

ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

### การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

#### 1. JCM No.377

##### ส่วนประกอบ

Yeast extract	5	กรัม
Casamino acid	5	กรัม
Sodium glutamate	1	กรัม
Tri-sodium citrate	3	กรัม
Magnesium sulphate (MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O)	20	กรัม
Potassium chloride (KCl)	2	กรัม
Sodium chloride (NaCl)	50	กรัม
Feric chloride (FeCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O)	0.362	กรัม
Manganese chloride (MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O)	0.034	กรัม
น้ำกลั่น (Distilled water)		1

ลิตร

pH 7.2

##### วิธีการเตรียม

1. เตรียมน้ำกลั่น (Distilled water) ปริมาณ 500 ml ใส่ในบีกเกอร์
2. นำส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกลั่นที่เตรียมไว้ คนจนละลายเข้ากันดี
3. นำมาปรับ pH ให้เป็น 7.2 ด้วย 1 M (NaOH) หรือ 1 M (HCl)
4. หลังจากปรับ pH เรียบร้อยแล้ว นำอาหารที่ได้มาปรับปริมาตรให้ได้เท่ากับ 1L
5. นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที
6. รออุณหภูมิลดลงเหลือประมาณ 55 องศาเซลเซียส ความดัน 0 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว แล้วนำอาหารออกจากหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

## 2. 1/16 JCM 5% NaCl No.377

### ส่วนประกอบ

JCM 5% NaCl

100 ml

1M NaCl

700 ml

### วิธีการเตรียม

1. นำสารละลายทั้ง 2 ชนิด เทผสมรวมกัน คนให้เข้ากัน แล้วนำไปใช้งาน

## ภาคผนวก ข

### การเตรียมสารเคมี

1. 0.1M Potassium phosphate buffer pH 6.5 (1000 ml)

#### ส่วนประกอบ

##### ส่วนที่ 1

1M  $K_2HPO_4$  (Mw, 174.18 g/mol) 87.09 g

น้ำกลั่น 500 ml

##### ส่วนที่ 2

1M  $KH_2PO_4$  (Mw, 136.09 g/mol) 68.045 g

น้ำกลั่น 500 ml

pH	Volume of 1M $K_2HPO_4$ (ml)	Volume of 1M $KH_2PO_4$ (ml)
6.5	49	51

#### วิธีการเตรียม

1. ทำการละลายสารทั้งสองชนิดด้วยน้ำกลั่น
2. ผสมสารละลายตามปริมาตรข้างต้น คนให้เข้ากัน
3. ทำการเจือจางเพื่อให้ได้ความเข้มข้น 0.1 M โดยการเจือจางกับน้ำกลั่นให้มีปริมาตรครบ 1000 ml

## 2. 0.1M Acetate buffer pH 4.9 (1000 ml)

ส่วนประกอบ

0.1M Acetic acid	6.005	g / L
0.1M Sodium acetate (tri – hydrate)	8.203	g / L

pH	Volume of 0.1M Acetic acid (ml)	Volume of 0.1M Sodium acetate (ml)
4.9	600	400

วิธีการเตรียม

1. ทำการละลายสารทั้งสองชนิดด้วยน้ำกลั่น
2. ทำการผสมสารทั้งสองชนิดตามปริมาณที่กำหนดไว้ข้างต้น เพื่อให้ได้ ค่า pH ตามที่ต้องการ

## 3. 0.1M Tris-HCl pH 8.0 (500 ml)

ส่วนประกอบ

Tris	6.05	g
Distilled water	500	ml

วิธีการเตรียม

1. ทำการละลาย Tris ในน้ำกลั่นจนจนละลายหมด
2. ทำการปรับ pH 8.0โดยใช้ HCl แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 500 ml เก็บใส่ขวด

## 4. 1M NaCl (1000 ml)

ส่วนประกอบ

NaCl	58.44	g
Distilled water	1000	ml

วิธีการเตรียม

1. ทำการละลาย NaCl ในน้ำกลั่นจนจนละลายหมด
2. ทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 ml

## 5. 0.1% Cationic blue 41

ส่วนประกอบ

- |                     |        |
|---------------------|--------|
| 1. Cationic blue 41 | 0.1 g  |
| 2. Distilled water  | 100 ml |

วิธีการเตรียม

1. ทำการละลาย Cationic blue 41 ในน้ำกลั่นจนละลายหมด
2. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 ml
3. แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที