บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. วัสดุพันธุ์พืช

ผลสตรอเบอรีพันธุ์พระราชทาน 72 ที่เก็บเกี่ยวระยะผิวมีสีแดง 80-90 เปอร์เซ็นต์ จากสวนเกษตรกรที่ปลูกเป็นการค้าในเขตพื้นที่บ้านบ่อแก้ว ตำบลบ่อแก้ว อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ โดยทำการเพาะปลูกในช่วงเดือนกันยายนถึงตุลาคม พ.ศ. 2548 และเก็บเกี่ยวช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2548 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2549

ภาพที่ 7 ผลสตรอเบอรีพันธุ์พระราชทาน 72 ที่เก็บเกี่ยวระยะผิวมีสีแดง 80-90 เปอร์เซ็นต์

2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์

2.1 เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (fruits hardness tester) รุ่น FHR-1 ของบริษัท NIPPON OPTICAL WORKS ประเทศญี่ปุ่น ขนาด 1 กิโลกรัม หัววัดรูปทรงกระบอก (cylinder shape) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ยาว 10 มิลลิเมตร

2.2 เครื่องวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (digital refractometer) รุ่น PR-101 ของบริษัท ATAGO ประเทศญี่ปุ่น อ่านค่าได้ในช่วง 0-45 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

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

2.4 เครื่องปั่นผลไม้ (blender) รุ่น S(643) ของบริษัท Moulinex ประเทศสเปน

2.5 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น CG842 ของบริษัท SCHOTT GLAS Mainz ประเทศเยอรมัน

2.6 เครื่องไตเตรต (digital burette) รุ่น Burette Digital III ของบริษัท Brand ประเทศเยอรมัน

2.7 เครื่องกวนสารเคมีด้วยแท่งแม่เหล็กและให้ความร้อนรุ่น SP 18420-26 ของบริษัท Nuova II ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.8 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (digital spectrophotometer) รุ่น Spectro 23 ของบริษัท LaboMed ประเทศสหรัฐอเมริกา และเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (thermo spectronic) รุ่น GENESYS 10 UV scanning ของบริษัท Ken Qauty ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.9 เครื่อง Centrifuge รุ่น 1610 ของบริษัท Hettich Zentrifugen ประเทศเยอรมัน หมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วสูงสุดที่ 18,000 รอบต่อนาที

2.10 Water bath รุ่น WB 10 ของบริษัท Memmert ประเทศเยอรมัน

2.11 เครื่องวัดสี (Chromameter) รุ่น CR-14 ของบริษัท Minolta ประเทศญี่ปุ่น หัววัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ซึ่งวัดสีออกมาเป็นค่า L*, a*, b*, chroma และ hue angle โดยมีรายละเอียดดังนี้ คือ

ค่า L* เมื่อมีค่าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมีสีขาว และเมื่อมีค่าใกล้ 0 แสดงว่าวัตถุมีสีดำ

ค่า a* ที่เป็นบวกแสดงว่าวัตถุมีสีแดง และที่เป็นลบแสดงว่าวัตถุมีสีเขียว

ค่า b* ที่เป็นบวกแสดงว่าวัตถุมีสีเหลือง และที่เป็นลบแสดงว่าวัตถุมีสีน้ำเงิน

ค่า chroma แสดงความเข้มของสี มีค่าเข้าใกล้ 0 เมื่อวัตถุมีสีซีดจาง (เทา) และมีค่าเข้าใกล้ 60 เมื่อวัตถุมีสีเข้ม

ค่า hue angle แสดงว่าช่วงสีของวัตถุมีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 องศา คือ

0- 45	องศา แสดงสีม่วงแดงถึงส้มแดง	180-225	องศา แสดงสีเขียวถึงน้ำเงิน
45-90	องศา แสดงสีส้มแดงถึงสีเหลือง	225-270	องศา แสดงสีน้ำเงินเขียวถึงน้ำเงิน
90-135	องศา แสดงสีเหลืองถึงสีเหลืองเขียว	270-315	องศา แสดงสีน้ำเงินถึงม่วง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

135-180 องศา แสดงสีเหลืองเขียวถึงเขียว 315-360 องศา แสดงสีม่วงถึงม่วงแดง (McGuire, 1992)

ภาพที่ 8 แผนภาพของสีที่แสดงค่าเป็น L*, a* และ b*

2.12 Micropipetta ขนาด 1,000 ไมโครลิตร รุ่น M20813J ของบริษัท GILSON ประเทศฝรั่งเศส

2.13 กระดาษกรอง (Wattman No.1) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 110 มิลลิเมตร ของบริษัท Wattman International ประเทศอังกฤษ

2.14 มีดทำครัว

2.15 เขียงพลาสติก

2.16 กล้องถ่ายรูปรุ่น Cyber-shot 5.0 ของบริษัท SONY ประเทศญี่ปุ่น

2.17 ตู้เย็น ปรับอุณหภูมิที่ 4±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 87±5 เปอร์เซ็นต์

2.18 หม้อควบคุมความดันบรรยากาศ ปริมาตร 72 ลิตร

2.19 เครื่องแก้ว

- บีกเกอร์ (Beaker)
- ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
- ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- กระบอกตวง (cylinder)
- บิวเรตต์ (burette)
- ปิเปตต์ (pipette)
- แท่งแก้วคนสารละลาย (stirrer)
- กรวยกรอง
- ช้อนตักสารเคมี
- หลอดทดลอง

3. สารเคมีและวิธีการเตรียมสารเคมี

3.1 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน

- กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCL, เกรด GR ของบริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน) ความเข้มข้น 1.5 นอร์มอล เตรียมโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 62.10 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 500 มิลลิลิตร

- เอทาโนลิกไฮโดรคลอริก (เอทานอล : กรดไฮโดรคลอริก) เตรียมโดยผสมเอทานอล (เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เกรด commercial ของบริษัท Instrument Lab ประเทศไทย) และกรดไฮโดรคลอริก 1.5 นอร์มอล ในอัตราส่วน 85 :15 แล้วเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ

3.2 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้

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

3.3 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

- กรดออกซาลิก (oxalic acid; $C_2H_2O_4.2H_2O$, เกรด AR ของบริษัท Ajax Chemicals ประเทศออสเตรเลีย) ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งกรดออกซาลิก 4.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- กรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน (L-ascorbic acid; $C_6H_8O_6$, เกรด AR ของบริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน) เตรียมโดยชั่งกรดแอสคอร์บิก 0.05 กรัม ละลายในกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดออกซาลิกให้ครบ 50 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปิเปตต์มา 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปไตเตรตกับสารละลาย 2,6-ไดคลอโรฟีนอล-อินโดฟีนอล ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ จนถึงจุดยุติ (สารละลายเป็นสีชมพูนาน 10 วินาที) แล้วบันทึกปริมาตรของ 2,6-ไดคลอโรฟีนอล-อินโดฟีนอลที่ใช้ไป โดยทำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย เพื่อเป็นมาตรฐานในการคำนวณหาปริมาตรวิตามินซี

3.4 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมด

- Carrez I เตรียมโดยชั่งซิงค์แอซีเทตไดไฮเดรต (zinc acetate dehydrate; $(CH_3COO)_2Zn.2H_2O$, เกรด AR ของบริษัท Ajax Chemicals ประเทศออสเตรเลีย) จำนวน 21.9 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และเติมกรดแอซิติกบริสุทธิ์ (acetic acid; CH_3COOH, เกรด AR ของบริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน) จำนวน 3 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

- Carrez II เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ (potassium ferrocyanide; $K_4Fe(CN)_6.3K_2O$, เกรด AR ของบริษัท Ajax Chemicals ประเทศออสเตรเลีย) จำนวน 10.6 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

- สารละลายกรดไดไนโทรซาลิไซลิก (dinitrosalicylic acid; DNS) เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม โพแทสเซียมทาร์เทรต (potassium sodiumtartrate; $KNaC_4H_4O_6.4H_2O$, เกรด AR ของบริษัท Ajax Chemicals ประเทศออสเตรเลีย) จำนวน 182 กรัม 3,5-ไดโนโทรซาลิกไซลิกแอซิด (3,5-dinitrosalicylic acid; $C_7H_4N_2O_7$, เกรด AR ของบริษัท Fluka Chemie GmbH ประเทศอินเดีย) จำนวน 10 กรัม ฟีนอล (phenol; C_6H_6O, เกรด AR ของบริษัท Panreac Quimica Sa ประเทศสเปน) จำนวน 2 กรัม และโซเดียมซัลไฟต์ (sodium sulfite; Na_2SO_3 เกรด AR ของบริษัท Ajax Chemicals ประเทศออสเตรเลีย) จำนวน 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

- กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6.34 นอร์มอล เตรียมโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก 528.33 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 นอร์มอล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 200 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- Standard D-glucose (stock solution) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เตรียมโดยชั่ง D-glucose ($C_6H_{12}O_6$ เกรด AR ของบริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน) จำนวน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการทดลอง

การทดลองที่1 ศึกษาผลของการใช้ความดันบรรยากาศสูงและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์กับผสตรอเบอรีที่ระดับความดันต่าง ๆ กัน

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) รวมทั้งหมด 7 กรรมวิธีๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 1 ถาด (ผลสตรอเบอรีน้ำหนัก 250 กรัม / ถาด) ดังนี้ คือ

กรรมวิธีที่ 1 รับความดันบรรยากาศปกติ (ชุดควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 รับความดันบรรยากาศที่ระดับ 1.50 $kg.cm^{-2}$

กรรมวิธีที่ 3 รับความดันบรรยากาศที่ระดับ 2.00 $kg.cm^{-2}$

กรรมวิธีที่ 4 รับความดันบรรยากาศที่ระดับ 2.50 $kg.cm^{-2}$

กรรมวิธีที่ 5 รับความดันบรรยากาศและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับ 1.50 $kg.cm^{-2}$

กรรมวิธีที่ 6 รับความดันบรรยากาศและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับ 2.00 $kg.cm^{-2}$

กรรมวิธีที่ 7 รับความดันบรรยากาศและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับ 2.50 $kg.cm^{-2}$

วิธีการดำเนินงาน

นำผลสตรอเบอรีที่บรรจุอยู่ในถาดพลาสติกใส (PVC) (ขนาด 8x12x15 ซม.) และเจาะรูจำนวน 16 รู (ด้านบน 8 รูและด้านล่าง 8 รู เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 1 ซม.) วางในหม้อควบคุมความดันบรรยากาศที่มีปริมาตร 72 ลิตร โดยกรรมวิธีที่ 1 วางไว้ในสภาพบรรยากาศปกติเป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรรมวิธีที่ 2-4 เพิ่มความดันบรรยากาศด้วยอากาศปกติ ซึ่งประกอบด้วยแก๊สต่างๆ ได้แก่ แก๊สไนโตรเจนร้อยละ 78, แก๊สออกซิเจนร้อยละ 20 และแก๊สอื่นๆ ร้อยละ 2 โดยมวล โดยอัดอากาศเข้าไปภายในหม้อควบคุมความดัน เพื่อเพิ่มความดันบรรยากาศให้ได้ความดันภายในหม้อควบคุมเท่ากับระดับความดันบรรยากาศที่ต้องการในแต่ละกรรมวิธี และในกรรมวิธีที่ 5-7 ผลสตรอเบอรีได้รับความดันบรรยากาศจากแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เพียงอย่างเดียว โดยเพิ่มความดันภายในหม้อควบคุมให้เท่ากับระดับความดันต่างๆ ที่ต้องการในแต่ละกรรมวิธี ตามลำดับ และรักษาระดับความดันให้คงที่จนครบ 2 ชั่วโมง ต่อมาค่อยๆ ลดความดันให้เท่ากับความดันบรรยากาศปกติ (ใช้เวลาประมาณ 15 นาที) เมื่อเสร็จสิ้นกรรมวิธีดังกล่าวแล้วจึงนำผลสตรอเบอรีไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 87±5 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นสุ่มผลสตรอเบอรีในแต่ละกรรมวิธีไปวิเคราะห์คุณสมบัติกายภาพและทางเคมีทุกๆ 3 วัน จนสิ้นสุดการทดลองเมื่อเก็บรักษาไว้นาน 12 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การบันทึกผลการทดลอง

- สีผิว โดยการวัดสีผิวภายนอกผลละ 1 ตำแหน่ง จำนวน10 ผล/ซ้ำ ด้วยเครื่อง chromameter ค่าที่วัดได้เป็น L* , a* , b*, chroma และ hue angle ซึ่งมีตำแหน่งการวัดดังภาพที่ 9

ภาพที่ 9 ตำแหน่งการวัดสีผิวผลสตรอเบอรีพันธุ์พระราชทาน 72

- การสูญเสียน้ำหนักสด โดยการชั่งน้ำหนักผลสตรอเบอรีทั้ง 25 ผล พร้อมภาชนะบรรจุด้วยเครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง แล้วนำค่ามาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสดจากสูตร ดังนี้

$$\text{การสูญเสียน้ำหนัก (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักหลังการเก็บรักษา}}{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา}} \times 100$$

- ความแน่นเนื้อ โดยการวัดความแน่นเนื้อของผลสตรอเบอรีบริเวณกึ่งกลางผลระหว่างขั้วกับปลายผล ผลละ 1 ครั้ง จำนวน 10 ผลต่อซ้ำ ด้วยเครื่องวัดความแน่นเนื้อขนาด 1 กิโลกรัม หัววัดรูปทรงกระบอก (cylinder shape) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ยาว 10 มิลลิเมตร มีหน่วยเป็นกิโลกรัม

- ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids) อ่านค่าจากน้ำคั้นของผลสตรอเบอรีจำนวน 25 ผล ที่ปั่นรวมกันด้วยเครื่องปั่นผลไม้จนกระทั่งผลสตรอเบอรีละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันมีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์

- ค่าความเป็นกรด-ด่าง วิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด-ด่างของผลสตรอเบอรี โดยใช้วิธี electrometric (ลักขณาและนิธิยา, 2544) ด้วยเครื่อง pH meter เป็นการอ่านค่าจากส่วนของผล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สตรอเบอรีจำนวน 25 ผล ที่นำมาปั่นรวมกันจนกระทั่งผลละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน ด้วยเครื่องปั่นผลไม้ โดยตรวจสอบความถูกต้องของเครื่อง pH meter ก่อนใช้ทุกครั้งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 และ 4 ของบริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน

- ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้(titratable acidity; TA) วิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ของผลสตรอเบอรี โดยวิธีการไตเตรตสารละลายตัวอย่างด้วยสารละลายด่างมาตรฐาน (อภิตา, 2544) โดยนำส่วนของผลสตรอเบอรีจำนวน 25 ผล ที่ปั่นรวมกันจนกระทั่งผลละเอียดเนื้อเดียวกันมา 25 กรัม เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วจึงทำการไตเตรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอลโดยใช้เครื่อง digital burette และ pH meter จนสารละลายมีความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8.2 แล้วจึงนำปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้มาคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ในรูปของกรดซิตริก มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยใช้สูตร

$$\text{Titratable acidity (\%)} = \frac{\text{normality of NaOH} \times \text{meq. Wt. of acid} \times \text{vol. NaOH}}{\text{Weight of sample use}} \times 100$$

*Meq. Wt. of citric acid (milliequivalent weight of citric acid) = 0.0064

- ปริมาณวิตามินซี วิเคราะห์ด้วยวิธี 2,6-dichlorophenol -Indophenol Visual Titration (Ranganna, 1986) โดยนำส่วนของผลสตรอเบอรีจำนวน 25 ผล ที่ปั่นรวมกันจนกระทั่งผลละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันมา 10 กรัม แล้วเติมกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ปริมาณเท่ากับ 100 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง Wattman No.1 ปิเปตต์สารละลายที่กรองได้มา 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปไตเตรตกับ 2,6-ไดคลอโรฟีนอล-อินโดฟีนอลความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ จนถึงจุดยุติ ซึ่งสารละลายมีสีชมพูประมาณ 15 วินาที แล้วคำนวณหาปริมาณวิตามินซี โดยใช้ปริมาณ 2,6-ไดคลอโรฟีนอล-อินโดฟีนอลที่ใช้กับสารตัวอย่างเทียบกับ 2,6-ไดคลอโรฟีนอล-อินโดฟีนอลที่ใช้กับวิตามินซีมาตรฐาน โดยคำนวณตามสูตรมีหน่วยเป็นมิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด ดังนี้

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

ปริมาตร indophenol dye b มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ (1×b) / a มิลลิกรัม

(จากสารละลายตัวอย่าง) เท่ากับ c มิลลิกรัม

สารละลาย 10 มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ c มิลลิกรัม

สารละลาย 100 มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ (c×100) / 10 มิลลิกรัม

เท่ากับ d มิลลิกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เนื้อตัวอย่าง 10 กรัม มี ascorbic acid เท่ากับ d มิลลิกรัม

เนื้อตัวอย่าง 100 กรัม มี ascorbic acid เท่ากับ (c×100) /10 มิลลิกรัม

เท่ากับ e มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด

- ปริมาณแอนโทไซยานิน วิเคราะห์โดยใช้วิธีการของ Ranganna (1986) ทำการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินของผลสตรอเบอรีทุกผล จำนวน 25 ผล/ซ้ำ ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

นำผิวผลสตรอเบอรีทั้งผลที่มีความหนาประมาณ 1 มิลลิเมตร มาหั่นให้ละเอียด

↓

ผิวผลสตรอเบอรีหั่นละเอียด 1 กรัม

↓

เติม ethanolic HCl ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

↓

เปลี่ยนสารละลายทุก 3 ชั่วโมง จนผิวผลสตรอเบอรีไม่มีสี

↓

นำสารละลายที่ได้มารวมกัน

↓

กรองด้วยกระดาษกรอง Wattman No.1

↓

ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย ethanolic HCl ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

↓

วัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance, A) ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (digital spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร

นำค่า A ที่ได้ไปแทนค่าในสูตรหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด สูตรที่ใช้คำนวณ คือ

$$\text{Total absorbance} = \frac{\text{Absorbance at 535 mm} \times \text{Final volume} \times 100}{\text{Weight sample}}$$

$$\text{Total anthocyanin content} = \frac{\text{Total Absorbance}}{98.2}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมด โดยวิธี dinitrosalicylic acid reagent (DNS method) (สุทัศน์, 2548)

1. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) โดยชั่งส่วนของผลสตรอเบอรีจำนวน 25 ผล ที่ปั่นรวมกันจนกระทั่งผลละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันมา 2 กรัม เติม clearing agent คือ Carrez I และ II ลงไปอย่างละ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วยกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนประมาณ 30 นาที หลังจากนั้นรินเอาส่วนใสไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 1,500 รอบต่อนาที กรองผ่านกระดาษกรอง Wattman No.1 อีก 1 ครั้ง แล้วปิเปตต์เอาส่วนใสมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย DNS ลงไป 4 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันนำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 10 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน และทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว นำสารละลายที่วัดได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (A) ที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ blank ที่ใช้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่าง นำค่า OD ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับค่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสในกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

2. ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) โดยชั่งส่วนของผลสตรอเบอรีจำนวน 25 ผล ที่ปั่นรวมกันจนกระทั่งผลละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันมา 2 กรัม ทำการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6.34 นอร์มอล จำนวน 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว และปรับสารละลายให้เป็นกลางด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 นอร์มอล เติม clearing agent คือ Carrez I และ II ลงไปอย่างละ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนประมาณ 30 นาที หลังจากนั้นรินเอาส่วนใสไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 1,500 รอบต่อนาที นาน 15 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง Wattman No.1 อีก 1 ครั้ง แล้วปิเปตต์เอาส่วนใสมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองเติมสารละลาย DNS ลงไป 4 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันนำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 10 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันและทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง(A) ที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ Blank ที่ใช้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่าง นำค่า A ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับค่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสในกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

3. การทำกราฟมาตรฐานของน้ำตาลรีดิวซ์ (เปรียบเทียบกับน้ำตาล glucose) เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสในรูปของ stock solution 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้วปิเปตต์ stock solution

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยปิเปตต์ stock solution มา 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 มิลลิลิตร นำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้เติมด้วย DNS 4 มิลลิลิตร ลงไปในแต่ละหลอด เขย่าผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เติมน้ำกลั่นให้ครบ 10 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันและทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (A) ที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสกับค่า A

- การยอมรับของผู้บริโภค โดยให้คะแนนจากการชิมของผู้ทดสอบทั่วไปจำนวน 20 คน ซึ่งมีเกณฑ์การให้คะแนนดังนี้

ระดับที่ 1 = ไม่ชอบ
ระดับที่ 2 = ไม่ค่อยชอบ
ระดับที่ 3 = ไม่แสดงความคิดเห็น
ระดับที่ 4 = ชอบ
ระดับที่ 5 = ชอบมาก

- อายุการเก็บรักษา พิจารณาจากคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคโดยเฉลี่ย ถ้าต่ำกว่า 3 คะแนน ถือว่าหมดอายุการเก็บรักษาจากการชิมของผู้ทดสอบทั่วไปจำนวน 20 คน

<u>การทดลองที่2</u> ศึกษาผลของการใช้ความดันบรรยากาศสูงและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์กับผลสตรอเบอรีที่ระยะเวลาต่างๆกัน

เลือกกรรมวิธีที่ให้ผลที่มีคุณภาพดีที่สุดในการทดลองที่ 1 แล้วนำมาทำการศึกษาต่อ โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) รวมทั้งหมด 4 กรรมวิธีๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 1 ถาด (ผลสตรอเบอรีน้ำหนัก 250 กรัม / ถาด) ดังนี้ คือ

กรรมวิธีที่ 1 รับความดันบรรยากาศปกติ (ชุดควบคุม)
กรรมวิธีที่ 2 รับความดันบรรยากาศ 2.0 $kg.cm^{-2}$ โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์นาน 1 ชม.
กรรมวิธีที่ 3 รับความดันบรรยากาศ 2.0 $kg.cm^{-2}$ โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์นาน 2 ชม.
กรรมวิธีที่ 4 รับความดันบรรยากาศ 2.0 $kg.cm^{-2}$ โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์นาน 4 ชม.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการดำเนินงาน

ทำการทดลองเช่นเดียวกับวิธีการทดลองที่ 1 โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เพียงอย่างเดียว ให้ได้ความดันภายในหม้อควบคุมเท่ากับ 2.0 $kg.cm^{-2}$ เป็นเวลา 0, 1, 2 และ 4 ชั่วโมง ต่อมาค่อยๆ ลดความดันให้เท่ากับความดันบรรยากาศปกติ (ใช้เวลาประมาณ 15 นาที) เมื่อเสร็จสิ้นกรรมวิธีดังกล่าวแล้ว จึงนำผลสตรอเบอรีไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 87±5 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นสุ่มผลสตรอเบอรีในแต่ละกรรมวิธีไปวิเคราะห์คุณสมบัติกายภาพและทางเคมีทุกๆ 2 วัน จนสิ้นสุดการทดลองเมื่อเก็บรักษาไว้นาน 12 วัน เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved