

บทที่ 3

วัสดุและวิธีการทำวิจัย

ภาคที่ 1. การเตรียมสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ

1. การเตรียมถั่วเหลืองหมัก

วัสดุ สารเคมี และอุปกรณ์

- หัวเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อรา Rhizopus oligosporus TISTR 3001 (NRRL 2710) จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย
- ถั่วเหลือง (Glycine max) ที่เก็บใหม่ ซื้อจากร้านขายส่งย่านตลาดเก่า
- อาหารเพาะเชื้อ ชนิด พีดีเอ (potato dextrose agar medium)
- หลอดเพาะเชื้อมีฝาเกลียวปิด (screwcap culture tube) ขนาด 20 x 150 มิลลิเมตร
- ขวดแก้วแบน ปากแคบ ความจุ 100 มิลลิลิตร
- จานแก้วเพาะเชื้อ (petridish) ขนาด 100 x 15 มิลลิลิตร
- หม้ออบความดันสำหรับฆ่าเชื้อ (autoclave)
- สารละลาย 0.1 เปอร์เซ็นต์ ทวิน 80

วิธีการทำวิจัย

1.1 การเตรียมเชื้อตั้งต้น สำหรับหมักถั่วเหลือง

1.1.1 การเตรียมอาหารเพาะเชื้อชนิด พีดีเอ ตามสูตร

มันฝรั่ง	200	กรัม
เด็กซ์โทรส	20	กรัม
วุ้น	20	กรัม

ต้มมันฝรั่ง แล้วกรองเอาแต่น้ำ ละลายเด็กซ์โทรสและวุ้นเข้าด้วยกัน ปรับ ปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร เทสารละลายที่เตรียมได้ลงในหลอดเพาะเชื้อ และ ขวดแบนปากแคบ ให้มีปริมาณพอเหมาะสำหรับวางเอียง (slant) เมื่อแข็งตัว ปิดจุก ด้วยสำลี และฟอล์ย (กรณี ขวดแบน) จากนั้นนำไปอบฆ่าเชื้อ ในหม้ออบความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จึงนำมาตั้งให้ ผิวหน้าเอียง ทิ้งไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้นี้ ควรตั้ง ทิ้งไว้ 2 คืนที่อุณหภูมิห้อง เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้ออื่นหรือไม่ และถ้าหลังจากทิ้ง ไว้ 2 คืนแล้วไม่ใช้ทันที ควรเก็บใส่ตู้เย็น

1.1.2 การทำให้เชื้อฟื้นตัว และเตรียมหลอดเพาะเชื้อสำรอง

ถ่ายเชื้อจากหลอดที่มีหัวเชื้อบริสุทธิ์ ของ เชื้อรา

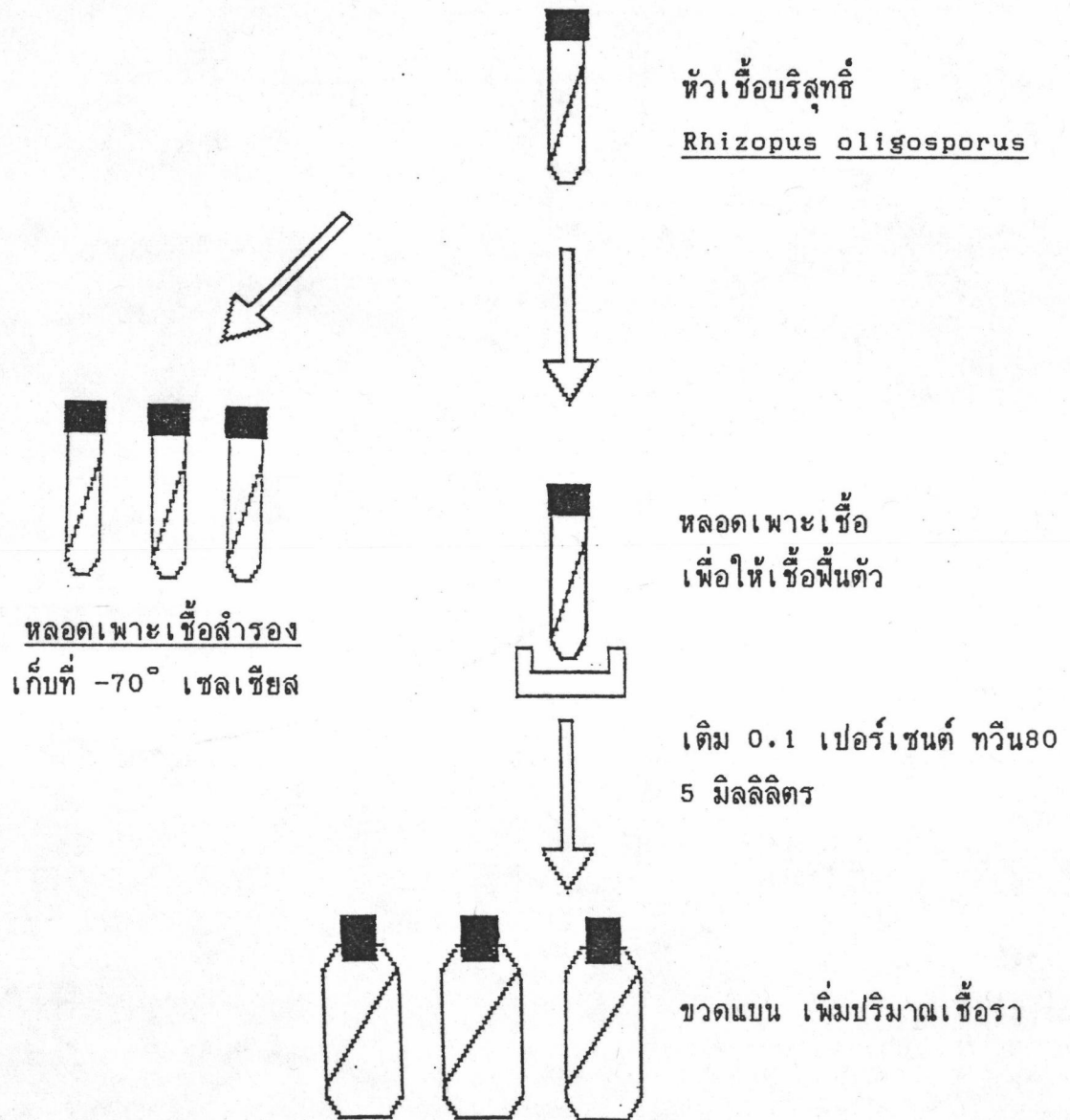
Rhizopus oligosporus ไปเพาะลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ

1.1.1 อาศัยเทคนิคปลอดเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเปลี่ยนแปลง จนกระทั่ง เกิดสปอร์สีเทาขึ้นฟู เตรียมหลอดเพาะเชื้อแบบนี้ไว้หลาย ๆ หลอด แบ่งส่วนหนึ่งเก็บไว้ ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส เพื่อสำรองไว้ใช้ ส่วนที่เหลือนำมาเพิ่มปริมาณ เชื้อราต่อไป

1.1.3 การเพิ่มปริมาณเชื้อรา

เตรียม ทวีน 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ในน้ำ เพื่อใช้เป็น ตัวกระจายสปอร์ และทำให้ปราศจากเชื้อในหม้ออบความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที (เตรียมใส่ขวดแบนปากแคบขวดละ 50 มิลลิลิตร) จากนั้นนำหลอดเพาะเชื้อที่เตรียมไว้จากข้อ 1.1.2 มาเติม 0.1 เปอร์เซ็นต์ทวีน 80 หลอดละประมาณ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้สปอร์กระจายอย่างดีในสารละลาย แล้วจึงเท สปอร์ใส่ขวดแบนที่เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อไว้แล้ว ให้มีปริมาณพอเหมาะที่จะกระจายทั่ว ผิวหน้าอาหาร (สปอร์จากหลอดเพาะเชื้อ 1 หลอด จะถ่ายลงขวดแบนได้ประมาณ 3 ขวด) ตามภาพที่ 11 บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งเกิดสปอร์สีเทาขึ้นฟูจึงนำไป เตรียมถั่วเหลืองหมักในขั้นตอนต่อไป

ภาพที่ 11 แผนภูมิการทำให้เชื้อฟื้นตัว และเพิ่มปริมาณเชื้อรา



1.2 การเตรียมถั่วเหลืองหมัก

ทำความสะอาดถั่วเหลืองโดยเก็บสิ่งแปลกปลอม และเมล็ดที่เสียหายไป จากนั้นแช่น้ำทิ้งไว้ค้างคืน แล้วนำมาแกะเปลือกออก แบ่งใส่จานแก้วเพาะเชื้อจานละ 75 กรัม นำไปต้มในหม้ออบความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที เพื่อฆ่าเชื้อ และทำให้ถั่วสุก ตั่งทิ้งไว้ให้ถั่วเย็นเพื่อเตรียมถ่ายเชื้อลงไป การถ่ายเชื้อ ให้ผสม 0.1 เปอร์เซ็นต์ ทวิน 80 ในขวดแบนที่เตรียมเชื้อไว้แล้ว เขย่าแรง ๆ เพื่อให้สปอร์หลุดออกมา จากนั้นถ่ายเชื้อลงไปคลุกเคล้าให้เข้ากับ ถั่วเหลืองในจานแก้วเพาะเชื้อ ทดลองใช้ปริมาณทวิน 80 และปริมาณเชื้อต่างกัน ตามภาพที่ 12 แล้วบ่มค้างคืนไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งมีเส้นใยสีขาวขึ้นปกคลุมเต็มก้อนถั่ว และถั่วเหลืองเกาะติดกันเป็นก้อน เลือกวิธีที่เหมาะสมเพื่อเตรียมถั่วเหลืองหมัก แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสประมาณ 6 ชั่วโมง เก็บไว้สำหรับสกัดน้ำมันในขั้นตอนต่อไป

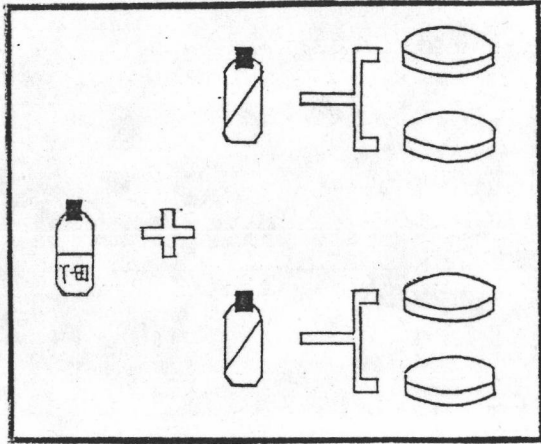
2. การสกัดน้ำมันจากถั่วเหลืองหมัก

วัสดุ สารเคมี และอุปกรณ์

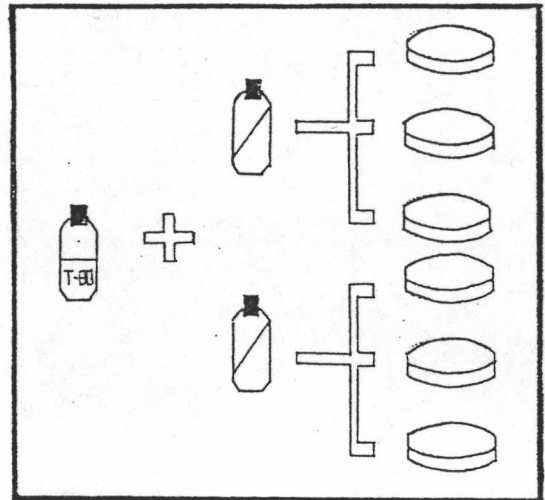
- ถั่วเหลืองหมักอบแห้งจากข้อ 1.2
- เครื่องปั่นที่ป้องกันการระเบิดได้ (Waring Commercial Blender) ต่อกับเครื่องทำน้ำเย็น (HAAKE D8) และปั๊มลม
- เครื่องระเหยตัวทำละลายชนิดหมุน และเครื่องทำสุญญากาศ (EYELA rotory vacuum evaporator and EYELA aspirator A-35)
- เครื่องมือ Soxhlet
- เครื่องแก้ว และอุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็น
- Hexane (J.T. Baker) AR Grade

ภาพที่ 12 แผนภูมิแสดงการหมักถั่วโดยวิธีต่างๆ เพื่อหาวิธีที่เหมาะสม

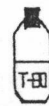
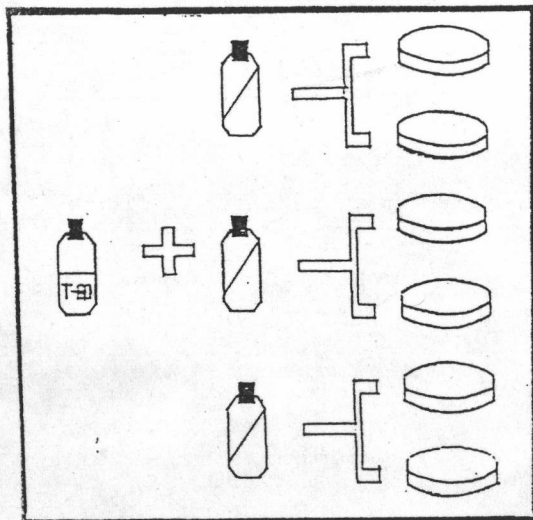
วิธีที่ 1



วิธีที่ 2



วิธีที่ 3



แทนขวดบรรจุสารละลาย
0.1 เปอร์เซ็นต์ ทวิน 80
50 มิลลิลิตร



แทนขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ
ชนิด พีดีเอ



แทนจานแก้วบรรจุถั่วเหลือง
ที่ต้มสุกแล้ว

วิธีทำการวิจัย

2.1 โดยการปั่น

ชั่งน้ำหนักถั่วเหลืองหมักอบแห้งที่เตรียมได้จากข้อ 1.2 นำมาผสมกับเฮกเซน ในอัตราส่วน ถั่วเหลืองหมัก:เฮกเซน = 1:2 (น้ำหนัก:ปริมาตร) แล้วนำไปปั่นใน เครื่องปั่นที่ป้องกันการระเบิดได้ นาน 1 นาที (ความเร็วระดับกลาง นำส่วนที่ปั่นได้ไป กรอง จะได้ 2 ส่วน นำไปสกัดต่อตั้งภาพที่ 13 ชั่งน้ำหนักน้ำมันถั่วเหลืองหมักที่สกัดได้ ทั้งหมด นำไปหาค่าเปอร์ออกไซด์โดยใช้วิธี AOCs Cd 8-53 (Firestone, 1984) รายละเอียดวิธีวิเคราะห์ดูในภาคผนวก ก ทำ 2 ตัวอย่างแล้วหาค่าเฉลี่ย

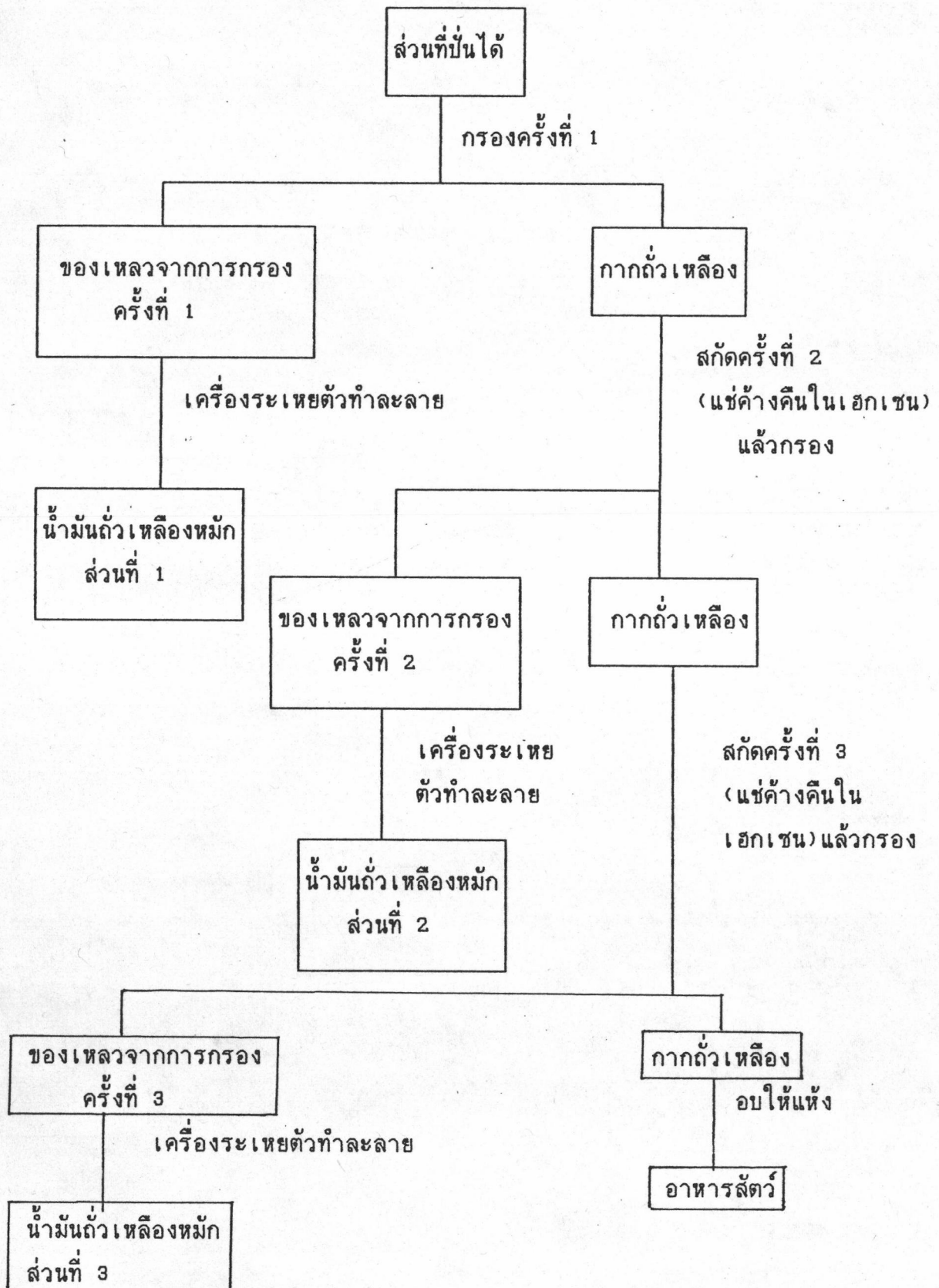
2.2 สกัดโดยเครื่องมือ Soxhlet

ชั่งน้ำหนักถั่วเหลืองหมัก จากนั้นนำไปสกัดน้ำมันโดยใช้เฮกเซน เป็นตัวทำ ละลาย ด้วยเครื่องมือ Soxhlet ประมาณ 6 ชั่วโมง แล้วระเหยเฮกเซนออกจากน้ำมัน ถั่วเหลืองหมักที่สกัดได้ โดยใช้เครื่องระเหยตัวทำละลาย ชั่งน้ำหนักน้ำมันถั่วเหลืองหมัก ที่สกัดได้ และนำไปหาค่าเปอร์ออกไซด์ เช่นเดียวกับ ข้อ 2.1

เปรียบเทียบค่าเปอร์ออกไซด์ ของน้ำมันถั่วเหลืองหมักที่สกัดได้จาก 2.1 และ 2.2 และเปรียบเทียบ ผลได้ (yield) ของน้ำมันทั้งสอง

เลือกวิธีที่เหมาะสม ทำการสกัดน้ำมันถั่วเหลืองหมัก เพื่อใช้ในการศึกษาขั้น ต่อไป สังเกตลักษณะเฉพาะของน้ำมันที่สกัดได้ และหาค่ากรด (Acid Value) (Mahlenbacher และคณะ, 1981) รายละเอียดการหาค่ากรด ในภาคผนวก ค

ภาพที่ 13 แผนภูมิแสดงการสกัดน้ำมันจากถั่วเหลืองหมักโดยการปั่น



ภาคที่ 2. แผนการทดสอบเพื่อศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันถั่วเหลืองหมัก
ในการเป็นสารต้านออกซิเดชันในน้ำมันถั่วเหลือง

วัสดุ สารเคมี และอุปกรณ์

- ถั่วเหลืองใหม่ พันธุ์ สจ.4 ชื่อจากร้านขายส่งย่านตลาดเก่า
- น้ำมันถั่วเหลืองหมัก
- ข้าวเกรียบกุ้ง
- ขวดแก้วความจุ 20 ลิตร 4 ขวด
- ตู้อบไฟฟ้า (Heraeus รุ่น B-6200)
- ตู้รังแสงอัลตราไวโอเล็ต
- เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็น
- Butylated hydroxy toluene (BHT)
- Hexane Commercial Grade
- Hexane (J.T. Baker) AR Grade

วิธีทำการวิจัย

1. การเตรียมน้ำมันถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองที่นำมาสกัดน้ำมัน ควรเป็นถั่วเหลืองใหม่ ๆ เพื่อจะได้ปริมาณน้ำมันถั่วเหลืองสูง และเป็นน้ำมันที่มีคุณภาพดี ก่อนอื่นต้องทำความสะอาดถั่วเหลืองโดยเก็บสิ่งสกปรกและเมล็ดที่ลีบเสียทิ้งไป นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปอัดเป็นแผ่นเล็ก ๆ (flake) เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการสัมผัสกับตัวทำละลาย จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสอีกครั้งหนึ่ง (ประมาณ 1 ชั่วโมง) บรรจุแผ่นถั่วเหลืองใส่ในขวดแก้ว (ความจุ 20 ลิตร) ประมาณหนึ่งส่วนสามของขวด เติมเฮกเซน (Commercial Grade) ลงไปให้ท่วมถั่วเหลือง เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง (ระหว่างที่ตั้งทิ้งไว้ให้เขย่าทุก ๆ 15 นาที) เมื่อครบกำหนดนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No 1) นำสารละลายที่กรองได้ ไประเหยเพื่อไล่ตัวทำละลายหรือเฮกเซนออกไป ด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุน เก็บน้ำมันถั่วเหลืองที่สกัดได้ไว้ สำหรับกากถั่วเหลือง

ให้ทำการสกัดด้วยเฮกเซนอีก 3 ครั้ง นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยเช่นเดียวกับ
ครั้งแรก น้ำมันถั่วเหลืองที่สกัดได้ทั้งหมดให้แยกเป็น 2 ส่วน

- ส่วนที่ 1 = เก็บไว้ใช้ศึกษาในข้อ 2 ซึ่งจะเรียกส่วนนี้ว่าน้ำมันถั่วเหลืองดิบ
ส่วนที่ 2 = นำไปผ่านกรรมวิธี ทำให้บริสุทธิ์ (Refining process)
ดูรายละเอียดในภาคผนวก ข เพื่อเก็บไว้ใช้ในข้อ 2
เรียกส่วนนี้ว่าน้ำมันถั่วเหลืองผ่านกรรมวิธี

2. การเติมสารต้านออกซิเดชัน หรือวัตถุกันหืนชนิดต่าง ๆ ในน้ำมันถั่วเหลือง

สารต้านออกซิเดชันที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ได้แก่

- ก. น้ำมันถั่วเหลืองหมัก
ข. น้ำมันถั่วเหลืองหมักผ่านกรรมวิธีการทำให้บริสุทธิ์ (Refining process) รายละเอียดกรรมวิธีการทำให้บริสุทธิ์ดูภาคผนวก ข
ค. บิวทิลเลตเตท ไฮดรอกซีโทลูอิน (บีเอชที)

สำหรับวิธีการเติมและปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ใช้แสดงในตารางที่ 2

น้ำมันตัวอย่างแต่ละชนิด หลังจากเตรียมเสร็จใหม่ ๆ ให้วัดค่ากรด และ
ค่าเปอร์ออกไซด์ด้วย



ตารางที่ 2 แสดงแผนการเติมสารต้านออกซิเดชันในน้ำมันถั่วเหลือง

ตัวอย่าง ที่	สารต้านออกซิเดชัน ที่ใช้	ชนิดของน้ำมัน ถั่วเหลือง	วิธี การเติม	อัตราส่วน น้ำมันถั่วเหลืองต่อ สารต้านออกซิเดชัน
1	น้ำมันถั่วเหลืองหมัก	ดิบ	ก	19:1 (5)**
2	น้ำมันถั่วเหลืองหมัก	ดิบ	ก	9:1 (10)
3	น้ำมันถั่วเหลืองหมัก	ผ่านกรรมวิธี	ข	19:1 (5)
4	น้ำมันถั่วเหลืองหมัก	ผ่านกรรมวิธี	ข	9:1 (10)
5	น้ำมันถั่วเหลืองหมัก	ผ่านกรรมวิธี	ข	199:1 (0.5)
6	น้ำมันถั่วเหลืองหมัก ผ่านกรรมวิธี	ผ่านกรรมวิธี	ข	99:1 (1)
7	บีเอชที***	ผ่านกรรมวิธี	ข	5,000:1 (0.02)
8*	-	ผ่านกรรมวิธี	-	-

หมายเหตุ วิธีกรเติม ก : เติมน้ำมันถั่วเหลืองหมักลงในน้ำมันถั่วเหลืองดิบตามอัตราส่วน ที่ปรากฏในตารางที่ 2 จากนั้นจึงนำน้ำมันผสมนี้ไปผ่านกรรมวิธีทำให้บริสุทธิ์

วิธีกรเติม ข : เติมสารต้านออกซิเดชันลงในน้ำมันถั่วเหลืองที่ผ่านกรรมวิธีทำให้บริสุทธิ์แล้ว ตามอัตราส่วนในตารางที่ 2

* : ตัวอย่างที่ 8 คือน้ำมันถั่วเหลืองผ่านกรรมวิธี จัดเป็นการทดสอบไร้สิ่งตัวอย่าง

** : ตัวเลขในวงเล็บแทนร้อยละของสารต้านออกซิเดชัน

*** : ก่อนเติม บีเอชที ให้ละลายบีเอชที ในแอลกอฮอล์สมบูรณ์

ภาคที่ 3. เปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันหรือป้องกันการหืนของ
น้ำมันถั่วเหลืองหมักกับวัตถุดิบหืนสังเคราะห์ ในสภาวะต่างๆ

ตัวอย่างน้ำมันทั้ง 8 ชนิด (ตารางที่ 2) แต่ละตัวอย่างนำมาแบ่งเป็น 3 ส่วน

ส่วนที่ 1 ประมาณ 55 กรัม นำมาแบ่งใส่หลอดทดลองมีฝาเกลียวปิด
หลอดละ 11 กรัม จำนวน 5 หลอด ปิดฝาหลวม ๆ เพื่อใช้ใน
ข้อ 1

ส่วนที่ 2 ประมาณ 55 กรัม เพื่อใช้ในข้อ 2

ส่วนที่ 3 ประมาณ 100 กรัม เพื่อใช้ในข้อ 3

1. เก็บในสภาวะที่มีอุณหภูมิเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

หุ้มหลอดน้ำมันตัวอย่างจากส่วนที่ 1 ด้วยฟอล์ย เก็บในตู้ควบคุม
อุณหภูมิ ที่ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ หาค่าเปอร์ออกไซด์
ในวันที่ 1 3 7 14 และ 21 ทำ 2 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย

2. เก็บในสภาวะที่มีแสงเป็นตัวเร่ง

เทน้ำมันตัวอย่างลงในจานแก้วปากกว้าง (เช่น จานเพาะเชื้อ) นำไปอัง
กับแสงอัลตราไวโอเล็ต (shorter wavelength) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบ
เวลา เทน้ำมันตัวอย่างเก็บไว้ในหลอดทดลอง หลอดละ 11 กรัม จำนวน 5 หลอด
ปิดฝาหลวม ๆ นำไปเก็บไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้อง แล้วเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์หา
ค่าเปอร์ออกไซด์ ในวันที่ 1 3 7 14 และ 21

3. ศึกษาว่าสารต้านออกซิเดชันที่ใช้จะมีผลกันหืนในอาหารที่ทอดด้วย
น้ำมันนั้น ๆ หรือไม่ (carry through property)

อาหารที่ใช้ - ข้าวเกรียบกุ้ง 60 กรัม นำข้าวเกรียบกุ้งไปทอดใน
น้ำมันตัวอย่าง 100 กรัม ที่ทำให้ร้อนและควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 180 ± 10 องศาเซลเซียส
จนข้าวเกรียบพองตัวเต็มที่ นำขึ้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็น สังเกตการเปลี่ยนแปลงของน้ำมัน

ระหว่างและหลังการทอด ซึ่งนำหน้าข้าวเกรียบกึ่งที่ทอดแล้ว 30 กรัม บดให้ละเอียด นำไปสกัดน้ำมัน ด้วยเครื่องมือ Soxhlet นาน 4 ชั่วโมง ใช้เฮกเซน (AR. Grade) จำนวน 300 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลาย จากนั้นไล่เฮกเซนออกด้วยเครื่องระเหยชนิดหมุน น้ำมันที่สกัดได้นำมาหาค่าเปอร์ออกไซด์ เป็นวันที่ 1 ข้าวเกรียบกึ่งทอดแล้วส่วนที่เหลือ เก็บใส่กล่องพลาสติก ปิดฝา นำมาหาค่าเปอร์ออกไซด์เช่นเดียวกับข้างต้นเมื่อครบวันที่ 7 และ 14 ทำ 2 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย

ดัชนีบ่งชี้คุณภาพของน้ำมัน

ค่าต่างๆ ที่นิยมใช้เพื่อบ่งชี้คุณภาพของน้ำมัน คือ

1. ค่าเปอร์ออกไซด์ (Firestone, 1984) เป็นการวัดปริมาณเปอร์ออกไซด์ คิดเป็นมิลลิอิกวาเลนซ์ต่อน้ำมัน 1 กิโลกรัม เนื่องจากเปอร์ออกไซด์เป็นสารตัวกลางที่เกิดขึ้นระหว่างปฏิกิริยาออกซิเดชัน ถ้าปริมาณเปอร์ออกไซด์สูง แสดงว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดขึ้นมาก น้ำมันที่มีคุณภาพดีจึงควรมีค่าเปอร์ออกไซด์ต่ำๆ (ดูภาคผนวก ก) ในการวิจัยนี้ ใช้ค่าเปอร์ออกไซด์เป็นดัชนีบ่งชี้ประสิทธิภาพของน้ำมันถั่วเหลืองหมักในการเป็นสารต้านออกซิเดชันในน้ำมันถั่วเหลือง เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่ายและสามารถทำนายการเกิดการหืนเนื่องจากออกซิเดชันได้ดี น้ำมันตัวอย่างที่มีค่าเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แสดงว่ามีแนวโน้มที่จะเกิดการหืนเร็ว

2. ค่ากรด (Mehlenbacher และคณะ , 1981) คือมิลลิลิตรของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ทำปฏิกิริยาเป็นกลางพอดีกับกรดไขมันอิสระในน้ำมันหรือไขมันหนัก 1 กรัม ค่ากรดนี้จะบ่งชี้ถึงปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นในน้ำมันจากผลของปฏิกิริยาการสลายตัวด้วยน้ำ น้ำมันที่มีคุณภาพดีควรมีค่ากรดต่ำ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (เต็มศรี ขำนิจารกิจ, 2531 ; วัชรภรณ์ สุริยาภิวัฒน์ , 2529)

นำค่าเปอร์ออกไซด์ที่วัดได้ในสภาวะต่าง ๆ มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่าเปอร์ออกไซด์แต่ละคู่โดยใช้วิธี Least Significant Difference (L.S.D.)

ภาพที่ 14 แผนภูมิสรุปการศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันถั่วเหลืองหมักในการเป็นสารต้านออกซิเดชันในน้ำมันถั่วเหลือง

