เอกสารอ้างอิง

1. ธวัชชัย วิไลพันธุ์ " ทำน้ำปลาใช้เอง " ทักษะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 45 (2526) : 60 - 63

2. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ " การเปรียบเทียบวิธีการเตรียมน้ำปลาที่ผลิตขึ้นบริโภคเอง " ข่าวสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ 27 (2529) : 4 - 7

3. มัทนา แสงจินดาวงษ์, สมศักดิ์ วินิจนันทรัตน์ " การศึกษาชนิดและปริมาณแบคทีเรียในระยะต้นของการหมักน้ำปลา " วารสารการประมง 37 (2527) : 69 - 72

4. ประชุม พิริยะะพงศ์ " น้ำปลา " วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 17 (2518) : 71 - 76

5. Sorasuchart, T. " The Nutritive Value of Thai fish products,The vitamin content," Report on Technological Reserach Concerning. Norwegien Fish Industry v(7) 11p.

6. ศิริพร จรูญพงษ์ศักดิ์ " การศึกษาการเสริมธาตุเหล็กในน้ำปลา " วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2529.

7. " เรื่องของน้ำปลามูลค่าพันล้าน " เกษตรวันนี้ 4 (2527) : 13 - 16.

8. " Foreign Trade Statistic " Department of Custom ISSN - 0376 - 5709 , Bangkok , (Dec.1984 - 6, Mar.1987.)

9. ลูกจันทร์ ภัครัชพันธุ์ อุตสาหกรรมอาหารหมักดอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 2522. 166 หน้า.

10. อำนวย โชติญาณวงษ์, นงนุช รักสกุลไทย, บังอร เชื้อโพธิ์หัก, มัทนา แสงจินดาวงษ์, มยุรี จัยวัฒน์ " การเร่งปฏิกริยาการเกิดน้ำปลา " วารสารการประมง, 36(2526) : 536 - 537

11. สำรอง เผ่าหอม " ผลการใช้เอนไซม์เทียมในการทำน้ำปลา " วิทยานิพนธ์ปริญญาบัณฑิต คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2507.

12. ปราโมทย์ สุวรรณศาสตร์ "เปรียบเทียบผลการใช้เอนไซม์เทียมและเอ็นไซม์จากยางมะละกอในการทำน้ำปลา" วิทยานิพนธ์ปริญญาตรีคณะประมงมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2507.

13. Vardhanabhuti S. , P. Somchai and J. Sukhumavasi " The use of papain in biological quick process for fish sauce production " Report No. 5 on Reserch Project No. 31/4 ASRCT Bangkok (mimeographed) .

14. Ooshiro,Zentaro, Taing Ok, Hiroshi Une, Seiichi Hayashi and Takao Itakura " Study on Use of Commercial Proteolytic Enzymes in Producing of Fish Sauce," Mem Fac Fish Kagoshima Univ. 30(0) : 383 - 394, 1981.

15. Poosaran, Naiyatat " Fish sauce : Acid hydrolysis at ambient temperature " Songklanakarin J. Sci. Technol. 8 (1986) : 43 - 46

16. Gildberg, Asbjohn, Jasmin Espejo - Hermes and Florian Magno Orejana " Acceleration of Autolysis during fish sauce fermentation by addind acid and reducing the salt content " J. Sci. Food Agric. 35 (1984) : 1363 - 1369

17. ชิกิโอ มูรายามา, โดมิเนดอร์ ล. คาลเวซ์, ประภาส นิตยจินต์ " ผลการค้นคว้าในการทำน้ำปลาโดยใช้ Proteolytic enzymes " วารสารการประมง 15 (2505) : 381 - 391

18. Hall, L. A. " Protein hydrolysate flavor ingredients for foods " Food Ind. 18 (1946) : 95 - 98

19. กฤษดา สมิตศิริ " บักเตรีชอบเกลือในการหมักน้ำปลา " วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2529.

20. Mittranond, Chananan " Experimental fish sauce fermentation using enzymes and halophilic bacterial cultures " M.S. Thesis, Mahidol Univ. Bangkok. 1983.

21. Taing Ok, Toshiyuki Matsukura, Zentaro Ooshiro, Seiichi Hayashi and Takao Itakura, " Protease formation by two Moderately

Halophilic Bacillus Strains Isolated from Fish Sauce " Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 29 (1982) : 618 - 622.

22. อุตสาหกรรม, กระทรวง " มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำปลาพื้นเมือง " สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กรุงเทพฯ 2526.

23. Kushner, D. J. " Halophilic Bacteria " Advances in Applied Microbiology (Wayne, W. Umbreit and D. Perlman) Vol.10 pp.73-99 Academic Press New Yolk 1968.

24. Saisithi, P. " Studies on the Origins and development of the typical flavor and aroma of Thai fish sauce " Ph.D. thesis Univ. of Washington 1967.

25. Fujii, Tateo and Hisao Sakai, " Chemical and microbiological analyses of putrid fish sauce Shotturu " Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish 50 (1984) : 1067 - 1070

26. Fujii, Tateo and Hisao Sakai, " Chemical composition and microflora of fish sauce Shotturu " Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish 50 (1984) : 1061 - 106

27. เกษตรและสหกรณ์,กระทรวง " สถิติหน่วยธุรกิจการประมง ปี 2527 " ฝ่ายสถิติการประมง กองนโยบายและแผนงาน กรมประมง เอกสารฉบับที่ 1/2529.

28. พวงพร โชติกไกร จุลชีววิทยาของอาหารและนม มหาวิทยาลัยรามคำแหง, 2530.

29. ประเสริฐ สายสิทธิ์ ผลิตภัณฑ์ประมงและหลักการถนอม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พิมพ์ครั้งที่ 1 , โรงพิมพ์คุรุสภา, 2514. 348 หน้า.

30. ประเสริฐ สายสิทธิ์ " จำนวนแบคทีเรียของปลาทูสดระหว่างการขนถ่าย " วิทยาสารเกษตร-ศาสตร์ 3 (2506) : 79 - 90

31. Shewan,J.M. " The Microbiology of Sea Water Fish , pp.487 - 560. In G.Borgstrom(ed.) Fish as Food,Vol. I. Academic Press , New Yolk, 1961.

32. Tomiyasu, Y. and Lennitani, B. " Spoilage of fish and its preservation by chemical agents " Adv. Food Res. VII p.42 - 82 Acadimic Press Inc. Publishers New Yolk 1957.

33. Suwanik, R. " Iron and Iodine fortification of common salt and fish sauce " Lancet 2 (8099) : 1101 - 1102, 1978.

34. วิเชียร สาครมงคล, สมพูล สุยะสินธุ์, กฤษดา ตันธีระธรรม " การผลิตเกลือในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ " กองการวิจัย กรมวิทยาศาสตร์ 2521.

35. Hamm, W. S. and J. A. Claque " Temperature and salt purity effects on the manufacture of fish paste and sauce " U. S. Fish and Wild life Service Reserch Rept. 24 (1950) : 11

36. Amano, K. " The influence of fermentation on the nutritive value of fish with special reference to fermented fish products of South - East Asia " pp. 180 - 200 : 1950. In E. Heen and R. Kreuzer(eds.) Intern. Symp. of Fish in Nutrition Fishing News(Books) Ltd. London.

37. Voskresensky, N. A. " Salting of herring" pp. 107 - 131, 1965. In G. Borgstrom (ed.) Fish as Food Vol. III, Acadimic Press New Yolk.

38. Tagahashi, T. " The heat stability of the enzymes of fish, I. On the effect of salt " Bull. Jap. Soc. Sci. Fish 13 (1948) : 199

39. Hesseltine, C.W. " The millennium of Fungi,food and fermentation " Mycologia 57 (1965) : 149-197

40. Yong,F.M. and Wood,B.J.B. " Microbiology and Biochemistry of the Soy Sauce fermentation " Adv. Appl. Microbiol. 17 (1974) : 157 - 194

41. Suntinanalerts, P. " Role of microorganisms in the fermentation of Nam Pla in Thailand : Relationship of bacteria isolated from

Nam Pla produced from different geographical localitiesin Thailand " M. S. Thesis, Mahidol Univ. Bangkok. , 1979.

42. มัทนา แสงจินดาวงษ์ " การศึกษาชนิดและปริมาณของแบคทีเรียที่พบในเกลือทะเลซึ่งจำหน่ายในตลาดกรุงเทพฯ " อาหาร 14 (2525) : 56 - 63

43. Cutting, C. L. " The influence of drying, Salting and Smoking on the nutritive value of fish " Intern. Symp. on Fish in Nutrition p. 161 - 179, Fishing News(Books) Ltd. London, 1962.

44. Siebert G. and A. Schmitt. " Fish tissue enzymes and their role in the deteriolative changes in fish " Intern. Symp. on the Technology of Fish Utilization. R. K. Renzer (ed.) London : Fishing News(Books) Ltd. : 47 - 52, 1965.

45. ประเสริฐ สายสิทธิ์ " กลิ่นและรสของน้ำปลา " วารสารการประมง 21 (2511) : 467 - 473

46. สาธารณสุข,กระทรวง " แสดงชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนในอาหารไทย " กรมอนามัย กองโภชนาการ กรุงเทพฯ 15 หน้า.

47. Subba Rao , G. N. " Fish processing in the Indo - Pacific Area " Reginal studies No. 4 FAO Reginal office for Asia and the Far East, Bangkok 231 p. 1961.

48. Thongthai, C. and Okada H. " Change of nitrogenous compounds during Nampla fermentation " pp. 101 - 107, 1980. In Microbial Utilization of Renewable Resources Vol. I. JSPS-NRCT seminar on Agro - Industry Including Microbial Technology Osaka Japan.

49. Kasermsarn, B. " Studies on fish sauce fermentation " M.S. Thesis Univ. of Washington 1963.

50. Van Veen, A. G. " Fermented and dried sea food products in Southeast Asia " pp. 227 - 250, 1965. In G. Borgstrom (ed.) Fish as Food. Vol. III. Academic Press New Yolk.

51. Garby, L. and Areekul S. " Iron supplement in Thai fish sauce " Ann. Trop. Parasitol. 68 (1974) : 467 - 476

52. Sanceda, Norita G. , Tadao Kurata and Nobuhiko Arakaw " Fractionation and identification of volatile compounds in patis, A Philippine fish sauce, " Agric. Biol. Chem. 48 (1985) : 3047 - 3052

53. Bradstreet,R.B. The Kjeldahl Method for Organic Nitrogen .Academic Press ,New Yolk, 1965.

54. A.O.A.C. Official Method of Analysis 12 th ed. Assoc. Office Agric.Chemists. 1975.

55. Uyenco,V.,I.Lawas,P.R.Briones and R.S.Tarac. " Mechanics of Bagoong (fish paste) and Patis (fish sauce) Processing" Proc. Indo - Pacif. Fish. Coun. 4 : 210 - 222, 1953.

56. สายสมร ลิปตะศิริ " การศึกษาคุณสมบัติบางประการของเชื้อบักเตรีที่แยกได้ในน้ำปลาไทย " วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย-เกษตรศาสตร์ 2518.

57. สิทธิพันธ์ ไชยนันท์ " การศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติบางประการของเชื้อบักเตรีที่แยกได้จากน้ำปลาไทยซึ่งผลิตจากปลาน้ำจืดและปลาน้ำเค็ม, " วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2521.

58. ยงยศ จุฑามาตยางกูร " การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของบักเตรี *Pediococcus sp.* ที่แยกได้จากน้ำปลา " วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2522.

59. Itoh,Hiroshi, Ratna Siri Hadioetomo, Sayuki Nikkuni and Noriyuki Okada "Studies on the Lactic acid Bacteria in Fish Sauce :

Part 2. Identification of Salt - Tolerant and Acid - Producing Bacteria from Fish Sauces." Rep Natl Food Res Inst. 0(47) 31 - 40, 1985.

60. Zenitani, B. " Studies on fermented fish product I. On the aerobic bacteria in shotturu " Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish 21 (1955) : 280 - 283

61. Saisithi, P. , Kasermsarn , B., Liston, J., and Dollar, A.M. " Microbiology and chemistry of fermented fish " J.food Sci. 31 (1966) : 105-110

62. Yoshinaka, Reiji, Mamoru Sato, Nozomu Tsuchiya and Shizunori Ikeda " Production of Fish Sauce from Sardine by Utilization of its Visceral Enzymes " Bull Jpn Soc Sci Fish. 49(3) : 463 - 470, 1983.

63. Nakano Tamao, Hiroshi Watanabe, Mitsuo Hata, Duong Van Qua and Toshi Miura " An application of protease produced by a moderate halophilic marine bacterium to fish sauce processing " Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish 52(1986) : 1581 - 1588

64. Baxter, R.M. and Gibbons, N.E., "Effect of Sodium and Potassium Chloride on certain enzymes of *Micrococcus halodenitrificans* and *Pseudomonas salinaria* " Can. J. Microbiol. 2 (1956) : 599-606

65. Larsen, H. " Halophilism " pp.297-342. In(I.C.Gunsalus and Stainer, R.Y.,eds.), The Bacteria : a Treatise on Structure and Fungtion Vol.IV The phisiological of growth Academic press N.Y. and London. 1962.

66. Nandy, S.C., and Sen,S.N. " Chemogenesis of halophilic bacteria " Indain J. Exptl. Biol. 5(1967) : 146 - 148

67. Noel R. , Krieg John G. Holt (ed.) Bergey's manual of systematic bacteriology Vol. I Williams & Wilkins, Baltimore, U.S.A. 1984.

68. Baxter, R.M. and Gibbons, N.E. " The glycerol dehydrogenases of *Pseudomonas salinaria*, *Vibrio costicolus* and *Escherichia coli* in relation to bacterial halophilism, " Can.J.Biochem.Physiol. 32 (1954) : 206-217

69. Baxter, R.M. and Gibbons, N.E., "The Cysteine desulfhydrase of *Pseudomonas salinaria* " Can.J.Microbiol. 3 (1957) : 461-465

70. Holmes, P.K. , Dundas, I.D., and Halvorson,H.O. " Halophilic enzymes in Cell-Free Extract of *Halobacterium salinarium* J. Bacteriol. 90 (1965) : 1159-1160

71. Hochstein,L.I. and Dalton,B.P. " Salt Specificity of a Reduced Nicotinamide Adenide Dinucleotide Oxidase Prepared from a *Halobacterium salinarium* " J.Bacteriol. 95 (1968) : 37-42

72. Society of American Bacteriologists, Manual of microbiological methods, New Yolk, McGraw - Hill Book Company, Inc., 1957.

73. Dussault, H.P. " An Improved Technique for Staining Red Halophilic bacteria " J. Bacteriol. 70 (1955) : 484-485

74. อำนวย โชติญาณวงษ์ การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ประมง ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2524. 210 หน้า.

75. Chantharaksri,U. "Personal Comunication."

76. Noriyuki Okada " Studies on lactic acid bacteriain fish sauce : Part I Chemical composition and microflora of fish sauce " Rep. Natl. Food Res. Inst. 0 (1985) : 23 - 30

77. Breed ,R.S.,Murray,E.G.D. and Smith,N.R.(eds.), Bergey's Manual of Determinative Bacteriology,7th.ed., The Williams and Wilkins Co.,Baltimore, 1957.

78. Difco Manaul : Dehydrated Culture Media and Reagent for Microbiology 10th ed. Difco Laboratory 1984.

79. Onishi H., Magaret E. McCance and N. E. Gibbons " A synthetic medium for extreamely halophilic bacteria " Can. J. Microbiol. 11 (1965) : 365 - 373

80. Sehgal, S. N. and Gibbons, N. E. " Effect of some metal ions on the growth of Halobacterium cutirubium " Can. J. Microbiol. 6 (1960) : 165 - 169

81. Norberg , P. and Hofsten ,B. v. " Proteolytic enzymes from extreamely halophilic bacteria " J. of Gen. Microbiol. 55(1969) : 251 - 256

82. Spruit C. J. P. and Pijper A. Antonie Van Leewenhock J. Microbiol. Serol. 18 (1952) : 190 - 200

83. Eimhjellen , K. In " Anreicherungskultur and Mutantenanslese " (H. G. Schlegel, ed.) pp. 126 - 137. VerlageStuttgart 1965.

84. สรชัย พิศาลบุตร สถิติเพื่อการวิเคราะห์และการวิจัย ภาควิชาสถิติ คณะพาณิชยศาสตร์และการบัญชี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำนักพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมวิชาการ กรุงเทพฯ.

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

สูตรอาหารเหล่านี้ผสมกับน้ำกลั่น 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (อุณหภูมิ 121 °C.) เป็นเวลานาน 15 นาที ยกเว้นสูตรอาหารบางสูตรที่ระบุไว้โดยเฉพาะ

1. อาหารเลี้ยงเชื้ออาร์จินีน (Arginine medium) (78)

ยีสต์เอกซแตรก (yesat extract)	10.0	กรัม
แบคโตทริปโตน (bacto - tryptone)	2.5	กรัม
ไดโปตัสเซี่ยมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.3	กรัม
วุ้น (Agar)	3.0	กรัม
ฟีนอลเรด (phenol red)	0.01	กรัม
แอลอาร์จินีนไฮโดรคลอไรด์ (L- arginine HCl)	10.0	กรัม
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	6.8 - 7.0	

2. Brain heart infusion agar

Calf brains, infusion form	200.0	กรัม
Beef heart, infusion form	250.0	กรัม
โปรติโอสเปบโตน (Proteose peptone)	10.0	กรัม
แบคโตเดกซ์โตรส (Bacto - dextrose)	2.0	กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)	2.5	กรัม
วุ้น (Bacto agar)	12.5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco โดยชั่งมา 52 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตรใส่โซเดียมคลอไรด์ตามจำนวนที่ต้องการต้มส่วนผสมทั้งหมดจนละลาย ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 6.5 ด้วย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

3. Complex medium of Dundus (79)

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	ตามต้องการ	
โปตัสเซี่ยมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แมกนีเซี่ยมคลอไรด์ ($MgCl_2.6H_2O$)	5.0	กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	5.0	กรัม
ยีสต์เอกซ์แตรก (Yeast extract)	10.0	กรัม
วุ้น (Agar)	15.0	กรัม
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH)	6.8	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ 1 ลิตร ต้มจนละลายจนหมด ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 6.8 ด้วย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

4. Complex medium of Sehgal and Gibbons (80)

แคสอะมิโนแอซิด (Casamino acid)	7.5	กรัม
ยีสต์เอกซ์แตรก (Yeast extract)	10.0	กรัม
โซเดียมซิเตรท (Na - citrate)	3.0	กรัม
โปตัสเซี่ยมคลอไรด์ (KCl)	2.0	กรัม
แมกนีเซี่ยมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	20.0	กรัม
เฟอร์รัสคลอไรด์ ($FeCl_2$)	0.023	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	25.0	กรัม
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.4	

5. Halobacterium medium agar (HMA)

สารละลาย ก :

ยีสต์เอกซ์แตรก (Yeast extract)	10.0	กรัม
แบคโตทริปโตน (Bacto tryptone)	2.5	กรัม
วุ้น (Agar)	20.0	กรัม
น้ำกลั่น	300.0	มิลลิลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.0	

สารละลาย ข :

แมกนีเซี่ยมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	10.0	กรัม
โปตัสเซี่ยมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แคลเซี่ยมคลอไรด์ ($CaCL_2$)	0.2	กรัม
น้ำกลั่น	700.0	มิลลิลิตร
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	ตามต้องการ	

นึ่งฆ่าเชื้อสารละลาย ก และสารละลาย ข แยกกันแล้วค่อยนำมาผสมกันภายหลัง

6. Halobacterium medium broth (HMB)

ส่วนประกอบเหมือน Halobacterium medium agar (HMA) แต่ไม่เติมวุ้น

7. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับทดสอบการสร้างน้ำย่อยไขมัน

ส่วนประกอบเหมือน Halobacterium medium agar (HMA) นึ่งฆ่าเชื้อ Tween 80 จำนวน 10 มิลลิลิตร แยกต่างหากแล้วนำมาผสมกับ สารละลาย ก และสารละลาย ข ภายหลัง

8. Lochhead's skim milk agar

Skim milk (fresh)	500.0	มิลลิลิตร
วุ้น (Agar)	15.0	กรัม

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	ตามต้องการ	
เติมน้ำให้ครบ	1.0	ลิตร

ละลาย Skim milk 50 กรัมในน้ำ 500 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้วนาน 10 นาที ส่วนโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) และวุ้นนำมาละลายในน้ำ 500 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที แล้วจึงนำทั้ง 2 ส่วนมาผสมกันภายหลัง

9. **Medium 73** (81)

ยีสต์เอกซ์แตรก (Yeast extract)	1.0	กรัม
เจลลาติน (Gelatin)	10.0	กรัม
วุ้น (Agar)	20.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	10.0	กรัม
โปตัสเซียมคลอไรด์ (KCl)	5.0	กรัม
แคลเซี่ยมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	ตามต้องการ	
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.4	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย ปรับระดับความเป็นกรดด่างเป็น 7.4 ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

10. **Methyl red – Voges – Proskauer medium** (MR – VP medium)

บัฟเฟอร์เปปโตน (Buffered peptone)	7.0	กรัม
ไดโปตัสเซี่ยมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	5.0	กรัม
แบคโตเดกซ์โตรส (Bacto – dextrose)	5.0	กรัม

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco โดยชั่ง 17 กรัม ต่อน้ำ 1 ลิตร ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 6.9

11. Motility test medium

แบคโตทริปโตน (Bacto - tryptone)	10.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
วุ้น (Bacto - agar)	5.0	กรัม
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.2	

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco โดยชั่งมา 20 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 7.2

12. Nutrient agar

บีฟเอกซ์แตรก (Beef extract)	3.0	กรัม
เปปโตน (Peptone)	5.0	กรัม
วุ้น (Agar)	15.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	ตามต้องการ	

ละลายส่วยผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 6.5 ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

13. O - F basal medium

แบคโตทริปโตน (Bacto - tryptone)	2.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
ไดโปตัสเซี่ยมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.3	กรัม
แบคโตบรอมไธมอลบลู (Bacto - bromthymol blue)	0.08	กรัม
วุ้น (Bacto - agar)	2.0	กรัม

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco โดยชั่ง 9.4 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร แบ่งเป็น 3 ส่วน ส่วนละ 100 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อแล้วเติมแต่ละส่วนด้วยเดกซ์โตรส (dextrose), แลคโตส

(lactose) และแซคคาร์โรส (saccharose) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ที่ฆ่าเชื้อแล้วอย่างละ 10 มิลลิลิตรตามลำดับ หลังจากนั้นนำทั้ง 3 ส่วนมาผสมกัน แล้วแบ่งใส่หลอดทดลองที่ทำให้ปราศจากเชื้อแล้ว หลอดละ 5 มิลลิลิตร

14. Phenol red broth base

แบคโตบีฟเอกซ์แตรก (Bacto - beef extract)	1.0	กรัม
โปรติโอสเปบโตน (Proteose peptone) no.3	10.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
แบคโตฟีนอลเรด (Bacto - phenol red)	0.018	กรัม

ใช้อาหารสำเร็จของ Difco โดยชั่งมา 16 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 7.4 หลังจากนั้นเติม 1 เปอร์เซ็นต์ของคาร์โบไฮเดรทที่ต้องการจะทดสอบ หลังจาก นึ่งฆ่าเชื้อให้นำมาแช่น้ำเย็นทันทีเพื่อป้องกันน้ำตาลแตกตัว

15. Proteose peptone agar (82)

โปรติโอสเปบโตน (Protese peptone)	10.0	กรัม
วุ้น (Agar)	15.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	ตามต้องการ	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ต้มจนละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

16. Simmon citrate agar

แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NH_4H_2PO_4$)	1.0	กรัม
ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	1.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
โซเดียมซิเตรท (Na - citrate)	2.0	กรัม

แมกนีเซี่ยมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.2	กรัม
วุ้น (Agar)	15.0	กรัม
บรอมไธมอลบลู (Bromthymol blue)	0.08	กรัม

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ BBL โดยชั่ง 24.2 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 6.9

17. **Thioglycolate medium**

แบคโตคาซิโตน (Bacto - casitone)	15.0	กรัม
แบคโตยีสต์เอกซ์แตรก (Bacto - yeast extract)	5.0	กรัม
แบคโตเดกซ์โตรส (Bacto - dextrose)	5.5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	2.5	กรัม
แอลซิสทีน (L - cystine), Difco	0.5	กรัม
โซเดียมไทโอไกลโคเลท (Na - thioglycolate)	0.5	กรัม
วุ้น (Bacto - agar)	0.75	กรัม
รีซาซูริน (Rezazurin)	0.001	กรัม

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco โดยชั่ง 20.8 กรัม ต่อน้ำ 1 ลิตรโดยเติมวุ้นลงไปอีก 12 กรัม ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 7.1

18. **Triple sugar iron agar** (TSI agar)

แบคโตบีฟเอกซ์แตรก (Bacto - beef extract)	3.0	กรัม
แบคโตยีสต์เอกซ์แตรก (Bacto - yeast extract)	3.0	กรัม
แบคโตเปบโตน (Bacto - peptone)	15.0	กรัม
โปรติโอสเปบโตน (Proteose peptone) , Difco	5.0	กรัม
แบคโตแลคโตส (Bacto - lactose)	10.0	กรัม
แบคโตแซคคาร์โรส (Bacto - saccharose)	10.0	กรัม

แบคโตเดกซ์โตรส (Bacto - dextrose)	1.0	กรัม
เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4$)	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
โซเดียมไธโอซัลเฟต	0.3	กรัม
วุ้น (Bacto - agar)	12.0	กรัม
แบคโตฟีนอลเรด (Bacto - phenol red)	0.024	กรัม
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	7.4 _+ 0.2	

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco โดยชั่งมา 6.5 กรัม ต่อน้ำ 1 ลิตร ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 7.4

19. Tryptic soy agar

แบคโตทริปโตน (Bacto - tryptone)		
Pancreatic digest of casein	15.0	กรัม
แบคโตซอยโตน (Bacto - soytone)		
Papaic digest of soy been meal	5.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
วุ้น (Bacto - agar)	15.0	กรัม

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco โดยชั่งมา 40 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่ 7.3 ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer)

20. Tryptone yeast extract agar (83)

ทริปโตน (Tryptone)	5.0	กรัม
ยีสต์เอกซ์แตรก (Yeast extract or autolysate)	5.0	กรัม
โซลาร์ซอลท์ (Solar salt or NaCl)	ตามต้องการ	
แมกนีเซี่ยมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	2.0	กรัม

แคลเซี่ยมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$)	5.0	กรัม
วุ้น (Agar)	18.0	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดยกเว้นแคลเซี่ยมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$) ต้มจนละลายนำไปนึ่งฆ่าเชื้อพร้อมกับแคลเซี่ยมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$) หลังจากนั้นจึ่งค่อยผสมแคลเซี่ยมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$) ลงไป เขย่าจนละลาย

21. **Urea broth**

แบคโตยีสต์เอกซ์แตรก (Bacto - yeast extract)	0.1	กรัม
โปตัสเซี่ยมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	9.1	กรัม
ไดโปตัสเซี่ยมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	9.5	กรัม
ยูเรีย (Urea) , Difco	20.0	กรัม
แบคโตฟีนอลเรด (Bacto - phenol red)	0.01	กรัม
ปรับระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่	6.8	

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco โดยชั่งมา 38.7 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อโดยใช้ Millipore filter

ภาคผนวก ข

สีย้อมและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. **แอมโมเนียมออกซาเลทคริสตอลไวโอเลต** (Ammonium oxalate crystal violate)

คริสตอลไวโอเลต (Crystal violate)	2.0	กรัม
เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ (Ethanol 95 %)	20.0	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้ง 2 ให้เข้ากันแล้วเติมสารละลายแอมโมเนียมออกซาเลต(Ammonium oxalate) 1 เปอร์เซ็นต์ ลงไป 80 มิลลิลิตร

2. **แกรมไอโอดีน** (Gram's Iodine)

โปตัสเซี่ยมไอโอไดด์ (KI)	2.0	กรัม
คริสตอลไอโอดีน (Crystal Iodine)	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	300.0	มิลลิลิตร

ผสมคริสตอลไอโอดีน (Crystal Iodine) และโปตัสเซี่ยมไอโอไดด์ (KI) ลงไปในโกร่ง (Mortar) และบดให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำไปละลายในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีน้ำตาล

3. **ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์** (Hydrogen peroxide) 5 **เปอร์เซ็นต์**

สารละลายของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 30 เปอร์เซ็นต์	16.67	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	83.33	มิลลิลิตร

4. **สารละลายโคแวค** (Kovacs solution)

พาราไดเมทิลอมิโนเบนซัลดีไฮด์ (Para - dimethyl aminobenzaldehyde)	5.0	กรัม
เอมิลหรือบิวทิลแอลกอฮอล์ (Amyl or buthyl alcohol)	75.0	มิลลิลิตร
กรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น (HCl conc.)	25.0	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ใส่ในขวดสีน้ำตาล เก็บในที่อุณหภูมิต่ำ

5. **สารละลายของ** Logal (Logal's solution)

คริสตอลไอโอดีน (Crystal Iodine)	1.0	กรัม
โปตัสเซี่ยมไอโอไดด์ (KI)	2.0	กรัม
เอทานอล (Ethanol) 95 เปอร์เซ็นต์	30.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	300.0	มิลลิลิตร

6. **มาลาไคท์กรีน** (Malachite green) 5 เปอร์เซ็นต์

มาลาไคท์กรีน (Malachite green)	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	95.0	มิลลิลิตร

ละลายมาลาไคท์กรีน (Malachite green) ในน้ำกลั่นจนหมด ตั้งทิ้งไว้ 2 - 3 วัน กรองก่อนนำไปใช้

7. **สารละลายเมทิลเรด** (Methyl red solution)

เมทิลเรด (Methyl red)	1.0	กรัม
เอทานอล (Ethanol) 95 เปอร์เซ็นต์	300.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	200.0	มิลลิลิตร

ละลายเมทิลเรด (Methyl red) ในเอทานอล (Ethanol) 95 เปอร์เซ็นต์จนหมด แล้วจึงเติมน้ำกลั่น บรรจุในขวดสีน้ำตาล

8. **สารละลายที่ใช้ทดสอบไนไตรท์** (Nitrite test solution)

สารละลาย ก :

กรดซัลฟานิลิค (Sulfanilic acid)	0.8	กรัม
กรออะซีติค (acetic acid) 5 นอร์แมล	100.0	มิลลิลิตร

สารละลาย ข :

แอลฟาแนฟทิลลามีน (Alpha naphthylamine)	0.5	กรัม
กรดอะซีติค (acetic acid) 5 นอร์แมล	100.0	มิลลิลิตร

9. **ซาฟรานีน** (Safranin)

สารละลายซาฟรานีน (Safranin) 2.5 เปอร์เซ็นต์

ในเอทานอล (ethanol) 95 เปอร์เซ็นต์	10.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

ละลายซาฟรานีน (safranin) 2.5 กรัม ในเอทานอล (ethanol) 95 เปอร์เซ็นต์ แบ่งมา 10 มิลลิลิตร เติมน้ำลงไป 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

10 **Tetramethyl - p - phenylene diamine dihydrochloride solution**

Tetramethyl - p - phenylene diamine dihydrochloride	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 15 นาที ก่อนนำไปใช้ เตรียมก่อนใช้ทุกครั้ง

11. Voges - Proskauer test reagent

สารละลาย ก :

แอลฟาแนฟทอล (Alpha naphthol)	5.0	กรัม
เอทานอล (Ethanol) 95 เปอร์เซ็นต์	100.0	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในขวดสีน้ำตาล

สารละลาย ข :

โปตัสเซี่ยมไฮดรอกไซด์ (KOH)	40.0	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

12. Ziehl - Neelsen's carbofuchsin stain

เบสิคฟุคซิน (Basic fuchsin)	0.3	กรัม
เอทานอล (Ethanol) 95 เปอร์เซ็นต์	10.0	มิลลิลิตร
ฟีนอลคริสตอล (Phenol crystals)	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	95.0	มิลลิลิตร

ละลายเบสิคฟุคซิน (Basic fuchsin) ด้วยเอทานอล (ethanol) 95 เปอร์เซ็นต์ และละลายฟีนอล (phenol) ด้วยน้ำกลั่น จึงนำสารละลายทั้ง 2 อย่างมาผสมกัน

13. กรดบอริค (Boric acid) เข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์

กรดบอริค (Boric acid)	40.0	กรัม
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	1000	มิลลิลิตร

ผสมกรดบอริค (Boric acid) ในน้ำประมาณ 800 มิลลิลิตร ละลายให้เข้ากัน เติมน้ำให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

14. สารละสารโซเดียมไฮดรอกไซด์(NaOH) เข้มข้น Ø.1 นอร์แมล

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 4 กรัม มาละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 1ØØØ มิลลิลิตร นำสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เตรียมได้ไป Standardize กับสารละลายของโปตัสเซียมไฮโดรเจนพทาเลท (Potassium hydrogen phthalate) ($C_8H_5KO_4$) ที่มีความเข้มข้น Ø.1 นอร์แมล ซึ่งเตรียมโดยการอบโปตัสเซียมไฮโดรเจนพทาเลทที่ 12Ø °C. เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำมาทำให้เย็นใน Desicater แล้วนำไปชั่งให้ได้น้ำหนัก 2.Ø423 กรัม เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1ØØ มิลลิลิตร ใน Volumetric flask นำไปไตเตรทกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เตรียมไว้แล้วโดยใช้ฟีนอฟธาลีน (phenolpthalein) เป็นดัชนี (indicator) จุด end point สังเกตได้จากสารละลายของโปตัสเซี่ยมไฮโดรเจนพทาเลทจะเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพู นำไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่แท้จริงจากสูตร $N_1V_1 = N_2V_2$ (N_1 = ความเข้มข้นของสารละลายโปตัสเซี่ยมไฮโดรเจนพทาเลท คือ Ø.1 นอร์แมล; V_1 = ปริมาตรของสารละลายโปตัสเซี่ยมไฮโดรเจนพทาเลท; N_2 = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เตรียมได้ ; V_2 = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้) เก็บสารละลายของโวเดียมไฮดรอกไซด์ไว้ในขวดที่มีฝาบิดแน่น

15. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 4Ø เปอร์เซ็นต์

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์(NaOH) 4ØØ กรัม มาละลายในน้ำกลั่น 1ØØØ มิลลิลิตร ละลายให้เข้ากัน ควรทำในอ่างน้ำเย็นภายใต้ fume hood

16. สารละลายกรดซัลฟุริค (H_2SO_4) Ø.1 นอร์แมล

ดูดกรดซัลฟุริค (H_2SO_4) 2.66 มิลลิลิตร (ซึ่งเท่ากับน้ำหนัก 4.9Ø325 กรัม ; Molecular weight = 98.Ø7 ; Density = 1.84) โดยใช้ลูกยาง นำมาผสมกับน้ำกลั่น 9ØØ มิลลิลิตร ใน Volumetric flask ผสมให้เข้ากัน เติมน้ำให้ครบ 1ØØØ มิลลิลิตร นำสารละลายกรดซัลฟุริคที่เตรียมได้ไป Standardize กับโซเดียมไฮดรอกไซด์ Ø.1 นอร์แมล

(ในข้อ 14) ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน โดยใช้ ฟินอฟธาลีนเป็นดัชนี จุด end point สังเกตจากสารละลายของกรดซัลฟุริคเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพู คำนวณหาค่าความเข้มข้นที่แน่นอนจากสูตร $N_1V_1 = N_2V_2$ ทำนองเดียวกันกับการหาความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ เก็บสารละลายของกรดซัลฟุริคไว้ในขวดที่มีฝาปิดแน่น

17. **สารละลายของอินดิเคเตอร์ผสม** (Mixed indicator)

สารละลาย ก

เมทิลเรด (Methyl red)	100.0	มิลลิกรัม
เอทานอล (Ethanol) 95 เปอร์เซ็นต์	100.0	มิลลิลิตร

สารละลาย ข

บรอมครีซอลกรีน(Bromcresal green)	50.0	มิลลิกรัม
เอทานอล(Ethanol) 95 เปอร์เซ็นต์	100.0	มิลลิลิตร

ผสมสารละลาย ก และสารละลาย ข เข้าด้วยกันในอัตราส่วน 2 : 1

การหา Correalation coefficient (r) ใช้สูตร (84)

$$r = \frac{\Sigma xy - \frac{\Sigma x \Sigma y}{n}}{\sqrt{\{\Sigma x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{n}\}\{\Sigma y^2 - \frac{(\Sigma y)^2}{n}\}}}$$

โดย x = ตัวแปรตัวที่ 1
y = ตัวแปรตัวที่ 2
n = จำนวนครั้ง

- ทดสอบสมมุติฐานใช้ t - test

โดยเปลี่ยนค่า r ให้เป็นค่า t จากสูตร

$$t = r\sqrt{\frac{n-2}{1-r^2}}$$

- สมมุติฐานคือ Ho : $r = 0$ (แสดงว่า x , y ไม่มีความสัมพันธ์กัน)

Ha : $r \neq 0$ (แสดงว่า x , y มีความสัมพันธ์กัน)

- ที่ระดับนัยสำคัญ 1 และ 5 เปอร์เซ็นต์ degree of freedom = n - 2 ได้ค่า t เท่ากับเท่าไรให้เทียบกับค่า t ที่คำนวณได้ ถ้าค่า t ที่คำนวณได้มีค่ามากกว่าตาราง หมายความว่าปฏิเสธ Ho ยอมรับ Ha

การทดสอบหาความแตกต่างว่ามีความแตกต่างกันจริงหรือไม่ ใช้ t - test

ตัวอย่าง Ho : ไนโตรเจนในรูปกรดอมิโนในโหลคุม(M) ไม่มากกว่าในโหลที่เติมเชื้อ(N) หรือ $\mu_m = \mu_n$

Ha : ไนโตรเจนในรูปกรดอมิโนในโหลคุม(M) มากกว่าในโหลที่เติมเชื้อ(N) หรือ $\mu_m > \mu_n$

ใช้สูตร $t = \frac{\sqrt{n}\,[\,\bar{d} - (\mu_m - \mu_n)\,]}{S_d}$

$$\bar{d} = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} di$$

$$Sd^2 = \frac{1}{n-1}\left[\sum_{i=1} di^2 - n\,\bar{d}^2\right]$$

- ที่ระดับนัยสำคัญ 1 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ค่า t ที่ degree of freedom n - 1 จากตารางเท่ากับเท่าไร เทียบกับค่า t ที่คำนวณได้ ถ้าค่า t ที่คำนวณได้มากกว่าตาราง แสดงว่า ปฏิเสธ Ho ยอมรับ Ha

ตารางที่ 15 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเกลือ (NaCl) เป็นเปอร์เซ็นต์ ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) อุณหภูมิทั้งภายในและภายนอกถังหมัก ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน แอมโมเนียคัลไนโตรเจน และไนโตรเจนในรูปกรดอมิโน ในช่วงระยะเวลา 253 วันของกระบวนการหมักน้ำปลา

วันที่เก็บตัวอย่าง	NaCl %	pH	อุณหภูมิ ภายนอก °C.	อุณหภูมิ ภายใน °C.	ไนโตรเจนทั้งหมด กรัม/ลิตร	ฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน กรัม/ลิตร	แอมโมเนียคัลไนโตรเจน กรัม/ลิตร	ไนโตรเจนในรูปกรดอมิโน กรัม/ลิตร
1	30.0	5.68	31.0	29.0	7.2939	2.8196	0.2477	2.5719
3	9.6	5.53	29.2	31.0	9.2068	3.6358	0.3303	3.3055
5	29.6	5.34	29.3	31.0	11.1472	4.8230	0.4128	4.4102
7	29.6	5.38	30.9	32.0	11.7665	6.0102	0.4542	5.5560
9	29.6	5.48	28.9	33.0	12.3856	6.6780	0.4679	6.2101
12	29.2	5.96	28.9	29.0	13.9684	7.1974	0.4679	6.7295
15	29.0	5.46	27.1	29.5	14.6565	8.0136	0.5092	7.5044
18	29.2	5.22	28.7	31.0	14.9376	8.1620	0.5390	7.6230
25	29.2	5.94	28.3	32.0	17.8906	10.2396	0.7156	9.5240
32	29.2	5.40	28.1	29.5	19.1292	11.8720	0.9358	10.9362
39	29.2	5.54	28.3	31.0	19.7485	11.8720	1.0734	10.7986
46	29.0	5.40	27.2	30.0	20.0925	12.4656	1.1010	11.3646
53	29.6	5.37	29.7	30.5	21.5375	12.9850	1.1235	11.8615
62	29.3	5.31	26.2	28.0	21.6063	13.6528	1.1835	12.4693
74	29.0	5.60	28.6	29.5	21.7400	14.0238	1.1560	12.8678
86	26.0	5.48	28.3	30.5	22.2944	14.2464	1.2937	12.9527
102	26.0	5.54	28.0	29.0	23.8083	14.0238	1.3212	12.7026
124	28.0	5.50	28.2	28.0	25.3221	16.3240	1.3212	15.0028
165	27.2	5.34	26.5	27.5	24.3588	15.5820	1.5276	14.0544
183	27.2	5.33	27.2	25.5	25.1844	17.2144	1.6101	15.6043
195	25.2	5.39	27.8	28.0	24.6340	16.7692	1.6377	15.1315
223	24.9	5.35	25.0	26.0	25.5561	17.7338	1.5964	16.1376
253	24.7	5.31	29.0	28.0	25.9414	18.4758	1.7065	16.7693

ตารางที่ 16 แสดงจำนวนทั้งหมดและจำนวนของแต่ละกลุ่มของแบคทีเรียที่เปลี่ยนแปลงไปในช่วงระยะเวลา 253 วันของกระบวนการหมักน้ำปลาโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อไม่เติมเกลือ เติมเกลือ 5 และ 20 เปอร์เซ็นต์

วันที่เก็บตัวอย่าง	บนอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เติมเกลือ			
	ปริมาณเชื้อทั้งหมด	C^+	R^+	R^-
ปลา	5400	5330	70	-
เกลือ	15400	14655	497	248
1	45000	26537	12690	5773
3	5800	1134	3480	1186
5	2350	711	1531	108
7	2120	288	1812	20
9	1143	94	1036	13
12	663	153	510	-
15	325	147	178	-
18	220	39	181	-
25	543	14	529	-
32	732	-	732	-
39	614	-	614	-
46	525	-	525	-
53	511	-	511	-
62	504	-	504	-
74	497	-	497	-
86	294	-	294	-
102	58	-	58	-
124	41	-	41	-
165	63	-	63	-
183	63	-	63	-
195	39	-	39	-
223	28	-	28	-
253	24	-	24	-

ตารางที่ 16 (ต่อ)

วันที่เก็บตัวอย่าง	บนอาหารเลี้ยงเชื้อเติมเกลือ 5 เปอร์เซ็นต์			
	ปริมาณเชื้อทั้งหมด	C^+	R^+	R^-
ปลา	15200	11581	1991	1628
เกลือ	45845	34350	4950	6545
1	37300	32078	4334	888
3	11800	7664	4036	100
5	6440	5044	1074	322
7	5430	1662	3530	238
9	1400	467	778	155
12	1950	1380	525	45
15	629	310	248	71
18	707	246	364	97
25	1100	99	952	49
32	356	8	335	13
39	355	-	355	-
46	279	-	279	-
53	202	-	202	-
62	129	-	129	-
74	404	-	404	-
86	302	-	302	-
102	429	-	429	-
124	35	-	35	-
165	53	-	53	-
183	60	-	60	-
195	40	-	40	-
223	44	-	44	-
253	28	-	28	-

ตารางที่ 16 (ต่อ)

วันที่เก็บตัวอย่าง	บนอาหารเลี้ยงเชื้อเติมเกลือ 20 เปอร์เซ็นต์			
	ปริมาณเชื้อทั้งหมด	C^+	R^+	R^-
ปลา	1200	450	225	525
เกลือ	23300	18251	2530	2519
1	3000	-	-	-
3	2880	844	1884	152
5	233	21	197	15
7	180	9	171	-
9	127	21	106	-
12	73	31	42	-
15	45	22	23	-
18	17	12	5	-
25	145	131	14	-
32	407	397	10	-
39	1540	1528	12	-
46	612	585	27	-
53	781	740	41	-
62	7255	7199	56	-
74	785	755	30	-
86	432	428	4	-
102	176	174	2	-
124	334	332	2	-
165	-	-	-	-
183	-	-	-	-
195	-	-	-	-
223	-	-	-	-
253	-	-	-	-

หมายเหตุ C+ = แบคทีเรียรูปกลมแกรมบวก

R+ = แบคทีเรียรูปแท่งแกรมบวก

R- = แบคทีเรียรูปแท่งแกรมลบ

ตารางที่ 17 ค่าสหสัมพันธ์ (r) ระหว่างจำนวนทั้งหมดของเชื้อกลุ่มที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เติมเกลือ เติมเกลือ 5 และ 20 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อกลุ่มที่มีโคโลนีสีแดง

กลุ่มเชื้อ	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 4
กลุ่มที่ 1	1^{**}	0.9740^{**}	0.2943^{NS}	0.2443^{NS}
กลุ่มที่ 2	0.9740^{**}	1^{**}	0.2891^{NS}	-0.3876^{NS}
กลุ่มที่ 3	0.2943^{NS}	0.2891^{NS}	1^{**}	0.9999^{**}
กลุ่มที่ 4	0.2443^{NS}	-0.3876^{NS}	0.9999^{**}	1^{**}

^{NS} = ไม่มีนัยสำคัญ(Non significant)

** = มีนัยสำคัญ(Significant)ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ กลุ่มที่ 1 = กลุ่มเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เติมเกลือ

กลุ่มที่ 2 = กลุ่มเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อเติมเกลือ 5 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 3 = กลุ่มเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อเติมเกลือ 20 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 4 = กลุ่มเชื้อที่มีโคโลนีสีแดง

ตารางที่ 18 ค่าสหสัมพันธ์ (r) ระหว่างกลุ่มเชื้อต่างๆ กับ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด แอมโมเนียคัลไนโตรเจน และไนโตรเจนในรูปกรดอมิโน

สารประกอบไนโตรเจน	กลุ่มเชื้อ				
	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 4	กลุ่มที่ 5
ไนโตรเจนทั้งหมด	-0.5194*	-0.6414**	-0.0210NS	0.1904NS	0.5545NS
ไนโตรเจนในรูปกรดอมิโน	-0.4899*	-0.6158**	-0.0055NS	0.2260NS	0.5870NS
แอมโมเนียคัลไนโตรเจน	-0.4118NS	-0.5244*	0.0792NS	0.2586NS	0.5607NS

NS = ไม่มีนัยสำคัญ(Non significant)

* = มีนัยสำคัญ(Significant) ที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์

** = มีนัยสำคัญ(Significant) ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ กลุ่มที่ 1 = กลุ่มเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เติมเกลือ

กลุ่มที่ 2 = กลุ่มเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อเติมเกลือ 5 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 3 = กลุ่มเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อเติมเกลือ 20 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 4 = กลุ่มเชื้อที่มีโคโลนีสีแดง(C^+)

กลุ่มที่ 5 = กลุ่มเชื้อที่มีโคโลนีสีแดง(C^+)ช่วง 15 - 62 วัน(log phase)

ตารางที่ 19 ค่าสหสัมพันธ์ (r) ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด แอมโมเนียคัลไนโตรเจน และไนโตรเจนในรูปกรดอมิโน ค่าความเป็นกรดด่าง(pH) และปริมาณเกลือ

สารประกอบไนโตรเจน	ไนโตรเจนทั้งหมด	ไนโตรเจนในรูปกรดอมิโน	แอมโมเนียคัลไนโตรเจน	pH	เปอร์เซ็นต์เกลือ
ไนโตรเจนทั้งหมด	1**	0.9926**	0.9713**	-0.2996^{NS}	-0.7225**
ไนโตรเจนในรูปกรดอมิโน	0.9926**	1**	0.9771**	-0.3214^{NS}	-0.7391**
แอมโมเนียคัลไนโตรเจน	0.9713**	0.9771**	1**	-0.3720^{NS}	-0.8058**
pH	-0.2996^{NS}	-0.3214^{NS}	-0.3720^{NS}	1**	0.6295^{NS}
เปอร์เซ็นต์เกลือ	-0.7225**	-0.7391**	-0.8058**	0.2696^{NS}	1**

^{NS} = ไม่มีนัยสำคัญ(Non significant)

* = มีนัยสำคัญ(Significant) ที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์

** = มีนัยสำคัญ(Significant) ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 20 ค่าสหสัมพันธ์ (r) ของเชื้อแต่ละชนิดระหว่างพวกที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เติมเกลือและเติมเกลือ 5 เปอร์เซ็นต์

ชนิดของเชื้อ	ค่าสหสัมพันธ์(r)
รูปกลมแกรมบวก(C^+)	0.9777**
รูปแท่งแกรมบวก(R^+)	0.7879**
รูปแท่งแกรมลบ(R^-)	0.9099*

* = มีนัยสำคัญ(Significant) ที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์

** = มีนัยสำคัญ(Significant) ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 21 แสดงความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิภายนอกและอุณหภูมิภายในถังหมักในช่วงระยะเวลา 253 วันของกระบวนการหมัก

ช่วงวันที่	ค่าความแตกต่างเฉลี่ย
1 - 124 วัน	+ 1.59° C.**
165 - 253 วัน	- 0.01° C.NS

NS = ไม่มีนัยสำคัญ(Non significant)

** = มีนัยสำคัญ(Significant) ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ + = อุณหภูมิภายในมากกว่าภายนอก

- = อุณหภูมิภายในน้อยกว่าภายนอก

ตารางที่ 22 แสดงค่าสหสัมพันธ์ (r) ระหว่างกรดอมิโนอิสระและเชื้อกลุ่มต่างๆในช่วงระยะเวลาต่างๆ

กลุ่มเชื้อ	ช่วงวันที่	ค่าสหสัมพันธ์(r)
กลุ่มที่ 1	1 - 9	- 0.6658^{NS}
	1 - 223	- 0.3797^{NS}
กลุ่มที่ 2	1 - 9	- 0.7807^{NS}
	1 - 223	- 0.5013^{NS}
กลุ่มที่ 3	1 - 9	- 0.8215^{NS}
	1 - 124	+ 0.3646^{NS}
กลุ่มที่ 4	9 - 62	+ 0.9501*
	3 - 124	+ 0.5743^{NS}

^{NS} = ไม่มีนัยสำคัญ(Non significant)

* = มีนัยสำคัญ(Significant) ที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ กลุ่มที่ 1 = กลุ่มเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เติมเกลือ

กลุ่มที่ 2 = กลุ่มเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อเติมเกลือ 5 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 3 = กลุ่มเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อเติมเกลือ 20 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 4 = กลุ่มเชื้อที่มีโคโลนีสีแดง(C^{+})

ตารางที่ 23 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ไนโตรเจนในรูปกรดอมิโน แอมโมเนียคัลไนโตรเจนและฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจนของน้ำปลาในโหลควบคุม (M) และโหลที่เติมเชื้อ Isolete 1 (N) ในช่วงระยะเวลา 73 วันของการหมัก

วันที่เก็บ	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด		แอมโมเนียคัลไนโตรเจน		ฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน		ไนโตรเจนในรูปกรดอมิโน	
ตัวอย่าง	โหล M	โหล N	โหล M	โหล N	โหล M	โหล N	โหล M	โหล N
0	1.9261	2.3331	0.0283	0.0424	0.7469	0.8827	0.7186	0.8403
2	3.4108	3.4643	0.1273	0.1273	1.6975	1.7096	1.5702	1.5823
5	4.7713	4.8076	0.1838	0.2404	2.1049	2.2407	1.9211	2.0003
9	5.7611	6.0095	0.4242	0.4101	3.1574	3.2592	2.7332	2.8491
14	6.4337	6.5751	0.6787	0.7494	3.9722	4.0493	3.2935	3.2999
20	7.9891	8.4840	1.1029	1.1171	5.2623	5.6018	4.1594	4.4847
27	9.7373	9.8459	1.5978	1.4988	6.7900	6.7900	5.1922	5.2912
34	10.6157	10.7101	2.1069	1.9513	7.1635	7.2993	5.0566	5.3480
41	12.4432	12.6069	2.4886	2.2978	7.9669	7.9896	5.4783	5.6818
48	12.8846	13.2209	2.9694	2.6583	8.2838	8.419	5.3144	5.7613
55	12.2311	12.7967	3.1674	2.8704	9.5060	9.5739	6.3386	6.7053
62	14.504	14.6349	3.3653	3.0825	9.6418	9.9134	6.2765	6.8309
73	15.7153	16.6090	4.1560	3.7836	11.4462	11.2831	7.2902	7.4995

หมายเหตุ หน่วยมีค่าเป็น กรัม/ลิตร

ตารางที่ 24 แสดงค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ปริมาณเกลือ และอุณหภูมิ ที่เปลี่ยนแปลงของน้ำปลาในโหลควบคุม (M) และโหลที่เติมเชื้อ Isolate 1 (N) ในช่วงระยะเวลา 73 วันของการหมัก

วันที่เก็บตัวอย่าง	ปริมาณเกลือ เปอร์เซ็นต์		ค่าความเป็นกรดด่าง (pH)		อุณหภูมิภายนอกโหลหมัก(°C.)	อุณหภูมิภายในโหลหมัก(°C.)	
	โหล M	โหล N	โหล M	โหล N		โหล M	โหล N
0	29.69	29.14	5.97	6.02	29.5	28.5	28.5
2	33.75	33.08	5.74	5.81	30.0	29.0	29.0
5	31.56	32.42	5.57	5.74	31.5	32.0	32.0
9	33.13	32.56	5.94	5.76	31.8	32.0	32.0
14	31.56	31.04	6.15	6.10	31.5	32.0	32.0
20	32.81	32.23	6.45	6.49	31.5	31.8	31.8
27	32.92	33.13	6.73	6.84	31.0	32.0	32.0
34	32.97	32.71	6.85	6.98	32.0	32.5	32.5
41	32.19	31.94	6.95	6.99	29.5	31.0	31.0
48	32.50	32.23	7.29	7.20	31.0	31.0	31.0
55	32.33	32.19	7.24	7.10	30.0	31.0	31.0
62	32.19	32.71	7.21	7.27	31.0	31.5	31.5
73	34.06	34.06	7.19	7.16	32.5	34.0	34.0

ตารางที่ 25 แสดงปริมาณของเชื้อที่เจริญบนออาหารเลี้ยงเชื้อเติมเกลือ 25 % ที่พบในโหลควบคุม (M) และโหลที่เติมเชื้อ Isolate 1 (N) ในช่วงระยะเวลา 62 วันของการหมัก

วันที่เก็บ	จำนวนทั้งหมด		เชื้อโคโลนีสีแดง(R)		เชื้อโคโลนีสีเหลือง(Y)		เชื้อสีขาว(W)
ตัวอย่าง	โหล M	โหล N	โหล M	โหล N	โหล M	โหล N	โหล M
0	5.0×10^{4}	1.8×10^{6}	4.0×10^{3}	1.8×10^{6}	-	-	4.6×10^{4}
2	5.2×10^{4}	9.8×10^{5}	1.8×10^{4}	9.8×10^{5}	-	-	3.4×10^{4}
5	5.5×10^{4}	2.1×10^{6}	5.5×10^{4}	2.1×10^{6}	-	-	-
9	3.6×10^{6}	2.0×10^{7}	3.6×10^{6}	2.0×10^{7}	-	-	-
14	1.9×10^{7}	9.5×10^{7}	1.3×10^{7}	9.4×10^{7}	6.1×10^{6}	1.2×10^{6}	-
20	6.7×10^{7}	6.4×10^{8}	6.5×10^{7}	6.3×10^{8}	2.4×10^{6}	5.7×10^{6}	-
27	8.7×10^{7}	6.7×10^{8}	2.1×10^{7}	6.3×10^{8}	6.6×10^{7}	4.1×10^{7}	-
34	1.7×10^{8}	8.9×10^{8}	3.6×10^{7}	7.9×10^{8}	1.3×10^{8}	1.0×10^{8}	-
41	2.6×10^{8}	8.6×10^{8}	1.3×10^{7}	6.3×10^{8}	1.3×10^{8}	2.3×10^{8}	-
48	1.3×10^{9}	3.9×10^{9}	3.0×10^{8}	2.2×10^{9}	1.3×10^{9}	1.6×10^{9}	-
55	2.8×10^{8}	9.4×10^{8}	1.1×10^{7}	3.9×10^{8}	2.7×10^{8}	5.4×10^{8}	-
62	2.0×10^{7}	3.1×10^{7}	9.0×10^{5}	1.3×10^{7}	1.9×10^{7}	1.9×10^{7}	-

หมายเหตุ

W = เชื้อกลุ่มที่มีโคโลนีสีขาว

Y = เชื้อกลุ่มที่มีโคโลนีสีเหลือง

R = เชื้อกลุ่มที่มีโคโลนีสีแดง

ประวัติผู้เขียน

นางสาวสาโรจน์ ประเสริฐศิริวัฒน์ เกิดเมื่อวันที่ 29 มกราคม 2501 ที่ จังหวัดสุพรรณบุรี ได้รับปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาชีววิทยา จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในปีการศึกษา 2522