บทที่ 3

การทดลอง

วัตถุดิบ

เม็ดเลือดแดงสุกร จากบริษัท ไทยแปซิฟิค จังหวัด ปทุมธานี

เตรียมโดย เติมสารละลาย sodium citrate เข้มข้น 5%โดยปริมาตร ในปริมาณ 1 ลิตร ต่อเลือด 10 ลิตร แยกเม็ดเลือดแดงด้วยเครื่องปั่นแยกพลาสมา Westfalia Centrifugal Separator (Model No. DSD 140) เก็บเม็ดเลือดแดงที่ได้ที่อุณหภูมิ (-40^{o}C) -(-35^{o}C) ก่อนการทดลอง ละลายน้ำแข็งในตัวอย่างโดยที่อุณหภูมิ 8-10^{o}C เป็นเวลา 15 ชั่วโมง จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเม็ดเลือดแดงมีอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้อง ซึ่งใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

Boric acid	A.R. grade	(SIGMA)
Copper sulphate	A.R. grade	(SIGMA)
Ferric alum indicator	A.R.grade	(MERCK)
Methyl red	A.R.grade	(MERCK)
Methylene blue	A.R.grade	(MERCK)
Nitric acid	A.R.grade	(SIGMA)
Potassium sulphate	A.R.grade	(ALFA)
Petroleum ether	A.R.grade	(SIGMA)
Silver nitrate	A.R.grade	(MERCK)
Sodium hydroxide	A.R.grade	(SIGMA)
Sulfuric acid	A.R.grade	(SIGMA)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์จุลินทรีย์

EMB agar	(Difco Lab)
Plate count agar	(Difco Lab)
VRBA agar	(Difco Lab)
Peptone	(Becton)

สารเคมีที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเลือดสุกร

Activated carbon powder, particle size 75% < 40 μ	A.R.grade	(MERCK)
Alcalase® 0.6L (0.6 unit/g)	A.R.grade	(NOVO)
Bovine serum albumin	A.R.grade	(MERCK)
Coomassie Brilliant Blue G 250	A.R.grade	(MERCK)
Hydrochloric acid	A.R.grade	(MERCK)
Sodium hydroxide	A.R.grade	(SIGMA)
95% Ethyl alcohol	A.R.grade	(SIGMA)
95% Ortho-phosphoric acid	A.R.grade	(SIGMA)

สารเคมีและวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตลูกชิ้นไก่

กระเทียมปน ตรามือที่ 1	(บริษัท ง่วนสูน จำกัด)
เกลือปน ตราอนามัย	(บริษัท อุตสาหกรรมเกลือบริสุทธิ์ จำกัด)
ไข่ขาวผง	(บริษัท ไข่ผงแปดริ้ว จำกัด)
พริกไทยปน ตรามือที่ 1	(บริษัท ง่วนสูน จำกัด)
ส้นในไก่	
isolated soy protein	(บริษัท ฟู้ดแอนด์คอสเมติค จำกัด)
sodium caseinate	(บริษัท วิคกี้ คอนโซลลิเดต จำกัด)
Tari K® (phosphate mixes)	(บริษัท วิคกี้ คอนโซลลิเดต จำกัด)

อุปกรณ์

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

ชุดย่อยและกลั่นโปรตีน (Kjeldatherm and Vapodest 1, Gerhardt, KT 85)

ชุดสกัดไขมัน (Gerhardt Soxtherm Automatic, S-166)

ตู้อบลมร้อน ช่วงอุณหภูมิ 0-250° C (WTE Binder, E53)

Muffle Furnace ช่วงอุณหภูมิ 500-700°C (Carbolite, MEL 11-2)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์จุลินทรีย์

เครื่องชั่ง top loading (Sartorius, B 3100S)

Autoclave (Tomy, SS-3201)

Incubator ช่วงอุณหภูมิ 25-70 °C (Memmert, B30)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยเพื่อผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเลือดสุกร

เครื่องชั่งละเอียด (Sartorius, A 200S)

Double beam spectrophotometer (Shimadzu, UV 240)

Shaking water bath (DT Hetotherm, CB 60)

Refrigerated centrifuge ช่วงอุณหภูมิ -30 ถึง 40°C

(Heraeus-Christ,Verifuge K)

pH meter (Corning, M 220)

Freeze drier (Virtis Model 25 SRC)

Lab plant spray drier (SD-04)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตและวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของลูกชิ้นไก่

เครื่องผสมอาหารพร้อมอุปกรณ์ในการอัดไส้ (Kenwood, A 907)

เครื่องสับผสมอาหารเอนกประสงค์ (Mulinex masterchef 30)

เครื่องวัดสี Lovibond (Photic-100)

ถุงพลาสติก LDPE ขนาด 150x100 มม. ผนังหนา 0.03 มม.

