บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุเกษตร

ผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง (*Citrus reticulata* Blanco cv. Sai Nam Paung) เก็บเกี่ยวที่ระยะความแก่ทางการค้า ขนาดเบอร์ 4-5 มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0-6.5 เซนติเมตร เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2549 ถึงมกราคม พ.ศ. 2550 โดยได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทเชียงใหม่ ธนาธร จำกัด อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ ขนส่งมาที่ห้องปฏิบัติสถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง เก็บรักษาผลส้มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อใช้ทำการทดลองในวันรุ่งขึ้น

3.2 สารเคลือบผิวและวิธีการเตรียมสารเคลือบผิว

3.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสารเคลือบผิว

- พอลิเอทิลีนแวกซ์ (polyethylene wax, grade AC673-P, Honeywell Specialty Chemicals, Allied Signal, Inc., New Jersy, USA.)
- แคนเดลิลลาแวกซ์ (candelilla wax, grade S.P. 75, Strahl & Pitsch Inc., W. Babylon, New York, USA.)
- กรดโอเลอิก (oleic acid, Panreac Quaimica S.A., Bacelona, Spain)
- กรดไมริสติก (myristic acid, Scharlau Chemie S.A., Bacelona, Spain)
- แอมโมเนีย (NH_3) (ammonia, MERCK, Darmstadt, Germany)
- มอร์โฟลีน (morpholine, Panreac Quaimica S.A., Bacelona, Spain)

สารเคมีทั้งหมดได้รับการอนุเคราะห์จาก Dr. E.A. Baldwin (Citrus and Subtropical Products Laboratory, ARS, USDA, Winter Haven Florida, USA.)

3.2.2 ส่วนผสมของสารเคลือบผิวแต่ละชนิด

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาสารเคลือบผิว 6 ชนิด เป็นสารเคลือบผิวที่เตรียมด้วยเทคนิคไมโครอิมัลชัน 4 ชนิด และเป็นสารเคลือบผิวทางการค้า 2 ชนิด ส่วนผสมของสารเคลือบผิวแต่ละชนิด ดังแสดงในตาราง 3.1 และลักษณะของแวกซ์และสารเคลือบผิวที่เตรียมได้ทั้ง 4 ชนิด ดังแสดงในภาพ 3.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2.3 วิธีการเตรียมสารเคลือบผิวด้วยเทคนิคไมโครอิมัลชัน

สารเคลือบผิวไมโครอิมัลชันของแคนเดลิลลาแวกซ์ (0% PE) เตรียมโดยวิธีไมโคร-อิมัลชันชนิดเติมน้ำลงในแวกซ์ (water to wax) เตรียมโดยให้ความร้อนแก่แวกซ์และส่วนผสมอื่นๆ จนหลอมเหลวแล้ว จึงให้ความร้อนต่อจนมีอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิที่จุดหลอมเหลวของแวกซ์ประมาณ 10-20 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเติมน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิประมาณ 90-95 องศาเซลเซียสลงไปในแวกซ์ที่หลอมละลายแล้วทีละน้อย และคนให้เข้ากันอย่างรวดเร็วด้วยเครื่องปั่น (blender, IKA RW 16 basis, IKA-WERKW GMBH & CO.KG, Germany) สารละลายที่ได้จะมีความหนืดเพิ่มขึ้น หลังจากนั้นเมื่อผ่านจุดเปลี่ยน (inversion point) ความหนืดจะลดลง ส่วนผสมทั้งหมดนำมาลดอุณหภูมิลงอย่างช้าๆ โดยการแช่ในอ่างน้ำ (water bath) พร้อมกับคนอยู่ตลอดเวลาด้วย จนอุณหภูมิลดลงเหลือประมาณ 50 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำร้อนที่เติมลงไปได้จากการคำนวณให้มีของแข็งทั้งหมดในสารละลายอิมัลชันสุดท้ายประมาณ 20-25 เปอร์เซ็นต์

สำหรับสารเคลือบผิวไมโครอิมัลชันของพอลิเอทิลีนแวกซ์ (100% PE) และสารเคลือบผิวไมโครอิมัลชันของพอลิเอทิลีนผสมกับแคนเดลิลลาแวกซ์ (75%PE และ 60% PE) เตรียมโดยใช้วิธีไมโครอิมัลชันชนิดเติมแวกซ์ลงในน้ำ (wax to water) ซึ่งใช้หลักการคล้ายๆ กับการเติมน้ำลงในแวกซ์ แต่เปลี่ยนเป็นนำแวกซ์และส่วนผสมอื่นๆ ที่หลอมเหลวแล้วมาเติมลงในน้ำร้อนพร้อมคนให้เข้ากันอย่างรวดเร็วด้วยเครื่องปั่น หลังจากนั้นเมื่อผ่านจุดเปลี่ยนความหนืดจะลดลง นำส่วนผสมทั้งหมดมาลดอุณหภูมิด้วยการแช่ในอ่างน้ำ พร้อมกับคนอยู่ตลอดเวลา จนอุณหภูมิลดลงเหลือประมาณ 50 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำที่อยู่ในส่วนผสมได้จากการคำนวณให้มีของแข็งทั้งหมดในสารละลายอิมัลชันสุดท้ายประมาณ 20-25 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกัน (Hagenmaier and Baker, 1994a; Hagenmaier, 1998a)

3.3 วิธีการวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของสารเคลือบผิวไมโครอิมัลชันที่เตรียม 4 ชนิด และสารเคลือบผิวทางการค้า 2 ชนิด ต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ทางสรีรวิทยา และทางเคมีของผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งระหว่างการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 31 วัน

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของสารเคลือบผิวที่ได้ผลดีจากการทดลองที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ทางสรีรวิทยา และทางเคมีของผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งระหว่างการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 3.1 ส่วนผสมของสารเคลือบผิวที่เตรียมและสารเคลือบผิวทางการค้า

ชื่อสารเคลือบผิว	ส่วนผสม
สารเคลือบผิวไมโครอิมัลชันที่เตรียม	
ไมโครอิมัลชันของพอลิเอทิลีนแวกซ์ หรือ 100% PE[a]	พอลิเอทิลีนแวกซ์ 18.3% กรดโอเลอิก 3.7% มอร์โฟลีน 2.6% และน้ำ 75.4% (w/w)
ไมโครอิมัลชันของพอลิเอทิลีนผสมกับแคนเดลิลลาแวกซ์ หรือ 75% PE[b]	พอลิเอทิลีนแวกซ์ 12.0% แคนเดลิลลาแวกซ์ 4.0% กรดโอเลอิก 3.8% กรดไมรีสติก 1.1% แอมโมเนีย 1.1% และน้ำ 78.0% (w/w)
ไมโครอิมัลชันของพอลิเอทิลีนผสมกับแคนเดลิลลาแวกซ์ หรือ 60% PE[c]	พอลิเอทิลีนแวกซ์ 12.0% แคนเดลิลลาแวกซ์ 8.0% กรดโอเลอิก 3.8% กรดมายรีสติก 1.1% แอมโมเนีย 1.1% และน้ำ 74.0% (w/w)
ไมโครอิมัลชันของแคนเดลิลลาแวกซ์ หรือ 0% PE[d]	แคนเดลลิลลาแวกซ์ 18% กรดโอเลอิก 3.7% แอมโมเนีย 1.1% และน้ำ 77.2% (w/w)
สารเคลือบผิวทางการค้า	
CITROSOL-AK[e]	คาร์นูบาร์แวกซ์และเรซิน18%w/v
ZIVDAR[f]	เชลแล็ก พอลิเอทิลีนแวกซ์ 18%w/v และ Imazalil

[a] Hagenmaier (2002)

[b] Hagenmaier and Goodner (2002)

[c] Hagenmaier (2000); Hagenmaier (2002)

[d] Hagenmaier and Baker (1995)

[e] CITROSOL-AK, Citrosol CO., Ltd., Spain

[f] ZIVDAR WAX EMULSION, NATURE BRIGHT CO., Ltd., Thailand

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(a) พอลิเอทิลีนแวกซ์

(b) แคนเดลิลลาแวกซ์

(c) 100% PE

(d) 75% PE

(e) 60% PE

(f) 0% PE

ภาพ 3.1 ลักษณะของแวกซ์และสารเคลือบผิวที่เตรียมได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของสารเคลือบผิวไมโครอิมัลชันที่เตรียม 4 ชนิด และสารเคลือบผิวทางการค้า 2 ชนิด ต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ทางสรีรวิทยา และทางเคมีของผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งระหว่างการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 31 วัน

3.3.1.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) มี 7 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมี 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำ คือ ผลส้ม 3 ผล โดยเคลือบผิวผลส้มด้วยสารเคลือบผิว 6 ชนิด ดังวิธีการต่อไปนี้

กรรมวิธีที่ 1 ผลส้มที่ไม่ได้เคลือบผิว
กรรมวิธีที่ 2 ผลส้มที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวไมโครอิมัลชัน พอลิเอทิลีนแวกซ์ หรือ 100% PE (ภาพ 3.1-c)
กรรมวิธีที่ 3 ผลส้มที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวไมโครอิมัลชัน พอลิเอทิลีนผสมกับแคนเดลิลลาแวกซ์ หรือ 75% PE (ภาพ 3.1-d)
กรรมวิธีที่ 4 ผลส้มที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวไมโครอิมัลชัน พอลิเอทิลีนผสมกับแคนเดลิลลาแวกซ์ หรือ 60% PE (ภาพ 3.1-e)
กรรมวิธีที่ 5 ผลส้มที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวไมโครอิมัลชัน แคนเดลิลลาแวกซ์หรือ 0% PE (ภาพ 3.1-f)
กรรมวิธีที่ 6 ผลส้มที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิว CITROSOL-AK
กรรมวิธีที่ 7 ผลส้มที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิว ZIVDAR

3.3.1.2 วิธีการเคลือบผิว

นำผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งที่เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2549 ที่ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปามาจากโรงงาน คัดเลือกเอาผลที่มีขนาดสม่ำเสมอและไม่มีการเข้าทำลายของเชื้อโรคและแมลงศัตรูพืช แล้วนำมาเคลือบผิวโดยหยดสารเคลือบผิวแต่ละชนิดลงบนผลส้ม (ประมาณ 0.20 กรัม/ผล) แล้วใช้มือที่สวมถุงมือยางลูบสารเคลือบผิวให้เคลือบผิวของผลส้มจนทั่วทั้งผล (ภาพ 3.2-a, b และ c) ผึ่งให้ผิวแห้งที่อุณหภูมิห้อง บรรจุผลส้มลงในตะกร้าพลาสติก (ภาพ 3.2-d)แล้วนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 87±2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 31 วัน เปรียบเทียบกับผลส้มที่ไม่ได้เคลือบผิว (ภาพ 3.2-e)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(a) การหยดสารเคลือบผิว

(b) การเคลือบผิว

(c) น้ำหนักสารเคลือบผิวที่ติดเปลือกผลส้ม (0.2 กรัม)

(d) การบรรจุผลส้มลงในตะกร้าพลาสติก

ผลส้มที่ไม่ได้เคลือบผิว ผลส้มที่เคลือบผิวแล้ว

(e) ผลส้มที่ใช้ในการทดลองที่ 1

ผลส้มที่ไม่ได้เคลือบผิว ผลส้มที่เคลือบผิวแล้ว

(f) ผลส้มที่ใช้ในการทดลองที่ 2

ภาพ 3.2 วิธีการเคลือบผิว การเก็บรักษาผลส้ม และตัวอย่างผลส้มที่ใช้ในการทดลองที่ 1 และ 2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สุ่มตัวอย่างผลส้มออกมาทุกๆ 5 วัน บันทึก การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและทางเคมี และประเมินลักษณะปรากฏภายนอก ความมันวาวของเปลือกผลส้ม และความผิดปกติด้านกลิ่นและรสชาติโดยการชิม จนครบ 31 วัน

3.3.1.3 การวิเคราะห์ทางกายภาพ

ก. สีเปลือกผลส้ม

การวัดสี ค่าที่วัดได้จากเครื่องวัดสีจะเป็นค่า L*, a* และ b* โดยมีรายละเอียดดังนี้ คือ

L* = ค่าแสดงสีขาวและสีดำ

ค่า L* - เท่ากับ 100 หมายถึง วัตถุจะมีสีขาว ค่า L*- เท่ากับ 0 หมายถึง วัตถุจะมีสีดำ

a* = ค่าสีที่วัดได้ตามแนวแกน X และ b* = ค่าสีที่วัดได้ตามแนวแกน Y

ซึ่ง chromatically diagram ของค่า a* และ b* ดังแสดงในภาพ 3.3

ค่า a* ที่เป็นบวกหมายถึงวัตถุมีสีแดง และค่า a* ที่เป็นลบหมายถึงวัตถุมีสีเขียว

ค่า b* ที่เป็นบวกหมายถึงวัตถุมีสีเหลือง และค่า b* ที่เป็นลบหมายถึงวัตถุมีสีน้ำเงิน

ทั้ง a* และ b* หากมีค่าเป็นศูนย์หมายถึงวัตถุมีสีเทา

ค่า chroma เป็นค่าที่แสดงความเข้มของสีวัตถุ ค่า chroma มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึงวัตถุมีสีซีดจาง (เทา) หากมีค่าเข้าใกล้ 60 หมายถึง วัตถุมีสีเข้ม

ค่า hue angle (h°) เป็นค่าที่แสดงสีแท้จริงของวัตถุในช่วงมุม 0-360 องศา จากสมการดังนี้

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

ถ้า a > 0 และ b > 0; ค่า h° = THETA + 90

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

ถ้า a < 0 และ b < 0; ค่า h° = THETA + 270

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

ค่า h° เป็นค่าที่แสดงช่วงสีของวัตถุ คือ

0-45 องศา แสดงสีม่วงแดงถึงสีส้มแดง

45-90 องศา แสดงสีส้มแดงถึงสีเหลือง

90-135 องศา แสดงสีเหลืองถึงเหลืองเขียว

135-180 องศา แสดงสีเหลืองเขียวถึงเขียว

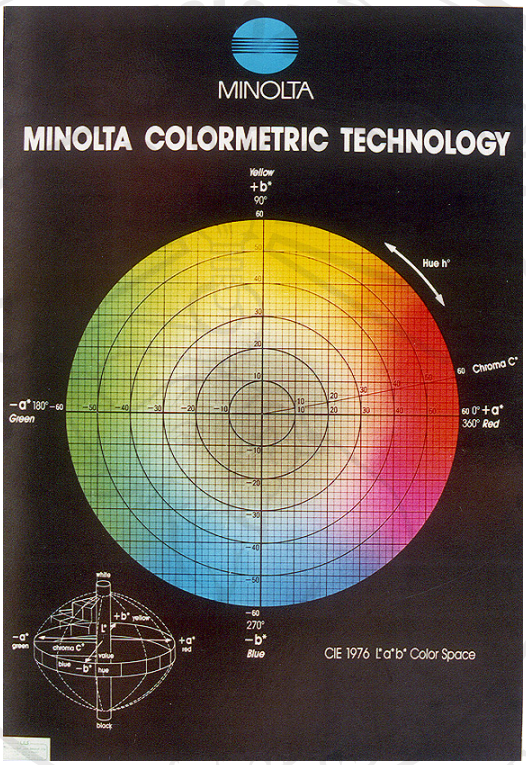
180-225 องศา แสดงสีเขียวถึงสีน้ำเงิน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

225-270 องศา แสดงสีน้ำเงินเขียวถึงน้ำเงิน

270-315 องศา แสดงสีน้ำเงินถึงม่วง

315-360 องศา แสดงสีม่วงถึงม่วงแดง



ภาพ 3.3 CIE 1976 L* a* b* Color Space**.**

ที่มา : Konica Minolta Sensing, Inc. (1998)

วิธีวิเคราะห์

เครื่องวัดสี (Colorimeter, Hunter Associates Laboratory, ColorQuest XE, USA.) ที่ใช้มีแหล่งกำเนิดแสงเป็น D65 หัววัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร การวัดสีเปลือกของผลส้มทำการวัดบริเวณจุดกึ่งกลางของผล ผลละ 2 จุด ค่าที่วัดได้บันทึกเป็นค่า L*, a* และ b* แล้วคำนวณหาค่า chroma และ hue angle จากสมการ ดังนี้ (McGuire, 1992)

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

$$\text{hue angle} = \text{arctangent}\ (\ b^*/a^*\ )$$

ข. เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด

หลักการ การสูญเสียน้ำหนักคือ น้ำหนักที่หายไปของผลส้มระหว่างการเก็บรักษา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีวิเคราะห์

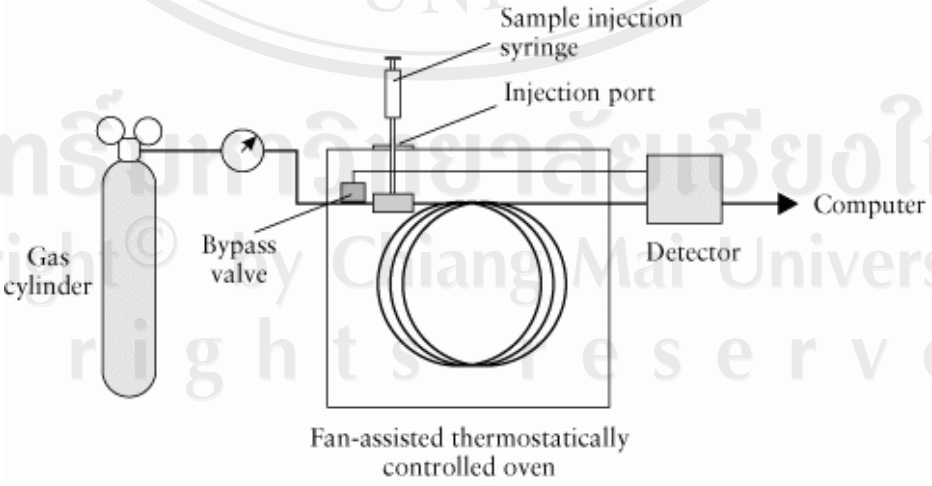
ชั่งน้ำหนักผลส้มเมื่อวันเริ่มต้นโดยใช้เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Electronic analytical balance, Mettler Toledo, PB 3002-5, Switzerland) แล้วนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง และชั่งน้ำหนักซ้ำทุกๆ 5 วัน โดยใช้ผลส้มในแต่ละกรรมวิธีชุดเดิมจนครบ 31 วัน นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด} = \frac{\text{น้ำหนักผลส้มเมื่อเริ่มต้น–น้ำหนักผลส้มหลังเก็บรักษา}}{\text{น้ำหนักผลส้มก่อนเก็บรักษา}} \times 100$$

3.3.1.4 การวิเคราะห์ทางสรีรวิทยา

การวิเคราะห์ปริมาณแก๊สออกซิเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ภายในผลส้ม

หลักการ เครื่อง Gas chromatography (GC) เป็นเครื่องมือที่ใช้แยกสารผสมที่สามารถระเหยกลายเป็นไอได้ โดยใช้แก๊สตัวพา (carrier gas) เช่น แก๊สฮีเลียม แก๊สไนโตรเจน แก๊สไฮโดรเจน หรืออากาศ ซึ่งถูกปล่อยจากถังบรรจุแก๊สตัวพา โดยควบคุมความดันด้วยมาตรวัดความดัน (gauge) เพื่อให้อัตราการไหลคงที่และถูกต้อง เมื่อฉีดสารตัวอย่างเข้าไป แก๊สตัวพาจะพาสารตัวอย่างที่เป็นไอผ่านไปยัง column ที่บรรจุ stationary phase และเคลื่อนที่ไปยัง detector ซึ่งต่อเข้ากับเครื่อง recorder หลังจากนั้นเครื่อง recorder จะบันทึกผลออกมาเป็น peak ซึ่งเป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง detector response และเวลา เรียกว่า chromatogram (นินนาท์, 2546) ส่วนประกอบของเครื่อง GC มีลักษณะดังแสดงในภาพ 3.3



ภาพ 3.4 ส่วนประกอบของเครื่อง gas chromatography

ที่มา : นินนาท์ (2546)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีวิเคราะห์

ใช้ syringe ขนาด 1 มิลลิลิตร พร้อมเข็มขนาด 0.53 × 25 มิลลิเมตร (Nipro, บริษัท นิโปร ประเทศไทย จำกัด, ประเทศไทย) ที่ผ่านการฉีดไล่แก๊สออกซิเจนออกด้วยแก๊สฮีเลียม แล้วใช้ปลายเข็มแทงเข้าไปบริเวณกึ่งกลางของก้นผลส้มระหว่างที่แช่ผลส้มไว้ใต้น้ำ โดยให้ปลายเข็มเข้าไปอยู่บริเวณช่องว่างภายในผลส้ม แล้วดูดเอาแก๊สออกมาวิเคราะห์ปริมาณแก๊สออกซิเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ภายในผลส้มด้วยเครื่อง GC (SHIMADZU, GC-8A, Japan) ซึ่งประกอบด้วย CTR-1 packed column เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 6 มิลลิเมตร และยาว 2 เมตร (Alltech, Deerfield, IL, USA.) และ detector ชนิด thermal conductivity detector: TCD โดย oven temperature และ injection temperature เท่ากับ 110 องศาเซลเซียส และ column temperature เท่ากับ 65 องศาเซลเซียส โดยมีแก๊สตัวพา คือ ฮีเลียม (150 ml/min) ทำการวิเคราะห์โดยฉีดแก๊สปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 2.1 นาที ต่อตัวอย่าง เพื่อนำพื้นที่ใต้กราฟที่ได้มาคำนวณปริมาณแก๊สออกซิเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ภายในผลส้ม โดยเปรียบเทียบกับแก๊สมาตรฐานประกอบด้วย แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ และอากาศ (Hagenmaier, 2003)

3.3.1.5 การวิเคราะห์ทางเคมี

ก. ปริมาณเอทานอลภายในน้ำส้มคั้น

หลักการ เอนไซม์ alcohol dehydrogenase (ADH) เป็นเอนไซม์ที่ใช้เร่ง (catalyze) ปฏิกิริยารีดิวซ์แอซีทัลดีไฮท์เป็นเอทานอล แอซีทัลดีไฮด์จะคงตัวที่พีเอชเท่ากับ 9 จึงต้องทำปฏิกิริยาในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชคงที่ (NAD-ADH-buffer) การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างจะทำวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร (absorbance at 340 nm) ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นเมื่อเกิดปฏิกิริยารีดักชันเปลี่ยน NAD^+ เป็น NADH โดยจะเกิดขึ้นในขณะที่เอนไซม์เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนเอทานอลเป็นแอซีทัลดีไฮด์ ดังสมการ ทำให้ทราบปริมาณเอทานอลที่มีอยู่ในตัวอย่างได้ (Bonnichsen and Theorell, 1951)

$$\text{แอซีทัลดีไฮด์} + \text{NADH} \xleftarrow{\text{ADH}} \text{เอทานอล} + NAD^+$$

สารเคมีที่ใช้

ใช้ชุด ethanol assay kit สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล (Diagnostic Chemicals Limited, Canada) โดยในชุด kit ประกอบด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ก. NAD-ADH reagent

ข. buffer

วิธีการเตรียมสารเคมี มีดังนี้

เตรียมโดยเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2.3 มิลลิลิตร ลงในขวด NAD-ADH reagent วางทิ้งไว้ 1 นาที แล้วเขย่าให้สารละลายผสมกันอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นเติม buffer ลงในสารผสมปริมาตร 23 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันได้ NAD-ADH-buffer เก็บใส่ภาชนะที่มีฝาปิดแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส สารละลายสามารถใช้ได้ภายใน 1 สัปดาห์

การสร้างกราฟปริมาณเอทานอลมาตรฐาน

ปิเปตต์เอทานอล (99.99% ethanol, MERCK, Darmstadt, Germany) ความเข้มข้น 1,000,000 ppm จำนวน 0, 30, 45, 60, 75 และ 90 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 50 มิลลิลิตร ได้เอทานอลมาตรฐานความเข้มข้น 0, 600, 900, 1200, 1500 และ 1800 ppm ปริมาณเอทานอลวิเคราะห์โดยวิธี enzymatic method (Bonnichsen and Theorell, 1951) นำเอทานอลมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ มา 10 ไมโครลิตร ผสมกับ NAD-ADH-buffer ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วบ่ม (incubate) ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (digital spectrophotometer, Analytik Jena AG, Spectrocord 40, Germany) ภายใน 30 นาที และใช้น้ำกลั่นเป็น blank

วิธีวิเคราะห์

นำน้ำส้มคั้นมา 10 ไมโครลิตร ผสมกับ NAD-ADH-buffer ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ภายใน 30 นาที และใช้น้ำกลั่นเป็น blank แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณปริมาณเอทานอล จากสูตร

$$\text{Ethanol (ppm)} = \frac{A}{As} \times \text{concentration of the standard}$$

A = ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

As = ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน

ข. ปริมาณความชื้นของเปลือกผลส้ม

หลักการ การหาความชื้นเป็นการหาน้ำหนักที่หายไปจากเปลือกของผลส้ม เนื่องจากการระเหยของน้ำและสารที่ระเหยได้ทั้งหมด (total volatile matter) ณ อุณหภูมินั้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีวิเคราะห์

อบกระป๋องโลหะพร้อมฝาในตู้อบ (hot air oven, MEMMERT, UM 500, Germany) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 20-30 นาที ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) ชั่งน้ำหนักกระป๋องโลหะพร้อมฝา โดยใช้เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Electronic analytical balance, Mettler Toledo, PB 3002-5, Switzerland) ชั่งน้ำหนักเปลือกของผลส้มให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 5 กรัม ใส่ลงในกระป๋องโลหะที่ผ่านการอบและทราบน้ำหนัก นำกระป๋องโลหะไปอบในตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 72 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบและปิดฝาทันที ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอน คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น (wet weight basis) ดังนี้ (Hall, 1980)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น (wet basis)} = \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้น - น้ำหนักสุดท้าย}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100$$

ค. ค่าพีเอช

หลักการ การวัดค่าพีเอชเป็นการวัดค่าความเป็นกรดหรือความเป็นด่างของสารละลายใดๆ ซึ่งผันแปรตามความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนที่มีอยู่ในสารละลายนั้นๆ (นิธิยา, 2549)

$pH = - \log[H^+]$ เมื่อ $[H^+]$ คือความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน

เมื่อความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนเพิ่มขึ้น ค่าพีเอชจะลดลง

วิธีวิเคราะห์

นำน้ำส้มคั้นมาวัดหาค่าพีเอชด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH-meter, SCHOTT GERATE, Consort C 831, Belgium)

ง. ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity; TA)

หลักการ การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ โดยการนำน้ำส้มคั้นตัวอย่างที่มีจำนวนแน่นอนมาไทเทรตกับสารละลายด่างมาตรฐาน จนถึงจุดยุติ (end point) โดยสังเกตจากการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์ หรือวัดค่าพีเอช

สารเคมีที่ใช้

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) (sodium hydroxide, MERCK, Darmstadt, Germany) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีวิเคราะห์

ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้วิเคราะห์โดยวิธีของ AOAC (2000) ชั่งน้ำส้มคั้นจำนวน 10 กรัม มาเติมน้ำกลั่นจำนวน 50 มิลลิลิตร ผสมตัวอย่างกับน้ำให้เข้ากัน แล้วจึงไทเทรตด้วยเครื่องไทเทรตอัตโนมัติ (Autotitrator, SCHOTT, TitroLine easy, Belgium) กับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนสารละลายมีค่าพีเอชเท่ากับ 8.2 บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ แล้วจึงคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ในรูปของกรดซิตริก มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ (กรัมต่อ 100 กรัมน้ำส้มคั้น) โดยเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานดังนี้

1 มิลลิลิตร สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับกรดซิตริก 0.07 กรัม

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (\%)} = \frac{\text{ความเข้มข้น NaOH (0.1 N)} \times \text{ปริมาตร NaOH} \times 0.07 \times 100}{\text{น้ำหนักน้ำส้มคั้น (g)}}$$

จ. ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids; TSS)

หลักการ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด หมายถึง ปริมาณของสารประกอบชนิดต่างๆ ที่ละลายได้อย่างสมบูรณ์ในตัวทำละลายที่มีอยู่ในน้ำผลไม้ คือ น้ำ ของแข็งที่ละลายน้ำได้มักจะเป็นน้ำตาลและกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ รวมทั้งกรดแอมิโนและกรดแอสคอร์บิกด้วย (ลักขณาและนิธิยา, 2544)

วิธีวิเคราะห์

นำน้ำส้มคั้นมาวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้โดยใช้เครื่องวัด digital refractometer (ATAGO, PR-101, Japan) อ่านค่าได้ตั้งแต่ 0-45 เปอร์เซ็นต์

ฉ. ปริมาณวิตามินซี

วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีโดยการไทเทรตด้วยสารละลาย indophenol dry

หลักการ วิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) (ไม่มีสี) จะไปทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันกับ indophenol dye คือ 2,6-dichlorophenol-indophenol (สีน้ำเงินเข้ม) เกิดเป็นสารละลายไม่มีสี เมื่อถึงจุดยุติที่เกินพอ (end point unreduced dye) จะเป็นสีชมพูในสารละลายกรด ซึ่งสารละลายที่มีกรดออกซาลิก (oxalic acid) จะรักษาสภาพให้เป็นกรด และหลีกเลี่ยงการเกิด auto-oxidation ของกรดแอสคอร์บิกที่พีเอชสูง (Ranganna, 1977)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารเคมีที่ใช้

1) สารละลายกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งกรดออกซาลิก (oxalic acid, MERCK, Darmstadt, Germany) จำนวน 4.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร
2) สารละลาย 2,6-dichlorophenol-indophenol ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่ง 2,6-dichlorophenol-indophenol (SIGMA-Aldrich, Chemie, Steinhem, Germany) จำนวน 0.4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 (Whatman, International, England) เก็บรักษาในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ
3) สารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 ppm เตรียมโดยชั่งกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid, HPLC grade, MERCK, Darmstadt, Germany) จำนวน 0.05 กรัม ละลายในกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดออกซาลิก ให้ครบ 50 มิลลิลิตร ได้สารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม ต่อ มิลลิลิตร (1,000 ppm) แล้วปิเปตสารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน 1 มิลลิกรัม นำไปไทเทรตกับสารละลาย 2,6-dichlorophenol-indophenol จนถึงจุดยุติ แล้วบันทึกปริมาตรสารละลาย 2,6-dichlorophenol-indophenol ที่ใช้ไป เพื่อเป็นมาตรฐานในการคำนวณหากรดแอสคอร์บิก

วิธีวิเคราะห์

วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิกในน้ำส้มคั้น ด้วยวิธี Indophenol (Ranganna, 1977) ทำโดยชั่งน้ำส้มคั้นจำนวน 10 กรัม มาเติมกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ใน volumetric flask แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำสารละลายที่กรองได้มา 10 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปไทเทรตกับสารละลาย 2,6-dichlorophenol-indophenol ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเครื่องไทเทรต (digital burette, SLAMED, Burette Digital DB, Germany) จนถึงจุดยุติซึ่งได้สารละลายมีสีชมพูที่คงตัวนานประมาณ 15 วินาที แล้วคำนวณหากรดแอสคอร์บิก โดยใช้ปริมาตร 2,6-dichlorophenol-indophenol ที่ใช้กับสารตัวอย่าง เปรียบเทียบกับปริมาตร 2,6-dichlorophenol-indophenol ที่ใช้กับสารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยคำนวณตามสูตร

ปริมาตร indophenol dye a มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยาพอดีกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ 1 มิลลิกรัม (จาก standard)

ปริมาตร indophenol dye b มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ (1×b)/a มิลลิกรัม (จากสารละลายตัวอย่าง)

เท่ากับ c มิลลิกรัม

สารละลายน้ำส้มเจือจาง 10 มิลลิลิตร มีปริมาณ กรดแอสคอร์บิก เท่ากับ c มิลลิกรัม

สารละลายน้ำส้ม 100 มิลลิลิตร มีปริมาณ กรดแอสคอร์บิก เท่ากับ(c×100)/10 มิลลิกรัม

เท่ากับ d มิลลิกรัม

น้ำส้มคั้น 10 กรัม มีปริมาณกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ d มิลลิกรัม

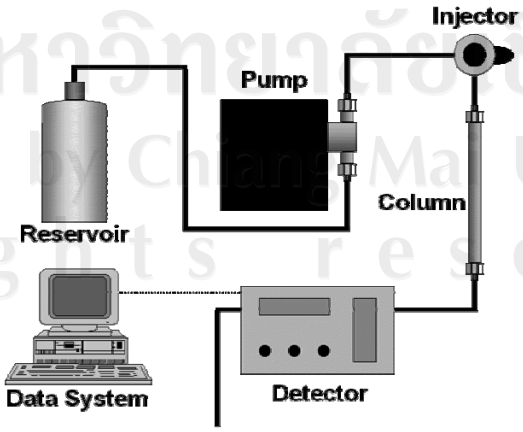
น้ำส้มคั้น 100 กรัม มีปริมาณกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ(d×100)/10 มิลลิกรัม

เท่ากับ e มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำส้มคั้น

วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีด้วยเครื่อง HPLC

High Performance Liguid Chromatography (HPLC)

หลักการ HPLC เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการแยกสารผสมที่อยู่ในรูปของเหลว โดยใช้การเคลื่อนที่ของ mobile phase จากภาชนะที่บรรจุ (mobile phase reservoir) ที่มีระบบปั๊มช่วยควบคุมอัตราการไหลให้คงที่ เมื่อฉีดสารตัวอย่างเข้าไป mobile phase จะเป็นตัวพาสารตัวอย่างให้เคลื่อนที่ไปยัง column ที่บรรจุ stationary phase และเคลื่อนที่ไปยัง detector ซึ่งต่อเข้ากับเครื่อง recorder ซึ่งจะบันทึกออกมาเป็น peak แสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณของ detector และเวลา (retention time: RT) เรียกว่า chromatogram (นินนาท์, 2546) ส่วนประกอบของเครื่อง HPLC มีลักษณะดังแสดงในภาพ 3.4



ภาพ 3.5 แสดงองค์ประกอบของเครื่อง HPLC

ที่มา : นินนาท์ (2546)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารเคมีที่ใช้

1) Mobile phase สารละลายกรดแอซีติกความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (v/v) (100% acetic acid, MERCK, Darmstadt, Germany) และเมทานอลความเข้มข้น 99.9% เปอร์ซ็นต์ (methanol HPLC grade, Fisher, Chicago, USA.) ในอัตราส่วน 10:90

- กรดแอซีติกความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (v/v) เตรียมโดยตวงกรดแอซีติกความเข้นข้น 100 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

2) สารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน (ascorbic acid, HPLC Grade, MERCK, Darmstadt, Germany) ชั่งกรดแอสคอร์บิก 0.05 กรัม ละลายในกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดออกซาลิกให้ครบ 50 มิลลิลิตร ได้สารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 ppm

การสร้างกราฟกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน

ปิเปตต์สารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 ppm จำนวน 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ให้ครบ 50 มิลลิลิตร ได้สารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ppm แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC (SHIMADZU, LC 10A, Japan) ซึ่งประกอบด้วย pump (SHIMADZU, LC-10A, Japan), column (SHIMADZU, Shimpack, Japan) ขนาด 250 mm x 4.6 mm i.d., 5 μm particle size และ detector (SHIMADZU, SPD-10A UV, Japan) ที่ความยาวคลื่น 245 นาโนเมตร โดยมี mobile phase คือ สารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (v/v) และเมทานอล ในอัตราส่วน 10:90 ที่ flow rate 1 มิลลิลิตร/นาที และใช้สารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานในการวิเคราะห์ 20 ไมโครลิตร (μl) และใช้เวลาในการวิเคราะห์ 20 นาที ต่อ ตัวอย่าง (ดัดแปลงจาก Furusawa, 2001 และ Silva, 2005)

วิธีวิเคราะห์

ชั่งน้ำส้มคั้นมา 10 กรัม ปรับปริมาตรด้วยกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ให้ครบ 100 มิลลิลิตร ใน volumetric flask แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำสารละลายที่กรองได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ที่ความยาวคลื่น 245 นาโนเมตร คำนวณปริมาณกรดแอสคอร์บิกในน้ำส้มคั้น โดยเปรียบเทียบกับสารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานด้วยโปรแกรม LCMS solution (SHIMADZU, Japan)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3.1.6 การประเมินคุณภาพด้านประสาทสัมผัส

ก. การประเมินด้านลักษณะปรากฏภายนอก

คะแนน 5 หมายถึง ผลปกติ (เมื่อเริ่มต้นทดลอง)
คะแนน 4 หมายถึง ผลเริ่มไม่สด (ยังยอมรับได้)
คะแนน 3 หมายถึง ขั้วและรอบๆ ผลเหี่ยว (เริ่มไม่ยอมรับ)
คะแนน 2 หมายถึง ผลเหี่ยวปานกลาง (ไม่ยอมรับ)
คะแนน 1 หมายถึง ผลเหี่ยวมาก (ไม่ยอมรับมาก)

ข. การประเมินด้านความมันวาวของผิวส้มโดยการให้คะแนน

คะแนน 5 หมายถึง มีความมันวาวดีมาก
คะแนน 4 หมายถึง มีความมันวาวดี
คะแนน 3 หมายถึง มีความมันวาวปานกลาง
คะแนน 2 หมายถึง มีความมันวาวน้อย
คะแนน 1 หมายถึง ไม่มีความมันวาว

ค. การประเมินด้านกลิ่นและรสชาติผิดปกติ

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
ไม่มีกลิ่นและมีรสชาติปกติ													มีกลิ่นและรสชาติผิดปกติมาก	

การประเมินทางประสาทสัมผัสใช้ผู้ประเมินเป็นนักศึกษาปริญญาโทจำนวน 8 คนตลอดการทดลอง

ง. อายุการเก็บรักษา

การตัดสินว่าผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งมีอายุการเก็บรักษาได้นานเท่าใด พิจารณาได้จาก ปริมาณแก๊สออกซิเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ภายในผลส้ม ปริมาณเอทานอลในน้ำส้มคั้น คะแนนที่ได้รับจากผลการประเมินด้านลักษณะปรากฏภายนอกของผลส้ม การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณความชื้นและลักษณะการเหี่ยวของเปลือกผลส้ม และคะแนนที่ได้รับจากการยอมรับของผู้ทดสอบต่อกลิ่นและรสชาติ โดยกำหนดให้ผลส้มที่ได้คะแนนผลการประเมินด้านกลิ่นและรสชาติเท่ากับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หรือต่ำกว่า 7.5 คะแนน เป็นผลส้มที่มีความผิดปกติทางด้านกลิ่นและรสชาติ และได้คะแนนผลการประเมินด้านลักษณะปรากฏภายนอกเท่ากับหรือต่ำกว่า 3 คือผลส้มไม่เป็นที่ยอมของผู้ทดสอบ แสดงว่าหมดอายุการเก็บรักษา

3.3.1.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลทั้งหมดที่ได้ในแต่ละกรรมวิธีมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี Least Significant Difference (LSD) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

3.3.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของสารเคลือบผิวที่ให้ผลดีจากการทดลองที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ทางสรีรวิทยา และทางเคมีของผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งระหว่างการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส

3.3.2.1 การวางแผนการทดลอง

เมื่อวิเคราะห์ผลการทดลองและข้อมูลทางสถิติในการทดลองที่ 1 แล้วได้คัดเลือกสารเคลือบผิวที่ให้ผลดีที่สุด คือไมโครอิมัลชัน 60% PE หรือพอลิเอทิลีนผสมกับแคนเดลิลลาแวกซ์ จึงได้นำมาทำการทดลองซ้ำโดยเปรียบเทียบกับผลส้มที่ไม่ได้เคลือบผิว แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส เพื่อจะได้ทราบอายุการเก็บรักษาและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลส้มที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวไมโครอิมัลชัน 60% PE

วางแผนการทดลองที่ 2 เป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) มี 2 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมี 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำ คือ ผลส้ม 3 ผล ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ผลส้มที่ไม่ได้เคลือบผิว

กรรมวิธีที่ 2 ผลส้มที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวไมโครอิมัลชัน 60% PE หรือพอลิเอทิลีนผสมกับแคนเดลิลลาแวกซ์ (ภาพ 3.1-e)

3.3.2.2 วิธีการเคลือบผิว

นำผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งที่เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2550 ที่ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปามาจากโรงงาน คัดเลือกเอาผลที่มีขนาดสม่ำเสมอและไม่มีการเข้าทำลายของเชื้อโรคและแมลงศัตรูพืช แล้วนำมาเคลือบผิวโดยหยดสารเคลือบผิวลงบนผลส้ม (ประมาณ 0.20 กรัม/ผล) แล้วใช้มือที่สวมถุงมือยางลูบสารเคลือบผิวให้เคลือบผิวของผลส้มจนทั่วทั้งผล (ภาพ 3.2-a, b และ c) ผึ่งให้ผิวแห้งที่อุณหภูมิห้อง บรรจุผลส้มลงในตะกร้าพลาสติก (ภาพ 3.2-d)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แล้วนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 79±2 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับผลส้มที่ไม่ได้เคลือบผิว (ภาพ 3.2-f)

สุ่มตัวอย่างผลส้มออกมาทุกๆ 7 วัน บันทึก การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและทางเคมี และประเมินลักษณะปรากฏภายนอก ความมันวาวของเปลือกผลส้ม และความผิดปกติด้านกลิ่นและรสชาติโดยการชิม จนหมดอายุการเก็บรักษา โดยพิจารณาจากการเกิดกลิ่นและรสชาติผิดปกติร่วมกับลักษณะปรากฏภายนอก

3.3.2.3 การวิเคราะห์ทางกายภาพ ทางสรีรวิทยา และทางเคมี

ทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

3.3.2.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

3.4 สถานที่ทำการวิจัย

- ห้องปฏิบัติการสถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ห้องปฏิบัติการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved