

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

3.1 วัสดุพันธุ์พืช

บรอกโคลี (*Brassica oleracea* var. *italica*) ที่เก็บเกี่ยวจากศูนย์พัฒนาโครงการหลวง ห้วยส้มป่อย ต. แม่สอย อ. จอมทอง จ. เชียงใหม่ ในระยะความแก่ทางการค้า ขนส่งมาที่งานตัดบรรจุเชียงใหม่ ศูนย์รวบรวมผลิตผลโครงการหลวงคอกำด้วยรถบรรทุกธรรมดา

3.2 อุปกรณ์

- 3.2.1 เครื่องลดอุณหภูมิผัก Hydro-vacuum cooling ยี่ห้อ Hussmann ประเทศจีน
- 3.2.2 เครื่องวัดความชื้น Datalogger testo รุ่น 175-H2 Vol. 10 ประเทศเยอรมันนี
- 3.2.3 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น EK-600H บริษัท Sartorius ชั่งน้ำหนักได้สูงสุด 600 กรัม และแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น HR-200 บริษัท AND, ประเทศญี่ปุ่น ชั่งน้ำหนักได้สูงสุด 210 กรัม
- 3.2.4 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Digital spectrophotometer) รุ่น Spectro 23 บริษัท LaboMed ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.2.5 กระดาษกรอง ยี่ห้อ Whatman No.1 เส้นผ่านศูนย์กลาง 110 มิลลิเมตร บริษัท Whatman International. ประเทศอังกฤษ
- 3.2.6 เครื่องปั่นผักและผลไม้ (Blender) รุ่น S 648 บริษัท Moulinex
- 3.2.7 เครื่องวัดอุณหภูมิภายในผักและผลไม้ รุ่น PDT 550 Digital Thermometer บริษัท Tequipment.NET ประเทศสหรัฐอเมริกา วัดอุณหภูมิได้ -50 ถึง 300 องศาเซลเซียส
- 3.2.8 เครื่องวัดสี (Chroma meter) ตัวเครื่องรุ่น CR-300 หัววัด CR-310 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร บริษัท Minolta ประเทศญี่ปุ่น ซึ่งวัดสีออกมาเป็นค่า L^* , a^* และ b^* โดยมีรายละเอียดดังนี้ คือ

L^* = The lightness factor (value) ค่า L^* แสดงค่าความสว่าง

- วัดถั่วมีสีขาวเมื่อมีค่าเท่ากับ 100

- วัดถั่วมีสีดำเมื่อมีค่าเท่ากับ 0

a^* , b^* = The Chromaticity coordinates (Hue, Chroma)

ค่า a^* - มีค่าบวก หมายถึง วัดถั่วมีสีแดง

- มีค่าลบ หมายถึง วัดถั่วมีสีเขียว

ค่า b^* - มีค่าบวก หมายถึง วัดถั่วมีสีเหลือง

- มีค่าลบ หมายถึง วัดถั่วมีสีน้ำเงิน

ทั้ง a^* และ b^* หากมีค่าเป็นศูนย์ หมายถึง วัตถุมีสีเทา

คำนวณหาค่า Chroma และ Hue angle จากสมการ ดังนี้

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

$$\text{Hue angle} = \arctangent(b^*/a^*) + 90^\circ \quad \text{เมื่อ } a^* > 0 \text{ และ } b^* \geq 0$$

$$= \arctangent(b^*/a^*) + 180^\circ \quad \text{เมื่อ } a^* < 0 \text{ และ } b \geq 0$$

$$= \arctangent(b^*/a^*) + 270^\circ \quad \text{เมื่อ } a^* < 0 \text{ และ } b < 0$$

$$= \arctangent(b^*/a^*) + 360^\circ \quad \text{เมื่อ } a^* > 0 \text{ และ } b^* < 0$$

โดยที่ ค่า **Chroma** มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึง วัตถุมีสีซีดจาง (เทา)

มีค่าเข้าใกล้ 60 หมายถึง วัตถุมีสีเข้ม

ค่า **hue angle (h°)** เป็นค่าที่แสดงมุมในการตกกระทบของค่า chroma ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0 - 360 องศา ซึ่งจะเป็นค่าที่แสดงช่วงสีของวัตถุ (ภาพที่ 6) (McGuire, 1992)

0-45 องศา แสดงช่วงสีม่วงแดงถึงสีส้มแดง

45-90 องศา แสดงช่วงสีส้มแดงถึงสีเหลือง

90-135 องศา แสดงช่วงสีเหลืองถึงเหลืองเขียว

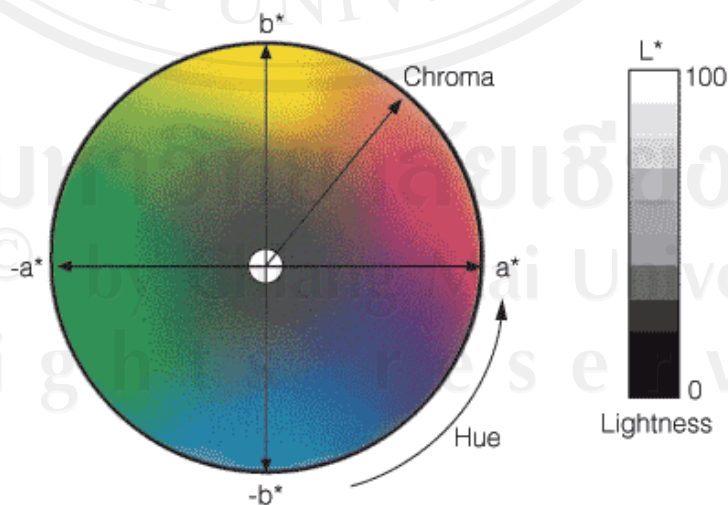
135-180 องศา แสดงช่วงสีเหลืองเขียวถึงเขียว

180-225 องศา แสดงช่วงสีเขียวถึงสีน้ำเงินเขียว

225-270 องศา แสดงช่วงสีน้ำเงินเขียวถึงน้ำเงิน

270-315 องศา แสดงช่วงสีน้ำเงินถึงสีม่วง

315-360 องศา แสดงช่วงสีม่วงถึงสีม่วงแดง



ภาพที่ 6 แผนภาพของสีที่แสดงค่าเป็นค่า L^* , Chroma และ Hue angle

3.2.9 มีด

3.2.10 เขียงพลาสติก

3.2.11 กล้องถ่ายรูป รุ่น FinePix Z3 (บริษัท FUJI PHOTO FILM Co., LTD., ประเทศญี่ปุ่น)

3.2.12 ถังน้ำพลาสติก

3.2.13 ตะกร้าพลาสติก

3.2.14 ห้องเย็นและตู้เย็นที่มีชั้นวางผักและผลไม้ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้

3.2.15 เครื่องแก้ว

- บีกเกอร์ (beaker)
- ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
- ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)
- กระบอกลูกทวง (cylinder)
- บิวเรต (burette)
- ปิเปต (pipette)
- แท่งแก้วคนสารละลาย (stirrer)
- กรวยกรอง (buchner funnel)
- คิวเวต (cuvette)

3.3 สารเคมีและวิธีการเตรียมสารเคมี

3.3.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

- สารละลายอะซิโตน (Acetone) ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยตวง
 แอซิโตน 100 เปอร์เซ็นต์ มา 800 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

3.3.2 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

- สารละลายกรดออกซาลิก (oxalic acid, UNIVAR) ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์
 เตรียมโดยชั่งกรดออกซาลิก 4.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ
 1,000 มิลลิลิตร

- สารละลาย 2, 6-ไดคลอโรฟีโนล อินโดฟีโนล (2, 6-dichlorophenol indophenol, SIGMA) ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่ง 2, 6-ไดคลอโรฟีโนล อินโดฟีโนล 0.4 กรัม
 ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำมากรองด้วย
 กระดาษกรอง Whatman No.1 เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ

- สารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน (Ascorbic Acid, Merck) ชั่งกรดแอสคอร์บิก 0.050 กรัม ละลายในกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดออกซาลิกให้ครบ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรตกับ 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ จนถึงจุดยุติ แล้วบันทึกปริมาตร 2, 6-ไดคลอโรฟีนอล อินโดฟีนอล ที่ใช้ไป เพื่อเป็นมาตรฐานในการคำนวณหาปริมาณวิตามินซี

3.4 สถานที่ทำการวิจัย

- งานคັบบรรจุเชียงใหม่ ศูนย์ผลิตผลโครงการหลวงดอยคำ
- ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตรมหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ห้องปฏิบัติการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.5 วิธีการศึกษา

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิเฉียบพลันของบรอกโคลีโดยใช้ระบบการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศและสุญญากาศร่วมกับน้ำ ประกอบด้วย 2 การทดลอง โดยมีระเบียบวิธีดังนี้

การทดลองที่ 1: สภาวะที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิเฉียบพลันของบรอกโคลี โดยใช้ระบบสุญญากาศ (vacuum cooling)

ศึกษาการลดอุณหภูมิเฉียบพลันของบรอกโคลี โดยแบ่งออกเป็น 4 สภาวะ ดังนี้

1.1 ศึกษาค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในกระบวนการการลดอุณหภูมิเฉียบพลันบรอกโคลีที่บรรจุในตะกร้าพลาสติกโดยใช้ระบบสุญญากาศ

นำบรอกโคลีที่ผ่านการตัดแต่งแล้วบรรจุลงในตะกร้าพลาสติกชนิดพอลิเอทิลีนขนาด กว้าง 35.56 เซนติเมตร ยาว 55.88 เซนติเมตร สูง 29.21 เซนติเมตร ปริมาณในการบรรจุ 5 กิโลกรัมต่อตะกร้าแล้วนำไปจัดเรียงให้เต็มตู้ลดความดัน โดยใช้ปริมาณบรอกโคลีทั้งหมด 60 ตะกร้า แล้วจึงทำการลดอุณหภูมิ บรอกโคลีให้มีอุณหภูมิสุดท้ายเท่ากับ 4 ± 2 องศาเซลเซียส ในการทดลองทำการศึกษาค่าพารามิเตอร์สำหรับการทำงานของเครื่องลดอุณหภูมิดังนี้

- กำหนดค่าความดันสุดท้ายภายในห้องลดอุณหภูมิ (bleed pressure) 3 ระดับ คือ 5.5, 6.0 และ 6.5 มิลลิบาร์

- กำหนดเวลาที่วางผักไว้ในห้องลดอุณหภูมิหลังจากความดันภายในห้องลดลงถึงระดับที่กำหนด (soak time) 3 ระดับ คือ 20, 25 และ 30 นาที
- ระหว่างกระบวนการลดอุณหภูมิทำการบันทึกข้อมูลต่างๆ จนถึงสิ้นสุดกระบวนการดังต่อไปนี้

1. เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก
2. เวลาในการทำให้เย็น (cooling time)
3. อุณหภูมิใจกลางผักตลอดกระบวนการลดอุณหภูมิเพื่อนำไปคำนวณตัวแปรแสดงประสิทธิภาพของการลดอุณหภูมิ (cooling parameters)
4. ความสัมพันธ์ระหว่างความดัน อุณหภูมิและเวลา
5. ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศในห้องลดอุณหภูมิจนถึงสิ้นสุดกระบวนการ
6. พลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในกระบวนการลดอุณหภูมิ

1.2 ค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในกระบวนการลดอุณหภูมิเฉียบพลันบรอกโคลีที่บรรจุในตะกร้าพลาสติกโดยใช้ระบบสุญญากาศร่วมกับน้ำ

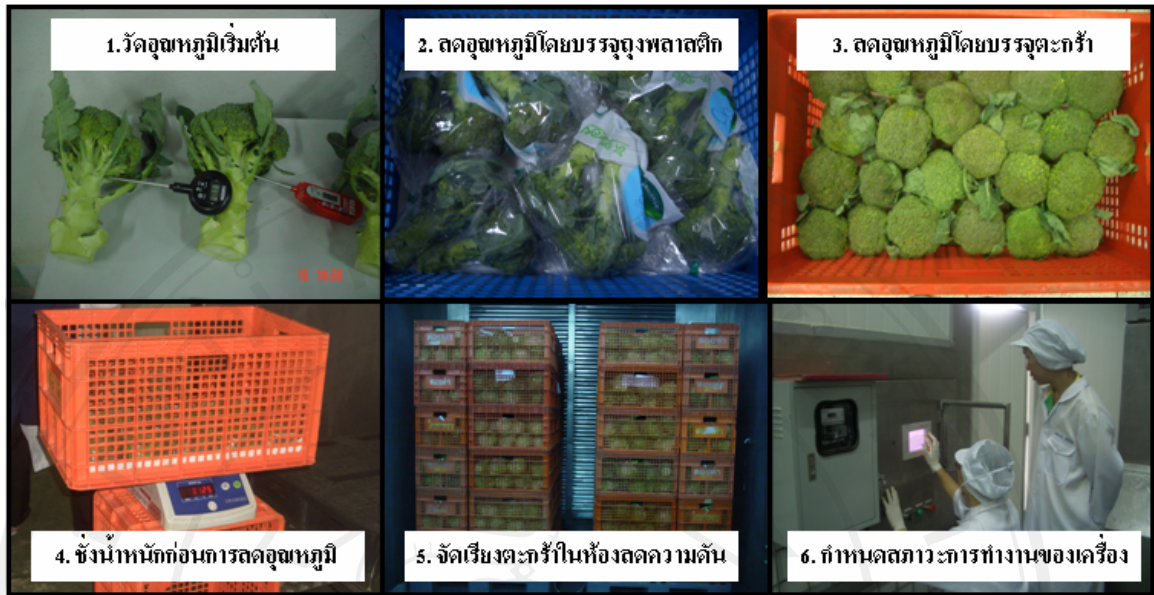
ทำการทดลองเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1.1 และเพิ่มการกำหนดเวลาในการพ่นละอองน้ำภายในตู้ลดความดันเป็นเวลา 5 และ 10 นาที

1.3 ค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในกระบวนการลดอุณหภูมิเฉียบพลันบรอกโคลีที่บรรจุในถุงพลาสติกโดยใช้ระบบสุญญากาศ

นำบรอกโคลีที่ผ่านการตัดแต่งแล้วบรรจุลงในถุงพลาสติกชนิดพอลิเอทิลีนเจาะรู 18 รู ขนาดกว้าง 25.40 เซนติเมตร ยาว 40.64 เซนติเมตร ปริมาณในการบรรจุ 0.4 กิโลกรัมต่อถุงแล้วนำไปจัดเรียงลงในตะกร้าพลาสติกปริมาณ 5 กิโลกรัมต่อตะกร้า หลังจากนั้นนำตะกร้าไปจัดเรียงให้เต็มตู้ลดความดันโดยใช้ปริมาณบรอกโคลีทั้งหมด 60 ตะกร้าแล้วจึงทำการลดอุณหภูมิบรอกโคลีให้มีอุณหภูมิสุดท้าย 4 ± 2 องศาเซลเซียสโดย กำหนดพารามิเตอร์สำหรับการทำงานของเครื่องในกระบวนการลดอุณหภูมิของบรอกโคลี เช่นเดียวกับขั้นตอน 1.1

1.4 ค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในกระบวนการลดอุณหภูมิเฉียบพลันบรอกโคลีที่บรรจุในถุงพลาสติกโดยใช้ระบบสุญญากาศร่วมกับน้ำ

ทำการทดลองเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1.3 และเพิ่มการกำหนดเวลาในการพ่นละอองน้ำภายในตู้ลดความดันเป็นเวลา 5 และ 10 นาที



ภาพที่ 7 ขั้นตอนการลดอุณหภูมิบรอกโคลีโดยใช้ระบบสุญญากาศ

การทดลองที่ 2 คุณภาพและอายุการเก็บรักษาของบรอกโคลีที่ผ่านการลดอุณหภูมิเฉียบพลันโดยใช้ระบบสุญญากาศ

ศึกษาคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของบรอกโคลีที่ผ่านการลดอุณหภูมิด้วยสภาวะที่เหมาะสมที่สุดจากการทดลองที่ 1 โดยบรอกโคลีที่ผ่านการลดอุณหภูมิแล้ว ได้ถูกนำมาศึกษาคุณภาพเปรียบเทียบกับบรอกโคลีที่ไม่ได้ผ่านการลดอุณหภูมิ (ชุดควบคุม) โดยมี 3 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1: ชุดควบคุม (ไม่ผ่านการลดอุณหภูมิ)

กรรมวิธีที่ 2: บรอกโคลีที่ผ่านการลดอุณหภูมิโดยบรรจุในตะกร้า

กรรมวิธีที่ 3: บรอกโคลีที่ผ่านการลดอุณหภูมิโดยบรรจุในถาดพลาสติก

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยบรอกโคลีจำนวน 2 หัว หลังจากนั้นนำบรอกโคลีทั้งหมดไปเก็บรักษา ใน 2 สภาวะดังนี้

2.1 คุณภาพและอายุการเก็บรักษาของบรอกโคลีที่ผ่านการลดอุณหภูมิเฉียบพลันโดยใช้ระบบสุญญากาศที่เก็บรักษาในห้องเย็น

นำบรอกโคลีที่ผ่านการลดอุณหภูมิจากการทดลองที่ 1 มาเก็บรักษาในห้องเย็นอุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส โดยจำลองการเก็บรักษาในห้องเย็นของโรงคัดบรรจุคอตายคำ มูลนิธิโครงการหลวงเชียงใหม่ แล้วทำการประเมินคุณภาพทุกวันดังนี้

2.1.1 การประเมินคุณภาพทางเคมี

(1) ปริมาณคลอโรฟิลล์

วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ของบรอกโคลีตามวิธีการของ Witham *et al.* (1971) โดยชั่งบรอกโคลีที่ปั่นละเอียดมา 3 กรัม เติมสารละลายแอสซิโตนความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ลงไปเล็กน้อย เพื่อใช้เป็นตัวสกัดคลอโรฟิลล์ออกจากตัวอย่าง นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยสารละลายแอสซิโตนให้ครบ 15 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer รุ่น Spectro 23 โดยใช้สารละลายแอสซิโตนความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ เป็น blank บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ได้แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ตามสูตร (ปริมาณคลอโรฟิลล์ที่คำนวณได้มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด)

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ} = \frac{[12.7 (OD_{663}) - 2.69 (OD_{645})] \times V}{1000 \times W}$$

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี} = \frac{[22.9 (OD_{645}) - 4.68 (OD_{663})] \times V}{1000 \times W}$$

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด} = \frac{[20.2 (OD_{645}) + 8.02 (OD_{663})] \times V}{1000 \times W}$$

โดยที่ V คือ ปริมาตรสุดท้ายของสารละลายที่นำมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์

W คือ น้ำหนักของตัวอย่างที่นำมาสกัดคลอโรฟิลล์

OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากเครื่อง Spectrophotometer ตามความยาวคลื่นที่กำหนด

(2) ปริมาณวิตามินซี

วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในบรอกโคลีด้วยวิธี 2,6-Dichlorophenol-Indophenol Visual Titration (Ranganna, 1986) โดยนำบรอกโคลีที่ปั่นจนกระทั่งละเอียดมา 10 กรัม แล้วเติมกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ปิเปตต์สารละลายที่กรองได้มา 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรตกับ 2,6-ไดคลอโรโรฟีนอล อินโดฟีนอลความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ จนถึงจุดยุติ ซึ่งสารละลายมีสีชมพูประมาณ 15 วินาที แล้วคำนวณหาปริมาณวิตามินซี โดยใช้ปริมาณ 2,6-ไดคลอโรโรฟีนอล อินโดฟีนอลที่ใช้กับสารตัวอย่างเทียบกับ 2,6-ไดคลอโรโรฟีนอล อินโดฟีนอลที่ใช้กับวิตามินซีมาตรฐาน มีหน่วยเป็นมิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด โดยคำนวณตามสูตรดังนี้

ปริมาณ indophenol dye a มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ 1 มิลลิกรัม
(จาก Standard)

ปริมาณ indophenol dye b มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ $(1 \times b) / a$ มิลลิกรัม
(จากสารละลายตัวอย่าง) เท่ากับ c มิลลิกรัม

สารละลาย 10 มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ c มิลลิกรัม

สารละลาย 100 มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ $(c \times 100) / 10$ มิลลิกรัม
เท่ากับ d มิลลิกรัม

เนื้อตัวอย่าง 10 กรัม มี ascorbic acid เท่ากับ d มิลลิกรัม

เนื้อตัวอย่าง 100 กรัม มี ascorbic acid เท่ากับ $(d \times 100) / 10$ มิลลิกรัม
เท่ากับ e มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักสด

2.1.2 การประเมินคุณภาพทางกายภาพ

(1) การสูญเสียน้ำหนักสด

วัดโดยใช้เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น EK-600H (บริษัท Sartorius) แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก จากสูตร

เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก = $\frac{[\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักหลังเก็บรักษา}]}{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา}} \times 100$

(2) วัดค่าการเปลี่ยนแปลงสี

วัดโดยใช้เครื่อง Chroma meter รุ่น CR-300 โดยวัดบริเวณกึ่งกลางของหัวบรอกโคลี ค่าที่ได้แสดงเป็นค่า L^* , a^* , b^* แล้วนำมาคำนวณค่า Chroma และ Hue angle จากสมการดังนี้ (McGuire, 1992)

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

$$\text{Hue angle} = \arctangent (b^*/a^*)$$

(3) อายุการวางจำหน่าย

กำหนดให้บรอกโคลีหมดอายุการเก็บรักษาเมื่อดอกเปลี่ยนเป็นสีเหลืองมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

(4) ลักษณะปรากฏภายนอกและการเกิดโรค

โดยแบ่งบรอกโคลีออกเป็น 10 ซ้ำ ตรวจสอบอาการที่พบจากภายนอก เช่น การเหี่ยว การบานของดอก และการเปลี่ยนแปลงสีของดอกบรอกโคลีโดยใช้สายตา

2.2 คุณภาพและอายุการเก็บรักษาของบรอกโคลีที่ผ่านการลดอุณหภูมิเฉียบพลันโดยใช้ระบบสุญญากาศที่เก็บรักษาบนชั้นวางจำหน่าย

นำบรอกโคลีที่ผ่านการลดอุณหภูมิจากการทดลองที่ 1 มาเก็บรักษาบนชั้นวางจำหน่าย อุณหภูมิ 8 ± 2 องศาเซลเซียส โดยจำลองการวางขายในโรงคัดบรรจุคอกยคำ มุสนธิโครงการหลวง เชียงใหม่ แล้วทำการประเมินคุณภาพทุกวันเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1

2.3 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จำนวน 3 ซ้ำ จากนั้นนำผลการวิเคราะห์ทางกายภาพ และทางเคมี ในระหว่างการเก็บรักษามาหาค่าเฉลี่ยและทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน เมื่อพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ได้ทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference (LSD)