



ภาคผนวก ก.

วิธีคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์เพกทินเมทิลเอสเทอเรส
และแอสிடฟอสฟาเทส

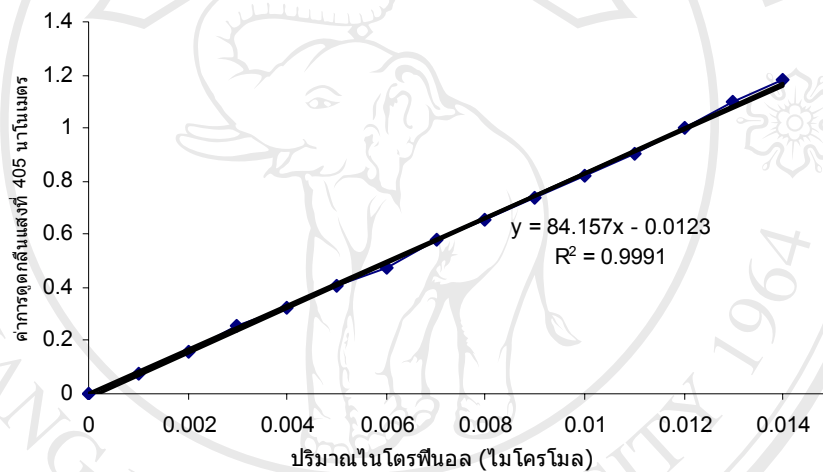
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1. การคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส

ก) วิธีคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร มาเปรียบเทียบกับปริมาณของสารละลายไนโตรฟินอล จากกราฟมาตรฐาน เพื่อหาปริมาณของไนโตรฟินอลที่เกิดขึ้น (รูปที่ ข.1)

กำหนดให้ปริมาณของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส 1 หน่วย (Unit) เท่ากับปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้เกิดไนโตรฟินอล 1 ไมโครโมลต่อนาที ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พีเอช 5 แล้วคำนวณหา กิจกรรมเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส (specific activity) มีหน่วยเป็นหน่วย/มิลลิกรัมของโปรตีน/นาที



รูปที่ ข. 1 กราฟมาตรฐานไนโตรฟินอล

การคำนวณหาปริมาณไนโตรฟินอลที่เกิดขึ้น

นำค่าที่อ่านได้จากปริมาณไนโตรฟินอลมาตรฐานที่เตรียมไว้ในขั้นตอนการสร้างกราฟมาตรฐานมาคำนวณหาสูตรสมการเส้นตรง ได้ดังนี้

$$Y = 84.157 X - 0.0123$$

โดย Y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้

X คือ ปริมาณไนโตรฟินอลทั้งหมดที่เกิดขึ้น (ไมโครโมล/มิลลิลิตร)

จากนั้นนำค่า X ที่ได้มาคำนวณหาปริมาณไนโตรฟินอลที่เกิดขึ้นทั้งหมดในสารละลายเอนไซม์สกัดที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา ดังนี้

สารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 0.20 มิลลิลิตร มีปริมาณไนโตรฟินอลอยู่ เท่ากับ A ไมโครโมล/มิลลิลิตร สารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มีปริมาณไนโตรฟินอลอยู่ เท่ากับ $A/0.20 = B$ หน่วย

แสดงว่าสารละลายเอนไซม์สกัดมีปริมาณปริมาณไนโตรฟินอล เท่ากับ B หน่วย

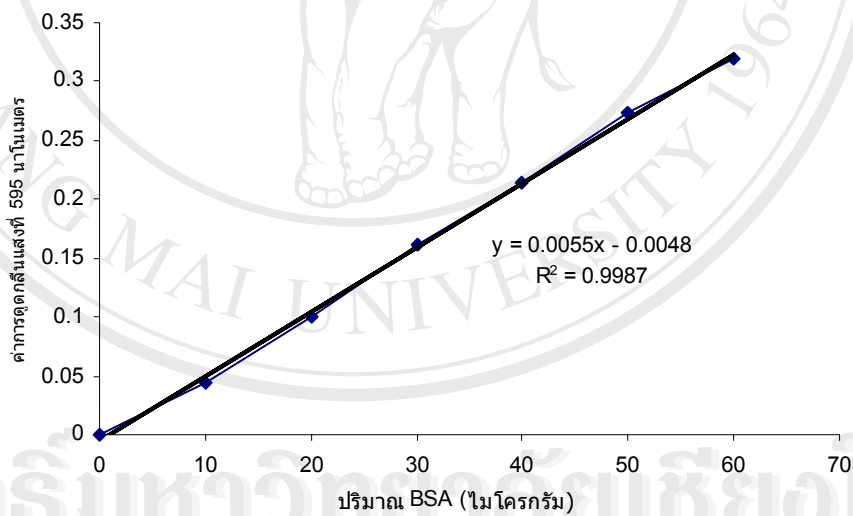
ข) วิธีการคำนวณหาปริมาณของโปรตีน

นำค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ไปเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนจากกราฟโปรตีนมาตรฐาน (รูปที่ ข.2)

สารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ 0.20 ไมโครลิตร มีโปรตีนที่ละลายได้ C ไมโครกรัม

สารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ 1 ไมโครลิตร มีโปรตีนที่ละลายได้ $C/0.20$ ไมโครกรัม = D

แสดงว่าสารละลายเอนไซม์มีโปรตีน เท่ากับ D ไมโครกรัม/ไมโครกรัม หรือ D มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



รูปที่ ข. 2 กราฟสารละลายมาตรฐานโปรตีน

ค) วิธีการคำนวณหา specific activity ของเอนไซม์

$$\begin{aligned} \text{specific activity ของเอนไซม์} &= \frac{\text{กิจกรรมของเอนไซม์แอสซิดฟอสฟาเทส}}{\text{ปริมาณโปรตีนในหน่วยมิลลิกรัม}} \\ &= B/D \end{aligned}$$

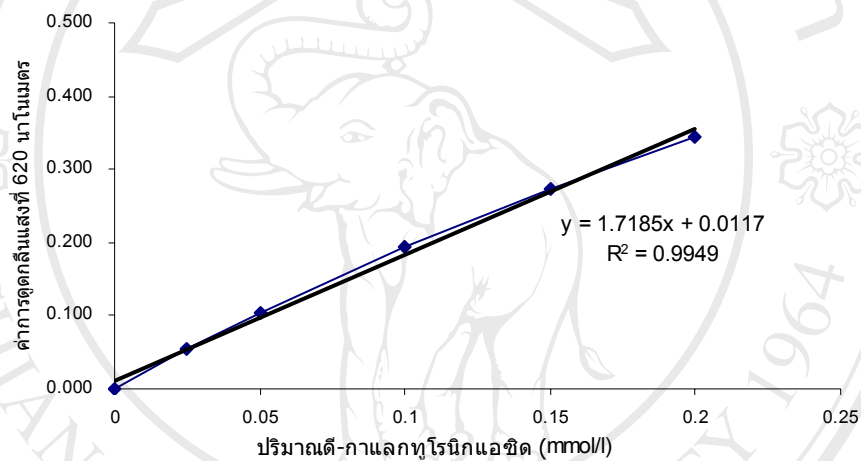
ค่า specific activity ของเอนไซม์มีหน่วยเป็น หน่วย/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที

2. การคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์เพกทินเมทิลเอสเทอเรส

ก) วิธีคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์เพกทินเมทิลเอสเทอเรส

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร มาเปรียบเทียบกับปริมาณของสารละลายดี-กาแลกทูโรนิกแอซิด จากกราฟมาตรฐาน เพื่อหาปริมาณของดี-กาแลกทูโรนิกแอซิดที่เกิดขึ้น (รูปที่ ข.3)

กำหนดให้ปริมาณของเอนไซม์เพกทินเมทิลเอสเทอเรส 1 หน่วย (Unit) เท่ากับปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้เกิดดี-กาแลกทูโรนิกแอซิด 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด



รูปที่ ข. 3 กราฟมาตรฐานสารละลายดี-กาแลกทูโรนิกแอซิด

การคำนวณหาปริมาณดี-กาแลกทูโรนิกแอซิดที่เกิดขึ้น

นำค่าที่อ่านได้จากปริมาณดี-กาแลกทูโรนิกแอซิดมาตรฐานที่เตรียมไว้ในขั้นตอนการสร้างกราฟมาตรฐานมาคำนวณหาสูตรสมการเส้นตรง ได้ดังนี้

$$Y = 1.7185 X + 0.0117$$

โดย Y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้

X คือ ปริมาณดี-กาแลกทูโรนิกแอซิดทั้งหมดที่เกิดขึ้น (ไมโครโมล/มิลลิลิตร/นาที)

จากนั้นนำค่า X ที่ได้มาคำนวณหาปริมาณดี-กาแลกทูโรนิกแอซิดที่เกิดขึ้นทั้งหมดในสารละลายเอนไซม์สกัดที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา ดังนี้

สารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร มีปริมาณดี-กาแลกทูโรนิกแอซิดอยู่ เท่ากับ E ไมโครโมล/มิลลิลิตร

สารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มีปริมาณดี-กาแลกทูโรนิกแอซิดอยู่เท่ากับ $E/0.05 = F$ หน่วย

แสดงว่าสารละลายเอนไซม์สกัดมีปริมาณปริมาณดี-กาแลกทูโรนิกแอซิด เท่ากับ F หน่วย

ข) วิธีการคำนวณหาปริมาณของโปรตีน

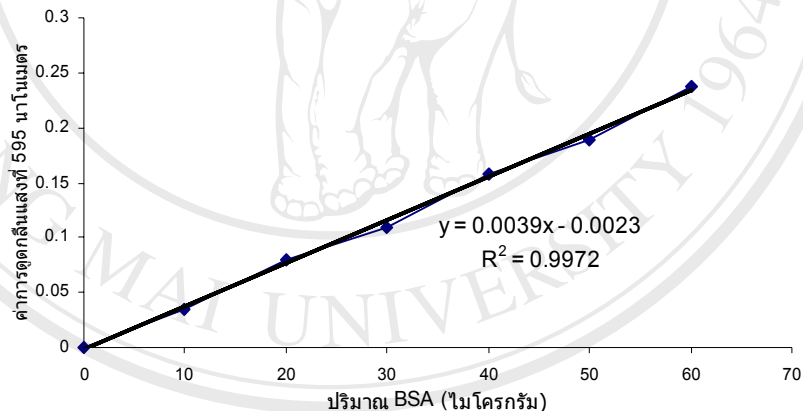
นำค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ไปเปรียบเทียบกับหาปริมาณโปรตีนจากกราฟโปรตีนมาตรฐาน (รูปที่ ข.4)

สารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ 0.05 ไมโครลิตร มีโปรตีนที่ละลายได้ X ไมโครกรัม

สารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ 1 ไมโครลิตร มีโปรตีนที่ละลายได้ $X/0.05$ ไมโครกรัม = G

แสดงว่าสารละลายเอนไซม์มีโปรตีน เท่ากับ G ไมโครกรัม/ไมโครกรัม

หรือ เท่ากับ G มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



รูปที่ ข. 4 กราฟสารละลายมาตรฐานโปรตีน

ค) วิธีการคำนวณหา specific activity ของเอนไซม์

specific activity ของเอนไซม์ = $\frac{\text{กิจกรรมของเอนไซม์เพกทินเมทิลเอสเทอเรส}}{\text{ปริมาณโปรตีนในหน่วยมิลลิกรัม}}$

(เพกทินเมทิลเอสเทอเรส) ปริมาณโปรตีนในหน่วยมิลลิกรัม

$$= F/G$$

ค่า specific activity ของเอนไซม์มีหน่วยเป็น หน่วย/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ข. 1 ตารางเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลที่ใช้ในการไทเทรตกับสารละลาย Fehling

ml of sugar solution required	Solution containe besides invert sugar :									
	No sucrose		1 g sucrose per 100 ml		5 g sucrose per 100 ml		10 g sucrose per 100 ml		25 g sucrose per 100 ml	
	mg invert sugar per 100 ml		mg invert sugar per 100 ml		mg invert sugar per 100 ml		mg invert sugar per 100 ml		mg invert sugar per 100 ml	
	Invert sugar factor*	Invert sugar per 100 ml	Invert Sugar Factor*	Invert Sugar Per 100 ml	Invert sugar factor*	Invert sugar per 100 ml	Invert sugar factor*	Invert sugar per 100 ml	Invert sugar factor*	Invert sugar per 100 ml
15	50.5	336	49.9	333	47.6	317	46.1	307	43.4	289
16	50.6	316	50.0	312	47.6	297	46.1	288	43.4	271
17	50.7	298	50.1	295	47.6	280	46.1	271	43.4	255
18	50.8	282	50.1	278	47.6	264	46.1	256	43.3	240
19	50.8	267	50.2	264	47.6	250	46.1	243	43.3	227
20	50.9	254.5	50.2	251.0	47.6	238.0	46.1	230.5	43.2	216
21	51.0	242.9	50.2	239.0	47.6	226.7	46.1	219.5	43.2	206
22	51.0	231.8	50.3	228.2	47.6	216.4	46.1	209.5	43.1	196
23	51.1	222.2	50.3	218.7	47.6	207.0	46.1	200.4	43.0	187
24	51.2	213.3	50.3	209.8	47.6	198.3	46.1	192.1	42.9	179
25	51.2	204.9	50.4	201.6	47.6	190.4	46.0	184.0	42.8	171
26	51.3	197.4	50.4	193.8	47.6	183.1	46.0	176.9	42.8	164
27	51.4	190.4	50.4	186.7	47.6	176.4	46.0	170.4	42.7	158
28	51.4	183.7	50.5	180.2	47.7	170.3	46.0	164.3	42.7	152
29	51.5	177.6	50.5	174.1	47.7	164.5	46.0	158.6	42.6	147
30	51.5	171.7	50.5	168.3	47.7	159.0	46.0	153.3	42.5	142
31	51.6	166.3	50.6	163.1	47.7	153.9	45.9	148.1	42.5	137
32	51.6	161.2	50.6	158.1	47.7	149.1	45.9	143.4	42.4	132
33	51.7	156.6	50.6	153.3	47.7	144.5	45.9	139.1	42.3	128
34	51.7	152.2	50.6	148.9	47.7	140.3	45.8	134.9	42.2	124
35	51.8	147.9	50.7	144.7	47.7	136.3	45.8	130.9	42.2	121
36	51.8	143.9	50.7	140.7	47.7	132.5	45.8	127.1	42.1	117
37	51.9	140.2	50.7	137.0	47.7	128.9	45.7	123.5	42.0	114
38	51.9	136.6	50.7	133.5	47.7	125.5	45.7	120.3	42.0	111
39	52.0	133.3	50.8	130.2	47.7	122.3	45.7	117.1	41.9	107
40	52.0	130.1	50.8	127.0	47.7	119.2	45.6	114.1	41.8	104
41	52.1	127.1	50.8	123.9	47.7	116.3	45.6	111.2	41.8	102
42	52.1	124.2	50.8	121.0	47.7	113.5	45.6	108.5	41.7	99
43	52.2	121.4	50.8	118.2	47.7	110.9	45.5	105.8	41.6	97
44	52.2	118.7	50.9	115.6	47.7	108.4	45.5	103.4	41.5	94
45	52.3	116.1	50.9	113.1	47.7	106.0	45.4	101.0	41.4	92
46	52.3	113.7	50.9	110.6	47.7	103.7	45.4	98.7	41.4	90
47	52.4	111.4	50.9	108.2	47.7	101.5	45.3	96.4	41.3	88
48	52.4	109.2	50.9	106.0	47.7	99.4	45.3	94.3	41.2	86
49	52.5	107.1	51.0	104.0	47.7	97.4	45.2	92.3	41.1	84
50	52.5	105.1	51.0	102.0	47.7	95.4	45.2	90.4	41.0	82

*mg of invert sugar corresponding to 10 ml of Fehling's solution.



ภาคผนวก ค.

แบบประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright © by Chiang Mai University

All rights reserved

แบบประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเนื้อผลมะม่วงสุกพันธุ์โชคอนันต์

ชื่อผู้ชิม..... วันที่.....

กรุณาชิมตัวอย่างเนื้อมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ แล้วให้คะแนนตามความรู้สึของท่านลงในตารางที่กำหนดให้ โดยมีหลักเกณฑ์การให้คะแนนดังนี้

- 1 = ไม่ชอบมากที่สุด
 2 = ไม่ชอบปานกลาง
 3 = เฉยๆ
 4 = ชอบปานกลาง
 5 = ชอบมากที่สุด

ตารางการให้คะแนน

ลักษณะเนื้อมะม่วงสุก	รหัสตัวอย่าง			

1. สีเนื้อ (สีเหลือง)				
2. เนื้อสัมผัส				
3. กลิ่นมะม่วงสุก				
4. รสหวาน				
5. รสเปรี้ยว				
6. การยอมรับโดยรวม				

ข้อเสนอแนะ

.....

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวอนุธิดา ผายพันธ์
วัน เดือน ปี เกิด	19 กันยายน 2520
ภูมิลำเนา	หมู่ 12 ต.น้ำเที่ยง อ.คำชะอี จ.มุกดาหาร 49110
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนคำชะอีวิทยาคาร จังหวัดมุกดาหาร ปีการศึกษา 2539 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีการศึกษา 2542

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved