

บทที่ ๓

อุปกรณ์และวิธีการ

๑. พืชสมุนไพรและพื้นที่ทดลอง

- ๑.๑. ข่า *Alpinia galanga* (Linn) Swartz (รายละเอียดในภาคผนวก)
- ๑.๒. มะม่วงพันธุ์น้ำตกอกไม้

๒. สารเคมี

- ๒.๑. acetone
- ๒.๒. agar
- ๒.๓. dichloromethane
- ๒.๔. distilled water
- ๒.๕. ethanol
- ๒.๖. ethyl acetate
- ๒.๗. hexane
- ๒.๘. iodine
- ๒.๙. lactophenol cotton blue
- ๒.๑๐. methanol
- ๒.๑๑. phenolphthalein
- ๒.๑๒. silica gel 60 G
- ๒.๑๓. sodium hydroxide
- ๒.๑๔. sodium sulfate anhydrous
- ๒.๑๕. tween 20
- ๒.๑๖. white oil

๓. เชื้อรากที่ใช้ทดลอง

- ๓.๑. *Colletotrichum gloeosporioides*
- ๓.๒. *Cladosporium cladosporioides*

4. อาหารเลี้ยงเชื้อรา (ภาชนะ)

- 4.1. Potato dextrose agar (PDA)
- 4.2. Potato dextrose broth (PDB)

5. อุปกรณ์สำหรับทำโตรกราฟี

- 5.1. แผ่นกระ JACK (TLC, PTLC plate) ขนาด 5x20 และ 20x20 เซนติเมตร
- 5.2. column chromatography ขนาดเด็นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร ยาว 42 เซนติเมตร
- 5.3. chromatography tank และ iodine tank

6. อุปกรณ์อื่น ๆ

- 6.1. เครื่องบดสมุนไพร (blender)
- 6.2. ตู้อบอุณหภูมิสูง (hot air oven)
- 6.3. ตู้เลี้ยงเชื้อ (incubator)
- 6.4. หม้อนึ่งอัดไอน้ำ (autoclave)
- 6.5. เครื่องระเหยแบบหมุน (rotary evaporator)
- 6.6. เครื่องวัดความเป็นกรด-ค้าง (pH meter)
- 6.7. เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (firmness tester)
- 6.8. เครื่องวัดของแข็งที่ละลายน้ำได้ (digital refractometer)
- 6.9. เครื่องวัดสี (chroma meter, color reader)
- 6.10. เครื่อง GC/MS
- 6.11. เครื่อง IR
- 6.12. เครื่อง NMR
- 6.13. เครื่องพ่นสารเคมี
- 6.14. เครื่องซั่งไฟฟ้า
- 6.15. ขวดแก้วขนาดต่าง ๆ
- 6.16. เวอร์เนียร์คัลิปอร์
- 6.17. กระดาษกรอง Whatman No. 93

วิธีการทดลอง

7.1 การตรวจเอกสารลักษณ์ของเชื้อรา

1) การแยกและศึกษาลักษณะของเชื้อราสาเหตุโรคพืช

ทำการแยกเชื้อรา *C. gloeosporioides* (Penz) Sacc โดยวิธี Tissue transplanting method (Dhingra and Sinclair, 1995) นำผลของมะม่วงที่เกิดโรคแอนแทรคโนส มาตัดเนื้อเยื่อบริเวณของข่องแพด นำเนื้อเยื่อที่ได้มาจ่าเรือด้วย clorox ความเข้มข้น 10 เบอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ซึ่งให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำไปวางบนอาหาร PDA เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 - 28 องศาเซลเซียส เมื่อเชื้อราเริ่มออกมานาจากเนื้อเยื่อ จึงตัดปaley เส้นไปใบเลี้ยงบนอาหาร PDA อีกครั้ง เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ขึ้น เมื่อเชื้อราที่เลี้ยงไว้นานอาหาร PDA มีอายุ 2 สัปดาห์ จึงทำการศึกษาลักษณะของโคลโนนี ลักษณะของสปอร์ ขนาดของสปอร์ และลักษณะของเส้นใยโดยใช้สปอร์และเส้นใยของเชื้อรามาตรวจคุณลักษณะ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และวัดขนาดความกว้าง ความยาวของสปอร์ ที่กำลังขยาย 400 เท่า (X400) จากนั้นคัดเลือกเส้นใยบริสุทธิ์ไปเลี้ยงไว้ในอาหารอียং PDA เพื่อรอนำไปใช้ต่อไป

7.2 การทดสอบการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากข้าว

1) การสกัดสารจากข้าว

นำเหง้าข้าวสลดถังให้สะอาด หันให้เป็นชิ้นเล็กๆ ตากให้แห้ง บดละเอียดแล้วแช่ในตัวทำละลายอินทรีย์ คือ Dichloromethane ทึ้งไวนาน 2 - 3 วัน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง และลดปริมาณต่อโดยใช้เครื่องระเหยแบบหมุน (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ภาคที่กรองออก นำไปเผาต่ออีก 2 - 3 ครั้ง คำนวนหาเบอร์เซ็นต์ของสารสกัดหมาย (crude extract) ที่ได้เก็บสารไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อรอไว้ใช้ต่อไป

2) การทดสอบสารออกฤทธิ์โดยวิธี TLC-bioassay (Adikaram and Banda, 1998)

2.1 นำสารสกัดหมาย (crude extract) มาจำแนกสารออกฤทธิ์ โดยวิธี TLC โดยใช้สารตัวทำละลายเคลื่อนที่ (developing solvent) เป็น hexane ผสมกับ ethyl acetate และ methanol ตรวจสอบหาสารออกฤทธิ์ โดยนำแผ่น TLC ที่ได้มาพ่นด้วย spore suspension ของเชื้อรา *Cladosporium cladosporioides* ความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร บันทึกค่า Rf ของแถบที่ต้านเชื้อรา จากรวงใส (clear zone) ที่เห็น

3) การทดสอบความเป็นพิษต่อการเจริญของเต้านมัยและการงอกของสปอร์

3.1 ทำการสกัดสารหยานจากข้าวด้วย column chromatography โดยใช้สารตัวทำละลายเคลื่อนที่ (developing solvent) จากการทำ TLC ในข้อ 2.1 เป็นตัวช่วย (eluting solvent) ทำการเก็บสารละลายที่ไหลออกมาระยะ 50 มิลลิลิตร จัดกลุ่มสารที่ได้โดยการตรวจสอบค่า R_f บนแผ่น TLC ซึ่งอบด้วยไออกไซด์ไอโอดีน ลดปริมาณสารที่รวมรวมได้ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

3.2 เตรียมสารสกัดที่ได้ให้มีความเข้มข้น 100, 500, 1,000 และ 5,000 ส่วนต่อส่วน ส่วนสารสกัดหมายเหตุความเข้มข้น 10,000 ส่วนต่อส่วนด้วย พสมในอาหาร PDA ทึ้งให้เย็น แล้วใช้ cork borer ขนาดเด็นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะเต้านมัยของเชื้อรากบริเวณรอบๆ โคลนี เพื่อให้ได้เต้านมัยใหม่ที่กำลังเจริญ จากนั้นให้เข็นเขี้ยที่ผ่านการลอกไฟฟ้าเชือแล้ว ทำการบ่ายชิ้นส่วนที่มีปลายเต้านมัยเชื้อรากไปวางบริเวณกลางงานอาหาร โดยคร่ำด้านที่มีเต้านมัยให้สัมผัสกับอาหาร เตียงไว้ที่อุณหภูมิ 25 - 28 องศาเซลเซียส เมื่อเต้านมัยเจริญเติบโตเปรียบเทียบแล้ว จึงทำการวัดขนาดของโคลนี คำนวณหาร้อยละของการบัญชีความสูตรของ ธรรมศักดิ์ (2528)

$$\text{ร้อยละการบัญชี} = (A-B)/A \times 100$$

A = ค่าเฉลี่ยเต้านมัยศูนย์กลางของโคลนีเชื้อรากบนงานอาหารเดียงเชือเปรียบเทียบ(control)

B = ค่าเฉลี่ยเต้านมัยศูนย์กลางของโคลนีเชื้อรากบนงานอาหารเดียงเชือที่ผ่านสารสกัดจากนั้นนำค่าร้อยละการบัญชีที่ได้คำนวณหาค่า ED_{50}

3.3 เตรียมสารสกัดให้มีความเข้มข้น 100, 500, 1,000 และ 5,000 ส่วนต่อส่วน พสมในอาหาร PDA เทลงบน glass slide ที่ผ่านการฆ่าเชือแล้ว ทึ้งให้เย็น จากนั้นหยดสารละลายแขนงละลายสปอร์ ซึ่งเตรียมโดยเดียงเชือบริสุทธิ์ของ *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 – 14 วัน จนมีสปอร์เกิดขึ้น จากนั้นใช้ cork borer ที่ผ่านการลอกไฟฟ้าเชือแล้วบ่ายชิ้นส่วน 1 – 5 ชิ้น ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นน้ำมันเชื้อแล้วปริมาณ 5 มิลลิลิตร เผยฯแล้วนำสารละลายแขนงละลายสปอร์ 0.1 มิลลิลิตรลงบนอาหารบน glass slide นำ glass slide บ่ำในกล่องพลาสติกที่มีความชื้นและปลดตัว เชือ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จึงหยด lactophenol cotton blue เพื่อหยุดการเจริญเติบโตของสปอร์ และทำให้สปอร์ติดถาวรน้ำเงินเห็นได้ชัดเจน ทำการสุ่มนับสปอร์ในแต่ละการทดลองจำนวน 200 สปอร์ โดยสปอร์ที่ถือว่าองค์นั้นจะมี germ tube ที่ยาวกว่าความกว้างของสปอร์ คำนวณหาร้อยละของการบัญชีความสูตรของ ธรรมศักดิ์ (2528)

$$\text{ร้อยละการยับยั้ง} = (A-B)/A \times 100$$

A = ค่าเฉลี่ยเดือนผ่าศูนย์กลางของโคลoni เชื้อรานงานอาหารเดี่ยงเชื้อเปรียบเทียบ(control)

B = ค่าเฉลี่ยเดือนผ่าศูนย์กลางของโคลoni เชื้อรานงานอาหารเดี่ยงเชื้อที่ผสมสารสกัด

4) การทดสอบความเสถียร (persistence) ของสารสกัดจากขา (ฯรศกค, 2539)

4.1 ใช้ความเข้มข้นของสารสกัด ในข้อ 2.3 ที่ให้ประสีทชีวภาพในการยับยั้งเชื้อรดีที่สุด เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่ที่มีแสงสว่างเป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน ตามลำดับ แล้วจึงนำมาผสมในอาหารเดี่ยงเชื้อ (PDA) ทำการขยี้เชื้อรานไปเดี่ยงบนอาหาร เดี่ยงไว้จนงานเปรียบเทียบเชื้อรานเจริญเต็มงาน จึงทำการวัดขนาดเดือนผ่าศูนย์กลางของโคลoni (colony) ของเชื้อรา คำนวณหาเบอร์เซ็นต์ในการยับยั้งและนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกัน

4.2 ใช้สารสกัดจากข้อ 4.1 ซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มีแสงสว่างเป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน ตามลำดับ พ่นบนใบมะม่วงก่อนทำการปลูกเชื้อรา 30 นาที แล้วตรวจสอบคุณภาพเดือนในหลังจากทำการปลูกเชื้อราแล้ว 7 วัน บันทึกขนาดของผลที่เกิดขึ้น

7.3 การตรวจสอบผลของสารสกัดจากขาต่อสรีรวิทยาของมะม่วงพันธุ์นำดอกไม้

1) ระยะก่อนการเก็บเกี่ยว (สภาพในแปลงปลูก)

ทำการสูบเลือกต้นมะม่วงพันธุ์ในแปลงปลูกในไร่ประพันธ์ อําเภอสันทราย ทั้งหมด 35 ต้น โดยให้ทรงพุ่มนิ่มน่าคิเด็นผ่าศูนย์กลางใกล้เคียงกับประมาณ 3 เมตร จัดเป็น 7 กลุ่ม ทดลอง การทดลองละ 5 ต้น จากนั้นพ่นสารสกัดจากขา 3 ระดับความเข้มข้นคือ 100, 500 และ 1,000 ส่วนต่อล้าน ตามลำดับ ซึ่งอ้างอิงจากค่า ED₅₀ ดังนี้

1. ไม่พ่นสารใด ๆ (control)
2. พ่นสารสกัดจากข้าว(L14) ความเข้มข้น 100 ส่วนต่อล้าน (L14-100)
3. พ่นสารสกัดจากข้าว(L14) ความเข้มข้น 500 ส่วนต่อล้าน (L14-500)
4. พ่นสารสกัดจากข้าว(L14) ความเข้มข้น 1,000 ส่วนต่อล้าน (L14-1000)
5. พ่นสารป้องกันจำกัดเชื้อรา benomyl (Benlate-OD) อัตราส่วน 10 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร (benomyl)
6. พ่นสารปีโตรเลียมอยล์ (white oil) อัตราส่วน 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (CHECK)
7. พ่นสารสกัดหมายจากข้าวความเข้มข้น 1,000 ส่วนต่อล้าน (CRUDE)

ทุกการทดลองจะผสมสารขึ้นไป 5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร แล้วพ่นสารครึ่งแรกในระยะแรกช่วง ครึ่งที่สองพ่นก่อนดอกบาน ครึ่งที่สามพ่นเมื่อติดผลอ่อน และครึ่งสุดท้ายพ่น เมื่อ 1 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยว และหลังจากทำการพ่นสารแล้ว แต่ละระยะจะทำการเก็บข้อมูล ดังนี้

สัดส่วนของเพศดอก

ทำการสุ่มช่อดอกในแต่ละการทดลองมา 30 ช่อ ในระยะที่ดอกบานเต็มที่แล้วและนับจำนวนดอกในช่อโดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ดอกเพศผู้ และดอกสมบูรณ์เพศ ดังแสดงในภาพที่ในภาคผนวก คำนวณของสัดส่วนของเพศดอก

การติดและการร่วงของผล

ทำการนับจำนวนผลที่มีขนาดเท่าหัวไม้เข็ค ในช่อที่สุ่มน้ำบอนด์ข้างต้น และทำการนับจำนวนผลในระยะที่ผลมีขนาด 1.5 เซนติเมตรและ 3.0 เซนติเมตร คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การติดและการร่วงของผล

วัดการเจริญเติบโตของผล

ทำการสุ่มวัดขนาดของผลในแต่ละการทดลองจำนวน 25 ผล โดยเริ่มวัดเมื่อผลอายุได้ 7 สัปดาห์ โดยทำการวัดความยาว ความกว้าง และความหนาของผล โดยใช้วอร์เนียการเปอร์

2 ระยะหลังการเก็บเกี่ยว (Postharvest)

นำผลมะม่วงที่แก่เต็มที่จากต้นที่ทดลองในข้อ 1 ซึ่งได้รับการพ่นสารสกัดจากข้าว 4 ครั้ง เก็บผลมะม่วงแยกกันในแต่ละการทดลอง ตัดก้านยาว 1 - 2 เซนติเมตร ทำความสะอาดโดยการล้างน้ำ ผึ่งลมให้แห้ง แล้วแบ่งผลในแต่ละการทดลองออกเป็น 2 ชุด คือ การทดลองที่ 1 ใช้ผลมะม่วงที่ผ่านการพ่นสารสกัดระยะก่อนการเก็บเกี่ยวไปชุมสารสกัดจากข้าว โดยใช้ความเย็นเข้มข้นเท่ากับที่ใช้ในข้อ 1 โดยแข่นมะม่วงไวนาน 5 นาที จึงนำเข้ามาผึ่งลมให้แห้ง ส่วนการทดลองที่ 2 ใช้ผลมะม่วงที่ผ่านการพ่นสารสกัดระยะก่อนการเก็บเกี่ยว ไม่ชุมสารใดๆ และการทดลองที่ 3 ใช้ผลมะม่วงที่ซื้อจากแปลงของเกษตรกร และนำผลมาแช่สารสกัดจากข้าวดังขุคการทดลองที่ 1

จากนั้นเก็บผลมะม่วงแต่ละชิ้นการทดลองไว้ในกล่องกระดาษลูกฟูก วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงทำการตรวจสอบและติดตามการเปลี่ยนแปลงด้านคุณภาพทุกวัน ดังนี้

1. การตรวจสอบคุณภาพด้านกายภาพ

1.1 การวัดค่าเบอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วง โดยการซึ่งน้ำหนักผลมะม่วงตัวอย่างแต่ละผลก่อนการเก็บรักษา เปรียบเทียบกับน้ำหนักผลที่ซึ่งได้ในแต่ละระยะของการเก็บรักษา คำนวนเป็นเบอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักได้โดยใช้สูตร

$$Z(\%) = (W - P) / W \times 100$$

Z = เบอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของผล

W = น้ำหนักเริ่มต้นของผลผลิต

P = น้ำหนักหลังการเก็บรักษาของผลผลิต

1.2 การวัดการเปลี่ยนแปลงสีผิวและสีเนื้อ โดยใช้เครื่อง color reader model CR-10 ของบริษัท Minolta ทำการวัดสีผิวบริเวณกึ่งกลางของแก้มผลทั้งสองด้าน และใช้มีกปอกเปลือกบริเวณแก้มผลทั้งสองด้านออกแล้ววัดค่าสีเนื้อ ค่าที่วัดได้มีการแสดงผลอยู่ในรูปของค่า L, a และ b

ค่า L แสดงความสว่างเมื่อมีค่าใกล้ 100 และแสดงความมืดเมื่อมีค่าใกล้ 0

ค่า a ที่เป็นบวกแสดงว่าผลิตผลมีสีออกแดง ค่า a ที่เป็นลบแสดงว่าผลิตผลมีสีออกเขียว

ค่า b ที่เป็นบวกแสดงว่าผลิตผลมีสีออกเหลือง และค่า b ที่เป็นลบแสดงว่าผลิตผลมีสีออกน้ำเงิน

1.3 การวัดค่าความแน่นเนื้อ (flesh firmness) Digital Force Gauges models FGV-0.5A to FGV-100 ของ SHIMPO โดยใช้มีดปอกเปลือกบริเวณแก้มผลทั้งสองข้าง ให้มีความหนาประมาณ 1.2 - 1.5 มิลลิเมตร และวัดความแน่นเนื้อ โดยกดหัวเจาะให้ตึงจากกับเนื้อผลจนทะลุลงไนในเนื้อผล หัวเจาะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11.0 มิลลิเมตร โดยมีหน่วยเป็น กิโลกรัม นำค่าที่ได้มาคำนวณให้มีหน่วยเป็นกิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร

1.4 ประเมินระดับความรุนแรงของโรค พิจารณาจากถ่ายผลที่ปราศจากโรคบนผิวผล แล้วทำการให้คะแนนตามเกณฑ์ 0-3 คะแนน ดังนี้

0 คะแนน = สภาพผลสมบูรณ์ยังไม่มีร่องรอยของโรค

1 คะแนน = มีจุดคำเป็นพื้นที่รวมกันน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผิว
(ไม่มีผลต่อการซื้อขาย)

2 คะแนน = มีจุดคำเป็นพื้นที่รวมกันระหว่าง 5-15 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผิว
(มีผลต่อการซื้อขาย)

3 คะแนน = มีจุดคำเป็นพื้นที่รวมกันมากกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผิว
(ไม่สามารถซื้อขายได้)

ทั้งนี้จะรวมถึงความเสียหายจากโรคอื่นๆ ด้วย จำนวนนำค่าที่ได้จากการประเมินความรุนแรงของโรคบนผิวผลมาแปลงเป็นความเสียหายของผลผลิต (crop loss) ตามสูตรของ สีบศักดิ์ (2540) ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ของนิการทำลาย} = \frac{\text{ผลรวมของการเป็นโรคแต่ระดับ}}{\text{จำนวนของผลผลิตที่ถูก}} \times \frac{100}{\text{ระดับสูงสุดของการเป็นโรค}}$$

2. การตรวจสอบคุณภาพด้านเคมี

สูตรตัวอย่างเนื้อมะม่วงสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ผลทางเคมี โดยใช้มีคปอกอาเนื้อมะม่วง ในแต่ละวิธีการ ให้ได้เนื้อมะม่วงประมาณ 300 กรัม นำมาปั่นด้วยเครื่องแยกน้ำแยกกากระเพื่อน้ำคั้น ไปวิเคราะห์ทางเคมี แล้วบันทึกคุณภาพทางเคมี ดังนี้

2.1 วัดปริมาณของเยื่อที่คล้ายน้ำได้ โดยใช้ digital refractometer ของบริษัท ATAGO Co., LTD. ก่อนการวัดต้องปรับค่าให้เป็นศูนย์ก่อน โดยการใช้น้ำกลั่น แล้วจึงนำน้ำคั้น มะม่วงมาหยดลงในหลุมของเครื่องให้เต็มแล้วอ่านค่า ค่าที่วัดได้นิหน่วยเป็นองศาบริกซ์ ($^{\circ}\text{Brix}$)

2.2 วัดปริมาณกรดรวม โดยวิธีการไทด์เรท โดยใช้น้ำคั้นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร ในขวดรูปทรงพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วไทด์เรทกับสารละลายด่างมาตรฐาน NaOH เข้มข้น 0.1 นอร์มัล ใช้ฟันอฟทาลีนความเข้มข้น 1 แปรร์เซ็นต์ เป็นอินดิเกเตอร์ นำค่า ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ไป มาคำนวณหาปริมาณกรดรวม จากสูตร(ธีราพร, 2536 และ คุณวุฒิ, 2540)

$$\text{แปรร์เซ็นต์กรด} = \frac{\text{ความเข้มข้นของสารละลายด่างมาตรฐาน} \times \text{ปริมาตรของค่างที่ใช้ไป}}{\text{ปริมาตรน้ำคั้นที่ใช้ในการไทด์เรท}} \times 100$$

2.3 วัดค่า pH ของน้ำคั้น โดยใช้เครื่องวัด pH ของ SUNTEX model SP-7

3. การประเมินคุณภาพด้วยประสานกลั้นผ้า

ประเมินคุณภาพกล้มมะม่วง ด้วยการซิมทุกครั้งที่มีการวิเคราะห์ผลทางเคมี โดยเลือกอาเนื้อมะม่วงบริเวณส่วนกลางของแก้มผล มาตัดแบ่งในแนววางกับความยาวของผลเป็นชิ้นๆ การประเมินทำโดยใช้ผู้ชิมจำนวน 5 คน ประเมินโดยถือเกณฑ์การให้คะแนน สีเนื้อ กลิ่น รสชาติและการยอมรับ โดยใช้หลักการให้คะแนน ดังนี้

การประเมินคุณภาพการซิม (มะม่วงพันธุ์น้ำตกօกไม้)

ตีนี้ (ธีราพร, 2536)

- | | |
|-------------------|-------------------|
| 1 = สีขาว | 5 = สีเหลืองอมส้ม |
| 2 = สีขาวอมเหลือง | 6 = สีส้ม |
| 3 = สีเหลืองอ่อน | 7 = สีส้มแดง |
| 4 = สีเหลืองเข้ม | |

กลิ่น (แพรงค์ศักดิ์, 2537)

- | | |
|---------------------------|----------------------|
| 0 = กลิ่นผิดปกติ(หมัก) | 3 = กลิ่นสุกเล็กน้อย |
| 1 = กลิ่นดินของน้ำตกօกไม้ | 4 = กลิ่นสุกมาก |
| 2 = ไม่มีกลิ่นคิบ | |

รสชาติ (แพรงค์ศักดิ์, 2537)

- | | |
|-------------------|-----------------|
| 0 = รสผิดปกติ | 4 = หวานน้อย |
| 1 = จืด | 5 = หวานปานกลาง |
| 2 = เปรี้ยว | 6 = หวานที่สุด |
| 3 = หวานอมเปรี้ยว | |

เนื้อสัมผัส (แบบมะม่วงสุก)

- | | |
|------------------|------------------|
| 1 = นิ่มแตะ | 4 = ค่อนข้างแข็ง |
| 2 = ค่อนข้างนิ่ม | 5 = แข็ง |
| 3 = นิ่มปานกลาง | |

การยอมรับ (ธีราพร, 2536)

- | | |
|---------------------|------------------|
| 1 = ไม่ชอบมากที่สุด | 6 = ชอบเล็กน้อย |
| 2 = ไม่ชอบมาก | 7 = ชอบปานกลาง |
| 3 = ไม่ชอบปานกลาง | 8 = ชอบมาก |
| 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย | 9 = ชอบมากที่สุด |
| 5 = เฉย ๆ | |