

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์การทดลอง

1. กล้องจุลทรรศน์รุ่น CX31RBSF ของบริษัท OLYMPUS
2. เครื่องชั่ง digital (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) รุ่น AB204-S ของบริษัท Mettler-Toledo (thailand) Ltd.
3. เครื่องชั่ง digital (ทศนิยม 2 ตำแหน่ง) รุ่น PB1502-S ของบริษัท Mettler-Toledo (thailand) Ltd.
4. เครื่องไทเทรตชนิดอัตโนมัติ รุ่น TZ 3680 ของบริษัท SCHOTT
5. เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (Texture Analyser) รุ่น TA-XTZi ของบริษัท Stable Micro Systems
6. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Digital Hand Refractometer) รุ่น PAL-1 ของบริษัท ATAGO CO.,LTD.
7. เครื่องวัดสี (Colorimeter) รุ่น ColorQuest XE ของบริษัท COLOR ASSOCIATES CO., LTD.
8. เครื่องวัด pH (pH meter) รุ่น PP-20E ของบริษัท SCIENTIFIC PROMOTION CO., LTD.
9. ตู้เป่าเชื้อ (Laminar Air Flow) รุ่น HF safe 900/C+ ของบริษัท SCIENTIFIC PROMOTION CO., LTD.
10. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) รุ่น MIR-553 ของบริษัท SANYO Electric Biomedical CO., LTD.
11. ตู้อบอุณหภูมิสูง (Hot Air Oven) รุ่น UM500 ของบริษัท MEMMERT
12. หม้อนึ่งความดันไอ (Speey Autoclave: Vertical Type) รุ่น HL-341 ของบริษัท GEMMY INDUSTRIAL CORP.
13. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
14. ตะเกียงแอลกอฮอล์
15. มีดผ่าตัด
16. เข็มเป่าเชื้อ
17. เข็มหมุดปลูกเชื้อ (inoculator) เบอร์ 4
18. เครื่องแก้ว
19. cork borer
20. Haemocytometer ของบริษัท Clay-Adams
21. Micro pipette รุ่น T52647L ของบริษัท GILSON S.A.S.

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. โซเดียมอะซิเตทไตรไฮเดรต ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) ของบริษัท Merck
2. โปแตสเซียมอะซิเตท (CH_3COOK) ของบริษัท APS
3. แอมโมเนียมอะซิเตท ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) ของบริษัท Fisher Scientific
4. สารละลายกรดอะซิติก (CH_3COOH) ของบริษัท Merck
5. สารละลายกรดเปอร์อะซิติก (CH_3COOOH) ของบริษัท Ecolab
6. กลูโคส ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) ของบริษัท Fisher Scientific
7. ซูโครส ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$) ของบริษัท APS Finechem
8. เป็ปโตน (Peptone, Bacteriological) ของบริษัท HIMEDIA
9. แป้งมอล (Malt Extract power) ของบริษัท HIMEDIA
10. แป้งยีสต์ (Yeast Extract power) ของบริษัท HIMEDIA
11. แมกนีเซียมซัลเฟต (MgSO_4) ของบริษัท Fisher Chemicals
12. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ของบริษัท APS Finechem
13. โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaClO_2) ของห้างหุ้นส่วนจำกัด นอร์ทเทอร์เคมีเคิล แอนด์ กลาสแวร์
14. สารเคลือบผิวทางการค้า (Carnauba) ของบริษัท Chitosal
15. สารเคลือบผิว Sta-fresh 310 ของบริษัท ลานนาฟู้ดส์ แอนด์ ซัพพลายส์ จำกัด
16. แอลกอฮอล์ ของบริษัท Merck

วัสดุพันธุ์พืชที่นำมาใช้ในการทดลอง

ส้มสายน้ำผึ้ง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 - 6 เซนติเมตร น้ำหนัก 90 - 120 กรัม จากสวนส้ม
ธนาธร อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ ในช่วงเดือนมกราคม-พฤษภาคม 2549

สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา สถานีวิจัยการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง

พฤศจิกายน พ.ศ. 2548 ถึง กรกฎาคม พ.ศ. 2549

วิธีการดำเนินการวิจัย

การทดลองแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 การศึกษาประสิทธิภาพของกรดอะซิติก กรดเปอร์อะซิติก และเกลืออะซิเตตต่อการยับยั้งเชื้อโรคราเขียว การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการใช้สารที่คัดเลือกร่วมกับสารเคลือบผิว Sta-fresh 310 ในการควบคุมโรคเน่าราเขียวของส้มสายน้ำผึ้ง

การทดลองที่ 1 การศึกษาประสิทธิภาพของกรดอะซิติก กรดเปอร์อะซิติก และเกลืออะซิเตตต่อการยับยั้งเชื้อโรคราเขียว

1.1 การแยกเชื้อสาเหตุโรคราเขียว

แยกเชื้อราสาเหตุโรคจากผลส้มที่เป็นโรคราเขียว โดยใช้เข็มเย็บเชื้อและเส้นใยของเชื้อรา มาเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ด้วยวิธี Streak plate บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 2 องศาเซลเซียส) จนกระทั่งเชื้อเจริญจึงทำการคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวของเชื้อราเพื่อเก็บเป็น stock culture สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป หลังจากนั้นทำการศึกษาลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยนำเชื้อราที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร Malt Extract Agar (MEA) และ Czapek Yeast Extract Agar (CYA) พร้อมทั้งทดสอบการทำให้เกิดโรคราเขียวบนผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง โดยเตรียม spore suspension ความเข้มข้น 10^6 spore/ml ของเชื้อราอายุ 5 วัน นำมาปลูกลงบนผลส้มที่ผ่านการทำความสะอาดผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70% วิธีการปลูกเชื้อทำได้โดยใช้ inoculator เข็มหมุด จุ่มสารละลายสปอร์แล้วแทงผลส้มให้ลึกประมาณ 2 - 3 มิลลิเมตร หลังจากนั้นเก็บผลส้มไว้ในสภาพที่มีความชื้นสูงที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลการแสดงอาการของโรคราเขียว และศึกษาลักษณะเส้นใยของเชื้อราที่แยกได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

1.2 ผลของสารปลดปล่อยที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการควบคุมเชื้อราเขียวในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ทำการเพาะเชื้อ *Penicillium digitatum* บนอาหาร Malt Extract Agar (MEA) จนกระทั่งมีอายุ 5 วัน หลังจากนั้นนำไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะขอบโคโลนีเชื้อรานำไปวางบนอาหาร MEA ที่ผสมกรดอะซิติก กรดเปอร์อะซิติก เกลือโซเดียมอะซิเตต เกลือโปแตสเซียมอะซิเตต หรือเกลือแอมโมเนียมอะซิเตต ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1, 3, 5, 7, 9% ตามลำดับ ชุดที่ไม่ผสมสารในอาหารเป็นชุดควบคุม โดยแต่ละชุดมี 5 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 2 องศาเซลเซียส) จนกระทั่ง

เชื้อเจริญ บนที่การเจริญของเชื้อโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 5 วัน คัดเลือกสารที่สามารถยับยั้งการเจริญบนอาหารเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

1.3 ผลของสารที่คัดเลือกต่อการเกิดโรคราเขียวบนผลส้มสายน้ำผึ้ง

1.3.1 การทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการควบคุมโรคราเขียวบนผลส้มสายน้ำผึ้ง

นำผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งมาปลูกเชื้อราเขียวโดยใช้เข็มเย็บเชื้อจุ่มสารละลายสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* sp. ความเข้มข้น 10^6 spore/ml ทางผลส้มถึงประมาณ 2 - 3 มิลลิเมตร นำไปบ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง (25 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคด้วยสารแต่ละชนิดซึ่งได้จากการคัดเลือกในการทดลองที่ 1.2 คือ กรดอะซิติก กรดเปอร์อะซิติก กลีโกลิซอแลน กรดอะซิติก กลีโกลิซอแลน กรดอะซิติก และกลีโกลิซอแลน กรดอะซิติก โดยกรดอะซิติกทดสอบที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5% (v/v) ตามลำดับ กรดเปอร์อะซิติกทดสอบที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 1, 3 และ 5% (v/v) ตามลำดับ ส่วนกลีโกลิซอแลนทดสอบที่ความเข้มข้น 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 และ 15% (w/v) ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดจุ่มลงในน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม แต่ละชุดมี 5 ซ้ำ ดำเนินการทดลองโดยจุ่มผลส้มลงในสารละลายเป็นเวลา 5 นาที แล้วผึ่งให้แห้งในสภาพปลอดเชื้อก่อนนำไปบ่มในสภาพความชื้นสูงที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน บันทึกผลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลบนผลส้มของแต่ละกรรมวิธี (เซนติเมตร)

คัดเลือกความเข้มข้นต่ำสุดของแต่ละสารที่ทำให้เชื้อไม่สามารถเจริญบนผลส้มเพื่อใช้ศึกษาต่อในการทดลองต่อไป

1.3.2 การทดสอบเวลาที่เหมาะสมในการจุ่มต่อการควบคุมโรคราเขียวบนผลส้มสายน้ำผึ้ง

นำผลจากการทดลองที่ 1.3.1 คือ การจุ่มผลส้มสายน้ำผึ้งในกรดอะซิติกความเข้มข้น 4% (v/v) และการจุ่มในกรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 0.3% (v/v) มาศึกษาต่อโดยผันแปรระยะเวลาในการจุ่มเพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการควบคุมโรค โดยดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.3.1 แต่เปลี่ยนเวลาในการจุ่มเป็น 1, 3 และ 5 นาที ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดจุ่มลงในน้ำกลั่นเป็นเวลา 5 นาที เป็นชุดควบคุม บันทึกผลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลบนผลส้มของแต่ละกรรมวิธี (เซนติเมตร)

คัดเลือกเวลาในการจุ่มน้อยที่สุดของแต่ละสารที่ทำให้เชื้อไม่สามารถเจริญบนผลส้มเพื่อใช้ศึกษาต่อในการทดลองต่อไป

1.3.3 การทดสอบผลของสารปลดปล่อยต่อคุณภาพของผลส้มสายน้ำผึ้ง

นำผลการทดลองที่ 1.3.2 คือ การจุ่มกรดอะซิติกความเข้มข้น 4% (v/v) เป็นเวลา 5 นาที และการจุ่มกรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 0.3% (v/v) เป็นเวลา 3 นาที มาศึกษาคุณภาพทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีบางอย่างของส้มสายน้ำผึ้ง โดยเทียบกับชุดที่จุ่มในน้ำกลั่นเป็นเวลา 5 นาที ดังนี้

- ค่าสีผิวเปลือกส้ม ด้วยเครื่องวัดสี (Colorimeter) ค่าที่ได้จากการวัดแสดงเป็นค่า L^* , a^* และ b^*

โดยค่า L^* = The lightness factor (value)

a^* , b^* = The chromaticity coordinates (hue)

เมื่อ L^* มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึง วัตถุมีสีคล้ำ หากเข้าใกล้ 100 หมายถึง วัตถุมีสีสว่าง

a^* มีค่าเป็นบวก หมายถึง วัตถุมีสีแดง หากเป็นลบ หมายถึง วัตถุมีสีเขียว

b^* มีค่าเป็นบวก หมายถึง วัตถุมีสีเหลือง หากเป็นลบ หมายถึง วัตถุมีสีน้ำเงิน

ทั้ง a^* และ b^* มีค่าอยู่ในช่วง -60 ถึง +60 หากมีค่าเป็น 0 หมายถึง วัตถุมีสีเทา

- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้น้ำ (Total Soluble Solids: TSS) โดยใช้เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Digital Hand Refractometer) วัดค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งที่ละลายน้ำได้ของน้ำคั้นส้มสายน้ำผึ้ง

- ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (Titratable Acidity; TA) นำน้ำคั้นของผลส้มปริมาตร 5 มิลลิลิตร ไทเทรตกับสารละลายต่างมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1N และวัด pH ขณะทำการไทเทรตจนกระทั่งถึงจุดยุติ (end point) ที่ค่า pH 8.2 บันทึกปริมาตรของสารละลายต่างมาตรฐานที่ใช้เพื่อคำนวณหาปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ตามสูตร

$$\%TA = \frac{\text{ความเข้มข้นของ NaOH} \times \text{ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ (ml)} \times 0.064^* \times 100}{\text{ปริมาณน้ำคั้นของผลส้ม}}$$

ปริมาณน้ำคั้นของผลส้ม

* milliequivalent of citric acid (anhydrous) = 0.064

- อัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้น้ำกับปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TSS/TA)

คัดเลือกสารที่ไม่ทำให้คุณภาพทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของส้มสายน้ำผึ้งเปลี่ยนแปลงเพื่อใช้ศึกษาในการทดลองต่อไป

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการใช้สารที่คัดเลือกร่วมกับสารเคลือบผิวในการควบคุมโรคเน่าราเขียวของส้มสายน้ำผึ้ง

นำผลจากการทดลองที่ 1.3.3 คือ การจุ่มกรดอะซิติกความเข้มข้น 4% (v/v) เป็นเวลา 5 นาที และการจุ่มกรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 0.3% (v/v) เป็นเวลา 3 นาที มาศึกษาการใช้ร่วมกับ สารเคลือบผิว (ในการทดลองได้เลือกใช้ Sta-fresh 310 ซึ่งเป็นสารเคลือบผิวชนิดที่ไม่มีส่วนผสมของสารกำจัดเชื้อรา เปรียบเทียบกับสารเคลือบผิวที่ใช้ในทางการค้า Carnauba) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ตอน คือ

2.1 ความสามารถในการรวมตัวกับสารเคลือบผิว

ผสมสารที่คัดเลือกกับสารเคลือบผิว Sta-fresh 310 ในหลอดทดลองบันทึกผลการรวมเป็นเนื้อเดียวกัน

2.2 การใช้ร่วมกับสารเคลือบผิว

นำผลส้มสายน้ำผึ้งมาผ่านการควบคุมโรคโดยการใช้สารที่คัดเลือกจากการทดลองที่ 1.3.3 ร่วมกับการใช้สารเคลือบผิว Sta-fresh 310 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) รวมทั้งหมด 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (จุ่มน้ำกลั่น 5 นาที)

กรรมวิธีที่ 2 จุ่ม 4% กรดอะซิติกเป็นเวลา 5 นาที

กรรมวิธีที่ 3 จุ่ม 0.3% กรดเปอร์อะซิติกเป็นเวลา 3 นาที

กรรมวิธีที่ 4 จุ่ม 4% กรดอะซิติกเป็นเวลา 5 นาที และเคลือบผิวด้วย Sta-fresh 310

กรรมวิธีที่ 5 จุ่ม 0.3% กรดเปอร์อะซิติกเป็นเวลา 3 นาที และเคลือบผิวด้วย Sta-fresh 310

กรรมวิธีที่ 6 ชุดควบคุม (เคลือบผิวด้วย Sta-fresh 310)

กรรมวิธีที่ 7 ชุดควบคุม (เคลือบผิวด้วย Carnauba)

2.2.1 การควบคุมโรคในแต่ละกรรมวิธี นำผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งมาปลูกเชื้อราเขียวโดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อจุ่มสารละลายสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium digitatum*. ความเข้มข้น 10^6 spore/ml ทางผลส้มลูกประมาณ 2 - 3 มิลลิเมตร นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคในแต่ละกรรมวิธี แล้วหึ่งให้แห้งในสภาพปลอดเชื้อก่อนนำไปบ่มในสภาพความชื้นสูงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา

5 วัน บันทึกผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 4 วัน

2.2.2 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของส้มสายน้ำผึ้ง โดยนำผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งมาผ่านการควบคุมโรคในแต่ละกรรมวิธี หลังจากนั้นนำไปเก็บไว้ในสภาพความชื้นสูงที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) ทำการวัดคุณภาพของส้มสายน้ำผึ้งทุกๆ 5 วัน โดยเริ่มตั้งแต่วันที่ทำการทดลองจนถึงวันที่ 25 ของการทดลอง แต่ละกรรมวิธีใช้ตัวอย่าง ผลส้ม 5 ผล ต่อการวัดแต่ละครั้ง ตรวจสอบผลการทดลองดังนี้

1. เพอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก โดยชั่งน้ำหนักผลส้มด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้า (digital balance) ทศนิยม 2 ตำแหน่ง นำมาคิดค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากสูตร

$$\% \text{ การสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักหลังการเก็บรักษา}}{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา}} \times 100$$

2. ความแน่นเนื้อ โดยใช้เครื่อง Texture analyzer (TA- XT2I) ตามวิธีการของอัฐพล (2548) โดยใช้หัวกด (Probe) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตร P100 (100 mm COMPRESSION PLATEN) ตั้งห่างจากตัวอย่างที่ 15 มิลลิเมตร ความเร็วของหัวกดขณะทำการทดสอบ 1.0 มิลลิเมตรต่อวินาที และกำหนดแรงในการกดตัวอย่างที่ 8 นิวตัน เพื่อหาระยะการยุบตัวของตัวอย่าง

3. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ใช้วิธีการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.3.3

4. ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA) ใช้วิธีการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.3.3

5. อัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้กับปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TSS/TA)

6. ความเข้มข้นของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ภายในผล ด้วย Gas Chromatography ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น GC-9A โดยมีรายละเอียดดังนี้

- Detector : thermal conductivity Detector (TCD)

- Column : porapak R

- Carrier gas : helium (flow rate 50 ml/min)

- Oven temperature : 50 °C

- Injection temperature : 80 °C

- Detector temperature : 100 °C

7. ความเข้มข้นของแก๊สเอทานอลในน้ำส้มด้วยเครื่อง Gas Chromatography ยี่ห้อ Varian รุ่น Star 3400 CX โดยมีรายละเอียดดังนี้

- Detector :Flame Ionization Detector (FID)
- Column : crossbond^R phenylmethyl polysiloxane 30 m x 0.53 mm x 2 μ m
- Carrier gas : nitrogen (flow rate 12 ml/min)
- Oven temperature : 65 °C
- Injection temperature : 210 °C
- Detector temperature : 220 °C

8. การยอมรับของผู้บริโภคโดยวิธีการให้คะแนนความชอบ 9 คะแนน (อนุชา, 2547) ใช้ผู้ทดสอบทั่วไปที่เคยรับประทานส้มสายน้ำผึ้งจำนวน 10 คน ให้คะแนนความชอบด้านกลิ่นรส (flavor acceptability rating) คะแนนความชอบลักษณะโดยรวมทั้งสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส (overall acceptability ratings) โดยให้คะแนน 1 = ไม่ชอบมากที่สุด 5 = เฉยๆ และ 9 = ชอบมากที่สุด จากนั้นให้ผู้บริโภคประเมินความเข้มของกลิ่นรสหมัก (fermented flavor intensity) โดยให้คะแนน 9 ระดับคะแนน 1 = มีความเข้มข้นน้อยมาก 5 = มีความเข้มข้นปานกลาง และ 9 = มีความเข้มข้นมากที่สุด

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SX8 และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างปัจจัยด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) พร้อมทั้งทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วย Least Significant Difference (LSD) โดยทดสอบระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซนต์ ($P < 0.05$)