

## เอกสารอ้างอิง

### ภาษาไทย

เกษม พงษ์มณี. 2536. การผลิตเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีเอส โดย *Bacillus subtilis* TSTIR 25.

วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เชียง ปีเตอร์, ชิง มิง กัว และชิน-ฟาลิว. 2532. การเตรียมบ่อเพื่อการเลี้ยงกุ้ง. เอกสารประกอบการ  
อบรมเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงกุ้ง โดยกรมประมงร่วมกับสมาคมกัวเหื่องแห่งสหรัฐ  
อเมริกา ณ สโมสรสัญญาบัตรทหารเรือ จังหวัดสงขลา ระหว่างวันที่ 8 - 10  
สิงหาคม 2532 : หน้า 76-93.

ทรงชัย สหวัชรินทร์, ชนินทร์ แสงรุ่งเรือง และสมพงษ์ กลางณรงค์. 2532. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ.  
วารสารการประมง 3 : 230-236.

ธงชัย พรรณสวัสดิ์ และอุษา วิเศษสุมน. 2535. คู่มือวิเคราะห์น้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 2.

กรุงเทพมหานคร : สมาคมวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย

ธนิต ผิวนิม. 2536. คุณประโยชน์ของจุลินทรีย์ชนิดน้ำและจุลินทรีย์ชนิดผงในการเพาะเลี้ยงกุ้ง.  
สัตว์น้ำ 42 : 94-99.

ประจวบ หล้าอุบล. 2532. ความรู้เรื่องการเลี้ยงกุ้ง. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร :  
ฝ่ายการศึกษา สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน.

พนมรักษ์ ผดุงกุล. 2535. การผลิตอาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius) วิทยุ่่น.  
วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต หลักสูตรเทคโนโลยีทางอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พิเชษ อัฐกอ. 2528. การผลิตแอลฟาอะไมเลสจาก *Bacillus amyloliquefaciens* KA 63.

วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พุทธ สองแสงจินดา, ยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร, ศุภโยค สุวรรณมณี และวิชาญ ชูสุวรรณ. 2533.  
ข้อสังเกตเกี่ยวกับคุณภาพดินบางประการในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา . เอกสาร  
วิชาการฉบับที่ 12/2533. สถาบันวิจัยเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. 15 หน้า.

- พูนศักดิ์ แก้วนุกุล. 2528. สถานภาพการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งในประเทศไทย. วารสารการประมง 6 : 413-429.
- ลีลา เรื่องแป้น. 2534. วิธีใช้ยาในการเพาะเลี้ยงกุ้งอย่างมีประสิทธิภาพ. วารสารการประมง 1 : 27-29.
- วรรณ รัตน์โกสียกิจ. 2534. การจัดการคุณภาพน้ำสำหรับบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำกร่อยเน้นการเลี้ยงกุ้งทะเลในประเทศไทย. กรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง.
- วัลลภ คงเพิ่มพูน. 2532. กุ้งกุลาดำ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : โครงการหนังสือเกษตรชุมชน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน.
- วิชัย ลาภจตุพร. 2535. เจาะลึกจุลินทรีย์ในสถานการณ์มลพิษ. สัตว์น้ำ 29 : 18-35.
- ศิริเพ็ญ เวชชการันย์. 2534. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียชอบเค็มที่ผลิตโปรตีนเอส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สิริ ทุกขวินาศ และลีลา เรื่องแป้น. 2536. แนวทางการจัดทำระบบบำบัดน้ำทิ้งในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา. วารสารการประมง 1 : 11-15.
- อุดมรักษ์ ธิติลักษณ์พานิชย์. 2534. การทำให้บริสุทธิ์และการศึกษาสมบัติของเอนไซม์นิวทรัลโปรตีนเอสจาก *Bacillus subtilis* TISTR 25. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

#### ภาษาอังกฤษ

- Aassar, S.A.El. 1992. Purification of  $\alpha$ -amylase from *Bacillus lentus* cultures. Appl. Micro and Biotech. 38 : 312-314.
- Avnimelech, Y., Mozes, N., Diab, S. and Kochba, M. 1995 . Rate of organic carbon and nitrogen degradation in intensive fish ponds. Aquaculture 134 : 211-216.
- Bergmann, F.W., Abc, Jun-ichi and Hizukuri, S. 1988. Selection of microorganism which produce raw-starch degrading enzyme. Appl. Micro and Biotech. 27 : 443-446.
- Bettina, C.S. and Kalff, J. 1993. Factors controlling bacteria production in marine and freshwater sediments. Microb Ecol. 26 : 79-99.

- Bird, D.F. and Kalf, J. 1984. Empirical relationships between bacteria abundance and chlorophyll concentration in fresh and marine waters. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 41 : 1015-1023.
- Biro, P. 1995. Management of pond ecosystem and trophic webs. Aquaculture. 129 : 378-386.
- Boyd, C.E., Hollerman, W.D., Plum, J.A. and Saeed, M. 1984. Progres. Fish Culture. 46 : 36-40.
- \_\_\_\_\_. 1989. Water quality management and aeration in shrimp farming. Fisheries and Allied Aquacultures Departmental Series No.2 , Auburn University, Alabama. p 83.
- Chiang, H.C. 1986 . Study of treatment and reuse of aquacultural wastewater in Taiwan. Aquacultural Eng. 5: 301-312.
- Clesceri, L.S., Greenberg, A.E. and Trussell, R.R. 1989. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 17 th. ed. Washington, DC.: American Public Health Association.
- Coleman, G. and Elliott, W.H. 1962. Studies on  $\alpha$ -amylase formation by *Bacillus subtilis*. J. Biochem. 83 : 256-263.
- Csonka, L.N. 1989. Physiological and genetic response of bacteria to osmotic stress. Microbiol. Revs. 53 : 121-147. American Society for Microbiology.
- Degain, G. and Gallagher, M.L. 1985. The relationship between growth, food conversion and oxygen consumption in developed and undeveloped American eels (*Arguilla rostrata* L.) J. Fish Biol. 27 : 635-641.
- Demphey, A.C. 1987. Characteristics of bacteria isolated from Penaeid shrimp. Crustaceana. 52 : 90-94.
- Ederer, G.M., Chu, J.H. and Blazeric, D.J. 1971. Rapid test for urease and phenylalanine deaminase production. Appl. Microbio. 21 : 545-550.
- Ehrlich, K.F., Cantin, M.C. and Horsfall, F.L. 1989. Inst. Chem. Eng. U.K. Symp. 1 : 329-341.
- Elser, J.J., Chrzanowski, T.H., Sterner, R.W., Schampel, J.H. and Foster, P.K. 1995. Elemental ratios and the uptake and release of nutrients by phytoplankton and bacteria in three lakes of the Canadian Shield. Microb. Ecol. 29 : 145-162.

- Ferchel, T. and Harrison, P. 1976. The significance of bacterial grazing and mineral cycling for the decomposition of particulate detritus. In Anderson, J.M. and Macfadyen, A. eds. The role of terrestrial and aquatic organisms in decomposition processes. Blackwell, Oxford. pp. 286-299.
- Fukumoto, J., Yamamoto, T. and Tsuru, D. 1957. Amylase formation and carbon source metabolism of *Bacillus subtilis*. Proc. Intern. Symp. Enzyme Chem. Tokyo : Maruzen. pp.365-369.
- Fushs, G.W., Demmerle, S.D., Canelli, E. and Chen, E. 1972. Nutrients and eutrophication. Limnol. Oceanogr. 11: 505-514.
- Galic, D.G. and Vogel, T.M. 1987. Transformation of toluene and benzene by mixed methanogenic cultures. Appl. Environ. Microbiol. 53 : 254-260.
- Gerhardt, P., Murray, R.G.E., Costilow, R.N., Nester, E.W., Wood, W.A., Krieg, N.R. and Phillips, G.B. 1981. Manual of Methods for General Bacteriology. Washington : American Society For Microbiology.
- Gowland, P. Kernick, M. and Sundaram, T.K. 1987. Thermophilic bacteria isolates producing lipase. FEMS. Microbiology Letters. 48 : 339-343.
- Grega, M.D.L., Buckingham, P.L. and Evans, J.C. 1994. Hazardous Waste Management. USA : MC Graw-Hill.
- Halder, M., Ahne, W. and Thomson, J. 1989. Detection of baculovirus in the Tiger Prawn *Penaeus monodon*. J. Vet. Med. 36 : 257-260.
- Hamada, N., Yamamoto, T. and Fukumoto, J. 1967.  $\alpha$ -Amylase formation and calcium metabolism of *Bacillus subtilis*. Agr. Biol. Chem. 31: 1-6
- Harris, J. 1981. Bio- engineering Symposium of Fish Culture. FCS, Amer. Fish. Soc., Publ.1: 157-161
- Horan, N.J. 1990. Biological Wastewater Treatment Systems. Chichester : John Wiley & Son
- Iwai, M. and Y. Tsujisaka. 1974. Interconversion of two lipase from *Rhizopus delemar*. Agr. Biol. Chem. 38 : 1249-1254.

- Janda, J.M. 1991. Recent advance in the study of the taxonomy, pathogenicity, and infections syndromes associated with the genus *Aeromonas*, Clin. Microbiol. Rev. 4: 397-410.
- Jannasch, H.W. 1967. Growth of marine bacteria at limiting concentration of carbon in seawater. Limnol. Oceanogr. 12 : 264-271
- Jensen, R.G. 1983. Detection and determination of lipase (acyl glycerol hydrolase) activity from various sources. Lipids. 18 : 650-651.
- Kairesalo, T., Toomine, L., Hartikainen, H. and Rankinen, K. 1995. The role of bacteria in the nutrient exchange between sediment and water in flow-through system. Microb. Ecol. 29 : 129-144.
- Kaper, J.B., Lockman, H., Remmer, E.F., Kristensen, K. and Colwell, R.R. 1983. Numerical taxonomy of *Vibrio* isolated from estuarine environments. International Journal of Systemic Bacteriology Apr : 229-255.
- Keay, L. and Wildi, B.S. 1970. Protease of genus *Bacillus*. Biotech. and Bioeng. 12 : 179-212.
- \_\_\_\_\_. 1971. Microbial protease. Process. Biochem. August: 17-21.
- Kokusho, Y., H. Machida and Iwasaki, S. 1982. Studies on alkaline lipase : isolation and identification of lipase producing micro-organism. Agr. Biol. Chem. 46 :1159-1164.
- Kosugi, Y. and Kamibayashi, A. 1971. Thermostable lipase from *Pseudomonas* sp. culture conditions and properties of crude enzyme. J. Ferment. Technol. 49 : 968-980.
- Lawrence, R.C., Fryer, T.F. and Reiter, B. 1967. The production and characterization of lipase from a *Micrococcus* and *Pseudomonad*. J. Gen. Microbiol. 48 : 401-418.
- Lightner, D.V. and Lewis, D.H. 1975. A septicemic bacterial disease syndrome of Penaeid shrimp. Marine fisheries Review. 37: 25-38.
- Lee, J.J. 1980. A conceptual model of marine detrimental decomposition and the organisms associated with the process, In : Droop, MR. and Jannasch, H.W.(eds) Advances in aquatic microbiology. Vol. 2. London : Academic Press. pp. 257-291.
- \_\_\_\_\_, Sweeney, J.N. and Richards, J.W.K . 1986. Marine shrimp aquaculture : a novel waste treatment system . Aquacultural Eng. 5 : 147-160.

- Lewis, D.L., Hodson, R.E. and Freeman, L.F. 1984 . Effect of microbial community interactions on transformation rates of xenobiotic chemical. Appl. Environ. Microbiol. 43 : 561-565.
- \_\_\_\_\_, Kollig, H.P. and Hodson, R. 1986 . Nutrient limitation and adaptation of microbial populations to chemical transformations. Appl. Environ. Microbiol. 51 : 598-603.
- Macrae, A.R. 1983. Lipase-catalysed interesterification of oils and fats. J.Amer.Oil.Chem.Soc. 60 : 243-246.
- Marxsen, J. and Witzer, K.P. 1991. Significance of extracellular enzyme for organic matter degradation and nutrient regeneration in small streams. In Chrost, R.J. ed. Microbial Enzymes in Aquatic Environments. New York : Springer-Verlag.
- Mateos, D. and Paniagua, C. 1995. Surface characteristics of *Aeromonas hydrophila* recovered from trout tissues. J. Gen. Appl. Microbiol. 41: 249-256.
- Menasveta, P., Fast, A.W., Piyatiratitivorakul, S. and Rungsupha, S. and Rangsupha, S. 1991. An improve closed seawater recirculation maturation system for giant tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricius ). Aquacultural Eng. 10 : 173-181
- Millamena, O.M. 1990. Organic pollution resulting from excess feed and metabolite build-up : effect on *Penaeus monodon* postlarvae. Aquacultural Eng. 9 : 143-150.
- Mizube, F., Takahashi, K. and Ando, T.1973. The structure and function of acid protease I. specific inactivation of an acid protease from *Rhizopus chinerusis* by ciazocetyl-DL-norleucine methyl ester. J.Biochem.73 : 61.
- Moriarty, D.J.W. 1986. Bacteria productivity in ponds used for culture of Penaeid prawns. Microb. Ecol. 12 : 259-269.
- Motoh, H. 1980. Studies on the Fisheries Biology of the Giant Tiger Prawn. Aquaculture Department Southeast Asian Fisheries Department Center, The Philippines.
- Murakami, Y and Alexander, M. 1989. Destruction and formation of toxins by one bacteria species affect biodegradation by a second species. Biotech. and Bioeng. 33 : 832- 838.

- Nomura, M., Hosada, J., Maruo, B. and Akabori, S. 1956. Studies on amylase formation by *Bacillus subtilis* II effect of amino acid analogues on amylase formation and normal cellular protein synthesis. J. Biochem. (Tokyo) 43 : 841-845.
- O' leary, W. 1987. Practical Handbook of Microbiology. USA : CRC Press.
- Omar, I.C., Hayashi and Nagai, S. 1987. Purification and some properties of a thermostable lipase from *Humicola langinosa* No.3. Agr. Biol. Chem. 51 : 37-45.
- \_\_\_\_\_, Nishio, N. and Nagai, S. 1987. Production of thermostable lipase by *Humicola langinosa* grown on sorbitol-cornsteep liquor medium. Agr. Biol. Chem. 51 : 2145-2151.
- Ota, Y., K. Gomi, S. Kato, T. Sugiora and Y. Minoda. 1982. Purification and some properties of cell-bound lipase from *Saccharomycopsis lipolytica*. Agr. Biol. Chem. 6 : 2885-2895.
- Pahm, M.A. and Alexander, M. 1993. Selecting inocula for the biodegradation of organic compounds at low concentrations. Microb. Ecol. 25 : 275-286.
- Pedro, J.J., Alvaraz and Timothy, M.V. 1991. Substrates interactions of benzene toluene and *para*-xylene during microbial degradation by pure culture and mixed culture aquifer slurries. Appl. Environ. Microbiol. 57 : 2981-2985.
- Perry, J.J. 1979. Microbial cooxidations involving hydrocarbons. Microbiol Revs. 43 : 59-72.
- Pote, J.W., Cathcart, T.P. and Deliman, P.N. 1990. Control of high pH in aquaculture ponds. Aquacultural Eng. 9 : 175-186.
- Priest, G.F. 1954. Extracellular enzyme synthesis in the genus *Bacillus*. Bacteriol Revs. 41 : 711-753
- Pruder, G.P. 1986. Aquaculture and controlled Eutrophication: Photoautotrophic/ Heterotrophic Interaction and Water Quality. Aquacultural Eng. 5 : 115-121.
- Rheinheimer, G. 1991. Aquatic Microbiology 4th ed. New York : John Wiley & Sons. p.246.
- Robert, S. 1979. Effect of concentration of organic chemical on their biodegradation by natural microbial communities. Appl. Environ. Microbiol. 37: 1222-1216.
- Schroeder, G.L. 1978. Autotrophic and heterotrophic production of microorganisms in intensively manured fish ponds and related fish yield. Aquaculture. 14 : 303-325.

- \_\_\_\_\_. 1983. Sources of fish and prawn growth in polyculture ponds as indicated by  $\delta C$  analysis. Aquaculture. 35 : 29-42.
- Shahani, K.M. 1975. Lipase and esterases. In Reed, G. ed. Enzymes in Food Processing. 2d ed., New York : Academic Press.
- Smith, D.W. and Piedrahita, R.H. 1988. The relation between phytoplankton and dissolved oxygen in fish ponds. Aquaculture. 68 : 249-265.
- Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G. 1986. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol 2. Baltimore : Williams & Wilkins.
- Snieszko, S.F. 1974. The effect of environmental stress on outbreaks of infection disease of fishes. J.Fish.Biol. 6 : 197-208.
- Sonenshein, A.L., Hoch, J.A. and Losick, R. 1993. Bacillus subtilis and other gram-positive bacteria : biochemistry, physiology and molecular genetics. Washington, DC : American Society for Microbiology.
- Staley, J.T. and Stanley, P.M. 1986. Potential commercial applications in aquatic microbiology. Microb. Ecol. 12 : 79-100.
- Steffensen, W.S. and Alexander, M. 1995. Role of competition for inorganic nutrients in the biodegradation of mixtures of substrates. Appl. Environ. Microbiol. 61 : 2859-2862.
- Stoner, P.L. 1994. Biotechnology for the Treatment of Hazardous Waste. USA : CRC Press.
- Sugita, H., Tanaka, K., Yoshinami, M. and Degucni, Y. 1995. Distribution of *Aeromonas* species in the intestinal tracts of river fish. Appl. Environ. Microbiol. 61 : 4128-4130.
- Suzuki, T., Mushiga, Y., Yamane, T. and Shimizu, S. 1988. Mass production of lipase by fed-bath culture of *Pseudomonas fluorescens*. Appl. Microbial. Biotech. 27 : 417-422.
- Swindoll, C.M., Aelion, C.M. and Pfaender, F.K. 1988. Influence of inorganic and organic nutrients on aerobic biodegradation and on adaptation response of subsurface microbial communities. Appl. Environ. Microbiol. 54 : 212-217.
- Taiganides, E. P. 1967. The Animal Waste Disposal Problem. In Nyle C. Brady ed. Agriculture and the quality of our environment. Washington D.C. : American Association for the Advancement of Science. pp. 385-394



- Taylor, M.J. and Richardson, T. 1979. Applications of microbial enzymes in food systems and biotechnology. Adv. Appl. Microbiol. 25 : 7-35.
- Tezuka, Y. 1990. Bacteria regeneration of ammonium and phosphate as affected by the carbon:nitrogen:phosphorus ratio of organic substrates. Microb. Ecol. 19 : 227-238.
- Thongrak, S. 1992. Songklanakalin. J. Sci. Technol. 2 : 199-204.
- Trust, T.J. 1986. Pathogenesis of infectious diseases of fish. Annu. Rev. Microbiol. 40 : 497-502.
- Van der Meer JR, Roelofson, W., Schraa, G. and Zehnder, A.J.B. 1987. Degradation of low concentrations of dichlorobenzenes and 1, 2, 4 - trichlorobehzenes by *Pseudomonas* sp. strain P51 in nonsterile soil columns. FEMS Microb. Ecol. 45 : 333-341.
- Wang, J.K. 1990. Managing shrimp pond water to reduce discharge problems. Aquacultural Eng. 9 : 61-73.
- Wickins, J.F. 1985. Ammonia production and oxidation during the culture of marine prawns and lobsters in laboratory recirculation systems. Aquacultural Eng. 4 : 155-174.
- Wiggins, B.A. and Alexander, M. 1988. Role of chemical concentration and secondary carbon source in acclimation of microbial communities of biodegradation. Appl. Environ. Microbiol. 54 : 2803-2807.
- Windish, W.W. and Mhatre, N.S. 1965. Microbial Amylase In Unbreit, W.W. ed. Advance in Applied Microbiology Vol. 7. New York : Academic Press. pp273-304.
- Yamaguchi, T., N. Muroya M. Isobe and M. Sugiura. 1973. Production and properties of lipase from a newly isolated isolated *Chromobacterium*. Agr. Biol. Chem. 37 : 999-1005.
- Yosunobu, K.T. and McConn, J. 1970. *Bacillus subtilis* Neutral Protease. In Perlmann, G.E. ed. Methods in Enzymology . vol XIX. New York : Academic Press. p 569-575.
- Zaidi, B.R., Murakami, Y. and Alexander, M. 1988. Factor limiting success of inoculation to enhance biodegradation of low concentrations of organic chemical. Environ Sci Technol. 22 : 1419-1425.

**ภาคผนวก ก**  
**อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดลอง**

1. อาหารนมผงพร่องมันเนย (Skim milk agar)

นมผงพร่องมันเนย (Skim milk)	2.0	กรัม
กลูโคส	1.0	กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ )	0.2	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ( $MgSO_4 \cdot 6H_2O$ )	0.2	กรัม
เฟอร์รัสซัลเฟต ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ )	เล็กน้อย	
วุ้นผง	15.0	กรัม

ผสมส่วนประกอบต่างๆ ลงในน้ำ 900 มล. เข้าด้วยกัน ยกเว้นนมผงพร่องมันเนย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ทั้งไว้ให้เย็นจนอุณหภูมิ 50°ซ จึงนำมาผสมกับนมผงพร่องมันเนย 2% ปริมาตร 100 มล. ที่แยกฆ่าเชื้อต่างหากที่อุณหภูมิ 110 มล. นาน 10 นาที

2. อาหารแข็งนิวเตรียนท์ (Nutrient agar)

เปปโตน (Peptone)	5.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	3.0	กรัม
วุ้นผง	15.0	กรัม
ปรับพีเอชเป็น 6.8 - 7		

3. อาหารแป้ง (Starch agar)

แป้ง (Soluble starch)	2.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	3.0	กรัม
เปปโตน (Peptone)	5.0	กรัม
วุ้นผง	15.0	กรัม
ปรับพีเอชให้เป็น 7.0		

## 4. อาหารแข็งทวิน 80 (Tween 80 agar )

เปปโตเน (Peptone)	10.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.1	กรัม
ทวิน 80 (Tween 80)	10.0	มล.
วุ้นผง	15.0	กรัม

## 5. อาหารเหลวแอล บี (LB medium)

โพลีเปปโตเน (Polypeptone)	10.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	5.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
ปรับพีเอชเป็น 7.0		

## 6. อาหารเพื่อการผลิตเอนไซม์โปรตีเอสและอะไมเลส

ผงสกัดถั่วเหลือง (Soytone)	40.0	กรัม
แป้ง (Soluble starch)	30.0	กรัม
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	0.5	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.1	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.2	กรัม

## 7. อาหารเพื่อการผลิตเอนไซม์ไลเปส

ผงสกัดถั่วเหลือง (Soytone)	40.0	กรัม
แป้ง (Soluble starch)	30.0	กรัม
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	0.5	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.1	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.2	กรัม
ทวิน 80 (Tween 80)	10.0	มล.

8. อาหารเหลวนิวเตรียนท์ (Nutrient broth)		
เปปโตน (Peptone)	5.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	3.0	กรัม
ปรับพีเอชเป็น 6.8- 7		
9. อาหารทดสอบการเคลื่อนที่ (Motility medium)		
ทริปโตน (Tryptone)	10.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
วุ้นผง	5.0	กรัม
ปรับพีเอชเป็น 7.2±0.2		
10. อาหารทริปโตเฟน (Tryptophane broth)		
ทริปโตน (Tryptone)	8.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	5.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	2.5	กรัม
11. อาหารเอ็มอาร์-วีพี (MR-VP medium)		
บัฟเฟอร์เปปโตน (Buffer peptone)	7.0	กรัม
ไดโพแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ )	5.0	กรัม
กลูโคส	5.0	กรัม
ปรับพีเอชให้ได้เท่ากับ 6.9		
12. อาหารคริสเตนยูเรีย ( Christen's urea)		
เปปโตน (Peptone)	1.0	กรัม
กลูโคส	1.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
โพแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $KH_2PO_4$ )	2.0	กรัม
ฟีนอลเรด (Phenol red)	0.012	กรัม
วุ้นผง	20.0	กรัม

## 13. อาหารไนเตรต (Nitrate broth)

ผงสกัดจากเนื้อ (Beef extract)	5.0	กรัม
เปปโตเน (Peptone)	5.0	กรัม
โพแทสเซียมไนเตรต ( $KNO_3$ )	1.0	กรัม
ปรับพีเอชให้เป็น $7.0 \pm 0.2$		

## 14. อาหารซิมมอนส์ซิเตรต (Simmon's citrate agar)

แมกนีเซียมซัลเฟต ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )	0.2	กรัม
แอมโมเนียซัลเฟต ( $(NH_4)_2SO_4$ )	1.0	กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ )	1.0	กรัม
โซเดียมซิเตรต ( $HOC(COONa)(CH_2COONa)_2$ )	2.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
บรอมไธมอลบลู (Bromthymol blue)	0.08	กรัม
วุ้นผง	15.0	กรัม
ปรับพีเอชให้เป็น 6.8		

## 15. อาหารเจลาติน

ผงสกัดจากเนื้อ (Beef extract)	3.0	กรัม
เปปโตเน (Peptone)	5.0	กรัม
เจลาติน	120.0	กรัม
ปรับพีเอชให้เป็น 7.0		

## 16. อาหารที เอส ไอ (TSI agar)

เคซีน (Casein)	10.0	กรัม
เปปโตเน (Peptone)	10.0	กรัม
กลูโคส	1.0	กรัม
แลคโตส	10.0	กรัม
ซูโครส	10.0	กรัม
เฟอร์รัสซัลเฟต ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ )	0.2	กรัม

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
โซเดียมไทโอซัลเฟต (Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	0.3	กรัม
ฟีนอลเรด	0.024	กรัม
วุ้นผง	13.0	กรัม
ปรับพีเอชเป็น 7.0		

17. อาหารทดสอบน้ำตาล (Phenol red broth base)

ผงสกัดจากเนื้อ (Beef extract)	1.0	กรัม
โปรติโอสเปปโตน เบอร์ 3 (Proteose peptone No.3)	10.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
ฟีนอลเรด	0.018	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ แบ่งเป็นส่วนๆ เพื่อเติมน้ำตาลที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ กลูโคส อะราบิโนส ฟรุคโตส กาแลคโตส แลคโตส มอลโตส แมนโนส ราฟฟิโนส ซอร์บิตอล ซูโครส ไชโลส เดกซ์โตรส และซอโบส โดยเติม 1% นำไปปรับพีเอชเป็น 7.4

18. อาหารกึ่ง มีส่วนประกอบดังนี้

ปลาป่น	32.0	%
ถั่วเหลืองป่น	25.0	%
หัวกุ้งป่น	10.0	%
เลซิทิน	1.0	%
แป้งสาลี	20.0	%
กลูเตน (Wheat gluten)	5.0	%
วิตามินรวม	2.0	%
น้ำมันปลา	5.0	%

ชั่งอาหารกึ่ง 5, 10, 20 และ 30 กรัม เติมน้ำทะเลให้ครบ 1 ลิตร แล้วปรับพีเอชเป็น 7

19. น้ำทะเลสังเคราะห์ (Artificial seawater)

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	27.5	กรัม
แมกนีเซียมคลอไรด์ (MgCl <sub>2</sub> )	5.0	กรัม

แมกนีเซียมซัลเฟต ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	2.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.5	กรัม
โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)	1.0	กรัม
เฟอร์รัสซัลเฟต ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.001	กรัม

หมายเหตุ สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเหล่านี้ผสมน้ำทะเลสังเคราะห์ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ( $121^\circ\text{C}$ ) เป็นเวลา 15 นาที ยกเว้นอาหารเลี้ยงเชื้อบางสูตรที่ระบุไว้โดยเฉพาะ



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ข

### สีย้อมและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

#### 1. สารละลายแกรมไอโอดีน (Gram's iodine solution)

ไอโอดีนคริสตอล	1.0	กรัม
โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI)	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	300.0	มล.

ละลายไอโอดีนและโพแทสเซียมไอโอไดด์ในน้ำกลั่นปริมาณน้อยๆก่อน แล้วเติมน้ำให้ครบเก็บไว้ในขวดสีชา

#### 2. สารละลายแอมโมเนียมออกซาลาเลตคริสตอลไวโอเล็ต (Amonium oxalate crystal violet solution)

##### สารละลาย ก

คริสตอลไวโอเล็ต (Crystal violet)	3.0	กรัม
เอทิลแอลกอฮอล์ 95%	20.0	มล.

##### สารละลาย ข

แอมโมเนียมออกซาลาเลต (Amonium oxalate)	0.8	กรัม
น้ำกลั่น	50.0	มล.

ผสมสารละลาย ก และ ข เข้าด้วยกัน กรองก่อนนำไปใช้

#### 3. สารละลายอะซิโตนแอลกอฮอล์ (Acetone alcohol solution)

เอทิลแอลกอฮอล์ 95%	400.0	มล.
อะซิโตน (Acetone)	300.0	มล.

#### 4. สารละลายซาฟรานิน (Safranin solution)

ซาฟรานิน (Safranin)	0.25	กรัม
เอทิลแอลกอฮอล์ 95%	10.0	มล.
น้ำกลั่น	100.0	มล.

ละลายซาฟรานินด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ เติมน้ำกลั่นลงไปผสมให้เข้ากัน กรองก่อนนำไปใช้



## 5. สีย้อมสปอร์ (Endospore stain)

มาลาไคท์ กรีน (malachite green)	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มล.

ละลายสีในน้ำกลั่น หากมีตะกอนต้องกรองก่อนการใช้ทุกครั้ง

## 6. สารละลายทดสอบเอนไซม์ไซโตโครมออกซิเดส (Cytochrome oxidase test)

N,N,N,N-tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มล.

ละลายส่วนผสมให้เข้ากันเก็บในขวดสีชา เตรียมใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง

## 7. สารละลายโคแวกซ์ (Kovacs reagent)

พาราไดเมทิลอะมิโนเบนซาดิไฮด์	3.0	กรัม
บิวทานอล (Butanol)	75.0	มล.
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	25.0	มล.

ละลายพาราไดเมทิลอะมิโนเบนซาดิไฮด์ในบิวทานอลที่อุณหภูมิ 50-55 °C ที่งให้เย็นแล้ว  
เติมกรดไฮโดรคลอริกลงไป เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °C

## 8. สารละลายเมธิลเรด (Methyl red solution)

เมธิลเรด (Methyl red)	1.0	กรัม
เอธิลแอลกอฮอล์ 95%	300.0	มล.
น้ำกลั่น	200.0	มล.

ละลายเมธิลเรดในเอธิลแอลกอฮอล์ เติมน้ำกลั่นจนครบ เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °C

## 9. สารละลายทดสอบเมธิลคาร์บินอล (VP test solution)

สารละลาย ก

แอลฟาแนพทอล ( $\alpha$ -Naphthol)	5.0	มล.
เอธิลแอลกอฮอล์ 95%	100.0	มล.

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °C

## สารละลาย ข

โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH)	40.0	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มล.

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °ซ

## 10. สารละลายทดสอบไนเตรต (Nitrate reagent)

## สารละลาย ก

กรดซัลฟานิลิก (Sulfanilic acid)	8.0	กรัม
กรดอะซิติก (Acetic acid)	285.0	มก.
น้ำกลั่น	715.0	มก.

ละลายกรดซัลฟานิลิกในกรดอะซิติก เติมน้ำกลั่นจนครบปริมาตร เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °ซ

## สารละลาย ข

ไดเนพทิลลามีน (N,N-dimethyl-1-naphthylamide)	6.0	มล.
กรดอะซิติก	285.0	มล.
น้ำกลั่น	715.0	มล.

ผสมสารทั้งสองชนิด เติมน้ำกลั่นจนครบปริมาตรเก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °ซ

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Somogyi-Nelson

การเตรียมสารละลายชนิดที่ 1

ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ )	71	กรัม
โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เตรต	40	กรัม
น้ำกลั่น	700	มล.

ละลายส่วนผสมให้เข้ากันแล้วเติม

โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 N	100	มล.
คอปเปอร์ซัลเฟต ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) 10 %	80	มล.

ทำให้ร้อนแล้วเติม

โซเดียมซัลเฟต ( $Na_2SO_4$ )	180	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรสุดท้ายเป็น	1000	มล.

การเตรียมสารละลายชนิดที่ 2

แอมโมเนียมโมลิบเดต ( $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ )	53.2	กรัม
น้ำกลั่น	900	มล.

ละลายให้เข้ากันแล้วเติม

กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	42	มล.
-----------------------	----	-----

ไดโซเดียมไฮโดรเจนอะเซเนต 12 % 50 มล.

ผสมให้เข้ากันเก็บในขวดสีชา ทิ้งไว้ 24 ชม.ก่อนใช้

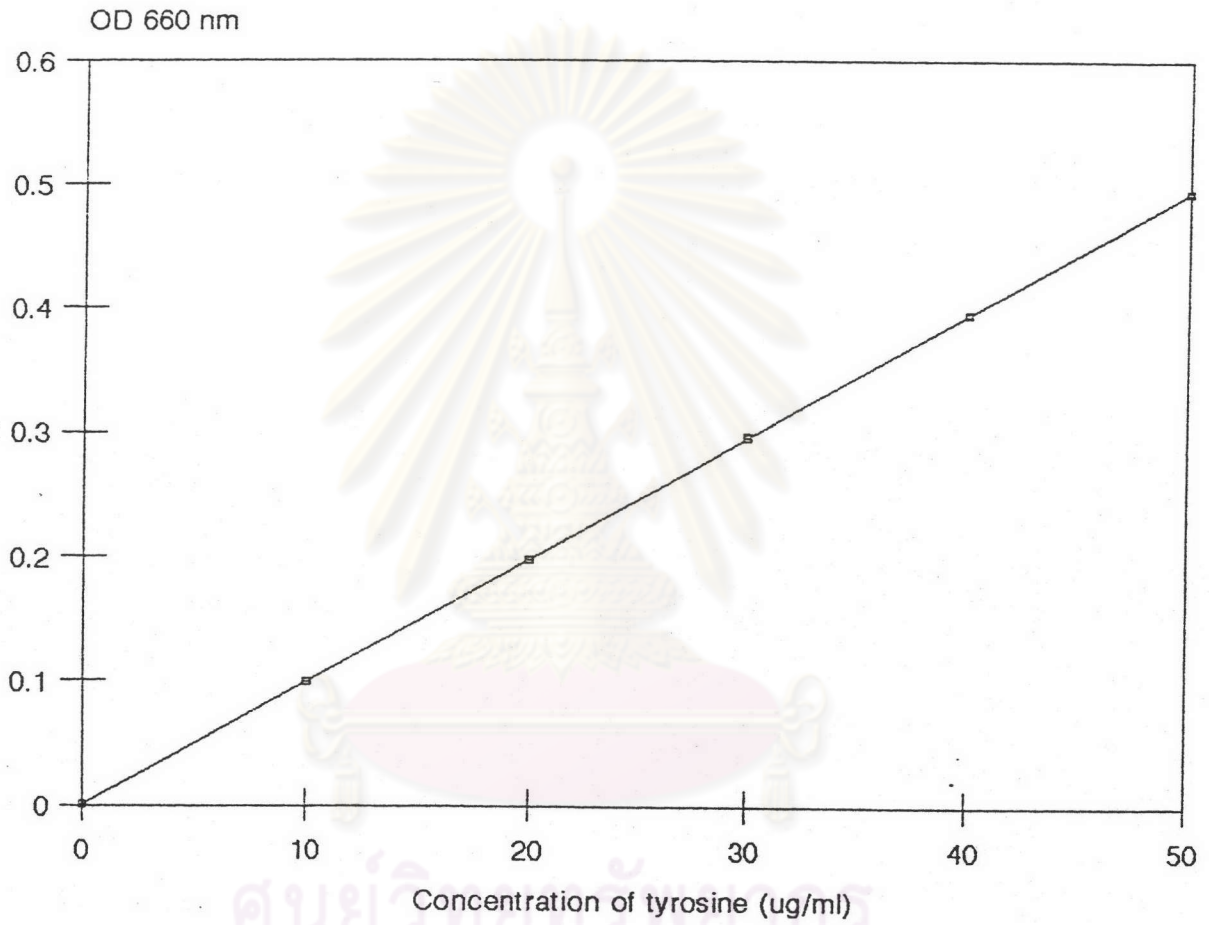
#### การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ใช้ตัวอย่าง 1 มล. ใส่ในหลอดทดลอง เดิมสารละลายชนิดที่ 1 ปริมาตร 1 มล. ต้ม 10 นาที ในน้ำเดือด ทำให้เย็นแล้วเติมสารละลายชนิดที่ 2 ปริมาตร 1 มล. ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที เติมน้ำ 10 มล. ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 528 nm. นำค่าที่ได้มาหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

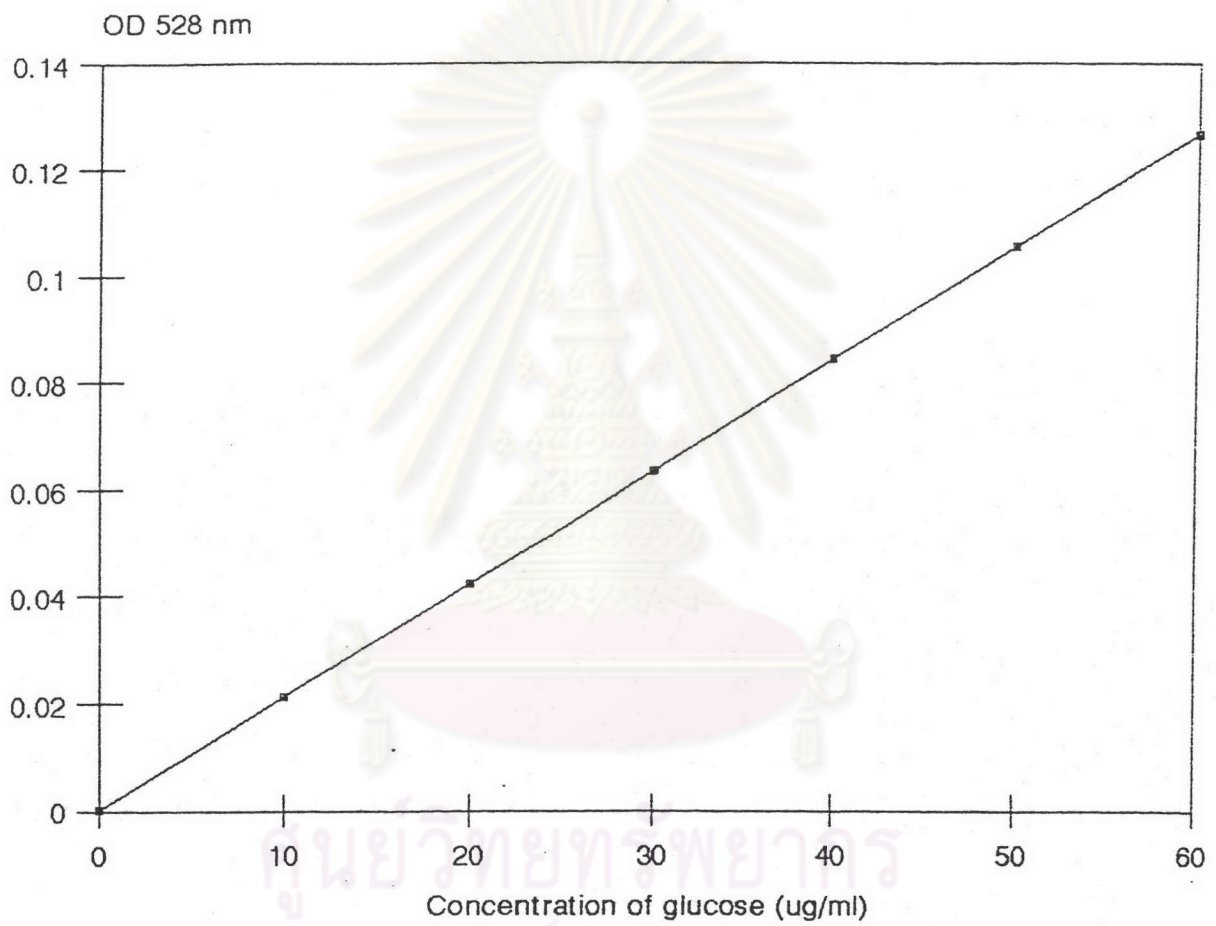


ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

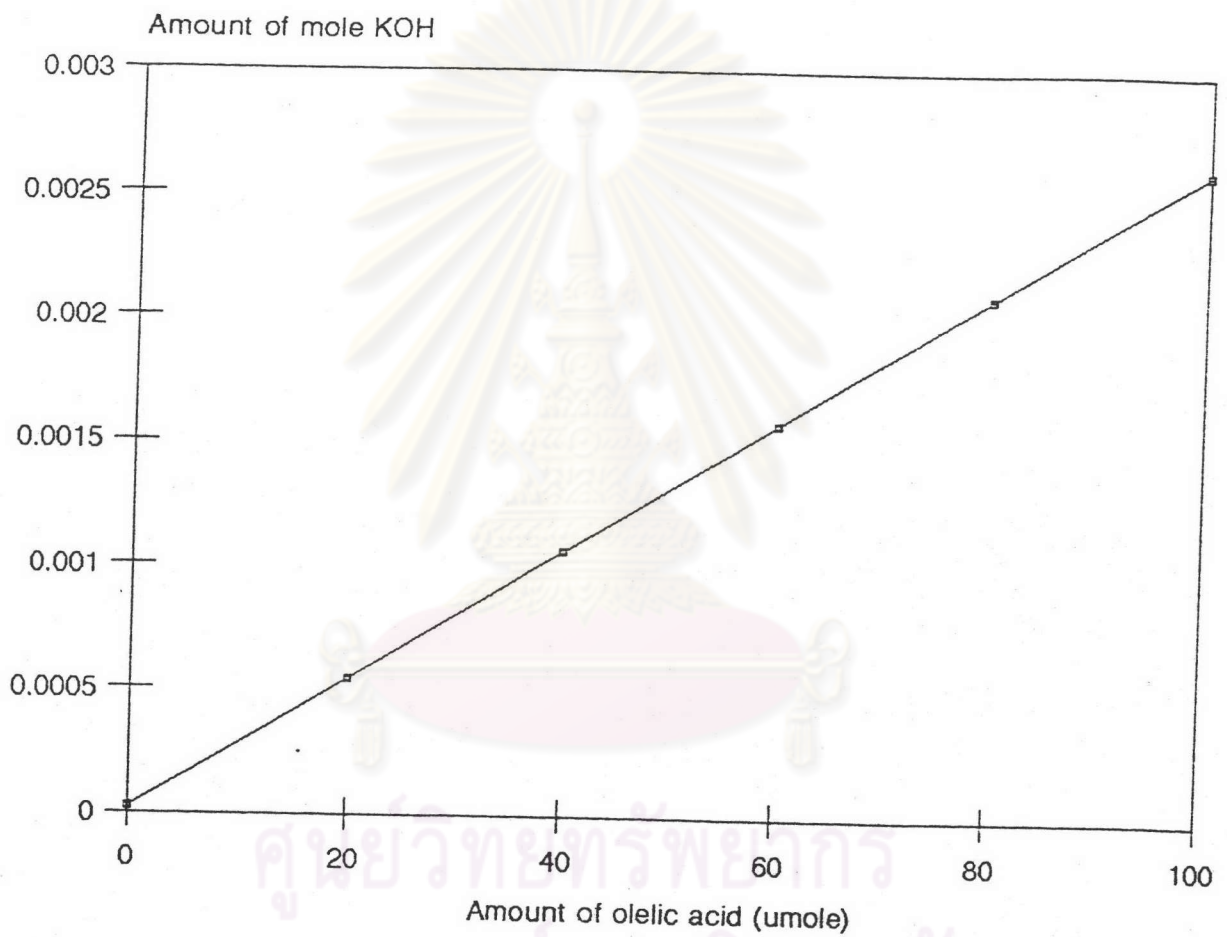
ภาคผนวก ง



กราฟมาตรฐานแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 nm กับสารละลายไทโรซีน



กราฟมาตรฐานแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 528 nm กับสารละลายกลูโคส



กราฟมาตรฐานของปฏิกิริยาระหว่าง Oleic acid กับ KOH

### ประวัติผู้เขียน

นางสาวเปรมสุดา สมาน เกิดเมื่อวันที่ 7 ตุลาคม 2513 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในปีการศึกษา 2535 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2536



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย