บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บและเตรียมตัวอย่างกล้วย

กล้วยที่ใช้ในการทดลองเป็นกล้วยน้ำว้าไส้ขาวที่นำมาจากตลาดร่วมใจ จังหวัดพิษณุโลก บรรจุใส่ถุงพลาสติก ขนส่งโดยรถยนต์ปรับอากาศมายังห้องปฏิบัติการ ทำการคัดเลือกกล้วยน้ำว้าสุกระยะที่ 7 โดยเปรียบเทียบสีผิวเปลือกด้วย color chart ของ Munsell book (2.5 Y 8/12) และคัดเลือกให้ผลตัวอย่างทั้งหมดให้มีขนาดใกล้เคียงกันและไม่มีการเสียหายทางกายภาพหรือบาดแผลจากแมลง หรือโรคที่เกิดจากจุลินทรีย์ แล้วนำมาล้างด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ร้อยละ 0.08 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นปอกเปลือกกล้วย ลอกเส้นใยข้างกล้วยออก ใช้มีดตัดปลายลูกเล็กน้อย

1. **การเตรียมตัวอย่างกล้วยเพื่อแปรรูปด้วยลมร้อน**

ทำการทดลองโดยนำกล้วยที่เตรียมไว้จัดใส่ถาดขนาด 86.5 X 51.5 เซนติเมตร^2 จัดเรียงกล้วยทั้งหมด 80 ผล แบ่งเป็น 5 แถว แถวละ 16 ผล นำใส่ตู้อบลมร้อน cabinet dryer KPO-700 ขนาดความจุ 700 ลิตร

2. **การเตรียมตัวอย่างกล้วยโดยการจัดการเบื้องต้นด้วยไมโครเวฟก่อนอบด้วยลมร้อน**

ทำการทดลองโดยนำกล้วยใส่ถาดพลาสติกกลม ซึ่งน้ำหนักกล้วยให้แต่ละถาดมีน้ำหนัก 340 -360 กรัม นำเข้ากระบวนการไมโครเวฟด้วยเตาไมโครเวฟ/อบและย่างในเครื่องเดียวกัน ยี่ห้อ SEVERIN รุ่น SEV-7853 ขนาด 180-900 วัตต์/230 โวลต์ จากนั้นนำกล้วยที่ผ่านกระบวนการไมโครเวฟไปอบต่อด้วยตู้อบลมร้อนตามวิธีการเดียวกับข้างต้น

3. **การเตรียมตัวอย่างกล้วยโดยจัดการเบื้องต้นด้วยกระบวนการออสโมติกดีไฮเดรชันก่อนไมโครเวฟและลมร้อน**

ทำการทดลองโดยนำกล้วยที่เตรียมไว้แช่ลงในสารละลายออสโมติก(โซเดียมคลอไรด์และซูโครส) นาน 1 และ 3 ชั่วโมง จากนั้นล้างน้ำสะอาดอย่างรวดเร็วนำขึ้นวางให้สะเด็ดน้ำ แล้วนำไปเข้ากระบวนการไมโครเวฟและการอบด้วยลมร้อน ตามลำดับ ตามวิธีเดียวกับข้างต้น

ป
TP
373
ก677ก
2551
- 3 ต.ค. 2551
i42282316 25
สำนักหอสมุด

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการอบและผลิตภัณฑ์กล้วยอบแห้ง

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely randomized design) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ สุ่มตรวจผลิตภัณฑ์กล้วยอบแห้ง ได้แก่ สี ลักษณะเนื้อสัมผัส ปริมาณความชื้น การลดลงของน้ำหนัก การสูญเสียน้ำ ปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้นในระหว่างกระบวนการทำแห้งและตรวจวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณวิตามินซี กิจกรรมเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1. **ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการอบลมร้อน**

ศึกษาระดับอุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการอบลมร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกล้วยอบแห้ง โดยทำการศึกษาอุณหภูมิลมร้อน 3 ระดับ คือ 60, 70, 80 องศาเซลเซียส และสุ่มตรวจวัดสี ลักษณะเนื้อสัมผัส ปริมาณความชื้น ทุก 2 ชั่วโมง ในระหว่างการอบ โดยทำการอบจนกระทั่งกล้วยมีความชื้นร้อยละ 20-25 โดยน้ำหนัก

2. **ผลของกำลังไมโครเวฟและระยะเวลาที่ใช้ไมโครเวฟ**

ศึกษาผลของการใช้กำลังไมโครเวฟและระยะเวลาที่ใช้ไมโครเวฟก่อนกระบวนการอบลมร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกล้วยอบแห้ง โดยทำการศึกษา 2 ปัจจัย ดังต่อไปนี้

ปัจจัยที่ 1 กำลังไมโครเวฟ 2 ระดับ คือ 0.50 และ 1.0 วัตต์/กรัม

ปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาที่ใช้ไมโครเวฟ 2 ระดับ คือ 5 และ 10 นาที

หลังจากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการไมโครเวฟไปอบต่อด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และสุ่มตรวจวัดสี ลักษณะเนื้อสัมผัส ปริมาณความชื้น ทุก 2 ชั่วโมง ในระหว่างการอบ โดยทำการอบจนกระทั่งกล้วยมีความชื้นร้อยละ 20-25 โดยน้ำหนัก

3. **ผลของชนิดและความเข้มข้นของสารละลายออสโมติก**

ศึกษาการใช้กระบวนการออสโมติกดีไฮเดรชันในการจัดการเบื้องต้นก่อนการใช้กระบวนการไมโครเวฟและลมร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกล้วยอบแห้ง โดยทำการศึกษา 2 ปัจจัย ดังต่อไปนี้

ปัจจัยที่ 1 ชนิดสารละลายออสโมติก 2 ชนิด

สารละลายผสมระหว่างเกลือต่อน้ำตาลซูโครส 3 ระดับ คือ ร้อยละ 1:2, 1:6 และ 1:10 น้ำหนักต่อปริมาตร

ปัจจัยที่ 2 เวลาที่ใช้ในกระบวนการออสโมติก 2 ระดับ คือ 1 และ 3 ชั่วโมง

สุ่มตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของผลิตภัณฑ์หลังผ่านกระบวนการออสโมติกดีไฮเดรชัน ได้แก่ การลดลงของน้ำหนัก, การสูญเสียน้ำ,ปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้นหลังผ่านกระบวนการออสโมติกดีไฮเดรชันและสุ่มตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมี ได้แก่ สี

ลักษณะเนื้อสัมผัส ปริมาณความชื้นหลังผ่านกระบวนออสโมติกดีไฮเดรชัน กระบวนการไมโครเวฟ และระหว่างกระบวนการอบลมร้อนทุก 2 ชั่วโมง ในระหว่างการอบ โดยทำการอบจนกระทั่งกล้วยมีความชื้นร้อยละ 20-25 โดยน้ำหนัก

4. **การศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์กล้วยอบแห้ง**

ศึกษาเปรียบเทียบอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์กล้วยอบแห้งที่บรรจุถุงพลาสติกชนิด polypropylene (PP) และปิดผนึกโดยไม่ใช้สุญญากาศ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25±5 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 70±10 แล้วทำการสุ่มตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีได้แก่ สี ลักษณะเนื้อสัมผัส ปริมาณความชื้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ วิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณยีสต์และรา ทุกสัปดาห์ตลอดช่วงเวลาการเก็บรักษา 3 สัปดาห์

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

1. **สีผิวของเนื้อ (colour)** (Valencia Rodriguez, et al., 2003)

นำกล้วยอบแห้งมาวัดค่าสีด้วยเครื่อง HUNTER LAB รุ่น DP 9000 ซึ่งบันทึกค่าในระบบ CIE Lab วัดค่า L*, a* และ b* และรายงานผลเป็นค่า

ค่าความแตกต่างของสี (ΔE^*) เท่ากับ $(\Delta L^{*2}+\Delta a^{*2}+\Delta b^{*2})^{1/2}$ โดยที่

ค่า L* คือ ค่าแสดงความสว่างของสี ซึ่งค่า L* มีค่า 0 ถึง 100 ถ้าค่า L* มากแสดงว่าสีสว่างมาก โดยที่ระดับ L* เท่ากับ 0 จะเป็นสีดำ

ค่า a* คือ ค่าแสดงระดับสีแดง-เขียว เมื่อค่า a* เป็นบวกจะแสดงถึงลักษณะสีแดง และเมื่อค่า a* เป็นลบจะแสดงลักษณะสีเขียว โดยที่เมื่อค่าห่างจาก 0 มาก แสดงถึงค่าสีแดงหรือสีเขียวมากขึ้น

ค่า b* คือ ค่าแสดงระดับสีเหลือง-น้ำเงิน เมื่อค่า b* มีค่าเป็นบวกจะแสดงลักษณะสีเหลือง และเมื่อค่า b* เป็นลบจะแสดงลักษณะสีน้ำเงิน โดยที่เมื่อค่าห่างจาก 0 มาก แสดงถึงค่าสีเหลืองหรือสีน้ำเงินมากขึ้น

2. **ลักษณะเนื้อสัมผัส** (firmness)

นำกล้วยอบแห้งจำนวน 3 ผล ทำการวัดความแน่นเนื้อส่วนหัว กลางและปลายผล ด้วยเครื่อง Instron Universal Testing Machine ยี่ห้อ INSTRON รุ่น 4411 โดยใช้หัวตัดอ่านค่าที่ได้เป็นหน่วย kgf

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางเคมี

1. **ความชื้น** (moisture) (Association of official of analytical chemists, 1990)

ชั่งน้ำหนักถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝาที่ผ่านการอบจนมีน้ำหนักคงที่ บันทึกน้ำหนัก นำตัวอย่างกล้วยใส่ลงในถ้วยอลูมิเนียมประมาณ 2 กรัม บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นนำเข้าตู้อบลมร้อนโดยเปิดฝาถ้วยอลูมิเนียมบางส่วน อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาปิดฝาถ้วยแล้วนำตัวอย่างใส่ในโถดูดความชื้น ตั้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง นำมาชั่งพร้อมบันทึกน้ำหนัก นำตัวอย่างเข้าอบอีก 30 นาที ตั้งไว้ให้เย็นนำไปชั่งน้ำหนัก ถ้าน้ำหนักเปลี่ยนแปลงไปจากครั้งแรกน้อยกว่า 3 มิลลิกรัม จึงยุติการอบ บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน คำนวณหาปริมาณความชื้นจากน้ำหนักที่หายไป จากสูตร ดังนี้

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มแรก} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มแรก}} \times 100$$

2. **การลดลงของน้ำหนักและการสูญเสียน้ำ** (water reduction) (El-Aouar, et al., 2006)

ชั่งน้ำหนักกล้วยแต่ละผล จำนวน 3 ผล เริ่มต้นและหลังจากกระบวนการออสโมติกดีไฮเดรชันนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การลดลงของน้ำหนัก จากสูตร ดังนี้

$$\text{การลดลงของน้ำหนัก (\%)} = \frac{(W_i - W_f)}{W_i} \times 100$$

$$\text{การสูญเสียน้ำ (\%)} = \frac{(W_iX_i - W_fX_f)}{W_i} \times 100$$

เมื่อ W_i = น้ำหนักเริ่มต้น W_f = น้ำหนักหลังกระบวนการออสโมติกดีไฮเดรชัน

X_i = ปริมาณความชื้นเริ่มต้น X_f = ปริมาณความชื้นหลังกระบวนการออสโมติกดีไฮเดรชัน

3. **ปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้น** (solid gain) (El-Aouar, et al., 2006)

ชั่งน้ำหนักกล้วยและวัดปริมาณความชื้นแต่ละผล จำนวน 3 ผล เริ่มต้นและหลังจากกระบวนการออสโมติกดีไฮเดรชัน คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำ จากสูตร ดังนี้

$$\text{ปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้น (\%)} = \frac{[W_f(1-X_f/100) - W_i(1-X_i/100)]}{W_i} \times 100$$

เมื่อ W_i = น้ำหนักเริ่มต้น W_f = น้ำหนักหลังกระบวนการออสโมติกดีไฮเดรชัน

X_i = ปริมาณความชื้นเริ่มต้น X_f = ปริมาณความชื้นหลังกระบวนการออสโมติกดีไฮเดรชัน

4. **ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar)** (Miller, 1959)

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์วิเคราะห์โดยใช้วิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) โดยนำส่วนใส ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย DNS ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปต้มเป็นเวลา 10 นาที แล้วทำให้เย็นโดยเร็ว จากนั้นเติมน้ำกลั่นจำนวน 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ยี่ห้อ PERKIN ELMER รุ่น LAMDA 20 เปรียบเทียบกราฟ มาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส โดยรายงานปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เป็นไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักผลสด

5. **ปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด (total phenolic)** (Dewanto, et al., 2002)

ปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดวิเคราะห์โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteau โดยนำส่วนใสปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu Phenol reagent 2.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 75 2.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลซียส เป็นเวลา 15 นาที ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ทิ้งไว้ให้เย็น นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ยี่ห้อ PERKIN ELMER รุ่น LAMDA 20 เปรียบเทียบกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค โดยรายงานปริมาณกรดฟีโนลิกทั้งหมด เป็นไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักผลสด

6. **กิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส** (ดัดแปลงจาก Cano, Marin and Fuster, 1990)

นำกล้วยอบแห้ง 1 กรัม บดผสมกับสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 ที่มีโพลีไวนิลร้อยละ 1.0 ที่เย็น ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำตัวอย่างที่ได้ไปเหวี่ยงแยกที่ความเร็ว 1,1000 x g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 20 นาที นำส่วนใสใส่หลอดทดลอง 0.25 มิลลิลิตร เติม คาทีคอล (cathecol) 0.1 โมลาร์ 2 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 0.75 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ยี่ห้อ PERKIN ELMER รุ่น LAMDA 20 โดยกิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (หน่วย) หมายถึง ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ที่เปลี่ยนไปต่อเวลา 1 นาที ต่อน้ำหนักตัวอย่าง (กรัม) คิดเทียบจากน้ำหนักสด

7. **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity)** (Turkmen, Sari and Velioglu, 2005)

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิเคราะห์โดยใช้วิธี DPPH นำกล้วยอบแห้ง 0.30 กรัม ปั่นผสมด้วยเครื่องสับผสม(blender) ในเมทานอล 50 มิลลิลิตร แล้วนำมากรองด้วยกระดาษ Whatman เบอร์ 4 น้ำส่วนใสที่ได้ 1 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดทดลอง เติม DPPHในเมทานอล 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 60 นาที นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์คำนวณหาร้อยละของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) จากสูตร ดังนี้

$$AA\ (\%) = \frac{Abs_{control} - Abs_{sample}}{Abs_{control}} \times 100$$

8. **ปริมาณวิตามินซี (ascorbic acid)** (Association of official of analytical chemists, 1990)

นำสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก 2 มิลลิลิตรใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลายกรดเมตาฟอสเฟอริกและกรดอะซิติก (metaphosphoric acid – acetic acid) เขย่าผสมให้เข้ากัน ทำการไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานอินโดฟีนอล (indophenol) บันทึกปริมาตรสารละลายมาตรฐานอินโดฟีนอลที่ใช้ ขณะเดียวกันให้ไทเทรต blank ที่ประกอบด้วยสารละลายกรดเมตาฟอสเฟอริกและกรดอะซิติก 7 มิลลิลิตร กับสารละลายอินโดฟีนอล บันทึกปริมาตร (B) สารละลายมาตรฐานอินโดฟีนอลที่ใช้ เมื่อหักค่าที่ได้จาก blank ออกจากค่าที่ได้จากการไทเทรตสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ให้คำนวณความเข้มข้นของสารละลายอินโดฟีนอลในรูปมิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิกที่สมมูลย์กับ 1 มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐาน Indophenol (F)

นำตัวอย่าง 20 กรัม (E) ปั่นกับสารละลายกรดเมตาฟอสเฟอริกและกรดอะซิติก ปริมาตร 100 มิลลิลิตร 3 นาที นำมากรอง บันทึกปริมาตรรวม (V) จากนั้นนำของเหลวที่ได้จากการสกัด 10 มิลลิลิตร (Y) ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานอินโดฟีนอลจนถึงจุดยุติ โดยเกิดสีชมพูคงไว้ประมาณ 15 วินาที บันทึกปริมาตร (X) คำนวณหาปริมาณกรดแอสคอร์บิกเป็นมิลลิกรัม/กรัมหรือ 100 กรัมตัวอย่าง จากสูตรดังนี้

มิลลิลิตรกรดแอสคอร์บิก/กรัม, มิลลิลิตร = (X-B) x (F/E) X (V/Y)

เมื่อ X = มิลลิลิตรเฉลี่ยของสารละลายอินโดฟีนอลที่ใช้ในการไทเทรตกับตัวอย่างอาหาร

B = มิลลิลิตรเฉลี่ยของสารละลายอินโดฟีนอลที่ใช้ในการไทเทรตกับตัวอย่าง Blank

F = มิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิกที่สมมูลย์กับสารละลายมาตรฐานอินโดฟีนอลปริมาตร 1 มิลลิลิตร

E = ปริมาตรของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ (กรัม, มิลลิลิตร)

V = ปริมาตรรวมของสารหลังจากสกัดและกรอง (มิลลิลิตร)

Y = ปริมาณของตัวอย่างที่นำมาใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)

การประเมินทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation)

จัดเตรียมกล้วยอบแห้ง โดยแบ่งครึ่งผลตามขวาง สำหรับประเมินลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรสชาติ เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม ผู้ทดสอบชิมเป็นนิสิตและบุคลากรทั่วไปของคณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จำนวน 20 คน โดยให้คะแนนด้วยระบบ 9 point hedonic scale (สุดารัตน์ เจียมยั่งยืน, 2546, หน้า 73)

การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา (microbiological analysis)

วิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) ด้วยวิธีพอร์เพลท (pour plate) และปริมาณเชื้อยีสต์และราด้วยวิธีสเปรดเพลท (spread plate) โดยทำการชั่งกล้วยอบแห้ง 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ เติมสารละลายเปบโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปตีบดด้วยเครื่องตีผสมอาหาร (stomacher) ยี่ห้อ SEWARD รุ่น 7021 เป็นเวลา 60 วินาที จะได้ตัวอย่างความเจือจาง 10^{-1} จากนั้นใช้ปิเปตถ่ายตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในหลอดบรรจุสารละลายเปบโตน 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นผสมกระแสวน (vortex mixer) จะได้ตัวอย่างความเจือจาง 10^{-2} นำตัวอย่างความเจือจางเหมาะสม 3 ระดับ มาปฏิบัติดังนี้ (ศิริโฉม ทุ่งเก้า, 2543, หน้า 38)

1. **วิธีพอร์เพลท** (pour plate)

ถ่ายตัวอย่างอาหารแต่ละความเจือจางลงในจานเพาะเชื้อที่ปลอดเชื้อ 2 จาน จานละ 1 มิลลิลิตร จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) หลอมเหลว อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่างจานละประมาณ 15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการหมุนจาน รอจนวุ้นแข็งตัว นำไปบ่มเพาะเชื้อโดยวางจานคว่ำ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

นับจำนวนโคโลนีด้วยเครื่องนับโคโลนี (colony counter) ยี่ห้อ STUART รุ่น SCS ต่อจานที่เหมาะสมในช่วง 25-250 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีใน 1 จาน และคำนวณหา CFU ต่อกรัมของตัวอย่าง คำนวณได้จากความสัมพันธ์ต่อไปนี้

CFU ต่อกรัม หรือ CFU ต่อมิลลิลิตร = n/d

โดยที่ n = จำนวนโคโลนีเฉลี่ยใน 1 จานของจานที่มีโคโลนีอยู่ในช่วง 25-250 ต่อจาน

d = ความเจือจางของตัวอย่างที่นำมาเพาะในจานที่หาค่า n ได้

2. วิธีสเปรดเพลท (spread plate)

ถ่ายตัวอย่างอาหารแต่ละความเจือจางลงบนผิวอาหาร Rose Bengal Chloramphenicol (RBC) Agar ในจานเพาะเชื้อ 2 จาน จานละ 0.1 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วปลอดเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วผิวหน้าของอาหารแต่ละจาน และนำไปบ่มเพาะเชื้อโดยไม่ต้องคว่ำจาน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน

นับจำนวนโคโลนีด้วยเครื่องนับโคโลนี (colony counter) ยี่ห้อ STUART รุ่น SCS ต่อจานที่เหมาะสมในช่วง 25-250 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีใน 1 จาน และคำนวณหา CFU ต่อกรัมของตัวอย่าง คำนวณได้จากความสัมพันธ์ต่อไปนี้

CFU ต่อกรัม หรือ CFU ต่อมิลลิลิตร = n/d/10

โดยที่ n = จำนวนโคโลนีเฉลี่ยใน 1 จานของจานที่มีโคโลนีอยู่ในช่วง 25-250 ต่อจาน

d = ความเจือจางของตัวอย่างที่นำมาเพาะในจานที่หาค่า n ได้

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย (mean) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan' Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95