



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

**วิธีการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ไม่ใช่โครงสร้าง  
(Total Nonstructural Carbohydrate; TNC)**

**วิธีการเตรียม Reagent**

1. Nelson's reagent A

เตรียมสารละลาย anhydrous sodium carbonate จำนวน 25 กรัม sodium potassium tartrate จำนวน 25 กรัม sodium bicarbonate จำนวน 20 กรัม และ anhydrous sodium sulfate จำนวน 200 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

2. Nelson's reagent B

เตรียมสารละลาย copper sulfate จำนวน 15 กรัม ลงในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เติมกรด sulfuric เข้มข้น จำนวน 2 หยด คนจนกระทั่งเกลือ copper sulfate ละลายจนหมด

3. Nelson's alkaline copper reagent

นำ Nelson's reagent A จำนวน 20 มิลลิลิตร ผสมกับ Nelson's reagent B จำนวน 0.8 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน การนำ Nelson's alkaline copper reagent ไปใช้แต่ละครั้ง ควรเตรียมใหม่เสมอ

4. Arsenomolybdic acid reagent

4.1 ละลาย ammonium molybdate  $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$  จำนวน 25 กรัม ในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร เติมกรด sulfuric เข้มข้น จำนวน 21 มิลลิลิตร

4.2 ละลาย disodium hydrogen arsenate  $[(\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})]$  จำนวน 3 กรัม ในน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร

4.3 นำสารละลายจากข้อ 4.2 ผสมลงไปนในสารละลายในข้อ 4.1 เขย่าให้เข้ากัน แล้วเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน ก่อนนำมาใช้สารละลายที่ได้ต้องเป็นสีเหลือง

**วิธีการสกัด**

การสกัด TNC จากตัวอย่างพืช โดยใช้สารละลายกรดเจือจาง (0.2 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) ตามวิธีของ Smith *et al.* (1964) ดัดแปลงโดยสุจริต (2531) ซึ่งตัวอย่างพืชที่อบแห้งสนิทและบดละเอียดแล้ว 0.1 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง เติม 0.2 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  จำนวน 40 มิลลิลิตร ปิดปากหลอดด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ นำไปอบใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำออกจากตู้อบ ตั้งไว้ให้เย็น ปรับ pH ให้เป็นกลางด้วย 0.1, 1 และ 2 N NaOH กับ 0.5 และ 5%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ปรับ

ปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 นำสารละลายที่ได้ใส่ขวดพลาสติกขนาด 60 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

#### การเตรียมสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน

การเตรียมสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน โดยใช้ปีเปตดูดสารละลาย D-glucose เข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร รวม 10 หลอด เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทำให้ได้สารละลายกลูโคสมาตรฐาน 0.025, 0.05, 0.075, 0.1, 0.125, 0.15, 0.175, 0.2, 0.225 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

#### วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ TNC

##### 1. เตรียมกราฟมาตรฐาน (standard curve)

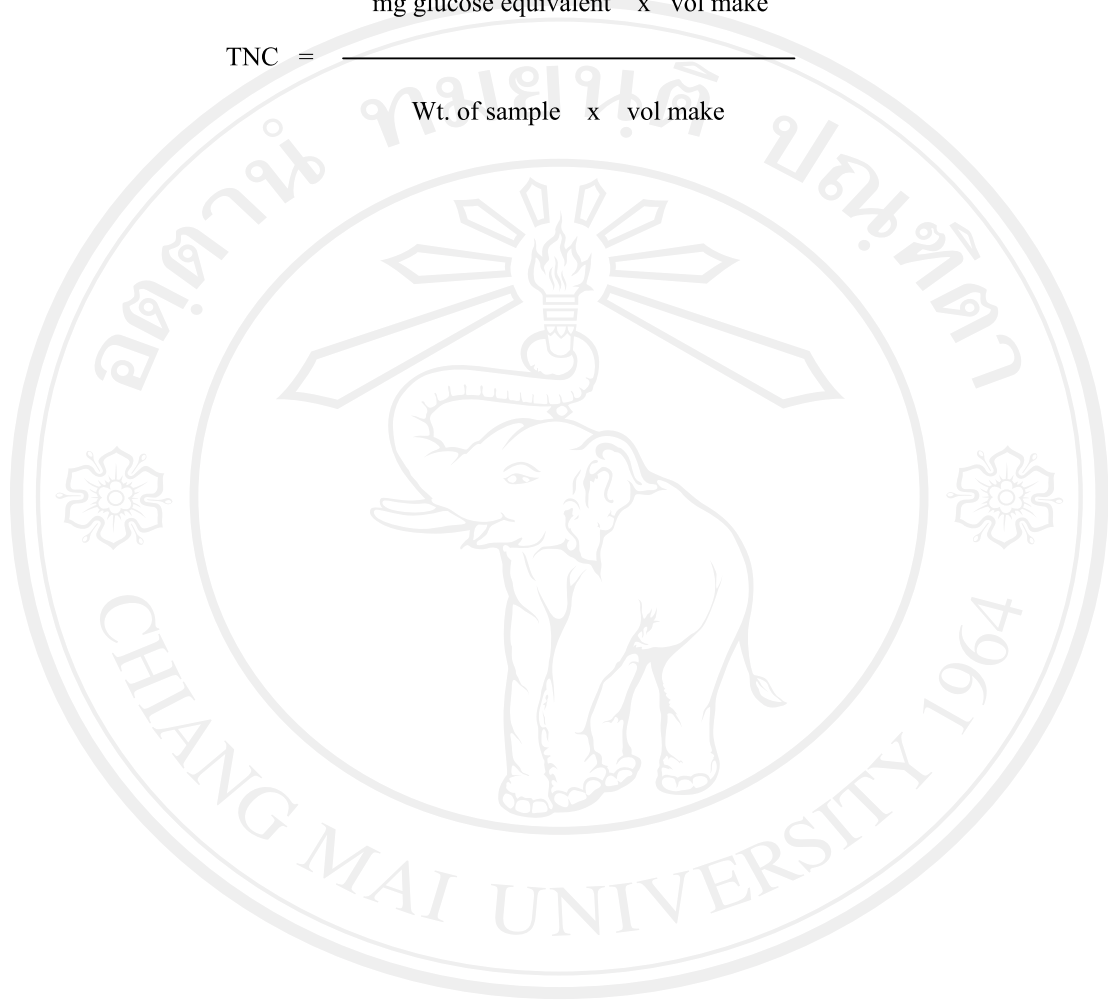
ใช้สารละลายน้ำตาลมาตรฐาน ใส่หลอดทดสอบ 1 มิลลิลิตร เติมนelson's alkaline copper reagent จำนวน 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปิดด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยด์ นำไปแช่ใน water bath อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นทำให้เย็นโดยการนำไปวางแช่ในน้ำเย็น แล้วนำไปเติมสารละลาย arsenomolybdic acid reagent จำนวน 1 มิลลิลิตร เขย่าให้ตะกอนของ  $\text{Cu}_2\text{O}$  ละลายจนหมด เติมน้ำกลั่น 7 มิลลิลิตร ทำให้ได้สารละลายจำนวน 10 มิลลิลิตร นำไปเขย่าอีกครั้ง ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายที่ได้ไปอ่านค่าดูดกลืนแสง (absorbance) จากเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาเขียนเป็นกราฟมาตรฐาน (standard curve) โดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ glucose (แกน X) กับค่า absorbance (แกน Y)

##### 2. การวิเคราะห์ปริมาณ TNC ในตัวอย่างพืช

นำสารละลายที่สกัดได้จากตัวอย่างพืชใส่ในหลอดทดสอบจำนวน 1 มิลลิลิตร ทำเช่นเดียวกับการเตรียมกราฟมาตรฐาน นำค่า absorbance (A) ที่ได้ เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ได้ เปรียบเทียบกราฟมาตรฐานที่ทำไว้ นำไปคำนวณเป็นปริมาณมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของ D-glucose ต่อน้ำหนักแห้งของตัวอย่างพืช

## 3. วิธีการคำนวณ

$$\text{TNC} = \frac{\text{mg glucose equivalent} \times \text{vol make}}{\text{Wt. of sample} \times \text{vol make}}$$



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
 Copyright© by Chiang Mai University  
 All rights reserved



ภาพภาคผนวกที่ 1 ต้นไหลสตรอเบอรี่ที่นำเข้ารับสภาพอุนหภูมิต่ำร่วมกับสาร 6-BA



ภาพภาคผนวกที่ 2 ต้นไหลสตรอเบอรี่ที่นำเข้ารับสภาพวันสั้นร่วมกับสาร 6-BA



ภาพภาคผนวกที่ 3 ต้นไหลสตรอเบอรี่ที่นำเข้ารับสภาพอิทธิพลร่วมและสาร 6-BA

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล

นางสาวอัมรา ทาท้อง

วัน เดือน ปีเกิด

29 เมษายน 2522

ประวัติการศึกษา

มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเมืองเชียงราย

ปีการศึกษา

2539

วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปีการศึกษา

2544

วท.ม. (เกษตรศาสตร์) พิษสวน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright © by Chiang Mai University

All rights reserved