บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. วัสดุพันธุ์พืช

ยอดซาโยเต้อินทรีย์ (*Sechium edule* Sm.) ที่เก็บเกี่ยวจากพื้นที่เพาะปลูกของมูลนิธิโครงการหลวงทุ่งเริง จังหวัดเชียงใหม่ ในระยะความแก่ทางการค้า ขนส่งมายังงานคัดบรรจุเชียงใหม่ ศูนย์ผลิตผลโครงการหลวงด้วยรถบรรทุกธรรมดา

2. อุปกรณ์

2.1 เครื่องลดอุณหภูมิผัก Hydro-vacuum cooling ยี่ห้อ Hussmann ประเทศสหรัฐอเมริกา

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)

- ค่า a^* ที่เป็นบวก แสดงว่าวัตถุมีสีแดง และที่เป็นลบ แสดงว่าวัตถุมีสีเขียว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- 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 $= \text{arctangent}\ (b^*/a^*)$ เมื่อ a^* มีค่าเป็นบวก และ b^* มีค่าเป็นบวก

$= \text{arctangent}\ (b^*/a^*) + 180$ เมื่อ a^* มีค่าเป็นลบ

$= \text{arctangent}\ (b^*/a^*) + 360$ เมื่อ a^* มีค่าเป็นบวก และ b^* มีค่าเป็นลบ

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

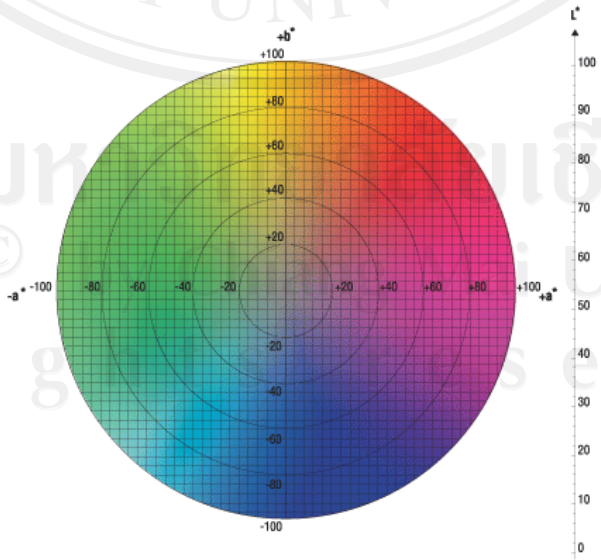
ค่า hue angle (h) เป็นค่าที่แสดงมุมในการตกกระทบของค่า chroma ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0–360 องศา ซึ่งจะแสดงช่วงสีของวัตถุ

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 7 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 0.45 micron syringe nylon filter ยี่ห้อ Minisart ของบริษัท Sartorius 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 8±1 องศาเซลเซียส รุ่น LC203LD ของบริษัท LAW-CHAIN ประเทศไทย

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

2.14 เครื่องวัดก๊าซ O_2 และ CO_2 ของบริษัท PBI Dansensor ประเทศเดนมาร์ก

2.15 เครื่องผสมก๊าซ WITT-Gasetechnik รุ่น KM100-3M ของบริษัท GmbH&Co KGD-58454 WITTEN ประเทศเยอรมันนี

2.16 เครื่องอัดก๊าซ HenkoVac ของบริษัท HFE Vacuum systems bv ประเทศเนเธอร์แลนด์

2.17 เครื่อง Digital Refractometer รุ่น PR-101 ของบริษัท ATAGO ประเทศญี่ปุ่น

2.18 ถุงแอกทีฟที่มีอัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนต่างกัน 4 ระดับ รหัสถุง M1 M2 M3 และ M4 ของบริษัท THANTAWAN INDUSTRY ประเทศไทย

2.19 ถุงพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีน

2.20 ถุงพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน (ถุงดอยคำ)

2.21 มีดทำครัว

2.22 เขียงพลาสติก

2.23 ถังน้ำพลาสติก

2.24 ตะกร้าพลาสติก

2.25 เครื่องแก้ว

- บีกเกอร์ (beaker)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- 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) ความเข้มข้นร้อยละ 0.4 เตรียมโดยชั่งกรดออกซาลิก 0.4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

- สารละลาย 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล (2, 6-dichlorophenol indophenol, SIGMA) ความเข้มข้นร้อยละ 0.04 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 ละลายในกรดออกซาลิกความเข้มข้นร้อยละ 0.4 แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดออกซาลิกให้ครบ 50 มิลลิลิตร นำไปไทเทรตกับ 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล ความเข้มข้นร้อยละ 0.04 จนถึงจุดยุติ บันทึกปริมาตร 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล ที่ใช้ไปเพื่อเป็นมาตรฐานในการคำนวณหาปริมาณวิตามินซี

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

- สารละลายแอซีโตน (acetone) ความเข้มข้นร้อยละ 80 เตรียมโดยตวง แอซีโตน ความเข้มข้นร้อยละ 100 จำนวน 800 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอล

- เอทานอลบริสุทธิ์ (absolute ethanol)

- เมทานอล (methanol) ความเข้มข้นร้อยละ 100

- สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) ความเข้มข้นร้อยละ75 เตรียมโดยชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 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 0.4 micron เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ

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

4. สถานที่ปฏิบัติงานวิจัย

- งานคัดบรรจุเชียงใหม่ ศูนย์ผลิตผลโครงการหลวง

- ห้องปฏิบัติการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

5. วิธีการศึกษา

ผลของการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศร่วมกับบรรจุภัณฑ์ต่อคุณภาพของยอดซาโยเต้อินทรีย์ ประกอบไปด้วยการทดลอง 4 การทดลอง โดยมีระเบียบวิจัยดังนี้

การทดลองที่ 1 การศึกษาการลดอุณหภูมิเฉียบพลันแบบสุญญากาศของยอดซาโยเต้อินทรีย์

การทดลองที่ 1.1 การศึกษาหาพารามิเตอร์ในการทำงานที่เหมาะสมในกระบวนการลดอุณหภูมิยอดซาโยเต้อินทรีย์แบบสุญญากาศ

นำยอดซาโยเต้อินทรีย์จากมูลนิธิโครงการหลวงมาทำการตัดแต่งแล้วบรรจุลงในถุงพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน ให้มีน้ำหนัก 200 กรัมต่อถุง จากนั้นทำการลดอุณหภูมิยอดซาโยเต้อินทรีย์ให้ได้อุณหภูมิที่เหมาะสมโดยอยู่ในช่วง 8±1 องศาเซลเซียส (ดนัยและคณะ, 2552) โดยใช้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศ วางแผนการทดลองแบบ 2x3 factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำโดยกำหนดปัจจัยสำหรับการทำงานของเครื่องลดอุณหภูมิสุญญากาศในกระบวนการลดอุณหภูมิของยอดซาโยเต้อินทรีย์ ดังต่อไปนี้

- กำหนดค่าความดันสุดท้ายภายในห้องลดอุณหภูมิ (final pressure) 2 ระดับ คือ 10 และ 11 มิลลิบาร์ โดยเครื่องลดอุณหภูมิสุญญากาศมีค่าความละเอียดเท่ากับ ±0.5 มิลลิบาร์ (ดนัยและคณะ, 2552)
- กำหนดเวลาที่ยอดซาโยเต้อินทรีย์อยู่ภายใต้ความดันที่กำหนด (holding time) 3 ระดับ คือ 3, 4 และ 5 นาที โดยกำหนดอุณหภูมิสุดท้ายของยอดซาโยเต้อินทรีย์ให้อยู่ที่ประมาณ 8±1 องศาเซลเซียส

ในระหว่างกระบวนการลดอุณหภูมิทำการบันทึกข้อมูลต่างๆ จนสิ้นสุดกระบวนการ ดังต่อไปนี้

1. การสูญเสียน้ำหนักเป็นหน่วยร้อยละ (weight loss percentage)
2. เวลาในการทำให้เย็น (cooling time)
3. อุณหภูมิใจกลางผักตลอดกระบวนการลดอุณหภูมิ โดยใช้หัววัดอุณหภูมิ (temperature probe) ที่ติดตั้งอยู่ภายในห้องลดอุณหภูมิเสียบเข้าไปตรงใจกลางของบรรจุภัณฑ์
4. บันทึกความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ ความดันและอุณหภูมิภายในห้องลดอุณหภูมิจนสิ้นสุดกระบวนการ
5. พลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในกระบวนการลดอุณหภูมิโดยดูจากมิเตอร์ไฟฟ้าที่ติดตั้งอยู่กับตัวเครื่องลดอุณหภูมิ

เกณฑ์ในการเลือกสภาวะที่เหมาะสมของการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศของยอดซาโยเต้อินทรีย์คือ

- เป็นสภาวะที่สามารถลดอุณหภูมิสุดท้ายของยอดซาโยเต้อินทรีย์ให้ได้ตามอุณหภูมิที่กำหนด
- เป็นสภาวะที่ใช้ระยะเวลาในการลดอุณหภูมิสั้นที่สุด โดยที่ยอดซาโยเต้อินทรีย์ยังมีลักษณะที่ดี เช่น ไม่เกิดอาการเหี่ยว ไม่เกิดอาการสะท้านหนาว
- เป็นสภาวะที่ใช้พลังงานในการลดอุณหภูมิน้อยที่สุด โดยที่ยอดซาโยเต้อินทรีย์ยังมีลักษณะที่ดี เช่น ไม่เกิดอาการเหี่ยว ไม่เกิดอาการสะท้านหนาว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 1.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพและเคมีของยอดซาโยเต้อินทรีย์หลังผ่านการลดอุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศ

นำยอดซาโยเต้อินทรีย์ที่ผ่านกระบวนการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้เลือกไว้จากการทดลองที่ 1.1 ไปเก็บรักษาในห้องเย็นที่มีอุณหภูมิ 8±1 องศาเซลเซียส (ดนัย และคณะ, 2552) เปรียบเทียบกับยอดซาโยเต้อินทรีย์ที่ไม่ผ่านการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศ (ชุดควบคุม) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงคุณภาพโดยทำการสุ่มทุกวัน ดังนี้

1. การสูญเสียน้ำหนักสด

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

$$\text{การสูญเสียน้ำหนัก (ร้อยละ)} = \frac{[\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักหลังการเก็บรักษา}]}{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา}} \times 100$$

2. สีของผัก

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

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

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

3. ปริมาณวิตามินซี

วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีของยอดซาโยเต้อินทรีย์ด้วยวิธี 2, 6-dichlorophenol indophenol visual titration (Ranganna, 1986) โดยนำยอดซาโยเต้อินทรีย์มาปั่นจนละเอียดมาชั่งน้ำหนักมา 10 กรัม เติมกรดออกซาลิกความเข้มข้นร้อยละ 0.4 ให้ได้ปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ปิเปตสารละลายที่กรองได้มา 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรตกับ 2, 6-ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 0.04 จนถึงจุดยุติ ซึ่งสารละลายมีสีชมพูประมาณ 15 วินาที บันทึกปริมาณ 2, 6-ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอลที่ใช้กับสารตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คำนวณหาปริมาณวิตามินซี โดยใช้ปริมาณ 2, 6-ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอลที่ใช้กับสารตัวอย่าง เทียบกับ 2, 6-ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอลที่ใช้กับวิตามินซีมาตรฐาน มีหน่วยเป็นมิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด โดยคำนวณตามสูตรดังนี้

ปริมาตร indophenol dye A มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ 1 มิลลิกรัม (วิตามินซีมาตรฐาน)

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

4. ปริมาณคลอโรฟิลล์

วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ของยอดซาโยเต้อินทรีย์ ตามวิธีการของ Witham *et al.* (1971) โดยชั่งยอดซาโยเต้อินทรีย์ที่ปั่นละเอียดมา 1 กรัม เติมสารละลายแอซีโตนความเข้มข้นร้อยละ 80 ลงไปเล็กน้อย เพื่อใช้เป็นสารสกัดคลอโรฟิลล์ออกจากตัวอย่าง นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยสารละลายแอซีโตนความเข้มข้นร้อยละ 80 ให้ครบ 20 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง รุ่น spectro23 โดยใช้สารละลายแอซีโตนความเข้มข้นร้อยละ 80 เป็นค่า blank บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ได้แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ตามสูตร (ปริมาณคลอโรฟิลล์ที่คำนวณได้มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด)

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

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

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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยที่ V คือ ปริมาตรสุดท้ายของสารละลายที่นำมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์

W คือ น้ำหนักของตัวอย่างที่นำมาสกัดคลอโรฟิลล์

OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากเครื่องวัดการดูดกลืนแสงตามความยาวคลื่นที่กำหนด

5. ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

วัดโดยนำยอดซาโยเต้อินทรีย์มา 10 กรัม มาทำการปั่นให้ละเอียด จากนั้นนำไปคั้นผ่านผ้าขาวบาง นำของเหลวที่ได้ไปวัดค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (ร้อยละ) ด้วยเครื่อง digital refractometer รุ่น PR-101

6. ปริมาณสารประกอบฟีนอล

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

นำยอดซาโยเต้อินทรีย์มาปั่นจนกระทั่งละเอียด 20 กรัม

เติมเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องในสภาวะมืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

↓

นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1

↓

ดูดสารละลายตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร

แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 ให้ครบ 25 มิลลิลิตร

กรองด้วย syringe nylon filter ขนาด 0.45 micron

↓

ดูดสารละลายตัวอย่าง 50 ไมโครลิตร

จากนั้นเติมเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

น้ำกลั่น 1,000 ไมโครลิตร

และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 75 จำนวน 375 ไมโครลิตร

แล้วทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที

↓

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากนั้นเติมสารละลาย folin-ciocalteu จำนวน 125 ไมโครลิตร
น้ำกลั่น 1,000 ไมโครลิตร เขย่าสารละลายให้เข้ากัน
แล้วนำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องในสภาวะมืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

↓

นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง รุ่น spectro23 ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร
[โดยใช้สารละลายที่ปราศจากสารตัวอย่างของยอดซาโยเต้เป็นค่า Blank]

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอล โดยเทียบเป็นหน่วย ไมโครกรัม gallic acid equivalent/กรัมน้ำหนักแห้ง

7. กิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์กิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระของยอดซาโยเต้อินทรีย์โดยวิธี DPPH assay หรือ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay (ดัดแปลงจาก Manthey, 2004) โดยมีวิธีการดังนี้

นำยอดซาโยเต้อินทรีย์มาปั่นจนกระทั่งละเอียด 20 กรัม
เติมเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องในสภาวะมืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

↓

นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1

↓

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

↓

จากนั้นดูดสารละลายตัวอย่าง 400 ไมโครลิตร
เติมสารละลาย DPPH จำนวน 500 ไมโครลิตร
เติมเอทานอลจำนวน 1,500 ไมโครลิตร

↓

นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องในสภาพมืดเป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์

↓

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง รุ่น spectro23 ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

(โดยใช้สารละลาย DPPH 500 ไมโครลิตร+เอทานอลจำนวน 1,500 ไมโครลิตรเป็นค่า Blank)

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหากิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระ โดยเทียบเป็น ไมโครกรัม gallic acid equivalent/กรัมน้ำหนักแห้ง

8. อายุการเก็บรักษา

อายุการเก็บรักษาของยอดซาโยเต้อินทรีย์จะนับโดยการนับจำนวนวันในการเก็บรักษาโดยเริ่มจากวันแรกของการทดลองจนยอดซาโยเต้อินทรีย์เริ่มแสดงอาการเน่าเสียเช่นใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง มือเกาะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเกิดอาการเน่า ลำต้นอ่อนตัวลงจนเป็นรูปตัวยู (U) จะถือว่ายอดซาโยเต้อินทรีย์สิ้นสุดอายุการเก็บรักษา

การทดลองที่ 2 การศึกษาเพื่อคัดเลือกบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมสำหรับยอดซาโยเต้อินทรีย์

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยมีทั้งหมด 6 กรรมวิธี (ชนิดของบรรจุภัณฑ์) และแต่ละวิธีมีการทดลองทั้งหมดอย่างน้อย 3 ซ้ำ นำยอดซาโยเต้อินทรีย์จากมูลนิธิโครงการหลวงมาทำการตัดแต่งแล้วบรรจุลงในบรรจุภัณฑ์ที่แตกต่างกันทั้ง 6 ชนิด ดังนี้

1. ถุงโพลีเอทิลีน ขนาดกว้าง 20 เซนติเมตร ยาว 40 เซนติเมตร ที่มีการเจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร จำนวน 18 รู แล้วปิดผนึกด้วยความร้อน
2. ถุงแอกทีฟชนิด M1 (O_2 permeance 10,000-12,000 cc/m^2 day) ขนาดกว้าง 20 เซนติเมตร ยาว 40 เซนติเมตร แล้วปิดผนึกด้วยความร้อน
3. ถุงแอกทีฟชนิด M2 (O_2 permeance 12,000-14,000 cc/m^2 day) ขนาดกว้าง 20 เซนติเมตร ยาว 40 เซนติเมตร แล้วปิดผนึกด้วยความร้อน
4. ถุงแอกทีฟชนิด M3 (O_2 permeance 10,000-11,000 cc/m^2 day) ขนาดกว้าง 20 เซนติเมตร ยาว 40 เซนติเมตร แล้วปิดผนึกด้วยความร้อน
5. ถุงแอกทีฟชนิด M4 (O_2 permeance 14,000-16,000 cc/m^2 day) ขนาดกว้าง 20 เซนติเมตร ยาว 40 เซนติเมตร แล้วปิดผนึกด้วยความร้อน
6. ถุงโพลีโพรพิลีน ขนาดกว้าง 20 เซนติเมตร ยาว 40 เซนติเมตร ทำการดัดแปลงบรรยากาศภายในบรรจุภัณฑ์ให้มีปริมาณก๊าซออกซิเจนร้อยละ 10 โดยที่เหลือเป็นก๊าซไนโตรเจน แล้วปิดผนึกด้วยความร้อน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยทุกบรรจุภัณฑ์มีน้ำหนักบรรจุอยู่ที่ 200 กรัม/ถุง นำยอดซาโยเต้อินทรีย์ไปทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8±1 องศาเซลเซียส ในระหว่างที่ทำการเก็บรักษาทำการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและทางเคมีโดยวิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.2 และทำการวิเคราะห์เพิ่มเติมในส่วนของการวัดความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยนำบรรจุภัณฑ์ที่บรรจุยอดซาโยเต้อินทรีย์แต่ละถุงมาติด septum แล้วทำการวัดก๊าซทั้งสองชนิดโดยใช้เครื่องวัดก๊าซแทงผ่าน septum ค่าก๊าซที่ได้จะแสดงเป็นร้อยละของความเข้มข้นก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

การทดลองที่ 3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพและเคมีของยอดซาโยเต้อินทรีย์เมื่อผ่านการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศร่วมกับการใช้บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสม

วางแผนการทดลองแบบ 2x2 factorial in CRD โดยนำยอดซาโยเต้อินทรีย์มาทำการบรรจุลงในบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองที่ 2 และถุงโพลีเอทิลีนที่มีการเจาะรู โดยบรรจุที่น้ำหนัก 200 กรัมต่อถุง และนำมาทำการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศที่สภาวะเหมาะสมจากการทดลองที่ 1 โดยเทียบกับยอดซาโยเต้อินทรีย์ที่ทำการบรรจุลงในบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองที่ 2 และถุงโพลีเอทิลีนที่มีการเจาะรู โดยบรรจุที่น้ำหนัก 200 กรัมต่อถุง แต่ไม่ได้ผ่านการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศ จากนั้นทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8±1 องศาเซลเซียส โดยระหว่างการเก็บรักษาทำวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและทางเคมีโดยทำการสุ่มทุกวันเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2

การทดลองที่ 4 การศึกษาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายในบรรจุภัณฑ์ที่บรรจุยอดซาโยเต้อินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษา

นำข้อมูลความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้จากยอดซาโยเต้อินทรีย์ที่บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์จากการทดลองที่ 2 และ 3 มาทำการศึกษาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อใช้ในการทำนายความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากยอดซาโยเต้อินทรีย์ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8±1 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 11.5

ศึกษาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อใช้ในการทำนายความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้โปรแกรม SigmaPlot 11.0