บทที่ 3

วิธีทดลอง

วัตถุดิบ

หอยเป๋าฮื้อ

หอยเป๋าฮื้อที่ใช้ในการทดลองเป็นพันธุ์ *Haliotis asinina* Linnaeus มีน้ำหนักตัวประมาณ 25 – 30 กรัม จากฟาร์มเป๋าฮื้ออันดามัน จังหวัดตรัง

แป้งดัดแปร

Resistamyl® 347 (Berli Jucker Specialties Ltd., Thailand) แป้งดัดแปรด้วยปฏิกิริยาเชื่อมขวางชนิดไดสตาร์ชอะดิเพท (distarch adipate) จากแป้งข้าวโพดข้าวเหนียว

National® Frigex (National Starch and Chemical Ltd., Thailand) แป้งดัดแปรด้วยปฏิกิริยาเชื่อมขวางชนิดไฮดรอกซีโพรพิวไดสตาร์ชฟอสเฟต (hydroxypropyl distarch phosphate) จากแป้งมันสำปะหลัง

Farinex® VA40 (Winner Group Enterprise Ltd., Thailand) แป้งดัดแปรด้วยปฏิกิริยาเชื่อมขวางชนิดไฮดรอกซีโพรพิวไดสตาร์ชฟอสเฟต (hydroxypropyl distarch phosphate)จากแป้งมันฝรั่ง

ภาชนะบรรจุ

รีทอร์ตเพาช์ (บริษัท ฟิล์มมาสเตอร์ จำกัด) ประกอบด้วยวัสดุเชื่อมประสานกัน 4 ชั้น คือ polyester (PET) 12 ไมครอน / nylon (ON) 15 ไมครอน/ aluminum foil (Al – foil) 7 ไมครอน/ cast polypropylene (CPP) 70 ไมครอน ขนาด 13 เซนติเมตร x 17 เซนติเมตร มีค่า water vapor permeability = 1.64 g/m^2/day @ 37.8°C, 90%RH N_2, ค่า heat seal strength = 5.076 – 5.803 kgf @ 170°C, 1 kgf, 1 sec และ leakage value มากกว่า 600 mbar

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

การเตรียมวัตถุดิบ

หอยเป๋าฮื้อที่ใช้ในการทดลองเป็นพันธุ์ *Haliotis asinina* Linnaeus มีน้ำหนักตัวประมาณ 25 – 30 กรัม/ตัว จากฟาร์มเป๋าฮื้ออันดามัน จังหวัดตรัง ขนส่งมาถึงห้องปฏิบัติการแปรรูปอาหาร ภายใน 7 – 10 ชั่วโมง หลังจับ โดยมีขั้นตอนการเตรียมหอยเป๋าฮื้อดังรูปที่ 3.1

หอยเป๋าฮื้อ (ยังมีชีวิต)

↓

บรรจุในถุงพลาสติกถุงละ 1 กิโลกรัม และใส่น้ำทะเลประมาณ 1 ใน 4 ของถุง

↓

อัดก๊าซออกซิเจน และมัดปากถุงให้แน่น

↓

ใส่ในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็งแห้ง อุณหภูมิภายในกล่องโฟมประมาณ 23 – 28°C

↓

ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการแปรรูปอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

↓

นำหอยเป๋าฮื้อมาแช่แข็งทั้งเปลือกด้วยเครื่อง Liquid nitrogen freezer ที่อุณหภูมิ –80°C

↓

บรรจุในถุงพลาสติกแล้วปิดผนึกภาวะสุญญากาศ

↓

เก็บรักษาในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ –18°C ไม่เกิน 3 เดือนก่อนนำไปใช้

รูปที่ 3.1 การเตรียมหอยเป๋าฮื้อ

นำหอยเป๋าฮื้อที่แช่แข็งไว้มาแช่น้ำที่อุณหภูมิห้องเพื่อละลายน้ำแข็ง ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา แกะเปลือกและเครื่องในออก ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปาอีกครั้ง นำเนื้อหอยเป๋าฮื้อไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.1 คุณภาพของหอยเป๋าฮื้อ

3.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของหอยเป๋าฮื้อ

นำเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ล้างทำความสะอาดแล้วมาสับให้ละเอียด วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรต (A.O.A.C., 1995) วิเคราะห์ 6 ซ้ำโดยวิธีวิเคราะห์แสดงไว้ในภาคผนวก ก.1 – ก.4

3.1.2 สมบัติด้านเนื้อสัมผัสของหอยเป๋าฮื้อ

นำเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ล้างทำความสะอาดแล้วทั้งตัวมาวัดสมบัติด้านเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Instron Texture Analyzer (5565, Instron, USA) ใช้หัววัดแบบใบมีดตัด (Warner – Bratzler Meat Shear Blade) อัตราเร็วของใบมีดคงที่ 2.0 มิลลิเมตร/วินาที วิเคราะห์ 10 ซ้ำ รายงานเป็นค่าแรงต้านทานการตัดขาด (cutting force) (ศิรินทรา บุญสำเร็จ, 2544)

3.1.3 ความสดของหอยเป๋าฮื้อ

3.1.3.1 ปริมาณ Trimethylamine (TMA)

ตามวิธี Conway (Hasegawa, 1987) วิเคราะห์ 6 ซ้ำ โดยวิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก.5

3.1.3.2 ปริมาณ Total Volatile Base (TVB)

ตามวิธี Conway (Hasegawa, 1987) วิเคราะห์ 6 ซ้ำ โดยวิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก.5

3.1.3.3 ปริมาณสารประกอบนิวคลีโอไทด์และสารอนุพันธ์

วิเคราะห์ปริมาณ ATP และสารอนุพันธ์ ดังนี้ adenosine 5'– triphosphate (ATP), adenosine 5'– diphosphate (ADP), adenosine 5'– monophosphate (AMP), inosine 5'– monophosphate (IMP), adenosine (AdR), inosine (HxR) และ hypoxanthine (Hx) ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) จากการเตรียมสารสกัดจากเนื้อหอยเป๋าฮื้อ (Hatae *et al.*, 1995) โดยใช้คอลัมน์ Pursuit C8 ขนาด 4.6 x 150 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาค 3 ไมครอน เครื่องตรวจวัด (2487 Dual λ Absorbance Detector, Waters) ใช้สารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ เป็นสารละลายเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตร/นาที วิเคราะห์ 6 ซ้ำ โดยวิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก.6 และคำนวณดัชนีบอกความสดของสัตว์น้ำ คือ ค่า K และ ค่า K' ตามสมการที่ 3.1 และ 3.2 ตามลำดับ (Chiou *et al.*, 2002)

$$K - value\ (\%) = \frac{(HxR + Hx)}{(ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx)} \times 100 \quad (3.1)$$

$$K' - value\ (\%) = \frac{(IMP + HxR + Hx)}{(ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx)} \times 100 \quad (3.2)$$

3.2 ศึกษาสูตรที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ซุปหอยเป๋าฮื้อ

เตรียมซุปโดยใช้สูตรเริ่มต้น 4 สูตร ได้แก่ สูตรซุปเสฉวน (บริษัท ป๊อป เนทเวอร์ค จำกัด, 2547) สูตรซุปกระเพาะปลา (กรมการจัดหางาน, 2548) สูตรซุปกระเพาะปลา (ยิ่งศักดิ์ จงเลิศเจษฎาวงศ์, 2545) และสูตรซุปกระเพาะปลา (ดารามาศ แก้วแดง, 2547) โดยแสดงสูตรทั้ง 4 สูตร และวิธีเตรียมไว้ในภาคผนวก ง

ประเมินผลทางประสาทสัมผัสโดยใช้แบบทดสอบความชอบ (preference test) ให้คะแนนแบบ hedonic สเกล 9 ระดับ ในด้านสี (color) กลิ่น (odor) รสชาติ (taste) ความหนืด (viscosity) และความชอบโดยรวม (overall acceptance) โดยแสดงแบบทดสอบที่ใช้ในการประเมินไว้ในภาคผนวก จ.1 เพื่อเลือกสูตรซุปที่ผู้บริโภคพอใจมากที่สุดเป็นสูตรควบคุมในงานวิจัยขั้นต่อไป โดยใช้ผู้ทดสอบแบบไม่ฝึกฝน (untrained panelists) จำนวน 50 คน (Anna, 1998)

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1957)

3.3 สมบัติด้านความหนืดของแป้ง

3.3.1 สมบัติด้านความหนืดของเจลแป้งข้าวโพดและแป้งดัดแปรที่ใช้แทนที่แป้งข้าวโพด

แป้งข้าวโพดและแป้งดัดแปรด้วยปฏิกิริยาเชื่อมขวาง 3 ชนิด ได้แก่ Resistamyl® 347, National® Frigex และ Farinex® VA70 ที่นำมาใช้แทนที่แป้งข้าวโพดทั้งหมดในสูตร วิเคราะห์ความหนืดของเจลแป้งด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (4D, Newport Scientific Pty Ltd., Australia) เปรียบเทียบที่ความเข้มข้น 6% โดยน้ำหนักแห้งเท่ากันทุกตัวอย่าง (Newport Scientific, 1995) เพื่อศึกษา pasting properties และเสถียรภาพของเจลแป้งข้าวโพดและแป้งดัดแปรทั้ง 3 ชนิด วิเคราะห์ 2 ซ้ำ รายละเอียดวิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ข.1

3.3.2 ปริมาณแป้งดัดแปรที่เหมาะสมในการแทนที่แป้งข้าวโพด

เตรียมซุปตามสูตรควบคุมที่เลือกได้จากข้อ 3.2 โดยใช้แป้งดัดแปรด้วยปฏิกิริยาเชื่อมขวางทั้ง 3 ชนิดจากข้อ 3.3.1 มาแทนที่แป้งข้าวโพดทั้งหมดในสูตร และแปรปริมาณการแทนที่ของแป้งดัดแปรแต่ละชนิด เพื่อให้ได้ความหนืดของซุปใกล้เคียงกับซุปสูตรควบคุม

เลือกระดับการแทนที่ของแป้งดัดแปรแต่ละชนิดจากการศึกษาสมบัติด้านความหนืดของซุปที่เตรียมจากแป้งดัดแปรทั้ง 3 ชนิด เทียบกับซุปสูตรควบคุมที่เตรียมจากแป้งข้าวโพด ด้วยเครื่อง Bohlin Rheometer (C – VOR, Malvern Instruments Ltd., UK) ที่อุณหภูมิ 25°C ความหนืดของซุปที่วัดได้เป็นค่าความหนืดปรากฏที่อัตราเฉือน 100 s^{-1} ซึ่งเป็นตัวแทนอัตราเฉือนที่เกิดขึ้นในช่องปากของมนุษย์ (Shama, Parkinson, and Sherman, 1973) วิเคราะห์ 6 ซ้ำ รายละเอียดวิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ข.2

3.4 กระบวนการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ซุปหอยเป๋าฮื้อในรีทอร์ตเพาช์

3.4.1 การเตรียมเนื้อหอยเป๋าฮื้อลวก

ลวกเนื้อหอยเป๋าฮื้อเพื่อไล่อากาศออกจากช่องว่างในเนื้อเยื่อและลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน โดยนำเนื้อหอยเป๋าฮื้อทั้งตัวที่ล้างทำความสะอาดแล้วมาลวกในน้ำเดือด 5 วินาที จุ่มในน้ำประปาเพื่อหยุดการลวก หั่นเนื้อหอยเป๋าฮื้อเป็น 2 ส่วนเท่ากันตามความยาวลำตัว

3.4.2 เวลาในการฆ่าเชื้อซุปหอยเป๋าฮื้อในรีทอร์ตเพาช์

เตรียมซุปตามสูตรควบคุมที่เลือกได้จากข้อ 3.2 โดยแทนที่แป้งข้าวโพดทั้งหมดในสูตรด้วยแป้งดัดแปรแต่ละชนิดตามปริมาณการแทนที่จากข้อ 3.3.2 น้ำหนักบรรจุ 150 กรัม อัตราส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อลวก:ซุป เป็น 1:2 โดยน้ำหนัก บรรจุซุปหอยเป๋าฮื้อลงในรีทอร์ตเพาช์ขณะร้อน ปิดผนึกซองด้วยเครื่อง heat sealer (RPBS 2/P, Rich Engineering Co., Ltd., Thailand) นำเข้าเครื่องฆ่าเชื้อ (RCS – 60SPXTG, Hisaka Works Ltd., Japan) ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 121°C ความดัน 0.2 MPa บันทึกอุณหภูมิตลอดกระบวนการฆ่าเชื้อ นำข้อมูลอุณหภูมิกับเวลามาสร้างกราฟการแทรกผ่านความร้อน เพื่อคำนวณหาเวลาที่ต้องการในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ซุปหอยเป๋าฮื้อให้ได้ค่า F_o ตามต้องการ โดย FAO กำหนดให้ผลิตภัณฑ์หอยเป๋าฮื้อกระป๋องฆ่าเชื้อให้ได้ค่า $F_o \geq 2.8$ นาที (FAO, 2005) แต่ผลิตภัณฑ์ซุปข้นที่ผลิตในทางการค้าใช้ค่า $F_o = 4–5$ นาที (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก ,2532 อ้างถึงใน เนื้อน้อง บำราบพาล, 2543) ดังนั้นในงานวิจัยนี้ใช้ค่า $F_o = 4$ นาที เป็นเกณฑ์ในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ซุปหอยเป๋าฮื้อ

3.4.3 แป้งดัดแปรที่เหมาะสมกับกระบวนการฆ่าเชื้อ

ซุปหอยเป๋าฮื้อที่เตรียมจากแป้งดัดแปรทั้ง 3 ชนิดหลังผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อแล้วจากข้อ 3.4.2 นำมาเลือกสูตรที่เหมาะสมเพื่อใช้ในงานวิจัยขั้นต่อไป จากการประเมินผลทางประสาทสัมผัสโดยใช้แบบทดสอบความชอบให้คะแนนแบบ hedonic สเกล 9 ระดับ ในด้านลักษณะปรากฏ (appearance) ความหนืด (viscosity) ความรู้สึกขณะอยู่ในปาก (mouthfeel) และความชอบโดยรวม (overall acceptance) และใช้แบบทดสอบแบบ Quantitative Descriptive Analysis with scoring (QDA) สเกล 8 ระดับ ในด้านลักษณะปรากฏ ความหนืด และความรู้สึกขณะอยู่ในปาก แบบทดสอบที่ใช้ในการประเมินแสดงไว้ในภาคผนวก จ.2 เลือกสูตรที่ผู้บริโภคพอใจมากที่สุด โดยใช้ผู้ทดสอบแบบไม่ฝึกฝนจำนวน 50 คน (Anna, 1998)

วางแผนการทดลองแบบ RCBD วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1957)

3.4.4 เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและทางจุลชีววิทยาของซุปหอยเป๋าฮื้อก่อนและหลังผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อ

วิเคราะห์เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและทางจุลชีววิทยาของซุปหอยเป๋าฮื้อสูตรที่เลือกได้จากข้อ 3.4.3 ก่อนและหลังผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อ ดังนี้

3.4.4.1 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

3.4.4.1.1 ความหนืดของซุปหอยเป๋าฮื้อ

วัดสมบัติด้านความหนืดของซุปหอยเป๋าฮื้อด้วยเครื่อง Bohlin Rheometer (C – VOR, Malvern Instruments Ltd., UK) ความหนืดของซุปที่วัดได้เป็นค่าความหนืดปรากฏที่อัตราเฉือน 100 s^{-1} อุณหภูมิ 25°C รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข.2 วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ 6 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1957)

3.4.4.1.2 สีของเนื้อหอยเป๋าฮื้อและซุปหอยเป๋าฮื้อ

วัดสีตัวอย่างหอยเป๋าฮื้อและซุปหอยเป๋าฮื้อ โดยใช้ระบบ Hunter (L, a, b) ด้วยเครื่อง Minolta Chroma meter (CR 300 Series, Minolta, Tokyo, Japan) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ข.3 (Kusmider *et al.*, 2002) วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ 10 ซ้ำ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1957)

L คือ ค่าความสว่างของวัตถุที่มองเห็น มีค่าระหว่าง 0 – 100 ถ้าค่าเป็น 0 ให้สีดำ และถ้าค่าเป็น 100 ให้สีขาว

a คือ ค่าสีแดงหรือสีเขียวของวัตถุที่มองเห็น ถ้าค่าเป็นบวกให้สีแดง และถ้าค่าเป็นลบให้สีเขียว

b คือ ค่าสีเหลืองหรือสีน้ำเงินของวัตถุที่มองเห็น ถ้าค่าเป็นบวกให้สีเหลือง และถ้าค่าเป็นลบให้สีน้ำเงิน

3.4.4.1.3 เนื้อสัมผัสของเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

วัดสมบัติด้านเนื้อสัมผัสของเนื้อหอยเป๋าฮื้อด้วยเครื่อง Instron Texture Analyzer (5565, Instron, USA) ใช้หัววัดแบบใบมีดตัด (Warner – Bratzler Meat Shear Blade) อัตราเร็วของใบมีดคงที่ 2.0 มิลลิเมตร/วินาที รายงานเป็นค่าแรงต้านทานการตัดขาด (cutting force) ตามวิธีของศิรินทรา บุญสำเร็จ (2544) วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ 10 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1957)

3.4.4.2 การวิเคราะห์สมบัติทางจุลชีววิทยา

วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count), flat sour, *Thermophilic anaerobe* และ *Putrefactive anaerobe* ตามวิธีของ มอก.335 เล่ม 1 (2523) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค

3.5 ศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ซุปหอยเป๋าฮื้อในรีทอร์ตเพาช์

เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ซุปหอยเป๋าฮื้อในรีทอร์ตเพาช์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (เลือกได้จากข้อ 3.4.3) ที่อุณหภูมิเร่ง 55 และ 65°C และอุณหภูมิห้อง (25 – 28°C) และติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยที่อุณหภูมิเร่งและอุณหภูมิห้องตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงทุก 1 และ 2 สัปดาห์ ตามลำดับ

3.5.1 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ประเมินการยอมรับต่อผลิตภัณฑ์ (acceptance tests) ในด้านความหนืดและสีของซุปหอยเป๋าฮื้อ เนื้อสัมผัสและสีของเนื้อหอยเป๋าฮื้อ และกลิ่นโดยรวมของผลิตภัณฑ์ โดยใช้สเกลแบบ

hedonic 9 ระดับ ใช้ผู้ทดสอบแบบไม่ฝึกฝนจำนวน 15 คน (Chai, Baker and Hotchkiss, 1983; Mohan *et al.*, 2006) แบบทดสอบที่ใช้ในการประเมินแสดงในภาคผนวก จ.3 เพื่อทราบเวลาที่ผลิตภัณฑ์เกิดการเสื่อมเสียคุณภาพที่อุณหภูมิเร่งทั้ง 2 อุณหภูมิ แล้วใช้สมการเปรียบเทียบค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาเมื่ออุณหภูมิต่างกัน 10°C (Q_{10} equation) ทำนายอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้อง (25°C) (Labuza and Schmidl, 1985)

วางแผนการทดลองแบบ RCBD วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1957)

3.5.2 คุณภาพทางกายภาพ

ติดตามการเปลี่ยนแปลงความหนืดและสีของซุปหอยเป๋าฮื้อ เนื้อสัมผัสและสีของเนื้อหอยเป๋าฮื้อ เช่นเดียวกับข้อ 3.4.4.1

3.5.3 คุณภาพทางเคมี

ติดตามการเปลี่ยนแปลงสารให้กลิ่นในผลิตภัณฑ์ซุปหอยเป๋าฮื้อโดยวิธี solid phase microextraction – gas chromatography – mass spectrometry (SPME–GC–MS) โดยใช้ polydimethylsiloxane fiber (Supelco, USA) เครื่อง GC (6890N, Agilent Tecnologies, USA) ใช้คอลัมน์ชนิด silica capillary column HP – INNOWAX (ขนาด 30 m x 0.32 mm x 0.25 μm) โดยมี polyethylene glycol เป็น nonpolar stationary phase (19091N – 113, Agilent Tecnologies, USA) และเครื่อง MS (MSD 5973, Agilent Tecnologies, USA) วิเคราะห์ 2 ซ้ำ วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก.7

วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1957)