บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ตู้ถ่ายเชื้อ
2. หม้อนึ่งความดันไอ
3. กล้องจุลทรรศน์ ยี่ห้อ Olympus
4. เครื่องควบคุมอุณหภูมิของน้ำ (water bath ของ GEL 1083)
5. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
6. Micropipette ยี่ห้อ Biohit ของ GIBTHAI
7. Haemacytometer ยี่ห้อ Reichert รุ่น Bright-line
8. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (digital refractometer ของ ATAGO)
9. เครื่องวัดสี Color Quest XE ยี่ห้อ Hunter Lab
10. เครื่องไทเทรต ยี่ห้อ Brinkman digital burette
11. เครื่องชั่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น E2000D

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. กรดอะซิติก (acetic acid) (analytical reagent grade)
2. กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) (laboratory reagent grade)
3. กรดซิตริก (citric acid) (laboratory reagent grade)
4. กรดฟอร์มิก (formic acid) (analytical reagent grade)
5. กรดมาลิก (malic acid) (laboratory reagent grade)
6. กรดซอร์บิก (sorbic acid) (commercial grade)
7. Sta–fresh 310
8. Q-yield ยี่ห้อ Cifo
9. Chitosan ยี่ห้อ Difco
10. อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA)
11. อาหารเลี้ยงเชื้อ meat extract agar (MEA)
12. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1N (analytical reagent grade)
13. สารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$) 0.01N (analytical reagent grade)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

14. กรดไฮโดรคลอริก (HCl) 0.1N (laboratory reagent grade)
15. กรดออกซาลิก (oxalic acid) 0.4% (laboratory reagent grade)
16. สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) (laboratory reagent grade)
17. 2,6-dichlorophenolindophenol (analytical reagent grade)

สถานที่ทำการทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ภาควิชาโรคพืช ห้องแบคทีเรีย คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2. ห้องปฏิบัติการของสถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว คณะบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วิธีดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้แยกเป็น 4 การทดลอง

การเตรียมพืชทดลอง

ผลส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง ที่มีขนาดสม่ำเสมอ สีผิวใกล้เคียงกันไม่มีโรคและรอยตำหนิ ซึ่งมาจากแหล่งปลูกในอำเภอ ฝาง จังหวัด เชียงใหม่

การทดลองที่ 1 การแยกเชื้อสาเหตุโรคเน่าราสีเขียวจากผลส้มสายน้ำผึ้ง

การแยกเชื้อจากผลส้ม

วิธีแยกเชื้อ

ใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ผ่านการลนไฟและรอให้เย็น นำมาแตะบริเวณกลุ่มสปอร์สีเขียว แล้วนำกลุ่มสปอร์นั้นมาวางบนอาหาร PDA (Potato dextrose agar) หลังจากนั้นแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ โดยเพาะเลี้ยงไว้บนอาหาร MEA (Meat extract agar) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส บันทึกลักษณะของเชื้อสาเหตุ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นต่างๆ ของกรดอินทรีย์เพื่อดูความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียว

2.1 ศึกษาผลของกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการงอกของสปอร์เชื้อราเขียว

เตรียม spore suspension ให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 10^5-10^6 spore/ml. และเตรียมกรดให้ได้ความเข้มข้นเป็น 2 เท่าของความเข้มข้นจริงคือเตรียมกรด acetic, ascorbic, citric, formic และ malic ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย (final concentration) เท่ากับ 0.1, 1, 3, 5% สำหรับกรด sorbic ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.3% โดยมีชุดควบคุม คือ น้ำ และแอลกอฮอล์ ซึ่งในการละลายกรด sorbic นั้นต้องใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายในปริมาณเล็กน้อยก่อนที่จะปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ซึ่งทำให้ได้ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์สุดท้ายเป็น 1.24% นำ spore suspension และกรดที่มีความเข้มข้นเป็น 2 เท่าของความเข้มข้นจริง มาหยดลงบนอาหาร PDA ที่มีขนาด 1×1 cm หนา 0.1 mm บนแผ่น slide อย่างละ 10 µl นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ในกล่องพลาสติกที่บุกระดาษชื้นด้านล่าง นำไปตรวจสอบการงอกของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกผลการทดลอง

2.2 ศึกษาผลของกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อเชื้อราเขียวในอาหารเลี้ยงเชื้อ

แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ซึ่งมี 5 ซ้ำของการทดลองในแต่ละกรด

กรรมวิธีที่ 1 ใช้กรด acetic ความเข้มข้น 0.1%, 1%, 3% และ 5%
กรรมวิธีที่ 2 ใช้กรด ascorbic ความเข้มข้น 0.1%, 1%, 3% และ 5%
กรรมวิธีที่ 3 ใช้กรด citric ความเข้มข้น 0.1%, 1%, 3% และ 5%
กรรมวิธีที่ 4 ใช้กรด formic ความเข้มข้น 0.1%, 1%, 3% และ 5%
กรรมวิธีที่ 5 ใช้กรด malic ความเข้มข้น 0.1%, 1%, 3% และ 5%
กรรมวิธีที่ 6 ใช้กรด sorbic ความเข้มข้น 0.05%, 0.1%, 0.2% และ 0.3%
กรรมวิธีที่ 7 ชุดควบคุม ใช้แอลกอฮอล์ 1.27%
กรรมวิธีที่ 8 ชุดควบคุม ใช้น้ำกลั่น

วิธีการทดลอง

ผสมกรดแต่ละชนิดในอาหาร MEA ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายตามต้องการ สำหรับกรด sorbic ใช้แอลกอฮอล์ 95% ปริมาตร 2 ml เป็นตัวทำละลาย แล้วจึงปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 10 ml นั่นคือทำให้ได้ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่แท้จริงเท่ากับ 19% และดูดมา 5 ml เพื่อนำไปผสมกับอาหาร MEA ปริมาตร 70 mlจะได้ความเข้มข้นแอลกอฮอล์สุดท้ายเท่ากับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1.27% จากนั้นเทอาหารที่ผสมกรดเรียบร้อยแล้วลงใน plate ใช้ cork borer ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 cm. เจาะเชื้อ *P. digitatum* ที่เลี้ยงไว้บนอาหาร MEA ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วันมาเลี้ยงบนอาหารที่ผสมกับกรด แล้วนำบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส วัดการเจริญของเชื้อโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีที่อยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.3 ศึกษาผลของกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อเชื้อราเขียวบนผลส้มสายน้ำผึ้ง

แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ซึ่งมี 5 ซ้ำของการทดลองในแต่ละกรดและความเข้มข้น ซึ่งแบ่งเป็นกรรมวิธีต่าง ๆ ได้ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ใช้กรด acetic ความเข้มข้น 0.1%, 1%, 3% และ 5%
กรรมวิธีที่ 2 ใช้กรด ascorbic ความเข้มข้น 0.1%, 1%, 3% และ 5%
กรรมวิธีที่ 3 ใช้กรด citric ความเข้มข้น 0.1%, 1%, 3% และ 5%
กรรมวิธีที่ 4 ใช้กรด formic ความเข้มข้น 0.1%, 1%, 3% และ 5%
กรรมวิธีที่ 5 ใช้กรด malic ความเข้มข้น 0.1%, 1%, 3% และ 5%
กรรมวิธีที่ 6 ใช้กรด sorbic ความเข้มข้น 0.05%, 0.1%, 0.2% และ 0.3%
กรรมวิธีที่ 7 ชุดควบคุม ใช้แอลกอฮอล์ 11.4 %
กรรมวิธีที่ 8 ชุดควบคุม ใช้น้ำกลั่น

วิธีการทดลอง

นำส้มสายน้ำผึ้งมาล้างให้สะอาดแล้วผึ่งให้แห้ง เตรียม spore suspension ของเชื้อรา *P. digitatum* ให้ได้ความเข้มข้น 10^5-10^6 spore/ml ใช้เข็มแทงผลส้มให้ลึกประมาณ 2-3 มิลลิเมตร จำนวน 3 จุดต่อหนึ่งด้าน หยด spore suspension ปริมาณ 20 µl ปิดทับด้วยกระดาษกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 cm แล้วบ่มไว้ในสภาพความชื้นสูง คือเก็บไว้ในตระกร้าๆ ละ 5 ผล แล้วนำไปใส่ในถุงควบคุมความชื้น และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำผลส้มที่ผ่านการปลูกเชื้อแล้วไปแช่ในกรดแต่ละชนิดเป็นเวลา 5 นาที โดยมีชุดที่ไม่แช่สารแต่ทำการปลูกเชื้อ เป็นชุดควบคุม นำผลส้มไปบ่มไว้ในสภาพความชื้นสูงและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส บันทึกผลการทดลอง โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลบนผลส้ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 3 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นต่างๆ ของสารเคลือบผิว เพื่อดูความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียว

3.1 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารเคลือบผิวต่อเชื้อราเขียว บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ซึ่งมี 5 ซ้ำของการทดลอง ซึ่งมีทั้งหมด 10 กรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 Sta-fresh ความเข้มข้น 70%
กรรมวิธีที่ 2 Sta-fresh ความเข้มข้น 80%
กรรมวิธีที่ 3 Sta-fresh ความเข้มข้น 100%
กรรมวิธีที่ 4 Q-Yield ความเข้มข้น 70%
กรรมวิธีที่ 5 Q-Yield ความเข้มข้น 80%
กรรมวิธีที่ 6 Q-Yield ความเข้มข้น 100%
กรมมวิธีที่ 7 chitosan ความเข้มข้น 0.5%
กรมมวิธีที่ 8 chitosan ความเข้มข้น 1%
กรมมวิธีที่ 9 chitosan ความเข้มข้น 2%
กรรมวิธีที่ 10 ชุดควบคุมใช้น้ำกลั่นแทนสารเคลือบผิว

วิธีการทดลอง

เตรียม spore suspension ของเชื้อรา *P. digitatum* ให้ได้ความเข้มข้น 10^5-10^6 spore/ml แล้วใส่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จานละ 1 ml อุ่นอาหาร PDAใน water bath ที่อุณหภูมิ 60±2 องศาเซลเซียส แล้วเทลงในจานอาหารแกว่งจานอาหารเบาๆ ให้ spore suspension ผสมกับอาหาร รอให้อาหารแข็งแล้ววางกระดาษกรองที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 จุดบนอาหาร หยดสารเคลือบผิวลงบนกระดาษกรองจุดละ 20 µl แล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส บันทึกผลการทดลอง โดยตรวจวัดการเกิด clear zone

3.2 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารเคลือบผิวต่อเชื้อราเขียว บนผลส้มสายน้ำผึ้ง

วิธีการทดลอง

นำส้มสายน้ำผึ้งมาล้างให้สะอาดแล้วผึ่งให้แห้งเตรียม spore suspension ของเชื้อรา *P. digitatum* ให้ได้ความเข้มข้น 10^5-10^6 spore/ml ใช้แข็มแทงผลส้มให้ลึกประมาณ 2-3 มิลลิเมตร จำนวน 3 จุดต่อหนึ่งด้าน หยด spore suspension 20 µl แล้วบ่มไว้ที่สภาพความชื้นสูง คือเก็บไว้ในตระกร้าๆ ละ 5 ผล แล้วนำไปใส่ในถุงควบคุมความชื้น และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง นำไปทดสอบด้วยสารเคลือบผิวแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้สารเคลือบผิว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ประมาณ 50 µl ต่อหนึ่งด้าน แล้วใช้สำลีเช็ดให้ทั่ว นำผลส้มไปบ่มไว้ในสภาพความชื้นสูงและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส แต่ละกรรมวิธีมีทั้งหมด 5 ซ้ำ โดยมีชุดไม่มีสารเคลือบผิวเป็นชุดควบคุม บันทึกการเกิดโรค และการเน่าเสียที่เกิดขึ้น

การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของกรดอินทรีย์ร่วมกับสารเคลือบผิวในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลส้ม และการเปลี่ยนเปลงคุณภาพของผลส้มสายน้ำผึ้ง

การทดลองนี้ได้เลือกกรดที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคมาใช้ร่วมกับการใช้สารเคลือบผิว โดยนำมาทดสอบการควบคุมโรคบนผลส้มสายน้ำผึ้ง และศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลส้มสายน้ำผึ้งหลังจากนำไปทดสอบกับสารแต่ละกรรมวิธี เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา

4.1 ทดสอบการควบคุมโรคบนผลส้มสายน้ำผึ้ง

แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ซึ่งมี 5 ซ้ำของการทดลอง โดยมีทั้งหมด 25 กรรมวิธี ดังนี้

แช่กรด acetic ความเข้มข้น 0.1%, 1%, 3%และ 5% ร่วมกับ Q-Yield ความเข้มข้น 70%
แช่กรด acetic ความเข้มข้น 0.1%, 1%, 3%และ 5% ร่วมกับ Q-Yield ความเข้มข้น 80%
แช่กรด acetic ความเข้มข้น 0.1%, 1%, 3%และ 5% ร่วมกับ Q-Yield ความเข้มข้น 100%
แช่กรด formic ความเข้มข้น 0.1%, 1%, 3%และ 5% ร่วมกับ Q-Yield ความเข้มข้น 70%
แช่กรด formic ความเข้มข้น 0.1%, 1%, 3%และ 5% ร่วมกับ Q-Yield ความเข้มข้น 80%
แช่กรด formic ความเข้มข้น 0.1%, 1%, 3%และ 5% ร่วมกับ Q-Yield ความเข้มข้น 100%
ชุดควบคุม ไม่ใช้กรด และ Q-Yield

วิธีการทดลอง

1) นำส้มสายน้ำผึ้งมาล้างให้สะอาดแล้วผึ่งให้แห้ง นำไปปลูกเชื้อ *P. digitatum* ก่อนเพื่อทดสอบการควบคุมโรค ตามกรรมวิธีข้างต้น

2) บันทึกการเกิดโรค และการเน่าเสียที่เกิดขึ้น ของผลส้ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2 การวิเคราะห์คุณภาพของผลส้ม

แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมแบบสุ่มสมบูรณ์ (factorial in CRD) ซึ่งในแต่ละวิธีการทำมี 5 ซ้ำของการทดลอง ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แช่กรด acetic ความเข้มข้น 1%
กรรมวิธีที่ 2 แช่กรด acetic ความเข้มข้น 3%
กรรมวิธีที่ 3 แช่กรด acetic ความเข้มข้น 5%
กรรมวิธีที่ 4 แช่กรด acetic ความเข้มข้น 1% ร่วมกับ Q-Yield 100%
กรรมวิธีที่ 5 แช่กรด acetic ความเข้มข้น 3% ร่วมกับ Q-Yield 100%
กรรมวิธีที่ 6 แช่กรด acetic ความเข้มข้น 5% ร่วมกับ Q-Yield 100%
กรรมวิธีที่ 7 Q-Yield 100%
กรรมวิธีที่ 8 ชุดควบคุม ไม่ใช้กรด และ Q-Yield

วิธีการทดลอง

1) นำส้มสายน้ำผึ้งที่มีขนาดสม่ำเสมอ ปราศจากรอยตำหนิและโรคมาล้างให้สะอาดแล้วผึ่งให้แห้ง โดยจุ่มกรดในแต่ละกรรมวิธีข้างต้นและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (29±2 องศาเซลเซียส)

2) ตรวจสอบคุณภาพของผลส้มโดยวัดคุณภาพผลทุกๆ 3 วัน และเริ่มวัดตั้งแต่วันที่เริ่มการทดลอง

1. สีผิว วัดสีผิวของเปลือกส้มด้านนอก โดยวัดผลละ 2 ด้านและทำการวัดตำแหน่งเดียวกันตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยใช้เครื่องวัดสี Color Quest XE และค่าที่ได้จากการวัดแสดงเป็นค่า L*, C* และ h^{o}

โดยค่า L* = The lightness factor แสดงถึง ความสว่างของวัตถุ ถ้าค่าเข้าใกล้ 0 วัตถุจะมีสีคล้ำ และหากค่าใกล้ 100 วัตถุจะมีสีสว่าง

C* = chroma แสดงถึง ความเข้มของสี ถ้าค่าเข้าใกล้ 0 วัตถุจะมีสีซีดจาง และหากค่าใกล้ 60 วัตถุจะมีสีเข้ม

h^{o} = hue angle (h^{o} = arctangent b*/a*) แสดงถึง กลุ่มสีของวัตถุ ถ้าค่าเข้าใกล้มุม 90 องศา วัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเหลือง(+b) หากค่าใกล้ 180 องศา วัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเขียว(-a)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การสูญเสียน้ำหนัก ชั่งน้ำหนักผลส้มโดยใช้ เครื่องชั่งยี่ห้อ Sartorius รุ่น E2000D นำค่าที่ได้ไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากสูตร

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

3. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids ; TSS) วัดโดยใช้เครื่องวัดปริมาณ ของแข็งที่ละลายน้ำได้ (digital refractometer ของ ATAGO) ค่าที่ได้แสดงค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ของแข็งที่ละลายน้ำได้

4. ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (tritratable acidity ; TA) นำน้ำคั้นของผลส้มปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 45 ml. นำมาไทเทรตด้วยสารละลายด่างมาตราฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์(NaOH) 0.1 N โดยใช้เครื่อง pH meter วัดจุดยุติ (ent point) ให้ได้เท่ากับ 8.2 นานประมาณ 30 วินาที บันทึกปริมาตรของสารละลายด่างมาตราฐาน ที่ใช้มาคำนวณหาปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ตามสูตร

$$\%TA = \frac{\text{ความเข้มข้นของ NaOH} \times \text{ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้(ml)} \times 0.064^{*} \times 100}{\text{ปริมาณน้ำคั้นของผลส้ม}}$$

- milliequivalent of citric acid (anhydrous) = 0.064

5. การวัดปริมาณวิตามินซี โดยใช้ Indophenol Method

5.1 การทำ Standardization of indophenol dye

ละลายสารโปแตสเซียมไอโอไดด์ (potassium iodide) 2-3 กรัมในน้ำกลั่นประมาณ 5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 0.04% Indophenol dye 15 มิลลิลิตร และสารละลาย 0.1 N HCl 10 มิลลิลิตร ผสมกันแล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 2 นาที แล้วจึงไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$) 0.01 N เมื่อถึงจุดยุติ (end point) สารละลายจะใส ให้ใช้น้ำแป้ง 1-2 มิลลิลิตร หยดลงไปดูว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสีชมพูอีก นำค่าที่ได้ไปคำนวณตามสูตร

$$\text{1 ml. Dye equivalent} = \frac{\text{ml } Na_2S_2O_3 \times \text{N } Na_2S_2O_3 \times 88 \times 100}{1000 \times \text{ml. dye}}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ml $Na_2S_2O_3$ = ปริมาณสารละลาย $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ในการไทเทรตเป็นมิลลิลิตร

N $Na_2S_2O_3$ = ปริมาณความเข้มข้นของ $Na_2S_2O_3$ ซึ่งเท่ากับ 0.01N

ml. dye = ปริมาตรสารละลาย Indophenol dye ความเข้มข้น 0.04 %

88 = น้ำหนักสมมูลย์ (equivalent weight) ของวิตามินซี

5.2 การวิเคราะห์วิตามินซี

นำน้ำคั้นของผลส้มมา 5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4% ปริมาตร 45 มิลลิลิตร นำมาไทเทรตกับสารละลาย Indophenol dye เข้มข้น 0.04 % จนถึงจุดยุติ นั่นคือได้สารละลายสีชมพูใส อ่านค่าปริมาณของ Indophenol dye ที่ใช้แล้วนำมาคำนวณตามสูตร

$$\text{mg. Ascorbic acid /100 ml. Juice} = \frac{100 \times \text{dye equi.} \times \text{Titer}}{A}$$

dye equi = 1 ml dye equivalent ที่คำนวณได้จากการทำมาตรฐาน indophenol dye

Titer = ปริมาตรสารละลาย indophenol dye ที่ได้จากการไทเทรต

A = ปริมาณน้ำคั้นของผลส้ม

6. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation)

ใช้ผู้ชิม (taste panel) จำนวน 5 คนโดยทำการชิมในวันที่เริ่มทำการทดลอง และทุกๆ 3 วัน ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาโดยในการประเมินคุณภาพในการบริโภคได้แยกการประเมินเป็น 4 ประเภทดังนี้

6.1 การประเมินการยอมรับได้ของสีเปลือกนอก โดยวัดเป็นระดับคะแนนดังนี้

1 = สีผิดปกติมาก

2 = สีผิดปกติเล็กน้อย

3 = สีปกติ

6.2 การประเมินการยอมรับได้ของกลิ่น โดยวัดเป็นระดับคะแนนดังนี้

1 = มีกลิ่นแปลกปลอมหรือไม่พึงประสงค์

2 = มีกลิ่นแปลกปลอมหรือไม่พึงประสงค์ แต่ยังยอมรับได้เล็กน้อย

3 = ไม่มีกลิ่นแปลกปลอม (ปกติ)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

6.3 การประเมินการยอมรับได้ของรสชาติ โดยวัดเป็นระดับคะแนนดังนี้

1 = มีรสชาติผิดปกติ

2 = มีรสชาติผิดปกติเล็กน้อยแต่ยังยอมรับได้

3 = ไม่มีรสชาติผิดปกติ

6.4 การประเมินการยอมรับได้ของความชอบโดยรวม โดยวัดเป็นระดับคะแนนดังนี้

1 = ไม่ชอบเลย

2 = ไม่ค่อยชอบ

3 = เฉยๆ

4 = ชอบ

5 = ชอบมาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved