บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของการใช้สารละลาย Ca-B ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกันที่มีผลต่อคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง

ทำการคัดเลือกสวนเกษตรกร อำเภอพิชัย จังหวัดอุตรดิตถ์ โดยใช้ต้นมะม่วงที่มีอายุ 6-7 ปี และมีขนาดทรงพุ่มใกล้เคียงกัน จำนวน 24 ต้น ทำการฉีดพ่นสารละลาย Ca-B (10 ลิตร/ต้น)โดยฉีดพ่นให้ทั่วทรงพุ่ม เดือนละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 2 เดือน ในวันที่ 60 และ 90 วัน หลังดอกบาน เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ฉีดพ่นสารละลาย Ca-B (Control) และเก็บเกี่ยวผลมะม่วงที่มีอายุ 110 วัน หลังดอกบานหรือมะม่วงมีความบริบูรณ์ 80% นำมาคัดเลือกผลที่มีวัยใกล้เคียงกันโดยนำมาลอยในน้ำเกลือ 2 % นำผลที่ลอยในน้ำเกลือ 2 % มาจมในน้ำสะอาด ผลมะม่วงที่ลอยน้ำทำการคัดแยกออกไป ทำการล้างทำความสะอาดผลมะม่วงที่จมน้ำ จากนั้นนำผลมะม่วงมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 และ 27 องศาเซลเซียส จากนั้นสุ่มตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 1 ผล ทำการตรวจวิเคราะห์และบันทึกผลคุณภาพทางกายภาพ และทางเคมี ทุก 3 วัน วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ดังนี้ คือ

ปัจจัยที่ 1 คือ สารละลายแคลเซียม 40 %-โบรอน 0.3 % (Ca 400,000 ppm-B 3,000 ppm) อัตรา 100 ซีซีต่อน้ำ 200 ลิตรที่ระดับความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 4 เท่า

ปัจจัยที่ 2 คือ อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา มี 2 ระดับ 15 และ 27 องศาเซลเซียส

ชุดการทดลองประกอบด้วย

1. ไม่ให้สารCa-B (Control) (0 เท่า) เก็บที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส
2. ไม่ให้สารCa-B (Control) (0 เท่า) เก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส
3. ให้สาร Ca 100 ppm - B 0.75 ppm (0.5เท่า) เก็บที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส
4. ให้สาร Ca 100 ppm - B 0.75 ppm (0.5เท่า) เก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส
5. ให้สาร Ca 200 ppm - B 1.5 ppm (1เท่า) เก็บที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส
6. ให้สาร Ca 200 ppm - B 1.5 ppm (1เท่า) เก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส
7. ให้สาร Ca 400 ppm - B 3.0 ppm (2เท่า) เก็บที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส
8. ให้สาร Ca 400 ppm - B 3.0 ppm (2เท่า) เก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส
9. ให้สาร Ca 600 ppm - B 4.5 ppm (3เท่า) เก็บที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

10. ให้สาร Ca 600 ppm - B 4.5 ppm (3เท่า) เก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

11. ให้สาร Ca 800 ppm – B 6.0 ppm (4เท่า) เก็บที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

12. ให้สาร Ca 800 ppm - B 6.0 ppm (4เท่า) เก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

การตรวจวิเคราะห์

1. คุณสมบัติทางเคมีของดิน ได้แก่ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) อินทรียวัตถุในดิน (organic matter) ค่าการนำไฟฟ้า (EC, Electrical Conductivity)

2. วิเคราะห์หาธาตุในดินที่ระดับความลึก 15 และ 30 เซนติเมตร รอบชายพุ่มต้นละ 4 จุด ได้แก่ N P K Ca Mg B Cl Zn ในใบมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ใบยอดที่ 3 และ 4 และในเนื้อมะม่วง ได้แก่ Ca และ B ทุก 2 อาทิตย์ก่อนและหลังจากพ่นสารละลาย Ca - B จนกระทั่งเก็บเกี่ยว

3. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของผลมะม่วง

3.1 ระดับความรุนแรงของโรค คิดจากความเสียหายที่เกิดจากบนส่วนต่าง ๆ ของผล แบ่งเป็น 8 ระดับ

ระดับที่ 1 ความเสียหายต่ำกว่า 12.5 % ของเนื้อที่ผล

ระดับที่ 2 ความเสียหายประมาณ 12.5-25 %ของเนื้อที่ผล

ระดับที่ 3 ความเสียหายประมาณ 26-37 %ของเนื้อที่ผล

ระดับที่ 4 ความเสียหายประมาณ 37-50 %ของเนื้อที่ผล

ระดับที่ 5 ความเสียหายประมาณ 51-62 %ของเนื้อที่ผล

ระดับที่ 6 ความเสียหายประมาณ 63-75 %ของเนื้อที่ผล

ระดับที่ 7 ความเสียหายประมาณ 76-87 %ของเนื้อที่ผล

ระดับที่ 8 ความเสียหายประมาณ 88-100 %ของเนื้อที่ผล

3.2 การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกและสีเนื้อ โดยเครื่องวัดสี Minolta รุ่น DP-1000 รายงานผลเป็นค่า L* a* และ b*

3.3 ความแน่นเนื้อของผล โดยปอกเปลือกบริเวณแก้มผลให้ถึงเนื้อ วัดความแน่นเนื้อของผลโดยใช้เครื่อง Fruit Texture Analyzer และใช้ตัวรับแรงกดที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร กดลึก 0.5 เซนติเมตร ค่าที่คำนวณได้เป็นกิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร

3.4 น้ำหนักผล (กิโลกรัม) ความกว้าง และความยาวของผล (เซนติเมตร)

3.5 อัตราการหายใจ

4. การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของผลมะม่วง

4.1 การวิเคราะห์ปริมาณ soluble solids (SS) วัดน้ำคั้นของเนื้อผลบริเวณกลางผล โดยใช้ hand refractometor อ่านค่าเป็น ^{0}Brix

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

4.2 ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (Titratable acidity: TA) (AOAC.1989) โดยการไทเทรตน้ำคั้น 5 มิลลิลิตร กับ 0.1 N NaOH โดยใช้ 1% phenolphthalein 1-2 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ไทเทรตจนกระทั่งถึงจุดยุติเมื่อสารละลายมีสีชมพู จากนั้นจึงคำนวณกรดที่ไทเทรตได้ในรูปกรดซิตริก จากสูตร

$$\text{กรดซิตริก (\%)} = \frac{\text{N base x มิลลิลิตร base x meq.wt. ของกรดซิตริก x 100}}{\text{ปริมาตรของน้ำคั้นที่ใช้}}$$

โดย N base คือ normality ของสารละลายด่าง NaOH

มิลลิลิตร base คือ ปริมาณของสารละลายที่ใช้ในการไตเตรทเป็นมิลลิลิตร

Meq.wt (miliequivalent weight) ของกรดซิตริก คือ 0.006404

4.3 ปริมาณวิตามินซี (ascorbic acid) วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1989)

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของการห่อผลร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกันที่มีต่อคุณภาพผลของมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง

ทำการคัดเลือกสวนเกษตรกร อ.พิชัย จ.อุตรดิตถ์ โดยใช้ต้นมะม่วงที่มีอายุ 6-7 ปี และมีขนาดทรงพุ่มใกล้เคียงกัน จำนวน 24 ต้น และทำการห่อผลชนิดต่าง ๆ เมื่อผลมีอายุ 60 และ 67 วัน หลังดอกบาน เปรียบเทียบกับการไม่ห่อผล และเก็บเกี่ยวผลมะม่วงที่มีอายุ 110 วัน หลังดอกบานหรือมะม่วงมีความบริบูรณ์ 80% นำมาคัดเลือกผลที่มีวัยใกล้เคียงกันโดยนำมาลอยในน้ำเกลือ 2 % นำผลที่ลอยในน้ำเกลือ 2 % มาจมในน้ำสะอาด ผลมะม่วงที่ลอยน้ำทำการคัดแยกออกไป ทำการล้างทำความสะอาดผลมะม่วงที่จมน้ำ จากนั้นนำผลมะม่วงมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 และ 27 องศาเซลเซียส จากนั้นสุ่มตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 1 ผล ทำการตรวจวิเคราะห์และบันทึกผลคุณภาพทางกายภาพ และทางเคมี ทุก 3 วัน วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design ประกอบด้วย 3 ปัจจัย ดังนี้ คือ

ปัจจัยที่ 1 คือ อายุผล 60 และ 67 วันหลังดอกบาน

ปัจจัยที่ 2 คือ ไม่ห่อผล ห่อผลด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ และการห่อผลด้วยกระดาษคาร์บอนแบบบาง

ปัจจัยที่ 3 คือ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และ 27 องศาเซลเซียส

การทดลองประกอบด้วย

1. ไม่ห่อผล (Control) 60 วันหลังดอกบาน เก็บที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส
2. ไม่ห่อผล (Control) 60 วันหลังดอกบาน เก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

3. ไม่ห่อผล (Control) 67 วันหลังดอกบาน เก็บที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส
4. ไม่ห่อผล (Control) 67 วันหลังดอกบาน เก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส
5. ห่อผลด้วยหนังสือพิมพ์ 60 วันหลังดอกบาน เก็บที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส
6. ห่อผลด้วยหนังสือพิมพ์ 60 วันหลังดอกบาน เก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส
7. ห่อผลด้วยหนังสือพิมพ์ 67 วันหลังดอกบาน เก็บที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส
8. ห่อผลด้วยหนังสือพิมพ์ 67 วันหลังดอกบาน เก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส
9. ห่อผลด้วยคาร์บอนแบบบาง 60 วันหลังดอกบาน เก็บที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส
10. ห่อผลด้วยคาร์บอนแบบบาง 60 วันหลังดอกบาน เก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส
11. ห่อผลด้วยคาร์บอนแบบบาง 67 วันหลังดอกบาน เก็บที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส
12. ห่อผลด้วยคาร์บอนแบบบาง 67 วันหลังดอกบาน เก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

การตรวจวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์หาปริมาณ คลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ ทั้งหมด และปริมาณแคโรทีนอยด์ โดยนำเปลือกมะม่วง 0.5 กรัม บดในสารละลายอะซีโตนความเข้มข้นร้อยละ 80 ปริมาณ 20 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปกรองโดยใช้กระดาษกรอง เบอร์ 1 แล้วค่อยเติมสารละลายอะซีโตนลงไปปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร สารสกัดที่ได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง UV Spectrophotometer เทียบกับ Blank ที่เป็นสารละลายอะซีโตนความเข้มข้น 80 โดยวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 645 และ 663 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาคำนวณ ตามสมการดังนี้ (Aron, 1949)

C_a (µl /mg of plant extract) = $12.7A_{663} - 2.69A_{645}$

C_b (µl /mg of plant extract) = $22.9A_{645} - 4.68A_{663}$

C_{a+b}(µl /mg of plant extract) = $20.2A_{663} - 8.02A_{645}$

C_{x+c}(µl /mg of plant extract) = $(1000A_{470} - 2.27C_a - 104C_b)/229$

กำหนดให้

A หมายถึงค่าดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากความยาวช่วงคลื่น (นาโนเมตร)

C_a หมายถึง Chlorophyll a

C_b หมายถึง Chlorophyll b

C_{a+b} หมายถึง Total chlorophyll

C_{x+c} หมายถึง Carotenoid

2. วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพของผลมะม่วงตามการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 3 การศึกษาผลของการใช้สารละลาย Ca-B และการห่อผลที่มีต่อคุณภาพของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองภายใต้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

ทำการคัดเลือกสวนเกษตรกร อ.พิชัย จ.อุตรดิตถ์ที่ความสมบูรณ์ และมีขนาดทรงพุ่มใกล้เคียงกัน โดยประมาณ 3-4 เมตร จำนวน 24 ต้น โดยทำการฉีดพ่นสารละลาย Ca-B ความเข้มข้นที่เลือกมาจากการทดลองที่ 1 ร่วมกับการห่อผลที่เลือกมาจากการทดลองที่ 2 และเก็บเกี่ยวผลมะม่วงที่มีอายุ 110 วัน หลังดอกบาน นำมาคัดเลือกผลที่มีวัยใกล้เคียงกันโดยนำมาลอยในน้ำเกลือ 2 % นำผลที่ลอยในน้ำเกลือ 2 % มาจมในน้ำสะอาด ผลมะม่วงที่ลอยน้ำทำการคัดแยกออกไป ทำการล้างทำความสะอาดผลมะม่วงที่จมน้ำ จากนั้นนำผลมะม่วงมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 และ 27 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design โดยสุ่มตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 1 ผล ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ คลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ ทั้งหมด ปริมาณแคโรทีนอยด์และบันทึกผลคุณภาพทางเคมีและกายภาพ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1