

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (hand refractometer) ยี่ห้อ ATAGO
2. เครื่องไทเทรต ยี่ห้อ Brinkman Digital Buret
3. เครื่องชั่งไฟฟ้า ยี่ห้อ Precisa
4. เครื่องวัดสี ยี่ห้อ Miniscan XE plus
5. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (visible spectrophotometer) ยี่ห้อ ThermoSpectronic
6. ตู้ดูดควัน
7. ชุดเครื่องมือ GT Pesticide Test Kit
8. เครื่องแก้วและอุปกรณ์ต่างๆ

สารเคมี

1. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้างวิธี GT Pesticide Test Kit (Thoophom, 1998)
2. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้
 - sodium hydroxide
 - phenolphthalein
3. สารฆ่าแมลง
 - methomyl 40% SP จำหน่ายโดยบริษัท คูปองท์ (ประเทศไทย) จำกัด
 - dimethoate 40% EC จำหน่ายโดยบริษัท เอราวันเคมีเกษตร จำกัด

4. สารเคมีที่จะใช้ทดสอบทำน้ำยาล้างสารฆ่าแมลงตกค้าง

- sodium chloride (NaCl) บริษัท Univar
- sodium bicarbonate (NaHCO₃) บริษัท Univar
- potassium pyrophosphate (K₄P₂O₇) บริษัท Riel Dehaën
- sodium citrate (Na₃C₆H₅O₇) บริษัท Unilab
- citric acid (C₆H₈O₇) บริษัท Univar
- orthophosphoric acid (H₃PO₄) บริษัท Merck

5. น้ำยาล้างผักและผลไม้ในท้องตลาด

- ยี่ห้อ Mistine (มิตทิน) บริษัท ไลอ้อน (ประเทศไทย) จำกัด

ส่วนประกอบสำคัญ: sodium lauryl ether sulfate 7% (w/w)

- ยี่ห้อ St. Andrews (เซนต์แอนดรูว์) บริษัท ไลอ้อน (ประเทศไทย) จำกัด

ส่วนประกอบสำคัญ: sodium lauryl ether sulfate 7% (w/w)

- ยี่ห้อ โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา

ส่วนประกอบสำคัญ: amino soap, sodium chloride ไม่ระบุความเข้มข้นของสาร

วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) โดยนำผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งมาจากสวนเกษตรกรที่อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ คัดเลือกผลที่ไม่สม่ำเสมอและไม่มีบาดแผลมาใช้ในการทดลอง แบ่งผลส้มเป็นกลุ่มๆ เพื่อแยกปฏิบัติตามวิธีการทดลองต่างๆ โดยในแต่ละชุดการทดลองจะมี 5 ซ้ำ สำหรับวิเคราะห์สารตกค้าง

การทดลองที่ 1 ศึกษาหาปริมาณสารตกค้างที่เปลือกของผลส้มที่ผ่านการล้างด้วยสารบางชนิดที่น่าสนใจ

ศึกษาประสิทธิภาพของสารที่จะนำมาเป็นน้ำยาล้างแต่ละชนิด ได้แก่ sodium chloride (NaCl), sodium bicarbonate (NaHCO_3), potassium pyrophosphate ($\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$), sodium citrate ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), citric acid ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), orthophosphoric acid (H_3PO_4) สารแต่ละชนิดใช้ความเข้มข้นที่ต่างกัน 5 ระดับความเข้มข้น ดังนี้

- NaCl ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 กรัม/ลิตร
- NaHCO_3 ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 กรัม/ลิตร
- $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 กรัม/ลิตร
- $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 กรัม/ลิตร
- H_3PO_4 ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 กรัม/ลิตร
- $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ความเข้มข้น 2.5, 5, 10, 15 และ 20 กรัม/ลิตร

โดยนำสารแต่ละชนิดมาล้างผลส้มที่ซุบสารฆ่าแมลง 2 กลุ่ม ผลส้มกลุ่มแรกนำไปจุ่มสาร methomyl (สารกลุ่ม carbamate) ความเข้มข้น 4 กรัม/น้ำ 4 ลิตร (400 ppm) และกลุ่มสองนำไปจุ่มสาร dimethoate (สารกลุ่ม organophosphate) ความเข้มข้น 4 มิลลิลิตร/น้ำ 4 ลิตร (400 ppm) นาน 1 นาที แล้วนำไปผึ่งให้แห้ง เป็นระยะเวลา 1 วัน เพื่อให้สารฆ่าแมลงตกค้างที่เปลือกจากนั้นนำไปแช่สารชนิดเดียวที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ระดับความเข้มข้นเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปผ่านน้ำไหลเพื่อล้างอีก 30 วินาที ผึ่งให้แห้งแล้วนำไปวิเคราะห์สารตกค้างที่เปลือกผลส้ม โดยวิธี GT Pesticide Test Kit (Thoophom, 1998) ซึ่งอธิบายรายละเอียดไว้ในภาคผนวก ก ในแต่ละชุดการทดลองมี 5 ซ้ำ

การทดลองที่ 2 ศึกษาหาปริมาณสารตกค้างของผลส้มที่ผ่านการล้างด้วยสารผสม 2 ชนิดที่น่าสนใจ

ศึกษาประสิทธิภาพของสารที่จะนำมาผลิตเป็นน้ำยาล้างที่ประกอบด้วยสารผสม 2 ชนิด โดยสารแต่ละชนิดที่นำมาผสมกันใช้ความเข้มข้นที่ได้จากการทดลองที่ 1 แล้วเลือกความ

เข้มข้นที่ดีของสารแต่ละชนิดมาผสมกัน นำมาล้างผลส้มที่ซุบสารฆ่าแมลง 2 กลุ่ม ผลส้มกลุ่มแรกนำไปจุ่มสาร methomyl (สารกลุ่ม carbamate) ความเข้มข้น 4 กรัม/น้ำ 4 ลิตร และ กลุ่มสองนำไปจุ่มสาร dimethoate (สารกลุ่ม organophosphate) ความเข้มข้น 4 มิลลิลิตร/น้ำ 4 ลิตร นาน 1 นาที แล้วนำไปผึ่งให้แห้ง (ทิ้งระยะเวลา 1 วัน) จากนั้นนำไปแช่สารชนิดเดียวที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ความเข้มข้น เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปผ่านน้ำไหล เพื่อล้างอีก 30 วินาที ผึ่งให้แห้งแล้วนำไปวิเคราะห์สารตกค้างที่เปลือกผลส้ม โดยวิธี GT Pesticide Test Kit (Thoophom, 1998) เช่นเดียวกับ การทดลองที่ 1

การทดลองที่ 3 ศึกษาหาปริมาณสารตกค้างของผลส้มที่ผ่านการล้างด้วยสารผสม 3 ชนิดที่น่าสนใจ ศึกษาประสิทธิภาพของสารที่จะนำมาเป็นน้ำยาล้างผสม 3 ชนิด โดยสารแต่ละชนิดที่นำมาผสมกันใช้ความเข้มข้นที่ได้จากการทดลองที่ 2 แล้วเลือกความเข้มข้นที่ดีของสารแต่ละชนิดมาผสมกัน 3 ชนิด นำมาล้างผลส้มที่ซุบสารฆ่าแมลง 2 กลุ่ม ผลส้มกลุ่มแรกนำไปจุ่มสาร methomyl (สารกลุ่ม carbamate) ความเข้มข้น 4 กรัม/น้ำ 4 ลิตร และกลุ่มสองนำไปจุ่มสาร dimethoate (สารกลุ่ม organophosphate) ความเข้มข้น 4 มิลลิลิตร/น้ำ 4 ลิตร นาน 1 นาทีแล้วนำไปผึ่งให้แห้ง (ทิ้งระยะเวลา 1 วัน) จากนั้นนำไปแช่สารชนิดเดียวที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ความเข้มข้นเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปผ่านน้ำไหลเพื่อล้างอีก 30 วินาที ผึ่งให้แห้งแล้วนำไปวิเคราะห์สารตกค้างที่เปลือกผลส้ม โดยวิธี GT Pesticide Test Kit (Thoophom, 1998) ซึ่งอธิบายรายละเอียดไว้แล้วในภาคผนวก เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 4 ศึกษาประสิทธิภาพของสารที่นำมาเป็นน้ำยาล้าง

แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลองย่อยดังนี้

4.1 ศึกษาผลของการใช้สารผสม 3 ชนิดที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3 มาเปรียบเทียบกับน้ำยาล้างผักและผลไม้ที่มีอยู่ในท้องตลาด 3 ยี่ห้อ

โดยนำผลส้มที่ซุบสารฆ่าแมลง 2 กลุ่ม ผลส้มกลุ่มแรกนำไปจุ่มสาร methomyl (สารกลุ่ม carbamate) ความเข้มข้น 4 กรัม/น้ำ 4 ลิตร และ กลุ่มสองนำไปจุ่มสาร dimethoate (สารกลุ่ม organophosphate) ความเข้มข้น 4 มิลลิลิตร/น้ำ 4 ลิตร นาน 1 นาทีแล้วนำไปผึ่งให้แห้ง (ทิ้งระยะเวลา 1 วัน) นำมาล้างด้วยน้ำยาล้างที่ได้จากการทดลอง และน้ำยาล้างที่มีจำหน่ายทั่วไปจำนวน 3 ยี่ห้อ ดังนี้

- ยี่ห้อ Mistine (มิสทีน) บริษัท ไลอ้อน (ประเทศไทย) จำกัด
- ยี่ห้อ St.Andrews (เซนต์แอนดรูว์) บริษัท ไลอ้อน (ประเทศไทย) จำกัด

- ยี่ห้อ โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา ผลิตโดยโครงการส่วนพระองค์สวน-
จิตรลดา

นำน้ำยาล้างผักและผลไม้ข้างต้นปริมาตร 3 มิลลิลิตรมาผสมกับน้ำให้ได้ปริมาตร 4 ลิตร ตามที่ฉลากแนะนำไว้ (เจือจางแล้วความเข้มข้นเป็น 0.075 เปอร์เซ็นต์ของความเข้มข้นเริ่มต้นของ สารแต่ละยี่ห้อ) แล้วนำไปใช้กับผลส้มที่ผ่านการแช่สารฆ่าแมลง โดยนำผลส้มมาแช่ในน้ำยาล้าง นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดอีกครั้ง เปรียบเทียบกับการใช้น้ำยาสูตรที่คัดเลือกไว้ โดยตรวจ วัดปริมาณสารฆ่าแมลงตกค้างที่เปลือกผลส้ม โดยวิธี GT Pesticide Test Kit (Thoophom, 1998) เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

4.2 ศึกษาผลของการใช้สารผสม 3 ชนิดที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3 มาเปรียบเทียบระยะเวลาในการแช่

โดยผลส้มที่ซุบสารฆ่าแมลง 2 กลุ่ม ผลส้มกลุ่มแรกนำไปจุ่มสาร methomyl (สารกลุ่ม carbamate) ความเข้มข้น 4 กรัม/น้ำ 4 ลิตร และกลุ่มสองนำไปจุ่มสาร dimethoate (สารกลุ่ม organophosphate) ความเข้มข้น 4 มิลลิลิตร/น้ำ 4 ลิตร นาน 1 นาทีแล้วนำไปผึ่งให้แห้ง (ที่ระยะเวลา 1 วัน) แล้วนำมาแช่สารผสม 3 ชนิด ที่ดีที่สุด จากการทดลองที่ 3 ที่เวลา 3, 5, 10 และ 15 นาที แล้วนำไปผ่านน้ำไหลเพื่อล้างอีก 30 วินาที ผึ่งให้แห้งแล้วนำไปวิเคราะห์สารตกค้างที่ เปลือกผลส้ม โดยวิธี GT Pesticide Test Kit (Thoophom, 1998) เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

4.3 ศึกษาผลของการใช้สารล้างผสม 3 ชนิดที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3 มาเปรียบเทียบ ระยะเวลาในการนำมาใช้ล้างหลังการผสมสาร

โดยผลส้มที่ซุบสารฆ่าแมลง 2 กลุ่ม ผลส้มกลุ่มแรกนำไปจุ่มสาร methomyl (สารกลุ่ม carbamate) ความเข้มข้น 4 กรัม/น้ำ 4 ลิตร และกลุ่มสองนำไปจุ่มสาร dimethoate (สารกลุ่ม organophosphate) ความเข้มข้น 4 มิลลิลิตร/น้ำ 4 ลิตร นาน 1 นาทีแล้วนำไปผึ่งให้แห้ง (ที่ระยะเวลา 1 วัน) แล้วนำมาแช่สารผสม 3 ชนิด ที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3 โดยมีแบบที่ใช้เมื่อ ผสมกันทันที ผสมกันแล้วเก็บไว้เป็นเวลา 3 เดือน ผสมกันแล้วเก็บไว้เป็นเวลา 6 เดือน แล้วนำไป ผ่านน้ำไหลเพื่อล้างอีก 30 วินาที ผึ่งให้แห้ง นำไปวิเคราะห์สารตกค้างที่เปลือกผลส้ม โดยวิธี GT Pesticide Test Kit (Thoophom, 1998) เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 5 ศึกษาผลของการใช้สารผสมที่ได้จากการทดลองที่ 3 ที่นำมาเป็นน้ำยาล้างกับผลส้ม พันธุ์สายน้ำผึ้ง

โดยแบ่งผลส้มออกเป็น 4 กลุ่ม ผลส้ม 2 กลุ่มแรกนำไปจุ่มสาร methomyl (สารกลุ่ม carbamate) ความเข้มข้น 10 กรัม/น้ำ 10 ลิตร และ 2 กลุ่มหลังนำไปจุ่มสาร dimethoate

(สารกลุ่ม organophosphate) ความเข้มข้น 10 กรัม/น้ำ 10 ลิตร เป็นเวลา 1 นาทีแล้วปล่อยให้แห้ง 1 วัน แล้วนำมาแช่สารผสม 3 ชนิด ที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3 เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปผ่านน้ำไหลเพื่อล้างอีก 30 วินาที ผึ่งให้แห้ง ผลส้ม 2 กลุ่มแบบที่นำไปจุ่มสารโดยไม่ล้างน้ำยาและกลุ่มล้างด้วยน้ำยา นำไปเก็บรักษาไว้ในห้องอุณหภูมิห้อง และผลส้มอีก 2 กลุ่มแบบที่นำไปจุ่มสารโดยไม่ล้างน้ำยาและกลุ่มล้างด้วยน้ำยา แล้วนำไปเก็บรักษาในห้องเย็นอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80-85 เปอร์เซ็นต์ และทำการตรวจข้อมูลด้านคุณภาพ โดยแต่ละชุดการทดลอง จะตรวจวัด 10 ซ้ำ ดังนี้

1. การเปลี่ยนแปลงสีผิวของเปลือกผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง ทำการวัดสีผิวโดยเครื่องวัดสี ยี่ห้อ Miniscan XE plus ค่าที่ได้จากการวัดแสดงเป็นค่า L^* , a^* และ b^*

โดยค่า L^* = The lightness factor (value)

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

เมื่อ L^* เป็นค่าความสว่าง ถ้าค่า L^* มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึงวัดที่มีสีทึบ ถ้าค่า L^* เข้าใกล้ 100 แสดงว่าวัดที่มีสีสว่าง

a^* เป็นค่าที่แสดงถึงสีแดงและสีเขียว ถ้าค่า a^* เป็นบวก (+) วัดที่มีสีแดง แต่ถ้าค่า a^* เป็นลบ (-) วัดจะมีสีเขียว โดยมีค่า -60 ถึง +60

b^* เป็นค่าที่แสดงถึงสีเหลืองและสีน้ำเงิน ถ้าค่า b^* เป็น (+) วัดที่มีสีเหลือง แต่ถ้าค่า b^* เป็นลบ (-) วัดจะมีสีน้ำเงิน โดยมีค่า -60 ถึง +60

2. เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค พิจารณาการเกิดโรคจากการปรากฏของเส้นใยของเชื้อราที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า จากนั้นนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = \frac{\text{จำนวนผลที่เกิดโรค}}{\text{จำนวนผลทั้งหมด}} \times 100$$

3. เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก โดยการชั่งน้ำหนักเริ่มต้นและน้ำหนักในวันที่ตรวจวัดผลของส้มแต่ละผล แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักดังนี้

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

4. ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids, TSS) วัดโดยใช้เครื่อง hand refractometer โดยก่อนที่จะทำการวัดให้ใช้น้ำกลั่นปรับสเกลให้เป็นศูนย์ แล้วเช็ดน้ำกลั่นออก

จากนั้นหยดน้ำคั้นที่ได้จากผลส้ม ในแต่ละกรรมวิธีลงบนเครื่อง hand refractometer อ่านค่าเป็นเปอร์เซ็นต์

5. ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity, TA) นำน้ำคั้นจากผลส้มเต็มสารละลาย ฟีนอล์ฟทาลีนลงไป เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์แล้วนำมาไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 N จนกระทั่งได้จุดยุติเป็นสีชมพูแล้วนำไปคำนวณหาปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ในรูปของกรดซิตริก ดังนี้

$$\%TA = \frac{\text{Normality of NaOH} \times \text{Titer} \times \text{milliequivalent weight of citric acid} \times 100}{\text{Volume of sample used}}$$

โดยที่ Normality of NaOH = 0.1 N

Titer = ปริมาณของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐานที่ใช้ไทเทรต (มิลลิลิตร)

milliequivalent weight of citric acid = น้ำหนักกรัมสมมูลของกรดที่มีมากในส้ม
คือ กรดซิตริก = 0.064

Volume of sample used = น้ำคั้นผลิตผลที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)

การทดลองที่ 6 ศึกษาหาปริมาณสารตกค้างของผลส้มที่ผ่านการล้างด้วยสารผสม 3 ชนิดโดยวิธี Gas Chromatograph

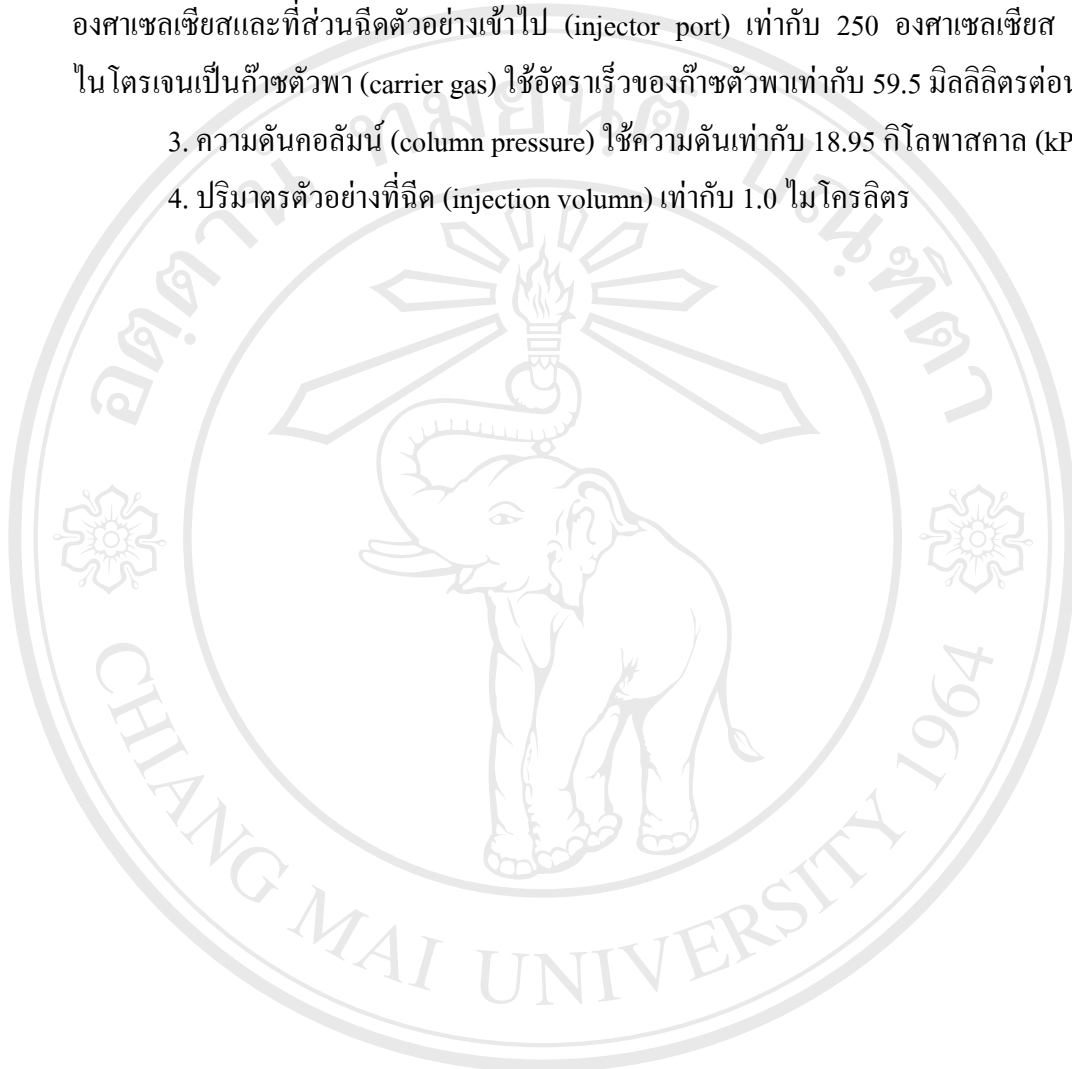
นำผลส้มที่ซบสารฆ่าแมลง dimethoate (สารกลุ่ม organophosphate) ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิลิตร/น้ำ 4 ลิตร นาน 1 นาทีไปผึ่งให้แห้ง แล้วเก็บไว้เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นนำผลส้มมาแช่สารผสม 3 ชนิด ที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3 แล้วนำไปผ่านน้ำไหลเพื่อล้างอีก 30 วินาที ผึ่งให้แห้ง นำเฉพาะเปลือกส้มไปตรวจปริมาณสารตกค้างเพื่อยืนยันผลโดยหน่วยที่วัดได้เป็น พีพีเอ็ม (ppm)

การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง

นำสารสกัดตัวอย่างไปตรวจหาปริมาณสาร dimethoate (สารกลุ่ม organophosphate) ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดแก๊ส Gas Liquid Chromatography (GLC) ยี่ห้อ Agilent DB-1701P ชนิดติดตั้งหัวตรวจแบบ Flame Photometric Detector (FPD) ก่อนใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดนี้ จะต้องมีการปรับสภาพสภาวะการทำงานที่เหมาะสม ดังนี้

1. คอลัมน์ (column) ที่ใช้คือ แคปิลลารี คอลัมน์ (capillary column) ยาว 30 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.25 มิลลิลิตร สารเคลือบเฟสคงที่ (stationary phase) คือ WCOT fused silica รุ่น HP-5 เปอร์เซนต์ phenyl methyl siloxane หนา 0.25 มิลลิเมตร

2. อุณหภูมิ (temperature) ที่เหมาะสมต่อการทำงานในการวิเคราะห์สาร dimethoate คือใช้อุณหภูมิของคอลัมน์เท่ากับ 280 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่หัวตรวจวัด (detector) เท่ากับ 250 องศาเซลเซียสและที่ส่วนฉีดตัวอย่างเข้าไป (injector port) เท่ากับ 250 องศาเซลเซียส โดยมีก๊าซไนโตรเจนเป็นก๊าซตัวพา (carrier gas) ใช้อัตราเร็วของก๊าซตัวพาเท่ากับ 59.5 มิลลิลิตรต่อนาที
3. ความดันคอลัมน์ (column pressure) ใช้ความดันเท่ากับ 18.95 กิโลพาสคาล (kPa)
4. ปริมาตรตัวอย่างที่ฉีด (injection volume) เท่ากับ 1.0 ไมโครลิตร



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved