สารบาญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบาญตาราง	ฌ
สารบาญภาพ	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
1.3 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย	3
1.4 ขอบเขตงานวิจัย	3
บทที่ 2 สาระสำคัญจากเอกสารที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 *Salmonella* spp.	5
2.2 โซเดียมแลกเทต	25
2.3 โซเดียมคลอไรด์	29
2.4 Predictive Microbiology	31
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	36
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	40
3.1 วัสดุสำหรับใช้ในการเลี้ยงเชื้อ	40
3.2 สารเคมี	40
3.3 อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเลี้ยงเชื้อ	41
3.4 วิธีการทดลอง	42
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	59
4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีและทางกายภาพ ของเชื้อจุลินทรีย์ ที่ใช้ในการทดลอง	59

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

หน้า

4.2 ผลการทดสอบการปนเปื้อนของสารที่ใช้ในการทดลอง และการวัดค่า pH ของโซเดียมแลกเทต 61
4.3 การทดลองเพื่อหาปริมาณของเชื้อเบื้องต้น 62
4.4 ผลการศึกษาการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) ในสภาวะของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี การผันแปรปัจจัยคือ โซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด- ด่าง อย่างละ 3 ระดับ 66
4.5 ผลการสร้างกราฟการเจริญเติบโต และการคำนวนเพื่อหาค่าพารามิเตอร์ ที่ต้องการศึกษาคือค่า Maximun growth rate(K) ค่า Maximum cell population (D) ค่า Lag phase duration (L) และ ค่า Generation Time(GT) 82
4.6 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมทางสถิติ 90
4.7 ผลการทดสอบความถูกต้องของสมการ 103
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 115
5.1 สรุปผลการทดลอง 115
5.2 ข้อเสนอแนะ 116
เอกสารอ้างอิง 117
ภาคผนวก 124
ภาคผนวก ก ภาพเชื้อ *Salmonella enterica* Weltevreden (DMST 17375) 125
ภาคผนวก ข วิธีการพื้นฐานในการตรวจหาจุลินทรีย์ในอาหาร 129
ภาคผนวก ค โปรแกรม LEKSAWASDI RSS MINIMISATION 131
ภาคผนวก ง ตารางการวิเคราะห์ ANOVA แบบ 3^3 Factorial in CRD และ ตารางการวิเคราะห์ Multiple Linear Regression 135
ภาคผนวก จ ตารางการวิเคราะห์ ANOVA แบบ 3^3 x 2 Factorial in CRD และ ตารางการวิเคราะห์ Multiple Linear Regression 156
ภาคผนวก ฉ อาหารเลี้ยงเชื้อ Brain Heart Infusion 169
ประวัติผู้เขียน 171

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบาญตาราง

ตาราง **หน้า**

2.1 สมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Salmonella* spp. 7

2.2 การจำแนก Species ใน Genus *Salmonella* 14

2.3 ปัจจัยด้านอุณหภูมิ pH และ a_w ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ *Salmonella* spp. 16

2.4 การกระจายของเชื้อที่พบได้บ่อย 10 ซีโรวาร์ จากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย 20

3.1 ระดับของโซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง ที่ใช้ในการทดลอง 51

4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) 59

4.2 ผลการวัดค่า pH ของโซเดียมแลกเทต 61

4.3 ปริมาณของเชื้อ *S.* Typhimurium ที่เจริญในเวลา 24 ชั่วโมง 62

4.4 ผลการตรวจนับปริมาณเชื้อ *Salmonella enterica* Weltevreden (DMST 17375) ในอาหารที่มีโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ บ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส ตรวจนับเชื้อเป็นจำนวน 24 ช่วงเวลา รวมทั้งหมด เป็นเวลา 17 วัน (408 ชั่วโมง) 63

4.5 จำนวนเชื้อ(log cfu/ml)ในแต่ละช่วงเวลาของการตรวจนับการเจริญ 67

4.6 ค่า pH ในแต่ละช่วงเวลาของการตรวจนับการเจริญ 69

4.7 ค่า A B C และ M ที่วิเคราะห์ได้จากการทดลองซ้ำที่ 1 83

4.8 ค่า A B C และ M ที่วิเคราะห์ได้ จากการทดลองซ้ำที่ 2 84

4.9 ค่า พารามิเตอร์ K (Maximun growth rate) 86

4.10 ค่า พารามิเตอร์ D (Maximum cell population) 87

4.11 ค่า พารามิเตอร์ L (Lag phase duration) 88

4.12 ค่า พารามิเตอร์ GT (Generation Time) 89

4.13 การเข้ารหัส (Code) ของระดับปัจจัย ที่ใช้ในการทดลอง 90

4.14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ 3^3 Factorial in CRD 91

4.15 Polynomial Equation ของ พารามิเตอร์ K D L และ GT ที่วิเคราะห์ได้ 98

4.16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ 3^3 x 2 Factorial in CRD 99

4.17 เปรียบเทียบค่าปริมาณเชื้อจากการทดลองและปริมาณเชื้อจากการทำนาย 105

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง **หน้า**

4.18 เปรียบเทียบปริมาณเชื้อจากการทดลองและปริมาณเชื้อจากการทำนายที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยการถอดค่า ln 108
ง-1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ แบบ Factorial in CRD ของค่า K 137
ง-2 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า K ที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียมแลกเทต 137
ง-3 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า K ที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียมคลอไรด์ 138
ง-4 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า K ที่ได้รับอิทธิพลจาก pH 138
ง-5 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ แบบ Factorial in CRD ของค่า D 139
ง-6 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า D ที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียมแลกเทต 139
ง-7 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า D ที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียมคลอไรด์ 140
ง-8 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า D ที่ได้รับอิทธิพลจาก pH 140
ง-9 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ แบบ Factorial in CRD ของ ค่า L 141
ง-10 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า L ที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียมแลกเทต 142
ง-11 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า L ที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียมคลอไรด์ 142
ง-12 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า L ที่ได้รับอิทธิพลจาก pH 143
ง-13 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ แบบ Factorial in CRD ของ ค่า Generation Time 143
ง-14 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า GT ที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียมแลกเทต 144
ง-15 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า GT ที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียมคลอไรด์ 144
ง-16 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า GT ที่ได้รับอิทธิพลจาก pH 145
ง-17 ผลการวิเคราะห์ Model Summary ของค่า K 147
ง-18 ผลการวิเคราะห์ ANOVA ของค่า K 147
ง-19 ผลการวิเคราะห์ Coefficients ของค่า K 148
ง-20 ผลการวิเคราะห์ Model Summary ของค่า K ด้วยตัวแปรเดิม 149
ง-21 ผลการวิเคราะห์ ANOVA ของค่า K ด้วย ตัวแปรเดิม 149
ง-22 ผลการวิเคราะห์ Coefficients ของค่า Kตัวแปรเดิม 150
ง-23 ผลการวิเคราะห์ Model Summary ของค่า D 150

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง **หน้า**

ง-24 ผลการวิเคราะห์ ANOVA ของค่า D 151
ง-25 ผลการวิเคราะห์ Coefficients ของค่า D 151
ง-26 ผลการวิเคราะห์ Model Summary ของค่า L 152
ง-27 ผลการวิเคราะห์ ANOVA ของค่า L 153
ง-28 ผลการวิเคราะห์ Coefficients ของค่า L 153
ง-29 ผลการวิเคราะห์ Model Summary ของค่า Generation Time 154
ง-30 ผลการวิเคราะห์ ANOVA ของค่า Generation Time 154
ง-31 ผลการวิเคราะห์ Coefficients ของค่า Generation Time 155
จ-1 การวิเคราะห์ ANOVA แบบ 3^3x 2 Factorial in CRD ของค่า K 157
จ-2 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า K ที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียมแลกเทต 157
จ-3 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า K ที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียมคลอไรด์ 158
จ-4 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า K ที่ได้รับอิทธิพลจาก pH 158
จ-5 การวิเคราะห์ ANOVA แบบ 3^3x 2 Factorial in CRD ของค่า D 159
จ-6 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า D ที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียมแลกเทต 159
จ-7 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า D ที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียมคลอไรด์ 160
จ-8 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า D ที่ได้รับอิทธิพลจาก pH 160
จ-9 ผลการวิเคราะห์ ANOVA แบบ 3^3x 2 Factorial in CRD ของค่า L 161
จ-10 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า L ที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียมแลกเทต 161
จ-11 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า L ที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียมคลอไรด์ 162
จ-12 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า L ที่ได้รับอิทธิพลจาก pH 162
จ-13 ผลการวิเคราะห์ ANOVA แบบ 3^3x 2 Factorial in CRD ของค่า GT 163
จ-14 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า GT ที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียมแลกเทต 163
จ-15 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า GT ที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียมคลอไรด์ 164
จ-16 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า GT ที่ได้รับอิทธิพลจาก pH 164
จ-17 ผลการวิเคราะห์ Model Summary ของค่า K 165
จ-18 ผลการวิเคราะห์ ANOVA ของค่า K 165

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง **หน้า**

จ-19 ผลการวิเคราะห์ Coefficients ของค่า K 165
จ-20 ผลการวิเคราะห์ Model Summary ของค่า D 166
จ-21 ผลการวิเคราะห์ ANOVA ของค่า D 166
จ-22 ผลการวิเคราะห์ Coefficients ของค่า D 166
จ-23 ผลการวิเคราะห์ Model Summary ของค่า L 167
จ-24 ผลการวิเคราะห์ ANOVA ของค่า L 167
จ-25 ผลการวิเคราะห์ Coefficients ของค่า L 167
จ-26 ผลการวิเคราะห์ Model Summary ของค่า GT 168
จ-27 ผลการวิเคราะห์ ANOVA ของค่า GT 168
จ-28 ผลการวิเคราะห์ Coefficients ของค่า GT 168

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบาญภาพ

ภาพ **หน้า**

2.1 การตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Salmonella* spp. 8

3.1 ลักษณะการหยดเชื้อลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ในการทำ Drop plate 54

3.2 การหาค่าของ A B C และ M ด้วย Gompertz's equation 56

4.1 ลักษณะเซลล์ของ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) จากการย้อมสีกรัม 60

4.2 ผลการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มี 64
โซเดียมแลกเทต 3 ระดับ คือ 0 %, 1.2 % และ 2.4 % และบ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

4.3 ผลการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มี 72
pH 3 ระดับ คือ 6.5 ,7.0 และ 7.5 และบ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

4.4 ผลการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มี 74
โซเดียมแลกเทต 3 ระดับ และ มีการปรับ pH เป็น 6.5 และบ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

4.5 ผลการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มี 76
โซเดียมแลกเทต 3 ระดับ และ มีการปรับ pH เป็น 7.0 และบ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

4.6 ผลการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มี 77
โซเดียมแลกเทต 3 ระดับ และ มีการปรับ pH เป็น 7.5 และบ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

4.7 ผลการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มี 79
โซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับ และ มีการปรับ pH เป็น 6.5 และบ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

4.8 ผลการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มี 80
โซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับ และ มีการปรับ pH เป็น 7.0 และบ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

4.9 ผลการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มี 81
โซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับ และ มีการปรับ pH เป็น 7.5และบ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

4.10 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการ 106
ทำนายของ *S. enterica* Weltevredenในอาหารที่ไม่เติมโซเดียมแลกเทต มี
โซเดียมคลอไรด์ 4 % มี pH เป็น 7.5 บ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ **หน้า**

4.11 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนาย ของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มีการเติม โซเดียมแลกเทต 1.2 % มีโซเดียมคลอไรด์ 4 % ค่าpH เป็น 7.5 บ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส 109

4.12 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนาย ของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มีการเติมโซเดียมแลกเทต 2.4 % ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์ ค่าpH เป็น 6.5 บ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส 109

4.13 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนาย ของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่เติมโซเดียมแลกเทต 2.4 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % มี pH เป็น 6.5 และบ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส 110

4.14 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนาย ของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มีการเติม โซเดียมแลกเทต 2.4 % โซเดียมคลอไรด์ 4 % มีpH เป็น 6.5 บ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส 111

4.15 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนาย ของ *S .enterica* Weltevreden ในอาหารที่ไม่มีการเติมโซเดียมแลกเทต ไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ มีpH เป็น 6.5 บ่มเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส 112

4.16 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนาย ของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มีการเติมโซเดียมแลกเทต 2.4 % ไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ มีค่าpH เป็น 6.5 และบ่มเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส 112

4.17 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนาย ของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มีการเติมโซเดียมแลกเทต 2.4 % มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 2 % มีค่า pH เป็น 6.5 และบ่มเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส 113

4.18 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนาย ของ *S .enterica* Weltevreden ในอาหารที่มีการเติมโซเดียมแลกเทต 2.4 % มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 4 % มีค่าpH เป็น 6.5 และบ่มเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส 114

ก-1 ลักษณะโคโลนีของ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) ที่เจริญใน อาหาร Brain Heart Infusion Agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 126

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ **หน้า**

ก-2 ลักษณะโคโลนีของ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) จากการ Drop Plate โดยเป็นเชื้อที่เจริญใน อาหาร Brain Heart Infusion Agar บ่มที่ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง 126

ก-3 ลักษณะโคโลนีของ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) ที่เจริญในอาหาร Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD Agar) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา24 ชั่วโมง 127

ก-4 ลักษณะโคโลนีของ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) ที่เจริญในอาหาร Brilliant-Green ,Phenol-red, Lactose, Sucrose Agar (BPLS Agar) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 127

ก-5 การทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) โดยทดสอบ ในอาหาร Triple Sugar Iron Agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 128

ก-6 การทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) โดยทดสอบในอาหาร Urea Agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 128

ค-1 ลักษณะหน้าต่างของโปรแกรม LEKSAWASDI RSS MINIMISATION 133

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved