

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี และวิธีการเตรียม

อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียม

De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) broth

Peptone	10	กรัม
Beef extract	10	กรัม
Yeast extract	5	กรัม
Glucose	20	กรัม
Dipotassium hydrogen phosphate	2	กรัม
Tween 80	1	มิลลิลิตร
Diammonium hydrogen citrate	2	กรัม
Sodium acetate	5	กรัม
Magnesium sulfate	0.1	กรัม
Manganese sulfate	0.05	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ในกรณีที่ต้องการเตรียมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ให้เติมวุ้นผงลงไป 20 กรัม

สารเคมีและวิธีการเตรียม

1. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์หาปริมาณเซลล์ โดยวิธี dilution plate count

วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม เจือจางในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ทำการเจือจางตัวอย่างลงลำดับละ 10 เท่า โดยใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่าง 1:10 เท่า ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลายเจือจาง 9 มิลลิลิตร ความเจือจางที่ได้เท่ากับ 1:100 เตรียมสารละลายตัวอย่างให้ได้ตามระดับความเจือจางที่ต้องการโดยวิธีการเดียวกัน ในการทดลอง ควรเปลี่ยนปิเปตใหม่ทุกครั้งเมื่อเปลี่ยนระดับการเจือจาง จากนั้นดูดสารละลายตัวอย่างที่ต้องการ 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนผิวหน้าอาหารแข็ง MRS ที่เติมบรอมครีซอลเพื่อเฟิลเป็นอินดิเคเตอร์ ใช้แท่งแก้ว อกเกลี่ยให้ทั่วจนผิวหน้าอาหารแห้ง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวน แบคทีเรียกรดแลคติกโดยดูจากโคโลนีที่เปลี่ยนสีอาหารจากสีม่วงเป็นสีเหลือง 1 โคโลนี คือแบคทีเรีย กรดแลคติก 1 เซลล์ นำจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกที่ตรวจพบคูณกับค่า Dilution factor รายงาน ผลที่ได้เป็นเซลล์กรัมของตัวอย่าง (Colony Forming Unit)

สูตรการคำนวณ

$$\text{ปริมาณแบคทีเรียมีชีวิตที่ถูกหุ้ม (CFU/g)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีเฉลี่ย} \times \text{ส่วนกลับของระดับความเจือจาง}}{\text{ปริมาณตัวอย่างที่นำมา Spread plate (0.1 มล.)}}$$

ภาคผนวก ค
ประวัติย่อผู้วิจัย

1. หัวหน้าโครงการ

ชื่อ-ชื่อสกุล	นายอรุณ วงศ์จิรัญญิต
ตำแหน่ง	อาจารย์พนักงานมหาวิทยาลัย
สถานที่ติดต่อ	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร ตำบลธาตุเชิงชุม อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร 47000
โทรศัพท์มือถือ	091-060-1997
E-mail address	mic_610@hotmail.com
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พ.ศ. 2543 วท.ม. (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พ.ศ. 2547

2. ผู้ร่วมโครงการ

ชื่อ-ชื่อสกุล	นางสาววิศัย พรหมเทพ
ตำแหน่ง	ผู้ช่วยศาสตราจารย์
สถานที่ติดต่อ	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร ตำบลธาตุเชิงชุม อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร 47000

3. ผู้ร่วมโครงการ

ชื่อ-ชื่อสกุล	นางสุภา ยศตะโคตร
ตำแหน่ง	อาจารย์พนักงานมหาวิทยาลัย
สถานที่ติดต่อ	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร ตำบลธาตุเชิงชุม อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร 47000
โทรศัพท์มือถือ	087-945-9498
E-mail address	ssuvapa@hotmail.com
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ. 2545 วท.ม. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยนเรศวร พ.ศ. 2549