บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้วต่างๆ
2. เขียงและมีดหั่นผลไม้
3. หลอดหยด
4. ปิเปต
5. กล่องกระดาษบรรจุผลลำไย

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่งน้ำหนักแบบละเอียด (analytical balance) รุ่น PG503-S ของ Mettler Toledo (Switzerland)
2. เครื่องเหวี่ยงตกตะกอนความเร็วสูง (high speed centrifuge) รุ่น Z383K Hermle (Germany)
3. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงชนิดที่มองเห็น (visible spectrophotometer) รุ่น Themo Spectronic (USA)
4. เครื่องผสมสาร (rotamixer) ของ Kika Work (Asia) Sdn. Bhd. (Malaysia)
5. เครื่องวัดสี (chromameter) รุ่น Mini Scan XE Plus ของ Hunter Lab (Germany)
6. เครื่องวัดอุณหภูมิ (digital probe thermometer) ของ Einstich Thermometer (Germany)
7. เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter) รุ่น 320 ของ Mettler Toledo (Switzerland)

สารเคมี

1. สารเคมีที่ใช้ในการแช่ผล
   - 1.1 โซเดียมคลอไรต์ ($NaClO_2$) ของบริษัท Ajax Finechem (Australia)
   - 1.2 กรดแอสคอร์บิก ($C_6H_8O_6$) ของบริษัท Ajax Finechem (Australia)
   - 1.3 กรดซิตริก ($C_6H_8O_7$) ของบริษัท Ajax Finechem (Australia)

2. สารเคมีที่ใช้ในการสกัดและวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD
   - 2.1 กรดอะซิตริก ($C_2H_4O_2$) ของบริษัท Merck (Germany)
   - 2.2 โบวีนซีรัมอัลบูมิน (bovine serum albumin; BSA) ของบริษัท Serva (USA)

2.3 แคติคอล (catechol) ของบริษัท Fluka (USA)

2.4 คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot H_2O$) ของบริษัท Ajax Finechem (Australia)

2.5 ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) ของบริษัท Merck (Germany)

2.6 ฟอลินซิโอแคลตูรีเอเจนต (Folin – Ciocalteu reagent) ของบริษัท Merck (Germany)

2.7 กัวอะคอล (guaiacol) ของบริษัท Fluka (USA)

2.8 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ของบริษัท Carlo Erba Reagent (Italy)

2.9 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) ของบริษัท Merck (Germany)

2.10 โพลีไวนิลโพลีไพโรลิโดน (polyvinylpolypyrrolidone; PVPP) ของบริษัท Sigma Aldrich (USA)

2.11 โซเดียมอะซิเตต ($C_2H_3O_2Na \cdot 3H_2O$) ของบริษัท Merck (Germany)

2.12 โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ของบริษัท Merck (Germany)

2.13 โพแทสเซียมทาร์เทรต ($COOK(CHOH)_2COOK \cdot 1/2H_2O$) ของบริษัท Carlo Erba Reagent (Italy)

2.14 โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ของบริษัท Merck (Germany)

2.15 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ของบริษัท Merck (Germany)

3. สารเคมีที่ใช้ในการสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด

3.1 เอทานอล (C_2H_5OH) ของบริษัท Lab-Scan (Thailand)

3.2 ฟอลินซิโอแคลตูรีเอเจนต (Folin – Ciocalteu reagent) ของบริษัท Merck (Germany)

3.3 โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ของบริษัท Merck (Germany)

พืชทดลอง

ผลลำไยพันธุ์ดอจากสวนของเกษตรกร ในจังหวัดลำพูนและเชียงใหม่

วิธีการดำเนินการวิจัย

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการควบคุมการเกิดสีน้ำตาล กิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอในระหว่างการเก็บรักษา

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกหรือกรดซิตริกต่อการควบคุมการเกิดสีน้ำตาล กิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอในระหว่างการเก็บรักษา

การวางแผนการทดลองและการประเมินวิเคราะห์ผล

วางแผนการทดลองทั้ง 2 การทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Statistical Packages for the Social Science) โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Analysis of Variance: ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแต่ละครั้งด้วย LSD (Least Significant Difference)

การเตรียมตัวอย่างพืช

เก็บเกี่ยวผลลำไยพันธุ์ดอที่เจริญเติบโตเต็มที่อายุประมาณ 180 วันหลังดอกบานจากสวนของเกษตรกรในจังหวัดลำพูนและเชียงใหม่ บรรจุลงในกล่องกระดาษแล้วขนส่งทางรถยนต์มายังห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวและสรีรวิทยาของพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ภายในเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำผลมาตัดก้านผลที่ยาวให้เหลือก้านบริเวณเหนือขั้วผลประมาณ 0.5 เซนติเมตร แล้วคัดเลือกผลที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ไม่มีรอยการเข้าทำลายของโรคและแมลงเพื่อใช้ในการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการควบคุมการเกิดสีน้ำตาล กิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอในระหว่างการเก็บรักษา

โดยการนำผลลำไยที่เตรียมไว้ข้างต้นมาแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 5 ระดับความเข้มข้น (0.001-0.05%) และแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อระดับการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอ

โดยการนำผลที่เตรียมไว้มาแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 5 ระดับความเข้มข้น (0.001-0.05%) ความเข้มข้นละ 120 ผล เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 5 ชุดการทดลองดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 น้ำกลั่น (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.001%

ชุดการทดลองที่ 3 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.005%

ชุดการทดลองที่ 4 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.01%

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ชุดการทดลองที่ 5 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.05%

ภายหลังการแช่ในแต่ละชุดการทดลอง นำผลมาผึ่งให้แห้ง แล้วบรรจุลงในกล่องกระดาษขนาดกว้าง 17 เซนติเมตร ยาว 25 เซนติเมตร สูง 9 เซนติเมตร จากนั้นนำไปเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 25 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 80±5% เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการบันทึกผลและบันทึกภาพในชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 48 และ 72 ในเรื่องต่อไปนี้

ดัชนีการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผล

ทำการวัดดัชนีการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลด้วยการประเมินด้วยสายตา โดยดัดแปลงจากวิธี Jiang and Li (2001) โดยกำหนดคะแนนเป็น 5 ระดับคะแนน ดังนี้

คะแนน 1 = เปลือกผลไม่เกิดสีน้ำตาล

คะแนน 2 = เปลือกผลเกิดสีน้ำตาลเล็กน้อย

คะแนน 3 = เกิดสีน้ำตาลน้อยกว่า 25% ของพื้นที่เปลือกผลทั้งหมด

คะแนน 4 = เกิดสีน้ำตาลตั้งแต่ 25-50% ของพื้นที่เปลือกผลทั้งหมด

คะแนน 5 = เกิดสีน้ำตาลมากกว่า 50% ของพื้นที่เปลือกผลทั้งหมด

$$\text{ดัชนีการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผล} = \frac{\text{ผลรวมระดับคะแนนของแต่ละผล}}{\text{จำนวนผลทั้งหมด}}$$

สีของเปลือกผล

ทำการวัดสีของเปลือกผลโดยใช้เครื่องวัดสี (chromameter) โดยวัดบริเวณแก้มผล 2 ข้าง รวม 20 ซ้ำต่อชุดการทดลอง ค่าที่ได้แสดงในรูปของค่า L* และ b* โดย

L* value (The lightness factor value) เป็นค่าแสดงถึงความสว่างของเปลือกผล ถ้าค่า L* เข้าใกล้ 0 หมายถึง เปลือกผลมีสีคล้ำมาก ถ้าค่า L* เข้าใกล้ 100 หมายถึง เปลือกผลมีความสว่าง ถ้าค่า L* เท่ากับ 100 หมายถึง เปลือกผลมีสีขาว

b* value (The chromaticity coordinates (chroma)) เป็นค่าแสดงถึงความมีสีเหลืองและสีน้ำเงินของเปลือกผล ถ้าค่า b* เป็นบวก หมายถึง เปลือกผลมีสีเหลือง ถ้าค่า b* เป็นลบ หมายถึง เปลือกผลมีสีน้ำเงิน โดยค่า b* มีค่า -60 ถึง +60 และค่า b* หากมีค่าเป็น 0 หมายถึงเปลือกผลมีสีเทา

คุณภาพในการบริโภคของผล

ทำการประเมินคุณภาพการบริโภคในชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 48 และ 72 โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 5 คน ประเมินคุณภาพตามแบบประเมิน โดยเป็นการประเมินตามลักษณะคำถามคือ แบบ profile test (quality scoring test) หมายถึง การทดสอบคุณภาพผลเพื่อให้ทราบถึงระดับความเข้มข้นของคุณลักษณะพิเศษต่างๆ (อติณัฐ, 2550) โดยการกำหนดระดับคะแนนต่างๆ มีรายละเอียด ดังนี้

1. การประเมินคุณภาพด้านกลิ่น

ระดับคะแนน	คุณภาพกลิ่น
1	กลิ่นผิดปกติ กลิ่นไม่พึงประสงค์
2	ไม่มีกลิ่นของลำไย
3	มีกลิ่นปกติ (กลิ่นลำไยสด) ไม่มีกลิ่นแปลกปลอมไม่พึงประสงค์

2. การประเมินคุณภาพด้านรสชาติ

ระดับคะแนน	คุณภาพรสชาติ
1	รสชาติผิดปกติมาก
2	มีรสชาติผิดปกติเล็กน้อย
3	มีรสชาติปกติ

3. ลักษณะเนื้อผล

ระดับคะแนน	คุณภาพลักษณะเนื้อผล
1	เนื้อผลย่นมาก
2	เนื้อผลย่นเล็กน้อย
3	เนื้อผลปกติไม่ย่น

4. ความแน่นเนื้อของเนื้อผล

ระดับคะแนน	คุณภาพความแน่นเนื้อ
1	ผลนิ่มเละ
2	ผลนิ่มเล็กน้อย
3	ผลมีความแน่นเนื้อปกติ

5. การยอมรับคุณภาพโดยรวม

ระดับคะแนน	การยอมรับ
1	ไม่ชอบ
2	ชอบปานกลาง
3	ชอบมาก

ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ของสารละลายของเปลือกผล

วัดค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ของสารละลายที่สกัดจากเปลือกผลภายหลังการแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เป็นเวลา 10 นาที โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Underhill and Critchley (1993) ที่นำเปลือกผลที่หั่นละเอียดหนัก 4 กรัม บดกับน้ำกลั่นปริมาตร 40 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 นาที แล้ววัดค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ของสารละลายที่สกัดได้ด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH – meter)

ตอนที่ 2 ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอ

โดยการนำผลที่เตรียมไว้มาแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 5 ระดับความเข้มข้น (0.001-0.05%) ความเข้มข้นละ 120 ผล เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 80±5% เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ตอนที่ 1 จากนั้นวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของเปลือกผล ณ เวลาเดียวกับการทดลองที่ 1 ตอนที่ 1 ในเรื่องต่อไปนี้

กิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase; PPO) และเปอร์ออกซิเดส (peroxidase; POD)

การสกัดเอนไซม์ (enzyme extraction) วิธีการสกัดเอนไซม์ทั้งสองชนิดดัดแปลงมาจากวิธีการของ Houng *et al.* (1990) ทำการสกัดภายใต้อุณหภูมิ 4 °ซ โดยนำเปลือกผลใส่ในโกร่งบดแช่เย็นที่มีสารละลายสกัด (extraction solution) ในอัตราส่วนน้ำหนักของเปลือกผลต่อปริมาตรสารละลายสกัดเท่ากับ 1:10 ซึ่งสารละลายสกัดประกอบด้วยสารละลาย 0.05 M โพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (potassium phosphate buffer) (pH 6.2), 1 M โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) และ 2% โพลีไวนิลโพลีไพโรลิโดน (PVPP) เมื่อบดเข้ากันดีแล้วนำไปเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงตกตะกอนความเร็ว 13,500 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °ซ และนำเฉพาะของเหลวไปเหวี่ยงตกตะกอนด้วยความเร็ว 13,500 รอบต่อนาที นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °ซ จากนั้นนำเฉพาะของเหลวส่วนใส (supernatant) ซึ่งเป็นสารสกัดหยาบเอนไซม์ (crude enzyme) ไปใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD

การวิเคราะห์เอนไซม์ PPO (PPO activity assay) ดัดแปลงจากวิธีการของ Jiang and Fu (1998) โดยการเตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์ (assay mixture) ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วย 0.05 M โพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (potassium phosphate buffer) (pH 7.5) และ 0.20 M แคติคอล (catechol) 0.20 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารสกัดหยาบเอนไซม์ (crude enzyme) ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบที่มีสารวิเคราะห์ดังกล่าวผสมให้เข้ากันนาน 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (visible spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

การวิเคราะห์เอนไซม์ POD (POD activity assay) ดัดแปลงจากวิธีการของ Nagle and Haard (1975) โดยการเตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์ (assay mixture) ปริมาตร 2.50 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วย 0.01 M โซเดียมอะซิเทตบัฟเฟอร์ (sodium acetate buffer) (pH 6.0), กัวอะคอล (guaiacol) 0.05 มิลลิลิตร และ 0.10% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 0.10 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารสกัดหยาบเอนไซม์ (crude enzyme) ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบที่มีสารวิเคราะห์

ดังกล่าว ผสมให้เข้ากันนาน 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมด ดัดแปลงจากวิธีการของ Lowry *et al.* (1951) โดยนำสารสกัดหยาบเอนไซม์ (crude enzyme) ที่เจือจางลง 10 เท่า ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร เติมลงในหลอดทดสอบที่มีสารละลายอัลคาไลน์คอปเปอร์ (alkaline copper solution) (สารละลายนี้ประกอบด้วย 4% โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3): 0.20 N โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH): 1% คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot H_2O$): 2% โพแทสเซียมทาร์เทรต ($COOK(CHOH)_2COOK \cdot 1/2H_2O$) ในอัตราส่วน 5: 5: 0.1: 0.1) ปริมาตร 2.50 มิลลิลิตร วางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติม 50% ฟอลินซิโอแคลตูธีเอเจนต์ (Folin – Ciocalteu reagent) ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบดังกล่าว ผสมให้เข้ากันแล้ววางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร โดยปริมาณโปรตีนที่เทียบกับกราฟโปรตีนมาตรฐาน (ภาคผนวกภาพ 1) มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อน้ำหนักเปลือกผลสด ตามสูตรคำนวณดังนี้

ปริมาณโปรตีน (mg/g fresh weight) = 12.5y

กำหนดให้ Y = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

กิจกรรมของเอนไซม์ 1 หน่วย (unit) มีค่าเท่ากับปริมาณเอนไซม์ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสารตั้งต้นให้เป็นผลิตภัณฑ์ โดยทำให้มีค่าดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้น 0.01 หน่วยต่อนาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (total phenolic compounds) ของเปลือกผล

ทำการสกัดหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดตามวิธีการของ Ketsa and Atantee (1998) โดยนำเปลือกผลที่หั่นละเอียดหนัก 2 กรัม ใส่ในโกร่งบดที่แช่เย็น เติม 80% เอทานอล (C_2H_5OH) ที่เย็นลงไป 20 มิลลิลิตร บดให้เข้ากันแล้วนำไปเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงตกตะกอนความเร็ว 12,000 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 4 °ซ หลังจากนั้นนำเฉพาะส่วนที่เป็นของเหลวใสมาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด ดัดแปลงจากวิธีการของ Singleton and Rossi (1965) โดยนำสารละลายใสที่สกัดได้ข้างต้นมาเจือจาง 10 เท่า ปริมาตร 2 มิลลิลิตร มาใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลาย 10% ฟอลินซิโอแคลตูรีเอเจนต์ (Folin – Ciocalteu reagent) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 8 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลาย 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 756

นาโนเมตร โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวกภาพ 2) มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเปลือกผลสด ตามสูตรคำนวณดังนี้

ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (mg/100g fresh weight) = 2000Y

กำหนดให้ Y = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกหรือกรดซิตริกต่อการควบคุมการเกิดสีน้ำตาล กิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอในระหว่างการเก็บรักษา

ทำการคัดเลือกผลที่เจริญเต็มที่และสมบูรณ์เช่นเดียวกับในการทดลองที่ 1 แล้วนำระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ดีที่สุดของการทดลองที่ 1 มาใช้ร่วมกับกรดอินทรีย์สองชนิด คือกรดแอสคอร์บิกหรือกรดซิตริก และแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกหรือกรดซิตริกต่อระดับการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอ

โดยการนำผลที่เตรียมไว้มาแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.01% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก 3 ระดับความเข้มข้น (1.25-5%) หรือกรดซิตริก 3 ระดับความเข้มข้น (1.25-5%) ความเข้มข้นละ 120 ผล เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 8 ชุดการทดลองดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 น้ำกลั่น (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.01%

ชุดการทดลองที่ 3 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.01% ร่วมกับ กรดแอสคอร์บิก 1.25%

ชุดการทดลองที่ 4 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.01% ร่วมกับ กรดแอสคอร์บิก 2.5%

ชุดการทดลองที่ 5 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.01% ร่วมกับ กรดแอสคอร์บิก 5%

ชุดการทดลองที่ 6 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.01% ร่วมกับ กรดซิตริก 1.25%

ชุดการทดลองที่ 7 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.01% ร่วมกับ กรดซิตริก 2.5%

ชุดการทดลองที่ 8 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.01% ร่วมกับ กรดซิตริก 5%

ภายหลังการแช่ในสารละลายแต่ละชุดการทดลอง นำผลมาผึ่งให้แห้งแล้วบรรจุลงในกล่องกระดาษ จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 80±5% เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการบันทึกผลและบันทึกภาพในชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 48 และ 72 ในเรื่องดัชนีการเกิดสีน้ำตาล คุณภาพในการบริโภค และความเป็นกรด-เบส (pH) ของสารละลายของเปลือกผล

ตอนที่ 2 ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกหรือกรดซิตริกต่อการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอ

โดยการนำผลที่เตรียมไว้มาแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.01 % ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก 3 ระดับความเข้มข้น (1.25-5%) หรือกรดซิตริก 3 ระดับความเข้มข้น (1.25-5%) ความเข้มข้นละ 120 ผล เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 80±5% เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 ตอนที่ 1 จากนั้นวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของเปลือกผล ณ เวลาเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 ตอนที่ 1 ในเรื่องการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD และปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของเปลือกผล

สถานที่ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวและสรีรวิทยาของพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย

ตั้งแต่เดือน กรกฎาคม 2552 ถึง มีนาคม 2553