

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

##### 3.1 วัสดุพันธุ์พืช

ผลสตอเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 72 ที่เก็บเกี่ยวระยะความแก่และสุกโดยพิจารณาจากสีผิวที่มีสีแดง 70-80 เปอร์เซ็นต์ จากแหล่งปลูกศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่แฮ (บ่อแก้ว) อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ และศูนย์พัฒนาโครงการหลวงอ่างปาง อำเภอฝาง ส่งมาที่งานคัดบรรจุมูลนิธิโครงการหลวง แล้วส่งมายังห้องปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยรถขนส่งของมูลนิธิโครงการหลวง

##### 3.2 อุปกรณ์

- 3.2.1 เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (fruit hardness tester) รุ่น FHR-1 ของบริษัท NIPPON OPTICAL WORKS ประเทศญี่ปุ่น ขนาด 1 กิโลกรัม หัววัดรูปทรงกระบอก (cylinder shape) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ยาว 10 มิลลิเมตร
- 3.2.2 เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (digital refractometer) รุ่น PR-101 ของบริษัท ATAGO ประเทศญี่ปุ่น อ่านค่าได้ในช่วง 0-45 เปอร์เซ็นต์
- 3.2.3 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น EK-600H ของบริษัท AND Company ประเทศญี่ปุ่น ชั่งน้ำหนักได้สูงสุด 600 กรัม และแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น HR-200 ของบริษัท AND Company ประเทศญี่ปุ่น ชั่งน้ำหนักได้สูงสุด 210 กรัม
- 3.2.4 เครื่องปั่นผลไม้ (blender) รุ่น S(643) ของบริษัท Moulinex ประเทศสเปน
- 3.2.5 เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH-meter) รุ่น CG842 ของบริษัท SCHOTT GLAS Mainz ประเทศเยอรมนี
- 3.2.6 เครื่องไทเทรต (digital burette) ของบริษัท Brand ประเทศเยอรมนี
- 3.2.7 เครื่องกวนสารเคมีด้วยแท่งแม่เหล็กและให้ความร้อน รุ่น SP 18420-26 ของบริษัท Nouva II ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.2.8 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (digital spectrophotometer) รุ่น Spectro 23 ของบริษัท LaboMed ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.2.9 Water bath รุ่น WB 10 ของบริษัท Memmert ประเทศเยอรมนี

3.2.10 เครื่องวัดสี (Chromameter) รุ่น CR-300 ของบริษัท Minolta ประเทศญี่ปุ่น หัววัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ซึ่งวัดสีออกมาเป็นค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  โดยมีรายละเอียด ดังนี้

ค่า  $L^*$  เมื่อมีค่าเข้าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมีสีขาว และมีค่าเข้าใกล้ 0 แสดงว่าวัตถุมีสีดำ

ค่า  $a^*$  ที่เป็นบวกแสดงว่าวัตถุมีสีแดง และที่เป็นลบแสดงว่าวัตถุมีสีเขียว

ค่า  $b^*$  ที่เป็นบวกแสดงว่าวัตถุมีสีเหลือง และที่เป็นลบแสดงว่าวัตถุมีสีน้ำเงิน

โดยค่า  $a^*$  และ  $b^*$  มีค่าอยู่ระหว่าง +60 ถึง -60

คำนวณหาค่า chroma และ hue angle จากสมการดังนี้

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

$$\text{hue angle} = \arctangent(b^*/a^*) \text{ เมื่อ } a^* > 0 \text{ และ } b^* \geq 0$$

$$= \arctangent(b^*/a^*) + 180^\circ \text{ เมื่อ } a^* < 0$$

$$= \arctangent(b^*/a^*) + 360^\circ \text{ เมื่อ } a^* > 0 \text{ และ } b^* < 0$$

โดยที่ค่า chroma แสดงความเข้มของสี มีค่าเข้าใกล้ 0 เมื่อวัตถุมีสีซีดจาง (เทา) และมีค่า

เข้าใกล้ 60 เมื่อวัตถุมีสีเข้ม

ค่า hue angle แสดงช่วงสีของวัตถุมีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 องศา คือ

0-45 องศา แสดงสีม่วงแดงถึงส้มแดง

45-90 องศา แสดงสีส้มแดงถึงเหลือง

90-135 องศา แสดงสีเหลืองถึงสีเหลืองเขียว

135-180 องศา แสดงสีเหลืองเขียวถึงเขียว

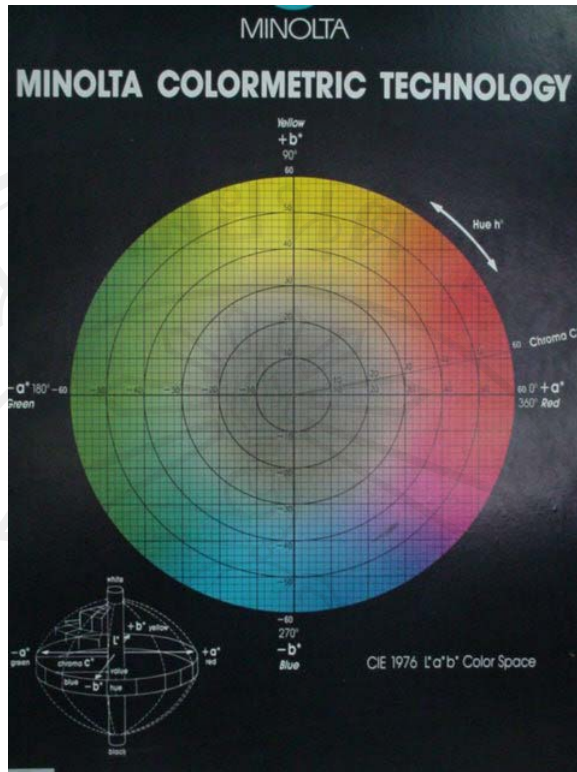
180-225 องศา แสดงสีเขียวถึงน้ำเงิน

225-270 องศา แสดงสีน้ำเงินเขียวถึงน้ำเงิน

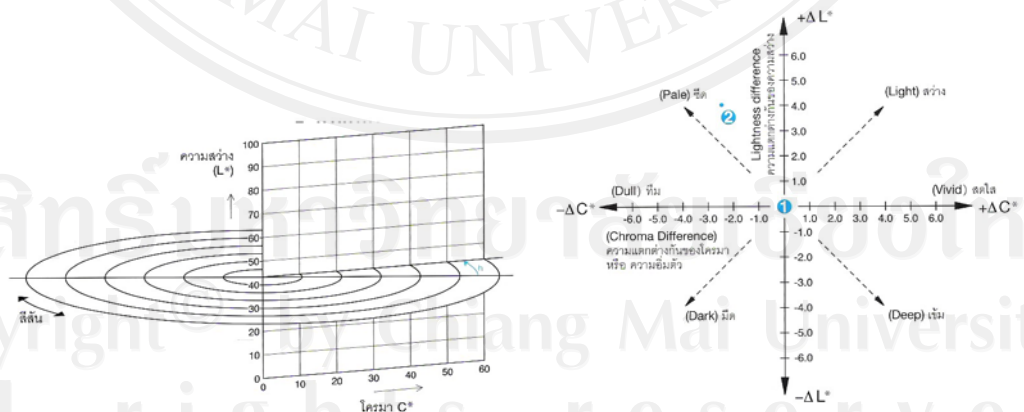
270-315 องศา แสดงสีน้ำเงินถึงม่วง

315-360 องศา แสดงสีม่วงถึงม่วงแดง

(McGuire, 1992)



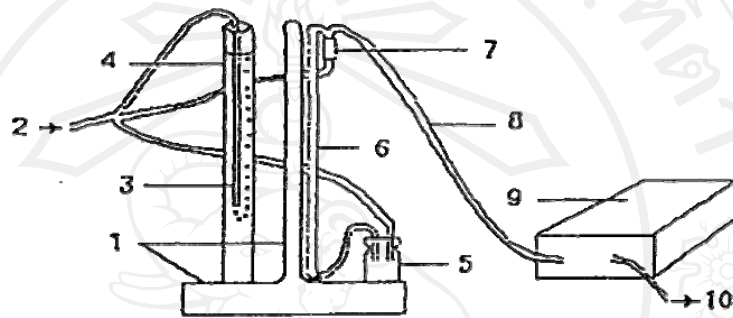
ภาพ 3.1 แผนภาพของสีที่อ่านค่าเป็นค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$



ภาพ 3.2 ค่าความเข้มตัว (Chroma) และความสว่าง (Lightness) ของสี

- 3.2.11 เครื่อง Squirrel logger 8 chanel รุ่น SQ 800 ของบริษัท Grant ประเทศอังกฤษ
- 3.2.12 Thermistors probes รุ่น DA-42 ของบริษัท Digicon ประเทศญี่ปุ่น
- 3.2.13 Anemometer รุ่น DP- 42 ของบริษัท Digicon ประเทศญี่ปุ่น
- 3.2.14 Humidity/temperature meter รุ่น DM-760 ของบริษัท Digicon ประเทศญี่ปุ่น
- 3.2.15 กระดาษกรอง Whatman No.1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 110 มิลลิเมตร ของบริษัท Whatman International ประเทศอังกฤษ
- 3.2.16 ตู้เย็นอุณหภูมิตั้งที่ 0, 5 และ 10 องศาเซลเซียส รุ่น LC203LD ของบริษัท LAW-CHAIN ประเทศไทย
- 3.2.17 มีดทำครัว
- 3.2.18 เขียงพลาสติก
- 3.2.19 กล้องถ่ายรูป รุ่น FINEPIX S5100 บริษัท FUJI ประเทศญี่ปุ่น
- 3.2.20 นาฬิกาจับเวลา รุ่น DX9116 ของบริษัท CITIZEN ประเทศญี่ปุ่น
- 3.2.21 เครื่อง Gas chromatography รุ่น GC-8A ของบริษัท SHIMADZU Corporation ประเทศญี่ปุ่น โดยมีรายละเอียดดังนี้
- Detector : Thermal conductivity detector (TCD)
  - Column : Molecular Sieve 5A 80/100 ท่อสแตนเลส เส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ยาว 2 เมตร อุณหภูมิสูงสุด 350 องศาเซลเซียส สำหรับการวิเคราะห์แก๊สออกซิเจน และ Parapak Type N 80/100 ท่อสแตนเลส เส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ยาว 1 เมตร อุณหภูมิสูงสุด 190 องศาเซลเซียส สำหรับการวิเคราะห์แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์
  - Injection temperature : 110 องศาเซลเซียส
  - Column temperature : 70 องศาเซลเซียส
  - Carrier gas : แก๊สฮีเลียม (Helium gas) มีอัตราการไหล 25 มิลลิลิตร/นาที
  - Standard gas : แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์ และแก๊สออกซิเจน 5 เปอร์เซ็นต์ ในแก๊สไนโตรเจน
- 3.2.22 ชุดควบคุมการไหลของอากาศ (flow board) สำหรับวัดอัตราการหายใจ ประกอบด้วย
1. แผงและฐานไม้
  2. ทางอากาศเข้า
  3. หลอดแก้วระบายอากาศ
  4. หลอดแก้วใหญ่บรรจุน้ำเต็ม

5. ขวดแก้วบรรจุน้ำ
6. หลอดแก้วแสดงระดับความดัน
7. หลอดรูเล็ก (capillary tube)
8. หลอดน้ำแก๊ส
9. ภาชนะบรรจุผลผลิต
10. ทางอากาศออก

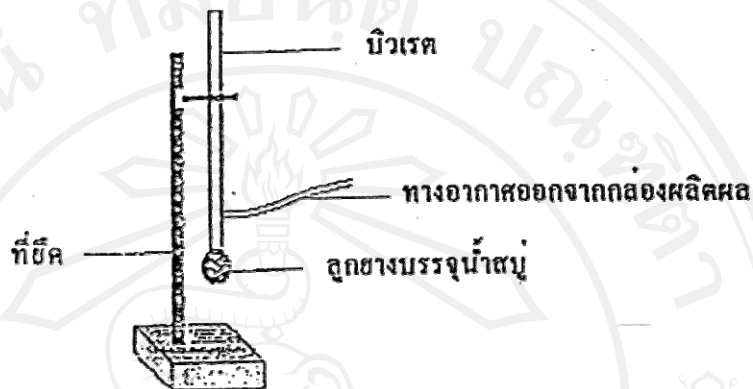


ภาพ 3.3 ชุดแผงควบคุมการไหลของอากาศ

หลักการทำงานของแผงควบคุมการไหลของอากาศ คือ เมื่อให้อากาศจากเครื่องสูบลมผ่านเข้าของช่องอากาศเข้า (2) อากาศจะแยกออกเป็น 3 ทาง คือ ผ่านเข้าไปสู่น้ำในหลอดแก้วระบายอากาศ (3) หรือผ่านเข้าไปในขวดแก้วบรรจุน้ำ (5) หรือออกไปทางหลอดรูเล็ก (capillary tube) (7) แล้วออกสู่ภาชนะบรรจุผลผลิต (9) กรณีที่อากาศผ่านเข้ามาที่มีแรงดันต่ำ อากาศส่วนใหญ่จะไหลไปทางหลอดรูเล็ก เพราะไม่สามารถดันน้ำในหลอดแก้วระบายอากาศ (3) หรือในขวดแก้ว (5) ได้ แต่เมื่อเพิ่มความดันของอากาศที่ผ่านเข้ามาให้มากขึ้น อากาศจะออกทางหลอดรูเล็กไม่ทัน เพราะมีช่องขนาดเล็ก อากาศจะดันน้ำในหลอดแก้วระบายอากาศ (3) ให้ต่ำลงและดันน้ำในขวดแก้ว (5) ขึ้นไปตามหลอดแก้วแสดงระดับความดัน (6) ซึ่งจะสูงเท่ากับระดับความดันของอากาศที่ไหลผ่านเข้ามาในขณะนั้น ถ้าความดันอากาศเพิ่มขึ้นจะดันน้ำในหลอดแก้ว (3) ให้ต่ำลงจนเห็นเป็นฟองอากาศออกมา ซึ่งน้ำในหลอดแก้วแสดงระดับความดัน (3) จะมีระดับสูงสุดเพราะอากาศส่วนเกินจะเล็ดลอดออกไปทางปลายหลอดแก้วระบายอากาศ

### 3.2.23 ชุดวัดอัตราการไหลของอากาศ (air flow meter) ประกอบด้วย

1. ทางอากาศเข้า
2. บิวเรตต์ (burette)
3. ลูกยางบรรจุน้ำสบู่



ภาพ 3.4 ชุดวัดอัตราการไหลของอากาศ

หลักการทำงานของเครื่องมือ คือ เมื่อต่อสายยางที่มีอากาศผ่านจากหลอดรูเล็ก (capillary tube) ในชุดแผงควบคุมอัตราการไหลของอากาศเข้ากับชุดวัดอัตราการไหลของอากาศแล้ว เมื่อบีบลูกยางให้น้ำสบู่ไหลขึ้นไปปิดทางอากาศออก ขณะที่อากาศไหลออกจากรูเล็ก (capillary tube) เข้าสู่บิวเรตต์ อากาศจะดันน้ำสบู่ให้ไหลเป็นฟองไหลออกไปตามบิวเรตต์ วัดอัตราการไหลของอากาศโดยจับเวลาการเคลื่อนที่ของฟองสบู่ แล้วคำนวณเป็นอัตราการไหลของอากาศ มีหน่วยเป็นมิลลิลิตรต่อนาที

### 3.2.24 เครื่องแก้ว

- บีกเกอร์ (beaker)
- ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
- ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)
- กระบอกตวง (cylinder)
- บิวเรตต์ (burette)
- ปิเปตต์ (pipette)
- แท่งแก้วคนสารละลาย (stirrer)
- กรวยกรอง (funnel)
- ซ้อนตักสารเคมี

- งานเลี้ยงเชื้อ (plate)

### 3.3 สารเคมีและวิธีการเตรียมสารเคมี

#### 3.3.1 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน

- กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl, เกรด GR ของบริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมนี) ความเข้มข้น 1.5 นอร์แมล เตรียมโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 62.10 มิลลิลิตรเติมลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 500 มิลลิลิตร

- เอทานอลิกไฮโดรคลอริก (เอทานอล : กรดไฮโดรคลอริก) เตรียมโดยผสม เอทานอล (เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์) และกรดไฮโดรคลอริก 1.5 นอร์แมล ในอัตราส่วน 85:15 แล้วเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ

#### 3.3.2 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH, เกรด AR ของบริษัท Ajax Chemicals ประเทศออสเตรเลีย) ความเข้มข้น 0.1 นอร์แมล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

#### 3.3.3 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

- กรดออกซาลิก (Oxalic acid;  $C_2H_2O_4 \cdot 2H_2O$ , เกรด AR ของบริษัท Ajax Chemicals ประเทศออสเตรเลีย) ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งกรดออกซาลิก 4.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

- 2,6-ไดคลอโรฟีนิลอินโดฟีนิล (2,6-Dichlorophenol-Indophenol;  $C_{12}H_6Cl_2NO_2Na$  เกรด AR ของบริษัท SIGMA Chemicals ประเทศสหรัฐอเมริกา) ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่ง 2,6-ไดคลอโรฟีนิลอินโดฟีนิล 0.4 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำมากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ

- กรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน (L-Ascorbic acid;  $C_6H_8O_6$ , เกรด GR ของบริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมนี) เตรียมโดยชั่งกรดแอสคอร์บิก 0.05 กรัม ละลายในกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดออกซาลิกให้ครบ 50 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ใช้ปิเปตต์ 1 มิลลิลิตร คูณสารละลายแอสคอร์บิกมาตรฐาน แล้วนำไปไทเทรตกับสารละลาย 2,6-ไดคลอโรฟีนิลอินโดฟีนิล ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ จนถึงจุดยุติ (สารละลายเป็นสีชมพู) แล้วบันทึกปริมาตรของ 2,6-ไดคลอโรฟีนิลอินโดฟีนิลที่ใช้ไป โดยทำซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย เพื่อเป็นมาตรฐานในการคำนวณหาปริมาณวิตามินซี

#### 3.3.4 สารเคมีที่ใช้หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

- สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ใช้เป็นสารละลายเจือจางตัวอย่าง โดยชั่งสารเปปตอน (peptone, Becton and Dickinson Company) มา 1 กรัม และมีเกลือแกง (Sodium chloride, Becton and Dickinson Company) ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งเกลือแกงมา 5 กรัม เติมลงในสารละลายเปปตอนผสมให้ละลายเข้ากันแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร นำสารละลายที่ได้ใส่ขวดแก้วทนความร้อนแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที หลังจากนั้นปล่อยให้เย็น

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Standard Method Agar โดยชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อมา 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร นำอาหารที่เลี้ยงเชื้อที่ได้ใส่ในขวดแก้วทนความร้อนแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที หลังจากนั้นปล่อยให้เย็น ซึ่งในสารละลายอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปที่เตรียมได้ประกอบด้วยสารชนิดต่างๆ ต่อสารละลาย 1 ลิตร ดังนี้

Pancreatic Digest of Casein	5.0	กรัม
Yeast Extract	2.5	กรัม
Dextrose	1.0	กรัม
Agar	25.0	กรัม
ปรับปริมาตรของสารละลายสุดท้ายให้มีค่า pH เท่ากับ 7.0±0.1		

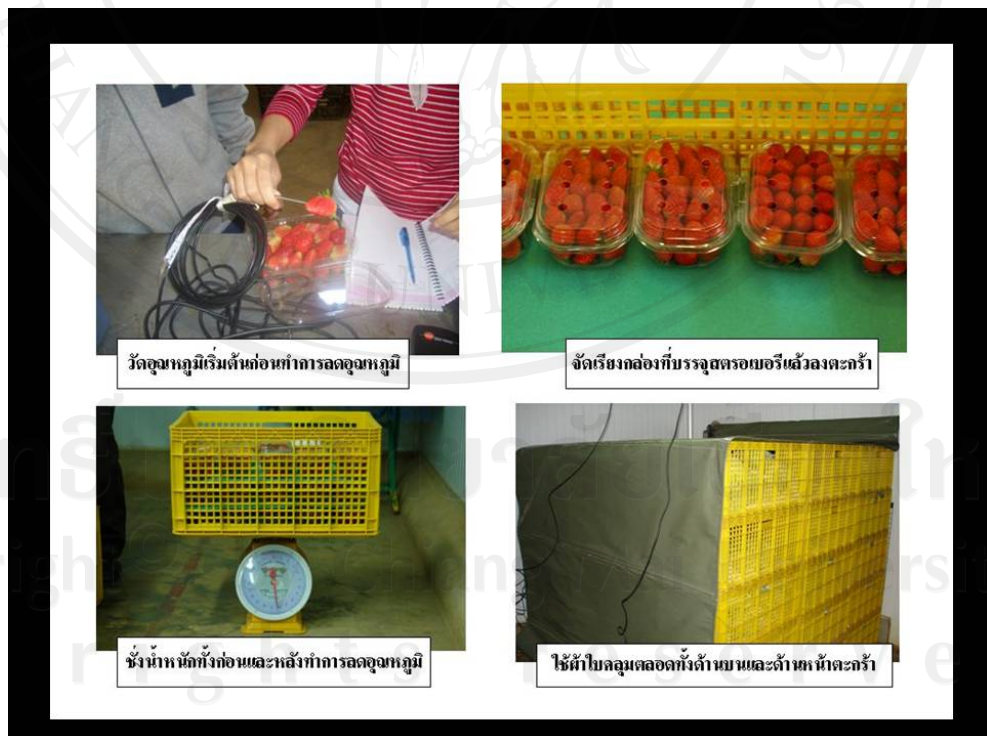


### 3.4 วิธีการทดลอง

#### 3.4.1 การทดลองที่ 1 การลดอุณหภูมิแบบผ่านอากาศเย็น

ทำการศึกษา โดยการจัดเรียงกล่องที่บรรจุสตรอเบอร์รี่ลงในตะกร้าๆ ละ 12 กล่อง จากนั้นปฏิบัติตามขั้นตอน ดังนี้

1. ชั่งน้ำหนักของสตรอเบอร์รี่แต่ละตะกร้าก่อนลดอุณหภูมิเบื้องต้นด้วยวิธีผ่านอากาศเย็น
2. วัดอุณหภูมิผลสตรอเบอร์รี่ก่อนนำเข้าห้องเย็น
3. จัดเรียงตะกร้าของสตรอเบอร์รี่ในห้องเย็น
4. ลดอุณหภูมิผลสตรอเบอร์รี่
5. วัดอุณหภูมิของผลสตรอเบอร์รี่ ณ จุดกึ่งกลางกล่องใส่ผลิตภัณฑ์วางซ้อนกันอยู่ที่ตำแหน่งต่างๆ กัน พร้อมกับวัดและบันทึกอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศภายในห้องเย็น ทุกๆ นาที
6. วัดความเร็วลมของอากาศภายในห้อง
7. ชั่งน้ำหนักของผลสตรอเบอร์รี่หลังผ่านการลดอุณหภูมิ
8. นำข้อมูลที่ได้มาหาค่า เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก, cooling coefficients, lag factor, half cooling time และ seven-eighths cooling time



ภาพที่ 3.5 ขั้นตอนในการลดอุณหภูมิ

เมื่อได้ข้อมูลอุณหภูมิของสโตรเบอร์และอากาศภายในห้องเย็นแล้ว จึงนำมาคำนวณหาค่าของ  $\theta$  ดังสมการ

$$\theta = (T - T_a) / (T_i - T_a) \quad (1)$$

เมื่อ	$\theta$	คือ	Dimensionless temperature
	$T$	คือ	อุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ในเวลาใดๆ (องศาเซลเซียส)
	$T_a$	คือ	อุณหภูมิของตัวกลาง ในที่นี้คืออากาศ (องศาเซลเซียส)
	$T_i$	คือ	อุณหภูมิเริ่มต้นของผลิตภัณฑ์ (องศาเซลเซียส)

นำค่า  $\theta$  ที่คำนวณได้ไปเขียนกราฟเทียบกับเวลา ซึ่งรูปแบบของกราฟจะอยู่ในรูปของเอกซ์โพเนนเชียลเชิงลบ (negative exponential) ดังสมการต่อไปนี้

$$\theta = j e^{-Ct} \quad (2)$$

เมื่อ	$\theta$	คือ	Dimensionless temperature
	$j$	คือ	ค่า Lag factor
	$C$	คือ	ค่า cooling coefficient
	$t$	คือ	เวลา (นาที)

สามารถแปลงสมการ (2) ให้อยู่ในรูปของสมการเชิงเส้นได้โดยการประยุกต์ลอการิทึม จะได้สมการ ดังนี้

$$\ln \theta = \ln j - Ct \quad (3)$$

จากสมการ (3) สามารถเขียนเป็นสมการเส้นตรงได้ ดังสมการต่อไปนี้

$$Y = a_0 + a_1 x \quad (4)$$

เมื่อ	$Y$	=	$\ln \theta$
	$a_0$	=	$\ln j$
	$a_1$	=	$-C$
	$x$	=	$t$

เมื่อนำค่าของ  $\ln \theta$  ไปเขียนกราฟเทียบกับเวลาจะได้กราฟเส้นตรงและสามารถหาค่าของ  $\ln j$  และ  $C$  ได้ โดยวิธีการถดถอยแบบกำลังสองน้อยที่สุด ดังสมการ (3.5) และ (3.6) ดังต่อไปนี้

$$a_0 = \frac{\left(\sum_{i=1}^n y_i\right)\left(\sum_{i=1}^n x_i^2\right) - \left(\sum_{i=1}^n x_i y_i\right)\left(\sum_{i=1}^n x_i\right)}{n\left(\sum_{i=1}^n x_i^2\right) - \left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2} \quad (5)$$

$$a_1 = \frac{n\left(\sum_{i=1}^n x_i y_i\right) - \left(\sum_{i=1}^n x_i\right)\left(\sum_{i=1}^n y_i\right)}{n\left(\sum_{i=1}^n x_i^2\right) - \left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2} \quad (6)$$

ค่า lag factor (j) และ cooling coefficient (C) สามารถหาได้จากสมการ (7) และ (8) ดังต่อไปนี้

$$\text{Lag factor (j)} = e^{a_0} \quad (7)$$

$$C = -a_1 \quad (8)$$

เมื่อนำค่าของ lag factor และ cooling coefficient แทนค่าลงในสมการที่ (9) และ (10) จะได้ค่าของ half cooling time และ seven-eighths cooling time ตามลำดับ

$$Z = (\ln(0.5))/C \quad (9)$$

$$S = (\ln(1/8))/C \quad (10)$$

### 3.4.2 การทดลองที่ 2 ผลของการลดอุณหภูมิแบบผ่านอากาศเย็นต่อคุณภาพทางกายภาพและเคมีของผลสตรอเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 72

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in CRD) โดยมี 2 ปัจจัย ปัจจัยที่ 1 คือ กระบวนการลดอุณหภูมิ

- สตรอเบอร์รี่ที่ผ่านกระบวนการลดอุณหภูมิแบบผ่านอากาศเย็น
- สตรอเบอร์รี่ที่ไม่ผ่านการลดอุณหภูมิแบบผ่านอากาศเย็น

ปัจจัยที่ 2 คือ อุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษา

- อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส
- อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส
- อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส
- อุณหภูมิห้อง

โดยแต่ละวิธีการมี 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยสตรอเบอร์รี่ 250 กรัม ทำการบันทึกผลการทดลองทุกๆ 2 วัน ดังนี้

#### (1) เปอร์เซ็นการสูญเสียน้ำหนัก

วัดโดยใช้เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น EK-600H ของบริษัท AND Company ประเทศญี่ปุ่น นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{\text{น้ำหนักผลก่อนการเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักผลหลังการเก็บรักษา}}{\text{น้ำหนักผลก่อนการเก็บรักษา}} \times 100$$

#### (2) สีผิว

วัดโดยใช้เครื่อง Chromameter รุ่น CR-300 ของบริษัท Minolta ประเทศญี่ปุ่น หัววัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ตำแหน่งที่วัดคือ บริเวณผิวภายนอก ซึ่งวัดสีออกมาเป็นค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  คำนวณหาค่า chroma และ hue angle จากสมการดังนี้ (McGuire, 1992 ; Voss, 1992)

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

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

**(3) ความแน่นเนื้อ**

วัดโดยใช้เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (fruit hardness tester) รุ่น FHR-1 ของบริษัท NIPPON OPTICAL WORKS ประเทศญี่ปุ่น ขนาด 1 กิโลกรัม หัววัดรูปทรงกระบอก (cylinder shape) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ยาว 10 มิลลิเมตร

**(4) ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้**

โดยใช้เครื่องวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (digital refractometer) รุ่น PR-101 ของบริษัท ATAGO อ่านค่าได้ตั้งแต่ 0-45 เปอร์เซ็นต์ โดยอ่านค่าจากน้ำของผลสตรอเบอร์รี่ที่ปั่นรวมกัน

**(5) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้**

นำผลสตรอเบอร์รี่มาปั่นรวมกันโดยใช้เครื่องปั่น รุ่น S(648) ของบริษัท Moulinex ปั่นจนกระทั่งสตรอเบอร์รี่ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำส่วนที่ปั่นได้ 25 กรัม มาเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วจึงไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์แมล โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง รุ่น CG842 ของบริษัท SCHOTT จนสารละลายมีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 8.2 แล้วจึงคำนวณหาปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ในรูปของกรดซิตริก มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยใช้สูตร

$$\% \text{ TA} = \frac{\text{normality of NaOH (0.1 N)} \times \text{equi.wt. of citric acid (0.070)} \times \text{vol. NaOH} \times 100}{25}$$

25

**(6) ปริมาณวิตามินซี**

วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในผลสตรอเบอร์รี่ ด้วยวิธี Indophenol โดยนำของเหลวที่ปั่นได้มา 10 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดออกซาลิกเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำสารละลายที่ได้กรองได้มา 10 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดออกซาลิกให้ได้ปริมาตร 40 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปไทเทรตกับ 2, 6-ไดคลอโรโรฟีนอลอินโดฟีนอล ที่ใช้กับสารตัวอย่าง เทียบกับ 2, 6-ไดคลอโรโรฟีนอล อินโดฟีนอล ที่ใช้กับวิตามินซีมาตรฐาน โดยคำนวณตามสูตร Ranganna (1997)

ปริมาตร indophenol dye a มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ 1 มิลลิกรัม (จาก standard)

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

(จากสารละลายตัวอย่าง) เท่ากับ c มิลลิกรัม

สารละลาย 10 มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ c มิลลิกรัม

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

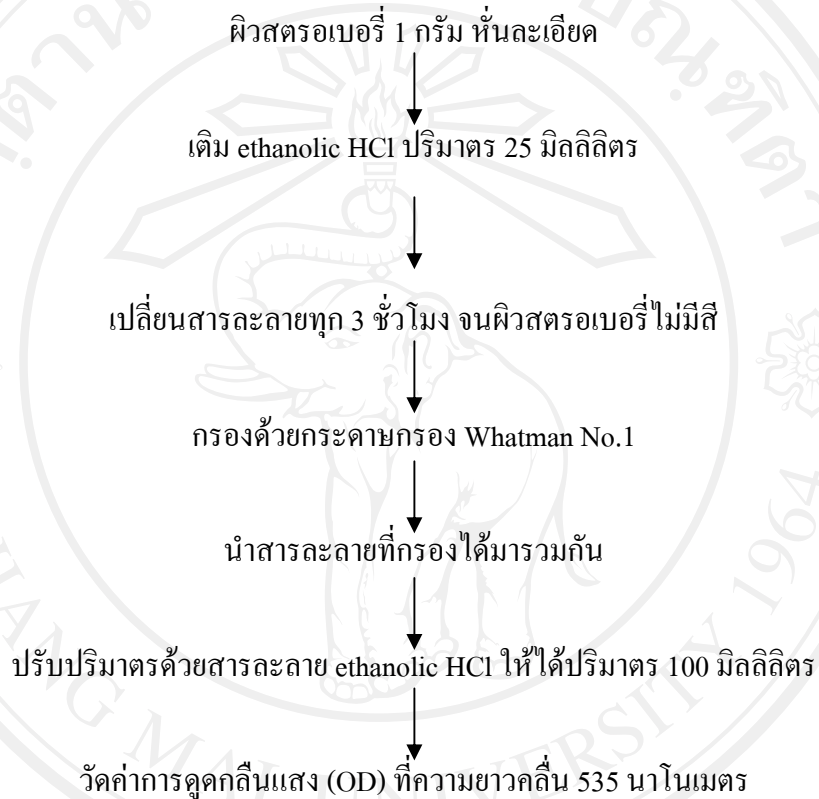
เท่ากับ d มิลลิกรัม

เนื้อตัวอย่าง 10 กรัม มี ascorbic acid เท่ากับ d มิลลิกรัม

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

### (7) ปริมาณแอนโทไซยานิน

หาปริมาณแอนโทไซยานินตามวิธีการ Ranganna (1997) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้



นำค่า OD ที่ได้ไปแทนค่าในสูตรหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด  
 สูตรที่ใช้คำนวณ คือ

$$\text{Total absorbance} = \frac{\text{Absorbance at 535 nm} \times \text{final volume}}{\text{Weight of sample}} \times 100$$

$$\text{Total anthocyanin content} = \frac{\text{Total absorbance}}{\text{Weight of sample}}$$

### 3.4.3 การทดลองที่ 3 ผลของการลดอุณหภูมิแบบผ่านอากาศเย็นต่ออัตราการหายใจของ สตรอเบอร์รี่พันธุ์พระราชทาน 72

วัดอัตราการหายใจของผลสตรอเบอร์รี่ที่ผ่านการลดอุณหภูมิแบบผ่านอากาศเย็นเปรียบเทียบกับอัตราการหายใจของผลสตรอเบอร์รี่ที่ไม่ได้ผ่านการลดอุณหภูมิแบบผ่านอากาศเย็น โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ซึ่งจะทำการวัดอัตราการหายใจด้วยระบบไหล (flow system) โดยเก็บเกี่ยวผลสตรอเบอร์รี่ไว้ในภาชนะที่ปิดสนิท มีอากาศเข้าและออก โดยต้องควบคุม อัตราเร็วของการไหล เข้าของก๊าซ โดยอาศัยความแตกต่างของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ไหลผ่านเข้า ออกจากภาชนะ การวัดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์นั้นหาได้จากการใช้เครื่อง Gas Chromotography รุ่น GC-8A ของบริษัท SHIMADZU โดยนำผลสตรอเบอร์รี่น้ำหนักประมาณ 500 กรัม บรรจุลงในกล่องพลาสติกขนาด 13×18.7×9.5 มิลลิเมตร นำกล่องพลาสติกที่บรรจุสตรอเบอร์รี่แล้วต่อเข้ากับชุดควบคุมอัตราการไหลของอากาศ วัดอัตราการหายใจของผลสตรอเบอร์รี่ ทุกวันจนหมดอายุการเก็บรักษา แล้วนำมาคำนวณอัตราการหายใจ โดยคำนวณจากสูตร (Smith, 1995)

อัตราการหายใจ (มิลลิกรัม CO<sub>2</sub>/กิโลกรัม/ชั่วโมง)

$$= \frac{(\%CO_2 - \text{blank}\%CO_2) \times \text{flow rate (ml/min)} \times 321750}{\text{weight (g)} \times (273 + \text{measured flow rate Temp } ^\circ\text{C})} \text{ mg kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$$

### 3.4.4 การทดลองที่ 4 ผลของสารละลายซिटริกต่อคุณภาพและการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสตรอเบอร์รี่พร้อมบริโภคที่ผ่านการลดอุณหภูมิแบบผ่านอากาศเย็น

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in CRD) โดยมี 2 ปัจจัย ปัจจัยที่ 1 คือ กระบวนการลดอุณหภูมิ

- สตรอเบอร์รี่ที่ผ่านกระบวนการลดอุณหภูมิแบบผ่านอากาศเย็น
- สตรอเบอร์รี่ที่ไม่ผ่านการลดอุณหภูมิแบบผ่านอากาศเย็น

ปัจจัยที่ 2 คือ ความเข้มข้นของกรดซिटริก

- กรดซिटริกความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์
- กรดซिटริกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์
- กรดซिटริกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์

โดยแต่ละวิธีการมี 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยสตรอเบอร์รี่ 250 กรัม โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

นำผลสตรอเบอร์รี่มาหั่นชิ้น



จุ่มด้วยกรดซิตริกความเข้มข้น 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์

(ใช้เวลาจุ่มประมาณ 1 นาที)



ผึ่งผลสตรอเบอร์รี่ให้แห้ง



บรรจุลงกล่อง



นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

ทำการบันทึกผลการทดลองทุกวัน ดังนี้

1. สีผิวภายนอก
2. สีเนื้อ
3. ความแน่นเนื้อ
4. ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้
5. ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้
6. ปริมาณวิตามินซี
7. ปริมาณแอนโทไซยานิน
8. จำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์

โดยใช้การหาจุลินทรีย์ทั้งหมดตามวิธีของ Kiss (1984) ซึ่งมีขั้นตอนคือ การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างสตรอเบอร์รี่หั่นชิ้นหนักประมาณ 50 กรัม มาปั่นด้วยเครื่องปั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตินจำนวน 200 มิลลิลิตร จะได้สารละลายตัวอย่างสตรอเบอร์รี่ที่มีความเจือจางเป็น  $1 \times 10^{-1}$  ใช้ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วขนาด 1 มิลลิลิตร คูดตัวอย่างใส่ลงในหลอดแก้วฝาเกลียวที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตินอยู่แล้ว 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายตัวอย่างสตรอเบอร์รี่ที่มีความเจือจาง  $1 \times 10^{-2}$  ทำ



การเจือจางสารละลายตัวอย่างสเตรปโตค็อกคัสตามวิธีข้างต้น ไปเรื่อยๆ จนได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจางเหมาะสม ประมาณ  $1 \times 10^{-3}$  ถึง  $1 \times 10^{-4}$

การใส่สารละลายตัวอย่างลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วใส่สารละลายตัวอย่างสเตรปโตค็อกคัสที่มีความเจือจางระดับต่างๆ ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วอย่างละ 3 ซ้ำ หลังจากนั้นจึงเทอาหารเลี้ยงเชื้อ Standard Method Agar ที่หาลอมเหลวแล้ว ประมาณ 10 มิลลิลิตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายตัวอย่างสเตรปโตค็อกคัสอยู่ ผสมสารละลายตัวอย่างสเตรปโตค็อกคัสกับอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดี ทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว คั่วจานเลี้ยงเชื้อแล้วจึงปิดผนึกด้วยพาราฟิล์ม สำหรับหูดควบคุมให้ใช้สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตนจำนวน 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่างสเตรปโตค็อกคัส นำจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมเสร็จแล้วไปบ่มในตู้อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ  $30 \pm 1$  องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง เมื่อครบตามกำหนดเวลาแล้ว จึงนำมาตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเลี้ยงเชื้อ คำนวณหาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีบนจานเลี้ยงเชื้อ รายงานผลในรูปของ  $\log_{10}$  จำนวนโคโลนี ต่อกรัม (CFU/g)

#### สถานที่ทำการวิจัย

1. ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่แฮ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่
2. ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงอ่างขาง อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่
3. ห้องปฏิบัติการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่