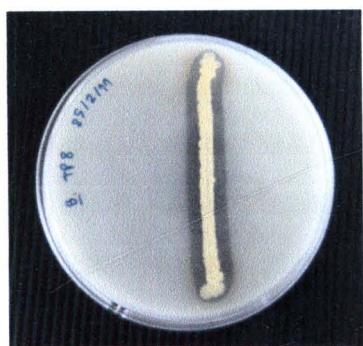


บทที่ 4

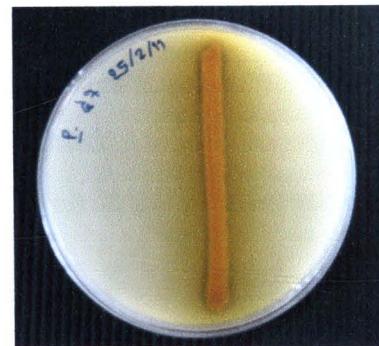
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การทดสอบการสร้างเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

การทดสอบเอนไซม์ไลเปสโดยเลี้ยงเชื้อบน Tributyrin agar และ Chromogenic plate พบวabenอาหาร Tributyrin agar เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* TP8 และ *P. fluorescens* G7 เกิดรอยใส (clear zone) รอบโคลินี (ภาพ 11) และโคลินีของเชื้อบนอาหาร Chromogenic plate เกิดการเปลี่ยนสีของอาหารจากสีชมพูเป็นสีเหลือง (ภาพ 12) ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการสร้างเอนไซม์ไลเปสได้



(ก)

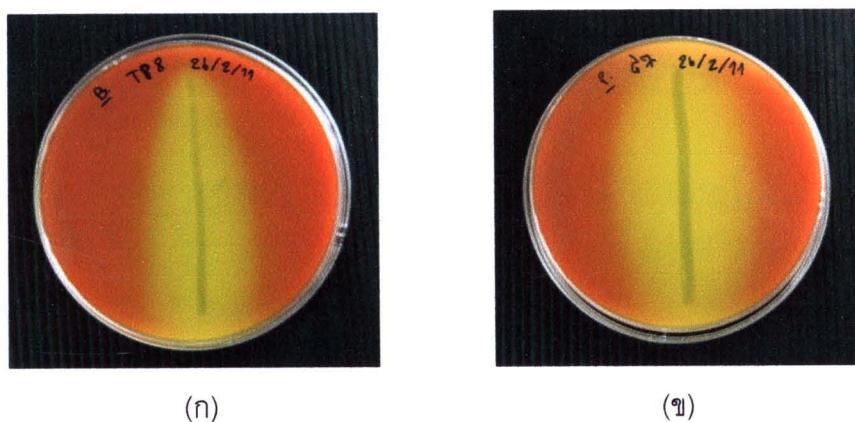


(ข)

ภาพ 11 แสดง clear zone บริเวณที่ขีดเชื้อ บนอาหาร Tributyrin agar

(ก) *B. subtilis* TP8

(ข) *P. fluorescens* G7



ภาพ 12 แสดงการเปลี่ยนสีของอาหาร chromogenic plate จากสีชมพูเป็นสีเหลือง

(ก) *B. subtilis* TP8

(ข) *P. fluorescens* G7

จากการวิเคราะห์ lipase activity ของแบคทีเรีย พบร้าเชื้อ *B. subtilis* TP8 และ *P. fluorescens* G7 ให้ค่า lipase activity เท่ากับ 0.0168-0.0319 และ 0.0155-0.0230 ตามลำดับ ในระหว่างชั่วโมงที่ 48-96 ชั่วโมง (ตาราง 6) เชื้อ *B. subtilis* TP8 สูงสุดเท่ากับ 0.0319 ± 0.0005 ที่ 72 ชั่วโมง และ *P. fluorescens* G7 สูงสุดเท่ากับ 0.0230 ± 0.0020 ที่ 96 ชั่วโมง

ตาราง 6 แสดงผลค่า lipase activity ของแบคทีเรียทดสอบ

แบคทีเรียทดสอบ	Extracellular lipase activity (U/ml) (mean \pm SD)		
	48 h	72 h	96 h
<i>B. subtilis</i> TP8	$0.0168 \pm 0.0001^{\text{cA}}$	$0.0319 \pm 0.0005^{\text{aA}}$	$0.0269 \pm 0.0002^{\text{bA}}$
<i>P. fluorescens</i> G7	$0.0155 \pm 0.0002^{\text{bA}}$	$0.0207 \pm 0.0006^{\text{aB}}$	$0.0230 \pm 0.0020^{\text{aA}}$

หมายเหตุ: a และ b ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวโน้ม แสดงว่ามีความแตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A และ B ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การศึกษาประสิทธิภาพ ของแบคทีเรียที่สร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และเอนไซม์ไลเปสในการย่อยสลายไขมันและน้ำมัน ด้วยวิธีการวิเคราะห์ Fat Oil and Grease (FOG) (แบบแ xenon ล oxy)

จากการวิเคราะห์ FOG ที่เหลืออยู่หลังจากทำการย่อยสลายไขมันด้วยเอนไซม์ lipase จากเชื้อ *B. subtilis* TP8, *P. fluorescens* G7 และเชื้อผสม ระหว่าง *B. subtilis* TP8 และ *P. fluorescens* G7 ในอัตราส่วน 1:1 (v:v) ในลักษณะ xenon ล oxy ในน้ำเสียสังเคราะห์ พบร่วงจากปริมาณ FOG เริ่มต้น 8,810 มิลลิกรัมต่อลิตร ลดลงเหลือ 1,189, 912 และ 1,156 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 96 และเมื่อนำมาวิเคราะห์หาประสิทธิภาพในการย่อยสลายไขมันและน้ำมัน (Removal efficiency%, RE) พบร่วงเชื้อ *P. fluorescens* G7 สามารถย่อยสลายไขมันได้สูงถึงร้อยละ 89.65 ในขณะที่เชื้อผสม และ *B. subtilis* TP8 ย่อยสลายได้ 86.88 และ 86.50 ตามลำดับ (ตาราง 7)

ตาราง 7 แสดงผลการย่อยสลายไขมันและน้ำมันของแบคทีเรียทดสอบแบบ xenon ล oxy ในน้ำเสียสังเคราะห์

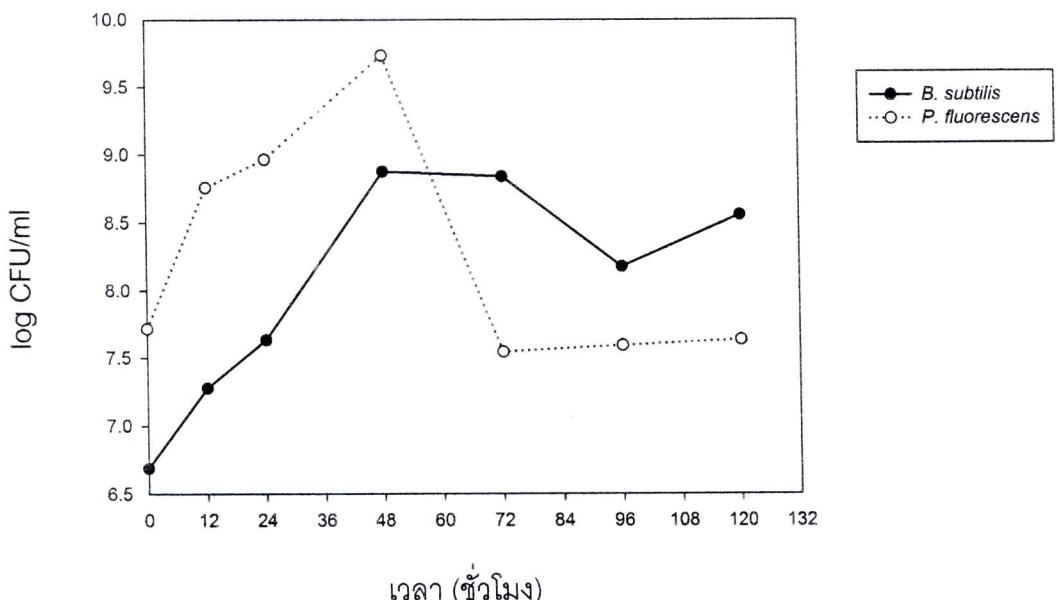
แบคทีเรียทดสอบ	FOG เริ่มต้น (mg/l)	FOG ที่เหลือหลังจากย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปส		
		48 hr	72 hr	96 hr
<i>B. subtilis</i> TP8	8810	6632 (24.72)	3142 (64.34)	1189 (86.50)
<i>P. fluorescens</i> G7	8810	2593 (70.56)	946 (89.26)	912 (89.65)
เชื้อผสม	8810	3334 (62.16)	1527 (82.67)	1156 (86.88)

หมายเหตุ: ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$

การศึกษาการสร้างไบโอดิฟิล์ม ของแบคทีเรียที่สร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และเอนไซม์ไลเปสในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันจากน้ำเสียสังเคราะห์ ในระบบคอลัมน์ทราย ด้วยวิธีการวิเคราะห์ FOG

การศึกษาการสร้างไบโอดิฟิล์มของแบคทีเรียทดสอบ

ผลการศึกษาการสร้างไบโอดิฟิล์มของแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Sand Biofilm Columns เพื่อให้เกิดการสร้างไบโอดิฟิล์มยึดติดวัสดุต่างๆ ตาม โดยนำสารละลายเชื้อแขวนลอยมาทำการ spread plate แล้วสังเกตผลการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (NA plate) ทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน หลังเติมเชื้อทดสอบเริ่มต้นในระบบบำบัด และตรวจนับจำนวนแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้น พบว่า *B. subtilis* TP8 มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 4.9×10^6 CFU/ml และเพิ่มขึ้นในระหว่างชั่วโมงที่ 12-48 มีค่าเท่ากับ 1.9×10^7 , 4.3×10^7 และ 7.5×10^8 CFU/ml เชื้อมีการเจริญคงที่ในชั่วโมงที่ 48-120 มีค่าเท่ากับ 7.5×10^8 , 6.9×10^8 , 1.5×10^9 และ 3.6×10^8 CFU/ml ตามลำดับ และพบว่า *P. fluorescens* G7 มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 5.2×10^7 CFU/ml มีปริมาณเพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 12-48 มีค่าเท่ากับ 5.7×10^8 , 9.2×10^8 และ 5.4×10^9 CFU/ml พบว่าเชื้อมีปริมาณลดลงในชั่วโมงที่ 48-72 มีค่าเท่ากับ 5.4×10^9 , 3.5×10^7 CFU/ml และในชั่วโมงที่ 72-120 มีค่าเท่ากับ 3.5×10^7 , 3.9×10^7 และ 4.3×10^7 CFU/ml (ภาพ 8)



ภาพ 13 แสดงการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA plate) เป็นเวลา 5 วัน

การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยึดติดของไบโอดีฟิล์มของเชื้อแบคทีเรียทดสอบกับพื้นผิวสุดตัวกลาง

นำวัสดุตัวกลางที่เกิดการฟอร์มตัวของไบโอดีฟิล์ม ในระบบบำบัดน้ำเสีย Sand Biofilm Columns เป็นเวลา 5 วัน มาทำการแยกแบคทีเรียออกจากพื้นผิว ด้วยเครื่อง Shaker, Centrifuge และ Vortex นำสารละลายเชื้อเขวนลอยที่ได้ มาทำการ spread plate ลงบนอาหาร NA plate พบว่าการแยกเชื้อ *B. subtilis* TP8 ด้วยเครื่อง Shaker มีค่าเท่ากับ 6.8×10^4 CFU/ml (0.02%) ด้วยเครื่อง Centrifuge มีค่าเท่ากับ 3.4×10^4 CFU/ml (0.01%) และด้วยเครื่อง Vortex มีค่าเท่ากับ 1.2×10^5 CFU/ml (0.03%) รวมปริมาณเชื้อ *B. subtilis* TP8 ทั้งหมดจากการแยกทั้งสามขั้นตอน มีค่าเท่ากับ 2.2×10^5 CFU/ml (0.06) ในขณะที่การแยกเชื้อ *P. fluorescens* G7 ด้วยเครื่อง Shaker มีค่าเท่ากับ 1.4×10^6 CFU/ml (3.15%) ด้วยเครื่อง Centrifuge มีค่าเท่ากับ 7.4×10^5 CFU/ml (1.69%) และด้วยเครื่อง Vortex มีค่าเท่ากับ 7.6×10^6 CFU/ml (15.02%) รวมปริมาณเชื้อ *P. fluorescens* G7 ทั้งหมดจากการแยกทั้งสามขั้นตอน มีค่าเท่ากับ 9.7×10^6 CFU/ml (19.86) ดังแสดงในตาราง 8

ตาราง 8 แสดงปริมาณเชื้อที่หลุดออกมานอกไบโอดีฟิล์ม

วิธีแยกแบคทีเรียจากวัสดุ ตัวกลาง	ปริมาณแบคทีเรีย			
	<i>B. subtilis</i> TP8		<i>P. fluorescens</i> G7	
	CFU/ml	%	CFU/ml	%
Shaker	6.8×10^4	0.02	1.4×10^6	3.15
Centrifuge	3.4×10^4	0.01	7.4×10^5	1.69
Vortex	1.2×10^5	0.03	7.6×10^6	15.02
รวม	2.2×10^5	0.06	9.7×10^6	19.86

- หมายเหตุ: 1. ร้อยละของปริมาณเชื้อที่หลุดจากวัสดุตัวกลาง คิดจากปริมาณเชื้อทั้งหมดในระบบบำบัด
 2. ปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* TP8 ในสารละลายเชื้อเขวนลอยในระบบบำบัด
 คิดเป็น 99.94 %
 3. ปริมาณแบคทีเรีย *P. fluorescens* G7 ในสารละลายเชื้อเขวนลอยในระบบบำบัด
 คิดเป็น 80.14 %

จากการวิเคราะห์ FOG ที่เหลืออยู่หลังจากการย่อยสลายไขมันด้วยเอนไซม์ lipase จากเชื้อ *B. subtilis* TP8, *P. fluorescens* G7 และ เชื้อผสม ระหว่าง *B. subtilis* TP8 และ *P. fluorescens* G7 ในอัตราส่วน 1:1 (v:v) บนวัสดุตัวกลาง ในน้ำเสียสังเคราะห์พบว่า จากปริมาณ FOG เริ่มต้น 8,810 มิลลิกรัมต่อลิตร ลดลงเหลือ 508, 387 และ 475 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในช่วงไม่งานที่ 96 และเมื่อนำมาวิเคราะห์หาประสิทธิภาพในการย่อยสลายไขมัน และน้ำมัน (Removal efficiency %, RE) พบว่าเชื้อ *P. fluorescens* G7 สามารถย่อยสลายไขมันได้สูงถึงร้อยละ 95.61 ในขณะที่เชื้อผสม และ *B. subtilis* TP8 ย่อยสลายได้ 94.61 และ 94.24 ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 9

ตาราง 9 แสดงผลการย่อยสลายไขมันและน้ำมันของแบคทีเรียทดสอบ บนวัสดุตัวกลาง ในน้ำเสียสังเคราะห์

แบคทีเรียทดสอบ	FOG เริ่มต้น (mg/l)	FOG ที่เหลือหลังจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปส mg/l (removal efficiency, %)
		96 h
<i>B. subtilis</i> TP8	8810	508 (94.24)
<i>P. fluorescens</i> G7	8810	387 (95.61)
เชื้อผสม	8810	475 (94.61)

หมายเหตุ: ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี, FOG, BOD ในน้ำเสียครัวเรือนที่นำมาทำการทดลอง ก่อนผ่านการบำบัดของเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียที่จะนำมาบำบัดด้วยแบคทีเรีย *B. subtilis* TP8, *P. fluorescens* G7 และ เชื้อผสม ระหว่าง *B. subtilis* TP8 และ *P. fluorescens* G7 (1:1; v:v) ทำการเก็บตัวอย่างน้ำเสีย จากบ่อตักไขมันคณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก ในเวลาต่างกัน พบว่า น้ำเสียตัวอย่างที่ 1 (เก็บตัวอย่างวันที่ 1 กันยายน 2554), 2 (เก็บตัวอย่าง วันที่ 1 ตุลาคม 2554) และ 3 (เก็บตัวอย่างวันที่ 1 พฤศจิกายน 2554) มีค่าคุณสมบัติทางกายภาพ และเคมี ใกล้เคียงกัน ดังแสดงใน ตาราง 10 โดยมีคุณสมบัติอยู่ระหว่าง 26 ถึง 29 องศาเซลเซียส pH 7.3-7.9

ค่าความเค็ม 0.43-0.83 ppt ค่าการนำไฟฟ้าเท่ากับ 1,055-1,766 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ปริมาณสารแขวนลอยทั้งหมดที่มีอยู่ในน้ำเท่ากับ 1.005-1.183 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) เท่ากับ 0.6-0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำ (BOD) เท่ากับ 413-480 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำมันและไขมันที่ปนเปื้อนในน้ำ (FOG) เท่ากับ 5,092-5,125 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตาราง 10 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียจากป่าอุดมด้วยเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

ตัวอย่าง	อุณหภูมิ (°C)	พารามิเตอร์					
		pH	Salinity (ppt)	EC ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	TDS (mg/l)	DO (mg/l)	BOD (mg/l)
ตัวอย่างที่ 1 (1/9/2554)	28	7.9	0.83	1,766	1.079	0.70	413
ตัวอย่างที่ 2 (1/10/2554)	29	7.6	0.48	1,055	1.005	0.90	480
ตัวอย่างที่ 3 (1/11/2554)	26	7.3	0.43	1,084	1.183	0.62	475
							5,101

หมายเหตุ: EC = ค่าการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity ($\mu\text{S}/\text{cm}$ Siemens/centimeter)); TDS = ปริมาณสารแขวนลอยทั้งหมดที่ไม่ออกไนโตรเจน (Total Dissolved Solids); DO = ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำในน้ำ (Dissolved Oxygen); BOD = ปริมาณออกซิเจนที่จุลทรรศ์ต้องการให้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ (Biological Oxygen Demand); FOG = ปริมาณไขมันและไขมันที่ปะปนในน้ำ (Fat Oil and grease)



การประยุกต์ใช้แบคทีเรียที่สร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและเอนไซม์ไลเปสในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนไขมันจากครัวเรือน

การประยุกต์ใช้ แบคทีเรีย *B. subtilis* TP8, *P. fluorescens* G7 และเชื้อผสมระหว่าง *B. subtilis* TP8 และ *P. fluorescens* G7 (1:1; v:v) บำบัดน้ำเสีย น้ำเสียที่ทำการบำบัดมีค่า BOD เริ่มต้นเท่ากับ 413, 480 และ 475 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และ FOG เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 5,125, 5,092 และ 5,101 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันในแต่ละตัวอย่าง ($p>0.05$) ดังแสดงใน ตาราง 9 และ 10 เมื่อทำการบำบัดน้ำเสีย ผ่านระบบบำบัดน้ำเสียโดยวิธี Sand Biofilm Columns เป็นระยะเวลา 5 วัน แบคทีเรียทั้งสาม สามารถ ลดค่า BOD และ FOG ของน้ำเสียได้ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.001$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดลองพบว่า ชนิดของเชื้อแบคทีเรียทั้งสามกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพบำบัดน้ำเสียได้ต่างกัน ($p<0.05$) โดยมีประสิทธิภาพสูงสุดที่อัตราการไหหลวียนน้ำ 100 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ดังนี้ เชื้อ *B. subtilis* TP8 สามารถลดค่า BOD มีค่าเท่ากับ 99.00 ± 6.00 มิลลิกรัมต่อลิตร (75.97%) และลดค่า FOG มีค่าเท่ากับ 1276.00 ± 88.76 มิลลิกรัมต่อลิตร (75.10%) เชื้อ *P. fluorescens* G7 สามารถลดค่า BOD มีค่าเท่ากับ 48.66 ± 4.51 มิลลิกรัมต่อลิตร (89.86%) และลดค่า FOG มีค่าเท่ากับ 46.33 ± 4.51 มิลลิกรัมต่อลิตร (99.09%) ในขณะที่ Mix Culture สามารถลดค่า BOD มีค่าเท่ากับ 73.33 ± 5.13 มิลลิกรัมต่อลิตร (84.57%) และลดค่า FOG มีค่าเท่ากับ 556.66 ± 16.01 มิลลิกรัมต่อลิตร (89.09%) ดังแสดงในตาราง 11 และ 12

อัตราการไหหลวียนน้ำที่แตกต่างกันในการทดลอง (30, 50 และ 100 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง) มีผลต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย โดยเชื้อ *B. subtilis* TP8 ที่ อัตราการไหหลวียนน้ำ 30 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง มีค่า BOD ต่ำกว่า การเติมอากาศ 50 และ 100 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ($p<0.05$) และมีค่า FOG ไม่แตกต่างกันที่อัตราการไหหลวียนน้ำ 30 และ 50 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ($p>0.05$) โดยมีค่าลดลงที่อัตราการไหหลวียนน้ำ 100 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ($p<0.05$) ในขณะที่เชื้อ *P. fluorescens* G7 มีค่า BOD แตกต่างกันที่อัตราการไหหลวียนน้ำ 30, 50 ($p<0.05$) และ 100 ($p<0.001$) มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ และมีค่า FOG ไม่แตกต่างกันที่อัตราการไหหลวียนน้ำ 30, 50 และ 100 ($p>0.05$) มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ในขณะที่ Mix Culture มีค่า BOD ไม่แตกต่างกันที่อัตราการไหหลวียนน้ำ 30 และ 50 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ($p>0.05$) และมีค่าลดลง ที่อัตราการไหหลวียนน้ำ 100 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ($p<0.05$) และมีค่า FOG แตกต่างกันทุกอัตราการไหหลวียนน้ำ ($p<0.05$) ดังแสดงในตาราง 11 และ 12

ตาราง 11 ผลการตรวจเคราะห์ FOG ภายหลังผ่านกระบวนการบำบัดของเชื้อแบคทีเรียทดสอบว่าต่อต้านการให้เสียนน้ำเสียต่างๆ แล้ว
ประสิทธิภาพ ในการกำจัด FOG หลังผ่านการบำบัด 5 วัน

แบบพิธีกรรมทดสอบ	FOG (mean±SD) (Removal efficiency (%))		
	30 (mg/l)	50 (mg/l)	100 (mg/l)
<i>B. subtilis</i> TP8	5125.03 ± 135.65	1602.66 ± 63.88 (68.73) ^{bC}	1513.66 ± 31.66 (70.47) ^{bC}
<i>P. fluorescens</i> G7	5092.33 ± 86.90	71.33 ± 15.54 (98.60) ^{aA}	61.00 ± 5.29 (98.80) ^{aA}
ลักษณะ	5101.33 ± 91.13	731.66 ± 30.11 (85.66) ^{cB}	677.00 ± 12.49 (86.73) ^{bB}
Control	5106.00 ± 17.69	5071.66 ± 53.80 (0.67) ^{aD}	4961.66 ± 56.72 (2.83) ^{aD}

หมายเหตุ: a, b และ c ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวโน้ม แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A, B, C และ D ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวโน้ม แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตาราง 12 เสตรองผลการทดลองวิเคราะห์ BOD ภายหลังผ่านการบำบัดของเชื้อแบคทีเรียทดสอบที่ออกตราชาร์เหลวชนิดองุ่นน้ำเสียต่างๆ
และประสิทธิภาพในการกำจัด BOD หลังผ่านการบำบัด 5 วัน

แบบพืชเรียบทดลอง	ปริมาณทึนม (mg/l)	BOD (mean±SD) (Removal efficiency (%))		
		30 (ml/hr)	50 (ml/hr)	100 (ml/hr)
<i>B. subtilis</i> TP8	412.00 ± 10.50	157.33 ± 8.14 (61.81) ^{bC}	130.00 ± 6.00 (68.45) ^{aC}	99.00 ± 6.00 (75.97) ^{aC}
<i>P. fluorescens</i> G7	480.00 ± 121.65	91.00 ± 2.65 (81.04) ^{aA}	74.00 ± 7.00 (84.58) ^{bA}	48.66 ± 4.51 (89.86) ^{aA}
ปู๊ดญี่ปุ่น	475.33 ± 31.79	102.66 ± 6.43 (78.40) ^{bB}	92.66 ± 3.79 (80.51) ^{bB}	73.33 ± 5.13 (84.57) ^{aB}
Control	451.66 ± 43.04	320.33 ± 3.51 (29.08) ^{cD}	302.00 ± 8.72 (33.14) ^{bD}	280.00 ± 6.00 (38.01) ^{aD}

หมายเหตุ: a, b และ c ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวโน้ม และต่างกันเมื่อความแตกต่างกันอยู่ในระดับทางสถิติ ($p < 0.05$)

A, B, C และ D ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวโน้ม และต่างกันเมื่อความแตกต่างกันอยู่ในระดับทางสถิติ ($p < 0.05$)