



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

ตารางอุตุนิยมวิทยาในพื้นที่ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง)

เดือนมกราคม พ.ศ. 2551

วันที่	ปริมาณน้ำฝน	อุณหภูมิ (°C)					ความชื้น (%)
		สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย	คัมเปียก	คัมแห้ง	
1	-	20.8	13.0	16.9	12.6	13.1	95.0
2	-	20.3	13.6	17.0	12.9	13.5	93.0
3	6.0	19.5	11.8	15.7	11.5	12.2	93.0
4	-	18.8	10.9	14.9	10.4	10.8	95.0
5	-	18.7	11.6	15.2	11.0	11.5	95.0
6	-	19.2	11.4	15.3	11.0	11.4	95.0
7	-	19.2	10.8	15.0	10.0	10.5	95.0
8	-	19.2	11.0	15.1	10.3	11.0	92.0
9	-	20.6	11.4	16.0	10.2	10.8	92.0
10	-	20.5	11.0	15.8	10.5	11.0	95.0
11	-	17.0	10.0	13.5	8.0	8.1	100.0
12	-	17.5	9.5	13.5	9.5	10.0	95.0
13	-	19.0	9.5	14.3	17.5	18.0	96.0
14	-	17.5	7.0	12.3	7.5	8.5	86.0
15	-	17.4	6.2	11.8	6.5	7.1	91.0
16	-	17.1	7.5	12.3	18.0	18.3	98.0
17	-	18.5	9.3	13.9	9.5	10.0	95.0
18	-	18.5	10.5	14.5	10.0	10.5	95.0
19	-	20.5	11.0	15.8	10.5	11.0	95.0
20	-	21.8	12.0	16.9	11.0	12.0	88.0
21	-	23.2	12.3	17.8	11.0	12.0	88.0
22	-	22.5	12.5	17.5	10.0	10.5	95.0
23	-	23.4	12.7	18.1	12.1	12.6	95.0
24	-	23.5	12.5	18.0	11.0	11.5	95.0
25	-	21.2	12.4	16.8	12.0	12.5	95.0
26	-	21.5	13.0	17.3	12.4	12.7	98.0
27	-	22.5	14.2	18.4	12.5	13.0	95.0
28	-	25.0	14.5	19.8	13.0	13.9	91.0
29	-	25.2	14.6	19.9	14.0	14.5	96.0
30	-	25.1	14.6	19.9	13.4	14.5	89.0
31	-	24.5	13.6	19.1	13.1	13.5	95.0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright © by Chiang Mai University
 All rights reserved

เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2551

วันที่	ปริมาณน้ำฝน	อุณหภูมิ (°C)					ความชื้น (%)
		สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย	ดும்เปียก	ดும்แห้ง	
1	-	24.4	13.5	19.0	11.0	12.3	86.0
2	-	25.8	14.2	20.0	13.6	14.0	95.0
3	-	24.3	16.0	20.2	15.7	16.2	96.0
4	-	23.5	15.5	19.5	14.5	15.3	91.0
5	-	23.6	13.2	18.4	12.7	13.0	98.0
6	-	24.3	15.1	19.7	15.0	16.2	87.0
7	-	24.5	15.7	20.1	14.9	15.8	91.0
8	-	24.7	15.8	20.3	14.8	15.5	93.0
9	-	25.2	15.5	20.4	14.0	15.4	85.0
10	-	25.2	16.0	20.6	14.5	16.0	85.0
11	-	25.1	16.4	20.8	15.5	16.0	96.0
12	-	23.4	17.5	20.5	16.1	17.4	88.0
13	-	23.5	16.5	20.0	16.5	17.0	96.0
14	-	25.5	15.2	20.4	12.5	15.5	68.0
15	-	27.2	16.0	21.6	16.5	17.0	96.0
16	-	27.8	16.6	22.2	15.6	17.0	85.0
17	-	27.3	17.6	22.5	17.0	17.5	96.0
18	-	29.6	17.6	23.6	15.6	17.8	78.0
19	-	29.6	19.5	24.6	17.0	18.0	90.0
20	-	29.3	20.0	24.7	19.1	20.5	87.0
21	-	28.8	21.0	24.9	19.8	20.6	92.0
22	-	29.6	20.5	25.1	19.2	20.2	90.0
23	-	27.5	19.5	23.5	18.5	19.8	88.0
24	-	28.5	22.2	25.4	17.6	18.5	92.0
25	-	28.0	20.0	24.0	18.0	20.5	78.0
26	-	28.5	20.6	24.6	14.5	15.5	96.0
27	-	27.5	19.5	23.5	18.5	19.8	88.0
28	-	27.2	16.0	21.6	16.5	17.0	96.0

เดือนมีนาคม พ.ศ. 2551

วันที่	ปริมาณน้ำฝน (มม.)	อุณหภูมิ (°C)					ความชื้น (%)
		สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย	ตุ้มเปียก	ตุ้มแห้ง	
1	-	28.5	19.5	24.0	19.0	19.4	96.0
2	-	29.0	18.6	23.8	15.0	17.3	78.0
3	-	29.2	18.5	23.9	18.0	18.5	96.0
4	-	28.5	18.6	23.6	17.5	18.8	88.0
5	-	28.5	19.0	23.8	18.0	18.5	96.0
6	-	28.5	18.6	23.6	17.0	18.2	88.0
7	-	22.5	20.5	21.5	19.0	20.5	87.0
8	-	29.2	19.6	24.4	18.7	19.3	94.0
9	-	28.5	18.4	23.5	17.5	18.0	96.0
10	-	29.0	22.5	25.8	19.5	21.5	82.0
11	-	29.6	21.4	25.5	20.5	21.0	96.0
12	-	29.5	21.5	25.5	20.0	21.0	94.0
13	-	30.5	21.2	25.9	19.8	20.5	96.0
14	-	28.9	18.8	23.9	18.0	18.5	93.0
15	-	27.6	18.5	23.1	14.1	14.7	93.0
16	-	26.1	17.8	22.0	15.5	16.5	83.0
17	-	27.8	19.7	23.8	18.0	18.5	96.0
18	-	25.5	15.5	20.5	15.5	16.0	96.0
19	-	26.8	18.2	22.5	20.5	21.0	96.0
20	-	25.5	19.3	22.4	18.0	19.2	88.0
21	-	28.2	19.8	24.0	19.5	21.5	82.0
22	-	27.7	19.8	23.8	18.6	19.4	92.0
23	-	25.0	15.5	20.3	17.0	18.2	88.0
24	-	26.7	20.2	23.5	19.0	20.5	87.0
25	-	26.3	17.8	22.1	20.0	21.0	94.0
26	-	25.6	15.5	20.6	14.1	14.7	93.0
27	-	25.5	18.5	22.0	15.4	16.5	89.0
28	-	29.6	21.4	25.5	18.0	20.5	78.0
29	-	29.2	18.5	23.9	15.5	19.4	96.0
30	-	28.5	19.0	23.8	17.0	17.3	88.0

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางเคมีในสารกาแฟและในดิน

1. การวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนในสารกาแฟอบแห้ง

1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1) เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 2) เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการทดลอง
- 3) น้ำ Deionized
- 4) ตู้อบ (Hot air oven)
- 5) กระดาษกรองไนลอนเมมเบรน (Nylon membrane) ขนาด $0.45 \mu\text{m} \times 47 \text{ mm}$
- 6) Syringe filter Nylon ขนาด $0.45 \mu\text{m} \times 13 \text{ mm}$
- 7) เครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High-Performance Liquid Chromatographic; HPLC) ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น LC-10AD
- 8) คอลัมน์ HPLC (Platinum™ C₁₈ Rocket™, 53 นาโนเมตร \times 7 นาโนเมตร \times 3 ไมโครเมตร)
- 9) ตัวกรองสารก่อนเข้าคอลัมน์ (Platinum™ C₁₈ All-Guard™ Cartridges)

1.2 สารเคมี

- 1) Acetonitrile for HPLC
- 2) Trifluoroacetic acid
- 3) Caffeine standard

1.3 วิธีการทดลอง

1.1) การวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนในสารกาแฟ โดยนำน้ำสกัดกาแฟ มากรองด้วย Filter membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตร จะได้น้ำตัวอย่างที่พร้อมจะฉีดเข้าเครื่อง HPLC นำค่าที่วิเคราะห์ได้มาเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของสารคาเฟอีน

1.2) การเตรียมสาร Mobile phase โดยตวง Acetonitrile 130 มิลลิลิตร กับน้ำ Deionized 870 มิลลิลิตร และเติม Trifluoroacetic acid 0.1 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน แล้วกรองด้วย Filter nylon membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตร จะได้ mobile phase ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

1.3) Condition ของ HPLC โดย Column Platinum™ C₁₈ Rocket™, 53 นาโนเมตร \times 7 นาโนเมตร \times 3 ไมโครเมตร และ Detector UV ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ใช้อัตราการไหล 2.2 มิลลิลิตรต่อนาที

2. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีในตัวอย่างดิน(A.O.A.C, 1995)

2.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1) เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 2) เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการทดลอง
- 3) กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5
- 4) เครื่องไตเตรท
- 5) pH meter ยี่ห้อ BECKMAN รุ่น 40
- 6) เครื่อง Spectrophotometer
- 7) เครื่อง Atomic absorption spectrophotometer (AAS)

2.2 สารเคมี

- 1) สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$)
- 2) เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4$)
- 3) กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Conc. H_2SO_4)
- 4) กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl)
- 5) กรดบอริก (H_2BO_3)
- 6) แอมโมเนียมโมลิบเดท ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}$)
- 7) แอมโมเนียมฟลูออไรด์ (NH_4F)
- 8) แอมโมเนียมอะซิเตท (NH_4OAc)
- 9) โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)
- 10) โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)
- 11) โอฟีแนนโทรีน เฟอรัสซัลเฟต อินดิเคเตอร์ (O-phenanthroline ferroussulfate indicator)

2.3 วิธีการทดลอง

2.3.1) ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของดิน โดยชั่งตัวอย่างดิน 10 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนให้ดินและน้ำเข้ากันทิ้งไว้ 15 นาทีคนให้เข้ากันอีก และตั้งทิ้งไว้ 15 นาที และคนอีกครั้งหนึ่งก่อนวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างด้วย electrode ด้วยน้ำกลั่นทุกครั้งก่อนจะวัดตัวอย่าง นำสารละลายไปวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างโดยใช้ pH-meter (BECKMAN, USA) บันทึกข้อมูล

2.3.2) การวิเคราะห์หาอินทรีย์วัตถุ (Organic Matter; O.M.) ในดินโดยวิธี Walkley and Blank

2.3.2.1 สารเคมี

2.3.2.1.1) สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) 1 N เตรียมโดยละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ที่อบแล้วที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จำนวน 49.04 กรัมในน้ำกลั่นเทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

2.3.2.1.2) เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4$) 0.5 N เตรียมโดยละลาย $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 140 กรัม ลงในน้ำกลั่นประมาณ 600 มิลลิลิตร เติม กรดซัลฟูริกเข้มข้น 15 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็น ปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.3.2.1.3) โอฟีแนนโทรลีน เฟอรัสซัลเฟต อินดิเคเตอร์ เตรียมโดยละลายโอฟีแนนโทรลีน 1.48 กรัม และ เฟอรัสซัลเฟต 0.70 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

2.3.2.1.4) กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Conc. H_2SO_4)

2.3.2.2) วิธีการทดลอง โดยชั่งตัวอย่างดินที่ร้อนผ่านตะแกรง 0.5 มิลลิลิตร จำนวน 0.5 กรัม ใส่ในขวดชมพู่ (Erlenmeyer flask) 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) 1 นอมอล จำนวน 10 มิลลิลิตร โดยใช้โวลูมเมตริกปิเปต (volumetric pipette) เขย่าขวดเบาๆ จากนั้นเติมกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้นจำนวน 20 มิลลิลิตร ลงไปอย่างรวดเร็ว เขย่าขวดชมพู่เบาๆ เพื่อให้ น้ำยากับดินผสมเข้ากันดีประมาณ 1-2 นาที (ควรเติมกรดในตู้ดูดควัน) แล้วตั้งทิ้งไว้ทำปฏิกิริยากัน 30 นาที แล้วเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร นำไปไทเทรตกับเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4$) 0.5 นอมอล โดยหยดโอฟีแนนโทรลีน เฟอรัสซัลเฟต อินดิเคเตอร์ ลงไป 5 หยด เขย่าขวดชมพู่ นำไปไทเทรตทันทีจนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลปนแดง ส่วนการทำ blank ทำตามข้อ 2-4 โดยไม่ใส่ดินอีก 2 ขวด เพื่อหาความเข้มข้นที่แท้จริงของ $FeSO_4$ บัณฑิตที่ปริมาตรที่ใช้แล้วคำนวณหาความเข้มข้นตามสูตร

$$N_1 V_1 = N_2 V_2$$

เมื่อ N_1 = ความเข้มข้นของ $K_2Cr_2O_7$ ที่ใช้

V_1 = ปริมาตรของ $K_2Cr_2O_7$ ที่ใช้

N_2 = ความเข้มข้นของ $FeSO_4$ ที่ใช้ไทเทรต

V_2 = ปริมาตร FeSO_4 ที่ใช้ไทเทรต

และคำนวณหาปริมาณอินทรีย์วัตถุในตัวอย่างดิน โดยใช้สูตร

$$\% \text{ organic carbon} = \frac{(\text{meK}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 - \text{me FeSO}_4) \times 0.003 \times 100 \times 1.33 \times \text{MF}}{\text{น้ำหนักดิน (กรัม)}}$$

$$\% \text{ organic matter} = \% \text{ organic carbon} \times 1.72$$

	MF	= (100 - % moisture) / 100
เมื่อ	V	= ปริมาตรของ FeSO_4 ที่ใช้ไทเทรต (มิลลิลิตร)
	N. FeSO_4	= ความเข้มข้นที่แท้จริงของ FeSO_4
0.003		= น้ำหนักของ one equivalent carbon (กรัม)
1.33		= oxidation factor
	MF	= moisture factor

2.3.3) การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสในดิน โดยวิธี Bray II

2.3.3.1) สารเคมี

2.3.3.1.1) น้ำยาสกัด Bray II เตรียมจากละลายแอมโมเนียมฟลูออไรด์ (NH_4F) 2.22 กรัม ในน้ำกลั่น 1,900 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) ลงไป 17 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายเข้ากัน ทิ้งไว้ให้เย็น ปรับ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ให้อยู่ระหว่าง 1.5-1.6 แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 2 ลิตร

2.3.3.1.2) สารพัฒนาสี โดยชั่งกรดแอสคอร์บิก 1.5 กรัม ละลายในสารละลายสต็อกแอมโมเนียมโมลิบเดต 100 มิลลิลิตร

2.3.3.1.3) สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 50 ppm ชั่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 0.2195 กรัม ที่อบแห้งแล้วที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ละลายในน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริก 3.5 M 25 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บสารละลายนี้ไว้ในขวดแก้ว

2.3.3.2) วิธีการทดลอง

2.3.3.2.1) ชั่งตัวอย่างดิน 2.5 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ 125 มิลลิลิตรเติมน้ำยาสกัด Bray II 25 มิลลิลิตร ด้วยปิเปต ปิดขวดรูปชมพู่ด้วยจุกยาง แล้วนำไปวางบนเครื่องเขย่าเขย่านาน 1 นาที แล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

2.3.3.2.2) คูตสารละลายที่กรองได้ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมน้ำในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วเขย่า เติมน้ำละลายกรดบอริก (H_2BO_3) 15 มิลลิลิตร แล้วเขย่า จากนั้นเติมน้ำผสมในการปรับสี 5 มิลลิลิตรเขย่าให้สารละลายเข้ากัน ปรับปริมาตรด้วย H_2BO_3 เป็น 25 มิลลิลิตร ปิดจุกเขย่า แล้วนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer (Janway, UK) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปอ่านค่าจากกราฟมาตรฐาน

2.3.3.2.3) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (mg/kg)

$$\text{Available P} = (\text{mg/kg sample} - \text{mg/kg blank}) \times \frac{25}{V} \times \frac{25}{W_s}$$

เมื่อ mg/kg sample = ความเข้มข้นของตัวอย่างที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน

mg/kg blank = ความเข้มข้นของตัวเปรียบเทียบ

W_s = น้ำหนักของตัวอย่างดิน (กรัม)

V = ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิลิตร)

2.3.4) การวิเคราะห์หาปริมาณโพแทสเซียมในดิน

2.3.4.1) สารเคมี

2.3.4.1.1) แอมโมเนียมอะซิเตท (NH_4OAC 1 นอโมล, ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 7) โดยชั่งแอมโมเนียม อะซิเตท 154.16 กรัม ละลายในน้ำกลั่น เติมน้ำในขวดปรับปริมาตรขนาด 2 ลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 2 ลิตร ปรับ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ให้ได้เป็น 7.01 ± 0.05

2.3.4.1.2) สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม 1,000 ppm โดยชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ที่อบแห้งแล้วที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง 1.9066 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

2.3.4.2) วิธีการทดลอง

2.3.4.2.1) นำเอาตัวอย่างดินที่สกัดแล้วมาทำให้เจือจาง 10 เท่า ด้วยแอมโมเนียมอะซิเตท (NH_4OAc) 1 นอโมล

2.3.4.2.2) นำเอาตัวอย่างดินและตัวเปรียบเทียบไปวัดหาปริมาณโพแทสเซียมและโซเดียม ใช้ FES-mode โดยเครื่อง AAS จากนั้นนำมาคำนวณโดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{ปริมาณโพแทสเซียม} = (\text{mg/kg sample} - \text{mg/kg blank}) \times \frac{25}{\text{น้ำหนักดิน}} \times \frac{\text{ปริมาณทั้งหมด}}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้}}$$

3. การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในสารกาแฟ

3.1) การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

3.1.1) สารเคมี

3.1.1.1) บอริกแอซิดอินดิเคเตอร์ (boric acid indicator)

3.1.1.1.1) อินดิเคเตอร์ผสม โดยละลายบรอมครีซอลกรีน (bromocresol green) 0.5 กรัม และเมทิลเรด (methyl red) 0.1 กรัม ในเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.1.1.1.2) กรดบอริก (H_3BO_3) โดยละลายกรดบอริก 40 กรัม ในน้ำร้อน 700 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

3.1.1.1.3) เดิมอินดิเคเตอร์ผสม (ข้อ 3.1.1.1.1) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในข้อ 3.1.1.1.2

3.1.1.1.4) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนมีปริมาตร 1 ลิตร

3.1.1.2) โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 40% โดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 400 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร (ควรทำในตู้ดูดควัน)

3.1.1.3) กรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4)3.1.1.4) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

3.1.2) วิธีการทดลอง

3.1.2.1) การย่อยตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างพืชอบแห้งที่บดละเอียดประมาณ 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4) 1 มิลลิลิตร ปิดหลอดด้วยพาราฟิล์มทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาย่อยที่เตาย่อยตัวอย่าง ปรับอุณหภูมิที่ 180 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำหลอด

ทดลองขึ้นมาพักทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) หลอดละ 0.3 มิลลิลิตร ปั่นให้เข้ากัน นำมาย่อยต่อโดยปรับอุณหภูมิ 230 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หากสารละลายยังไม่ใสให้เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) หลอดละ 0.2 มิลลิลิตร แล้วนำไปย่อยต่อที่อุณหภูมิ 230 องศาเซลเซียส 30 นาที ทำซ้ำเดิมจนกระทั่งสารละลายใส หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ได้ไว้ในขวดพลาสติก เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับวิเคราะห์ต่อไป

3.1.2.2) การกลั่น

3.1.2.2.1) เปิดเครื่องกลั่นและล้างเครื่องกลั่น 1 ครั้ง ด้วยน้ำกลั่น

3.1.2.2.2) เติมบอริกแอซิดอินดิเคเตอร์ประมาณ 15 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปกรวยขนาด 125 มิลลิลิตร นำไปวางที่ปลายของเครื่องกลั่น โดยให้ปลายจุ่มอยู่ในบอริกแอซิดอินดิเคเตอร์

3.1.2.2.3) ปิเปตสารละลายตัวอย่างพีชที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรดซัลฟิวริก (conc. H_2SO_4) ปริมาตร 10 ml ลงในหลอดกลั่น (distillation tube)

3.1.2.2.4) เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ ($NaOH$) ความเข้มข้น 40% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

3.1.2.2.5) กลั่นเป็นเวลา 4 นาที

3.1.2.3) การไทเทรต

3.1.2.3.1) ไทเทรตสารละลายจากการกลั่นด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก 0.02 นอโมล จนสีสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงแดง

3.1.2.3.2) บันทึกปริมาตรกรดที่ใช้เพื่อคำนวณหาปริมาณ

ไนโตรเจน

ปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างพีช (เปอร์เซ็นต์) = $\frac{(V_s - V_b) \times N \times 0.014 \times V_d \times 100}{W \times V_a}$

$W \times V_a$

เมื่อ V_s = ปริมาตรสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

V_b = ปริมาตรสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ใช้ไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริกมาตรฐาน (0.02 นอโมล)

V_d = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างพีชที่ได้จากการย่อยสลาย (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักตัวอย่างพีช (กรัม)

Va = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างพืชที่ใช้ในการวิเคราะห์ (มิลลิลิตร)

3.2) การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสในพืช

3.2.1) สารเคมี

3.2.1.1) สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.02 นอมอล โดยละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1 นอมอล ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

3.2.1.2) สารละลายวานาเดต (vanadate reagent)

3.2.1.2.1) ละลายแอมโมเนียมวานาเดต (NH_4VO_3) 0.25 กรัม ในน้ำเดือด 50 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น

3.2.1.2.2) เติมกรดเปอร์คลอริก (HClO_4) ความเข้มข้น 70% ปริมาตร 40 มิลลิลิตร

3.2.1.2.3) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 500 มิลลิลิตร

3.2.1.3) สารละลายโมลิบเดต (molybdate reagent)

3.2.1.3.1) ละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต [$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$] 6.25 กรัม ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร

3.2.1.4) สารละลายมาตรฐานที่มีฟอสฟอรัสความเข้มข้น 100 ppm

3.2.1.4.1) ทำโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) ให้แห้งในเตาซีเคเตอร์

3.2.1.4.2) ละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.0439 กรัม ในน้ำและปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในตู้เย็น)

3.2.1.5) กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (HClO_4)

3.2.1.6) กรดไนตริก (HNO_3)

3.2.1.7) กรดไฮโดรคลอริก (HCl)

3.2.2) วิธีการทดลอง

3.2.2.1) การย่อยตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างพืชอบแห้งที่บดละเอียดประมาณ 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (HClO_4) 0.4 มิลลิลิตร และกรดไนตริก (HNO_3) 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปั่นให้เข้ากัน ปิดหลอดด้วยพาราฟิล์ม ทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นนำมาย่อยที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เพื่อไล่ควันสีเหลืองของ NO_2^- ออกให้หมด จึงปรับเพิ่มอุณหภูมิเป็น

210 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้จนตัวอย่างแห้ง ระวังอย่าให้ไหม้ นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติม สารละลายเจือจาง ($\text{HCl}:\text{H}_2\text{O}$ อัตราส่วน 1:4) หลอดละ 1 มิลลิลิตร ปั่นให้เข้ากัน จากนั้นนำมาตั้ง บนเตาที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เพื่อไล่ Cl^- ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาปรับปริมาตร เป็น 50 มิลลิลิตร เทใส่ขวดพลาสติกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับวิเคราะห์ต่อไป

3.2.2.1) ปิเปตสารละลายตัวอย่างพืชที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรดผสม (HNO_3 และ HClO_4) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

3.2.2.2) เติมสารละลายวานาเดต ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

3.2.2.3) เติมสารละลายโมลิบเดต ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

3.2.2.4) วางหลอดทิ้งไว้อย่างน้อย 30 นาที

3.2.2.5) วัดความเข้มของสีด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

3.2.2.6) หาความเข้มของฟอสฟอรัสจากกราฟมาตรฐาน โดยนำค่า ดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

3.2.2.7) คำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่างพืช

$$\text{ปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่างพืช (ppm)} = \frac{(C \times V_f) \times V_d}{W \times V_a}$$

$$\text{ปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่างพืช (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(C \times V_f) \times V_d \times 10^4}{W \times V_a}$$

เมื่อ C = ความเข้มของฟอสฟอรัสจากกราฟมาตรฐาน (ppm)

V_f = ปริมาตรสุดท้าย (15 มิลลิลิตร)

V_d = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างพืชที่ได้จากการย่อยสลาย (50 มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักตัวอย่างพืช (มิลลิลิตร)

V_a = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างพืชที่ใช้ในการวิเคราะห์ (5 มิลลิลิตร)

3.3) การวิเคราะห์โพแทสเซียม

3.2.2) วิธีการทดลอง

3.2.2.1) การย่อยตัวอย่าง ใช้วิธีการย่อยเช่นเดียวกับการย่อยธาตุฟอสฟอรัส

3.3.1) ปรับความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างโดยปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 0.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วย volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร

3.3.2) วัดการเปล่งแสงของสารละลายตัวอย่าง ด้วยเครื่อง AAS ที่ความยาวคลื่น 766.5 นาโนเมตร

3.3.3) หาความเข้มข้นของโพแทสเซียมจากกราฟมาตรฐาน โดยนำค่าการเปล่งแสงที่วัดได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

3.3.4) คำนวณหาปริมาณโพแทสเซียมในตัวอย่างพืช

$$\text{ปริมาณโพแทสเซียมในตัวอย่างพืช (ppm)} = \frac{(C_s \times C_b) \times V_d}{W}$$

$$\text{ปริมาณโพแทสเซียมในตัวอย่างพืช (\%)} = \frac{(C_s - C_b) \times V_d \times 10^{-4}}{W}$$

เมื่อ C_s = ความเข้มข้นของโพแทสเซียมสารละลายตัวอย่างพืชจากกราฟมาตรฐาน (ppm)

C_b = ความเข้มข้นของโพแทสเซียมใน blank จากกราฟมาตรฐาน (ppm)

V_d = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างพืชที่ได้จากการย่อยสลาย (50 มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักตัวอย่างพืช (กรัม)

ภาคผนวก ก

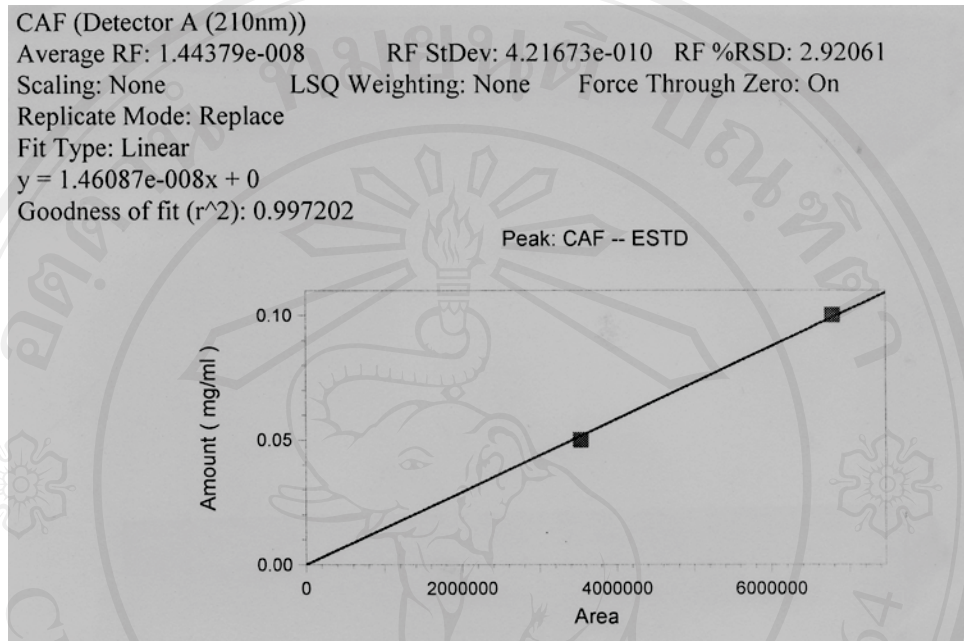
รายละเอียดของผลิตภัณฑ์กาแฟชนิดผงสำเร็จรูป

ตารางภาคผนวกที่ 1 รายละเอียดกาแฟชนิดผงสำเร็จรูป 6 ยี่ห้อ

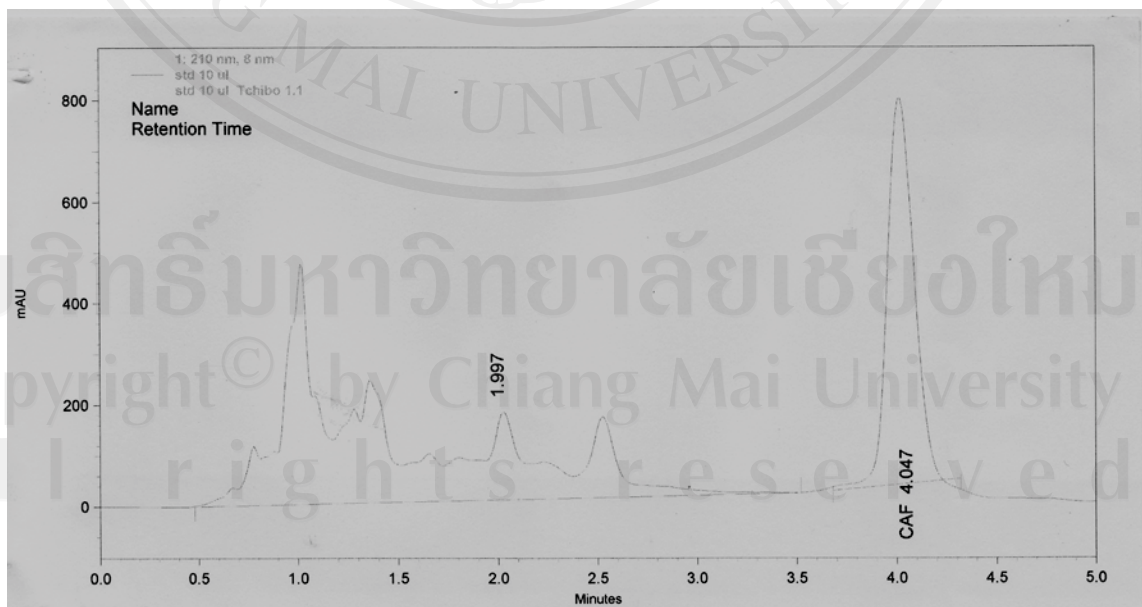
ลำดับที่	ยี่ห้อกาแฟ	ขนาดบรรจุ (กรัม)	ส่วนผสมผลิตภัณฑ์	หมายเหตุ
1	เนสกาแฟ โพรเทค	100	กาแฟโรบัสต้าคั่ว กาแฟอาราบิก้าคั่ว เมล็ดกาแฟดิบ	ผลิตในประเทศ
2	เนสกาแฟ เรดคัพ	100	กาแฟโรบัสต้าคั่ว กาแฟอาราบิก้าคั่ว	ผลิตในประเทศ
3	มอคโคน่า ซีเลค	150	กาแฟโรบัสต้าคั่ว 100%	ผลิตในประเทศ
4	บัดดี้ ดีน	150	กาแฟโรบัสต้าคั่ว 100%	นำเข้าจากประเทศ บราซิล
5	เขาช่อง ผสมชนิดเกลิค	150	กาแฟโรบัสต้าคั่ว 92% คาราเมล 8%	ผลิตในประเทศ
6	โคลัมเบีย ตรา ทชิโบ	100	กาแฟอาราบิก้าคั่ว 100%	นำเข้าจากประเทศ เยอรมัน

ภาคผนวก ง

กราฟมาตรฐานของคาเฟอีน (Standard curve)



ภาพภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานของสารคาเฟอีน



ภาพภาคผนวกที่ 2 โครมาโตแกรมของการวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีน โดย HPLC

ภาคผนวก จ
ค่าการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณคาเฟอีนในกาแฟชนิดผงสำเร็จรูป

Source	DF	SS	MS	P	F
Brands	5	90.835	18.1670	39.3	0.0000
Error	54	24.944	0.4619		
Total	59	115.779			

ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของการบดและการคั่วต่อปริมาณคาเฟอีนในสารกาแฟอบบิก้า

Source	DF	SS	MS	P	F
Grind	1	0.47686	0.47686	368.54	0.0000
Roasted	3	1.55306	0.51769	400.09	0.0000
Grind× Roasted	3	0.02630	0.00877	6.78	0.0037
Error	16	0.02070	0.00129		
Total	23	2.07693			

ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของพันธุ์และช่วงฤดูเก็บเกี่ยวผลผลิตปริมาณคาเฟอีนในสารกาแฟอบบิก้า

Source	DF	SS	MS	P	F
Varieties	3	1.1029	0.36763	42.80	0.0000
Harvesting periods	2	10.7619	5.38094	626.48	0.0000
Varieties× Harvesting periods	6	0.0601	0.01001	1.17	0.3269
Error	168	1.4430	0.00859		
Total	179	13.3679			

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ - สกุล

นายอดิเรก ศรีมูล

วัน เดือน ปีเกิด

16 สิงหาคม 2527

ประวัติการศึกษา

สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนแม่ริมวิทยาคม
จังหวัดเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2544สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาพืชสวน
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2548

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved