บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์

3.1.1.1 มะยงชิดพันธุ์ทูลเกล้า จากสวนในจังหวัดนครนายก (ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยว วันที่ 62 – 73 วัน หลังจากวันดอกบาน, เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2556 - เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2557)

3.1.1.2 penetrometer (Cat.Nos. 510 – 5 (FHR-5) and 510 – 5 (FHR-1)

3.1.1.3 auto pipette (Titration Excellence T50, Switzerland)

3.1.1.4 digital hand refractometer (model ATAGO PR 110r)

3.1.1.5 เครื่องชั่งน้ำหนักแบบดิจิตอล 4 ตำแหน่ง (Denver instrument TB-214)

3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 sodium hydroxide (NaOH) (AR grade, Merck)

3.1.2.2 Phenoptaline

3.1.3 การวัดสเปกตรัม

3.1.3.1 เครื่อง short wavelenght near infrared spectroscopy (SW - NIRS) (PureSpect, Saika TIF., Japan)

3.1.3.2 โปรแกรม Unscrambler® version 9.7 (Camo,Oslo, Norway)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การกำหนดการเก็บเกี่ยวมะยงชิดพันธุ์ทูลเกล้าเพื่อนำมาใช้ทดลอง

กำหนดการเก็บเกี่ยวการติดป้ายระบุวัน โดยเขียนวันที่หลังวันดอกบานแล้วผูกติดกับช่อดอก นับวันที่ผูกป้ายระบุวันจนถึงวันเก็บเกี่ยวที่นำมาทดลอง คือ 62 - 73 วัน

3.2.2 การทดลองเพื่อทำนายคุณภาพภายในของมะยงชิดพันธุ์ทูลเกล้า

3.2.2.1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเตรียมโดยการเก็บผลมะยงชิดในเวลาเช้า โดยการเลือกเก็บผลที่มีลักษณะผลเป็นลูกไข่สมบูรณ์ ผิวเปลือกไม่มีรอยของแมลงวันทองวางไข่และไม่มีรอยปริแตก เก็บผลมะยงชิดประมาณวันละ 15 – 20 ผล หลังการเก็บเกี่ยวนำไปไว้ในภาชนะที่เป็นตะกร้าที่ห่อด้วยโฟมกันกระแทก ทำการขนส่งโดยรถยนต์เวลาในการเดินทางประมาณ 3 ชั่วโมง มายังห้องปฏิบัติการสถาบันค้นคว้าและพัฒนาการผลผลิตทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร ทำการชั่งน้ำหนักเลือกผลที่มีน้ำหนักใกล้เคียงกัน

3.2.2.2 การวัดด้วย SW-NIR spectrophotometer นำมะยงชิดแต่ละผลมาทำการวัดการดูดกลืนพลังงานด้วยเครื่อง SW-NIR spectrophotometer, transmittance mode ช่วงความยาวคลื่น 655 - 955 นาโนเมตร โดยการวัดระบุตำแหน่งเป็น 4 ด้าน โดยให้ห่างกันทำมุม 90 องศา โดยรอบของผลมะยงชิด จะทำการวัดช่วงบริเวณกลางผลของแต่ละผล และวัดค่าความแน่นเนื้อ (สังคม, 2536) ของผลมะยงชิดตรงจุดเดียวกับจุดที่ทำการสแกน โดยใช้ penetrometer

3.2.2.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์ค่าทางเคมีนำมะยงชิดที่ผ่านการวัดการดูดกลืนพลังงานด้วยเครื่อง SW-NIR spectrophotometer, transmittance mode ช่วงความยาวคลื่น 655 - 955 นาโนเมตร แล้วนำมะยงชิดแต่ละผลที่วัดค่าสเปกตรัมแล้วมาตรวจสอบคุณภาพด้านเคมี คือ การวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (Salvador *et al.,* 2007) และวัดปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตรเตรทได้ (AOAC, 2000)

3.2.2.3.1 การวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด

- ปอกเปลือกมะยงชิด
- หั่นเนื้อมะยงชิด ห่อด้วยผ้าขาวบาง คั้นน้ำ
- กรองสารละลาย
- นำน้ำที่ได้มาวัดค่าบริกซ์ โดยใช้เครื่อง digital refractometer

- ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย

3.2.2.3.2 การวัดปริมาณกรดที่ไตเตรทได้

- ปอกเปลือกมะยงชิด
- หั่นเนื้อมะยงชิด ห่อด้วยผ้าขาวบาง คั้นน้ำ
- กรองสารละลาย
- นำน้ำมะยงชิดที่คั้นได้ปริมาณ 2 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำ 10 มิลลิลิตร หยดด้วยฟีนอฟทาลีน
- ทำการไตเตรท ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

คำนวณหาปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ในรูปของกรด

$$\%\text{ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (เทียบในรูปกรดซิตริก)} = \frac{\text{ปริมาตร NaOH(ml.)} \times \text{ความเข้มข้น NaOH(N)} \times 0.07 \times 100}{\text{ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง}}$$

*** ค่า equivalent wt.of acid of citric acid = 0.07

3.2.2.3.3 การวัดค่าความแน่นเนื้อ

- กำหนดจุดการสแกนโดยแบ่งเป็น 4 ด้าน แต่ละด้านทำมุม 90 องศา
- ทำการวัดโดยใช้ penetrometer แบบ manual โดยใช้หัวเจาะแบบโคน ทำการวัดจุดเดียวกันกับจุดที่ทำการสแกน
- คำนวณหาค่าความแน่นเนื้อโดยน้ำหนักแรงกด 1 กิโลกรัมแรงมีค่าเท่ากับ 9.80 N

3.2.2.4 ขั้นตอนการวิเคราะห์

3.2.2.4.1 กำหนดตัวแปรตามและตัวแปรอิสระ โดยให้ตัวแปรตาม คือ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ และปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตรเตรทได้ ส่วนตัวแปรอิสระ คือ ข้อมูลสเปกตรัม

3.2.2.4.2 แบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่มโดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มสำหรับการสร้างสมการ (calibration set) และกลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มสำหรับการทดสอบสมการ (prediction

set) โดยแต่ละกลุ่ม มีการกระจายตัวของข้อมูลเท่าๆกันโดยแบ่งเป็นกลุ่ม calibration จำนวน 70 เปอร์เซ็นต์ และแบ่งเป็นกลุ่ม prediction จำนวน 30 เปอร์เซ็นต์

3.2.2.4.3 นำข้อมูลสเปกตรัมเฉลี่ยที่ได้ของแต่ละตัวอย่างมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยการทำ pretreatment ข้อมูลสเปกตรัม ด้วยวิธีการต่างๆ และสร้างสมการในการทำนายโดยใช้วิธี partial least squares regression (PLSR) เลือกสมการที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด จากการพิจารณาที่ ค่า R (coefficient of correlation) ให้มีค่าสูงสุด, RMSECV (root mean square error of cross validation) ต้องมีค่าต่ำที่สุดและพิจารณาจาก factor ที่มีค่าต่ำสุดด้วย

3.2.2.4.4 จากข้อมูลกลุ่ม calibration เมื่อได้สมการ calibration ให้นำสมการที่ได้ไปใช้ในการทำนายคุณภาพของตัวอย่างในกลุ่ม prediction set เพื่อดูความแม่นยำของสมการโดยใช้โปรแกรม unscambler version 9.7