

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย

##### วัสดุอุปกรณ์

- 1.1 เห็ดนางรมพันธุ์สีขาวยาว *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kummer จากฟาร์มเห็ด อำเภอสารภี จ.เชียงใหม่
- 1.2 หลอดไฟที่เคลือบด้วยไททานเนียมไดออกไซด์ยี่ห้อ O-ZONE ขนาด 23 WATT 2700° KELVIN ให้แสงสว่าง 1575 lumens
- 1.3 เครื่องวัดสี Color meter “Hunterlab” รุ่น Color Quest XE
- 1.4 เครื่องวัดความแน่นเนื้อ Texture analyser รุ่น TA-Xii / 50
- 1.5 เครื่อง Gas chromatography
- 1.6 เครื่องวัด Electrolyte leakage Conductivity analyser ยี่ห้อ Sartorius รุ่น PP20
- 1.7 เครื่อง Deionized water

##### การดำเนินการทดลอง

###### การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 การทดลองย่อย และวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS version 16.0 ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเห็ดนางรม (การทดลองที่ 3.1) เพื่อเป็นพื้นฐานของการทดลองที่ 3.2, 3.3 และ 3.4 ต่อไป

###### วิธีการทดลอง

##### 3.1 ทดสอบหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บเห็ดนางรม ระหว่างที่อุณหภูมิ 4, 10 และ 25 องศาเซลเซียส

###### องศาเซลเซียส

- 3.1.1 คัดเลือกเห็ดระยะเก็บเกี่ยว มีขนาดหมวกดอก  $5 \pm 2$  เซนติเมตร ไม่มีร่องรอยของโรคและแมลง คัดน้ำหนักให้ใกล้เคียงกันโดยไม่ผ่านการล้าง
- 3.1.2 แบ่งเห็ดใส่กล่องพลาสติกมีฝาปิดที่มาเชื่อมด้วยแอลกอฮอล์ 70% กล่องละ 50 กรัม จากนั้นหุ้มด้วยฟิล์มโพลีไวนิลคลอไรด์ (PVC) สำหรับห่ออาหาร
- 3.1.3 นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4, 10 และ 25 องศาเซลเซียส

3.1.4 ทุก 2 วัน นำเห็ดนางรมมาตรวจวัดคุณภาพทางด้านกายภาพ (วัดสี และ วัดความแน่นเนื้อ) เพื่อหาอุณหภูมิ ที่ดีที่สุดสำหรับเก็บเห็ดนางรม การวิเคราะห์ความแน่นเนื้อของเห็ดนางรม โดยใช้เครื่องวัดความแน่นเนื้อ ใช้หัววัดแบบ knife วัด 2 ตำแหน่ง คือ บริเวณหมวกและบริเวณก้านของดอกเห็ดนางรม (วิธีการใช้ดูในภาคผนวก)

### 3.2 ทดสอบหาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมในการฉายแสงโดยใช้หลอดที่เคลือบไททาเนียมไดออกไซด์

#### 3.2.1 คัดเลือกตามกรรมวิธีข้อ 3.1.1

3.2.2 นำเห็ดนั้นมาฉายแสงด้วยหลอดที่เคลือบไททาเนียมไดออกไซด์ (ภาพ 3.1) เป็นเวลา 30 และ 60 นาที ที่ระยะห่างจากหลอด 30 เซนติเมตร ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากฉายแสงนำเห็ดไปตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 5x5 มิลลิเมตร นำเห็ดที่ได้ปริมาณ 10 กรัม ไปใส่ในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 90 มิลลิลิตร และเขย่าด้วย vortex mixer 1 นาที แล้วนำไปทำให้เจือจางที่ความเข้มข้น  $10^{-2}$  จากนั้นนำมาหาค่า colony forming unit (CFU) โดยวิธี dilution spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar ตรวจสอบจุลินทรีย์หลังจากบ่มเพาะที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมงเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) ได้แก่ เห็ดที่ถูกฉายแสงจากหลอดไฟธรรมดาที่ไม่เคลือบไททาเนียมไดออกไซด์ และเห็ดที่ไม่ฉายแสง (ทำอย่างละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 กรัม)



ภาพ 3.1 หลอดไฟที่เคลือบด้วยไททาเนียมไดออกไซด์ ยี่ห้อ O-ZONE ขนาด 23 WATT 2700° KELVIN ให้แสงสว่าง 1575 lumens (146.38 lux)

3.2.3 จากนั้นนำเห็ดนางรมไปวัดความสว่าง โดยการวัดด้วยเครื่อง color quest การวิเคราะห์ความสว่าง การเปลี่ยนแปลงสีของเห็ดนางรมโดยใช้แหล่งกำเนิดแสง D65 วัดการเปลี่ยนแปลงสี 3 ตำแหน่ง คือ บริเวณผิวของหมวก ดอก ครีบและบริเวณก้านดอกเห็ดนางรม ก่อนใช้เครื่องทุกครั้ง ปรับมาตรฐานของเครื่องวัดสีด้วยแผ่นเทียบสีมาตรฐานสีขาว ใช้หัววัดทาบให้สนิทกับบริเวณที่ต้องการวัด แสดงค่าออกมาเป็นค่าความสว่าง ( $L^*$ ) ซึ่งแสดงค่าความสว่างเมื่อค่าใกล้ 100 และแสดงค่ามืดเมื่อค่าใกล้ 0 (วิธีการใช้ดูในภาคผนวก)

3.2.4. ตรวจสอบสภาพของดอกเห็ด เช่นการแตกเป็นริ้วๆ ที่ขอบหมวก ความเสียหายของเนื้อเยื่อและเส้นใย โดยการตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ และแบบคอมพิวเตอร์

3.2.5 นำค่าที่ได้จาก 3.2.3 และ 3.2.4 มาวิเคราะห์หาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการฉายแสง

### 3.3 ทดสอบผลของการใช้หลอดไฟทาทาเนียมไดออกไซด์ควบคู่กับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำต่อคุณภาพของเห็ดนางรมหลังการเก็บเกี่ยว

3.3.1 นำเห็ดมาคัดเลือกตามกรรมวิธีข้อ 3.1.1

3.3.2 นำเห็ดมาทำการฉายแสงด้วยหลอดที่เคลือบไททาเนียมไดออกไซด์ เป็นเวลา 60 นาที แล้วนำไปบรรจุถาด หุ้มถาดด้วยฟิล์ม PVC แล้วเก็บรักษาที่ 4 และ 10 องศาเซลเซียส (วรภัทรและคณะ, 2544) จากนั้นทุก 2 วัน นำดอกเห็ดมา ชั่งน้ำหนัก วัดสี และตรวจสอบสภาพของดอกเห็ด ร่วมกับการหาค่า colony forming unit (CFU) ตั้งแต่วันที่ 0 ของการเก็บรักษาจนหมดสภาพการเก็บรักษา ดูจากการที่เริ่มมีการเปลี่ยนสีหรือมีการฉ่ำน้ำเกิดขึ้น (ดวงจันทร์, 2541) โดยเปรียบเทียบกับชุดที่ให้แสงโดยหลอดไฟธรรมดาและชุดที่ไม่ให้แสง ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

### 3.4 ทดสอบผลของไททาเนียมไดออกไซด์เปอร์เซนต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ (Electrolyte leakage) ในดอกเห็ดนางรมที่ผ่านการฉายแสงด้วยหลอดที่เคลือบไททาเนียมไดออกไซด์

นำเห็ดที่ผ่านการคัดเลือกตามข้อ 3.1.1 มาแบ่ง 2 กลุ่มคือ กลุ่มหนึ่งฉายแสงด้วยไททาเนียมไดออกไซด์ 60 นาที และอีกกลุ่มเป็นชุดควบคุมไม่ฉายแสง จากนั้นนำไป แช่ในน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน (Lu, 2005) เป็นเวลา 60, 120 และ 180 นาที แล้ววัดเปอร์เซนต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ด้วยวิธีวัดค่าความต่างศักย์ทางไฟฟ้าจากสารอิเล็กโทรไลต์ที่รั่วไหลออกมาจากเซลล์ (เพื่อดูว่าไททาเนียมไดออกไซด์ทำความเสียหายกับเห็ดหรือไม่) ด้วยเครื่องวัด Conductivity analyser ยี่ห้อ Sartorius รุ่น PP20 โดยเปรียบเทียบกับเห็ดที่นำไปแช่ (วิธีการใช้ดูในภาคผนวก) จากนั้นนำค่าที่วัดได้มาคำนวณตามสูตรของ Hong and Gross. (1998) (ดูในภาคผนวก)