

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ห้องค้ประกอบทางเคมี

1.1 การเตรียมตัวอย่าง

ใช้ตัวอย่างบดที่เหลือจากการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ สำหรับการวิเคราะห์ห้องค้ประกอบทางเคมี

1.2 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยวิธีอบในตู้อบไฟฟ้า (A.O.A.C., 1990)

อุปกรณ์

1. ตู้อบอุณหภูมิ 105°ซ
2. ภาชนะหาความชื้น (จานอลูมิเนียม หรือมฝา)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 105°ซ เวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็น จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
2. กระทำเช่นข้อ 1 ซ้ำ จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มก.
3. ชั่งตัวอย่างอาหารที่ต้องการหาความชื้นให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1-3 ก. ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้วนำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105°ซ นาน 5-6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่างนั้น จากนั้นนำกลับไปเข้าตู้อบอีกและกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มก.

การคำนวณ

$$M = [(W_1 - W_2) \times 100] / W_1$$

เมื่อ M คือ ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)

W_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

W_2 คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

1.3 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (A.O.A.C., 1990)

อุปกรณ์

1. เตาเผา (muffle furnace)
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

วิธีการ

1. เตาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 °ซ เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ปิดสวิทซ์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาลดลงก่อนแล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่องยาให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. เตาซ้ำอีกครั้งละประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้ง 2 ครั้ง ติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มก.

3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 ก. ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่รู้น้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไปเผาในตู้วันจนหมดควันแล้วจึงนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 600 °ซ และกระทำเช่นเดียวกับข้อ 1-2

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

1.4 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน วิธีเจลดาล (A.O.A.C., 1990)

อุปกรณ์

1. ขวดย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask) ขนาด 250-300 มล.
2. ชุคกลั่นโปรตีน
3. ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มล.
4. ขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มล.
5. บีเบตขนาด 5, 10 มล.
6. บิวเรตขนาด 25 มล.
7. ลูกแก้ว
8. กระจกทรง

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. สารเร่งปฏิกิริยา ใช้คอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO_4) 1 ส่วนต่อโบแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 9 ส่วน
3. สารละลายของโซเดียมไฮดรอกไซด์และโซเดียมไฮโอซัลเฟต เข้มข้นร้อยละ 60 ซึ่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ 60 ก. และโซเดียมไฮโอซัลเฟต 5 ก. ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 มล.
4. สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ละลายกรดบอริก 40 ก. ด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มล.
5. สารละลายกรดเกลือ เข้มข้น 0.02 นอร์มัล
6. อินดิเคเตอร์ใช้ fashiro indicator เตรียมเป็น stock solution (ซึ่งเมทิลลิ้นบูล (methylene blue) 0.2 ก. ละลายในเอทานอล (ethanol) 200 มล. และซิงเมทิลเรด (mehtyl red) 0.05 ก. ละลายในเอทานอล 50 มล. เวลาใช้นำมาผสมในอัตราส่วน stock solution 1 ส่วน : เอทานอล 1 ส่วน : น้ำกลั่น 2 ส่วน

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหารในบีกเกอร์ให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 1-2 ก. ถ่ายลงในขวดย่อยโปรตีน โดยใช้กรดซัลฟริกเข้มข้น 20 มล. ล้างไล่ตัวอย่าง
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา 5 ก.
3. ใส่ลูกแก้ว 2 เม็ด นำไปย่อยบนเตาไฟในตู้ควันทันจนกระทั่งได้สารละลายใส ปล่อยให้เย็น
4. เติมน้ำกลั่นร้อนลงไปล้างบริเวณคอขวดให้ทั่วและให้ความร้อนต่อไปจนหมดควันทันของกรดซัลฟริก ปล่อยให้เย็น
5. นำมาถ่ายลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มล. ใช้น้ำกลั่นล้างขวดย่อยโปรตีนให้หมดสารละลายตัวอย่างแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มล.
6. จัดอุปกรณ์กลั่น
7. นำขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มล. เติมกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ลงไป 5 มล. ผสมน้ำกลั่น 5 มล. และเติมอินดิเคเตอร์เรียวบรียแล้วไปรองรับของเหลวที่จะกลั่นโดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดนี้
8. ตูดสารละลายตัวอย่างด้วยปิเปตขนาดความจุ 10 มล. ใส่ลงในช่องใส่ตัวอย่าง แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป 20 มล.
9. กลั่นประมาณ 10 นาที ล้างปลายอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ
10. ไตเตรตสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายกรดเกลือที่มีความเข้มข้น 0.02 นอร์มัล จนได้จุดยุติเป็นสีม่วง
11. ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกันตั้งแต่ข้อ 2-10

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(a-b) \times N \times 14 \times \text{Factor}}{W}$$

เมื่อ a = ปริมาณของสารละลายกรดเกลือที่ใช้เป็น มล.

b = ปริมาณของสารละลายกรดเกลือที่ใช้กับ blank เป็น มล.

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือเป็น นอร์มัล

W = น้ำหนักตัวอย่างเป็น ก.

Factor = ตัวเลขที่เหมาะสม 6.25
(น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของไนโตรเจน = 14.007)

1.5 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Egan, et al., 1981)

อุปกรณ์

1. กรวยแยก ขนาด 250 มล.
2. เครื่องปั่น (blender)
3. ปีกเกอร์ขนาด 250 มล.
4. กระบอกตวงขนาด 250 มล.
5. เครื่อง water bath อุณหภูมิ 50-60 °ซ
6. ตู้อบ อุณหภูมิ 80 °ซ

สารเคมี

1. สารละลายผสมระหว่างคลอโรฟอร์ม 2 ส่วน : เมทานอล 1 ส่วน

วิธีการ

1. ใส่ตัวอย่างอาหารที่ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 10-20 ก.ลงในเครื่องปั่น เติมสารละลายผสมระหว่างคลอโรฟอร์มและเมทานอลประมาณ 3.5 เท่าของน้ำหนักตัวอย่าง ปั่นให้ผสมกัน 1 นาที เทส่วนผสมลงในกรวยแยก
2. ล้างเครื่องมือปั่นด้วย สารละลายผสมของคลอโรฟอร์มและเมทานอล 50 มล. เทส่วนผสมลงในกรวยแยก
3. เขย่าให้เข้ากัน 2-3 นาที ตั้งทิ้งให้แยกชั้น
4. ไซส่วนล่างที่เป็นคลอโรฟอร์มลงในปีกเกอร์ที่ทราบน้ำหนัก(อบปีกเกอร์ที่ 105 °ซ ปล่ยทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก)
5. ระเหยคลอโรฟอร์มโดยตั้งบนอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 50-60 °ซ
6. นำไปอบที่ตู้อบอุณหภูมิ 80 °ซ เวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำออกมาปล่ยทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งบันทึกน้ำหนัก

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน (ก.)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างอาหาร (ก.)}} \times 100$$

1.6 ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซिटริก (Egan, et al., 1981)**อุปกรณ์**

1. ขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มล.
2. บิวเรตขนาด 25 มล.
3. บีเบตขนาด 10 มล.

สารเคมี

1. ฟีนอล์ฟทาลีน
2. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มัล

วิธีการ

1. ใช้ตัวอย่างที่บั่นละเอียด 10 มล. ใส่ขวดชมพู่ขนาด 50 มล.
2. เจือจางด้วยน้ำกลั่น 40 มล. แล้วเติมฟีนอล์ฟทาลีน 2 หยด นำไป

ไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล

การคำนวณ

$$A = \frac{\text{ไทเทรต์} \times N \times n \times 100 \times 50}{\text{มก. ของตัวอย่างตัวอย่าง} \times 100}$$

เมื่อ A = ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิทริก (ร้อยละ)

N = นอร์มอลของโซเดียมไฮดรอกไซด์

n = มิลลิอิควิวาเลนต์ของกรดซิทริก = 0.07

1.7 การหาค่าความชื้น วิธีวิธีการหา TBA No. (Egan, et al., 1981)

อุปกรณ์

1. ชุคกลิ่น
2. ลูกแก้ว
3. เต้าไฟฟ้า
4. บีเปต
5. หลอดทดสอบชนิดมีจุก
6. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

สารเคมี

1. สารละลายกรดเกลือเข้มข้น 4 นอร์มัล.
2. สารป้องกันการเกิดฟอง (antifoam liquid)
3. สารละลายกรดไฮโดรโบมิทริก ละลาย 0.2883 ก. ของกรดไฮโดรโบมิทริก ลงในกรดอะซิติกเข้มข้น ร้อยละ 90

วิธีการ

1. แห่ตัวอย่างอาหาร 10 ก. ด้วยน้ำกลั่น 50 มล. เป็นเวลา 2 นาที แล้ว ถ่ายลงในขวดกลั่นน้ำ 47.5 มล. ล้างภาชนะที่ใส่ตัวอย่างแล้วเทลงขวด
2. เติม 2.5 มล. ของสารละลายกรดเกลือความเข้มข้น 4 นอร์มัล (pH ควรจะเป็น 1.5) แล้วเติมลูกแก้วและสารป้องกันการเกิดฟอง
3. กลั่นน้ำให้ได้ของเหลว 50 มล. ภายใน 10 นาที
4. ดูดสารที่กลั่นได้ 5 มล. ลงในหลอดทดสอบที่มีจุกปิด
5. เติม 5 มล. ของสารละลายกรดไฮโดรโบมิทริก เขย่าและให้ความร้อน ด้วยน้ำเดือดเป็นเวลา 35 นาที
6. ทำ blank โดยวิธีเดียวกัน ใช้ 5 มล. ของน้ำกลั่นให้ความร้อน 35 นาที
7. นำตัวอย่างและ blank ที่เย็นแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโน

เมตร

การคำนวณ

ค่าความทึบ (มก.มาโลอัลดีไฮด์/กก.ตัวอย่าง) = $\frac{7.8 \times \text{ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่หัก blank แล้ว}}{\text{ค่าดูดกลืนแสงของ}}$

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ห้องค์ประกอบทางจุลินทรีย์

2.1 การเตรียมตัวอย่าง

สุ่มตัวอย่างจากห้องเย็นอุณหภูมิ - 20°ซ อายุการเก็บรักษา 0,1,2 และ 3 เดือน เปิดปากถุงด้วยมีดที่ปลอดเชื้อ บดตัวอย่างทั้งหมดด้วยเครื่องบดที่ปลอดเชื้อ ให้เป็นเนื้อเดียวกัน

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Viable Count)

โดยวิธี pour plate (Hasegawa , 1987)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Plate count agar (PCA)
2. 0.85% normal saline solution

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง
 - 1.1 ชั่งตัวอย่างบด 10 ก. ลงในขวดแก้วที่มี 0.85% normal saline solution ที่ปลอดเชื้อจำนวน 90 มล. แล้วเขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที
 - 1.2 ทำการเจือจางให้เป็น 1:100, 1:1000 และ 1:10000 ตามลำดับ โดยใช้ 0.85% normal saline solution
2. การตรวจนับจุลินทรีย์
 - 2.1 คุดตัวอย่างจากข้อ 1.3 อย่างละ 1 มล. (ทำ 2 ซ้ำ) ลงในจานเพาะเชื้อ ที่ฆ่าเชื้อแล้ว
 - 2.2 เททับด้วยอาหาร PCA (Plate count agar) ประมาณ 15 มล.

2.3 หมุนจานเพาะเชื้อเบาๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แห้งตัวประมาณ 15 นาที

2.4 ออบเพาะเชื้อที่ 35°ซ ในลักษณะคว่ำจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2.5 ตรวจสอบจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนประมาณ 30-300 โคโลนี รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง (CFU/g)

$$\text{CFU/g} = \text{Average no. of colonies} \times \text{dilution factor}$$

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณ Coliforms และ *Escherichia coli* (Hasegawa, 1987)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Lauryl sulphate tryptose broth (LST)
2. EC medium
3. Levine's Eosin Methylene Blue Agar (EMB)
4. Lactose broth

วิธีการ

1. Presumptive test

ใช้ตัวอย่างที่เตรียมเช่นเดียวกับการหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (ข้อ 1.1-1.2) โดยใช้ปิเปตที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้วดูดตัวอย่างละ 1 มล. ใส่ในหลอดทดสอบที่มี Lauryl sulphate tryptose broth (LST) พร้อม Durham tube ทำตัวอย่างละ 3 ความเจือจาง (1:10, 1:100 และ 1:1000) ความเจือจางละ 3 หลอด ออบเพาะเชื้อที่ 35-37°ซ เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจสอบผลหลอดทดสอบที่เกิดแก๊สใน Durham tube

2. Confirmed test

เลือกหลอดที่เกิดแก๊สมาทำ confirmed test โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่สนไฟฆ่าเชื้อแล้วจุ่มลงในหลอดที่เลือกไว้ แล้วเขี่ยลงในหลอดเลี้ยงเชื้อที่มี EC medium (E.C) พร้อม Durham tube บ่มที่ 35°ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการวิเคราะห์ หลอดที่เกิดแก๊ส อ่านผลเป็น coliforms ในรูป Most Probable Numbers (MPN)

3. Complete test

เลือกหลอด EC ที่เกิดแก๊ส เขี่ยลงบนจานอาหาร Levine's Eosin Methylene Blue (EMB) agar บ่มที่ $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจผล โคโลนีที่มีสีเขียวเหลืองมันที่มีสีเข้มตรงกลาง (Metallic sheen) โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อ แยกเอาโคโลนีเขียวเหลืองมันในแต่ละจานเพาะเชื้อ ใส่ลงในหลอด Lactose broth ที่มี Durham tube บ่มที่ $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจผลการทดลองโดย สังเกตแก๊สที่เกิดขึ้นในหลอด Lactose broth นำเชื้อไปทดสอบการสร้างอินโดล, MR VP และการใช้ citrate ซึ่งถ้าเป็น E. coli จะให้ผลเป็น ++ -- ตามลำดับ

2.4 การวิเคราะห์ Salmonella spp. (Hasegawa, 1987)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Lactose Broth
2. Selenite Cysteine Broth (SCB)
3. Tetrathionate Brilliant Green Broth (TBGB)
4. Brilliant Green Agar (BGA)
5. Brilliant Sulfite Agar (BSA)
6. Triple Sugar Iron Agar (TSI)
7. Lysine Iron Agar (LIA)

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง (Pre-enrichment)
 - 1.1 ชั่งตัวอย่างบด 10 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกที่ปลอดเชื้อ
 - 1.2 เติม lactose broth จำนวน 90 มล. แล้วเขย่าให้เป็นเนื้อ

เดียวกัน

- 1.3 อบเพาะเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

2. Selective enrichment

- 2.1 ผสม pre-enrichment culture ให้เข้ากัน แล้วดูดมา 1 มล. เติมนลงใน TBGB 10 มล. และ SCB 10 มล. อย่างละหลอด

2.2 อบเพาะเชื้อในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ $43 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3. การเพาะเชื้อใน selective agar

3.1 นำตัวอย่างจาก selective enrichment medium (2.2) มาเพาะลงบน BGA และ BSA plates

3.2 อบเพาะเชื้อที่ 35°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3 ตรวจสอบผลลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้นดังนี้

- อาหาร BGA : โคโลนีของ Salmonella คือ ไม่มีสีหรือทึบ หรือมีสีชมพูแดง ในขณะที่อาหารมีสีชมพูหรือแดง
- อาหาร BSA : โคโลนีของ Salmonella จะมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ บางครั้งอาจมีโคโลนีสะท้อนแสงอาหารรอบ ๆ โคโลนีมีสีน้ำตาล

4. การจำแนกและการทดสอบทางชีวเคมี

4.1 เลือกเฉพาะโคโลนีที่คาดว่าจะ เป็น Salmonella จากอาหาร BGA และ BSA ถ่ายลงใน TSI และ LIA โดย streaking the slant และ stabbing the butt.

4.2 อบเพาะเชื้อที่ 35°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.3 ลักษณะเฉพาะของ Salmonella บนอาหาร TSI จะพบสีแดงที่ slant (สภาพเป็นด่าง) และพบสีเหลืองที่ butt (สภาพเป็นกรด) อาจจะมีการสร้าง H_2S ด้วยหรือไม่ก็ได้ (สังเกตสีดำของ butt) ลักษณะเฉพาะของ Salmonella บนอาหาร LIA จะพบเชื้อสามารถเจริญได้ทั้งบริเวณผิวและตามรอยที่แทงลูป อาหารจะมีสีม่วงทั่วหลอด ถ้ามีการสร้าง H_2S จะเห็นเป็นสีดำ

2.5 การวิเคราะห์ Staphylococcus aureus (Hasegawa, 1987)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Baird Parker medium (BP)
2. Brain Heart Infusion broth (BHI)
3. Rabbit plasma

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง
ทำเช่นเดียวกับการหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (ข้อ 1.1-1.2)
2. การตรวจหา *S. aureus* (Spread plate method)
 - 2.1 คูดตัวอย่างจากข้อ 1.3 จากระดับความเจือจางที่เหมาะสม จำนวน 0.1 มล. ลงบน BP agar plate จำนวน 2 ซ้ำ
 - 2.2 ใช้แท่งแก้วปราศจากเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วจาน
 - 2.3 อบเพาะเชื้อที่ 35°ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
 - 2.4 ตรวจสอบลักษณะโคโลนี เมื่อครบ 30 ชั่วโมง เลือกนับโคโลนีที่มีสีดำขอบขาว และแวงใสรอบโคโลนีมีบริเวณใส (clear zone) เลือกจานที่มีเชื้อเจริญ 30-300 โคโลนี
 - 2.5 ทำเครื่องหมายตำแหน่งของโคโลนีที่มีลักษณะดังกล่าว แล้วนำจานอาหารไปบ่มต่ออีก 18 ชั่วโมง ให้นับโคโลนีที่มีสีดำแวงที่มีหรือไม่มีขอบขาวและไม่มีบริเวณใสด้วย
 - 2.6 ถ่ายโคโลนีที่คาดว่า เป็น *S. aureus* ลงใน BHI แล้วอบเพาะเชื้อที่ 35°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
 - 2.7 คูดตัวอย่างจาก 2.6 จำนวน 0.1 มล. ลงในหลอดทดสอบแล้วเติม rabbit plasma จำนวน 0.3 มล. (ใช้ sterile tube)
 - 2.8 อบเพาะเชื้อที่ 35°ซ แล้วตรวจผลการแข็งตัวของพลาสมาหลังจาก 4 ชั่วโมง ถ้าพลาสมายังไม่แข็งตัวให้เก็บหลอดไว้ที่อุณหภูมิห้องแล้วตรวจผลอีกครั้ง เมื่อครบ 2 ชั่วโมง

ภาคผนวก ค การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

1. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสน้ำชุปปรุงรสต้มยำกุ้ง

1.1 การเตรียมตัวอย่าง

ตักน้ำชุปปรุงรสต้มยำกุ้ง (มีอุณหภูมิประมาณ 60-70 °C) ประมาณ 40 มล. ใส่ถ้วยชิม สุ่มให้ตัวเลข โดยใช้ตารางสุ่ม จัดตัวอย่างให้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 60 คน พร้อมขึ้นแดงกวางและน้ำเย็นธรรมดาสำหรับล้างปาก

1.2 แบบทดสอบชิม

ชื่อผู้ทดสอบชิม : ตัวอย่าง : น้ำชุปปรุงรสต้มยำกุ้ง
วันที่ทดสอบชิม เวลา

กรุณาชิมตัวอย่าง แล้วขีดเส้นตั้งฉากกับเส้นแนวนอนของแต่ละคุณลักษณะ ณ จุดซึ่งตรงกับความรู้สึกของท่านที่มีต่อตัวอย่างพร้อมกับเขียนอักษร S บนเส้นแนวนอนและขีดเส้นตั้งฉากตรงตำแหน่งซึ่งแสดงระดับที่ท่านต้องการ เขียนอักษร I กำกับเส้นดังกล่าว

คุณลักษณะ

สีของน้ำชุป

น้อย

มาก

กลิ่นของน้ำชุป

น้อย

มาก

กลิ่นกุ้ง

น้อย

มาก

กลิ่นเครื่องเทศ

น้อย

มาก

รสเปรี้ยว

น้อย

มาก

รสเผ็ด

น้อย

มาก

รสเค็ม		
	น้อย	มาก
คุณลักษณะรวม		
	น้อย	มาก
ข้อเสนอแนะ	

2. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสกึ่งอุตสาหกรรมและหัตถ์พวงหลังลูก

2.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างหลังลูกมาให้ตัวเลขโดยตารางเลขสุ่ม จัดตัวอย่างพร้อมกับน้ำเย็นธรรมดาไว้ล้างปากก่อนและหลังชิมแต่ละตัวอย่าง ให้ผู้ทดสอบชิม 9 คน

2.2 แบบทดสอบชิมกึ่งอุตสาหกรรม

ในการทดสอบชิมเพื่อพิจารณาคุณภาพการยอมรับของตัวอย่างกึ่งอุตสาหกรรม ขอให้พิจารณาจากปัจจัยคุณภาพดังนี้

1. สี : กุ้งควรมีสีส้มหรือแดงสดตามธรรมชาติของกุ้ง
2. กลิ่นรส : กุ้งคุณภาพดีควรมีกลิ่นหอมของเนื้อกุ้งสุก
3. รสชาติ : รสของกุ้งคุณภาพดีควรมีรสหอมหวานของเนื้อกุ้งสุก
4. เนื้อสัมผัส : กุ้งคุณภาพดีควรมีเนื้อสัมผัสยืดหยุ่น ด้านทานแรงกัดเคี้ยว มีความฉ่ำ ไม่นิ่ม และ หรือเปื่อยยุ่ย

5. คุณลักษณะรวม : เป็นการพิจารณาคุณภาพดังกล่าวทั้งหมดโดยรวม

เกณฑ์ในการให้คะแนน

ชอบมากที่สุด	=	9
ชอบมาก	=	8
ชอบปานกลาง	=	7
ชอบเล็กน้อย	=	6
เฉย ๆ	=	5
ไม่ชอบเล็กน้อย	=	4
ไม่ชอบปานกลาง	=	3
ไม่ชอบมาก	=	2
ไม่ชอบมากที่สุด	=	1

ตารางบันทึกคะแนน

ชื่อ.....วันที่.....

ตัวอย่าง กุ้งกุลาดำลวก หมายเลขตัวอย่าง.....

คุณลักษณะ

ตัวอย่าง

สี กลิ่น รส เนื้อสัมผัส ลักษณะรวม

2.3 แบบทดสอบชิมเห็ดหลังลวก

โปรดอ่านคำบรรยายให้เข้าใจก่อนชิม จักขอบคุณยิ่ง

ในการทดสอบชิมเพื่อพิจารณาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเห็ดฟางที่ผ่านการลวกมาแล้ว ขอให้พิจารณาจากปัจจัยคุณภาพดังนี้

1. สี : ควรจะมีสีเช่นเดียวกับสีของเห็ดฟางตามธรรมชาติ (ผิวด้านนอกมีสีคล้ำถึงดำ ขณะที่เนื้อด้านในมีสีครีมคล้ายสีน้ำมัน)
2. กลิ่นรส : เห็ดลวกที่ดีไม่ควรมีกลิ่นเห็ดที่รุนแรง รวมทั้งไม่ควรมีกลิ่นผิดปกติอื่น ๆ
3. เนื้อสัมผัส : พิจารณาถึงความนุ่ม ความฉ่ำของเห็ด เห็ดลวกที่มีคุณภาพดี เนื้อสัมผัสต้องไม่และหรือเหนียว หรือมีลักษณะยืดหยุ่นคล้ายพองน้ำ
4. คุณลักษณะรวม : เป็นการพิจารณาคุณภาพดังกล่าวทั้งหมดโดยรวม

เกณฑ์ในการให้คะแนน

ชอบมากที่สุด	=	9
ชอบมาก	=	8
ชอบปานกลาง	=	7
ชอบเล็กน้อย	=	6

เฉย ๆ	=	5
ไม่ชอบปานกลาง	=	3
ไม่ชอบมาก	=	2
ไม่ชอบมากที่สุด	=	1

ตารางบันทึกคะแนน

ชื่อ วันที่.....

ตัวอย่าง : เห็ดฟางลวก

ตัวอย่าง	คุณลักษณะ				
	สี	กลิ่น	รส	เนื้อสัมผัส	ลักษณะรวม
_____	_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____	_____

3. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสต้มยำกุ้งแช่เยือกแข็ง

3.1 การเตรียมตัวอย่าง

สุ่มตัวอย่างต้มยำกุ้งแช่เยือกแข็งจากห้องเย็นอุณหภูมิ -20°C มาละลายและอุ่นด้วยตู้อบไมโครเวฟ ที่ระดับพลังงาน "LOW" เป็นเวลา 16 นาที เปิดปากถุงและตัดไก่ใส่ถ้วยชิมให้มีน้ำซุ้ประมาณ 80 มล. กุ้งกุลาดำ 1-2 ตัว และเห็ดฟาง 2 ชิ้น สุ่มให้ตัวเลขโดยใช้ตารางสุ่ม จัดตัวอย่างให้ผู้ทดสอบชิมพร้อมแต่งกวางและน้ำเย็นสำหรับล้างปากก่อนและระหว่างการทดสอบชิม

3.2 แบบทดสอบชิม

โปรดอ่านคำบรรยายให้เข้าใจก่อนทำการทดสอบชิม

ในการทดสอบชิมเพื่อพิจารณาคุณภาพการยอมรับของตัวอย่างขอให้พิจารณาจากปัจจัยคุณภาพดังนี้

สี : ต้มยำกุ้งควรมีสีแดงถึงส้มที่ไม่เข้มมากนัก อันเป็นสีตามปกติของต้มยำกุ้งที่ได้จากตัวกุ้ง และเครื่องปรุงรสที่ใช้ในการเตรียม

กลิ่น : ต้มยำกุ้งที่ดีควรมีกลิ่นหอมของกุ้งสุก มีกลิ่นมะนาว และไม่ควรมีกลิ่นผิดปกติต่าง ๆ เช่น กลิ่นหืน หรือกลิ่นเครื่องเทศที่รุนแรงผิดปกติ

รสชาติ : พิจารณาถึงความกลมกล่อมของรสระหว่างรสเปรี้ยว รสเค็ม รสเผ็ด และรสหวาน

คุณลักษณะรวมของเห็ด : พิจารณาปัจจัยคุณภาพทางประสาทสัมผัส ของชิ้นเห็ดโดยรวม

คุณลักษณะรวมของกุ้ง : พิจารณาปัจจัยคุณภาพทางประสาทสัมผัส ของกุ้งโดยรวม

คุณลักษณะรวมของต้มยำกุ้ง : เป็นการพิจารณาปัจจัยที่กล่าวมาข้างต้นโดยรวม สำหรับการให้คะแนนมีเกณฑ์ดังนี้

ชอบมากที่สุด	=	9
ชอบมาก	=	8
ชอบปานกลาง	=	7
ชอบเล็กน้อย	=	6
เฉย ๆ	=	5
ไม่ชอบเล็กน้อย	=	4
ไม่ชอบปานกลาง	=	3
ไม่ชอบมาก	=	2
ไม่ชอบมากที่สุด	=	1

ตารางบันทึกคะแนน

คุณลักษณะ	รหัสตัวอย่าง	
	_____	_____
สี	_____	_____
กลิ่น	_____	_____
รสชาติ	_____	_____
คุณลักษณะรวมของเห็ด	_____	_____
คุณลักษณะรวมของกุ้ง	_____	_____
คุณลักษณะรวมของต้มยำ	_____	_____

** สำหรับคุณลักษณะรวมของกุ้งและเห็ด ถ้าให้คะแนนต่ำกว่า 6 กรุณา
บันทึกในช่องหมายเหตุด้วยว่าปัจจัยคุณภาพใดของเห็ดหรือกุ้งที่ท่านไม่ชอบมากที่สุด
หมายเหตุ.....

.....

ภาคผนวก ง ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ตารางผนวก 1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการประเมิน
คุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำซุปรุงรสต้มยำกุ้ง

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F
สี	rep	54	0.141	0.003	1.22ns
	treatment	1	0.243	0.243	113.65**
	error	54	0.116	0.002	
	total	109	0.500		
กลิ่นกุ้ง	rep	54	0.273	0.005	<1
	treatment	1	0.207	0.207	26.58**
	error	54	0.420	0.008	
	total	109	0.900		
กลิ่นเครื่องเทศ	rep	54	0.047	0.001	<1
	treatment	1	0.028	0.028	29.19**
	error	54	0.052	0.001	
	total	109	0.127		

ตารางผนวก 1(ต่อ) ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการประเมิน
คุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำชุปปรุงรสต้มยำกุ้ง

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F
รสเปรี้ยว	rep	54	0.049	0.001	1.15ns
	treatment	1	0.113	0.113	143.36**
	error	54	0.043	0.001	
	total	109	0.205		
รสเผ็ด	rep	54	0.065	0.001	1.22ns
	treatment	1	0.001	0.000	<1
	error	54	0.043	0.001	
	total	109	0.109		
รสเค็ม	rep	54	0.086	0.002	1.79*
	treatment	1	0.000	0.000	<1
	error	54	0.048	0.001	
	total	109	0.135		
คุณลักษณะรวม	rep	54	0.086	0.002	1.79
	treatment	1	0.000	0.000	<1
	error	54	0.048	0.001	
	total	109	0.133		

หมายเหตุ ns : ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

* : ต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** : ต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวก 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลผลิตของกุ่มกลาดำ และเห็ดฟางหลังการลวก

	SV	DF	SS	MS	F	
กุ่มกลาดำ	treatment	5	31.42	6.28	6.23	**
	method (M)	2	28.21	14.11	13.97	**
	blanch (B)	1	3.17	3.17	3.15	ns
	M x B	2	0.04	0.02	< 1	
	error	12	12.11	1.01		
	total	17	43.54			
เห็ดฟาง	treatment	3	68.61	22.87	17.27	**
	treat	1	54.57	54.57	41.21	**
	soaking (s)	1	10.28	10.28	7.77	**
	b x s	1	3.75	3.75	2.83	ns
	error	6	10.59	1.32		
	total	11	79.20			

หมายเหตุ ns : ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ
 * : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 ** : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวก 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการประเมินคุณภาพ
ทางประสาทสัมผัสของกึ่งกูลาดำหลังลวก

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F
สี	rep	14	15.82	1.13	18.94 **
	treatment	5	125.82	25.16	421.64 **
	dip(D)	2	125.49	62.74	1051.30 **
	blanch(B)	1	0.04	0.04	<1
	DxB	2	0.29	0.14	2.42 ns
	error	70	4.18	0.06	
	total	89	145.82		
กลิ่นรส	rep	14	9.00	0.64	6.82 **
	treatment	5	26.90	5.38	57.06 **
	dip(D)	2	26.86	13.43	142.47 **
	blanch(B)	1	0.01	0.01	<1
	DxB	2	0.02	0.01	<1
	error	70	6.60	0.94	
	total	89	42.50		
รสชาติ	rep	14	3.82	0.27	2.38 **
	treatment	5	130.62	26.12	227.33 **
	dip(D)	2	126.82	63.14	551.78 **
	blanch(B)	1	2.84	2.84	24.75 **
	DxB	2	0.96	0.48	4.16 **
	error	70	8.04	0.11	
	total	89	142.49		

ตารางผนวก 3(ต่อ) ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการประเมินคุณภาพ
ทางประสาทสัมผัสของกึ่งกลาดำหลังลวก

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F
เนื้อสัมผัส	rep	14	1.26	0.09	<1
	treatment	5	12.80	2.56	11.54 **
	dip(D)	2	12.20	6.10	27.49 **
	blanch(B)	1	0.04	0.04	<1
	DxB	2	0.55	0.27	1.25
	error	70	15.53	0.22	
	total	89	29.60		
คุณลักษณะรวม	rep	14	11.00	0.78	8.33 **
	treatment	5	30.90	6.18	65.55 **
	dip(D)	2	30.86	15.43	163.69 **
	blanch(B)	1	0.01	0.01	<1
	DxB	2	0.02	0.01	<1
	error	70	6.60	0.94	
	total	89	48.50		

หมายเหตุ ns : ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

* : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวก 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการประเมินคุณภาพ
ทางประสาทสัมผัสของเห็ดฟางหลังลวก

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F
สี	rep	14	4.10	0.29	1.15 ns
	treatment	3	0.05	0.01	<1
	dip(D)	1	0.01	0.01	<1
	blanch(B)	1	0.01	0.01	<1
	DxB	1	0.01	0.01	<1
	error	42	10.70	0.25	
	total	59	14.85		
กลิ่น	rep	14	3.73	0.26	1.05 ns
	treatment	3	0.58	0.19	<1
	dip(D)	1	0.15	0.15	<1
	blanch(B)	1	0.41	0.41	1.64 ns
	DxB	1	0.02	0.02	0.02 ns
	error	42	10.66	0.25	0.25
	total	59	14.98		
เนื้อสัมผัส	rep	14	0.23	0.02	<1
	treatment	3	0.32	0.11	1.82 ns
	dip(D)	1	0.02	0.02	<1
	blanch(B)	1	0.15	0.15	2.59 ns
	DxB	1	0.15	0.15	2.59 ns
	error	42	2.43	0.06	
	total	59	2.98		

ตารางผนวก 4(ต่อ) ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการประเมินคุณภาพ
ทางประสาทสัมผัสของเห็ดฟางหลังลวก

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F	
คุณลักษณะรวม	rep	14	11.90	0.85	17.00	**
	treatment	3	0.40	0.13	2.67	ns
	dip(D)	1	0.06	0.06	1.33	ns
	blanch(B)	1	0.06	0.06	1.33	ns
	DxB	1	0.26	0.26	5.33	*
	error	42	2.10	0.50		
	total	59	14.40			

หมายเหตุ ns : ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

* : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวก 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการประเมินคุณภาพ
ทางเคมีของตั้มยำกุ้งแช่เยือกแข็งที่ผลิตด้วยกระบวนการผลิต
แบบดั้งเดิมและกระบวนการผลิตแบบพัฒนาระหว่างการเก็บ
เป็นเวลา 3 เดือน

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F
ความชื้น	treatment	3	7.30	2.43	2.73 ns
	treatment(t)	1	0.13	0.13	<1
	life (1)	1	1.19	1.19	1.34 ns
	t x l	1	5.97	5.97	6.71 ns
	error	8	7.13	0.89	
	total	11	14.43		
โปรตีน	treatment	3	6.00	2.00	<1
	treatment(t)	1	3.10	3.10	<1
	life (1)	1	2.50	2.50	<1
	t x l	1	0.50	0.50	<1
	error	8	48.50	6.10	
	total	11	54.50		
ไขมัน	treatment	3	53.03	17.68	40.84 **
	treatment(t)	1	30.78	30.78	71.13 **
	life (1)	1	11.56	11.56	26.72 **
	t x l	1	10.68	10.68	24.68 **
	error	8	3.46	0.43	
	total	11	56.49		

ตารางผนวก 5(ต่อ) ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการประเมินคุณภาพทางเคมีของต้มยำกุ้งแช่เยือกแข็งที่ผลิตด้วยกระบวนการผลิตแบบดั้งเดิมและกระบวนการผลิตแบบพัฒนาะหว่างการเก็บเป็นเวลา 3 เดือน

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F
ถั่ว	treatment	3	1.72	0.57	<1
	treatment(t)	1	0.86	0.86	1.48 ns
	life (1)	1	0.00	0.00	<1
	t x l	1	0.86	0.86	1.48 ns
	error	8	4.65	0.58	
	total	11	6.37		
ดำที่ปีเอ	treatment	7	3.96	0.56	32.41 **
	treatment(t)	1	0.00	0.00	<1
	life (1)	3	3.94	1.31	75.17
	t x l	3	0.02	0.00	<1
	error	16	0.28	0.01	
	total	23	4.24		
ปริมาณกรด	treatment	7	0.25	0.04	1.44 ns
	treatment(t)	1	0.15	0.15	5.75 *
	life (1)	3	0.06	0.02	<1
	t x l	3	0.05	0.02	<1
	error	16	0.41	0.02	
	total	23			

หมายเหตุ ns : ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ
 * : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 ** : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวก 6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการประเมินคุณภาพทาง
จุลินทรีย์ของตัวยา กุ้งแช่ เยือกแข็งที่ผลิตด้วยกระบวนการผลิต
แบบดั้งเดิมและกระบวนการผลิตแบบพัฒนาะหว่างการเก็บ
เป็นเวลา 3 เดือน

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F
ปริมาณจุลินทรีย์	treatment	7	18.89	2.70	71.89 **
	treatment(t)	3	3.69	3.69	98.26 **
	life (1)	1	14.83	4.94	131.66 **
	t x l	3	0.37	0.12	3.34 **
	error	16	0.60	0.04	
	total	23			

หมายเหตุ ns : ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ
* : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
** : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวก 7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของต้มยำกุ้งแช่เยือกแข็งที่ผลิตด้วยกระบวนการผลิตแบบดั้งเดิมและกระบวนการผลิตแบบพัฒนาระหว่างการเก็บเป็นเวลา 3 เดือน

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F
สี	treatment	7	9.12	1.30	1.1ns
	treatment (t)	1	0.15	0.15	<1
	life (1)	3	8.88	2.96	2.53ns
	t x l	3	0.08	0.30	<1
	error	64	84.22	1.17	
	total	71	93.35		
กลิ่น	treatment	7	7.49	1.07	1.03ns
	treatment (t)	1	0.31	0.31	<1
	life (1)	3	7.11	2.37	2.28ns
	t x l	3	0.66	0.02	<1
	error	64	74.90	1.04	
	total	71	82.39		
รสชาติ	treatment	7	14	2	5.05**
	treatment (t)	1	12	1	31.06**
	life (1)	3	1	0	1.22ns
	t x l	3	0	0	<1
	error	64	25	0	
	total	71	39		

ตารางผนวก 7(ต่อ) ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของต้มยำกุ้งแช่เยือกแข็งที่ผลิตด้วยกระบวนการผลิตแบบดั้งเดิมและกระบวนการผลิตแบบพัฒนาระหว่างการเก็บเป็นเวลา 3 เดือน

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F
คุณลักษณะ	treatment	7	28	4	14.56**
รวมของกุ้ง	treatment (t)	1	26	26	96.82**
	life (1)	3	1	0	1.62ns
	t x 1	3	0	0	<1
	error	64	17	0	
	total	71	45		
คุณลักษณะ	treatment	7	7.498	1.07	1.03ns
รวมของเห็ด	treatment (t)	1	0.31	0.31	<1
	life (1)	3	7.11	2.37	2.28ns
	t x 1	3	0.06	0.02	<1
	error	64	74.90	1.04	
	total	71	82.39		
คุณลักษณะรวม	treatment	7	26	4	12.60**
	treatment(t)	1	25	2	85.31**
	life (1)	3	1	0	<1
	t x 1	3	0	0	<1
	error	64	19	0	
	total	71	44		

หมายเหตุ ns : ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

* : ต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** : ต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%