เอกสารอ้างอิง

1. Dairy Development Mission to Thailand. "New Zealand Government Bilateral Aid Project : A Plan For the Development of the Dairy Industry in Thailand." Wellington, New Zealand, 1980

2. Alfa Laval. Dairy Handbook Dairy and Food Engineering Devision P.O. Box 1008. S-221 03 Lund, Sweden.

3. Alm, L. "Effect of Fermentation on Lactose, Glucose and Galactose Content in Milk and Suitability of Milk Products for Lactose Intolerance Individual" J. Dairy Sci. 65(1982):346.

4. Breslaw, E.S. and Kleyn, D.H. "in Vitro Digestibility of Protein in Yogurt at Various Stages of Processing" J. Food Sci. 38(1973):1016.

5. คู่แข่ง "แฟชั่น fast food ผู่ฟ่า.....นักธุรกิจตื่นตัว" วารสารการตลาดและโฆษณา 19(3), (2525):29.

6. ธนาคารกรุงเทพ. "ฟาสฟูด ธุรกิจอาหารกินเร็วที่กำลังมาแรง" วารสารเศรษฐกิจ ธนาคารกรุงเทพ จำกัด (2526) : 478.

7. สม ร่มเย็น "ปีทองของฟาสฟูดไทย" เศรษฐกิจการเมือง (2526)

8. Alm, L. "Effect of Fermentation on Volatile Acids and Ethanol in Swedish Dairy Products" J. Dairy Sci. 65(1982):186

9. Deeth, H.C. and Tamime, A.Y. "Yogurt:Nutritive and Therapeutic Aspects" J. Food Protection 44(1981):78

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

10. Dennien, G. "Yogurt Manufacturer". Queensland Dairy Products Information Series ISSN 0725-0398, 1981.

11. Mital, B.K. and Steinkrous, K.H. "Flavor Acceptability of Unfermented and Lactic-Fermented Soy Milks" J. Milk Food Technol. 39(5), (1976):342.

12. Smith, A.K. Soybeans:Chemistry and Technology, in Proteins Vol. 1 2nd ed., The AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, 1978.

13. Broome, M.C., Willman, N., Roginski, H. and Hickey, M.W. "The Use of Cheese Whey Protein Concentrate in the Manufacture of Skim Milk Yogurt" Aust. J. Dairy Technol. 37(1982):139.

14. Ayebo, A.D., Shahani, K.M. and Dam, R. "Antitumor Component of Yogurt:Fractionation" J. Dairy Sci. 96(1981)2318.

15. เรณู ปิ่นทอง "การพัฒนาผลิตภัณฑ์โยเกิตจากถั่วเหลือง" อาหาร 12(3), (2523):23.

16. Kalab, M. and Emmons, D.B. "Milk Gel Structure:V. Microstructure of Yogurt as Related to the Heating of Milk" Milchwissenschaft 31(7), (1976):402.

17. Speck, M.L. and Geoffrion, J.W. "Lactase and Starter Culture Survival in Heated and Frozen Yogurts" J. Food Protection 43(1980):26.

18. Rašić, J., Stojsavljevic, T. and Curcic, R. "A study on the Amino Acids of Yogurt II Amino Acids Content and Biological Value of the Proteins of the Different Kinds of Yogurt" Milchwissenschaft 26(4),(1971):219.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

19. Kanda, H., Wang, H.L., Hesseltine, C.W. and Warner, K. "Yogurt Production by Lactobacillus Fermentation of Soybean Milk" Process Biochemistry 13(1976):23.

20. Queensland Department of Primary Industries. "Australian Development Assistance Course in Dairy Technology (Reference Papers " Australian Development Assistance Bureau, Department of Foreign Affairs, 1981.

21. Sacharow, S. and Griffin, R.C. Principles of Food Packaging 2nd ed., The AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, 1980.

22. Wang, H.L., Kraidej, L. and Hesseltine, C.W. "Lactic Acid Fermentation of Soybean Milk" J. Milk Food Technol. 37(2), (1974):71.

23. Rasic, J. and Kurmann, J.A. Yogurt, Scientific Grounds, Technology, Manufacture and Preparations Majoriteknisk Bogferlag, Technical Publishing House, Denmark, 1978.

24. เสถียร วิชัยลักษณ์ และสมวงศ์ วิชัยลักษณ์. "พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522". นิติเวชช์, 2523

25. Grigorov, H. Effect of Heat Treatment on Cow's Milk on the Hydrophillic Properties of the Protein in Bulgarian Yogurt XVII Intern. Dairy Congress, Section F, pp. 5,649,1966.

26. Davies, F.L., Shanker, P.A., Brooker, B.E. and Hobbs, D.G. "A Heat-Induced Change in the Ultrastructure of Milk and Its Effect on Gel Formation in Yogurt" J. Dairy Res. 45(1978):53.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

27. Smith, P. and Van Bronwershaven, J.H. "heated-Induced Association of β-Lactoglobulin and Casein Micelles" J. Dairy Res. 47(1980):313.

28. Alm, L. "Effect of Fermentation on Proteins of Swedish Fermented Milk Products" J. Dairy Sci. 65(1982):1696.

29. Alm, L. "Effect of Fermentation on Volatile Acids and Ethanol in Swedish Dairy Products" J. Dairy Sci. 65(1982):186.

30. Alm, L. "Effect of Fermentation on Milk Fat on Swedish Fermented Milk Products" J. Dairy Sci. 65(1982):521.

31. Alm, L. "Effect of Fermentation on L(+) and D(-) Lactic Acid in milk" J. Dairy Sci. 65(1982):515.

32. Alm, L. "Effect of Fermentation on B-Vitamin Content of Milk in Sweden" J. Dairy Sci. 65(1982):353.

33. Deeth, H.C. "The Effect of New Technology on the Nutritional Value of Dairy Products: Yogurt and Cultured Products" Aust. J. Dairy Technol. (1984).

34. Damaru, F. Therapeutic Uses of Yogurt (A Review of Mecial Literature) International Yogurt Foundation, Ltd., New York, 1954.

35. Mc Donough, F.E., Hitchens, A.D. and Wong, N.P. "Effect of Yogurt and Freeze-Dried Yogurt on Growth Stimulation of Rats" J. Food Sci. 47(1982):1463.

36. Indian Standard Institution. "Indian Standard:Methods of Test for Dairy Industry." Indian Standards Institution, New Delhi, 1962.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

37. West, L.G. and Llorente, M.A. "High Performance Liquid Chromatographic Determination of Lactose in Milk" J. Assoc. Off. Anal. Chem. 64(4),(1981):805.

38. จรัญ จันทลักขณา. สถิติวิเคราะห์และวางแผนวิจัย ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพมหานคร, 2523.

39. Cochran, W.G. and G.M. Cox. Experimental Designs John Wiley and Sons, New York, 1957.

40. Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. Principles and Procedures of Statistics McGraw Hill Book Company, New York, 1960.

41. Kalab, M. and Harwalker, V.R. "Milk Gel Structure II, Relation between Firmness and Ultrastructure of Heat-Induced Skim-Milk Gels Containing 40-60% Total Solids" J. Dairy Res. 41(1974):131.

42. Johnson, T.M. and Zabik, M.E. "Gelation Properties of Albumen Proteins, Singly and in Combination" Poultry Science 60(1981):2071.

43. เวคิน นพนิดย์. "ปฏิบัติการจุลทัศน์อิเลคตรอนแบบทรานมิชชั่น สำหรับนักวิทยาศาสตร์ชีวภาพ." พิมพ์ครั้งที่ 1, ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร, 2528

44. Morr, C.V. "Symposium: Milk Proteins in Dairy and Food Processing". J. Dairy Sci. 58:977-984, 1975.

45. Graham, H.D. The Safety of Foods 2nd ed. AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, p. 18, 1980.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก1

การเตรียม culture เพื่อใช้ inoculate

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเตรียม culture เพื่อใช้ inoculate (10)

วิธีการ

1. เทน้ำนมพร่องมันเนยที่มี total solid 12% ปริมาณ 150 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดฝาหลวม ๆ ให้ความร้อนแก่น้ำนมที่ 88-93 องศาเซลเซียส ใน autoclave หรือ hot water bath คงไว้ที่อุณหภูมินี้ 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นลงถึงอุณหภูมิ 42-43 องศาเซลเซียส
2. ใส่ freeze-dried culture ขวดละ 2 กรัม
3. บ่มที่อุณหภูมิ 42-43 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนมตกตะกอน (pH 4.2-4.4) แต่อย่าให้เกิด wheying off ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 3.5-4 ชั่วโมง
4. ทำให้เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4-5 องศาเซลเซียส โดยไม่ต้องกวน
5. เลือกขวดที่มีเนื้อแน่น (firm curd) ไม่มี wheying off มี flavor ดี และมีการผลิตกรดที่เหมาะสมมาใช้ในการเตรียม culture ในช่วงต่อไป
6. เทน้ำนม 1,000 มิลลิลิตรลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 1,500 มิลลิลิตร ปิดฝาหลวม ๆ ให้ความร้อนน้ำนมที่ 88-93 องศาเซลเซียส ใน autoclave หรือ hot water bath คงไว้ที่อุณหภูมินี้ 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นลงถึงอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส
7. Inoculate culture จากข้อ 5 ลงไป 20 มิลลิลิตร
8. บ่มที่อุณหภูมิ 42-43 องศาเซลเซียสจนได้ตะกอน แต่ยังไม่เกิด wheying off ซึ่งใช้เวลาประมาณ 3.5 ชั่วโมง
9. ทำให้เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4-5 องศาเซลเซียส โดยไม่ต้องกวน แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมินี้จนกว่าจะนำมาใช้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก2

วิธีวิเคราะห์และรูปเครื่องมือกับอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. การวัด pH

วิธีการ 1. นำน้ำนมหรือไยเกิดที่ต้องการวัด pH ใส่ในภาชนะที่เหมาะสม

2. วัด pH ของน้ำนมหรือไยเกิดด้วย pH meter ที่ปรับด้วย buffer solution แล้ว

2. การหา titratable acidityของตัวอย่างนมและไยเกิด (36)

เป็นการวัดปริมาณ alkali ซึ่งต้องใช้เปลี่ยน pH ของไยเกิดจากเริ่มต้น มาเป็น pH ที่มีการเปลี่ยนสีของฟีนอฟทาลีนที่เติมลงในน้ำนมหรือไยเกิด เพื่อดู end point (pH = 8.3)

การเตรียม reagent

Standard NaOH solution 0.1N

- ละลาย NaoH กับน้ำ ปริมาณเท่า ๆ กันในขวดรูปชมพู่ ปิดขวดรูปชมพู่ด้วยจุกยาง ทิ้งไว้ให้ Na_2CO_3 ที่ไม่ละลายตกตะกอนลงเป็นเวลา 3-4 วัน
- ใช้สารละลายส่วนใสเตรียม Standard NaOH 0.1 N โดยใช้ stock solution ประมาณ 8 มิลลิลิตรต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร
- ไตเตรทกับ Standard KHP (Potassium Hydrogen Phthalate) เพื่อหาความเข้มข้นที่แน่นอน

Phenolphthalein indicator

- ละลาย phenolphthalein 1 กรัมลงใน 95% ethyl alcohol 100 มิลลิลิตร เติม 0.1N NaOH ทีละหยดจนหยดสุดท้ายให้สีชมพู แล้วทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 200 มิลลิลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการ

1. ทำการหา density ของโยเกิต ชั่งน้ำหนักโยเกิตที่มีปริมาตร 10 มิลลิลิตร
2. การติเตรททำโดยชั่งน้ำหนักนม 10 มิลลิลิตร หรือโยเกิต 10 กรัมอย่างละเอียดลงใน white porcelain basin ขนาด 60 มิลลิลิตร
3. เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มเดือด และทำให้เย็นแล้วลงไป 10-20 มิลลิลิตร
4. เติมสารละลาย phenolphthalein 1 มิลลิลิตร
5. ทำการติเตรทอย่างรวดเร็วกับ standard 0.1N NaOH จนได้สีชมพูถาวรในช่วงเวลา 10-15 วินาที แล้วคำนวณ

titratable acidity (lactic acid ต่อตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร)

$$= \frac{9V_1N}{V_2}$$

V_1 = ปริมาตรเป็นมิลลิลิตรของ standard NaOH ที่ใช้ในการติเตรท

V_2 = ปริมาตรของน้ำนมหรือตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ

N = normality ของ standard NaOH solution

3. <u>การตรวจสอบความแน่นของเนื้อสัมผัส (consistency) ของโยเกิต</u>

เป็นการตรวจสอบลักษณะเนื้อของตัวอย่างโยเกิตว่ามีความแน่นหรือเหลวต่างกันอย่างไร โดยใช้ penetrometer

หลักการอาศัยแรงโน้มถ่วงของโลก และน้ำหนักของหัวเข็ม ที่เวลา = 0 โดยปล่อยให้หัวเข็มเคลื่อนลงสู่ถ้วยโยเกิต และที่เวลา = 5 วินาทีทำการล็อคหัวเข็ม แล้วอ่านระยะทางที่เข็มเคลื่อนที่ ถ้าหัวเข็มเคลื่อนที่ได้ระยะทางน้อย แสดงว่ามีแรงต้านจาก gel มาก ทำให้ทราบว่าโยเกิตมีเนื้อแน่นกว่าการที่หัวเข็มเคลื่อนที่ได้ระยะทางมาก ซึ่งแสดงถึงว่ามีแรงต้านจาก gel น้อย ทำให้ทราบว่าโยเกิตมีเนื้อเหลวกว่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการ

1. ต่อ timer เข้ากับเครื่อง penetrometer แล้วนำไยเกิดที่ต้องการวัดวางบนฐานของเครื่อง
2. สวมหัวเข็มเข้ากับเครื่อง ปรับระดับของหัวเข็มให้มาสัมผัสที่ผิวหน้าของไยเกิดพอดี ที่จุดนี้ให้ปรับหน้าปัทม์ของเครื่อง penetrometer ให้อยู่ที่ o
3. หมุน timer ไปที่จุด start timer จะทำงานอัตโนมัติโดยจะปล่อยหัวเข็มที่เวลา =o และล็อคหัวเข็มที่เวลา 5 วินาที
4. อ่านระยะทางที่หัวเข็มเคลื่อนที่ผ่านอาหาร หน่วยเป็นมิลลิเมตร แล้วจดบันทึกไว้
5. คำนวนเป็นค่า Index of firmness (IF)

$$IF = \frac{1000}{X} \quad (mm^{-1})$$

X = ระยะทางที่หัวเข็มเคลื่อนที่ผ่านอาหารในเวลา 5 วินาที หน่วยเป็น mm .

4. <u>การตรวจสอบ syneresis ของไยเกิด</u>

ใช้การประยุกต์วิธีของ Johnson & Zabik (42) ซึ่งเป็นการตรวจสอบหาปริมาณน้ำที่แยกจากเนื้อไยเกิดที่ถูกเทผ่านกรวยที่มีกระดาษกรอง ภายในเวลาที่กำหนด

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักไยเกิดทั้งถ้วย และชั่งน้ำหนักขวดรูปชมพู่ แล้วจดบันทึกไว้
2. ใช้มีปาดเนย ปาดรอบถ้วยไยเกิด แล้วเทลงในกรวยที่ใส่กระดาษกรอง (Whatman No. 1 Ø = 15 เซนติเมตร) ไว้แล้ว ใช้ขวดรูปชมพู่รองรับน้ำที่แยกออกมา
3. จับเวลา 1 ชั่วโมง ยกกรวยออก ชั่งน้ำหนักที่อยู่ในขวดรูปชมพู่
4. ชั่งน้ำหนักถ้วยไยเกิดเปล่าที่เทไยเกิดออกไปแล้ว นำน้ำหนักนี้ไปลบออกจากน้ำหนักไยเกิดทั้งถ้วย จะได้น้ำหนักไยเกิด แล้วคำนวณ % syneresis โดย

$$\% \text{ syneresis} = \frac{\text{น้ำหนักน้ำที่แยกจากเนื้อไยเกิด}}{\text{น้ำหนักไยเกิด}} \times 100$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. การตรวจสอบผลิตภัณฑ์โดยผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัส (Organoleptic properties)

การศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ ของโยเกิตโดยใช้ผู้ทดสอบนั้น ใช้วิธีการให้คะแนนแบบ hedonic scaleโดยแบ่งคะแนนออกเป็น 7 ระดับ ตัวอย่างของแบบสอบถามแสดงในภาคผนวก ข ผู้ทดสอบซึ่งเป็นนิสิตปริญญาโทภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร 6-10 คนที่ผ่านการฝึกฝนแล้วจะให้คะแนนผลิตภัณฑ์ที่ตรงกับความเห็นตาม scale ที่กำหนดให้ ซึ่งผลของคะแนนสามารถนำมาประเมินค่าทางสถิติ โดยทำการทดสอบซ้ำเท่ากับจำนวนซ้ำของ การตรวจสอบผลทาง objective test ทั้งนี้เนื่องจากในแต่ละการทดลองที่ทำซ้ำใช้ starter คนละขวดกัน ซึ่งอาจมี activityต่างกัน และทำให้มีผลต่อคุณสมบัติในโยเกิตสุดท้ายที่ได้ ดังนั้นจึงทำการบล็อคแต่ละซ้ำของการทดสอบ

6. การตรวจสอบตัวอย่างโดยใช้ Transmission electron microscope (43)

สารเคมี
1. Osmium tetraoxide (OsO_4) ขนาดหลอดละ 1 กรัม
2. 50% Glutaraldehyde
3. กรดกำมะถัน (HCl) เข้มข้น
4. Ethyl alcohol 95%
5. Absolute alcohol
6. Spurr's resin mixture
7. Cacodylate buffer pH7.2
8. Uranyl acetate เข้มข้น 1% และ 5%
9. Lead citrate
10. Acetone
11. Xylene
12. Agar solution เข้มข้น 2%
13. NaOH

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเตรียมสารเคมี

1. น้ำยาดอง

-Glutaraldehyde ความเข้มข้น 1.4% และ 3%

ปิเปตสารละลาย glutaraldehyde 50% มา 0.7 และ 1.5 มิลลิลิตร เจือจางด้วย buffer solution จนเป็น 25 มิลลิลิตร จะได้ glutaraldehyde ที่มีความเข้มข้น 1.4% และ 3% ปริมาณ 25 มิลลิลิตร

- Osmium tetraoxide stock solution ความเข้มข้น 4%

ล้างหลอดบรรจุ osmic acid ให้สะอาดและเช็ดให้แห้ง ห่อด้วยกระดาษเช็ดเลนซ์ปิดปลายทั้ง 2 ด้าน ทุบหลอดนี้ แกะแล้วถ่ายแก้วที่แตกลงในขวดรูปชมพู่ ใส่ cacodylate buffer 25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดี ปิดปากขวดด้วย parafilm 2 ชั้น ทิ้งไว้ค้างคืน นำมากรองสารละลายเก็บไว้ในขวดแก้ว ปิดฝาเกลียว หุ้มด้วย parafilm เก็บไว้ในตู้เย็น

2. Cacodylate buffer pH7.2

- เตรียม Na cacodylate 0.2 M (MW 214.02) โดยชั่งน้ำหนัก 4.28 กรัม ละลายน้ำให้เป็น 100 มิลลิลิตร

- ปรับ pH ให้เป็น 7.2 โดยการติเตรทด้วยกรดกำมะถันเข้มข้น

3. Lead citrate

- ผสม lead nitrate 1.33 กรัม sodium citrate 1.76 กรัม กับน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร เข้าด้วยกันในขวดรูปชมพู่ เขย่าให้เข้ากันดีเป็นเวลา 20 นาที

- เติม NaOH 0.1N 8 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำให้ครบ 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี จนได้สารละลายใสของ lead citrate

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. Spurr's resin mixture

- ชั่งน้ำหนัก	VCD (ERL 4206)	11.5	กรัม
	DER 736	7.0	กรัม
	NSA	31.0	กรัม
	DMAE	0.5	กรัม

แล้วผสม VCD, DER, NSA เข้าด้วยกัน (ส่วน DMAE เป็นคะตาลิสท์ใส่ก่อนใช้) เก็บไว้

5. Uranyl Acetate ความเข้มข้น 1% และ 5%

- ใส่ผลึก uranyl acetate 0.15 กรัม ลงใน methyl alcohol 70% 3 มิลลิลิตร คนด้วย magnetic stirrer ประมาณ 15-20 นาที จะได้ uranyl acetate ความเข้มข้น 5% (ใช้ย้อมสีบน grid)

- ใส่ผลึก uranyl acetate 1 กรัม ลงในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร คนด้วย magnetic stirrerประมาณ 15-20 นาที จนได้ uranyl acetate ความเข้มข้น 1%

วิธีการ 1. การเก็บตัวอย่างน้ำนม และโยเกิต

น้ำนม - ผสมตัวอย่างให้เข้ากันดี โดยเขย่ากลับไปกลับมา แล้วปิเปตมา 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับ agar solution 2% ที่มีอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 0.5 มิลลิลิตร แล้วทิ้งให้เย็น นำมาตัดเป็นก้อนเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (Kalab และคณะ, 39)

โยเกิต - ตักตัวอย่าง โยเกิตที่อยู่ในถ้วย โดยใช้ส่วนที่ค่ำลงมาจากผิวหน้า 2 เซนติเมตร โดยตัด gel ให้ได้ขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (Davies และคณะ, 24)

2. การตรึงตัวอย่าง (fixation)

- Primary fixation

นำตัวอย่างน้ำนมประเภทต่าง ๆ ที่ได้จากข้อ 1 (อยู่ในรูปลูกบาศก์)มาแช่ใน glutaraldehyde 1.4% อย่างน้อย 1 ชั่วโมง ที่ 4 องศาเซลเซียส แล้วล้างด้วย cacodylate buffer solution 30 นาที

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ส่วนตัวอย่างไยเกิดนั้น ใช้จากข้อ 1 แช่ใน glutaraldehyde 3% อย่างน้อย 1 ชั่วโมง ที่ 4 องศาเซลเซียส แล้วล้างด้วย cacodylate buffer solution 30 นาที

- Post fixation

นำตัวอย่างทั้งน้ำนมและไยเกิดจาก primary fixation มาแช่ใน 2% OsO_4 ใน cacodylate buffer เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำในตู้ดูดควัน

3. การขจัดน้ำออกจากตัวอย่าง (Dehydration)

ตัวอย่างที่ผ่านการ post fix ใน OsO_4 มาแล้ว ให้ล้าง OsO_4 ออกด้วย buffer solutionแล้วนำมาขจัดน้ำออกโดยแช่ใน

ethanol 35% เป็นเวลา 15 นาที

ethanol 70% เป็นเวลา 15 นาที

ethanol 95% เป็นเวลา 15 นาที

ethanol 100% เป็นเวลา 10 นาที

ethanol 100% เป็นเวลา 15 นาที

ethanol 100% เป็นเวลา 15 นาที

4. การทำให้ตัวกลางเข้าสู่ภายในตัวอย่าง (Infiltration)

- แทนที่แอลกอฮอลล์ด้วยสารละลายเคมีดังต่อไปนี้

แช่ใน แอลกอฮอลล์ : พลาสติก (3 :1) 2 ชั่วโมง

แอลกอฮอลล์ : พลาสติก (1 :1) 2 ชั่วโมง

แอลกอฮอลล์ : พลาสติก (1 :3) 2 ชั่วโมง

5. การฝังตัวอย่างในพลาสติค (Embedding)

- ทำความสะอาด embedding mold
- ถ่ายตัวอย่างที่อยู่ในขั้น infitration สุดท้ายลงบนกระดาษการ์ด ใช้ไม้แหลมเขี่ย และเลือกตัวอย่างที่ต้องการ
- นำตัวอย่างที่เลือกไปวางในเบ้า ให้ตัวอย่างแตะปลายสุดของเบ้า
- เติมพลาสติก (Spurr's resin) ให้เต็มเบ้า
- ใส่ตู้อบที่ 60 องศาเซลเซียส เพื่อให้เกิด polymerize

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. การเตรียมตัวอย่างสำหรับตัด (Trimming)

- ยึด block พลาสติคติดกับฐาน (block holder) วางใต้ dissecting micsoscope
- เฉือนหน้าตัดของ block ออกทีละน้อยจนถึงตัวอย่าง
- ใช้ใบมีดเฉือนด้านข้างให้มีด้านขนานกัน 2 ด้าน ผลสุดท้ายให้ได้พื้นที่หน้าตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมคางหมู
- เก็บ blockที่ trim แล้วไว้ใน petri dish ซึ่งมีกระดาษกรองรองรับ เก็บไว้ในที่แห้งเพื่อทำ ultra microtomy.

7. การทำมีดแก้ว

- ล้างแผ่นแท่งแก้วด้วยน้ำยาผงซักฟอกอย่างอ่อน
- ล้างน้ำแล้วทำให้แห้ง
- ตัดเป็นแท่งสี่นตามมุมของมีดที่ต้องการ (45 หรือ 50 องศา)
- เลือกมีดแก้วซึ่งเป็นรูปสามเหลี่ยมโดยการตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทัศน์ แบบ stereo dissecting micsoscope
- ติดเทปบนด้านหลังมีด เพื่อทำเป็นภาชนะสำหรับรองรับน้ำ (boat หรือ trough)
- อุดหรือเชื่อมขอบเทปด้านล่างกับแก้ว ด้วยยาทาเล็บ ทิ้งให้แห้ง
- นำไปตัดทันทีที่ทำเสร็จ

8. การทำ ultrathin section

- ตัด sectionให้ได้สีเงินหรือทอง โดยใช้ Ultramicrotome (Ultrotome V)
- เลือก section ให้จับเป็นกลุ่มโดยใช้ไม้ที่มีขนติดอยู่ที่ปลาย
- ใช้ไม้จิ้มพันจุ่มลงใน xylene แล้วมาอังบริเวณกลุ่มของ section เพื่อจะแผ่ให้ section เรียบ
- ล้าง grid ใน acetone โดยใช้ tweezer จับขอบ grid และงอเป็นมุม
- กด grid ลงบนกลุ่มของ sections

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- กด grid ลงบนกลุ่มของ sections
- ยก grid ขึ้นและซับให้แห้งด้วยกระดาษกรอง ให้ด้านของ grid ที่มี section อยู่ด้านบน grid ที่ได้ก็พร้อมที่นำไปย้อมด้วยเกลือของโลหะหนัก

๑. การย้อม (Staining ultrathin sections)

- หยด uranyl acetate 5% บนแผ่น parafilm ซึ่งตรึงไว้กับที่
- วาง grid ด้านที่มี section อยู่คว่ำลงให้ grid ลอยอยู่บนผิวของ uranyl acetate ปิดด้วยกล่องทึบ ทิ้งไว้ประมาณ 20-30 นาที
- ล้าง grid ด้วย stain-water 2 ครั้ง ๆ ละ 30 วินาที
- หยด lead citrate ลงบนแผ่น parafilm ใหม่แล้ววาง NaOH ชนิดเม็ดใกล้หยด lead citrate
- ย้อม grid ภายในหยดของ lead citrate 10 นาที โดยให้ด้านของ grid ที่มี section อยู่หงายขึ้น ปิดฝาบริเวณหยดของ lead citrate เพื่อป้องกันไม่ให้ CO_2 เข้าไปมากจนเกินพอ
- ล้าง grid ด้วย 0.02N NaOH 2 ครั้ง ๆ ละ 10 จุ่ม
- ล้างด้วย stain-water 2 ครั้ง ๆ ละ 10 จุ่ม
- ซับ grid ให้แห้ง
- นำไปตรวจและศึกษาด้วยกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนแบบทรานมิชชั่น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7. การตรวจสอบสีของน้ำนมและผลิตภัณฑ์

วิธีการ

1. ใส่ตัวอย่างที่ต้องการวัดลงในจานของเครื่อง ตัวอย่างควรผสมมาแล้วอย่างดี ให้เป็นเนื้อเดียวกัน
2. นำแผ่นสีมาตรฐานมาสวมเข้ากับเครื่อง เปิดไฟและเปิดสวิทช์ให้แผ่นสีทั้ง 5 แผ่นประกอบด้วยแผ่นสีรหัส 10YR8/6, 5Y8/12, 5G8/6, N9.25/ และ N8/ หมุน
3. ทำการปรับให้สีในแผ่นสีมาตรฐาน มีสีเท่ากันกับตัวอย่างที่ตรวจสอบโดยใช้สายตาของผู้วัด ดังนั้นการวัดสีทุกครั้งควรใช้ผู้วัดคนเดียวกัน เมื่อได้สีที่เท่ากันแล้ว นำเอาแผ่นสีมาอ่านสัดส่วนขององค์ประกอบของสีโดยทาบกับแผ่นวงกลมที่ calibrate % ไว้แล้ว

8. Total solid (36)

วิธีการ

1. อบ dish พร้อมฝาให้มีน้ำหนักคงที่เป็นเวลา 30 นาที
2. ทำให้เย็นใน dessicator
3. ชั่ง dishพร้อมฝาด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้า
4. ปิเปตน้ำนม 10 มิลลิลิตร ใส่ dish แล้วปิดฝาชั่งอย่างรวดเร็ว ถ้าเป็นโยเกิตให้ชั่งน้ำหนักโยเกิต 10 กรัม
5. วาง dish ที่ไม่ได้ปิดฝาบน boiling water bath เป็นเวลา 30 นาที
6. เช็ดก้น dish และนำเข้าตู้อบพร้อมฝา ตู้อบให้ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 102 ± 2 องศาเซลเซียส
7. หลังจากอบได้ 2 ชั่วโมง จึงนำ dish พร้อมฝาใส่ใน dessicator
8. ทำให้เย็น และชั่งน้ำหนัก
9. เอา dish และฝาใส่ในตู้อบ ให้ความร้อนต่ออีก 1 ชั่วโมง โดยไม่ปิดฝา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

10. ปิดฝา แล้วทำให้เย็นใน dessicator ชั่งน้ำหนักอย่างละเอียด

11. คำนวณ % total solid ดังต่อไปนี้

$$\% \text{ of total solid} = \frac{\text{น้ำหนักของ dry solids}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้}} \times 100$$

9. <u>ปริมาณเถ้า</u> (36)

วิธีการ

1. เผา crucible ใน muffle ที่ 550 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นใน dessicator และชั่งน้ำหนักละเอียด
2. ปิเปตน้ำนม 10 มิลลิลิตร แล้วชั่งน้ำหนักอย่างละเอียดและรวดเร็ว ในกรณีโยเกิตให้ชั่งน้ำหนักโยเกิตประมาณ 10 กรัม
3. วาง crucibleบน hot plate ค่อย ๆ เคี่ยวนมหรือตัวอย่างให้เดือดจนกระทั่งไหม้เกรียม
4. ถ่าย crucible เข้า muffle โดยปรับอุณหภูมิใน muffle ประมาณ 500-550 องศาเซลเซียส แล้ว ignite เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จนกระทั่งได้เถ้าสีขาวหรือเทาอ่อน
5. ทำให้เย็นใน dessicator
6. ชั่งน้ำหนักอย่างละเอียด แล้วคำนวณ % ของเถ้าดังนี้

$$\% \text{ เถ้า} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างหรือน้ำนม}} \times 100$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

10. <u>ไขมัน</u> (Rose-Gottlieb Method) (36)

สารเคมี:

- Concentrated ammonia solution, sp-gr 0.88
- Ethanol 95-96% (โดยปริมาตร)
- Diethyl ether, sp-gr 0.720 และปราศจาก peroxide
- Petroleum ether, boiling range 40-60 องศาเซลเซียส

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักนม หรือตัวอย่าง 10 กรัม อย่างละเอียดลงใน Majonnier fat extraction tube
2. เติมสารละลายแอมโมเนียเข้มข้นลงไป 1 มิลลิลิตร แล้วผสม
3. เติม ethanol 10 มิลลิลิตร แล้วผสม
4. เติม diethyl ether25 มิลลิลิตร ปิดจุกคอร์ค แล้วผสมโดยการเขย่ากลับไปกลับมา 1 นาที
5. เติม petroleum ether 25 มิลลิลิตร ปิดจุกคอร์ค แล้วผสมโดยการเขย่าซ้ำกลับไปกลับมา
6. ตั้งหลอดเขย่าทิ้งไว้อย่างน้อย 2 ชั่วโมง หรือนำไปเซนตริฟิวจ์ที่ 500-600 rpm. ไม่น้อยกว่า 5 นาที จนกระทั่งชั้น ether ใส แยกจากชั้นที่เป็นน้ำ
7. ถ่ายชั้น ether ออกโดยการ decant หรือใช้ ไซฟอน ลงในขวดรูปชมพู่ที่แห้งและทราบน้ำหนักเรียบร้อยแล้ว
8. ทำการสกัดซ้ำเป็นครั้งที่ 2 และ 3 แต่ละครั้งให้ใช้ diethyl ether 25 มิลลิลิตร และ petroleum ether 25 มิลลิลิตร ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว และนำเอาชั้น etherมาถ่ายใส่ขวดรูปชมพู่อันเดียวกัน ภายหลังที่เซนตริฟิวจ์แล้ว
9. ระเหยเอา solvent ออกให้หมด แล้วอบให้ไขมันแห้ง 1 ชั่วโมง ในตู้อบ ทิ้งให้เย็น เสร็จแล้วนำไปชั่งน้ำหนักละเอียด

$$\text{คำนวณ \% ไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้}} \times 100$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

11. <u>โปรตีน</u> (36)

สารเคมี
- คะตาลิสท์ (copper-sulfate, $CuSO_4.5H_2O$ และ potassium sulfate, K_2SO_4)
- กรดซัลฟูริคเข้มข้น (ประมาณ 98% โดยน้ำหนัก และปราศจากไนโตรเจน)
- สารละลาย sodium hydroxide เข้มข้น 50% โดยน้ำหนัก
- สารละลาย sulfuric acid มาตรฐาน เข้มข้น 0.1 N
- สารละลาย sodium hydroxide มาตรฐาน เข้มข้น 0.1 N ปราศจากคาร์บอเนต
- Indicator solution ซึ่งเป็นส่วนผสมที่เท่ากันระหว่าง สารละลายที่อิ่มตัวของ methylred ใน ethanol (95% โดยปริมาตร) กับ 0.1% ของ methylene blue ใน ethanol (95% โดยปริมาตร)
- sucrose ต้องบริสุทธิ์และปราศจากน้ำ

วิธีการ
1. ชั่งตัวอย่างนมหรือไยเกิดอย่างละเอียด 10 กรัม ลงในหลอดที่ใช้ digest
2. เติมกรดซัลฟูริคเข้มข้นลงไป 25 มิลลิลิตร โดยรินลงข้าง ๆ หลอดให้ล้างน้ำนมหรือตัวอย่างที่ติดข้าง ๆ ลงไปด้วย
3. เติม copper sulfate 0.2 กรัม และ potassium sulfate 10 กรัม
4. นำไปให้ความร้อนจนเดือด และให้ความร้อนต่อไป จนได้สารละลายใสไม่มีสีเหลือง เวลาที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่าง ปกติใช้เวลาไม่ต่ำกว่า 1 ชั่วโมง
5. ทิ้งสารละลายให้เย็น ทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นประมาณ 200 มิลลิลิตร เติมลูกแก้วลงไปเพื่อป้องกัน bumping
6. เติม sodium hydroxide solution ที่เข้มข้น 50% ลงไปในปริมาณมากเกินพอที่เหมาะสม (ปกติใช้ประมาณ 75-80 มิลลิลิตร) โดยค่อย ๆ รินใส่เพื่อให้เป็นชั้นอยู่ใต้ acid liquor

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7. ปิเปต standard sulfuric acid solution ที่เข้มข้น 0.1 N ปริมาณมากเกินพอที่เหมาะสม ซึ่งปกติใช้ 50 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตรแล้วเติม indicator solution ลงไป

8. ใส่ขวดรูปชมพู่เข้าเครื่องกลั่น โดยให้ปลาย condensorจุ่มอยู่ใต้ sulfuric acid solution แล้วเปิดเครื่องกลั่น

9. ทำการกลั่นเอาแอมโมเนียมโดยใช้ standard sulfuric acid เป็นตัวจับ กลั่นจนแน่ใจว่าแอมโมเนียหมดแล้ว (ให้ได้ distilate 150 มิลลิลิตร) ปิดเครื่องกลั่น ถอดขวดรูปชมพู่ออกจากเครื่อง

10. ติเตรทปริมาณกรดที่มากเกินพอด้วย standard sodium hydroxide solution

11. ทำ blank โดยใช้ sucrose 0.5 กรัม แทนน้ำนมหรือตัวอย่างโดยใช้วิธีการเหมือนกันหมด

การคำนวณ Total nitrogen, percent by weight

$$= \frac{1.4\ (A-B)N}{W}$$

A = มิลลิลิตรของ standard sodium hydroxide ที่ใช้ในการทำ blank

B = มิลลิลิตรของ standard sodium hydroxide ที่ใช้ในการติเตรท

N = normality ของ standard sodium hydroxide

W = น้ำหนักของตัวอย่างที่ตรวจสอบ หน่วยเป็นกรัม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

12. <u>การหาปริมาณ แลคโตส ซูโครส และกาแลคโตส</u> (37)

สารเคมี - Solvent - HPLC grade acetonitrile และ H_2O

- Mobile phase - Acetonitrile + H_2O (80+20) นำมาผ่านเครื่องกรอง ที่ใช้กระดาษกรองที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร หนา 0.45 µm (Millipore Corp., Bedford, MA 01730)

- Trichloroacetic acid 0.5%
- Lactose standard

วิธีการ A. เตรียมสารละลายมาตรฐานของแลคโตส

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานแลคโตสที่เข้มข้น 60 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยชั่งน้ำหนัก lactose. H_2O AR-grade 3 กรัมละลายในน้ำ 50 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลายมาตรฐานแลคโตสที่เข้มข้น 48 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, 36 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 24 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยการปิเปตสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 60 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร 8, 6 และ 4 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ทำการ dilute ให้ถึงขีดด้วยน้ำกลั่น
3. ในการทดลอง จะใช้สารละลายมาตรฐาน 1 มิลลิลิตรแทนน้ำนมในการเตรียมตัวอย่าง ซึ่งจะกล่าวต่อไป

B, การเตรียมตัวอย่าง

1. ปิเปตน้ำนม 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองที่สามารถนำไปเซนตริฟิวจ์ได้ นำไปชั่งหาน้ำหนักละเอียด
2. เติม trichloroacetic acid 0.5% 20 มิลลิลิตร แล้วเขย่าแรง ๆ
3. นำไปเซนตริฟิวจ์ที่ 3000xg เป็นเวลา 20 นาที
4. นำเอาสารละลายส่วนใส 1 มิลลิลิตร มาใส่หลอดทดลองอันใหม่ เติม acetonitrile 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี
5. นำไปกรองโดยใช้กระดาษกรอง ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร หนา 0.45 มิลลิเมตร (Millipore Corp.)

C. Liquid Chromatography

1. ปรับระบบให้สมดุล โดยใช้ mobile phase ผ่านเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ใช้อัตราการไหล 2 มิลลิลิตรต่อนาที
2. ฉีดสารละลายมาตรฐาน และตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบครั้งละ 100 ไมโครลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การคำนวณ :

คำนวณโดยหาพื้นที่ของสามเหลี่ยม ภายใน peak ซึ่งจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานหรือตัวอย่าง ดู chromatogram ในภาคผนวก ค แล้วนำมา plot กราฟหาจำนวนมิลลิกรัมของตัวอย่าง ในน้ำนม 1 มิลลิลิตร แล้วหารน้ำหนักนี้ด้วย น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้เป็นมิลลิกรัม แล้วคูณด้วย 100 ก็จะได้ % lactose.H_2O โดยน้ำหนัก

13. <u>การหา total viable plate count</u> (36)

สารเคมี - NaCl
- Ethyl alcohol
- Plate count agar

วิธีการ 1. เตรียม dilution 10^{-1} โดยปิเปตน้ำนม 11 มิลลิลิตร หรือตัวอย่างโยเกิต 11 กรัม ใส่ในขวดที่มี normal saline (NaCl 0.85%) 99 มิลลิลิตร เขย่าขวดตัวอย่างอย่างแรง อย่างน้อย 25 ครั้ง แล้วทำ dilution $1:10^2$, $1:10^3$ และ $1:10^4$ สำหรับน้ำนม และ $1:10^6$, $1:10^7$ และ $1:10^8$ สำหรับโยเกิต

2. ใช้ปิเปตดูด dilution ที่เตรียมไว้ dilution ละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ

3. หลอม plate count agarที่เตรียมไว้ ตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงถึง 50-55 องศาเซลเซียส เทลงในจานละ 10-15 มิลลิลิตร จากนั้นหมุนจานเพาะเชื้อไปทางซ้าย ขวา เพื่อให้สารละลายตัวอย่างกระจายไปทั่ว ทิ้งไว้ให้ agar แข็ง แล้วนำไปบ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียสประมาณ 2-3 วัน

4. นำจานเพาะเชื้อทั้งหมดมานับจำนวนโคโลนี โดยเลือกนับเฉพาะที่มีโคโลนีอยู่ ในช่วง 30-300 โคโลนี

การคำนวณ : total plate count = จำนวนโคโลนีที่นับได้ x dilution

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

14. การตรวจสอบ E. coli (36)

สารเคมี
- Methyl red
- Voges-proskauer test reagent
- Kovac's reagent for indole test
- Brilliant green lactose bile broth
- Violet red bile agar
- Eosin methylene blue agar
- Lactose broth
- Nutrient agar slant
- Tryptone broth
- Glucose peptone water (MR-VP medium)
- NaCl

วิธีการ

ก. Presumptive test

1. ใช้ liquid mediaตรวจนับด้วยวิธี most probable number (MPN)
   1. ใส่ตัวอย่างที่เตรียมใน dilution ที่เหมาะสม ลงใน brilliant green lactose bile broth โดยใช้ dilution ละ 5 หลอด
   2. บ่มเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง ตรวจผลโดยนับจำนวนหลอดที่เกิดกรดและแก๊สใน durham tube หลอดที่มีกรดและแก๊สให้ถือว่าผล presumptive เป็นบวก
   3. รายงานจำนวน coliform เป็น MPN จากจำนวนหลอดที่ให้ผลเป็นบวกโดยเทียบจากตาราง MPN coliforms/table

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ใช้ solid media ตรวจนับด้วยวิธี dilution plate count

1. ดูด dilution ของตัวอย่างใส่จานเพาะเชื้อจานละ 1 มิลลิลิตร เทอาหาร violet red bile agar หมุนจานเพาะเชื้อไปทางซ้าย ขวา เพื่อให้สารละลายตัวอย่างกระจายไปทั่ว ทิ้งไว้ให้ media แข็ง แล้วเท media ทับอีกชั้นหนึ่ง

2. บ่มเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส 18-24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวน coliform โดยสังเกตดูโคโลนีที่มีสีแดงเข้ม (purplish red) และมี bile precipitate ตกตะกอนอยู่รอบ ๆ ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 0.5 มิลลิเมตร (การอ่านผลให้อ่านภายใน 24 ชั่วโมง เพราะเวลาหลังจากนี้บักเตรีชนิดอื่นอาจเจริญในระยะหลัง และบางชนิดให้ผลคล้ายคลึงกัน) ถ้าพบโคโลนีดังกล่าวให้ถือว่า presumptive test เป็นบวก แล้วรายงานผลเป็นจำนวนต่อมิลลิลิตร หรือกรัมของตัวอย่าง

ข. Confirm test

1. ใช้ loop ที่ลนไฟจุ่มในหลอดที่ให้ presumptive test เป็นบวก นำมา streak ให้เป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ บนอาหาร eosin methylene blue agar (EMB agar) บ่มเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส 18-24 ชั่วโมง ตรวจผลโดยสังเกตดูโคโลนี coliform ซึ่งของ E.coli จะมีสีเข้มหรือดำ และที่ผิวมีสีเขียวเป็นเงาโลหะมัน (metallic sheen) ส่วน Aerobacter aerogenes โคโลนีจะมีสีชมพูอ่อนขึ้นและกว่า E. coli

2. จาก solid media ในข้อ ก. ใช้ loop แตะโคโลนีที่มีสีแดงเข้ม และมี bile precipitate รอบ ๆ มา streak บน EMB agar ทำเช่นเดียวกับข้อ ข. 1

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค. Complete test

1. ใช้ loop แตะโคโลนีของบักเตรี coliform (E.coli) จากข้อ ข.1 และ 2 inoculate ลงในอาหาร lactose broth และ nutrient agar slant

2. บ่มเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง ถ้าเกิดแก๊สในหลอดอาหาร lactose broth ให้รายงานผลเป็นบวก เพราะบักเตรี coliform สามารถหมักแลคโตสได้ภายใน 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อในหลอด nutrient agar มาย้อมสีดูรูปร่าง การติดสีแกรม และทดสอบ IMVC ซึ่งเป็นการทดสอบทางชีวเคมี

ลักษณะของบักเตรี coliformมีรูปร่างเป็นท่อน (small rod) แกรมลบและไม่สร้างสปอร์ สามารถหมักแลคโตสให้กรด และแก๊สที่ 35 องศาเซลเซียส ภายใน 48 ชั่วโมง เป็นพวก aerobe หรือ faculative anaerobe

หมายเหตุ IMVC reaction

I = Indole production

M = Methyl red test

V = Voges-Prokauer reaction

C = Citrate utilization

	I	M	V	C
Escherichia coli	+	+	-	-
Aerobacter aerogenes	-	-	+	+

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Most Probable Number (MPN) per 100 ml of Sample and 95% Confidence Limits

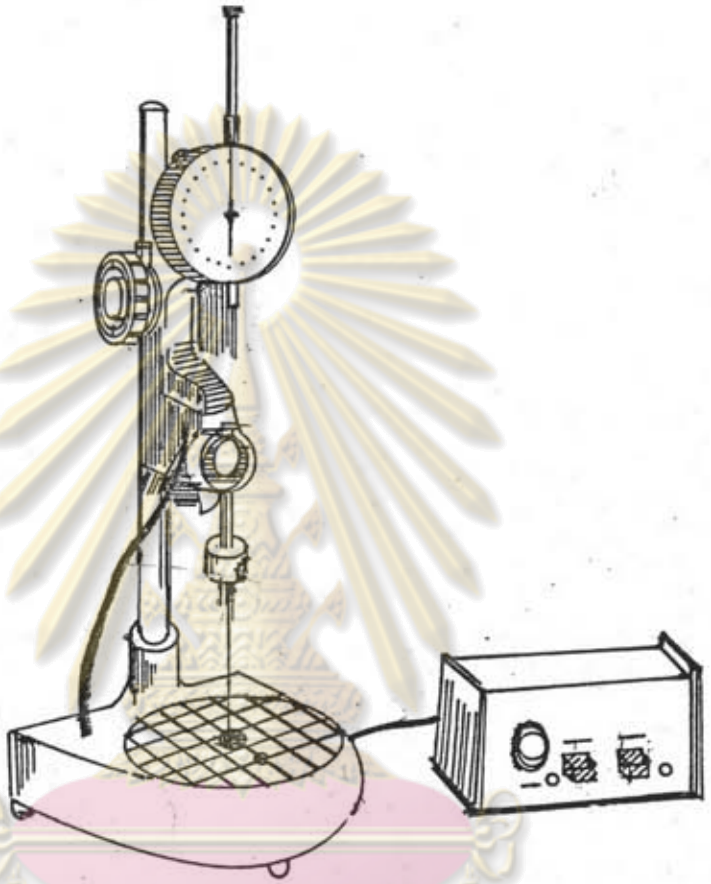
Using Five Tubes with 10-, 1-, and 0.1-ml Volumes

Five 10-ml Tubes	Five 1-ml Tubes	Five 0.1-ml Tubes	MPN /100 ml	Limit MPN		Five 10-ml Tubes	Five 1-ml Tubes	Five 0.1-ml Tubes	MPN /100 ml	Limit MPN		Five 10-ml Tubes	Five 1-ml Tubes	Tubes Five 0.1-ml	MPN /100 ml	Limit MPN	
				Lower	Upper					Lower	Upper					Lower	Upper
0*	0*	0*	<2	< 0.5	–	3	0	0	8	1	19	5	0	0	23	7	70
0	0	1	2	< 0.5	7	3	0	1	11	2	25	5	0	1	31	11	89
0	0	2	4	< 0.5	11	3	0	2	13	3	31	5	0	2	43	15	114
												5	0	3	58	19	144
0	1	0	2	< 0.5	7	3	1	0	11	2	25	5	0	4	76	24	180
0	1	1	4	< 0.5	11	3	1	1	14	4	34						
0	1	2	6	< 0.5	15	3	1	2	17	5	46	5	1	0	33	11	93
						3	1	3	20	6	60	5	1	1	46	16	120
0	2	0	4	< 0.5	11							5	1	2	63	21	154
0	2	1	6	< 0.5	15	3	2	0	14	4	34	5	1	3	84	26	197
0	3	0	6	< 0.5	15	3	2	1	17	5	46						
						3	2	2	20	6	60	5	2	0	49	17	126
1	0	0	2	< 0.5	7							5	2	1	70	23	168
1	0	1	4	< 0.5	11	3	3	0	17	5	45	5	2	2	94	28	219
1	0	2	6	< 0.5	15	3	3	1	21	7	63	5	2	3	120	33	281
1	0	3	8	1	19							5	2	4	148	38	366
						3	4	0	21	7	63	5	2	5	177	44	515
1	1	0	4	< 0.5	11	3	4	1	24	8	72						
1	1	1	6	< 0.5	15							5	3	0	79	25	187
1	1	2	8	1	19	3	5	0	25	8	73	5	3	1	109	31	253
												5	3	2	141	37	343
1	2	0	6	< 0.5	15	4	0	0	13	3	31	5	3	3	175	44	503
1	2	1	8	1	19	4	0	1	17	5	46	5	3	4	212	53	609
1	2	2	10	2	23	4	0	2	21	7	63	5	3	5	253	77	788
						4	0	3	25	8	75						
1	3	0	8	1	19							5	4	0	130	35	302
1	3	1	10	2	23	4	1	0	17	5	46	5	4	1	172	43	486
						4	1	1	21	7	63	5	4	2	221	57	698
1	4	0	11	2	25	4	1	2	26	9	78	5	4	3	278	90	849
												5	4	4	345	117	999
1	4	1	13	3	29	4	1	3	30	10	89	5	4	5	426	145	1161
1	5	0	13	3	29												
1	5	1	15	3	32	4	2	0	22	7	67						
1	5	2	17	4	36	4	2	1	26	9	78						
1	5	3	19	4	39	4	2	2	32	11	91	5	5	0	240	68	754
1	6	0	17	4	36							5	5	1	348	118	1005
1	6	1	19	4	39	4	3	0	27	9	80	5	5	2	542	180	1405
1	6	2	21	4	42	4	3	1	33	11	93	5	5	3	920	210	3000
1	6	3	24	5	46	4	3	2	39	13	106	5	5	4	1600	350	5300
1	7	0	21	4	42							5	5	5	>1600	800	∞
1	7	1	23	5	46	4	4	0	34	12	96						
1	7	2	26	5	50	4	4	1	40	14	108						
1	7	3	28	6	54												
1	8	0	23	5	46	4	5	0	41	14	110						
1	8	1	26	5	50												
1	8	2	28	6	54	4	5	1	48	16	124						
1	8	3	31	6	59												
1	9	0	28	6	54												
1	9	1	30	6	59												
1	9	2	33	7	64												
1	9	3	36	7	70												
1	10	0	33	7	64												
1	10	1	36	7	70												
1	10	2	39	8	76												
1	10	3	42	8	82												
1	11	0	39	8	76												
1	11	1	42	8	82												
1	11	2	45	9	89												
1	11	3	48	9	96												
1	12	0	45	9	89												
1	12	1	48	9	96												
1	12	2	51	10	103												
1	12	3	55	10	110												
2	0	0	9	2	21												
2	0	1	12	3	28												
2	0	2	14	4	34												
2	0	3	17	4	42												
2	1	0	14	4	34												
2	1	1	17	4	42												
2	1	2	20	5	50												
2	1	3	23	5	59												
2	2	0	21	4	42												
2	2	1	23	5	50												
2	2	2	26	6	59												
2	2	3	29	6	67												
2	3	0	24	5	50												
2	3	1	27	6	59												
2	3	2	30	7	67												
2	3	3	33	7	76												
2	4	0	27	6	59												
2	4	1	30	7	67												
2	4	2	34	8	76												
2	4	3	37	8	87												

* Number of positive tubes in five tested.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

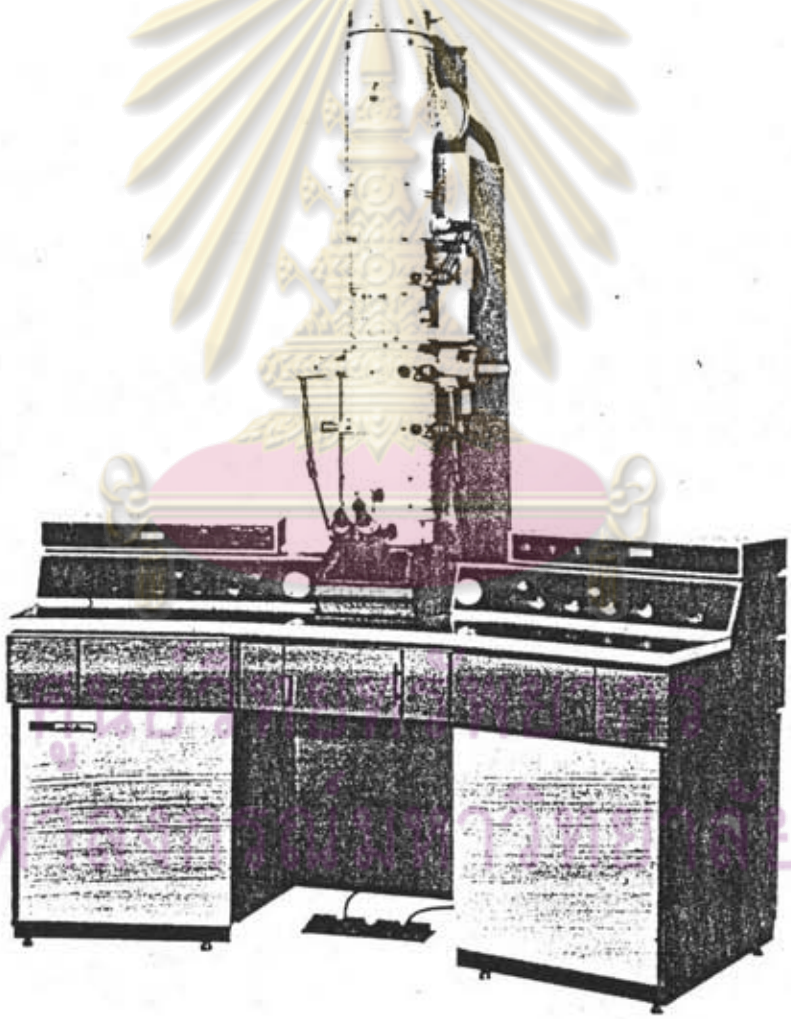
อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง



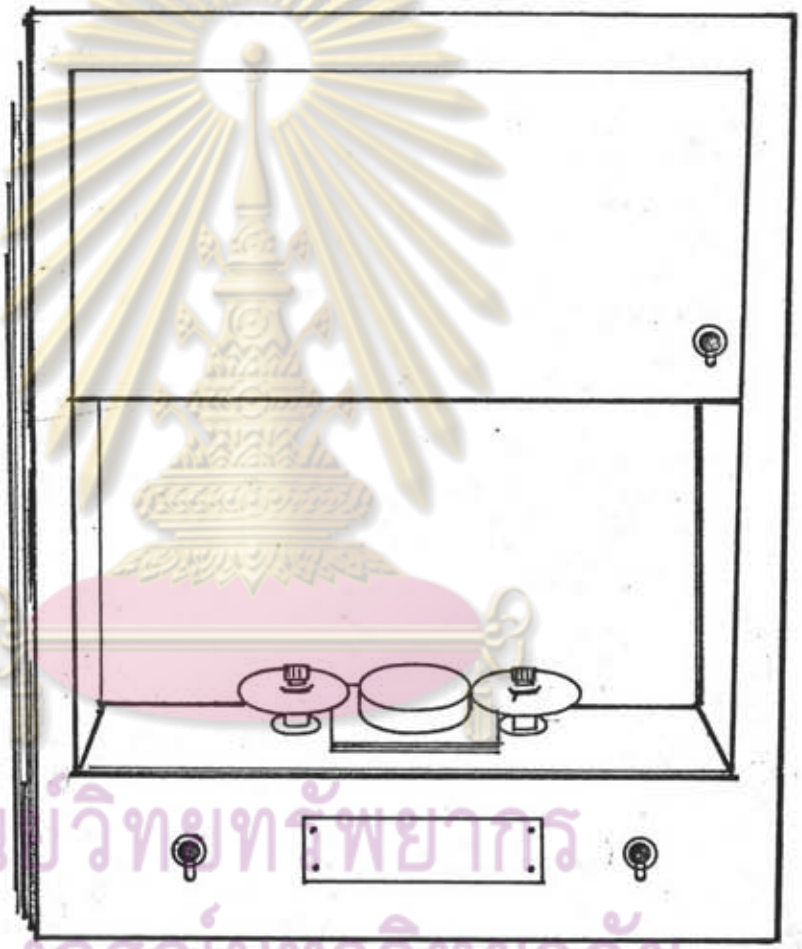
Penetrometer

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

JEM-200CX ELECTRON MICROSCOPE

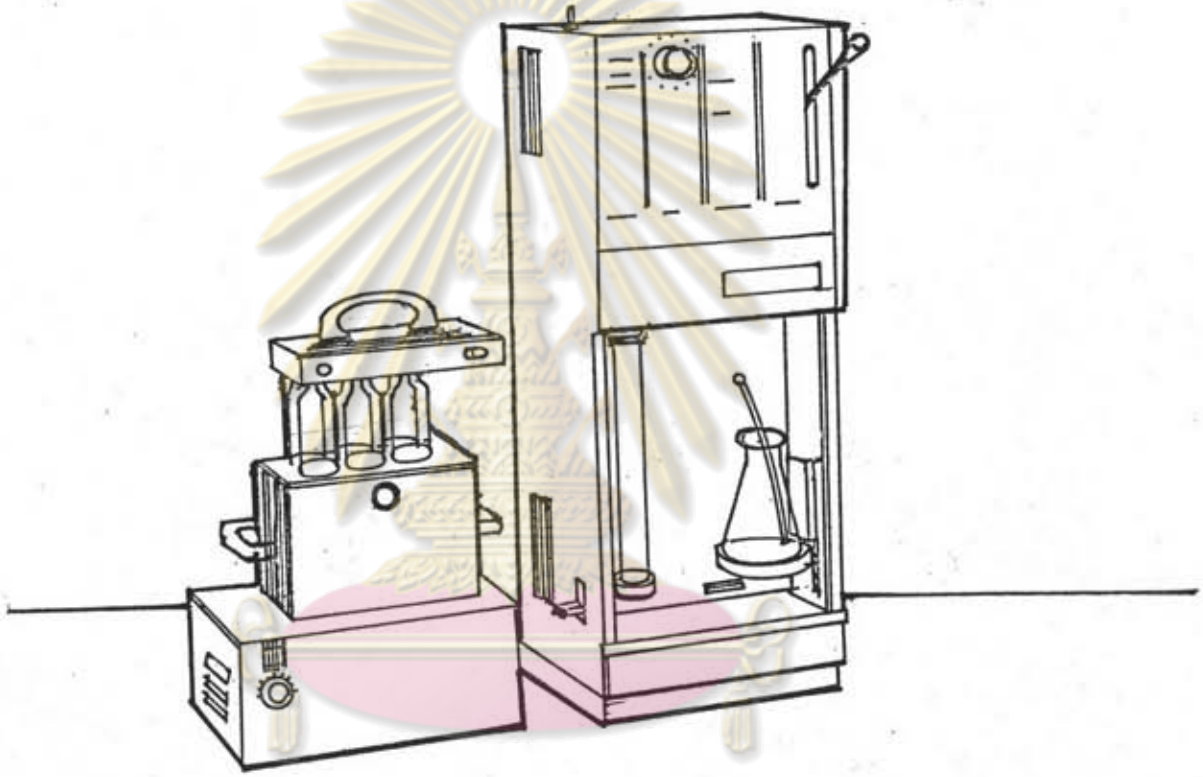


ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Macbeth Munsell Disc Colorimeter

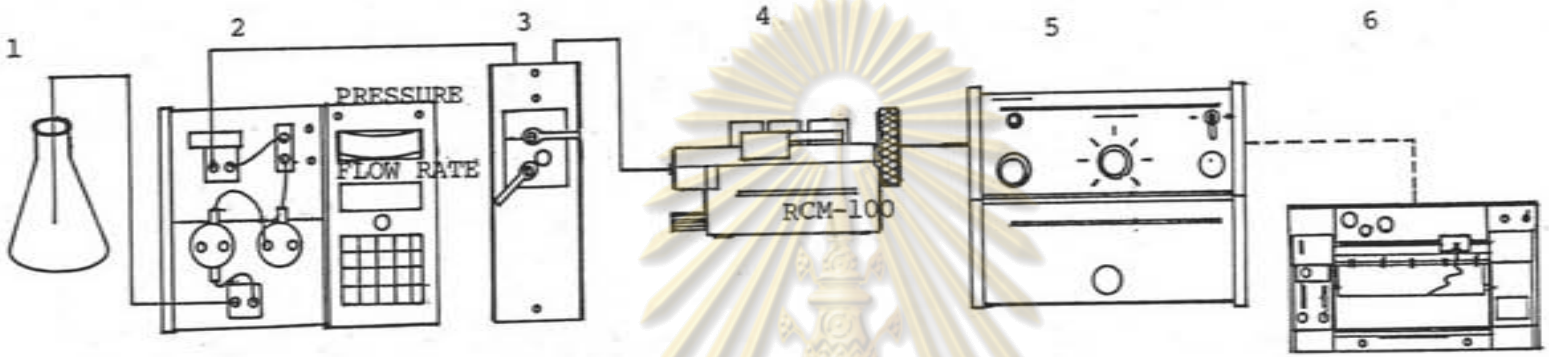
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Kjeltec System I

HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY



1. SOLVENT SUPPLY
2. SOLVENT DELIVERY SYSTEM M-590
3. UNIVERSAL INJECTOR U6K
4. RADIAL-COMPRESSION RCM-100
5. DIFFERENTIAL REFRACTOMETER M-401
6. RECORDER TR250-2P

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

แบบสอบถามที่ใช้ในการตรวจสอบ organoleptic properties ของผลิตภัณฑ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อ ..... วันที่ .....

ตัวอย่าง .....

โปรดทดสอบตัวอย่างเหล่านี้ แล้วให้คะแนนที่ตรงกับความเห็นของท่านมากที่สุด

คุณภาพของตัวอย่าง	ตัวอย่างหมายเลข							
สี (color)								
กลิ่น (aroma)								
เนื้อสัมผัส (consistency)								
รสชาติ (flavor)								
การแยกตัวของน้ำ * (syneresis)								
คะแนนความชอบรวม								

ข้อเสนอแนะ .....

.....

*syneresis หมายถึง การเกิด whey ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำ แยกออกจากส่วนที่เป็น curd ถ้ามีการเกิด wheying off มากจะให้คะแนนต่ำ ถ้าไม่เกิด wheying off หรือเกิดน้อยจะให้คะแนนสูง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คะแนนความชอบในด้านต่าง ๆ	
7	ชอบมาก
6	ชอบปานกลาง
5	ชอบเล็กน้อย
4	เฉย ๆ
3	ไม่ชอบเล็กน้อย
2	ไม่ชอบปานกลาง
1	ไม่ชอบมาก

ชื่อ ..... วันที่ .....

ตัวอย่าง .....

โปรดทดสอบตัวอย่างโยเกิดแต่ละคู่ที่จัดไว้ให้แล้วให้คะแนนที่ตรงกับความเห็นของท่าน โดยพิจารณาเปรียบเทียบตัวอย่างทั้งหมดควบคู่กันไปด้วย

คุณภาพของตัวอย่าง	คู่ที่ 1		คู่ที่ 2		คู่ที่ 3		คู่ที่ 4		คู่ที่ 5	
สี (color)										
กลิ่น (aroma)										
เนื้อสัมผัส (consitency)										
รสเปรี้ยว										
การแยกตัวของน้ำ (syneresis)										
คะแนนความชอบรวม										

ข้อเสนอแนะ .....

.....

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คะแนนความชอบในด้านต่าง ๆ

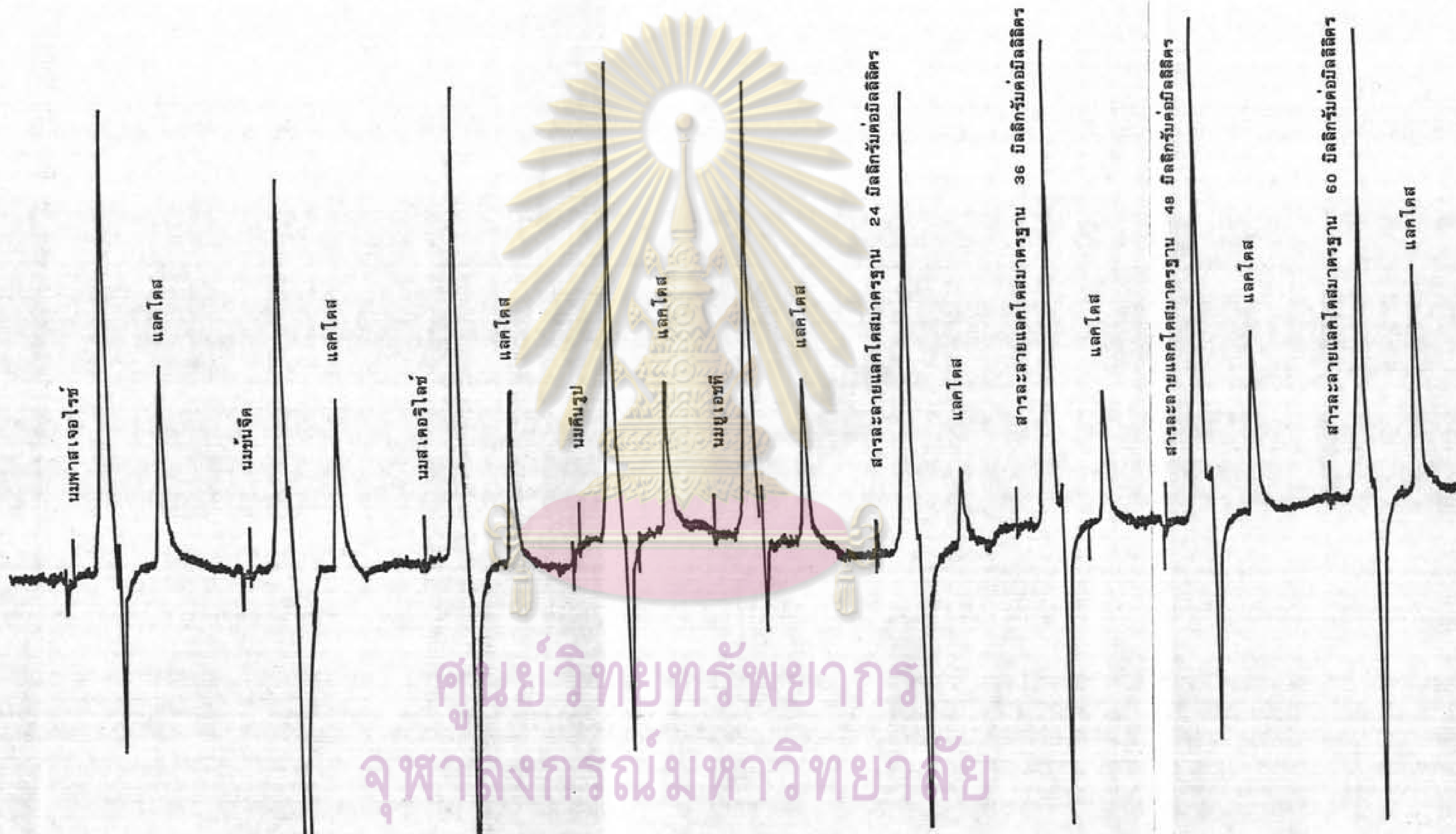
7 = ชอบมาก 6 = ชอบปานกลาง 5 = ชอบเล็กน้อย 4 = เฉยๆ 3 = ไม่ชอบเล็กน้อย 2 = ไม่ชอบปานกลาง

1 = ไม่ชอบมาก

ภาคผนวก ค

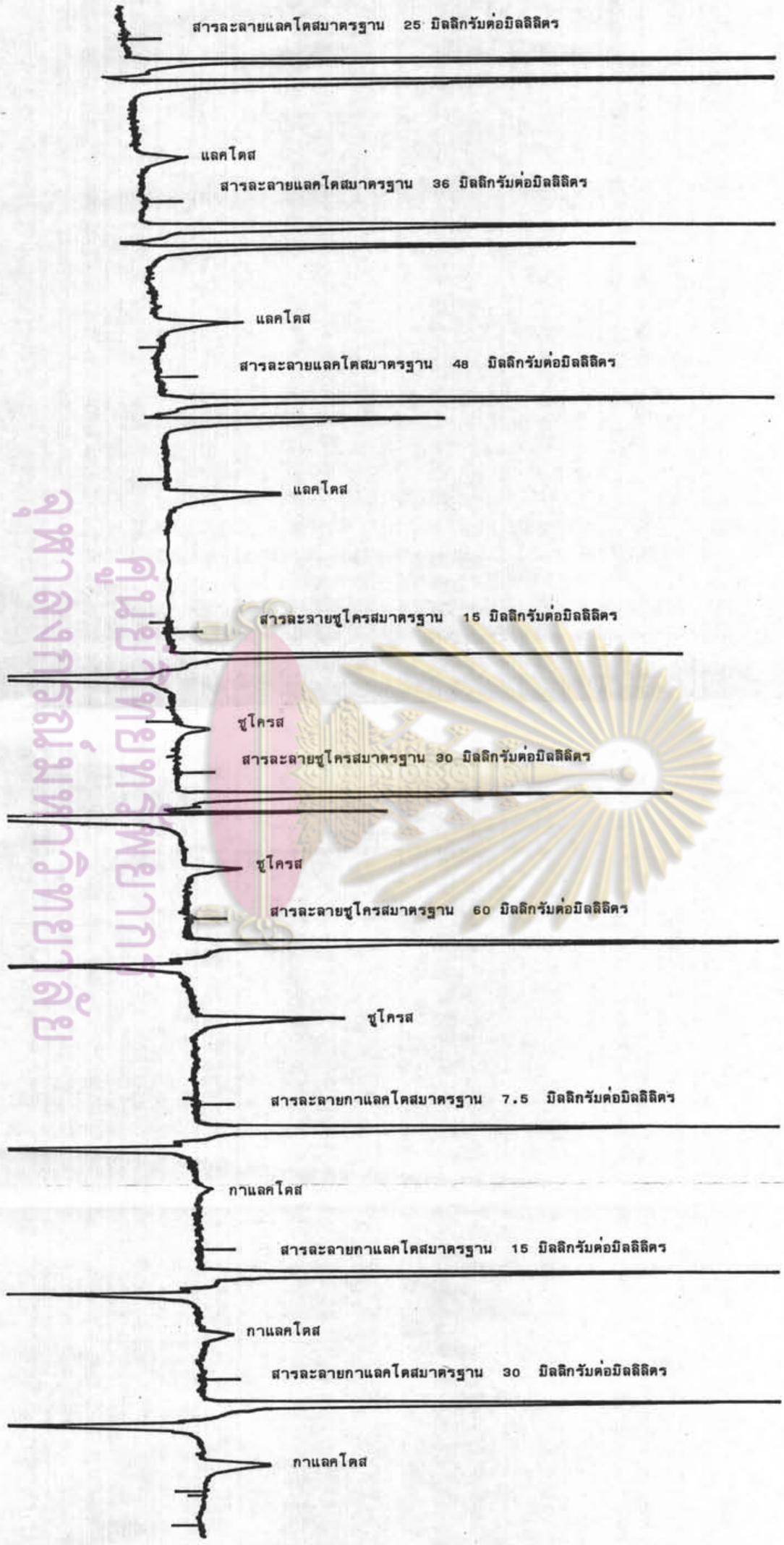
Chromatogram แสดงผลการวิเคราะห์หา % แลคโตส , ซูโครส และ กาแลคโตส ในน้ำนม และโยเกิต

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

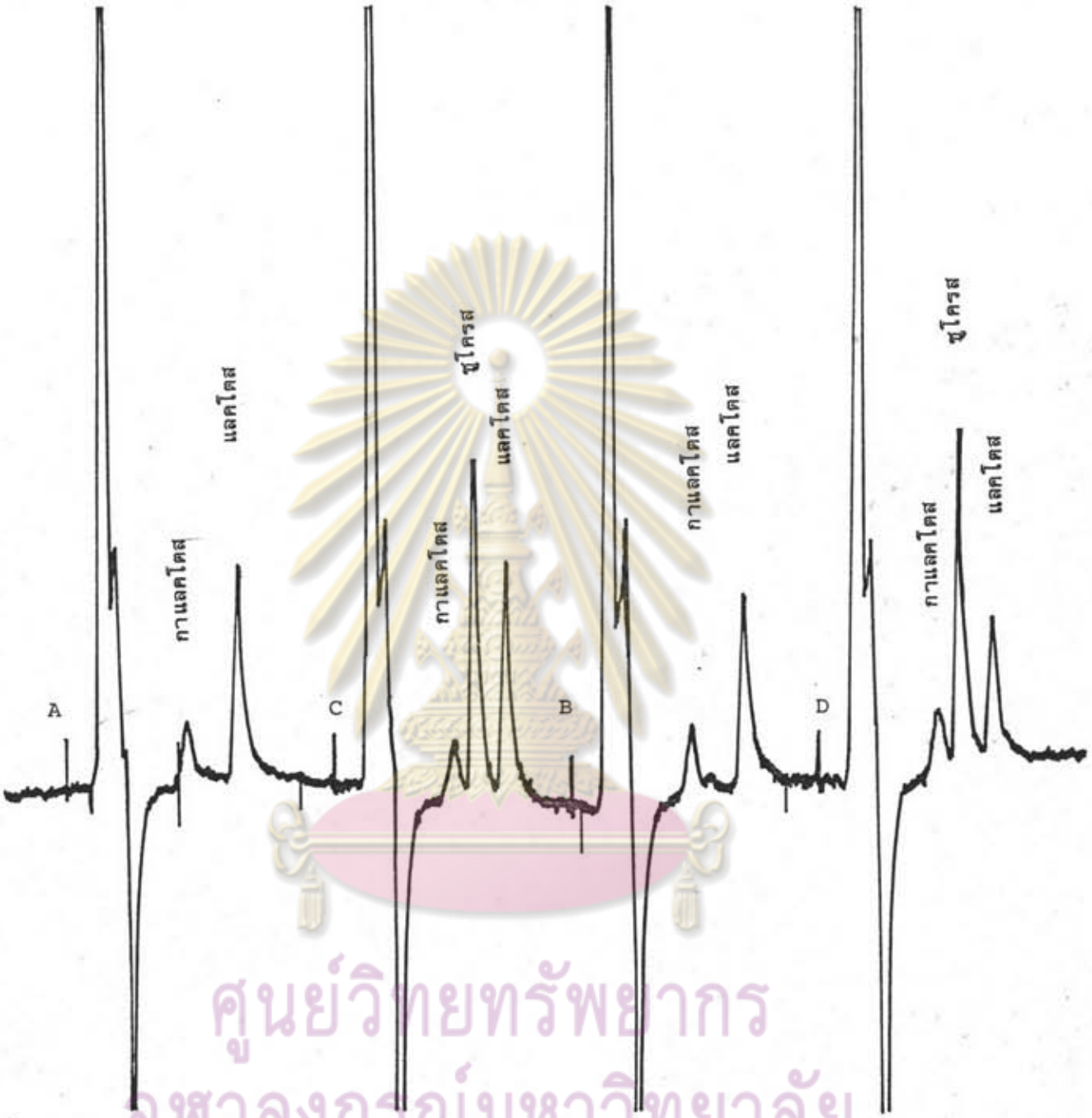


ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 1 chromatogram ของน้ำนม 5 ประเภท และสารละลายแลคโตสมาตรฐาน



รูปที่ 2 Chromatogram ของสารละลายน้ำตาลมาตรฐานสำหรับไอเดท



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3 Chromatogram ของไยเกิด A, B, C, D

ภาคผนวก ง1

ตัวอย่างการคำนวณผลการทดลองที่ใช้การวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดในบล็อค และวิธีการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยการปรับปรุง Tukey's method

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เป็นการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ เพื่อศึกษาเปรียบเทียบถึง

1. ผลของการใช้ % starterที่ต่างกันในระดับ 1% 2% 3% 4% และ 5% ในการทำโยเกิตรสธรรมชาติ

2. ผลของการใช้ % นมถั่วเหลืองทดแทนนมคืนรูปในระดับ 5% 10% 15% 20% และ 25% ในการทำโยเกิตรสธรรมชาติ

3. ผลของการใช้ % นมถั่วเหลืองทดแทนนมคืนรูปในระดับ 5% 10% 15% 20% และ 25% ในการทำโยเกิตรสหวาน

ที่มีต่อค่า pH, titratable acidity, consistency, syneresis และ organoleptic properties ของผลิตภัณฑ์

1. วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance)

ทรีตเมนต์	บล็อค				รวม
	1	2	3	r	

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำนวณค่าต่าง ๆ โดยใช้สูตรต่อไปนี้

แหล่งความแปรปรวน (Source of variation)	ผลบวกกำลังสอง (Sum of square=SS)	ขั้นแห่งความเป็นอิสระ (Degree of freedom)
Treatment	$SS_t = \sum_{i=1}^{t} Y_{i.}^2/r - CT$	(t-1)
Block	$SS_D = \sum_{j=1}^{r} Y_{.j}^2/t - CT$	(r-1)
Error	$SS_E = SS_y - SS_t - SS_D$	(t-1)(r-1)
Total	$SS_Y = \sum_{i=1}^{t} \sum_{j=1}^{r} Y_{ij}^2 - CT$	tr-1

CT = correction term = $\sum_{ij} Y^2_{ij}/rt$

MS = mean square = SS/df

t = จำนวนทรีตเมนต์

r = จำนวนบล็อค

Testing Hypothesis:

$H: T_i = 0$ ใช้ F-test โดยค่า $f_{cal} = MS_T/MS_E$

เทียบกับ critical value $f_{\alpha,(t-1),(t-1)(r-1)}$ ในภาคผนวก ง3

$H: (\sigma_J^2 + \sigma_j) = 0$ ใช้F-test โดยค่า $f_{cal} = MS_D/MS_E$

เทียบกับ critical value $f_{\alpha,(r-1),(t-1)(r-1)}$ ในภาคผนวก ง3

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อทราบผลในการตรวจสอบ Hypothesis แล้วถ้าผลปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างกันก็ไม่ต้องคำนวณต่อ แต่ถ้าผลปรากฏว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ก็ต้องนำมาคำนวณหาต่อว่า treatment ใดที่แตกต่างกัน ซึ่งในที่นี้ใช้การปรับปรุง Tukey's test ดังนี้คือ

ค่าในการคำนวณ $(\bar{Y}_{i.} - \bar{Y}_{i.,}) \; / \; \sqrt{MS_E/r}$

เทียบกับ critical value $\pm \; q_{\alpha,t,n-t}$

t = จำนวนทรีตเมนต์

r = จำนวนซ้ำที่ทดลอง

n = tr

ตัวอย่างการวิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบผลของการใช้ % นมถั่วเหลืองทดแทนนมคืนรูปในระดับ 5% 10% 15% 20% และ 25% ที่มีต่อค่า pH ในการทำโยเกิตรสธรรมชาติจากผลการทดลองในตารางที่ 17

% นมถั่วเหลืองทดแทนนมคืนรูป	ค่าคะแนนเฉลี่ยของ pH ของโยเกิต			รวม	เฉลี่ย
	1	2	3		
5	4.15±0.00	4.40±0.00	4.60±0.00	13.15	4.27
10	4.10±0.00	4.35±0.00	4.65±0.00	13.10	4.35
15	4.20±0.00	4.35±0.00	4.65±0.00	13.20	4.40
20	4.15±0.00	4.30±0.00	4.60±0.00	13.05	4.37
25	4.00±0.00	4.30±0.00	4.50±0.00	12.80	4.38
รวม	20.60	21.70	23.00	65.30	

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการคำนวณ

1. Correction term $= (\sum Yjk)^2/rt$

$= 65.30^2/15$

$= 284.2727$

2. Total SS $= \sum_{i=1}^{t} \sum_{j=1}^{r} Y_{ij}^2 - CT$

$= (4.00^2 + 4.15^2 + \_\_\_ 4.60^2) - 284.2727$

$= 284.895 - 284.2727$

$= 0.6223$

3. Treatment SS $= \sum_{i=1}^{t} Y_{i.}^2/r - CT$

$= (13.15^2 + 13.10^2 + 13.20^2 + 13.05^2 + 12.80^2)/3 - 284.2727$

$= 284.305 - 284.2727$

$= 0.0323$

4. Block SS $= \sum_{j=1}^{r} Y_{.j}^2/t - CT$

$= (20.60^2 + 21.70^2 + 23.00^2)/5 - 284.27$

$= 284.85 - 284.2727$

$= 0.5773$

5. Error SS $=$ Total SS - Treatment SS - Block SS

$= 0.6223 - 0.0323 - 0.5773$

$= 0.0127$

6. Treatment MS $=$ Treatment SS/df

$= 0.0323/4$

$= 8.075 \times 10^{-3}$

7. Block MS $=$ Block SS/df

$= 0.5773/2$

$= 0.2887$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

8. Error MS = Error SS/df

= 0.0127/8

= 1.5875×10^{-3}

9. F(treatment) = Treatment MS/Error MS

= $8.075 \times 10^{-3} / 1.5875 \times 10^{-3}$

= 5.0866

10. F(block) = Block MS/Error MS

= $0.2887 / 1.5875 \times 10^{-3}$

= 181.8268

ตัวอย่างผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน

SOV	df	SS	MS	F cal	F(0.05,df,8)
Treatment	4	0.0323	8.0750×10^{-3}	5.09*	3.84
Block	2	0.5773	0.2887	181.83*	4.46
Error	8	0.0127	1.5875×10^{-3}		
Total	14	0.6223			

หมายเหตุ สัญญลักษณ์ที่ใช้ในตาราง Anova มีดังนี้คือ

1. SOV = Source of variation
2. df = Degree of freedom
3. SS = Sum of square
4. MS = Mean square
5. * = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากตาราง Anova ข้างต้นสรุปได้ว่า

1. เมื่อใช้น้ำนมถั่วเหลืองทดแทนนมคืนรูปในระดับเปอร์เซนต์ต่างกัน ทำให้ค่า pH ในโยเกิดที่ได้ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ในแต่ละซ้ำที่ทดลองค่า pH รวมที่ได้ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ทำการคำนวณต่อโดยใช้การปรับปรุง Tukey's Test หาว่า treatment ใดหรือระดับ % ของนมถั่วเหลืองทดแทนเท่าใดที่ทำได้ค่า pH ในโยเกิดที่ได้ต่างกัน ส่วนบล็อคหรือแต่ละซ้ำของการทดลองไม่ต้องหาว่าบล็อคไหนแตกต่างกัน การใส่บล็อคนี้เพื่อควบคุมการทดลองให้แม่นยำขึ้น เพราะทุกครั้งที่ทำการทดลองซ้ำใช้จุลินทรีย์ (starter) คนละขวดกันซึ่งอาจมี activity ต่างกัน

วิธีการ 1. คำนวนค่า standard error of the sample mean

$$SE = \sqrt{MS_E/r}$$

เมื่อ r = จำนวนซ้ำในแต่ละทรีตเมนต์

ดังนั้น $$SE = \sqrt{1.5875 \times 10^{-3}/3}$$

$$= 0.023$$

2. เปิดค่า Significant Studentized Ranges ในภาคผนวก ง3 (38) โดยมีค่า degree of freedom ของ error (ν) =8 สำหรับค่า 5% (α=0.05) ที่ t ตั้งแต่ 2 ถึง 5 ได้เป็น

ค่า t =	2	3	4	5
ได้ p เป็น	3.26	3.39	3.47	3.52

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. ลำดับค่าเฉลี่ยโดยเรียงค่าจากต่ำไปสูง หรือสูงไปต่ำ

tr_3	tr_5	tr_4	tr_2	tr_1
4.4000	4.3833	4.3667	4.3500	4.2667

4. นำค่าที่เรียงได้มาเปรียบเทียบโดยหักลบกันแล้วหารด้วย SE แล้วจึงนำมาเปรียบเทียบกับค่า p ที่เปิดได้จากตาราง

$t = 5tr_3 - tr_1 = 4.4000 - 4.2667 = 0.1333/0.023 = 5.7957 > 3.52$

$4tr_3 - tr_2 = 4.4000 - 4.3500 = 0.0500/0.023 = 2.1739 < 3.47$

$3tr_3 - tr_4 = 4.4000 - 4.3667 = 0.0333/0.023 = 1.4478 < 3.39$

$2tr_3 - tr_5 = 4.4000 - 4.3833 = 0.0167/0.023 = 0.7261 < 3.26$

$t = 4tr_5 - tr_1 = 4.3833 - 4.42667 = 0.1166/0.023 = 5.0696 > 3.47$

$3tr_5 - tr_2 = 4.3833 - 4.3500 = 0.0333/0.023 = 1.4478 < 3.39$

$2tr_5 - tr_4 = 4.3833 - 4.3667 = 0.0166/0.023 = 0.7217 < 3.26$

$t = 3tr_4 - tr_1 = 4.3667 - 4.2667 = 0.1000/0.023 = 4.3478 > 3.39$

$2tr_4 - tr_2 = 4.3667 - 4.3500 = 0.0167/0.023 = 0.7261 < 3.26$

$2tr_2 - tr_1 = 4.3500 - 4.2667 = 0.0833/0.023 = 3.6217 > 3.26$

$>$ หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

$<$ หมายถึง แตกต่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากการคำนวณนี้ทำให้สามารถสรุปได้ว่า การใช้น้ำนมถั่วเหลืองทดแทน 25% นั้นให้ค่า pH ในโยเกิตต่างจากการใช้ทดแทน 20% 15% 10% และ 5% ส่วนที่เหลือนอกจากนี้ไม่แตกต่างกัน

ทรีตเมนต์	pH เฉลี่ย
tr_1	4.2667^a
tr_2	4.3500^b
tr_3	4.3667^b
tr_4	4.3833^b
tr_5	4.4000^b

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนร่วมกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง2

ตัวอย่างการคำนวณผลการทดลองที่ใช้การวางแผนการทดลองแบบ

factorial experiment with complete block

และวิธีการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยการปรับปรุง Tukey's method

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เป็นการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ เพื่อศึกษาเปรียบเทียบถึง

1. ผลของการใช้น้ำนมต่างประเภทกัน คือ นมคืนรูป นมพาสเจอไรซ์ นมยูเอชที นมสเตอริไลซ์ และนมข้นจืด กับผลของการให้ความร้อนเพิ่มแก่น้ำนมทั้ง 5 ประเภท ที่ 85 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เปรียบเทียบกับการไม่ได้ความร้อนเพิ่ม ในการทำโยเกิตทั้งรสธรรมชาติ และรสหวาน

2. ผลของ % starter ที่ระดับ 3% 4% และ 5% ที่ร่วมกันกับการใช้ % น้ำตาลในระดับ 4% และ 5% ในการทำโยเกิตรสหวาน

ที่มีต่อค่า pH, titratable acidity, consistency, syneresis และ organoleptic properties ของผลิตภัณฑ์

1. วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance)

Factor B / Factor A	b_1	b_2	b_3.....b_n
a_1	a_1b_1	a_1b_2	a_1b_3 . . . a_1b_n
a_2	a_2b_1	a_2b_2	a_2b_3 . . . a_2b_n
a_3	a_3b_1	a_3b_2	a_3b_3 . . . a_3b_n
.	.	.	.
.	.	.	.
a_n	a_nb_1	a_nb_2	a_nb_3 . . . a_nb_n

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อมีการจัด block เพิ่มเข้ากับตาราง จะได้ดังนี้คือ

ทรีตเมนต์	บล็อค				รวม
	1	2	3	r	
a_1b_1					
a_1b_2					
a_1b_3					
a_1b_n					
a_2b_1					
a_2b_2					
a_2b_3					
a_2b_n					
a_3b_1					
.					
.					
.					
a_nb_n					

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำนวณค่าต่าง ๆ โดยใช้สูตรต่อไปนี้

แหล่งความแปรปรวน (Source of variation)	ผลบวกกำลังสอง (Sum of square = SS)	ขั้นแห่งความเป็นอิสระ (Degree of freedom)
Treatment A	$SS_A = \sum_{i=1}^{a} Y^2 i../br - CT$	(a-1)
Treatment B	$SS_B = \sum_{j=1}^{b} Y^2 .j./ar - CT$	(b-1)
AB	$SS_{AB} = \sum_{i=1}^{a}\sum_{j=1}^{b} Y^2 ij./r - \sum_{i=1}^{a} Y^2 i.. - \sum_{j=1}^{b} Y^2 .j. + CT$	(a-1)(b-1)
Block	$SS_D = \sum_{k=1}^{r} Y^2 ..k/ab - CT$	(r-1)
Error	$SS_E = SS_Y - SS_A - SS_B - SS_{AB} - SS_D$	(ab-1)(r-1)
Total	$SS_Y = \sum_{i=1}^{a}\sum_{j=1}^{b}\sum_{k=1}^{r} Y^2 ijk - CT$	(abr - 1)

CT = correction term = $\sum_{ijk}^{abr} Y^2 ijk/abr$

$n = a \times b \times r$

a = จำนวนทรีตเมนต์ A

b = จำนวนทรีตเมนต์ B

r = จำนวนบล็อค

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Testing hypothesis:

$H: \alpha_i = 0$ ใช้ F-test โดยค่า $f = MS_A/MS_E$

เทียบกับ critical value

$f_{\alpha,(a-1),(ab-1)(r-1)}$

$H: \beta_j = 0$ ใช้ F-test โดยค่า $f = MS_B/MS_E$

เทียบกับ critical value

$f_{\alpha,(b-1),(ab-1)(r-1)}$

$H: \gamma_k = 0$ ใช้ F-test โดยค่า $f = MS_D/MS_E$

เทียบกับ critical value

$f_{\alpha,(r-1),(ab-1)(r-1)}$

$H: (\alpha\beta)_{ij} = 0$ ใช้ F-test โดยค่า $f = MS_{AB}/MS_E$

เทียบกับ critical avlue

$f_{\alpha,(a-1)(b-1),(ab-1)(r-1)}$

เมื่อทราบผลในการตรวจสอบ Hypothesisแล้ว ถ้าผลปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างกันก็ไม่ต้องคำนวณต่อ แต่ถ้าผลปรากฏว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญก็ต้องนำมาคำนวณหาต่อว่า treatment ใดที่แตกต่างกัน โดยใช้การปรับปรุง Tukey's test เช่นเดียวกับในภาคผนวก ง1

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตัวอย่างการวิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบผลของการใช้น้ำนมต่างประเภท กับผลของการให้ความร้อนเพิ่มที่มีต่อค่า pH ของผลิตภัณฑ์โยเกิตรสหวานจากผลการทดลองในตารางที่ 23

A = ประเภทของน้ำนม

A1 = นมคืนรูป

A2 = นมพาสเจอไรซ์

A3 = นมยูเอชที

A4 = นมสเตอริไลซ์

A5 = นมข้นจืด

B = การให้ความร้อนเพิ่ม

B1 = ไม่ให้ความร้อนเพิ่ม

B2 = ให้ความร้อนเพิ่มที่ 85 องศาเซลเซียส 30 นาที

ทรีตเมนต์	ค่าคะแนนเฉลี่ยของpH ของโยเกิต			รวม	เฉลี่ย
	1	2	3		
A1B1	4.25	4.40	4.50	13.15	4.38
A1B2	4.15	4.20	4.25	12.60	4.20
A2B1	4.60	4.45	4.50	13.55	4.52
A2B2	4.20	4.30	4.35	13.85	4.28
A3B1	4.30	4.35	4.50	13.15	4.38
A3B2	4.20	4.30	4.40	12.90	4.30
A4B1	4.30	4.50	4.55	13.35	4.45
A4B2	4.20	4.30	4.50	13.00	4.33
A5B1	4.45	4.60	4.70	13.75	4.58
A5B2	4.35	4.50	4.70	13.55	4.52
รวม	43.0	43.90	44.95	131.85	

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำนวณ

1. Correction term (CT) = $131.85^2/3 \times 10$

   = 579.48075

2. Total SS = $(4.25^2+4.15^2+\_\_\_4.70^2)$ - CT

   = 580.1525-579.48075

   = 0.6718

3. Treatment A SS = $25.75^2+26.40^2+26.05^2+26.35^2+27.30^2/6$-CT

   = 579.70625-579.48075

   = 0.2255

4. Treatment B SS = $66.95^2+64.9^2/15$ - CT

   = 579.62083-579.48075

   = 0.1401

5. Interaction AB SS = $13.15^2+\_\_\_13.55^2/3- A^2- B^2$+CT

   = 579.87583=579.70625=579.62083+

   579.48075

   = 0.0295

6. Block SS = $43.0^2+43.90^2+44.95^2/10$ - CT

   = 579.67125-579.48075

   = 0.1905

7. Error SS = 0.6718=0.2255-0.1401-0.0295-0.1905

8. Treatment A MS = 0.6718/4

   = 0.0564

9. Treatment B MS = 0.1401/1

   = 0.1401

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

10. Interaction AB MS = 0.0295/4

= 7.375×10^{-3}

11. Block MS = 0.1905/2

= 0.09525

12. Error MS = 0.0862/18

= 4.7889×10^{-3}

13. F(treatment A) = $0.0564/4.7889 \times 10^{-3}$

= 11.7720

14. F(tratment B) = $0.1401/4.7889 \times 10^{-3}$

= 29.2552

15. F(AB) = $7.375 \times 10^{-3}/4.7889 \times 10^{-3}$

= 1.5400

16. F(block) = $0.09525/4.7889 \times 10^{-3}$

= 19.8897

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน

SOV	df	SS	MS	F cal	$F_{(0.05,df,18)}$
A	4	0.2255	0.0564	11.77*	2.93
B	1	0.1401	0.1401	29.26*	4.41
AB	4	0.0295	7.3750×10^{-3}	1.54^{ns}	2.93
Block	2	0.1905	0.0953	19.89*	3.55
Error	18	0.0862	4.7889×10^{-3}		
Total	29	0.6718			

จากตาราง Anova สรุปได้ว่า

1. เมื่อใช้น้ำนมต่างประเภทกันในการทำโยเกิตรสหวาน ทำให้โยเกิตที่ได้มี pH ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

2. เมื่อมีการให้ความร้อนแก่น้ำนมเพิ่มที่ 85 องศาเซลเซียส 30 นาที ทำให้ pH ของโยเกิตแตกต่างจากโยเกิตที่ทำจากน้ำนมที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนเพิ่มอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

3. อิทธิพลของความเกี่ยวข้องของน้ำนมต่างประเภทและให้ความร้อนเพิ่มที่ 85 องศาเซลเซียส 30 นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

4. ในแต่ละซ้ำที่ทดลองค่า pH ของโยเกิตที่ได้ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทำการคำนวณต่อโดยใช้การปรับปรุง Tukey's test หาว่าทรีตเมนต์ A คู่ไหนที่ให้ค่า pH ในโยเกิตที่ต่างกัน ในกรณีทรีตเมนต์ B ไม่ต้องหาเพราะมีแค่ B_1 และ B_2 ส่วนบล็อคหรือแต่ละซ้ำของการทดลองไม่ต้องหาความแตกต่างว่าบล็อคไหนต่างกัน การให้บล็อคนี้เพื่อควบคุมการทดลองให้แม่นยำขึ้น เพราะทุกครั้งที่ทำการทดลองซ้ำใช้จุลินทรีย์ (starter) คนละขวดกัน ซึ่งอาจจะมี activity ต่างกัน

1. รวบรวมตารางเดิมให้เหลือแค่ทรีตเมนต์เดียวคือ A

ทรีตเมนต์	ค่าเฉลี่ยของ pH ของไยเกิด			รวม	เฉลี่ย
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2	การทดลองที่ 3		
A_1	8.40	8.60	8.75	27.75	8.5833
A_2	8.80	8.75	8.85	26.40	8.8000
A_3	8.50	8.65	8.90	26.05	8.6833
A_4	8.50	8.80	9.05	26.35	8.7833
A_5	8.80	9.10	9.40	27.30	9.1000
รวม	43.00	43.90	44.95	131.85	

แล้วคำนวณค่า SS, MS และ F ตามวิธีในภาคผนวก ง1 แล้วนำมาใส่ Anova table

SOV	df	SS	MS	F cal	F (0.05,df,8)
Treatment	4	0.4510	0.1128	0.09*	3.84
Block	2	0.3810	0.1905	15.36*	4.46
Error	8	0.0990	0.0124		
Total	14	0.9310			

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. คำนวณค่า standard error of the sample mean

$$SE = \sqrt{MS_E/r}$$

เมื่อ r = จำนวนซ้ำในแต่ละทรีตเมนต์

ดังนั้น $SE = \sqrt{0.012413}$

$= 0.0642$

3. เปิดค่า Significant Studentized Ranges ในภาคผนวก ง3 โดยมีค่า degree of freedom ของ error (ν)= 8 สำหรับค่า 5% (α=0.05) ที่ t ตั้งแต่ 2 ถึง 5 ได้เป็น

ค่า t =	2	3	4	5
ได้ p เป็น	3.26	3.39	3.47	3.52

4. ลำดับค่าเฉลี่ยโดยเรียงจากค่าสูงไปต่ำ

A_5	A_2	A_4	A_3	A_1
9.1000	8.8000	8.7833	8.6833	8.5833

5. นำค่าที่เรียงได้มาหักลบกันแล้วหารด้วย SE แล้วจึงนำมาเปรียบเทียบกับค่า p ที่เปิดได้จากตาราง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

t=5 A_5-A_1 = 9.1000-8.5833 = 0.5167/0.0642 = 8.0483 > 3.52 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

4 A_5-A_3 = 9.1000-8.6833 = 0.4167/0.0642 = 6.4907 > 3.47 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

3 A_5-A_4 = 9.1000-8.7833 = 0.3167/0.0642 = 4.9330 > 3.39 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

2 A_5-A_2 = 9.1000-8.8000 = 0.3000/0.0642 = 4.6729 > 3.26 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

4 A_2-A_1 = 8.8000-8.5833 = 0.2167/0.0642 = 3.3754 < 3.47 แตกต่างไม่มีนัยสำคัญ

3 A_2-A_3 = 8.8000-8.6833 = 0.1167/0.0642 = 1.8178 < 3.39 แตกต่างไม่มีนัยสำคัญ

2 A_2-A_4 = 8.8000-8.7833 = 0.0167/0.0642 = 0.2601 < 3.26 แตกต่างไม่มีนัยสำคัญ

3 A_4-A_1 = 8.7833-8.5833 = 0.2000/0.0642 = 3.1153 < 3.39 แตกต่างไม่มีนัยสำคัญ

2 A_4-A_3 = 8.7833-8.6833 = 0.1000/0.0642 = 1.5576 < 3.26 แตกต่างไม่มีนัยสำคัญ

2 A_3-A_1 = 8.6833-8.5833 = 0.1000/0.0642 = 1.5576 < 3.26 แตกต่างไม่มีนัยสำคัญ

จากการคำนวณนี้ทำให้สามารถสรุปได้ว่า การใช้น้ำนมต่างประเภทในการทำโยเกิตรสหวานนั้น พบว่า นมข้นจืดให้ค่า pH ในโยเกิตต่างกับการใช้นมคืนรูป นมพาสเจอไรซ์ นมยูเอชที นมสเตอริไลซ์ ส่วนที่เหลือนอกจากนี้ไม่แตกต่างกัน

โยเกิตจาก	pH เฉลี่ย
นมข้นจืด (A_5)	9.10^a
นมพาสเจอไรซ์ (A_2)	8.80^b
นมสเตอริไลซ์ (A_4)	8.78^b
นมยูเอชที (A_3)	8.68^b
นมคืนรูป (A_1)	8.58^b

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนร่วมกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95%

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง3

ตารางค่า F และค่า Q

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

STATISTICAL CHART 2

Variance Ratio – 5 Percent Points for Distribution of F

n_1 – Degrees of freedom for numerator

n_2 – Degrees of freedom for denominator

n_2 \ n_1	1	2	3	4	5	6	8	12	24	∞
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	238.9	243.9	249.0	254.3
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.37	19.41	19.45	19.50
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.84	8.74	8.64	8.53
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.04	5.91	5.77	5.63
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.82	4.68	4.53	4.36
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.15	4.00	3.84	3.67
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.73	3.57	3.41	3.23
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.44	3.28	3.12	2.93
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.23	3.07	2.90	2.71
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.07	2.91	2.74	2.54
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	2.95	2.79	2.61	2.40
12	4.75	3.88	3.49	3.26	3.11	3.00	2.85	2.69	2.50	2.30
13	4.67	3.80	3.41	3.18	3.02	2.92	2.77	2.60	2.42	2.21
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.70	2.53	2.35	2.13
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.64	2.48	2.29	2.07
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.59	2.42	2.24	2.01
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.55	2.38	2.19	1.96
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.51	2.34	2.15	1.92
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.48	2.31	2.11	1.88
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.45	2.28	2.08	1.84
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.42	2.25	2.05	1.81
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.40	2.23	2.03	1.78
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.38	2.20	2.00	1.76
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.36	2.18	1.98	1.73
25	4.24	3.38	2.99	2.76	2.60	2.49	2.34	2.16	1.96	1.71
26	4.22	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.32	2.15	1.95	1.69
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.30	2.13	1.93	1.67
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.44	2.29	2.12	1.91	1.65
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.54	2.43	2.28	2.10	1.90	1.64
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.27	2.09	1.89	1.62
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.18	2.00	1.79	1.51
60	4.00	3.15	2.76	2.52	2.37	2.25	2.10	1.92	1.70	1.39
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.17	2.02	1.83	1.61	1.25
∞	3.84	2.99	2.60	2.37	2.21	2.09	1.94	1.75	1.52	1.00

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

STATISTICAL CHART 3

Multiple F Tests
Significant Studentized Ranges for a 5 Percent Level –
Multiple Range Test

n \ P	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	14	16	18	20	50	100
1	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0
2	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09
3	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50
4	3.93	4.01	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02
5	3.64	3.74	3.79	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83
6	3.46	3.58	3.64	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68
7	3.35	3.47	3.54	3.58	3.60	3.61	3.61	3.61	3.61	3.61	3.61	3.61	3.61	3.61	3.61	3.61
8	3.26	3.39	3.47	3.52	3.55	3.56	3.56	3.56	3.56	3.56	3.56	3.56	3.56	3.56	3.56	3.56
9	3.20	3.34	3.41	3.47	3.50	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52
10	3.15	3.30	3.37	3.43	3.46	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.48	3.48	3.48
11	3.11	3.27	3.35	3.39	3.43	3.44	3.45	3.46	3.46	3.46	3.46	3.46	3.47	3.48	3.48	3.48
12	3.08	3.23	3.33	3.36	3.40	3.42	3.44	3.44	3.46	3.46	3.46	3.46	3.47	3.47	3.47	3.47
13	3.06	3.21	3.30	3.35	3.38	3.41	3.42	3.44	3.45	3.45	3.46	3.46	3.47	3.47	3.47	3.47
14	3.03	3.18	3.27	3.33	3.37	3.39	3.41	3.42	3.44	3.45	3.46	3.46	3.47	3.47	3.47	3.47
15	3.01	3.16	3.25	3.31	3.36	3.38	3.40	3.42	3.43	3.44	3.45	3.46	3.47	3.47	3.47	3.47
16	3.00	3.15	3.23	3.30	3.34	3.37	3.39	3.41	3.43	3.44	3.45	3.46	3.47	3.47	3.47	3.47
17	2.98	3.13	3.22	3.28	3.33	3.36	3.38	3.40	3.42	3.44	3.45	3.46	3.47	3.47	3.47	3.47
18	2.97	3.12	3.21	3.27	3.32	3.35	3.37	3.39	3.41	3.43	3.45	3.46	3.47	3.47	3.47	3.47
19	2.96	3.11	3.19	3.26	3.31	3.35	3.37	3.39	3.41	3.43	3.44	3.46	3.47	3.47	3.47	3.47
20	2.95	3.10	3.18	3.25	3.30	3.34	3.36	3.38	3.40	3.43	3.44	3.46	3.46	3.47	3.47	3.47
22	2.93	3.08	3.17	3.24	3.29	3.32	3.35	3.37	3.39	3.42	3.44	3.45	3.46	3.47	3.47	3.47
24	2.92	3.07	3.15	3.22	3.28	3.31	3.34	3.37	3.38	3.41	3.44	3.45	3.46	3.47	3.47	3.47
26	2.91	3.06	3.14	3.21	3.27	3.30	3.34	3.36	3.38	3.41	3.43	3.45	3.46	3.47	3.47	3.47
28	2.90	3.04	3.13	3.20	3.26	3.30	3.33	3.35	3.37	3.40	3.43	3.45	3.46	3.47	3.47	3.47
30	2.89	3.04	3.12	3.20	3.25	3.29	3.32	3.35	3.37	3.40	3.43	3.44	3.46	3.47	3.47	3.47
40	2.86	3.01	3.10	3.17	3.22	3.27	3.30	3.33	3.35	3.39	3.42	3.44	3.46	3.47	3.47	3.47
60	2.83	2.98	3.08	3.14	3.20	3.24	3.28	3.31	3.33	3.37	3.40	3.43	3.45	3.47	3.48	3.48
100	2.80	2.95	3.05	3.12	3.18	3.22	3.26	3.29	3.32	3.36	3.40	3.42	3.45	3.47	3.53	3.53
∞	2.77	2.92	3.02	3.09	3.15	3.19	3.23	3.26	3.29	3.34	3.38	3.41	3.44	3.47	3.61	3.67

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาว เพอชา เฮงตระกูล

เกิด 17 มกราคม 2504 จังหวัดชลบุรี

วุฒิการศึกษา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมี)
มหาวิทยาลัยรามคำแหง, 2524

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย