ภาคผนวก ก

ส่วนประกอบและการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Malt Yeast Broth (MY)

ส่วนประกอบ	กรัม
Malt extract	3
Peptone	5
Glucose	10
Yeast extract	3

นำส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร นำไปทำให้ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. Minimal Salt Medium (MM)

ส่วนประกอบ	กรัม
Glucose	20
Yeast extract	1
NH_4NO_3	3
KH_2PO_4	0.5
NaH_2PO_4	0.5
$MgSO_4\ 7H_2O$	0.5
$CaCl_2$	0.5

นำส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร นำไปทำให้ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. Peptone Yeast Extract Glucose Medium (PYGM)

ส่วนประกอบ	กรัม
Peptone	5
Yeast extract	20
Glucose	10
KH_2PO_4	1
$MgSO_4.7H_2O$	0.5

นำส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร นำไปทำให้ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4. Potato Dextrose Agar (PDA)

ส่วนประกอบ	กรัม
Potato	200
Dextrose	20
Agar	15

ชั่งอาหาร PDA 39 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ต้มโดยใช้ไฟอ่อนๆ จนกระทั่งอาหารละลายหมด นำไปทำให้ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

5. Potato Dextrose Broth (PDB)

ส่วนประกอบ	กรัม
Potato	200
Dextrose	20

ชั่งอาหาร PDB 24 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร นำไปทำให้ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

6. Sabouraud Dextrose Broth (SDB)

ส่วนประกอบ	กรัม
Peptone	10
Dextrose	20

ชั่งอาหาร SDB 30 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร นำไปทำให้ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

การหาปริมาณโปรตีน (Lowry ,et al., 1951)

สารเคมี

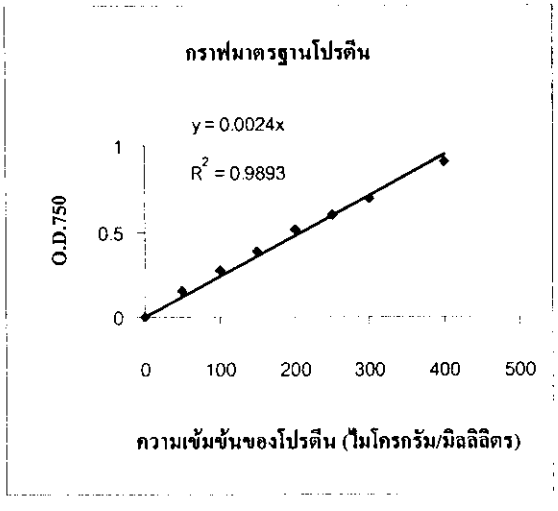
1. สารละลาย Na_2CO_3 2 % ใน NaOH 0.1 N
2. สารละลาย $CuSO_4.5H_2O$ 0.5 % ใน Sodium potassium tartrate 1.0 % (ควรเตรียมในวันที่ใช้และห้ามโดนแสง)
3. สารละลาย alkali copper เตรียมโดยผสมสารละลายในข้อ 1 50 มิลลิลิตร กับสารละลายในข้อ 2 1 มิลลิลิตร (ควรเตรียมในวันที่ใช้และห้ามโดนแสง)
4. สารละลาย Folin-ciocateus phenol reagent นำมาเจือจางกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 ก่อนใช้ (ควรเตรียมในวันที่ใช้และห้ามโดนแสง)

วิธีการ

1. ใส่สารตัวอย่างที่เจือจางอย่างเหมาะสม 0.5 มิลลิลิตร ในหลอดทดสอบ
2. เติมสารละลาย alkali copper 3.0 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
3. เติมสารละลาย Folin-ciocateus phenol reagent 0.3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร

การเตรียมกราฟมาตรฐานของโปรตีน

ใช้ Bovine Serum Albumin ที่ระดับความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทำการหาปริมาณโปรตีนเช่นเดียวกับตัวอย่าง



กราฟมาตรฐานโปรตีนโดยวิธีของ Lowry ,et al. (1951)