

## บทที่ 3

### การทดลอง

#### 3.1 การวัดอัตราการหายใจของมะนาวที่ 10 °C

การวัดอัตราการหายใจของมะนาวที่ 10 °C ใช้วิธีของ Deily และ Rizvi (30) ซึ่งวัดเปอร์เซ็นต์คาร์บอนไดออกไซด์และออกซิเจนที่เปลี่ยนแปลงไปภายในขวดที่ปิดสนิท โดยมีรายละเอียดดังนี้

##### 3.1.1 การเตรียมขวดบรรจุมะนาว

นำมะนาวที่ผ่านการล้างทำความสะอาดแล้ว 20 ผล และผ่านการชั่งน้ำหนักเรียบร้อยแล้วมาบรรจุลงในขวดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 นิ้ว สูง 9 นิ้ว ปริมาตรของขวด 3 ลิตรโดยประมาณ จากนั้นปิดให้สนิทด้วยฝาซึ่งมีท่อแก้วที่ต่อกับท่อยาง ตรงปลายของท่อยางมีคลิบหนีบติดอยู่ บริเวณฝาและรอยต่อของท่อใช้พาราฟินทาเพื่อป้องกันการซึมรั่ว ดังแสดงในรูปที่ 3.1

การหาปริมาตรของช่องว่างของอากาศภายในขวดหลังจากบรรจุมะนาว ใช้วิธีการแทนที่อากาศด้วยน้ำ

##### 3.1.2 การหาเปอร์เซ็นต์ของกาซคาร์บอนไดออกไซด์และออกซิเจนที่เปลี่ยนแปลงไป

เมื่อเตรียมขวดปิดสนิทที่บรรจุมะนาวเรียบร้อยแล้ว ก็นำขวดนี้ไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ  $10 \pm 2$  °C ความชื้นสัมพัทธ์ 85-90% นำไปวัดเปอร์เซ็นต์ของกาซคาร์บอนไดออกไซด์และเปอร์เซ็นต์ออกซิเจนที่เปลี่ยนแปลงไป โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Gas chromatography ของ Shimadzu รุ่น 7AG ดังแสดงในรูปที่ 3.2 ของศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยคัดตัวอย่างกาซจากท่อยาง 1 มิลลิลิตร แล้วฉีดเข้าเครื่องดังกล่าว ซึ่งใช้คอลัมน์ (Column) ที่มีความยาว 2.1 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร โดยมี Molecular sieve 5A และ Porapak QS บรรจุอยู่ในแต่ละคอลัมน์สำหรับวัดเปอร์เซ็นต์ออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ตามลำดับ กาซที่เป็นตัวนำพา (Carrier gas) ก็คือ

ฮีเลียม ซึ่งเคลื่อนด้วยความเร็ว 52 มิลลิลิตร/นาที.บรรยากาศ โดยมีตัวตรวจสอบก๊าซเป็น TCD (Thermal Conductivity Detector) อุณหภูมิของตัวตรวจสอบก๊าซ (Detector temperature) 90°C และอุณหภูมิของการฉีด (Injection temperature) 90°C

ก๊าซมาตรฐานที่ใช้เป็นก๊าซผสมหมายเลข LK-436698E ซึ่งผลิตโดย Union Carbide Corporation สำหรับใช้ในการทดลองหรือในอุตสาหกรรมเท่านั้น โดยมีอัตราส่วนของก๊าซต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

ก๊าซคาร์บอนมอนนอกไซด์ (CO)	25.04%
ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO <sub>2</sub> )	10.01%
ก๊าซไฮโดรเจน (H <sub>2</sub> )	14.29%
ก๊าซมีเทน (CH <sub>4</sub> )	3.03%
ก๊าซออกซิเจน (O <sub>2</sub> )	1.95%
ก๊าซไนโตรเจน (N <sub>2</sub> )	45.68%

### 3.2 การศึกษาสมบัติของฟิล์มพลาสติกต่างชนิดที่ใช้ทำเป็นภาชนะบรรจุ

3.2.1 อัตราการซึมผ่านไอน้ำ โดยใช้วิธี Dish method (31)

3.2.2 อัตราการซึมผ่านของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซออกซิเจน โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Analytical Gas Permeability Tester ของ Lyssy รุ่น GPM-200 (32) ของศูนย์บรรจุหีบห่อไทย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ดังรูปที่ 3.3

สำหรับฟิล์มทั้งหมดที่ใช้ศึกษามีทั้งหมด 5 ชนิด คือ

1. LDPE (Low density polyethylene) หนา 47.50 ไมครอน
2. HDPE (High density polyethylene) หนา 31.75 ไมครอน
3. PP (Polypropylene) หนา 53.25 ไมครอน
4. OPP/LDPE เป็นฟิล์มซึ่งมี Oriented polypropylene เคลือบบนผิว (Laminated) ของ LDPE มีความหนารวม 67.00 ไมครอน
5. Cellophane/LDPE เป็นฟิล์มซึ่งมี Cellophane เคลือบบนผิว (Laminated) ของ LDPE มีความหนารวม 47.25 ไมครอน



รูปที่ 3.1 ขวดปิดสนิทที่บรรจุมะนาวซึ่งใช้หาความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ที่เปลี่ยนแปลงไป



รูปที่ 3.2 Gas Chromatography ของ Shimadzu รุ่น 7AG



รูปที่ 3.3 Analytical Gas Permeability Tester ของ Lyssy  
รุ่น GPM-200

### 3.3 การศึกษาผลของอายุการเก็บรักษาและชนิดของฟิล์มพลาสติกต่อความเข้มข้นของก๊าซในภาชนะบรรจุและคุณภาพของมะนาวสด

#### 3.3.1 การเตรียมมะนาวสด

มะนาวสดที่ใช้คือมะนาวพันธุ์แบ็นทีแก่จกมีสีเขียวเข้มสม่ำเสมอทั่วทั้งผล ซึ่งเก็บจากสวนบางแค นำมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง เช็ดให้แห้งแล้วนำไปซังน้ำหนักและบันทึกหมายเลขทุกผล แล้วนำไปผ่านการฆ่าเชื้อราด้วยน้ำยาเบนเลท (Benlate) เข้มข้น 1 กรัม ต่อน้ำ 1 ลิตร ด้วยการแช่ เป็นเวลา 3 นาที ทั้งให้แห้ง

#### 3.3.2 การเก็บมะนาวสด

นำมะนาวสดที่ผ่านการฆ่าเชื้อรา และสะเด็ดน้ำบนกระดาษจากข้อ 3.3.1 มาบรรจุในถุงพลาสติกต่างชนิดกันจากข้อ 3.2 ซึ่งมุมของภาชนะบรรจุดังกล่าวได้ต่อด้วยท่อแก้ว แล้วผูกมัดด้วยยางวงให้แน่น แล้วจึงพันด้วยพาราฟิล์มให้แนบสนิท ส่วนปลายของท่อแก้วนั้นม้วนห่อด้วยพลาสติกเสียบติดอยู่ และมัดปลายท่อยางให้แน่นด้วยยางวง แล้วใช้พาราฟิล์มพันทับอีกครั้งหนึ่ง (การต่อท่อติดกับภาชนะบรรจุดังกล่าว เพื่อจะดูก๊าซที่เกิดขึ้นจากการตัดแปลงบรรยากาศที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติไปวัดความเข้มข้น) ในการบรรจุมะนาวจะบรรจุ 16 ผล ต่อ 1 ถาด แล้วจึงปิดผนึกให้สนิทภายใต้บรรยากาศปกติด้วยเครื่องปิดผนึกแผ่นลวดความร้อน การปิดผนึกจะควบคุมพื้นที่ของถุงพลาสติกให้ได้ขนาด  $10 \times 12.5 \times 2$  ตารางนิ้ว เมื่อปิดผนึกเรียบร้อยแล้วจะได้มะนาวซึ่งบรรจุบนถาดพลาสติกในภาชนะบรรจุ ดังรูปที่ 3.4

ในการหาปริมาตรของช่องว่างในภาชนะบรรจุหาได้โดยการแทนที่อากาศด้วยน้ำ

เมื่อเตรียมมะนาวในภาชนะบรรจุเรียบร้อยแล้ว จึงนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ  $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$  ความชื้นสัมพัทธ์ 85-90%

แผนการทดลองที่ใช้คือ Asymmetric factorial design แบบ  $8 \times 5$  ซึ่งเท่ากับ 40 treatment combination (33) ทำการทดลอง 2 ครั้ง โดยมีตัวแปรดังต่อไปนี้



รูปที่ 3.4 มะนาวที่บรรจุในภาชนะบรรจุซึ่งมุมของภาชนะบรรจุมีที่ต่อติดอยู่

3.3.2.1 อายุการเก็บรักษา มี 8 ระดับคือ 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์ ตามลำดับ

3.3.2.2 ชนิดของฟิล์มพลาสติก มี 5 ชนิดคือ LDPE, HDPE, PP, OPP/LDPE และ Cellophane/LDPE ตามลำดับ

3.3.3 การตรวจวิเคราะห์และการตรวจคุณภาพของมะนาวสดในระหว่างการเก็บ-รักษา

3.3.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณของกาซออกซิเจนและกาซคาร์บอนไดออกไซด์ในภาชนะที่บรรจุมะนาว โดยใช้ Orsat gas analyzer ดังรูปที่ 3.5

3.3.3.2 หาเปอร์เซ็นต์ของมะนาวที่เน่าเสีย

3.3.3.3 หาเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่สูญเสียไป

$$\% \text{ น้ำหนักที่สูญเสีย} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักหลังเก็บรักษา}}{\text{น้ำหนักก่อนเก็บรักษา}} \times 100$$



รูปที่ 3.5 Orsat Gas Analyzer และลักษณะการต่อท่อเพื่อวัด  
ความชื้นของกาซภายในภาชนะบรรจุ

3.3.3.4 ตรวจสอบลักษณะภายนอกและภายในด้วยตาเปล่า

3.3.3.5 การตรวจสอบสีผิวของมะนาว ด้วยการหาค่าเฉลี่ยของคะแนนของสีผิวของมะนาว โดยการให้คะแนนมะนาวตามระดับสีผิว ด้วยวิธีการของ Passam และ Blunden (10) ดังนี้คือ

- ระดับสีที่ 0 ผลมีสีเขียวเข้มสม่ำเสมอ หรือมีสีเหลืองปนอยู่น้อยกว่า 5% ของพื้นที่ผิวทั้งหมด ให้ 5 คะแนน
- ระดับสีที่ 1 ผลส่วนใหญ่เป็นสีเขียว มีสีเหลืองปนอยู่ประมาณ 5-25% ของพื้นที่ผิวทั้งหมด ให้ 4 คะแนน
- ระดับสีที่ 2 ผลมีสีเหลืองมากขึ้น คือมีสีเหลืองประมาณ 25-50% ของพื้นที่ผิวทั้งหมดให้ 3 คะแนน
- ระดับสีที่ 3 ผลมีสีส่วนใหญ่เป็นสีเหลือง คือมีสีเหลืองประมาณ 50-75% ของพื้นที่ผิวทั้งหมด ให้ 2 คะแนน
- ระดับสีที่ 4 ผลมีสีเหลืองมากกว่า 75% ของพื้นที่ผิวทั้งหมด ให้ 1 คะแนน

3.3.3.6 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของมะนาว ได้แก่

3.3.3.6.1 การวัดปริมาณเอทานอลในน้ำมะนาวด้วยวิธี Internal standard โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Gas Chromatography ของ Shimadzu รุ่น 7AG ของศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ดังแสดงในรูปที่ 3.2 ซึ่งมีรายละเอียดของวิธีการวิเคราะห์อยู่ในภาคผนวก ก.

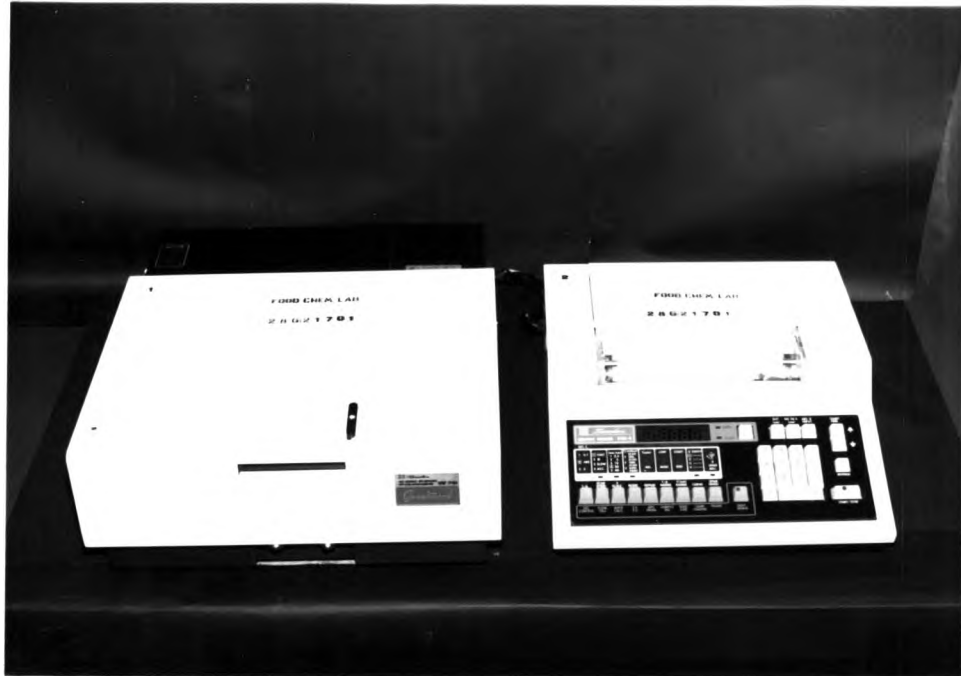
3.3.3.6.2 การวัดปริมาณกรดทั้งหมด (Total acid) ซึ่งคิดเป็นมิลลิกรัมของกรดซิตริก (Citric acid) ต่อน้ำมะนาว 100 มิลลิลิตร ซึ่งหาโดยการไตเตรตน้ำมะนาวคั้นสด 2 มิลลิลิตร กับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N

3.3.3.6.3 การวัดความเป็นกรดด้วย pH meter

3.3.3.6.4 การวัดปริมาณวิตามินซี โดยใช้ Photometric method (34) ซึ่งใช้ Double Beam Spectrophotometer ของ Shimadzu รุ่น UV 240 (P/N 204-5800) ดังรูปที่ 3.6

3.3.3.6.5 การหาปริมาณของแข็งที่ละลายได้โดยใช้ Hand Refractometer





รูปที่ 3.6 Double Beam Spectrophotometer ของ Shimadzu รุ่น UV240 (P/N 204-5800)

### 3.3.3.7 การประเมินผลทางประสาทสัมผัส (Sensory evaluation)

ซึ่งพิจารณาในด้านกลิ่นรสของน้ำมะนาวคั้นสด โดยใช้ผู้ทดสอบซึ่งผ่านการฝึกฝนมาแล้ว 15 คน ทำ 2 ซ้ำ ซึ่งมีรายละเอียดของแบบสอบถามอยู่ในภาคผนวก ข (คือแบบสอบถาม ข-1)

### 3.3.3.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

โดยใช้ข้อมูลจากข้อ 3.3.3.1-3.3.3.7 ยกเว้นข้อ 3.3.3.4 โดยใช้ 8×5 Asymetric factorial design สำหรับการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติใช้ Duncan's Multiple Range test

### 3.4 การศึกษาผลของอายุการเก็บรักษา อายุการเก็บเกี่ยว และสารตกค้างเอทิลีน ต่อความเข้มข้นของกาซในภาชนะบรรจุ และคุณภาพของมะนาวสด

#### 3.4.1 การเตรียมมะนาวสด

การเตรียมมะนาวสดในการทดลองนี้เหมือนกับการเตรียมในข้อ 3.3.1 ที่ผ่านมา แต่มะนาวสดที่ใช้นั้นต่างกับข้อ 3.3.1 คือมะนาวสดที่ใช้เป็นมะนาวสดพันธุ์แป้นจากสวนแถบบางแคเช่นกัน แต่ไม่ใช่สวนเดียวกับข้อ 3.3.1 มะนาวสดนี้มีอายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 4 เดือนและประมาณ 5 เดือน ตามลำดับ ซึ่งนับเวลาโดยประมาณตั้งแต่เริ่มติดดอก (Anthesis)

มะนาวอายุ 5 เดือน และมะนาวอายุ 4 เดือนนั้น มีความแตกต่างกันเล็กน้อย โดยมะนาวอายุ 5 เดือน เป็นมะนาวที่แก่จัดเต็มที่ มีสีเขียวสม่ำเสมอทั่วทั้งผล มีเปอร์เซ็นต์น้ำคั้นมาก เป็นมะนาวที่อยู่ในช่วงที่เก็บมาขายเป็นส่วนใหญ่ ส่วนมะนาวอายุ 4 เดือน เป็นมะนาวที่แก่พอที่จะรับประทานได้ มีเปอร์เซ็นต์น้ำคั้นพอสมควร สีผิวมะนาวมีสีเขียวเข้มและเปลือกหนากว่ามะนาวอายุ 5 เดือนเล็กน้อย

#### 3.4.2 การเก็บมะนาวสด

นำมะนาวสดที่ผ่านการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อราจากข้อ 3.4.1 มาเก็บในถุงพลาสติกชนิดที่เหมาะสมที่สุดที่เลือกได้จากข้อ 3 ซึ่งมุมของถุงพลาสติกนั้นได้ตัดติดด้วยท่อดังก่อมาแล้ว โดยบรรจุมะนาวภายใต้บรรยากาศปกติ แล้วปิดผนึกด้วยเครื่องปิดผนึกแผ่น-ลดความร้อน การปิดผนึกจะควบคุมพื้นที่ของถุงพลาสติกให้ได้ขนาด  $10 \times 12.5$  ตารางนิ้วเช่นกัน เมื่อปิดผนึกเรียบร้อยแล้วจะได้มะนาวซึ่งบรรจุในภาชนะบรรจุ ดังแสดงในรูปที่ 3.4

เมื่อเตรียมมะนาวในภาชนะบรรจุเรียบร้อยแล้ว จึงนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ  $10 \pm 2$  °C ความชื้นสัมพัทธ์ 85-90%

แผนการทดลองที่ใช้คือ Asymmetric factorial design แบบ  $5 \times 2 \times 2$  เท่ากับ 20 treatment combination โดยมีตัวแปรดังต่อไปนี้

3.4.2.1 อายุการเก็บรักษา มี 5 ระดับคือ 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือนตามลำดับ

3.4.2.2 อายุการเก็บเกี่ยวมะนาว มี 2 ระดับคือ มะนาวอายุ 5 เดือนและมะนาวอายุ 4 เดือน

3.4.2.3 สารคูกาซเอทธิลีน มี 2 ระดับคือ มีและไม่มีสารคูกาซเอทธิลีน ในภาชนะบรรจุ ซึ่งมีรายละเอียดของการเตรียมสารคูกาซเอทธิลีนในภาคผนวก ก

3.4.3 การตรวจวิเคราะห์และการตรวจคุณภาพของมะนาวสดในระหว่างการเก็บ-  
รักษา

การตรวจวิเคราะห์และการตรวจคุณภาพของมะนาวสดในระหว่างการเก็บรักษาทำเหมือนกับข้อ 3.3.3 ทั้งหมด แต่ดัดแปลงและเพิ่มเติมดังนี้

การคูลี่ผิวของมะนาวได้ใช้แผ่นเทียบสี RHS (The Royal Horticultural Society London) ดังแสดงในรูปที่ 3.7 ควบคู่ไปด้วย

ประเมินผลทางประสาทสัมผัส ได้ดัดแปลงแบบสอบถามเล็กน้อย ซึ่งมีรายละเอียดในภาคผนวก ข (แบบสอบถาม ข-2) และในการประเมินผลทางประสาทสัมผัสครั้งนี้ ได้ให้ผู้บริโภคนำไปประกอบอาหารจริง ๆ ครอบครัวยละ 2 ผล ในการประเมินผลใช้ประมาณ 15 ครอบครัว ต่อ 1 การทดลอง โดยใช่แบบสอบถามซึ่งมีรายละเอียดในภาคผนวก ข (แบบสอบถาม ข-3)

การวิเคราะห์ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และออกซิเจน โดยใช้ Orsat gas analyzer การหาเปอร์เซ็นต์มะนาวที่เน่าเสีย การหาเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่สูญเสียไป และการตรวจสีผิวของมะนาว การตรวจวิเคราะห์เหล่านี้ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ส่วนการตรวจคุณภาพอื่น ๆ ของมะนาวทำการทดลอง 2 ซ้ำ

3.4.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ใช้ Asymmetric factorial design แบบ  $5 \times 2 \times 2$  สำหรับการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติใช้ Duncan's new multiple range test



## แผ่นเทียบสี

รูปที่ 3.7 แผ่นเทียบสี RHS (The Royal Horticultural Society London)