

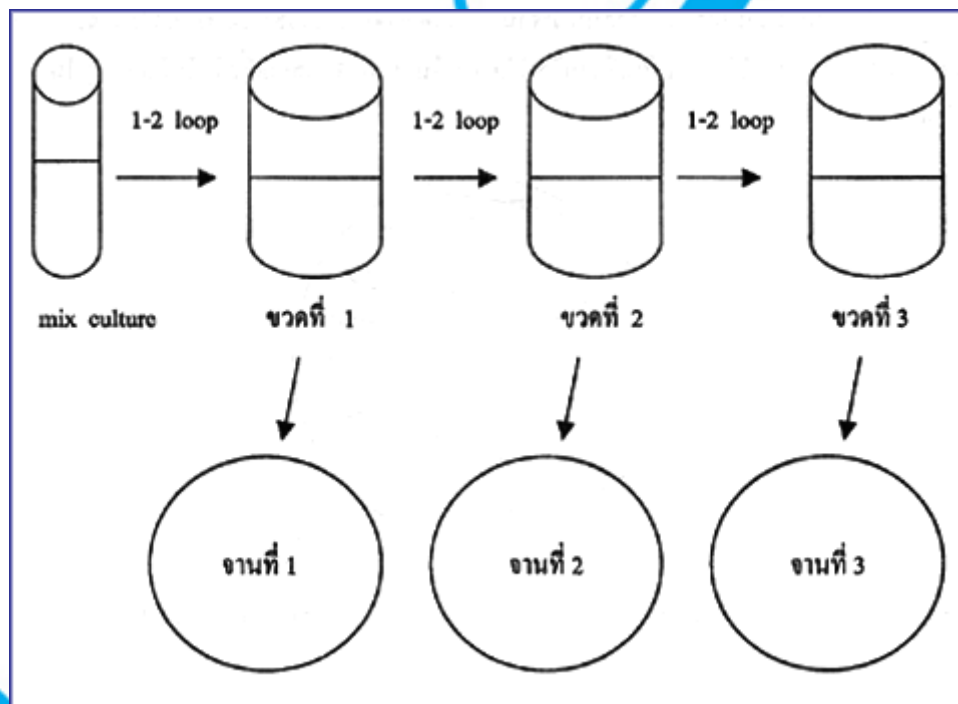
ภาคผนวก



ภาคผนวก ก

การแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคพอร์ เพลต (pour plate) และสตรีก เพลต (streak plate)

พอร์ เพลต (pour plate) เป็นวิธีการเจือจางเชื้อในหลอดอาหารแข็งที่หลอม ให้เหลวและทิ้งให้อุ่น จากนั้นนำอาหารที่ผสมเชื้อที่ต้องการแยกให้บริสุทธิ์ไปเทใส่จานอาหาร เพื่อให้เชื้อแต่ละเซลล์เติบโตเป็นโคโลนีบนจานอาหาร



สตรีก เพลต (streak plate) คือการใช้ห่วงเขี่ยเชื้อลากเชื้อ (streak) ไปมาบนผิวหน้าอาหารแข็ง (อย่างเบาโดยไม่แซะผิวอาหารให้เป็นร่องลึก) เพื่อให้เซลล์เชื้อที่อยู่รวมกัน แยกแต่ละเซลล์ออกจากกัน โดยแต่ละเซลล์จะเติบโตบนอาหารแข็งและเพิ่มจำนวนเซลล์จนมองเห็นเป็นกลุ่มเซลล์ที่อยู่รวมกันซึ่งเรียกว่าโคโลนี (colony)

ในการแยกเชื้อผสม ซึ่งมีเชื้อหลายชนิดที่มีรูปร่างแตกต่างกันอยู่รวมกันนั้น อาจนำเชื้อไปลากบนจานอาหารได้โดยตรง การแยกเชื้อแบบลากไปมาบนจานอาหารแข็งจนเต็มจานอาหารนี้เรียกว่า ซิมเพิล สตรีก (simple streak) แต่ในบางครั้งเชื้อที่ต้องการแยกให้บริสุทธิ์มักแยกออกจากกันยาก จึงต้องแยกโดยการลากเชื้อให้ข้ามไปมาซึ่งเรียกว่าวิธี ครอส สตรีก (cross streak) เป็นการลากเชื้อที่ต้องการแยกให้บริสุทธิ์ในแนวที่ 1 ไปมา 2 - 3 เส้น จากนั้นเผาห่วงเขี่ยเชื้อให้ร้อนแดงและทิ้งให้เย็น แล้วนำมาลากผ่านแนวที่ 1 จำนวน 1 เส้น แล้วลากลงมาเรื่อย ๆ 4 - 5 เส้น โดยไม่ซ้ารอยเดิม จากนั้นเผาห่วงเขี่ยเชื้อให้ร้อนแดงอีกครั้ง แล้วทิ้งให้เย็น จากนั้นนำห่วงเขี่ยเชื้อมาลากผ่านรอยเชื้อในแนวที่สอง 1

ครั้ง แล้วลากไปมาอีก 4-5 เส้นที่ไม่ซ้ำกัน ซึ่งเป็นการลากเชื้อแนวที่ 3 จากนั้นนำห้วงไปเผาฆ่าเชื้อให้ร้อนแดง ทิ้งให้เย็น จากนั้นใช้ห้วงเขี่ยเชื้อลากผ่านแนวเชื้อที่ 3 จำนวน 1 ครั้ง จะได้แนวเชื้อที่ 4 ให้ลากไปมาอีก 4 - 5 เส้น จนเต็มจานอาหาร จากนั้นนำจานไปบ่มเพาะเชื้อ เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จะพบเชื้อเติบโตตามแนวที่ลากไว้ อาจเห็นเชื้อโคโลนีเดี่ยว ๆ ในแนวที่ 3 และมีเชื้อโคโลนีเดี่ยว ๆ ในแนวที่ 4 ดังแสดงในภาพการทดลอง

เทคนิคการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ (pure culture)



อุปกรณ์ที่ใช้ในการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์



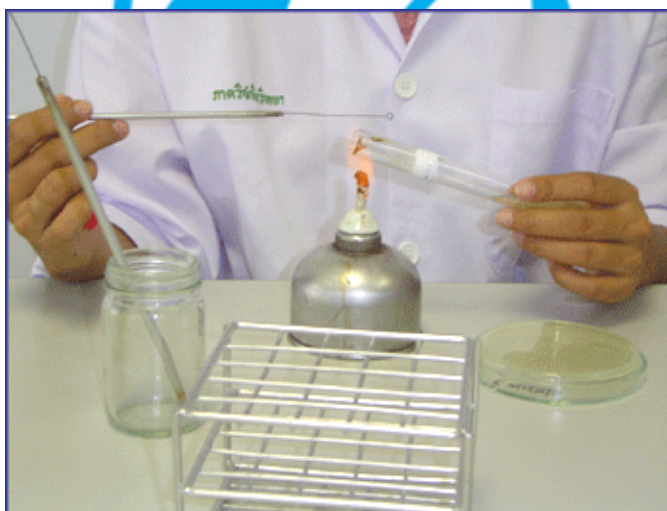
เขียนชื่อของเชื้อที่จะทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์บนจานอาหารแข็ง



เผาหัวงเขี่ยเชื้อให้ร้อนแดง เพื่อฆ่าเชื้อ



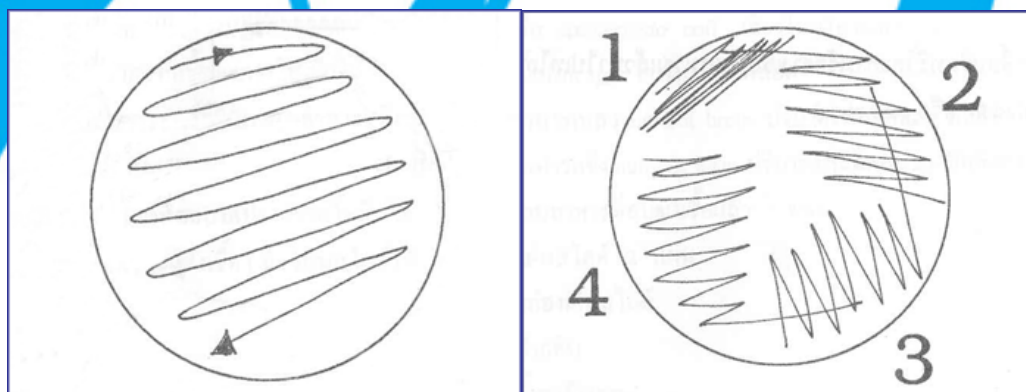
ใช้มือทั้งสองข้างช่วยเปิดจุกหลอดเพาะเชื้อให้ออกจากกัน



ลนไฟเผาบริเวณปากหลอด เพื่อฆ่าเชื้อ



นำหัวงเจียเชื้อไปแตะเอาเชื้อในหลอดเพาะเชื้อ



ซิมเพิล สตรีก (simple streak)

ครอส สตรีก (cross streak)

นำเชื้อไปลากบนจานอาหารดั่งวิธีการในรูป จากนั้นนำจานไปบ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จะพบเชื้อเติบโตตามแนวที่ลากไว้วิธีการแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยการลากเชื้อ

ภาคผนวก ข

การตั้งรหัสแบคทีเรียที่ผลิตพอลิแซ็กการไโรด์ออกมานอกเซลล์

การตั้งรหัสแบคทีเรียใช้รหัสตัวอักษร 5 ตำแหน่ง

ตัวอักษรตำแหน่งที่ 1 แทนชนิดขนม

A แทน ข้าวต้มมัด

B แทน บะจ่าง

C แทน ข้าวเหนียวหน้าปลาแห้ง

D แทน ข้าวเหนียวหน้ากุ้ง

E แทน ข้าวเหนียวสังขยา

ตัวอักษรตำแหน่งที่ 2 และ 3 แทนจังหวัดที่มาของตัวอย่าง

BK แทน กรุงเทพมหานคร

ตัวอักษรตำแหน่งที่ 4 แทนลำดับที่ ของ ตัวอย่าง ในงานวิจัยนี้ เก็บตัวอย่าง 5 ชนิด ชนิดละ 5 ตัวอย่าง จึงมีอักษรแทนลำดับที่เป็น 1 2 3 4 และ 5 เท่านั้น

ตัวอักษรตำแหน่งที่ 5 แทนลำดับที่ของแบคทีเรียที่ผลิตพอลิแซ็กการไโรด์ออกมานอกเซลล์ในตัวอย่างไม่แต่ละชนิด เนื่องจากในตัวอย่างไม่บางชนิดพบแบคทีเรียที่ผลิตพอลิแซ็กการไโรด์ออกมานอกเซลล์มากกว่า 1 ชนิด โดยตัวอักษรตำแหน่งที่ 5 นี้จะใช้เรียงตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก

ยกตัวอย่างเช่น ABK-1a คือ แบคทีเรียที่ผลิตพอลิแซ็กการไโรด์ออกมานอกเซลล์ที่แยกได้จากข้าวต้มมัด ในเขตกรุงเทพมหานคร โดยพบในตัวอย่างไม่ที่ 1 และเป็นแบคทีเรียที่ผลิตพอลิแซ็กการไโรด์ออกมานอกเซลล์ที่พบเป็นตัวแรกจากข้าวต้มมัดตัวอย่างไม่นี้