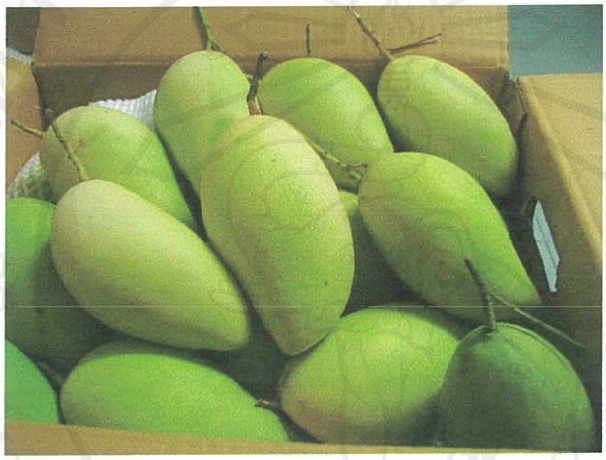
บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุเกษตร

ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองเก็บเกี่ยวที่ระยะแก่ทางการค้า ซึ่งเป็นผลมะม่วงที่มีระยะความแก่ประมาณ 80-90 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 3.1) โดยใช้ความชำนาญของเกษตรกร ซื้อมาจากชมรมผู้ส่งออกมะม่วง จังหวัดฉะเชิงเทรา



ภาพ 3.1. ผลมะม่วงที่มีความแก่ประมาณ 80-90 เปอร์เซ็นต์ ที่ใช้ในการทดลอง

การทดลองที่ 1 ใช้ผลมะม่วงชุดที่ 1 และ 2

ผลมะม่วงชุดที่ 1 เก็บเกี่ยวเมื่อวันที่ 28 พฤศจิกายน 2545

ผลมะม่วงชุดที่ 2 เก็บเกี่ยวเมื่อวันที่ 9 กรกฎาคม 2546

การทดลองที่ 2 ใช้ผลมะม่วงชุดที่ 3 และ 4

ผลมะม่วงชุดที่ 3 เก็บเกี่ยวเมื่อวันที่ 20 ธันวาคม 2546

ผลมะม่วงชุดที่ 4 เก็บเกี่ยวเมื่อวันที่ 9 มีนาคม 2547

บรรจุผลมะม่วงใส่กล่องกระดาษ กล่องละ 30 ผล ขนส่งทางรถยนต์มายังห้องปฏิบัติการสถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ระยะเวลาหลังจากเก็บเกี่ยวจนถึงห้องปฏิบัติการ ประมาณ 24 ชั่วโมง

นำผลมะม่วงมาล้างน้ำและคัดระยะความแก่อีกครั้ง โดยใช้การจมลอยในน้ำเกลือ ผลมะม่วงที่ใช้ในการทดลองเป็นผลมะม่วงที่จมในน้ำเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์ (ความถ่วงจำเพาะ 1.01) และลอยในน้ำเกลือ 3 เปอร์เซ็นต์ (ความถ่วงจำเพาะ 1.02) (จริงแท้, 2542) หลังจากนั้น ล้าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลมะม่วงด้วยน้ำประปาอีก 2 ครั้ง และล้างในน้ำที่มีสารละลายคลอรีนความเข้มข้น 200 ส่วนต่อล้านส่วน (นาวิน, 2547) ผึ่งให้ผิวนอกแห้ง แล้วนำมาแบ่งกลุ่มโดยวางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in Completely Randomized Design; factorial in CRD)

3.2 อุปกรณ์วิทยาศาสตร์

3.2.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบชั่งจากด้านบน 2 ตำแหน่ง (Digital Balance 0.01 g) รุ่น PB 1502-S Mettler-Toledo ประเทศสวิสเซอร์แลนด์

3.2.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบชั่งจากด้านบน 4 ตำแหน่ง (Digital Balance 0.01 g) รุ่น AB 204-S บริษัท Mettler-Toledo ประเทศสวิสเซอร์แลนด์

3.2.3 ตู้ Incubator รุ่น MIR-553 บริษัท SANYO ประเทศญี่ปุ่น

3.2.4 เครื่อง Gas Chromatography รุ่น TRACE GC บริษัท ThemoFinigan ประเทศ เยอรมนี

3.2.5 เครื่องวัดสี (Colorimeter) รุ่น Color Quest XE บริษัท Hunter Lab ประเทศญี่ปุ่น

3.2.6 เครื่องวัดเนื้อสัมผัส รุ่น TA-XT2i/50 (Texture analyzer) ประเทศอังกฤษ

3.2.7 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) รุ่น HL –341 ขนาด 72 ลิตร ประเทศไต้หวัน

3.2.8 เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า รุ่น HI 8633บริษัท Hanna ประเทศอิตาลี

3.2.9 เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้แบบตัวเลข สเกล 0-45 เปอร์เซ็นต์ รุ่น PR 101 บริษัท Atago ประเทศญี่ปุ่น

3.2.10 บิวเรตต์อัตโนมัติ (Digital burette) รุ่น DB บริษัท Slamed ประเทศเยอรมนี

3.2.11 เครื่องวัดพีเอช รุ่น PH211บริษัท Hanna ประเทศอิตาลี

3.2.12 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Spectro 23 บริษัท Lambomed ประเทศอังกฤษ

สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการสถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วิธีการทดลอง

การวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ PPO และผลของเมทิลจัสโมเนตต่อการเกิดอาการสะท้านหนาวในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีระหว่างการเก็บรักษา โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 1 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO สมบัติทางกายภาพ และเคมี ของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำซึ่งทำให้เกิดอาการสะท้านหนาว

วางแผนการทดลอง แบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ ปัจจัยที่ศึกษามี 2 ปัจจัย คือ

ปัจจัยที่ 1 อุณหภูมิต่ำที่ใช้ในการเก็บรักษา มี 3 ระดับ คือ 5, 9 และ 13 องศาเซลเซียส

ปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาการเก็บรักษา มี 7 ระดับคือ 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 วัน

ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 6 ผล

กรรมวิธีการทดลอง

กรรมวิธีที่ 1 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน
กรรมวิธีที่ 2 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน
กรรมวิธีที่ 3 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน
กรรมวิธีที่ 4 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน
กรรมวิธีที่ 5 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน
กรรมวิธีที่ 6 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน
กรรมวิธีที่ 7 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน
กรรมวิธีที่ 8 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน
กรรมวิธีที่ 9 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน
กรรมวิธีที่ 10 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน
กรรมวิธีที่ 11 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน
กรรมวิธีที่ 12 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน
กรรมวิธีที่ 13 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน
กรรมวิธีที่ 14 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน
กรรมวิธีที่ 15 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน
กรรมวิธีที่ 16 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน
กรรมวิธีที่ 17 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน
กรรมวิธีที่ 18 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน
กรรมวิธีที่ 19 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน
กรรมวิธีที่ 20 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน
กรรมวิธีที่ 21 เก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการทดลอง

ผลมะม่วงชุดที่ 1

1. นำผลมะม่วงชุดที่ 1 ที่ผ่านการเตรียมตามข้อ 3.1 มาบรรจุลงในตะกร้าพลาสติกไม่มีฝาปิด ขนาดกว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 17 x 25 x 10 เซนติเมตร ตะกร้าละ 6 ผล จำนวน 58 ตะกร้า แล้วนำไปเก็บรักษาตามกรรมวิธีที่วางแผนไว้ สำหรับการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ PPO การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ และส่วนประกอบทางเคมี

2. เก็บรักษาผลมะม่วงในตู้ Incubator ที่อุณหภูมิ 5±1, 9±1 และ 13±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85±2, 87±3 และ 90±2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

สุ่มตัวอย่างผลมะม่วงออกมาทุกๆ 5 วัน กรรมวิธีละ 12 ผล แต่ละกรรมวิธีแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนละ 6 ผล

ส่วนที่ 1 นำมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ PPO การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ และส่วนประกอบทางเคมี โดยแบ่งออกเป็น 3 ซ้ำๆ 2 ผล

ส่วนที่ 2 นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำมาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ และส่วนประกอบทางเคมี เช่นเดียวกัน โดยแบ่งออกเป็น 3 ซ้ำๆ ละ 2 ผล เช่นกัน

ผลมะม่วงชุดที่ 2

ทำการทดลองเช่นเดียวกับผลมะม่วงชุดที่ 1 ยกเว้น

- บรรจุผลมะม่วงลงในตะกร้าพลาสติก ขนาดกว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 17 x 25 x 10 เซนติเมตร ตะกร้าละ 8 ผล จำนวน 54 ตะกร้า
- การวิเคราะห์การสูญเสียน้ำหนักทำเช่นเดียวกับผลมะม่วงชุดที่ 1
- เก็บรักษาผลมะม่วงในตู้ Incubator ที่อุณหภูมิ 5±1, 9±1 และ 13±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 83±1, 87±1และ 89±1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ
- ผลมะม่วงส่วนที่ 2 นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน จากนั้นนำมาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ และส่วนประกอบทางเคมี เช่นเดียวกัน ทุกๆ 2 วัน

1. วิธีการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ

1.1 วัดการสูญเสียน้ำหนัก

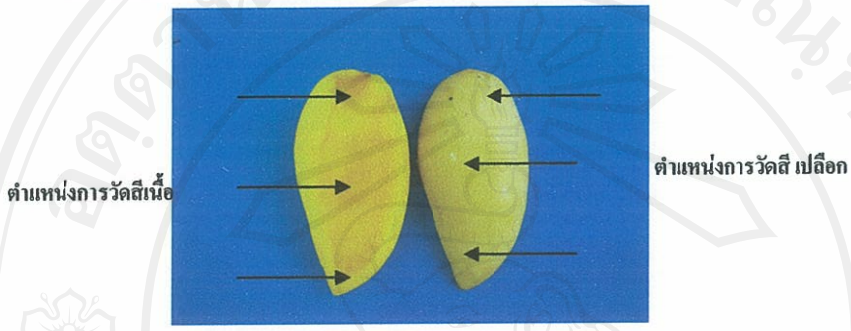
ชั่งน้ำหนักผลมะม่วงแต่ละผล บันทึกน้ำหนัก เพื่อใช้วัดการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาทุกๆ 5 วัน จนครบ 30 วัน แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก จากสูตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

$$\text{การสูญเสียน้ำหนัก (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักหลังการเก็บรักษา}) \times 100}{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา}}$$

1.2. การวัดสีเปลือกและเนื้อ

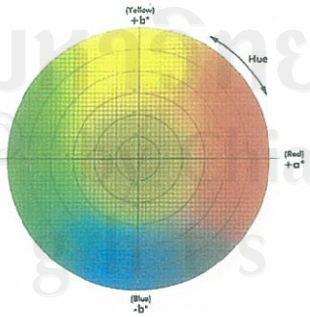
วัดสีเปลือก และสีเนื้อมะม่วงติดเมล็ด โดยใช้เครื่อง Colorimeter บันทึกค่าในระบบ CIE ให้ค่าเป็น L*, hue angle (h°) chroma (C*) และ a* แหล่งแสง D65 ทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 2 ผล วัดผลละ 3 ตำแหน่ง ที่ตำแหน่งใกล้ขั้วผล กลางผล และปลายผล ดังภาพ 3.2



ภาพ 3.2. ตำแหน่งการวัดสี ของเนื้อติดเมล็ดและเปลือกผลมะม่วง

ค่า L* แสดงความสว่างเมื่อมีค่าเข้าใกล้ 100 และแสดงความมืดเมื่อมีค่าเข้าใกล้ 0
ค่า C* เข้าใกล้ 0 แสดงว่าวัตถุมีสีซีดจาง ถ้า C* มีค่าสูงแสดงว่าวัตถุมีสีเข้ม
ค่า h° เป็นค่าที่แสดงสีที่แท้จริงของวัตถุคือ (Malkoc *et al.*, 2005) (ภาพ 3.3)

0-45 องศาแสดงสีม่วงแดงถึงสีส้มแดง
45-90 องศาแสดงสีส้มแดงถึงสีเหลือง
90-135 องศาแสดงสีเหลืองถึงสีเหลืองเขียว
135-180 องศาแสดงสีเหลืองเขียวถึงสีเขียว
180-225 องศาแสดงสีเขียวถึงสีน้ำเงินเขียว
225-270 องศาแสดงสีน้ำเงินเขียวถึงสีน้ำเงิน
270-315 องศาแสดงสีน้ำเงินถึงสีม่วง
315-360 องศาแสดงสีม่วงถึงสีม่วงแดง



ภาพ 3.3. แผ่นเทียบสีของ CIE a*, b* (Malkoc *et al.*, 2005)

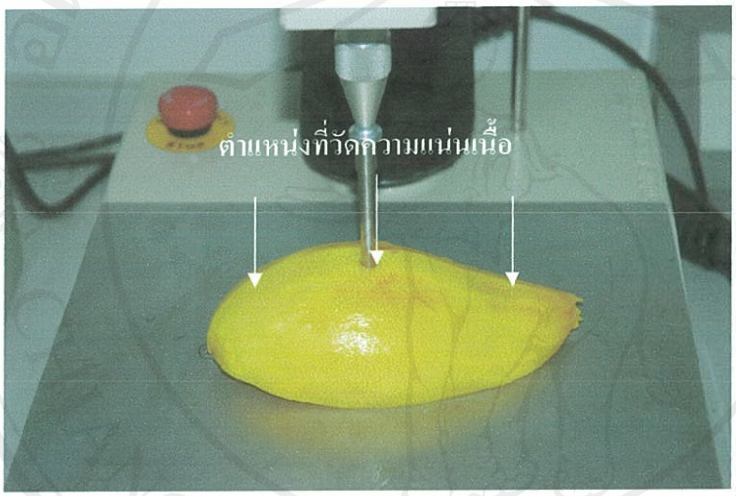
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นำค่าที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดสีน้ำตาลตามวิธีของ Baldwin *et al.* (1996)

เปอร์เซ็นต์การเกิดสีน้ำตาล = $\frac{\Delta a \text{ วันเริ่มเก็บรักษา} - \Delta a \text{ วันที่เก็บรักษา}}{\Delta a \text{ วันเริ่มเก็บรักษา}} \times 100$

1.3. การวัดความแน่นเนื้อของผลมะม่วง

นำผลมะม่วงมาปอกเปลือก แล้วนำผลที่ปอกเปลือกออกแล้วมาวัดความแน่นเนื้อบริเวณส่วนเนื้อบริเวณใกล้ขั้วผล กลางผลและปลายผล (ภาพ 3.4) ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส หัวกดหน้าตัดเรียบ เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ความเร็ว 1 มิลลิเมตร/วินาที โดยกดลึกจากผิว 5 มิลลิเมตร อ่านค่าที่ได้เป็นหน่วย นิวตัน (ดัดแปลงจาก Satriana, 1993 ; Mitcham *et al.*, 1996)



ภาพ 3.4. ตำแหน่งการวัดความแน่นเนื้อ

2. การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมี

2.1. **การรั่วไหลของสารอิเล็กโตรไลต์** (ดัดแปลงจาก ธเนศวร์, 2541; Whangchai *et al.*, 1999)

2.1.1 การเตรียมสารละลาย

- **สารละลายแมนนิทอล** (mannitol) ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์

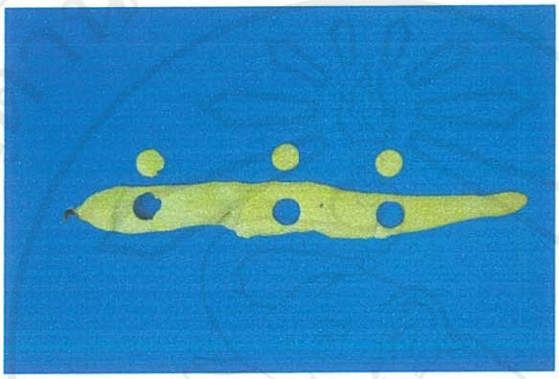
เตรียมโดยชั่งแมนนิทอล (reagent grade, Scharlau, Spain) น้ำหนัก 72.868 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1.2 การเตรียมชิ้นตัวอย่าง

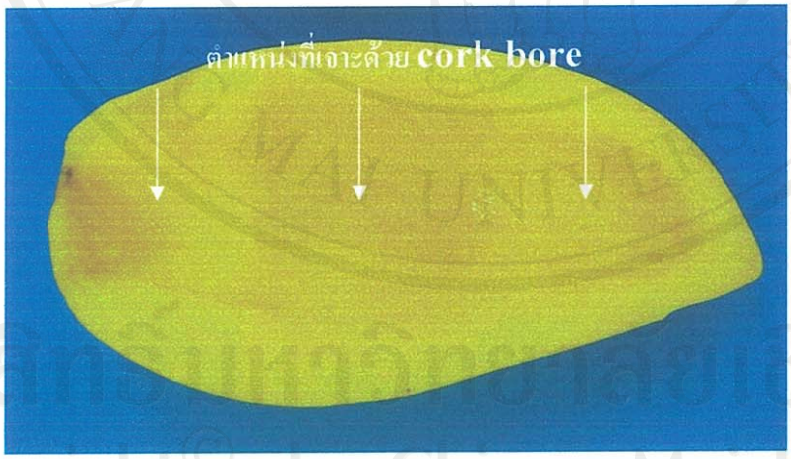
- การเตรียมชิ้นเปลือกผลมะม่วง

นำผลมะม่วงมาปอกเปลือกออกด้วยมีดปอกผลไม้ (Swing-A-Way) เจาะส่วนเปลือกผลมะม่วงด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตรให้ทั่วทั้งผล ดังภาพ 3.5 สุ่มตัวอย่างชิ้นเปลือกมะม่วงมา 15 ชิ้น ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน ซับด้วยกระดาษทิชชู แบ่งออกเป็น 3 ซ้ำๆ ละ 5 ชิ้น



ภาพ 3.5. ตำแหน่งการเจาะเปลือกผลมะม่วงด้วย cork borer

นำผลมะม่วงที่ปอกเปลือกแล้วมาเจาะด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร ดังภาพ 3.5



ภาพ 3.6. ตำแหน่งการเจาะเนื้อผลมะม่วงด้วย cork borer

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- การเตรียมชิ้นเนื้อผลมะม่วง

หั่นเนื้อมะม่วงที่เจาะได้ให้มีความหนา 2 มิลลิเมตร สุ่มตัวอย่างชิ้นเนื้อมะม่วงมา 15 ชิ้น (น้ำหนักประมาณ 1 กรัม) ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน ซับด้วยกระดาษทิชชู แบ่งออกเป็น 3 ซ้ำๆ ละ 5 ชิ้น

2.1.3 วิธีการทดลอง

นำเปลือกและเนื้อผลมะม่วงที่เตรียมไว้ในข้อ 2.1.1 และ 2.1.2 แช่ลงในสารละลายแมนนิทอลความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตรที่อยู่ในฟลาส์ค วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 ชั่วโมง นำสารละลายมาวัดค่าการนำไฟฟ้า โดยใช้เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า เทสารละลายกลับลงไปในฟลาส์คใบเดิม นำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอเพื่อทำลายผนังเซลล์ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ปล่อยให้เย็นแล้ว นำไปวัดค่าการนำไฟฟ้าอีกครั้งหนึ่ง คำนวณหาค่าเฉลี่ยและเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโตรไลต์ของเปลือกและเนื้อผลมะม่วง

$$\text{เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโตรไลต์} = \frac{\text{ค่าการนำไฟฟ้าของสารอิเล็กโตรไลต์ที่รั่วไหลออกมา}}{\text{ค่าการนำไฟฟ้าของสารอิเล็กโตรไลต์ทั้งหมด}} \times 100$$

2.2. การวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (TSS)

นำเนื้อมะม่วงมาด้วยเครื่องปั่นทรงกระบอก เอาส่วนที่เป็นของเหลวมากรองด้วยผ้าขาวบาง นำน้ำคั้นที่ได้มาวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ โดยใช้ digital refractometer ช่วงสเกล 0-45 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองกรรมวิธีละ 3 ซ้ำๆ ละ 3 ตัวอย่าง (Mitcham *et al.*, 1996)

2.3. การวัดปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (TA)

ปิเปตน้ำคั้นมะม่วงที่ได้มา 5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มเดือดที่ปล่อยให้เย็น ลงไป 45 มิลลิลิตร นำไปไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนสารละลายมีค่าพีเอช เท่ากับ 8.2 คำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ โดยรายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์ในรูปกรดซิตริกต่อน้ำคั้นมะม่วง 100 มิลลิลิตร ทำการทดลองกรรมวิธีละ 3 ซ้ำๆ ละ 3 ตัวอย่าง (Mitcham *et al.*, 1996)

2.4. การวัดค่าพีเอช (pH)

นำน้ำคั้นมะม่วงที่ได้มาใส่ในบีกเกอร์ ประมาณ 50 มิลลิลิตร วัดค่าพีเอชด้วยเครื่องวัดพีเอช ทำการทดลองกรรมวิธีละ 3 ซ้ำๆ ละ 3 ตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. วิธีการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO

3.1. วิธีการสกัดเอนไซม์ PPO

3.1.1 การเตรียมสารละลาย

สารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 7.0

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NaH_2PO_4.2H_2O$) ความเข้มข้น 0.2โมลาร์ โดยชั่งโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (reagent grade Scharlau, Spain) น้ำหนัก 15.6010 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

เตรียมสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($Na_2HPO_4.2H_2O$) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ โดยชั่งไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (reagent grade Scharlau, Spain) น้ำหนัก 17.799 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

เตรียมสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 7.0 โดยนำสารละลายโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 300 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ จนกระทั่งค่าพีเอชของสารละลายผสมเท่ากับ 7.0

- สารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 7.0 ที่มี polyvinyl pyrrolidone (PVP)(Sigma, USA) และ Trion X-100

ชั่ง polyvinyl pyrrolidone (PVP) มา 1 กรัม เติม Triton X-100 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 7.0 ที่เตรียมไว้มา 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่น

- สารละลาย catechol ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

โดยชั่งแคทิคอล (catechol) (Sigma, USA) น้ำหนัก 1.1100 กรัม ละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร เก็บรักษาไว้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส

3.1.2 วิธีการสกัดเอนไซม์

นำเปลือกหรือเนื้อมะม่วงมา 5 กรัม สกัดด้วยสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 7.0 ที่มี PVP ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และ Triton X-100 ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บดให้เข้ากันดี กรองด้วยผ้าขาวบาง นำสารละลายที่กรองได้ไปเข้าเครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์ใช้ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นำสารละลายสิ่งสกัดหยาบ (crude extract) ที่ได้ไปวัดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO (Galeazzi *et al.*, 1981)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.1.3 การวัดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO

ปิเปตสารละลายสิ่งสกัดหยาบปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลายสับสเทรต ซึ่งประกอบด้วย สารละลายแคทิคอล ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 7.0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร ที่อุณหภูมิห้อง ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ กำหนดให้กิจกรรมของเอนไซม์ PPO 1 หน่วย (Unit) เท่ากับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร ที่เพิ่มขึ้น 0.001 หน่วยในเวลา 1 นาที ต่อมิลลิกรัมของโปรตีนในสารละลายสิ่งสกัดหยาบ (Galeazzi *et al.*, 1981) วิเคราะห์หาปริมาณของโปรตีนในสารละลายสิ่งสกัดหยาบโดยใช้วิธีของ Bradford (Bradford, 1976) และใช้ Bovine serum albumin (BSA) เป็นโปรตีนมาตรฐาน

3.2. วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (Total phenol)

3.2.1 การเตรียมสารละลาย

- สารละลายฟีนอลมาตรฐาน ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เตรียมโดยชั่งสาร gallic acid (Merck, Germany) น้ำหนัก 0.04 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร แล้วนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้สารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

- สารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยตวงเอทานอล (Scharlau, Spain) 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 840 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

- สารละลาย Folin-Ciocaltea Reagent ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยตวง Folin-Ciocaltea Reagent (Merck, Germany) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

- สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยชั่งสารโซเดียมคาร์บอเนต (Scharlau, Spain) น้ำหนัก 75 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2.2 การสร้างกราฟมาตรฐานฟีนอล

ปิเปตสารละลายฟีนอลมาตรฐาน ความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มาอย่างละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองความเข้มข้นละ 3 หลอด หลอดที่ 1 เป็น blank จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Ciocaltea reagent ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 8 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ลงไป 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 2 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดปริมาณสารในสารละลาย ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสง โดยให้แกน X เป็นความเข้มข้นของกรดแกลลิก มีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และแกน Y เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

3.2.3 วิธีการสกัดสารประกอบฟีนอล

นำเปลือกหรือเนื้อมะม่วงที่สับละเอียดน้ำหนัก 4 กรัม ใส่โกร่งบดที่แช่เย็นจัด เติมสารละลายเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่เย็นจัดลงไป 16 มิลลิลิตร ผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วกรองผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น นำสารละลายที่กรองได้ไปเข้าเครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์ความเร็ว 14,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (Ketsa and Atantee, 1998)

3.2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด

นำส่วนใสที่สกัดได้จากเปลือกหรือเนื้อมะม่วงมาเจือจาง 100 หรือ 10 เท่า ตามลำดับ แล้วนำส่วนใสที่เจือจางแล้วมา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไป ผสมให้เข้ากันดี ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ลงไป ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้นี้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลกับกราฟมาตรฐานโดยรายงานปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเป็นไมโครกรัมในรูปกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสด (Singleton and Rossi, 1965)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 ผลของเมทิลจัสโมเนตต่อการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO สมบัติทางกายภาพ และเคมี ของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำซึ่งทำให้เกิดอาการสะท้านหนาว

ทำการทดลองโดยใช้ผลมะม่วงชุดที่ 3 และ ชุดที่ 4 วางแผนการทดลอง แบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (Factorail in Completely Randomized Design : factorail in CRD) จำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 2 ผล ทำการศึกษา 3 ปัจจัย คือ

ปัจจัยที่ 1 ความเข้มข้นของไอสารละลาย MJ มี 4 ระดับ คือ 0, 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} โมลาร์

ปัจจัยที่ 2 อุณหภูมิต่ำที่ใช้ในการเก็บรักษา มี 3 ระดับ คือ 5, 9 และ 13 องศาเซลเซียส

ปัจจัยที่ 3 ระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ มี 5 ระดับ คือ 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

กรรมวิธีที่ทำการเก็บรักษา

กรรมวิธีที่ 1. ผลมะม่วงที่ไม่ได้รมไอสารละลาย MJ (ชุดควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน

กรรมวิธีที่ 2. ผลมะม่วงที่ไม่ได้รมไอสารละลาย MJ (ชุดควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธีที่ 3. ผลมะม่วงที่ไม่ได้รมไอสารละลาย MJ (ชุดควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

กรรมวิธีที่ 4. ผลมะม่วงที่ไม่ได้รมไอสารละลาย MJ (ชุดควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

กรรมวิธีที่ 5. ผลมะม่วงที่ไม่ได้รมไอสารละลาย MJ (ชุดควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน

กรรมวิธีที่ 6. ผลมะม่วงที่ไม่ได้รมไอสารละลาย MJ (ชุดควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน

กรรมวิธีที่ 7. ผลมะม่วงที่ไม่ได้รมไอสารละลาย MJ (ชุดควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธีที่ 8. ผลมะม่วงที่ไม่ได้รมไอสารละลาย MJ (ชุดควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีที่ 9. ผลมะม่วงที่ไม่ได้รมไอสารละลาย MJ (ชุดควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

กรรมวิธีที่ 10. ผลมะม่วงที่ไม่ได้รมไอสารละลาย MJ (ชุดควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน

กรรมวิธีที่ 11. ผลมะม่วงที่ไม่ได้รมไอสารละลาย MJ (ชุดควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน

กรรมวิธีที่ 12. ผลมะม่วงที่ไม่ได้รมไอสารละลาย MJ (ชุดควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธีที่ 13. ผลมะม่วงที่ไม่ได้รมไอสารละลาย MJ (ชุดควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

กรรมวิธีที่ 14. ผลมะม่วงที่ไม่ได้รมไอสารละลาย MJ (ชุดควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

กรรมวิธีที่ 15. ผลมะม่วงที่ไม่ได้รมไอสารละลาย MJ (ชุดควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน

กรรมวิธีที่ 16. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน

กรรมวิธีที่ 17. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธีที่ 18. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

กรรมวิธีที่ 19. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

กรรมวิธีที่ 20. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน

กรรมวิธีที่ 21. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีที่ 22. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธีที่ 23. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

กรรมวิธีที่ 24. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

กรรมวิธีที่ 25. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน

กรรมวิธีที่ 26. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน

กรรมวิธีที่ 27. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธีที่ 28. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

กรรมวิธีที่ 29. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

กรรมวิธีที่ 30. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน

กรรมวิธีที่ 31. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน

กรรมวิธีที่ 32. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธีที่ 33. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

กรรมวิธีที่ 34. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีที่ 35. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน

กรรมวิธีที่ 36. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน

กรรมวิธีที่ 37. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธีที่ 38. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

กรรมวิธีที่ 39. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

กรรมวิธีที่ 40. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน

กรรมวิธีที่ 41. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน

กรรมวิธีที่ 42. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธีที่ 43. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

กรรมวิธีที่ 44. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

กรรมวิธีที่ 45. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน

กรรมวิธีที่ 46. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน

กรรมวิธีที่ 47. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีที่ 48. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

กรรมวิธีที่ 49. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

กรรมวิธีที่ 50. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน

กรรมวิธีที่ 51. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน

กรรมวิธีที่ 52. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธีที่ 53. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

กรรมวิธีที่ 54. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

กรรมวิธีที่ 55. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน

กรรมวิธีที่ 56. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน

กรรมวิธีที่ 57. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธีที่ 58. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

กรรมวิธีที่ 59. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

กรรมวิธีที่ 60. ผลมะม่วงที่รมไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเตรียมไอสารละลาย MJ

นำสารละลาย MJ มา 1 มิลลิลิตร เจือจางให้มีความเข้มข้น 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} โมลาร์ ตามลำดับ จากนั้นนำไปหยดในกระดาษกรอง แผ่นละ 5 มิลลิลิตร

การรมไอสารละลาย MJ ผลมะม่วงชุดที่ 3 และ 4 (Gonzalez-Aguilar *et al.*, 2000)

1. นำผลมะม่วงที่ผ่านการเตรียมตามข้อ 3.1 มาบรรจุลงในกล่องกระดาษขนาด 30 x 45 x 49 เซนติเมตร กล่องละ 30 ผล แล้วนำไปรมด้วยไอสารละลาย MJ ความเข้มข้น ตามที่กำหนด

2. นำกระดาษกรองที่มีสารละลาย MJ ที่เตรียมไว้ ใส่ในกล่องที่บรรจุผลมะม่วง กล่องละ 1 แผ่น ปิดฝากล่องให้สนิทด้วย เทปกาว ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3. หลังจากนั้นนำผลมะม่วงมาบรรจุในตะกร้าพลาสติก ทำการทดลองเช่นเดียวกับผลมะม่วงชุดที่ 2 ยกเว้น

- ผลมะม่วงชุดที่ 3 เก็บรักษาในตู้ Incubator ที่อุณหภูมิ 5±1, 9±1 และ 13±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 83±1, 86±1 และ 92±2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ
- ผลมะม่วงชุดที่ 4 เก็บรักษาในตู้ Incubator ที่อุณหภูมิ 5±1, 9±1 และ 13±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80±1, 86±3 และ 88±2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

4. สุ่มตัวอย่างผลมะม่วงออกมาทุกๆ 5 วัน กรรมวิธีละ 24 ผล แต่ละกรรมวิธีแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 มี 6 ผล ส่วนที่ 2 มี 18 ผล

- ส่วนที่ 1 นำมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ PPO การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ และส่วนประกอบทางเคมี โดยแบ่งออกเป็น 3 ซ้ำๆ ละ 2 ผล
- ส่วนที่ 2 นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ทุกๆ 2 วัน สุ่มตัวอย่างออกมากรรมวิธีละ 6 ผล นำมาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ และส่วนประกอบทางเคมี เช่นเดียวกัน โดยแบ่งออกเป็น 3 ซ้ำๆ ละ 2 ผล เช่นกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved