

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดสี (Chromameter, CR-300 ของบริษัท Minolta , Japan)
2. ขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์
3. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (visible spectrophotometer, Unicam UV Series 500 , England)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียดมีทศนิยม 2 และ 3 ตำแหน่ง
5. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (hand refractometer, ATAGO, Japan)
6. เครื่องวัดค่ากรดด่าง (pH meter, Hanna instrument, Germany)
7. เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส(Texture analyzer, TA-XT21/50, Stable Micro Systems)
8. Gas chromatography(GC-8A, SHIMADZU)
9. เครื่องวัดเอทีลิน(GC 14B, SHIMADZU)
10. กระดาษกรอง
11. crucible
12. เตาเผา
13. desiccator
14. volumetric flask
15. เวย์เน็คาลิปเปอร์
16. เครื่อง centrifuge (Unicen 15 DR ของบริษัท Herolab, Germany)
17. water bath
18. เครื่องแก้ว และอุปกรณ์อื่นๆ

สารเคมี

1. สารละลายโพแทสเซียมคลอเรต
2. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์น้ำตาล

- sulfuric acid (H_2SO_4)
- phenolphthaline solution
- arsenomolybde acid
- glucose solution
- sodium hydroxide
- ethanol
- Nelson's A
- Nelson's B

3. สารเคมีที่ใช้ทำ Nelson's A

- anhydrous Na_2CO_3
- sodium potassium tartrate
- $NaHCO_3$
- anhydrous Na_2SO_4

4. สารเคมีที่ใช้ทำ Nelson's B

- $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
- sulfuric acid (H_2SO_4)

5. สารเคมีที่ใช้ทำ arsenomolybde acid

- ammonium molybdate tetrahydrate
- sulfuric acid (H_2SO_4)
- disodium hydrogen arsenate

6. สารเคมีในการวิเคราะห์เอ็น

- sodium hydroxide
- hydrochloric acid 10%
- methyl orange

วิธีการทดลอง

แผนการทดลอง

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลองย่อยคือ ผลของการปลิดช่อผลต่อผลผลิตของลำไยและผลของการปลิดช่อผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของลำไยหลังการเก็บรักษาโดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ มี 4 กรรมวิธี โดยกำหนดกรรมวิธีในการศึกษา คือ

- การปลิดช่อผล มี 4 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีที่ 1 คือ ไม่ปลิดช่อผล กรรมวิธีที่ 2, 3 และ 4 ปลิดช่อผลให้เหลือ 30, 40 และ 50 ผลต่อช่อ
- กำหนดอายุเก็บเกี่ยว 2 ระยะ คือ ที่ 22 และ 23 สัปดาห์

โดยใช้ลำไยในการศึกษาทั้งหมด 12 ต้น โดยเลือกต้นลำไยที่มีจำนวนช่อและลักษณะใกล้เคียงกัน หากต้นใดมีจำนวนช่อมากให้ตัดออกให้เหลือจำนวนช่อเท่ากัน และให้ปลิดผลลำไยทุกกรรมวิธีใน 1 ต้น และสุ่มเก็บเกี่ยวทั้ง 2 ระยะคือ 22และ23 สัปดาห์หลังออกดอก

วิธีการดำเนินงาน

ใช้ลำไยพันธุ์ต่อที่มีอายุ 7 ปี บังคับให้ออกดอกโดยใช้สารโพแทสเซียมคลอเรตอัตรา700กรัมต่อต้นโดยราดสารเดือน สิงหาคม 2548จำนวน 12 ต้น เมื่อลำไยมีอายุ 6 สัปดาห์หลังดอกออกดอกซึ่งจะมีผลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร ปลิดช่อผลโดยใช้ช่อปลายกิ่งนับจำนวนผล แล้วทำการตัดปลายช่อลงมาโคนกิ่งให้เหลือผลต่อช่อตามกรรมวิธีการทดลองทุกกรรมวิธีต่อ 1 ต้น พร้อมติดป้ายที่ช่อผล ปฏิบัติดูแลรักษาโดยให้น้ำอย่างสม่ำเสมอใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 1 กิโลกรัมต่อต้นห่างกัน 15 วันจำนวน 2 ครั้งและฉีดพ่นปุ๋ยทางใบเมื่อต้นลำไยติดผลเท่าหัวไม้ขีด จากนั้นอีก1 เดือนใส่ปุ๋ยสูตร 13-13-21 อัตรา 1 กิโลกรัมต่อต้นห่างกัน 15 วันจำนวน 2 ครั้งพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดโรคและแมลงตามความจำเป็นเช่น ช่วงออกดอกติดผลมีพวกเพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย หนอนชักใยกินดอกควรฉีดพ่นสารเคมีพวก คลอไพริฟอส หรือไซเปอร์เมทริน ก่อนเก็บเกี่ยวควรรดให้น้ำ 7-10 วัน เก็บเกี่ยวเมื่อลำไยมีอายุ 22 และ 23 สัปดาห์หลังดอกบาน นำผลลำไยมาตรวจวิเคราะห์และบันทึกข้อมูล และนำผลลำไยบรรจุถุงตะกร้า เก็บรักษาไว้ในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้องนาน 7 วัน สุ่มตัวอย่างลำไยมาวิเคราะห์ และบันทึกการเปลี่ยนแปลง

การบันทึกผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ผลของการปลิดข้อผลต่อผลผลิตของลำไย

1.1 จำนวนผลต่อช่อหลังเก็บเกี่ยวและเปอร์เซ็นต์ผลร่วง

ทำการนับจำนวนผลต่อช่อเมื่อลำไยมีอายุ 6 สัปดาห์หลังดอกบาน จำนวน 50 ช่อต่อต้น และทำการนับจำนวนผลต่อช่อหลังเก็บเกี่ยว จากนั้นนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ผลร่วง

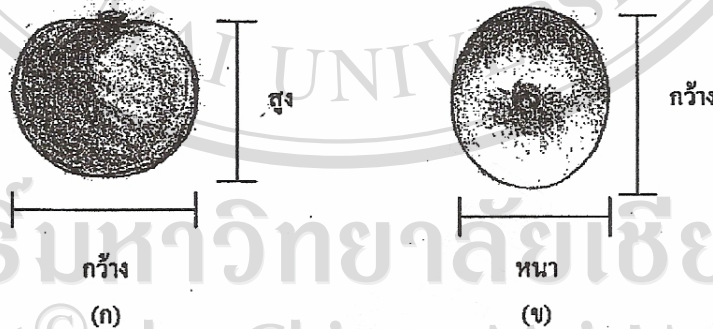
1.2 น้ำหนักผลสด และเปอร์เซ็นต์ความชื้น

นำผลลำไยสดมาชั่งน้ำหนัก แล้วบันทึกเป็นน้ำหนักสด จากนั้นแยกส่วนเปลือก และเมล็ดไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส และเนื้ออบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งอีกครั้ง บันทึกค่าที่ได้เป็นน้ำหนักแห้ง จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ความชื้น (น้ำ) โดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักสด} - \text{น้ำหนักแห้ง}}{\text{น้ำหนักสด}} \times 100$$

1.3 ขนาดผล และความหนาของเนื้อลำไย

- ใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์ วัดความกว้าง ความสูง และความหนาของผลลำไย โดยวัดจากส่วนที่กว้างที่สุด สูงที่สุด และหนาที่สุด (ภาพที่ 1) แล้วบันทึกค่า มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร
- ใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์ วัดความหนาของเนื้อลำไย โดยวัดจากส่วนที่หนาที่สุด แล้วบันทึกค่า มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร



ภาพที่ 1 ลักษณะการวัดความกว้าง ความสูงและความหนาของผลลำไย

(ก) มองจากด้านข้าง และ (ข) มองจากด้านบน

การทดลองที่ 2 ผลของการปลิดข้อผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของลำไยหลังการเก็บรักษา

นำผลลำไยที่เก็บอายุ 22 และ 23 สัปดาห์ ไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส แล้วศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านต่างๆ โดยวัดลักษณะต่างๆตอนเริ่มต้นการทดลองและหลังเก็บรักษานาน 7 วัน ดังนี้

2.1 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

2.1.1 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก โดยชั่งน้ำหนักก่อนและหลังการเก็บรักษา นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากสูตร

$$\text{การสูญเสียน้ำหนัก (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักก่อนเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักหลังเก็บรักษา}) \times 100}{\text{น้ำหนักก่อนเก็บรักษา}}$$

2.1.2 การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก

ใช้เครื่องวัดสี (Chromameter) วัดสีเปลือกและสีเนื้อลำไยสดของแต่ละช่วงการเก็บเกี่ยวและระหว่างการเก็บรักษา รายงานผลเป็นค่า L^* , a^* และ b^* ตามระบบ Hunter's scale โดยมีรายละเอียดดังนี้ คือ

ค่า L^* แสดงความสว่างเมื่อมีค่าเข้าใกล้ 100 และแสดงความมืดเมื่อมีค่าใกล้ 0

ค่า a^* ที่เป็นบวกแสดงว่าผลิตผลมีสีแดง ค่า a^* ที่เป็นลบแสดงว่าผลิตผลมีสีเขียว

ค่า b^* ที่เป็นบวกแสดงว่าผลิตผลมีสีเหลือง ค่า b^* ที่เป็นลบแสดงว่าผลิตผลมีสีน้ำเงิน

2.1.3 ลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อ

ใช้เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analyzer) ซึ่งมีวิธีการ ดังนี้

1. เลือกอุปกรณ์ให้เป็นแบบ shape plate สำหรับ compression test
2. เตรียมตัวอย่างลำไยโดยแกะเปลือกลำไยออก จากนั้นกำหนดค่า diameter และความยาวของตัวอย่าง กำหนดให้ความยาวของตัวอย่าง ประมาณ 20 มม.
3. วางตัวอย่างที่จะวัดให้อยู่ตรงกลางระหว่างหัวกด และฐานรอง จากนั้นเลื่อน หัวกดให้เข้ามาใกล้กับพื้นผิวด้านบนของตัวอย่างประมาณ 5 มม. เพื่อที่จะสามารถนำตัวอย่างเข้า-ออกจากฐานได้สะดวก จากนั้นทำการ zero ค่าแรง เพื่อกำหนดตำแหน่งกลับคืนของ crosshead หลังจากการทดสอบสิ้นสุดรอบการทดสอบ
4. เริ่มสตาร์ทโปรแกรม Win R Control และทำการ set ค่า parameters ต่างๆ สำหรับการทดสอบ Texture Profile Analysis

5. เริ่มทำการทดสอบ เพื่อให้ได้กราฟ Texture Profile Analysis

6. ให้ทำการวิเคราะห์และคำนวณค่า parameters ของ TPA จากกราฟ

2.1.4 เปอร์เซ็นต์การเน่าเสีย

เปอร์เซ็นต์ผลที่เกิดความเสียหายจากการเน่าเสียโดยคำนวณสูตร

$$\text{ผลที่เกิดความเสียหาย (\%)} = \frac{\text{ผลที่เกิดความเสียหายจากการเน่าเสีย}}{\text{จำนวนผลทั้งหมด}} \times 100$$

2.2 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี

2.2.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้

นำผลลำไยที่ได้จากกรรมวิธีต่าง ๆ แกะเปลือกออกแล้วบีบเอาน้ำคั้นที่ได้จากผลลำไยมาหยดลงบนแผ่นปริซึมของ hand refractometer แล้วส่องดูกับแสง จากนั้นบันทึกค่าที่อ่านได้โดยมีหน่วยเป็น องศาบริกซ์ ($^{\circ}$ Brix)

2.2.2 วิเคราะห์ Reducing Sugar

บดตัวอย่างลำไย แล้วนำตัวอย่างมา 2 กรัม ผสมน้ำ 20 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่อง centrifuge ความเร็วรอบ rpm นำของเหลวที่ได้มาเหวี่ยงอีก 2 ครั้ง เสร็จแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 25 มิลลิลิตรผสมกับ H_2SO_4 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรโดยใช้น้ำกลั่นในหลอดทดลองให้ได้ 35 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มในน้ำเดือด 5 นาที จากนั้นหยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1% 1 หยด แล้วปรับสภาพให้เป็นกลางโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปรับปริมาตรโดยใช้น้ำกลั่นให้ได้ 50 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายมา 5 มิลลิลิตรผสมกับน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร จะได้เป็นสารตัวอย่าง

ปิเปตสารละลาย Nelson's A 20 มิลลิลิตรและสารละลาย Nelson's B 8 มิลลิลิตรผสมกัน จากนั้นนำไปหยดในหลอดสารตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มในน้ำเดือด 20 นาที จากนั้นนำไปแช่ในน้ำไหล 5 นาที เติม Arsenomolybde acid 1 มิลลิลิตรและเติมน้ำกลั่นอีก 7 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 20 นาที แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้สูตร

$$\text{Reducing sugar (\%)} = \frac{\text{Gr} \times 0.25 \times 100}{\text{W} \times 0.5}$$

Gr = ค่าที่วัดได้จากเครื่อง Spectrophotometer

W = น้ำหนักที่ชั่งสาร

2.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

นำเถ้าที่ได้ไปวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ค่าเถ้าที่ละลายในน้ำ เถ้าที่ละลายในกรด และความเป็นค่าของเถ้า โดยมีวิธีการวิเคราะห์ ดังนี้

1. ชั่งตัวอย่างลำไยมา 5 กรัม ใส่ลงใน crucible ที่ทราบน้ำหนักหรือหักน้ำหนักออกแล้ว
2. เผานาน 12-18 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส ปิดเตาเผาให้อุณหภูมิลดลงจนต่ำกว่า 250 องศาเซลเซียส แล้วจึงเปิดเตาเผาอย่างระมัดระวัง เพราะเถ้าที่เป็นปุ๋ยเบาๆอาจปลิวออกมาได้
3. นำ crucible ใส่ใน desiccator ที่มี porcelain plate รองอยู่ และมีสารดูดความชื้นอยู่ด้านล่าง ปิดฝา crucible และ desiccator ปลดปล่อยให้เย็นก่อนนำไปชั่งหาน้ำหนักเถ้า

วิธีคำนวณ

คำนวณหาปริมาณเถ้าได้สมการดังนี้

$$\% \text{ เถ้า (น้ำหนักแห้ง)} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้าที่ชั่งหลังอบ-น้ำหนัก crucible}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้} \times \text{dry matter coefficient}}$$

$$\text{dry matter coefficient} = \frac{\% \text{ ของแข็งทั้งหมดคในอาหาร}}{100}$$

การวิเคราะห์หาเถ้าที่ละลายและไม่ละลายในน้ำ

วิธีทำ

- ก. ชั่งเถ้าให้ทราบน้ำหนักแน่นอน เติมน้ำกลั่นลงไป 10 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วค่อยๆต้มจนใกล้เดือด
- ข. กรองด้วยกระดาษกรองชนิดปราศจากเถ้า แล้วล้างกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่นหลายๆครั้ง
- ค. อบกระดาษกรองจนแห้ง แล้วเผาหาเถ้าในกระดาษกรองอีกครั้งอย่างน้อยนาน 30 นาที
- ง. ชั่งหาน้ำหนักแล้วคำนวณหา % เถ้าส่วนที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ

$$\text{เถ้าที่ละลายน้ำ} = \text{เถ้าทั้งหมด} - \text{เถ้าที่ไม่ละลายน้ำ}$$

หรืออาจเอาเถ้าส่วนที่ละลายได้ในน้ำอบให้แห้งแล้วชั่งหาน้ำหนักโดยตรงก็ได้

การวิเคราะห์หาเถ้าที่ไม่ละลายในกรด

วิธีทำ

- ก. ชั่งน้ำหนักเถ้าทั้งหมดหรือเถ้าที่ไม่ละลายน้ำมาจำนวนหนึ่ง
- ข. เติมน้ำละลายกรดเกลือความเข้มข้น 10 % จำนวน 25 มิลลิลิตร

ค. ปิดฝาต้มนาน 5 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองชนิดปราศจากเถ้า ล้างด้วยน้ำกลั่นร้อนๆ หลายๆ ครั้ง

ง. อบกระดาษกรองให้แห้งและเผาเถ้าอีกครั้งนานอย่างน้อย 30 นาที

จ. ชั่งน้ำหนักและคำนวณหา % เถ้าที่ไม่ละลายในกรด

การวิเคราะห์หาความเป็นด่างของเถ้า (*Alkalinity of ash*)

วิธีทำ

ก. นำเถ้าทั้งหมดหรือเถ้าที่ไม่ละลายน้ำไว้ใน platinum dish เติมสารละลายกรดเกลือ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล ลงไป 10 มิลลิลิตร

ข. เติมน้ำกลั่นที่ต้มเดือดลงไปเล็กน้อย อุณหภูมิของน้ำอุ่นแล้วปล่อยให้เย็น

ค. เทของเหลวที่ได้ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ไตเตรทกรดมากเกินพอที่เหลือด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล โดยใช้เมทิลออเรนจ์เป็นอินดิเคเตอร์ คำนวณเป็นมิลลิลิตรของสารละลายกรดความเข้มข้น 1 นอร์มัล ที่ใช้ในการทำให้เถ้าที่ได้จากตัวอย่างอาหาร 100 กรัมเป็นกลางพอดี (AOAC Official method 925.51)

2.3 การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา

2.3.1 อัตราการหายใจและปริมาณก๊าซเอทิลีน

นำผลลำไยที่ผ่านการชั่งน้ำหนักเก็บในกล่องที่ปิดสนิทที่ทราบปริมาตร เก็บรักษาเป็นเวลา 1 ชั่วโมงในอุณหภูมิห้อง แล้วเก็บตัวอย่างก๊าซภายในกล่องมาวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Gas chromatography เพื่อหาอัตราการหายใจโดยวัดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น จัดสภาพเครื่อง GC โดยใช้หัววัดระบบ TCD (thermal conductivity detector) มีกระแสไฟฟ้าเลี้ยงหัววัด 150 มิลลิแอมป์ ใช้คอลัมน์ในการวิเคราะห์เป็น Porapak R 80/100 mesh ความยาว 2 เมตร มีฮีเลียมเป็นก๊าซพา(carrier gas) ซึ่งมีความเร็ว 50 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์หรืออุณหภูมิตู้ (oven temperature) เท่ากับ 55 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของจุดฉีด (injector port) เท่ากับ 80 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของจุดวิเคราะห์ (detector) เท่ากับ 100 องศาเซลเซียส แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาอัตราการหายใจ ดังนี้

$$\text{อัตราการหายใจของผลลำไย} = \frac{(\% \text{CO}_2 \text{ ที่วัดได้จาก GC} - 0.033) \times V \times A \times C \times E}{100 \times W \times \text{เวลา} \quad B \quad (C+D) \quad F}$$

หน่วยเป็นมิลลิลิตรคาร์บอนไดออกไซด์ต่อกิโลกรัมต่อชั่วโมง (ml. CO₂ / kg./hr.)

V = ปริมาตรของอากาศภายในภาชนะ (มิลลิลิตร) เท่ากับ 240 มิลลิลิตร

W = น้ำหนักของลำไย

A = น้ำหนักโมเลกุล CO₂ เท่ากับ 44

B = ปริมาตรของก๊าซที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐานเท่ากับ 22.4

C = อุณหภูมิมาตรฐานในหน่วยขององศาเคลวิน เท่ากับ 273 องศาเซลเซียส

D = อุณหภูมิในขณะที่ทำการวัด (25 องศาเซลเซียส)

E = ความดันบรรยากาศที่เชียงใหม่ เท่ากับ 740 มิลลิเมตรปรอท

F = ความดันบรรยากาศที่ระดับน้ำทะเล เท่ากับ 760 มิลลิเมตรปรอท

และวัดปริมาณเอทิลีน มีหน่วยเป็นส่วนหนึ่งในล้านส่วน (ppm) แล้วนำมาคำนวณอัตราการผลิตเอทิลีนซึ่งมีหน่วยเป็นไมโครลิตรต่อกิโลกรัมชั่วโมง ($\mu\text{l}/\text{kg}\cdot\text{hr.}$) (พรหมทิพา, 2549)

2.4 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ทำการประเมินผลทางประสาทสัมผัสโดยการประเมินคุณภาพด้านประสาทสัมผัส

แบบ Hedonic Scaling

มีด้วยกัน 4 แบบคือ รสชาติ , กลิ่น , สีเนื้อ และคุณภาพโดยรวม

เกณฑ์การให้คะแนน

1 = ไม่ชอบมากที่สุด 6 = ชอบเล็กน้อย

2 = ไม่ชอบมาก 7 = ชอบปานกลาง

3 = ไม่ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 9 = ชอบมากที่สุด

5 = เฉยๆ

สถานที่ทำการวิจัย

สถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และแปลงเกษตรกร อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่