ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของโอโซนต่อการควบคุมโรคของลำไยหลังการเก็บเกี่ยว

ตารางภาคผนวก 1 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของผลลำไยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27 °C เป็นเวลา 3 วัน

Treatment	อายุการเก็บรักษา (วัน)			
	0	1	2	3
Control	0	8.3 b	41.7 b	91.7 b
O3	0	5 ab	33.3 b	75 a
SO2	0	0 a	11.7 a	55 a

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวก 2 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของผลลำไยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Treatment	อายุการเก็บรักษา (สัปดาห์)				
	0	1	2	3	4
Control	0	0	0	27.7 a	63 b
O_3	0	0	0	24.7 ab	37.7 a
SO_2	0	0	0	0 b	36.3 a

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีน และรูปแบบของโปรตีนของเปลือกและเนื้อลำไย

2.1 การเตรียมสารที่ใช้ในการสกัดโปรตีนจากผลลำไย

สารละลาย Tris-HCl บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.5 M, pH 7.5 ชั่ง Tris-HCl (hydroxymethyl) aminomethane (Merck) น้ำหนัก 6.05 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นประมาณ 50 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 7.5 โดยการเติมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร

สารละลาย extraction บัฟเฟอร์ ชั่ง SDS (BIO-RAD) มา 1.5 กรัม ละลายในสารละลาย Tris-HCl บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.5 M, pH 7.5 ประมาณ 30 มิลลิลิตร เติม 2-mercaptoethanol (BIO-RAD) 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลาย Tris-HCl บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.5 M, pH 7.5 ให้เป็น 100 มิลลิลิตร

2.2 การเตรียมสารที่ใช้ในการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีน โดยวิธี dye binding (Bradford, 1976)

1. สารละลาย $NaPO_4$ บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 M, pH 7.5 ที่มี NaCl

- **สารละลาย NaH_2PO_4 ความเข้มข้น 0.5 M** ชั่ง NaH_2PO_4 (Merck) น้ำหนัก 7.8005 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร

- **สารละลาย Na_2HPO_4 ความเข้มข้น 0.5 M** ชั่ง Na_2HPO_4 (Merck) น้ำหนัก 8.8995 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร

- **สารละลายบัฟเฟอร์ pH 7.5** นำสารละลาย NaH_2PO_4 ความเข้มข้น 0.5 M, 100 มิลลิลิตร มาปรับ pH ด้วยสารละลาย Na_2HPO_4 ความเข้มข้น 0.5 M โดยค่อยๆ เติมสารละลาย Na_2HPO_4 ความเข้มข้น 0.5 M ลงในสารละลาย NaH_2PO_4 ความเข้มข้น 0.5 M พร้อมกับคนสารละลายผสมตลอดเวลาจน pH ของสารละลายเท่ากับ 7.5

- **สารละลาย NaCl ความเข้มข้น 2 M** ชั่ง NaCl (Merck) น้ำหนัก 11.7467 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร

- **สารละลาย $NaPO_4$ บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 M, pH 7.5 ที่มี NaCl 0.1 M** นำสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7.5 มา 10 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 2 M ลงไป 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. สารละลายโปรตีนมาตรฐาน ชั่งโปรตีน bovine serum albumin (BSA) มา 0.25 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 25 มิลลิลิตร แล้วปิเปตสารละลายโปรตีนที่เตรียมได้ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลาย $NaPO_4$ บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 M, pH 7.5 ที่มี NaCl ให้เป็น 25 มิลลิลิตร จะได้สารละลายโปรตีนมาตรฐาน ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3. สารละลาย coomassie brilliant blue G-250 ชั่ง coomassie brilliant blue G-250 (BIO-RAD) น้ำหนัก 0.0125 กรัม ละลายใน ethanol 99% (Merck) ปริมาตร 12.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย potassium salts of orthophosphoric acid ความเข้มข้น 85% (Merck) ลงไป 25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วย น้ำกลั่นให้เป็น 250 มิลลิลิตร ได้สารละลาย coomassie brilliant blue G-250 ที่มีความเข้มข้น 0.05% ใน ethanol 5% และ potassium salts of orthophosphoric acid 10%

2.3 รูปแบบของโปรตีน โดยวิธีเอสดีเอส โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโตรฟรีซีส (SDS polyacrylamide gel electrophoresis)

1. การเตรียมสารละลาย

1. acrylamide 30% / bisacrylamide 0.8% (BIO-RAD® U.S.A.)

2. Tris-HCl บัฟเฟอร์ 0.5 M, pH 6.8

ชั่ง Tris (hydroxymethyl) methylamine มา 6.05 กรัม และสารละลาย SDS 10% จำนวน 4 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 50 มิลลิลิตร เติม HCl ความเข้มข้น 6 M จนได้ pH 6.8 แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3. Tris-HCl บัฟเฟอร์ 1.5 M, pH 8.8

ชั่ง Tris (hydroxymethyl) methylamine มา 18.17 กรัม และสารละลาย SDS 10% จำนวน 41 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 50 มิลลิลิตร เติม HCl ความเข้มข้น 6 M จนได้ pH 8.8 แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2. สารละลาย electrode บัฟเฟอร์

ชั่ง Tris (hydroxymethyl) methylamine มา 15.1 กรัม glycerol 72 กรัม และ SDS หนัก 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 500 มิลลิลิตร เติม NaOH 6 M จนได้ pH 8.3 แล้วปรับปริมาตรสุดท้าย 1000 มิลลิลิตร

1. ammonium persulphate 1.0%

ชั่ง ammonium persulphate 0.1 กรัม ละลายน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร (สารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. สารละลาย sample บัฟเฟอร์

ชั่ง bromophenol blue 3.5 มิลลิลิตร ละลายในสารละลาย Tris-HCl บัฟเฟอร์ 0.5 M, pH 6.8 ปริมาตร 3.125 มิลลิลิตร เติม glycerol 2.5 มิลลิลิตร SDS 10% จำนวน 7.5 มิลลิลิตร และ 2-mercaptoethanol 1.25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3. การเตรียม Polyacrylamide gel

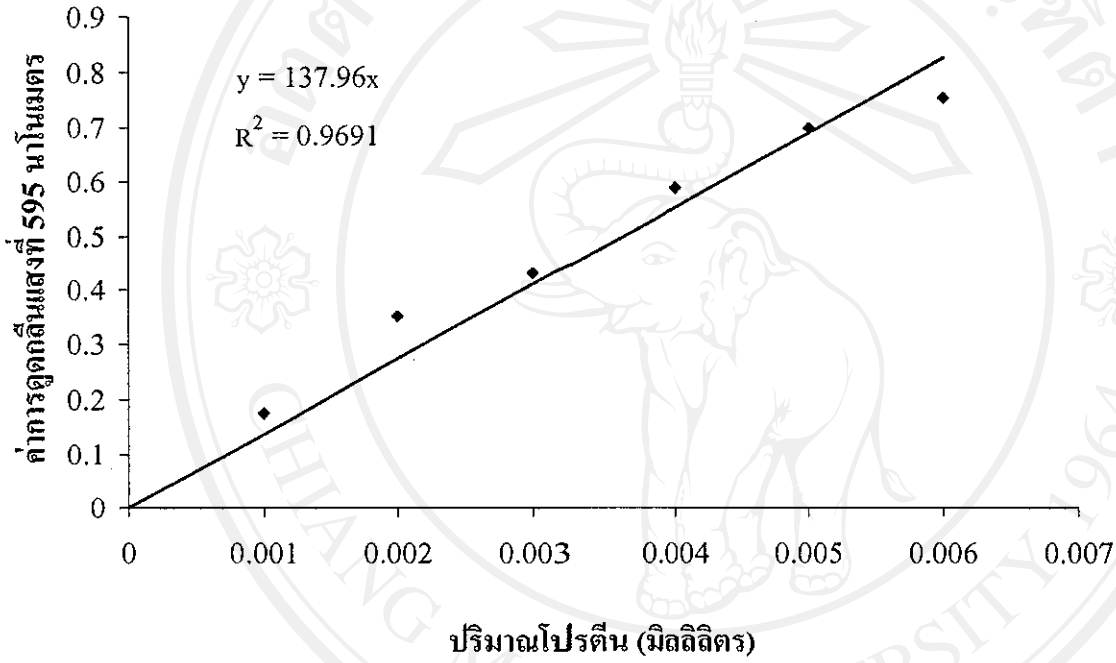
3.1 การเตรียม Separating gel ผสมสารต่างๆ ดังนี้

Tris-HCl บัฟเฟอร์ pH 8.8, 1.5 M	3.75 มิลลิลิตร
acrylamide 30% ที่มี bis 0.8%	3.75 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	7.50 มิลลิลิตร
TEMED	0.05 มิลลิลิตร
ammonium persulphate 1.0%	0.01 มิลลิลิตร
ปริมาตรรวม	15.06 มิลลิลิตร

การเตรียม Stacking gel ผสมสารต่างๆ ดังนี้

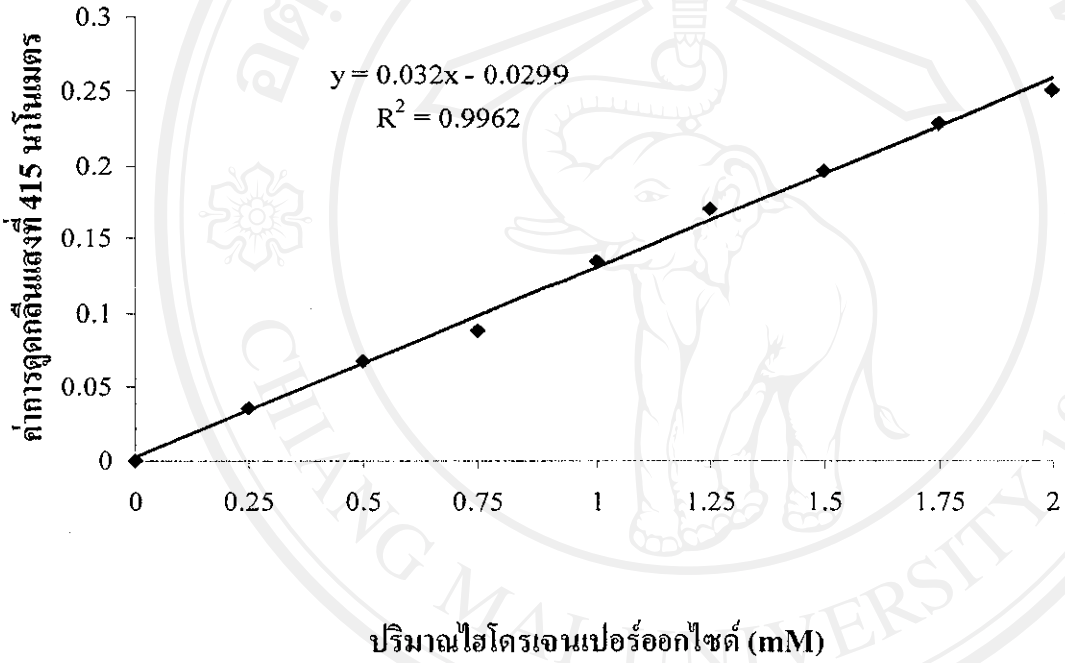
Tris-HCl บัฟเฟอร์ pH 6.8, 1.5 M	3.75 มิลลิลิตร
acrylamide 30% ที่มี bis 0.8%	1.50 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	9.75 มิลลิลิตร
TEMED	0.05 มิลลิลิตร
ammonium persulphate 1.0%	0.01 มิลลิลิตร
ปริมาตรรวม	15.06 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพภาคผนวก 1 กราฟโปรตีนมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในสารละลายตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพภาคผนวก 2 กราฟปริมาณมาตรฐานระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก 3 ปริมาณ peroxides ทั้งหมด (nmoles of H_2O_2/g FW) ในเปลือกลำไย เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27 °C

Treatment	อายุการเก็บรักษา (วัน)			
	0	1	2	3
Control	6.28 a	29.13 c	25.31 c	20.91 b
O_3	11.22 b	25.45 b	18.49 b	15.46 a
SO_2	22.97 c	22.20 a	15.49 a	21.02 b

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวก 4 ปริมาณ peroxides ทั้งหมด (nmoles of H_2O_2/g FW) ในเนื้อลำไย เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27 °C

Treatment	อายุการเก็บรักษา (วัน)			
	0	1	2	3
Control	2.64 a	3.08 a	2.87 a	2.87 a
O_3	2.42 a	3.13 a	2.76 a	2.68 a
SO_2	3.32 b	3.31 a	3.26 b	2.96 a

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก 5 ปริมาณ peroxides ทั้งหมด (nmoles of H_2O_2/g FW) ในเปลือกลำไย เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C

Treatment	อายุการเก็บรักษา (สัปดาห์)		
	0	1	2
Control	6.28 a	24.41 b	28.91 b
O_3	11.22 b	29.88 c	31.52 c
SO_2	22.97 c	13.86 a	26.58 a

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวก 6 ปริมาณ peroxides ทั้งหมด (nmoles of H_2O_2/g FW) ในเนื้อลำไย เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C

Treatment	อายุการเก็บรักษา (สัปดาห์)		
	0	1	2
Control	2.65 a	2.90 a	3.45 a
O_3	2.42 a	2.58 a	3.32 a
SO_2	3.32 b	3.33 b	3.93 a

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2 ปริมาณกรดแอสคอร์บิก โดยวิธี 2,6-dichloroindophenol titrimetric method (AOAC, 2000)

วิธีการเตรียมสาร

1. HPO_3CH_3COOH

เติม CH_3COOH 160 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร แล้วเติม HPO_3 60 กรัม เขย่า แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 2 ลิตร กรองอย่างรวดเร็ว เก็บไว้ในที่มืดและ เย็น (7 - 10 วัน)

2. indophenol standard solution

เติม $NaHCO_3$ 420 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติม 2,6-dichloroindophenol Na salt 500 มิลลิกรัม เขย่า แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 2 ลิตร กรองอย่างรวดเร็ว เก็บไว้ในที่มืดและ เย็น

3. กรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน

ชั่งกรดแอสคอร์บิก 50 มิลลิกรัม ใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายด้วย HPO_3CH_3COOH จนครบ 50 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก 7 ปริมาณกรดแอสคอร์บิกในเนื้อของผลลำไยที่อุณหภูมิ 27 °C (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

Treatment	อายุการเก็บรักษา (วัน)			
	0	1	2	3
Control	0.064 c	0.051 a	0.059 b	0.038 a
O_3	0.031 b	0.058 a	0.055 b	0.033 a
SO_2	0.015 a	0.071 b	0.032 a	0.030 a

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวก 8 ปริมาณกรดแอสคอร์บิกในเนื้อของผลลำไยที่อุณหภูมิ 27 °C (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

Treatment	อายุการเก็บรักษา (วัน)			
	0	1	2	3
Control	0.602 a	0.341 a	0.618 b	0.730 a
O_3	0.594 a	0.370 a	0.610 b	0.745 a
SO_2	0.559 a	0.376 a	0.485 a	0.829 a

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก 9 ปริมาณกรดแอสคอร์บิกในเนื้อของผลลำไยที่อุณหภูมิ 5 °C (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

Treatment	อายุการเก็บรักษา (สัปดาห์)		
	0	1	2
Control	0.06 c	0.04 ab	0.05 b
O_3	0.03 b	0.06 b	0.04 ab
SO_2	0.02 a	0.02 a	0.02 a

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวก 10 ปริมาณกรดแอสคอร์บิกในเนื้อของผลลำไยที่อุณหภูมิ 5 °C (มิลลิกรัม มิลลิลิตร)

Treatment	อายุการเก็บรักษา (สัปดาห์)		
	0	1	2
Control	0.60 a	0.44 a	0.37 a
O_3	0.59 a	0.53 a	0.44 ab
SO_2	0.56 a	0.45 a	0.53 b

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก 11 กิจกรรมของเอนไซม์ catalase (nmoles of H_2O_2/mg protein.min) ในเปลือกของผลลำไยที่อุณหภูมิ 27 °C

Treatment	อายุการเก็บรักษา(วัน)			
	0	1	2	3
Control	18.27 b	9.22 a	15.63 c	9.83 a
O_3	9.83 a	13.12 b	12.95 b	15.60 b
SO_2	9.10 a	8.77 a	8.61 a	9.87 a

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวก 12 กิจกรรมของเอนไซม์ catalase (nmoles of H_2O_2/mg protein.min) ในเนื้อของผลลำไยที่อุณหภูมิ 27 °C

Treatment	อายุการเก็บรักษา(วัน)			
	0	1	2	3
Control	9.61 b	6.71 a	8.52 c	6.86 b
O_3	7.52 a	7.53 b	6.97 b	5.86 a
SO_2	9.25 ab	7.61 b	2.39 a	7.30 c

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก 13 กิจกรรมของเอนไซม์ catalase (nmoles of H_2O_2/mg protein.min) ในเปลือกผลลำไยเมื่อเก็บรักษาลำไยที่อุณหภูมิ 5°C

Treatment	อายุการเก็บรักษา (สัปดาห์)		
	0	1	2
Control	18.27 b	12.83 a	11.27 a
O_3	9.83 a	11.92 a	12.82 b
SO_2	9.10 a	16.24 b	15.09 c

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวก 14 กิจกรรมของเอนไซม์ catalase (nmoles of H_2O_2/mg protein.min) ในเนื้อผลลำไยเมื่อเก็บรักษาลำไยที่อุณหภูมิ 5°C

Treatment	อายุการเก็บรักษา (สัปดาห์)		
	0	1	2
Control	9.61 b	7.44 c	6.02 a
O_3	7.52 b	7.07 b	5.58 a
SO_2	9.25 ab	6.50 a	6.90 b

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวศรัณยา เพ่งผล
วัน เดือน ปี เกิด	31 กรกฎาคม 2524
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนนครสวรรค์ ปีการศึกษา 2542 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ปีการศึกษา 2546
ทุนการศึกษา	ได้รับทุนอุดหนุนจากโครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved