ภาคผนวก ก

การเตรียมสารละลายและอาหารเลี้ยงเชื้อ

การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง

1. การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ (buffer solution)

1.1. สารละลาย 34.0 กรัม ของ potassium hydrophosphate ในน้ำกลั่น (distriled water) 500 มิลลิลิตร ปรับpH ให้ได้ 7.2$\pm$0.5 ด้วยการใช้ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น1 นอร์มัล (1 N NaOH) เติมน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

1.2. นำสารละลายจากข้อ1มาปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร เติมสารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต 5.00 มิลลิลิตร (50gm $MgCl_2 6H_2O$ ต่อน้ำ 1 ลิตร) แล้วเติมน้ำกลั่นจนให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

1.3. ตวงใส่หลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตรโดยใช้ dispenser ขนาด 10 มิลลิลิตร ปิดฝาด้วยที่ปิดฝาจุกหลอดทดลอง นำไปนึ่งในหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

1. การเตรียม plate count agar

ชั่ง plate count agar น้ำหนัก 22.5 กรัม หลอมละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ต้มบน hot plate with magnetic stirrer ให้ละลายเป็นวุ้นใสแล้วเทใส่ขวด ขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดฝาเกลียวนำไปนึ่งในหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที วางให้คลายความร้อนแล้วนำไปควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 44-46 องศาเซลเซียส ในเครื่องอังน้ำ(water bath)

2. การเตรียม lauryl tryptose Broth

ชั่ง lauryl 35.5 g ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร บน magnetic stirrer ละลายให้เป็นเนื้อเดียวบรรจุสารละลายลงในหลอดทดลองจำนวน 10 มิลลิลิตร พร้อมใส่หลอดดักก๊าซคว่ำลง ปิดฝาหลอดทดลอง นำไปนึ่งในหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว และไม่ควรปล่อยให้อาหารเย็นอยู่ในหม้อนึ่งอัดไอน้ำ เพราะทำให้อาหารเสื่อมสลายตัวไป

3. การเตรียม Brilliant Green Lactose Broth 2 % (BGLB)

ชั่ง(BGLB) 40 กรัมละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร บน magnetic stirrer ละลายให้เป็นเนื้อเดียว บรรจุสารละลายลงในหลอดทดลองจำนวน 10 มิลลิลิตรต่อหลอดทดลองพร้อมใส่หลอดดักก๊าซคว่ำลง ปิดฝาหลอดทดลองนำไปนึ่งในหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่ อุณหภูมิ 121องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วนาน 15 นาที และไม่ควรปล่อยให้อาหารเย็น อยู่ในหม้อนึ่งอัดไอน้ำ เพราะทำให้อาหารเสื่อมสลายตัวไป

4. การเตรียม EC Medium

ชั่ง EC Medium 37 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร บน magnetic stirrer ละลายให้เป็นเนื้อเดียว บรรจุสารละลายลงในหลอดทดลองจำนวน 10 มิลลิลิตรต่อหลอดทดลองพร้อมใส่หลอดดักก๊าซคว่ำลง ปิดฝาหลอดทดลอง นำไปนึ่งในหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่อุณหภูมิ 121องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที และไม่ควรปล่อยให้อาหารเย็นอยู่ในหม้อนึ่งอัดไอน้ำเพราะทำให้อาหารเสื่อมสลายตัวไป

ภาคผนวก ข

การตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

1. การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total bacteria count)

1.1 เตรียมจานเลี้ยงเชื้อ (petri dish) โดยทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการอบในตู้อบความร้อนท อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง

1.2 การเตรียม Plate Count Agar ชั่ง Plate Count Agar น้ำหนัก 22.5 กรัม หลอมละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตรต้มบน hot plate ให้ละลายเป็นวุ้นใสแล้วเทใสขวด ขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดฝาเกลียวนำไปนึ่งในหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15ปอนด์ต่อตารางนิ้วนาน 15 นาที วางให้คลายความร้อน แล้วนำไปควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 44-46 องศาเซลเซียส ในเครื่องอังน้ำ (water bath)

1.3 เจือจางตัวอย่าง โดยการเขย่าขวดอาหารทางสายยางประมาณ 25 ครั้ง ด้วยมือหรือเครื่องเขย่าอาหารอัตโนมัติ (automatic shaking machine) แล้วใช้ไมโครปิเปตดูดตัวอย่างอาหารในขวด 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าอาหารอัตโนมัติ ตัวอย่างจะถูกเจือจางเป็น 10^{-1} เท่า

1.4 ใช้ไมโครปิเปตอันใหม่ดูดตัวอย่างที่ถูกเจือจางเป็น10^{-1} เท่า จากข้อ1.3 มาปริมาณ 1มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันจะได้ความเจือจางเป็น 10^{-2} เท่า

1.5 เขียนสัญลักษณ์ 10^{0} ,10^{-1} ,10^{-2} ที่ระดับความเจือจางละ 2 จาน

1.6 เขย่าหลอดตัวอย่างที่ถูกเจือจางที่ระดับ10^{-2} เขย่าด้วยเครื่องเขย่าอาหารอัตโนมัติ แล้วใช้ไมโครปิเปต อันใหม่ดูดตัวอย่างอาหารใส่ในจานเลี้ยงเชื้อ (petri dish) ที่เขียนฉลาก 10^{-2} จานละ 1 มิลลิลิตร 2 จาน

1.7 เท melted plate count agar ลงในจานเลี้ยงเชื้อ แล้วหมุนจานไปในทิศทางที่เป็นรูปเครื่องหมายเลขแปด เพื่อให้ตัวอย่างอาหารกระจายไปทั่วจานเลี้ยงเชื้อ

1.8 ทำซ้ำตามข้อ1.6 และ1.7 จนถึงระดับความเจือจาง 10^{0} ปล่อยให้อาหารแห้งแล้วคว่ำจานนำเข้าตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ (air incubator) ที่อุณหภูมิ 35$\pm$ 0.5 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

1.9 หลังจากครบกำหนด นำจานเลี้ยงเชื้อดังกล่าว มานับจำนวนโคโลนี(colony count) แล้วคำนวณหาจำนวนแบคทีเรียต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร โดยมีหน่วยเป็น CFU/ml

2. โคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด (total coliform bacteria)

การวิเคราะห์มีขั้นตอนปฏิบัติดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบขั้นแรก (presumptive test)

2.1.1 เตรียมหลอดทดลอง (test tube) พร้อมหลอดดักก๊าซ (durham tube) ซึ่งวางลักษณะคว่ำในหลอดทดลอง วางหลอดในที่วางหลอดทดลอง (rack) 3 แถว แถวละ 3 หลอด

2.1.2 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Tryptose Broth ตามสูตร ชั่ง Lauryl Tryptose Broth น้ำหนัก 35.5 กรัมละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตรบน magnetic stirrer ละลายให้เป็น เนื้อเดียว บรรจุสารละลายลงในหลอดทดลองจำนวน 10 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดทดลองนำไปนึ่งในหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2.1.3 เขียนสัญลักษณ์ และปริมาตรของตัวอย่างบนหลอดทดลอง

2.1.4 เขย่าขวดบรรจุตัวอย่างอาหาร ด้วยเครื่องเขย่าอาหารอัตโนมัติให้เข้ากัน

2.1.5 ดูดตัวอย่างอาหารโดยใช้ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ด้วยวิธีการปราศจากเชื้อ (aseptic technique) ใส่ในใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุ buffer solution หลอดละ 9 มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่ 1และดูดจากหลอดที่ 1 ใส่ในหลอดที่ 2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น 10^{0} ,10^{-1} ,10^{-2} ตามลำดับ

2.1.6 ดูดตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อแถว 1, 2 และ 3 ตามลำดับ

2.1.7 เขย่าหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่ตัวอย่างอาหารเสร็จแล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าอาหารอัตโนมัติ เพื่อให้ส่วนผสมต่างๆเข้ากันดี

2.1.8 นำหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวไปบ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อ (incubator) ควบคุมอุณหภูมิที่ 35 $\pm$ 0.5 องศาเซลเซียส

2.1.9 อ่านผลการทดลองเมื่อบ่มเชื้อครบ 24 ชั่วโมง ก่อนการอ่านผลต้องเขย่าหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ เสียก่อน ตรวจดูความขุ่น และก๊าซในหลอดดักก๊าซที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอด ถ้าหลอดใดมีก๊าซเกิดขึ้น ไม่ว่าจะเกิดขึ้นมากหรือน้อยเท่าไร แสดงว่าผลการทดสอบขั้นแรกให้ผลเป็นบวก บันทึกผล และนำไปทำการตรวจสอบในขั้นยืนยันผลทุกหลอด ส่วนหลอดที่ไม่มีก๊าซให้บ่มเชื้อต่อไปอีก 24 ชั่วโมง แล้วนำมาอ่านผลถ้ามีก๊าซให้ทำการตรวจสอบขั้นยืนยันต่อไป ถ้าไม่มีก๊าซแสดงว่าการตรวจสอบขั้นแรกให้ผลเป็นลบ บันทึกผล

2.2 การตรวจสอบขั้นยืนยัน (comfirmed test)

2.2.1 นำหลอดทดลองที่ให้ผลบวก ในการตรวจสอบขั้นแรกทุกหลอดมาทำการทดลองในขั้นยืนยันต่อไป

2.2.2 เตรียมหลอดทดลองพร้อมหลอดดักก๊าซเพื่อบรรจุอาหารเหลว Brilliant Green Lactose Broth 2% (BGLB) ตามสูตร แล้วบรรจุหลอดละ 10 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดทดลองนำไปนึ่งในหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วนาน15 นาที

2.2.3 เขียนสัญลักษณ์และความเข้มข้นของตัวอย่างอาหารบนหลอดทดลองที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวให้ได้จำนวนเท่ากับ Lauryl Tryptose Broth ที่ให้ผลบวก

2.2.4 เลือกหลอดที่เกิดก๊าซจากการตรวจสอบขั้นแรก เขย่าเบาๆ แล้วใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ (wire loop) ซึ่งลนไฟฆ่าเชื้อจนแดง ทิ้งไว้ให้เย็นสักครู่ ถ่ายเชื้อจากหลอดที่ให้ผลบวกของ Lauryl Tryptose Broth ลงใน BGLB หลอดต่อหลอด และต้อง sterile loop ทุกครั้งที่ใช้

2.2.5 เขย่าหลอด BGLB ที่ถ่ายเชื้อลงไปให้ส่วนผสมเข้ากันดี นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 35$\pm$ 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

2.2.6 อ่านผลการทดลองหลังครบ 24 ชั่วโมงแรก นำมาตรวจดูก๊าซในหลอดดักก๊าซ ถ้ายังไม่มีให้บ่มต่อไปอีก 24 ชั่วโมง และนำมาอ่านผลใหม่ถ้าเกิดก๊าซจะให้ผลบวก บันทึกผลการทดลอง

2.2.7 นำผลของหลอดที่ให้ผลบวกและผลลบในแต่ละความเจือจาง ไปคำนวณหาค่าโคลิฟอร์มแบคทีเรีย จากตาราง MPN (Most Probable Number Index) ส่วนในกรณีที่ไม่สามารถอ่านได้ให้ใช้วิธี คำนวณ จากสูตร Thomas simple formula

3. ฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย (fecal coliform bacteria) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค multiple tube fermentation มีขั้นตอนในการปฏิบัติดังต่อไปนี้

3.1 การตรวจสอบขั้นแรก ใช้เทคนิคเดียวกับการวิเคราะห์หาโคลิฟอร์มทุกประการ

3.2 การตรวจสอบขั้นยืนยันใช้อาหารเหลว EC medium แทนBGLB ดังแสดงในวิธีการเตรียม EC medium ในภาคผนวก ก.

ภาคผนวก ค

ตารางผนวก 1 ผลการวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมด(total bacteria count)ในอาหารทางสายให้อาหารเปรียบเทียบก่อนและหลังการพาสเจอไรส์ ทั้ง 2 แบบ คือก่อนการบรรจุและหลังการบรรจุ ข้อมูลชุดที่ 1

แบบการพาสเจอไรส์	บรรจุภัณฑ์	การทดลองครั้งที่	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/ml)	
			ก่อนพาสเจอไรส์	หลังพาสเจอไรส์
1. ก่อนการบรรจุ	ขวดแก้ว	1	6.0 x10^2	5.0
		2	1.3x10^2	1.8x10
		3	8.8 x10^2	1.5x10
		4	9.8 x10^2	1.3x10
		geometric mean	5.1 x10^2	1.2 x10
	ขวดพลาสติกฝาเกลียว	1	6.0 x10^2	1.0x10
		2	1.3x10^2	1.4x10
		3	8.8 x10^2	1.5x10
		4	9.8 x10^2	1.3x10
		geometric mean	5.1 x10^2	1.3x10
	ขวดพลาสติกฝาจุกยาง	1	6.0 x10^2	5.0
		2	1.3x10^2	1.9x10
		3	8.8 x10^2	1.5x10
		4	9.8 x10^2	1.3x10
		geometric mean	5.1 x10^2	1.2x10
2. หลังการบรรจุ	ขวดแก้ว	1	5.8x10^2	1.0
		2	2.3x10^2	4.0
		3	8.5x10^2	1.0x10
		4	9.9x0^2	8.0
		geometric mean	5.8 x10^2	4.2
	ขวดพลาสติกฝาเกลียว	1	5.3x10^2	5.0
		2	3.8 x10^2	1.3x10
		3	8.5x10^2	1.6x10
		4	7.8x10^2	6.0
		geometric mean	6.0 x10^2	8.8
	ขวดพลาสติกฝาจุกยาง	1	5.0x10^2	5.0
		2	2.4x10^2	4.0
		3	8.3x10^2	5.0
		4	8.0x10^2	1.0x10
		geometric mean	5.3 x10^2	5.6

ตารางผนวก 2 ผลการวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมด (total bacteria count) ในอาหารทางสายให้อาหารเปรียบเทียบก่อนและหลังการพาสเจอไรส์ ทั้ง 2 แบบคือก่อนการบรรจุและหลังการบรรจุ ข้อมูลชุดที่ 2

แบบการพาสเจอไรส์	บรรจุภัณฑ์	การทดลองครั้งที่	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด(CFU/ml)	
			ก่อนพาสเจอไรส์	หลังพาสเจอไรส์
1. ก่อนการบรรจุ	ขวดแก้ว	1	6.0 x10^2	5.0
		2	1.3x10^2	1.8x10
		3	8.8 x10^2	1.5x10
		4	9.8 x10^2	1.3x10
		geometric mean	5.1 x10^2	1.2 x10
	ขวดพลาสติกฝาเกลียว	1	6.0 x10^2	5.0
		2	1.3x10^2	2.0x10
		3	8.8 x10^2	1.5x10
		4	9.8 x10^2	1.3x10
		geometric mean	5.1 x10^2	1.2 x10
	ขวดพลาสติกฝาจุกยาง	1	6.0 x10^2	5.0
		2	1.3x10^2	1.9x10
		3	8.8 x10^2	1.5x10
		4	9.8 x10^2	1.3x10
		geometric mean	5.1 x10^2	1.2 x10
2. หลังการบรรจุ	ขวดแก้ว	1	1.8x10^2	1.0
		2	2.3x10^2	4.0
		3	4.0x10^2	1.0x10
		4	1.5x10^2	8.0
		geometric mean	2.2 x10^2	4.2
	ขวดพลาสติกฝาเกลียว	1	2.3x10^2	5.0
		2	3.8x10^2	1.3x10
		3	5.0x10^2	1.6x10
		4	2.1x10^2	6.0
		geometric mean	3.1 x10^2	8.8
	ขวดพลาสติกฝาจุกยาง	1	3.4x10^2	5.0
		2	2.4x10^2	4.0
		3	8.3x10^2	5.0
		4	3.75x10^2	1.0x10
		geometric mean	4.0 x10^2	5.6

ตารางผนวก 3 ค่าเฉลี่ย(geometric mean)ผลการวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมด (total bacteria count) ในอาหารทางสายให้อาหารเปรียบเทียบก่อนและหลังการพาสเจอไรส์ทั้ง 2 แบบคือก่อนการบรรจุและหลังการบรรจุของข้อมูลชุดที่ 1 และ2

แบบการพาสเจอไรส์	บรรจุภัณฑ์	geometric mean ของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/ml)	
		ก่อนพาสเจอไรส์	หลังพาสเจอไรส์
1. ก่อนการบรรจุ	ขวดแก้ว	5.1 x10^2	1.15 x10
	ขวดพลาสติกฝาเกลียว	5.1 x10^2	1.23x10
	ขวดพลาสติกฝาจุกยาง	5.1 x10^2	1.16x10
2. หลังการบรรจุ	ขวดแก้ว	3.6 x10^2	4.23
	ขวดพลาสติกฝาเกลียว	4.3 x10^2	8.89
	ขวดพลาสติกฝาจุกยาง	4.6 x10^2	5.62

ตารางผนวก 4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total bacteria count)ในอาหารทางสายให้อาหารก่อนและ หลังการพาสเจอไรส์ ทั้ง 2 แบบ และเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสนาน 5 วัน

แบบการพาสเจอไรส์	บรรจุภัณฑ์	การทดลองครั้งที่	ปริมาณ จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/ml) การเก็บหลังการพาสเจอไรส์ ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส					
			วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5
1. ก่อนการบรรจุ	ขวดแก้ว	1	5.0	1.5x10	1.8x10	1.5x10	1.6x10	1.5x10
		2	1.8x10	1.6x10	3.7x10	3.2x10	4.1x10	3.6x10
		3	1.5x10	7.0	1.4x10	1.7x10	2.9x10	3.4x10
		4	1.3x10	1.5x10	2.8x10	3.3x10	4.2x10	2.7x10
		geometric mean	1.2x10	1.3x10	2.3x10	2.2x10	3.0x10	2.7x10
	ขวดพลาสติกฝาเกลียว	1	1.0x10	1.0x10	1.0x10	1.1x10	1.9x10	1.4x10
		2	1.4x10	1.6x10	3.1x10	3.1x10	3.0x10	2.8x10
		3	1.5x10	1.0x10	1.5x10	2.4x10	3.2x10	2.6x10
		4	1.3x10	2.6x10	1.5x10	2.9x10	2.7x10	2.6x10
		geometric mean	1.3x10	1.4x10	1.6x10	2.2x10	2.6x10	2.3x10
	ขวดพลาสติกฝาจุกยาง	1	5.0	8.0	1.5x10	1.1x10	3.1x10	3.2x10
		2	1.9x10	1.4x10	2.3x10	6.7x10	2.0x10	2.8x10
		3	1.5x10	1.0x10	1.1x10	4.0x10	2.9x10	6.4x10
		4	1.3x10	1.3x10	1.6x10	5.6x10	1.5x10	3.5x10
		geometric mean	1.2x10	1.1x10	1.6x10	3.6x10	2.3x10	3.8x10
2.หลังการบรรจุ	ขวดแก้ว	1	1.0	3.0	5.0	2.0	5.0	5.0
		2	4.0	4.0	1.9x10	2.5x10	3.0x10	3.0x10
		3	1.0x10	1.0x10	2.0x10	2.0x10	2.9x10	3.0x10
		4	8.0	1.3x10	1.3x10	1.5x10	1.9x10	2.8x10
		geometric mean	4.3	6.3	1.3x10	1.1x10	1.7x10	1.9x10
	ขวดพลาสติกฝาเกลียว	1	5.0	8.0	7.0	9.0	4.0	1.7x10
		2	1.3x10	1.5x10	2.8x10	3.0x10	3.2x10	3.0x10
		3	1.6x10	1.5x10	1.8x10	1.1x10	2.7x10	2.4x10
		4	6.0	9.0	1.3x10	1.4x10	3.2x10	3.8x10
		geometric mean	8.9	1.1x10	1.5x10	1.4x10	1.8x10	2.6x10
	ขวดพลาสติกฝาจุกยาง	1	5.0	6.0	6.0	1.6x10	2.4x10	4.5x10
		2	4.0	1.5x10	2.7x10	3.5x10	3.6x10	3.8x10
		3	5.0	7.0	1.4x10	3.0x10	4.1x10	4.7x10
		4	1.0x10	2.0x10	1.8x10	2.0x10	2.9x10	3.1x10
		geometric mean	5.6	1.1x10	1.4x10	2.4x10	3.2x10	4.0x10

ตารางผนวก 5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total bacteria count)ในอาหารทางสายให้อาหารก่อนและ หลังการพาสเจอไรส์ ทั้ง 2 วิธีและเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียสนาน 5 วัน

แบบการพาสเจอไรส์	บรรจุภัณฑ์	การทดลองครั้งที่	ปริมาณ total bacteria count (CFU/ml) การเก็บหลังการพาสเจอไรส์ ที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส					
			วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5
1. ก่อนการบรรจุ	ขวดแก้ว	1	5.0	2.3x10	4.0x10	$1.4x10^2$	$1.6x10^2$	$2.2x10^3$
		2	1.8x10	2.3x10	8.3x10	$5.3x10^2$	$2.4x10^2$	$1.8x10^3$
		3	1.5x10	1.5x10	2.8x10	$1.3x10^2$	$5.5x10^2$	$1.1x10^3$
		4	1.3x10	2.8x10	3.9x10	$2.2x10^2$	$6.7x10^2$	$2.0x10^3$
		geometric mean	1.2x10	2.2x10	4.4x10	$2.1x10^2$	$3.4x10^2$	$1.7x10^3$
	ขวดพลาสติกฝาเกลียว	1	5.0	3.3x10	2.1x10	$2.6x10^2$	$2.5x10^2$	$1.5x10^4$
		2	2.0x10	3.3x10	4x10	$5.1x10^2$	$5.6x10^2$	$7.6x10^3$
		3	1.5x10	3.5x10	3.3x10	$2.4x10^2$	$5.1x10^2$	$1.2x10^4$
		4	1.3x10	4.4x10	2.9x10	$9.2x10^2$	$9.7x10^2$	$2.7x10^3$
		geometric mean	1.2x10	3.6x10	3.0x10	$4.1x10^2$	$5.1x10^2$	$7.8x10^3$
	ขวดพลาสติกฝาจุกยาง	1	5.0	1.3x10	5.9x10	$2.5x10^2$	$2.7x10^2$	$1.3x10^4$
		2	1.9x10	1.8x10	3.2x10	$2.0x10^2$	$7.7x10^2$	$5.7x10^3$
		3	1.5x10	1.8x10	2.8x10	$2.3x10^2$	$8.5x10^2$	$1.3x10^4$
		4	1.3x10	3.2x10	2.6x10	$2.7x10^2$	$4.1x10^2$	$9.3x10^3$
		geometric mean	1.2x10	1.9x10	3.4x10	$2.4x10^2$	$5.2x10^2$	$9.7x10^3$
2.หลังการบรรจุ	ขวดแก้ว	1	1.0	1.5x10	6.6x10	$1.0x10^2$	$4.5x10^2$	$2.0x10^3$
		2	4.0	1.5x10	5.3x10	$3.9x10^2$	$4.9x10^2$	$7.3x10^3$
		3	1.0x10	1.1x10	2.8x10	$4.0x10^2$	$3.9x10^2$	$2.51x10^3$
		4	8.0	2.2x10	2.0x10	$1.7x10^2$	$4.4x10^2$	$1.92x10^3$
		geometric mean	4.2	1.5 x10	3.7x10	$2.3x10^2$	$4.4x10^2$	$2.9x10^3$
	ขวดพลาสติกฝาเกลียว	1	5.0	3.8x10	6.3x10	$3.0x10^2$	$1.2x10^3$	$1.55x10^4$
		2	1.3x10	3.8x10	9.5x10	$5.1x10^2$	$2.5x10^3$	$1.68x10^4$
		3	1.6x10	2.0x10	3.7x10	$4.6x10^2$	$1.6x10^3$	$2.4x10^3$
		4	1.6x10	3.8x10	3.3x10	$5.9x10^2$	$3.2x10^3$	$1.3x10^4$
		geometric mean	1.1x10	3.2x10	5.2x10	$4.5x10^2$	$2.0x10^3$	$9.5x10^3$
	ขวดพลาสติกฝาจุกยาง	1	5.0	1.8x10	1.7x10	$4.2x10^2$	$2x10^3$	$1.6x10^4$
		2	4.0	2.3x10	5.8x10	$9.9x10^2$	$1.5x10^3$	$1.0x10^4$
		3	5.0	1.4x10	3.6x10	$6.8x10^2$	$2.6x10^3$	$5.0x10^3$
		4	1.0x10	3.6x10	3.4x10	$1.4x10^3$	$1.4x10^3$	$4.0x10^3$
		geometric mean	5.6	2.1x10	3.3x10	$7.9x10^2$	$1.8x10^3$	$7.5x10^3$

ตารางผนวก 6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total bacteria count) ในอาหารทางสายให้อาหารที่ไม่ได้พาสเจอร์ไรส์ ในขวดพลาสติกฝาเกลียว เก็บที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสและ 12 องศาเซลเซียสเป็น เวลา 5 วัน

อุณหภูมิที่เก็บรักษาอาหาร (องศาเซลเซียส)	การทดลองครั้งที่	ปริมาณ total bacteria count (CFU/ml)					
		วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่3	วันที่ 4	วันที่ 5
5	1	2.3×10^2	9.6×10^2	1.9×10^3	9.0×10^3	1.7×10^4	2.0×10^4
	2	3.8×10^2	7.1×10^2	1.8×10^3	1.0×10^3	6.6×10^3	1.0×10^4
	3	5.0×10^2	3.2×10^3	9.7×10^4	1.2×10^5	$>1.0 \times 10^5$	$>1.0 \times 10^5$
	4	2.1×10^2	3.5×10^3	2.4×10^3	8.0×10^4	1.0×10^5	$>1.0 \times 10^5$
	Geometric mean	3.1×10^2	1.7×10^3	5.3×10^3	1.7×10^4	3.3×10^5	3.8×10^5
12	1	2.3×10^2	2.9×10^3	1.6×10^4	$> \times 10^5$	$>1.0 \times 10^5$	$>1.0 \times 10^5$
	2	3.8×10^2	1.0×10^3	1.7×10^3	1.9×10^4	$>1.0 \times 10^5$	$>1.0 \times 10^5$
	3	5.0×10^2	$>1.0 \times 10^5$	$>1.0 \times 10^5$	$>1.0 \times 10^5$	$>1.0 \times 10^5$	$>1.0 \times 10^5$
	4	2.1×10^2	8.1×10^4	8.6×10^4	$>1.0 \times 10^5$	$>1.0 \times 10^5$	$>1.0\ 10^5$
	Geometric mean	3.1×10^2	1.2×10^4	2.2×10^4	5.9×10^4	$>1 \times 10^5$	$>1 \times 10^5$

ตารางผนวก 7 เวลาที่น้ำกลั่น อาหารทางสายให้อาหารก่อนและหลังการพาสเจอไรส์ ไหลผ่าน nasogastric tube Fr.16

การทดลองครั้งที่	น้ำกลั่น	เวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการไหล (วินาที) อาหารก่อนพาสเจอไรส์	อาหารหลังพาสเจอไรส์			
			แบบก่อนบรรจุ (ในหม้อ)	แบบหลังบรรจุในขวดแก้ว	แบบหลังบรรจุในขวดพลาสติกฝาเกลียว	แบบหลังบรรจุในขวดพลาสติกฝาจุกยาง
1	11.24	14.80	17.20	18.20	17.50	16.30
2	11.08	13.48	15.92	14.97	13.47	15.24
3	10.82	14.17	14.88	16.30	14.61	15.76
4	10.62	16.71	21.19	17.97	19.70	16.87
ค่าเฉลี่ย	10.94	14.79	17.30	16.86	16.32	16.04

ตารางผนวก 8 น้ำหนักของน้ำกลั่น อาหารทางสายให้อาหารก่อนพาสเจอไรส์และหลังการพาสเจอไรส์

การทดลองครั้งที่	น้ำกลั่น	น้ำหนัก (กรัม) อาหารก่อนพาสเจอไรส์	อาหารหลังการพาสเจอไรส์			
			แบบก่อนบรรจุ (ในหม้อ)	แบบหลังบรรจุในขวดแก้ว	แบบหลังบรรจุในขวดพลาสติกฝาเกลียว	แบบหลังบรรจุในขวดพลาสติกฝาจุกยาง
1	99.64	104.94	106.18	105.32	105.13	104.91
2	99.69	104.35	105.57	106.00	105.73	105.95
3	99.75	104.94	105.04	105.32	106.13	104.91
4	99.80	105.50	106.67	107.01	106.53	105.88
ค่าเฉลี่ย	99.72	104.93	105.87	105.91	105.90	105.41

ตารางผนวก 9 ความหนาแน่นของน้ำกลั่นและอาหารทางสายให้อาหารก่อนพาสเจอไรส์และหลังการพาสเจอไรส์

การทดลองครั้งที่	ความหนาแน่น (กรัม / มิลลิลิตร)					
	น้ำกลั่น	อาหารก่อนพาสเจอไรส์	อาหารหลังพาสเจอไรส์ใน			
			แบบก่อนบรรจุ (ในหม้อ)	แบบหลังบรรจุในขวดแก้ว	แบบหลังบรรจุในขวดพลาสติกฝาเกลียว	แบบหลังบรรจุในขวดพลาสติกฝาจุกยาง
1	0.996	1.05	1.06	1.05	10.5	1.05
2	0.997	1.04	1.06	1.06	1.06	1.06
3	0.998	1.05	1.06	1.05	1.06	1.06
4	0.998	1.06	1.07	1.07	1.07	1.06
ค่าเฉลี่ย	0.997	1.05	1.06	1.06	1.06	1.05

ตารางผนวก 10 ผลการตรวจสอบคุณภาพอาหารทางกายภาพ ความหนืดสัมพัทธ์ (Relative Viscosity) ก่อนและหลังการพาสเจอไรส์ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส

การทดลองครั้งที่	ความหนืดสัมพัทธ์ของอาหารทางสายให้อาหาร				
	ก่อนการพาสเจอไรส์	หลังการพาสเจอไรส์แบบ			
		ก่อนการบรรจุ (ในหม้อ)	หลังการบรรจุในขวดแก้ว	ขวดพลาสติกฝาเกลียว	ขวดพลาสติกฝาจุกยาง
1	1.38	1.62	1.70	1.63	1.52
2	1.27	1.52	1.43	1.29	1.46
3	1.38	1.46	1.38	1.63	1.54
4	1.67	2.13	1.81	1.98	1.68
ค่าเฉลี่ย	1.43	1.69	1.58	1.63	1.55

ตารางผนวก 11 ค่าไฟฟ้าและเวลาที่ใช้ในการทดลองพาสเจอไรส์อาหาร

วิธีการพาสเจอไรส์	เวลาในการพาสเจอไรส์ (นาที)	เวลาในการทำให้อาหารในภาชนะมีอุณหภูมิเท่ากับ 65 องศาเซลเซียส (นาที)	จำนวนวัตต์ที่ใช้	ค่าไฟฟ้า (บาท)
แบบก่อนการบรรจุ (ในหม้อ)	30	7	2,800	5.18
แบบหลังการบรรจุขวดแก้ว	30	6	2,800	5.04
แบบหลังการบรรจุขวดพลาสติกฝาเกลียว	30	4	2,800	4.76
แบบหลังการบรรจุขวดพลาสติกฝาจุกยาง	30	4	2,800	4.76

ตารางผนวก 12 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด(total bacteria count) ของบรรจุภัณฑ์พลาสติกทั้ง 2 ชนิดและเชื้อที่พบ

ชนิดบรรจุภัณฑ์	ครั้งที่ตรวจ	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (cfu /ml)	เชื้อที่พบ
ขวดพลาสติก	1	0-5	*Penicillium* spp. , *Bacillus* spp.
ฝาเกลียว	2	0-8	*Enterobacter agglomerrans*
			Staphylococcus coagulase negative
ขวดพลาสติก	1	$1 – 3 \times 10^2$	*Penicillium* spp. , *Bacillus* spp.
ฝาจุกยาง	2	0-15	*Enterobacter agglomerrans*