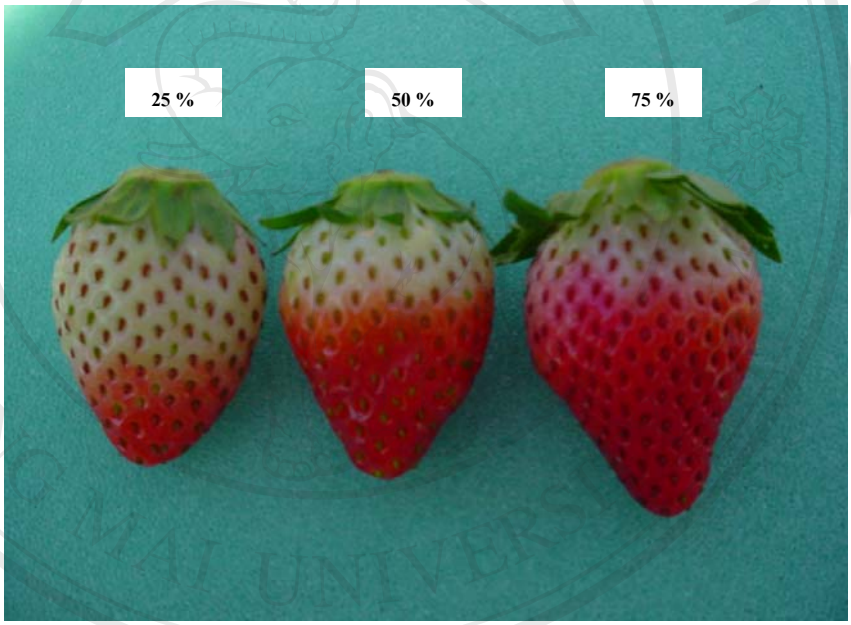
บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. วัสดุพันธุ์พืช ผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72 ที่มีระยะการพัฒนาสีผิวเป็นสีแดง 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ จากสวนเกษตรกรที่ปลูกเป็นการค้าในเขตพื้นที่บ้านบ่อแก้ว ตำบลบ่อแก้ว อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ โดยทำการเพาะปลูกในช่วงเดือนกันยายนถึงตุลาคม พ.ศ. 2547 และเก็บเกี่ยวช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2547 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2548



ภาพที่ 7 ผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72 ที่มีระยะการพัฒนาสีผิวเป็นสีแดง 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์

2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์

2.1 เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (fruits hardness tester) รุ่น FHR-1 ของบริษัท NIPPON OPTICAL WORKS ประเทศญี่ปุ่น ขนาด 1 กิโลกรัม หัววัดรูปทรงกระบอก (cylinder shape) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ยาว 10 มิลลิเมตร

2.2 เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (digital refractometer) รุ่น PR-101 ของบริษัท ATAGO ประเทศญี่ปุ่น อ่านค่าได้ในช่วง 0-45 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น EK-600H ของบริษัท AND Company ประเทศญี่ปุ่น ชั่งน้ำหนักได้สูงสุด 600 กรัม และแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น HR-200 ของบริษัท AND Company ประเทศญี่ปุ่น ชั่งน้ำหนักได้สูงสุด 210 กรัม

2.4 เครื่องปั่นผลไม้ (blender) รุ่น S(643) ของบริษัท Moulinex ประเทศสเปน

2.5 เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter) รุ่น CG842 ของบริษัท SCHOTT GLAS Mainz ประเทศเยอรมัน

2.6 เครื่องไทเทรต (digital burette) รุ่น Burette Digital III ของบริษัท Brand ประเทศเยอรมัน

2.7 เครื่องกวนสารเคมีด้วยแท่งแม่เหล็กและให้ความร้อน รุ่น SP 18420-26 ของบริษัท Nuova II ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.8 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (digital spectrophotometer) รุ่น Spectro 23 ของบริษัท LaboMed ประเทศสหรัฐอเมริกา และเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (thermo spectronic) รุ่น GENESYS 10 UV scanning ของบริษัท Ken Qauty ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.9 เครื่อง Centrifuge รุ่น 1610 ของบริษัท Hettich Zentrifugen ประเทศเยอรมัน หมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วสูงสุดที่ 18,000 รอบต่อนาที

2.10 Water bath รุ่น WB 10 ของบริษัท Memmert ประเทศเยอรมัน

2.11 เครื่องวัดสี (Chromameter) รุ่น CR-300 ของบริษัท Minolta ประเทศญี่ปุ่น หัววัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ซึ่งวัดสีออกมาเป็นค่า L*, a* และ b* โดยมีรายละเอียดดังนี้ คือ

ค่า L* เมื่อมีค่าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมีสีขาว และเมื่อมีค่าใกล้ 0 แสดงว่าวัตถุมีสีดำ

ค่า a* ที่เป็นบวกแสดงว่าวัตถุมีสีแดง และที่เป็นลบแสดงว่าวัตถุมีสีเขียว

ค่า b* ที่เป็นบวกแสดงว่าวัตถุมีสีเหลือง และที่เป็นลบแสดงว่าวัตถุมีสีน้ำเงิน

คำนวณหาค่า chroma และ hue angle จากสมการ ดังนี้

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

$$\text{hue angle} = \text{arctangent}(b^*/a^*) \quad \text{เมื่อ } a^* > 0 \text{ และ } b^* \geq 0$$

$$= \text{arctangent}(b^*/a^*) + 180^\circ \quad \text{เมื่อ } a^* < 0$$

$$= \text{arctangent}(b^*/a^*) + 360^\circ \quad \text{เมื่อ } a^* > 0 \text{ และ } b^* < 0$$

โดยที่ ค่า chroma แสดงความเข้มของสี มีค่าเข้าใกล้ 0 เมื่อวัตถุมีสีซีดจาง (เทา) และมีค่าเข้าใกล้ 60 เมื่อวัตถุมีสีเข้ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ค่า hue angle แสดงช่วงสีของวัตถุมีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 องศา คือ

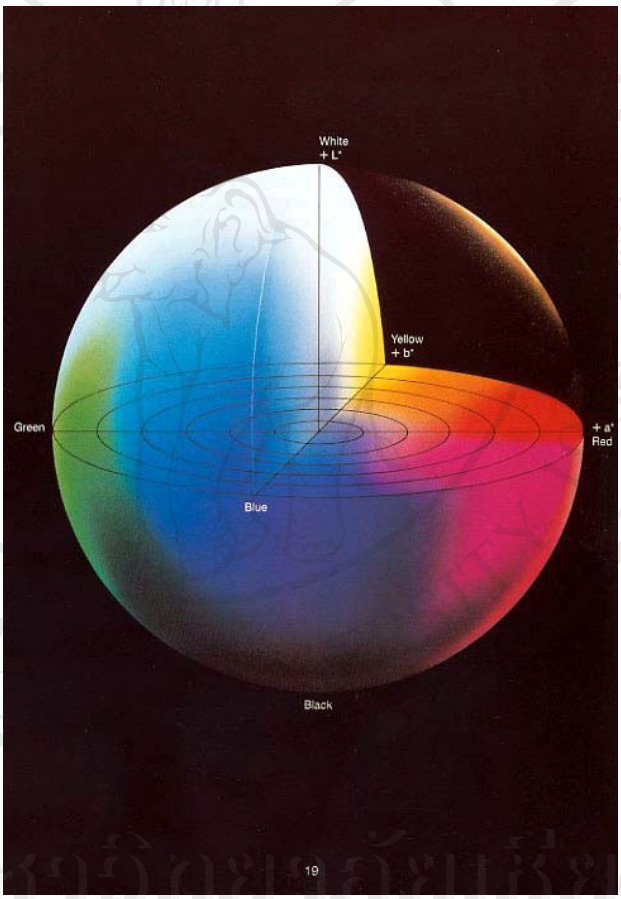
0-45 องศา แสดงสีม่วงแดงถึงส้มแดง 180-225 องศา แสดงสีเขียวถึงน้ำเงิน

45-90 องศา แสดงสีส้มแดงถึงเหลือง 225-270 องศา แสดงสีน้ำเงินเขียวถึงน้ำเงิน

90-135 องศา แสดงสีเหลืองถึงเหลืองเขียว 270-315 องศา แสดงสีน้ำเงินถึงม่วง

135-180 องศา แสดงสีเหลืองเขียวถึงเขียว 315-360 องศา แสดงสีม่วงถึงม่วงแดง

(McGuire, 1992)



ภาพที่ 8 แผนภาพของสีที่แสดงค่าเป็นค่า L*, chroma และ hue angle

2.12 Micropipette ขนาด 1,000 ไมโครลิตร รุ่น M20813J ของบริษัท GILSON ประเทศฝรั่งเศส

2.13 กระดาษกรอง Whatman No.1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 110 มิลลิเมตร ของบริษัท Whatman International ประเทศอังกฤษ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.14 เครื่อง Vortex-Genie 2 รุ่น G-560E ของบริษัท Scientific Industries ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.15 ตู้เย็นอุณหภูมิ 0, 5 และ 10 องศาเซลเวียส รุ่น LC203LD ของบริษัท LAW-CHAIN ประเทศไทย

2.16 มีดทำครัว

2.17 เขียงพลาสติก

2.18 กล้องถ่ายรูปรุ่น Cyber-shot 2.1 ของบริษัท SONY ประเทศญี่ปุ่น

2.19 นาฬิกาจับเวลา รุ่น DX9116 ของบริษัท CITIZEN ประเทศญี่ปุ่น

2.20 เวอร์เนีย (vernier caliper) ของบริษัท Japan micrometer ประเทศญี่ปุ่น

2.21 กาวซิลิโคน (silicone sealant) ของบริษัท OCI USA Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.22 เครื่อง Gas chromatography รุ่น GC-8A ของบริษัท SHIMADZU Corporation ประเทศญี่ปุ่น โดยมีรายละเอียดดังนี้

- Detector : Thermal conductivity detector (TCD)
- Column : Molecular Sieve 5A 80/100 ท่อสแตนเลส เส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ยาว 2 เมตร อุณหภูมิสูงสุด 350 องศาเซลเซียส สำหรับการวิเคราะห์แก๊สออกซิเจน และ Parapak Type N 80/100 ท่อสแตนเลส เส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ยาว 1 เมตร อุณหภูมิสูงสุด 190 องศาเซลเซียส สำหรับการวิเคราะห์แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์
- Injection temperature : 110 องศาเซลเซียส
- Column temperature : 70 องศาเซลเซียส
- Carrier gas : แก๊สฮีเลียม (Helium gas) มีอัตราการไหล 25 มิลลิลิตร/นาที
- Standard gas : แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์ และแก๊สออกซิเจน 5 เปอร์เซ็นต์ ในแก๊สไนโตรเจน

2.23 ชุดแผงควบคุมการไหลของอากาศ (flow board) สำหรับวัดอัตราการหายใจ (ภาพที่ 9) ประกอบด้วย

a. แผงและฐานไม้
b. ทางอากาศเข้า
c. หลอดแก้วระบายอากาศ
d. หลอดแก้วใหญ่บรรจุน้ำเต็ม
e. ขวดแก้วบรรจุน้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

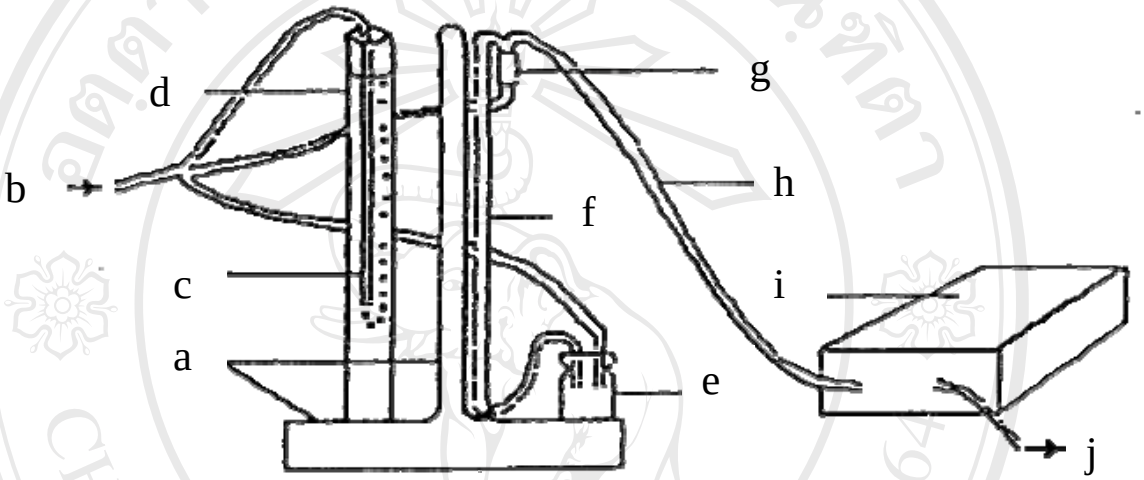
f. หลอดแก้วแสดงระดับความดัน

g. หลอดรูเล็ก (capillary tube)

h. หลอดนำแก๊ส

i. ภาชนะบรรจุผลิตผล

j. ทางอากาศออก



ภาพที่ 9 ชุดแผงควบคุมการไหลของอากาศ

หลักการทำงานของชุดแผงควบคุมการไหลของอากาศ คือ เมื่อให้อากาศจากเครื่องสูบลมผ่านเข้าช่องอากาศเข้า (b) อากาศจะแยกออกเป็น 3 ทาง คือ ผ่านเข้าไปสู่น้ำในหลอดแก้วระบายอากาศ (c) หรือผ่านเข้าไปในขวดแก้วบรรจุน้ำ (e) หรือออกไปทางหลอดรูเล็ก (capillary tube) (g) แล้วออกสู่ภาชนะบรรจุผลิตผล (i) กรณีที่อากาศผ่านเข้ามามีแรงดันต่ำอากาศส่วนใหญ่จะไหลไปทางหลอดรูเล็ก (capillary tube) เพราะไม่สามารถดันน้ำในหลอดแก้วระบายอากาศ (c) หรือในขวดแก้ว (e) ได้ แต่เมื่อเพิ่มความดันของอากาศที่ผ่านเข้ามาให้มากขึ้น อากาศจะออกทางหลอดรูเล็ก (capillary tube) ไม่ทัน เพราะมีช่องขนาดเล็ก อากาศจะดันน้ำในหลอดแก้วระบายอากาศ (c) ให้ต่ำลง และดันน้ำในขวดแก้ว (e) ขึ้นไปตามหลอดแก้วแสดงระดับความดัน (f) ซึ่งจะสูงเท่ากับระดับความดันของอากาศที่ผ่านเข้ามาในขณะนั้น ถ้าความดันอากาศเพิ่มขึ้นจะดันน้ำในหลอดแก้ว (c) ให้ต่ำลงจนเห็นเป็นฟองอากาศออกมา ซึ่งน้ำในหลอดแก้วแสดงระดับความดัน (f) จะมีระดับสูงสุด เพราะอากาศส่วนเกินจะเล็ดลอดออกไปทางปลายหลอดแก้วระบายอากาศ

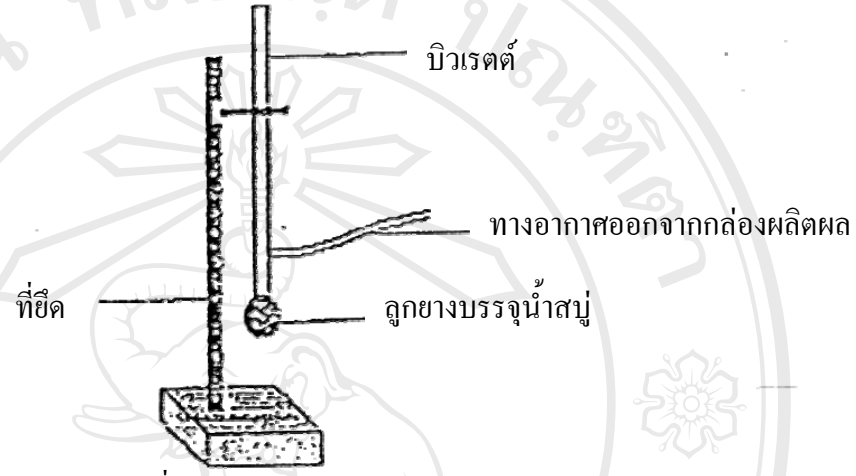
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.24 ชุดวัดอัตราการไหลของอากาศ (air flow meter) (ภาพที่ 10) ประกอบด้วย

a. ทางอากาศเข้า

b. บิวเรตต์ (burette)

c. ลูกยางบรรจุน้ำสบู่



ภาพที่ 10 ชุดวัดอัตราการไหลของอากาศ

หลักการทำงานของเครื่อง คือ เมื่อต่อสายยางที่มีอากาศผ่านจากหลอดรูเล็ก (capillary tube) ในชุดแผงควบคุมอัตราการไหลของอากาศเข้ากับชุดวัดอัตราการไหลของอากาศแล้ว เมื่อบีบลูกยางให้น้ำสบู่ไหลขึ้นไปปิดทางอากาศออก ขณะที่อากาศไหลออกจากหลอดรูเล็ก (capillary tube) เข้าสู่บิวเรตต์ อากาศจะดันน้ำสบู่ให้เป็นฟองไหลออกไปตามบิวเรตต์ วัดอัตราการไหลของอากาศโดยจับเวลาการเคลื่อนที่ของฟองสบู่ แล้วคำนวณเป็นอัตราไหลของอากาศมีหน่วยเป็นมิลลิลิตรต่อนาที

2.25 เครื่องแก้ว

- บีกเกอร์ (beaker)
- ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
- ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)
- กระบอกตวง (cylinder)
- บิวเรตต์ (burette)
- ปิเปตต์ (pipette)
- แท่งแก้วคนสารละลาย (stirrer)
- กรวยกรอง
- ช้อนตักสารเคมี
- หลอดทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3. สารเคมีและวิธีการเตรียมสารเคมี

3.1 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน

- กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl, เกรด GR ของบริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน) ความเข้มข้น 1.5 นอร์แมล เตรียมโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 62.10 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 500 มิลลิลิตร

- เอทาโนลิกไฮโดรคลอริก (เอทานอล : กรดไฮโดรคลอริก) เตรียมโดยผสมเอทานอล (เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เกรด Commercial ของบริษัท Instrument Lab ประเทศไทย) และกรดไฮโดรคลอริก 1.5 นอร์แมล ในอัตราส่วน 85:15 แล้วเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ

3.2 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH, เกรด AR ของบริษัท Ajax Chemicals ประเทศออสเตรเลีย) ความเข้มข้น 0.1 นอร์แมล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

3.3 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

- กรดออกซาลิก (Oxalic acid; $C_2H_2O_4.2H_2O$, เกรด AR ของบริษัท Ajax Chemicals ประเทศออสเตรเลีย) ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งกรดออกซาลิก 4.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

- 2,6-ไดคลอโรฟีนอล-อินโดฟีนอล (2,6-Dichlorophenol-indophenol; $C_{12}H_6Cl_2NO_2Na$, เกรด AR ของบริษัท SIGMA Chemicals ประเทศสหรัฐอเมริกา) ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่ง 2,6-ไดคลอโรฟีนอล-อินโดฟีนอล 0.4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำมากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ

- กรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน (L-Ascorbic acid; $C_6H_8O_6$, เกรด GR ของบริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน) เตรียมโดยชั่งกรดแอสคอร์บิก 0.05 กรัม ละลายในกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดออกซาลิกให้ครบ 50 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปิเปตต์มา 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรตกับสารละลาย 2,6-ไดคลอโรฟีนอล-อินโดฟีนอล ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ จนถึงจุดยุติ (สารละลายเป็นสีชมพู) แล้วบันทึกปริมาตรของ 2,6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล ที่ใช้ไป โดยทำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย เพื่อเป็นมาตรฐานในการคำนวณหาปริมาณวิตามินซี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมด

- Carrez I เตรียมโดยชั่งซิงค์แอซีเทตไดไฮเดรต (Zinc acetate dehydrate; $(CH_3COO)_2Zn.2H_2O$, เกรด AR ของบริษัท Ajax Chemicals ประเทศออสเตรเลีย) จำนวน 21.9 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และเติมกรดแอซีติกบริสุทธิ์ (Acetic acid; CH_3COOH, เกรด GR ของบริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน) จำนวนวน 3 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

- Carrez II เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ (Potassium ferrocyanide; $K_4Fe(CN)_6.3H_2O$, เกรด AR ของบริษัท Ajax Chemicals ประเทศออสเตรเลีย) จำนวน 10.6 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

- สารละลายกรดไดไนโทรซาลิไซลิก (Dinitrosalicylic acid; DNS) เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต (Potassium sodiumtartrate; $KNaC_4H_4O_6.4H_2O$, เกรด AR ของบริษัท Ajax Chemicals ประเทศออสเตรเลีย) จำนวน 182 กรัม 3,5-ไดไนโทรซาลิไซลิก แอซิด (3,5-Dinitrosalicylic acid; $C_7H_4N_2O_7$, เกรด AR ของบริษัท Fluka Chemie GmbH ประเทศอินเดีย) จำนวน 10 กรัม ฟีนอล (Phenol; C_6H_6O, เกรด AR ของบริษัท Panreac Quimica Sa ประเทศสเปน) จำนวน 2 กรัม และโซเดียมซัลไฟต์ (Sodium sulfite; Na_2SO_3, เกรด AR ของบริษัท Ajax Chemicals ประเทศออสเตรเลีย) จำนวน 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

- กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6.34 นอร์แมล เตรียมโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก 528.33 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 5 นอร์แมล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 200 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

- Standard D-glucose (stock solution) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เตรียมโดยชั่ง D-glucose ($C_6H_{12}O_6$, เกรด GR ของบริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน) จำนวน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

3.5 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เพกทิเนส

- สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride; NaCl, เกรด GR ของบริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน) ความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งโซเดียมคลอไรด์ 12 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- สารละลายเพกทิน (Pectin, บรรจุโดยบริษัท O.V. Chemical & Supply ประเทศไทย) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งเพกทิน 10 กรัม ละลายในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดแล้วปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำมาใช้

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์จำนวน 0.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ความสัมพันธ์ของระยะการพัฒนาสีผิวกับปริมาณแอนโทไซยานินและอายุของผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยใช้ผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72 ที่มีระยะการพัฒนาสีผิวเป็นสีแดง 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ เป็น 3 วิธีการ แต่ละวิธีการมี 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยผลสตรอเบอรี่ 50 ผล

วิธีการทดลอง

ศึกษาอายุของผลสตรอเบอรี่ที่ปลูกเป็นการค้าในสวนเกษตรกรบ้านบ่อแก้ว ตำบลบ่อแก้ว อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ โดยการนับจำนวนวันหลังดอกบานเต็มที่จนถึงเมื่อผลมีระยะการพัฒนาของสีผิวเป็นสีแดง 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2547 ถึงมกราคม พ.ศ. 2548 หลังจากนั้นนำผลสตรอเบอรี่แต่ละระยะมาวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด โดยใช้วิธีการของ Ranganna (1986) แล้วหาความสัมพันธ์ระหว่างอายุของผลกับปริมาณแอนโทไซยานินโดยวิธีการถดถอยเชิงเส้นตรง (linear regression)

ภาพที่ 11 ลักษณะของดอกสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72 ที่บานเต็มที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การบันทึกผลการทดลอง

- อายุของผลสตรอเบอรี่ โดยการทำเครื่องหมายดอกสตรอเบอรี่ที่บานเต็มที่ (ภาพที่ 11) แล้วนับจำนวนวันหลังดอกบานเต็มที่จนถึงเมื่อผลมีระยะการพัฒนาของสีผิวเป็นสีแดง 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 50 ผล/ซ้ำ

- ปริมาณแอนโทไซยานิน วิเคราะห์โดยใช้วิธีการของ Ranganna (1986) ทำการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินของผลสตรอเบอรี่ทุกผล จำนวน 50 ผล/ซ้ำ ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

นำผิวผลสตรอเบอรี่ทั้งผลที่มีความหนาประมาณ 1 มิลลิเมตร มาหั่นให้ละเอียด

↓

ผิวผลสตรอเบอรี่หั่นละเอียด 1 กรัม

↓

เติม ethanolic HCl ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

↓

เปลี่ยนสารละลายทุก 3 ชั่งโมง จนผิวผลสตรอเบอรี่ไม่มีสี

↓

นำสารละลายที่ได้มารวมกัน

↓

กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1

↓

ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย ethanolic HCl ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

↓

วัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (digital spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

นำค่า OD ที่ได้ไปแทนค่าในสูตรหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด

สูตรที่ใช้คำนวณ คือ

$$\text{Total absorbance} = \frac{\text{Absorbance at 535 nm} \times \text{final volume}}{\text{Weight sample}} \times 100$$

$$\text{Total anthocyanin content} = \frac{\text{Total Absorbance}}{98.2}$$

การทดลองที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72

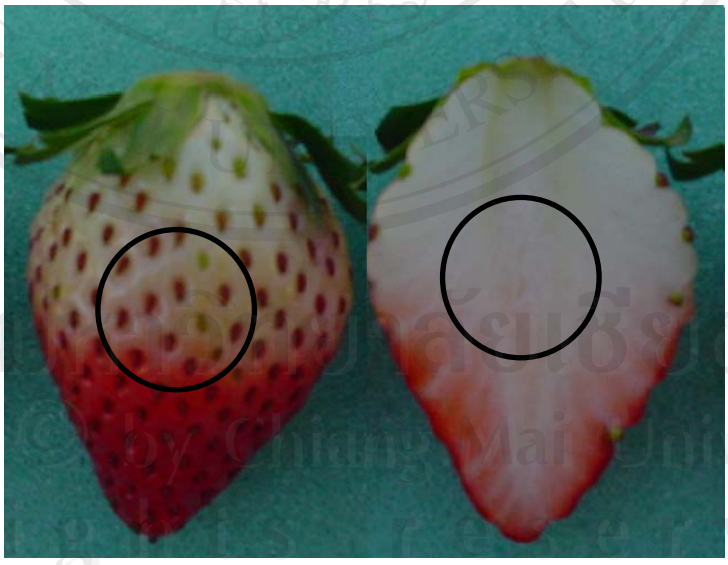
วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยใช้ผลสตรอเบอรี่ที่มีระยะการพัฒนาสีผิวเป็นสีแดง 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ เป็น 3 วิธีการ แต่ละวิธีการมี 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยผลสตรอเบอรี่ 50 ผล

วิธีการทดลอง

ทำเครื่องหมายที่ดอกสตรอเบอรี่จากแปลงที่ปลูกเป็นการค้าในสวนเกษตรกรบ้านบ่อแก้ว ตำบลบ่อแก้ว อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ ที่มีระยะการบานเต็มที่ (ภาพที่ 11) ในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2547 แล้วทำการเก็บเกี่ยวผลสตรอเบอรี่เมื่อผลมีระยะการพัฒนาของสีผิวเป็นสีแดง 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นนำผลสตรอเบอรี่มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ สีผิวและสีเนื้อ ขนาดผล น้ำหนักผล ปริมาตรผล รูปร่างผล ตำแหน่งเมล็ด และสีเมล็ด ทันทีหลังจากเก็บเกี่ยว

การบันทึกผลการทดลอง

- สีผิวและสีเนื้อ โดยการวัดสีผิวภายนอกผลละ 1 ตำแหน่ง และสีเนื้อแกนกลางผลละ 1 ตำแหน่ง จำนวน 50 ผล/ซ้ำ ด้วยเครื่อง Chromameter ค่าที่วัดได้เป็น L*, a*, b* แล้วคำนวณหาค่า chroma และ hue angle ซึ่งมีตำแหน่งการวัดดังภาพที่ 12



ภาพที่ 12 ตำแหน่งการวัดสีผิวและสีเนื้อของผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- ขนาดของผล โดยการวัดความกว้าง ความยาว และความหนาของผลสตรอเบอรี่ ครั้งละ 1 ผล จำนวน 50 ผล/ซ้ำ ด้วยเวอร์เนีย (vernier caliper) มีหน่วยเป็นเซนติเมตร

- น้ำหนักผล โดยการชั่งน้ำหนักผลสตรอเบอรี่ ครั้งละ 1 ผล จำนวน 50 ผล/ซ้ำ ด้วยเครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง มีหน่วยเป็นกรัม

- ปริมาตรผล โดยการให้ผลสตรอเบอรี่แทนที่น้ำในกระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร ครั้งละ 1 ผล จำนวน 50 ผล/ซ้ำ มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

- รูปร่างผล โดยการนับจำนวนผลสตรอเบอรี่ที่มีรูปร่าง ดังนี้ ทรงกลมแป้น ทรงกลม ทรงกลมปลายแหลม ทรงแหลม ทรงแหลมยาว ทรงยาวมีคอ ทรงลิ่มยาว และทรงลิ่มสั้น (ภาพที่ 2) จำนวน 50 ผล/ซ้ำ แล้วคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์รูปร่างผล

- ตำแหน่งเมล็ด โดยการนับจำนวนผลสตรอเบอรี่ที่มีตำแหน่งของเมล็ด ดังนี้ สูงกว่าระดับผิวผล เสมอระดับผิวผล และต่ำกว่าระดับผิวผล จำนวน 50 ผล/ซ้ำ แล้วคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ตำแหน่งเมล็ด

- สีเมล็ด โดยการนับจำนวนผลสตรอเบอรี่ที่มีสีของเมล็ด ดังนี้ เขียว เหลืองอมเขียว เหลือง ชมพู ส้ม แดง น้ำตาล และดำ จำนวน 50 ผล/ซ้ำ แล้วคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์สีเมล็ด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 3 ผลของอุณหภูมิต่ำและระยะความแก่ต่อสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ มี 2 ปัจจัย จำนวน 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยผลสตรอเบอรี่จำนวน 25 ผล คือ

ปัจจัยที่ 1 ผลสตรอเบอรี่ที่เก็บเกี่ยวในระยะการพัฒนาสีผิวเป็นสีแดง 3 ระยะ คือ 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์

ปัจจัยที่ 2 อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา 3 ระดับ คือ 0, 5 และ 10 องศาเซลเซียส

วิธีการทดลอง

เก็บเกี่ยวผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72 ที่มีระยะการพัฒนาสีผิวเป็นสีแดง 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2548 จากสวนเกษตรกรที่ปลูกเป็นการค้าในเขตพื้นที่บ้านบ่อแก้ว ตำบลบ่อแก้ว อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ เวลาประมาณ 6.00-8.00 น. นำมาคัดขนาดให้มีน้ำหนักผลระหว่าง 10-15 กรัม/ผล และบรรจุลงในกล่องพลาสติกที่มีฝาปิดขนาด 9x13x6 เซนติเมตร ซึ่งเป็นภาชนะบรรจุสำหรับผลสตรอเบอรี่เพื่อจำหน่ายทางการค้าของมูลนิธิโครงการหลวง จำนวนกล่องละ 25 ผล โดยเรียงสองชั้น ภายในโรงคัดบรรจุชั่วคราวของเกษตรกร แล้วขนส่งมายังห้องปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยรถขนส่งธรรมดาของมูลนิธิโครงการหลวง ใช้เวลาประมาณ 3 ชั่งโมง หลังจากนั้นนำผลสตรอเบอรี่ไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0$\pm$1, 5$\pm$1 และ 10$\pm$1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80-85 เปอร์เซ็นต์ ทันที แล้วทำการตรวจสอบสมบัติทางกายภาพและส่วนประกอบทางเคมีเมื่อวันเริ่มต้นและทุกๆ 2 วัน จนหมดอายุการเก็บรักษา

บันทึกผลการทดลอง

- สีผิวและสีเนื้อ โดยการวัดสีผิวภายนอกผลละ 1 ตำแหน่ง และสีเนื้อแกนกลางผลละ 1 ตำแหน่ง จำนวน 10 ผล/ซ้ำ ด้วยเครื่อง Chromameter ค่าที่ได้แสดงเป็น L*, a*, b* แล้วคำนวณหาค่า chroma และ hue angle ซึ่งมีตำแหน่งการวัดดังภาพที่ 12

- การสูญเสียน้ำหนักสด โดยการชั่งน้ำหนักผลสตรอเบอรี่ทั้ง 25 ผลพร้อมภาชนะบรรจุด้วยเครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง แล้วนำค่ามาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสดจากสูตร ดังนี้

$$\text{การสูญเสียน้ำหนัก (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักหลังการเก็บรักษา}}{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- ความแน่นเนื้อ โดยการวัดความแน่นเนื้อของผลสตรอเบอรี่บริเวณกึ่งกลางผลระหว่างขั้วผลกับปลายผล ผลละ 1 ครั้ง จำนวน 10 ผล/ซ้ำ ด้วยเครื่องวัดความแน่นเนื้อขนาด 1 กิโลกรัม หัววัดรูปทรงกระบอก (cylinder shape) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ยาว 10 มิลลิเมตร มีหน่วยเป็นกิโลกรัม

- ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids; TSS) โดยใช้เครื่องวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (digital refractometer) อ่านค่าจากน้ำคั้นของผลสตรอเบอรี่จำนวน 25 ผล ที่ปั่นรวมกันด้วยเครื่องปั่นผลไม้จนกระทั่งผลสตรอเบอรี่ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์

- ค่าพีเอช วิเคราะห์หาค่าพีเอสของผลสตรอเบอรี่โดยใช้วิธี Electrometric (ลักขณาและนิธิยา, 2544) ด้วยเครื่อง pH meter เป็นการอ่านค่าจากส่วนของผลสตรอเบอรี่จำนวน 25 ผล ที่นำมาปั่นรวมกันจนกระทั่งผลละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องปั่นผลไม้ โดยตรวจสอบความถูกต้องของเครื่อง pH meter ก่อนใช้ทุกครั้งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 และ 4 ของบริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน

- ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity; TA) วิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ของผลสตรอเบอรี่โดยวิธีการไทเทรตสารละลายตัวอย่างด้วยสารละลายด่างมาตรฐาน (อภิตา, 2544) โดยนำส่วนของผลสตรอเบอรี่จำนวน 25 ผล ที่ปั่นรวมกันจนกระทั่งผลละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันมา 25 กรัม เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วจึงทำการไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์แมล โดยใช้เครื่อง digital burette และ pH meter จนสารละลายมีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 8.2 แล้วจึงนำปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้มาคำนวณหาปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ในรูปของกรดซิตริก มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยใช้สูตร

$$\text{Titratable acidity (\%)} = \frac{\text{normality of NaOH} \times \text{meq. wt. of acid} \times \text{vol. NaOH}}{\text{weight of sample use}} \times 100$$

meq. wt. of citric acid (milliequivalent weight of citric acid) = 0.07

- ปริมาณวิตามินซี วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในผลสตรอเบอรี่ด้วยวิธี 2,6-Dichlorophenol-Indophenol Visual Titration (Ranganna, 1986) โดยนำส่วนของผลสตรอเบอรี่จำนวน 25 ผล ที่ปั่นรวมกันจนกระทั่งผลละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันมา 10 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ปิเปตต์สารละลายที่กรองได้มา 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรตกับ 2,6-ไดคลอโร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ฟีนอล-อินโดฟีนอลความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ จนถึงจุดยุติ ซึ่งสารละลายมีสีชมพูประมาณ 15 วินาที แล้วคำนวณหาปริมาณวิตามินซี โดยใช้ปริมาณ 2,6-ไดคลอโรฟีนอล-อินโดฟีนอลที่ใช้กับสารตัวอย่างเทียบกับ 2,6-ไดคลอโรฟีนอล-อินโดฟีนอลที่ใช้กับวิตามินซีมาตรฐาน โดยคำนวณตามสูตร มีหน่วยเป็นมิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด ดังนี้

ปริมาตร indophenol dye a มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ 1 มิลลิกรัม (จาก Standard)
ปริมาตร indophenol dye b มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ (1 x b) / a มิลลิกรัม
(จากสารละลายตัวอย่าง) เท่ากับ c มิลลิกรัม

สารละลาย 10 มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ c มิลลิกรัม
สารละลาย 100 มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ (c x 100) /10 มิลลิกรัม
เท่ากับ d มิลลิกรัม

เนื้อตัวอย่าง 10 กรัม มี ascorbic acid เท่ากับ d มิลลิกรัม
เนื้อตัวอย่าง 100 กรัม มี ascorbic acid เท่ากับ (d x 100) /10 มิลลิกรัม
เท่ากับ e มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด

- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมด โดยวิธี Dinitrosalicylic acid reagent (DNS method) (สุทัศน์, 2548)

1. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) โดยชั่งส่วนของผลสตรอเบอรี่จำนวน 25 ผล ที่ปั่นรวมกันจนกระทั่งผลละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันมา 2 กรัม เติม Clearing agent คือ Carrez I และ II ลงไปอย่างละ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนประมาณ 30 นาที หลังจากนั้นรินเอาส่วนใสไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 1,500 รอบต่อนาที นาน 15 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 1 อีก 1 ครั้ง แล้วปิเปตต์เอาส่วนใสมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย DNS ลงไป 4 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน นำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 10 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันและทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ Blank ที่ใช้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่าง นำค่า OD ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับค่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสในกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) โดยชั่งส่วนของผลสตรอเบอรี่จำนวน 25 ผล ที่ปั่นรวมกันจนกระทั่งผลละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันมา 2 กรัม ทำการไฮโดรไลส์ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6.34 นอร์แมล จำนวน 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว และปรับสารละลายให้เป็นกลางด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 นอร์แมล เติม Clearing agent คือ Carrez I และ II ลงไปอย่างละ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนประมาณ 30 นาที หลังจากนั้นรินเอาส่วนใสไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 1,500 รอบต่อนาที นาน 15 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 1 อีก 1 ครั้ง แล้วปิเปตต์เอาส่วนใสมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย DNS ลงไป 4 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน นำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 10 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันและทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ Blank ที่ใช้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่าง นำค่า OD ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับค่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสในกราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

3. การทำกราฟมาตรฐานของน้ำตาลรีดิวซ์ (as glucose) เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสในรูปของ stock solution 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้วปิเปตต์ stock solution เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยปิเปตต์ stock solution มา 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 มิลลิลิตร นำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้เติมด้วย DNS 4 มิลลิลิตร ลงไปในแต่ละหลอด เขย่าผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เติมน้ำกลั่นให้ครบ 10 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันและทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสกับค่า OD

- ปริมาณแอนโทไซยานิน วิเคราะห์โดยใช้วิธีการของ Ranganna (1986)

- อัตราการหายใจ โดยนำผลสตรอเบอรี่ที่มีขนาดน้ำหนักผลระหว่าง 10-15 กรัม/ผล มาประมาณ 500 กรัม บรรจุลงในกล่องพลาสติกขนาด 13×18.7×9.5 เซนติเมตร ปิดฝาให้สนิท เชื่อมรอยแยกบริเวณกล่องพลาสติกกับฝาด้วยกาวซิลิโคน หลังจากนั้นนำกล่องพลาสติกที่บรรจุผลสตรอเบอรี่ต่อเข้ากับชุดแผงควบคุมอัตราการไหลของอากาศ (ภาพที่ 9) ทดสอบการรั่วของอากาศด้วยน้ำสบู่ ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 8 ชั่วโมง แล้วทำการวัดความเข้มข้นของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และออกซิเจนด้วยเครื่อง Gas chromatography โดยสุ่มตัวอย่างแก๊สมาวัดครั้งละ 1 มิลลิลิตร และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ทำการวัด 2 ครั้ง/ซ้ำ นำค่าที่ได้มาคำนวณหาอัตราการหายใจ โดยคำนวณจากสูตร (Smith, 1995) ดังนี้

อัตราการหายใจ (มิลลิกรัม CO_2/กิโลกรัม/ชั่วโมง)

$$= \frac{(\%CO_2 - \text{Blank}\%CO_2) \times \text{Flow rate (ml/min)} \times 321750 \text{ mg kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}}{\text{weight (g)} \times (273 + \text{measured flowrate temp } ^\circ\text{C})}$$

- อายุการเก็บรักษา พิจารณาจากการเข้าทำลายของเชื้อราและ/หรือการเน่าของผลสตรอเบอรี่ หากมีผลที่มีเชื้อราและ/หรือเน่าเสียเพียง 1 ผล ภายในภาชนะบรรจุแสดงว่าหมดอายุการเก็บรักษา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 4 ผลของอุณหภูมิและระยะความแก่ต่อกิจกรรมของเอนไซม์เพกทิเนสในผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยใช้ผลสตรอเบอรี่ที่ในเก็บเกี่ยวระยะการพัฒนาสีผิวเป็นสีแดง 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ เป็น 3 วิธีการ แต่ละวิธีการมี 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยผลสตรอเบอรี่ 25 ผล

วิธีการทดลอง

เก็บเกี่ยวผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72 ที่มีระยะการพัฒนาสีผิวเป็นสีแดง 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2548 จากสวนเกษตรกรที่ปลูกเป็นการค้าในเขตพื้นที่บ้านบ่อแก้ว ตำบลบ่อแก้ว อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ เวลาประมาณ 6.00-8.00 น. นำมาคัดขนาดให้มีน้ำหนักผลระหว่าง 10-15 กรัม/ผล และบรรจุลงในกล่องพลาสติกมีฝาปิดขนาด 9x13x6 เซนติเมตร ซึ่งเป็นภาชนะบรรจุสำหรับผลสตรอเบอรี่เพื่อจำหน่ายทางการค้าของมูลนิธิโครงการหลวง จำนวนกล่องละ 25 ผล โดยเรียงสองชั้น ภายในโรงคัดบรรจุชั่วคราวของเกษตรกร แล้วขนส่งมายังห้องปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยรถขนส่งธรรมดาของมูลนิธิโครงการหลวง ใช้เวลาประมาณ 3 ชั่งโมง หลังจากนั้นนำผลสตรอเบอรี่ไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 0±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80-85 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับอุณหภูมิที่ให้ผลดีที่สุดจากการทดลองที่ 3 แล้ววิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์เพกทิเนส โดยอาศัยหลักการที่ pectic enzyme ในน้ำผลไม้ (juice) จะไฮโดรไลส์สารประกอบเพกทินเป็นกรดเพกทิก ซึ่งสามารถวัดความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นได้ (ลักขณาและนิธิยา, 2544) ทำการวิเคราะห์ทุกๆ 2 วัน จนหมดอายุการเก็บรักษา และหาความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์กับความแน่นเนื้อโดยวิธีการถดถอยเชิงเส้นตรง (linear regression)

การบันทึกผลการทดลอง

- กิจกรรมของเอนไซม์เพกทิเนส (pectic enzyme activity) วิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์เพกทิเนส โดยอาศัยหลักการที่ pectic enzyme ในส่วนของผลสตรอเบอรี่จำนวน 25 ผล ที่ปั่นรวมกันจนกระทั่งผลละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นผลไม้ จะไฮโดรไลส์สารประกอบเพกทินให้เป็นกรดเพกทิก ซึ่งสามารถวัดความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นได้ (ลักขณาและนิธิยา, 2544) โดยการนำสารละลายเพกทินมา 50 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วนำไปแช่ไว้ใน water bath ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนสารละลายเพกทินมีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เติมส่วนของผลสตรอเบอรี่ที่ปั่นรวมกันจนละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันลงไป 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันทันที แล้วปรับความเป็นกรดเป็นด่างให้มีค่าเท่ากับ 7.0 ด้วย pH meter โดยเติมสารละลาย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ ลงไป หลังจากนั้นนำไปแช่ไว้ใน water bath ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที โดยเขย่าเป็นครั้งคราว นำสารละลายในบีกเกอร์มาทำการไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ จนมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 7.0 บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ เพื่อนำไปคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์เพกทิเนสตามสูตร ซึ่งปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นในช่วงระยะเวลา 30 นาที จะผันแปรโดยตรงกับ pectolytic enzymatic activity

สูตรการคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์

$$\text{Enzymatic activity} = \frac{\text{ปริมาตรของด่างที่ใช้} \times 0.02 \times 31}{\text{ปริมาตรของน้ำผลไม้}}$$

มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมของเมทอกซิล (methoxyl) /มิลลิลิตรน้ำผลไม้

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

นำข้อมูลผลการทดลองสมบัติทางกายภาพและส่วนประกอบทางเคมีของผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72 มาทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่า least significant difference ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved