ภาคผนวก

วิธีการเตรียมสารเคมีและวิธีการทดสอบ

1. การวิเคราะห์หาความเข้มข้น NaCl ด้วยวิธีการไตเตรต

   สารเคมีและวัสดุอุปกรณ์

   1. น้ำกลั่นขจัดไอออน (deionized water)
   2. สารละลายมาตรฐาน Silver Nitrate ($AgNO_3$) 0.1 M
      - ละลาย $AgNO_3$ 16.987 g ในน้ำกลั่น แล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร แล้วเทเก็บไว้ในขวดสีชา
      - ก่อนนำมาใช้ให้ทำ standardize กับ NaCl 0.3 g เพื่อหาความเข้มข้นที่แน่นอน
   3. สารละลายมาตรฐาน NaCl
      - ละลาย NaCl 0.3 g (อบแห้ง 140°C) ในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 10 mL
   4. สารละลาย Potassium cromate
      - ละลาย KCr_2O_3 5 g ในน้ำกลั่นจนได้ 100 mL เก็บสารละลายไว้เป็น indicator
   5. สาละลาย Sodium hydroxide 1 M
      - ละลาย NaOH 4 g ปรับปริมาตรให้ได้ 100 mL
   6. pH- universal indicator
   7. Flask 125 mL
   8. Burette 50 mL
   9. กระดาษกรองเบอร์ 1
   10. Homogenizer

Prince of Songkla University Pattani Campus

2. วิธีทำ

1. ชั่งตัวอย่างอาหารหมัก 10 g เติมน้ำกลั่นจนครบ 100 mL นำไปปั่นด้วย homogenizer จนเข้ากันดี
2. กรองสารละลายด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1
3. ดูดสารละลายใสมา 1 mL ปรับปริมาตรให้เท่ากับ 100 mL มาใส่ในฟลาสก์ขนาด 500 mL เติมสารละลาย Potassium cromate 1 mL
4. ไตเตรตกับการลาย $AgNO_3$ 0.1 M ที่เตรียมไว้
5. บันทึกปริมาตร $AgNO_3$ ก่อนใช้ และบันทึกผลเมื่อถึงจุดยุติคือ สารละลายเริ่มเปลี่ยนเป็นสีส้ม
6. คำนวณปริมาณเกลือในตัวอย่าง (%)

ตัวอย่างการคำนวณ

ใช้ $AgNO_3$ 0.1 M, 5.4 mL

สารละลาย 1,000 mL มี Ag^+ 0.1 mol

สารละลาย 5.4 mL มี Ag^+ 5.4×10^{-4} mol

$Ag^+ + Cl^- \text{------} AgCl\ (s)$

ตัวอย่าง 0.1 g มี Cl^- $= 5.4 \times 10^{-4}$ mol

ตัวอย่าง 100 g มี Cl^- = 0.54 mol

น้ำหนักโมเลกุลของ NaCl = 58.5 g

$Cl^- = 0.54 \times 58.5$ mol

= 31.59 g/100 g

= 31.59% (w/w)

Prince of Songkla University Pattani Campus

2 วิธีการเทียบค่า 0.5 McFarland Standard

มาตรฐาน McFarland ถูกนำมาใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงในการปรับความขุ่นของเชื้อแบคทีเรียเพื่อให้จำนวนของเชื้อแบคทีเรียที่จะได้รับภายในช่วงที่กำหนด

การเตรียมสาร

1. Sulfuric acid, 1% (vol/vol) (H_2SO_4)

เติมน้ำ deionized water : DI 90 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 100 ml. เติม H_2SO_4 เข้มข้น ปริมาตร 1.0 ml ปรับปริมาตรด้วย DI ให้ได้ปริมาตรเท่ากับ 100 ผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดแก้วไว้ที่ อุณหภูมิ 25°C สามารถเก็บไว้ได้นาน 1 ปี

2. Barium chloride, 1.175% (wt/vol) ($BaCl_2 \cdot 2H_2O$)

ชั่ง $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ 1.175 g เติมลงใน volumetric flask ขนาด 100 ml เติมน้ำ DI 50 ml ผสมให้เข้ากันดี แล้วเติมน้ำ DI จนครบ 100 ml เขย่าให้เข้ากัน เก็บในขวดแก้วไว้ที่ อุณหภูมิ 25°C สามารถเก็บไว้ได้นาน 1 ปี

การเตรียมมาตรฐาน McFarland

McFarland Standard No.	Vol (mL)				
	0.5	1	2	3	4
$BaCl_2 \cdot 2H_2O$ (1.175%)	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4
H_2SO_4 (1%)	9.95	9.9	9.8	9.7	9.6
Approx. cell density ($1X10^8$CFU/mL)	1.5	3.0	6.0	9.0	12.0
% Transmittance (wavelength of 600 nm)	74.3	55.6	35.6	26.4	21.5
Absorbance*	0.132	0.257	0.451	0.582	0.669

Prince of Songkla University Pattani Campus

3 วิธีการเตรียมและทดสอบคะตะเลส

3.1 หลักการ

ทดสอบความสามารถในการสร้าง enzyme catalase ซึ่งแบคทีเรียสร้างขึ้นมาเพื่อย่อยสลาย H_2O_2 ซึ่งเป็นอันตรายต่อเซลล์

3.2 การทดสอบ

หยดสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ลงบนสไลด์ 1 หยด แล้วใช้ลูปเขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ที่ต้องการทดสอบ สเมียร์ลงบนสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ถ้าพบโคโลนีเกิดฟองอากาศ แสดงว่า แบคทีเรียนั้นให้ผลบวก ส่วนโคโลนีที่ไม่เปลี่ยนแปลงจะให้ผลลบ

3.3 การอ่านผล

Positive : มีฟองเกิดขึ้นทันที

Negative : ไม่มีฟองเกิดขึ้น

Prince of Songkla University Pattani Campus