ถุง aluminum foil laminate (LDPE/Al/LDPE) ขนาด 150x100 มม.

ผนังหนา 0.06 มม.

ห้องเย็น อุณหภูมิ 4±2°C

Texturometer ใช้เซลใบมีดแบบตัด (LlOYD Instrument No.3081)

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและทางจุลินทรีย์ของวัตถุดิบ

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและจุลินทรีย์ของเม็ดเลือดแดงตามวิธี Association of Official Analytical Chemists (1990) สมบัติที่วิเคราะห์ได้แก่

3.1.1 องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เกลือ (AOAC, 1990) และปริมาณธาตุเหล็ก (Sato และ คณะ, 1981)

3.1.2 จุลินทรีย์ ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด coliform bacteria และ Escherichia coli (AOAC, 1990)

3.2 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงด้วยเอนไซม์

3.2.1 ปริมาณเอนไซม์และอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย

เตรียมเอนไซม์ Alcalase® (0.6 unit/g, ความหนาแน่น 1.25 g/ml) ที่อุณหภูมิ 20°C โดยละลายเอนไซม์ Alcalase® (0.6 unit/g) ในน้ำ deionized ในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร เตรียมวัตถุดิบโดยนำเม็ดเลือดแดงมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 300% ปรับ pH เป็น 8.5 ด้วย sodium hydroxide เข้มข้น 4 M. จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์ Alcalase® ในปริมาณที่กำหนด เขย่าใน shaking water bath ใช้ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยการเติมกรด hydrochloric เข้มข้น 4 M จนได้ pH เป็น 4 ที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาปั่นแยกด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 15 นาที แยกส่วนใสออกจากตะกอนโดยการกรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 2

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ได้แก่

-ปริมาณเอนไซม์ Alcalase®(0.6 unit/g) ต่อโปรตีนเม็ดเลือดแดง (E/S) โดยแปรที่ระดับ 2, 4, 6, 8 และ 10 %

-อุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย 35, 45, 55 และ 65°C

เลือกภาวะที่ดีที่สุดโดยวิเคราะห์ค่า DH ตามวิธีของ Compton และ Jones (1985) ซึ่งใช้ปฏิกิริยา Coomasie blue binding ในการวัดปริมาณโปรตีนและ คำนวนค่า DH ดังแสดงในภาคผนวก ข.

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Asymmetric Factorial Experiment ขนาด 5x4 ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Processing System (SPS) (Buhyoff และคณะ, 1983) และ Statistical Analysis Package (STAT PACK) , 1983)

3.2.2 ศึกษาความสัมพันธ์สมการ regression ของ DH กับเวลา

เติมสารละลายเอนไซม์ Alcalase® ตามปริมาณที่สรุปได้จากข้อ 3.2.1 ลงในเม็ดเลือดแดงที่ปรับภาวะให้เหมาะสมแล้ว เขย่าใน shaking water bath ที่อุณหภูมิที่สรุปได้จากข้อ 3.2.1 โดยใช้ความเร็ว 100 รอบต่อนาที หยุดปฏิกิริยาด้วยกรด hydrochloric เข้มข้น 4 M ที่ pH 4.0 อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นแยกด้วยเครื่อง centrifuge ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 15 นาที แยกส่วนใสออกจากตะกอนด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 2

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ได้แก่

-ค่า DH ของไฮโดรไลเซทวัดทุก 10 นาที เป็นเวลา 1 ชม.

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely Randomized Design ทดลอง 6 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPS

วิเคราะห์สมการ Regression ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft Chart 3.0 (Microsoft Chart Version 3.0, 1987)

3.3 ศึกษาสมบัติของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่มีค่า DH ที่กำหนด

ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทใช้ภาวะที่สรุปได้จากข้อ 3.1.1 และ 3.1.2 ให้ได้ DH ที่ต้องการ โดยใช้เวลาจากสมการ regression เป็นตัวกำหนดค่า DH

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ได้แก่

-DH 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 %

เลือกภาวะที่ดีที่สุดโดยใช้ค่าต่อไปนี้เป็นเกณฑ์

3.3.1 ผลผลิตของโปรตีนไฮโดรไลเซทหลังการย่อยสลาย

-protein recovery (วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก)

-heme content recovery (วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก)

3.3.2 สมบัติการเป็นสารเชื่อมในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่

นำไฮโดรไลเซทธรรมดามาใช้ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่ 3% โดยน้ำหนัก ผลิตภัณฑ์ที่ได้วัดค่าต่างๆ ต่อไปนี้

-ปริมาณผลผลิต (yield)

-ค่าแรงตัดขาด (cutting force) โดยเครื่อง texturometer ก่อนวัดลอกไส้ cellulose ออกแล้ววัดแรงตามแนวนอนที่จุดกึ่งกลางของชิ้นผลิตภัณฑ์ วัด 5 ชิ้นต่อตัวอย่าง

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely Randomized Design ทดลอง 2 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPS

สูตรต้นแบบและวิธีการผลิตลูกชิ้นไก่มีดังนี้คือ

-สูตรต้นแบบสำหรับผลิตลูกชิ้นไก่ (จากการศึกษาเบื้องต้น)

ส่วนผสม	ปริมาณ
เนื้อสันไก่	100
น้ำแข็ง	55
เกลือป่น	3.0
Tari ® K7 (phosphate mixes)	0.2

พริกไทยป่น	0.6
กระเทียมป่น	0.5
น้ำตาลทราย	2.8

-กระบวนการผลิตลูกชิ้นไก่

บดเนื้อไก่ที่ผ่านการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4°C ด้วยเครื่องบดขนาดรูตะแกรง 0.005 ม. แล้วหมักด้วยเกลือ และ Tari Complete® K7 ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 4 ชม. จากนั้นนำมาสับละเอียดด้วยเครื่องสับผสมเป็นเวลา 2 นาที เติมน้ำแข็งพร้อมกับโปรตีนไฮโดรไลเซท สับต่อ 2 นาที เติมเครื่องเทศและน้ำตาล สับต่อ 2 นาที จนเป็นเนื้อเดียวกัน ระหว่างสับควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 20°C หลังจากนั้นนำไปอัดใน cellulose casing ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 22 มม. มัดเป็นท่อนยาวท่อนละ 30 มม. ต้มที่อุณหภูมิ 80°C 30 นาที ทำให้เย็นทันที เก็บที่อุณหภูมิ 10°C

3.4 <u>ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดสีโปรตีนไฮโดรไลเซท</u>

3.4.1 ปริมาณ activated carbon powder และอุณหภูมิ

เตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ตามภาวะที่ดีที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 3.3 เติม activated carbon powder และ ปรับอุณหภูมิตามที่กำหนดเขย่าใน shaking water bath ใช้ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นนำไปปั่นแยก activated carbon powder ออก ด้วยเครื่อง centrifuge ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที กรองส่วนใสด้วยกระดาษกรองเบอร์ 2

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ได้แก่

-ปริมาณ activated carbon powder 10, 20 และ 30% ต่อน้ำหนักโปรตีน

-อุณหภูมิที่ใช้แปรเป็น 35, 45, 55 และ 65°C

เกณฑ์ที่ใช้ในการเลือกภาวะที่ดีที่สุดโดยวิเคราะห์ค่าต่อไปนี้

-protein recovery (ใช้วิธีเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1)

-heme content recovery (ใช้วิธีเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1)

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Asymmetric Factorial Experiment ขนาด 3x4 ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPS และ STAT PACK

3.4.2 เวลาที่ใช้ในการกำจัดสี

เตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซท โดยใช้ภาวะที่ดีที่สุดจากข้อ 3.3 กำจัดสีโดยใช้ปริมาณ activated carbon powder และ อุณหภูมิตามที่สรุปได้จากข้อ 3.4.1 แปรเวลาในการกำจัดสีเป็น 20, 40, 60, 80 และ 100 นาที เลือกภาวะที่ดีที่สุด โดยการวิเคราะห์ค่า heme content recovery (ใช้วิธีเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1)

3.4.3 สมบัติการเป็นสารเชื่อมและการยอมรับทางประสาทสัมผัส

เตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซทโดยใช้ภาวะที่ดีที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 3.4.1 และ 3.4.2 นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่ 3% น้ำหนักเนื้อ โดยใช้สูตรและกรรมวิธีการผลิตจากข้อ 3.3.2.1 ผลิตภัณฑ์ที่ได้นำมาวัดค่า binding ability โดยวัดแรงตัดขาดโดยเครื่อง Texturometer และทดสอบทางประสาทสัมผัส การทดสอบผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัส พิจารณาการยอมรับของผู้บริโภค ด้าน สี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชุ่มน้ำ ใช้วิธีทดสอบแบบ scoring test ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 12 คน ให้ 10 หมายถึง ดีที่สุด 1 หมายถึง ด้อยที่สุด และ 5 หมายถึง ปานกลาง

ค่าแรงตัดขาด วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Symmetric Factorial Experiment ขนาด 2x2 ทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPS และ STAT PACK

การทดสอบทางประสาทสัมผัส วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Symmetric Factorial Experiment With Block ขนาด 2x2 ทดลอง 12 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPS และ STAT PACK

3.5 ศึกษาภาวะในการทำแห้งโปรตีนไฮโดรไลเซท

เตรียมตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซทจากภาวะที่ดีที่สุด ที่สรุปได้จากข้อ 3.4.3 นำมาทำแห้งด้วยวิธีและภาวะต่อไปนี้

3.5.1. Spray drying อุณหภูมิลมเข้า 210°C อุณหภูมิลมออก 90°C ความดัน 30 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อัตราการป้อน 400 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง

3.5.2. Freeze drying อุณหภูมิสุดท้าย shelf plate 35°C อุณหภูมิ condenser -30°C

เปรียบเทียบคุณภาพของไฮโดรไลเซทที่ได้กับตัวอย่างที่ไม่ได้ผ่านการทำแห้ง เลือดสด และเลือดผงทำแห้งด้วยวิธี freeze drying เลือกตัวอย่างที่ดีที่สุดโดยวัดค่าต่างๆ ต่อไปนี้คือ

-ผลผลิตที่ได้

-สีของผลิตภัณฑ์ โดยใช้เครื่อง Lovibond Tintometer

-องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เกลือ และ Fe (ใช้วิธีเดียวกับข้อ 3.1.1)

-จุลินทรีย์ ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด coliform bacteria Escherichia coli (ใช้วิธีเดียวกับข้อ 3.1.2)

-สมบัติของโปรตีน ได้แก่

-การละลายในน้ำที่ pH 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 (Delaney, 1977)

-การเป็นสารเชื่อม โดยนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่ซึ่งผลิตจากสูตรและกรรมวิธีตามข้อ 3.2.2.1 ในปริมาณ 3% ของน้ำหนักเนื้อไก่ วัด yield และแรงตัดขาด (cutting force) ของผลิตภัณฑ์โดยเครื่อง Texturometer และทดสอบทางประสาทสัมผัสใช้วิธีเดียวกับข้อ 3.4.3

ค่าผลผลิต, สี, องค์ประกอบทางเคมี, จุลินทรีย์, การละลาย, และแรงตัดขาด วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely Randomized Design ทดลอง 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPS

การทดสอบทางประสาทสัมผัส วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Randomized Complete Block Design ทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPS

3.6 เปรียบเทียบคุณภาพของลูกชิ้นไก่ที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทผง หรือโปรตีนชนิดอื่นเป็นสารเชื่อม

ผลิตลูกชิ้นไก่ใช้สูตรและกรรมวิธีการผลิตตามข้อ 3.3.2 ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทผงตัวอย่างดีที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 3.5 เป็นสารเชื่อมเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ใช้ไข่ขาวผง ISP หรือ caseinate ที่ 3% โดยน้ำหนัก เป็นสารเชื่อม

เกณฑ์ในการตัดสินเลือกตัวอย่างที่ดีที่สุดได้แก่ ค่าผลผลิต แรงตัดขาด โดยเครื่อง Texturometer และคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัส (ใช้วิธีตามข้อ 3.4.3)

ค่าผลผลิต แรงตัดขาด วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely Randomized Design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPS

การทดสอบทางประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPS

3.7 ศึกษาอายุการเก็บของไฮโดรไลเซทผง

ศึกษาอายุการเก็บตัวอย่างที่ดีที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 3.5.1 โดยบรรจุในถุง LDPE และ aluminium foil laminate ถุงละ 50 กรัม ปิดผนึกที่ความดันบรรยากาศ เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง (29-31^{o}C) ระหว่างเก็บสุ่มตัวอย่างทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ มาวิเคราะห์ค่าต่างๆ ต่อไปนี้

เกณฑ์ในการตัดสินภาวะที่ดีที่สุดคือ

-ปริมาณความชื้น ต้องไม่เกิน 12% (สมอ, 2533)

-จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องไม่เกิน 1x10^{5} โคโลนี/กรัม (สมอ, 2533)

-สมบัติการละลายน้ำของโปรตีนที่ pH 7 (ใช้วิธีเดียวกับข้อ 3.5)

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely Randomized Design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPS