

## ภาคผนวก ก

### การเตรียมและอุปกรณ์การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

#### การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง

##### 1. การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer solution)

1.1 สารละลาย 34.0 กรัม ของ potassium hydrophosphate ในน้ำกลั่น (distilled water) 500 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้  $7.2 \pm 0.5$  ด้วยการใช้ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 นอร์มัล (1 N NaOH) เติมน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

1.2 นำสารจากข้อ 1 ปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร มาเติมสารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต 5.00 มิลลิลิตร (50 gm  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  ต่อ น้ำ 1 ลิตร) แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

1.3 ตูตใส่หลอดทดลอง หลอดละ 9 มิลลิลิตร ปิดฝาด้วยถ้วยพลาสติกทนความร้อน นำไปนึ่งในหม้อนึ่งอัตโนมัติ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

#### การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

##### 1. การเตรียม Plate count agar

ชั่ง Plate count agar น้ำหนัก 22.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มบน hot plate with magnetic stirrer ให้ละลายบนฐานไฟ แล้วเทใส่ขวด ขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดฝาเกลียว นำไปนึ่งในหม้อนึ่งอัตโนมัติ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที วางให้คลายร้อนแล้วนำไปควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 44 - 46 องศาเซลเซียส ในเครื่องอ่างน้ำ (water bath)

##### 2. การเตรียม Lauryl tryptose broth

ชั่ง Lauryl tryptose broth 35.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร บน hot plate with magnetic stirrer ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน บรรจุสารละลายลงในหลอดทดลอง จำนวน 9 มิลลิลิตร พร้อมใส่หลอดดักก๊าซ (Durham tube) คว่ำลง ปิดฝาหลอด นำไปนึ่งในหม้อนึ่งอัตโนมัติ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที และไม่ควรปล่อยให้อาหารเย็นในหม้อนึ่งอัตโนมัติ เพราะจะทำให้อาหารเสื่อมสลายไป

### 3. การเตรียม Brilliant green lactose broth 2 % (BGLB)

ชั่ง Brilliant green lactose 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร บน Hot plate with magnetic stirrer ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน บรรจุสารละลายลงในหลอดทดลอง จำนวน 9 มิลลิลิตร พร้อมใส่หลอดดักก๊าซคว่ำลง ปิดฝาหลอด นำไปนึ่งในหม้ออัดไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที และไม่ควรปล่อยให้อาหารเย็นในหม้ออัดไอน้ำ เพราะจะทำให้อาหารเสื่อมสลายไป

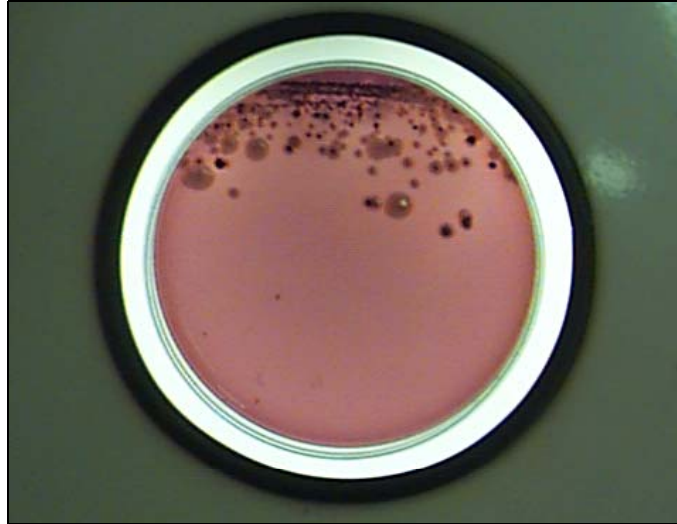
### 4. การเตรียม EC Medium

ชั่ง EC Medium 30 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร บน Hot plate with magnetic stirrer ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน บรรจุสารละลายลงในหลอดทดลอง จำนวน 9 มิลลิลิตร พร้อมใส่หลอดดักก๊าซคว่ำลง ปิดฝาหลอด นำไปนึ่งในหม้ออัดไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที และไม่ควรปล่อยให้อาหารเย็นในหม้ออัดไอน้ำ เพราะจะทำให้อาหารเสื่อมสลายไป

### 5. การเตรียม Levine EMB agar

ชั่ง Levine EMB agar 36 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตรบน hot plate with magnetic stirrer ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกันนำไปนึ่งในหม้ออัดไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที นำไปเทใน plate ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว วางไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว แล้วคว่ำจาน เพื่อกันไอน้ำหยดลงบนอาหาร

### อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ



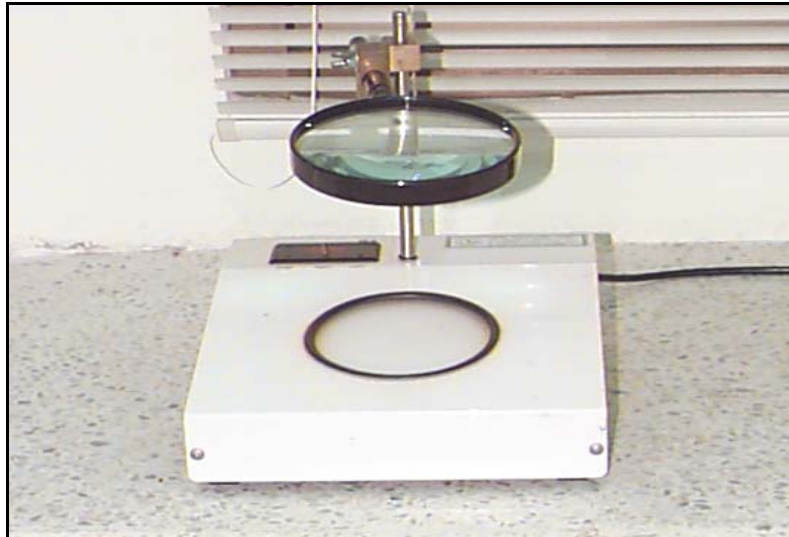
ภาพผนวกที่ 1 EMB agar ที่ไม่มี Metallic sheen



ภาพผนวกที่ 2 EMB agar ที่มี Metallic sheen



ภาพผนวกที่ 3 เครื่องปั่นอาหาร (Stomacher) ยี่ห้อ Seward



ภาพผนวกที่ 4 เครื่องนับโคโลนี (Colony counter) ผลิตภัณ์ภายในประเทศ  
รุ่น Model cc – 2



ภาพผนวกที่ 5 ตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา