

## สารบัญ

## หน้า

กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญภาพ	ฏ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย	2
1.4 ขอบเขตงานวิจัย	3
บทที่ 2 สารสำคัญจากเอกสารที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 <i>Salmonella</i> spp.	4
2.2 โซเดียมแลกเทต	6
2.3 โซเดียมคลอไรด์	7
2.4 อุดมภูมิ	9
2.5 โปรแกรมทำนายเชื้อจุลินทรีย์	10
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	12
3.1 อุปกรณ์สำหรับการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์	12
3.2 สารเคมี	14
3.3 วิธีการทดลอง	14
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	29
4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีและทางกายภาพ ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง	29

4.2 ผลการทดสอบการปนเปื้อนของสารที่ใช้ในการทดลอง และการวัดค่า pH ของโซเดียมแลกเทค	31
4.3 การทดลองเพื่อหาปริมาณของเชื้อเบื้องต้น	33
4.4 ผลการศึกษาการเจริญของ <i>S. enterica</i> Weltevreden (DMST 17375) ในสภาวะของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี การผันแปรปัจจัยคือ โซเดียมแลกเทค โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง อย่างละ 3 ระดับ	38
4.5 ผลการสร้างกราฟการเจริญเติบโต และการคำนวณเพื่อหาค่า ที่ต้องการศึกษาคือค่า maximum growth rate (K) ค่า maximum cell population (D) ค่า lag phase duration (L) และ ค่า generation time (GT)	51
4.6 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมทางสถิติ	59
4.7 การนำสมการไปใช้งาน	75
4.8 ผลการสร้าง โปรแกรมทำนายการเจริญของ <i>S. enterica</i> Weltevreden (DMST 17375) จากสมการ polynomial equation ของค่า K, D, L และ GT ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 15-35 องศาเซลเซียส, ความเข้มข้นของ โซเดียมแลกเทค 0-2.4 %, ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0-2 %, ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 6.5-7.5	76
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	92
5.1 สรุปผลการทดลอง	92
5.2 ข้อเสนอแนะ	94
เอกสารอ้างอิง	95
ภาคผนวก	100
ภาคผนวก ก ภาพเชื้อ <i>Salmonella enterica</i> Weltevreden (DMST 17375)	101
ภาคผนวก ข วิธีการพื้นฐานในการตรวจหาจุลินทรีย์ในอาหาร	103
ภาคผนวก ค โปรแกรม LEKSAWASDI RSS MINIMISATION	105

ภาคผนวก ง ปริมาณเชื้อ (log cfu/ml) ในช่วงเวลาที่ทำการตรวจนับ การเจริญของ <i>S. enterica</i> Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบนนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอก ที่มีการผันแปรปัจจัย 3 ปัจจัย คือ โซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง อย่างละ 3 ระดับ ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส	108
ภาคผนวก จ ปริมาณเชื้อ (log cfu/ml) ในช่วงเวลาที่ทำการตรวจนับ การเจริญของ <i>S. enterica</i> Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบนนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอก ที่มีการผันแปรปัจจัย 3 ปัจจัย คือ โซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง อย่างละ 3 ระดับ ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	111
ภาคผนวก ฉ ปริมาณเชื้อ (log cfu/ml) ในช่วงเวลาที่ทำการตรวจนับ การเจริญของ <i>S. enterica</i> Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบนนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอก ที่มีการผันแปรปัจจัย 3 ปัจจัย คือ โซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง อย่างละ 3 ระดับ ณ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส	114
ภาคผนวก ช ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อ เบนนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอก ณ เวลาทำการทดลอง	117
ภาคผนวก ซ วิธีการเขียน โปรแกรม Visual Basic for Application (VBA) ในโปรแกรม Microsoft® Excel 2003 และ Code คำสั่ง ของ โปรแกรม PRORN	120

	หน้า
ภาคผนวก ฉ วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างชุดข้อมูล (analysis of variene) การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูล และวิธีการ วิเคราะห์เพื่อสร้างสมการ polynomial equation ของค่า K, D, L และ GT แบบ $3^3$ และ $3^4$ factorial in CRD	138
ภาคผนวก ช ตัวอย่างการคำนวณสมการ polynomial equation สำหรับค่า maximum growth rate (K) แบบ Coded Full model และ Natural Full model	142
ภาคผนวก ฎ อาหารเลี้ยงเชื้อ เบริน ฮาร์ท อินฟิวชั่น (Brain Heart Infusion)	146
ประวัติผู้เขียน	148

## สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 สมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ <i>Salmonella</i> spp.	5
3.1 ระดับของโซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง ที่ใช้ในการทดลอง	22
4.1 ผลการทดสอบลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อ <i>Salmonella enterica</i> Weltevreden DMST 17375	29
4.2 ผลการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของโซเดียมแลกเทต	32
4.3 ปริมาณเชื้อ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ที่เจริญเป็นเวลา 24 ชั่วโมง	33
4.4 ผลการตรวจนับปริมาณเชื้อ <i>S. enterica</i> Weltevreden DMST 17375 ในอาหารที่มีโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ คือ 0 %, 1.2 % และ 2.4 % โดยไม่มีการเติมปัจจัยอื่นในอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส โดยทำการนับจำนวนเชื้อ 24 ชั่วโมง	35
4.5 ค่า A, B, C และ M ที่คำนวณจาก Gompertz equation	52
4.6 ค่า A, B, C และ M ที่คำนวณจาก Gompertz equation	53
4.7 ค่า maximum growth rate (K) ที่คำนวณได้จากสูตร	55
4.8 ค่า maximum cell population (D) ที่คำนวณได้จากสูตร	56
4.9 ค่า lag phase duration (L) ที่คำนวณได้จากสูตร	57
4.10 ค่า generation time (GT) ที่คำนวณได้จากสูตร	58
4.11 การเข้ารหัสของระดับปัจจัยที่ใช้วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ $3^3$ factorial in CRD	59
4.12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ $3^3$ factorial in CRD	60
4.13 การเข้ารหัสของระดับปัจจัยที่ใช้วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ $3^4$ factorial in CRD	67
4.14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ $3^4$ factorial in CRD	67
4.15 ผลการคำนวณค่า generation time ของโปรแกรมที่ได้จากงานวิจัย (PRORN) และ โปรแกรม PMP ในสถานะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0.5-4.0 %, pH เท่ากับ 6.5 ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	88

ตาราง	หน้า
<p>ง-1 จำนวนเชื้อ (log cfu/ml) ในช่วงเวลาที่ทำการตรวจนับการเจริญของ <i>S. enterica</i> Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอก ที่ผันแปรปัจจัย 3 ปัจจัย คือ โซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง อย่างละ 3 ระดับ ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส</p>	109
<p>จ-1 จำนวนเชื้อ (log cfu/ml) ในช่วงเวลาที่ทำการตรวจนับการเจริญของ <i>S. enterica</i> Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอก ที่ผันแปรปัจจัย 3 ปัจจัย คือ โซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง อย่างละ 3 ระดับ ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส</p>	112
<p>ฉ-1 จำนวนเชื้อ (log cfu/ml) ในช่วงเวลาที่ทำการตรวจนับการเจริญของ <i>S. enterica</i> Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอก ที่ผันแปรปัจจัย 3 ปัจจัย คือ โซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง อย่างละ 3 ระดับ ณ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส</p>	115
<p>ช-1 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอก ณ เวลาทำการทดลอง ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส</p>	118

## สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
3.1 ลักษณะการหยดเชื้อลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ในการทำ Drop plate	23
3.2 การหาค่าของ A B C และ M ด้วย Gompertz's equation	24
4.1 ผลการเจริญของ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ โดยไม่มีการเติมปัจจัยอื่น ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส	37
4.2 ผลการเจริญของ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ ปรับค่า pH เท่ากับ 6.5 และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส	40
4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสภาวะเดียวกับ ภาพ 4.2 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ	40
4.4 ผลการเจริญของ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ ปรับค่า pH เท่ากับ 7.0 และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส	41
4.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสภาวะเดียวกับ ภาพ 4.4 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ	41
4.6 ผลการเจริญของ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ ปรับค่า pH เท่ากับ 7.5 และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส	42
4.7 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสภาวะเดียวกับ ภาพ 4.6 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ	42
4.8 ผลการเจริญของ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับ ปรับค่า pH เท่ากับ 6.5 และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส	43
4.9 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสภาวะเดียวกับ ภาพ 4.8 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ	43
4.10 ผลการเจริญของ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับ ปรับค่า pH เท่ากับ 7.0 และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส	44
4.11 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสภาวะเดียวกับ ภาพ 4.10 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ	44

ภาพ	หน้า
4.12 ผลการเจริญของ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับ ปรับค่า pH เท่ากับ 7.5 และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส	45
4.13 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสถานะเดียวกับ ภาพ 4.12 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ	45
4.14 ผลการเจริญของ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 2 %, ความเข้มข้นของ โซเดียมแลกเทต เท่ากับ 1.2 % และปรับค่า pH ทั้ง 3 ระดับ ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส	46
4.15 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสถานะเดียวกับ ภาพ 4.14 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ	46
4.16 ผลการเจริญของ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 4 %, ความเข้มข้นของ โซเดียมแลกเทต เท่ากับ 1.2 % และปรับค่า pH ทั้ง 3 ระดับ ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส	47
4.17 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสถานะเดียวกับ ภาพ 4.16 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ	47
4.18 ผลการเจริญของ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 2 %, ความเข้มข้นของ โซเดียมแลกเทต เท่ากับ 2.4 % และปรับค่า pH ทั้ง 3 ระดับ ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส	48
4.19 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสถานะเดียวกับ ภาพ 4.18 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ	48
4.20 ผลการเจริญของ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 4 %, ความเข้มข้นของ โซเดียมแลกเทต เท่ากับ 2.4 % และปรับค่า pH ทั้ง 3 ระดับ ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส	49
4.21 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสถานะเดียวกับ ภาพ 4.20 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ	49
4.22 แสดงส่วนใช้งานของโปรแกรม PRORN คำนวณค่า K, D, L และ GT และสร้างเส้นโค้งจลนพลศาสตร์	77
4.23 แสดงหน้าต่าง Project ของโปรแกรม	78
4.24 แสดงหน้าต่างกำหนดคุณสมบัติของซีท (Properties)	78
4.25 แสดงหน้าต่างสำหรับเขียนโปรแกรม (Code)	79



ภาพ	หน้า
4.26 ผลการคำนวณค่า K, D, L และ GT และทำนายการเจริญ ของเชื้อ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชัน บรอก ที่มีเติมโซเดียมแลกเตต 0 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % ที่ pH เท่ากับ 7.0 อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส	81
4.27 กราฟที่ได้จากข้อมูลจริงและกราฟที่ได้จากโปรแกรมทำนายการเจริญโดยสมการ Gompertz ของเชื้อ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชัน บรอก ที่มีเติมโซเดียมแลกเตต 0 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % ที่ pH เท่ากับ 7.0 อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส	82
4.28 กราฟ Residual Plot ของข้อมูลในภาพ 4.27	82
4.29 ผลการคำนวณค่า K, D, L และ GT และทำนายการเจริญ ของเชื้อ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชัน บรอก ที่มีเติมโซเดียมแลกเตต 0 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % ที่ pH เท่ากับ 7.0 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	83
4.30 กราฟที่ได้จากข้อมูลจริงและกราฟที่ได้จากโปรแกรมทำนายการเจริญโดยสมการ Gompertz ของเชื้อ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชัน บรอก ที่มีเติมโซเดียมแลกเตต 0 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % ที่ pH เท่ากับ 7.0 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	84
4.31 กราฟ Residual Plot ของข้อมูลในภาพ 4.30	84
4.32 ผลการคำนวณค่า K, D, L และ GT และทำนายการเจริญ ของเชื้อ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชัน บรอก ที่มีเติมโซเดียมแลกเตต 0 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % ที่ pH เท่ากับ 7.0 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	85
4.33 กราฟที่ได้จากข้อมูลจริงและกราฟที่ได้จากโปรแกรมทำนายการเจริญโดยสมการ Gompertz ของเชื้อ <i>S. Weltevreden</i> DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชัน บรอก ที่มีเติมโซเดียมแลกเตต 0 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % ที่ pH เท่ากับ 7.0 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	86
4.34 กราฟ Residual Plot ของข้อมูลในภาพ 4.33	86

ภาพ	หน้า
4.35 แสดงผลการทวนสอบการคำนวณค่า generation time ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของ โซเดียมคลอไรด์ 0.5-4.0%, pH เท่ากับ 6.5 ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	88
4.36 แสดงผลการทวนสอบการคำนวณค่า generation time ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของ โซเดียมคลอไรด์ 0.5-4.0%, pH เท่ากับ 6.5 ณ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส	89
4.37 แสดงผลการทวนสอบการคำนวณค่า generation time ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของ โซเดียมคลอไรด์ 0.5-4.0%, pH เท่ากับ 6.8 ณ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส	89
ก-1 ลักษณะโคโลนีของ <i>S. enterica</i> Weltevreden (DMST 17375) ที่เจริญในอาหาร Brain Heart Infusion Agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	102
ก-2 ลักษณะโคโลนีของ <i>S. enterica</i> Weltevreden (DMST 17375) จากการ Drop Plate โดยเป็นเชื้อที่เจริญในอาหาร Brain Heart Infusion Agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง	102
ค-1 ลักษณะหน้าตาต่างของ โปรแกรม LEKSAWASDI RSS MINIMISATION	107
ช-1 วิธีการเข้าสู่ Visual Basic Editor	121
ช-2 ส่วนของหน้าต่าง Project และหน้าต่าง Properties	122
ช-3 ส่วนของหน้าต่าง Code ซึ่งใช้สำหรับเขียนโปรแกรม VBA	123
ช-4 ตัวอย่างการเขียนคำสั่งในโปรแกรม	124
ช-5 การคลิกปุ่ม > เพื่อทดลองใช้โปรแกรม	125
ช-6 การคลิกปุ่ม OK	126