บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. วัสดุพันธุ์พืช

ผลลำไยพันธุ์ดอจากสวนของเกษตรกรในเขตจังหวัดเชียงใหม่ ในช่วงเดือนเมษายน-เดือนกันยายน พ.ศ. 2550 ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการด้วยรถห้องเย็น ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ตัดผลลำไยออกจากก้านให้เหลือก้านเหนือขั้วผลประมาณ 0.5 เซนติเมตร คัดเลือกผลที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 2.2-2.5 เซนติเมตร ไม่มีตำหนิจากโรคและแมลง

2. เชื้อ *Lasiodiplodia* sp. lsotate LP20 จาก ดร. พิชญาภรณ์ สุวรรณกูฏ

3. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์

3.1 เครื่องวัดสี (Choromameter) ยี่ห้อ Hunter รุ่น Color Quest XE

3.2 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettier-Toledo รุ่น BB1502-S

3.3 ตู้แช่เย็นปรับอุณหภูมิที่ 10 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Sanyo รุ่น MIR-553

3.4เครื่องวัด spectrophotometer ยี่ห้อ Analytikjena รุ่น specord 40

3.5 เครื่อง rotary evaporator ยี่ห้อ Buchi รุ่น R-205/V Advance

3.6 เครื่อง High refrigerated speed centrifuge ยี่ห้อ Herolab รุ่น Unicen 15DR

3.7 อุปกรณ์เครื่องแก้ว

3.8 สารเคมีที่ใช้

- ไคโตซานพอลิเมอร์และไคโตซานโอลิโกเมอร์ (ต้าหมิงเอนเตอร์ไพรส์, Thailand)
- Sodium hydroxide (Analar, England)
- 3, 5 dinitrosalicylic acid (Fluka chemima, Switzerland)
- Sodium carbonate anhydrous (Scharlau Chemie SA, Spain)
- Phenol (Fisher Scientific, UK)
- Sodium potassium tartrate (MERCK, Germany)
- Copper sulfate (Fisher Scientific, UK)
- Folin (MERCK, Germany)
- di-potassium hydrogen phosphate (Ajax finechem, Australia)
- Potassium dihydrogen phosphate (Ajax finechem, Australia)
- Tween 20 (Ajax finechem, Australia)
- Acetic acid (MERCK, Germany)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการทดลอง

<u>การทดลองที่ 1</u>

การทดสอบหาความเข้มข้นของไคโตซานพอลิเมอร์ที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Lasiodiplodia* sp. ในสภาพ *in vitro*

1. เตรียมไคโตซานพอลิเมอร์ ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ โดยชั่งไคโตซาน 10 กรัม ค่อยละลายในกรดอะซิติกเข้มข้น (acetic acid) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ครบ 500 มิลลิลิตร
2. ผสมไคโตซาน 2 เปอร์เซ็นต์ กับอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) โดยเจือจางให้ได้สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.05, 0.25, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ
3. นำสารละลายไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ผสมกับอาหาร PDA (ปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร) เทในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว
4. ใช้ cork borer เบอร์ 2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะเชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. อายุ 2 วัน วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว
5. บันทึกการเจริญของเชื้อและทำการวัดเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของรัศมีการเจริญ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Comletetely Randomized Design: CRD) กำหนดให้ 1 ชุดการทดลอง มีจำนวน 12 ซ้ำ โดยชุดควบคุมใช้อาหารผสมกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์

การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของไคโตซานที่มีต่อเชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. ได้จากสูตร ดังนี้

$$\% \text{ การยับยั้ง} = \left(\frac{R_1 - R_2}{R_1} \right) \times 100$$

R_1 = รัศมีการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคในชุดควบคุม (control)

R_2 = รัศมีการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคในชุดทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

<u>การทดลองที่ 2</u> ผลของสารเคลือบผิวไคโตซานพอลิเมอร์ต่อกิจกรรมเอนไซม์ไคติเนสในลำไยพันธุ์ดอหลังการเก็บเกี่ยว

จากผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในการทดลองที่ 1 นำผลการทดลองที่ดีที่สุด มาศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส โดยการเคลือบผิวผลลำไยโดยการจุ่มในสารละลายไคโตซานพอลิเมอร์ความเข้มข้น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์

การเตรียมสารละลายไคโตซานพอลิเมอร์ ความเข้มข้น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์

ค่อยๆ ละลายไคโตซานด้วยกรดอะซิติกเข้มข้น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วเติม tween 80 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และปรับปริมาตรด้วยน้ำ ให้ครบ 1 ลิตร ปรับ pH ด้วย 0.1 N NaOH ให้ได้ประมาณ 5.5

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) มี 8 วิธีการ แต่ละวิธีการละ 4 ซ้ำ ดังวิธีการดังต่อไปนี้

วิธีการที่ 1 ผลลำไยปลูกเชื้อ และเคลือบผิวด้วยไคโตซานความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

วิธีการที่ 2 ผลลำไยไม่ปลูกเชื้อ และเคลือบผิวด้วยไคโตซานความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

วิธีการที่ 3 ผลลำไยปลูกเชื้อ และเคลือบผิวด้วยไคโตซานความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์

วิธีการที่ 4 ผลลำไยไม่ปลูกเชื้อ และเคลือบผิวด้วยไคโตซานความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์

วิธีการที่ 5 ผลลำไยปลูกเชื้อ และเคลือบผิวด้วยกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์

วิธีการที่6 ผลลำไยไม่ปลูกเชื้อ และเคลือบผิวด้วยกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์

