เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

กฤษดา สมิตะสิริ, "บักเตรีชอบเกลือในการหมักน้ำปลา," วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2529.

ชิกิโอ มูรายาม่า, โดมิเนดอร์ ล. คาลเวซ์, ประภาส นิตยจินต์, "ผลการค้นคว้าในการทำน้ำปลา," วารสารประมง, 15(4), 381-393, 2505.

ประเสริฐ กองทิพย์, "การทดลองใช้โบรเมลินช่วยในการทำน้ำปลา," วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2508.

ประเสริฐ สายสิทธิ์, "กลิ่นและรสของน้ำปลา," วารสารประมง, 467-473, 2511.

ปราโมทย์ สุวรรณศาสตร์, "เปรียบเทียบผลการใช้เอนไซม์เทียมและเอนไซม์จากยางมะละกอในการทำน้ำปลา," วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2507.

สาโรจน์ ประเสริฐศิริวัฒน์, "การเปลี่ยนแปลงของประชากรแบคทีเรีย และชีวเคมีในการหมักน้ำปลา," วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2531.

สำรอง เผ่าหอม, "ผลการใช้เอนไซม์เทียมในการทำน้ำปลา," วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2507.

สิทธินันธุ์ ไชยนันทน์, "การศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติบางประการของเชื้อบักเตรีที่แยกได้จากน้ำปลาไทย ซึ่งผลิตจากปลาน้ำจืดและปลาน้ำเค็ม," วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2521.

สุนิศ สาครมงคล, นิพัฒน์ พันพาไพร, โกมุท โกมลเปลิน, เชาว์ สุวรรณสถิตย์, วิไล เทวกุล ณ อยุธยา และวิเชียร สาครมงคล, "การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับการทดลองใช้เอนไซม์ช่วยในการทำน้ำปลาจากปลากระตัก และปลาหมอเทศ," กรมวิทยาศาสตร์, กรุงเทพฯ, 2509.

อำนวย โชติญาณวงษ์, นงนุช รักสกุลไทย, บังอร เชื้อโพธิ์หัก, มัทนา แสงจินดาวงษ์ และมยุรี จัยวัฒน์, "การเร่งปฏิกิริยาการเกิดน้ำปลา," วารสารประมง, 36(6), 536-537, 2526.

ภาษาอังกฤษ

Amano, K., "Influence of Fermentation on the Nutritive Value of Fish with Special Reference to Fermented Fish Products of Southeast Asia," Fish in Nutrition (Heen, E. and R. Kreuzer, eds.), pp. 180-200, Fishing News (Books) Ltd., London, 1962.

Anderson, H., "The reddening of salted hides and fish," Appl. Microbiol., 2, 64-69, 1954.

Aoyagi, T. and H. Umezawa, "Structures and activities of protease inhibitors of microbial origin," Protease and Biological Control, (Reich, E., D.B. Rifkin and E. Shaw, esd.), vol 2, p. 429, Cold Spring Harbor Conf. on Cell Proliferation, Cold Spring Harbor, N.Y., 1975.

Arnon, R., "Papain," Methods in Enzymology, (Perlmann, G.E., ed.), vol XIX, p. 226-243, Academic Press, New York, 1970.

Ball, A.K. and E.F. Jansen, "Stoichiometric inhibition of chymotrypsin," Adv. Enzymol., 13, 321, 1952.

Barrett, A.J., "The Classes of Proteolytic Enzymes," Plant Proteolytic Enzymes (Dalling, T.M., ed.), vol I, p. 2-16, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 1986.

Baxter, R.M. and N.E. Gibbons, "The Cysteine desulfhydrase of Pseudomonas salinaria," Can.J. Microbiol., 3, 461-465, 1957.

Bayley, S.T. and Kushner D.J. "The Ribosomes of the Extremely Halophilic Bacterium, Halobacterium cutirubrum," J. Mol. Biol., 9, 654-669, 1964.

Belew, M. and J. Porath, "Extracellular Proteinase from Penicillium notatum," Methods in Enzymology, (Perlmann, G.E., ed.), vol XIX, p. 576-580, Academic Press, New York, 1970.

Bidochka, M.J. and G.G. Khachatourians, "Regulation of extracellular protease in the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana," Exp. Mycol. 12(2), 161-168, 1988.

Brock, T.D., Biology of Microbiology (McElroy, W.D. and C.P. Swanson), p. 719-722, Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 2nd ed., 1974.

Bronke, B.J. and J.M. Hammel, "Gelatin as a complete, endogenous source of calcium for Serratia marcescens protease activity," J. Microbiol. Methods, 6(5), 253-256, 1987.

Brud, R.S., E.G.D. Murray and N.R. Smith (eds.), Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 7th ed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1957.

Buchanan, R.E. and N.E. Gibbons (eds.) "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology," 8th ed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1974.

Cazzulo, J.J. and M.C. Videl, "Effect of monovalent cations on the malic emzyme from the extreme halophilic, Halobacterium cutirubrum," J. Bacteriol., 109, 437-439, 1972.

Cho, K.Y., C.H. Doy and E.H. Mercer, "Ultrastructure of the Obligate Halophilic Bacterium Halobacterium halobium," J. Bacteriol., 94(1), 196-201, 1967.

Colwell, R.R., C.D. Litchfield, R.H. Vreeland and N.E. Gibbons, "Taxonomic studies of halophilic bacteria," Paper submitted to International Journal of Systemic Bacteriology, April, 1977.

Difco Manual : Dehydrated Culture Media and Reagent for Microbiology 10th ed. Difco Laboratory, 1984.

Dundas, I.D., V.R. Srinivasan and H.O. Halvorson, "A Chemically defined medium for Halobacterium salinarium strain 1," Can. J. Microbiol., 9, 619-624, 1963.

Dussault, H.P., "An Improved Technique for Staining Red Halophilic bacteria," J. Bacteriol., 70, 484-485, 1955.

Fahrney, D.E. and A.M. Gold, "Sulfonyl fluorides as inhibitors of esterases. I Reaction rates with acetylcholine esterase, -chymotrypsin and trypsin," J. Am. Chem. Soc., 85, 997, 1963.

Fruton, J.S., "The mechanism of the catalytic action of pepsin and related acid protease," Adv. Enzymol., 44, 1, 1976.

Gallop, P.M. and S. Seifter, "Preparation and Properties of Soluble Collagens," Methods in Enzymology, (Colowick, S.P. and N.O. Kaplan, eds.), vol VI, pp. 635-641, Academic Press, New York and London, 1963.

Gibbons, N.E., "The effect of salt concentration on the biochemical reactions of some halophilic bacteria," Can. J. Microbiol., 3, 249-255, 1957.

Gochnauer, M.B. and D.J. Kushner, "Growth and nutrition of extremely halophilic bacteria," Can. J. Microbiol., 15, 1157-1165, 1969.

Hale, M.B., "Relative activities of commercially available enzymes in the hydrolysis of fish protein," Food Technology, 23(1), 107-110, 1969.

Hall, L.A., "Protein hydrolysate flavor ingredients for foods," Food Ind., 18(5), 95-98, 1946.

Harrison, F.C. and M.E. Kennedy, "The red discoloration of cured cod fish,' Trans. Royal. Soc. Canad., Ser III, 16, p. 101-152, 1922. cited by Anderson (1954)

Hill, R.L., "Hydrolysis of Proteins," Advances in Protein Chemistry, vol. 20, 37, Academic Press, New York and London, 1965.

Hochstein, L.I. and B.P. Dalton, "Salt Specificity of a Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide Oxidase Prepared from a Halobacterium salinarium," J.Bacteriol., 95, 37-42, 1968.

Holmes, P.K., I.D. Dundas and H.O. Halvorson, "Halophilic enzymes in Cell-Free Extract of Halobacterium salinarium, J. Bacteriol., 90, 1159-1160, 1965.

Horikoshi, K. and Akiba, T., Alkalophilic Microorganisms, p. 93-142, Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 1982.

Ingram, M. and A.G. Kitchell, "Salt as a preservative for foods," J. Food Technol,, 2, 1-15, 1967.

Kaneda, T. and Y. Saito, "Soy Sauce Manufacture from Raw Fish Meat by Hydrolysis of Protein," Bull. Jap. Soc. Sci. Fish, 13, 272, 1948.

Kole, M.M., I. Draper and D.F. Gerson, "Production of Protease by Bacillus subtilis using simultaneous control of glucose and ammonium concentrations," J. Chem. Technol. Biotechnol., 41(3), 197-206, 1988.

Kushner, D.J., "Halophilic bacteria," Adv. Appl. Microbiol., 10, 73-99, 1968.

Kushner, D.J. and S.T. Bayley, "The effect of pH on surface structure and morphology of the extreme halophile, Halobacterium cutirubrum," Can. J. Microbiol., 9, 53, 1963.

Larsen, H., "Halophilism," The Bacteria, A treatise on Structure and function, vol IV: The physiology of growth, p. 297-342, Academic Press, New York, 1962.

Larsen, H., Bergey 's Manual of Systematic Bacteriology, (Holt, K.J.G., ed.), vol 1, p. 261-267, Williams & Wilkins, Baltimore, USA, 1984.

Le Rudulier, D., A.R. Strom, A.M. Dandekar, L.T. Smith, and R.C. Valentine, "Molecular Biology of Osmoregulation," Science, 224, 1064-1068, 1984.

Liener, I.E. and B. Friedenson, "Ficin," Methods in Enzymology, (Perlmann, G.E. ed.), vol XIX, p. 261-272, Academic Press, New York, 1970.

Longo, A., J.R. Snay and M.M. Ataai, "Calcium requirements of residual protease in Bacillus subtilis DB 104," Biotechnol. Lett., 10(9), 649-654, 1988.

McIver, R.C., R.J. Brodes and G.A. Reineccins, "Flavor of fermented Fish Sauce," J. Agric, Food, Chem., 30, 1017-1020, 1982.

Murachi, T., "Bromelain Enzymes," Methods in Enzymology, (Perlmann, G.E. ed.), vol XIX, p. 273-284, Academic Press, New York 1970.

Nakagawa, Y., "Alkaline Proteinase from Aspergillus," Methods in Enzymology, (Perlmann, G.E., ed.), vol XIX, p. 581-590, Academic Press, New York, 1970.

Noel, R., Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, (Holt, K.J.G., ed.), vol 1, Williams & Wilkins, Baltimore, USA, 1984.

Norberg, P. and B.V. Hofsten, "Proteolytic enzymes from extremely halophilic bacteria," J. Gen. Microbiol., 55, 251-256, 1969.

Norberg, P. and B.V. Hofsten, "Chromatography of a halophilic enzyme on hydroxylapatite in 3.4 M sodium chloride," Biochem. Biophys. Acta., 220, 132-133, 1970.

Onishi, H., M.E. McCance and N.E. Gibbons, "A synthetic medium for extremely halophilic bacteria," Can. J. Microbiol., 11, 365-373, 1965.

Ooshiro, Z., T. Ok, H. Une, S. Hayashi and T. Itakura, "Study on Use of Commercial Proteolytic Enzymes in producing of Fish Sauce," Mem. Fac. Fich Kagoshima Univ., 30, 383-394, 1981.

Ottensen, M. and J, Svendson, "The Subtilisins," Methods in Enzymology, (Perlmann, G.E., ed.), vol XIX, p. 199-214, Academic Press, New York, 1970.

Perlamann, G.E. and L. Lorand (eds), "Proteolytic Enzymes," Methods in Enzymology, vol XIX, Academic Press, New York and London, 1970.

Rederson, J.W. and B.E. Barker, "Protein Hydrolysis II. Use of Sulphuric Acid for the Control of Humin Formation and Loss of Tryptophan During Acid Hydrolysis," J. Sci. Food Agric., 5, 549-556, 1954.

Reed, G., Enzymes in Food Processing., p. 123-126, Academic Press, New York and London, 1966.

Reiji, Y., M. Sato, N. Tsuchiya and S. Ikeda, "Production of Fish Sauce from Sardine by Utilization of its Visceral Enzymes," Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish, 49(3), 463-470, 1983.

Saisithi, P., "Studies on the Origins and Development of the Typical Flavor and Aroma of Thai Fish Sauce," Ph.D. thesis, Univ. of Washington, 1967.

Santinanalerts, P., "Roles of Microorganisms in the Fermentation of Nam Pla in Thailand : Relationship of the Bacteria isolated from Nam Pla Produced from Different Geographical Localities in Thailand," MS., Microbiology Faculty of Graduate Studies of Mahidol University, 1979.

Sehgal, S.N. and N.E. Gibbons, "Effect of some metal ions on the Growth of Halobacterium cutirubrum," Can. J. Microbiol., 6, 165-169, 1960.

Sen, D.P., N.V. Sripathy, N.L. Lahiry, A. Sreenivasan and V. Subrahmanyan, "Fish hydrolysates I, Rate of hydrolysis of fish flesh with papain," Food Technol., 16(5), 138, 1962.

Shewan, J.M., "The microbiology of sea water fish," Fish as Food, (Borgstrom, G.), vol I, p. 487-560, Academic Press, New York, 1961.

The Encyclopedia of Biochemistry, (Williams, R.J. and E.M. lansford, eds.), p. 697-702, Jr. Reinhold Publishing corporation, New York, 1967.

Thongthia, C. and M. Siriwongpairat, "Quantitation of Microorganisms in Fermenting Nam Pla," Symposium on Science and Technology for the Development of Northern Thailand, Chiang Mai, Abstract, 26, 86, 1978.

Uyenco, V., I. Lawas, P.R. Briones and R.S. Tarue, "Mechanics of Bagoong (Fish Paste) and Patis (Fish Sauce) Processing," Proc. Indo-Pacif, Fish, Coun., 4, 210-222, 1953.

Varavijja, P.S., Markol and R. Subhanka,"Preparation of Fish Sauce by a Quick Process," Thai Science Bulletin, 8(1), 6-9, 1957.

Vardhanabhuti, S., P. Somchai and J. Sukhumavasi, "The use of papain in biological quick process for fish sauce production" Report No. 5 on Reserch Project No. 31/4 ASRCT Bangkok (mimeographed), 1968.

Visco, S., and A. Fratoni, "Microbiological Process and the Penetration of Fish Sauce," Symposium Substances Entrangeres Aliments 6th, p. 505-525, Madrid, 1963.

Volcani, E., Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, (Brud,R.S., E.G.D. Murray, and N.R. Smith, eds.), 7th ed., Williams & Wilkins, Baltimore, USA, 1957.

Voskresensky, N.A., "Salting of herring," Fish as Food (Borgstrom, G., ed.), Vol III, p. 107-131, Academic Press, New York and London, 1965.

Wagner, F.W., "Assessment of Methodology for the Purification, Characterization and Measurement of Proteases," Plant Proteolytic Enzymes (Dalling, T.M., ed.), vol I, p. 17-40, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 1986.

Ward, O.P., "Proteinases," Microbial Enzymes and Biotechnology, (Fogarty, W.M., ed.), p. 251-317, Applied Science Publishers, London and New York, 1983.

Williams, R.J. and E.M. Lansford (eds.), "The Encyclopedia of Biochemistry," p. 697-702, Jr. Reinhold Publishing Corparation, New York, 1967.

Yasunobu, K.T. and J. McConn, "Bacillus subtilis Neutral Protease," Methods in Enzymology, (Perlmann, G.E., ed.), vol XIX, p. 599-575, Academic Press, New York, 1970.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

1. มีเดียม 73 (Norberg & Hofsten, 1969)

ผงสกัดจากยีสต์	1.0	กรัม
เจลลาทิน	10.0	กรัม
วุ้น (Bacto agar)	16.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	10.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	ตามต้องการ	
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2. มีเดียม 73 (ดัดแปลงสำหรับใช้ในงานวิจัยนี้)

ผงสกัดจากยีสต์	1.0	กรัม
Skim milk	10.0	กรัม
วุ้น (Bacto agar)	16.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	10.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

3. Tryptone-yeast extract-salt medium (Larsen, 1984)

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	2.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม

แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์	5.0	กรัม
ทริพโตน (Tryptone)	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

4. Complex medium of Sehgal and Gibbons (Sehgal and Gibbons, 1960

กรดแคสอะมิโน (Casamino acid)	7.5	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์	10.0	กรัม
โซเดียมซิเตรต (Sodium citrate)	3.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	2.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	20.0	กรัม
เฟอร์รัสคลอไรด์ ($FeCl_2$)	0.023	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

5. Complex medium of Dundas (Dundas et al, 1963)

โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2.6H_2O$)	5.0	กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	5.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์	10.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	6.8	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

6. Halobacterium medium broth (HMB) (สาโรจน์ ประเสริฐศิริวัตน์, 2531)

สารละลาย ก :

ผงสกัดจากยีสต์	10.0	กรัม
แบคโตทริพโตน (Bacto tryptone)	2.5	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.0	

สารละลาย ข :

โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	10.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
น้ำกลั่น	700.0	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อสารละลาย ก และสารละลาย ข แยกกันที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที แล้วค่อยนำมาผสมกันโดยวิธีปลอดเชื้อ (aseptic technique)

7. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดลองข้อ 8.1

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	10.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
เจลลาทิน		
2.5 กรัม, 5.0 กรัม, 10.0 กรัม หรือ	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

8. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลองข้อ 8.2.1

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	10.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
เจลลาทิน	10.0	กรัม

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กรดแคสอะมิโน	1.0	กรัม หรือ
ผงสกัดจากยีสต์	1.0	กรัม หรือ
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

9. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดลองข้อ 8.2.2

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	10.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
เจลลาทิน (Gelatin)	10.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์ 1.0, 5.0 หรือ	10.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

10. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลองข้อ 8.2.3

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	10.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
เจลลาทิน	10.0	กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) 1.0, 5.0, หรือ	10.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

11. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลองข้อ 8.2.4

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	10.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
เจลลาทิน	10.0	กรัม
กรดแคสอะมิโน	1.0, 5.0, หรือ 10.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

12. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลองข้อ 8.2.5

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	10.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
เจลลาทิน	10.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์	0.5	กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	1.0 หรือ 5.0 หรือ 10.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

13. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลองข้อ 8.2.6

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	10.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
เจลลาทิน	10.0	กรัม
กรดแคสอะมิโน	0.5	กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	1.0 หรือ 5.0 หรือ 10	กรัม

น้ำกลั่น 1.0 ลิตร

ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 7.0

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

14. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดลองข้อ 8.3.1

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	10.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
เจลลาทิน (Gelatin)	5.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์ 1.0, 2.0 หรือ	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 7.0

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

15. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลองข้อ 8.3.2

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	10.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
เจลลาทิน (Gelatin)	5.0	กรัม
กรดแคสอะมิโน 0.5, 1.0, 2.0 หรือ	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 7.0

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

16. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลองข้อ 8.3.3

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	10.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม

แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)		0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)		250.0	กรัม
เจลลาทิน		5.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์		0.5	กรัม
แอมโมเนียคลอไรด์ (NH_4Cl)	0.5 หรือ	1.0	กรัม
น้ำกลั่น		1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่		7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

17. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลองข้อ 8.3.4

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)		10.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)		5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)		0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)		250.0	กรัม
เจลลาทิน		5.0	กรัม
กรดแคสอะมิโน		0.5	กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	0.5 หรือ	1.0	กรัม
น้ำกลั่น		1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่		7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

18. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดลองข้อ 8.4.1

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)		10.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)		5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)		0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)		250.0	กรัม
เจลลาทิน		2.5	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์	1.0, 2.0 หรือ	5.0	กรัม
น้ำกลั่น		1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่		7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15

ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

19. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลองข้อ 8.4.2

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)		10.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)		5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)		0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)		250.0	กรัม
เจลลาทิน		2.5	กรัม
กรดแคสอะมิโน	1.0, 2.0 หรือ	5.0	กรัม
น้ำกลั่น		1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่		7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

20. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลองข้อ 8.5

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)		10.0	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)		5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)		0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)		250.0	กรัม
กลูโคส (Glucose)		10.0	กรัม
กรดแคสอะมิโน		10.0	กรัม หรือ
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)		10.0	กรัม หรือ
ผงสกัดจากยีสต์		1.0	กรัม
น้ำกลั่น		1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่		7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

21. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดลองข้อ 9.1.1

เจลลาทิน	10.0	กรัม
กรดแคสอะมิโน	0.5	กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	0.5	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)	0.2	กรัม

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)
0.0, 5.0, 10.0 หรือ 15.0 กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 250.0 กรัม
น้ำกลั่น 1.0 ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 7.0
ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

22. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดลองข้อ 9.1.2

เจลลาติน 10.0 กรัม
กรดแคสอะมิโน 0.5 กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) 0.5 กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$) 0.2 กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl) 2.5 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)
0.0, 5.0, 10.0 หรือ 15.0 กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 250.0 กรัม
น้ำกลั่น 1.0 ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 7.0
ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

23. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดลองข้อ 9.1.3

เจลลาติน 10.0 กรัม
กรดแคสอะมิโน 0.5 กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) 0.5 กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$) 0.2 กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl) 5.0 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)
0.0, 5.0, 10.0 หรือ 15.0 กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 250.0 กรัม
น้ำกลั่น 1.0 ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 7.0

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

24. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดลองข้อ 9.1.4

เจลลาทิน	10.0	กรัม
กรดแคสอะมิโน	0.5	กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	0.5	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)	0.2	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	7.5	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)		
	0.0, 5.0, 10.0 หรือ 15.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

25. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดลองข้อ 9.2

เจลลาทิน	10.0	กรัม
กรดแคสอะมิโน	0.5	กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	0.5	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)		
	0.0, 0.1, 0.2 หรือ 0.4	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.0	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

26. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดลองข้อ 10

เจลลาทิน	10.0	กรัม
กรดแคสอะมิโน	0.5	กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	0.5	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.H_2O$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 หรือ 8.0 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

27. Motility test medium (สาโรจน์ ประเสริฐศิริวัฒน์, 2531)

แบคโตทริพโตน (Bacto tryptone)	10.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	250.0	กรัม
วุ้น (Bacto agar)	5.0	กรัม
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.2	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

28. Urea broth

ใช้อาหารสำเร็จรูป Urea broth medium ของ Difco ซึ่งประกอบด้วย

ผงสกัดจากยีสต์	0.1	กรัม
โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	9.1	กรัม
ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	9.5	กรัม
ยูเรีย (urea),Difco	20.0	กรัม
แบคโตฟีนอลเรด (Bacto phenol red)	0.01	กรัม
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	6.8	

โดยชั่งมา 38.7 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร เติมโซเดียมคลอไรด์ให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปราศจากเชื้อโดยใช้ Millipore filter

29. Phenol red broth base

ใช้อาหารสำเร็จรูป Phenol red broth base medium ของ Difco ซึ่งประกอบด้วย

แบคโตบีฟเอกซ์แทรก (Bacto beef extract)	1.0	กรัม
โปรติโอสเปปโตน (proteose peptone)	10.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
ฟีนอลเรด (phenol red)	0.018	กรัม

โดยชั่งมา 16 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร เติมโซเดียมคลอไรด์ให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 7.4 หลังจากนั้นเติม 1 เปอร์เซ็นต์ ของคาร์โบไฮเดรทที่ต้องการทดสอบ หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อให้นำมาแช่น้ำเย็นทันที เพื่อป้องกันน้ำตาลแตกตัว

30. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการสร้างน้ำย่อยไขมัน

ส่วนประกอบเหมือน มีเดียม 73 นึ่งฆ่าเชื้อ Tween 80 จำนวน 80.0 มิลลิลิตร แยกต่างหากแล้วนำมาผสมภายหลังโดยใช้วิธีปลอดเชื้อ

31. Triple sugar iron agar

ใช้อาหารสำเร็จรูป Triple sugar iron agar ของ Difco ซึ่งประกอบด้วย

แบคโตบีฟเอกซ์แทรก (Bacto beef extract)	3.0	กรัม
แบคโตยีสต์เอกซ์แทรก (Bacto yeast extract)	3.0	กรัม
แบคโตเปปโตน (Bacto peptone)	15.0	กรัม
โปรติโอสเปปโตน (proteose peptone),Difco	5.0	กรัม
แบคโตแลคโตส (Bacto lactose)	10.0	กรัม
แบคโตแซคคาร์โรส (Bacto saccharose)	10.0	กรัม
แบคโตเดกซ์โตรส (Bacto dextrose)	1.0	กรัม
เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5.0	กรัม
โซเดียมไธโอซัลเฟต	0.3	กรัม
วุ้น (Bacto agar)	12.0	กรัม
แบคโตฟีนอลเรด (Bacto phenol red)	0.024	กรัม
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.4 ± 0.2	

ภาคผนวก ข

สีย้อมและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. 1.0 เปอร์เซ็นต์เคซีอีนใน 0.1 โมลาร์ทริชบัฟเฟอร์ pH 8.0 ซึ่งมีโซเดียมคลอไรด์ 15 เปอร์เซ็นต์

1.1 0.1 โมลาร์ทริชบัฟเฟอร์ pH 8.0

ทริช-เบส (Tris-base)	12.11	กรัม
น้ำกลั่น	900.00	มิลลิลิตร

ปรับ pH ให้เป็น 8.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร

1.2 ชั่งโซเดียมคลอไรด์ 150 กรัม ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 1 ลิตร เติมสารละลายข้อ 1.1 ให้ครบ 1 ลิตร

1.3 ชั่งเคซีอีน 1 กรัมใส่ในสารละลายข้อ 1.2 ปริมาตร 100.0 มิลลิลิตร กวนด้วยแท่งแม่เหล็กจนได้สารละลายลักษณะคล้ายแป้งน้ำ

2. 10 เปอร์เซ็นต์กรดไตรคลอโรอะซิติค

กรดไตรคลอโรอะซิติค (Trichloroacetic acid)	10.0	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

ละลายให้เข้ากัน เก็บในขวดสีน้ำตาล

3. สารละลายที่ใช้ในการหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีของ Lowry

รีเอเจนต์ A :	โซเดียมคาร์บอนเนต (Na_2CO_3)	20.0	กรัม
	โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	4.0	กรัม
	โซเดียมโปแตสเซียมทาร์เทรท (Sodium potassium tartrate)	0.2	กรัม
	น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
รีเอเจนต์ B :	คัปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)	5.0	กรัม
	น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

รีเอเจนต์ C : ผสมรีเอเจนต์ A 50 มิลลิลิตร กับรีเอเจนต์ B 1 มิลลิลิตร (ผสมก่อนใช้)

รีเอเจนต์ D : ผสม Folin-Ciocalteu's Phenol reagent 1 ส่วนกับน้ำกลั่น 1 ส่วน (ผสมก่อนใช้)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โดยชั่งมา 6.5 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร เติมโซเดียมคลอไรด์ให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 7.4 นึ่งฆ่าเชื้อตามวิธีดังกล่าวมาแล้ว

32. Simmon citrate agar

ใช้อาหารสำเร็จรูป Simmon citrate agar ของ Difco ซึ่งประกอบด้วย

แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NH_4H_2PO_4$)	1.0	กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	1.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
โซเดียมซิเตรท (Na-citrate)	2.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.2	กรัม
วุ้น (Bacto agar)	15.0	กรัม
บรอมไธมอลบลู (Bromthymol blue)	0.08	กรัม

โดยชั่ง 24.2 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร เติมโซเดียมคลอไรด์ให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 6.9 นึ่งฆ่าเชื้อตามวิธีดังกล่าวด้วย

33. Thioglycolate medium

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco ซึ่งประกอบด้วย

แบคโตคาซิโตน (Bacto casitone)	15.0	กรัม
แบคโตยีสต์เอกซ์แตรก (Bacto yeast extract)	5.0	กรัม
แบคโตเดกซ์โตรส (Bacto dextrose)	5.5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	2.5	กรัม
แอลซิสทีน (L-cystine), Difco	0.5	กรัม
โซเดียมไทโอไกลโคเลท (Na-thioglycolate)	0.5	กรัม
วุ้น (Bacto agar)	0.75	กรัม
รีซาซูริน (Rezazurin)	0.001	กรัม

โดยชั่ง 20.8 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร โดยเติมวุ้นลงไปอีก 12 กรัม และเติมโซเดียมคลอไรด์ ให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 7.1 นึ่งฆ่าเชื้อตามวิธีดังกล่าวมาแล้ว

4. สารที่ใช้ในการทดลองข้อ 12

4.1 1.0 เปอร์เซ็นต์เคซีอีนใน 0.1 โมลาร์ อะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 6.0 ซึ่งมีโซเดียมคลอไรด์ 15 เปอร์เซ็นต์

4.1.1 0.1 โมลาร์อะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 6.0

โซเดียมอะซิเตท	8.203	กรัม
น้ำกลั่น	900.0	มิลลิลิตร

ปรับ pH เป็น 6.0 ด้วย กรดอะซิติค (acetic acid) จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร

4.1.2 ชั่งโซเดียมคลอไรด์ 150 กรัมใส่ในสารละลายข้อ 4.1.1 ให้ครบ 1 ลิตร

4.1.3 ชั่งเคซีอีน 1 กรัมใส่ในสารละลายข้อ 4.1.2 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร กวนด้วยแท่งแม่เหล็กจนได้สารละลายลักษณะคล้ายแป้งน้ำ

4.2 1.0 เปอร์เซ็นต์เคซีอีนใน 0.1 โมลาร์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 ซึ่งมีโซเดียมคลอไรด์ 15 เปอร์เซ็นต์

4.2.1 0.1 โมลาร์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0

สารละลาย ก : โซเดียมฟอสเฟตโมโนเบสิก

($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$)	27.6	กรัม
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	1.0	ลิตร

สารละลาย ข : โซเดียมฟอสเฟตไดเบสิก

(Na_2HPO_4)	28.4	กรัม
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	1.0	ลิตร

ผสมสารละลาย ก	390	มิลลิลิตร
สารละลาย ข	610	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

4.2.2 ชั่งโซเดียมคลอไรด์ 150 กรัมใส่ใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร แล้วเติมสารละลายข้อ 4.2.1 ให้ครบ 1 ลิตร

4.2.3 ชั่งเคซีอีน 1 กรัมใส่ในสาระลายข้อ 4.2.2 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร กวนด้วยแท่งแม่เหล็กจนได้สารละลายคล้ายแป้งน้ำ

4.3 1.0 เปอร์เซ็นต์เคซีอีนใน 0.1 โมลาร์ทริชบัฟเฟอร์ pH 9.0 ซึ่งมีโซเดียมคลอไรด์ 15 เปอร์เซ็นต์ วิธีเตรียมหมือนข้อ 1 แต่ปรับ pH เป็น 9.0

5. แอมโมเนียมออกซาเลทคริสตอลไวโอเลต (Ammonium oxalate crystal violate)

คริสตอลไวโอเลต (Crystal violate) 2.0 กรัม
เอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ (Ethanol 95%) 20.0 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งสองให้เข้ากันแล้วเติมสารละลายแอมโมเนียมออกซาเลต (Ammonium oxalate) 1 เปอร์เซ็นต์ ลงไป 80.0 มิลลิลิตร

6. แกรมไอโอดีน (Gram's Iodine)

โปตัสเซียมไอโอไดด์ (KI)	2.0	กรัม
คริสตอลไอโอดีน (Crystal Iodine)	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	300.0	มิลลิลิตร

ผสมคริสตอลไอโอดีน และโปตัสเซียมไอโอไดด์ ลงไปในโกร่ง (Mortar) และบดให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำไปละลายในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีน้ำตาล

7. Ziehl-Neelsen's carbofuchsin stain

เบซิคฟุคซิน (basic fuchsin)	0.3	กรัม
เอทธานอล (ethalnol) 95 เปอร์เซ็นต์	10.0	มิลลิลิตร
ฟีนอลคริสตอล (phenol crystals)	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	95.0	มิลลิลิตร

ละลายเบสิคฟุกซิน ด้วยเอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และละลายฟีนอลด้วยน้ำกลั่น จึงนำสารละลายทั้งสองมาผสมกัน

8. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) 5 เปอร์เซ็นต์

สาละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์	16.67	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	83.3	มิลลิลิตร

9. Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride solution

tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 15 นาที ก่อนนำไปใช้ เตรียมก่อนใช้ทุกครั้ง

10. สารละลายที่ทดสอบไนไตรท์ (nitrite test solution)

สารละลาย ก.

กรดซัลฟานิลิค (sulfanilic acid)	0.8 กรัม
กรดอะซีติค (acetic acid) เข้มข้น 5 นอร์มอล	100.0 มิลลิลิตร

สารละลาย ข.

แอลฟาแนฟทิลลามีน (alpha naphthylamine)	0.5 กรัม
กรดอะซีติค (acetic acid) เข้มข้น 5 นอร์มอล	100.0 มิลลิลิตร

11. สารละลายโคแวค (Kovacs solution)

พาราไดเมธิลอะมิโนเบนซีลดีไฮด์ (para-dimethyl aminobenzaldehyde)	5.0 กรัม
เอมิลหรือบิวทิลแอลกอฮอล์ (amyl or butyl alcohol)	75.0 มิลลิลิตร
กรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น (conc.HCl)	25.0 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ใส่ในขวดสีน้ำตาล เก็บไว้ในที่อุณหภูมิต่ำ

12. 9.5 เปอร์เซ็นต์กลูตาอัลดีไฮด์ใน 0.1 โมลาร์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0, โซเดียมคลอไรด์ 25 เปอร์เซ็นต์ และแคลเซียมคลอไรด์ 0.1 เปอร์เซ็นต์

กลูตาอัลดีไฮด์ 50 เปอร์เซ็นต์	5.0	มิลลิลิตร
0.2 โมลาร์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์	50.0	มิลลิลิตร
โซเดียมคลอไรด์	25.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์	1.0	กรัม
น้ำกลั่นให้ครบ	100.0	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน ถ้ามีตะกอนขุ่นให้กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5 ใส่ในขวดสีน้ำตาลและเก็บตู้เย็น

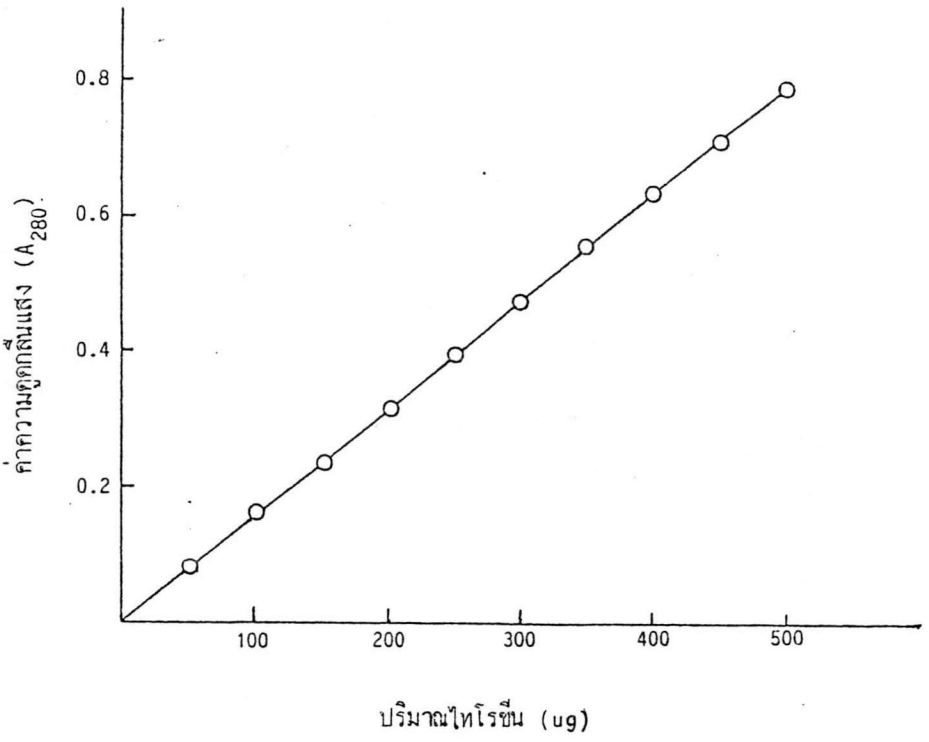
13. 2 เปอร์เซ็นต์ออสเมียมเตรดตรอคไซด์ในโซเดียมคลอไรด์ 25 เปอร์เซ็นต์และแคลเซียมคลอไรด์

ออสเมียมเตรดตรอคไซด์ 4 เปอร์เซ็นต์	50.0	มิลลิลตร
โซเดียมคลอไรด์	25.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์	1.0	กรัม
น้ำกลั่นให้ครบ	100.0	มิลลิลิตร

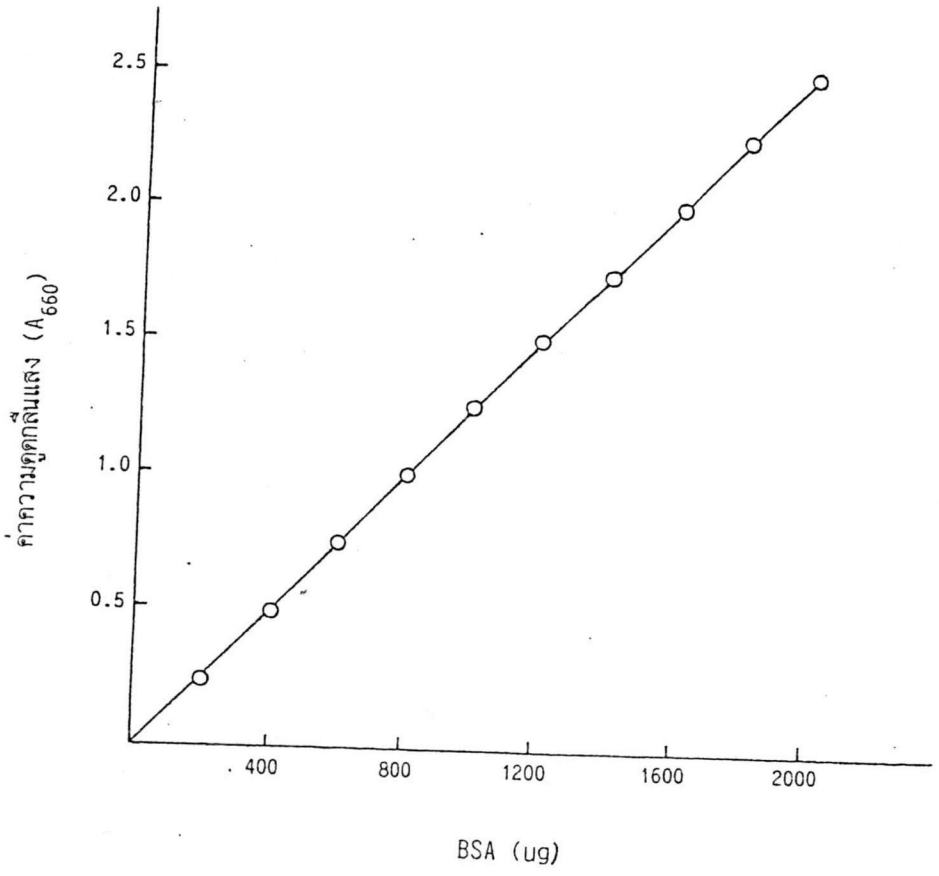
ละลายส่วยผสมให้เข้ากันในตู้ดูดควัน (fume hood) ใส่ในขวดสี
น้ำตาล ปิดฝาขวดให้แน่น เก็บไว้ในตู้ดูดควัน

<u>หมายเหตุ</u> ออสเมียมเตรดตรอคไซด์เป็นสารอันตราย ไม่ควรสูดดมหรือถูกผิวหนังเป็นอันขาด

ภาคผนวก ค



กราฟมาตรฐานแสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร กับสารละลายมาตรฐานไทโรซีน



กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry
โปรตีนมาตรฐานที่ใช้ คือ bovine serum albumin (BSA)

ประวัติผู้เขียน

นางสาวศิริเพ็ญ เวชชการัณย์ เกิดวันที่ 5 ตุลาคม 2501 ที่กรุงเทพมหานคร จบการศึกษา วทบ.(ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปีการศึกษา 2524 ปัจจุบันทำงานที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย