บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1. วัสดุพันธุ์พืช

ผักกาดฮ่องเต้ (Pak Choi) เก็บเกี่ยวจากศูนย์พัฒนาโครงการหลวงทุ่งหลวงและศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่สะป๊อกและห้วยส้มป่อย ในระยะความแก่ทางการค้า ขนส่งมาที่งานคัดบรรจุเชียงใหม่ ศูนย์ผลิตผลโครงการหลวงด้วยรถบรรทุกธรรมดา

3.2. อุปกรณ์

1. เครื่องลดอุณหภูมิผัก Hydro vacuum cooling (บริษัท Hussmann, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
2. เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น EK-600H (บริษัท Sartorius, ประเทศเยอรมัน) ชั่งน้ำหนักได้สูงสุด 600 กรัม
3. เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น PB 1502-S (บริษัท Sartorius, ประเทศเยอรมัน) ชั่งน้ำหนักได้สูงสุด 500 กรัม
4. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (digital refractometer) รุ่น PR-101 (บริษัท ATAGO, ประเทศญี่ปุ่น) อ่านค่าได้ตั้งแต่ 0-45 เปอร์เซ็นต์
5. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (digital spectrophotometer) รุ่น Spectro 23 (บริษัท LaboMed, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
6. เครื่องกวนสารเคมีด้วยแท่งแม่เหล็กและให้ความร้อน รุ่น SP 18420-26 (บริษัท Nuova II, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
7. กระดาษกรอง Whatman No. 1 เส้นผ่านศูนย์กลาง 110 มิลลิเมตร (บริษัท Whatman International, ประเทศอังกฤษ)
8. syringe nylon filter ขนาด 0.45 ไมครอน (บริษัท Sartorius, ประเทศเยอรมัน)
9. เครื่องวัดอุณหภูมิเทอร์โมมิเตอร์ (digital thermometer) รุ่น Testo 925 (บริษัท Testo, ประเทศเยอรมัน)
10. เครื่องวัดความชื้น (Datalogger) รุ่น 175-H2 Vol. 10 (บริษัท Testo, ประเทศเยอรมัน)
11. เครื่องวัดสี (Chromameter) ตัวเครื่องรุ่น CR-300 หัววัด CR-310 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร (บริษัท Minolta, ประเทศญี่ปุ่น)
12. ตู้อบลมร้อน (Oven) รุ่น FD53(E2) (บริษัท Binder, ประเทศเยอรมัน)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

13. เครื่องปั่นผักและผลไม้ (blender) รุ่น S (648) (บริษัท Moulinex)
14. ตะกร้าพลาสติก
15. ตู้เย็นและชั้นวางผักและผลไม้ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้
16. มีดหั่นผักและเขียงพลาสติก
17. กล้องถ่ายรูปดิจิตอล (digital camera) รุ่น T-10 (บริษัท Sony, ประเทศญี่ปุ่น)
18. นาฬิกาจับเวลา
19. เครื่องเขย่า
20. เครื่องแก้ว
    - บีกเกอร์ (beaker)
    - ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)
    - ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)
    - กระบอกตวง (cylinder)
    - ปิเปต (pipette)
    - บิวเรต (burette)
    - กรวยกรอง (filtering glass funnel)
    - แท่งแก้วคนสารละลาย (stirrer)
    - คิวเวต (cuvette)

3.3. สารเคมีและวิธีเตรียมสารเคมี

1. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

- สารละลายอะซิโตน (acetone) ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยตวงอะซิโตน 100 เปอร์เซ็นต์ มา 800 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

2. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

- สารละลายกรดออกซาลิก (oxalic acid, UNIVAR) ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งกรดออกซาลิก 4.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร
- สารละลาย 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล (2, 6-dichlorophenol indophenol, SIGMA) ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่ง 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล 0.4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- สารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน (ascorbic acid, Merck) ชั่งกรดแอสคอร์บิก 0.05 กรัม ละลายในกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดออกซาลิกให้ครบ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรตกับ 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ จนถึงจุดยุติ แล้วบันทึกปริมาตร 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล ที่ใช้ไปเพื่อเป็นมาตรฐานในการคำนวณหาปริมาณวิตามินซี

3. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ

- สารละลายกรดแกลลิกมาตรฐาน (gallic acid solution) เตรียมโดยชั่งกรดแกลลิก 24.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร
- สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate, Merck) ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 7.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ
- สารละลาย DPPH (1,1-diphenyl-2-picryhydrazyl, Fluka) เตรียมโดยชั่ง DPPH 74 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอลบริสุทธิ์ ปรับปริมาตรด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ให้ครบ 200 มิลลิลิตร กรองด้วย 0.45 micron syringe nylon filter เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ
- สารละลาย Folin-ciocalteu (Folin-ciocalteu's phenol, Merck)
- เมทานอล (methanol) ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์

3.4. สถานที่ทำการวิจัย

1. งานคัดบรรจุเชียงใหม่ ศูนย์ผลิตผลโครงการหลวง
2. ห้องปฏิบัติการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. ห้องปฏิบัติการสถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.5. วิธีการทดลอง

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิเฉียบพลันของผักกาดฮ่องเต้โดยนำผักกาดฮ่องเต้ที่ผ่านการตัดแต่งแล้ว นำมาลดอุณหภูมิโดยใช้ระบบสุญญากาศและระบบสุญญากาศร่วมกับน้ำ โดยแบ่งการทดลองเป็นออกเป็น 4 การทดลองย่อย ดังต่อไปนี้

การทดลองที่ 1: การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิโดยใช้ระบบสุญญากาศของผักกาดฮ่องเต้

การศึกษาการลดอุณหภูมิเฉียบพลันของผักกาดฮ่องเต้โดยออกเป็น 3 กรรมวิธี ดังนี้

1.1. การศึกษาหาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิผักกาดฮ่องเต้บรรจุในตะกร้าพลาติกโดยใช้ระบบสุญญากาศ (Dry-vacuum cooling)

นำผักกาดฮ่องเต้มาบรรจุในตะกร้าพลาสติกชนิด polyvinylchloride (PVC) ขนาด 37×56×30 เซนติเมตร โดยบรรจุน้ำหนักตะกร้าละ 5 กิโลกรัม จัดเรียงในห้องลดอุณหภูมิให้เต็มประสิทธิภาพ 80 ตะกร้า แล้วนำไปลดอุณหภูมิให้มีอุณหภูมิสุดท้าย 4±2 องศาเซลเซียส หาค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิ โดยกำหนดช่วงของสภาวะในกระบวนการลดอุณหภูมิของผักกาดฮ่องเต้โดยวางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD ดังนี้

1. ความดันที่เหมาะสมภายในห้องสุญญากาศ (holding pressure) ในช่วง 5–7 มิลลิบาร์
2. เวลาที่ผักอยู่ภายใต้ความดันที่กำหนด (holding time) ในช่วง 5–25 นาที

ทำการลดอุณหภูมิของผักกาดฮ่องเต้จากสภาวะเริ่มต้นที่ความดันบรรยากาศปกติ ประมาณ 870 มิลลิบาร์ จนถึงความดันบรรยากาศที่กำหนดข้างต้น ซึ่งเป็นความดันที่เหมาะสมในการทำให้ผักกาดฮ่องเต้มีอุณหภูมิสุดท้าย 4±2 องศาเซลเซียส และหาค่า holding time ที่เหมาะสมของผักกาดฮ่องเต้ ระหว่างกระบวนการลดอุณหภูมิทำการบันทึกข้อมูลต่างๆ จนสิ้นสุดกระบวนการ ดังต่อไปนี้

1. เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss percentage)
2. เวลาในการทำให้เย็น (cooling time)
3. อุณหภูมิใจกลางผักตลอดกระบวนการลดอุณหภูมิ
4. ความสัมพันธ์ระหว่างความดัน อุณหภูมิและเวลา
5. ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศในห้องลดอุณหภูมิจนสิ้นสุดกระบวนการ
6. พลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในกระบวนการลดอุณหภูมิ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2. การศึกษาหาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิผักกาดฮ่องเต้บรรจุในตะกร้าพลาสติกโดยใช้ระบบสุญญากาศร่วมกับน้ำ (Hydro-vacuum cooling)

นำผักกาดฮ่องเต้มาบรรจุในตะกร้าพลาสติกชนิด polyvinylchloride (PVC) ขนาด 37×56×30 เซนติเมตร โดยบรรจุน้ำหนักตะกร้าละ 5 กิโลกรัม จัดเรียงในห้องลดอุณหภูมิให้เต็มประสิทธิภาพ 80 ตะกร้า แล้วนำไปลดอุณหภูมิให้มีอุณหภูมิสุดท้าย 4±2 องศาเซลเซียส หาค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิ โดยกำหนดช่วงของสภาวะในกระบวนการลดอุณหภูมิของผักกาดฮ่องเต้โดยวางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD ดังนี้

1. ความดันที่เหมาะสมภายในห้องสุญญากาศ (holding pressure) ในช่วง 5–7 มิลลิบาร์
2. เวลาที่ผักอยู่ภายใต้ความดันที่กำหนด (holding time) ในช่วง 5–25 นาที
3. เวลาในการฉีดพ่นน้ำ (water time) ในช่วง 60–180 วินาที

ทำการลดอุณหภูมิของผักกาดฮ่องเต้จากสภาวะเริ่มต้นที่ความดันบรรยากาศปกติ ประมาณ 870 มิลลิบาร์ จนถึงความดันบรรยากาศที่กำหนดข้างต้น ซึ่งเป็นความดันที่เหมาะสมในการทำให้ผักกาดฮ่องเต้มีอุณหภูมิสุดท้าย 4±2 องศาเซลเซียส และหาค่า holding time ที่เหมาะสมของผักกาดฮ่องเต้ ระหว่างกระบวนการลดอุณหภูมิทำการบันทึกข้อมูลต่างๆ จนสิ้นสุดกระบวนการดังต่อไปนี้

1. เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss percentage)
2. เวลาในการทำให้เย็น (cooling time)
3. อุณหภูมิใจกลางผักตลอดกระบวนการลดอุณหภูมิ
4. ความสัมพันธ์ระหว่างความดัน อุณหภูมิและเวลา
5. ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศในห้องลดอุณหภูมิจนสิ้นสุดกระบวนการ
6. พลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในกระบวนการลดอุณหภูมิ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.3. การศึกษาหาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิผักกาดฮ่องเต้ที่บรรจุในถุงพลาสติกแล้วนำมาบรรจุลงในตะกร้าพลาสติกโดยใช้ระบบสุญญากาศ (Dry-vacuum cooling)

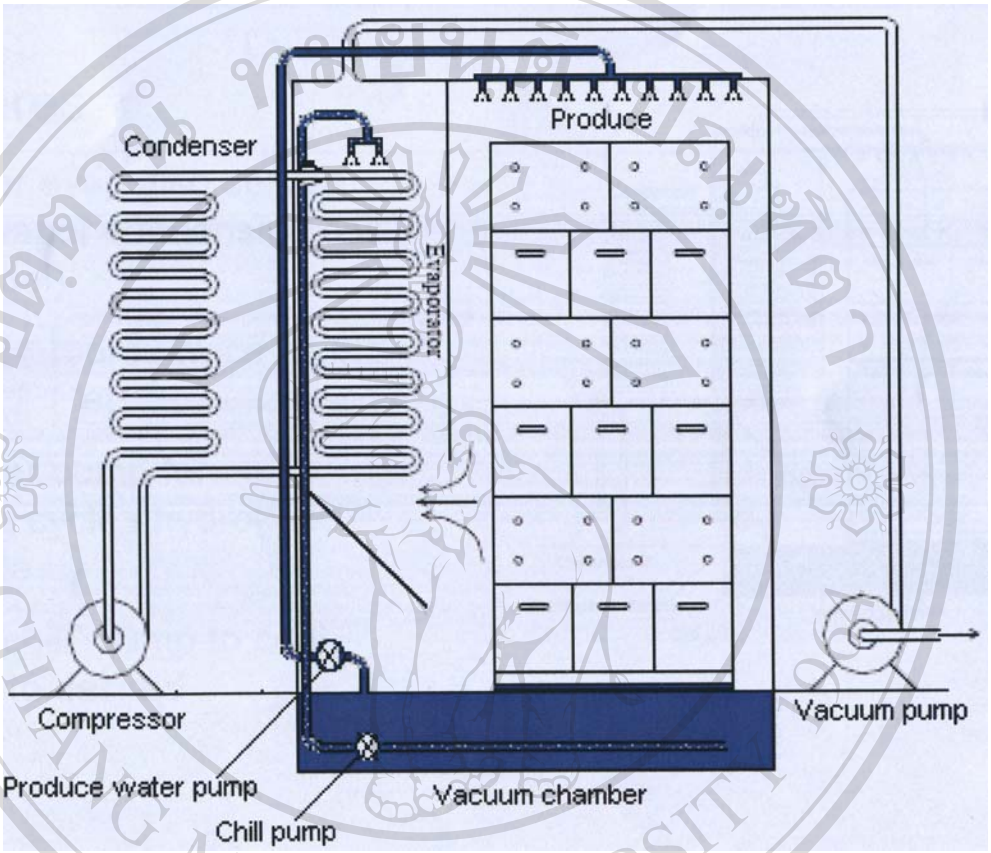
นำผักกาดฮ่องเต้บรรจุในถุงพลาสติกชนิด polyethylene (PE) ขนาด 25×41 เซนติเมตร ที่เจาะรู 18 รู ขนาดรูรูปทรงกลมมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร คิดเป็นพื้นที่เปิดต่อพื้นที่ทั้งหมด 9.05:1,025 ตารางเซนติเมตร โดยบรรจุน้ำหนักต่อถุงประมาณ 300–400 กรัม แล้วนำมาบรรจุลงในตะกร้าพลาสติก น้ำหนักตะกร้าละ 5 กิโลกรัม จัดเรียงในห้องลดอุณหภูมิให้เต็มประสิทธิภาพ 80 ตะกร้า แล้วนำไปลดอุณหภูมิให้มีอุณหภูมิสุดท้าย 4±2 องศาเซลเซียส หาค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิ โดยกำหนดช่วงของสภาวะในกระบวนการลดอุณหภูมิของผักกาดฮ่องเต้โดยวางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD ดังนี้

1. ความดันที่เหมาะสมภายในห้องสุญญากาศ (holding pressure) ในช่วง 5–7 มิลลิบาร์
2. เวลาที่ผักอยู่ภายใต้ความดันที่กำหนด (holding time) ในช่วง 5–25 นาที

ทำการลดอุณหภูมิของผักกาดฮ่องเต้จากสภาวะเริ่มต้นที่ความดันบรรยากาศปกติ ประมาณ 870 มิลลิบาร์ จนถึงความดันบรรยากาศที่กำหนดข้างต้น ซึ่งเป็นความดันที่เหมาะสมในการทำให้ผักกาดฮ่องเต้มีอุณหภูมิสุดท้าย 4±2 องศาเซลเซียส และหาค่า holding time ที่เหมาะสมของผักกาดฮ่องเต้ ระหว่างกระบวนการลดอุณหภูมิทำการบันทึกข้อมูลต่างๆ จนสิ้นสุดกระบวนการดังต่อไปนี้

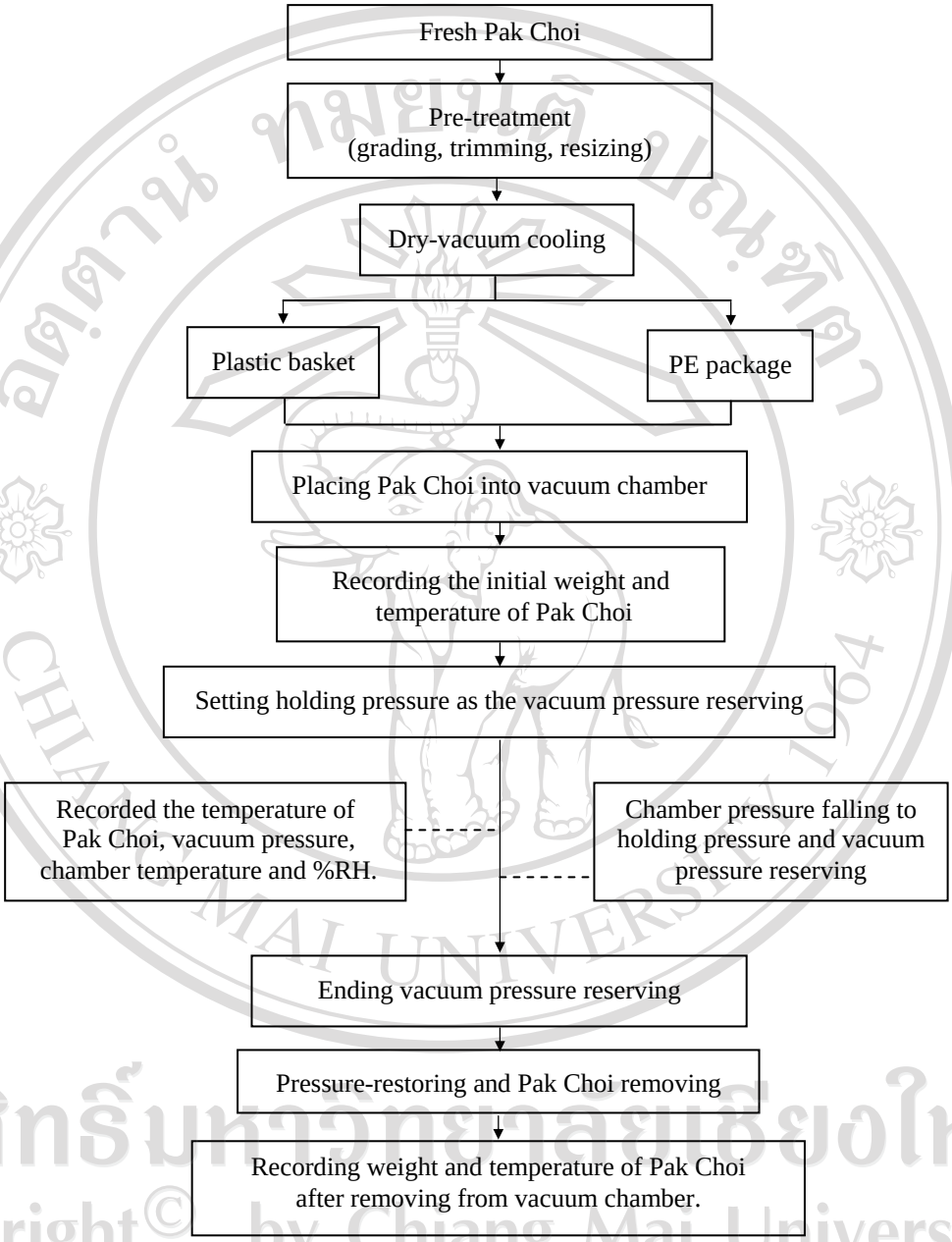
1. เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss percentage)
2. เวลาในการทำให้เย็น (cooling time)
3. อุณหภูมิใจกลางผักตลอดกระบวนการลดอุณหภูมิ
4. ความสัมพันธ์ระหว่างความดัน อุณหภูมิและเวลา
5. ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศในห้องลดอุณหภูมิจนสิ้นสุดกระบวนการ
6. พลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในกระบวนการลดอุณหภูมิ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



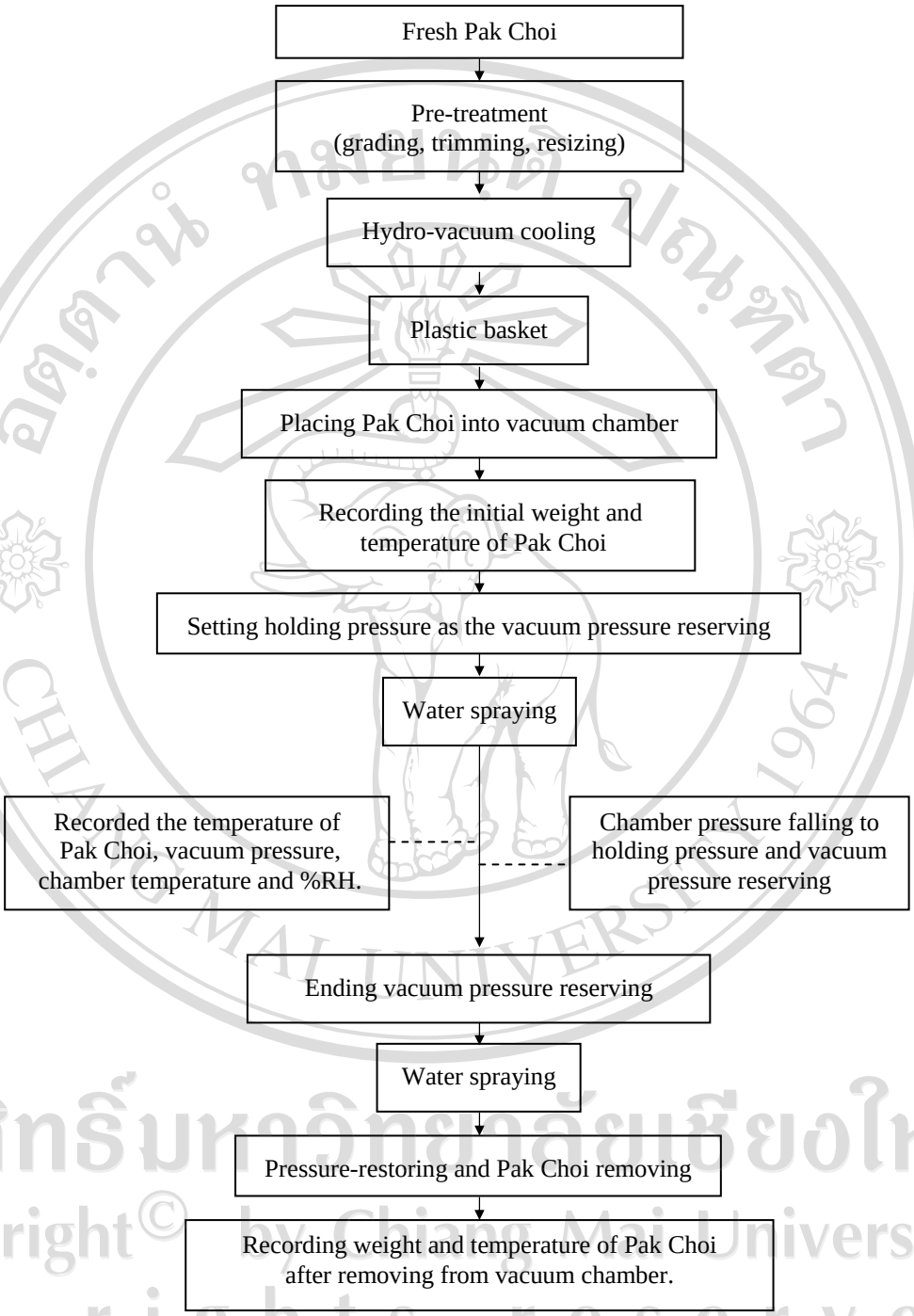
ภาพที่ 3.1 ไดอะแกรมของเครื่องลดอุณหภูมิโดยใช้ระบบสุญญากาศ
ที่มา : บริษัท Hussmann

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนในการลดอุณหภูมิโดยใช้ระบบสุญญากาศ



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 3.3 ขั้นตอนในการลดอุณหภูมิโดยใช้ระบบสุญญากาศร่วมกับการใช้น้ำ

การทดลองที่ 2: การศึกษาคุณภาพผักกาดฮ่องเต้ภายหลังการลดอุณหภูมิโดยใช้ระบบสุญญากาศและระบบสุญญากาศร่วมกับน้ำ

นำผักกาดฮ่องเต้ที่ผ่านการลดอุณหภูมิจากการทดลองที่ 1 มาบรรจุใส่ถุงพลาสติกชนิด polyethylene (PE) ขนาด 25×41 เซนติเมตร ที่เจาะรู 18 รู ขนาดรูรูปทรงกลมมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร โดยบรรจุน้ำหนักต่อถุงประมาณ 300–400 กรัม แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ 2 สภาวะดังนี้

2.1. คุณภาพของผักกาดฮ่องเต้ภายหลังการลดอุณหภูมิโดยใช้ระบบสุญญากาศและระบบสุญญากาศร่วมกับการใช้น้ำบนชั้นวางจำหน่าย

นำผักกาดฮ่องเต้ผ่านการลดอุณหภูมิจากการทดลองที่ 1 มาวางบนชั้นวางจำหน่ายอุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส แล้วทำการประเมินคุณภาพทุกๆ 2 วัน ดังนี้

1. อุณหภูมิใจกลางผัก
2. การสูญเสียน้ำหนักสด
3. การเปลี่ยนสีโดยการวัดสีของใบด้วยเครื่อง Chromameter
4. ลักษณะปรากฏต่างๆ ดังนี้ โดยสังเกตทุกวันจนกว่าจะหมดอายุการวางจำหน่าย
   - สีของใบ
   - ความเหี่ยวของใบ
   - ตำหนิและการเกิดโรค
   - คุณภาพโดยรวม
5. การประเมินทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation)
6. อายุการวางจำหน่าย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2. คุณภาพของผักกาดฮ่องเต้ภายหลังการลดอุณหภูมิโดยใช้ระบบสุญญากาศและระบบสุญญากาศร่วมกับการใช้น้ำที่เก็บรักษาในห้องเย็น

นำผักกาดฮ่องเต้ผ่านการลดอุณหภูมิจากการทดลองที่ 1 มาเก็บรักษาในห้องเย็นอุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียสโดย แล้วทำการประเมินคุณภาพทุกวัน ดังนี้

1. อุณหภูมิใจกลางผัก
2. การสูญเสียน้ำหนักสด
3. การเปลี่ยนสีโดยการวัดสีของใบด้วยเครื่อง Chromameter
4. ลักษณะปรากฏต่างๆ ดังนี้ โดยสังเกตทุกวันจนกว่าจะหมดอายุการวางจำหน่าย
   - สีของใบ
   - ความเหี่ยวของใบ
   - ตำหนิและการเกิดโรค
   - คุณภาพโดยรวม
5. การประเมินทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation)
6. อายุการเก็บรักษา

การทดลองที่ 3 : การศึกษาคุณภาพกายภาพและเคมีของผักกาดฮ่องเต้ที่ผ่านการลดอุณหภูมิเฉียบพลัน

คัดเลือกสภาวะและกรรมวิธีที่เหมาะสมในการทดลองที่ 1 และการทดลองที่ 2.1 นำมาหาการเปลี่ยนแปลงกายภาพและเคมีตั้งแต่เริ่มต้น จนหมดอายุการเก็บรักษาโดย เก็บรักษาไว้บนชั้นวางจำหน่ายอุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส แล้วทำการประเมินคุณภาพทุกวัน โดยบันทึกผลการทดลองดังนี้

1. การสูญเสียน้ำหนักสด
2. การเปลี่ยนสีโดยการวัดสีของใบด้วยเครื่อง Chromameter
3. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้
4. ปริมาณวิตามินซี โดยวิธี Indophenol
5. ปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยวิธีของ Whitham
6. ปริมาณสารประกอบฟีนอล โดยวิธี Folin-ciocalteu colorimetric assays
7. กิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH assay

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 4: การศึกษาผลของอุณหภูมิที่สูงขึ้นในระบบสายโซ่ความเย็น

นำผักกาดฮ่องเต้ที่ผ่านการลดอุณหภูมิแล้วในการทดลองที่ 1 มาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้วทำการสุ่มตัวอย่างมาวัดอุณหภูมิใจกลางผักทุกๆ 5 นาที จนกระทั่งอุณหภูมิใจกลางผักสูงเท่าอุณหภูมิห้อง การศึกษาเพื่อสังเกตอัตราการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิใจกลางผัก เขียนกราฟแสดงอัตราการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ หลังจากนั้นนำผักกาดฮ่องเต้ไปบรรจุในถุงพลาสติกชนิด polyethylene (PE) ขนาด 25×41 เซนติเมตร ที่เจาะรู 18 รู ขนาดรูรูปทรงกลมมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร โดยบรรจุน้ำหนักต่อถุงประมาณ 300–400 กรัมถุงพลาสติก แล้วนำไปวางบนชั้นวางจำหน่ายที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส และทำการบันทึกข้อมูลดังต่อไปนี้ทุกวันจนหมดอายุการวางจำหน่าย

1. อุณหภูมิใจกลางผัก
2. การสูญเสียน้ำหนักสด
3. การเปลี่ยนสีโดยการวัดสีของใบด้วยเครื่อง Chromameter
4. ลักษณะปรากฏต่างๆ ดังนี้ โดยสังเกตทุกวันจนกว่าจะหมดอายุการวางจำหน่าย
   - สีของใบ
   - ความเหี่ยวของใบ
   - ตำหนิและการเกิดโรค
   - คุณภาพโดยรวม
5. การประเมินทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation)
6. อายุการวางจำหน่าย
7. เปอร์เซ็นต์ความเสียหาย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.6. การบันทึกข้อมูล

ทำการสุ่มตัวอย่างมาบันทึกผลการทดลองทุกวันสำหรับชั้นวางจำหน่าย และทุกๆ 2 วัน สำหรับห้องเย็น ข้อมูลที่บันทึก ได้แก่

1. อุณหภูมิใจกลางผัก

นำผักกาดฮ่องเต้จำนวน 3 ต้น มาวัดอุณหภูมิใจกลางผักด้วยเครื่องวัดอุณหภูมิ (digital thermometer) ที่บริเวณกึ่งกลางลำต้น โดยเปลี่ยนตัวอย่างทุกวัน ทำการวัดอุณหภูมิที่เวลาเดิมทุกวัน ตั้งแต่เริ่มการทดลองจนหมดอายุการวางจำหน่าย

2. การสูญเสียน้ำหนักสด

การสูญเสียน้ำหนักสด คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด โดยชั่งน้ำหนักเริ่มต้นของผักกาดฮ่องเต้ และชั่งน้ำหนักทุกวันสำหรับชั้นวางจำหน่าย และทุกๆ 2 วัน สำหรับห้องเย็นจนหมดอายุการวางจำหน่าย แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก} = \left[\frac{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา - น้ำหนักหลังเก็บรักษา}}{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา}}\right] \times 100$$

3. การเปลี่ยนแปลงสีของใบ

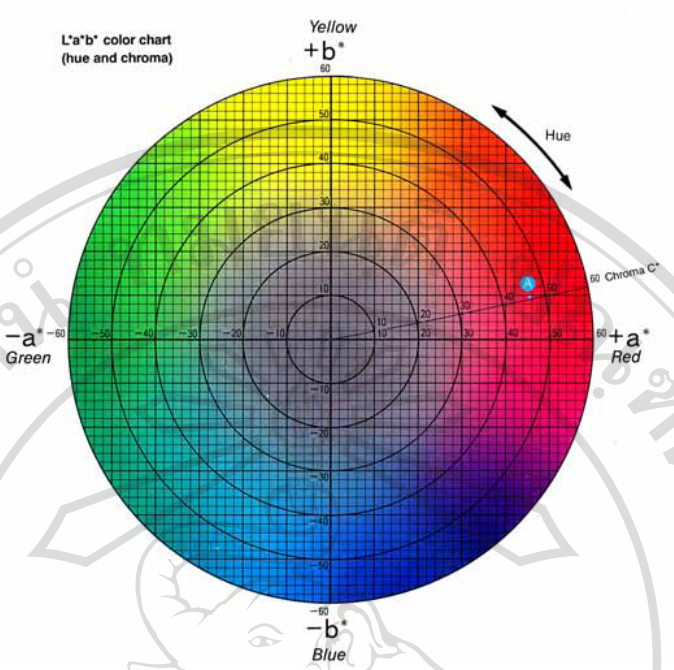
นำตัวอย่างมาวัดสีของใบจำนวน 5 ต้น ที่บริเวณหลังใบ ณ ตำแหน่งเดิม ตั้งแต่เริ่มการทดลองจนหมดอายุการเก็บรักษา โดยใช้เครื่องวัดสี Chromameter รุ่น CR–300 ค่าที่ได้แสดงเป็นค่า L*, Chroma และ Hue angle มีรายละเอียดดังนี้ คือ

ค่า L* = The lightness factor (value) แสดงค่าความมืดความสว่างของสี มีค่าตั้งแต่ 0-100 โดย วัตถุมีสีขาวเมื่อมีค่าเท่ากับ 100 และวัตถุมีสีดำเมื่อมีค่าเท่ากับ 0

ค่า Chroma มีค่าเข้าใกล้ 0 แสดงว่าวัตถุมีสีซีดจาง (เทา) และหากมีค่าเข้าใกล้ 60 แสดงว่าวัตถุมีสีเข้ม

ค่า Hue angle เป็นค่าแสดงช่วงสีของวัตถุมีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 องศา คือ 0-45 องศา แสดงสีม่วงแดงถึงสีส้มแดง, 45-90 องศา แสดงสีส้มแดงถึงสีเหลือง, 90-135 องศา แสดงสีเหลืองถึงเหลืองเขียว, 135-180 องศา แสดงสีเหลืองเขียวถึงเขียว, 180-225 องศา แสดงสีเขียวถึงสีน้ำเงิน, 225-270 องศา แสดงสีน้ำเงินเขียวถึงน้ำเงิน, 270-315 องศา แสดงสีน้ำเงินถึงม่วง, 315-360 องศา แสดงสีม่วงถึงม่วงแดง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 3.4 การบรรยายสีในระบบ CIE Lab มองในระนาบ 2 มิติ: Hue บรรยายถึงเฉดสี และ Chroma บรรยายถึงความมันวาวหรือความเข้มของโทนสี.
ที่มา: www. coursewares.mju.ac.th.

4. ลักษณะปรากฏและการเกิดโรค

สังเกตลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้นทางด้านคุณภาพโดยสังเกตการเหี่ยว สีของใบและก้านใบ ตำหนิและการเกิดโรค จากผู้เชี่ยวชาญ 10 คน โดยวิธีการให้คะแนนแบบ 9-Point Hedonic Scale ดังนี้

9 คือ ชอบมากที่สุด
8 คือ ชอบมาก
7 คือ ชอบปานกลาง
6 คือ ชอบเล็กน้อย
5 คือ เฉยๆ
4 คือ ไม่ชอบเล็กน้อย
3 คือ ไม่ชอบปานกลาง
2 คือ ไม่ชอบมาก
1 คือ ไม่ชอบมากที่สุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5 การประเมินทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation)

การวัดความกรอบ โดยการหักดูก้านใบของผักกาดฮ่องเต้หลังการเก็บรักษา จากผู้เชี่ยวชาญ 10 คน โดยวิธีการให้คะแนนแบบ 9-Point Hedonic scale ดังนี้

9 คือ ชอบมากที่สุด
8 คือ ชอบมาก
7 คือ ชอบปานกลาง
6 คือ ชอบเล็กน้อย
5 คือ เฉยๆ
4 คือ ไม่ชอบเล็กน้อย
3 คือ ไม่ชอบปานกลาง
2 คือ ไม่ชอบมาก
1 คือ ไม่ชอบมากที่สุด

6. อายุการวางจำหน่าย

ศึกษาอายุการวางจำหน่ายของผักกาดฮ่องเต้โดยดูคุณภาพที่ดีในการรับประทานและสภาพภายนอกไม่เหี่ยว ไม่ช้ำ ไม่มีตำหนิ ใบมีสีเขียวในสภาพที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลง หรือมีการเปลี่ยนแปลงของสีเพียงเล็กน้อยจนสิ้นสุดการทดลอง นับอายุเป็นวัน

7. ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (Total Soluble Solids; TSS)

วัดโดยใช้เครื่อง Digital Refractometer รุ่น PR–101 โดยอ่านค่าจากน้ำคั้นที่คั้นได้จากผักกาดฮ่องเต้ มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์

8. ปริมาณวิตามินซี

วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในผักกาดฮ่องเต้ด้วยวิธี 2,6-Dichlorophenol-Indophenol Visual Titration (Ranganna, 1986) โดยนำผักกาดฮ่องเต้ที่ปั่นจนกระทั่งละเอียดมา 10 กรัม แล้วเติมกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ปิเปตสารละลายที่กรองได้มา 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรตกับ 2,6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอลความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ จนถึงจุดยุติ ซึ่งสารละลายมีสีชมพูประมาณ 15 วินาที แล้วคำนวณหาปริมาณวิตามินซี โดยใช้ปริมาณ 2,6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอลที่ใช้กับสารตัวอย่างเทียบกับ 2,6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอลที่ใช้กับวิตามินซีมาตรฐาน มีหน่วยเป็นมิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด โดยคำนวณตามสูตรดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- ปริมาตรของสารละลายอินโดฟีนอล a มิลลิลิตร ที่ใช้ในการไทเทรตกับสารละลายวิตามินซีมาตรฐาน ซึ่งมีปริมาณวิตามินซี เท่ากับ 1 มิลลิกรัม
- ปริมาตรของสารละลายอินโดฟีนอล b มิลลิลิตร ที่ใช้ในการไทเทรตกับสารละลายตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ซึ่งมีปริมาณวิตามินซี เท่ากับ (1 x b)/a มิลลิกรัม เท่ากับ c มิลลิกรัม
- สารละลายตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร มีปริมาณวิตามินซี เท่ากับ c มิลลิกรัม
- สารละลายตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร มีปริมาณวิตามินซี เท่ากับ (c x 100)/10 มิลลิกรัม เท่ากับ d มิลลิกรัม
- เนื้อตัวอย่าง 10 กรัม มีปริมาณวิตามินซี เท่ากับ d มิลลิกรัม
- เนื้อตัวอย่าง 100 กรัม มีปริมาณวิตามินซี เท่ากับ (d x 100)/10 มิลลิกรัม เท่ากับ e มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด

9. ปริมาณคลอโรฟิลล์

วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ของผักกาดฮ่องเต้ตามวิธีการของ Witham *et al*. (1971) โดยชั่งผักกาดฮ่องเต้ที่ปั่นละเอียดมา 1 กรัม เติมสารละลายอะซิโตนความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ลงไปเล็กน้อย เพื่อใช้เป็นสารสกัดคลอโรฟิลล์ออกจากตัวอย่าง นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยสารละลายอะซิโตนให้ครบ 20 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer รุ่น Spectro 23 โดยใช้สารละลายอะซิโตนความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ เป็น blank บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ได้แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ตามสูตร (ปริมาณคลอโรฟิลล์ที่คำนวณได้มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด)

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

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

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด} = \left[20.2(OD_{645}) + 8.02(OD_{663})\right] \times \left(\frac{V}{1000W}\right)$$

โดยที่ V คือปริมาตรสุดท้ายของสารละลายที่นำมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์

W คือน้ำหนักของตัวอย่างที่นำมาสกัดคลอโรฟิลล์

OD คือค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากเครื่อง Spectrophotometer ตามความยาวคลื่นที่กำหนด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

10. ปริมาณสารประกอบฟีนอล

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลของผักกาดฮ่องเต้ โดยวิธี Folin-ciocalteu colorimetric assays (Sellappan *et al*., 2002) โดยมีวิธีการดังนี้

การเตรียมสารสกัดพืช

1. สุ่มตัวอย่างผักกาดฮ่องเต้จากชั้นวางจำหน่ายมา 3 หน่วย หั่นผลิตผลให้ละเอียดแล้วเติมไนโตรเจนเหลวลงไปจนผลิตผลแข็งตัว
2. ปั่นตัวอย่างที่แข็งตัวแล้วให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง ชั่งตัวอย่างละเอียดมา 20 กรัม แล้วเติมสารละลายเมทานอล ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ลงไป 20 มิลลิลิตร
3. นำไปเขย่าสารละลายที่อุณหภูมิห้องในสภาพมืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
4. นำสารละลายที่สกัดได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 และดูดสารสกัดจากพืชที่กรองได้มา 5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตรโดยสารละลายเมทานอล ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์
5. นำสารละลายมากรองอีกครั้งด้วย syringe nylon filter ขนาด 0.45 ไมครอน

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอล

1. นำสารสกัดที่กรองได้มา 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง
2. เติมสารละลายเมทานอล ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ลงไป 50 ไมโครลิตร
3. เติมน้ำกลั่น 1,000 ไมโครลิตร
4. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ลงไป 375 ไมโครลิตร แล้วทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที
5. เติมสารละลาย Folin-ciocalteau ลงไป 125 ไมโครลิตร
6. เติมน้ำกลั่น 1,000 ไมโครลิตร
7. ผสมสารละลายให้เข้ากันแล้วนำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องในสภาวะมืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
8. นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายที่ปราศจากสารตัวอย่างจากพืชเป็นค่ามาตรฐาน (blank)
9. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม โดยเทียบเป็นไมโครกรัม Gallic Acid Equivalent / Fresh Weight

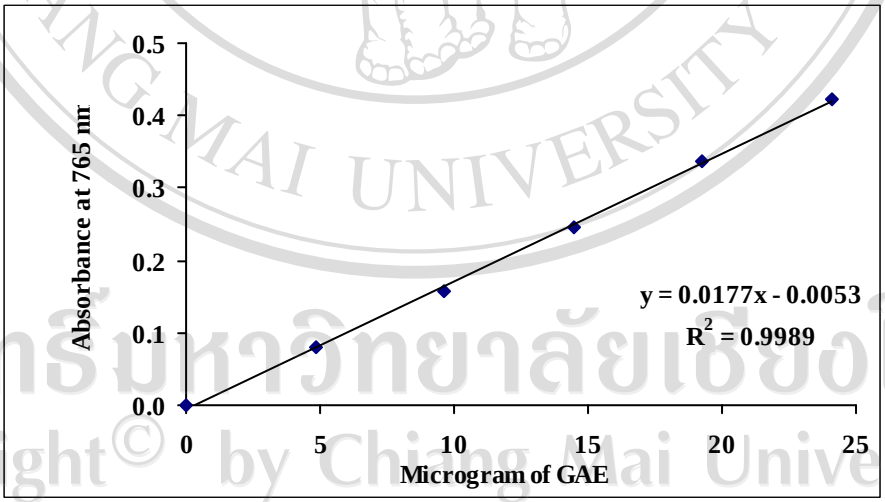
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทำกราฟมาตรฐาน (Standard curve of gallic acid)

ละลาย gallic acid 24.1 มิลลิกรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรแล้วเตรียมกราฟมาตรฐานจากตารางที่ 3.1 ดังนี้

ตารางที่ 3.1 ปริมาตรและสารต่างๆ ที่ใช้สำหรับการทำกราฟมาตรฐานสารประกอบฟีนอล

Gallic acid (µl)	0	20	40	60	80	100
95% methanol	100	80	60	40	20	0
น้ำกลั่น	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
7.5% $NaCO_3$	375	375	375	375	375	375
Folin-ciocalteau solution	125	125	125	125	125	125
น้ำกลั่น	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
ปริมาตรรวม (µl)	2,600	2,600	2,600	2,600	2,600	2,600



ภาพที่ 3.5 กราฟมาตรฐานที่ใช้ในการคำนวณสารประกอบฟีนอล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการคำนวณ

จากกราฟมาตรฐาน $y = 0.0177x - 0.0053, R^2 = 0.9989$

$$x = \frac{y + 0.0053}{0.0177} \quad \mu g \text{ GA}/50\ \mu l$$

สารละลายตัวอย่าง 50 µl มีปริมาตรกรดแกลลิก x µg

สารละลายตัวอย่าง 1 µl มีปริมาตรกรดแกลลิก $\frac{x}{50}$ µg

= A หน่วยที่ได้ µg GA

ปริมาตรสารสกัดทั้งหมดที่สกัดได้ 25 ml เท่ากับ 25×10^3 µl

สารละลายตัวอย่าง 1 µl มีปริมาตรกรดแกลลิก A µg

สารละลายตัวอย่าง 25×10^3 µl มีปริมาตรกรดแกลลิก $A \times 25 \times 10^3$ µg

= B หน่วยที่ได้ µg GA

เจือจาง 5 เท่า ดังนั้นสารสกัดมีสารประกอบฟีนอล = B × 5

= C µg GA

สารละลายตัวอย่างมีตัวอย่างผักกาดฮ่องเต้ 20 g

ตัวอย่างผักกาดฮ่องเต้ 20 g มีสารประกอบฟีนอล C µg GA

ตัวอย่างผักกาดฮ่องเต้ 1 g มีสารประกอบฟีนอล $\frac{C}{20}$ µg GA

= D µg GA/g FW

11. กิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของผักกาดฮ่องเต้ โดยวิธี DPPH assay หรือ 1,1-diphenyl-2-picrylhaydrazyl assay (Manthey, 2004) โดยมีวิธีการดังนี้

1. เตรียมสารสกัดพืชเช่นเดียวกับการเตรียมในการหาปริมาณสารประกอบฟีนอล
2. นำสารสกัดพืชที่กรองได้มา 400 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง
3. เติมสารละลาย DPPH ลงไป 2000 ไมโครลิตร
4. นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องภายใต้สภาวะมืดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อทำให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้ DPPH เป็นค่ามาตรฐาน (blank)
6. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อหาแอคติวิตีในการต้านอนุมูลอิสระ โดยเทียบเป็นไมโครกรัม Gallic Acid Equivalent/Fresh Weight

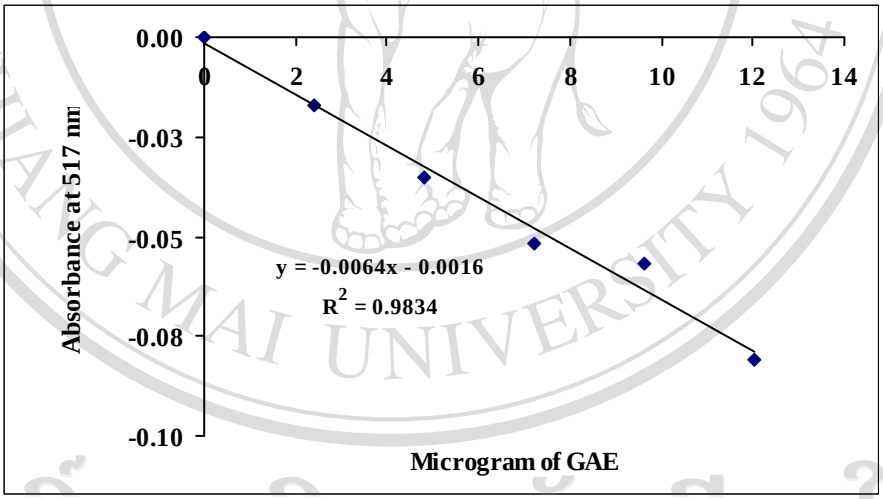
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทำกราฟมาตรฐาน (Standard curve of gallic acid)

ละลาย DPPH 74 มิลลิกรัมในเอทานอลบริสุทธิ์ 200 มิลลิลิตร กรองสารละลายที่ได้โดยใช้ nylon syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน แล้วเตรียมกราฟมาตรฐานจากตารางดังต่อไปนี้

ตารางที่ 3.2 ปริมาตรและสารต่างๆ ที่ใช้สำหรับการทำกราฟมาตรฐานสารต้านอนุมูลอิสระ

Gallic acid (µl)	0	10	20	30	40	50
100% ethanol	100	90	80	70	60	50
95% methanol	100	100	100	100	100	100
DPPH (µl)	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
ปริมาตรรวม (µl)	1,200	1,200	1,200	1,200	1,200	1,200



ภาพที่ 3.6 กราฟมาตรฐานที่ใช้ในการคำนวณกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการคำนวณ

จากกราฟมาตรฐาน $y = -0.0064x - 0.0016, R^2 = 0.9834$

$$x = \frac{y + 0.0016}{-0.0064}$$ µg GA/400 µl

สารละลายตัวอย่าง 400 µl มีปริมาตรกรดแกลลิก x µg

สารละลายตัวอย่าง 1 µl มีปริมาตรกรดแกลลิก $\frac{x}{400}$ µg

= A หน่วยที่ได้ µg GA

ปริมาตรสารสกัดทั้งหมดที่สกัดได้ 25 ml เท่ากับ 25×10^3 µl

สารละลายตัวอย่าง 1 µl มีปริมาตรกรดแกลลิก A µg

สารละลายตัวอย่าง 25×10^3 µl มีปริมาตรกรดแกลลิก $A \times 25 \times 10^3$ µg

= B หน่วยที่ได้ µg GA

เจือจาง 5 เท่า ดังนั้นสารสกัดมีสารต้านอนุมูลอิสระ = B × 5

= C µg GA

สารละลายตัวอย่างมีตัวอย่างผักกาดฮ่องเต้ 20 g

ตัวอย่างผักกาดฮ่องเต้ 20 g มีกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ C µg GA

ตัวอย่างผักกาดฮ่องเต้ 1 g มีกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ $\frac{C}{20}$ µg GA

= D µg GA/g FW

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 3.7 ลักษณะการจัดเรียงผักกาดฮ่องเต้บรรจุในตะกร้าพลาสติก

ภาพที่ 3.8 ลักษณะการจัดเรียงผักกาดฮ่องเต้ที่บรรจุในถุงพลาสติก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 3.9 ลักษณะการจัดเรียงตะกร้าภายในห้องลดอุณหภูมิระบบสุญญากาศ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 3.10 ลักษณะการจัดเรียงบนชั้นวางจำหน่าย

ภาพที่ 3.11 ลักษณะการจัดเรียงในห้องเย็น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved