

บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุเกษตร

ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 จากชมรมผู้ส่งออกมะม่วง จังหวัดเชียงใหม่

การทดลองที่ 1 ใช้ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 อายุ 50, 60, 70, 80, 90, 100 และ 110 วัน หลังจากดอกบาน

การทดลองที่ 2 ใช้ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 อายุ 70, 80, 90, 100 และ 110 วัน หลังจากดอกบาน

การทดลองที่ 3 ใช้ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 อายุ 110 วัน หลังจากดอกบาน

สวมผลมะม่วงด้วยตาข่ายโพลีเอทิลีนแล้วบรรจุผลมะม่วงในตะกร้าพลาสติก ตะกร้าละ 50 ผล ขนส่งทางรถห้องเย็นมายังห้องปฏิบัติการสถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ระยะเวลาหลังจากเก็บเกี่ยวจนถึงห้องปฏิบัติการ ประมาณ 24 ชั่วโมง

3.2 อุปกรณ์วิทยาศาสตร์

3.2.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบชั่งจากด้านบน 2 ตำแหน่ง (Digital Balance 0.01 g) รุ่น PB 1502-S บริษัท 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 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) รุ่น HL-341 ขนาด 72 ลิตร ประเทศไต้หวัน

3.2.5 เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า รุ่น HI 8633 บริษัท Hanna ประเทศอิตาลี

3.2.6 Compound Microscope (กล้องจุลทรรศน์ชนิด 2 ตา) รุ่น CX31-12L02-SET ยี่ห้อ OLYMPUS

- 3.2.7 Compound Microscope (กล้องจุลทรรศน์ชนิด 3 ตา สำหรับงาน Narmaski DIC) รุ่น DP12-PC-SET ยี่ห้อ OLYMPUS
- 3.2.8 Data Logger รุ่น A-38010-16 ยี่ห้อ Cole-Parmer
- 3.2.9 Microtome Fresh cut Tissue (เครื่องตัดชิ้นเนื้อพืช แบบ ไม่ต้องแช่แข็ง) รุ่น MT-3 ยี่ห้อ NK SYSTEM
- 3.2.10 Stereomicroscope and Accessories ยี่ห้อ Olympus รุ่น SZX 12

สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการสถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วิธีการทดลอง

การวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาพัฒนาการของเลนติเซล ความสัมพันธ์ของเลนติเซลกับความแก่ และผลของอุณหภูมิต่อการเติบโตของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ในช่วงการเก็บรักษา โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาพัฒนาการของเลนติเซลบนผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ในช่วงการเจริญของผล
ระยะต่างๆ

กรรมวิธีการทดลอง

ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง

กรรมวิธีที่ 1 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่อายุ 50 วัน หลังจากดอกบาน

กรรมวิธีที่ 2 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่อายุ 60 วัน หลังจากดอกบาน

กรรมวิธีที่ 3 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่อายุ 70 วัน หลังจากดอกบาน

กรรมวิธีที่ 4 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่อายุ 80 วัน หลังจากดอกบาน

กรรมวิธีที่ 5 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่อายุ 90 วัน หลังจากดอกบาน

กรรมวิธีที่ 6 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่อายุ 100 วัน หลังจากดอกบาน

กรรมวิธีที่ 7 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่อายุ 110 วัน หลังจากดอกบาน

ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4

กรรมวิธีที่ 1 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่อายุ 50 วัน หลังจากดอกบาน

กรรมวิธีที่ 2 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่อายุ 60 วัน หลังจากดอกบาน

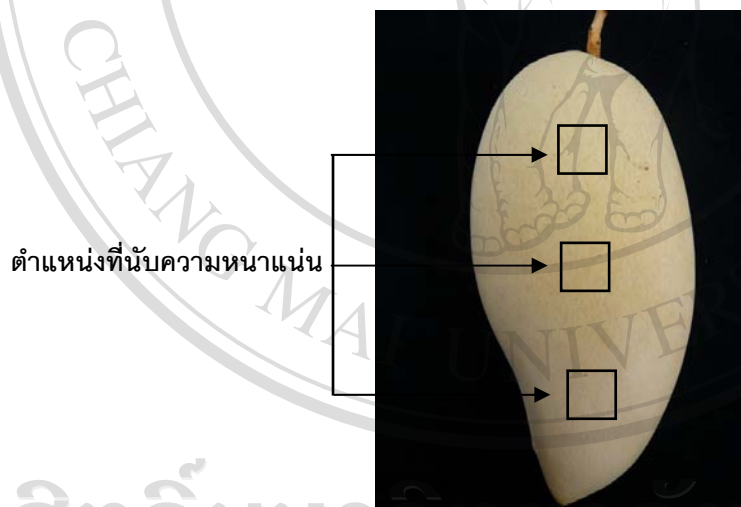
กรรมวิธีที่ 3 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่อายุ 70 วัน หลังจากดอกบาน

กรรมวิธีที่ 4 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่อายุ 80 วัน หลังจากดอกบาน
 กรรมวิธีที่ 5 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่อายุ 90 วัน หลังจากดอกบาน
 กรรมวิธีที่ 6 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่อายุ 100 วัน หลังจากดอกบาน
 กรรมวิธีที่ 7 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่อายุ 110 วัน หลังจากดอกบาน

วิธีการทดลอง

ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง

1. ศึกษาความหนาแน่นของเลนติเซล วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in Completely Randomized Design) แบ่งผลมะม่วงเป็น 2 ส่วนในระนาบเดียวกับเมล็ด คือ ด้านซ้ายและด้านขวา แต่ละส่วนจะถูกแบ่งเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนหัว ส่วนกลาง ส่วนท้าย (ภาพ 3.1) สุ่มนับจำนวนเลนติเซลต่อหนึ่งตารางเซนติเมตรในแต่ละตำแหน่ง ภายใต้อุปกรณ์ stereomicroscope จดบันทึก แล้วนำมาหาค่าความหนาแน่นเฉลี่ยในแต่ละตำแหน่ง ทำการทดลองจำนวน 10 ซ้ำๆ ละ 1 ผล



ภาพ 3.1 ตำแหน่งการนับความหนาแน่นของเลนติเซลบนผลมะม่วง

2. ศึกษาพัฒนาการของเลนติเซล โดยศึกษาขนาดและรูปร่างของเลนติเซล ภายใต้อุปกรณ์ stereomicroscope วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) แบ่งผลมะม่วงเป็น 2 ส่วนในระนาบเดียวกับเมล็ด คือ ด้านซ้ายและด้านขวา แต่ละส่วนจะถูกแบ่งเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนหัว ส่วนกลาง ส่วนท้าย จากนั้นปอกเปลือกผลมะม่วงด้วยมีดปอกผลไม้แล้วนำส่วนของเปลือกมาส่องภายใต้ stereomicroscope เพื่อวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเลนติเซลแต่ละระยะ โดยใช้ ocular micrometer จดบันทึก แล้วนำมาหาขนาดเฉลี่ยในแต่ละระยะ จากนั้นนำเปลือก

ผลมะม่วงที่วัดขนาดเลนติเซลภายใต้ stereomicroscope แล้วมาตัด section ด้วยเครื่อง microtome ความหนา 0.01 มิลลิเมตร ย้อมเนื้อเยื่อด้วย cotton blue แล้วนำมาศึกษาขนาดและรูปร่างของเลนติเซลภายใต้ compound microscope ทั้งนี้เพื่อจำแนกพัฒนาการของเลนติเซลออกเป็นระยะต่างๆ ทำการทดลองจำนวน 10 ซ้ำๆ ละ 1 ผล

หมายเหตุ ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ทำการทดลองเช่นเดียวกับผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองข้างต้น

การทดลองที่ 2 ศึกษาความสัมพันธ์ของเลนติเซลระยะต่างๆ กับความแก่ของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD)

ทำการทดลองจำนวน 10 ซ้ำๆ ละ 1 ผล

กรรมวิธีการทดลอง

ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง

กรรมวิธีที่ 1 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่อายุ 70 วัน หลังจากดอกบาน
กรรมวิธีที่ 2 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่อายุ 80 วัน หลังจากดอกบาน
กรรมวิธีที่ 3 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่อายุ 90 วัน หลังจากดอกบาน
กรรมวิธีที่ 4 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่อายุ 100 วัน หลังจากดอกบาน
กรรมวิธีที่ 5 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง ที่อายุ 110 วัน หลังจากดอกบาน

ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4

กรรมวิธีที่ 1 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่อายุ 70 วัน หลังจากดอกบาน
กรรมวิธีที่ 2 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่อายุ 80 วัน หลังจากดอกบาน
กรรมวิธีที่ 3 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่อายุ 90 วัน หลังจากดอกบาน
กรรมวิธีที่ 4 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่อายุ 100 วัน หลังจากดอกบาน
กรรมวิธีที่ 5 ศึกษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่อายุ 110 วัน หลังจากดอกบาน

วิธีการทดลอง

นำผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ระยะความแก่ต่างๆ ได้แก่ 70, 80, 90, 100 และ 110 วัน หลังจากดอกบาน มาศึกษาความหนาแน่นของเลนติเซลระยะต่างๆ ได้แก่ ระยะ 0, 1, 2 และ 3 ตามลำดับ โดยแบ่งผลมะม่วงเป็น 2 ส่วนในระนาบเดียวกับเมล็ด คือ ด้านซ้ายและด้านขวา แต่ละส่วนจะถูกแบ่งเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนหัว ส่วนกลาง ส่วนท้าย สุ่มนับจำนวนเลนติเซลต่อหนึ่งตาราง

เซนติเมตรในแต่ละตำแหน่ง ภายใต้ stereomicroscope จดบันทึก แล้วนำมาหาค่าความหนาแน่นเฉลี่ยของเลนติเซลแต่ละระยะในแต่ละตำแหน่ง ทำการทดลองจำนวน 10 ซ้ำๆ ละ 1 ผล

หมายเหตุ ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ทำการทดลองเช่นเดียวกับผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองข้างต้น

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงของเลนติเซลในผลมะม่วง พันธุ์น้ำดอกไม้ระหว่างการเก็บรักษา

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in Completely Randomized Design)

ปัจจัยที่ 1 อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา มี 3 ระดับ คือ 5, 8 และ 13 องศาเซลเซียส

ปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาการเก็บรักษา มี 11 ระดับ คือ 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 และ 30 วัน

ทำการทดลองจำนวน 5 ซ้ำๆ ละ 1 ผล

กรรมวิธีการทดลอง

ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง

กรรมวิธีที่ 1 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน

กรรมวิธีที่ 2 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

กรรมวิธีที่ 3 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

กรรมวิธีที่ 4 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน

กรรมวิธีที่ 5 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน

กรรมวิธีที่ 6 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

กรรมวิธีที่ 7 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 วัน

กรรมวิธีที่ 8 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน

กรรมวิธีที่ 9 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 วัน

กรรมวิธีที่ 10 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 27 วัน

กรรมวิธีที่ 11 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

กรรมวิธีที่ 12 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน

กรรมวิธีที่ 13 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

กรรมวิธีที่ 14 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

กรรมวิธีที่ 15 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน

กรรมวิธีที่ 16 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน

กรรมวิธีที่ 17 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

กรรมวิธีที่ 14 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน
 กรรมวิธีที่ 15 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน
 กรรมวิธีที่ 16 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน
 กรรมวิธีที่ 17 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน
 กรรมวิธีที่ 18 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 วัน
 กรรมวิธีที่ 19 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน
 กรรมวิธีที่ 20 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 วัน
 กรรมวิธีที่ 21 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 27 วัน
 กรรมวิธีที่ 22 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน
 กรรมวิธีที่ 23 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน
 กรรมวิธีที่ 24 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน
 กรรมวิธีที่ 25 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน
 กรรมวิธีที่ 26 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน
 กรรมวิธีที่ 27 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน
 กรรมวิธีที่ 28 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน
 กรรมวิธีที่ 29 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 วัน
 กรรมวิธีที่ 30 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน
 กรรมวิธีที่ 31 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 วัน
 กรรมวิธีที่ 32 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 27 วัน
 กรรมวิธีที่ 33 เก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ที่ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

วิธีการทดลอง

- นำผลมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองที่ความแก่ 110 วัน หลังดอกบาน มาเก็บรักษาในตู้ Incubator ที่อุณหภูมิระดับต่างๆ ได้แก่ 5 ± 1 , 8 ± 1 และ 13 ± 1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85 ± 2 , 87 ± 3 และ 90 ± 3 ตามลำดับ
- นำมาศึกษาจำนวนและลักษณะของเลนติเซล รวมทั้งความผิดปกติต่างๆ ของผิวผล ภายใต้ stereomicroscope โดยแบ่งผลมะม่วงเป็น 2 ส่วนในระนาบเดียวกับเมล็ด คือ ด้านซ้ายและด้านขวา แต่ละส่วนจะถูกแบ่งเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนหัว ส่วนกลาง ส่วนท้าย สุ่มนับจำนวนเลนติเซล ต่อหนึ่งตารางเซนติเมตรในแต่ละตำแหน่ง ภายใต้ stereomicroscope จดบันทึก แล้วนำมาหาค่าความหนาแน่นเฉลี่ยรวม

3. จากนั้นนำผลมะม่วงมาวัดการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ (electrolyte leakage) ของเปลือก (ศศรร, 2549) ทุกๆ 3 วัน จนครบ 30 วัน โดยนำผลมะม่วงมาปอกเปลือกด้วยมีดปอกผลไม้ เจาะส่วนเปลือกด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร ให้ทั่วทั้งผล สุ่มตัวอย่าง ขึ้นเปลือกมะม่วงมา 15 ชิ้น ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน ชับด้วยกระดาษทิชชู แบ่งออกเป็น 3 ซ้ำๆ 5 ชิ้น แช่ลงในสารละลายแมนนิทอล ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิิตรที่อยู่ในพลาสติก เตรียมโดยชั่งแมนนิทอล น้ำหนัก 72.868 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 ชั่วโมง นำสารละลายมาวัดค่าการนำไฟฟ้า โดยใช้เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า เทสารละลายกลับลงไปใน พลาสติกใบเดิม นำไปนั่งในหม้อน้ำความดันไอเพื่อทำลายผนังเซลล์ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ปล่อยให้เย็นแล้วนำไปวัดค่าการนำไฟฟ้าอีกครั้งหนึ่ง เพื่อให้ทราบค่าผลมะม่วงเกิดอาการสะท้านหนาวแล้ว คำนวณค่าเฉลี่ยและเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ของเปลือกผลมะม่วง จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์} = \frac{\text{ค่าการนำไฟฟ้าของสารอิเล็กโทรไลต์ที่รั่วออกมา} \times 100}{\text{ค่าการนำไฟฟ้าของสารอิเล็กโทรไลต์ทั้งหมด}}$$

4. ตัดชิ้นส่วนบริเวณเลนติเซลล์ที่เกิดอาการสะท้านหนาวด้วยเครื่อง microtome ความหนา 0.01 มิลลิเมตร ย้อมเนื้อเยื่อด้วย cotton blue แล้วนำมาส่องดูภายใต้ compound microscope เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของเลนติเซลล์รวมทั้งเนื้อเยื่อข้างเคียง

5. จากนั้นนำชิ้นเนื้อเยื่อบริเวณเดียวกันกับที่ดูภายใต้ compound microscope มาตรวจดูภายใต้ Transmission electron microscope (TEM) เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงในระดับเซลล์เมื่อเกิดอาการสะท้านหนาว แบ่งเป็นขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

5.1 Primary fixative ด้วย 2.5% glutaraldehyde ใน 0.1 phosphate buffer ที่ 4°C ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นล้างด้วย 0.1 phosphate buffer 2 ครั้งๆ ละ 15 นาที

5.2 Post fixative ด้วย 1% OsO₄ ใน 0.1 phosphate buffer ที่ 4°C ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นล้างด้วย 0.1 phosphate buffer 2 ครั้งๆ ละ 15 นาที

5.3 Dehydration โดยนำตัวอย่างมาแช่ใน dehydrant ความเข้มข้นต่ำไปสูง ได้แก่ 35%, 50%, 70%, 80%, 90% และ 100% ขั้นตอนละ 15 นาที

5.4 Infiltration เพื่อแทนที่น้ำด้วย acetone

5.5 Embedding and Polymerization ในแม่พิมพ์ยาง เททับด้วยพลาสติกเหลวให้เต็ม ที่ 4°C ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

5.6 Section ความหนา 60-90 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง ultramicrotome

5.7 Staining ด้วย uranyl acetate และ lead citrate

หมายเหตุ ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ทำการทดลองเช่นเดียวกับผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองข้างต้น



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved