เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

นภา โลห์ทอง. เอกสารประกอบการบรรยายวิชาจุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และอักษรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2522.

_____. 2435. กล้าแบคทีเรีย กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ฟันนี่ พับบลิชชิ่ง.

บรรษัตเงินทุนอุตสาหกรรม. ตลาดสภาวะอุตสาหกรรม. อุตสาหกรรมนมและผลิตภัณฑ์นม. กรุงเทพ., 2535.

ลูกจันทร์ ภัครัชพันธุ์. อุตสาหกรรมอาหารหมักดอง. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2524.

เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์. การผลิตและการเก็บบักเตรีแลคติคที่ใช้เป็นอาหารเสริมสุกรในรูปเชื้อผง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2524.

มิ่งขวัญ มิ่งเมือง. การศึกษาจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นในขณะหมักดองผักกาดเขียว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2517.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. การศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการในระหว่างการทำแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2518.

สุขใจ โสมธฐิติ. การสำรวจเชื้อโรคลำไส้บางชนิดในแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2525.

ชวลิต ตั้งตระกูล. ผลของโซเดียมไนไตรท์ โปตัสเซียมไนเตรท ผงเพคและ กรดแอล-แอสคอร์บิคต่อคุณภาพไส้กรอกเปรี้ยว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2531.

อรพิณ ภูมิภมร. เอกสารประกอบการสอนวิชา วทอ. 461 ผลิตภัณฑ์อาหารหมัก ภาควิชาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2524.

ภาษาอังกฤษ

Alfred, L.B. and P.M. Davision. 1990. Antimicrobial in foods. New York. Marcel Dekker Inc.

Banks, J.G., Broad, R.G., and N.H.C. Sparks. 1986. Natural antimicrobial systems and their potential in food preservation of the future. Biotech. Appl. Biochem. 8: 103-147.

Barefoot, S.E. and T.R. Klaenhammer. 1983. Detection and activity of Lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. Appl. Environ. Microbiol. 45: 1808- 1815.

_____. 1984. Purification and characterization of the *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin, Lactocin B. Antimicrob. Agents Chemother. 26: 328-334.

Bhunia, A.K., M.C. Johnson, and B. Ray. 1987. Direct detection of an antimicrobial peptide of *Pediococcus acidilactici* in sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. J. Indust. Microbiol. 2: 319-322.

_____. 1988. Purification, characterization and antimicrobial spectrum of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* H. J. Appl. Bacteriol. 65: 261-268.

_____, and N. Kalchayanand. 1991. Mode of action of pediocin AcH from *Pediococcus acidilactici* H on sensitive bacterial strains. J. Appl. Bacteriol. 70: 25-33.

Biswas, S.R., P. Ray, M.C. Johnson, and B. Ray. 1991. Influence of growth conditions on the production of a bacteriocin,

pediocin AcH, by *Pediococcus acidilactici* H. Appl. Environ. Microbiol. 57: 1265-1267.

Branen, A.L., Davision, P.M., and B. Katz. 1980. Antimicrobial properties of phenolic antioxidants and lipids. Food Techol. ,34 (5): 42-52.

Buchanan, R.E., Gibbons, N.E. (eds.). 1974. Bergey's Mannual of Determinative Bacteriology 8th edition. Baltimore/London. Williams and Wilkins.

Catherine G.N., and Barefoot. 1993. Biochemical and genetic characteristics of bacteriocins of food-associated lactic acid bacteria. J. of Food Protection. 56 (4): 338-356.

Daba,H.,S. Pandian,J.F. Gosselin,R.E. Simard,J. Haung,and C. Lacroix. 1991. Detection and activity of a bacteriocin produced by *Leuconostoc mesenteroides*. Appl. Environ. Microbiol. 57: 3450-3455.

Daeschel, M.A. 1989. Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. Food Technol. 43: 164-167.

_____, M.C. Mckenny, and L.C. McDonald. 1990. Bacteriocidal activity of *Lactobacillus plantarum* C-11. Food Microbiol. 7: 91-98.

Davey, G.P. 1981. Mode of action of diplococcin, a bacteriocin from *Streptococcus cremoris* 346. N. Zeal. J. Dairy Sci. Technol. 16 :187-190.

_____. 1984. Plasmid associated with diplococcin production in *Streptococcus cremoris*. Appl. Environ. Microbiol. 48: 895-896.

_____ and B.C. Richardson. 1981. Purification and some proteries of diplococcin from *Streptococcus cremoris* 346. Appl. Environ. Microbiol. 41: 84-89.

Davidson, P.M. and A.L. Branen. 1981. Antimicrobial activity of non halogenated phenolic compounds. J. Food Prot. 44: 623-630.

Deklerk, H.C. 1967. Bacteriocinogeny in *Lactobacillus fermenti* Nature. (London) 214 : 609.

_____ and J.A. Smit. 1967. Properties of a *Lactobacillus fermenti* bacteriocin. J. Gen. Microbiol. 48: 309-316.

Dhavises, G. 1972. Microbial studies during the pickling of the shoot of bamboo, *Bambusa arudinacea*, Willd., and of Pak Siam, *Gynandropsis pentaphylla* D.C.M.S. Thesis Kasetsart University.

Food and Drug Administration. 1988. Nisin preparation: affirmation of GRAS status as a direct human food ingredient. Fed. Regist. 53: 11247.

Forey, H.W., E. Chain, N.G. Heatley, M.A. Jennings, A.G. Sanders, E. P. Abraham and M.E. Florey. 1949. Antibiotics from bacteria p. 417-565. In The antibiotics, vol. 1. Oxford University Press, London.

Frazier, W.C. and D.C. Westhoff. 1979. Food Microbiology. 3rd ed., New Delhi. Tata Mcgraw-Hill Publ. Co., Ltd.

Gao, F.H., T. Abee, and W.N. Konings. 1991. Mechanism of action of the peptide antibiotic nisin in liposomes and cytochrome C oxidase-containing proteoliposomes. Appl. Environ. Microbiol. 57: 2164-2170.

Geis, A., J. Singh, and M. Teuber. 1983. Potential of Lactic Streptococci to produce bacteriocin. Appl. Environ. Microbiol. 45: 205-211.

Georges, D., Beaumier, H. and Charbonneau, R. 1979. Inhibition of bacteria isolateed from ground meat by Streptococcaceae and Lactobacillaceae. J. of Food Science. 44: 1649-1652.

Gilland, S.E. and M.L. Speck. 1977. Use of the minitek system for characterizing Lactobacilli. Applied and Environ. Microbiol. June, 33(6): 1289-1292.

Gonzalez, C.F., and B.S. Kunka. 1987. Plasmid associated bacteriocin production and sucrose fermentation in *Pediococcus acidilactici* Appl. Environ. Microbiol. 53: 2534-2538.

Gotz, F., Sedewitz, B.,and E.F Elster . 1980. Oxygen utilization by *Lactobacillus plantarum*. I. Oxygen consuming reactions. Arch Mikrobiol. 125:209.

Gross, E., and J.L. Morell. 1967. The presence of dehydroalanine in the antibiotic nisin and its relationship to activity. Appl.Am. Chem. Soc. 89: 2791-2798.

_____. 1970. Nisin. The assignment of sulfide bridges of β-methylanthionine to a novel bicyclic structure of identical ring size. J. Am. Chem. Soc. 92: 2919-2925.

Hastings, J.W., and M.E. Stiles. 1991. Antibiosis of *Leuconostoc gelidum* isolated from meat J. Appl. Bacteriol. 70: 127-134.

Holo, H., O. Nilssen, and I. F. Nes. 1991. Lactococcin A, a new bacteriocin from *Lactococcus lactis* subsp.*cremoris*: isolation

and characterization of the protein and its gene. J. Bacteriol. 173:3879-3887.

Hoover, D.G. 1992. Bacteriocins: activities and applications pp. 181-190. In J.L. Lederberg (ed.), Encyclopedia of Microbiology, vol.I Academic Press. Inc., New York.

Hurst, A. 1983. Nisin and other inhibitory substances from Lactic acid bacteria. pp.327-351. In A.L. Branen and P.M. Davison (ed.). Antimicrobials in foods. Marcel Dekker, Inc., New York.

Ingram, M., F.J.H. Ottowan and J.B.M. Coppock. 1956. The preservative action of acid substances in food. Chem. Ind. 42: 1154-1165.

Jay, J.M. 1982. Antimicrobial properties of diacetyl. Appl.Environ. Microbiol. 44: 525-532.

Joerger, M.C., and T.R. Klaenhammer. 1986. Characterization and purification of helveticin J and evidence for a chromosomally determined bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus* 481. J. Bacteriol. 167: 439-446.

_____. 1990. Cloning, Expression and nucleotide sequence of the *Lactobacillus helveticus* 481 gene encoding the bacteriocin helveticin J. J. Bacteriol. 172: 6339-6347.

Kandler, O., and N. Weiss. 1986. Regular, nonsporing gram positive rod. In Sneath, P.A. (ed.). Bergey's Mannual of Systematic Bacteriology. vol 2. Baltimore / London: Williams & Wilkins.

Khem, M.S. and A.D. Ayebo. 1980. Role of dietary lactobacilli in gastrointestinal microecology. The American J. of Clinical Nutrition. 33:2448-2457.

Klaenhammer, T.R. 1988. Bacteriocin production by lactic acid bacteria. Biochemie. 70: 337-349.

Kozak, W., J. Bardwoski, and W.T. Dobrzanski. 1978. Lactostrepcins acid bacteriocins produced by Lactic Streptococci. J. Dairy Res. 45: 247-257.

Lawrence, R.C. and T.D. Terence. 1979. The Fermentation of Milk by Lactic Acid Bacteria., pp. 187-219. In A.T. Bull (ed.). Microbial Technology : Current State Future Prospects. Cambridge. Cambridge University Press.

Lee, S.H. and H.U. Kim. 1986. Studies on the antibiotic nisin produced by *Streptococcus lactis* IFO 12007. II Activity of nisin against vagetative microbes and spore germination. Dairy Sci Abstr. 48(2): 115-121.

Lewus, C.B., A. Kaiser, and T.J. Montville. 1991. Inhibition of food-borne bacterial pathogens by bacteriocins from lactic acid-bacteria isolated from meat. Appl. Environ. Microbiol. 57: 1683-1688

_____, S. Sun, and T.J. Montville. 1992. Production of an amylase sensitive bacteriocin by an atypical *Leuconostoc paramesenteroides* strain. Appl. Environ. Microbiol. 58: 143-149.

Liu, W. and J.N. Hanson. 1990. Some chemical and physical properties of Nisin, a small protein antibiotic produced by *Lactococcus lactis*. Appl. Environ. microbiol. 58: 2551-2558.

Lozano, J.C.N., J.N. Meyer, K. Sletten, C. Pelaz, and I.F. Nes. 1992. Purification and amino acid sequence of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*. J. Gen. Microbiol. 138: 1985-1990.

Lubis, D, 1983 a. The antibacterial activity of yogurt cultures towards *Salmonella typhimurium*.I. Inhibition of S.*typhimurium* by supernantant from *Streptococcus thermophilus* culture. Dairy Sci.Abstr. 45(7): 523-524.

_____ b. The antibacterial activity of yogurt cultures towards *Salmonella typhimurium*. II. Inhibition of S. *typhimurium*. by supernantant from *Lactobacillus bulgaricus* culture. Dairy Sci.Abstr. 45(7): 524.

Lucke, F.K., 1985. Fermented sausages, pp. 4-84. In J.B. Brain (ed.). Microbiology of Fermented Foods, vol.2. Elseviev Applied Science Publishers, England.

Lyon, W. J., and B. A. Glatz. 1991. Partial purification and characterization of a bacteriocin produced by *Propionibacterium thoenii*. Appl. Environ. Microbiol. 58: 701-706.

Marshall, V.M. 1986. The microflora and production of fermented milk,pp. 1-44. In. M.R. Adams (ed.). Progress in Industrial Microbiology. vol. 23. Elseviev Applied Science Publisher, London.

Mocquot, G. and Hurel, C. 1970. The selection and use of some microorganisms for the manufacture of fermented and acidified milk products. J. Soc. Dairy Technol. 23: 130-153.

Mortvedt, C.I., J. Nissen-Meyer, K. Sletten, and I.F. Nes. 1991. Purification and amino acid sequence of lactocin S, a bacteriocin produced by *Lactobacillus sake* L45. Appl. Environ.Microbiol. 57:1829-1834.

Muriana, P.M., and T.R. Klaenhammer. 1991. Purification and partial characterization of lactacin F; a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* 11088. Appl. Environ. Microbiol. 57: 114-121.

Neve, J., A. Geis, and M. Teuber. 1984. Conjugal transfer and characterization of bacteriocin plasmids in Group N (lactic acid) Streptococci. J. Bacteriol. 157: 833-838.

Orberg, P.K., and W.E. Sandine. 1984. Common occurrence of plasmid DNA and vancomycin resistance in *Leuconostoc* spp. Appl. Environ, Microbiol. 48: 1129-1133.

Orla-Jensen, S. 1931. Dairy Bacteriology, In A.Y. Tamine and R.K. Robinson. Yogurt: Science and Technology, Oxford, Pergamon Press.

Oxford, A.E., 1944. Diplococcin, an antibacterial protein elaborated by certain milk Streptococci. Biochem. J. 38: 178-182.

Piard, J.C., P.M. Muriana, M.J. Desmazeaud, and T.R. Klaenhammer. 1992. Purification and partial characterization of lacticin 481, a lanthionine-containing bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CNRZ481. Appl. Environ. Microbiol. 58: 279-284.

Prescott, S.C. and C.G. Dunn. 1959. Industry Microbiology. 3rd ed., Kogakushi Co., Ltd., Tokyo.

Pucci, J.J., E.R. Vedamuthu, B.S. Kunka, and P.A. Vandenbergh. 1988. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by using bacteriocin PA-1 produced by *Pediococcus acidilactici* PAC1.0. Appl. Environ. Microbiol. 54: 2349-2353.

Reiter, B. and B.G. Harnulv. 1984. Lactoperoxidase antibacterial system: Natural occurrence, biological functions and practical applications. J. Food Protect. 47:724.

Robach, M.C. 1980. Use of preservatives to control microorganisms in food. Food Technol. 34 (10): 81-88.

Roger, L.A. 1928. The inhibiting effect of *Streptpcoccus lactis* on *Lactobacillus bulgaricus*. J. Bacteriol. 16: 311-316.

Ruhr, E., and H.G. Sahl. 1985. Mode of action of the peptide antibiotics nisin and influence on the membrane potential of whole cells and cytoplasmic and artificial membrane visicles. Antimicro. Agents Chemother. 27: 841-845.

Rubin, H.E., F. Vaughan and T. Nerad. 1982. Lactic acid inhibition of *Salmonella typhimurium* in yogurt. J. Dairy Sci. 65(2): 197-203.

Sandine, W.E. 1988. New nomenclature of non-rod-shaped lactic acid bacteria. Biochimie. 70: 519-522.

Schleifer, K.H. 1986. Gram-positive cocci. In Sneath, P.A.(ed.). Bergey's Mannual of Systematic Bacteriology. vol 2. Baltimore / London: Williams & Wilkins.

Scherwitz, K.M., K.A. Baldwin, and L.L. Mckay. 1983. Plasmid linkage of a bacteriocin-like substance in *Streptococcus lactis*

subsp. *diacetylactis* strain WM_4 : transferability to *Streptococcus lactis*. Appl. Environ. Microbiol. 45:1506-1512.

Schillinger, U., and F.K. Luck. 1989. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. Appl. Environ. Microbiol. 55: 1901-1908.

_____, U.,M. Kaya, and F.K. Lucke. 1991. Behavior of *Listeria monocytogenes* in meat and its control by bacteriocin producing strain of *Lactobacillus sake*. J. Appl. Bacterol. 70: 473-478.

Silliker, J.H. 1980. Microbial Ecology of Food vol.2. Food Comnoodities. Academic press, New York. 824p.

Silva M, N.V. Jacobus,C. Deueke and S.L. Eorbach. 1987. Antimicrobial substance from a human *Lactobacillus* strain. Antimicrob. Agents Chemother. 31(8): 1231-1233.

Sobrino, O.J., J.M. Rodriguez, W.L. Moreira, M.F. Fernandez, B. Sanz, and P.E. Hernandeg. 1992. Sakacin M; a bacteriocin like substance from *Lactobacillus sake* 148. Int.J. Food Microbiol. 16: 215-225.

Somkuti, G.A. and D.H. Steinberg. 1979. Adaptability of S. *thermophilus* to lactose, glucose and galactose. J. of Food Protection. 42: 881-885.

Sorrels, K.M. and M.L. Speck. 1970. Inhibition of *Salmonella gallinarum* by culture filtrates of *Leuconostoc citrovorum*. J. Dairy Sci. 53: 239-240.

Stiles, M.E. and J.W. Hastings. 1991. Bacteriocin production by lactic acid bacteria: potential for use in meat preservation. Trends. Food Sci. Technol. 2: 247-251.

Stoddard, G.W., J.P. Petzel, M.J. van Belkum, J. Kok, and L.L. Mckay. , 1992. Molecular analyses of the lactococcin A gene cluster from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* WM_4. Appl. Environ. Microbiol. 58: 1952-1961.

Stevens, K.A., N.A. Klapes, B.W. Sheldon, and T.R. Klaenhammer. 1992. Antimicrobial action of nisin against *Salmonella typhimurium* Appl. Environ. Microbial. 58: 1786-1788.

_____, B.W. Schldon, N.A. Klapes, and T.R. Klaenhammer. 1991. Nisin treatment for inactivation of *Salmonella* species and other gram negative bacteria. Appl. environ. Microbiol. 57: 3613-3615.

_____. 1992. Effect of treatment conditions on nisin inactivation of gram negative bacteria. J. Food Prot. 55: 763-766.

Sundhakul, M., W., Daengsubha and P. Suyanandana. 1975. Thailand's traditional fermented food products: A brief description. Thai's J. Agri. Sci. 8(4): 205-219.

Tagg, J.R., Dajanii, A.S., and L.W. Wannamaker. 1976. Bacteriocins of gram positive bacteria. Bacteriol. Rev. 40: 722-756.

Tamine, A.Y. 1981. Microbiology of Starter Culture , pp. 133-156. In R.K. Robinson (ed.). Dairy Microbiology. vol.2: The Microbiology of Milk Product. London. Applied Science Publisher.

Tanasupawat, S. and W. Daengsubha. 1983. *Pediococcus* species and related bacterias found in fermented foods and related materials in Thailand. J. Gen. Appl. Microbiol. 29:487-506.

Thomas D. Brock and M. T. Michael, 1979. Biology of Microorganism 5th (ed.). New Jersey. Prentice-Hall, Inc.

Tichaczek, P.S., J.N. Meyer, I.F. Nes, R.F. Vogel, and W.P. Hammes. 1992. Characterization of the bacteriocins curvacin A from *Lactobacillus curvatus* LTH1174 and Sakacin P from *L. sake* LTH673. System. Appl. Microbiol. 15: 460-468.

Tittsler, R.P., C.S. Pederson, E.E. Snell, D. Handlin and C.F. Niven, Jr. 1952. Symposium on the lactic acid bacteria. Bact. Rev. 16: 227-260.

Tramer, J. 1966. Inhibition effect of *Lactobacillus acidophilus*. Nature (London) 211: 204-205.

Upreti, G.C. and Hinsdill, R.D. 1973. Isolation and Characterization of a bacteriocin from a homofermentative Lactobacillus. Antimicrob. Agents Chemother. 4: 487-494.

_____. 1975. Production and mode of action of Lactocin 27 : Bacteriocin from a homofermentative Lactobacillus. Antimicrob. Agents Chemother. 7: 139-145.

Van Belkum, M.T., B.T. Hayema, A. Geis, J. Kole and G. Venema. 1989 Cloning of two bacteriocin genes from a Lactococcal bacteriocin plasmid. Appl. Environ. Microbiol. 55: 1187-1191.

Vaan Laack, R.L.J.M., U. Schillinger, and W.H. Holzapfel. 1992. Characterization and partial purification of a bacteriocin

produced by *Leuconostoc carnosum* LA44A. Int. J. Food Microbiol. 16: 183-195.

Vaughan, E.E., C. Daly, and G.F. Fitzgerald. 1992. Identification and characterization of helveticin V-1829, a bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus* 1829. J. Appl. Bacteriol. 73: 299-308.

West, C.A.,and P.J. Warner. 1988. Plantacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* NCDO 1193. FEMS Microbiol. Lett. 49: 163-165.

Zajdel, J.K.,P. Ceglowski, and W.T. Dobrzanski. 1985. Mechanism of action of lactostrepcin 5, a bacteriocin produced by *Streptococcus cremoris* 202. Appl. Environ. Microbiol. 49: 969-974.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

1. สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 อาหารเอ็มอาร์เอส (MRS media)

โปรติโอสเปปโตน	10.0	กรัม
เนื้อวัวสกัด	10.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
เด็กซ์โตส	20.0	กรัม
ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	2.0	กรัม
ไดแอมโมเนียมซิเตรท	2.0	กรัม
ทวีน 80	1.0	กรัม
โซเดียมอะซิเตรท	5.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.58	กรัม
แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4.4H_2O$)	0.28	กรัม
น้ำ	1,000	มล.

ปรับให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 ด้วย 1 นอร์มอล โซเดียมไฮดรอกไซด์

ถ้าต้องการอาหารแข็งให้เติมผงวุ้น 15 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน (15 ปอนด์/ตารางนิ้ว, 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที)

1.2 อาหารน้ำมะเขือเทศ

กลูโคส	10.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
โปติโอสเปปโตน	5.0	กรัม
โปตัสเซียมไดไฮโดเจนฟอสเฟต	0.5	กรัม
โปตัสเซียมคลอไรด์	0.125	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$)	0.125	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	0.125	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.125	กรัม
แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4.4H_2O$)	0.003	กรัม
น้ำมะเขือเทศกระป๋อง	150	มล.
เติมน้ำจนมีปริมาตร	1,000	มล.

ปรับให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 5.0 ถ้าต้องการอาหารแข็งให้เติมผงวุ้น 15 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน (15 ปอนด์/ตารางนิ้ว, 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที)

1.3 อาหารเอพีที (APT media)

ทริปโตน	10.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	5.0	กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	5.0	กรัม
โซเดียมซิเตรท	5.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5.0	กรัม
กลูโคส	10.0	กรัม
ทวีน-80	1.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.58	กรัม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4.4H_2O$)	0.28	กรัม
น้ำ	1,000	มล.

ปรับให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.7-7.0 ถ้าต้องการอาหารเข็งให้เติมผงวุ้น 15 กรัม ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน (15 ปอนด์/ตารางนิ้ว, 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที)

1.4 อาหารนิวเตรียนท์ (Nutrient media)

เนื้อวัวสกัด	3.0	กรัม
เปปโตน	5.0	กรัม
น้ำ	1,000	มล.

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

1.5 อาหารนมพร่องมันเนย (Skim milk)

นมพร่องมันเนย	10.0	กรัม
น้ำ	100	มล.

นึ่งที่ความดัน 10 ปอนด์/ตารางนิ้ว, 110 °ซ, 10 นาที

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. สีย้อมและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

2.1 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0

0.2 M สารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	39.0	มล.
0.2 M สารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	61.0	มล.
ปรับให้มี pH 7.0		
เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร	200.0	มล.

2.2 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.5

0.2 M สารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	68.5	มล.
0.2 M สารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	31.5	มล.
ปรับให้มี pH 6.5		
เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร	200.0	มล.

2.3 สารละลายคริสตอลไวโอเล็ต (Crystal violet solution)

คริสตอลไวโอเล็ต	4.0	กรัม
น้ำกลั่น	400	มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.4 สารละลายแกรมไอโอดีน (Gram's iodine solution)

ไอโอดีนคริสตอล	10.0	กรัม
โปแตสเซียมไอโอดีน (KI)	0.5	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	50	มล.

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในน้ำกลั่นช้าๆ แล้วจึงเติมไอโอดีนคริสตอลลงไปและเติมโปแตสเซียมไอโอไดด์เป็นลำดับสุดท้าย

2.5 สารละลายแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซนต์ (95 % Alcohol)

แอลกอฮอล์บริสุทธิ์	9.5	มล.
เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร	100	มล.

2.6 สารละลายสีซาฟรานิน (Safranin Staining Solution)

ซาฟรานิน	4.0	กรัม
น้ำกลั่น	200.0	มล.

2.7 สารละลายสีมาลาไคท์กรีน (Malachite Green solution)

มาลาไคท์กรีน	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	95.0	มล.

ละลายมาลาไคท์กรีนในน้ำกลั่นตั้งทิ้งไว้ 2-3 วัน
กรองก่อนนำไปใช้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.8 สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide solution) ความเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์

สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ที่มีความเข้มข้น 30 เปอร์เซนต์)	10.0	มล.
น้ำกลั่น	90.0	มล.

3. สารละลายสำหรับวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธีลอรี่ (Lowry's method)

3.1 ลอรี่ เอ (Lowry A)

โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	60	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	12	กรัม
โซเดียมโปแทสเซียมทาร์เทรต	0.6	กรัม
น้ำกลั่น	3,000	มล.

3.2 ลอรี่ บี

คอปเปอร์ซัลเฟต ($Cuso_4 . 5H_2O$)	50	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มล.

3.3 ลอรี่ ซี

ผสมลอรี่ เอ	50	ส่วน
ผสมลอรี่ ซี	1	ส่วน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4 สารละลายฟินอลรีเอเจนต์ (Phenol reagent: Lowry D)

สารละลายโฟลินฟินอลรีเอเจนท์ (Folin phenol reagent)	1	ส่วน
น้ำกลั่น	1	ส่วน

4. สารละลายที่ใช้ในการทำโพลีอะคริลาไมด์เจลชนิดแผ่น (Stab gel electrophoresis)

4.1 สารละลายอะคริลาไมด์ (Acrylamide solution)

อะคริลาไมด์ (Acrylamide)	30	กรัม
บิส-อะคริลาไมด์ (Bis-Acrylamide)	0.8	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร	100	มล.
กรอง เก็บในขวดสีชาที่ 4°ซ		

4.2 สารละลายผสมของเซพาเรตติงเจล (Separating gel solution) 12 %

สารละลายอะคริลาไมด์	8.0	มล.
1.5 โมลาร์ ทริส-ไฮดรคลอไรด์ pH 8.8	5.0	มล.
น้ำกลั่น	8.05	มล.
10% โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต	0.2	มล.
TEMED	0.01	มล.
10 % สารละลายแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต	0.1	มล.

4.3 สารละลายผสมของสแตกกิงเจล (Stacking gel) 3.5 %

สารละลายอะคริลาไมด์	2.4	มล.
0.5 โมลาร์ ทริส-ไฮโดรคลอไรด์ pH 6.8	5.0	มล.
น้ำกลั่น	12.3	มล.
10 % โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต	0.2	มล.
TEMED	0.02	มล.
10 % สารละลายแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต	0.1	มล.

4.4 สารละลายทริส-ไกลซีน อิเลคโตรบัฟเฟอร์
(Tris-Glycine electrode buffer solution)

ทริส	1.5	กรัม
ไกลซีน	14.4	กรัม
10 % โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต	10.0	มล.
ปรับให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.3		
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร	1,000	มล.

4.5 บัฟเฟอร์ที่ใช้กับโปรตีนที่จะวิเคราะห์ (Sample buffer)

0.5 โมลาร์ ทริส-ไฮโดรคลอไรด์ pH 6.8	12.5	มล.
กลีเซอรอล	10.0	มล.
10 % โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต	30.0	มล.
บรอมฟีนอล บลู	0.005	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร	100.0	มล.

4.6 สารละลายสำหรับสีย้อม (Staining solution)

โคแมสซี บริลเลียนท์ บลู จี-250	2	กรัม
เมธานอล	500	มล.
กรดอะซิติก	100	มล.
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร	1,000	มล.

4.7 สารละลายสำหรับล้างสี (Destaining solution)

เมธานอล	50	มล.
กรดอะซิติก	70	มล.
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร	1,000	มล.

4.8 10 % สารละลายแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต

แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต	1	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร	10	มล.

สารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ก่อนใช้

4.9 10 % โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS)

โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต	100	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร	1,000	มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.10 1.5 โมลาร์ ทริส-ไฮโดรคลอไรด์ pH 8.8

ทริส	90.825	กรัม
เติมน้ำกลั่นบางส่วน		
ปรับให้มีความเป็นกรดด่าง 8.8 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก		
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร	500	มล.

4.11 0.5 โมลาร์ ทริส-ไฮโดรคลอไรด์ pH 6.8

ทริส	30.275	กรัม
เติมน้ำกลั่นบางส่วน		
ปรับให้มีความเป็นกรดด่าง 6.8 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก		
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร	300	มล.

4.12 1 % โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS)

10 % SDS	5	มล.
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร	50	มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

1. การทำอิเลคโตรโฟริซิสบนโซเดียมโดเดซิลโพลีอะคริลาไมด์เจลชนิดแผ่น (SDS Gel Electrophoresis) ตามวิธีของ Laemmli (1970)

โดยประกบแผ่นแก้วขนาด 16x16 เซนติเมตร 2 แผ่นเข้าด้วยกันสอดแผ่นพลาสติก (Spacer) หนา 0.5 มิลลิเมตร ที่ขอบด้านข้างทั้ง 2 ข้าง เทสารละลายผสมของเซพาเรตติงเจล (Separating Gel) ที่มีเจลความเข้มข้น 12 % (ภาคผนวกหมายเลข 4.2) ลงไปบนแผ่นแก้วจนได้ความสูง 9 เซนติเมตร หยด 1 % เอสดีเอส (ภาคผนวกหมายเลข 4.10) ลงบนผิวหน้าเจลให้มีความสูง 2 เซนติเมตร ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 20 นาทีจนกระทั่งเจลแข็งตัว เท 1 % เอสดีเอส ออกและซับให้แห้งเทสารละลายผสมของสแตกกิงเจล (Stacking Gel) ที่มีเจลความเข้มข้น 3.5 % (ภาคผนวกหมายเลข 4.3) จนเต็มแผ่นกระจกวางแผ่นพลาสติกที่มีช่องสำหรับใส่ตัวอย่าง (Slot Former) เมื่อเจลแข็งตัวดึงแผ่นพลาสติกออก ล้างช่องใส่ตัวอย่างด้วย ทริส-ไกลซีน อิเลคโตรดบัฟเฟอร์ (ภาคผนวกหมายเลข 4.4) 2-3 ครั้ง และเติมลงในช่องใส่ตัวอย่างจนเต็ม นำโปรตีนที่จะวิเคราะห์และโปรตีนมาตรฐานละลายในบัฟเฟอร์ (ภาคผนวกหมายเลข 4.5) ต้มให้เดือดที่ 100 °ซ เป็นเวลา 5 นาที นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที จากนั้นหยอดลงในช่องใส่ตัวอย่างบนแผ่นเจลทำอิเลคโตรโฟริซิสที่ 35 มิลลิแอมแปร์ในส่วนของสแตกกิงเจล และ 20 มิลลิแอมแปร์ ในส่วนของเซพาเรตติงเจลจนกระทั่งสีของบรอมฟีนอลบลูเคลื่อนลงมาถึงก่อนปลายสุดของแผ่นเจล 2 เซนติเมตรต่อจากนั้นนำแผ่นเจลมาแช่ในน้ำยาย้อมสีโปรตีน (ภาคผนวกหมายเลข 4.6) เป็นเวลา 45 นาที ชะล้างสีด้วยสารละลายชะล้างสี (ภาคผนวกหมายเลข 4.7) จนเห็นแถบโปรตีนชัดเจน

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธีการของ Lowry และคณะ (1951)

นำสารละลายตัวอย่างที่ต้องการวัดปริมาณโปรตีน 1.0 มล. มาเติมสารละลายผสม C (ภาคผนวกหมายเลข 3.3) 5 มล. ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15-20 นาที เติมสารละลาย D (ภาคผนวกหมายเลข 3.4) 0.5 มล. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วนำส่วนผสมนี้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร

สร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้โบวีนซีรัมอัลบูมิน (Bovine Serum Albumin) ที่ความเข้มข้น 0-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3. การคำนวนเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (Doubling Time; t_d)

จากข้อมูล $(x_1,y_1)=(x_1,y_1), (x_2,y_2), (x_3,y_3),\ldots\ldots, (x_n,y_n)$

สมการที่ 1 : $\Sigma x_i y_i - (\Sigma x_i)(\Sigma y_i)/n$

สมการที่ 2 : $\Sigma (x_i)^2 - (\Sigma x_i)^2 /n$

ค่า μ = ค่าสมการที่ 1/ ค่าสมการที่ 2

ค่า $t_d = 0.693/ \mu$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสสำหรับโยเกิร์ต

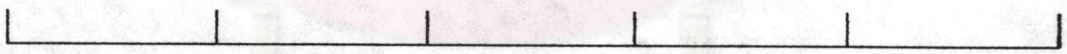
ชื่อ_____วันที่_____

จากตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ให้มา กรุณาประเมินคุณภาพทางด้านสี กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ และค่าการยอมรับรวม พร้อมทั้งให้คะแนนตามความคิดเห็นของท่าน โดยใส่หมายเลขของผลิตภัณฑ์ลงบนเส้นการให้คะแนน

0	2	4	6	8	10
ไม่ดีมากที่สุด	ไม่ดี	พอใช้	ดี	ดีมาก	ดีที่สุด

หมายเหตุ "กรุณาบ้วนปากทุกครั้งที่จะชิมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ต่อไป"

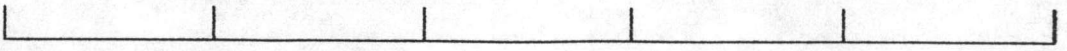
1. สี (color) โยเกิร์ตควรมีสีขาวนวลคล้ายน้ำนม



0 2 4 6 8 10

สีคล้ำไม่น่ารับประทาน — สีนวลน่ารับประทาน

2. กลิ่น (odor) โยเกิร์ตควรมีกลิ่นหอมน่ารับประทาน

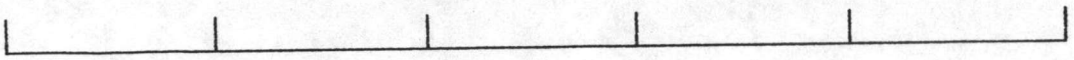


0 2 4 6 8 10

กลิ่นเหม็นไม่น่ารับประทาน — กลิ่นหอมน่ารับประทาน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

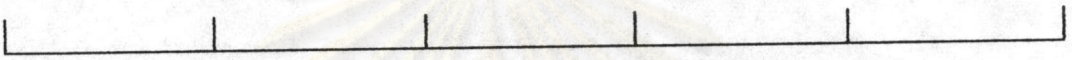
3. เนื้อสัมผัส (texture) โยเกิร์ตควรมีเนื้อเนียน นุ่ม ละมุนลิ้น



0 2 4 6 8 10

เนื้อหยาบมีเม็ด เนื้อเนียนละเอียด

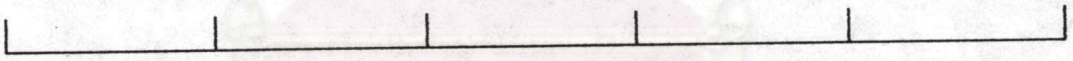
4. รสชาติ (flavor) รสชาติคล้ายโยเกิร์ตที่ขายในท้องตลาด



0 2 4 6 8 10

ไม่เหมือนโยเกิร์ตที่ขายในท้องตลาด เหมือนโยเกิร์ตที่ขายในท้องตลาด

5. การยอมรับรวม



0 2 4 6 8 10

ไม่ยอมรับมากที่สุด ยอมรับมากที่สุด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะ

ขอบคุณมากค่ะ

อาภัสรา กอบกัยกิจ

ประวัติผู้เขียน

นางสาวอาภัสรา กอบกัยกิจ เกิดเมื่อวันที่ 11 กรกฎาคม 2511 ที่จังหวัดอุทัยธานี สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2532 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2533

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย