

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

- จุฬารัตน์ รุ่งพิสุทธิพงษ์. 2540. การเลือกสูตรอาหารโภชนบำบัดทางคลินิก. ใน ประสงค์ เทียนบุญ, สรנית ศิลธรรม, จอมจักร จันทรสกุล และศิริยา โชควิวัฒนวนิช (บรรณาธิการ), โภชนบำบัดระบบทางเดินอาหารและหลอดเลือดดำ, หน้า 70-96. กรุงเทพมหานคร : เรือนแก้วการพิมพ์.
- เดิมศรี ชำนิจารกิจ. 2540. การวิเคราะห์ความแปรปรวน. ใน สถิติประยุกต์ทางการแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 5, หน้า 185-205. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เนตรนภิส วัฒนสุชาติ, บุญมา นิยมวิทย์, และ ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์. 2541. คุณค่าทางโภชนาการของอาหารมังสวิรัตินี้เพื่อแนวทางการบริโภค. อาหาร 28(4) : 268-276.
- ประไพศรี ศิริจักรวาล. 2532. มังสวิรัตินี้. ใน ประไพศรี ศิริจักรวาล, ประภาศรี ภูวเสถียร และ พัชรินี วินิจจะกุล (บรรณาธิการ), โภชนาการก้าวหน้า, หน้า 57-70. กรุงเทพมหานคร : ห้างหุ้นส่วนจำกัด เทคนิค 19.
- เพลินใจ ดังคณะกุล. 2537. มังสวิรัตินี้ : ทางเลือกใหม่เพื่อสุขภาพ. อาหาร 24(4) : 240-246.
- รุจิรา สัมมะสุต. 2538. อาหารที่ให้ทางสายให้อาหารและอาหารเสริม. ใน อาหารผู้ป่วยในโรงพยาบาลและหลักการสั่งอาหาร, หน้า 43-49. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์พิมพ์ดี.
- รุจิรา สัมมะสุต, 2541. อาหารปั่นผสม : การดัดแปลงเป็นอาหารเฉพาะโรค. ใน เอกสารประกอบการประชุมวิชาการเรื่อง โภชนบำบัด ภายใต้วิกฤติเศรษฐกิจ, หน้า 87-97. 26-27 พฤศจิกายน ณ ห้องประชุม พล.อ.อ. ประพันธ์ ฐปะเดมิย์ โรงพยาบาลภูมิพลอดุลยเดช.

- รุจิรา สัมมะสุต, อัจฉรา บุญทวี, อุดม วารกานนท์, สุระภี เสริมพณิชกิจ, และ ศุนทรี  
สุคนระชาติ. 2539. วิธีเตรียมอาหารทางสายให้อาหารชนิดปั่นผสมสูตรรามาชิตี.  
โภชนบำบัด 7 (1) : 7-11.
- วิชัย ตันไพจิตร และ ปรียา ลีพหกุล. 2528. การให้อาหารทางสายให้อาหาร. อายุรศาสตร์ 1  
(2) : 97-103.
- วิชัย ตันไพจิตร และ ปรียา ลีพหกุล. 2530. การให้อาหารทางสายให้อาหาร. โภชนศาสตร์  
คลินิก 2 : 16-24.
- ศรีสมัย วิบูลยานนท์. 2537. การให้อาหารทางสายให้อาหาร. จุดสารชมรมนักกำหนดอาหาร  
14(3) : 31-41.
- ศรีสมัย วิบูลยานนท์. 2541. การให้อาหารทางสายให้อาหาร. ใน เอกสารประกอบการประชุม  
วิชาการเรื่อง โภชนบำบัด ภายใต้วิกฤติเศรษฐกิจ, หน้า 82-86. 26-27 พฤศจิกายน ณ  
ห้องประชุม พล.อ.อ. ประพันธ์ รุประเดมิย์ โรงพยาบาลภูมิพลอดุลยเดช.
- สมชาย ประภาวัต. 2534. การทำเนื้อเทียมจากถั่วเหลือง. อาหาร 21(3) : 161-172.

ภาษาอังกฤษ

- Anderson, J. W., and Bryant, C. A. 1986. Dietary fiber : diabetes and obesity. Am. J. Gastroenterol. 81(10) : 898-906.
- Anderson, J. W. *et al.* 1991. Metabolic effects of high-carbohydrate, high-fiber diets for insulin-dependent diabetic individuals. Am. J. Clin. Nutr. 54(5) : 936-943.
- Anderson, J. W., Smith, B. M., and Gustafson, N. J. 1994. Health benefits and practical aspects of high fiber diet. Am. J. Clin. Nutr. 59(5 suppl.) : 1242s-1247s.
- Anderson, J. W., Smith, B. M., and Washnock, C. S. 1999. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. Am. J. Clin. Nutr. 70(3 suppl.) : 464s-474s.
- Anderson, K. R., Norris, D. J., Godfrey, L. B., Avent, C. K., and Butterworth, C. E. 1984. Bacterial contamination of tube-feeding formulas. JPEN. 8(6) : 673-678.
- Anderton, A., Howard, J. P., and Scott, D. W. 1986. Microbiological control in enteral feeding : Summary of a guidance document prepared on behalf of the Committee of the Parenteral and Enteral Nutrition Group of the British Dietetic Association. Human Nutrition : Applied Nutrition 40A : 163-167.
- Appel, L. J., *et al.* 1997. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. N. Engl. J. Med. 336(16) : 1117-1124.
- Appleby, P. N., Thorogood, M., Mann, J. I., and Key, T. J. 1999. The Oxford Vegetarian Study: an overview. Am. J. Clin. Nutr. 70(3 suppl.) : 525s-531s.
- A.S.P.E.N. 1987. Guidelines for the use of enteral nutrition in the adult patients. JPEN. 11 (5) : 435-439.

- A.S.P.E.N. 1993. Sec. III : Routes to deliver nutrition support in adults. ASPEN Guidelines for the use of parenteral and enteral nutrition in adult and pediatric patients. JPEN. 17(4 suppl.) : 7SA-11SA.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15<sup>th</sup> ed., Washington, D.C.
- Barnes, S. 1998. Evolution of the health benefits of soy isoflavones. Proc. Soc. Exp.Biol. Med. 217 : 386-392.
- Beilin, L. J. 1994. Vegetarian and other complex diets, fats, fiber, and hypertension. Am. J. Clin. Nutr. 59(5 suppl.) : 1130s-1135s.
- Bennion, M., and Scheule, B. 2000 a. Vegetables and vegetable preparation. In Introductory Foods. 11<sup>th</sup> ed., pp. 287-335. New Jersey : Prentice-Hall.
- Bennion, M., and Scheule, B. 2000 b. Starch. In Introductory Foods. 11<sup>th</sup> ed., pp. 247-263. New Jersey : Prentice-Hall.
- Beyer, P. L. 2000. Medical nutrition therapy for lower gastrointestinal tract disorders. In L. K. Mahan, and S. Escott-Stump (eds.), Krause's Food, Nutrition & Diet therapy. 10<sup>th</sup> ed., pp. 666-694. Pennsylvania : W.S. Saunders.
- Bloch, A. S., and Mueller, C. 2000. Enteral and Parenteral nutrition support. In L. K. Mahan, and S. Escott-Stump (eds.), Krause's Food, Nutrition & Diet therapy. 10<sup>th</sup> ed., pp. 463-482. Pennsylvania : W.S. Saunders.
- Block, G. Patterson, B. and Subar, A. 1992. Fruit, vegetables, and cancer prevention : a review of epidemiological evidence. Nutr. Cancer 18(1) : 1-29.
- Braunschweig, C. L., Levy, P., Sheean, P. M., and Wang, X. 2001. Enteral compared with parenteral nutrition : a meta-analysis. Am. J. Clin. Nutr. 74(4) : 534-542.

- Brown, J. E. 1999. Vegetarian diets. In Nutrition Now. 2<sup>nd</sup> ed., pp. 16.1-16.10. California : West/Wadsworth.
- Burton-Freeman, B. 2000. Dietary fiber and energy regulation. J. Nutr. 130(2) : 272s-275s.
- Cabre, E., and Gassull, M. A. 1993. Enteral Nutrition : current clinical practice part III : complications of enteral feeding. Nutrition 9(1) : 1-9.
- Carvalho, M. L. R., Morais, T. B., Amaral, D. F., and Sigulem, D. M. 2000. Hazard analysis and critical control point system approach in the evaluation of environmental and procedural sources of contamination of enteral feedings in three hospitals. JPEN. 24(5) : 296-303.
- Chan, S., McCowen, K. C., and Blackburn, G. L. 1999. Nutrition management in the ICU. Chest 115(5 suppl.) : 145s-148s.
- Chernoff, R. 1980. Enteral feeding. Am. J. Hosp. Pharm. 37 : 65-74.
- Collins, C. H., and Lyne , P. M. 1995. Counting methods. In C. H. Collins, P. M. Lyne, and J. M. Grange (eds.), Microbiological methods, pp. 149-162. Oxford : Butterworth-Heine mann.
- Craig, W. J. 1994. Iron status of vegetarians. Am. J. Clin. Nutr. 59(5 suppl.) : 1233s-1237s.
- Crouse, J. R., Morgan, T., Terry, J. G., Ellis, J., Vitolins, M., and Burke, G. L. 1999. A randomized trial comparing the effect of casein with that of soy protein contain varying amounts of isoflavones on plasma concentrations of lipids and lipoprotein. Arch. Intern. Med. 159(17) : 2070-2076.
- DeChicco, R. S., and Matarese, L. E. 1998. Determining the nutrition support regimen. In L. E. Matarese and M. M. Gottschlich (eds.), Contemporary Nutrition Support Practice : A Clinical Guide, pp.185-191. Pennsylvania : W. B. Saunders.

- Elia, M. 1994. Home enteral nutrition : General aspects and a comparison between the United States and Britain. Nutrition 10(2) : 115-123.
- Erdman, J. W. 2000. Soy protein and cardiovascular disease : a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the AHA. Circulation 102 : 2555-2559.
- Ettinger, S. 2000. Macronutrients : Carbohydrates, proteins, and lipids. In L. K. Mahan, and S. Escott-Stump (eds.), Krause's Food, Nutrition & Diet therapy. 10<sup>th</sup> ed., pp. 31-66. Pennsylvania : W.S. Saunders.
- FDA. 1992. Bacteriological Analytical Manual. 7<sup>th</sup> ed. Virginia : AOAC International.
- Fellows, P. 1990. Basic principles. In Food processing technology : principles and practices, pp. 31-70. Cornwall : Ellis Horwood.
- Fellows, P. 2000 a. Pasteurisation. In Food processing technology : principles and practices. 2<sup>nd</sup> ed., pp. 241-249. Cornwall : CRC Press and Woodhead Publishing.
- Fellows, P. 2000 b. Heat sterilisation. In Food processing technology : principles and practices. 2<sup>nd</sup> ed., pp. 250-277. Cornwall : CRC Press and Woodhead Publishing.
- Frost, P. and Bihari, D. 1997. The route of nutritional support in the critically ill : physiological and economical considerations. Nutrition 13(9Suppl.) : 58s-63s.
- Hearne, B. E., Besser, P. M., Groshen, S., and Daly, J. M. 1984. In vitro flow rates of enteral solutions through nasoenteric tubes. JPEN. 8(4) : 456-459.
- Heyland, D. K. 1998. Nutritional support in the critically ill patients. A critical review of the evidence. Crit. Care Clin. 14(3) : 423-440.

- Jones, P. J. H., and Kubow, S. 1999. Lipids, sterols, and their metabolites. In M. E. Shils, J. A. Olson, M. Shike, and A. C. Ross (eds.), Modern nutrition in health and disease. 9<sup>th</sup> ed., pp. 67-94. Maryland : Williams&Wilkins.
- Kaltwasser, J. P., Werner, E., Schalk, K., Hansen, C., Gottschalk, R., and Seidl, C. 1998. Clinical trail on the effect of regular tea drinking on iron accumulation in genetic haemochromatosis. Gut 43(5) : 699-704.
- Kangsadalampai, K., and Sungpuag, P. 1984. Proximate analysis : techniques use at the INMU. In Laboratory manual for food analysis, pp. 28-62. Bangkok: Prayurawong.
- Katan, M. B., Zock, P. L., and Mensink, R. P. 1994. Effects of fats and fatty acids on blood lipids in humans : an overview. Am. J. Clin. Nutr. 60(suppl) : 1017s -1022s.
- Keawtanom, S. 1997. Development of low viscosity blenderized diets by adding amylase rich food for patient with intact gastrointestinal function. Master's Thesis, Department of Food and Nutrition for Development, Graduate School, Mahidol University.
- Kelley, M. J. 1998. Lipids. In L. E. Matarese and M. M. Gottschlich (eds.), Contemporary Nutrition Support Practice : A Clinical Guide, pp.192-201. Pennsylvania : W. B. Saunders.
- Key, T. J., *et al.* 1999. Mortality in vegetarians and nonvegetarians : detailed finding from a collaborative analysis of 5 prospective studies. Am. J. Clin. Nutr. 70 (3 suppl.) : 516s-524s.
- Kirby, D. F., Delegge, M. H., and Fleming, C. R. 1995. American Gastroenterological Association technical review on tube feeding for enteral nutrition. Gastroenterology 108(4) : 1282-1301.

- Kirk, R. S., and Sawyer, R. 1991. Pearson's composition and analysis of foods. 9<sup>th</sup> ed. Singapore : Longman Singapore.
- Knight, D. C., and Eden, J. A. 1996. A review of the clinical effects of phytoestrogens. Obstet. Gynecol. 87 : 897-904.
- Kris-Etherton, P. M., Yu-Poth, S., Sabat, J., Ratcliffe, H. E., Zhao, G., and Etherton, T. D. 1999. Nuts and their bioactive constituents : effects on serum lipids and other factors that affect disease risk. Am. J. Clin. Nutr. 70(3 suppl.) : 504s-511s.
- Kushi, L. H., Meyer, K. A., and Jacobs, D. R. Jr. 1999. Cereals, legumes, and chronic disease risk reduction : evidence from epidemiologic studies. Am. J. Clin. Nutr. 70 (3 suppl.) : 451s-458s.
- Lampe, J. W. 1999. Health effects of vegetables and fruit : assessing mechanisms of action in human experimental studies. Am. J. Clin. Nutr. 70(3 suppl.) : 475s-490s.
- Liu, K. 1997. Chemistry and nutritional value of soybean components. In Soybeans : Chemistry, Technology, and Utilization, pp. 25-113. New York : Chapman&Hall.
- Lynch, S. R., Beard, J. L., Dassenko, S. A., and Cook, J. D. 1984. Iron absorption from legumes in humans. Am. J. Clin. Nutr. 40(1) : 42-47.
- Macburney, M. M., and Young, L. S. 1984. Formulas. In J. L. Rombeau, and M. D. Caldwell (eds.), Enteral and tube feeding, pp. 171-198. Pennsylvania : W.S. Saunders.
- Margetts, B. M., Beilin, L. J., Vandongen, R., and Armstrong, B. K. 1986. Vegetarian diet in mild hypertension : a randomized controlled trial. Bri. Med. J. 293(6560) : 1468-1471.
- Mason, P. 2000 a. Vegetarianism. In Nutrition and dietary advice in the pharmacy. 2<sup>nd</sup> ed., pp. 200-207. London : Blackwell Science.



- Mason, p. 2000 b. Enteral nutrition. In Nutrition and dietary advice in the pharmacy. 2<sup>nd</sup> ed., pp. 267-283. London : Blackwell Science.
- Mazurs, E. G., Schoch, T. J., and Kite, F. E. 1957. Graphical analysis of brabender viscosity curve of various starch. Cereal Chemistry 34(3) : 141-152.
- McIntyre, A. Gibson, P. R., and Young, G. P. 1993. Butyrate production from dietary fiber and protection against large bowel cancer in a rat model. Gut 34 (3) : 386-391.
- McWilliams, M. 2001. Starch. In Foods : Experimental perspectives. 4<sup>th</sup> ed., pp. 161-186. New Jersey : Prentice-Hall.
- Meilgaard, M., Civilee, G. V., and Carr, B. T. 1987. Affective tests : Consumer tests and in-house panel acceptance tests. In Sensory Evaluation Techniques, pp. 143-162. Florida : CRC Press.
- Messina, M. J. 1999. Legumes and soybeans : overview of their nutritional profiles and health effects. Am. J. Clin. Nutr. 70(3 suppl.) : 439s-450s.
- Messina, V. K., and Burke, K. I. 1997. Position of the American Dietetic Association : vegetarian diets. J. Am. Diet Assoc. 97 : 1317-1321.
- Navajas, M. F., Chacon, D. J., Solvas, J. F. G., and Vargas R. G. 1992. Bacterial contamination of enteral feeds as a positive risk of nosocomial infection. J. Hosp. Infect. 21 : 111-120.
- Payne-James, J. 1992. Enteral nutrition: accessing patients. Nutrition 8(4) : 223-231.
- Pomeranz, Y. 1991. Carbohydrates : Starch. In Functional properties of food components. 2<sup>nd</sup> ed., pp. 24-78. California : Academic Press.
- Powell, S. K., Marcuard, S. P., Farrior, E. S., and Gallagher, M. L. 1993. Aspirating gastric residuals causes occlusion of small-bore feeding tubes. JPEN. 17(3) : 243-246.

- Puwastien, P., Raroengwichit, M., Sungpuag, P., and Judprasong, K. 1999. Thai food composition tables. Nakorn Pathom : Institute of Nutrition, Mahidol University.
- Rajaram, S. 2000. Health benefits of a vegetarian diet. Nutrition 16 (7-8) : 531-533.
- Rambeau, J. L., and Jacobs, D. O. 1984. Nasoenteric tube feeding. In J. L. Rombeau, and M. D. Caldwell (eds.), Enteral and tube feeding, pp. 261-274. Pennsylvania : W.S. Saunders.
- Rambeau, J. L., Barot, L. R., Low, D. W., and Twomey, P. L. 1984. Feeding by tube enterostomy. In J. L. Rombeau, and M. D. Caldwell (eds.), Enteral and tube feeding, pp. 275-291. Pennsylvania : W.S. Saunders.
- Read, R. S. D. 1997. Protein. In M. L. Wahlquist (ed.), Food and nutrition : Australasia, Asia, and the Pacific, pp. 188-198. NSW: Allen & Unwin.
- Salmeron, J., *et al.* 1997. Dietary fiber, glycemic load, and risk of NIDDM in men. Diabetes Care 20(4) : 545-550.
- Schott, H. 1990. Rheology. In A. R. Gennaro, *et al.* (eds.), Remington's pharmaceutical sciences. 18<sup>th</sup> ed., pp. 310-326. Pennsylvania : Mack Publishing Company.
- Schroeder, D., Gillanders, L., Mahr, K., and Hill, G. L. 1991. Effect of immediate postoperative enteral nutrition on body composition, muscle function, and wound healing. JPEN. 15(4) : 376-383.
- Sciarrone, S. E., Strahan, M. T., Beilin, L. J., Burke, V., Rogers, P., and Rouse, I. R. 1993. Ambulatory blood pressure and heart rate responses to vegetarian meals. J. Hypertens. 11(3) : 277-285.
- Slavin, J. L., Martini, M. C., Jacobs, D. R. Jr., and Marquart, L. 1999. Plausible mechanisms for the protectiveness of whole grains. Am. J. Clin. Nutr. 70 (3 suppl.) : 459s-463s.

- Speck, M. L. 1984. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 2<sup>nd</sup> ed. Washington, D.C. : American Public Health Association.
- Talbot, J. M. 1991. Guidelines for the scientific review of enteral food products for special medical purposes. JPEN. 15 (3 suppl.) : 99s-174s.
- Trujillo, E. B. 1998. Enteral Nutrition : A comprehensive overview. In L. E. Matarese and M. M. Gottschlich (eds.), Contemporary Nutrition Support Practice : A Clinical Guide, pp. 192-201. Pennsylvania : W. B. Saunders.
- Williams, S. R. 1997. Enteral nutrition. In Nutrition and Diet Therapy. 8<sup>th</sup> ed., pp. 447-462. Missouri : Mosby-Year Book.
- Wiseman, H., *et al.* 2000. Isoflavone phytoestrogens consumed in soy decrease F<sub>2</sub>-isoprostane concentrations and increase resistance of low-density lipoprotein to oxidation in humans. Am. J. Clin. Nutr. 72(2) : 395-400.
- Wong, P. W., Enriquez, A., and Barrera, R. 2001. Nutrition support in critically ill patients with cancer. Crit. Care Clin. 17(3) : 743-767.
- Worawongtud, W. 1991. Development of formulative tube feeding for patients with intact gastrointestinal function. Master's Thesis, Department of Nutrition, Graduate School, Mahidol University.
- Zobel, H. F., and Stephen, A. M. 1995. Starch : structure, analysis, and application. In A. M. Stephen (ed.), Food polysaccharides and their applications, pp. 19-66. New York : Marcel Dekker.



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก

### วิธีการคำนวณหาปริมาณอาหารที่ใช้เป็นส่วนประกอบในสูตรอาหารปั่นผสม

กำหนดให้อาหารปั่นผสมมีความเข้มข้นของพลังงาน = 1 กิโลแคลอรีต่อมิลลิลิตร  
ดังนั้นอาหารปั่นผสม 1,000 มิลลิลิตร มีพลังงาน = 1,000 กิโลแคลอรี

$$\text{พลังงานจากโปรตีน ร้อยละ 17.5 ได้จากอาหาร} = \frac{1,000 \times 17.5}{4 \times 100} = 43.75 \text{ กรัม}$$

$$\text{พลังงานจากไขมัน ร้อยละ 32.5 ได้จากอาหาร} = \frac{1,000 \times 32.5}{9 \times 100} = 36.11 \text{ กรัม}$$

$$\text{พลังงานจากคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 50 ได้จากอาหาร} = \frac{1,000 \times 50}{4 \times 100} = 125 \text{ กรัม}$$

$$\text{โปรตีน 43.75 กรัม ได้จากโปรตีนเกษตร} = \frac{100 \times 43.75}{50.1} = 87.33 \text{ กรัม ประมาณเป็น 90 กรัม}$$

โปรตีนเกษตร 90 กรัม มีไขมัน 3.06 กรัม คาร์โบไฮเดรต 31.77 กรัม

$$\text{ต้องการไขมันอีก} = 36.11 - 3.06 = 33.05 \text{ กรัม}$$

$$\text{ได้จากน้ำมันถั่วเหลือง} = \frac{100 \times 33.05}{99.9} = 33.08 \text{ กรัม ประมาณเป็น 30 กรัม}$$

$$\text{ต้องการคาร์โบไฮเดรตอีก} = 125 - 31.77 = 92.23 \text{ กรัม}$$

คาร์โบไฮเดรตได้มาจากข้าวกล้อง น้ำตาลทราย และฟักทอง

ใช้ฟักทอง 100 กรัม (ตามสูตรของโรงพยาบาลรามาริบัติ) มีคาร์โบไฮเดรต 12.1 กรัม

$$\text{ดังนั้น ต้องการคาร์โบไฮเดรตอีก} = 92.23 - 12.1 = 81.13 \text{ กรัม}$$

อัตราส่วนระหว่างข้าวต่อน้ำตาลทราย ที่ทำให้อาหารปั่นผสมสามารถไหลผ่านสายได้ คือ  
ประมาณ 1 : 3 ถึง 1 : 5 (Worawongtud, 1991)

ให้  $a$  เป็นปริมาณข้าวที่จะใช้  $b$  เป็นปริมาณน้ำตาลที่จะใช้

$$b = 3a$$

และ  $\frac{77.7a + 99.5b}{100} = 81.13$  หรือ  $\frac{77.7a + 99.5(3a)}{100} = 81.13$

ดังนั้น  $a = 22$  กรัม

$$b = 3 \times 22 = 66 \text{ กรัม}$$

นั่นคือ ใช้ข้าวกล้อง 22 กรัม ประมาณเป็น 20 กรัม

ใช้น้ำตาลทราย 66 กรัม ประมาณเป็น 70 กรัม

ได้สูตรอาหารดังนี้

โปรตีนเกษตร	90	กรัม
ข้าวกล้อง	20	กรัม
น้ำตาลทราย	70	กรัม
ฟักทอง	100	กรัม
น้ำมันถั่วเหลือง	30	กรัม

คำนวณพลังงานและการกระจายพลังงาน ได้ดังนี้

- โปรตีนเกษตร 90 กรัม มีโปรตีน 45.09 กรัม ไขมัน 3.06 กรัม คาร์โบไฮเดรต 31.77 กรัม
- ข้าวกล้อง 20 กรัม มีโปรตีน 1.48 กรัม ไขมัน 0.48 กรัม คาร์โบไฮเดรต 15.54 กรัม
- น้ำตาลทราย 70 กรัม มีคาร์โบไฮเดรต 69.65 กรัม
- ฟักทอง 100 กรัม มีโปรตีน 1.4 กรัม ไขมัน 0.3 กรัม คาร์โบไฮเดรต 12.1 กรัม
- น้ำมันพืช 30 กรัม มีไขมัน 29.97 กรัม

รวมเป็น โปรตีน 47.97 กรัม ไขมัน 33.81 กรัม คาร์โบไฮเดรต 129.06 กรัม คิดเป็นพลังงานที่ได้จากโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต เท่ากับ 191.88, 304.29 และ 516.24 กิโลแคลอรี ตามลำดับ มีพลังงานรวม 1,012.41 กิโลแคลอรี ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 18.95, 30.06 และ 50.99 ตามลำดับ

## ภาคผนวก ข

### วิธีการวิเคราะห์หึ่งค์ประกอบทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยการอบในตู้อบไฟฟ้า (Hot air oven method) (Kangsadalampai และ Sungpuag, 1984 ; AOAC, 1990)

1.1 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน ประมาณ 1 กรัม ใส่ในภาชนะอบแห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอน

1.2 นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ  $100 \pm 5$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง

1.3 นำออกจากตู้อบ ทิ้งให้เย็นในโลทำแห้ง (Desiccator) และชั่งน้ำหนัก

1.4 ทำซ้ำข้อ 1.2 และ 1.3 จนกว่าจะได้น้ำหนักคงที่ (น้ำหนักแตกต่างกันไม่เกิน 1 มิลลิกรัม)

1.5 คำนวณปริมาณความชื้นในตัวอย่างเป็นร้อยละของน้ำหนักที่สูญหายไป

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Macro Kjeldahl (Kangsadalampai และ Sungpuag, 1984 ; AOAC, 1990)

2.1 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 1 กรัม หรือให้มีปริมาณโปรตีนประมาณ 0.5 กรัม ใส่กระดาษกรองปราศจากเถ้า แล้วนำไปใส่หลอดสำหรับย่อย (Kjeldahl tube)

2.2 เติมสารช่วยเร่งปฏิกิริยา (Kjeltabs C 3.5 มี  $\text{CuSO}_4$  0.4 กรัม และ  $\text{K}_2\text{SO}_4$  3.5 กรัม ใน 1 เม็ด, บริษัท Tecator) จำนวน 2 เม็ด

2.3 เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (Sulfuric acid Nitrogen free, A.R. Grade, บริษัท E. Merck) 25 มิลลิลิตร

2.4 ย่อยสลายตัวอย่างโดยใช้เครื่องย่อย ในตู้ควัน ที่อุณหภูมิ 435 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสารละลายใส ย่อยสลายต่อไปอีก 30 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

2.5 นำสารละลายใสมากลั่นในเครื่องกลั่นไนโตรเจน โดยเติมน้ำ 100 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, G.R., บริษัท E. Merck) ความเข้มข้นร้อยละ 40 ปริมาตร 120 มิลลิลิตร

2.6 รองรับของเหลวจากการกลั่นที่เกิดขึ้นด้วยสารละลายกรดบอริก (Boric acid, A.R. Grade, บริษัท E. Merck) ความเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ซึ่งเติมโมดิฟายด์เมธิลเรดอินดิเคเตอร์ (Modified methyl red indicator) (เตรียมโดยละลายเมธิลเรด (Methyl red) 0.125 กรัม และเมธิลีน บลู (Methylene blue) 0.0825 กรัม ในเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 90 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร) ลงไป 3 หยด

2.7 นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานของกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล

2.8 ทำสารละลายสิ่งไร้ตัวอย่าง (Blank) เช่นเดียวกับตัวอย่าง

2.9 คำนวณปริมาณไนโตรเจนและโปรตีน

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละ)} = \frac{(V_2 - V_1) N \times 1.4}{W}$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(V_2 - V_1) N \times 1.4 \times \text{Factor}}{W}$$

$V_1$  = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไทเทรตกับสารละลายสิ่งไร้ตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

$V_2$  = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไทเทรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

$N$  = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของกรดซัลฟูริก (นอร์มอล)

$W$  = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

Factor = 6.25 (สำหรับอาหารทั่วไป)

3. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ด้วยเครื่อง Soxhlet (Kangsadalampai และ Sungpuag, 1984 ; AOAC, 1990)

3.1 ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งแล้วจนน้ำหนักคงที่ ให้ได้น้ำหนักแน่นอน ประมาณ 2 กรัม

3.2 นำมาสกัดไขมันด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์ (petroleum ether, A.R. Grade , บริษัท J. T. Baker) ประมาณ 130 มิลลิลิตร เป็นเวลานาน 8 ชั่วโมง ด้วยเครื่อง Soxhlet

3.3 นำไขมันที่สกัดได้ ไประเหยปิโตรเลียมอีเธอร์ออกบนเครื่องอังไอน้ำในตู้ควั่น



3.4 เมื่อระเหยปิโตรเลียมอีเทอร์หมดแล้ว นำขวดแก้วรูปชมพู่ที่มีไขมันที่สกัดได้ ไปอบที่อุณหภูมิ  $100 \pm 2$  องศาเซลเซียส ปล่อยให้เย็นในโถทำแห้ง ชั่งน้ำหนักและอบอีก จนกระทั่งชั่งน้ำหนักได้คงที่

3.5 ล้างไขมันที่สกัดได้ออกจากขวดแก้วรูปชมพู่ โดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ จนไขมันออกหมด

3.6 นำขวดแก้วรูปชมพู่มาอบที่อุณหภูมิ  $100 \pm 2$  องศาเซลเซียส แล้วทำให้เย็นในโถทำแห้ง นำมาชั่ง และอบอีก จนกระทั่งชั่งน้ำหนักได้คงที่

3.7 กำหนดปริมาณไขมัน

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักของไขมันที่สกัดได้ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Ash) โดยการเผาในเตาเผาเถ้า (Muffle furnace) (Kangsadalampai และ Sungpuag, 1984 ; AOAC, 1990)

4.1 อบภาชนะสำหรับหาเถ้า (Porcelain crucible) ในเตาเผาเถ้า ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำมาทิ้งไว้ให้เย็นในโถทำแห้งเป็นเวลา 20 นาที ชั่งน้ำหนัก และทำซ้ำให้ได้น้ำหนักแตกต่างกันไม่เกิน 1 มิลลิกรัม

4.2 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1 กรัม ใส่ลงในภาชนะสำหรับหาเถ้า นำไปเผาด้วยเตาไฟฟ้าจนหมดควัน

4.3 นำไปเข้าเตาเผาเถ้าที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เป็นเถ้าสีขาว นำตัวอย่างออกจากเตาเผาเถ้า ทิ้งให้เย็นในโถทำแห้ง แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก

4.4 ทำซ้ำข้อ 4.3 จนกระทั่งน้ำหนักแตกต่างกันไม่เกิน 1 มิลลิกรัม แล้วคำนวณหาปริมาณเถ้าได้ดังนี้

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

5. การวิเคราะห์ปริมาณกากใยอาหาร โดยการย่อยด้วยกรดและด่างอ่อน (AOAC, 1990 ; Kirk และ Sawyer, 1991)

5.1 ชั่งตัวอย่างที่อบแห้งและปราศจากไขมันให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 2 กรัม ใส่ในภาชนะสำหรับย่อย ประกอบเข้ากับเครื่องหากากใยอาหาร

5.2 เติมกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1.25 ลงไป 150 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด เป็นเวลานาน 30 นาที

5.3 กรองกรดซัลฟูริกออก แล้วล้างด้วยน้ำเดือดครั้งละ 30 มิลลิลิตร 3 ครั้ง จนหมดกรด

5.4 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด เป็นเวลา 30 นาที

5.5 กรองสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ออก แล้วล้างด้วยน้ำเดือดครั้งละ 30 มิลลิลิตร 3 ครั้ง จนหมดด่าง แล้วล้างด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ครั้งละ 15 มิลลิลิตร

5.6 นำกากใยอาหารที่ได้ไปอบให้แห้งในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่

5.7 ทิ้งให้เย็นในโถทำแห้ง แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก น้ำหนักที่ได้จะเป็นน้ำหนักของกากใยอาหาร รวมกับน้ำหนักของเถ้า

5.8 นำไปเผาในเตาเผาเถ้าที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว

5.9 ชั่งน้ำหนักหลังจากทิ้งให้เย็นในโถทำแห้ง น้ำหนักที่หายไปเป็นน้ำหนักของกากใยอาหาร

5.10 คำนวณหาปริมาณกากใยอาหาร

$$\text{ปริมาณกากใยอาหาร (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักกากใยอาหาร (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

6. การคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรต

$$\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ)} = 100 - (\text{ปริมาณความชื้น} + \text{ปริมาณโปรตีน} + \text{ปริมาณไขมัน} + \text{ปริมาณเถ้า} + \text{ปริมาณกากใยอาหาร})$$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก

### วิธีการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

วิเคราะห์ตามวิธีของ Speck (1984) และ FDA (1992) ทำในลักษณะที่ปราศจากเชื้อ (aseptic technique) เตรียมจานเพาะเชื้อ (petri dishes) ชนิดแก้วและปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร โดยนำไปอบฆ่าเชื้อในตู้อบไฟฟ้า (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

#### 1. การหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count)

##### 1.1 จำนวนจุลินทรีย์ชนิดมีโซไฟล์ (mesophilic count)

1.1.1 เจือจางตัวอย่างโดยใช้ปิเปตดูดตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลายเปปโตเนอความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 90 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างความเจือจาง 1 : 10

1.1.2 ใช้ปิเปตตัวอย่างความเจือจาง 1 : 10 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลายเปปโตเนอความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างความเจือจาง 1 : 100

1.1.3 เจือจางตัวอย่างวิธีเดียวกับในข้อ 1.1.2 ได้ตัวอย่างความเจือจาง 1 : 1000

1.1.4 ดูดตัวอย่างความเจือจางต่างๆ และตัวอย่างที่ไม่ได้เจือจาง ใส่ลงในจานเพาะเชื้อปลอดเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ความเจือจางละ 2 จาน

1.1.5 เทอาหารเลี้ยงเชื้อ เพลตเคาต์ อะการ์ (plate count agar) หลอมเหลว อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อที่ใส่ตัวอย่างไว้ จานละประมาณ 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการหมุนจานเพาะเชื้อเบา ๆ

1.1.6 ตั้งทิ้งไว้ให้แข็ง กลับจานเพาะเชื้อ แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

1.1.7 นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นจากแต่ละจานเพาะเชื้อ โดยเลือกนับจากจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีใน 1 จาน และคำนวณค่า CFU (colony forming unit) ต่อ มิลลิลิตรของตัวอย่าง

##### 1.2 จำนวนจุลินทรีย์ชนิดไซโครโทรป (psychrotrophic count)

1.2.1 เจือจางตัวอย่างเช่นเดียวกับการหาจำนวนจุลินทรีย์ชนิดมีโซไฟล์

- 1.2.2 คูดตัวอย่างแต่ละความเจือจาง ใส่ลงบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อเพลตเคาต์อะการ์ ในจานเพาะเชื้อ จานละ 0.1 มิลลิลิตร ความเจือจางละ 2 จาน
- 1.2.3 ใช้แท่งแก้วปลอดเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วผิวหน้าของอาหารแต่ละจาน
- 1.2.4 บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน
- 1.2.5 นับจำนวนโคโลนีจากแต่ละจาน หาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีใน 1 จาน และคำนวณค่า CFU ต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

## 2. การหาจำนวนยีสต์และรา (yeast and mold count)

วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับการหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดชนิดมีไซโฟล์ (ข้อ 1.1) แต่เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อจาก เพลตเคาต์อะการ์ เป็น ซาโบราวเดกซ์โทรสอะการ์ (sabouraud dextrose agar) หรือ มอลต์อะการ์ (malt agar) หรือ โปเตโตเดกซ์โทรสอะการ์ (potato dextrose agar) ที่ปรับความเป็นกรด ค่างเป็น 3.5 แล้ว นำไปอบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน แล้วนับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อ หาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีใน 1 จาน และคำนวณค่า CFU ต่อมิลลิลิตรของตัวอย่าง

## 3. การหาจำนวนโคลิฟอร์มทั้งหมดและ *Escherichia coli*

### 3.1 การทดสอบขั้นต้น (Presumptive test)

3.1.1 ใช้ปิเปตคูดตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร 1 มิลลิลิตร และ ตัวอย่างที่มีความเจือจาง 1 : 10 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อแล็กโทสบรอต (lactose broth) ที่มีหลอดดักก๊าซ (durham's tube) วางคว่ำอยู่ ตัวอย่างละ 3 หลอด

3.1.2 บ่มหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อแล็กโทสบรอตที่มีตัวอย่าง ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส อ่านผลครั้งแรกหลังจากบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตการเจริญจากความขุ่น และการผลิตก๊าซจากการเกิดฟองอากาศในอาหารเลี้ยงเชื้อและมีที่ว่างในหลอดดักก๊าซ

หมายเหตุ หลอดที่อ่านผลเป็นผลบวก ต้องมีที่ว่างในหลอดดักก๊าซมากกว่า 1 ใน 10 ของ ปริมาตรหลอดดักก๊าซ

3.1.3 บ่มหลอดที่ไม่ให้ผลบวกต่อไปอีกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และอ่านผลเช่นเดียวกันอีกครั้งหนึ่ง

### 3.2 การทดสอบขั้นยืนยัน (Confirmed test)

3.2.1 ใช้ห้วงเชื้อเชื้อ ถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเล็กโทสบรอต ที่ให้ผลบวก ใส่ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อบริลลิแอนด์กรีนเล็กโทสไบล์บรอต (brilliant green lactose bile broth) ที่มีหลอดคักก้าขวางคว่ำอยู่ ทำเช่นเดียวกันจนครบทุกหลอดผลบวก

3.2.2 บ่มหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อบริลลิแอนด์กรีนเล็กโทสไบล์บรอต ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลหลังจากบ่มเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง หลอดที่อ่านผลเป็น ผลบวก อาหารเลี้ยงเชื้อจะขุ่น และเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลอมเหลือง และมีที่ว่างในหลอดคักก้าขามากกว่า 1 ใน 10 ของปริมาตรหลอดคักก้าข

3.2.3 นำค่าจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกจากทุกความเจือจาง ไปอ่านค่าปริมาณโคลิฟอร์ม จากตารางเอ็มพีเอ็น จะได้ค่าเอ็มพีเอ็นของโคลิฟอร์มต่อตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร

### 3.3 การทดสอบขั้นสมบูรณ์สำหรับ *E. coli*

3.3.1 นำหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อบริลลิแอนด์กรีนเล็กโทสไบล์บรอต ที่ให้ผลบวก แต่ละหลอด มาฉีดแยกเชื้อลงบนจานอาหารแข็งอีเอ็มบีอะการ์ (Eosin Methylene Blue , EMB agar)

3.3.2 บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3.3 เลือกโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะของ *E. coli* บนอาหารเลี้ยงเชื้ออีเอ็มบีอะการ์ (โคโลนีแบน ไม่เยิ้ม มีจุดสีเข้ม มีเงาโลหะ) ซึ่งถือเป็นผลบวก นำไปทดสอบด้วยชุดการทดสอบ IMViC ดังนี้

#### 3.3.3.1 การทดสอบอินโดล (Indole test)

เพาะโคโลนีลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อทริปโตเนบรอตความเข้มข้นร้อยละ 1 (1 % tryptone broth) นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมนสารละลายโคแวกส์ ปริมาณ 0.2-0.3 มิลลิลิตร ลงในหลอด เขย่าเบาๆ ผลของ *E. coli* คือเกิดชั้นสีแดงด้านบนของอาหารเลี้ยงเชื้อ (ผลบวก)

#### 3.3.3.2 การทดสอบเอ็มอาร์ (Methyl Red test)

เพาะโคโลนีลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเอ็มอาร์-วีพีบรอต (MR-VP broth) นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วเติมสารละลายเมธิลเรดจำนวน 5 หยด ลงในหลอด เขย่าแรง ๆ  
ผลของ *E. coli* คือ อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีแดง (ผลบวก)

### 3.3.3.3 การทดสอบวีพี (Voges-Proskauer test)

เพาะโคโลนีลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเอ็มอาร์-วีพีบรอต นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วเติมสารละลายแอลฟาแนฟทอลปริมาณ 0.6 มิลลิลิตร และสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 ปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร ลงในหลอด เขย่า แล้วตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง  
ผลของ *E. coli* คือ อาหารเลี้ยงเชื้อไม่เปลี่ยนเป็นสีแดง (ผลลบ)

### 3.3.3.4 การทดสอบการใช้ซิเตรต (Citrate test)

เพาะโคโลนีลงในอาหารเลี้ยงเชื้อซิเตรต อะการ์ (Simmon's citrate agar) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง  
ผลของ *E. coli* คือ อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเขียวเช่นเดิม (ผลลบ)

## 4. การหาจำนวน *Staphylococcus aureus*

4.1 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อแมนนิทอลซอลต์อะการ์ (mannitol salt agar) ในจานเพาะเชื้อจำนวน 2 จาน ใช้แท่งแก้วปลอดเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

4.2 บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

4.3 ตรวจสอบโคโลนีที่มีลักษณะผิวเรียบ หนูน รอบโคโลนีมีวงสีเหลือง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของ *S. aureus*

4.4 นำโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะตามข้อ 4.3 มาเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ตอินฟิวชันบรอต (brain heart infusion broth) นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.5 ละลายโคอะกูเลสพลาสมา 100 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร ใช้ปิเปตดูดสารละลายโคอะกูเลสพลาสมา 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแก้วเล็ก ๆ แล้วเติมเชื้อที่เพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ดอินฟิวชันบรอต ลงไป 0.2 มิลลิลิตร

4.6 บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส ตรวจสอบการแข็งตัวของพลาสมาทุก 6 ชั่วโมง ถ้ามีการแข็งตัวของพลาสมาแสดงว่าเป็นโคโลนีของ *S. aureus*

### ส่วนประกอบและวิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. เพลตเคาต์อะการ์ (Plate count agar) ประกอบด้วย

Tryptone	5.0	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Dextrose	1.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

เตรียมโดยชั่งเพลตเคาต์อะการ์ (บริษัท Difco) 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ต้มให้ละลายหมด ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร เทใส่ภาชนะที่เหมาะสม นำเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. ซาโบราว เดกซ์โทรส อะการ์ (Sabouraud dextrose agar) ประกอบด้วย

Peptone	10.0	กรัม
Dextrose	40.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

เตรียมโดยชั่งซาโบราว เดกซ์โทรส อะการ์ (บริษัท Scharlau) 65 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ต้มให้ละลายหมด ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร เทใส่ภาชนะที่เหมาะสม นำเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

## 3. มอลต์อะการ์ (Malt agar) ประกอบด้วย

Malt extract	30.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

เตรียมโดยนำส่วนผสมทั้งหมดมาละลายในน้ำกลั่น ต้มให้ละลายหมด ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร เทใส่ภาชนะที่เหมาะสม ฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อจะใช้ต้องปรับให้มีความเป็นกรด ค่าประมาณ 3.5 ด้วยกรดแล็กติก ร้อยละ 10 ที่ปราศจากเชื้อ

## 4. โปเตโตเดกซ์โทรสอะการ์ (Potato dextrose agar) ประกอบด้วย

Dextrose	20.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Infusion form white potato	200.0	มิลลิลิตร

เตรียมโดยนำส่วนผสมทั้งหมดมาละลายในน้ำกลั่น ต้มให้ละลายหมด ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร เทใส่ภาชนะที่เหมาะสม ฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อจะใช้ต้องปรับให้มีความเป็นกรด ค่าประมาณ 3.5 ด้วยกรดตาร์ตาริก ร้อยละ 10 ที่ปราศจากเชื้อ

## 5. แล็กโทสบรอต (lactose broth) ประกอบด้วย

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Lactose	5.0	กรัม

เตรียมโดยชั่งแล็กโทสบรอต (บริษัท Difco) 13 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร เทใส่ในหลอดแก้วขนาด 16x150 มิลลิลิตร หลอดละ 10 มิลลิลิตร และใส่หลอดดักก๊าซ 1 หลอด ในลักษณะคว่ำหลอด นำไปฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที



6. บริลลิแอนต์กรีนแล็กโทสไบล์บรอต (Brilliant green lactose bile broth) ประกอบด้วย

Peptone	10.0	กรัม
Lactose	10.0	กรัม
Ox gall	20.0	กรัม
Brilliant green	0.0133	กรัม

เตรียมโดยละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร เทใส่ลงในหลอดแก้วขนาด 16x150 มิลลิลิตร หลอดละ 10 มิลลิลิตร และใส่หลอดดักก๊าซ 1 หลอด ในลักษณะคว่ำหลอด นำไปฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

7. อีเอ็มบีอะการ์ (Eosin methylene blue , EMB agar) ประกอบด้วย

Peptone	10.0	กรัม
Lactose	5.0	กรัม
Sucrose	5.0	กรัม
Dipotassium hydrogen phosphate	2.0	กรัม
Eosin Y	0.4	กรัม
Methylene blue	0.065	กรัม
Agar	15.0	กรัม

เตรียมโดยละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ต้มให้ละลายหมด ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร เทใส่ภาชนะที่เหมาะสม ฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เหย้าให้เข้ากันก่อนเทใส่จานเพาะเชื้อ

8. ทริปโตเนบรอตความเข้มข้นร้อยละ 1 (1 % Tryptone broth)

เตรียมโดยละลายทริปโตเนน 10 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร เทใส่ในหลอดแก้วขนาด 13 x 100 มิลลิลิตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

## 9. เอ็มอาร์-วีพีบรอต (MR-VP broth) ประกอบด้วย

Peptone	5.0	กรัม
Glucose	5.0	กรัม
Dipotassium hydrogen phosphate	5.0	กรัม

เตรียมโดยละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร เทใส่ในหลอดแก้วขนาด 13x100 มิลลิลิตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

## 10. ซิมมอนส์ซิเตรต อะการ์ (Simmin's citrate agar) ประกอบด้วย

Sodium chloride	5.0	กรัม
Magnesium sulphate heptahydrate	0.2	กรัม
Ammonium dihydrogen phosphate	1.0	กรัม
Sodium citrate	5.0	กรัม
Bromthymol blue	0.08	กรัม
Agar	15.0	กรัม

เตรียมโดยละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ต้มให้ละลายหมด ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร เทใส่ในหลอดแก้วขนาด 13x100 มิลลิลิตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที วางในลักษณะอาหารเอียง

## 11. แมนนิทอลซอลต์ อะการ์ (Mannitol salt agar) ประกอบด้วย

Beef extract	1.0	กรัม
Protease peptone	10.0	กรัม
Sodium chloride	75.0	กรัม
d-Mannitol	10.0	กรัม
Phenol red	0.025	กรัม

Agar 15.0 กรัม

เตรียมโดยชั่งแมนนิทอลซอลต์ อะการ์ (บริษัท Scharlau) 111 กรัมละลายในน้ำกลั่น ต้มให้ละลายหมด ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร เทใส่ภาชนะที่เหมาะสม ฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัตโนมัติ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

12. เบรนฮาร์ทอินฟิวชันบรอต (Brain heart infusion broth) ประกอบด้วย

Infusion from calf brain	200.0	มิลลิลิตร
Infusion from beef heart	250.0	มิลลิลิตร
Protease peptone	10.0	กรัม
Dextrose	2.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Disodium phosphate	2.5	กรัม

เตรียมโดยนำส่วนผสมทั้งหมด ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร เทใส่หลอดแก้ว ฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งอัตโนมัติ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางเอ็มพีเอ็น (MPN Table)

ค่าเอ็มพีเอ็นต่อ 100 มิลลิลิตร สำหรับชุดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 3 หลอด เมื่อ  
เพาะตัวอย่าง 10 , 1 และ 0.1 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Collins และ Lyne, 1995)

Tubes positive			MPN	Tubes positive			MPN	Tubes positive			MPN
10 ml	1.0 ml	0.1 ml		10 ml	1.0 ml	0.1 ml		10 ml	1.0 ml	0.1 ml	
0	0	1	3	1	2	0	11	2	3	3	53
0	0	2	6	1	2	1	15	3	0	0	23
0	0	3	9	1	2	2	20	3	0	1	39
0	1	0	3	1	2	3	24	3	0	2	64
0	1	1	6	1	3	0	16	3	0	3	95
0	1	2	9	1	3	1	20	3	1	0	43
0	1	3	12	1	3	2	24	3	1	1	75
0	2	0	6	1	3	3	29	3	1	2	120
0	2	1	9	2	0	0	9	3	1	3	160
0	2	2	12	2	0	1	14	3	2	0	93
0	2	3	16	2	0	2	20	3	2	1	150
0	3	0	9	2	0	3	26	3	2	2	210
0	3	1	13	2	1	0	15	3	2	3	290
0	3	2	16	2	1	1	20	3	3	0	240
0	3	3	19	2	1	2	27	3	3	1	460
1	0	0	4	2	1	3	34	3	3	2	1100
1	0	1	7	2	2	0	21	3	3	3	1100+
1	0	2	11	2	2	1	28				
1	0	3	15	2	2	2	35				
1	1	0	7	2	2	3	42				
1	1	1	11	2	3	0	29				
1	1	2	15	2	3	1	36				
1	1	3	19	2	3	2	44				

ภาคผนวก ง

แบบประเมินผล การทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์หมายเลข .....

วันที่ .....

โปรดชิมตัวอย่าง และให้คะแนนโดยใส่เครื่องหมาย ✓ ในช่อง ( ) ตามระดับความชอบที่ต้องการ

คะแนน	ระดับความชอบ	สี	กลิ่น	รส	เนื้อสัมผัส	ลักษณะโดยรวม
9	ชอบมากที่สุด	( )	( )	( )	( )	( )
8	ชอบมาก	( )	( )	( )	( )	( )
7	ชอบปานกลาง	( )	( )	( )	( )	( )
6	ชอบเล็กน้อย	( )	( )	( )	( )	( )
5	อยู่ระหว่างชอบและไม่ชอบ	( )	( )	( )	( )	( )
4	ไม่ชอบเล็กน้อย	( )	( )	( )	( )	( )
3	ไม่ชอบปานกลาง	( )	( )	( )	( )	( )
2	ไม่ชอบมาก	( )	( )	( )	( )	( )
1	ไม่ชอบมากที่สุด	( )	( )	( )	( )	( )

## ภาคผนวก จ

### การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางผนวกที่ จ-1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าอัตราการไหลผ่านสายให้อาหารของผลิตภัณฑ์สเตอริไลซ์ที่เติมแป้งข้าวโพดปริมาณต่าง ๆ

แหล่งของความแปรปรวน	ชั้นแห่งความเป็นอิสระ (df)	ค่าผลบวกกำลังสอง (SS)	ค่าเฉลี่ยผลบวกกำลังสอง (MS)	F	P
Treatment	3	168.024	56.008	2903.222	0.000 *
Error	20	0.386	0.019		
รวม	23	168.410			

\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การทดสอบ Duncan's New Multiple Range Test

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยอัตราการไหลผ่านสายให้อาหารของผลิตภัณฑ์ที่เติมแป้งข้าวโพดปริมาณต่าง ๆ \*\*

ปริมาณแป้งข้าวโพด (ร้อยละ)	0.0	0.1	0.5	1.0
ค่าเฉลี่ยอัตราการไหล (มล./นาที)	8.72	7.04	4.01	1.89

\*\* ค่าเฉลี่ยที่ไม่ได้ขีดเส้นใต้ระหว่างคู่ แสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ จ-2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าอัตราการไหลผ่านสายให้อาหารของ  
ผลิตภัณฑ์พาสเจอร์ไรซ์ที่เติมแป้งข้าวโพดปริมาณต่าง ๆ

แหล่งของความแปรปรวน	ชั้นแห่งความเป็นอิสระ (df)	ค่าผลบวกกำลังสอง (SS)	ค่าเฉลี่ยผลบวกกำลังสอง (MS)	F	P
Treatment	3	165.530	55.177	2833.323	0.000 *
Error	20	0.389	0.019		
รวม	23	165.919			

\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การทดสอบ Duncan's New Multiple Range Test

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยอัตราการไหลผ่านสายให้อาหารของผลิตภัณฑ์ที่เติมแป้งข้าวโพดปริมาณต่าง ๆ \*\*

ปริมาณแป้งข้าวโพด (ร้อยละ)	0.0	0.1	0.5	1.0
ค่าเฉลี่ยอัตราการไหล (มล./นาที)	8.64	6.97	3.79	1.93

\*\* ค่าเฉลี่ยที่ไม่ได้ขีดเส้นใต้ระหว่างคู่ แสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ จ-3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความหนืดของผลิตภัณฑ์สเตอริไลซ์ที่  
ระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ

แหล่งของความแปรปรวน	ชั้นแห่งความเป็นอิสระ (df)	ค่าผลบวกกำลังสอง (SS)	ค่าเฉลี่ยผลบวกกำลังสอง (MS)	F	P
Treatment	3	365.897	121.966	56.944	0.000 *
Error	20	42.837	2.142		
รวม	23	408.734			

\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การทดสอบ Duncan's New Multiple Range Test

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความหนืดของผลิตภัณฑ์สเตอริไลซ์ที่ระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ \*\*

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	0	7	15	30
ค่าเฉลี่ยความหนืด (cps.)	122.13	123.35	120.41	113.27

\*\* ค่าเฉลี่ยที่ไม่ได้ขีดเส้นใต้ระหว่างคู่ แสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนค่าเฉลี่ยที่ขีดเส้นใต้ต่อกัน แสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



ตารางผนวกที่ จ-4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าอัตราการไหลผ่านสายให้อาหารของ  
ผลิตภัณฑ์สเตอริไลซ์ที่ระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ

แหล่งของความแปรปรวน	ชั้นแห่งความเป็นอิสระ (df)	ค่าผลบวกกำลังสอง (SS)	ค่าเฉลี่ยผลบวกกำลังสอง (MS)	F	P
Treatment	3	0.827	0.276	15.891	0.000 *
Error	20	0.347	0.017		
รวม	23	1.174			

\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การทดสอบ Duncan's New Multiple Range Test

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยอัตราการไหลผ่านสายให้อาหารของผลิตภัณฑ์สเตอริไลซ์ที่ระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ \*\*

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	0	7	15	30
ค่าเฉลี่ยอัตราการไหล (มล./นาที)	7.04	7.07	7.19	7.51

\*\* ค่าเฉลี่ยที่ไม่ได้ขีดเส้นใต้ระหว่างคู่ แสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนค่าเฉลี่ยที่ขีดเส้นใต้ต่อกัน แสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ จ-5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าออกซิโมแลติคซ์ของผลิตภัณฑ์สเตอริไลซ์ที่ระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ

แหล่งของความแปรปรวน	ชั้นแห่งความเป็นอิสระ (df)	ค่าผลบวกกำลังสอง (SS)	ค่าเฉลี่ยผลบวกกำลังสอง (MS)	F	P
Treatment	3	66.167	22.056	3.014	0.054 *
Error	20	146.333	7.317		
รวม	23	212.500			

\* ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ จ-6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์สเตอริไลซ์ที่ระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ

แหล่งของความแปรปรวน	ชั้นแห่งความเป็นอิสระ (df)	ค่าผลบวกกำลังสอง (SS)	ค่าเฉลี่ยผลบวกกำลังสอง (MS)	F	P
Treatment	3	0.018	0.006	2.867	0.062 *
Error	20	0.042	0.002		
รวม	23	0.060			

\* ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว นิรมล อังสุมาลี เกิดวันที่ 6 มกราคม พ.ศ. 2517 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีเภสัชศาสตรบัณฑิต จากคณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2538 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาอาหารเคมี และโภชนศาสตร์ทางการแพทย์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2543 ปัจจุบันรับราชการที่กลุ่มงานเภสัชกรรม โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยมราช จังหวัดสุพรรณบุรี



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย