

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และทางเคมี ของผลลัพธ์ที่พันธุ์ช่องways กวางเจา
จักรพรรดิ และกิมเจง ที่ระยะความแก่ 3 ระยะ ก่อนและหลังการแช่แข็ง

ผลลัพธ์ที่ใช้ทดลองทั้ง 4 พันธุ์ ได้จากสวนเกษตรกร อ.ฟาง จ.เชียงใหม่ โดยทำเครื่องหมาย
เมื่อตัดอกลิ้นที่เริ่มน้ำเดื้อนที่และนับอายุเก็บเกี่ยวหลังวันคอกบาน และทำการเก็บเกี่ยวผลที่ระยะความ
แก่ต่างกัน 3 ระยะ แบ่งตามการเปลี่ยนแปลงสีเปลือก (ภาพ 2, 3, 4 และ 5) ดังนี้

ระยะที่ 1 ผลแก่เต็มที่ และมีสีแดงที่ผิว 50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผิวผล

ระยะที่ 2 ผลแก่เต็มที่ และมีสีแดงที่ผิว 75 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผิวผล

ระยะที่ 3 ผลแก่เต็มที่ และมีสีแดงเข้มทั้งผล

ผลลัพธ์ที่พันธุ์ช่องways และกวางเจา ระยะความแก่ที่ 1 อายุ 55 วันหลังคอกบาน ระยะความแก่ที่ 2
อายุ 61 วันหลังคอกบาน และระยะความแก่ที่ 3 อายุ 67 วันหลังคอกบาน

ผลลัพธ์ที่พันธุ์ช่องways และกิมเจง ระยะความแก่ที่ 1 อายุ 60 วันหลังคอกบาน ระยะความแก่ที่
2 อายุ 67 วันหลังคอกบาน และระยะความแก่ที่ 3 อายุ 73 วันหลังคอกบาน

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) โดยนำผลลัพธ์ที่
มาตัดก้านออกโดยให้เหลือก้านเหนือข้อพลดประมาณ 1 เซนติเมตร สุ่มผลลัพธ์ที่ตัดพันธุ์ที่มีขนาดผล
เท่า ๆ กันตามระยะความแก่จำนวน 160 ผลต่อระยะความแก่ แล้วแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกนำไป
วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ทางเคมีและคุณภาพของผลก่อนแช่แข็ง จำนวน 80 ผล สำหรับ
กลุ่มที่สองนำไปแช่แข็งแล้ววิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและทางเคมีของผลหลังแช่แข็ง
จำนวน 80 ผล

การแช่แข็งผลลัพธ์ที่ใช้วิธีการแช่แข็งแบบเร็วคิวบิก cryogenic freezing โดยใช้ในไตรเจน
เหลวเป็นสารไคร โอดเจนิก นำผลลัพธ์ที่กลุ่มที่ 2 ที่แยกไว้และเก็บในห้องเย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
มาถึงทำความสะอาด บรรจุในถุง polyethylene (PE) และลดอุณหภูมิคิวบิกน้ำเย็นอุณหภูมิ 0-4 องศา
เซลเซียส (hydrocooling) วิธีการดังกล่าวเพื่อเป็นการเตรียมวัตถุก่อนการแช่แข็ง (precooling) หลัง
จากนั้นนำถุง PE ที่บรรจุผลลัพธ์ที่ วางแผนในกล่องโฟมขนาด 22 X 41 X 19 ลูกบาศก์เซนติเมตร เท²
ในไตรเจนเหลวลงไปตามอัตราส่วน 1.5 กิโลกรัมต่อลิ้นที่ 1 กิโลกรัม ปิดฝากล่องโฟมทึบไว้ 25
นาที ซึ่งได้จากการหาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและเวลาในการแช่แข็งของผลลัพธ์ที่ (ภาคผนวก

ภาพ 1) ชนอุณหภูมิภายในผลเท่ากับ - 18 องศาเซลเซียส (CODEX , 1981) วัดด้วย thermocouple โดยแทงเข้าทางข้อผลให้ปะลาย thermocouple อยู่ชิดกับเม็ดค่าน้ำยาในตู้หรือข้างผล เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -22 องศาเซลเซียส ทำการวิเคราะห์การคุณภาพทางกายภาพและทางเคมีของผลลัพธ์จึงหลังละลายน้ำแข็งด้วยการใช้น้ำอุณหภูมิไม่เกิน 30 องศาเซลเซียส ตามวิธีการของ AOAC (1984)



ภาพ 2 ผลลั่นจีพันธุ์ชุงชวยที่ระยะความแก่ต่างๆ



ภาพ 3 ผลลั่นจีพันธุ์กว้างเจาที่ระยะความแก่ต่างๆ



ภาพ 4 ผลลั่นจีพันธุ์จักรพรรดิที่ระยะความแก่ต่าง ๆ



ภาพ 5 ผลลั่นจีพันธุ์ก้มเจงที่ระยะความแก่ต่าง ๆ

การบันทึกข้อมูล

1. คุณภาพของผลลัพธ์ก่อนแพะแข่ง

1.1 การตรวจสอบสีเปลือก

วัดสีเปลือกโดยใช้เครื่อง chroma meter (Minolta CR-200) โดยวัดสีด้านข้างผลทั้ง 2 ด้านทุกผล ค่าที่ได้จะแสดงในรูปค่า L*, a* และ b*

L* = The lightness factor (value)

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

เมื่อ L* มีค่าเข้าใกล้ศูนย์หมายถึง วัตถุมีสีคล้ำ หากค่า L* เข้าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมีสีใส ส่วนค่า a* เมื่อมีค่าเป็นบวกหมายถึงวัตถุมีสีแดง หากมีค่าเป็นลบหมายถึงวัตถุมีสีเขียว และค่า b* เมื่อมีค่าเป็นบวกหมายถึงวัตถุมีสีเหลือง หากมีค่าเป็นลบแสดงว่าวัตถุเป็นสีน้ำเงิน ทั้งค่า a* และ b* หากมีค่าเป็น 0 หมายถึงวัตถุมีสีเทา

1.2 การวัดขนาดผล

ทำการวัดความกว้างและความยาวของผลลัพธ์ โดยใช้ digital vernier วัดด้านที่กว้างและยาวที่สุดของผล และแสดงผลเป็น มิลลิเมตร

1.3 หนาน้ำหนักผลและเบอร์เซ็นต์ของเปลือก เนื้อ และเมล็ดต่อน้ำหนักผล

1.4 ความแน่นเนื้อ ผ่าครึ่งผล แกะเมล็ดออกแล้วใช้ Effigi pressure tester กดลงในเนื้อผลจากด้านใน โดยให้หัวกดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.59 มิลลิเมตรทั้งสี่เนื้อ ย่านค่าอุณหภูมิ 0-40 °C กิโลกรัม/ตารางเซนติเมตร

1.5 การวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (total soluble solids; TSS) ใช้ hand refractometer (ATAGO Model ACT - 1) ก่อนใช้ปรับสเกลให้เป็นศูนย์ด้วยน้ำกลั่น แล้วคืนน้ำลีนจีหยดลงบนหน้าปั๊มน้ำยานค่าที่ได้ซึ่งมีหน่วยเป็นเบอร์เซ็นต์

1.6 การวัดปริมาณกรดที่สามารถ titrate ได้ (titratable acidity; TA) ใช้น้ำคืนลีนจี 5 มิลลิลิตร titrate ด้วยสารละลายด่างมาตรฐาน NaOH (0.1 N) ใช้ 1 เปอร์เซ็นต์ของ phenolphthalein เป็นอินดิเคเตอร์ เมื่อปริมาณกรดในน้ำคืนถูกใช้ไปหมดแล้ว NaOH ส่วนเกินจะทำปฏิกิริยากับ phenolphthalein เกิดสารประกอบสีชมพูขึ้นถือว่าถึงจุดสิ้นสุด (end point) นำค่าของสารละลายด่างมาตรฐาน NaOH ที่ถูกใช้ไปมาคำนวณหาเบอร์เซ็นต์กรดจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรด} = \frac{\text{ความเข้มข้น NaOH (N)} \times \text{ปริมาณ NaOH ที่ใช้ (ml)} \times 0.067 \times 100}{(\text{คิดในรูปกรดมาลิก}) \quad \text{ปริมาณน้ำคั้นลินจี (ml)}}$$

หมายเหตุ : milliequivalent weight of malic acid = 0.067

1.7 หาอัตราส่วน TSS : TA โดยนำผลลัพธ์ข้อ 1.5 หารด้วยผลลัพธ์ข้อ 1.6

1.8 การหาปริมาณรงควัตถุแอนโトイไซานินทั้งหมด (total anthocyanin content) โดยหาปริมาณรงควัตถุแอนโトイไซานินทั้งหมดในเปลือกผลลินจีดัดแปลงจากวิธีของ Ranganna (1977) ดังแผนผังภาพ 6 แล้วคำนวณตามสูตร

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

weight (g)

$$\text{Total anthocyanin contents (mg/100g fresh weigh)} = \frac{\text{Total absorbance}}{98.2}$$

98.2

1.9 การวิเคราะห์หาแอคติวิตี้ของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (peroxidase; POD) และโพลีฟีโนลออกซิเดส (polyphenol oxidase; PPO)

การสกัดเอนไซม์ (enzyme extraction) : วิธีการสกัดเอนไซม์ POD และ PPO ใช้วิธีของ Huang *et al.* (1990) ทำการสกัดภายในตู้อบ恒温 4 องศาเซลเซียส โดยการนำเปลือกผลลินจีใส่ในโกร่งบดที่แข็งเย็นแล้วเติมสารละลายสกัด (extraction solution) ในอัตราส่วนปริมาตรสารละลายสกัด : น้ำหนักเปลือกผลลินจีเท่ากับ 4 : 1 ซึ่งสารละลายสกัดนี้ประกอบด้วย potassium phosphate buffer 0.05 M (pH 6.2), KCl 1 M และ polyvinylpolypyrolidone (PVPP) 2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อบดเข้ากันดีแล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นความเร็ว 16,000 x g นาน 30 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ภายหลังการปั่นนำเฉพาะของเหลว (supernatant) ซึ่งเป็น crude enzyme ไปใช้ในการวิเคราะห์หาแอคติวิตี้ของเอนไซม์ POD และ PPO

เปลือกผลสด (หั่นละเอียด) 0.25 กรัมใส่ในขวดรูปปัชมพู



เติม ethanolic HCl 10 มิลลิลิตร

(95 % ethanol : 1.5 N HCl = 85 : 15)



เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, 24 ชั่วโมง

กรองด้วยสำลี



นำสารละลายที่ได้ทึบหมาดมาปรับปริมาตรด้วย

ethanolic HCl ให้ได้ 25 มิลลิลิตร



วัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร

ใช้ ethanolic HCl เป็น blank



นำค่า OD ที่ได้ไปแทนค่าในสูตรคำนวณ

รายงานค่าในหน่วย mg/100g fresh weight

ภาพ 6 แผนผังการสกัดและวัดปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

(ดัดแปลงจาก Ranganna, 1977)

การวิเคราะห์เอนไซม์ peroxidase ตามวิธีของ Nagle and Haard (1975)

โดยการเตรียมสารละลายน้ำที่ใช้ในการวิเคราะห์ (assay mixture) ปริมาณ 2.40 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วย sodium acetate buffer 0.01 M (pH 6.0), guaiacol 0.5% และ H_2O_2 0.1 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเติม crude enzyme ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายน้ำที่มีสารละลายน้ำที่ต้องการตัวอย่าง ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 470 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Spectronic 21 หลังจากผสมไปแล้ว 3 นาที

การวิเคราะห์เอนไซม์ polyphenol oxidase ตามวิธีของ Flurkey and Jen (1978) โดยเตรียมสารละลายน้ำที่ใช้ในการวิเคราะห์ (assay mixture) ปริมาณ 2.45 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วย potassium phosphate buffer 0.05 M (pH 6.2) และ catechol 0.2 M จากนั้นเติม crude enzyme ปริมาณ 0.05 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายน้ำที่ต้องการตัวอย่าง ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Spectronic 21 หลังจากผสมไปแล้ว 5 นาที

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (คัดแปลงจากวิธีการของ Lowry *et al.*, 1951) นำ crude enzyme ที่ทำให้เจือจางลง 100 เท่า ปริมาณ 0.50 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มี alkaline copper solution ปริมาณ 2.50 มิลลิลิตร (สารละลายน้ำที่ประกอบด้วย Na_2CO_3 4 เปอร์เซ็นต์ : NaOH 0.20 N : $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$ 1 เปอร์เซ็นต์ : potassium tartrate 2 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วน 5 : 5 : 0.1 : 0.1) วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที ต่อจากนั้นเติม Folin-Ciocalteau reagent 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 0.25 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองนี้ วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที แล้วนำสารละลายน้ำที่ได้นี้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร โดยปริมาณโปรตีนเมื่อเทียบกับกราฟโปรตีนมาตรฐานมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเปลือกสดตามสูตร

$$\text{ปริมาณโปรตีน (mg/g fresh weight)} = 0.8 Y$$

กำหนดให้ Y = ปริมาณโปรตีนที่อ่านได้เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐาน (μg) (ภาคผนวกภาค 2)

แอ็คติวิตี้ของเอนไซม์นี้หน่วยเป็น unit/mg protein ซึ่งแอ็คติวิตี้ของเอนไซม์ 1 หน่วย (unit) ในที่นี้คือเท่ากับปริมาณเอนไซม์ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสับส胬รให้เป็นผลิตภัณฑ์โดยทำให้มีการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้น 0.1 หน่วย/นาทีภายใต้ภาวะที่กำหนด

1.10 การหาปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมด (total phenolic compounds) ใช้วิธีสกัดตามวิธีของ Ketsa and Atantree (1998) โดยนำเปลือกผลลัพธ์ที่หั่นละเอียดจำนวน 3 กรัมใส่ในโกร่งบดที่แช่เย็นเติม ethanol 80 เปอร์เซ็นต์ ที่เย็นลงไปปริมาณ 12 มิลลิลิตร บดให้เข้ากันดีแล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ภายหลัง

การปั่นนำเข้าทางของเหลวใส่ไปในเคราะห์ห้ามริมสารประกอบฟีโนลทั้งหมดตามวิธีของ Singleton and Rossi (1965) ดังนี้

นำสารละลายใส่ที่สักด้วยมีดามเช็อจากลง 100 เท่าปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปทรงพู่เติมสารละลายของ Folin-Ciocalteau reagent 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตรลงในขวดรูปทรงพู่นี้ ผสมให้เข้ากันแล้ววางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 8 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลายของ Na_2CO_3 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันวางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมงแล้วนำสารละลายที่ได้นี้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร โดยปริมาณสารประกอบฟีโนลทั้งหมด เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานมีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/100 กรัมนำหน้าเปลือกสด ดังสูตร

$$\text{ปริมาณสารประกอบฟีโนลทั้งหมด (mg/100 g fresh weight)} = 20 Y$$

กำหนดให้ Y = ปริมาณ gallic acid ที่อ่านได้เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐาน (μg)

(ภาคผนวกภาพ 3)

1.11 การประเมินคุณภาพทางด้านประสานสัมผัส ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 10 คนซึ่งเป็นบุคคลเดียวกันและผ่านการฝึกฝนมาเป็นอย่างดีตลอดการชิมทุกครั้ง โดยให้ผู้ทดสอบชิมประเมินคุณภาพของผลลัพธ์จีภัยในเวลา 15 นาทีหลังละลายน้ำเย็นแล้วทำการประเมินพร้อม ๆ กันตามแบบประเมินในภาคผนวก สำหรับการกำหนดคะแนน สีเปลือก กลิ่น เนื้อสัมผัส ด้วยแปลงจาก ศรีสุวรรณ (2534) โดยใช้สเกลแบบตัวเลขแสดงพร้อมคำอธิบาย (numerical scaling) แทน ด้วยรัศาติดและความชอบโดยรวมใช้ตามอัญชลี (2539) มีรายละเอียดดังนี้

ความชอบสีเปลือก

- | | |
|--------------------|-----------------|
| 1 = ไม่ชอบมาก | 4 = ชอบเล็กน้อย |
| 2 = ไม่ชอบเล็กน้อย | 5 = ชอบมาก |
| 3 = เนย ๆ | |

สีเปลือก

- | | |
|---------------------|------------------------|
| 1 = สีน้ำตาลทึบ | 3 = สีแดงซีด |
| 2 = สีแดงปนสีน้ำตาล | 4 = สีแดงเหมือนลินจีสค |

กลิ่น

- | | |
|--|--|
| 1 = มีกลิ่นแบกลบлом กลิ่นไม่เพียงประสงค์ | |
| 2 = มีกลิ่นแบกลบломเล็กน้อย แต่ยังยอมรับได้ | |
| 3 = มีกลิ่นลินจีสค ไม่มีกลิ่นแบกลบлом กลิ่นไม่เพียงประสงค์ | |

รสชาติ

- | | |
|-------------------|-------------------|
| 1 = เปรี้ยวมาก | 5 = หวานอมเปรี้ยว |
| 2 = เปรี้ยวน้อย | 6 = หวานเต็กล้นอย |
| 3 = เปรี้ยวอมหวาน | 7 = หวาน |
| 4 = จืด | 8 = หวานจัด |

เนื้อสัมผัส

- | | |
|------------------------|--------------------------------|
| 1 = เนื้อนิ่มและ | 3 = เนื้อค่อนข้างแน่นและเหนียว |
| 2 = เนื้อนิ่มแต่ไม่และ | 4 = เนื้อแน่น กรอบ ไม่และ |

ความชอบโดยรวม

- | | |
|---------------------|------------------|
| 1 = ไม่ชอบมากที่สุด | 6 = ชอบเล็กน้อย |
| 2 = ไม่ชอบมาก | 7 = ชอบปานกลาง |
| 3 = ไม่ชอบปานกลาง | 8 = ชอบมาก |
| 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย | 9 = ชอบมากที่สุด |
| 5 = เนย ๆ | |

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสจะนำมายังเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

SPSS for Windows

2. คุณภาพของผลลัพธ์จี๊หลังแช่แข็ง

ทำการละลายน้ำแข็งด้วยการบรรจุผลลัพธ์ในถุงพลาสติกปิดปากถุงให้สนิท นำไปแช่น้ำอุณหภูมิ 25 – 27 องศาเซลเซียส (AOAC, 1984) จนน้ำแข็งละลายหมดแต่ผลลัพธ์ยังเย็นอยู่ (อุณหภูมิภายในผลประมาณ – 2 ถึง 4 องศาเซลเซียส) ทำการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมี เหมือนการวิเคราะห์คุณภาพของผลลัพธ์ก่อนแช่แข็งคือตั้งแต่ข้อ 1.1 - 1.11 ยกเว้นข้อ 1.2 และ 1.3

การวัดและประเมินการเกิดสีน้ำตาลที่เปลือกของผลลัพธ์ โดยวิธีการวัดสีเปลือกด้วยเครื่องวัดสีเข่นเดียวกับข้อ 1.1 ส่วนการประเมินการเกิดสีน้ำตาลจะประเมินด้วยสายตา (Underhill and Critchley, 1993b) โดยใช้เกณฑ์ดังต่อไปนี้

<u>ระดับการเกิดสีน้ำตาล</u>	<u>ถักไขมะปราภูตต่อสายตา</u>
1	สีน้ำตาลทั้งผล
2	สีน้ำตาล 75% ของพื้นที่ผิวผล
3	สีน้ำตาล 50% ของพื้นที่ผิวผล
4	สีน้ำตาล 25% ของพื้นที่ผิวผล
5	สีแดงสดใส

โดยทำการวัดและประเมินการเกิดสีน้ำตาลหลังละลายนำเข้าแข็งท่ออุณหภูมิห้องทุก ๆ 15 นาที จนกระทั่งเกิดสีน้ำตาลทั่วทั้งผล

การทดลองที่ 2 การศึกษารรรมวิธีรักษาสีเปลือกที่เหมาะสมสำหรับการแช่แข็งผลลั่นเจ้า

ในการทดลองนี้ใช้ผลลั่นเจ้าเพียง 2 พันธุ์คือพันธุ์ชูงชวยซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีการนำมาแช่แข็งในเชิงการค้าและพันธุ์กินเจซึ่งพบว่าเหมาะสมที่สุดในการแช่แข็งจากผลการทดลองที่ 1 โดยนำเสนอผลลั่นเจ้าจะมีความแก่ที่ 3 ซึ่งแก่เต็มที่และเปลือกมีสีแดงเข้มทั้งผลซึ่งเป็นระยะความแก่ที่ดีที่สุดมาทำการรักษาสีด้วยวิธีต่าง ๆ 4 กรรมวิธี ๆ ละ 40 ผลก่อนนำไปแช่แข็ง แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -22 องศาเซลเซียสนาน 24 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมีหลังละลายนำเข้าแข็ง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) 4 กรรมวิธีดังนี้

- ชุดควบคุม โดยทำการแช่แข็งผลลั่นเจ้าชุดที่ไม่ผ่านการรักษาสีเปลือก
- กรรมวิธีที่ 1 โดยการแช่ผลลั่นเจ้าในสารละลายผสมของ citric acid 10% + NaCl 2% นาน 2 นาทีก่อนแช่แข็ง (Anonymous , 1975)
- กรรมวิธีที่ 2 โดยการแช่ผลลั่นเจ้าในสารละลายผสมของ citric acid 10% + sucrose 10% + ascorbic acid 1% นาน 30 นาทีก่อนแช่แข็ง และ 5 วินาทีหลังแช่แข็งทันที (Nip , 1988 และ ศรีสุวรรณ , 2534)
- กรรมวิธีที่ 3 โดยการแช่ผลลั่นเจ้าในสารละลายผสมของ citric acid 10% + sucrose 10% + ascorbic acid 1% นาน 30 นาทีก่อนแช่แข็ง

การทดลองที่ 3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและทางเคมีของผลลัพธ์จี้แห้งแข็งในระหว่างการเก็บรักษา

นำผลลัพธ์จี้แห้ง 4 พันธุ์ คือพันธุ์ช่องชาว ชาวเจ้า จักรพรรดิและกิมแจง โดยใช้ระยะความแก่ที่เหมาะสมที่สุดซึ่งได้จากการทดลองที่ 1 (ระยะที่ 3) นารักษาสีเปลือกคัวยกรรมวิธีที่สีที่สุดจาก การทดลองที่ 2 (กรรมวิธีที่ 3) และนำผลลัพธ์จี้ไปแห้งแข็งจากนั้นนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ - 22 องศาเซลเซียสเพื่อรอการศึกษา บันทึกผลโดยการวิเคราะห์คุณภาพหลังการแห้งแข็งทันทีและวิเคราะห์ผลทุกเดือน รวม 6 เดือน ๆ ละ 80 ผลต่อพันธุ์ รวมใช้ผลลัพธ์จี้ทั้งหมดพันธุ์ละ 560 ผล โดยนำผลลัพธ์จี้แห้งแข็งไปทำการละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 25 - 27 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที แล้ววิเคราะห์และประเมินผลการทดลองเหมือนข้อ 1.1 - 1.11 และข้อ 2 ยกเว้นข้อ 1.2 และ 1.3