

ภาคผนวก ก
วิธีการวิเคราะห์ผลการทดลอง

ก.1 กิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase (POD) (ดัดแปลงจาก Wang, 1982)

นำส่วนกลางของผลพริกที่เอาเมล็ดออกแล้วจำนวน 2 กรัม ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ บดในสารละลาย phosphate buffer (pH 6.1 ที่เย็น) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จำนวน 12 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เติมสาร polyvinyl pyrrolidone 90 มิลลิกรัม และ sodium ascorbate 30 มิลลิกรัม แล้วบดต่อไปอีก หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12000xg ด้วยเครื่องเซนตริฟิวส์หือ Sorvall® รุ่น RC5C plus ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายใสส่วนบน (supernatant) ที่ได้มาหากิจกรรมเอนไซม์ POD และปริมาณโปรตีนโดยแต่ละทริตเมนต์ที่มีจำนวนตัวอย่างพริก 5 ซ้ำ

การวัดกิจกรรมของเอนไซม์ POD

ดูดสารละลาย guaiacol ความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์ จำนวน 2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลาร์ จำนวน 2 มิลลิลิตร แล้วเติม supernatant ที่ได้ 0.8 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ยี่ห้อ Shimadza® รุ่น UV-1700 ที่ช่วงความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร ส่วน blank เตรียมโดยใช้สารละลายที่มีส่วนผสมของ phosphate buffer (pH 6.1) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร hydrogen peroxide ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และสารละลาย guaiacol ความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่ได้มาคำนวณเป็นค่ากิจกรรมของเอนไซม์ POD มีหน่วย $OD_{420}/1$ นาที/มิลลิกรัม โปรตีน

การหาปริมาณโปรตีน (Bradford, 1976)

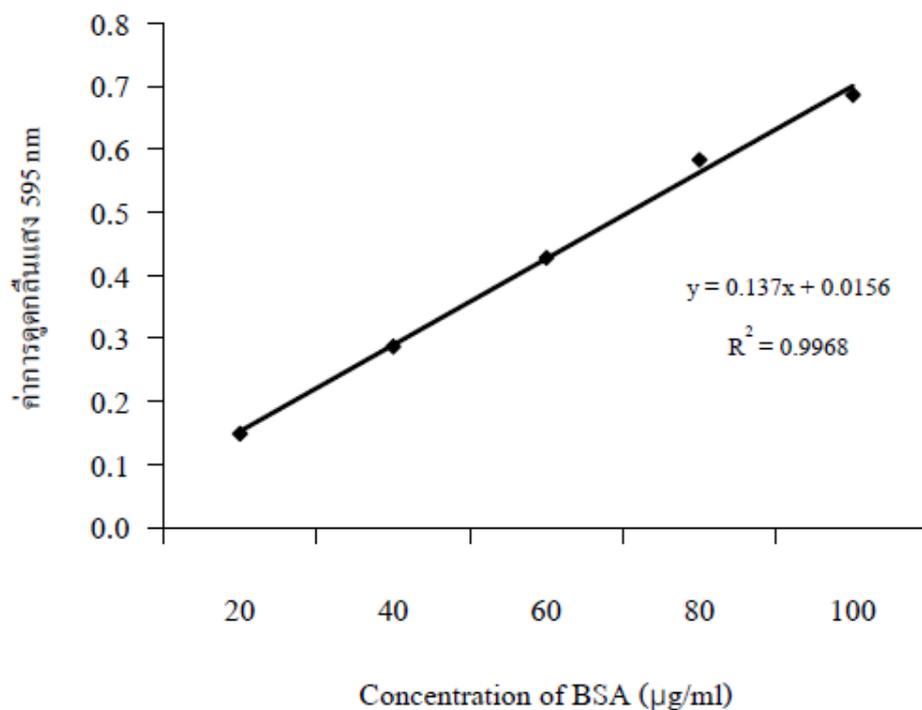
ดูดสารละลาย supernatant ที่ได้จากข้างต้น 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย coomassie blue จำนวน 4 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 4 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร นำค่าที่อ่านได้เทียบกับกราฟโปรตีนมาตรฐาน BSA เพื่อหาปริมาณโปรตีนในสารละลายตัวอย่าง

การเตรียมสารละลาย coomassie blue

ชั่ง coomassie blue จำนวน 100 มิลลิกรัม ละลายในสารละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 50 มิลลิลิตร จนกระทั่ง coomassie blue ละลายหมดแล้วจึงเติม phosphoric acid ความเข้มข้นร้อยละ 85 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 2 สารละลายที่กรองแล้วจะเก็บในขวดสีชา

การเตรียมโปรตีนมาตรฐาน

ชั่งโปรตีนมาตรฐาน BSA (Bovine Serum Albumin, Sigma Co. Ltd.) จำนวน 2.5 มิลลิกรัม ละลายในสารละลาย phosphate buffer (pH 6.1) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิตร จะได้สารละลายโปรตีนความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร แล้วนำสารละลายโปรตีนที่ได้มาเจือจางด้วย phosphate buffer จนได้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 20, 40, 60, 80 และ 100 µg/ml จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร นำมาสร้างกราฟมาตรฐานและหาค่า slope ของกราฟเพื่อนำมาใช้ในการคำนวณต่อไป (รูปที่ ก.1)



รูปที่ ก. 1 กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ BSA กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

ก.2 กิจกรรมของเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase ของผลพริก (PAL) (Camm และ Tower, 1973)

การเตรียม acetone powder จากตัวอย่างผลพริกซึ่งตัวอย่างผลพริกปริมาณ 10 กรัม แล้วใส่ acetone ร้อยละ 95 (acetone ร้อยละ 95 ที่ใช้ต้องนำไปแช่ไว้ใน deep freezer นานประมาณ 1 วัน) ลงไปให้ท่วม ทำการปั่นให้ละเอียดด้วย homogenizer นาน ประมาณ 5 นาที แล้วนำมากรอง

ด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 โดยใช้ vacuum pump ที่แรงดูดประมาณ 10 – 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว ขณะที่กรองให้คนเบาๆ ตลอดเวลา และเติม acetone ที่ผ่านการแช่ใน deep freezer ลงไปด้วย นำกากของผลพริกที่ได้จากการกรองมาผสมด้วย ethanol ร้อยละ 95 ให้ท่วมและปั่นด้วย homogenizer ให้ละเอียดอีกครั้งแล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 2 โดยใช้ vacuum pump นำส่วนของกากที่ได้ปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วจึงนำไปบดด้วยโกร่ง ซึ่งจะได้เป็น acetone powder ของผลพริก นำ acetone powder ที่ได้ไปใส่ไว้ใน aluminium foil แล้วนำไปเก็บไว้ใน dessicator เพื่อเตรียมนำไปวิเคราะห์ต่อไป

การวัดกิจกรรมเอนไซม์ PAL

ชั่ง acetone powder มา 500 มิลลิกรัม เติม sodium borate buffer ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ pH 8.8 ที่เย็นลงไป 50 มิลลิลิตร ทำการปั่นเบาๆ ด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส นานประมาณ 30 นาที นำตัวอย่างสารแขวนลอยมาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยแรงเหวี่ยง 14000xg นาน 25 นาที จากนั้นจึงค่อยๆ รินส่วนใสที่ได้ (ส่วนของเอนไซม์ที่สกัดได้) นำไปวิเคราะห์เพื่อหากิจกรรมของเอนไซม์ PAL ต่อไปทันที โดยทำการแบ่งออกเป็น 2 หลอดทดลอง หลอดที่ 1 (blank) เติม sodium borate buffer ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ pH 8.8 จำนวน 1.5 มิลลิลิตร สารละลายที่สกัดได้ปริมาณ 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร หลอดที่ 2 เติม sodium borate buffer ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ pH 8.8 จำนวน 1.5 มิลลิลิตร สารละลายที่สกัดได้ 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร และฟีนอลอะลานิน (10 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 มิลลิลิตร) จำนวน 1 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่าส่วนผสมในแต่ละหลอดทดลองด้วยเครื่องเขย่าแล้วนำไปบ่มในน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นหยุดปฏิกิริยาโดยการเติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 5 นอร์มัล ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตรต่อหลอด จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 290 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จะแสดงออกมาในรูปอัตราปฏิกิริยาของเอนไซม์ PAL เมื่อเปรียบเทียบกับ blank โดย 1 หน่วยปฏิกิริยา คือ ปริมาณของเอนไซม์ PAL ที่ทำให้เกิด cinnamic acid 1 โมล ในเวลา 1 ชั่วโมง

วิธีการเตรียม Sodium borate buffer pH 8.8

1. เตรียม boric acid ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (สารละลาย A) โดยชั่ง boric acid จำนวน 12.4 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วค่อยๆ คนจนสารละลายหมด ทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร โดยใช้ volumetric flask
2. เตรียม sodium borate ชนิด dibasic ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (สารละลาย B) โดยชั่ง sodium borate จำนวน 36.28 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วค่อยๆ คนจนสารละลายหมด ทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ให้ครบ 1 ลิตร โดยใช้ volumetric flask
3. นำสารละลาย A ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมกับ สารละลาย B ปริมาตร 30 มิลลิลิตร จะได้ sodium borate buffer pH 8.8 หรือทำการปรับ pH ด้วย NaOH หรือ HCl แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ก.3 กิจกรรมของเอนไซม์ β -1,3-glucanase (Salles และคณะ, 2002)

การเตรียมสารเคมี

1. Somogyi's reagent

Somogyi I: ละลายโซเดียมซัลเฟต 288 กรัม ในน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มให้เดือดแล้วปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เติมโปแตสเซียมโซเดียมทาร์เตรต 24 กรัม Na_2CO_3 48 กรัม และ NaHCO_3 32 กรัม ลงไป เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มแล้ว ปรับปริมาตรเป็น 1,600 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา

Somogyi II: ละลายโซเดียมซัลเฟต 72 กรัม ในน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มให้เดือดแล้วปริมาตร 300 มิลลิลิตร เติมคอร์เปอร์ซัลเฟต 8 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 400 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มให้เดือดแล้ว เก็บไว้ในขวดสีชา

ก่อนใช้ผสม Somogyi I และ Somogyi II ในอัตราส่วน 4:1 โดยปริมาตร

2. Nelson's reagent

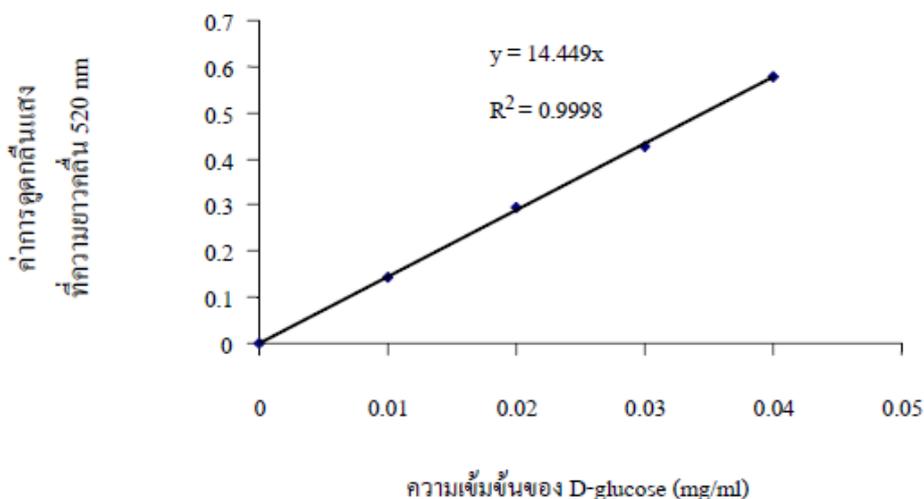
แอมโมเนียมโมลิบเดต 100 กรัม ในน้ำกลั่น 1,800 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc. sulfuric acid) ปริมาตร 84 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมสารละลายของโซเดียมไฮโดรเจนอาซิเนท 12 กรัม ที่ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ลงไป เก็บสารละลายนี้ไว้ในขวดสีชาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3. สารละลาย Laminarin

สารละลาย Laminarin ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยละลาย Laminarin (Sigma) 0.075 กรัม ในน้ำกลั่นจำนวน 30 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น โดยใช้ volumetric flask

การวิเคราะห์เอนไซม์ β -1,3-glucanase

นำสารตัวอย่าง (crude protein) 0.3 มิลลิลิตร ในหลอดแก้ว เดิมสารละลาย Laminarin 1.2 มิลลิลิตร นำหลอดแก้วบ่มในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์เป็นเวลา 20 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยนำไปต้มในน้ำเดือด 5 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2,000xg นาน 5 นาที นำสารละลายส่วนใส (ส่วนบน) มาหากิจกรรมของเอนไซม์ β -1,3-glucanase โดยนำสารละลายส่วนใสจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแก้ว เดิมสารละลาย Somogyi's reagent 1 มิลลิลิตร นำหลอดแก้วไปต้มในน้ำเดือด 20 นาที ทำให้เย็นโดยแช่ในน้ำเย็นอุณหภูมิ 10-15 องศาเซลเซียส เดิมสารละลาย Nelson's reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที เติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้ ในสารละลายตัวอย่างกับกราฟมาตรฐาน โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นสารละลายมาตรฐาน (รูปที่ ก.2) เพื่อหาปริมาณของเอนไซม์ β -1,3-glucanase 1 หน่วยของกิจกรรมเอนไซม์ คือ ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถทำให้เกิดน้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครกรัม ใน 1 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส



รูปที่ ก. 2 กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาล D-glucose กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

ก.4 กิจกรรมของเอนไซม์ Chitinase (Gupta และคณะ, 1995)

นำส่วนกลางของผลพริกที่เอาเมล็ดออกแล้วจำนวน 1 กรัม บดในสารละลาย acetate buffer (pH 5.2) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ จำนวน 5 มิลลิลิตร ผสมกับ mercaptoethanol 15 มิลลิโมลาร์ จำนวน 3 มิลลิลิตร แล้วบดต่อไปอีก หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 16,000xg ด้วยเครื่องเซนตริฟิวส์ยี่ห้อ Sorvall® รุ่น RC5C plus ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำสารละลายใสส่วนบน (supernatant) ที่ได้มาหากิจกรรมเอนไซม์ไคตินเนสต่อไป

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลาย acetate buffer (pH 5.2) โดยเตรียมสารละลายกรดอะซิติก 0.2 โมลาร์ จำนวน 210 มิลลิลิตร (สารละลาย A) ผสมกับสารละลาย sodium acetate ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ จำนวน 790 มิลลิลิตร (สารละลาย B) ปรับปริมาตรของสารละลายให้ได้ 2,000 มิลลิลิตรและปรับ pH ของสารละลายให้ได้ 5.2 จากนั้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง
2. สารละลาย DNS (dinitrosalicylic acid) เตรียมโดยละลาย sodium hydroxide จำนวน 1.6 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติม 3,5-dinitrosalicylic acid จำนวน 0.9 กรัม คนให้ละลาย แล้วจึงเติม potassium sodium tartate จำนวน 28.22 กรัม คนให้ละลาย ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง
3. สารละลาย citrate buffer (pH 6.0) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยใช้สารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จำนวน 95 มิลลิลิตร (สารละลาย A) และ dibasic sodium phosphate ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จำนวน 415 มิลลิลิตร (สารละลาย B) ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร (ใช้น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ) และปรับ pH ของสารละลายให้ได้ 6.0 ด้วยสารละลาย sodium hydroxide ความเข้มข้น 10 โมลาร์ จากนั้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

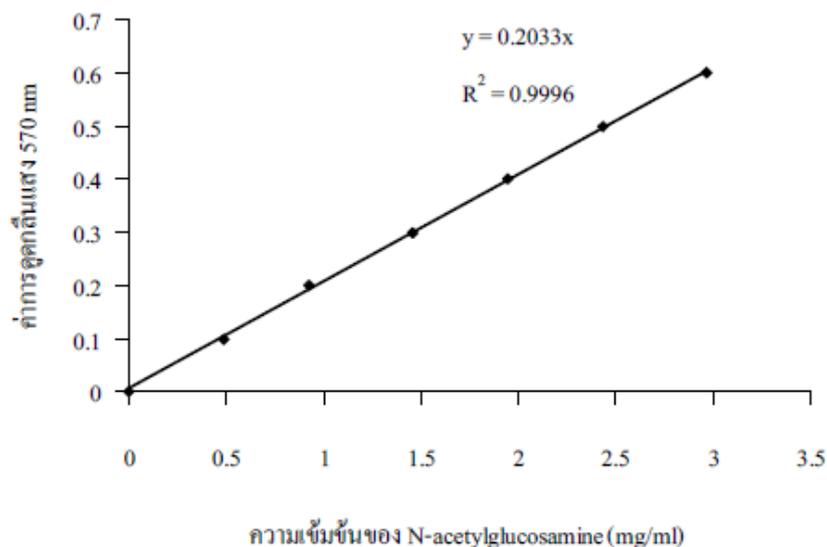
ขั้นตอนการวิเคราะห์เอนไซม์ไคตินเนส

เนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ที่ทำกรวิเคราะห์จะอยู่ในรูปของน้ำตาล ดังนั้นในพริกหรือผลิตภัณฑ์ซึ่งปรกติจะมีน้ำตาลอยู่แล้ว จึงต้องทำการวัดปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นเพื่อที่จะได้นำค่าที่ได้ลบออกจากกรณีสารตัวอย่าง จึงแบ่งวิธีการทดลองได้ดังต่อไปนี้

กรณีสารตัวอย่าง

1. ชั่ง colloidal chitin 0.2 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง
2. เติม citrate buffer ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (pH 6.0) ปริมาณ 2 มิลลิลิตร

3. เติมตัวอย่าง (crude protein) ที่มีความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสม 1 มิลลิลิตร
4. บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที
5. ปิเปตส่วนไฮมา 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองใหม่ซ้ำละ 2 หลอด
6. เติมสารละลาย DNS 0.5 มิลลิลิตร
7. หลอดแรกนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที (หาปริมาณน้ำตาลเมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา) ส่วนหลอดที่สองไม่ต้มในน้ำเดือด (หาปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น)
8. หยุดปฏิกิริยาของทั้งสองหลอดพร้อมกันโดยการแช่ในน้ำแข็ง
9. เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร
10. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร อ่านค่าความเข้มข้นของปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายเทียบจากกราฟมาตรฐาน N-acetylglucosamine ความเข้มข้น 0 – 3 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 3.2)
11. คำนวณหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) ตามสูตรที่แสดงไว้ด้านล่าง นำค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสของน้ำตาลเริ่มต้น (ตัวอย่างที่ไม่ต้มในน้ำเดือด) ลบด้วยค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสเมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา (ตัวอย่างที่ต้มในน้ำเดือด) จะได้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสที่แท้จริง



รูปที่ ก. 3 กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ N-acetylglucosamine กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

กรณี blank

1. ชั่ง colloidal chitin 0.2 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง
2. เติม citrate buffer (pH 6.0) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จำนวน 2 มิลลิลิตร
3. เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร
4. บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที
5. ปิเปตส่วนใสม่า 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองใหม่สองหลอด
6. เติมสารละลาย DNS 0.5 มิลลิลิตร และทำการทดลองเช่นเดียวกับในกรณีสารตัวอย่างตามขั้นตอนที่ 7-11

วิธีคำนวณ

ค่ากิจกรรมของไคตินเนส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) = $A \times \frac{1}{B} \times C \times \frac{1}{D} \times \frac{1}{E} \times \text{dilution factor}$

A = ปริมาณ N-acetylglucosamine (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร); ($OD_{570} \times 1/\text{slope} \times 1000$)

B = มวลโมเลกุลของ N-acetylglucosamine (MW = 221.2)

C = ปริมาณของสารละลายทั้งหมดที่ทำปฏิกิริยา (มิลลิลิตร); (3 มิลลิลิตร)

D = เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (นาที); (60 นาที)

E = ปริมาตรสารตัวอย่าง (มิลลิลิตร); (1 มิลลิลิตร)

dilution factor = ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสม(สารละลายตัวอย่าง) ในการตรวจวัดกิจกรรม

slope = 0.1993 (slope ได้จากสมการกราฟในรูปที่ 3.2 โดย $y = 0.1993x - 0.0032$)

ก.5 อัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีน (Gemma และคณะ, 1994)

การวัดอัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีน ทำโดยนำพริกจำนวน 5 ผล มาชั่งน้ำหนัก และบรรจุในขวดแก้วที่ปิดสนิท ซึ่งมีปริมาตร 50 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นสูบลมตัวอย่างก๊าซภายในขวดแก้วด้วยกระบอกฉีดยาที่เป็นสูญญากาศปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatograph ยี่ห้อ Shimadzu[®] รุ่น GC 8A สำหรับวิเคราะห์ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ใช้ column ชนิด porapak Q (Mesh 80/100) และรุ่น GC 14B สำหรับวิเคราะห์ก๊าซเอทิลีน ใช้ column ชนิด porapak Q (Mesh 60/80) โดยใช้สภาพของการวัดดังนี้

สภาพการวัดอัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีนด้วยเครื่อง gas chromatograph ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น GC 8A

สภาพของการวัด	CO ₂	C ₂ H ₄
column	Porapak Q (Mesh 80/100)	Porapak Q (Mesh 60/80)
column temperature	50°C	80°C
inject temperature	120°C	120°C
detector	TCD ¹	FID ²
carrier gas	He	N ₂

¹TCD = Thermal Conductivity Detector

²FID = Flame Ionization Detector

นำค่าที่ได้ไปคำนวณอัตราการผลิตเอทิลีน หน่วยเป็นไมโครลิตรเอทิลีนต่อกิโลกรัมต่อชั่วโมง (µl C₂H₄/kg.hr)

$$\text{อัตราการผลิตเอทิลีน} = \frac{\text{ความเข้มข้นของก๊าซเอทิลีนที่ได้} \times (\text{ปริมาตรภาชนะ (ml)} - \text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)})}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)} \times \text{เวลาในการจับเวลา}}$$