วิธีการที่ 7 ผลลำไยปลูกเชื้อ และไม่เคลือบผิว

วิธีการที่ 8 ผลลำไยไม่ปลูกเชื้อ และไม่เคลือบผิว

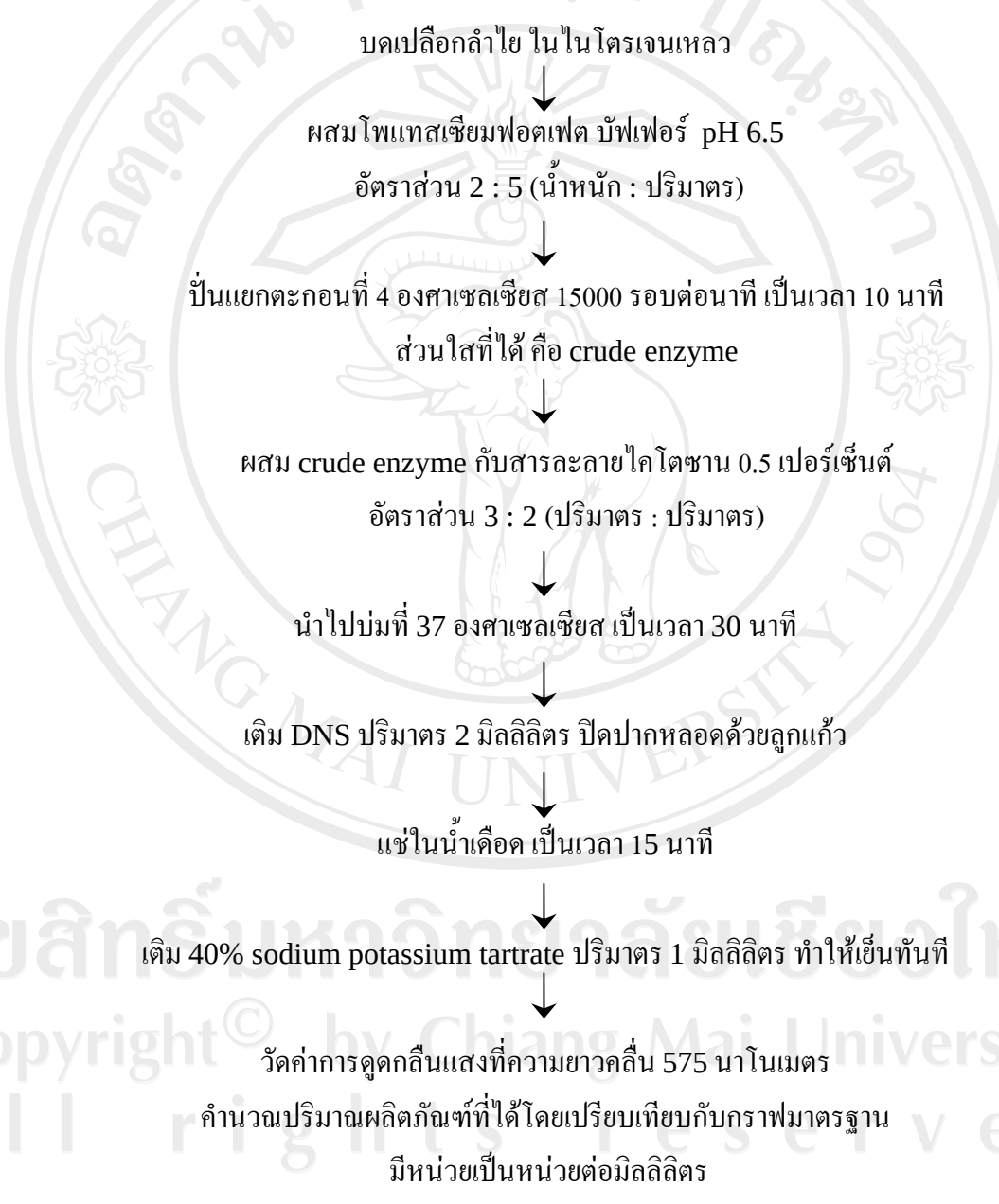
วิธีการ

นำผลลำไยพันธุ์ดอ ล้างด้วยน้ำสะอาด ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย Clorox® 10 เปอร์เซ็นต์ แล้วผึ่งให้แห้ง หลังจากนั้นนำผลลำไยปลูกเชื้อ *Lasiodiplodia* sp. ที่ขั้วผล โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อแทงบริเวณที่ขั้วผล วางเชื้อบริเวณที่เกิดบาดแผล วางผลใส่ในกล่องเก็บความชื้นเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นนำไปจุ่มสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 1 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที นำไปผึ่งให้แห้ง แล้วบรรจุผลลำไยลงถาดพลาสติก โดยผลลำไย 5 ผลต่อ 1 ถาด กำหนดให้หนึ่งถาดคือหนึ่งซ้ำ จำนวน 4 ซ้ำ แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ นำผลลำไยมาสกัดและวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส โดยคำนวณค่า specific activity ของเอนไซม์ (ภาคผนวก ข) ดัดแปลงจากวิธีการของ พิมพ์ใจ (2548) วัดผลทุก 2 วัน จนถึงการเก็บรักษาวันที่ 12

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการวิเคราะห์เอนไซม์ไคติเนสและปริมาณโปรตีน

1. การวิเคราะห์เอนไซม์ไคติเนส ดัดแปลงจากวิธีการของ พิมพ์ใจ (2538) วิธีการดังแผนภาพ (ภาพ 3.1)



ภาพ 3.1 แผนภาพขั้นตอนการวิเคราะห์เอนไซม์ไคติเนส
ที่มา: พิมพ์ใจ (2538)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน เพื่อหาค่า specific activity โดยการดัดแปลงจากวิธีการของ Lowry *et al*. (1951) ดังแผนภาพ (ภาพ 3.2)

เจือจาง crude enzyme จากข้อ 1 ลง 5 เท่า ด้วยน้ำกลั่น

↓

ดูด crude enzyme ที่เจือจางมา 500 ไมโครลิตร
แล้วเติมสารละลายอัลคาร์ไลคอปเปอร์
ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

↓

ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

↓

เติมสารละลายโฟลิน ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์
ปริมาตร 250 ไมโครลิตร

↓

ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

↓

วัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

↓

คำนวณปริมาณโปรตีนเปรียบเทียบกราฟมาตรฐาน
มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ภาพ 3.2 แผนภาพขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน
ที่มา: Lowry *et al*. (1951)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

<u>การทดลองที่ 3</u> ศึกษาผลของการเคลือบผิวไคโตซานพอลิเมอร์ต่อการสร้างสารต้านเชื้อราของลำไยพันธุ์ในลำไยพันธุ์ดอหลังการเก็บเกี่ยว

จากผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในการทดลองที่ 1 นำผลการทดลองที่ดีที่สุดมาศึกษาการสร้างสารต้านเชื้อรา โดยการเคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซานพอลิเมอร์ความเข้มข้น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) มี 4 วิธีการ ดังต่อไปนี้

วิธีการที่ 1 ผลลำไยเคลือบผิวด้วยไคโตซานความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

วิธีการที่ 2 ผลลำไยเคลือบผิวด้วยไคโตซานความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์

วิธีการที่ 3 ผลลำไยเคลือบผิวด้วยกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์

วิธีการที่ 4 ผลลำไยไม่เคลือบผิว

นำลำไยจุ่มสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที นำไปผึ่งให้แห้ง แล้วบรรจุผลลำไยทั้งหมดลงกล่องพลาสติก นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ นำผลลำไยมาสกัดหาสารต้านเชื้อราทุก 2 วัน จนถึงวันที่เก็บรักษาวันที่ 12

3.1 การสกัดสารต้านเชื้อราจากเปลือกลำไย

นำผลลำไยมาทำการสกัดสารจากเปลือก โดยแกะเอาเฉพาะส่วนเปลือก ชั่งเปลือกหนัก 400 กรัม ต่อตัวทำละลาย 1200 มิลลิลิตร ตัวทำละลายคือ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ แช่ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วกรองเอาสารละลายออกจากกากเปลือก ระเหยเอาตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำด้วยเครื่อง rotary evaporator จนแห้งเพื่อให้ได้สารสกัดหยาบ (crude extract) ของเปลือกลำไย นำไปทดสอบการต้านเชื้อต่อไป (สุภัค, 2542)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2 การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านเชื้อราของสารสกัดจากเปลือกลำไย

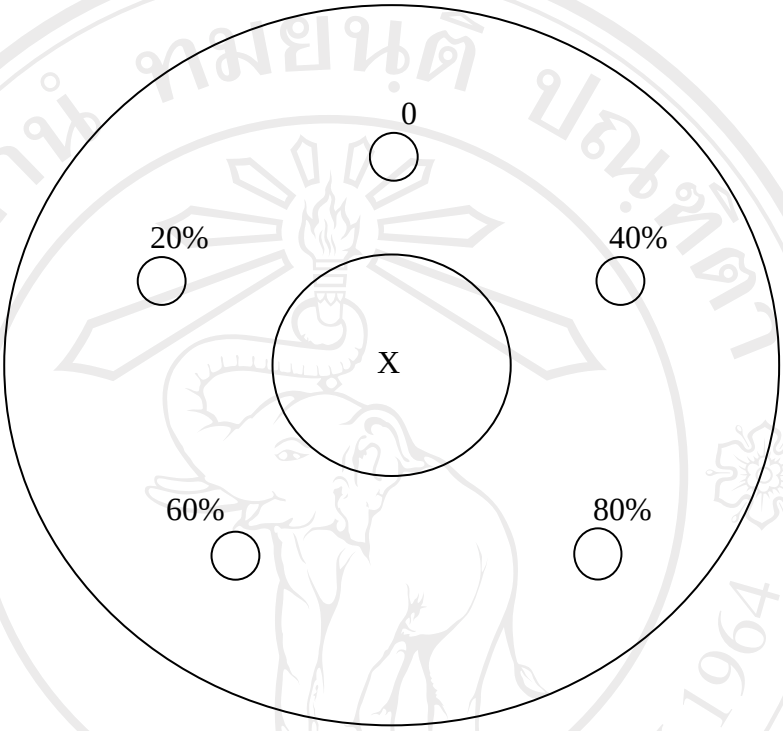
1. เจือจางสารสกัดหยาบ (crude extract) ของเปลือกลำไย ด้วยน้ำให้ได้ความเข้มข้น 20, 40, 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ
2. หยดสารสกัดลงบนกระดาษกรอง (Whatman NO. 1) ที่ตัดเป็นรูปวงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร รอจนแห้ง แล้วหยดซ้ำอีกครั้ง
3. นำกระดาษกรองที่หยดสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ มาวางรอบโคโลนีเชื้อ *Lasiodiplodia* sp. ที่อายุ 1 วัน (ภาพ 3.3)
4. บันทึกการเจริญของเชื้อและบริเวณเกิดการยับยั้ง (clear zone) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) กำหนดให้ 1 ชุดการทดลอง มีจำนวน 5 ซ้ำ ใช้น้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม

<u>การทดลองที่ 4</u> ศึกษาสารเคลือบผิวไคโตซานพอลิเมอร์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านประสาทสัมผัสและการเก็บรักษาของลำไยหลังการเก็บเกี่ยว

วิธีการทดลอง

นำผลลำไยที่ผ่านการเคลือบผิวด้วยไคโตซาน ความเข้มข้น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ผึ่งให้แห้ง หลังจากนั้นจัดเรียงบนถาดโฟม ถาดละ 10 ผล หุ้มถาดโฟมที่บรรจุผลลำไยแล้วด้วยฟิล์มพลาสติก polyvinyl chloride (PVC) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส กำหนดให้ 1 ชุดการทดลอง มีจำนวน 4 ซ้ำ บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงทุก 3 วัน จนกระทั่งผลลำไยมีการเกิดโรค 25 เปอร์เซ็นต์หรือมีคะแนนการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสอยู่ในระดับที่ไม่สามารถยอมรับได้ (คะแนน scoring น้อยกว่า 3)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 3.3 การวางกระดาษกรอง (paper disc) ที่ผ่านการหยดสารสกัดจากเปลือกลำไยที่ 20, 40, 60, 80% และชุดควบคุมรอบโคโลนีเชื้อ *Lasiodiplodia* sp. ที่อายุ 1 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การบันทึกผลการทดสอบไคโตซานพอลิเมอร์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านประสาทสัมผัสและการเก็บรักษาของลำไยหลังการเก็บเกี่ยว (ปิยจิตรา, 2545)

1. เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

พิจารณาจากการปรากฏของเส้นใยเชื้อราที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าบริเวณขั้วผลและ/หรือ เปลือกผล นำไปคำนวณการเกิดโรคจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = \frac{\text{จำนวนผลที่เกิดโรค x 100}}{\text{จำนวนผลทั้งหมด}}$$

2. เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก

ชั่งน้ำหนักผลลำไยครั้งละ 10 ผล โดยเครื่องชั่งแบบละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่งและนำมาคำนวณการสูญเสียน้ำหนักจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{(\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนัก ณ วันที่ทำการวัด}) \text{ x 100}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}}$$

3. การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกนอก

ทำการตรวจวัดบริเวณแก้มผลทั้ง 2 ด้าน โดยใช้เครื่อง Choromameter บันทึกค่าในระบบ CILAB (L*, a*, b*) โดยแต่ละค่ามีคำอธิบายดังต่อไปนี้

ค่า L* (The lightness factor value) แสดงความสว่างเมื่อมีค่าเข้าใกล้ 100 และแสดงความมืดเมื่อมีค่าเข้าใกล้ 0

ค่า a* ที่เป็นบวกแสดงว่าผลิตผลมีสีออกแดง ค่า a* ที่เป็นลบแสดงว่าผลิตผลมีสีเขียว

ค่า b* ที่เป็นบวกแสดงว่าผลิตผลมีสีออกเหลือง ค่า b* ที่เป็นลบแสดงว่าผลิตผลมีสีออกน้ำเงิน

คำนวณหาค่า chroma ซึ่งเป็นค่าที่แสดงให้เห็นถึงความอิ่มตัวของสีจากสมการดังนี้ (McGuire, 1992)

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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ถ้ามีค่าใกล้ศูนย์แสดงว่าวัตถุมีสีซีดจาง (เทา) มีค่าสูงเข้าใกล้ 60 แสดงว่าวัตถุมีสีเข้ม และคำนวณหาค่า hue angle (h°) ที่เป็นค่าแสดงถึงมุมในการตกกระทบของค่า a* ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 องศาจากสมการดังนี้ (McGuire, 1992)

THETA = (arctangent (b*a*) / 6.2832 x 360

ถ้า a >0 และ b >0 ; ค่า h° = THETA

ถ้า a <0 และ b >0 ; ค่า h° = 180+ THETA

ถ้า a <0 และ b <0 ; ค่า h° = 180+ THETA

ถ้า a >0 และ b <0 ; ค่า h° = 360+ THETA

ค่า h° เป็นค่าที่แสดงช่วงสีของวัตถุ คือ

0-45	องศาแสดงสีม่วงแดงถึงสีส้มแดง	180-225	องศาแสดงสีเขียวถึงสีน้ำเงินเขียว
45-90	องศาแสดงสีส้มแดงถึงสีเหลือง	225-270	องศาสีน้ำเงินเขียวถึงน้ำเงิน
90-135	องศาแสดงสีเหลืองถึงเหลืองเขียว	270-315	องศาแสดงสีน้ำเงินถึงม่วง
135-180	องศาแสดงสีเหลืองเขียวถึงเขียว	315-360	องศาแสดงสีม่วงถึงม่วงแดง

หากไม่มี chroma meter อาจใช้วิธีการเทียบสีกับแผ่นเทียบสีแทน (ภาพ 3.4)

4. การประเมินคุณภาพด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 5 คน ซึ่งเป็นชุดเดียวกันตลอดการชิมทุกครั้ง ทำการประเมินโดยให้คะแนนการชิมแบบ scoring test ของสีเปลือกด้านนอก สีเปลือกด้านใน รสชาติ กลิ่นและคุณภาพโดยรวม จะมีระดับการให้คะแนนดังนี้

1= ไม่ชอบมากที่สุด

2= ไม่ชอบปานกลาง

3= เฉยๆ

4= ชอบปานกลาง

5= ชอบมากที่สุด

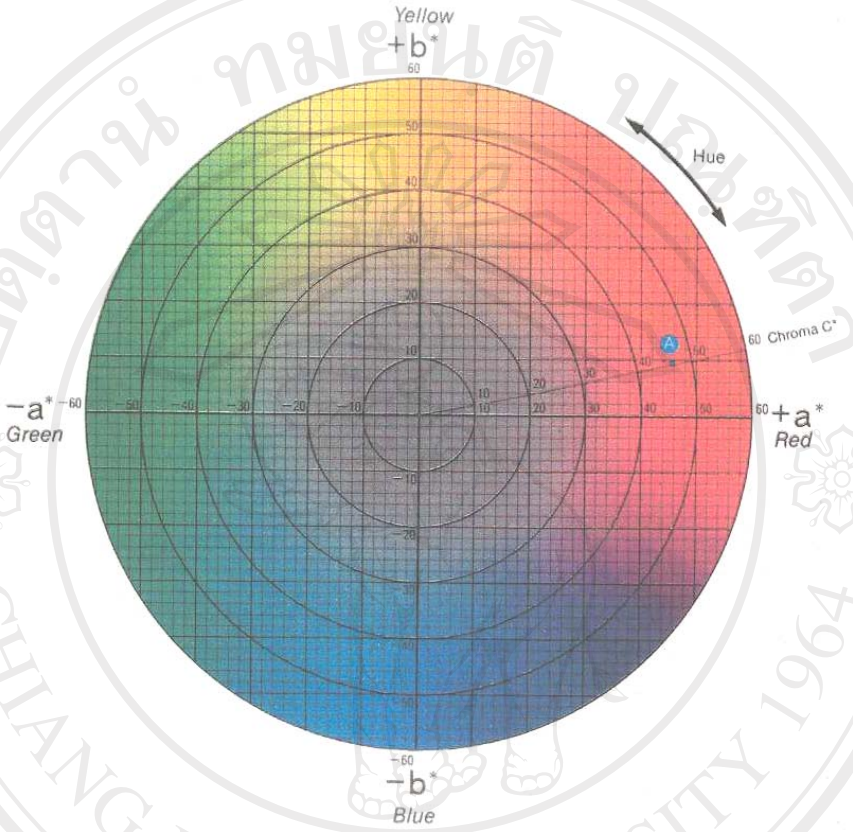
5. อายุการเก็บรักษา

ใช้เกณฑ์พิจารณาอายุในการเก็บรักษาดังนี้

- เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ต้องมีค่าน้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์

- การประเมินคุณภาพการบริโภค โดยคะแนนการประเมินแบบ scoring ในทุกด้านต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 3.4 แผ่นเทียบสีของ Minolta (CR-200)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

<u>การทดลองที่ 5</u> การทดสอบฉีดพ่นไคโตซานโอลิโกเมอร์ต่อเชื้อ *Lasiodiplodia* sp. ในลำไยพันธุ์ดอก่อนการเก็บเกี่ยว

5.1 ทดสอบหาความเข้มข้นของไคโตซานโอลิโกเมอร์ที่เหมาะสมในการฉีดพ่นเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Lasiodiplodia* sp. ในสภาพ *in vitro*

ทดสอบความเข้มข้น ความเข้มข้น 0.05, 0.25, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยใช้วิธีการการทดลองเช่นเดียวกันกับการทดลองที่ 1

วิธีฉีดพ่นไคโตซานโอลิโกเมอร์

จากผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในการทดลองที่ 1 นำผลการทดลองที่ดีที่สุด มาทำการฉีดพ่นลำไยก่อนการเก็บเกี่ยว ที่สวนลำไย ต.บ้านกาด อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่ โดยใช้สารละลายไคโตซานโอลิโกเมอร์ ความเข้มข้น 0.5 และ1 เปอร์เซ็นต์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Comletetely Randomized Design: CRD) มี 4 วิธีการทดลอง ๆ ละ 2 ต้น

วิธีการทดลองที่ 1: ฉีดพ่นสารละลายไคโตซาน 1 เปอร์เซ็นต์

วิธีการทดลองที่ 2: ฉีดพ่นสารละลายไคโตซาน 0.5 เปอร์เซ็นต์

วิธีการทดลองที่ 3: control (ฉีดพ่นด้วยตัวทำละลาย)

วิธีการทดลองที่ 4: control (ไม่ทำการใด ๆ)

ฉีดพ่นสารละลายในช่วงระยะก่อนเก็บเกี่ยว 8 วัน โดยใช้เครื่องพ่น แบ่งพ่นสารละลายวิธีการละครึ่งต้น ปริมาตร 10 ลิตร ทำการสุ่มเก็บผลลำไยเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเอนไซม์ไคติเนส ครั้งละ 10 ผล และสุ่มเก็บผลเพื่อไปสกัดสารต้านเชื้อราครั้งละ 3 กิโลกรัม ทุก 2 วัน จนถึงระยะเก็บเกี่ยว (วันที่ 8 หลังการฉีดพ่น) ทำการบันทึกผล เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและอายุการเก็บรักษาของผลลำไยหลังการฉีดพ่น ในวันที่ 8

5.2 การทดสอบผลของการฉีดพ่นไคโตซานโอลิโกเมอร์ ต่อกิจกรรมเอนไซม์ไคติเนสในลำไยพันธุ์ดอ

สุ่มผลลำไยบนต้นที่ผ่านการฉีดพ่นไคโตซานโอลิโกเมอร์ จำนวน 10 ผล ทุก 2 วัน นำมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส โดยทดสอบด้วยวิธีการเดียวกันกับการทดลองที่ 2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. 3 การทดสอบผลของการฉีดพ่นไคโตซานโอลิโกเมอร์ ต่อการสร้างสารต้านเชื้อราในลำไยพันธุ์ดอ

สุ่มผลลำไยบนต้นที่ผ่านการฉีดพ่นไคโตซานโอลิโกเมอร์ จำนวน 3 กิโลกรัม ทุก 2 วัน นำมาตรวจสอบว่ามีการสร้างสารต้านเชื้อราหรือไม่ โดยทดสอบด้วยวิธีการเดียวกันกับการทดลองที่ 3

5.4 ศึกษาผลของการฉีดพ่นไคโตซานโอลิโกเมอร์ต่ออายุการเก็บรักษาของลำไยหลังการเก็บเกี่ยว

เก็บผลลำไยที่ผ่านการฉีดพ่นในวันที่ 8 (ระยะเก็บเกี่ยว) ด้วยวิธีการต่าง ๆ วิธีการละ 4 ซ้ำๆ ละ 10 ผล จัดเรียงบนถาดโฟม หุ้มถาดโฟมที่บรรจุผลลำไยแล้วด้วยฟิล์มพลาสติก polyvinyl chloride (PVC) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส กำหนดให้ 1 ชุดการทดลองมีจำนวน 4 ซ้ำ บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงทุก 3 วัน จนกระทั่งผลลำไยมีการเกิดโรค 25 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกันกับการทดลองที่ 4

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved