บทที่ 3

ระเบียบวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 ใบมะกรูดสด

3.2 วัสดุอุปกรณ์

1. เครื่องชั่งน้ำหนัก
2. เครื่องปิดผนึกถุง
3. เครื่องปั่น
4. เครื่อง Spectrophotometer
5. บิวเรต
6. ปิเปต
7. กระบอกตวง
8. บีกเกอร์
9. แท่งแก้วสำหรับคน
10. ขวดรูปชมพู่
11. กระดาษกรอง Whatman No.1
12. กรวยกรอง
13. ขวดวัดปริมาตร
14. หลอดหยด
15. ช้อนตักสาร
16. ถุงพลาสติกโพลิโพรพิลีน (PP)
17. ถุงพลาสติกโพลิเอทธิลีน (PE)
18. ถุงซิป (LDPE)
19. บรรจุถาดโฟมแล้วปิดด้วยพลาสติก PVC

3. 3 สารเคมี

1. สารละลายกรดออกซาลิก
2. สารละลาย 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล
3. สารละลายกรดแอสคอร์บิค

4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

5. สารละลายฟีนอร์พทาลีน

6. สารละลายอะซีโตน

3.4 การเตรียมวัตถุดิบ

ทำความสะอาดโดยการล้างใบมะกรูดพร้อมทั้งผึ่งให้แห้ง คัดเลือกใบที่ไม่มีตำหนิหรือรอยช้ำ บรรจุลงในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ ที่เตรียมไว้ โดยบรรจุถุงละ 60 กรัม ปิดผนึกถุงให้สนิท

3.5 วิธีการทดลอง

โดยวางแผนการทดลองออกได้เป็น 2 การทดลองดังนี้คือ

การทดลองที่ 1 ศึกษาชนิดของภาชนะบรรจุที่เหมาะสมที่สุดในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องนำผลการทดลองที่ได้จากการทดลองที่ 1 มาศึกษาต่อ

การทดลองที่ 2 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษา

โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Random Design (CRD) โดยทำการทดลองทั้งหมดมี 5 กรรมวิธี ดังนี้คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาชนิดของภาชนะบรรจุที่เหมาะสมในการเก็บรักษา

กรรมวิธีที่ 1 บรรจุถุงโพลิเอทธิลีน

กรรมวิธีที่ 2 บรรจุถุงซิป (LDPE)

กรรมวิธีที่ 3 บรรจุถาดโฟมและปิดด้วยพลาสติก PVC

กรรมวิธีที่ 4 บรรจุถุงโพลิโพรพิลีน

กรรมวิธีที่ 5 ชุดควบคุม

นำตัวอย่างที่บรรจุเรียบร้อยแล้ว เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องคือ 25±2 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาวิเคราะห์คุณภาพของใบมะกรูดทั้งทางกายภาพ ทางเคมี และลักษณะที่ปรากฏ ดังนี้

3.5.1 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก (% Weight loss)

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น และทุกๆ 3 วันจนกว่าจะสิ้นสุดการทดลอง

2. คำนวณเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากสูตร

$$\% \text{ weight loss} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักตัวอย่าง ณ วันที่ทำการทดลอง}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

3.5.2 ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ทั้งหมด (Titratable Acidity)

1. ชั่งตัวอย่างมา 10 กรัม เติมน้ำ 10 มิลลิลิตร ปั่นด้วยเครื่องปั่นให้ละเอียดจากนั้นกรองเอาแต่น้ำปริมาณ 10 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายฟีนอร์พทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด

3. ไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู

4. บันทึกปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไป

5. คำนวณหาปริมาณกรด จากสูตร

$$\text{ปริมาณกรด(\%)} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ NaOH (N)} \times \text{ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้(ml.)}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง(ml.)}} \times 0.064 \times 100$$

หมายเหตุ 1 ml. ของสารละลาย NaOH 0.1 N ทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดซิตริก 0.064 กรัม

3.5.3 การหาปริมาณคลอโรฟิลล์ ตามวิธีของ Whitham *et al* .(1971)

1. ชั่งตัวอย่างมา 2 กรัม ปั่นด้วยเครื่องให้ละเอียด

2. หมักตัวอย่างที่ปั่นแล้วไว้กับสารละลายอะซีโตน 80 เปอร์เซนต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง

3. นำสารละลายที่หมักไว้ มากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1

4. จากนั้นนำสารละลายที่ผ่านการกรองแล้วไปวัดค่าดูดกลืนแสง (Optical Density,OD) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร บันทึกค่าที่ได้ และนำไปคำนวณตามสูตร

$$\text{Chlorophyll a} = (12.7(OD\ 663) - 2.69(OD645)) \times v/1000 \times w$$

$$\text{Chlorophyll b} = (22.9(OD\ 645) - 4.68(OD663)) \times v/1000 \times w$$

$$\text{Total Chlorophyll} = (20.2(OD\ 645) + 8.02(OD663)) \times v/1000 \times w$$

โดยที่ V คือ ปริมาตรของสารละลายที่นำมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์

W คือ น้ำหนักของตัวอย่างที่นำมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์

OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากเครื่อง Spectrophotometer ตามความยาวคลื่นที่กำหนด

3.5.4 การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี

โดยชั่งตัวอย่าง 20 กรัม ใส่น้ำ 10 มิลลิลิตร นำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น เติมสารละลายออกซาลิกและปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร กรองผ่านด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 จากนั้นดูดสารละลายที่กรองได้มา 10 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่แล้วนำไปไตเตรทกับสารละลาย 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล จนถึงจุดยุติคือสารละลาย

เปลี่ยนเป็นสีชมพูนาน 10 วินาที บันทึกค่าสารละลาย 2, 6-คลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล ที่ใช้ไปแล้วนำมาคำนวณจากสูตร

- ปริมาตรของสารละลายอินโดฟีนอล a มิลลิลิตร ที่ใช้ในการไตเตรทกับสารละลายวิตามินซีมาตรฐาน ซึ่งมีปริมาณวิตามินซี เท่ากับ 1 กรัม

- ปริมาตรของสารละลายอินโดฟีนอล b มิลลิลิตร ที่ใช้ในการไตเตรทกับสารละลายตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ซึ่งมีปริมาณวิตามินซี เท่ากับ (1×a)/b มิลลิกรัม เท่ากับ c มิลลิกรัม

- สารละลายตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร มีปริมาณวิตามินซี เท่ากับ c มิลลิกรัม

- สารละลายตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร มีปริมาณวิตามินซี เท่ากับ (c×100)/10 มิลลิกรัม เท่ากับ d มิลลิกรัม

- เนื้อตัวอย่าง 10 กรัม มีปริมาณวิตามินซี เท่ากับ d กรัม

- เนื้อตัวอย่าง 100 กรัม มีปริมาณวิตามินซี เท่ากับ (d×100)/10 มิลลิกรัม เท่ากับ E มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด

3.5.5 การประเมินลักษณะปรากฏ

โดยตรวจสอบอาการที่พบจากภายนอก เช่น อาการเหี่ยว เน่า ช้ำ และอาการผิดปกติทางสรีรวิทยา ให้คะแนนโดยการใช้สเกลตั้งแต่ 1-5 ดังนี้

5 = ดีที่สุด

4 = ดี

3 = ปานกลาง

2 = แย่

1 = แย่ที่สุด

3.5.6 อายุการเก็บรักษา

อายุการเก็บรักษาจะประเมินจากคะแนนลักษณะปรากฏ โดยจะไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์เมื่อมีลักษณะคะแนนตั้งแต่ 3 คะแนนขึ้นไป

4. การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้

3.1 วิเคราะห์ข้อมูลโดยโปรแกรมสถิติ SXW9

การทดลองที่ 2 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาโดยมีกรรมวิธีดังต่อไปนี้

กรรมวิธีที่ 1 5 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 2 10 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 3 15 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 4 ชุดควบคุม

วัดผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1