รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ชินปัญญ์ ปลั่งศิริ, นิศา มหาเอกอนันต์ และศิริพร ศรีมาลัยพร. 2540. การแยกและคัดเลือกอะซิติกแอซิดแบคทีเรีย. ปริญญานิพนธ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

โชคชัย กิตติเกิดคุณ และเกรียงไกร พิทักษ์ตระกูลศิริ. 2538. การคัดเลือกเชื้ออะซิโตแบคเตอร์รถปีซีส์และผลิตเซลลูโลส. ปริญญานิพนธ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ณัฐดา วิโรจน์แสงอรุณ และสมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์. 2533. การผลิตน้ำส้มสายชูจากเชื้อ *Acetobacter* species ที่แยกได้จากวัสดุธรรมชาติ. รายงานผลการวิจัย ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นภา โล่ห์ทอง. 2520. น้ำส้มสายชู. ข่าวสารเกษตรศาสตร์ 21(4): 70-75.

เผด็จ วัชรโกมลพันธ์. 2540. อุตสาหกรรมการผลิตกรดอะซิติกในประเทศไทย. ในเอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง การจำแนกและการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียกรดอะซิติกและกรดแลคติก, หน้า 1-5. 10-11 มีนาคม 2541 ณ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ กรุงเทพมหานคร.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, สำนักงาน. 2517. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำส้มสายชู. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงอุตสาหกรรม.

สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์. 2526. อะซิติกแอซิดแบคทีเรีย. ในเอกสารประกอบการสอนเรื่อง อะซิติกแอซิดแบคทีเรีย. ณ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมศรี ลีปิพัฒนวิทย์. 2531. การหาสูตรที่เหมาะสมสำหรับทำวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าวแก่. วารสารอาหาร (4): 239-245.

ภาษาอังกฤษ

Adams, M.R. 1985. Vinegar : Microbiology of fermented foods. Vol 1. London: Elsevier Applied Science Publishers.

Allgeier, R.J. and Hildebrandt, F.M. 1960. Newer developments in vinegar manufacture. Adv. Appl. Microbiol. 11: 163-182.

Amemura, A., Hashimoto, T., Koizumi, K. and Utamura, T. 1985. Occurrence of extracellular (1→2)-β-D-glucose and (1→2)-β-D-gluco-oligosaccharides in *Acetobacter*. J. Gen. Microbiol. 131: 301-307.

Asai, T. 1968. Acetic acid bacteria classification and biochemical activities. Tokyo: University of Tokyo Press.

Asai, T., Iizuka, H. and Komagata, K. 1964. The flagellaion and taxonomy of genera *Gluconobacter* and *Acetobacter* with reference to the existence of intermediate strains. J.Gen. Appl.Microbiol. 10(2): 95-126.

Ationu, A., Patterson, J.D.E., Todd, J.R. and Wood, B.J.B. 1988. Production of acetic acid in packed bed fermenters. Biotechnol. Let. 10(9): 671-676.

Aurand, L.W., Singleton, J.A., Bell, T.A. and Etchells, J.L. 1966. Volatile components in the vapors of natural and distilled vinegar. J. Food Sci. 31(2): 172-173.

Bulygina, E.S., Gulikova, O.M., Dikanskaya, E.M., Netrusov, A.K., Tourova, T.P. and Chumakov, K.M.1992. Taxonomic studies of the genera *Acidomonas*, *Acetobacter* and *Gluconobacter* by 5S ribosomal RNA sequencing. J. Gen. Microbiol. 138: 2283-2286.

Cannon, R.E. and Anderson, S.M. 1991. Biogenesis of bacterial cellulose. Crit. Rev. Microbiol. 17(6): 435-447.

Carigliano, M.C. 1982. A selective medium for the isolation and differentiation of *Gluconobacter* and *Acetobacter*. J. of Food Sci. 47: 1038-1039.

Casida, L.E. 1968. Industrail microbiology. New York: John Wiley and Sons.

Collin, M.D. and Jones, D. 1981. A note on the separation of natural mixtures of bacterial ubiquinones using reverse phase partition thin-layer chromatography and high performance liquid chromatography. J. Appl. Bacteriol. 51: 129-134.

Colvin, J.R. and Beer, M. 1960. The formation of cellulose microfibrils in suspensions of *Acetobacter xylinum*. Can. J. Microbiol. 6: 631-637.

Colvin, J.R., Chene, L., Sowdeu, L.C. and Takai, M. 1977. Purification and properties of a soluble polymer of glucose from cultures of *Acetobacter xylinum*. Can. J. Biochem. 55: 1057-1063.

Conner, H.A. and Allqeier, R.J. 1976. Vinegar : Its history and development. Adv. Appl. Microbiol. 20: 81-133.

Cowan, S.T. 1993. Manual for the identification of medical bacteria. Cambridge: Cambridge University Press.

De Jesus, E.G., Andres, R.M., and Magno, E.T. 1971. A study on the isolation and screening of microorganisms for production of diverse-textured nata. Phil. J. Sci. 100(1): 41-49.

De Ley, J. and Frateur, J. 1974. The genus *Gluconobacter* and the genus *Acetobacter* : Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. Baltimore: Willams and Wilkins.

De Ley, J., Gillis, M. and Swings, J. 1984. Acetobacteriaceae : Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 1. Baltimore: Willams and Wilkins.

DeMan, J.M., DeMan, L. And Gupta, S. 1986. Texture and microstructure of soybean curd (tofu) as affected by different coagulants. Food Microstructure. 5: 83-89.

Entani, E., Ohmori, S., Masai, H. and Suzuki, K. 1985. *Acetobacter polyoxygenes* sp. nov., a new species of an acetic acid bacterium useful for producing vinegar with high acidity. J. Gen. Appl. Microbiol. 31: 475-490.

Forbes, L. 1981. Rapid flagella stain. J. Clin. Microbiol. 13: 807-809.

Gibbs, B.M. and Shapton, D.A. 1968. Identification method for mircrobiologist. New York: Academic Press.

Gillis, M., Kersters, K., Hoste, B. Janssens, D., Kroppenstedt, R.M., Stephan, M.P., Teixeira, K.R.S., Dobereiner, J. and De Ley, J. 1989. *Acetobacter diazotrophicus* sp. nov., a nitrogen-fixing acetic acid bacterium associated with sugarcane. Int. J. Syst. Bacteriol. P.361-364.

Gillis, M. and De Ley, J. 1980. Intra- and intergeneric similarities of the ribosomal ribonucleic acid cistrons of *Acetobacter* and *Gluconobacter*. Int. J. Syst. Bacteriol. 30 (1): 7-27.

Gossele, J., and Swings, J. 1985. Identification of a nata-producing bacterium as *Acetobacter hansenii*. Phil. J. Sci. 114 (3-4): 179-182.

Gossele, J., Swings, J., and De Ley, J. 1980. A rapid, simple and simultaneous detection of 2-keto-, 5-keto- and 2,5-diketogluconic acid by thin layer chromatography in culture media of acetic acid bacteria. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. C1: 178-181.

Gossele, F., Swings, J., Kersters, K., and De Ley,J. 1983. Numerical analysis of phenotypic features and protein gel electropherograms of *Gluconobacter* Asai 1935 emend. mut. char. Asai, Iizuka, and Komagata 1964. Int. J. Syst. Bacteriol. 33: 65-81.

Gossele, F., Swings, J., Kerster, Pauwels, P. and De Ley, J. 1993. Numerical analysis of phenotypic Features and protein gel electrophoregrams of a wide variety of Acetobacter strains. Proposal for the improvement of the taxonomy of the genus *Acetobacter* Beijerinck 1898, 215. System. Appl. Microbiol. 4: 338-368.

Helrich, K., ed. 1990. Official methods of analysis: Association of official analytical chemists. 2 Vols. 15th ed. Washington D.C.: Association of Official Analytical Chemists.

Hilf, R. and Castano, F.F. 1958. Quantitative determination of reducing sugars and a sugar acid by hydroxamic acid formation. Analytical Chemistry. 30(9): 1538-1540.

Holt, J.G., ed. 1994. *Acetobacter*: Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed. Baltimore: The Williams and Wilkins.

Hromatka, O. and Ebner, H. 1959. Vinegar by submerged oxidative fermentation. Ind. Eng. Chem. 51(10): 1270-1280.

Hucker, G. J. and Conn, H.J. 1923. Method of gram staining : Technical bulletin 93. New York: Ithaca.

Jesus, E.G.D., Andres, R.M. and Magno, E.T. 1971. A study on the isolation and screening of microorganisms for production of diverse-textured NATA. Phil. J. Sci. 100(1): 41-53.

Komagata, K. 1975. In : Classification and Identification of Microorganisms. Tokyo: University of Tokyo Press.

Leifson ,E. 1954. Antonie Van Leewenhock. J. Microbial. Serol. 20: 102.

Masaoka, S., Ohe, T. And Sakota, N. 1993. Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum*. J. Ferment. Bioeng. 75(1): 18-22.

Mason, L.M. and Claus, G.W. 1989. Phenotypic characteristics correlated with deoxyribonucleic acid sequence similarities for three species of *Gluconobacter* : *G. oxydans* (Hanneberg 1987)De Ley 1961, *G. frateurii* sp. nov., and *G. asaii* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 39: 174-184.

Micales, B.K., Johnson, J.L. and Clans, G.W. 1985. Deoxyribonucleic acid homologies among organisms in the genus *Gluconobacter*. Int. J. Syst. Bacteriol. 35(1): 79-85.

Minakami, H., Entani, E., Tayama, K., Fujiyama, S. and Masai, H. 1984. Isolation and characterization of a new polysaccharide producing *Acetobacter* sp. Agric. Biol. Chem. 48(1): 2405-2414.

Mori,H. and Harada,T. 1973. Nutrition of *Acetobacter rancens* S3 and F11 isolated from tanks for vinegar production. Agri. Biol. Chem. 37(1): 139-144.

Nanba, A., Tamura, A. and Nagai, S. 1984. Synergistic effects of acetic acid and ethanol on the growth of *Acetobacter* sp. J. Ferment. Technol. 62(6): 501-505.

Nickol, C.B. 1976. Vinegar : Microbial technology. 2 Vols. New York: Academic Press.

Norris, J.R. and Ribons, D.W. 1970. Method in microbiology. Academic Press, New York.

Ohmori, S., Masai, H., Arima, K. and Beppu, T. 1980. Isolation and identification of acetic acid bacteria for submerged acetic acid fermentation at high temperature. Agric. Biol. Chem. 44(12): 2901-2906.

Saeki, A., Theeragool, G., Matsushita, K., Toyama, H., Lotong, N. and Adachi, O. 1997. Development of thermotolerant acetic acid bacteria useful for vinegar fermentation at higher temperature. Biosci. Biotech. Biochem. 61(1): 138-145.

Sasazaki, H., Lumyong, S., Suto, M., Yokota, A., and Tomita, F. 1997. Cellulose-producing bacteria isolated from fruits samples in Thailand and Japan. The 9th annual meeting of the Thai society for biotechnology. Suranaree University. 9: 50.

Savidge, R.A. and Colvin, J.R. 1985. Production of cellulose and soluble polysaccharides by *Acetobacter xylinum*. Can. J. of Microbiol. 3: 1019-1025.

Sievers, M., Sellmer, S. and Teuber, M. 1992. *Acetobacter europaeus* sp. nov., a main component of industrial vinegar fermenters in central europe. System. Appl. Microbiol. 15: 386-392.

Sievers, M., Ludwig, W. and Teuber, M. 1994. Revival of the species *Acetobacter methanolicus* (ex Uhlig et al. 1986) nov. rev. System. Appl. Microbiol. 17: 352-354.

Sievers, M., Gaberthuel, C., Boesch, C., Ludwig, W. and Teuber, M. 1995. Phylogenetic position of *Gluconobacter* species as a coherent cluster separated from all Acetobacter species on the basis of 16S ribosomal RNA sequences. FEMS Microbiol. Let. 126: 123-126.

Stackebrandt, E. 1998. Validation list No. 64. Int. J. Syst. Bacteriol. 48: 327-328.

Swings, J. 1992. The genera *Acetobacter* and *Gluconobacter* : Prokaryotes. 2nd ed. Baltimore: Williams and Wilkins.

Swings, J., De Ley, J. and Gillis, M. 1984. Pseudomanadaceae : Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 1. Baltimore: Willams and Wilkins.

Tayama, K., Minakami, H., Entani, E., Fujiyama, S. and Masai, H. 1985. Struture of and acidic polysaccharide from *Acebacter* sp. NBI 1022. Agric. Biol. Chem.49(4): 959-966.

Theeragool, G., Lotong, N., Matsushita, K., and Adachi, O. 1997. Characterization of thermostable alcohol dehydrogenase from thermotolerant acetic acid bacteria. The 9th annual meeting of the Thai society for biotechnology. Suranaree University. 9: 62.

Toyosaki, H., Naritomi, T., Seto, Matsuoka, M., Tsuchida, T. and Yoshinaga, F. 1995. Screening of bacterial cellulose-producing *Acetobacter* strains suitable for agitated culture. Biosci. Biotech. Biochem. 59(8): 1498-1502.

Uhlig, H., Karbaum, K. And Steudei, A. 1986. *Acetobacter methanolicus* sp. nov., an acedophilic facultatively methylotrophic bacterium. Int. J. Syst. Bacteriol. 36(2): 317-322.

Urakami, T., Tamaoka, J., Suzuki, K. and Komagata, K. 1989. *Acidomonas methanolica* comb. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 39(1): 50-55.

Valla, S. and Kjosbakken, J. 1981. Isolation and characterization of a new extracellular polysaccharide from a cellulose negative strain of *Acetobacter xylinum*. Can. J. Microbiol. 27: 599-603.

Watanabe, T., Izaki, K. and Takahashi, H. 1982. New polyic antibiotic active against gram positive and negative bacteria. J. Antibiotics. 35(9): 1141-1147.

Yamada, Y., Aida, K. and Uemura, T. 1968. Distribution of ubiquinone 10 and 9 in acetic acid bacteria and its relation to the classification of genera *Gluconobacter* and *Acetobacter*, espectially of so-called intermediate strains. Agr. Biol. Chem. 32(6): 786-788.

Yamada, Y., Aida, K. and Uemera, T. 1969a. Ubiquinone of acetic acid bacteria and its relation to Classification of genera *Gluconobacter* and *Acetobacter*, espectially of the so-called intermediate strains. J. Gen. Appl. Microbiol. 15: 181-196.

Yamada, Y., Nakazawa, E, Nozaki, A. and Kondo, K. 1969b. Characterization of *Acetobacter xylinum* by ubiquinone system. Agr. Biol. Chem. 33(1): 1659-1661.

Yamada, Y., Nakazawa, E, Nozaki, A. and Kondo, K. 1976a. Characterization of *Acetobacter xylinum* by ubiquinone system. J. Gen. Appl. Microbiol. 22: 285-292.

Yamada, Y., Okada, Y. and Kondo, K. 1976b. Isolation and characterization of polarly flagellated intermediate strains in acetic acid bacteria. J. Gen. Appl. Microbiol. 22: 237-245.

Yamada, Y., Nunoda, M., Ishikawa, T., and Tahara, Y. 1981. The cellular fatty acid composition in acetic acid bacteria. J. Gen. Appl. Microbiol. 27: 405-417.

Yamada, Y. 1983. *Acetobacter xylinum* sp. nov., nom. rev., for the cellulose-forming and cellulose-less, acetate-oxidizing acetic acid bacteria with the Q-10 system. J. Gen. Appl. Microbiol. 29: 417-420.

Yamada, Y., Akita, M., Koda, T., Tahara, Y. and Yoshioka, H. 1983. Elevation of *Acetobacter aceti* subsp. *liquefaciens* to *Acetobacter liquefaciens* sp. nov. comprising the peritrichously flagellated intermediate in acetic acid bacteria. J. Gen. Appl. Microbiol. 29: 327-333.

Yamada, Y. and Kondo, K. 1984. *Gluconoacetobacter*, a new subgenus comprising the acetate-oxidizing acetic acid bacteria with ubiquinone 10 in the genus *Acetobacter*. J. Gen. Appl. Microbiol. 30: 297-303.

Yamada, Y., Hoshino, K. and Ishikawa, T. 1997. The phylogeny of acetic acid bacteria based on the partial sequences of 16S Ribosomal RNA:the evaluation of the subgenus *Gluconoacetobacter* to the generic level. Biosci. Biotech. Biochem., 61(8): 1244-1251.

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

1. สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 อาหารเหลว GEY

กลูโคส	20.0	กรัม
เอธานอล[1/]	50.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

ปรับให้มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) เป็น 4.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริคความเข้มข้น 1 นอร์มอล นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ และความดัน (15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว, 121 องศาเซลเซียส 15 นาที)

[1/] เมื่ออาหารเย็นตัวแล้วเติมเอธานอล 95 % โดยวิธีปราศจากเชื้อ

1.2 อาหารวุ้น GEY-$CaCO_3$

กลูโคส	20.0	กรัม
เอธานอล[2/]	50.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$)	3.0	กรัม
ผงวุ้น	15.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

วิธีการเตรียมเช่นเดียวกับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1.1

[2/] เติมเอธานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว ก่อนเทลงในจานเพาะเชื้อ

1.3 อาหารวุ้น GYPG

กลูโคส	10.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
เปปโตน	10.0	กรัม
กลีเซอรอล	10.0	กรัม
แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$)	3.0	กรัม
ผงวุ้น	15.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

1.4 อาหารเหลว GYPG

กลูโคส	10.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
เปปโตน	10.0	กรัม
กลีเซอรอล	10.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

1.5 อาหารเหลว EY

เอธานอล	40.0	มล.
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

1.5.1 อาหารเหลว Y

ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

1.5.2 อาหารเหลว EAY

เอธานอล (95%)	40.0	มล.
อะซิติกแอซิด (99.8%)	10.0	มล.
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

(สำหรับเชื้อสายพันธุ์ SF 18-1 และ GR 24-2 จะเติมกรดอะซิติกแอซิดปริมาตร 5.0 มล. เท่านั้น)

1.5.3 อาหารเหลว EACY

เอธานอล (95%)	40.0	มล.
อะซิติกแอซิด (99.8%)	10.0	มล.
กรดคาซามิโน	1.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.6 อาหารวุ้นสูตรน้ำมะพร้าว

แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NH_4H_2PO_4$)	0.5	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.5	กรัม
เอธานอล	50.0	มล.
ซูโครส	50.0	กรัม
น้ำมะพร้าวแก่	1000.0	มล.

ปรับให้มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) เป็น 4.5 ด้วย กรดไฮโดรคลอริคความเข้มข้น 1 นอร์มอล

1.7 อาหารเหลวสูตรน้ำมะพร้าว

แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NH_4H_2PO_4$)	0.5	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.3	กรัม
เอธานอล	60.0	มล.
ซูโครส	50.0	กรัม
ผงวุ้น	15.0	กรัม
น้ำมะพร้าวแก่	1000.0	มล.

ปรับให้มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) เป็น 4.5 ด้วย กรดไฮโดรคลอริคความเข้มข้น 1 นอร์มอล

1.8 อาหารเหลว GGYPA

กลูโคส	5.0	กรัม
กลีเซอรอล	5.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
โพลีเปปโตน	5.0	กรัม
กรดอะซิติก[3/] (99.8%)	3.0	มล.
น้ำกรอง	1000.0	มล.

[3/] เมื่ออาหารเย็นลงแล้วเติมกรดอะซิติก 99.8 % โดยวิธีปราศจากเชื้อ

1.9 อาหารเหลว GGYPE

กลูโคส	5.0	กรัม
กลีเซอรอล	5.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
โพลีเปปโตน	5.0	กรัม
เอธานอล[4/] (95%)	8.0	มล.
น้ำกรอง	1000.0	มล.

[4/] เมื่ออาหารเย็นลงแล้วเติมเอธานอล 95 % โดยวิธีปราศจากเชื้อ

1.10 อาหารเหลว SBYP

โซเดียมอะซิเตท ($CH_3COONa.3H_2O$)	2.0	กรัม
โบรโมไทมอลบูล	0.002	% w/v
ผงสกัดยีสต์	2.0	กรัม
เปปโตน	3.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

ปรับให้มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเป็น (pH) 6.4 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 1 นอร์มอล

1.11 อาหารวุ้น CY

แคลเซียมแลคเตท ($(CH_3CHOH.COO)2Ca.H_2O$)	10.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	10.0	กรัม
ผงวุ้น	15.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

ปรับให้มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเป็น (pH) 7.0 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 1 นอร์มอล

1.12 อาหารเหลว GY

กลูโคส	20.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

1.13 อาหารเหลว YG

ผงสกัดยีสต์	3.0	กรัม
กลูโคส	30.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

1.14 อาหารวุ้น MYP

แมนนิทอล	25.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
เปปโตน	5.0	กรัม
ผงวุ้น	15.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I.15 อาหารวุ้น MGYP

แมนนิทอล	20.0	กรัม
กลูโคส	10.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
เปปโตน	5.0	กรัม
ผงวุ้น	15.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	กรัม

1.16 อาหารวุ้น GGY

กลีเซอรอล	10.0	กรัม
กลูโคส	20.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
ผงวุ้น	15.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

1.17 อาหารเหลว CY

แคลเซียมแลคเตท	10.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	1.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

1.18 อาหารเหลว CBY

แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ	10.0	กรัม
โบรโมครีซอล เพอร์เพิล	0.02	กรัม
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ คือ ดี-กลูโคส แอล-อะราบิโนส ดี-ฟรุกโตส ดี-กาแลกโตส แมนนิทอล ดี-แมนโนส กลีเซอรอล ซูโครส มอลโตส ดี-ซอร์บิทอล เมลิไบโอส ดี-เซลโลไบโอส แป้ง ดี-ไซโลส มอลโตส ดี-เมลิไซโตส แอล-ราฟฟิโนส เอสคูลิน ดี-ไรโบส ซาลิซิน แอล-แรมโนส แอล-ซอร์โบส ดี-ทรีฮาโลส เอธานอล เมธานอล และ ซอร์บิทอล

ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 °ซ. ในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อชนิดใช้เตาแก๊ส เป็นเวลา 10 นาที แล้วรีบนำมาลดอุณหภูมิของอาหารเลี้ยงเชื้อโดยแช่ในน้ำเย็น

1.19 อาหารวุ้น GYC

กลูโคส	30.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
แคลเซียมคาร์บอเนต	20.0	กรัม
ผงวุ้น	15.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

1.20 อาหารวุ้น GG

กรดกลูตามิค	5.0	กรัม
กลูโคส	10.0	กรัม
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	1.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.20	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	0.1	กรัม
ผงวุ้น	15.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

1.21 อาหารวุ้น ไฮเยอร์-เฟรเทอร์ (Hoyer-Frateur agar)

เอธานอล	30.0	มล.
ไดแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$)	1.0	กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.1	กรัม
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	0.9	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.25	กรัม
เฟอร์รัสคลอไรด์ ($FeCl_3$)	0.005	กรัม
ผงวุ้น	15.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

1.22 อาหารเหลว GEPY

กลูโคส	1.5	กรัม
เอธานอล	15.0	มล.
เปปโตน	10.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	8.0	กรัม
ผงวุ้น	15.0	กรัม
น้ำกรอง	1000.0	มล.

1.23 อาหารเหลว GG

กลูโคส	1.0	กรัม
กลีเซอรอล	20.0	มล.
น้ำกรอง	1000.0	มล.

2. การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (Total acid) ปรับปรุงจาก Helrich (1990)

สารเคมี

1.) น้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ เตรียมโดยนำน้ำกลั่นมาต้มเดือด 20 นาที

2.) สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 นอร์มอล เตรียมจากโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัมที่เติมน้ำกลั่นปลอดคาร์บอนไดออกไซด์จนครบ 1 ลิตร เก็บในขวดแก้วที่กันคาร์บอนไดออกไซด์และเป็นแก้วทนด่าง ก่อนใช้นำมาหาความเข้มข้นมาตรฐานก่อน

การหาความเข้มข้นมาตรฐานของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล ทำโดยชั่งโปแตสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต ($KHC_8H_4O_4$) (อบ 2 ชั่วโมงที่ 120 ซ แล้วทำให้เย็นในโถอบแห้ง) อย่างละเอียดประมาณ 0.3 กรัม เติมลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ 90-100 มล. เมื่อโปแตสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลตละลายจึงเติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน (phenolpthalein) 3 หยดแล้วไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล ความเข้มข้นมาตรฐานคำนวณได้จากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นมาตรฐาน (นอร์มอล)} = \frac{\text{กรัมโปแตสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต} \times 1,000}{\text{มล. ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล} \times 204.229}$$

3.) สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน ชั่งฟีนอฟธาลีน 1 กรัม ละลายในแอลกอฮอล์ 95% ปริมาตร100 มล.

สำหรับวิธีวิเคราะห์ ให้นำตัวอย่าง 10 มล. เติมสารละลายฟีนอล์ฟธาลีน 3 หยดแล้วไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล จนกระทั่งถึงจุดยุติเห็นเป็นสีชมพู คำนวณปริมาณกรดเป็นกรดอะซิติก ตามสูตรดังนี้

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (กรัมต่อ 100 มล.)} = \frac{N \times V \times 60.1 \times 100}{1,000 \times 10}$$

โดยกำหนดให้ N = ความเข้มข้นละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล

V = ปริมาตรมิลลิลิตรของละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล

2.2 การย้อมสีเชื้อโดยวิธีแกรม (Gram's stain) ดัดแปลง โดย Hucker และ Conn (1923)

สารเคมี

1.) แกรมคริสตัลไวโอเลต (Gram's crystal violet) ประกอบด้วย

สารละลาย A :	คริสตัลไวโอเลต	2.0	กรัม
	เอธานอล (95%)	20.0	มล.
	ละลายคริสตัลไวโอเลต ในเอธานอล		
สารละลาย B :	แอมโมเนียมออกซาเลต	0.8	กรัม
	น้ำกลั่น	80.0	มล.

ละลายแอมโมเนียมออกซาเลต ในน้ำกลั่น ผสมสารละลาย A และ B เข้าด้วยกัน

2.) แกรมไอโอดีน (Gram's iodine) ประกอบด้วย

ไอโอดีนคริสตัล	1.0	กรัม
โปแตสเซียมไอโอไดด์	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	300.0	มล.

ผสมไอโอดีนคริสตัล และโปแตสเซียมไอโอไดด์ในโกร่ง บดให้เข้ากัน ค่อยๆ เติมน้ำกลั่นทีละน้อยจนครบ 300 มล. แล้วผสมให้เข้ากัน

3.) แกรมซัฟฟานิน (Gram's safranin) ประกอบด้วย

ซัฟฟานิน	0.25	กรัม
เอธานอล (95%)	10.00	มล.
น้ำกลั่น	100.00	มล.

ละลายซัฟฟานินใน เอธานอล เติมน้ำกลั่นแล้วผสมให้เข้ากัน กรองผ่านกระดาษกรอง

วิธีการย้อมแกรม

- กระจายเชื้อบนสไลด์ ทำให้แห้งในอากาศแล้วผ่านเปลวไฟเพื่อตรึง (fix) เซลล์
- ย้อมด้วยสีแกรมคริสตัลไวโอเลต 1 นาที
- ล้างด้วยน้ำ
- ย้อมด้วยแกรมไอโอดีน 1 นาที
- ล้างสีออกโดยใช้ 95% เอทานอล สังเกตสีแกรมคริสตัลไวโอเลตที่ถูกชะออกพอเริ่มจางหยุดปฏิกิริยาโดยการจุ่มลงในน้ำ
- ย้อมด้วยสีซัฟฟานิน 30 วินาที ล้างน้ำแล้วซับให้แห้ง
- ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์หัว x100

2.3 การย้อมแฟลกเจลลา

สารเคมี

1.) สีย้อมแฟลกเจลลา

องค์ประกอบ A ประกอบด้วย

เบสิคฟูชซิน (Basic fuchsin)	0.4	กรัม
แอซิดฟูชซิน (Acid fuchsin)	0.2	กรัม
กรดแทนนิค	0.2	กรัม
อะลูมิเนียมแอมโมเนียมซัลเฟต ($Al_2(SO_4)_3.(NH_4)2SO_4.24\ H_2O$	0.5	กรัม

องค์ประกอบ B ประกอบด้วย

95% เอธานอล	2.0	มล.
กลีเซอรอล	0.5	มล.
ทริส บัฟเฟอร์ ที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 7.6	7.5	มล.

นำองค์ประกอบทั้งสองมาผสมกันในหลอดฝาเกลียว เขย่าด้วยเครื่องผสมสารเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ 2,500 รอบต่อนาที 2 นาที แล้ววางทิ้งไว้ 2 นาที ควรเตรียมใหม่ๆ ก่อนใช้

2.) แกรมคริสตัลไวโอเลต (Gram's crystal violet)

วิธีการย้อม

- เตรียมซัสเพนชั่น (Suspension) เชื้อแล้วหยดลงบนสไลด์ และปล่อยให้แห้งในอากาศ
- ย้อมด้วยสีที่เตรียม 2 นาที
- ล้างด้วยน้ำ
- ย้อมด้วยแกรมรมคริสตัลไวโอเลต 1 นาที ล้างด้วยน้ำแล้วซับให้แห้ง
- ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์หัว x100

2.4 สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่ระดับความเข้มข้น 3 % ประกอบด้วย

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)	3.0	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มล.

ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในขวดสีชาในตู้เย็น

2.5 การทดสอบกรดกลูโคนิค

สารเคมี

กรดไฮโดรคลอริค	6.0	นอร์มอล

โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH)	1.1	% w/v ในน้ำกลั่น
ไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์ ($NH_2OH.HCl$)	1.4	% w/v ในเมธานอล

นำโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์ในอัตราส่วน 1:1 มาผสมกันก่อนใช้

วิธีการทดสอบ

- นำอาหารเลี้ยงเชื้อตัวอย่าง 2-3 มล. ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 25 มล.
- เติมกรดไฮโดรคลอริก 0.75 มล.
- ทำให้แห้งบนเพลทให้ความร้อน
- เติมสารละลายผสมระหว่างโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์ 5 มล.
- ตั้งทิ้งไว้ก่อนดูผลเป็นเวลา 10 นาที

2.6 การทดสอบกรดดีไดกลูโคนิค

สารเคมี

เอทธิลอะซิเตท : กรดฟอร์มิก : กรดอะซิติก : น้ำกลั่น ในอัตราส่วน 18 :1 : 3 : 4

สารละลายออร์โทฟีนิลลีนไดอะมีน ทำการเตรียมโดยละลาย ออร์โทฟีนิลลีนไดอะมีน 0.5 กรัม ในน้ำ 3.75 มล. แล้วเติมด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้น 12 นอร์มอล 0.81 มล. ควรเตรียมก่อนใช้

วิธีการทดสอบ

- ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อ 1-2 สัปดาห์
- นำเซลล์ออกโดยการเซนตริฟิวจ์ที่ 11,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที นำส่วนใส (supernatant) 10 ไมโครลิตรมาสปอต (spot) ลงบน Cellulose TLC plastic
- ทำการอีลูท (Elute) 3 ครั้งใน TLC chamber โดยมีเอทธิลอะซิเตท : กรดฟอร์มิก : กรดอะซิติก : น้ำกลั่น ในอัตราส่วน 18 :1 : 3 : 4 เป็นส่วนเคลื่อนที่ (Mobile phase)
- ปล่อยให้แห้งในอากาศอุณหภูมิประมาณ 25 °ซ.
- พ่นด้วย ออร์โทฟีนิลลีนไดอามีน
- ทำให้แห้งในตู้อบอุณหภูมิ 105 °ซ. เป็นเวลา 2-3 นาที
- ดูสีที่ปรากฏบนแผ่น TLC ทั้งภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต และแสงปกติดัง ตารางที่ ก.1

ตารางที่ ก.1 ลักษณะสีที่ปรากฏภายใต้แสงปกติ และรังสีอัลตร้าไวโอเลตบนโครมาโตรแกรม

สารประกอบ	สีภายใต้แสงปกติ		สีภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต	
	ภายหลังการอบ 2-3 นาที	ภายหลังการอบ 16 ชม.	ภายหลังการอบ 2-3 นาที	ภายหลังการอบ 16 ชม.
กลูโคส	เทา (gray)	เทา (gray)	ฟ้า (blue)	น้ำตาลแดง (brown-red)
กรด 2-คีโตกลูโคนิค (2-ketogluconic acid)	เหลือง (yellow)	ม่วง (violet)	เหลืองเรืองแสง (yellow fluorescence)	ฟ้าเรืองแสง (blue fluorescence)
กรด 5-คีโตกลูโคนิค (5-ketogluconic acid)	ฟ้าอ่อน (light-blue)	เขียวฟ้า (blue-green)	ฟ้าเข้ม (dark blue)	เขียว (green)
กรด 2, 5-ไดคีโตกลูโคนิค (2, 5-diketogluconic acid)	เขียว (green)	เหลือง (yellow)	เหลืองเรืองแสง (yellow fluorescence)	เหลืองเรืองแสง (yellow fluorescence)

ที่มา : Gossele และคณะ (1980)

2.7 การเตรียมสารละลายเฟห์ลิง (Fehling's solution)

สารเคมี

คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$)	34.64	กรัม
โซเดียมโปแตสเซียมทาเทรต	173.00	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์	50.00	กรัม

- นำคอปเปอร์ซัลเฟต มาละลายน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 500 มล.
- นำโซเดียมโปแตสเซียมทาเทรตและโซเดียมไฮดรอกไซด์ มาละลายน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 500 มล. นำสารละลายทั้งสองผสมกันในอัตราส่วนที่เท่ากันก่อนนำมาใช้

2.8 การทดสอบการสร้างอะซิติลเมทธิลคาร์บินอลจากแคลเซียมแลคเตท

สารเคมี

แอลฟาแนพทอล	5.0	% ใน 95% เอธานอล
โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์	40.0	กรัม มาละลายในน้ำกลั่น 75

มล. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเติม ครีเอติน 0.3 กรัม แล้วเขย่าให้เข้ากัน

วิธีการทดสอบ

- ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว CY เป็นเวลา 7 วัน ที่ 30 °ซ.
- เติมแอลฟาแนปทอล 0.5 มล. แล้วเขย่าผสม
- เติมโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.5 มล. แล้วเขย่าผสม
- ตั้งทิ้งไว้ 5-10 นาที ถ้าสามารถผลิตสารอะซิติลเมธิลคาร์บินอลได้จะให้เป็นสีชมพูถึงแดง

2.9 การวิเคราะห์ระบบยูบิควิโนนของเชื้อ จาก Yamada และคณะ (1968)

สารเคมี

- คลอโรฟอร์ม (2) : เมธานอล (1)
- อะซิโตน
- เบนซีน
- เอธานอล 95% (5) : เฮกซิลอะซิเตท (3) : น้ำกลั่น (1)
- โปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนต ($KMnO_4$) 0.3% w/v ในน้ำกลั่น
- ยูบิควิโนนชนิด คิว-9 และ คิว-10 (Ubiquinone Q-9 and Q-10)

วิธีการ

- ทำการเลี้ยงเชื้อ เพื่อให้ได้เซลล์ (Intact cell)
- ทำการเซนตริฟิวจ์เพื่อแยกเซลล์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาทีเสียก่อน แยกส่วนที่เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อออก (Supernatant) ส่วนกรณีใช้เซลล์แห้ง จะต้องนำเซลล์ที่ได้มาทำให้แห้ง ด้วยเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dryer)
- นำเซลล์ที่ได้มาสกัดสารยูบิควิโนนด้วย คลอโรฟอร์ม (2) : เมธานอล (1) ปริมาตร 100 มล. โดยใส่ในฟลาสก์ ขนาด 250 มล. แล้วเขย่าบนเครื่องเขย่าแบบหมุน (Rotary shaker) ประมาณ 30 นาที
- กรองเซลล์ที่ผ่านการสกัดสารออก แล้วนำส่วนของตัวทำละลายไปทำให้แห้งโดยใช้เครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิประมาณ 50-60 °ซ.
- ใช้อะซิโตน ปริมาณเล็กน้อยเพื่อละลายสารยูบิควิโนนภายในฟลาสก์แล้วนำไปสปอต (Spot) ลงบนซิลิกาเจล แกลสเพลท (Silica gel glass plate) (20x20 cm, 0.5 mm, E. Merck, silica gel $60F_{254}$, Art 5744) เปรียบเทียบกับสารยูบิควิโนนมาตรฐาน
- นำ TLC ที่สปอตแล้ว develope ใน ที แอล ซี แชมเบอร์ (TLC chamber) โดยใช้ เบนซีนเป็นส่วนเคลื่อนที่
- ทำให้แห้ง แล้วตรวจสอบแถบสีเหลือง (Yellow band) ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ค่า R_f ประมาณ 0.25

- ขูดแถบสีเหลืองออก แล้วละลายในอะซิโตนปริมาตรเล็กน้อยและกรองเอาสารละลายเพื่อทำให้เข้มข้นโดยใช้เครื่องระเหยแบบหมุน
- ทำการทำสอบว่าสารยูบิควิโนนที่ได้เป็นชนิดใด โดยนำตัวอย่างและสารยูบิควิโนนมาตรฐานทั้งชนิด คิว-9 และ คิว-10 มาสปอตลงบน รี เวอร์ส เปเปอร์ เฟส ทินเลย์เยอร์โครมาโตรกราฟี (Reverse-phase paper chromatography เบอร์ 50 ของบริษัท Toyo Roshi ซึ่งได้ผ่านการทำให้ซึมซาบ (Impregnate) ด้วย ซิลิโคน 3% w/v ในคลอโรฟอร์ม)
- นำ TLC ที่สปอตแล้วไป develope ใน ที แอล ซี แชมเบอร์ (TLC chamber) โดยใช้เอธานอล 95% (5) : เอทธิลอะซิเตท (3) : น้ำกลั่น (1) เป็นส่วนเคลื่อนที่
- ทดสอบชนิดของยูบิควิโนนโดยนำแผ่นโครมาโตรกราฟีจุ่มลงในสารละลายโปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.3% เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้เห็นจุดได้ชัดเจนขึ้นแล้วล้างออกด้วยน้ำ แล้วผึ่งให้แห้ง

2.10 การศึกษาลักษณะเซลล์ของเชื้อ ด้วย Scanning electron microscope

สารเคมี

- สารละลายกลูตาราลดีไฮด์ (Glutaraldehyde solution) 5%
- ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) ที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเป็น 6.7 เข้มข้น 0.1 โมลล่า
- สารละลายออสเมียม เททร็อกไซด์ (Osmium tetroxide solution) 1%
- เอธานอล (Ethanol)
- คลอโรฟอร์ม (Chloroform)

เครื่องมือ

- Scanning electron microscope ของ JEOL รุ่น JSM-35

วิธีการทดลอง

- ตัดอาหารวุ้นที่มีเชื้อขึ้นเป็นโคโลนี ขนาด 2x2x2 ลูกบาศก์มิลลิเมตร
- แช่ตัวอย่างในสารละลายกลูตาราลดีไฮด์ 5% ที่อยู่ในฟอสเฟต บัฟเฟอร์ที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเป็น 6.7 เข้มข้น 0.1 โมลล่า
- ล้างตัวอย่างด้วยฟอสเฟต บัฟเฟอร์ 5 ครั้ง แต่ละครั้งทิ้งระยะห่าง 10 นาที
- นำไปกำจัดน้ำออกโดยแช่ใน 10% increnmental ethanol series แต่ละครั้งแช่ตัวอย่างไว้นาน 15 นาที หลังจากนั้นล้างตัวอย่างออกด้วยเอธานอลเข้มข้น 100%
- ล้างตัวอย่างด้วยคลอโรฟอร์ม 3 ครั้ง
- นำตัวอย่างไปทำแห้งโดยวิธี Critical point drying (CPD)
- ฉาบทองหนา 20-30 นม. ด้วยเครื่อง Ion sputter
- ศึกษาพร้อมบันทึกภาพโครงสร้างของตัวอย่างเชื้อด้วยเครื่อง SEM กำลังขยาย 20,000 เท่า

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

ตารางที่ ข.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับเอธานอลใน อาหารเหลว Y (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.1) ของเชื้อรหัส SF 18-1 ที่ 30 °ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
เอธานอล	4	0.5478	975.3661*
Error	5	0.0006	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับเอธานอลใน อาหารเหลว Y (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.1) ของเชื้อรหัส GR 24-2 ที่ 30 °ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
เอธานอล	4	0.7199	724.5012*
Error	5	0.0010	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับเอธานอลใน อาหารเหลว Y (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.1) ของเชื้อรหัส OR 56-1 ที่ 30 °ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
เอธานอล	4	0.6442	621.2943*
Error	5	0.0010	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับเอธานอลใน อาหารเหลว Y (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.1) ของเชื้อรหัส BS 58-2 ที่ 30 °ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
เอธานอล	4	0.4771	233.3027*
Error	5	0.0020	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับเอธานอลใน อาหารเหลว Y (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.1) ของเชื้อรหัส MG 69-2 ที่ 30 ^{0}ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
เอธานอล	4	0.5237	323.2489*
Error	5	0.0016	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับเอธานอลใน อาหารเหลว Y (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.1) ของเชื้อรหัส TISTR 354^{T} ที่ 30 ^{0}ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
เอธานอล	4	0.4357	1,080.6463*
Error	5	0.0004	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับกรดอะซิติก ในอาหารเหลว EY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5) ของเชื้อรหัส SF 18-1 ที่ 30 ^{0}ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
กรดอะซิติก	4	0.2768	145.0542*
Error	5	0.0019	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับกรดอะซิติก ในอาหารเหลว EY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5) ของเชื้อรหัส GR 24-2 ที่ 30 ^{0}ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
กรดอะซิติก	4	0.6467	123.7252*
Error	5	0.0052	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับกรดอะซิติก ในอาหารเหลว EY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5) ของเชื้อรหัส OR 56-1 ที่ 30 °ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
กรดอะซิติก	4	0.1997	12.5348*
Error	5	0.0159	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับกรดอะซิติก ในอาหารเหลว EY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5) ของเชื้อรหัส BS 58-2 ที่ 30 °ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
กรดอะซิติก	4	0.8035	125.9607*
Error	5	0.0064	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับกรดอะซิติก ในอาหารเหลว EY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5) ของเชื้อรหัส MG 69-2 ที่ 30 °ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
กรดอะซิติก	4	0.8034	132.4260*
Error	5	0.0061	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับกรดอะซิติก ในอาหารเหลว EY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5) ของเชื้อรหัส TISTR 354 ที่ 30 °ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
กรดอะซิติก	4	0.3278	167.3534*
Error	5	0.0020	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับ กรดคาซามิโน ในอาหารเหลว EAY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.2) ของเชื้อรหัส SF 18-1 ที่ 30 °ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
กรดคาซามิโน	4	0.5746	353.4279*
Error	10	0.0016	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับ กรดคาซามิโน ในอาหารเหลว EAY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.2) ของเชื้อรหัส GR 24-2 ที่ 30 °ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
กรดคาซามิโน	4	0.4046	196.4126*
Error	10	0.0021	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับ กรดคาซามิโน ในอาหารเหลว EAY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.2) ของเชื้อรหัส OR 56-1 ที่ 30 °ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
กรดคาซามิโน	4	0.4159	63.5407*
Error	5	0.0065	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับ กรดคาซามิโน ในอาหารเหลว EAY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.2) ของเชื้อรหัส BS 58-2 ที่ 30 °ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
กรดคาซามิโน	4	0.4906	134.9827*
Error	5	0.0036	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับ กรดคาซามิโน ในอาหารเหลว EAY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.2) ของเชื้อรหัส MG 69-2 ที่ 30 °ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
กรดคาซามิโน	4	0.7785	83.3455*
Error	5	0.0093	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับ กรดคาซามิโน ในอาหารเหลว EAY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.2) ของเชื้อรหัส TISTR 354^{T} ที่ 30 °ซ. ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
กรดคาซามิโน	4	0.3043	24.1929*
Error	5	0.0126	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักในอาหารเหลว EACY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.3) ของเชื้อรหัส SF 18-1 ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
อุณหภูมิ	2	4.6170	2,583.9897*
Error	6	0.0018	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักในอาหารเหลว EACY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.3) ของเชื้อรหัส GR 24-2 ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
อุณหภูมิ	2	6.8520	2,574.125*
Error	6	0.0027	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักในอาหารเหลว EACY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.3) ของเชื้อรหัส OR 56-1 ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
อุณหภูมิ	2	0.3933	62.4303*
Error	3	0.0063	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.22 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักในอาหารเหลว EACY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.3) ของเชื้อรหัส BS 58-2 ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
อุณหภูมิ	2	1.8883	1,340.4936*
Error	3	0.0014	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักในอาหารเหลว EACY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.3) ของเชื้อรหัส MG 69-2 ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
อุณหภูมิ	2	4.8997	173.1558*
Error	3	0.0283	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.24 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักในอาหารเหลว EACY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.3) ของเชื้อรหัส TISTR 354^{T} ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
อุณหภูมิ	2	2.7236	200.5006*
Error	3	0.0136	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรด (กรัม/100 มล.) ต่อการแปรระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักในอาหารเหลว EACY (ภาคผนวก ก ข้อ 1.5.3) ของเชื้อรหัส TISTR 1056^{T} ในวันที่ 3 ของการหมัก

SOV	df	MS	F
อุณหภูมิ	2	2.2600	142.7445*
Error	3	0.0158	-----

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.26 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนาของชั้นเซลลูโลส (มม.) ในวันที่ 3, 6 ,9 , 12 และ 14 ของการหมักในอาหารเหลวสูตรน้ำมะพร้าว (ภาคผนวก ก ข้อ 1.7) ของเชื้อรหัส BB 150-1, MW 151-1, JF 152-1, BS 153-1, AP 154-1, LD 155-1 และ TISTR 893

SOV	df	MS					F				
		วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 14	วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 14
เซลลูโลสจากแต่ละเชื้อ	6	0.0294	0.2169	0.138	0.3848	1.3178	0.4839^{ns}	1.7321^{ns}	0.4638^{ns}	5.2437*	7.9850*
Error	14	0.0607	0.1252	0.2975	0.0734	0.1650	-----	-----	-----	-----	-----

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P≤0.05)

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ ข.27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักเปียก น้ำหนักแห้ง (กรัม) และ แรงสูงสุดที่เจาะทะลุผ่าน (N.) ของชั้นเซลลูโลส ภายหลังจากการหมัก 14 วันในอาหารเหลวสูตรน้ำมะพร้าว (ภาคผนวก ก ข้อ 1.7) ของเชื้อรหัส BB 150-1, MW 151-1, JF 152-1, BS 153-1, AP 154-1, LD 155-1 และ TISTR 893

SOV	df	MS			F		
		น้ำหนักเปียก	น้ำหนักแห้ง	แรงสูงสุด	น้ำหนักเปียก	น้ำหนักแห้ง	แรงสูงสุด
เซลลูโลสจากแต่ละเชื้อ	6	687.5157	2.0554	16.0991	10.6358*	8.5404*	0.7597^{ns}
Error	14	64.6599	0.2407	21.1926	-----	-----	-----

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P≤0.05)

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ประวัติผู้เขียน

นายอภิสิทธิ์ ศรีอรุณเรืองชัย เกิดเมื่อวันที่ 5 มิถุนายน 2517 ได้รับปริญญาวิทยาศาตรบัณฑิต เกียรตินิยมอันดับ 1 สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ในปีการศึกษา 2539 เข้าเรียนต่อในหลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีเดียวกัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย