

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมพืชทดสอบก่อนการเก็บรักษา

ผักสดในกลุ่มของผักกินใบและต้น ได้แก่ โหระพา (Sweet basil) คะน้า (Chinese kale) ผักชีฝรั่ง (Foietid eryngium) คื่นช่าย (Celery) ผักชี (Chinese coriander) และ ผักกาดฮ่องเต้ (Pak chai) ถูกเก็บเกี่ยว ในระยะเวลาที่เหมาะสมจากแปลงเกษตรกรในพื้นที่ปลูกในเขตจังหวัดพิษณุโลก หรือแหล่งผลิตที่ใกล้เคียง และขนส่งอย่างระมัดระวังจากแหล่งผลิตมายังห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก ในวันเดียวกัน หลังจากนั้น นำผักมาล้างทำความสะอาด คัดขนาด ตัดและใบให้สม่ำเสมอ ปราศจากโรคและแมลง ผึ่งให้แห้งก่อนนำมาศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยว (ภาพที่ 1) โดยเน้นศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผักกินใบ ณ อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 28°C) และ อุณหภูมิ ต่ำแช่ (ประมาณ 3°C) เพื่อประเมินลักษณะการเสื่อมสภาพ และการตอบสนองเบื้องต้นต่อ 1-MCP

จากการทดสอบเบื้องต้น พบว่า ผักกาดฮ่องเต้ให้การตอบสนองที่ดีกว่าผักกินใบชนิดอื่น ๆ ดังนั้น ในรายงานฉบับนี้ จึงเน้นการทดสอบเฉพาะในผักกาดฮ่องเต้

ผักกาดฮ่องเต้ ถูกคัดเลือกให้เป็นพืชทดสอบ โดยการให้ 1-MCP ในแต่ละระดับความเข้มข้น ในการทดลองต่อไป (รายละเอียดในหัวข้อ 3.2) (ภาพที่ 2) ก่อนเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 28°C; ภาพที่ 3) และ อุณหภูมิ ต่ำแช่ (ประมาณ 3°C) บันทึกข้อมูล ตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา (รายละเอียดในหัวข้อ 3.4) ระยะเวลาการทดลองในห้องปฏิบัติการ เริ่มจาก 21 ต.ค. 2553 จนถึง 9 ธันวาคม 2553 (ภาคผนวก)

3.2 สิ่งทดลอง (Treatment) และวัตถุประสงค์ย่อย

การศึกษาแยกออกเป็น 3 การทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4-5 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น สามารถแบ่งการทดลองได้ ดังนี้

การทดลองที่ 1: ศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของ 1-MCP ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ ผักกาดฮ่องเต้ เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28.14±0.03°C, 38.35±69.55% RH) โดยใช้ระยะเวลาการนาน 6 ชั่วโมง บันทึกข้อมูล ทุกวันเป็นเวลา 5 วัน (Day 0, 1, 2, 3, 4, 5) ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น

Treatment 1: ชุดควบคุม (ไม่ใช้ 1-MCP)

Treatment 2: 1-MCP 1 เม็ด (7200 ppb) นาน 6 ชั่วโมง

Treatment 3: 1-MCP ½ เม็ด (3600 ppb) นาน 6 ชั่วโมง

Treatment 4: 1-MCP ¼ เม็ด (1800 ppb) นาน 6 ชั่วโมง

การทดลองที่ 2: ศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของ 1-MCP ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ ผักกาดฮ่องเต้ เมื่อเก็บรักษาไว้ที่ อุณหภูมิ ต่ำ (3.64±0.04°C, 75.95±0.19 %RH) บันทึกข้อมูล ทุก 3 วันเป็นเวลา 18 วัน (Day 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18) ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น

- Treatment 1: ชุดควบคุม (ไม่ใช่ 1-MCP)
- Treatment 2: 1-MCP 1 เม็ด (7200 ppb) นาน 6 ชั่วโมง
- Treatment 3: 1-MCP ½ เม็ด (3600 ppb) นาน 6 ชั่วโมง
- Treatment 4: 1-MCP ¼ เม็ด (1800 ppb) นาน 6 ชั่วโมง

การทดลองที่ 3: ทดสอบประสิทธิภาพของ 1-MCP ต่อการยับยั้งการทำงานของ ethephon ในการเปลี่ยนแปลงคุณภาพหลังเก็บเกี่ยวของผักกาดฮ่องเต้ ภายหลังจากการรม 1-MCP โดยใช้ระยะเวลาการรมนาน 6 ชั่วโมง เก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิห้อง (27.83 ±0.02°C, 49.32 ±0.14 %RH) บันทึกข้อมูล ทุกวันเป็นเวลา 4 วัน (Day 0, 1, 2, 3, 4) ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น

- Treatment 1: ชุดควบคุม (ไม่ใช่ 1-MCP)
- Treatment 2: 1-MCP 1 เม็ด (7200 ppb) นาน 6 ชั่วโมง
- Treatment 3: 1-MCP ½ เม็ด (3600 ppb) นาน 6 ชั่วโมง
- Treatment 4: ethephon 1000 ppm (ฉีดพ่น)
- Treatment 5: 1-MCP 1 เม็ด + ethephon 1000 ppm (ฉีดพ่น)
- Treatment 6: 1-MCP ½ เม็ด + ethephon 1000 ppm (ฉีดพ่น)

3.3 การเตรียม 1-MCP และภาชนะที่ใช้ในการรม

1-MCP ที่มีลักษณะเป็นเม็ดมีชื่อทางการค้าว่า ไบโอสลิน (Biolene® 0.07% 1-MCP; บริษัทไปโอเซฟเฟอร์ จำกัด, กรุงเทพฯ ฯ) นำ 1-MCP แบบเม็ดนี้ไปให้ความชื้น โดยการเตรียมน้ำกลั่น จำนวน 20 ml ภายในบีกเกอร์ 50 ml จากนั้นนำ 1-MCP ที่แบ่งตามขนาดใส่ลงในบีกเกอร์ที่เตรียมไว้ เมื่อใส่ 1-MCP ลงในบีกเกอร์ ทำการปิดฝาภาชนะที่ใช้ในการรม 1-MCP ทันที จะสังเกตกลุ่มควันเกิดขึ้น กลุ่มควันที่ปลอดภัยออกมาคือ 1-MCP นั้นเอง ทั้งนี้ต้องนำผักแต่ละชนิดบรรจุลงในภาชนะรมก่อนใส่ 1-MCP (ภาพที่ 4)

ระดับความเข้มข้นของ 1-MCP อาศัยหลักการคำนวณตามปริมาตรของภาชนะที่ใช้ในการรม จากรายงานความเข้มข้นของ 1-MCP ขนาด 1 เม็ด ในภาชนะบรรจุขนาด 1 ลูกบาศก์เมตร พบว่า ให้ความเข้มข้นของ 1-MCP เท่ากับ 900 ppb (รายงานสรุปจากบริษัทไปโอเซฟเฟอร์ จำกัด, กรุงเทพฯ ฯ) ดังนั้น ถ้าในภาชนะรมขนาด 1/8 เท่า ของ 1 ลูกบาศก์เมตร ในการทดลองนี้

- การใช้ 1-MCP ขนาด 1 เม็ด ให้ความเข้มข้น เท่ากับ 7200 ppb
- การใช้ 1-MCP ขนาด ½ เม็ด ให้ความเข้มข้น เท่ากับ 3600 ppb
- การใช้ 1-MCP ขนาด ¼ เม็ด ให้ความเข้มข้น เท่ากับ 1800 ppb ตามลำดับ

3.4 การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูล การเปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยวในระหว่างการเก็บรักษา ดังนี้ คือ การสูญเสีย น้ำหนัก การเปลี่ยนแปลงของสี คะแนนสภาพภายนอก การเน่าเสีย การเกิดตำหนิอื่น ๆ ปริมาณ คลอโรฟิลล์ และ อายุการเก็บรักษา โดยบันทึกข้อมูล ทุกวัน (0, 1, 2, 3, 4, 5) ของการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้อง และ ทุก 3 วัน (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18) ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ ต่ำ

3.4.1 เปอร์เซนต์การสูญเสียน้ำหนัก

บันทึกน้ำหนักของผักวางตั้งห้อยตั้งแต่ ก่อนและหลังการทดสอบด้วย 1-MCP และภายหลังการเก็บรักษาในแต่ละช่วงเวลาของการเก็บรักษา หลังจากนั้น คำนวณ และแสดงผลเป็นเปอร์เซนต์ ดัง สมการ

$$\% \text{ การสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{(\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักหลัง})}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100$$

3.4.2 การเปลี่ยนแปลงสีของใบผัก

3.4.2.1 ประเมินโดยการให้คะแนน

สุ่มใบขนาดกลางด้านนอกของผักกาดฮ่องเต้ในแต่ละต้นจำนวน 5 ใบ ประเมินสีใบ และให้คะแนน จาก (1-5) (ประยุกต์จากคะแนนสี University of California, Davis, U.S.A.) โดย

5 = ใบมีสีเขียวเข้ม

4 = ใบมีสีเขียว

3 = ใบมีสีเขียวค่อนข้างเหลืองเล็กน้อย

2 = ใบมีสีเขียว-เหลืองมากกว่า 5 % ของพื้นที่ใบ

1 = ใบมีสีเหลืองมากกว่า 20 %

3.4.2.2 ประเมินโดยใช้ Colorimeter

สุ่มใบขนาดกลางด้านนอกของผักกาดฮ่องเต้ในแต่ละต้นจำนวน 5 ใบ นำมาวัดค่าสี และการเปลี่ยนแปลงของสีโดยใช้เครื่องวัดสี (ภาพที่ 5) (Colorimeter, Miniscan XP PLUS 5.4-0.9/2002, U.S.A) วัดด้านบนของแต่ละใบ 4 จุด (ดัดแปลงจาก Ku and Wills, 1999) แสดงผลเป็น ค่า L*, C* and Hue angle (h°) ดังนี้

L* = คือ ค่าความสว่าง ถ้า L* มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึงวัตถุมืดคล้ำ หากค่า L* เข้าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมืด ความสว่าง

C* = ความเข้มของสี หรือ Chroma มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึงวัตถุสีซีดจางหากเข้าใกล้ 60 วัตถุมืดเข้ม

h° = ค่าเฉดสี Hue angle มีค่าเข้าใกล้ 90 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเหลือง หากค่าเข้าใกล้ 180 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเขียว

3.4.3 คะแนนสภาพภายนอกของผักกาดฮ่องเต้

ผักกาดฮ่องเต้ในแต่ละต้น ถูกประเมินสภาพภายนอก (ภาพที่ 6) โดยการให้คะแนน จาก (1-5) ตามการเกิดตำหนิ รวมทั้งรอยช้ำของต้น ดังนี้

- 5 = มีสภาพดีมาก (ไม่มีรอยช้ำของใบและก้านใบ)
- 4 = มีสภาพดี (ไม่มีรอยช้ำของใบและก้านใบ)
- 3 = มีสภาพปานกลาง (มีรอยช้ำของใบและก้านใบเล็กน้อย)
- 2 = มีสภาพดีเล็กน้อย (มีรอยช้ำของใบและก้านใบมากกว่า 20%)
- 1 = มีสภาพเลวร้าย (มีรอยช้ำของใบและก้านใบมากกว่า 50%)

3.4.4 คะแนนการเกิดกลิ่นผิดปกติของผักกาดฮ่องเต้

ผักกาดฮ่องเต้ในแต่ละต้น โดยการประเมินทางประสาทสัมผัสประเมิน ถูกประเมินการเกิดกลิ่นที่ผิดปกติจากการให้คะแนน (0-5) ดังนี้ คือ

