บทที่ 4

ผลการทดลอง และวิจารณ์

4.1 ผลการศึกษาเพื่อทดสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อ *Salmonella enterica* Weltevreden DMST 17375 ที่ใช้ในการทดลอง

โดยผลทำการทดสอบลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อ *Salmonella enterica* Weltevreden DMST 17375 ที่ได้รับจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดนนทบุรี แสดงดัง ตาราง 4.1

ตาราง 4.1 ผลการทดสอบลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อ *Salmonella enterica* Weltevreden DMST 17375

อาหารเลี้ยงเชื้อ	ผลการทดสอบ
- Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD Agar)	- พบโคโลนีสีชมพูแดง ตรงกลางเป็นสีดำ
- Brillient-Green Phenol-red Lactose Sucrose Agar (BPLS Agar)	- พบโคโลนีสีชมพูแดง
- Triple Sugar Iron Agar (TSI Agar)	- เกิดปฏิกิริยา alkaline slant และ acid deep คือ บนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อเอียงมีสีแดง ส่วนที่บริเวณก้นหลอดอาหารมีสีเหลือง และอาหารมีสีดำ
- Methyl Red (MR) -Voges Proskauer (VP) test	- ให้ผล MR เป็นบวก (มีสีชมพู) และ VP เป็นลบ (ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง)
- Urea Agar	- สีของอาหารไม่เปลี่ยนแปลง
- Motile Indole L-Lysine decarboxylation (MIL)	- หลอดอาหารขุ่นทั้งหลอด สีของอาหารมีสีม่วง และเมื่อหยด kovac's reagent เกิดสีเหลืองที่ผิวหน้าอาหาร (ไม่เปลี่ยนแปลง)
- Brain Heart Infusion Agar	- โคโลนีมีสีขาวขุ่น กลม มันวาว ขอบเรียบ และเมื่อนำไปย้อมกรัม พบว่า เซลล์มีลักษณะเป็นแท่งสั้น (shot rod) ติดสีแดง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการทดสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ที่ได้รับจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดนนทบุรี ดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่า เมื่อทำการขีดเชื้อลงบนอาหารคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ (selective media) เอ็กซ์ แอล ดี เอการ์ (Xylose Lysine Deoxycholate Agar, XLD Agar) ลักษณะโคโลนีที่ปรากฏมีสีชมพูแดง ตรงกลางเป็นสีดำ เนื่องจากเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 มีการใช้ ไลซีน (lysine) ที่อยู่ในอาหาร แล้วสร้างคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้อาหารมีสภาวะเป็นด่าง และที่สภาวะนี้เชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 จะทำการสร้าง เฟอร์รัส ซัลเฟต (ferrous sulphate) จึงทำให้ตรงกลางของโคโลนีมีสีดำ (International standard ISO 6579, 2002) ขณะที่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ บี พี แอล เอส เอการ์ (Brillient-Green Phenol red Lactose Sucrose Agar, BPLS Agar) พบโคโลนีสีชมพูแดง เนื่องจากจุลินทรีย์ใช้สารประกอบไนโตรเจนในการสร้างพลังงานและเกิดสภาวะเป็นด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงทำให้ ฟีนอล เรด (phenol red) ที่เป็นอินดิเคเตอร์เปลี่ยนเป็นสีแดง ซึ่งจากการทดสอบการเลี้ยงเชื้อในอาหารคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ ทั้ง 2 ชนิดคาดว่าโคโลนีที่ตรวจเป็นเชื้อ *Salmonella* spp.

การทดสอบทางชีวเคมีโดยใช้ ทริเปิล ชูการ์ ไอรอน เอการ์ (Triple Sugar Iron Agar, TSI Agar) พบว่า ที่ผิวหน้าเอียงของอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลองมีสีแดง เพราะว่าเชื้อไม่สามารถใช้น้ำตาลซูโครสและแลกโตส จึงใช้สารประกอบไนโตรเจนในการเจริญทำให้เกิดสภาวะเป็นด่างบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ ขณะที่สีของอาหารที่ก้นหลอดเป็นสีเหลืองแสดงว่าเชื้อสามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้และสร้างกรดที่เกิดจากการหมักน้ำตาลออกมา ตามรอยที่แทงอาหารมีสีดำแสดงว่าเชื้อสามารถสร้าง ไฮโดรเจน ซัลไฟด์ (Hydrogen Sulfide) ได้ (International standard ISO 6579, 2002) การทดสอบโมไทล อินโดล ไลซีน (Motile Indole Lysine, MIL) พบว่า หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะขุ่นแสดงว่าเชื้อมีการเคลื่อนที่ และสีของอาหารเลี้ยงเชื้อภายในหลอดเป็นสีม่วงแสดงว่าเชื้อมีเอนไซม์ ดีคาร์บอกซีเลส (decarboxylase) จึงสามารถใช้ ไลซีน (lysine) แล้วได้ผลผลิตเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นด่างจึงทำให้สีของอินดิเคเตอร์เป็นสีม่วง และพบว่าเชื้อไม่สามารถสร้าง อินโดล (indole) จากทริปโตเฟนเมื่อทำการหยด kovac's reagent จึงเกิดสีเหลืองที่ผิวหน้าอาหารโดยไม่เปลี่ยนเป็นสีแดง (International standard ISO 6579, 2002; เรณู, 2547) ผลการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ ยูเรีย เอการ์ (Urea Agar) พบว่าสีของอาหารไม่เปลี่ยนแปลงแสดงว่าเชื้อไม่สามารถย่อยยูเรีย ให้กลายเป็นแอมโมเนียได้ อาหารจึงไม่เกิดสภาวะเป็นด่าง ดังนั้น ฟีนอล เรด (Phenol red) ซึ่งเป็นอินดิเคเตอร์จึงไม่เปลี่ยนเป็นสีแดง (International standard ISO 6579, 2002) ส่วนผลการทดสอบ โวเกส-โพรสเคอร์ (Voges-Proskauer test) พบว่า สีของสารละลายไม่มีการเปลี่ยนแปลง แสดงว่าไม่มีการสร้างสารอะเซโตอิน (Acetoin)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หรือ อะเซทิลเมทิล คาร์บินอล (Acethylmethyl Carbinol) ซึ่งเป็นสารตัวกลางในการเกิดสาร บิวทิเลน ไกลคอล (Butylen Glycol) จะถูกออกซิไดซ์ในสภาพที่มีออกซิเจนและโพแทสเซียม ไฮดรอกไซด์ กลายเป็นไดอะเซทิล (Diacetyl) และทำปฏิกิริยากับกลุ่ม Guanidine ซึ่งเป็น ส่วนประกอบของเปปโตนในสภาพด่าง โดยมี แอลฟา-แนฟทอล (α-naphthol) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และให้ผลเป็นสารประกอบสีแดง (เรณู, 2547)

เมื่อทำการขีดเชื้อ โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อลงบนผิวหน้าอาหารบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น เอการ์ พบว่า ลักษณะโคโลนีกลม สีขาวขุ่น มันวาว ขอบเรียบ และเมื่อนำมาย้อมสีกรัม พบว่า เซลล์มีลักษณะเป็น ท่อนสั้น มีสีแดง เนื่องจากแบคทีเรียกรัมลบจะมีสารพวกไขมันที่ผนังเซลล์มากกว่าแบคทีเรียกรัม บวกและยังมีชั้นของผนังเซลล์บางกว่าด้วย ในกระบวนการย้อมสี เมื่อล้างด้วยแอลกอฮอล์จะไป ละลายไขมัน ทำให้รูเปิดของผนังเซลล์กว้างขึ้น จึงทำให้สารโมเลกุลใหญ่ของสีคริสตัลไวโอเลต-ไอโอดีนคอมเพล็กซ์หลุดออกมา เมื่อย้อมสีซาฟรานินจึงติดสีแดงของซาฟรานิน (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2548) ซึ่งลักษณะเซลล์ที่พบนี้เป็นลักษณะเซลล์ของเชื้อ *Salmonella* spp. และมีความ บริสุทธิ์เหมาะนำไปใช้ในการทดลอง

4.2 ผลการทดสอบการปนเปื้อนของสารที่ใช้ในการทดลองและผลการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของโซเดียมแลกเทต

4.2.1 ผลการทดสอบการปนเปื้อนของสารที่ใช้ในการทดลอง

ผลการทดสอบการปนเปื้อนในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท และสารที่ใช้ ในการเจือจางจุลินทรีย์ Maximum Recovery Diluent (MRD) โดยทำการสุ่มตรวจอาหารเลี้ยง เชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท 5 ขวด และสารที่ใช้ในการเจือจางจุลินทรีย์ 5 หลอด ด้วยวิธีการ pour plate ปรากฏว่าไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท และสารที่ใช้ในการเจือจางจุลินทรีย์ แสดงว่าวิธีการเตรียมนั้นมีประสิทธิภาพ จึงทำให้ อาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท และสารที่ใช้ในการเจือจางจุลินทรีย์ไม่พบการปนเปื้อน และสามารถนำไปใช้ในการทดลองได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2.2 ผลการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของโซเดียมแลกเทต ก่อนและหลังทำการฆ่าเชื้อ

ผลการทดสอบการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของโซเดียมแลกเทต (ความเข้มข้น 60 % w/v) ก่อนและหลังทำการนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที แสดงดังตาราง 4.2

ตาราง 4.2 ผลการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของโซเดียมแลกเทต

โซเดียมแลกเทตขวดที่	ก่อนทำการฆ่าเชื้อ	หลังทำการฆ่าเชื้อ
1	6.65	6.65
2	6.64	6.64
3	6.65	6.65
ค่าเฉลี่ย	6.647 ± 0.01	6.647 ± 0.01

หมายเหตุ : ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากตาราง 4.2 ผลการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของโซเดียมแลกเทต พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของโซเดียมแลกเทตทั้งก่อนและหลังทำการฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งการวัดค่าเป็นกรด-ด่าง ของโซเดียมแลกเทต นี้เพื่อทดสอบว่าสภาวะที่ทำการฆ่าเชื้อนั้น ไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ของโซเดียมแลกเทตที่ใช้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.3 ผลการทดลองเพื่อหาปริมาณของเชื้อเบื้องต้น

4.3.1 การทดลองเพื่อหาปริมาณของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ผลการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้ผลดังตาราง 4.3

ตาราง 4.3 ปริมาณเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ที่เจริญเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ความเจือจางที่	จำนวนโคโลนี จากขวดอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1		จำนวนโคโลนี จากขวดอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 2	
	จานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1	จานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 2	จานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1	จานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 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	>300	>300
10^{-7}	105	100	124	150
10^{-8}	40	35	49	52
10^{-9}	3	7	5	8
จำนวนเชื้อที่คำนวณได้	$1.31 \times 10^{-9} = 9.12$ log cfu/ml		$1.75 \times 10^{-9} = 9.24$ log cfu/ml	
จำนวนเชื้อเฉลี่ย	9.18 ± 0.08 log cfu/ml			

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ซ้ำ แต่ละซ้ำมีข้อมูลจากการทดลอง 2 ค่า

จากตาราง 4.3 ผลการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า จำนวนเชื้อจากขวดทดลองที่ 1 และ 2 มีปริมาณ 9.12 และ 9.24 log cfu/ml ตามลำดับ และจำนวนเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 9.18 ± 0.08 log cfu/ml ซึ่งใกล้เคียงกับการทดลองของ รชนิศ (2548) ทำการทดลองเลี้ยงเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

S. Typhimurium ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า เชื้อ *S.* Typhimurium มีปริมาณเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 8.89 $\pm$ 0.25 log cfu/ml และ Oscar (1998) กล่าวว่า แต่ละ Species ของ *Salmonella* spp. ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท จะมี growth kinetics ที่ไม่แตกต่างกัน โดยเฉพาะค่าของ lag phase ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จึงใช้ปริมาณเชื้อ *S. enterica* Weltevreden DMST 17375 ที่ได้จากการทดลอง เป็นปริมาณเชื้ออ้างอิงในการเจืองจางเชื้อสำหรับใช้ในการศึกษาการเจริญของเชื้อ *S. enterica* Weltevreden DMST 17375 ในสภาวะของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการผันแปรปัจจัย 3 ปัจจัย คือ โซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และความเป็น กรด-ด่าง อย่างละ 3 ระดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.3.2 ผลการทดลองเพื่อศึกษาการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารที่มีโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ คือ 0 %, 1.2 % และ 2.4 % โดยไม่มีการเติมปัจจัยอื่นในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท

ผลการทดลองเพื่อศึกษาการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารที่มีโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ คือ 0 %, 1.2 % และ 2.4 % โดยไม่มีการเติมปัจจัยอื่นในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท บ่มที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ทำการนับจำนวนเชื้อ 24 ช่วงเวลา จนครบ 264 ชั่วโมง แสดงดังตาราง 4.4 และภาพ 4.1

ตาราง 4.4 ผลการตรวจนับปริมาณเชื้อ *S. enterica* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารที่มีโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ คือ 0 %, 1.2 % และ 2.4 % โดยไม่มีการเติมปัจจัยอื่นในอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส โดยทำการนับจำนวนเชื้อ 24 ช่วงเวลา

เวลาที่ทำการนับ (ชั่วโมง)	จำนวนเชื้อเฉลี่ย จากทั้งหมด 2 ซ้ำ (log cfu/ml)		
	โซเดียมแลกเทต 0 %	โซเดียมแลกเทต 1.2 %	โซเดียมแลกเทต 2.4 %
0	2.99	2.80	2.98
1	2.98	2.89	2.97
2	2.99	2.90	2.99
3	2.99	2.92	2.97
4	2.97	2.95	2.96
5	3.01	2.89	2.99
6	3.00	2.88	2.97
7	2.99	2.90	2.99
8	3.12	2.93	2.99
9	3.21	2.89	3.01
10	3.37	3.05	3.16
12	3.52	3.12	3.27
14	3.86	3.26	3.49
16	4.01	3.42	3.65
18	4.23	3.68	3.76
20	4.42	3.89	3.82
22	4.63	4.21	3.98
24	5.03	4.82	4.01
28	5.59	5.20	4.21
32	6.10	5.74	5.24
48	6.53	6.04	5.99
72	8.60	7.89	7.25
96	8.82	8.59	8.62
264	8.85	8.61	8.64

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

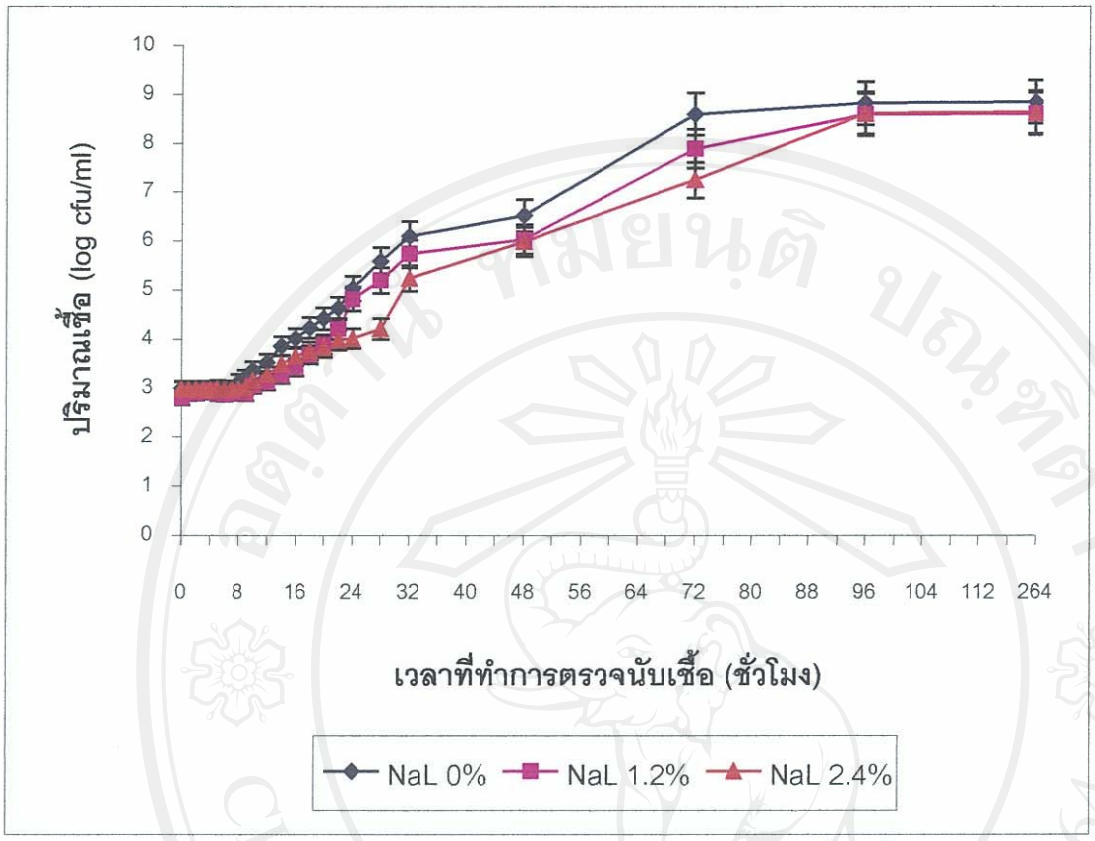
จากตาราง 4.4 และภาพ 4.1 แสดงผลการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่มีโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ คือ 0 %, 1.2 % และ 2.4 % มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.5, 7.1 และ 6.7 ตามลำดับ โดยไม่มีการเติมปัจจัยอื่น ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ซึ่งผลการทดลองที่ได้นี้จะนำไปใช้ในการตัดสินใจเลือกช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมในการตรวจนับจำนวนเชื้อในการทดลองขั้นต่อไป ที่มีการเติมปัจจัยอื่น ๆ ด้วย โดยช่วงเวลาที่ทำการตรวจนับต้องสอดคล้องกับการทดลองของ รชนิศ (2548) และ อรภิยา (2548) ด้วยเพราะจะนำข้อมูลมาทำการวิเคราะห์ผลร่วมกัน

การทดลองที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลซียส นี้ พบว่า ที่ช่วงระยะเวลา lag phase ของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่เติมโซเดียมแลกเทตทั้ง 3 ความเข้มข้นนั้นจะมีช่วงเวลาประมาณ 7-9 ชั่วโมง ซึ่งนานกว่าช่วงระยะเวลา lag phase ของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ที่เจริญที่อุณหภูมิ 25 และ 35 องศาเซลเซียส โดยระยะเวลา lag phase ของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ที่เจริญที่อุณหภูมิ 25 และ 35 องศาเซลเซียสนี้ จะมีค่าประมาณ 4 ชั่วโมง (รชนิศ, 2548 และ อรภิยา, 2548)

ในช่วง exponential phese ของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่เติมโซเดียมแลกเทตทั้ง 3 ระดับ พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทตเท่ากับ 0 % นั้นการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 จะเร็วกว่าการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่เติมโซเดียมแลกเทตที่ความเข้มข้น 1.2 % และ 2.4 % และจะเจริญเข้าสู่ช่วง stationary phase ได้เร็วกว่าอีกด้วย ซึ่งแสดงให้ทราบว่าความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทตนั้นมีผลต่อการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 และที่ความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทตที่มากขึ้นก็จะยิ่งมีผลต่อการเจริญของเชื้อมากขึ้นด้วย แต่จากผลการทดลองทั้ง 3 ความเข้มข้น นั้นจะสังเกตได้ว่ายังไม่พบการตายหรือลดจำนวนลงของเชื้อ เพราะฉนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงทำการเพิ่มระยะเวลาในการตรวจนับจำนวนเชื้อให้นานขึ้น

จากการทดลองในขั้นนี้เป็นแนวทางที่จะใช้เลือกช่วงเวลาของการตรวจนับการเจริญของเชื้อ ในการทดลองขั้นต่อไปได้ โดยได้ทำการเลือกช่วงเวลาเป็น 27 ช่วงเวลา ดังนี้ คือ ชั่วโมงที่ 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 22, 26, 30, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 98, 198, 366 และ 534 ซึ่งได้เพิ่มช่วงระยะเวลาในตรวจนับนานขึ้น เพื่อที่จะได้ศึกษาถึงการเจริญของเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่มีการเติมปัจจัยอื่น ๆ ได้มากขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4.1 ผลการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ โดยไม่มีการเติมปัจจัยอื่นในอาหารเลี้ยงเชื้อ ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.4 การศึกษาการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในสภาวะของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการผันแปรปัจจัย 3 ปัจจัย คือ โซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง อย่างละ 3 ระดับ

การทดลองนี้ อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท จะถูกปรับระดับของปัจจัยที่เกี่ยวข้องทั้งหมด ประกอบด้วยปัจจัย 3 ปัจจัย และแต่ละปัจจัยมี 3 ระดับ คือ

1. โซเดียมแลกเทต ที่มีระดับความเข้มข้น เท่ากับ 0 %, 1.2 % และ 2.4 %
2. โซเดียมคลอไรด์ ที่มีระดับความเข้มข้น เท่ากับ 0 %, 2 % และ 4 %
3. ความเป็น กรด-ด่าง ที่มีค่า เท่ากับ 6.5, 7.0 และ 7.5

การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบ 3^3 factorial in CRD โดยจะมีชุดการทดลองทั้งหมด 27 ชุด ทำการตรวจนับการเจริญของเชื้อใน 27 ช่วงเวลา คือ ชั่วโมงที่ 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 22, 26, 30, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 98, 198, 366 และ 534 ทำทั้งหมด 2 ชุด แต่ละครั้งมี 2 ซ้ำ และทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อในทุกช่วงเวลาที่ทำการตรวจนับการเจริญของเชื้อด้วย ผลการทดลองแสดงดังตารางในภาคผนวก ง และ ช

เมื่อพิจารณาผลจากตารางการตรวจนับจุลินทรีย์ (ภาคผนวก ง) จะสังเกตได้ว่า ปริมาณเชื้อเริ่มต้นในแต่ละชุดการทดลองจะมีปริมาณที่ใกล้เคียงกัน เนื่องจากถ้าปริมาณเชื้อเริ่มต้นไม่เท่ากันในแต่ละชุดการทดลองแล้วอาจจะส่งผลทำให้การทดลองผิดพลาดได้ เพราะว่าช่วงระยะเวลา lag phase เซลล์ของจุลินทรีย์จะมีอายุน้อยและอ่อนแอซึ่งจะถูกทำลายได้ง่ายกว่าเซลล์ที่มีอายุมากกว่าหรือเซลล์ที่อยู่ในระยะพัก (dormant) (นงลักษณ์ และปรีชา, 2548) และทำให้ระยะเวลาในช่วง lag phase นั้นยาวนานขึ้น (Cogan T. A., *et al.* 2001) อีกทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อบางชุดการทดลองจะมีการเติมปัจจัยต่าง ๆ ลงไปด้วย ซึ่งปัจจัยเหล่านั้นล้วนแต่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นถ้าปริมาณเชื้อเริ่มต้นไม่เท่ากันหรือไม่ใกล้เคียงกันในทุกชุดการทดลอง ก็จะทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนได้ อย่างไรก็ตามแม้ว่าการทดลองนี้จะใช้วิธีการเตรียมกล้าเชื้อสำหรับใช้ทดลองและวิธีการเจือจางเชื้อวิธีเดียวกันทุกชุดที่ทำการทดลองแล้วก็ยังไม่อาจทำให้จำนวนเชื้อเริ่มต้นเท่ากันพอดีทุกชุดการทดลองได้เพราะว่าการทำการทดลองในแต่ละชุดนั้นไม่สามารถทำพร้อมกันหมดทั้ง 27 ชุดในเวลาเดียวกัน จึงทำให้มีความคลาดเคลื่อนของจำนวนเชื้อเริ่มต้นในบางชุดการทดลอง

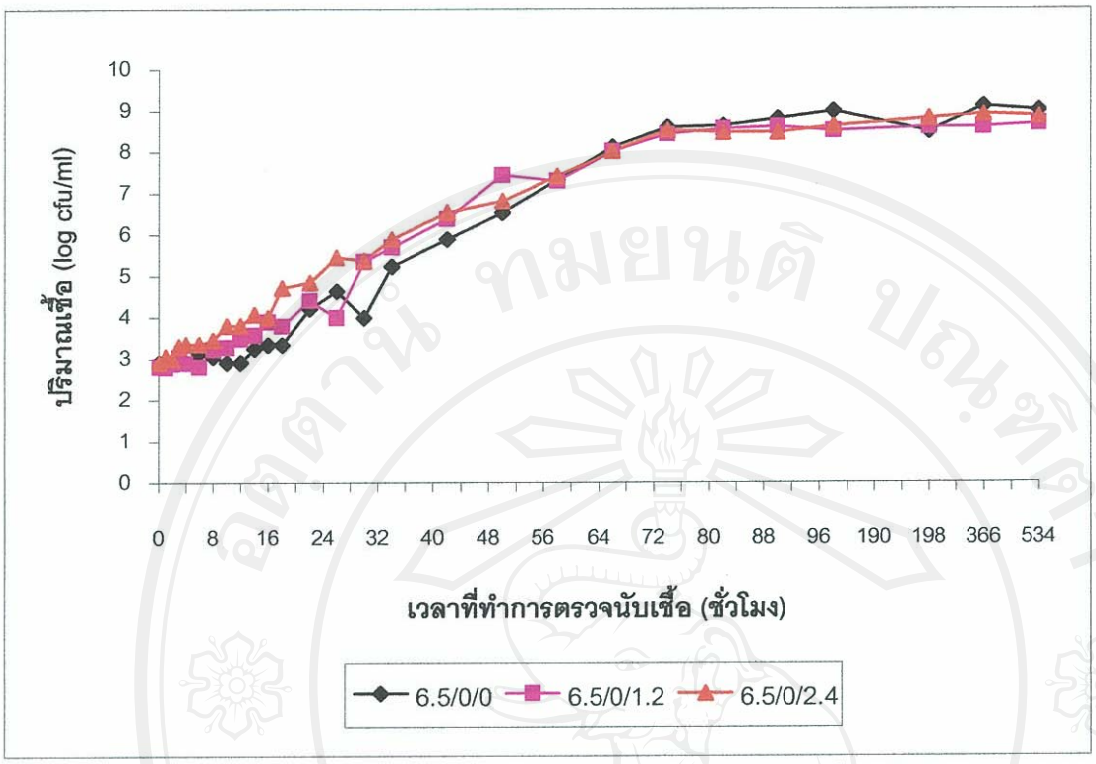
ในการทดลองทั้ง 27 ชุดนี้ ที่ระยะเวลาทำการตรวจนับจำนวนเชื้อทั้งหมด 534 ชั่วโมง ไม่สามารถพบระยะ death phase ของชื้อได้ ที่เป็นเช่นนี้เพราะว่าการทดลองนี้เป็นการทดลองเลี้ยง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

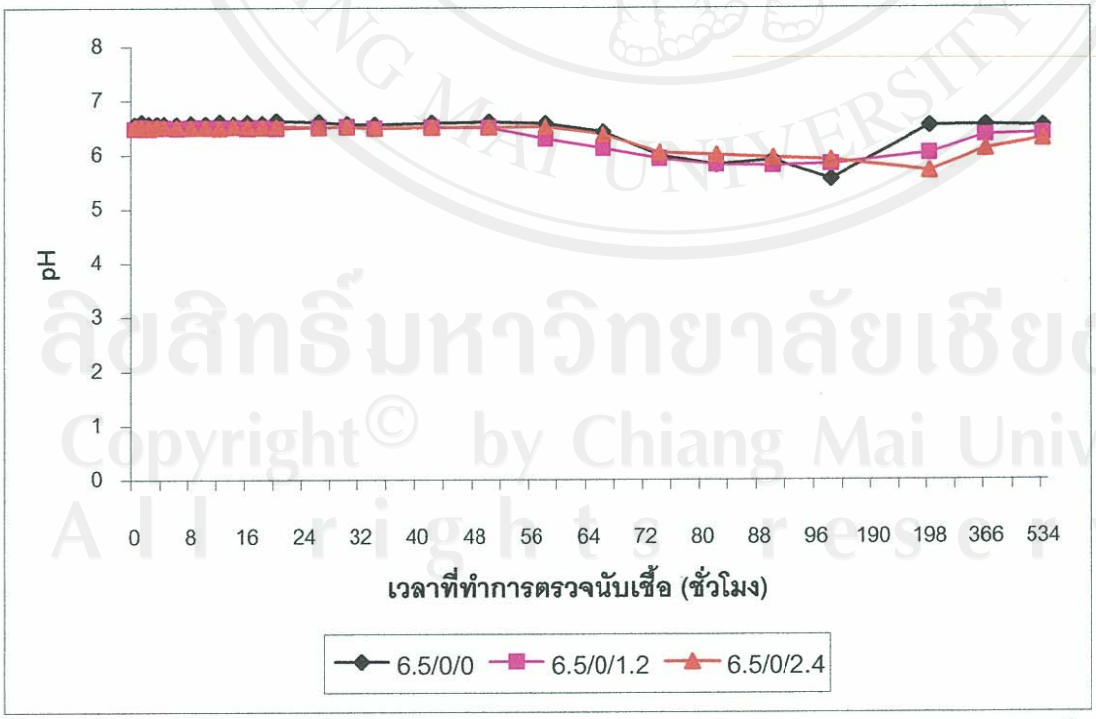
เชื้อที่อุณหภูมิต่ำ คือ 15 องศาเซลเซียส ส่งผลให้การเจริญของเชื้อในระยะต่าง ๆ คือ การเจริญช่วงระยะ lag phase, log phase หรือ exponential phase, stationary phase ยาวนานขึ้น ซึ่งถ้าต้องการทราบระยะเวลาในช่วง death phase ของเชื้อ อาจจะต้องทำการเพิ่มระยะเวลาในการตรวจนับจำนวนของเชื้อให้มากกว่า 534 ชั่วโมง หรืออาจทำการเพิ่มอุณหภูมิในการศึกษาให้สูงขึ้นก็จะทำให้สามารถตรวจพบระยะ death phase ของเชื้อได้ ซึ่งจากรายงานของ อรภิยา (2548) ที่ทำการศึกษาผลร่วมกันของโซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และสภาวะกรด-เบส ที่มีต่อการเจริญของ *Salmonella* spp. ณ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พบว่า เมื่อทำการตรวจนับจำนวนของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ภายในระยะเวลา 534 ชั่วโมง จะพบการลดลงของจำนวนเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 หรือพบระยะ death phase ของเชื้อ เนื่องจากอุณหภูมิที่ทำการศึกษานั้นเหมาะแก่การเจริญของเชื้อมากกว่าที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

ผลการศึกษาความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ คือ 0 %, 1.2 % และ 2.4 % ที่เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท แสดงดังภาพ 4.2 ถึง 4.7 พบว่า ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.5, 7.0 และ 7.5 โซเดียมแลกเทตมีผลในการลดจำนวนของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ที่ระยะการเจริญในช่วง stationary phase เช่นเดียวกับในรายงานของ Scannell A. G. M. และคณะ (1997) พบว่า เมื่อผสมโซเดียมแลกเทต กับ ไนซิน จะมีประสิทธิภาพในการช่วยลดจำนวน จุลินทรีย์ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์ และช่วยเพิ่มการป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น เชื้อ *Salmonella* spp. ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมูสด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

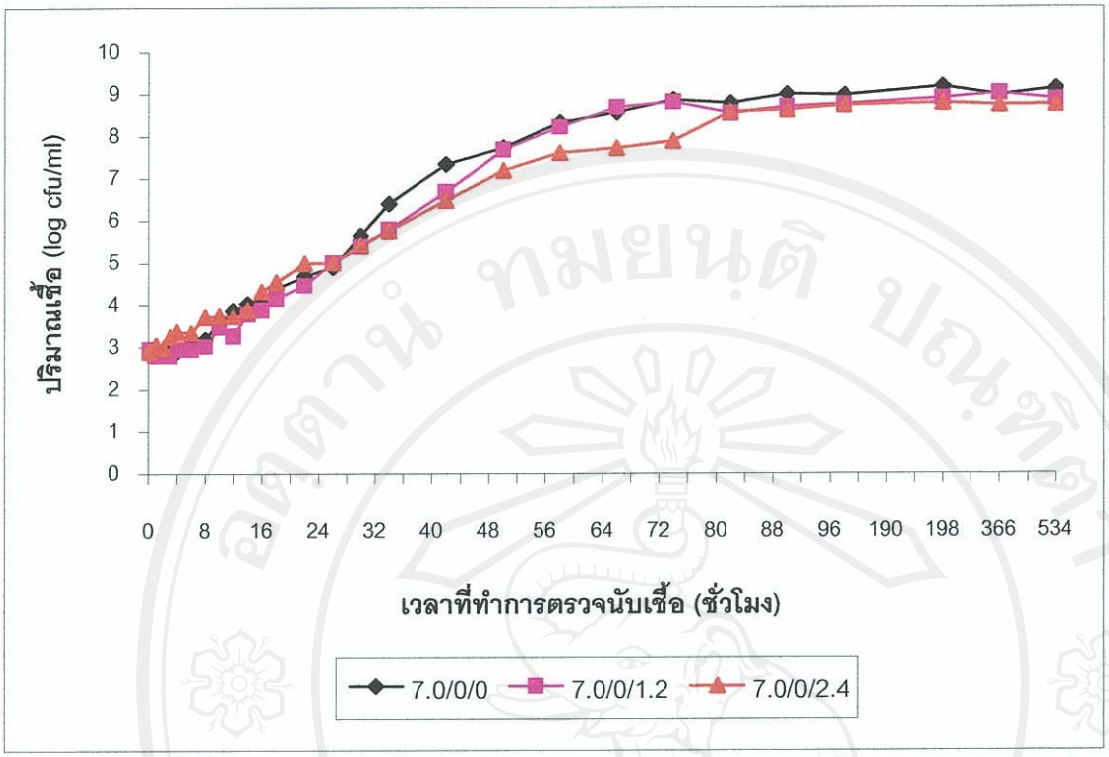


ภาพ 4.2 ผลการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ ปรับค่า pH เท่ากับ 6.5 ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

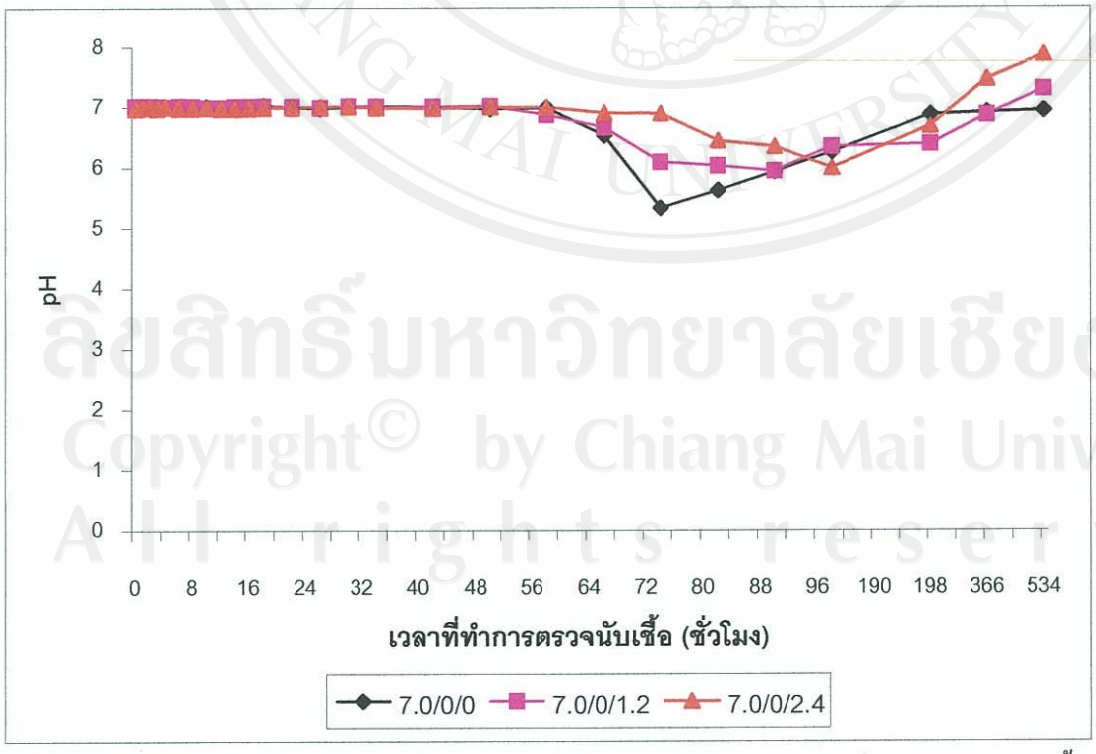


ภาพ 4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสภาวะเดียวกับ ภาพ 4.2 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

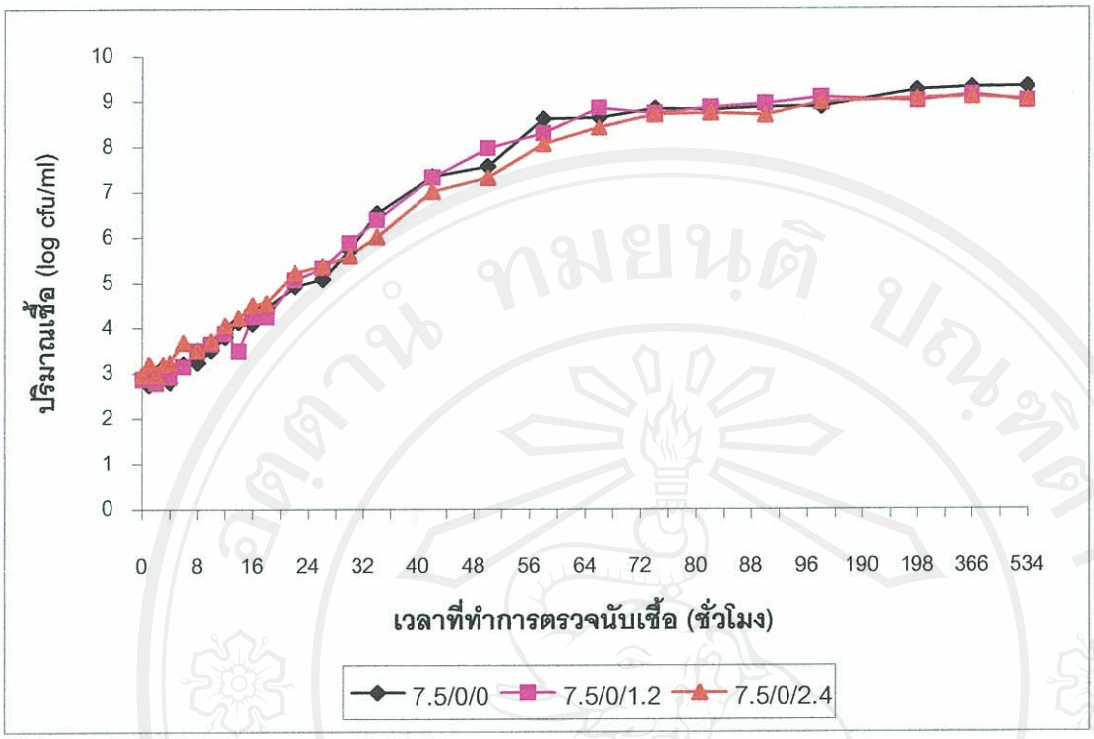


ภาพ 4.4 ผลการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ ปรับค่า pH เท่ากับ 7.0 ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

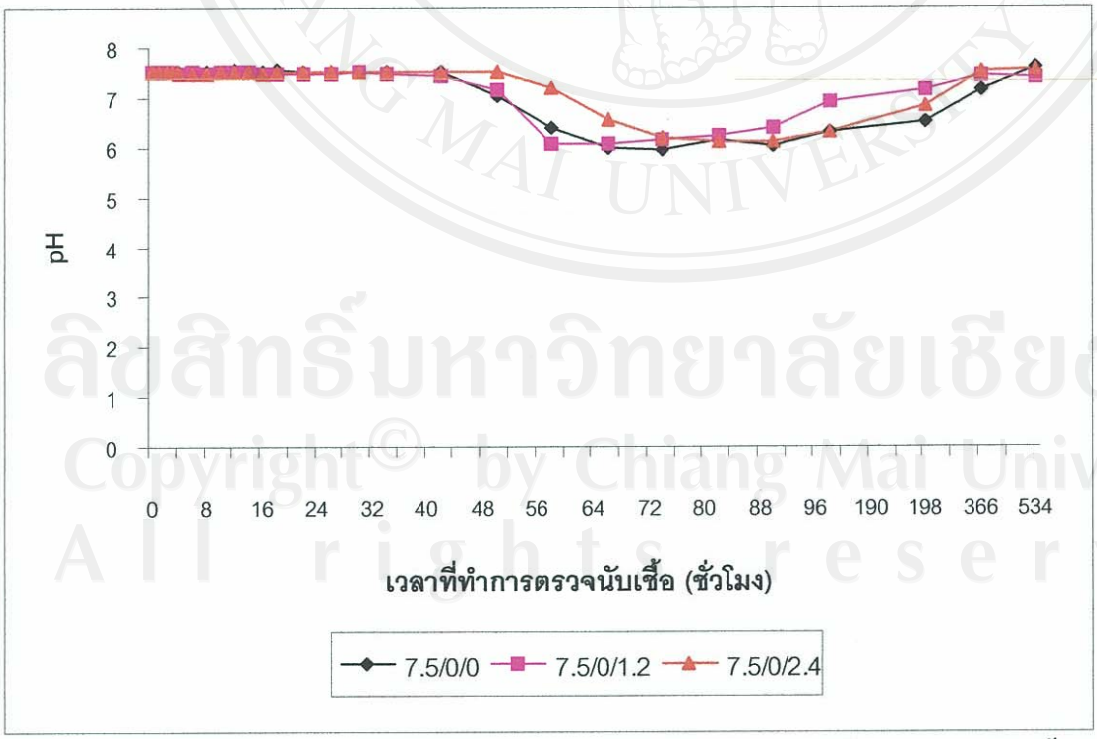


ภาพ 4.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสภาวะเดียวกับ ภาพ 4.4 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

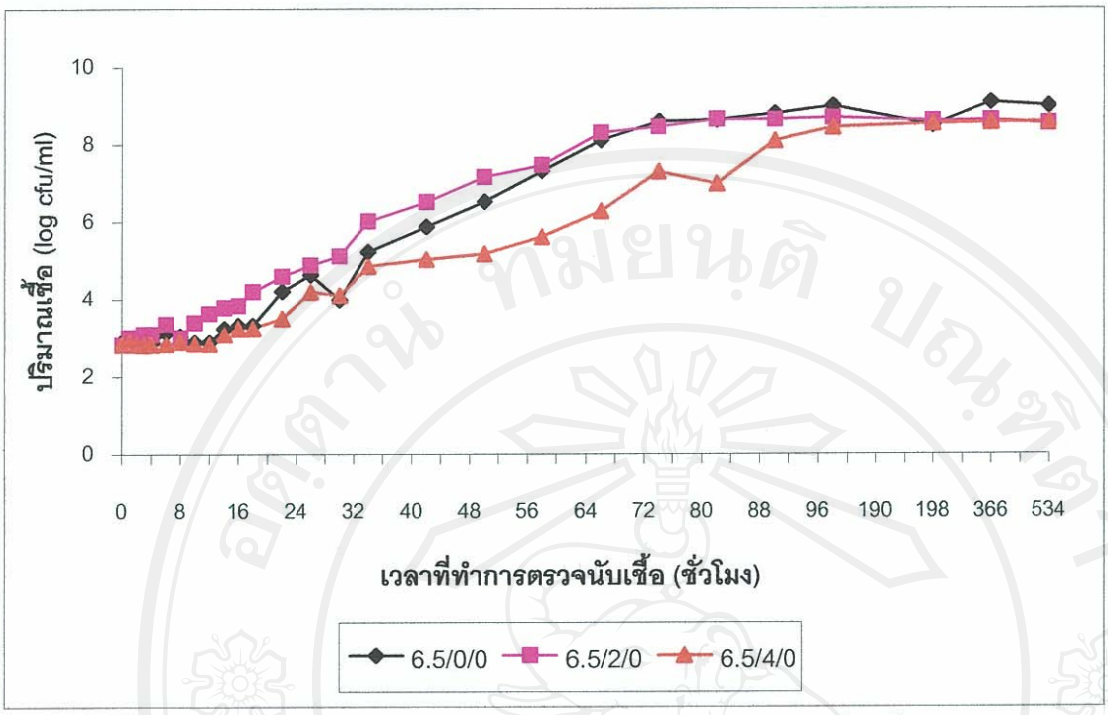


ภาพ 4.6 ผลการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต 3 ระดับ ปรับค่า pH เท่ากับ 7.5 ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

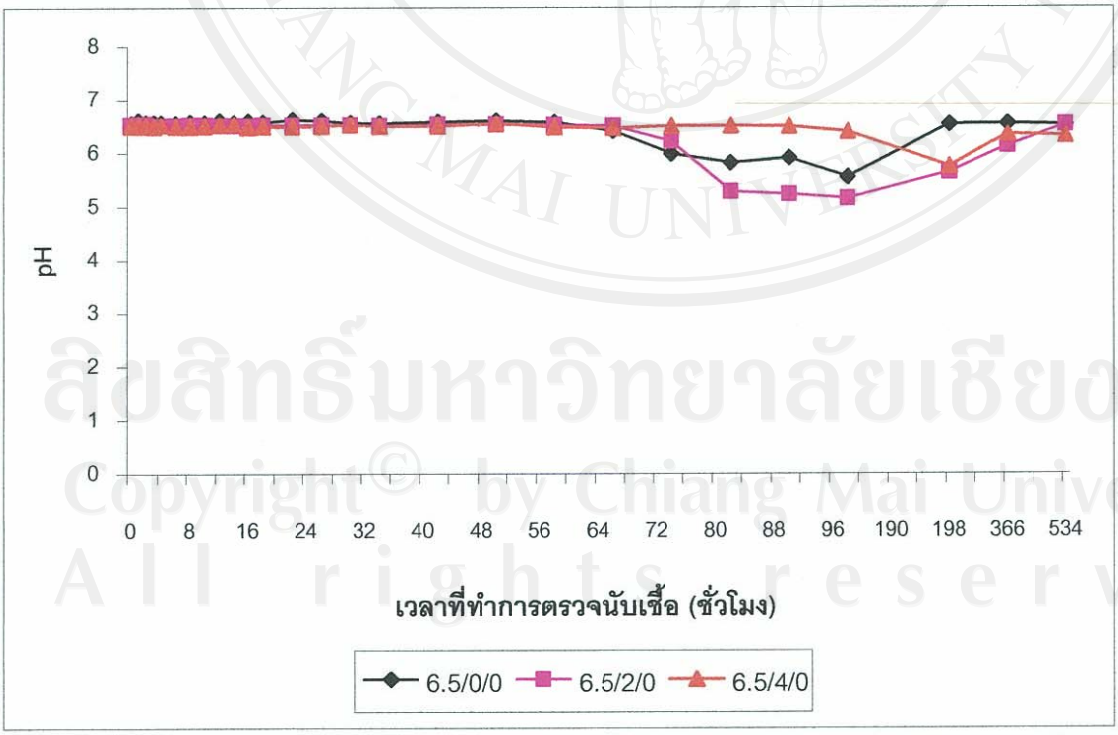


ภาพ 4.7 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสภาวะเดียวกับ ภาพ 4.6 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

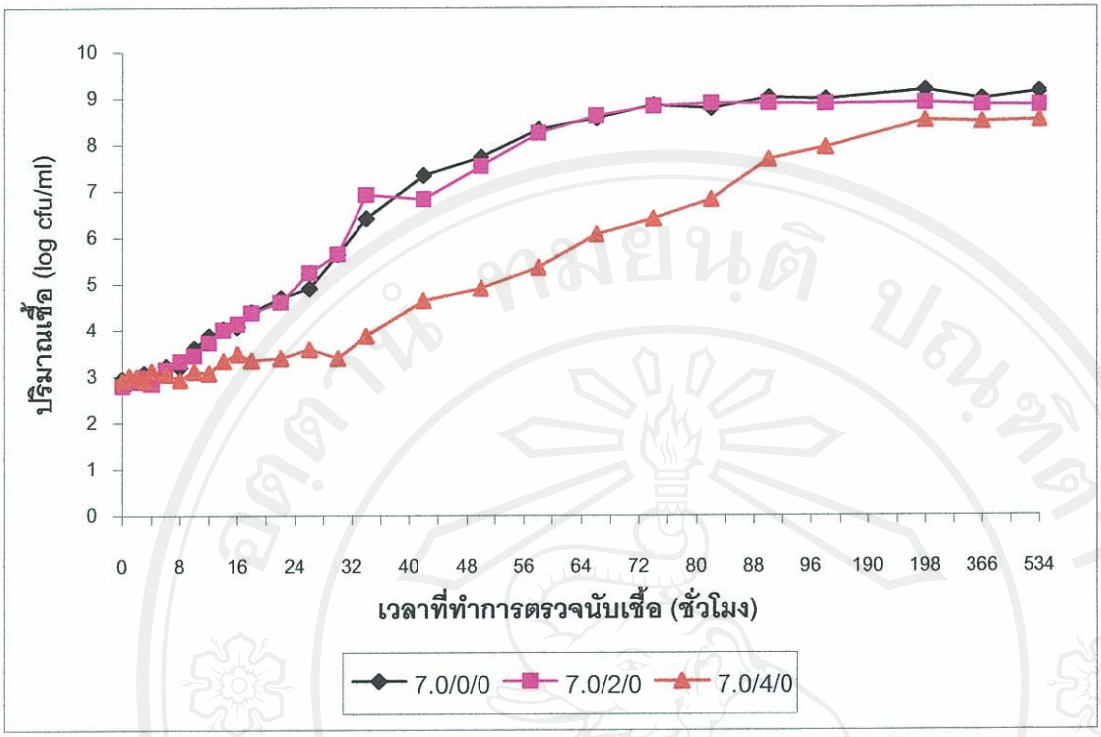


ภาพ 4.8 ผลการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับ ปรับค่า pH เท่ากับ 6.5 ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

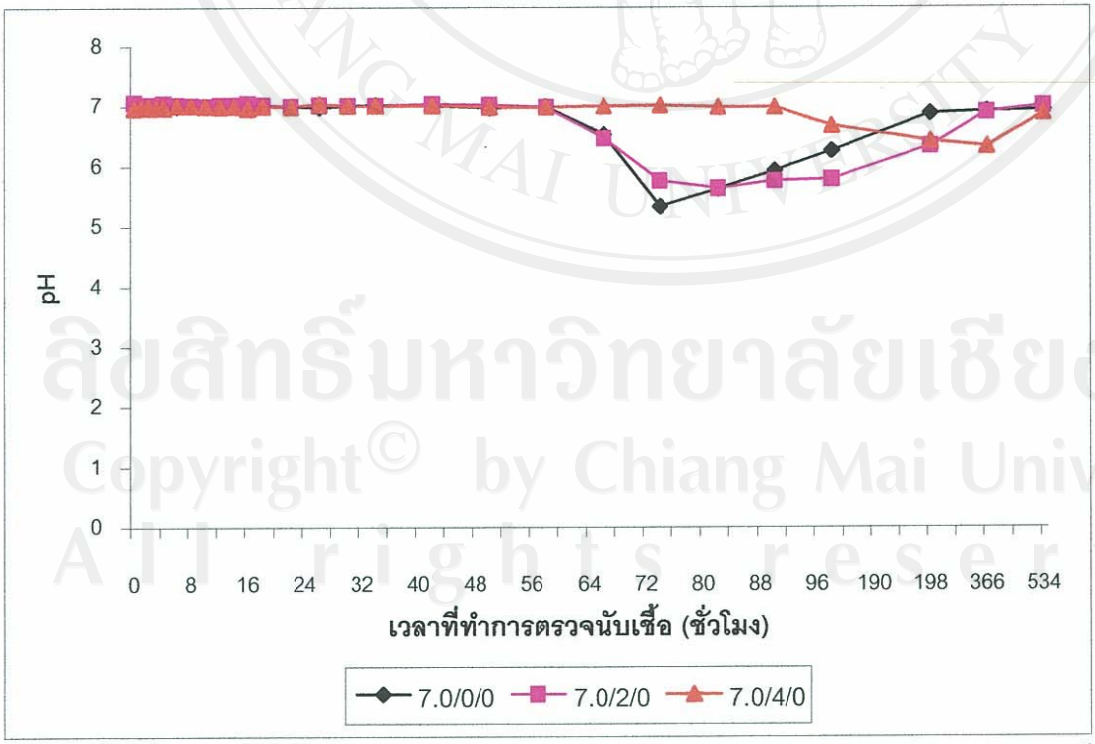


ภาพ 4.9 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสภาวะเดียวกับ ภาพ 4.8 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

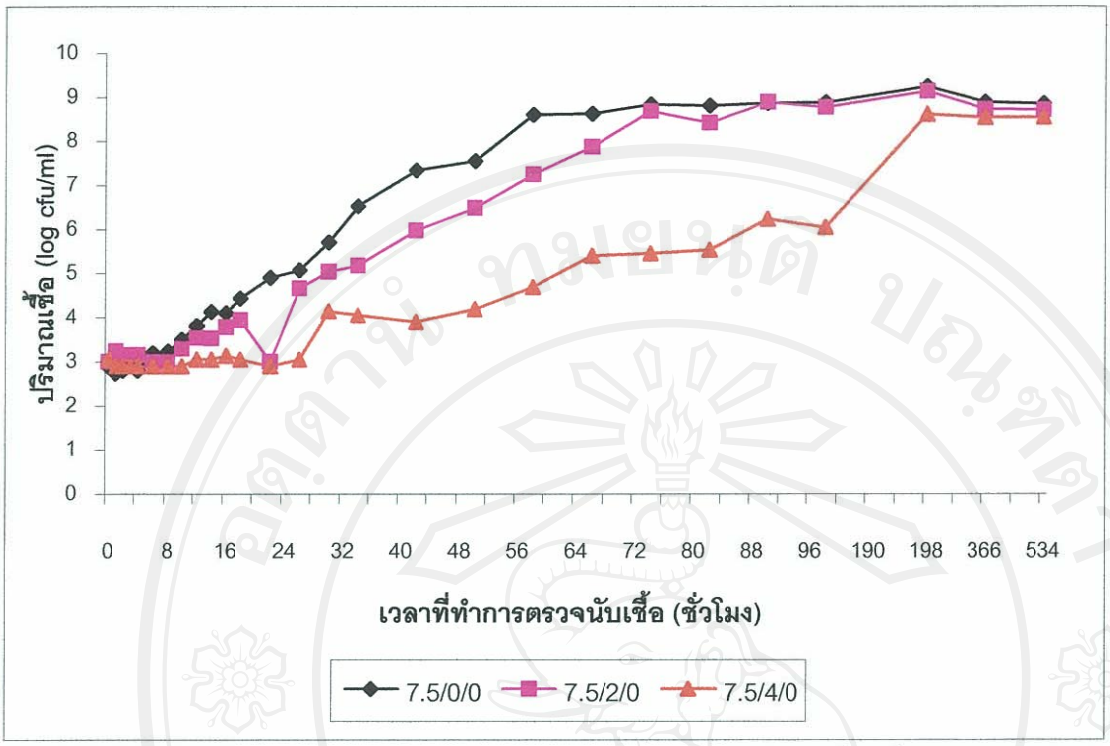


ภาพ 4.10 ผลการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับ ปรับค่า pH เท่ากับ 7.0 ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

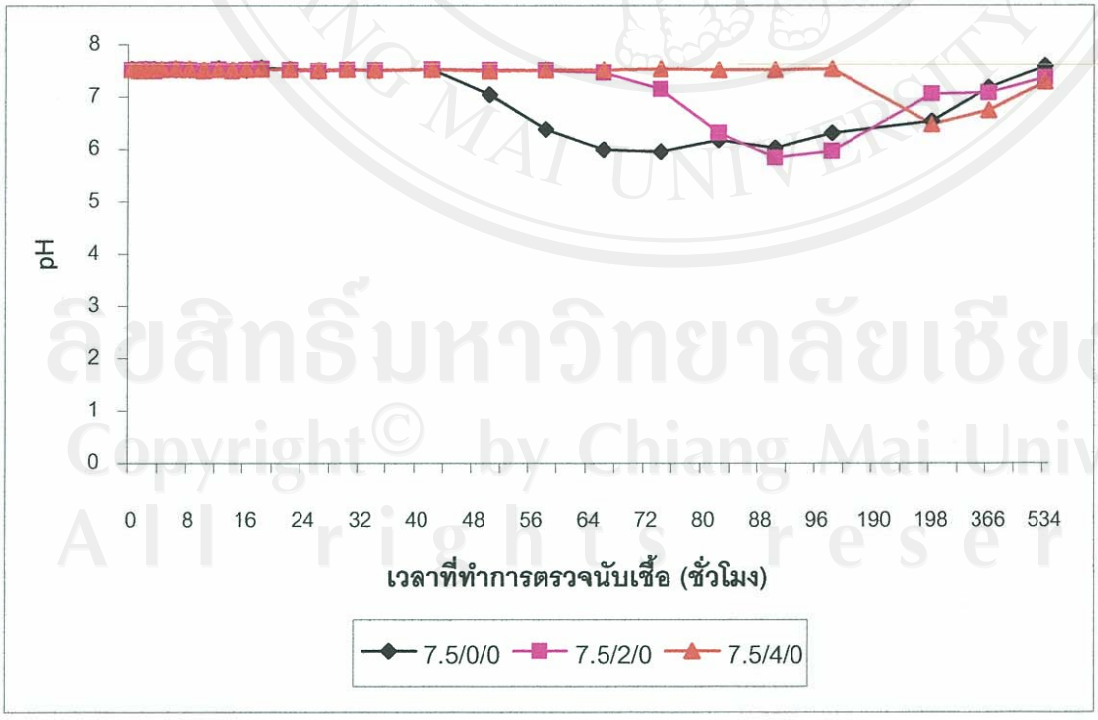


ภาพ 4.11 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสภาวะเดียวกับ ภาพ 4.10 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

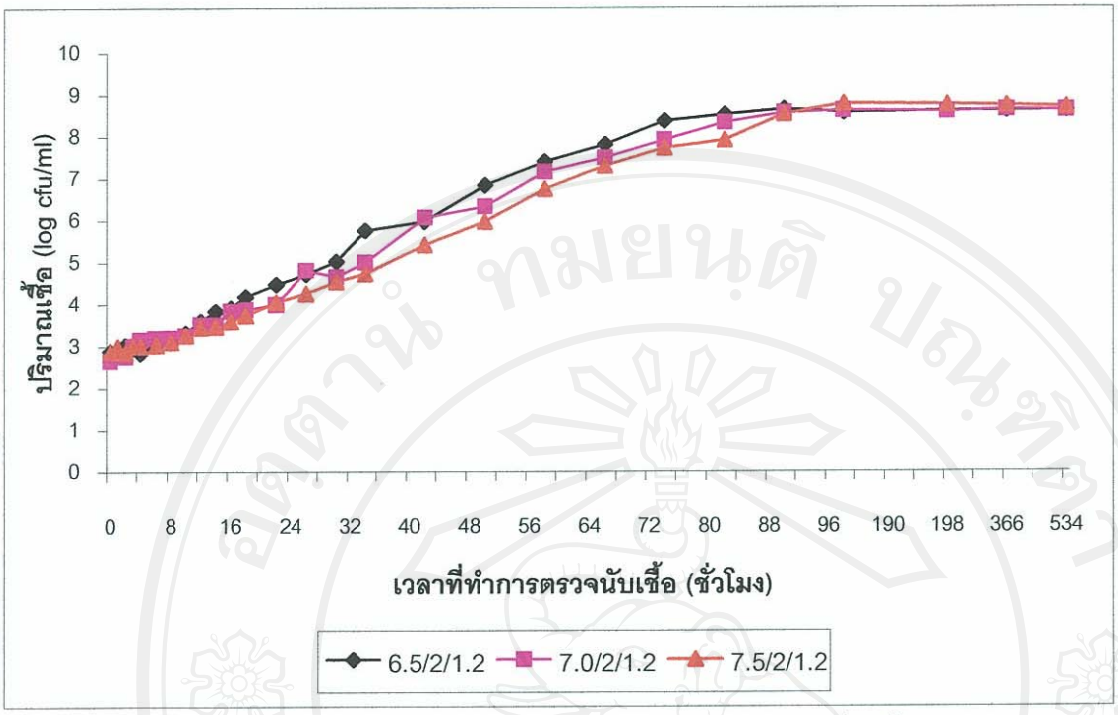


ภาพ 4.12 ผลการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับ ปรับค่า pH เท่ากับ 7.5 ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

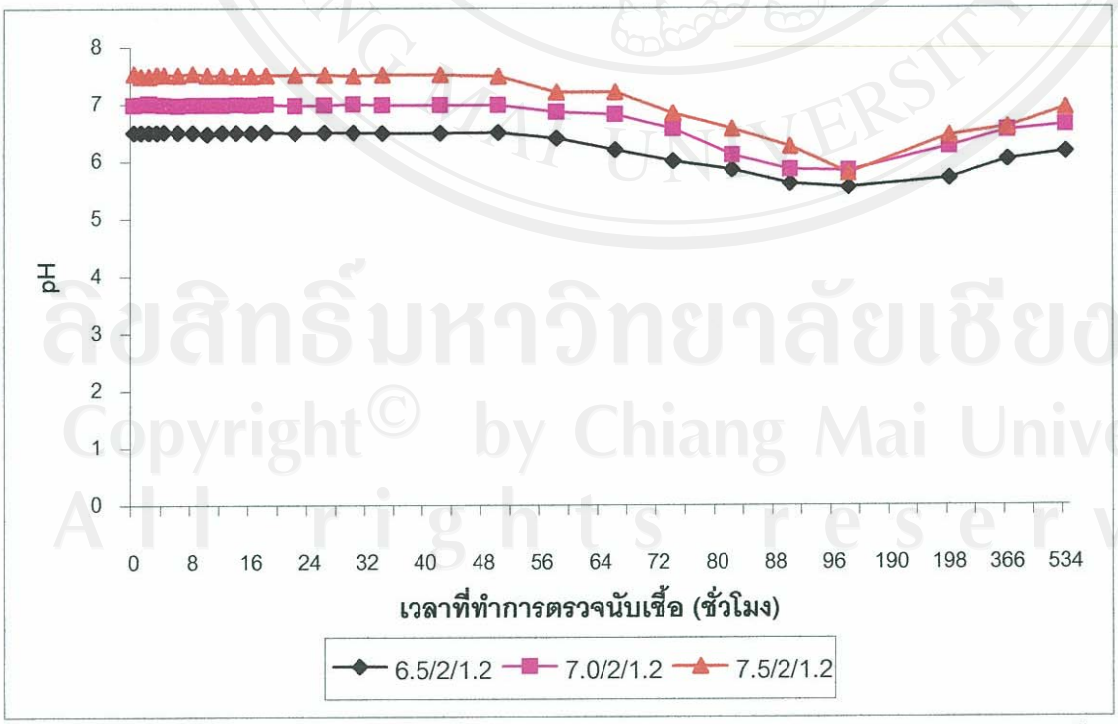


ภาพ 4.13 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสภาวะเดียวกับ ภาพ 4.12 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

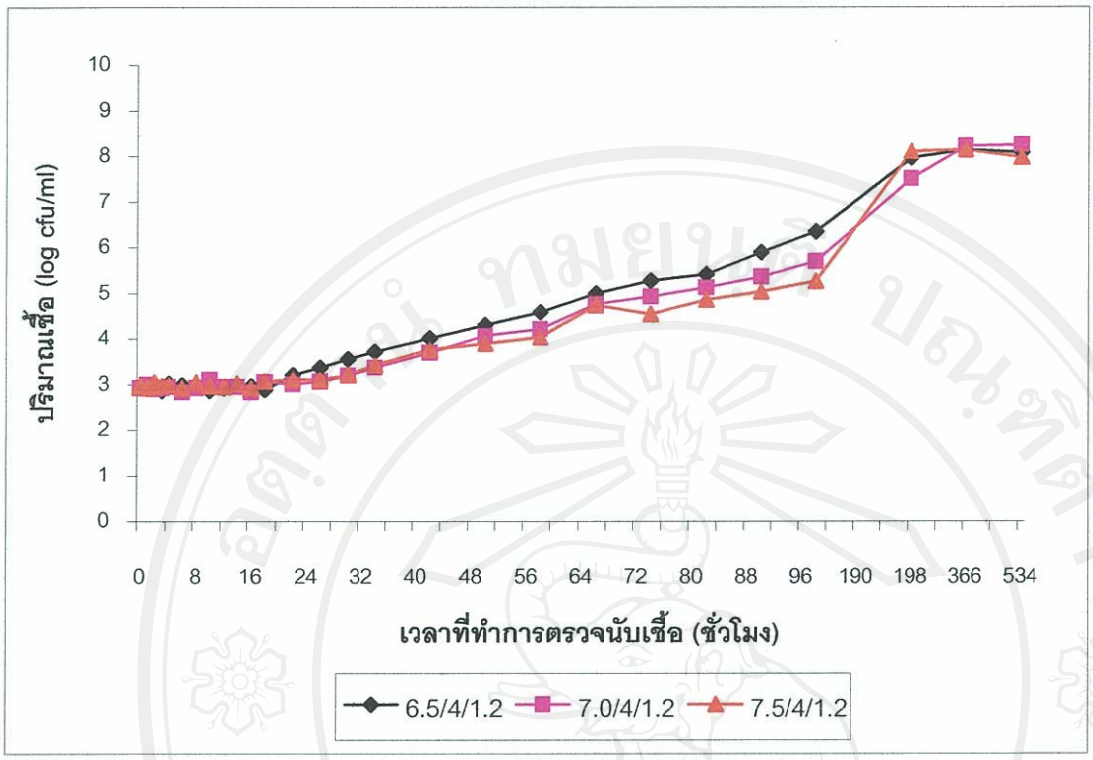


ภาพ 4.14 ผลการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 2 %, โซเดียมแลกเทต เท่ากับ 1.2 % และ pH 3 ระดับ ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

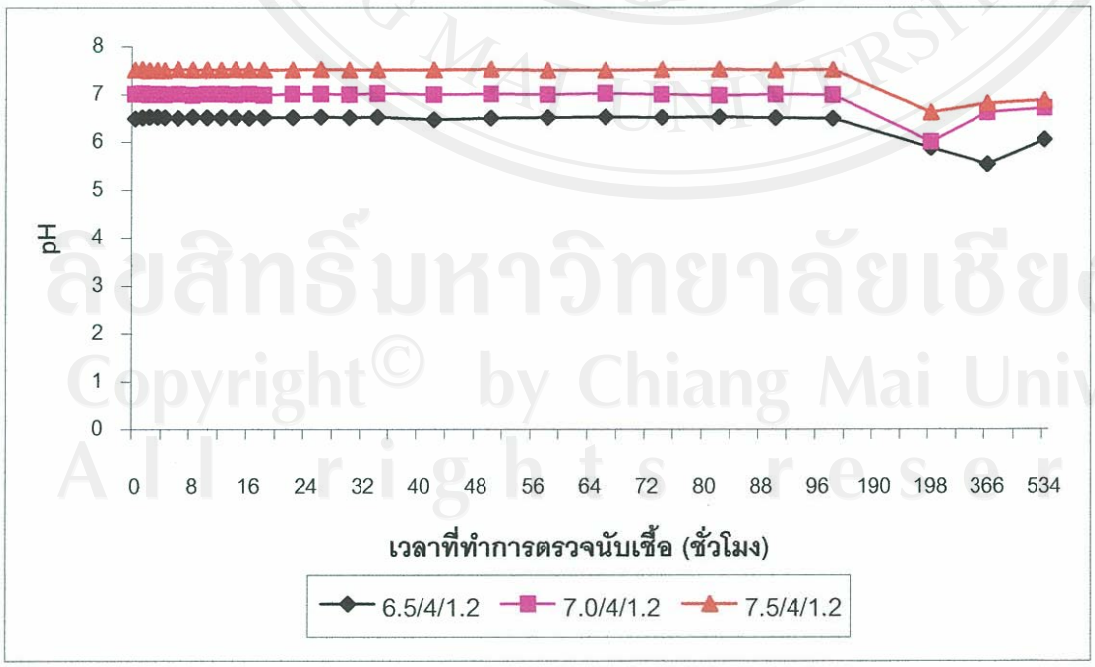


ภาพ 4.15 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสภาวะเดียวกับ ภาพ 4.14 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

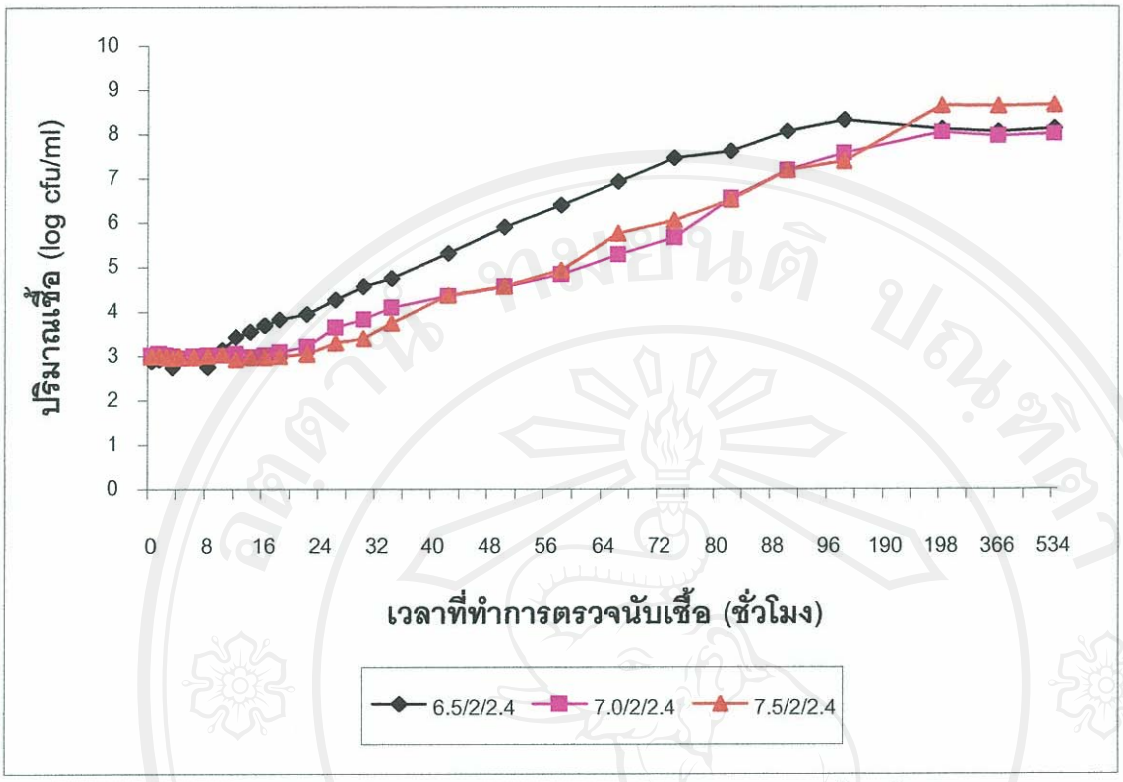


ภาพ 4.16 ผลการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 4 %, โซเดียมแลกเทต เท่ากับ 1.2 % และ pH 3 ระดับ ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

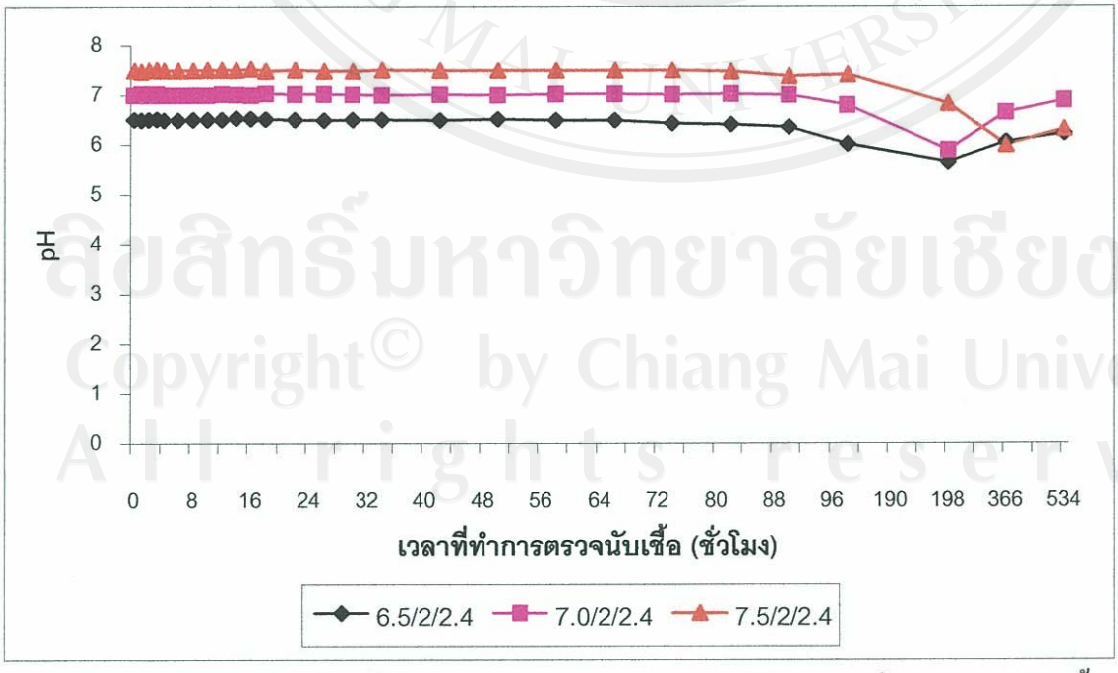


ภาพ 4.17 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสภาวะเดียวกับ ภาพ 4.16 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

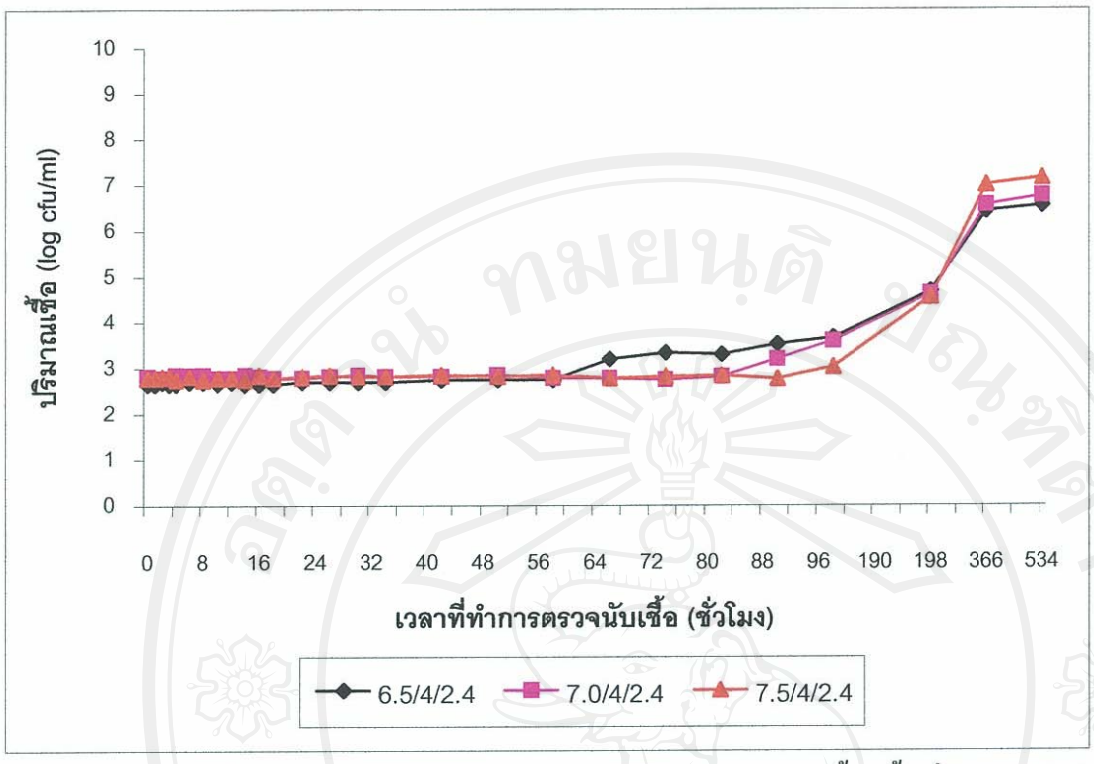


ภาพ 4.18 ผลการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 2 %, โซเดียมแลกเทต เท่ากับ 2.4 % และ pH 3 ระดับ ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

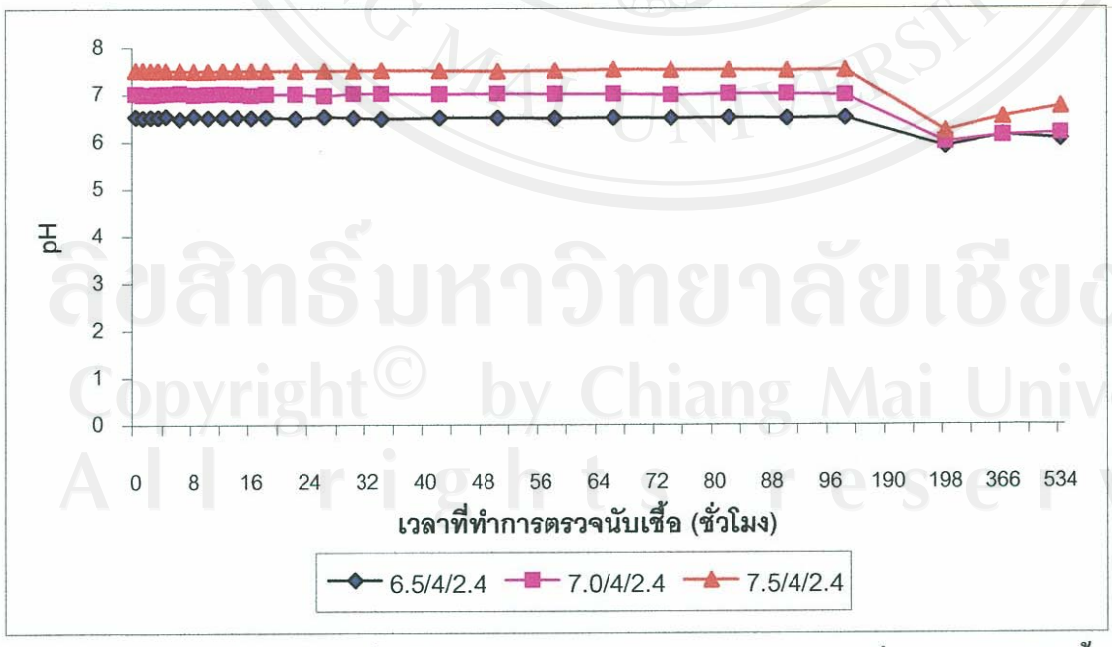


ภาพ 4.19 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสภาวะเดียวกับ ภาพ 4.18 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4.20 ผลการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 4 %, โซเดียมแลกเทต เท่ากับ 2.4 % และ pH 3 ระดับ ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส



ภาพ 4.21 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จากสภาวะเดียวกับ ภาพ 4.20 ณ เวลาที่ทำการตรวจนับเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากภาพ 4.8 ถึง 4.13 แสดงการศึกษาผลของความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับ คือ 0 %, 2 % และ 4 % ที่เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ต่อการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 4 %จะมีผลต่อการเจริญของ *S.* Weltevreden DMST 17375 คือ ทำให้ช่วง lag phase ยาวนานขึ้น ความชันของกราฟในช่วง exponential phase น้อยลง และปริมาณเชื้อที่ช่วง stationary phase ต่ำที่สุด เมื่อเทียบกับเส้นกราฟที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 0 % และ 2 % อย่างเห็นได้ชัด และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสภาวะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 2 % กับสภาวะที่ไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์จะพบว่า ระยะเวลาในการเจริญของเชื้อที่ช่วง lag phase, exponential phase และ stationary phase นั้นมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ รชนิศ (2548) ที่ทำการศึกษาผลร่วมกันของโซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และสภาวะกรด-เบส ที่มีต่อการเจริญของ *Salmonella* spp. ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 4 % ปริมาณของเชื้อในแต่ละช่วงการเจริญจะต่ำกว่าเมื่อเทียบกับสภาวะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0 % และ 2 % อีกทั้งยังมีผลทำให้ช่วงระยะเวลา lag phase ของเชื้อนานขึ้น และเชื้อใช้เวลานานมากในการเจริญจนถึงช่วง stationary phase เมื่อเทียบกับสภาวะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0 % และ 2 %

ผลร่วมกันของโซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และค่าความเป็นกรด-ด่าง แสดงในภาพ 4.14 ถึง 4.21 พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต เท่ากับ 2.4 % และความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ เท่ากับ 4 % จะมีผลในการยืดระยะเวลาการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด โดยสังเกตได้จากกราฟมีความชันต่ำที่สุด และมีปริมาณเชื้อที่ระยะ stationary phase น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับการเลี้ยงเชื้อที่สภาวะอื่น ๆ

มีรายงานว่า เมื่อเติมโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 4.0 % หรือมากกว่านั้น ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy broth (TSB) ที่ระดับ pH ระหว่าง 6.0-8.0 และมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ จะมีผลทำให้เชื้อ *Salmonella* Choleraesuis หยุดการสร้างสารพิษ cytotoxin ได้ (Ho W. L. and Chou C. C., 2001)

เมื่อพิจารณความสัมพันธ์ ระหว่างค่าความเป็นกรด-ด่าง เฉลี่ยและค่าปริมาณเชื้อเฉลี่ย พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท จะคงที่เสมอ แต่เมื่อเชื้อมีการเจริญจนใกล้ถึงช่วง stationary phase ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารจะลดลงอย่างชัดเจน และหากพิจารณาส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ เหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท จะพบว่า มีส่วนประกอบของ น้ำตาลกลูโคส ซึ่งตามธรรมชาติของ *Salmonella* spp. จะสามารถหมัก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

น้ำตาลกลูโคส แล้วได้ผลิตภัณฑ์เป็น กรด (Doyler. *et al.* 2001) ซึ่งอาจเป็นเหตุผลที่ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลง

4.5 ผลการสร้างกราฟการเจริญ และการคำนวณเพื่อหาค่าที่ต้องการศึกษา คือ ค่า maximum growth rate (K), ค่า maximum cell population (D), ค่า lag phase duration (L) และค่า generation time (GT)

โดยนำข้อมูลของปริมาณเชื้อที่ได้จากการตรวจนับการเจริญ ทั้ง 2 ซ้ำ มาวิเคราะห์ด้วย LEKSAWASDI RSS MINIMISATION ซึ่งได้กำหนดให้วิเคราะห์ด้วย Gompertz equation จนได้ค่าพารามิเตอร์ A, B, C และ M ของทั้ง 2 ซ้ำ แสดงดังตาราง 4.5-4.6 แล้วนำมาคำนวณหาค่า K, D, L และ GT ด้วยโปรแกรมโปรแกรม Microsoft ® Excel 2003 จนได้ค่า K, D, L และ GT ทั้งหมด 2 ชุด จาก 2 ซ้ำ แสดงดังตาราง 4.7-4.10

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.5 ค่า A, B, C และ M ที่คำนวณจาก Gompertz equation*

ลำดับที่	สภาวะของการทดลองเลี้ยงเชื้อ			ผลลัพธ์ที่คำนวณจาก Gompertz equation			
	NaL(%)	NaCl(%)	pH	A	B	C	M
1	0	0	6.5	2.89	0.0553	6.1157	35.2064
2	0	0	7.0	2.90	0.0559	6.3294	24.5984
3	0	0	7.5	2.85	0.0613	6.1583	23.4206
4	0	2	6.5	2.84	0.0536	5.8739	26.3352
5	0	2	7.0	2.69	0.0564	6.2890	23.2416
6	0	2	7.5	3.09	0.0518	5.8041	34.5346
7	0	4	6.5	2.85	0.0386	5.8589	43.0737
8	0	4	7.0	3.05	0.0391	5.5001	52.2805
9	0	4	7.5	2.78	0.0218	5.8835	64.6613
10	1.2	0	6.5	2.89	0.0568	5.7853	28.2355
11	1.2	0	7.0	2.72	0.0557	6.2074	25.6413
12	1.2	0	7.5	2.59	0.0554	6.5171	22.1879
13	1.2	2	6.5	2.58	0.0447	6.1774	26.4059
14	1.2	2	7.0	2.65	0.0423	6.0896	29.5730
15	1.2	2	7.5	2.94	0.0416	5.9333	36.9254
16	1.2	4	6.5	2.77	0.0217	5.4678	61.3519
17	1.2	4	7.0	2.75	0.0209	5.4222	68.1394
18	1.2	4	7.5	2.92	0.0201	5.3550	83.0697
19	2.4	0	6.5	2.64	0.0424	6.3826	25.5942
20	2.4	0	7.0	2.66	0.0479	6.1168	26.6391
21	2.4	0	7.5	2.88	0.0532	6.1973	27.6630
22	2.4	2	6.5	2.77	0.0405	5.5252	33.5132
23	2.4	2	7.0	2.98	0.0335	5.1155	53.7003
24	2.4	2	7.5	2.92	0.0330	5.6938	56.3989
25	2.4	4	6.5	2.67	0.0488	3.7299	59.4499
26	2.4	4	7.0	2.79	0.0433	3.7842	70.3649
27	2.4	4	7.5	2.78	0.0501	4.3718	61.2567

หมายเหตุ : *ค่าในตารางเป็นค่าที่ได้มาจากการทดลอง 2 ซ้ำ ชุดข้อมูลนี้ได้จากการวิเคราะห์ด้วย LEKSAWASDI RSS MINIMISATION

ค่า A = log initial cell population (log cfu/ml)
B = Relative growth rate at M
C = log maximum cell population - log initial cell population
M = time, when growth rate reach maximum (h)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.6 ค่า A, B, C และ M ที่คำนวณจาก Gompertz equation*

ลำดับที่	สภาวะของการทดลองเลี้ยงเชื้อ			ผลลัพธ์ที่คำนวณจาก Gompertz equation			
	NaL(%)	NaCl(%)	pH	A	B	C	M
1	0	0	6.5	2.90	0.0503	6.1267	34.1653
2	0	0	7.0	2.70	0.0559	6.3294	24.5984
3	0	0	7.5	2.48	0.0529	6.6125	22.4032
4	0	2	6.5	2.91	0.0523	5.8573	27.3558
5	0	2	7.0	2.69	0.0572	6.2794	23.2757
6	0	2	7.5	3.11	0.0500	5.9419	35.1993
7	0	4	6.5	2.45	0.0302	6.2160	38.7569
8	0	4	7.0	3.01	0.0334	5.5828	50.5695
9	0	4	7.5	2.54	0.0196	6.0822	58.3980
10	1.2	0	6.5	2.73	0.0524	5.9890	28.5352
11	1.2	0	7.0	2.82	0.0594	6.1801	26.9972
12	1.2	0	7.5	2.86	0.0621	6.2181	24.3847
13	1.2	2	6.5	2.74	0.0467	6.0256	27.6685
14	1.2	2	7.0	2.78	0.0427	5.9964	31.7185
15	1.2	2	7.5	2.82	0.0386	6.0446	35.8953
16	1.2	4	6.5	2.76	0.0235	5.2761	61.2739
17	1.2	4	7.0	2.74	0.0180	5.4195	75.5554
18	1.2	4	7.5	2.82	0.0186	5.2854	75.2743
19	2.4	0	6.5	2.99	0.0468	5.7806	28.0708
20	2.4	0	7.0	2.70	0.0424	6.1470	24.2158
21	2.4	0	7.5	2.77	0.0474	6.3229	22.7881
22	2.4	2	6.5	2.73	0.0410	5.4952	32.3910
23	2.4	2	7.0	2.98	0.0330	5.1194	52.5728
24	2.4	2	7.5	2.94	0.0324	5.7812	56.9555
25	2.4	4	6.5	2.65	0.0501	3.7237	58.8665
26	2.4	4	7.0	2.81	0.0421	3.7693	71.8774
27	2.4	4	7.5	2.79	0.0481	4.2639	62.1979

หมายเหตุ : *ค่าในตารางเป็นค่าที่ได้มาจากการทดลอง 2 ซ้ำ ชุดข้อมูลนี้ได้จากการวิเคราะห์ด้วย LEKSAWASDI RSS MINIMISATION

ค่า A = log initial cell population (log cfu/ml)
B = Relative growth rate at M
C = log maximum cell population - log initial cell population
M = time, when growth rate reach maximum (h)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากตาราง 4.5 และ 4.6 ค่า A, B, C และ M ทั้ง 4 ค่า คำนวณได้โดยใช้โปรแกรม LEKSAWASDI RSS MINIMISATION โดยโปรแกรมจะทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของข้อมูล และสร้างกราฟเส้นโค้งที่สมบูรณ์ ด้วยสมการ Gompertz's equation เพื่อหาค่าของพารามิเตอร์ทั้ง 4 ค่า คือ A, B, C และ M ที่เหมาะสมสำหรับทุกการทดลอง โปรแกรมจะทำงานจนกว่าจะพบจุด Fit curve คือ มีค่า R^2 และค่า RSS เข้าใกล้ 1 มากที่สุด ซึ่งแสดงว่า X และ Y มีความสัมพันธ์กันมาก (กัลยา, 2543)

เมื่อนำข้อมูลจากตาราง 4.5 และ 4.6 ไปคำนวณด้วยโปรแกรม Excel จะได้ค่าใหม่อีก 4 ค่า คือ ค่า K, D, L และ GT ทั้งหมด 2 ชุด จาก 2 ซ้ำ ดังตาราง 4.7-4.10 ซึ่งมีความสัมพันธ์กับสมการ Gompertz's equation และค่าทั้ง 4 นี้ จะถูกนำไปวิเคราะห์ขั้นต่อไปเพื่อหาสมการ polynomial equation

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.7 ค่า maximum growth rate (K) ที่คำนวณได้จากสูตร*

ชุดการทดลอง				ค่า K	
ชุดที่	NaL (%)	NaCl (%)	pH	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
1	0	0	6.5	0.1245	0.1134
2	0	0	7.0	0.1302	0.1302
3	0	0	7.5	0.1389	0.1287
4	0	2	6.5	0.1159	0.1127
5	0	2	7.0	0.1306	0.1321
6	0	2	7.5	0.1106	0.1093
7	0	4	6.5	0.0833	0.0691
8	0	4	7.0	0.0791	0.0686
9	0	4	7.5	0.0471	0.0438
10	1.2	0	6.5	0.1210	0.1154
11	1.2	0	7.0	0.1271	0.1349
12	1.2	0	7.5	0.1329	0.1420
13	1.2	2	6.5	0.1016	0.1036
14	1.2	2	7.0	0.0948	0.0942
15	1.2	2	7.5	0.0907	0.0859
16	1.2	4	6.5	0.0437	0.0457
17	1.2	4	7.0	0.0417	0.0358
18	1.2	4	7.5	0.0396	0.0362
19	2.4	0	6.5	0.0996	0.0996
20	2.4	0	7.0	0.1079	0.0958
21	2.4	0	7.5	0.1213	0.1102
22	2.4	2	6.5	0.0823	0.0828
23	2.4	2	7.0	0.0631	0.0621
24	2.4	2	7.5	0.0692	0.0689
25	2.4	4	6.5	0.0670	0.0687
26	2.4	4	7.0	0.0603	0.0584
27	2.4	4	7.5	0.0806	0.0755

*สูตรการคำนวณค่า maximum growth rate $(K) = \frac{B*C}{e}$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.8 ค่า maximum cell population (D) ที่คำนวณได้จากสูตร*

ชุดการทดลอง				ค่า D	
ชุดที่	NaL (%)	NaCl (%)	pH	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
1	0	0	6.5	9.0057	9.0248
2	0	0	7.0	9.2300	9.0300
3	0	0	7.5	9.0068	9.0974
4	0	2	6.5	8.7126	8.7693
5	0	2	7.0	8.9813	8.9680
6	0	2	7.5	8.8962	9.0547
7	0	4	6.5	8.7045	8.6620
8	0	4	7.0	8.5486	8.5972
9	0	4	7.5	8.6627	8.6261
10	1.2	0	6.5	8.6761	8.7232
11	1.2	0	7.0	8.9274	9.0008
12	1.2	0	7.5	9.1067	9.0822
13	1.2	2	6.5	8.7537	8.7626
14	1.2	2	7.0	8.7381	8.7724
15	1.2	2	7.5	8.8757	8.8610
16	1.2	4	6.5	8.2332	8.0337
17	1.2	4	7.0	8.1762	8.1583
18	1.2	4	7.5	8.2788	8.1073
19	2.4	0	6.5	9.0191	8.7664
20	2.4	0	7.0	8.7785	8.8473
21	2.4	0	7.5	9.0769	9.0881
22	2.4	2	6.5	8.2992	8.2280
23	2.4	2	7.0	8.0973	8.1013
24	2.4	2	7.5	8.6134	8.7174
25	2.4	4	6.5	6.3985	6.3737
26	2.4	4	7.0	6.5751	6.5782
27	2.4	4	7.5	7.1515	7.0523

*สูตรการคำนวณค่า maximum cell population (D) = A + C

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.9 ค่า lag phase duration (L) ที่คำนวณได้จากสูตร*

ชุดการทดลอง				ค่า L	
ชุดที่	NaL (%)	NaCl (%)	pH	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
1	0	0	6.5	17.1327	14.2798
2	0	0	7.0	6.7132	6.7132
3	0	0	7.5	7.1130	3.5071
4	0	2	6.5	7.6809	8.2304
5	0	2	7.0	5.5268	5.7880
6	0	2	7.5	15.2285	15.2053
7	0	4	6.5	17.1938	5.6508
8	0	4	7.0	26.7075	20.6059
9	0	4	7.5	18.7443	7.3199
10	1.2	0	6.5	10.6387	9.4332
11	1.2	0	7.0	7.6761	10.1482
12	1.2	0	7.5	4.1522	8.2791
13	1.2	2	6.5	4.0434	6.2603
14	1.2	2	7.0	5.9426	8.3014
15	1.2	2	7.5	12.8629	10.0134
16	1.2	4	6.5	15.3582	18.7969
17	1.2	4	7.0	20.2492	19.8516
18	1.2	4	7.5	33.2574	21.5956
19	2.4	0	6.5	2.0151	6.7214
20	2.4	0	7.0	5.7774	0.6046
21	2.4	0	7.5	8.8592	1.6863
22	2.4	2	6.5	8.8064	7.9800
23	2.4	2	7.0	23.8507	22.2521
24	2.4	2	7.5	26.1253	26.0732
25	2.4	4	6.5	38.9749	38.9103
26	2.4	4	7.0	47.2635	48.1335
27	2.4	4	7.5	41.3031	41.4263

*สูตรการคำนวณค่า lag phase duration (L) = $M - \frac{1}{B}$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.10 ค่า generation time (GT) ที่คำนวณได้จากสูตร*

ชุดการทดลอง				ค่า GT	
ชุดที่	NaL (%)	NaCl (%)	pH	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
1	0	0	6.5	2.4178	2.6554
2	0	0	7.0	2.3118	2.3118
3	0	0	7.5	2.1664	2.3379
4	0	2	6.5	2.5982	2.6714
5	0	2	7.0	2.3045	2.2784
6	0	2	7.5	2.7213	2.7529
7	0	4	6.5	3.6138	4.3572
8	0	4	7.0	3.8039	4.3910
9	0	4	7.5	6.3849	6.8705
10	1.2	0	6.5	2.4884	2.6094
11	1.2	0	7.0	2.3678	2.2305
12	1.2	0	7.5	2.2641	2.1190
13	1.2	2	6.5	2.9616	2.9067
14	1.2	2	7.0	3.1747	3.1949
15	1.2	2	7.5	3.3179	3.5030
16	1.2	4	6.5	6.8818	6.5865
17	1.2	4	7.0	7.2259	8.4090
18	1.2	4	7.5	7.6102	8.3088
19	2.4	0	6.5	3.0223	3.0215
20	2.4	0	7.0	2.7902	3.1425
21	2.4	0	7.5	2.4823	2.7304
22	2.4	2	6.5	3.6583	3.6343
23	2.4	2	7.0	4.7739	4.8455
24	2.4	2	7.5	4.3499	4.3702
25	2.4	4	6.5	4.4910	4.3844
26	2.4	4	7.0	4.9944	5.1536
27	2.4	4	7.5	3.7341	3.9855

*สูตรการคำนวณค่า generation time (GT) = $\frac{[\log_{10}(2)]e}{B*C}$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.6 การวิเคราะห์ผลข้อมูลด้วยโปรแกรมทางสถิติ

4.6.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of varience) เพื่อศึกษาอิทธิพลของโซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง ต่อค่า K, D, L และ GT ของ *S. Weltevreden* DMST 17375 ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (analysis of varience) จะทำการวิเคราะห์แบบ 3^3 factorial in CRD และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลของปัจจัยแต่ละตัว และเลือกวิธีการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยด้วยวิธีแบบ Duncan's New Multiple Range Test โดยทำการเลือกวิเคราะห์ด้วยตัวแปรเข้ารหัส (coded variable) ซึ่งจะให้ผลในการวิเคราะห์ข้อมูลได้ดีกว่าการวิเคราะห์ด้วยตัวแปรเดิม (natural variable) เพราะข้อมูลที่กรอกแบบเข้ารหัสจะมีระดับที่สม่ำเสมอมากกว่าการกรอกข้อมูลจาก ตัวแปรเดิมที่อาจมีช่วงห่างระหว่างระดับต่ำ-สูง ไม่เท่ากันในทุกปัจจัย ทำให้การวิเคราะห์เกิดการคลาดเคลื่อนได้ (อิศรพงษ์, 2544) การเข้ารหัสของระดับปัจจัยที่ใช้ในการทดลองแสดงดัง ตาราง 4.11 และผลของการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล แสดงดัง ตาราง 4.12

ตาราง 4.11 การเข้ารหัสของระดับปัจจัยที่ใช้วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ 3^3 factorial in CRD

ปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง	การเข้ารหัส (Coded)		
	-1	0	1
โซเดียมแลกเทต 60 % w/v	0 %	1.2 %	2.4 %
โซเดียมคลอไรด์	0 %	2 %	4 %
ความเป็นกรด-ด่าง	6.5	7.0	7.5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ 3^3 factorial in CRD

ชนิดของปัจจัย	ระดับ	ค่าที่ทำการศึกษา			
		K	D	L	GT
โซเดียมแลกเทต	0 %	a 0.104±0.03	a 8.87±0.20	b 11.63±6.60	c 3.27±1.41
	1.2 %	b 0.088±0.04	b 8.63±0.36	b 12.60±7.60	a 4.34±2.37
	2.4 %	c 0.082±0.02	c 7.99±1.01	a 22.04±17.14	b 3.86±0.85
โซเดียมคลอไรด์	0 %	a 0.121±0.01	a 8.97±0.15	c 7.30±4.23	c 2.53±0.31
	2 %	b 0.095±0.02	b 8.68±0.30	b 12.23±7.50	b 3.33±0.80
	4 %	c 0.058±0.02	c 7.83±0.87	a 26.74±13.22	a 5.62±1.65
ความเป็นกรด-ด่าง	6.5	a 0.092±0.03	c 8.40±0.78	b 13.23±10.49	b 3.61±1.32
	7.0	a 0.092±0.03	b 8.45±0.76	a 16.23±13.87	a 3.87±1.79
	7.5	a 0.091±0.04	a 8.63±0.63	a 16.82±12.43	a 4.00±1.98

หมายเหตุ : ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละสดมภ์ ของแต่ละชนิดปัจจัยแสดงว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เมื่อทำการพิจารณาผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อค่า maximum growth rate (K), ค่า maximum cell population (D), ค่า lag phase duration (L) และ ค่า generation time (GT) หรือ growth kinetics ของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 จากตาราง 4.14 พบว่า ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทตทั้ง 3 ระดับ มีอิทธิพลต่อค่า K, D และ GT ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้น 2.4 % จะมีผลช่วยชะลอการเจริญและลดปริมาณของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ที่ระยะ maximum cell population ได้ดีที่สุด ซึ่งสังเกตได้จากค่าเฉลี่ยของ K และ D มีค่าน้อยที่สุด และเมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทตต่อค่า L พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต เท่ากับ 2.4 % จะมีอิทธิพลต่อค่า L แตกต่างกับที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต 0 % และ 1.2 % ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % กล่าวคือ ที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต 2.4 % จะมีผลทำให้ระยะเวลาการเจริญของเชื้อช่วง lag phase ยาวนานกว่าที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ระดับความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทตที่ 0 % และ 2 % โดยที่ระดับความเข้มข้นทั้ง 2 ระดับนี้มีผลต่อการเจริญของเชื้อในช่วง lag phase ที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ รชนิศ (2548), อรภิยา (2548) และ Brewer และคณะ (1993) ที่กล่าวว่า เมื่อความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทตเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ระยะเวลาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ช่วง lag phase ยาวนานขึ้น

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ ทั้ง 3 ระดับ พบว่า ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ทั้ง 3 ระดับ มีอิทธิพลต่อค่า K, D, L และ GT ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 4 % จะมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อและลดจำนวน maximum cell population ของเชื้อได้ดีที่สุด ซึ่งสังเกตได้จากค่าเฉลี่ยของ K และ D มีค่าน้อยที่สุด และค่าเฉลี่ยของ L และ GT มีค่ามากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ รชนิศ (2548) และ อรภิยา (2548) ที่กล่าวว่า ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่สูงขึ้น จะมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้นานขึ้น

สำหรับการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับความเป็นกรด-ด่าง ทั้ง 3 ระดับ ของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ในกรณีของค่า K พบว่า ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ค่าความเป็นกรด-ด่าง ทั้ง 3 ระดับ มีอิทธิพลต่อค่า K ไม่แตกต่างกัน จึงจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน แต่ส่วนของค่า D นั้น พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง ทั้ง 3 ระดับ นั้นมีอิทธิพลต่อค่า D แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับค่าเชื่อมั่น 95 % โดยที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.5 นั้นจะมีผลทำให้ค่า D มีค่าน้อยที่สุด หรือมีผลทำให้เชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท นั้นมีค่า maximum cell population ต่ำกว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ 7.0 และ 7.5 แต่ในกรณีของค่า L และ GT นั้น พบว่า ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.0 และ 7.5 นั้นจะยืดระยะเวลาการเจริญของเชื้อในช่วง lag phase และระยะเวลาเพิ่มจำนวนเซลล์ ได้ดีกว่าการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 6.5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.6.2 ผลการวิเคราะห์เพื่อสร้างสมการ polynomial equation ของค่า K, D, L และ GT ของ *S.* Weltevreden DMST 17375

4.6.2.1 ผลการสร้างสมการ polynomial equation สำหรับค่า maximum growth rate (K)

โดยทำการวิเคราะห์ multiple linear regression แบบ 3^3 factorial in CRD ด้วยโปรแกรม SPSS Version 10.0.1 ได้สมการ polynomial equation ของค่า K ดังนี้

Coded Full model

$$K = 9.2146*10^{-2} - 1.0967*10^{-2}NaL - 3.1372*10^{-2}NaCl - 5.1389*10^{-4}pH + 4.6611*10^{-3}NaL^2 - 5.6389*10^{-3}NaCl^2 - 3.4722*10^{-4}pH^2 + 6.2917*10^{-3}NaL*NaCl + 2.7583*10^{-3}NaL*pH - 6.4667*10^{-3}NaCl*pH$$

$R^2 = 0.826$

Adj $R^2 = 0.790$

Natural Full model

$$K = 2.7021*10^{-2} - 5.4331*10^{-2}NaL + 3.2074*10^{-2}NaCl + 2.5833*10^{-2}pH + 3.2369*10^{-3}NaL^2 - 1.4097*10^{-3}NaCl^2 - 1.3889*10^{-3}pH^2 + 2.6215*10^{-3}NaL*NaCl + 4.5972*10^{-3}NaL*pH - 6.4667*10^{-3}NaCl*pH$$

$R^2 = 0.826$

Adj $R^2 = 0.790$

สมการ polynomial equation ของค่า K ที่ได้ ก่อนจะนำไปใช้งานต้องทำการถอดรหัสก่อน ซึ่งอาจจะไม่สะดวกเมื่อเทียบกับการวิเคราะห์ด้วยตัวแปรเดิม (Natural Variable) ที่สามารถแทนค่าของปัจจัยที่ใช้ทดลองลงในสมการได้โดยที่ไม่ต้องทำการถอดรหัส แต่ผลลัพธ์ที่ได้จากการคำนวณของทั้ง 2 สมการ พบว่า มีค่าใกล้เคียงกันมาก จึง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ถือว่าสมการทั้ง 2 รูปแบบนั้นมีความถูกต้องเท่า ๆ กัน ดังแสดงไว้ใน ภาคผนวก ญ และสามารถนำไปใช้คำนวณได้ทั้ง 2 สมการ เพราะค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) มีค่าเท่ากัน (อิศรพงษ์, 2544)

จากสมการ polynomial equation ของค่า K ที่ได้ สามารถอธิบายถึงความสัมพันธ์ของค่า K และปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัย ได้ว่า การผันแปรของค่า K นั้นจะผันแปรไปตามค่าของ ปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัย การนำไปใช้งานควรพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ของปัจจัยแต่ละตัวนั้นด้วย ซึ่งสมการ polynomial equation ของค่า K นี้เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ของปัจจัย พบว่า ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์นั้นมีอิทธิผลต่อค่า K มากที่สุด และเนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์ของ โซเดียมคลอไรด์นั้นติดลบ จึงสรุปได้ว่า ถ้าเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ให้สูงขึ้น ค่า K จะลงลด ซึ่งสอดคล้องกันกับการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า K ในข้อ 4.6.1

4.6.2.2 ผลการสร้างสมการ polynomial equation สำหรับค่า maximum cell population (D)

ทำการวิเคราะห์ multiple linear regression แบบ 3^3 factorial in CRD ด้วยโปรแกรม SPSS Version 10.0.1 ได้ สมการ polynomial equation ของค่า D ดังนี้

Coded Full model

$$D = 8.7687 - 4.3933*10^{-1}NaL - 5.7138*10^{-1}NaCl + 1.1691*10^{-1}pH - 1.9985*10^{-1}NaL^2 - 2.7775*10^{-1}NaCl^2 + 6.3597*10^{-2}pH^2 - 4.5223*10^{-1}NaL*NaCl + 8.9571*10^{-2}NaL*pH + 9.5958*10^{-3}NaCl*pH$$

$R^2 = 0.935$

Adj $R^2 = 0.922$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Natural Full model

$D = 21.0662 - 7.0116*10^{-1}NaL + 1.5101*10^{-1}NaCl - 3.5259pH$
$- 1.3879*10^{-1}NaL^2 - 6.9438*10^{-2}NaCl^2 + 2.5439*10^{-1}pH^2$
$- 1.8843*10^{-1}NaL*NaCl + 1.4928*10^{-1}NaL*pH$
$+ 9.5958*10^{-3}NaCl*pH$

$R^2 = 0.935$

Adj $R^2 = 0.922$

จากสมการ polynomial equation แบบ Coded Full model ของค่า D ที่ได้ จะพบว่า เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต และโซเดียมคลอไรด์ จะมีผลทำให้ค่า D ลดลง

4.6.2.3 ผลการสร้างสมการ polynomial equation สำหรับค่า lag phase duration (L)

ทำการวิเคราะห์ multiple linear regression แบบ 3^3 factorial in CRD ด้วยโปรแกรม SPSS Version 10.0.1 ได้ สมการ polynomial equation ของค่า L ดังนี้

Coded Full model

$L = 10.2126 + 5.2062NaL + 9.7192NaCl + 1.7957pH + 4.2329NaL^2$
$+ 4.7903NaCl^2 - 1.2042pH^2 + 7.8993NaL*NaCl + 1.8798NaL*pH$
$+ 2.3077NaCl*pH$

$R^2 = 0.849$

Adj $R^2 = 0.818$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Natural Full model

$L = -190.3301 - 31.2303NaL - 20.0345NaCl + 62.6523pH + 2.9395NaL^2 + 1.1976NaCl^2 - 4.8169pH^2 + 3.2914NaL*NaCl + 3.1330NaL*pH + 2.3077NaCl*pH$

$R^2 = 0.849$

Adj $R^2 = 0.818$

จากสมการ polynomial equation แบบ Coded Full model ของค่า L ที่ได้ จะพบว่า เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์และค่าความเป็นกรด-ด่าง จะมีผลทำให้ค่า L มากขึ้น

4.6.2.4 ผลการสร้างสมการ polynomial equation สำหรับค่า generation time (GT)

ทำการวิเคราะห์ multiple linear regression แบบ 3^3 factorial in CRD ด้วยโปรแกรม SPSS Version 10.0.1 ได้ สมการ polynomial equation ของค่า GT ดังนี้

Coded Full model

$GT = 3.8944 + 2.9487*10^{-1}NaL + 1.5477NaCl + 1.9581*10^{-1}pH - 7.7242*10^{-1}NaL^2 + 7.3947*10^{-1}NaCl^2 - 6.7758*10^{-2}pH^2 - 2.3610*10^{-1}NaL*NaCl - 2.2831*10^{-1}NaL*pH + 3.6225*10^{-1}NaCl*pH$

$R^2 = 0.727$

Adj $R^2 = 0.671$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Natural Full model

$$GT = -12.3641 + 4.3935NaL - 2.3833NaCl + 3.9182pH - 5.3640*10^{-1}NaL^2 + 1.8487*10^{-1}NaCl^2 - 2.7103*10^{-1}pH^2 - 9.8375*10^{-2}NaL*NaCl - 3.8052*10^{-1}NaL*pH + 3.6225*10^{-1}NaCl*pH$$

$R^2 = 0.727$

Adj $R^2 = 0.671$

จากสมการ polynomial equation แบบ Coded Full model ของค่า GT ที่ได้ พบว่ามีค่า สัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) ต่ำ เท่ากับ 72.7 % ซึ่งอธิบายได้ว่า ตัวแปรอิสระที่นำเข้าวิเคราะห์ สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงค่าของตัวแปรตาม คือ GT ได้เพียง 72.7 % ส่วนที่เหลือมาจากอิทธิพล อื่น ๆ

อิศรพงษ์ (2544) กล่าวว่า หากสมการมีค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ ยิ่งสูงเท่าใด ความแม่นยำในการคาดคะเนผลลัพธ์ของสมการย่อมสูงมากยิ่งขึ้นด้วย โดยทั่วไปสมการที่มักนำไปใช้ ควรมีค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ อย่างน้อย 0.75 และหากสูงกว่า 0.90 จะถือว่าดีมาก

4.6.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of varience) เพื่อศึกษาอิทธิพลของโซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง ต่อค่า K, D, L และ GT ของ *S.* Weltevreden DMST 17375 ที่เจริญ ณ อุณหภูมิ 15, 25 และ 35 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์ผลในขั้นตอนนี้จะเพิ่มข้อมูลจาก การศึกษาการเจริญของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ที่อุณหภูมิ 25 และ 35 องศาเซลเซียส เป็นการเพิ่มปัจจัยในการวิเคราะห์เพิ่มอีก 1 ปัจจัย ดังนั้นจึงทำการวิเคราะห์ multiple linear regression แบบ 3^4 factorial in CRD เพื่อให้ได้สมการ polynomial equation 4 สมการ คือ สมการของค่า K, D, L และ GT การเข้ารหัสของระดับปัจจัยที่ใช้ในการทดลองแสดงดัง ตาราง 4.13 และผลของการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล แสดงดัง ตาราง 4.14

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.13 การเข้ารหัสของระดับปัจจัยที่ใช้วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ 3^4 factorial in CRD

ปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง	การเข้ารหัส (Coded)		
	-1	0	1
โซเดียมแลกเทต 60 % w/v	0 %	1.2 %	2.4 %
โซเดียมคลอไรด์	0 %	2 %	4 %
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	6.5	7.0	7.5
อุณหภูมิ	15	25	35

ตาราง 4.14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ 3^4 factorial in CRD

ชนิดของปัจจัย	ระดับ	ค่าที่ทำการศึกษา			
		K	D	L	GT
โซเดียมแลกเทต	0 %	a 0.46±0.31	a 8.83±0.23	c 5.69±5.74	b 1.45±1.54
	1.2%	b 0.39±0.30	b 8.71±0.32	b 6.84±6.16	a 1.91±2.21
	2.4%	c 0.34±0.28	c 8.31±0.67	a 10.02±13.09	a 1.88±1.55
โซเดียมคลอไรด์	0 %	a 0.53±0.35	a 8.92±0.17	c 3.82±3.52	c 1.15±1.01
	2%	b 0.41±0.28	b 8.72±0.25	b 6.20±6.13	b 1.52±1.39
	4%	c 0.25±0.18	c 8.21±0.63	a 12.53±12.70	a 2.57±2.40
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	6.5	b 0.38±0.28	c 8.53±0.49	c 6.75±7.69	c 1.68±1.60
	7.0	a 0.40±0.30	b 8.61±0.51	b 7.57±10.10	b 1.74±1.85
	7.5	a 0.40±0.32	a 8.71±0.50	a 8.23±9.51	a 1.81±1.95
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	15	c 0.09±0.03	c 8.49±0.72	a 15.43±12.21	a 3.83±1.69
	25	b 0.39±0.14	b 8.66±0.36	b 3.93±1.57	b 0.91±0.42
	35	a 0.70±0.24	a 8.70±0.31	c 3.20±2.25	c 0.50±0.23

หมายเหตุ : ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละสดมภ์ ของแต่ละชนิดปัจจัยแสดงว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากตาราง 4.14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อค่า maximum growth rate (K), ค่า maximum cell population (D), ค่า lag phase duration (L) และ ค่า generation time (GT) หรือ growth kinetics ของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 สามารถอธิบายได้ดังนี้

ในกรณีของโซเดียมแลกเทต พบว่า ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทตทั้ง 3 ระดับ มีอิทธิพลต่อค่า K, D, L และ GT แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์ผลที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพียงอุณหภูมิเดียว นั่นคือ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต มีผลทำให้ค่า K และ D ลดลง ส่วนค่า L และ GT จะสูงขึ้น

ซึ่งในกรณีของโซเดียมคลอไรด์ก็ให้ผลการวิเคราะห์ไปในทางเดียวกัน คือ เมื่อระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรสูงขึ้น จะมีผลทำให้ค่า K และ D ลดลง และค่า L และ GT เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพียงอุณหภูมิเดียว

ส่วนการวิเคราะห์ผลของการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท พบว่า ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.5 มีผลทำให้ค่า K, D, L และ GT น้อยกว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ระดับอื่น ๆ แต่ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 นั้นจะมีผลต่อการชะลอการเจริญของเชื้อได้มากที่สุด โดยสังเกตได้จากค่า L และ GT มีค่ามากที่สุด

เมื่อพิจารณาที่ระดับของอุณหภูมิ พบว่า เมื่ออุณหภูมิลดต่ำลง จะมีผลทำให้เชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 เจริญได้ช้าลงโดยสังเกตได้จาก L และ GT มีค่ามากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด และค่า K และ D ก็ต่ำลงเช่นกัน เพราะที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้อัตราเมแทบอลิซึมของเซลล์ลดลง จึงทำให้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2548)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.6.4 ผลการวิเคราะห์เพื่อสร้างสมการ polynomial equation ของค่า K, D, L และ GT จากข้อมูลการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) ที่เจริญ ณ อุณหภูมิ 15, 25 และ 35 องศาเซลเซียส

4.6.4.1 ผลการสร้างสมการ polynomial equation สำหรับค่า maximum growth rate (K)

โดยทำการวิเคราะห์ multiple linear regression แบบ 3^4 factorial in CRD ด้วยโปรแกรม SPSS Version 10.0.1 ได้สมการ polynomial equation ของค่า K ดังนี้

Coded Full model

$$K = 4.0745*10^{-1} - 6.1565*10^{-2}NaL - 1.4102*10^{-1}NaCl + 1.1458*10^{-2}pH + 3.0499*10^{-1}Temp + 8.7111*10^{-3}NaL^2 - 2.3533*10^{-2}NaCl^2 - 1.0169*10^{-2}pH^2 + 5.4694*10^{-3}Temp^2 - 1.9693*10^{-2}NaL*NaCl - 1.5354*10^{-2}NaL*pH - 4.2611*10^{-2}NaL*Temp - 2.1387*10^{-2}NaCl*pH - 1.1085*10^{-1}NaCl*Temp + 1.2549*10^{-2}pH*Temp$$

$R^2 = 0.966$

Adj $R^2 = 0.963$

Natural Full model

$$K = -2.7652 + 2.1849*10^{-1}NaL + 2.5115*10^{-1}NaCl + 6.0315*10^{-1}pH + 2.5543*10^{-2}Temp + 6.0494*10^{-3}NaL^2 - 5.8833*10^{-3}NaCl^2 - 4.06787*10^{-2}pH^2 + 5.4694*10^{-5}Temp^2 - 8.2054*10^{-3}NaL*NaCl - 2.5590*10^{-2}NaL*pH - 3.5509*10^{-3}NaL*Temp - 2.1387*10^{-2}NaCl*pH - 5.5426*10^{-3}NaCl*Temp + 2.5097*10^{-3}pH*Temp$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

R^2 = 0.966

Adj R^2 = 0.963

จากสมการ polynomial equation แบบ Coded Full model ของค่า K ที่ได้ เมื่อพิจารณาที่ค่าสัมประสิทธิ์ของปัจจัยทั้ง 4 ปัจจัย พบว่า อุณหภูมิจะมีผลต่อค่า K มากที่สุด รองลงมาคือ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมแลกเทต และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ตามลำดับ ดังนั้นเมื่ออุณหภูมิจะมีผลทำให้ค่า K สูงขึ้น ทำให้เชื้อสามารถเจริญในช่วงระยะ exponential phase ได้เร็วขึ้น แต่สัมประสิทธิ์ของโซเดียมคลอไรด์ และโซเดียมแลกเทต ติดลบ ก็แสดงว่า ถ้าเพิ่มระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ และโซเดียมแลกเทต จะมีผลทำให้ค่า K ลดลง

เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 96.6 % ซึ่งอธิบายได้ว่า ตัวแปรอิสระที่นำเข้าวิเคราะห์ สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงค่าของ K ได้ดีมากถึง 96.6 % ส่วนที่เหลือมาจากอิทธิพลอื่น ๆ

4.6.4.2 ผลการสร้างสมการ polynomial equation สำหรับค่า maximum cell population (D)

โดยทำการวิเคราะห์ multiple linear regression แบบ 3^4 factorial in CRD ด้วยโปรแกรม SPSS Version 10.0.1 ได้สมการ polynomial equation ของค่า D ดังนี้

Coded Full model

$$D = 8.8478 - 2.6299*10^{-1}NaL - 3.5762*10^{-1}NaCl + 9.2538*10^{-2}pH + 1.0400*10^{-1}Temp - 1.4081*10^{-1}NaL^2 - 1.5612*10^{-1}NaCl^2 + 1.1038*10^{-2}pH^2 - 6.0420*10^{-2}Temp^2 - 2.1662*10^{-1}NaL*NaCl - 3.2812*10^{-2}NaL*pH + 1.1907*10^{-1}NaL*Temp - 3.8524*10^{-2}NaCl*pH + 2.0375*10^{-1}NaCl*Temp + 1.0278*10^{-4}pH*Temp$$

R^2 = 0.804

Adj R^2 = 0.786

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Natural Full model

$$D = 8.9970 + 3.3079*10^{-1}NaL + 1.0060*10^{-1}NaCl - 2.9089*10^{-1}pH + 8.1854*10^{-3}Temp - 9.7784*10^{-2}NaL^2 - 3.9031*10^{-2}NaCl^2 + 4.4152*10^{-2}pH^2 - 6.0420*10^{-4}Temp^2 - 9.0258*10^{-2}NaL*NaCl - 5.4688*10^{-2}NaL*pH + 9.9222*10^{-3}NaL*Temp - 3.8524*10^{-2}NaCl*pH + 1.0187*10^{-2}NaCl*Temp + 2.0556*10^{-5}pH*Temp$$

$R^2 = 0.804$

Adj $R^2 = 0.786$

จากสมการ polynomial equation แบบ Coded Full model ของค่า D ที่ได้ พบว่า โซเดียมคลอไรด์มีผลต่อค่า D มากที่สุด รองลงมา คือ โซเดียมแลกเทต อุณหภูมิ และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ในกรณีนี้สังเกตได้ว่า สัมประสิทธิ์ของโซเดียมคลอไรด์ และโซเดียมแลกเทต จะมีค่าลบ ซึ่งตรงกันข้ามกับค่าสัมประสิทธิ์ของอุณหภูมิและ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เป็นค่าบวก แสดงว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ และโซเดียมแลกเทต จะมีผลทำให้ D ลดลง แต่เมื่ออุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้น จะมีผลทำให้ค่า D เพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 80.4 % ซึ่งอธิบายได้ว่า ตัวแปรอิสระที่นำเข้าวิเคราะห์ สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงค่าของ D ได้ดี ถึง 80.4 % ส่วนที่เหลือมาจากอิทธิพลอื่น ๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.6.4.3 ผลการสร้างสมการ polynomial equation สำหรับค่า lag phase duration (L)

โดยทำการวิเคราะห์ multiple linear regression แบบ 3^4 factorial in CRD ด้วยโปรแกรม SPSS Version 10.0.1 ได้สมการ polynomial equation ของค่า L ดังนี้

Coded Full model

$$L = 1.9885 + 2.1626NaL + 4.3580NaCl + 7.3744*10^{-1}pH - 6.1149Temp + 1.0177NaL^2 + 1.9758NaCl^2 - 8.3889*10^{-2}pH^2 + 5.3821Temp^2 + 2.9650NaL*NaCl + 6.0315*10^{-1}NaL*pH - 2.1985NaL*Temp + 9.2641*10^{-1}NaCl*pH - 3.7413NaCl*Temp - 6.8776*10^{-1}pH*Temp$$

$R^2 = 0.746$

Adj $R^2 = 0.722$

Natural Full model

$$L = 6.0779 - 4.8213NaL - 3.0875NaCl + 6.5523pH - 1.7457Temp + 7.0675*10^{-1}NaL^2 + 4.9395*10^{-1}NaCl^2 - 3.3556*10^{-1}pH^2 + 5.3821*10^{-2}Temp^2 + 1.2354NaL*NaCl + 1.0053NaL*pH - 1.8321*10^{-1}NaL*Temp + 9.2641*10^{-1}NaCl*pH - 1.8707*10^{-1}NaCl*Temp - 1.3755*10^{-1}pH*Temp$$

$R^2 = 0.746$

Adj $R^2 = 0.722$

จากสมการ polynomial equation แบบ Coded Full model ของค่า L ที่ได้ พบว่า เมื่อเพิ่มระดับของปัจจัย 3 ปัจจัย คือ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมแลกเทต และค่าความเป็นกรด-ด่าง มีผลทำให้ค่า L เพิ่มมากขึ้น มีเพียงอุณหภูมิเท่านั้นที่เพิ่มขึ้นแล้วทำให้ค่า L ลดลง แสดงว่าที่ระดับของ โซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เพิ่มขึ้น มีผลทำให้เชื้อเจริญได้ช้าลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 74.6 % ซึ่งอธิบายได้ว่าตัวแปรอิสระที่นำเข้าวิเคราะห์ สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงค่าของ L ได้แค่ 74.6 % ส่วนที่เหลือมาจากอิทธิพลอื่น ๆ

4.6.4.3 ผลการสร้างสมการ polynomial equation สำหรับค่า generation time (GT)

โดยทำการวิเคราะห์ multiple linear regression แบบ 3^4 factorial in CRD ด้วยโปรแกรม SPSS Version 10.0.1 ได้สมการ polynomial equation ของค่า GT ดังนี้

Coded Full model

$$GT = 8.4102*10^{-1} + 2.1314*10^{-1}NaL + 7.1209*10^{-1}NaCl + 6.6169*10^{-2}pH - 1.6634Temp - 2.4407*10^{-1}NaL^2 + 3.3946*10^{-1}NaCl^2 + 6.1769*10^{-3}pH^2 + 1.2552Temp^2 + 2.2776*10^{-2}NaL*NaCl - 5.8760*10^{-2}NaL*pH - 9.5310*10^{-2}NaL*Temp + 1.3265*10^{-1}NaCl*pH - 6.6874*10^{-1}NaCl*Temp - 9.6257*10^{-2}pH*Temp$$

$$R^2 = 0.881$$

$$\text{Adj } R^2 = 0.869$$

Natural Full model

$$GT = 8.0770 + 1.4495NaL - 8.7449*10^{-2}NaCl + 1.1993*10^{-1}pH - 5.8276*10^{-1}Temp - 1.6950*10^{-1}NaL^2 + 8.4865*10^{-2}NaCl^2 + 2.4707*10^{-2}pH^2 + 1.2552*10^{-2}Temp^2 + 9.4902*10^{-3}NaL*NaCl - 9.7933*10^{-2}NaL*pH - 7.9425*10^{-3}NaL*Temp + 1.3265*10^{-1}NaCl*pH - 3.3437*10^{-2}NaCl*Temp - 1.9251*10^{-2}pH*Temp$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

R^2 = 0.881

Adj R^2 = 0.869

จากสมการ polynomial equation แบบ Coded Full model ของค่า GT ที่ได้ พบว่า ค่า GT ได้รับอิทธิพลจากอุณหภูมิ มากที่สุด รองลงมา คือ โซเดียมคลอดไรด์ โซเดียมแลกเทต และค่าความเป็นกรด-ด่าง กล่าวคือ ถ้าลดอุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ลงจะมีผลทำให้ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเชื้อนานขึ้น และถ้าเพิ่มระดับปัจจัยอื่น ๆ ที่เหลือให้สูงขึ้นก็จะมีผลทำให้ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเชื้อนานขึ้นเช่นกัน

เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 88.1 % ซึ่งอธิบายได้ว่าตัวแปรอิสระที่นำเข้าวิเคราะห์ สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงค่าของ GT ได้ดีถึง 88.1 % ส่วนที่เหลือมาจากอิทธิพลอื่น ๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.7 การนำสมการไปใช้งาน

สมการ polynomial equation ของค่า K, D, L และ GT ของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ที่วิเคราะห์ได้ จะแสดงในรูปแบบของ Coded Full model ซึ่งหากจะนำไปใช้งานจะต้องทำการถอดรหัสของระดับปัจจัยที่จะใช้ก่อนที่จะแทนค่าลงในสมการ โดยความสัมพันธ์ของตัวแปรเข้ารหัส (code) และ ตัวแปรเดิม (ค่าจริงที่ใช้ในการทดลอง) จะคำนวณโดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{ตัวแปรเข้ารหัส} = \frac{\text{ตัวแปรเดิม} - (\text{ค่าที่ระดับสูงสุดของปัจจัยนั้น} + \text{ค่าที่ระดับต่ำสุดของปัจจัยนั้น})/2}{(\text{ค่าที่ระดับสูงสุดของปัจจัยนั้น} - \text{ค่าที่ระดับต่ำสุดของปัจจัยนั้น})/2}$$

ดังตัวอย่างต่อไปนี้ คือ

หากต้องการเติมโซเดียมแลกเทตที่ความเข้มข้น 1.5 % โซเดียมคลอไรด์ 3 % และค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.8 จะไม่สามารถแทนค่าลงไปในสมการแบบ Coded Full model ได้ จะต้องทำการแปลงค่าให้อยู่ในรูปแบบของตัวแปรเข้ารหัสก่อนดังนี้

$$\text{โซเดียมแลกเทต} = 1.5\ \% \text{ ตัวแปรเข้ารหัสเท่ากับ } = \frac{1.5 - (2.4 + 0)/2}{(2.4 - 0)/2} = 0.25$$

$$\text{โซเดียมคลอไรด์} = 3.0\ \% \text{ ตัวแปรเข้ารหัสเท่ากับ } = \frac{3.0 - (4.0 + 0)/2}{(4.0 - 0)/2} = 0.5$$

$$\text{ค่า pH} = 6.8 \text{ ตัวแปรเข้ารหัสเท่ากับ } = \frac{6.8 - (7.5 + 6.5)/2}{(7.5 - 6.5)/2} = -0.03$$

จากนั้นจึงค่อยนำค่าต่าง ๆ ไปแทนลงในสมการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.8 ผลการสร้างโปรแกรมทำนายการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) จากสมการ polynomial equation ของค่า K, D, L และ GT ที่ช่วงอุณหภูมิระหว่าง 15-35 องศาเซลเซียส, ความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต 0-2.4 %, ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0-2 %, ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 6.5-7.5

สมการ polynomial equation ของค่า K, D, L และ GT ของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ที่วิเคราะห์ได้ จากผลการทดลองข้อ 4.6 นำมาสร้างเป็นโปรแกรมทำนายการเจริญของ *S. enterica* Weltevreden (DMST 17375) ที่ช่วงอุณหภูมิระหว่าง 15-35 องศาเซลเซียส, ความเข้มข้นของโซเดียมแลกเทต 0-2.4 %, ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0-2 %, ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 6.5-7.5 โดยการเขียนชุดคำสั่งของ Visual Basic for Application (VBA) ในโปรแกรม Microsoft® Excel 2003 แสดงดังภาพ 4.22

โดยตั้งชื่อโปรแกรมว่า "PRORN" ซึ่งตั้งมาจากการนำตัวอักษรแรกในชื่อของผู้ที่มีส่วนร่วมในการสร้างโปรแกรมนี้ คือ ปราโมทย์ ชุนหกรณ์ (Pramote Chunhakorn), รชนิศ ศรีวิชัย, (Rachanis Sriwichai), อรภิยา สาตแฟง (Ornpiya Satafang), รศ. ดร. เรณู ปิ่นทอง (Assoc. Prof. Dr. Renu Pinthong) และ ดร. นพพล เล็กสวัสดิ์ (Dr. Noppol Leksawasdi) โปรแกรมนี้มีข้อดี คือ สามารถแก้ไขได้อย่างอิสระ เนื่องจากโปรแกรมนี้เป็นโปรแกรมที่สร้างขึ้นจากโปแกรม Visual Basic Editor ที่อยู่ในเมนูคำสั่งของโปรแกรม Excel ซึ่งถ้าผู้ใช้สามารถเขียนโปรแกรม Visual Basic for Application ได้อย่างชำนาญ ก็จะสามารถควบคุมโปรแกรมให้ทำงานตามต้องการได้ (กรภัทร์, 2547)

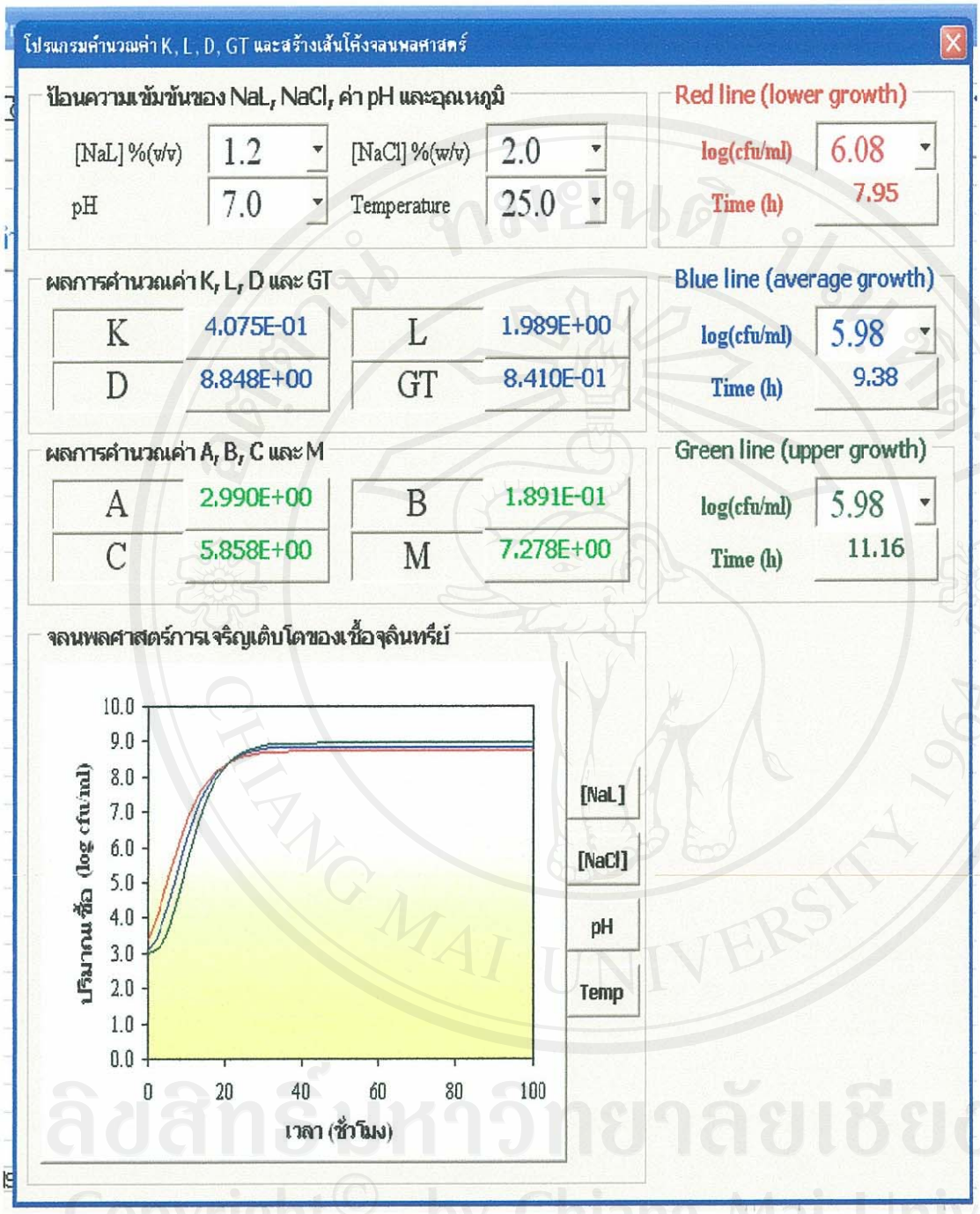
ตัวโปรแกรมจะประกอบด้วยส่วนประกอบหลัก ดังนี้ (กรภัทร์, 2547)

1. หน้าต่าง Project คือ โครงสร้างของไฟล์งานทั้งหมด ซึ่งจะประกอบด้วยชีทต่าง ๆ ที่มีในไฟล์ และถ้าหากต้องการสร้างฟอร์มใหม่ขึ้นมาต่างหาก ก็จะปรากฏขึ้นในหน้าต่างนี้เช่นกัน ซึ่งรูปของหน้าต่าง Project แสดงดังภาพ 4.23

2. หน้าต่างกำหนดคุณสมบัติของชีท (Properties) ชีทต่าง ๆ สามารถจะกำหนดคุณสมบัติให้เป็นอย่างต้องการได้ เช่น เปลี่ยนขนาดหรือสีของตัวอักษร แก้ไขสื่อ หรือจะกลับชีทจากซ้ายเป็นขวา เพื่อให้เหมาะสมกับโปรแกรมที่กำลังจะเขียนก็ได้ เป็นต้น ซึ่งแสดงดังภาพ 4.24

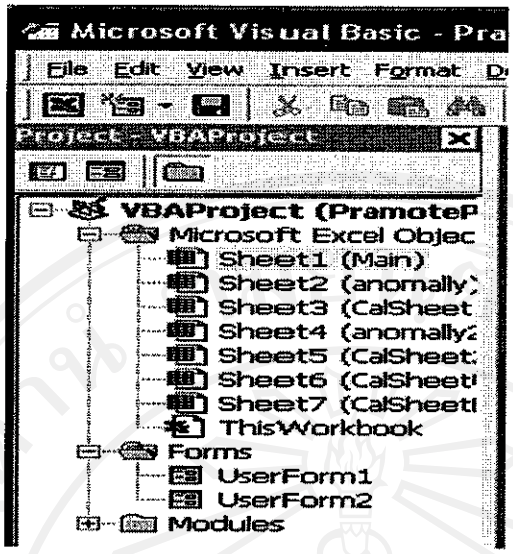
3. หน้าต่างสำหรับเขียนโปรแกรม (Code) การเขียนโปรแกรม Visual Basic for Application จะทำในหน้าต่างเขียน Code แสดงดังภาพ 4.25

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

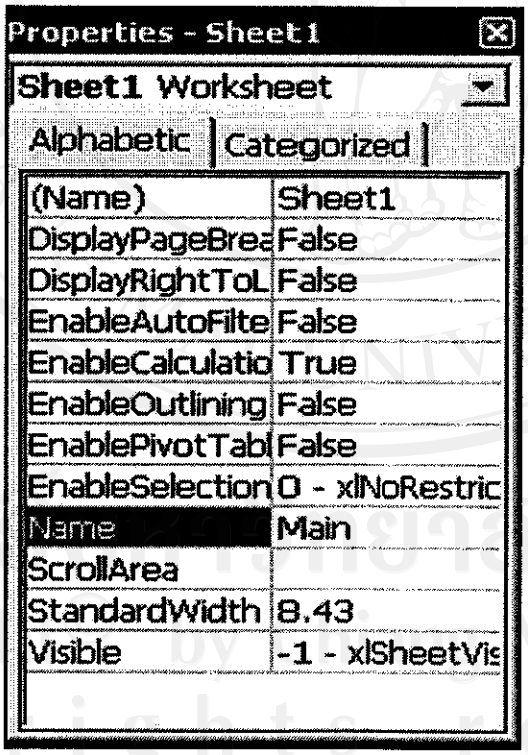


ภาพ 4.22 ส่วนใช้งานของโปรแกรม PRORN คำนวณค่า K, D, L และ GT และสร้างเส้นโค้งจลนพลศาสตร์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

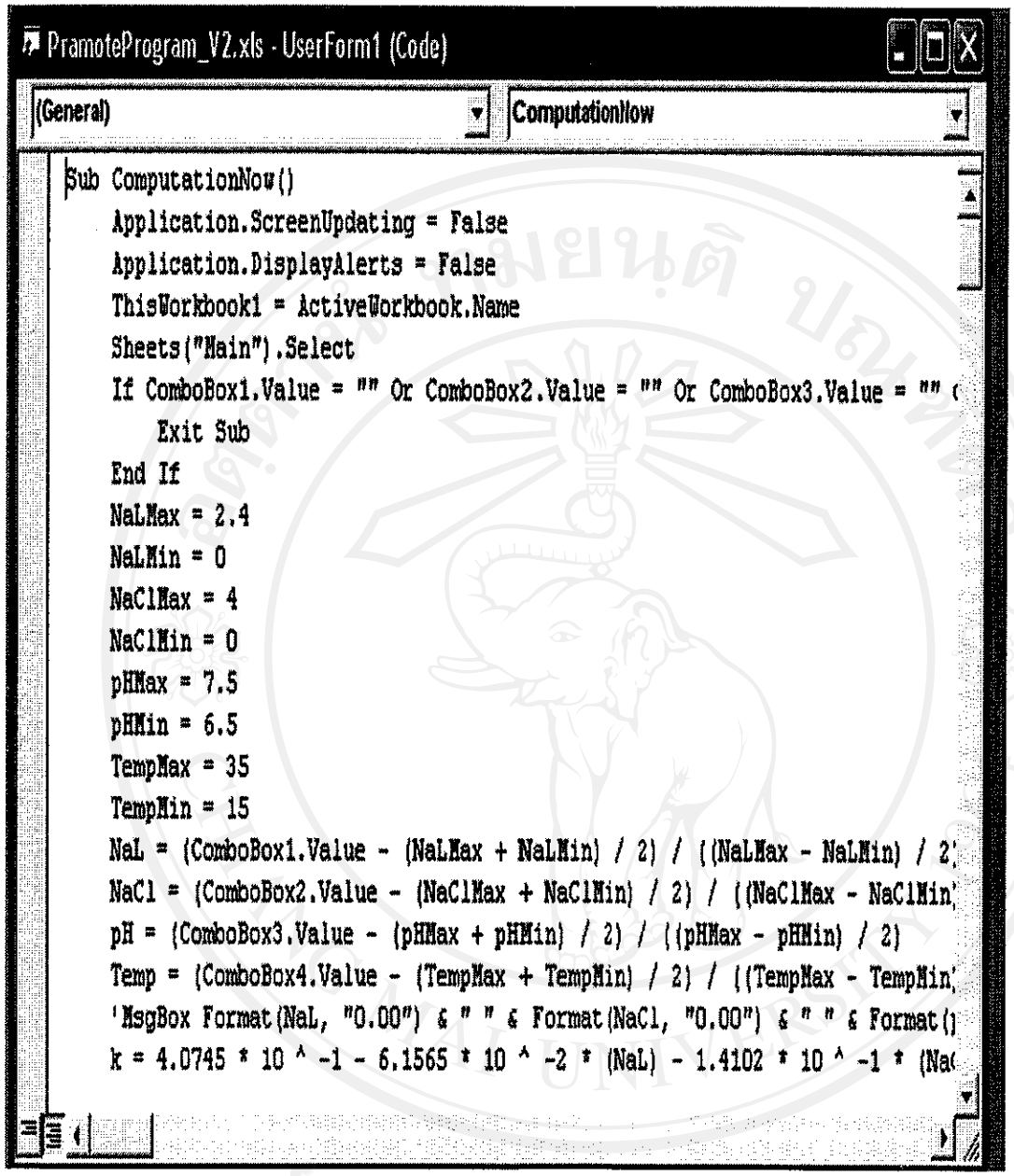


ภาพ 4.23 หน้าต่าง Project ของโปรแกรม



ภาพ 4.24 หน้าต่างกำหนดคุณสมบัติของชีท (Properties)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4.25 หน้าต่างสำหรับเขียนโปรแกรม (Code)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.8.1 ผลการทดลองใช้งานโปรแกรมในการคำนวณหาค่าทั้ง 4 ค่า คือ ค่า maximum growth rate (K), ค่า maximum cell population (D), ค่า lag phase duration (L) และค่า generation time (GT) และสร้างกราฟทำนายการเจริญของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375

4.8.1.1 ผลการทดลองเปรียบเทียบระหว่างกราฟที่สร้างจากการคำนวณค่าทั้ง 4 ค่า จากโปรแกรม กับกราฟที่สร้างจากข้อมูลที่ได้ทำการทดลองจริง

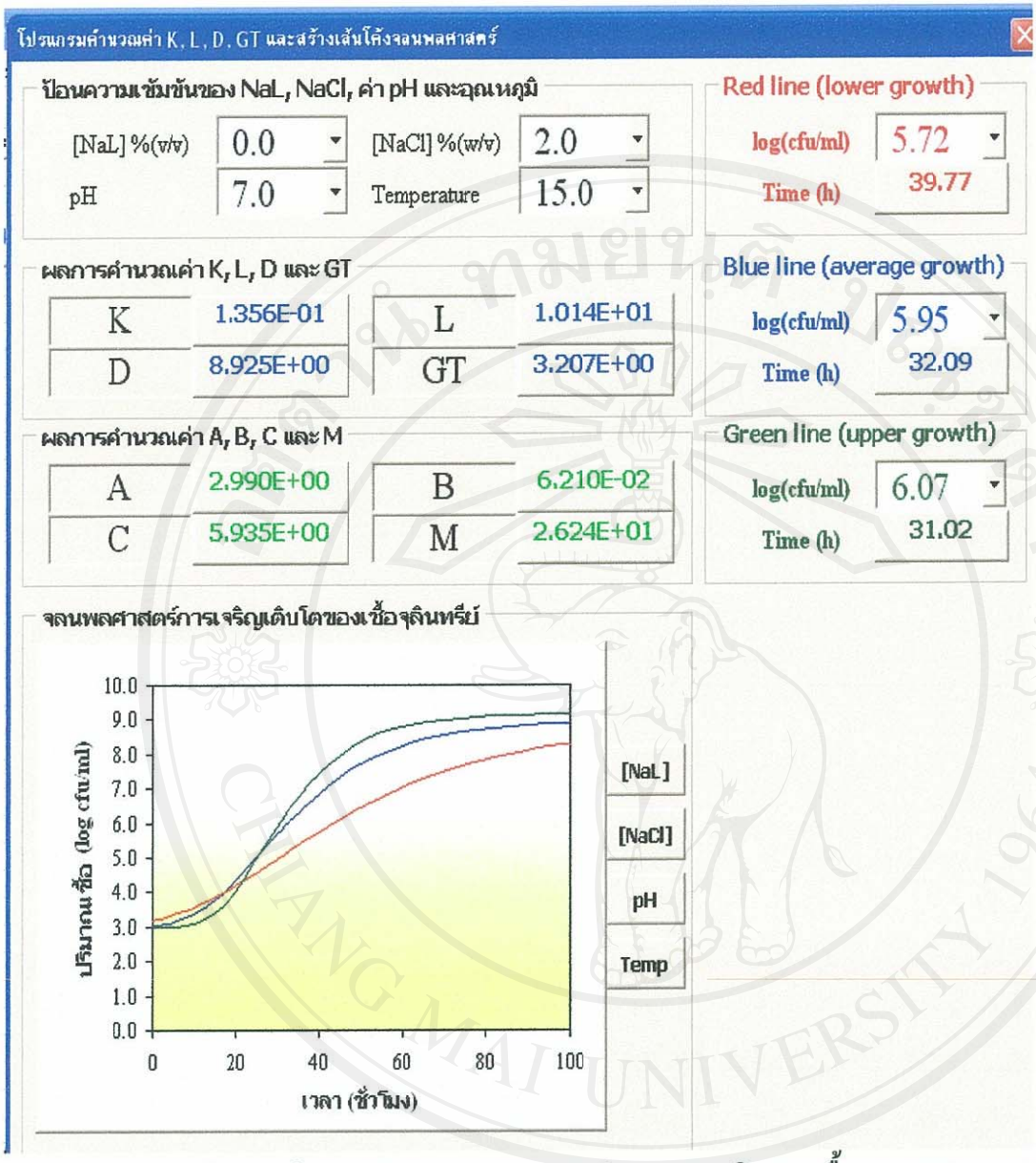
โดยทำการเลือกสภาวะที่ได้ทำการ ทดลองจริง แล้วให้โปรแกรมคำนวณหาทั้ง 4 ค่า ออกมา พร้อมทั้งสร้างเป็นกราฟทำนายการเจริญของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ที่สภาวะที่กำหนด แล้วนำค่าพารามิเตอร์ที่คำนวณได้ไปสร้างเป็นกราฟ และทำการเปรียบเทียบกับค่าข้อมูลที่ได้จากการทดลองจริง ซึ่งสภาวะที่เลือกมาทดลองมีดังนี้

1. ที่สภาวะการทดลองเลี้ยงเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่มีเติมโซเดียมแลกเทต 0 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % ทำการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ได้ผลการคำนวณและสร้างกราฟจากโปรแกรม แสดงดังภาพ 4.26 และนำข้อมูลมาสร้างกราฟเปรียบเทียบกับกราฟจากข้อมูลการทดลองจริง แสดงดังภาพ 4.27 และ 4.28

2. ที่สภาวะการทดลองเลี้ยงเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่มีเติมโซเดียมแลกเทต 0 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % ทำการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ได้ผลการคำนวณและสร้างกราฟจากโปรแกรม แสดงดังภาพ 4.29 และนำข้อมูลมาสร้างกราฟเปรียบเทียบกับกราฟที่ได้จากข้อมูลการทดลองจริง แสดงดังภาพ 4.30 และ 4.31

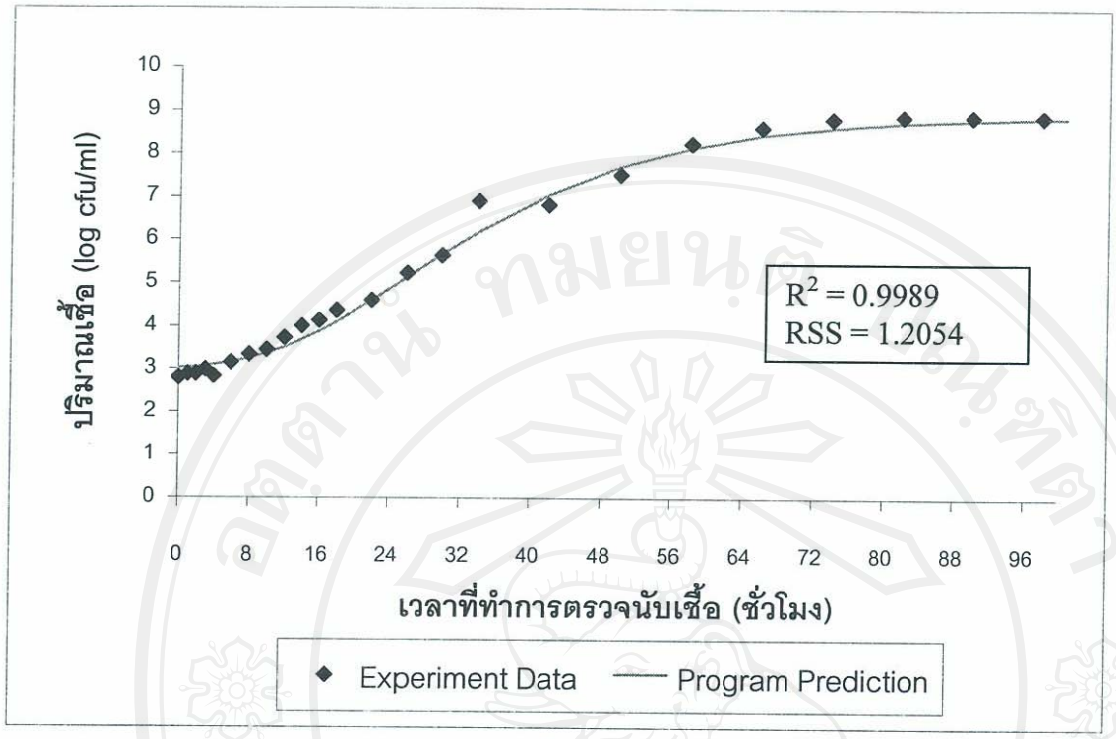
3. ที่สภาวะการทดลองเลี้ยงเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่มีเติมโซเดียมแลกเทต 0 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % ทำการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ได้ผลการคำนวณและสร้างกราฟจากโปรแกรม แสดงดังภาพ 4.32 และนำข้อมูลมาสร้างกราฟเปรียบเทียบกับกราฟที่ได้จากข้อมูลการทดลองจริง แสดงดังภาพ 4.33 และ 4.34

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



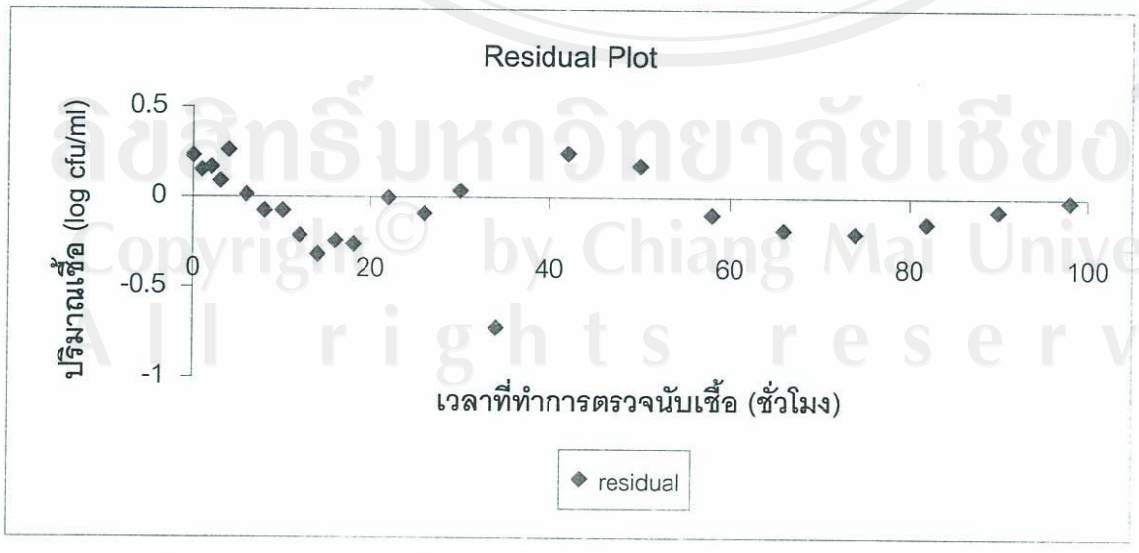
ภาพ 4.26 ผลการคำนวณค่า K, D, L และ GT และทำนายการเจริญของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่มีเติมโซเดียมแลกเทต 0 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % ที่ pH เท่ากับ 7.0 อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



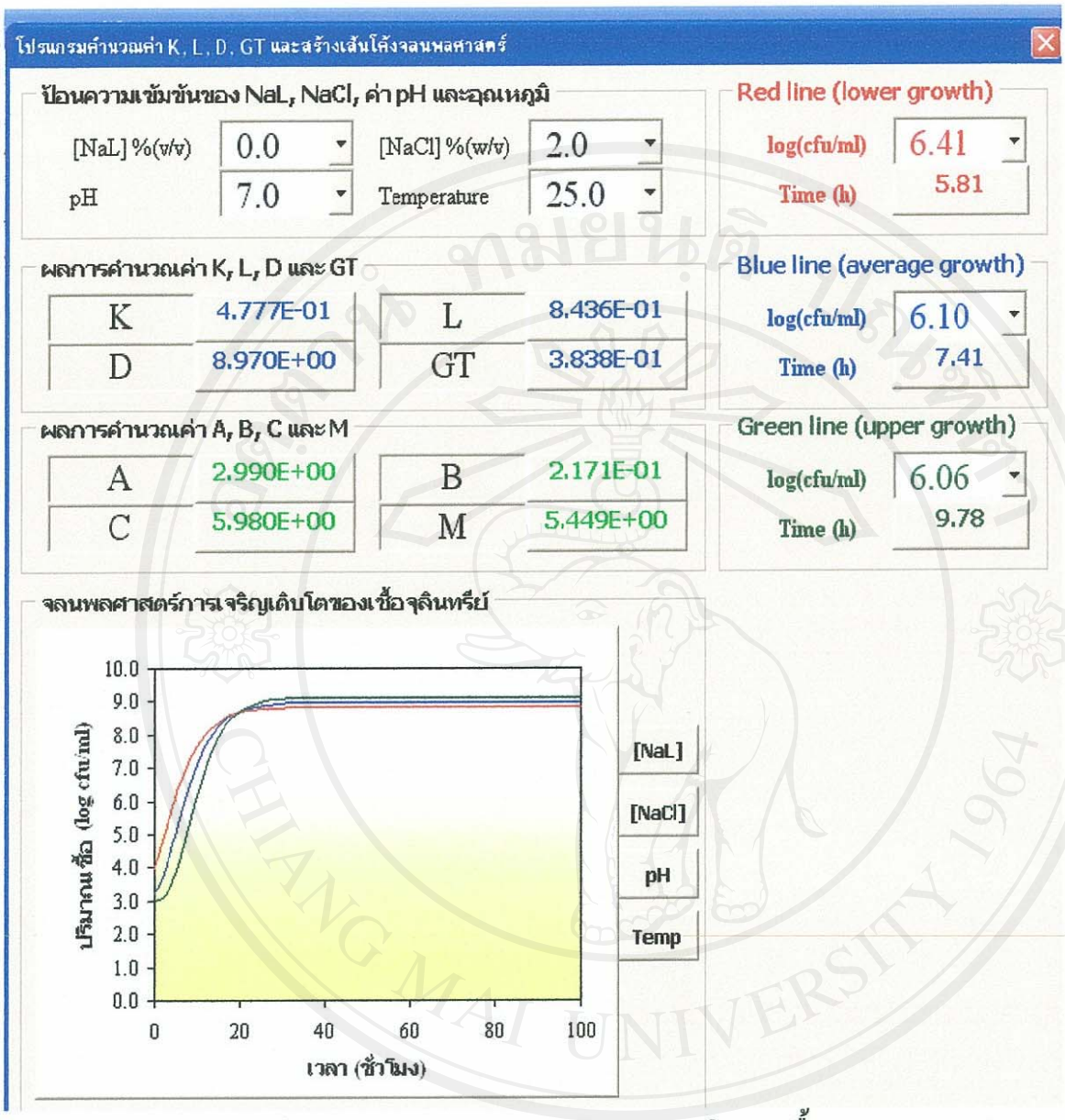
ภาพ 4.27 กราฟที่ได้จากข้อมูลจริงและกราฟที่ได้จากโปรแกรมทำนายการเจริญโดยสมการ Gompertz ของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่เติมโซเดียมแลกเทต 0 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % ที่ pH เท่ากับ 7.0 อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ : กราฟ Experiment Data คือ กราฟที่สร้างมาจากข้อมูลจริงที่ทำการทดลอง, กราฟ Program Prediction คือ กราฟที่ได้จากการคำนวณค่า K, D, L และ GT ของโปรแกรม



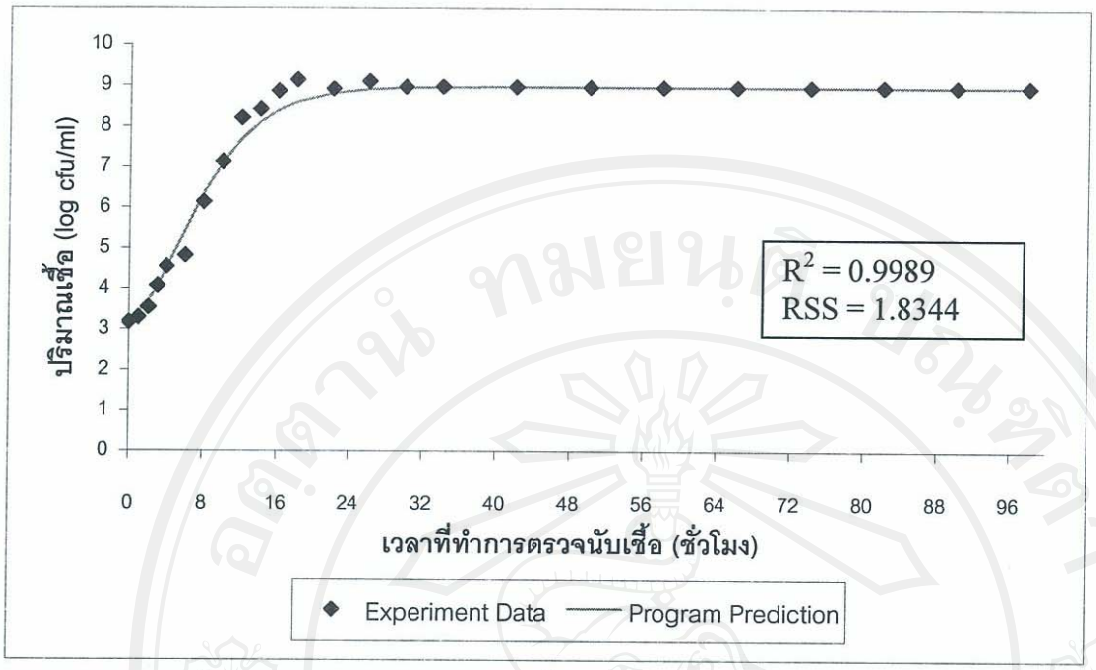
ภาพ 4.28 กราฟ Residual Plot ของข้อมูลในภาพ 4.27

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



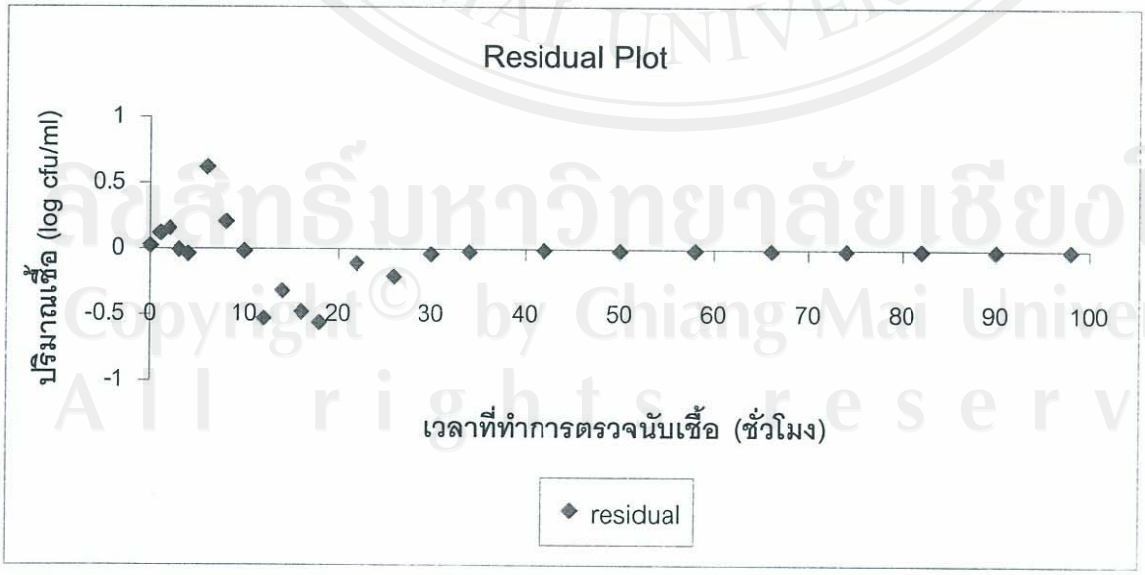
ภาพ 4.29 ผลการคำนวณค่า K, D, L และ GT และทำนายการเจริญของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่มีเติมโซเดียมแลกเทต 0 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % ที่ pH เท่ากับ 0.7.0 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



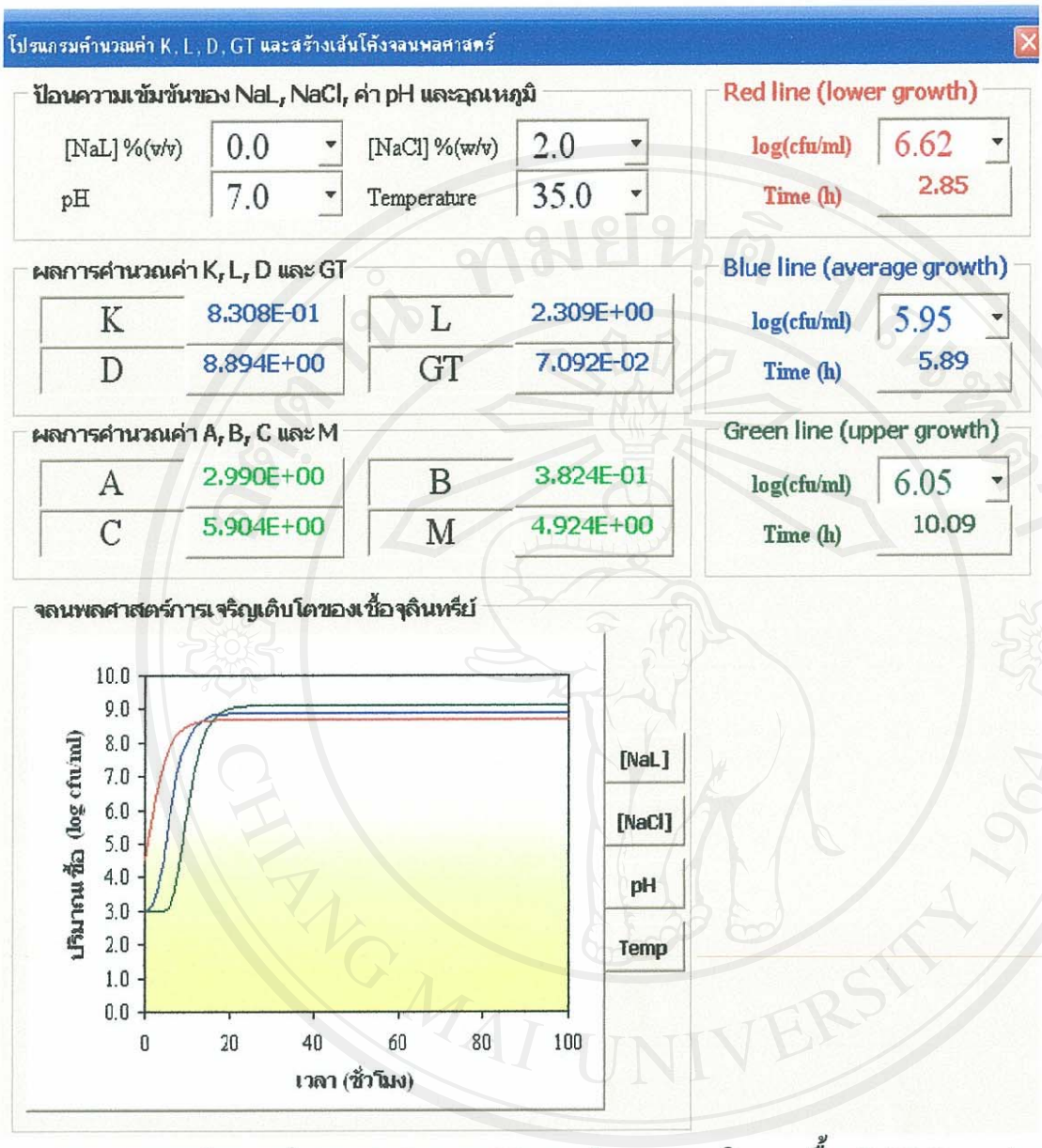
ภาพ 4.30 กราฟที่ได้จากข้อมูลจริงและกราฟที่ได้จากโปรแกรมทำนายการเจริญโดยสมการ Gompertz ของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่เติมโซเดียมแลกเทต 0 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % ที่ pH เท่ากับ 7.0 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ : กราฟ result คือ กราฟที่สร้างมาจากข้อมูลจริงที่ทำการทดลอง, กราฟ program คือ กราฟที่ได้จากการคำนวณค่า K, D, L และ GT แล้วนำมาสร้างเป็นกราฟ



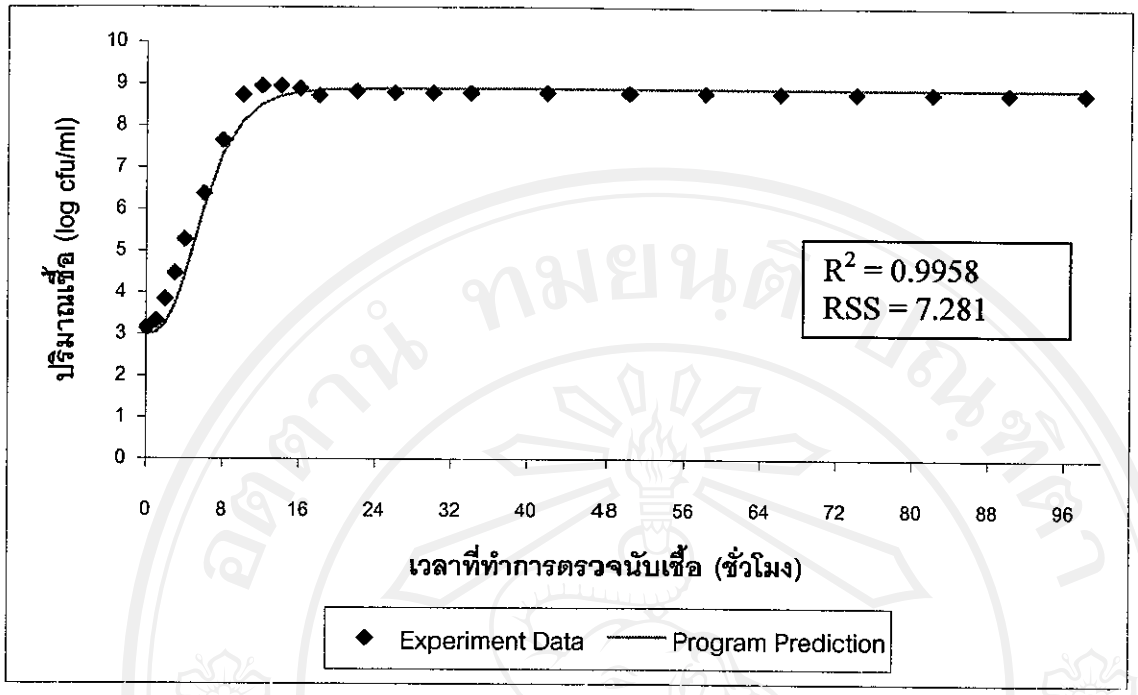
ภาพ 4.31 แสดงกราฟ Residual Plot ของข้อมูลในภาพ 4.30

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



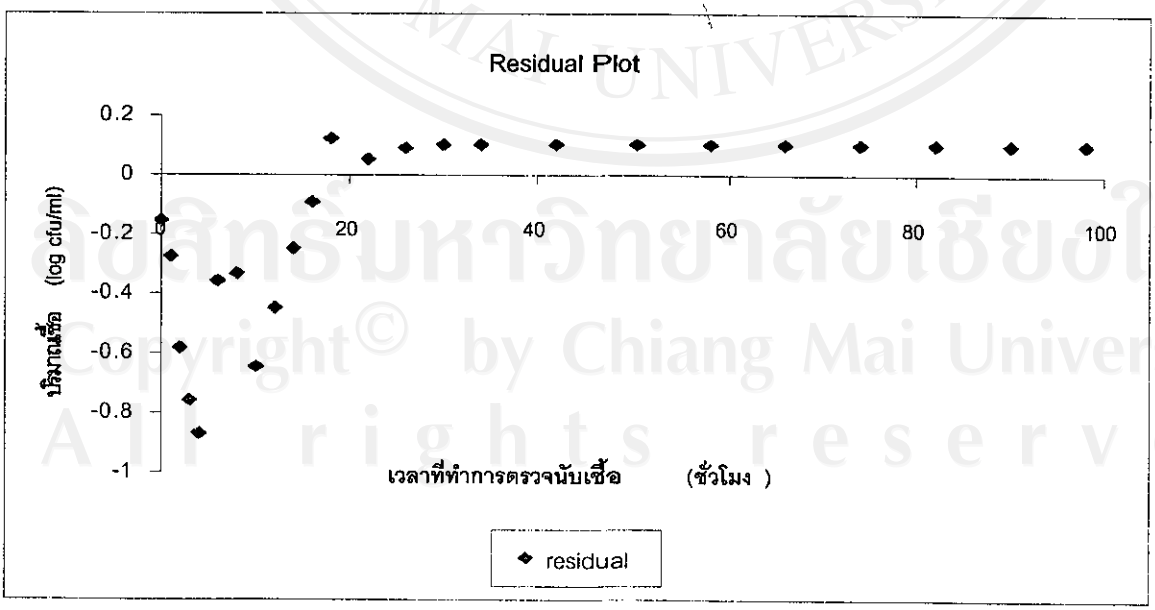
ภาพ 4.32 ผลการคำนวณค่า K, D, L และ GT และทำนายการเจริญของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่มีเติมโซเดียมแลกเทต 0 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % ที่ pH เท่ากับ 7.0 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4.33 กราฟที่ได้จากข้อมูลจริงและกราฟที่ได้จากโปรแกรมทำนายการเจริญโดยสมการ Gompertz ของเชื้อ *S.* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น บรอท ที่เติมโซเดียมแลกเทต 0 % โซเดียมคลอไรด์ 2 % ที่ pH เท่ากับ 7.0 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ : กราฟ result คือ กราฟที่สร้างมาจากข้อมูลจริงที่ทำการทดลอง, กราฟ program คือ กราฟที่ได้จากการคำนวณค่า K, D, L และ GT แล้วนำมาสร้างเป็นกราฟ



ภาพ 4.34 แสดงกราฟ Residual Plot ของข้อมูลในภาพ 4.33

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากภาพ 4.27, 4.30 และ 4.33 จะพบว่า กราฟที่สร้างจากการคำนวณค่าของ K, D, L และ GT จากโปรแกรม และนำไปเข้าสมการ Gompertz equation เพื่อหาค่าปริมาณเชื้อ ณ เวลาต่าง ๆ แล้วนำมาสร้างเป็นกราฟ จะมีความใกล้เคียงกับกราฟที่สร้างขึ้นจากผลการทดลองจริง โดยสังเกตได้จากค่า สัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9989, 0.9989 และ 0.9958 ตามลำดับ แสดงว่าสมการ polynomial equation ของค่า K, D, L และ GT นั้นมีความถูกต้อง และแม่นยำถึง 99.89 %, 99.89 % และ99.11 % ทำให้ผลที่คำนวณได้มีความใกล้เคียงกับข้อมูลจริง

ภาพ 4.28, 4.31 และ 4.34 แสดงค่าความคลาดเคลื่อนของปริมาณเชื้อ (log cfu/ml) ระหว่างกราฟที่ได้จากการทำนายด้วยโปรแกรม PRORN กับกราฟที่ได้จากการทดลองจริง ซึ่งถ้าค่าความคลาดเคลื่อนของปริมาณเชื้อมีค่าน้อย กราฟจะเข้าใกล้ 0 (log cfu/ml)

เมื่อพิจารณาถึงตัวโปรแกรม PRORN พบว่า โปรแกรมนั้นมีความสะดวก และใช้งานได้ง่ายไม่ยุ่งยากซับซ้อน ซึ่งโปรแกรมยังมีปุ่มให้กดเพื่อแสดงการผันแปรระดับของปัจจัยที่สนใจ โดยที่ให้ปัจจัยอื่นมีค่าคงที่ไว้ เพื่อดูแนวโน้มของอิทธิพลของระดับปัจจัยที่สนใจได้ และโปรแกรมยังสามารถคำนวณหาระยะเวลาที่เชื้อใช้ในเจริญจนมีปริมาณของเชื้อเท่ากับที่ผู้ใช้สนใจได้อีกด้วย

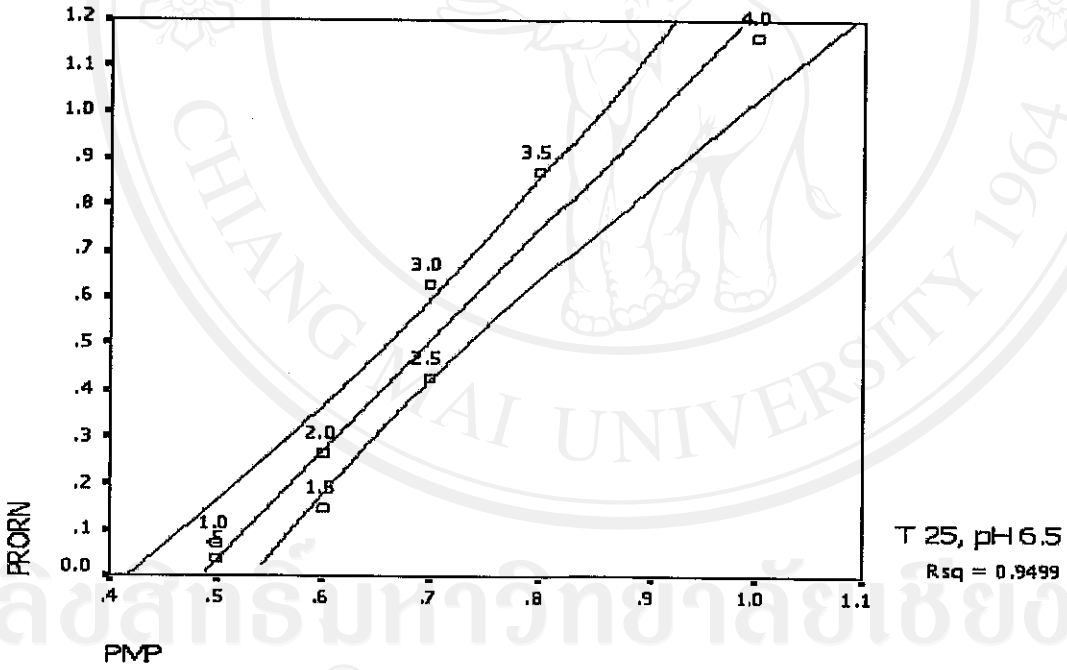
4.8.1.2 ผลการทวนสอบความถูกต้อง (validation) ของการทำนายโดยโปรแกรมที่สร้างขึ้นจากงานวิจัย (PRORN) กับโปรแกรมอื่น ที่มีลักษณะคล้ายกัน

ในขั้นตอนนี้จะนำโปรแกรมที่สร้างขึ้นจากงานวิจัยทำการทวนสอบความถูกต้อง (validation) กับโปรแกรม Pathogen Modeling Program (PMP) โดยให้โปรแกรมคำนวณหาค่า generation time (GT) ที่สภาวะต่าง ๆ และเปรียบเทียบกับค่า GT ที่คำนวณได้จากโปรแกรม Pathogen Modeling Program (PMP) ณ สภาวะเดียวกัน เพื่อดูความคลาดเคลื่อนของค่า GT ที่ได้จากการทำนายโดยโปรแกรมที่ได้จากการทดลอง ว่าคลาดเคลื่อนไปในทิศทางที่ปลอดภัยหรือเป็นอันตราย เมื่อเทียบกับการคำนวณจากโปรแกรม PMP ผลการคำนวณค่า GT แสดงดังตาราง 4.15 และภาพ 4.35 ถึง 4.37

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

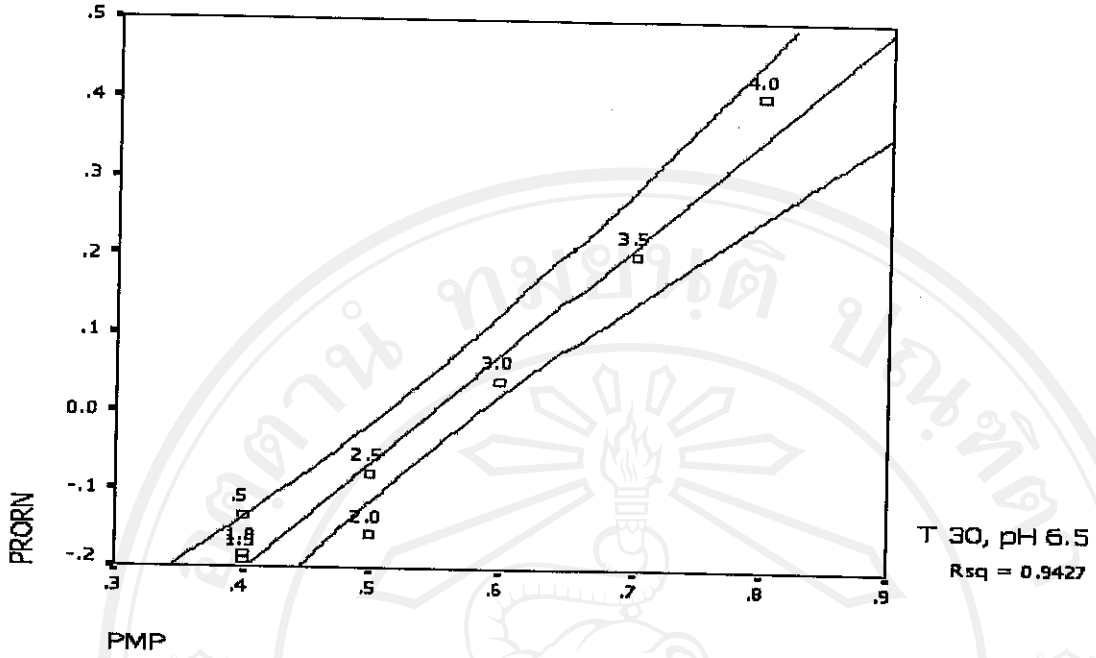
ตาราง 4.15 ผลการคำนวณค่า generation time ของโปรแกรมที่ได้จากงานวิจัย (PRORN) และโปรแกรม PMP ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0.5-4.0 %, pH เท่ากับ 6.5 ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ (%)	ค่า generation time (GT), (ชั่วโมง)	
	PRORN	PMP
0.5	0.04	0.50
1.0	0.07	0.50
1.5	0.15	0.60
2.0	0.27	0.60
2.5	0.43	0.70
3.0	0.63	0.70
3.5	0.87	0.80
4.0	1.16	1.00

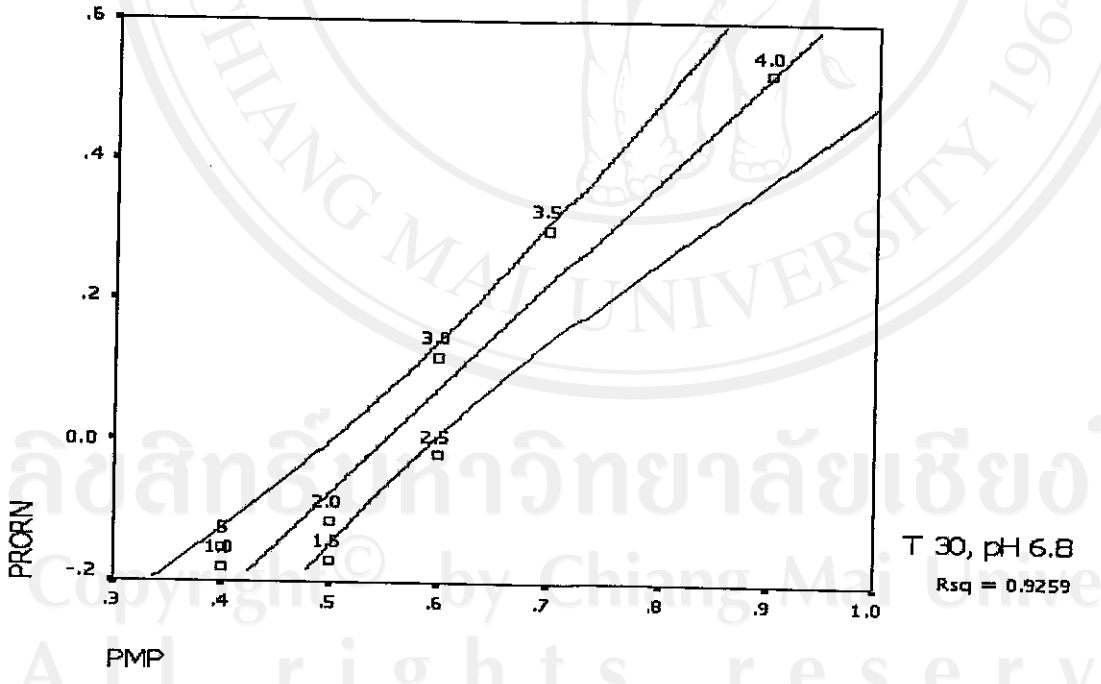


ภาพ 4.35 แสดงผลการทวนสอบการคำนวณค่า generation time ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0.5-4.0%, pH เท่ากับ 6.5 ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4.36 แสดงผลการทวนสอบการคำนวณค่า generation time ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0.5-4.0%, pH เท่ากับ 6.5 ณ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส



ภาพ 4.37 แสดงผลการทวนสอบการคำนวณค่า generation time ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0.5-4.0%, pH เท่ากับ 6.8 ณ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากผลการทดลองทำการทวนสอบความถูกต้อง (validation) ของโปรแกรมที่สร้างขึ้นจากงานวิจัย (PRORN) กับโปรแกรม Pathogen Modeling Program (PMP) โดยการคำนวณค่า generation time (GT) ในตาราง 4.15 และภาพ 4.35 ถึง 4.37 จะสังเกตได้ว่า ที่สภาวะเดียวกัน ค่า GT ที่โปรแกรม PRORN คำนวณได้นั้นจะมีค่าน้อยกว่าค่า GT ที่คำนวณได้จากโปรแกรม Pathogen Modeling Program (PMP) ยกตัวอย่างเช่น ในตาราง 4.15 และภาพ 4.35 ณ สภาวะที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส, pH เท่ากับ 6.5 และมีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 0.5, 1.0 และ 1.5 % ค่า GT ที่คำนวณจากโปรแกรม PRORN เท่ากับ 0.04, 0.07 และ 0.15 ชั่วโมง ตามลำดับ แต่ค่า GT ที่คำนวณจากโปรแกรม PMP เท่ากับ 0.5, 0.5 และ 0.6 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งเมื่อพิจารณาแล้ว พบว่า ค่า GT ที่คำนวณจากโปรแกรม PRORN นั้นจะมีความคลาดเคลื่อนโดยมีค่าน้อยกว่า ค่า GT ที่คำนวณได้จากโปรแกรม PMP แสดงว่า ถ้ามีเชื้อ *Salmonella* spp. อยู่ในอาหารที่มีสภาวะเดียวกัน โปรแกรม PRORN จะทำนายว่า เชื้อจุลินทรีย์จะมีช่วงเวลาในการแบ่งเซลล์ 1 รอบ (generation time) เร็วกว่า เนื่องจากมีค่า GT น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการทำนายจากโปรแกรม PMP หรืออาจจะสรุปได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์จะเจริญในอาหารได้เร็วกว่า ทำให้อายุการเก็บรักษาอาหาร (shelf life) ที่ทำนายได้จากโปรแกรม PRORN นั้นสั้นกว่าอายุการเก็บรักษาอาหารที่ทำนายได้จากโปรแกรม PMP จึงถือว่า ผลการคำนวณที่คลาดเคลื่อนนั้นเป็นการคำนวณที่คลาดเคลื่อน แต่อยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัย (Kleer J., 2002) แต่ในสภาวะที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ประมาณ 3-4 % พบว่า ค่า GT ที่คำนวณได้จากโปรแกรม PRORN จะสอดคล้องกับค่า GT ที่คำนวณได้จากโปรแกรม PMP

ค่าที่ทำนายได้ต่างกันนั้นอาจเป็นเพราะว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการวิจัยนั้นไม่ใช่จุลินทรีย์ที่เป็นสายพันธุ์เดียวกัน และไม่ได้มาจากแหล่งกำเนิดเดียวกันกับจุลินทรีย์ที่ใช้ในการวิจัยของผู้สร้างโปรแกรม PMP จึงส่งผลทำให้ค่าการทำนายที่ได้นั้นแตกต่างกัน (Olmez H. K.and Aran N., 2004)

จากภาพ 4.35 ถึง 4.37 จะพบว่า พื้นที่แบ่งเขตความคลาดเคลื่อนที่ปลอดภัย (fail safe) กับเขตคลาดเคลื่อนที่เป็นอันตราย (fail dangerous) ในกราฟนั้นไม่เท่ากันเป็นเพราะว่า สเกล (scale) กราฟของทั้ง 2 ชุดข้อมูลไม่เท่ากัน เช่น ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยนี้เริ่มต้นที่ -0.2 ในขณะที่ข้อมูลจากโปรแกรม PMP เริ่มต้นที่ 0.3 (ภาพ 4.36) ซึ่งเป็นผลมาจากความแตกต่างระหว่างข้อมูลทั้ง 2 ชุด ที่นำมาทวนสอบ จึงทำให้พื้นที่ทั้ง 2 ส่วน นั้นแบ่งได้ไม่เท่ากัน

โปรแกรมนี้สามารถใช้ทำนายการเจริญของเชื้อ *Salmonella* Weltevreden DMST 17375 ได้ในและสภาวะที่ทำการวิจัยนี้เท่านั้น หากต้องการนำโปรแกรมไปใช้ในการทำนายการเจริญของเชื้อ *Salmonella* Weltevreden DMST 17375 ในผลิตภัณฑ์อาหาร ควรมีการทำการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ทดลองเก็บข้อมูลของเชื้อ *Salmonella* Weltevreden DMST 17375 ในอาหารนั้นอีกครั้ง เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค แต่ก็สามารถนำข้อมูลจากโปรแกรม PRORN มาช่วยในการคาดคะเนการเจริญของเชื้อ *Salmonella* Weltevreden DMST 17375 ได้ในระดับหนึ่ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved