บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีก ารทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดลองในสภาพแปลงปลูกโดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง ได้แก่

การทดลองที่ 1 : ศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยไนโตรเจนและโพแทสเซียมไอโอไดด์ในฤดูนาปรัง

ทำการปลูกข้าวทดลอง ณ แปลงปฏิบัติการศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยทำการวางแผนการทดลองแบบ split split plot จำนวน 3 ซ้ำ ขนาดแปลงทดลอง 3x4 เมตร ระยะปลูก 25x25 ซม. โดยข้าวมีอายุกล้า 1 เดือน ทำการปักดำเมื่อเดือน มีนาคม 2542 ปักดำ 3 ต้น/จับ และกำหนดให้

main-plot เป็นพันธุ์ข้าว 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์คลองหลวง 1 และพันธุ์แพร่ 1

sub-plot เป็นอัตราไนโตรเจน 3 อัตรา ได้แก่

N1: 0 กก.N./ไร่

N2: 16 กก.N./ไร่

N3: 32 กก.N./ไร่

sub-sub-plot เป็นช่วงระยะการฉีดพ่นสาร potassium Iodide ทางใบ ในอัตรา 0.10 g./100 ml น้ำ โดยแบ่ง treatment ตามระยะการฉีดพ่นออกเป็น 3 treatment คือ

D1: ไม่ได้รับการฉีดพ่น

D2: เริ่มฉีดพ่นระยะ tillering จนถึงก่อนระยะ anthesis

D3: เริ่มฉีดพ่นระยะ panicle initiation จนถึงก่อนระยะ anthesis

โดย treatment 2 และ 3 จะทำการฉีดพ่นทุก 7 วันของแต่ละระยะการฉีดพ่น

ทำการแบ่งปุ๋ยใส่ 2 ครั้ง ครั้งแรกใส่ระยะปักดำ จำนวนครึ่งหนึ่งของอัตราปุ๋ยทั้งหมด ครั้งที่สองใส่ระยะกำเนิดช่อดอก จำนวนอีกครึ่งหนึ่งของอัตราปุ๋ยที่กำหนดไว้

การทดลองที่ 2 : ศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยไนโตรเจนและโพแทสเซียมไอโอไดด์ในฤดูนาปี

ทำการปลูกข้าวทดลอง ณ แปลงปฏิบัติการสถานีทดลองแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยทำการวางแผนการทดลองแบบ split split plot จำนวน 3 ซ้ำ ขนาดแปลงทดลอง 3x5 เมตร ระยะปลูก 25x25 ซม. โดยข้าวมีอายุกล้า 1 เดือน ทำการปักดำเมื่อเดือน สิงหาคม 2542 ปักดำ 3 ต้น/จับ และกำหนดให้

main -plot เป็นพันธุ์ข้าว 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และพันธุ์ชัยนาท1

sub-plot เป็นอัตราไนโตรเจน 4 อัตรา ได้แก่

N1: 0 กก.N./ไร่

N2: 11.2 กก.N./ไร่

N3: 22.4 กก.N./ไร่

N4: 33.6 กก.N./ไร่

sub-sub-plot เป็นช่วงระยะการฉีดพ่นสาร potassium iodide ทางใบ ในอัตรา 0.10 g./100 ml น้ำ โดยแบ่ง Treatment ตามระยะการฉีดพ่นออกเป็น 3 treatment คือ

D1: ไม่ได้รับการฉีดพ่น

D2:เริ่มฉีดพ่นระยะ tillering จนถึงก่อนระยะ anthesis

D3:เริ่มฉีดพ่นระยะ panicle initiation จนถึงก่อนระยะ anthesis

โดย treatment 2 และ 3 จะทำการฉีดพ่นทุก 7 วันของแต่ละระยะการฉีดพ่น

ทำการแบ่งปุ๋ยใส่ 2 ครั้ง ครั้งแรกใส่ระยะปักดำ จำนวนครึ่งหนึ่งของอัตราปุ๋ยทั้งหมด ครั้งที่สองใส่ระยะกำเนิดช่อดอก จำนวนอีกครึ่งหนึ่งของอัตราปุ๋ยที่กำหนดไว้

การดูแลรักษา ของทั้ง 2 งานทดลอง

ทำการปักดำข้าวที่อายุกล้า 30 วัน ทำการใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีการทดลอง โดยการใส่ครั้งแรกระยะปักดำ จำนวนครึ่งหนึ่งของอัตราปุ๋ยทั้งหมด ครั้งที่สองใส่ระยะกำเนิดช่อดอก จำนวนอีกครึ่งหนึ่งของอัตราปุ๋ยที่กำหนดไว้ ดูแลการให้น้ำในแปลง การป้องกันโรค และกำจัดแมลงตามความเหมาะสม

การบันทึกข้อมูล

ทำการบันทึกข้อมูลทั้ง 2 งานทดลองโดยการ

1. สุ่มเก็บตัวอย่างข้าวจำนวน 2 กอ และบันทึกลักษณะที่ปรากฏรวมทั้งน้ำหนักแห้งมวลรวมที่ระยะปักดำ ระยะแตกกอ ระยะกำเนิดช่อดอก ระยะแทงช่อดอก ระยะผสมเกสร และระยะสุกแก่ โดยนำตัวอย่างแยกเป็นส่วนๆ ประกอบด้วยลำต้น ใบ และรวง
2. นำตัวอย่างที่แยกแล้วมาอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักแห้ง แล้วนำไปวิเคราะห์หาอัตราการเจริญทางลำต้น อัตราการเจริญของใบ อัตราการเจริญของรวง และอัตราการเจริญเติบโตที่ระยะสุกแก่จนถึงเก็บเกี่ยว
3. นับจำนวนหน่อ และทำการวัดผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตในระยะสุกแก่ โดยเก็บตัวอย่างในพื้นที่ 1 ตารางเมตร
4. วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ต้นข้าว และวิเคราะห์คุณภาพทางโภชนาการโดยหาปริมาณไอโอดีน ไนโตรเจน และโพแทสเซียม ในเมล็ดข้าว

การวิเคราะห์คุณภาพการสีของเมล็ด

นำข้าวเปลือกมาเข้ากระบวนการสีข้าว โดยเข้าเครื่องกระเทาะเมล็ดแบบ Satake จะได้ส่วนที่เป็นข้าวกล้องและแกลบออกมา นำข้าวกล้องมาแบ่งเป็นส่วน ส่วนละประมาณ 100 กรัม เข้าเครื่องขัดข้าวขาวแบบ McGrill No.2 จะได้ส่วนที่เป็นข้าวขาว และรำออกมา ส่วนที่เป็นรำทิ้งไป จากนั้นนำข้าวกล้องมาวิเคราะห์คุณภาพทางโภชนาการ และวิเคราะห์คุณภาพการสีของข้าวขาว

การวิเคราะห์คุณภาพทางโภชนาการ

1. วิธีการวัดสารไนโตรเจนด้วยวิธี Kjeldahl method (Pearson, 1973)
2. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุไอโอดีนด้วยวิธี Dry ashing (ศักดา และคณะ, 2539)
3. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุโพแทสเซียมด้วยวิธี Wet digestion (มานัส, 2519)

การวิเคราะห์ไนโตรเจนในพืช

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว
   1.1 Kjeldahl flashes ขนาด 100 ml.
   1.2 Errenmeger flask ขนาด 125 ml.
   1.3 Micro burett for titrating
   1.4 Pipet or Burett for Dispensing Reagent
2. สารเคมี
   2.1 สารที่เตรียม digestion mixture มี กรดซัลฟูริคเข้มข้น (H_2SO_4) conc., K_2SO_4, $CuSO_4 .5H_2O$, Metallic salt
   2.2 NaOH, HCl , H_3BO_3, methyl red, ethanol 95 %, methylene blue
   2.3 น้ำกลั่น
3. ครกกระเบื้องเคลือบ

การเตรียมสารละลาย

1. digestion mixture โดยใช้สารผสมระหว่าง K_2SO_4, $CuSO_4$, $.5H_2O$, metalic salt ในอัตราส่วนประมาณ 50 : 10 : 1 60-65 กรัม บดให้ละเอียดด้วยครกกระเบื้องเคลือบให้เข้าด้วยกันเป็นอย่างดีแล้วนำไปละลายในกรดซัลฟูริคเข้มข้น 1 ลิตร ซึ่งการละลายจะเป็นไปอย่างช้ามาก ต้องช่วยคนและตั้งบนเตาไฟฟ้าที่มีอุณหภูมิต่ำ เพื่อช่วยให้ละลายได้ดีขึ้น

2. boric acid (H_3BO_3) 4 %
   2.1 ละลายกรด boric 40 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร
   2.2 ละลาย methyl red 1.25 กรัม ละลายใน 95 % ethanol 100 มล. และละลาย methylene blue 0.825 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มล. ผสมสารละลายทั้งสองนี้เข้าด้วยกัน

ใช้สารละลายจาก ข้อ 2.1 และ 2.2 ผสมเข้าด้วยกันในอัตราส่วน 100:1

3. 60% ของ NaOH

ละลาย NaOH จำนวน 600 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร (ในการเตรียมสารจะมีความร้อนเกิดขึ้น ดั้งนั้นควรแช่ภาชนะที่ใช้ละลายสารในอ่างน้ำ)

4. standard HCl 0.05 N

โดยการ dilute จากสารละลายมาตรฐานที่เตรียมไว้จากความเข้มข้น 1 N

วิธีการวิเคราะห์

1. การย่อย (digestion) ชั่งตัวอย่างพืชที่แห้งที่อบอุณหภูมิ 65-70 ^{0} ซ และบดละเอียดแล้ว หนัก 0.2 กรัม ใส่ลงใน Kjeldahl flasks เติมสารละลาย digestion mixture 5 มล. นำไปตั้งบนเตาย่อยในตู้ดูดควัน ค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้น สีของสารจะค่อยเปลี่ยนเป็นสีดำ เป็นสีน้ำตาล สีเหลืองอ่อนจนได้สารละลายเขียวใส (ใช้เวลาประมาณ 2-3 ชั่วโมง) ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
2. การกลั่น (distillation) เทสารละลายที่ย่อย ลงใน distillation unit และต้องล้าง distillation flasks ด้วยน้ำกลั่นอย่างน้อย 2 ครั้ง เทผสมลงไปด้วย เติม 60% NaCl ลงไปประมาณ 10 มล. ของ 4% H_3BO_3 with indicator เมื่อการกลั่นสิ้นสุดลง ใช้น้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อยล้างปลาย condensor เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มี NH_4 ค้างอยู่
3. การไตเตรท (titration) ทำการไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรด HCl 0.05 N เมื่อได้ค่าจากการไตเตรทแล้วก็นำค่าไปคำนวณหา % ของ N ได้จากสูตร

$$\% N = \frac{\text{(sample titrate – blank) X normality of HCl X 14 X 100}}{\text{sample Wt. X 1,000}}$$

การวิเคราะห์ไอโอดีนในพืช

หลักการ

เมื่อนำตัวอย่างข้าวไปเผาในเตาเผาอุณหภูมิสูง(muffle furnace) เพื่อย่อยสารอินทรีย์ (organic matter) ได้ iodine อยู่ในส่วนขี้เถ้า ทำการสกัด iodine ออกมาจากขี้เถ้าด้วยน้ำ และนำไปทำปฏิกิริยาเคมีเพื่อวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนโดยอาศัยหลักการที่ว่า iodine จะเร่งปฏิกิริยาการทำลาย thiocyanate โดย nitrite ซึ่งเป็นผลให้สีของ iron (III) thiocyanate ลดลง

สารเคมี

1. iodine standard

1.1stock iodine standard (เก็บขวดสีน้ำตาลไว้ในตู้เย็น)

นำ KI ไปอบใน oven 100^{0}C นาน 1 ชั่วโมง และชั่ง KI 1.308 g เติม DDW ให้ครบ 1000 ml มีความเข้มข้นของ iodine 10^6 ng/ml

1.2 เตรียม intermediate standard iodine (เตรียมในวันที่ทำการ form สี)

ดูดสารละลาย stock standard iodine ในข้อ 1 (ความเข้มข้นของ iodine 10^6 ng/ml) 0.1 ml เติม DDW ให้ครบ 500 ml มีความเข้มข้นของ iodine เท่ากับ 200 mg/ml

1.3 เตรียม working standard iodine ที่มีความเข้มข้นของ iodine 0, 5, 10, 15, 20, ng/ml (เตรียมในวันที่ทำการ from สี) โดยดูดสารละลายดังต่อไปนี้ในหลอดทดลอง

working std I (ng/ml)	intermediate std I (200ng/ml)(ml)	30%K_2CO_3 (ml)	DDW (ml)	total volume (ml)
0	0	0.05	4.950	5.00
5	0.125	0.05	4.825	5.00
10	0.250	0.05	4.700	5.00
15	0.375	0.05	4.575	5.00
20	0.500	0.05	4.450	5.00

2. 20% NaCl (เก็บที่อุณหภูมิห้อง)

ชั่ง NaCl 20 g ละลาย DDW และปรับปริมาตรให้เป็น 100 ml

3. 0.023% KSCN (เก็บในตู้เย็น)

ชั่ง KSCN 0.023 g ละลาย DDW และปรับปริมาตรให้เป็น 100 ml

4. ammonium iron (III) sulphate reagent (เก็บในตู้เย็น)

-ชั่ง ammonium iron (III) sulphate [$NH_4Fe(SO_4)_2$. $12H_20$] 77g ละลาย DDW ประมาณ 400 ml

-เติม Conc HNO_3 (sp gr 1.42) 167 ml

-นำไปอุ่นบน hotplate จนละลายหมด และปรับปริมาตรให้ครบ 1000 ml ด้วย DDW

5. 2.07% $NaNO_2$(เตรียมในวันที่ทำการ form สี)

ชั่ง $NaNO_2$ 2.07 g ละลาย DDW และปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วย DDW

6. Control

6.1 standard reference material 1549 เป็นผลิตภัณฑ์ของ national institute of standards and technology (NIST) U.S. department of commerce, gaithersburg, U.S.A> เป็น non-fat milk powder ซึ่งมี iodine 3.38 ug/g ได้เตรียมให้เป็นสารละลายนมซึ่งมี iodine 117.12 ng/ml โดยมีวิธีเตรียมดังนี้

-นำนมผง NIST ไปอบใน Oven 100^{0}C จนน้ำหนักคงที่ แล้วชั่งนมผง NIST 3.4651 g ละลาย DDW และอุ่นใน waterbath จนกระทั่งละลายหมด ทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรด้วย DDW ให้เป็น100 ml และแบ่งใส่ใน eppendorf tube หลอดละประมาณ 1 m นำไปเก็บไว้ใน freezer (-30^{0}C)

6.2 น้ำนม UHT ยี่ห้อ alacta NF(ANF) ชนิดจืดเสริมธาตุเหล็ก ซึ่งมี iodine ตามข้อมูลโภชนาการระบุไว้ข้างกล่อง 110 ng/ml แบ่งใส่ใน eppendorf tube หลอดละประมาณ 1 ml นำไปเก็บไว้ใน freezer (-30^{0}C)

วิธีทำ

1. วิธีการเตรียมตัวอย่าง

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างข้าวที่บดละเอียดแล้ว ถึงทศนิยม 4 ตำแหน่ง ประมาณ 0.2 g และดูดสารละลาย blank และ control ลงใน ash tube อย่างละ 2 หลอดวางหลอดทั้งหมดทั้งหมดไว้ใน stainless rack โดยมีรายละเอียดการเตรียมดังนี้

samples	น้ำหนักตัวอย่าง (g) /หลอด
ข้าวกล้อง	0.2 g
blanks	ปริมาณของDDW(ml)/หลอด
reagent A	- ml
reagent B	1 ml
control	ปริมาณของน้ำนม(ml)/หลอด
NIST	1 ml
ANF	1 ml

2. เติม 30% K_2CO_3 1 ml ลงในทุกหลอด และ 10% $7nSO_4$ 1 ml ลงในทุกหลอด และ mix ด้วย vortex (ไม่ควร mix ให้ สารละลายขึ้นสูงมาก)

3. นำหลอดที่วางใน stainless rack ไปไว้ใน over ที่อุณหภูมิ 100°C ประมาณ 22 ชั่วโมงเพื่อให้ตัวอย่างแห้งสนิท
4. นำหลอดไปเผาใน furnace โดยเริ่มจากอุณหภูมิห้องถึง 550°C ซึ่งใช้เวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที และคงอยู่ที่ 550°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำ rack ออกจาก furnace ทันทีที่ครบ 1 ชั่วโมง และทิ้งไว้ให้เย็น
5. เติม 5% $ZnSO_4$ ลงในทุกหลอด หลอดละ 2 ml และนำไปวางใน sonicator เป็นเวลา 30 นาที และ mix ด้วย vortex อีกครั้งหนึ่ง ก่อนจะนำไปทิ้งไว้ค้างคืนใน oven 100°C (ประมาณ 18 ชั่วโมง)
6. นำหลอดทั้งหมดจาก oven ไปใส่ใน furnace ทันที โดยทำซ้ำข้อ 4
7. หลังจากทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติม Glass bead 2 เม็ด ลงในทุกหลอด เติม DDW 3 ml ลงในทุกหลอด และนำไป incubate ใน waterbath 50°C 10 นาที
8. นำหลอดทั้งหมดไปวางใน sonicator 10 นาที และ mix ด้วย automixter 10นาที
9. นำหลอดทั้งหมดไปปั่นโดยใช้ centrifuge ที่ 1000 rpm 4°C เป็นเวลา 10 นาที
10. ดูดส่วนที่เป็น supernatant ใส่ใน polyethylene tube ขนาด 16x100 mm เพื่อนำไปปฏิกิริยาให้เกิดสีต่อไป
11. ดูดสารละลายต่างๆ ใส่ใน assay tube ดังต่อไปนี้

					supernatant จาก				
solutions assay tube	std (ml)	DDW (ml)	20% NaCl (ml)	0.023% KSCN (ml)	B k . reagent A(ml)	B k . reagent B(ml)	NIST	ANF	sample
std	1	0.850	0.250	0.250	-	-	-	-	-
blank reagentA1	-	1.600	0.250	0.250	0.250	-	-	-	-
blank reagentA2	-	1.100	0.250	0.250	0.750	-	-	-	-
blank reagent B	-	1.825	0.250	0.250	-	0.025	-	-	-
NIST	-	1.825	0.250	0.250	-	-	0.025	-	-
ANF	-	1.600	0.250	0.250	-	-	-	0.250	-
sample	-	1.100	0.250	0.250	-	-	-	-	0.750

หมายเหตุ 1) blank reagentA1 คือ blank reagent ของ ANF

2) blank reagentA2 คือ blank reagent ของ samples

3) ปริมาตรของ supernatent ที่ใช้ในการ form สีขึ้นอยู่กับปริมาณไอโอดีนที่มีอยู่ และไม่ควรต่ำกว่า 5 ngl/ml

12. ผสมสารละลายให้เข้ากันด้วย Vortex
13. เติม ammonium sulfate reagent 0.50 ml ลงในทุกหลอด
14. incubate ใน waterbath 32^{0}C 10 นาที และเติม 2.075% $NaNO_2$ ลงในทุกหลอด โดยแต่ละหลอดห่างกัน 1 นาที ขณะ Incubate ใน waterbath 32^{0}C
15. อ่าน OD_{450mm} หลังจากเติม 2.07% $NaNO_2$ ครบ 20 นาที โดยเทียบกับ DDW
16. plot graph ระหว่าง ความเข้มข้นของ iodine และ OD_{450mm}ของ Std และเมื่อนำ OD_{450mm}ของ sample มาเทียบกับ standard graph จะทราบความเข้มข้นของ Iodine ในตัวอย่าง

การวิเคราะห์โพแทสเซียมในพืช

การย่อยตัวอย่างพืช

ชั่งตัวอย่างพืช 1 กรัม ใส่ในหลอดย่อย เติมกรดผสมของ HNO_3+$HClO_4$ ในอัตราส่วน 6:1 ลงไป 15 ml ปล่อยให้ตัวอย่างพืชทำปฏิกิริยากับกรดข้ามคืน นำตัวอย่างพืชย่อยในเตาย่อยที่อุณหภูมิ 150^{0}C จนควันสีน้ำตาลของ NO_2 ระเหยหมดเพิ่มอุณหภูมิในเตาย่อยช้าๆ จนถึง 400^{0}C จะเกิดควันสีขาวของกรด $HClO_4$ ย่อยจนควันสีขาวจางลง ได้สารละลายใส นำสารละลายที่ได้มาตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรให้เป็น 50 ml ด้วยน้ำกลั่น (solution A)

การวิเคราะห์โพแทสเซียม

ดูด solution A มา 1 ml ใส่ลงใน volumetric flask 50 ml ปรับปริมาตรสารละลายด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายที่ได้ไปวัดความเข้มข้นโพแทสเซียมโดยใช้เครื่อง flame photometer ที่ช่วงคลื่น 770 nm. เปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐาน ทำการคำนวณโดยใช้สูตร

$$\%K = \frac{CVF}{10{,}000\ AW}$$

C = ปริมาณ K ในสารละลายที่ทำให้เกิดสี (ppm)

V = ปริมาตรของสารละลายที่ทำให้เกิดสี (25 ml)

F = ปริมาตรของน้ำยาที่กรองได้ทั้งหมด (50 ml)

A = ปริมาตรของน้ำยาที่นำไปทำให้เกิดสี (1 ml)

W = น้ำหนักของพืชตัวอย่าง (1 g.)

การวิเคราะห์ข้อมูล

-แปรผลทางการเจริญเติบโตโดยนำข้อมูลจากการเก็บตัวอย่างแต่ละระยะมาสร้างสมการโดยใช้สมการ 3rd order polynomail และนำสมการที่ได้มาแทนค่าด้วยจำนวนวันหลังปลูก จะได้ค่าของวันน้ำหนักแห้งสะสมต้น ใบ รวง และค่าของน้ำหนักแห้งต้น ใบ รวง ตามจำนวนวันหลังปลูก

โดยสมการ 3rd order polynomail ได้แก่ $y = a + bx + cx^2 + dx^3$ เมื่อ

y = ค่าน้ำหนักแห้ง

a, b, c, d = ค่าสัมประสิทธิ์

x = จำนวนวันหลังปลูก

-นำค่าของวันน้ำหนักแห้งสะสมต้น ใบ รวง สูงสุด และค่าของน้ำหนักแห้งต้น ใบ รวง สูงสุดและต่ำสุดที่ได้จากการแทนค่าสมการข้างต้น มาหาค่าอัตราการสะสมน้ำหนักแห้งต้น ใบ รวง โดยใช้สมการ

$$\text{อัตราการสะสมน้ำหนักแห้ง} = \frac{\text{ค่าของน้ำหนักแห้งสูงสุด} - \text{ค่าของน้ำหนักแห้งต่ำสุด}}{\text{วันน้ำหนักแห้งสะสมสูงสุด}}$$

-วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยวิธี analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของสิ่งทดลองโดยวิธี LSD(least significant different)