บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. พืชทดลอง

ข้าวโพดฝักอ่อนพันธุ์ PA271 (*Zea mays* L. cv. PA271) และพันธุ์ SG20 (*Zea mays* L. cv. SG20) คุณภาพชั้นพิเศษ (extra class) จากบริษัท KPS อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ข้าวโพดฝักอ่อนที่นำมาทดลองเก็บเกี่ยวและตัดแต่งในตอนเช้า ตัดแต่งให้อยู่ในสภาพไม่มีเปลือก ก้าน และเส้นไหมติดอยู่ มีลักษณะฝักอ่อนสมบูรณ์ ปราศจากตำหนิ ห่อด้วยถุงพลาสติกแห้งและบรรจุลงในกล่องโฟม เพื่อขนส่งโดยรถยนต์ปรับอากาศมายังห้องปฏิบัติการภายในเวลา 3 ชั่วโมง

3195994350

2. วัสดุอุปกรณ์

2.1 บรรจุภัณฑ์ฟิล์มพอลิพรอพิลีน

บรรจุภัณฑ์ฟิล์มพอลิพรอพิลีน (PP)

บรรจุภัณฑ์ฟิล์มพอลิพรอพิลีนดัดแปลง (PP + 1% clay)

บรรจุภัณฑ์ฟิล์มพอลิพรอพิลีนดัดแปลง (PP + 1% clay + 5% magnetite)

2.2 อุปกรณ์สำหรับการทำความสะอาดและคัดเลือกขนาดของข้าวโพดฝักอ่อนก่อนบรรจุในบรรจุภัณฑ์ฟิล์มพอลิพรอพิลีนดัดแปลงชนิดต่าง ๆ

กะบะพลาสติก

ผ้าขาวบาง

กระดาษทิชชู่

พัดลม

นาฬิกาจับเวลา

กระบอกตวง ขนาด 10 มิลลิลิตร

ไม้บรรทัด

2.3 **อุปกรณ์สำหรับการเก็บรักษาและศึกษาอายุการเก็บรักษาของข้าวโพดฝักอ่อน**

ตู้แช่เย็นควบคุมอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

เทอร์โมมิเตอร์

กล้องถ่ายภาพระบบดิจิตอล Canon EOD 450D

ผ้าดำ

2.4 **อุปกรณ์สำหรับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีของข้าวโพดฝักอ่อน**

เครื่องวัดสี Konica Minolta รุ่น CR-10 (Konica Minolta, Japan)

ชุดคอมพิวเตอร์

3195994350

2.5 **อุปกรณ์สำหรับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อของข้าวโพดฝักอ่อน**

เครื่องวัดความแน่นเนื้อ fruit hardness tester รุ่น FHR-1 (Nippon Optical Works, Japan)

2.6 **อุปกรณ์สำหรับการศึกษาการสูญเสียน้ำหนักสดของข้าวโพดฝักอ่อน**

เครื่องชั่งน้ำหนัก 3 ตำแหน่ง รุ่น PG 503-S (Mettler Toledo, Switzerland)

2.7 **อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส**

ของข้าวโพดฝักอ่อน

กระติกน้ำเก็บความเย็นแบบอลูมิเนียม

ชุดโกร่งบด

ช้อนตักสาร

ไมโครปิเปตขนาด 20, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

ไมโครปิเปตทิปขนาด 20, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

กระบอกตวงขนาด 10 มิลลิลิตร

หลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 15 มิลลิลิตร

เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ Hettich Universal 320R

(Hettich, Germany)

เครื่องเขย่าสาร National Labnet S0100-220 (National Labnet, USA)

หลอด eppendrof ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

spectrophotometer Agilent 8453 (Agilent, USA)

หลอด cuvettes Hellma 100.600-QC 10 mm

2.8 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลของข้าวโพดฝักอ่อน

กระติกน้ำเก็บความเย็นแบบอลูมิเนียม

ชุดโกร่งบด

ช้อนตักสาร

ไมโครปิเปตขนาด 20, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

ไมโครปิเปตทิปขนาด 20, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

หลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 15 มิลลิลิตร

เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ Hettich Universal 320R

(Hettich, Germany)

เครื่องเขย่าสาร National Labnet S0100-220 (National Labnet, USA)

หลอด eppendrof ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

spectrophotometer Agilent 8453 (Agilent, USA)

หลอด cuvettes Hellma 100.600-QC 10 mm

2.9 อุปกรณ์สำหรับศึกษาอัตราการหายใจของข้าวโพดฝักอ่อน

เครื่องชั่งน้ำหนัก 3 ตำแหน่ง รุ่น PG 503-S (Mettler Toledo, Switzerland)

gas chromatograph Shimadzu GC-8A (Shimadzu, Japan)

กระบอกฉีดยาขนาด 5 และ 20 มิลลิลิตร

เข็มฉีดยาเบอร์ 18 และ 25 ยาว 1.5 นิ้ว

3195994350

ขวดเก็บน้ำเกลือขนาด 20 มิลลิลิตร พร้อมจุกยา

พาราฟิล์ม

2.10 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีของข้าวโพดฝักอ่อน

กระติกน้ำเก็บความเย็นแบบอลูมิเนียม

ชุดโกร่งบด

ช้อนตักสาร

ไมโครปิเปตขนาด 20, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

ไมโครปิเปตทิปขนาด 20, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

หลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 15 มิลลิลิตร

เครื่องเขย่าสาร National Labnet S0100-220 (National Labnet, USA)

เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ Hettich Universal 320R

(Hettich, Germany)

หลอด eppendrof ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

spectrophotometer Agilent 8453 (Agilent, USA)

หลอด cuvettes Hellma 100.600-QC 10 mm

2.11 อุปกรณ์สำหรับศึกษาปริมาณเส้นใยอาหารของข้าวโพดฝักอ่อน

ชุดโกร่งบด

กระบอกตวงขนาด 10 มิลลิลิตร

อ่างควบคุมอุณหภูมิ Lab Tech AWB-011D (Daihan, Korea)

เทอร์โมมิเตอร์

หลอดเซนตริฟิวจ์พลาสติกขนาด 30 มิลลิลิตร

ตะแกรงทองเหลืองมาตรฐานขนาด 0.180 มิลลิเมตร

Retsch Sieve Type ASTM 0.180 mm (Retsch, Germany)

กระบอกน้ำกลั่น

กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 (GE Healthcare, United Kingdom)

3196944350

ตู้อบลมร้อน Binder Fed400 (Binder, Germany)

เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง รุ่น AG 285 (Mettler Toledo, Switzerland)

2.12 **อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ของข้าวโพดฝักอ่อน**

ตู้อบลมร้อน Binder Fed400 (Binder, Germany)

เครื่องชั่งน้ำหนัก 3 ตำแหน่ง รุ่น PG 503-S (Mettler Toledo, Switzerland)

เครื่องปั่นเหวี่ยง Sorvall Biofuge pico (Sorvall, USA)

เครื่องเขย่าสาร National Labnet S0100-220 (National Labnet, USA)

ไมโครปิเปตขนาด 20, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

ไมโครปิเปตทิปขนาด 20, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

อ่างควบคุมอุณหภูมิ Lab Tech AWB-011D (Daihan, Korea)

spectrophotometer Agilent 8453 (Agilent, USA)

เทอร์โมมิเตอร์

3. สารเคมี

3.1 **สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสของข้าวโพดฝักอ่อน**

PVPP

0.2 Potassium phosphate buffer pH 7

0.2 Potassium phosphate buffer pH 7

Pyrocatechol

Bio-Rad protein assay reagent

3.2 **สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลของข้าวโพดฝักอ่อน**

80% Ethanol

2% Sodium carbonate

50% Folin phenol reagent

Gallic acid

3.3 สารเคมีสำหรับศึกษาอัตราการหายใจของข้าวโพดฝักอ่อน

น้ำเกลืออิ่มตัว

3.4 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีของข้าวโพดฝักอ่อน

0.2 N HCl

0.2 N Potassium phosphate buffer pH 5.6

0.2 N KOH

0.5 M disodium hydrogen phosphate – Citric acid buffer (pH 6.5)

100 mM DTT (dithiothreitol)

0.5% NEM (N-ethylmaleimide)

ascorbate oxidase

3.5 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยอาหารของข้าวโพดฝักอ่อน

50% NaOH

3.6 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ของข้าวโพดฝักอ่อน

95% Ethanol

70% Ethanol

anthrone

72% w/w Sulfuric acid

glucose

3195994350

4. วิธีการทดลอง

4.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD)

4.2 การเตรียมข้าวโพดฝักอ่อนพันธุ์ PA271 และ SG20

คัดเลือกข้าวโพดฝักอ่อนที่มีความสม่ำเสมอทั้งขนาดฝักและสี โดยเลือกฝักที่มีความยาวประมาณ 8.0 - 11.0 เซนติเมตร และความกว้าง 1.0 - 2.5 เซนติเมตร ตัดแต่งให้อยู่ในสภาพไม่มีเปลือก ก้าน และเส้นไหมติดอยู่ มีลักษณะฝักอ่อนสมบูรณ์ปราศจากตำหนิ จากนั้นทำความสะอาดข้าวโพดฝักอ่อนโดยการแช่ในสารละลาย sodium hypochlorite (NaClO) ความเข้มข้น 200 ppm เป็นเวลา 5 นาที แล้วเป่าด้วยพัดลมให้แห้ง

4.3 การศึกษาผลของฟิล์มพอลิพรอพิลีนดัดแปลงต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของข้าวโพดฝักอ่อน PA271 และ SG20 ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

การทดลองแบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ และแต่ละซ้ำมีจำนวน 2 ถุง ถุงละ 5 ฝัก โดยมีชุดการทดลองดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 บรรจุภัณฑ์ polypropylene (control)

ชุดการทดลองที่ 2 บรรจุภัณฑ์ polypropylene + 1% clay

ชุดการทดลองที่ 3 บรรจุภัณฑ์ polypropylene + 1% clay + 5% magnetite

โดยบรรจุข้าวโพดฝักอ่อนที่ทำความสะอาดเรียบร้อยแล้วในบรรจุภัณฑ์แต่ละชุดการทดลอง ทำการบรรจุข้าวโพดฝักอ่อน 5 ฝัก ต่อ 1 ถุง (ถุงขนาด 7 x 11 นิ้ว) จากนั้นนำข้าวโพดฝักอ่อนทั้งหมดไปเก็บรักษาในตู้แช่เย็นที่ควบคุมอุณหภูมิ 5 ± 2 องศาเซลเซียส บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของข้าวโพดฝักอ่อนทั้ง 2 พันธุ์ ในวันที่ 0, 21, 28 และ 35 ดังนี้

4.3.1 การให้คะแนนลักษณะภายนอก (ฉัตรวรุณ พจนการุณ, 2548)

ให้คะแนนลักษณะภายนอกของข้าวโพดฝักอ่อน ตามเกณฑ์ดังนี้

5 คะแนน ลักษณะฝักสมบูรณ์เหมือนฝักที่เพิ่งปอกเปลือก

4 คะแนน มีสีน้ำตาลที่ปลายฝักเล็กน้อย

3 คะแนน มีสีน้ำตาลที่ปลายฝักมากขึ้น และ/หรือ มีสีน้ำตาลที่ขั้วฝัก

2 คะแนน มีสีน้ำตาล และ/หรือ อาการฉ่ำน้ำ 1 ใน 4 ของฝัก

1 คะแนน มีสีน้ำตาล และ/หรือ อาการฉ่ำน้ำครึ่งฝัก

0 คะแนน มีสีน้ำตาล และ/หรือ อาการฉ่ำน้ำทั่วทั้งฝัก

โดยคะแนนที่ต่ำกว่า 3 ถือว่าไม่ได้รับการยอมรับทางการค้า

4.3.2 การเปลี่ยนแปลงสี

วัดการเปลี่ยนแปลงสีของข้าวโพดฝักอ่อนด้วยเครื่องวัดสี Konica Minolta รุ่น CR-10 โดยวัดทั้งหมด 3 ตำแหน่ง ได้แก่ ปลายฝัก กลางฝัก และโคนฝัก รายงานผลเป็นค่า L*, b* และ Hue angle

4.3.3 การเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อ

วัดความแน่นเนื้อของข้าวโพดฝักอ่อนด้วยเครื่องวัดความแน่นเนื้อ (fruit hardness tester) รุ่น FHR-1 หัววัดทรงกรวย (cone type) โดยวางหัววัดให้ตั้งฉากกับฝักข้าวโพดแล้วแทงให้หัววัดทะลุลงไปในเนื้อฝัก นำค่าที่ได้คูณด้วย 9.81 เพื่อแปลงค่าที่อ่านได้ในหน่วยกิโลกรัมให้เป็นหน่วยนิวตัน (N) และรายงานผลในหน่วยนิวตัน (N) ทำการวัดทั้งหมด 2 ตำแหน่ง ได้แก่ กลางฝัก และโคนฝัก เพื่อหาค่าเฉลี่ยความแน่นเนื้อของแต่ละฝัก

4.3.4 การสูญเสียน้ำหนักสด

ชั่งข้าวโพดฝักอ่อนทั้ง 5 ฝักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง และคำนวณเป็นร้อยละการสูญเสียน้ำหนักสด ดังนี้

$$\text{ร้อยละการสูญเสียน้ำหนักสด} = \frac{(\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักหลังการเก็บรักษา}) \times 100}{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา}}$$

4.4 ศึกษาผลของฟิล์มพอลิพรอพิลีนดัดแปลงต่อแอกติวิตีของเอนไซม์พอลิฟีนอล-ออกซิเดส ปริมาณสารประกอบฟีนอล และอัตราการหายใจของข้าวโพดฝักอ่อน PA271 และ SG20 หลังการเก็บเกี่ยว

ทำการทดลอง 3 ชุดการทดลอง เช่นเดียวกับข้อ 4.2 เก็บตัวอย่างของข้าวโพดฝักอ่อนทั้ง 2 พันธุ์ในวันที่ 0, 21, 28 และ 35 หลังการเก็บรักษา วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ดังนี้

4.4.1 แอกติวิตีของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสของข้าวโพดฝักอ่อนพันธุ์ PA271 และ SG20

ทำการทดลองโดยเก็บตัวอย่างข้าวโพดฝักอ่อน 1.5 กรัม ในแผ่นอลูมิเนียม-ฟอยล์ แล้วนำไปแช่ในไนโตรเจนเหลว ก่อนนำไปแช่ในตู้แช่อุณหภูมิ -80 องศาเซล-เซียส เพื่อทำการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสด้วยวิธีของ Montgomery and Sgarbieri (1975) (รายละเอียดในภาคผนวก)

4.4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของอ่อนพันธุ์ PA271 และ SG20

เก็บตัวอย่างข้าวโพดฝักอ่อน 3.0 กรัม ในแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์ แล้วนำไปแช่ในไนโตรเจนเหลว ก่อนนำไปแช่ในตู้แช่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Javanmardi et al. (2003) (รายละเอียดในภาคผนวก)

4.4.3 วิเคราะห์อัตราการหายใจของข้าวโพดฝักอ่อนพันธุ์ PA271 และ SG20

นำข้าวโพดฝักอ่อนจำนวน 4 ฝัก โดยการสุ่มข้าวโพดฝักอ่อนจากบรรจุ-ภัณฑ์ 1 ฝักต่อ 1 ถุง ของแต่ละซ้ำ มาใส่ในขวดโหลแก้วปริมาตร 715 ลูกบาศก์-เซนติเมตร เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ใช้หลอดฉีดยาดูดอากาศตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร จากขวดโหลแก้วมาเก็บแทนที่น้ำเกลือในขวดแก้วขนาด 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแก๊สคาร์-

บอนไดออกไซด์ด้วยเครื่อง gas chromatograph Shimadzu GC-8A นำค่าที่ได้มาคำนวณหาอัตราการหายใจต่อน้ำหนักข้าวโพดฝักอ่อน (รายละเอียดในภาคผนวก)

4.5 ศึกษาผลของฟิล์มพอลิพรอพิลีนดัดแปลงต่อการเปลี่ยนแปลงคุณค่าทางอาหาร ปริมาณวิตามินซี ปริมาณเส้นยอาหาร และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ของข้าวโพดฝักอ่อน PA271 และ SG20 หลังการเก็บเกี่ยว

ทำการทดลอง 3 ชุดการทดลอง เช่นเดียวกับข้อ 4.2 เก็บตัวอย่างของข้าวโพดฝักอ่อน ทั้ง 2 พันธุ์ในวันที่ 0, 21, 28 และ 35 หลังการเก็บรักษา วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ดังนี้

4.5.1 ปริมาณวิตามินซีของข้าวโพดฝักอ่อนพันธุ์ PA271 และ SG20

เก็บตัวอย่างข้าวโพดฝักอ่อน 1.0 กรัม ในแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์แล้วนำไปแช่ในไนโตรเจนเหลว ก่อนนำไปแช่ในตู้แช่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Every (1996) (รายละเอียดในภาคผนวก)

4.5.2 ปริมาณเส้นใยอาหารของข้าวโพดฝักอ่อนพันธุ์ PA271 และ SG20 (ฉัตรวรุณ พจนการุณ, 2549)

เก็บตัวอย่างข้าวโพดฝักอ่อน 1.5 กรัม ในแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์ แล้วนำไปแช่ในตู้แช่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยอาหารด้วยการบดตัวอย่างข้าวโพดฝักอ่อนในโกร่งให้ละเอียดโดยไม่ต้องใช้ไนโตรเจนเหลว ล้างเนื้อเยื่อที่ได้ด้วยน้ำเดือด 12 มิลลิลิตร เทใส่หลอดเซนตริฟิวจ์พลาสติกขนาด 30 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที จากนั้นนำมากรองด้วยตะแกรงทองเหลืองมาตรฐานขนาด 0.180 มิลลิเมตร ล้างด้วยน้ำกลั่นจนเนื้อเยื่อเป็นสีขาว เทเนื้อเยื่อลงในกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ที่ทราบน้ำหนักแล้ว นำกระดาษกรองที่มีเนื้อเยื่อดังกล่าวไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นชั่ง

3195994350

น้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง แล้วคำนวณปริมาณเส้นใยอาหารดังสมการ

ปริมาณเส้นใยอาหาร (g/g FW) = น้ำหนักเส้นใยอาหาร / 1.5

4.5.3 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ของข้าวโพดฝักอ่อนพันธุ์ PA271 และ SG20 (ฉัตรวรุณ พจนการุณ, 2549)

เก็บตัวอย่างข้าวโพดฝักอ่อน 1.5 กรัม ในแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์ แล้วนำไปแช่ ในไนโตรเจนเหลวก่อนนำไปแช่ในตู้แช่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (รายละเอียดในภาคผนวก)

4.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี one-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.7 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการหน่วยวิจัยสิ่งแวดล้อมและสรีรวิทยาของพืช ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3195994350