บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

การศึกษาเรื่อง การปรับปรุงวิธีการบ่มฝักวานิลลาด้วยตู้อบลมร้อน กรณีศึกษาที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนวาง จ. เชียงใหม่ เป็นการศึกษาถึงวิธีการบ่มฝักวานิลลาแต่ละขั้นตอนในวิธีการบ่มแบบดั้งเดิมที่ปฏิบัติ ณ ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนวาง นำวิธีการบ่มมาปรับปรุงโดยใช้ตู้อบ และศึกษาผลของการนวดฝักที่มีต่อคุณภาพฝักของวานิลลา รวมทั้งศึกษาต้นทุนการบ่มในแต่ละวิธี ซึ่งการศึกษาครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงปริมาณจากการเก็บรวบรวมข้อมูลเป็นตัวเลขในขั้นตอนต่างๆ ของวิธีการบ่มฝักวานิลลา และวิเคราะห์คุณภาพทางชีวเคมีของฝักวานิลลา) โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

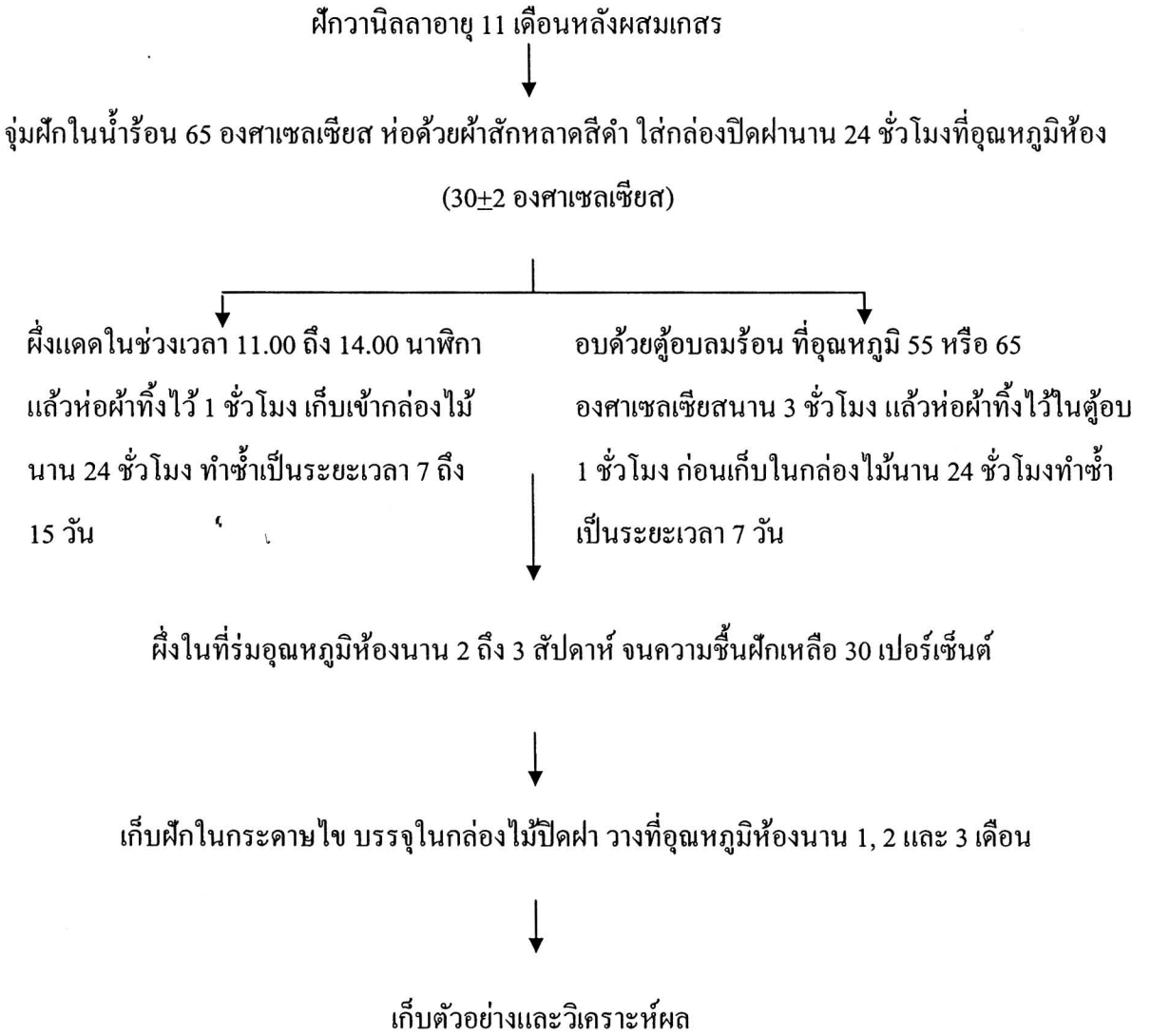
3.1 ศึกษาผลของการบ่มฝักด้วยตู้อบลมร้อนในขั้นตอน Sweating ที่มีต่อคุณภาพของฝักวานิลลา

3.1.1 ฝักวานิลลาที่ใช้ในการศึกษาเป็นฝักอายุ 11 เดือน หลังจากผสมเกสร โดยปลายฝักเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

แบ่งวิธีทดลองเป็น 2 วิธีการๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

วิธีที่ 1 แบบดั้งเดิมที่ปฏิบัติที่ศูนย์ฯ ขุนวางเป็นการ sweating ฝักวานิลลาด้วยการนำฝักมาตากแดดในช่วงเวลา 11.00 ถึง 14.00 น. เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และห่อผ้าทิ้งไว้ 1ชั่วโมง ก่อนเก็บเข้ากล่องไม้เป็นระยะเวลา 7 ถึง 15 วัน

วิธีที่ 2 sweating ฝักวานิลลาด้วยตู้อบลมร้อนรุ่น 50 ยี่ห้อ MEMERT ประเทศเยอรมนี ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน ดังแผนรูปที่ 1



รูปที่ 3.1 วิธีการศึกษาผลของการบ่มฝักวานิลลาด้วยตู้อบลมร้อนในขั้นตอน sweating

3.1.2 บันทึกผลการทดลอง

โดยทำการสุ่มฝักวานิลลามาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงด้านกายภาพในระหว่างทำการทดลอง และด้านชีวเคมีหลังปรับสภาพนาน 3 เดือน โดยเก็บข้อมูลดังนี้

(1) การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของฝัก ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก โดยใช้แถบวัดสี Color chart ในระบบสีมาตรฐาน ซึ่งประกบด้วยสีแดง สีเขียว และสีเหลือง (RGB) (www.fikbcampania.it) โดยใช้ฝักจำนวน 30 ฝัก

(2) ปริมาณความชื้นในฝัก (moisture content)

นำตัวอย่างฝักวานิลลามาหั่นตามขวางเป็นชิ้นความยาว 1 เซนติเมตร ชั่งฝักในภาชนะอลูมิเนียมจำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 กรัม นำไปอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสเวลา 1.30 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักแห้ง และคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นของฝักโดยใช้น้ำหนักสด (wet weight basis) (AOAC, 1995) โดยใช้สูตรในการคำนวณดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

(3) ประเมินคุณภาพกลิ่นรส 5 ด้าน ได้แก่ สีฝัก ความมันวาว การเกิดผลึก กลิ่นรส และคุณภาพฝักโดยรวม ด้วยวิธี Typical Hedonic Line scale โดยมีความยาวของสเกลรวม 15 เซนติเมตร (รูปภนวกที่ 9) (Florkowski et al., 2009) โดยผู้ที่มีประสบการณ์ในการประเมินกลิ่นวานิลลา จำนวน 10 คนต่อครั้ง พร้อมกับมีตัวอย่างฝักที่ได้มาตรฐานซึ่งเป็นฝักที่ผ่านการบ่มแล้วมีคุณภาพดี เพื่อนำมาเปรียบเทียบ

(3) การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีโดยใช้เครื่อง High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยสกัดและวิเคราะห์สารให้กลิ่นจากฝักบ่ม หลังผ่านขั้นตอน condition ที่ระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือน โดยมีวิธีการสกัดสารตัวอย่างดังต่อไปนี้

หั่นฝักวานิลลาตามขวางยาว 1 เซนติเมตร

↓

ชั่งวานิลลาตัวอย่างละ 5 กรัม บดตัวอย่างด้วยไนโตรเจนเหลวในโกร่ง

↓

ชั่งตัวอย่าง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 1 กรัม เติมเอทานอล 44% ปริมาณ 10 มิลลิลิตร

↓

บ่มในตู้อบอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง

↓

ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล 36 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ปริมาตรเท่ากับ 10 มิลลิลิตร

↓

กรองด้วยกระดาษกรอง What man no.1

↓

นำตัวอย่างบรรจุในกระบอกฉีดยา กรองผ่าน filter membrane (Millipore, 0.45 ไมโครเมตร) ฉีด

วิเคราะห์

↓

ปริมาณสารด้วยเครื่อง HPLC

รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการสกัดสารจากฝักวานิลลาเพื่อตรวจวัดปริมาณสารให้กลิ่นด้วยเครื่อง HPLC

วิเคราะห์ปริมาณสารตั้งต้นและสารให้กลิ่น โดยใช้เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น DGU-20A ประเทศ Japan ใช้ Diode array detecter คอลัมน์ C18 รุ่น ODS-3 ขนาด 5 ไมครอน 4.6 x 250 มิลลิเมตร ซึ่งสภาวะของการวิเคราะห์จะใช้สารละลาย mobile phase คือ เมทานอล กับ กรดอะซิติก (glacial 100%) version MERCH ประเทศ Germany)ความเข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ในอัตราส่วน 90:10 เป็นตัวชะ โดยมีอัตราส่วนการไหลคงที่เท่ากับ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที นาน 40 นาที ที่ความยาวคลื่นที่ใช้ตรวจวัด 254 นาโนเมตร โดยใช้ปริมาตรสารตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสาร standard ของ vanillin, 4-hydroxybenzoic acid, 4-hydroxybenzaldehyde และ vanillic acid (Sigma) ความเข้มข้น 1-100 mg/L (ปรับปรุงจากวิธีของ Odoux et al., 2003; Sreedhar et al., 2007)

3.1.3 วิเคราะห์ข้อมูล ค่าเฉลี่ย เปรียบเทียบความแปรปรวน และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) หรือ Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรม Statistical Package for the Social Science (SPSS) version 16

3.2 การศึกษาผลของการนวดในขั้นตอน slow drying ที่มีต่อคุณภาพฝักวานิลลา

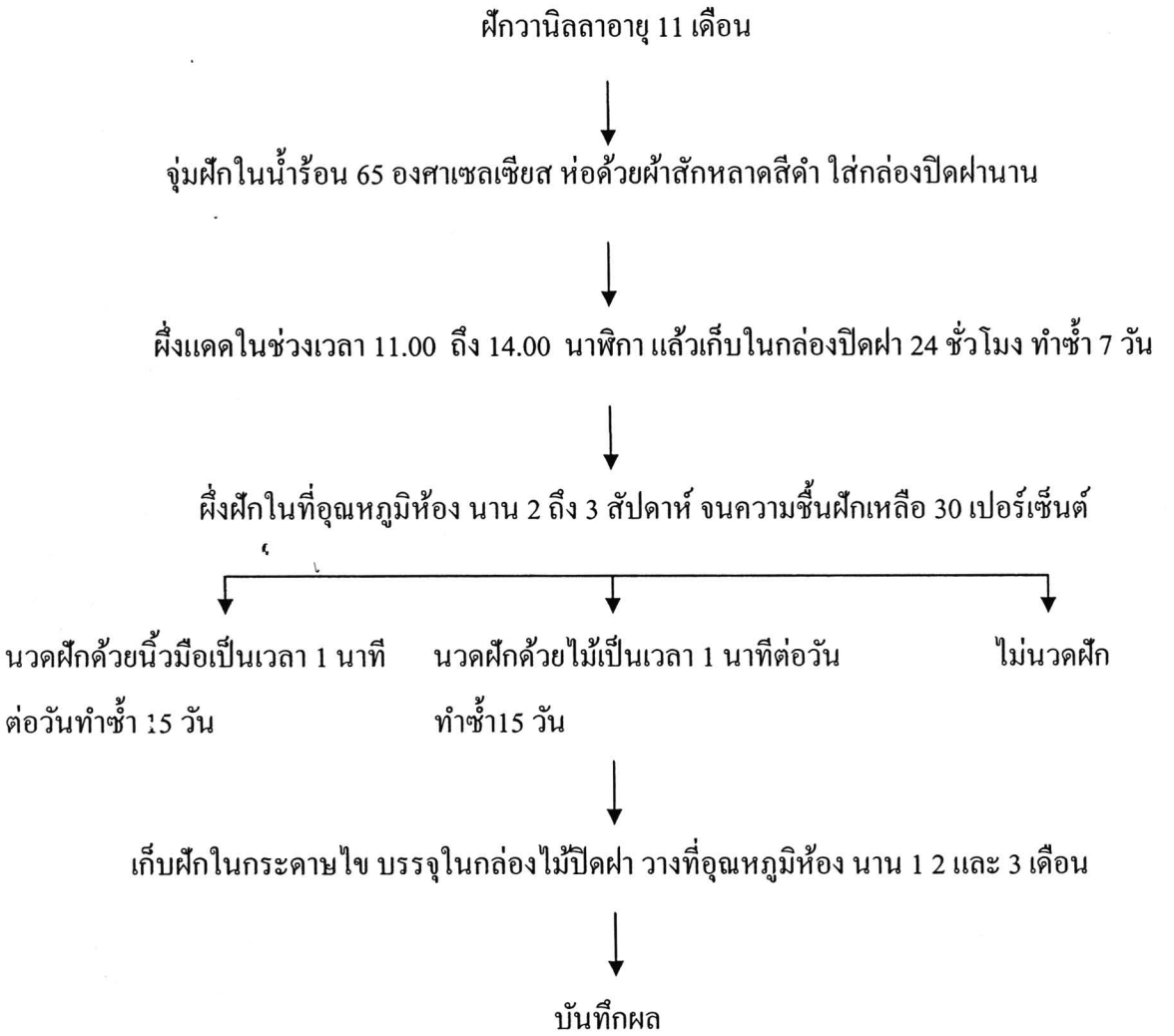
3.2.1 ฝักวานิลลาที่ใช้ในการศึกษาเป็นฝักอายุ 11 เดือน ปลายฝักเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองนำฝักไปผ่านขั้นตอนการบ่ม โดยทำการนวดในขั้นตอน slow drying (ดังรูปที่ 3.3)

แบ่งการทดลองเป็น 3 วิธี วิธีละ 30 ฝัก ดังนี้

วิธีที่ 1 นวดฝักวานิลลาโดยใช้นิ้วมือ นำฝักวานิลลามาม้วนนิ้วมือทีละฝักเป็นเวลา 1 นาทีต่อวันเป็นเวลา 15 วัน

วิธีที่ 2 นวดฝักวานิลลาโดยใช้ไม้นวดแป้ง โดยนำฝักวานิลลามานวดด้วยไม้นวดแป้ง ครั้งละ 10 ฝัก นวดนาน 1 นาที ต่อวันเป็นเวลา 15 วัน

วิธีที่ 3 ไม่มีการนวดฝัก (เนื่องจากผู้ศึกษาได้สัมภาษณ์ผู้ชำนาญในการบ่มของศูนย์ฯ ขุนวาง พบว่าลักษณะฝักที่ผ่านการนวดด้วยมือและไม่นวดก่อนการปรับสภาพมีลักษณะภายนอกใกล้เคียงกันทำให้ทางผู้ศึกษาต้องการทราบถึงความแตกต่างทางกายภาพและทางชีวเคมีของฝักที่เกิดขึ้นหลังผ่านการนวดและไม่นวด) ดังแผนรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.3 การศึกษาผลของการนวดในขั้นตอน slow drying ที่มีต่อคุณภาพฝักวานิลลา

3.2.2 บันทึกผลการทดลอง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.1

3.3 ศึกษาเทคนิคการบ่มฝักวานิลลาที่ปฏิบัติในพื้นที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนวาง

3.3.1 ฝักวานิลลาที่ใช้ในการศึกษาเป็นฝักอายุ 11 เดือน หลังจากผสมเกสรโดยมีลักษณะปลายฝักเริ่มเหลือง

3.3.2 สิ่งที่จะทำการศึกษา คือ เทคนิคการบ่มฝักของเจ้าหน้าที่ผู้ดูแลการปลูกและแปรรูปวานิลลา ณ ศูนย์ฯ ขุนวางซึ่งมีขั้นตอนการบ่ม ปรับปรุงมาจากวิธี Bourbon ตามวิธีดั้งเดิมประกอบด้วย 4 ขั้นตอน ได้แก่

1) การหยุดกรเจริญเติบโตของฝัก (killing) โดยการจุ่มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 63-65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที

2) การทำให้เกิดเหงื่อ (sweating) โดยผึ่งแดดในช่วงเวลา 11.00 ถึง 14.00 นาฬิกา ห่อฝักด้วยผ้าสักหลาดสีดำ แล้วนำไปไว้ในกล่องไม้สนที่มีฝาปิดสนิท นาน 24 ชั่วโมง ทำซ้ำเช่นเดิม 7 ถึง 10 วัน

3) การทำให้ฝักแห้งอย่างช้า (slow drying) โดยผึ่งในที่ร่มที่มีอากาศถ่ายเท นาน 2 ถึง 3 สัปดาห์ ก่อนเข้าสู่ขั้นตอนการปรับสภาพมีการนวดฝัก (pre-conditioning) โดยใช้นิ้วมือนวดรอบๆ ฝักเป็นเวลาประมาณ 1 นาทีต่อวันเป็นระยะเวลา 15 ถึง 20 วัน หรือจนความชื้นของฝักลดลงเหลือประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์

4) การปรับสภาพ (conditioning) ห่อฝักด้วยกระดาษไข แล้วเก็บในกล่องไม้ปิดสนิท เป็นเวลา 1, 2 และ 3 เดือน

3.3.3 เก็บตัวอย่างและบันทึกผลแยกตามความยาวของฝักวานิลลาแบ่งเป็น 3 เกรด ได้แก่ เกรด A (ความยาวฝัก > 15 เซนติเมตร) B (13-15 เซนติเมตร) และ เกรด C (10-13 เซนติเมตร) ทำการวัดอุณหภูมิฝัก จำนวน 10 ฝัก ความชื้นสัมพัทธ์ (%RH) ของสถานที่ทำการทดลองด้วยเทอร์โมมิเตอร์กระเปาะเปียก และกระเปาะแห้ง รวมทั้งระยะเวลาในการบ่มฝักในขั้นตอนต่างๆ และหลังปรับสภาพ 1, 2 และ3 เดือน สำหรับความชื้นฝัก (AOAC, 1995) สีฝัก ประเมินคุณภาพ และวิเคราะห์ปริมาณสารให้กลิ่นมีรายละเอียดเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.1

3.4 วิเคราะห์ต้นทุนในการบ่มฝักวานิลลา

3.4.1 วิเคราะห์ต้นทุนในการบ่มฝักวานิลลาจากวิธีการบ่มฝักวานิลลา 3 วิธีดังนี้

1) วิธีการบ่มฝักแบบดั้งเดิม ที่ปฏิบัติ ณ ศูนย์ฯ ขุนวาง

2) วิธีการบ่มฝักโดยใช้ตู้อบลมร้อน

3) วิธีการนวดฝักแบบใช้ไม้นวด ใช้นิ้วมือนวด (วิธีการดั้งเดิมของศูนย์ฯ ขุนวาง) และการไม่นวดฝัก วิเคราะห์ต้นทุนการบ่มฝักวานิลลาทั้ง 3 วิธี โดยพิจารณาค่าใช้จ่ายในการใช้พลังงานไฟฟ้า ค่าแรงงานที่ใช้ตลอดการบ่มฝัก และค่าเสื่อมราคาของเครื่องมือ

3.4.2 การบันทึกผล

บันทึกผลโดยเก็บข้อมูลจากค่าไฟฟ้า (บาทต่อหน่วย) ค่าอุปกรณ์ (บาทต่อชิ้น) ค่าแรงงาน (บาทต่อชั่วโมงต่อคน) ระยะเวลาที่ใช้ในการแปรรูป และรายงานผลการทดลองในหน่วยบาทต่อกิโลกรัมน้ำหนักฝักบ่ม

3.4.3 การวางแผนการเก็บข้อมูล

การศึกษาครั้งนี้ใช้ระยะเวลาประมาณ 12 เดือน ตั้งแต่ พฤศจิกายน พ.ศ. 2552 ถึง ตุลาคม พ.ศ. 2553 โดยมีรายละเอียดดังตารางที่ 12

ตารางที่ 3.1 แผนการดำเนินงาน

กิจกรรม	ปี 2552	ปี 2553				
	พ.ย.-ธ.ค.	ม.ค.-ก.พ.	มี.ค.-เม.ย.	พ.ค.-มิ.ย.	ก.ค.-ส.ค.	ก.ย.-ต.ค.
1. รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับวานิลลา	←	←	←	←	←	→
2. เขียนเค้าโครงวิทยานิพนธ์		←	→			
3. นำเสนอเค้าโครงวิทยานิพนธ์			←	→		
4. ลงพื้นที่เพื่อปฏิบัติการ ณ ศูนย์ฯ ขุนวาง			←	→		
5. ปฏิบัติการทางชีวเคมีเกี่ยวกับวานิลลา				←	→	
6. รวบรวมข้อมูลจากการศึกษา			←	←	←	→
7. วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาและจัดทำรูปเล่มวิทยานิพนธ์				←	←	→