ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

การวัดค่าความเป็นกรดด่าง ตามวิธีของ AOAC (2003)

ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมักมาจำนวน 10 กรัม ปั่นผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าความเป็นกรดด่างด้วยเครื่อง pH-meter โดยก่อนทำการวัดค่าจะต้องปรับค่ามาตรฐานในการวัดแต่ละครั้ง (Calibrate) ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานที่มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.00 7.00 และ 10.00 ตามลำดับ จากนั้นจึงทำการวัดค่าความเป็นกรดด่างของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทั้งหมด 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

การวัดปริมาณไอโซฟลาโวน ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC HP1100 series)

การวิเคราะห์ตัวอย่างเพื่อหาปริมาณ Daizein และ Genistein ในตัวอย่าง จะต้องมีการพัฒนาการวิธีสกัดสาร Daizein และ Genistein โดยการควบคุมคุณภาพการสกัดด้วยการใช้สารที่เรียกว่า Internal standard ควบคู่กับการทำ Method Validation เพื่อให้ได้วิธีสกัดและ Clean up ที่ให้ผลถูกต้อง แม่นยำ มากที่สุด และสามารถทำได้ในเวลาอันรวดเร็ว เนื่องจากสาร Daizein และ Genistein นั้นเมื่อสกัดมาอยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์แล้วจะมีการสลายตัวอย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามในการศึกษาวิธีสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่างนี้ได้มีการศึกษาติดตามหา Stability ของสารดังกล่าว เพื่อนำมาปรับใช้ให้เหมาะสม เพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องมากที่สุด

วิธีสกัดที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

ทำการพัฒนาวิธีการสกัด Daidzein และ Genistein จากตัวอย่างถั่วเหลืองและถั่วหมักชีวภาพ โดยใช้ Solvent extraction ซึ่งได้มีการปรับปรุงวิธีจนได้ขั้นตอนการสกัดที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ด้วย HPLC คือ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

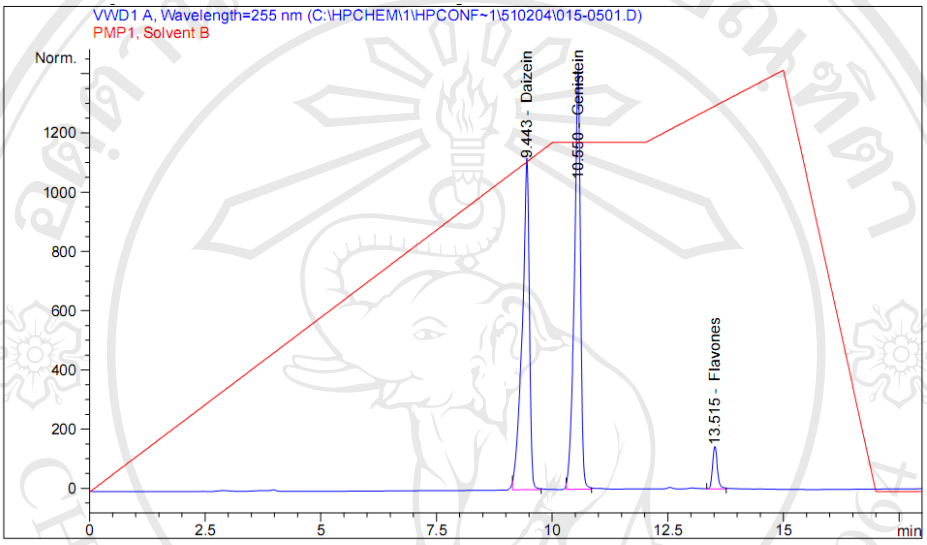
1. ชั่งตัวอย่างที่ได้ผ่านกระบวนการ Freeze drying 1.0000 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน) ใส่ลงใน Erlenmeyer flask
2. เติมสารมาตรฐาน Flavones ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง 110 ไมโครลิตร จากนั้น ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 – 10 นาที
3. เติม Acetonitrile ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วเติม 0.1 N HCl ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร จากนั้นจึงเติม น้ำปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นานประมาณ 1-2 นาที
4. นำตัวอย่างซึ่งอยู่ใน Erlenmeyer flask ไปเขย่าด้วยเครื่อง Shaker นาน 10 นาที แล้วนำไป Sonicate นาน 10 นาที
5. จากนั้นนำตัวอย่างมาตั้งทิ้งไว้ประมาณ 5-10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
6. ดูดสารละลายส่วนใส ซึ่งอยู่ด้านบน ใส่ใน Eppendrof tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
7. นำไปปั่นตกตะกอนด้วย Microcentrifuge ที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที
8. ใช้ Pasture pipette ดูดส่วนใส ด้านบน นำมากรองด้วย Syringe filter ชนิด PTFE ขนาด 0.45 ไมครอน นำสารละลายที่กรองได้ใส่ลงในขวด HPLC เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ต่อไป

วิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ได้ทำการศึกษาโดยใช้วิธีของ (Klejdus, 2005) เป็นต้นแบบของการศึกษา การแยกสารโดยเทคนิค HPLC ของ Klejdus จะใช้ Gradient Separation ซึ่งเมื่อได้ทำการศึกษาตามวิธีของ Klejdus ซึ่งใช้ 0.1% Formic acid และ Acetonitrile เป็น Mobile phase การศึกษานี้ได้ปรับเปลี่ยนไปใช้ 0.1% Acetic Acid แทน Formic Acid และได้ปรับปรุงให้ได้ Peak ของ Daidzein และ Genistein ที่แยกกันได้ดีที่สุด ใช้ระยะเวลาในการ Run สั้นที่สุด ซึ่งได้สภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ คือ

Column	Inersil C18 size 250x4.6 mm., 5.0 uM
Injection volume20 ul	
Flow rate	1.0 ml/min
Mobile phase	A = 0.1% Acetic Acid
	B = Mobile Phase

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Gradient separation	0 min 42%B, 10 min 90%B, 12 min 90%B, 15 min 100%B, 18 min 42%B, 20 min 42%B
Column oven	40°C
Total run time	20 min
Wavelength	255 nm



ภาพที่ ก.1 Peak ของสารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำ ตามวิธีของ AOAC (2003)

1. บันทึกน้ำหนักของกระป๋องอลูมิเนียม (Moisture can) ที่สะอาด และผ่านการอบเป็นเวลา 20-30 นาที ปล่อยทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น (Desiccator)

2. ชั่งตัวอย่างพร้อมกระป๋องอลูมิเนียมที่ผ่านการอบแล้ว จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่

3. นำกระป๋องอลูมิเนียมออกจากตู้อบ และปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้นไม่น้อยกว่า 20 นาที ชั่งน้ำหนักกระป๋องและตัวอย่างแห้ง นำไปอบซ้ำหลายๆครั้งจนได้น้ำหนักคงที่ ซึ่งค่าที่ได้แตกต่างกันไม่เกิน 0.05 กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4. บันทึกน้ำหนักของกระป๋องอลูมิเนียมและของแข็งที่เหลืออยู่และคำนวณหาปริมาณน้ำจากสูตร

$$\text{ปริมาณน้ำ (ร้อยละ, เปรียบเทียบกับน้ำหนักเปียก)} = \frac{(A-B) \times 100}{C}$$

เมื่อ A คือ น้ำหนักตัวอย่าง + กระป๋องอลูมิเนียมก่อนอบ (กรัม)

B คือ น้ำหนักตัวอย่าง + กระป๋องอลูมิเนียมหลังอบ (กรัม)

C คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

****หมายเหตุ ทำการวิเคราะห์อย่างน้อย 3 ซ้ำ**

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

การวัดค่าสีในระบบฮันเตอร์ (Hunter Lab)

เป็นการวัดค่าสีในรูปแบบ ค่าสี L* a* b* โดยในงานวิจัยนี้ใช้เครื่องวัดสี Chroma meter model CR-400 (KONICA MINOLTA, Japan) โดยค่าสี L* เป็นค่าความสว่าง (Lightness) ค่าสี a* เป็นค่าสีแดงและเขียว (Redness/Greeness) และ ค่าสี b* เป็นค่าสีเหลืองและน้ำเงิน (Yellow/Blueness)

โดย ค่า L* คือค่าความสว่าง มีค่าอยู่ในช่วง 0 (สีดำ) ถึง 100 (สีขาว) ซึ่งถ้ามีค่าสูง

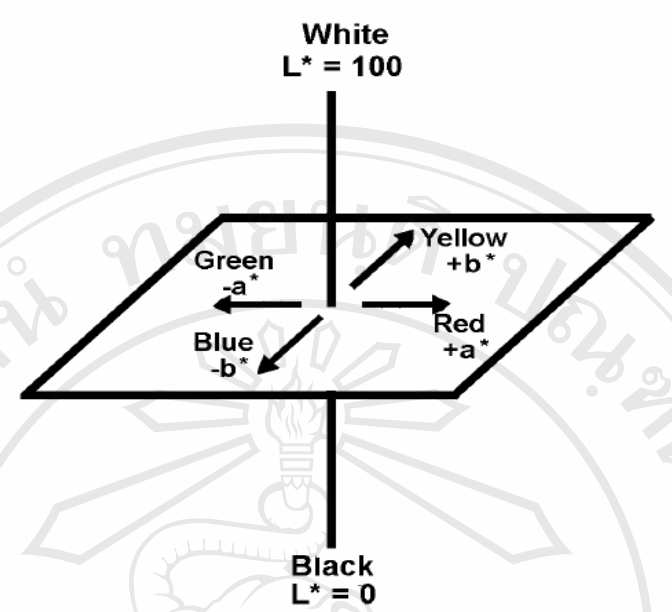
a* คือค่าสีแดงและเขียว เมื่อค่าบวก เป็นสีแดง

เมื่อค่าลบ เป็นสีเขียว

b* คือค่าสีเหลืองและน้ำเงิน เมื่อค่าบวก เป็นสีเหลือง

เมื่อค่าลบ เป็นสีน้ำเงิน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ ก-2 แสดงช่วงของค่าสีในระบบฮันเตอร์ (CIELAB COLOR SCALE)

ที่มา : Hunter Associates Laboratory (2008)

ก่อนการวัดค่าสีทุกครั้งต้องทำการปรับค่ามาตรฐานเครื่อง (Calibration) โดยใช้แผ่นสีขาวมาตรฐาน (White blank ; L*= 97.67, a* = -0.43, b* = 1.98) แล้วจึงทำการวัดค่าสีของตัวอย่างทั้งหมด 3 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย

การแยกเชื้อจุลินทรีย์ในจีนัส บาซิลลัส (*Bacillus* spp.)

การใช้เทคนิค Pour plate

เทคนิคนี้ใช้ในการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์จะต้องทำการเจือจางใน อาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นของเหลวโดยใช้ Aseptic technique ทุกขั้นตอน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- จานอาหารเลี้ยงเชื้อ
- หลอดทดลอง
- ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
- ตู้บ่มเชื้อ
- หม้อนึ่งความดัน

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

- สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ที่มีความเข้มข้น 0.1% W/V (Peptone, Difco ™, USA)
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (Becto ® PCA Plate Count Agar, Difco ™, USA)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร
2. ต้มจนอาหารละลาย
3. นำอาหารเลี้ยงเชื้อเข้าหม้อนึ่งความดัน โดยให้ความร้อน 121-124 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที เพื่อทำให้อาหารปราศจากเชื้อ

ขั้นตอนการแยกเชื้อ

1. นำตัวอย่างถั่วเน่า 25 กรัม ไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
2. เติมสารละลายเปปโตน 225 มิลลิลิตร นำไปตีป่นด้วยเครื่องตีป่นอาหาร (Stomacher) ให้ตัวอย่างและสารละลายเปปโตนผสมเข้ากัน ส่วนผสมที่ได้เป็นการเจือจางตัวอย่างไป 10 เท่า หรือ dilution 10^{-1}
3. ใช้ปิเปต ดูดสารละลายที่เตรียมจากข้อ 1. ปริมาณ 1 มิลลิลิตร และนำไปใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตนปริมาตร 9 มิลลิลิตร เพื่อทำการเจือจางเขย่าให้ผสมกันดี เป็นการเจือจางตัวอย่างไป 100 เท่า หรือ 10^{-2} จากนั้นทำการเจือจางไปจนกระทั่ง 10^{-9} (ทำการเปลี่ยนปิเปตใหม่ทุกครั้งที่เจือจางตัวอย่าง)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4. ดูดสารละลายในแต่ละdilution มา 1 มิลลิลิตร ด้วยปิเปต นำมาใส่ลงใน จานอาหารเลี้ยงเชื้อเปล่าที่ปราศจากเชื้อ โดยทำ 2 จานต่อ 1 dilution
5. นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นของเหลวซึ่งควรพักไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 50-55 องศาเซลเซียส มาเติมลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
6. หมุนจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปมาให้ผสมเข้ากันและตั้งทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว
7. นำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

Nutrient agar

1. Beef extract	3	กรัม
2. Peptone	5	กรัม
3. Agar	15	กรัม
4. Distilled water	1	ลิตร

Starch agar

1. Beef extract	3	กรัม
2. Soluble starch	10	กรัม
3. Agar	15	กรัม
4. Distilled water	1	ลิตร

MR-VP medium

1. Peptone	10	กรัม
2. Sodium Chloride	5	กรัม
3. Disodium Phosphate	3.5	กรัม
4. Monopotassium Phosphate	1.5	กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

5. Dipotassium Phosphate	5	กรัม
6. Dextrose	5	กรัม
7. Distilled water	1	ลิตร

Final pH: 7.2 ± 0.2 at 25°C

Glucose broth

1. Peptone	10	กรัม
2. Sodium chloride	5	กรัม
3. Glucose	5	กรัม
4. Phenol red	0.018	กรัม
5. Distilled water	1	ลิตร

การเตรียมสีย้อมแกรม (Gram stain) ตามวิธี ภาควิชาชีววิทยา (2539)

Crystal violet stain

1. Crystal violet (gentian violet)	0.5	กรัม
2. Distilled water	100	มิลลิลิตร

Decolorizer (Gram stain)

1. 95% Ethanol	250	มิลลิลิตร
2. Acetone	250	มิลลิลิตร

Gram iodine solution

1. Iodine	1.0	กรัม
2. Potassium iodide	2.0	กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. Distilled water	300	มิลลิลิตร

Safranin stain

1. Safranin O	2.5	กรัม
2. Ethanol	100	มิลลิลิตร

หลังจากสีย้อมละลายเข้ากันดีแล้วถ้าสีมีความเข้มข้นสูงเกินไปสามารถทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นตามความเหมาะสม (ประมาณ 5-10 เท่า) ก่อนนำมาใช้งาน

วิธีการทดสอบทางชีวเคมี

Catalase Test

เป็นการทดสอบแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ Catalase ซึ่งเป็น Hemeprotein ที่อยู่ในระบบ Cytochrome ของแบคทีเรียพวก Aerobe หรือ Facultative anaerobe โดยที่ เอนไซม์ชนิดนี้จะมีความสามารถในการสลาย ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ให้เป็นก๊าซออกซิเจน (O_2)และน้ำ (H_2O) เนื่องจาก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นby-product ในเมทาบอลิซึมของเซลล์แบคทีเรียที่ต้องการอากาศในการดำรงชีวิต และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสารที่มีอันตราย เพื่อเป็นการป้องกันอันตรายเอนไซม์ดังกล่าวจึงสลายสารนี้ไปเป็นสารที่ทำลายเซลล์ต่ำ (Wikipedia encyclopedia, 2008)

ปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้น

$$H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase enzyme}} H_2O + O_2$$

ขั้นตอนการทดสอบ

1. หยดสารละลาย 3% H_2O_2
2. เขี่ยเชื้อที่ต้องการทดสอบและทำการ Smear ลงในหยดสารละลาย H_2O_2 อ่านผลทันที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การแปลผล

มีฟองอากาศเกิดขึ้น ผล Catalase บวก

ไม่มีฟองอากาศเกิดขึ้น ผล Catalase ลบ

Voges-Proskauer test

เป็นการทดสอบว่าแบคทีเรียสามารถสร้างสาร Acetyl methyl carbinol (acetoin) จากกลูโคส ได้หรือไม่ในสภาวะที่สารละลายนั้นเป็นด่าง สารนี้จะถูก Oxidized เป็น Diacetyl ซึ่งทำปฏิกิริยากับ Creatine เกิดเป็นสีแดง

ขั้นตอนการทดสอบ

1. Inoculate เชื้อที่ต้องการทดสอบลงใน MR-VP Medium
2. Incubate ที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
3. หยด 5% α- naphthol 6 หยดเขย่า
4. หยด 40% KOH 2 หยด
5. เขย่าให้เข้ากันดี ทิ้งไว้ 10-15 นาที
6. อ่านผลโดยดูการเปลี่ยนแปลงของสี Medium

การแปลผล

ผลบวก : Medium เกิดสีแดง

ผลลบ : Medium เกิดสีเหลือง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Glucose fermentation test

แบคทีเรียจะนำคาร์โบไฮเดรตไปใช้ในกระบวนการเมทาบอลิซึมภายในเซลล์ เมื่อสิ้นสุดกระบวนการดังกล่าวจะเกิด End product ขึ้น เป็นสารจำพวกกรดอินทรีย์ อีกทั้งในเชื้อบางชนิดยังสามารถสร้างก๊าซขึ้นในกระบวนการหมักนี้ด้วย และในการทดสอบคุณสมบัติการหมักคาร์โบไฮเดรตของเชื้อ จะมีการเติมอินดิเคเตอร์ เช่น Phenol red อีกทั้งยังมีการใส่หลอดดักก๊าซ (Durham tube) ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ขั้นตอนการทดสอบ

1. Inoculate เชื้อที่ต้องการลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Glucose broth
2. Incubate ที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
3. สังเกตการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ และการเกิดก๊าซใน Durham tube

การแปลผล

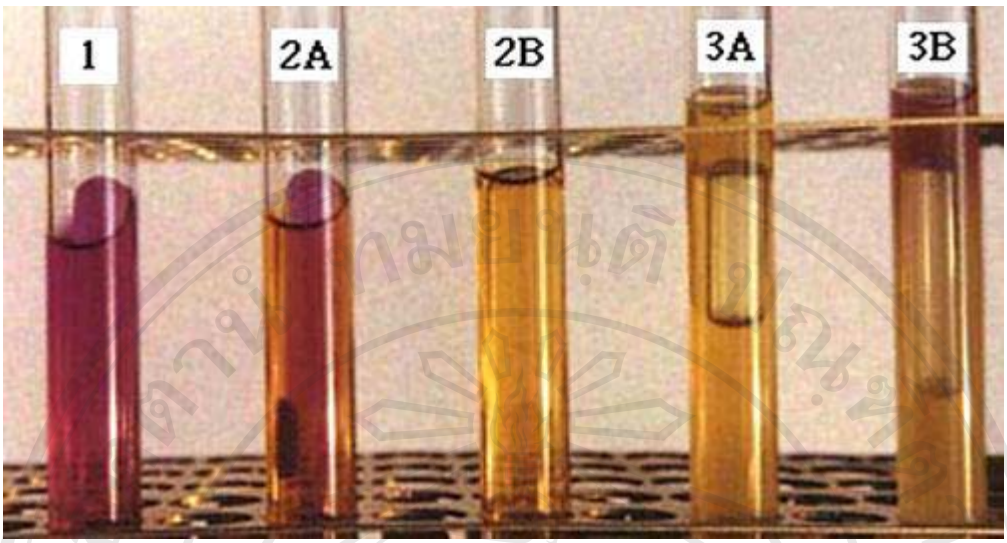
ผลบวก : อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเหลือง รายงานผลว่า A (Acid) ดังหลอดทดลอง 2B ในภาพที่ ก3.

ถ้ามี gas ด้วยให้รายงานผลว่า AG (Acid and Gas) ดังหลอด 3A และ 3B ในภาพที่ ก3

ผลลบ : อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีชมพูแดง ดังหลอด 1 ในภาพที่ ก3.

Delayed : อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีส้ม ดังหลอด 2A ในภาพที่ ก3. (กรณีนี้ต้องทำการ Incubate ต่อไป)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ ก-3 แสดงผลการหมักอาหารเลี้ยงเชื้อ Glucose broth

ที่มา : John Lindquis (2005)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

ภาพประกอบถั่วเหลืองหมัก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

<table>
<tr><th colspan="2">ภาพกระบวนการผลิตถั่วเหลือง</th></tr>
<tr><td>ภาพ ข-1 กระบวนการผลิตถั่วเหลืองหมักแบบพื้นบ้าน</td><td>ภาพ ข-2 กระบวนการผลิตถั่วเหลืองหมักโดยใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์</td></tr>
<tr><td>
ภาพ ข-1.1 ถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำ</td><td>
ภาพ ข-2.1 ถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มมาเป็นเวลา 3 ชั่วโมง</td></tr>
<tr><td>
ภาพ ข-1.2 ถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มมาเป็นเวลา 3 ชั่วโมง</td><td>
ภาพ ข-2.2 ถั่วเหลืองที่ต้มแล้วนำใส่ถุงพลาสติกและทิ้งให้เย็น</td></tr>
<tr><td rowspan="2">
ภาพ ข-1.3 ถั่วเหลืองต้มที่บรรจุลงภาชนะเพื่อทำการหมักแบบพื้นบ้าน</td><td>
ภาพ ข-2.3 ถั่วเหลืองที่ต้มและหัวเชื้อจุลินทรีย์</td></tr>
<tr><td>
ภาพ ข-2.4 ใส่เชื้อจุลินทรีย์ลงในถุงถั่วเหลืองต้ม</td></tr>
</table>

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ ข-3 เปรียบเทียบระหว่างถั่วเหลืองหมักจากเชื้อ *Bacillus* spp. ที่มีการสร้างพอลิเมอร์ที่มีลักษณะเป็นเมือกเหนียวคล้ายนัตโตและไม่มีการสร้างพอลิเมอร์

ภาพที่ ข-3.1 ถั่วเหลืองหมักที่ผลิตด้วย *Bacillus subtilis* THUANAOLG01 ซึ่งไม่สร้างพอลิเมอร์

ภาพที่ ข-3.2 ถั่วเหลืองหมักที่ผลิตด้วย *Bacillus megaterium* PY03 ซึ่งไม่สร้างพอลิเมอร์

ภาพที่ ข-3.3 ถั่วเหลืองหมักที่ผลิตด้วย *Bacillus subtilis* NATTOCR04 ซึ่งสร้างพอลิเมอร์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวปัทมา กาญจนคีรีธำรง

วัน เดือน ปี เกิด 20 ธันวาคม 2527

ประวัติการศึกษา

สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย
โรงเรียนธิดานุเคราะห์ หาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
ปีการศึกษา 2545
สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี
สาขาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ปีการศึกษา 2549

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved