บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. วัสดุพันธุ์พืช

กะเพราแดง (*Ocimum sanctum* Linn.) ที่เก็บเกี่ยวในเขตพื้นที่ อ.เมือง จ.ลำพูน ในระยะความแก่ทางการค้า ขนส่งมายังงานคัดบรรจุเชียงใหม่ ศูนย์ผลิตผลโครงการหลวงด้วยรถบรรทุกธรรมดา

2. อุปกรณ์

2.1 เครื่องลดอุณหภูมิผัก hydro-vacuum cooling ของบริษัท Hussmannn ประเทศจีน

2.2 เครื่องวัดความชื้น datalogger testo รุ่น 175-H2 Vol. 10 ประเทศเยอรมันนี

2.3 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น EK-600H ของบริษัท AND Company ประเทศญี่ปุ่น ชั่งน้ำหนักสูงสุดได้ 600 กรัม และแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น HR-200 ของบริษัท AND Company ประเทศญี่ปุ่น ชั่งน้ำหนักสูงสุดได้ 210 กรัม

2.4 เครื่องปั่นผักและผลไม้ (blender) รุ่น S (648) ของบริษัท Moulinex ประเทศสเปน

2.5 เครื่องวัดอุณหภูมิภายในผักและผลไม้ รุ่น PDT 550 Digital Thermometer ของบริษัท Tequipment.NET ประเทศสหรัฐอเมริกา วัดอุณหภูมิได้ -50 ถึง 300 องศาเซลเซียส

2.6 เครื่องวัดสี (chroma meter) ตัวเครื่องรุ่น CR-300 หัววัด CR-310 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ของบริษัท Minolta ประเทศญี่ปุ่น ซึ่งวัดสีออกมาเป็นค่า L*, a* และ b* โดยมีรายละเอียดดังนี้ คือ

L* = the lightness factor (value)
- เมื่อมีค่าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมีสีขาว
- เมื่อมีค่าใกล้ 0 แสดงว่าวัตถุมีสีดำ

a*, b* = the chromaticity coordinates (hue, chroma)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- ค่า a* ที่เป็นบวก แสดงว่าวัตถุมีสีแดง และที่เป็นลบ แสดงว่าวัตถุมีสีเขียว
- ค่า b* ที่เป็นบวก แสดงว่าวัตถุมีสีเหลือง และที่เป็นลบ แสดงว่าวัตถุมีน้ำเงิน

ทั้ง a* และ b* มีค่าอยู่ระหว่าง -60 ถึง +60 หากมีค่าเป็นศูนย์ แสดงว่าวัตถุมีสีเทา คำนวณหาค่า chroma และ hue angle จากสมการ ดังนี้

chroma $= (a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$

hue angle $=$ arctangent (b*/a*) เมื่อ a* มีค่าเป็นบวก และ b* มีค่าเป็นบวก

$=$ arctangent (b*/a*) + 180° เมื่อ a* มีค่าเป็นลบ

$=$ arctangent (b*/a*) + 360° เมื่อ a* มีค่าเป็นบวก และ b* มีค่าเป็นลบ

โดยที่ค่า chroma แสดงความเข้มของสี มีค่าเข้าใกล้ 0 เมื่อวัตถุมีสีซีดจาง (เทา) และมีค่าเข้าใกล้ 60 เมื่อวัตถุมีสีเข้ม

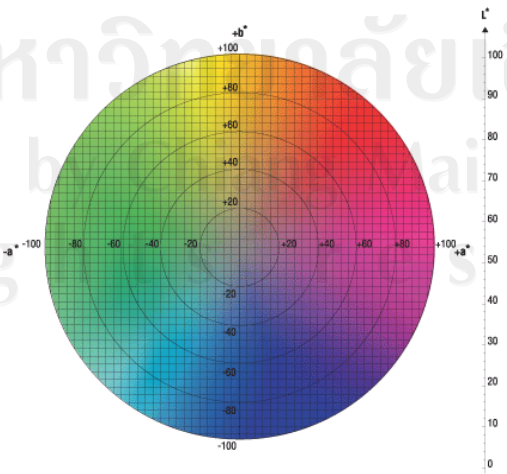
ค่า hue angle (h°) เป็นค่าที่แสดงมุมในการตกกระทบของค่า chroma ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0–360 องศา ซึ่งจะแสดงช่วงสีของวัตถุ

0-45 องศา แสดงสีม่วงแดงถึงส้มแดง 45-90 องศา แสดงสีส้มแดงถึงเหลือง

90-135 องศา แสดงสีเหลืองถึงเหลืองเขียว 135-180 องศา แสดงสีเหลืองเขียวถึงเขียว

180-225 องศา แสดงสีเขียวถึงน้ำเงินเขียว 225-270 องศา แสดงสีน้ำเงินเขียวถึงน้ำเงิน

270-315 องศา แสดงสีน้ำเงินถึงม่วง 315-360 องศา แสดงสีม่วงถึงม่วงแดง



ภาพที่ 8 แผนภาพสีแสดงค่า L*, chroma และ hue angle

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.7 เครื่องกวนสารเคมีด้วยแท่งแม่เหล็ก และให้ความร้อน รุ่น SP 18420-26 ของบริษัท Nouva II ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.8 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (digital spectrophotometer) รุ่น spectro23 ของบริษัท Labo Med ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.9 กระดาษกรอง ยี่ห้อ Whatman No.1 เส้นผ่านศูนย์กลาง 110 มิลลิเมตร ของบริษัท Whatman International ประเทศอังกฤษ

2.10 syringe nylon filter ขนาด 0.45 micron ของบริษัท Satorius AG 37070 Goettingen ประเทศเยอรมันนี

2.11 micropipette ขนาด 100-1,000 ไมโครลิตร รุ่น M20813J ของบริษัท GILSON ประเทศฝรั่งเศส และขนาด 20-200 ไมโครลิตร รุ่น Nichipet EX ของบริษัท NICHIRYO ประเทศญี่ปุ่น

2.12 ตู้เย็นอุณหภูมิ 4, 7, 10 และ 13 องศาเซลเซียส รุ่น LC203LD ของบริษัท LAW-CHAIN ประเทศไทย

2.13 กล้องถ่ายรูป รุ่น C-750 Ultra zoom ของบริษัท Olympus Optical ประเทศญี่ปุ่น

2.14 เครื่อง Gas chromatography รุ่น GC-8A ของบริษัท SHIMADZU Corporation ประเทศญี่ปุ่น โดยมีรายละเอียดดังนี้

- Detector : Thermal Conductivity Detector (TCD)
- Column : Molecular Sieve 5A 80/100 เส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ยาว 2 เมตร อุณหภูมิสูงสุด 350 องศาเซลเซียส สำหรับการวิเคราะห์แก๊สออกซิเจน และ Parapak Type N 80/100 เส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ยาว 1 เมตร อุณหภูมิสูงสุด 190 องศาเซลเซียส สำหรับการวิเคราะห์แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์
- Injection Temperature : 110 องศาเซลเซียส
- Column Temperature : 70 องศาเซลเซียส
- Carrier Gas : แก๊สฮีเลียม (helium gas) มีอัตราการไหล 25 มิลลิลิตร/นาที
- Standard Gas : แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์ และแก๊สออกซิเจน 5 เปอร์เซ็นต์ ในแก๊สไนโตรเจน

2.15 มีดทำครัว

2.16 เขียงพลาสติก

2.17 ถังน้ำพลาสติก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.18 ตะกร้าพลาสติก

2.19 เครื่องแก้ว

- บีกเกอร์ (beaker)
- ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)
- ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)
- กระบอกตวง (cylinder)
- บิวเรต (burette)
- ปิเปต (pipette)
- แท่งแก้วคนสารละลาย (stirrer)
- กรวยกรอง
- คิวเวต (cuvette)
- ช้อนตักสารเคมี
- หลอดทดลอง

3. สารเคมีและวิธีการเตรียมสารเคมี

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

- สารละลายกรดออกซาลิก (oxalic acid, UNIVAR) ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งกรดออกซาลิก 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

- สารละลาย 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล (2, 6-dichlorophenol indophenol, SIGMA) ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่ง 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล 0.4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ

- สารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน (ascorbic acid, Merck) เตรียมโดยชั่งกรดแอสคอร์บิก 0.05 กรัม ละลายในกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดออกซาลิกให้ครบ 50 มิลลิลิตร นำไปไทเทรตกับ 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ จนถึงจุดยุติ บันทึกปริมาตร 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล ที่ใช้ไปเพื่อเป็นมาตรฐานในการคำนวณหาปริมาณวิตามินซี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

- สารละลายแอซีโตน (acetone) ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยตวงแอซีโตน 100 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 800 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอล

- เอทานอลบริสุทธิ์ (absolute ethanol)

- เมทานอล (methanol) ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์

- สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) ความเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดย ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 7.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ

- สารละลายกรดแกลลิกมาตรฐาน (gallic acid solution) เตรียมโดยชั่งกรดแกลลิก 24.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

- สารละลาย DPPH (2, 2-diphenyl-2-picryhydrazyl) เตรียมโดยชั่ง DPPH 74 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอลบริสุทธิ์ ปรับปริมาตรด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ให้ครบ 200 มิลลิลิตร กรองด้วย syringe nylon filter ขนาด 0.4 micron เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ

- สารละลาย folin-ciocalteu (folin-ciocalteu's phenol, Merck)

4. สถานที่ปฏิบัติงานวิจัย

- งานคัดบรรจุเชียงใหม่ ศูนย์ผลิตผลโครงการหลวง

- ห้องปฏิบัติการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

5. วิธีการศึกษา

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศของกะเพราแดง ประกอบไปด้วยการทดลอง 3 การทดลอง โดยมีระเบียบวิจัยดังนี้

การทดลองที่ 1 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษากะเพราแดงที่ไม่ทำให้กะเพราเกิดอาการสะท้านหนาว

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยนำกะเพราแดงมาทำการตัดแต่งแล้วบรรจุลงในถาดโฟมขนาด กว้าง 15 เซนติเมตร ยาว 17.5 เซนติเมตร ให้มีน้ำหนัก 80 กรัม จากนั้นหุ้มด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

พลาสติกฟิล์มโพลีไวนิลคลอไรด์ นำกะเพราแดงไปเก็บรักษาในห้องเย็น อุณหภูมิของห้องเย็นที่ใช้เก็บรักษากะเพราแดงมี 4 อุณหภูมิ คือ 4, 7, 10 และ 13 องศาเซลเซียส สังเกตการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพ ดังต่อไปนี้

1. การสูญเสียน้ำหนักสด (Tao *et al*., 2006)

การสูญเสียน้ำหนักสดของกะเพราแดงวัดโดยใช้เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น EK-600H (บริษัท AND Company) แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{[\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา-น้ำหนักหลังการเก็บรักษา}]}{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา}} \times 100$$

2. วัดสีของผัก (McGuire, 1992)

วัดโดยใช้เครื่องวัดสี รุ่น CR-300 โดยวัดบริเวณหน้าใบ ค่าที่ได้แสดงเป็นค่า L*, a* และ b* แล้วนำมาคำนวณหาค่า chroma และ hue-angle จากสมการดังนี้ (McGuire, 1992)

$$\text{chroma} = (a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$$

$$\text{hue angle} = \text{arctangent } (b^*/a^*)$$

3. การเน่าเสีย (Thomson *et al.*, 2001)

การเน่าเสียของกะเพราแดงจะประเมินโดยใช้คุณสมบัติทางกายภาพเป็นองค์ประกอบในการตัดสินการเน่าเสียของกะเพราแดง เช่น การเปลี่ยนแปลงสี การเปลี่ยนแปลงน้ำหนัก อาการสะท้านหนาว และการแห้งหรือเหี่ยวของใบ เป็นต้น

4. อายุการเก็บรักษา (Thomson *et al.*, 2001)

อายุการเก็บรักษาของกะเพราแดงจะนับโดยการนับจำนวนวันในการเก็บรักษา โดยเริ่มจากวันแรกของการทดลอง จนกะเพราแดงเริ่มแสดงอาการเน่าเสียหรืออาการสะท้านหนาว และเกิดการแห้งหรือการเหี่ยวของใบ จะถือว่ากะเพราแดงสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 การศึกษาหาพารามิเตอร์ในการทำงานที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิกะเพราแดงด้วยระบบสุญญากาศในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด

การศึกษาหาสภาวะในการทำงานที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิกะเพราแดงด้วยระบบสุญญากาศ จะทำการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด ที่ทางมูลนิธิโครงการหลวงใช้บรรจุผลิตผลและวางจำหน่ายในปัจจุบัน คือ ถาดโฟมหุ้มด้วยพลาสติกฟิล์มโพลีไวนิลคลอไรด์ และกล่องพลาสติกโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลต (PET) โดยมีการแบ่งเป็นการทดลอง 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 2.1 การศึกษาหาพารามิเตอร์ในการทำงานที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศของกะเพราแดงที่บรรจุอยู่ในถาดโฟมหุ้มด้วยพลาสติกฟิล์มโพลีไวนิลคลอไรด์

นำกะเพราแดงมาทำการตัดแต่งแล้วบรรจุลงในถาดโฟมขนาด กว้าง 15 เซนติเมตร ยาว 17.5 เซนติเมตร ให้มีน้ำหนัก 80 กรัมต่อถาด จากนั้นหุ้มด้วยพลาสติกฟิล์มโพลีไวนิลคลอไรด์ เจาะรูพลาสติกฟิล์มด้วยเข็มเบอร์ 10 จำนวน 40 รู การเจาะรูพลาสติกฟิล์มจะช่วยให้น้ำที่ระเหยออกจากกะเพราแดงในระหว่างกระบวนการลดอุณหภูมิระเหยออกสู่ภายนอกได้เร็วยิ่งขึ้น จากนั้นทำการลดอุณหภูมิกะเพราแดงให้ได้ตามอุณหภูมิที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 โดยใช้วิธีการลดอุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 3 ซ้ำ โดยกำหนดปัจจัยสำหรับการทำงานของเครื่องลดอุณหภูมิสุญญากาศในกระบวนการลดอุณหภูมิของกะเพราแดง ดังต่อไปนี้

- กำหนดค่าความดันสุดท้ายภายในห้องลดอุณหภูมิ 2 ระดับ คือ 11 และ 12 มิลลิบาร์ เนื่องจากเป็นค่าความดันที่เหมาะสมสำหรับการลดอุณหภูมิโหระพา ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่อยู่ในตระกูลเดียวกันกับกะเพรา (ดนัย และคณะ, 2551) โดยเครื่องลดอุณหภูมิสุญญากาศมีค่าความละเอียดเท่ากับ ±0.5 มิลลิบาร์
- กำหนดเวลาที่กะเพราแดงอยู่ภายใต้ความดันที่กำหนด 3 ระดับ คือ 2, 3 และ 4 นาที โดยจะเริ่มนับเวลาตั้งแต่ความดันภายในห้องลดอุณหภูมิได้ลดลงมาจนมีค่าเท่ากับความดันสุดท้ายตามที่กำหนด และเมื่อครบตามเวลาดังกล่าวเครื่องทำการปรับความดันจนมีความดันเท่ากับความดันบรรยากาศ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในระหว่างกระบวนการลดอุณหภูมิทำการบันทึกข้อมูลต่างๆ จนสิ้นสุดกระบวนการ ดังต่อไปนี้

1. เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss percentage)
2. เวลาในการทำให้เย็น (cooling time)
3. อุณหภูมิใจกลางผักตลอดกระบวนการลดอุณหภูมิ โดยใช้ temperature sensor ที่ติดตั้งอยู่ภายในห้องลดอุณหภูมิเสียบเข้าไปตรงใจกลางของบรรจุภัณฑ์
4. ความสัมพันธ์ระหว่างความดัน และอุณหภูมิกับเวลาภายในห้องลดอุณหภูมิตั้งแต่เริ่มกระบวนการลดอุณหภูมิจนสิ้นสุดกระบวนการ โดยจะเริ่มจับเวลาของกระบวนการตั้งแต่ปิดประตูห้องลดอุณหภูมิจนสิ้นสุดกระบวนการและประตูห้องลดอุณหภูมิจะถูกเปิดออก
5. ความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ ความดันและอุณหภูมิกับเวลาภายในห้องลดอุณหภูมิจนสิ้นสุดกระบวนการ
6. พลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในกระบวนการลดอุณหภูมิ โดยดูจากมิเตอร์ไฟฟ้าที่ติดตั้งอยู่กับตัวเครื่องลดอุณหภูมิ

เกณฑ์ในการเลือกสภาวะที่เหมาะสมของการลดอุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศของกะเพราแดง คือ

1. เป็นสภาวะที่สามารถลดอุณหภูมิสุดท้ายของกะเพราแดงให้ได้ตามอุณหภูมิที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1
2. เป็นสภาวะที่ใช้ระยะเวลาในการลดอุณหภูมิสั้นที่สุด
3. เป็นสภาวะที่ใช้พลังงานในการลดอุณหภูมิน้อยที่สุด

การทดลองที่ 2.2 การศึกษาหาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศของกะเพราแดงในกล่องพลาสติกโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลต

นำกะเพราแดงที่ผ่านการตัดแต่งแล้วบรรจุลงในกล่องพลาสติกโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลต ขนาด กว้าง 9 เซนติเมตร ยาว 13 เซนติเมตร สูง 6.4 เซนติเมตร เจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร จำนวน 12 รู ด้านบนและล่างของกล่อง มีปริมาณการบรรจุ 50 กรัมต่อกล่อง จากนั้นทำการลดอุณหภูมิกะเพราแดงให้ได้ตามอุณหภูมิที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 โดยใช้วิธีการลดอุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์จำนวน 3 ซ้ำ โดยกำหนดปัจจัยสำหรับการทำงานของเครื่องในกระบวนการลดอุณหภูมิของกะเพราแดง ดังต่อไปนี้

- กำหนดค่าความดันสุดท้ายภายในห้องลดอุณหภูมิ 2 ระดับ คือ 11 และ 12 มิลลิบาร์
- กำหนดเวลาที่กะเพราแดงอยู่ภายใต้ความดันที่กำหนด 3 ระดับ คือ 1, 2 และ 3 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในระหว่างกระบวนการลดอุณหภูมิทำการบันทึกข้อมูลต่างๆ จนสิ้นสุดกระบวนการ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1

การทดลองที่ 3 เปรียบเทียบคุณภาพทางกายภาพและเคมีของกะเพราแดงหลังการลดอุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศ

ในการทดลองนี้จะศึกษาคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของกะเพราแดงที่ผ่านการลดอุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศ โดยมีการแบ่งเป็นการทดลองย่อย 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 3.1 ศึกษาคุณภาพของกะเพราแดงที่บรรจุอยู่ในถาดโฟมหุ้มด้วยพลาสติกฟิล์มโพลีไวนิลคลอไรด์หลังการลดอุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศ

นำกะเพราแดงมาทำการตัดแต่งแล้วบรรจุลงในถาดโฟมขนาด กว้าง 15 เซนติเมตร ยาว 17.5 เซนติเมตร ให้มีน้ำหนัก 80 กรัมต่อถาด จากนั้นหุ้มด้วยพลาสติกฟิล์มโพลีไวนิลคลอไรด์ เจาะรูพลาสติกฟิล์มด้วยเข็มเบอร์ 10 จำนวน 40 รู จากนั้นทำการลดอุณหภูมิกะเพราแดงให้ได้ตามอุณหภูมิที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 โดยใช้วิธีการลดอุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศด้วยสภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2.1 นำไปเก็บรักษาในห้องเย็นที่มีอุณหภูมิเดียวกันกับอุณหภูมิที่ได้จากการลดอุณหภูมิ เปรียบเทียบกับกะเพราแดงที่ไม่ผ่านการลดอุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศ (ชุดควบคุม) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์จำนวน 5 ซ้ำ สังเกตการเปลี่ยนแปลงคุณภาพดังนี้

1. การสูญเสียน้ำหนักสด

วัดโดยใช้เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น EK-600H (บริษัท AND Company) แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก จากสูตร

เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก = $\frac{[\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักหลังการเก็บรักษา}]}{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา}} \times 100$

2. สีของผัก

วัดโดยใช้เครื่องวัดสี รุ่น CR-300 โดยวัดบริเวณหน้าใบ ค่าที่ได้แสดงเป็นค่า L*, a* และ b* แล้วนำมาคำนวณหาค่า chroma และ hue-angle จากสมการดังนี้ (McGuire, 1992)

$$\text{chroma} = (a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$$

$$\text{hue angle} = \text{arctangent } (b^*/a^*)$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. ปริมาณวิตามินซี

วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีของใบกะเพราแดงด้วยวิธี 2, 6-dichlorophenol indophenol visual titration (Ranganna, 1986) โดยนำใบกะเพราแดงมาปั่นจนกระทั่งละเอียดมา 10 กรัม เติมกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ปิเปตสารละลายที่กรองได้มา 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรตกับ 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอลความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ จนถึงจุดยุติ ซึ่งสารละลายมีสีชมพูประมาณ 15 วินาที บันทึกปริมาณ 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอลที่ใช้กับสารตัวอย่าง

คำนวณหาปริมาณวิตามินซี โดยใช้ปริมาณ 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอลที่ใช้กับสารตัวอย่าง เทียบกับ 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอลที่ใช้กับวิตามินซีมาตรฐาน มีหน่วยเป็นมิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด โดยคำนวณตามสูตรดังนี้

ปริมาตร indophenol dye A มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ 1 มิลลิกรัม (จาก Standard)ปริมาตร indophenol dye B มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ (1xB)/A มิลลิกรัม (จากสารละลายตัวอย่าง)
เท่ากับ C มิลลิกรัม

สารละลาย 10 มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ C มิลลิกรัม

สารละลาย 100 มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ (Cx100)/10 มิลลิกรัม
เท่ากับ D มิลลิกรัม

เนื้อตัวอย่าง 10 กรัม มี ascorbic acid เท่ากับ D มิลลิกรัม

เนื้อตัวอย่าง 100 กรัม มี ascorbic acid เท่ากับ (Dx100)/10 มิลลิกรัม
เท่ากับ E มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. ปริมาณคลอโรฟิลล์

วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ของกะเพราแดงตามวิธีการของ Witham *et al.* (1971) โดยชั่งกะเพราแดงที่ปั่นละเอียดมา 1 กรัม เติมสารละลายแอซีโตนความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ลงไปเล็กน้อย เพื่อใช้เป็นสารสกัดคลอโรฟิลล์ออกจากตัวอย่าง นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยสารละลายแอซีโตนความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ให้ครบ 20 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง รุ่น spectro23 โดยใช้สารละลายแอซีโตนความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นค่ามาตรฐาน (blank) บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ได้แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ตามสูตร (ปริมาณคลอโรฟิลล์ที่คำนวณได้มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด)

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ} = [12.7\ (OD_{663}) - 2.69\ (OD_{645})] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี} = [22.9\ (OD_{645}) - 4.68\ (OD_{663})] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด} = [20.9\ (OD_{645}) + 8.02\ (OD_{663})] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

โดยที่ V คือ ปริมาตรสุดท้ายของสารละลายที่นำมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์
W คือ น้ำหนักของตัวอย่างที่นำมาสกัดคลอโรฟิลล์
OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากเครื่องวัดการดูดกลืนแสงตามความยาวคลื่นที่กำหนด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. ปริมาณสารประกอบฟีนอล

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลของกะเพราแดง โดยวิธี folin-ciocalteu colorimetric assays (ดัดแปลงจาก Sellappan *et al.,* 2002) โดยมีวิธีการดังนี้

นำใบกะเพราแดงมาปั่นจนกระทั่งละเอียด 5 กรัม
เติมเมทานอลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องในสภาวะมืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

↓

นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1

↓

ดูดสารละลายตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร
แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ให้ครบ 25 มิลลิลิตร
กรองด้วย syringe nylon filter ขนาด 0.45 micron

↓

ดูดสารละลายตัวอย่าง 50 ไมโครลิตร
จากนั้นเติมเมทานอลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร,
น้ำกลั่น 1000 ไมโครลิตร
และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 375 ไมโครลิตร
แล้วทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที

↓

จากนั้นเติมสารละลาย folin-ciocalteu จำนวน 125 ไมโครลิตร
น้ำกลั่น 1000 ไมโครลิตร เขย่าสารละลายให้เข้ากัน
แล้วนำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องในสภาวะมืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

↓

นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง รุ่น spectro23 ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร
[โดยใช้สารละลายที่ปราศจากสารตัวอย่างของกะเพราเป็นค่า Blank]

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอล โดยเทียบเป็น ไมโครกรัม Gallic acid equivalent/กรัมน้ำหนักแห้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6. กิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์กิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระของกะเพราแดงโดยวิธี DPPH assay หรือ 2, 2-diphenyl-1-picrylhaydrazyl assay (ดัดแปลงจาก Manthey, 2004) โดยมีวิธีการดังนี้

นำใบกะเพราแดงมาปั่นจนกระทั่งละเอียด 5 กรัม
เติมเมทานอลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องในสภาวะมืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

↓

นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1

↓

ดูดสารละลายตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร
แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ให้ครบ 25 มิลลิลิตร
กรองด้วย syringe nylon filter ขนาด 0.45 micron

↓

จากนั้นดูดสารละลายตัวอย่าง 400 ไมโครลิตร
เติมสารละลาย DPPH จำนวน 2000 ไมโครลิตร

↓

นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องในสภาพมืดเป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์

↓

นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง รุ่น spectro23 ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร
(โดยใช้สารละลาย DPPH เป็นค่า Blank)

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหากิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระ โดยเทียบเป็น ไมโครกรัม Gallic acid equivalent/กรัมน้ำหนักแห้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7. อายุการเก็บรักษา (Thomson *et al*., 2001)

อายุการเก็บรักษาของกะเพราแดงจะนับโดยการนับจำนวนวันในการเก็บรักษา โดยเริ่มจากวันแรกของการทดลอง จนกะเพราแดงเริ่มแสดงอาการเน่าเสียหรืออาการสะท้านหนาว และเกิดการแห้งหรือการเหี่ยวของใบ จะถือว่ากะเพราแดงสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา

การทดลองที่ 3.2 ศึกษาคุณภาพของกะเพราแดงที่บรรจุอยู่ในกล่องพลาสติกโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลตหลังการลดอุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศ

นำกะเพราแดงมาทำการตัดแต่งแล้วบรรจุลงในกล่องพลาสติกโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลต ขนาด กว้าง 9 เซนติเมตร ยาว 13 เซนติเมตร สูง 6.4 เซนติเมตร เจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร จำนวน 12 รู รอบๆ กล่อง มีปริมาณการบรรจุ 50 กรัมต่อกล่อง จากนั้นทำการลดอุณหภูมิกะเพราแดงให้ได้ตามอุณหภูมิที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 โดยใช้วิธีการลดอุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศด้วยสภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2.2 นำไปเก็บรักษาในห้องเย็นที่มีอุณหภูมิเดียวกันกับอุณหภูมิที่ได้จากการลดอุณหภูมิ เปรียบเทียบกับกะเพราแดงที่ไม่ผ่านการลดอุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์จำนวน 5 ซ้ำ สังเกตการเปลี่ยนแปลงคุณภาพเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.1

การทดลองที่ 4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพและเคมีของกะเพราแดงที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ

นำกะเพราแดงมาทำการตัดแต่งแล้วบรรจุลงในบรรจุภัณฑ์ที่ต่างกัน 3 ชนิด ดังนี้

1. ถุงโพลีเอทิลีน (polyethylene; PE) ขนาดกว้าง 20 เซนติเมตร ยาว 30.5 เซนติเมตรเจาะรูขนาด 0.5 เซนติเมตร จำนวน 12 รู มีปริมาณการบรรจุ 80 กรัม/ถุง และปิดผนึกด้วยความร้อน

2. บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ M1 ขนาดกว้าง 20 เซนติเมตร ยาว 30.5 เซนติเมตร มีค่าการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจน 10,000-12,000 ซีซี/ตารางเมตร/วัน มีปริมาณการบรรจุ 80 กรัม/ถุง และปิดผนึกด้วยความร้อน

3. บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ M2 ขนาดกว้าง 20 เซนติเมตร ยาว 30.5 เซนติเมตร มีค่าการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจน 12,000-14,000 ซีซี/ตารางเมตร/วัน มีปริมาณการบรรจุ 80 กรัม/ถุง และปิดผนึกด้วยความร้อน

นำไปเก็บรักษาในห้องเย็นที่อุณหภูมิที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์จำนวน 5 ซ้ำ สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงคุณภาพดังนี้

1. ปริมาณแก๊สออกซิเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ภายในบรรจุภัณฑ์

โดยใช้เครื่อง gas chromatography โดยสุ่มตัวอย่างแก๊สมาครั้งละ 1 มิลลิลิตร นำค่าที่วัดได้มาคำนวณเปรียบเทียบกับแก๊สมาตรฐาน เพื่อหาปริมาณแก๊สออกซิเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ โดยเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การสูญเสียน้ำหนักสด

วัดโดยใช้เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น EK-600H (บริษัท AND Company) แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก} = \left[\frac{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา-น้ำหนักหลังการเก็บรักษา}}{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา}}\right] \times 100$$

3. สีของผัก

วัดโดยใช้เครื่องวัดสี รุ่น CR-300 โดยวัดบริเวณหน้าใบ ค่าที่ได้แสดงเป็นค่า L*, a* และ b* แล้วนำมาคำนวณหาค่า chroma และ hue-angle จากสมการดังนี้ (McGuire, 1992)

$$\text{chroma} = (a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$$

$$\text{hue angle} = \arctan(b^*/a^*)$$

4. ปริมาณวิตามินซี (Ranganna, 1986)

5. ปริมาณคลอโรฟิลล์ (Witham *et al.*, 1971)

6. ปริมาณสารประกอบฟีนอล (ดัดแปลงจาก Sellappan *et al.,* 2002)

7. ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (ดัดแปลงจาก Manthey, 2004)

8. อายุการเก็บรักษา (Thomson *et al*., 2001)

6. การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จากนั้นนำผลการวิเคราะห์ทางกายภาพและทางเคมีของกะเพรา มาหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved