

### บทที่ 3

#### วิธีการทดลอง

##### การเตรียมพืชทดลอง

เก็บเกี่ยวผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกที่มีอายุ 112 วัน หลังดอกบานจากไร่ประพัฒน์ และบุตร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ คัดเลือกผลที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ไม่มีบาดแผล ไม่มีโรคและแมลงทำลาย ตัดก้านผลเพื่อให้ยางไหลและล้างผลด้วยน้ำประปา แล้วผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) ก่อนนำไปใช้

##### สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

##### วิธีการทดลอง

การทดลองแบ่งเป็น 2 ตอน ดังนี้

**ตอนที่ 1** ศึกษาหาชนิดและความเข้มข้นของสารเคลือบผิวที่เหมาะสมในการเคลือบผิวมะม่วงพันธุ์มหาชนก โดยแบ่งเป็น 3 การทดลองย่อย คือ

การทดลองที่ 1.1 ศึกษาหาอัตราส่วนอิมัลชันของน้ำมันชนิดต่าง ๆ ที่เหมาะสมในการเคลือบผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) แบ่งออกเป็น 9 ชุดการทดลอง ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่เคลือบผิวผล) (control)

ชุดการทดลองที่ 2 เคลือบผิวผลด้วยอิมัลชันของน้ำมันปาล์มความเข้มข้น 10 % (palm oil 10 %)

ชุดการทดลองที่ 3 เคลือบผิวผลด้วยอิมัลชันของน้ำมันปาล์มความเข้มข้น 20 % (palm oil 20 %)

ชุดการทดลองที่ 4 เคลือบผิวผลด้วยอิมัลชันของน้ำมันถั่วเหลืองความเข้มข้น 10 %

(soybean oil 10 %)

ชุดการทดลองที่ 5 เคลือบผิวผลด้วยอิมัลชันของน้ำมันถั่วเหลืองความเข้มข้น 20%

(soybean oil 20 %)

ชุดการทดลองที่ 6 เคลือบผิวผลด้วยอิมัลชันของน้ำมันเมล็ดทานตะวันความเข้มข้น 10 %

(sunflower seed oil 10 %)

ชุดการทดลองที่ 7 เคลือบผิวผลด้วยอิมัลชันของน้ำมันเมล็ดทานตะวันความเข้มข้น 20 %

(sunflower seed oil 20 %)

ชุดการทดลองที่ 8 เคลือบผิวผลด้วยอิมัลชันของน้ำมันรำข้าวความเข้มข้น 10 % (rice bran oil 10 %)

ชุดการทดลองที่ 9 เคลือบผิวผลด้วยอิมัลชันของน้ำมันรำข้าวความเข้มข้น 20 % (rice bran oil 20 %)

การเตรียมอิมัลชันของน้ำมันชนิดต่าง ๆ สำหรับเคลือบผิวผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกทำโดยตวงน้ำมันชนิดต่าง ๆ ปริมาตร 10 และ 20 มล. เติม triethanolamine เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ 10 มล. แล้วเติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรให้ได้ 100 มล. ปั่นส่วนผสมทั้ง 3 ชนิด ด้วยเครื่องปั่นจนได้อิมัลชันที่มีสีขาวขุ่นรวมเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้อิมัลชันของน้ำมันชนิดต่าง ๆ ความเข้มข้น 10 และ 20 % ตามลำดับ

การทดลองที่ 1.2 ศึกษาหาความเข้มข้นของเซลแลคที่เหมาะสมในการเคลือบผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่เคลือบผิวผล) (control)

ชุดการทดลองที่ 2 เคลือบผิวผลด้วยเซลแลคความเข้มข้น 2 % (shellac 2 %)

ชุดการทดลองที่ 3 เคลือบผิวผลด้วยเซลแลคความเข้มข้น 4 % (shellac 4 %)

ชุดการทดลองที่ 4 เคลือบผิวผลด้วยเซลแลคความเข้มข้น 6 % (shellac 6 %)

การเตรียมเซลแลคสำหรับเคลือบผิวผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก ทำโดยชั่งเซลแลคชนิดเกรด 4, 8 และ 12 กรัม เติม triethanolamine 10 มล. เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 200 มล. ให้ความร้อนขณะละลายสารโดยใช้ hot plate และคนจนกว่าสารละลาย จะได้สารละลายเซลแลคความเข้มข้น 2, 4 และ 6 % ปริมาตร 200 มล. ตามลำดับ

การทดลองที่ 1.3 ศึกษาหาความเข้มข้นของไคโตซานที่เหมาะสมในการเคลือบผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่เคลือบผิวผล) (control)

ชุดการทดลองที่ 2 เคลือบผิวผลด้วยไคโตซานความเข้มข้น 0.5 % (chitosan 0.5 %)

ชุดการทดลองที่ 3 เคลือบผิวผลด้วยไคโตซานความเข้มข้น 1.0 % (chitosan 1.0 %)

ชุดการทดลองที่ 4 เคลือบผิวผลด้วยไคโตซานความเข้มข้น 1.5 % (chitosan 1.5 %)

การเตรียม สำหรับเคลือบผิวผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก ทำโดยชั่งไคโตซานที่สกัดจากเปลือกกุ้งชนิดที่มีมวลโมเลกุลสูง (high molecular weight  $\approx 100000$ ) 1, 2 และ 3 กรัม เติมน้ำละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.5 % แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 200 มล. จะได้สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.5, 1 และ 1.5 % ปริมาตร 200 มล. ตามลำดับ

นำผลมะม่วงที่ผ่านวิธีการต่าง ๆ ของแต่ละการทดลองย่อย ไว้ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 1^\circ \text{C}$  โดยแต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ นำผลมะม่วงออกมาตรวจวัดผลในเรื่องต่าง ๆ ดังนี้

## 1. การเปลี่ยนแปลงทางด้านกายภาพ

### 1.1 การสูญเสียน้ำหนัก

ชั่งน้ำหนักเริ่มต้นหลังจากเคลือบผิวผล จากนั้นชั่งน้ำหนักทุกวันนำค่าที่ได้มาคำนวณหาการสูญเสียน้ำหนัก

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนัก ณ วันที่ทำการตรวจผล}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100$$

### 1.2 การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกและสีเนื้อ

1.2.1 วัดการเปลี่ยนแปลงสีเปลือกและสีเนื้อบริเวณจุดกึ่งกลางผลด้วยเครื่อง chroma meter (Minolta CR200) ค่าที่ได้จากการวัดจะแสดงออกมาคือ  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$

โดยค่า  $L^*$  = The lightness factor (value)

$a^*$ ,  $b^*$  = The chromaticity coordinats

เมื่อ  $L^*$  เป็นค่าความสว่าง ถ้าค่า  $L^*$  มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึงวัตถุมีสีทึบ ถ้าค่า  $L^*$  มีค่าเข้าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมีสีสว่าง

$a^*$  เป็นค่าที่แสดงถึงสีแดงและสีเขียว ถ้าค่า  $a^*$  เป็นบวก (+) วัตถุมีสีออกแดง แต่ถ้าค่า  $a^*$  เป็นลบ (-) วัตถุจะมีสีเขียว โดยมีค่าตั้งแต่ -60 ถึง +60

$b^*$  เป็นค่าที่แสดงถึงสีเหลืองและสีน้ำเงิน ถ้าค่า  $b^*$  เป็นบวก (+) วัตถุมีสีออกเหลือง แต่ถ้าค่า  $b^*$  เป็นลบ (-) วัตถุจะมีสีน้ำเงิน โดยมีค่าตั้งแต่ -60 ถึง +60

1.2.2 ประเมินการเกิดสีเหลืองของเปลือกผล ให้คะแนนการเกิดสีเหลืองของผล โดยพิจารณาจากพื้นที่สีเหลืองที่เกิดขึ้น เปรียบเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ของพื้นที่เปลือกทั้งหมด ดังนี้

คะแนน 0 = 0 % (ไม่เกิดสีเหลืองที่เกิดผล)

คะแนน 1 = 1 - 25 %

คะแนน 2 = 26 - 50 %

คะแนน 3 = 51 - 75 %

คะแนน 4 = 76 - 100 %

### 1.3 การเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อ

วัดความแน่นเนื้อโดยเน็อนเปลือกบริเวณกึ่งกลางผลความหนาประมาณ 2 มม. แล้วใช้เครื่อง Effigi pressure tester ที่มีหัววัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 ซม. สำหรับผลดิบ และหัววัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 ซม. สำหรับผลสุกกดลงบนเนื้อผลลึก 0.5 ซม. นำค่าที่ได้มาคำนวณให้อยู่ในหน่วยของ กก./ซม.<sup>2</sup>

## 2. การเปลี่ยนแปลงทางเคมี

### 2.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids; TSS)

วัดปริมาณ TSS โดยใช้เครื่อง hand refractometer (ATAGO model ATC 1) ก่อนทำการวัดใช้น้ำกลั่นปรับสเกลให้เป็น 0 จากนั้นหยดน้ำคั้นมะม่วงลงบนเครื่อง hand refractometer อ่านค่าที่ได้มีหน่วยเป็น % Brix

### 2.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity; TA)

ใช้น้ำคั้นจากมะม่วงปริมาตร 5 มิลลิลิตร ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน NaOH (0.1 N) โดยใช้สารละลาย phenolphthalein 1 % เป็นอินดิเคเตอร์ เมื่อสารละลายมีสีชมพูเกิดขึ้นถือว่าถึงจุดยุติ (end point) นำค่าสารละลายมาตรฐาน NaOH ที่ได้มาคำนวณปริมาณกรด โดยเทียบกับกรดซิตริก ซึ่งเป็นกรดที่พบมากในมะม่วงดังนี้

$$\% \text{ TA} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ NaOH (0.1 N)} \times \text{ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ (มล.)} \times 0.064^* \times 100}{\text{ปริมาตรน้ำคั้นของมะม่วง (มล.)}}$$

ปริมาตรน้ำคั้นของมะม่วง (มล.)

\* milliequivalent of citric acid (anhydrous) = 0.064

### 3. การประเมินคุณภาพ

3.1 จำนวนวันที่ใช้ในการพัฒนาสีเปลือกจากสีเขียวเป็นสีเหลืองจนได้ระดับคะแนน 4 คะแนน (เปลือกมีสีเหลือง 76-100 %)

นับจำนวนวันที่ผลมะม่วงเปลี่ยนแปลงสีเปลือกจากสีเขียวเป็นสีเหลืองทั่วผล

จำนวนวันที่ใช้ในการพัฒนา =  $\frac{\text{ผลรวมของ (วันที่ผลมีคะแนนสีเปลือก 4 คะแนน} \times \text{จำนวนผล)}}{\text{จำนวนผลทั้งหมด}}$

3.2 การประเมินคุณภาพในการบริโภคโดยประสาทสัมผัส (organoleptic test)

การประเมินใช้ผู้ชิมจำนวน 5 คน ที่ผ่านการฝึกประเมินคุณภาพแล้ว โดยมีหลักการให้คะแนนการยอมรับที่เรียกว่า 9 point hedonic scale (Peacock *et al.*, 1986) โดยพิจารณาทั้งทางด้านสีเนื้อ (pulp color) กลิ่น (odor) รสชาติ (flavor) เนื้อสัมผัส (texture) และการยอมรับคุณภาพโดยรวม (acceptability) ดังนี้

คะแนนคุณภาพด้านสีเนื้อ

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

คะแนนคุณภาพด้านกลิ่น

- |                  |                      |
|------------------|----------------------|
| 0 = กลิ่นผิดปกติ | 3 = กลิ่นสุกเล็กน้อย |
| 1 = กลิ่นดิบ     | 4 = กลิ่นสุกมาก      |

2 = ไม่มีกลิ่นดิบ

คะแนนคุณภาพด้านรสชาติ

- |                     |                   |
|---------------------|-------------------|
| 0 = รสผิดปกติ       | 4 = รสหวานน้อย    |
| 1 = รสจืด           | 5 = รสหวานปานกลาง |
| 2 = รสเปรี้ยว       | 6 = รสหวานมาก     |
| 3 = รสหวานอมเปรี้ยว |                   |

คะแนนคุณภาพด้านเนื้อสัมผัส

- |                  |                  |
|------------------|------------------|
| 1 = กรอบมาก      | 4 = นิ่มเล็กน้อย |
| 2 = กรอบปานกลาง  | 5 = นิ่มปานกลาง  |
| 3 = กรอบเล็กน้อย | 6 = นิ่มมาก      |

คะแนนการยอมรับคุณภาพโดยรวม

- 1 = ไม่ชอบมากที่สุด (dislike extremely)
- 2 = ไม่ชอบมาก (dislike very much)
- 3 = ไม่ชอบปานกลาง (dislike moderately)
- 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย (dislike slightly)
- 5 = เฉย ๆ (like nor dislike)
- 6 = ชอบเล็กน้อย (like slightly)
- 7 = ชอบปานกลาง (like moderately)
- 8 = ชอบ (like very much)
- 9 = ชอบมากที่สุด (like extremely)

**ตอนที่ 2** ศึกษาผลของสารเคลือบผิวต่ออายุการเก็บรักษาและคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกหลังการเก็บเกี่ยว

หลังจากทำการทดลองศึกษาหาชนิดและความเข้มข้นของสารเคลือบผิวสำหรับมะม่วงพันธุ์มหาชนกในการทดลองตอนที่ 1 แล้วจึงคัดเลือกชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสม เพื่อนำมาศึกษาผลของสารเคลือบผิวในการชะลอการสุกของมะม่วงพันธุ์มหาชนก เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 ° C โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) แบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่เคลือบผิวผล) (control)

ชุดการทดลองที่ 2 เคลือบผิวผลด้วยไคโตซานความเข้มข้น 1.5 % (chitosan 1.5 %)

ชุดการทดลองที่ 3 เคลือบผิวผลด้วยน้ำมันเมล็ดทานตะวันความเข้มข้น 10 %

(sunflower seed oil 10 %)

นำผลมะม่วงที่ผ่านวิธีการต่าง ๆ ข้างต้น ไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 13 ± 1 ° C โดยแต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ ตรวจสอบผลเช่นเดียวกับการทดลองตอนที่ 1 และตรวจวัดข้อมูลเพิ่มเติม ดังนี้

## 1. อัตราการหายใจ

วัดอัตราการหายใจในระบบปิด โดยบรรจุผลมะม่วงในภาชนะขนาด 3845 มิลลิลิตร ปิดฝาภาชนะนาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำก๊าซในภาชนะบรรจุ (head space) มาวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง gas chromatography (GC ยี่ห้อ Shimadzu 9A) เพื่อหาอัตราการหายใจโดยวัดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น โดยจัดสภาพเครื่อง GC โดยใช้หัววัดระบบ TCD (thermal conductivity detector) มีกระแสเลี้ยงหัววัด 150 มิลลิแอมป์ มีคอลัมน์เป็น Porapak R 80/100 mesh ความยาว 2 เมตร มีฮีเลียมเป็นก๊าซพา (carrier gas) ซึ่งมีความเร็ว 50 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์หรืออุณหภูมิตู้ (oven temperature) เท่ากับ 60 °C อุณหภูมิของจุดฉีด (injector port) เท่ากับ 90 °C อุณหภูมิของจุดวิเคราะห์ (detector) เท่ากับ 100 °C แล้วนำค่าที่ได้ มาคำนวณหาอัตราการหายใจ ดังต่อไปนี้

$$\text{อัตราการหายใจของผลมะม่วง} = \frac{(\% \text{CO}_2 \text{ ที่วัดได้จาก GC} - 0.033) \times V \text{ (มล.)} \times \frac{A}{B} \times \frac{C}{(C+D)} \times \frac{E}{F}}{100 \times W \text{ (กก.)} \times \text{เวลา (ชม.)}}$$

(มก. CO<sub>2</sub>/กก.ชม.)

V = ปริมาตรของอากาศภายในภาชนะ (มล.)

W = น้ำหนักของผลมะม่วง (กก.)

A = น้ำหนักโมเลกุล CO<sub>2</sub> เท่ากับ 44

B = ปริมาตรของก๊าซที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน เท่ากับ 22.4

C = อุณหภูมิมาตรฐานในหน่วยของเคลวิน (K) เท่ากับ 273 °C

D = อุณหภูมิในขณะที่ทำการวัด

E = ความดันบรรยากาศที่เชียงใหม่ เท่ากับ 740 มม.ปรอท

F = ความดันบรรยากาศที่ระดับน้ำทะเล เท่ากับ 760 มม.ปรอท

## 2. อายุการเก็บรักษา

เกณฑ์การพิจารณาอายุการเก็บรักษาของผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก พิจารณาจากสภาพผล โดยมีจำนวนผลที่เกิดโรคที่เห็นด้วยตาเปล่ามากกว่า 20 % ของจำนวนผลทั้งหมดหรือหลังจากผลสุก และผลเสื่อมสภาพแล้ว รวมทั้งการเกิดกลิ่นหรือรสชาติที่ผิดปกติของเนื้อผลลักษณะข้างต้น ถือว่าผลหมดอายุการเก็บรักษา