

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องผลิตโอโซน(ozone generator) ยี่ห้อ OZONIZER กำลังผลิต 1,500 มิลลิกรัมต่อชั่วโมง
2. เครื่องวัดความเข้มข้นโอโซน (ozone detector) ยี่ห้อ GASTEC
3. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (digital refractometer) ยี่ห้อ Atago รุ่น PAL-1 บริษัท Atago Co.,Ltd. ประเทศญี่ปุ่น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า ยี่ห้อ Ohaus รุ่น ARC 120 บริษัท Ohaus ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. เครื่องวัดสี (chroma meter) ยี่ห้อ Minolta รุ่น CR-200 ประเทศญี่ปุ่น
6. ตู้ดูดควันปริมาตร 0.12 ลูกบาศก์เมตร (กว้าง x ยาว x สูง = 0.4 เมตร x 0.3 เมตร x 1 เมตร)
7. ตู้อะคริลิก ขนาดกว้าง 60 เซนติเมตร ยาว 60 เซนติเมตร และสูง 120 เซนติเมตร
8. Lamina air flow
9. Autoclave
10. Incubator (ตู้บ่มเพาะเชื้อ)
11. ตู้เย็นปรับอุณหภูมิ ยี่ห้อ Refrigerator ITALY รุ่น PT203
12. ชุดเครื่องกลั่นตามแบบวิธีของ Optimized Monier-William
13. ถังบรรจุก๊าซไนโตรเจนชนิดบริสุทธิ์ 99.999% (HP) พร้อมที่วัดความดัน
14. อ่างน้ำหมุนเวียนควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส
15. เตาไฟฟ้า
16. Petri film
17. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆ

สารเคมี

1. ฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein)
2. เมทิลเรด (methyl red)
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide)
4. โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (potassium hydrogen phthalate)

5. โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ (potassium metabisulphite)
6. กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid)
7. เอทานอล (ethanol)
8. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide)

พืชทดลอง

ลำไยสดพันธุ์คอกที่ผ่านการรมซัลเฟอร์ จากโรงรมในอำเภอเวียงหนองล่อง จังหวัดลำพูน

สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาและวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และสถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วิธีการทดลอง

สำรวจวิธีการรมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ของผลลำไยเพื่อการส่งออกในปัจจุบัน

แม้ว่าทางสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ได้กำหนดอัตราการใช้ผงกำมะถันต่อปริมาตรของห้องรมและปริมาณผลลำไยที่เหมาะสม แต่ในทางปฏิบัติกลับมีการใช้ปริมาณกำมะถันเกินกว่าที่กำหนด ทำให้เกิดการตกค้างของ SO_2 ในผลลำไย ดังนั้นก่อนทำการทดลองจึงได้ทำการสำรวจโรงรมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในจังหวัดลำพูนหรือเชียงใหม่ เพื่อหาความเข้มข้นของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ตกค้างในเปลือกและเนื้อลำไยโดยวิธี modified Monier – William method (AOAC, 1995) หลังสิ้นสุดการรมประมาณ 2 ชั่วโมง เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้น จากนั้นนำผลลำไยสดที่ผ่านการรมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ จากโรงรมที่อำเภอเวียงหนองล่อง จังหวัดลำพูน มาทำการคัดคุณภาพเบื้องต้น โดยคัดแยกผลที่ดี (ไม่มีตำหนิเนื่องจากเกิดบาดแผล หรือเสียหายเนื่องจากเชื้อโรค และแมลง) และสมำเสมอมาใช้ในการทดลอง จากนั้นแบ่งผลลำไยเป็นกลุ่ม เพื่อแยกปฏิบัติตามแต่ละกรรมวิธี และในงานวิจัยนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของการรมไอโซนต่อการลดปริมาณสารซัลเฟอร์ไดออกไซด์ตกค้างของผลลำไยสด

นำผลลำไยสดที่ผ่านการรมด้วย SO_2 จากโรงรมที่ทำการสำรวจ แบ่งเป็นสองกลุ่ม กลุ่มแรกนำไปไว้ในที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) เป็นชุดควบคุม กลุ่มที่สองนำผลลำไย ไปรมด้วยไอโซนที่มีอัตราไหล 25 มิลลิเมตรต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องนาน 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 ชั่วโมง ในตู้รม

ขนาด 0.43 ลูกบาศก์เมตร ที่มีพัดลมหมุนเวียนอากาศ (ภาพ 2) ทำการสุ่มตัวอย่างทั้งสองชุดการทดลองทุกๆ 2 ชั่วโมง จนกระทั่งเปลือกและเนื้อผลลำไยมีปริมาณ SO_2 ตกค้างไม่เกินมาตรฐานที่กำหนดไว้ (ตรวจพบในเนื้อผลไม่เกิน 50 ppm) (สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1, 2551) หลังจากนั้นนำผลลำไยมาวิเคราะห์ ดังนี้

1. ปริมาณ SO_2 ที่ตกค้างด้วยวิธี modified Monier – William method (AOAC, 1995) (ภาคผนวก ก)

สุ่มตัวอย่างผลลำไยมาชุดการทดลองละ 5 ซ้ำๆละ 10 ผล ทำการแยกเปลือกและเนื้อผลออกจากกัน โดยในขั้นตอนการแยกต้องระวังไม่ให้มือที่โดนเปลือกลำไยไปสัมผัสเนื้อผล เพราะเนื่องจากที่ผิวเปลือกมีการตกค้างของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในปริมาณที่สูง ซึ่งอาจทำให้ผลการวิเคราะห์การตกค้างของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในเนื้อผลมีค่าสูงเกินกว่าความเป็นจริง หลังจากแยกเนื้อออกจากเปลือกแล้ว ให้ทำการหั่น หรือฉีก เปลือกและเนื้อให้ละเอียดพอประมาณ ก่อนนำไปวิเคราะห์ปริมาณ SO_2 ที่ตกค้าง (ภาพ 3) หากไม่สามารถทำการวิเคราะห์ได้ทันที ให้เก็บตัวอย่างแช่ในแอลกอฮอล์ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยแยกเปลือกและเนื้อแช่ คนละขวด และเก็บตัวอย่างไว้ในอุณหภูมิแช่แข็ง (- 18 องศาเซลเซียส) เพื่อรอการวิเคราะห์

2. การวัดการเปลี่ยนแปลงสีของเปลือกด้วยเครื่องวัดสี (chroma meter) โดยทำการสุ่มตัวอย่างลำไยมาวัดสีของเปลือกผล ชุดการทดลองละ 5 ซ้ำๆละ 5 ผล ค่าที่ได้จะแสดงในรูปค่า L^* , a^* และ b^* ดังนี้

L^* = The lightness factor values เป็นค่าแสดงถึงความสว่างของวัตถุ ถ้าค่า L เข้าใกล้ 0 แสดงว่าวัตถุมีสีทึบ ถ้าค่า L เข้าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมีสีสว่าง ถ้า L เท่ากับ 100 วัตถุจะมีสีขาว

a^* = เป็นค่าที่แสดงถึงความมีสีแดงและสีเขียวของวัตถุ ถ้าค่า a^* เป็นบวก (+) แสดงว่าวัตถุมีสีออกแดง ถ้าค่า a^* เป็นลบ (-) แสดงว่าวัตถุมีสีเขียว โดยมีค่า -60 ถึง +60

b^* = เป็นค่าที่แสดงถึงความมีสีเหลืองและสีน้ำเงินของวัตถุ ถ้าค่า b^* เป็นบวก (+) แสดงว่าวัตถุมีสีออกเหลือง ถ้าค่า b^* เป็นลบ (-) แสดงว่าวัตถุมีสีออกน้ำเงิน โดยมีค่า -60 ถึง +60

3. ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล (browning index) โดยประเมินด้วยสายตาและให้คะแนน 5 ระดับ ตั้งแต่

- | | |
|---------------------------|---------------------------|
| 1 = เกิดสีน้ำตาล 0-20 % | 2 = เกิดสีน้ำตาล 21-40 %, |
| 3 = เกิดสีน้ำตาล 41-60 % | 4 = เกิดสีน้ำตาล 61-80 % |
| 5 = เกิดสีน้ำตาล 81-100 % | |



ภาพ 2 ภาพการรมโอโซนให้กับผลลำไยในตู้รม



ภาพ 3 การเตรียมตัวอย่าง (ซ้าย) และการวิเคราะห์ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (ขวา) ตามวิธีของ modified Monier – William method (AOAC, 1995)

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการรมโอโซนเพื่อควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวของผลลำไยสด

นำผลลำไยสดที่ผ่านการรม SO_2 และมารมโอโซนเป็นเวลาต่างๆ โดยเลือกจากที่ให้ผลดีในการทดลอง ที่ 1 แล้วนำผลลำไยมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน และทำการสุ่มตัวอย่างผลลำไยทุกวัน เพื่อนำมาวิเคราะห์การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count, TPC) ด้วยวิธีของ Bacteriological Analytical Manual (BAM) โดยนำผลลำไยสดที่ได้จากการสุ่มตัวอย่างประมาณ 10 กรัม มาใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อแล้ว 90 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่านาน 2 นาที แล้วนำมาอย่างละ 1 มิลลิลิตร หยดลงบน Petri film นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนับจำนวนโคโลนีทั้งหมด รวมทั้งวิเคราะห์หาไฮสค์ และเชื้อราตามวิธีของ BAM พร้อมทั้งจำแนกลักษณะของเชื้อราที่ได้

การทดลองที่ 3 การศึกษาผลของการรมโอโซนต่อคุณภาพของผลลำไยในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

นำผลลำไยสดที่ผ่านการรมด้วย SO_2 จากโรงรมที่ทำการสำรวจ มาผ่านการรมโอโซนโดยใช้เวลาที่สามารถลดปริมาณ SO_2 ได้ดีจากการทดลองที่ 1 และยังสามารถควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวได้จากการทดลองที่ 2 อย่างน้อย 3 ชุดการทดลอง จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 วัน ทำการสุ่มตัวอย่างทุก ๆ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รมด้วยโอโซน นำมาวิเคราะห์คุณภาพและตรวจวัดผลต่างๆ ดังนี้

1. ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ตกค้างในเปลือกและเนื้อผลลำไย ตามการทดลองที่ 1
2. การวัดการเปลี่ยนแปลงสีของเปลือกด้วยเครื่องวัดสี ตามการทดลองที่ 1
3. ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids, TSS) วัดโดยใช้เครื่อง Digital refractometer โดยก่อนที่จะทำการวัดให้ใช้น้ำกลั่นปรับสเกลให้เป็นศูนย์ แล้วเขี่ยน้ำกลั่นออก จากนั้นหยดน้ำคั้นที่ได้จากผลลำไยลงบนเครื่อง digital refractometer อ่านค่าที่ได้เป็น %Brix
4. การประเมินคุณภาพผลทางด้านประสาทสัมผัส ได้แก่ รสชาติ กลิ่น ความกรอบ และการยอมรับโดยรวมด้วยวิธี Hedonic scale ซึ่งมีระดับความพึงพอใจ 5 ระดับ ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 10 คน โดยมีระดับคะแนน ดังนี้

1 = ไม่ชอบมากที่สุด	2 = ไม่ชอบเล็กน้อย
3 = เฉย ๆ	4 = ชอบเล็กน้อย
5 = ชอบมากที่สุด	

รสชาติ พิจารณาความหวาน ลำไยที่มีความหวานเหมือนลำไยปกติจะได้ระดับคะแนนความพึงพอใจ เท่ากับ 5 และระดับคะแนนจะลดลงถ้าลำไยมีความหวานน้อยกว่าลำไยปกติ และเนื่องจากตัวอย่างลำไยที่นำมาวิเคราะห์ เป็นลำไยที่ถูกนำออกจากห้องรมซัลเฟอร์ได้เพียง 2 ชั่วโมง ก่อนนำมาวิเคราะห์ในห้องทดลอง ดังนั้นในการวิเคราะห์ครั้งแรก จึงไม่ให้ผู้ทดสอบทำการประเมินรสชาติของลำไยที่เป็นชุดควบคุม แต่จะให้ทำการทดสอบหลังจากเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 7 วัน เป็นต้นไป และจะให้คะแนนรสชาติของชุดควบคุมในวันแรกของการเก็บรักษาเท่ากับ 1

กลิ่น ทำการวิเคราะห์กลิ่นของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ตกค้างในผลลำไยสด และลักษณะกลิ่นที่แปลกไปจากลำไยปกติตลอดการเก็บรักษา โดยลำไยที่มีกลิ่นของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ตกค้างน้อยที่สุด และมีกลิ่นเหมือนลำไยปกติ จะได้รับระดับคะแนนความพึงพอใจ เท่ากับ 5 และระดับคะแนนจะลดลงเมื่อกลิ่นของลำไยมีลักษณะที่แปลกไปจากลำไยปกติมากขึ้น

ความกรอบ ในตัวอย่างลำไยที่มีเนื้อกรอบ และมีความสดคล้ายลำไยสดปกติ จะได้รับระดับคะแนนความพึงพอใจ เท่ากับ 5 และระดับคะแนนจะลดลงถ้าลำไยมีความกรอบ และความสดลดลง

การยอมรับโดยรวม จะทำการพิจารณาคุณภาพโดยรวมของลำไย ลำไยที่มีคะแนนรสชาติ กลิ่น และความกรอบสูง จะได้ระดับคะแนนความพึงพอใจในการยอมรับโดยรวม เท่ากับ 5 และระดับคะแนนจะลดลงถ้าลำไยมีคะแนนรสชาติ กลิ่น และความกรอบลดลง

5. วิเคราะห์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count), ยีสต์ รา และปริมาณแบคทีเรีย *Escherichia coli* (*E. coli*)

6. การเกิดโรค โดยพิจารณาผลที่เป็นโรคและกิดเทียบเป็นคะแนนจากพื้นที่ที่เกิดโรคทั้งหมด โดยการประเมินด้วยสายตา และให้คะแนน 5 ระดับ ดังนี้

- | | |
|------------------------|-----------------------|
| 1 = เกิดโรค 0 - 20 % | 2 = เกิดโรค 21 - 40 % |
| 3 = เกิดโรค 41 - 60 % | 4 = เกิดโรค 61 - 80 % |
| 5 = เกิดโรค 81 - 100 % | |

7. ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล (browning index) โดยประเมินด้วยสายตาและให้คะแนน 5 ระดับ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1-3 ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) แต่ละชุดการทดลองมี 5 ซ้ำ และวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%