บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

มะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ *(Mangifera indica* L., cv. Chok-Anan) ซื้อมาจากสวนคุณทรัพย์ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ เมื่อวันที่ 8 มีนาคม 2548 ซึ่งเป็นผลมะม่วงดิบพันธุ์โชคอนันต์ที่เก็บเกี่ยวในระยะผลแก่ทางการค้า บรรจุใส่ตะกร้าพลาสติกแล้วขนส่งมายังห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และได้ทำการทดลองทันที

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพ

1. เครื่องวัดสี Minolta Chromameter Model CR-300 (Minolta Camera Co., Ltd., Japan)
2. เครื่องมือวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (Hand refractometer วัดค่าระหว่าง 0-32% “ATAGO” Model N1, Japan)
3. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง (Analytical balance, Sartorius analytic : Model BA 3100P, Germany)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่ง (Analytical balance, Metter Toledo : Model A354, Switzerland)
5. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Microprocessor pH meter, “HANNA” Instrument Model 213, U.S.A.)
6. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert : UM100-UM800, Germany)
7. อ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, Gallenkamp, England)
8. ตู้แช่ 3 ประตู (Chilled refrigerator, FBS International, Model PT 230, Italy)
9. เครื่องกวนผสมแบบแม่เหล็กไฟฟ้า (Hot plate and Magnetic stirrer, Whatman : HPMS, England)
10. Gas chromatography (Gas chromatography (GC), ThermeFinigan Italia S. P. A., Model Trace GC, Italy)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

11. เครื่องวัด Firmness (Fruit Hardness Tester, Shimpo Model FGV-20A, Japan)
12. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (ThermoSpectronic “Biomate 5”, U.S.A.)
13. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge Rotiina 46R “Hettich Zentrifugen”, Germany)
14. เครื่องปั่น (Blender, National, Thailand)
15. โถดูดความชื้น (Desiccator)
16. กระดาษกรอง เบอร์ 4 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 เซนติเมตร (Whatman, England)
17. บีกเกอร์ ขนาด 50, 100, 250, 600 และ 1,000 มิลลิลิตร
18. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 และ 250 มิลลิลิตร
19. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 100, 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
20. แท่งแม่เหล็ก (Magnetic bar)
21. กรวยกรอง (Funnel)
22. หลอดหยด (Dropper)
23. ปิเปตต์ขนาด 5, 10 และ 20 มิลลิลิตร
24. เครื่องกวนแบบธรรมดา (Nouva II Model SP 18420-26, U.S.A.)
25. มีดปอกผลไม้และมีดหั่นผลไม้
26. เทอร์โมมิเตอร์ 0-100 องศาเซลเซียส
27. Data loggers (Data loggers, Branstead/ERTCO, Cole-Parmer Instrument, England)

3.3 สารเคลือบผิวที่ใช้ในการวิจัย

สารเคลือบผิวที่ใช้ในการวิจัยมีทั้งหมด 3 ชนิด คือ

1. ไคโตซาน (chitosan) ความเข้มข้น 0.5% ละลายในกรดแลกติก 0.5%
2. คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethylcellulose, CMC) ความเข้มข้น 1% ละลายในน้ำกลั่นที่มีโพรพิลีนไกลคอล (propylene glycol) ความเข้มข้น 2%
3. อิมัลชันของเนยจืดต่อน้ำ (อัตราส่วน 4 : 1)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4 การเตรียมสารเคลือบผิว

1. ไคโตซาน (chitosan) ความเข้มข้น 0.5% ละลายในกรดแลกติก 0.5%

เตรียมได้โดย ชั่งไคโตซาน (“Fluka” Chitosan middle-viscous, AR Grade, Fluka, Japan) จำนวน 0.50 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นที่ต้มอุ่นๆ ปริมาตร 80 มิลลิลิตร แล้วคนสารละลายผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมกรดแลกติก (“Sigma” Lactic acid, AR Grade, Sigma-

Aldrich, U.S.A.) ความเข้มข้น 0.5% ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร และคนสารละลายตลอดเวลาจนเกล็ดไคโตซานละลายจนหมด นำมาปรับพีเอชให้ได้ 5.6 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (“Merck” Sodium hydroxide (NaOH), AR Grade, E. Merck, Germany) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล หลังจากนั้นจึงปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

2. คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethylcellulose, CMC) ความเข้มข้น 1% ละลายในน้ำกลั่นที่มีโพรพิลีนไกลคอล (propylene glycol) ความเข้มข้น 2%

เตรียมได้โดย ชั่งคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (“Sigma” Carboxymethylcellulose sodium salt, low viscosity, AR Grade, Sigma-Aldrich, U.S.A.) จำนวน 1 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 80 มิลลิลิตร เติมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสทีละน้อยพร้อมกับคนสารละลายผสมตลอดเวลา เติมโพรพิลีนไกลคอล (“Sigma” Propylene glycol, AR Grade, Sigma-Aldrich, Germany) จำนวน 2 มิลลิลิตร หลังจากนั้นจึงปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3. อิมัลชันของเนยจืดต่อน้ำ (อัตราส่วน 4 : 1)

เป็นอิมัลชันที่ประกอบด้วยเนยจืด (“Allowrie” Creamery butter unsalted, ยูไนเต็ดแดรี่-ฟูดส์, กรุงเทพฯ) ผสมกับน้ำ ในอัตราส่วนของเนยจืดต่อน้ำ เท่ากับ 4 : 1 เตรียมโดยค่อยๆ เติมน้ำลงไปผสมกับเนยจืดตามอัตราส่วนแล้วปั่นจนได้อิมัลชันที่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน

3.5 สถานที่ทำการวิจัย

1. ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการ สถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.6 วิธีการเตรียมผลมะม่วง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) วัตถุดิบเป็นผลมะม่วงดิบพันธุ์โชคอนันต์ที่เก็บเกี่ยวในระยะผลแก่ทางการค้า คัดเลือกผลมะม่วงพันธุ์โชค-อนันต์ที่มีระยะแก่เริ่มต้นใกล้เคียงกัน โดยใช้ค่าความถ่วงจำเพาะคือ คัดเลือกผลมะม่วงที่จมในน้ำเกลือ 1% (ถ.พ เท่ากับ 1.007) และลอยในน้ำเกลือ 3% (ถ.พ เท่ากับ 1.022) หลังจากนั้นล้างผลมะม่วงให้ผิวนอกสะอาด ผึ่งให้แห้ง นำมาเคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวที่บริโภคได้ทั้งหมด 3 ชนิด ยกเว้นชุดควบคุมที่ไม่ได้เคลือบผิว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.7 วิธีการเคลือบผิว

ชั่งน้ำหนักและเขียนหมายเลขลงบนผลมะม่วงแต่ละผล แล้วนำมาเคลือบผิวโดยจุ่มผลมะม่วงลงในสารเคลือบผิวแต่ละชนิด จากนั้นผึ่งผลมะม่วงให้แห้ง ยกเว้นอิมัลชันที่มีความหนืดพอสมควรจึงต้องใช้มือลูบจากด้านขั้วผลลงมาปลายผล เพื่อให้ความหนาของสารเคลือบลดลง มิฉะนั้นจะไม่สามารถผึ่งมะม่วงให้แห้งได้ หลังจากนั้นนำผลมะม่วงที่ผ่านการเคลือบผิวแล้ววางเรียงในตะกร้าพลาสติก แล้วเก็บรักษาไว้ในตู้แช่ (Chilled refrigerator, FBS International, Model PT 230, Italy) อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 93$\pm$2% ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ผล สุ่มตัวอย่างผลมะม่วงออกมาเพื่อวิเคราะห์คุณภาพทุกๆ 3 วัน รวมทั้งหมด 7 ครั้ง เป็นเวลา 21 วัน และทำการวิเคราะห์คุณภาพของผลมะม่วงดิบเริ่มต้น รวมใช้ผลมะม่วงทั้งหมด 48 ผลในแต่ละการทดลอง และทุกครั้งที่สุ่มตัวอย่างจะทำการวิเคราะห์คุณภาพดังต่อไปนี้

3.7.1 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

3.7.1.1 การสูญเสียน้ำหนัก (% weight loss)

ชั่งน้ำหนักของผลมะม่วงที่สุ่มมาจำนวน 6 ผล ของแต่ละการทดลอง จำนวน 4 การทดลอง เพื่อศึกษาการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา แล้วคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักที่หายไป

น้ำหนักเริ่มต้น – น้ำหนักสุดท้าย = น้ำหนักที่หายไป

$$\text{เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักที่หายไป (\% weight loss)} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป} \times 100}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}}$$

3.7.1.2 ความแน่นเนื้อ (firmness)

วัดความแน่นเนื้อของผลมะม่วงโดยใช้เครื่อง firmness tester (Fruit Hardness Tester, Shimpo Model FGV-20A, Japan) ใช้หัวกดทรงกระบอกปลายแหลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 เซนติเมตร กดลงบนผลมะม่วงที่ปอกเปลือกแล้วโดยให้ความหนาของเปลือกคงที่ประมาณ 1.0 มิลลิเมตรทั้ง 2 ด้านของแก้มผลมะม่วง แล้วกดหัวเจาะลงในเนื้อผลมะม่วงลึกประมาณ 0.5 เซนติเมตร ในส่วนแก้มของผลมะม่วง 3 ตำแหน่งคือ บริเวณส่วนบน ส่วนกลาง และส่วนล่างของผลมะม่วง บันทึกค่าแรงกดที่สูงที่สุด แล้วคำนวณหาค่าแรงกดสูงสุดเฉลี่ย มีหน่วยเป็น นิวตัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.7.1.3 การวัดสี

วัดการเปลี่ยนแปลงสีเปลือก สีเนื้อ สีเนื้อติดเมล็ด และสีเนื้อปั่นรวมของผลมะม่วงในระหว่างการเก็บรักษาโดยใช้เครื่องวัดสี Chromameter (Minolta CR-300, Japan) โดยวัดสีเปลือกด้านนอกของผลมะม่วงที่ส่วนแก้มด้านละ 3 ตำแหน่งคือ ส่วนบน ส่วนกลาง และส่วนล่างของผลมะม่วง และวัดการเปลี่ยนแปลงสีเนื้อโดยการฝานเปลือกตามยาวของผลมะม่วงออก แล้ววัดสีเนื้อที่บริเวณด้านในของเนื้อผลมะม่วง ทำการวัดสี 3 ตำแหน่ง คือ ส่วนบน ส่วนกลาง และส่วนล่างของผลมะม่วง

การวัดสีเนื้อติดเมล็ดโดยการฝานผลมะม่วงตรงส่วนแก้มที่ติดกับเมล็ดออกทั้งสองส่วน แล้วทำการวัดสีที่บริเวณด้านในสุดของเนื้อผลมะม่วงสามตำแหน่งคือ ส่วนบน ส่วนกลาง และส่วนล่างของผลมะม่วง และวัดการเปลี่ยนแปลงของสีเนื้อปั่นรวม โดยการนำผลมะม่วงในส่วนแก้มที่ปอกเปลือกออกแล้วไปปั่นละเอียดให้เป็นเนื้อเดียวกันแล้วทำการวัดสีทั้งหมด 3 ครั้ง

การใช้เครื่อง Chromameter ก่อนใช้เครื่องทุกครั้งได้ปรับมาตรฐานของเครื่องวัดสีด้วยแผ่นเทียบสีมาตรฐานสีขาว แล้ววัดสีผลมะม่วงละ 3 จุด หาค่าเฉลี่ย รายงานค่าสีที่วัดได้เป็นค่า L*, a* และ b* เมื่อ

L* = the lightness factor (value) ซึ่งเป็นค่าที่แสดงความมืด และความสว่างของสี โดยมีค่าตั้งแต่ 0-100 ค่า L* ที่ต่ำแสดงว่าวัตถุมีสีคล้ำ (L* = 0 มีสีดำ) ส่วนค่า L* ที่สูงแสดงว่า มีความสว่างมาก (L* = 100 มีสีขาว)

a* และ b* = the chromaticity coordinates

a* = เป็นค่าแสดงสีเขียวและสีแดง ถ้าค่าเป็นบวก หมายถึง วัตถุมีสีแดง หากค่าเป็นลบ หมายถึง วัตถุมีสีเขียว

b* = เป็นค่าแสดงสีน้ำเงินและสีเหลือง ค่า b* เป็นบวก หมายถึง วัตถุมีสีเหลือง หากค่าเป็นลบ หมายถึง วัตถุมีสีน้ำเงิน หากค่า a* และ b* เป็นศูนย์แสดงว่าวัตถุมีสีเทา

เมื่อนำค่า L*, a* และ b* มาหาค่า Hue angle (H^0) และ Chroma (C*) จากสูตร

C* = Chroma โดย

$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$

H^0 = Hue angle โดย

$H^0 = (\tan^{-1} [b^*/ a^*]/6.2832 \times 360)$ ถ้า $a^* > 0$ และ $b^* \geq 0$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

C* เป็นค่าแสดงถึงความเข้มของสี เมื่อ C* มีค่าเข้าใกล้ศูนย์หมายถึง วัตถุมีสีซีดจาง (เทา) หากมีค่าเข้าใกล้ 60 แสดงว่าวัตถุมีสีเข้ม

H^0 เป็นค่าแสดงถึงสีที่แท้จริงที่ปรากฏให้เห็น โดยคำนวณให้อยู่ในรูปขององศาในวงกลม ซึ่งจะเริ่มต้นตั้งแต่ 0 องศา จนถึง 360 องศา ถ้าวัตถุมีมุมเข้าใกล้ศูนย์องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีแดง หากมีมุมเข้าใกล้ 90 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเหลือง และถ้าวัตถุมีมุมเข้าใกล้ 180 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเขียว

3.7.2 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

3.7.2.1 ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (total titratable acidity)

ตามวิธี AOAC International, 2000 : Method 942.15

สารเคมีและวิธีเตรียมสารเคมี

วัดปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างเนื้อผลมะม่วงโดยวิธีการไทเทรชัน และคำนวณผลในรูปของกรดซิตริกต่อ 100 กรัมเนื้อมะม่วง

ก. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (“Merck” Sodium hydroxide (NaOH), AR Grade, E. Merck, Germany) จำนวน 4 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาเปรียบเทียบมาตรฐาน (standardization) โดยการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เพื่อหาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ข. สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต (Potassium hydrogen phthalate ($KHC_8H_4O_4$), AR Grade, E. Merck, Germany) (ที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศา-เซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง) น้ำหนัก 0.50 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มเดือด ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร ปิเปตต์สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตรใส่ลงในฟลาส์คขนาด 125 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ลงไป 2-3 หยด นำไปไทเทรตกับสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนกระทั่งได้จุดยุติเป็นสีชมพูที่ถาวร บันทึกปริมาตรของสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตที่ใช้ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ คำนวณได้ดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

นอร์มัลลิตี้ของ NaOH = $\frac{0.1N\ (KHC_8H_4O_4) \times \text{ปริมาตร } KHC_8H_4O_4 \text{ ที่ใช้ไทเทรต (มล.)}}{\text{ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 มล.}}$

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อผลมะม่วงมาจำนวน 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มเดือดลงไปเล็กน้อย คนให้ละลายเข้ากันดี
3. ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร
4. กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 (Whatman เบอร์ 4)
5. ปิเปตต์ของเหลวที่กรองได้ 10 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาส์คขนาด 125 มิลลิลิตร
6. นำไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนถึงจุดยุติ (end point) ที่ค่าพีเอช 8.1 ทำการทดลองตัวอย่างละ 2 ซ้ำ และหาค่าเฉลี่ยปริมาณสารละลายด่างที่ใช้ นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ในรูปกรดซิตริกต่อ 100 กรัมของเนื้อผลมะม่วง โดยเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานดังนี้

1 มิลลิลิตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.10 นอร์มัล ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับกรดซิตริก 0.007 กรัม

สารละลายน้ำมะม่วง 100 มิลลิลิตร เจือจางมาจากเนื้อผลมะม่วง 10 กรัม ดังนั้น สารละลายน้ำมะม่วง 10 มิลลิลิตร เจือจางมาจากเนื้อผลมะม่วง 1 กรัม

%กรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (ในรูปกรดซิตริก) = $\frac{\text{ความเข้มข้นของ [NaOH(N)] x สารละลายด่างที่ใช้(ml)x0.007x100}}{\text{น้ำหนักของเนื้อมะม่วง (g)}}$

3.7.2.2 การวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง (pH) (AOAC, 2000) : Method 920.149

วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างเนื้อผลมะม่วงมาจำนวน 10 กรัม เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มเดือดแล้วเพื่อเจือจางปริมาตร 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาวัดด้วยเครื่องวัดพีเอช (Microprocessor pH meter, “HANNA” instrument Model 213, U.S.A.) ซึ่งได้ตรวจสอบความถูกต้องของเครื่องด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอช เท่ากับ 7.00 และ 4.00 (Buffer solution “HANNA”, U.S.A.) ตามลำดับ ทำการวัดตัวอย่างละ 3 ครั้ง แล้วนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.7.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids) **โดยใช้เครื่องวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้** (Hand refractometer) (AOAC, 2000) : Method 970.21

วิธีการวิเคราะห์

นำตัวอย่างเนื้อผลมะม่วงมาคั้นเอาน้ำออกจากเนื้อ แล้วนำมาวัดด้วยเครื่องวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (Hand refractometer, “ATAGO” Model N1, Japan) ซึ่งมีสเกลวัดค่าได้ระหว่าง 0-32% โดยใช้น้ำกลั่นปรับให้อ่านค่าได้ 0 ก่อนใช้วัดตัวอย่างน้ำมะม่วงทุกครั้ง ค่าที่อ่านได้มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ (%) ซึ่งแต่ละตัวอย่างจะทำการวัด 3 ครั้ง แล้วนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย

3.7.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงและน้ำตาลทั้งหมด โดยวิธี Lane and Eynon **ที่เรียบเรียงโดยลักขณาและนิธิยา** (2544)

สารเคมีและวิธีเตรียมสารเคมี

ก. สารละลาย Carrez No.1 เตรียมโดยละลายซิงแอซีเทต ("Baker" Zinc acetate dehydrate, AR Grade, J.T. Baker, U.S.A.) จำนวน 21.9 กรัม ในน้ำกลั่นที่มีกรดแอซีติก ("Merck" Acetic acid glacial, AR Grade, E. Merck, Germany) จำนวน 3 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

ข. สารละลาย Carrez No.2 เตรียมโดยละลายโพแทสเซียมเฟอโรไซยาไนด์ ("Ajax Finechem" Potassium ferrocyanide, AR Grade, Asia Pacific Specialty, Australia) จำนวน 10.6 กรัม ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

ค. สารละลาย Fehling No.1 เตรียมโดยละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ("Baker" Copper sulphate, AR Grade, J.T. Baker, U.S.A.) จำนวน 69.278 กรัม ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

ง. สารละลาย Fehling No.2 เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จำนวน 100 กรัม และโพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต ("Baker" Potassium sodium tartrate, AR Grade, J.T. Baker, U.S.A.) จำนวน 346 กรัม ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

จ. สารละลายเมทิลีนบลู ความเข้มข้น 1% เตรียมโดยละลายเมทิลีนบลู ("Merck" Methylene blue, AR Grade, E. Merck, Germany) จำนวน 1 กรัม ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ฉ. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6.34 นอร์มัล เตรียมโดยตวงสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ("Merck" Hydrochloric Acid, AR Grade, E. Merck, Germany) จำนวน 564.33 มิลลิลิตร ค่อยๆ รินกรดลงในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ในขวดปรับปริมาตร

ช. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 5 นอร์มัล เตรียมโดยละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ จำนวน 200 กรัม ในน้ำกลั่นที่ต้มไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกไป และปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

วิธีการวิเคราะห์

การเตรียมตัวอย่างเนื้อผลมะม่วง

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อผลมะม่วง 15 กรัม (ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำตาลในเนื้อผลมะม่วงด้วย) เติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อยเพื่อที่จะได้ปั่นตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน

2. เติมสารละลาย Clearing agent (Carrez I และ Carrez II ลงไปอย่างละ 5 มิลลิลิตร) เขย่าให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ประมาณ 20-30 นาที

3. กรองสารละลายที่ได้ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 (Whatman เบอร์ 4) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงก่อนอินเวอร์ชัน (D_1)

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงก่อนการทำอินเวอร์ชัน

การไทเทรต

1. นำสารละลายที่กรองได้ใส่ในบิวเรต ไล่ฟองอากาศ โดยเฉพาะตรงส่วนปลายแท่งแก้วให้หมด

2. ปิเปตต์สารละลาย Fehling No. 1 และ Fehling No. 2 อย่างละ 5 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาส์คขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่แท่งแม่เหล็กลงไป เพื่อป้องกันการเดือดล้นออกมา

3. นำไปต้มด้วยเครื่องกวนผสมด้วยแม่เหล็กไฟฟ้าจนเดือด หยดสารละลายเมทิลีนบลูลงไป 1–2 หยด ไทเทรตจนสีฟ้าจางหายไปหมด เหลือตะกอนสีส้มแดงอยู่ที่ก้นฟลาส์ค ทำการไทเทรตตัวอย่างละ 2 ครั้ง นำปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้ในการไทเทรตมาหาค่าเฉลี่ย

4. นำปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ได้ ไปหาปริมาณน้ำตาลในรูปของน้ำตาลอินเวอร์ต (invert sugar) (มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร) จากตารางภาคผนวก ข. แล้วคำนวณหาปริมาณเปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซิงก่อนอินเวอร์ชัน (D_1)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

$$(D_1) = \frac{\text{ปริมาณน้ำตาล (Sugar content) (มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร) x V}}{1000 \times W \times D}$$

V = ปริมาตรสุดท้าย (volume made up) (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

D = ระดับความเจือจาง (dilution factor)

หมายเหตุ :

1. ความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายตัวอย่างที่ใช้ในการไทเทรตกับสารละลายผสม Fehling จะต้องอยู่ในช่วง 15-50 มิลลิลิตร เท่านั้น
2. ถ้าปริมาตรที่ใช้ไทเทรตน้อยกว่า 15 มิลลิลิตร แสดงว่าเตรียมสารละลายตัวอย่างมีความเข้มข้นเกินไป ต้องเจือจางสารละลายตัวอย่างลง
3. ถ้าปริมาตรที่ใช้ไทเทรตมากกว่า 50 มิลลิลิตร แสดงว่าเตรียมสารละลายตัวอย่างเจือจางเกินไป ต้องเตรียมตัวอย่างใหม่ให้มีความเข้มข้นมากกว่าเดิม

การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงหลังการทำอินเวอร์ชัน (D_2)

วิธีการวิเคราะห์

1. นำสารละลายตัวอย่างที่เหลือจากการหาน้ำตาลก่อนอินเวอร์ชัน (หรือใช้สารละลายที่เตรียมใหม่) ทำการตกตะกอนให้ใสโดยใช้ Clearing agent ก่อน ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

2. ปิเปตต์สารละลายตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6.34 นอร์มัล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, Gallenkamp, England) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว ปรับให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 5 นอร์มัล ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร จากนั้นไทเทรตเช่นเดียวกับตอนแรก ทำซ้ำ 2 ครั้ง

3. นำค่าที่ได้ไปเทียบหาปริมาณน้ำตาลในรูปน้ำตาลอินเวอร์ตจากตาราง คำนวณหาปริมาณในรูปของน้ำตาลรีดิวซิงภายหลังอินเวอร์ชัน (D_2) ซึ่งค่าที่ได้จะเป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงที่มีอยู่ในตัวอย่างอาหารรวมกับน้ำตาลอินเวอร์ต

4. นำค่าปริมาณน้ำตาลที่ได้ (ทั้งค่า D_1 และ D_2) มาคำนวณหาปริมาณน้ำตาลดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

น้ำตาลซูโครส (S, %) = (D2 - D1) x 0.95

น้ำตาลทั้งหมด (%) = D_1+ S

เมื่อ D_1 = ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงทั้งหมดก่อนทำอินเวอร์ชัน (%)

D_2 = ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงทั้งหมดหลังทำอินเวอร์ชัน (%)

S = ปริมาณน้ำตาลซูโครส (%)

3.7.2.5 **การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น** (moisture content)

(AOAC, 2000) : Method 934.06

วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างเนื้อผลมะม่วงมาจำนวน 3 กรัม (ชั่งให้ทราบน้ำหนักแน่นอน) เกลี่ยใส่ในจานโลหะที่ผ่านการอบแห้งและทราบน้ำหนักมาก่อนแล้ว นำไปอบในตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert : UM100-UM800, Germany) ที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบมาทำให้เย็นในโถดูดความชื้น (Desiccator) ชั่งน้ำหนัก อบซ้ำจนน้ำหนักคงที่ โดยน้ำหนักที่ชั่งได้ไม่ควรต่างจากครั้งแรกเกิน 0.002 กรัม คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(W_2 - W_3) \times 100}{W_2 - W_1}$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักของจานโลหะ (กรัม)

W_2 = น้ำหนักของจานโลหะ + น้ำหนักเนื้อผลมะม่วง ก่อนอบ (กรัม)

W_3 = น้ำหนักของจานโลหะ + น้ำหนักเนื้อผลมะม่วง หลังอบ (กรัม)

3.7.3 **การวัดกิจกรรมของเอนไซม์เพกทินเมทิลเอสเทอเรส**

3.7.3.1 **สารเคมีที่ใช้ในการสกัดเอนไซม์**

- สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งโซเดียมคลอไรด์ (“Merck” Sodium chloride, AR Grade, E. Merck, Germany, NaCl, MW = 58.44 g/mol, ความบริสุทธิ์ > 99.5%) จำนวน 14.61 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
- สารละลาย polyvinylpyrrolidone ความเข้มข้น 1% เตรียมโดยชั่ง polyvinyl-pyrrolidone (“Sigma” Polyvinylpyrrolidone, PVP, AR Grade, Sigma-Aldrich, U.S.A.) จำนวน 2.50 กรัม ละลายด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ความเข้มข้น 1 โมลาร์ (จากข้อ ก.) และปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 นอร์มัล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (“Merck” Sodium hydroxide (NaOH), AR Grade, E. Merck, Germany) จำนวน 8 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (“Merck” Sodium hydroxide (NaOH), AR Grade, E. Merck, Germany) จำนวน 0.4 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
- สารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (0.003 M Potassium dihydrogen phosphate) เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (“Merck” Potassium dihydrogenphosphate, AR Grade, E. Merck, Germany) จำนวน 0.0408 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
- สารละลายไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (0.003 M Dipotassium hydrogen phosphate) เตรียมโดยชั่งไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (“Fluka” Dipotassium dihydrogenphosphate, AR Grade, Fluka, Switzerland) จำนวน 0.0522 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
- สารละลายโพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (0.003 M Potassium phosphate buffer pH 7.5) เตรียมโดยนำสารละลายไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (จากข้อ ฉ.) มา 100 มิลลิลิตร และค่อยๆ เติมสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (จากข้อ จ.) พร้อมคนสารละลายผสมให้เข้ากันตลอดเวลา จนสารละลายมีค่าพีเอชเท่ากับ 7.5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.7.3.2 **สารเคมีที่ใช้ในการวัดกิจกรรมของเอนไซม์เพกทินเมทิลเอสเทอเรส**

- สารละลายเพกทิน ความเข้มข้น 0.5% (w/v) เตรียมโดยชั่งเพกทิน (“Sigma” Citrus pectin, AR Grade, Sigma-Aldrich, U.S.A.) จำนวน 0.50 กรัม ละลาย

ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ปริมาตร 85 มิลลิลิตร และปรับพีเอชเป็น 7.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (จากข้อ 3.7.3.1 ข้อ ง.) จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

- สารละลายบรอมไธมอลบลู ความเข้มข้น 0.1% (w/v) เตรียมโดยชั่งบรอมไธมอลบลู ("Merck" Bromthymol blue Indicator, AR Grade, E. Merck, Germany) จำนวน 0.10 กรัม ละลายในสารละลายโพแทสเซียมฟอสเฟต บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.003 โมลาร์ พีเอช 7.5 และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
- สารละลายดี-กาแลกทูโรนิกแอซิด ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์ เตรียมโดยชั่งดี-กาแลกทูโรนิกแอซิด ("Merck" D-galacturonic acid, AR Grade, E. Merck, Germany) จำนวน 0.0212 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

3.7.3.3 **สารเคมีที่ใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานโปรตีน**

สารละลายโปรตีนมาตรฐาน ("Fluka" Bovine Serum Albumin, BSA, AR Grade, Fluka, Switzerland) ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เตรียมได้โดย

- สารละลาย stock ของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เตรียมโดยชั่ง BSA มาจำนวน 0.100 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร
- สารละลาย working ของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เตรียมโดย ปิเปตต์สารละลายโปรตีนมาตรฐานความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (จากข้อ ก.) จำนวน 0.50 มิลลิลิตร ละลายด้วยสารละลายสำหรับสกัดเอนไซม์ (สารละลาย polyvinyl-pyrrolidone ความเข้มข้น 1% ที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์) และปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายสกัดเอนไซม์ ในขวดปรับปริมาตร
- สารละลายสีย้อม เตรียมโดยชั่ง Coomassie brilliant blue G-250 ("Sigma" Coomassie brilliant blue G-250, AR Grade, Sigma-Aldrich, U.S.A.) จำนวน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

0.0125 กรัม ละลายด้วยเอทานอล (“สยามเอทานอลอุตสาหกรรม จำกัด” Ethanol, Food Grade, Thailand) ความเข้มข้น 95% ปริมาตร 12.5 มิลลิลิตร เขย่าจนกระทั่งสารละลายสีย้อมละลายหมด เติมกรดฟอสฟาริก ความเข้มข้น 85% (“Merck” *ortho*-phosphoric acid 85%, AR Grade, E. Merck, Germany) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร หลังจากนั้นปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.7.3.4 การเตรียมกราฟมาตรฐานดี-กาแลกทูโรนิกแอซิด

ปิเปตต์สารละลายเพกทิน ความเข้มข้น 0.5% (w/v) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงใน หลอดทดลอง 7 หลอด จากนั้นเติม สารละลายบรอมไธมอลบลู ความเข้มข้น 0.1% (w/v) ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ลงในทุกๆ หลอด และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.85, 1.75, 1.65, 1.45, 1.25, 1.05, และ 0.85 มิลลิลิตร ตามลำดับของหลอด จากนั้นเติมสารละลายดี-กาแลกทูโรนิกแอซิด ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่ 2 นำไป vortex แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (ThermoSpectronic “Biomate 5”, U.S.A.) ที่เวลา 1 นาที หลังจากเติมสารละลายดี-กาแลกทูโรนิกแอซิดลงไป เติมสารละลายดี-กาแลกทูโรนิกแอซิดลงในหลอดที่ 3-7 ปริมาตร 0.20, 0.40, 0.60, 0.80 และ 1.00 มิลลิลิตร ตามลำดับ ทำการวัดเช่นเดียวกับหลอดที่ 2 ส่วนหลอดที่ 1 (blank) ไม่มีการเติมสารละลายดี-กาแลกทูโรนิกแอซิด ทำการวัดเช่นเดียวกัน หลังจากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของทุกๆ หลอดไปลบออกจากค่าการดูดกลืนแสงของหลอดที่ 1 จะได้เป็นค่า ΔA_{620} ในแต่ละหลอด และนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายดี-กาแลกทูโรนิกแอซิดกับ ΔA_{620}

3.7.3.5 วิธีการวัดกิจกรรมของเอนไซม์

ก. การเตรียมสารละลายสกัดหยาบ (crude extract) ทำการสกัดเอนไซม์เพกทิน-เมทิลเอสเทอเรส โดยดัดแปลงจากวิธีของ Hagerman and Austin (1986) **และ** Miller *et al*. (1987)

นำเนื้อผลมะม่วงที่มาจำนวน 20 กรัม มาใส่ในโกร่งที่แช่เย็นจัดจากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร บดให้เป็นเนื้อเดียวกันทิ้งไว้ เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ (Centrifuge Rotiina 46R “Hettich Zentrifugen”, Germany) ที่มีความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังจากการปั่นนำเฉพาะตะกอน (pellet) มาสกัดอีกครั้งด้วยสารละลายสกัดเอนไซม์ (extraction solution) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย polyvinylpyrrolidone ความเข้มข้น 1% ที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ทำการสกัดเอนไซม์โดยนำไปกวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (Hot plate and Magnetic stirrer, Whatman : HPMS, England) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสารละลายทั้งหมดไปปั่นด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ ที่มีความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำเฉพาะสารละลายส่วนใส (supernatant) มาปรับพีเอชให้ได้ 7.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 นอร์มัล ส่วนใสของสารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ (crude enzyme) จะนำไปวัดกิจกรรมเอนไซม์เพกทินเมทิลเอสเทอเรส ในขั้นตอนต่อไป

ข. การวัดกิจกรรมของเอนไซม์เพกทินเมทิลเอสเทอเรส ดัดแปลงจากวิธีของ Hagerman and Austin (1986) และ Miller *et al.* (1987)

ปิเปตต์สารละลายเพกทิน ความเข้มข้น 0.5% (w/v) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายบรอมไธมอลบลู ความเข้มข้น 0.1% (w/v) ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปริตร 1.80 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ผสมสารละลายให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่เวลา 1 นาที หลังจากเติมสารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ลงไป แล้วนำค่าที่ได้ไปลบออกจากค่าการดูดกลืนแสงของหลอดทดลองที่ไม่มีการเติมสารละลายเอนไซม์สกัด (blank) นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบปริมาณของสารละลายดี-กาแลกทูโรนิกแอซิด จากกราฟมาตรฐาน เพื่อหาความเข้มข้นของดี-กาแลกทูโรนิกแอซิดที่เกิดขึ้น

กำหนดให้ปริมาณของเอนไซม์เพกทินเมทิลเอสเทอเรส 1 หน่วย (Unit) เท่ากับปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้เกิดดี-กาแลกทูโรนิกแอซิด 1 ไมโครโมลต่อนาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด แล้วคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์เพกทินเมทิลเอสเทอเรส (specific activity) มีหน่วยเป็น หน่วย/มิลลิกรัมของโปรตีน/นาที วิธีการคำนวณแสดงในภาคผนวก ก

ค. การวัดความเข้มข้นของโปรตีนในสารละลายสกัดหยาบโดยวิธี Bradford (1976)

การสร้างกราฟมาตรฐานโปรตีน

ปิเปตต์สารละลายโปรตีนมาตรฐาน (Bovine Serum Albumin, BSA) ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 50, 100, 150, 200, 250 และ 300 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย polyvinylpyrrolidone ความเข้มข้น 1% ที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด โดยให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเท่ากับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

300 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Coomassie brilliant blue (0.05% Coomassie brilliant blue G-250 ใน 5% เอทานอล และ 10% กรดฟอสฟอริก) ลงไปหลอดละ 3.0 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ เป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และนำค่าที่ได้มาเขียนกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก ก)

ปิเปตต์สารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง และเติมสารละลาย polyvinylpyrrolidone ความเข้มข้น 1% ที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด ปริมาตร 100 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเติมสารละลาย Coomassie brilliant blue (0.05% Coomassie brilliant blue G-250 ใน 5% เอทานอล และ 10% กรดฟอสฟอริก) ลงไปหลอดละ 3.0 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ เป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตร- โฟโตมิเตอร์ และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเปรียบเทียบปริมาณของโปรตีนจากกราฟโปรตีน มาตรฐาน เพื่อนำไปหาความเข้มข้นของโปรตีนที่ละลายได้ (Bradford, 1976) วิธีการคำนวณแสดงในภาคผนวก ก

3.7.4 การวัดกิจกรรมของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส

3.7.4.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดเอนไซม์

- สารละลายโซเดียมแอซีเตต ความเข้มข้น 1 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งโซเดียมแอซีเตตแอนไฮดรัส (“Merck” Sodium acetate, AR Grade, E. Merck, Germany, CH_3COONa, MW = 82.04 g/mol, ความบริสุทธิ์ > 98.0%) จำนวน 8.204 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
- กรดแอซีติก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ เตรียมโดยปิเปตต์กรดแอซีติก (“Merck” Acetic acid glacial, AR Grade, E. Merck, Germany) ปริมาตร 5.70 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
- สารละลายโซเดียมแอซีเตตบัฟเฟอร์ (1 M Sodium acetate buffer pH 5) เตรียมโดยนำสารละลายโซเดียมแอซีเตต ความเข้มข้น 1 โมลาร์ (จากข้อ ก.) มา 100 มิลลิลิตร และเติมสารละลายกรดแอซีติก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ (จากข้อ ข.) พร้อมคนสารละลายผสมตลอดเวลา จนสารละลายมีพีเอชเท่ากับ 5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- สารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรต (“Merck” Sodium dihydrogen phosphate monohydrate, AR Grade, E. Merck, Germany, $NaH_2PO_4.H_2O$, MW = 137.99 g/mol, ความบริสุทธิ์ = 99.0-102%) จำนวน 3.4497 กรัม เติมลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
- สารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรต (“Merck” Disodium hydrogen phosphate dihydrate, AR Grade, E. Merck, Germany, $Na_2HPO_4.2H_2O$, MW = 177.99 g/mol, ความบริสุทธิ์ > 99.5%) จำนวน 2.2248 กรัม เติมลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
- สารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (0.05 M Sodium phosphate buffer pH 6.2) เตรียมโดยนำสารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ (จากข้อ ง.) มา 100 มิลลิลิตร และค่อยๆ เติมสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ (จากข้อ จ.) พร้อมคนสารละลายผสมให้เข้ากันตลอดเวลา จนสารละลายมีค่าพีเอชเท่ากับ 6.2
- สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งโซเดียมคลอไรด์ (“Merck” Sodium chloride, AR Grade, E. Merck, Germany, NaCl, MW = 58.44 g/mol, ความบริสุทธิ์ > 99.5%) จำนวน 0.5844 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
- การเตรียมสารละลายสำหรับสกัดเอนไซม์คือ สารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 6.2 ที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เตรียมโดยนำสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (จากข้อ ช.) จำนวน 5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 6.2 (จากข้อ ฉ.) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ในขวดปรับปริมาตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.7.4.2 **สารเคมีที่ใช้ในการวัดกิจกรรมของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส**

- สารละลายไนโตรฟีนอล (“Fluka” p-nitrophenol, AR Grade, Fluka, Switzerland) ความเข้มข้น 0.1 ไมโครโมล/มิลลิลิตร เตรียมได้โดย

ก. สารละลาย stock ของสารละลายไนโตรฟีนอล ความเข้มข้น 10 ไมโครโมล/มิลลิลิตร เตรียมโดย ชั่งไนโตฟีนอลมาจำนวน 0.1391 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร

ข. สารละลาย working ของสารละลายไนโตรฟีนอล ความเข้มข้น 0.1 ไมโครโมล/มิลลิลิตร เตรียมโดยปิเปตต์สารละลายไนโตรฟีนอล ความเข้มข้น 10 ไมโครโมล/มิลลิลิตร (จากข้อ ก) มา 0.10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ-กลั่น ในขวดปรับปริมาตร

ค. สารละลายไนโตรฟีนิลฟอสเฟต ("Sigma" 4-Nitrophenyl phosphate disodium salt, AR Grade, Sigma-Aldrich, U.S.A.) ความเข้มข้น 0.005 มิลลิโมลาร์ เตรียมโดยชั่งไนโตรฟีนิลฟอสเฟต จำนวน 0.0185 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

3.7.4.3 การเตรียมกราฟมาตรฐานไนโตรฟีนอล

ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานไนโตรฟีนอล ความเข้มข้น 0.1 ไมโครโมล/มิลลิลิตร ปริมาตร 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130 และ 140 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรของสารละลายในแต่ละหลอดให้ได้ปริมาตรรวมเท่ากับ 500 ไมโครลิตร เติมสารละลายโซเดียมแอซีเตตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 5 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 6.2 ที่มีโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 300 ไมโครลิตร นำไปบ่ม (incubate) อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายผสมเข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณไนโตรฟีนอล และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร

3.7.4.4 วิธีการวัดกิจกรรมของเอนไซม์

ก. การเตรียมสารละลายสกัดหยาบ (crude extract) **ทำการสกัดเอนไซม์แอซิด-ฟอสฟาเทส ดัดแปลงจากวิธีของ** Aoyama *et al*. (2001)

นำเนื้อผลมะม่วงมาจำนวน 1 กรัม มาใส่ในโกร่งที่แช่เย็นจัดจากนั้นเติมสารละลายสำหรับสกัดเอนไซม์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วยสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 6.2 ที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ แล้วบดให้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปปั่นด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ ที่มีความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังจากการปั่นนำเฉพาะสารละลายส่วนใส (supernatant) ของสารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ (crude enzyme) ไปวัดกิจกรรมเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส ในขั้นตอนต่อไป

ข. การวัดกิจกรรมของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส ดัดแปลงจากวิธีของ Aoyama *et al*. (2001)

ปิเปตต์สารละลายไนโตรฟีนีลฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.005 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายโซเดียมแอซีเตตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 5 ปริมาตร 0.20 มิลลิลิตร เติมสารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ ปริมาตร 0.20 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากัน นำไปบ่ม (incubate) อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายผสมเข้ากัน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบปริมาณของไนโตรฟีนอลจากกราฟมาตรฐาน เพื่อหาความเข้มข้นของไนโตรฟีนอลที่เกิดขึ้น

กำหนดให้ปริมาณของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส 1 หน่วย (Unit) เท่ากับปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้เกิดไนโตรฟีนอล 1 ไมโครโมลต่อนาที ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พีเอช 5 แล้วคำนวณหากิจกรรมเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส (specific activity) มีหน่วยเป็น หน่วย/มิลลิกรัมของโปรตีน/นาที วิธีการคำนวณแสดงในภาคผนวก ก

ค. การวัดปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ โดยวิธี Bradford (1976)

รายละเอียดของสารเคมี และวิธีการเตรียมอยู่ในหัวข้อ 3.7.3.3

ง. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้

ปิเปตต์สารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้มา 200 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง และเติมสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 6.2 ที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเติมสารละลาย Coomassie brilliant blue (0.05% Coomassie brilliant blue G-250 ใน 5% เอทานอล และ 10% กรดฟอสฟอริก) ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ เป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เปรียบเทียบปริมาณของโปรตีนจากกราฟโปรตีนมาตรฐาน เพื่อนำไปหาความเข้มข้นของโปรตีนที่ละลายได้ วิธีการคำนวณแสดงในภาคผนวก ก

3.7.5 การวัดอัตราการหายใจ

การหายใจเป็นการใช้พลังงานที่มีสะสมอยู่อย่างจำกัดภายในผลิตผลแต่ละชนิด ในขณะเดียวกันก็จะปลดปล่อยความร้อนออกมา ทั้ง 2 อย่างนี้ล้วนส่งเสริมให้อายุหลังการเก็บเกี่ยวสั้นลง โดยเฉพาะอย่างหลังซึ่งจำเป็นที่จะต้องกำจัดออกในระหว่างการเก็บรักษา การวัดอัตราการหายใจโดยการวัดอัตราการสร้างความร้อนของผลิตผลจึงเป็นสิ่งจำเป็นในการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว สามารถหาอัตราการหายใจได้จากทั้งสับสเทรต (substrate) ที่ถูกใช้ไป และจากผลิตผล (product) ที่ได้ออกมา (จริงแท้, 2544)

วัดอัตราการหายใจของผลมะม่วง โดยนำผลมะม่วงในแต่ละการทดลอง ซึ่งเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28$\pm$1 องศาเซลเซียส) ใส่กล่องพลาสติกที่มีปริมาตร 2 ลิตร และปิดฝาให้สนิท เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นสุ่มก๊าซมาวัดอัตราการหายใจโดยใช้เครื่อง Gas chromatography (Gas chromatography (GC), ThermeFinigan Italia S. P. A., Model Trace GC, Italy) ชนิด Thermal conductivity detector (TCD) โดยสภาวะที่ใช้วิเคราะห์ คือ

- carrier gas ใช้ก๊าซฮีเลียม ที่มีอัตราการไหลของก๊าซ 50 มิลลิลิตร/นาที
- อุณหภูมิของ column oven เท่ากับ 50 องศาเซลเซียส , อุณหภูมิของ injector เท่ากับ 80 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของ detector เท่ากับ 100 องศาเซลเซียส
- มีกระแสไฟจ่ายเลี้ยง detector 150 mA
- Column ที่ใช้ในการตรวจวัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ คือ porapak R (packed column)

คำนวณหาอัตราการหายใจในรูปของปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นโดยมีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/กิโลกรัมผลมะม่วงต่อชั่วโมง ซึ่งคำนวณโดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{Respiration rate (ml } CO_2\text{)} = \frac{\text{free volume (ml) x difference in } CO_2 \text{ (\%)}}{100}$$

$$\text{Respiration rate (ml } CO_2\text{/hr)} = \frac{\text{free volume (ml) x difference in } CO_2 \text{ (\%)}}{100 \text{ x time sealed (hr)}}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

$$\text{Respiration rate (ml } CO_2\text{/kg.hr)} = \frac{\text{free volume (ml) x difference in } CO_2 \text{ (\%)}}{\text{100 x time sealed (hr) x sample wt. (kg)}}$$

$$\text{Respiration rate (mg } CO_2\text{/kg.hr)} = \frac{\text{free volume (ml) x difference in } CO_2 \text{ (\%) x 44 x 273}}{\text{100xtime sealed (hr) x sample wt (kg) x 22.4x(273+store temp.}^0\text{C)}}$$

difference in CO_2 (%) = %ของ CO_2 ที่วัดได้จากเครื่อง GC

free volume container (ml) = ปริมาตรของกล่อง – ปริมาตรของผล

time sealed (hr) = เวลาที่อยู่ในกล่อง (ชั่วโมง)

sample wt (kg) = น้ำหนักของผลมะม่วง (กิโลกรัม)

(273+store temp.^{0}C) = อุณหภูมิในขณะที่ทำการวัดเป็นเคลวิน (K)

1 mole wt of CO_2 = 44 g

1 mole (wt) of any gas at ^{0}C (at 760 mm Hg) = 22.4 ลิตร

3.7.6 การประเมินทางประสาทสัมผัสโดยวิธี Hedonic point scale (Gatchalian, 1981)

ระหว่างการเก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน ได้สุ่มตัวอย่างผลมะม่วงทุกๆ 3 วัน มา 5 ผลในแต่ละการทดลอง หลังจากนั้นวางผลมะม่วงไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28±1 องศาเซลเซียส) จนผลมะม่วงสุกเหลืองทั่วทั้งผล จึงนำมาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลมะม่วง การประเมินทางด้านประสาทสัมผัส ได้แบ่งลักษณะเฉพาะของเนื้อผลมะม่วงออกเป็น 6 ลักษณะ ได้แก่ สีที่ปรากฏ (สีเหลือง) ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่นของมะม่วง รสหวาน รสเปรี้ยว และการยอมรับโดยรวม ผู้ทดสอบชิมเป็นนักศึกษาระดับปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 10 คน การประเมินเป็นแบบ Hedonic five point scale ให้คะแนนลักษณะของผลมะม่วงที่ผู้ทดสอบชิมชอบมากที่สุดเท่ากับ 5 ชอบปานกลาง เท่ากับ 4 เฉยๆ เท่ากับ 3 ไม่ชอบปานกลาง เท่ากับ 2 และไม่ชอบมากที่สุดเท่ากับ 1 โดยแบบประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสแสดงในภาคผนวก ค.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การเตรียมตัวอย่าง

สุ่มตัวอย่างผลมะม่วงมา 5 ผลในแต่ละการทดลอง ปอกเปลือกผลมะม่วง แล้วฝานเนื้อมะม่วงตรงแก้มทั้ง 2 ด้านออก หลังจากนั้นหั่นชิ้นตามขวางของผลมะม่วงออกเป็น 3 ชิ้น แล้ววางใส่จานสีขาว ให้ผู้ทดสอบชิมคนละ 3 ชิ้น ต่อ 1 ชุดการทดลอง โดยผู้ทดสอบชิมทุกคนจะได้ชิมเนื้อผลมะม่วง 4 ชุดการทดลอง

3.7.7 **การวิเคราะห์ผลทางสถิติ**

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จากนั้นนำผลการวิเคราะห์ทางกายภาพ ทางเคมี อัตราการหายใจ และการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ในระหว่างการเก็บรักษามาหาค่าเฉลี่ย และทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน เมื่อพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ได้ทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Different (LSD) (อิศรพงษ์, 2544)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved