บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. วัสดุพันธุ์พืช

ผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72 มาตรฐานชั้น 3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 2.75-2.50 เซนติเมตร ที่เก็บเกี่ยวที่ระยะความแก่และสุกของผลโดยพิจารณาจากสีผิวที่มีสีแดง 70-80 เปอร์เซ็นต์ จากแหล่งปลูกศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่แฮ (บ่อแก้ว) อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ ส่งมาที่งานคัดบรรจุมูลนิธิโครงการหลวง แล้วส่งมายังห้องปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยว พืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยรถขนส่งของมูลนิธิโครงการหลวง

2. อุปกรณ์

2.1 เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (fruits hardiness tester) รุ่น FHR-1 ของบริษัท NIPPON OPTICAL WORKS ขนาด 1 กิโลกรัม หัววัดรูปทรงกระบอก (cylinder shape) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ยาว 10 มิลลิเมตร

2.2 เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (digital refractometer) รุ่น PR-101 ของบริษัท ATAGO อ่านค่าได้ตั้งแต่ 0-45 เปอร์เซ็นต์

2.3 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น EK-600H ของบริษัท AND ชั่งน้ำหนักได้สูงสุด 600 กรัม และแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น HR-200 ของบริษัท AND ชั่งน้ำหนักได้สูงสุด 210 กรัม

2.4 เครื่องปั่นผลไม้ (blender) รุ่น S(643) ของบริษัท Moulinex

2.5 เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH-meter) รุ่น CG842 ของบริษัท SCHOTT

2.6 เครื่องไทเทรต (digital burette) ของบริษัท Brand

2.7 เครื่องกวนสารเคมีด้วยแท่งแม่เหล็กและให้ความร้อน ของบริษัท Nuova II

2.8 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (digital spectophotometer) รุ่น Spectro 23 ของบริษัท LaboMed และเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (thermo spectronic)

2.9 เครื่อง centrifuge รุ่น Z383K ของบริษัท HERMLE หมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วสูงสุดที่ 15,000 รอบต่อนาที

2.10 micropipette ของบริษัท GILSON

2.11 water bath รุ่น WB 10 ของบริษัท Memmert

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.12 เครื่อง mixer รุ่น MS1 Minishaker ของบริษัท IKA JK

2.13 กระดาษกรอง Whatman No.1

2.14 เครื่องวัดสี (Chroma meter) ตัวเครื่องรุ่น CR-300 หัววัด CR-310 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ของบริษัท Minolta ซึ่งวัดสีออกมาเป็นค่า L*, a* และ b* โดยมีรายละเอียดดังนี้ คือ (ภาพ 5 และ 6)

L* = The lightness factor (value)

ค่า L* แสดงค่าความสว่าง

- มีค่าความสว่างมากเมื่อมีค่าใกล้ 100
- มีค่าความมืดมากเมื่อมีค่าใกล้ 0

a*, b* = The chromaticity coordinates (hue, chroma)

ค่า a* - มีค่าบวก หมายถึง วัตถุมีสีแดง

- มีค่าลบ หมายถึง วัตถุมีสีเขียว

ค่า b* - มีค่าบวก หมายถึง วัตถุมีสีเหลือง

- มีค่าลบ หมายถึง วัตถุมีสีน้ำเงิน

ทั้ง a* และ b* หากมีค่าเป็นศูนย์ หมายถึง วัตถุมีสีเทา

ค่า chroma - มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึง วัตถุมีสีซีดจาง (เทา)

- มีค่าเข้าใกล้ 60 หมายถึง วัตถุมีสีเข้ม

คำนวณหาค่า chroma ซึ่งเป็นค่าที่แสดงให้เห็นถึงความอิ่มตัวของสี (McGuire, 1992)

ค่า hue angle (h°) เป็นค่าที่แสดงถึงมุมในการตกกระทบของค่า a* ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 องศา (McGuire, 1992)

ค่า h° เป็นค่าที่แสดงช่วงสีของวัตถุ คือ

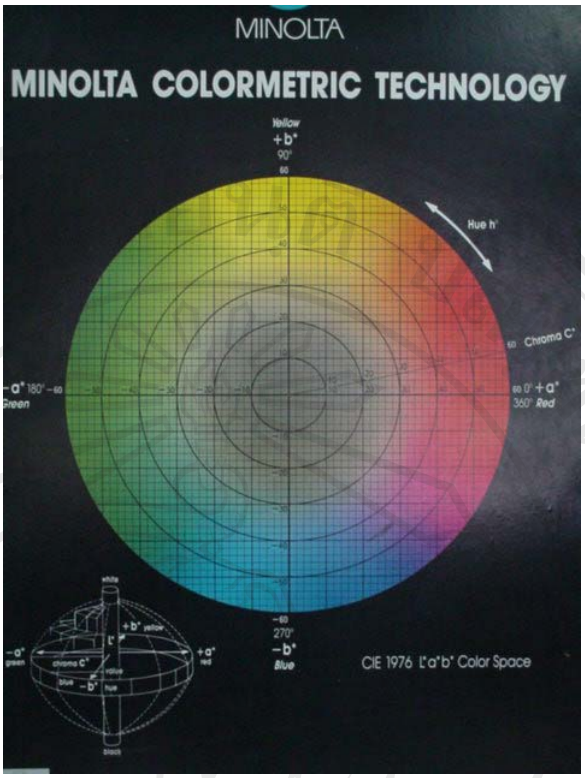
0-45 องศา แสดงสีม่วงแดงถึงสีส้มแดง 180-225 องศา แสดงสีเขียวถึงสีน้ำเงิน

45-90 องศา แสดงสีส้มแดงถึงสีเหลือง 225-270 องศา แสดงสีน้ำเงินเขียวถึงน้ำเงิน

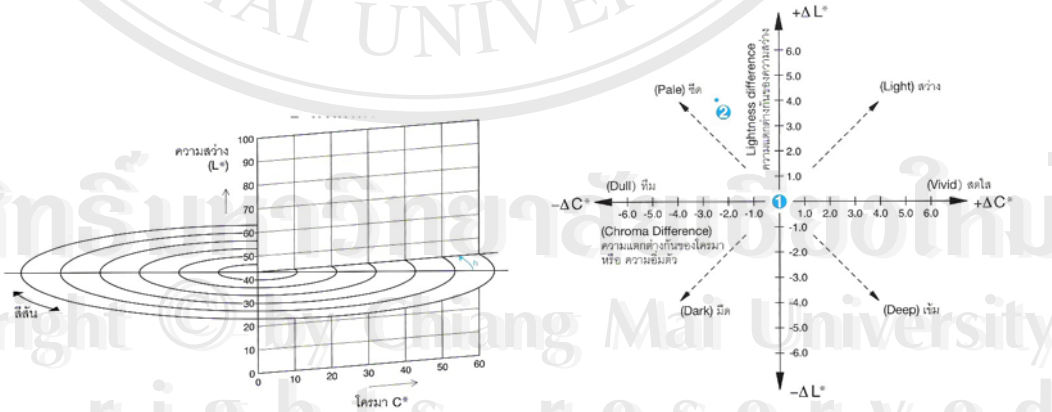
90-135 องศา แสดงสีเหลืองถึงเหลืองเขียว 270-315 องศา แสดงสีน้ำเงินถึงม่วง

135-180 องศา แสดงสีเหลืองเขียวถึงเขียว 315-360 องศา แสดงสีม่วงถึงม่วงแดง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 5 แผนภาพของสีที่อ่านค่าเป็นค่า L*, a* และ b*



ภาพ 6 ค่าความอิ่มตัว (chroma) และความสว่าง (Lightness) ของสี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.15 ตู้เย็น

2.16 มีดปอกผลไม้

2.17 เขียงพลาสติก

2.18 กล้องถ่ายรูป

2.19 Hemacytometer

2.20 Loop เขี่ยเชื้อและเข็มเขี่ยเชื้อ

2.21 กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope)

2.22 ตู้อบ (Oven)และตู้ UV

2.23 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)

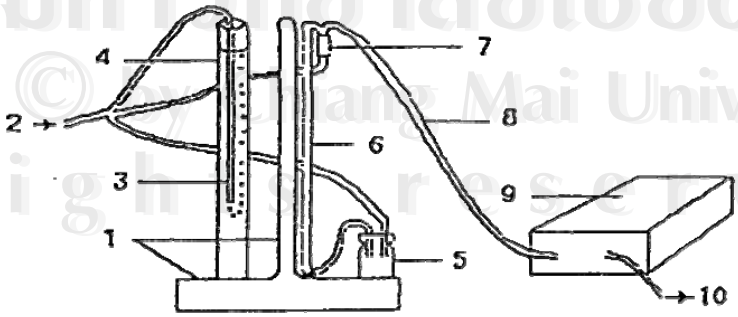
2.24 ผ้าขาวบาง

2.25 ตะเกียงแอลกอฮอล์

2.26 ชั้นวางหลอดทดลอง

2.27 ชุดแผงควบคุมการไหลของอากาศ (flow board) ประกอบด้วย (ภาพ 7)

1. แผงและฐานไม้
2. ทางอากาศเข้า
3. หลอดแก้วระบายอากาศ
4. ขวดแก้วใหญ่บรรจุน้ำเต็ม
5. หลอดแก้ว
6. แคพิลลารี (capillary)
7. หลอดนำก๊าซ
8. ภาชนะบรรจุผลิตผล
9. ทางอากาศออก



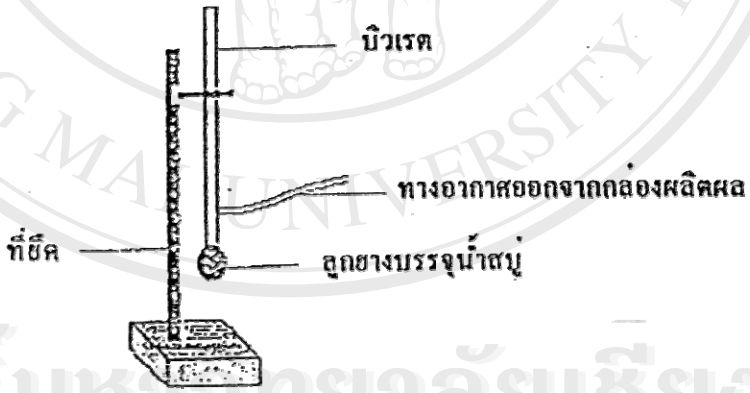
ภาพ 7 ชุดแผงควบคุมการไหลของอากาศ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

หลักการทำงานของชุดแผงควบคุมการไหลของอากาศ คือ เมื่อให้อากาศจากเครื่องสูบลมผ่านเข้าช่องอากาศเข้า (2) อากาศจะแยกออกเป็น 3 ทาง คือ ผ่านไปเข้าสู่น้ำในหลอดแก้วระบายอากาศ (3) หรือผ่านเข้าไปในหลอดบรรจุน้ำ (5) หรือออกไปทางหลอดแคพิลลารี (7) แล้วออกสู่ภาชนะบรรจุผลิตผล (9) กรณีที่อากาศผ่านเข้ามามีแรงดันต่ำ อากาศส่วนใหญ่จะไหลไปทางหลอดแคพิลลารี เพราะไม่สามารถดันน้ำในหลอดแก้วระบายอากาศ (3) หรือในขวดแก้ว (5) ได้ แต่เมื่อเพิ่มความดันของอากาศที่ผ่านเข้ามาให้มากขึ้น อากาศจะออกทางหลอดแคพิลลารีไม่ทัน เพราะมีช่องขนาดเล็ก อากาศจะดันน้ำในหลอดแก้วระบายอากาศ (3) ให้ต่ำลง และดันน้ำในหลอดแก้ว (5) ขึ้นไปตามหลอดแก้วแสดงระดับความดัน (6) ซึ่งจะสูงเท่ากับระดับความดันของอากาศที่ผ่านเข้ามา ในขณะนั้น ถ้าความดันอากาศเพิ่มขึ้นจะดันน้ำในหลอดแก้ว (3) ให้ต่ำลงจนเห็นเป็นฟองอากาศออกไปที่ปลายหลอดแก้วระบายอากาศ (3)

2.28 ชุดวัดอัตราการไหลของอากาศ (air flow meter) (ภาพ 8) ประกอบด้วย

- ทางอากาศเข้า
- บิวเรต (burette)
- ลูกยางบรรจุน้ำสบู่



ภาพ 8 ชุดวัดอัตราการไหลของอากาศ

หลักการทำงานของเครื่อง คือ เมื่อต่อสายยางที่มีอากาศผ่านจากแคพิลลารีในชุดแผงควบคุมอัตราการไหลเข้ากับชุดวัดอัตราการไหลของอากาศแล้ว เมื่อบีบลูกยางให้น้ำสบู่ไหลขึ้นไปปิดทางออกอากาศ ขณะที่อากาศไหลออกจากหลอดแคพิลลารีเข้าสู่บิวเรต อากาศจะดันน้ำสบู่ให้เป็นฟองไหลออกไปตามบิวเรต วัดอัตราการไหลของอากาศโดยจับเวลาการเคลื่อนที่ของฟองสบู่แล้วคำนวณเป็นอัตราไหลของอากาศมีหน่วยเป็นมิลลิลิตรต่อนาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.29 เครื่อง gas chromatography รุ่น GC-8A ของบริษัท SHIMADZU ประเทศญี่ปุ่น โดยมีรายละเอียดดังนี้

- Detector : Thermal conductivity detector (TCD)
- Column : Molecular Sieve 5A และ Parapak Type N
- Carrier gas : helium, 25 ml/min
- Oven temperature : 110°C
- Injection temperature : 110°C
- Column temperature : 70°C

2.30 นาฬิกาจับเวลา ของบริษัท CASIO

2.31 เครื่องแก้ว

- บีกเกอร์ (beaker)
- ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)
- ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)
- กระบอกตวง (cylinder)
- บิวเรต (burette)
- ปิเปต (pipette)
- แท่งแก้วคนสารละลาย (stirrer)
- หลอดหยด (dropper)
- กรวยกรอง
- ช้อนตักสารเคมี
- หลอดทดลอง
- โกร่งบด
- จานเลี้ยงเชื้อ (plate)
- cork borer

3. สารเคมีและวิธีการเตรียมสารเคมี

3.1 การเตรียมสารละลายไคโตซาน

- ชั่งไคโตซาน 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร เติม L-glutamic acid 2 กรัม tween 80 0.1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ไคโตซาน 0.5 เปอร์เซ็นต์ (ความเข้มข้น 1.0, 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งไคโตซาน 1.0, 1.5 และ 2.0 กรัมตามลำดับ)

3.2 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide, UNIVAR) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

3.3 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

- กรดออกซาลิก (oxalic acid, UNIVAR) ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งกรดออกซาลิก 4.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

- 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล (2, 6-dichlorophenol indophenol, SIGMA) ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่ง 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล 0.4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ

- กรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน (ascorbic acid, Merck) ชั่งกรดแอสคอร์บิก 0.05 กรัม ละลายในกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดออกซาลิกให้ครบ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรตกับ 2, 6–ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ จนถึงจุดยุติ แล้วบันทึกปริมาตร 2, 6–ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล ที่ใช้ไป เพื่อเป็นมาตรฐานในการคำนวณหาปริมาณวิตามินซี

3.4 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานิน

- กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid, J.T. Baker) ความเข้มข้น 1.5 นอร์มัล เตรียมโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 62.17 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 500 มิลลิลิตร

- เอทธานโนลิกไฮโดรคลอริก (เอทธานอล : กรดไฮโดรคลอริก) เตรียมโดยใช้เอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ : กรดไฮโดรคลอริก 1.5 นอร์มัล ในอัตราส่วน 85 : 15 แล้วเก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ

3.5 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส

3.5.1 สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งไคโตซาน 2.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร เติม L-glutamic acid 1.67 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 500 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.5.2 สารละลายฟอสเฟต บัฟเฟอร์ pH 6.5

- สารละลายไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (*di*-potassium hydrogen phosphate, Merck) เตรียมโดยชั่งไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 3.4023 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 500 มิลลิลิตร

- สารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (potassium dihydrogen phosphate, Merck) ชั่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 4.354 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 500 มิลลิลิตร

เติมสารละลายไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (กรด) ลงในสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (ด่าง) จนได้ค่า pH เท่ากับ 6.5 เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ

3.5.3 กรดไดไนโตรซาลิไซลิก (3, 5-dinitrosalicylic acid, Fluka) ความเข้มข้น 0.03 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งกรดไดไนโตรซาลิไซลิก 0.6850 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ

3.6 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

3.6.1 สารละลายอัลคาร์ไลคอปเปอร์

- สารละลายโซเดียมคาร์บอร์เนต เตรียมโดยชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 500 มิลลิลิตร

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 500 มิลลิลิตร

- สารละลายโพแทสเซียมทาร์เตรท เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมทาร์เตรท 0.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 10 มิลลิลิตร

- สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต เตรียมโดยชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 10 มิลลิลิตร

ผสมสารละลายโซเดียมคาร์บอร์เนต 500 มิลลิลิตร กับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 500 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน หลังจากนั้นเติมสารละลายโพแทสเซียมทาร์เตรท 10 มิลลิลิตร ลงไปผสมให้เข้ากัน แล้วค่อยๆ หยดสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายอัลคาร์ไล-คอปเปอร์ สีฟ้าใส เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ

3.6.2 สารละลายโฟลิน ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยใช้โฟลิน 5 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.7 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อรา *Rhizopus* sp. และสปอร์ของเชื้อรา

3.7.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

- ต้มผงวุ้น 15 กรัม และน้ำตาลกลูโคส 20 กรัม ในน้ำปริมาตร 500 มิลลิลิตร ต้มจนกระทั่งวุ้นสุก

- ต้มมันฝรั่งที่หั่นเป็นชิ้นลูกบาศก์เล็กๆ 200 กรัม ในน้ำปริมาตร 500 มิลลิลิตร จนกระทั่งมันฝรั่งสุก แล้วกรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกเนื้อมันฝรั่งออก

นำของเหลวทั้งสองชนิดที่ได้มาผสมกัน แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หลังจากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้ไปเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.7.2 การเลี้ยงเชื้อรา *Rhizopus* sp.

นำผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72 มาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง รอจนกระทั่งมีเชื้อรา *Rhizopus* sp. เข้าทำลาย และเจริญจนมีเส้นใยและสปอร์ ใช้เข็มเขี่ยเกี่ยวเอาเส้นใยของเชื้อราไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ เมื่อเชื้อเจริญแล้วใช้ cork borer เจาะเชื้อที่เลี้ยงไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นชิ้นเล็กๆ เพื่อนำแยกเส้นใยของเชื้อราให้บริสุทธิ์และเพิ่มจำนวนของเชื้อราให้เพียงพอ

3.7.3 การเตรียมสปอร์ของเชื้อรา *Rhizopus* sp.

นำน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ เทใส่ในจานเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อรา *Rhizopus* sp. ที่เลี้ยงไว้ แล้วเกลี่ยเอาสปอร์ของเชื้อราให้ผสมกับน้ำที่เติมลงไป หลังจากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วเตรียมสปอร์ของเชื้อราความเข้มข้น 3×10^5 สปอร์/มิลลิลิตร โดยการใช้ hemacytometer, loop และกล้องจุลทรรศน์ (compound microscope)

สถานที่ทำการวิจัย

1. ห้องปฏิบัติการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ผลของความเข้มข้นของสารเคลือบผิวไคโตซานต่อคุณภาพทางกายภาพและเคมีของผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) มี 6 วิธีการ แต่ละวิธีการมี 3 ซ้ำ โดยเคลือบผิวผลสตรอเบอรี่ ดังวิธีการต่อไปนี้

วิธีการที่ 1 ไม่เคลือบผิวผลสตรอเบอรี่

วิธีการที่ 2 จุ่มผลสตรอเบอรี่ในน้ำกลั่น

วิธีการที่ 3 เคลือบผิวผลสตรอเบอรี่ด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์

วิธีการที่ 4 เคลือบผิวผลสตรอเบอรี่ด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์

วิธีการที่ 5 เคลือบผิวผลสตรอเบอรี่ด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์

วิธีการที่ 6 เคลือบผิวผลสตรอเบอรี่ด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2.0 เปอร์เซ็นต์

วิธีการเคลือบผิว

นำผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72 มาตรฐานชั้น 3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 2.75-2.50 เซนติเมตร มาคัดให้มีความแก่ที่ระยะสีผิวแดง 70–80 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปจุ่มในน้ำกลั่น และสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 วินาที แล้วนำไปผึ่งบนกระดาษบางสีขาว รอจนผลสตรอเบอรี่แห้ง จากนั้นนำผลสตรอเบอรี่มาบรรจุลงถาดพลาสติกที่ใช้สำหรับบรรจุผลสตรอเบอรี่ของมูลนิธิโครงการหลวง โดยบรรจุผลสตรอเบอรี่ให้เต็มถาดพลาสติก (25-30 ผล) กำหนดให้หนึ่งถาดคือหนึ่งซ้ำ แล้วนำสตรอเบอรี่ทั้งหมดไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับผลสตรอเบอรี่ที่ไม่ได้เคลือบผิว บันทึกผลการเข้าทำลายของเชื้อรา และวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและส่วน ประกอบทางเคมีทุกวันจนหมดอายุการเก็บรักษา

การบันทึกผลการทดลอง

การประเมินผลทางกายภาพและส่วนประกอบทางเคมี

1. เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อรา โดยการนับจำนวนผลที่ปรากฏเชื้อราทุกวันจนหมดอายุการเก็บรักษา แล้วนำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยคำนวณจาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดเชื้อรา} = \frac{\text{จำนวนผลที่ถูกเชื้อราเข้าทำลาย}}{\text{จำนวนผลสตรอเบอรี่ทั้งหมด}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ลักษณะปรากฏ บันทึกโดยการให้คะแนนลักษณะปรากฏตามระดับคะแนน ดังนี้

ระดับคะแนน 1 ผลมีความสดอยู่ระหว่าง 0–20 เปอร์เซ็นต์ (ผิวเหี่ยวมาก กลีบเลี้ยงเป็นสีน้ำตาล และเกิดเชื้อรา)

ระดับคะแนน 2 ผลมีความสดอยู่ระหว่าง 21–40 เปอร์เซ็นต์ (ผิวเหี่ยวมาก กลีบเลี้ยงเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล)

ระดับคะแนน 3 ผลมีความสดอยู่ระหว่าง 41–60 เปอร์เซ็นต์ (ผิวเหี่ยว กลีบเลี้ยงมีสีเหลือง * หมดอายุในการวางจำหน่าย)

ระดับคะแนน 4 ผลมีความสดอยู่ระหว่าง 61–80 เปอร์เซ็นต์ (ผิวเริ่มเหี่ยว กลีบเลี้ยงเริ่มมีสีเหลืองเล็กน้อย)

ระดับคะแนน 5 ผลมีความสด 81-100 เปอร์เซ็นต์ (ผิวเต่ง กลีบเลี้ยงสีเขียวสด)

3. เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก

วัดโดยใช้เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง EK-600H นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{\text{น้ำหนักผลก่อนการเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักผลหลังการเก็บรักษา}}{\text{น้ำหนักผลก่อนการเก็บรักษา}} \times 100$$

4. ความแน่นเนื้อ

วัดโดยใช้เครื่องวัดความแน่นเนื้อ รุ่น FHR-1 ของบริษัท NIPPON OPTICAL WORKS ขนาด 1 กิโลกรัม หัววัดรูปทรงกระบอก (cylinder shape) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ยาว 10 มิลลิเมตร

5. สีผิวและสีเนื้อ

วัดโดยใช้เครื่อง Chroma meter รุ่น CR300 หัววัด CR310 ของบริษัท Minolta และใช้แหล่งกำเนิดแสง D65 โดยการวัด 2 ตำแหน่ง คือ สีผิวภายนอกและบริเวณเนื้อกึ่งกลางผล ค่าที่ได้แสดงเป็น L*, a*, b* คำนวณหาค่า chroma และ hue angle จากสมการดังนี้ (McGuire, 1992 ; Voss, 1992)

$$\text{chroma} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

$$\text{hue angle} = \text{arctangent}\ (b^*/a^*)$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

6. ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids ; TSS)

โดยใช้เครื่องวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (digital refractometer) รุ่น PR-101 ของบริษัท ATAGO อ่านค่าได้ตั้งแต่ 0-45 เปอร์เซ็นต์ โดยอ่านค่าจากน้ำของผลสตรอเบอรี่ที่ปั่นรวมกัน

7. ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity ; TA)

นำผลสตรอเบอรี่มาปั่นรวมกันโดยใช้เครื่องปั่น รุ่น S(648) ของบริษัท Moulinex ปั่นจนกระทั่งสตรอเบอรี่ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำส่วนที่ปั่นได้ 25 กรัม มาเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วจึงไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง รุ่น CG842 ของบริษัท SCHOTT จนสารละลายมีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 8.2 แล้วจึงคำนวณหาปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ในรูปของกรดซิตริก มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยใช้สูตร

$$\% \text{ TA} = \frac{\text{normality of NaOH (0.1 N)} \times \text{equi.wt. of citric acid (0.070)} \times \text{vol. NaOH} \times 100}{25}$$

8. ปริมาณวิตามินซี

วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในผลสตรอเบอรี่ ด้วยวิธี Indophenol โดยนำของเหลวที่ปั่นได้มา 10 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำสารละลายที่กรองได้มา 10 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดออกซาลิกให้ได้ปริมาตร 40 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปไทเทรตกับ 2, 6–ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ จนถึงจุดยุติซึ่งสารละลายมีสีชมพูประมาณ 15 วินาที แล้วคำนวณหาปริมาณวิตามินซีโดยใช้ปริมาณ 2, 6–ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล ที่ใช้กับสารตัวอย่าง เทียบกับ 2, 6–ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล ที่ใช้กับวิตามินซีมาตรฐาน โดยคำนวณตามสูตร (Ranganna, 1977)

ปริมาตร indophenol dye a มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ 1 มิลลิกรัม (จาก standard)

ปริมาตร indophenol dye a มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ (1 x b) / a มิลลิกรัม

(จากสารละลายตัวอย่าง) เท่ากับ c มิลลิกรัม

สารละลาย 10 มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ c มิลลิกรัม

สารละลาย 100 มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ (c x 100) /10 มิลลิกรัม

เท่ากับ d มิลลิกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เนื้อตัวอย่าง 10 กรัม มี ascorbic acid	เท่ากับ d มิลลิกรัม
เนื้อตัวอย่าง 100 กรัม มี ascorbic acid	เท่ากับ (d x 100) / 10 มิลลิกรัม
	เท่ากับ e มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด

9. ปริมาณแอนโทไซยานิน

หาปริมาณแอนโทไซยานินตามวิธีการ Ranganna (1977) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

ผิวสตรอเบอรี่ 1 กรัม หั่นละเอียด

↓

เติม ethanolic HCl ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

↓

เปลี่ยนสารละลายทุก 3 ชั่งโมง จนผิวสตรอเบอรี่ไม่มีสี

↓

กรองด้วยกระดาษกรอง

↓

นำสารละลายที่กรองได้มารวมกัน

↓

ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย ethanolic HCl ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

↓

วัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร

นำค่า OD ที่ได้ไปแทนค่าในสูตรหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด

สูตรที่ใช้คำนวณ คือ

$$\text{Total absorbance} = \frac{\text{Absorbance at 535 nm} \times \text{final volume}}{\text{Weight of sample}} \times 100$$

$$\text{Total anthocyanin content} = \frac{\text{Total absorbance}}{98.2}$$

10. อัตราการหายใจ

วัดความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และออกซิเจนภายในผล โดยใช้เครื่อง gas chromatography รุ่น GC-8A ของบริษัท SHIMADZU โดยนำผลสตรอเบอรี่ที่มีน้ำหนัก 500

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

กรัม บรรจุลงในกล่องพลาสติกขนาด 13×18.7×9.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำกล่องพลาสติกที่บรรจุผลสตรอเบอรี่แล้วต่อกับชุดแผงควบคุมอัตราการไหลของอากาศ วัดอัตราการหายใจของผลสตรอเบอรี่ทุกวันจนหมดอายุการเก็บรักษา แล้วนำมาคำนวณอัตราการหายใจ โดยคำนวณจากสูตร (Smith, 1995)

อัตราการหายใจ (มิลลิกรัม CO_2/กิโลกรัม/ชั่วโมง)

$$= \frac{(\%CO_2 - \text{blank}\%CO_2) \times \text{flow rate (ml/min)} \times 321750}{\text{weight (g)} \times (273 + \text{measured flow rate Temp } ^\circ C)} \text{ mg kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$$

11. หลักเกณฑ์การวิเคราะห์อายุการเก็บรักษาของผลสตรอเบอรี่

กำหนดให้ผลสตรอเบอรี่หมดอายุการเก็บรักษาเมื่อมีลักษณะปรากฏที่ระดับคะแนนเท่ากับหรือน้อยกว่า 3 คะแนน ซึ่งผลสตรอเบอรี่มีความสดอยู่ระหว่าง 41–60 เปอร์เซ็นต์ (ผิวเหี่ยวกลีบเลี้ยงมีสีเหลือง) และเมื่อมีการเข้าทำลายของเชื้อรามากกว่าหรือเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนผลที่ใช้ทดลอง

การทดลองที่ 2 ผลของสารเคลือบผิวไคโตซานและอุณหภูมิต่ำต่อคุณภาพทางกายภาพและเคมีของผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72

จากผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในการทดลองที่ 1 นำผลการทดลองที่ดีที่สุดมาศึกษาต่อ คือ การเคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ เพื่อศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษา เปรียบเทียบกับผลสตรอเบอรี่ที่จุ่มน้ำกลั่น และที่ไม่ได้เคลือบผิว

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in CRD) มี 2 ปัจจัย

ปัจจัยที่ 1 คือ อุณหภูมิที่เก็บรักษา

- เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส
- เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส
- เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

ปัจจัยที่ 2 คือ การเคลือบผิว

- เคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์
- ไม่เคลือบผิว
- จุ่มในน้ำกลั่น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการเคลือบผิว

นำผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72 มาตรฐานชั้น 3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 2.75-2.50 เซนติเมตร มาคัดให้มีความแก่ที่ระยะสีผิวแดง 70–80 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปจุ่มในน้ำกลั่น หรือในสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 วินาที แล้วนำไปผึ่งบนกระดาษบางสีขาว รอจนผลสตรอเบอรี่แห้ง จากนั้นนำผลสตรอเบอรี่บรรจุลงถาดพลาสติกที่ใช้สำหรับบรรจุผลสตรอเบอรี่ของมูลนิธิโครงการหลวง โดยบรรจุผลสตรอเบอรี่ให้เต็มถาดพลาสติก (25-30 ผล) กำหนดให้หนึ่งถาดคือหนึ่งซ้ำ เปรียบเทียบกับผลสตรอเบอรี่ที่ไม่ได้เคลือบผิว แล้วนำสตรอเบอรี่ทั้งหมดไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 81 เปอร์เซ็นต์, 5 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 82 เปอร์เซ็นต์ และ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 86 เปอร์เซ็นต์ บันทึกผลการเข้าทำลายของเชื้อรา และวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและส่วนประกอบทางเคมีทุกๆ 2 วัน จนหมดอายุการเก็บรักษา

การทดลองที่ 3 ผลของสารเคลือบผิวไคโตซานและอุณหภูมิต่ำต่อการเจริญของเชื้อราในผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72

จากผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในการทดลองที่ 1 และ 2 นำผลการทดลองที่ดีที่สุดมาศึกษาต่อ คือ การเคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) มี 2 วิธีการ แต่ละวิธีการมี 5 ซ้ำ ดังต่อไป

วิธีการที่ 1 ผลสตรอเบอรี่ที่ปลูกเชื้อด้วยสปอร์ของเชื้อรา *Rhizopus* sp. ความเข้มข้น 3×10^5 สปอร์/มิลลิลิตร และเคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส

วิธีการที่ 2 ผลสตรอเบอรี่ที่ปลูกเชื้อด้วยสปอร์ของเชื้อรา *Rhizopus* sp. ความเข้มข้น 3×10^5 สปอร์/มิลลิลิตร และไม่เคลือบผิว แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการ

นำผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72 มาตรฐานชั้น 3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 2.75-2.50 เซนติเมตร มาคัดให้มีความแก่ที่ระยะสีผิวแดง 70–80 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นนำผลสตรอเบอรี่มาปลูกเชื้อโดยจุ่มลงในน้ำกลั่นที่มีสปอร์ของเชื้อรา *Rhizopus* sp. ความเข้มข้น 3×10^5 สปอร์/ มิลลิลิตร แล้วผึ่งให้ผลแห้ง จากนั้นนำไปจุ่มในสารละลายไคโตซานความเข้มข้นที่ดีที่สุด

จากการทดลองที่ 1 คือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ นำไปผึ่งบนกระดาษบางสีขาว รอจนผลแห้ง แล้วบรรจุผลสตรอเบอรี่ลงถาดพลาสติกสำหรับบรรจุผลสตรอเบอรี่ของมูลนิธิโครงการหลวง โดยบรรจุผลสตรอเบอรี่ 20 ผลต่อหนึ่งถาด กำหนดให้หนึ่งถาดคือหนึ่งซ้ำ แล้วนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 2 คือ 0 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 81 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับผลสตรอเบอรี่ที่จุ่มลงในน้ำกลั่นที่มีสปอร์ของเชื้อรา *Rhizopus* sp. ความเข้มข้น 3×10^5 สปอร์/มิลลิลิตร แล้วไม่เคลือบผิว บันทึกผลเกี่ยวกับความเสียหายของผลสตรอเบอรี่อันเนื่องมาจากเชื้อราและการเข้าทำลายของเชื้อราทุกๆ 2 วัน จนหมดอายุการเก็บรักษา

การทดลองที่ 4 ผลของสารเคลือบผิวไคโตซานและอุณหภูมิต่ำต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส ในผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72

จากผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในการทดลองที่ 1 และ 2 นำผลการทดลองที่ดีที่สุดมาศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนสต่อ คือ การเคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) มี 2 วิธีการ แต่ละวิธีการมี 3 ซ้ำ ดังวิธีการต่อไปนี้

วิธีการที่ 1 ผลสตรอเบอรี่ที่ปลูกเชื้อด้วยสปอร์ของเชื้อรา *Rhizopus* sp. ความเข้มข้น 3×10^5 สปอร์/มิลลิลิตร และเคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส

วิธีการที่ 2 ผลสตรอเบอรี่ที่ปลูกเชื้อด้วยสปอร์ของเชื้อรา *Rhizopus* sp. ความเข้มข้น 3×10^5 สปอร์/ มิลลิลิตร และไม่เคลือบผิว แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส

วิธีการ

นำผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72 มาตรฐานชั้น 3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 2.75-2.50 เซนติเมตร มาคัดให้มีความแก่ที่ระยะสีผิวแดง 70–80 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นนำผลสตรอเบอรี่มาปลูกเชื้อโดยจุ่มลงในน้ำกลั่นที่มีสปอร์ของเชื้อรา *Rhizopus* sp. ความเข้มข้น 3×10^5 สปอร์/ มิลลิลิตร แล้วผึ่งให้ผลแห้ง จากนั้นนำไปจุ่มในสารละลายไคโตซานความเข้มข้นที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 คือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ นำไปผึ่งบนกระดาษบางสีขาว รอจนผลแห้ง แล้วบรรจุผลสตรอเบอรี่ลงถาดพลาสติกสำหรับบรรจุผลสตรอเบอรี่ของมูลนิธิโครงการหลวง โดยบรรจุผลสตรอเบอรี่ 20 ผลต่อหนึ่งถาด กำหนดให้หนึ่งถาดคือหนึ่งซ้ำ แล้วนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 2 คือ 0 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 81 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลสตรอเบอรี่ที่จุ่มลงในน้ำกลั่นที่มีสปอร์ของเชื้อรา *Rhizopus* sp. ความเข้มข้น 3×10^5 สปอร์/มิลลิลิตร แล้วไม่เคลือบผิว นำผลสตรอเบอรี่ทั้งสองวิธีการมาสกัดและวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Nelson (1944) และ Pan *et al*. (1989) บันทึกผลกิจกรรมของเอนไซม์นี้ทุกๆ 2 วัน จนหมดอายุการเก็บรักษา

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Nelson (1944) และ Pan *et al*. (1989)

1. การวิเคราะห์เอนไซม์ไคติเนส มีวิธีการดังแผนภาพด้านล่าง

บดเนื้อสตรอเบอรี่ ในโพแทสเซียม ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ pH 6.5 อัตราส่วน 1 : 2 (น้ำหนัก : ปริมาตร)

↓

นำไปตกตะกอนที่ 15,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ส่วนใสที่ได้ คือ crude enzyme

↓

ผสม crude enzyme กับสารละลายไคโตซาน 0.5 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วน 3 : 2 (ปริมาตร : ปริมาตร)

↓

นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

↓

เติมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก 0.03 โมลาร์ ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร

↓

แช่ในน้ำเดือด นาน 10 นาที

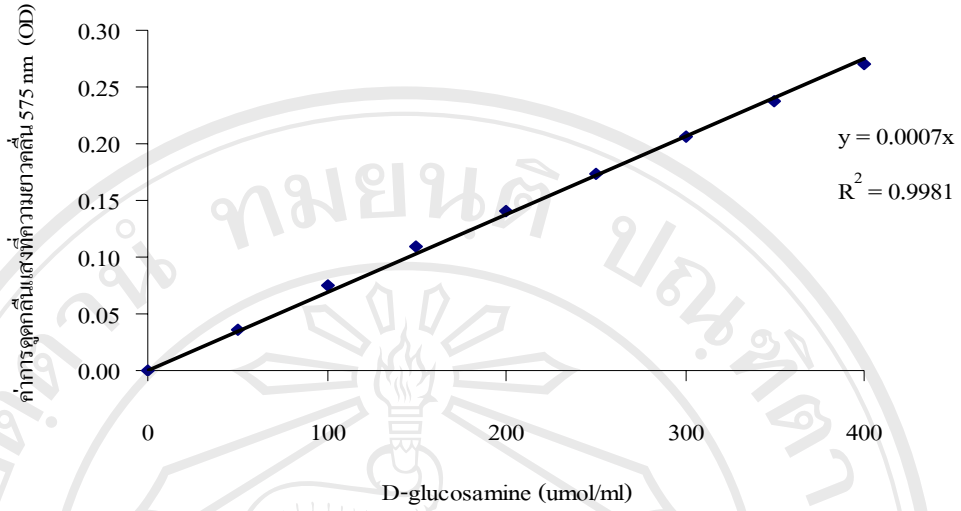
↓

วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร

↓

คำนวณปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาพ 9)
มีหน่วยเป็นไมโครกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 9 กราฟมาตรฐานของปริมาณผลิตภัณฑ์ (D-glucosamine) ที่เกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยดัดแปลงจากวิธีการของ Lowry *et al*. (1951) ดังแผนภาพด้านล่าง

เจือจาง crude enzyme ลง 10 เท่า ด้วยน้ำกลั่น

↓

ดูด crude enzyme ที่เจือจางมา 500 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายอัลคาร์ไลคอปเปอร์ ปริมาตร 2,500 ไมโครลิตร

↓

ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

↓

เติมสารละลายโฟลิน ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร

↓

ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

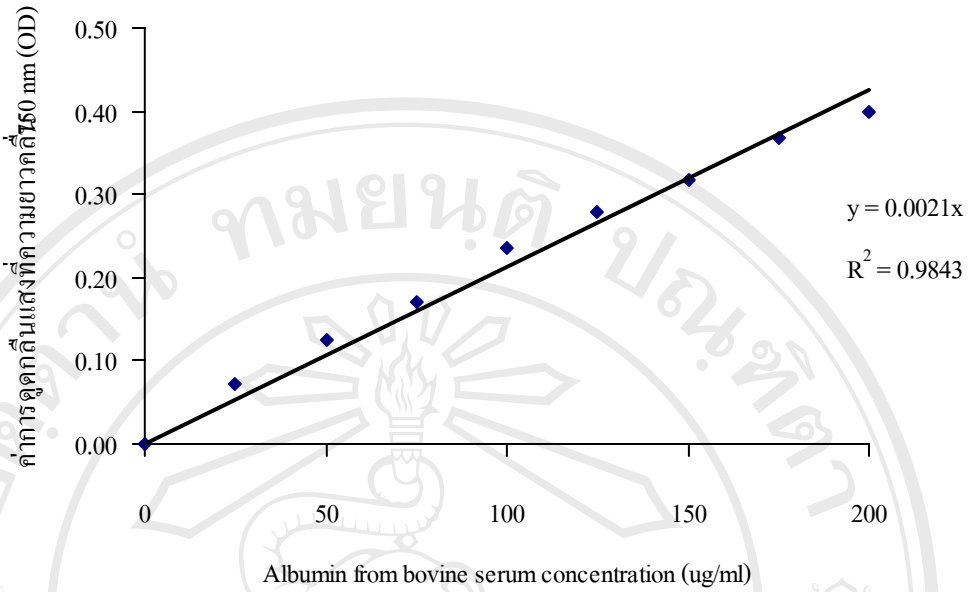
↓

วัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

↓

คำนวณปริมาณโปรตีนที่ได้โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาพ 10) มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อน้ำหนักเปลือกผลสด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 10 กราฟมาตรฐานของปริมาณโปรตีน (Albumin from bovine serum)

การคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส

$$\text{กิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส} = \frac{\text{ปริมาณผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส}}{\text{ปริมาณโปรตีน}}$$

มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมกลูโคซามิน/มิลลิกรัมโปรตีน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved