บทที่ 4
ผลการทดลอง และวิจารณ์

4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีและทางกายภาพของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

4.1.1 ผลการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375)

แสดงดังตารางที่ 4.1

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

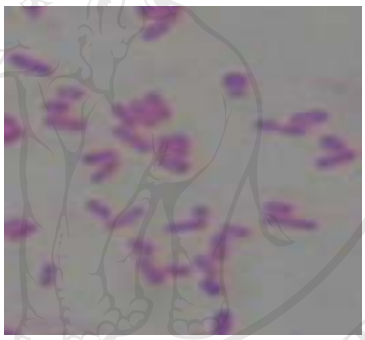
การทดสอบทางชีวเคมี	ผลการทดสอบ
การเลี้ยงเชื้อใน Selective media 2 ชนิดคือ	
- XLD	-ลักษณะโคโลนีของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหาร XLD จะมีสีชมพูแดง ตรงกลางเป็นสีดำ
- BPLS	- ลักษณะโคโลนีของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหาร BPLS จะเป็นสีแดงล้อมรอบด้วยโซนสีแดง
Biochem test	
- การทดสอบ TSI (Triple sugar Iron)	*S. enterica* Weltevreden จะให้ผลเป็น Alkaline slant /Acid butt , มีการสร้าง H_2S
- การทดสอบ Urea Agar	*S. enterica* Weltevreden ไม่สามารถใช้ Urea ได้ สีของอาหารเลี้ยงเชื้อจึงไม่เปลี่ยนแปลง
- การทดสอบ MIL (Motile Indole Lysine)	*S. enterica* Weltevreden จะให้ผล Indole เป็น ลบ Motile เป็น บวก Lysine เป็น บวก ,อาหารยังคงเป็นสีม่วง
- การทดสอบ MR-VP	*S .enterica* Weltevreden จะให้ผล MR เป็น บวก VP เป็น ลบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

จากผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *S. enterica* Weltevreden ดังแสดงในตาราง ที่4.1 วิเคราะห์ผลได้ว่า เชื้อที่นำมาใช้ในการทดสอบ มีคุณสมบัติของการเป็นเชื้อในกลุ่ม *Salmonella* spp. ส่วนการตรวจสอบ Serological Test นั้น อาศัยข้อมูลที่ได้จาก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดนนทบุรี ที่ระบุผลการทดสอบทาง Serological Test มาพร้อมกับเชื้อ *S. enterica* Weltevreden ว่าเป็น *S. enterica* Weltevreden <3,10:r:Z_6> คือ เชื้อมี O-antigen group 3 และ 10 มี H-antigen Phase-1 คือ r และ H-antigen Phase-2 คือ Z_6

4.1.2 การศึกษาลักษณะทางกายภาพของเชื้อด้วยวิธีการย้อมสีกรัม ได้ผลดังนี้

ลักษณะโคโลนีของ *S. enterica* Weltevreden มีลักษณะเป็นรูปแท่งสั้น ย้อมติดสีกรัมลบ โดยโคโลนีติดสีแดงของ Carbon Fuchsin (Doyler. *et al*. 2001) แสดงดังภาพที่ 4.1



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

จากผลการย้อมสีกรัม ช่วยยืนยันได้ในอีกระดับหนึ่งว่าเชื้อที่ใช้ทดลอง มีคุณสมบัติที่ตรงตามคุณสมบัติของ เชื้อในกลุ่ม *Salmonella* spp. อีกทั้งมีความบริสุทธิ์ เหมาะสมในการนำไปใช้ในการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2 ผลการทดสอบการปนเปื้อนของสารที่ใช้ในการทดลอง และการวัดค่า pH ของโซเดียมแลกเทต

ผลการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ (BHIB) และสารที่ใช้ในการเจือจางจุลินทรีย์ (MRD) พบว่าผลการตรวจนับเชื้อในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากการสุ่ม BHIB 3 ขวด และ MRD 3 หลอด มาทำการ Pour plate นั้น ตรวจไม่พบเชื้อในจานอาหารเลย ทั้ง 27 ชุดการทดลอง ทำให้มั่นใจได้ว่าสารที่ใช้ในการทดลองอยู่ในสภาพปลอดเชื้อ และหากเกิดการปนเปื้อนภายหลัง จะวิเคราะห์ได้ว่าไม่ได้เกิดจากการปนเปื้อนในสารเหล่านี้ แต่อาจเกิดจากปัจจัยอื่น

ตารางที่ 4.2 ผลการวัดค่า pH ของโซเดียมแลกเทต

การวัดค่า pH ของโซเดียมแลกเทต	ก่อนนึ่งฆ่าเชื้อ	หลังนึ่งฆ่าเชื้อ
1. ขวดที่ 1	6.63	6.63
2. ขวดที่ 2	6.63	6.62
3. ขวดที่ 3	6.62	6.63
ค่าเฉลี่ย	6.627$\pm$ 0.01	6.627$\pm$ 0.01

หมายเหตุ: ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การวัด pH ของโซเดียมแลกเทต ทำขึ้นเพื่อทดสอบว่าสภาวะที่ใช้ในการนึ่งฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีนั้น จะมีผลต่อ pH ของโซเดียมแลกเทตหรือไม่ เพราะ pH เป็นปัจจัยหนึ่งของการทดลองนี้ พบว่า ค่า pH ก่อนและหลังการนึ่งฆ่าเชื้อ ไม่เปลี่ยนแปลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.3 การทดลองเพื่อหาปริมาณของเชื้อเบื้องต้น

4.3.1 ผลการทดลองเพื่อหาปริมาณของเชื้อ *S.* Typhimurium ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว BHIB และบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ทำการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว BHIB และบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 4.3 ปริมาณของเชื้อ *S.* Typhimurium ที่เจริญในเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น	จำนวนโคโลนี จากขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ 1		จำนวนโคโลนี จากขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ 2	
	จานที่ 1	จานที่ 2	จานที่ 1	จานที่ 2
10^{-2}	> 300	> 300	> 300	> 300
10^{-3}	> 300	> 300	> 300	> 300
10^{-4}	> 300	> 300	> 300	> 300
10^{-5}	> 300	> 300	> 300	> 300
10^{-6}	> 300	> 300	255	> 300
10^{-7}	109	95	137	172
10^{-8}	35	21	35	32
10^{-9}	2	12	5	0
จำนวนเชื้อที่คำนวณได้	1.14×10^{9} = log 9.06 cfu/ml		5.17×10^{8} = log 8.71 cfu/ml	
จำนวนเชื้อ เฉลี่ย	log 8.89 cfu/ml			

จำนวนโคโลนีของเชื้อ *S.*Typhimurium ที่ตรวจนับได้ เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว BHIB ครบ 24 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ย เท่ากับ log 8.89 cfu/ml หรือเท่ากับ 7.76×10^{8} จึงใช้จำนวนเชื้อนี้เป็นจำนวนอ้างอิงในการเจือจางเชื้อสำหรับใช้ในการทดลอง เพื่อศึกษาการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden ในสภาวะอาหารที่มีการปรับระดับของ โซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และ pH เป็น 3 ระดับ ถึงแม้เชื้อที่ใช้ในขั้นตอนนี้ ไม่ใช่เชื้อใน Species เดียวกันกับที่ใช้ในการทดลองจริง แต่จากงานวิจัยของ Oscar T. P. (1998) กล่าวว่า แต่ละ Species ของ *S.*spp. ที่เลี้ยงในอาหาร BHIB จะมี Growth kinetics ที่ไม่แตกต่างกัน โดยเฉพาะค่าของ Lag phase ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

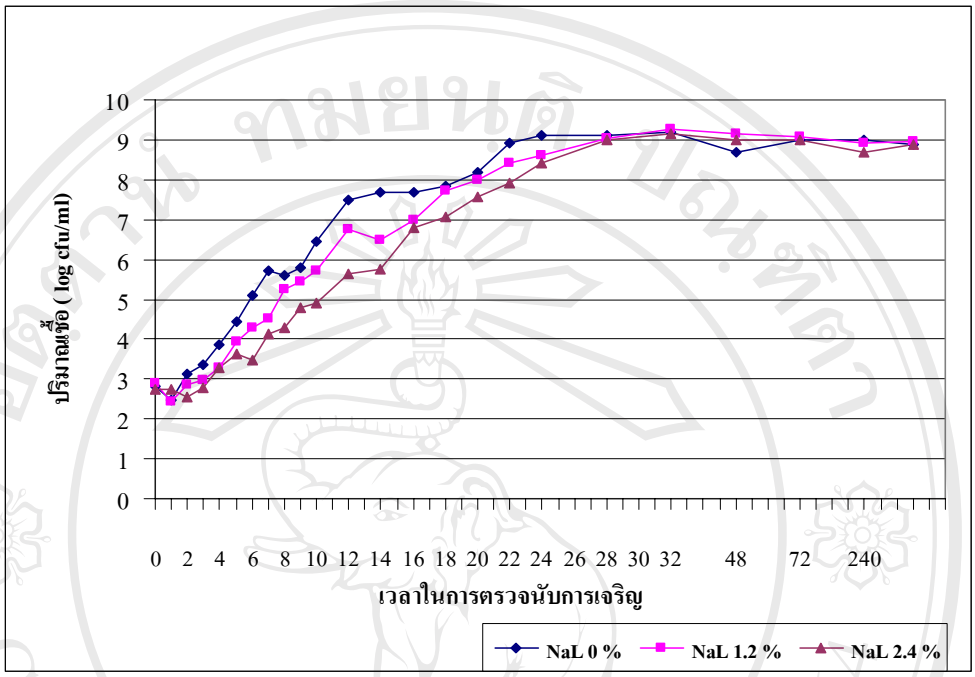
4.3.2 ผลการทดลองเพื่อศึกษาการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) ในอาหารที่มี โซเดียมแลกเทต 3 ระดับ คือ 0 %, 1.2 % และ 2.4 % โดยไม่มีการเติมปัจจัยอื่นในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ตารางที่ 4.4 ผลการตรวจนับปริมาณเชื้อ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) ในอาหารที่มีโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ บ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส ตรวจนับเชื้อเป็นจำนวน 24 ช่วงเวลา รวมทั้งหมดเป็นเวลา 17 วัน (408 ชั่วโมง)

ช่วงเวลา(ชม)	จำนวนเชื้อเฉลี่ย จาก 2 ซ้ำ ของ 3 ชุดการทดลอง (log cfu/ml)		
	โซเดียมแลกเทต 0 %	โซเดียมแลกเทต 1.2 %	โซเดียมแลกเทต 2.4 %
0	2.81	2.91	2.83
1	2.47	2.45	2.75
2	3.14	2.85	2.54
3	3.35	2.97	2.78
4	3.88	3.30	3.28
5	4.44	3.94	3.63
6	5.08	4.28	3.49
7	5.71	4.53	4.13
8	5.58	5.24	4.27
9	5.78	5.46	4.79
10	6.46	5.70	4.91
12	7.49	6.74	5.62
14	7.67	6.50	5.74
16	7.70	7.00	6.81
18	7.82	7.73	7.05
20	8.20	8.00	7.56
22	8.90	8.42	7.93
24	9.11	8.61	8.40
28	9.13	9.03	9.00
32	9.17	9.25	9.14
48	8.70	9.16	9.00
72	9.00	9.08	8.99
240	8.98	8.92	8.67
408	8.87	8.96	8.89

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

จากผลการทดลองสามารถแสดงกราฟการเจริญของเชื้อ *S. enterica* Weltevreden ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม โซเดียมแลกเทต 3 ระดับ คือ 0 ,1.2 % และ 2.4 % ได้ดังภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 ผลการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มีโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ คือ 0 %, 1.2 % และ 2.4 % และบ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ : จุดในชั่วโมงที่ 0-32 แสดงจุดจาก Scale จริง

ส่วนจุดที่ 48, 72, 240 และ 408 เป็น Scale ที่กำหนดขึ้น

จากภาพที่ 4.2 แสดงให้เห็นถึงลักษณะของกราฟการเจริญของเชื้อ *S. enterica* Weltevreden ในสภาวะของอาหารที่มีระดับของ โซเดียมแลกเทต 3 ระดับ คือ 0 %, 1.2 % และ 2.4 % และบ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส การทดลองในขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบถึงผลของโซเดียมแลกเทต เพียงปัจจัยเดียวว่าจะมีผลต่อการเจริญของเชื้อแตกต่างกันอย่างไร เพื่อนำข้อมูลในขั้นตอนนี้ไปใช้ในการตัดสินใจเลือกช่วงเวลาที่เหมาะสม ในการทดลองที่จะมีการปรับระดับของปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัยเป็น 3 ระดับ ซึ่งการทดลองในขั้นตอนต่อไปนั้นจะประกอบด้วยชุดการทดลองจำนวน 27 ชุดการทดลอง ช่วงเวลาที่ใช้ในการทดลองจึงต้องเหมือนกันและต้องเป็นช่วงเวลาที่คลอบคลุมในทุกช่วงการเจริญของเชื้อ

ขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาแบบกว้าง เพื่อหาช่วงเวลาของ Lag phase , Exponential phase และ Stationary phase ของเชื้อ ซึ่งได้รับอิทธิพลจากโซเดียมแลกเทตเพียงปัจจัยเดียว จากภาพกราฟที่ 4.2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต ทั้ง 3 ระดับ มีผลต่อการเจริญของเชื้อแตกต่างกัน โดยกราฟที่แสดงถึงการเจริญของเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ที่ไม่ได้เติม โซเดียมแลกเทต เชื้อจะมี lag phase สั้น การเจริญช่วง Exponential phase เร็ว และเจริญถึง Stationary phase เร็ว เมื่อเชื้อเจริญได้เร็วจะมีผลให้ปริมาณของเชื้อในทุกช่วงของการเจริญมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับอีก 2 เส้นกราฟ คือเส้นที่แสดงถึงการเจริญของเชื้อในอาหารเหลวที่เติม โซเดียมแลกเทต 1.2% และ 2.4% โดยที่ความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทตที่ 1.2 % 2.4 % นี้จะพบว่าการเจริญในทุกช่วงช้าลง Lag phase ยาวขึ้น แต่เมื่อเปรียบเทียบ Lag phase แล้วพบว่าไม่แตกต่างกันมากนัก ในส่วนของปริมาณเชื้อจะพบว่าน้อยกว่ากราฟที่แสดงการเจริญในอาหารที่ไม่เติมโซเดียมแลกเทตในทุกช่วง แต่เมื่อเชื้อจากทั้ง 3 สภาวะ เจริญจนถึง Stationary phase พบว่าทั้ง 3 สภาวะ เข้าสู่ช่วงนี้ใกล้เคียงกันที่ชั่วโมงที่ 24 และมีปริมาณเชื้อในช่วงนี้ไม่แตกต่าง กัน แสดงให้เห็นว่า โซเดียมแลกเทตมีผลต่อการเจริญของเชื้อโดยจะมีอาจจะผลต่อปริมาณเชื้อมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นมากขึ้น แต่ในกรณีของ Lag phase แล้วพบว่าไม่แตกต่างกันมากนัก และจากการทดลองจะสามารถเลือกช่วงเวลาได้ 18 ช่วงเวลา ซึ่งจะใช้ในการทดลองในขั้นตอนต่อไปคือ ชั่วโมงที่ 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 22, 26, 30, 198, 366 และ 534

โดยมีความจำเป็นต้องทำการทดลองในช่วง ชั่วโมงที่ 0-4 ทุก ๆ ชั่วโมง เพราะเมื่อสังเกตจากภาพกราฟที่ 4.2 จะเห็นได้ว่าช่วงเวลา 4 ชั่วโมงนี้เชื้อยังคงเจริญอยู่ใน Lag phase และจะเริ่มเจริญขึ้นใน Exponential phase หลังจากชั่วโมงที่ 4 ไปแล้ว ดังนั้นในช่วงเวลานี้จึงต้องทำการตรวจนับการเจริญของเชื้อแบบถี่ทุกชั่วโมง เพราะหากทำการทดลองด้วยเวลาที่ห่างออกไปอาจมีผลให้ไม่สามารถเก็บข้อมูลในช่วง Lag phase ได้ครบ ช่วงเวลาหลังจาก 4 ชั่วโมงแรก จะตรวจนับการเจริญของเชื้อด้วยช่วงเวลาที่ห่างออกเป็น 2 ชั่วโมง จนถึงช่วงเวลาที่ผ่านไป 18 ชั่วโมงแล้ว จะเพิ่มช่วงห่างเป็น 4 ชั่วโมง เพราะช่วงนี้เชื้อเริ่มเข้าสู่ Stationary phase แล้ว และสามารถทิ้งช่วงห่างออกไปอีกได้

จากภาพกราฟที่ 4.2 นี้จะเห็นว่า 2 จุดสุดท้ายของกราฟ จะแทนค่าเป็นจุดของชั่วโมงที่ 240 และ 408 ชั่วโมง ซึ่งเห็นได้ว่าเชื้อยังคงเจริญได้ในช่วง Stationary phase ยังไม่เข้าสู่ Death phase ในการทดลองขั้นต่อไป จึงได้เพิ่มเวลาในการตรวจนับเพิ่มเป็น 366 และ 534 ชั่วโมง เพื่อศึกษาว่าในสภาวะของเชื้อที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปรับระดับของปัจจัยต่าง ๆ แล้ว ปัจจัยเหล่านั้นจะมีผลต่อเชื้อทำให้เข้าสู่ Death phase หรือไม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.4 ผลการศึกษาการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) ในสภาวะของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี การผันแปรปัจจัยคือ โซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง อย่างละ 3 ระดับ

ในขั้นตอนนี้จะเป็นการศึกษาถึงผลร่วมกันของปัจจัย 3 ปัจจัย คือ โซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และ pH โดยในแต่ละปัจจัยแบ่งออกเป็น 3 ระดับคือ

1. โซเดียมแลกเทต 0, 1.2 และ 2.4 เปอร์เซ็นต์
2. โซเดียมคลอไรด์ 0, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์
3. ความเป็นกรด-ด่าง 6.5, 7.0 และ 7.5

วางแผนการทดลองแบบ 3^3 Factorial in CRD โดยชุดการทดลองจะมีทั้งหมด 27 ชุด ในแต่ละชุดการทดลอง จะทำการเก็บข้อมูล 2 ค่า คือ ค่าของจำนวนเชื้อ (log cfu/ml) และ ค่า pHของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ ใน 18 ช่วงเวลา รวบรวมผลการทดลองได้ดังตารางที่ 4.5 และ 4.6 และเพื่อให้ง่ายต่อการวิเคราะห์ในขั้นตอนนี้จะทำการหาค่าเฉลี่ยของเชื้อ เพื่อสร้างกราฟที่อธิบายได้ง่าย

ค่าจำนวนของเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลอง (Inoculum level) ในแต่ละชุดการทดลอง จะเตรียมให้มีปริมาณใกล้เคียงกันโดยใช้วิธีการแบบเดียวกันเพื่อเหตุผลไม่ให้เกิดความแตกต่างในผลของการทดลองเพราะหาก Inoculum level ต่างกันอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อผลการทดลอง ทำให้ผลที่ได้ไม่ได้มาจากปัจจัยที่ใช้ในการทดลองเพียงอย่างเดียว แต่ได้รับอิทธิพลจาก Inoculum level ร่วมเข้ามา

ในสภาวะของอาหารชนิดเดียวกัน หากค่าของ Inoculum level แตกต่างกัน จะส่งผลต่อค่า ของพารามิเตอร์บางตัวใน Growth Kinetic มีรายงานว่า Inoculum Level มีอิทธิพลต่อค่า เปอร์เซ็นต์ของการเริ่มตรวจพบการเจริญของเชื้อ (Time to detect) ทำให้ตรวจพบได้แตกต่างกัน (Cogan T.A., *et al*. 2001) อาจเป็นเพราะว่าเมื่อ Inoculum Level ต่ำ จะทำให้เชื้อได้รับอิทธิพลจากปัจจัยต่าง ๆ ในอาหารได้มาก ทำให้เจริญได้ช้ากว่า และ มี Generation Time ที่ยาวกว่าด้วย แต่ในกรณีที่มี Inoculum Level สูงกว่า เชื้อปริมาณมากได้รับอิทธิพลของปัจจัยน้อยกว่าทำให้ซ่อมแซมเซลล์ได้เร็วและเจริญได้เร็วกว่า

แต่ในกรณีของ Maximum Growth rate พบว่า Maximum Growth rate ของเชื้อแบคทีเรียหลาย ๆ ตัว รวมทั้ง *Salmonella* spp. จะเป็นอิสระไม่ขึ้นกับค่า ของ Inoculum level (Zhao.L ., *et al*. 2002) ไม่ว่าจะทำการทดสอบกับเชื้อในสภาวะของอาหารเลี้ยงเชื้อแบบใด รวมทั้งจะไม่มีผลต่อปริมาณของเชื้อ ใน Stationary Phase อีกด้วย (Jeanne-M.M , *et al*.(2005)

จากการทดลองนี้ พบมีเพียง บางชุดการทดลองเท่านั้นที่มีค่าของ Inoculum level ต่ำกว่าในชุดการทดลองอื่น ๆ เพราะปริมาณของ Inoculum level ที่น้อยกว่าอาจส่งผลทำให้ Lag phase ยาวขึ้น (Cogan T.A., *et al*. 2001) ทำให้วิเคราะห์ได้ยาก เพราะไม่อาจทราบได้ว่า Lag phase ที่ยาวขึ้นนี้ จะเป็นผลมาจาก ระดับของปัจจัยในการทดลอง หรือได้รับอิทธิพลจาก Inoculum level ร่วมด้วย จึงต้องอาศัยการวิเคราะห์ทางสถิติเข้าร่วม เพื่อให้เห็นถึงอิทธิพลของปัจจัย ว่ามีต่อค่า Lag phase มากน้อยเพียงใด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 45 จำนวนเชื้อ(log cfu/mL) ในแต่ละช่วงเวลาของการตรวจนับการเจริญ (ชม.)

No.	Combination			จำนวนเชื้อ(log cfu/ml) ในแต่ละช่วงเวลาในการตรวจนับการเจริญ (ชม.)																
	NaL	Nacl	pH	0	1	2	3	4	6	8	10	12	14	16	18	22	26	30	198	366	534
1	0	0	6.5	3.16	3.23	3.68	4.09	4.32	4.99	5.85	6.97	7.75	8.24	8.58	8.82	8.98	8.91	9.02	8.84	8.21	8.39
2	0	0	7.0	3.02	3.08	3.79	4.24	4.48	5.12	6.03	7.04	8.16	8.78	8.95	9.23	8.93	9.01	8.97	9.62	8.47	8.25
3	0	0	7.5	3.22	3.66	3.81	4.33	4.57	5.65	6.50	7.41	8.34	9.09	8.92	8.97	9.31	9.21	9.12	9.23	8.92	9.02
4	0	2	6.5	3.17	3.18	3.51	3.92	4.26	4.73	5.34	6.34	7.43	8.11	8.38	8.78	8.81	8.92	8.77	8.54	8.70	8.05
5	0	2	7.0	3.19	3.30	3.56	4.09	4.55	4.83	6.15	7.13	8.22	8.43	8.88	9.15	8.92	9.11	8.98	8.70	8.90	8.42
6	0	2	7.5	3.27	3.32	3.74	3.84	4.14	5.12	5.81	6.60	7.27	8.00	8.69	9.12	9.25	9.21	9.24	8.61	8.32	8.94
7	0	4	6.5	3.00	2.30	2.70	2.98	2.89	3.75	4.00	5.30	5.34	6.06	6.35	6.77	7.37	8.03	8.51	8.60	8.58	8.44
8	0	4	7.0	2.78	2.53	2.93	2.69	2.85	3.87	4.30	5.19	5.30	5.69	6.56	7.30	7.83	8.13	8.54	8.60	8.11	7.81
9	0	4	7.5	3.21	3.23	3.49	3.29	3.52	3.84	4.36	4.91	5.32	5.91	5.95	6.79	7.85	8.21	8.87	7.97	8.50	8.34
10	1.2	0	6.5	2.56	2.54	2.50	2.91	3.20	3.70	4.37	5.31	6.02	6.32	7.01	8.10	8.58	8.70	8.82	8.66	8.46	8.14
11	1.2	0	7.0	2.30	2.65	3.04	3.15	3.35	4.13	4.78	5.64	6.22	6.77	7.11	8.38	9.16	9.09	8.86	8.76	8.84	8.78
12	1.2	0	7.5	3.38	3.37	3.54	3.92	4.00	5.47	6.24	7.36	8.17	8.81	9.32	9.14	9.11	9.02	9.09	9.00	9.05	8.95
13	1.2	2	6.5	3.14	3.11	2.99	3.08	3.42	3.89	4.50	4.96	5.68	6.46	6.90	7.12	8.20	8.55	8.75	8.86	7.98	9.03
14	1.2	2	7.0	3.11	2.96	2.96	3.17	3.28	3.78	4.27	4.90	5.51	6.11	6.57	6.91	8.53	9.10	8.77	7.93	8.40	9.03
15	1.2	2	7.5	3.36	3.27	3.42	3.44	3.71	4.43	5.24	5.95	6.78	7.57	7.93	8.23	8.97	9.14	9.03	9.00	8.47	8.86

หมายเหตุ :ข้อมูลในตารางเป็นข้อมูลเฉลี่ยจากการทำการทดลอง 2 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 45 (ต่อ)

No	Combination			จำนวนเชื้อ(log cfu/ml) ในแต่ละช่วงเวลาในการตรวจนับการเจริญ (ชม.)																
	NaL	Nacl	pH	0	1	2	3	4	6	8	10	12	14	16	18	22	26	30	198	366	534
16	1.2	4	6.5	2.92	3.08	3.09	3.16	3.15	3.30	3.58	3.86	4.04	4.62	5.65	5.30	5.99	6.97	7.80	8.70	8.52	7.88
17	1.2	4	7.0	2.90	3.11	3.08	3.26	3.14	3.38	3.79	3.91	4.46	5.10	5.30	6.10	6.58	7.31	7.83	8.34	8.25	7.76
18	1.2	4	7.5	3.11	3.07	3.19	3.22	3.31	3.38	3.84	3.61	4.54	5.01	5.30	5.69	6.25	7.33	7.67	8.46	7.78	8.21
19	2.4	0	6.5	3.37	3.40	3.42	3.83	4.23	5.05	5.96	6.76	7.42	8.33	8.37	8.64	8.73	8.75	8.64	8.44	8.89	8.76
20	2.4	0	7.0	3.18	3.22	3.47	3.93	4.27	5.09	5.91	6.82	7.69	8.21	8.72	8.88	8.86	8.87	8.67	8.94	9.01	8.67
21	2.4	0	7.5	2.97	3.22	3.28	3.41	3.70	4.43	5.25	5.85	6.50	7.11	7.93	8.45	8.70	8.64	8.85	8.89	8.78	8.16
22	2.4	2	6.5	3.19	3.31	3.32	3.46	3.69	4.03	4.48	5.04	5.64	6.13	6.60	7.22	8.17	8.39	8.55	8.56	8.70	8.69
23	2.4	2	7.0	2.97	3.05	3.19	3.44	3.76	4.16	4.77	5.37	5.87	6.39	6.72	7.50	8.48	8.66	8.52	8.42	8.59	8.25
24	2.4	2	7.5	2.96	2.92	2.89	3.13	3.18	3.34	3.81	4.02	4.50	4.88	5.25	5.94	6.65	7.41	7.91	8.90	7.92	8.85
25	2.4	4	6.5	3.15	3.10	3.28	3.11	3.12	2.93	3.38	3.72	4.04	4.26	4.62	4.90	5.39	6.22	6.51	8.51	7.87	8.08
26	2.4	4	7.0	3.14	2.92	3.01	3.12	3.14	3.26	3.68	3.97	4.15	4.57	5.22	5.12	5.73	6.47	6.63	8.38	7.97	7.80
27	2.4	4	7.5	3.28	2.77	2.96	2.87	2.86	3.24	3.39	3.75	4.13	4.18	4.68	5.03	5.50	6.22	6.79 *	8.37	7.91	7.70

หมายเหตุ : ข้อมูลในตารางเป็นข้อมูลเฉลี่ยจากการทำการทดลอง 2 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.6 ค่า pH ในแต่ละช่วงเวลาในการตรวจนับการเจริญ (ชม.)

No.	Combination			ค่า pH ในแต่ละช่วงเวลาในการตรวจนับการเจริญ (ชม.)																	
	NaL	Nacl	pH	0	1	2	3	4	6	8	10	12	14	16	18	22	26	30	198	366	534
1	0	0	6.5	6.63	6.65	6.67	6.74	6.66	6.75	6.52	6.67	6.64	6.49	6.28	6.11	5.73	5.94	5.92	7.44	8.29	8.51
2	0	0	7.0	7.01	7.04	7.04	7.06	7.09	7.05	7.04	7.03	6.93	6.53	6.13	6.02	5.94	6.09	6.73	7.41	8.29	8.56
3	0	0	7.5	7.43	7.45	7.46	7.47	7.44	7.54	7.44	7.37	6.75	5.78	5.81	5.82	5.83	5.83	5.86	7.47	7.21	7.83
4	0	2	6.5	6.46	6.43	6.47	6.45	6.43	6.45	6.46	6.48	6.35	6.32	6.26	6.09	5.51	5.49	5.56	5.93	6.56	7.28
5	0	2	7.0	6.98	6.92	6.87	6.98	6.98	6.89	6.88	6.94	6.92	6.55	6.27	6.07	5.71	5.74	5.76	7.12	8.05	8.34
6	0	2	7.5	7.43	7.44	7.41	7.38	7.39	7.47	7.43	7.42	7.29	6.94	6.13	5.69	5.66	5.65	5.66	6.78	7.25	7.23
7	0	4	6.5	6.55	6.59	6.60	6.50	6.50	6.47	6.44	6.49	6.64	6.49	6.40	6.37	6.11	5.65	5.32	5.55	6.01	7.24
8	0	4	7.0	7.05	7.17	7.21	7.13	7.05	7.06	7.08	7.16	7.18	7.02	7.04	6.84	5.99	5.90	5.78	6.17	7.03	7.82
9	0	4	7.5	7.45	7.46	7.40	7.40	7.42	7.47	7.45	7.45	7.47	7.48	7.50	7.40	7.01	6.48	5.77	7.31	8.06	8.45
10	1.2	0	6.5	6.53	6.55	6.54	6.54	6.56	6.58	6.57	6.58	6.57	6.54	6.44	6.28	5.93	5.83	5.63	5.92	5.75	6.01
11	1.2	0	7.0	7.05	7.05	7.04	7.04	7.07	7.09	7.09	7.10	7.07	6.95	6.61	6.17	5.73	5.64	5.56	5.89	6.19	7.66
12	1.2	0	7.5	7.51	7.54	7.53	7.52	7.55	7.45	7.49	7.42	7.21	6.43	5.83	5.80	5.82	5.84	5.89	7.86	7.77	8.44
13	1.2	2	6.5	6.47	6.44	6.46	6.48	6.42	6.44	6.46	6.43	6.44	6.43	6.44	6.37	6.09	5.88	5.78	6.18	6.47	8.27
14	1.2	2	7.0	6.98	7.03	7.07	7.06	7.01	7.01	7.03	7.00	7.02	7.01	6.94	6.86	6.39	5.89	5.78	7.04	7.61	7.12
15	1.2	2	7.5	7.49	7.48	7.46	7.46	7.47	7.44	7.44	7.41	7.41	7.36	7.17	6.89	6.48	5.72	5.80	7.28	6.82	8.09

หมายเหตุ : ข้อมูลในตารางเป็นข้อมูลเฉลี่ยจากการทำการทดลอง 2 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.6 (ต่อ)

No	Combination			ค่า pH ในแต่ละช่วงเวลาในการตรวจนับการเจริญ (ชม.)																
	NaL	NaCl	pH	0	1	2	3	4	6	8	10	12	14	16	18	22	26	30	198	366	534
16	1.2	4	6.5	6.54	6.53	6.54	6.56	6.55	6.52	6.54	6.52	6.54	6.52	6.55	6.53	6.55	6.54	6.42	6.30	6.86	7.61
17	1.2	4	7.0	7.05	7.09	7.08	7.08	7.08	7.06	7.07	7.09	7.10	7.06	7.06	7.01	7.11	7.02	6.53	6.80	7.04	7.46
18	1.2	4	7.5	7.46	7.45	7.47	7.42	7.44	7.47	7.52	7.40	7.43	7.44	7.40	7.48	7.45	6.94	6.98	7.27	7.84	7.46
19	2.4	0	6.5	6.51	6.56	6.56	6.53	6.53	6.57	6.56	6.55	6.56	6.27	6.22	6.06	5.94	5.89	5.87	6.37	7.09	7.90
20	2.4	0	7.0	6.99	6.96	6.94	6.94	6.95	7.01	6.97	6.97	6.92	6.60	6.23	6.06	5.91	5.87	5.88	6.92	7.55	7.90
21	2.4	0	7.5	7.50	7.58	7.63	7.63	7.60	7.64	7.64	7.61	7.52	7.46	7.00	6.43	5.95	6.01	6.04	7.53	8.32	7.46
22	2.4	2	6.5	6.52	6.50	6.51	6.52	6.51	6.50	6.53	6.53	6.49	6.50	6.47	6.44	6.28	6.05	5.96	6.13	7.16	7.22
23	2.4	2	7.0	6.96	7.00	6.95	6.96	6.93	7.00	7.02	6.95	6.98	6.98	6.93	6.86	6.35	6.06	5.99	6.91	7.08	7.45
24	2.4	2	7.5	7.56	7.54	7.56	7.53	7.60	7.53	7.54	7.60	7.57	7.58	7.52	7.56	7.54	7.23	7.00	7.42	7.89	7.20
25	2.4	4	6.5	6.50	6.48	6.53	6.48	6.51	6.50	6.52	6.52	6.50	6.49	6.54	6.53	6.52	6.51	6.45	6.27	7.47	7.93
26	2.4	4	7.0	6.98	6.97	7.00	6.97	6.96	6.95	6.97	6.95	6.90	6.92	6.99	6.98	7.00	6.97	6.94	6.53	7.38	7.92
27	2.4	4	7.5	7.53	7.50	7.47	7.47	7.48	7.49	7.45	7.46	7.46	7.48	7.45	7.44	7.46	7.46	7.30 *	7.75	8.03	7.53

หมายเหตุ : ข้อมูลในตารางเป็นข้อมูลเฉลี่ยจากการทำการทดลอง 2 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กรณีของ Death rate สำหรับการทดลองนี้ พบว่าแม้จะทำการเลี้ยงเชื้อในแต่ละสภาวะจนถึงชั่วโมงที่ 534 ไม่พบว่ามีชุดการทดลองใดที่เชื้อตาย ยังคงสามารถตรวจนับการเจริญของเชื้อได้ โดยปริมาณของเชื้อที่ตรวจนับได้มีค่าเท่ากับ log 8-9 cfu/ml ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากการที่เชื้อเจริญในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม ทำให้การเจริญของเชื้อช้ากว่า เมื่อเทียบกับการเจริญในอุณหภูมิที่เหมาะสม การเจริญในแต่ละช่วงใช้เวลานาน และจะนานขึ้นเมื่อมีระดับของปัจจัยต่าง ๆ เข้ามามีอิทธิพลร่วมด้วย ทำให้เมื่อเลี้ยงถึง 534 ชั่วโมงก็ยังคงเจริญอยู่ได้

ในการทดลองนี้ ไม่สามารถทำการปรับ Inoculum level ของเชื้อให้ต่ำกว่า 10^3 cfu/ml ได้ หรือให้ค่าของ Inoculum level เท่ากับ 1 โคโลนีได้ เพราะหากทำการเจือจางจนได้ปริมาณที่ต่ำกว่านี้ อาจเกิดปัญหาในการควบคุมปริมาณเชื้อเริ่มต้น เพราะเชื้อจะถูกเจือจางลงมาก

จากผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.5 และ 4.6 สามารถอธิบายถึงความสัมพันธ์ ระหว่างค่า pH เฉลี่ย และ ค่าของจำนวนเชื้อเฉลี่ย (log cfu/ml) ในแต่ละช่วงเวลาที่ทำการศึกษา กล่าวคือ จากการทดลองเมื่อสังเกตค่าของ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อในแต่ละชุดการทดลอง จะพบว่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว BHI ที่ใช้เลี้ยงเชื้อ จะถูกนำมาวัดค่า pH ในแต่ละช่วงเวลาที่ผ่านไปควบคู่กับการตรวจนับการเจริญของเชื้อในแต่ละช่วงเวลานั้นพบว่าค่าของ pH จะคงที่เสมอ จนถึงจุดหนึ่ง และ จะลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน โดยค่าของ pH ที่ลดลงอย่างชัดเจนจะแสดงเป็นตัวเลขที่เป็นตัวทึบที่ขีดเส้นใต้ ในตารางที่ 4.6

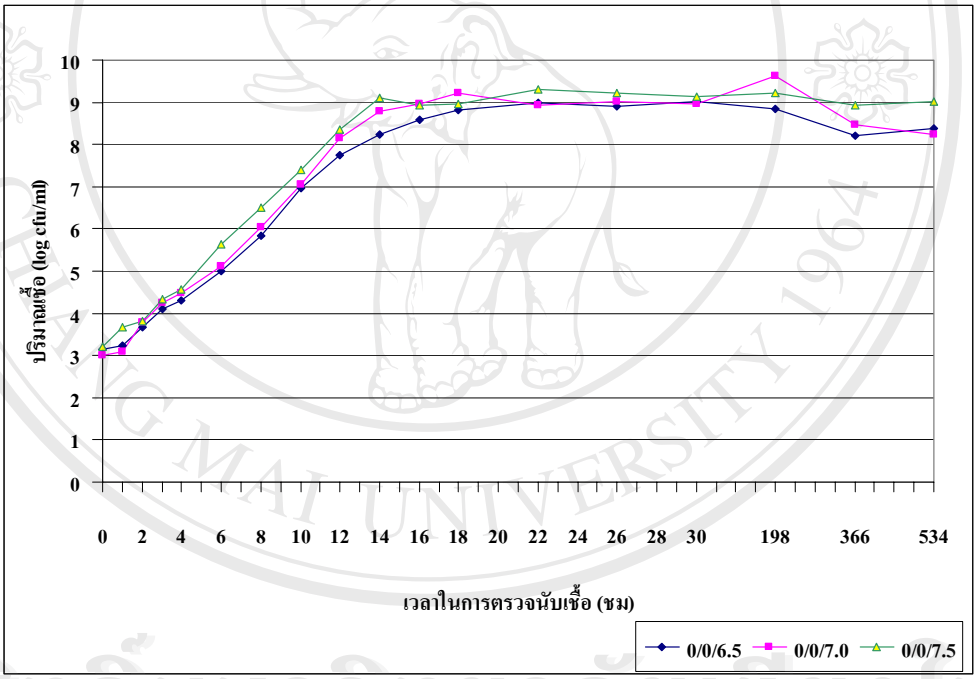
และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับค่าของจำนวนเชื้อ ณ จุดที่ค่า pH ลดลงอย่างชัดเจน พบว่าปริมาณของเชื้อ ณ จุดนั้น จะมีค่าอยู่ในช่วง log 8.0-9.0 cfu/ml หรือเป็นปริมาณของเชื้อที่เจริญขึ้นจนถึงช่วง Stationary phase ของแต่ละสภาวะในการทดลองแล้ว

เมื่อพิจารณาจากส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า มีส่วนประกอบของ Glucose ซึ่งตามธรรมชาติของ *Salmonella* spp. จะสามารถหมัก Glucose แล้วได้ผลิตภัณฑ์ เป็น กรด (Doyler. *et al.* 2001) เมื่อเชื้อเริ่มปรับตัวกับสภาวะของอาหารได้แล้ว จะเริ่มเจริญเติบโต โดยเริ่มมีการใช้ Glucose และให้กรด ทำให้ pH ของอาหารลดลง และเมื่อเชื้อเจริญจนถึงระดับ Stationary phase จะมีปริมาณกรดมากพอ ซึ่งอาจเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้ pH ของอาหารลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน แต่ไม่อาจสรุปได้ทั้งหมดว่าการลดลงของ pH เกิดจากสาเหตุนี้เพียงประการเดียว คาดว่าน่าจะเกิดจากผลร่วมกันของปัจจัยต่าง ๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย ดังจะเห็นได้จากข้อมูลในการทดลองชุดที่ 27 ที่พบว่าจะมีค่า pH ลดลงอย่างเห็นชัดเจนในชั่วโมงที่ 30 ในขณะที่ยังคงมีปริมาณของเชื้อ อยู่ในช่วงที่ยังเจริญไม่ถึง Stationary phase คือมีจำนวนเชื้อ เท่ากับ log 6.77 cfu/ml เท่านั้น โดยชุดการทดลองนี้ มีระดับของปัจจัยต่าง ๆ อยู่ในระดับสูง คือ มี โซเดียมแลกเทต 2.4 % โซเดียมคลอไรด์ 4 % และ มีpH เท่ากับ 7.5 ซึ่งเมื่อคำนวณ Generation Time แล้วพบว่า เชื้อมี Generation Time ช้ามาก เพราะสภาวะของปัจจัยต่าง ๆ ล้วนไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ เชื้อจำเป็นต้องใช้อาหารในการเจริญเติบโต และ เพื่อซ่อมแซมเซลล์ให้เจริญเติบโตได้ อาจเป็นไปได้ที่เชื้อพยายามดึงเอา Glucose ในอาหารมาใช้ในจำนวนมาก ทำให้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เกิดกรดในอาหารเลี้ยงเชื้อและทำให้ pH ของอาหารลดลง แต่ตัวเชื้ออยู่ในสภาพที่เจริญได้ไม่ดี เนื่องมาจากสภาวะของอาหารที่มีปัจจัยต่าง ๆ ระดับสูง เซลล์อาจได้รับบาดเจ็บ ซึ่งส่งผลต่อการเจริญของเชื้อเป็นอย่างมาก เมื่อนำเชื้อมาทำการตรวจนับการเจริญ ทำให้ตรวจพบจำนวนเชื้อน้อยกว่าที่ควรเป็น ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าปัจจัยที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ต่างมีผลร่วมกันต่อการเจริญของเชื้อ *S. enterica* Weltevreden โดยจะแสดงผลแตกต่างกันออกไป จึงได้จัดทำกราฟการเจริญของเชื้อ โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม แต่ละกลุ่มแสดงผลการเจริญที่เกิดจากปัจจัยเดี่ยวที่ใช้ในการทดลอง คือ ผลของ โซเดียมแลกเทต ผลของโซเดียมคลอไรด์ และ ผลของ pH ต่อการเจริญของเชื้อ ดังแสดงในภาพ ที่ 4.3 ถึง 4.9

กลุ่มที่ 1 เป็นการศึกษาถึงผลของ pH เพียงปัจจัยเดียวต่อการเจริญของเชื้อ *S. enterica* Weltevreden อาหารในชุดการทดลองนี้ ไม่มีการเติม โซเดียมแลกเทต หรือ โซเดียมคลอไรด์



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

หมายเหตุ : จุดในชั่วโมงที่ 0-30 แสดงจุดจาก Scaleจริง ส่วนจุดที่ 198, 366 และ 534 เป็น Scale ที่กำหนดขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 4.3 ประกอบด้วยเส้นกราฟ 3 เส้น แต่ละเส้นแสดงข้อมูลเป็น 0/0/6.5 0/0/7.0 และ 0/0/7.5 โดยตัวเลขแต่ละตัวแสดงให้เห็นถึง ระดับของ โซเดียมแลกเทต / โซเดียมคลอไรด์ / pH ตามลำดับ

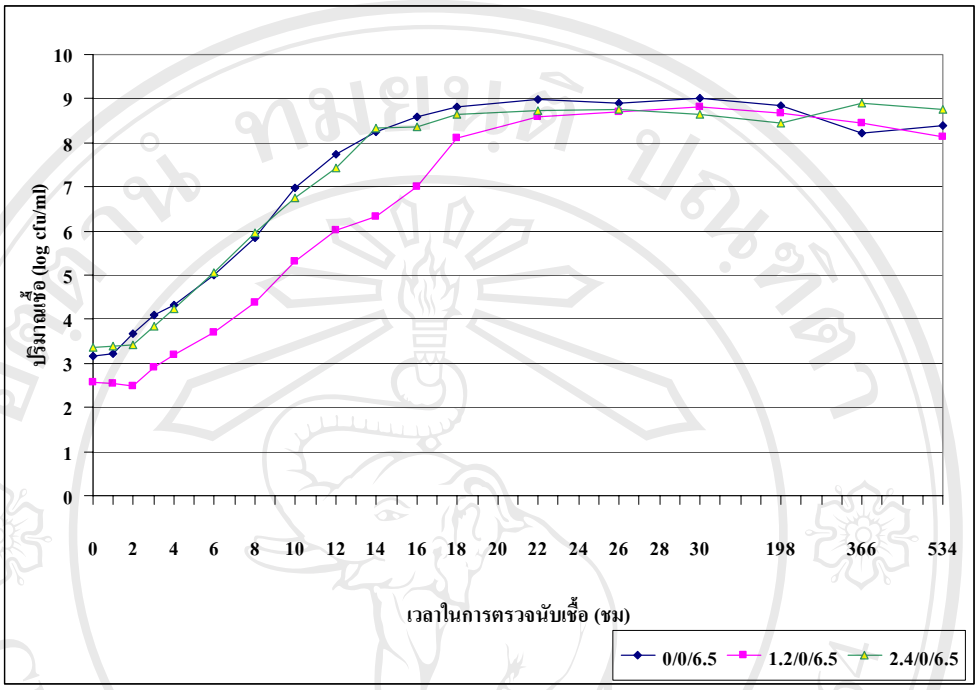
พบว่าลักษณะของเส้นกราฟทั้ง 3 เส้น แสดงความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย และแต่ละเส้นเริ่มจากจุด Inoculum level ใกล้เคียงกัน เมื่อพิจารณาช่วง Lag phase ของแต่ละเส้นกราฟ จะพบว่ามีความแตกต่างเล็กน้อย เมื่อพิจารณาปริมาณของเชื้อ พบว่าในสภาวะที่มี pH ระดับต่ำ คือ 6.5 เมื่อเชื้อเริ่มเจริญในช่วง Exponential phase จะมีปริมาณเชื้อที่น้อยที่สุด สังเกตจากเส้นกราฟที่อยู่ล่างสุด ซึ่งคาดการณ์ได้ว่า Lag phase ของเชื้อในสภาวะนี้ จะยาวกว่าอีก 2 สภาวะเล็กน้อย เพราะหากมี Lag phase ยาว จะมีผลทำให้เชื้อเจริญได้น้อยกว่า โดยเส้นถัดขึ้นไปคือ เชื้อที่เจริญใน pH 7.0 และ 7.5 ตามลำดับ จากเส้นกราฟจะเห็นได้ว่าเชื้อที่เจริญในสภาวะของ pH 3 ระดับนี้ จะเข้าสู่ช่วง Stationary Phase ในช่วงเวลาใกล้เคียงกัน โดยปริมาณเชื้อจะมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยในช่วงต้นของ Stationary Phase คือปริมาณเชื้อที่เจริญใน pH เท่ากับ 6.5 ที่ชั่วโมงที่ 14 จะมีปริมาณน้อยกว่าที่ pH 7.0 และ 7.5 เนื่องมาจากปริมาณเชื้อที่น้อยมาตั้งแต่ช่วง Lag phase และ Exponential phase แต่หลังจากชั่วโมงที่ 16 แล้วจะมีปริมาณเชื้อไม่แตกต่างกันทั้ง 3 สภาวะ

จากภาพนี้ สามารถ อธิบายได้ถึงผลของปัจจัย คือ pH เพียงปัจจัยเดียว ว่า pH ในช่วงที่ใช้ในการทดลอง มีอิทธิพลต่อการเจริญของเชื้ออย่างไม่ชัดเจน สังเกตได้จากลักษณะกราฟทั้ง 3 เส้นที่แตกต่างกันเล็กน้อยเท่านั้น เนื่องมาจาก เชื้อ *Salmonella* spp. สามารถเจริญได้ดีในช่วง pH กว้าง คือตั้งแต่ 3.8 – 9.5 (Chris B., Alec K. 2002) โดย pH ช่วงที่เจริญได้ดีจะมีค่าอยู่ในช่วง 7.0-7.5 (สุมณฑา และคณะ, 2546) โดยทั้งนี้ขึ้นกับสภาวะของอาหารด้วย

pH ที่เลือกมาใช้ในการทดลองนี้ เป็นช่วงที่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อ คงมีที่ pH 6.5 เท่านั้นที่มีค่าต่ำกว่าค่าที่เหมาะสม แต่เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งเห็นผลได้ว่าในสภาวะนี้เชื้อมีปริมาณน้อยในแต่ละช่วงของการเจริญ แต่ไม่แตกต่างกับอีก 2 สภาวะ อย่างชัดเจนนัก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

กลุ่มที่ 2 เป็นการศึกษาถึงผลของ โซเดียมแลกเทตเพียงปัจจัยเดียว แต่เป็นผลที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการผันแปรระดับของ pH 3 ระดับ คือ 6.5, 7.0 และ 7.5 อาหารในกรณีนี้จะไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ ลงไป



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

หมายเหตุ : จุดในชั่วโมงที่ 0-30 แสดงจุดจาก Scaleจริง
ส่วนจุดที่ 198, 366 และ 534 เป็น Scale ที่กำหนดขึ้น

ภาพแรกคือภาพที่ 4.4 แสดงผลของโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ ในสภาวะของอาหารที่มีการปรับ pH เป็น 6.5 กราฟประกอบด้วยเส้นกราฟ 3 เส้น แต่ละเส้นแสดงข้อมูลเป็น 0/0/6.5 1.2/0/6.5 และ 2.4/0/6.5 โดยตัวเลขแต่ละตัวแสดงให้เห็นถึง ระดับของ โซเดียมแลกเทต / โซเดียมคลอไรด์ / pH ตามลำดับ

ในกรณีนี้ Inoculum level ใน 3 สภาวะ แตกต่างกัน โดยในสภาวะที่มีโซเดียมแลกเทต 1.2 % (1.2/0/6.5) มี Inoculum level ต่ำกว่า อีก 2 สภาวะ ซึ่งปริมาณของ Inoculum level ที่ต่างกันนี้ จะมีผลต่อปริมาณเชื้อในแต่ละช่วงการเจริญ ทำให้ไม่อาจนำเอาปริมาณเชื้อในแต่ละช่วงการเจริญมาอธิบายถึงความแตกต่าง ในระหว่าง 3 สภาวะนี้ได้ชัดเจนนัก จากการพิจารณารูปกราฟ จะเห็นได้ว่า ที่ สภาวะที่มีโซเดียมแลกเทต 1.2 % (1.2/0/6.5) และที่ 2.4 % (2.4/0/6.5) จะมีช่วง Lag phase ใกล้เคียงกัน ซึ่งจากความเป็นจริง ในสภาวะที่มีโซเดียมแลกเทต 2.4 % (2.4/0/6.5) นั้น ปริมาณของโซเดียมแลกเทตมีสูง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

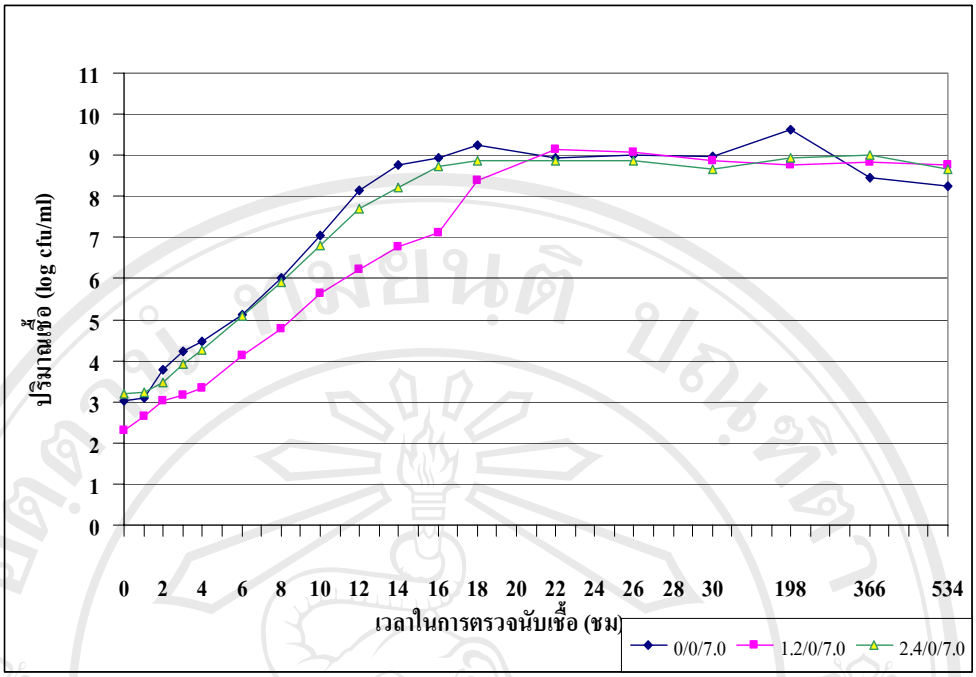
น่าจะมีผลต่อการเจริญของเชื้อได้มาก แต่ กลับพบว่ามี Lag phase ใกล้เคียงกันทั้งสองสภาวะ นั่นอาจเนื่องมาจากอิทธิพลของ Inoculum level ในสภาวะที่มีโซเดียมแลกเทต 1.2 % (1.2/0/6.5) ร่วมด้วย เพราะ Inoculum level ที่น้อยกว่านี้จะมีส่วนช่วยเสริมอิทธิพลร่วมกับโซเดียมแลกเทต ทำให้ lag phase ยาวขึ้น จนมีค่าใกล้เคียงกับที่สภาวะที่มีโซเดียมแลกเทต 2.4 % (2.4/0/6.5)

เมื่อพิจารณากราฟการเจริญในช่วง Exponential phase ความชันของเส้นกราฟ ทั้ง 3 เส้น มีลักษณะความชันใกล้เคียงกัน โดย Maximum growth rate จะสามารถประเมินได้จาก เส้น slope ความชัน ที่ลากผ่านเส้นโค้งของ Sigmoid curve ในช่วง Exponential phase นี่เอง (Baranyi.J., Carmen.P, 1995) ทำให้ประเมินได้ว่า Maximum growth rate ของทั้ง 3 สภาวะน่าจะมีค่าใกล้เคียงกัน

ใน Exponential phase นี้มีปริมาณเชื้อ ในสภาวะที่มีโซเดียมแลกเทต 1.2 % (1.2/0/6.5)น้อยกว่าอีก 2 สภาวะ คือสภาวะที่มีการเติมโซเดียมแลกเทต 2.4 % และสภาวะที่ไม่เติม เป็นผลมากจาก Inoculum level ที่น้อยกว่า แต่ Maximum growth rate ของเชื้อ ในสภาวะนี้ไม่ต่างกับอีก 2 สภาวะ เมื่อสังเกตจากความชันของกราฟ

เชื้อทั้ง 3 สภาวะ เจริญเข้าสู่ช่วง Stationary phase ในเวลาใกล้เคียงกัน คือในชั่วโมงที่ 18 และจากกราฟ จะเห็นได้ว่า โซเดียมแลกเทต มีผลต่อ lag phase ทำให้ Lag phase ยาวขึ้น แต่ไม่สามารถเปรียบเทียบผลของ โซเดียมแลกเทต ที่ 1.2% หรือ 2.4% ที่มีต่อ lag phase ได้ชัดเจนนัก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4.5 ผลการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มีโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ และ มีการปรับ pH เป็น 7.0 และบ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ : จุดในชั่วโมงที่ 0-30 แสดงจุดจาก Scaleจริง

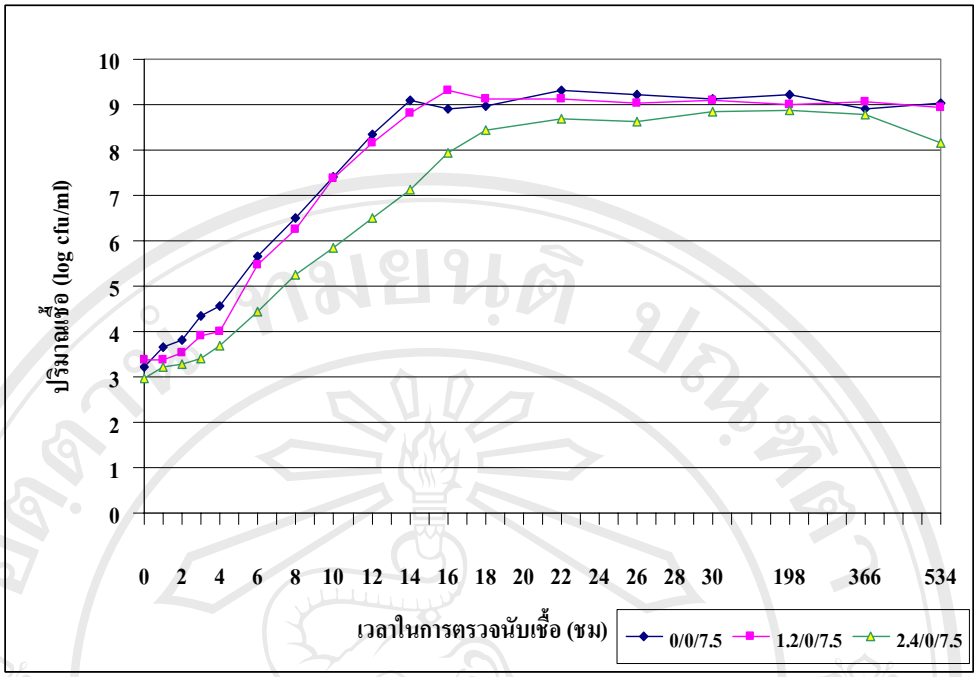
ส่วนจุดที่ 198, 366 และ 534 เป็น Scale ที่กำหนดขึ้น

ภาพที่ 4.5 แสดงผลของโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ ในสภาวะของอาหารที่มีการปรับ pH เป็น 7.0 กราฟประกอบด้วยเส้นกราฟ 3 เส้น แต่ละเส้นแสดงข้อมูลเป็น 0/0/7.0 , 1.2/0/7.0และ 2.4/0/7.0 โดยตัวเลขแต่ละตัวแสดงให้เห็นถึง ระดับของ โซเดียมแลกเทต / โซเดียมคลอไรด์ / pH ตามลำดับ

จากกราฟนี้ แสดงถึงผลของโซเดียมแลกเทต ว่ามีผลใกล้เคียงกับกราฟที่ 4.4 โดยในสภาวะที่มีโซเดียมแลกเทค 1.2 % (1.2/0/7.0) จะมี Inoculum level น้อยที่สุด แต่เมื่อเปรียบเทียบ Lag phase แล้วให้ผลเช่นเดียวกับกราฟ 4.4 คือจะมี Lag phase ใกล้เคียงกับสภาวะที่มีโซเดียมแลกเทต 2.4 % (2.4/0/7.0)

ในส่วนของเส้นกราฟช่วง Exponential phase พบว่ามีความชันต่างกันอยู่เล็กน้อยระหว่างทั้ง 3 เส้นกราฟ และ ปริมาณเชื้อในช่วง Stationary phase ใกล้เคียงกันด้วย มีช่วงเวลาที่เชื้อเจริญจนถึง Stationary phase ใกล้กันคือที่ ชั่วโมงที่ 18

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



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

หมายเหตุ : จุดในชั่วโมงที่ 0-30 แสดงจุดจาก Scaleจริง
ส่วนจุดที่ 198, 366 และ 534 เป็น Scale ที่กำหนดขึ้น

กราฟที่ 4.6 แสดงผลของโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ ในสภาวะของอาหารที่มีการปรับ pH เป็น 7.0 กราฟประกอบด้วยเส้นกราฟ 3 เส้น แต่ละเส้นแสดงข้อมูลเป็น 0/0/7.5 , 1.2/0/7.5และ 2.4/0/7.5 โดยตัวเลขแต่ละตัวแสดงให้เห็นถึง ระดับของ โซเดียมแลกเทต / โซเดียมคลอไรด์ / pH ตามลำดับ

กราฟนี้แสดง Inoculum level ใกล้เคียงกัน จากกราฟจะเห็นว่าอิทธิพลของโซเดียมแลกเทต ที่มีต่อการเจริญของเชื้อในสภาวะ pH ระดับสูงนี้ จะมีผลทำให้ Lag phase ของเชื้อยาวขึ้น โดยกรณีนี้เป็นไปตามทฤษฎีคือ เปอร์เซนต์ของโซเดียมแลกเทตที่เพิ่มขึ้นทำให้ Lag phase ยาวมากขึ้น (Brewer M.S, *et al*. 1991) เมื่อพิจารณา Lag phase ของเชื้อตามทฤษฎีแล้ว การระบุช่วง Lag phase ของเชื้อ จะทำโดยการลากเส้นไปตามความชัน ของการเจริญในช่วง Exponential phase แล้ว ลากเส้นขนานแกน X เริ่มจากจุด Inoculum level ไปตัดกับเส้นความชันนั้น ณ จุดตัดของทั้งสองเส้น ลากเส้นตรงตามแนวตั้งลงไปจนตัดแกน X จะได้ช่วงเวลาของ lag phase ของ เชื้อ (Baranyi J., Carmen P. 1998) ทำให้ทราบว่าในกราฟนี้ Lag phase ของ สภาวะที่มีโซเดียมแลกเทต 2.4 % (2.4/0/7.5) มีค่า Lag phase มากกว่าสภาวะที่มีโซเดียมแลกเทต 1.2 % (1.2/0/7.5)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

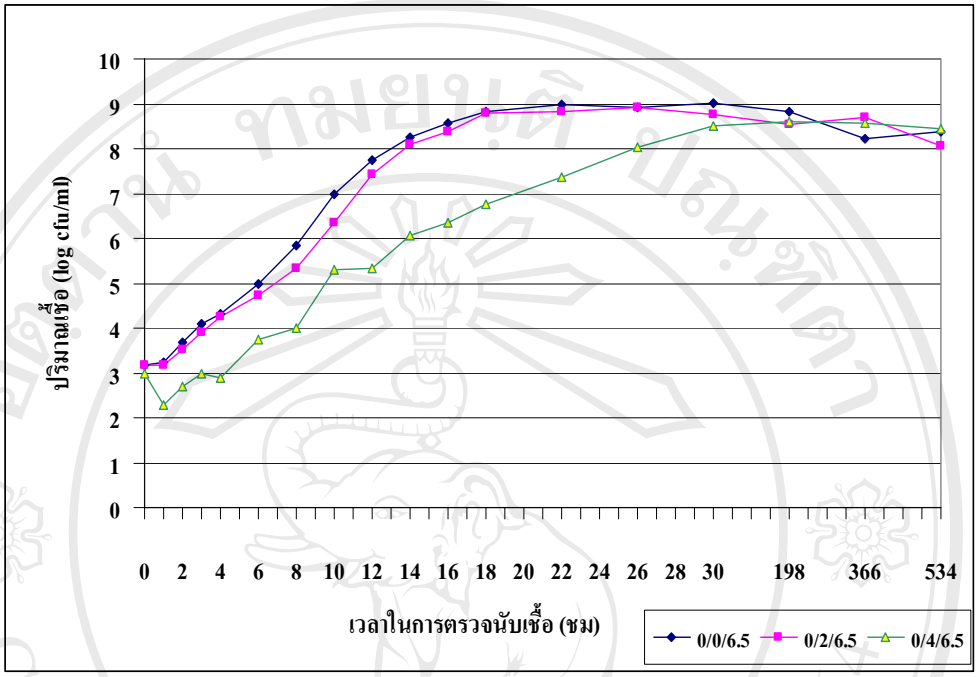
กราฟในช่วง Exponential phase ของทั้ง 3 สภาวะมีความชันที่มองเห็นต่างกัน เนื่องมาจากอิทธิพลร่วมกันอย่างเด่นชัดของ โซเดียมแลกเทต และ pH โดยในสภาวะที่มี โซเดียมแลกเทตและ pH ในระดับสูง คือชุดการทดลองสภาวะที่มีโซเดียมแลกเทต 2.4 % (2.4/0/7.5) จะมีผลต่ออัตราเร็วในการเจริญของเชื้อ ทำให้อัตราเร็วในการเจริญน้อยลง เพราะที่สภาวะนี้จะมีผลต่อเซลล์ของเชื้อ โดยเซลล์อาจได้รับบาดเจ็บเนื่องจาก ผลร่วมกันของ โซเดียมแลกเทต และ pH ที่ต่างมีคุณสมบัติที่มีผลต่อเซลล์ของแบคทีเรีย (กล้าณรงค์, 2521 และ Bogaert J.C., Naidu A.S. 2000) ทำให้ต้องใช้เวลาในการเจริญมากกว่า ในสภาวะอื่น ๆ และส่งผลต่อเนื่องไปถึงช่วงเวลาที่เข้าสู่ช่วง Stationary phase ที่จะใช้เวลามากกว่าอีก 2 สภาวะ คือ สภาวะที่มีโซเดียมแลกเทต 1.2 % (1.2/0/7.5) และที่ไม่เติม ซึ่งจะเข้าสู่ Stationary phase ที่ ชั่วโมงที่ 12 และ 16 ตามลำดับ แต่สภาวะที่มีโซเดียมแลกเทต 2.4 % (2.4/0/7.5) จะเข้าสู่ช่วง Stationary ที่ ชั่วโมงที่ 18 และพบว่าจะมีปริมาณของเชื้อในช่วง Stationary phase น้อยกว่าอีก 2 สภาวะด้วย

โดยสรุปจาก 3 กราฟที่ได้กล่าวถึงคุณสมบัติของโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ จะพบว่าความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทตที่เพิ่มขึ้น จะทำให้ช่วง Lag phase ของเชื้อเพิ่มขึ้น นอกเสียจากว่าจะได้รับอิทธิพลจากปัจจัยอื่นร่วมเข้ามา

เมื่อพิจารณาถึงผลร่วมกันของ โซเดียมแลกเทต และ pH 3 ระดับจะพบว่า pH ในระดับสูงคือที่ 7.5 จะมีผลร่วมกันกับ โซเดียมแลกเทต มากที่สุด คือทำให้เชื้อในสภาวะนี้มีการเจริญในแต่ละช่วงเวลาแตกต่างไป เมื่อเทียบกับที่ pH 6.5 และ7.0 ซึ่งจากการวิเคราะห์จะเห็นได้ว่า ให้ผลร่วมกันกับ โซเดียมแลกเทตไม่ชัดเจน แต่อย่างไรก็ตามปัจจัยหลักที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของเชื้อจะมาจากโซเดียมแลกเทตเป็นส่วนใหญ่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

กลุ่มที่ 3 เป็นการศึกษาถึงผลของ โซเดียมคลอไรด์เพียงปัจจัยเดียว แต่เป็นผลที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการผันแปรระดับของ pH เป็น 3 ระดับ อาหารในกรณีนี้จะไม่เติมโซเดียมแลกเทต



ภาพที่ 4.7 ผลการเจริญของ *S. enterica* Weltevredenในอาหารที่มี โซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับ และ มีการปรับ pH เป็น 6.5และบ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ : จุดในชั่วโมงที่ 0-30 แสดงจุดจาก Scaleจริง
ส่วนจุดที่ 198, 366 และ 534 เป็น Scale ที่กำหนดขึ้น

กราฟที่ 4.7 แสดงผลของโซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับ ในสภาวะของอาหารที่มีการปรับ pH เป็น 6.5 กราฟประกอบด้วยเส้นกราฟ 3 เส้น แต่ละเส้นแสดงข้อมูลเป็น 0/0/6.5 0/2/6.5 และ 0/4/6.5 โดยตัวเลขแต่ละตัวแสดงให้เห็นถึง ระดับของ โซเดียมแลกเทต / โซเดียมคลอไรด์ / pH ตามลำดับ

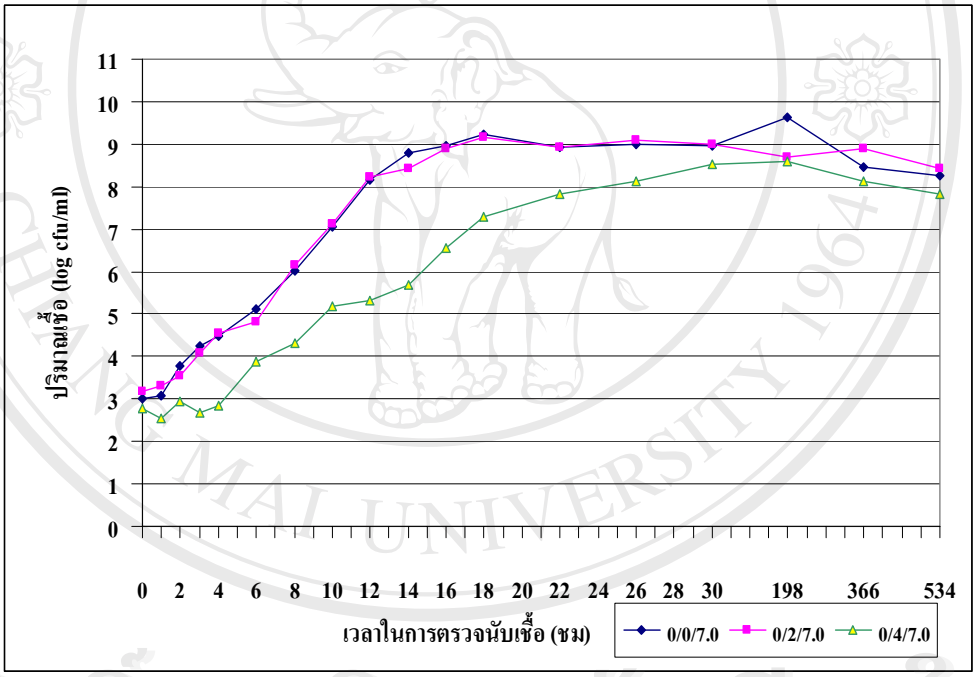
กราฟนี้เชื้อมี Inoculum level ใกล้เคียงกัน แต่จากลักษณะของกราฟ จะเห็นว่า โซเดียมคลอไรด์จะมีผลต่อการเจริญของเชื้อ อย่างเห็นได้ชัดเจน ในชุดการทดลองที่ระดับของโซเดียมคลอไรด์สูงสุดคือที่ 4 % (0/4/6.5) พบว่าเชื้อในสภาวะนี้ มีปริมาณเชื้อน้อยกว่าการทดลองในชุดอื่น ๆ ในทุกช่วงของการเจริญ การตรวจนับเชื้อในชั่วโมงที่ 1 ตรวจพบเชื้อได้น้อยมาก มีช่วง Lag phase ยาวมาก เส้นกราฟในช่วง Exponential phase มีความชันน้อยที่สุด ปริมาณเชื้อในช่วง Exponential phase ก็น้อยที่สุด รวมทั้ง ช่วงเวลาในการที่เชื้อเจริญจนถึง Stationary phase ก็ใช้เวลานานที่สุด แสดงให้เห็นถึงผลของโซเดียมคลอไรด์ ที่มีต่อเซลล์ของเชื้อ กล่าวคือ โซเดียมคลอไรด์มีผลต่อเซลล์ของเชื้อ ทำให้เกิดการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บาดเจ็บและเจริญได้ช้า ต้องอาศัยเวลานานในการปรับตัวเพื่อเจริญ (Hinton.A. 1999) เมื่อเจริญในช่วงแรกช้า ทำให้การเจริญในช่วงถัดไปช้าตาม ปริมาณของเชื้อจะน้อยกว่าการทดลองอื่น เชื้อในสภาวะนี้ เข้าสู่ Stationary phase ที่ชั่วโมงที่ 28 เมื่อเทียบกับอีก 2 สภาวะ ที่จะเริ่มเข้าสู่ Stationary phase ที่ชั่วโมงที่ 16-18

เมื่อพิจารณาสภาวะที่ไม่เติม โซเดียมคลอไรด์ (0/0/6.5) และ ที่เติมโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 2 % (0/2/6.5) พบว่ามีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ในช่วง Exponential phase โดย สภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 2 % (0/2/6.5) จะเจริญได้น้อยกว่าสภาวะที่ไม่เติม เล็กน้อย

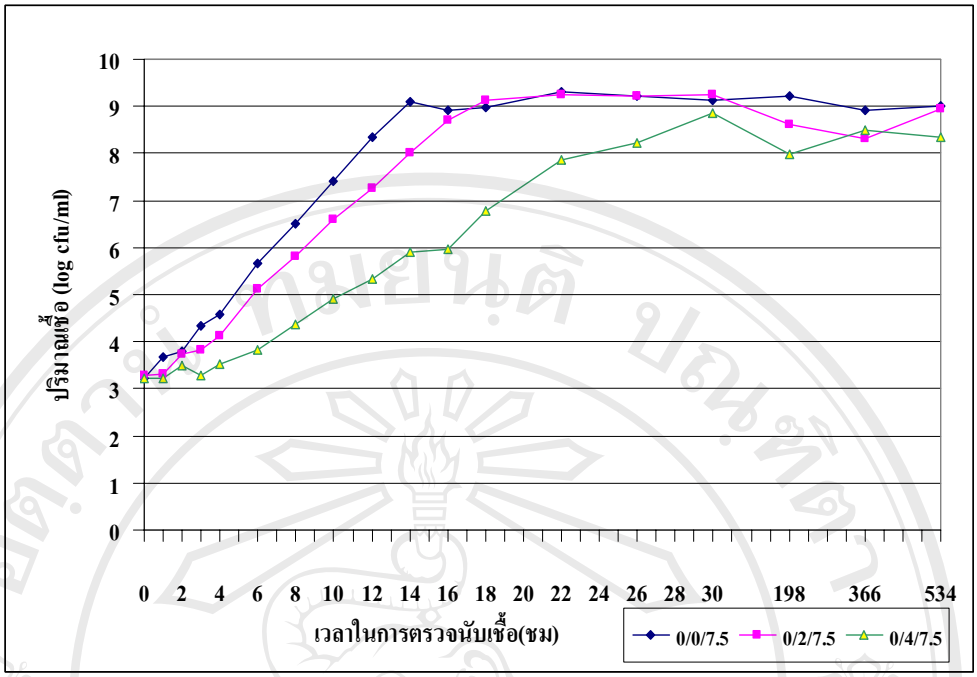
จากกราฟกล่าวได้ว่า โซเดียมคลอไรด์ในระดับสูง คือ ที่ 4 % มีผลต่อการเจริญของเชื้อ และต่างจากอีก 2 สภาวะอย่างเห็นได้ชัด ในขณะที่สภาวะที่เติม 2 % จะมีความแตกต่างกับสภาวะที่ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์ (0/0/6.5) เพียงเล็กน้อยเท่านั้น



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

หมายเหตุ : จุดในชั่วโมงที่ 0-30 แสดงจุดจาก Scaleจริง
ส่วนจุดที่ 198, 366 และ 534 เป็น Scale ที่กำหนดขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4.9 ผลการเจริญของ *S. enterica* Weltevredenในอาหารที่มี โซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับ และ มีการปรับ pH เป็น 7.5และบ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ : จุดในชั่วโมงที่ 0-30 แสดงจุดจาก Scaleจริง
ส่วนจุดที่ 198, 366 และ 534 เป็น Scale ที่กำหนดขึ้น

กราฟที่ 4.8 และ 4.9 แสดงผลของโซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับ ในสภาวะของอาหารที่มีการปรับ pH เป็น 7.0 และ 7.5 ตามลำดับ แต่ละกราฟประกอบด้วยเส้นกราฟ 3 เส้น โดยในกราฟที่ 4.8 แสดงข้อมูลเป็น 0/0/7.0 0/2/7.0และ 0/4/7.0 และในกราฟที่ 4.9 แสดงข้อมูล ดังนี้ 0/0/7.5 0/2/7.5 และ 0/4/7.5 ตามลำดับ โดยตัวเลขแต่ละตัวแสดงให้เห็นถึง ระดับของ โซเดียมแลกเทต / โซเดียมคลอไรด์ / pH ตามลำดับ

ลักษณะของกราฟที่ 4.8 และ 4.9 มีความใกล้เคียงกับ กราฟที่ 4.7 คือ ชุดการทดลองที่มี โซเดียมคลอไรด์ 4 % จะมีผลต่อช่วง lag phase ของเชื้อทำให้ lag phase ยาวที่สุด เชื้อเข้าสู่ช่วง Stationary phase ในชั่วโมงที่ 30 และมีปริมาณเชื้อน้อยในทุก ๆ ช่วงของการเจริญ

เมื่อเปรียบเทียบกรณีของ โซเดียมคลอไรด์ 2 % และสภาวะที่ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์ พบว่าชุดที่มี โซเดียมคลอไรด์ 2 % ให้ Lag phase ยาวกว่าเล็กน้อย แต่ลักษณะการเจริญในช่วงอื่น ๆ ไม่ต่างกัน ในขณะที่ เมื่อเพิ่ม ความเข้มข้นของ โซเดียมคลอไรด์ขึ้นเป็น 4 % จะมีผลต่อการเจริญของเชื้ออย่างเห็นได้ชัดในทุกช่วงของการเจริญ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สำหรับในกรณีของโซเดียมคลอไรด์นี้ พบว่า โซเดียมคลอไรด์ มีผลต่อการเจริญของเชื้ออย่างเห็นได้ชัดเจน เมื่อมีการเติม ในความเข้มข้นสูงสุดคือ 4 %

แต่หากพิจารณาจาก ผลของ โซเดียมคลอไรด์ ร่วมกับ pH ที่มีต่อเชื้อ พบว่า pH ที่เพิ่มขึ้น ไม่มีผลร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการเจริญของเชื้อเลย เพราะถึงแม้จะทำการเพิ่ม pH ขึ้น แต่ลักษณะกราฟการเจริญยังคงได้รับอิทธิพลจาก ปัจจัยหลักคือโซเดียมคลอไรด์เสมอ

4.5 ผลการสร้างกราฟการเจริญเติบโต และการคำนวณเพื่อหาค่าพารามิเตอร์ที่ต้องการศึกษาคือ ค่า Maximun growth rate(K), ค่า Maximum cell population (D), ค่า Lag phase(L) และ ค่า Generation Time(GT)

นำข้อมูลจริงของปริมาณของเชื้อจากการทำการทดลอง 27 ชุด ที่ยังไม่ได้ทำการเฉลี่ยค่าจากการทำการทดลอง 2 ซ้ำ มาทำการวิเคราะห์ในแต่ละซ้ำ ด้วย โปรแกรม LEKSAWASDI RSS MINIMISATION จนได้ค่าพารามิเตอร์ 4 ค่า คือ A B C และ M ของทั้ง 2 ซ้ำ แสดงดังตารางที่ 4.7 - 4.8 และนำค่าของพารามิเตอร์ จากตารางที่ 4.7 - 4.8 มาคำนวณเป็นค่า K D L และ Generation Time ได้ข้อมูลการเจริญทั้ง 4 ค่า ของทั้ง 2 ซ้ำ มาทั้งหมด 27 ชุด แสดงค่าดังตารางที่ 4.9 – 4.12

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.7 ค่า A B C และ M ที่วิเคราะห์ได้จากการทดลองซ้ำที่ 1

ชุดที่	NaL(%)	NaCl(%)	pH	A	B	C	M
1	0	0	6.5	3.39	0.2715	5.3840	6.3653
2	0	0	7.0	3.34	0.2782	5.5889	6.2875
3	0	0	7.5	3.50	0.2777	5.7709	6.0686
4	0	2	6.5	3.48	0.2717	5.2788	7.6002
5	0	2	7.0	3.25	0.2908	5.7274	5.8195
6	0	2	7.5	3.29	0.2327	5.6679	6.7459
7	0	4	6.5	2.47	0.1430	6.0863	9.8523
8	0	4	7.0	2.54	0.1646	5.7818	9.5622
9	0	4	7.5	3.26	0.1440	5.4869	11.7854
10	1.2	0	6.5	2.33	0.1744	6.2716	8.5770
11	1.2	0	7.0	2.63	0.1858	6.3699	8.2993
12	1.2	0	7.5	3.45	0.2922	5.8120	6.5203
13	1.2	2	6.5	3.08	0.1912	5.4805	10.0461
14	1.2	2	7.0	3.09	0.1761	5.5652	10.9239
15	1.2	2	7.5	3.31	0.2256	5.6361	8.4992
16	1.2	4	6.5	2.99	0.1092	5.5090	15.6898
17	1.2	4	7.0	3.05	0.1367	4.9764	13.3857
18	1.2	4	7.5	3.13	0.1380	4.9137	14.2535
19	2.4	0	6.5	3.35	0.2611	5.4546	6.8571
20	2.4	0	7.0	3.14	0.2477	5.7450	6.3791
21	2.4	0	7.5	3.09	0.2106	5.6098	8.1012
22	2.4	2	6.5	3.18	0.1494	5.6046	10.6872
23	2.4	2	7.0	2.88	0.1663	5.6066	8.5577
24	2.4	2	7.5	2.90	0.1170	5.6959	14.2670
25	2.4	4	6.5	3.06	0.0906	5.1394	18.3879
26	2.4	4	7.0	2.70	0.0843	5.3402	14.7753
27	2.4	4	7.5	2.57	0.0764	5.4617	15.6270

หมายเหตุ : ชุดข้อมูลนี้ได้จากการวิเคราะห์ด้วย LEKSAWASDI RSS MINIMISATION

ค่า A = log initial cell population (log cfu/ml)

C = log maximum cell population – log initial cell population (log cfu/ml)

B = Relative growth rate at M

M = time, when growth rate reach maximum (h)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.8 ค่า A B C และ M ที่วิเคราะห์ได้ จากการทดลองซ้ำที่ 2

ชุดที่	NaL(%)	NaCl(%)	pH	A	B	C	M
1	0	0	6.5	3.24	0.2562	5.5963	6.4629
2	0	0	7.0	3.06	0.2539	6.0757	5.7295
3	0	0	7.5	3.28	0.2618	5.8614	5.4422
4	0	2	6.5	3.27	0.2497	5.4484	7.0154
5	0	2	7.0	3.54	0.2990	5.3868	7.1338
6	0	2	7.5	3.46	0.2535	5.6153	7.3731
7	0	4	6.5	2.33	0.1299	6.3173	9.3198
8	0	4	7.0	2.65	0.1669	5.7015	9.4290
9	0	4	7.5	3.32	0.1754	4.9245	11.2841
10	1.2	0	6.5	2.74	0.2145	5.9851	9.2836
11	1.2	0	7.0	2.38	0.1687	6.6630	8.1217
12	1.2	0	7.5	3.38	0.3154	5.7572	6.4770
13	1.2	2	6.5	2.96	0.1495	5.9617	10.4345
14	1.2	2	7.0	3.03	0.1813	5.7639	10.8519
15	1.2	2	7.5	3.32	0.2171	5.6498	8.4705
16	1.2	4	6.5	3.05	0.1194	5.2441	15.3907
17	1.2	4	7.0	3.06	0.1344	5.2181	14.0934
18	1.2	4	7.5	3.14	0.1177	5.1831	15.0276
19	2.4	0	6.5	3.34	0.2603	5.3765	6.3974
20	2.4	0	7.0	3.27	0.2524	5.7045	6.4741
21	2.4	0	7.5	3.09	0.2050	5.7431	8.0450
22	2.4	2	6.5	3.35	0.1664	5.3263	10.8229
23	2.4	2	7.0	3.12	0.1617	5.6085	9.6178
24	2.4	2	7.5	2.97	0.1181	5.6135	14.2727
25	2.4	4	6.5	2.98	0.0858	5.1047	18.0928
26	2.4	4	7.0	2.89	0.0873	5.1417	15.1462
27	2.4	4	7.5	2.88	0.0893	5.0081	16.6362

หมายเหตุ : ชุดข้อมูลนี้ได้จากการวิเคราะห์ด้วย LEKSAWASDI RSS MINIMISATION

ค่า A = log initial cell population (log cfu/ml)

C = log maximum cell population – log initial cell population (log cfu/ml)

B = Relative growth rate at M

M = time, when growth rate reach maximum (h)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ค่าพารามิเตอร์ 4 ค่าที่ได้จากตารางที่ 4.5-4.6 จะเป็นค่าที่ได้จาก Parameter searching program ซึ่งจะช่วยให้การวิเคราะห์ Growth curve ทำได้ง่ายกว่าวิธีการกำหนดจุดด้วยตาเปล่า หรือการสร้างสูตรคำนวณด้วยโปรแกรม Excel ซึ่งการหาค่า A และ ค่า C อาจประเมินได้ ด้วยการลากเส้นตัดแกน Y ของกราฟแล้วคำนวณด้วยวิธีการง่าย ๆ แต่ค่า B และM จำเป็นต้องอาศัยการคำนวณทางคณิตศาสตร์ ซึ่งหากคำนวณด้วยผู้คำนวณหลายคน จะได้ค่าที่ไม่ได้มาตรฐาน เพราะการตัดสินใจกำหนดจุดของแต่ละคนต่างกัน

แต่ Parameter searching program จะช่วยลดขั้นตอนยุ่งยากต่าง ๆ รวมทั้งให้ผลการวิเคราะห์ไม่เปลี่ยนแปลงถึงแม้จะทำการวิเคราะห์ค่าซ้ำหรือวิเคราะห์ด้วยผู้วิเคราะห์ท่านอื่น ๆ อีกทั้งยังให้ผลในการวิเคราะห์ที่น่าเชื่อถือ สังเกตได้จากค่า RSS และ R^2 ของแต่ละชุดการทดลอง โดยค่า R^2 คือ สัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ หมายถึงสัดส่วนที่ตัวแปร X สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของตัวแปร Y ได้ ถ้า R^2 มีค่ามากแสดงว่า Y และX มีความสัมพันธ์กันมาก หรือ X สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของ Y ได้มากนั่นเอง (อิศรพงษ์, 2544)

โดย Parameter searching program จะทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของข้อมูล โดยสร้างกราฟเส้นโค้งที่สมบูรณ์ ด้วยสมการ Gompertz's equation เพื่อหาค่า พารามิเตอร์ 4 ค่า คือ A C B และ M ที่เหมาะสมสำหรับทุกการทดลอง และจะหยุดค้นหาจุด Fit curve เมื่อค่า R^2 เข้าใกล้ 1 มากที่สุด ซึ่งแสดงว่า X และY มีความสัมพันธ์กันมาก และต่อเนื่องถึงค่า RSS ที่พบว่าจะต้องมีค่าที่น้อยที่สุดด้วย (Leksawasdi N. *et al*. 2004)

เมื่อนำข้อมูลจากตารางที่ 4.7 - 4.8 ไปคำนวณด้วยโปรแกรม Excel จะได้พารามิเตอร์ใหม่ 4 ค่า ที่มีความสัมพันธ์กับ พารามิเตอร์ใน Gompertz's equation นั่นคือ K D L และ Generation Time ดังแสดงในตารางที่ 4.9 – 4.12 ซึ่งค่าทั้ง 4 นี้ จะถูกนำไปวิเคราะห์ขั้นต่อไปเพื่อหา Polynomial equation เพื่อใช้ในการทำนายการเจริญของเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.9 ค่า พารามิเตอร์ K (Maximun growth rate)

ชุดการทดลอง				ค่า K	
ชุดที่	**NaL(%)**	**NaCl(%)**	**pH**	**ซ้ำที่ 1**	**ซ้ำที่ 2**
1	0	0	6.5	0.5379	0.5276
2	0	0	7.0	0.5721	0.5676
3	0	0	7.5	0.5896	0.5645
4	0	2	6.5	0.5276	0.5006
5	0	2	7.0	0.6129	0.5927
6	0	2	7.5	0.4853	0.5236
7	0	4	6.5	0.3202	0.3019
8	0	4	7.0	0.3500	0.3501
9	0	4	7.5	0.2906	0.3179
10	1.2	0	6.5	0.4025	0.4724
11	1.2	0	7.0	0.4354	0.4136
12	1.2	0	7.5	0.6248	0.6682
13	1.2	2	6.5	0.3855	0.3279
14	1.2	2	7.0	0.3605	0.3845
15	1.2	2	7.5	0.4678	0.4513
16	1.2	4	6.5	0.2213	0.2304
17	1.2	4	7.0	0.2503	0.2581
18	1.2	4	7.5	0.2495	0.2245
19	2.4	0	6.5	0.5239	0.5149
20	2.4	0	7.0	0.5236	0.5298
21	2.4	0	7.5	0.4346	0.4332
22	2.4	2	6.5	0.3081	0.3261
23	2.4	2	7.0	0.3430	0.3337
24	2.4	2	7.5	0.2451	0.2438
25	2.4	4	6.5	0.1714	0.1612
26	2.4	4	7.0	0.1656	0.1652
27	2.4	4	7.5	0.1535	0.1646

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.10 ค่า พารามิเตอร์ D (Maximum Cell Population)

ชุดการทดลอง				ค่า D	
ชุดที่	**NaL**	**NaCl**	**pH**	**ซ้ำที่ 1**	**ซ้ำที่ 2**
1	0	0	6.5	8.7748	8.8413
2	0	0	7.0	8.9274	9.1342
3	0	0	7.5	9.2697	9.1410
4	0	2	6.5	8.7602	8.7155
5	0	2	7.0	8.9807	8.9273
6	0	2	7.5	8.9592	9.0728
7	0	4	6.5	8.5606	8.6456
8	0	4	7.0	8.3239	8.3482
9	0	4	7.5	8.7431	8.2480
10	1.2	0	6.5	8.6009	8.7280
11	1.2	0	7.0	8.9950	9.0388
12	1.2	0	7.5	9.2656	9.1390
13	1.2	2	6.5	8.5654	8.9231
14	1.2	2	7.0	8.6552	8.7972
15	1.2	2	7.5	8.9422	8.9690
16	1.2	4	6.5	8.4993	8.2938
17	1.2	4	7.0	8.0299	8.2769
18	1.2	4	7.5	8.0444	8.3203
19	2.4	0	6.5	8.8064	8.7121
20	2.4	0	7.0	8.8824	8.9738
21	2.4	0	7.5	8.7038	8.8311
22	2.4	2	6.5	8.7839	8.6751
23	2.4	2	7.0	8.4823	8.7278
24	2.4	2	7.5	8.5931	8.5798
25	2.4	4	6.5	8.1991	8.0867
26	2.4	4	7.0	8.0411	8.0318
27	2.4	4	7.5	8.0316	7.8870

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.11 ค่า พารามิเตอร์ L (Lag phase Duration)

ชุดการทดลอง				ค่า L	
ชุดที่	**NaL**	**NaCl**	**pH**	**ซ้ำที่ 1**	**ซ้ำที่ 2**
1	0	0	6.5	2.6824	2.5600
2	0	0	7.0	2.6932	1.7913
3	0	0	7.5	2.4676	1.6220
4	0	2	6.5	3.9192	3.0109
5	0	2	7.0	2.3811	3.7898
6	0	2	7.5	2.4491	3.4277
7	0	4	6.5	2.8598	1.6219
8	0	4	7.0	3.4850	3.4370
9	0	4	7.5	4.8392	5.5842
10	1.2	0	6.5	2.8444	4.6219
11	1.2	0	7.0	2.9162	2.1949
12	1.2	0	7.5	3.0980	3.3069
13	1.2	2	6.5	4.8156	3.7453
14	1.2	2	7.0	5.2447	5.3359
15	1.2	2	7.5	4.0661	3.8649
16	1.2	4	6.5	6.5320	7.0148
17	1.2	4	7.0	6.0712	6.6543
18	1.2	4	7.5	7.0068	6.5340
19	2.4	0	6.5	3.0269	2.5557
20	2.4	0	7.0	2.3424	2.5129
21	2.4	0	7.5	3.3525	3.1670
22	2.4	2	6.5	3.9941	4.8133
23	2.4	2	7.0	2.5430	3.4347
24	2.4	2	7.5	5.7171	5.8024
25	2.4	4	6.5	7.3541	6.4399
26	2.4	4	7.0	2.9082	3.6943
27	2.4	4	7.5	2.5392	5.4397

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.12 ค่า พารามิเตอร์ GT (Generation Time)

ชุดการทดลอง				ค่า Generation Time	
ชุดที่	**NaL**	**NaCl**	**pH**	**ซ้ำที่ 1**	**ซ้ำที่ 2**
1	0	0	6.5	0.5597	0.5706
2	0	0	7.0	0.5262	0.5303
3	0	0	7.5	0.5105	0.5333
4	0	2	6.5	0.5706	0.6014
5	0	2	7.0	0.4912	0.5079
6	0	2	7.5	0.6203	0.5749
7	0	4	6.5	0.9400	0.9970
8	0	4	7.0	0.8600	0.8599
9	0	4	7.5	1.0358	0.9470
10	1.2	0	6.5	0.7479	0.6373
11	1.2	0	7.0	0.6914	0.7278
12	1.2	0	7.5	0.4818	0.4505
13	1.2	2	6.5	0.7809	0.9180
14	1.2	2	7.0	0.8350	0.7830
15	1.2	2	7.5	0.6436	0.6670
16	1.2	4	6.5	1.3601	1.3068
17	1.2	4	7.0	1.2026	1.1665
18	1.2	4	7.5	1.2067	1.3408
19	2.4	0	6.5	0.5745	0.5846
20	2.4	0	7.0	0.5749	0.5682
21	2.4	0	7.5	0.6926	0.6949
22	2.4	2	6.5	0.9771	0.9232
23	2.4	2	7.0	0.8777	0.9020
24	2.4	2	7.5	1.2282	1.2346
25	2.4	4	6.5	1.7566	1.8678
26	2.4	4	7.0	1.8182	1.8223
27	2.4	4	7.5	1.9606	1.8292

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.6 การวิเคราะห์ผลข้อมูลด้วยโปรแกรมทางสถิติ

4.6.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of varience) เพื่อศึกษาอิทธิพล ของ โซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง ต่อค่า K, D, L และ GT ของ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375)

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลในการทดลอง จะทำการวิเคราะห์แบบ 3^3 Factorial in CRD และ วิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลอง ด้วยวิธี Duncan 's New Multiple Range Test

ตารางที่ 4.13 การเข้ารหัส (Code) ของระดับปัจจัย ที่ใช้ในการทดลอง

ปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง	Coded -1	Code 0	Code 1
โซเดียมแลกเทต 60 % W/V	0	1.2	1.4
โซเดียมคลอไรด์	0	2	4
pH	6.5	7.0	7.5
อุณหภูมิ	25	-	35

การวิเคราะห์ข้อมูล ด้วยตัวแปรเข้ารหัส (Coded Variable) จะให้ผลในการวิเคราะห์ข้อมูลได้ดีกว่าการวิเคราะห์ด้วยตัวแปรเดิม (Natural Variable) เพราะข้อมูลที่กรอกแบบ Coded จะมีระดับที่สม่ำเสมอ มากกว่าการกรอกข้อมูลจาก ตัวแปรเดิมที่อาจมีช่วงห่างระหว่างระดับต่ำ- สูงไม่เท่ากันในทุกปัจจัยทำให้การวิเคราะห์เกิดความคลาดเคลื่อนได้ (อิศรพงษ์, 2544)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ 3^3 Factorial in CRD

ปัจจัย		พารามิเตอร์ที่ศึกษา			
ชนิดปัจจัย	ระดับ	K	D	L	GT
โซเดียมแลกเทต	0	0.47±0.12 [a]	8.80±0.29 [a]	3.03±1.05 [c]	0.68±0.20 [c]
	1.2	0.38±0.13 [b]	8.67±0.37 [b]	4.77±1.59 [a]	0.89±0.30 [b]
	2.4	0.32±0.14 [c]	8.50±0.36 [c]	3.98±1.55 [b]	1.16±0.53 [a]
โซเดียมคลอไรด์	0	0.52±0.07 [a]	8.93±0.20 [a]	2.76±0.66 [c]	0.59±0.08 [c]
	2	0.41±0.11 [b]	8.78±0.17 [b]	4.02±1.08 [b]	0.79±0.22 [b]
	4	0.24±0.07 [c]	8.26±0.24 [c]	5.00±1.84 [a]	1.35±0.39 [a]
pH	6.5	0.38±0.13 [b]	8.62±0.23 [a]	4.13±1.72 [a]	0.93±0.40 [a]
	7.0	0.40±0.14 [a]	8.64±0.38 [a]	3.52±1.40 [b]	0.87±0.40 [b]
	7.5	0.40±0.16 [a]	8.71±0.44 [a]	4.13±1.57 [a]	0.93±0.46 [a]

หมายเหตุ:
1. ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
2. ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละสดมภ์ ของแต่ละชนิดปัจจัย แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)
3. ค่า K คือ Maximum Growth Rate
4. ค่า D คือ Maximum Cell Population
5. ค่า L คือ Lag phase Duration
6. ค่า GT คือ Generation Time

เมื่อพิจารณาในแต่ละปัจจัยที่มีต่อ Growth Kinetics ของเชื้อ จะวิเคราะห์ได้ดังนี้

1. การวิเคราะห์ผลของ โซเดียมแลกเทต ทั้ง 3 ระดับ พบว่า ในกรณีของค่า K และ D จะให้ผลการวิเคราะห์ที่เหมือนกัน คือ โซเดียมแลกเทต ทั้ง 3 ระดับ มีผลต่อค่า K และ D ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ($P \leq 0.05$) โดยที่ระดับต่ำที่สุด คือการไม่เติมโซเดียมแลกเทต จะมีผลต่อค่า K และ D มากที่สุด ทำให้ค่าของ K และ D มีค่าสูงเป็นอันดับหนึ่ง

เมื่อพิจารณาย้อนกลับไปยังกราฟการวิเคราะห์ ที่แสดงถึงผลของโซเดียมแลกเทตเพียงปัจจัยเดียว (ภาพกราฟที่ 4.4-4.6) พบว่า การวิเคราะห์ ANOVA ให้ผลการวิเคราะห์ที่สอดคล้องกับการวิเคราะห์จากกราฟ ให้ผลการวิเคราะห์ที่เห็นภาพชัดเจนมากกว่าด้วยข้อมูลที่เป็นตัวเลข ทั้งในกรณีของค่า D และค่า K ในกรณีของค่า D เมื่อพิจารณาจากกราฟ จะเห็นว่า ไม่ว่าจะทำการทดลองเติม โซเดียมแลกเทต ที่ความเข้มข้นเท่าใด ค่าปริมาณเชื้อ ในช่วง Stationary phase จะมีความใกล้เคียงกัน มีเพียงที่สภาวะของ โซเดียมแลกเทต ที่เติมลงในอาหารด้วยความเข้มข้น 2.4 % มีค่า pH 7.5 และไม่เติมโซเดียมคลอไรด์ (2.4/0/7.5) เท่านั้นที่แสดงความแตกต่างอย่างเห็นได้ชัดเจน เมื่อพิจารณาจากกราฟ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สามารถบอกได้เพียงว่าใกล้เคียงกัน โดยในความใกล้เคียงกันนั้น มีความแตกต่างกันเล็กน้อยซึ่งเราไม่สามารถบอกรายละเอียดได้มากกว่านั้น แต่เมื่อลองพิจารณาให้ถี่ถ้วนแล้วจะพบว่าใน 3 ความเข้มข้นของ โซเดียมแลกเทต กราฟของเชื้อที่เจริญในอาหารที่ไม่เติมโซเดียมแลกเทต จะเป็นกราฟที่แสดงค่าปริมาณเชื้อใน Stationary phase ที่มากกว่า กราฟอื่น ๆ เสมอ สอดคล้องกับการวิเคราะห์ ANOVA และสังเกตจากค่าของ D ที่วิเคราะห์ได้ พบว่ามีความแตกต่างกันเล็กน้อย

ข้อมูลที่วิเคราะห์ใน ANOVA เป็นข้อมูลดิบ ที่มาจาก 2 ซ้ำ ซึ่งจะให้ค่าการวิเคราะห์ที่ละเอียดมากขึ้นกว่าการประเมินจากรูปกราฟ ซึ่งข้อมูลที่ใช้สร้างกราฟเป็นข้อมูลของ 2 ซ้ำที่มาหาค่าเฉลี่ยแล้วทำให้เกิดคลาดเคลื่อนได้

ในกรณีของค่า K ก็เช่นเดียวกัน การประเมินอัตราเร็วของการเจริญจากกราฟ ไม่อาจบอกความแตกต่างที่ถูกต้องได้ เมื่อวิเคราะห์ด้วยข้อมูลที่เป็นตัวเลขจะเห็นความแตกต่างที่ชัดเจนมากขึ้น

ในการวิเคราะห์ ANOVA ของค่า L พบว่า โซเดียมแลกเทต ที่ความเข้มข้น 1.2 % มีอิทธิพลต่อค่า L มากที่สุดเป็นอันดับหนึ่ง รองลงไปคือ 2.4 % และ ที่ไม่เติมโซเดียมแลกเทต เมื่อพิจารณาจากค่าของ L ที่เป็นผลจาก โซเดียมแลกเทต 1.2 % จะเห็นว่าเป็นค่าที่สูงที่สุด คือเท่ากับ 4.77 ± 1.59 เมื่อเทียบกับค่าของ L ที่เป็นผลจาก โซเดียมแลกเทต 2.4 % ซึ่งมีค่าเพียง 3.99 ± 1.55 เท่านั้น แสดงว่าในอาหารที่เติม โซเดียมแลกเทต 1.2 % จะมีผลต่อค่า Lag phase ของเชื้อมากกว่าการที่เติมในระดับที่สูงกว่า ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยต่าง ๆ ที่กล่าวว่าเปอร์เซนต์ของโซเดียมแลกเทตที่เพิ่มขึ้นทำให้ Lag phase ยาวมากขึ้น (Brewer M.S, *et al*. 1991) แต่หากพิจารณาถึงสภาวะของปัจจัยต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลองแล้ว การวิจัยในครั้งนี้ มีปัจจัยร่วมอีก 2 ปัจจัย คือ โซเดียมคลอไรด์ และ pH คาดว่าในกรณีของ pH ไม่น่ามีผลมากเท่าใดนัก เพราะเป็น pH ในช่วงที่เป็นกลาง ตัวโซเดียมแลกเทตเองก็มี pH เป็นกลาง จะมีเพียงแค่โซเดียมคลอไรด์ ที่อาจมีผลกระทบต่อโซเดียมแลกเทต เพราะเมื่อพิจารณาคุณสมบัติของสารทั้ง 2 แล้ว โซเดียมคลอไรด์ เป็นเกลือ ที่มีคุณสมบัติในการลดค่า a_w ในอาหาร แต่โซเดียมแลกเทต จะทำงานได้ดีในสภาวะของอาหารที่มี a_w สูงกว่าสภาวะที่มี a_w ต่ำ ๆ เพราะ โซเดียมแลกเทต จะมีกลไกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ เมื่อมันแตกตัวในน้ำแล้วสามารถซึมผ่านเข้าไปในเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้ภาวะ pH ภายในและภายนอกเซลล์ไม่สมดุลกัน เซลล์จึงสูญเสียความสามารถในการดำเนินกระบวนการต่าง ๆ และเติบโตได้ช้าลง(Alakomi H.L., Skytta E., Saarela M. *et al*. 2000 และ Bogaert J.C., Naidu A.S. 2000) ดังนั้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่เติม โซเดียมคลอไรด์ และ โซเดียมแลกเทต ร่วมกัน แล้วเป็นการเติมโซเดียมคลอไรด์ ในปริมาณที่มาก คือ 2 % และ 4 % ไม่ได้เติมเป็นเพียงแค่สารปรุงรส เหมือนในผลิตภัณฑ์อาหาร อาจเป็นไปได้ที่คุณสมบัติในความเป็นเกลือของโซเดียมคลอไรด์จะมีสูงกว่า และส่งผลต่อค่า a_w ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้โซเดียมแลกเทตที่ 2.4 % แตกตัวได้น้อยกว่า และมีผลต่อเชื้อน้อยกว่า ที่ 1.2 % หรืออาจเป็นผลมาจากการกำหนดช่วงในการตรวจนับการเจริญของเชื้อ ซึ่งเป็นไปได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ที่กำหนดช่วงกว้างไปในช่วง 4 ชั่วโมงแรก คือกำหนดห่างกัน 1 ชั่วโมง ซึ่งทำให้การเก็บข้อมูลในช่วง lag phase เก็บได้ไม่ละเอียด แต่หากเก็บข้อมูลทุก 30 นาที อาจทำให้มองเห็นความแตกต่างในช่วง lag phase ได้มากกว่านี้

เมื่อพิจารณาค่า Generation Time (GT) เมื่อเชื้อมี Lag phase ยาว Generation Time ควรจะมีค่ามาก เพราะเชื้อต้องใช้เวลานานในการแบ่งตัว แต่จากการวิเคราะห์ ANOVA พบว่า ที่โซเดียมแลกเทต 2.4 % มีผลต่อค่าของ GT มากที่สุด มากกว่าที่ โซเดียมแลกเทต 1.2 % ซึ่งไม่สอดคล้องตามที่ได้วิเคราะห์ Lag phase เอาไว้ อาจเนื่องมาจาก เชื้อได้รับอิทธิพลจากโซเดียมแลกเทต ทำให้เซลล์ได้รับบาดเจ็บ จึงต้องใช้เวลาในการซ่อมแซมเซลล์นาน ทำให้ Lag phase ยาว แต่เมื่อสามารถเจริญได้แล้วจะเจริญได้ด้วยอัตราเร็วที่ดีเช่นดังเซลล์ที่เจริญแบบปกติ

2. การวิเคราะห์ค่าของ โซเดียมคลอไรด์ ทั้ง 3 ระดับ พบว่า การวิเคราะห์ ANOVA ของโซเดียมคลอไรด์นี้ ให้ผลที่สอดคล้องกับการวิเคราะห์จากกราฟ โดยในกรณีของค่า K และ D จะสามารถจัดกลุ่มของค่าที่เกิดจากผลของการเติมโซเดียมคลอไรด์ ในระดับสูง คือ 4 % ให้เป็นอันดับหนึ่ง

ส่วนในกรณีของค่า L และ GT ต่างให้ผลเป็นไปในทางที่สอดคล้องกับกราฟ คือที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับสูง จะมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีขึ้น ทำให้ Lag phase ยาวนานขึ้น และเมื่อ Lag phase ยาวนานขึ้น ก็ทำให้ GT มีค่ามากขึ้นตามมา

3. วิเคราะห์ในส่วนของ pH พบว่าในกรณีของค่า K ที่ pH 7.0 และ 7.5 ให้ผลของค่า K มากกว่าที่ pH 6.5 หมายถึงการที่ใช้ pH 7.0 และ 7.5 ทำให้เชื้อมีอัตราเร็วในการเจริญมากกว่า คือมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อได้น้อยกว่าทำให้เชื้อเจริญได้เร็ว เมื่อเทียบกับที่ pH 6.5 ซึ่งทำให้ค่า K น้อยกว่า แสดงว่ามีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ทำให้เชื้อเจริญได้ช้าลง

ในส่วนของ ค่า D พบว่า pH ทั้ง 3 ระดับไม่มีผลต่อ ค่าของ D เลย จึงจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน เพราะล้วนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ($P \leq 0.05$)

ในกรณีของ ค่า L และ GT ให้ผลการวิเคราะห์ที่เหมือนกันคือ ที่ pH 6.5 และ 7.5 ให้ผลต่อค่า L และ GT ได้มากกว่าที่ pH 7.0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.6.2 ผลการวิเคราะห์เพื่อสร้างสมการ Polynomial equation ของ K D L และ GT ของ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) ที่เจริญในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

4.6.2.1 ผลการ สร้างสมการ Polynomial equation สำหรับค่า K

การวิเคราะห์ Multiple Regression ได้ผลการวิเคราะห์ที่สามารถสร้างสมการ Polynomial equation สำหรับค่า K ได้ สมการ 2 รูปแบบดังนี้

Coded Full Model

$$K = 0.410 - 0.078NaL - 0.139NaCl + 0.010pH + 0.017NaL2 - 0.032\ NaCl2 - 0.015pH2 - 0.023\ NaL_NaCl - 0.016\ NaL_pH - 0.014\ NaCl_pH$$

$$R^2 = 0.874$$

$$Adj\ R^2 = 0.849$$

หมายเหตุ : R^2 เป็นการประมาณค่าที่เหมาะสมและพอดีที่สุด (Goodness of fit) ที่เกินจริง จึงมักใช้ค่า Adj R^2 ในการวัดแทน ซึ่ง Adj R^2 นี้จะมีค่าน้อยกว่า R^2 เล็กน้อย

Natural Full Model

$$K = -2.831 + 0.114NaL + 0.074NaCl + 0.896pH + 0.012NaL2 - 0.008\ NaCl2 - 0.058\ pH2 - 0.010\ NaL_NaCl - 0.027\ NaL_pH - 0.014\ NaCl_pH$$

$$R^2 = 0.874$$

$$Adj\ R^2 = 0.849$$

สมการที่แสดงได้ใน 2 ลักษณะนี้ มาจากการวิเคราะห์ข้อมูล 2 แบบคือวิเคราะห์ด้วยตัวแปรเข้ารหัส (Coded Variable) และการวิเคราะห์จากตัวแปรเดิม (Natural Variable) ซึ่งการวิเคราะห์ด้วยตัวแปรเข้ารหัส (Coded Variable)จะให้ผลในการวิเคราะห์ข้อมูลได้ดีกว่า เพราะข้อมูลที่กรอกแบบ Coded จะมีช่วงของระดับที่สม่ำเสมอ มากกว่าการกรอกจาก ตัวแปรเดิมที่อาจมีช่วงห่างระหว่างระดับต่ำ-สูงไม่เท่ากันในทุกปัจจัย ทำให้การวิเคราะห์อาจเกิดความคลาดเคลื่อนได้ (อิศรพงษ์, 2544) เพียงแต่การวิเคราะห์ด้วยตัวแปรเข้ารหัส จะได้สมการที่เมื่อจะนำไปใช้งานจะต้องทำการถอดรหัสเสียก่อน แต่สมการที่มาจากการวิเคราะห์ด้วยตัวแปรเดิม (Natural Variable) จะสะดวกต่อผู้นำไปใช้งานมากกว่า เพราะสามารถแทนค่าของระดับปัจจัยในสมการได้เลย แต่ทั้งนี้แล้วสามารถนำไปใช้งานได้ทั้ง 2 สมการ เพราะมีความน่าเชื่อถือเท่าเทียบกัน สังเกตจากค่า R^2 ของทั้งสองการวิเคราะห์ที่มีค่าเท่ากัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

จากสมการ Polynomial Equation ของค่า K ที่ได้วิเคราะห์แบบ Coded Full model จะสามารถอธิบายถึงความสัมพันธ์ของตัวแปรในสมการได้ โดยสังเกตจากค่าของสัมประสิทธิ์ของแต่ละตัวแปร และการเลือกใช้ปัจจัยต่าง ๆ ในการทดลองก็ควรเลือกระดับของปัจจัย โดยสังเกตจากค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรนั้นด้วย อย่างกรณีนี้ค่าของ โซเดียมคลอไรด์เป็นค่าที่มีค่าสัมประสิทธิ์สูงที่สุด รองลงไปคือ โซเดียมแลกเทต และ pH โดยโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมแลกเทตมีค่าสัมประสิทธิ์ติดลบแสดงว่าเมื่อเพิ่มระดับของ สารทั้ง 2 ตัวขึ้นเป็นระดับสูงจะมีผลให้ค่ารวมของสมการลดลง และหมายถึงการที่ ค่า K จะ มีค่าน้อยนั่นเอง

การวิเคราะห์ค่า K (Maximum Growth Rate)นี้ สอดคล้องกันการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยด้วย ANOVA ที่ให้ผลว่าเมื่อเพิ่มระดับของ โซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และ pH จะทำให้ค่าเฉลี่ยของค่า K ลดลง หรือมีผลให้ค่าอัตราเร็วสูงสุดในการเจริญของเชื้อลดลง

4.6.2.2 ผลการสร้างสมการ Polynomial equation สำหรับค่า D

การวิเคราะห์ Multiple Regression ได้ผลการวิเคราะห์ที่สามารถสร้างสมการ Polynomial equation สำหรับค่า D ได้ สมการ 2 รูปแบบดังนี้

Coded Full model

$$D = 8.784 - 0.148NaL - 0.338NaCl + 0.044pH - 0.021NaL2 - 0.190NaCl2 + 0.021pH2 - 0.059NaL_NaCl - 0.074NaL_pH - 0.121NaCl_pH$$

$$R^2 = 0.892$$

$$Adj\ R^2 = 0.870$$

Natural Full model

$$D = 9.829 + 0.823NaL + 0.896NaCl - 0.713pH - 0.015NaL2 - 0.048NaCl2 + 0.085pH2 - 0.025NaL_NaCl - 0.123NaL_pH - 0.121NaCl_pH$$

$$R^2 = 0.892$$

$$Adj\ R^2 = 0.870$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

จากสมการนี้เมื่อทำการแทนค่าใน สมการตัวแปรเข้ารหัส (Coded Full Model) จะพบว่าค่าของ D ที่ได้จะมีค่าน้อยลงเมื่อเพิ่มระดับของ โซเดียมแลกเทต และ โซเดียมคลอไรด์ขึ้น เพราะทั้งสองค่านี้มีสัมประสิทธิ์ติดลบ

4.6.2.3 ผลการสร้างสมการ Polynomial equation สำหรับค่า L

การวิเคราะห์ Multiple Regression ได้ผลการวิเคราะห์ที่สามารถสร้างสมการ Polynomial equation สำหรับค่า L ได้ สมการ 2 รูปแบบดังนี้

Coded Full model

L = 4.458 + 0.473NaL + 1.118NaCl – 0.004pH – 1.263NaL2 – 0.137NaCl2 + 0.607pH2 + 0.142NaL_NaCl – 0.246NaL_pH + 0.058NaCl_pH

R^2 = 0.606

Adj R^2 = 0.525

Natural Full model

L = 117.918 + 5.25NaL + 0.218NaCl – 33.6pH – 0.877NaL2 – 0.034NaCl2 + 2.426pH2 + 0.059NaL_NaCl – 0.041NaL_pH + 0.058NaCl_pH

R^2 = 0.606

Adj R^2 = 0.525

สมการที่วิเคราะห์ได้ในกรณีของค่า L จะพบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจต่ำ เท่ากับ 60.6 % ซึ่งอธิบายได้ว่า ตัวแปรอิสระ ที่นำเข้าวิเคราะห์ จะอธิบายการเปลี่ยนแปลงค่าของตัวแปรตามคือค่าของ L ได้เพียง 60.6 % ส่วนที่เหลือมาจากอิทธิพลอื่น

สอดคล้องกับการวิเคราะห์ใน ANOVA ที่ให้ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยไม่เป็นไปตามที่ควรเป็น เนื่องมาจากผลของปัจจัยคือ โซเดียมแลกเทตที่มี ผลต่อช่วง Lag phase ของเชื้อมากกว่าช่วงอื่น ๆ และความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทตที่ 1.2 % ก็มีอิทธิพลต่อการเจริญในช่วงนี้มากกว่าที่ความเข้มข้น 2.4 % ด้วย

4.6.2.4 ผลการสร้างสมการ Polynomial equation สำหรับค่า Generation Time

การวิเคราะห์ Multiple Regression ได้ผลการวิเคราะห์ที่สามารถสร้างสมการ Polynomial equation สำหรับค่า GT ได้ สมการ 2 รูปแบบดังนี้

Coded Full model

GT = 0.729 + 0.240NaL + 0.378NaCl – 0.001pH+ 0.034NaL2 + 0.185NaCl2 + 0.051pH2 + 0.206NaL_NaCl + 0.041NaL_pH + 0.017NaCl_pH

R^2 = 0.959

Adj R^2 = 0.951

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Natural Full model

GT = 11.344 - 0.502NaL – 0.217NaCl – 2.972pH + 0.024NaL2
+ 0.046NaCl2 + 0.204pH2 + 0.086NaL_NaCl + 0.068NaL_pH
+ 0.017NaCl_pH

R^2 = 0.959

Adj R^2 = 0.951

สมการที่วิเคราะห์ได้ในกรณีของค่า GT นี้ ให้ผลของการวิเคราะห์ที่มีสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจสูงมากกว่าทุก สมการ คือมีค่าเท่ากับ 95.9 % แสดงว่าสมการนี้จะสามารถใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงของค่า Generation Time ได้ดีถึง 95.9 % ส่วนที่เหลือเพียง 4.1 % มาจากผลของอิทธิพลอื่น

หากสมการ มี R^2 ยิ่งสูงเท่าใด ความแม่นยำของการนำสมการไปใช้ เพื่อทำนายหรือคาดคะเนผลลัพธ์ย่อมสูงมากยิ่งขึ้นด้วย โดยทั่วไปสมการที่มักนำไปใช้ ควรมีค่า R^2 อย่างน้อย 0.75 หากสูงกว่า 0.90 จะถือว่าดีมาก (อิศรพงษ์, 2544)

สมการนี้ให้ผลการวิเคราะห์สอดคล้องกับการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยด้วย ANOVA คือเมื่อเพิ่มระดับของ โซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ เป็นระดับสูง จะมีผลทำให้เชื้อเจริญเติบได้ช้าที่สุด ทำให้ Generation Time มีค่าสูงที่สุด คือเชื้อจะใช้เวลาในการแบ่งตัวยาวขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

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

พารามิเตอร์	สมการ	R^2	Adj R^2
K			
Coded	**= 0.410 - 0.078NaL- 0.139NaCl + 0.010pH + 0.017NaL2 – 0.032 NaCl2**	**0.874**	**0.849**
Full Model	**– 0.015pH2 – 0.023 NaL_NaCl – 0.016 NaL_pH – 0.014 NaCl_pH**		
Natural	**= -2.831+ 0.114NaL+ 0.074NaCl + 0.896pH +0.012NaL2 – 0.008 NaCl2**	**0.874**	**0.849**
Full Model	**– 0.058pH2 – 0.010 NaL_NaCl – 0.027 NaL_pH – 0.014 NaCl_pH**		
D			
Coded	**= 8.784 - 0.148NaL – 0.338NaCl + 0.044pH – 0.021NaL2 – 0.190NaCl2**	**0.892**	**0.870**
Full Model	**+ 0.021pH2 – 0.059NaL_NaCl – 0.074NaL_pH – 0.121NaCl_pH**		
Natural	**= 9.829 + 0.823NaL + 0.896NaCl – 0.713pH – 0.015NaL2 – 0.048NaCl2**	**0.892**	**0.870**
Full Model	**+ 0.085pH2 – 0.025NaL_NaCl – 0.123NaL_pH – 0.121NaCl_pH**		
L			
Coded	**= 4.458 + 0.473NaL + 1.118NaCl – 0.004pH – 1.263NaL2 – 0.137NaCl2**	**0.606**	**0.525**
Full Model	**+ 0.607pH2 + 0.142NaL_NaCl – 0.246NaL_pH + 0.058NaCl_pH**		
Natural	**= 117.918 + 5.25NaL + 0.218NaCl – 33.6pH – 0.877NaL2 – 0.034NaCl2**	**0.606**	**0.525**
Full Model	**+ 2.426pH2 + 0.059NaL_NaCl – 0.041NaL_pH + 0.058NaCl_pH**		
GT			
Coded	**= 0.729 + 0.240NaL + 0.378NaCl – 0.001pH+ 0.034NaL2+ 0.185NaCl2**	**0.959**	**0.951**
Full Model	**+ 0.051pH2 + 0.206NaL_NaCl + 0.041NaL_pH + 0.017NaCl_pH**		
Natural	**= 11.344 - 0.502NaL – 0.217NaCl – 2.972pH + 0.024NaL2 + 0.046NaCl2**	**0.959**	**0.951**
Full Model	**+ 0.204pH2 + 0.086NaL_NaCl + 0.068NaL_pH + 0.017NaCl_pH**		

หมายเหตุ :
1. R^2 คือค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ
2. Adj R^2 คือค่า R^2 ที่ถูกปรับค่าแล้ว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.6.3 ผลการวิเคราะห์เพื่อสร้างสมการ Polynomial equation ของ K D L และ GT ของ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) ที่เจริญในอุณหภูมิ 25 และ 35 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์ในขั้นตอนนี้จะทำการเพิ่มข้อมูลจาก การสังเกตการเจริญของเชื้อที่เจริญในอุณหภูมิ ที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นการเพิ่มปัจจัย ขึ้นอีก 1 ปัจจัยในการวิเคราะห์ ซึ่งจะทำให้การวางแผนการทดลองเป็นแบบ 3^3 x 2 Factorial in CRD จะได้ผลการวิเคราะห์เป็น สมการ Polynomial Equation อีก 4 สมการ คือ สมการของค่า K, D, L และ GT แต่จะเป็นสมการที่จะสามารถใช้ทำนายการเจริญของเชื้อ *S. enterica* Weltevreden ที่ได้รับอิทธิพลจากอุณหภูมิเพิ่มขึ้นอีก หนึ่งปัจจัย

4.6.3.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of varience)

ตารางที่ 4.16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ 3^3 x 2 Factorial in CRD

ปัจจัย		พารามิเตอร์ที่ศึกษา			
ชนิดปัจจัย	ระดับ	K	D	L	GT
โซเดียมแลกเทต	0	0.64±0.22 [a]	8.82±0.25 [a]	2.72±1.27 [b]	0.54±0.21 [c]
	1.2	0.54±0.25 [b]	8.75±0.31 [b]	3.96±1.96 [a]	0.69±0.33 [b]
	2.4	0.46±0.25 [c]	8.47±0.34 [c]	4.01±2.29 [a]	0.88±0.51 [a]
โซเดียมคลอไรด์	0	0.73±0.23 [a]	8.90±0.17 [a]	2.07±0.85 [c]	0.46±0.15 [c]
	2	0.57±0.20 [b]	8.74±0.22 [b]	3.18±1.22 [b]	0.61±0.25 [b]
	4	0.34±0.14 [c]	8.40±0.36 [c]	5.42±1.88 [a]	1.05±0.44 [a]
pH	6.5	0.53±0.23 [b]	8.59±0.22 [c]	3.51±1.90 [b]	0.72±0.39 [a]
	7.0	0.56±0.24 [a]	8.69±0.31 [b]	3.25±1.77 [c]	0.68±0.37 [b]
	7.5	0.56±0.29 [a]	8.75±0.43 [a]	3.93±2.19 [a]	0.72±0.42 [a]
Temp	25	0.39±0.14 [b]	8.66±0.36 [b]	3.93±1.57 [a]	0.91±0.42 [a]
	35	0.70±0.24 [a]	8.70±0.31 [a]	3.20±2.25 [b]	0.50±0.23 [b]

หมายเหตุ:
1. ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
2. ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละสดมภ์ของแต่ละชนิดปัจจัย แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)
3. ค่า K คือ Maximum Growth Rate , ค่า D คือ Maximum Cell Population, ค่า L คือ Lag phase Duration, ค่า GT คือ Generation Time

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ผลในขั้นตอนนี้ให้ผลการวิเคราะห์ที่สามารถอธิบายได้ดังนี้

ในกรณีของโซเดียมแลกเทต พบว่าให้ผลการวิเคราะห์ที่สอดคล้องกับการวิเคราะห์ในกรณีที่มีปัจจัยคือ อุณหภูมิเท่ากับ 25 องศาเซลเซียสเพียงอุณหภูมิเดียว นั่นคือ ความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทตที่ระดับสูง มีผลให้ค่า K และ D มีค่าน้อยที่สุด และให้ค่าของ GT สูงที่สุด

แต่สำหรับผลของโซเดียมแลกเทตที่มีต่อ ค่า L หรือ Lag phase duration ในกรณีที่มีการเพิ่มปัจจัยคือ อุณหภูมิเป็น 2 ระดับ พบว่า โซเดียมแลกเทตที่ 1.2% และ 2.4% มีผลต่อค่านี้ เท่ากัน จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน นั่นเป็นเพราะว่าเชื้อได้รับอิทธิพลจากโซเดียมแลกเทต ร่วมกันกับอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้ค่า Lag phase duration มีค่ามากขึ้น

สำหรับโซเดียมคลอไรด์ พบว่าให้ผลการวิเคราะหสอดคล้องกับการวิเคราะห์ในกรณีที่มีปัจจัยคือ อุณหภูมิเท่ากับ 25 องศาเซลเซียสเพียงอุณหภูมิเดียว นั่นคือเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เป็นระดับที่สูงขึ้นจะทำให้ค่า K และ D มีค่าลดลง และ ทำให้ค่า L และ GT มีค่ามากขึ้น

ส่วน pH พบว่า pH 6.5 มีอิทธิพลต่อค่า K และ D มากกว่า ที่ pH 7.0 และ 7.5 ส่วนค่า L ได้รับอิทธิพล pH 7.5 สูงที่สุด คือมีช่วง Lag phase duration ยาวที่สุด ค่า GT พบว่า pH 6.5 และ 7.5 มีอิทธิพลต่อ GT มากกว่าที่ 6.0

อิทธิพลจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นพบว่ามีผลทำให้ค่า K และ D มีค่ามากขึ้น แต่ทำให้ค่า L และ GT น้อยลง

4.6.3.2 ผลการสร้างสมการ Polynomial equation สำหรับค่า K

การวิเคราะห์ Multiple Regression ได้ผลการวิเคราะห์ที่สามารถสร้างสมการ Polynomial equation สำหรับค่า K ได้ ดังนี้

Coded full model

K = 0.571 - 0.087NaL - 0.196NaCl -0.017pH + 0.155Temp +0.011NaL2
-0.032NaCl2 - 0.015pH2 - 0.033NaL_NaCl - 0.024NaL_pH
- 0.009NaL_Temp -0.029NaCl_pH - 0.057NaCl_Temp
+ 0.007pH_Temp

R^2 = 0.940

Adj R^2 = 0.932

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อเพิ่มปัจจัยเข้าสู่การวิเคราะห์อีก 1 ค่า สมการ Polynomial equation ที่ได้จะมีค่าของ Regression เพิ่มขึ้น เพราะมีการวิเคราะห์อิทธิพลร่วมของอุณหภูมิเข้ามา เมื่อมี Regression เพิ่มขึ้น ทำให้ค่า R^2 ของสมการ K ที่วิเคราะห์ได้ในกรณีนี้มีค่ามากกว่าสมการที่วิเคราะห์จากอุณหภูมิเดียว

แต่เมื่อเปรียบเทียบค่าสัมประสิทธิ์ของแต่ละปัจจัย ซึ่งเป็นปัจจัยแบบเดี่ยวแล้ว จะพบว่า โซเดียมคลอไรด์จะมีค่าสัมประสิทธิ์สูงที่สุดรองลงไปคือ อุณหภูมิ โซเดียมแลกเทต และ pH ซึ่งสามปัจจัย คือ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมแลกเทต และ pH จะมีค่าสัมประสิทธิ์ที่ติดเครื่องหมายลบ แสดงว่า เมื่อเพิ่มระดับของปัจจัยทั้ง 3 ตัว จะมีผลให้ค่า K ลดลง ในขณะที่อุณหภูมิ มีค่าสัมประสิทธิ์ที่เป็นบวก แสดงว่าเมื่อเพิ่มระดับของอุณหภูมิขึ้นจะทำให้ค่า K เพิ่มขึ้น

สมการที่วิเคราะห์ได้ในกรณีของค่า K นี้ ให้ผลของการวิเคราะห์ที่มีสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ มีค่าเท่ากับ 94.0 % แสดงว่าสมการนี้จะสามารถใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงของค่า K ได้ดีถึง 94.0 % ส่วนที่เหลือเพียง 6.0 % มาจากผลของอิทธิพลอื่น ๆ

4.6.3.3 ผลการสร้างสมการ Polynomial equation สำหรับค่า D

การวิเคราะห์ Multiple Regression ได้ผลการวิเคราะห์ที่สามารถสร้างสมการ Polynomial equation สำหรับค่า D ได้ ดังนี้

Coded full model

D = 8.827 - 0.175NaL - 0.251NaCl + 0.080pH +0.022Temp -0.111NaL2
- 0.095NaCl2 - 0.015pH2 - 0.099NaL_NaCl - 0.094NaL_pH
- 0.026NaL_Temp - 0.063NaCl_pH + 0.087NaCl_Temp
+ 0.037pH_Temp

R^2 = 0.805

Adj R^2 = 0.779

ในกรณีของการวิเคราะห์ค่า D จะพบว่า โซเดียมคลอไรด์ ยังคงเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลสูงสุด รองลงไปคือ โซเดียมแลกเทต pH และ อุณหภูมิแต่ในกรณีนี้ โซเดียมคลอไรด์ และโซเดียมแลกเทตมีค่าสัมประสิทธิ์เป็นค่าติดลบ ส่วน pH และอุณหภูมิ ติดค่าบวก แสดงว่าจะให้อิทธิพลในทางตรงกันข้ามกัน เมื่อเพิ่มระดับของ โซเดียมคลอไรด์และ โซเดียมแลกเทต จะส่งผลให้ค่า D ลดลง ในขณะที่เมื่อเพิ่มระดับของ pH และอุณหภูมิ จะทำให้ ค่า D เพิ่มขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สมการที่วิเคราะห์ได้ในกรณีของค่า D นี้ ให้ผลของการวิเคราะห์ที่มีสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ มีค่าเท่ากับ 80.5 % แสดงว่าสมการนี้จะสามารถใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงของค่า K ได้ดีถึง 80.5 % ส่วนที่เหลือ 19.5 % มาจากผลของอิทธิพลอื่น ๆ

4.6.3.4 ผลการสร้างสมการ Polynomial equation สำหรับค่า L

การวิเคราะห์ Multiple Regression ได้ผลการวิเคราะห์ที่สามารถสร้างสมการ Polynomial equation สำหรับค่า L ได้ ดังนี้

Coded full model

$$\begin{aligned} L = {} & 3.259 + 0.641NaL + 1.677NaCl + 0.208pH - 0.366Temp \\ & - 0.590NaL2 + 0.569NaCl2 + 0.476pH2 + 0.498NaL_NaCl \\ & - 0.035NaL_pH + 0.168NaL_Temp + 0.236NaCl_pH \\ & + 0.559NaCl_Temp + 0.212pH_Temp \end{aligned}$$

$$R^2 = 0.762$$

$$\text{Adj } R^2 = 0.728$$

ค่า L ได้รับอิทธิพลจาก โซเดียมคลอไรด์ มากที่สุด รองลงไปคือ โซเดียมแลกเทต และ pH เมื่อเพิ่มระดับของปัจจัยทั้ง 3 จะมีผลให้ค่า L มากขึ้น แต่ในกรณีของอุณหภูมิ พบว่าอุณหภูมิที่ระดับสูงจะมีผลให้ค่า L ลดลง

สมการที่วิเคราะห์ได้ในกรณีของค่า L นี้ ให้ผลของการวิเคราะห์ที่มีสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ มีค่าเท่ากับ 76.2 % แสดงว่าสมการนี้จะสามารถใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงของค่า K ได้ดีถึง 76.2 % ส่วนที่เหลือ 23.8 % มาจากผลของอิทธิพลอื่น ๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.6.3.5 ผลการสร้างสมการ Polynomial equation สำหรับค่า GT

การวิเคราะห์ Multiple Regression ได้ผลการวิเคราะห์ที่สามารถสร้างสมการ Polynomial equation สำหรับค่า GT ได้ ดังนี้

Coded full model

GT = 0.570 + 0.172NaL + 0.294NaCl + 0.001pH - 0.204Temp + 0.020NaL2
+ 0.139NaCl2 + 0.043pH2 + 0.152NaL_NaCl + 0.026NaL_pH
- 0.068NaL_Temp + 0.018NaCl_pH - 0.084NaCl_Temp
+ 0.002pH_Temp

R^2 = 0.942

Adj R^2 = 0.934

ค่า GT ได้รับอิทธิพลจาก โซเดียมคลอไรด์ มากที่สุด รองลงไปคือ โซเดียมแลกเทต และ pH เมื่อเพิ่มระดับของปัจจัยทั้ง 3 จะมีผลให้ค่า GT มากขึ้น แต่ในกรณีของอุณหภูมิ พบว่าอุณหภูมิที่ระดับสูงจะมีผลให้ค่า GT ลดลง

สมการที่วิเคราะห์ได้ในกรณีของค่า GT นี้ ให้ผลของการวิเคราะห์ที่มีสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ มีค่าเท่ากับ 94.2 % แสดงว่าสมการนี้จะสามารถใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงของค่า K ได้ดีถึง 94.2 % ส่วนที่เหลือ 5.8 % มาจากผลของอิทธิพลอื่น ๆ

จากผลการสร้างสมการทั้ง 4 สมการพบว่า สมการที่ได้ทั้ง 4 มีค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจใกล้เคียงกัน โดยสมการของ GT จะมีค่า R^2 ที่สูงที่สุด และ รองลงไปคือ K, D, และ L

4.7 การใช้นำสมการไปใช้งาน และการทวนสอบความถูกต้องของสมการ

สมการ ของ K D L และ GT ของ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) ที่เจริญในอุณหภูมิ 25 และ 35 องศาเซลเซียส จะแสดงสมการในรูปของ Coded Full model ซึ่งหากจะนำไปใช้งานจะต้องถอดรหัสของระดับปัจจัยที่จะใช้ก่อนเพื่อแทนค่าในสมการ โดยความสัมพันธ์ของ ตัวแปรเข้ารหัส และ และตัวแปรเดิม จะคำนวณโดยใช้สูตรดังนี้

ตัวแปรเข้ารหัส = <u>ตัวแปรเดิม - (ค่าที่ระดับสูงสุดของปัจจัยนั้น+ค่าที่ระดับต่ำสุดของปัจจัยนั้น)/2</u>
(ค่าที่ระดับสูงสุดของปัจจัยนั้น- ค่าที่ระดับต่ำสุดของปัจจัยนั้น)/2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

หากต้องการใช้ปัจจัยในระดับต่าง ๆ เช่น โซเดียมแลกเทต 2.0 % โซเดียมคลอไรด์ 2.5 % และ pH เท่ากับ 7.3 จะไม่สามารถแทนค่าเหล่านี้ลงในสมการ แบบ Coded full model ได้ทันที จำเป็นต้องมีการแปลงให้อยู่ในรูปแบบของตัวแปรเข้ารหัสเสียก่อน แสดงดังนี้

โซเดียมแลกเทต = 2.0 % ตัวแปรเข้ารหัส $= \frac{2.0 - (2.4+0)/2}{(2.4-0)/2} = \frac{0.67}{}$

โซเดียมคลอไรด์ = 2.5 % ตัวแปรเข้ารหัส $= \frac{2.5 - (4+0)/2}{(4.0-0)/2} = \frac{0.25}{}$

pH= 7.3 ตัวแปรเข้ารหัส $= \frac{7.3 - (7.5+6.5)/2}{(7.5-6.5)/2} = \frac{0.60}{}$

4.7.1 การทวนสอบความถูกต้องของสมการ

ทำการ แทนระดับของปัจจัยต่าง ๆ ในสมการของ K D และ L จะได้ค่าของ K D และ L ยกตัวอย่างการแทนค่าระดับปัจจัยเช่น ชุดการทดลองที่มี โซเดียมแลกเทต 0 % โซเดียมคลอไรด์ 4 % pH เท่ากับ 7.5 และอุณหภูมิเท่ากับ 25 องศาเซลเซียส โดยโซเดียมแลกเทตมี รหัสคือ 0 โซเดียมคลอไรด์ มีรหัสคือ 1 pH มีรหัสเท่ากับ 1 และอุณหภูมิ มีรหัสคือ -1 (ค่ารหัสของปัจจัยแสดงในตารางที่ 4.13)

ตัวอย่างการแทนรหัสนี้ลงในสมการ K

จาก K = 0.571 - 0.087NaL - 0.196NaCl -0.017pH + 0.155Temp +0.011NaL2
-0.032NaCl2 - 0.015pH2 - 0.033NaL_NaCl - 0.024NaL_pH
- 0.009NaL_Temp -0.029NaCl_pH - 0.057NaCl_Temp
+ 0.007pH_Temp

ดังนั้น K = 0.571 - 0.087(0) - 0.196(1) -0.017(1) + 0.155(-1) +0.011(0)2 -0.032(1)2
- 0.015(1)2 - 0.033(0 x 1) - 0.024(0 x 1) - 0.009(0 x (-1)) -0.029(1 x 1)
- 0.057(1 x (-1)) + 0.007(1 x (-1))

และได้ค่า K = 0.323

แล้วทำการแทนรหัสของปัจจัยเหล่านี้ลงในสมการ ค่า D และ L เช่นกัน

ได้ค่า D = 8.576

และได้ค่า L = 4.494

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ทำการคำนวณเพื่อหาค่าของ B C และ M จากค่าของ K D และ L ที่ได้มา ส่วนค่า A จะแทนด้วยค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อเริ่มต้นจากทั้งหมด 54 ชุดการทดลองเพื่อให้ค่า A หรือปริมาณเชื้อเริ่มต้นมีค่าเท่ากัน โดยค่า A เฉลี่ยได้เท่ากับ 3.085

และหาค่า B C M ได้ค่าดังนี้

B= 0.160 C=5.491 M=10.7548

แทนค่า A B C M ที่หาได้ลงใน Gompertz's equation โดยกำหนดเวลา (t) ให้เป็นเวลาใน 18 ช่วงเวลา เช่นเดียวกับการทำการทดลองจริง จะได้ปริมาณของเชื้อ (Nt)ใน 18 ช่วงเวลาที่ได้จากการทำนาย แล้วทำการสร้างกราฟการเจริญจากข้อมูลจากการทำนายเพื่อเปรียบเทียบกับกราฟของข้อมูลที่มา จากการทดลอง จากชุดการทดลองข้างต้นได้ปริมาณเชื้อจากการทำนายเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการทดลองดังนี้

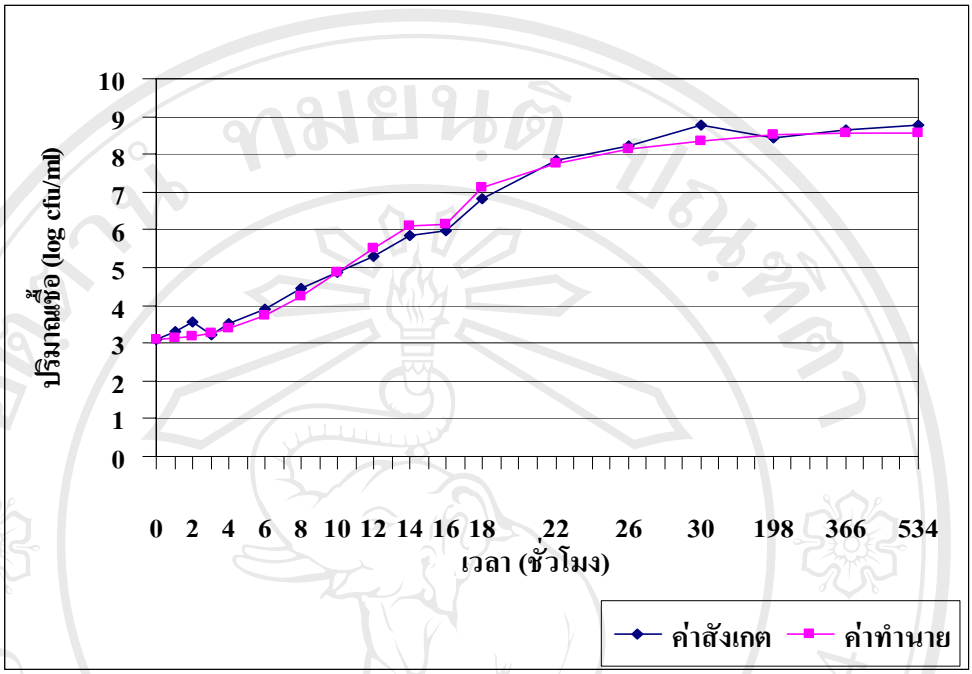
ตารางที่ 4.17 เปรียบเทียบค่าปริมาณเชื้อจากการทดลองและปริมาณเชื้อจากการทำนาย

ช่วงเวลา(ชั่วโมง)	ปริมาณเชื้อจากการทดลอง	ปริมาณเชื้อจากสมการทำนาย
0	3.11	3.11
1	3.30	3.13
2	3.56	3.18
3	3.21	3.26
4	3.53	3.37
6	3.89	3.73
8	4.43	4.25
10	4.89	4.86
12	5.30	5.51
14	5.85	6.11
16	5.97	6.65
18	6.83	7.10
22	7.85	7.74
26	8.21	8.12
30	8.76	8.33
198	8.43	8.58
366	8.63	8.58
534	8.78	8.58

หมายเหตุ : ค่าของปริมาณเชื้อในตารางมีหน่วยเป็น log cfu/ml

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟได้ภาพกราฟดังนี้



ภาพที่ 4.10 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนายของ *S. enterica* Weltevreden ใน อาหารที่ไม่เติม โซเดียมแลกเทต มีโซเดียมคลอไรด์ 4 % มี pH เป็น 7.5 บ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ : จุดในชั่วโมงที่ 0-30 แสดงจุดจาก Scaleจริง
ส่วนจุดที่ 198, 366 และ 534 เป็น Scale ที่กำหนดขึ้น

จากกราฟนี้ให้ผลการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการสังเกตและค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการ มีความใกล้เคียงกัน

ในกรณีนี้ปริมาณเชื้อในแต่ละช่วงเวลาที่คำนวณได้จะมีหน่วยเป็น log cfu/ml ซึ่งหากต้องการทราบว่ามีปริมาณเชื้อเป็นหน่วย cfu/ml จะต้องทำการถอดค่า log ออก

จากงานวิจัยของ Angela M. และคณะ ใน ปี 1988 ที่แสดง ค่าของสมการ ค่า K D และ L โดยติดค่า ln หน้าสมการ จึงจะทำการคำนวณอีกแบบคือการคำนวณจากสมการที่ติด ln นี้ โดยจะทำการ ถอดค่า ln K ,ln D และ ln L ออกเสียแต่แรก

ดังนั้นสมการ K จะเขียนดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

$$\ln K = 0.571 - 0.087NaL - 0.196NaCl - 0.017pH + 0.155Temp + 0.011NaL2 - 0.032NaCl2 - 0.015pH2 - 0.033NaL_NaCl - 0.024NaL_pH - 0.009NaL_Temp - 0.029NaCl_pH - 0.057NaCl_Temp + 0.007pH_Temp$$

ทำการแทนค่าระดับปัจจัยแล้ว ถอด ln โดยเมื่อถอดแล้วได้ค่าดังนี้

K=1.381 D=5302.852 L=89.479

แทนค่าเหล่านี้ลงในสูตรเพื่อหาค่า A, B, C, M โดยค่า A จะมีค่าเท่ากับ 1216 cfu/ml คำนวณจาก (3.085 log cfu/ml)

ได้ A=1216 B=9.18 x 10^{-4} C=4086.1 M=1177.8

แต่เมื่อทำการแทนค่า A B C และ M นี้ลงไป Gompertz's equation พบว่าค่า ปริมาณเชื้อในแต่ช่วงเวลาเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยไม่สามารถสร้างกราฟที่เป็น รูป Sigmoid curve ได้โดยเส้นของกราฟจะเป็นเส้นตรง จึงได้แสดงค่าที่คำนวณได้ดังดังตารางที่ 4.18

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

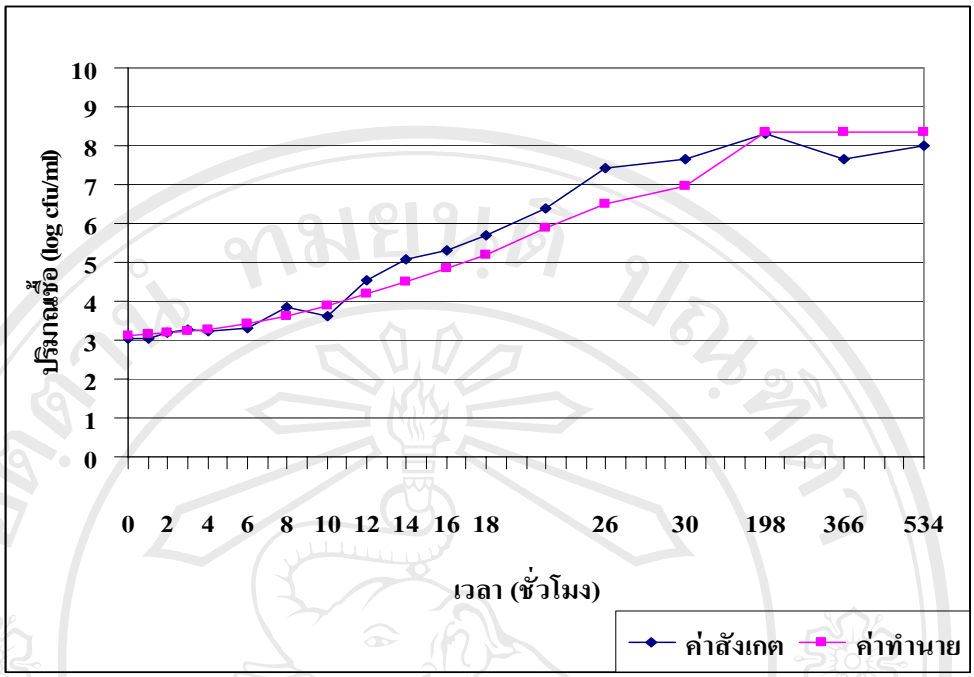
ตารางที่ 4.18 เปรียบเทียบปริมาณเชื้อจากการทดลองและปริมาณเชื้อจากการทำนายที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยการถอดค่า ln

ช่วงเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเชื้อจากการทดลอง (log cfu/ml)	ปริมาณเชื้อจากสมการทำนาย (cfu/ml)	ปริมาณเชื้อจากสมการทำนาย (log cfu/ml)
0	3.11	1430.355	3.155
1	3.30	1430.935	3.155
2	3.56	1431.516	3.155
3	3.21	1432.097	3.155
4	3.53	1432.680	3.156
6	3.89	1433.849	3.156
8	4.43	1435.022	3.156
10	4.89	1436.199	3.157
12	5.30	1437.380	3.157
14	5.85	1438.566	3.157
16	5.97	1439.756	3.158
18	6.83	1440.949	3.158
22	7.85	1443.350	3.159
26	8.21	1445.767	3.160
30	8.76	1448.200	3.160
198	8.43	1565.731	3.194
366	8.63	1712.925	3.234
534	8.78	1887.573	3.276

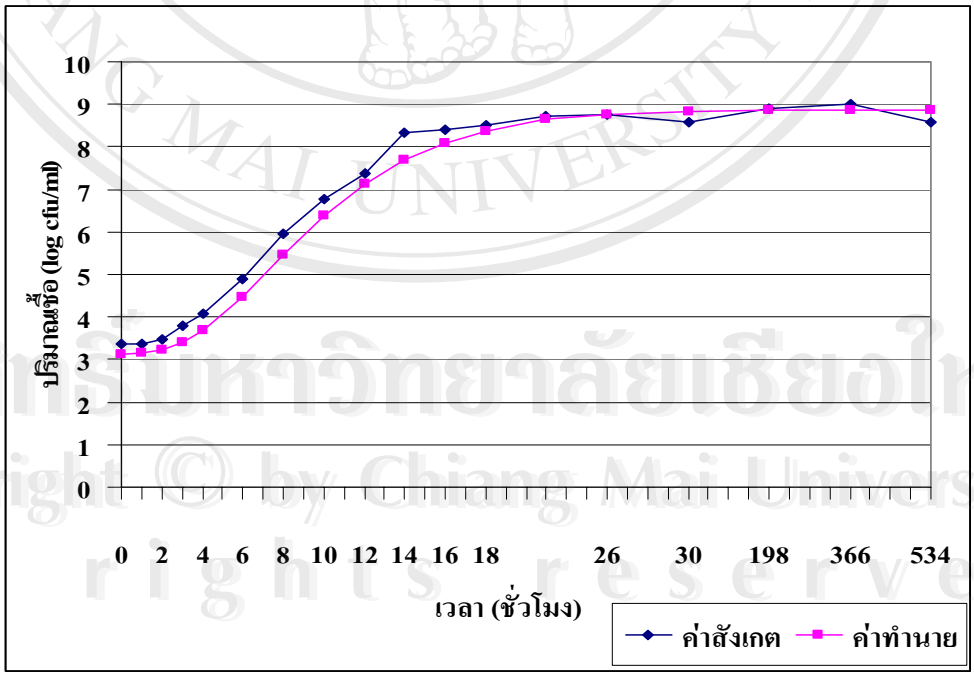
แสดงว่าการคำนวณด้วยการถอดค่า ln แต่แรก ไม่สามารถให้ผลการทำนายได้ถูกต้อง เพราะปริมาณเชื้อ ใน 18 ช่วงเวลามีค่าต่างกันเล็กน้อยเท่านั้น

ยกตัวอย่างการแทนค่าระดับปัจจัยในระดับอื่นโดยไม่ทำการถอด ln คือใช้ค่าของ K D และ L จริง และสร้างกราฟเปรียบเทียบ ค่าจากการทำนาย กับค่าจากการทดลองได้ดังกราฟที่ 4.11 – 4.19

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



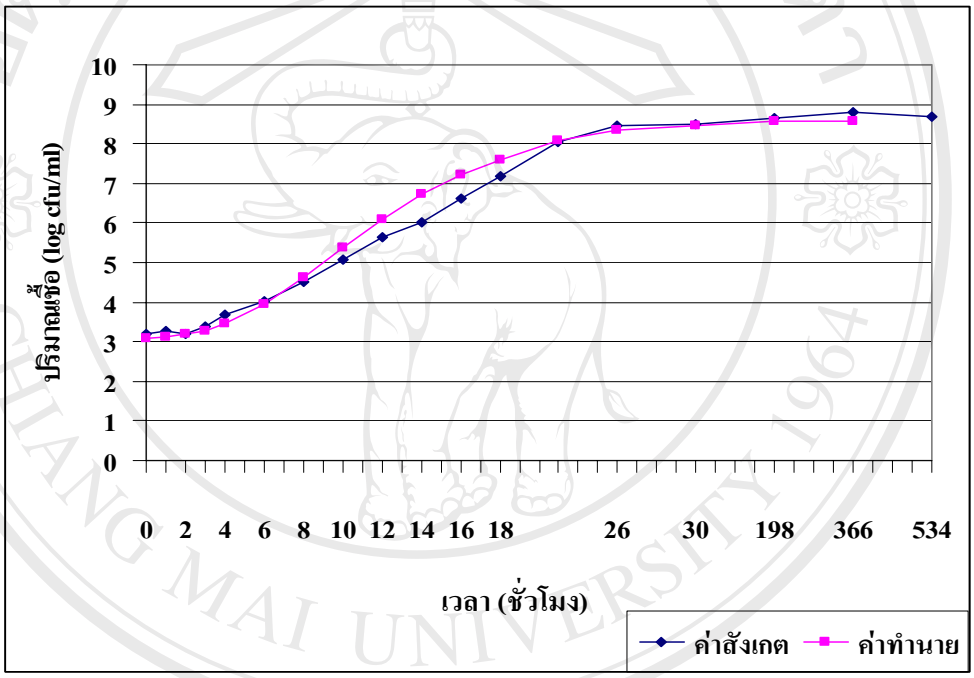
ภาพที่ 4.11 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนายของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มีการเติม โซเดียมแลกเทต 1.2 % มีโซเดียมคลอไรด์ 4 % ค่าpH เป็น 7.5 บ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.12 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนายของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มีการเติมโซเดียมแลกเทต 2.4 % ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์ ค่าpH เป็น 6.5 บ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการสังเกตและค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการ ในภาพกราฟที่ 4.11 ให้ผลของปริมาณเชื้อในช่วง lag phase และ stationary phase ใกล้เคียงกัน ต่างกันเพียงปริมาณเชื้อในช่วง exponential phase โดยปริมาณเชื้อจากการทำนาย มีค่าน้อยกว่าค่าจากการทดลอง ส่วนในภาพกราฟที่ 4.12 พบว่าลักษณะของเส้นกราฟการเจริญทั้งสองเส้นมีความใกล้เคียงกัน แต่เป็นเพราะว่ามีปริมาณเชื้อเริ่มต้นต่างกันเล็กน้อยทำให้ปริมาณเชื้อในช่วง lag phase และ exponential phase ที่ได้จากการทำนายมีค่าน้อยกว่าค่าจากการทดลองจริง แต่เมื่อถึง stationary phase แล้วปริมาณเชื้อใกล้เคียงกัน

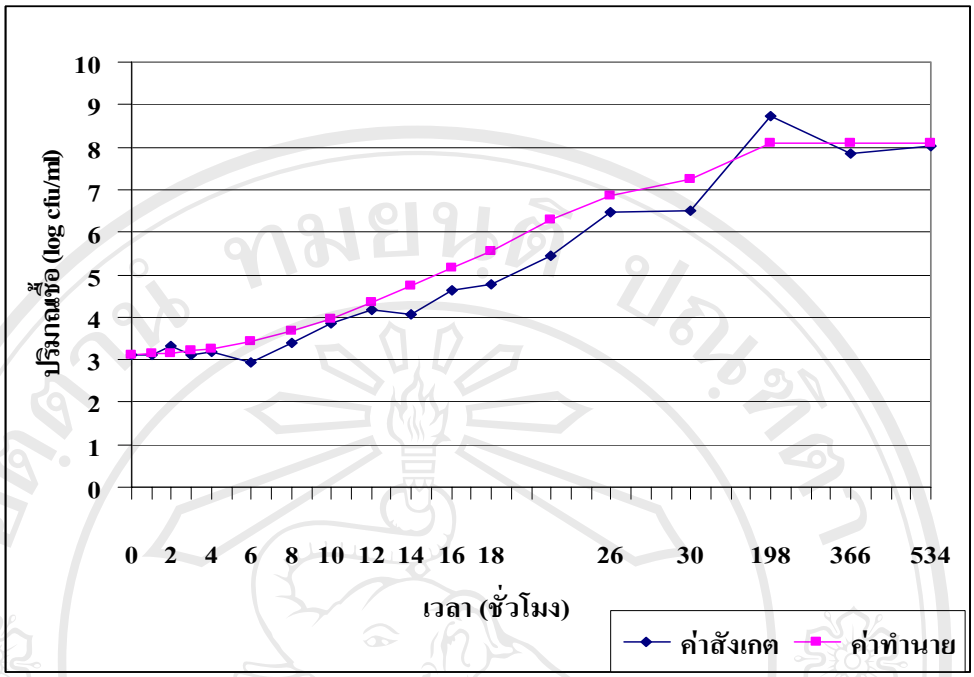


ภาพที่ 4.13 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนายของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่เติมโซเดียมแลกเทต 2.4 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % มี pH เป็น 6.5 และบ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ : จุดในชั่วโมงที่ 0-30 แสดงจุดจาก Scaleจริง
ส่วนจุดที่ 198, 366 และ 534 เป็น Scale ที่กำหนดขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

จากกราฟนี้ให้ผลการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการสังเกต และค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการ ใกล้เคียงกัน

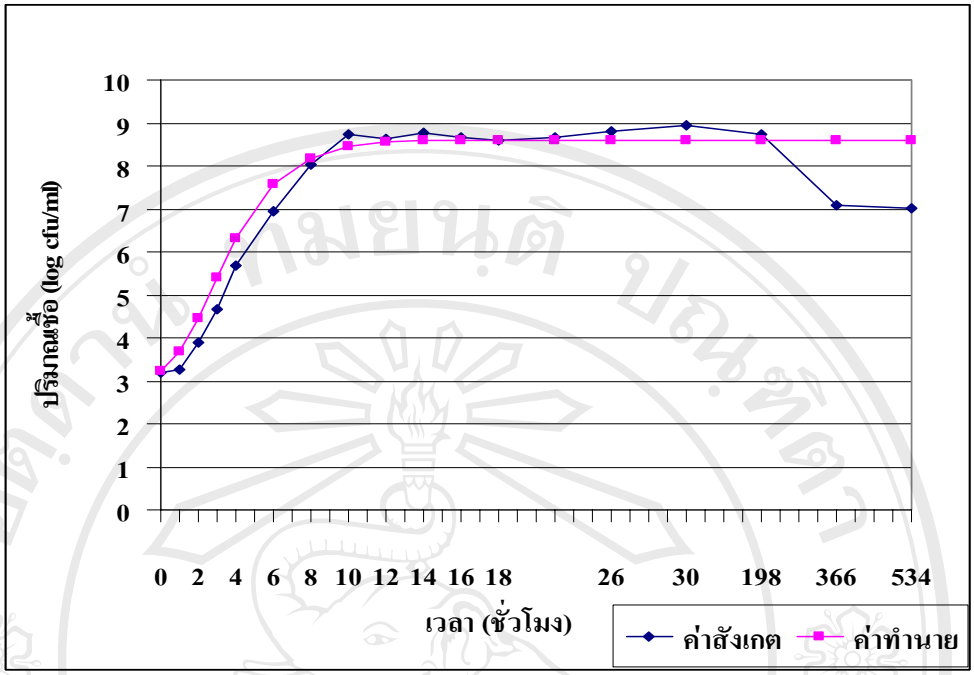


ภาพที่ 4.14 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนายของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มีการเติม โซเดียมแลกเทต 2.4 % โซเดียมคลอไรด์ 4 % มีpH เป็น 6.5 บ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

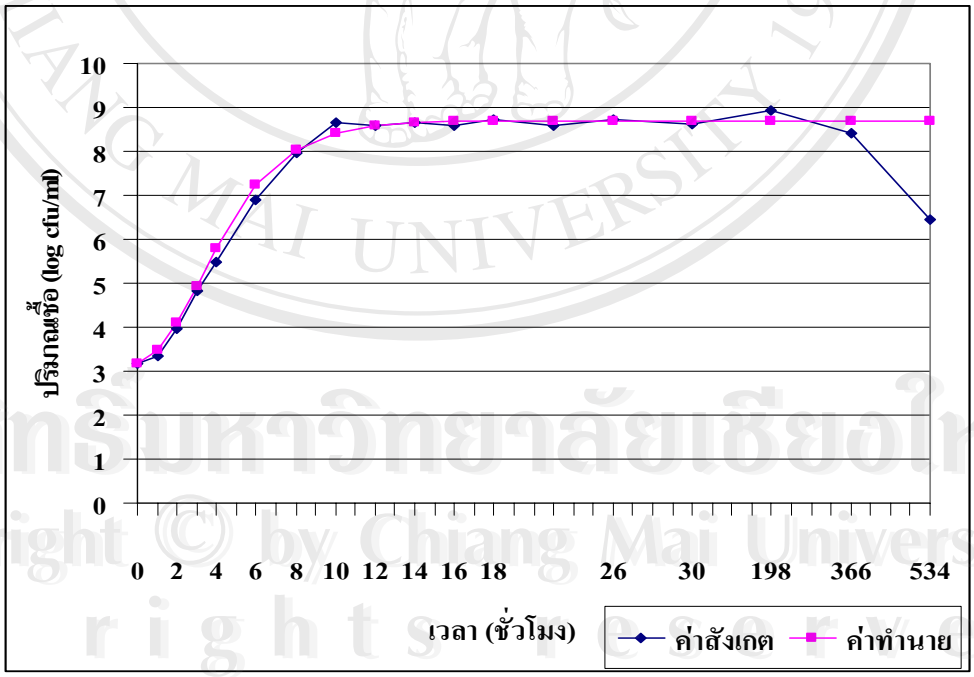
หมายเหตุ : จุดในชั่วโมงที่ 0-30 แสดงจุดจาก Scaleจริง
ส่วนจุดที่ 198, 366 และ 534 เป็น Scale ที่กำหนดขึ้น

จากกราฟนี้ให้ผลการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการสังเกตและค่าที่ได้จากการทำนาย ด้วยสมการ พบว่าค่าปริมาณเชื้อที่ได้จากการทำนายจะมีปริมาณมากกว่าค่าจากการทดลอง โดยค่าจากการทำนายที่มากกว่าการทดลองจริง จะส่งผลในทางที่ดีเพราะ เมื่อทำนายว่าปริมาณเชื้อสูง จะทำให้มีการประเมินอันตรายของเชื้อสูงกว่า และจะทำให้อาหารที่เติมปัจจัยในระดับนี้มีความปลอดภัยมากขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



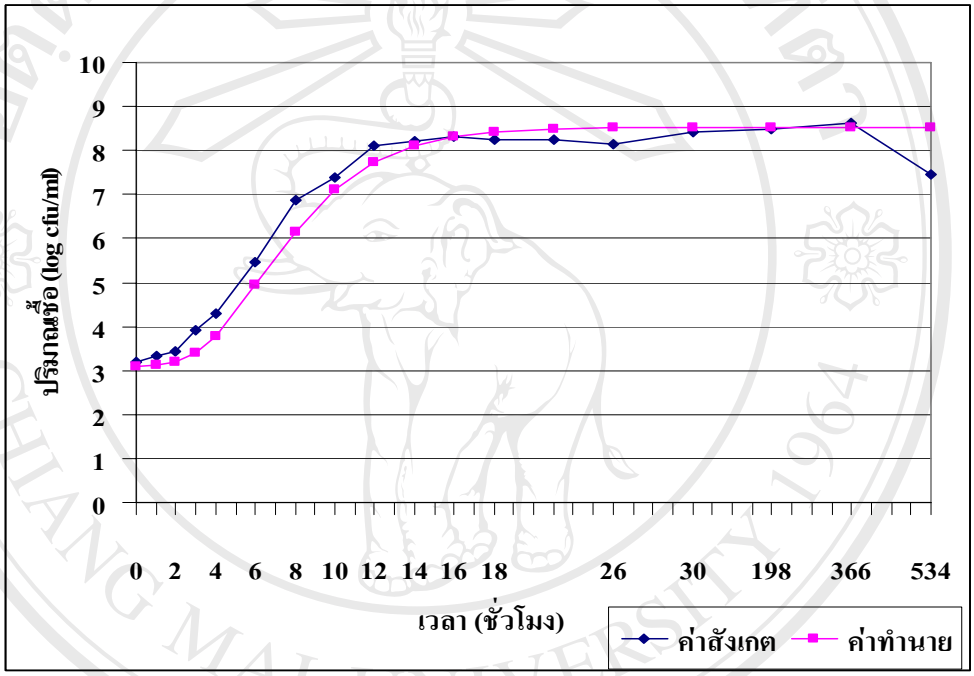
ภาพที่ 4.15 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนายของ *S .enterica* Weltevreden ในอาหารที่ไม่มีการเติมโซเดียมแลกเทต ไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ มีpH เป็น 6.5 บ่มเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.16 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนายของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มีการเติมโซเดียมแลกเทต 2.4 % ไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ มีค่าpH เป็น 6.5 และบ่มเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

จากภาพกราฟที่ 4.15 และ 4.16 นี้พบว่า lag phase ที่ได้จากการทำนายมีค่าน้อยกว่าการทดลองจริง และมีปริมาณเชื้อมากกว่าค่าจากการทดลองในช่วง exponential phase แต่มีลักษณะของเส้นกราฟใกล้เคียงกัน เพียงแต่ว่าในช่วงสุดท้ายของ stationary phase ของการทดลองจริงแสดงปริมาณเชื้อที่ลดลง แต่จากการทำนายไม่แสดงการลดลง เพราะ Gompert'z equation ไม่เหมาะสำหรับการทำนายเชื้อที่มี ลักษณะกราฟที่มี Death phase จึงไม่นำข้อมูลของเชื้อที่ลดลงนี้เข้าวิเคราะห์ในขั้นตอนการสร้างสมการแต่แรก ทำให้สมการไม่สามารถทำนายการลดลงของเชื้อได้

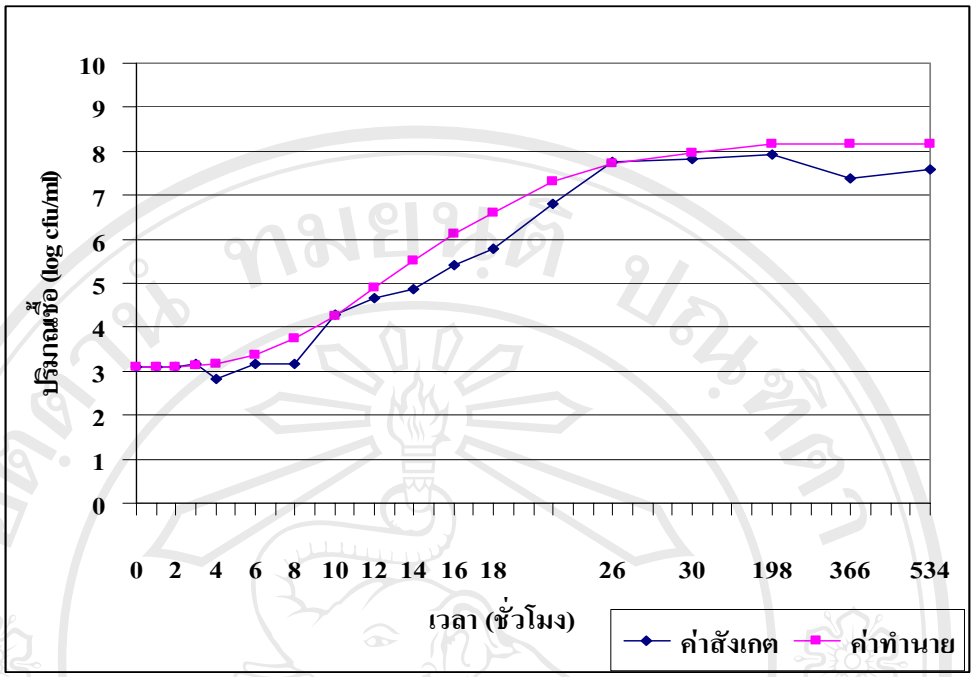


ภาพที่ 4.17 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนายของ *S. enterica* Weltevreden ในอาหารที่มีการเติมโซเดียมแลกเทต 2.4 % มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 2 % มีค่า pH เป็น 6.5 และบ่มเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ : จุดในชั่วโมงที่ 0-30 แสดงจุดจาก Scaleจริง
ส่วนจุดที่ 198, 366 และ 534 เป็น Scale ที่กำหนดขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

จากลักษณะของภาพกราฟที่ 4.17 นี้พบว่าลักษณะกราฟที่ได้จากการทำนายและกราฟที่ได้จากการทดลองจริง มีลักษณะเส้นกราฟที่ใกล้เคียงกันทั้งในช่วง lag phase exponential phase รวมถึง stationary phase มีเพียงปริมาณของเชื้อที่ได้จากการทำนายมีค่าน้อยกว่าค่าจากการทดลอง



ภาพที่ 4.18 การเปรียบเทียบข้อมูลการเจริญจากค่าสังเกตในการทดลอง และค่าจากการทำนายของ *S.enterica* Weltevreden ในอาหารที่มีการเติมโซเดียมแลกเทต 2.4 % มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 4 % มีค่าpH เป็น 6.5 และบ่มเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ : จุดในชั่วโมงที่ 0-30 แสดงจุดจาก Scaleจริง
ส่วนจุดที่ 198, 366 และ 534 เป็น Scale ที่กำหนดขึ้น

จากกราฟนี้ให้ผลการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการสังเกตและค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการพบว่าค่าปริมาณเชื้อที่ได้จากการทำนายจะมีปริมาณมากกว่าค่าจากการทดลองและเส้นกราฟจากการทำนายให้ผลของค่า lag phase ที่สั้นกว่า

โดยสรุปแล้วจากทุก กราฟการเจริญ พบว่าเส้นกราฟที่แสดงค่าที่ได้จากการทำนาย ด้วยสมการทำนายที่ได้สร้างขึ้นมานั้น จะมีลักษณะเส้นกราฟที่ใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการทดลองจริง เพียงแต่มีความคลาดเคลื่อนในปริมาณเชื้อในบางช่วงเวลา ซึ่งมีผลให้การทำนายมีค่าคลาดเคลื่อนไป แต่โดยรวมแล้วคลาดเคลื่อนเล็กน้อย เมื่อพิจารณาถึงค่า R^2 ของ แต่ละสมการที่สร้างขึ้นได้ มีบางสมการ เช่นสมการของค่า L (lag phase duration) ที่พบว่ามีค่าน้อย ทำให้การทำนายในช่วง lag phase ของเชื้อในแต่ละสภาวะมีความถูกต้องแม่นยำลดลง เส้นกราฟที่ได้จากการทำนายในช่วงนี้จึงมีความคลาดเคลื่อนจากเส้นกราฟที่ได้จากการทดลองจริงอยู่บ้าง แต่เมื่อพิจารณาเส้นกราฟในทุกช่วงแล้วพบว่ามีลักษณะใกล้เคียงกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved