บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องผลิตโอโซน ของ Bright Green Trading Co., Ltd. กรุงเทพฯ ประเทศไทย รุ่น OZ-100
2. เครื่องวัดสี (chroma meter) ของบริษัท Minolta ประเทศญี่ปุ่น รุ่น CR-300
3. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (hand refractometer)
4. เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (firmness tester)
5. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ของบริษัท Jenway ประเทศอังกฤษ รุ่น 6300
6. เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแน่งของบริษัท Sartorius ประเทศเยอรมัน รุ่น BA 3100P และแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง ของบริษัท Mettler Toledo ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ รุ่น AB 54
7. ตู้อบ
8. เครื่องมือและอุปกรณ์ในการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา
   - 8.1 ขวดพลาสติกขนาดเล็ก และหลอดแก้ว (vial) สำหรับใส่น้ำยาเคมี และเปลือกลำไย
   - 8.2 ตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ระดับอุณหภูมิ 60°ซ
   - 8.3 เครื่องตัดเนื้อเยื่อแบบล้อหมุน (rotary microtome) ของ Leitz Wetzlar, Scicrope Instrument Co.,IA, U.S.A
   - 8.4 แท่งไม้ขนาด 3.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ที่ผ่านการต้มให้อิ่มตัวในพาราฟิน
   - 8.5 แผ่นสไลด์พร้อมแผ่นปิดสไลด์
   - 8.6 แผ่นความร้อนสำหรับอุ่นสไลด์
   - 8.7 ขวดแก้วสำหรับย้อมสีตัวอย่างพืช
   - 8.8 กล้องจุลทรรศน์พร้อมอุปกรณ์การถ่ายภาพ ของบริษัท Olympus ประเทศญี่ปุ่น รุ่น PM-30

   อุปกรณ์อื่นๆ เช่น ตะเกียงแอลกอฮอล์ เข็มเขี่ยและใบมีดโกน เป็นต้น

สารเคมี

1. สารละลายกรดแลกติก (lactic acid)

2. สารละลายโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ($KMnO_4$)

ชั่งสาร $KMnO_4$ หนัก 1 , 0.1 และ 0.01 กรัม ตามลำดับ ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 10 ลิตร เพื่อปรับความเข้มข้นที่ 100 , 10 และ 1 สตล ตามลำดับ

3. สารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ $Ca(OCl)_2$

ชั่งสาร $Ca(OCl)_2$ หนัก 500 , 300 และ 100 กรัม ตามลำดับ ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 10 ลิตร เพื่อปรับความเข้มข้นที่ 30,000, 18,000 และ 6,000 สตล ตามลำดับ

4. สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl)

ตวงสารละลาย NaOCl ปริมาตร 50 , 30 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 10 ลิตร เพื่อปรับความเข้มข้นที่ 5,000 , 3,000 และ 1,000 สตล ตามลำดับ

5. สารละลาย Ethanolic HCl

นำสารละลาย 95% ethanol ผสมกับ 1.5 N HCl ในอัตราส่วน 85 : 15

6. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมเนื้อเยื่อพืช เพื่อการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

พืชทดลอง

ลำไยพันธุ์คอ จากสวนเกษตรกร อ.ลี้ จ.ลำพูน

สถานที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย

ห้องปฏิบัติการภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2543 ถึง เดือนตุลาคม พ.ศ. 2544

วิธีการดำเนินการวิจัย

การทดลองที่ 1 ผลของก๊าซโอโซนต่ออายุการเก็บรักษา และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของลำไยพันธุ์ดอ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) แบ่งออกเป็น 4 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีทำ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้ลำไย 180 ผล โดยกรรมวิธี คือ ระยะเวลาในการรมก๊าซโอโซนที่ 0 , 30 , 60 และ 90 นาที ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ผลลำไยรมก๊าซโอโซนนาน 0 นาที (ชุดควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 ผลลำไยรมก๊าซโอโซนนาน 30 นาที

กรรมวิธีที่ 3 ผลลำไยรมก๊าซโอโซนนาน 60 นาที

กรรมวิธีที่ 4 ผลลำไยรมก๊าซโอโซนนาน 90 นาที

นำผลลำไยซึ่งเก็บเกี่ยวมาจากสวนภายในเวลาไม่เกิน 24 ชั่วโมง คัดผลให้มีขนาดใกล้เคียงกัน มีสภาพสด ไม่มีรอยช้ำ และตำหนิอื่นๆ มาตัดก้านออกให้เหลือก้านเหนือขั้วผลประมาณ 5 มิลลิเมตร จากนั้นแบ่งผลลำไยออกเป็น 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 540 ผล เพื่อนำลงแช่ในน้ำเย็นที่ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างด้วยกรดแลกติก ให้มีค่าเท่ากับ 3-4 หลังจากนั้นปล่อยก๊าซโอโซนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม / ชั่วโมงลงในน้ำที่บรรจุลำไยอยู่ แช่ผลลำไยนานตามระยะเวลาข้างต้น ผึ่งลมให้แห้ง แล้วบรรจุถุงพลาสติก high density polyethylene เจาะรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร จำนวน 8 รู แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°ซ บันทึกผลการทดลองทุกๆ 3 วัน

การทดลองที่ 2 ผลของสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ร่วมกับก๊าซโอโซนต่ออายุการเก็บรักษาและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลลำไยพันธุ์ดอ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ แบ่งออกเป็น 3 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีทำ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้ลำไย 180 ผล โดยกรรมวิธี คือ ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ 30,000, 18,000, 6,000 และ 0 สตล (ชุดควบคุม) ตามลำดับ ร่วมกับการรมด้วยก๊าซโอโซน

กรรมวิธีที่ 1 นำผลลำไยลงแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 30,000 สตล ร่วมกับการปล่อยก๊าซโอโซนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม / ชั่วโมง นาน 3 นาที พอครบกำหนดเวลา เทสารละลายความเข้มข้นเดิมทิ้ง จากนั้นนำผลลำไยชุดเดิมลงแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 18,000 สตล ร่วม/ไม่ร่วมกับการปล่อยก๊าซโอโซนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม / ชั่วโมง นาน 3 นาที พอครบกำหนดเวลา

จึงเทสารละลายความเข้มข้นเดิมทิ้ง ต่อจากนั้นนำผลลำไยชุดเดิมลงแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 6,000 สตล ร่วมกับการปล่อยก๊าซโอโซนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม / ชั่วโมง นาน 3 นาที พอครบกำหนดเวลา เทสารละลายความเข้มข้นเดิมทิ้ง สุดท้ายนำผลลำไยชุดเดิมลงแช่ในน้ำเย็น ที่ปล่อยก๊าซโอโซนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ชั่วโมง นาน 60 นาที หลังจากนั้น ขั้นตอนในการเก็บรักษาและบันทึกผลทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

กรรมวิธีที่ 2 ทำเช่นเดียวกับกรรมวิธีที่ 1 แต่ไม่รมก๊าซโอโซนในทุกๆขั้นตอน

กรรมวิธีที่ 3 ชุดควบคุม นำผลลำไยบรรจุถุงเลย แล้วเก็บรักษาและบันทึกผลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 3 ผลของสารละลายโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตร่วมกับก๊าซโอโซนต่ออายุการเก็บรักษาและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลลำไยพันธุ์ดอ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ แต่ละตอนมี 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้ลำไย 180 ผล โดยแต่ละกรรมวิธี คือ ความเข้มข้นของสารละลายโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ 100, 10, 1 และ 0 สตล (ชุดควบคุม) ตามลำดับ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ผลลำไยแช่สารละลายโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ความเข้มข้น 100 สตล นาน 10 นาที ร่วมกับการรมด้วยก๊าซโอโซนนาน 10 นาที

กรรมวิธีที่ 2 ผลลำไยแช่สารละลายโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ความเข้มข้น 10 สตล นาน 10 นาที ร่วมกับการรมด้วยก๊าซโอโซนนาน 10 นาที

กรรมวิธีที่ 3 ผลลำไยแช่สารละลายโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ความเข้มข้น 1 สตล นาน 10 นาที ร่วมกับการรมด้วยก๊าซโอโซนนาน 10 นาที

กรรมวิธีที่ 4 ผลลำไยแช่สารละลายโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ความเข้มข้น 100 สตล นาน นาน 10 นาที

กรรมวิธีที่ 5 ผลลำไยแช่สารละลายโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตความเข้มข้น 10 สตล นาน 10 นาที

กรรมวิธีที่ 6 ผลลำไยแช่สารละลายโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ความเข้มข้น 1 สตล นาน 10 นาที

กรรมวิธีที่ 7 ผลลำไยแช่สารละลายโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ความเข้มข้น 0 สตล (ชุดควบคุม)

ขั้นตอนการเตรียมผลลำไย ตลอดจนการเก็บรักษาและการบันทึกผล ทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 4 ผลของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ร่วมกับก๊าซโอโซนต่ออายุการเก็บรักษาและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลลำไยพันธุ์ดอ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ แต่ละตอนมี 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้ลำไย 180 ผล โดยแต่ละกรรมวิธี คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ 1,000, 3,000, 5,000 และ 0 สตล (ชุดควบคุม) ตามลำดับ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ผลลำไยแช่สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 1,000 สตล นาน 10 นาทีร่วมกับการรมด้วยก๊าซโอโซนนาน 10 นาที

กรรมวิธีที่ 2 ผลลำไยแช่สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 3,000 สตล นาน 10 นาทีร่วมกับการรมด้วยก๊าซโอโซนนาน 10 นาที

กรรมวิธีที่ 3 ผลลำไยแช่สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 5,000 สตล นาน 10 นาที ร่วมกับการรมด้วยก๊าซโอโซนนาน 10 นาที

กรรมวิธีที่ 4 ผลลำไยแช่สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 1,000 สตล นาน 10 นาที

กรรมวิธีที่ 5 ผลลำไยแช่สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 3,000 สตล นาน 10 นาที

กรรมวิธีที่ 6 ผลลำไยแช่สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 5,000 สตล นาน 10 นาที

กรรมวิธีที่ 7 ผลลำไยแช่สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 0 สตล (ชุดควบคุม)

ขั้นตอนการเตรียมผลลำไย ตลอดจนการเก็บรักษาและการบันทึกผล ทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

ข้อมูลที่ทำการศึกษา

1. อายุการเก็บรักษา

การสิ้นสุดระยะเวลาของการเก็บรักษา พิจารณาจากการปรากฏให้เห็นของเชื้อราที่ผลลำไย โดยเมื่อพบว่าเริ่มมีเชื้อราปรากฏให้เห็นให้ถือว่าหมดอายุการเก็บรักษา และ/หรือ เมื่อผู้บริโภคไม่ยอมรับตามเกณฑ์การประเมินคุณภาพแบบ profile test ในระดับคะแนนของการยอมรับโดยรวม หรือสีเปลือกด้านนอก ที่น้อยกว่า 4 เป็นเวลา 2 ครั้งติดกัน ให้ถือว่าหมดอายุการเก็บรักษา

2. การเปลี่ยนแปลงทางเคมี

2.1 การวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids, TSS)

โดยใช้น้ำคั้นจากเนื้อลำไยหยดลงบนแผ่นปริซึมของเครื่อง hand refractometer ก่อนใช้ปรับสเกลให้เป็นศูนย์ด้วยน้ำกลั่น ค่าที่ได้มีหน่วยเป็น °บริกซ์

2.2 การวัดปริมาณแอนโธไซยานิน

หาปริมาณแอนโธไซยานินตามวิธีการของอัญชุลี (2539) ซึ่งมีขั้นตอนดังภาพที่ 2

เปลือกลำไย 0.5 กรัม หั่นละเอียด ใส่ลง flask

↓ เติม ethanolic HCl ปริมาตร 25 มล.

เปลี่ยนสารละลายทุก 6 ชั่วโมงจนเปลือกลำไยไม่มีสี

↓ กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1

นำสารละลายที่ได้ทั้งหมดรวมกัน

↓ ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย ethanolic HCl ให้ได้ปริมาตร 50 มล.

วัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance, A) ที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร

↓

นำค่า A ที่ได้ไปแทนค่าในสูตรหาปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมดมีหน่วยเป็น มล.ต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด

ภาพที่ 2 การหาปริมาณแอนโธไซยานิน (อัญชุลี, 2539)

จากนั้นนำค่า Absorbance ที่ได้ไปคำนวณโดยสูตร

$$\text{Total Absorbance} = \frac{\text{Absorbance at 535 nm x Final Volume x 100}}{\text{Weight (g.)}}$$

$$\text{Total Anthocyanin Content} = \frac{\text{Total Absorbance}}{98.2}$$

3. การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

3.1 การวัดความแน่นเนื้อ

โดยใช้ firmness tester ที่มีขนาดหัวเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ค่าที่ได้มีหน่วยเป็น กิโลกรัม / ตารางเซนติเมตร
โดยสูตรที่ใช้คำนวณคือ

พื้นที่หน้าตัดทรงกลม πr^2 ซ.ม.^{2} มีความแน่นเนื้อ X กก.
ถ้าพื้นที่หน้าตัดทรงกลม 1 ซ.ม.^{2} มีความแน่นเนื้อ $\frac{\text{X กก. x 1 ซ.ม.}^2}{\pi r^2 \text{ ซ.ม.}^2}$ กก./ซ.ม.^{2}

3.2 การวัดการเปลี่ยนสีของเปลือกด้านนอก

โดยใช้เครื่องวัดสี (chroma meter) ค่าที่ได้จะแสดงในรูปค่า L a* และ b*

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

ค่า a* เป็นค่าที่แสดงสีเขียวและสีแดง ถ้าค่า a* มีค่าเป็นลบแสดงว่าวัตถุมีสีเขียว หากมีค่าเป็นบวกแสดงว่าวัตถุมีสีแดง

ค่า b* เป็นค่าที่แสดงสีน้ำเงินและสีเหลือง ถ้าค่า b* มีค่าเป็นลบแสดงว่าวัตถุมีสีน้ำเงิน หากมีค่าเป็นบวกแสดงว่าวัตถุมีสีเหลือง

ทั้งค่า a* และ b* หากมีค่าเป็น 0 แสดงว่าวัตถุมีสีเทา

3.3 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด

ชั่งน้ำหนักผลลำไยทั้งถุง โดยใช้เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง แล้วแทนค่าในสูตร (AOAC, 1984)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด} = \left(\frac{A-B}{A}\right) \times 100$$

A = น้ำหนักตัวอย่างสดวันแรกที่ทำการทดลอง (กรัม)

B = น้ำหนักตัวอย่างสดวันที่เก็บรักษา (กรัม)

3.4 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง

แบ่งลำไยที่จะทำการชั่งน้ำหนักแห้งออกเป็น 3 ส่วน คือ เนื้อเปลือก และเมล็ด แต่ละกรรมวิธีจะมี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ผล โดยแยกแต่ละส่วนใส่ในกระทงแล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 70°ซ เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ชั่งด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จากนั้นแทนค่าในสูตร (ดัดแปลงจากสูตรของ AOAC, 1984)

$$\text{เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง} = \frac{B}{A} \times 100$$

A = น้ำหนักตัวอย่างสดก่อนอบ (กรัม)

B = น้ำหนักตัวอย่างแห้งหลังอบ (กรัม)

4. การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

ประเมินคุณภาพของผลลำไยระหว่างการเก็บรักษาโดยการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส โดยผู้ทดสอบชิม ได้แบ่งลักษณะเฉพาะของผลลำไยออกเป็น 9 อย่าง ได้แก่ สีเปลือกด้านนอก สีเปลือกด้านใน กลิ่นลำไย กลิ่นแปลกปลอม รสหวาน รสแปลกปลอม ความกรอบ ความแน่นเนื้อ และการยอมรับโดยรวม ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 7 คน และใช้วิธีการทดสอบแบบ ideal ratio profile technique โดยให้คะแนนลักษณะของผลลำไยที่ผู้ทดสอบชิมชอบมากที่สุด (ideal) เท่ากับ 9 ยกเว้นกลิ่นแปลกปลอมและรสแปลกปลอม หากมีมาก

คะแนนจะเท่ากับ 9 ถ้าไม่มีเลย คะแนนจะเท่ากับ 0 และหากคะแนนการยอมรับโดยรวมน้อยกว่า 4 ติดกัน 2 ครั้ง ถือว่าหมดอายุการเก็บรักษา (ดัดแปลงจากสรวงสุดา ,2540)

เกณฑ์การให้คะแนนของการประเมินคุณภาพแบบให้คะแนน (profile test)

1. ลักษณะปรากฏ

สีเปลือกด้านนอก

คะแนน 0 = สีเปลือกด้านนอกมีสีน้ำตาลทั้งผล

คะแนน 1 = สีเปลือกด้านนอกมีสีน้ำตาลปนเหลือง (สีน้ำตาล 80-89% ของผล)

คะแนน 2 = สีเปลือกด้านนอกมีสีน้ำตาลปนเหลือง (สีน้ำตาล 70-79% ของผล)

คะแนน 3 = สีเปลือกด้านนอกมีสีน้ำตาลปนเหลือง (สีน้ำตาล 60-69% ของผล)

คะแนน 4 = สีเปลือกด้านนอกมีสีน้ำตาลปนเหลือง (สีน้ำตาล 50-59% ของผล)

คะแนน 5 = สีเปลือกด้านนอกมีสีเหลืองปนน้ำตาล (สีน้ำตาล 40-49% ของผล)

คะแนน 6 = สีเปลือกด้านนอกมีสีเหลืองปนน้ำตาล (สีน้ำตาล 30-39% ของผล)

คะแนน 7 = สีเปลือกด้านนอกมีสีเหลืองปนน้ำตาล (สีน้ำตาล 20-29% ของผล)

คะแนน 8 = สีเปลือกด้านนอกมีสีเหลืองปนน้ำตาล (สีน้ำตาล 10-19% ของผล)

คะแนน 9 = สีเปลือกด้านนอกมีสีเหลืองทั้งผล

สีเปลือกด้านใน

คะแนน 0 = สีเปลือกด้านในมีสีน้ำตาลทั้งผล

คะแนน 1 = สีเปลือกด้านในมีสีผิดปกติ 80-89% ของผล

คะแนน 2 = สีเปลือกด้านในมีสีผิดปกติ 70-79% ของผล

คะแนน 3 = สีเปลือกด้านในมีสีผิดปกติ 60-69% ของผล

คะแนน 4 = สีเปลือกด้านในมีสีผิดปกติ 50-59% ของผล

คะแนน 5 = สีเปลือกด้านในมีสีผิดปกติ 40-49% ของผล

คะแนน 6 = สีเปลือกด้านในมีสีผิดปกติ 30-39% ของผล
คะแนน 7 = สีเปลือกด้านในมีสีผิดปกติ 20-29% ของผล
คะแนน 8 = สีเปลือกด้านในมีสีผิดปกติ 10-19% ของผล
คะแนน 9 = สีเปลือกด้านในมีสีปกติ

2. กลิ่น

กลิ่นลำไย

คะแนน 0 = ไม่มีกลิ่นลำไยเลย
คะแนน 1 = มีกลิ่นลำไย 10-19% ของผล
คะแนน 2 = มีกลิ่นลำไย 20-29% ของผล
คะแนน 3 = มีกลิ่นลำไย 30-39% ของผล
คะแนน 4 = มีกลิ่นลำไย 40-49% ของผล
คะแนน 5 = มีกลิ่นลำไย 50-59% ของผล
คะแนน 6 = มีกลิ่นลำไย 60-69% ของผล
คะแนน 7 = มีกลิ่นลำไย 70-79% ของผล
คะแนน 8 = มีกลิ่นลำไย 80-89% ของผล
คะแนน 9 = มีกลิ่นลำไยมากที่สุด

กลิ่นแปลกปลอม

คะแนน 0 = ไม่มีกลิ่นแปลกปลอมเลย
คะแนน 1 = มีกลิ่นแปลกปลอม 10-19% ของผล
คะแนน 2 = มีกลิ่นแปลกปลอม 20-29% ของผล
คะแนน 3 = มีกลิ่นแปลกปลอม 30-39% ของผล
คะแนน 4 = มีกลิ่นแปลกปลอม 40-49% ของผล
คะแนน 5 = มีกลิ่นแปลกปลอม 50-59% ของผล
คะแนน 6 = มีกลิ่นแปลกปลอม 60-69% ของผล
คะแนน 7 = มีกลิ่นแปลกปลอม 70-79% ของผล
คะแนน 8 = มีกลิ่นแปลกปลอม 80-89% ของผล
คะแนน 9 = มีกลิ่นแปลกปลอมมากที่สุด

3. รสชาติ

รสหวาน

คะแนน 0 = ไม่มีรสหวานเลย

คะแนน 1 = มีรสหวาน 10-19% ของผล

คะแนน 2 = มีรสหวาน 20-29% ของผล

คะแนน 3 = มีรสหวาน 30-39% ของผล

คะแนน 4 = มีรสหวาน 40-49% ของผล

คะแนน 5 = มีรสหวาน 50-59% ของผล

คะแนน 6 = มีรสหวาน 60-69% ของผล

คะแนน 7 = มีรสหวาน 70-79% ของผล

คะแนน 8 = มีรสหวาน 80-89% ของผล

คะแนน 9 = มีรสหวานมากที่สุด

รสแปลกปลอม

คะแนน 0 = ไม่มีรสแปลกปลอมเลย

คะแนน 1 = มีรสแปลกปลอม 10-19% ของผล

คะแนน 2 = มีรสแปลกปลอม 20-29% ของผล

คะแนน 3 = มีรสแปลกปลอม 30-39% ของผล

คะแนน 4 = มีรสแปลกปลอม 40-49% ของผล

คะแนน 5 = มีรสแปลกปลอม 50-59% ของผล

คะแนน 6 = มีรสแปลกปลอม 60-69% ของผล

คะแนน 7 = มีรสแปลกปลอม 70-79% ของผล

คะแนน 8 = มีรสแปลกปลอม 80-89% ของผล

คะแนน 9 = มีรสแปลกปลอมมากที่สุด

4. เนื้อสัมผัส

ความกรอบ

คะแนน 0 = เนื้อมีลักษณะเละ

คะแนน 1 = มีความกรอบ 10-19% ของผล

คะแนน 2 = มีความกรอบ 20-29% ของผล

คะแนน 3 = มีความกรอบ 30-39% ของผล

คะแนน 4 = มีความกรอบ 40-49% ของผล

คะแนน 5 = มีความกรอบ 50-59% ของผล

คะแนน 6 = มีความกรอบ 60-69% ของผล

คะแนน 7 = มีความกรอบ 70-79% ของผล

คะแนน 8 = มีความกรอบ 80-89% ของผล

คะแนน 9 = มีความกรอบมากที่สุด

ความแน่นเนื้อ

คะแนน 0 = มีความแน่นเนื้อน้อยที่สุด

คะแนน 1 = มีความแน่นเนื้อ 10-19% ของผล

คะแนน 2 = มีความแน่นเนื้อ 20-29% ของผล

คะแนน 3 = มีความแน่นเนื้อ 30-39% ของผล

คะแนน 4 = มีความแน่นเนื้อ 40-49% ของผล

คะแนน 5 = มีความแน่นเนื้อ 50-59% ของผล

คะแนน 6 = มีความแน่นเนื้อ 60-69% ของผล

คะแนน 7 = มีความแน่นเนื้อ 70-79% ของผล

คะแนน 8 = มีความแน่นเนื้อ 80-89% ของผล

คะแนน 9 = มีความแน่นเนื้อมากที่สุด

5. การยอมรับในการบริโภคโดยรวม

รวมลักษณะปรากฏ (สีเปลือกด้านนอกและสีเปลือกด้านใน) กลิ่น (กลิ่นลำไยและกลิ่นแปลกปลอม) รสชาติ (รสหวานและรสแปลกปลอม) และเนื้อสัมผัส (ความกรอบและความแน่นเนื้อ)

คะแนน 0 = ไม่ชอบมากที่สุด

คะแนน 1 = ไม่ชอบมาก

คะแนน 2 = ไม่ชอบ

คะแนน 3 = ไม่ชอบปานกลาง

คะแนน 4 = ค่อนข้างไม่ชอบ

คะแนน 5 = เฉยๆ

คะแนน 6 = ค่อนข้างชอบ

คะแนน 7 = ชอบปานกลาง

คะแนน 8 = ชอบ

คะแนน 9 = ชอบมากที่สุด

5. การเปลี่ยนแปลงของเปลือกลำไยที่ผ่านการรมก๊าซโอโซน และที่ไม่ได้ผ่านการรมก๊าซโอโซน โดยวิธีการทำ microtome section

จากการทดลองที่ 1 ตัดเปลือกลำไยตามเส้นรอบวงของผล ให้ได้ขนาด 0.5x1.0 เซนติเมตร กรรมวิธีละ 3 ผล ผลละ 1 ชิ้น แล้วใส่ลงในขวดที่บรรจุน้ำยา FAA ทิ้งไว้นาน 1 สัปดาห์ก่อนจะทำขั้นตอนต่อไป โดยจะทำ microtome section ทุก 5 วัน

การทำ microtome section (ดัดแปลงจาก มนัส, 2525 และวันทนา, 2543)

1. การตัดตัวอย่าง โดยตัดเปลือกลำไยให้ได้ขนาด 0.5 x 1.0 เซนติเมตรตามแนวเส้นรอบวงของผล จำนวน 3 ผลๆละ 1 ชิ้นต่อ 1 กรรมวิธี

2. การฆ่าและคงสภาพเนื้อเยื่อ (killing and fixing) นำชิ้นส่วนในข้อ 1 ที่ตัดหรือแยกแล้วไปแช่ในน้ำยาคงสภาพเซลล์ คือ FAA (formalin : acetic acid : alcohol) โดยใช้ formalin (lab grade) : glacial acetic acid (lab grade) : ethyl alcohol 70% (lab grade) อัตรา 1:1:18 ที่บรรจุอยู่ในขวดแก้ว (vial) โดยใส่น้ำยาให้ท่วมชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อพืช

3. การดูดอากาศออกจากเนื้อเยื่อ นำชิ้นส่วนที่แช่อยู่ใน FAA เข้าเครื่องดูดอากาศ (vacumm pump) เพื่อดูดอากาศออกจากเนื้อเยื่อ และช่วยให้น้ำยาซึมเข้าไปได้ทั่วถึง โดยใช้ vacumm ที่ 600 มิลลิเมตรปรอท นาน 1 ชั่วโมง จนกว่าฟองอากาศจะออกหมด โดยสังเกตได้จากการที่เนื้อเยื่อจมลงก้นขวดและไม่มีฟองอากาศผุดขึ้นมา จากนั้นทิ้งไว้ในสภาพสูญญากาศ 24 ชั่วโมง

4. การดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อ (dehydration) นำชิ้นส่วนพืชแช่ใน tertiary butyl alcohol (TBA) และ ethyl alcohol ที่มีระดับความเข้มข้นแอลกอฮอล์ 5 ระดับ คือ 50, 70, 85, 95 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 7) แต่ละระดับใช้เวลาประมาณ 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์ ให้ผสมสี erythrosin ลงไปเล็กน้อย เพื่อให้ชิ้นส่วนติดสี มองเห็นได้ชัดเจน

ตารางที่ 7 ระดับความเข้มข้นของส่วนผสมของสารละลายที่ใช้ในการดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อ

Compositions	Approximate total percentage of alcohol (%)				
	50	70	85	95	100
Distilled water (ml)	50	30	15	-	-
95% Ethyl alcohol (ml)	40	50	50	45	-
Teriary butyl alcohol (ml)	10	20	85	55	75
100% Ethyl alcohol (ml)	-	-	-	-	25

5. การแทนที่แอลกอฮอล์ (infiltration) แช่ชิ้นส่วนที่ดึงน้ำออกแล้วใน TBA 100% 3 ครั้งๆ ละ 12 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่ในส่วนผสมของ TBA เข้มข้น 100% กับ paraffin oil ในอัตราส่วน 1:1 นาน 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นย้ายชิ้นส่วนของพืชลงในขวดแก้วที่มี paraffin oil เพียงอย่างเดียว นาน 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเอา paraplast แข็ง เข้าตู้อบอุณหภูมิ 60°ซ ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง จะได้เป็น paraplast เหลว แล้วนำเนื้อเยื่อใส่ลงไปในขวดแก้วที่มี paraplast เหลว จากนั้นเก็บรักษาไว้ในตู้อบ ณ อุณหภูมิ 60°ซ เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

6. การฝังเนื้อเยื่อ (embedding) ใน paraplast ใช้กระดาษแข็งหน้ามันพับเป็นกระทง ขนาด 3 x 4 เซนติเมตร เท paraplast ที่หลอมไว้แล้วที่อุณหภูมิ 60°ซ มาแล้วไม่ต่ำกว่า 24 ชั่วโมง ลงไปให้เกือบเต็มกระทง รอให้ส่วนล่างของ paraplast เย็นตัว จึงใช้เข็มปลายแหลมที่ลนไฟจนร้อนจัดปาดผิวหน้าของ paraplast ให้เหลวตลอดเวลา จากนั้นนำชิ้นส่วนพืชที่ผ่านการแทนที่แอลกอฮอล์แล้วในตู้อบ เทใส่กระทง 1 ชิ้น พร้อมกับใช้เข็มปลายแหลมที่ร้อนจัดเรียงชิ้นส่วนพืชให้อยู่แนวที่ต้องการและเป็นการไล่ฟองอากาศออกจาก paraplast ด้วย แล้วรีบนำ paraplast ไปตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าตามลักษณะของเนื้อเยื่อพืช เพื่อรอการฝังบนแท่งไม้และรอการตัดต่อไป

7. การตัดเนื้อเยื่อด้วย rotary microtome นำชิ้นส่วนพืชที่ฝังใน paraplast มาแต่งเป็นแท่งสี่เหลี่ยมเล็กๆ แล้วนำไปติดบนแท่งไม้ โดยใช้ paraplast เป็นตัวเชื่อม แล้วนำไปตัดด้วย rotary microtome ให้มีความหนาประมาณ 15-20 ไมครอน จะได้แถบ paraplast ribbon ที่มีชิ้นส่วนพืชติดอยู่ ถ้าเป็นชิ้นส่วนพืชที่แข็ง ให้ตัดผิวหน้าของ paraplast จนถึงเนื้อเยื่อพืช แล้วนำไปแช่น้ำยาที่ทำให้เนื้อเยื่อนิ่ม (softening) ด้วยกรด hydrofluoric (AR grade) 50% ประมาณ 3-4 สัปดาห์ เพื่อให้น้ำยาซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อจนอ่อนตัว ก่อนตัด นำเนื้อเยื่อไปล้างด้วยน้ำไหลอย่างน้อย 48 ชั่วโมง

8. การนำแถบ paraplast ติดบนกระจกสไลด์ (affixation) ใช้ Hapt's adhesive 2% (โดยเตรียมจากไข่ขาว 2 มล. ต่อน้ำกลั่น 98 มล. ในปริมาตร 100 มล.) โดยหยดน้ำยา 1-2 หยด ทาบนกระจกสไลด์โดยใช้พู่กันเขี่ยบริเวณที่จะติดเนื้อเยื่อ นำแถบ paraplast ribbon ที่ตัดไว้บนเครื่องอุ่นสไลด์ (slide warmer) ปล่อยให้แห้ง วางทิ้งไว้ 3-4 วัน ก่อนทำการปิดสไลด์

9. ปิดสไลด์ด้วย cover slip โดยใช้ Canada balsam หรือ permount เป็น mounting medium ไล่ฟองอากาศโดยใช้ปลายมีดผ่าตัด ทิ้งไว้ 4-5 วัน

10. นำสไลด์ที่ได้ไปถ่ายรูปด้วยกล้อง photomicroscope ใช้ฟิล์มขนาด 35 มิลลิเมตร ขนาดกำลังขยาย 400 เท่า

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University