บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การดำเนินการวิจัยแบ่งเป็น 2 ตอน คือ

ตอนที่ 1. การออกสำรวจภาคสนามโดยการสัมภาษณ์ เพื่อรวบรวมข้อมูลกระบวนการผลิต การควบคุมคุณภาพและสถานการณ์การผลิตลำไยอบแห้งในปัจจุบัน

ตอนที่ 2. การตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของตัวอย่างลำไยอบแห้งทั้งเปลือก

ตอนที่ 1 การออกสำรวจ

1.1 ประชากรที่ทำการศึกษา

ประชากรที่ทำการศึกษาคือ ผู้ประกอบการลำไยอบแห้ง จำนวน 10 ราย ในเขตจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มแรกเป็นตัวแทนของผู้ประกอบการบริษัทเอกชนจำนวน 4 ราย และกลุ่มที่สองเป็นตัวแทนของเกษตรกรจำนวน 6 ราย

1.2 ข้อมูลในการสัมภาษณ์

ได้สัมภาษณ์ข้อมูลเกี่ยวกับกระบวนการผลิตลำไยอบแห้ง และการควบคุมคุณภาพ คือ ชนิดของพันธุ์ที่ใช้ ราคารับซื้อผลผลิตสดและผลผลิตแห้ง ข้อกำหนดในการรับซื้อ ชนิดของเตาอบ จำนวนเตาอบ ความสามารถในการผลิตต่อวัน ขั้นตอนในการอบ การควบคุมอุณหภูมิ การคัดขนาด การคัดตำหนิ การจัดชั้นคุณภาพ การบรรจุ การเก็บรักษา ปัญหาและอุปสรรคของระบบการผลิต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1.3 การทดสอบแบบสัมภาษณ์

การทดสอบความเที่ยงตรง (Validity) โดยนำแบบสัมภาษณ์ที่สร้างขึ้นนำปรึกษาต่อคณะกรรมการที่ปรึกษาเพื่อตรวจสอบความถูกต้อง และความเที่ยงตรงของเนื้อหาโดยให้ครอบคลุมเนื้อหาในการตรวจสอบเอกสารที่เกี่ยวข้อง และการทดสอบแบบสัมภาษณ์โดยการนำแบบสัมภาษณ์ออกมาลองใช้สอบถามกับผู้ประกอบการจริงแล้วนำมาปรับปรุง เพื่อให้ใช้ได้สะดวกรวดเร็วในการสัมภาษณ์จริง

1.4 การเก็บรวบรวมข้อมูล

เก็บรวบรวมข้อมูลปฐมภูมิ โดยใช้แบบสัมภาษณ์ดำเนินการสัมภาษณ์ผู้ประกอบการและเกษตรกรจำนวนทั้งหมด 10 ราย ที่ดำเนินการอยู่ในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และลำพูน

เก็บรวบรวมข้อมูลทุติยภูมิ โดยการเก็บรวบรวมจากการตรวจเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปลำไยอบแห้งทั้งเปลือก และเกณฑ์มาตรฐานที่เกี่ยวข้อง

ตอนที่ 2. การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของตัวอย่างลำไยอบแห้งทั้งเปลือก

2.1 ตัวอย่าง

ลำไยอบแห้งทั้งเปลือก ได้จากการสุ่มตัวอย่างจากเกษตรกรและผู้ผลิตทั้งในเขตจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน 10 แห่ง ที่ละ 3 เกรด เกรดละ 3 กิโลกรัม จำนวน 30 ตัวอย่าง

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางกายภาพและทางเคมี

1. เครื่องวัดสี (Chroma meter, Minolta CR 300, Japan)
2. เครื่องวัดพีเอช (pH meter, HANA : 213, USA)
3. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Balance Dielhemim : HF-3000G, Swizerland)
4. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Electric analytical balance, Sartorius : A120S, Germany)
5. ตู้บ่ม (Incubator, Gallenkamp, England)
6. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert :UM100-UM800, Germany)
7. ตู้อบสุญญากาศ (Vacuum drying oven)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

8. ตู้ดูดควัน (Hood, Toplab Design and Technology, England)
9. อ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, Gallenkamp, Egnland)
10. เครื่องวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (Hand refractometer, Atago :N1, Japan)
11. เครื่องกวนผสมแบบแม่เหล็กไฟฟ้า (Hot plate and Magnetic stirrer, Whatman : HPMS, England)
12. เครื่องปั่น (Blender, National, Thailand)
13. โถดูดความชื้น (Desiccator)
14. เวอร์เนียคาลิปเปอร์
15. กระดาษกรอง เบอร์ 4 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 เซนติเมตร (Whatman, England)
16. บีกเกอร์ ขนาด 50, 100, 250, 600 และ 1,000 มิลลิลิตร
17. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 และ 250 มิลลิลิตร
18. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 100, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
19. แท่งแม่เหล็ก (Magnetic bar)
20. กรวยกรอง
21. หลอดหยด (Dropper)
22. จานโลหะ (Moisture can)
23. ปิเปตต์ขนาด 1, 5, 10 และ 20 มิลลิลิตร

2.3 วิธีการทดลอง

2.3.1 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

1. การตรวจหาเปอร์เซ็นต์ผลบุบ ผลแตกและผลเปื้อนน้ำหมาก

ลำไยอบแห้งทั้งเปลือกแต่ละเกรดจะถูกสุ่มมาจำนวน 3,000 กรัม ทำการคัดแยกผลบุบ ผลแตก ผลที่เปื้อนน้ำหมาก ผลดี ด้วยสายตาแล้วทำการชั่งน้ำหนักหาเปอร์เซ็นต์ของผลบุบ ผลแตกและผลเปื้อนน้ำหมาก

2. การตรวจวัดขนาดผลลำไยอบแห้งทั้งเปลือก

ลำไยอบแห้งทั้งเปลือกแต่ละเกรดถูกสุ่มมาจำนวน 500 กรัม วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของผลลำไยอบแห้งทั้งเปลือก โดยใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การวัดสี

ทำการวัดสีเปลือกและสีเนื้อลำไยอบแห้งตัวอย่าง โดยใช้เครื่องวัดสี Chroma meter (Minolta CR 300., Japan)

การใช้เครื่อง Chroma meter ก่อนใช้เครื่องทุกครั้งได้ปรับมาตรฐานของเครื่องวัดสีด้วยแผ่นเทียบสีมาตรฐานสีขาว วัดสีผลละ 3 จุด เกรดละ 10 ผล แล้วหาค่าเฉลี่ย รายงานค่าสีที่วัดได้เป็นค่า L, a* และ b* เมื่อ L = the lightness factor (value) a* และ b* = the chromaticity coordinates ค่า L ที่มีค่าใกล้ศูนย์ หมายถึง วัตถุมีสีคล้ำ หากค่า L เข้าใกล้ 100 หมายถึง วัตถุมีสีขาว ค่า a* ที่ค่าเป็นบวก หมายถึง วัตถุมีสีแดง หากค่าเป็นลบ หมายถึง วัตถุมีสีเขียว และค่า b* ที่ค่าเป็นบวก หมายถึง วัตถุมีสีเหลือง หากค่าเป็นลบ หมายถึง วัตถุมีสีน้ำเงิน ทั้ง a* และ b* มีค่าเป็นศูนย์แสดงว่าวัตถุมีสีเทา

2.3.2 การวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมี

1. ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (total titratable acidity) ตามวิธี AOAC International, 2000 : Method 942.15

สารเคมี

วัดปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างเนื้อลำไยอบแห้งโดยวิธีการไทเทรชัน และคำนวณผลในรูปของกรดซิตริกต่อ 100 กรัมเนื้อลำไย

ก. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide (NaOH), AR Grade, E. Merck, Germany) จำนวน 4 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาเปรียบเทียบมาตรฐาน (standardization) โดยการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เพื่อหาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ข. สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (Potassium hydrogen phthalate ($KHC_8H_4O_4$), AR Grade, E. Merck, Germany) (ที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศา-เซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง) น้ำหนัก 0.5000 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มเดือด จำนวน 25 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปิเปตต์สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาส์คขนาด 125 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ ลงไป 2-3 หยด นำไปไทเทรตกับสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนกระทั่งได้จุดยุติเป็นสีชมพูที่ถาวร บันทึกปริมาตรของสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตที่ใช้ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย ความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์คำนวณได้ดังนี้

$$\text{นอร์มัลลิตี้ของ NaOH} = \frac{0.1N\ (KHC_8H_4O_4) \times \text{ปริมาตร } KHC_8H_4O_4 \text{ ที่ใช้ไทเทรต (มล.)}}{\text{ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 มล.}}$$

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อลำไยอบแห้งที่ปั่นละเอียดมา 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย คนให้ละลายเข้ากันดี
3. ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร
4. กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4
5. ปิเปตต์ของเหลวที่กรองได้ 10 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาส์คขนาด 125 มิลลิลิตร
6. นำไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนถึงจุดยุติที่ค่าพีเอช 8.1 ทำการทดลองตัวอย่างละ 2 ซ้ำ และหาค่าเฉลี่ยปริมาณสารละลายด่างที่ใช้ นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ในรูปกรดซิตริกต่อ 100 กรัมของเนื้อลำไย โดยเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานดังนี้

1 มิลลิลิตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.10 นอร์มัล ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับกรดซิตริก 0.007 กรัม

สารละลายน้ำลำไย 100 มิลลิลิตร เจือจางมาจากเนื้อลำไย 10 กรัม ดังนั้นสารละลายน้ำลำไย 10 มิลลิลิตร เจือจางมาจากเนื้อลำไย 1 กรัม

$$\%\text{กรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ในรูปกรดซิตริก} = \text{สารละลายด่างที่ใช้ (มิลลิลิตร)} \times 0.007 \times 100$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง (pH) (AOAC, 2000.) : Method 920.149

วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างเนื้อลำไยอบแห้งประมาณ 20 กรัม แช่ในน้ำกลั่นประมาณ 40 มิลลิลิตร (เป็นเวลาประมาณ 30 นาที หรือจนเนื้อลำไยนิ่ม) จากนั้นปั่นตัวอย่างเนื้อลำไยให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปรับ

ปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลตร ด้วยน้ำกลั่น นำไปกรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 4 จากนั้นนำมาวัดด้วยเครื่องวัดพีเอช (pH meter) ซึ่งมีการปรับค่ามาตรฐานในการวัดแต่ละตัวอย่างด้วยสารละลายมาตรฐานที่มีค่าพีเอช เท่ากับ 7.01 และ 4.01 ตามลำดับ ทำการวัดตัวอย่างละ 2 ครั้ง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

3. การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้
(Total Soluble Solids,%)
โดยใช้ Hand refractometer (AOAC , 2000.) : Method 970.21
วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างเนื้อลำไยอบแห้งประมาณ 20 กรัม แช่ในน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร (เป็นเวลาประมาณ 30 นาที หรือจนเนื้อลำไยนิ่ม) จากนั้นปั่นตัวอย่างลำไยให้เป็นเนื้อเดียวกัน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 แล้วนำมาวัดด้วยเครื่องวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (Hand refractometer) ซึ่งมีสเกลวัดค่าได้ระหว่าง 0-32% โดยใช้น้ำกลั่นปรับให้อ่านค่าได้ 0 ก่อนใช้วัดตัวอย่าง ค่าอ่านที่ได้มีหน่วยเป็นองศาบริกส์ ซึ่งแต่ละตัวอย่างจะทำการวัด 2 ครั้ง ค่าที่อ่านได้นำมาคูณด้วย 3 จึงเป็นค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้

4. ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลซูโครสโดยวิธี Lane and Eynon
(AOAC, 1998)
สารเคมี

ก. สารละลาย Carrez No.1 เตรียมโดยละลายซิงแอซีเทต ("Baker" Zinc acetate dehydrate, AR Grade, J.T. Baker, U.S.A.) จำนวน 21.9 กรัม ในน้ำกลั่นที่มีกรดแอซีติก ("Merck" Acetic acid glacial, AR Grade, E. Merck, Germany) จำนวน 3 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

ข. สารละลาย Carrez No.2 เตรียมโดยละลายโพแทสเซียมเฟอโรไซยาไนด์ ("Ajax Finechem" Potassium ferrocyanide, AR Grade, Asia Pecific Specialty, Australia) จำนวน 10.6 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

ค. สารละลาย Fehling No.1 เตรียมโดยละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ("Baker" Copper sulphate, AR Grade, J.T. Baker, U.S.A.) จำนวน 69.278 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ง. สารละลาย Fehling No.2 เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จำนวน 100 กรัม และโพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต ("Baker" Potassium sodium tartrate, AR Grade, J.T. Baker, U.S.A.) จำนวน 346 กรัม ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

จ. สารละลายเมทิลีนบลู ความเข้มข้น 1% เตรียมโดยละลายเมทิลีนบลู ("Merck" Methylene blue, AR Grade, E. Merck, Germany) จำนวน 1 กรัม ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

ฉ. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6.34 นอร์มัล เตรียมโดยตวงสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ("Merck" Hydrochloric Acid, AR Grade, E. Merck, Germany) จำนวน 564.33 มิลลิลิตร ค่อยๆ รินกรดลงในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

ช. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 5 นอร์มัล เตรียมโดยละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ จำนวน 200 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นที่ต้มไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกไป และปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

วิธีการวิเคราะห์

การเตรียมตัวอย่างลำไย

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อลำไยอบแห้ง 5 กรัม (ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำตาลในเนื้อลำไยด้วย) เติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อยเพื่อที่จะได้ปั่นตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน

2. เติมสารละลาย Clearing agent (Carrez I และ Carrez II ลงไปอย่างละ 5 มิลลิลิตร) เขย่าให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ประมาณ 20-30 นาที

3. กรองสารละลายที่ได้ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 (Whatman No. 4) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หา ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนอินเวอร์ชัน (D_1)

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนการทำอินเวอร์ชัน

การไทเทรต

1. นำสารละลายที่กรองได้ใส่ในบิวเรต ไล่ฟองอากาศ โดยเฉพาะตรงส่วนปลายแท่งแก้วให้หมด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ปิเปตต์สารละลาย Fehling's A และ Fehling's B อย่างละ 5 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาส์ค ขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่แท่งแม่เหล็กลงไป เพื่อป้องกันการเดือดล้นออกมา

3. นำไปต้มด้วยเครื่องกวนผสมด้วยแม่เหล็กไฟฟ้าจนเดือด หยดสารละลาย เมทิลีนบลู ลงไป 1–2 หยด ไทเทรตจนสีฟ้าจางหายไปหมด เหลือตะกอนสีส้มแดงของคอปเปอร์ไดออกไซด์ (Copper dioxide; CuO_2) อยู่ที่ก้นฟลาส์ค ทำการไทเทรต ตัวอย่างละ 2 ครั้ง นำปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้ในการไทเทรตมาหาค่าเฉลี่ย

4. นำปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ได้ ไปหาปริมาณน้ำตาลในรูปของน้ำตาลอินเวอร์ต (invert sugar) (มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร) จากตาราง คำนวณหาปริมาณเปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์ก่อนอินเวอร์ชัน (D_1)

$$(D_1) = \frac{\text{ปริมาณน้ำตาล (sugar content) (มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร)} \times V}{1000 \times W \times D}$$

V = ปริมาตรสุดท้าย (volume made up) (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

D = ระดับความเจือจาง (dilution factor)

หมายเหตุ :

1. ความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายตัวอย่างที่ใช้ในการไทเทรตกับสารละลายผสม Fehling จะต้องอยู่ในช่วง 15-50 มิลลิลิตร เท่านั้น
2. ถ้าปริมาตรที่ใช้ไทเทรตน้อยกว่า 15 มิลลิลิตร แสดงว่าเตรียมสารละลายตัวอย่างมีความเข้มข้นเกินไป ต้องเจือจางสารละลายตัวอย่างลง
3. ถ้าปริมาตรที่ใช้ไทเทรตมากกว่า 50 มิลลิลิตร แสดงว่าเตรียมสารละลายตัวอย่างเจือจางเกินไป ต้องเตรียมตัวอย่างใหม่ให้มีความเข้มข้นมากกว่าเดิม

การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังการทำอินเวอร์ชัน (D_2)

วิธีการวิเคราะห์

1. นำสารละลายตัวอย่างที่เหลือจากการหาน้ำตาลก่อนอินเวอร์ชัน (หรือใช้สารละลายที่เตรียมใหม่) ทำการตกตะกอนให้ใสโดยใช้ Clearing agent ก่อนปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

2. ปิเปตต์สารละลายตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6.34 นอร์มัล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว ปรับให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ความเข้มข้น 5 นอร์มัล ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร จากนั้นไทเทรตเช่นเดียวกับตอนแรก ทำซ้ำ 2 ครั้ง

3. นำค่าที่ได้ไปเทียบหาปริมาณน้ำตาลในรูปน้ำตาลอินเวอร์ตจากตาราง คำนวณหาปริมาณในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์ภายหลังอินเวอร์ชัน (D_2) ซึ่งค่าที่ได้จะเป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีอยู่ในตัวอย่างอาหาร รวมกับน้ำตาลอินเวอร์ต

4. นำค่าปริมาณน้ำตาลที่ได้ (ทั้งค่า D_1และ D_2) มาคำนวณหาปริมาณน้ำตาล ดังนี้

น้ำตาลซูโครส (S,%) = $(D_2 - D_1) \times 0.95$

น้ำตาลทั้งหมด (%) = $D_1 + S$

เมื่อ D_1 = ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดก่อนทำอินเวอร์ชัน (%)

D_2 = ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดหลังทำอินเวอร์ชัน (%)

S = ปริมาณน้ำตาลซูโครส (%)

5. **การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น** (Moisture Content) (AOAC, 2000.) : Method 934.06

วิธีการวิเคราะห์ ชั่งตัวอย่างเนื้อลำไยอบแห้งปั่นละเอียดมาประมาณ 3 กรัม (ชั่งให้ทราบน้ำหนักแน่นอน) เกลี่ยใส่ในจานโลหะที่ผ่านการอบแห้งและทราบน้ำหนักมาก่อนแล้ว นำไปอบในตู้อบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 70$\pm$1 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันไม่เกิน 100 มิลลิเมตรปรอท (13.3 กิโลพาสคาล) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบมาทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก อบซ้ำจนน้ำหนักคงที่ โดยน้ำหนักที่ชั่งได้ไม่ควรต่างจากครั้งแรกเกิน 0.002 กรัม คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(W_2 - W_3) \times 100}{W_2 - W_1}$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักของจานโลหะ (กรัม)

W_2 = น้ำหนักของจานโลหะ + น้ำหนักเนื้อลำไย ก่อนอบ (กรัม)

W_3 = น้ำหนักของจานโลหะ + น้ำหนักเนื้อลำไย หลังอบ (กรัม)

6. **การวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้** (a_w)

ใส่ตัวอย่างลงในตลับวัด a_w ประมาณ 1/2 หรือ 1/3 ของตลับวัด แต่ต้องไม่ล้นขอบตลับวัด a_w โดยให้ทำการลดขนาดก่อนการบรรจุ นำไปใส่ในเครื่องวัดปริมาณวอเตอร์แอคติวิตี้ (a_w)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ปล่อยให้เครื่องทำงานเป็นเวลา 30 นาที หรือจนกว่าเครื่องจะอ่านค่าได้คงที่ บันทึกค่าวอเตอร์แอคติวิตี้คงที่ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

2.3.3 การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องตีปั่นตัวอย่าง (Laboratory blender stomacher, Seward chemical : 400, England)
2. ถุงตีบด (Stomacher bag)
3. ขวดดูแรน (Duran bottle) ขนาด 100, 250, 500, 1000 มิลลิลิตรที่ทนต่อสภาวะการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที
4. ขวดแมคคานี (Maccaney)
5. หลอดทดลองชนิดฝาเกลียว ขนาด 13 x 100 มิลลิเมตร (Test tube, Pyrex)
6. หลอดทดลองชนิดฝาปิดหรือฝาเกลียวพลาสติก ขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร พร้อมหลอดดักแก๊ส (Durham tube)
7. ปิเปตต์ชนิดเกรทดูเอทเตท (Graduated pipette) ขนาด 1.0 และ 10.0 มิลลิลิตร (ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2–3 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้องก่อนนำไปใช้)
8. จานเพาะเชื้อ (Petri-dish) ขนาด 15 x 100 มิลลิเมตร (ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2–3 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำไปใช้)
9. ห่วงถ่ายเชื้อ (Loop)
10. แท่งแก้วแบบโค้งสำหรับทำสเปรดเพลท (Bent glass rod)
11. อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่าย (หยิบจับ) ตัวอย่าง เช่น มีด กรรไกร ปากคีบ (forceps) ช้อนตักสาร (spatulas) และอุปกรณ์ต่างๆ ต้องนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ก่อนใช้งาน
12. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Balance Dielhemim : HF-3000G, Switzerland)
13. เครื่องเขย่า (Vertex, Scientific Industries : G-560E, U.S.A.)
14. เครื่องนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave, Gallenkamp, England)
15. โถไร้ออกซิเจน (Anaerobic jar, Merck, Germany)
16. ตู้บ่ม (Incubator) อุณหภูมิ 25 และ 35 องศาเซลเซียส (Gallenkamp, England)
17. อ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, Gallenkamp, Egnland)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

18. เครื่องกวนผสมแบบแม่เหล็กไฟฟ้า (Hot plate and Magnetic stirrer, Whatman : HPMS, England)
19. เตาไมโครเวฟ (Microwave oven , National : NN-K652, Japan)
20. เครื่องนับจำนวนโคโลนีพื้นสีดำ (Colony counter, dark-field)

1. การตรวจนับแอโรบิกแบคทีเรีย (Enumeration of Aerobic Plate Count ; Conventional Plate Count Method) (BAM, 2001)

1.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด

1.1.1 สารละลายบัฟเฟอร์เพปโทนความเข้มข้น 0.1%

เพปโทน (peptone, AR grade, E. Merck, Germany) 1 กรัม
น้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

ละลายเพปโทนในน้ำกลั่น โดยใช้เครื่องกวนผสมแบบแม่เหล็กไฟฟ้า (Hot plate and Magnetic stirrer) จนละลายดี ปิเปตต์ใส่ในหลอดทดลองชนิดฝาเกลียว 9.3 มิลลิลิตรต่อหลอด (สำหรับใช้ในการเจือจางตัวอย่าง) หรือตวงใส่ขวดดูแรนขนาด 500 หรือ 1,000 มิลลิลิตร (สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่าง) นำไปฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

1.1.2 อาหารวุ้นแข็งเพลทเคาท์ (Plate count agar)

อาหารเพลท เคาท์ (plate count agar, E Merck; Germany) 23.5 กรัม
น้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารสำเร็จรูปเพลทเคาท์ตามปริมาตรที่จะเตรียมเติมน้ำกลั่น นำไปต้มระหว่างต้มต้องมีการคนบ่อยๆ เพื่อไม่ให้วุ้นติดก้นภาชนะ ต้มจนอาหารละลายดี แล้วแบ่งใส่ขวดดูแรน นำไปฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดัน15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที วัดค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อสุดท้าย (final pH) ที่เตรียมได้ควรเท่ากับ 7.0$\pm$0.2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2 วิธีวิเคราะห์

1.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

ใช้มีดและปากคีบที่ทำให้ปราศจากเชื้อ (โดยการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว) ตัดตัวอย่างเนื้อลำไยอบแห้งจากส่วนต่างๆ หลายๆ แห่งมาผสมรวมกัน ชั่งน้ำหนักให้ได้ 25 กรัม ใส่ในถุงตีป่นที่มีสารละลาย 0.1% บัฟเฟอร์เพปโทน 225 มิลลิลิตร ผสมอยู่ นำไปตีป่นด้วยเครื่องตีป่นอาหารเป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10 (10^{-1})

เขย่าให้อาหารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้ปิเปตต์ดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 (10^{-1}) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เพปโทน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า จะได้ตัวอย่างอาหารอาหารที่เจือจาง 1:100 (10^{-2})

ทำให้มีความเจือจาง 1:1000 (10^{-3}) และความเจือจางต่อๆ ไปด้วยวิธีเดียวกัน จนถึงความเจือจาง 1:1000000 (10^{-6})

1.2.2 การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

ใช้ปิเปตต์ขนาด 1 มิลลิลิตร ที่ผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อ ดูดสารละลายของตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางต่างๆ ลงในจานเพาะเชื้อจานละ 1 มิลลิลิตร ความเจือจางละ 2 จาน

เทอาหารเพลตเคานต์ที่กำลังหลอมเหลว (อุณหภูมิไม่ควรสูงเกิน 48 องศาเซลเซียส) ลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่างโดยใส่ลงไปในจานละประมาณ 15–20 มิลลิลิตร ให้เสร็จภายในเวลา 15 นาที เริ่มจากความเจือจางน้อยที่สุด

ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดีโดยเขย่าไปข้างหน้าและหลัง 5 ครั้ง เขย่าไปทางซ้ายและขวา 5 ครั้ง เขย่าให้หมุนตามเข็มนาฬิกา 5 ครั้ง และเขย่าให้ทวนเข็มนาฬิกา 5 ครั้ง ในขณะที่เขย่าควรระมัดระวังไม่ให้อาหารเลอะติดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางไว้จนอาหารแข็งตัว คว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อลง

ทำตัวอย่างควบคุม โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์เพปโทน 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายของตัวอย่างอาหาร รอให้อาหารแข็งตัวแล้วจึงคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2.3 การบ่มเชื้อ

บ่มจานอาหารที่เตรียมไว้เสร็จเรียบร้อยแล้วที่อุณหภูมิ 35±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยคว่ำจานเลี้ยงเชื้อลง และควรวางซ้อนกันประมาณ 5 ชั้น บรรจุในถุงพลาสติก

1.2.4 การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

หลังบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30–300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีจากทั้ง 2 จานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับว่ามีจำนวนแอโรบิกแบคทีเรีย (aerobic bacteria) ในรูป cfu/g (โคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม)

2. การตรวจนับปริมาณยีสต์และรา

(Enumeration of Yeasts and Molds ; Dilution Plating Technique) (BAM, 2001)

2.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับตรวจนับยีสต์และรา

2.1.1 เตรียมอาหารแข็งไดคลอแรนโรสเบนกอลคลอแรมฟีนีคอล

(Dichloran rose bengal chloramphenicol (DRBC) agar)

กลูโคส (glucose, E Merck; Germany)	10.0	กรัม
แบคเทอรีโอโลจิคอล เพปโทน (Bacteriological peptone)	5.0	กรัม
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4 ,E Merck; Germany)	1.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$, E Merck; Germany)	0.5	กรัม
สารละลายโรสเบกอล (Rose Begal) 5% (w/v)		
ละลายในน้ำ	0.5	มิลลิลิตร
สารละลายไดคลอแรน (2,6–dichlorom-4-nitroaniline) 0.2 %(w/v)		
ละลายในเอทานอล	1.0	มิลลิลิตร
คลอแรมฟีนิคอล (chloramphenicol)	1.0	กรัม
วุ้น (agar)	0.1	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ชั่งสารใส่น้ำกลั่น นำไปต้มจนส่วนผสมและวุ้นละลายใสเป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่ขวดดูแรนประมาณ 3/4 ของขวด นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ค่าพีเอช สุดท้าย (final pH) ควรมีค่าเท่ากับ 5.6

หมายเหตุ : กำหนดให้อุณหภูมิของอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ใช้เก็บอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนเทและอุณหภูมิของอาหารขณะเทลงจานอาหารอยู่ที่อุณหภูมิ 45$\pm$1 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2 วิธีวิเคราะห์

2.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

ใช้มีดและปากคีบที่ทำให้ปราศจากเชื้อ (โดยการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว) ตัดตัวอย่างเนื้อลำไยอบแห้งจากส่วนต่างๆ หลายๆ แห่งมาผสมรวมกัน ชั่งน้ำหนักให้ได้ 25 กรัม ใส่ในถุงตีป่นที่มีสารละลาย 0.1% บัฟเฟอร์เพปโทน 225 มิลลิลิตร ผสมอยู่ นำไปตีป่นด้วยเครื่องตีป่นอาหารเป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10 (10^{-1})

เขย่าให้อาหารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้ปิเปตต์ดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 (10^{-1}) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เพปโทน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า จะได้ตัวอย่างอาหารอาหารที่เจือจาง 1:100 (10^{-2})

ทำให้มีความเจือจาง 1:1000 (10^{-3}) และความเจือจางต่อๆ ไปด้วยวิธีเดียวกัน จนถึงความเจือจาง 1:1000000 (10^{-6})

2.2.2 การทำสเปรดเพลท (spred plate method) **สำหรับตรวจนับเชื้อยีสต์และรา ด้วยอาหารแข็ง** DRBC

เทอาหารเลี้ยงเชื้อ DRBC ลงในจานเพาะเชื้อ ประมาณ 15–20 มิลลิลิตร ปล่อยไว้ให้อาหารวุ้นแข็งตัว ให้ทำกลุ่มละ 3 จาน อบผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อให้แห้งในตู้บ่มอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ปิเปตต์สารละลายอาหารที่มีความเจือจางต่างๆ จำนวน 0.1 มิลลิลิตร ลงตรงกลางของผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ DRBC ความเจือจางละ 2 จาน

ใช้แท่งแก้วแบบโค้ง (bent glass rod) ที่ฆ่าเชื้อโดยการฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์และลนไฟแล้วเกลี่ยเชื้อให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ระวังอย่าให้โดนขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

วางหงายจานเพาะเชื้อไว้นานประมาณ 15 นาที เพื่อให้สารละลายอาหารซึมเข้าไปในวุ้นแล้วจึงคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.2.3 การบ่มเชื้อ

บ่มจานอาหารที่เตรียมไว้เสร็จเรียบร้อยแล้วที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน โดยคว่ำจานเลี้ยงเชื้อลง และควรวางซ้อนกันประมาณ 3 ชั้น บรรจุในถุงพลาสติก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.4 **การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล**

หลังบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30–300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีจากทั้ง 2 จานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับว่ามีจำนวนเชื้อยีสต์และราในรูป cfu/g

3. การตรวจหาปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด (Total Coliform bacteria) (BAM,2002)

3.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับตรวจหาปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด

3.1.1 **อาหารเหลวลอริล ซัลเฟต** (Lauryl Sulfate Broth)

อาหารลอริล ซัลเฟต (Lauryl Sulfate Broth)	35.6	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ชั่งสารมาผสมน้ำกลั่นคนให้ละลาย แบ่งใส่หลอด และใส่หลอดดักแก๊สลงไป ปิดฝา นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที (ควรมีค่าพีเอช สุดท้าย 6.8±0.2)

3.1.2 **อาหารเหลวบริลเลียนต์กรีนแล็กโทสไบล์บรอท**
(Brilliant Green Lactose Bile Broth)

อาหารบริลเลียนต์กรีนแล็กโทสไบล์ (BGLBB, E Merck; Germany)	40.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ชั่งสารมาผสมน้ำกลั่นคนให้ละลาย แบ่งใส่หลอด และใส่หลอดดักแก๊สลงไป ปิดฝา นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที (ควรมีค่าพีเอช สุดท้าย 7.2±0.1)

3.2 วิธีวิเคราะห์

3.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

ใช้มีดและปากคีบที่ทำให้ปราศจากเชื้อ(โดยการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว) ตัดตัวอย่างเนื้อลำไยอบแห้งจากส่วนต่างๆ หลายๆ แห่งมาผสมรวมกัน ชั่งน้ำหนักให้ได้ 25 กรัม ใส่ในถุงตีป่นที่มีสารละลาย 0.1%บัฟเฟอร์เพปโทน 225 มิลลิลิตร ผสมอยู่ นำไปตีป่นด้วยเครื่องตีป่นอาหาร เป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10 (10^{-1})

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เขย่าให้อาหารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้ปิเปตต์ดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 (10^{-1}) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เพปโทน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า จะได้ตัวอย่างอาหารอาหารที่เจือจาง 1:100 (10^{-2})

ทำให้มีความเจือจาง จนถึงความเจือจาง 1:1000 (10^{-3})

3.2.2 การทดสอบหาโคลิฟอร์มแบคทีเรียขั้นแรก (Presumptive test for coliform bacteria)

ปิเปตต์สารละลายของตัวอย่างอาหารแต่ละความเจือจางใส่ในหลอดอาหารเหลวลอริลซัลเฟต ทริปโทส ระดับความเจือจางละ 3 หลอดๆ ละ 1 มิลลิลิตร (9 หลอดต่อหนึ่งตัวอย่าง / ไม่ควรใช้เวลาเกิน 15 นาที ในการทำแต่ละตัวอย่าง)

นำหลอดอาหารทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง โดยสังเกตการเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊สในหลอดอาหารแต่ละหลอด หลังจากบ่มครบ 24 ชั่วโมง และหากหลอดใดไม่เกิดแก๊สให้บ่มต่ออีก 24 ชั่วโมง จึงนำมาตรวจผลอีกครั้ง

บันทึกจำนวนหลอดที่เกิดแก๊สในแต่ละความเจือจาง นำไปเปรียบเทียบกับตาราง MPN รายงานผลเป็น MPN ของโคลิฟอร์ม (ขั้นแรก) ต่อกรัมของตัวอย่างอาหาร

3.2.3 การทดสอบยืนยันโคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Confirm test for coliform bacteria)

ถ่ายเชื้อจากหลอดที่เกิดแก๊สในข้อ 2 (Presumptive test) แต่ละหลอดลงในอาหารเหลวบริลเลียนกรีน แลกโทส ไบล์ บรอท หลอดต่อหลอด จำนวน 1 ลูป (loopfull)

นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48$\pm$2 ชั่วโมง โดยสังเกตการเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊สในหลอดอาหารแต่ละหลอด หลังจากบ่มครบ 48 ชั่วโมง

บันทึกจำนวนหลอดที่เกิดแก๊สในแต่ละความเจือจาง นำไปเทียบกับตาราง MPN รายงานผลเป็น MPN ของโคลิฟอร์ม (ขั้นยืนยัน) ต่อกรัมของตัวอย่างอาหาร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3 การคำนวณจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

หลังจากที่ทราบจำนวนหลอดที่เกิดแก๊ส (positive) ในแต่ละความเจือจางแล้ว นำไปเทียบกับตาราง MPN รายงานผลเป็น MPN ของโคลิฟอร์ม (ขั้นแรก) ต่อกรัมของตัวอย่างอาหาร

ตัวอย่าง : ถ้าจำนวนหลอดที่เกิดแก๊สที่ความเจือจาง 10^{-1} (0.1), 10^{-2} (0.01) และ 10^{-3} (0.001) เท่ากับ 3 , 2 และ 1 หลอด ตามลำดับ จากการเปิดตาราง MPN ได้ค่า MPN ต่อกรัม = 150 ให้รายงานผลการตรวจนับว่ามีค่า MPN = 150 Total coliform / g

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved