให้ใสนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลองทั้ง 4 ชนิดคือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และ น้ำผึ้งนุ่นอย่างเดียว ($P \leq 0.05$) ไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง 2 ระดับคือ ร้อยละ 0 และ ร้อยละ 3 ($P>0.05$)

ตารางที่ 65 ปริมาณเทนนิน(ในรูปกรดแทนนิค) ในน้ำองุ่นที่วัดได้เมื่อแปรชนิด และความเข้มข้นของโปรตีนต่างกัน

ชนิดของน้ำผึ้ง	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มก./มล.)
สาบเสือ	0	0.44 ± 0.14
ลิ้นจี่		0.44 ± 0.14
ลำไย		0.44 ± 0.14
นุ่น		0.44 ± 0.14
สาบเสือ	3	0.24 ± 0.08
ลิ้นจี่		0.26 ± 0.06
ลำไย		0.31 ± 0.18
นุ่น		0.27 ± 0.12

จากตารางที่ 65 แสดงค่าปริมาณเทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค) ที่วัดในน้ำองุ่นเมื่อแปรชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง 4ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น และความเข้มข้นของโปรตีน 2 ระดับคือ ร้อยละ 0 และ 3 จะเห็นได้ว่า ที่ความเข้มข้นของโปรตีนร้อยละ 3 มีผลทำให้ค่าปริมาณเทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค)ลดลง

ตารางที่ 66 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค)ในน้ำองุ่น เมื่อ A= ความเข้มข้นของโปรตีน B= ชนิดของน้ำผึ้ง

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F-value	
				คำนวณ	ตาราง
A	1	5.75×10^{-2}	5.75×10^{-2}	5.75*	5.59
B	3	6.00×10^{-4}	2.00×10^{-4}	0.02	4.35
AxB	3	4.64×10^{-3}	5.48×10^{-4}	0.05	4.35
block	1	0.04	0.04	4.00	5.59
error	7	0.09	0.01		

หมายเหตุ * หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 67 ค่าเฉลี่ยของปริมาณแทนนิน(ในรูปกรดแทนนิค)ในน้ำองุ่นโดยเฉลี่ย เมื่อแปรชนิดและ ความเข้มข้นของโปรตีนต่างกัน

วิธีการ	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มก./มล.)
A: ความเข้มข้นของโปรตีน(ร้อยละ)	
0	0.44 ± 0.14^{b}
3	0.27 ± 0.03^{a}
B: ชนิดของน้ำผึ้ง	
สาบเสือ	0.34 ± 0.14
ลิ้นจี่	0.35 ± 0.13
ลำไย	0.38 ± 0.10
นุ่น	0.36 ± 0.12

หมายเหตุ a,b,...อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 66-67 เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค) พบว่า ค่าปริมาณแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค) ที่ได้ขึ้นอยู่กับ ความเข้มข้นของโปรตีนที่ใช้ 2 ระดับ คือ ร้อยละ 0 และ ร้อยละ 3 ($P \leq 0.05$) ส่วนชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และ น้ำผึ้งนุ่น พบว่า ไม่มีผล ($P > 0.05$)

ตารางที่ 68 %transmittance ของน้ำองุ่นเมื่อแปรชนิดและความเข้มข้นของโปรตีนต่างกัน

ชนิดของน้ำผึ้ง	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มก./มล.)
สาบเสือ	0	69.05 ± 0.92
ลิ้นจี่		69.05 ± 0.92
ลำไย		69.05 ± 0.92
นุ่น		69.05 ± 0.92
สาบเสือ	3	79.55 ± 0.21
ลิ้นจี่		79.05 ± 0.21
ลำไย		79.80 ± 0.28
นุ่น		79.45 ± 0.49

จากตารางที่ 68 แสดงค่า %transmittance ที่วัดได้ในน้ำองุ่น เมื่อแปรชนิดของน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลอง 4ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น และความเข้มข้นของโปรตีน 2 ระดับ คือ ร้อยละ 0 และร้อยละ 3 จะเห็นได้ว่า ที่ความเข้มข้นของโปรตีนร้อยละ 3 ให้ค่า % transmittance ที่ได้มากกว่าที่ความเข้มข้นของโปรตีนร้อยละ 0

ตารางที่ 69 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน %transmittance ของน้ำองุ่น เมื่อ A = ชนิดของน้ำผึ้ง B= ความเข้มข้นของโปรตีน

SOV	D.F.	S.S.	M.S.	F-value	
				คำนวณ	ตาราง
A	3	0.475	0.158	0.48	4.35
B	1	144.63	144.63	438.27*	5.59
AxB	3	0.20	6.77×10^{-2}	0.21	4.35
block	1	1.50	1.50	4.55	5.59
error	7	2.28	0.33		

หมายเหตุ * หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 70 ค่าเฉลี่ยของ %transmittance ของน้ำองุ่นเมื่อแปรชนิดและความเข้มข้นของโปรตีนต่างกัน

วิธีการ	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
A: ชนิดของน้ำผึ้ง	
สาบเสือ	74.30 ± 7.42
ลิ้นจี่	74.05 ± 7.07
ลำไย	74.43 ± 7.60
นุ่น	74.25 ± 7.35
B: ความเข้มข้นของโปรตีน(ร้อยละ)	
0	69.05 ± 0.92[a]
3	79.46 ± 0.31[b]

หมายเหตุ a,b,...อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 69-70 เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า%transmittance ที่วัดในน้ำองุ่น พบว่า ค่านี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของโปรตีนที่ใช้ 2ระดับ คือ ร้อยละ 0 และร้อยละ 3 ($P \leq 0.05$) ส่วนชนิดของน้ำผึ้งทั้ง 4ชนิด คือ น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งนุ่น พบว่าไม่มีผล ($P > 0.05$)