

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ เป็นการวิจัยประเภทการพัฒนาทดลอง (experimental development) เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เซลล์จากถั่วเหลืองเพาะงอกที่เหมาะสมสำหรับผู้สูงอายุ ผู้วิจัยได้ดำเนินการวิจัยโดยใช้วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ ดังต่อไปนี้

#### 3.1 วัสดุ สารเคมีและอุปกรณ์

##### 3.1.1 วัสดุ

(ก) เมล็ดถั่วเหลือง สายพันธุ์เชียงใหม่ 60 จากศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืช จังหวัดพิษณุโลก

(ข) น้ำมันรำข้าว ยี่ห้อหยก

(ค) น้ำตาล ยี่ห้อลิน

(ง) คาร์ราจีแนน จากบริษัท ทีซีเอส แปซิฟิก จำกัด

(จ) ถูงอลูมิเนียมฟอยล์

(ฉ) ถ้วยพลาสติก PP ขนาด 2 ออนซ์

##### 3.1.2 สารเคมี

(ก) โฟลีน-ซีโอเคาทูล (Folin-Ciocalteu reagent: Analytical grade: Sigma-Aldrich, St.Louise, U.S.A.)

(ข) โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate;  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ : Analytical grade: Merck, Germany)

(ค) กรดแกลลิก (Gallic acid 97%;  $(\text{HO})_3\text{C}_6\text{H}_2\text{CO}_2\text{H}$ : Analytical grade: Sigma-Aldrich, St.Louise, U.S.A.)

(ง) 2,2-ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH;  $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$ : 90%: Sigma-Aldrich, St.Louise, U.S.A.)

(จ) เอทานอล (Ethanol;  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ : Analytical grade: Merck, Germany)

(ฉ) โทรลอกซ์ (Trolox;  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4$ : Sigma-Aldrich, St.Louise, U.S.A.)

(ช) กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Sulfuric acid;  $\text{H}_2\text{SO}_4$ : Analytical grade: Merck, Germany)

(ซ) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide;  $\text{NaOH}$ : Analytical grade: Merck, Germany)

(ฅ) ไฮโดรคลอริก (Hydrogen chloride;  $\text{HCl}$ : Sigma-Aldrich, St.Louise, U.S.A.)

(ญ) คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper (II) sulfate;  $\text{CuSO}_4$ : Analytical grade: Merck, Germany)

(ฎ) อีเทอร์ปิโตรเลียม (Petroleum ether; Analytical grade: Merck, Germany)

### 3.1.3 อุปกรณ์

- (ก) กะละมังและกระบะสำหรับทำการเพาะงอก
- (ข) เครื่องปั่นอเนกประสงค์ ยี่ห้อ Philip
- (ค) เครื่องชั่งตวงวัด 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Satorius
- (ง) เครื่องชั่งตวงวัด 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Satorius
- (จ) ถ้วยอะลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น (moisture can)
- (ฉ) เครื่องวัดค่าความเข้มข้นของสารละลาย (hand refractometer) ยี่ห้อ ATAGO (0-32 เปอร์เซ็นต์)
- (ช) โถดูดความชื้น (desiccator)
- (ซ) ตู้อบลมร้อน (hot air oven) ยี่ห้อ Memmert
- (ฌ) เครื่องวัดค่าความเป็นกรดต่าง ยี่ห้อ OHAUS
- (ญ) เครื่องวัด water activity ยี่ห้อ Novasina
- (ฎ) หลอดบรรจุตัวอย่าง (cuvette)
- (ฏ) เครื่อง UV-Vis spectrophotometer ยี่ห้อ Shimadzu
- (ฐ) เครื่องวัดสี (colorimeter) ยี่ห้อ Minolta
- (ฑ) เครื่องย่อยโปรตีน (digestion unit) ยี่ห้อ Buchi
- (ฒ) เครื่องวิเคราะห์ไฟเบอร์ (fiber analyzer) ยี่ห้อ VELP
- (ณ) เครื่องวิเคราะห์เตา (furnace) ยี่ห้อ CARBOLITE
- (ด) อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ หลอดทดลอง ออโตปิเปต ขวดสีชา ปีกเกอร์ ขวดวัดปริมาตร
- (ต) อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ ได้แก่ ปิเปต เพลทอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สำเร็จรูป ตะเกียงแอลกอฮอล์ ตู้บ่มเชื้อ และหม้อนึ่งความดันไอน้ำ
- (ถ) อุปกรณ์เครื่องครัว ได้แก่ หม้อ ผ้าขาวบาง กระจ้อน เขี่ยกตวงน้ำ เต้าแก๊ส

## 3.2 การเก็บรวบรวมข้อมูล

การวิจัยครั้งนี้ ทำการเก็บรวบรวมข้อมูลจากการทดลองชั้นต่าง ๆ ที่ดำเนินงานในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษากระบวนการเพาะงอกเมล็ดถั่วเหลืองที่เหมาะสม สำหรับนำไปพัฒนาสูตรเมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอก และศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์เมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอกที่ได้ ก่อนนำไปถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตแก่ผู้สนใจ โดยการทดลองทั้งหมดแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

### 3.2.1 การศึกษาระยะเวลาเพาะงอกถั่วเหลืองที่เหมาะสม

- (1) นำตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองมาล้างทำความสะอาด และสะเด็ดน้ำให้แห้ง ก่อนนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป
- (2) ศึกษาผลของระยะเวลาการแช่น้ำเมล็ดถั่วเหลืองที่เหมาะสม โดยจัดสิ่งทดลองออกเป็น 6 สิ่งทดลอง ดังนี้
  - สิ่งทดลองที่ 1 เมล็ดถั่วเหลืองแช่น้ำเป็นเวลา 4 ชั่วโมง
  - สิ่งทดลองที่ 2 เมล็ดถั่วเหลืองแช่น้ำเป็นเวลา 8 ชั่วโมง
  - สิ่งทดลองที่ 3 เมล็ดถั่วเหลืองแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

- สิ่งทดลองที่ 4 เมล็ดถั่วเหลืองแช่น้ำเป็นเวลา 16 ชั่วโมง
- สิ่งทดลองที่ 5 เมล็ดถั่วเหลืองแช่น้ำเป็นเวลา 20 ชั่วโมง
- สิ่งทดลองที่ 6 เมล็ดถั่วเหลืองแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เมื่อครบกำหนดเวลาการแช่น้ำ ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองออกมาวัดปริมาณความชื้นด้วยวิธี AOAC (2000) นำค่าปริมาณความชื้นของเมล็ดถั่วเหลืองไปสร้างกราฟเทียบกับระยะเวลาในการแช่น้ำ เพื่อหาเวลาที่เหมาะสม โดยกำหนดให้ความชื้นของเมล็ดถั่วเหลืองที่เหมาะสมต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก (จวงจันทร ดวงพัตรา, 2529)

(3) นำตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำมาล้างทำความสะอาด และสะเด็ดน้ำให้แห้ง ก่อนนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป (ภาพที่ 3.1)



ภาพที่ 3.1 ลักษณะทางกายภาพของเมล็ดถั่วเหลืองหลังผ่านการแช่น้ำ

(4) ศึกษาผลของระยะเวลาการเพาะงอกที่เหมาะสม ต่อปริมาณโปรตีนและ GABA ในเมล็ดถั่วเหลือง โดยจัดสิ่งทดลองออกเป็น 6 สิ่งทดลอง ดังนี้

- สิ่งทดลองที่ 1 เมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอกเป็นเวลา 4 ชั่วโมง
- สิ่งทดลองที่ 2 เมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอกเป็นเวลา 8 ชั่วโมง
- สิ่งทดลองที่ 3 เมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอกเป็นเวลา 12 ชั่วโมง
- สิ่งทดลองที่ 4 เมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอกเป็นเวลา 16 ชั่วโมง
- สิ่งทดลองที่ 5 เมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอกเป็นเวลา 20 ชั่วโมง
- สิ่งทดลองที่ 6 เมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เมื่อครบกำหนดเวลาการเพาะงอก ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองออกมาวัดปริมาณโปรตีนด้วยวิธี AOAC (2000) และวิเคราะห์ปริมาณ GABA โดยส่งวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) นำค่าปริมาณโปรตีนและ GABA ในเมล็ดถั่วเหลืองไปสร้างกราฟเทียบกับระยะเวลาในการเพาะงอก เพื่อหาเวลาที่เหมาะสม โดยคัดเลือกระยะเวลาการเพาะงอกที่ถั่วเหลืองมีปริมาณโปรตีนและ GABA สูงนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

(5) นำตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการเพาะงอกมาล้างทำความสะอาด และสะเด็ดน้ำให้แห้ง บรรจุในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ ปิดผนึกให้สนิท ก่อนนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

### 3.2.2 การพัฒนาสูตรเยลลี่ถั่วเหลืองพะงอกสำหรับผู้สูงอายุ

การพัฒนาสูตรเยลลี่ถั่วเหลืองพะงอกสำหรับผู้สูงอายุ ใช้สูตรพื้นฐานที่ดัดแปลงจากสูตรต้นแบบเยลลี่ธัญพืชของ กุสุมา ทินกร ณ อยุธยา และ นัทธมน พุฒดวง (2559) แสดงดังตารางที่ 3.1

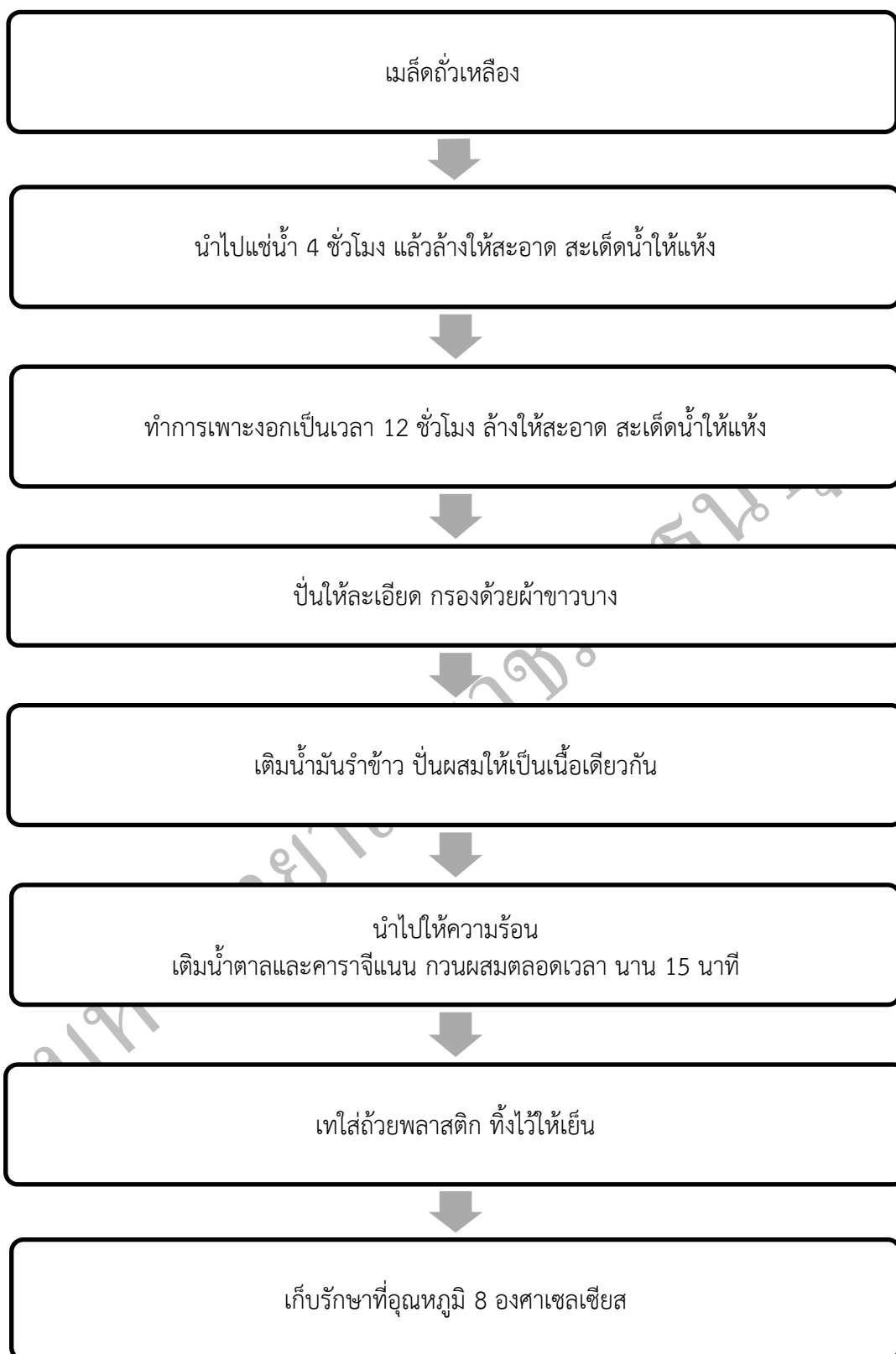
ตารางที่ 3.1 สูตรพื้นฐานเยลลี่ถั่วเหลืองพะงอก

ส่วนผสม	สูตร (ร้อยละ)	
	ต้นแบบ	พื้นฐาน
นมธัญพืช	18	-
เมล็ดถั่วเหลือง	-	22
น้ำตาล	6	2
ครีมเทียม	1	-
น้ำมันรำข้าว	-	1
คาราจีแนน	1	1
น้ำ	74	74

ทำการศึกษาปริมาณคาราจีแนนที่เหมาะสมสำหรับเยลลี่ถั่วเหลืองพะงอก โดยทำการแปรปริมาณคาราจีแนน 5 ระดับ คือ 0.4 0.5 0.6 0.7 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ สูตรเยลลี่ถั่วเหลืองพะงอกแบ่งออกเป็น 5 สิ่งทดลอง แสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 สูตรเยลลี่ถั่วเหลืองพะงอกแต่ละสิ่งทดลอง

ส่วนผสม	สิ่งทดลอง (ร้อยละ)					
	พื้นฐาน	1	2	3	4	5
ถั่วเหลือง	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0
น้ำตาล	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
น้ำมันรำข้าว	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
คาราจีแนน	1.0	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4
น้ำ	74.0	74.2	74.3	74.4	74.5	74.6



ภาพที่ 3.2 วิธีการผลิตยีส่เมล็ดข้าวเหลืองเพาะงอก

วิธีการผลิตเยลลี่ถั่วเหลืองพะงอก (ภาพที่ 3.2) โดยชั่งน้ำหนักเมล็ดถั่วเหลืองพะงอก ผสมน้ำตามสูตร ปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นเอนกประสงค์ เบอร์ 2 เป็นเวลา 1 นาที กรองด้วยผ้าขาวบาง ผสมน้ำมันรำข้าว ปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ผสมน้ำตาลและคาราจีแนน คนให้ละลายตลอดเวลา ให้ความร้อนนาน 15 นาที เทใส่ถ้วยพลาสติก PP ที่งัดไว้ให้เย็น แล้วจึงนำไปวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพต่อไป

#### การวิเคราะห์คุณภาพของเยลลี่ถั่วเหลืองพะงอก

##### (ก) คุณภาพกายภาพและทางเคมี

###### - ลักษณะปรากฏ (appearance)

ศึกษาลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์เยลลี่ถั่วเหลืองพะงอก ด้วยการประเมินลักษณะทั่วไป สี และลักษณะเนื้อสัมผัสด้วยสายตา ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มพช. 519/2547 เยลลี่อ่อน) บันทึกผลเปรียบเทียบลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์เยลลี่ถั่วเหลืองพะงอกในแต่ละสิ่งทดลอง

###### - การแยกตัวของน้ำ (syneresis)

ทดสอบการแยกตัวของน้ำของผลิตภัณฑ์เยลลี่ถั่วเหลืองพะงอก โดยดัดแปลงจากวิธีของ Khouryieh Aramouni and Herald (2005) ชั่งน้ำหนักเยลลี่ถั่วเหลืองพะงอก จำนวน 20 กรัม วางบนกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่วางบนตะแกรง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง คำนวณหาค่าการแยกตัวของน้ำจากน้ำหนักตัวอย่างที่แยกออกมาจากการทดสอบ รายงานค่าในหน่วยเปอร์เซ็นต์ (%)

###### - ลักษณะเนื้อสัมผัส (texture)

วิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสของเยลลี่ถั่วเหลืองพะงอก โดยส่งตรวจวิเคราะห์ที่สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล ทำการวิเคราะห์ค่า Texture profile analysis ด้วยเครื่อง Texture analyzer (Stable Micro System Ltd., U.K.) ขนาดชิ้นตัวอย่าง 4.5x4.5x2 cm. หัววัดชนิด P/100 ค่า Pre-test speed 1 mm/s ค่า Test speed 1 mm/s ค่า Post-test speed 1 mm/s ค่า strain 25% ทดสอบค่า Hardness (ค่าความแข็ง) Adhesiveness (ค่าการยึดเกาะติดกัน) Cohesiveness (ความยากง่ายในการเคี้ยว) และ Gumminess (ความเหนียว) โดยทำการทดสอบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

###### - ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid; TSS)

วัดค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดด้วยเครื่อง hand refractometer (0-32 เปอร์เซ็นต์) โดยวัดตัวอย่างสารละลายเยลลี่ถั่วเหลืองพะงอกที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยหยดลงบนเครื่อง hand refractometer 2-3 หยด จากนั้นส่องกับแสงเพื่ออ่านค่า ค่าที่ได้มีหน่วยเป็น องศาบริกซ์ ( $^{\circ}$ Brix)

##### (ข) คุณภาพทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation)

ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยประเมินคุณภาพด้านสี กลิ่นรส ความนุ่ม และความชอบโดยรวม โดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝนที่เป็นผู้สูงอายุ จำนวน 40 คน โดยใช้แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (9-points hedonic scale) (ภาพผนวกที่ ง.1) นำผลการทดสอบที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย ANOVA

วิเคราะห์ความแตกต่างด้วยวิธี Duncan's New Multiple's Range Test โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (Randomized Complete Block Design, RCBD)

3.2.3 การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์เยลลี่ถั่วเหลืองแพะงอกสำหรับผู้สูงอายุ  
นำสูตรเยลลี่ถั่วเหลืองแพะงอกที่ได้รับคะแนนการยอมรับโดยรวมสูงที่สุดไปวิเคราะห์คุณภาพ ดังนี้

(ก) คุณภาพทางกายภาพและเคมี

- ค่าสี

สุ่มตัวอย่างเยลลี่ถั่วเหลืองแพะงอกแล้ววัดค่าสีด้วยเครื่องวัดค่าสี UV-Vis spectrophotometer โดยวัดค่า ความสว่าง ( $L^*$ ) ค่าสีเขียว ( $a^*$ ) และค่าสีเหลือง ( $b^*$ ) ใน ระบบ CIELAB ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำสุ่มวัดค่าสีตำแหน่งต่าง ๆ 5 ตำแหน่ง

- ค่าความเป็นกรดต่าง

นำสารละลายเยลลี่ถั่วเหลืองแพะงอกมาวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดต่าง ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรดต่าง (pH meter)

- ค่า water activity

วัดค่า water activity โดยชั่งน้ำหนักผลิตภัณฑ์เยลลี่ถั่วเหลืองแพะงอก จำนวน 2 กรัม ใส่ในภาชนะสำหรับกรวัด วัดค่า water activity ด้วยเครื่องวัด water activity

(ข) องค์ประกอบทางเคมี

- คุณค่าทางโภชนาการ

วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ตามวิธีของ AOAC (2000) ได้แก่ ปริมาณ ความชื้น ไขมัน โปรตีน กากใย และเถ้า รายงานค่าในหน่วยเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเปียก และคาร์โบไฮเดรต คำนวณโดยวิธีอาศัยผลต่าง (by difference)

- ค่าพลังงาน

วิเคราะห์ค่าพลังงานของเยลลี่ถั่วเหลืองแพะงอก โดยคำนวณจากค่าผลรวมของ โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ค่าพลังงาน = (โปรตีน $\times$ 4) + (ไขมัน $\times$ 9) + (คาร์โบไฮเดรต $\times$ 4) รายงานค่าในหน่วยกิโลแคลอรี (Kcal)

การสกัดสารสำคัญดัดแปลงจากวิธีของ Kim and Lee (2002) และ Rodriguez-Saona and Wrolstad (2005) โดยนำตัวอย่างเยลลี่ถั่วเหลืองแพะงอก จำนวน 2 กรัม ใส่ลงในหลอดสำหรับหมุนเหวี่ยง เติมสารละลายเมทานอลที่มีส่วนผสมของกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 1 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน หล่อเย็นด้วยน้ำแข็ง นาน 5 นาที จากนั้นนำไปปั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปแยกตะกอนโดยกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 แยกส่วนใสใส่ขวดปรับปริมาตร นำส่วนกากที่เหลือไปสกัดซ้ำอีก 1 ครั้ง และปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 25 มิลลิลิตร เก็บสารสกัดที่ได้ในขวดแก้วสีชาและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

- ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents)  
การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents) ใช้วิธี Folin Ciocalteu reagent method โดยดัดแปลงจากวิธีของ Maizura *et al.* (2011) ใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐานและรายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อตัวอย่าง 1 กรัม น้ำหนักแห้ง
- การวิเคราะห์คุณสมบัติต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH  
การวิเคราะห์คุณสมบัติต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH โดยใช้วิธีของ Du *et al.* (2009) ใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐานและใช้ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) เป็นสารอนุมูลอิสระ รายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของ Trolox ต่อตัวอย่าง 1 กรัม น้ำหนักแห้ง

(ค) คุณภาพทางจุลินทรีย์

- การตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable plate count) และปริมาณยีสต์และรา ตามวิธีของ BAM (2001) วิเคราะห์ปริมาณเอสเชอริเชีย อีโคไล (*E.coli*) ตามวิธีของ BAM (2002) ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสแตปฟีโลค็อกคัส (*Staphylococcus aureus*) ตามวิธีของ BAM (2001)

3.2.4 การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์เยลลี่ถั่วเหลืองเพาะงอกสำหรับผู้สูงอายุ

ดำเนินการจัดอบรมการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์เยลลี่ถั่วเหลืองเพาะงอกสำหรับผู้สูงอายุ ให้แก่ผู้สนใจทั่วไป และประเมินผลการจัดอบรม โดยใช้แบบสอบถามความพึงพอใจ (ภาพผนวกที่ ง.2)

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย ANOVA และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple's Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป