

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพประกอบ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง	23
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	45
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	93
เอกสารอ้างอิง	95
ภาคผนวก	102
ประวัติผู้เขียน	155

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright © by Chiang Mai University
 All rights reserved

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า	
2.1	ลักษณะทางชีวเคมีของ <i>Salmonella</i>	4
2.2	ปัจจัยด้านอุณหภูมิ pH และ a_w ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ <i>Salmonella</i>	14
2.3	ค่า pH ต่ำสุดที่เชื้อ <i>Salmonella</i> เจริญได้ภายใต้สภาวะที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ	15
2.4	ค่าวอเตอร์แอคทิวิตีที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ และซูโครสแตกต่างกัน	16-17
3.1	ตารางแสดงระดับปัจจัยและช่วงเวลาในการตรวจนับเชื้อ	33-35
3.2	ตารางแสดงระดับปัจจัยและลำดับของหน่วยทดลอง	39-40
4.1	ตารางรายงานผลการตรวจความบริสุทธิ์ของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden DMST 17375 จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย ขณะก่อนจะทำการเก็บเป็น stock culture	45
4.2	ค่า pH ของโซเดียมแลกเตตก่อนและหลังทำการฆ่าเชื้อ	47
4.3	ตารางแสดงผลการตรวจสอบการปนเปื้อนของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Brain heart infusion broth (BHI broth) และ Maximum Recovery Diluent (MRD) โดยวิธีการ pour plate ด้วย BHI agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง	48-50
4.4	จำนวนของเชื้อ <i>Salmonella</i> spp. ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI broth	51
4.5	การเจริญของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden DMST 17375 การเจริญของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden DMST 17375 ใน BHI broth ที่มีโซเดียมแลกเตต 3 ระดับคือ 0%, 1.2% และ 2.4%	52-53
4.6	ผลการเจริญของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden DMST 17375 โดยแสดงค่าเป็น ปริมาณจุลินทรีย์ (log cfu/ml) ต่อชั่วโมง และค่า pH ณ ช่วงเวลาที่ทำการนับ เซลล์คือที่เวลา 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 22, 26, 30, 198, 366 และ 534 ชั่วโมง ตามลำดับ	55-63

ตาราง	หน้า
4.7 ผลการศึกษาโซเดียมแลกเทต, โซเดียมคลอไรด์ และค่า pH ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella Weltevreden</i> DMST 17375	65-66
4.8 เปรียบเทียบความแตกต่างของระดับปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อค่าระยะเวลาช่วงแรกของการเจริญเติบโต (lag phase duration (L)), อัตราการเจริญเติบโตสูงสุด (maximum growth rate (K)), ปริมาณเซลล์สูงสุด (maximum cell population (D)), ระยะเวลาในการแบ่งตัว (generation time) และ ค่าเวลาที่ทำให้จุลินทรีย์ลดลง 1 log cycle หรือค่าเวลาที่ทำให้เชื้อลดลง 90% (D-Value) จากค่าเฉลี่ยของแต่ละระดับปัจจัย	67
4.9 ระดับของปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง ที่ระดับ -1 ถึง +1	70
4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Generation time กับโซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และ pH ที่เป็นปัจจัยในการทดลอง (coded)	71
4.11 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า D กับโซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และ pH ที่เป็นปัจจัยในการทดลอง (coded)	73
4.12 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า K กับโซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และ pH ที่เป็นปัจจัยในการทดลอง (coded)	75
4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า L กับโซเดียมแลกเทต โซเดียมคลอไรด์ และ pH ที่เป็นปัจจัยในการทดลอง (coded)	77
4.14 เปรียบเทียบค่า D, K และ L ที่ได้จากการคำนวณด้วยสมการลักษณะที่ 1 และ 2	88
4.15 เปรียบเทียบค่า A, C, B และ M ที่ได้จากการคำนวณด้วยสมการลักษณะที่ 1 และ 2	88
4.16 เปรียบเทียบจำนวนเชื้อที่นับได้จริง กับจำนวนเชื้อที่ได้จากการคำนวณด้วยสมการลักษณะที่ 1 และ 2	89
4.17 เปรียบเทียบจำนวนเชื้อที่นับได้จริง กับจำนวนเชื้อที่ได้จากการคำนวณด้วยสมการลักษณะที่ 1 และ 2	91
ข-1 การเจริญของเชื้อ <i>Salmonella Weltevreden</i> DMST 17375 ที่เจริญใน BHI broth ที่มีโซเดียมแลกเทต 3 ระดับคือ 0%, 1.2% และ 2.4% ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส	109-110
ค-1 ระดับปัจจัยและลำดับของหน่วยทดลอง	114

ตาราง		หน้า
ง-1	ปริมาณเชื้อ <i>Salmonella Weltevreden</i> DMST 17375 ณ โขเดียมแลกเทต 0% โขเดียมกลอไรด์ 0% และ ค่าสภาวะกรด-เบส (pH) 6.5 .ในซ้ำที่1 เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส	130
จ-1	ทดสอบผลกระทบระหว่างระดับของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อค่า generation time	135
จ-2	ทดสอบความแตกต่างของ โขเดียมแลกเทต 0%, 1.2% และ 2.4% ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งส่งผลต่อค่า generation time	136
จ-3	ทดสอบความแตกต่างของ โขเดียมกลอไรด์ 0%, 2% และ 4% ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งส่งผลต่อค่า generation time	137
จ-4	ทดสอบความแตกต่างของสภาวะกรด-เบส (pH) 6.5, 7.0 และ 7.5 ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งส่งผลต่อค่า generation time	137
จ-5	ทดสอบผลกระทบระหว่างระดับของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อค่า D	138
จ-6	ทดสอบความแตกต่างของ โขเดียมแลกเทต 0%, 1.2% และ 2.4% ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งส่งผลต่อค่า D	139
จ-7	ทดสอบความแตกต่างของ โขเดียมกลอไรด์ 0%, 2% และ 4% ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งส่งผลต่อค่า D	139
จ-8	ทดสอบความแตกต่างของสภาวะกรด-เบส (pH) 6.5, 7.0 และ 7.5 ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งส่งผลต่อค่า D	140
จ-9	ทดสอบผลกระทบระหว่างระดับของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อค่า K	140
จ-10	ทดสอบความแตกต่างของ โขเดียมแลกเทต 0%, 1.2% และ 2.4% ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งส่งผลต่อค่า K	141
จ-11	ทดสอบความแตกต่างของ โขเดียมกลอไรด์ 0%, 2% และ 4% ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งส่งผลต่อค่า K	142
จ-12	ทดสอบความแตกต่างของสภาวะกรด-เบส (pH) 6.5, 7.0 และ 7.5 ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งส่งผลต่อค่า K	142
จ-13	ทดสอบผลกระทบระหว่างระดับของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อค่า L	143

ตาราง	หน้า
จ-14 ทดสอบความแตกต่างของโซเดียมแล็กเทต 0%, 1.2% และ 2.4% ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งส่งผลต่อค่า L	144
จ-15 ทดสอบความแตกต่างของโซเดียมคลอไรด์ 0%, 2% และ 4% ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งส่งผลต่อค่า L	144
จ-16 ทดสอบความแตกต่างของสภาวะกรด-เบส (pH) 6.5, 7.0 และ 7.5 ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งส่งผลต่อค่า L	145
จ-17 ทดสอบผลกระทบระหว่างระดับของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อค่า D-Value	145
จ-18 ทดสอบความแตกต่างของโซเดียมแล็กเทต 0%, 1.2% และ 2.4% ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งส่งผลต่อค่า D-Value	146
จ-19 ทดสอบความแตกต่างของโซเดียมคลอไรด์ 0%, 2% และ 4% ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งส่งผลต่อค่า D-Value	147
จ-20 ทดสอบความแตกต่างของสภาวะกรด-เบส (pH) 6.5, 7.0 และ 7.5 ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งส่งผลต่อค่า D-Value	147
ฉ-1 เปรียบเทียบค่า D, K และ L ที่ได้จากการคำนวณ โดยการแทนค่าปัจจัย ณ 10 สภาวะ ลงในสมการ	151
ฉ-2 ค่า A, C, B และ M ที่ได้จากการคำนวณในสภาวะที่ 1 ถึง 10	152
ฉ-3 จำนวนเชื้อที่นับได้จริงกับปริมาณเชื้อที่ได้จากการคำนวณ ณ จุดเวลาที่ทำการ ตรวจนับจำนวนเชื้อ 18 ช่วงเวลา	153-154

สารบัญภาพ

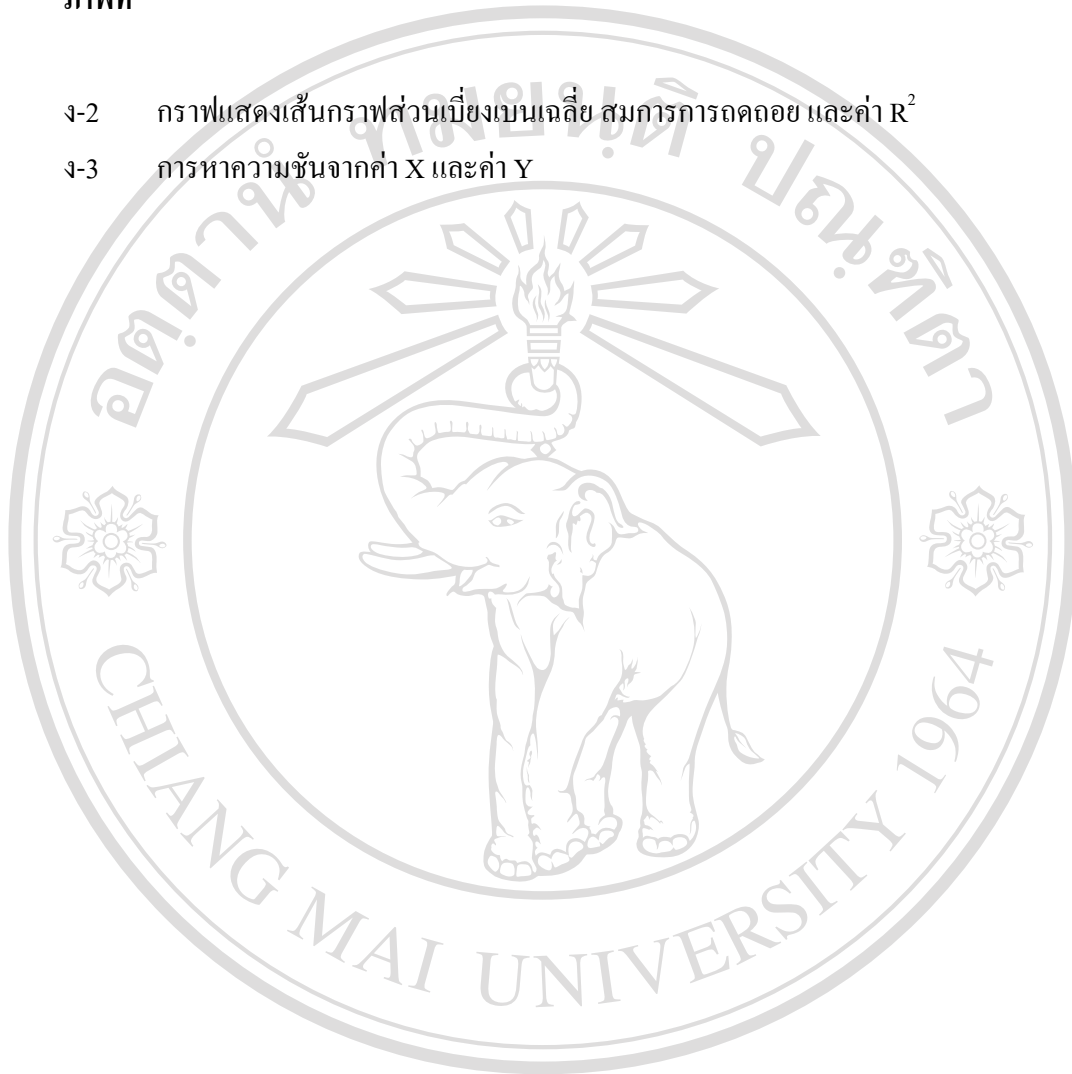
ภาพที่	หน้า	
2.1	ลักษณะการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์	19
3.1	ตำแหน่งการหยด MRD ที่มีความเข้มข้นของเชื้อจากต่ำไปสูงจำนวน 4 ความเข้มข้น	37
3.2	ลักษณะการเจริญในช่วง dead phase	44
4.1	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella Weltevreden</i> DMST 17375 ในสภาวะที่โซเดียมแลกเทตเท่ากับ 0%, 1.2% และ 2.4% ตามลำดับ ณ ชั่วโมงที่ 0 ถึง 30	54
4.2	ทดสอบความสามารถในการ fit curve ของสมการทำนายที่สภาวะที่ 1	80
4.3	ทดสอบความสามารถในการ fit curve ของสมการทำนายที่สภาวะที่ 2	80
4.4	ทดสอบความสามารถในการ fit curve ของสมการทำนายที่สภาวะที่ 3	81
4.5	ทดสอบความสามารถในการ fit curve ของสมการทำนายที่สภาวะที่ 4	82
4.6	ทดสอบความสามารถในการ fit curve ของสมการทำนายที่สภาวะที่ 5	82
4.7	ทดสอบความสามารถในการ fit curve ของสมการทำนายที่สภาวะที่ 6	83
4.8	ทดสอบความสามารถในการ fit curve ของสมการทำนายที่สภาวะที่ 7	84
4.9	ทดสอบความสามารถในการ fit curve ของสมการทำนายที่สภาวะที่ 8	84
4.10	ทดสอบความสามารถในการ fit curve ของสมการทำนายที่สภาวะที่ 9	85
4.11	ทดสอบความสามารถในการ fit curve ของสมการทำนายที่สภาวะที่ 10	86
4.12	กราฟการเจริญเปรียบเทียบการเจริญเติบโตระหว่างจำนวนเชื้อที่นับได้จากการทดลองจริงกับจำนวนเชื้อที่ได้จากสมการการทำนายหรือจากการคำนวณด้วยสมการลักษณะที่ 1 และ 2 แสดงจำนวนเชื้อเป็น cfu/ml	90
4.13	กราฟการเจริญเปรียบเทียบการเจริญเติบโตระหว่างจำนวนเชื้อที่นับได้จากการทดลองจริงกับจำนวนเชื้อที่ได้จากสมการการทำนายหรือจากการคำนวณด้วยสมการลักษณะที่ 1 และ 2 แสดงจำนวนเชื้อเป็น log cfu/ml	92

ภาพที่	หน้า
ก-1 เชื้อ <i>Salmonella</i> spp. ที่มาจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และลักษณะ การขีดเชื้อในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI agar เพื่อแยกโคโลนีเดี่ยว	104
ก-2 ลักษณะการเจริญของเชื้อ <i>Salmonella</i> spp. ในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD	104
ก-3 ลักษณะการเจริญของเชื้อ <i>Salmonella</i> spp. ในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ BPLS	105
ก-4 ลักษณะชีวเคมีเมื่อเชื้อ <i>Salmonella</i> spp. เจริญในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ ผิวหน้าเอียง TSI agar	105
ก-5 ลักษณะชีวเคมีเมื่อเชื้อ <i>Salmonella</i> spp. เจริญในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ ผิวหน้าเอียง Urea agar	106
ก-6 ลักษณะเซลล์ของเชื้อ <i>Salmonella</i> spp. โดยการย้อมสีกรัม	106
ก-7 ลักษณะการเจริญของเชื้อ <i>Salmonella</i> spp. ในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI agar ที่ทำการตรวจนับการเจริญที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ด้วยวิธี drop plate เมื่อป่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง	107
ข-1 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden DMST 17375 ในสภาวะที่โซเดียมแลกเตตเท่ากับ 0%	111
ข-2 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden DMST 17375 ในสภาวะที่โซเดียมแลกเตตเท่ากับ 1.2%	111
ข-3 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden DMST 17375 ในสภาวะที่โซเดียมแลกเตตเท่ากับ 2.4%	112
ค-1 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 1, 2 และ 3 (อิทธิพลของค่า pH)	115
ค-2 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 4, 5 และ 6 (อิทธิพลของค่า pH)	115
ค-3 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 7, 8 และ 9 (อิทธิพลของค่า pH)	116

ภาพที่	หน้า
ค-4 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 10, 11 และ 12 (อิทธิพลของค่า pH)	116
ค-5 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 13, 14 และ 15 (อิทธิพลของค่า pH)	117
ค-6 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 16, 17 และ 18 (อิทธิพลของค่า pH)	117
ค-7 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 19, 20 และ 21 (อิทธิพลของค่า pH)	118
ค-8 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 22, 23 และ 24 (อิทธิพลของค่า pH)	118
ค-9 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 25, 26 และ 27 (อิทธิพลของค่า pH)	119
ค-10 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 1, 4 และ 7 (อิทธิพลของค่า NaCl)	119
ค-11 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 2, 5 และ 8 (อิทธิพลของค่า NaCl)	120
ค-12 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 3, 6 และ 9 (อิทธิพลของค่า NaCl)	120
ค-13 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 10, 13 และ 16 (อิทธิพลของค่า NaCl)	121
ค-14 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 11, 14 และ 17 (อิทธิพลของค่า NaCl)	121
ค-15 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 12, 15 และ 18 (อิทธิพลของค่า NaCl)	122
ค-16 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 19, 22 และ 25 (อิทธิพลของค่า NaCl)	122

ภาพที่	หน้า	
ค-17	กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 20, 23 และ 26 (อิทธิพลของค่า NaCl)	123
ค-18	กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 21, 24 และ 27 (อิทธิพลของค่า NaCl)	123
ค-19	กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 1, 10 และ 19 (อิทธิพลของค่าโซเดียมแลกเทต)	124
ค-20	กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 2, 11 และ 20 (อิทธิพลของค่าโซเดียมแลกเทต)	124
ค-21	กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 3, 12 และ 21 (อิทธิพลของค่าโซเดียมแลกเทต)	125
ค-22	กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 4, 13 และ 22 (อิทธิพลของค่าโซเดียมแลกเทต)	125
ค-23	กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 5, 14 และ 23 (อิทธิพลของค่าโซเดียมแลกเทต)	126
ค-24	กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 6, 15 และ 24 (อิทธิพลของค่าโซเดียมแลกเทต)	126
ค-25	กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 7, 16 และ 25 (อิทธิพลของค่าโซเดียมแลกเทต)	127
ค-26	กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 8, 17 และ 26 (อิทธิพลของค่าโซเดียมแลกเทต)	127
ค-27	กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden จากหน่วยทดลองที่ 9, 18 และ 27 (อิทธิพลของค่าโซเดียมแลกเทต)	128
ง-1	กราฟการเจริญของเชื้อ <i>Salmonella</i> Weltevreden DMST 17375 ณ โซเดียมแลกเทต 0% โซเดียมคลอไรด์ 0% และ ค่าสภาวะกรด-เบส (pH) 6.5 ในซ้ำที่ 1 เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส	131

ภาพที่		หน้า
ง-2	กราฟแสดงเส้นกราฟส่วนเบี่ยงเบนเฉลี่ย สมการการถดถอย และค่า R^2	131
ง-3	การหาความชันจากค่า X และค่า Y	132



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright © by Chiang Mai University
 All rights reserved