- 5 = มีกลิ่นผิดปกติมาก-รุนแรง
- 4 = มีกลิ่นผิดปกติมาก
- 3 = มีกลิ่นผิดปกติปานกลาง
- 2 = มีกลิ่นผิดปกติเล็กน้อย
- 1 = ไม่พบกลิ่นผิดปกติ

3.4.5 ปริมาณคลอโรฟิลล์

การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ (ภาพที่ 7) โดยนำใบผักกาดฮ่องเต้ 1-3 ใบ ของแต่ละต้น หั่นฝอย ปรับน้ำหนักประมาณ 1 กรัม แช่ใน Acetone 80% (5ml นาน 5 นาที) บดให้ละเอียด กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ปรับปริมาตร ให้เป็น 20 ml ด้วย Acetone 80% หลังจากนั้น นำสารละลายที่ได้ วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer Spectronic 21 ที่ความยาวคลื่น 633 และ 645 nm คำนวณ และแสดงผลเป็น mg/ 100 g FW (ประยุกต์จาก Arnon, 1949) ดัง สมการ

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ} = (12.7D_{663} - 2.69D_{645}) * (V/1000*W)$$

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี} = (22.9D_{645} - 4.68D_{663}) * (V/1000*W)$$

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ รวม} = (20.2D_{645} + 8.02D_{663}) * (V/1000*W)$$

$$\text{โดย } D_{663} = \text{O.D ที่ความยาวคลื่น 663 nm}$$

$$D_{645} = \text{O.D ที่ความยาวคลื่น 645 nm}$$

$$V = \text{ปริมาตร acetone ที่ใช้ (20 ml)}$$

$$W = \text{น้ำหนักของใบผัก (1g)}$$

3.4.6 อายุการเก็บรักษา

ประเมินอายุการเก็บรักษาของผักกาดฮ่องเต้ ณ วันที่มีคะแนนสีของใบน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 เป็นเกณฑ์ ซึ่งเป็นระยะที่ผักกวางตุ้งฮ่องเต้มีใบเหลืองมากกว่า 5% ของพื้นที่ใบทั้งหมด ซึ่งไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ถือว่า หมดสภาพ

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวางแผนการทดลองเป็นแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วยจำนวนซ้ำ 4-5 ซ้ำ ขึ้นอยู่กับแต่ละการทดลอง เปรียบเทียบความแปรปรวนของข้อมูลด้วย ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple rang test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.6 ระยะเวลาที่ทำการทดลอง

สำรวจแหล่งผลิตผักกินใบในเขตจังหวัดพิษณุโลก และพื้นที่ใกล้เคียง พื้นที่ตลาดค้าส่ง ในช่วงเดือนกันยายน 2553

เริ่มดำเนินการทดลอง ตั้งแต่ เดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2553 ถึง เดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2553 รวม ประมาณ 40 วัน ดังนี้

- การทดสอบเบื้องต้น เกี่ยวกับการตอบสนองของผักกินใบแต่ละชนิด ช่วงเดือน กันยายน 2553
- เริ่มการทดลองที่ 1 ตั้งแต่วันที่ 21 ตุลาคม พ.ศ. 2553 สิ้นสุดวันที่ 26 ตุลาคม พ.ศ. 2553
- เริ่มการทดลองที่ 2 ตั้งแต่วันที่ 21 พฤศจิกายน พ.ศ. 2253 สิ้นสุดวันที่ 9 ธันวาคม พ.ศ. 2553
- เริ่มการทดลองที่ 3 ตั้งแต่วันที่ 29 ตุลาคม พ.ศ. 2253 สิ้นสุดวันที่ 3 พฤศจิกายน พ.ศ. 2253

3.7 สถานที่ทำการทดลอง

สถานที่ทดลองในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร

แหล่งสำรวจข้อมูล แปลงปลูกผักของเกษตรกร ในเขตจังหวัดพิษณุโลก ตลาดค้าส่ง ส่วนกลาง (อินโดจีน) ในจังหวัดพิษณุโลก