

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุดิบ

เนื้อลำไยอบแห้งที่ใช้ในการทดลอง เป็นเนื้อลำไยอบแห้งที่ผลิตจากผลลำไยสดที่ให้ผลผลิตในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงสิงหาคม พ.ศ. 2547 โดยซื้อมาจากกลุ่มแม่บ้านหนองช้างค้ำ ต. อุโมงค์ จ. ลำพูน ผ่านการอบแห้งและคัดคุณภาพตามสีของเนื้อลำไยอบแห้งเรียบร้อยแล้ว กรรมวิธีการอบแห้งของกลุ่มแม่บ้าน ดังในภาคผนวก ก-1

3.2 การเตรียมวัสดุดิบในการทดลอง

เนื้อลำไยอบแห้งที่ใช้ในการทดลองเมื่อซื้อมา มีค่า a_w เท่ากับ 0.47 หลังจากนั้นจึงนำมาปรับค่า a_w ให้ได้ระดับตามที่ต้องการ 3 ระดับ คือ 0.4, 0.5 และ 0.6 โดยใช้สารละลายเกลือ sodium carbonate (Na_2CO_3), sodium dichromate ($\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), sodium nitrite (NaNO_2) (Hall, 1980) ตามลำดับ โดยเกลือทุกชนิดเป็น technical grade นำเนื้อลำไยอบแห้งเรียงบนตะแกรงชั้นเดียวบรรจุในภาชนะที่มีสารละลายเกลืออิมมัวอยู่ใต้ตะแกรง ปิดภาชนะให้สนิทไม่ให้อากาศภายในภาชนะมีการแลกเปลี่ยนกับอากาศภายนอก เก็บภาชนะไว้ในที่มีอุณหภูมิคงที่เพื่อให้ความชื้นสัมพัทธ์ภายในภาชนะคงที่ และเก็บไว้จนกระทั่งเนื้อลำไยอบแห้งมีค่า a_w คงที่ตามที่ต้องการ โดยสุ่มตัวอย่างออกมาวัดค่า a_w ทุกๆ 3 วัน ระยะเวลาในการปรับค่า a_w เนื้อลำไยอบแห้งนานประมาณ 7 วัน

การควบคุมอัตราส่วนระหว่างก๊าซออกซิเจน (O_2) และไนโตรเจน (N_2) ที่ใช้ปรับสภาพบรรยากาศภายในบรรจุภัณฑ์ที่เก็บรักษาเนื้อลำไยอบแห้ง ทำได้โดยการควบคุมอัตราการไหลของก๊าซทั้ง 2 ชนิดโดยใช้หัววัดอัตราการไหลของก๊าซ (Regulator, Sumo: Japan) ปรับให้มีอัตราการไหลของก๊าซที่แตกต่างกัน ทำให้ได้ก๊าซที่มีอัตราส่วนเท่ากับ 0:20, 1:20, 2:18 และ 4:15 ลิตรต่อนาที ซึ่งจะได้อัตราส่วนของก๊าซ $\text{O}_2:\text{N}_2$ เท่ากับ 0:100, 5:95, 10:90 และ 21:79% (ชุดควบคุม) เมื่อได้ก๊าซที่มีอัตราส่วนที่ต้องการ ต่อท่อก๊าซที่ได้กับเครื่องบรรจุ (Supervac: Model GK 100) เครื่องบรรจุมีหลักการทำงานโดยการดูดก๊าซที่มีอยู่ในตัวเครื่อง และดึงออกก่อน แล้วจึงปล่อยก๊าซที่ผ่านการปรับสภาพแล้วเข้าไปในเครื่องและถุง แล้วจึงปิดผนึกด้วยความร้อน การทดสอบก๊าซที่บรรจุดังกล่าวโดยบรรจุก๊าซดังกล่าวลงในถุงเปล่า หลังจากนั้นวัดอัตราส่วน ของก๊าซจนได้ความเข้มข้นของก๊าซตามที่ตามที่ต้องการ โดยใช้เครื่องวัดก๊าซ (Headspace Oxygen/Carbon dioxide



ภาพที่ 3.1 ถังปิดภายในบรรจุสารละลายเกลืออิมิตัวเพื่อปรับสภาพค่า a_w ของเนื้อลำไยอบแห้งที่ใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 3.2 หัววัดอัตราการไหลของก๊าซ (Regulator) ควบคุมอัตราการไหลของก๊าซเพื่อคุมอัตราส่วนของก๊าซที่ใช้ในการทดลองโดยต่อกับเครื่องบรรจุ

analyzer, 6600 instruments) นำเนื้อลำไยอบแห้งประมาณ 120 กรัมบรรจุในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนต (aluminum foil laminate) (มีอัตราการซึมผ่านเข้า-ออกของไอน้ำเท่ากับ 0.45-5 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน และมีอัตราการซึมผ่านเข้า-ออกของก๊าซออกซิเจนเท่ากับ 0.45-150 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน) (Aaron and Kenneth, 1997) ขนาด 15x30 เซนติเมตร แล้วปล่อยก๊าซที่ปรับความเข้มข้นแล้วลงในถุง ปิดปากถุงให้สนิท เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง (23-28 องศาเซลเซียส) ความชื้นสัมพัทธ์ 45-60% ในช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2547 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2548

ทำการทดลองโดยใช้เนื้อลำไยอบแห้งที่มีค่า a_w เท่ากับ 0.4, 0.5 และ 0.6 และเก็บรักษาในสภาวะที่มีความเข้มข้นของออกซิเจน 4 ระดับคือ 0%, 5%, 10% และ 21% วางแผนการทดลองแบบ Randomize Complete Block Design ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง โดยเก็บข้อมูลก่อนการเก็บรักษา และระหว่างเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยสุ่มตัวอย่างออกมามีวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ทุกเดือน

3.3 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของเนื้อลำไยอบแห้ง

3.3.1 การวัดค่าสีของเนื้อลำไยอบแห้ง

วัดค่าสีของเนื้อลำไยอบแห้ง โดยใช้เครื่องวัดสี (Color Quest XE: USA) วัดสีของเนื้อลำไยอบแห้งผลละ 1 จุด จำนวนตัวอย่างละ 10 ซ้ำ ค่าที่ได้รายงานผลเป็นค่า L^* , a^* , b^* , hue angle และ chroma

ค่า L^* ที่มีค่าเท่ากับศูนย์ หมายถึง วัตถุสีดำ หากค่า L^* มีค่าเท่ากับ 100 วัตถุมีสีขาว

ค่า a^* เมื่อค่าเป็นบวก หมายถึง วัตถุมีสีแดง หากมีค่าเป็นลบ หมายถึง วัตถุมีสีเขียว

ค่า b^* เมื่อมีค่าเป็นบวกหมายถึงวัตถุมีสีเหลือง หากมีค่าเป็นลบหมายถึงวัตถุมีสีน้ำเงิน

ทั้ง ค่า a^* และ b^* หากมีค่าเป็นศูนย์แสดงว่าวัตถุมีสีเทา (gray)

ค่า hue angle (H° หรือ h°) หากมีค่าเข้าใกล้มุม 90 องศา สีของวัตถุจะอยู่ใกล้สีเหลือง

(+b) หากมีค่าเข้าใกล้ 180 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเขียว (-a)

ค่า chroma ที่มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึงวัตถุจะมีสีเทา หากมีค่าเข้าใกล้ 60 จะหมายถึงวัตถุมีสีเข้ม

3.3.2 การเปลี่ยนแปลงโดยรวมของสี (ΔE)

ค่าการเปลี่ยนแปลงโดยรวมของสี (ΔE) กำหนดได้จากสูตร (Hunter Scotfield equation) (John, 1999)

$$(\Delta E) = ((L(t)^* - L_0^*)^2 + (a(t)^* - a_0^*)^2 + (b(t)^* - b_0^*)^2)^{1/2}$$

เมื่อ L_0^* คือ ค่าสี L^* ก่อนการเก็บรักษา, $L(t)^*$ คือ ค่า L^* เมื่อเวลา t , a_0^* คือ ค่า a^* ก่อนการเก็บรักษา, $a(t)^*$ คือ ค่า a^* เมื่อเวลา t , b_0^* คือ ค่า b^* ก่อนการเก็บรักษา, $b(t)^*$ คือ ค่า b^* เมื่อเวลา t , t คือระยะเวลาในการเก็บรักษา (เดือน)

3.3.3 การวัดลักษณะเนื้อสัมผัส

ลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อลำไยอบแห้งทำการวัดโดยใช้ค่าแรงเฉือน (shear force) ด้วยเครื่อง Texture analyzer (Stable Micro Systems: Model TA-XT2i: England) ทำการวัดตัวอย่างละ 10 ซ้ำ

หัวที่ใช้วัดค่าแรงเฉือนของเนื้อลำไยอบแห้ง เป็นมีดปลายแฉกกว้าง 3 นิ้ว ยาว 5.5 นิ้ว และตั้งค่า full scale load เท่ากับ 100 นิวตัน อัตราเร็วในการเคลื่อนที่ 3 มิลลิเมตรต่อวินาที อ่านค่าเป็นหน่วยนิวตัน

3.4 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของเนื้อลำไยอบแห้ง

3.4.1 ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

ซังตัวอย่างเนื้อลำไยอบแห้งปั่นละเอียด 5 กรัม ใส่ในจานโลหะที่ผ่านการอบแห้งและทราบน้ำหนักของจานโลหะ นำไปอบใน Vacuum Dryer (Binder: Model VD 53: Germany) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันน้อยกว่าหรือเท่ากับ 50 mmHg (6.7 kPa) นำออกจากตู้อบ ปล่อยให้เย็นใน โถดูดความชื้น ซังน้ำหนักโดยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo: Model AB 204-S: Switzerland) แล้วนำไปอบซ้ำอีก 1 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็น ซังน้ำหนักจนได้น้ำหนักคงที่ โดยค่าที่ได้ต่างแตกต่างกันน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 มิลลิกรัม ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ คำนวณหา %ความชื้นจากสมการ

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

3.4.2 Water activity (a_w)

วัดโดยใช้เครื่อง water activity meter (Novasina: Model MS 1:Switzerland) นำตัวอย่างเนื้อลำไยอบแห้งป่นละเอียด บรรจุลงในตลับใส่ตัวอย่างประมาณ 3 ใน 4 ของตลับ (ประมาณ 5 กรัม) โดยปล่อยให้ทิ้งไว้ให้ค่า a_w คงที่ แล้วจึงบันทึกข้อมูล ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3.4.3 ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมด (AOAC, 2000)

การเตรียมสารเคมี

1. กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 4 โมลาร์ : ตวงกรดไฮโดรคลอริก (Merck: Germany) ความเข้มข้น 38% ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 90 มิลลิลิตร
2. เมทิลเรด อินดิเคเตอร์: ละลายเมทิลเรด อินดิเคเตอร์ (Fisher Scientific: UK) 250 มิลลิกรัมด้วยเอทานอล 100 มิลลิลิตร
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.01 นอร์มัล : ซังโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Ajax Finechem: Australia) จำนวน 0.4 กรัมละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร
4. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3% : ตวงไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Merck: Germany) ความเข้มข้น 30% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร
5. ก๊าซไนโตรเจน 99% (ซื้อจาก บริษัท เชียงใหม่ เอ็น แอน เอ็น เทคดิง จำกัด)
6. เอทานอล 5% (Technical grade)

วิธีการ

ป่นตัวอย่างเนื้อลำไยอบแห้ง 25 กรัม กับเอทานอล 5% จำนวน 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นละลายเนื้อลำไยอบแห้งกับเอทานอลในพลาสติกกันกลม (C) จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไป 400 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 4 โมลาร์ จำนวน 90 มิลลิลิตร ลงใน separatory funnel (B) โทเทรตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3% จำนวน 30 มิลลิลิตร ที่หยดเมทิลเรดจำนวน 4 หยด ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.01 นอร์มัล จนมีสีเหลืองทองแล้วเติมลงใน vessel (G)

ทำการประกอบชุดวิเคราะห์ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (ดังแสดงในภาคผนวก ก-2) เข้าด้วยกัน เปิดวาล์วก๊าซผ่านก๊าซไนโตรเจนลงในชุดวิเคราะห์ซัลเฟอร์ไดออกไซด์นาน 15 นาที

เพื่อไล่ก๊าซออกซิเจนโดยให้มีฟองอากาศเกิดขึ้นที่พลาสติกกันกลม (C) และ vessel (G) หลังจากนั้นปิดวาล์วก๊าซ ปล่องกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 4 โมลาร์ 90 มิลลิลิตร ลงในพลาสติกกันกลม (C) เปิดน้ำเย็น และให้ความร้อนทันที หลังจากของเหลวใน พลาสติกกันกลม (C) เดือด แล้วทำการรีฟลักซ์ ต่ออีก 1 ชั่วโมง นำสารละลายใน vessel (G) โทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 นอร์มัล จนกระทั่งเปลี่ยน สารละลายเป็นสีเหลืองทอง บันทึกปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ใช้ นำมาคำนวณเพื่อหาปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระ

การคำนวณปริมาณ SO_2

$$\text{SO}_2 \text{ (ppm)} = \frac{32.03 \times V \times M \times 1000}{W}$$

เมื่อ

V คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ (มิลลิลิตร)

M คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มัล)

W คือ น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)

3.4.4 การวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง

ชั่งเนื้อลำไยอบแห้งมา 10 กรัม ปั่นเนื้อลำไยอบแห้งจนเป็นละเอียด หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร นำไปเก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง นำตัวอย่างเนื้อลำไยที่ได้มาวัดความเป็นกรด-ด่างโดยเครื่อง pH meter (Consort: Model C831: Belgium) โดยตรวจสอบความถูกต้องของเครื่อง pH meter ก่อนใช้ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 4 และ 7 วัดตัวอย่าง 3 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย

3.4.5 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้

นำน้ำปั่นของเนื้อลำไยอบแห้งที่ได้จากการวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง มาวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้โดยเครื่อง Hand Refractometer (ATAGO: Model PR-101: Japan) บันทึกค่าในหน่วย % ที่ได้คูณกลับตามอัตราส่วนที่เจอจาก 10 เท่า ก่อนใช้ปรับเครื่องให้อ่านค่าเป็นศูนย์ด้วยน้ำกลั่นทุกครั้ง โดย 1 ตัวอย่างวัด 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

3.4.6 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (AOAC, 2000)

นำน้ำปั่นของเนื้อลำไยอบแห้งที่ได้จากการวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง จำนวน 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันหยดฟีนอล์ฟทาลินอินดิเคเตอร์ (Lab-scan: Ireland) 5 หยด ไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (Ajax Finechem: Australia) จนกระทั่งมีจุดยุติเป็นสีชมพูอ่อน

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมดคำนวณให้อยู่ในรูปกรดซิตริก} = \frac{C \times V \times N \times 100}{W}$$

เมื่อ

C คือ 0.064 น้ำหนักสมมูลของกรดซิตริก (1 มิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เทียบเท่ากับต่อกรดซิตริก 100 มิลลิลิตร)

V คือ ปริมาณสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มัล)

W คือ ปริมาณของตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

3.4.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ไพโรจน์, 2535)

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายซิงค์แอสซีเตต : ละลายซิงค์แอสซีเตต (Ajax Finechem: Australia) จำนวน 2 กรัมในน้ำ ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
2. สารละลายโพแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ : ละลายโพแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ (Ajax Finechem: Australia) จำนวน 6 กรัม ในน้ำปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
3. สารละลายไดโนโตรซาลิไซริก (DNS) : ผสมสารต่างๆ เพื่อเตรียมสารละลาย 1,000 มิลลิลิตร ดังนี้ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Ajax Finechem: Australia) 10 กรัม โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต (Ajax Finechem: Australia) 182 กรัม กรดไดโนโตรซาลิไซริก 10 กรัม (Fluka: Germany) ฟีนอล (Fisher Scientific: UK) 2 กรัม โซเดียมซัลไฟต์ (Fisher Scientific: UK) 0.5 กรัม แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 นอลมัล : ซั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Ajax Finechem: Australia) 200 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

วิธีการ

ซั่งเนื้อลำไยอบแห้งมา 1.5 กรัม ปั่นตัวอย่างกับน้ำปริมาตร 100 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องปั่นผสม 1 นาที เติมสารละลายซิงค์แอสซิเตตและโพแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ อย่างละ 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 15 นาทีและเขย่าเป็นครั้งคราว นำตัวอย่างไป centrifuge ที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที นาน 15 นาที แยกส่วนที่ใสออก นำไปกรองโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายที่กรองได้มาทำการเจือจาง 10 เท่า และเปิดสารดังกล่าวมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองเติมสารละลาย DNS 4 มิลลิลิตร นำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นเติมน้ำให้ครบ 10 มิลลิลิตร และทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว นำตัวอย่างที่ได้มาวัดสี (optical density) ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer (UM/CAM UV 500: Model 9423 UV530 EEE: England) เปรียบเทียบกับ blank ที่ใช้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร กับสารละลาย DNS จำนวน 4 มิลลิลิตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้ปรับเทียบกับสมการเชิงเส้นตรงของสารละลายมาตรฐาน น้ำตาลกลูโคส

การเตรียมกราฟมาตรฐานของน้ำตาลรีดิวซ์

เปิดสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส 0.1-1.0 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร) ใส่ในหลอดทดลองเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 มิลลิลิตรทั้ง 10 หลอด เติมสารละลาย DNS ปริมาตร 4 มิลลิลิตร นำไปแช่ใน heating circulator water bath (YCW-010: Model No. 306854: Germany) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เติมน้ำให้ครบ 10 มิลลิลิตร และทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว นำสารละลายที่ได้มาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

สมการเชิงเส้นตรง คือ $y = 0.1553 x - 0.1056$

เมื่อ y คือปริมาณน้ำตาลกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

x คือค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

3.5 การวิเคราะห์จุลินทรีย์ในเนื้อลำไยอบแห้ง

3.5.1 การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อรา และยีสต์

สูตรเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อตรวจหาเชื้อรา และยีสต์ (Potato dextrose agar)

มันฝรั่ง	200	กรัม
น้ำตาลกลูโคส	20	กรัม
วุ้น (agar)	17	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ต้มมันฝรั่ง 200 กรัม ในน้ำ 500 มิลลิลิตร จนมันฝรั่งสุกแล้วนำไปกรองเอาส่วนที่เป็นมันฝรั่งออก เก็บส่วนที่เป็นน้ำมันฝรั่งไว้ ละลายวุ้นกับน้ำตาลกลูโคส ทั้งหมดในน้ำที่เหลืออีก 500 มิลลิลิตร แล้วต้มจนวุ้นสุกเติมน้ำมันฝรั่งที่เตรียมไว้คนให้เข้ากัน และนำไปฆ่าเชื้อภายใต้ ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ปรับสภาพความเป็นกรด-ด่าง เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโดยใช้กรดแลกติก ความเข้มข้น 25% ปริมาณ 2 หยด ผสมกับอาหาร เทอาหารลงใน plate ร่อนอาหารแข็งตัว

วิธีการ

ชั่งตัวอย่าง 3 กรัมผสมในน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จำนวน 30 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้สารละลายตัวอย่าง 1:10 นำไปเขย่านาน 30 นาที เจือจางส่วนผสมที่ได้จนได้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม คูดตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตรใส่ลงในจานเพาะเชื้อ โดยทำซ้ำ 2 ซ้ำ เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15 มิลลิลิตร ปล่อยให้เย็นและกลับจาน นำไปอบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตรวจสอบเชื้อยีสต์เมื่อทำการบ่มเพาะ เชื้อนาน 2 วัน ส่วนเชื้อรานับปริมาณเชื้อเมื่อทำการอบเพาะเชื้อนาน 3-4 วัน

3.6 การคำนวณผลทางสถิติ

นำค่าที่ได้มาคำนวณค่าทางสถิติโดยหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ความผันแปรโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (Analytical Software Statistix version 7)