



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

## ภาคผนวก ก

## การวิเคราะห์แป้งโดยวิธี Anthrone ของ JSPN (1990)

## การสกัดตัวอย่างพืชเพื่อใช้วิเคราะห์แป้ง

ใช้กากตะกอนอบแห้งที่เหลือจากการสกัดตัวอย่างสดในการวิเคราะห์น้ำตาล โดยอบกากตะกอนให้แห้งในเตาอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 1-2 วัน แล้วนำออกจากตู้อบและใส่ในโถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็นลง จากนั้นชั่งกากตะกอนที่แห้งสนิทจำนวน 0.5 กรัม ใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร นำไปตั้งในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 100°C นาน 15 นาที ยกออกมาเติมกรดเปอร์คลอริก 8.14 N ปริมาตร 1.625 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนให้ทั่ว นาน 5 นาที และคนเป็นครั้งคราวนาน 15 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่น 8 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วรอบสูงที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เทส่วนของสารละลายสีที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ระวังอย่าให้ตะกอนลงไป ในขวด ส่วนของตะกอนที่เหลือให้ทำซ้ำตั้งแต่ขั้นตอนการเติมกรดเปอร์คลอริกอีกครั้งหนึ่ง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ทั้งหมดไปปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 50 มิลลิลิตร นำไปกรองด้วยกระดาษกรองและเก็บในขวดพลาสติกที่เตรียมไว้แช่ในตู้เย็น -20°C

## วิธีการวิเคราะห์แป้งโดยวิธี Anthrone ของ JSPN (1990)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร
2. เจือจางสารละลายที่ได้จากขั้นตอนการสกัดตัวอย่างพืช ปริมาตร 25 เท่า
3. นำสารละลายที่เจือจางแล้วมา 2.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยงที่ตั้งไว้ในกล่องน้ำแข็ง
4. เติมสารละลายแอนโทรน 5 มิลลิลิตร
5. นำไปปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่น (vortex) แล้วรินน้ำอาลงไปในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 100°C นาน 7.5 นาที
6. นำไปแช่ในกล่องน้ำแข็งเพื่อลดอุณหภูมิลง
7. นำออกมาตั้งไว้ข้างนอกจนกระทั่งอุณหภูมิของสารละลายใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง

8. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร

9. นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐาน แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นของแป้งตามสูตรดังต่อไปนี้

ปริมาณแป้ง (X) = ความเข้มข้นของน้ำตาลที่ได้จากการเปรียบเทียบกราฟมาตรฐาน  $\times 0.9$   
(มิลลิกรัม/ลิตร)

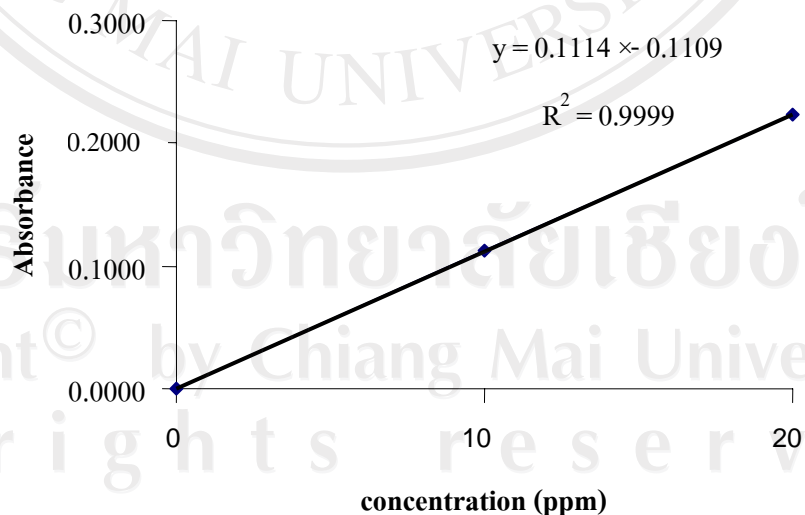
ความเข้มข้นของแป้งต่อน้ำหนักแห้ง =  $\frac{X \times F \times d}{1,000 \times D}$  มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง

X = ความเข้มข้นของแป้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)

F = ปริมาตรที่ใช้ในขั้นตอนการย่อยสลายโดยน้ำ (hydrolysis)

d = จำนวนเท่าที่เจือจาง

D = น้ำหนักแห้งที่นำมาสกัด (กรัม)



ภาพภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานเพื่อใช้เปรียบเทียบหาความเข้มข้นของแป้ง

## ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Phenol – Sulphuric method ของ Dubois *et al.* (1956)

## การเตรียมตัวอย่างพืช

สุ่มต้นกล้วยไม้ช้างกระของทุกกรรมวิธีในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตต่างๆ คือ ระยะก่อนเริ่มทำการทดลอง (ยังไม่มีการเจริญเติบโตและพัฒนาของตาดอก) ระยะก่อนแทงช่อดอก (หลังให้กรรมวิธีต่างๆ 4 สัปดาห์) ระยะแทงช่อดอก ระยะคอกบาน และระยะดอกเหี่ยว ซึ่งแต่ละการทดลองจะเริ่มทำการทดลองต่างกันและมีการแทงช่อดอกที่ต่างกัน ดังนั้นการเก็บตัวอย่างในช่วงของการแทงช่อดอกจะทำการสุ่มเก็บตัวอย่างต้นกล้วยไม้ช้างกระเมื่อสังเกตเห็นว่าเริ่มมีการแทงช่อดอก ยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร และเก็บตัวอย่างทุกกรรมวิธีๆ ละ 3 ช่้าๆ ละ 1 ต้น ของแต่ละการทดลอง จากนั้นนำมาล้างทำความสะอาดทั้งต้นด้วยน้ำประปาจำนวน 3 ครั้ง และตามด้วยน้ำกลั่นจำนวน 3 ครั้ง แล้วล้างหรือซับด้วยกระดาษชำระให้แห้งก่อนนำมาผ่านขบวนการหั่น ย่อย และสกัด เพื่อเตรียมสารละลายไว้ใช้ในการวิเคราะห์น้ำตาลต่อไป

## การสกัดตัวอย่างพืชเพื่อใช้วิเคราะห์น้ำตาล

หั่นตัวอย่างต้นกล้วยไม้ช้างกระ (ยกเว้นส่วนราก) ให้เป็นชิ้นเล็กๆ เพื่อให้ง่ายต่อการบดและย่อย จากนั้นสุ่มชั่งตัวอย่างสดของแต่ละกรรมวิธีๆ ละ 2 กรัม โดยชั่งด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง นำไปบดและสกัดด้วย Absolute ethanol และเอทิลแอลกอฮอล์ 80% ในโถรงบด จากนั้นเทสารละลายและตะกอนที่ได้ใส่ในหลอดทดลอง ปิดปากหลอดด้วยกระดาษพอยล์ นำไปอุ่นในอ่างน้ำร้อนปรับอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 70°C นาน 15 นาที เมื่อครบเวลา นำออกจากอ่างน้ำร้อนทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2 นาที แล้วเทใส่ในหลอดสำหรับเครื่องหมุนเหวี่ยง และนำไปปั่นแยกส่วนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วรอบสูงที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เทสารละลายใส่ที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และเติมเอทิลแอลกอฮอล์ 80% ลงในหลอดที่ยังมีตะกอนอยู่เขย่าเล็กน้อย แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงเป็นเวลา 15 นาที เทสารละลายใส่ที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรขวดเดิม ทำจำนวน 2 ครั้ง จากนั้นปรับปริมาตรด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 80% และเก็บในขวดพลาสติกแช่ในตู้เย็น -20°C สารละลายที่ได้ในส่วนนี้จะใช้สำหรับวิเคราะห์น้ำตาลต่อไป ส่วนกากตะกอนที่เหลือนำไปอบให้แห้งในตู้อบ 60°C เพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์แป้งต่อไป

### วิธีการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Phenol – Sulphuric method ของ Dubois *et al.* (1956)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานจากน้ำตาลเคคโตสที่ระดับความเข้มข้น 0.04 และ 0.08 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

2. เตรียมสารละลายฟีนอล 5 %

3. การทำปฏิกิริยาเคมีเพื่อวิเคราะห์น้ำตาล

3.1 ผสมสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ 10 ไมโครลิตร ด้วยไมโครปิเปต ใส่ลงในหลอดทดลอง

3.2 เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร

3.3 เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร

3.4 เติมน้ำกลั่นฟีนอล 5 % 1 มิลลิลิตร (ใส่อย่างรุนแรงเพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์)

3.5 นำไปเขย่าทันทีด้วยเครื่องปั่น (vortex)

3.6 ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเขย่าอีกครั้งหนึ่ง

3.7 นำไปลดอุณหภูมิลงในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 30°C นาน 10 นาที

4. นำสารละลายที่ผ่านการทำปฏิกิริยาแล้วไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร

5. ในแต่ละตัวอย่างที่นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องทำ blank โดยการผสมสารละลายตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร (100 ไมโครโมล) เท่ากับปริมาณสารละลายตัวอย่างที่ใช้ทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร แล้วทำตามขั้นตอนที่ 3.4 – 3.7 และ ขั้นตอนที่ 4 ดังกล่าวข้างต้น

6. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ของแต่ละตัวอย่างมาลบด้วยค่าการดูดกลืนแสงของ blank ของแต่ละตัวอย่าง (ถ้าค่าที่ได้ใกล้เคียง 0 มาก สามารถตัดทิ้งได้) จากนั้นนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน แล้วนำมาคำนวณหาความเข้มข้นของน้ำตาลตามสูตรดังต่อไปนี้

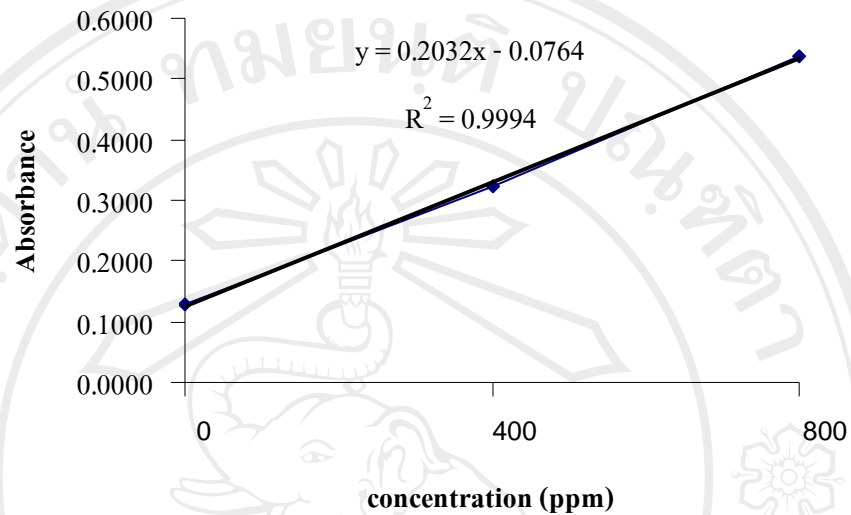
$$\text{ความเข้มข้นของน้ำตาล} = \frac{X \times D \times F}{FW} \text{ มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักสด}$$

X = ค่าความเข้มข้นที่ได้จากการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

D = ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์

F = ปริมาตรที่ใช้ในขั้นตอนการสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 80% (25 มิลลิลิตร)

FW = น้ำหนักที่ใช้ในขั้นตอนการสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 80% (2 กรัม)



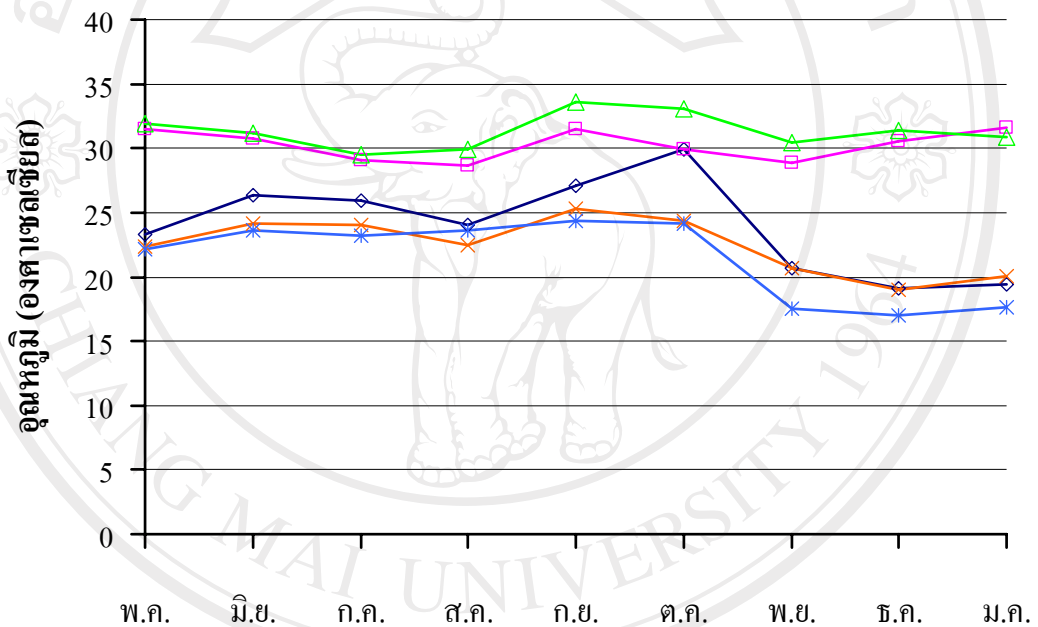
ภาพภาคผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานเพื่อใช้เปรียบเทียบหาความเข้มข้นของน้ำตาล

ภาคผนวก ค

ข้อมูลทางอุตุนิยมวิทยา

อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และความเข้มแสง ระหว่างทำการทดลอง

อุณหภูมิระหว่างเดือนพฤษภาคม 2549 ถึงเดือนมกราคม 2550

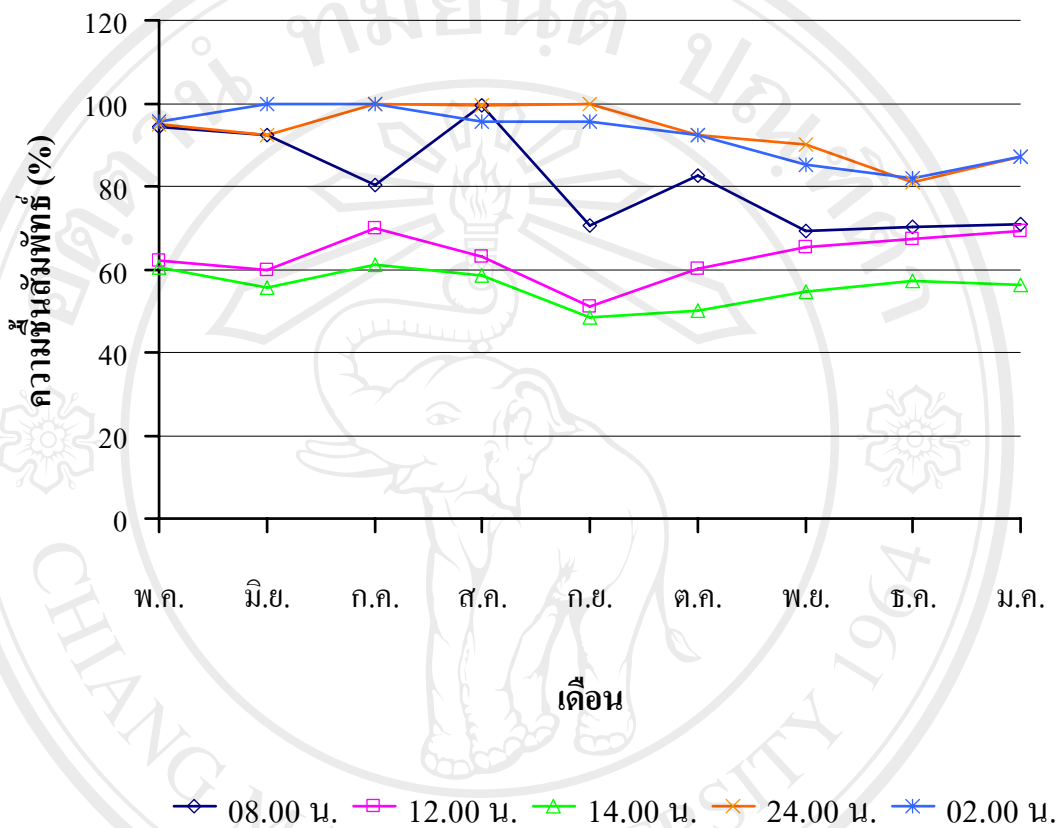


เดือน

08.00 น. 12.00 น. 14.00 น. 24.00 น. 02.00 น.

ภาคผนวกที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในช่วงเดือนพฤษภาคม 2549 ถึงเดือนมกราคม 2550

ความชื้นสัมพัทธ์ระหว่างเดือนพฤษภาคม 2549 ถึงเดือนมกราคม 2550



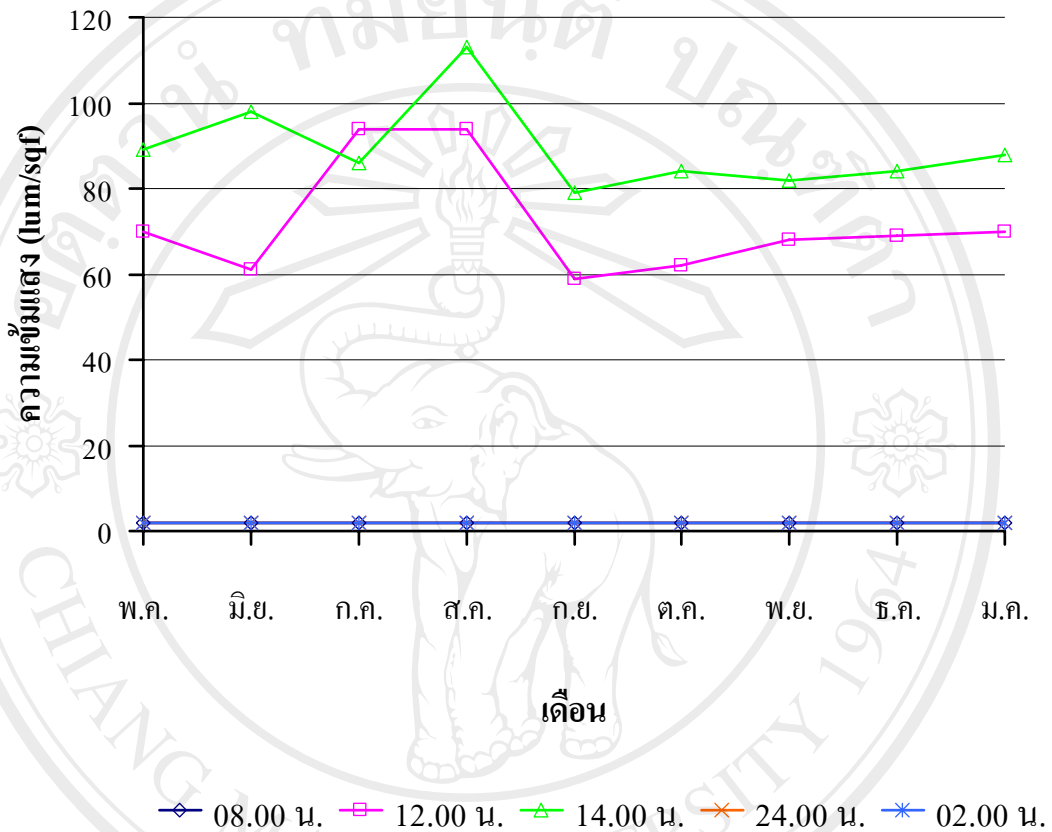
ภาพภาคผนวกที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของความชื้นสัมพัทธ์ในช่วงเดือนพฤษภาคม 2549 ถึงเดือนมกราคม

2550

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved



ความเข้มแสงระหว่างเดือนพฤษภาคม 2549 ถึงเดือนมกราคม 2550



ภาพภาคผนวกที่ 5 การเปลี่ยนแปลงของความเข้มแสงในช่วงเดือนพฤษภาคม 2549 ถึงเดือนมกราคม

2550

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล

นายณัฐดนัย ติะลี

วัน เดือน ปีเกิด

26 พฤศจิกายน 2522

ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้

บ้านเลขที่ 132/1 หมู่ที่ 6 ต. ห้วยอ้อ อ. ลอง จ. แพร่ 54150

ประวัติการศึกษา

- สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนลองวิทยา อ. ลอง จ. แพร่ ปีการศึกษา 2537
- สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนลองวิทยา อ. ลอง จ. แพร่ ปีการศึกษา 2540
- สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์) ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2544

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved