

# บทปฏิบัติการที่ 12

## SPOILAGE OF FOODS

อาหารจะเกิดการเปลี่ยนแปลงหรือเน่าเสียไปในรูปใดนั้นขึ้นอยู่กับ 1. ส่วนประกอบทางเคมีของอาหาร 2. pH ของอาหาร 3. ชนิดของจุลินทรีย์ที่ contaminate ลงไปในอาหาร 4. อุณหภูมิที่ใช้เก็บอาหาร 5. ความชื้นของอาหาร ซึ่งถ้าหากเราทราบว่าจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสียนั้นเป็นจุลินทรีย์ประเภทใด มาจากที่ไหน เราก็จะสามารถป้องกันหรือถนอมอาหารมิให้เกิดการเน่าเสียได้สะดวกขึ้น

### วัสดุและอุปกรณ์

1. nutrient broth
2. glucose 20%
3. citric acid
4. แป้ง
5. นมสดที่ pasteurized แล้ว
6. เนื้อสด
7. ผักและผลไม้
8. หลอด, pipette ที่ปราศจากเชื้อ
9. สีสำหรับย้อมด้วยวิธีแบบ Gram
10. xylol
11. กล้องจุลทรรศน์

### วิธีทำ

1. นำ nutrient broth 4 ขวดที่ปราศจากเชื้อและมี nutrient broth อยู่ขวดละ 45 มิลลิลิตร มาปฏิบัติดังต่อไปนี้

ขวดที่ 1 เติมสารละลาย glucose 20% ลงไป 5 มิลลิลิตร ขวดที่ 2 เติม citric acid จนได้ pH 3 ขวดที่ 3 เติมสารละลาย glucose 20% 5 มิลลิลิตร และ citric acid จนได้ pH 3 ขวดที่ 4 ไม่ต้องเติมสิ่งใด หลังจากนั้นริน nutrient broth จากแต่ละขวดลงไปในหลอดที่ปราศจากเชื้อ 4

หลอด แบ่งหลอดอาหารทั้งหมดออกเป็น 4 ชุด ชุดละ 4 หลอด ในแต่ละชุดประกอบด้วย nutrient broth+glucose 20% 5 มิลลิลิตร 1 หลอด nutrient broth+citric acid จนได้ pH 3 1 หลอด, nutrient broth+glucose 20% 5 มิลลิลิตร + citric acid จนได้ pH 3 1 หลอด และ nutrient broth 1 หลอด inoculate แต่ละชุดด้วย *Pseudomonas sp.*, *Streptococcus lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger* โดยเติมเชื้อจุลินทรีย์ลงไปหลอดละ 1 หยด เก็บหลอดที่ inoculate แล้วทั้งหมดไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 5-7 วัน ตรวจสอบการเจริญของจุลินทรีย์ในหลอด

2. เอาแป้งใส่ในงานเพาะเชื้อแล้วใส่น้ำลงไปให้เปียกชื้น เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2 วันนำมาตรวจดูกลิ่นสี pH และทำการย้อมสีตัวอย่างแป้งที่ทำ smear บนสไลด์แล้วด้วยวิธีแบบ Gram ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้ออฟเจกตีฟ oil immersion

3. เก็บนมสดที่ pasteurized แล้วไว้ที่อุณหภูมิ 10° ซ., 20° ซ., 37° ซ. และ 55° ซ. ประมาณ 3 วัน นำมาตรวจดูกลิ่นสี pH การเกิดตะกอนและทำการย้อมสีตัวอย่างนมนั้นทำ smear บนสไลด์แล้วด้วยวิธีแบบ Gram ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ ใช้ออฟเจกตีฟ oil immersion

4. เก็บเนื้อไว้ที่อุณหภูมิ 0° ซ., 10° ซ. และ 20° ซ. ประมาณ 3 วัน ตรวจดู กลิ่น สี แล้วเอาตัวอย่างเนื้อแต่ละอุณหภูมิมาทำ smear บนสไลด์ทั้งไว้อุณหภูมิห้องให้แห้ง หยด xylol ลงไปจนท่วม smear เพื่อละลายไขมันออกไป เอียงสไลด์เท xylol ทิ้ง fix ด้วยความร้อน แล้วย้อมสีด้วยวิธีแบบ Gram ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ ใช้ออฟเจกตีฟ oil immersion

5. ตรวจสอบลักษณะและ pH ของผักและผลไม้สดที่เน่าเสียแล้วทำ smear บนสไลด์ ย้อมสี smear ด้วยวิธีแบบ Gram ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ ใช้ออฟเจกตีฟ oil immersion

## ผลการทดลอง

1.

	N.B.+ glucose 20%	N.B.+citric acid จิน pH 3	N.B.+ glucose 20%+citric acid จิน pH 3	N.B.
<i>Pseudomonas</i> sp.				
<i>Streptococcus lactis</i>				
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>				
<i>Aspergillus niger</i>				

+ = หมายถึงมีเชื้อจุลินทรีย์เจริญ

- = หมายถึงไม่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

2. macroscopic examination =

pH =

microscopic examination =

3.

	นมสดที่ pasteurized แล้วเก็บไว้ประมาณ 3 วันที่อุณหภูมิ			
	10° ซ.	20° ซ.	37° ซ.	55° ซ.
macroscopic examination				
pH				
microscopic examination				

4.

	เนื้อเก็บไว้ประมาณ 3 วันที่อุณหภูมิ		
	0° ซ.	10° ซ.	20° ซ.
macroscopic examination			
microscopic examination			

5.

อาหาร	macroscopic examination	microscopic examination	pH
..... (ผัก)			
..... (ผัก)			
..... (ผัก)			
..... (ผลไม้)			
..... (ผลไม้)			
..... (ผลไม้)			

## สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง