บทที่ 3
วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุเกษตร

มะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ (*Mangifera indica* L., cv. Chok-Anan) ซื้อมาจากสวน คุณไพจิตร วิบูลย์พงษ์ อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่ เมื่อวันที่ 2 พฤษภาคม 2545 มะม่วงพันธุ์มหาชนก (*Mangifera indlica* L., cv. Mahachanok) ซื้อมาจากสวน คุณศจี ศิริสรรพ อ.เมือง จ.ลำปาง เมื่อวันที่ 23 พฤษภาคม 2545 มะม่วงทั้ง 2 พันธุ์เก็บเกี่ยวที่ระยะแก่ทางการค้า บรรจุใส่ตะกร้าพลาสติก แล้วขนส่งมายังห้องปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และได้ทำการทดลองทันที

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางกายภาพและทางเคมี มีดังนี้

1. เครื่องวัดสี Minolta Chromameter Model CR-300 (Minolta Camera Co., Ltd., Japan)
2. เครื่องมือวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Hand Refractometer วัดค่าระหว่าง 0-32% "ATAGO" Model N1, Japan)
3. เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่ง (Analytical balance, Sartorius analytic : Model BA 3100P, Germany)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง (Analytical balance, Mettler Toledo: Model A 354, Switzerland)
5. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Microprocessor pH meter, Hanna instrument : Model 213, U.S.A.)
6. เครื่องวัด Firmness (Fruit Hardness Tester, Shimpo Model FGV-20A, Japan)
7. เครื่องปั่นแยกน้ำผลไม้ (Moulinex Model 753, Spain)
8. กล้องถ่ายรูป (Cannon) และฟิล์มโกดัก ISO 200
9. เครื่อง Hot plate (Nuova II Model SP 18420-26, U.S.A.)
10. Magnetic bar
11. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert Model WB 10 Germany)
12. กระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 4 และเบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 เซนติเมตร)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

13. อุปกรณ์เครื่องแก้วต่างๆ
14. มีดปอกผลไม้และมีดหันผลไม้
15. เทอร์โมมิเตอร์ 0-100 องศาเซลเซียส
16. กล่องกระดาษลูกฟูกขนาด กว้าง x ยาวx สูง เท่ากับ 29 x 42 x 9 เซนติเมตร
17. ฟองน้ำขนาด กว้าง x ยาวx สูง เท่ากับ 30 x 44 x 1 เซนติเมตร

3.3 สารเคมี

1. กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl "Merck" Hydrochloric Acid AR Grade, E. Merck, Germany)
2. คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulphate, $CuSO_4 \bullet 5H_2O$, "Baker" AR Grade, J.T. Baker, U.S.A.)
3. ซิงอะซิเตต (Zinc acetate dihydrate, $CH_3(COO)_2Za \bullet 2H_2O$ "Baker" AR Grade, J.T. Baker, U.S.A.)
4. โซเดียมโพแทสเซียมตาเตรต (Sodium potassium tartrate, $NaKC_4O_6 \bullet 4H_2O$, "Baker" AR Grade, J.T. Baker, U.S.A.)
5. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH, "Merck" Sodium hydroxide AR Grade, E. Merck, Germany)
6. โพแทสเซียมเฟอโรไซยาไนด์ (Potassium ferrocyanide, $K_4[Fe(CN)_6] \bullet 3 H_2O$, "Baker" AR Grade, J.T. Baker, U.S.A.)
7. กรดอะซิติก (Acetic Acid, CH_3COOH, "Merck" Acetic acid glacial AR Grade, E. Merck, Germany)
8. โพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลท (Potassium hydrogen phthalate, $C_8H_5KO_4$, "Merck" AR Grade, E. Merck, Germany)
9. เมทิลีนบลู (Methylene blue "Merck" AR Grade, E. Merck, Germany)
10. Calcium carbide (CaC_2) ซื้อมาจากร้านขายของชำ ตลาดเมืองใหม่ จ.เชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4 วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 4 x5 factorial in CRD โดยบ่มผลมะม่วงด้วยแคลเซียมคาร์ไบด์ 4 ระดับ และสุ่มตัวอย่างทุกๆ 3 วันรวม 5 ครั้ง เพื่อวิเคราะห์ทางกายภาพและทางเคมี

คัดเลือกผลมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ ที่มีระยะความแก่เริ่มต้นใกล้เคียงกัน โดยใช้ค่าความถ่วงจำเพาะ คือคัดเลือกผลมะม่วงที่จมในน้ำเกลือ 1% และลอยในน้ำเกลือ 3% และผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกที่จมในน้ำเกลือ 1% เป็นดัชนีในการชี้บ่งระยะความแก่ แล้วนำผลมะม่วงมาล้างน้ำ 2 ครั้ง ผึ่งให้ผิวนอกแห้ง ทำการวิเคราะห์ทางกายภาพและทางเคมีของวัตถุดิบเริ่มต้น และบ่มผลมะม่วงในกล่องกระดาษ ขนาด กว้าง x ยาว x สูง 42 x 29 x 9 เซนติเมตร ใช้ปริมาณแคลเซียมคาร์ไบด์ 4 ระดับคือที่ 0, 3, 6 และ 9 กรัมต่อกิโลกรัมมะม่วง โดยการวางแคลเซียมคาร์ไบด์ บนพื้นกล่องให้ทั่ว ปิดทับด้วยแผ่นฟองน้ำ แล้วจึงวางผลมะม่วงกล่องๆ ละประมาณ 15 ผล ทำการทดลอง 3 ซ้ำ รวม 12 กล่อง สุ่มผลมะม่วงออกมาเพื่อวิเคราะห์ทางกายภาพและทางเคมี จำนวนกล่องละ 2 ผล ทุกๆ 3 วัน เป็นเวลานาน 12 วัน

3.4.1 การสูญเสียน้ำหนัก (% weight loss)

เขียนหมายเลขและชั่งน้ำหนักผลมะม่วงเริ่มต้นของทุกผลที่ใช้ในการทดลอง เพื่อศึกษาการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการสุก โดยการชั่งน้ำหนักของผลที่สุ่มมาจำนวน 2 ผล ของแต่ละการทดลอง จำนวน 12 การทดลอง แล้วคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักที่หายไป

น้ำหนักเริ่มต้น – น้ำหนักสุดท้าย = น้ำหนักที่หายไป

$$\text{เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักที่หายไป (\% weight loss)} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป} \times 100}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}}$$

3.4.2 สีเปลือกและสีเนื้อ

วัดการเปลี่ยนแปลงสีเปลือกและสีเนื้อของผลมะม่วงระหว่างการสุกโดยใช้ Chromameter Model CR-300 โดยการทดลองวัดผลมะม่วง จำนวน 6 ผล (ซ้ำละ 2 ผล) โดยวัดสีเปลือกด้านนอกของผลมะม่วงที่ส่วนของแก้มด้านละ 3 ตำแหน่ง คือส่วนบน กลางและส่วนล่างของผล และสีเนื้อโดยการฝานตามยาวของผลมะม่วง แล้ววัดที่บริเวณด้านในของเนื้อมะม่วง ทำการวัดสี 3 ตำแหน่ง คือส่วนบน กลางและส่วนล่าง ค่าที่ได้แสดงเป็นค่า L*, a* และ b*

ค่า L* เป็นค่าที่แสดงความมืดและความสว่างของสี โดยมีค่าตั้งแต่ 0-100 ค่า L* ที่ต่ำแสดงว่ามีความมืด (L*= 0 มีสีดำ) ค่า L* ที่สูงแสดงว่ามีความสว่างมาก (L*= 100 มีสีขาว)

ค่า a* เป็นค่าที่แสดงสีเขียวและสีแดง ถ้ามีค่าเป็นลบแสดงว่ามีสีเขียว และถ้ามีค่าเป็นบวกแสดงว่ามีสีแดง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ค่า b* เป็นค่าแสดงสีน้ำเงินและสีเหลืองถ้ามีค่าเป็นลบแสดงว่ามีสีน้ำเงินและถ้ามีค่าเป็นบวกแสดงว่ามีสีเหลือง

นำค่า L*, a* และ b* มาหาค่า Hue angle (H^o) และ Chroma (C*) จากสูตร

$C^* = \text{Chroma } (C^* = [a^{*2} + b^{*2}]^{1/2})$

$H^o = (\tan^{-1} [b^*/a^*])$

เมื่อ C* มีค่าเข้าใกล้ศูนย์หมายถึง วัตถุมีสีซีดจาง (เทา) หากมีค่าเข้าใกล้ 60 วัตถุมีสีเข้ม

H^o มีมุมเข้าใกล้ 0 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีแดง หากมีมุมเข้าใกล้ 90 องศา สีของวัตถุอยู่ในกลุ่มสีเหลือง และถ้ามุมมีค่าเข้าใกล้ 180 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเขียว (Krajayklang, 2000)

3.4.3 ความแน่นเนื้อ (Firmness)

วัดความแน่นเนื้อของเนื้อมะม่วงโดยใช้เครื่อง firmness tester ใช้หัวกดทรงกระบอกปลายแหลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง กดลงบนผลมะม่วง ลึกประมาณ 0.5 เซนติเมตร ในส่วนแก้มของผลมะม่วงที่ทำการปอกเปลือกแล้ว 3 ตำแหน่ง ทั้ง 2 ผล บริเวณส่วนบน กลางและล่างของผล บันทึกค่าแรงกดที่สูงที่สุด แล้วเฉลี่ยอ่านค่าที่ได้เป็น นิวตัน

3.4.4 ปริมาณกรดทั้งหมด (Total acidity, TA)

วิเคราะห์ปริมาณกรดที่สามารถไตเตรทได้ โดยนำเนื้อมะม่วงที่ปั่นผสมรวมกันแล้วมา 10 กรัม เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มเดือดลงไป 20 มิลลิลิตร ไตเตรทกับสารละลายมาตรฐาน NaOH ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล ทำการไตเตรทจนถึงจุดยุติ (end point) เมื่อสารละลายมี pH 8.1 อ่านค่าของปริมาตรสารละลาย NaOH ที่ใช้ นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดจากสูตร

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จำนวน 1 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับกรดซิตริก จำนวน 0.007 กรัม

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมด (เทียบในรูปกรดซิตริก)} = \frac{\text{ความเข้มข้น [NaOH (N)] x ปริมาตร NaOH (ml) x 0.007 * x 100}}{\text{น้ำหนักของเนื้อมะม่วง (g)}}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล ทำการหาความเข้มข้นที่แท้จริงด้วยการไตเตรทกับสารละลายมาตรฐาน Potassium hydrogen phthalate ($C_8H_5KO_4$)

3.4.5 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total soluble solid, TSS)

วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดจากน้ำคั้นจากเนื้อมะม่วงโดยใช้ Hand refractometer ซึ่งก่อนใช้ปรับสเกลให้เป็นศูนย์ด้วยน้ำกลั่น ค่าที่ได้มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ (% TSS) ทำการวัด 3 ครั้งต่อตัวอย่าง (AOAC, 2000)

3.4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงและปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Reducing sugar and total sugar)

วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงด้วยวิธีของ Lane & Eynon

- ชั่งตัวอย่างเนื้อมะม่วงมาประมาณ 15 กรัม ใส่ volumetric flask 250 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Carrez I & II อย่างละ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้ครบ 250 มิลลิลิตร แล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที
- กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4
- นำสารละลายที่กรองได้ใส่บิวเรตชนิดปลายงอ ขนาด 50 มิลลิลิตร ไล่ฟองอากาศออกให้หมด
- ปิเปตสารละลาย Fehling no.1 และ no.2 มาอย่างละ 5 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาส์คขนาด 250 มิลลิลิตร เติม glass bead ลงไป 8-10 เม็ด
- ต้มสารละลายในฟลาส์คให้เดือดบนตะเกียงบุนเซน เติมเมทิลีนบลูอินดิเคเตอร์ 1-2 หยด ไตเตรทจนได้ตะกอนสีส้มแดง สารละลายที่ไตเตรทได้ต้องอยู่ในช่วง 15-50 มิลลิลิตร
- ทำการไตเตรทซ้ำ โดยปิเปตสารละลาย Fehling no.1 และ no.2 มาอย่างละ 5 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาส์คขนาด 250 มิลลิลิตร ปล่อยสารตัวอย่างจากบิวเรตลงไปก่อนถึงจุดยุติประมาณ 1-2 มิลลิลิตร
- ต้มสารละลายในฟลาส์คให้เดือด เติมเมทิลีนบลูอินดิเคเตอร์ 1-2 หยด ไตเตรทจนได้ตะกอนสีส้มแดง บันทึกปริมาตรที่ใช้ในการไตเตรท
- นำไปเปรียบเทียบหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงของสารละลายตัวอย่างจากตาราง และคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซิงก่อนอินเวอร์ชัน (D_1)

วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงภายหลังทำการอินเวอร์ชัน

- ปิเปตสารละลายที่กรองได้จากการหาน้ำตาลรีดิวซิงก่อนอินเวอร์ชันมาจำนวณ 50 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask 100 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- เติมสารละลายกรดเกลือ (6.34 N HCl) 10 มิลลิลิตร นำไปแช่ใน water-bath ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว
- ปรับส่วนผสมให้มีสภาพเป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ได้สารละลายตัวอย่างภายหลังการอินเวอร์ชัน
- ทำการไตเตรทเช่นเดียวกับการหาน้ำตาลรีดิวซิงก่อนอินเวอร์ชันบันทึกปริมาตรที่ใช้ในการไตเตรท นำไปเปรียบเทียบหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงหลังอินเวอร์ชัน (D_2) คำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดได้ดังนี้

$$\% \text{ น้ำตาลทั้งหมด} = D_1 + S$$

$$S \ (\% \text{ น้ำตาลซูโครส}) = \% \text{ ผลต่าง } (D_2 - D_1) \times 0.95$$

3.4.7 วิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำผลการวิเคราะห์ทางกายภาพและทางเคมีที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย และทำการวิเคราะห์ความแตกต่างด้วยโปรแกรม SPSS V. 10 จากแผนการทดลองแบบ 4 x 5 factorial in CRD เลือก Post Hoc Multiple Comparisons เปรียบเทียบโดยใช้ Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved