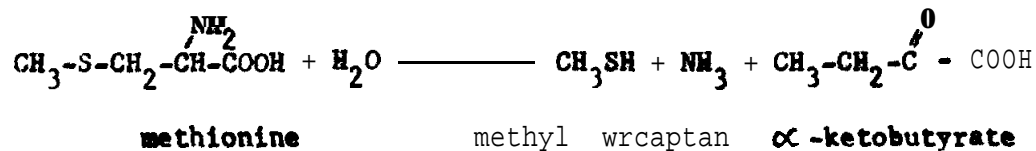
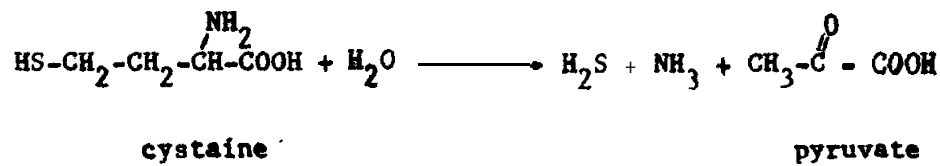


บทปฏิบัติการที่ 21

การหาปริมาณแบคทีเรียที่ให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์

ไฮโดรเจนซัลไฟด์เกิดได้จากขบวนการตามธรรมชาติ เช่น ภูเขาไฟระเบิด และจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ แบคทีเรียในดินหลายชนิดสามารถสลายโมเลกุลของโปรตีน หรือกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ เช่น ซีสเทอีน (cysteine) และเมไทโอนีน (methionine) แล้วเปลี่ยนกลุ่มซัลไฟด์ให้เป็นไฮโดรเจนซัลไฟด์ เกิดได้ในดินทั่วไปที่เป็นแอโรบ



ในดินที่มีน้ำท่วมขัง ดินโคลน หรือดินที่ชื้นแฉะอากาศถ่ายเทไม่ดี มีแบคทีเรียหลายชนิดสามารถรีดซัลเฟอร์ในรูปออกซิไดส์เป็นตัวรับอิเล็กตรอนแทนที่ออกซิเจน เกิดขบวนการรีดักชันของซัลเฟอร์ในรูปออกซิไดส์ เช่น ซัลเฟต, ซัลไฟต์ และไทโอซัลเฟต เป็นต้น ใ้เกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์

วัตถุประสงค์

หาปริมาณเชื้อ เพคทีนซิริงกัมแบคทีเรียโคโยวีซีแอนแอโรบิกอะการ์ เฟลท และหาปริมาณแบคทีเรียที่ให้ไฮโดร เจนซัลไฟด์จากการสลายกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ โคโยวีซีแอนโรบิกอะการ์ เฟลท

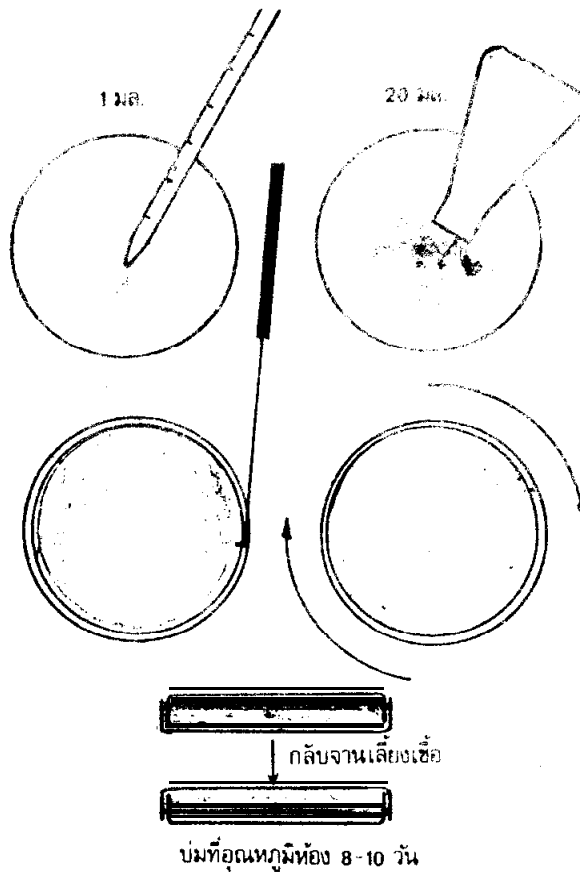
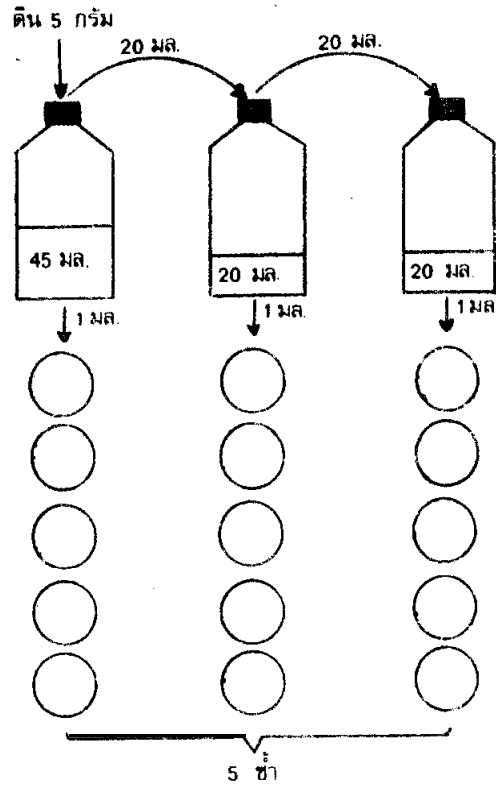
อุปกรณ์

1. กิ่งตัวอย่าง
2. จานเลี้ยงเชื้อ
3. บีเบต 1 มล., 10 มล.
4. น้ำกลั่นฆ่า เชื้อบรรจุในขวดฝาเกลียว 20 มล. 2 ขวด, 50 มล. 1 ขวด, 90 มล. 4 ขวด และ 100 มล. 2 ขวด
5. อาหารเลี้ยงเชื้อ - Sodium Lactate • Yeast Extract-Sulphate Medium ขวดละ 300 มล.
- Peptone • Iron Agar
6. น้ำยาโซเคียมไทโอไกลโคเลต (Sodium Thioglycolate) ^{๒๒}เข้มข้น 0.01% ในอาหาร
7. น้ำยาโซเคียมแอสคอร์เบต (Sodium Ascorbate) ^{๒๒}เข้มข้น 0.01% ในอาหาร
8. สไลด์หลุมและกระຈกบิคสไลด์
9. เครื่องชั่ง

วิธีปฏิบัติ

การหาปริมาณยีสต์ เพศรีคิวซิงก์มัก เครียวยวีธีแอนแอโรบิกอะการ์ เทต

1. เตรียมน้ำละลายยีสต์เจือจาง 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40
2. ใช้ปิเปตคุยกน้ำละลายยีสต์ความเจือจางละ 1 มล. ใส่ในฝัก้าก้านมนของจานเลี้ยงเชื้อ ความเจือจางละ 5 ซ้า
3. ทำจานคัม 3 จานโดยใช้น้ำกลั่นมาเชื้อแทนน้ำละลายยีสต์
4. เติมน้ำยาไซเคียมไทโอไกลโคเลต 1% 3 มล. และน้ำยาไซเคียมแอสคอร์เบต 1% 3 มล. ลงในอาหาร Sodium Lactate-Yeast Extract-Sulphate Medium ซึ่งเตรียมเสร็จใหม่ ๆ หลอมเหลวอยู่ อุณหภูมิประมาณ 45° ซ. เขย่าให้เข้ากัน
5. เทอาหารเลี้ยงเชื้อจากข้อ 4. ลงในฝัก้าก้านเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้จากข้อ 2. และข้อ 3. จานละ 20 มล. ทนฝัก้าก้านเลี้ยงเชื้อให้น้ำละลายยีสต์กระจายในอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างสม่ำเสมอ วางจานเลี้ยงเชื้อค้ำกลางลงไปซ้า ๆ ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแทนที่อากาศในจานมากที่สุด และมีฟองอากาศน้อยที่สุด
6. เมื่ออาหารแข็งตัวกลับจานเลี้ยงเชื้อ มุมที่อุณหภูมิห้องในภาชนะปิดเพื่อป้องกันไม่ให้อาหารแห้ง นาน 8 - 10 วัน จึงตรวจผล



การตรวจผล

1. วางจานเลี้ยง เชื้อบนพื้นสีขาวหรือสีเขียว หรือใช้แท่งนมโคโลนีที่มีกำลังขยาย 15 เท่า นับจำนวนโคโลนีที่มีสีค่า (อาจจะมีจุดหรืออนุภาคสีค่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เกิดเนื่องจากอินทรีย์วัตถุหรืออินทรีย์วัตถุในดิน แต่ลักษณะรูปร่างจะแตกต่างจากโคโลนีของมักแตรี) แล้วคำนวณหาปริมาณมักแตรี
2. เชียเชื้อจากโคโลนีที่มีสีค่า ศึกษารูปร่างและการเคลื่อนที่ โดยการทำเทคนิคหยดแขวน

การหาปริมาณมักแตรีที่รีดิวซ์กรดอะมิโนให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์ด้วยวิธีอะการเพลท

1. เตรียมน้ำละลายดินเจือจาง $1 : 10^4$, $1 : 10^5$, $1 : 10^6$
2. คุบน้ำละลายดินความเจือจางละ 1 มล. ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อ ทำ 5 ซ้ำ
3. ทำจานคุม 2 จาน โดยใช้ น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแทนน้ำละลายดิน
4. เทอาหาร Peptone-Iron Agar ที่หมอมเหลวอยู่อุณหภูมิประมาณ 45°C . ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 2. และข้อ 3. หมุนจานให้น้ำละลายดินกระจายในอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างสม่ำเสมอ
5. เมื่ออาหารแข็งตัว กลับจานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 - 5 วัน จึงตรวจผล โดยนับปริมาณโคโลนีสีค่า และศึกษารูปร่าง, การเคลื่อนที่เช่นเดียวกับวิธีแรก

คำถาม

1. โซเดียมไทโอไกลโคเลต และโซเดียมแอสคอร์เบต เป็นสารชนิดใด ใส่เพื่อประโยชน์อะไร

2. ควรเตรียมอาหาร Sodium Lactate-Yeast Extract-Sulphate Medium ขึ้นก่อนการใช้ เพราะเหตุใด?

3. จงบอกถึงประโยชน์และโทษของไฮโคร เจนซัลไฟค์?

4. นอกจากก๊าซไฮโคร เจนซัลไฟค์ มีก๊าซชนิดใดที่เกิดขึ้นด้วยเสมอ?

รายงานผลการปฏิบัติการที่ 21

ชื่อ _____ รหัสประจำตัว _____

วันที่ _____ กลุ่มที่ _____ ผู้ร่วมงาน _____

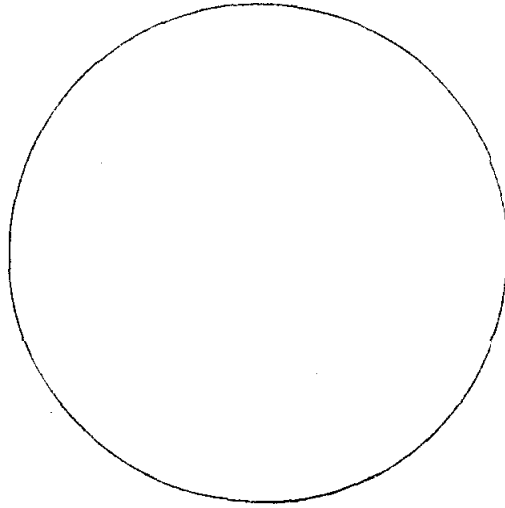
บันทึกผลจำนวนเซลล์ เพทรีดิวซิงกับกัเทรีที่ศึกษาด้วยวิธีแอนแซโรบิกอะการ์เพลต

ความเจือจาง	จานที่ 1	2	3	4	5	เฉลี่ย/จาน	ปริมาณมักเทรี/ คืน 1 กรัม
1 : 10							
1 : 20							
1 : 40							
จานคุม							

บันทึกผลจำนวนมักเทรีที่รีดิวซ์กรโคอะมิโนให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์ด้วยวิธีอะการ์เพลต

ความเจือจาง	จานที่ 1	2	3	4	5	เฉลี่ย/จาน	ปริมาณมักเทรี/ คืน 1 กรัม
1 : 10 ⁴							
1 : 10 ⁵							
1 : 10 ⁶							
จานคุม							

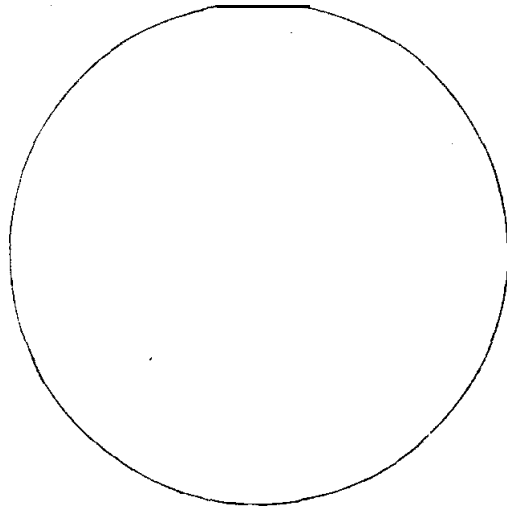
วาทภาพแสงลักษณะรูปร่างของนักเทรทีศึกษาโดยเทคนิคหยกเขวน



โคโลนีจากแอนแอโรบิกอะการ์เฟลค-เมรอก

การเคลื่อนที่ _____

กำลังขยาย _____



โคลงนี้จากอะการ์เพตค-เมชอก

การเคลื่อนที่ _____

กำลังขยาย _____