

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดสี (chromameter) ยี่ห้อ Minolta รุ่น CR-200
2. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (hand refractometer) ยี่ห้อ ATAGO รุ่น ATC 1
3. เครื่องทำความเย็น
4. เครื่องควบคุมอุณหภูมิของน้ำ (hot water bath)
5. หม้อนึ่งความดัน
6. เครื่องชั่งแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง
7. ตู้แช่แข็ง
8. ตะกร้า ถาดโฟม พลาสติก PVC เครื่องแก้วต่างๆ

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. potato dextrose agar (PDA)
2. potato dextrose broth (PDB)
3. nutrient agar (NA)
4. nutrient broth (NB)

พืชทดลอง

ลำไยพันธุ์ตอจากสวนเกษตรกร อ.เวียงหนองล่อง จ.ลำพูน โดยผลลำไยที่ใช้มีจำนวนประมาณ 85 ผล/กิโลกรัม เก็บเกี่ยวผลในเดือนมกราคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ ใช้ในการทดลองที่ 1 และการทดลองที่ 2 และเก็บเกี่ยวผลในเดือนกรกฎาคม ใช้ในการทดลองที่ 3

สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ และห้องปฏิบัติการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง

เดือนตุลาคม พ.ศ.2544 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ.2545

วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาหาชนิดของสารประกอบเกลือที่เหมาะสมในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มข้นของสารประกอบเกลือ อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการแช่ผลลำไยพันธุ์ดอ และการทดลองที่ 3 ศึกษาประสิทธิภาพของสารประกอบเกลือร่วมกับสารเคลือบผิวที่เหมาะสมในการควบคุมการเน่าเสียบนผลลำไยพันธุ์ดอ เมื่อนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C

การทดลองที่ 1 ศึกษาหาชนิดของสารประกอบเกลือที่เหมาะสมในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) โดยแบ่งกรรมวิธีออกเป็น 8 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว (ชุดควบคุม)
- กรรมวิธีที่ 2 สารละลายเกลือไฮโปคลอไรต์ ความเข้มข้น 0.02 % (W/V)
- กรรมวิธีที่ 3 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 3 % (W/V)
- กรรมวิธีที่ 4 สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 0.5 % (W/V)
- กรรมวิธีที่ 5 สารละลายโปแตสเซียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 0.5 % (W/V)
- กรรมวิธีที่ 6 สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 1.25 % (W/V)
- กรรมวิธีที่ 7 สารละลายโปแตสเซียมซอร์เบต ความเข้มข้น 0.3 % (W/V)
- กรรมวิธีที่ 8 สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 4 % (W/V)

นำเปลือกของผลลำไยพันธุ์ดอ 2 กรัม มาปั่นผสมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 20 มิลลิลิตร หลังจากนั้นดูน้ำที่มีการปะปนของเชื้อ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่มีสารละลายเคมีตามกรรมวิธีต่างๆ 1 มิลลิลิตร ผสมกับ PDB 8 มิลลิลิตร เขย่าแล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 วัน และ 3 วัน ตรวจสอบผลโดยดูการละลายที่ได้ 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบน PDA เกลี่ยผิวหน้าอาหารให้ทั่ว ทำที่ความเข้มข้น 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ถึง 10^{-4} โดยทำที่ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน ตรวจสอบปริมาณของเชื้อรา ตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรีย โดยการดูน้ำที่มีการปะปนของเชื้อ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่มีสารละลายเคมีตามกรรมวิธีต่างๆ 1 มิลลิลิตร ผสมกับ NB 8 มิลลิลิตร เขย่าแล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 วัน และ 3 วัน ตรวจสอบผลโดยการดูการละลายที่ได้ 20 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหาร NA ความเข้มข้นละ 3 หยด ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยทำที่ความเข้มข้น 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ถึง 10^{-4} แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 วัน ตรวจสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มข้นของสารประกอบเกลือ อุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมในการแช่ผลลำไยพันธุ์ดอ

การทดลองที่ 2.1 ศึกษาความเข้มข้นของสารประกอบเกลือที่เหมาะสมในการแช่ผลลำไยพันธุ์ดอ

การทดลองนี้จะใช้สารละลายเกลือซึ่งได้ผลจากการทดลองที่ 1 คือ สารโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 3%(W/V) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) โดยแบ่งกรรมวิธีออกเป็น 4 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 ผลลำไยแช่ด้วยสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 0 %(W/V)
- กรรมวิธีที่ 2 ผลลำไยแช่ด้วยสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 1 %(W/V)
- กรรมวิธีที่ 3 ผลลำไยแช่ด้วยสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 3 %(W/V)
- กรรมวิธีที่ 4 ผลลำไยแช่ด้วยสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 5 %(W/V)

โดยนำผลลำไยมาตัดก้านออกให้เหลือก้านเหนือหัวผลประมาณ 5 มิลลิเมตร จากนั้นนำผลลำไยมาแช่ในสารละลายที่เตรียมไว้ข้างต้นเป็นเวลา 10 นาที ในอัตราส่วนผลลำไย 1 กิโลกรัมต่อสารละลายปริมาตร 1 ลิตร นำไปผึ่งลมให้แห้ง แล้วจัดเรียงบนถาดโฟม หุ้มด้วยพลาสติก PVC นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C เพื่อรอการศึกษา บันทึกผลโดยการตรวจสอบพื้นที่ภายหลังการแช่ในสารละลายตามกรรมวิธีต่างๆ และตรวจสอบผลทุก 2 วัน

ข้อมูลที่ทำการศึกษา

1. การเกิดโรค

โดยพิจารณาจากจำนวนผลที่เกิดโรค แล้วคิดเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์จากจำนวนผลทั้งหมด

2. การสูญเสียน้ำหนัก

บันทึกการสูญเสียน้ำหนักของผลลำไยตั้งแต่เริ่มทดลองจนกระทั่งหมดอายุการเก็บรักษาทุก 2 วัน แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักที่ชั่งได้}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100$$

3. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids, TSS)

บันทึกการตรวจหาปริมาณ TSS ด้วย hand refractometer ก่อนนำไปปรับเกลให้เป็นศูนย์ด้วยน้ำกลั่น แล้วคั้นน้ำลำไยหยดลงบนหน้าปัทม์ ค่าที่อ่านได้มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์

4. การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

บันทึกการวัดการเปลี่ยนสีเปลือกด้านนอก สีเปลือกด้านใน และสีเนื้อด้วยเครื่องวัดสี (chroma meter) โดยค่าที่ได้จากการวัดแสดงเป็นค่า L^* , a^* , b^* แล้วแสดงผลเป็นค่า chroma และค่า hue ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

L^* แสดงความสว่างเมื่อมีค่าใกล้ 100 และแสดงความมืดเมื่อมีค่าใกล้ 0

a^* ที่เป็นบวกแสดงว่าผลิตภัณฑ์มีสีออกแดง และที่เป็นลบแสดงว่าผลิตภัณฑ์มีสีออกเขียว

b^* ที่เป็นบวกแสดงว่าผลิตภัณฑ์มีสีออกเหลือง และที่เป็นลบแสดงว่าผลิตภัณฑ์มีสีออกน้ำเงิน

chroma มีค่าเข้าใกล้ 0 แสดงว่า วัตถุมีสีจาง (เทา) หากมีค่าใกล้ 60 แสดงว่าวัตถุมีสีเข้ม

hue angle มีค่าใกล้มุม 90 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเหลือง (+b) หากมีค่าใกล้ 180

องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเขียว (-a)

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

$$\text{hue angle} = \arctangent \left(\frac{a^*}{b^*} \right)$$

5. การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

โดยให้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 5 คน ซึ่งเป็นบุคคลกลุ่มเดียวกันและผ่านการฝึกฝนมาเป็นอย่างดีตลอดการชิมทุกครั้ง ให้ผู้ทดสอบชิมประเมินพร้อมๆ กันตามแบบประเมิน มีรายละเอียดดังนี้ (ดัดแปลงจากบุญส่ง, 2543)

1. สีเปลือกนอก (ภาพ 1)

- 1 = สีน้ำตาลทั้งผล (สีน้ำตาล 100% ของผล)
- 2 = สีเหลืองปนน้ำตาล (สีน้ำตาล 50% ของผล)
- 3 = สีเหมือนลำไยสด
- 4 = สีเหลือง



ภาพ 1 เกณฑ์การให้คะแนนของการประเมินคุณภาพแบบ profile test สีเปลือกด้านนอก

2. สีเปลือกใน (ภาพ 2)

- 1 = สีมืดปกตีมมาก
- 2 = สีมืดปกตិเล็กน้อย
- 3 = สีปกติ



ภาพ 2 เกณฑ์การให้คะแนนของการประเมินคุณภาพแบบ profile test สีเปลือกด้านใน

3. รสชาติ

- 1 = มีรสชาติมืดปกตีมมาก
- 2 = มีรสชาติมืดปกติเล็กน้อย แต่ยังสามารถรับได้
- 3 = มีรสชาติดำเ็น ไม่มรสชาติมืดปกติ

4. กลิ่น

- 1 = มีกลิ่นแปลกปลอม หรือกลิ่นไม่พึงประสงค์
- 2 = มีกลิ่นแปลกปลอมเล็กน้อย แต่ยังสามารถรับได้
- 3 = มีกลิ่นดำเ็น ไม่มีกลิ่นแปลกปลอม

6. อายุการเก็บรักษา

การสิ้นสุดระยะเวลาของการเก็บรักษา พิจารณาจากการปรากฏให้เห็นของเชื้อราที่ผลลำไย โดยเมื่อพบว่าเริ่มมีเชื้อราปรากฏให้เห็น ให้ถือว่าหมดอายุการเก็บรักษาและ/หรือเมื่อผู้บริโภคไม่ยอมรับตามเกณฑ์การประเมินคุณภาพด้านประสาทสัมผัส โดยให้คะแนนประเมินคุณภาพแบบ profile test ในระดับคะแนนเท่ากับ 1 คือ สีเปลือกด้านนอกพบว่ามีสีน้ำตาลทั้งหมด สีเปลือกด้านในพบว่ามีสีผิดปกติมาก รสชาติผิดปกติ และมีกลิ่นแปลกปลอม และ/หรือกลิ่นไม่พึงประสงค์

การทดลองที่ 2.2 ศึกษาอุณหภูมิ และเวลาในการแช่ที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

การทดลองนี้ใช้สารละลายเกลือที่ได้จากการทดลองที่ 1 คือ สารละลาย Na_2CO_3 และใช้ความเข้มข้นที่ได้ผลจากการทดลองที่ 2.1 คือ ความเข้มข้น 3 % (W/V) วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (factorial in completely randomized design) โดยแบ่งออกเป็น 2 ปัจจัย ดังนี้

ปัจจัยที่ 1 อุณหภูมิของสารละลาย Na_2CO_3 ที่ใช้ในการแช่ มี 4 ระดับ คือ

อุณหภูมิห้อง ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) 49, 52 และ 55°C

ปัจจัยที่ 2 เวลาที่ใช้ในการแช่ มี 2 ระดับ คือ 5 และ 10 นาที

โดยนำผลลำไยมาตัดก้านออกให้เหลือก้านเหนือหัวผลประมาณ 5 มิลลิเมตร จากนั้นนำผลลำไยมาแช่ในสารละลายที่เตรียมไว้ข้างต้นในอัตราส่วนผลลำไย 1 กิโลกรัมต่อสารละลายปริมาตร 1 ลิตร นำไปผึ่งลมให้แห้ง แล้วจัดเรียงบนถาดโฟม หุ้มทั้งถาดด้วยพลาสติก PVC เพื่อป้องกันเชื้อจุลินทรีย์และป้องกันความชื้น นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C เพื่อรอการศึกษา ตรวจสอบข้อมูลต่างๆ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1 โดยการตรวจสอบทันทีภายหลังจากแช่ในสารละลายตามกรรมวิธีต่างๆ และตรวจสอบผลทุก 2 วัน

การทดลองที่ 3 ศึกษาประสิทธิภาพของสารประกอบเกลือร่วมกับสารเคลือบผิวที่เหมาะสม ในการควบคุมการเน่าเสียบนผลลำไย

การทดลองนี้ใช้สารละลาย Na_2CO_3 ในระดับความเข้มข้น อุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมในการแช่ผลลำไยซึ่งได้จากผลการทดลองที่ 2.2 คือ สารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 3 % (W/V) ที่อุณหภูมิห้อง ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) นาน 5 นาที วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) โดยแบ่งกรรมวิธีออกเป็น 12 กรรมวิธีๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 ผลลำไยแช่ด้วยน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที (ชุดควบคุม)
- กรรมวิธีที่ 2 ผลลำไยแช่ด้วยสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 3 % (W/V) ที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที
- กรรมวิธีที่ 3 ผลลำไยเคลือบผิวด้วย Stafresh 310 ความเข้มข้น 50 %
- กรรมวิธีที่ 4 ผลลำไยเคลือบผิวด้วย Stafresh 310 ความเข้มข้น 60 %
- กรรมวิธีที่ 5 ผลลำไยเคลือบผิวด้วย Stafresh 310 ความเข้มข้น 70 %
- กรรมวิธีที่ 6 ผลลำไยเคลือบผิวด้วย Carnauba ความเข้มข้น 10 %
- กรรมวิธีที่ 7 ผลลำไยเคลือบผิวด้วย Carnauba ความเข้มข้น 15 %
- กรรมวิธีที่ 8 ผลลำไยแช่ด้วยสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 3 % (W/V) ที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที แล้วเคลือบผิวด้วย Stafresh 310 ความเข้มข้น 50 %
- กรรมวิธีที่ 9 ผลลำไยแช่ด้วยสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 3 % (W/V) ที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที แล้วเคลือบผิวด้วย Stafresh 310 ความเข้มข้น 60 %
- กรรมวิธีที่ 10 ผลลำไยแช่ด้วยสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 3 % (W/V) ที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที แล้วเคลือบผิวด้วย Stafresh 310 ความเข้มข้น 70 %
- กรรมวิธีที่ 11 ผลลำไยแช่ด้วยสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 3 % (W/V) ที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที แล้วเคลือบผิวด้วย Carnauba ความเข้มข้น 10 %
- กรรมวิธีที่ 12 ผลลำไยแช่ด้วยสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 3 % (W/V) ที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที แล้วเคลือบผิวด้วย Carnauba ความเข้มข้น 15 %

โดยนำผลลำไยมาตัดก้านออกให้เหลือก้านเนื้อช้ำผลประมาณ 5 มิลลิเมตร จากนั้นนำผลลำไยมาแช่ในสารละลายที่เตรียมไว้ข้างต้นในอัตราส่วนผลลำไย 1 กิโลกรัมต่อสารละลาย ปริมาตร 1 ลิตรนำไปผึ่งลมให้แห้ง หลังจากนั้นนำผลลำไยที่ได้มาเคลือบด้วยสารเคลือบผิวทั้งสองชนิด ผึ่งให้แห้ง แล้วจัดเรียงบนถาดโฟม หุ้มทั้งถาดด้วยพลาสติก PVC นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C ตรวจสอบข้อมูลต่างๆ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1 โดยการตรวจสอบทันทีภายหลังจากแช่ในสารละลายตามกรรมวิธีต่างๆ และตรวจสอบผลทุก 2 วัน

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University