

### บทที่ 3

## อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

### อุปกรณ์ ผลส้ม

ผลส้ม พันธุ์ Pathanak จากสถานีเกษตรหลวงอ่างขาง อ.ฝาง จ.เชียงใหม่  
มีอายุผลประมาณ 140 วัน โดยนับวันหลังจากดอกบานถึงเก็บเกี่ยว ใช้ขนาดผลใกล้เคียงกัน  
ไม่มีรอยขีดและรอยตำหนิใดๆ

### อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพและเก็บรักษาผลส้ม

1. Hand sugar refractometer ของบริษัท ATAGO
2. Firmness tester แบบ Metex Hunter Spring Model LKG-10 USA

พร้อมหัวเจาะเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.72 เซนติเมตร

3. Hunter's Colorimeter ("L" "a" and "b") Model CR-200

ของ Minolta

4. เครื่องปั่นผลไม้ (National Multichopper Mx-12 N.)
5. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดละเอียด (METTLER H-60)

6. Gas Chromatography ยี่ห้อ Shimadzu

7. Syringe ขนาด 1 cm<sup>3</sup> และ 2 cm<sup>3</sup> ยี่ห้อ Terumo

8. เข็มฉีดยาเบอร์ 25

9. ฟิล์มพลาสติก Polyvinyl chloride (PVC) ของบริษัท Mitsubishi ความหนา 0.0146 mm ความสามารถในการยอมให้ก๊าซผ่านเข้าออก โดยฟิล์มพลาสติกที่ใช้ยอมให้  $O_2$  และ  $CO_2$  ผ่านเข้าออกได้เท่ากับ  $2.0 \times 10^4$  และ  $1.5 \times 10^5$  cc/m<sup>2</sup>/24 hr ตามลำดับในสภาพบรรยากาศปกติ
10. ถาดโฟม (Polystyrene tray) ขนาด 21.0 x 14.5 x 2.0 cm
11. ห้องเย็นปรับอุณหภูมิ  $17 \pm 2^\circ C$  ความชื้นสัมพัทธ์ 85-90 %

#### สารเคมี

1. สารกำจัดเชื้อรา Benlate (Benomyl) ชนิด active ingredient 75 % ของบริษัท DUPont Far East Inc. และ Rovral (Iprodione) ชนิด active ingredient 50 % ของบริษัท May & Baker
2. สารเคลือบผิว Semperfresh ชนิดผงละลายน้ำ 1.2 % ผลิตโดยบริษัท Semper Biotechnology Ltd.
3. Phenophthaline 1 %
4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 N

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
 Copyright© by Chiang Mai University  
 All rights reserved

## วิธีการวิจัย

### 1. การเก็บเกี่ยวผลผลิตและการปฏิบัติก่อนการทดลอง

ฤดูการเก็บเกี่ยวปี 2534 เก็บเกี่ยวผลเมื่อวันที่ 3 สิงหาคม 2534 จากสถานีเกษตรหลวงอ่างขาง อ.ฝาง จ. เชียงใหม่ นับอายุผลได้ 140 วันหลังดอกบาน นำมาคัดขนาดที่โรงคัดบรรจุของสถานี ตัดข้าวผลแล้วบรรจุใส่กล่องกระดาษบุโฟม ขนส่งมายังภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในวันเดียวกัน จากนั้นเก็บไว้ในห้องเย็นที่รับอุณหภูมิ  $17 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 85–90 % RH เริ่มทดลองในวันที่ 4 สิงหาคม 2535

ฤดูการเก็บเกี่ยวปี 2535 เก็บเกี่ยวผลเมื่อวันที่ 23 กรกฎาคม 2535 นับอายุผลได้ 144 วัน หลังจากดอกบาน ขนส่งมายังภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในวันเดียวกันและเริ่มทำการทดลองในวันที่ 24 กรกฎาคม 2535

การปฏิบัติก่อนการทดลอง นำผลสาลีมาทำความสะอาดโดยล้างผ่านน้ำก๊อกที่ไหลตลอดเวลา จากนั้นแช่ในน้ำยาฆ่าเชื้อรา Benlate ผสมกับ Rovral อย่างละ 500 ppm เป็นเวลา 5 นาที ผึ่งไว้ให้แห้งที่ อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปจัด Treatment ตามแผนการทดลอง

### 2. การวางแผนการทดลองและการจัด Treatment

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design = CRD)

ฤดูการเก็บเกี่ยวปี 2534 แบ่งการทดลองออกเป็น 6 treatment ดังนี้

Treatment ที่ 1 เป็นชุดควบคุมไม่เคลือบไซ และ ไม่ห่อหุ้มพลาสติก PVC เก็บรักษาที่ห้องเย็น อุณหภูมิ  $17 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 85–90% RH

Treatment ที่ 2 ห่อหุ้มผลด้วยพลาสติก PVC แบบหุ้มทีละผล (individual-wrapped package) เก็บรักษาที่ห้องเย็น อุณหภูมิ  $17 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 85–90% RH

- Treatment ที่ 3 ท่อหุ้มผลด้วยพลาสติก PVC แบบหุ้มทั้งภาค โฟม โดยใส่ผลสลาลี 3 ผล บนภาค โฟม แล้วท่อหุ้มพลาสติก PVC ทั้งภาค โฟม (Over-wrapped package) เก็บรักษาที่ห้องเย็น อุณหภูมิ  $17 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 85–90% RH
- Treatment ที่ 4 เคลือบผิวของผลด้วย Semperfresh 1.2% เก็บรักษาที่ห้องเย็น อุณหภูมิ  $17 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 85–90% RH
- Treatment ที่ 5 เคลือบผิวของผลด้วย Semperfresh 1.2% แล้วท่อหุ้มผลด้วย พลาสติก PVC แบบ Over-wrapped package เก็บรักษาที่ห้องเย็น อุณหภูมิ  $17 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 85–90% RH
- Treatment ที่ 6 ไม่เคลือบไซ และ ไม่ท่อหุ้มพลาสติก PVC เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ( $25-31^{\circ}\text{C}$ , 70–75% RH)

ฤดูกาลเก็บเกี่ยวปี 2535 แบ่งการทดลองออกเป็น 3 treatment ดังนี้

- Treatment ที่ 1 ไม่เคลือบไซและ ไม่ท่อหุ้มพลาสติก PVC เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ( $25-31^{\circ}\text{C}$ , 70–75% RH)
- Treatment ที่ 2 ไม่เคลือบไซและ ไม่ท่อหุ้มพลาสติก PVC เก็บรักษาที่ห้องเย็น อุณหภูมิ  $17 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 85–90% RH
- Treatment ที่ 3 ท่อหุ้มผลด้วยพลาสติก PVC แบบ Over-wrapped package เก็บรักษาที่ห้องเย็น อุณหภูมิ  $17 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 85–90% RH

### 3. การวัดและการตรวจสอบคุณภาพของผลสลาลี

ทำการวัดและตรวจสอบคุณภาพของผลเมื่อเริ่มต้น (วันที่ 0) ของการทดลอง และ ในระหว่างการเก็บรักษาทุก ๆ 5 วัน โดยใช้ผลสลาลี Treatment ละ 6 ซ้ำๆ ละ 1 ผล โดย ตรวจสอบคุณภาพของผลในด้านต่างๆ ดังนี้

### 3.1 การวิเคราะห์ทางด้านกายภาพ

3.1.1 วัดการเปลี่ยนแปลงสีผิว (Peel color) โดยใช้ Hunter's Colorimeter ("L" "a" and "b") วัดที่บริเวณผิวตรงกลางของผลสาลี่ 2 แห่งตรงข้ามกัน

3.1.2 วัดความแน่นเนื้อ (Firmness) โดยใช้ Firmness tester แบบ Metex Hunter Spring Model LKG-10 USA ใช้หัวเจาะขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.72 cm ใช้มีดปอกเปลือกของผลสาลี่ บริเวณกลางผล 2 แห่ง ตรงข้ามกัน แล้วใช้หัวเจาะแทงเข้าไปในเนื้อของผล ความลึกเท่ากันทั้ง 2 ด้าน อ่านค่าที่ได้แล้วเปลี่ยนหน่วยเป็นหน่วยสากล  $\text{kg/cm}^2$  ตามสูตร

$$\text{ค่าความแน่นเนื้อ} = \frac{\text{ค่าที่ได้จากการอ่าน}}{\text{พื้นที่ของหัวเจาะ}}$$

### 3.2 การวิเคราะห์ทางด้านชีวเคมี

3.2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total soluble solids , TSS) โดยการนำเนื้อของผลสาลี่มาปั่นด้วยเครื่องปั่นผลไม้ แล้วคั้นน้ำกรองด้วยผ้าขาวบาง นำน้ำคั้นส่วนหนึ่งมาวัดด้วย Hand refractometer อ่านค่าที่ได้มีหน่วยเป็น % Brix น้ำคั้นส่วนที่เหลือนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดมาลิก

3.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดมาลิก (% malic acid) ใช้ น้ำคั้นของผลสาลี่ 5 ml ใส่ใน flask ขนาด 125 ml เติมน้ำกลั่น 10 ml หยด phenolphthaline 1 % 2-3 หยด เพื่อเป็น indicator ทำการ titrate กับสารละลาย NaOH 0.1 N จนถึง end point จะได้สารละลายสีชมพูอ่อน นำค่าปริมาตร NaOH ที่ใช้ไปในการ titrate มาคำนวณหา % malic acid จากสูตร

$$\% \text{ malic acid} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times \text{meq.malic acid} \times 100}{\text{...}}$$

### V. Sample

เมื่อ ml NaOH = ปริมาตรของสารละลาย NaOH ที่ใช้ titrate คิดเป็น ml

N NaOH = ความเข้มข้นของสารละลาย NaOH ที่ใช้ titrate = 0.1 N

meq.malic acid = milliequivalent ของ malic acid = 0.067

V. Sample = ปริมาตรน้ำคั้นที่ใช้ titrate = 5 ml

3.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณ เอทานอล (Ethanol) ทำการทดลอง treatment ละ 3 ซ้ำ โดยการนำเอาเนื้อสาลี 20 กรัม ทิ้งเป็นชิ้นเล็กๆ เติมน้ำกลั่น 20 ml นั้นให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่นผลไม้ จากนั้นนำใส่ขวดปิดจุกให้แน่น (เตรียมที่อุณหภูมิ 6-10 °C) นำขวดใส่ใน water bath อุณหภูมิ 35-40 °C ประมาณ 15 นาที แล้วใช้เข็มฉีดยาดูดก๊าซภายในขวด 1 cm<sup>3</sup> ไปฉีดเข้าเครื่อง GC (Gas Chromatography) แบบ FID (Flame Ionization Detector) โดยใช้ N<sub>2</sub> เป็น Carrier gas มี Flow rate 60 cm<sup>3</sup>/min ใช้ H<sub>2</sub> เป็นตัวจุด Flame และมีสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ Oven temperature 60 °C injection temperature 90 °C ใช้ Column ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 3 mm ยาว 2 เมตร เป็น Stainless Column ที่บรรจุ 3%PEG-20M(Carbowax) on Chromosorb WAWDMCS ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80-100 Mesh

3.2.4 การประเมินคุณภาพผลโดยการชิมรส (Test panel) ทำการประเมินโดยใช้ผู้ชิม 5 คน เป็นผู้ประเมินโดยชิมเนื้อสาลี แล้วให้คะแนนคุณภาพผลแต่ละด้านตามเกณฑ์การให้คะแนนจากตารางที่ 6 (ทำการทดลองในปี 2535 เท่านั้น เนื่องจากปี 2534 ผลสาลีในกลุ่มที่เคลือบไซ และหุ้มฟิล์มพลาสติกเกิดอาการเสียหายทางสรีรวิทยา )

#### 4. การวิเคราะห์หาปริมาณก๊าซ

แต่ละ Treatment ใช้ผลสาลี 3 ซ้ำๆ ละ 1 ผล ทำการวิเคราะห์หาปริมาณก๊าซ O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> และ C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> เมื่อเริ่มทดลอง (วันที่ 0) และทุกๆ 5 วันในระหว่างการเก็บรักษา ด้วยเครื่อง GC วิเคราะห์ O<sub>2</sub> และ CO<sub>2</sub> ด้วยเครื่อง GC แบบ TCD (Thermal Conductivity Detector) โดยมี He เป็น Carrier gas มี flow rate 50 cm<sup>3</sup>/min และสภาวะที่ใช้ใน

การวิเคราะห์คือ Oven temperature  $50^{\circ}\text{C}$ , injection temperature  $80^{\circ}\text{C}$  TCD temperature ใน detector  $100^{\circ}\text{C}$  กระแสไฟฟ้าที่ไหลเข้าวงจร (current bridge) 150 มิลลิแอมแปร์  $\text{O}_2$  ใช้ column ที่ภายในบรรจุ Molecular sieve 5 A ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 50-80 mesh ยาว 1.5 m และ  $\text{CO}_2$  ใช้ column ที่ภายในบรรจุ Porapak R ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80-100 mesh ยาว 1.5 m และวิเคราะห์ปริมาณก๊าซ  $\text{C}_2\text{H}_4$  ด้วยเครื่อง GC แบบ FID โดยใช้  $\text{N}_2$  เป็น carrier gas มี flow rate  $60 \text{ cm}^3/\text{min}$  ใช้  $\text{H}_2$  เป็นตัวจุด flame และมีสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ Oven temperature  $60^{\circ}\text{C}$ , injection temperature  $90^{\circ}\text{C}$  ใช้ column ที่ภายในบรรจุ Activated alumina ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80-100 mesh ยาว 1.5 m

ใช้ Standard gases เพื่อ บ่งชี้ตำแหน่งของ peak ที่เกิดขึ้น ดังนี้

$[\text{CO}_2] = 1.4556 \%$  Retention time = 1.3 นาที

$[\text{O}_2] = 6.1208 \%$  Retention time = 0.3 นาที

$[\text{C}_2\text{H}_4] = 1.1638 \%$  Retention time = 1.3 นาที

4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณก๊าซภายในผล (Internal gases) โดยการดูดก๊าซออกจากผลโดยใช้ Vacuum desiccator jar เติมน้ำให้เต็มขวดโหลแก้วแล้วดูดก๊าซในน้ำออกให้หมดโดยใช้ Vacuum pumpe นานประมาณ 10-15 นาที แล้วจึงนำกรวยแก้วปลายปิดด้วย rubber septum วางคว่ำลงไปในขวดโหลแก้วโดยครอบผลสำลีเอาไว้ จากนั้นใช้ Vacuum pumpe ดูดก๊าซออกจากผลสำลีแล้วเปิดฝาขวดโหลแก้วออก ใช้เข็มฉีดยาดูดก๊าซในกรวยแก้วที่ครอบผลสำลีไว้  $1 \text{ cm}^3$  ตรงบริเวณ rubber septum นำไปฉีดเข้าเครื่อง GC แบบ TCD เพื่อวัดปริมาณก๊าซ  $\text{O}_2$  และ  $\text{CO}_2$  และใช้ปริมาตรก๊าซ  $2 \text{ cm}^3$  ฉีดเข้าเครื่อง GC แบบ FID เพื่อวัดปริมาณก๊าซ  $\text{C}_2\text{H}_4$

4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณก๊าซภายใต้การหุ้มฟิล์มพลาสติก PVC (Head space gases) ทำการวิเคราะห์ในชุดทดลองที่มีการหุ้ม PVC แบบ Over-wrapped package และในชุดที่ เคลือบ Wax ร่วมกับการหุ้ม PVC แบบ Over-wrapped package ทำการวิเคราะห์ treatment ละ 3 package โดยใช้หลอดวิเคราะห์ก๊าซภายใน Package แล้วฉีดเข้าเครื่อง GC แบบ FID เพื่อวัดปริมาณก๊าซ  $C_2H_4$ ,  $O_2$  และ  $CO_2$  เช่นเดียวกับในข้อ 4.1

5. การวัดอัตราการหายใจของผลสาส์น ทำการวัดอัตราการหายใจของผลสาส์นในระบบไหล (Flow system) โดยใช้ไหลที่มีท่ออากาศไหลผ่านเข้าออกตลอดเวลาในอัตราที่สม่ำเสมอโดยการควบคุมของท่อขนาดเล็ก (Capillary tubing) ทำการทดลองที่อุณหภูมิห้อง ( $25-31^{\circ}C, 70-75\% RH$ ) และที่อุณหภูมิ  $17^{\circ}C, 85-90\% RH$  ทั้งสองอุณหภูมิทดลอง 5 ซ้ำซ้ำละ 1 ผล โดยนำผลสาส์นไปซึ่งน้ำหนักจากนั้นใส่ในไหลที่เตรียมไว้ แล้วดูดเอาก๊าซที่ผ่านออกมาทางท่ออีกข้างไปวัดปริมาณของ  $CO_2$  และ  $C_2H_4$  ที่ผลิตได้จากผลสาส์นโดยใช้เครื่อง GC ซึ่งค่าที่อ่านได้จะเป็น  $\%CO_2$  และ ppm  $C_2H_4$  แต่สำหรับอัตราการหายใจจะมีหน่วยเป็นปริมาตรหรือน้ำหนักของก๊าซที่ออกมา ต่อหนึ่งหน่วยกิโลกรัมน้ำหนักสดของผลผลิต ต่อชั่วโมงซึ่งสามารถ คำนวณได้จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\text{อัตราการหายใจ} = \frac{CO_2 (\%) \times \text{Flow rate (ml/hr)}}{100 \times \text{น้ำหนักผลผลิต (kg)}} \quad (\text{ml } CO_2 / \text{kg} \cdot \text{hr})$$

$$\text{หรือ อัตราการหายใจ} = \frac{CO_2 (\%) \times \text{Flow rate (ml/hr)} \times MW \times 273 \times p}{100 \times \text{น้ำหนักผลผลิต (kg)} \times 22.4 \times (273+T) \times 760} \quad (\text{mg } CO_2 / \text{kg} \cdot \text{hr})$$

โดยที่

MW = น้ำหนักโมเลกุลของก๊าซ ( $\text{CO}_2 = 44$ )

T = อุณหภูมิที่วัด ( $^{\circ}\text{C}$ )

P = ความดัน ณ สถานที่วัด (เชียงใหม่ = 740 มิลลิเมตรของปรอท)

$\text{CO}_2$  =  $\text{CO}_2$  ที่อ่านได้จาก GC -  $\text{CO}_2$  ของอากาศ (%)

Flow rate = อัตราการไหลของอากาศเข้าออกจากโหล (ml /hr)

อัตราการผลิตเอทิลีน ( $\mu\text{l C}_2\text{H}_4/\text{kg}\cdot\text{hr}$ ) =  $\text{C}_2\text{H}_4$  (ppm) x  $\frac{\text{Flow rate (l/hr)}}{\text{น้ำหนักผลผลิต (kg)}}$

โดยที่

$\text{C}_2\text{H}_4$  =  $\text{C}_2\text{H}_4$  ที่อ่านได้จาก GC -  $\text{C}_2\text{H}_4$  ของอากาศ (ppm)

Flow rate = อัตราการไหลของอากาศเข้าออกจากโหล (l/hr)

#### 6. การวิเคราะห์ความผิดปกติทางสรีระของผลสาส์ที่เกิดขึ้นระหว่างการเก็บรักษา

ทำการวิเคราะห์ทุกๆ 5 วัน ของการเก็บรักษาก่อนที่จะนำเนื้อสาส์ไปวิเคราะห์ทางชีวเคมี โดยการนำผลสาส์มาผ่า บริเวณกลางผล และรอบๆ ชั่ว สังเกตอาการที่พบและนับจำนวนผลที่พบในการวิเคราะห์แต่ละครั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

ตาราง 6 แสดงเกณฑ์การประเมินคุณภาพผลสาลีโดยการชิมรส

สาลีพันธุ์.....วันที่.....ครั้งที่.....

อายุผล.....Treatment.....ผู้ชิม.....

ผลที่	1	2	3	4	5	6	X
รส							
กลิ่น							
ความฝาด							
ความฉ่ำน้ำ							
ลักษณะเนื้อ							
การมีกาก							
*การยอมรับ							

หมายเหตุ

รส	ความฝาด	ลักษณะเนื้อ	การยอมรับ
1. จืด	1. ฝาดมากที่สุด	1. เหนียว	1. ไม่ชอบมากที่สุด
2. เปรี้ยว	2. ฝาดมาก	2. นุ่ม	2. ไม่ชอบมาก
3. หวานอมเปรี้ยว	3. ฝาดปานกลาง	3. นุ่มแต่แน่น	3. ไม่ชอบปานกลาง
4. หวานน้อย	4. ฝาดน้อย	4. กรอบน้อย	4. ไม่ชอบเล็กน้อย
5. หวานมาก	5. ไม่ฝาด	5. กรอบมาก	5. เฉยๆ
กลิ่น	ความฉ่ำน้ำ	การมีกาก	
1. กลิ่นสาลีดิบ	1. ไม่ฉ่ำ	1. มีกากมากที่สุด	6. ชอบเล็กน้อย
2. กลิ่นสุกอ่อน	2. ฉ่ำน้อย	2. มีกากมาก	7. ชอบปานกลาง
3. กลิ่นสุกปานกลาง	3. ฉ่ำปานกลาง	3. มีกากปานกลาง	8. ชอบมาก
4. กลิ่นสุกมาก	4. ฉ่ำมาก	4. มีกากน้อย	9. ชอบมากที่สุด
5. กลิ่นสุกจัด	5. ฉ่ำมากที่สุด	5. ไม่มีกาก	