บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ตัวอย่างใบยางพารา

ใบยางพาราได้มาจาก ตำบลตาหลังใน อำเภอวังน้ำเย็น จังหวัดสระแก้ว

3.2 แบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษา

1. *Escherichia coli* ATCC 25922
2. *Bacillus subtilis* TISTR 1248
3. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
4. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
5. *Klebsiella pneumoniae* TISTR 1867

แบคทีเรียที่ใช้ในการทำวิจัยครั้งนี้ ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี

3.3 เครื่องมือ

1. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ยี่ห้อ Hotpack รุ่น 3103 D
2. เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) ยี่ห้อ Buchi รุ่น R-124
3. เครื่องอบความร้อนแห้ง (Hot air oven) ยี่ห้อ Memmert รุ่น 600
4. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ยี่ห้อ Hiraymma รุ่น HA-30MII
5. ตู้ปลอดเชื้อ (Larminar air flow) ยี่ห้อ Issco รุ่น BV 124
6. เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Shaking incubator) ยี่ห้อ Wise Cube
7. เตาไฟฟ้า (Hotplate) ยี่ห้อ Jenway
8. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex mixer) ยี่ห้อ Vortex GENIE-2 รุ่น G-560E
9. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Microscope) ยี่ห้อ Nikon รุ่น ECLIPSE E200
10. เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง (pH meter) ยี่ห้อ mettle รุ่น S20-K
11. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettle รุ่น NS 1602S
12. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Precisa รุ่น XT 220A
13. เครื่องปั่น ยี่ห้อ Sharp รุ่น EM-22A
14. ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 0.5 – 10 ไมโครลิตร
15. ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 20 – 200 ไมโครลิตร
16. ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 100 – 1000 ไมโครลิตร
17. ไมโครปิเปตทิป (Micropipette tip) ขนาด 0.5 – 10, 20 – 200 และ 100 – 1000 ไมโครลิตร

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

3.4 วัสดุและอุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
2.หลอดทดลอง (Test tube) ขนาด 13 x 100 และ 16 x 150 มิลลิลิตร
3. ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (Rack)
4. แท่งแก้ว (Glass stirring rod)
5. ไม้พันสำลี เบอร์ L
6. กระบอกตวง (Cylinder)
7. ปากคีบ (Forceps)
8. ขวดแก้วขนาด 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร (Laboratory bottle)
9. กรวยกรอง (Funnel)
10. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
11. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร
12. บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร
13. ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop)
14. ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol)
15. สไลด์ (Slide) และกระจกแก้วปิดสไลด์ (Cover slip)
16. ขวดแก้วปากกว้าง
17. Paper disc ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร
18. อลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminum foil)
19. กระดาษตรวจสอบวัดความเป็นกรด-เบส
20. ช้อนตักสาร (Spatula)
21. กล้องถ่ายรูป
22. ขวดบรรจุสารเคมี (Solvent dispenser)
23. พาราฟิน (Paraffin)
24. ที่เจาะจุกก๊อก (Cork borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร
25. ไม้บรรทัด
26. ขวดแก้วบรรจุสาร
27. เครื่องเขย่าสาร (Shaker)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

3.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ (สูตรแสดงดังภาคผนวก ก)

1 Nutrient agar (NA) (ยี่ห้อ Himedia)
2 Mueller Hinton Agar (MHA) (ยี่ห้อ Himedia)
3 Mueller Hinton Broth (MHB) (ยี่ห้อ Himedia)

3.6 สารเคมี (ส่วนประกอบและวิธีการเตรียมแสดงดังภาคผนวก ข)

1. ชุดย้อมสีแกรม
2. เอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ (95% Ethanol)
3. ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide, DMSO)
4. สารเทียบความขุ่นมาตรฐาน McFarland 0.5
5. ยาปฏิชีวนะ gentamicin
6. คาร์โบพอล 940 (Carbopol 940)
7. เอทิลแอลกอฮอล์ 70% (Ethyl alcohol 70%)
8. ไตรเอทาโนลามีน (Triethanolamine)
9. โพรไพลีนไกลคอล (Propylene glycol)
10. น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ
11. โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl)

3.7 วิธีดำเนินการวิจัย

3.7.1 การเตรียมตัวอย่างพืชที่ใช้ในการศึกษา

นำใบยางพาราที่มีขนาดเท่าๆกัน โดยจะต้องไม่แก่หรืออ่อนจนเกินไป และต้องเป็นใบที่สมบูรณ์ ไม่เป็นโรคมาล้างทำความสะอาดและตากแดดให้แห้ง จากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 55 - 60 องศาเซลเซียส จนกว่าน้ำหนักจะคงที่ จากนั้นนำใบยางพาราที่ได้มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า

3.7.2 การสกัดสารออกฤทธิ์ด้วยวิธีมาเซอเรชัน (Maceration) (ณรงค์ศักดิ์ สารใจ, 2553)

นำผงใบยางพาราที่ได้จากข้อ 3.7.1 ห่อด้วยผ้าขาวบางที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นนำมาใส่ลงในภาชนะทึบแสงที่มีฝาปิด โดยใช้อัตราส่วนน้ำหนักแห้งต่อเอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 1 : 4 (น้ำหนักต่อปริมาณ) ทำการสกัดสารออกฤทธิ์โดยตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยทำการเขย่าระหว่างการสกัดเป็นระยะ เมื่อครบเวลา ทำการกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วทำการสกัดซ้ำดังวิธีข้างต้นเพื่อให้ได้สารออกมาให้มากที่สุด จากนั้นนำสารละลายที่กรองได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบ (Crude extract) และนำไปคำนวณหาผลผลิต (% yield) จากสูตร

$$\text{ผลผลิต (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัด (เมื่อแห้งเป็นผง)}}{\text{น้ำหนักสมุนไพรที่ใช้}} \times 100$$

นำสารสกัดหยาบเก็บไว้ในขวดสีชาปราศจากเชื้อ จากนั้นนำไปเก็บไว้ในโถดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้อง เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.7.3 การเตรียมตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์สำหรับทดสอบ

ชั่งสารสกัดหยาบที่ได้จากข้อ 3.7.2 ปริมาณ 2,000, 1,500, 1,000 และ 500 มิลลิกรัม ลงในขวดสีชาไร้เชื้อ และละลายด้วย Dimethyl sulphoxide (DMSO) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะได้สารสกัดที่มีความเข้มข้น 2,000, 1,500, 1,000 และ 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ทำการเก็บสารสกัดแต่ละความเข้มข้นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดสอบขั้นต่อไป

3.7.4 การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทดสอบจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *E. coli* ATCC 25922, *B. subtilis* TISTR 1248, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853 และ *K. pneumonia* TISTR 1867 ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ NA มาเลี้ยงในอาหาร Mueller Hinton Broth (MHB) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปรับความขุ่นของแบคทีเรียให้มีค่าเทียบเท่ากับ McFarland standard No. 0.5 ซึ่งจะมีปริมาณเชื้อประมาณ 1.5×10^8 CFU/ml เพื่อเป็นการควบคุมปริมาณเชื้อให้เท่ากันทุกครั้งที่ทดสอบ

3.7.5 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธี Paper disc diffusion (พิกุล อินต๊ะปาน, 2556)

ใช้ไม้พันสำลี (Cotton swab) ปราศจากเชื้อจุ่มลงในหลอดเพาะเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดจากข้อ 3.7.4 และนำไปเกลี่ยบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ทิ้งให้หน้าอาหารแห้งประมาณ 5 – 10 นาที นำแผ่นดิสก์ (Paper disc) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร มาบรรจุสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ DMSO และยาปฏิชีวนะ Gentamicin (ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อดิสก์) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ทำการผึ่งดิสก์ในภาชนะปลอดเชื้อให้แห้งจึงนำไปวางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการเกลี่ยเชื้อไว้แล้วข้างต้น นำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และบันทึกผลการทดลองโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสในการยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone หรือ Clear zone) ทำการคัดเลือกสารสกัดจากใบยางพาราที่ให้ผลทดสอบเป็นบวกกับเชื้อทดสอบ เพื่อนำไปทดสอบหาค่า Minimum inhibitory concentration (MIC) และค่า Minimum bactericidal concentration (MBC) ต่อไป

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

3.7.6 การศึกษาความสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียต่อหน่วยเวลา (Time killed assay) ด้วยวิธี paper disc diffusion (ดัดแปลงจากพิกุล อินต๊ะปาน, 2556)

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.7.5 แต่สังเกตการเกิดวงใสการยับยั้งที่เวลา 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 และ 36 ชั่วโมง

3.7.7 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (Minimum inhibitory concentration, MIC) (ดัดแปลงมาจากอัฐญาพร ชัยชมภู, 2555)

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปรับความความขุ่นให้มีค่าเท่ากับ McFarland standard No. 0.5 และทำการเจือจางสารสกัด DMSO และยาปฏิชีวนะ Gentamicin แบบสองเท่าลำดับส่วน จากนั้นเติมสารต่าง ๆ ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอดดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ปริมาณสารที่เติมเข้าไปในหลอดทดลองในการหาค่า MIC

สาร	ปริมาณที่เติม (มิลลิลิตร) ในหลอดทดลองที่									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
สารสกัดจากใบยางพารา/ Dimethyl sulphoxide/ Gentamicin	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	-	-
อาหาร MHB	-	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	-	1.0
แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0	-

หมายเหตุ - คือ ไม่เติมสาร แต่ละหลอดมีปริมาตรสุดท้ายคือ 1 มิลลิลิตร

↷ คือ ดูดสารละลายใส่หลอดถัดไป

นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจดูความขุ่นของเชื้อทดสอบในหลอดทดลองด้วยตาเปล่าเทียบกับหลอดควบคุม (หลอดที่ 9 และ 10)

3.7.8 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum bactericidal concentration, MBC) (ณรงค์ศักดิ์ สารใจ, 2553)

นำหลอดที่ได้จากการทดลองข้อที่ 3.7.7 ที่ไม่พบการเจริญของเชื้อในการทดลอง มาทำการขีด (Streak) เชื้อลงบนอาหาร MHA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงทำการอ่านผลโดยการทดสอบการเจริญของเชื้อ โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อได้ 100 เปอร์เซนต์ คือค่า MBC

3.7.9 การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดใบยางพาราร่วมกับยาปฏิชีวนะ Gentamicin (Synergism) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (Lee and Komurmy, 1975)

ใช้ไม้พันสำลีปลอดเชื้อจุ่มลงในหลอดเพาะเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดจากข้อ 3.7.4 จากนั้นนำไปเกลี่ยบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA วางทิ้งไว้ให้แห้ง นำดิสก์ปราศจากเชื้อมาเติม DMSO, สารสกัดใบยางพาราที่ความเข้มข้น 2,000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, ยาปฏิชีวนะ Gentamicin ที่ความ

เข้มข้น 10 ไมโครกรัม/ดิสก์ และสารสกัดที่มีความเข้มข้น 2,000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรที่มีส่วนผสมของยาปฏิชีวนะ Gentamicin ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/ดิสก์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร แล้วนำมาวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการเกลี่ยเชื้อไว้ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลการทดลองโดยวัดค่าเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสการยับยั้งและนำผลที่ได้ไปคำนวณหาค่าระยะห่างในการวางดิสก์ทั้ง 2 โดยคำนวณดังสูตร [(เส้นผ่าศูนย์กลางวงใสการยับยั้งจากยาปฏิชีวนะ Gentamicin + เส้นผ่าศูนย์กลางวงใสการยับยั้งของสารสกัดด้วยเอทานอล)/2 – 2] เพื่อในการทดลองขั้นต่อไป

นำผลการทดลองข้างต้นมาทำการตรวจสอบประสิทธิภาพการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดกับยาปฏิชีวนะตามระยะห่างที่ได้คำนวณไว้แล้วข้างต้น โดยตำแหน่งการวางดิสก์แสดงดังภาพ 3.2 จากนั้นนำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสการยับยั้งในหน่วยมิลลิเมตร

3.7.10 การเตรียมผลิตภัณฑ์เจลล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบยางพารา

นำสารสกัดใบยางพารามาผสมกับสารเคมีเพื่อสร้างผลิตภัณฑ์เจลล้างมือจำนวน 5 สูตร โดยใช้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับค่า MIC

3.7.11 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์เจลล้างมือด้วยวิธี Paper disc diffusion (ดัดแปลงมาจากวิธีของ พิกุล อินต๊ะปาน, 2556 และจารวี สุขประเสริฐ และคณะ, 2555)

ทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบของผลิตภัณฑ์เจลล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบยางพารา ด้วยวิธี Paper disc diffusion เช่นเดียวกันกับข้อ 3.7.5

3.7.12 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์เจลล้างมือ ด้วยวิธี Agar well diffusion (ดัดแปลงมาจากวิธีของ พิกุล อินต๊ะปาน, 2556 และจารวี สุขประเสริฐ และคณะ, 2555)

ใช้ไม้พันสำลีปลอดเชื้อจุ่มลงในหลอดเพาะเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดจากข้อ 3.7.4 จากนั้นนำไปเกลี่ยบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA นำจุกค็อก (Cork borer) ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เจาะลงบนอาหารวุ้น หลังจากนั้นบรรจุเจลล้างมือที่มีส่วนผสมตามข้อ 3.7.10 ลงไปในหลุม ๆ ละ 20 ไมโครลิตร โดยใช้ยาปฏิชีวนะ Gentamicin ที่มีความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/หลุม จากนั้นนำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลการทดลองโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสยับยั้งเชื้อในหน่วยมิลลิเมตร

3.7.13 การทดสอบความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์เจลล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบยางพารา (ดัดแปลงจากอัฐญาพร ชัยชมภู, 2555)

ทำการสำรวจความพึงพอใจของอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์เจลล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากใบยางพาราอย่างน้อย 10 คน ที่มีอายุระหว่าง 18 - 50 ปี โดยไม่ระบุจำนวนเพศ

โดยใช้แบบสอบถามให้คะแนน โดยประเมินจากลักษณะภายนอก ความพึงพอใจในด้าน สี กลิ่น ความหนืด และการแยกชั้น

3.7.14 การทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนัง (ดัดแปลงจากอัฐญาพร ชัยชมภู, 2555)

คัดเลือกประชากรที่มีสุขภาพแข็งแรงจำนวนไม่น้อยกว่า 10 คน เช็ดทำความสะอาดบริเวณต้นแขนด้านในด้วยสำลีชุบน้ำสะอาดและเอทานอล 70% ทิ้งไว้ให้แห้ง แบ่งบริเวณทดสอบเป็นช่องสี่เหลี่ยมขนาด 1 x 1 เซนติเมตร จำนวน 2 ช่อง โดยบริเวณที่ 1 ทาด้วยน้ำกลั่น และบริเวณที่ 2 ทาผลิตภัณฑ์เจลล้างมือปิดทับบริเวณทดสอบด้วยผ้าพันแผล ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการดึงผ้าพันแผลออก รอประมาณ 15 นาที แล้วทำการอ่านผลจากตรงกลางของบริเวณที่ปิดผ้าพันแผล ให้คะแนนโดยใช้หลักเกณฑ์ดังนี้

0	:	ไม่เกิดอาการแพ้เลย
+	:	แดงเล็กน้อย
++	:	แดงมากแต่บริเวณผิวยังเรียบเนียนอยู่
+++	:	แดงและมีตุ่มเกิดขึ้น ผิวไม่เรียบ
++++	:	แดงเป็นตุ่ม มีการบวมของเลือด และมีการเกาะกลุ่มของตุ่ม อาจแตกเป็นน้ำใสไหลออกมาได้

3.7.15 การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เจลล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากใบยางพาราด้วยวิธี Heating – cooling cycle

ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ด้วยวิธี Heating – cooling cycle โดยทำการเก็บผลิตภัณฑ์เจลไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส อีก 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบจำนวน 6 รอบ เมื่อครบกำหนดทำการวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) สังเกตลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ความหนืด สี กลิ่น การแยกชั้น และบันทึกผลการทดลอง

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี