

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัสดุพันธุ์พืช

ผลส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4-5 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 110-120 กรัม/ผล ซึ่งมาจากแหล่งปลูกในอำเภอ ฝาง จังหวัดเชียงใหม่

2. อุปกรณ์

2.1 เครื่องวัดสี (chroma meter) ของบริษัท Minolta ตัวเครื่อง CR-300 หัววัด CR-310 และใช้แหล่งกำเนิดแสง D 65 ซึ่งวัดสีออกมาเป็นค่า L^* , a^* , b^* โดยมีรายละเอียดดังนี้คือ

L^* = The lightness factor (value)

ค่า L^* แสดงค่าความสว่าง

- มีค่าความสว่างมากเมื่อ มีค่าใกล้ 100
- มีค่าความมืดมากเมื่อมีค่าใกล้ 0

a^* , b^* = The chromaticity coordinates (hue, chroma)

ค่า a^* - มีค่าบวก หมายถึง วัตถุมีสีแดง

- มีค่าลบ หมายถึง วัตถุมีสีเขียว

ค่า b^* - มีค่าบวก หมายถึง วัตถุมีสีเหลือง

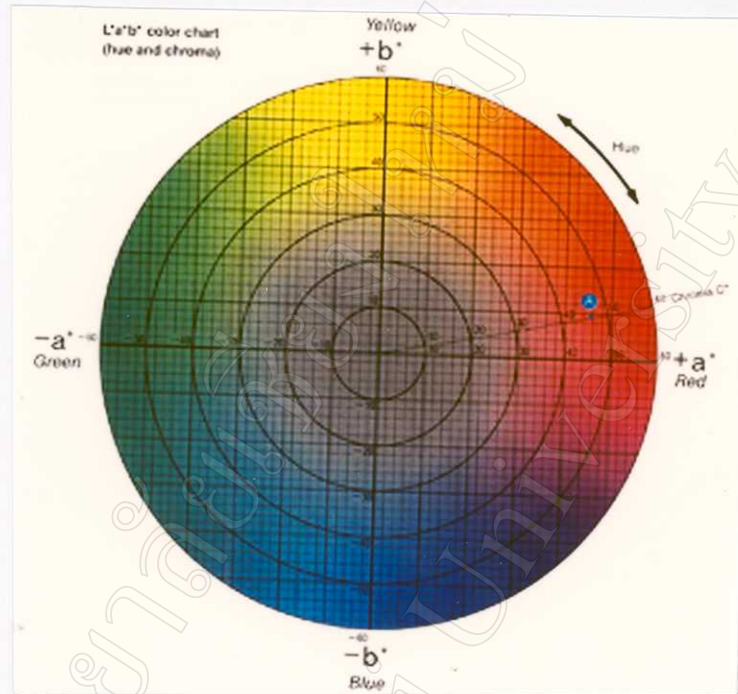
- มีค่าลบ หมายถึง วัตถุมีสีน้ำเงิน

ทั้ง a^* และ b^* หากมีค่าเป็นศูนย์ หมายถึง วัตถุมีสีเทา

c^* - มีค่าเข้าใกล้ศูนย์ หมายถึง วัตถุมีสีซีดจาง (เทา)

- หากมีค่าเข้าใกล้ 60 หมายถึง วัตถุมีสีเข้ม

คำนวณหาค่า Chroma ซึ่งเป็นค่าที่แสดงให้เห็นถึงความอิ่มตัวของสี (McGuire, 1992)



ภาพ 3 แผนภาพของสี

ถ้ามีค่าเข้าใกล้ศูนย์แสดงว่าวัตถุมีสีซีดจาง (เทา) มีค่าสูงเข้าใกล้ 60 แสดงว่าวัตถุมีสีเข้มและคำนวณหาค่า hue angle (h^0) ที่เป็นค่าแสดงถึงมุมในการตกกระทบของค่า a^* ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 องศา จากสมการดังนี้ (McGuire, 1992)

$$\text{THETA} = (\arctangent(b^*/a^*)/6.2832 * 360)$$

ถ้า $a > 0$ และ $b > 0$; ค่า $h^0 = \text{THETA}$

ถ้า $a < 0$ และ $b < 0$; ค่า $h^0 = \text{THETA} + 180$

ถ้า $a < 0$ และ $b > 0$; ค่า $h^0 = \text{THETA} + 180$

ถ้า $a > 0$ และ $b < 0$; ค่า $h^0 = \text{THETA} + 360$

ค่า h^0 เป็นค่าที่แสดงช่วงสีของวัตถุคือ

0-45 องศาแสดงสีม่วงแดงถึงสีส้มแดง

45-90 องศาแสดงสีส้มแดงถึงสีเหลือง

90-135 องศาแสดงสีเหลืองถึงเหลืองเขียว

135-180 องศาแสดงสีเหลืองเขียวถึงเขียว

180-225 องศาแสดงสีเขียวถึงน้ำเงินเขียว

225-270 องศาแสดงสีน้ำเงินเขียวถึงน้ำเงิน

270-315 องศาแสดงสีน้ำเงินถึงม่วง

315-360 องศาแสดงสีม่วงถึงม่วงแดง

2.2 เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (hand refractometer) ของบริษัท ATAGO รุ่น N1 อ่านค่าตั้งแต่ 0-32 องศาบริกซ์ (Brix)

2.3 เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบทศนิยม 2 ตำแหน่งของบริษัท Sartorius รุ่น BA 3100 p และแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง ของบริษัท Mettler Toledo รุ่น AB 54

2.4 เครื่องไตเตรตของ Merck รุ่น Burette digital 2

2.5 เครื่องคั่นน้ำส้ม

2.6 กล้องถ่ายรูป

2.7 กล้องจุลทรรศน์

2.8 เครื่องวัดอุณหภูมิ (Thermo-couple)

2.9 ตู้เย็น

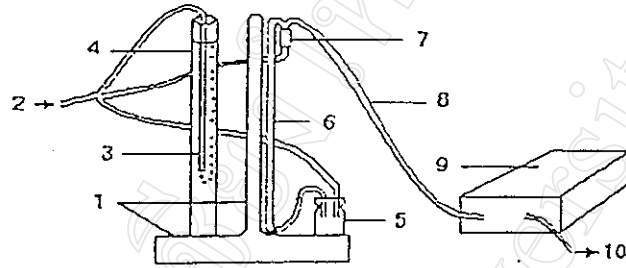
2.10 เครื่องกวนสารเคมีด้วยแท่งแม่เหล็กและให้ความร้อนของบริษัท Nuova 2

2.11 กระดาษกรอง Whatman No.1

2.12 ชุดแผงควบคุมการไหลของอากาศ (flow board)

ประกอบด้วย

1. แผงและฐานไม้
2. ทางอากาศเข้า
3. หลอดแก้วระบายอากาศ
4. ขวดแก้วใหญ่บรรจุน้ำเต็ม
5. ขวดแก้วบรรจุน้ำ
6. หลอดแก้ว
7. คาพิลลารี (capillary)
8. หลอดนำก๊าซ
9. ภาชนะบรรจุผลิตภัณฑ์
10. ทางอากาศออก



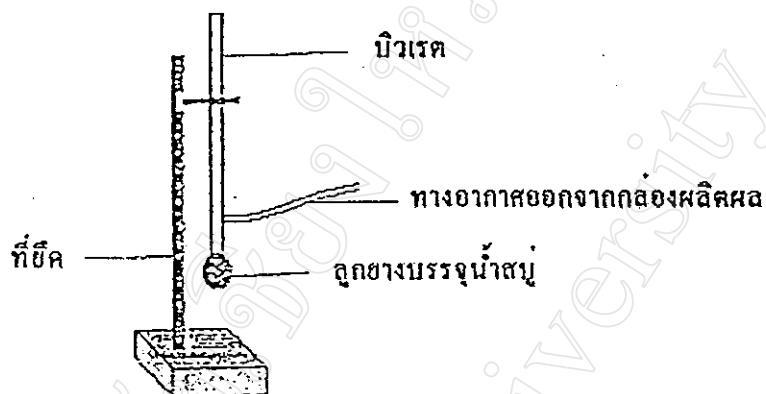
ภาพ 4 ชุดแสงควบคุมการไหลของอากาศ

หลักการทำงานของชุดแสงควบคุมการไหลของอากาศคือเมื่อให้อากาศจากเครื่องสูบลมผ่านเข้าทางช่องอากาศเข้า(2)อากาศจะแยกออกเป็น 3 ทาง คือผ่านไปเข้าสู่ น้ำในหลอดแก้วระบายอากาศ(3) หรือผ่านเข้าไปในหลอดบรรจุน้ำ (5) หรือออกไปทางหลอดคาปิลลารี (7) แล้วออกสู่ภาชนะบรรจุผลิตภัณฑ์ (9) กรณีที่อากาศผ่านเข้ามามีแรงดันต่ำ อากาศส่วนใหญ่จะไหลไปทางหลอดคาปิลลารี เพราะไม่สามารถดันน้ำในหลอดแก้วระบายอากาศ (3) หรือในขวดแก้ว (5) ได้ แต่เมื่อเพิ่มความดันของอากาศที่ผ่านเข้ามาให้มากขึ้น อากาศจะออกทางหลอดคาปิลลารีไม่ทัน เพราะมีช่องขนาดเล็ก อากาศจะดันน้ำในหลอดแก้วระบายอากาศ (3) ให้ต่ำลง และดันน้ำในหลอดแก้ว (5) ขึ้นไปตามหลอดแก้วแสดงระดับความดัน (6) ซึ่งจะสูงเท่ากับระดับความดันของระดับอากาศที่ผ่านเข้ามาในขณะนั้น ถ้าความดันอากาศเพิ่มขึ้นจะดันน้ำในหลอดแก้ว(3)ให้ต่ำลงจนเห็นเป็นฟองอากาศออกไปที่ปลายหลอดแก้วระบายอากาศ(3)

2.13 ชุดวัดอัตราการไหลของอากาศ (air flow meter) (ภาพ 5)

ประกอบด้วย

1. ทางอากาศเข้า
2. บิวเรท (burette)
3. ลูกยางบรรจุน้ำสบู่



ภาพ 5 ชุดวัดอัตราการไหลของอากาศ

หลักการทำงานของเครื่อง คือ เมื่อต่อสายยางที่มีอากาศผ่านจากคาปิลลารีในชุดแผงควบคุมอัตราการไหลเข้ากับชุดวัดอัตราการไหลของอากาศแล้ว เมื่อบีบลูกยางให้น้ำสบู่ไหลขึ้นไปปิดทางออกอากาศ ขณะที่อากาศไหลออกจากหลอดคาปิลลารีเข้าสู่บิวเรต อากาศจะดันน้ำสบู่ให้เป็นฟองไหลออกไปตามบิวเรต วัดอัตราการไหลของอากาศโดยจับเวลาการเคลื่อนที่ของฟองสบู่แล้วคำนวณเป็นอัตราการไหลของอากาศมีหน่วยเป็นมิลลิลิตรต่อนาที

2.14 เครื่อง Gas chromatography ของบริษัท Thermo Finigan รุ่น TRACE GC ประเทศ อิตาลี โดยมีรายละเอียดดังนี้

- Detector : Thermal conductivity detector (TCD)
- Column : packed (Heye Sep Q และ Molesreve-13X)
- Carrier gas : helium , 42 ml/min
- Oven temperature : 80° C
- Injection temperature : 80° C
- Column temperature : 120° C

2.15 เครื่องแก้ว

1. บีกเกอร์ (Beaker)
2. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
3. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask)
4. กระบอกลม (Cylinder)
5. ปิเปต (pipette)
6. แท่งแก้วคน (stirrer)
7. หลอดหยด (dropper)
8. ช้อนตักสารเคมี
9. เข็มฉีดยา ขนาด 5 มิลลิลิตรพร้อมเข็มขนาด 0.53x 25 มิลลิเมตร
10. บิวเรต (burette)
11. ไฮโกรมิเตอร์ (Hygrometer)

3. สารเคมีและวิธีการเตรียมสารเคมี

3.1 สารเคมีที่ใช้หาปริมาณกรดที่ไตเตรตได้

-สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide , Merck) เตรียมความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

3.2 สารเคมีที่ใช้หาปริมาณวิตามินซี

-กรดออกซาลิก (oxalic acid, Merck) เตรียมกรดออกซาลิกเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ โดยชั่งกรดออกซาลิกมา 4 กรัม ใส่น้ำในบีกเกอร์ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

-2, 6 – ไดคลอโรฟีโนล (2,6 –dichlorophenol –indophenol , Merck) เข้มข้น 0.04 % เตรียมโดยชั่ง 2, 6 ไดคลอโรฟีโนล อินโดฟีโนล 0.04 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

-กรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน (ascorbic acid, Merck) ชั่งกรดแอสคอร์บิก 0.001 กรัม ละลายในกรดออกซาลิกเข้มข้น 0.4 % ปริมาตร 40 มิลลิลิตร แล้วนำไปไตเตรตกับ 2, 6 –ไดคลอโรฟีโนลอินโดฟีโนลเข้มข้น 0.04 %จนถึงจุดยุติ แล้วบันทึกปริมาตร 2, 6 ไดคลอโรฟีโนล อินโดฟีโนล ที่ใช้เพื่อเป็นมาตรฐานในการคำนวณหาปริมาณวิตามินซี

3.3 สารเคมีที่ใช้เป็นตัวทำละลาย

-Triethanolamine APS Chemicals Limited Australia เป็น emulsifier

3.4 สารเคมีที่ใช้ในการเคลือบผิว

-shellac ชนิด food grade จากบริษัทเนเจอร์ไบด์ จำกัด

-carnauba จากบริษัท Colin Campbell (chemical) จำกัด

-wax ทางการค้า คือ Johnson's wax จากบริษัทเอส. ซี จอห์นสัน โพรเฟสชันแนล จำกัด

ส่วนประกอบสำคัญ shellac 75% , ammonia 10% และตัวทำละลายอื่นๆ 15 %

-wax ทางการค้า คือ ZIVDAR จากบริษัท เนเจอร์ไบด์ จำกัด

ส่วนประกอบสำคัญ shellac 78 % , ammonia 12% และตัวทำละลายอื่นๆ 10%

-citrus shine wax จากบริษัท Makhteshim Agan (Australia) จำกัด

ส่วนประกอบสำคัญ shellac 75% และตัวทำละลายอื่นๆ 25%



ภาพ 6 สารเคลือบผิวผลส้มทางการค้า Johnson's wax (A), citrus shine (B), ZIVDAR (C)

4. สถานที่ทำการทดลอง

4.1 ห้องปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

4.2 ห้องปฏิบัติการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว สถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วิธีการวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 3 การทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของชนิดของสารเคลือบผิวต่อคุณภาพส้มสายน้ำผึ้ง

การทดลองที่ 2 ศึกษาความหนาของสารเคลือบผิวที่เหมาะสมในการเคลือบผิวผลส้มสายน้ำผึ้ง

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อคุณภาพผลส้มสายน้ำผึ้ง

การทดลองที่ 1 ผลของสารเคลือบผิวต่อคุณภาพส้มสายน้ำผึ้ง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มี 7 วิธีการแต่ละวิธีการมี 3 ซ้ำแต่ละซ้ำมี 5 ผลโดยเคลือบด้วยสารเคลือบผิวดังต่อไปนี้ เปรียบเทียบกับผลที่ไม่เคลือบผิว (ชุดควบคุม)

กรรมวิธีที่ 1 caruaba wax ความเข้มข้น 15 % น้ำหนักโดยปริมาตร

กรรมวิธีที่ 2 shellac wax ความเข้มข้น 15 % น้ำหนักโดยปริมาตร

กรรมวิธีที่ 3 carnauba wax ความเข้มข้น 7.5%+shellac wax ความเข้มข้น 7.5% น้ำหนักโดยปริมาตร

กรรมวิธีที่ 4 citrus shine wax ความเข้มข้น 60% น้ำหนักโดยปริมาตร

กรรมวิธีที่ 5 Johnson' s wax 100%

กรรมวิธีที่ 6 น้ำยาเคลือบผิวส้ม ZIVDAR 100%

กรรมวิธีที่ 7 ชุดควบคุมคือ ผลส้มที่ไม่ผ่านการเคลือบผิว

วิธีการเคลือบผิว

- ผลส้มสายน้ำผึ้ง เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 4-5 เซนติเมตร จากสวนส้มเกษตรกรที่อำเภอฝาง จ.เชียงใหม่ คัดผลที่ระยะแก่บริบูรณ์ โดยสังเกตจากสีผิว และลักษณะความสมบูรณ์ของผล จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำสะอาด แล้วผึ่งให้แห้งจากนั้นนำไปเคลือบด้วยสารเคลือบผิวชนิดต่างๆดังกล่าว โดยใช้ฟองน้ำชุบสารเคลือบผิวแล้วเคลือบให้ทั่วผลส้ม จากนั้นใช้พัดลมเป่าให้แห้งนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง(21±2)องศาเซลเซียส บันทึกการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ การเปลี่ยนแปลงทางเคมี และการยอมรับของผู้ทดสอบชิม

การบันทึกข้อมูล

1. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids ; TSS)

วัดโดยใช้เครื่องวัด Hand Refractometer วัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้รุ่น NI ของบริษัท ATAGO (0-32 องศาบริกซ์) โดยใช้ น้ำส้มมาหยดลงบนแผ่นปริซึมของเครื่องมือ

2. ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ (titratable acidity ; TA)

นำผลส้มแต่ละกรรมวิธีมาคั้นน้ำโดยเครื่องคั้นน้ำ นำของเหลวที่ได้ 5 มิลลิลิตร ใส่ลงไปใน flask หยดสารละลาย phenolphthalein 1 % ลงไป 1-2 หยด เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์ไตเตรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล วัดปริมาณสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดจากสูตร

$$\% \text{ TA} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ NaOH (0.1 N)} \times \text{ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ (มล.)} \times 0.070 \times 100}{\text{ปริมาตรน้ำคั้น (มล.)}}$$

* milliequivalent of citric acid (anhydrous) = 0.070

3. การเปลี่ยนแปลงอัตราการหายใจ

วัดความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และออกซิเจนภายในผล โดยใช้เครื่อง gas chromatograph โดยนำผลส้มจำนวน 5 ผลบรรจุลงในกล่องพลาสติกขนาด 173x27x11 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำกล่องพลาสติกต่อกับชุดแผงควบคุมอัตราการไหลของอากาศ (ภาพ 4) วัดอัตราการหายใจของผลส้มทุกๆ 3 วัน จนหมดอายุการเก็บรักษาแล้วนำมาคำนวณ

อัตราการหายใจโดยใช้สูตรอัตราการหายใจ(มิลลิกรัม CO₂ / กก./ ชม.)

$$= \frac{(\% \text{CO}_2 - \text{Blank } \% \text{CO}_2) \times \text{Flow rate (ml / min)} \times \text{Factor}}{\text{weight (g)}}$$

$$\text{โดยที่ Factor} = \frac{60 \text{ (min)} \times 1000 \text{ (g)} \times 44 \times 273 \text{ (}^\circ \text{K)}}{100 \times 22.4 \times (273 + \text{store temperature } ^\circ \text{C})}$$

$$100 \times 22.4 \times (273 + \text{store temperature } ^\circ \text{C})$$

$$\text{Blank } \% \text{ CO}_2 = 0.033$$

4. การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกส้ม

โดยใช้เครื่อง Chroma meter ของบริษัท Minolta รุ่น CR 300 หัววัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร แหล่งกำเนิดแสง D 65 วัดสีผิวเปลือกทั่วทั้งผล 5 จุด ต่อผล ใช้ผลส้มจำนวน 3 ผลต่อการบันทึก 1 ครั้ง

ค่าที่ได้แสดงเป็น L^* , a^* และ b^* ความเข้มสีหรือค่า Chroma (C^*) คำนวณจาก $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ และ คำนวณค่า Hue จาก Hue value = arctangent b^*/a^* (McGuire, 1992)

5. เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด

การสูญเสียน้ำหนักทำโดยชั่งน้ำหนักเมื่อเริ่มต้นและทุกๆ 3 วัน ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา แล้ว คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์จากสูตร

$$\% \text{การสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{(\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักสุดท้าย})}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100$$

6. วัดความหนาของสารเคลือบผิวและการเกาะตัวของสารเคลือบผิว

โดยการศึกษารูปตัดขวางของเนื้อเยื่อเปลือกผลส้มโดยตามวิธีการฝังพาราฟิน (paraffin embedding method) ตามเทคนิคของ Johansen (1940) วัดความหนาของสารเคลือบผิวที่เคลือบผลส้มด้วยสารเคลือบผิวต่างๆ โดยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ไมโครมิเตอร์วัด 3 จุด ต่อ 1 ซีนผลส้ม วัดทั้งหมด 15 ซีน 45 จุด คำนวณเป็นค่าเฉลี่ยของความหนาของชั้นแว็กซ์

7. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

7.1 การยอมรับของผู้ทดสอบชิม

โดยการทดสอบชิมรสชาติ ใช้ผู้ทดสอบทั่วไปชิมจำนวน 5 คน ชิมแล้วให้คะแนนดังนี้

5 = รสชาติดีมาก

4 = รสชาติดี

3 = รสชาติปานกลาง

2 = รสชาติไม่ดี

1 = รสชาติไม่ดีมาก

7.2 การประเมินกลิ่นหมัก (fermentation) โดยการให้ระดับคะแนนดังต่อไปนี้

4 = มีกลิ่นหมักมาก

3 = มีกลิ่นหมักปานกลาง

2 = มีกลิ่นหมักน้อย

1 = ไม่มีกลิ่นหมัก

7.3 การประเมินการยอมรับสภาพภายนอกของผล

5 = ผลปกติ (เพิ่งเก็บจากต้น)

4 = ผลเริ่มแสดงอาการเหี่ยว (ยังยอมรับได้)

3 = ผลเหี่ยวที่บริเวณขั้วผล รอบๆ ขั้วผล (เริ่มไม่ยอมรับ)

2 = ผลเริ่มเหี่ยวปานกลาง (ไม่ยอมรับ)

1 = ผลเหี่ยวมาก (ไม่ยอมรับ)

8. อายุการเก็บรักษา

การทดลองที่ 2 ความหนาของสารเคลือบผิวที่เหมาะสม

จากผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ในการทดลองที่ 1 นำผลการทดลองที่ดีที่สุดมาศึกษาต่อ ซึ่งคือสารเคลือบผิวส้ม ZIVDAR จากบริษัทเนเจอร์ไบค์ จำกัด เพื่อหาความหนาของสารเคลือบผิวที่เหมาะสม

โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มี 4 วิธีการแต่ละวิธีการมี 3 ซ้ำแต่ละซ้ำมี 5 ผล ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เคลือบผิวส้มสายน้ำผึ้ง 1 ครั้ง

กรรมวิธีที่ 2 เคลือบผิวส้มสายน้ำผึ้ง 2 ครั้ง

กรรมวิธีที่ 3 เคลือบผิวส้มสายน้ำผึ้ง 3 ครั้ง

กรรมวิธีที่ 4 ชุดควบคุมคือ ผลส้มที่ไม่ผ่านการเคลือบผิว

หลังจากนั้นใช้พัดลมเป่าให้แห้งแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (23 ± 2) องศาเซลเซียส บันทึกผลทุกๆ 3 วัน จนกระทั่งหมดอายุการเก็บรักษา

การบันทึกข้อมูล

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 3 ผลของอุณหภูมิต่อคุณภาพผลส้มสายน้ำผึ้ง

จากผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ในการทดลองที่ 1 และ 2 นำผลการทดลองที่ดีที่สุดมาศึกษาต่อเพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อคุณภาพของผลส้มสายน้ำผึ้ง โดยนำผลส้มสายน้ำผึ้งซึ่งเคลือบผิวที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 คือน้ำยาเคลือบผิวส้ม ZIVDAR และความหนาที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 2 คือการเคลือบผิว 2 ครั้ง ทำการเคลือบผลส้มสายน้ำผึ้ง เปรียบเทียบกับผลส้มที่ไม่ผ่านการเคลือบผิว (ชุดควบคุม) จากนั้นนำผลส้มเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆดังนี้

โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มี 4 วิธีการแต่ละวิธีการมี 3 ซ้ำแต่ละซ้ำมี 5 ผลดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 4 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

ตรวจสอบคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาทุกๆ 3 วัน จนกระทั่งหมดอายุการเก็บรักษา

การบันทึกข้อมูล

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 และวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในน้ำคั้น

ปริมาณวิตามินซี (ascorbic acid) วิเคราะห์ตามวิธี Indophenol นำน้ำส้มคั้นที่ได้มา 10 มิลลิลิตร เติมกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ปริมาตรของเหลวเท่ากับ 100 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำของเหลวที่กรองได้มา 10 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดออกซาลิกให้ครบ 40 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปไตเตรตกับ 2,6-ไดคลอโรฟีนอน อินโดฟีนอน ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์จนถึงจุดยุติ ซึ่งทำให้สารละลายมีสีชมพู ประมาณ 15 วินาที แล้วคำนวณตามสูตร

$$\text{ปริมาณวิตามินซี} = \frac{ax0.001x100x1000}{bxc}$$

a = ปริมาตร 2,6-ไดคลอโรฟีนอน อินโดฟีนอน ที่ใช้ในการไตเตรตกับสารตัวอย่าง

b = ปริมาตร 2,6-ไดคลอโรฟีนอน อินโดฟีนอน ที่ใช้ในการไตเตรตกับวิตามินซีมาตรฐาน

c = ปริมาตรสารตัวอย่าง (มิลลิลิตร)