

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

##### 1. วัสดุพันธุ์พืช

ผลพลับพันธุ์ Xichu หรือ P2 อายุ 150 วันหลังจากติดผล จากแหล่งผลิต 2 แห่งดังนี้

1. สถานีเกษตรหลวงปางดะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่
2. ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่แฮ อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่

##### 2. อุปกรณ์

- 2.1 เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (firmness tester) ของบริษัท Metek รุ่น Hunter spring ขนาด 10 กิโลกรัม หัววัดรูปทรงกระบอก (cylinder shape) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.5 มิลลิเมตร ยาว 13 มิลลิเมตร
- 2.2 เครื่องวัดของแข็งที่ละลายน้ำได้ (hand refractometer) ของบริษัท Atago รุ่น N1 อ่านค่าตั้งแต่ 0 - 32 องศาบริกซ์
- 2.3 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง ของบริษัท Sartorius รุ่น BA3100P และแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง ของบริษัท Mettler Toledo รุ่น AB54
- 2.4 เครื่องปั่นผลไม้ (blender) ของบริษัท Moulinex รุ่น S (643)
- 2.5 เครื่องแยกน้ำและเนื้อผลไม้ (centrifuge juicer) ของบริษัท Kenwood รุ่น JE500T
- 2.6 เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง ของบริษัท Hanna รุ่น HI 9021
- 2.7 เครื่องกวนสารเคมีด้วยแท่งแม่เหล็กและให้ความร้อน ของบริษัท Nova II
- 2.8 เครื่อง water bath
- 2.9 ตู้อบ
- 2.10 เครื่องเหวี่ยง ของบริษัท Hettich รุ่น Universal 30RF
- 2.11 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ของบริษัท Beckman รุ่น DU 7500
- 2.12 เครื่องวัดสี (chroma meter) ของบริษัท Minolta ตัวเครื่อง DP-300 หัววัด CR - 310 และใช้แหล่งกำเนิดแสง D65 ซึ่งวัดสีออกมาเป็นค่า L , a และ b โดยมีรายละเอียดดังนี้คือ

- ค่า L แสดงค่าความสว่าง
- ค่าความสว่างมากเมื่อมีค่าใกล้ 100
  - ค่าความมืดมากเมื่อมีค่าใกล้ 0
- ค่า a - ค่าบวกแสดงว่าตัวอย่างมีสีแดง
- ค่าลบแสดงว่าตัวอย่างมีสีเขียว
- ค่า b - ค่าบวกแสดงว่าตัวอย่างมีสีเหลือง
- ค่าลบแสดงว่าตัวอย่างมีสีน้ำเงิน
- 2.13 CO<sub>2</sub> - O<sub>2</sub> gas analyzer ของบริษัท Eyela รุ่น MGA-100
- 2.14 เครื่องบรรจุแบบสุญญากาศ ของบริษัท Quickpack รุ่น MOD.LAPACK 900 S
- 2.15 ตู้เย็น
- 2.16 เครื่องตัดเนื้อเยื่อ (freezing microtome) ของบริษัท Lipshaw manufacturing รุ่น 1500-A
- 2.17 กล้องถ่ายรูป
- 2.18 โกร่งบด
- 2.19 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และเบอร์ 2

### 3. สารเคมีและการเตรียมสารเคมี

สารเคมีที่ใช้หาปริมาณวิตามินซี

- Oxalic acid บริษัท Merck เตรียมความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์
- 2,6-Dichlorophenol indophenol บริษัท Merck เตรียมความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์

สารเคมีที่ใช้หาปริมาณกรดที่โตเตรทได้

- Sodium hydroxide บริษัท Merck เตรียมความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

สารเคมีที่ใช้หาปริมาณเพคติน

- สารเคมีสำหรับเตรียมกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของ D-galacturonic acid บริษัท Sigma ที่ความเข้มข้น 5 , 10 , 20 , 40 และ 80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
- เอทานอล 65 และ 95 เปอร์เซ็นต์
- Ammonium oxalate บริษัท Merck เข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์
- Hydrochloric acid บริษัท Merck เตรียมความเข้มข้น 0.05 นอร์มัล

- สารละลาย A :  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  บริษัท Merck 0.95 กรัม ละลายในกรดกำมะถัน แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดกำมะถันให้ครบ 100 มิลลิลิตร

- สารละลาย B : เตรียมความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ โดยชั่ง  $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}$  บริษัท Merck 125 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอลให้ครบ 100 มิลลิลิตร

สารเคมีสำหรับหาปริมาณแทนนิน

- ทำกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของ tannic acid บริษัท Sigma ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.02, 0.015, 0.01, 0.008, 0.006, 0.004 และ 0.002 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

- ฟอสเฟตบัพเฟอร์

- สารละลายเมทธิลีนบลู ความเข้มข้น  $7.0 \times 10^{-5}$  โมล

- สารละลาย ferric chloride ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  บริษัท J.T.Baker) เตรียมความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์

#### 4. สถานที่ทำการวิจัย

1. ห้องปฏิบัติการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการพืชสวน ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. งานคัตบรรมูลนิธิโครงการหลวง ภายในคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
4. ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

#### 5. ระยะเวลาในการทดลอง

- การทดลองที่ 1-3      กันยายน 2539-เมษายน 2540
- การทดลองที่ 4      กันยายน 2540-มกราคม 2541

## วิธีการทดลอง

**การทดลองที่ 1** การตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพและเคมีของผลพลับที่กำจัดความฝาดโดยการรมด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

### การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสี่มุมสมบูรณ์ (2X2) โดยมี 2 ปัจจัย ปัจจัยที่ 1 คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 ระดับ คือไม่เติมก๊าซ และเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์

ปัจจัยที่ 2 คือ อุณหภูมิในการเก็บรักษา 2 ระดับ คือ 5 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้องประมาณ 37 องศาเซลเซียส

ตรวจสอบคุณภาพผลพลับครั้งละ 9 ผล แบ่งเป็น 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ผล

### วิธีการ

แบ่งผลพลับออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 นำผลพลับบรรจุลงในถุงพลาสติกผูกติดอากาศภายในถุงออก จากนั้นบรรจุก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงไปให้มีความเข้มข้นประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ จนเต็มถุงแล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน ถ้าถุงยุบตัวลงให้เติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงไปอีกให้เต็มถุง โดยใช้เครื่อง CO<sub>2</sub>-O<sub>2</sub> gas analyzer วัดความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้อยู่ที่ระดับความเข้มข้นเดิม กลุ่มที่ 2 นำผลพลับบรรจุลงในตะกร้าพลาสติกทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นแบ่งครึ่งของแต่ละกลุ่มไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง

### การบันทึกผล

ตรวจสอบคุณภาพผลพลับทุกวันเป็นเวลา 10 วัน โดยบันทึกข้อมูลต่อไปนี้

#### 1. ความแน่นเนื้อ

โดยการใช้เครื่อง firmness tester ในการตรวจวัด และบันทึกผลจากค่าที่อ่านได้

#### 2. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้

โดยการนำเอาน้ำคั้นที่ได้จากผลพลับมาหยดลงบนแผ่นปริซึมของเครื่อง hand refractometer จากนั้นบันทึกผลจากค่าที่อ่านได้ ซึ่งค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ที่อ่านได้จากเครื่องมือนี้จะรวมถึงประมาณแทนนินที่ละลายในน้ำด้วย (Sugiura *et al.*, 1983)

### 3. ปริมาณวิตามินซี โดยวิธี indophenol (Helrich, 1990)

นำน้ำคั้นที่ได้จากผลพลับมา 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยกรดออกซาลิก 0.4 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำเอาสารละลายที่ปรับปริมาตรแล้วมา 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรอีกครั้งด้วยกรดออกซาลิก 0.4 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ในกระบอกตวง ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร นำสารละลายมาไตเตรทกับ 2,6-ไดคลอโรฟีโนลอินโดฟีโนล 0.04 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีน 1 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ ไตเตรทจนสารละลายในขวดรูปชมพู่เปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน วัดปริมาตรของ 2,6-ไดคลอโรฟีโนล อินโดฟีโนล ที่ใช้ในการไตเตรท และคำนวณหาปริมาณของวิตามินซีตามสูตร

$$\text{ปริมาณวิตามินซี} = (A \times B \times 1000) / C$$

A = ปริมาณ ascorbic acid ที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

B = ปริมาตรของน้ำคั้นที่ได้จากเนื้อ 100 กรัม

C = ปริมาตรของน้ำคั้นที่ใช้

### 4. ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ โดยวิธีของ Helrich (1990)

นำน้ำคั้นที่ได้จากผลพลับมา 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำมาไตเตรทกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีน 1 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ ไตเตรทจนสารละลายในขวดรูปชมพู่เปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน วัดปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรท นำมาคำนวณหาปริมาณกรด โดยคำนวณจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรด} = (\text{normality of NaOH} \times \text{equi. wt. of malic acid} \times \text{Vol. NaOH} \times 100) / 5$$

### 5. ปริมาณของแทนนินโดยวิธีแทนนินพริ้นท์ (tannin print) (มานิตย์, 2525)

หยด  $\text{FeCl}_3$  เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ลงบนกระดาษกรอง แล้วนำชิ้นส่วนของผลพลับที่ผ่าตามขวางมากดลงบนกระดาษกรอง จากนั้นสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีบนแผ่นของกระดาษกรอง โดยเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ของการปรากฏสีต่อพื้นที่หน้าตัดของผล ให้คะแนนจาก 1 ถึง 4



รูปที่ 3.1 การให้คะแนนความฝาดโดยเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ของการปรากฏสีต่อพื้นที่หน้าตัดของผล

หมายเหตุ

- คะแนน 1 = เกิดสี 0 - 25 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หน้าตัด  
 คะแนน 2 = เกิดสี 25 - 50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หน้าตัด  
 คะแนน 3 = เกิดสี 50 - 75 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หน้าตัด  
 คะแนน 4 = เกิดสี 75 - 100 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หน้าตัด

#### 6. การเปลี่ยนแปลงผลึกของแทนนินภายในเนื้อผลพลับระหว่างเก็บรักษา

นำชิ้นส่วนของเนื้อผลพลับตรงตำแหน่งส่วนกลางของผลมาตัดเนื้อเยื่อ โดยใช้เครื่องตัดเนื้อเยื่อแล้วย้อมสีด้วย  $\text{FeCl}_3$  เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของผลึกแทนนินภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และบันทึกภาพ

## การทดลองที่ 2 การตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพและเคมีของผลพลับที่กำจัดความฝาดโดยใช้สภาพสุญญากาศ

### การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (2X2) โดยมี 2 ปัจจัย

ปัจจัยที่ 1 คือ สภาพที่บรรจุโดยใช้สภาพสุญญากาศ โดยนำผลพลับบรรจุลงในถุงพลาสติก nylon-LDPE ซึ่งหนา 80 ไมครอน ขนาด 18 X 28 เซนติเมตร จำนวน 3 ผล แล้วนำไปปิดปากถุงและทำให้สภาพภายในถุงพลาสติกเป็นสุญญากาศโดยเครื่อง vacuum packaging และไม่ใช้สภาพสุญญากาศ

ปัจจัยที่ 2 คือ อุณหภูมิในการเก็บรักษา 2 ระดับ คือ 5 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้องประมาณ 37 องศาเซลเซียส

ตรวจสอบคุณภาพผลพลับครั้งละ 9 ผล แบ่งเป็น 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ผล

### วิธีการ

แบ่งผลพลับออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 นำผลมาบรรจุลงในถุงพลาสติกที่ใช้สำหรับเครื่องบรรจุแบบสุญญากาศแล้วบรรจุโดยเครื่องบรรจุแบบสุญญากาศ ส่วนกลุ่มที่ 2 นำผลมาบรรจุลงในตะกร้าพลาสติก จากนั้นแบ่งครึ่งของแต่ละกลุ่มไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้องประมาณ 37 องศาเซลเซียส

### การบันทึกผล

ทำการบันทึกผลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 โดยตรวจสอบคุณภาพผลพลับทุก 5 วันเป็นเวลา 15 วัน

### การทดลองที่ 3 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของผลกับปริมาณเพคติน

#### การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยนำผลพลับจากการทดลองที่ 1 และ 2 มาตรวจสอบคุณภาพทุก 5 วัน ครั้งละ 6 ผล แบ่งเป็น 2 ซ้ำๆ ละ 3 ผล

#### วิธีการ

การหาปริมาณเพคติน (McColloch, 1952) ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน

##### 1. การเตรียม alcohol insoluble solids ; AIS

นำผลพลับที่เก็บรักษาในระยะต่างๆ มา 100 กรัม ปั่นในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 300 มิลลิลิตร นาน 15 วินาที แล้วนำไปแช่ใน water bath ที่มีอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วปรับอุณหภูมิของ water bath ให้เท่ากับ 0 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที กรองเอาแอลกอฮอล์ออกด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วล้างตะกอนอีก 5 ครั้ง ด้วยแอลกอฮอล์ 65 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จากนั้นนำตะกอนมาล้างด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 60 มิลลิลิตรและล้างด้วยอะซิโตนปริมาตร 50 มิลลิลิตรอีกครั้ง นำตะกอนไปอบที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตะกอนไปสกัดตามวิธีการสกัด WSP , ASP และ HSP ตามลำดับ

2. การสกัดโดยหาปริมาณเพคตินที่เป็น water soluble pectin ; WSP , ammonium oxalate soluble pectin ; ASP และ hydrochloric acid soluble pectin ; HSP มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

##### - การหาปริมาณ water soluble pectin

ชั่ง AIS มา 1 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำขวดรูปชมพู่ใส่ลงใน water bath ที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เขย่าสารละลายให้เข้ากันเป็นครั้งคราว เมื่อครบ 2 ชั่วโมง นำเอาสารละลายไปเข้าเครื่องเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที เพื่อแยกเอาตะกอนออก กรองเอาสารละลายออกจากตะกอนโดยใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 2 จากนั้นทำการสกัดซ้ำตามขั้นตอนแรกอีกครั้งรวมสารละลายที่สกัดทั้งสองครั้งใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 250 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น



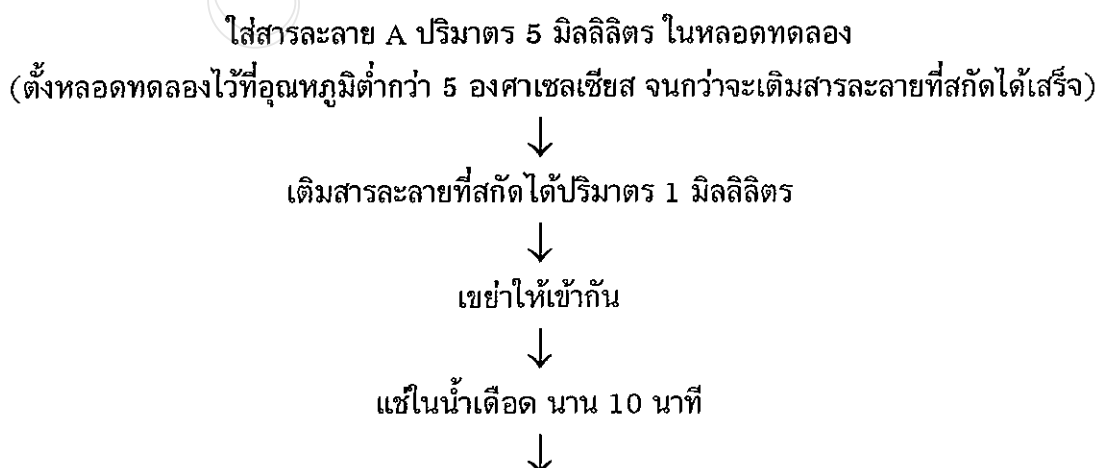
- การหาปริมาณ ammonium oxalate soluble pectin

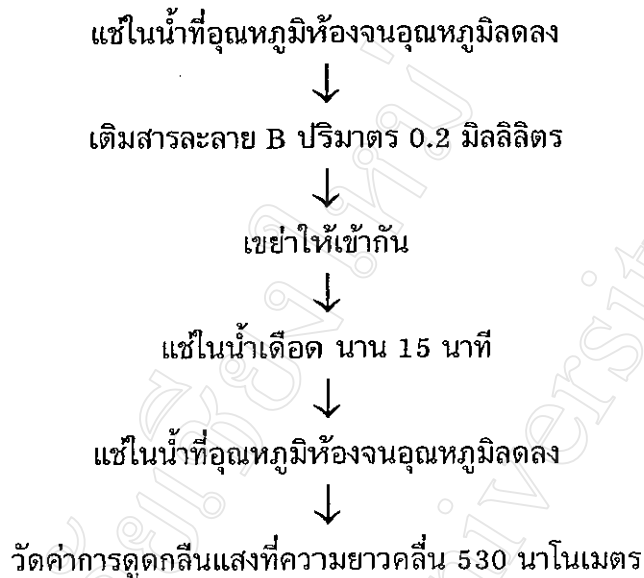
นำเอากากจากขั้นตอนการสกัดด้วยน้ำมาใส่สารละลาย ammonium oxalate 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำขวดรูปชมพู่ใส่ลงใน water bath ที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เขย่าสารละลายให้เข้ากันเป็นครั้งคราว เมื่อครบ 2 ชั่วโมง นำเอาสารละลายไปเข้าเครื่องเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที เพื่อแยกเอาตะกอนออก กรองสารละลายออกจากตะกอนโดยใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 2 จากนั้นทำการสกัดซ้ำตามขั้นตอนแรกอีกครั้ง รวมสารละลายทั้งสองครั้ง ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลาย ammonium oxalate 4 เปอร์เซ็นต์ให้ครบ 250 มิลลิลิตร

- การหาปริมาณ hydrochloric acid soluble pectin

นำเอากากจากขั้นตอนการสกัดด้วย ammonium oxalate มาใส่สารละลาย hydrochloric acid 0.05 N ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำขวดรูปชมพู่ใส่ลงใน water bath ที่มีอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เขย่าสารละลายให้เข้ากันเป็นครั้งคราว เมื่อครบ 2 ชั่วโมงนำเอาขวดรูปชมพู่ที่บรรจุสารละลายไปลดอุณหภูมิโดยแช่ไว้ในน้ำที่อุณหภูมิต่ำ นำเอาสารละลายไปเข้าเครื่องเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที เพื่อแยกเอาตะกอนออก กรองสารละลายออกจากตะกอนโดยใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 2 จากนั้นสกัดซ้ำตามขั้นตอนแรกอีกครั้ง รวมสารละลายที่สกัดทั้งสองครั้ง ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายให้เท่ากับ 6 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 นอร์มัล ใส่สารละลายที่ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างแล้วลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย hydrochloric acid 0.05 N ให้ครบ 250 มิลลิลิตร

3. การวิเคราะห์หาปริมาณของเพคตินที่ละลายได้ในน้ำ ละลายได้ใน ammonium oxalate และละลายได้ใน hydrochloric acid มีขั้นตอนดังนี้ (Bitter and Muir, 1962)





#### การบันทึกผล

ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงปริมาณเพคตินของผลพลับทุก 5 วัน เป็นเวลา 10 วัน โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่สกัดได้ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณหาปริมาณเพคตินมีหน่วยเป็นกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนัสด ตามสูตร

$$\text{ปริมาณเพคติน} = A \times B \times 250 \times 1.102 / 10^{-6}$$

A = ค่าที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน

B = น้ำหนักของ AIS ที่ได้จากน้ำหนัสด 100 กรัม

: หมายเหตุ ในการวิเคราะห์หาปริมาณเพคตินที่ละลายในกรดไฮโดรคลอริกนั้นจะต้องเจือจางสารละลายที่สกัดได้ก่อน โดยนำเอาสารที่สกัดได้มา 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น และนำมาคำนวณตามสูตร

$$\text{ปริมาณเพคติน} = A \times B \times 250 \times 5 \times 100 \times 1.102 / 10^{-6}$$

A = ค่าที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน

B = น้ำหนักของ AIS ที่ได้จากน้ำหนัสด 100 กรัม

### การทดลองที่ 4 การเปรียบเทียบคุณภาพของผลพลับที่ผ่านวิธีการกำจัดความฝาด 3 วิธี

#### การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ตรวจสอบคุณภาพผลพลับครั้งละ 9 ผล แบ่งเป็น 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ผล

#### วิธีการ

วิธีที่ 1 กำจัดความฝาดของผลพลับโดยการรมด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยนำผลพลับรมด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์

วิธีที่ 2 กำจัดความฝาดของผลพลับโดยใช้สภาพสุญญากาศ โดยนำผลพลับบรรจุลงในถุงพลาสติก nylon-LDPE หนา 80 ไมครอน ขนาด 18 x 28 เซนติเมตร จำนวน 3 ผล แล้วนำไปปิดปากถุงและทำให้สภาพภายในถุงพลาสติกเป็นสุญญากาศโดยเครื่อง vacuum packaging

วิธีที่ 3 กำจัดความฝาดของผลพลับโดยใช้วิธี CTSD (constant temperature short duration) โดยนำผลพลับมาลดอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส แล้วรมด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเอาพลับไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง

จากนั้นนำผลพลับที่ผ่านการกำจัดความฝาดทั้ง 3 วิธีไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เริ่มตรวจสอบคุณภาพพร้อมกันเมื่อสิ้นสุดวิธีการกำจัดความฝาดในแต่ละวิธี

#### การบันทึกผล

ตรวจสอบคุณภาพผลพลับทุกวันเป็นเวลา 28 วัน โดยบันทึกลักษณะต่อไปนี้

1. ลักษณะภายนอกและภายในของผลพลับ ประกอบด้วย
  - การเปลี่ยนแปลงของสีผิวของผลพลับ โดยการวัดสีผิวของผลด้วยเครื่องวัดสีทุกวันตลอดอายุการเก็บรักษา บันทึกผลเป็นค่า  $L$ ,  $a$  และ  $b$
  - ความผิดปกติของสีเนื้อ
2. ความแน่นเนื้อ (ตามการทดลองที่ 1)
3. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (ตามการทดลองที่ 1)
4. ปริมาณวิตามินซี (ตามการทดลองที่ 1)
5. ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (ตามการทดลองที่ 1)

6. ปริมาณของแทนนิน โดยวิธีการของ Okuda *et al.* อ้างโดย Dey and Harbourne (1989) มีวิธีการดังต่อไปนี้

6.1 การเตรียมสารละลายแทนนินจากผลพลับ

นำผลพลับที่ปอกเปลือกแล้วมาปั่นให้ละเอียด จากนั้นนำเนื้อมา 2 กรัม ใส่โถรงบด สกัดแทนนินโดยเติมน้ำลงไป 20 มิลลิลิตร บดให้เข้ากัน แล้วนำสารที่สกัดได้มากรองด้วยผ้ากรอง แล้วจึงกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อเอาเนื้อออก

6.2 การวิเคราะห์หาปริมาณแทนนิน

โดยการใส่สารละลายตัวอย่างปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในสารละลายที่ใช้ทดสอบ ซึ่งประกอบด้วยสารละลายเมทธิลีนบลูปริมาตร 2 มิลลิลิตร และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ความเป็นกรด-ต่าง=7) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าสารละลายให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำไปเข้าเครื่องเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาปริมาณของแทนนินมีหน่วยเป็นกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสดตามสูตร

$$\text{ปริมาณแทนนิน} = \text{ค่าที่อ่านได้จาก standard curve} \times 80^* \times 100 / 10^{-3}$$

\* = ค่าที่ได้จากการเจือจางสารละลายแทนนินด้วยน้ำ