

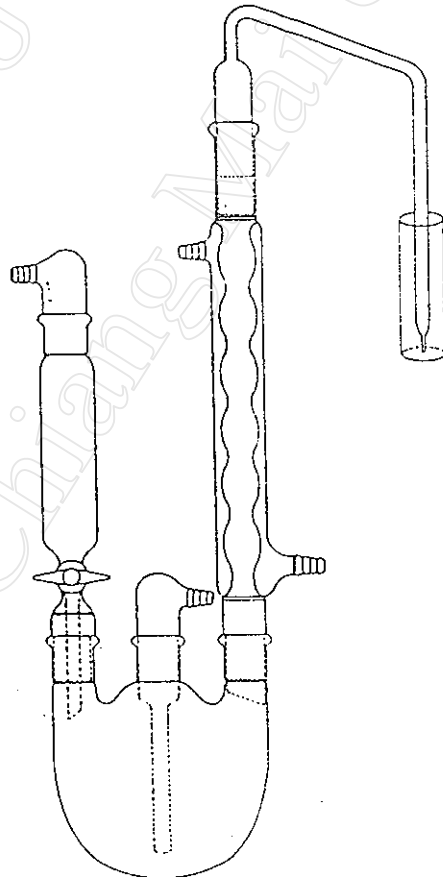
### บทที่ 3

## อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย

### อุปกรณ์

1. เครื่องวัดสี (chromameter) ยี่ห้อ Minolta รุ่น CR-200
2. Hand refractometer ยี่ห้อ ATAGO รุ่น ATC-1-Brix 0-32 %
3. Digital burette ยี่ห้อ Brinkmann
4. เครื่องกำเนิดก๊าซไนโตรเจน ยี่ห้อ Prism Nitrogen System
5. ชุดเครื่องแก้วสำหรับหาปริมาณ  $\text{SO}_2$  ในรูปสารซัลไฟต์ ตามที่ดัด

แปลงจากวิธี Optimized Monier-Williams ดังภาพ 1



ภาพ 1 ชุดเครื่องแก้วสำหรับหาปริมาณ  $\text{SO}_2$  ในรูปสารซัลไฟต์ ดัดแปลงจากวิธี Optimized Monier-Williams (AOAC, 1995)

## สารเคมี

1. สาร  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  ระดับที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร
2. น้ำมันหอมระเหยจากมัสตาร์ด (mustard essential oil) จากบริษัท ลานนาโปรดักส์ จำกัด นิคมอุตสาหกรรมภาคเหนือ อ.เมือง จ.ลำพูน โดยมีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ คือ สาร allyl isothiocyanate (AIT) 5 %
3. สารละลายกรด HCl มาตรฐาน ความเข้มข้น 1 N ยี่ห้อ Merck
4. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 N  
ซิงโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น แล้วหาความเข้มข้นที่แน่นอนโดยการไตเตรทกับสารละลายกรด HCl มาตรฐาน โดยใช้ phenolphthalein ความเข้มข้น 1 % เป็นอินดิเคเตอร์
5. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 N  
นำสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 N จำนวน 100 มิลลิลิตรปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น แล้วหาความเข้มข้นที่แน่นอนโดยการไตเตรทกับสารละลายกรด HCl มาตรฐาน โดยใช้ phenolphthalein ความเข้มข้น 1 % เป็นอินดิเคเตอร์
6. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.01 N  
นำสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 N จำนวน 10 มิลลิลิตรปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น แล้วหาความเข้มข้นที่แน่นอนโดยการไตเตรทกับสารละลายกรด HCl มาตรฐาน โดยใช้ phenolphthalein ความเข้มข้น 1 % เป็นอินดิเคเตอร์
7. สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 3 %  
นำสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 30 % จำนวน 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น นำมาไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.01 N จนเปลี่ยนเป็นสีเหลือง โดยใช้เมธิลเรดอินดิเคเตอร์ ความเข้มข้น 0.25 % เป็นอินดิเคเตอร์ นำสารละลายที่ได้ไปใช้ทันทีหรือเก็บในตู้เย็น
8. สารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 5 %  
นำสารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95 % จำนวน 52.63 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

## 9. สารละลายกรด HCl ความเข้มข้น 4 N

นำสารละลายกรด HCl เข้มข้น จำนวน 334.04 มิลลิลิตร  
ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

## 10. ก๊าซไนโตรเจน

เป็นก๊าซที่บริสุทธิ์ 99.99 % และควบคุมอัตราการไหล 200  
มิลลิลิตร/นาที่ ด้วยเครื่องควบคุมอัตราการไหล

**พืชทดลอง**

ลำไยพันธุ์ดอกจากสวนเกษตรกร อ.เวียงหนองล่อง จ.ลำพูน โดยผลลำไยที่ใช้มีจำนวน  
ประมาณ 85 ผล/กิโลกรัม

**สถานที่ทดลอง**

ห้องปฏิบัติการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

**ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง**

เดือนมิถุนายน พ.ศ.2542 ถึง เดือนกันยายน พ.ศ.2543

**วิธีการดำเนินการวิจัย**

งานวิจัยนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้น  
ของสารละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการแช่ผลลำไยพันธุ์ดอก และการทดลองที่ 2  
ศึกษาผลของการใช้สารละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากมัสตาร์ดต่อคุณภาพของผล  
ลำไยพันธุ์ดอก เมื่อนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $5^\circ\text{C}$  และอุณหภูมิห้อง

### การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลาย $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการแช่ผลลำไยพันธุ์ดอ

ทำการวางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (factorial in completely randomized design) โดยแบ่งออกเป็น 2 ปัจจัย คือ

ปัจจัยที่ 1 ความเข้มข้นของสารละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  ที่ใช้ในการแช่ มี 4 ระดับ คือ 0, 5, 7.5 และ 10 % น้ำหนักต่อปริมาตร (W/W)

ปัจจัยที่ 2 อุณหภูมิที่ใช้ในการแช่ มี 3 ระดับ คือ 25, 35 และ 45 °C

นำผลลำไยมาตัดก้านออกให้เหลือก้านเหนือขั้วผลประมาณ 5 มิลลิเมตร จากนั้นนำผลลำไยมาแช่ในสารละลายที่เตรียมไว้ข้างต้นเป็นเวลา 5 นาที ในอัตราส่วนผลลำไย 1 กิโลกรัมต่อสารละลายปริมาตร 1 ลิตร ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ผึ่งลมให้แห้ง แล้วจัดเรียงบนถาดโฟม หุ้มด้วยพลาสติก polyvinyl chloride (PVC) นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C และอุณหภูมิห้อง ( $27 \pm 2$  °C) เพื่อรอการศึกษา บันทึกผลโดยการตรวจสอบภายหลังการแช่ทันทีและตรวจสอบทุก 7 วัน สำหรับผลลำไยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C และทุก 3 วันสำหรับผลลำไยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

### ข้อมูลที่ใช้การศึกษา

#### 1. การเกิดโรค

ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค โดยพิจารณาจากจำนวนผลที่เกิดโรค ซึ่งดูจากเส้นใยของเชื้อราที่พบบนผลลำไย แล้วคิดเทียบเป็น % จากจำนวนผลทั้งหมด

#### 2. การเปลี่ยนแปลงทางเคมี

ได้แก่ ปริมาณ  $\text{SO}_2$  ในรูปสารซัลไฟต์ที่ตกค้างที่ช่วงเวลาต่างๆ และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids; TSS)

โดยการตรวจหาปริมาณ  $\text{SO}_2$  ในรูปสารซัลไฟต์ที่ตกค้างที่ช่วงเวลาต่างๆ ทำตามวิธีของ Association of Official Analytical Chemists; AOAC (1995) ซึ่งดัดแปลงจากวิธี Optimized Monier-Williams และเป็นวิธีที่ใช้ในการควบคุมมาตรฐานลำไยของประเทศไทย (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2542) โดยมีขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

##### 2.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

แยกเปลือกและเนื้อของผลลำไยออกจากกัน โดยพยายามป้องกันไม่ให้มีดหรือ

อุปกรณ์ต่างๆ ที่สัมผัสกับเปลือกมาสัมผัสกับเนื้อ เพราะอาจทำให้ค่าของสาร  $\text{SO}_2$  ที่ตกค้างติดผลาดได้จากการปนเปื้อน โดยชั่งน้ำหนักเปลือก 20 กรัม และน้ำหนักเนื้อ 50 กรัม แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสาร  $\text{SO}_2$  ดังนี้

## 2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณ $\text{SO}_2$ ตกค้าง

2.2.1 ติดตั้งชุดเครื่องกลั่น โดยให้ขวดก้นกลมมีคอ 3 ทางตั้งอยู่บนเตาไฟฟ้า เติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร สารละลายเอธานอล 5 % 100 มิลลิลิตร สารละลายกรด  $\text{HCl}$  4 N 90 มิลลิลิตร และใส่ตัวอย่างที่เตรียมไว้ลงในขวดก้นกลมทางคอด้านซ้าย ปิดจุกให้แน่น ดังภาพ 1

2.2.2 เติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 3 % ลงใน conical flask 120 มิลลิลิตร นำไปประกอบเข้ากับชุดเครื่องกลั่น

2.2.3 สวมท่อของเครื่องควบแน่นเข้ากับคอทางด้านขวาของขวดก้น ควบคุมเครื่องควบแน่นให้เย็น โดยการผ่านน้ำเข้าออกตลอดเวลาที่ทำการวิเคราะห์

2.2.4 สวมท่อนำก๊าซไนโตรเจนเข้าตรงคอกกลางของขวดก้นกลม โดยให้ปลายท่อจุ่มอยู่ในสารละลาย ปรับให้มีอัตราการไหลของก๊าซไนโตรเจน  $200 \pm 10$  มิลลิลิตร/นาที่ เป็นเวลา 15 นาที โดยสังเกตจาก conical flask จะมีฟองอากาศปุดขึ้น ทั้งนี้เพื่อไล่ก๊าซออกซิเจนออกจากระบบให้หมด

2.2.5 เปิดเตาไฟฟ้าสำหรับให้ความร้อน รอจนกระทั่งตัวอย่างที่อยู่ในขวดก้นกลม 3 คอเดือด จับเวลา 1 ชั่วโมง 45 นาที ถ้าตัวอย่างมีสารในกลุ่มซัลไฟต์ จะเกิดก๊าซ  $\text{SO}_2$  ไหลผ่านเครื่องควบแน่นที่เย็นและหลอมนำผ่านก๊าซไปเก็บไว้ที่ conical flask ซึ่งบรรจุสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อยู่ ซึ่งก๊าซ  $\text{SO}_2$  จะทำปฏิกิริยากับสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้กรดซัลฟูริก โดยจะสังเกตเห็นว่าสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีชมพูแดง

2.2.6 ปิดเตาไฟฟ้า ถอดท่อนำก๊าซไนโตรเจนออก

2.2.7 นำสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่อยู่ใน conical flask ไตรเทรทกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ทราบความเข้มข้นที่แท้จริง จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ซึ่งเป็นจุดยุติ (end point) บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้เป็นมิลลิลิตร

หมายเหตุ : ส่วนเปลือก ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N

ส่วนเนื้อ ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 N

## 2.3 การคำนวณปริมาณสาร $\text{SO}_2$

$$\text{SO}_2 \text{ (ppm)} = (32 \times V \times N \times 1000) / W$$

โดยที่ 32 = มิลลิกรัมสมมูลของก๊าซ  $\text{SO}_2$  (milliequivalent weight)

V = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไตเตรท  
(มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้  
ไตเตรท (N)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

ppm = ส่วนในล้านส่วน (part per million)

ส่วนการตรวจหาปริมาณ TSS ใช้ hand refractometer (ATAGO model ACT-1-Brix 0-32 %) ก่อนใช้ปรับสเกลให้เป็นศูนย์ด้วยน้ำกลั่น แล้วคั้นน้ำลาโยหยดลงบนหน้าปัทม์ ค่าที่ได้มีหน่วยเป็น %

### 3. การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

ได้แก่ การวัดการเปลี่ยนสีของเปลือกด้านนอก เปลือกด้านในและเนื้อด้วยเครื่องวัดสี (chroma meter) ยี่ห้อ Minolta model CR-200 โดยค่าที่ได้จะแสดงในรูปค่า L\* a\* และ b\*

ค่า L\* เป็นค่าที่แสดงความมืดและความสว่างของสี มีค่าตั้งแต่ 0-100 ถ้าค่า L\* มีค่าเข้าใกล้ 0 แสดงว่าวัตถุมีความสว่างน้อย หากมีค่าเข้าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมีความสว่างมาก

ค่า a\* เป็นค่าที่แสดงสีเขียวและสีแดง ถ้าค่า a\* มีค่าเป็นลบ แสดงว่าวัตถุมีสีเขียว หากมีค่าเป็นบวกแสดงว่าวัตถุมีสีแดง

ค่า b\* เป็นค่าที่แสดงสีน้ำเงินและสีเหลือง ถ้าค่า b\* มีค่าเป็นลบ แสดงว่าวัตถุมีสีน้ำเงิน หากมีค่าเป็นบวกแสดงว่าวัตถุมีสีเหลือง

ทั้งค่า a\* และ b\* หากมีค่าเป็น 0 แสดงว่าวัตถุมีสีเทา

### 4. การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 5 คน ซึ่งเป็นบุคคลเดียวกันและผ่านการฝึกฝนมาเป็นอย่างดีตลอดการชิมทุกครั้ง โดยให้ผู้ทดสอบชิมประเมินพร้อมๆ กันตามแบบประเมินในภาคผนวกสำหรับการกำหนดคะแนนของการประเมินคุณภาพ ได้แบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ แบบให้คะแนน (scoring test) และแบบให้รายละเอียด (profile test) แต่ละแบบมีรายละเอียดดังนี้ (ดัดแปลงจากบุญสง, 2543)

เกณฑ์การให้คะแนนของการประเมินคุณภาพแบบให้คะแนน (scoring test)

1. สีเปลือกด้านนอก
2. สีเปลือกด้านใน

3. รสชาติ
4. กลิ่น
5. คุณภาพโดยรวม

โดยมีระดับคะแนนดังนี้

- 1 = ไม่ชอบมากที่สุด
- 2 = ไม่ชอบปานกลาง
- 3 = เฉยๆ
- 4 = ชอบปานกลาง
- 5 = ชอบมากที่สุด

เกณฑ์การให้คะแนนของการประเมินคุณภาพแบบให้คะแนน (profile test)

1. สีเปลือกด้านนอก (ภาพ 2)

- 1 = สีน้ำตาลทั้งผล (สีน้ำตาล 100 % ของผล)
- 2 = สีเหลืองปนน้ำตาล (สีน้ำตาล 50 % ของผล)
- 3 = สีเหมือนลำไยสด
- 4 = สีเหลือง

2. สีเปลือกด้านใน (ภาพ 3)

- 1 = สีผิดปกติมาก
- 2 = สีผิดปกติเล็กน้อย
- 3 = สีปกติ

3. รสชาติ

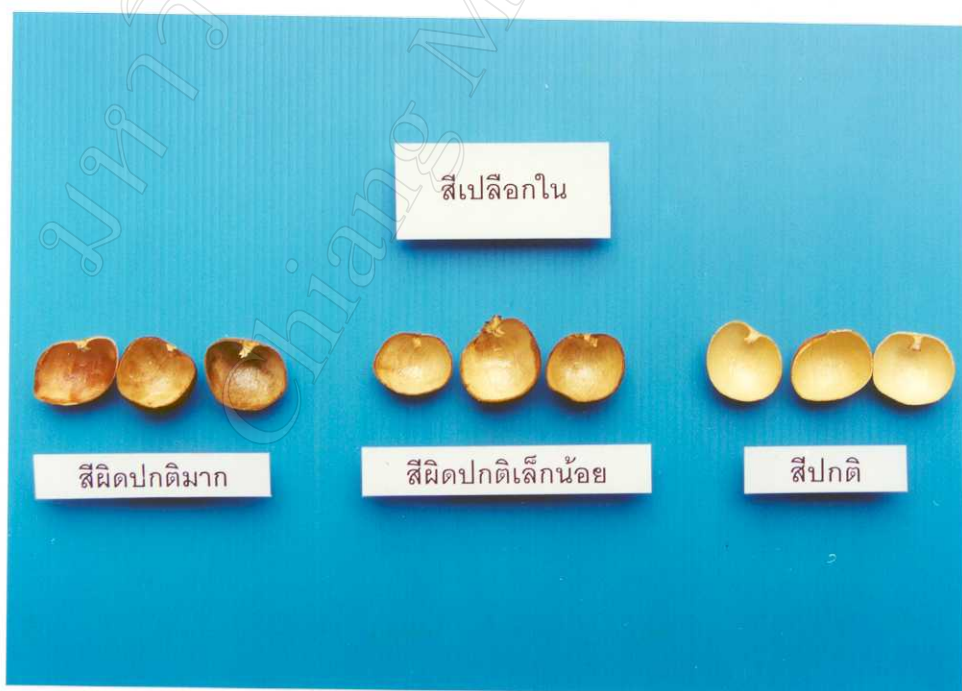
- 1 = มีรสชาติผิดปกติ
- 2 = มีรสชาติผิดปกติเล็กน้อย แต่ยังสามารถรับได้
- 3 = มีรสชาติลำไยสด ไม่มีรสชาติผิดปกติ

4. กลิ่น

- 1 = มีกลิ่นแปลกปลอม และ/หรือกลิ่นไม่พึงประสงค์
- 2 = มีกลิ่นแปลกปลอม และ/หรือกลิ่นไม่พึงประสงค์เล็กน้อย แต่ยังสามารถรับได้
- 3 = มีกลิ่นลำไยสด ไม่มีกลิ่นแปลกปลอม และ/หรือกลิ่นไม่พึงประสงค์



ภาพ 2 เกณฑ์การให้คะแนนของการประเมินคุณภาพแบบ profile test ด้านสีเปลือกด้านนอก



ภาพ 3 เกณฑ์การให้คะแนนของการประเมินคุณภาพแบบ profile test ด้านสีเปลือกด้านใน



## 5. อายุการเก็บรักษา

การสิ้นสุดระยะเวลาของการเก็บรักษา พิจารณาจากการปรากฏให้เห็นของเชื้อราที่ผลลำไย โดยเมื่อพบว่าเริ่มมีเชื้อราปรากฏให้เห็นให้ถือว่าหมดอายุการเก็บรักษา และ/หรือเมื่อผู้บริโภคไม่ยอมรับตามเกณฑ์การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส โดยให้คะแนนการประเมินคุณภาพแบบ scoring test ในด้านสีเปลือกด้านนอก สีเปลือกด้านใน รสชาติ กลิ่น และคุณภาพโดยรวม ในระดับคะแนนเท่ากับ 1 คือ ไม่ชอบมากที่สุด และ/หรือให้คะแนนการประเมินคุณภาพแบบ profile test ในระดับคะแนนเท่ากับ 1 คือ สีเปลือกด้านนอกพบว่ามีสีน้ำตาลทั้งหมด สีเปลือกด้านในพบว่ามีสีผิดปกติมาก รสชาติพบว่ามีรสชาติผิดปกติ และกลิ่นพบว่ามีกลิ่นแปลกปลอม และ/หรือกลิ่นไม่พึงประสงค์

**การทดลองที่ 2** ศึกษาผลของการใช้สารละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากมัสตาร์ด ต่อผลลำไยพันธุ์ดอ

การทดลองนี้จะใช้สารละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  ในระดับความเข้มข้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการแช่ซึ่งได้จากผลการทดลองที่ 1 คือ ใช้สารละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  ความเข้มข้น 7.5 % WV และอุณหภูมิ 25 °C ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 8 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ผลลำไยพ่นด้วยสาร AIT 0 ppm (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 ผลลำไยพ่นด้วยสาร AIT 500 ppm

ชุดการทดลองที่ 3 ผลลำไยพ่นด้วยสาร AIT 1000 ppm

ชุดการทดลองที่ 4 ผลลำไยพ่นด้วยสาร AIT 1500 ppm

ชุดการทดลองที่ 5 ผลลำไยแช่สารละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  ความเข้มข้น 7.5 % WV อุณหภูมิ 25 °C นาน 5 นาที

ชุดการทดลองที่ 6 ผลลำไยแช่สารละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  ความเข้มข้น 7.5 % WV อุณหภูมิ 25 °C นาน 5 นาที แล้วนำมาพ่นด้วยสาร AIT 500 ppm

ชุดการทดลองที่ 7 ผลลำไยแช่สารละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  ความเข้มข้น 7.5 % WV อุณหภูมิ 25 °C นาน 5 นาที แล้วนำมาพ่นด้วยสาร AIT 1000 ppm

ชุดการทดลองที่ 8 ผลลำไยแช่สารละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  ความเข้มข้น 7.5 % WV อุณหภูมิ 25 °C นาน 5 นาที แล้วนำมาพ่นด้วยสาร AIT 1500 ppm

โดยนำผลลำไยมาตัดก้านออกให้เหลือก้านเหนือหัวผลประมาณ 5 มิลลิเมตร จากนั้นนำผลลำไยมาแช่ในสารละลายที่เตรียมไว้ข้างต้นเป็นเวลา 5 นาที ในอัตราส่วนผลลำไย 1 กิโลกรัมต่อสารละลายปริมาตร 1 ลิตร ฉีดพ่นด้วยสาร AIT ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ นำไปผึ่งลมให้แห้ง แล้วจัดเรียงบนถาดโฟม หุ้มด้วยพลาสติก PVC นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C และอุณหภูมิห้อง ( $27 \pm 2$  °C) เพื่อรอการศึกษา ตรวจวัดข้อมูลต่างๆ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 โดยทำการตรวจสอบหลังการแช่ทันทีและตรวจสอบทุก 5 วันสำหรับผลลำไยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C และทุก 3 วันสำหรับผลลำไยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง