บทที่ 3
วิธีการทดลอง

ในการศึกษานี้แบ่งการทดลองออกเป็น การทดลองที่ 1 ศึกษาหาความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้สาร 1-MCP รมผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก และการทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการใช้สาร 1-MCP ในการชะลอการสุกของผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ มีวิธีการทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 การศึกษาหาความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้สาร 1-MCP รมผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก

มะม่วงพันธุ์มหาชนกที่ใช้ในการทดลองนี้ได้จากไร่ประพัฒน์และบุตร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้ผลมะม่วงที่มีอายุ 112 วันหลังดอกบาน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) โดยแบ่งเป็น 2 การทดลองย่อยคือ

การทดลองที่ 1.1 การศึกษาหาความเข้มข้นของสาร 1-MCP ที่เหมาะสมในการรมผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก โดยนำผลมะม่วงมาแบ่งเป็น 2 ชุด ชุดที่ 1 วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) โดยวางไว้ให้สุกเปรียบเทียบกับชุดที่ 2 ที่ทำการรมสาร 1-MCP ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ 125, 250, 375, 500, 625, 750, 875, 1,000 และ 1,250 ppb เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วนำผลมะม่วงทั้งหมดมาวางไว้ให้สุกที่อุณหภูมิห้อง โดยแต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ

การทดลองที่ 1.2 การศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้ สาร 1-MCP รมผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก โดยนำผลมะม่วงมาแบ่งเป็น 2 ชุด ชุดที่ 1 ไม่ได้รมด้วยสาร 1-MCP มาวางไว้ให้สุกที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) โดยวางไว้ให้สุกเปรียบเทียบกับชุดที่ 2 ที่ทำการรมสาร 1-MCP ความเข้มข้น 1,000 ppb เป็นเวลา 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 ชั่วโมง และ 1-MCP ความเข้มข้น 1,250 ppb เป็นเวลา 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วนำผลมะม่วงทั้งหมดมาวางไว้ให้สุกที่อุณหภูมิห้อง โดยแต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ

สุ่มตัวอย่างผลมะม่วงของแต่ละการทดลองมาตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

1.1 การสูญเสียน้ำหนัก

นำผลมะม่วงแต่ละกรรมวิธีมาชั่งน้ำหนักก่อนวางไว้ให้สุกที่อุณหภูมิห้องและก่อนทำการรมด้วยสาร 1-MCP จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักต่อไปทุกวันจนกระทั่งผลสุก นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก จากสูตรต่อไปนี้

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

1.2 การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกและสีเนื้อ

1.2.1 การวัดสีเปลือกและสีเนื้อของผลมะม่วงแต่ละกรรมวิธีทำโดยใช้เครื่อง chroma meter (Minolta CR-200) วัดสีเปลือกและสีเนื้อบริเวณกึ่งกลางผล ค่าที่ได้จากการวัดแสดงเป็นค่า L*, a* และ b*

โดยค่า L* = The lightness factor (value)

a* , b* = The chromaticity coordinates (hue, chroma)

นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า chroma (C*) ซึ่งเป็นค่าที่แสดงให้เห็นถึงความอิ่มตัวของสีจากสมการดังนี้ (McGuire, 1992)

$$\text{Chroma} = (a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$$

คำนวณหาค่า hue angle (h°) ที่เป็นค่าแสดงถึงมุมในการตกกระทบของค่า a* ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 องศาจากสมการดังนี้ (McGuire, 1992)

$$\text{THETA} = (\text{arctangent } (b^*/a^*) / 6.2832 \times 360)$$

ถ้า $a > 0$ และ $b > 0$; ค่า h° = THETA

ถ้า $a < 0$ และ $b > 0$; ค่า h° = 180 + THETA

ถ้า $a < 0$ และ $b < 0$; ค่า h° = 180 + THETA

ถ้า $a > 0$ และ $b < 0$; ค่า h° = 360 + THETA

เมื่อ L* เป็นค่าความสว่าง ถ้าค่า L มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึงวัตถุมีสีทึบ ถ้าค่า L เข้าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมีสีสว่าง

a* เป็นค่าที่แสดงถึงสีแดงและสีเขียว ถ้าค่า a เป็นบวก (+) วัตถุมีสีออกแดง แต่ถ้าค่า a เป็นลบ (-) วัตถุจะมีสีเขียว โดยมีค่า –60 ถึง +60

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

b* เป็นค่าที่แสดงถึงสีเหลืองและสีน้ำเงิน ถ้าค่า b เป็นบวก (+)วัตถุมีสีออกเหลือง แต่ถ้าค่า b เป็นลบ (-) วัตถุจะมีสีออกน้ำเงิน โดยมีค่า –60 ถึง +60

C* คือค่าความอิ่มตัวหรือโครมา เมื่อมีค่าเท่ากับศูนย์ หมายถึง วัตถุมีสีเทา หากมีค่าเพิ่มมากขึ้นสีของวัตถุมีความเข้มขึ้น ความอิ่มตัวของสีม่วงแดงและสีเขียวจะเปลี่ยนไปตามระยะห่างจากจุดศูนย์กลางตามแนวนอนที่เปลี่ยนแปลงไป สีจะดูทึม/มัวเมื่ออยู่ใกล้จุดศูนย์กลางและสดใสขึ้นเมื่อห่างจากจุดศูนย์กลาง

h° คือค่าฮิว (Hue) หมายถึงสีสัน เมื่อมีค่าเข้าใกล้มุม 90 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเหลือง (+b) หากมีค่าเข้าใกล้ 180 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเขียว (-a)

1.2.2 คะแนนการเกิดสีเหลืองของเปลือกผล ทำการให้คะแนนการเกิดสีเหลืองของผล โดยพิจารณาจากพื้นที่สีเหลืองที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ของพื้นที่เปลือกทั้งหมด ดังนี้

คะแนน 1 = 0% (ไม่พบสีเหลืองที่เปลือกผล)

คะแนน 2 = 1-25%

คะแนน 3 = 26-50%

คะแนน 4 = 51-75%

คะแนน 5 = 76-100%

1.3 การเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อ

เฉือนเปลือกผลบริเวณกลางผลของทั้ง 2 ด้านออกมาประมาณ 2 มิลลิเมตร แล้วใช้เครื่อง Effigi pressure tester ที่มีหัววัดที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.59 เซนติเมตร สำหรับผลดิบและหัววัดที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.79 เซนติเมตรสำหรับผลสุกกดลงบนเนื้อผลบริเวณกลางผลลึก 0.5 เซนติเมตร แล้วอ่านค่าที่วัดได้ แล้วนำค่าที่วัดได้มาคำนวณให้อยู่ในหน่วยของกิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร

2. จำนวนวันที่ใช้ในการสุก นับจำนวนวันที่ผลมะม่วงใช้ในการเปลี่ยนจากผลดิบมาเป็นผลสุก ซึ่งจะใช้หลักเกณฑ์ในการพิจารณาเกี่ยวกับการสุกของผล โดยพิจารณาจากสิ่งต่อไปนี้

2.1 สีเปลือกและเนื้อของผลเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและสีเหลืองอมส้ม โดยมีค่า L*, a*, b* และค่า C* ของเปลือกและเนื้อเพิ่มขึ้นไม่น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า h° ลดลงไม่น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จากค่าในวันแรกของการเก็บรักษา ผลดิบ

2.2 ความแน่นเนื้อ มีค่าความแน่นเนื้อเท่ากับหรือน้อยกว่า 2 kg/cm^2

2.3 ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ มีค่าต่ำกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์

2.4 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ มีค่าประมาณ 12-18 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.5 การประเมินคุณภาพในการบริโภค ต้องมีคะแนนของการประเมินในทุกๆ ด้านไม่น้อยกว่าระดับคะแนน 5

$$\text{จำนวนวันที่ใช้ในการสุก} = \frac{\text{ผลรวมของ (วันที่ผลสุก} \times \text{จำนวนผล)}}{\text{จำนวนผลทั้งหมด}}$$

3. การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและสรีรวิทยา

3.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity: TA)

นำน้ำคั้นจากผลมะม่วงจำนวน 5 มิลลิลิตร ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน NaOH (0.1 N) โดยใช้สารละลาย phenolphthalein 1% เป็นอินดิเคเตอร์ เมื่อสารละลายมีสีชมพูเกิดขึ้นถือว่าถึงจุดยุติ (end point) นำค่าของสารละลายมาตรฐาน NaOH ที่ได้มาคำนวณปริมาณกรด โดยเทียบกับกรดซิตริกซึ่งเป็นกรดที่พบมากในมะม่วงดังนี้

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

* milliequivalent of citric acid (anhydrous) = 0.064

3.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids, TSS)

วัดปริมาณ TSS โดยใช้เครื่อง hand refractometer (ATAGO model ATC 1) โดยก่อนที่จะทำการวัด TSS ให้ใช้น้ำกลั่นปรับสเกลให้เป็นศูนย์ แล้วเช็ดน้ำกลั่นออก จากนั้นหยดน้ำคั้นที่ได้จากผลมะม่วงลงบน hand refractometer อ่านค่าที่ได้เป็น %Brix

3.3 อัตราส่วน TSS: TA

คำนวณหาค่าอัตราส่วน TSS: TA โดยนำผลลัพธ์ในข้อ 3.2 หารด้วยผลลัพธ์ในข้อ 3.1

4. การประเมินคุณภาพ

4.1 โดยพิจารณาจากการปรากฏอาการของโรคแอนแทรกโนสที่สามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่าที่พบบริเวณเปลือกผล นับจำนวนผลที่พบอาการของโรคแล้วนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคดังนี้

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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2 การประเมินคุณภาพในการบริโภคโดยประสาทสัมผัส (organoleptic test)

การประเมินใช้ผู้ชิมจำนวน 5 คน ซึ่งคัดเลือกไว้สำหรับชิมมะม่วงตลอดการทดลอง โดยผู้ชิมมีอายุระหว่าง 23-26 ปี ผ่านการฝึกประเมินคุณภาพแล้ว โดยมีหลักการให้คะแนนการยอมรับแบบ 1-9 ที่เรียกว่า 9-point hedonic scale (Peacock *et al.*, 1986) โดยพิจารณาทั้งทางด้านสีเนื้อ (flesh color) กลิ่น (odor) รสชาติ (flavor) เนื้อสัมผัส (texture) และการยอมรับคุณภาพโดยรวม (acceptability) ดังนี้

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 = ชอบมาก (like very much)
9 = ชอบมากที่สุด (like extremely)

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการใช้สาร 1-MCP ในการชะลอการสุกของผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 และ 13 องศาเซลเซียส

หลังจากทำการศึกษาหาความเข้มข้นและระยะที่เหมาะสมในการใช้สาร 1-MCP รมผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกในการทดลองที่ 1 แล้วทำการคัดเลือกความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมเพื่อนำมาศึกษาผลของการใช้สาร 1-MCP ในการชะลอการสุกของผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) โดยนำผลมะม่วงมาแบ่งเป็น 2 ชุด ชุดที่ 1 ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 13 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) โดยวางไว้ให้สุกเปรียบเทียบกับชุดที่ 2 ที่ทำการรมด้วยสาร 1-MCP ความเข้มข้น 1000 ppb เวลา 12 ชั่วโมง จากผลการทดลองที่ 1 และทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 13 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง นำมาวัดคุณภาพทุก 2 วัน ทำการวิเคราะห์และประเมินผลต่าง ๆ เช่นเดียวกับในการทดลองที่ 1 นอกจากนี้ยังทำการวัดผลเพิ่มเติมดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. อัตราการหายใจ

ทำการวัดอัตราการหายใจในระบบปิด โดยบรรจุผลมะม่วงลงในภาชนะขนาด 2,905 มิลลิลิตร แล้วทำการปิดภาชนะเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำก๊าซในภาชนะบรรจุ (head space) มาวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง gas chromatography (GC ยี่ห้อ Shimadzu 9A) เพื่อหาอัตราการหายใจ โดยวัดหาปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น โดยจัดสภาพของเครื่อง GC โดยใช้หัววัดระบบ TCD (thermal conductivity detector) ที่มีกระแสจ่ายเลี้ยงหัววัด 150 มิลลิแอมป์ มีคอลัมน์เป็น Porapak R 80/100 mesh ความยาว 2 เมตร มีฮีเลียมเป็นก๊าซพา (carrier gas) ซึ่งมีอัตราเร็ว 50 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์หรืออุณหภูมิตู้ (oven temperature) เท่ากับ 60 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของจุดฉีด (injector port) เท่ากับ 90 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของจุดวิเคราะห์ (detector) เท่ากับ 100 องศาเซลเซียส แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณอัตราการหายใจ ดังต่อไปนี้

$$\text{อัตราการหายใจของผลมะม่วง (มิลลิกรัม } CO_2\text{/กิโลกรัม.ชั่วโมง)} = \frac{(\%CO_2 \text{ ที่วัดจาก G.C.} - 0.033) \times V(\text{มล.}) \times A}{100 \times W(\text{กก.}) \times \text{เวลา (ชม.)}} \times \frac{C}{B} - \frac{E}{C+D} \times F$$

V= ปริมาตรของอากาศภายในภาชนะ (มล.)

W= น้ำหนักของผลมะม่วง (กก.)

A= น้ำหนักโมเลกุล CO_2 เท่ากับ 44

B= ปริมาตรของก๊าซที่ standard temperature and pressure เท่ากับ 22.4

C= อุณหภูมิมาตรฐานในหน่วยของเคลวิน (K) เท่ากับ 273 องศาเซลเซียส

D= อุณหภูมิในขณะที่ทำการวัด

E= ความดันบรรยากาศที่เชียงใหม่ เท่ากับ 740 mmHg

F= ความดันบรรยากาศที่ระดับน้ำทะเล เท่ากับ 760 mmHg

2. ปริมาณคลอโรฟิลล์

นำเปลือกผลมะม่วงจำนวน 1 กรัม มาบดในโกร่งและขณะบดให้เติมอะซิโตน 80 เปอร์เซ็นต์ลงไปเล็กน้อย เมื่อบดจนละเอียดแล้วให้กรองผ่านกระดาษกรอง (Whatman No.1) แล้วปรับปริมาตรด้วยอะซิโตนให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นจึงนำสารละลายดังกล่าวไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density = OD) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร บันทึกค่าที่ได้แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณ ดังนี้ (Witham *et al.*, 1986)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณคลอโรฟีลล์เอ (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด) $= (12.7)(OD\,663) - [2.69 \times (OD\,645) \times (V/1000W)]$

ปริมาณคลอโรฟีลล์บี (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด) $= (22.9)(OD\,645) - [4.66 \times (OD\,663) \times (V/1000W)]$

ปริมาณคลอโรฟีลล์ทั้งหมด (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด) = เปอร์เซ็นต์คลอโรฟีลล์เอ + เปอร์เซ็นต์คลอโรฟีลล์บี

โดยที่ V คือ ปริมาณของสารละลายที่นำมาหาปริมาณคลอโรฟีลล์

W คือ น้ำหนักของเปลือกมะม่วงที่นำมาสกัดคลอโรฟีลล์

OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ตามความยาวคลื่นที่กำหนด

3. อายุการเก็บรักษา

เกณฑ์การพิจารณาอายุการเก็บรักษาของผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก พิจารณาจากสภาพของผล โดยถ้ามีจำนวนผลที่เกิดโรคที่เห็นได้ด้วยตาเปล่ามากกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนผลทั้งหมด หรือหลังจากผลสุก ผลเสื่อมสภาพแล้ว (ตามเกณฑ์ในการทดลองที่ 1)

สถานที่ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล

1. ไร่ประพัฒน์และบุตร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย

ตั้งแต่ มีนาคม 2546 ถึง กรกฎาคม 2547

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved