บทปฏิบัติการที่ 6

EXAMINATION OF POULTRY MEAT AND EGGS

เนื้อเป็ด, ไก่ ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 อย่าง คือ ความชื้น fat, protein โดยมันจะมีความชื้น fat, protein เฉลี่ยประมาณ 55–75 เปอร์เซ็นต์ 40–30 เปอร์เซ็นต์ และ 15–25 เปอร์-เซ็นต์ตามลำดับ ด้วยเหตุนี้เองทำให้จุลินทรีย์ต่าง ๆ มากมายหลายชนิดที่ contaminate อยู่สามารถเจริญได้ดี บริเวณที่มีจุลินทรีย์ contaminate อยู่มากที่สุดได้แก่บริเวณผิวหนังและช่องท้อง

ไข่ที่เป็ดหรือไก่ไข่ใหม่ ๆ จะมีจุลินทรีย์อยู่น้อยมาก แต่จุลินทรีย์จะมีโอกาสเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมากตรงบริเวณผิวด้านนอกของเปลือกไข่ โดย contaminate มาจากการล้างและภาชนะที่บรรจุไข่เป็นต้น จุลินทรีย์ที่มีอยู่ตรงบริเวณผิวด้านนอกอาจมีโอกาสเข้าไปเจริญในไข่ได้เมื่อนวลขาว ๆ ที่อยู่ข้างนอกหลุดออกโดยการล้างเปลือกไข่มีรอยร้าวหรือแตก เก็บไข่ไว้เป็นระยะเวลานาน สภาพแวดล้อมที่เก็บไข่มีความชื้นสูง

จุลินทรีย์นับว่ามีความสำคัญต่อเนื้อเป็ด, ไก่และไข่ ได้แก่พวก coliform bacteria, *Salmonella* sp., *Pseudomonas* sp. และ *Proteus* sp. เป็นต้น

วัสดุและอุปกรณ์

1. เนื้อเป็ดไก่
2. ไข่
3. tryptone glucose yeast extract agar
4. nutrient broth
5. brilliant green agar
6. น้ำกลั่นที่มี NaCl อยู่ 0.85% และปราศจากเชื้อ 99 มิลลิลิตร
7. น้ำกลั่นที่มี NaCl อยู่ 0.85% และปราศจากเชื้อ 9 มิลลิลิตร
8. แท่งแก้วที่งอเป็นรูปมุมฉาก
9. จานเพาะเชื้อ และ pipette ที่ปราศจากเชื้อ
10. กล้องจุลทัศน์

วิธีทำ

เนื้อเป็ด, ไก่

1. ตรวจสอบดูลักษณะของเนื้อและกลิ่น
2. **total count :** ทำโดยวิธีใดวิธีหนึ่งดังต่อไปนี้

2.1 ริน tryptone glucose yeast extract agar ลงให้เต็มจานเพาะเชื้อที่มีพื้นที่ 16 ตารางเซนติเมตร วางไว้จนกระทั่งอาหารเลี้ยงเชื้อเย็นและแข็งตัว แล้วจึงจับขึ้นกดลงบนบริเวณผิวหนังเป็ดหรือไก่ (ระวังอย่าให้เลื่อน) ประมาณ 3 วินาที นำมาวางในจานเพาะเชื้อที่ใหญ่กว่าและปราศจากเชื้อ เก็บไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 30° ซ. 2 วัน แล้วนำออกมาเพื่อตรวจดูลักษณะโคโลนี นับจำนวนโคโลนี รายงานผลแสดงถึง ลักษณะโคโลนีและจำนวนโคโลนีที่นับได้ต่อพื้นที่ผิวหนัง 1 ตารางเซนติเมตร

2.2 ใช้ไม้ที่มีสำลีพันอยู่ตรงปลายและทำให้ปราศจากเชื้อแล้วเช็ดบริเวณผิวหนังเป็ดหรือไก่ประมาณ 12 ตารางเซนติเมตร ถ้าบริเวณผิวหนังเป็ดหรือไก่แห้งให้จุ่มปลายสำลีลงในน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อก่อนที่จะนำมาเช็ดผิวหนังเป็ดหรือไก่ แล้วหักปลายสำลีใส่ลงในขวดที่บรรจุน้ำกลั่นซึ่งมี NaCl อยู่ 0.85% และปราศจากเชื้อ 99 มิลลิลิตร เขย่าประมาณ 50 ครั้ง นำมาทำให้จางลงด้วยน้ำกลั่นที่มี NaCl อยู่ 0.85% และปราศจากเชื้อ pour plate dilution ต่าง ๆ โดย pipette 1 มิลลิลิตร จากแต่ละ dilution ใส่ลงในจานเพาะเชื้อซึ่งปราศจากเชื้อ ทำ dilution ละ 3 จาน ริน tryptone glucose yeast extract agar ที่ยังเหลวอยู่ลงไป เขย่าให้ปนกันทั่วดี วางทิ้งไว้จนกระทั่งวุ้นเย็นและแข็งตัว จับจานเพาะเชื้อวางกลับเอาฝาลงล่าง นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 30–32° ซ. ประมาณ 2–3 วัน แล้วนำออกมาเพื่อตรวจดูลักษณะโคโลนี นับจำนวนโคโลนี รายงานผลแสดงถึงลักษณะโคโลนี และจำนวนโคโลนีที่นับได้ต่อพื้นที่ผิวหนัง 1 ตารางเซนติเมตร

2.3 ใช้ปากคีบที่ปราศจากเชื้อคีบชิ้นเป็ดหรือไก่ใส่ลงในถุงหรือขวดซึ่งบรรจุน้ำกลั่นที่มี NaCl อยู่ 0.85% และปราศจากเชื้อ 100 มิลลิลิตร เขย่าประมาณ 50 ครั้ง นำมาทำให้จางลงด้วยน้ำกลั่นที่มี NaCl อยู่ 0.85% และปราศจากเชื้อ pour plate dilution ต่าง ๆ incubate, ตรวจดูลักษณะโคโลนี นับจำนวนโคโลนีแล้วรายงานผลด้วยวิธีการเดียวกับที่ได้บรรยายไว้ในข้อ 2.2 (จากน้ำหนักของชิ้นเป็ดหรือไก่ที่เราใช้ทดลอง สามารถคิดเป็นพื้นที่ออกมาได้โดยใช้ chart ที่มีอยู่ในหน้า 125 ของหนังสือ American Public Health Association. Recomended Methods for the Microbiological Examination of Foods.)

ไข่

นำไข่มาล้างด้วยสบู่และน้ำ แล้วนำไปแช่ใน 70% alcohol 10 นาที เผาไฟ เจาะตรง

ปลายด้านแหลมของไข่ให้เป็นรูขนาดประมาณ 0.5 ตารางนิ้ว เผาไฟ เทไข่ใส่ลงในภาชนะที่ปราศจากเชื้อ ใช้ช้อนที่ปราศจากเชื้อตีให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไข่ไปตรวจหา

1. plate count : ชั่งไข่ 11 กรัมใส่ลงในขวดที่มี glass bead และบรรจุน้ำกลั่นซึ่งมี NaCl อยู่ 0.85% และปราศจากเชื้อ 99 มิลลิลิตร เขย่าประมาณ 25 ครั้ง นำมาทำ dilution 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} นำ dilution ต่าง ๆ มาทำการ pour plate, incubate ตรวจดูลักษณะโคโลนีและนับจำนวนโคโลนีด้วยวิธีเดียวกับที่ได้บรรยายไว้ในข้อ 2.2 แล้วรายงานผลแสดงถึงจำนวนบักเตรีที่มีอยู่ในไข่ 1 กรัม

2. Yeasts และ molds นำ dilution ต่าง ๆ ของไข่ที่เตรียมไว้ในข้อ 1 (plate count ของไข่) มา pour plate ด้วย potato dextrose agar, incubate ตรวจดูลักษณะโคโลนี และนับจำนวนโคโลนีด้วยวิธีเดียวกับที่ได้บรรยายไว้ในข้อ 2.2 แล้วรายงานผลแสดงถึงจำนวน yeasts และ molds ที่มีอยู่ในไข่ 1 กรัม

3. direct microscopic count : pipette ไข่ที่ผสมกันดีแล้ว 0.01 มิลลิลิตร มา smear บนสไลด์ ให้เต็มพื้นที่ 1 ตารางเซนติเมตร วางทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำมาแช่ในสารละลายที่มี methylene blue 1 กรัม ethyl alcohol 95% 500 มิลลิลิตรและ HCl เข้มข้น 5 มิลลิลิตร นานประมาณ 3–5 นาที แล้วนำไปแช่น้ำเอาสีที่มากเกินพอออก วางทิ้งไว้ให้แห้ง นำไปนับจำนวนและตรวจดูด้วยกล้องจุลทัศน์ โดยใช้เลนซ์ oil immersion นับจำนวนจุลินทรีย์ที่ปรากฏใน field ประมาณ 100 field หาค่าเฉลี่ย แล้วคูณค่าเฉลี่ยด้วย 500,000 ตัวเลขที่ได้จะเป็นจำนวนจุลินทรีย์ต่อไข่ 1 มิลลิลิตร โดยประมาณ

4. *Salmonella* sp. : pipette ไข่ที่ผสมกันดีแล้ว 2 มิลลิลิตรใส่ในหลอดที่บรรจุ nutrient broth 10 มิลลิลิตร นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 35–37° ซ. ประมาณ 24 ชั่วโมง แล้ว pipette 0.1 มิลลิลิตร หยดบนจานเพาะเชื้อที่มี brilliant green agar ที่เย็นและแข็งตัวแล้วใช้แท่งแก้วทื่อเป็นรูปมุมฉาก ทำให้หยดไข่แผ่กระจายไปทั่วผิวหน้าอาหาร จับจานเพาะเชื้อขึ้นวางกลับเอาฝาลงล่างนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 35–37° ซ. ประมาณ 2–3 วัน นำออกมาตรวจสอบหาโคโลนีที่มีสีชมพูอ่อนและมีวงกลมสีชมพูล้อมรอบ (จุลินทรีย์อื่นที่ไม่ใช่ *Salmonella* sp. จะมีโคโลนีสีเหลืองปนเขียว และมีวงกลมสีเหลืองล้อมรอบ)

ผลการทดลอง

เนื้อเป็ดหรือไก่

1. ลักษณะของเนื้อเป็ดหรือไก่และกลิ่น =

2.

	จำนวนบักเตรีต่อพื้นที่ผิว 1 ตารางเซนติเมตร	ชนิดของบักเตรีเท่าที่สังเกตเห็นได้ จากความแตกต่างของโคโลนี
Control		
เป็ดหรือไก่		

ไข่

3.

	จำนวนบักเตรีทั้งหมด ต่อไข่ 1 กรัม	ชนิดของบักเตรีเท่าที่สังเกตเห็นได้จากความแตกต่างของโคโลนี	จำนวน Yeast และ mold ต่อไข่ 1 กรัม	ชนิดของ Yeast และ mold เท่าที่สังเกตเห็นได้จากความแตกต่างของโคโลนี	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีอยู่ต่อไข่ 1 กรัม (direct microscopic count)	*Salmonella* sp.
Control						
ไข่						

+ = หมายถึงมีเชื้อจุลินทรีย์อยู่

– = หมายถึงไม่มีเชื้อจุลินทรีย์อยู่

สรุปและวิจารณ์ผลทดลอง