

บทที่ 3 การขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.1 การเตรียมวัสดุทดลอง

เก็บเกี่ยวเงาะพันธุ์โรงเรียนวัย 4-5 (อายุ 19-22 วันหลังการเปลี่ยนสี) (สมคิด โพธิ์พันธุ์, 2553) จากสวนเกษตรกรที่ได้รับ Good Agriculture Practices (GAP) ใน อ.ขลุง จ.จันทบุรี โดยวิธีการตัดกิ่งหรือช่อผล จากนั้นคัดเลือกขนาดผลใกล้เคียงกัน และปราศจากตำหนิจากโรคและแมลง ตัดก้านช่วยาว 0.5 เซนติเมตร จุ่มสารกำจัดเชื้อราด้วยโพรคลอราซ (prochloraz) ความเข้มข้น 500 ppm ที่มีอุณหภูมิ 18-20 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นผึ่งผลเงาะให้สะเด็ดน้ำแล้วทำการบรรจุผลเงาะจำนวน 6 ผล ลงในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการทดสอบ จากนั้นขนส่งด้วยรถห้องเย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสมายังห้องยังห้องปฏิบัติการสาขาวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี บางขุนเทียน และนำไปเก็บรักษาในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 ± 5 เปอร์เซ็นต์

3.2 การวางแผนการทดลอง

3.2.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของชนิดบรรจุภัณฑ์ต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาผลเงาะพันธุ์โรงเรียน

ทำการบรรจุผลเงาะโรงเรียนจากข้อ 3.1 จำนวน 6 ผล ลงในถุงโพลีเอทิลีนขนาด 15.2×22.3 เซนติเมตร หนา 0.04 มิลลิเมตร และเจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง เท่ากับ 0.5 เซนติเมตร และถุง Active ขนาด 15.4×28.6 เซนติเมตร หนา 0.02 มิลลิเมตร โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomize Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ และสามารถแบ่งเป็นทรีตเมนต์ต่างๆ ดังนี้

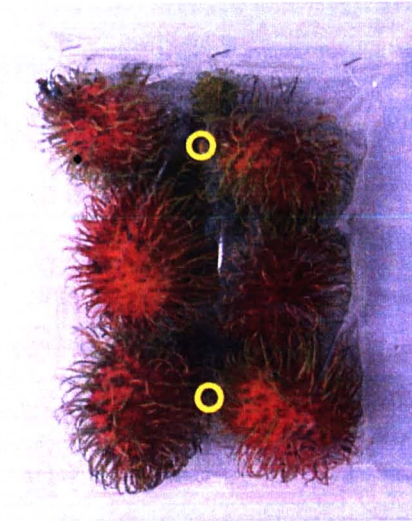
ทรีตเมนต์ที่ 1 ผลเงาะที่บรรจุในตะกร้าพลาสติกที่คลุมด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ (ชุดควบคุม)

ทรีตเมนต์ที่ 2 ผลเงาะบรรจุในถุงโพลีเอทิลีนเจาะรูขนาด 0.5 เซนติเมตร จำนวน 4 รู

ทรีตเมนต์ที่ 3 ผลเงาะบรรจุในถุงโพลีเอทิลีนเจาะรูขนาด 0.5 เซนติเมตร จำนวน 8 รู

ทรีตเมนต์ที่ 4 ผลเงาะบรรจุในถุงโพลีเอทิลีนเจาะรูขนาด 0.5 เซนติเมตร จำนวน 12 รู

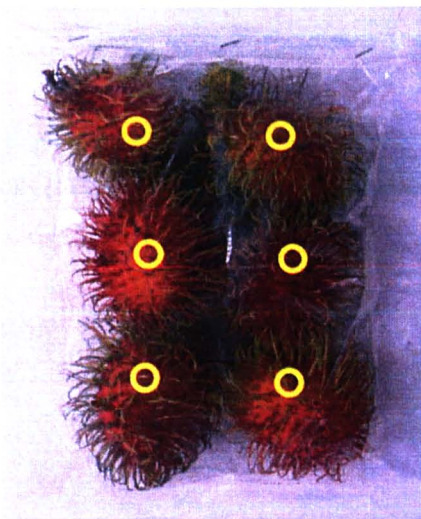
ทรีตเมนต์ที่ 5 ผลเงาะบรรจุในถุงโพลีเอทิลีนชนิดแอกทีฟ



รูปที่ 3.1 ผลเงาะที่บรรจุในถุงโพลีเอทิลีนเจาะ 4 รู



รูปที่ 3.2 ผลเงาะที่บรรจุในถุงโพลีเอทิลีนเจาะ 8 รู



รูปที่ 3.3 ผลเงาะที่บรรจุในถุงโพลีเอทิลีนเจาะ 9 รู



รูปที่ 3.4 ผลเงาะที่บรรจุในถุงโพลีเอทิลีนชนิดแอกทีฟ

สำหรับทริตเมนต์ที่ 2-4 ทำการปิดปากถุงด้วยลวดเย็บกระดาษ และทริตเมนต์ที่ 5 ปิดผนึกด้วยเครื่อง impulse sealer จากนั้นขนส่งด้วยรถห้องเย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และนำมาเก็บในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 ± 5 เปอร์เซ็นต์ ทำการสุ่มตัวอย่างทุกๆ 3 วัน เพื่อตรวจสอบคุณภาพและบันทึกผลดังนี้

1. อัตราการหายใจ และการผลิตเอทิลีน (Gemma และคณะ, 1994)

นำผลเงาะ 3 ผล บรรจุกล่องพลาสติก ขนาด 1.13 ลิตร ปิดฝากล่องให้สนิทนำไปเก็บที่ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทำการเก็บตัวอย่างก๊าซภายในภาชนะด้วยกระบอกฉีดยาสีดยาสุญญากาศ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตรวจวัดคาร์บอนไดออกไซด์และเอทิลีน วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography ผลิตโดยบริษัท Shimadzu รุ่น GC A8, 14B ชนิด Porapak Q (Mesh 80/100) สำหรับตรวจวัดคาร์บอนไดออกไซด์และเอทิลีน ตามลำดับ โดยใช้สภาพการวัดดังนี้

ตารางที่ 3.1 สภาพการวัดคาร์บอนไดออกไซด์และเอทิลีนของเครื่อง Gas Chromatography

	CO ₂	C ₂ H ₄
Column type	Porapak Q	Porapak Q
Column temperature	120°C	120°C
Inject temperature	50°C	80°C
Detector	Thermal conductivity detector	Flame ionization detector
Carrier gas	He	N ₂

2. การสูญเสียน้ำหนักสด

นำผลเงาะมาใช้ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนัก โดยชั่งน้ำหนักเริ่มต้นของผลเงาะก่อนทำการเก็บรักษา หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักผลทุก 3 วัน นำค่าที่บันทึกได้มาคำนวณดังนี้

$$\text{ร้อยละการสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักหลังการเก็บรักษา}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100$$

3. คะแนนการเปลี่ยนแปลงสีขน (อรษา แก้วเกษตรกรรม, 2536)

- คะแนน 1 = สีขนเงาะปกติ
- คะแนน 2 = สีขนเงาะน้ำตาล 1/4 ของความยาวขน
- คะแนน 3 = สีขนเงาะน้ำตาล 2/4 ของความยาวขน
- คะแนน 4 = สีขนเงาะน้ำตาล 3/4 ของความยาวขน
- คะแนน 5 = สีขนเงาะน้ำตาลทั้งหมด

4. เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคผลเน่า

ทำการวัดความเสียหายที่เกิดจากโรคผลเน่าของเงาะ โดยการประเมินด้วยตาเปล่า โดยพิจารณาจากการปรากฏของจุดดำคล้ำบนผลเงาะ แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่เกิดโรคจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ผลที่เกิดโรค} = \frac{\text{จำนวนผลที่เกิดโรค}}{\text{จำนวนผลทั้งหมด}} \times 100$$

5. ปริมาณความชื้นในเปลือก (Relative water content) ดัดแปลงวิธีของ Turner (1981)

ตัดเปลือกเงาะโดยใช้ cork borer เงาะ ให้มีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร จำนวน 5 ชิ้น แล้วชั่งน้ำหนักและนำไปแช่ในน้ำกลั่นปริมาตร 60 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นทำการซับน้ำเปลือกเงาะที่ผ่านการแช่น้ำแล้วทำการชั่งน้ำหนัก แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักแห้งอีกครั้ง และนำค่าน้ำหนักที่ได้มาคำนวณหาค่า relative water content โดยสมการ

$$\text{Relative water content (\%)} = \frac{\text{FW} - \text{DW}}{\text{TW} - \text{DW}} \times 100$$

FW = น้ำหนักสด

DW = น้ำหนักแห้ง

TW = น้ำหนักขณะแช่ที่เซลล์เต่งเต็มที่

6. คะแนนการยอมรับโดยรวมด้านลักษณะปรากฏของผลเงาะ โดยใช้ 9 point hedonic scale (อรษา แก้วเกษตรกรณ์, 2536)

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

7. ปริมาณแอนโทไซยานิน (Anthocyanin content) ขนและเปลือก (ประยุกต์จาก AOAC, 1984)

นำตัวอย่างเปลือกเงาะมาเจาะด้วย cork borer จำนวน 9 ชิ้น และขนเงาะจำนวน 20 เส้น จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักแล้วนำไปสกัดแอนโทไซยานินด้วย ethanolic HCl (ethanol 95% : 1.5 N HCl = 85 : 15 v/v) ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นกรองผ่านกระดาษสาและกรวยแก้ว ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิเมตรด้วย ethanolic HCl (final volume) นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer (Shimadzu UV-1601) ที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร โดยใช้ ethanolic HCl เป็น blank ค่าที่วัดได้นำไปคำนวณตามสมการ

$$\text{Anthocyanin content} = \frac{\text{OD}_{535} \times \text{final volume} \times 100}{98.2 \times \text{weight (g)}}$$

Anthocyanin ที่ได้มีหน่วยเป็น mg/100g FW

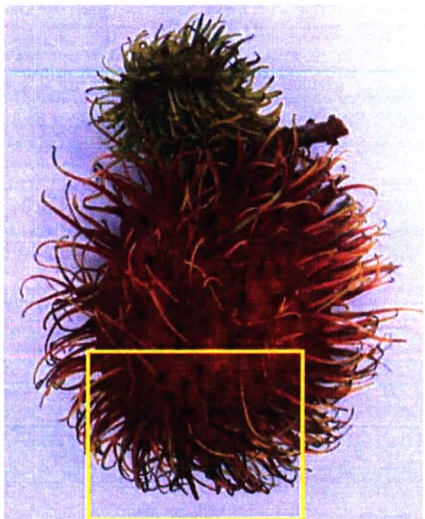
8. การรั่วไหลของไอออนจากเนื้อผลเงาะ (ประยุกต์จาก Gamma และคณะ, 1994)

การเสื่อมสภาพของเมมเบรนทำการตรวจสอบโดยอาศัยการวัดการรั่วไหลของไอออน ทำโดยเจาะเนื้อของผลเงาะด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ปริมาณ 1 กรัม จากนั้นนำเนื้อเยื่อที่เจาะไปแช่ในสารละลายแมนนิทอล (mannitol) ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ (โดยชั่งแมนนิทอล 72.86 กรัม ละลายลงในบีกเกอร์ขนาด 200 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นเล็กน้อย คนด้วยแท่งแก้วเพื่อให้แมนนิทอลละลายแล้วเทใส่ขวดปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปแช่ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำสารละลายแขวนลอยที่ได้มาวัดค่า electrolyte leakage โดยใช้เครื่อง conductivity meter (Orion, model 124) จากนั้นนำตัวอย่างเดิมไปนึ่งด้วยหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำไปวัดค่า electrolyte leakage อีกครั้ง จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณดังนี้

$$\text{Total electrolyte leakage (\%)} = \frac{\text{electrolyte}_{\text{ก่อนนึ่ง}} \times 100}{\text{electrolyte}_{\text{หลังนึ่ง}}}$$

9. คะแนนความเสียหายจากการกดทับ

การประเมินความเสียหายจากการกดทับนั้นสังเกตจากลักษณะขนเงาหักพับ ดังรูปที่ 3.5 และประเมินตามเกณฑ์ในตารางที่ 3.2



รูปที่ 3.5 ลักษณะการเกิดโคนขนหักพับ

ตารางที่ 3.2 เกณฑ์การประเมินคะแนนความเสียหายจากการกดทับ

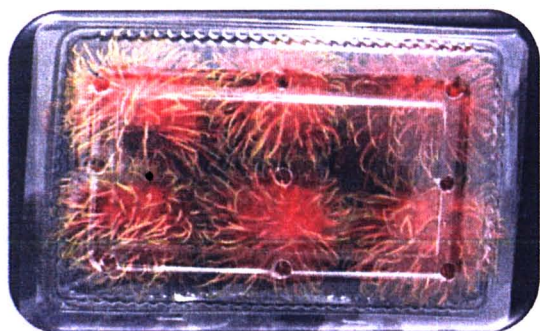
คะแนน	เกณฑ์การประเมิน
1	ไม่พบร่องรอยการกดทับ
2	พบบริเวณการกดทับเท่ากับ 1-25 เปอร์เซ็นต์ ของผล
3	พบบริเวณการกดทับเท่ากับ 26-50 เปอร์เซ็นต์ ของผล
4	พบบริเวณการกดทับมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ของผล

10. ประเมินลักษณะปรากฏของบรรจุภัณฑ์

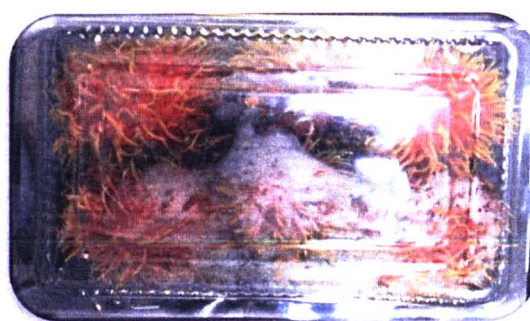
การประเมินลักษณะปรากฏของบรรจุภัณฑ์นั้น พิจารณาจากไอน้ำที่มากาะบริเวณบรรจุภัณฑ์ดังรูปที่ 3.6 ถึง 3.8 และทำการประเมินเป็นคะแนนตามตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 เกณฑ์การประเมินลักษณะปรากฏของบรรจุภัณฑ์

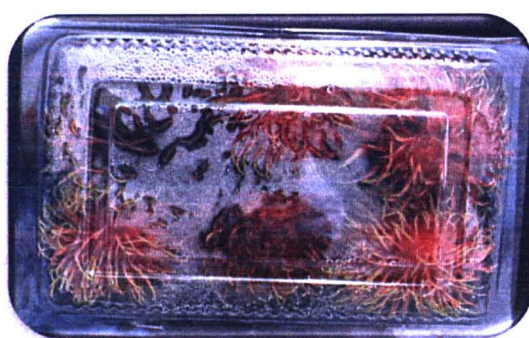
คะแนน	เกณฑ์การประเมิน
1	ไม่ยอมรับ เนื่องจากมีไอน้ำเกิดปกคลุมบรรจุภัณฑ์ มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่บรรจุภัณฑ์ (รูปที่ 3.8)
2	พอรับได้ เนื่องจากมีไอน้ำเกิดปกคลุมบรรจุภัณฑ์บางส่วน (น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่บรรจุภัณฑ์) (รูปที่ 3.7)
3	รับได้ เนื่องจากไม่มีไอน้ำปกคลุมบรรจุภัณฑ์ (รูปที่ 3.6)



รูปที่ 3.6 ลักษณะบรรจุภัณฑ์ที่ยอมรับได้



รูปที่ 3.7 ลักษณะบรรจุภัณฑ์ที่พอรับได้



รูปที่ 3.8 ลักษณะบรรจุภัณฑ์ที่ไม่ยอมรับ

3.2.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของชนิดบรรจุภัณฑ์ต่อคุณภาพและอายุการวางจำหน่ายผลเงาะพันธุ์โรงเรียน

ทำการบรรจุผลเงาะจากข้อ 3.1 จำนวน 6 ผลลงในถุงโพลีเอทิลีนขนาด 15.2×22.3 เซนติเมตร หนา 0.04 มิลลิเมตร และถุงแอกทีฟขนาด 15.4×28.6 เซนติเมตร หนา 0.02 มิลลิเมตร เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomize Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ และสามารถแบ่งเป็นทรีตเมนต์ได้ต่างๆ ได้ดังนี้

ทรีตเมนต์ที่ 1 ผลเงาะที่บรรจุในตะกร้าพลาสติกที่คลุมด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ (ชุดควบคุม)

ทรีตเมนต์ที่ 2 ผลเงาะบรรจุในถุงโพลีเอทิลีนเจาะรูขนาด 0.5 เซนติเมตร จำนวน 4 รู

ทรีตเมนต์ที่ 3 ผลเงาะบรรจุในถุงโพลีเอทิลีนเจาะรูขนาด 0.5 เซนติเมตร จำนวน 8 รู

ทรีตเมนต์ที่ 4 ผลเงาะบรรจุในถุงโพลีเอทิลีนเจาะรูขนาด 0.5 เซนติเมตร จำนวน 12 รู

ทรีตเมนต์ที่ 5 ผลเงาะบรรจุในถุงโพลีเอทิลีนชนิดแอกทีฟ

ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 ± 5 เปอร์เซ็นต์ ทำการสุ่มตัวอย่างทุกๆ 3 วัน (3 6 9 12 และ 15 วัน) แล้วย้ายมาวางที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน

(จำลองการวางจำหน่าย) จากนั้นทำการตรวจสอบคุณภาพเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ยกเว้นการสูญเสียน้ำหนักสดและการเกิดขนสีน้ำตาลของผลเงาะ ดังนี้

1. อัตราการหายใจ และการผลิตเอทิลีน (Gamma และคณะ, 1994)
2. เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค
3. ปริมาณความชื้นในเปลือก (Relative water content) (ดัดแปลงวิธีของ Turner, 1981)
4. คะแนนการยอมรับโดยรวมด้านลักษณะปรากฏของผลเงาะ โดยใช้ 9 point hedonic scale (อรรษา แก้วเกษตรกรรม, 2536)
5. ปริมาณแอนโทไซยานิน (Anthocyanin content) ขนและเปลือก (ประยุกต์จากวิธีของ AOAC, 1984)
6. การร่วงไหลของไอออนจากเนื้อผลเงาะ (ประยุกต์จากวิธีของ Gamma และคณะ, 1994)
7. คะแนนความเสียหายจากการกดทับ สืบเนื่องจากลักษณะโคนขนหักพับ
8. ประเมินลักษณะปรากฏของบรรจุภัณฑ์

3.2.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์กล่องพลาสติกแบบ Clamshell ต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาผลเงาะพันธุ์โรงเรียน

ทำการบรรจุผลเงาะจากข้อ 3.1 จำนวน 6 ผลลงในกล่องพลาสติก (PET) แบบ Clamshell ขนาด 11.5×18.2 เซนติเมตร ซึ่งเจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร บริเวณด้านบนและด้านล่างของกล่อง (รูปที่ 3.9 - 3.11) โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomize Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ และสามารถแบ่งเป็นทรีตเมนต์ต่างๆ ได้ดังนี้

ทรีตเมนต์ที่ 1 ผลเงาะที่บรรจุในตะกร้าพลาสติกที่คลุมด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ (ชุดควบคุม)

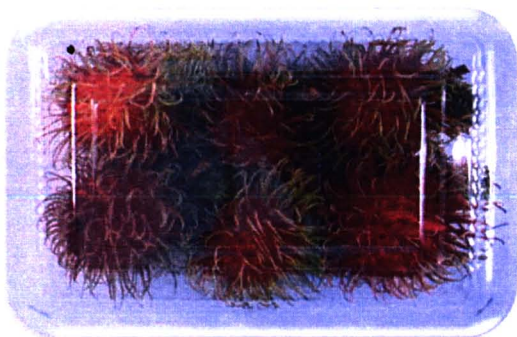
ทรีตเมนต์ที่ 2 ผลเงาะบรรจุในกล่อง Clamshell ไม่เจาะรูด้านบน และเจาะรูด้านล่าง 4 รู

ทรีตเมนต์ที่ 3 ผลเงาะบรรจุในกล่อง Clamshell เจาะรูด้านบน 4 รู และเจาะรูด้านล่าง 4 รู

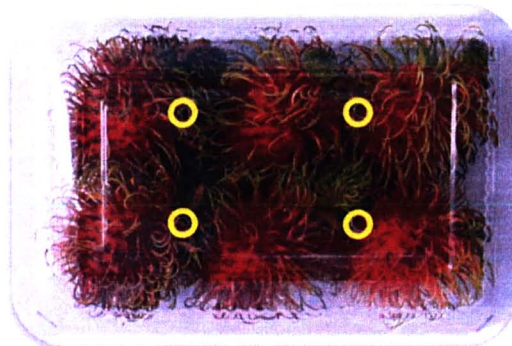
ทรีตเมนต์ที่ 4 ผลเงาะบรรจุในกล่อง Clamshell เจาะรูด้านบน 9 รู และเจาะรูด้านล่าง 4 รู

ทุกทรีตเมนต์ทำการปิดปากกล่องด้วยลวดเย็บกระดาษ จากนั้นขนส่งด้วยรถห้องเย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และนำมาเก็บในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 ± 5 เปอร์เซ็นต์ ทำการสุ่มตัวอย่างทุกๆ 3 วัน เพื่อตรวจสอบคุณภาพเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

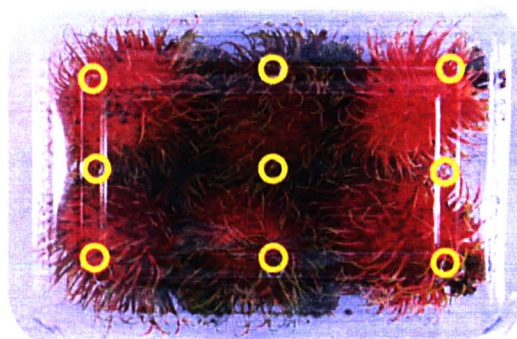




รูปที่ 3.9 ผลเงาะที่บรรจุในกล่อง Clamshell
ไม่เจาะรูด้านบน และเจาะรูด้านล่าง 4 รู



รูปที่ 3.10 ผลเงาะที่บรรจุกล่อง Clamshell
เจาะรูด้านบน 4 รู และเจาะรูด้านล่าง 4 รู



รูปที่ 3.11 ผลเงาะที่บรรจุกล่อง Clamshell
เจาะรูด้านบน 9 รู และเจาะรูด้านล่าง 4 รู

3.2.4 การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์กล่องพลาสติกแบบ Clamshell ต่อคุณภาพและอายุการวางจำหน่ายของผลเงาะพันธุ์โรงเรียน

ทำการบรรจุผลเงาะจำนวน 6 ผลลงในกล่องพลาสติกชนิด Clamshell ขนาด 11.5×18.2 เซนติเมตร ซึ่งเจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร บริเวณด้านบนและด้านล่างของกล่อง โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomize Design (CRD) แต่ละการทดลองมี 4 ซ้ำ และสามารถแบ่งเป็นทรีตเมนต์ต่างๆ ได้ดังนี้

ทรีตเมนต์ที่ 1 ผลเงาะที่บรรจุในตะกร้าพลาสติกที่คลุมด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ (ชุดควบคุม)

ทรีตเมนต์ที่ 2 ผลเงาะบรรจุในกล่อง Clamshell ไม่เจาะรูด้านบน และเจาะรูด้านล่าง 4 รู

ทรีตเมนต์ที่ 3 ผลเงาะบรรจุในกล่อง Clamshell เจาะรูด้านบน 4 รู และเจาะรูด้านล่าง 4 รู

ทรีตเมนต์ที่ 4 ผลเงาะบรรจุในกล่อง Clamshell เจาะรูด้านบน 9 รู และเจาะรูด้านล่าง 4 รู

ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 ± 5 เปอร์เซ็นต์ ทำการสุ่มตัวอย่างทุกๆ 3 วัน (3 6 9 12 และ 15 วัน) แล้วย้ายออกมาวางที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน (เพื่อจำลองการวางจำหน่าย) จากนั้นทำการตรวจสอบคุณภาพเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2

•