

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. วัสดุพืช ผลมะเขือเทศพันธุ์เคลดำ ที่เก็บเกี่ยวระยะที่สีผิวของผลเริ่มเปลี่ยนไปเป็นสีชมพู (breaker) นำหนักผลมะเขือเทศอยู่ในช่วง 70-90 กรัม มาจากแหล่งปลูกสวนเกษตรกร ที่กิ่งอำเภอ คอยหล่อ อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่

2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์

2.1 เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น BA3100P ของบริษัท Sartorius และทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น AB54 ของบริษัท Mettler Toledo

2.2 เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (hand refractometer) รุ่น N1 ของบริษัท ATAGO อ่านได้ตั้งแต่ 0-32 องศาบริกซ์

2.3 บิวเรต (digital burette) ของบริษัท Brand

2.4 เครื่องกวนสารเคมีด้วยแท่งแม่เหล็กและให้ความร้อน ของบริษัท Nouva II

2.5 เครื่องวัดการนำไฟฟ้า (conductivity meter) รุ่น HI 8819N ของบริษัท Hanna

2.6 เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง รุ่น HI 9021 ของบริษัท Hanna

2.7 เครื่องปั่นผลไม้ (blender) รุ่น S(643) ของบริษัท Moulinex

2.8 Water bath รุ่น WB 10 ของบริษัท Memmert

2.9 หม้อนึ่งความดัน (autoclave)

2.10 เครื่องวัดสี (chromameter) รุ่น CR-300 ของบริษัท Minolta หัววัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ซึ่งวัดสีออกมาเป็นค่า L^* , a^* และ b^*

ค่า L^* แสดงสีขาวเมื่อมีค่าใกล้ 100 และแสดงสีดำเมื่อมีค่าใกล้ 0

ค่า a^* ที่เป็นบวกแสดงว่าผลิตผลมีสีแดง ค่า a^* ที่เป็นลบแสดงว่าผลิตผลมีสีเขียว

ค่า b^* ที่เป็นบวกแสดงว่าผลิตผลมีสีเหลือง และที่เป็นลบแสดงว่าผลิตผลมีสีน้ำเงิน

2.11 ตู้เย็น

2.12 มีดและเขียงพลาสติก

2.13 กถ้องถ่ายรูป

2.14 กระดาษกรอง Whatman No. 1

2.15 เครื่องแก้ว

- บีกเกอร์
- ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
- ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)
- กระจกตวง
- บีเปด
- บิวเรต
- แท่งแก้วคนสารละลาย
- ช้อนตักสารเคมี

2.16 สารเคมีและวิธีการเตรียมสารเคมี

สารเคมีที่ใช้หาปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เตรียมโดยชั่งสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide, Merck) มา 4.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตรโดยใช้ขวดปรับปริมาตร

สารเคมีที่ใช้หาปริมาณวิตามินซี

- สารละลายกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งกรดออกซาลิก (oxalic acid, Merck) มา 4.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตรโดยใช้ขวดปรับปริมาตร

- สารละลาย 2,6-ไดคลอโรฟีโนล อินโดฟีโนล ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่ง 2,6-ไดคลอโรฟีโนล อินโดฟีโนล (2,6-dichlorophenol indophenol, Merck) มา 0.4 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

- สารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ชั่งกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid, Merck) มา 0.05 กรัม ละลายในกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บีเปดมา 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปไตเตรตกับสารละลาย 2,6-ไดคลอโรฟีโนล อินโดฟีโนล ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์จนถึงจุดยุติ แล้วบันทึกปริมาตรของสารละลาย 2,6-ไดคลอโรฟีโนล อินโดฟีโนลที่ใช้ไป เพื่อเป็นมาตรฐานในการคำนวณหาปริมาณวิตามินซี

สารเคมีที่ใช้หาปริมาณการรั่วไหลของสารอิเล็กโตรไลต์

- สารละลายแมนนิทอล ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งแมนนิทอล (mannitol, AR-grade, APS Finechem) มา 72.86 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

การทดลองที่ 1 ผลของอุณหภูมิต่ออาการสะท้อนหวาวของผลมะเขือเทศ

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มี 4 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมี 3 ซ้ำๆ ละ 6 ผล ซึ่งมีกรรมวิธีการทดลองดังต่อไปนี้คือ อุณหภูมิในการเก็บรักษาผลมะเขือเทศ 4 ระดับ คือ 0, 3, 6 และ 10 องศาเซลเซียส

วิธีการ นำผลมะเขือเทศมาชั่งน้ำหนัก แล้วบรรจุในถาดโฟม หุ้มด้วยแผ่นฟิล์มพลาสติก โพลีไวนิลคลอไรด์ ซึ่งมีผลมะเขือเทศ 6 ผลต่อหนึ่งถาดหรือน้ำหนักประมาณ 480 กรัม (ภาพที่ 3) เตรียมตัวอย่างจำนวน 21 ถาดต่อการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแต่ละระดับ จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0, 3, 6 และ 10 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการเก็บรักษานาน 2 สัปดาห์ สุ่มตัวอย่างออกมาตรวจสอบคุณภาพทุก 2 วัน ดังนี้

1. การสูญเสียน้ำหนัก (% weight loss)

ชั่งน้ำหนักของผลมะเขือเทศทั้งถาด โดยใช้เครื่องชั่งละเอียด Sartorius รุ่น BA3100 P จากนั้นนำมาคำนวณหาการสูญเสียน้ำหนัก ซึ่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ตามสูตร (เพชรดา, 2540)

$$A = \frac{(B - C) \times 100}{B}$$

โดยที่ A คือ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก

B คือ น้ำหนักเริ่มต้นของผลมะเขือเทศทั้งถาด

C คือ น้ำหนักสุดท้ายของผลมะเขือเทศทั้งถาด

2. การรั่วไหลของสารอิเล็กโตรไลต์

2.1 เจาะเนื้อเยื่อกลางผลมะเขือเทศหนัก 1 กรัม ด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

2.2 นำเนื้อเยื่อที่เจาะแล้วมาแช่ใน สารละลายแมนนิทอล ที่เตรียมไว้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง

2.3 เมื่อครบ 3 ชั่วโมงแล้ว นำสารละลายจากข้อ 2.2 มาวัดค่าการร่วไหลของอิเล็กโตรไลต์ โดยใช้เครื่อง conductivity meter ของ Hanna รุ่น H 1 8819 N ประเทศญี่ปุ่น

2.4 นำตัวอย่างในสารละลายแมนนิทอลเดิมไปนึ่งด้วยหม้อนึ่งอัดไอ (autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำไปวัดค่าการร่วไหลของอิเล็กโตรไลต์อีกครั้ง แล้วคำนวณค่าเป็นเปอร์เซ็นต์การร่วไหลของอิเล็กโตรไลต์ต่อปริมาณอิเล็กโตรไลต์ทั้งหมดซึ่งคำนวณได้ตามสูตร (McCollum and McDonald, 1991)

$$A = \frac{B}{C} \times 100$$

โดยที่ A คือ เปอร์เซ็นต์การร่วไหลของอิเล็กโตรไลต์

B คือ ค่าอิเล็กโตรไลต์ที่ร่วไหลออกมาจากตัวอย่าง

C คือ ปริมาณอิเล็กโตรไลต์ทั้งหมดในตัวอย่าง

3. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้

วัดโดยใช้เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ รุ่น N1 ของบริษัท ATAGO ประเทศญี่ปุ่น (0-32 องศา บริกซ์) โดยใช้น้ำของผลมะเขือเทศที่ปั่นรวมกันมาหยดลงบนแผ่นปริซึมของเครื่องมือ

4. ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้

นำผลมะเขือเทศมาปั่นรวมกันโดยใช้เครื่องปั่นของบริษัท Moulinex รุ่น 753 ประเทศสเปน นาน 3 นาที แล้วชั่งของเหลวที่ปั่นได้น้ำหนัก 25 กรัม มาเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วไตเตรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่างของบริษัท Hanna รุ่น HI 9021 จนสารละลายมีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 8.2 จดปริมาตรของสารละลายด่างที่ใช้ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย นำมาคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ในรูปกรดซิตริก มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยใช้สูตรดังนี้ (นิธิยา, 2544)

$$\% \text{กรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้} = \frac{\text{normality of NaOH} \times \text{equi wt. of acid} \times \text{vol. NaOH} \times 100}{\text{wt. of sample use} \times 1000}$$

normality of NaOH เท่ากับ 0.1 N

equivalent weight of acid เท่ากับ 70.05 คือ น้ำหนักกรัมสมมูลของกรดซิตริก

5. ปริมาณวิตามินซี

ปริมาณวิตามินซีในผลมะเขือเทศ วิเคราะห์โดยวิธี Indophenol ซึ่งชั่งตัวอย่างมะเขือเทศที่ปั่นรวมกันแล้วมา 10 กรัม แล้วเติมกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ปิเปตสารละลายที่กรองได้มา 10 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปไตเตรตกับ 2,6-ไดคลอโรโรฟีนอล อินโดฟีนอล ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ จนถึงจุดยุติ ซึ่งจะทำให้สารละลายมีสีชมพู ประมาณ 15 วินาที แล้วคำนวณปริมาณวิตามินซี โดยใช้ปริมาณ 2,6-ไดคลอโรโรฟีนอล อินโดฟีนอล ที่ใช้เทียบกับปริมาณ 2,6-ไดคลอโรโรฟีนอล อินโดฟีนอล ที่ใช้กับวิตามินซีมาตรฐาน (Ranganna, 1977)

โดยคำนวณตามสูตร

ปริมาตร Indophenol dye a มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ 1 มิลลิกรัม (จาก Standard)

ปริมาตร Indophenol dye b มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ $(1 \times b) / a$ มิลลิกรัม

(จากสารละลายตัวอย่าง) = c มิลลิกรัม

สารละลาย 10 มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ c มิลลิกรัม

สารละลาย 100 มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ $(c \times 100) / 10$ มิลลิกรัม

= d มิลลิกรัม

เนื้อตัวอย่าง 10 กรัม มี ascorbic acid เท่ากับ d มิลลิกรัม

เนื้อตัวอย่าง 100 กรัม มี ascorbic acid เท่ากับ $(d \times 100) / 10$ มิลลิกรัม

= E มิลลิกรัม / 100 กรัม น้ำหนักสด

6. การเปลี่ยนแปลงสีผิว

การเปลี่ยนแปลงสีผิวภายนอกของผลมะเขือเทศ วัดโดยใช้เครื่อง Chromameter รุ่น CR-300 ของบริษัท Minolta ซึ่งวัดออกมาเป็นค่า L^* , a^* และ b^* คำนวณหาค่า chroma และ hue angle จากสมการดังนี้ (McGurire, 1992)

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

$$\text{hue angle} = \arctangent (b^*/a^*)$$

7. ลักษณะปรากฏของอาการสะท้านหนาว

โดยใช้ระบบการให้คะแนน 5 ระดับ คือ

- 1 = ไม่มีอาการ
- 2 = มีอาการเล็กน้อยตั้งแต่ 1-25 เปอร์เซ็นต์
- 3 = มีอาการปานกลางตั้งแต่ 26-50 เปอร์เซ็นต์
- 4 = มีอาการรุนแรงตั้งแต่ 51-75 เปอร์เซ็นต์
- 5 = มีอาการรุนแรงมากตั้งแต่ 76-100 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2 ผลของอุณหภูมิสูงต่อการลดอาการสะท้านหนาวของผลมะเขือเทศ

วางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 3x3 ปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ ทำ 3 ซ้ำๆ ละ 6 ผล ปัจจัยที่ศึกษามี 2 ปัจจัย คือ

ปัจจัยที่ 1 คือ ระยะเวลาที่ได้รับความร้อน คือ 5, 10 และ 20 นาที

ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับความร้อน 3 ระดับ คือ 38 ± 1 , 42 ± 1 และ 45 ± 1 องศาเซลเซียส

วิธีการ นำมะเขือเทศมาแช่น้ำที่มีอุณหภูมิ 38 ± 1 , 42 ± 1 และ 45 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5, 10 และ 20 นาที บรรจุในถาดโฟม หุ้มด้วยแผ่นฟิล์มพลาสติกโพลีไวนิลคลอไรด์ จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิที่เกิดอาการสะท้านหนาวมากที่สุดจากการทดลองที่ 1 บันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 3 เปรียบเทียบผลของการใช้ความร้อนกับผลมะเขือเทศก่อนคุณภาพของผลมะเขือเทศหั่นชิ้น

เลือกผลการทดลองที่ให้ผลดีที่สุดจากการทดลองที่ 2 มาทำการศึกษาเปรียบเทียบกับผลมะเขือเทศหั่นชิ้น แต่ละกรรมวิธีมี 3 ซ้ำๆ ละ 6 ผล

วิธีการ นำผลมะเขือเทศมาแช่น้ำที่มีอุณหภูมิและระยะเวลาที่ได้ผลดีที่สุดในการทดลองที่ 2 แล้วนำมาหั่นเป็นชิ้นย่อยตามขวางหนาประมาณ 0.5 เซนติเมตร นำไปบรรจุในถาดโฟม หุ้มด้วยแผ่นฟิล์มพลาสติกโพลีไวนิลคลอไรด์ (ภาพที่ 4) ทำการศึกษาเปรียบเทียบกับผลมะเขือเทศที่ไม่ได้ผ่านความร้อน โดยนำผลมะเขือเทศมาหั่นเป็นชิ้นย่อยตามขวางหนาประมาณ 0.5 เซนติเมตร นำไปบรรจุในถาดโฟม หุ้มด้วยแผ่นฟิล์มพลาสติกโพลีไวนิลคลอไรด์ ซึ่งมีผลมะเขือเทศ 6 ผลต่อหนึ่งถาดหรือประมาณ 480 กรัม จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 วัน บันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

สถานที่ทำการวิจัย

1. ห้องปฏิบัติการภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่



ภาพที่ 3 ลักษณะมะเขือเทศทั้งผลที่บรรจุในถาดโฟม หุ้มด้วยแผ่นฟิล์มพลาสติกโพลีไวนิล-คลอไรด์



ภาพที่ 4 ลักษณะผลมะเขือเทศหั่นชิ้นที่บรรจุในถาดโฟม หุ้มด้วยแผ่นฟิล์มพลาสติก โพลี-ไวนิลคลอไรด์