



ภาควิชา

- | | | | |
|------------|---------|---|------------------------------------|
| ภาควิชา | หมายถึง | - | วิธีการเตรียมก๊าซเอทีเอ็นมาตรฐาน |
| | | - | การวิเคราะห์ TNC TS RS |
| | | - | การวิเคราะห์โปรตีนรวม |
| ภาพภาควิชา | หมายถึง | - | การคำนวณการวิเคราะห์ปริมาณเอทีเอ็น |
| | | - | การคำนวณการวิเคราะห์ปริมาณ TNC TS |
| | | | และ RS |
| | | - | กราฟมาตรฐานโปรตีน |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวกที่ 1 วิธีการเตรียมก๊าซเอทิลีนมาตรฐาน

ในการเตรียมก๊าซเอทิลีนมาตรฐาน 0.1, 0.5, 1, 5 และ 10 สตล. มีวิธีการเตรียมดังนี้

1. นำขวดที่ตัดก้นออกและมีฝาจุกยางปิดปากขวดวางลงในอ่างน้ำ ตะแคงให้น้ำเข้าภายในขวดจนเต็ม ไม่มีอากาศเหลือภายในขวด
2. นำขวดก๊าซเอทิลีนมาตรฐานที่สวม syringe adapter เพื่อใช้สำหรับถ่ายก๊าซเอทิลีนจากกระป๋องไปยังขวดที่เตรียม เมื่อสอดส่วนปลายของ syringe adapter ตรงตำแหน่งก้นขวดที่ตัดปลายออกแล้ว จากนั้นกดด้านบนของกระป๋องก๊าซเอทิลีนมาตรฐานจากกระป๋องจะออกมาแทนที่น้ำและเข้าไปอยู่ภายในขวดและลอยขึ้นไปสะสมอยู่ภายใต้จุกยาง
3. นำเข็มฉีดยามาเสียบผ่านจุกยางที่ปิดปากขวดจากนั้นนำเข็มฉีดยามาดูดก๊าซเอทิลีนออกจากขวด
4. นำเข็มฉีดยามาเสียบผ่าน syringe ขนาด 50 มิลลิลิตร ที่ปิดจุกยางแล้ว โดยดูมา 1 มิลลิลิตร โดยก่อนฉีดก๊าซเข้าต้องดูดก๊าซออกจาก syringe ขนาด 50 มิลลิลิตร ก่อน 1 มิลลิลิตร แล้วจึงฉีดก๊าซเอทิลีนเข้าไป โดยคำนวณความเข้มข้นของปริมาณเอทิลีนดังนี้

ความเข้มข้นของก๊าซเอทิลีนมาตรฐานที่ใช้ในสำหรับเป็นขวด stork ที่เตรียมจากก๊าซเอทิลีนมาตรฐาน 95.5% สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$n_1 v_1 = n_2 v_2$$

$$995,000 \text{ สตล. (1 มิลลิลิตร) } = n_2 \text{ (50 มิลลิลิตร)}$$

$$n_2 = 19900$$

โดยที่ n_1 คือ ความเข้มข้นของก๊าซเอทิลีนมาตรฐาน 95.5% ซึ่งมีความเข้มข้น 995,000 ส่วนต่อล้าน

n_2 คือ ความเข้มข้นของก๊าซเอทิลีนมาตรฐานที่ใช้เป็น stork

v_1 คือ ปริมาตรของก๊าซเอทิลีนมาตรฐานที่ดูดจากก๊าซเอทิลีนมาตรฐาน 95.5%

v_2 คือ ความเข้มข้นของก๊าซเอทิลีนมาตรฐานที่ใช้เป็น stork

5. ทำการลดความเข้มข้นของ stork โดยการนำเข็มฉีดยาดูดเอาก๊าซเอทิลีนมาตรฐานจากข้อ 3 ซึ่งมีความเข้มข้น 19900 สตล. มาฉีดบริเวณจุกยางของ syringe ขนาด 50 มิลลิลิตร โดยคำนวณจาก

ปริมาตรของก๊าซที่ต้องดูดมาจาก stock ความเข้มข้น 19900 สตล. สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$n_1 v_1 = n_2 v_2$$

$$19900 \text{ สตล. } (v_1) = 500 \text{ (50 มิลลิลิตร)}$$

$$v_1 = 1.25 \text{ มิลลิลิตร}$$

โดยที่ n_1 คือ ความเข้มข้นของก๊าซเอทิลีนมาตรฐาน 95.5% ซึ่งมีความเข้มข้น 995,000 สตล.

n_2 คือ ความเข้มข้นของก๊าซเอทิลีนมาตรฐานที่ใช้เป็น stork

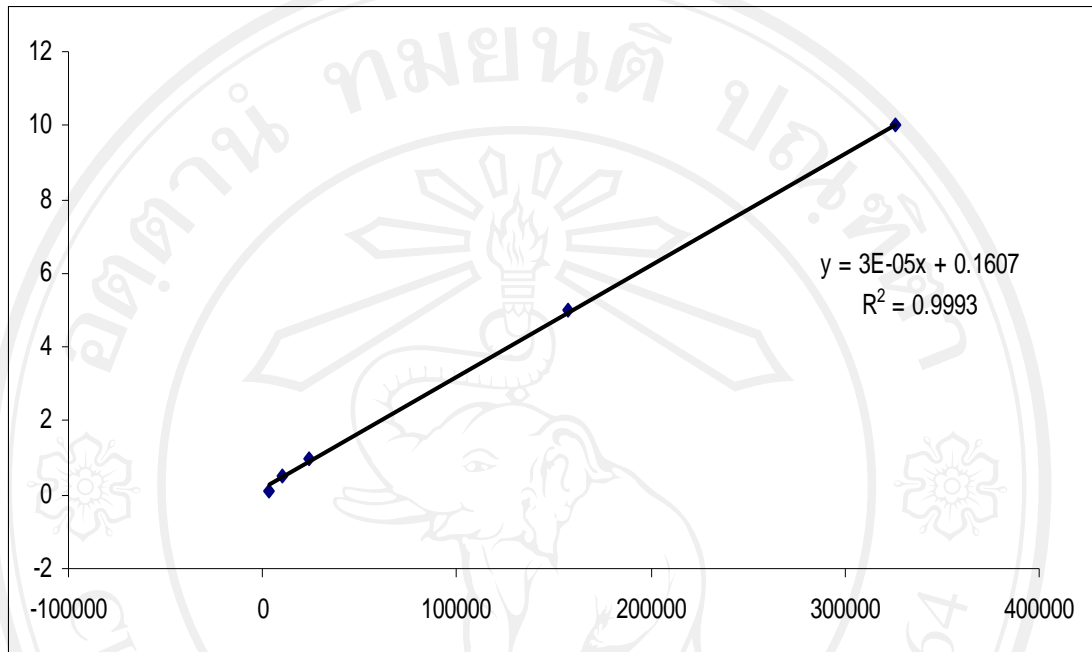
v_1 คือ ปริมาตรของก๊าซเอทิลีนมาตรฐานที่ดูดจากก๊าซเอทิลีนมาตรฐาน

v_2 คือ ความเข้มข้นของก๊าซเอทิลีนมาตรฐานที่ใช้เป็น stork

เมื่อได้ stock ความเข้มข้น 500 สตล. แล้วนำมาเตรียมก๊าซเอทิลีนมาตรฐานความเข้มข้น 10 สตล. ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสูตร $n_1 v_1 = n_2 v_2$ เช่นกัน โดยต้องดูดก๊าซเอทิลีนมาตรฐานจาก stock ความเข้มข้น 500 สตล. มา 1 มิลลิลิตร ฉีดลงใน syringe ขนาด 50 มิลลิลิตร

สำหรับความเข้มข้นอื่น ๆ ก็เตรียมเช่นเดียวกัน โดยที่ความเข้มข้น 5 สตล. ดูดมาจากก๊าซเอทิลีนมาตรฐานความเข้มข้น 10 สตล. มา 25 มิลลิลิตร ฉีดใส่ลงใน syringe ขนาด 50 มิลลิลิตร, ความเข้มข้น 1 สตล. ดูดมาจากก๊าซเอทิลีนมาตรฐานความเข้มข้น 5 สตล. มา 10 มิลลิลิตร ฉีดใส่ลงใน syringe ขนาด 50 มิลลิลิตร, ความเข้มข้น 0.5 สตล. ดูดมาจากก๊าซเอทิลีนมาตรฐานความเข้มข้น 1 สตล. มา 25 มิลลิลิตร ฉีดใส่ลงใน syringe ขนาด 50 มิลลิลิตร, ความเข้มข้น 0.1 สตล. ดูดมาจากก๊าซเอทิลีนมาตรฐานความเข้มข้น 0.5 สตล. มา 10 มิลลิลิตร ฉีดใส่ลงใน syringe ขนาด 50 มิลลิลิตร

ภาคผนวกที่ 1.1 การคำนวณการวิเคราะห์ปริมาณเอทิลีน



ภาพภาคผนวกที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอทิลีนที่ 0.1, 0.5, 1, 5 และ 10 สดล.

จากกราฟมาตรฐานโดยใช้เอทิลีนมาตรฐานพบว่ามีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นของเอทิลีน 0 – 10 สดล. จะได้สมการเส้นตรงคือ

$$Y = 0.00003 + 0.1607 (X)$$

$$R^2 = 0.9993$$

โดยที่ Y คือ ความเข้มข้นของเอทิลีนมีหน่วยเป็น สดล.

X คือ พื้นที่ใต้กราฟที่อ่านได้จากเครื่อง gas chromatograph มีหน่วยเป็น ตารางมิลลิเมตร ซึ่งมีค่า X minimum = 3469 ตารางมิลลิเมตร และค่า X maximum = 325809 ตารางมิลลิเมตร (Y minimum = 0.1 และค่า X maximum = 10 สดล.)

ภาคผนวกที่ 2 การเตรียม reagent สำหรับการวิเคราะห์ TNC TS และ RS โดยวิธี Nelson's reducing procedure (A.O.A.C., 1990)

Nelson's reagent A

เตรียม anhydrous sodium carbonate (Na_2CO_3) 25 กรัม ผสมกับ sodium potassium tartrate 25 กรัม sodium bicarbonate (NaOHCO_3) 25 กรัม และ anhydrous sodium Sulfate (Na_2SO_4) 200 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

Nelson's reagent B

เตรียม copper sulfate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 15 กรัม ผสมน้ำ 100 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 2 หยด คนให้ละลาย

Nelson's alkaline copper reagent

ผสม Nelson's reagent A ปริมาตร 20 มิลลิลิตร กับ Nelson's reagent B 0.8 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ในการใช้แต่ละครั้งควรเตรียมใหม่ให้พอดีสำหรับวิเคราะห์แต่ละครั้งและใช้ทันที

arsenomolybolic acid reagent

เตรียม ammoniummolybdate ($(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 21 มิลลิลิตร และเตรียม sodium dehydrogenarsenate ($\text{Na}_2\text{HASO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 3 กรัมผสมกับน้ำ 25 มิลลิลิตร นำทั้งหมดมาผสมกันเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง 2 วัน ก่อนนำมาใช้ สารละลายที่ใช้ได้ต้องมีสีเหลืองอ่อนเท่านั้น

การสกัดตัวอย่างการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง

ทำการสกัดตัวอย่างจากส่วนต่าง ๆ ตามวิธีการของ Smith *et al.*, (1964) โดยนำส่วนของกิ่งยอดและใบล่างด้วยน้ำสะอาด 1 ครั้ง ผึ่งให้แห้ง โดยกิ่งที่ใช้จะวัดจากปลายกิ่งแล้วตัดข้อผลทิ้ง จากนั้นวัดจากที่ตัดข้อผลมาอีก 15 เซนติเมตรแล้วตัดนำเอากิ่งส่วนนี้ จำนวน 5 กิ่ง ส่วนใบจะใช้ใบคู่ที่ 2 และใบอยู่ตำแหน่งที่ 2 นับจากปลายข้อผล จำนวน 10 ใบย่อยต่อซ้ำ จากนั้นนำกิ่งยอดและใบไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง บดแล้วเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น เมื่อนำตัวอย่างมาวิเคราะห์หน้าไปอบที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ซึ่งตัวอย่างพืช 0.05 กรัม ใส่ลงในขวด erlenmeyer flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติม H_2SO_4 0.2 N 40 มิลลิลิตร ปิดด้วยอะลูมิเนียม

นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น ปรับ pH ให้เป็นกลางด้วย NaOH ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เก็บไว้ในขวดสำหรับกราววิเคราะห์ต่อไป

การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง

ทำการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง ด้วยวิธีการของ Nelson's reducing sugar procedure (A.O.A.C., 1990) การวิเคราะห์เริ่มจากดูดสารที่สกัดได้ 1 มิลลิลิตร แล้วเติม Nelson's alkaline copper reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปิดด้วยแผ่นอะลูมิเนียมวางในน้ำเดือด 20 นาที จากนั้นนำมาแช่ในน้ำเย็น เติม arsenomolybolic acid reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วเติมน้ำกลั่นหลอดละ 7 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่า absorbance (A) ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ 540 nm นำค่า absorbance ของตัวอย่างเปรียบเทียบกับค่าจาก standard curve ของ D-glucose

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในกิ่งยอดและใบ ด้วยการสกัดตามวิธีการของ Dubois *et al.*, (1956) ซึ่งอ้างโดย วรวงคณา (2550) ดูดสารสกัดจากตัวอย่างการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง 1 มิลลิลิตร ใส่ 0.1 N HCl 0.5 มิลลิลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นนำมาแช่ในน้ำเย็น จากนั้นเติม 0.1 NaOH 0.5 มิลลิลิตร ดูดสารผสมนั้น 1 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง ด้วยวิธีการของ Nelson's reducing sugar procedure (A.O.A.C., 1990) โดยเติม Nelson's alkaline copper reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปิดด้วยแผ่นอะลูมิเนียมวางในน้ำเดือด 20 นาที จากนั้นนำมาแช่ในน้ำเย็น เติม arsenomolybolic acid reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วเติมน้ำกลั่นหลอดละ 7 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่า absorbance (A) ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ 540 nm นำค่า absorbance ของตัวอย่างเปรียบเทียบกับค่าจาก standard curve ของ D-glucose

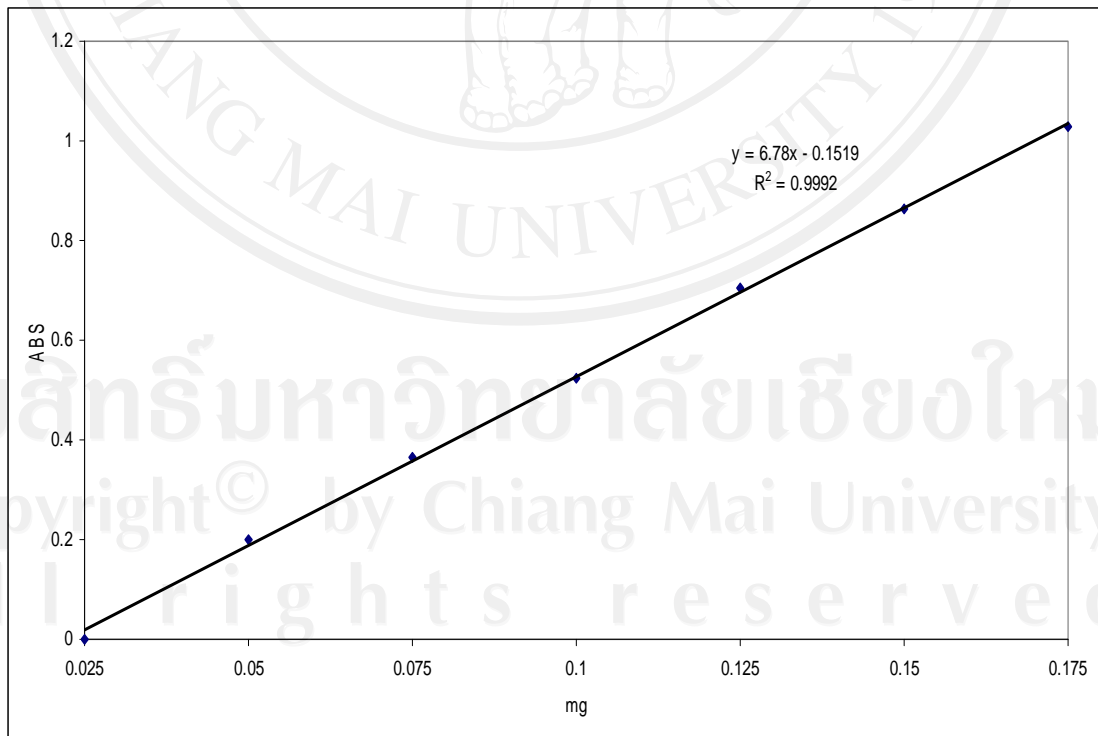
การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงในกิ่งยอดและใบ ด้วยการสกัดตามวิธีการของ Yemm (1935) ซึ่งอ้างโดย วรวงคณา (2550) โดยชั่งตัวอย่างที่อบและแห้งสนิทแล้วหนัก 0.05 กรัม ใส่ erlenmeyer flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติม ethanol 85 เปอร์เซ็นต์ 20 มิลลิลิตร ปิดด้วย

อะลูมิเนียมนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เขย่า flask ทุกครึ่งชั่วโมงเพื่อให้ปฏิกิริยาสมบูรณ์ จากนั้นวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง ด้วยวิธีการของ Nelson's reducing sugar procedure (A.O.A.C., 1990) โดยเติม Nelson's alkaline copper reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปิดด้วยแผ่นอะลูมิเนียมวางในน้ำเดือด 20 นาที จากนั้นนำมาแช่ในน้ำเย็น เติม arsenomolybolic acid reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วเติมน้ำกลั่นหลอดละ 7 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่า absorbance (A) ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ 540 nm นำค่า absorbance ของตัวอย่างเปรียบเทียบกับค่าจาก standard curve ของ D-glucose

ภาคผนวกที่ 2.1 การคำนวณการวิเคราะห์ปริมาณ TNC TS และ RS

$$\text{TNC, TS, RS} = \frac{\text{mg glucose equivalent} \times \text{volume make}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง} \times \text{volume take}}$$



ภาพภาคผนวกที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ 540 กับปริมาณกลูโคสมาตรฐานเพื่อหาค่า TNC TS และ RS ของลำไยพันธุ์ดอหลังได้รับบราลีโนสเดี่ยวรอด

ภาคผนวกที่ 3 การวิเคราะห์โปรตีนรวม

1. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียม extraction buffer

Tris-HCl 0.05 M pH 8.4	100	มิลลิลิตร
Sodium Chloride 150 mM	1.7533	กรัม
Cysteine 10 mM	0.1212	กรัม
Asorbic acid 1 mM	0.0352	กรัม
Calcium Chloride 1mM	0.0294	กรัม
Sodium EDTA 1mM	0.7444	กรัม
Nicotine 2 %	2.00	กรัม

หมายเหตุ เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้

2. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียม Tris-HCl buffer 0.05 M pH 8.4

Tris	1.1057	กรัม
น้ำกลั่น	100	กรัม

ปรับ pH ให้ได้ 8.4 ด้วย 1 N NaOH หรือ HCl

3. การเตรียมสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่าง 7.5 ที่มีโซเดียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ หรือ phosphate buffer saline (PBS)

ก. สารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรต (Merck) น้ำหนัก 7.8005 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาณให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

ข. สารละลายโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรต (Merck) น้ำหนัก 8.8995 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาณให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

ค. สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีความเป็นกรด-ด่าง 7.5 เตรียมโดย นำสารละลาย ก. 100 มิลลิลิตรมาปรับความเป็นกรด - ด่างด้วยสารละลาย ข. โดยค่อย ๆ เติมสารละลายผสมจนค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5

ง. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 2.0 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งโซเดียมคลอไรด์ (Merck) น้ำหนัก 11.7467 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาณให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

๑. สารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่าง 7.5 ที่มีโซเดียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ หรือ phosphate buffer saline (PBS) เตรียมโดยนำสารละลายบัฟเฟอร์ ความเป็นกรด - ด่าง 7.5 (สาร ค.) มา 10 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 2.0 โมลาร์ (สาร ง.) ลงไป 5 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

4. การเตรียมสารละลาย comassie brilliant blue G-250

ชั่ง comassie brilliant blue G-250 (BIO-RED) น้ำหนัก 0.0125 กรัม ละลายในเอทานอลปริมาตร 12.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟอสฟอริก (Merck) ความเข้มข้น 85% ลงไป 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ได้สารละลาย comassie brilliant blue G-250 ความเข้มข้น 0.05% ในเอทานอล 5% และฟอสฟอริก 10%

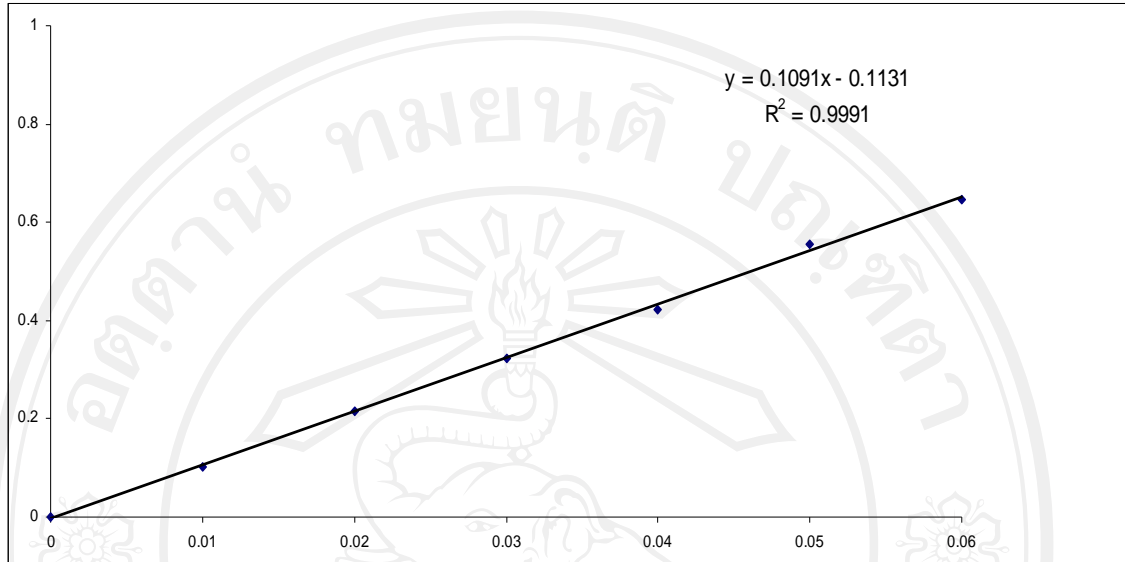
5. การเตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน

ชั่งโปรตีน BSA (Bovine Serum Albumin, Fluka) มา 0.2500 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายโปรตีนที่เตรียมได้ ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตร โดยการเติมสารละลาย phosphate buffer saline (PBS) จะได้สารละลายโปรตีนมาตรฐานความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การสร้างกราฟมาตรฐานโปรตีน

ปิเปตสารละลายโปรตีนมาตรฐาน (BSA) ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50, 100, 150, 200, 250 และ 300 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย PBS ลงในหลอดแต่ละหลอดโดยให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเท่ากับ 300 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเติมสารละลาย comassie brilliant blue G-250 (วิธีการเตรียมตามภาคผนวก) ลงไปหลอดละ 3 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer รุ่น SPECTRO 22 ของบริษัท Labo MED, Inc. นำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนมาตรฐานกับค่าการดูดกลืนแสง

ภาคผนวกที่ 5.1 กราฟมาตรฐานโปรตีน



ภาพภาคผนวกที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ 595 กับปริมาณโปรตีนมาตรฐานเพื่อหาค่าปริมาณโปรตีนรวมในกิ่งยอดและใบของลำไยพันธุ์ค้อหลังได้รับ บราสิโนสเตียรอยด์

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นายณัฐพงศ์ สัตยพานิช		
วัน เดือน ปี เกิด	17 สิงหาคม 2526		
ประวัติการศึกษา	วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่จบการศึกษา
มัธยมศึกษาตอนต้น		โรงเรียนนวมินทราชูทิศ พายัพ	2542
มัธยมศึกษาตอนปลาย		โรงเรียนนวมินทราชูทิศ พายัพ	2545
ปริญญาตรี		มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่	2549

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved