

รายงานการวิจัย (ปีที่ 2)

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย): การพัฒนาฟิล์มบางนาโนเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของมะม่วง

(ภาษาอังกฤษ): Development of nano thin film to prolong the shelf life of mango

คณะผู้วิจัย

สังกัด

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราณี โรจน์สิทธิศักดิ์ สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกวรรณ เสรีภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มีนาคม 2558

## รายงานการวิจัย (ปีที่ 2)

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย): การพัฒนาฟิล์มบางนาโนเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของมะม่วง

(ภาษาอังกฤษ): Development of nano thin film to prolong the shelf life of mango

คณะผู้วิจัย

สังกัด

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราณี โรจน์สิทธิศักดิ์

สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกวรรณ เสรีภาพ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มีนาคม 2558

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยปีที่ 2 นี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยการสนับสนุนทุนวิจัยจากเงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล ประจำปีงบประมาณ 2557 จึงขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ และภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนสถานที่และเครื่องมือสำหรับทำวิจัย และขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและความสะดวกตลอดการวิจัย

สุดท้ายนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะกรรมการพิจารณาทุน คณะกรรมการติดตามและประเมินผล งานวิจัยที่ให้ข้อเสนอแนะต่างๆ ที่ทำให้งานวิจัยนี้มีคุณค่ามากยิ่งขึ้น

คณะผู้วิจัย

## บทคัดย่อ

งานวิจัย (2 ปี) นี้เป็นการศึกษาและพัฒนาสูตรตำรับฟิล์มบางเคลือบผิวระดับนาโนจากวัสดุชีวภาพไคโตซานให้มีความสามารถในการยืดอายุการเก็บรักษามะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้และศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ที่ผ่านการเคลือบผิวก่อนการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ 13 องศาเซลเซียส เพื่อหากลไกทางสรีรวิทยาที่มีบทบาทในการช่วยยืดอายุการเก็บรักษามะม่วง โดยในปีที่ 1 เป็นการพัฒนาสูตรตำรับสารเคลือบผิวและตรวจสอบคุณลักษณะสารเคลือบผิวที่พัฒนาขึ้น จากผลการทดลองพบว่า ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 65,000 ถึง 410,000 กรัม/โมล สามารถละลายได้ดี (>98%) ในสารละลายกรดแอสซิดิกที่ความเข้มข้นอย่างน้อย 0.5% (โดยปริมาตร) และ Tween 80<sup>®</sup> ช่วยให้ฟิล์มที่เกาะบนผิวของวัสดุที่ไม่ชอบน้ำมีความต่อเนื่อง หากใช้มากเกินไปจะมีปัญหาเกี่ยวกับฟองที่เกิดขึ้น ดังนั้นสูตรตำรับสารเคลือบผิวที่มีส่วนผสมของไคโตซานจำเป็นจะต้องมีส่วนผสมของ Tween 80<sup>®</sup> เท่ากับ 0.1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยใช้กรดแอสซิดิกที่ความเข้มข้น 0.5% (โดยปริมาตร) เป็นตัวทำละลาย และเทคนิคในการเคลือบผิวจะใช้วิธีการจุ่มลงในสูตรตำรับสารเคลือบที่พัฒนาขึ้น และในปีที่ 2 เป็นการนำสูตรตำรับสารเคลือบผิวที่มีส่วนผสมของไคโตซานที่พัฒนาขึ้นมาเคลือบบนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ โดยขั้นต้นทำการศึกษาผลของการใช้สารละลายไคโตซานที่เตรียมสดใหม่ และสารละลายไคโตซานที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วันซึ่งเป็นระยะเวลาที่ทำให้ค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานคงที่ จากการศึกษาผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาสารละลายไคโตซานต่อการยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่อุณหภูมิเก็บรักษา 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 วันพบว่าการใช้สารละลายไคโตซานที่เตรียมสดใหม่ช่วยลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ได้ดีกว่าการใช้สารละลายที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน จากนั้นใช้วิธีการเตรียมสารละลายไคโตซานแบบเตรียมสดใหม่ในการเก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วันแล้วนำมาเก็บรักษาต่อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสต่อจนถึงวันที่ 23 ของการทดลอง จากการศึกษาพบว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลองที่ใช้สารละลายเคลือบผิวที่เตรียมจากไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 240,000 กรัม/โมล (MM-CTS) มีการสูญเสียน้ำหนักสดน้อยกว่า ความแน่นเนื้อมากกว่า การเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของเปลือกผลที่เป็นปกติ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำสูงกว่า ปริมาณกรดที่ต่ำกว่า และการเกิดโรคน้อยกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ การใช้สารละลาย MM-CTS กระตุ้นกระบวนการป้องกันตัวเองของผลมะม่วงน้ำดอกไม้โดยเพิ่มการผลิต H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> และยังกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ catalase และ ascorbate peroxidase ดังนั้น ไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 240,000 ดาลตันจึงมีความเหมาะสมที่สุดสำหรับการยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวและคงไว้ซึ่งคุณลักษณะอันพึงประสงค์ของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

**คำสำคัญ:** เคลือบผิว; ฟิล์มบางนาโน; อายุการเก็บรักษา; มะม่วงน้ำดอกไม้; ไคโตซาน

## Abstract

This two year project was to study and develop the formulation of nano thin film solution containing chitosan to prolong the shelf-life of mango 'Namdokmai'. The physiology of mango after coating with chitosan solution and stored at 25°C and 13°C was investigated. In the first year project, nano thin film solution containing chitosan was developed and characterized. The results suggested that chitosan with molecular weight of 65,000 - 410,000 g/mol is well dissolved in acetic acid with the concentration of 0.5% (v/v). Tween 80<sup>®</sup> can enhance the film to stick continuously on the hydrophobic surface of materials. However, overdose of Tween 80<sup>®</sup> caused foaming in the formulation. In general, nano thin film formulation containing chitosan should be added 0.1% (w/v) Tween 80<sup>®</sup> in 1% chitosan (w/v). Acetic acid with the concentration of 0.5% (v/v) should be used as a solvent of chitosan and the dipping technique is to be used in this project. For the second years, the optimal formula of chitosan coating solutions were applied on mango fruits by 2 means of preparation; freshly prepared and 14-days stored solution (the time that the solution viscosity was constant). Treated mango fruits were kept at 25 °C. After 15 day of storage resulted in the lower anthracnose disease incident of mango fruits coated with freshly prepared coating solution than those of 14-days stored solutions. After that, freshly prepared coating solution were applied again on mango fruits, but the fruits were primarily stored at 13 °C for 14 days before stored at 25 °C until day 23. Postharvest physiological analysis revealed that mango fruits coated with 240,000 g/mol (MM-CTS) chitosan solution lost less their fresh weight, maintained higher fruit firmness, had normal peel appearance development, remained higher total soluble solids and lower titratable acidity plus the lower disease incident than other treatments. MM-CTS solution also activated defensive mechanism of mango fruit by increasing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration and promoting activities of catalase and ascorbate peroxidase, the key antioxidant enzymes. Thus, 240,000 g/mol chitosan culminates in the extended shelf life and preserved acceptable attributes of 'Nam Dok Mai no.4' mangoes

**Keywords:** Coating; Nano thin film; Shelf life; 'Nam Dok Mai' mango; Chitosan

## สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูปภาพ	ช
1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย (2 ปี)	3
3 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	3
4 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง	6
4.1 มะม่วงน้ำดอกไม้	6
4.2 บทบาทของเอทิลีนใน climacteric fruit	7
4.3 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกระบวนการต้านอนุมูลอิสระในพืช	8
4.4 ไคโตซาน	9
4.5 บทบาทของไคโตซานต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวของผลไม้	10
4.5.1 อัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีน	10
4.5.2 การสูญเสียน้ำหนักสด การสูญเสียความแน่นเนื้อและ การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ	11
4.5.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดและอัตราส่วนของแข็งที่ละลายน้ำ ต่อปริมาณกรด	12
4.5.4 การเปลี่ยนแปลงสีผล	12
4.5.5 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> และการทำงานของเอนไซม์กำจัดอนุมูลอิสระ	13
4.5.6 การเกิดอาการสะท้านหนาวจากเก็บรักษาผลไม้ที่อุณหภูมิต่ำ	13
4.5.7 การต้านทานโรคหลังการเก็บเกี่ยว	14
5 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	15
5.1 การพัฒนาสูตรตำรับสารเคลือบผิวที่มีส่วนผสมของไคโตซาน (ปีที่ 1)	15
5.2 การตรวจสอบคุณภาพของมะม่วงหลังเคลือบผิวด้วยสูตรตำรับไคโตซาน ที่พัฒนาขึ้น (ปีที่ 2)	17
6 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล	22
6.1 ผลการทดลองปีที่ 1	22

6.1.1	จัดเตรียม/จัดหาวัตถุดิบและวิเคราะห์สมบัติของวัตถุดิบ	22
6.1.2	การศึกษาความสามารถในการละลายของไคโตซานในกรด แอสซิติคที่ความเข้มข้นต่างๆ	23
6.1.3	การศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อสมบัติของฟิล์มไคโตซาน	25
6.1.4	การศึกษาผลของมอนอโซเดียมกลูตาเมตในสูตรตำรับสารเคลือบ ต่อสมบัติของไคโตซานฟิล์ม	28
6.1.5	สรุปผลการทดลองปีที่ 1	31
6.2	ผลการทดลองปีที่ 2	31
6.2.1	สมบัติทางกายภาพของสารละลายเคลือบผิวไคโตซาน	31
6.2.2	ผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาสารละลายเคลือบผิวไคโตซาน ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วง น้ำดอกไม้	35
6.2.3	ผลของการเคลือบผิวมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยสารละลายฟิล์มบาง ไคโตซานร่วมกับการเก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 13 °C เป็น เวลา 14 วันต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยว ของผลมะม่วงน้ำดอกไม้	45
7	สรุปผลการทดลอง	67
8	เอกสารอ้างอิง	68
9	ผลผลิตที่ได้ในปีที่ 1 และปีที่ 2	76
10	ภาคผนวก	77

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 สมบัติของไคโตซานแต่ละชนิด	22
2 สมบัติของมอนอโซเดียมกลูตาเมต	23
3 สมบัติของ Tween 80 <sup>®</sup>	23
4 ความสามารถในการละลายไคโตซานทั้ง 3 ชนิดในกรดแอสซิดิกความเข้มข้นต่างๆ	24
5 ความหนืดของสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% ที่ละลายในกรดแอสซิดิกที่ความเข้มข้นต่างๆ	24
6 ผลของสารลดแรงตึงผิว (Tween 80 <sup>®</sup> ) ต่อลักษณะฟิล์มไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ	26
7 ผลของ Tween 80 <sup>®</sup> ต่อความหนืดของสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ละลายในกรดแอสซิดิกที่ความเข้มข้น 0.5%	27
8 ผลของโมโนโซเดียมกลูตาเมตต่อความหนืดของสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ละลายในกรดแอสซิดิกที่ความเข้มข้น 0.5% (โดยปริมาตร) และมีส่วนผสมของ Tween 80 <sup>®</sup> เท่ากับ 0.1% (น้ำหนักต่อปริมาตร)	28
9 ผลของโมโนโซเดียมกลูตาเมตต่อลักษณะฟิล์มไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ	29



สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
1 กระบวนการถ่ายทอดสัญญาณ (signaling pathway) ของเอทิลีน แสดง autocatalytic process และการทำงานของยีนที่ตอบสนองต่อเอทิลีน	7
2 กระบวนการกำจัดอนุมูลอิสระ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ในวัฏจักร ascorbate-glutathione (Locato et al., 2013)	9
3 กระบวนการผลิตไคโตซานจากไคติน (Long, 2013)	10
4 ลักษณะฟิล์มบางไคโตซานชนิดต่างๆ ที่มีส่วนผสมของ Tween 80® เท่ากับ 0.1% ที่กำจัดฟองออกจากสูตรตำรับไคโตซานด้วยการตั้งทิ้งไว้ข้ามคืน	27
5 ไคโตซานฟิล์ม: (ก) ไคโตซานฟิล์มที่ไม่มีโมโนโซเดียมกลูตาเมต; (ข) ไคโตซานฟิล์มที่มีส่วนผสมของโมโนโซเดียมกลูตาเมต	30
6 การเก็บรักษามะม่วงที่เคลือบผิวด้วยไคโตซานสูตรตำรับต่างๆ ที่อุณหภูมิ 25°C: (ก) มะม่วงที่เคลือบผิวด้วยไคโตซาน ณ วันที่ 0 (ข) มะม่วงที่เคลือบผิวด้วยไคโตซาน ณ วันที่ 10 (ค) มะม่วงที่เคลือบผิวด้วยไคโตซานที่มีส่วนผสมของโมโนโซเดียมกลูตาเมต ณ วันที่ 0 (ง) มะม่วงที่เคลือบผิวด้วยไคโตซานที่มีส่วนผสมของโมโนโซเดียมกลูตาเมต ณ วันที่ 10	30
7 การเปลี่ยนแปลงความหนืดของสารละลายไคโตซาน	31
8 ความหนาของฟิล์มบางไคโตซาน	32
9 ความหยาบของฟิล์มบางไคโตซาน	33
10 แบบจำลองผลของความหนาของฟิล์มไคโตซานบนผิวของมะม่วงน้ำดอกไม้ต่อการเปลี่ยนแปลงอัตราการหายใจ การคายน้ำ การผลิตเอทิลีน และการสุกโดยรวมของผลมะม่วงน้ำดอกไม้	35
11 การสูญเสียน้ำหนักสดของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C ใน วันที่ 12 และ 15	36
12 การสูญเสียความแน่นเนื้อของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 12 และ 15	37
13 การเปลี่ยนแปลงความสว่างของเปลือกผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 12 และ 15	38
14 การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก (Hue angle) ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 12 และ 15	39
15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำของเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 12 และ 15	40

รูปที่	หน้า
16 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 12 และ 15	42
17 การเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 12 และ 15	43
18 ร้อยละของการเกิดโรคของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 12 และ 15	44
19 การสูญเสียน้ำหนักสดของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 14, 17, 20 และ 23	46
20 การสูญเสียความแน่นเนื้อของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23	47
21 การความสว่างเปลือกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23	48
22 การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23	49
23 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23	51
24 ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของเนื้อผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23	52
25 อัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23	53
26 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23	54
27 การร่วงไหลของไอออนของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13°C ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษา	56
28 อัตราการหายใจของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23	57
29 อัตราการผลิตเอทิลีนของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23	59
30 อัตราการผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23	60
31 การทำงานของเอนไซม์ catalase ของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23	62
32 การทำงานของเอนไซม์ ascorbate peroxidase ของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23	63
33 การทำงานของเอนไซม์ guaiacol peroxidase ของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23	65

## 1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา พบว่าความต้องการบริโภคผลไม้ไทยในตลาดต่างประเทศมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ดังจะเห็นได้จากปริมาณการส่งออกผลไม้ของไทยในปี พ.ศ. 2553 มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นจากปี พ.ศ.2543 ประมาณ 13,600,000 ตัน ด้วยเหตุนี้ รัฐบาลจึงมีนโยบายส่งเสริมให้เกษตรกรเร่งทำการเพาะปลูกผลไม้ที่มีศักยภาพในการส่งออกสูง เพื่อตอบสนองความต้องการของตลาดต่างประเทศ โดยเฉพาะมะม่วง

มะม่วง เป็นผลไม้เขตร้อนที่มีพื้นที่การเพาะปลูกมากถึง 1 ใน 4 ของประเทศไทย อีกทั้งยังเป็นผลไม้ที่มีศักยภาพในการส่งออกสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง “มะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้” ซึ่งนิยมนำผลสุกมาบริโภคและยังได้รับความนิยมในตลาดต่างประเทศทั้งเอเชียและยุโรป ได้แก่ มาเลเซีย สิงคโปร์ ญี่ปุ่น ฮองกง ไต้หวัน อังกฤษ และแคนาดา เป็นต้น จากข้อมูลสถิติของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พบว่าในปี พ.ศ. 2543 - 2553 ประเทศไทยมีการส่งออกมะม่วงไปยังตลาดต่างประเทศเป็นปริมาณ 8,754,625 - 22,369,083 ตัน หรือคิดเป็นมูลค่าการส่งออกประมาณ 164,880,175 - 505,200,842 บาท

อย่างไรก็ตามอัตราการขยายตัวในการส่งออกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ไปยังตลาดต่างประเทศยังอยู่ในระดับที่ไม่สูงมากนัก ทั้งนี้เนื่องจากสมบัติบางประการของมะม่วง ซึ่งถือเป็นผลไม้ในเขตร้อนชนิดบ่มสุก (Climacteric fruit) โดยลักษณะที่สำคัญของผลไม้ประเภทนี้คือ จะมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและทางชีวเคมีภายหลังจากการเก็บเกี่ยวค่อนข้างสูง เช่น มีอัตราการหายใจและการผลิตก๊าซเอทิลีนเพิ่มสูงขึ้น อีกทั้งมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มีเปลือกที่บางกว่ามะม่วงสายพันธุ์อื่นๆ ทำให้ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ซึ่งวางระหว่างกระบวนการเก็บเกี่ยวหรือการขนส่ง การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำยังเป็นสาเหตุที่ทำให้ผลมะม่วงน้ำดอกไม้เกิดความเสียหายขึ้นจากภาวะที่เรียกว่า การสะท้านหนาว (chilling injury) นอกจากนี้อาการจุดสีน้ำตาล (browning) และการเกิดโรคแอนแทรคโนสของผลมะม่วงน้ำดอกไม้จากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บังคับเหล่านี้ทำให้คุณภาพของผลมะม่วงน้ำดอกไม้เสื่อมถอยลง และเป็นสาเหตุหนึ่งที่กำลังกีดขวางการขยายตัวของอัตราการส่งออกมะม่วงของประเทศไทยในปัจจุบัน ด้วยเหตุนี้จึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการนำเทคโนโลยีเข้ามาปรับปรุงขั้นตอนหรือกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษาของผลมะม่วงน้ำดอกไม้เพื่อชะลอกระบวนการสุก การต้านทานต่อเชื้อโรค การลดความเสียหายที่เกิดขึ้นจากภาวะสะท้านหนาว ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรและผู้ประกอบการในแง่ของการลดปริมาณการสูญเสียของผลมะม่วงน้ำดอกไม้และช่วยยืดระยะเวลาในการวางจำหน่ายให้ยาวนานยิ่งขึ้น

การจัดการหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่นิยมใช้ในปัจจุบัน คือ การเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำหรือการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำร่วมกับการดัดแปรบรรยากาศ (Modified Atmosphere, MA) โดยวิธีการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำจะไม่สามารถเก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้ไว้ได้นานเท่ากับวิธีการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำร่วมกับการดัดแปรบรรยากาศ การดัดแปรบรรยากาศเป็นวิธีการที่ใช้ลดอัตรา

การหายใจของผลมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองให้มากที่สุดเพื่อช่วยในการชะลอกระบวนการสุก โดยการลดปริมาณก๊าซออกซิเจนให้ต่ำลงและเพิ่มปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้สูงขึ้นในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายและความเสียหายต่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในช่วงการเก็บรักษา นอกจากนี้การตัดแปรบรรยากาศยังช่วยชะลอการเสื่อมสภาพของผลมะม่วงน้ำดอกไม้อันเกิดจากอิทธิพลของก๊าซเอทิลีนที่ถูกผลิตขึ้นมาในระหว่างกระบวนการสุกอีกด้วย การใช้สารเคลือบผิวหรือแว็กซ์ (wax) ซึ่งมีจำหน่ายเชิงพาณิชย์หลายชนิด สารเคลือบผิวเหล่านี้มีคุณสมบัติพิเศษในการช่วยลดการคายน้ำและลดการผ่านเข้าออกของก๊าซ ทั้งยังช่วยลดความเสียหายจากการสะท้านหนาว ลดการเกิดจุดสีน้ำตาลและการเกิดโรคแอนแทรคโนส ประโยชน์ทางอ้อมจากการใช้สารเคลือบผิวคือการเพิ่มความเงางามแก่ผลไม้ทำให้ผลไม้น่ารับประทาน เป็นที่ดึงดูดใจต่อผู้บริโภค

อย่างไรก็ตามสารเคลือบผิวผลไม้นี้ขอยกมาใช้ในการปัจจุบัน มักเป็นสารเคมีที่สังเคราะห์ขึ้น มีราคาแพงและส่วนใหญ่นำเข้าจากต่างประเทศ นอกจากนี้ประสิทธิภาพของสารเคลือบผิวในการยืดอายุการเก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้ยังไม่เป็นที่น่าพึงพอใจและสารเคมีที่เป็นส่วนประกอบของสารเคลือบผิวอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ดังนั้นการผลิตสารเคลือบผิวมะม่วงน้ำดอกไม้ในรูปแบบของฟิล์มบางระดับนาโนจากวัสดุชีวภาพจึงเป็นการช่วยลดการนำเข้าสารเคลือบผิวจากต่างประเทศ ซึ่งจะเป็นการช่วยลดต้นทุนในการส่งออกมะม่วง ทำให้เกษตรกรและผู้ประกอบการมีรายได้เพิ่มมากขึ้น อีกทั้งยังเป็นการลดความเสี่ยงจากสารเคลือบผิวเคมีซึ่งอาจเป็นพิษต่อผู้บริโภคได้อีกด้วย

ดังนั้นโครงการนี้ (2 ปี) จึงมุ่งเน้นการพัฒนาสูตรตำรับฟิล์มบางเคลือบผิวระดับนาโนจากวัสดุชีวภาพให้มีความสามารถในการยืดอายุการเก็บรักษามะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ พร้อมทั้งหาสภาวะและวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการเคลือบผิวของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ และศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสรีรวิทยาที่สำคัญของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ที่ผ่านการเคลือบผิวและผ่านการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ 13 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษากลไกทางสรีรวิทยาที่มีบทบาทในการช่วยยืดอายุการเก็บรักษามะม่วง โดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างคุณลักษณะของฟิล์มบาง อายุการเก็บรักษาและการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการของผลมะม่วง ตลอดจนศึกษาบทบาทของฟิล์มบางในการลดความเสียหายจากอุณหภูมิต่ำระหว่างการเก็บรักษาด้วยการเคลือบผิว ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อทั้งเกษตรกรและผู้ประกอบการส่งออกมะม่วงของประเทศไทยในการเพิ่มขีดความสามารถและศักยภาพในการส่งออกมากยิ่งขึ้น อันเป็นการส่งเสริมและสนับสนุนให้ผลไม้ของไทยเป็นที่นิยมในตลาดการค้าที่กว้างไกลขึ้นและมีคุณภาพเป็นที่ยอมรับตามนโยบายส่งเสริมของรัฐบาล

## 2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย (2ปี)

2.1 เพื่อพัฒนาสูตรตำรับฟิล์มบางนาโนจากวัสดุชีวภาพที่มีสมบัติเหมาะสมในการเคลือบผิวมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ (ปีที่ 1)

2.2 เพื่อศึกษาอายุการเก็บรักษามะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ พร้อมทั้งศึกษากลไกทางสรีรวิทยาที่เกิดขึ้นจากการเคลือบผิวด้วยฟิล์มบาง (ปีที่ 2)

## 3. ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

มะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 (*Mangifera indica* L. cv. 'Nam Dok Mai no.4') เป็นหนึ่งในกลุ่มของผลไม้เศรษฐกิจที่มีปริมาณความต้องการบริโภคและมีแนวโน้มของอัตราการส่งออกไปยังตลาดการค้าต่างประเทศเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องทุกปี (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2553) อย่างไรก็ตามมะม่วงน้ำดอกไม้จัดเป็นผลไม้ชนิดบ่มสุก (climacteric fruit) กล่าวคือ กระบวนการสุกเกิดขึ้นสามารถเกิดขึ้นต่อเนื่องภายหลังจากการเก็บเกี่ยวและมีความไวต่อการเกิดความเสียหายจากการสะท้อนหนาว (chilling injury) เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ (Lederman et al., 1997) ทำให้คุณภาพของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ด้อยลงและไม่เป็นที่ยอมรับของตลาด ดังนั้นวิธีการจัดการภายหลังจากการเก็บเกี่ยวรวมถึงการเตรียมผลผลิตก่อนทำการขนส่งที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพจะช่วยลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้นต่อผลผลิตได้ ทำให้เกษตรกรและผู้ประกอบการส่งออกมะม่วงน้ำดอกไม้สามารถเพิ่มปริมาณการส่งออกให้มากขึ้นพอที่จะตอบสนองต่อความต้องการบริโภคของตลาดในต่างประเทศได้

หนึ่งในปัจจัยที่มีความสำคัญและเป็นปัญหาอย่างมากในการส่งออกผลไม้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลไม้เขตร้อนหรือเขตอบอุ่นซึ่งหมายถึงมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วย คือ การอายุการเก็บรักษาสั้นเนื่องจากภายหลังจากการเก็บเกี่ยวผลมะม่วงน้ำดอกไม้ยังคงมีการหายใจอย่างต่อเนื่อง การยืดอายุการเก็บรักษาทำได้โดยการลดอัตราการแลกเปลี่ยนก๊าซของผลมะม่วงน้ำดอกไม้โดยการควบคุมการแพร่ของก๊าซออกซิเจน, คาร์บอนไดออกไซด์ และเอทิลีน รวมถึงการควบคุมอัตราการคายน้ำ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ เป็นต้น วิธีที่ใช้ในการควบคุมปัจจัยเหล่านี้ คือ การเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำหรือใช้ร่วมกันกับวิธีการควบคุมหรือตัดแปรบรรยากาศ (Lima et al., 2010) ซึ่งเป็นวิธีการทั่วไปและเป็นที่ยอมรับนำมาใช้เป็นอย่างมากในการยืดอายุการเก็บรักษาของมะม่วงในภาคอุตสาหกรรม อย่างไรก็ตามมะม่วงน้ำดอกไม้เป็นผลไม้ที่ไวต่อการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ และทำให้เกิดความเสียหายจากการสะท้อนหนาว โดยเครื่องแสดงหรืออาการที่บ่งชี้ถึงความเสียหายจากภาวะดังกล่าว คือ สีของเปลือกจะเปลี่ยนเป็นสีดำ มีจุดหรือรอยไหม้สีน้ำตาลเหมือนสีดก (scald-like discoloration) และมีรอยนุ่มหรือผลอ่อนนุ่มลง (Lederman et al., 1997) ทำให้วิธีการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำจึงยังมีข้อจำกัดที่ยังคงต้องพึงระวังอยู่ด้วยเช่นกัน

อีกทางเลือกหนึ่งในการเก็บรักษาเพื่อยืดอายุของมะม่วง คือ การเคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวที่ทำหน้าที่เสมือนเยื่อเลือกผ่าน (Semi-permeable barrier) ซึ่งสามารถช่วยในการเก็บรักษาคุณภาพของ

มะม่วงภายหลังการเก็บเกี่ยวได้ และหากสารเคลือบผิวที่สังเคราะห์ขึ้นจากวัสดุธรรมชาติด้วยแล้ว ก็จะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีส่วนช่วยในการลดการทำลายสิ่งแวดล้อมด้วย การเก็บรักษาผลมะม่วงด้วยการเคลือบด้วยสารเคลือบผิวร่วมกับสภาวะดัดแปลงบรรยากาศนั้นจะมีกลไกดักจับก๊าซ

คาร์บอนไดออกไซด์ที่มีอยู่ภายในผลมะม่วงไว้ด้วยขนาดของรูพรุนที่มีความเหมาะสมและทำหน้าที่ลดอัตราการแลกเปลี่ยนและถ่ายเทก๊าซชนิดอื่น เช่น ออกซิเจน หรือ เอทิลีนลงด้วย (Lima et al., 2010) ดังนั้นจึงเป็นการลดการสูญเสียน้ำหนักสดของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในระหว่างการขนส่งและการเก็บรักษา นอกจากนี้ความสามารถในการเป็นสิ่งที่กีดขวางการผ่านเข้าออกก๊าซของสารเคลือบผิวนี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการควบคุมอัตราการหายใจและควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดความเสียหายในผลมะม่วงขึ้นได้ (Hoa and Ducamp, 2008) อีกทั้งการเคลือบผิวผลไม้ด้วยสารเคลือบบางชนิดจะทำให้ผิวของผลไม่มีความมันวาว นำรับประทาน เป็นที่ดึงดูดใจของผู้บริโภคอีกด้วย

อย่างไรก็ตามสารเคลือบผิวผลไม้ที่นิยมนำมาใช้ในปัจจุบันมักเป็นสารเคมีที่สังเคราะห์ขึ้นและมีราคาแพง ทั้งยังต้องนำเข้าจากต่างประเทศเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ประสิทธิภาพในการยืดอายุการเก็บรักษามะม่วงยังไม่เป็นที่น่าพึงพอใจ นอกจากนี้สารเคมีที่เป็นส่วนประกอบของสารเคลือบผิวอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค สารเคลือบผิวจากธรรมชาติจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค การเคลือบผิวของผลไม้ด้วยวัสดุธรรมชาตินั้นได้มีการใช้วัสดุธรรมชาติหลายชนิด เช่น คาร์นูบา เซลแลค เพคติน ไคโตซาน เป็นต้น ก่อให้เกิดผลดีต่อการเก็บรักษาผลไม้หลายประการ อาทิ ช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักสด ชะลอการสุก ลดการเกิดโรคจากจุลินทรีย์ เป็นต้น (Liu et al., 2006)

ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่เตรียมได้จากเปลือกของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง เช่น เปลือกปู แกนปลาหมึก เปลือกกุ้ง เป็นต้น (Long, 2013) ไคโตซานมีสมบัติที่โดดเด่นหลายประการ เช่น สามารถรับประทานได้ (Ramesh et al., 2004) สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ ไม่เป็นพิษและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้น ไคโตซานจึงถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรม การเกษตร เกษตรกรรม และการแพทย์ (Rinaudo, 2006) โดยเฉพาะอย่างยิ่งทางด้านการเกษตร เช่น การเคลือบผิวของผลไม้ด้วยสารละลายไคโตซาน ซึ่งทำได้สะดวก ใช้ต้นทุนไม่สูงนัก และสามารถยืดอายุผลผลิตบนชั้นวางจำหน่ายออกไปได้อีกระยะหนึ่ง ที่ผ่านมามีผู้ที่ได้ทำการทดลองเคลือบผิวของผลไม้หลายชนิด รวมถึงมะม่วงหลายสายพันธุ์ด้วยสารละลายเคลือบผิวที่มีส่วนผสมของไคโตซานชนิดต่างๆ กัน ดังนี้

Win et al. (2007) ได้ทดลองใช้สารละลายไคโตซานที่เติมสารสกัดจากอบเชยเพื่อใช้เคลือบผิวของผลกล้วยหอม สามารถช่วยยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวของผลกล้วยหอมทองได้ยาวนานขึ้น แต่มีผลข้างเคียงทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราของไคโตซานลดลง

Hong et al. (2012) ได้ทำการทดลองเคลือบผลฝรั่งด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ พบว่าสามารถยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวของผลฝรั่งและสามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระหลายชนิดได้

Medeiros et al. (2012) ได้ทดลองเคลือบผิวมะม่วงพันธุ์ 'Tommy Atkins' ด้วยฟิล์มบางนาโนเพคตินสลับกับชั้นฟิล์มบางนาโนไคโตซาน (ความเข้มข้น 0.2%) จำนวน 5 ชั้น พบว่าสามารถเก็บรักษา มะม่วงพันธุ์ดังกล่าวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้เป็นเวลา 45 วันโดยไม่มีอาการสะท้านหนาวเกิดขึ้นกับผลมะม่วง นอกจากนี้ Abbasi et al. (2009) ได้ทดลองเคลือบผิวของผลมะม่วงพันธุ์ 'Summer Bahisht Chuansa' โดยการจุ่มผลมะม่วงในสารละลายที่มีส่วนผสมของไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 51,400 ดาลตัน ความเข้มข้น 1.5% และเก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถเก็บรักษาผลมะม่วงได้เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ในการศึกษาของ Wang et al. (2007) ได้ทดลองเคลือบผิวมะม่วงพันธุ์ 'Tainong' ในสารละลายที่มีส่วนผสมของไคโตซาน 2% และ tea polyphenol 1% โดยใช้ Tween-80® 0.5% เป็นสารลดแรงตึงผิว และทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 วัน พบว่าสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์ดังกล่าวได้ดีกว่าการเคลือบผิวมะม่วงในสารละลายที่มีส่วนผสมของไคโตซานเพียงอย่างเดียว และ Zhu et al. (2008) ได้ทำการทดลองในมะม่วงพันธุ์เดียวกันโดยใช้ไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 80,000 ดาลตัน ในการเตรียมสารละลายเพื่อใช้เคลือบผิวมะม่วงพันธุ์ 'Tainong' ที่ความเข้มข้น 0.5%, 1.0% และ 2.0% ตามลำดับ แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 วัน พบว่าสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2.0% สามารถลดอัตราการหายใจ รักษาความแน่นเนื้อ และชะลอการเปลี่ยนแปลงสีของผลมะม่วงพันธุ์ 'Tainong' ได้ดีที่สุด

นอกจากนี้ไคโตซานยังทำหน้าที่เป็นสาร elicitor ตามธรรมชาติ ทำหน้าที่กระตุ้นกระบวนการป้องกันตัวของพืช โดยไปเพิ่มความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และซูเปอร์ออกไซด์ ในเนื้อเยื่อพืช จากนั้นโมเลกุลดังกล่าวจะทำหน้าที่เป็นสารนำส่งสัญญาณไปกระตุ้นการแสดงออกของยีน ทำให้มีการผลิตเอนไซม์ที่อยู่ในกลุ่ม antioxidant system เช่น superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), ascorbate peroxidase (APX) เป็นต้น (Gonzalez-Aguilar et al., 2010) ที่ผ่านมามีการรายงานการศึกษาผลของการใช้ไคโตซานต่อการเพิ่มการทำงานของเอนไซม์กลุ่ม antioxidant system ในผลไม้หลายชนิด เช่น ฝรั่ง (Hong et al., 2012) สตอเบอร์รี่ (Wang and Gao, 2013) พืช (Ma et al., 2013) องุ่น (Gao et al., 2013) เป็นต้น แต่ยังไม่ปรากฏหลักฐานการศึกษาที่ชัดเจนในมะม่วงน้ำดอกไม้

จากการศึกษาข้างต้นพบว่ามี การเลือกใช้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน Badawy and Rabea (2009) ได้ทดลองใช้ไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ มาเคลือบผลมะเขือเทศ จากการทดลองพบว่าเมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานเพิ่มมากขึ้นทำให้มีปริมาณของ total phenolic compound และการทำงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) สูงขึ้น และยังพบว่ามี การผลิต total protein เพิ่มขึ้น นอกจากนี้สารละลายไคโตซานยังมีความหนืดขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่เลือกใช้ โดยไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะได้สารละลายที่มีความหนืดสูงกว่าไคโตซานชนิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า แต่ความหนืดของสารละลายไคโตซานนั้นไม่คงที่ โดยจะลดลงตลอดเวลาหลังจากที่เตรียมสารละลายเสร็จ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปความหนืดของสารละลายไคโตซานจะค่อยๆ เข้าสู่

ภาวะคงที่ (El-Hefian and Yahaya, 2010) ดังนั้น วิธีการเตรียมสารละลายไคโตซานน่าจะมีผลต่อคุณสมบัติของสารละลายไคโตซานในการยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวของผลไม้ อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับผลของความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานต่อการเก็บรักษามะม่วง ดังนั้นการทดลองในครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษาผลของการเคลือบผิวมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยฟิล์มบางไคโตซานที่มีความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุล 3 ระดับ โดยองค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปต่อยอดเพื่อพัฒนาฟิล์มบางทางการค้าสำหรับใช้เคลือบผิวมะม่วงน้ำดอกไม้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา ซึ่งจะ เป็นประโยชน์ต่อการส่งออกของประเทศเป็นอย่างมาก

#### 4. การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

##### 4.1 มะม่วงน้ำดอกไม้

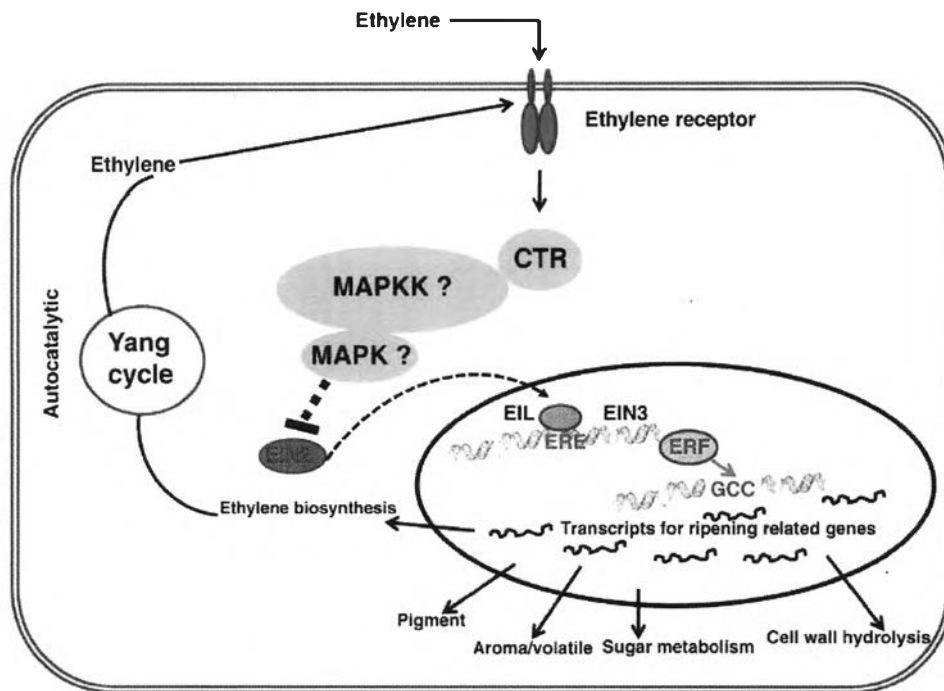
มะม่วงน้ำดอกไม้ (Mangifera indica L. cv. 'Nam Dok Mai') จัดอยู่ในวงศ์ Anacardiaceae เป็นผลไม้ที่เป็นที่นิยมในประเทศไทยและมีความสำคัญในตลาดส่งออก ในปี 2554 ประเทศไทยส่งออกมะม่วงน้ำดอกไม้ร่วมกับมะม่วงพันธุ์อื่นๆ ปริมาณรวม 41,463 ตัน เพิ่มขึ้นจากปี 2553 71.96% มูลค่าการส่งออกปี 2554 รวม 1,026.83 ล้านบาทเพิ่มจากปี 2553 47.72% (Office of Agricultural Economics, 2012) ตลาดการส่งออกมะม่วงน้ำดอกไม้ที่สำคัญที่สุดของประเทศไทยคือประเทศญี่ปุ่นซึ่งมีปริมาณการส่งออกที่เติบโตต่อเนื่องมาตั้งแต่ปี 2544 (Kasetsart University Radio Broadcasting Station, 2011) พันธุ์มะม่วงน้ำดอกไม้ที่ได้รับความนิยมในประเทศไทยคือพันธุ์เบอร์ 4 และพันธุ์สีทอง โดยผลมะม่วงดอกไม้พันธุ์เบอร์ 4 จะมียุสหวานกว่าพันธุ์สีทอง แต่สามารถเกิดโรคแอนแทรกคโนสได้ง่าย ส่วนผลมะม่วงน้ำดอกไม้พันธุ์สีทองจะมีรสเปรี้ยวเล็กน้อยและเกิดโรคแอนแทรกคโนสน้อยกว่า เมื่อสุกแล้วจะมีอายุการเก็บรักษายาวนานกว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้พันธุ์เบอร์ 4 (Wichchachu, 2012)

มะม่วงน้ำดอกไม้เป็นผลไม้ชนิดบ่มสุก หรือ climacteric fruit ซึ่งเป็นผลไม้ที่มีการเพิ่มขึ้นของอัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีนซึ่งเป็นฮอร์โมนพืชที่มีส่วนสำคัญในการเร่งให้เกิดกระบวนการสุกของผลในขณะที่ผลมีการพัฒนาเข้าสู่กระบวนการสุก นอกจากนี้ กระบวนการสุกของ climacteric fruit สามารถพัฒนาต่อไปได้อย่างต่อเนื่องภายหลังจากเก็บเกี่ยว และมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นไปพร้อมๆ กับกระบวนการสุก เช่น การสูญเสียน้ำหนักสด การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกจากสีเขียวเป็นสีเหลือง หรือสีอื่นๆ ขึ้นกับชนิดของผล การเพิ่มขึ้นของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ การลดลงของปริมาณกรด การเปลี่ยนแปลงปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) นอกจากนี้ยังมีการเปลี่ยนแปลงการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการกำจัดอนุมูลอิสระ เป็นต้น (Mattoo and Modi, 1969) การเปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยวทำให้ผลมะม่วงน้ำดอกไม้สูญเสียคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวอย่างรวดเร็ว การยืดอายุการเก็บรักษาและการรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงโดยทั่วไปทำได้หลายวิธี เช่น การฉายรังสี การจุ่มน้ำร้อน การอบไอน้ำเพื่อฆ่าเชื้อโรค การเคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซาน เป็นต้น (Bautista-Baños et al., 2006)



#### 4.2 บทบาทของเอทิลีนใน climacteric fruit

climacteric fruit เช่น กล้วย มะม่วง มะละกอ ตะมุค แอปเปิล ฯลฯ เป็นผลไม้ที่มีรูปแบบการหายใจที่เป็นเอกลักษณ์ คือ มีอัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีนเพิ่มสูงขึ้นขณะเข้าสู่กระบวนการสุก (Giovannoni, 2001) ซึ่งแตกต่างจากผลไม้ชนิด non-climacteric fruit เช่น เงาะ ลิ้นจี่ ส้ม แดงโม องุ่น ฯลฯ ที่มีอัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีนลดลงหลังการเก็บเกี่ยว (Chervin et al., 2004)



รูปที่ 1 กระบวนการถ่ายทอดสัญญาณ (signaling pathway) ของเอทิลีน แสดง autocatalytic process และการทำงานของยีนที่ตอบสนองต่อเอทิลีน (Bapat et al., 2010)

กระบวนการผลิตเอทิลีนของ climacteric fruit แบ่งเป็น 2 ขั้นตอนคือ pre-climacteric period เป็นช่วงเวลาที่ผลไม้ผลิตเอทิลีนปริมาณน้อย และ autocatalytic synthesis เกิดขึ้นในช่วงเวลาที่ผลไม้กำลังสุก เอทิลีนที่ผลิตและปลดปล่อยออกมาจากผลจะไปกระตุ้นกระบวนการผลิตเอทิลีนให้มีการผลิตเพิ่มมากขึ้นและทำให้ผลสุกอย่างรวดเร็ว ethylene autocatalytic synthesis เป็นปรากฏการณ์ที่พบได้เฉพาะใน climacteric fruit (Bapat et al., 2010) นอกจากนี้ เอทิลีนมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวของ climacteric fruit พบว่ามียีนหลายชนิดที่ตอบสนองต่อปริมาณเอทิลีน เช่น ยีนที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายของค์ประกอบของผนังเซลล์ ยีนควบคุมการผลิตเอทิลีน ยีนควบคุมการสังเคราะห์และการเปลี่ยนแปลงของเม็ดสี ยีนควบคุม metabolism ของน้ำตาล ยีนควบคุมการสร้างสารหอมระเหย เป็นต้น (Giovannoni, 2004; 2007) (รูปที่ 1) เอทิลีนส่งผลโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผนังเซลล์พืชทำให้ผลไม้สูญเสียความแน่นเนื้อเมื่อผลสุก Hayama et al. (2006) ศึกษาผลพืช stony hard ซึ่งเป็น mutant ที่สามารถสังเคราะห์เอทิลีนได้น้อยกว่าปกติ ทำให้เนื้อผลยังคงแข็งกรอบแม้ว่าผลสุก เมื่อนำผลพืชมาบ่มในบรรยากาศที่มีเอทิลีนสามารถชักนำให้เกิดการสูญเสียความแน่นเนื้อ

ของผลได้เช่นเดียวกับผลพีชปกติ Gaete-Eastman et al. (2009) ได้ทดลองให้เอทิลีนแก่ผล mountain papaya พบว่ามีการแสดงออกของยีนที่ผลิตเอโนไซม์ expansin มากขึ้น ส่งผลให้ผลสูญเสียความแน่นเนื้อมากขึ้น ในขณะที่ชุดการทดลองที่ผล mountain papaya ได้รับสาร 1-methyl-cyclopropane (1-MCP) ซึ่งเป็นสารที่ยับยั้งการทำงานของเอทิลีนร่วมกับการให้เอทิลีนพบว่าผลยังคงรักษาความแน่นเนื้อไว้ได้มากกว่าผล mountain papaya ที่ได้รับเอทิลีนเพียงอย่างเดียว (Sane et al., 2005) ได้ทำการศึกษาการแสดงออกของยีน MiExpA1 ในผลมะม่วงพันธุ์ Dashehari ยีนดังกล่าวทำหน้าที่ควบคุมการสร้างเอโนไซม์  $\alpha$ -expansin ซึ่งเป็นเอโนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสลายผนังเซลล์ พบว่ายีนดังกล่าวตอบสนองต่อปริมาณเอทิลีน โดยมีการแสดงออกของยีนเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อผลมะม่วงได้รับเอทิลีน ดังนั้น การควบคุมปริมาณเอทิลีนให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมจะช่วยยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวและรักษาคุณภาพของผลไม้ได้

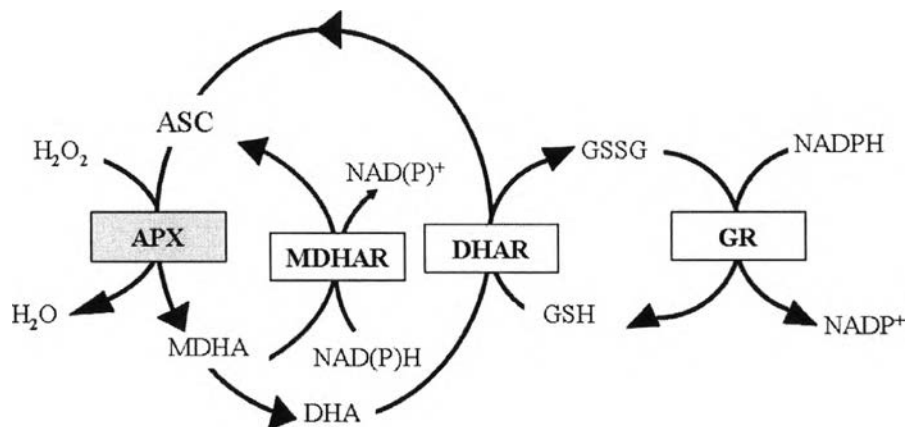
#### 4.3 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกระบวนการต้านอนุมูลอิสระในพีช

$H_2O_2$  เป็นโมเลกุลที่มีความสำคัญต่อเมตาบอลิซึมของพีช  $H_2O_2$  เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของ superoxide anion ( $O_2^{\cdot-}$ ) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรต่ำ โดยทั่วไป  $H_2O_2$  ถูกผลิตขึ้นจาก metabolism ของเซลล์ นอกจากนี้ ในสภาวะที่พีชได้รับความเครียดทั้งทางกายภาพและชีวภาพ พีชจะมีการตอบสนองต่อความเครียดโดยการผลิต  $H_2O_2$  มากกว่าปกติ (Quan et al., 2008)

$H_2O_2$  ปริมาณต่ำในเซลล์พีชทำหน้าที่เป็น signaling molecule สำหรับกระตุ้นกระบวนการตอบสนองของเซลล์หลายกระบวนการ ในทางกลับกัน เมื่อปริมาณ  $H_2O_2$  สูงกว่าปกติจะทำให้เกิด oxidative damage และชักนำไปสู่การตายของเซลล์ (programmed cell death) (Quan et al., 2008) เพื่อเป็นการควบคุมปริมาณของ  $H_2O_2$  ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม พีชจึงมีวิธีการกำจัด  $H_2O_2$  ที่มากเกินไปโดยใช้เอโนไซม์ในระบบ ascorbate-glutathione cycle โดยเอโนไซม์ ascorbate peroxidase (APX) เป็นเอโนไซม์ชนิดแรกในวัฏจักรที่ใช้ ascorbate (ASA) เป็นสารให้อิเล็กตรอนเพื่อเปลี่ยน  $H_2O_2$  เป็น  $H_2O$  เมื่อ ASA ถูกออกซิไดซ์ (เสียอิเล็กตรอน) จะกลายเป็น monodehydroascorbate (MDHA) เอโนไซม์ monodehydroascorbate reductase (MDHAR) จะรีดิวซ์ MDHA กลับไปเป็น ASA (รับอิเล็กตรอน) เพื่อนำไปใช้กำจัด  $H_2O_2$  ต่อไป นอกจากนี้ MDHA ส่วนหนึ่งจะเปลี่ยนเป็น dehydroascorbate (DHA) โดยอัตโนมัติแล้วจะถูกเอโนไซม์ dehydroascorbate reductase (DHAR) รีดิวซ์ DHA กลับไปเป็น ASA ปฏิกริยารีดักชันนี้ใช้อิเล็กตรอนจาก glutathione (GSH) ทำให้ GSH ที่เสียอิเล็กตรอนอยู่ในสภาพ oxidised GSH (GSSG) เอโนไซม์ glutathione reductase (GR) เป็นเอโนไซม์ในขั้นตอนสุดท้ายของวัฏจักร ascorbate-glutathione ทำหน้าที่รีดิวซ์ GSSG เป็น GSH โดยใช้ NADPH เป็นตัวให้อิเล็กตรอน (Inzé and Montagu, 1995; Gill and Tuteja, 2010; Locato et al., 2013) ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นทุกขั้นตอนแสดงดังรูปที่ 2

นอกจากเอโนไซม์ใน ascorbate-glutathione cycle แล้ว ยังมีเอโนไซม์อื่นๆ ที่ทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ เช่น catalase (CAT) และ guaiacol peroxidase (GPX) โดย CAT เป็นเอโนไซม์ที่สามารถกำจัด

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ได้โดยไม่ว่าจำเป็นต้องใช้สารให้อิเล็กตรอน ส่วน GPX ต้องการอิเล็กตรอนจากสาร guaiacol ในการสลาย H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ให้กลายเป็นโมเลกุลน้ำ (Gill and Tuteja, 2010)

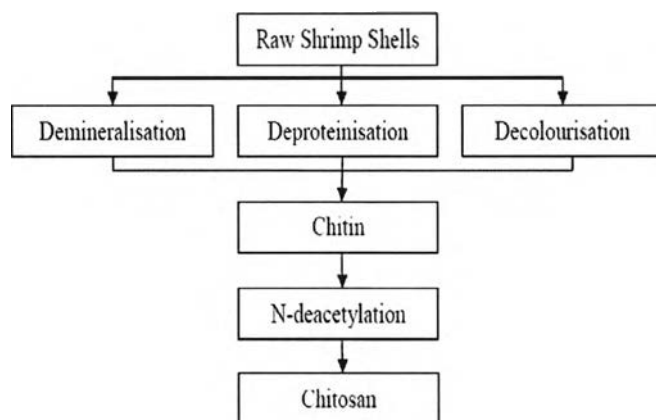


รูปที่ 2 กระบวนการกำจัดอนุมูลอิสระ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ในวัฏจักร ascorbate-glutathione (Locato et al., 2013)

Sarowar et al. (2011) ได้ทดลองเพิ่มระดับการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ APX ในยาสูบโดยใช้ยีนจากพริกหวาน พบว่าเมื่อกิจกรรมของเอนไซม์ APX เพิ่มสูงขึ้นทำให้ยาสูบสามารถทนต่อภาวะ oxidative stress และเชื้อ Oomycete ได้ดีขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะ APX เป็นเอนไซม์ที่มีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> สูง สามารถย่อยสลาย H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ที่ระดับความเข้มข้นต่ำในระดับ  $\mu\text{mol}$  ในขณะที่ CAT และ POD สามารถทำปฏิกิริยาได้ดีที่ความเข้มข้นในระดับ mmol (Gill and Tuteja, 2010)

#### 4.4 ไคโตซาน

ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่เตรียมได้จากเปลือกของปูหรือกุ้งโดยการกำจัดหมู่ acetyl ของไคตินด้วยด่างแล้วเปลี่ยนเป็นไคโตซาน (รูปที่ 3) กระบวนการผลิตไคโตซานและคุณภาพของวัตถุดิบที่หาได้ในท้องถิ่นเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลโดยตรงต่อน้ำหนักโมเลกุลและ degree of deacetylation ของไคโตซาน (Long, 2013) การเตรียมสารละลายไคโตซานสามารถทำได้ง่ายโดยใช้สารละลายกรดอินทรีย์ เช่น กรดแอสติก กรดแลคติก เป็นตัวทำละลาย สารละลายไคโตซานที่เตรียมได้จะมีความหนืดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน เมื่อนำไคโตซานมาเคลือบบนผิววัสดุสามารถเกิดชั้นฟิล์มบางเคลือบบนพื้นผิวของวัสดุได้ (No et al., 2006; Rinaudo, 2006) อย่างไรก็ตาม ความหนืดของสารละลายไคโตซานจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงต้นหลังเตรียมสารละลายเสร็จ แล้วค่อยๆ เข้าสู่สภาวะคงตัวเมื่อเวลาผ่านไปนานมากขึ้น ซึ่งเป็นพฤติกรรมของสารละลายชนิด Non-Newtonian fluid (El-Hefian and Yahaya, 2010) ดังนั้น วิธีการเตรียมสารละลายไคโตซานอาจจะส่งผลต่อคุณสมบัติของไคโตซานที่ได้และมีผลต่อเนื่องถึงคุณภาพและการประยุกต์ใช้ของไคโตซานทางการเกษตรในแง่ต่าง ๆ



รูปที่ 3 กระบวนการผลิตไคโตซานจากไคติน (Long, 2013)

เนื่องจากไคโตซานจัดเป็นสารกระตุ้น (elicitor) ที่ส่งผลโดยตรงต่อกระบวนการป้องกันตัวเองของพืช รวมทั้ง ไคโตซานสามารถรับประทานได้ จากการทดลองในหนูพบว่าเมื่อหนูได้รับอาหารที่ผสมไคโตซานเป็นเวลานานไม่ส่งผลเสียต่อร่างกายของหนูทดลอง (Ramesh et al., 2004) จึงมีการนำไคโตซานในรูปสารละลายมาใช้ในการยืดอายุและรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลไม้หลายชนิด (Bautista-Baños et al., 2006) ทั้งนี้ พอลิเมอร์ของไคโตซานมีหมู่อะมิโนที่คาร์บอนลำดับที่ 2 เมื่อไคโตซานอยู่ในรูปสารละลายจะแสดงลักษณะ polycationic สมบัติดังกล่าวจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและแบคทีเรียได้เป็นอย่างดี (Liu et al., 2006) ที่ผ่านมามีการศึกษาการใช้สารละลายไคโตซานเพื่อลดการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลไม้หลายชนิด เช่น กล้วยพันธุ์ต่างๆ (Kittur et al., 2001; Win et al., 2007; Gol and Rao, 2011) พืช (Ma et al., 2013) มะม่วงพันธุ์ต่างๆ (Wang et al., 2007; Zhu et al., 2008; Abbasi et al., 2009; Medeiros et al., 2012) จากการทดลองของ Jitareerat et al. (2007) ได้นำสารละลายไคโตซานมาเคลือบผิวของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ พบว่าสามารถลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ได้

นอกจากนี้ เมื่อผิวของผลไม้ถูกเคลือบด้วยชั้นฟิล์มบางไคโตซาน จะทำให้อัตราการหายใจและการสูญเสียน้ำของผลไม้ลดลง ซึ่งเป็นผลจากการถูกกระตุ้นให้เกิดกระบวนการป้องกันตัวเองของพืชควบคู่กับลักษณะทางกายภาพของฟิล์มบางบนผิวของผลไม้ที่ทำหน้าที่ลดการเข้าออกของน้ำ (Shiekh et al., 2013)

#### 4.5 บทบาทของไคโตซานต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวของผลไม้

##### 4.5.1 อัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีน

ตามที่ได้กล่าวมาข้างต้น climacteric fruit มีอัตราการหายใจเพิ่มสูงขึ้น และมีการผลิตเอทิลีน ( $C_2H_4$ ) เพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อผลสุก เอทิลีนมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการสุกและการเสื่อมถอยของเซลล์ และกระตุ้นให้มีการเพิ่มอัตราการหายใจระดับเซลล์ (Giovannoni, 2001; Bapat et al., 2010) การให้เอทิลีนจากแหล่งภายนอกแก่ผลไม้สามารถกระตุ้นให้กระบวนการสุกและการเสื่อมถอยของผลไม้

เกิดเร็วขึ้น Kesari et al. (2007) ศึกษาการตอบสนองต่อเอทิลีนจากแหล่งภายนอกกับผลกล้วยหอมพบว่าผลกล้วยหอมมีพัฒนาการสุกเร็วขึ้น มีอัตราการหายใจสูงขึ้น และยังพบว่ายีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการป้องกันตัวและการตอบสนองต่อความเครียดมีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้น Burg and Burg (1961) ทดลองให้เอทิลีนจากแหล่งภายนอกแก่ผลมะม่วงพันธุ์ 'Kent' พบว่าผลมะม่วงพันธุ์ดังกล่าวมีอัตราการหายใจสูงขึ้นและสุกเร็วกว่าปกติ อย่างไรก็ตาม การใช้สารละลายไคโตซานเคลือบผิวของผลไม้ทำให้อัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีนลดลง ส่งผลให้กระบวนการสุกและการเสื่อมถอยของผลเกิดขึ้นช้าลง Win et al. (2007) เคลือบผิวของผลกล้วยหอมด้วยสารละลายไคโตซาน พบว่าอัตราการหายใจและอัตราการผลิตเอทิลีนลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม Ma et al. (2014) ทดลองเคลือบผล aprium ด้วยสารละลายไคโตซานร่วมกับการใช้สาร 1-methylcyclopropene (1-MCP) พบว่าอัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีนในผล aprium ลดลงเช่นกัน Jitareerat et al. (2007) ศึกษาการเคลือบผิวของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.5% และ 1.0% พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานเพิ่มขึ้นทำให้อัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีนลดลง

#### 4.5.2 การสูญเสียน้ำหนักสด การสูญเสียความแน่นเนื้อ และการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ

เนื่องจาก climacteric fruit เช่น มะม่วงที่เก็บเกี่ยวมาแล้วยังคงมีกิจกรรมของเซลล์ค่อนข้างสูง จึงต้องมีการนำแหล่งพลังงานสะสมของผลที่อยู่ในรูปคาร์โบไฮเดรตมาใช้สำหรับกิจกรรมต่างๆ ภายในเซลล์ โดยใช้กระบวนการสลายแป้งให้ได้น้ำตาลกลูโคสเพื่อนำเข้าสู่กระบวนการหายใจระดับเซลล์ (Campbell et al., 2009) กอปรกับการคายน้ำออกจากผลซึ่งเป็นผลที่เกี่ยวข้องเนื่องมาจากกระบวนการหายใจระดับเซลล์ทำให้น้ำหนักสดของผลลดลงอย่างต่อเนื่อง Medeiros et al. (2012) ใช้สารละลายไคโตซานสลับชั้นกับสารละลายเพคตินจำนวน 5 ชั้น ในการเคลือบผิวของผลมะม่วงพันธุ์ 'Tommy Atkins' พบว่าการเคลือบผลมะม่วงโดยสารละลายไคโตซานสลับชั้นกับสารละลายเพคตินสามารถลดการสูญเสีย น้ำหนักสดของผลมะม่วงพันธุ์ดังกล่าวได้ การสลายตัวของแป้งซึ่งเป็นของแข็งที่ไม่ละลายน้ำไปเป็นน้ำตาลที่สามารถละลายน้ำได้ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำหรือ total soluble solids (TSS) ซึ่งเป็นค่าที่สามารถใช้บ่งชี้ถึงปริมาณน้ำตาลในผลมะม่วง นอกจากนี้การเพิ่มระดับการทำงานของ cell wall loosening enzymes ทำให้ผลมะม่วงสูญเสียความแน่นเนื้อเมื่อผลสุกมากขึ้น การใช้สารละลายไคโตซานเคลือบผิวของผลมะม่วงพันธุ์ 'Ataulfo' โดย Salvador-Figueroa et al. (2011) พบว่าการทำงานของเอนไซม์ pectin methylesterase (PME) ลดลงในผลมะม่วงที่เคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซาน ทำให้ผลมะม่วงยังคงรักษาความแน่นเนื้อไว้ได้ การศึกษาของ Abbasi et al. (2009) รายงานว่าผลมะม่วงพันธุ์ 'Summer Bahisht Chaunsa' ที่เคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซาน มีการสูญเสียน้ำหนักสดน้อยกว่าและมีปริมาณ TSS น้อยกว่าผลมะม่วงในชุดควบคุม นอกจากนี้ยังสามารถรักษาความแน่นเนื้อได้มากกว่าผลมะม่วงที่ไม่ได้เคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซาน การทดลองของ Zhu et al. (2008) ทดสอบการเคลือบผิวของสารละลายไคโตซานในผลมะม่วงพันธุ์ 'Tainong' พบว่า

การเคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซานสามารถชะลอการสูญเสียความแน่นเนื้อของผลมะม่วง และมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำต่ำกว่าผลมะม่วงในชุดควบคุม ในการทดลองเดียวกัน เมื่อพิจารณา TSS ควบคู่กับอัตราการหายใจของผลโดยการวัดอัตราการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์  $CO_2$  พบว่าผลมะม่วงที่เคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซานมีอัตราการหายใจต่ำกว่าผลมะม่วงที่ไม่ได้เคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซาน จึงสามารถสรุปได้ว่าไคโตซานสามารถลดอัตราการหายใจของผลมะม่วงได้ เมื่ออัตราการหายใจลดลงทำให้การคายน้ำลดลง แป้งซึ่งเป็นแหล่งพลังงานสะสมในผลถูกนำมาสลายเป็นกลูโคสในปริมาณน้อย ทำให้การสูญเสียน้ำหนักสดของผลโดยรวมลดลง

#### 4.5.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดและอัตราส่วนของแข็งที่ละลายน้ำต่อปริมาณกรด

การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดที่ไทเทรตได้หรือ titratable acidity (TA) สามารถใช้พิจารณา ร่วมกับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ หรือ total soluble solids (TSS) เพื่อบ่งชี้ถึงระดับความสุกและความหวานของผลไม้ได้ โดยนิยามรายงานอัตราส่วน TSS ต่อ TA (TSS/TA ratio) เพื่อเป็นดัชนีบ่งชี้ความสุกและความหวานของผล เมื่อผลไม้ยังไม่สุก TSS/TA ratio จะมีค่าน้อยเพราะมีปริมาณกรดมากแต่ปริมาณน้ำตาลน้อย เมื่อผลสุก TSS/TA ratio จะมีค่าสูงขึ้นเพราะมีปริมาณน้ำตาลมากขึ้นและปริมาณกรดลดลง (Beckles, 2012) การศึกษาของ Morga et al. (1978) ได้รายงานการเปลี่ยนแปลง TSS และ TA ในผลมะม่วงพันธุ์ 'Carabao' พบว่าโดยทั่วไปเมื่อผลมะม่วงสุกมากขึ้น ปริมาณกรดในผลจะลดลง กอปรกับการสลายตัวของแป้งเป็นน้ำตาลมากขึ้นทำให้ผลมีรสหวานมากขึ้น การใช้สารละลายไคโตซานเคลือบผลมะม่วงทำให้การสุกของผลช้าลง ส่งผลให้ TSS/TA ratio เพิ่มขึ้นช้ากว่าชุดควบคุม Wang et al. (2007) ทดลองใช้สารละลายไคโตซานกับผลมะม่วงพันธุ์ 'Tainong' พบว่าสามารถชะลอการสุกของผล ทำให้ TA มีค่ามากและ TSS มีค่าน้อยกว่าชุดควบคุม การใช้สารละลายไคโตซานยังให้ผลการทดลองที่คล้ายคลึงกันในการศึกษาผลมะม่วงพันธุ์ 'Summer Bahisht Chaunsa' โดยไคโตซานช่วยชะลอการสลายตัวของกรด และลดการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาลในผลมะม่วงพันธุ์ดังกล่าวเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (Abbasi et al., 2009)

#### 4.5.4 การเปลี่ยนแปลงสีผล

การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกเป็นผลสืบเนื่องมาจากการสุกของผลไม้ climacteric โดยทั่วไปผลไม้จะเปลี่ยนสีเปลือกอย่างชัดเจนในช่วง autocatalytic synthesis ของเอทิลีน การศึกษาโดยใช้มะเขือเทศเป็นพืชต้นแบบทำให้ทราบว่า การเปลี่ยนแปลงปริมาณรงควัตถุชนิดต่างๆ ในระหว่างผลไม้สุกนั้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณการผลิตเอทิลีนในผลมะเขือเทศ (Giovannoni, 2001) การเคลือบผลไม้ด้วยสารละลายไคโตซานสามารถชะลอกระบวนการสุกของผลไม้ โดยทำให้อัตราการผลิตเอทิลีนลดลงและการเปลี่ยนแปลงสีเปลือกผลเกิดขึ้นช้าลงตามลำดับ (Gol and Rao, 2011) อย่างไรก็ตาม การศึกษาของ Ali et al. (2011) พบว่าการเคลือบผลมะละกอด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้นสูง ๆ ไปขัดขวางการเปลี่ยนสีผลของมะละกอ

#### 4.5.5 $H_2O_2$ และการทำงานของเอนไซม์กำจัดอนุมูลอิสระ

ไคโตซานสามารถกระตุ้นระบบป้องกันตัวเองในผลไม้ได้ โดยการเพิ่มปริมาณ  $H_2O_2$  และการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระ ทำให้ผลไม้เกิดภาวะเสื่อมถอยช้าลง (Gonzalez-Aguilar, 2010) (Gonzalez-Aguilar et al., 2010) มีการทดลองเคลือบสารละลายไคโตซานบนผิวของผลไม้หลายชนิด เช่น ฝรั่ง (Hong et al., 2012) พีช (Ma et al., 2013), สตรอเบอร์รี่ (Wang and Gao, 2013) องุ่น (Gao et al., 2013) พบว่าผลไม้มีการตอบสนองต่อไคโตซานโดยการเพิ่มปริมาณ  $H_2O_2$  และการเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดไปในทิศทางเดียวกัน การศึกษาของ Ma et al. (2013) พบว่าผลพีชที่เคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซานมีการทำงานของเอนไซม์ catalase และ peroxidase มากขึ้น การทดลองเคลือบผลสตรอเบอร์รี่ด้วยสารละลายไคโตซานของ Wang and Gao (2013) ยังพบว่าสารละลายเคลือบผิวไคโตซานกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ catalase ascorbate peroxidase glutathione peroxidase และ guaiacol peroxidase ทำให้ผลสตรอเบอร์รี่รักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวได้ดีกว่าผลสตรอเบอร์รี่ในชุดควบคุม นอกจากนี้ ผลพริกหวานที่เคลือบด้วยสารละลายไคโตซานมีการทำงานของเอนไซม์ superoxide dismutase peroxidase และ catalase เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเก็บรักษาผลพริกหวานที่อุณหภูมิ 8 °C เป็นเวลา 35 วัน (Xing et al., 2011) จากการศึกษาข้างต้นพบว่าไคโตซานสามารถเพิ่มระดับการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด อย่างไรก็ตาม การใช้สารละลายไคโตซานกับผลไม้บางชนิดไม่ได้เพิ่มการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระทุกชนิด การศึกษาการใช้สารละลายไคโตซานกับผลฝรั่งของ Hong et al. (2012) พบว่าผลไม้ฝรั่งที่ได้รับไคโตซานมีปริมาณ  $H_2O_2$  เพิ่มขึ้น การทำงานของเอนไซม์ peroxidase เพิ่มขึ้น ในขณะที่การทำงานของเอนไซม์ catalase และ superoxide dismutase ลดลง

#### 4.5.6 การเกิดอาการสะท้านหนาวจากเก็บรักษาผลไม้ที่อุณหภูมิต่ำ

การเก็บรักษาผลไม้ไว้ที่อุณหภูมิต่ำช่วยยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวของผลไม้ได้ แต่การเก็บรักษาผลไม้ในที่อุณหภูมิต่ำจนเกินไปจะทำให้เกิดอาการสะท้านหนาวหรือ chilling injury (CI) Marangoni et al. (1996) รายงานว่า เมื่อพีชยังอยู่ในที่อุณหภูมิต่ำ พีชจะยังไม่แสดงอาการสะท้านหนาว พีชจะแสดงอาการ CI ก็ต่อเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจนถึงช่วงอุณหภูมิที่ไม่ทำให้เกิดอาการสะท้านหนาวโดยพบว่าเมื่อพีชถูกย้ายมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงขึ้น รอยขีดที่เกิดจากการเกิดอาการสะท้านหนาวจะเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาผ่านไป โดยสามารถติดตามการเกิดอาการสะท้านหนาวที่มีความสัมพันธ์กับการรั่วไหลของไอออน จากการศึกษาพบว่าเมื่อเกิดอาการสะท้านหนาวแล้วกระบวนการจะย้อนกลับไม่ได้ Beckles (2012) Beckles (2012) รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาผลมะเขือเทศพันธุ์ 'Micro Tom' คือ 12.5 °C เมื่อเก็บรักษาผลมะเขือเทศที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 °C ทำให้ผลมะเขือเทศส่วนใหญ่ถูกทำลายจากอาการสะท้านหนาว และพบว่าปริมาณ TSS ในผลมะเขือเทศไม่เปลี่ยนแปลงแม้จะย้ายผลมะเขือเทศมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงขึ้น Thomas and Oke (1983) ทดลองเก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์ 'Alphonso' ในระยะ pre-climacteric ที่อุณหภูมิ 10 °C เป็นเวลา 30 วัน พบรอยขีดที่เนื้อผลอย่างชัดเจน แต่เมื่อค่อยๆ ปรึบลด

อุณหภูมิลง ในวันแรกที่ 20 °C และวันที่ 2 ที่ 15 °C พบว่าอายุการเก็บรักษาของผลมะม่วงที่ 10 °C ยาวนานขึ้น และเกิดรอยช้ำน้อยลง อย่างไรก็ตาม เมื่อปรับอุณหภูมิกลับมาที่ 27-32 °C พบว่าสีเปลือก เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ภายใน 3-4 วัน Medlicott et al. (1990) ได้ทดลองเก็บรักษาผลมะม่วง 3 พันธุ์ ได้แก่ 'Amelie', 'Tommy Atkins' และ 'Keitt' ที่อุณหภูมิ 12 °C เป็นเวลา 21 วัน พบว่าผลดิบสามารถทนความ เย็นได้มากกว่าผลแก่ อย่างไรก็ตาม เมื่อนำผลดิบออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้องพบว่าผลไม่สามารถสุกได้ ในขณะที่ผลแก่เกิดกระบวนการสุกช้าลง และแสดงอาการสะท้อนหนาว Xing et al. (2011) ศึกษาอาการ สะท้อนหนาวของผลพริกหวานที่เคลือบด้วยฟิล์มบางไคโตซาน พบว่ามีการรั่วไหลของไอออนน้อยกว่า ชุดควบคุม นอกจากนี้ Ali et al. (2011) ทดลองเก็บรักษาผลมะละกอที่เคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซานที่อุณหภูมิ 12 °C เป็นเวลา 5 สัปดาห์พบว่าผลมะละกอที่เคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซานมีการ เปลี่ยนแปลงสีเปลือกเป็นปกติ แตกต่างจากผลมะละกอในชุดควบคุมที่การเปลี่ยนแปลงสีผิดปกติ เนื่องจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลานาน Hong et al. (2012) ทำการทดลองเคลือบผลฝรั่งด้วย สารละลายไคโตซานแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 11 °C เป็นเวลา 12 วัน ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลง ปริมาณ malondialdehyde (MDA) ซึ่งเป็นสารที่เกิดจากปฏิกิริยา lipid peroxidation ในกระบวนการ สลายเยื่อหุ้มเซลล์เมื่อผลเกิดอาการสะท้อนหนาว พบว่าผลฝรั่งในชุดควบคุมมีปริมาณ melondialdehyde สูงกว่าผลฝรั่งที่เคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซาน จึงสรุปได้ว่าการใช้สารละลายไคโตซานช่วยลด อาการสะท้อนหนาวในผลฝรั่งได้ อย่างไรก็ตาม Wongmetha and Ke (2012) Wongmetha and Ke (2012) ทดลองใช้ 1-MCP และสารละลายไคโตซานในการเก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์ 'Jinhwang' ที่อุณหภูมิ 10 °C พบว่าไม่สามารถลดการรั่วไหลของไอออนได้เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

#### 4.5.7 การต้านทานโรคหลังการเก็บเกี่ยว

เนื่องจากมอนอเมอร์ของไคโตซานมีหมู่อะมิโนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 เมื่อไคโตซานอยู่ในรูป สารละลายจึงเกิดประจุบวกจำนวนมาก ไคโตซานจึงจัดเป็น polycationic polymer สมบัติการเป็น polycationic polymer ของไคโตซาน ทำให้ไคโตซานสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรคได้ (Hirano and Nagao, 1989) Liu et al. (2006) รายงานว่าสารละลายไคโตซานมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง การเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* นอกจากนี้ ไคโตซานยังมีความสามารถในการยับยั้งการ เจริญเติบโตของเชื้อรา เช่น *Candida albicans*, *Fusarium solani* และ *Aspergillus niger* (Ing et al., 2012) การใช้สารละลายเคลือบผิวไคโตซานในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ยังช่วยลดการเกิดโรคแอนแทรกโนส ซึ่งมี สาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Jitareerat et al., 2007) นอกจากนี้ สมบัติการเป็น สาร elicitor ของไคโตซานสามารถกระตุ้นให้มีการทำงานของเอนไซม์ chitinase และ  $\beta$ -1,3-glucanase ซึ่งพืชใช้ในการต่อต้านการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราได้ (Arlorio et al., 1992; Bautista-Baños et al., 2006)



## 5. ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้จะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 การพัฒนาสูตรตำรับสารเคลือบผิวที่ส่วนผสมของ ไคโตซาน (ปีที่ 1) และ ส่วนที่ 2 การตรวจสอบคุณภาพของมะม่วงหลังเคลือบผิวด้วยสูตรตำรับไคโตซาน ที่พัฒนาขึ้น (ปีที่ 2)

### 5.1 การพัฒนาสูตรตำรับสารเคลือบผิวที่มีส่วนผสมของไคโตซาน (ปีที่ 1)

- 5.1.1 ค้นคว้าข้อมูล เอกสารที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
- 5.1.2 วิเคราะห์สมบัติพื้นฐานของไคโตซานที่นำมาศึกษา ได้แก่ มวลโมเลกุล และ degree of deacetylation (DD) ความชื้น เถ้า และความหนืด
- 5.1.3 พัฒนาสูตรตำรับสารเคลือบผิวที่มีส่วนผสมของไคโตซาน โดยทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ปริมาณกรดแอสซิดิก น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว (tween-80<sup>®</sup>) และมอนอโซเดียมกลูตาเมต
- 5.1.3.1 การศึกษาความสามารถในการละลายของไคโตซานในกรดแอสซิดิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

ชั่งไคโตซาน 1 กรัมใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติม สารละลายกรดแอสซิดิกความเข้มข้น 0.25%, 0.5%, 0.75% และ 1.0% (โดยปริมาตร) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำการเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำสารละลายไคโตซานที่ได้ไปวัดค่าพีเอช (pH) ก่อนนำไปกรองบนกระดาษกรอง GF/C ที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนักกระดาษกรองเริ่มต้นแล้ว จากนั้นนำกระดาษกรองที่มีกากไคโตซานไปอบแห้งที่อุณหภูมิข้างต้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำมาเก็บไว้ในโถเก็บความชื้นเป็นเวลาประมาณ 30 นาทีและนำมาชั่งน้ำหนักแห้งอีกครั้ง (น้ำหนักกระดาษหลังกรอง) ทำการคำนวณความสามารถในการละลายจากสูตรดังนี้

$$\text{ความสามารถในการละลาย} = 100 - \left\{ \frac{\text{น้ำหนักกระดาษหลังกรอง} - \text{น้ำหนักกระดาษเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักไคโตซานเริ่มต้น}} \times 100 \right\}$$

จากนั้นทำการเลือกความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของกรดแอสซิดิกที่สามารถละลาย ไคโตซาน ได้มากกว่า 95% มาทำการเตรียมสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) และทำการวัดความหนืด เปรียบเทียบกับสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นเท่ากัน ใน 1% กรดแอสซิดิก

### 5.1.3.2 การวิเคราะห์ความหนืดของสารละลายไคโตซาน

นำสารละลายไคโตซานที่ต้องการวิเคราะห์ความหนืดมาบ่มไว้ที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 2-3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปใส่ในบีกเกอร์สำหรับใช้วัดความหนืดปริมาตร 200 มิลลิลิตร และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Brookfield Viscometer, model DV-II+ โดยขนาดเข็มที่ใช้ขึ้นกับความหนืดของสารละลายตัวอย่าง

### 5.1.3.3 การศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิว (Tween 80<sup>®</sup>) ต่อสมบัติของไคโตซานฟิล์ม

เตรียมสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยละลายในสารละลายกรดแอสติกที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองข้อ 5.1.3.1 โดยเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองสารละลายไคโตซานด้วยผ้าขาวบางเพื่อกรองสิ่งปนเปื้อนหรือส่วนที่ไม่ละลายออกและทำการเติม Tween 80<sup>®</sup> ลงในสารละลายไคโตซานที่เตรียมไว้ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4% และ 0.5% (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยสารละลายไคโตซานที่ไม่มีการเติม Tween 80<sup>®</sup> เป็นชุดควบคุม จากนั้นทำการกวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กที่ความเร็วประมาณ 960 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที และตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาทีเพื่อให้ฟองอากาศหายไป นำกระจกสไลด์ที่ทำความสะอาดโดยแช่ในแอลกอฮอล์ (absolute) เรียบร้อยแล้ว จุ่มลงในสารละลายไคโตซานดังกล่าวข้างต้น เป็นเวลา 5 นาที และทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำกระจกสไลด์ที่ได้จุ่มลงในสารละลายสีประจุลบ (acid dye) ความเข้มข้น 5% (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นเวลา 10 วินาที และทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำกระจกสไลด์ที่ได้ไปตรวจสอบลักษณะของฟิล์มบางไคโตซานที่เคลือบบนกระจกสไลด์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

กรณีของการวิเคราะห์ด้วย atomic force microscopy (AFM) จะขึ้นรูปฟิล์มบนกระจกสไลด์แต่ไม่มีการย้อมสี

กรณีของการวิเคราะห์ด้วย X-ray diffraction (XRD) และ thermal gravimetric analysis (TGA) จะขึ้นรูปฟิล์มโดยการเทฟิล์มบนถาดพลาสติก (casting film)

### 5.1.4 การศึกษาผลของโมโนโซเดียมกลูตาเมตในสูตรตำรับสารเคลือบต่อสมบัติของไคโตซานฟิล์ม

ทำการเตรียมสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในกรดแอสติกที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองข้อ 5.1.3.1 และเติม Tween 80<sup>®</sup> ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 5.1.3 จากนั้นนำมาเติมสารละลายโมโนโซเดียมกลูตาเมตที่มีความเข้มข้น 10%, 20%, 40% (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยให้อัตราส่วนโดยมวลสุดท้ายระหว่างไคโตซานต่อโมโนโซเดียมกลูตาเมต เท่ากับ 1:1, 1:2 และ 1:4 และสารละลายไคโตซานที่ไม่มีการเติมโมโนโซเดียมกลูตาเมตเป็นชุดควบคุม จากนั้นทำการกวนสารละลายดังกล่าวด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก

ที่ความเร็ว 960 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 30 นาที และตั้งทิ้งไว้ 1 คืนเพื่อให้ฟองอากาศหายไป จากนั้นนำมาวัดความหนืด และขึ้นรูปฟิล์มบนกระจกสไลด์และถาด (casting) เพื่อศึกษาสมบัติของฟิล์มที่ได้

5.1.5 ศึกษาและพัฒนาเทคนิคการเคลือบฟิล์มบางบนผิวมะม่วง

5.1.6 ตรวจสอบสมบัติของฟิล์มบางที่เคลือบบนผิวมะม่วง

## 5.2 การตรวจสอบคุณภาพของมะม่วงหลังเคลือบผิวด้วยสูตรตำรับไคโตซานที่พัฒนาขึ้น (ปีที่ 2)

5.2.1 ศึกษาสมบัติทางกายภาพของสารละลายเคลือบผิวไคโตซาน จากการทดสอบการเคลือบผิวมะม่วงน้ำดอกไม้เบื้องต้น โดยมีการศึกษาประสิทธิภาพในการยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวของไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 65,000 g/mol 370,000 g/mol และ 410,000 g/mol ร่วมกับการศึกษาสมบัติของฟิล์มบางเมื่อมีการเติมสารมอโนโซเดียมกลูตาเมตพบว่าการใช้มอโนโซเดียมกลูตาเมตกระตุ้นให้เกิดโรคแอนแทรกโนสมากขึ้น และผลของการใช้ไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 370,000 g/mol มีความใกล้เคียงกับการใช้ไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 470,000 g/mol จึงได้มีการปรับชนิดของไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลปานกลางเป็น 240,000 g/mol ศึกษาลักษณะทางกายภาพของสารเคลือบผิวดังนี้

### 5.2.1.1 การเตรียมสารละลายไคโตซาน

เตรียมสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.0% โดยมวลต่อปริมาตร โดยละลายไคโตซานในสารละลายกรดแอสซิดิกความเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตร กวนสารละลายต่อเนื่องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารลดแรงตึงผิว Tween-80® ให้ได้ความเข้มข้น 0.1% โดยปริมาตร กวนสารละลายให้เข้ากันเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำสารละลายไคโตซานมากรองด้วยถุงผ้าเพื่อแยกส่วนเจลที่ไม่ละลายออก จากนั้นพักสารละลายเป็นเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อกำจัดฟองอากาศขนาดเล็กที่เกิดขึ้นระหว่างการกวนสารละลายก่อนนำสารละลายไคโตซานไปใช้ สำหรับสารละลายไคโตซานที่เก็บรักษาเป็นเวลา 14 วันนั้นได้มีการเตรียมสารละลายไว้ล่วงหน้า 14 วันก่อนการเตรียมสารละลายแบบสดใหม่

### 5.2.1.2 ความหนืดของสารละลายไคโตซาน

ติดตามการเปลี่ยนแปลงความหนืดของสารละลายไคโตซานโดยวัดความหนืดของสารละลายไคโตซานที่อุณหภูมิ 25°C ในวันที่ 0, 2, 5, 7, 12, 16, 20, 33, 43 และ 62 โดยใช้สารละลายไคโตซานชนิดละ 3 ตัวอย่าง

### 5.2.1.3 ความหนาและลักษณะพื้นผิวของฟิล์มบางไคโตซาน

ศึกษาความหนาและพื้นผิวของฟิล์มบางไคโตซานโดยใช้สารละลายไคโตซานที่เตรียมสดใหม่ จุ่มกระจกสไลด์สะอาดลงในสารละลายไคโตซานเป็นเวลา 1

นาที นำกระจกสไลด์ขึ้นฝั่งให้แห้ง จากนั้นตรวจสอบความหนาและลักษณะพื้นผิวของฟิล์มบางโคโตซานโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ AFM ที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

#### 5.2.2 การศึกษาผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาสารละลายเคลือบผิวโคโตซานต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงน้ำดอกไม้

นำผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ไม่เป็นโรคและมีขนาดใกล้เคียงกันมาล้างด้วยน้ำประปา พักไว้ให้ผลแห้ง แล้วนำมาจุ่มในสารละลายโคโตซานเป็นเวลา 1 นาที นำผลมะม่วงน้ำดอกไม้ขึ้นมาพักไว้จนกระทั่งสารละลายเคลือบผิวแห้งสนิท จากนั้นบรรจุผลมะม่วงน้ำดอกไม้ลงในตะกร้าพลาสติกรองพื้นด้วยกระดาษฟอยตะกร้าละ 3 ผล กำหนดให้ 1 ตะกร้าเป็น 1 ซ้ำ แต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ และมีจำนวนชุดการทดลอง 8 ชุด ดังนี้

- |                           |   |
|---------------------------|---|
| - Control                 | ผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มในน้ำกลั่น   |
| - 0.5% acetic acid        | ผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มในสารละลายกรดแอซิติก ความเข้มข้น 0.5% + 0.1% Tween-80®   |
| - Freshly prepared LM-CTS | ผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มในสารละลายเคลือบผิวที่เตรียมจากโคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 65,000 ดาลตัน ที่เตรียมสดใหม่                     |
| - 14 days stored LM-CTS   | ผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มในสารละลายเคลือบผิวที่เตรียมจากโคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 65,000 ดาลตัน ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน  |
| - Freshly prepared MM-CTS | ผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มในสารละลายเคลือบผิวที่เตรียมจากโคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 240,000 ดาลตัน ที่เตรียมสดใหม่                    |
| - 14 days stored MM-CTS   | ผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มในสารละลายเคลือบผิวที่เตรียมจากโคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 240,000 ดาลตัน ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน |
| - Freshly prepared HM-CTS | ผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มในสารละลายเคลือบผิวที่เตรียมจากโคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 410,000 ดาลตัน ที่เตรียมสดใหม่                    |
| - 14 days stored HM-CTS   | ผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มในสารละลายเคลือบผิวที่เตรียมจากโคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 410,000 ดาลตัน ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน |

เก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 15 วัน ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 12 และ 15 ของการเก็บรักษา ดังนี้

#### 5.2.2.1 การสูญเสียน้ำหนักสด

บันทึกน้ำหนักสดเมื่อเริ่มต้นการทดลอง ติดตามการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสดของผลมะม่วงน้ำดอกไม้แต่ละชุดการทดลองในวันที่ 0, 12 และ 15 รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด

#### 5.2.2.2 ความแน่นเนื้อ

วัดความแน่นเนื้อด้วยเครื่องวัดความแน่นเนื้อผลละ 3 ตำแหน่งที่ส่วนหัว กลาง และท้ายผล จากนั้นนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยเพื่อใช้เป็นค่าตัวแทนของแต่ละผล

#### 5.2.2.3 การเปลี่ยนแปลงสีผล

ใช้เครื่องวัดสีวัดค่าความสว่างของเปลือกผล (ค่า L) และค่าสีผลหรือ hue angle (h) ผลละ 3 ตำแหน่งที่ส่วนหัว กลาง และท้ายผล คำนวณค่าเฉลี่ยของแต่ละตัวแปรเพื่อใช้เป็นค่าตัวแทนของแต่ละผล

#### 5.2.2.4 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ

นำเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้จากส่วนกลางผลน้ำหนัก 10 กรัม เติมน้ำกลั่น 10 มล. แล้วปั่นให้ละเอียด จากนั้นแบ่งน้ำมะม่วงปั่นใส่ Eppendorf tube นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำสารละลายส่วนใสมาวัดค่า TSS ด้วยเครื่อง hand refractometer นำค่า °Brix ที่วัดได้คูณกับค่า dilution factor = 2

#### 5.2.2.5 ปริมาณกรด

นำเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้จากส่วนกลางผลน้ำหนัก 20 กรัม เติมน้ำกลั่น 20 มล. ปั่นให้ละเอียดแล้วนำของผสมทั้งหมดมาไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นของสารละลาย NaOH ที่ใช้ในการไทเทรตขึ้นอยู่กับระดับการสุกของเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้เพื่อให้เกิดความสะดวกรวดเร็วและความแม่นยำในการไทเทรต เนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ยังไม่สุกมีปริมาณกรดสูงจะนำมาไทเทรตกับสารละลาย 0.5% NaOH เนื้อมะม่วงสุกมีปริมาณกรดน้อยจะนำมาไทเทรตกับสารละลาย 0.1% NaOH โดยใช้ phenolphthalein เป็นอินดิเคเตอร์ รายงานปริมาณกรดเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักสด 1 กรัม (ดัดแปลงจาก Amador, 2011)

#### 5.2.2.6 อัตราส่วนของแข็งที่ละลายน้ำต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้

TSS/TA ratio คิดจากการนำค่า TSS ของแต่ละชุดการทดลองหารด้วย TA เพื่อใช้ในการบ่งชี้ระดับความสุกและความหวานของผล โดยเปรียบเทียบกับค่าอัตราส่วนที่คำนวณได้จากชุดควบคุม

### 5.2.2.7 ร้อยละของการเกิดโรค

Disease incidence วัดจากผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุดสีดำบนผลซึ่งเป็นอาการของโรคแอนแทรคโนส กำหนดให้ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่มีขนาดของรอยโรคเกิน 0.5 ซม. เป็นผลที่ติดโรค ชุดการทดลองที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงกว่า 30% จะถูกคัดออกจากการทดลอง

### 5.2.3 การศึกษาผลของการเคลือบผิวมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยสารละลายฟิล์มบางโคโตซาน ร่วมกับการเก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 13 °C เป็นเวลา 14 วันต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงน้ำดอกไม้

นำผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ไม่เป็นโรค และมีขนาดใกล้เคียงกันมาล้างด้วยน้ำประปา พักไว้ให้ผลแห้ง แล้วนำมาจุ่มในสารละลายโคโตซานที่เตรียมสดใหม่เป็นเวลา 1 นาที นำผลมะม่วงน้ำดอกไม้ขึ้นมาพักไว้จนกระทั่งสารละลายเคลือบผิวแห้งสนิท จากนั้นบรรจุผลมะม่วงน้ำดอกไม้ลงในตะกร้าพลาสติกทรงพื้นด้วยกระดาษฟอย ตะกร้าละ 3 ผล กำหนดให้ 1 ตะกร้าเป็น 1 ซ้ำ แต่ละชุดการทดลองมี 4 ซ้ำ และมีจำนวนชุดการทดลอง 5 ชุด ดังนี้

- Control ผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มในน้ำกลั่น
- 0.5% acetic acid ผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มในสารละลายกรดแอสिटิกความเข้มข้น 0.5% + 0.1% Tween-80®
- LM-CTS ผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มในสารละลายเคลือบผิวที่เตรียมจากโคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 65,000 ดาลตัน
- MM-CTS ผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มในสารละลายเคลือบผิวที่เตรียมจากโคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 240,000 ดาลตัน
- HM-CTS ผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มในสารละลายเคลือบผิวที่เตรียมจากโคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 410,000 ดาลตัน

เก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่อุณหภูมิ 13 °C เป็นเวลา 14 วัน จากนั้น นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C และเก็บรักษาต่อไปจนถึงวันที่ 23 ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ดังนี้

#### 5.2.3.1 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสด ความแน่นเนื้อ การเปลี่ยนแปลงสีผล ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ อัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ด้วยวิธีเดียวกันกับการศึกษาในข้อ 5.2.2

### 5.2.3.2 การรื้อไหลของไอออน

นำเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้จากส่วนกลางผลมาตัดเป็นชิ้นด้วยใบมีดโกนให้มีขนาดชิ้นละ 0.3 x 0.3 x 1.5 ซม น้ำหนักรวมประมาณ 0.1 กรัม ใส่ลงในขวดชมพูที่มีน้ำกลั่น 15 มล. ตั้งไว้ให้เกิดการรื้อไหลของไอออนเป็นเวลา 4 ชั่วโมง วัดค่าการนำไฟฟ้าแล้วนำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 psi เป็นเวลา 15 นาที พักสารละลายให้เย็นแล้วนำมาวัดค่าการนำไฟฟ้าอีกครั้ง รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์การรื้อไหลของไอออน (ดัดแปลงจาก Parkin and Kuo, 1989)

### 5.2.3.3 อัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีน

นำผลมะม่วงน้ำดอกไม้บรรจุลงในโหลแก้วปิดสนิท ปริมาตร 2.4 ลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างแก๊ส 10 มล. และนำไปวิเคราะห์ปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และเอทิลีนที่ห้องปฏิบัติการกลาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นำค่าปริมาณแก๊สมาคำนวณเป็นอัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีนต่อน้ำหนักสดของผลมะม่วงน้ำดอกไม้

### 5.2.3.4 ความเข้มข้นของ $H_2O_2$

วัดความเข้มข้นของ  $H_2O_2$  ในเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ โดยนำเนื้อมะม่วงน้ำหนัก 0.1 กรัม โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร จากการเกิดสีของปฏิกิริยาระหว่าง  $H_2O_2$  และ titanium III sulfate (ดัดแปลงจาก Jana and Choudhuri, 1982)

### 5.2.3.5 การทำงานของเอนไซม์ CAT, APX และ GPX

วัดการทำงานของ CAT โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของการหายไปของ  $H_2O_2$  ที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร (ดัดแปลงจาก Beers and Sizer, 1952) วัดการทำงานของ APX โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของการหายไปของ  $H_2O_2$  ที่ 290 นาโนเมตร (ดัดแปลงจาก Nakano and Asada, 1981) และวัดการทำงานของ GPX โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของการเกิด tetraguaiacol ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร (ดัดแปลงจาก Chance and Maehly, 1995 อ้างถึงใน Ghamsari et al. 2007) หากค่า specific activity โดยการคำนวณเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมดในสารสกัดเอนไซม์

## 5.2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ (การทดลองที่ 2) และ 4 ซ้ำ (การทดลองที่ 3) วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลตามแผนการทดลองและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) และ Independent-Sample T Test ในวันที่ 23 ของการทดลอง 3

## 6. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

### 6.1 ผลการทดลองปีที่ 1

#### 6.1.1 จัดเตรียม/จัดหาวัตถุดิบและวิเคราะห์สมบัติของวัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ โคลโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 3 ระดับ, โมโนโซเดียมกลูตาเมต และสารลดแรงตึงผิวโดยโครงการนี้เลือกใช้ Tween 80<sup>®</sup> โดยสมบัติของสารแต่ละตัวแสดงในตารางที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 แสดงสมบัติของโคลโคซาน 3 ชนิดที่สั่งซื้อจากบริษัท A.N. (Laboratory) จำกัด ประเทศไทย โดยโคลโคซานเหล่านี้สกัดจากเปลือกกุ้งที่มีระดับการกำจัดหมู่อยู่ในช่วง 85-92% ความชื้นประมาณ 12.5% และเถ้า ประมาณ 1.6-2.9% โดยแยกตามน้ำหนักโมเลกุล ดังนี้คือ

- โคลโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ หรือ LM-CTS มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 65,000 กรัม/โมล
- โคลโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลปานกลาง หรือ MM-CTS มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ

370,000 กรัม/โมล

- โคลโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง หรือ HM-CTS มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 410,000 กรัม/โมล

นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อน้ำหนักโมเลกุลมากขึ้นส่งผลให้ความหนืดมากขึ้นตามไปด้วย โดยโคลโคซาน LM-CTS มีความหนืด เท่ากับ 7.6 cps. ในขณะที่โคลโคซาน MM-CTS และ HM-CTS มีความหนืด เท่ากับ 26.3 cps และ 38.1 cps ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 สมบัติของโคลโคซานแต่ละชนิด

ชนิดของโคลโคซาน	แหล่งที่มา	น้ำหนักโมเลกุล (g/mol)	ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล (%)	ความชื้น (%)	เถ้า (%)	ความหนืด* (cps)
โคลโคซาน น้ำหนักโมเลกุลต่ำ (LM-CTS)	เปลือกกุ้ง	65,000	89.8 ± 0.5	12.6 ± 0.1	2.1 ± 0.3	7.6 ± 0.4
โคลโคซาน น้ำหนักโมเลกุลปานกลาง (MM-CTS)	เปลือกกุ้ง	370,000	85.4 ± 0.7	12.6 ± 0.1	2.9 ± 0.4	26.3 ± 0.8
โคลโคซาน น้ำหนักโมเลกุลสูง (HM-CTS)	เปลือกกุ้ง	410,000	92.4 ± 0.22	12.4 ± 0.1	1.6 ± 0.1	38.1 ± 0.4

หมายเหตุ: \*ทดสอบที่ความเข้มข้นของโคลโคซานเท่ากับ 1% (w/v) โดยใช้สารละลายกรดแอซิติกความเข้มข้น 1% (v/v) เป็นตัวทำละลาย



ตารางที่ 2 แสดงสมบัติของมอนอโซเดียมกลูตาเมตที่สั่งซื้อจากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศ สวิตเซอร์แลนด์ โดยมอนอโซเดียมกลูตาเมตจะอยู่ในรูปผลึกผงสีขาว และมีน้ำหนักโมเลกุล เท่ากับ 187.13 กรัม/โมล

ตารางที่ 2 สมบัติของมอนอโซเดียมกลูตาเมต

พารามิเตอร์	มอนอโซเดียมกลูตาเมต
สูตรโครงสร้าง	$C_5H_8NNaO_4 \cdot H_2O$
ลักษณะภายนอก	ผลึกผงสีขาว
น้ำหนักโมเลกุล (g/mol)	187.13

ตารางที่ 3 แสดงสมบัติของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ Tween 80<sup>®</sup> หรือ Polyoxyethylene (20) sorbitan monoleate ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม non-ionic surfactant โดยสั่งซื้อจากบริษัท Acros ประเทศสหรัฐอเมริกา

Tween 80<sup>®</sup> มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเหลืองใส มีความหนาแน่น ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อยู่ที่ 1.08 กรัม/ซม<sup>3</sup> มีค่า hydrophilic-lipophilic balance (HLB) อยู่ที่ 15 และน้ำหนักโมเลกุล เท่ากับ 1,310 กรัม/โมล

ตารางที่ 3 สมบัติของ Tween 80<sup>®</sup>

พารามิเตอร์	Tween 80 <sup>®</sup>
สูตรโครงสร้าง	$(C_2H_4O)_{20}(OH)_3(C_{18}H_{33}O_2)_1C_6H_8O$
ลักษณะภายนอก	ของเหลวหนืดสีเหลืองใส
ความหนาแน่น (g/cm <sup>3</sup> ) ที่ 25 <sup>o</sup> C	1.08
Refractive index (n <sub>D</sub> <sup>20</sup> )	1.471-1.473
Hydrophilic-lipophilic balance (HLB)	15
น้ำหนักโมเลกุล (g/mol)	1,310

6.1.2 การศึกษาความสามารถในการละลายของไคโตซานในกรดแอซิดิกที่ความเข้มข้นต่างๆ จากตารางที่ 4 พบว่าความสามารถในการละลายของไคโตซานทั้ง 3 ชนิด ขึ้นกับความเข้มข้นของกรดแอซิดิก ตัวอย่างเช่น ไคโตซานมีความสามารถในการละลายต่ำเมื่อใช้สารละลายกรดแอซิดิกที่ความเข้มข้น 0.25% (โดยปริมาตร) ในขณะที่สามารถละลายได้ดีในกรดแอซิดิกที่มีความเข้มข้นอยู่

ในช่วง 0.5 - 1.0% โดยสามารถละลายได้ถึง 98% นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อความเข้มข้นของกรดเพิ่มขึ้นทำให้ฟิเอชของสารละลายไคโตซานลดลง

ตารางที่ 4 ความสามารถในการละลายไคโตซานทั้ง 3 ชนิดในกรดแอซีติกความเข้มข้นต่างๆ

ชนิดไคโตซาน	ร้อยละการละลายในแต่ละความเข้มข้นของกรดแอซีติก (โดยปริมาตร)							
	0.25%	pH	0.50%	pH	0.75%	pH	1.00%	pH
LM-CTS	66.3 ± 0.9	5.05	98.6 ± 0.4	4.65	99.4 ± 0.6	4.28	98.9 ± 0.1	4.08
MM-CTS	46.8 ± 0.7	5.35	99.1 ± 0.5	4.65	98.9 ± 0.2	4.33	98.7 ± 0.2	4.14
HM-CTS	32.7 ± 0.7	5.01	98.5 ± 0.3	4.76	98.5 ± 0.7	4.28	98.6 ± 0.2	4.20

ตารางที่ 5 แสดงความหนืดของสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ละลายในกรดแอซีติกที่ความเข้มข้น 0.5% และ 1% (โดยปริมาตร) พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดแอซีติกทำให้ความหนืดของไคโตซานทั้ง 3 ชนิดลดลงตามไปด้วย ทั้งนี้เนื่องจากกรดที่ใช้มีความเข้มข้นมากขึ้นทำให้สายโซ่ของไคโตซานถูกตัดมากขึ้นและส่งผลให้ความหนืดลดลง

ดังนั้นเพื่อลดผลกระทบของกรดแอซีติกต่อผิวของมะม่วงหลังการเคลือบด้วยสูตรตำรับไคโตซานที่มีสารละลายกรดแอซีติกเป็นตัวทำละลาย จึงเลือกใช้สารละลายกรดแอซีติกความเข้มข้น 0.5% เป็นตัวทำละลายของไคโตซานในการทดลอง โดยค่าฟิเอชของสารละลายไคโตซานทั้ง 3 ชนิดอยู่ในช่วง 4.65-4.80 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Srinivasa et al. (2007) ได้ทำการละลายไคโตซานในกรดแอซีติก 0.5% เพื่อใช้ผลิตฟิล์มไคโตซาน

ตารางที่ 5 ความหนืดของสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% ที่ละลายในกรดแอซีติกที่ความเข้มข้นต่างๆ

ชนิดของไคโตซาน	ความหนืดของสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% (w/v) (cps)	
	ละลายใน 0.5% กรดแอซีติก	ละลายใน 1% กรดแอซีติก
LM-CTS	7.8 ± 0.1	7.6 ± 0.4
MM-CTS	33.0 ± 0.4	26.3 ± 0.8
HM-CTS	45.6 ± 0.6	38.1 ± 0.4

### 6.1.3 การศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อสมบัติของฟิล์มไคโตซาน

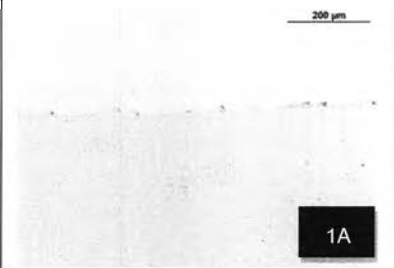
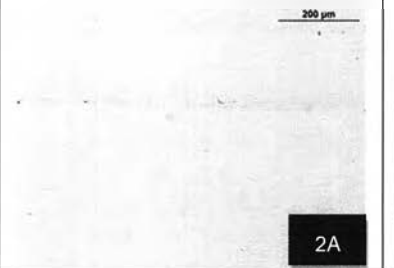
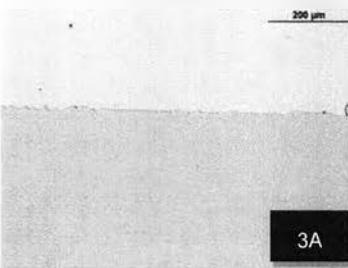
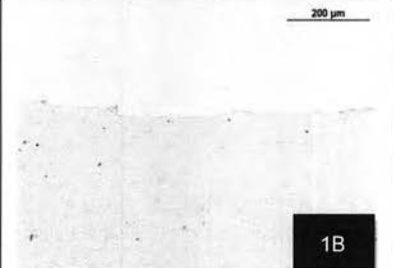
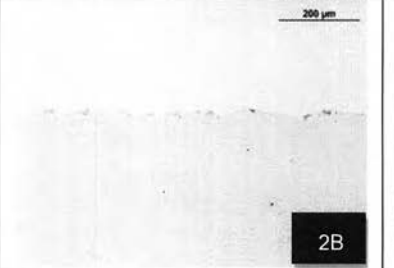
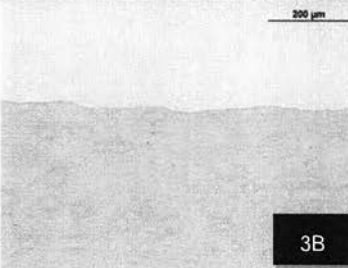
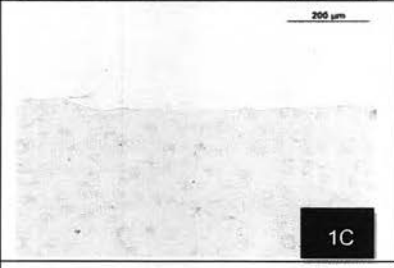
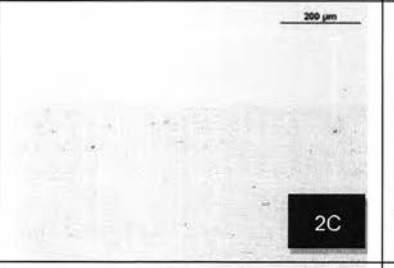
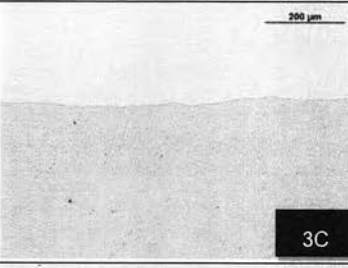
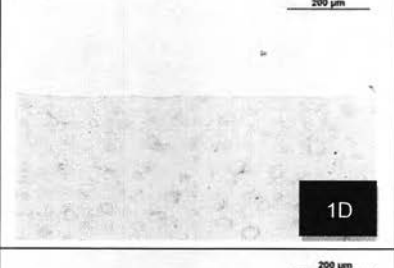
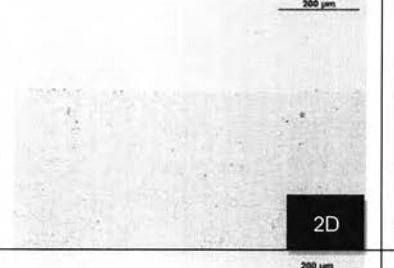
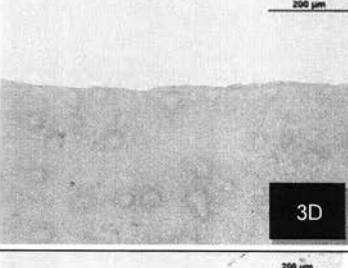
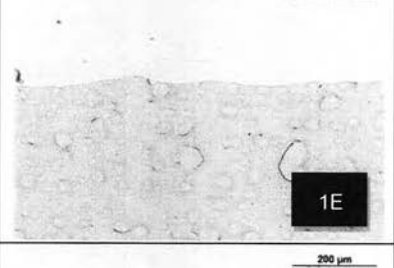

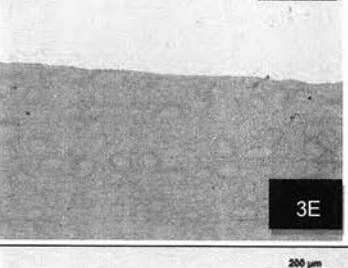
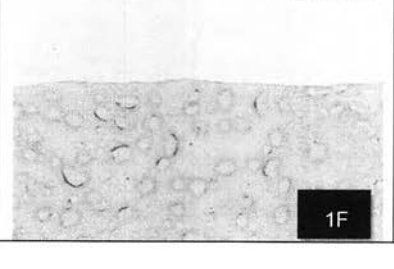
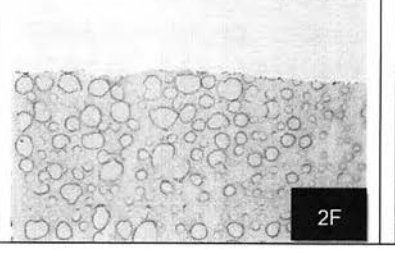
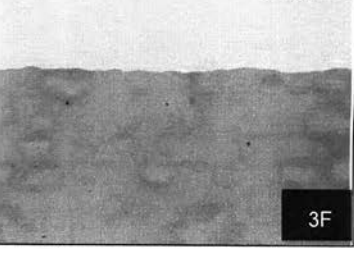
จากการศึกษาเบื้องต้นโดยการเคลือบผิวมะม่วงด้วยสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ละลายในกรดแอสซิดิกที่ความเข้มข้น 0.5% พบว่าฟิล์มที่เคลือบอยู่บนผิวมะม่วงนั้นไม่มีความต่อเนื่อง ดังนั้นเพื่อลดปัญหาดังกล่าวจึงจำเป็นต้องเติมสารเติมแต่งเพื่อให้ฟิล์มมีความต่อเนื่อง อาทิ glycerol, polyethylene glycol (PEG) และ Tween 80<sup>®</sup> เป็นต้น ซึ่งในที่นี้เลือก Tween 80<sup>®</sup> ทั้งนี้เนื่องจากสามารถช่วยให้ฟิล์มมีความต่อเนื่องได้แม้ใช้ในปริมาณที่น้อยเมื่อเทียบกับสารเติมแต่งตัวอื่นๆ นอกจากนี้ Tween 80<sup>®</sup> ยังมีความปลอดภัยและใช้มากในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง

การศึกษาผลของ Tween 80<sup>®</sup> ต่อลักษณะของฟิล์มบางไคโตซานนั้นทำการศึกษาโดยการเคลือบฟิล์มบางไคโตซานบนกระจกสไลด์แทนผิวของมะม่วงและทำการย้อมด้วยสีย้อมประจุลบเพื่อให้ง่ายต่อการสังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 6 - 6 พบว่า กระจกสไลด์มีความชอบน้ำมากกว่าผิวของมะม่วงทำให้สารละลายไคโตซานที่ไม่ได้เติม Tween 80<sup>®</sup> (ชุดควบคุม) สามารถติดบนผิวของสไลด์ได้ (รูปที่ 1A-3A) โดยเฉพาะไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (HM-CTS) และไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลปานกลาง (MM-CTS) จะเห็นฟิล์มบางได้ชัดเจนกว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (LM-CTS) หรืออีกนัยหนึ่งคือฟิล์มที่ได้จากไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่าจะมีความหนากว่าฟิล์มที่ได้จากไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า

เมื่อเติม Tween 80<sup>®</sup> ลงในสารละลายไคโตซานทั้งสามชนิดในปริมาณต่างๆ ทำให้เนื้อฟิล์มไคโตซานทั้ง 3 ชนิดมีสีเข้มมาก ดังแสดงในภาพที่ 1B-3F ในขณะที่ฟิล์มบางไคโตซานที่ไม่ได้เติม Tween 80<sup>®</sup> (ชุดควบคุม) มีสีจางที่สุด (รูปที่ 1A-3A) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไคโตซานฟิล์มเป็นฟิล์มประจุบวกสามารถจับกับสีที่มีประจุลบได้ดีและเมื่อเติม Tween 80<sup>®</sup> จะทำให้จับสีได้ดียิ่งขึ้นทำให้เห็นภาพชัดขึ้น หรืออีกนัยหนึ่งคือ Tween 80<sup>®</sup> สามารถช่วยในการจับกับสารอื่นๆ ที่ต้องการเติมลงไปในสูตรตำรับไคโตซานเพื่อให้มีสมบัติบางประการที่ดีขึ้น อาทิ ยึดอายุการเก็บรักษา ยังยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น นอกจากนี้การเติม Tween 80<sup>®</sup> ยังช่วยให้ไคโตซานฟิล์มสามารถติดบนผิวของมะม่วงได้ดีขึ้นและมีความต่อเนื่องของฟิล์มมากขึ้น (ข้อมูลจากการศึกษาเบื้องต้น) ในขณะที่สารละลายไคโตซานที่ไม่มีส่วนผสมของ Tween 80<sup>®</sup> ไม่สามารถสร้างฟิล์มที่ต่อเนื่องบนผิวของมะม่วงได้ อย่างไรก็ตามการเติม Tween 80<sup>®</sup> ในปริมาณที่มากขึ้นส่งผลให้เกิดฟองอากาศมากขึ้นตามไปด้วย ทำให้ฟิล์มที่ได้ไม่สม่ำเสมอเนื่องจากมีฟองอากาศแทรกอยู่ในเนื้อฟิล์มซึ่งเป็นสิ่งที่ไม่ต้องการ (ภาพที่ 1B-3F)

นอกจากนี้ยังพบว่าสารละลายไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่าจะมีความหนืดมากกว่า ทำให้ฟองอากาศที่เกิดขึ้นเนื่องจากการกวนมีขนาดใหญ่และเสถียรกว่า ทำให้ต้องใช้เวลาในการสลายฟองนานกว่าสารละลายไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ต่ำกว่า

ตารางที่ 6 ผลของสารลดแรงตึงผิว Tween 80<sup>®</sup> ต่อลักษณะฟิล์มไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ

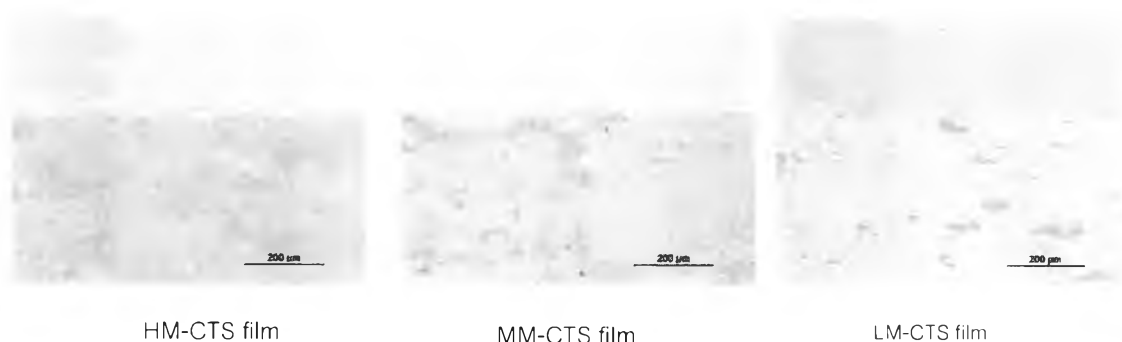
ปริมาณ Tween 80 <sup>®</sup> (%, w/v)	ไคโตซานฟิล์ม		
	LM-CTS	MM-CTS	HM-CTS
0 (control)	 1A	 2A	 3A
0.1	 1B	 2B	 3B
0.2	 1C	 2C	 3C
0.3	 1D	 2D	 3D
0.4	 1E	 2E	 3E
0.5	 1F	 2F	 3F

จากข้อมูลที่ได้ข้างต้น คณะผู้วิจัยจึงทำการเลือกใช้ Tween 80<sup>®</sup> ความเข้มข้น 0.1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในสูตรตำรับและทำการวิเคราะห์ความหนืดเปรียบเทียบกับสูตรตำรับที่ไม่ได้เติม Tween 80<sup>®</sup> พบว่า ความหนืดของสูตรตำรับที่เติมและไม่เติม Tween 80<sup>®</sup> ให้ผลใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 7) ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าการเติม Tween 80<sup>®</sup> ความเข้มข้น 0.1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ไม่มีผลต่อความหนืดของสูตรตำรับ

ตารางที่ 7 ผลของ Tween 80<sup>®</sup> ต่อความหนืดของสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ละลายในกรดแอสซิติคที่ความเข้มข้น 0.5%

ชนิดของไคโตซาน	ความหนืดของสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% (w/v) (cps)	
	ไม่เติม Tween 80 <sup>®</sup>	เติม Tween 80 <sup>®</sup>
LM-CTS	7.6 ± 0.4	8.9 ± 0.6
MM-CTS	26.3 ± 0.8	28.7 ± 0.2
HM-CTS	38.1 ± 0.4	37.9 ± 0.6

Zhong et al. (2011) ทำการกำจัดฟองออกจากสูตรตำรับไคโตซานที่มีส่วนผสมของแป้ง kudzu และกลีเซอรอล โดยใช้ระบบบัพญญากาศ ซึ่งเป็นวิธีที่ทำได้รวดเร็ว แต่ต้นทุนในการกำจัดฟองค่อนข้างสูง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกที่จะกำจัดฟองด้วยการตั้งทิ้งไว้ข้ามคืนเพื่อเป็นการลดต้นทุนในการกำจัดฟองซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Abugoch et al. (2011) โดยลักษณะของฟิล์มบางไคโตซานที่เคลือบบนผิวของกระจกสไลด์นั้นเรียบและไม่สามารถเห็นฟองอากาศภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ดังแสดงในรูปที่ 4



รูปที่ 4 ลักษณะฟิล์มบางไคโตซานชนิดต่างๆ ที่มีส่วนผสมของ Tween 80<sup>®</sup> เท่ากับ 0.1% ที่กำจัดฟองออกจากสูตรตำรับไคโตซานด้วยการตั้งทิ้งไว้ข้ามคืน

ดังนั้นจึงอาจสรุปเบื้องต้นได้ว่าสูตรตำรับไคโตซานที่ใช้ในการเคลือบบนผิวมะม่วงเพื่อให้ได้ฟิล์มที่มีความต่อเนื่องจำเป็นต้องเติม Tween 80® ลงในสารละลายไคโตซาน แต่เพื่อลดปัญหาการเกิดฟองและง่ายต่อการเตรียมสูตรตำรับสารละลายไคโตซานจึงเลือกเติม Tween 80® ที่ความเข้มข้น 0.1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) และกำจัดฟองโดยการตั้งทิ้งไว้ข้ามคืน



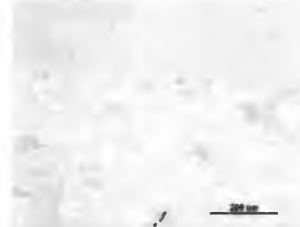



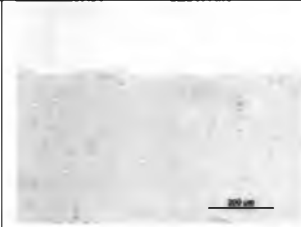



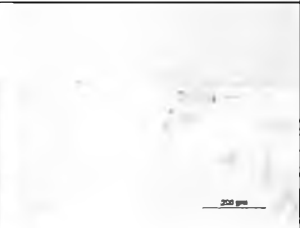
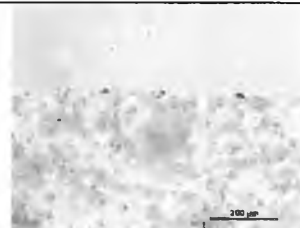
#### 6.1.4 การศึกษาผลของมอนอโซเดียมกลูตาเมตในสูตรตำรับสารเคลือบต่อสมบัติของไคโตซานฟิล์ม

หลังจากการเตรียมสูตรตำรับสารเคลือบผิวที่ประกอบด้วย ไคโตซานเข้มข้น 1% (น้ำหนักโดยปริมาตร) โดยละลายใน 0.5% (โดยปริมาตร) กรดแอสซิดิก และมีสารลดแรงตึงผิว Tween 80® เข้มข้น 0.1% จากนั้นเติมสารละลายมอนอโซเดียมกลูตาเมตลงไปจนมีอัตราส่วนโดยมวลระหว่างไคโตซานต่อมอนอโซเดียมกลูตาเมต เท่ากับ 1:1, 1:2 และ 1:4 และทำการกวนอย่างต่อเนื่องที่ความเร็วรอบ 960 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาทีและตั้งทิ้งไว้ 1 คืนเพื่อกำจัดฟอง จากนั้นนำมาวัดความหนืดแสดงในตารางที่ 8 พบว่า เมื่อมีการเติมมอนอโซเดียมกลูตาเมตลงไป ในสูตรตำรับในมากขึ้นจนถึงอัตราส่วนระหว่างไคโตซานต่อมอนอโซเดียมกลูตาเมตเท่ากับ 1: 2 ส่งผลให้ความหนืดลดลง และคงที่เมื่อเติมมอนอโซเดียมกลูตาเมตลงในสูตรตำรับมากขึ้น และเมื่อนำสารละลายดังกล่าวมาเคลือบบนแผ่นสไลด์และการขึ้นรูปฟิล์มพบว่าเมื่อมอนอโซเดียมกลูตาเมตมากขึ้นจะมีผลึกของมอนอโซเดียมกลูตาเมตกระจายอยู่ทั่วฟิล์มมากขึ้นตามไปด้วย ดังจะเห็นได้จากตารางที่ 9 และเมื่อพิจารณาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (รูปที่ 5) พบว่า เมื่อเติมมอนอโซเดียมกลูตาเมตในสูตรตำรับจะทำให้ฟิล์มไคโตซานมีพื้นผิวขรุขระและมีผลึกของมอนอโซเดียมกลูตาเมตกระจายตัวอยู่ทั่วทั้งฟิล์ม โดยตั้งสมมุติฐานว่าฟิล์มที่มีส่วนผสมของมอนอโซเดียมกลูตาเมตน่าจะสามารถยืดอายุการเก็บรักษามะม่วงได้ดีกว่าไคโตซานเพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 8 ผลของมอนอโซเดียมกลูตาเมตต่อความหนืดของสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ละลายในกรดแอสซิดิกที่ความเข้มข้น 0.5% (โดยปริมาตร) และมีส่วนผสมของ Tween 80® เท่ากับ 0.1% (น้ำหนักต่อปริมาตร)

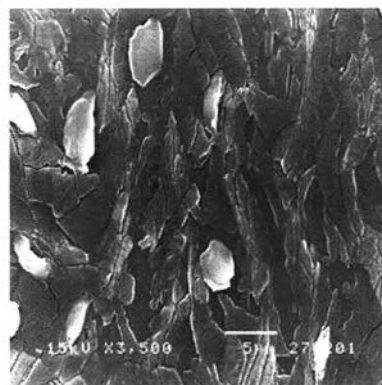
ชนิดของไคโตซาน	ความหนืดของสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% (w/v) (cps)			
	CTS:MSG = 1:0	CTS:MSG = 1:1	CTS:MSG = 1:2	CTS:MSG = 1:4
LM-CTS	8.9 ± 0.6	7.5 ± 0.5	7.0 ± 0.1	7.0 ± 0.2
MM-CTS	28.7 ± 0.2	23.9 ± 0.3	20.6 ± 0.6	20.4 ± 0.1
HM-CTS	37.9 ± 0.6	37.0 ± 0.3	27.5 ± 0.5	32.8 ± 0.2

ตารางที่ 9 ผลของมอนอโซเดียมกลูตาเมตต่อลักษณะฟิล์มไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ

อัตราส่วนโดยมวล ระหว่างไคโตซาน ต่อมอนอโซเดียมกลูตาเมต	HM-CTS	MM-CTS	LM-CTS
1:0			
1:1			
1:2			
1:4			



(ก)

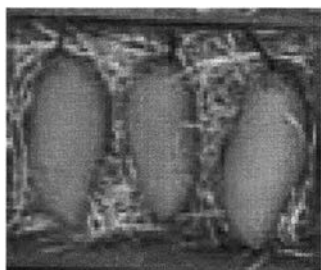


(ข)

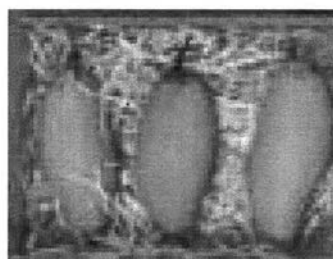
รูปที่ 5 ไคโตซานฟิล์ม: (ก) ไคโตซานฟิล์มที่ไม่มีมอนอโซเดียมกลูตาเมต;

(ข) ไคโตซานฟิล์มที่มีส่วนผสมของมอนอโซเดียมกลูตาเมต

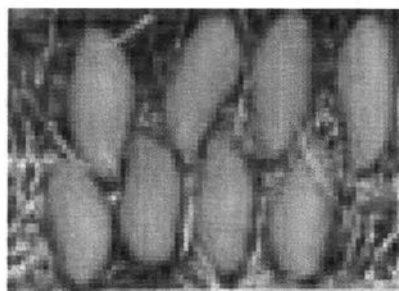
จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า ไคโตซานฟิล์มสามารถยืดอายุการเก็บรักษามะม่วงน้ำดอกไม้ (รูปที่ 6) แต่เมื่อเติมมอนอโซเดียมกลูตาเมตในสูตรตำรับจะเป็นการกระตุ้นให้เกิดโรคแอนแทรกโนสบนผิวของมะม่วง



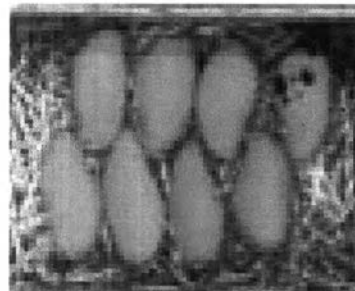
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

รูปที่ 6 การเก็บรักษามะม่วงที่เคลือบผิวด้วยไคโตซานสูตรตำรับต่างๆ ที่อุณหภูมิ 25°C:

(ก) มะม่วงที่เคลือบผิวด้วยไคโตซาน ณ วันที่ 0

(ข) มะม่วงที่เคลือบผิวด้วยไคโตซาน ณ วันที่ 10

(ค) มะม่วงที่เคลือบผิวด้วยไคโตซานที่มีส่วนผสมของมอนอโซเดียมกลูตาเมต ณ วันที่ 0

(ง) มะม่วงที่เคลือบผิวด้วยไคโตซานที่มีส่วนผสมของมอนอโซเดียมกลูตาเมต ณ วันที่ 10



### 6.1.5 สรุปผลการทดลองปีที่ 1

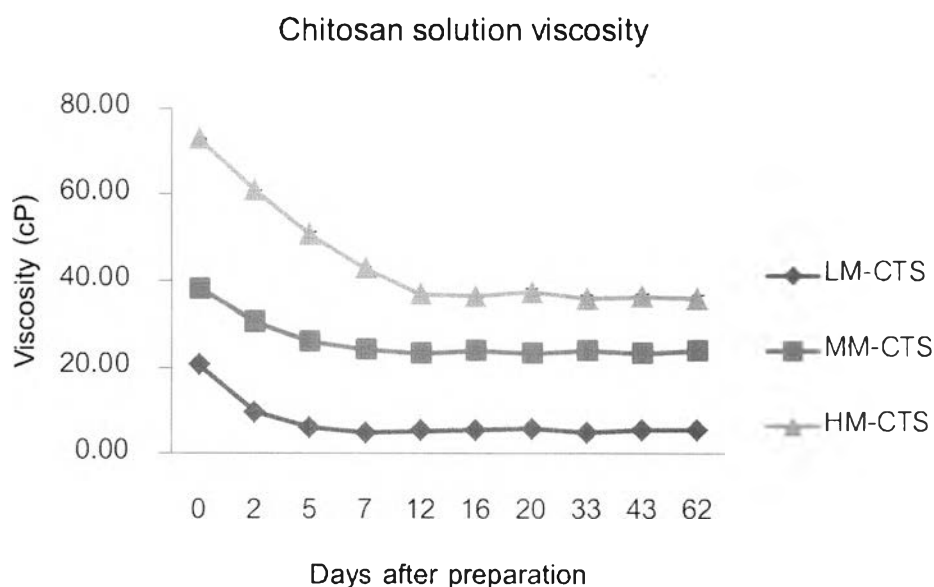
ไคโตซานทั้ง 3 ชนิด (HM-CTS, MM-CTS และ LM-CTS) สามารถละลายได้ดี (>98%) ในสารละลายกรดแอสติกที่ความเข้มข้นอย่างน้อย 0.5% (โดยปริมาตร) และ Tween 80<sup>®</sup> ช่วยให้ฟิล์มที่เกาะบนผิวของวัสดุที่ไม่ชอบน้ำมีความต่อเนื่อง หากใช้มากเกินไปจะมีปัญหาเกี่ยวกับฟองที่เกิดขึ้น ดังนั้นสูตรตำรับสารละลายไคโตซานเบื้องต้นสำหรับการเคลือบผิวมะม่วงในการศึกษาขั้นต่อไป จำเป็นจะต้องมีส่วนผสมของ Tween 80<sup>®</sup> เท่ากับ 0.1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายไคโตซานเข้มข้น 1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยใช้กรดแอสติกที่ความเข้มข้น 0.5% (โดยปริมาตร) เป็นตัวทำละลาย

## 6.2 ผลการทดลองปีที่ 2

### 6.2.1 สมบัติทางกายภาพของสารละลายเคลือบผิวไคโตซาน

#### 6.2.1.1 ความหนืดของสารละลายไคโตซาน

สารละลายไคโตซานทั้ง 3 ชนิดมีค่าความหนืดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลไคโตซาน ความหนืดของสารละลายไคโตซาน LM-CTS, MM-CTS และ HM-CTS ที่วัดได้ทันทีหลังจากเตรียมสารละลายเสร็จมีค่าเท่ากับ 20.77 cP, 38.27 cP และ 72.97 cP ตามลำดับ ในวันต่อมาความหนืดของสารละลายไคโตซานทั้ง 3 ชนิดลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อเก็บรักษาสารละลายไคโตซานเป็นเวลานานกว่า 12 วันขึ้นไปพบว่าค่าความหนืดของสารละลายไคโตซานทั้ง 3 ชนิดเริ่มคงที่ (รูปที่ 7)



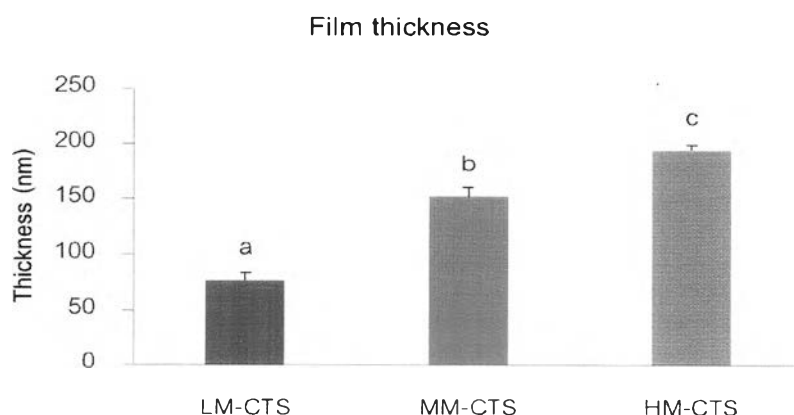
รูปที่ 7 การเปลี่ยนแปลงความหนืดของสารละลายไคโตซาน (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

โคโตะซานที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นโคโตะซานที่เตรียมจากเปลือกกุ้งที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน สารละลายโคโตะซาน LM-CTS เตรียมจากโคโตะซานน้ำหนักโมเลกุล 65,000 ดาลตัน สารละลายโคโตะซาน MM-CTS เตรียมจากโคโตะซานน้ำหนักโมเลกุล 240,000 ดาลตัน และสารละลายโคโตะซาน HM-CTS เตรียมจากโคโตะซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 410,000 ดาลตัน ความหนืดของสารละลายโคโตะซานแปรผันตรงกับน้ำหนักโมเลกุลของโคโตะซาน สอดคล้องกับการศึกษาของ Badawy and Rabea (2009)

จากการทดลองติดตามการเปลี่ยนแปลงความหนืดของสารละลายโคโตะซานเป็นเวลา 62 วันพบว่าความหนืดของสารละลายโคโตะซานลดลงอย่างต่อเนื่องและความหนืดของสารละลายโคโตะซานทั้ง 3 ชนิดเริ่มคงที่ตั้งแต่วันที่ 12 ของการทดลองเป็นต้นไป (รูปที่ 7) ปรากฏการณ์ดังกล่าวเป็นสมบัติเฉพาะตัวของ Non-Newtonian fluid กล่าวคือ ความหนืดของสารละลายโคโตะซานจะลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากเตรียมสารละลายเสร็จ หลังจากนั้นความหนืดของสารละลายโคโตะซานจะค่อยๆ ลดลงอย่างช้าๆ จนกระทั่งความหนืดของสารละลายโคโตะซานไม่เปลี่ยนแปลง (El-Hefian and Yahaya, 2010)

#### 6.2.1.2 ความหนาของฟิล์มบางโคโตะซาน

เมื่อจุ่มกระจกสไลด์ลงในสารละลายโคโตะซานเป็นเวลา 1 นาทีแล้วนำขึ้นมาผึ่งจนสารละลายโคโตะซานแห้ง จะเกิดขึ้นฟิล์มบางโคโตะซานเคลือบอยู่บนผิวกระจกสไลด์ จากการทดลองพบว่าความหนาของฟิล์มบางโคโตะซานเพิ่มขึ้นตามน้ำหนักโมเลกุลของโคโตะซานที่เพิ่มขึ้น ฟิล์มบางจากโคโตะซานน้ำหนักโมเลกุล 410,000 ดาลตันมีความหนามากที่สุด ตามด้วยฟิล์มบางจากโคโตะซานน้ำหนักโมเลกุล 240,000 ดาลตัน และ 65,000 ดาลตันตามลำดับ (รูปที่ 8)

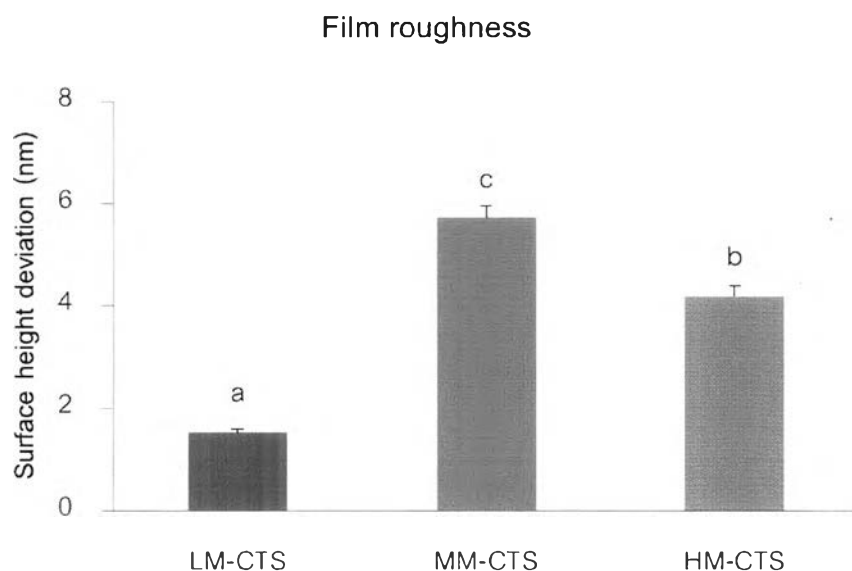


รูปที่ 8 ความหนาของฟิล์มบางโคโตะซาน (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

### 6.2.1.3 ลักษณะพื้นผิวของฟิล์มบางไคโตซาน

ลักษณะพื้นผิวของฟิล์มบางไคโตซานมีระดับความหยาบ (roughness) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการวิเคราะห์ความหยาบของพื้นผิวฟิล์มบางไคโตซานพบว่าฟิล์มบางไคโตซานจากไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 240,000 ดาลตันมีความหยาบมากที่สุด ในขณะที่ฟิล์มบางไคโตซานจากไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 65,000 ดาลตันมีความหยาบน้อยที่สุด (รูปที่ 9)



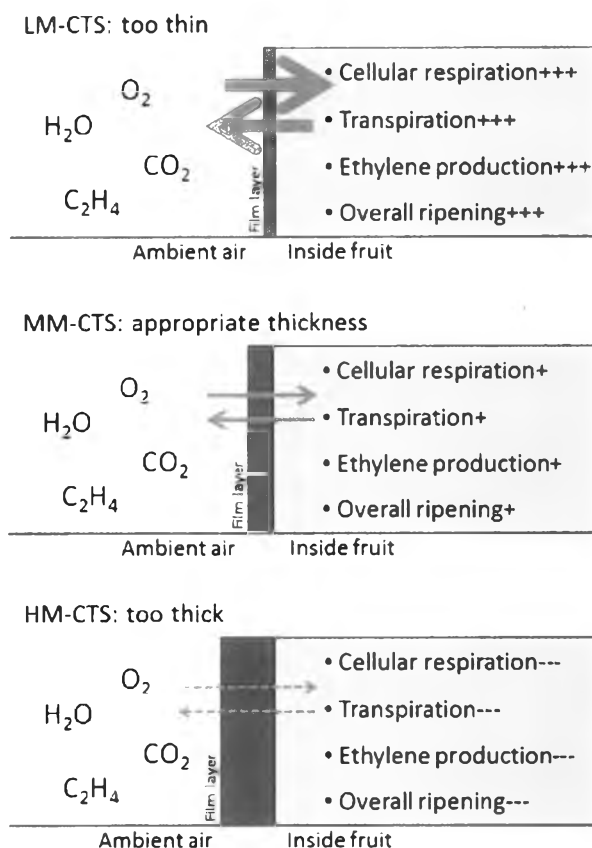
รูปที่ 9 ความหยาบของฟิล์มบางไคโตซาน (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)  
ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ย  
เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% "not significantly different"

เมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานเพิ่มขึ้นทำให้ความหนืดของสารละลายไคโตซานเพิ่มขึ้นและทำให้ได้ฟิล์มบางที่มีความหนาเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับผลการศึกษาของ (Yan et al., 2001; Badawy and Rabea, 2009) การศึกษาครั้งนี้ใช้กระจกสไลด์เป็นพื้นผิวสำหรับการเคลือบฟิล์มบางไคโตซาน (support) เนื่องจากเทคนิคการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของฟิล์มบางไคโตซานต้องการ support ที่มีความแข็งและแห้ง นอกจากนี้พื้นผิวของกระจกสไลด์แสดงลักษณะไม่ชอบน้ำ ซึ่งลักษณะดังกล่าวมีความใกล้เคียงกับผิวของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ จึงต้องมีการใช้สารลดแรงตึงผิวเพื่อให้สารละลายไคโตซานเคลือบติดผิวของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ได้ดียิ่งขึ้น

จากการศึกษาที่มีการใช้สารละลายไคโตซานเคลือบผิวของผลไม้หลายชนิดเช่น แก้วมังกร (Ali et al., 2013) ฝรั่ง (Hong et al., 2012) มะละกอ (Ali et al., 2011) เป็นต้น ส่วนมีการใช้สารลดแรงตึงผิวหลายชนิดที่ไม่เป็นพิษต่อผู้บริโภคในการลดแรงตึงผิวระหว่างสารละลาย

ไคโตซานและผิวของผลไม้ ดังนั้น การศึกษาในครั้งนี้จึงมีการเติมสารลดแรงตึงผิว tween-80 คิดเป็น 0.1% (v/v) ในส่วนผสมของสารละลายเคลือบผิวไคโตซาน

พื้นผิวของฟิล์มบางไคโตซานแต่ละชนิดมีความหยาบแตกต่างกัน Yan et al. (2001) รายงานว่าลักษณะพื้นผิวของฟิล์มบางไคโตซานที่เกิดขึ้นมีความแตกต่างกันเนื่องจากการใช้ไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน เมื่อพิจารณาความหนาของฟิล์มบางควบคู่กับความหยาบของพื้นผิวฟิล์มบางไคโตซาน (ภาคผนวก รูปที่ 5, 6) จึงมีความเป็นไปได้ว่านอกเหนือจากสมบัติของไคโตซานในการเป็น elicitor ของพืชแล้วลักษณะทางกายภาพของฟิล์มบางไคโตซานน่าจะมีผลต่อการผ่านเข้า-ออกของแก๊สด้วย โดยสามารถอธิบายด้วยแบบจำลองผลของความหนาของฟิล์มบางไคโตซานบนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ต่อการแพร่เข้า-ออกของแก๊ส  $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $C_2H_4$  และ  $H_2O$  (รูปที่ 10) เมื่อพิจารณาอัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีนของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS ที่มีค่าต่ำกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ความหนาที่มากกว่าและพื้นผิวที่มีความเรียบกว่าของฟิล์มบาง HM-CTS เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มบาง MM-CTS น่าจะทำให้การแพร่เข้าของออกซิเจนซึ่งเป็นแก๊สที่ใช้ในกระบวนการหายใจระดับเซลล์และยังใช้เป็น substrate ของเอนไซม์ ACC oxidase ในขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการสังเคราะห์เอทิลีน (Argueso et al., 2007) มีปริมาณลดลง ทำให้อัตราการผลิตเอทิลีนลดลง และฟิล์มบางยังอาจจะทำหน้าที่เป็นสิ่งที่กีดขวางในการจับของเอทิลีนกับตัวรับเอทิลีนบนผิวของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ในระหว่างกระบวนการ ethylene autocatalytic synthesis (Bapat et al., 2010) ส่งผลให้อัตราการหายใจของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS ต่ำกว่าชุดการทดลองอื่นๆ และทำให้กระบวนการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ผิดปกติ ทั้งนี้ไม่สามารถค้นหางานวิจัยเทียบเคียงที่มีการศึกษาเกี่ยวข้องกับปัจจัยดังกล่าวได้ จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจสำหรับผู้ที่ต้องการศึกษาผลของลักษณะทางกายภาพของฟิล์มบางไคโตซานต่อกระบวนการหายใจและการผลิตเอทิลีนต่อไปในอนาคต

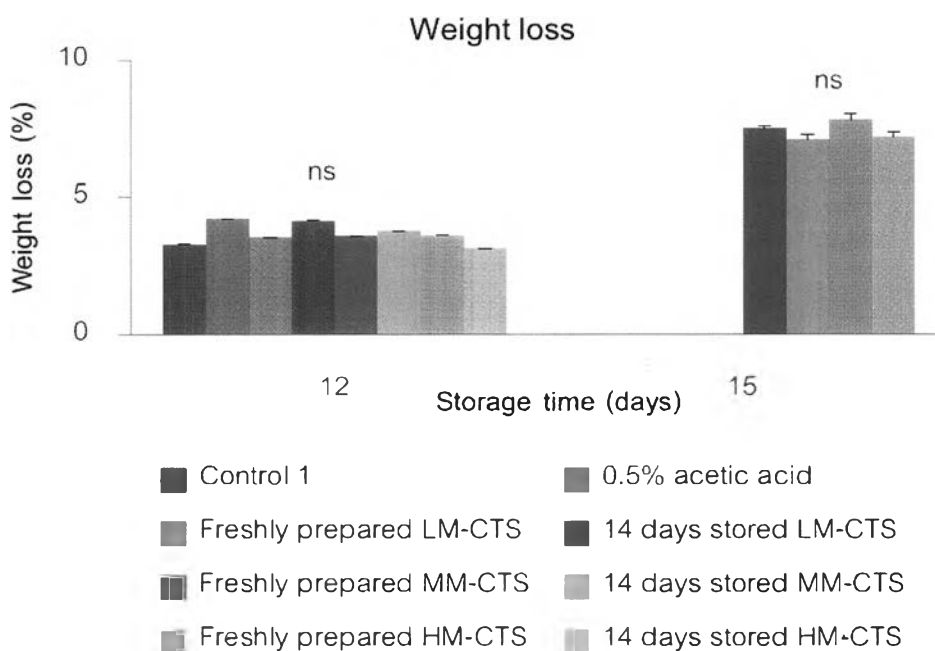


รูปที่ 10 แบบจำลองผลของความหนาของฟิล์มไฮดรอกไซด์บนผิวของมะม่วงน้ำดอกไม้ต่อการเปลี่ยนแปลงอัตราการหายใจ การคายน้ำ การผลิตเอทิลีน และการสุกโดยรวมของผลมะม่วงน้ำดอกไม้

6.2.2 ผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาสารละลายเคลือบผิวไฮดรอกไซด์ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงน้ำดอกไม้

6.2.2.1 การสูญเสียน้ำหนักสด

ผลมะม่วงน้ำดอกไม้สูญเสียน้ำหนักสดมากขึ้นเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลองทั้งในวันที่ 12 และวันที่ 15 ของการทดลอง ชุดการทดลองควบคุม, 0.5% acetic acid, freshly prepared LM-CTS และ 14 days stored LM-CTS มีอัตราการเกิดโรคมากกว่า 30% ในวันที่ 12 จึงไม่นำไปเก็บรักษาต่อจนถึงวันที่ 15 ของการทดลอง (รูปที่ 11)



รูปที่ 11 การสูญเสียน้ำหนักสดของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C ในวันที่ 12 และ 15 (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

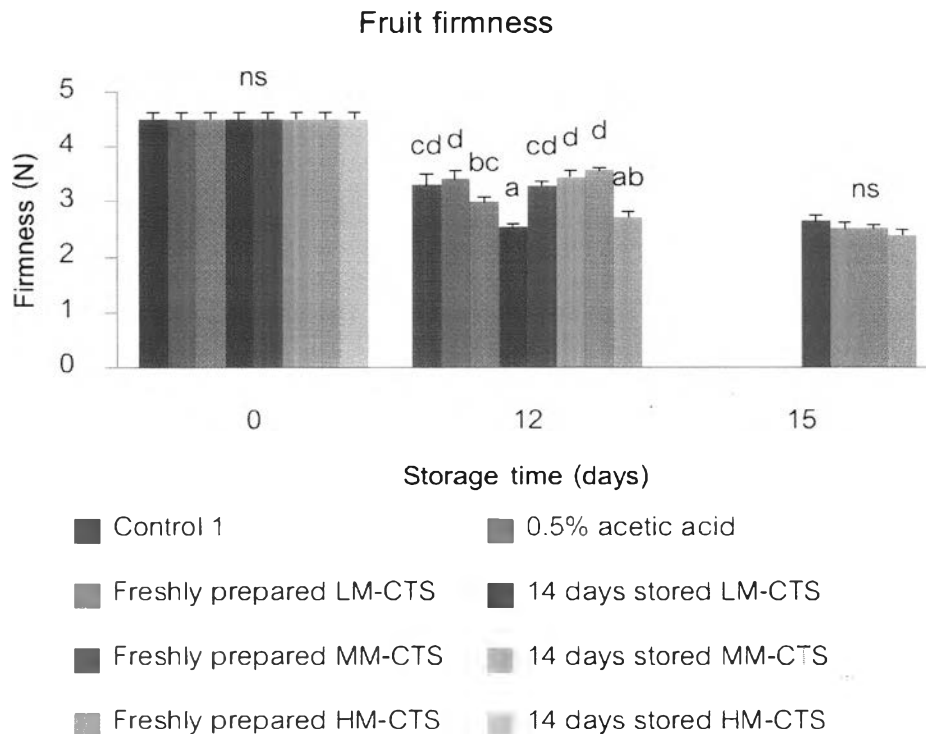
<sup>ns</sup> not significantly different

การสูญเสียน้ำหนักสดของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ไม่มีสาเหตุเกิดจากการสูญเสียน้ำจากกระบวนการคายน้ำ การใช้น้ำในปฏิกิริยา Hydrolysis ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ การย่อยสลายแป้งและน้ำตาลเพื่อให้พลังงานแก่เซลล์ (Bautista-Baños et al., 2006) เมื่อเซลล์มีเมตาบอลิซึมสูงหมายความว่าอัตราการสูญเสียน้ำหนักสดย่อมสูงตามไปด้วย จากการทดลองพบว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้สูญเสียน้ำหนักสดมากขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างของการสูญเสียน้ำหนักสดระหว่างชุดการทดลอง แสดงว่าการใช้สารละลายโคโคซานชนิดต่างๆ เคลือบผลมะม่วงน้ำดอกไม้ไม่มีผลต่อการรักษาน้ำหนักสดของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C

#### 6.2.2.2 การสูญเสียความแน่นเนื้อ

เมื่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกมากขึ้น ความแน่นเนื้อของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ลดลง ในวันที่ 12 ของการทดลองพบว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง 0.5% acetic acid, 14 days stored MM-CTS และ freshly prepared HM-CTS สามารถรักษาความแน่นเนื้อไว้ได้มากที่สุด ในขณะที่ชุดการทดลอง 14 days stored LM-CTS สูญเสียความแน่นเนื้อไปมากที่สุด อย่างไรก็ตาม

ตามความแน่นเนื้อของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 15 ของการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง (รูปที่ 12)



รูปที่ 12 การสูญเสียความแน่นเนื้อของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 12 และ 15 (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>ns</sup> not significantly different

ความแน่นเนื้อของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันในวันที่ 12 ของการทดลอง โดยผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เคลือบผลด้วยสารละลายไคโตซาน LM-CTS และ HM-CTS ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วันมีความแน่นเนื้อต่ำกว่าชุดการทดลองที่ใช้สารละลายไคโตซานที่เตรียมสดใหม่อย่างชัดเจน จึงมีความเป็นไปได้ว่าสารละลายไคโตซานที่เก็บรักษาเป็นเวลานานนอกจากจะมีความหนืดที่ลดลงแล้วอาจสูญเสียคุณสมบัติของการเป็น elicitor ที่ส่งผลต่อการยับยั้งกระบวนการย่อยสลายองค์ประกอบของผนังเซลล์ระหว่างการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ทำให้ความแน่นเนื้อของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ลดลง (รูปที่ 12)



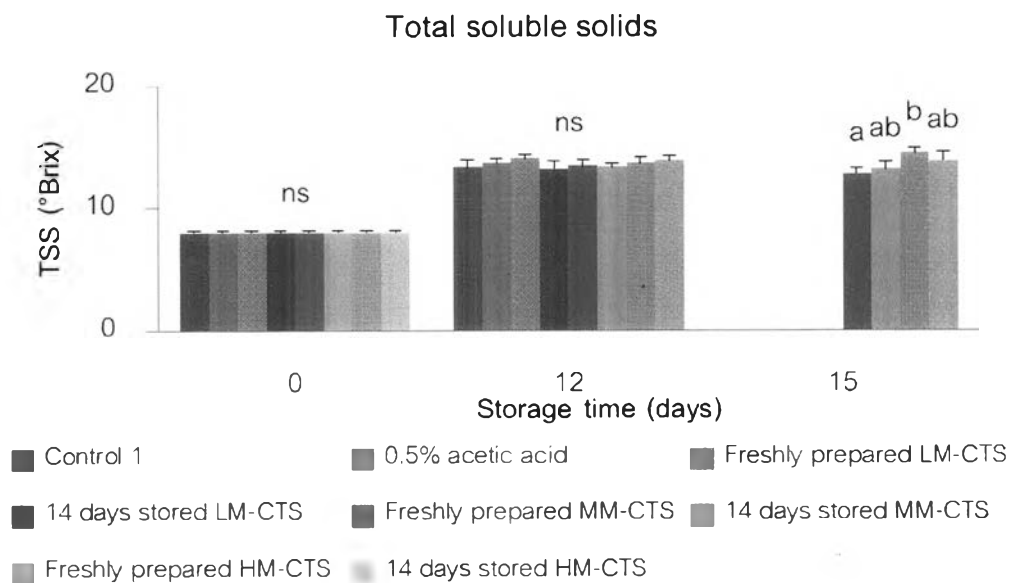




ตามปกติ แสดงว่าการใช้สารละลายไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลสูงไปรบกวนกระบวนการเปลี่ยนสีของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ แม้ว่าจะยังไม่มีการศึกษาถึงกลไกการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนเกี่ยวกับผลของความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานต่อการเปลี่ยนสีเปลือกของผลไม้ แต่มีงานวิจัยที่มีผลการทดลองใกล้เคียงกับการศึกษาในครั้งนี้ การศึกษาของ Ali et al. (2011) ได้ใช้ไคโตซานที่เตรียมจากเปลือกกุ้งที่หาได้ในท้องถิ่น (ไม่ได้รายงานน้ำหนักโมเลกุล) นำมาละลายได้สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.5%, 1.0%, 1.5% และ 2.0% เมื่อนำมาเคลือบผลมะละกอดิบพันธุ์ 'Eksoitika II' แล้วติดตามการเปลี่ยนแปลงสีผลมะละกอภายในเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานเพิ่มขึ้น ผลมะละกอพันธุ์ดังกล่าวมีความสว่างของเปลือกลดลงและแนวโน้มเปลี่ยนสีผลจากสีเขียวเป็นสีเหลืองน้อยลง ผลมะละกอที่เคลือบด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2.0% มีสีผลล้ามากขึ้นแตกต่างจากการใช้สารละลายไคโตซานความเข้มข้นที่ต่ำกว่าอย่างชัดเจนและยังคงมีเปลือกสีเขียวตลอดระยะเวลาการทดลอง

#### 6.2.2.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำหรือ total soluble solids (TSS) หมายถึงปริมาณของสารทุกชนิดในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่สามารถละลายน้ำได้ เนื่องจากน้ำตาลเป็นของแข็งที่ละลายน้ำได้ที่มีปริมาณมากที่สุดในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ จึงใช้ค่า TSS เป็นดัชนีบ่งชี้ปริมาณน้ำตาลในผลได้ จากการทดลองพบว่าเมื่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกมากขึ้น ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำเพิ่มมากขึ้นแต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 12 ในวันที่ 15 ของการทดลอง ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง freshly prepared MM-CTS มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำน้อยที่สุดในขณะที่ชุดการทดลองที่เคลือบผลมะม่วงโดยใช้สารละลายไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลสูงที่เตรียมสดใหม่มีค่า TSS สูงที่สุด (รูปที่ 15)



รูปที่ 15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำของเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 12 และ 15 (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

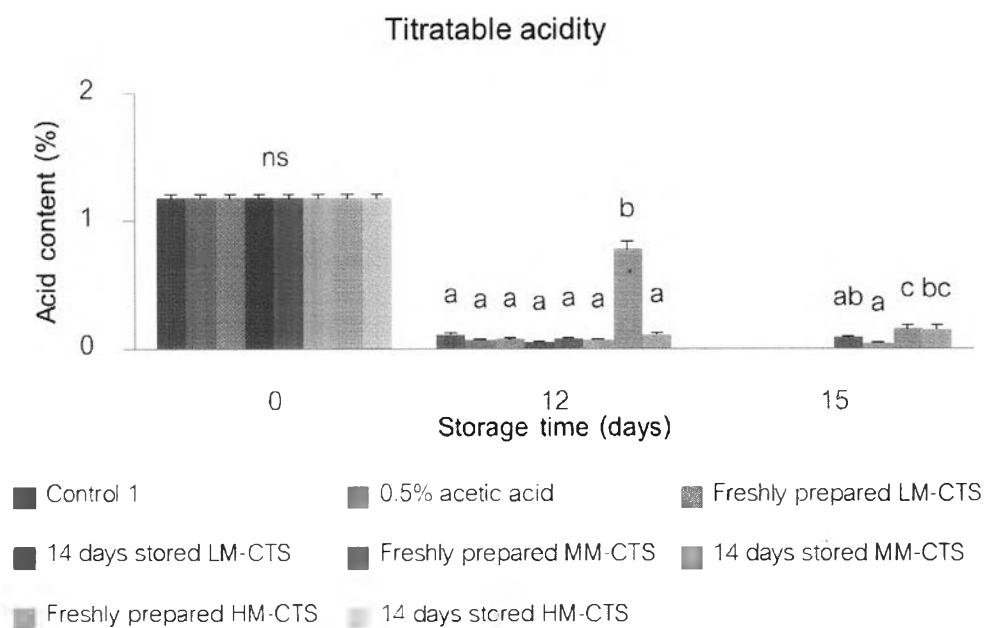
<sup>ns</sup> not significantly different

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 12 ของการทดลอง อย่างไรก็ตาม ในวันที่ 15 ของการทดลอง ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง Freshly prepared MM-CTS มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำน้อยที่สุดในขณะที่ TSS ของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง 14 days prepared MM-CTS และ 14 days stored HM-CTS สูงกว่าชุดการทดลองที่ใช้สารละลาย Freshly prepared MM-CTS และ TSS ของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง Freshly prepared HM-CTS มีค่าสูงที่สุด จึงสรุปได้ว่าสารละลาย MM-CTS ที่เตรียมสดใหม่มีความเหมาะสมที่สุดในการชะลอการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เนื่องจากสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลได้ดีที่สุด

#### 6.2.2.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด

เมื่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกมากขึ้น กรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ จะสลายตัวทำให้ปริมาณกรดโดยรวมลดลง ในวันที่ 12 ของการทดลอง ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลองอื่นๆ มีปริมาณกรดลดลงอย่างมาก ยกเว้นผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง freshly prepared HM-CTS มีปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity; TA) เท่ากับ 0.78% ซึ่งสูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในวันสุดท้ายของการทดลอง ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เคลือบผิว

ด้วยสารละลายไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลสูงทั้ง 2 ชุดการทดลองยังคงมีปริมาณกรดที่ไทเทรตได้สูงกว่าผลมะม่วงในชุดการทดลองที่ใช้ไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลปานกลาง (รูปที่ 16)



รูปที่ 16 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 12 และ 15 (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

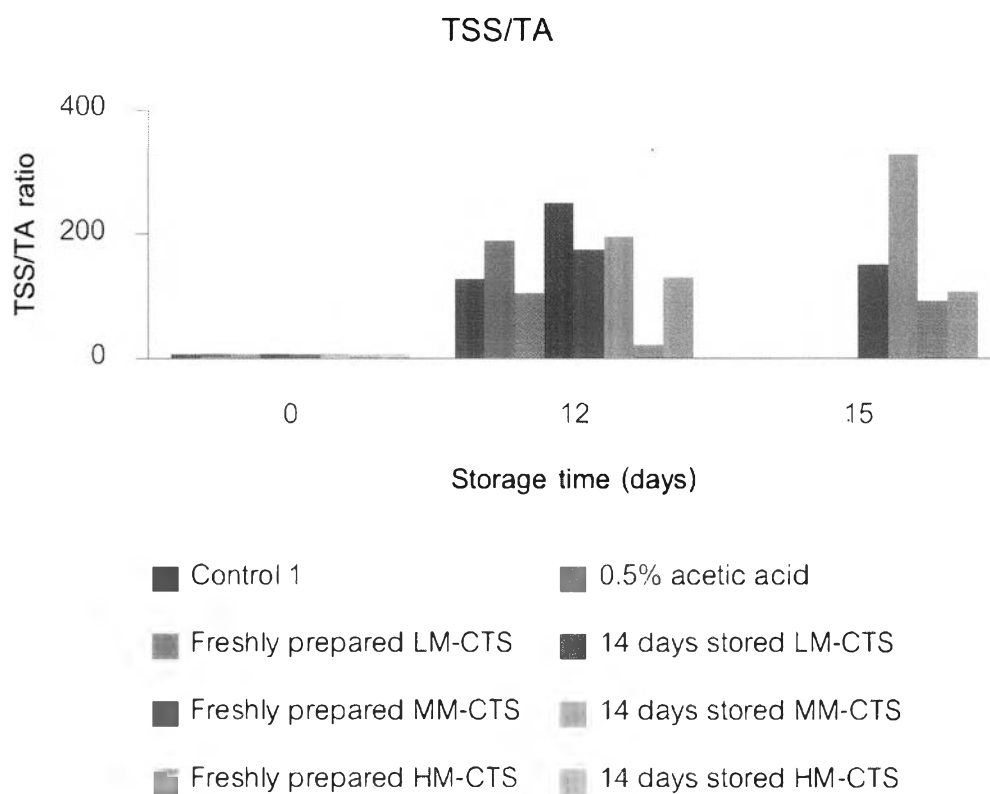
ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>ns</sup> not significantly different

ปริมาณกรดของชุดการทดลอง Freshly prepared HM-CTS สูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆ อย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลองดังกล่าวไม่สุก การศึกษาของ Jitareerat et al. (2007) ได้ใช้สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1% ที่เตรียมจากไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 350,000 ดาลตัน ในการเคลือบผลมะม่วงน้ำดอกไม้แล้วทำการเก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้เป็นเวลา 10 วัน พบว่าปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้อยู่ในระดับสูงมากเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้สารละลายกรดแอสซิดิก 0.5% แสดงว่าการใช้สารละลายไคโตซานที่เตรียมจากไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (410,000 ดาลตัน) ไปขัดขวางกระบวนการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ทำให้กรดอินทรีย์ภายในผลมะม่วงน้ำดอกไม้สลายตัวช้าลง

6.2.2.6 อัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้

อัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้หรือ TSS/TA ratio สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งบอกถึงระดับความหวานและความสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ได้ดีกว่าการใช้ค่า TSS เพียงค่าเดียว จากการทดลองพบว่าในวันที่ 12 ผลมะม่วงในชุดการทดลอง 14 days stored LM-CTS มีค่าอัตราส่วน TSS/TA สูงสุด รองลงมาคือผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง 14 days stored MM-CTS และผลมะม่วงที่เกิดอบผลด้วยสารละลายกรดแอซิติก 5% + 0.1% Tween 80® ตามลำดับ ในวันที่ 15 ของการทดลอง ผลมะม่วงในชุดการทดลอง 14 days stored LM-CTS มีค่า TSS/TA ratio สูงสุดในขณะที่ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง Freshly prepared HM-CTS มีค่าอัตราส่วนน้อยที่สุด (รูปที่ 17)



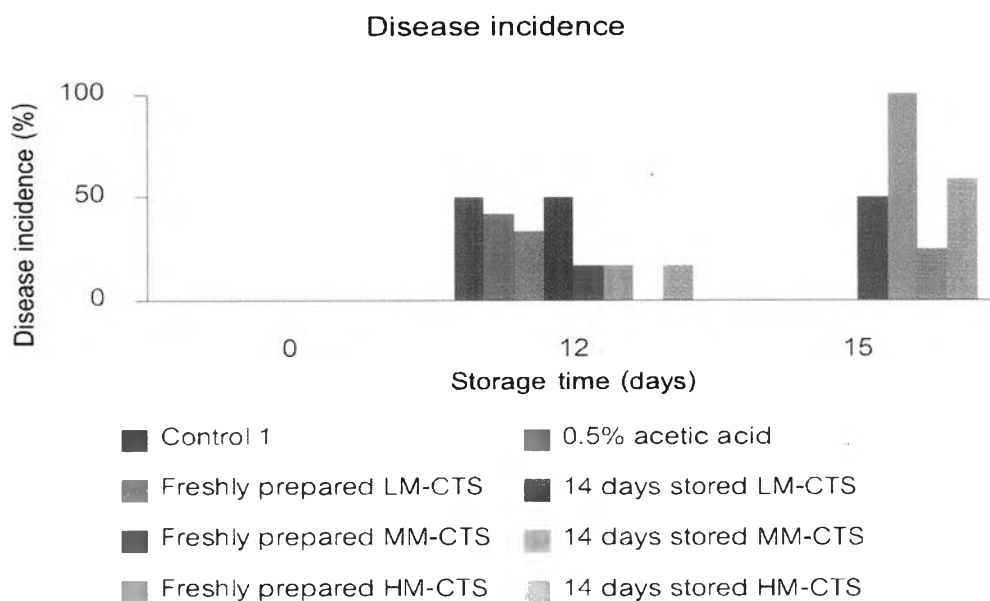
รูปที่ 17 การเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 12 และ 15

TSS/TA ratio สามารถใช้บ่งชี้ระดับความหวานและความสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ได้แม่นยำกว่าการใช้ค่า TSS เนื่องจาก TSS สะท้อนผลรวมของปริมาณสารทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ Beckles (2012) รายงานว่าค่า TSS ที่วัดได้ในผลมะเขือเทศมาจากองค์ประกอบของน้ำตาลทุกชนิด 65%, กรดทุกชนิด 13% และองค์ประกอบอื่นๆ การหารค่า TSS ด้วย TA จึงเป็นการลดความคลาดเคลื่อนของค่า TSS ที่เกิดจากปริมาณกรด จากผลการ

ทดลองแสดงความแตกต่างชัดเจนว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลองที่ใช้สารละลายไคโตซานที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วันมีค่า TSS/TA ratio สูงกว่าชุดการทดลองที่ใช้สารละลายไคโตซานที่เตรียมสดใหม่ หมายความว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกมากขึ้นและมีการสลายแป้งเป็นน้ำตาลในปริมาณมาก จึงสรุปได้ว่าการใช้สารละลายไคโตซานที่เตรียมสดใหม่สามารถชะลอการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ได้ดีกว่าสารละลายไคโตซานที่เก็บรักษาเป็นเวลานาน

#### 6.2.2.7 ร้อยละของการเกิดโรค

จากผลการทดลองพบว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ส่วนใหญ่จะเริ่มแสดงอาการของโรคแอนแทรกโนสโดยเริ่มต้นจากการเกิดจุดสีดำขนาดเล็กขึ้นบริเวณขั้วผลก่อนแล้วจึงแผ่ขยายบริเวณกว้างขึ้น และสามารถเกิดจุดซึ่งเป็นอาการของโรคเพิ่มที่ส่วนอื่นของผล ในวันที่ 12 ของการทดลอง ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง 14 days stored LM-CTS มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดควบคุม ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลองที่ใช้ไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลปานกลางและน้ำหนักโมเลกุลสูงมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยกว่า 30% จึงไม่ถูกตัดออกจากการทดลอง อย่างไรก็ตาม เมื่อเวลาผ่านไป 3 วันในวันที่ 15 ของการทดลองพบผลมะม่วงที่เป็นโรคจำนวนมาก โดยผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง 14 days stored MM-CTS เกิดรอยโรคทุกผล ถัดมาคือผลมะม่วงในชุดการทดลอง 14 days stored HM-CTS เกิดโรค 58.33% ในขณะที่ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง Freshly prepared HM-CTS มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุด (รูปที่ 18)



รูปที่ 18 ร้อยละของการเกิดโรคของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 12 และ 15

จากการทดลองพบว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เคลือบด้วยสารละลายไคโตซานที่เตรียมสดใหม่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสน้อยกว่าชุดควบคุมเนื่องจากสารละลายไคโตซานสามารถชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Jitareerat et al. (2007) ในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้และผลการศึกษาของ Abd-ALLA and Haggag (2010) ในมะม่วงพันธุ์ 'Sanara' อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในชุดการทดลองที่ใช้สารละลายไคโตซานที่เก็บรักษาเป็นเวลา 14 วันสูงกว่าชุดการทดลองที่ใช้สารละลายไคโตซานที่เตรียมสดใหม่ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ No et al. (2006) ที่รายงานว่าสารละลายไคโตซานที่เก็บรักษาเป็นเวลานานมีความหนืดและความสามารถในการยับยั้งเชื้อโรคลดลง นอกจากนี้ยังมีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถย่อยสลายไคโตซานเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้ (Zakaria et al., 2012) ทำให้สมบัติของสารละลายไคโตซานในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคพ่วงลงเมื่อเก็บรักษาสารละลายไคโตซานเป็นระยะเวลาเวลานาน ดังนั้นการใช้สารละลายไคโตซานที่เตรียมสดใหม่สามารถลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ได้ดีที่สุด

จากผลการทดลองที่ 6.2.2 สรุปได้ว่าอัตราส่วน TSS/TA และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสเป็นปัจจัยสำคัญที่ใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกวิธีการเตรียมสารละลายไคโตซานเพื่อยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ วิธีการเตรียมสารละลายเคลือบผิวไค

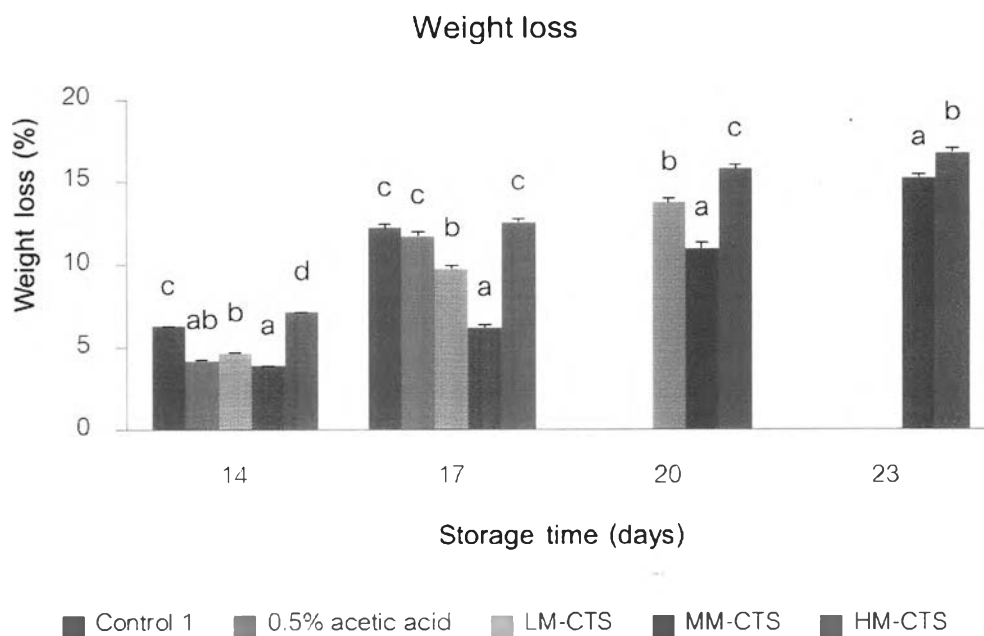
โตซานแบบเตรียมสดใหม่สามารถชะลอกระบวนการสุกได้ดีกว่าและทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยกว่าการใช้สารละลายโคโตซานที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน จึงเลือกใช้วิธีการเตรียมสารละลายโคโตซานแบบเตรียมใช้ทันทีเพื่อนำไปใช้เคลือบผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในการทดลองต่อไป

6.2.3 ผลของการเคลือบผิวมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยสารละลายฟิล์มบางโคโตซานร่วมกับการเก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 13 °C เป็นเวลา 14 วันต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงน้ำดอกไม้

#### 6.2.3.1 การสูญเสียน้ำหนักสด

จากการทดลองพบว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง LM-CTS มีอายุการเก็บรักษา 20 วันนับตั้งแต่วันเริ่มต้นการทดลอง ในขณะที่ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดควบคุมและชุดการทดลอง 0.5% acetic acid มีอายุการเก็บรักษาต่อไปอีกเพียง 3 วันหลังจากเปลี่ยนอุณหภูมิในการเก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้จาก 13 °C เป็น 25 °C ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ไม่มีการสูญเสียน้ำหนักสดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 °C เป็นเวลา 14 วัน โดยผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS สูญเสียน้ำหนักสดมากที่สุด ในขณะที่ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง MM-CTS สูญเสียน้ำหนักสดน้อยที่สุด ในวันที่ 20 ของการทดลอง ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS สูญเสียน้ำหนักสดมากที่สุด รองลงมาคือ LM-CTS และ MM-CTS ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการสูญเสียน้ำหนักสดเฉพาะชุดการทดลอง MM-CTS และ HM-CTS พบว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง MM-CTS มีการสูญเสียน้ำหนักสดน้อยกว่าชุดการทดลอง HM-CTS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง (รูปที่ 19)





รูปที่ 19 การสูญเสียน้ำหนักสดของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 14, 17, 20 และ 23

(ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

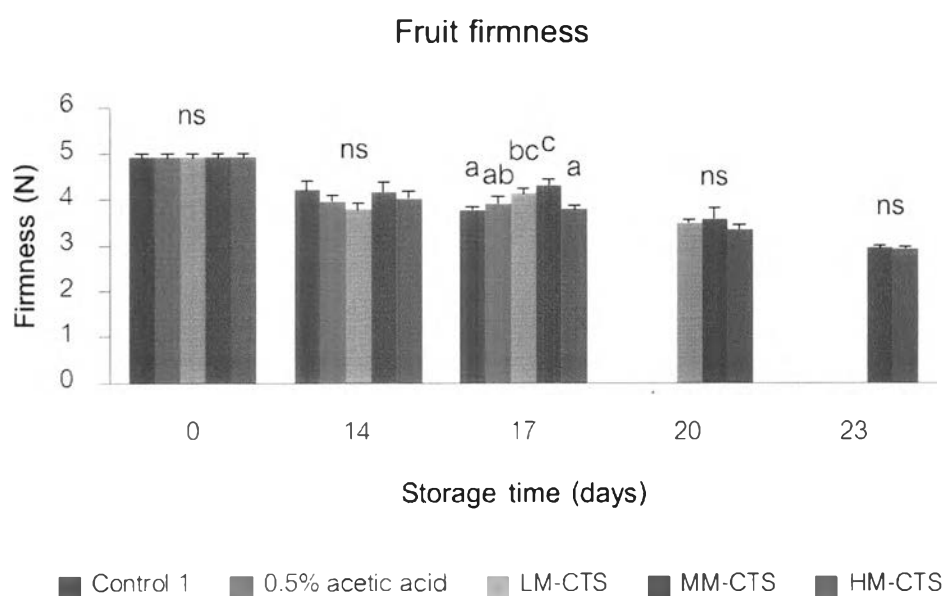
ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>ns</sup> not significantly different

การใช้สารละลายไคโตซานเคลือบผลมะม่วงน้ำดอกไม้ช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักสดของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในพืชชนิดอื่น เช่น กล้วย (Kittur et al., 2001) พริกหวาน (Xing et al., 2011) ฝรั่ง (Hong et al., 2012) แก้วมังกร (Ali et al., 2013) และผลมะม่วงพันธุ์อื่นๆ (Zhu et al., 2008; Abbasi et al., 2009; Medeiros et al., 2012) เป็นต้น จากการทดลองพบว่าเมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ใช้ในการเตรียมสารละลายเคลือบผิวมะม่วงน้ำดอกไม้เพิ่มขึ้นทำให้การสูญเสียน้ำหนักสดของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ลดลง โดยชุดการทดลอง MM-CTS มีการสูญเสียน้ำหนักสดน้อยที่สุด อย่างไรก็ตามผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS กลับมีการสูญเสียน้ำหนักสดมากที่สุดเมื่อเทียบกับชุดการทดลอง LM-CTS และ MM-CTS และไม่สอดคล้องกับงานวิจัยใด ๆ แม้ว่าอัตราการหายใจ อัตราการผลิตเอทิลีนและอัตราส่วน TSS/TA ของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS จะมีค่าต่ำกว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ชุดการทดลอง LM-CTS และ MM-CTS แสดงว่าการสูญเสียน้ำหนักสดของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS ไม่ได้มีสาเหตุหลักมาจากระบวนการหายใจระดับเซลล์ แต่น่าจะเกิดจากการคายน้ำออกจากผลมากกว่าปกติ

### 6.2.3.2 การสูญเสียความแน่นเนื้อ

ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ทุกชุดการทดลองมีความแน่นเนื้อลดลงตลอดระยะเวลาการทดลองโดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลองยกเว้นในวันที่ 17 ของการทดลองพบว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง MM-CTS สามารถคงความแน่นเนื้อไว้ได้มากที่สุด ในขณะที่ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุด HM-CTS และชุดควบคุมมีความแน่นเนื้อต่ำที่สุด (รูปที่ 20)



รูปที่ 20 การสูญเสียความแน่นเนื้อของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23 (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

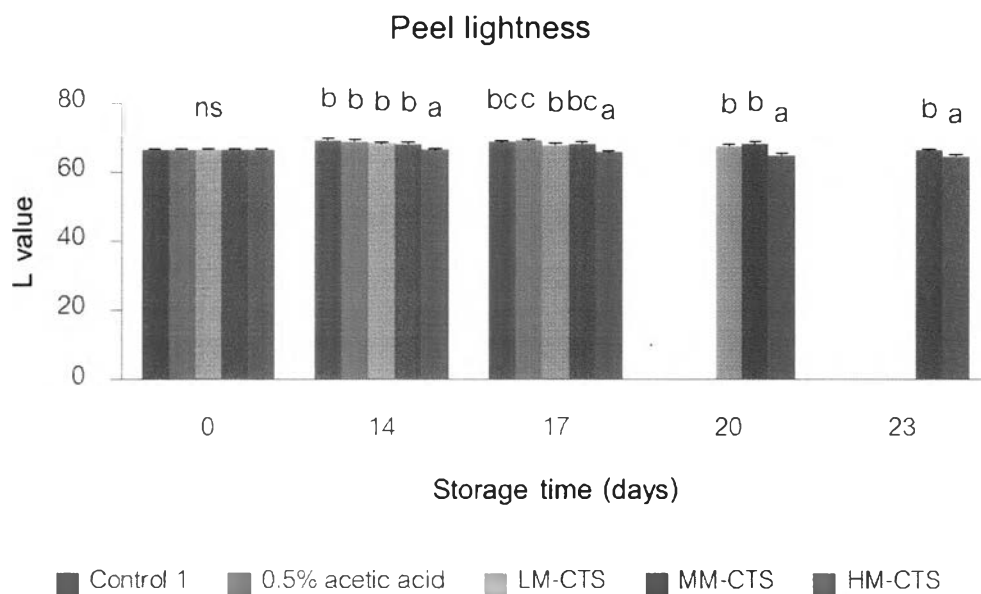
<sup>ns</sup> not significantly different

ความแน่นเนื้อของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ลดลงเมื่อผลสุกมากขึ้นเนื่องจากการสลายองค์ประกอบของผนังเซลล์ การใช้สารละลายไคโตซานช่วยรักษาความแน่นเนื้อของผลไม้ได้ Salvador-Figueroa et al. (2011) ศึกษาผลของการใช้สารละลายไคโตซานเคลือบผลมะม่วงพันธุ์ 'Ataulfo' ผลการทดลองพบว่า polygalacturonase และ pectin methylesterase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสลายองค์ประกอบของผนังเซลล์มีการทำงานลดลง และสามารถคงความแน่นเนื้อของผลมะม่วงพันธุ์ดังกล่าวไว้ได้ จากผลการทดลองในครั้งนี้พบว่ามีความแตกต่างของความแน่นเนื้อระหว่างชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 17 ของการทดลองเท่านั้น โดยพบว่าเมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานในสารละลายเคลือบผิวมะม่วงน้ำดอกไม้

เพิ่มขึ้นทำให้ความแน่นเนื้อของผลมะม่วงน้ำดอกไม้เพิ่มขึ้น ในทางกลับกันความแน่นเนื้อของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS มีค่าน้อยที่สุดและไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ซึ่งน่าจะเกิดจากความผิดปกติของกระบวนการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้

### 6.2.3.3 การเปลี่ยนแปลงสีผล

ความสว่างของสีเปลือกผลมะม่วงน้ำดอกไม้เพิ่มขึ้นเนื่องจากผลสุกเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเหลือง อย่างไรก็ตามผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS มีค่าความสว่างของสีเปลือกลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองเนื่องจากสีเปลือกไม่ได้เปลี่ยนเป็นสีเหลืองเหมือนผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกในชุดการทดลองอื่น ๆ และผิวมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS คล้ำลงเล็กน้อย (รูปที่ 21)



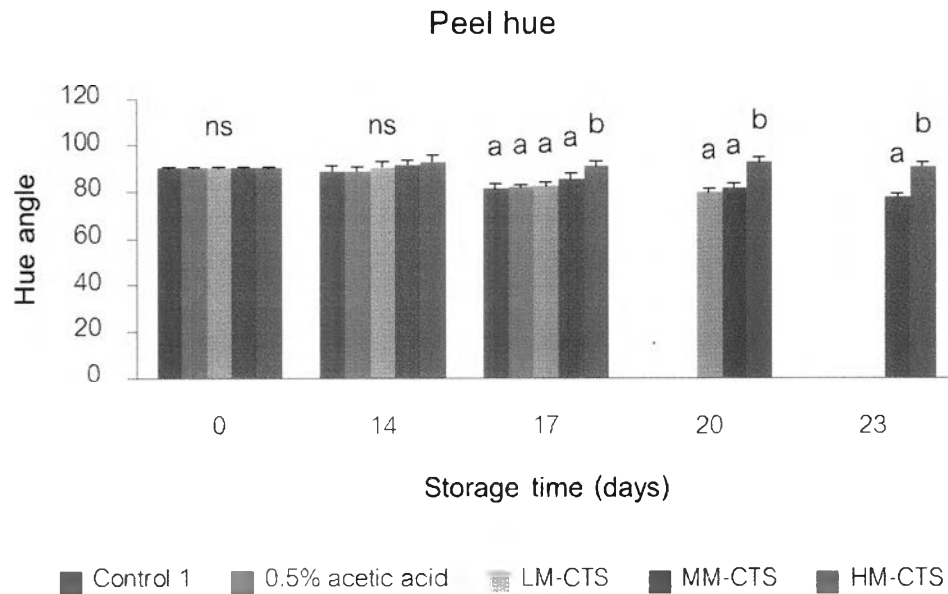
รูปที่ 21 การความสว่างเปลือกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23

(ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>ns</sup> *not significantly different*

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงค่า hue พบว่าค่า hue ที่ลดลงหมายถึงการเปลี่ยนสีผลจากสีเขียวเป็นสีเหลือง อย่างไรก็ตาม ค่า hue ของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS ยังคงมีค่าสูงใกล้เคียงกับค่า hue เมื่อเริ่มต้นการทดลองซึ่งหมายความว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS ยังคงมีเปลือกสีเขียว (รูปที่ 22)



รูปที่ 22 การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23 (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>ns</sup> *not significantly different*

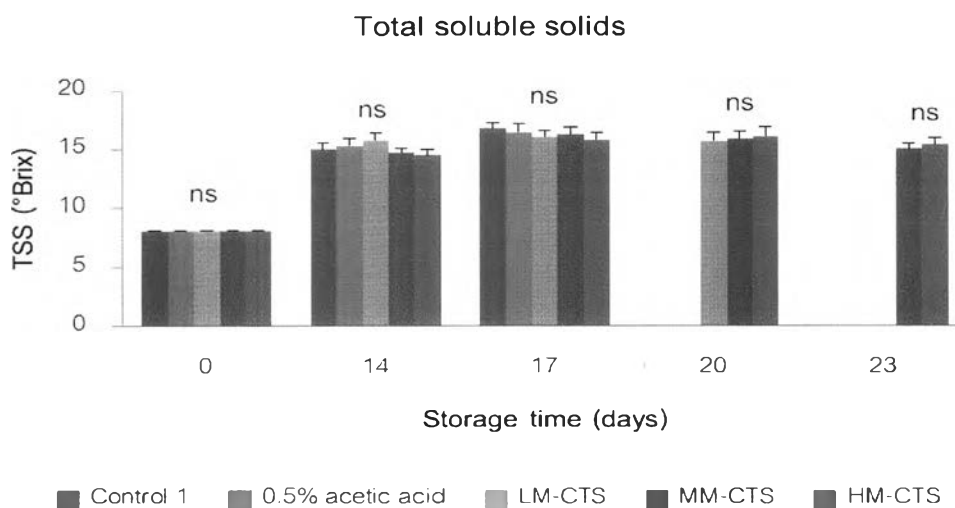
ความสว่างและการเปลี่ยนแปลงสีผลมะม่วงน้ำดอกไม้เกิดขึ้นพร้อมกับกระบวนการสุก การใช้สารละลายไคโตซานทำให้กระบวนการเปลี่ยนสีของผลมะม่วงน้ำดอกไม้เกิดช้าลง การศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานต่อการเปลี่ยนสีผลมะม่วงน้ำดอกไม้พันธุ์ 'Eksoika II' ของ Ali et al. (2011) ได้ใช้ไคโตซานที่ผลิตจากเปลือกกุ้งที่หาได้ในท้องถิ่น (ไม่ได้รายงานน้ำหนักโมเลกุลไคโตซาน) นำมาเตรียมสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.5%, 1.0%, 1.5% และ 2.0% เมื่อนำมาเคลือบผลมะม่วงน้ำดอกไม้พันธุ์ 'Eksoika II' แล้วติดตามการเปลี่ยนแปลงสีผลมะม่วงน้ำดอกไม้ภายในเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานเพิ่มขึ้น ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ดังกล่าวมีความสว่างของเปลือกลดลงและแนวโน้มเปลี่ยนสีผลจากสีเขียวเป็นสีเหลืองน้อยลง ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เคลือบด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2.0% มีสีผลล้ามากขึ้นและแตกต่างจากการใช้สารละลายไคโตซานความเข้มข้นที่ต่ำกว่าอย่างชัดเจน นอกจากนี้สีผลยังคงมีสีเขียวตลอดระยะเวลาการทดลอง ในการทดลองครั้งนี้พบว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้มีค่าความสว่างเพิ่มขึ้นเมื่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุก เปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเหลืองซึ่งเป็นสีโทนสว่าง อย่างไรก็ตามสีเปลือกผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS ยังคงเป็นสีเขียวและค่าความสว่างของผิวผลมะม่วงน้ำดอกไม้

แสดงให้เห็นว่าผิวของผลมะม่วงน้ำดอกไม้มีค่าต่ำกว่าปกติเช่นเดียวกับผลจากการทดลองที่เก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่อุณหภูมิ 25 °C

การเปลี่ยนสีของเปลือกสอดคล้องกับกระบวนการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ แต่เมื่อเปรียบเทียบค่า hue กับการทดลองที่เก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่อุณหภูมิ 25 °C พบว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ทุกชุดการทดลองที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 °C เป็นเวลา 14 วันเปลี่ยนสีผลเป็นสีเหลืองน้อลง การศึกษาของ Corrales-García and Canche-Canche (2008) ได้ทำการทดลองเก็บรักษาผลแก้วมังกรที่อุณหภูมิ 4-8°C เป็นเวลา 3 สัปดาห์แล้วจึงนำออกมาเก็บรักษาต่อที่อุณหภูมิ 26 °C เพื่อให้เกิดการกระบวนการสุกและการเปลี่ยนแปลงสี จากการทดลองพบว่า การเก็บรักษาผลแก้วมังกรที่ความเย็นเป็นเวลานานไปขัดขวางการลดลงของค่า hue ทำให้ผลแก้วมังกรเปลี่ยนเป็นสีแดงได้ไม่เต็มที่เมื่อเปรียบเทียบกับผลแก้วมังกรสุกอายุการเก็บรักษา 6 วันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 26 °C จากผลการศึกษาดังกล่าวเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในครั้งนี้จึงสรุปได้ว่าการเก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่อุณหภูมิ 13 °C เป็นเวลา 14 วันทำให้กระบวนการเปลี่ยนแปลงรงควัตถุในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่กำลังสุกเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์

#### 6.2.3.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำของทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา ยาวนานขึ้น แต่ไม่มีชุดการทดลองใดที่มีค่า TSS แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 23) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นหลังเปลี่ยนอุณหภูมิเก็บรักษาเป็น 25 °C แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะเวลาการทดลอง ค่า TSS ในการทดลองนี้จึงไม่สามารถนำมาใช้เปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลองเพื่อสะท้อนระดับการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ได้ จึงจำเป็นต้องพิจารณาร่วมกับ TA เพื่อหาอัตราส่วน TSS/TA ต่อไป



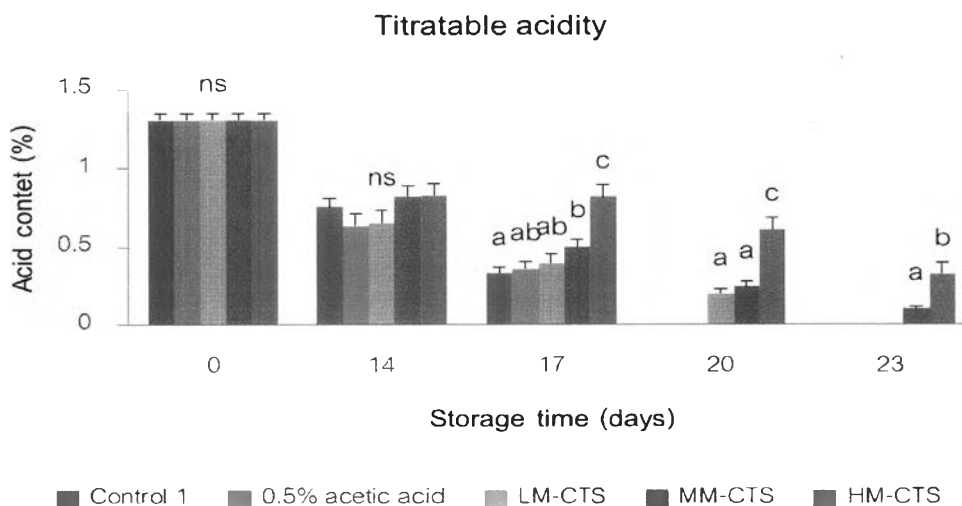
รูปที่ 23 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23 (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

*ns* not significantly different

#### 6.2.3.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด

ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ทุกชุดการทดลองลดลงมากกว่า 45% เมื่อผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 °C เป็นเวลา 14 วันและเป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณกรดของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS สูงมากกว่าชุดการทดลองอื่นๆ และลดปริมาณลงช้ากว่าชุดการทดลองอื่นๆ ปริมาณกรดในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ชุดการทดลอง LM-CTS ไม่แตกต่างจากชุดการทดลอง 0.5% acetic acid อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 17 และไม่แตกต่างจากชุดการทดลอง MM-CTS ในวันที่ 20 ของการทดลอง (รูปที่ 24)



รูปที่ 24 ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของเนื้อผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23 (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

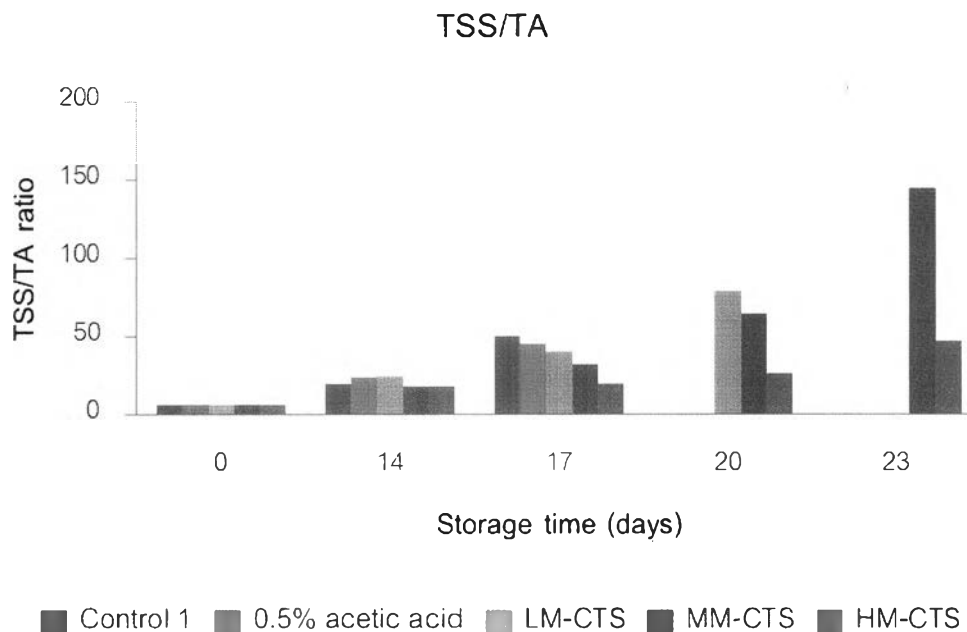
<sup>ns</sup> not significantly different

ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ลดลงเมื่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกมากขึ้น การใช้สารละลายไคโตซานทำให้กระบวนการสุกเกิดช้าลงโดยการรักษาปริมาณกรดให้มีปริมาณสูงกว่าชุดควบคุมเช่นเดียวกับการศึกษาในผลมะม่วงพันธุ์ ‘Tainong’ (Wang et al., 2007), ‘Tommy Atkins’ (Medeiros et al., 2012), ‘Summer Bahisht Chuansa’ (Abbasi et al., 2009) เป็นต้น จากการทดลองพบว่า TA แปรผันตามน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ใช้ในการเตรียมสารละลายเคลือบผิว อย่างไรก็ตาม TA ของชุดการทดลอง HM-CTS ลดลงช้ากว่าชุดการทดลองอื่นๆ เนื่องจากความผิดปกติของกระบวนการสุก

#### 6.2.3.6 อัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้

TSS/TA ratio ของทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังเพิ่มอุณหภูมิการเก็บรักษาเป็น 25 °C ในวันที่ 17 ของการทดลอง ชุดควบคุมมีอัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำต่อปริมาณกรดสูงสุด ถัดมาเป็น 0.5% acetic acid, LM-CTS, MM-CTS และ HM-CTS ตามลำดับ ในวันที่ 20 ของการทดลอง TSS/TA ratio ของชุดการทดลอง LM-CTS เพิ่มขึ้นมากที่สุด รองลงมาเป็นของชุดการทดลอง MM-CTS และ HM-CTS ตามลำดับ เมื่อพิจารณาตั้งแต่เริ่มต้นการทดลอง TSS/TA ของชุดการทดลอง MM-CTS เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วมากกว่าชุด

การทดลอง HM-CTS และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันสุดท้ายของการทดลอง (รูปที่ 25)



รูปที่ 25 อัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23

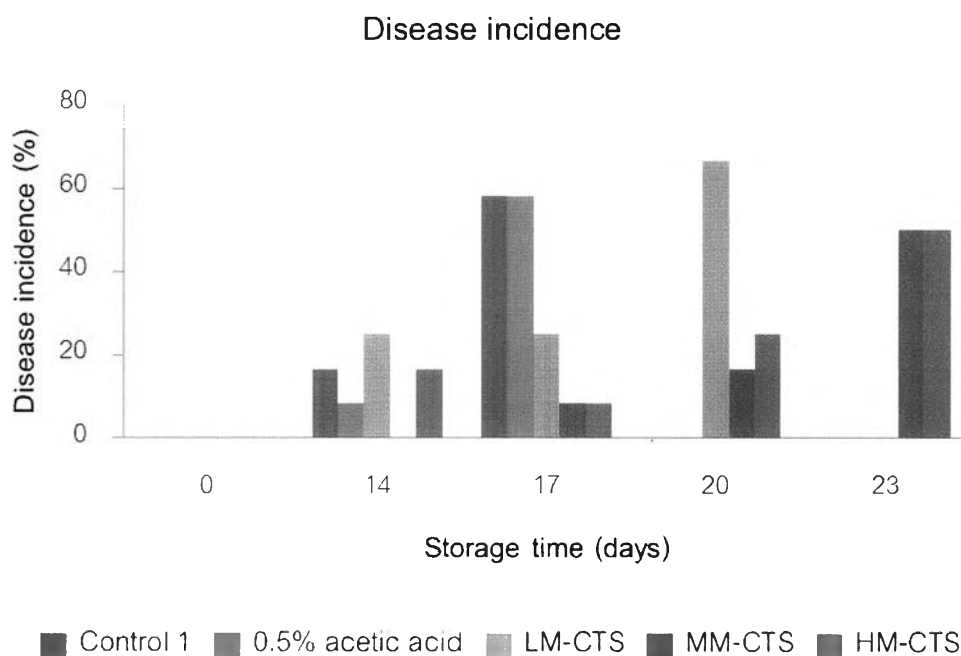
TSS/TA ratio เพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกและสามารถใช้เปรียบเทียบระดับการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ได้อย่างชัดเจน จากการทดลองพบว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง LM-CTS และ MM-CTS มีกระบวนการสุกเกิดขึ้นช้ากว่าชุดควบคุมและ 0.5% acetic acid ในวันที่ 17 ของการทดลองซึ่งหมายถึงอายุหลังการเก็บเกี่ยวที่เพิ่มขึ้น และผลมะม่วงทั้ง 2 ชุดการทดลองสุกอมมากขึ้นหลังจากผ่าน climacteric peak ในวันที่ 20 และ 23 ของการทดลอง นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อน้ำหนักโมเลกุลไคโตซานที่ใช้ในการเตรียมสารละลายเคลือบผิวเพิ่มสูงขึ้นทำให้อัตราส่วน TSS/TA ลดลงอย่างมาก ส่งผลให้ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS ไม่สุกเนื่องจากมีค่า TSS/TA ต่ำกว่าชุดควบคุม

#### 6.2.3.7 ร้อยละของการเกิดโรค

การเคลือบผลมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยสารละลายไคโตซานร่วมกับการเก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่อุณหภูมิ 13 °C เป็นเวลา 14 วันช่วยลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ โดยพบว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ทุกชุดการทดลองมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่า 30% โดยเฉพาะชุดการทดลอง MM-CTS ไม่เกิดโรคในวันที่ 14 ของการทดลอง ในวันที่ 17 ของการ



ทดลองพบว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ทั้งชุดควบคุมและ 0.5% acetic acid มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงเกิน 50% จึงถูกนำออกจากการทดลอง และในวันที่ 20 ของการทดลอง ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง LM-CTS มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค สูงกว่า 60% จึงไม่สามารถเก็บรักษาต่อไป จนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง MM-CTS และ HM-CTS มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเกิน 30% ในวันที่ 23 ของการทดลอง จึงกำหนดให้วันที่ 23 เป็นวันสุดท้ายของการทดลอง (รูปที่ 26)



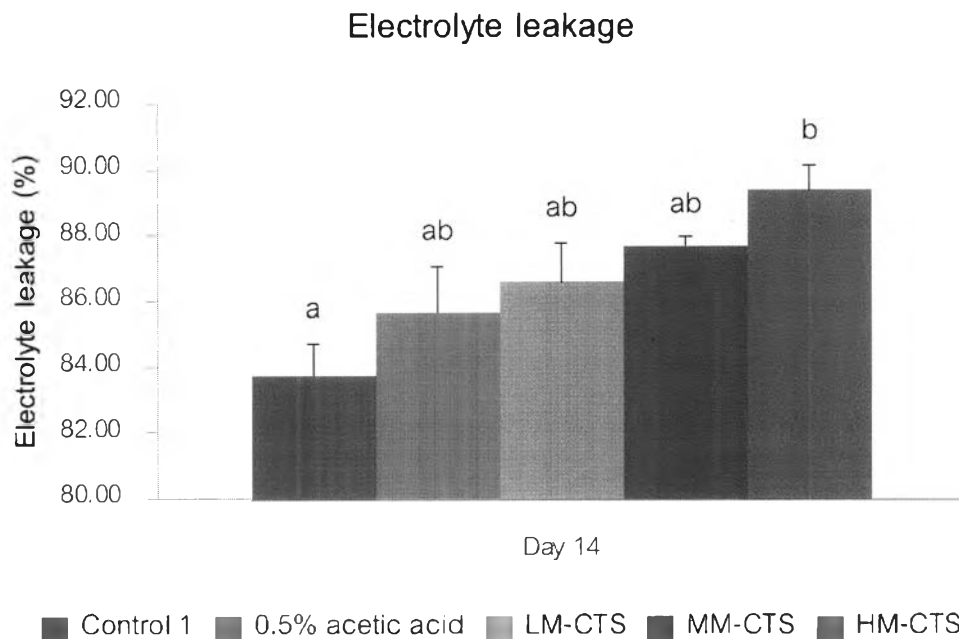
รูปที่ 26 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23

อาการของโรคแอนแทรกโนสเกิดขึ้นได้ตั้งแต่ผลมะม่วงยังไม่สุก แต่พบได้ไม่บ่อยนัก เมื่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกพบการเกิดโรคมามากขึ้น การใช้สารละลายไคโตซานสามารถลดอัตราการเกิดโรคแอนแทรกโนสในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ได้ สอดคล้องกับผลการทดลองในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ของ Jitareerat et al. (2007) ในการศึกษาครั้งนี้พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกโนสเกิน 30% เกิดขึ้นพร้อมๆ กับการเกิด climacteric peak ในชุดควบคุมและชุดการทดลอง 0.5% acetic acid แต่เมื่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้ถูกเคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซานทั้ง 3 ชนิดสามารถเลื่อนเวลาการเกิดโรคออกไปในวันที่ 20 สำหรับชุดการทดลอง LM-CTS และวันที่ 23 สำหรับชุดการทดลอง MM-CTS และ HM-CTS แสดงว่าเมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานสูงขึ้นทำให้ผลมะม่วงน้ำดอกไม้มีอัตราการเกิดโรคแอนแทรกโนสลดลง Hirano and Nagao (1989) รายงานว่าความสามารถของไคโตซานในการยับยั้งการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวชนิดต่างๆ เกิดจากการมีหมู่อะมิโนจำนวนมากในสายพอลิเมอร์ เมื่อไคโตซานอยู่ในรูป

สารละลายจะเกิดประจุบวกที่หมู่อะมิโนและทำให้พอลิเมอร์แสดงสมบัติการเป็น polycationic ซึ่งสมบัติดังกล่าวจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคได้ และยังพบว่าเมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานสูงขึ้นทำให้สายพอลิเมอร์มีความยาวมากขึ้นและแสดงสมบัติการเป็น polycationic ในการยับยั้งการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวได้มากขึ้น Liu et al. (2006) ยังได้รายงานว่าประสิทธิภาพของสารละลายไคโตซานในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ Escherichia coli สูงขึ้นเมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ใช้ในการเตรียมสารละลายสูงขึ้น นอกจากนี้ สมบัติการเป็นสาร elicitor ของไคโตซานสามารถกระตุ้นให้มีการทำงานของเอนไซม์ chitinase และ  $\beta$ -1,3-glucanase ซึ่งพืชใช้ในการต่อต้านการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราได้ (Arlorio et al., 1992; Bautista-Baños et al., 2006)

#### 6.2.3.8 การร่วไหลของไอออนหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 °C

เมื่อนำผลมะม่วงน้ำดอกไม้ทุกชุดการทดลองมาวัดปริมาณการร่วไหลของไอออนในวันที่ 14 ของการทดลอง พบว่าชุดการทดลอง HM-CTS มีการร่วไหลของไอออนมากที่สุดในขณะที่ชุดควบคุมมีการร่วไหลของไอออนน้อยที่สุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง การร่วไหลของไอออนเพิ่มมากขึ้นในชุดการทดลอง 0.5% acetic acid, LM-CTS และ MM-CTS ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 27)



รูปที่ 27 การรั่วไหลของไอออนของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13°C ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษา (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

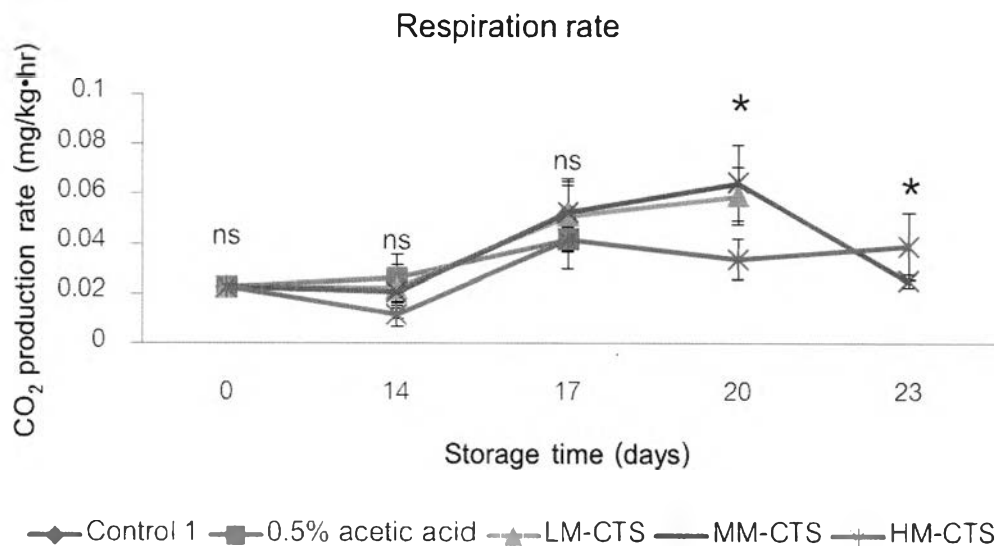
<sup>ns</sup> not significantly different

จากการทดลองไม่พบอาการสะท้านหนาวจากลักษณะภายนอกที่ปรากฏของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ทุกชุดการทดลองจึงสรุปได้ว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้สามารถทนอุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 13 °C ได้และกระบวนการสุกของผลสามารถดำเนินต่อไปได้ตามปกติเมื่อปรับอุณหภูมิเป็น 25 °C เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนซึ่งเป็นค่าที่สามารถใช้บ่งชี้ระดับความรุนแรงของอาการสะท้านหนาวได้ พบว่าการรั่วไหลของไอออนมีค่าลดลงเมื่อใช้สารละลายเคลือบผิวไคโตซานที่เตรียมจากไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยลง ดังนั้น ผลของการเก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่อุณหภูมิต่ำจึงไม่มีผลกระทบต่อารรั่วไหลของไอออนมากเท่ากับผลของน้ำหนักโมเลกุลไคโตซาน โดยทั่วไปการใช้สารละลายไคโตซานช่วยลดการเกิดอาการสะท้านหนาวในผลไม้ได้ Ali et al. (2011) เคลือบผลมะละกอพันธุ์ 'Eksoitika II' ด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ ทำให้ความเสียหายที่เกิดจากอาการสะท้านหนาวในผลมะละกอพันธุ์ดังกล่าวลดลง อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Wongmetha and Ke (2012) ซึ่งทดลองใช้สารละลายไคโตซานเคลือบผลมะม่วงพันธุ์ 'Jinhwang' ทำให้การรั่วไหลของไอออนเพิ่มสูงขึ้นมากกว่าชุดควบคุมเมื่อเก็บรักษาผลมะม่วง

พันธุ์ดังกล่าวที่อุณหภูมิ 10°C เป็นเวลา 30 วัน จึงกล่าวได้ว่าการใช้สารละลายเกลือปิวมะม่วง น้ำดอกไม้ที่เตรียมจากโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงเกินไปไม่ส่งผลดีต่อเชื้อหุ้มเซลล์ของผล มะม่วงน้ำดอกไม้

#### 6.2.3.9 อัตราการหายใจ

เมื่อเปลี่ยนอุณหภูมิในการเก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้จาก 13 °C เป็น 25 °C ในวันที่ 14 ของการทดลองพบว่าอัตราการหายใจในวันดังกล่าวไม่เปลี่ยนแปลงจากอัตราการหายใจเมื่อ เริ่มการทดลองมากนัก ยกเว้นในชุดการทดลอง HM-CTS ที่มีอัตราการหายใจลดลง อัตราการ หายใจของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นในวันที่ 17 ของการทดลองโดยไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในวันที่ 20 ของการทดลอง ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ใน ชุดการทดลอง MM-CTS มีอัตราการหายใจสูงสุด ส่วนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS มีอัตราการหายใจต่ำที่สุด ในวันสุดท้ายของการทดลอง อัตราการหายใจของผล มะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง MM-CTS ลดลงกว่า 60% เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการ หายใจในวันที่ 20 ของการทดลองและมีค่าต่ำกว่าอัตราการหายใจของชุดการทดลอง HM-CTS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 28)



รูปที่ 28 อัตราการหายใจของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23

(ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

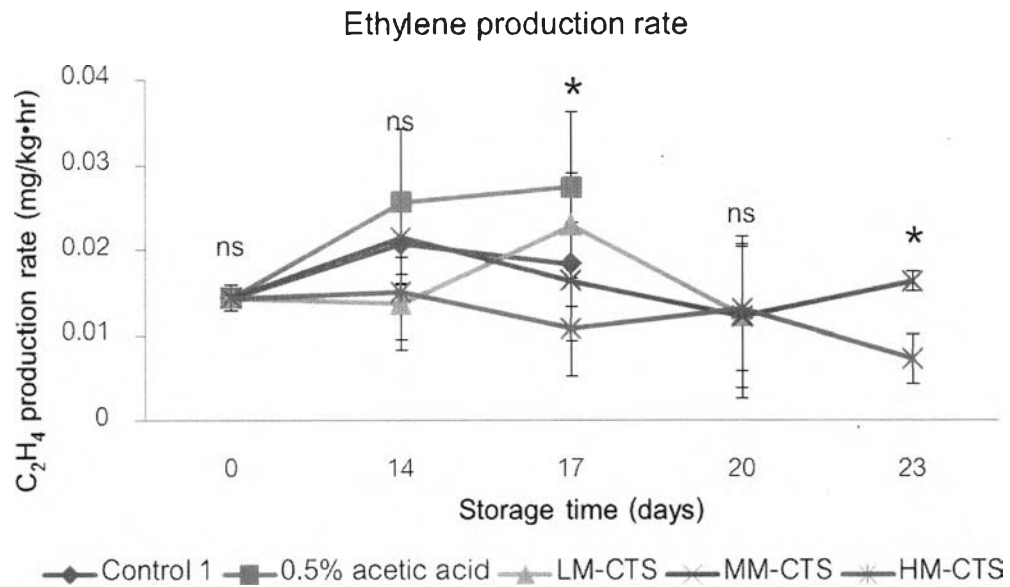
เครื่องหมาย \* เหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>ns</sup> not significantly different

อัตราการหายใจของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นอย่างมากในวันที่ 17 ของการทดลองและแสดงรูปแบบการเกิด climacteric peak ของการหายใจแบบ climacteric fruit ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Ma et al. (2014) ในผล aprium และผลการศึกษาของ Liu et al. (2014) ในผลพลัม อัตราการหายใจของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง LM-CTS เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องและเพิ่มสูงสุดในวันที่ 20 ของการทดลองเช่นเดียวกับอัตราการหายใจของชุดการทดลอง MM-CTS จากนั้นอัตราการหายใจของชุดการทดลอง MM-CTS ลดลงกว่า 60% ในวันสุดท้ายของการทดลองเนื่องจากผลสุกงอมเต็มที่และเริ่มเข้าสู่ภาวะเสื่อมถอย อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาอัตราการหายใจของชุดการทดลอง HM-CTS พบว่าอัตราการหายใจของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ต่ำกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ในวันที่ 14 ของการทดลองแล้วจึงเพิ่มขึ้นในวันที่ 17 ของการทดลองแต่ก็ยังอยู่ในระดับต่ำกว่าชุดการทดลอง LM-CTS และ MM-CTS และไม่แสดงรูปแบบการเกิด climacteric peak ที่ชัดเจน อัตราการหายใจค่อนข้างคงที่จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองซึ่งเป็นผลสืบเนื่องจากอัตราการผลิตเอทิลีนของชุดการทดลอง HM-CTS ค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลอง LM-CTS และ MM-CTS จึงสรุปได้ว่าการใช้สารละลาย HM-CTS ไปรบกวนเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในระหว่างกระบวนการสุก

#### 6.2.3.10 อัตราการผลิตเอทิลีน

อัตราการผลิตเอทิลีนของชุดควบคุม ชุดการทดลอง 0.5% acetic acid และ LM-CTS เพิ่มขึ้นในวันที่ 17 ของการทดลองเนื่องจากผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกโดยชุดการทดลอง 0.5% acetic acid มีการผลิตเอทิลีนสูงที่สุด อัตราการผลิตเอทิลีนในชุดการทดลอง MM-CTS และ HM-CTS ลดลงจากวันที่ 14 โดยผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS มีอัตราการผลิตเอทิลีนต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อัตราการผลิตเอทิลีนของ MM-CTS อยู่ในระดับคงที่จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง และในวันสุดท้ายของการทดลอง อัตราการผลิตเอทิลีนของชุดการทดลอง HM-CTS มีค่าน้อยกว่าอัตราการผลิตเอทิลีนของ MM-CTS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 29)



รูปที่ 29 อัตราการผลิตเอทิลีนของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23

(ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

เครื่องหมาย \* เหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

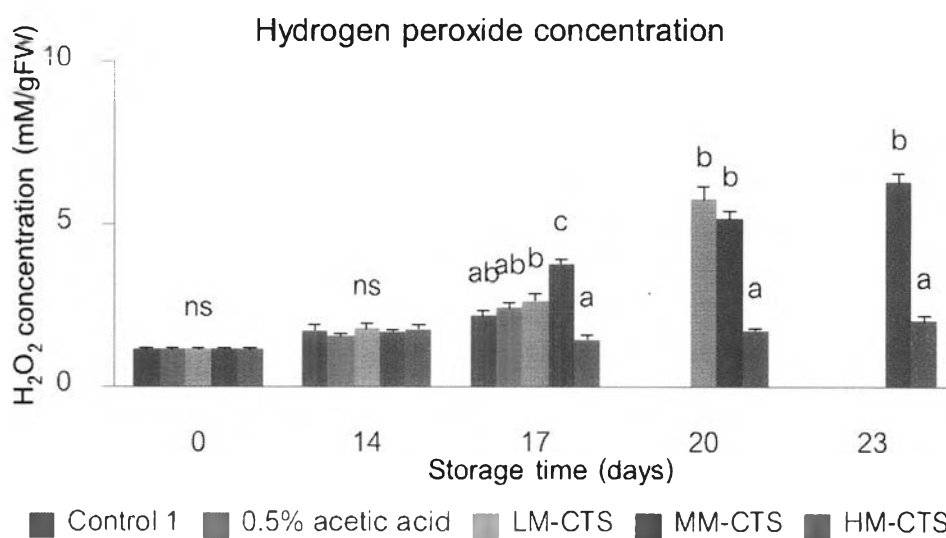
ns not significantly different

อัตราการผลิตเอทิลีนของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดควบคุม, 0.5% acetic acid, LM-CTS และ MM-CTS เพิ่มขึ้นอย่างมากระหว่างวันที่ 14-17 ในเวลาที่ใกล้เคียงกับการเกิด climacteric peak ของอัตราการหายใจ แสดงว่าระหว่างช่วงเวลาดังกล่าวเกิด ethylene autocatalytic synthesis ของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เป็นผลทำให้ผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกในวันที่ 17 ของการทดลอง การใช้สารละลายไคโตซานทั้ง 3 ชนิดช่วยลดอัตราการผลิตเอทิลีนเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการผลิตเอทิลีนของชุดการทดลอง 0.5% acetic acid ทำให้กระบวนการสุกโดยรวมของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง LM-CTS, HM-CTS และ HM-CTS เกิดช้าลงและส่งผลให้อายุการเก็บรักษาของผลมะม่วงน้ำดอกไม้เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Ma et al. (2014) ที่ได้ทดลองใช้สารละลายไคโตซานกับผล aprium พบว่าเมื่ออัตราการผลิตเอทิลีนลดลงทำให้อัตราการหายใจของผล aprium ลดลงและทำให้อายุการสุกของผลเกิดช้าลง นอกจากนี้ Liu et al. (2014) พบว่าการเคลือบผลพลัมด้วยสารละลายไคโตซานลดอัตราการหายใจและสามารถยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวของผลพลัมไปได้อีก 5 วัน อย่างไรก็ตามอัตราการผลิตเอทิลีนของชุดการทดลอง HM-CTS มีรูปแบบต่างจากอัตราการผลิตเอทิลีนของชุดการทดลอง LM-CTS และ MM-CTS โดยมีอัตราการผลิตเอทิลีนค่อนข้างต่ำตลอดการ

ทดลอง ทำให้ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ไม่สุกเต็มที่เหมือนชุดการทดลองอื่นๆ จึงสรุปได้ว่าการใช้สารละลายเคลือบผิวมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เตรียมจากโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 410,000 ดาลตันไปยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์เอทิลีนมากเกินไปจนทำให้การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา ระหว่างการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS เกิดความผิดปกติ

#### 6.2.3.11 ปริมาณ $H_2O_2$

ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในเนื้อผลมะม่วงน้ำดอกไม้ทุกชุดการทดลองในวันที่ 14 เพิ่มขึ้นจากความเข้มข้นเริ่มต้นเล็กน้อยและไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในวันที่ 17 ของการทดลอง ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง MM-CTS มีความเข้มข้นของ  $H_2O_2$  สูงที่สุด และเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง ความเข้มข้นของ  $H_2O_2$  ในชุดการทดลอง LM-CTS มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเช่นเดียวกับชุดการทดลอง MM-CTS อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้น  $H_2O_2$  ของชุดการทดลอง HM-CTS อยู่ในระดับต่ำกว่าชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง (รูปที่ 30)



รูปที่ 30 อัตราการผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23 (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>ns</sup> not significantly different

ความเข้มข้นของ  $H_2O_2$  ขึ้นอยู่กับปริมาณของสารตั้งต้น  $O_2^{\cdot-}$  ที่ถูกเปลี่ยนเป็น  $H_2O_2$  โดยเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) (Scandalios, 1993) ผลไม้สุกจะมีปริมาณ  $H_2O_2$  มากขึ้น (Camejo et al., 2010) เมื่อผลไม้ได้รับโคโคซานจะมีการกระตุ้นการผลิต  $H_2O_2$  มากขึ้น

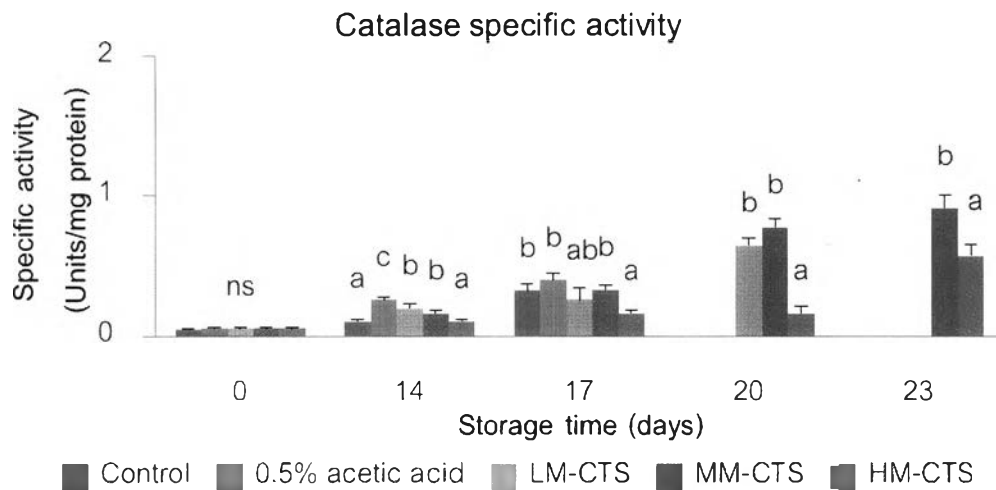
Hong et al. (2012) เคลือบผลฝรั่งด้วยสารละลายไคโตซานแล้ววัดอัตราการผลิต  $O_2$ - พบว่าผลฝรั่งมีการผลิต  $O_2$ - สูงขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษายาวนานขึ้น นอกจากนี้ยังพบการทำงานของเอนไซม์ SOD ในระดับสูง ส่งผลให้  $H_2O_2$  ถูกผลิตออกมาในปริมาณมาก จากการทดลองพบว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง LM-CTS และ MM-CTS มีปริมาณ  $H_2O_2$  เพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อผลสุกงอมมากขึ้นแสดงว่าไคโตซานทั้ง 2 ชนิดไปกระตุ้นให้เกิดการป้องกันตัวเองของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ (Gonzalez-Aguilar et al., 2010) อย่างไรก็ตามปริมาณ  $H_2O_2$  ที่มากเกินไปเป็นอันตรายต่อเซลล์ ทำให้เกิดการเสื่อมถอยและการตายของเซลล์ในที่สุด (Quan et al., 2008) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณ  $H_2O_2$  ของชุดการทดลอง MM-CTS เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปริมาณ  $H_2O_2$  ในชุดการทดลอง HM-CTS มีอยู่น้อยมากเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ทั้งนี้ น่าจะมีสาเหตุมาจากกระบวนการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลอง HM-CTS ถูกยับยั้งโดยไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง

#### 6.2.3.12 การทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ

##### 6.2.3.12.1 การทำงานของเอนไซม์ catalase

catalase (CAT) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่กำจัด  $H_2O_2$  ที่มีการทำงานน้อยที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ การทำงานของ CAT มีค่าน้อยที่สุดเมื่อเริ่มต้นการทดลอง เมื่อเก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่อุณหภูมิ 13 °C เป็นเวลา 14 วันทำให้การทำงานของ CAT เพิ่มขึ้น โดยในวันที่ 14 ชุดการทดลอง 0.5% acetic acid มีการทำงานของ CAT สูงสุด การทำงานของ CAT ในชุดการทดลอง LM-CTS และ MM-CTS เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในวันที่ 20 ของการทดลองมีการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้นจากวันเริ่มต้นการทดลองถึง 13 เท่า การทำงานของ CAT ในชุดการทดลอง HM-CTS เพิ่มขึ้นเล็กน้อยจนถึงวันที่ 20 และเพิ่มสูงขึ้นกว่าวันเริ่มต้นการทดลอง 11 เท่าในวันที่ 23 ของการทดลอง อย่างไรก็ตาม ในวันสุดท้ายของการทดลอง การทำงานของ CAT ของชุดการทดลอง HM-CTS มีค่าต่ำกว่าของชุดการทดลอง MM-CTS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 31)





รูปที่ 31 การทำงานของเอนไซม์ catalase ของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23 (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

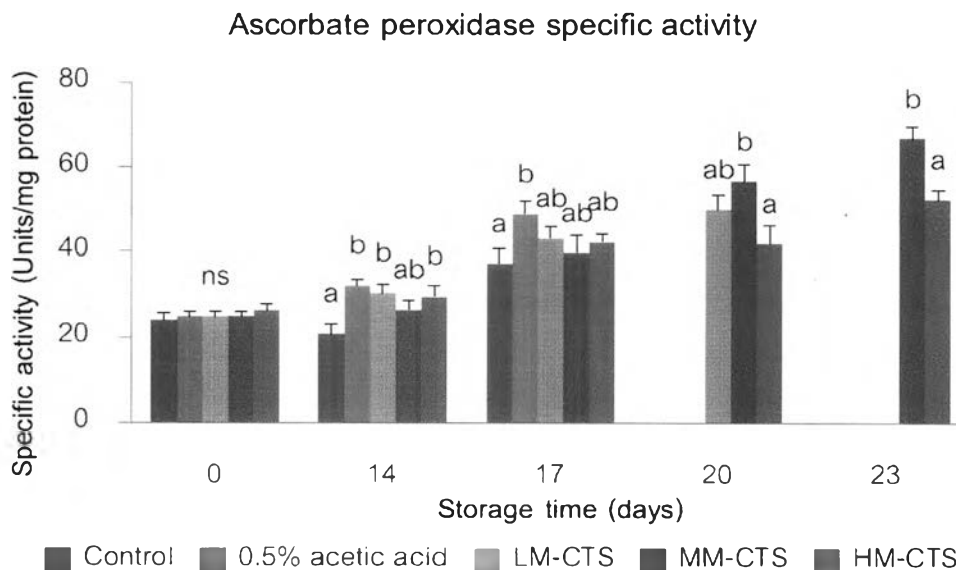
<sup>ns</sup> not significantly different

catalase เป็นเอนไซม์ที่สามารถเปลี่ยน  $H_2O_2$  เป็นโมเลกุลน้ำและ  $O_2$  ได้โดยไม่ต้องใช้ coenzyme (Mhamdi et al., 2010) Mattoo and Modi (1969) รายงานว่าผลมะม่วงพันธุ์ 'Alfonso' มีการทำงานของ catalase เพิ่มขึ้นเมื่อผลสุกมากขึ้น การศึกษาของ Wang and Gao (2013) พบว่าผลสตรอเบอร์รี่มีการทำงานของ CAT สูงขึ้นเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลายาวนานขึ้น และเมื่อผลสตรอเบอร์รี่ถูกเคลือบด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้นสูงขึ้นทำให้การทำงานของ CAT เพิ่มขึ้นมากกว่าชุดควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้โดยพบว่าการทำงานของ CAT ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นเมื่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกมากขึ้นนอกจากนี้การทำงานของ CAT ยังเพิ่มขึ้นเมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการทำงานของ CAT ในชุดการทดลอง HM-CTS ต่ำกว่าของชุดการทดลองที่ใช้สารละลายไคโตซาน LM-CTS และ MM-CTS เนื่องจากฟิล์มที่เคลือบบนเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้มีความหนาเกินไป จึงไปขัดขวางการแพร่เข้าออกของ  $C_2H_4$ ,  $O_2$  และ  $CO_2$  ซึ่งเป็นโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เมื่อเกิดความผิดปกติของกระบวนการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้จึงสะท้อนออกมาให้เห็นถึงความผิดปกติของการทำงานของ CAT ด้วย การศึกษาของ Badawy and Rabea (2009) ทดลองใช้ไคโตซานที่มีความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุล 4 ระดับ ได้แก่ 5,000 ดาลตัน 37,000 ดาลตัน 57,000 ดาลตัน และ 290,000 ดาลตันในการเตรียมสารละลายเคลือบผลมะเขือเทศความเข้มข้น 1% โดยมวลต่อ

ปริมาณ พบว่าการใช้ไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 57,000 ดาลตันให้ผลการทดลองที่ดีที่สุด จากการศึกษาข้างต้นทำให้ทราบว่าประสิทธิภาพในการยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะเขือเทศเพิ่มขึ้นเมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานเพิ่มขึ้น แต่เมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานสูงเกินไปทำให้กระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะเขือเทศผิดปกติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้

#### 6.2.3.12.2 การทำงานของเอนไซม์ ascorbate peroxidase

ascorbate peroxidase (APX) มีความสามารถในการกำจัด  $H_2O_2$  สูงสุดในการศึกษาในครั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบค่า specific activity กับเอนไซม์กำจัดอนุมูลอิสระชนิดอื่น ๆ เมื่อเก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้เป็นเวลายาวนานขึ้นพบว่ามีการทำงานของ APX เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ในวันที่ 17 ของการทดลอง การทำงานของ APX ในชุดการทดลอง 0.5% acetic acid มีค่าสูงที่สุด การทำงานของ APX ในชุดการทดลอง MM-CTS มีค่าสูงที่สุดในวันที่ 20 รองลงมาคือชุดการทดลอง LM-CTS และ HM-CTS ตามลำดับ ในวันสุดท้ายของการทดลอง MM-CTS มีการทำงานของ APX เพิ่มขึ้นที่สุดและสูงกว่าชุดการทดลอง HM-CTS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 32)



รูปที่ 32 การทำงานของเอนไซม์ ascorbate peroxidase ของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23 (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

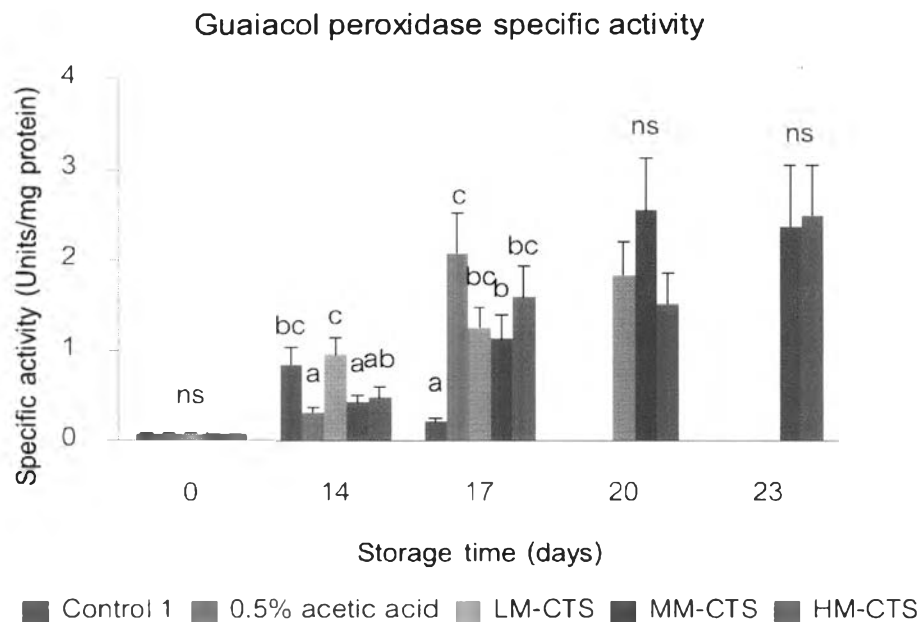
ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>ns</sup> not significantly different

ascorbate peroxidase เป็นเอนไซม์ที่มีการทำงานสูงที่สุดในการศึกษาครั้งนี้เพราะ APX เป็นเอนไซม์ที่มีความไวต่อการสับสเตรท  $H_2O_2$  สูงมาก APX สามารถย่อยสลาย  $H_2O_2$  ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ  $\mu\text{mol}$  ในขณะที่ CAT และ POD สามารถทำปฏิกิริยาได้ดีที่ความเข้มข้นของ  $H_2O_2$  ในระดับ  $\text{mmol}$  (Gill and Tuteja, 2010) การทำงานของ APX เพิ่มขึ้นเมื่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกมากขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงการทำงานของ APX ในกระบวนการสุกของผลพีช (Camejo et al., 2010) เมื่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้ถูกเคลือบด้วยสารละลายไคโตซานทำให้การทำงานของ APX สูงกว่าชุดควบคุม สอดคล้องกับผลการทดลองในสตรอเบอร์รี่ (Wang and Gao, 2013) MM-CTS สามารถเพิ่มการทำงานของ APX ได้มากกว่า LM-CTS ในขณะที่การทำงานของ APX ของชุดการทดลอง HM-CTS ในวันที่ 20 และ 23 ของการทดลองมีการทำงานน้อยที่สุดเนื่องจากกระบวนการสุกที่ผิดปกติโดยมีสาเหตุจากฟิล์มเคลือบผิวที่มีความหนาเกินไป

#### 6.2.3.12.3 การทำงานของเอนไซม์ guaiacol peroxidase

guaiacol peroxidase (GPX) มีการทำงานน้อยมากเมื่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้ยังไม่สุก หลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $13\text{ }^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 14 วัน GPX มีการทำงานเพิ่มมากขึ้น โดยการทำงานของ GPX ในชุดการทดลอง LM-CTS มีค่ามากที่สุด ในวันที่ 17 ชุดการทดลอง 0.5% acetic acid มีการทำงานของ GPX มากที่สุด อย่างไรก็ตาม การทำงานของ GPX ในวันที่ 20 และ 23 ของการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง (รูปที่ 33)



รูปที่ 33 การทำงานของเอนไซม์ guaiacol peroxidase ของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในวันที่ 0, 14, 17, 20 และ 23 (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหนือกราฟแสดงถึงความเหมือนหรือความต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>ns</sup> not significantly different

guaiacol peroxidase กำจัด  $H_2O_2$  ร่วมกับการใช้อิเล็กตรอนจากสาร guaiacol จากผลการทดลองพบว่า GPX มีการทำงานสูงขึ้นเมื่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกมากขึ้น สอดคล้องกับผลการทดลองในผลฝรั่ง (Hong et al., 2012) พีช (Ma et al., 2013) สตรอเบอร์รี่ (Wang and Gao, 2013) การใช้สารละลายไคโตซานเคลือบผิวทำให้การทำงานของ GPX เพิ่มขึ้นมากกว่าชุดควบคุมในวันที่ 17 ของการทดลองแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างชัดเจนเมื่อใช้สารละลายไคโตซานที่เตรียมจากไคโตซานทั้ง 3 ชนิดสรุปได้ว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานไม่มีผลโดยตรงต่อการเพิ่มการทำงานของ GPX ในการทดลองครั้งนี้

## 7. สรุปผลการทดลอง

การใช้สารละลายไคโตซาน ช่วยรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ 'เบอร์ 4' สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกคโนสได้ และทำให้อายุการเก็บรักษาของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเพิ่มขึ้นเป็น 15 วัน สารละลายไคโตซานที่เตรียมสดใหม่มีประสิทธิภาพในการยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ดีกว่าสารละลายไคโตซานที่ผ่านการเก็บรักษามาเป็นระยะเวลา 14 วัน เนื่องจากสารละลายมีความหนืดสูงกว่า ทำให้การยึดเกาะของชั้นฟิล์มบางไคโตซานบนผิวมะม่วงน้ำดอกไม้เกิดขึ้นได้ดี และยังคงลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้ดีกว่าสารละลายไคโตซานที่เก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน ความหนาของฟิล์มไคโตซานบนผิวมะม่วงน้ำดอกไม้จำกัดการผ่านเข้าออกของแก๊ส เมื่อฟิล์มไคโตซานมีความหนามากขึ้นทำให้การผ่านเข้า-ออกของแก๊สลดลงจึงช่วยชะลอกระบวนการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ได้ อย่างไรก็ตามพบว่าฟิล์มบางไคโตซานที่เตรียมจากไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 410,000 ดาลตัน มีความหนามากที่สุดและทำให้กระบวนการสุกและคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ผิดปกติ

การใช้สารละลายเคลือบผิวไคโตซานที่เตรียมสดใหม่ร่วมกับการเก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วันทำให้ผลมะม่วงน้ำดอกไม้มีอายุการเก็บรักษายาวนานขึ้น แต่พบว่าเมื่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกมีการเปลี่ยนแปลงสีผลเป็นสีเหลืองสดน้อยกว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเล็กน้อย ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซานที่เตรียมจากไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 240,000 ดาลตันมีการสุกของผลเกิดขึ้นตามปกติและสามารถรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ได้ดีที่สุดเนื่องจากมีการสูญเสียน้ำหนักสดน้อย สามารถรักษาความแน่นเนื้อไว้ได้มาก มีการเปลี่ยนแปลงความหวานของผลเป็นปกติ เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกคโนสน้อย และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้ได้ยาวนานถึง 23 วัน อัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีนของผลมะม่วงน้ำดอกไม้เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนระหว่างวันที่ 14-17 ของการทดลอง แสดงให้เห็นว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้สามารถเกิดกระบวนการสุกต่อไปได้ตามปกติหลังจากผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วัน การใช้สารละลายไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 240,000 ดาลตัน ปรับปรุงระบบการต้านอนุมูลอิสระในผลมะม่วงน้ำดอกไม้โดยการเพิ่มปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และการทำงานของเอนไซม์ catalase, ascorbate peroxidase และ guaiacol peroxidase อย่างไรก็ตามการใช้ไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 410,000 ดาลตันทำให้กระบวนการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ผิดปกติ ดังนั้น การใช้ไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 240,000 ดาลตันสำหรับเตรียมสารละลายเคลือบผลมะม่วงน้ำดอกไม้สามารถยืดอายุหลังการเก็บรักษาและคงคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ 'เบอร์ 4' ได้ดีที่สุด

## 8. เอกสารอ้างอิง

### ภาษาไทย

- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2553. สถิติการส่งออกมะม่วงสดของประเทศไทยไปยังต่างประเทศในปี 2543-2553. ([http://www.oae.go.th/oae\\_report/export\\_import/export\\_result.php](http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/export_result.php))
- อรรถพล ฤกษ์พงษ์. 2552. การพัฒนาสารเคลือบบริโกลไค์เพื่อยืดอายุมะม่วงตัดแต่ง. *วิทยานิพนธ์ปริญญาโท* มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

### ภาษาอังกฤษ

- Abbasi, N. A., Iqbul, Z., Maqbool, M. and Hafiz, I. A. 2009. Postharvest quality of mango (*Mangifera indica* L.) fruit as affected by chitosan coating. *Pakistan Journal of Botany* 41(1): 343-357.
- Abd-Alla, M. A. and Haggag, W. M. 2010. New safe methods for controlling anthracnose disease of mango (*Mangifera indica* L.) fruits caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.). *Journal of American Science* 8(8): 361-367.
- Abugoch L.E., Tapia C., Villamán M.C., Yazdani-Pedram M., Díaz-Dosque M. 2011. Characterization of quinoa protein-chitosan blend edible films. *Food Hydrocolloids*. 25: 879-886.
- Aguiar R.P., Miranda M.R.A., Lima A.M.P., Mosca J.L., Moreira R.A., Enéas-Filho. 2011. Effect of a galactomannan coating on mango postharvest physicochemical quality parameters and physiology. *Fruits*. 66(4): 269-278.
- Ali, A., Muhammad, M. T. M., Sijam, K. and Siddiqui, Y. 2011. Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. *Food Chemistry* 124: 620-626.
- Ali, A., Zahid, N., Manickam, S., Siddiqui, Y., Alderson, P. G. and Maqbool, M. 2013. Effectiveness of submicron chitosan dispersions in controlling anthracnose and maintaining quality of dragon fruit. *Postharvest Biology and Technology* 86: 147-153.
- Amador, J. R. 2011. *Procedures for analysis of citrus products*. Lakeland, FL: John Bean Technology Corporation.
- Argueso, C., Hansen, M. and Kieber, J. 2007. Regulation of ethylene biosynthesis. *Journal of Plant Growth Regulation* 26: 92-105.

- Arlorio, M., Ludwig, A., Boller, T. and Bonfante, P. 1992. Inhibition of fungal growth by plant chitinases and  $\beta$ -1,3-glucanases. A morphological study. Protoplasma 171: 34-43.
- Badawy, M. E. I. and Rabea, E. I. 2009. Potential of the biopolymer chitosan with different molecular weights to control postharvest gray mold of tomato fruit. Postharvest Biology and Technology 51: 110-117.
- Baldwin E.A., Burns J.K., Kazokas W., Brecht J.K., Hagenmaier R.D., Bender R.J., Pesis E. 1999. Effect of two edible coatings with different permeability characteristics on mango (*Mangifera indica* L.) ripening during storage. Postharvest Biology and Technology. 17(3): 215-226.
- Bapat, V. A., Trivedi, P. K., Ghosh, A., Sane, V. A., Ganapathi, T. R. and Nath, P. 2010. Ripening of Fleshy Fruit: Molecular Insight and the Role of Ethylene. Biotechnology Advances 28: 94-107.
- Bautista-Baños, S., Hernández-Lauzardo, A. N., Velázquez-del Valle, M. G., Hernández-Lopez, M., Barka, E. A. and Bosquez-Molina, E. 2006. Chitosan as a Potential Natural Compound to Control Pre and Postharvest Disease of Horticultural Commodities. Crop Protection 25: 108-118.
- Beckles, D. M. 2012. Factors affecting the postharvest soluble solids and sugar content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. Postharvest Biology and Technology 63: 129-140.
- Beers, R. F. and Sizer, I. W. 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. Journal of Biological Chemistry 195: 133-140.
- Burg, S. P. and Burg, E. A. 1961. Role of Ethylene in Fruit Ripening. Department of Physiology, University of Miami School of Medicine.
- Camejo, D., Martí, M. C., Román, P., Ortiz, A. and Jiménez, A. 2010. Antioxidant system and protein pattern in peach fruits at two maturation stage. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58: 11140-11147.
- Campbell, N. A., Reece, J. B., Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V. et al. 2009. Biology. San Francisco, CA: Benjamin Cummings.
- Chance, B. and Maehly, A. C. 1995. Assays of catalases and peroxidases. In Colowick, S.P. and Kaplan, N.O. (ed.). Methods in Enzymology. New York, Academic Press: 764-765.
- Chien P.J., Sheu F., Yang F.H. 2005. Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. Journal of Food Engineering. 78: 225-229.
- Chervin, C., El-Kereamy, A., Roustan, J., Latché, A., Lamon, J. and Bouzayen, M. 2004. Ethylene seems required for the berry development and ripening in grape, a non-climacteric fruit. Plant Science 167: 1301-1305.

- Corrales-García, J. and Canche-Canche, E. 2008. Physical and physiological changes in low-temperature-stored pitahaya fruit (*Hylocereus undatus*). Journal of the Professional Association for cactus development 10: 108-119.
- El-Hefian, E. A. and Yahaya, A. H. 2010. Rheological study of chitosan and its blends: an overview. Maejo International Journal of Science and Technology 4(210-220).
- Gaete-Eastman, C., Figueroa, C. R., Balbontin, C., Moya, M., Atkinson, R. G., Herrera, R. et al. 2009. Expression of an ethylene-related expansin gene during softening of mountain papaya fruit (*Vasconcellea pubescens*). Postharvest Biology and Technology 53: 58-65.
- Gao, P., Zhu, Z. and Zhang, P. 2013. Effects of chitosan–glucose complex coating on postharvest quality and shelf life of table grapes. Carbohydrate Polymers 95: 371-378.
- Gill, S. S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry 48: 909-930.
- Giovannoni, J. 2001. Molecular biology of fruit maturation and ripening. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 52(725-749).
- Giovannoni, J. J. 2004. Genetic Regulation of Fruit Development and Ripening. Plant Cell 16: 170-180.
- Giovannoni, J. J. 2007. Fruit ripening mutants yield insights into ripening control. Current Opinion in Plant Biology 10: 283-289.
- Gol, N. B. and Rao, T. V. R. 2011. Banana fruit ripening as influenced by edible coatings. International Journal of Fruit Science 11: 119-135.
- Gonzalez-Aguilar, G. A., Villa-Rodriguez, J. A., Ayala-Zavala, J. F. and Yahia, E. M. 2010. Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some postharvest treatments. Food Science and Technology 21: 475-482.
- Hayama, H., Tatsuki, M., Ito, A. and Kashimura, Y. 2006. Ethylene and fruit softening in the stony hard mutation in peach. Postharvest Biology and Technology 41: 16-21.
- Hirano, S. and Nagao, N. 1989. Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme, and chitinase on the growth of several phytopathogens. Agricultural and Biochemical Chemistry 53(11): 3065-3066.
- Hoa T.T., Ducamp M.N. 2008. Effects of different coatings on biochemical changes of 'cat Hoa loc' mangoes in storage. Postharvest Biology and Technology. 48: 150-152.



- Hong, K., Xie, J., Zhang, L., Sun, D. and Gong, D. 2012. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of guava (*Psidium guajava* L.) fruit during cold storage. Scientia Horticulturae 144: 172-178.
- Ing, L. Y., Zin, N. M., Sarwar, A. and Katas, H. 2012. Antifungal activity of chitosan nanoparticles and correlation with their physical properties. International Journal of Biomaterials 2012: 1-9.
- Inzé, D. and Montagu, V. 1995. Oxidative stress in plants. Current Opinion in Biotechnology 6: 153-158.
- Jitareerat, P., Paumchai, S., Sangchote, S. and Kanlayanarat, S. 2007. Effect of Chitosan on Ripening, Enzymatic Activity, and Disease Development in Mango (*Mangifera indica*) Fruit. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 35: 211-218.
- Kasetsart University Radio Broadcasting Station. Thai Mango. World Mango (in Thai) [Online]. 2011. Available from: <http://radio.ku.ac.th/activities/cm/participation/mango/mango.htm> [2014, November 10]
- Kesari, R., Trivedi, P. K. and Nath, P. 2007. Ethylene-induced ripening in banana evokes expression of defense and stress related genes in fruit tissue. Postharvest Biology and Technology 46: 136-143.
- Khan, A. S. and Singh, Z. 2007. 1-MCP regulates ethylene biosynthesis and fruit softening during ripening of 'Tegan Blue' plum. Postharvest Biology and Technology 43: 298-306.
- Kim, Y., Brecht, J. K. and Talcott, S. T. 2007. Antioxidant phytochemical and fruit quality changes in mango (*Mangifera indica* L.) following hot water immersion and controlled atmosphere storage. Food Chemistry 105: 1327-1334.
- Kittur, F. S., Saroja, N., Habibunnisa and Tharanathan, R. N. 2001. Polysaccharide-based composite coating formulations for shelf-life extension of fresh banana and mango. European Food Research and Technology 213(4-5): 306-311.
- Lederman I.E., Zauberman G., Weksler A., Rot I., Fuchs Y. 1997. Ethylene-forming capacity during cold storage and chilling injury development in 'Keitt' mango fruit. Postharvest Biology and Technology. 10: 107-112.
- Lima M.A., Cerqueira A.M., Souza W.S.B., Carlos M.E., Jose A.S., Renato A.T., Vicente A.A. 2010. New edible coatings composed of galactomannans and collagen blends to improve the postharvest quality of fruits-Influence on fruits gas transfer rate. Journal of Food Engineering. 97:101-109.
- Liu, K., Yuan, C., Chen, Y., Li, H. and Liu, J. 2014. Combined effects of ascorbic acid and chitosan on the quality maintenance and shelf life of plums. Scientia Horticulturae 176: 45-53.

- Liu, N., Chen, X., Park, H., Liu, C., Liu, C., Meng, X. et al. 2006. Effect of mw and concentration of chitosan on bacterial activity of *Escherichia coli*. Carbohydrate Polymers 64: 60-65.
- Locato, V., Cimini, S. and De Gara, L. 2013. Strategies to increase vitamin C in plants: from plant defense perspective to food biofortification. Frontiers in Plant Science 4: 1-12.
- Long, J. H. W. S. 2013. Synthesis and characterization of chitosan from shrimp shells. Master's Thesis, Faculty of Engineering and Science, Universiti Tunku Abdul Rahman.
- Ma, L., Cao, J., Xu, L., Zhang, X., Wang, Z. and Jiang, W. 2014. Effects of 1-methylcyclopropene in combination with chitosan oligosaccharides on post-harvest quality of aprium fruits. Scientia Horticulturae 179: 301-305.
- Ma, Z., Yang, L., Yan, H., Kennedy, J. F. and Meng, X. 2013. Chitosan and oligochitosan enhance the resistance of peach fruit to brown rot. Carbohydrate Polymers 94: 272-277.
- Marangoni, A. G., Palma, T. and Stanley, D. W. 1996. Membrane effects in postharvest physiology. Postharvest Biology and Technology 7: 193-217.
- Mattoo, A. K. and Modi, V. V. 1969. Ethylene and Ripening of Mango. Plant Physiology 44: 308-310.
- Medeiros, B. G. S., Pinheiro, A. C., Carneiro-da-Cunha, M. G. and Vicente, A. A. 2012. Development and characterization of a nanomultilayer coating of pectin and chitosan – evaluation of Its gas barrier properties and application on ‘Tommy Atkins’ mangoes. Journal of Food Engineering 110: 457-464.
- Medlicott, A. P., Sigrist, J. M. M. and Sy, O. 1990. Ripening of mangos following low-temperature storage. Journal of American Society of Horticultural Science 115(3): 430-434.
- Mhamdi, A., Queval, G., Chaouch, S., Vanderauwera, S., Breusegem, F. V. and Noctor, G. 2010. Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models. Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models 61: 4197-4220.
- Morga, N. S., Lustre, A. O., Tunac, M. M., Balagot, A. H. and Soriano, M. R. 1978. Physico-chemical changes in philippine carabao mangoes during ripening. Food Chemistry 79: 225-234.
- Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22: 867-880.
- No, H. K., Kim, S. H., Lee, S. H., Park, N. Y. and Prinyawiwatkul, W. 2006. Stability and antibacterial activity of chitosan solutions affected by storage temperature and time. Carbohydrate Polymers 65: 174-178.

- Office of Agricultural Economics 2012. Thailand Foreign Agricultural Trade Statistics 2011 (in Thai). Bangkok: Ministry of Agriculture and Cooperatives.
- Parkin, L. K. and Kuo, S. J. 1989. Chilling-induced lipid degradation in cucumber (*Cucumis sativa* L. cv Hybrid C) fruit. Plant Physiology 90: 1049-1056.
- Phakawatmongkol W., Ketsa S., Doorn W.G. 2004. Variation in fruit chilling injury among mango cultivars. Postharvest Biology and Technology. 32: 15-118.
- Quan, L., Zhang, B., Shi, W. and Li, H. 2008. peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. Journal of Integrative Plant Biology 50: 2-18.
- Ramesh, H. P., Viswanatha, S. and Tharanathan, R. N. 2004. Safety evaluation of formulations containing carboxymethyl derivatives of starch and chitosan in albino rats. Carbohydrate Polymers 58: 435-441.
- Rhim W.J., Hong S.K., Park H.M., Perry K.W.Ng. 2006. Preparation and characterization of chitosan-Based nanocomposite films with antimicrobial Activity. Journal Agriculture and Food Chemistry. 54: 5814-5822.
- Rinaudo, M. 2006. Chitin and chitosan: properties and applications. Progress in Polymer Science 31: 603-632.
- Salvador-Figueroa, M., Aragón-Gómez, W. I., Hernández-Ortiz, E., Vázquez-Ovando, J. A. and Adriano-Anaya, M. L. 2011. Effect of chitosan coating on some characteristics of mango (*Mangifera indica* L.) "Ataulfo" subjected to hydrothermal process. African Journal of Agricultural Research 6(27): 5800-5807.
- Sane, V. A., Chourasia, A. and Nath, P. 2005. Softening in mango (*Mangifera indica* cv. Dasheheri) is correlated with the expression of an early ethylene responsive, ripening related expansin gene, MiExpA1. Postharvest Biology and Technology 38: 223-230.
- Sarowar, S., Kim, E. N., Kim, Y. J., Ok, S. H., Kim, K. D., Hwang, B. K. et al. 2011. Overexpression of a pepper ascorbate peroxidase-like 1 gene in tobacco plants enhances tolerance to oxidative stress and pathogens. Plant Science 169: 55-63.
- Scandalios, J. G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutase. Plant Physiology 101: 7-12.
- Shellhammer T.H., Krochta, J.M. 1997. Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount. Journal of Food Science. 62(2): 390-394.
- Shiekh, R. A., Malik, M. A., Al-Thabaiti, S.H. and Shiekh, M. A. 2013. Chitosan as a novel edible coating for fresh fruits. Food Science and Technology Research 19(2): 139-155.

- Srinivasa P.C., Ravi R., Tharanathan R.N. 2007. Effect of Storage Conditions on Tensile Properties of Eco-Friendly Chitosan Films by Response Surface Methodology. Journal of Food Engineering. 80: 184-189.
- Souza P.M., Cerqueira A.M., Souza W.S.B., Teixeira A.J., Porto L.F.A., Vicente A.A., Carneiro G.M. 2010. Polysaccharide from *Anacardium Occidentale* L. tree gum (Policaju) as a coating for Tommy Atkins mangoes. Chemical Papers. 64 (4): 475-481.
- Thomas, P. and Oke, M. S. 1983. Improvement in quality and storage of 'Alphonso' mangoes by cold adaptation. Scientia Horticulturae 19: 257-262.
- Wang, J., Wang, B., Jiang, W. and Zhao, Y. 2007. Quality and shelf life of mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Tainong') coated by using chitosan and polyphenols. Food Science and Technology International 13: 317.
- Wang, S. Y. and Gao, H. 2013. Effect of chitosan-based edible coating on antioxidants, antioxidant enzyme system, and postharvest fruit quality of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). LWT-Food Science and Technology 52: 71-79.
- Wichchachu, P. 2012. 'Nam Dok Mai' Mango for Export (in Thai). Bangkok: Department of Agriculture.
- Win, N. K. K., Jitareerat, P., Kanlayanarat, S. and Sangchote, S. 2007. Effects of cinnamon extract, chitosan coating, hot water treatment and their combinations on crown rot disease and quality of banana fruit. Postharvest Biology and Technology 45: 333-340.
- Wongmetha, O. and Ke, L. 2012. The quality maintenance and extending storage life of mango fruit after postharvest treatments. World Academy of Science, Engineering and Technology 6: 844-849.
- Xing, Y., Li, X., Xu, Q., Yun, J., Lu, Y. and Tang, Y. 2011. Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). Food Chemistry 124: 1443-1450.
- Yan, X., Khor, E. and Lim, Y. 2001. Chitosan-alginate films prepared with chitosans of different molecular weights. Journal of Biomedical Materials Research 58(4): 358-365.
- Zakaria, M. B., Zakaria, S. N., Musa, M., Hamilin, H. and Zulkifly, N. A. H. 2012. Identification of chitosan-degrading microbes for the production of chitoooligomer. International Conference on Chemistry and Chemical Engineering 38: 127-131.

- Zhong Y., Song X., Li Y. 2011. Antimicrobial, physical and mechanical properties of kudzu starch–chitosan composite films as a function of acid solvent types. Carbohydrate Polymers. 84: 335-342.
- Zhu, X., Wang, Q., Cao, J. and Jiang, W. 2008. Effect of chitosan coating on postharvest quality of mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Tainong') fruits. Journal of Food Processing and Preservation 32: 770-784.

## 9. ผลผลิตที่ได้ในปีที่ 1

- ได้องค์ความรู้ในการเคลือบผิวมะม่วงเพื่อการยืดอายุการเก็บรักษา
- บทความ 1 เรื่อง (การพัฒนาและการประยุกต์ฟิล์มบางไคโทซานเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของมะม่วงน้ำดอกไม้) นำเสนอภาคบรรยายโดย ภาณุพงศ์ อ่ำไพรัชโชค (นิติตระดับปริญญาโท) ในงาน “การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อเยาวชน ครั้งที่ 9” ระหว่างวันที่ 30 พฤษภาคม - 1 มิถุนายน พ.ศ. 2557 ณ ศูนย์นิทรรศการและการประชุมไบเทค บางนา กรุงเทพฯ (ดูรายละเอียดในภาคผนวก)

## ผลผลิตที่ได้ในปีที่ 2

- บทความเรื่อง “การพัฒนาฟิล์มบางไคโทซานเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของมะม่วงน้ำดอกไม้” นำเสนอภาคบรรยายโดย ภาณุพงศ์ อ่ำไพรัชโชค (นิติตระดับปริญญาโท) ในงาน “การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยพืชเขตร้อนและกึ่งร้อน ครั้งที่ 8” ระหว่างวันที่ 21-22 กรกฎาคม พ.ศ. 2557 ณ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย กรุงเทพมหานคร (ดูรายละเอียดในภาคผนวก)
- บทความเรื่อง “Effects of Different Molecular Weights of Chitosan Coatings on Postharvest Qualities of ‘Nam Dok Mai’ Mango” นำเสนอภาคบรรยายโดย ภาณุพงศ์ อ่ำไพรัชโชค (นิติตระดับปริญญาโท) ในงาน “The 2nd International Conference on Food and Agricultural Sciences” ระหว่างวันที่ 12-13 พฤศจิกายน 2557 ณ Auckland Rose Park Hotel เมืองโอ๊คแลนด์ ประเทศนิวซีแลนด์ (ดูรายละเอียดในภาคผนวก)
- บทความเรื่อง “Delaying mango fruit ripening by chitosan coating” นำเสนอภาคโปสเตอร์โดย พรจันทร์ จงศรี (นิติตระดับปริญญาเอก) ในงาน “The 19<sup>th</sup> Biological Sciences Graduate Congress (BSGC)” ระหว่างวันที่ 12-14 ธันวาคม 2557 ณ National University of Singapore (NUS) ประเทศสิงคโปร์ (ดูรายละเอียดในภาคผนวก)

## ภาคผนวก ก

### 1. การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

#### 1.1 การเตรียม 200 mM KPi buffer pH 7.0

- ตวงสารละลาย 1M  $K_2HPO_4$  61.5 มล.
- ตวงสารละลาย 1M  $KH_2PO_4$  38.5 มล.
- ผสมสารละลายทั้ง 2 ชนิดเข้าด้วยกัน ปรับ pH เป็น 7.0 และปรับปริมาตรสารละลายเป็น 500 มล.

#### 1.2 การเตรียม 800 mM Tris-HCl buffer pH 7.8

- ชั่ง Trisma base 48.456 กรัม ละลายในน้ำกลั่น
- เติม 1N HCL เพื่อปรับค่า pH เป็น 7.8 จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายเป็น 500 มล.

#### 1.3 การเตรียม 100 mM sodium acetate buffer pH 7.0

- ชั่ง Sodium acetate 4.10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น
- เติม glacial acetic acid เพื่อปรับ pH เป็น 7.0 จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายเป็น 500 มล.

### 2. วิธีสกัดสารละลายเอนไซม์ผสมจากตัวอย่างพืช

#### 2.1 สารละลายที่ใช้สกัดตัวอย่างเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ประกอบด้วย

- 50 mM phosphate buffer (KPi buffer) pH 7.0\*
- 1.0% (w/v) polyvinylpyrrolidone (PVPP)

#### 2.2 บดตัวอย่างเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ 0.1 กรัม ในโกร่งเย็นหล่อด้วยไนโตรเจนเหลวจนละเอียด

#### 2.3 นำเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้บดใส่ใน Eppendorf tube ที่เย็น เติมน้ำสารละลายสกัด 1 มล. แล้วเขย่าให้เข้ากัน เก็บของผสมไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C

#### 2.4 ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 rpm อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์และปริมาณโปรตีนทั้งหมดต่อไป

- \* เตรียมสารละลายเข้มข้น 50 mM potassium phosphate buffer ปริมาตร 500 มล. โดยการเจือจางสารละลาย 200 mM KPi

#### 4. วิธีวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ catalase (ดัดแปลงจาก Beers and Sizer, 1952)

##### 4.1 เตรียม reaction mixture ปริมาตร 2,000 $\mu$ l ประกอบด้วย

Solution	Reference cuvette ( $\mu$ l)	Sample cuvette ( $\mu$ l)
H <sub>2</sub> O	1,450	950
200 mM KPi buffer (pH) 7.0	500	500
25 mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-	500
crude extract	50	50

4.2 วิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์แบบ kinetic โดยติดตามค่าการดูดกลืนแสงของการลดปริมาณของ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ที่ความยาวคลื่น 240 nm ทุกๆ 12 วินาทีเป็นเวลา 108 วินาที คำนวณค่า activity ของเอนไซม์ระหว่างช่วงเวลา 60-108 วินาที

4.3 คำนวณค่า specific activity (units/mg protein) ของเอนไซม์ catalase เทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมดจากสูตร

$$\text{CAT specific activity} = \frac{(\Delta A_{240}/\text{min}) \times 1000}{(43.6) \times (\mu\text{l crude extract}) \times (\text{mg protein/l crude extract})}$$

#### 5. วิธีวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ ascorbate peroxidase (ดัดแปลงจาก Nakano and Asada, 1981)

##### 5.1 เตรียม reaction mixture ปริมาตร 2,000 $\mu$ l ประกอบด้วย

Solution	Reference cuvette ( $\mu$ l)	Sample cuvette ( $\mu$ l)
H <sub>2</sub> O	550	450
800 mM Tris-HCl buffer (pH) 7.8	500	500
25 mM EDTA	400	400
2 mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	500	500
5 mM ascorbate	-	100
crude extract	50	50



5.2 วิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์แบบ kinetic โดยติดตามค่าการดูดกลืนแสงของการลดปริมาณของ  $H_2O_2$  ที่ความยาวคลื่น 290 nm ทุกๆ 12 วินาทีเป็นเวลา 72 วินาที คำนวณค่า activity ของเอนไซม์ระหว่างช่วงเวลา 24 -72 วินาที

5.3 คำนวณค่า specific activity (units/mg protein) ของเอนไซม์ ascorbate peroxidase เทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมดจากสูตร

$$\text{APX specific activity} = \frac{(\Delta A_{290}/\text{min}) \times 1000}{(2.8) \times (\mu\text{l crude extract}) \times (\text{mg protein/l crude extract})}$$

6. วิธีวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ guaiacol peroxidase (ดัดแปลงจาก Chance and Maehl, 1995 อ้างถึงใน Ghamsari et al. 2007)

6.1 เตรียม reaction mixture ปริมาตร 2,000  $\mu\text{l}$  ประกอบด้วย

Solution	Reference cuvette ( $\mu\text{l}$ )	Sample cuvette ( $\mu\text{l}$ )
$H_2O$	950	450
100 mM Na-acetate buffer (pH) 7.0	500	500
25 mM $H_2O_2$	500	500
100 mM guaiacol	-	500
crude extract	50	50

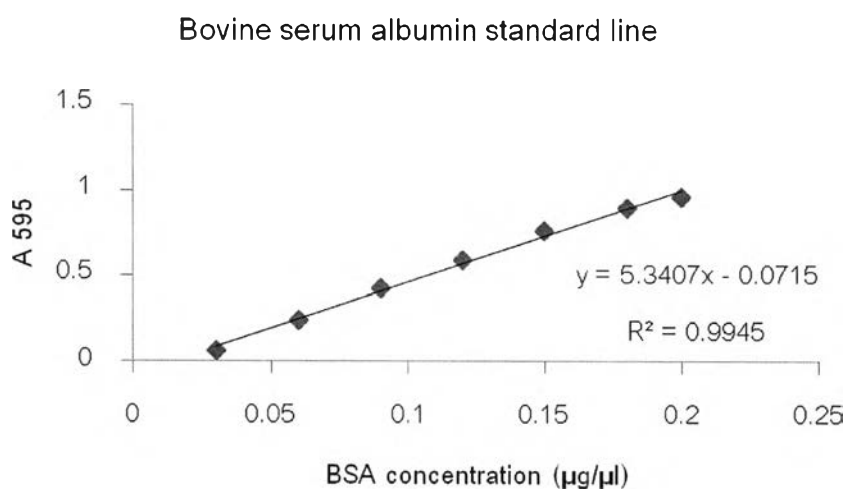
6.2 วิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์แบบ kinetic โดยติดตามค่าการดูดกลืนแสงของการเกิดขึ้นของ tetraguaiacol (สีน้ำตาลแดง) ที่ความยาวคลื่น 470 nm ทุกๆ 12 วินาที เป็นเวลา 60 วินาที คำนวณค่า activity ของเอนไซม์ระหว่างช่วงเวลา 12 - 60 วินาที

6.3 คำนวณค่า specific activity (units/mg protein) ของเอนไซม์ guaiacol peroxidase เทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมดจากสูตร

$$\text{GPX specific activity} = \frac{(\Delta A_{470}/\text{min}) \times 1000}{(26.6) \times (\mu\text{l crude extract}) \times (\text{mg protein/l crude extract})}$$

### 7. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในสารสกัดเอนไซม์

นำสารละลายส่วนใสที่ใช้ในการวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ปริมาตร 50  $\mu\text{l}$  ทำปฏิกิริยากับสารละลาย Biorad protein assay เป็นเวลา 5 นาที วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm คำนวณปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยใช้สมการโปรตีนมาตรฐาน BSA (รูปที่ ก - 2)



รูปที่ ก - 2 กราฟมาตรฐาน bovine serum albumin

**ภาคผนวก ข**

## การพัฒนาและการประยุกต์ฟิล์มบางไคโทซานเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของมะม่วงน้ำดอกไม้

ภาณุพงศ์ อำไพชัยโชค<sup>1</sup> กนกวรรณ เสรีภาพ<sup>1</sup> และ ปราณิ โรจน์สิทธิศักดิ์<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จ. กรุงเทพฯ 10330

<sup>2</sup>สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จ. กรุงเทพฯ 10330

Email address: cubotanik@hotmail.com โทรศัพท์ 0-81276-5350

**บทคัดย่อ:** สารละลายไคโทซานถูกเตรียมจากไคโทซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ 65,000 ดาลตัน, 370,000 ดาลตัน และ 410,000 ดาลตัน โดยไคโทซานเข้มข้น 1.0% ละลายในสารละลายกรดแอสซิดิก 0.5% และเติม tween-80<sup>®</sup> 0.1% เพื่อเป็นสารลดแรงตึงผิว จุ่มผลมะม่วงน้ำดอกไม้ลงในสารละลายไคโทซานเป็นเวลา 5 นาที โดยให้ผลมะม่วงที่จุ่มในสารละลายกรดแอสซิดิก 0.5% ที่ผสม tween-80<sup>®</sup> 0.1% เป็นชุดควบคุม แล้วเก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน พบว่าผลมะม่วงที่เคลือบผิวด้วยสารละลายไคโทซานที่เตรียมจากไคโทซานน้ำหนักโมเลกุล 370,000 ดาลตัน และ 410,000 ดาลตัน มีการการสูญเสียน้ำหนักสดน้อยกว่า สีเปลือกที่มีความเขียวมากกว่า และมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำน้อยกว่าผลมะม่วงที่จุ่มในสารละลายไคโทซานน้ำหนักโมเลกุล 65,000 ดาลตันและชุดควบคุม นอกจากนี้อายุการเก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้สามารถยืดระยะเวลาต่อไปได้อีกจนถึงวันที่ 20 ของการทดลอง จากผลการศึกษาในครั้งนี้เป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาค้นคว้าต่อยอด และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเชิงการค้าได้ต่อไปในอนาคต

**คำสำคัญ:** ไคโทซาน, มะม่วงน้ำดอกไม้, การเคลือบผิวผลไม้

การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อเยาวชน ครั้งที่ 9 ระหว่างวันที่ 30 พฤษภาคม - 1 มิถุนายน พ.ศ. 2557 ณ ศูนย์นิทรรศการและการประชุมไบเทค บางนา กรุงเทพฯ (เสนอผลงานภาคบรรยาย)

## **Development and Application of Chitosan Thin Film to Prolong Shelf Life of 'NAM DOK MAI' Mango**

Panupong Ampaichaichok<sup>1</sup> Kanokwan Seraypheap<sup>1</sup> and Pranee Rojsitthisak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

<sup>2</sup>Metallurgy and Materials Science Research Institute, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Email address: cubotanik@hotmail.com Tel. 0-81276-5350

**Abstract:** Chitosan solutions were prepared from 3 different molecular weight chitosans e.g. 65,000 Dalton, 370,000 Dalton and 410,000 Dalton. 1.0% chitosan was dissolved in 0.5% acetic acid solution added 0.1% tween-80<sup>®</sup> as surfactant. 'Nam Dok Mai' mango fruits were dipped in chitosan solution for 5 minutes, and mango fruits dipped in 0.5% acetic acid solution mixed with 0.5% tween-80<sup>®</sup> were for control. Then, mango fruits were stored at 25 °C for 10 days. The result showed that mango fruits coated with chitosan solution prepared from 370,000 Dalton and 410,000 Dalton chitosan had lower fresh weight loss, more green peel color and lower total soluble solid contents than those of 65,000 Dalton and control fruits. Moreover, the shelf life of 'Nam Dok Mai' mango fruits coated with 370,000 Dalton and 410,000 Dalton was extended to day 20 of the experiment. This study is useful for further study and can be applied for commercial scale in the future.

**Keywords:** chitosan, 'Nam Dok Mai' mango, fruit coatings

การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อเยาวชน ครั้งที่ 9 ระหว่างวันที่ 30 พฤษภาคม - 1 มิถุนายน พ.ศ. 2557 ณ ศูนย์นิทรรศการและการประชุมไบเทค บางนา กรุงเทพฯ (เสนอผลงานภาคบรรยาย)

## Effects of Different Molecular Weights of Chitosan Coatings on Postharvest Qualities of ‘Nam Dok Mai’ Mango

Panupong Ampaichaichok<sup>1</sup>, Pranee Rojsitthisak<sup>2</sup> and Kanogwan Seraypheap<sup>1+</sup>

<sup>1</sup> Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330, Thailand

<sup>2</sup> Metallurgy and Materials Science Research Institute, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330, Thailand

**Abstract.** The effects of varying molecular weights of chitosan and storage time of chitosan solutions on postharvest quality of ‘Nam Dok Mai’ mango fruit were investigated. Chitosan coating solutions were prepared from low Mw (65,000 Da = LM-CTS), medium Mw (240,000 Da = MM-CTS) and high Mw (410,000 Da = HM-CTS). Coating solutions were separated into 2 groups: freshly prepared and 14-days stored solutions. Mango fruits coated with 14-days stored chitosan coating solutions had higher disease incidences and lower postharvest qualities compared to those coated with freshly prepared solutions. Among the freshly prepared solutions, freshly prepared MM-CTS showed the best results, in term of longer shelf life, fewer disease incidences and delayed ripening characteristics. In conclusion, our results suggest that freshly prepared MM-CTS solution can be used as an effective coating agent for the extension of ‘Nam Dok Mai’ mango’s shelf life.

**Keywords:** ‘Nam Dok Mai’ mango, chitosan coating, postharvest disease, storage, ripening

### 1. Introduction

‘Nam Dok Mai’ mango (*Mangifera indica* cv. ‘Nam Dok Mai no. 4’) is a very popular tropical fruit. The golden pulp of this ripened fruit has a great flavor. However, mango is a climacteric fruit in that the ripening process and senescence continue after fruit has been harvested [1] resulting in some physiological changes, e.g., fresh weight and fruit firmness losses, peel color change, depletion of total acid, increasing of total soluble solids, and increased fruit softening [2]. All of these factors contribute to unacceptable commercial qualities for customers. Thus, a proper postharvest management is needed to prolong shelf life and maintain an ideal mango fruit quality.

Chitosan is a biopolymer prepared from shells of shrimp, crab or squid. Furthermore, chitosan is a natural elicitor that can induce defensive mechanism in plants and can reduce growth of plant pathogens [3]. Previously, numerous researches have applied chitosan on varieties of fruits. However, molecular weight of chitosan varies due to sources of materials. Differences in molecular weights of chitosan may affect postharvest physiological characters of mango fruit. In addition, chitosan solution is a non-Newtonian fluid, i.e., viscosity of chitosan solution drops sharply after preparation and then gradually becomes stable [4]. Additionally, chitosan is a carbon source for microbes that have chitosanase activity [5]. Thus, these properties of chitosan may affect the shelf life of mango fruit. The aims of this study were to investigate the effects of different molecular weights of chitosan coatings on postharvest qualities of ‘Nam Dok Mai’ mango and to compare physiological changes between mango fruits coated with freshly prepared and 14-days stored chitosan coating solutions.

### 2. Materials and Methods

---

+ Corresponding author. Tel.: +662218-5485; fax: +6622528979.  
E-mail address: kanogwan.k@chula.ac.th.

## 2.1. Plant materials and chitosan coating

Mature green 'Nam Dok Mai' mango fruits were harvested at a commercial maturity stage from a local orchard in Chaityaphum, Thailand. Mango fruits of uniform size and lack of disease were selected, rinsed with tap water, and then allowed to dry. Three different molecular weights of chitosan flakes prepared from shrimp shell: 65 kDa (low molecular weight chitosan: LM-CTS), 240 kDa (medium molecular weight chitosan: MM-CTS) and 410 kDa (high molecular weight chitosan: HM-CTS) (A.N. Lab, Thailand) were dissolved in a 0.5% acetic acid solution and stirred for 4 hr. Tween-80<sup>®</sup> (0.1%) was added as a surfactant. Before application, all coating solutions were stored for 24 hr to eliminate microbubbles caused by agitation. The solutions were separated into 2 groups: freshly prepared and 14-days stored solutions. After both solutions were ready for application, fruits were dipped in distilled water (control), 0.5% acetic acid, freshly prepared LM-CTS (fLM-CTS), 14-days stored LM-CTS (14dLM-CTS), freshly prepared MM-CTS (fMM-CTS), 14-days stored MM-CTS (14dMM-CTS), freshly prepared HM-CTS (fHM-CTS) and 14-days stored HM-CTS (14dHM-CTS) for 1 min and allowed to dry before storing at 25 °C for 15 days.

## 2.2. Physiological analysis

Fresh weigh, fruit firmness, peel color, total soluble solids (TSS) content and titratable acidity (TA) were analyzed. Firmness of mango fruit was measured using a FHR-1 fruit firmness tester (Nippon optical work, Japan) at the top, middle and bottom of the fruit. Data was reported in Newton (N). Peel color of mango fruit was measured using a CR-10 color reader (Konica Minolta, Japan). Ten grams of fruit pulp was homogenized with 10 ml deionized water and centrifuged at 8,000 rpm for 5 min. The supernatant was used to determine TSS with an N-1E hand refractometer (Atago, Japan). Raw data was multiplied by 2 (as dilution factor) and reported in °Brix. The TA method was modified from Amador [6] by homogenizing 20 g of fruit pulp with 20 ml deionized water. Samples were titrated with 0.1 M NaOH and used phenolphthalein as an indicator. Percentage of acidity was calculated following the equation (ml of NaOH used x NaOH molar x 0.64)/ g pulp weight. The experiment applied a completely randomized design (CRD) with 3 replications and 3 fruits per each replication. All data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) with SPSS software. Means were separated by test of least significant difference (LSD) at  $p < 0.05$ .

## 3. Results and Discussion

The result showed that control, 0.5% acetic acid, fLM-CTS and 14dLM-CTS had 12 days of shelf life while fMM-CTS, 14dMM-CTS, fHM-CTS and 14dHM-CTS could be stored for 15 days (Fig. 1). Chitosan coatings affected weight loss, fruit firmness, peel color changes, TSS and TA (Table 1). Weight loss was the highest in 0.5% acetic acid and fLM-CTS treatments but not significantly different among other treatments. Firmness was the lowest in 14dLM-CTS and the highest in freshly prepared HM-CTS treatments. It has been shown that mango fruits lose their cell wall strength because of ripening and senescence [2]. Our results suggested that chitosan application could retain fruit firmness. 'Ataulfo' mango fruit treated with chitosan and hydrothermal process exhibited low polygalacturonase activities (PG) and pectin methylesterase (PME), key enzymes that reduced plant cell wall strength during fruit ripening [7]. However, most experiments used freshly prepared chitosan solution. It could be implied that stored chitosan might lose its properties, e.g., reduction of viscosity and degradation caused by some microbes that had chitosanase activity and could use chitosan as their carbon source [8]-[10].

Peel color changes were prominently different. Lightness of mango peel increased when fruit ripened. However, the peel lightness value of both fHM-CTS and 14dHM-CTS was lower than other treatments. Another peel color parameter is hue angle which determines peel color changing from green to yellow. The result showed that hue angle of both fHM-CTS and 14dHM-CTS treatments was higher than others which indicated that peel colors of these treatments were still green while other treatments turned yellow. Also, peels of fHM-CTS and 14dHM-CTS treatments were still green until the end of the experiment. Thus, using high MW of chitosan might interrupt the peel color changing process of 'Nam Dok Mai' mango [11].

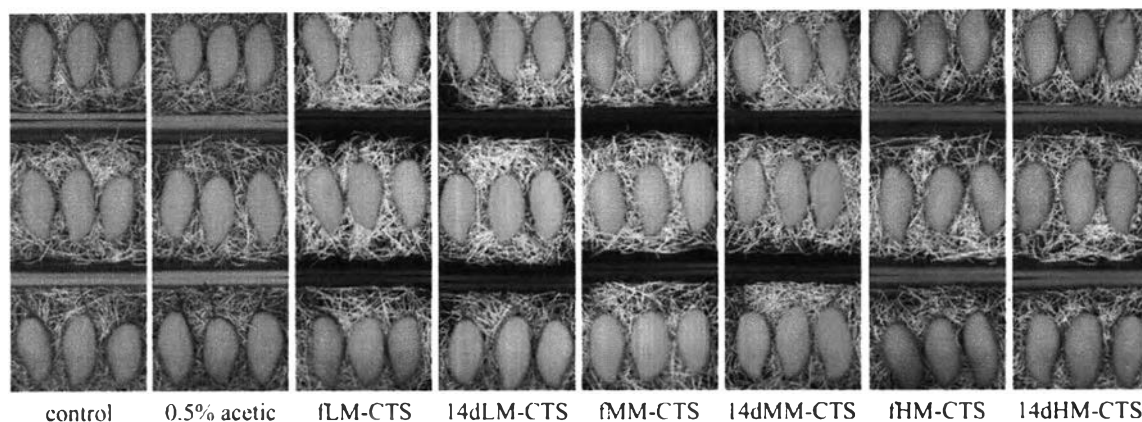


Fig. 1: 'Nam Dok Mai' mango fruits on day 12. Fruits were dipped in distilled water (control), 0.5% acetic acid, freshly prepared LM-CTS (fLM-CTS), 14-days stored LM-CTS (14dLM-CTS), freshly prepared MM-CTS (fMM-CTS), 14-days stored MM-CTS (14dMM-CTS), freshly prepared HM-CTS (fHM-CTS) and 14-days stored HM-CTS (14dHM-CTS) for 1 min and stored at 25 °C for 15 days.

TSS can be referred to the sugar content in fruit pulp. TSS contents in all treatments were not significantly different on day 12, but on day 15, fHM-CTS showed the highest TSS content while fMM-CTS had the lowest. This finding showed that the ripening process of mango fruit in fHM-CTS was interrupted. On the other hand, TSS of fMM-CTS dropped because fruits became senescence, i.e., most of sugar was used for fruit metabolism [2], [11].

TA was determined as an additional indicator of the degree of fruit ripeness. The result showed that all treatments had low acid content during fruit ripening since citric and malic acids were used as respiratory substrates which was similar to Ali et al. [11]. However, fHM-CTS maintained very high acid content compared with other treatments. This suggested that high MW chitosan interfered with acid metabolism in fruit.

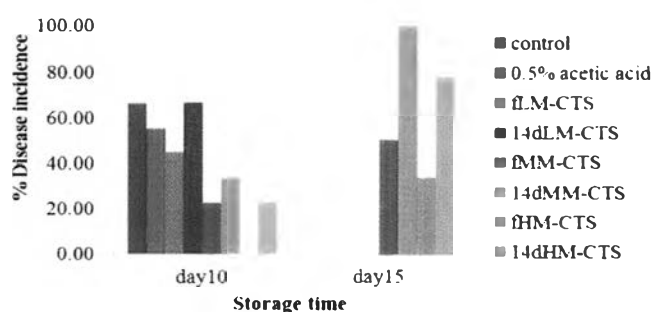


Fig. 2: Effect of chitosan coating solution on postharvest anthracnose disease incidence. Fruits were dipped in distilled water (control), 0.5% acetic acid, freshly prepared LM-CTS (fLM-CTS), 14-days stored LM-CTS (14dLM-CTS), freshly prepared MM-CTS (fMM-CTS), 14-days stored MM-CTS (14dMM-CTS), freshly prepared HM-CTS (fHM-CTS) and 14-days stored HM-CTS (14dHM-CTS) for 1 min and stored at 25 °C for 15 days. Each value is the mean of 3 replicates ( $n=9$ ).

Fruits which had black spots of anthracnose disease larger than 0.5 cm diameter were determined as infected and counted toward disease incidence. Fruits that had more than 1.0 cm diameter of black spots were defined as defect fruits. Treatments were no longer stored when defect fruits were found to comprise of more than 30% of all samples. The result showed that fHM-CTS had no disease incidence on day 12 and then increased to 30% on day 15 (Fig. 2). Postharvest disease resistance of mango fruit was greatly improved when MW of chitosan increased. According to Hernández-Lauzardo et al. [12], higher MW of chitosan could reduce germination rate of *Rhizopus stolonifer* more effectively. A major postharvest disease of 'Nam Dok Mai' mango fruits is anthracnose which is caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. According to Bautista-Baños et al. [13], different MW chitosan was added into a fungal medium and found that the proper MW should be around 200,000 Da. Moreover, this study showed that fMM-CTS could prolong shelf life and



allow normal ripening of mango fruit to which both HM-CTS treatments failed. In addition, application of high levels of MW chitosan not only interrupted the ripening process but also reduced disease resistant capacity in fruits [14]. Furthermore, all 14-days stored chitosan solutions had obviously higher disease incidence than those of freshly prepared coating solution. The result of No et al. [15] reported that long storage time reduced stability of chitosan in both viscosity and antibacterial properties. Also, Ren et al. [16] reported that MW of chitosan in solution form reduced simultaneously when it was stored for an extended time and was degraded by microbes [9].

Table 1: Effect of chitosan coating solutions on postharvest physiological characteristics of ‘Nam Dok Mai’ mango fruits. Fruits were dipped in distilled water (control), 0.5% acetic acid, freshly prepared LM-CTS (fLM-CTS), 14-days stored LM-CTS (14dLM-CTS), freshly prepared MM-CTS (fMM-CTS), 14-days stored MM-CTS (14dMM-CTS), freshly prepared HM-CTS (fHM-CTS) and 14-days stored HM-CTS (14dHM-CTS) for 1 min and stored at 25 °C for 15 days.

Treatments	Weight loss (%)			Fruit firmness (N)		
	day0	day12	day15	day0	day12	day15
control	0	3.32 ± 0.91 b		4.52 ± 0.31	3.30 ± 0.56 ab	
0.5% acetic acid	0	4.22 ± 0.66 a		4.52 ± 0.31	3.42 ± 0.41 a	
fLM-CTS	0	3.56 ± 0.47 b		4.52 ± 0.31	3.00 ± 0.25 b	
14dLM-CTS	0	4.17 ± 0.38 a		4.52 ± 0.31	2.53 ± 0.20 c	
fMM-CTS	0	3.59 ± 0.24 b	7.55 ± 0.89 ns	4.52 ± 0.31	3.29 ± 0.25 ab	2.64 ± 0.29 ns
14dMM-CTS	0	3.77 ± 0.48 ab	7.06 ± 0.64 ns	4.52 ± 0.31	3.45 ± 0.33 a	2.51 ± 0.30 ns
fHM-CTS	0	3.62 ± 0.64 b	7.81 ± 1.24 ns	4.52 ± 0.31	3.57 ± 0.12 a	2.50 ± 0.21 ns
14dHM-CTS	0	3.15 ± 0.46 b	7.19 ± 0.87 ns	4.52 ± 0.31	2.72 ± 0.30 bc	2.38 ± 0.30 ns
Treatments	Peel lightness (L value)			Peel color (Hue angle)		
	day0	day12	day15	day0	day12	day15
control	66.63 ± 0.68	70.41 ± 1.90 a		89.92 ± 1.71	76.35 ± 6.53 c	
0.5% acetic acid	66.63 ± 0.68	69.97 ± 1.24 ab		89.92 ± 1.71	73.22 ± 3.58 cd	
fLM-CTS	66.63 ± 0.68	70.33 ± 1.66 ab		89.92 ± 1.71	74.05 ± 1.73 cd	
14dLM-CTS	66.63 ± 0.68	69.01 ± 1.63 b		89.92 ± 1.71	72.50 ± 2.70 d	
fMM-CTS	66.63 ± 0.68	69.83 ± 0.63 ab	68.70 ± 1.22 a	89.92 ± 1.71	72.79 ± 1.69 cd	73.13 ± 2.04 b
14dMM-CTS	66.63 ± 0.68	68.93 ± 0.98 b	68.51 ± 0.83 a	89.92 ± 1.71	75.04 ± 4.91 cd	73.02 ± 3.08 b
fHM-CTS	66.63 ± 0.68	65.80 ± 1.45 c	65.96 ± 1.57 b	89.92 ± 1.71	88.84 ± 1.54 a	85.93 ± 4.05 a
14dHM-CTS	66.63 ± 0.68	66.02 ± 1.40 c	65.20 ± 2.23 b	89.92 ± 1.71	84.89 ± 3.41 b	86.02 ± 2.17 a
Treatments	Total soluble solid (°Brix)			Titratable acidity (%)		
	day0	day12	day15	day0	day12	day15
control	8.07 ± 0.22	13.33 ± 1.62 ns		1.18 ± 0.09	0.11 ± 0.03 b	
0.5% acetic acid	8.07 ± 0.22	13.61 ± 1.22 ns		1.18 ± 0.09	0.07 ± 0.02 b	
fLM-CTS	8.07 ± 0.22	14.07 ± 0.80 ns		1.18 ± 0.09	0.08 ± 0.02 b	
14dLM-CTS	8.07 ± 0.22	13.16 ± 2.06 ns		1.18 ± 0.09	0.05 ± 0.01 b	
fMM-CTS	8.07 ± 0.22	13.44 ± 1.36 ns	12.75 ± 1.20 b	1.18 ± 0.09	0.03 ± 0.01 b	0.09 ± 0.02 b
14dMM-CTS	8.07 ± 0.22	13.30 ± 0.94 ns	13.12 ± 1.91 ab	1.18 ± 0.09	0.07 ± 0.01 b	0.04 ± 0.01 b
fHM-CTS	8.07 ± 0.22	13.63 ± 1.37 ns	14.44 ± 1.12 a	1.18 ± 0.09	0.78 ± 0.16 a	0.15 ± 0.07 a
14dHM-CTS	8.07 ± 0.22	13.86 ± 1.09 ns	13.81 ± 2.09 ab	1.18 ± 0.09	0.11 ± 0.03 b	0.15 ± 0.10 ab

Each value is the mean of 3 replicates (n=9). Means with different letters are significantly different at p = 0.05 + standard error. All values with the same letters/or ns are not significantly different.

In conclusion, the most appropriate MW of chitosan for prolonging the shelf life of ‘Nam Dok Mai’ mango fruit was 240 kDa, and the coating solution should be freshly prepared in order to minimize the

susceptibility to postharvest disease. Mango fruits coated with fMM-CTS had 15 days of shelf life and low anthracnose incidence. This finding would be an advantage for improvement of 'Nam Dok Mai' mango quality.

#### 4. Acknowledgement

This work was supported by Development and Promotion of Science and Technology Talents Project (DPST) and National Research Project Management (NRPM), Office of the National Research Council of Thailand.

#### 5. References

- [1] A. K. Mattoo, and V. V. Modi. Ethylene and Ripening of Mangoes. *Plant Physiology*. 1969, 44: 308-310.
- [2] J. Giovannoni. Molecular biology of fruit maturation and ripening. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 2001, 52: 725-749.
- [3] S. Bautista-Baños, A. N. Hernández-Lauzardo, M. G. Velázquez-del Valle, M. Hernández-Lopez, E.A. Barka, and E. Bosquez-Molina. Chitosan as a Potential Natural Compound to Control Pre and Postharvest Disease of Horticultural Commodities. *Crop Protection*. 2006, 25: 108-118.
- [4] D. P. Chattopadhyay, and M. S. Inamdar. Aqueous behavior of chitosan. *International Journal of Polymer Science*. 2010, 2010: 1-7.
- [5] M. B. Zakaria, S. D. Zakaria, M. Musa, H. Hamilin, and N. A. H. Zulkifly. Identification of chitosan-degrading microbes for the production of chitooligomer. *IPCBE*. 2012, 38: 127-131.
- [6] J. R. Amador. Procedures for Analysis of Citrus Products. Lakeland, Florida: John Bean Technology Corporation. 2011, pp. 20.
- [7] M. Salvador-Figueroa, W. I. Aragón-Gómez, E. Hernández-Ortiz, J. A. Vázquez-Ovando and M. L. Adriano-Anaya. Effect of chitosan coating on some characteristics of mango (*Mangifera indica* L.) "Ataulfo" subjected to hydrothermal process. *African Journal of Agricultural Research* 2011, 6(27): 5800-5807.
- [8] D. Ren, H. Yi, W. Wang and X. Ma. The enzymatic degradation and swelling properties of chitosan matrices with different degree of N-acetylation. *Carbohydrate Research* 2005, 340: 2403-2410.
- [9] M. B. Zakaria, S. N. Zakaria, M. Musa, H. Hamilin and N. A. H. Zulkifly. Identification of chitosan-degrading microbes for the production of chitooligomer. *International Conference on Chemistry and Chemical Engineering* 2012, 38: 127-131.
- [10] H. K. No, S. H. Kim, S. H. Lee, N. Y. Park and W. Prinyawiwatkul. Stability and antibacterial activity of chitosan solutions affected by storage temperature and time. *Carbohydrate Polymers* 2006, 65: 174-178.
- [11] A. Ali, M. T. M. Muhammad, K. Sijam. And Y. Siddiqui. Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. *Food Chemistry* 2011, 124: 620-626.
- [12] A. N. Hernández-Lauzardo, S. Bautista-Baños, M. G. Velázquez-dell Valle, M. G. Mendes-Montealvo, M. M. Sánchez-Rivera and L.A. Bello-Perez. Antifungal effects of chitosan with different molecular weight on *in vitro* development of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. *Carbohydrate Polymers*. 2008, 73: 541-547.
- [13] S. Bautista-Baños, M. Hernández-Lopez, A. N. Hernández-Lauzardo and J. L. Trejo-Espino. Effect of chitosan on *in vitro* development and morphology of two isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc. *Revista Mexicana De Fitopatología*. 2005, 6: 62-67.
- [14] M. E. I. Badawy and E. I. Rabea. Potential of the biopolymer chitosan with different molecular weights to control postharvest gray mold of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 2009, 51: 110-117.
- [15] H. K. No, S. H. Kim, S. H. Lee, N. Y. Park and W. Prinyawiwatkul. Stability and antibacterial activity of chitosan solutions affected by storage temperature and time. *Carbohydrate Polymers* 2006, 65: 174-178.
- [16] D. Ren, H. Yi, W. Wang and X. Ma. The enzymatic degradation and swelling properties of chitosan matrices with different degree of N-acetylation. *Carbohydrate Research* 2005, 340: 2403-2410.

## การพัฒนาฟิล์มบางไคโตซานเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของมะม่วงน้ำดอกไม้ Development of Chitosan Thin Film to Prolong Shelf Life of 'Nam Dok Mai' Mango

ภานุพงศ์ อำไพชัยโชค<sup>1</sup> ปราณี โรจน์สิทธิศักดิ์ และ กนกวรรณ เสรีภาพ<sup>1</sup>  
Ampaichaichok, P.<sup>1</sup>, Rojsithisak, P.<sup>2</sup> and Seraypheap, K.<sup>1</sup>

### Abstract

An application of chitosan thin film prepared from 3 different levels of molecular weight; 65,000 Dalton, 370,000 Dalton and 410,000 Dalton, on 'Nam Dok Mai No. 4' mango fruits for prolonging their shelf life was conducted. Chitosan coating formulas were composed of 1% (w/v) chitosan, 0.5% (v/v) acetic acid and 0.1% (w/v) Tween-80<sup>®</sup>. Fruits were dipped in separated chitosan formulations for 5 min., and then air dried at room temperature before storing at 25 °C for 10 days. The result showed that mango fruits coated with chitosan solution prepared from 370,000 Dalton and 410,000 Dalton chitosan had lower fresh weight loss, retained green peel color and lower total soluble solid contents than those of 65,000 Dalton and the control fruits. Moreover, the shelf life of 'Nam Dok Mai' mango fruits coated with 370,000 Dalton and 410,000 Dalton was extended to day 20 of the experiment.

Keywords: chitosan, 'Nam Dok Mai No. 4' mango, thin film, shelf life

### บทคัดย่อ

การเคลือบฟิล์มบางไคโตซานที่เตรียมจากไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 3 ระดับ (65,000 ดาลตัน, 370,000 ดาลตัน และ 410,000 ดาลตัน) บนผิวของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา โดยสูตรสารละลายไคโตซานที่ใช้เป็นสารเคลือบผิวผลมะม่วงประกอบด้วย ไคโตซาน 1% (w/v), กรดแอซีติก 0.5% (v/v) และสารลดแรงตึงผิว (Tween-80<sup>®</sup>) 0.1% (w/v) นำผลมะม่วงจุ่มลงในสารละลายไคโตซานที่เตรียมไว้เป็นเวลา 5 นาทีและผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน พบว่าผลมะม่วงที่เคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซานที่เตรียมจากไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 370,000 ดาลตัน และ 410,000 ดาลตัน มีการการสูญเสีย น้ำหนักส่นน้อยกว่า สามารถคงความเขียวของสีเปลือก และมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้น้อยกว่าผลมะม่วงที่จุ่มในสารละลายไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 65,000 ดาลตันและชุดควบคุม นอกจากนี้ การเคลือบฟิล์มบางไคโตซานที่เหมาะสมสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้ต่อไปได้อีกจนถึงวันที่ 20 ของการเก็บที่ 25 องศาเซลเซียส  
คำสำคัญ: ไคโตซาน มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ฟิล์มบาง การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว

### คำนำ

มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 (*Mangifera indica* cv. 'Nam Dok Mai no. 4') เป็นพืชเศรษฐกิจที่เป็นที่นิยมบริโภคภายในประเทศและมีการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศเนื่องจากมีกลิ่นและรสชาติเป็นที่ต้องการของตลาด อย่างไรก็ตาม มะม่วงเป็นผลไม้ชนิดบ่มสุก (Climacteric fruit) กระบวนการสุกและการเสื่อมถอยของผลไม้สามารถเกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่องหลังจากการเก็บเกี่ยว (Matto และ Modi, 1969) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา เช่น การสูญเสีย น้ำหนักสดและความแน่นเนื้อ การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก การเพิ่มขึ้นของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (Total soluble solid: TSS) เป็นต้น (Giovannoni, 2001) ปัจจัยที่เกิดขึ้นดังกล่าวนำไปสู่การสูญเสียคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 หากไม่มีการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวที่ดีย่อมทำให้คุณภาพของผลมะม่วงไม่เป็นที่ยอมรับของตลาด

ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่สามารถเตรียมได้จากเปลือกกุ้ง เปลือกปู หรือกระดองหมึก เป็นต้น ไคโตซานทำหน้าที่เป็นสารกระตุ้นกลไกการป้องกันตัวเองของพืชจากโรคพืชในธรรมชาติ และยังมีคุณสมบัติในการชะลอการ

<sup>1</sup> ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จ. กรุงเทพฯ 10330

<sup>1</sup> Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

<sup>2</sup> สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จ. กรุงเทพฯ 10330

<sup>2</sup> Metallurgy and Materials Science Research Institute, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

เจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค (Bautista-Baños และคณะ, 2006) นอกจากนี้ โคลิโตซานยังเป็นพอลิเมอร์ที่สามารถรับประทานได้ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย (Ramesh และ Tharanathan, 2004) ที่ผ่านมามีงานวิจัยทดลองใช้สารละลายโคลิโตซานในการเคลือบผิวของผลไม้หลายชนิด เช่น ฝรั่ง (Hong และคณะ, 2012) สตรอเบอร์รี่ (Wang และคณะ, 2013) พีช (Ma และคณะ, 2013) องุ่น (Gao และคณะ, 2013) เป็นต้น งานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้นล้วนแสดงให้เห็นว่าการเคลือบผิวของผลไม้ด้วยสารละลายโคลิโตซานช่วยยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวและรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลไม้ให้เป็นที่ยอมรับของตลาด ผลไม้ที่ผ่านการเคลือบผิวด้วยสารละลายโคลิโตซานจะมีการสูญเสียน้ำหนักสดน้อยลง สามารถคงความแน่นเนื้อ และชะลอกระบวนการสุกออกไปได้ อย่างไรก็ตามมีการศึกษาผลของความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลของโคลิโตซานต่อการยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวของผลไม้ค่อนข้างน้อย การศึกษาค้นคว้านี้ได้ทำการทดลองเคลือบผิวมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ด้วยฟิล์มบางโคลิโตซานที่มีความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุล 3 ระดับ และศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 โดยองค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปต่อยอดเพื่อพัฒนาฟิล์มบางโคลิโตซานในเชิงการค้าสำหรับใช้เคลือบผิวมะม่วงน้ำดอกไม้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการส่งออกของประเทศเป็นอย่างมากในอนาคต

### อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมสารละลายเคลือบผิวมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 จากโคลิโตซานที่มีความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุล 3 ระดับ โดยใช้โคลิโตซานน้ำหนักโมเลกุลโมเลกุลต่ำ (LM-CTS) 65,000 ดาลตัน น้ำหนักโมเลกุลปานกลาง (MM-CTS) 370,000 ดาลตัน และน้ำหนักโมเลกุลสูง (HM-CTS) 410,000 ดาลตัน (บริษัท A.N. Lab, ประเทศไทย) ละลายโคลิโตซาน 1.0% ในสารละลายกรดแอสซิติคความเข้มข้น 0.5% โดยใช้เครื่องกวนสารเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารลดแรงตึงผิว Tween-80<sup>®</sup> ความเข้มข้น 0.1% แล้วพักสารละลายโคลิโตซานที่เตรียมได้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อกำจัดฟองอากาศขนาดเล็กก่อนนำไปใช้

คัดเลือกผลมะม่วงน้ำพันธุ์ดอกไม้เบอร์ 4 ที่ไม่มีรอยโรค นำมาทำความสะอาดด้วยน้ำประปาแล้วพักให้แห้งก่อนที่จะนำมาชุบในสารละลายโคลิโตซานเป็นเวลา 5 นาที แล้วพักให้แห้ง กำหนดให้ผลมะม่วงที่ชุบในสารละลายกรดแอสซิติค 0.5% และ Tween-80<sup>®</sup> 0.1% เป็นชุดควบคุม บรรจุผลมะม่วงลงในกล่องกระดาษที่รองพื้นด้วยกระดาษฟอยแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 10 วัน โดยกำหนดให้ 1 ชุดการทดลองประกอบด้วย 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยผลมะม่วง 3 ผล

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของผลมะม่วง ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสด การสูญเสียความแน่นเนื้อ โดยใช้เครื่องวัดความแน่นเนื้อรุ่น FHR-1 (บริษัท Nippon optical work, ประเทศญี่ปุ่น) การเปลี่ยนสีเปลือกด้วยเครื่องวัดสีรุ่น CR-10 (บริษัท Konika Minolta, ประเทศญี่ปุ่น) และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (TSS) โดยใช้เครื่อง Hand refractometer รุ่น N1-E (บริษัท Atago, ประเทศญี่ปุ่น) ในวันเริ่มต้นและวันสุดท้ายของการทดลอง วิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ LSD test ที่  $p < 0.05$  และ Paired-Samples T test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่า การเคลือบผิวมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ด้วยสารละลายโคลิโตซานความเข้มข้น 1.0% ที่เตรียมจากโคลิโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกันทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ โดยพบว่าผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในชุดการทดลองควบคุมและ LM-CTS มีอายุการเก็บรักษาเพียง 10 วัน ในขณะที่ผลมะม่วงในชุดการทดลอง MM-CTS และ HM-CTS สามารถยืดระยะเวลาการเก็บรักษาไปได้จนถึงวันที่ 20 ของการทดลองและมีการสูญเสียน้ำหนักสดน้อยกว่าชุดควบคุมและ LM-CTS นอกจากนี้พบว่า MM-CTS สามารถคงความแน่นเนื้อของผลมะม่วงไว้ได้มากที่สุด ในขณะที่ชุดควบคุมและ LM-CTS มีค่าความแน่นเนื้อน้อยที่สุด (Table 1) การที่มะม่วงสูญเสียน้ำหนักสดมากขึ้นและมีความแน่นเนื้อลดลงเป็นผลสืบเนื่องมาจากระบวนการสุกและการเสื่อมถอยของผล (Giovannoni, 2001) การใช้สารละลายโคลิโตซานเคลือบผลมะม่วงน้ำดอกไม้สามารถลดการสูญเสียน้ำหนักสดและรักษาความแน่นเนื้อของผลมะม่วงไว้ได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในผลมะม่วงพันธุ์ 'Ataulfo' โดยมีการรายงานไว้ว่าการเคลือบผลมะม่วงด้วยสารละลายโคลิโตซานส่งผลโดยตรงต่อการลดการทำงานของเอนไซม์ Polygalacturonase และ Pectin methylexterase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการสลายผนังเซลล์ของพีช (Salvador-Figueroa และคณะ, 2011)

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (TSS) สามารถใช้บ่งชี้ปริมาณน้ำตาลในผลมะม่วงได้ เมื่อผลมะม่วงเกิดกระบวนการสุกมากขึ้นทำให้มีการย่อยแป้งในเซลล์ให้กลายเป็นน้ำตาลมากขึ้น (Giovannoni, 2001) จากผลการทดลองพบว่าผลมะม่วงที่เคลือบด้วยฟิล์มบางไคโตซานทุกน้ำหนักโมเลกุลมีปริมาณ TSS ต่ำกว่าชุดควบคุมในวันที่ 10 โดยผลมะม่วงที่เคลือบด้วยไคโตซานเริ่มสุกในขณะที่ผลมะม่วงในชุดควบคุมสุกอมแล้ว ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Zhu และคณะ (2008) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 20 ชุดการทดลอง MM-CTS และ HM-CTS ยังคงมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำในระดับต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับค่า TSS ของผลมะม่วงในชุดควบคุม แสดงให้เห็นว่าการใช้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 370,000 ดาลตันขึ้นไป ทำให้กระบวนการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ไม่ผิดปกติ (Ali และคณะ, 2011)

Table 1 Effects of different molecular weights of chitosan on weight loss, fruit firmness and TSS of 'Nam Dok Mai No. 4' mango. Each value is the mean of 3 replicates (n=9).

Treatments	Weight loss (%)			Fruit firmness (N)			Total soluble solid ("Brix)		
	day0	day10	day20	day0	day10	day20	day0	day10	day20
control	0	5.31 ± 0.10 a		7.80 ± 0.50	2.26 ± 0.08 c		8.79 ± 0.99	17.07 ± 0.74 a	
LM-CTS	0	5.33 ± 0.15 a		7.80 ± 0.50	2.53 ± 0.05 c		8.79 ± 0.99	14.67 ± 0.48 b	
MM-CTS	0	3.95 ± 0.07 b	8.38 ± 0.23 ns	7.80 ± 0.50	5.49 ± 0.11 a	5.49 ± 0.10 ns	8.79 ± 0.99	11.00 ± 0.23 c	14.50 ± 0.29 ns
HM-CTS	0	4.23 ± 0.08 b	8.79 ± 0.24 ns	7.80 ± 0.50	4.80 ± 0.19 b	5.06 ± 0.29 ns	8.79 ± 0.99	12.93 ± 0.74 b	15.53 ± 0.24 ns

Means with different letters are significantly different at p = 0.05 ± standard error. All values with the same letters/or ns are not significantly different.

การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกสามารถใช้เป็นตัวบ่งบอกระดับความสุกของผลมะม่วงได้โดยค่าความสว่างของเปลือก (Lightness: L value) จะลดลงเมื่อผลมะม่วงสุกมากขึ้น นอกจากนี้ ค่าสี (Hue angle) บ่งบอกถึงการเปลี่ยนสีของผลมะม่วง โดยมะม่วงแก่เปลือกสีเขียวจะมีค่า Hue angle สูง เมื่อผลสุกและเปลี่ยนสีเปลือกเป็นสีเหลืองมากขึ้น ค่า Hue angle จะมีค่าลดลง จากการทดลองพบว่าผลมะม่วงในชุดการทดลอง MM-CTS และ HM-CTS ยังคงมีสีเปลือกสีเขียวจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง (Table 2) แสดงให้เห็นว่าการใช้สารละลายไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 370,000 ดาลตันขึ้นไปมีผลกระทบต่อกระบวนการเปลี่ยนสีเปลือกของมะม่วงน้ำดอกไม้ (Ali และคณะ, 2011)

Table 2 Effects of different molecular weights of chitosan on peel color changes of 'Nam Dok Mai No. 4' mango. Each value is the mean of 3 replicates (n=9). Means with different letters are significantly different at p = 0.05 ± standard error. All values with the same letters/or ns are not significantly different.

Treatments	Peel lightness (L value)			Peel color (Hue angle)		
	day0	day10	day20	day0	day10	day20
control	68.64 ± 2.06	65.43 ± 0.87 ns		103.33 ± 1.78	70.16 ± 1.02 b	
LM-CTS	68.64 ± 2.06	64.07 ± 0.80 ns		103.33 ± 1.78	73.46 ± 1.38 b	
MM-CTS	68.64 ± 2.06	65.84 ± 0.58 ns	64.96 ± 1.26 a	103.33 ± 1.78	89.25 ± 1.04 a	87.87 ± 0.87 ns
HM-CTS	68.64 ± 2.06	65.28 ± 0.39 ns	62.63 ± 1.58 b	103.33 ± 1.78	87.58 ± 1.66 a	85.46 ± 0.73 ns

**สรุปผล**

การประยุกต์ใช้สารละลายไคโตซานสามารถยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ได้ อย่างไรก็ตามสารละลายเคลือบผิวที่เตรียมจากไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 370,000 ดาลตัน ขึ้นไปทำให้กระบวนการสุกของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ผิดปกติ โดยทำให้เปลือกผลมะม่วงไม่เปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองและทำให้เนื้อผลไม่สุก ซึ่งคุณลักษณะดังกล่าวไม่เป็นที่ต้องการของตลาด ดังนั้น การใช้ไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 65,000 ดาลตัน สามารถรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามควรมีการทดลองเพิ่มเติมโดยใช้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 65,000-370,000 ดาลตัน ในการยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เพื่อให้ได้น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่เหมาะสมต่อการยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มากที่สุด

**คำขอบคุณ**

การศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากโครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.) และระบบบริหารงานวิจัยแห่งชาติ, สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

## เอกสารอ้างอิง

- Ali, A., Muhammad, M.T.M., Sijam, K. and Siddiqui, Y., 2011, Effect of Chitosan Coatings on the Physicochemical Characteristics of Eksotika II Papaya (*Carica papaya* L.) Fruit during Cold Storage, *Food Chemistry*, 124: 620-626.
- Bautista-Baños, S., Hernández-Lauzardo, A.N., Velázquez-del Valle, M.G., Hernández-Lopez, M., Barka, E.A. and Bosquez-Molina, E., 2006, Chitosan as a Potential Natural Compound to Control Pre and Postharvest Disease of Horticultural Commodities, *Crop Protection*, 25: 108-118.
- Gao, P., Zhu, Z. and Zhang, P., 2013, Effects of Chitosan–glucose Complex Coating on Postharvest Quality and Shelf Life of Table Grapes, *Carbohydrate Polymers*, 95: 371-378.
- Giovannoni, J., 2001, Molecular Biology of Fruit Maturation and Ripening, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52: 725-749.
- Hong, K., Xie, J., Zhang, L., Sun, D. and Gong, D., 2012, Effects of Chitosan Coating on Postharvest Life and Quality of Guava (*Psidium guajava* L.) Fruit during Cold Storage, *Scientia Horticulturae*, 144: 172-178.
- Ma, Z., Yang, L., Yan, H., Kennedy, J.F. and Meng, X., 2013, Chitosan and Oligochitosan Enhance the Resistance of Peach Fruit to Brown Rot, *Carbohydrate Polymer*, 94: 272-277.
- Mattoo, A.K. and Modi, V.V., 1969, Ethylene and Ripening of Mangoes, *Plant Physiology*, 44: 308-310.
- Salvador-Figueroa, M., Aragón-Gómez, W.I., Hernández-Ortiz, E., Vázquez-Ovando, J.A. and Adriano-Anaya, M.L., 2011, Effect of Chitosan Coating on Some Characteristics of Mango (*Mangifera indica* L.) "Ataulfo" Subjected to Hydrothermal Process, *African Journal of Agricultural Research*, 6(27): 5800-5807.
- Ramesh, H.P., Viswanatha, S. and Tharanathan, R.N., 2004, Safety Evaluation of Formulations Coontaining Carboxymethyl Derivatives of Starch and Chitosan in Albino Rats, *Carbohydrate Polymers*, 58: 435-441.
- Wang, S.Y. and Gao, H., 2013, Effect of Chitosan-Based Edible Coating on Antioxidants, Antioxidant Enzyme SystemZ and Postharvest Fruit Quality of Strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.), *LWT-Food Science and Technology*, 52: 71-79.
- Zhu, X., Wang, Q., Cao, J. and Jiang, W., 2008, Effects of Chitosan Coating on Postharvest Quality of Mango (*Mangifera indica* L. CV. Tainong) Fruits, *Journal of Food Processing and Preservation*, 32: 770-784.

## Delaying mango fruit ripening by chitosan coating

Pornchan Jongsri<sup>1</sup>, Teerada Wangsomboondee<sup>1</sup>, Pranee Rojsitthisak<sup>2</sup>, Kanogwan Seraypheap<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Center of Excellence in Environment and Plant Physiology, Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

<sup>2</sup>Metallurgy and Materials Science Research Institute, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

### Abstract:

Mango (*Mangifera Indica* L.) is a climacteric fruit which ripens quickly after harvest because of high ethylene synthesis. Moreover, anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) is the major postharvest disease of mango. These problems reduce qualities of fruit during storage and marketing period. In order to delay fruit ripening and inhibit postharvest disease, chitosan was used as peel coating to prolong storage life of 'Nam Dok Mai' mango fruit. Three chitosan solutions (high molecular weight; HM-CTS, medium molecular weight; MM-CTS and low molecular weight; LM-CTS) were applied as fruit coating and fruit were stored at 25°C for 16 days. Chitosan coating resulted in significant reduction of peel color change when compared with control. In addition, HM-CTS could delay mango fruit ripening by maintaining fruit firmness, percentage of weight loss, titratable acidity ( $0.22 \pm 0.01\%$ ) and reducing respiration rate and ethylene production of mango fruit. Moreover, chitosan coated fruit didn't show any disease incidence until the end of the storage while control fruit had the highest disease incidence and disease severity (75% and 35.29%). It is possible that chitosan coating delays fruit ripening and control disease infection by forming antimicrobial, semi-permeable barriers that limit gas exchange thus reducing climacteric phenomenon and disease incidence. Therefore, the application of HM-CTS could be used to reduce deteriorative processes, maintain quality and increase the shelf life of 'Nam Dok Mai' mango stored at 25°C.

