

บทปฎิบัติการที่ 9

EXAMINATION OF MILK AND MILK PRODUCTS (ต่อ)

วัสดุและอุปกรณ์

1. standard method agar
2. Hugh and Leifson medium
3. hydrogen peroxide
4. สารละลายน้ำ methylene blue
5. หลอด, ขานเพาะเชื้อ, pipette ที่ปราศจากเชื้อ
6. water bath
7. กล้องจุลทรรศน์

วิธีทำ

1. นำโคลนน์แต่ละชนิดที่แยกได้จากการทำ count of total thermoduric bacteria มาตรวจดูอย่างคร่าว ๆ ว่า ควรจะเป็นบักเตอรีพากได้น้ำงา โดย streak โคลนน์แต่ละชนิดบนจานเพาะเชื้อที่มี standard method agar ซึ่งเย็นและแข็งตัวแล้ว เก็บจานเพาะเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 ช. 1-3 วัน ตรวจดูและทำการ streak ข้า้อกแบบเดียวกันจนกระทั่งได้เชื้อบริสุทธิ์ นำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้มามาทำการตรวจดังต่อไปนี้ catalase test, Gram stain reaction และดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ใช้ออยล์เจกติฟ oil immersion เชื้อที่ให้ผล catalase test negative, Gram positive อาจเป็น lactobacilli หรือ streptococci เชื้อที่ให้ผล catalase test positive, Gram positive อาจเป็น staphylococci หรือ micrococci ซึ่งทั้ง 2 ตัวนี้สามารถแยกออกจากกันได้โดยใช้ Hugh and Leifson medium พาก staphylococci จะใช้ glucose ใน Hugh and Leifson medium แบบ fermentative ส่วนพาก micrococci จะใช้ glucose ใน Hugh and Leifson medium แบบ oxidative หรือว่าไม่ทำให้เกิดกรดขึ้น เชื้อที่ให้ผล catalase test positive, Gram negative อาจเป็นพาก coliforms หรือพาก gram negative rods อื่น ๆ แล้วรายงานผลว่ามีบักเตอรีพากได้น้ำงา

2. นำน้ำนมมาตรวจสับคุณภาพโดยอาศัยการ reduce สี methylene blue เป็นขาวดันน้ำนมตัวอย่างแล้ว pipette น้ำนม 10 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดที่ปราศจากเชื้อ และมีจุกยางสำหรับจุกหลอดด้วย เติมสารละลายน้ำ methylene blue (ละลายน้ำความเข้มข้น $\frac{1}{30,000}$)

ลงไป 1 มิลลิลิตร จับเวลาทันที ใช้จุกยางจุกหลอดให้แน่นแล้วคร่ำและหงายหลอด 2-3 ครั้ง เพื่อให้น้ำนมกับ methylene blue เข้ากันทั่วๆ นำหลอดทดสอบปะเปลี่ยนอ่างน้ำ 37° ซ. ตรวจดู เมื่อครบ 2 ชั่วโมง, 6 ชั่วโมง และ 8 ชั่วโมงว่า methylene blue ถูก reduce หรือไม่ ถ้า methylene blue ถูก reduce สี methylene blue นั้นจะเปลี่ยนไปเป็นสีขาว แล้วจัดน้ำนมออกเป็นเกรด โดยอาศัยเวลาที่ methylene blue ถูก reduce ดังต่อไปนี้

- น้ำนม łatwo สีจะถูก reduce ภายใน 2 ชั่วโมง
- น้ำนมปานกลางใน 2 ชั่วโมงจะไม่ถูก reduce แต่ถูก reduce ภายใน 6 ชั่วโมง
- น้ำนมดี สีไม่ถูก reduce ภายใน 6 ชั่วโมง แต่ว่าถูก reduce ภายใน 8 ชั่วโมง
- น้ำนมดีมาก 8 ชั่วโมง แล้วสีก็ยังไม่ถูก reduce

รายงานผลเพื่อแสดงให้เห็นว่าน้ำนมที่ใช้ในการตรวจสอบ จัดอยู่ในเกรดใด

ผลการทดลอง

1.

	lactobacilli	streptococci	micrococci	staphylococci	coliforms	Gram negative rods ตัวบวก
Control						
บักเทอรี						

+ = หมายถึงมีเชื้อจุลินทรีย์อยู่

- = หมายถึงไม่มีเชื้อจุลินทรีย์อยู่

2.

น้ำนมตัวอย่าง	เวลา (ชั่วโมง) ที่ methylene blue ถูก reduce	เกรดของน้ำนม
No. 1		
No. 2		

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง