

1. การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการหาแอกทิวิตีเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนส

1.1 สารละลาย 5 mM glucose

ชั่งกลูโคส 9 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่นจนสารละลายหมด จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอด eppendroff หลอดละ 1 มิลลิลิตรเก็บไว้ที่ -20 ° ซ

1.2 สารละลาย 4 mg/ml laminarin

ชั่งลามินาริน 40 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่นจนสารละลายหมด จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอด eppendroff หลอดละ 1 มิลลิลิตรเก็บไว้ที่ -20 ° ซ

2. การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการหาแอกทิวิตีเอนไซม์ NAGase

2.1 สารละลาย 0.5 mM *p*-nitrophenol

ชั่ง *p*-nitrophenol 3.5 มิลลิกรัมละลายใน 0.1 M Tris-HCl, pH 6.0 จนสารละลายหมด จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตรแบ่งใส่หลอด eppendroff หลอดละ 1 มิลลิลิตรเก็บไว้ที่ -20 ° ซ

2.2 สารละลาย 5 mM *p*-nitrophenyl-N-acetyl-β-D-glucosaminide

ชั่ง *p*-nitrophenyl-N-acetyl-β-D-glucosaminide 8.5 มิลลิกรัม ละลายใน 0.1 M Tris-HCl, pH 6.0 จนสารละลายหมด จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 5 มิลลิลิตรแบ่งใส่หลอด eppendroff หลอดละ 1 มิลลิลิตรเก็บไว้ที่ -20 ° ซ

3. การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ

3.1 อาหารนับเชื้อ PCA (Plate count agar) ประกอบด้วย

PCA	23.5	กรัม
NaCl	15	กรัม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 psi อุณหภูมิ 121 ° ซ จากนั้นเทใส่เพลท (plate) แก้วที่นึ่งฆ่าเชื้อ และอบให้แห้งหรือเทใส่เพลทพลาสติกตากจนอาหารแข็งและแห้งเก็บที่ 4 ° ซ ไว้สำหรับใช้ต่อไป

3.2 อาหารคัดเลือกเชื้อ TCBS (Thiosulphate citrate bile salt sucrose) Agar ประกอบด้วย

TCBS Agar	89.0	กรัม
-----------	------	------

ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด ตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิ 50 ° ซ เทใส่

เพลทตากจนอาหารแข็งและแห้งเก็บที่ 4 °ซ ไว้สำหรับใช้ต่อไป

3.3 อาหารเหลว TSB (Tryptic soy broth) ประกอบด้วย

TSB Soybean-Casein Digest Medium 1.5 กรัม

NaCl 0.75 กรัม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 psi อุณหภูมิ 121 °ซ จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิห้องไว้สำหรับใช้ขยายเชื้อต่อไป

3.4 อาหารแข็ง TSA (Tryptic soy agar) ประกอบด้วย

TSB Soybean-Casein Digest Medium 30.0 กรัม

Agar 15 กรัม

NaCl 15 กรัม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 psi อุณหภูมิ 121 °ซ จากนั้นเทใส่เพลทแก้วที่นึ่งฆ่าเชื้อและอบให้แห้งหรือเพลทพลาสติกตากจนอาหารแข็งและแห้งเก็บที่ 4 °ซไว้สำหรับใช้ต่อไป