# บทที่ 3
# อุปกรณ์และวิธีการ

## อุปกรณ์

1. เครื่องผลิตโอโซน(ozone generator) ยี่ห้อ OZONIZER กำลังผลิต 1,500 มิลลิกรัมต่อชั่วโมง
2. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (digital refractometer) ยี่ห้อ Atago รุ่น PAL-1 บริษัท Atago co.,Ltd ประเทศญี่ปุ่น
3. เครื่องชั่งไฟฟ้า ยี่ห้อ Ohaus รุ่น ARC 120 บริษัท Ohaus ประเทศสหรัฐอเมริกา
4. เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) ยี่ห้อ AZ รุ่น 86555 ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (visible spectrophotometer) ยี่ห้อ Thermoscientific รุ่น Genesys 20 ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. เครื่องวัดสี (chroma meter) ยี่ห้อMinolta รุ่น CR-200 ประเทศญี่ปุ่น
7. ตู้ดูดควันปริมาตร 0.12 ลูกบาศก์เมตร (กว้าง x ยาว x สูง = 0.4 เมตร x 0.3 เมตร x 1 เมตร)
8. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆ

## สารเคมี

1. สารเคมีที่ใช้ในการปรับ pH ของน้ำ
   - Hydrochloric acid
   - Sodium hydroxide
2. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้
   - Sodium hydroxide
   - Phenolphthalein
3. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีที่ไทเทรตได้
   - metaphosphoric acid
   - acetic acid
   - 2,6-dichlorophenolindophenol sodium salt
   - Sodium bicarbonate
   - Ascorbic acid

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้างด้วยวิธี GT Pesticide Test Kit (Thoophom, 1998) ประกอบด้วย
   - น้ำยาสกัด-1
   - น้ำยาสกัด-2
   - น้ำยาจีที-1
   - น้ำยาจีที-2
   - น้ำยาจีที-2.1
   - น้ำยาจีที-3
   - น้ำยาจีที-3.1
   - น้ำยาจีที-4
   - น้ำยาจีที-5
5. สารกำจัดแมลง
   - Ethion, analytical standard 250 mg ยี่ห้อ Fluka ผลิตโดย บริษัท Sigma-Aldrich Pte Ltd ประเทศสิงคโปร์
   - Phosphorodithioate 50% w/v EC โดยบริษัท ซุพพีเรียส เคมีอุตสาหกรรม (ประเทศไทย) จำกัด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**วิธีการทดลอง**

วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) มี 3 ซ้ำๆละ 10 ผล โดยนำผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งมาจากสวนเกษตรกรที่อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ ทำการคัดคุณภาพเบื้องต้นโดยการคัดแยกผลที่ไม่ดี (ไม่มีตำหนิเนื่องจากเกิดบาดแผล เสียหายเนื่องจากเชื้อโรค และแมลง) ออกไป จากนั้นแบ่งส้มเป็นกลุ่ม เพื่อแยกปฏิบัติตามแต่ละกรรมวิธี ซึ่งได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง คือ

**การทดลองที่ 1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพของโอโซนในการลดสารอีไทออนตกค้างในหลอดทดลอง**

การทดลองที่ 1.1 ผลของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพของโอโซนในการลดสารอีไทออนในหลอดทดลอง

เตรียมสารละลายมาตรฐานอีไทออน ความเข้มข้น 10 มก./ล. ปริมาณ 5 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองและนำไปแช่ไว้ในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 5, 15 และ 25°ซ หลังจากนั้นปล่อยก๊าซโอโซนจากเครื่อง ozone generator ที่มีอัตราไหล 25 มล.ต่อนาทีลงไปในสารละลายที่เวลาต่างๆ (0, 15, 30, 45 และ 60 นาที) หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปตรวจวัดปริมาณสารอีไทออน ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อ 1 ตัวอย่าง ด้วยวิธี GT pesticide test kit ดัดแปลง (ภาคผนวก ก) และนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การลดลงของสารอีไทออน

สูตรการหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน $Y = (a + b)X$

เปอร์เซ็นต์การลดลงของสารอีไทออน $\frac{(\text{ความเข้มข้นตั้งต้น-ความเข้มข้นที่เหลือ})}{\text{ความเข้มข้นตั้งต้น}} \times 100$

การทดลองที่ 1.2 ผลของพีเอชที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพของโอโซนในการลดสารอีไทออนในหลอดทดลอง

เตรียมสารละลายมาตรฐานอีไทออน ความเข้มข้น 10 มก./ล. และทำการปรับค่าพีเอช โดยการใช้สาร HCl และ NaOH ให้เท่ากับ 4, 7 และ 10 หลังจากนั้นปล่อยก๊าซโอโซนจากเครื่อง ozone generator ซึ่งมีอัตราไหล 25 มล.ต่อนาที ที่เวลาต่างๆ (0, 15, 30, 45 และ 60 นาที) และควบคุมอุณหภูมิโดยเลือกจากอุณหภูมิที่ทำให้เปอร์เซ็นต์การสลายของอีไทออนมากที่สุดจากการทดลองที่ 1.1 โดยมีกรรมวิธีที่ใช้ในการทดลองดังนี้

1. สารละลายมาตรฐานอีไทออน (ชุดควบคุม)
2. สารละลายมาตรฐานอีไทออนที่ผ่านก๊าซโอโซน (พีเอช 4, 7 และ 10) ควบคุมอุณหภูมิ 15°ซ
3. สารละลายมาตรฐานอีไทออนที่ผ่านก๊าซโอโซน (พีเอช 4, 7 และ 10) ควบคุมอุณหภูมิ 25°ซ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากนั้นนำตัวอย่างไปตรวจวัดปริมาณสารอีไทออน ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อ 1 ตัวอย่าง ด้วยวิธี GT pesticide test kit ดัดแปลง (ภาคผนวก ก) และนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การลดลงของสารอีไทออนเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1

**การทดลองที่ 2 ผลของการใช้โอโซนต่อการลดสารอีไทออนตกค้างในผลส้มหลังการเก็บเกี่ยว**

นำผลส้มมาจุ่มในสารละลายกำจัดแมลงอีไทออน ชื่อการค้าไรเซต้า ความเข้มข้น 1 มก./ล. นาน 10 นาที ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปผ่านการแช่ในน้ำที่ปล่อยก๊าซโอโซนที่เวลา (0, 15, 30, 45 และ 60 นาที) โดยเลือกผลการทดลองที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1.1 และ 1.2 ดังนี้

1. แช่ผลส้มด้วยน้ำเปล่า (ชุดควบคุม)
2. แช่ผลส้มในสารละลายโอโซนอุณหภูมิ 15°ซ พีเอช 7
3. แช่ผลส้มในสารละลายโอโซนอุณหภูมิ 15°ซ พีเอช 10
4. แช่ผลส้มในสารละลายโอโซนอุณหภูมิ 25°ซ พีเอช 7
5. แช่ผลส้มในสารละลายโอโซนอุณหภูมิ 25°ซ พีเอช 10

และนำไปตรวจวัดปริมาณสารกำจัดแมลงอีไทออน ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อ 1 ชุดการทดลองโดยใช้ผลส้มซ้ำละ 10 ผล ด้วยวิธี GT pesticide test kit ดัดแปลง (ภาคผนวก ก) และนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การลดลงของสารอีไทออนเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1

**การทดลองที่ 3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและชีวเคมีของส้มระหว่างการเก็บรักษาหลังจากได้รับโอโซน**

จากการทดลองที่ 2 พบว่าการแช่ผลส้มในสารละลายโอโซนนาน 60 นาที มีเปอร์เซ็นต์การสลายของสารอีไทออนดีที่สุด จึงนำมากำหนดกรรมวิธีในการทดลองต่อไป ดังนี้

1. ผลส้มที่ผ่านการแช่ในน้ำเปล่า (ชุดควบคุม)
2. ผลส้มที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายโอโซนอุณหภูมิ 15°ซ พีเอช 7 นาน 60 นาที
3. ผลส้มที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายโอโซนอุณหภูมิ 15°ซ พีเอช 10 นาน 60 นาที
4. ผลส้มที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายโอโซนอุณหภูมิ 25°ซ พีเอช 7 นาน 60 นาที
5. ผลส้มที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายโอโซนอุณหภูมิ 25°ซ พีเอช 10 นาน 60 นาที

จากนั้นนำผลส้มไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ เป็นเวลา 56 วัน แล้วนำมาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและชีวเคมีของผลส้มระหว่างการเก็บรักษา ทุก 7 วัน โดยทำการวิเคราะห์ดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) วัดโดยใช้เครื่อง hand refractometer โดยก่อนที่จทำการวัดให้ใช้น้ำกลั่นปรับสเกลให้เป็นศูนย์ แล้วเช็ดน้ำกลั่นออก จากนั้นหยดน้ำคั้นที่ได้จากผลส้มลงบนเครื่อง hand refractometer อ่านค่าเป็น °brix

2) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ นำน้ำคั้นจาผลส้มไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล โดยใช้ฟีนอล์ฟธาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ จนกระทั่งได้จุดยุติเป็นสีชมพูแล้วนำไปคำนวณหาปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ในรูปของกรดซิตริก ดังนี้ (AOAC, 1995)

$$\% \text{ TA} = \frac{\text{Normality of NaOH} \times \text{Titer} \times \text{milliequivalent weight of citric acid} \times 100}{\text{Volume of sample used}}$$

โดยที่ Normality of NaOH = 0.1 นอร์มัล

Titer = ปริมาณของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐาน (NaOH) ที่ใช้ไทเทรต (มิลลิลิตร)

milliequivalent weight of citric acid = น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของกรดที่มีมากในส้ม คือกรดซิตริก = 0.064

Volume of sample used = น้ำคั้นผลิตผลที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)

3) ปริมาณวิตามินซี นำน้ำคั้นจากผลส้มไทเทรตด้วย 2,6-dichloroindolephenol ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ metaphosphoric acid-acetic acid solution เป็นอินดิเคเตอร์จนกระทั่งได้จุดยุติ (AOAC, 1995)

4) การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก ด้วยเครื่องวัดสี chroma meter (Minolta CR-200) ซึ่งแบ่งผลส้มเป็น 3 ซ้ำๆละ 5 ผล การตรวจวัดบริเวณด้านแก้มผลทั้งสองด้าน ค่าที่ได้จากการวัดแสดงเป็นค่า L*, a* และ b* ดังนี้

L* = The lightness factor values เป็นค่าแสดงถึงความสว่างของวัตถุ ถ้าค่า L เข้าใกล้ 0 แสดงว่าวัตถุมีสีทึบ ถ้าค่า L เข้าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมีสีสว่าง ถ้า L เท่ากับ 100 วัตถุจะมีสีขาว

a* = เป็นค่าที่แสดงถึงความมีสีแดงและสีเขียวของวัตถุ ถ้าค่า a* เป็นบวก (+) แสดงว่าวัตถุมีสีออกแดง ถ้าค่า a* เป็นลบ (-) แสดงว่าวัตถุมีสีเขียว โดยมีค่า -60 ถึง +60

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

b* = เป็นค่าที่แสดงถึงความมีสีเหลืองและสีน้ำเงินของวัตถุ ถ้าค่า b* เป็นบวก (+) แสดงว่าวัตถุมีสีออกเหลือง ถ้าค่า b* เป็นลบ (-) แสดงว่าวัตถุมีสีออกน้ำเงิน โดยมีค่า -60 ถึง +60

จากนั้นนำค่าที่วัดได้คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับค่าที่วัดได้ในวันเริ่มต้น (วันแรกก่อนการแช่ในสารละลายซึ่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เริ่มต้น 100 เปอร์เซ็นต์) แล้วคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ที่เหลืออยู่ของค่า L*, a* และ b* ณ วันที่ทำการวัดผล

5) เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงการเกิดโรค ซึ่งพิจารณาจากการปรากฏของเส้นใยของเชื้อราที่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า แล้วจึงนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = \frac{\text{จำนวนผลที่เกิดโรค} \times 100}{\text{จำนวนผลทั้งหมด}}$$

6) เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด วัดโดยการชั่งน้ำหนักเริ่มต้นและน้ำหนักในวันที่ตรวจวัดของผลส้มแต่ละผล แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{(\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักในวันที่วัดผล}) \times 100}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved