

บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

- ผักกาดขาวปลี ซื้อจากตลาดเมืองใหม่ จ.เชียงใหม่
- พริกแดงพันธุ์จักรพรรดิ ซื้อจากตลาดเมืองใหม่ จ.เชียงใหม่
- หัวผักกาด ซื้อจากตลาดเมืองใหม่ จ.เชียงใหม่
- แครอท ซื้อจากตลาดเมืองใหม่ จ.เชียงใหม่
- ต้นหอม ซื้อจากตลาดเมืองใหม่ จ.เชียงใหม่
- กระเทียม ซื้อจากตลาดเมืองใหม่ จ.เชียงใหม่
- จิง ซื้อจากตลาดเมืองใหม่ จ.เชียงใหม่
- น้ำตาลทรายขาว ตรามิตรผล
- เกลือ ตราปรุngthิพย์
- น้ำปลา ตราทิพรส

3.2 เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

- เชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (TISTR 053)
- เชื้อ *Lactobacillus plantarum* จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (TISTR 1465)

3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์การทดลอง

- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius analytical, Model CP2245, Switzerland)
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Precisa, Model BJ610C, Switzerland)
- เครื่องปั่นผสม (National, Japan)
- pH meter (Sartorius analytical, Model PB-10, Switzerland)
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Mettler, Model WB45, USA)
- เครื่องวัดสี (Minolta Chroma Meter, Model CR-300, Japan)

- เครื่องวัดคุณสมบัติทางกายภาพของอาหาร (Texture Analyzer, Model TA.XT plus, UK)
- หม้อนึ่งความดัน (Gallenkamp, England)
- ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส (Thailand)
- ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส (Gallenkamp, England)
- ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 40±1 องศาเซลเซียส (Tarmark)
- ตู้อบลมร้อน (Memmert, USA)
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (HERMLE, Model Z 200A, Germany)
- เครื่องปิดผนึก (Tower Impulse sealer, Model TI-450/10, Thailand)
- ถูกรีทอร์ทเพาซ์ขนาด 16.5 x 14 เซ็นติเมตร (บริษัทรอแยลแคนประเทศไทย)

3.4 สารเคมี

- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide: Merk, Germany)
- ฟีนอล์ฟทาเลิน (Phenolphthalein: Merk, Germany)
- โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (Potassium Hydrogen Phthalate: Merk, Germany)
- โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride: LAB SCAN, Island)
- ซิลเวอร์ไนเตรต (Silver nitrate: UNIVAR, Australia)
- โพแทสเซียมโครเมต (Potassium chromate: UNIVAR, Australia)
- คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulphate: UNIVAR, Australia)
- โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เตรต (Sodium potassium tartate: UNIVAR, Australia)
- ซิงค์เฟอร์โรไซยาไนด์ (Zinc ferrocyanide: UNIVAR, Australia)
- ซิงค์อะซิเตตไดไฮเดรต (Zinc acetate dihydrate: UNIVAR, Australia)
- โพแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ (Potassium ferrocyanide: UNIVAR, Australia)
- กรดอะซิติก (Glacial acetic acid: LAB SCAN, Island)
- กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid: LAB SCAN, Island)
- เมทิลีนบลู (Methylene blue: Merk, Germany)
- เอทานอล 95% (Ethanol: Merk, Germany)

3.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- Plate Count Agar (Merk, Germany)
- Potato Dextrose Agar (Merk, Germany)
- Peptone water (Merk, Germany)
- MRS agar (Merk, Germany)
- MRS broth (Merk, Germany)
- Lauryl Sulphate Broth (Merk, Germany)
- EC broth (Merk, Germany)
- Trypticase Soy Broth (Merk, Germany)
- Baird Parker Agar (Himedia, India)
- Brain Heart Infusion Broth (Scharlau, Spain)

3.6 วิธีการทำกิมจิ

3.6.1 ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบที่ใช้ในการทำกิมจิ

- ผักกาดขาวปลี นำมาล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นนำมาหั่นเป็นชิ้นขนาดความกว้างยาวประมาณ 3 x 4 เซนติเมตร หมักกับเกลือ 10% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นล้างเกลือออกด้วยน้ำต้มสุก (ทิ้งให้เย็น) ประมาณ 4 นาที สะเด็ดน้ำให้แห้งประมาณ 30 นาที ผักที่ผ่านการดองเกลือจะมีเกลือประมาณ 5 %
- พริกแดง นำมาล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นนำไปนึ่งเพื่อลดปริมาณเชื้อเริ่มต้นและทำลายเอนไซม์ เป็นเวลา 15 นาที แยกเมล็ดพริกออก และนำส่วนที่เหลือมาบดให้ละเอียด
- แครอท นำมาปอกเปลือก ล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นนำไปนึ่งเพื่อลดปริมาณเชื้อเริ่มต้นและทำลายเอนไซม์ เป็นเวลา 30 นาที และนำมาบดให้ละเอียด
- หัวผักกาด นำมาปอกเปลือก ล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นหั่นให้เป็นเส้นฝอยขนาดความยาวประมาณ 3 - 4 เซนติเมตร
- ต้นหอม นำมาล้างด้วยน้ำสะอาด หั่นให้เป็นท่อนขนาดประมาณ 3 - 4 เซนติเมตร
- กระเทียม นำมาลอกเปลือกนอกออก ล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นนำไปลวกในน้ำเดือดเพื่อลดปริมาณเชื้อเริ่มต้น และนำไปบดให้ละเอียด
- ขิง นำมาปอกเปลือกนอกออก ล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นนำไปลวกในน้ำเดือด เพื่อลดปริมาณเชื้อเริ่มต้น และนำไปบดให้ละเอียด

3.6.2 วิธีการหมักกิมจิ

นำผักกาดขาวปลีที่ผ่านการดองเกลือมาผสมกับส่วนผสมอื่นๆ คือ พริกแดงบดละเอียด แครอทบดละเอียด หัวผักกาดหั่นฝอย ต้นหอมหั่นเป็นท่อน กระเทียมบดละเอียด จิงบดละเอียด น้ำตาล น้ำปลา ในปริมาณที่ระบุในตารางที่ 3.1 ผสมส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน จากนั้นเติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นคือเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* และ *Lactobacillus plantarum* ในอัตราส่วน 1:1 ผสมให้เข้ากันอีกครั้ง ก่อนบรรจุในถุงร้อนหรือถุงโพลีโพรไพลีน มัดปากถุงให้แน่น บรรจุในถุงร้อนอีก 1 ชั้น มัดปากถุงให้แน่นจากนั้นนำไปต้มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการหมักจนมีความเป็นกรดต่างประมาณ 4.00

ตารางที่ 3.1 สูตรการเตรียมกิมจิ

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (ร้อยละของส่วนผสมหลัก* ¹)
พริกชี้ฟ้าบดละเอียด	20
แครอทบดละเอียด	10
หัวผักกาดหั่นฝอย	10
ต้นหอมหั่นเป็นท่อน	5
กระเทียมบดละเอียด	5
จิงบดละเอียด	5
น้ำตาล	10
น้ำปลา	2
เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น* ²	log cfu/g * ³

หมายเหตุ *¹ ส่วนผสมหลักประกอบด้วย ผักกาดขาวปลีดองเกลือ

*² เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นคือ เชื้อผสมระหว่าง *Leuconostoc mesenteroides* และ *Lactobacillus plantarum* ในอัตราส่วน 1:1

*³ ปริมาณเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่เหมาะสมในการหมักกิมจิทำการศึกษาในการทดลองที่ 3.7.3

3.7 วิธีการทดลอง

3.7.1 ศักยภาพการเจริญของเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* และ *Lactobacillus plantarum* และการเตรียมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

3.7.1.1 การเตรียมเชื้อสต็อก (Stock culture)

ทำการถ่ายเชื้อ *Leu. mesenteroides* และ *Lac. plantarum* ที่ได้จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ในรูปแบบแห้งที่ถูกทำให้แห้งโดยวิธีการแช่เยือกแข็ง (Freeze dried) ลงใน MRS broth นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาจีด (streak) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อเบื้องต้น โดยการสังเกตลักษณะโคโลนี ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar และทำการย้อมสีแกรม (Gram's stain) เพื่อดูรูปร่างและการติดสีแกรม จากนั้นถ่ายเชื้อจาก MRS agar ลงใน MRS broth นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชม. นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยนำมาใช้ภายใน 2 เดือน และถ่ายเชื้อจาก MRS agar ไป streak ใน MRS agar slant จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชม. นำไปเก็บรักษาไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส โดยนำมาใช้ภายใน 1 สัปดาห์

3.7.1.2 การศึกษาระยะเวลาการเจริญของเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* และ *Lactobacillus plantarum*

ถ่ายเชื้อจาก MRS agar slant จากข้อ 3.7.1.1 จำนวน 1 หลวง (loop) ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี MRS broth หลอดละ 10 ml. จำนวน 14 หลอด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นำ MRS broth มาทำการตรวจนับครั้งละ 1 หลอด ทำการตรวจนับเชื้อ ณ เวลาเริ่มต้น (ชั่วโมงที่ 0) และทุกๆ 2 ชม. จนครบ 24 ชม. และทำการนับเชื้อในชั่วโมงที่ 36 อีก 1 ครั้ง

3.7.1.3 การเตรียมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นคือเชื้อ *Leu. mesenteroides* และ *Lac. plantarum* ในอัตราส่วน 1:1 เตรียมโดยการล้างและเก็บเกี่ยวเชื้อที่อยู่ในระยะการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วงท้ายและเป็นระยะการเจริญคงที่ในช่วงต้น โดยใช้ 0.9% NaCl ล้างจำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 15 นาที ในเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 3000 rpm นำเชื้อที่ปั่นล้างครบ 3 ครั้ง มาเจือจางใน 0.9% NaCl จนมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นตามที่ต้องการคือปริมาณ 6 และ 7 log cfu/g เพื่อนำไปเป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น (แสดงวิธีการคำนวณในภาคผนวก ก)

3.7.2 ศึกษาคุณภาพวัตถุดิบหลักที่ใช้ในการเตรียมกิมจิ

ทำการล้างผักกาดขาวปลีด้วยน้ำสะอาด สะเด็ดน้ำให้แห้งประมาณ 30 นาที ทำการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ทางกายภาพ และทางจุลชีววิทยาของผักกาดขาวปลี ดังนี้

คุณภาพทางเคมี

- ความเป็นกรดต่าง (pH) (AOAC, 2000)
- ปริมาณกรดแลคติก (AOAC, 2000)
- ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (AOAC, 2000)

คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสี L^*a^*b และค่าสี L^*C^*h (เครื่องวัดสี Minolta)
- ความแข็ง (Texture analyzer)

คุณภาพทางจุลชีววิทยา

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC, 2000)
- ปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* (AOAC, 2000)
- ปริมาณเชื้อยีสต์และรา (AOAC, 2000)

3.7.3 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการหมักกิมจิ

ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการหมักกิมจิ และศึกษาคุณภาพทางเคมี ทางกายภาพ ทางจุลชีววิทยา ก่อนและหลังหมักกิมจิที่หมักโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นคือเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* และ *Lactobacillus plantarum* ในอัตราส่วน 1:1 ทำการผันแปรปริมาณการเติมเชื้อบริสุทธิ์ 2 ระดับ คือปริมาณเชื้อละ 6 และ 7 log cfu/g (ชุดควบคุมไม่ทำการเติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น) หาเวลาที่เหมาะสมในการหมักกิมจิ โดยการสุ่มวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดต่างและปริมาณกรดแลคติกทุกๆ 12 ชั่วโมง จนกว่ากิมจิจะมีค่าความเป็นกรดต่างประมาณ 4.00 และวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ทางกายภาพ ทางจุลชีววิทยา ก่อนและหลังหมักของกิมจิ ดังนี้

คุณภาพทางเคมี

- ความเป็นกรดต่าง (pH) (AOAC, 2000)
- ปริมาณกรดแลคติก (AOAC, 2000)
- ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (AOAC, 2000)
- ปริมาณเกลือ (AOAC, 2000)

คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสี L^*a^*b และค่าสี L^*C^*h (เครื่องวัดสี Minolta)
- ความแข็ง (Texture analyzer)

คุณภาพทางจุลชีววิทยา

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC, 2000)
- ปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* (AOAC, 2000)
- ปริมาณเชื้อยีสต์และรา (AOAC, 2000)
- ปริมาณแบคทีเรียแลคติก (AOAC, 2000)

คัดเลือกปริมาณเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่เหมาะสมในการหมักกิมจิ โดยพิจารณาจากเวลาที่ใช้ในการหมัก และคุณภาพทางเคมี ทางกายภาพ ทางจุลชีววิทยา เพื่อนำไปศึกษาในข้อ 3.7.4 ต่อไป

3.7.4 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์กิมจิ

ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์กิมจิที่บรรจุในถุงรีทอร์ทเพาซ์ 2 ชนิดคือชนิดใสและชนิดทึบแสง ในน้ำเดือดจนมีอุณหภูมิตรงกลางผลิตภัณฑ์ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3, 5 และ 7 นาที (ชุดควบคุมไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์) ดังนี้

3.7.4.1 การเตรียมกิมจิ

ทำการหมักกิมจิชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์และชุดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นคือเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* และ *Lactobacillus plantarum* ในอัตราส่วน 1:1 ปริมาณเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่เหมาะสมได้จากการทดลองในข้อ 3.7.3 ทำการหมักโดยการบรรจุในถุงร้อนถุงละ 180 กรัม มัดปากถุงให้แน่น หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนมีค่าความเป็นกรดต่างประมาณ 4.00 จากนั้นบรรจุกิมจิที่ผ่านการหมักในถุงรีทอร์ทเพาซ์ 2 ชนิด คือชนิดใสและชนิดทึบแสง ปริมาณถุงละ 180 กรัม ทำการปิดปากถุงด้วยเครื่องปิดผนึกแบบธรรมดา โดยรีดอากาศออกให้มากที่สุดก่อนทำการปิดผนึก และหลังการปิดผนึกให้ตรวจสอบสภาพการปิดผนึกให้สมบูรณ์

3.7.4.2 การพาสเจอร์ไรส์กิมจิ

นำกิมจิที่บรรจุในถุงรีทอร์ทเพาซ์ชนิดใสและชนิดทึบแสงจากข้อ 3.7.4.1 ไปพาสเจอร์ไรส์ในน้ำเดือด เริ่มจับเวลาการพาสเจอร์ไรส์เป็นเวลา 3, 5 และ 7 นาที เมื่ออุณหภูมิตรงกลางผลิตภัณฑ์

เท่ากับ 90 องศาเซลเซียส ติดตามอุณหภูมิโดยใช้สายเทอร์โมคัมเบิล (ชุดควบคุมไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์)

3.7.4.3 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ทางกายภาพ และทางจุลชีววิทยา ของกิมจิก่อนและหลังการพาสเจอร์ไรส์ ดังนี้

คุณภาพทางเคมี

- ความเป็นกรดต่าง (pH) (AOAC, 2000)
- ปริมาณกรดแลคติก (AOAC, 2000)

คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสี L^*a^*b และค่าสี L^*C^*h (เครื่องวัดสี Minolta)
- ความแข็ง (Texture analyzer)

คุณภาพทางจุลชีววิทยา

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC, 2000)
- ปริมาณแบคทีเรียแลคติก (AOAC, 2000)
- ปริมาณ *Staphylococcus aureus* (AOAC, 2000)
- ปริมาณ *Escherichia coli* (AOAC, 2000)
- ปริมาณเชื้อยีสต์และรา (AOAC, 2000)

ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ 2 x 4 แฟคทอเรียลที่ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (2 x 4 Factorial Experiment in Complete Randomized Design) ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (version 11.5) วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test

3.7.5 วิเคราะห์คุณภาพของกิมจิที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ในระหว่างการเก็บรักษา

ศึกษาคุณภาพกิมจิที่บรรจุในถุงรีทอร์ทเพาซ์ชนิดใสและชนิดทึบแสง ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ในเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองในข้อ 3.7.4 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ชุดควบคุมไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) ดังนี้

3.7.5.1 ทำการหมักกิมจิชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ และชุดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นคือเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* และ *Lactobacillus*

plantarum ในอัตราส่วน 1:1 ปริมาณเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่เหมาะสมได้จากการทดลองในข้อ 3.7.3 ทำการหมักโดยการบรรจุในถุงร้อนถุงละ 180 กรัม มัดปากถุงให้แน่น หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนมีค่าความเป็นกรดต่างประมาณ 4.00 จากนั้นบรรจุภูมิจุลินทรีย์ผ่านการหมักลงในถุงรีทอร์ทเพาซ์ 2 ชนิด คือ ชนิดใสและชนิดทึบแสง ปริมาณถุงละ 180 กรัม ทำการปิดปากถุงด้วยเครื่องปิดผนึกแบบธรรมดาโดยรีดอากาศออกให้มากที่สุดก่อนทำการปิดผนึก และหลังการปิดผนึกให้ตรวจสอบสภาพการปิดผนึกให้สมบูรณ์ นำภูมิจุลินทรีย์บรรจุในถุงรีทอร์ทเพาซ์ชนิดใสและชนิดทึบแสงที่เตรียมไว้ไปพาสเจอร์ไรส์ในน้ำเดือด จนมีอุณหภูมิตรงกลางผลิตภัณฑ์ไม่ต่ำกว่า 90 องศาเซลเซียส เวลาการพาสเจอร์ไรส์ที่เหมาะสมได้จากการทดลองข้อ 3.7.4 จากนั้นนำภูมิจุลินทรีย์ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ภูมิจุลินทรีย์ควบคุมไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส)

3.7.5.2 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ทางกายภาพ และทางจุลชีววิทยา ของภูมิจุลินทรีย์ทำการเก็บรักษา ทุกๆ 1 สัปดาห์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ดังนี้

คุณภาพทางเคมี

- ความเป็นกรดต่าง (pH) (AOAC, 2000)
- ปริมาณกรดแลคติก (AOAC, 2000)

คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสี L^*a^*b และค่าสี L^*C^*h (เครื่องวัดสี Minolta)
- ความแข็ง (Texture analyzer)

คุณภาพทางจุลชีววิทยา

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC, 2000)
- ปริมาณแบคทีเรียแลคติก (AOAC, 2000)
- ปริมาณ *Staphylococcus aureus* (AOAC, 2000)
- ปริมาณ *Escherichia coli* (AOAC, 2000)
- ปริมาณเชื้อยีสต์ และรา (AOAC, 2000)

ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

(version 11.5) วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test