บทที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.1 การเตรียมข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์

ทำการเก็บเกี่ยวข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์พันธุ์แปซิฟิค 271 ในระยะแก่ทางการค้าจากแปลงทดลองของบริษัทอดัมส์ เอนเตอร์ไพรส์ (เก็บฝักอ่อนเมื่อปลายฝักมีไหมยาว 5 เซนติเมตร ขึ้นอยู่กับพันธุ์) บรรจุลงกล่องโฟมที่บรรจุถุงน้ำแข็งรองก้นถัง จากนั้นขนส่งโดยรถตู้ปรับอากาศมายังห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี วิทยาเขตบางขุนเทียน กรุงเทพฯ และปอกเปลือกด้วยมือ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปทดลอง

3.2 การวางแผนการทดลอง

3.2.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลของข้าวโพดฝักอ่อนสดอินทรีย์ด้วยสาร Antibrowning

การทดลองที่ 1.1 ผลของ Ascorbic acid และอนุพันธ์ ต่อการเกิดสีน้ำตาล

นำข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์ที่เตรียมจาก 3.1 มาแช่ในสารละลาย ascorbic acid และอนุพันธ์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) จำนวนทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยที่ 1 ซ้ำ เท่ากับ 1 ถาดโฟม โดยแบ่งทรีตเมนท์ ดังนี้

ทรีตเมนท์ที่ 1 ชุดควบคุม (จุ่มน้ำกลั่น)
ทรีตเมนท์ที่ 2 สารละลาย Ascorbic acid
ทรีตเมนท์ที่ 3 สารละลาย Ascorbic -2- phosphate
ทรีตเมนท์ที่ 4 สารละลาย Isoascorbate

การทดลองที่ 1.2 ผลของสารจำพวก Carboxylic acids ต่อการเกิดสีน้ำตาล

นำข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์ที่เตรียมจาก 3.1 มาแช่ในสารละลายในกลุ่ม carboxylic acids วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) จำนวนทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยที่ 1 ซ้ำ เท่ากับ 1 ถาดโฟม โดยแบ่งทรีตเมนท์ ดังนี้

ทรีตเมนท์ที่ 1 ชุดควบคุม (จุ่มน้ำกลั่น)
ทรีตเมนท์ที่ 2 สารละลาย Oxalacetic
ทรีตเมนท์ที่ 3 สารละลาย Citric
ทรีตเมนท์ที่ 4 สารละลาย Tartaric

โดยทำการแช่ข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์ในสารละลายต่างๆ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 2 นาที หลังจากนั้นผึ่งให้แห้ง แล้วบรรจุลงถาดโฟมและหุ้มด้วยฟิล์ม PVC เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ผล ทุก 2 วัน ดังนี้

การบันทึกผล

1. การสูญเสียน้ำหนัก

นำข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์มาตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนัก โดยชั่งน้ำหนักเริ่มต้นก่อนทำการเก็บรักษา หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักผลทุก 2 วัน นำค่าที่บันทึกได้มาคำนวณดังนี้

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

2. การเปลี่ยนแปลงสีของรังไข่

ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงสีของรังไข่ของข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์ โดยใช้เครื่อง Colorimeter Minalta® model CR-300 รายงานผลในรูปของ Hunter Scale (L*, a*, b* และ Hue angle) โดยที่

- L* เป็นค่าความสว่างของสี มีค่าตั้งแต่ 0-100
  ถ้า L* สูง หมายถึง มีความสว่างมาก L* ต่ำ หมายถึง มีสีเข้มมาก
- a* เป็นค่าการแสดงออกของสีในช่วงสีเขียวไปจนถึงสีแดง
  เมื่อค่า a* เป็นลบ จะอยู่ในช่วงสีเขียว a* เป็นบวก จะอยู่ในช่วงสีแดง
- b* เป็นค่าการแสดงออกของสีในช่วงสีน้ำเงินไปจนถึงสีเหลือง
  เมื่อค่า b* เป็นลบ จะอยู่ในช่วงสีน้ำเงิน b* เป็นบวก จะอยู่ในช่วงสีเหลือง
- Hue angle เป็นค่าที่รายงานถึงการเปลี่ยนแปลงของโทนสีระดับต่างๆ ที่ เปลี่ยนไปตามค่ามุม

3. ปริมาณน้ำตาล (total sugar)

ชั่งข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์ 1 กรัม ผสมกับแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 80 ในอัตราส่วน 1 ต่อ 9 (เจือจาง 10 เท่า) นำมา incubateไว้ใน water bath อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมากรองด้วยผ้าขาวบาง ดูดตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร เติม 5% phenol 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตรหลังจากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

4. ปริมาณฟีนอลิก (total phenolic) (Singleton และ Rossi, 1965)

โดยผสมข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์กับแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 80 ในอัตราส่วน 1 ต่อ 9 (เจือจาง 10 เท่า) แล้วปั่นให้ละเอียดนำส่วนผสมไปเข้าเครื่องปั้นเหวี่ยง โดยใช้แรงเหวี่ยง 12,000 g นาน 20 นาที นำส่วนใสทำการเจือจางสารตัวอย่างลงอีก 2500 เท่าด้วยแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 80 ดูดสารตัวอย่างที่เจือจางแล้ว 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดสอบ เติมสารละลาย Folin-Ciocateu 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex mixer นาน 30 วินาที จึงเติมสารละลาย Sodium carbonate 8 มล. ผสมให้เข้ากันอีกครั้งแล้วนำ หลอดทดลองวางไว้ใน water bath อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำ ไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยามคลื่น 760 นาโนเมตร นำ ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้มาคำ นวณกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid ความเข้มข้น 20 40 50 60 80 และ 100 มก/ล.

5. จำนวนยีสต์ รา และโคลิฟอร์ม

ชั่งข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์ 25 กรัม ผสมกับ peptone เอาไปตีด้วยเครื่อง stromatcher จากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างตั้งแต่ 10^{-2} ถึง 10^{-6} โดยดูดตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่เตรียม peptone ไว้ 9 มิลลิลิตร จากนั้นดูดมา 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) สำหรับเลี้ยงราและยีสต์ และอาหารเลี้ยงเชื้อ Essin-Y Methylene Bule (EMB) สำหรับเลี้ยงเชื้อโคลิฟอร์ม

6. ก๊าซภายในบรรจุภัณฑ์

ทำการวัดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และออกซิเจนภายในบรรจุภัณฑ์โดยใช้เครื่อง Oxybaby ทำการวัดโดยใช้หัววัดเสียบเข้าไปภายในภาชนะบรรจุและรายงานผลเป็นความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์) ของก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

7. การยอมรับของผู้บริโภค

โดยการมองด้วยสายตาและให้เป็นระดับความชอบของผู้บริโภคด้วยคะแนน

1 = ไม่ชอบมาก

2 = ไม่ชอบเล็กน้อย

3 = เฉยๆ

4 = ชอบเล็กน้อย

5 = ชอบมาก

3.2.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลของข้าวโพดฝักอ่อนสดอินทรีย์ด้วยวิธีทางกายภาพ

การทดลองที่ 2.1 การลดอุณหภูมิที่มีต่อการเกิดสีน้ำตาลในข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์

เตรียมข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design โดยจัดสิ่งทดลองแบบ factorial จำนวนทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยที่ 1 ซ้ำ เท่ากับ 1 ถาดโฟม โดยมีปัจจัยที่ทำการศึกษา ดังนี้

ปัจจัยที่ 1 ได้แก่ อุณหภูมิของน้ำที่ใช้ลดความร้อน คือ 0 และ 4 องศาเซลเซียส

ปัจจัยที่ 2 ได้แก่ อุณหภูมิเก็บรักษา คือ 4 และ 10 องศาเซลเซียส

ทำการลดอุณหภูมิข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์จนกระทั่งมีอุณหภูมิบริเวณแกนกลาง เท่ากับ 5 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำไปบรรจุลงถาดโฟม และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ผล ทุก 2 วัน

การทดลองที่ 2.2 การใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูงต่อการเกิดสีน้ำตาลในข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์

ทำการลดอุณหภูมิข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์ด้วยน้ำเย็น 0 องศาเซลเซียส จนอุณหภูมิแกนกลางเท่ากับ 5 องศาเซลเซียส ร่วมกับการบรรจุด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูง โดยแบ่งทรีตเมนท์ ดังนี้

ทรีตเมนท์ที่ 1 ชุดควบคุม (อากาศปกติ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 0.03 เปอร์เซ็นต์)

ทรีตเมนท์ที่ 2 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์

ทรีตเมนท์ที่ 3 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

ทรีตเมนท์ที่ 4 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์

โดยบรรจุข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์ในถุงพลาสติก ชนิด PE ขนาด 6x9 นิ้ว จากนั้นนำไปบรรจุก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ปิดผนึกถุง และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ผล ทุก 2 วัน เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

3.3 สถานที่ทำการทดลอง

ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยว สายวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี วิทยาเขตบางขุนเทียน