

อุปกรณ์และวิธีการ

วางแผนการทดลองเป็น 2 ตอน

ตอนที่ 1 ศึกษาการใช้วัตถุดิบทางการเกษตรเป็นอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

การวางแผนการทดลอง

การทดลองนี้ได้วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ประกอบด้วย 11 กรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำ ปัจจัยการทดลองในด้านแหล่งคาร์บอน ได้แก่ พันธุ์ข้าวทองถิ่น ข้าวแม่พญาทองคำ ข้าวสินเหล็กและแหล่งโปรตีนจากธรรมชาติ 3 ชนิด ได้แก่ ไข่ไก่อารมณ์ดี หนอนไหม และคั๊กแค้โดยใช้รายละเอียดขั้นตอนการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง อ้างอิงจากัญญา ทะพิงค์แก (2555 : 57 - 75) กรรมวิธีในการทดลอง ดังแสดงในตาราง 1

ตาราง 1 สูตรอาหารในกรรมวิธี

กรรมวิธี	ส่วนผสม					
1	ข้าวแม่พญาทองคำ 30 กรัม	มันฝรั่ง 250 กรัม	ข้าวโพด 50 กรัม	-	-	-
2	ข้าวแม่พญาทองคำ 30 กรัม	มันฝรั่ง 250 กรัม	ข้าวโพด 50 กรัม	กลูโคส 25 กรัม	ยีสต์ 5 กรัม	เปปโตน 5 กรัม
3	ข้าวแม่พญาทองคำ 30 กรัม	มันฝรั่ง 250 กรัม	ข้าวโพด 50 กรัม	ไข่ไก่ 350 กรัม	-	-
4	ข้าวแม่พญาทองคำ 30 กรัม	มันฝรั่ง 250 กรัม	ข้าวโพด 50 กรัม	หนอนไหม 100 กรัม	-	-
5	ข้าวแม่พญาทองคำ 30 กรัม	มันฝรั่ง 250 กรัม	ข้าวโพด 50 กรัม	คั๊กแค้ 100 กรัม	-	-
6	ข้าวสินเหล็ก 30 กรัม	มันฝรั่ง 250 กรัม	ข้าวโพด 50 กรัม	-	-	-

ตาราง 1 (ต่อ)

กรรมวิธี	ส่วนผสม					
7	ข้าวสาลีเหล็ก 30 กรัม	มันฝรั่ง 250 กรัม	ข้าวโพด 50 กรัม	กลูโคส 25 กรัม	ยีสต์ 5 กรัม	เปปโตน 5 กรัม
8	ข้าวสาลีเหล็ก 30 กรัม	มันฝรั่ง 250 กรัม	ข้าวโพด 50 กรัม	ไข่ไก่ 350 กรัม	-	-
9	ข้าวสาลีเหล็ก 30 กรัม	มันฝรั่ง 250 กรัม	ข้าวโพด 50 กรัม	หนอนไหม 100 กรัม	-	-
10	ข้าวสาลีเหล็ก 30 กรัม	มันฝรั่ง 250 กรัม	ข้าวโพด 50 กรัม	ดักแด้ 100 กรัม	-	-
11	ข้าวสังข์หยด 30 กรัม	มันฝรั่ง 250 กรัม	ข้าวโพด 50 กรัม	กลูโคส 25 กรัม	ยีสต์ 5 กรัม	เปปโตน 5 กรัม

ดำเนินการวิจัย ดังต่อไปนี้

1. วัสดุและอุปกรณ์

1.1 วัสดุ

1.1.1 เชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1.1.2 เมล็ดพืช ได้แก่ เมล็ดข้าวนางพญาทองคำ จากกลุ่มผู้ปลูกข้าวอินทรีย์

1.1.3 ไข่ไก่อารมณ์ดี จากกลุ่มผู้เลี้ยงไก่อินทรีย์

1.1.4 สารเคมี ได้แก่

1) กลูโคส 25 กรัม

2) เปปโตน 5 กรัม

3) ยีสต์ 5 กรัม

4) เอทานอล 95%

1.1.5 น้ำกลั่น 1.2 ลิตร

1.1.5 มันฝรั่ง 200 กรัม

1.1.6 ข้าวโพดอ่อน 50 กรัม

1.1.7 หนอนไหม 50 กรัม

1.2 อุปกรณ์

1.2.1 กระบอกตวง

1.2.2 หม้อนึ่งความดันไอ

1.2.4 เครื่องชั่งละเอียด

1.2.5 เครื่องปั่นละเอียด

1.2.6 ขวดเพาะเลี้ยงขนาด 16 ออนซ์

2. วิธีการวิจัย

2.1 ขั้นตอนการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris* (L.)

Link)

2.1.1 เตรียมมันฝรั่งโดยล้างน้ำสะอาดปอกเปลือก และหั่นความหนาประมาณ 3 มิลลิเมตร 200 กรัม

2.1.2 เตรียมข้าวโพดอ่อนปอกเปลือกสะอาดผ่าครึ่งตามยาว 50 กรัม

2.1.3 ต้มมันฝรั่ง (200 กรัม) และข้าวโพดอ่อน (50 กรัม) ในน้ำสะอาด 1.20 ลิตร เมื่อน้ำเดือด ให้จับเวลา 20 นาที

2.1.4 กรองเอาแต่น้ำ (ปรับปริมาตรของน้ำให้ได้ 1 ลิตร)

2.1.5 นำส่วนผสมอื่น ๆ (กลูโคส 25 กรัม เปปโตน 5 กรัม ยีสต์สกัด 5 กรัม ไข่ไก่ ตักแต่และหนอนไหม) มาใส่รวมกันในน้ำมันฝรั่งผสมข้าวโพดอ่อน คนจนส่วนผสมเข้ากันดี

2.1.6 เตรียมข้าวแม่พญาทองคำ ใส่ขวดแก้วผสมขนาด 250 มิลลิลิตร ประมาณ 30 กรัม และนำส่วนผสมตามข้อ 2.1.5 ใส่ลงในโหลประมาณ 40 มิลลิลิตร

2.1.7 ปิดฝาโหลหมุนให้สนิทด้วยฝาพลาสติกที่เจาะรูตรงกลางและอุดสำลีไว้

2.1.8 นำขวดโหลหนึ่งด้วยหม้อแรงดันใช้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส 30 นาที จากนั้นอัดแรงดัน 121 องศาเซลเซียส (15 ปอนด์) 15 นาที

2.2 วิธีการเขี่ยเชื้อและบ่มเชื้อเห็ดถั่งเช่า

2.2.1 ทำความสะอาดตู้เขี่ยเชื้อหรือห้องปลอดเชื้อให้เรียบร้อย

2.2.2 นำอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าที่เตรียมไว้เข้าตู้เขี่ยเชื้อหรือห้องปลอดเชื้อ

2.2.3 นำเชื้อเห็ดถั่งเช่าที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose มาใส่ขวดอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่า จากนั้นนำขวดอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าไปบ่มที่ปลอดแสงในอุณหภูมิที่ 18 - 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 - 6 สัปดาห์ เชื้อเห็ดถั่งเช่าจะเจริญเติบโตเต็มขวด

2.2.4 จากนั้นให้ปฏิบัติตามขั้นตอนการเปิดดอกเห็ดถั่งเช่า

2.3 การเปิดดอกเห็ดถั่งเช่า ทำได้โดยการเปิดดอกเห็ดถั่งเช่าทำได้โดยนำเอาขวดเพาะที่เส้นใยเห็ดขึ้นคลุมเต็มวัสดุเพาะแล้ว ไปเก็บที่ห้องเย็นที่อุณหภูมิ 15-18 องศาเซลเซียส ให้แสง 300 - 500 ลักซ์ วันละ 14 ชั่วโมง 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นให้แสง 600 - 1000 ลักซ์อย่างน้อยวันละ ไม่ต่ำกว่า 12 ชั่วโมง อุณหภูมิอยู่ในช่วง 20 - 22 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 - 90 เปอร์เซ็นต์

3. การบันทึกผลการทดลอง

บันทึกผลการทดลองในช่วงระหว่างการทดลอง ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 - สัปดาห์ที่ 7 โดยนับจำนวนดอกเห็ด วัดความยาวดอกเห็ด ชั่งน้ำหนักดอกสดเมื่อครบสัปดาห์ที่ 7 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีน โดยวิธีทดสอบของฮวง และคณะ (Huang and et al. 2009 : 957 - 961) โดยการใช้นิเทศ High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล ความยาวดอก จำนวนดอก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยวิธี Analysis of variance และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan Multiple Range's Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

ตอนที่ 2 ศึกษาการนำผลพลอยได้จากการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร

นำส่วนฐานดอกถั่งเช่าที่เป็นผลพลอยได้จากการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองมาทำเป็นผลิตภัณฑ์เยลลี่ โดยคัดแปลงจาก ชีววรรณ สุวรรณ และคณะ (2560 : 189 - 200) นำฐานดอกถั่งเช่าอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำมาบดให้เป็นผงโดยใช้เครื่องปั่นละเอียด นำฐานเห็ดถั่งเช่าผงมาสกัดด้วยน้ำ โดยใช้อัตราส่วนถั่งเช่าผง 5 กรัม ต่อน้ำสะอาด 100 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที กรองกากตะกอนด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนของน้ำถั่งเช่าที่สกัดได้ปริมาณ 69 กรัม ไปผสมกับส่วนผสมอื่น ๆ ประกอบด้วย น้ำสับปะรด 69 กรัม น้ำตาลทราย 20 กรัม น้ำมะนาว 3.5 กรัม คาราจีแนน 1.25 กรัม น้ำเปล่า 97.5 กรัม และเจลาติน โดยแปรปริมาณเจลาติน 5 ระดับ ได้แก่ 5 10 15 20 และ 25 กรัม ตามลำดับ

ขั้นตอนการทำเยลลี่ เริ่มจากนำน้ำสะอาดตั้งไฟให้ได้อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส เทส่วนผสมของน้ำตาล คาราจีแนนและเจลาติน ลงไปที่ละน้อยพร้อมทั้งคนจนส่วนผสมละลายเข้ากันดี นำน้ำสับปะรดและน้ำถั่งเช่าที่เตรียมไว้ เทลงผสมและคนให้เข้ากัน ต้มต่อที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ปิดไฟและเติมน้ำมะนาว คนให้เข้ากัน นำส่วนผสมที่ได้เทใส่ภาชนะ พักให้เย็นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที และนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้เย็นเพื่อประเมินลักษณะทางกายภาพของเยลลี่

นำข้อมูลจากการประเมินมาเลือกใช้ปริมาณเจลาตินที่เหมาะสมในการนำไปพัฒนาเป็นเฮลตี้พรีมทานในบรรจุภัณฑ์แบบซอง และวิเคราะห์คุณภาพของเฮลตี้ที่ได้โดยวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (Colorimeter) รายงานผลเป็นค่า $L^* a^* b^*$ และประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 20 คน คะแนน 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

สถานที่ทดลองและระยะเวลาทำการวิจัย

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ระยะเวลาทำการวิจัย เดือนมกราคม - กรกฎาคม พ.ศ. 2564