ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ก

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

1. Acetamide

ส่วนประกอบอาหาร

Acetamide	10	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Dipotassium Phosphate	1.39	กรัม
Monopotassium phosphate	0.73	กรัม
Magnesium sulfate	0.5	กรัม
Phenol red	0.012	กรัม
Agar	15	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนส่วนประกอบทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร ปริมาตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที วางทิ้งไว้ให้เย็นในรูปของ Slant media อาหารที่ได้จะมีสีส้มอ่อน

2. Alkaline Peptone Water (APW)

ส่วนประกอบของอาหาร

Peptone	10	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม

pH 8.4 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร ปริมาตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. Bile Esculin test

ส่วนประกอบของอาหาร

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Esculin	1	กรัม
Oxgal	40	กรัม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Ferric citrate	0.5	กรัม
Agar	15	กรัม

pH 6.6 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน และถ่ายใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว วางหลอดอาหารแบบเอียง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จะมีสีน้ำตาลอมส้ม

4. Carbohydrate metabolism (O/F medium) test

ส่วนประกอบของอาหาร

Pancreatic digest of casein	2.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Dipotassium phosphate	0.3	กรัม
Glucose	10.0	กรัม
Bromthymol blue	0.08	กรัม
Agar	2.0	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนส่วนประกอบทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งอาหารให้เย็นและอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้จะมีสีเขียว

5. Citrate utilization test

ส่วนประกอบอาหาร

Magnesium sulfate	0.2	กรัม
Ammonium dihydrogen phosphate	1.0	กรัม
Dipotassium phosphate	1.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Sodium citrate	2.0	กรัม
Bromthymol blue	0.08	กรัม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Agar	15.0	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนส่วนประกอบทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว วางหลอดอาหารแบบเอียง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จะมีสีเขียว

6. Coagulase test

นำพลาสมาแบ่งใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร

การทดสอบ

เขี่ยเชื้อที่ต้องการทดสอบใส่ในหลอดและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง สังเกตการณ์จับตัวเป็นก้อนของพลาสมา (Clot) หากพบหลอดทดสอบเกิดการจับตัวเป็นก้อนของพลาสมา อ่านผลเป็นบวกแต่หากไม่พบการจับตัวของพลาสมา ให้บ่มต่อไปอีกเป็นเวลา 20 ชั่วโมง ภายหลัง 20 ชั่วโมง อ่านผลโดยหลอดที่พบการจับตัวเป็นก้อนของพลาสมาอ่านผลเป็นบวก และหลอดที่ไม่พบการจับตัวของพลาสมาอ่านผลเป็นลบ

7. Gelatinase liquefaction medium

ส่วนประกอบอาหาร

Beef extract	3	กรัม
Bacto peptone	5	กรัม
Gelatin	120	กรัม

ต้มส่วนประกอบอาหารทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นถ่ายใส่หลอด ๆ ละ 3 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

8. Lysine Indole Motility medium (LIM)

ส่วนประกอบของอาหาร

Peptone	10.0	กรัม
Yeast extract	3.0	กรัม
Dextrose	1.0	กรัม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

L-lysine dihydrochloride	10.0	กรัม
L-tryptophan	0.5	กรัม
Bromcresol purple	0.02	กรัม
Agar	3.0	กรัม

pH 6.6 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เนื้ออาหารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

9. Malonate-Ducitol test

ส่วนประกอบของอาหาร

Yeast extract	1	กรัม
Dextrose	0.25	กรัม
Ammonium sulfate	2	กรัม
Dipotassium phosphate	0.6	กรัม
Monopotassium phosphate	0.4	กรัม
Sodium malonate	3	กรัม
Sodium chloride	2	กรัม
Bromthymol blue	0.025	กรัม
Ducitol	1	กรัม
Agar	0.4	กรัม

pH 6.7 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เตรียม Malonate broth 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นผสม Ducitol และ Agar ตามส่วนผสม ต้มให้อาหารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ถ่ายใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งอาหารให้เย็นในรูปของ Deeped medium

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

10. Marine agar

ส่วนประกอบของอาหาร

Peptone	5.0	กรัม
Yeast extract	1.0	กรัม
Ferric citrate	0.1	กรัม
Sodium chloride	19.45	กรัม
Magnesium chloride	8.8	กรัม
Sodium sulfate	3.24	กรัม
Calcium chloride	1.8	กรัม
Potassium chloride	0.55	กรัม
Sodium bicarbonate	0.16	กรัม
Potassium bromide	0.88	กรัม
Strotium chloride	34.0	มิลลิกรัม
Boric acid	22.0	มิลลิกรัม
Sodium silicate	4.0	มิลลิกรัม
Sodium fluoride	2.4	มิลลิกรัม
Ammonium nitrate	1.6	มิลลิกรัม
Disodium phosphate	8.0	มิลลิกรัม
Agar	15.0	มิลลิกรัม

pH 7.6 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้ละลายเป็นเนื้อเดียว นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้จะมีสีขาวขุ่นและมีตะกอน

11. Methyl Red test และ Vogas-Prokauer test (MR-VP test)

ส่วนประกอบ MR-VP broth

Peptone	9	กรัม
Glucose	5	กรัม
Dipotassium hydrogen phosphate	5	กรัม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร ปริมาตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

12. Nitrate และ Nitrite test

ส่วนประกอบของอาหาร

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Potassium nitrate	1	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

13. Ornithine decaboxylase test

ส่วนประกอบของอาหาร

Peptone	5	กรัม
Yeast extract	3	กรัม
Dextrose	1	กรัม
Ornithine	5	กรัม
Bromcresol purple	0.02	กรัม

pH 6.8 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้ออาหารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร ปริมาตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

14. Phenol red broth for carbohydrate/sugar utilization

ส่วนประกอบของอาหาร

Pancreatic digest of casein	10	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
D-mannitol	5	กรัม
Phenol red	18	มิลลิกรัม
Agar	0.5-1	กรัม

ละลายส่วนประกอบทั้งหลมดให้เข้ากันในน้ำกลั่น นำไปต้มจนอาหารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร ปริมาตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้จะมีสีแดง

15. Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose (TCBS) agar

ส่วนประกอบของอาหาร

Yeast extract	5	กรัม
Peptone	10	กรัม
Sodium citrate	10	กรัม
Sodium thiosulfate	7	กรัม
Oxgall	5	กรัม
Sodium chloride	10	กรัม
Saccharose (Sucrose)	20	กรัม
Sodium chlorate	3	กรัม
Ferric citrate	1	กรัม
Bromthymol blue	0.04	กรัม
Thymol B blue	0.04	กรัม
Agar	15	กรัม

pH 8.8 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนส่วนประกอบทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่ออาหารเย็นลงที่อุณหภูมิ 45 - 50 องศาเซลเซียส จึงเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยไม่ต้องนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จะมีสีเขียวมะกอก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

16. Triple sugar iron (TSI) agar

ส่วนประกอบของอาหาร

Bacto beef extract	3	กรัม
Bacto yeast extract	3	กรัม
Bacto peptone	15	กรัม
Proteose peptone	5	กรัม
Bacto lactose	10	กรัม
Saccharose	10	กรัม
Bacto dextrose	1	กรัม
Ferrous sulfate	0.2	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Bacto phenol red	0.024	กรัม
Bacto agar	15	กรัม

pH 7.4 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำ 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้ส่วนประกอบทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ถ่ายใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร ปริมาตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว วางหลอดอาหารแบบเอียง

17. Tryptic Soy Agar (TSA)

ส่วนประกอบของอาหาร

Pancreatic Digest of Casein	15	กรัม
Enzymatic Digest of Soybean Meal	5	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Agar	15	กรัม

pH 7.3 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

18. Tryptic Soy Broth (TSB)

ส่วนประกอบของอาหาร

Pancreatic Digest of Casein	15	กรัม
Enzymatic Digest of Soybean Meal	5	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม

pH 7.3 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที

19. Vibriostatic compound (O/129) susceptibility

ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller hinton agar

Beef extract power	2	กรัม
Acid digest of casein	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar	17	กรัม

pH 7.3 ± 0.1 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้จะมีสีเหลืองจาง

20. *Vibrio harveyi* (VHA) agar

ส่วนประกอบของอาหาร

D-cellobiose	2	กรัม
L-ornithine	2	กรัม
Sodium chloride	30	กรัม
Tris[hydroxymethyl]aminomethane	1.21	กรัม
K_2HPO_4	0.075	กรัม
Bacto peptone	0.1	กรัม
Yeast extract	0.1	กรัม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Thymol blue	0.04	กรัม
Bromothymol blue	0.04	กรัม
Agar	20	กรัม

นำส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำ 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนละลายเป็นเนื้อเดียวกันหมด รอให้อุณหภูมิลดลงเหลือประมาณ 56 องศาเซลเซียส ปรับ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีค่าเท่ากับ 9 ด้วย 1M NaOH และเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยไม่ต้องนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จะมีสีฟ้า

21. Urease test

ส่วนประกอบของอาหาร

Peptone	1	กรัม
Dextrose	1	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Monopotassium phosphate	2	กรัม
Urea	20	กรัม
Phenol red	0.012	กรัม
Agar	15	กรัม

pH 6.8 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนประกอบทั้งหมด (ยกเว้น Urea) ละลายในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร ต้มจนส่วนประกอบทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออุณหภูมิอาหารเย็นลงที่ประมาณ 50 องศาเซลเซียส จึงนำ Urea ที่ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการกรองผ่าย Filter membrane ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.45 ไมโครเมตร แล้วเติมลงไป จากนั้นแบ่งใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร หลอดละประมาณ 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในรูปของ Slant media อาหารที่ได้จะมีสีส้มอ่อน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

22. Yeast extract Peptone Dextrose (YPD) Agar

ส่วนประกอบของอาหาร

Yeast extract	10	กรัม
Peptone	20	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Agar	15	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

23. Yeast extract Peptone Dextrose (YPD) Broth

ส่วนประกอบของอาหาร

Yeast extract	10	กรัม
Peptone	20	กรัม
Dextrose	20	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

24. การหมักย่อยน้ำตาลต่าง ๆ

ส่วนประกอบของอาหาร

Peptone	10	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Bromcresol purple	0.02	กรัม
Sugar	10	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ใช้เป็น Basal medium แล้วจึงเติมน้ำตาลที่ต้องการทดสอบลงไป เช่น ถ้าต้องการใช้น้ำตาลกลูโคสให้ผสมกับ Basal medium โดยความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 1% (w/v) และบรรจุในหลอดทดลองหลอดละ 6 - 7 มิลลิลิตร ซึ่งจะมีหลอดดักก๊าซอยู่ในหลอดทดลอง ส่วนน้ำตาลชนิดอื่นก็ทำในลักษณะเดียวกัน นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 6 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

25. ความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่าง ๆ

ส่วนประกอบของอาหาร

Peptone	0.1	กรัม
Sodium chloride (เติมตามความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบ)		

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ผสมให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ถ่ายใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ข

วิธีการเตรียมน้ำยาทดสอบ

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

1. ชุดย้อมแกรม (Gram strain solution)

การเตรียมรีเอเจนต์

Crystal violet stain

Crystal violet (Gentain violet)	0.5	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

Decolourizer

95 % ethanol	250	มิลลิลิตร
Acetone	250	มิลลิลิตร

Gram iodine solution

Iodine	1	กรัม
Potassium iodine	2	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

Safranin O solution

Safranin	2.5	กรัม
Ethanol	100	มิลลิลิตร

2. 3% Hydrogen peroxide solution

การเตรียมรีเอเจนต์

H_2O_2	3	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

3. Kovac' s reagent

การเตรียมรีเอเจนต์

Amyl หรือ Isoamyl alcohol	150	มิลลิลิตร
p-dimethyl aminobenzaldehyde	10	กรัม
Hydrochloric acid (conc.)	50	มิลลิลิตร

ละลาย *p*-dimethyl aminobenzaldehyde ในแอลกอฮอล์ จากนั้นจึงค่อย ๆ เติมกรดลงไปอย่างช้า ๆ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4. MR reagent

การเตรียมรีเอเจนต์

Methyl red	0.5	กรัม
Ethyl alcohol 95%	300	มิลลิลิตร
Distilled water	200	มิลลิลิตร

ละลาย Methyl red ในแอลกอฮอล์ จากนั้นเติมน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน

5. VP reagent

การเตรียมรีเอเจนต์

VP-I เตรียมจากสารละลาย α-naphthol ความเข้มข้น 5% ที่ละลายใน 95% แอลกอฮอล์

VP-II เตรียมจาก Potassium hydroxide (KOH) ความเข้มข้น 40 %

VP-III เตรียมจาก Creatine ความเข้มข้น 0.3%

6. Nitrate reagent

การเตรียมรีเอเจนต์

Solution A

Sulfanilic acid	8	กรัม
Acetic acid, 5 N	1,000	มิลลิลิตร

Solution B

Alpha-naphthylamine	5	กรัม
Acetic acid, 5 N	1,000	มิลลิลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

7. Oxidase test

การเตรียมรีเอเจนต์

N,N,N,N-Tetramethyl-*p*-phenylene diamine dihydrochloride		
($C_{10}H_8Cl_2N_2$)	10	กรัม
Distilled water	100	มิลลิลิตร

ละลายสารนี้ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมทั้งหมดให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชา (ห้ามถูกแสง)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University