

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Chiang Mai University

ภาคผนวก

**ภาคผนวก ก**  
**อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีเตรียม**

1. Carbohydrate fermentation medium

Sugar as desired	7	กรัม
Beef extract	1	กรัม
Peptone	10	กรัม
NaCl	5	กรัม
Phenol red	0.018	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร
pH	7.3	

ถ่ายอาหารลงในหลอดพร้อมทั้งใส่หลอดดัดก๊าซในแต่ละหลอด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

2. Egg yolk reaction medium

A. Basal medium

Tryptone	10	กรัม
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5	กรัม
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1	กรัม
NaCl	2	กรัม
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.1	กรัม
Glucose	2	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	2	ลิตร
pH	7.6	

ใส่ flask นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

B. ไข่แดง

แยกไข่แดงจากไข่ขาว โดยเทคนิคปลอดเชื้อ ควรทำในตู้เขี่ยเชื้อ ไข่ 1 ฟองจะได้ไข่แดง ประมาณ 15 cc. ผสม 0.85% NaCl ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วในปริมาณที่เท่ากัน แล้วนำไปผสมกับ

A. ที่ทิ้งไว้จนอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วน A: ไข่แดงที่ผสม 0.85%NaCl 10:1แล้วเขย่าให้เข้ากันดีก่อน pour plate

## 3. Nitrate broth

Potassium nitrate	0.2	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Agar	1.7	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ใส่หลอดทดสอบ 15 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที (วุ้นจะเป็นตัวช่วยให้เกิดสภาพลดออกซิเจน)

## 4. Nutrient broth

Peptone	10	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Beef extract	5	กรัม

ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

## 5. Nutrient agar

Nutrient broth	1	ลิตร
Agar	15	กรัม

ละลายวุ้นโดยใช้ความร้อน นึ่งฆ่าเชื้อที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

## 6. PGA producing medium

Sodium L-glutamate	20	กรัม
Glucose	20	กรัม
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	10	กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5	กรัม
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1	กรัม
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	1	กรัม
$\text{MnCl}_2$	0.02	กรัม
$\text{FeCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.05	กรัม

CaCl <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	0.2	กรัม
Biotin	0.5	มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
pH	7.5	
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับ pH ให้เป็น 7.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

#### 7. Starch agar

Soluble starch	10	กรัม
น้ำกลั่น	50	มิลลิลิตร
Nutrient agar	1	ลิตร

ละลายแป้งจนหมดในน้ำ ผสมกับ nutrient agar ที่กำลังหลอมเหลว นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงเทลงจานแก้ว

#### 8. Tryptone broth

Tryptone	10	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ใส่หลอดทดสอบ 5 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

#### 9. Voges-Proskauer medium

Proteose peptone	7	กรัม
Glucose	5	กรัม
NaCl	5	กรัม

ปรับ pH ให้เป็น 6.5 ก่อนเติมน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร แบ่งใส่หลอดหลอดละ 5 มิลลิลิตรและนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

#### 10. 5% , 7% , 10% NaCl medium

Nutrient agar + 5% NaCl

Nutrient agar + 7% NaCl

Nutrient agar + 10% NaCl

**ภาคผนวก ข**  
**การเตรียมบัฟเฟอร์สารเคมีและสีย้อม**

1. Citrate buffer

Stock solution

- A. 0.1 M ของสารละลาย Citric acid ( 21.01 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร)
- B. 0.1 M ของสารละลาย Sodium citrate (29.41 กรัมของ  $C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$ ) ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

Working solution

x ml of A + y ml of B เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร

X	y	pH
46.5	3.5	3.0
43.5	6.3	3.2
40.0	10.0	3.4
37.0	13.0	3.6
35.0	15.0	3.8
33.0	17.0	4.0
31.5	18.5	4.2
28.0	22.0	4.4
25.5	24.5	4.6
23.0	27.0	4.8
20.5	29.5	5.0
18.0	32.0	5.2
16.0	34.0	5.4
13.7	36.3	5.6
11.8	38.2	5.8
9.5	41.5	6.0
7.2	42.8	6.2

## 2. 0.1% Safranin O

ละลาย safranin O หนัก 1 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

## 3. 0.85 % NaCl

ละลาย NaCl 8.5 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

## 4 Alpha-naphthylamine solution

ละลาย alpha-naphthylamine 0.5 กรัม ในกรด 5N acetic acid 100 มิลลิลิตร ( 5N acetic acid ใช้ glacial acetic acid 294 มิลลิลิตร ผสมในน้ำกลั่น 706 มิลลิลิตร )

## 5. Crystal violet stain

Crystal violet	0.5	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

## 6. Decolourizer

95% ethanol	250	มิลลิลิตร
acetone	250	มิลลิลิตร

## 7. Gram iodine solution

Iodine	1.0	กรัม
Potassium iodine	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	300	มิลลิลิตร

## 8. Kovac's reagent

Para-dimethylaminobenzoldehyde	5.0	กรัม
Butyl alcohol	75	มิลลิลิตร
Hydrochloric acid concentrated	20	มิลลิลิตร

ละลาย Para-dimethylaminobenzoldehyde จนหมดใน butyl alcohol เดิมกรด

hydrochloric ซ้ำๆ คนสารละลายตลอดเวลาจะได้น้ำยาสีเหลืองอ่อน (ถ้าจำเป็นสีแดงเข้มห้ามนำไปใช้) ให้เก็บน้ำยาไว้ในตู้เย็นเมื่อไม่ใช้

## 9. Safranin O solution

Safranin O	2.5	กรัม
Ethanol	100	มิลลิลิตร

เมื่อต้องการนำมาใช้ให้เจือจางลงอีก 5-10 เท่า โดยใช้ น้ำกลั่น

## 10. Sulfanilic acid solution

ละลาย sulfanilic acid 0.8 กรัม ใน 5 N acetic acid 100 มิลลิลิตร

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Chiang Mai University

**ภาคผนวก ค**  
**การทำกราฟมาตรฐาน**

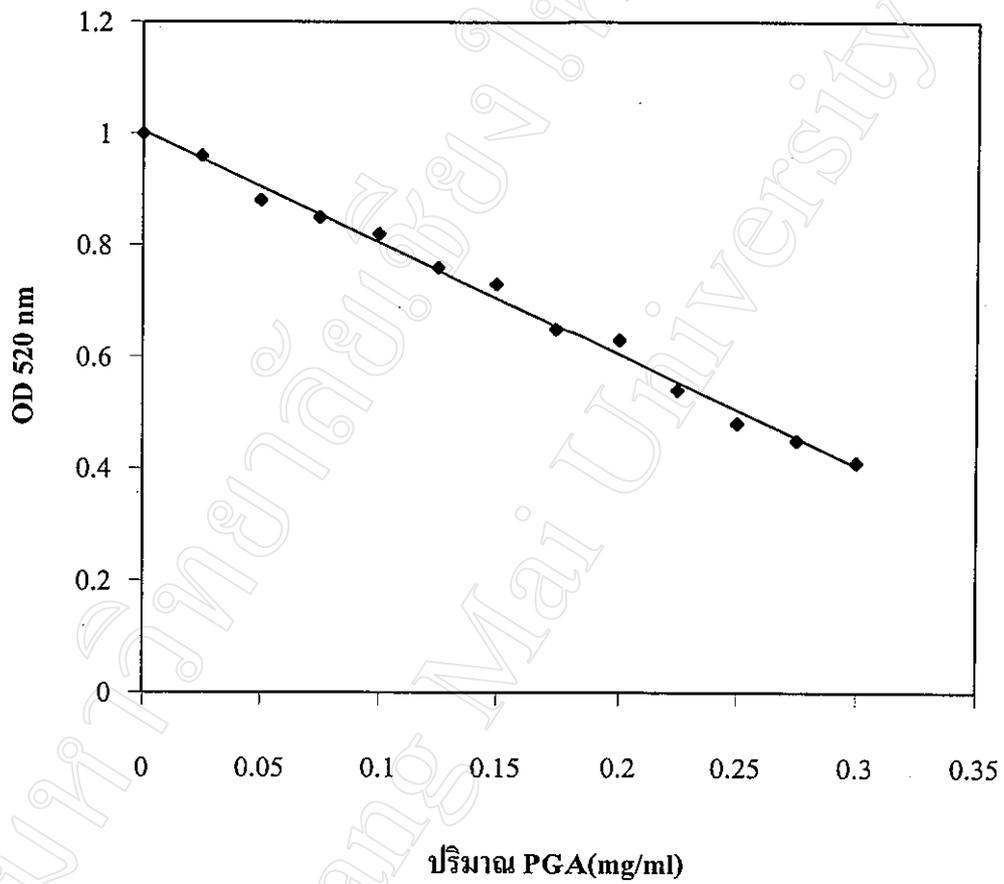
การทำกราฟมาตรฐานของสารละลาย  $\gamma$ -polyglutamic acid

1. เตรียม working solution ของ  $\gamma$ -polyglutamic acid ความเข้มข้น 1.0 mg/ml โดยชั่ง  $\gamma$ -polyglutamic acid 0.1 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลายมาตรฐาน  $\gamma$ -polyglutamic acid ในหลอดทดลองโดยดูด working solution 0.025, 0.050, 0.075, 0.100, 0.125, 0.150, 0.175, 0.200, 0.225, 0.250, 0.275 และ 0.300 มิลลิลิตร เติมน้ำให้มีปริมาตรรวมแต่ละหลอดเท่ากับ 1.0 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลายของ 0.85% NaCl 1.0 มิลลิลิตร, 0.1 M citrate buffer (pH 6.0) 1.0 มิลลิลิตร และ สารละลาย 0.1% safranin O 1.0 มิลลิลิตร ในแต่ละหลอดแล้วผสมให้เข้ากัน
4. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
5. นำสารละลายมาเหวี่ยงที่ 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
6. เจือจางด้วยสารละลาย 0.85% NaCl 25 เท่า
7. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น Blank ได้ผลดังตารางผนวก 1

ตารางผนวก 1 ค่าการดูดกลืนแสงของ  $\gamma$ -polyglutamic acid ความเข้มข้นต่างๆที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

ลำดับที่	$\gamma$ -polyglutamic acid (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสง
1	0.000	1.00
2	0.025	0.96
3	0.050	0.88
4	0.075	0.85
5	0.100	0.82
6	0.125	0.76
7	0.150	0.73
8	0.175	0.65
9	0.200	0.63
10	0.225	0.54
11	0.250	0.48
12	0.275	0.45
13	0.300	0.41

8. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณ  $\gamma$ -polyglutamic acid กับค่าการดูดกลืนแสง



ภาพ 17 กราฟมาตรฐานของสารละลาย  $\gamma$ -polyglutamic acid

ภาคผนวก ง

ตารางแสดงผลการทดลอง

ตารางผนวก 2 อัตราการเจริญเติบโตและปริมาณการผลิต PGA ของแบคทีเรียไอโซเลท RS-2

ระยะเวลาเพาะเลี้ยง (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (cfu/ml)	ปริมาณ PGA (mg/ml)
0	$4.30 \times 10^6$	0.000
3	$1.45 \times 10^7$	-
6	$1.92 \times 10^7$	0.425
9	$3.75 \times 10^7$	-
12	$2.50 \times 10^8$	2.375
15	$8.50 \times 10^9$	-
18	$1.92 \times 10^9$	3.125
21	$8.85 \times 10^8$	-
24	$4.50 \times 10^8$	5.000
30	$3.78 \times 10^7$	6.375
36	$2.18 \times 10^6$	6.000
42	$1.12 \times 10^6$	6.000
48	$< 10^4$	5.875
54	$< 10^4$	6.250
60	$< 10^4$	5.500
66	$< 10^4$	5.125
72	$< 10^4$	5.875

ตารางผนวก 3 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิต PGA ของแบคทีเรีย ไอโซเลท RS-2

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณ PGA (mg/ml)
อุณหภูมิห้อง	1.250
30	1.500
37	6.250
45	6.500
60	0.000

ตารางผนวก 4 pH ที่เหมาะสมต่อการผลิต PGA ของแบคทีเรีย ไอโซเลท RS-2

pH	ปริมาณ PGA (mg/ml)
4.0	0.250
4.5	0.375
5.0	6.125
5.5	6.125
6.0	6.312
6.5	6.687
7.0	6.500
7.5	6.500
8.0	6.500
8.5	6.187
9.0	0.000

ตารางผนวก 5 ชนิดของแหล่งคาร์บอนและความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการผลิต PGA ของ  
แบคทีเรียไอโซเลท RS-2

แหล่งคาร์บอนและความเข้มข้น	ปริมาณ PGA (mg/ml)
No carbon	7.875
Fructose 1%	6.687
Fructose 2%	6.500
Fructose 3%	6.750
Sucrose 1%	6.925
Sucrose 2%	6.750
Sucrose 3%	3.250
Glucose 1%	6.000
Glucose 2%	6.687
Glucose 3%	1.875
Lactose 1%	5.125
Lactose 2%	6.500
Lactose 3%	7.187
Sorbose 1%	7.062
Sorbose 2%	3.250
Sorbose 3%	6.925

ตารางผนวก 6 ชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิต PGA ของแบคทีเรียไอโซเลท RS-2

แหล่งไนโตรเจน	ปริมาณPGA (mg/ml)
No nitrogen	2.375
Peptone	7.437
Yeast extract	6.750
NH <sub>4</sub> Cl	6.250
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	7.562
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	6.875

ตารางผนวก 7 ปริมาณ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ที่เหมาะสมต่อการผลิต PGA ของแบคทีเรียไอโซเลท RS-2

	ปริมาณ PGA (mg/ml)
1%	7.875
2%	7.562
3%	7.187

ตารางผนวก 8 อัตราการให้อากาศที่เหมาะสมต่อการผลิต PGA ของแบคทีเรียไอโซเลท RS-2

อัตราการให้อากาศ (รอบต่อนาที)	ปริมาณ PGA (mg/ml)
120	5.182
150	6.500
170	7.875
200	8.250

ตารางผนวก 9 ความเข้มข้นของ sodium L-glutamate ที่เหมาะสมต่อการผลิต PGA ของแบคทีเรีย  
ไอโซเลท RS-2

ความเข้มข้นของ sodium L-glutamate	ปริมาณ PGA
%	(mg/ml)
0	0.00
2	7.56
4	8.25
6	8.75
8	2.50
10	1.87

**ภาคผนวก จ**  
**การทดสอบทางชีวเคมี**

1. Catalase test

วัตถุประสงค์

catalase เป็นเอนไซม์ในระบบเรสปีเรชันของแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนเป็นโมเลกุลรับอิเล็กตรอน ปฏิกิริยาของอิเล็กตรอนกับออกซิเจนจะทำให้เกิดเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) ซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์ แต่แบคทีเรียจะมีเอนไซม์ catalase ไปทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้เป็นน้ำกับก๊าซออกซิเจน แบคทีเรียพวกนี้จึงเจริญในสภาพที่มีออกซิเจนได้ และไม่เป็นอันตราย ต่างไปจากพวกแอนแอโรบ ซึ่งไม่สามารถเจริญในสภาพที่มีออกซิเจนได้ เพราะไม่มีเอนไซม์ชนิดนี้

วิธีทดสอบ

1. ปักเชื้อลงในหลอดอาหาร
2. บ่มหลอดอาหารที่ 37 องศาเซลเซียส 18-24 ชั่วโมง
3. หยด 3% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ลงไป 1 มิลลิลิตร ให้ท่วมเชื้อบนสแลนด์
4. ถ้าเกิดฟองอากาศ แสดงว่าแบคทีเรียมีเอนไซม์ catalase หรือจะใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์หยดลงบนโคโลนีในงานแก้ว หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.5 มิลลิลิตรผสมกับเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเหลว ก็จะได้ผลเช่นกัน

2. Indole test

วัตถุประสงค์

เป็นการตรวจเอนไซม์ทริปโตฟานเนส แบคทีเรียที่มีเอนไซม์ชนิดนี้จะสลายกรดอะมิโนทริปโตฟานโดยวิธีการออกซิเดชัน เกิดเป็นสารอินโดล ตรวจสอบการเกิดอินโดลโดยใช้น้ำยาโคแวกซ์ ซึ่งจะเกิดสีแดง

วัตถุประสงค์อีกอันหนึ่งของการทดสอบปฏิกิริยาอินโดลก็เพื่อแยกแบคทีเรียลำไส้ชนิด *Escherichia coli* ออกจากกลุ่ม *Enterobacter klebsiella* โดยที่แบคทีเรียกลุ่มนี้ไม่สร้างสารอินโดล ปฏิกิริยาการทดสอบจึงเป็นลบ แต่ *E.coli* สร้างสารอินโดลได้ปฏิกิริยาจึงเป็นบวก

แคทาโบลิซึมของโปรตีนชนิดนี้เป็นปฏิกิริยาแบบ Oxidative deamination สารอินโดลจะเกิดขึ้นภายใน 48 ชั่วโมง ถ้าทิ้งไว้นานเกินไป อินโดลจะถูกสลายไปหมด ตรวจสอบไม่พบ

วิธีทดสอบ

1. ปักเชื้อทดสอบลงในอาหารเหลวทริปโตน
2. บ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

3. ทำการตรวจสอบสารอินโดล โดยใช้หยดน้ำยาโคเวกซ์ ลงไปหลอดละ 1-2 หยด เขย่าหลอดเบาๆ
4. สังเกตสีแดงเข้ม ซึ่งเกิดอยู่ในชั้นบนของอาหารเหลว ซึ่งน้ำยาโคเวกซ์ลอยอยู่ กรณีที่สีแดงยังไม่ปรากฏในทันทีให้เขย่าหลอดซ้ำอีก และคอยสังเกตปฏิกิริยาต่อไปอีก 10-15 นาที
5. การเกิดสีแดง แสดงว่ามีสารอินโดลเกิดขึ้นในอาหารเหลว หมายความว่า การทดสอบเป็นบวก ถ้าไม่มีสีแดงแสดงว่าไม่มีสารอินโดลเกิดขึ้น นั่นคือการทดสอบเป็นผลลบ

### 3. Voges-Proskauer test (V-P test)

#### วัตถุประสงค์

การทดสอบ VP เป็นการทดสอบความสามารถในการผลิตสาร acetone ซึ่งตรวจสอบโดยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ แคะทาลิสอัลฟานฟทอล เกิดเป็นสาร diacetyl ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับสารประเภทควินิดีน ซึ่งมีอยู่ในเปปโตเนในสภาพต่างเกิดสีแดงสด

#### วิธีทดสอบ

1. ปักเชื้อทดสอบลงในอาหาร
2. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง
3. ผสมกับ 3 มิลลิลิตร ของ 40% (w/v) NaOH ที่มี creatine ผสมในปริมาณ 0.5-1 มิลลิกรัม วางหลอดเอียงนาน 30-60 นาที สังเกตผลบวกจากสีของอาหารที่เปลี่ยนเป็นสีส้มแดง

### 4. Starch hydrolysis

#### วัตถุประสงค์

แป้งเป็น โมเลกุลขนาดใหญ่ (macromolecule) ซึมผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ไม่ได้ แบคทีเรียที่สามารถใช้แป้งเป็นอาหารได้จะต้องมีเอนไซม์ภายนอก (exoenzyme) เช่นเอนไซม์อะไมเลสสลายหรือไฮโดรไลต์แป้งให้เป็นโมเลกุลขนาดเล็ก คือพวกโมโนแซคคาไรด์ จึงเข้าสู่ระบบเมทาโบลิซึมภายในเซลล์ การทดสอบจึงเป็นการตรวจคุณสมบัติในการผลิตอะมิเลสของแบคทีเรีย

#### วิธีการทดสอบ

1. ใช้เข็มเย็บปักเชื้อ โดยใช้เข็มเย็บจิดเป็นทางยาวบนผิวอาหาร บ่มเชื้อ 24 ชั่วโมง
2. ทดสอบการไฮโดรไลต์แป้ง โดยใช้ Lugol's iodine เทให้ท่วมผิวอาหาร
3. ถ้ามีการไฮโดรไลต์แป้งจะเกิดโซนใสรอบโคโลนีของแบคทีเรีย เนื่องจากแป้งบริเวณนั้นถูกไฮโดรไลต์หมดไป ส่วนที่ยังมีแป้งเหลืออยู่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน ส่วนงานเลี้ยงแบคทีเรียที่ไม่ได้ไฮโดรไลต์แป้งจะเป็นสีน้ำเงิน

## 5. Egg yolk reaction medium

### วัตถุประสงค์

เพื่อดูความสามารถของเชื้อในการสร้างเอนไซม์ lecithinase

### วิธีทดสอบ

1. ใช้ loop หรือ needle และเชื้อที่เลี้ยงบน NA slant นาน 24 ชั่วโมง ชีดเป็นเส้นตรง
2. บ่มเชื้อ 3-5 วัน เชื้อที่ให้ผลบวกจะเจริญบนอาหารและปรากฏแถบขาวที่บ่งแสงล้อมรอบบริเวณที่เชื้อเจริญ

## 6. Nitrate reduction and denitrification

### วัตถุประสงค์

แบคทีเรียที่มีเอนไซม์ nitrate reductase และ nitrite reductase สามารถใช้ในเตรทเป็นโมเลกุลรีดิวซ์ของระบบเรสไปเรชันได้ โดยเอนไซม์ nitrate reductase จะเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์และเอนไซม์ nitrite reductase จะเปลี่ยนไนไตรท์ไปเป็นก๊าซแอมโมเนีย

### วิธีทดสอบ

ปลูกเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดไนเตรทโดยใช้น้ำยาอัลฟาเนฟทิลามีน และน้ำยากรดซัลฟานิลิก ซึ่งจะเกิดสีแดง แต่ถ้าไนเตรทถูกย่อยสลายต่อไปเป็นแอมโมเนีย และก๊าซไนโตรเจน การทดสอบก็จะไม่เกิดสีแดง เพราะไม่มีไนเตรทเหลืออยู่ ต้องทำการทดสอบขั้นที่สอง โดยเติมผงสังกะสี (zinc powder) ลงไป ผงสังกะสีจะรีดิวซ์ไนเตรทให้เป็นไนเตรทได้ ดังนั้นถ้าเกิดสีแดงขึ้นในหลอดอาหาร แสดงว่ามีไนเตรทอยู่ หมายความว่าเชื้อที่ทำการทดลอง ไม่สามารถรีดิวซ์ไนเตรท ได้ผลทดสอบปฏิกิริยาเป็น ลบ

หากเมื่อใส่ผงสังกะสีแล้วไม่เกิดสีแดง แสดงว่าไม่มีไนเตรทอยู่ นั่นคือไนเตรทถูกเชื้อทดสอบรีดิวซ์เปลี่ยนเป็นก๊าซไปหมดแล้ว ผลการทดสอบปฏิกิริยาเป็น บวก

## 7. Carbohydrate fermentation tests

### วัตถุประสงค์

เพื่อดูความสามารถของเชื้อในการสร้างกรดจากสารคาร์โบไฮเดรตชนิดต่างๆ

### วิธีทดสอบ

ใช้ห้วงลวดเย็บเชื้อลงในหลอดอาหาร นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ถ้าแบคทีเรียมีการเจริญแล้วทำให้เกิดกรด สีของอาหารจะเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีเหลือง

การหมักนอกจากทำให้เกิดกรดขึ้นแล้ว ในบางกรณียังเกิดก๊าซขึ้นด้วย ซึ่งทราบได้จากการตรวจดูในหลอดดักก๊าซซึ่งอยู่ในอาหารที่ใช้ทดสอบ ก๊าซที่เกิดขึ้นจะไปแทนที่ของเหลวในหลอดดักก๊าซ ทำให้สังเกตเห็นเป็นส่วนที่ใสกว่าส่วนที่มีของเหลว

#### 8. Growth in 5% , 7% , 10% NaCl

วัตถุประสงค์

เพื่อทดสอบว่าแบคทีเรียสามารถเจริญในอาหารที่มีความเข้มข้นต่างๆของNaCl ได้หรือไม่

วิธีทดสอบ

1. ใช้ loop เขี่ยเชื้ออายุ 24 ชั่วโมงที่เลี้ยงบน nutrient agar ลงในอาหารเหลว
2. บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง สังเกตอาหารว่าขุ่นหรือไม่

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Chiang Mai University

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวรัศมิกร สิงห์เจริญ

วัน เดือน ปีเกิด 16 กรกฎาคม 2518

การศึกษา ระดับมัธยมศึกษา จากโรงเรียนสตรีวิทยา 2 ปีการศึกษา 2536  
ระดับปริญญาตรี วิชาเอกจุดชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พ.ศ. 2540

สถานที่สามารถติดต่อได้ 588/1 ซ. ถาดพร้าว 87 แขวงคลองจั่น เขต บางกะปิ  
กรุงเทพฯ ๑ 10240  
โทร. 5380208