

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณภาพ

ก-1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. Aluminium dish เส้นผ่านศูนย์กลาง ≥ 50 มิลลิเมตร สูง ≤ 40 มิลลิเมตร พร้อมฝาปิด
2. Air-tight desiccator
3. Hot air oven
4. Food chopper/Bowl cutter

การเตรียมตัวอย่าง

บดตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ความชื้นให้ละเอียดด้วย Food chopper/Bowl cutter

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 5 กรัม ใส่ใน Aluminium dish ที่อบแห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอน
2. บันทึกน้ำหนักตัวอย่างพร้อม Aluminium dish จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 ถึง 107 °C ใน Hot air oven ประมาณ 5 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบและปล่อยให้เย็นใน Desiccator ชั่งน้ำหนักจากนั้นนำไปอบซ้ำหลายๆ ครั้ง จนได้น้ำหนักที่คงที่ (ค่าที่ได้ต่างกันไม่เกิน 0.05 กรัม)
3. คำนวณหาปริมาณความชื้น

$$\text{ปริมาณความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่หายไปหลังอบแห้ง} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

ก-2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (AOAC, 1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. อุปกรณ์ย่อย (Digester)
2. หลอดย่อย (Digester tube)
3. Exhaust manifold และ Aspirator
4. Kjeltree 1002 distilling unit

5. Tube stand
6. Erlenmeyer flask 250 มิลลิลิตร
7. Boiling chip หรือ Glass bead

สารเคมี

1. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
2. Anhydrous K_2SO_4
3. Conc. H_2SO_4
4. 4 % Boric acid (H_3BO_3)
5. 50 % NaOH solution
6. 0.1 N HCl
7. Methyl red-bromocresol green indicator ประกอบด้วย 0.016 % Methyl red และ 0.083 % Bromocresol green ใน Ethyl alcohol

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างอาหารประมาณ 0.5 กรัม (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ลงในหลอดย่อยขนาด 500 มิลลิลิตร พร้อมทำ Blank ควบคู่
2. เติม $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.8 กรัม, K_2SO_4 7 กรัม และ Conc. H_2SO_4 12 มิลลิลิตร ลงในหลอดย่อยตามลำดับ
3. วางหลอดย่อยบน Stand ปิด Heat shield สวม Exhaust Manifold ลงบนส่วนบนของหลอดย่อย เปิด Power ของ Exhaust
4. ตั้ง Stand หลอด และ Exhaust ลงในเครื่องย่อยที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 420°C
5. ย่อยเป็นเวลา 5 นาที พร้อมกับตั้งอัตราการไหลของอากาศ Exhaust Manifold เติมที่ จากนั้นลดอัตราการไหลของอากาศลง เพื่อให้ไอกรดไหลเวียนอยู่ในระบบ
6. ย่อยต่อเป็นเวลา 30-45 นาที จนได้สารละลายที่ใส
7. ย้าย Stand พร้อมหลอด และ Exhaust มาตั้งไว้ข้างๆ เครื่องย่อย ทิ้งให้เย็น
8. เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ลงในหลอดย่อย แบบระมัดระวัง เนื่องจากการเติมน้ำลงในสารละลายกรดเข้มข้น
9. เปิดก๊อกน้ำหล่อเย็นที่เครื่องกลั่น
10. เปิด Power ของเครื่องกลั่น (Kjeltee)

11. โยกคั่นโยกของต่างลงมา 2-3 ครั้ง จนแน่ใจว่าในท่อต่างไม่มีฟองอากาศหลงเหลืออยู่
12. ช้อนเครื่องโดยใช้ Flask เป็ดารองรับ และหลอดที่มีน้ำกลั่นอยู่ประมาณครึ่งหลอด โดยเปิด Steam กลั่นเป็นเวลาประมาณ 5 นาที
13. ปิด Steam นำหลอดและ Flask ออกจากเครื่องกลั่น
14. นำ Flask ที่บรรจุ สารละลาย 4 % Boric acid ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ไปตั้งไว้ที่ตำแหน่งที่เครื่องกลั่น และเลื่อนฐานขึ้น ให้ปลายแท่งแก้วจุ่มอยู่ใต้สารละลาย
15. ใส่หลอดย่อยที่เตรียมไว้ในเครื่องกลั่น
16. ปิดหน้าต่างป้องกันลงมา
17. โยกคั่นโยกต่างลงมา เปิด Steam ไปตำแหน่งเปิด (Open)
18. กลั่นจนได้ Condensate ประมาณ 150 มิลลิลิตร (สารละลาย Boric acid จะเปลี่ยนจากสีแดงม่วงเป็นสีเขียว) ใช้น้ำกลั่น Rinse สารละลายที่ค้างบริเวณปลาย Condenser และ Receiver ลงสู่ Flask ของ Condensate และเมื่อกลิ้นเสร็จแล้วให้เลื่อนคั่นโยก Steam ไปอยู่ตำแหน่งปิด (Close)
19. นำสารละลายที่ได้ไปไตเตรทกับสารละลาย HCl ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน คือประมาณ 0.1 N ใช้ Methyl red-bromocresol green เป็น Indicator ที่จุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงแดง บันทึกปริมาตรสารละลาย HCl ที่ใช้

20. คำนวณ Crude protein ในตัวอย่างอาหาร

$$\% \text{ Crude Protein} = \frac{V (\text{Sample} - \text{blank}) \times N \times F \times 14.007 \times 100}{\text{mg of sample}}$$

เมื่อ V = ปริมาตรของ Titrant ที่ใช้

N = Normallity ของ Titrant

F = Kjeldahl factor : General = 6.25

: Wheat = 5.70

: Dairy product = 6.38

14.007 = น้ำหนักอะตอม (Atomic weight) ของ Nitrogen

ก-3 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC, 1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไขมันแบบอัตโนมัติ (Soxtherm 2000 : Gerhardt)
2. Soxhlet extraction tube

สารเคมี

Petroleum ether (40-60°C)

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างที่แห้ง 2 กรัม (ตัวอย่างที่ได้จากการหาปริมาณความชื้น) ห่อตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง ใส่ลงใน Thimble
2. ใส่ Thimble ที่บรรจุตัวอย่างใน Soxhlet extraction tube ที่อบแห้งและทราบน้ำหนักของ Tube ที่แน่นอน
3. ใส่ Petroleum ether ประมาณ 150 มิลลิลิตร หรือให้ท่วมตัวอย่าง ลงไปใน Soxhlet extraction tube
4. นำไปสกัดไขมันโดยตั้งสภาวะในการสกัด ดังนี้

- Extraction temperature	150 °C
- Boiling time	30 min
- Solvent reduction A	5 x 15 ml
- Extraction time	80 min
- Solvent reduction B	8 min
- Solvent reduction C	5 min
- Solvent reduction interval	3 min
- Solvent reduction phase	3 sec
5. นำส่วน Ether ที่ละลายไขมันที่สกัดได้ไปไล่ Ether ออก โดยให้ความร้อนบน Hot plate ภายในตู้ควัน
6. เมื่อไล่ Ether ออกหมดแล้ว ให้เอาไขมันที่แยกได้ไปอบที่ 100 °C นาน 30 นาที ทิ้งให้เย็นใน Desiccator แล้วนำไปชั่งหาน้ำหนัก
7. คำนวณหาปริมาณไขมัน

$$\% \text{ Crude fat} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันที่สกัดได้} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

ก-4 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เตาเผา (Muffie furnace)
2. Crucible or Platinum dish (7 cm. diameter)
3. Hot plate
4. Desiccator
5. Food chopper/ Bowl cutter
6. Water bath

การเตรียมตัวอย่าง

บดตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์เถ้าให้ละเอียดด้วย Food chopper/ Bowl cutter

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง (บดละเอียด) ใส่ใน Crucible หรือ Platinum dish ที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิประมาณ 500 °C นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน Desiccator แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
 2. ให้ความร้อนบน Hot plate จนตัวอย่างอาหารไม่มีควันดำ ก่อนนำไปเผาในเตาเผา
 3. นำตัวอย่างที่ได้ไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 °C จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว เอาออกจากเตาเผา ทิ้งให้เย็นใน Desiccator แล้วชั่งน้ำหนักเถ้า
 4. คำนวณหาปริมาณเถ้าของอาหาร
- $$\% \text{ Ash} = \frac{\text{น้ำหนักของเถ้า} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

ก-5 การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย (AOAC, 1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ชุดวิเคราะห์หาเส้นใย ประกอบด้วย Beaker 600 มิลลิลิตร Condenser และเตาให้ความร้อน
2. ชุดกรอง ประกอบด้วยกรวยที่บุด้วยแผ่นลวดตาข่าย Filtering และ Suction pump
3. Desiccator
4. Hot air oven

5. Muffle furnace

6. Blender

7. Porcelain dish

สารเคมี

1. 1.25 % (w/v) H_2SO_4 solution

2. 1.25 % (w/v) NaOH solution

3. 95 % Ethyl alcohol

4. Boiling chips

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดและผ่านการสกัดไขมันออก ประมาณ 2 กรัม (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ใน Beaker ขนาด 600 มิลลิลิตร ถ้าตัวอย่างมีไขมัน < 1% การสกัดไขมันออกอาจไม่จำเป็นต้องทำ

2. เติม Boiling 1.25 % H_2SO_4 200 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง ใส่ Boiling chip ลงไป 2-3 ชิ้น เพื่อป้องกันการเดือดแบบ Bumping นำไปต่อกับเครื่องย่อยที่เตรียมพร้อมไว้และต้มเป็นเวลา 30 นาที ให้เขย่า Beaker เป็นระยะ เพื่อไม่ให้ตัวอย่างเกาะที่ผนัง Beaker

3. เอา Beaker ออกจากเครื่องย่อยแล้วนำตัวอย่างไปกรองผ่านเครื่องกรอง

4. ล้างกากด้วยน้ำกลั่น โดยการ Rinse ด้วยน้ำกลั่นที่เดือด 50-75 มิลลิลิตร กรองผ่านเครื่องกรอง ทำซ้ำอย่างนี้ 3 ครั้ง หรือจนหมดกรด

5. นำกากที่ล้างแล้วใส่ใน Beaker 600 มิลลิลิตร แล้วเติม Boiling 1.25 % NaOH 200 มิลลิลิตร แล้วต้มเป็นเวลานาน 30 นาที

6. นำกากมากรอง ล้างด้วย Boiling 1.25 % H_2SO_4 25 มิลลิลิตร ทำซ้ำ 3 ครั้ง ตามด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร 3 ครั้ง และ Alcohol 25 มิลลิลิตร

7. นำกากที่ได้ไปใส่ใน Crucible ทำให้แห้งโดยอบที่อุณหภูมิ $130 \pm 20^\circ\text{C}$ นาน 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นใน Desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก

8. คำนวณหาปริมาณเส้นใย

$$\text{ปริมาณเส้นใย} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของกาก} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

ก-6 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (จากการคำนวณ)

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตหาได้จากการคำนวณ โดยนำค่า 100 หักลบด้วยปริมาณความชื้น ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณเถ้า และปริมาณเส้นใย ดังสมการ

$$\begin{aligned} \% \text{ Carbohydrate} = & 100 - \% \text{ Crude protein} - \% \text{ Crude fat} - \% \text{ ความชื้น} \\ & - \% \text{ เถ้า} - \% \text{ เส้นใย} \end{aligned}$$

ก-7 การวิเคราะห์ปริมาณพลังงานอาหาร

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องบอมบ์แคลอริมิเตอร์ รุ่น PARR 1351 (บริษัท Parr Instrument Company)
2. ถังโลหะมีหูหิ้วสำหรับใส่น้ำ (Calorimeter bucket)
3. ลูกบอมบ์ (Bomb)
4. ถ้วยของลูกบอมบ์
5. ถังอัดก๊าซออกซิเจน
6. ลวดจุดระเบิด (Fuse wire)
7. Food chopper/ Bowl cutter
8. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์พลังงานไปอบแห้ง แล้วบดตัวอย่างให้ละเอียดด้วย Food chopper/ Bowl cutter

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งและบดละเอียดแล้ว ด้วยเครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง ให้ได้น้ำหนักประมาณ 1 กรัม (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน)
2. นำตัวอย่างที่ชั่งเรียบร้อยแล้ว บรรจุลงในถ้วยของลูกบอมบ์ ใส่ลวดจุดระเบิดยาว 10 เซนติเมตร โดยให้ลวดแตะกับตัวอย่าง แล้วหย่อนถ้วยบรรจุตัวอย่างลงในลูกบอมบ์
3. ปิดฝาลูกบอมบ์ให้แน่น แล้วอัดก๊าซออกซิเจนลงไป
4. เติมน้ำ 2,000 มิลลิลิตร ใส่ลงในถัง แล้วหย่อนลูกบอมบ์ลงไปในถัง ให้จมอยู่ใต้น้ำ
5. ปิดฝาเครื่องบอมบ์แคลอริมิเตอร์ แล้วทำการจุดระเบิด (Bomb) หลังจาก Bomb เสร็จ จึงเปิดฝาเครื่อง นำลูกบอมบ์ออกมา แล้วไล่ก๊าซออกซิเจนออกจากลูกบอมบ์

6. เปิดฝาตู้บอมบ์ออก นำลวดจุดระเบิดที่เหลือมาวัดความยาวแล้วหักลบออกจากค่า 10 เซนติเมตร

7. นำค่าที่หักลบแล้ว ไปใส่ข้อมูลในเครื่อง พร้อมทั้ง Assume ค่า Acid และ Sulfur ให้มีค่าเท่ากับ 0.00001 แล้วจึงอ่านค่าพลังงานที่ได้จากเครื่อง ซึ่งจะรายงานค่าออกมาในหน่วยแคลอรีต่อกรัม (cal/g)

ก-8 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. จานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว (Sterile petridishes)
2. หลอดทดลอง (Test tubes)
3. ปิเปตที่ฆ่าเชื้อแล้ว (Sterile pipets)
4. เครื่องตีปั่นอาหาร (Stomacher) พร้อมถุงสำหรับตีปั่น
5. เครื่อง Vortex mixture
6. น้ำสำหรับการเจือจาง (Sterile dilution water)
7. Plate count agar หรือ Tryptone glucose extract agar
8. ตะเกียงแอลกอฮอล์ พร้อมแอลกอฮอล์จุดไฟ
9. แอลกอฮอล์สำหรับฆ่าเชื้อโรค
10. หม้อนึ่งความดันไอน้ำสำหรับฆ่าเชื้อ (Autoclave)
11. ตู้บ่มเชื้อ (incubator)
12. เครื่องนับจำนวนโคโลนี

การเตรียม Dilution water

เตรียมสารละลายเปปโตน 0.1 % ในน้ำกลั่น ฆ่าเชื้อโดยนำเข้าหม้อนึ่งความดันไอนาน 15 นาที พีเอชสุดท้ายที่ได้ควรเป็น 6.8

การเจือจางตัวอย่าง (Sample Dilution)

การเจือจางตัวอย่างด้วย Dilution water โดยใช้ Dilution water 90 มิลลิลิตร กับตัวอย่างที่สุ่มมาโดยเทคนิคปราศจากเชื้อ 10 กรัม ตีปั่นอาหารด้วยเครื่องตีปั่นอาหารนาน 1 นาที จะได้ตัวอย่างอาหารที่เจือจางในอัตราส่วน 1:10 จากนั้นใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรเติมลงใน Dilution water 9 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ในหลอดทดลอง นำหลอดทดลองไปเขย่าด้วยเครื่อง vortex mixture นาน 10-15 วินาที จะได้ตัวอย่างอาหารที่เจือจางใน

อัตราส่วน 1:100 เตรียมตัวอย่างอาหารที่ระดับความเจือจาง 1:1000 หรือระดับความเจือจางที่ต้องการในทำนองเดียวกัน

วิธีการตรวจวิเคราะห์

1. เขียนหมายเลขตัวอย่าง ระดับความเจือจาง วัน/เดือน/ปี ลงบนฝาจานเพาะเชื้อ หลอดและขวดทุกใบ โดยบริเวณใต้ที่ทำการวิเคราะห์ต้องสะอาด เช็ดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ
2. เตรียมตัวอย่างอาหารให้มีระดับความเจือจางระดับต่างๆ
3. นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ คือ Plate count agar หรือ Tryptone glucose extract agar ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาหลอมเหลวในน้ำร้อนและอุ่นไว้ที่อุณหภูมิ 44-46 °C
4. เปิดฝาภาชนะใส่ตัวอย่างอาหารที่เตรียมไว้ โดยลนไฟที่ปากภาชนะแล้วปิดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ โดยค่อยๆ แฉกฝาจานเพาะเชื้อ
5. เท Plate count agar ลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15-20 มิลลิลิตร รีบปิดฝาแล้วทำการหมุนจานไปรอบๆ ให้อาหารเลี้ยงเชื้อผสมรวมเป็นเนื้อเดียวกันกับตัวอย่าง โดยทำซ้ำ 3 ครั้ง ในแต่ละระดับการเจือจาง
6. ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว (ประมาณ 10 นาที) แล้วพลิกคว่ำจานเพาะเชื้อลง นำเข้าบ่มใน Incubator ที่อุณหภูมิ 35±0.5 °C เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง
7. นับจำนวนจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ หาค่าเฉลี่ย แล้วรายงานค่าเป็นจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต่อกรัมอาหาร

ก-9 การตรวจวิเคราะห์จำนวนยีสต์และรา (Yeast and mold count)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. จานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว (Sterile petridishes)
2. หลอดทดลอง (Test tubes)
3. Spreader
4. Autopipettes
5. เครื่องตีปั่นอาหาร (Stomacher) พร้อมถุงสำหรับตีปั่น
6. เครื่อง Vortex mixture
7. น้ำสำหรับการเจือจาง (Dilution water)
8. 0.1 N Tartaric Acid
9. Potato dextrose Agar

10. ตะเกียงแอลกอฮอล์ พริ้วแอลกอฮอล์จุดไฟ
11. แอลกอฮอล์สำหรับฆ่าเชื้อโรค
12. หม้อนึ่งความดันไอลำหรับฆ่าเชื้อ (Autoclave)
13. ตู้บ่มเชื้อ (incubator)
14. เครื่องนับจำนวนโคโลนี

การเตรียม Dilution water

ทำเช่นเดียวกันกับการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count)

การเจือจางตัวอย่าง (Sample Dilution)

ทำเช่นเดียวกันกับการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count)

วิธีการตรวจวิเคราะห์

1. เขียนหมายเลขตัวอย่าง ระดับความเจือจาง วัน/เดือน/ปี ลงบนฝาจานเพาะเชื้อ หลอด และขวดทุกใบ โดยบริเวณโต๊ะที่ทำการวิเคราะห์ต้องสะอาด เช็ดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ
2. เตรียมตัวอย่างอาหารให้มีระดับความเจือจางระดับต่างๆ
3. นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ คือ Potato dextrose agar (PDA) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาหลอมเหลว ปรับพีเอชของ PDA ด้วย 0.1 N Tartaric Acid เพื่อให้เป็น Acidified PDA (พีเอช สุดท้ายของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้ประมาณ 3.5) แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวใส่ลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ปล่อยให้เย็นแข็งตัว
4. เปิดฝาภาชนะใส่ตัวอย่างอาหารที่เตรียมไว้ โดยฉีกไฟที่ปากภาชนะ แล้วปิดตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ บนฐาน PDA ที่แข็งตัว โดยค่อยๆ แฉกฝาจานเพาะเชื้อ ทำซ้ำ 3 ครั้ง ในแต่ละระดับการเจือจาง
5. นำ spreader จุ่มแอลกอฮอล์ แล้วเผาไฟให้ลุก รอให้เปลวไฟดับ และทิ้งให้เย็นสักครู่ จากนั้นจึงใช้ spreader ละเลงตัวอย่างอาหารให้ทั่วฐาน
6. ตั้งทิ้งไว้ ประมาณ 10 นาที นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 30 ± 2 °C เป็นเวลา 72-120 ชั่วโมง โดยไม่ต้องพลิกคว่ำจานเพาะเชื้อลง
7. นับจำนวนยีสต์และราที่เจริญเติบโตในจานเพาะเชื้อรวมกัน หาค่าเฉลี่ย แล้วรายงานค่าเป็นจำนวนยีสต์และราทั้งหมดต่อกรัมอาหาร