บทปฏิบัติการที่ 1
MOLDS IMPORTANT IN FOODS

molds ที่มีความสำคัญต่อทางด้านอาหาร เช่น อาจทำให้อาหารเสียหรือมีประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ *Saprolegnia* sp., *Pythium* sp., *Mucor* sp., *Selerotinia* sp., *Zygorrhynchus* sp., *Rhizopus* sp., *Absidia* sp., *Thamnidium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Trichothecium* sp., *Geotrichum* sp., *Monilia* sp., *Sporotrichum* sp., *Botryis* sp., *Cephalosporium* sp., *Trichoderma* sp., *Scopulariopsis* sp., *Pullularia* sp., *Cladosporium* sp., *Helminthosporium* sp., *Althernaria* sp., *Stemphylium* sp., *Fusarium* sp., *Endomyces* sp., และ *Monascus* sp., สำหรับบทปฏิบัติการนี้นักศึกษาจะได้เรียนรู้ถึงลักษณะของ mold เมื่อเจริญบนอาหาร, รูปร่างลักษณะและโครงสร้าง (morphological characteristics) ซึ่งมีประโยชน์ในการ classification และ identification mold.

วัสดุและอุปกรณ์

1. เชื้อ 11 เชื้อ คือ *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Geotrichum* sp., *Mucor* sp., *Monilia* sp., *Botrytis* sp., *Cladosporium Alternaria* sp., *Fusarium* sp., และ *Trichothecium* sp.,
2. จานเพาะเชื้อที่มี Malt agar หรือ Potato dextrose agar แข็งตัวอยู่
3. 10% glycerol
4. lactophenol
5. น้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ
6. จานเพาะเชื้อและแท่งแก้วที่ปราศจากเชื้อ
7. สไลด์
8. เข็มเขี่ยเชื้อ (needle)
9. ใบมีด
10. pipette ที่ปราศจากเชื้อ
11. burner
12. ปากคีบ
13. กล้องจุลทัศน์

วิธีทำ

Direct examination

1. ตรวจดูการเจริญของ mold ที่เจริญอยู่บน agar slant หรือบนอาหารในจานเพาะเชื้อด้วยตาเปล่าและ low power microscope.

2. ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ (needle) ที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ จุ่มลงใน lactophenol หรือ 10% glycerol แล้วนำมาเขี่ย mycelium ของ mold ที่เจริญอยู่บน agar slant หรือบนอาหารในจานเพาะเชื้อ วางบนสไลด์ที่หยด lactophenol หรือ 10% glycerol ไว้ประมาณ 1–2 หยด ปิดด้วย cover glass นำไปตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้ด้วยกล้องจุลทัศน์

ลักษณะของ hypha

ลักษณะของ spore head

ลักษณะของ asexual spore

ลักษณะของ sporangiophore และ conidiophore

ลักษณะของ special structure

Slide culture

1. ตัด malt agar ที่แข็งตัวในจานเพาะเชื้อออกให้มีขนาดประมาณ 0.5×0.5 ซ.ม. แล้วนำมาวางบนสไลด์ที่ปราศจากเชื้อ ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ inoculate เชื้อตรงขอบทั้งสี่ของ malt agar ปิดด้วย cover glass นำไปวางบนแท่งแก้วที่อยู่ในจานเพาะเชื้อซึ่งปราศจากเชื้อภายในจานเพาะเชื้อนี้มีน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้ออยู่ประมาณ 5–10 มิลลิลิตร และ 10% glycerol ประมาณ 2–3 หยด ตรวจดูการเจริญทุกวันจนกระทั่งเห็นว่าเจริญพอแล้ว เอา cover glass ออกและเขี่ย agar ทิ้ง หยด lactophenol หรือ 10% glycerol ลงไปประมาณ 1–2 หยด ปิด cover glass ด้วยสไลด์และปิดสไลด์ด้วย cover glass ที่สะอาด นำไปตรวจดูลักษณะ hypha, spore head, asexual spore, sporangiophore, conidiophore และ special structure ด้วยกล้องจุลทัศน์

หมายเหตุ ตอนหยด lactophenol หรือ 10% glycerol อาจใช้วิธีการดังต่อไปนี้แทนได้ หยด alcohol 1–2 หยด เมื่อ alcohol ระเหยไปเกือบหมด หยด lactophenol blue ประมาณ 3–4 หยด ปิดด้วย cover glass ที่สะอาดทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที นำมาดูด้วยกล้องจุลทัศน์ วิธีนี้เป็นการย้อมสี mycelium.

2. ตัดกระดาษกรองให้มีขนาดประมาณ 1 ตารางเซนติเมตร ทำให้ปราศจากเชื้อ นำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม inoculate เชื้อลงตรงกลางกระดาษกรอง incubate เมื่อเชื้อเจริญเอากระดาษกรองออกมาย้อมสีด้วย lactophenol blue ทำให้แห้งแล้วนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทัศน์ ใช้ออปเจคตีป oil immersion

ผลการทดลอง

ชื่อจุลินทรีย์	Low power กำลังขยาย---	High power กำลังขยาย---	Oil immersion กำลังขยาย---

ชื่อจุลินทรีย์	Low power กำลังขยาย---	High power กำลังขยาย---	Oil immersion กำลังขยาย---

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง