เอกสารอ้างอิง

1. Melville,T.H. and C. Russell,Microbiology for Dental Students, pp.323-338,William Heinemann Medical Book Ltd.,London, 3rd ed.,1981.
2. Nolte,W.A.,Oral Microbiology,pp.251-270,The C.V.Mosby Company, Saint Louis,2nd ed.,1973.
3. Wolinsky,L.E.,"caries and Cariology,"Oral Microbiology and Immunology (Newman,M.G.and R.Nisingarrd,eds.),pp.389-409,W.B.Saunder Company,Jonanovich,1988.
4. Gibbons,R.J. and J. van Houte,Bacterial Adherence (Beachey, E.H.ed.),Receptors and Recognition,Series B,Vol.6, pp.66-103,Chapman and Hall,London,1980.
5. Loesche,W.J.,"Role of Streptococcus mutans in Human Dental Decay,"Microbiol Rev.,50(4),353-380,1986.
6 Nikiforuk,G.,Understanding Dental Caries 1:Etiology and Mechanisms.,S.Karger A.G.,Basel,1985.
7. Sanz,M. and M.G. Newman,"Caries and Cariology,"Oral Microbiology and Immunology(Newman,M.G. and R. Nisingarrd, eds.),pp.367-388,W.B. Saunder Company,Jonanovich,1988.
8. Robrish,S.A.,"Biotechnology and Ecological Studies on the Oral Cavity,"Microb Ecol.,12,53-64,1986.
9. Hamada,S.,Molecular Microbiology and Immunology of Streptococcus mutans (Hamada,S.,S.M. Michalek,H. Kiyono,L. Menaker and J.R. McGhee,eds.),pp.7-20,Elsevier Science Publishers B.V.,Netherland,1986.
10. Thyltrup,A. and O. Fejerkov,Textbook of Cariology,pp 117-123, P.J. Schmidts Bogtrykkeri,Vojens,1st ed.,1986.
11. McGhee,J.R. and S.M. Michalek,"Immunology of Dental Caries: Microbial Aspects and Local Immunity,"Ann.Rev. Microbiol.,35,595-638,1981.
12. Hamilton,I.R.,Molecular Microbiology and Immunology of Streptococcus mutans (Hamada,S.,S.M. Michalek,H. Kiyono,L.

Menaker and J.R. McGhee,eds.),pp.145-155, Elsevier Science Publishers B.V.,Netherland,1986.

13. Schachtete,C.F.,Microbiology in Clinical Dentistry (Orland, F.J.ed.),Postgraduate Dental Handbook Series,Vol 13, pp.153-168,John Wright PSG Inc.,Massachusetts,1982.

14. Cole,J.A.,"A Biochemical Approach to the Control of Dental Caries,"Biochemical Society Transaction,5(4),1232-1239, 1977.

15. van Houte,J. and J. Russo,Molecular Microbiology and Immunology of Streptococcus mutans (Hamada,S.,S.M.Michalek,H. Kiyono,L. Menaker and J.R. McGhee,eds.),pp.157-167, Elsevier Science Publishers B.V.,Netherland,1986.

16. Montville,T.J.,C.L. Cooney and A.J. Sinskey,"Streptococcus mutans dextransucrase:A Review",Adv.in Appl.Microbiol., 24,55-84,1978

17. Guggenheim,B.,"Extracellular Polysaccharides and Microbial Plaque,:Int.Dent.J,,20(4),657-678,1970.

18. Inoue,M. and T. Yakushiji,Molecular Microbiology and Immunology of Streptococcus mutans (Hamada,S.,S.M.Michalek,H. Kiyono,L. Menaker and J.R. McGhee,eds.),pp.133-134, Elsevier Science Publishers B.V.,Netherland,1986.

19. Gibbons,R.J. and J. van Houte,"On the Formation of Dental Plaques,"J. Periodontal,44(6),347-360,1973.

20. Koga,T.,N. Okahashi,H. Asakawa and S. Hamada,Molecular Microbiology and Immunology of Streptococcus mutans (Hamada, S.,S.M. Michalek,H. Kiyono,L. Menaker and J.R. McGhee, eds.),pp.111-119,Elsevier Science Publishers B.V., Netherland,1986.

21. Hamada,S. and H.D. Slade,Bacterial Adherence (Beachey,E.H.ed.) Receptors and Recognition,Series B,Vol 6,pp 107-135, Chapman and Hall,London,1980.

22. Newman,H.N.,Dental Plaque;The Ecology of the flora on Human teeth ,pp. 22-55,Chales C. Thomas Publisher,Illinois,

1980.

23. Burnett,G.W. and G.S. Schuster,Oral Microbiology and Infectious Disease,pp.204-209,The Williams and Wilkins Company,Baltimore,Student ed.,1978.

24. Hoffman,S.,Current research trenda in preventive dentistry (Ward ,H.L.,H. miller and A.F. Gardner, eds.), A Preventive Point View,pp.206-230,Charles C. Thomas Publisher,Springfield,Illinois,1978.

25. Keyes,P.H.,"Research in Dental Caries,"JADA,76,1357-1373,1968.

26. Nikiforuk,G.,Understanding Dental Caries 2:Prevention,S. Karger A.G.,Basel,1985.

27. Burnett,G.W.,K.W. Scherp,Oral Microbiology and Infectious Disease,pp.386-401,The Williams and Wilkins Company, Baltimore,2nd ed.,1962.

28. Makinen,K.K.,"The Use of Xylitol in nutrition and medical research with special reference in dental caries," Proceedings Sweetener and Dental Caries (Shaw,J.H. and G.G. Roussos,eds.),Sp.Supp.Feeding,Weight and Obesity Abstracts,pp.193-224,1978.

29. Bowen,W.H.,"Role of Carbohydrate in Dental Caries,"Proceedings Sweetener and Dental Caries (Shaw,J.H. and G.G. Roussos,eds.),Sp. Supp. Feeding ,Weight and Obesity Abstracts,pp.147-155,1978.

30. Thaniyavarn,S.,K.G. Taylor,S. Singh and R.J. Doyle,Pyridine analogues inhibit the glucosyltransferase of Streptococcus mutans ,Infect. Immun.,37,1101-1111,1982.

31. Leach,S.A.,"Dextranase and Dental Caries,"British Dental J., 325-330,1969.

32. Barrett,J.F.,T.A. Barrett and R. Curtiss III,Molecular Microbiology and Immunology of Streptococcus mutans (Hamada, S.,S.M. Michalek,H. Kiyono,L. Menaker and J.R. McGhee, eds.),pp.205-215,Elsevier Science Publishers B.V., Netherland,1986.

33. Sawai,T.,K. Toriyama and K. Yano,"A Bacterial Dextranase Releasing only Isomaltose from Dextrans,"J.Biochem., 75,105-112,1974.

34. Okami,Y.,S. Kurasawa and Y. Hirose,"A New Glucanase Produced by a Marine Bacillus sp.,"Agric.Biol.Chem.,44(5),1191-1192,1980.

35. Okami.Y.,"Marine Microorganisma as a Source of Bioactive Agents,"Microb.Ecol. ,12,65-78,1986.

36. Zevenhuizen,L.P.T.M.,"Cell-bound exodextranase of Bacillus sp.,"Carbohys.Res.,6,310-318,1968.

37. Staat,R.H.,T.H. Gawronski and C.F. Schachtele,"Detection and Preliminary Studies on Dextranase-Producing Microorganisms from Human Dental Plaque,"Infect.Immun., 8(6),1009-1016,1973.

38. Staat,R.H. and C.F. Schachtele,"Analysis of the Dextranase Activity Produced by an Oral Strain of Bacteroides ochraceus,"J.Dent.Res.,55(6),1101-1110,1976.

39. Kaster,A.G. and L.R. Brown,"Extracellular Dextranase Activty Produced by Human Oral Strain ofthe Genus Bifidobacterium,"Infect.Immun.,42(2),716-720,1983.

40. Yamaguchi,T. and S. Gocho,"Production and Properties of Alkaline Dextranase from a Newly Isolated Brevibacterium sp.,"Agric.Biol.Chem.,37,2527-2533,1983.

41. Sugiura,M.,A. Ito and T. Yamaguchi,"Studies on Dextranase in New Exo-dextranase from Brevibacterium fuscum var dextranicum,"Biochima et.Biophysica Acta,350,61-70, 1974.

42. Sugiura,M. and A. Ito,"Studies on Dextranase VII.The Kinetics Parameter of Brevibacterium fuscum Dextranase and Molecular Properties of the Digestion Products,"Chem. Pharm.Bull.,23(7),1532-1536,1975.

43. Forgarty,W.M. and C.J. Kelly,"Topics in Enzyme and Fermentation Technology 3 (Wiseman,A.,ed.), pp.67-69 ,John

Wileys and Sons,New York,1984.

44. Kobayashi,M.,S. Takagi,M. Shiota,Y. Mitsushi and K. Matsuda, "An Isomaltotriose-producing Dextranase from Flavobacterium sp. M-73 : Purification and Properties," Agric Biol.Chem.,47,2585-2593,1983.

45. Costa,D.T.,L.C. Bier and F. Gaida,"Dextran Hydrolysis by a Fusobacterium Strain Isolated from Human Dental Plaque,"Archs.Oral Biol.,19,341-342,1974.

46. Staat,R.H. and C.F. Schachtele,"Evaluation of Dextranase Production by the Cariogenic Bacterium Streptococcus mutans,"Infect.Immun.,9(2),467-469,1974

47. Schachtele,C.F.,R.H. Staat and S.K. Harlander,"Dextranase from Oral bacteria : Inhibition of Water-Insoluble Glucan Production and Adherence to Smooth Surfaces by Streptococcus mutans,Infect.Immun.,12(2),309-317,1975.

48. Hattori,A.and K.Ishibashi,"Screening of Dextranase Producing Microorganisms,:Agric.Biol.Chem.,45(10),2347-2349,1981.

49. Webb,E. and I. Spencer-Martin,"Extracellular endodextranase from the yeast Lipomyces starkeyi,"Can.J.Microbiol.,29, 1092-1095,1983.

50. Koenig,D.W. and D.F. Day,"Production of Dextranase by Lipomyces starkeyi,"Biotech.lett.,10(2),117-122,1988.

51. Koenig,D.W and D.F. Day,"Induction of Lipomyces starkeyi Dextranase,"Appl.and Env.Microbiol.,55(8),2079-2081, 1989.

52. Fukumoto,J.,N. Hiraoka,T. Hirose and D. Tsuru,"Studies 2 Dextranase Production by a Strain of A. carneus,Agric. Biol.Chem.,35(11),1727-1732,1971.

53. Hiraoka,N.,J. Fukumoto and D. Tsuru,"Studies 3 Purification and Some Enzymatic Properties of A. carneus,J.Biochem., 71,57-64,1972.

54. Joshi V.K. and D.V. Tamhane,"Location of Dextranase activity in an Aspergillus luchuensis isolate,"Curr.Sci.,42(20),

720-721,1973.

55. Joshi V.K. and D.V. Tamhane,"Fermentative Production of Dextranase by Aspergillus luchuensis,"Ind.J.of Exper. Biol.,13,55-57,1975.

56. Hattori,A.,K. Ishibashi and S. Minati,"The Purification and Characterization of the Dextranase of Chaetomium gracile,"Agric.Biol.Chem.,45(11),2409-2416,1982.

57. Simonson,L.G.and A.E.Liberta,"New Source of Fungal Dextranase, "Mycologia,67,845-851,1975.

58. Simonson,L.G.,A.E.Liberta and A.Richardson,"Characterization of an extracellular Dextranase from Fusarium moniliforme,"App.Microbiol.,30(5),855-861,1975.

59. Madhu and K.A. Prabhu,"Studies on dextranase from Penicillium aculeatum,"Enz.Microb.Technol.,7,573-577,1985.

60. Sugiura,M.,A. Ito,T. Ogiso,K. Kato and H. Asano,"Studies 2 Purification of Dextranase from Penicillium funiculosum and its enzymatic properties,"Biochem. and Biophys Acta.,309,357-362,1973.

61. Kosaric,N.,K. Yu and J.E. Zajic,"Dextranase Production from P. funiculosum,"Biotech. and Bioeng.,15,729-741,1973.

62. Chaiet,L.,A.J.Kempf,R.Harman,E.Kaczka,R.Weston,K.Nolstadt and F.J. Wolf,"Isolation of a Dextranase from P. funiculosum,"Appl.Microbiol.,20,421-426,1970.

63. Tchuchiya,H.M.,A. Jeanes,H.M. Briker and C.A. Wilham,"Dextran Degrading Enzyme from Molds,"J.Bacteriol.,52,513-519, 1952.

64. Charles,A.F. and L.N. Farrell,"Preparation and use of enzymatic material from Penicillium lilacinum to yield clinical dextran,"Can.J.Microbiol.,3,239-247, 1957.

65. Wheatley,M.A. and M. Moo-Young,"Degrading of Polysaccharides by Endo- and Exoenzymes : Dextran-Dextranase Model System,"Biotech.and Bioeng.,19,219-233,1977.

66. Simonson,L.G.,B.L. Lamberts and I.L. Shklair,"A rapid plate method for screening Dextranase Producing Micro-organisms,"J.Dent.Res.,51(2)675,1972

67. Makinen,K.K. and I.K. Paunio,"Exploitation of Blue Dextran as a Dextranase Substrate,"Anal.Biochem.,39,202-207, 1971.

68. Mencier,F.,"Methode simple et rapide de Mise en evidence," Ann.Inst.Pasteur.,122,153-157,1972.

69. Tilbury,R.H. and S.M. French,"Further studies on enzymatic hydrolysis of dextran in mill juices by dextranase and fungal α-amylase,:Proc.15th ISSCT.,1277-1286,1974.

70. Tilbury,R.H.,"Dextrans and Dextranase,"Proc.14th ISSCT.,1444-1458,1971.

71. Inkerman,P.A.,"An Appraisal of the use of Dextranase,"Proc. 17th ISSCT.,2411-2427,1980.

72. Jolly,S.C. and C. Prakash,"Removal of dextran from sugar cane juice,"Int.Sugar J.,89(1066),184-186,1987.

73. Fitzgerald,R.J.,P.H. Keyes,T.H. Stoudt and D.M. Spinell, "The effect of a dextranase preparation on plaque and caries inhamster,apreliminary report,"JADA,76,301-304, 1968.

74. Guggenheim,B.,K.G. Koenig,H.R. Muhleman and B. Regolati, "Effect of dextranase on caries in rats harbouring an endigenous cariogenic bacterial flora,"Archs.oral Biol.,14,555-558,1969.

75. Block,P.L.,C.L. Dooney and E.E. Howe,"The retardtion of spontaneous periodontal disease and the prevention of caries in hamsters with dextranase",J.Periodont.,40, 105-110,1969

76. Caldwell,R.C.,H.J. Sandham,W.V. Mann,S.B. Finn and A.J. Formicola,"1 The effectof a dextranase mouyhwash on plaque in young adults and children,"JADA,82,124-131, 1971.

77. Lobene,R.R.,"2 A clinical study of the effect of dextranase on human dental plaque,"JADA,82,132-135,1971.

78. Keyes,P.H.,M.A. Hicks,B.M. Goldman,R.M. MaCabe and R.J. Fitzgerald,"3 Dispersion of dextranous bac66terial plaques on human teeth with dextranase,"JADA,82,136-141,1971.

79. Bowen.W.H.,"The effect of dextranase on caries activity in monkeys (Macaca irus),"Brit.Dent.J.,131,445-449,1971.

80. Schroder,H.G. and F.B. van Es,"Distribution of bacteria in industrial sediment of the Ems-Dollard estuary,"Neth. J.Sea Res.,14,168-287,1980.

81. Somogyi,M.,"Notes on sugar Determination",J.Biol.Chem.,195, 19-23,1952.

82. Nelson,N.,"A Photometric adaptation of the Somogyi Method for determination of glucose,"J.Biol.Chem.,153,375-380, 1944.

83. Lowry,O.H.,N.J.Rosenbrough,A.L.Farr and R.J.Randall,"Protein measurement with the Folin phenol reagent,"J.biol.Chem., 193,265-275,1951.

84. Trevelyan,W.E.,D.P. Procter and J.S. Harrison,"Detection of sugars on paper chromatograms,"Nature,166,444-445,1950.

85. Sneath,P.H.A.N.S. Mair and E. Sharpe,"Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ,"pp.1004-1008,The Williams & Wilkins Company,Baltimore,10th ed.,1986.

86. Janson,J. and J. Porath,A Bacterial Dextranase (Neufeld,E.F. and V. Ginburg eds.),Method in Enzymology,Vol.VIII,615-621,Acadamic Press Inc.,New York.,1966.

87. เอก แสงวิเชียร,"เดกซ์แทรนเนสจาก Penicillium sp. สายพันธุ์ 61," วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต,ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์-มหาวิทยาลัย,2531.

88. Tsuru,D.,H suji and J. Fukumoto,"Studies 1. P. luteum Dextranase : Its Production and some Enzymatic Properties,"J.Biochem.,69,1113-1121,1971.

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ

1.น้ำทะเลเทียม (Artificial Seawater)(76)

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	25.0	กรัม
ทริส-ไฮโดรคลอไรด์ (Tris-HCl)	1.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	1.0	กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$)	1.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$)	0.3	กรัม
กรดบอริค (H_3BO_3)	2.0	มิลลิกรัม
โซเดียมโมลิบเดต ($Na_2MoO_4.2H_2O$)	0.5	มิลลิกรัม
แมงกานีสคลอไรด์ ($MnCl_2.4H_2O$)	0.4	มิลลิกรัม
ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4.7H_2O$)	50.0	ไมโครกรัม
คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$)	0.4	ไมโครกรัม
โคบอลท์คลอไรด์ ($CoCl_2.6H_2O$)	1.0	ไมโครกรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำ ยกเว้น ทริส-ไฮโดรคลอไรด์ และ แคลเซียมคลอไรด์ สำหรับ ทริส-ไฮโดรคลอไรด์ให้แยกละลายและปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 7.8 และแคลเซียมคลอไรด์ให้แยกละลายเช่นกัน จากนั้นเติมน้ำจนมีปริมาตรเท่ากับ1 ลิตร และปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 7.8

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเหล่านี้ผสมกับน้ำทะเลเทียม 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส) เป็นเวลานาน 15 นาที

2.สูตรอาหารดัดแปลงของ Schroder (76)

เดกซ์แทรน (Dextran)	10.0	กรัม
ผงยีสต์สกัด (Yeast extract)	2.0	กรัม
บีฟเอกซ์แตรก (Beef extract)	1.0	กรัม
กรดคาซามิโน (Casamino acid)	2.0	กรัม
ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	50.0	มิลลิกรัม
เฟอริคคลอไรด์ ($FeCl_3$)	2.0	มิลลิกรัม
วิตามิน บี-12	20.0	ไมโครกรัม
ไบโอติน (Biotin)	10.0	ไมโครกรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำทะเลเทียม ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 7.8 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อยกเว้น ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต และเฟอริคคลอไรด์ให้แยกละลายน้ำและแยกนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วจึงเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อภายหลัง

*ถ้าเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งให้เติมวุ้นผง (Bacto-agar) 20.0 กรัม ลงไปหลังปรับความเป็นกรด-ด่าง

3.สูตรอาหารของ Yamaguchi (37)

เดกซ์แทรน (Dextran)	10.0	กรัม
โพลีเปปโตน (Polypeptone)	10.0	กรัม
ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	2.0	กรัม
โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	1.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.1	กรัม
ผงยีสต์สกัด (Yeast extract)	0.1	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำทะเลเทียม ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 10.0 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

4.สูตรอาหารดัดแปลงของ Okami (31)

Calf brain, infusion form	200.0	กรัม
Beef heart, infusion form	250.0	กรัม
โปรติโอสเปปโตน (Proteose peptone)	10.0	กรัม
เดกซ์โตรส (Dextrose)	2.0	กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)	2.5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม

ใช้อาหารสำเร็จรูป BHI ของ Difco ชั่งมา 17.3 กรัม เติมเดกซ์แทรนลงไป 10.0 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำทะเลเทียม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเหล่านี้ผสมกับน้ำ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส) เป็นเวลานาน 15 นาที

5.Nutrient agar

บีฟเอกซ์แตรก (Beef extract)	3.0	กรัม
เปปโตน (Peptone)	5.0	กรัม
วุ้นผง (Agar)	15.0	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำ ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 6.8 ก่อนที่จะเติม

วุ้นผงลงไป จากนั้นจึงนำไปต้มจนวุ้นละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

6.Nutrient broth

บีฟเอกซ์แตรก (Beef extract)	3.0	กรัม
เปปโตน (Peptone)	5.0	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 6.8 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

7.SIM medium

เปปโตน (Peptone)	30.0	กรัม
บีฟเอกซ์แตรก (Beef extract)	3.0	กรัม
Peptonized iron	0.2	กรัม
โซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$)	0.025	กรัม
วุ้นผง (Agar)	3.0	กรัม

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco โดยชั่งมา 36.0 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำ ต้มจนละลาย ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 7.3 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

8.Urea broth

ผงยีสต์สกัด (Yeast extract)	0.1	กรัม
โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	9.1	กรัม
ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	9.5	กรัม
ยูเรีย (Urea)	20.0	กรัม
ฟีนอลเรด (Phenol red)	0.01	กรัม

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco โดยชั่งมา 38.7 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำ ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 6.8 และทำให้ปราศจากเชื้อโดยใช้ millipore filter

9.Tryptic Nitrate medium

ทริปโตส (Tryptose)	20.0	กรัม
เดกซ์โตรส (Dextrose)	1.0	กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)	2.0	กรัม
โปตัสเซียมไนเตรต (K_3NO_3)	1.0	กรัม
วุ้นผง (Agar)	1.0	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำ ต้มจนละลาย ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 7.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

10.Triple Sugar Iron medium

บีฟเอกซ์แตรก (Beef extract)	3.0	กรัม
ผงยีสต์สกัด (Yeast extract)	3.0	กรัม
เปปโตน (Peptone)	15.0	กรัม
โปรติโอส เปปโตน (Proteose peptone)	5.0	กรัม
เดกซ์โตรส (Dextrose)	1.0	กรัม
แลคโตส (Lactose)	10.0	กรัม
ซูโครส (Sucrose)	10.0	กรัม
เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)	0.2	กรัม
โซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$)	0.3	กรัม
ฟีนอลเรด (Phenol red)	0.024	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
วุ้นผง (Agar)	12.0	กรัม

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco โดยชั่งมา 65.0 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำ ต้มจนละลาย ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 7.4 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ แล้ววางเอียง (slant) ทิ้งให้อาหารแข็งตัว

11.Methyl Red-Voges Prokauer medium (MR-VP)

บัฟเฟอร์เปปโตน (Buffer peptone)	7.0	กรัม
ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	5.0	กรัม
กลูโคส (Glucose)	5.0	กรัม

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco โดยชั่งมา 17.0 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำ ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 6.9 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

12.อาหารทดสอบการย่อยแป้ง (Starch hydrolysis)

ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar มาเติมแป้ง (Soluble starch) ลงไป 1 เปอร์เซ็นต์ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วเทลงจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ

13.Simmon Citrate agar

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.2	กรัม
แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($(NH_4)_2HPO_4$)	1.0	กรัม
ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	1.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม

โซเดียมซิเตรต	2.0	กรัม
บรอมไธมอลบลู (Bromthymol blue)	0.08	กรัม
วุ้นผง (Agar)	15.0	กรัม

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco โดยชั่งมา 24.2 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ แล้ววางเอียง (slant) ทิ้งให้อาหารแข็งตัว

14.Phenol red agar base

บีฟเอกซ์แตรก (Beef extract)	1.0	กรัม
โปรติโอสเปปโตน (Proteose peptone)	10.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
ฟีนอลเรด (Phenol red)	0.018	กรัม

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco โดยชั่งมา 16.0 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำ และเติมคาร์โบไฮเดรตที่ต้องการทดสอบลงไป 5-10 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และแช่ลงในน้ำเย็นทันทีเพื่อป้องกันน้ำตาลแตกตัว

ภาคผนวก ข.

สีย้อมและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1.รีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

1.1 อัลคาไลน์ คอปเปอร์ รีเอเจนต์ (Alkaline Copper Reagent)

ละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($Na_2HPO_4.12H_2O$) 71 กรัม และโซเดียมโปตัสเซียม ทาร์เทรต หรือโรเชล ซอลท์ (Rochelle salt) 40 กรัม ในน้ำกลั่น700 มล. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)ที่มีความเข้มข้น 1.0 N.ลงไป 100 มล. เติมสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$) ที่มีความเข้มข้น 10% ลงไป 80 มล. ผสมให้เข้ากันและทำให้ร้อน จากนั้นเติมโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) ลงไป 180 กรัม ละลายให้เข้ากัน ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บในขวดสีน้ำตาล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง ถ้ามีตะกอนให้กรองตะกอนออกก่อนนำไปใช้

1.2 เนลสัน รีเอเจนต์ (Nelson Reagent)

ละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต ($(NH_4)_2Mo_7O_{24}.4H_2O$) 53.2 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มล. เติมกรดซัลฟุริคเข้มข้นลงไป 21 มล.ผสมให้เข้ากัน แล้วเติมสารละลายโซเดียมอาซิเนต ($NaHAsO_4$) ที่มีความเข้มข้น 12% ลงไป 50 มล.ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บในขวดสีน้ำตาล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง ถ้ามีตะกอนให้กรองตะกอนออกก่อนนำไปใช้

2.รีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Lowry's method)

2.1 สารละลาย Lowry A ประกอบด้วย

โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	60.0	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	12.0	กรัม
โซเดียมโปตัสเซียมทาร์เทรต	0.6	กรัม
น้ำกลั่น	300	มล.

2.2 สารละลาย Lowry B ประกอบด้วย

คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$)	50.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	กรัม

2.3 สารละลาย Lowry C ประกอบด้วย

Lowry A	50	ส่วน
Lowry B	1	ส่วน

2.4 สารละลาย Lowry D (Phenol Reagent) ประกอบด้วย

สารละลายโฟลิน ฟีนอล รีเอเจนต์ (Folin phenol reagent) 1 ส่วน ผสมกับน้ำกลั่น 1 ส่วน

3.สารละลายที่ใช้ทำให้เกิดสีในโครมาโตกราฟีกระดาษของน้ำตาล

ละลายซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) ที่มีความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ในปริมาตรที่เท่ากับสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 5.0 โมลาร์

การทำให้เกิดสี ทำได้โดยพ่นสารละลายผสมของซิลเวอร์ไนเตรตและแอมโมเนียม-ไฮดรอกไซด์บนกระดาษที่ทำโครมาโตกราฟี แล้วอบแห้งที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 10-15 นาที

4.สารละลายแอมโมเนียมออกซาเลตคริสตอลไวโอเลต (Hucker's ammonium oxalate crystal violet stain)

สารละลาย ก.

คริสตอลไวโอเลต (Crystal violet)	3.0	กรัม
95 เปอร์เซ็นต์ เอธานอล (Ethanol)	20	มล.

สารละลาย ข.

แอมโมเนียมออกซาเลต (Ammonium oxalate)	0.8	กรัม
น้ำกลั่น	80	มล.

ผสมสารละลาย ก.และสารละลาย ข. เข้าด้วยกัน กรองก่อนนำไปใช้

5.สารละลายแกรมไอโอดีน (Gram's iodine solution)

ไอโอดีน (Iodine)	1.0	กรัม
โปตัสเซียมไอโอไดด์ (KI)	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	300	มล.

บดไอโอดีนและโปตัสเซียมไอโอไดด์ผสมกันในโกร่งจนเป็นผงละเอียด แล้วใช้น้ำกลั่นประมาณ 200 มล.ล้างเอาส่วนผสมทั้งหมดใส่ในกระบอกตวง เติมน้ำกลั่นจนครบ 300 มล. เก็บสารละลายนี้ในขวดสีน้ำตาลและเก็บในที่มืด

6.สารละลายอะซีโตนแอลกอฮอล์ (Acetone alcohol solution)

95 เปอร์เซ็นต์ เอธานอล (Ethanol)	400	มล.
อะซีโตน (Acetone)	300	มล.

ผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดปิดฝาให้แน่น

7.สารละลายซาฟรานีน (Safranin staining solution)

ซาฟรานีน (Safranin)	0.25	กรัม
95 เปอร์เซ็นต์ เอธานอล (Ethanol)	10	มล.
น้ำกลั่น	100	มล.

ละลายซาฟรานีนด้วยเอธานอล แล้วจึงเติมน้ำกลั่นลงไป เขย่าให้เข้ากัน กรองก่อนนำไปใช้

8.สารละลาย Ziehl carbol fuchsin

Basic fuchsin	0.3	กรัม
95% เอธานอล	10	มล.
ผลึกฟีนอลที่หลวมเหลว	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	95	มล.

ละลาย basic fuchsin ในเอธานอล และเติมผลึกฟีนอลที่ละลายน้ำไว้แล้วลงไป ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 2-3 วัน กรองก่อนนำมาใช้

9.สารละลาย Acid alcohol

95% เอธานอล	97	มล.
กรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น	3	มล.

ผสมสารละลายให้เข้ากัน

10.สารละลายเมธิลลีน บลู (Methylene Blue)

เมธิลลีน บลู คลอไรด์ (Methylene blue chloride)	0.3	กรัม
น้ำกลั่น	100	มล.

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในขวดสีน้ำตาล

11.สารละลายมาลาไคท์กรีน (Malachite green)

มาลาไคท์กรีน (Malachite green)	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	95	มล.

ละลายมาลาไคท์กรีนในน้ำกลั่นจนหมด ตั้งทิ้งไว้ 2-3 วัน กรองก่อนนำไปใช้

12.สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide solution) ที่มีความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์

สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่มีความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์	10	มล.
น้ำกลั่น	90	มล.

13.สารละลาย Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride ที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	100	มล.

ละลาย Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride ด้วยน้ำกลั่น 80 มล. เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มล. เติมน้ำกลั่นลงไปให้ปริมาตรรวมเป็น 100 มล. เตรียมใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง

14.สารละลายที่ใช้ทดสอบไนไตรต์ (Nitrite test solution)

สารละลาย ก.

กรดซัลฟานิลิค (Sulfanilic acid)	0.8	กรัม
กรดอะซิติค (Acetic acid) ที่มีความเข้มข้น 5 N.	100	มล.

สารละลาย ข.

แอลฟาแนฟทิลลามีน (Alpha naphthylamine)	0.5	กรัม
กรดอะซิติค (Acetic acid) ที่มีความเข้มข้น 5 N.	100	มล.

15.สารละลายโคแวค (Kovac's solution)

พาราไดเมธิลอะมิโนเบนซีลดีไฮด์ (p-dimethylaminobenzaldehyde)	5.0	กรัม
เอมิล หรือ บิวธิลแอลกอฮอล์ (Amyl or butyl alcohol)	75	มล.
กรดไฮดรคลอริคเข้มข้น (Conc. HCl)	25	มล.

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ใส่ในขวดสีน้ำตาล เก็บไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

16.สารละลายเมธิลเรด (Methyl red)

เมธิลเรด (Methyl red)	1.0	กรัม
95 เปอร์เซ็นต์ เอธานอล (Ethanol)	300	มล.
น้ำกลั่น	200	มล.

ละลายเมธิลเรดในเอธานอลจนหมด แล้วจึงเติมน้ำกลั่น เก็บในขวดสีน้ำตาล

17.สารละลายทดสอบ Voges-Prokauer (Voges-Prokauer test reagent)

สารละลาย ก.

แอลฟาแนฟทอล (Alpha-naphthol)	5.0	มล.
95 เปอร์เซ็นต์ เอธานอล (Ethanol)	100	มล.

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีน้ำตาล

สารละลาย ข.

โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH)	40.0	กรัม
น้ำกลั่น	100	มล.

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีน้ำตาล

18.สารละลาย Nessler's (Nessler's reagent)

โปตัสเซียมไอโอไดด์ (KI)	5.0	กรัม
น้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนีย	5	มล.

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน เติมสารละลายอิ่มตัวของเมอคิวริคคลอไรด์ ($HgCl_2$) (ประมาณ 2 กรัมในน้ำ 35 มล.) จนเกิดตะกอนขึ้นเล็กน้อย แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่มีความเข้มข้น 5 N. ลงไป 20 มล. จากนั้นปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 100 มล. ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน กรองเฉพาะส่วนน้ำใสมาใช้ เก็บในขวดสีน้ำตาล

ประวัติผู้เขียน

นางสาวณฐินี สุวรรณสิงห์ เกิดเมื่อวันที่ 11 พฤษภาคม 2508 ที่จังหวัดขอนแก่น ได้รับปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา จากคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2529