นบริหารและธุรการ คณะวิทยาศาสตร์
ที่ 1111
วันที่ 19 มิ.ย. 2561
เวลา 11.00 น.

บันทึกข้อความ

ส่วนงาน คณะวิทยาศาสตร์ หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี โทร. 3850 - 2

ที่ ศธ 0523.4.3/319 **วันที่** 18 มิถุนายน 2561

เรื่อง ขออนุญาตเข้าร่วมการประชุมวิชาการนานาชาติและนำเสนอผลงานทางวิชาการ

เรียน คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

ตามหนังสือ ที่ ศธ 0535.07/ว 077 ลงวันที่ 21 กุมภาพันธ์ 2561 คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ จะจัดโครงการประชุมวิชาการนานาชาติทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี Uttaradit Rajabhat University International Conference on Science and Technology 2018 (URUICST 2018) "Innovative Science and Technology toward Sustainable Community Development" ระหว่างวันที่ 2 - 3 สิงหาคม 2561 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ จังหวัดอุตรดิตถ์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเปิดโอกาสให้นักวิชาการ นักวิจัย อาจารย์ นักศึกษาได้เผยแพร่ผลงานวิจัย แลกเปลี่ยนความรู้และสร้างเครือข่ายทางวิชาการด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีร่วมกัน นั้น

ในการนี้ ข้าพเจ้า นางอัจฉรา แกล้วกล้า ตำแหน่ง อาจารย์ สังกัด คณะวิทยาศาสตร์ พิจารณาแล้วเห็นว่าการประชุมวิชาการนานาชาติฯ ครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการเรียนการสอนและการทำงานวิจัย จึงใคร่ขออนุญาตเข้าร่วมการประชุมวิชาการนานาชาติ International Conference on Science and Technology 2018 "Innovative Science and Technology toward Sustainable Community Development และนำเสนอผลงานทางวิชาการในรูปแบบโปสเตอร์ เรื่อง "The Protein Extraction from Longan Pulp (*Dimocarpus longan* Lour. var. Daw) for Proteomic Analysis using One-Dimensional Electrophoresis" ระหว่างวันที่ 2 - 3 สิงหาคม 2561 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ จังหวัดอุตรดิตถ์

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณาอนุญาต

อัจฉรา แกล้วกล้า

(นางอัจฉรา แกล้วกล้า)

อาจารย์

เรียน คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

– เพื่อโปรดทราบและพิจารณาอนุญาตให้ นางอัจฉรา แกล้วกล้า เข้าร่วมประชุมวิชาการนานาชาติฯ ระหว่างวันที่ ๒ – ๓ สิงหาคม ๒๕๖๑ ณ จังหวัดอุตรดิตถ์

– ทั้งนี้หากคณบดีพิจารณาอนุญาตแล้ว เห็นควรแจ้งต้นสังกัดของผู้ขออนุญาตเพื่อทราบ/งานบริหารและธุรการ (นางสาวอิรญา อินทนนท์/นางสาวลภาวรรณ วรพันธุ์) เพื่อทราบและดำเนินการ ในส่วนที่เกี่ยวข้องต่อไป

– เห็นควรแจ้งผู้ขออนุญาตเพื่อทราบและดำเนินการในส่วนที่เกี่ยวข้อง ทั้งนี้เมื่อกลับจากการไปราชการแล้ว ขอให้ดำเนินการจัดส่งเอกสารตามเงื่อนไขการใช้งบประมาณฯ ตามกรณีที่ขอด้วย

หมายเหตุ

๑. นางอัจฉรา แกล้วกล้า

- ใช้งบพัฒนาบุคลากรฯ ปี ๒๕๖๑ มาแล้ว ๒ ครั้ง (ครั้งที่ ๑= กรณีที่ ๒ /ครั้งที่ ๒= กรณีที่ ๑)
- ขอใช้งบพัฒนาบุคลากรฯ ประจำปี ๖๑ ครั้งนี้ ในกรณีที่ ๓

(นางสาวอาษิรญา อินทนนท์)
หัวหน้างานบริหารและธุรการ
๑๙ มิถุนายน ๒๕๖๑

แบบฟอร์มแจ้งความประสงค์การใช้งบประมาณสำหรับการพัฒนาบุคลากรคณะวิทยาศาสตร์

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561

****

ข้าพเจ้า นางอัจฉรา แกล้วกล้า ตำแหน่ง อาจารย์ สังกัด คณะวิทยาศาสตร์ ได้ขออนุญาตเข้าร่วม นำเสนอผลงานและเข้าร่วมประชุมวิชาการนานาชาติ (URUICST 2018) "Innovative Science and Technology toward Sustainable Community Development" ตามหนังสือขออนุญาต ศธ.0523.4. 3 /319 ลงวันที่ 18 สิงหาคม 2561 โดยข้าพเจ้ามีความประสงค์จะขอใช้งบประมาณพัฒนาบุคลากรของคณะวิทยาศาสตร์เพื่อไปพัฒนาตนเอง ดังนี้

☐ กรณีที่ 1 ใช้งบประมาณไม่เกิน ๖,๐๐๐ บาท สำหรับการเข้าร่วมอบรม สัมมนา หรือประชุมวิชาการทั่วไปที่เกี่ยวกับการพัฒนาวิชาชีพของตนเองฯ (ไม่ต้องรายงาน)

☐ กรณีที่ 2 ใช้งบประมาณไม่เกิน 8,000 บาท สำหรับการเข้าร่วมอบรม ฝึกอบรม สัมมนา หรือประชุมวิชาการทั่วไปที่เกี่ยวกับการพัฒนาวิชาชีพของตนเอง ต้องส่งรายงานสรุปเนื้อหาและการนำไปใช้ประโยชน์ อย่างน้อย 1 หน้ากระดาษ A4 (เนื้อหาสรุปไม่น้อยกว่า 25 บรรทัด)

☑ กรณีที่ 3 สำหรับการเข้าร่วมนำเสนอผลงานวิชาการในรูปแบบโปสเตอร์ หรือปากเปล่า โดยต้องเป็นผู้เขียนชื่อแรก (First author) หรือต้องเป็นผู้เขียนหลัก (Corresponding author) ซึ่งได้รับการตอบรับเป็นที่เรียบร้อยแล้ว

- คนละไม่เกิน 15,000 บาท (สำหรับสายวิชาการ)
- คนละไม่เกิน 10,000 บาท (สำหรับสายสนับสนุนวิชาการ)

โดยต้องจัดส่งเอกสาร ดังนี้ สำเนาบทคัดย่อ หรือโปสเตอร์(ย่อขนาด A4) หรือบทความฯ ฉบับเต็ม และต้องทำรายงานสรุปเนื้อหาและการนำไปใช้ประโยชน์ของการเข้าอบรม อย่างน้อย 1 หน้ากระดาษ A4 (เนื้อหาสรุปไม่น้อยกว่า 25 บรรทัด)

☐ กรณีที่ 4 สำหรับการเข้าร่วมอบรมเชิงปฏิบัติการเพื่อเพิ่มสมรรถนะในสายวิชาชีพที่เชี่ยวชาญตามตำแหน่งงานของตนเอง

- คนละไม่เกิน 15,000 บาท (สำหรับสายวิชาการ)
- คนละไม่เกิน 10,000 บาท (สำหรับสายสนับสนุนวิชาการ)

โดยต้องจัดส่งเอกสาร ดังนี้ สำเนาใบรับรองหรือหนังสือรับรองหรือใบประกาศนียบัตรหรือวุฒิบัตร จากการเข้าอบรมเชิงปฏิบัติการ และรายงานสรุปเนื้อหาและการนำไปใช้ประโยชน์ อย่างน้อย 1 หน้ากระดาษ A4 (เนื้อหาสรุปไม่น้อยกว่า 25 บรรทัด)

ในปีงบประมาณ พ.ศ.2561 (1 ต.ค. 60 -30 ก.ย. 61) ข้าพเจ้าได้ใช้งบพัฒนาบุคลากรฯ ไปแล้ว จำนวนทั้งสิ้น 2 ครั้ง ดังต่อไปนี้

-ครั้งที่ 1 ในกรณีที่ 2 ใช้งบประมาณไปแล้วเป็นจำนวนเงินทั้งสิ้น 1,500.- บาท

-ครั้งที่ 2 ในกรณีที่ 1 ใช้งบประมาณไปแล้วเป็นจำนวนเงินทั้งสิ้น 292.40 บาท

(หากมีจำนวนครั้งเกินกว่านี้ ให้ทำรายละเอียดแนบท้ายเพิ่มเติม)

อัจฉรา แกล้วกล้า ผู้ขออนุญาต

(นาง อัจฉรา แกล้วกล้า)

...../...../.....

ประธานหลักสูตร/เลขานุการคณะ/หัวหน้างาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ไพศาลสุทธิชล)

ประธานอาจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

...../...../.....

หมายเหตุ : 1. งบประมาณที่ใช้สำหรับการพัฒนาบุคลากร หมายรวมถึงค่าใช้จ่ายทุกประเภทที่ใช้ในการเข้าร่วมการอบรม/สัมมนา/ประชุม เช่น ค่าลงทะเบียน ค่าใช้จ่ายในการเดินทาง และอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

2. การใช้งบประมาณพัฒนาบุคลากรในที่คณะวิทยาศาสตร์จัดสรร ให้ถือปฏิบัติตามเงื่อนไขที่ได้กำหนดไว้ในแต่ละกรณี

3. ให้แนบแบบฟอร์มแจ้งความประสงค์ฯ นี้มาพร้อมการส่งรายงานสรุปเนื้อหาและการนำไปใช้ประโยชน์ฯ ด้วย

เห็นชอบตามมติที่ประชุมคณะกรรมการประจำคณะฯ ครั้งที่1/2560

เริ่มใช้ตั้งแต่เดือน 1 กุมภาพันธ์ 2560

ที่ ศธ ๐๕๓๕.๐๗/ว ๐๗๗

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์
อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ ๕๓๐๐๐

๒๑ กุมภาพันธ์ ๒๕๖๑

เรื่อง ขอความอนุเคราะห์ประชาสัมพันธ์การประชุมวิชาการระดับนานาชาติทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
เรียน คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
สิ่งที่ส่งมาด้วย เอกสารประชาสัมพันธ์การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ (URUICST 2018)

ด้วยคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ ได้จัดโครงการประชุมวิชาการระดับนานาชาติทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี Uttaradit Rajabhat University International Conference on Science and Technology 2018 (URUICST 2018) "Innovative Science and Technology toward Sustainable Community Development ระหว่างวันที่ ๒ – ๓ สิงหาคม ๒๕๖๑ ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ เพื่อเปิดโอกาสให้นักวิชาการ นักวิจัย อาจารย์ นักศึกษาได้เผยแพร่ผลงานวิจัย แลกเปลี่ยนความรู้และสร้างเครือข่ายทางวิชาการด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีร่วมกัน

ในการนี้คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จึงขอความอนุเคราะห์ประชาสัมพันธ์โครงการประชุมวิชาการดังกล่าวให้บุคลากรในหน่วยงานของท่านได้ทราบ โดยผู้สนใจเข้าร่วมการประชุมวิชาการและนำเสนอผลงาน โปรดพิจารณารายละเอียดการสมัครและข้อมูลต่างๆ ผ่านทางเว็บไซต์ www.uruicst2018.uru.ac.th

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา และขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

ขอแสดงความนับถือ

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุภาวิณี สัตยาภรณ์)
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
โทร. ๐๘๑-๗๘๕๑๗๗๙
โทรสาร. ๐๕๕-๔๑๑๒๙๖

International Conference on Science and Technology 2018

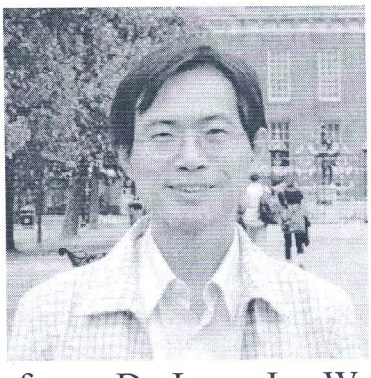
"Innovative Science and Technology toward Sustainable Community Development"

August 2-3, 2018

Early-bird registration rate extended to 22 June, 2018.

Acceptance/Invitation letter is ready to download at your conference account.

Keynote Speakers



Professor Dr. Lung-Jen Wang
Department of Computer Science and Information Engineering
National Pingtung University, Taiwan
"VR/AR: Cross-Curricular Learning"

Assistant Professor Dr.Patou Musumari
School of Public health
Kyoto University
Japan

About URUICST 2018

For celebrating 82 years of Uttaradit Rajabhat University, the URU International Conference on Science and Technology 2018 (URUICST2018) is held by the Faculty of Science and Technology, Uttaradit Rajabhat University. The conference aims to be an international forum for research presentation of pure sciences, applied sciences and health sciences. In this time, it is a good opportunity for the engagement research to provide a forum for researchers from academic, public and private sectors all over the world to exchange, disseminate new knowledge, research experience and professional expertise, and to create a network among the participants for mutual benefits under the official theme is **"Innovative Science and Technology toward Sustainable Community Development"**.

Uttaradit Rajabhat University, Thailand

Organized by Faculty of Science and Technology, Uttaradit Rajabhat University, Email: uruicst@uru.ac.th

Important Dates (Extended)

Date	Description
February 1- June 15, 2018	Registration
June 15, 2018	Full-paper submission deadline (2nd extension)
February 1- June 22, 2018	Early-Bird Registration fee deadline (extension)
June 23- July 27, 2018	Regular Registration fee deadline
July 2018	Full-paper result announcement
August 2-3, 2018	Conference date

#Note: URUICST2018 proceeding and Applied Mechanics and Materials will publish after the conference date around 1-3 months.

Paper Submission

- Register to get username and password for login.
- All papers must be registered through the conference website.
- All papers must be written in good English and have been proven by a native English speaker.
- All papers are blinded peer reviewed by experts in their corresponding fields.
- The minimum length of manuscript is 5 pages; and the maximum length is 6 pages.
- The papers can be published in URUICST2018 Proceeding or Applied Mechanics and Materials (AMM) which is on e.g. SCImago Journal & Country Rank (SJR)., Google Scholar, ProQuest, WorldCat (OCLC), EBSCOhost Research Databases. Chemical Abstracts Service (CAS) www.cas.org.
- Paper in full text for publication in the Conference Proceedings may be published in full text in a periodical on www.scientific.net (by Trans Tech Publications Ltd.). "Applied Mechanics and Materials (AMM)"
- Applied Mechanics and Materials" is a peer-reviewed journal which specializes in the publication of proceedings of international scientific conferences, workshops and symposia as well as special volumes on topics of contemporary interest in all areas which are related to:
    1) Research and design of mechanical systems, machines and mechanisms;
    2) Materials engineering and technologies for manufacturing and processing;
    3) Systems of automation and control in the areas of industrial production;
    4) Advanced branches of mechanical engineering such as mechatronics, computer engineering and robotics.
- Choose paper submission in:
    - Applied Mechanics and Materials.
    - URUICST2018 Proceeding.

      For Thai: บทความวิจัยที่ตีพิมพ์สามารถนำมาใช้ในงานประกันคุณภาพการศึกษา โดยเป็นบทความวิจัยฉบับสมบูรณ์ที่ตีพิมพ์ในรายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ
- The way for full paper submission as below:
    - For Applied Mechanics and Materials (AMM) submission, you must submit your paper via scientific.net not submission in URUICST2018 website. The details for paper submission will send to your email soon after you have logged in and registered AMM in the URUICST2018 website . Please wait patiently.
    - For URUICST2018 proceeding, you can submit your paper via URUICST2018 website; www.uruicst2018.uru.ac.th, immediately.
- Note: URUICST2018 proceeding and Applied Mechanics and Materials will publish after the conference date around 1-3 months.
- Download Paper Template
- Download Poster Format
- Register

Registration Fee (Changed)

Categories	Submit Paper in		Follower/ Attendee
	Applied Mechanics and Materials (AMM)*	URUICST2018 proceeding	

	Early-bird fee February 1- June 22, 2018	Regular fee June 23 - July 27, 2018	Early-bird fee February 1- June 22, 2018	Regular fee June 23 - July 27, 2018	
International Participant	190 USD	220 USD	150 USD	180 USD	
Thai Participant	5000 THB	5500 THB	4000 THB	4500 THB	50 USD or 1,500 THB/ person
International Student	180 USD		140 USD		
Thai Student	4500 THB		3500 THB		

*If your full-paper is rejected from AMM. After you revised the full-paper, it will be published in URUICST2018 proceeding but no refund of the registration fee.

Preliminary Program
URU International Conference on Science and Technology 2018 (URUICST2018)

Thursday, August 2, 2018	
Time	
08.00-09.00	**Registration & Poster Session Attachment**
09.00-09.30	Opening Ceremony
09.30-10.30	Keynote Speaker I
10.30-10.45	Coffee Break
10.45-11.45	Keynote Speaker II
12.00-13.00	Lunch
13.00-15.30	URUICST2018 Poster Session
15.30-16.00	Cultural Tourism
18.00-21.00	Welcome reception
Friday, August 3, 2018	
Time	
08.00–09.00	**Registration**
09.00–09.45	Keynote Speaker III Plenary: Assistant Professor Dr. Musumari Masika Patou (Kyoto University School of Public Health, Japan)
09.45-10.30	Keynote Speaker IV Plenary: Professor Dr.Lung-Jen Wang (National Pintung University, Taiwan)
10.30–10.45	Coffee Break
10.45-12.00	Oral Session (15 min/person)
12.00-13.00	Lunch
13.00-14.30	Oral Session (15 min/person)
14.30-14.45	Coffee Break
14.45-16.00	Oral Session (15 min/person)
16.00-16.30	Closing Ceremony

*The light green bands are the international conference opening ceremony included national conferences of Uttaradit Rajabhat University.

June 15, 2018

Welcome Dr.Achara Kleawkla achara_kleawkla@yahoo.co.uk **Participant**

Article Code G02-05-005P

Participant Thai Participant

Article Title The Protein Extraction from Longan Pulp (Dimocarpus longan Lour. var. Daw) for Proteomic Analysis using One- Dimensional Electrophoresis

Authors ACHARA Kleawkla, EKAWIT Threenet, WANLAPHA Khonkham, WINAI Wiriyaalongkorn, ADISAK Joomwong, THEERAWEE Kleawkla and THRITSANAT Kleawkla

Presenter ACHARA Kleawkla,

Presentation Poster

Group Applied Science: Agriculture

Proceeding Publish AMM*

Status

Payment confirmed.

Approved (Please revise your article).

Revised submitted.

Accepted (Please download the acceptance letter).

Payment

Transfer amount

5000 BAHT

Transfer slip

None.

เลือกไฟล์ ไม่ได้เลือกไฟล์ใด

Date/Time transfer

วว/ดด/ปปปป --:--

Bank transfer

Receipt address

Upload

Revised Please wait for peer reviewer processing.

*The AMM Processing will manage directly via scientific.net. The submission details will inform you at your email. Please always check your email.

Submit Paper in

Categories	Applied Mechanics and Materials (AMM)*		URUICST2018 proceeding		Follower/ Attendee
	Early-bird fee February 1- June 22, 2018	Regular fee June 23 - July 27, 2018	Early-bird fee February 1- June 22, 2018	Regular fee June 23 - July 27, 2018	
International Participant	190 USD	220 USD	150 USD	180 USD	50 USD or 1,500 THB/ person
Thai Participant	5000 THB	5500 THB	4000 THB	4500 THB	

proceeding but no refund of the registration fee.

Bank Information

Bank Name	Krung Thai Bank (ธนาคารกรุงไทย)
Branch's Name	Uttaradit Rajabhat University (สาขามหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์)
Account No	9868232538
Account Name	URUICST2018
Office Code	1065
SWIFT Code	KRTHTHBK

The Protein Extraction from Longan Pulp (*Dimocarpus longan* Lour. var. Daw) for Proteomic Analysis using One-Dimensional Electrophoresis

ACHARA Kleawkla[1, a *], EKAWIT Threenet[1,b], WANLAPHA Khonkham [1,c], WINAI Wiriyaalongkorn [2,d], ADISAK Joomwong [3, e] THEERAWEE Kleawkla[4,f] and THRITSANAT Kleawkla [4,g]

[1]Division of Chemistry, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, 50290 Thailand

[2] Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai, 50290, Thailand

[3]Division of Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, 50290 Thailand

[4]Montfort College, Chiang Mai, 50290 Thailand

[a]achara_kleawkla @yahoo.co.uk, [b]ekawit73@hotmail.com, [c]wanlaphapat@gmail.com, [d]naimiat56@gmail.com,[e]adisakjoomwong@gmail.com, [f]Theeraweekk@gmail.com, [g]Thritsanat.kk@gmail.com

Keywords: Longan, pulp, physiological disorder syndromes, electrophoresis

Abstract. Three procedures for protein extraction in longan pulp had been applied to analyze protein pattern and quality of Longan pulp (*Dimocarpus longan* Lour. var. Daw) during fruit growth to increase protein expression in proteomic analysis at Maejo university's farm. There were data points to compare between normal and physiological disorder syndromes during fruit growth (5,10, 15, 20, 25 and 30 weeks, respectively) by one dimensional electrophoresis (1-D gel) technique in reducing condition. The first protein extraction, M1 (95% ethanol) showed obviously 15 protein bands which molecular weights were 14.97, 17.90, 18.30, 21.63, 28.54, 31, 33.96, 35.02, 42, 51.69, 65.69, 71.54, 88.02, 106.86 and 130 kDa, respectively. While M2 extraction (phenol-methanol/ammonium acetate) and M3 extraction (1.5 mM tris-HCl pH 8.0, 5 mM EDTA, 2% SDS) had low protein expression and no sharpness (13 and 12 protein bands, respectively). In different extraction conditions, therefore, M1 was a suitable method because of highest protein bands and obvious protein expression on longan pulp for proteomic analysis. Proteomic analysis of M1 extraction method was used in protein analysis by using LC-MS / MS techniques. It was found that the heat shock protein 83 (81.0 kDa), a family of proteins that was produced by cells in response to exposure on stressful conditions, the elongation factor 1-alpha (49.45 kDa), a selective regulator of translation, and the peroxidase 4 (39.74 kDa), a protein that is involved in the degeneration or aging of cells. These proteins exhibited a darker appearance of the protein bands at 30 weeks. Moreover, a partial glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (34.06 kDa), the protein involved in metabolic processes in glucose degradation, was also founded a darker appearance at 25 weeks and low appearance at 30 weeks of abnormal longan. However, higher proteomic techniques should be studied to confirm this biomarker protein in the further.

Introduction

Longan pulp (*Dimocarpus longan* Lour. var. Daw) are highly favorable fruit of notable economic relevance. Because the identification of proteins involved in metabolic pathways can help to extend green-life and improve the quality of the fruit. The objective of this study was to compare the proteins of physiological disorder syndromes and normal longan pulp at the initial stages of fruit growth. The first types of physiological disorder syndromes in longan peel of 'Daw', native name "red skinned longan" on mature stage (about 30 weeks after fruition), produces fruit cracking during fruit transportation on low temperature to consumer [1]. Syndrome characteristics were not different from normal fruit except its color of peel skin that was more reddish or brownish than normal fruit and it implicated in protein changing on harvest period of fruit growth [2]. Vegetative storage protein (25.2 kDa), an important protein on storage metabolism in the plant food, and cytosolic class I small heat

separating different range of protein extraction. Electrode buffer solution contained 0.025 M Tris, 0.192 M glycine, 0.1 % SDS at pH 8.3. The 100 µg per well of sample was applied to gels in each experimental methods. Broad range (Bio-Rad CL161-0318) of molecular weight marker was carried out on a vertical slab gel electrophoresis apparatus (AE-6530 mPAGE, Atto Corporation, Tokyo, Japan). Constant current (20 mA/gel) was applied to process the electrophoresis apparatus. After finished electrophoresis, gels were stained with 0.25 % Coomassie brilliant blue R250 in 90 ml of methanol: acetic acid: water (5.7: 1: 7.5). In Coomassie blue R-250 staining, gels were fixed in a solution of 50% methanol and 10% acetic acid for 1 hour, stained for 15 min in conventional Coomassie blue R-250 solution, and developed in de-staining solution (25% methanol and 7% acetic acid) for overnight prior to scanning.

Gel Analysis

Gels were scanned on the image scanner (Gel Doc XR System, Bio-Rad, USA). Gel documentation system consisted in a high sensitivity multihomed camera according to the manufacturer's specifications. Differential protein bands between physiological disorder syndromes and normal longan fruit were excised for next step on mass spectrometry identification.

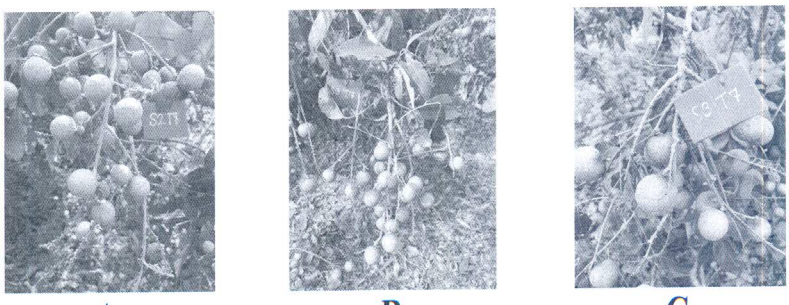
Mass Spectrometry and Protein Identification

Selected protein bands were picked manually from only preparative gels in Coomassie blue R-250 staining using sterile lancet. These gel bands were examined on protein analysis and peptide mass profiling using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) in Research Instrument Center of Khon Kaen University, Thailand. Mass spectrometry data were automatically registered, analyzed, and searched by using National Center for Biotechnology Information public protein databases (NCBI databases). MASCOT (Matrix Science Ltd., London, UK) search engine was used for peptide mapping. Data identifications were registered when search results of protein score greater than 52 were significant ($p<0.05$).

Results and Discussion

Physiological Differences

Longan fruits were collected during fruit growth (5,10, 15, 20, 25 and 30 weeks after fruition, respectively) at Maejo University's farm and second type of physiological disorder syndrome on longan fruits were collected at 20, 25, 30 weeks after fruition (Fig. 1.). Morphology and characteristic phenotype showed that group of physiological disorder syndromes at 20 weeks after fruition was reddish than normal group. Physiological disorder syndrome had any effects on some color values, especially in both a value and hue value (table 1). Data revealed that these values had efficiency to promote red skinned fruit production as same as previous study [3] in physiological disorder syndromes on mature stage at Hod district. However, Maejo University's farm had fruit maintenance after this syndrome occurring. Therefore, color values were not show difference from normal group on 25 and 30 weeks after fruition.



A. B. C.

shock protein (15.6 kDa), having important implications in plant stress tolerance, were demonstrated metabolic mechanism of this syndrome in previous study at Hod district, Chiang Mai province [3]. In the second type of syndrome on initial stage (about 20 weeks after fruition), no growth in fruit during fruit development, previous research [4] indicated different protein profiles in between this syndrome and normal longan fruit in leaves, peel and seed at Prao (no fruit maintenance after this syndrome occurring, only 20 after fruition) and Mae Taeng district (fruit maintenance after this syndrome occurring, 20 to 28 after fruition). This report showed that plasma membrane-associated cation-binding protein 1 (19.5 kDa), a protein involved on intracellular signaling in peels, was found in decreased protein on abnormal longan at Prao district. The vegetative storage protein (25.2 kDa) was represented at the seed in Prao district similar to the result from Mae Taeng district presented biomarkers at leaves, peel and seed since syndrome occurring on 20 to 28 weeks after fruition. The study of protein identification on leaves, peel and seed must be actualized by using suitable protein extraction methods of leave [5], peel [6] and seed [7] in previous studies. However, there was not a suitable extraction method for longan pulp. Three extraction methods of longan pulp were compared to select a suitable extraction method and to investigate protein biomarkers of physiological disorder syndromes during fruit growth (5, 10, 15, 20, 25 and 30 weeks, respectively) by using one dimensional electrophoresis (1-D gel) technique.

Materials and Methods

Samples of Longan Pulp

Longan fruits were collected during fruit growth (5,10, 15, 20, 25 and 30 weeks after fruition, respectively) and physiological disorder syndrome on longan fruits were collected at 20, 25, 30 weeks after fruition from Maejo university's farm, Chiang Mai province. Longan fruits were investigated with physiological measurements such as weight (g), size (wide & long), and colour (L, a, b values) to identify physiological disorder syndrome on fruit development. Then, the pulp was blended into small pieces with liquid nitrogen using a prechilled mortar and pestle for sample grinding and stored at -20 ° C to enter the next protein extraction.

Protein Extraction

Prior to extraction of longan pulp, 1.00 g powder of longan pulp was transferred to a 15-mL tube containing the respective extraction solutions and mixed as described below. Longan pulp was extracted in 95% ethanol solution on first method, M1 (95% ethanol) and second method, M2 (phenol-methanol/ammonium acetate) mixed as described following Luangborisut and his group [8]. Third method, M3 (0.10% SDS and 50 mM Tris-HCl pH 6.80); 10.00 g powder of longan pulp was added directly to 10 mL of ice-cold extraction buffer (50 mM Tris-HCl, 0.1 M KCl, 0.7 M sucrose, 50 mM EDTA, 1% PVP, 0.2% (v/v) 2-mercaptoethanol, and 1% PMSF, pH 7.5) according to the method of Toledo and his group [9]. Then, proteins were extracted in phenol extraction protocol. Pellets were produced by a vacuum pump and dissolved on 0.10% SDS solution until used. Tissues were incubated 2 hours in oven apparatus at 40 °C. Precipitated debris were centrifuged at 6,000 rpm for 30 min. Supernatants were collected into 10 mL 12.50% TCA in ice-cold acetone of protein precipitation. Proteins were precipitated overnight at least 12 hours at 0 °C. Precipitated proteins were centrifuged at 10,000 rpm for 10 min, washed three times in 10 mL in ice-cold acetone with vigorous disruption of the pellets with a glass rod between each wash, and air-dried. Pellets were dissolved on 0.10% SDS solution until used.

One-Dimensional Gel Electrophoresis

Each of extraction procedures was used for quantitative analysis by modified Lowry's method [10], and was used for qualitative analysis by SDS-PAGE. Protein extractions were mixed with a sample buffer containing 0.0625 M Tris HCl, pH 6.8, 10 % SDS, 10 % glycerol, 0.1% 2-mercaptoethanol and 0.01% bromophenol blue. Concisely, the final concentration of protein extraction was adjusted to 100 µg, boiled for 5 min and stored at -70°C until electrophoresis. In SDS-polyacrylamide denaturing gels, stacking gels (4 %) and separating gel (12.5 %) were applied for

D. E. F.

Fig. 1. The presence of normal fruit (A, B and C, respectively) and physiological disorder syndrome (D, E and F, respectively) on initial stage on fruit garden at Maejo University's farm, Chiang Mai province, at 20, 25 and 30 weeks after fruition, respectively.

Table 1. Color values in longan peel were determined in physiological disorder syndrome (PDS) and normal longan fruit on fruit growth (20 samples/group) at Maejo University's farm, Chiang Mai province.

Weeks after fruition	Color values in peel of longan fruit				
	(L)	(a)	(b)	Chroma	Hue
5	43.47±3.62	1.46±1.30	24.68±8.88	28.94±3.25	95.95±7.29
10	42.06±3.93	3.67±2.34	32.34±8.17	33.65±7.83	74.22±5.82
15	43.56±2.14	3.05±3.0	29.78±2.94	30.11±4.92	74.02±8.36
20 (Normal)	42.88±2.15	5.52±1.03	34.96±2.21	35.34±2.19	80.93±1.96
20 (PDS)	43.56±2.14	8.05±1.06*	29.78±2.94	30.11±4.92	74.02±1.37*
25 (Normal)	42.18±3.22	5.65±1.65	33.69±3.31	34.21±2.42	76.87±7.89
25 (PDS)	44.19±3.96	8.23±2.61	30.45±3.28	31.54±3.45	74.54±8.46
30 (Normal)	48.42±2.54	7.28±1.55	31.69±2.24	32.53±2.34	77.09±2.42
30 (PDS)	48.89±1.32	8.74±0.92	33.14±0.87	34.29±0.88	75.21±1.56

* significantly different from normal

Gel Analysis of Protein in SDS-PAGE

Protein expression profiles of longan pulp during fruit growth with three methods at Maejo University's farm, Chiang Mai province were examined in Fig. 2. The first protein extraction, M1 showed obviously 15 protein bands which molecular weights were 14.97, 17.90, 18.30, 21.63, 28.54, 31, 33.96, 35.02, 42, 51.69, 65.69, 71.54, 88.02, 106.86 and 130 kDa, respectively, while M2 extraction represented 13 protein bands and M3 extraction expressed 12 protein bands. However, M2 and M3 extraction had low protein expression and no sharpness, M1 is a suitable method because of highest protein bands and obvious protein expression on longan pulp for proteomic analysis.

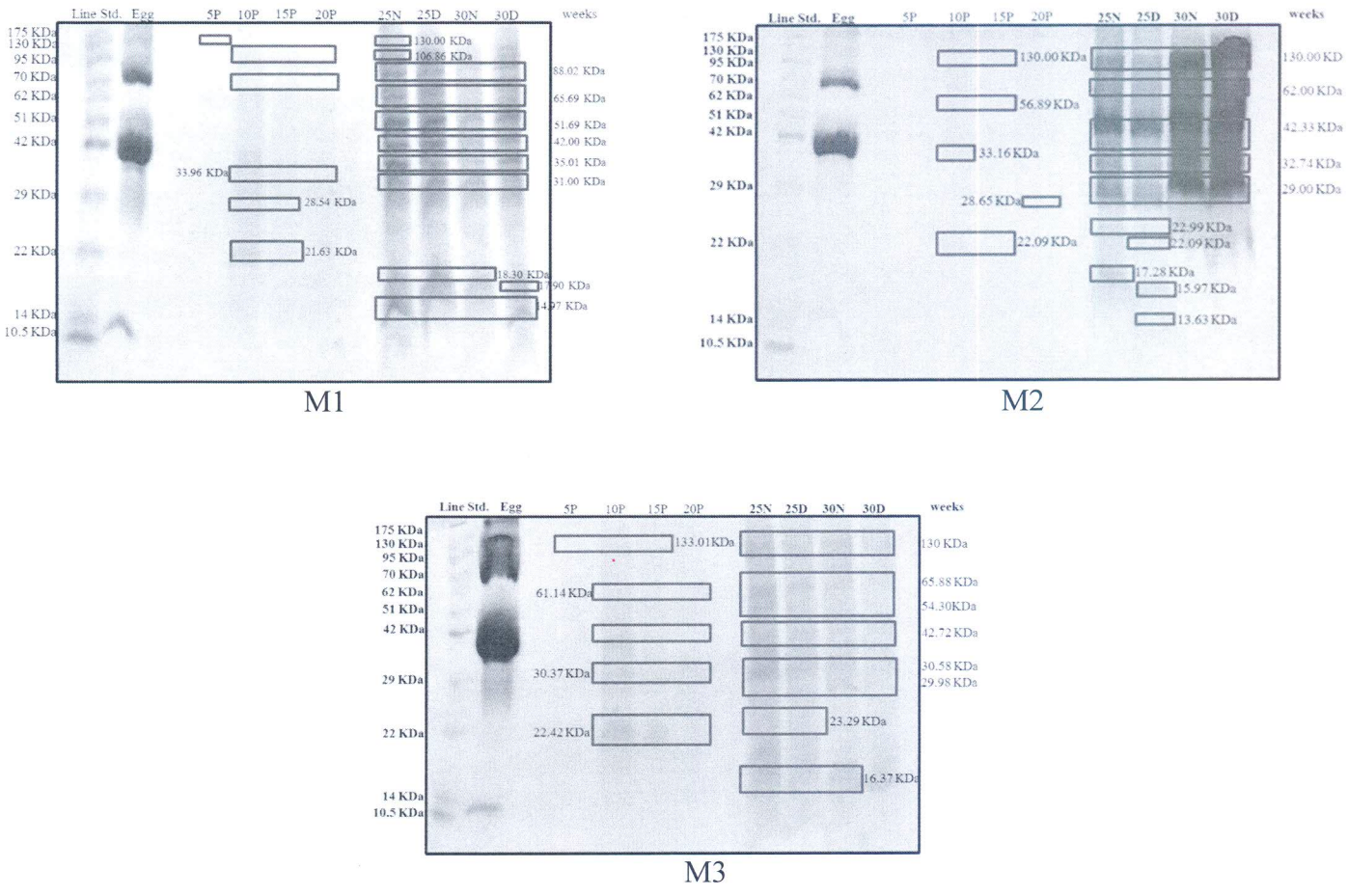


Fig. 2. The expression of protein in longan pulp was showed during fruit growth (5, 10, 15, 20, 25 and 30 weeks after fruition) with Coomassie brilliant blue R-250 staining on 12.5% gel at 100 µg/well gel on three methods; M1 (95% ethanol), M2 (phenol-methanol/ammonium acetate) and M3 (1.5 mM tris-HCl pH 8.0, 5 mM EDTA, 2% SDS), respectively. Notics; Line Std. = Standard protein marker, Line Egg = Egg albumin, P = pool on peel, pulp and seed, PDS = physiological disorder syndrome and N = normal longan fruit.

In electrophoresis gel of M1 extraction, initial stage of fruit growth (5, 10 and 15 weeks after fruition) had no physiological disorder syndromes and these periods had few proteins (1, 5 and 5 protein bands, respectively). Proteomic differences between physiological disorder syndromes and normal longan fruit were classified into 20 weeks after fruition but longan pulp could be not separated from small fruit to extract protein and this period had few proteins (3 protein bands) as same as previous periods. The protein expression profile after syndrome occurring showed alterations in expression pattern between physiological disorder syndromes and normal longan fruit from 25 weeks (8 and 10 protein bands, respectively) and 30 weeks (8 and 7 protein bands, respectively). Some proteins were selected to compare physiological disorder syndrome and normal longan fruit used in protein analysis by using LC-MS / MS techniques. It was found that the heat shock protein 83 (81.0 kDa), a family of proteins that are produced by cells in response to exposure to stressful conditions, the elongation factor 1-alpha (49.45 kDa), a selective regulator of translation, and the peroxidase 4 (39.74 kDa), a protein that is involved in the degeneration or aging of cells. All three of these proteins exhibited a darker appearance of the protein bands at 30 weeks. Moreover, a partial glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (34.06 kDa), the protein involved in metabolic processes in glucose degradation, was also founded a darker appearance at 25 weeks and lower appearance at 30 weeks of abnormal longan. However, higher proteomic techniques should be studied to confirm this biomarker protein in the further.

Conclusion

In conclusion, there were two points highlighted by these data. First, M1 method was a suitable procedure because of highest protein bands and obvious protein expression on longan pulp for proteomic analysis. Secondly, It was possible that heat shock protein 83, the elongation factor 1-alpha, peroxidase 4, the peroxidase 4 and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase had involved biochemical function in physiological disorder syndromes on initial stage on 25 and 30 weeks after fruition.

Acknowledgements

This study was supported by the National Research Council of Thailand (NRCT). We also thank Benchawan Reinthong and Aunchana Junya for their kind help in facility at Division of Chemistry, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai.

References

[1] H.T. Lin, S.J. Chen, J.Q. Chen, Q.Z. Hong, Current situation and advances in post-harvest storage and transportation technologies of longan fruit, Acta Hort. (ISHS) 558 (2005) 343-351.

[2] Z.O. Lin, Z.X. Guo, L. Lin, F.L. Zhong and D.M. Pan, Changes of protein compositions in postharvest longan fruit, Acta Hort (ISHS). 863 (2010) 515-518.

[3] E. Threenet, B. Reinthong, A. Kleawkla, W. Wiriyaalonggon and A. Joomwong. Proteomic assessment of physiological disorder syndromes in longan (Dimocapus longan var. 'Daw') on mature stage using one-dimensional electrophoresis coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The 5th Asia Pacific Protein Association Conference and 12th PST International Symposium, 11-14 August 2017, The Tide Resort Bangsaen, Chon Buri,Thailand.

[4] A. Janya, The study of protein extraction from longan leaves var. 'Daw' to proteomic analysis. Project report: Department of chemistry, faculty of science, Maejo university. (2017).

[5] C. Kongkaew, The study of protein extraction from longan leaves var. 'Daw' to proteomic analysis. Project report: Department of chemistry, faculty of science, Maejo university. (2015).

[6] B. Reinthong, The study of protein extraction from longan peel var. 'Daw' to proteomic analysis. Project report: Department of chemistry, faculty of science, Maejo university. (2017).

[7] K. Chamnan, The study of extraction procedures on protein from longan seed var.'Daw' to proteomic analysis. Project report: Department of chemistry, faculty of science, Maejo University. (2016).

[8] P. Luangborisut, P. Sittikityotin, R. Saiprajong, P. Pinitglang, Partial purification of α-Amylase from Namdogmai Mango (Mangifera indica L.). Agricultural Sci.J. 43(2) (2012) (Suppl.) 125-128.

[9] T.T. Toledo, S.B. Nogueira, B.R. Cordenunsi, F.C. Gozzo, E.J. Pilau, F.M. Lajolo and J.R. do Nascimento, Proteomic analysis of banana fruit reveals proteins that are differentially accumulated during ripening, Postharvest Biol. Technol. 70 (2012) 51-58.

[10] O.H. Lowry, N.J. Rosbrough, A.L. Farr and R.J.Randall, Protein measurement with the Folin phenol reagent, J Biol Chem. 193 (1951) 265-275.