รายงานปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

“ การศึกษาและวิเคราะห์ผลทางด้านจุลินทรีย์ภายในโรงงานดัชมิลล์ ”

(The study and analyze of microbiology in Dutch Mill Factory)

โดย

นางสาวจันทนา หาญปราบ

B 4450191

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิชา สหกิจศึกษา

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วันที่ 7 ธันวาคม 2547

วันที่ 7 เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2547

เรื่อง ขอส่งรายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

เรียน อาจารย์ที่ปรึกษาสหกิจศึกษา สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

ตามที่ข้าพเจ้านางสาวจันทนา หาญปราบ นักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ได้ไปปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ระหว่างวันที่ 30 กันยายน ถึง 17 ธันวาคม 2547 ในตำแหน่ง ผู้ช่วย Technician ฝ่าย Quality System Management (QSM) ด้านจุลินทรีย์ ณ บริษัท ดัชมิลล์ จำกัด และได้รับมอบหมายจาก Job Supervisor ให้ศึกษาและทำรายงาน เรื่อง..การศึกษาและวิเคราะห์ผลทางด้านจุลินทรีย์ภายในโรงงาน ดัชมิลล์ (The study and analyze of microbiology in Dutch Mill Factory)

บัดนี้ การปฏิบัติงานสหกิจศึกษาได้สิ้นสุดลงแล้ว ข้าพเจ้าจึงขอส่งรายงานดังกล่าวมาพร้อมกันนี้จำนวน 1 เล่ม เพื่อขอรับคำปรึกษาต่อไป

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

ขอแสดงความนับถือ

(นางสาวจันทนา หาญปราบ)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

กิตติกรรมประกาศ

(Acknowledgament)

การที่ข้าพเจ้าได้มาปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ณ บริษัท ดัชมิลล์ จำกัด ในระหว่างวันที่ 30 กันยายน ถึง 17 ธันวาคม 2547 ส่งผลให้ข้าพเจ้าได้รับความรู้และประสบการณ์ต่างๆ ที่มีค่ามากมาย รายงานวิชาสหกิจศึกษาฉบับนี้ สำเร็จลงได้ด้วยดีจากความร่วมมือและการสนับสนุนจากหลายฝ่าย ดังนี้

1. คุณบุญหา สวัสดี (ผู้จักการแผนก QSM)
2. คุณอรษา สุวิชยาภรณ์ (ตำแหน่ง QA. Supervisor) ซึ่งเป็น Job Supervisor

และบุคคลท่านอื่นๆ ที่ไม่ได้กล่าวนามทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการจัดทำรายงาน

ข้าพเจ้าใคร่ขอขอบพระคุณผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน ที่มีส่วนร่วมในการให้ข้อมูล เป็นที่ปรึกษาในการทำรายงานงานฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ตลอดจนให้การดูแลและความเข้าใจเกี่ยวกับชีวิตการทำงานจริง ข้าพเจ้าขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

นางสาวจันทนา หาญปราบ

ผู้จัดทำรายงาน

7 ธันวาคม 2547

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คำนำ

บริษัท ดัชมิลล์ จำกัด เป็นบริษัทที่ผลิตผลิตภัณฑ์อาหารนม จากการที่ได้เข้าไปปฏิบัติงานในโครงการสหกิจศึกษา ณ บริษัท ดัชมิลล์ จำกัด ได้รับมอบหมายให้ไปปฏิบัติหน้าที่ในแผนกการจัดการระบบคุณภาพ (Quality System Management)ในส่วนของการตรวจสอบทางด้านจุลินทรีย์ (Microbiology) ซึ่งเป็นการตรวจสอบหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ต่างๆ ก่อนการจัดจำหน่าย และการตรวจสอบทางด้านสุขาภิบาล (Sanitation) ของพนักงานและโรงงาน นอกจากงานในส่วนของการติดตามผลทางด้านจุลินทรีย์แล้ว ยังมีส่วนร่วมในการจัดงานกิจกรรมต่างๆภายในโรงงาน อาทิเช่น การเข้าร่วมฝึกอบรมระบบ GMP และ กิจกรรมสัปดาห์คุณภาพ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ

		หน้า
จดหมายนำส่ง		1
กิตติกรรมประกาศ		2
บทคัดย่อ		3
สารบัญ		4
สารบัญตาราง		5
สารบัญรูป		5
บทที่ 1	บทนำ	
	รายละเอียดเกี่ยวกับบริษัท ดัชมิลล์ จำกัด	7
	นโยบายบริษัท ดัชมิลล์ จำกัด	9
บทที่ 2	รายละเอียดเกี่ยวกับการปฏิบัติงาน	
	1. การศึกษาปริมาณการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไป โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ SPC agar	11
	2. การศึกษาการเจริญของเชื้อ *Coilform sp.* ใน VRB agar	20
	3. การศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ในผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์	28
	4. การตรวจสอบคุณสมบัติของอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ เชื้อColiforms และ *E.coli* ในผลิตภัณฑ์นม	38
	5. การศึกษาลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในน้ำชา Ohiyo	44
	6. การศึกษาอายุการเก็บนมสดพาสเจอร์ไรส์	49
	7. การตรวจหาที่มาของเชื้อราและเชื้อยีสต์	56
	8. การศึกษาลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในนมสดพาสเจอไรส์	67
บทที่ 3 สรุปผลการปฏิบัติงาน		72
บทที่ 4 ปัญหาและข้อเสนอแนะ		73
ภาคผนวก		74
บรรณานุกรม		86

วิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของนมดิบใน 12

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณเชื้อ *Coilform sp.* ใน VRB 20

ตารางที่ 3 แสดงการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์ 28

ตารางที่ 4 แสดง ค่า pH และ TA ในผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์ 32

ตารางที่ 5 ลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 39

ตารางที่ 6 ลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 46

ตารางที่ 7 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างอายุการเก็บ 50

ตารางที่ 8 แสดงลักษณะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 57

ตารางที่ 9 แสดงปริมาณเซลล์ในตัวอย่างน้ำชา Ohiyo ด้วยค่าABS 58

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์น้ำชาเขียว(finish product) 61

ตารางที่ 11 แสดงปริมาณเซลล์ในตัวอย่างน้ำชา Ohiyo ด้วยค่าABS 62

ตารางที่ 12 ลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในนมสดพาสเจอไรส์ 67

สารบัญรูป

หน้า

ภาพที่ 1 ลักษณะเชื้อ *E.coli* ใน Chromocult Agar 42

ภาพที่ 2 ลักษณะเชื้อ Coliforms sp. ใน Chromocult Agar 42

ภาพที่ 3 ลักษณะเชื้อ Coliforms sp. ใน EMB Agar 42

ภาพที่ 4 ลักษณะเชื้อ *E.coli* ใน EMB Agar 42

ภาพที่ 5 ลักษณะเชื้อ Coliforms sp. ใน Fluorocult *E. coli* 0157:H7 42

ภาพที่ 6 ลักษณะเชื้อ *E.coli* ใน Fluorocult *E. coli* 0157:H7 42

ภาพที่ 7 ลักษณะเชื้อ Coliforms sp. ใน VRB agar 42

ภาพที่ 8 ลักษณะเชื้อ *E. coli* ใน VRB agar 42

ภาพที่ 9 ลักษณะเชื้อ Coliforms sp. ใน SS agar 42

ภาพที่ 10 ลักษณะเชื้อ *E. coli* ใน SS agar 42

ภาพที่ 11 ลักษณะการเจริญของเชื้อในอาหาร YPD broth 46

ภาพที่ 12 ลักษณะการเจริญของเชื้อในอาหาร YPD agarและ PDA จาก ส่วนที่เป็น Colony 46

ภาพที่ 13 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่าจาก YPD broth 46

ภาพที่ 14 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่า จาก PDA 46

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาพที่ 15 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า จาก YPD agar 46
ภาพที่ 16 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่าจาก Gorodkuowa Medium 46
ภาพที่ 17 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ที่พบจากอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 61
ภาพที่ 18 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่าจาก อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 61
ภาพที่ 19 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่าจาก อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 61
ภาพที่ 20 ลักษณะของอาหารเลี้ยงเชื้อ Basal medium + Durham tube 69
ภาพที่ 21 ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Gorodkuowa Agar 69
ภาพที่ 22 ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD agar 69
ภาพที่ 23 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่าจาก YPD agar 69
ภาพที่ 24 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่าจาก YPD broth 69
ภาพที่ 25 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่าจาก อาหารเลี้ยงเชื้อBasal medium 69
ภาพที่ 26 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่าจาก อาหารเลี้ยงเชื้อ Gorodkuowa Agar (ย้อมแกรม) 70

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1

บทนำ

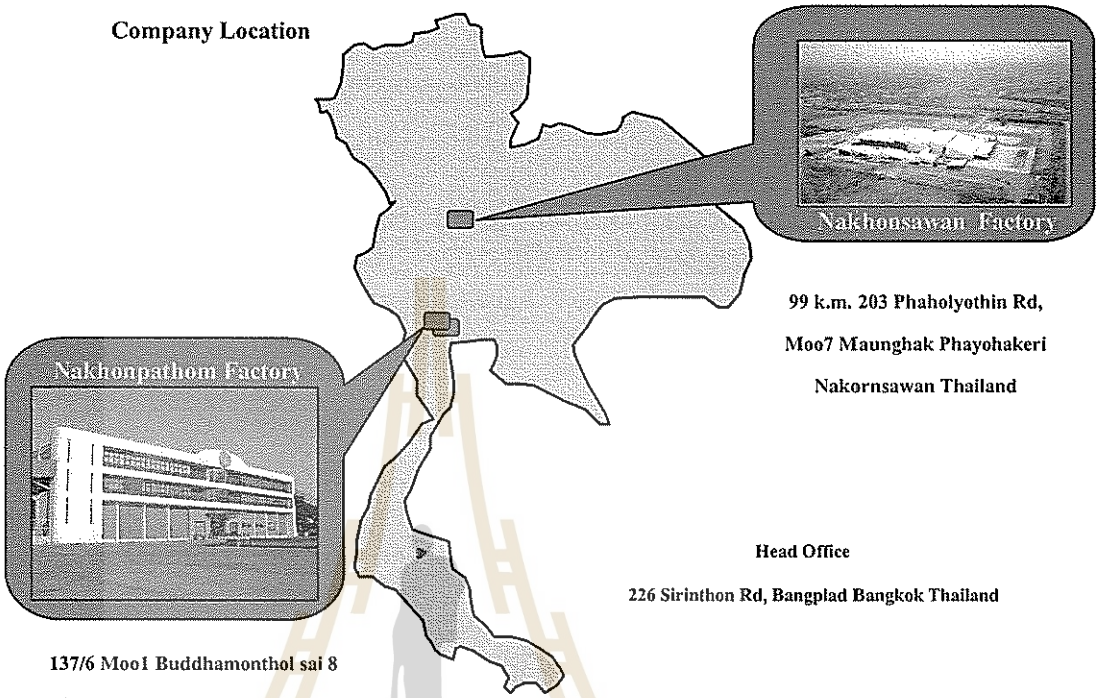
กลุ่มบริษัท ดัชมิลล์

ประวัติความเป็นมาของบริษัท ดัชมิลล์ จำกัด

บริษัท ดัชมิลล์ จำกัด เดิมจดทะเบียนก่อตั้งเมื่อวันที่ 27 มกราคม 2527 ในนาม บริษัท โปรฟู้ด จำกัด เพื่อประกอบกิจการโรงงานผลิตโยเกิร์ต และนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม ภายใต้ชื่อผลิตภัณฑ์ ดัชมิลล์ (Dutch Mill) โดยเริ่มจากเป็นอุตสาหกรรมขนาดเล็กที่ หมู่บ้านสหกรณ์คลองกุ่ม กรุงเทพฯ สินค้าตัวแรกทำการผลิต คือ โยเกิร์ต มี 4 รส คือ รสส้ม รสสตรอเบอรี่ รสสับปะรด และรสธรรมชาติทำการทดลองวางตลาดโดยวางจำหน่าย ในซุปเปอร์มาร์คเก็ตบนถนนสุขุมวิท และเพชรบุรีตัดใหม่

ภายในเวลาเพียง 3 เดือน ก็ได้รับความนิยมเป็นอย่าง มาก โดยเฉพาะในหมู่ชาวต่างชาติ โดยมี บริษัท โปรมาร์ท อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด ซึ่งจดทะเบียนก่อตั้งเมื่อ เดือนกุมภาพันธ์ 2527 เป็นผู้ดำเนินการด้านการตลาดในการจำหน่ายผลิตภัณฑ์ จนกระทั่งในปี 2534 เกิด วิกฤตการณ์น้ำนมดิบล้นตลาดส่งผลให้ราคาน้ำนมดิบตกต่ำ รวมทั้งเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมไม่สามารถหาตลาดรองรับน้ำนมดิบได้ ซึ่งเป็นปัญหาที่รัฐบาลในขณะนั้นต้องเร่งแก้ไข กลุ่มผู้ถือหุ้นของบริษัท โปรฟู้ด จำกัด ตระหนักถึงปัญหาดังกล่าว และเห็นพ้องต้องกันว่า ต้องการเข้าไปมีส่วนช่วยบรรเทาปัญหาที่เกิดขึ้น เนื่องจาก มองเห็นว่าภาคเกษตรเป็นภาคที่เป็นพื้นฐานทางเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ และผลิตภัณฑ์นมเป็นผลิตภัณฑ์ พื้นฐานที่มีประโยชน์ทางโภชนาการต่อผู้บริโภคมิได้เป็นสินค้าที่เกินความจำเป็น หรือฟุ่มเฟือยแต่อย่างใด จึงได้ก่อตั้งบริษัท ดัชมิลล์ จำกัด โดยได้ทำการเปลี่ยนชื่อบริษัท โปรฟู้ด จำกัด เป็นบริษัท ดัชมิลล์ จำกัด โดยได้รวม บริษัท ดัชมิลล์ (ประเทศไทย) จำกัด เข้าเป็นบริษัทเดียวกัน เมื่อวันที่ 2 สิงหาคม 2534 เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์อาหารนม ทั้งพาสเจอร์ไรซ์ และยูเอชที โดยรับโควต้าการซื้อน้ำนมดิบจากเกษตรกรเข้ามาเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิต และต่อมาได้รวม บริษัท คัสตอมมาร์ท จำกัด กับ บริษัท แดรี่ พลัส จำกัด เข้าด้วยกัน ภายใต้ชื่อบริษัท แดรี่ พลัส จำกัด เมื่อวันที่ 1 เมษายน 2543 ในการผลิตและจัดจำหน่ายผลิตภัณฑ์อาหารนมยูเอชที ซึ่งเป็นหนึ่งในบริษัทในเครือของดัชมิลล์ โดยกลุ่มผู้ถือหุ้นได้ตั้งปณิธานที่จะมุ่งมั่นเพื่อพัฒนากลุ่มบริษัท ดัชมิลล์ ให้เป็นบริษัทผู้ผลิตและจำหน่ายอาหารนมที่ดีที่สุดในประเทศไทย ด้วยฝีมือของคนไทย โดยใช้การบริหารที่มุ่งให้ความสำคัญในการพัฒนา ทรัพยากรมนุษย์และปรับปรุงกระบวนการทำงานให้มีประสิทธิภาพเพื่อตอบสนองต่อความพึงพอใจของลูกค้า และเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันเพื่อเข้าสู่กระบวนการทางธุรกิจระดับสากลโดยใช้ทรัพยากรจากสังคมสร้างผลผลิตและอำนวยคุณประโยชน์ตอบแทนสังคม

บริษัท ดัชมิลล์ จำกัด มีพื้นที่ตั้งอยู่ ณ ประเทศไทย เป็นหนึ่งในบริษัทชั้นนำผู้ผลิตอุตสาหกรรมอาหารนม สำนักงานใหญ่ตั้งอยู่ที่ กรุงเทพมหานคร มีโรงงานอยู่ 2 แห่ง คือที่ โรงงานดัชมิลล์ ตั้งอยู่ที่อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ซึ่งอยู่ทางฝั่งตะวันตกของแม่น้ำเจ้าพระยา ห่างจากกรุงเทพฯ ไปประมาณ 40 กิโลเมตร และโรงงานแดรี่พลัส ซึ่งตั้งอยู่ที่ จังหวัดนครสวรรค์ จากกรุงเทพฯ ไปภาคเหนือประมาณ 200 กิโลเมตร



ณ วันนี้กลุ่มบริษัท ดัชมิลล์ ได้เติบโตและได้คิดค้นพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่อื่นๆที่มีคุณประโยชน์เพื่อตอบสนองต่อ ความต้องการของผู้บริโภคอย่างต่อเนื่องจนส่งผลให้บริษัทสามารถก้าวไปเป็นผู้นำในส่วนแบ่งตลาดของนมเปรี้ยว ยูเอชทีและโยเกิร์ตจากตลาดภายในประเทศ ด้วยแผนการตลาดที่มุ่งเน้นความต้องการของผู้บริโภคเป็นหลัก ส่งผลให้บริษัทได้รับรางวัล Thailand Marketing Award ประจำปี 2543 จากสมาคมการจัดการธุรกิจ แห่งประเทศไทย

การดำเนินธุรกิจของกลุ่มบริษัทดัชมิลล์ นอกจากจะมุ่งความสำเร็จของธุรกิจแล้ว บริษัทมีความมุ่งมั่น ในการสร้างเสถียรภาพทางเศรษฐกิจของประเทศ นอกเหนือจากการสร้างงานให้กับคนไทยมากกว่า 6,500 คนแล้ว บริษัทมีเป้าหมายในการนำเงินตราต่างประเทศกลับสู่ประเทศไทย โดยบริษัทได้ส่งออกผลิตภัณฑ์ นมเปรี้ยวสู่ตลาดต่างประเทศ เริ่มจากการผลิตแบบโคแพ็คให้กับบริษัท F & N Food แห่งประเทศสิงคโปร์ ภายใต้ชื่อสินค้า Viva ต่อมาบริษัทได้ส่งออกผลิตภัณฑ์ภายใต้สินค้าของตนเองคือตราดัชมิลล์โดยมุ่งเน้นการส่งออกผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มยูเอชทีเป็นหลัก ในระยะเริ่มต้น เริ่มจากการขยายตลาด ไปยังประเทศเพื่อนบ้าน แล้วจึงได้ขยายสู่ตลาดสำคัญๆ ทั่วโลกต่อไปจากการทุ่มเทและความตั้งใจในการ ผลักดันผลิตภัณฑ์ของคนไทยภายใต้ชื่อดัชมิลล์ ทำ

ให้บริษัทได้รับรางวัล Prime Minister Export Award ประเภท Brand Name และ Best Exporter ในปี2544จากกรมส่งเสริมการส่งออกกระทรวงพาณิชย์

บริษัทตระหนักดีว่าในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารนมนั้น คุณภาพเป็นกุญแจหลักที่สำคัญที่สุด ตั้งแต่การพิถีพิถันในการคัดสรรวัตถุดิบที่มีคุณภาพผ่านกระบวนการผลิตและการควบคุมคุณภาพที่ได้มาตรฐานทุกขั้นตอน ติดตามและควบคุมคุณภาพอย่างสม่ำเสมอ อีกทั้งตระหนักถึงการใช้ทรัพยากรรูปแบบต่างๆ อย่างมีประสิทธิ ภาพ ปราศจากมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม ทำให้บริษัทได้รับรางวัล ฯพณฯ นายกรัฐมนตรี อุตสาหกรรมดีเด่น ประจำปี 2545 (The Prime Minister's Industry Awards 2002) ในฐานะอุตสาหกรรมดีเด่น ประเภทการบริหารงานคุณภาพ (Quality Management)

การรับรองมาตรฐานคุณภาพถึง 5 มาตรฐาน ได้แก่

1. มาตรฐานการจัดการด้านสิ่งแวดล้อม ISO 14001
2. มาตรฐานการจัดการคุณภาพ ISO 9002
3. มาตรฐาน GMP
4. มาตรฐาน HACCP
5. มาตรฐานฮาลาล

นโยบายของบริษัท

บริษัท ดัชมิลล์ จำกัด ดำเนินธุรกิจผลิตและจำหน่ายสินค้าและอาหารนม มุ่งมั่นในการสร้างความพึงพอใจให้แก่ลูกค้าและผู้บริโภค ด้วยการผลิตสินค้าที่มีคุณภาพสูง บริการที่ประทับใจควบคู่ไปกับการรักษาสิ่งแวดล้อม โดยเน้นการสร้างคุณภาพในทุกขั้นตอนการผลิตและการบริการ การปฏิบัติตามกฎหมายด้านสิ่งแวดล้อม การอนุรักษ์ทรัพยากรและพลังงาน การกำจัดและควบคุมปริมาณของเสีย การให้การศึกษาอบรมด้านสิ่งแวดล้อมแก่ผู้ที่เกี่ยวข้องและเผยแพร่สู่สาธารณชน ทั้งนี้ถือเป็นภาระหน้าที่ของผู้เกี่ยวข้องทุกคนที่จะต้องทำงานร่วมกันอย่างใกล้ชิดจนกระทั่งบรรลุเป้าหมายดังกล่าว เรามุ่งพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อให้ได้มาและดำรงไว้ซึ่งความเป็นเลิศในทุกแขนงของผลิตภัณฑ์และบริการที่เราดำเนินการรวมทั้งด้านสิ่งแวดล้อมที่เกี่ยวข้อง

พัฒนาคุณภาพสินค้าและบริการอย่างต่อเนื่อง เพื่อสร้างความพึงพอใจแก่ลูกค้า รวมทั้งสภาพแวดล้อมที่ดีแก่สังคม

ประเภทของสินค้าที่ผลิต

1. <u>นมสดพาสเจอร์ไรส์ ดัชมิลล์</u>

เป็นนมสดที่ผลิตจากน้ำนมบริสุทธิ์ของแม่โคพันธุ์ดี นำมาสู่กระบวนการผลิตที่ได้มาตรฐานคงไว้ซึ่งคุณค่าทางอาหารและให้รสชาติใกล้เคียงธรรมชาติมี 7 รสชาติให้เลือก คือ รสธรรมชาติ รสหวาน รสโกโก้ รสสตรอเบอร์รี่ รสพร่องมันเนย รสกาแฟและรสชาเขียว โดยบรรจุขวดขนาด 200 , 450 , 830 มิลลิลิตร และ 2 ลิตร

2. นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม

ผลิตจากนมสดซึ่งมีคุณประโยชน์ที่ไม่แตกแต่งจากนมสด และมีคุณสมบัติเฉพาะตัวตรงที่สลายง่าย โดยเติมจุลินทรีย์สายพันธุ์ยุโรป 2 ชนิด คือแลคโตบาซิรัส บูลกา ริกัส (*Lactobacillas Bullgaricus*) และสเตรปโตคอคคัส เทอร์โมฟิลลัส (*Streptococcus Thrmophillas*) จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้มีคุณสมบัติในการย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสให้เป็นกรดแลคติค จึงเหมาะสมสำหรับผู้บริโภคที่มีปัญหาเกี่ยวกับระบบย่อยอาหารให้โมเลกุลของนมเล็กลง ทำให้ดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ง่าย แต่จะให้พลังงานต่ำกว่า

2.1 นมเปรี้ยวพร้อมดื่มพาสเจอไรส์ (PASTEURIZED DRINKING YOGHURT) โดยมีคุณสมบัติพิเศษเฉพาะตัวซึ่งผสมผสานระหว่างน้ำผลไม้แท้สดมี 4 รส คือ รสส้ม รสตรอเบอร์รี่ รสผลไม้รสรวม และรสบูลเบอร์รี่ มีขนาด 120 , 450 และ 850 มิลลิลิตร

2.2 นมเปรี้ยวยูเอชที (UHT DRINKING YOGHURT) สามารถเก็บรักษาได้นาน 6 เดือน โดยไม่ต้องแช่เย็นก่อนปิด พิเศษด้วยส่วนประกอบนมโคแท้ 50 % บรรจุในกล่องเตตร้าแพ็ดขนาดบรรจุ 110 และ 180 มิลลิลิตรประกอบด้วย 6 รสชาติให้เลือก คือ รสธรรมชาติ รสผลไม้รวม รสสับปะรด รสสตรอเบอร์รี่ รสบูลเบอร์รี่ รสส้ม และปัจจุบันได้ผลิตนมเปรี้ยวยูเอชทีแบบไลท์

3. โยเกิร์ตดัชมิลล์

ผลิตภัณฑ์นมที่ได้รับการเติมเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ แลคโตบาซิรัส บูลกา ริกัส (*Lactobacillas Bullgaricus*) และสเตรปโตคอคคัส เทอร์โมฟิลลัส (*Streptococcus Thrmophillas*) ผสมด้วยเนื้อผลไม้ หรือธัญพืชต่างๆ ผ่านการเซทตัว บรรจุลงภาชนะ

3.1 โยเกิร์ตดัชชี (DUTCHIE YOGHURT)เป็นโยเกิร์ตสูตรคนสำเร็จมีเนื้อผลไม้ผสมครีมโยเกิร์ตเหมาะสำหรับผู้เริ่มรับประทานโยเกิร์ต มีรสต่างๆ คือ รสส้ม รสสตอเบอร์รี่ รสลิ้นจี่ รสผลไม้รวม รสธรรมชาติ และผสมธัญญาหาร ถั่วและเม็ดบัว กับผสมวุ้นมะพร้าว มีคุณค่าช่วยบำรุงสุขภาพ ขนาดบรรจุ 150 กรัม

3.2 โยเกิร์ตดัชชี (หมีพู) สำหรับคุณหนู รสผลไม้รวม รสส้ม รสสตอเบอร์รี่ ขนาดบรรจุ 80 กรัม

3.3 โยเกิร์ตดัชชีทูโทน รวมความแตกต่างในหนึ่งเดียวสำหรับความทันสมัยที่ลงตัว ขนาดบรรจุ 130 กรัม

4. นมเปรี้ยวยูเอสที ตรา VIVA

ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวที่ผลิตเพื่อจำหน่ายในต่างประเทศ

5. น้ำชาเขียว ตรา โอไฮโย่

ชาเขียวพร้อมดื่ม ขนาดบรรจุ 350 มิลลิลิตร

บทที่ 2
รายละเอียดการปฏิบัติงาน

การทดลองที่ 1

เรื่อง การศึกษาปริมาณการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ SPC agar

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาในการบ่มเชื้อจุลินทรีย์

หลักการ

ในการทดลองนี้จะทำการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการบ่มเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ SPC agar ที่ระดับอุณหภูมิเดียวกัน แต่มีระยะเวลาการบ่มที่ 24 ชั่วโมง และที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงนั้น มีความแตกต่างกันหรือไม่ ซึ่งในการวิเคราะห์ผลเราได้เลือกใช้วิธี Paired t-test ในการวิเคราะห์ผลทางสถิต

อุปกรณ์และสารเคมี

1. นมดิบ
2. หลอดทดลอง
3. สารละลาย 0.85 % NaCl
4. จานเพาะเชื้อ (plate) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว
5. ขวดสำหรับใส่อาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว
6. ปิเปตขนาด 10 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หรือ micro pipette
7. Erlenmeyer flask ขนาด 1000 ml
8. กระบอกตวง ขนาด 1000 ml
9. เครื่องปั่นผสม (Vortex)
10. อาหารเลี้ยงเชื้อ SPC หรือ PCA
11. TTC (2 ,3,5 Triphenyl tertrazolium chloride)
12. Ethyl alcohol 70 %

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิธีการ

1. สุ่มตัวอย่างนมดิบ
1. นำตัวอย่างนมดิบมาทำ dilution ที่ระดับ 10^{-3}และ 10^{-4} ด้วยสารละลาย 0.85 % NaCl
2. ดูดตัวอย่างที่ทำการ dilution ที่ระดับ 10^{-3} และ10^{-4} แล้วอย่างละ 1 ml ลงในจานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว
3. ทำการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ SPC ด้วยวิธี Aseptic technique บ่มที่ 32 ^{0}C ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง
4. สังเกตลักษณะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ และนับจำนวนโคโลนีที่มีสีแดง

หมายเหตุ อาหารเลี้ยงเชื้อ SPC agar ต้องเติมสารละลาย TTC (2 ,3,5 Triphenyl tertrazolium chloride) 2 ml / อาหารเลี้ยงเชื้อ 200 ml เนื่องจากสารละลาย TTC (2 ,3,5 Triphenyl tertrazolium chloride) เป็นตัวทำให้โคโลนี (colony)เกิดเป็นสีชมพู – สีแดง ซึ่งทำให้ง่ายต่อการอ่านผล

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของนมดิบใน SPC

วันที่ตรวจสอบ	ตัวอย่าง	ระยะเวลาการบ่ม											
		24 ชั่วโมง						48 ชั่วโมง					
		10^{-2} (cfu / ml)		เฉลี่ย	10^{-3} (cfu / ml)		ฉลี่ย	10^{-2} (cfu / ml)		ฉลี่ย	10^{-3} (cfu / ml)		ฉลี่ย
20/9/47	กาญ ช่องหน้า	306	305	305.5	22	22	22	359	336	347.5	37	40	38.5
	กาญ ช่องท้าย	246	266	256	34	38	36	404	412	408	54	58	56
	คลอง 1 ช่องหน้า	220	223	221.5	14	36	25	354	392	373	34	51	42.5
	คลอง 1 ช่องกลาง	181	183	182	20	30	25	340	325	332.5	48	58	53
	คลอง 1 ช่องท้าย	210	222	216	23	22	22.5	367	388	377.5	35	48	41.5
21/9/47	พัชรี 18 ช่องหน้า	TNTC	TNTC	TNTC	32	48	40	TNTC	TNTC	TNTC	54	56	55
	พัชรี 18 ช่องกลาง	TNTC	TNTC	TNTC	55	48	51.5	TNTC	TNTC	TNTC	56	58	57
	พัชรี 18 ช่องท้าย	TNTC	TNTC	TNTC	45	26	35.5	TNTC	TNTC	TNTC	66	48	57
	พัชรี 19 ช่องหน้า	TNTC	TNTC	TNTC	100	92	96	TNTC	TNTC	TNTC	127	124	125.5
	พัชรี 19 ช่องกลาง	TNTC	TNTC	TNTC	40	42	41	TNTC	TNTC	TNTC	62	74	68
	พัชรี 19 ช่องท้าย	TNTC	TNTC	TNTC	48	49	48.5	TNTC	TNTC	TNTC	76	77	76.5
	พัชรี 4 ช่องหน้า	TNTC	TNTC	TNTC	110	117	113.5	TNTC	TNTC	TNTC	153	166	159.5
	พัชรี 4 ช่องกลาง	TNTC	TNTC	TNTC	84	94	89	TNTC	TNTC	TNTC	133	160	146.5
	พัชรี 4 ช่องท้าย	TNTC	TNTC	TNTC	76	99	87.5	TNTC	TNTC	TNTC	145	147	146

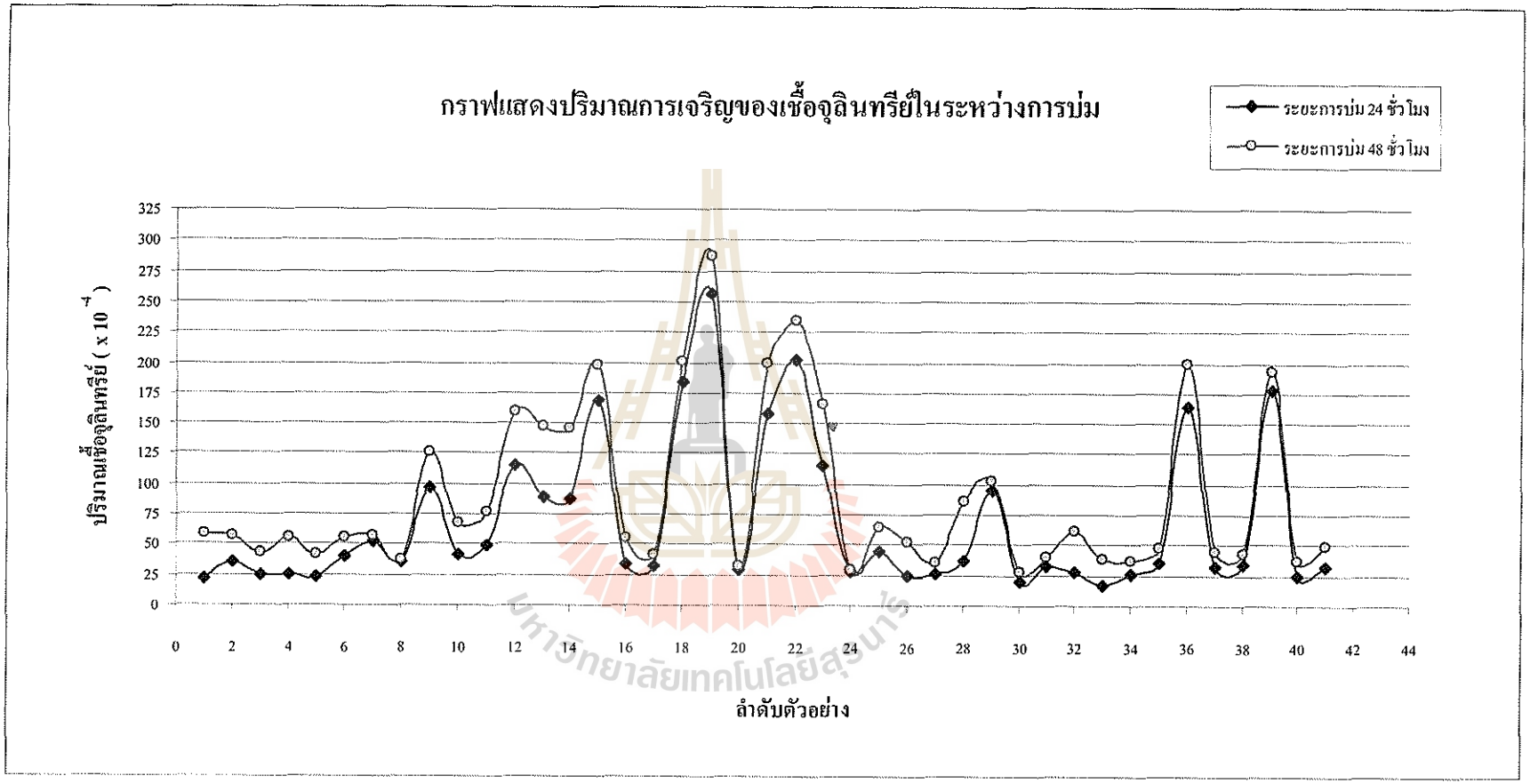
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วันที่ตรวจสอบ	ตัวอย่าง	ระยะเวลาการบ่ม											
		24 ชั่วโมง						48 ชั่วโมง					
		10^{-2} (cfu / ml)		เฉลี่ย	10^{-3} (cfu / ml)		ฉลี่ย	10^{-2} (cfu / ml)		ฉลี่ย	10^{-3} (cfu / ml)		ฉลี่ย
22/9/47	ห้วย 2 ช่องหน้า	168	169	168.5	9	12	10.5	198	198	198	25	22	23.5
	ห้วย 2 ช่องกลาง	318	353	335.5	34	34	34	380	420	400	56	55	55.5
	ห้วย 2 ช่องท้าย	390	395	392.5	32	33	32.5	455	471	463	44	40	42
	DM 3 ช่องหน้า	180	189	184.5	18	20	19	200	201	200.5	34	25	29.5
	DM 3 ช่องกลาง	254	219	236.5	24	24	24	305	269	287	38	40	39
	DM 3 ช่องท้าย	328	389	358.5	29	30	29.5	395	390	392.5	48	57	52.5
	ห้วย 4 ช่องหน้า	122	153	137.5	11	11	11	185	213	199	30	33	31.5
	ห้วย 4 ช่องกลาง	175	229	202	6	14	10	220	250	235	20	20	20
	ห้วย 4 ช่องท้าย	100	127	113.5	8	12	10	132	194	163	25	24	24.5
23/9/47	DM 3 ช่องหน้า	293	260	276.5	26	30	28	272	312	292	29	29	29
	DM 3 ช่องกลาง	377	373	375	48	38	43	420	410	415	65	65	65
	DM 3 ช่องท้าย	214	294	254	20	24	22	330	343	336.5	50	53	51.5
	ห้วย 3 ช่องหน้า	286	356	321	22	25	23.5	386	460	423	30	39	34.5
	ห้วย 3 ช่องกลาง	TNTC	TNTC	TNTC	20	53	36.5	TNTC	TNTC	TNTC	41	130	85.5
	ห้วย 3 ช่องท้าย	TNTC	TNTC	TNTC	107	84	95.5	TNTC	TNTC	TNTC	107	98	102.5

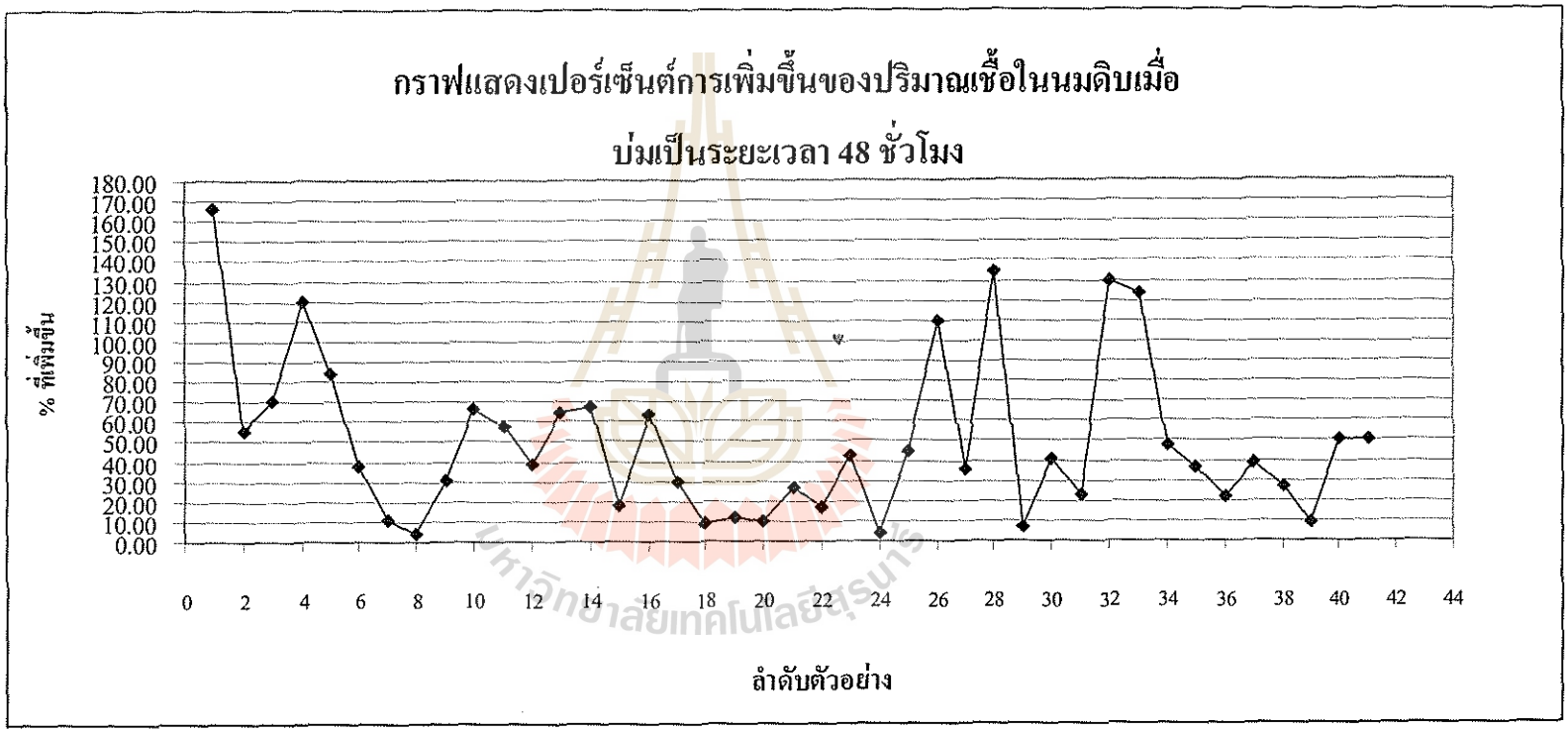
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วันที่ตรวจสอบ	ตัวอย่าง	ระยะเวลาการบ่ม											
		24 ชั่วโมง						48 ชั่วโมง					
		10^{-2} (cfu / ml)		เฉลี่ย	10^{-3} (cfu / ml)		ฉลี่ย	10^{-2} (cfu / ml)		ฉลี่ย	10^{-3} (cfu / ml)		ฉลี่ย
	คลอง 1 ช่อง 1	423	401	412	14	25	19.5	450	438	444	20	35	27.5
	คลอง 1 ช่อง 2	346	354	350	30	35	32.5	350	364	357	39	41	40
	คลอง 1 ช่อง 3	296	248	272	34	20	27	376	368	372	68	62	65
	คลอง 1 ช่อง 4	262	216	239	14	20	17	302	282	292	35	41	38
	กาญ ช่องหน้า	295	280	287.5	25	26	25.5	320	330	325	35	40	37.5
	กาญ ช่องท้าย	220	230	225	35	34	34.5	390	410	400	48	46	47
26/9/47	ห้วย 2 ช่องหน้า	158	169	163.5	12	15	13.5	210	189	199.5	22	24	23
	ห้วย 2 ช่องกลาง	310	325	317.5	32	33	32.5	350	380	365	48	42	45
	ห้วย 2 ช่องท้าย	350	380	365	33	35	34	420	450	435	44	42	43
	DM 1 ช่องหน้า	170	185	177.5	18	20	19	185	201	193	26	30	28
	DM 1 ช่องกลาง	235	219	227	26	24	25	320	308	314	35	40	37.5
	DM 1 ช่องท้าย	286	295	290.5	30	35	32.5	320	356	338	48	50	49

หมายเหตุ TNTC คือ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถนับได้



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

สมมติฐาน

H_0 : $\mu = 0$ (ค่าเฉลี่ยของตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกัน)

H_A : $\mu \neq 0$ (ค่าเฉลี่ยของตัวอย่างมีความแตกต่างกัน)

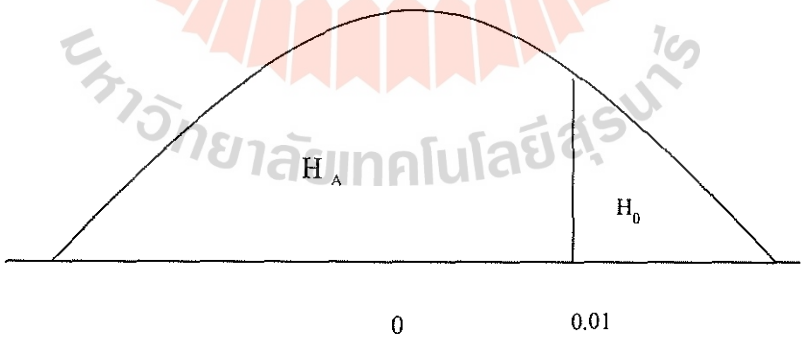
N obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean	Std Dev
41	A	41	17.0000	256.5000	68.0853659	61.4154663
	B	41	27.5000	287.0000	90.8780488	68.7437070

Analysis Variable : ความแตกต่างของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในระยะเวลาการบ่มที่ต่างกัน

N obs	T	Prob > | T |
41	9.6579991	0.0001

หมายเหตุ

เราพิจารณาที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 % ดังนั้นถ้าค่าความน่าจะเป็น (Prob > | T |) มีค่ามากกว่า 0.01 แสดงว่า ยอมรับสมมติฐานเดิม (H_0 : $\mu = 0$) คือ ค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของทั้ง 2 ตัวแปรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.01$) แต่ถ้าค่าความน่าจะเป็น (Prob > | T |) มีค่าน้อยกว่า 0.01 แสดงว่า ปฏิเสธสมมติฐานเดิม (H_0 : $\mu = 0$) คือ ค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของทั้ง 2 ตัวแปรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$)



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปที่พบในอาหารเลี้ยงเชื้อ SPC agar ในช่วงระยะเวลาของการบ่มที่ 48 ชั่วโมง จะมีปริมาณโคโลนี (colony)ของเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปมากกว่า และขนาดของโคโลนี(colony)มีขนาดใหญ่กว่า ในช่วงระยะเวลาของการบ่มที่ 24 ชั่วโมง การทดลองนี้เป็นการศึกษาการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง 2 ชุด ซึ่งมีความสัมพันธ์กัน คือ การศึกษาปริมาณการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ SPC ในการทดสอบ ซึ่งในการทดลองจะบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 32 ^{0}C ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง โดยในการทดลองใช้ตัวอย่างนมดิบทั้งหมด 41 ตัวอย่าง ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ต้องการทราบว่าระยะเวลาในการบ่มเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ SPC ที่ระดับอุณหภูมิเดียวกัน แต่มีระยะเวลาการบ่มที่ 24 ชั่วโมง และที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงนั้น มีความแตกต่างกันหรือไม่ ซึ่งในการทดสอบเราได้ใช้วิธี Paired t-test ในการวิเคราะห์ผลทางสถิต เนื่องจากเป็นวิธีที่สามรถวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองได้ จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ค่า p – value (Prob > \| T \|) มีค่าเท่ากับ 0.0001 แสดงว่าเราปฏิเสธสมมติฐานเดิม (H_o : μ = 0) ดั้งนั้นแสดงว่า ระยะเวลาของการบ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

จากกราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของปริมาณเชื้อในนมดิบเมื่อบ่มเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาในการบ่มเชื้อจุลินทรีย์มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรียน์ที่เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองที่ต้องการศึกษาผลของระยะเวลาในการบ่มเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ SPC ที่ระดับอุณหภูมิเดียวกัน แต่มีระยะเวลาการบ่มที่ 24 ชั่วโมง และที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงนั้นว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่นั้น พบว่า ระยะเวลาที่ใช้ในการบ่มเชื้อจุลินทรีย์มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งแสดงว่านอกจากอุณหภูมิแล้วระยะเวลาที่ใช้ในการบ่มก็มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเช่นกัน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การทดลองที่ 2

เรื่อง การศึกษาการเจริญของเชื้อ *Coilform sp.* ใน VRB agar

วัตถุประสงค์

เพื่อเปรียบเทียบวิธีการการเลี้ยงเชื้อ *Coilform sp.* ใน VRB agar

หลักการ

การวิเคราะห์ปริมาณการเจริญของเชื้อ *Coilform sp.* ใน VRB agar 2 ลักษณะ คือ ลักษณะแรกจะเป็นการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar ตามปกติ และลักษณะที่ 2 จะเป็นการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar และเททับอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar อีกครั้งหนึ่ง เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างปริมาณการเจริญของเชื้อ *Coilform sp.* ในแต่ละลักษณะ

อุปกรณ์และสารเคมี

1. นมดิบ
2. หลอดทดลอง
3. สารละลาย 0.85 % NaCl
4. จานเพาะเชื้อ (plate) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว
5. ขวดสำหรับใส่อาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว
6. ปิเปตขนาด 10 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หรือ micro pipette
7. Erlenmeyer flask ขนาด 1000 ml
8. กระบอกตวง ขนาด 1000 ml
9. เครื่องปั่นผสม (Vortex)
10. อาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar (Violet Red bile Agar)
11. Ethyl alcohol 70 %

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิธีการที่ 1 (เททับด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar)

1. เลือกตัวอย่างที่คาดว่าจะตรวจพบเชื้อ *Coilform sp.* เช่น นมดิบ
2. นำตัวอย่างนมดิบมาทำ dilution ที่ระดับ 10^{-2} และ 10^{-3} ด้วยสารละลาย 0.85 % NaCl
3. ดูดตัวอย่างที่ทำการ dilution ที่ระดับ 10^{-2} และ10^{-3} แล้วอย่างละ 1 ml ลงในจานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว
4. ทำการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar ด้วยวิธี Aseptic technique ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว
5. เททับด้วยด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar อีกครั้ง หลังจากทิ้งให้ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวประมาณ 30 นาที – 1 ชั่วโมง
6. บ่มที่อุณหภูมิ 32 ^{0}C นาน 18 – 24 ชั่วโมง
7. นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น (โคโลนีสีชมพู – สีแดง) รายงานผลในหน่วย CFU /ml

วิธีการที่ 2 (ไม่เททับด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar)

1. เลือกตัวอย่างที่คาดว่าจะตรวจพบเชื้อ *Coilform sp.* เช่น นมดิบ
2. นำตัวอย่างนมดิบมาทำ dilution ที่ระดับ 10^{-2} และ 10^{-3} ด้วยสารละลาย 0.85 % NaCl
3. ดูดตัวอย่างที่ทำการ dilution ที่ระดับ 10^{-2} และ10^{-3} แล้วอย่างละ 1 ml ลงในจานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว
4. ทำการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar ด้วยวิธี Aseptic technique ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว
5. บ่มที่อุณหภูมิ 32 ^{0}C เป็นระยะเวลา 18 – 24 ชั่วโมง
6. นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น (โคโลนีสีชมพู – สีแดง) รายงานผลในหน่วย CFU /ml

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณเชื้อ *Coilform sp.* ใน VRB

วันที่ตรวจสอบ	ตัวอย่าง	ลักษณะของอาหารเลี้ยงเชื้อ											
		เททับด้วย VRB						ไม่เททับด้วย VRB					
		10^{-2}cfu /ml		เฉลี่ย	10^{-3}cfu /ml		เฉลี่ย	10^{-2}cfu /ml		เฉลี่ย	10^{-3}cfu /ml		เฉลี่ย
19/9/47	ห้วย 2 ช่องหน้า	45	39	42	8	6	7	52	64	58	4	7	5.5
	ห้วย 2 ช่องกลาง	35	35	35	4	2	3	48	57	52.5	6	7	6.5
	ห้วย 2 ช่องท้าย	53	39	39	3	4	3.5	51	48	49.5	3	3	3
	ห้วย 1 ช่องหน้า	18	19	18.5	2	5	3.5	33	18*	25.5	3	4	3.5
	ห้วย 1 ช่องกลาง	61	35	48	4	1	2.5	44	56	50	6	4	5
	ห้วย 1 ช่องท้าย	25	25	25	1	1	1	30	26	28	2	2	2
	DM 3 ช่องหน้า	40	45	42.5	4	9	6.5	32	26	29	1	5	3
	DM 3 ช่องกลาง	35	45	40	2	7	4.5	44	41	42.5	1	2	1.5
	DM 3 ช่องท้าย	41	37	39	9	5	7	28	35	31.5	5	5	5
20/9/47	คลอง 1 ช่องหน้า	134	130	132	8	8	8	75	89	82	11	10	10.5
	คลอง 1 ช่องกลาง	58	72	65	5	2	3.5	57	66	61.5	6	8	7
	คลอง 1 ช่องท้าย	67	72	69.5	7	11	9	54	57	55.5	6	14	10
	กาญ ช่องหน้า	136	130	133	6	11	8.5	118	125	121.5	11	14	12.5
	กาญ ช่องท้าย	154	160	157	16	17	16.5	136	182	159	20	22	21

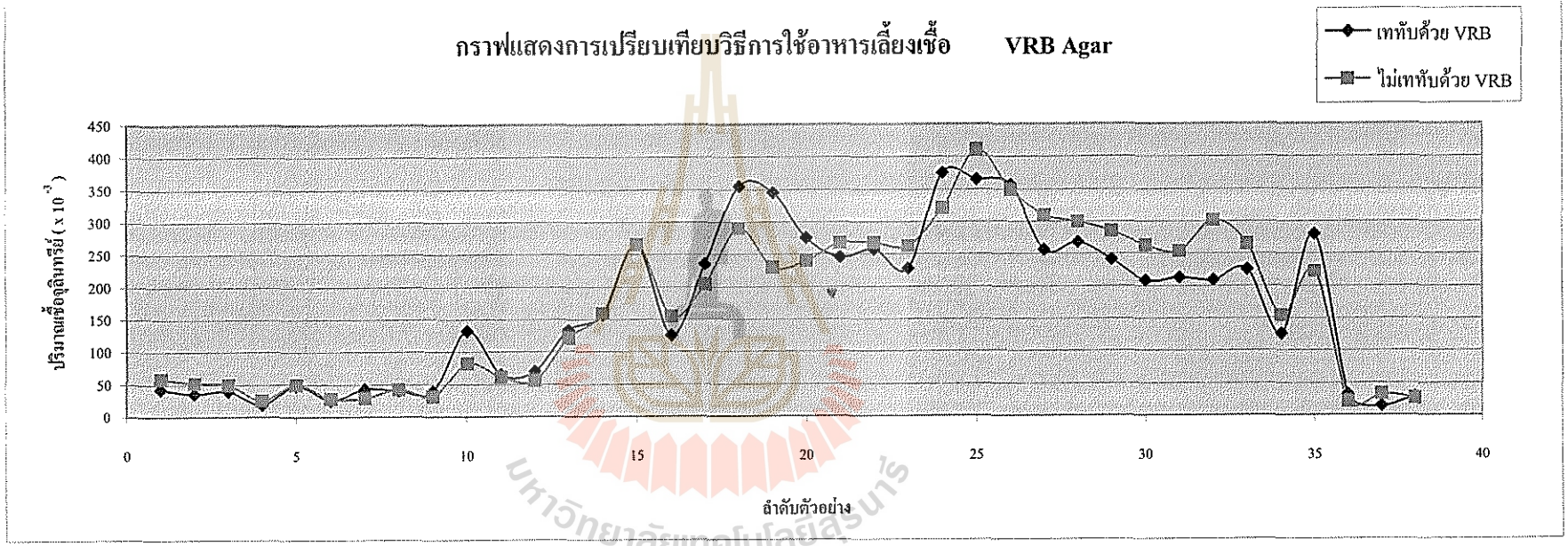
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วันที่ตรวจสอบ	ตัวอย่าง	ลักษณะของอาหารเลี้ยงเชื้อ											
		เททับด้วย VRB						ไม่เททับด้วย VRB					
		10^{-2}cfu /ml		เฉลี่ย	10^{-3}cfu /ml		เฉลี่ย	10^{-2}cfu /ml		เฉลี่ย	10^{-3}cfu /ml		เฉลี่ย
24/9/47	ห้วย 4 ช่องหน้า	170	180	265	32	35	33.5	260	270	265	21	22	21.5
	ห้วย 4 ช่องกลาง	130	120	125	5	6	5.5	179	130	154.5	1	6	3.5
	ห้วย 4 ช่องท้าย	240	230	235	5	6	5.5	229	180	204.5	4	5	4.5
	คลอง 2 ช่องหน้า	257	260	355	37	44	40.5	290	290	290	29	29	29
	คลอง 2 ช่องกลาง	330	360	345	35	38	36.5	250	210	230	22	26	24
	คลอง2 ช่องท้าย	260	290	275	31	30	30.5	240	240	240	40	39	39.5
	พัชรี 18 ช่องหน้า	240	250	245	18	21	19.5	296	287	291.5	20	19	19.5
	พัชรี 18 ช่องกลาง	260	254	257	9	10	9.5	265	270	267.5	7	14	8
	พัชรี 18 ช่องท้าย	230	225	227.5	10	11	10.5	270	255	262.5	8	10	9
1/10/47	ปากช่อง ช่องหน้า	380	370	375	37	38	37.5	334	308	321	38	38	38
	ปากช่อง ช่องกลาง	360	370	365	58	52	55	410	412	411	35	48	41.5
	ปากช่อง ช่องท้าย	354	360	357	51	50	50.5	348	350	349	42	42	42
	พัชรี 18 ช่องหน้า	252	260	256	39	35	37	306	314	310	30	32	31
	พัชรี 18 ช่องกลาง	276	260	268	32	21	26.5	275	324	299.5	20	18	19
	พัชรี 18 ช่องท้าย	242	240	241	20	15	17.5	280	290	285	25	26	25.5

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วันที่ตรวจสอบ	ตัวอย่าง	ลักษณะของอาหารเลี้ยงเชื้อ											
		เททับด้วย VRB						ไม่เททับด้วย VRB					
		10^{-2} cfu /ml		เฉลี่ย	10^{-3} cfu /ml		เฉลี่ย	10^{-2}cfu /ml		เฉลี่ย	10^{-3}cfu /ml		เฉลี่ย
	คลอง 4 ช่องหน้า	206	210	208	24	25	24.5	250	276	263	33	25	29
	คลอง 4 ช่องกลาง	230	195	212.5	26	25	25.5	230	278	254	32	28	30
	คลอง 4 ช่องท้าย	208	210	209	29	30	29.5	308	295	301.5	24	25	24.5
7/10/47	ห้วย 4 ช่องหน้า	230	220	225	26	25	25.5	260	270	265	24	22	23
	ห้วย 4 ช่องกลาง	131	120	125	13	10	11.5	179	130	154	15	12	13.5
	ห้วย 4 ช่องท้าย	270	290	280	12	14	13	230	215	222	30	28	29
	คลอง 2 ช่องหน้า	31	33	32	4	4	4	23	20	21.5	1	2	1.5
	คลอง 2 ช่องกลาง	15	13	14	4	5	4.5	30	36	33	1	0	0.5
	คลอง2 ช่องท้าย	29	28	28.5	3	3	3	25	28	26.5	2	3	2.5

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

สมมติฐาน

H_0 : $\mu = 0$ (ค่าเฉลี่ยของตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกัน)

H_A : $\mu \neq 0$ (ค่าเฉลี่ยของตัวอย่างมีความแตกต่างกัน)

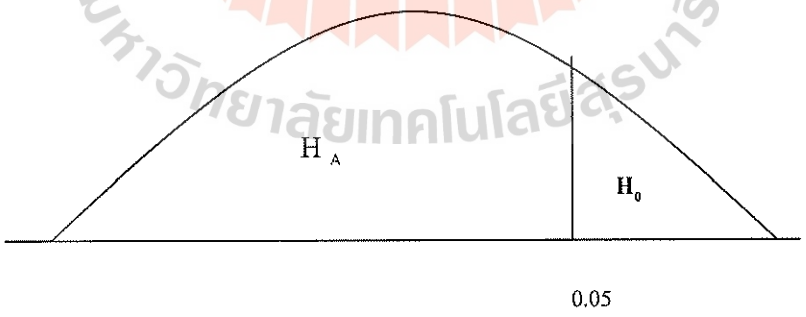
N obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean	Std Dev
38	A	38	14.0000	375.0000	158.473684	116.7401797
	B	38	21.5000	411.0000	160.842105	116.3612795

Analysis Variable : ความแตกต่างของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในระยะเวลาการบ่มที่ต่างกัน

N obs	T	Prob > | T |
38	0.3686678	0.7145

หมายเหตุ

เราพิจารณาที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 % ดังนั้นถ้าค่าความน่าจะเป็น (Prob > \| T \|) มีค่ามากกว่า 0.01 แสดงว่า ยอมรับสมมติฐานเดิม (H_0 : $\mu = 0$) คือ ค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของทั้ง 2 ตัวแปร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่ถ้าค่าความน่าจะเป็น (Prob > \| T \|) มีค่าน้อยกว่า 0.01 แสดงว่า ปฏิเสธสมมติฐานเดิม (H_0 : $\mu = 0$) คือ ค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของทั้ง 2 ตัวแปรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.05$)



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

จากการทดลองเป็นการศึกษาการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง 2 ชุด ซึ่งมีความสัมพันธ์กัน คือ การศึกษาปริมาณการเจริญของเชื้อ Coliform bacteria โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar ในการทดสอบ ซึ่งในการทดลองจะศึกษาใน 2 ลักษณะ คือ ลักษณะแรกเป็นการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar ตามปกติ ส่วนในลักษณะที่ สองจะเป็นการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar แล้วเททับด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar อีกครั้งหลังจากทิ้งให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวแล้ว จึงนำตัวอย่างทั้ง 2 ลักษณะมาบ่มที่อุณหภูมิ 32 ^{0}C ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยในการทดลองใช้ตัวอย่างนมดิบทั้งหมด 38 ตัวอย่าง ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ต้องการทราบว่าวิธีการหรือลักษณะการเทอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar ทั้ง 2 ลักษณะ มีความแตกต่างกันหรือไม่ ซึ่งในการทดสอบเราได้ใช้วิธี Paired t-test ในการวิเคราะห์ผลทางสถิต เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองได้ จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ค่า p – value (Prob > \| T \|) มีค่าเท่ากับ 0.7145 แสดงว่าเรายอมรับสมมติฐานเดิม (H_o : $\mu = 0$) ดังนั้นแสดงว่า วิธีการที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ *Coilform sp.* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar ด้วยการการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar ตามปกติ และการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar แล้วเททับด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar อีกครั้งนั้นไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$)

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองที่ศึกษาผลของวิธีการหรือลักษณะการเทอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar ทั้ง 2 ลักษณะ คือ ลักษณะแรกเป็นการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar ตามปกติ ส่วนในลักษณะที่ สองจะเป็นการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar แล้วเททับด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ VRB agar อีกครั้งหลังจากทิ้งให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวแล้ว มีความแตกต่างกันหรือไม่ พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นแสดงว่า การใช้วิธีการใดในการเลี้ยงเชื้อ *Coilform sp.* ก็ให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การทดลองที่ 3

เรื่อง การศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิระหว่างการเก็บผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์ที่มีต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

หลักการ

การทดลองเพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์ขนาด 200 cc โดยการนำตัวอย่างนมสดพาสเจอไรส์ที่สุ่มมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในช่วงเวลาต่างๆ กัน ที่ระยะเวลา 0 , 2 , 4 , 6 , 8 , 10 และ 14 ชั่วโมง และทำการวัดอุณหภูมิ ค่า pH และ ค่า TA ของตัวอย่าง ในแต่ละช่วงเวลานั้นๆ ที่เปลี่ยนแปลงไป

อุปกรณ์และสารเคมี

1. นมดิบ
2. หลอดทดลอง
3. สารละลาย 0.85 % NaCl
4. จานเพาะเชื้อ (plate) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว
5. ขวดสำหรับใส่อาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว
6. ปิเปตขนาด 10 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หรือ micro pipette
7. กระบอกตวง ขนาด 1000 ml
8. เครื่องปั่นผสม (Vortex)
9. pH meter
10. NaOH 0.1 N
11. ฟีนอฟทาลีน
12. อาหารเลี้ยงเชื้อ Standard Plate count agar
13. อาหารเลี้ยงเชื้อ Dextrose tryptone agar
14. TTC (2 ,3,5 Triphenyl tertrazolium chloride)
15. แอลกอฮอล์ 70 %
16. แอลกอฮอล์ 95 %

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิธีการตรวจสอบแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ

1. การตรวจสอบทางด้านจุลินทรีย์

การตรวจสอบจุลินทรีย์ทั่วไปด้วยวิธี Standard Plate count Agar

1. นำตัวอย่างที่บ่มในแต่ละช่วงเวลา มาทำความสะอาดฝาขวดที่เป็น foil ด้วยสำลีชุบแอลกอฮอล์ 95 %
2. ใช้ใบมีดที่ฆ่าเชื้อด้วยการจุ่มแอลกอฮอล์ 95 % และลนไฟ เปิดฝา foil
3. ดูดตัวอย่าง 1 ml มาวิเคราะห์ โดยดูดใสจานเพาะเชื้อที่อบฆ่าเชื่อแล้ว
4. ทำการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ SPC ด้วยวิธี Aseptic technique บ่มที่ 32 ^{0}C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

หมายเหตุ อาหารเลี้ยงเชื้อ SPC agar ต้องเติมสารละลาย TTC (2 ,3,5 Triphenyl tertrazolium chloride) 2 ml / อาหารเลี้ยงเชื้อ 200 ml เนื่องจากสารละลาย TTC (2 ,3,5 Triphenyl tertrazolium chloride) เป็นตัวทำให้โคโลนี (colony)เกิดเป็นสีชมพู – สีแดง ซึ่งทำให้ง่ายต่อการอ่านผล

การตรวจสอบปริมาณ spore ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Dextrose tryptone agar

1. ปิเปตตัวอย่างนม 10 ml ใสในหลอดทดลอง
2. นำหลอดทดลองที่มีตัวอย่างไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 100^{0}C เป็นเวลา 10 นาที
3. เมื่อครบ 10 นาที นำไปแช่ในน้ำเย็นเพื่อลดอุณหภูมิทันที
4. ดูดตัวอย่าง 1 ml มาวิเคราะห์ โดยดูดใสจานเพาะเชื้อที่อบฆ่าเชื่อแล้ว
5. ทำการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ และ Dextrose tryptone agar ด้วยวิธี Aseptic technique บ่ม 55 ^{0}C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

2. การตรวจสอบทางด้านเคมี

1. วัดค่า pH ด้วย pH meter
2. วัดค่า TA โดยการไตเตรทกับ NaOH 0.1 N โดยใช้ ฟีนอฟทาลีน เป็นอินดิเคเตอร์

การวิเคราะห์ผลทางจุลินทรีย์

การวิเคราะห์ SPC : โคโลนีจะเป็นสีชมพู- สีแดง

การวิเคราะห์ SPORE : จะเกิดเป็นจุดสีเหลืองเข้ม ซึ่งจะเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อจากสีม่วงเป็นสีเหลือง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 3 แสดงการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์

วันที่ตรวจสอบ	ตัวอย่าง	เวลา (ชั่งโมง)											
		0			2			4			6		
		SPC	SPORE	TEMP (^{0}C)	SPC	SPORE	TEMP (^{0}C)	SPC	SPORE	TEMP (^{0}C)	SPC	SPORE	TEMP (^{0}C)
10/09/04	PLA	Nil, Nil	Nil	2	Nil, Nil	Nil	8	Nil, Nil	Nil	15	Nil, Nil	Nil	20
10/09/04	LFA	Nil, Nil	Nil	2	Nil, Nil	Nil	8	Nil, Nil	Nil	15	Nil, Nil	Nil	19
11/09/04	SWE	Nil, Nil	Nil	2	Nil, Nil	Nil	9	Nil, Nil	Nil	18	Nil, Nil	Nil	20
9/09/04	STR	Nil, Nil	Nil	2	Nil, Nil	Nil	10	Nil, Nil	Nil	19	Nil, Nil	Nil	20
4/10/04	GT	Nil, Nil	Nil	8	Nil, Nil	Nil	18	Nil, Nil	Nil	23	Nil, 1	Nil	26
23/10/04	COF	Nil, Nil	Nil	8	Nil, Nil	Nil	18	Nil, Nil	Nil	25	Nil, Nil	Nil	26
25/10/04	CHO	Nil, Nil	Nil	8	Nil, Nil	Nil	18	Nil, Nil	Nil	25	Nil, Nil	Nil	26

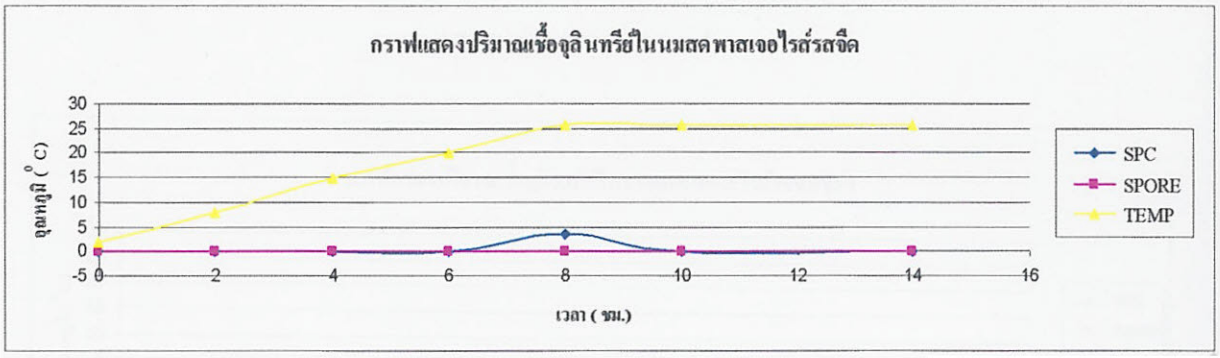
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

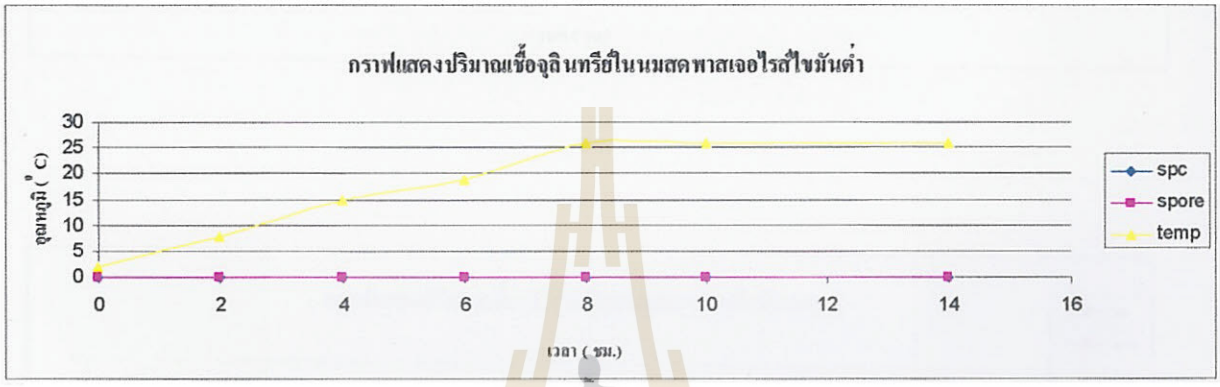
ต่อ (ตารางที่ 3)

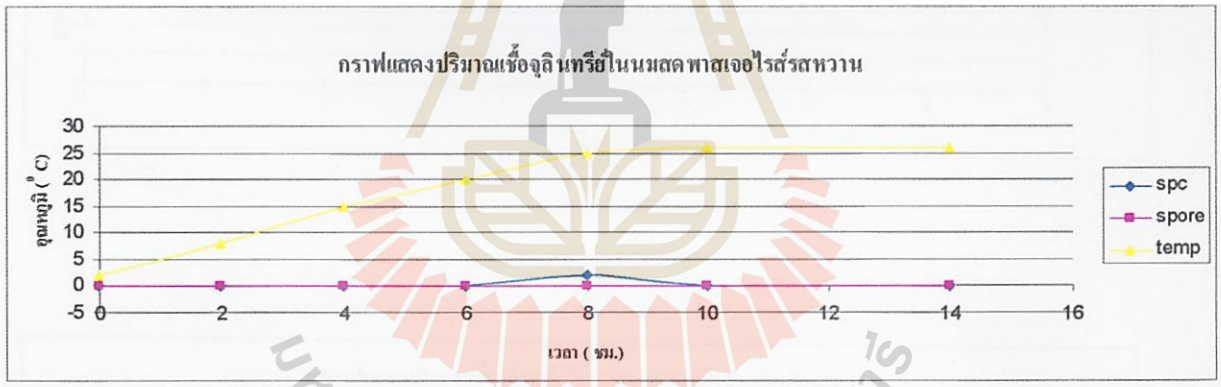
วันที่ตรวจสอบ	ตัวอย่าง	เวลา (ชั่งโมง)								
		8			10			14		
		SPC	SPORE	TEMP (^{0}C)	SPC	SPORE	TEMP (^{0}C)	SPC	SPORE	TEMP (^{0}C)
10/09/04	PLA	3 , 2	Nil	26	Nil, Nil	Nil	26	Nil, Nil	Nil	26
10/09/04	LFA	Nil, Nil	Nil	26	Nil, Nil	Nil	26	Nil, Nil	Nil	26
11/09/04	SWE	Nil, Nil	Nil	25	Nil, Nil	Nil	26	Nil, Nil	Nil	26
9/09/04	STR	Nil, Nil	Nil	25	17 , 22	Nil	26	Nil, Nil	Nil	26
4/10/04	GT	Nil, Nil	Nil	26	Nil, Nil	Nil	26	Nil, Nil	Nil	26
23/10/04	COF	Nil, Nil	Nil	26	Nil, Nil	Nil	26	Nil, Nil	Nil	26
25/10/04	CHO	Nil, Nil	Nil	25	Nil, Nil	Nil	26	Nil, Nil	Nil	26

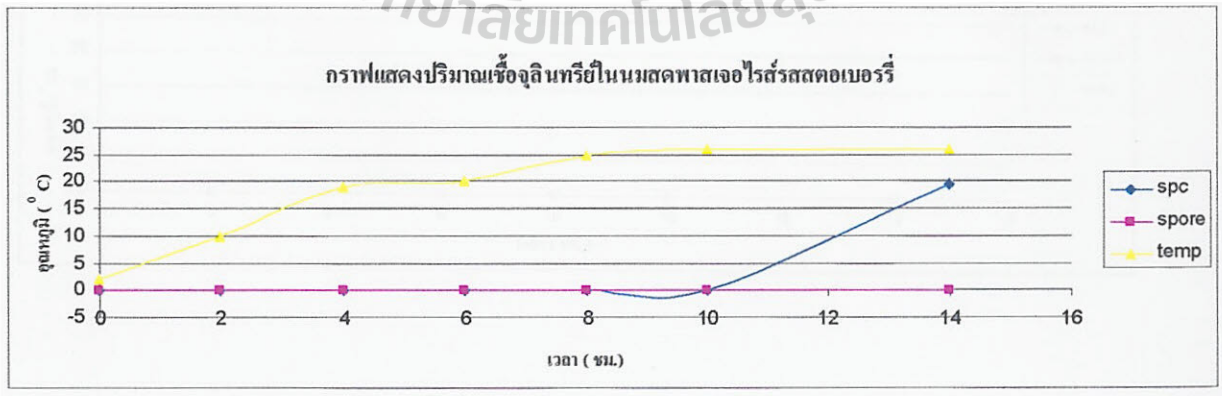
หมายเหตุ Nil คือ ไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

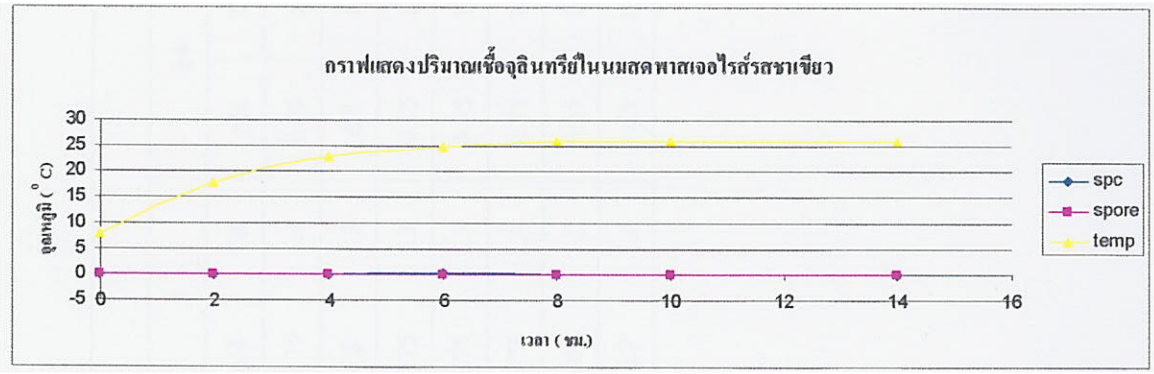


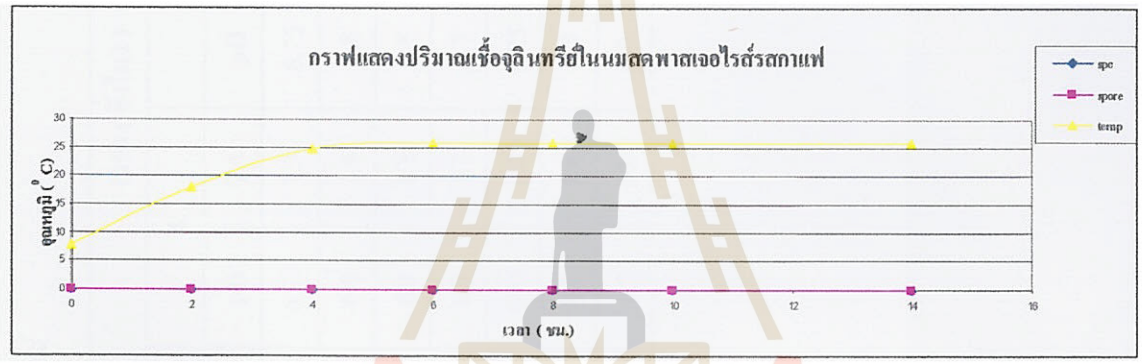


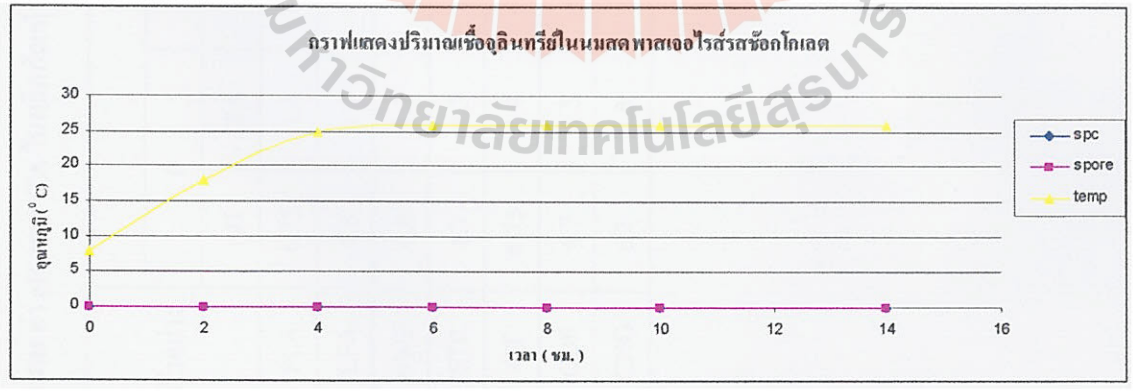




มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี





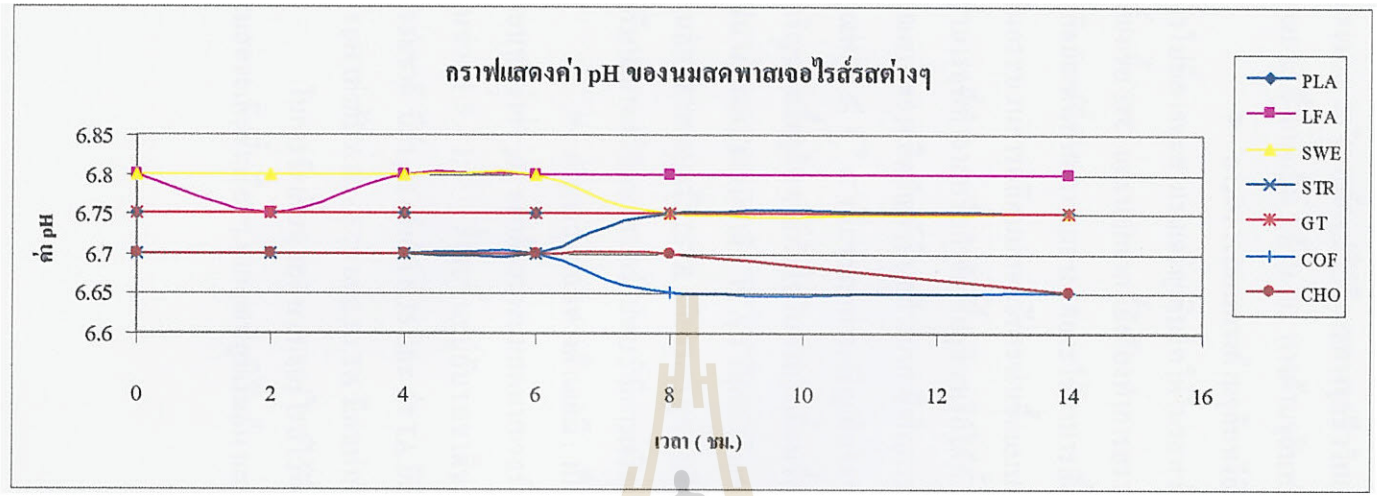


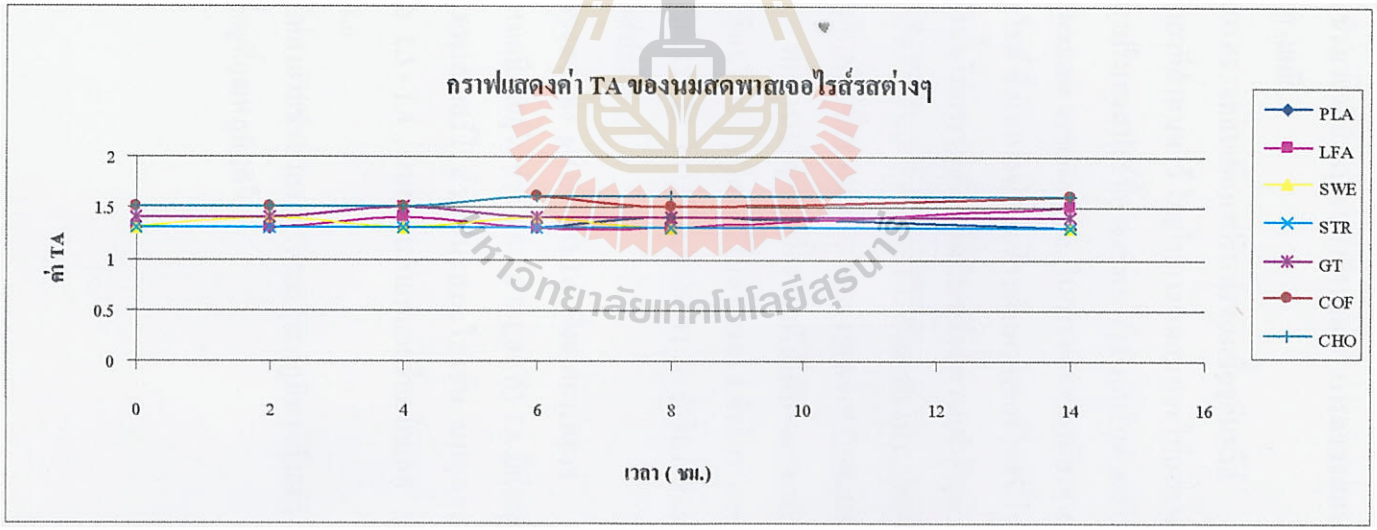
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4 แสดง ค่า pH และ TA ในผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์

วันที่ตรวจสอบ	ตัวอย่าง	เวลา (ชั่งโมง)											
		0		2		4		6		8		14	
		pH	TA	pH	TA	pH	TA	pH	TA	pH	TA	pH	TA
10/09/04	PLA	6.75	1.3	6.75	1.3	6.75	1.3	6.75	1.3	6.75	1.4	6.75	1.3
10/09/04	LFA	6.8	1.3	6.75	1.3	6.8	1.4	6.8	1.3	6.8	1.3	6.8	1.5
11/09/04	SWE	6.8	1.3	6.8	1.4	6.8	1.3	6.8	1.4	6.75	1.3	6.75	1.3
9/09/04	STR	6.7	1.3	6.7	1.3	6.7	1.3	6.7	1.3	6.75	1.3	6.75	1.3
4/10/04	GT	6.75	1.4	6.75	1.4	6.75	1.5	6.75	1.4	6.75	1.4	6.75	1.4
23/10/04	COF	6.7	1.5	6.7	1.5	6.7	1.6	6.7	1.6	6.65	1.5	6.65	1.6
25/10/04	CHO	6.7	1.5	6.7	1.5	6.7	1.5	6.7	1.6	6.7	1.6	6.65	1.6

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี





มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิเคราะห์ผลการทดลอง

ในการทดลองเราต้องการศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในระหว่างการเก็บรักษาตัวอย่างนมสดพาสเจอร์ไรส์ขนาด 200 cc โดยได้กำหนดระยะเวลาในการทดสอบไว้ทั้งหมด 7 ช่วงเวลา คือ ที่ช่วงเวลา 0 , 2 , 4 , 6 , 8 , 10 และ 14 ชั่งโมง ซึ่งในการจัดเก็บผลิตภัณฑ์จะเก็บที่อุณหภูมิห้องประมาณ 26 ^{0}C (ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา) ตามช่วงเวลาที่กำหนด แล้วจึงนำมาทำการตรวจสอบคุณภาพ ซึ่งแบ่งเป็น 2 ด้าน คือ ทางด้านจุลินทรีย์ และทางเคมี

- การตรวจสอบทางด้านจุลินทรีย์ : เป็นการตรวจสอบเพื่อหาปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปที่อาจจะสามรถเจริญเติบโตได้ในระหว่างช่วงเวลาที่กำหนดไว้ โดยในการทดสอบจะให้อาหารเลี้ยงเชื้อ SPC และนอกจากนี้ยังต้องทำการตรวจสอบหาปริมาณสปอร์ที่อาจจะพบได้เช่นกันในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ทำการทดสอบ โดยจะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Dextrose tryptone agar ในการทดสอบ เนื่องจากในกระบวนการผลิตนมสดใช้การฆ่าเชื้อแบบพาสเจอไรส์ ซึ่งในการฆ่าเชื้อที่ระดับพาสเจอร์ไรส์นี้ไม่สามารถที่ทำลายหรือกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด ดังนั้นในการจัดเก็บผลิตภัณฑ์จึงมีความสำคัญต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เป็นอย่างมาก ซึ่งในการจัดเก็บผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์โดยทั่วไปจะเก็บที่อุณหภูมิ $\leq 8^{0}$ C เพื่อชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งจากผลการทดลอง พบว่าปริมาณการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ SPC พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในบางช่วงเวลา เช่น นมสดรสธรรมชาติ (PLA) มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 2 , 3 โคโลนีในช่วงเวลา 8 ชั่งโมง และนมสดรสสตอเบอร์รี่ (STR มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 17 , 22 โคโลนีในช่วงเวลา 10 ชั่งโมง ส่วนปริมาณการเจริญของสปอร์ไม่พบว่ามีการเจริญของเชื้อสปอร์
- การตรวจสอบทางด้านเคมี : เป็นการตรวจสอบค่า pH และ ค่า TA ซึ่งจากการตรวจสอบพบว่าค่า pH ของตัวอย่างนมสดพาสเจอร์ไรส์ทั้งหมดมีค่าอยู่ในช่วง 6.6 – 6.8 และ ค่า TA มีค่าอยู่ในช่วง 1.3 – 1.6 ซึ่งจะขึ้นอยู่กับรสชาติของนมสดพาสเจอร์ไรส์ว่าเป็นรสอะไร เช่น นมสดรสธรรมชาติ มีค่า pH เท่ากับ 6.75 และ ค่า TA มีค่าเท่ากับ 1.3 - 1.4 , นมสดรสกาแฟและช็อกโกแลต มีค่า pH เท่ากับ 6.60 - 6.70 และ ค่า TA มีค่าเท่ากับ 1.5-1.6

ในการจัดเก็บนมสดพาสเจอร์ไรส์ไว้ที่อุณหภูมิห้องตามช่วงเวลาที่กำหนด อุณหภูมิของตัวอย่างนมสดจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จากอุณหภูมิเริ่มต้น และจะคงที่อยู่ที่อุณหภูมิ 26 ^{0}C

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดสอบตามช่วงระยะเวลาที่กำหนดในการจัดเก็บนมสดพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าผลของอุณหภูมิและเวลาที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถพิจารณาเปรียบเทียบได้จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นของผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์กับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของแต่ละช่วงเวลาที่กำหนดไว้ พบว่าไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของแต่ละช่วงเวลาที่กำหนดไว้ และจากการตรวจสอบค่า pH และค่า TA พบว่าค่า pH และค่า TA ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การทดลองที่ 4

เรื่อง การตรวจสอบคุณสมบัติของอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ใช้ในการวิเคราะห์เชื้อ Coliforms และ *E.coli* ในผลิตภัณฑ์นม

วัตถุประสงค์

เพื่อตรวจสอบคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ทฤษฎี

อาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดมีความสำคัญต่อการตรวจสอบและจำแนกลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด ซึ่ง อาหารเลี้ยงเชื้อที่นำมาทำการศึกษาวิเคราะห์นี้จะใช้เชื้อ Coliforms และ *E.coli* เป็นตัวเปรียบเทียบ อาหารเลี้ยงเชื้อ คือ Chromocult Agar , EMB Agar , Violet Red bile Agar (VRB agar) , SS agar , Fluorocult *E. coli* 0157:H7 ซึ่งอาหารเหล่านี้จะสามารถบอกความแตกต่างของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดนี้ได้

- Chromocult Agar

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถใช้ในการบ่งชี้ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดได้ตามลักษณะการสร้างสี (pigment)ของโคโลนี (Colony)

- เชื้อ Coliforms ลักษณะโคโลนีจะออกสีชมพูอ่อนถึงสีชมพูเข้ม และมีลักษณะโคโลนีเยิ้มๆ
- เชื้อ *E.coli* ลักษณะโคโลนีออกเป็นสีน้ำเงินอมม่วง
- เชื้อ *Salmonella , Shigella , Yersinla* ลักษณะโคโลนีออกเป็นสีฟ้าเขียว
- เชื้อ อื่นๆ ลักษณะโคโลนีจะเป็นสีขาว

- Violet Red bile Agar (VRB agar)

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการตรวจสอบเชื้อ Coliform bacteria ร่วมทั้งเชื้อ *E. coli* ที่อาจปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ไม่ว่าจะเป็นนม ไฮศกรีม น้ำ หรืออื่นๆ ซึ่งลักษณะโคโลนีของเชื้อ Coliform ที่พบจะมีลักษณะสีแดง – สีชมพู และมีลักษณะโคโลนีเยิ้ม ๆ แต่ถ้าพบโคโลนีที่มีลักษณะมีตะกอนสีขาวขุ่น (opaque zone) รอบๆ โคโลนี ซึ่งอาจเป็นเชื้อ E.coli ให้ทำการตรวจสอบในอาหารเลี้ยง EMB Agar อาหารชนิดนี้บ่มที่ 30 ± 1^{0}C นาน 24 ชั่วโมง

- EMB Agar (Eosin Methylene- blue Lactose Sucrose Agar)

ใช้ในการตรวจสอบและแยกลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคที่อยู่ในลำไส้ (Pathogenic Enterobacteriaceae) ซึ่งถือว่าเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ *E. coli* ซึ่งลักษณะที่พบ โคโลนีจะมีสีน้ำเงินดำ – สีม่วง และจะเกิดเป็นเงาโลหะที่เรียกว่า " metallic sheen " อาหารชนิดนี้บ่มที่ 35^{0}C นาน 18 – 24 ชั่วโมง

- SS agar (Salmonella Shigella Agar)

ใช้ในการแยกลักษณะของเชื้อ Salmonella และ Shigella จากอุจจาระ , อาหารหรือวัตถุดิบอื่น ๆ ซึ่งลักษณะโคโลนีที่พบจะมีลักษณะขุ่นมัวไม่มีสี หรืออาจพบว่าเกิดจุดดำๆบริเวณตรงกลางของโคโลนีด้วยและอาหารเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง-สีน้ำตาล แต่ถ้าเป็นเชื้อ *E. coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้จะมีลักษณะโคโลนีจะเป็นสีชมพู -สีแดง (สีของโคโลนีที่เกิดขึ้นเนื่องจากมีการใช้ น้ำตาล lactose) อาหารชนิดนี้ บ่มที่ 35^{0} C นาน 18 – 24 ชั่วโมง

- Fluorocult *E. coli* 0157:H7

ใช้ในการบ่งชี้และจำแนกเชื้อ Enterohemorrhasgic Escherichia coil 0157:H7 จากอาหาร ซึ่งลักษณะโคโรนีของ *E. coli* 0157:H7 ไม่มีสีและเมื่ออยู่ภายใต้แสง UV (UV lamp) จะไม่เรืองแสง Fluorescence อาหารชนิดนี้ บ่มที่ 35^{0} C นาน 18 – 24 ชั่วโมง

อุปกรณ์และสารเคมี

1. stock เชื้อ Coliforms sp. และ *E.coli*
2. หลอดทดลอง
3. สารละลาย 0.85 % NaCl
4. จานเพาะเชื้อ (plate) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว
5. ปิเปตขนาด 10 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หรือ micro pipette
6. Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml
7. กระบอกตวง ขนาด 250 ml
8. เครื่องปั่นผสม (Vortex)
9. อาหารเลี้ยงเชื้อ Chromocult Agar
10. อาหารเลี้ยงเชื้อ EMB Agar (Eosin Methylene- blue Lactose Sucrose Agar)
11. อาหารเลี้ยงเชื้อ Violet Red bile Agar (VRB agar)
12. อาหารเลี้ยงเชื้อ SS agar (Salmonella Shigella Agar)
13. อาหารเลี้ยงเชื้อ Fluorocult *E. coli* 0157:H7
14. Ethyl alcohol 70 %

วิธีการ

1. นำเชื้อจาก stock เชื้อ Coliforms sp. และ *E.coli* มาทำ dilution ที่ระดับ 10^{-2} และ 10^{-3} ด้วยสารละลาย 0.85 % NaCl
2. ดูดตัวอย่างที่ทำการ dilution ที่ระดับ 10^{-2} และ10^{-3} แล้วอย่างละ 1 ml ลงในจานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว
3. ทำการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิดด้วยวิธี Aseptic technique ผสมให้เข้ากัน ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว
4. นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 32 ^{0}C เป็นระยะเวลา 18 – 24 ชั่วโมง
5. สังเกตลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

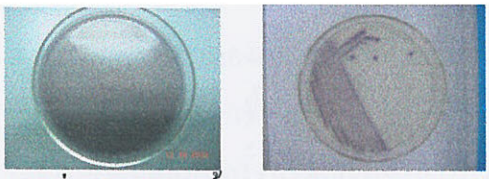
ผลการทดลอง

ตารางที่ 5 ลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

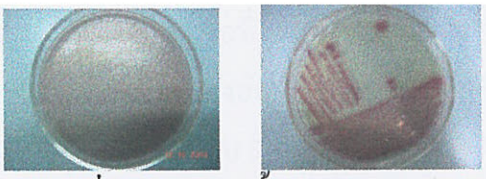
อาหารเลี้ยงเชื้อ	ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์	
	Coliforms	***E.coil***
Chromocult Agar	ลักษณะโคโลนีจะมีสีชมพู	ลักษณะโคโลนีจะมีสีน้ำเงินอมม่วง
Violet Red bile Agar (VRB agar)	ลักษณะโคโลนีจะมีสีชมพูอ่อนกว่า และโคโลนีจะมีลักษณะเยิ้มๆ	ลักษณะโคโลนีจะมีสีชมพูเข้มกว่า และโคโลนีจะมีลักษณะผิวด้าน
EMB Agar	ลักษณะโคโลนีจะมีสีน้ำเงินดำ – สีม่วง มีลักษณะเยิ้มๆ และจะไม่เกิด metallic sheen (เงาโลหะ)	ลักษณะโคโลนีจะมีสีน้ำเงินดำ – สีม่วง และจะเกิด metallic sheen (เงาโลหะ)
SS agar	ลักษณะโคโลนีจะมีสีชมพูอ่อนกว่า และโคโลนีจะมีลักษณะเยิ้มๆ	ลักษณะโคโลนีจะมีสีชมพูเข้มกว่า และโคโลนีจะมีลักษณะผิวด้านมีกลิ่นเหม็น
Fluorocult *E. coli* 0157:H7	โคโลนีจะไม่มีสีและเมื่ออยู่ภายใต้แสง UV (UV lamp) จะไม่เรืองแสง Fluorescence	โคโลนีจะมีทั้งที่สีเหลืองและไม่มีสี และเมื่ออยู่ภายใต้แสง UV (UV lamp) จะเรืองแสง Fluorescence

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

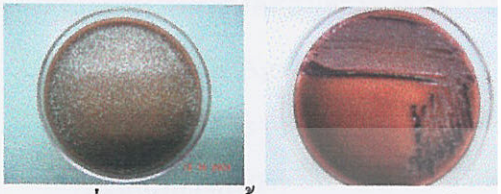
ภาพลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด



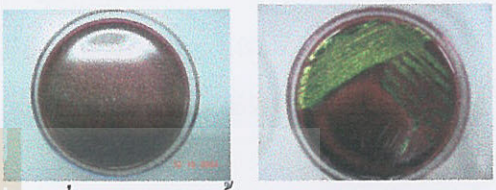
ภาพที่ 1 ลักษณะเชื้อ *E.coli* ใน Chromocult Agar



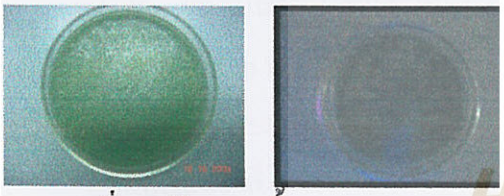
ภาพที่ 2 ลักษณะเชื้อ Coliforms sp. ใน Chromocult Agar



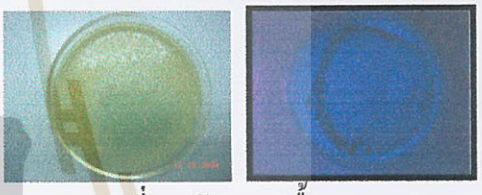
ภาพที่ 3 ลักษณะเชื้อ Coliforms sp. ใน EMB Agar



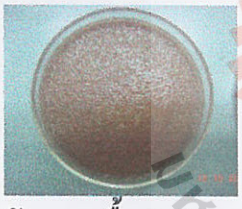
ภาพที่ 4 ลักษณะเชื้อ *E.coli* ใน EMB Agar



ภาพที่ 5 ลักษณะเชื้อ Coliforms sp. ใน Fluorocult *E. coli* 0157:H7

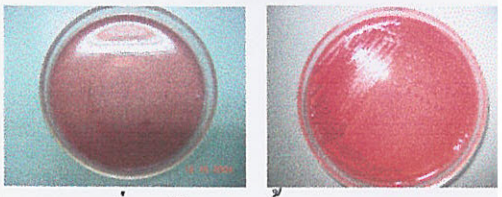


ภาพที่ 6 ลักษณะเชื้อ *E.coli* ใน Fluorocult *E. coli* 0157:H7

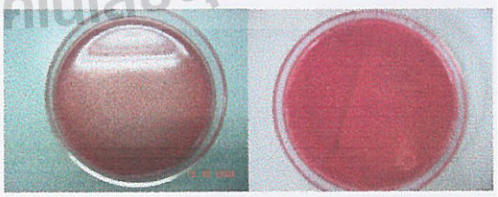


ภาพที่ 7 ลักษณะเชื้อ Coliforms sp. ใน VRB agar

ภาพที่ 8 ลักษณะเชื้อ *E. coli* ใน VRB agar



ภาพที่ 9 ลักษณะเชื้อ Coliforms sp. ใน SS agar



ภาพที่ 10 ลักษณะเชื้อ *E. coli* ใน SS agar

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิเคราะห์ผลการทดลอง

ในการทดลองต้องการที่จะศึกษาถึงคุณสมบัติของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบเพื่อจำแนกลักษณะของ เชื้อ *E. coli* ที่อาจพบในผลิตภัณฑ์นมหรืออื่นๆ ที่ส่งสัยว่าจะเป็น เชื้อ *E. coli* โดยในการทดสอบครั้งนี้จะเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อที่จะนำมาทำการทดสอบ 5 ชนิด คือ Chromocult Agar , EMB Agar , Violet Red bile Agar (VRB agar) , SS agar , Fluorocult *E. coli* 0157:H7 ซึ่งในการทดสอบจะใช้ stock เชื้อ Coliforms sp. และ *E.coli* เป็นตัวทดสอบ ซึ่งพบว่า

- Chromocult Agar : สามารถแยกลักษณะของเชื้อ Coliforms sp. และ *E.coli* ได้ถูกต้อง คือ เชื้อ Coliforms ลักษณะโคโลนีจะออกสีชมพู และ เชื้อ *E.coli* ลักษณะโคโลนีออกเป็นสีน้ำเงินอมม่วงดังภาพที่ 1-2
- EMB Agar : สามารถแยกลักษณะของเชื้อ Coliforms sp. และ *E.coli* ได้ถูกต้อง คือ เชื้อ *E. coli* มีลักษณะโคโลนีจะมีสีน้ำเงินดำ – สีม่วง และจะเกิด metallic sheen แต่ถ้าเป็นเชื้อ Coliforms sp จะไม่เกิด metallic sheen ดังภาพที่ 3-4
- VRB agar : สามารถแยกลักษณะของเชื้อ Coliforms sp. และ *E.coli* ได้ชัดเจนนัก คือ ลักษณะของสีโคโลนีของ *E.coli* จะมีสีชมพูเข้มกว่าและโคโลนีจะมีลักษณะผิวด้าน ส่วนเชื้อ Coliforms sp. โคโลนีจะมีลักษณะเยิ้มกว่าและโคโลนีจะมีสีชมพูที่อ่อนกว่าดังภาพที่ 7-8
- SS agar : สามารถแยกลักษณะของเชื้อ Coliforms sp. และ *E.coli* คือเชื้อ *E. coli* มีลักษณะของโคโลนีจะมีสีชมพูเข้มกว่า ส่วนเชื้อ Coliforms sp. โคโลนีจะมีลักษณะเยิ้มกว่าและโคโลนีจะมีสีชมพูที่อ่อนกว่าดังภาพที่ 9 -10
- Fluorocult *E. coli* 0157:H7 : สามารถแยกลักษณะของเชื้อ Coliforms sp. และ *E.coli* ได้ถูกต้อง คือเชื้อ *E. coli* โคโลนีที่พบมีทั้งที่มีสีเหลืองและ ไม่มีสีและเมื่ออยู่ภายใต้แสง UV (UV lamp) จะเรืองแสง Fluorescence แต่เชื้อ Coliforms sp. โคโลนีไม่มีสีเมื่ออยู่ภายใต้แสง UV (UV lamp) จะเรืองแสง Fluorescence ออกมาดังภาพที่ 5 - 6

ไม่

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองเป็นการตรวจสอบคุณสมบัติของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด คือ คือ Chromocult Agar , EMB Agar , Violet Red bile Agar (VRB agar) , SS agar , Fluorocult *E. coli* 0157:H7 พบว่า สามารถใช้อาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิดนี้ในการจำแนกเชื้อ *E. coli* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การทดลองที่ 5

เรื่อง การศึกษาลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในน้ำชา Ohiyo

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในน้ำชา Ohiyo (finish product)

หลักการ

ในการทดลองนี้ต้องการศึกษาลักษณะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในน้ำชาเขียว Ohiyo ที่บรรจุในขวดขนาด 350 ml ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ และดูการสร้างกรด – แก๊ส และการสร้างสปอร์ของเชื้อจุลินทรีย์

อุปกรณ์และสารเคมี

1. น้ำชา Ohiyo บรรจุขวด
2. หลอดทดลอง
3. สารละลาย 0.85 % NaCl
4. จานเพาะเชื้อ (plate) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว
5. ขวดสำหรับใส่อาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว
6. ปิเปตขนาด 10 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หรือ micro pipette
7. Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml
8. กระบอกตวง ขนาด 100 ml
9. Durham tube
10. เครื่องปั่นผสม (Vortex)
11. อาหารเลี้ยงเชื้อ YPD agar และ YPD broth
12. อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA
13. อาหารเลี้ยงเชื้อ Gorodkuowa Medium
14. 10 % Tartaric acid

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิธีการ

การตรวจสอบตัวอย่างน้ำชาเขียว (Finish product) ซึ่งการทดลองแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1 การแยกส่วนที่เป็นกลุ่มก้อน (Colony)

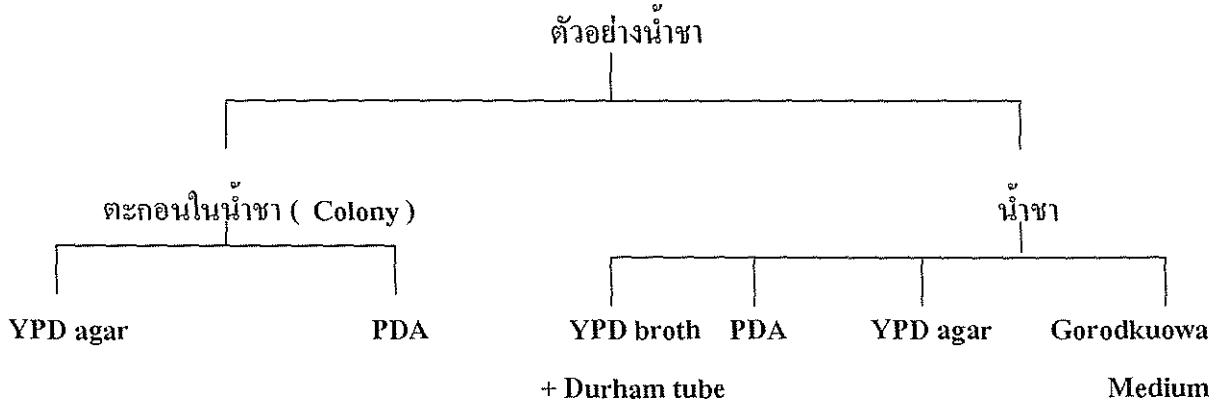
1. นำ Colony มาเลี้ยงต่อในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD agar และ PDA โดยการเขี่ยเชื้อที่มีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนมาวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD agar และ PDA ที่ pour plate ไว้แล้วบริเวณกลาง plate
2. บ่มที่ 25 ^{0}C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง
3. สังเกตลักษณะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จากอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิด
4. นำมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

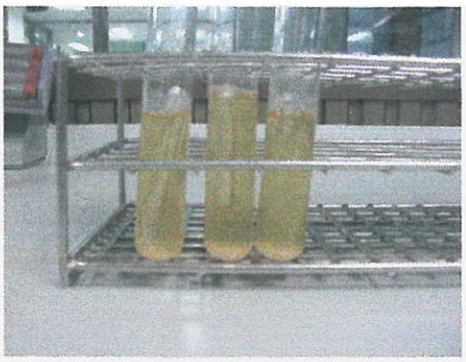
ส่วนที่ 2 การแยกส่วนของน้ำชา

1. ปิเปตน้ำชา 1 ml ลงในจานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว
2. ทำการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยง YPD agar , PDA และ Gorodkuowa Medium บ่มที่ 25 ^{0}C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง
3. ปิเปตน้ำชา 1 ml ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD broth โดยภายในบรรจุหลอดดักแก๊ส (Durham tube) บ่มที่ 25 ^{0}C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง วัดค่า pH เริ่มต้น)
4. สังเกตลักษณะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จากอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด และสังเกตปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นใน Durham tube และ วัดค่า pH สุดท้ายของอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD broth
5. นำมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

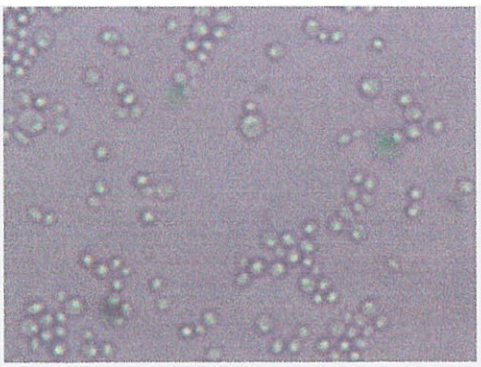
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

แผนภาพการตรวจสอบน้ำชา Ohiyo

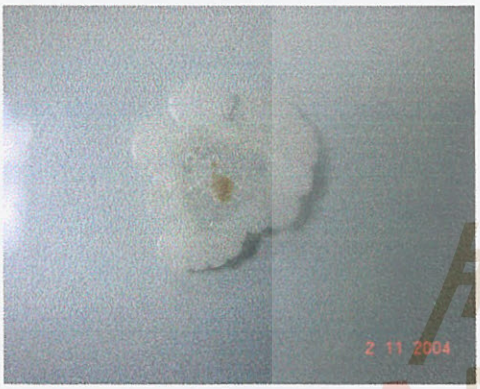




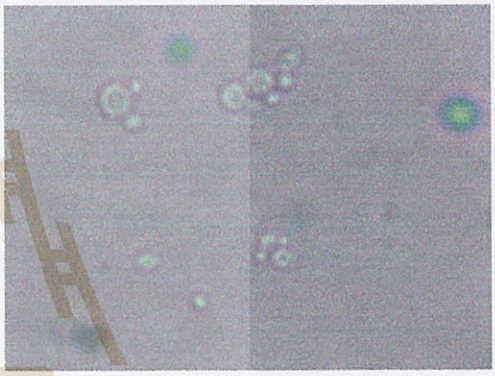
ภาพที่ 11 ลักษณะการเจริญของเชื้อในอาหาร YPD broth



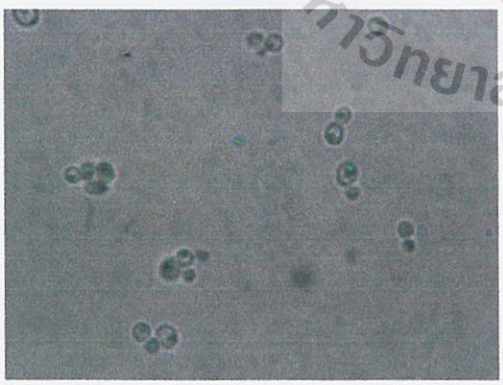
ภาพที่ 14 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่า จาก PDA



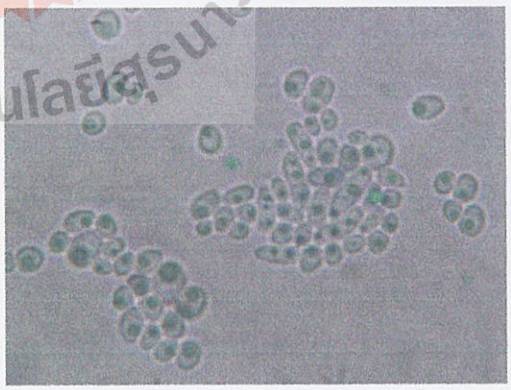
ภาพที่ 12 ลักษณะการเจริญของเชื้อในอาหาร YPD agar และ PDA จาก ส่วนที่เป็น Colony



ภาพที่ 15 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่าจาก YPD agar



ภาพที่ 13 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่า จาก YPD broth



ภาพที่ 16 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่าจาก Gorodkuowa Medium

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลการทดลอง

ตารางที่ 6 ลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

	ประเภทของอาหารเลี้ยงเชื้อ	ลักษณะที่พบ
การทดลองที่ 1 (ส่วนที่เป็นกลุ่มก้อน)	YPD agar	ไม่มีการเจริญ
	PDA	ไม่มีการเจริญ
การทดลองที่ 2 (ส่วนที่เป็นน้ำชา)	YPD agar	เกิดเป็นลักษณะ โคโลนี(Colony)สีขาวขุ่นบนผิวหน้า ซึ่งโคโลนี(Colony)มีลักษณะผิวด้านและขอบเรียบ และมีขนาดเล็กๆ กระจายทั่ว plate
	YPD broth + Durham tube	มีการสร้างแก๊สขึ้นในหลอด Durham tube หลังจากที่เริ่มบ่มได้ 1 วัน และปริมาณแก๊สเพิ่มขึ้นอีกเมื่อบ่มครบ 2 วัน และลักษณะอาหารเลี้ยงเชื้อสีเหลืองขุ่น และเกิดตะกอนสีขาวที่บริเวณก้นหลอด pH เริ่มต้น 5.5 และ pH สุดท้าย 5.2
	PDA	เกิดเป็นลักษณะ โคโลนี(Colony)สีขาวขุ่นบนผิวหน้า ซึ่งโคโลนี(Colony)มีลักษณะผิวด้านและขอบเรียบ และมีขนาดเล็กๆ กระจายทั่ว plate
	Gorodkuowa Medium	เกิดเป็นลักษณะ โคโลนี(Colony)สีขาวขุ่นบนผิวหน้า ซึ่งโคโลนี(Colony)มีลักษณะผิวด้านและขอบเรียบ และมีขนาดเล็กๆ กระจายทั่ว plate เชื้อจุลินทรียชนิดนี้สามารถสร้างสปอร์ได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิเคราะห์ผลการทดลอง

จากการทดลองนี้ต้องการศึกษาลักษณะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในน้ำชาเขียว (Finish product) ซึ่งในการทดลองได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกจะศึกษาลักษณะของโคโลนี (Colony) ที่พบในขวดน้ำชาเขียว (Finish product) ที่มีลักษณะเป็นเส้นใยที่จับตัวกันเป็นก้อนลอยฟูอยู่ ผลิตภัณฑ์ จึงได้ทำการแยกโคโลนีดังกล่าวมาเลี้ยงต่อในอาหารลี้ยงเชื้อ PDA และ YPD agar ซึ่งพบว่า โคโลนีดังกล่าวไม่มีการเจริญทั้งบนอาหารลี้ยงเชื้อ PDA และ YPD agar แต่พบลักษณะโคโลนีสีขาว ผิวและขอบเรียบอัดแน่นอยู่รอบๆโคโลนีดังกล่าวแทน ส่วนการทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาเพื่อดูว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่อาจปนเปื้อนอยู่ในน้ำชาด้วยหรือไม่ และจากผลการทดลอง เมื่อนำตัวอย่างน้ำชาเขียวมาลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD agar , PDA และ Gorodkuowa Medium พบลักษณะโคโลนี (Colony) สีขาวขุ่นบนผิวหน้า ซึ่งโคโลนี (Colony) มีลักษณะผิวด้านและขอบเรียบ และมีขนาดเล็กๆ กระจายทั่ว plate หลังจากนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่ามีลักษณะดังภาพที่ 14 - 16 ซึ่งแสดงว่าเชื้อชนิดนี้สามารถสร้างสปอร์ได้ ส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD broth + Durham tube พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อขุ่น และเกิดเป็นตะกอนสีขาวอยู่ที่บริเวณด้อนหลอดทดลองดังภาพที่ 12 และนอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถสร้างแก๊ส และกรดได้ ซึ่งสามารถสังเกตได้จากการเกิดช่องว่างอากาศใน Durham tube ดังภาพที่ 11 และค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงไปจาก 5.5 เป็น 5.2 หลังจากนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่ามีรูปร่างกลมรีและมี budding ดังภาพที่ 13 ซึ่งจากลักษณะ Morphology ที่พบเป็นลักษณะของเชื้อยีสต์

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่พบเป็นเชื้อยีสต์ ที่สามารถเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD agar , YPD broth , PDA ซึ่งเชื้อชนิดนี้สามารถสร้างสปอร์ได้ และสร้างแก๊ส - กรดได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การทดลองที่ 6

เรื่อง การศึกษาอายุการเก็บนมสดพาสเจอร์ไรส์

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์ในระหว่างอายุการเก็บ

หลักการ

การทดลองเพื่อศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์ ขนาด 200 cc โดยการนำตัวอย่างนมสดพาสเจอร์ไรส์ที่สุ่มมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 8 °C ตามช่วงระยะเวลาของอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์ คือ 15 วัน ซึ่งในแต่ละวันจะสุ่มมาเพื่อทำการตรวจสอบหาปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์

อุปกรณ์และสารเคมี

1. นมสดพาสเจอร์ไรส์ ขนาด 200 cc
2. จานเพาะเชื้อ (plate) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว
3. ขวดสำหรับใส่อาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว
4. ปีเปตขนาด 10 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หรือ micro pipette
5. Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml
6. กระบอกตวง ขนาด 100 ml
7. water bath
8. อาหารเลี้ยงเชื้อ SPC
9. อาหารเลี้ยงเชื้อ Dextrose tryptone agar
10. TTC (2 ,3,5 Triphenyl tertrazolium chloride)
11. Ethyl alcohol 70 %

วิธีการ

การตรวจสอบจุลินทรีย์ทั่วไปด้วยวิธี Standard Plate count Agar

1. สุ่มตัวอย่างนมสดพาสเจอไรส์ทุกรสชาติ ในแต่วันมาทดสอบ
2. ดูดตัวอย่างอย่างละ 1 ml ลงในจานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว
3. ทำการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ SPC ด้วยวิธี Aseptic technique บ่มที่ 32 ^{0}C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง
4. สังเกตลักษณะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ และนับจำนวนโคโลนีที่มีสีแดง

หมายเหตุ อาหารเลี้ยงเชื้อ SPC agar ต้องเติมสารละลาย TTC (2 ,3,5 Triphenyl tertrazolium chloride) 2 ml / อาหารเลี้ยงเชื้อ 200 ml เนื่องจากสารละลาย TTC (2 ,3,5 Triphenyl tertrazolium chloride) เป็นตัวทำให้โคโลนี (colony)เกิดเป็นสีชมพู – สีแดง ซึ่งทำให้ง่ายต่อการอ่านผล

การตรวจสอบปริมาณ spore ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Dextrose tryptone agar

1. ปิเปตตัวอย่างนม 10 ml ใส่ในหลอดทดลอง
2. นำหลอดทดลองไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 100^{0}C เป็นเวลา 10 นาที
3. เมื่อครบ 10 นาที นำไปแช่ในน้ำเย็นเพื่อลดอุณหภูมิทันที
4. ดูดตัวอย่าง 1 ml มาวิเคราะห์ โดยดูดใส่จานเพาะเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว
5. ทำการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ และ Dextrose tryptone agar ด้วยวิธี Aseptic technique
6. บ่มที่ 55 ^{0}C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

การวิเคราะห์ผลทางจุลินทรีย์

การวิเคราะห์ SPC : โคโลนีจะเป็นสีชมพู- สีแดง

การวิเคราะห์ SPORE : จะเกิดเป็นจุดสีเหลืองเข้ม ซึ่งจะเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อจากสีม่วงเป็นสีเหลือง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลการทดลอง

ตารางที่ 7 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างอายุการเก็บ

วันที่ผลิต	ระยะเวลาการเก็บ(วัน)	รส	เวลา	วันหมดอายุ	SPC		spore
12/10/2004	0	STR	20.28	27/10/2004	Nil	Nil	Nil
	5		20.28		Nil	2	Nil
	6		18.25		Nil	Nil	Nil
	7		18.25		Nil	2	Nil
	8		20.59		Nil	1	Nil
	9		20.59		Nil	1	Nil
	10		20.34		Nil	Nil	Nil
	11		20.34		Nil	Nil	Nil
	12		21.15		Nil	Nil	Nil
	13		21.15		Nil	Nil	Nil
	14		22.20		Nil	Nil	Nil
	15		22.20		Nil	Nil	Nil
7/10/2004	0	GT	14.19	22/10/2004	Nil	Nil	Nil
	5		14.19		Nil	Nil	Nil
	6		14.24		Nil	Nil	Nil
	7		14.24		Nil	Nil	Nil
	8		13.56		Nil	Nil	Nil
	9		13.56		Nil	Nil	Nil
	10		12.20		Nil	Nil	Nil
	11		12.20		Nil	Nil	Nil
	12		16.30		Nil	Nil	Nil
	13		16.35		Nil	Nil	Nil
	14		19.58		Nil	Nil	Nil
	15		19.58		Nil	Nil	Nil
12/10/2004	0	COF	14.19	27/10/2004	Nil	Nil	Nil
	5		14.19		Nil	Nil	Nil
	6		14.24		Nil	Nil	Nil

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

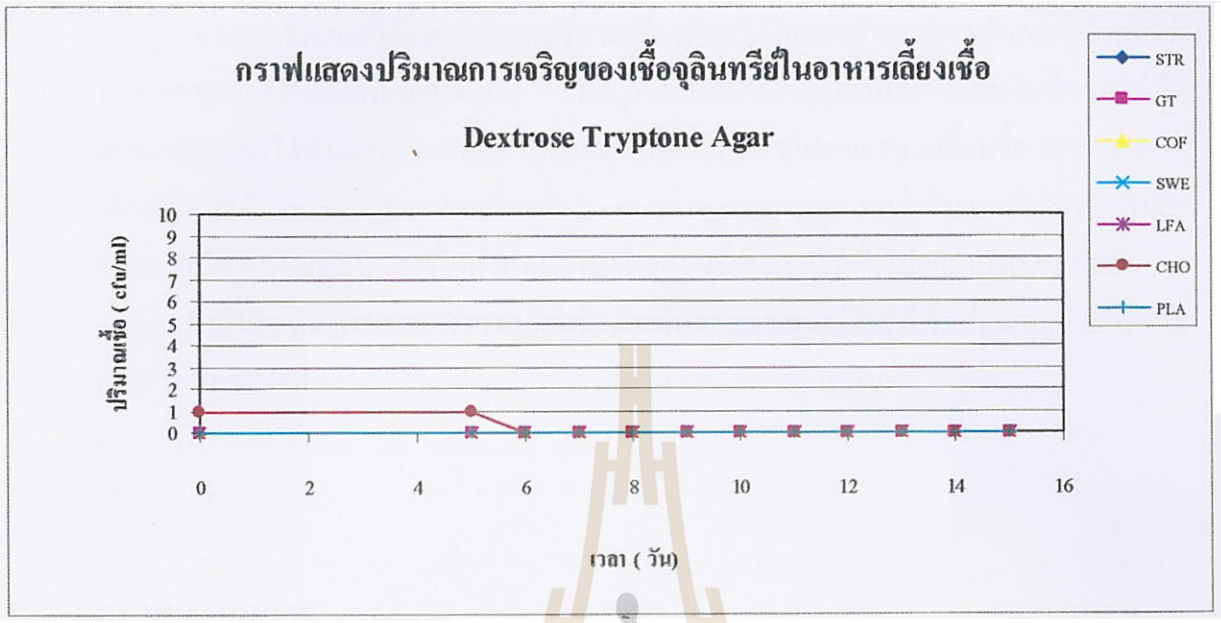
วันที่ผลิต	ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	รส	เวลา	วันหมดอายุ	SPC		Spore
12/10/2004	7	COF	14.24	27/10/2004	Nil	Nil	Nil
	8		13.56		Nil	Nil	Nil
	9		13.56		Nil	Nil	Nil
	10		12.20		Nil	Nil	Nil
	11		12.20		Nil	Nil	Nil
	12		16.30		Nil	Nil	Nil
	13		16.35		Nil	Nil	Nil
	14		19.58		Nil	Nil	Nil
	15		19.58		Nil	Nil	Nil
14/10/2004	0	SWE	10.26	27/10/2004	Nil	Nil	Nil
	5		10.26		Nil	Nil	Nil
	6		10.26		3	4	Nil
	7		10.26		Nil	Nil	Nil
	8		10.26		Nil	Nil	Nil
	9		10.26		Nil	Nil	Nil
	10		10.26		Nil	Nil	Nil
	11		10.26		Nil	Nil	Nil
	12		10.26		Nil	Nil	Nil
	13		10.26		Nil	Nil	Nil
	14		10.26		Nil	Nil	Nil
	15		10.26		Nil	Nil	Nil
11/10/2004	0	LFA	13.48	28/10/2004	Nil	Nil	Nil
	5		13.48		Nil	Nil	Nil
	6		13.48		1	2	Nil
	7		13.48		2	2	Nil
	8		13.48		Nil	Nil	Nil
	9		13.48		Nil	Nil	Nil
	10		13.48		Nil	Nil	Nil
	11		13.48		Nil	Nil	Nil

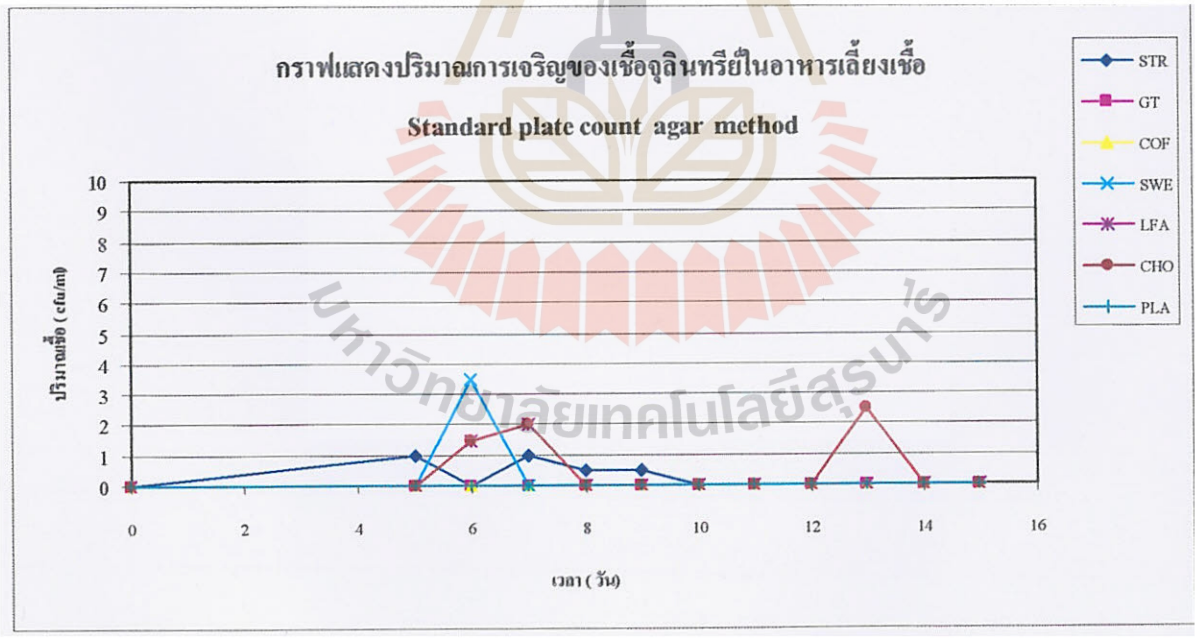
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วันที่ผลิต	ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	รส	เวลา	วันหมดอายุ	SPC		Spore
11/10/2004	12	LFA	13.48	28/10/2004	Nil	Nil	Nil
	13		13.48		Nil	Nil	Nil
	14		13.48		Nil	Nil	Nil
	15		13.48		Nil	Nil	Nil
29/9/2004	0	CHO	14.19	23/10/2004	Nil	Nil	1
	5		14.19		Nil	Nil	1
	6		14.19		1	2	Nil
	7		14.19		2	2	Nil
	8		14.19		Nil	Nil	Nil
	9		14.19		Nil	Nil	Nil
	10		14.19		Nil	Nil	Nil
	11		14.19		Nil	Nil	Nil
	12		14.19		Nil	Nil	Nil
	13		14.19		2	3	Nil
	14		14.19		Nil	Nil	Nil
	15		14.19		Nil	Nil	Nil
4/10/2004	0	PLA	12.40	28/10/2004	Nil	Nil	Nil
	5		12.40		Nil	Nil	Nil
	6		12.40		Nil	Nil	Nil
	7		12.40		Nil	Nil	Nil
	8		12.40		Nil	Nil	Nil
	9		12.40		Nil	Nil	Nil
	10		12.40		Nil	Nil	Nil
	11		12.40		Nil	Nil	Nil
	12		12.40		Nil	Nil	Nil
	13		12.40		Nil	Nil	Nil
	14		12.40		Nil	Nil	Nil
	15		12.40		Nil	Nil	Nil

หมายเหตุ Nil คือ ไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี





มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิเคราะห์ผลการทดลอง

จากการทดลองนี้ต้องการศึกษาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บที่อุณหภูมิ 8 ^{0}C เพื่อดูว่าจะมีผลต่ออายุการเก็บของผลิตภัณฑ์หรือไม่ ซึ่งจากการทดลองได้ทำการตรวจสอบหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SPC และปริมาณสปอร์ (spore) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Dextrose tryptone agar พบว่า ในระหว่างอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์ไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปและปริมาณสปอร์ (spore) ดังนั้นแสดงว่าในระหว่างการเก็บผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บที่อุณหภูมิ 8 ^{0}C ตามอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ 15 วัน ยังไม่พบว่ามีการเสื่อมเสียก่อนกำหนด

สรุปผลการทดลอง

ผลิตภัณฑ์นมสดพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บ ณ อุณหภูมิ 8 ^{0}C ตามอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ 15 วัน ยังไม่พบว่ามีการเสื่อมเสียก่อนกำหนด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การทดลองที่ 7

เรื่อง การตรวจหาที่มาของเชื้อราและเชื้อยีสต์

วัตถุประสงค์

เพื่อหาที่มาและเชื้อยีสต์ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้น้ำชาเขียวเสียและเสื่อมคุณภาพก่อนกำหนด

สมมติฐาน

การที่น้ำชาเขียวเสียและเสื่อมคุณภาพก่อนกำหนดนั้นอาจมีผลจาก วิธีการการฆ่าเชื้อ ซึ่งจะทำการเปรียบเทียบวิธีการการฆ่าเชื้อที่ใช้ระหว่างน้ำชาเขียวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบบพาเจอไรส์ (Pasteurization) และน้ำชาเขียวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบบ UHT ซึ่งทั้ง 2 วิธี มีความแตกต่างกันในเรื่องของระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ คือ

- การฆ่าเชื้อแบบพาเจอไรส์ (Pasteurized) (ผลิตฝั่ง PP)
- การฆ่าเชื้อแบบ UHT (ผลิตฝั่ง ICE)

ซึ่งจะเห็นได้ว่า ในการฆ่าเชื้อทั้ง 2 วิธีนั้นมีความแตกต่างกันในเรื่องของระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ ซึ่งสามารถตั้งข้อสังเกตได้ว่า สาเหตุที่ทำให้น้ำชาเขียวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบบพาเจอไรส์ (Pasteurized) มีการติดเชื้อรา หรือ ยีสต์ ได้สูงกว่าน้ำชาเขียวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบบ UHT ซึ่งปัจจัยเบื้องต้นน่าจะมาจาก

1. Packaging (บรรจุภัณฑ์) : ขวดน้ำชา
2. Fill level (ปริมาณการบรรจุ) : สำหรับการบรรจุในกล่องUHTจะเป็นแบบ Full Fill pack (การบรรจุเต็มกล่อง) คือ ไม่มีช่องว่างของอากาศ (head space) ส่วนในการบรรจุลงขวดน้ำชาที่ฆ่าเชื้อแบบ Pasteurized ซึ่งจะมีช่องว่างของอากาศ (head space) เกิดขึ้นบาง และนอกจากนี้การปิดฝาที่ไม่ดี หรือ การปนเปื้อนจากฝาที่ใช้ ซึ่งผ่านการแช่ oxonia ที่ไม่ดี ล้วนแล้วแต่เป็นสาเหตุที่ทำให้น้ำชาเขียวที่บรรจุลงขวดมีโอกาสติดเชื้อได้สูงกว่าแบบกล่อง (** ซึ่งลักษณะของการติดเชื้อไม่ได้เกิดโดยทันที แต่จะมีช่วงเวลาของการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อยู่ประมาณ 3-4 วัน จึงจะเกิดขึ้น)

จากปัจจัยในข้อ 2 นี้ทำให้การวิเคราะห์ตรวจสอบหาจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำชาเขียวเป็นไปได้ยาก จึงต้องมีการศึกษาเพื่อหาวิธีการตรวจสอบที่สามารถหาจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์ให้ได้และเป็นการหาสาเหตุจากการปนเปื้อนที่เกิดขึ้นด้วย

อุปกรณ์และสารเคมี

1. น้ำชา Ohiyo บรรจุขวด
2. ขวดแก้วสำหรับใส่ตัวอย่าง ขนาด 100 ml
3. จานเพาะเชื้อ (plate) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว
4. ปิเปตขนาด 10 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หรือ micro pipette
5. Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml
6. membrane filter ขนาด 0.45 μm
7. กระบอกตวง ขนาด 100 ml
8. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose broth (PDB)
9. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA)
10. 10 %Tartaric acid
11. Ethyl alcohol 70 %

วิธีการ

การทดลองแบ่งออกเป็น 2 ส่วน

การทดลองที่ 1 ต้องการพิสูจน์ว่าการฆ่าเชื้อที่ใช้ในกระบวนการผลิตนั้นมีประสิทธิภาพหรือไม่ โดยทำการเปรียบเทียบตัวอย่างน้ำชาเขียวที่บรรจุลงในกล่องและขวด ซึ่งได้นำมาทำการศึกษาที่สภาวะเดียวกัน

วิธีการ

1. นำตัวอย่างน้ำชาที่เลือกมาทั้ง 2 ชนิด แบ่งใส่ขวดแก้วขนาด 100 ml ในปริมาณ 50 ml
2. นำขวดแก้วที่ใส่ตัวอย่างแล้วไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 ^{0}C เป็นระยะเวลา 10 วัน
3. นำตัวอย่างที่บ่มแล้วของแต่ละวันออกมาวัดค่า ABS โดยเครื่อง Spectrophotometer ทุกวันจนครบ 10 วัน
4. สังเกตลักษณะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ และระยะเวลาในการเกิดเชื้อจุลินทรีย์ในขวดแก้ว
5. นำเชื้อจุลินทรีย์ที่พบมาลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้วยวิธีการ pour plate
6. สังเกตลักษณะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

หมายเหตุ
- ขวดแก้วที่ใช้ต้องผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
- อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ต้องเติมสารละลาย Tartaric acid 3.6 ml / อาหารเลี้ยงเชื้อ 200 ml
- ABS ย่อมาจาก Absorption

การทดลองที่ 2 การทดสอบวิธีการในการตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำชา

วิธีการ

1. นำตัวอย่างน้ำชาที่บรรจุในกล่อง UHT และในขวด มาบ่มที่อุณหภูมิ 55 ^{0} C เป็นเวลา 1 วัน
2. แบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ส่วน คือส่วนที่ 1 นำตัวอย่างน้ำชาเขียวปริมาตร 100 ml ไปกรองโดยใช้ membrane filter แล้วจากนั้นนำกระดาษกรองที่ได้มาลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ปริมาตร 125 ml ส่วนที่ 2 ปิเปตตัวอย่างน้ำชาเขียว 25 ml ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ปริมาตร 125 ml บ่มที่อุณหภูมิ 25 ^{0} C
3. นำตัวอย่างที่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB แล้ว ออกมาวัดค่า ABS โดยเครื่อง Spectrophotometer ทุกวัน
4. สังเกตลักษณะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ และระยะเวลาในการเกิดเชื้อจุลินทรีย์
5. เปรียบเทียบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นของทั้ง 2 ส่วน (กรอง / ไม่กรอง)
6. นำเชื้อจุลินทรีย์ที่พบมาลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้วยวิธีการ pour plate

ผลการทดลองที่ 1

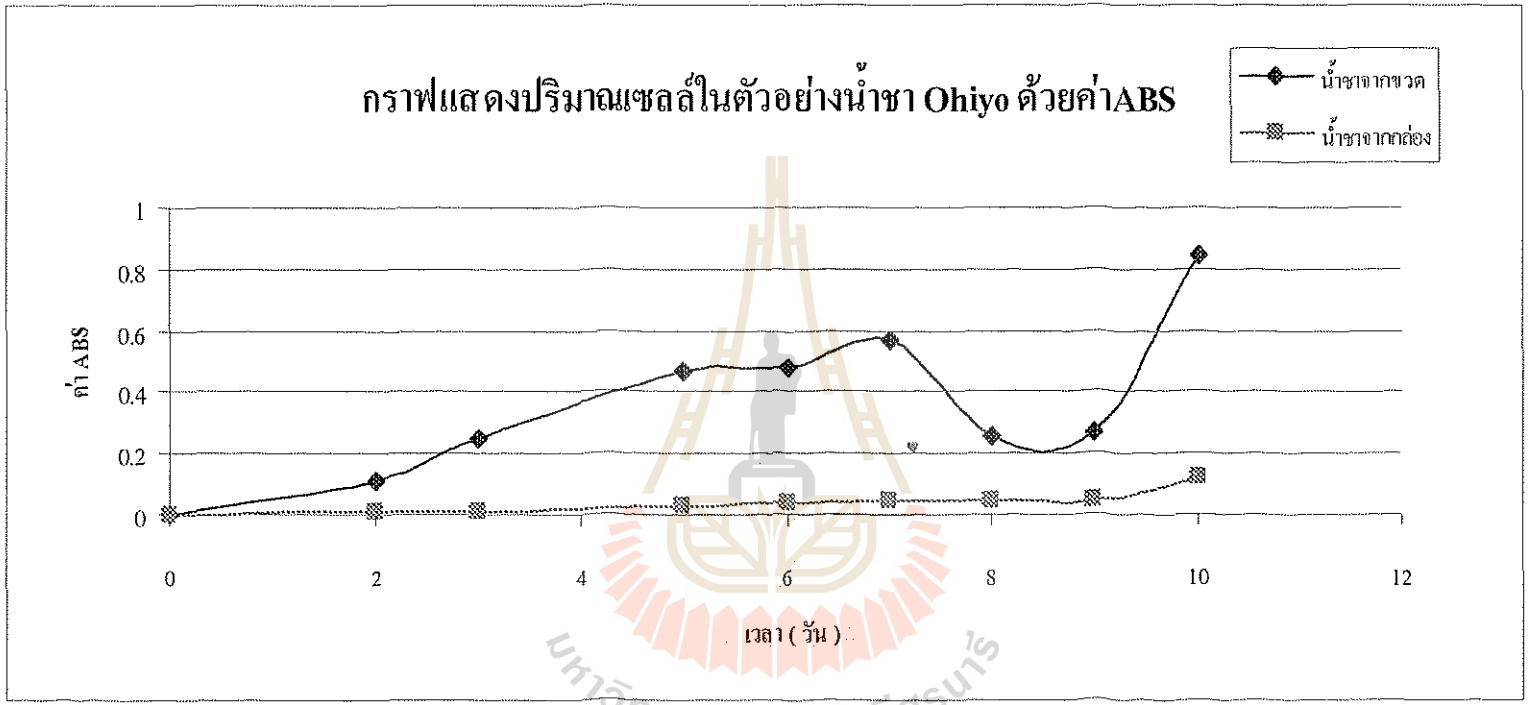
ตารางที่ 8 แสดงลักษณะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ตัวอย่าง	ลักษณะที่พบ	
	PDB	PDA
น้ำชาจากขวด	เกิดเป็นลักษณะคล้ายเชื้อรา (เป็นเส้นใย) ลอยฟูอยู่ในขวดชาซึ่งเริ่มเกิดขึ้นหลังจากบ่มได้ 3 วัน และขนาดของเชื้อราที่พบมีขาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ จนฟูเต็มขวดแก้ว	พบโคโลนีมีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาว สปอร์สีเขียว
น้ำชาจากกล่อง	เกิดเป็นลักษณะคล้ายเชื้อราลอยฟูอยู่ในขวดชาซึ่งเริ่มเกิดขึ้นหลังจากบ่มได้ 9 วัน และขนาดของเชื้อราที่พบมีขนาดเล็ก	ไม่พบการเจริญของเชื้อรา

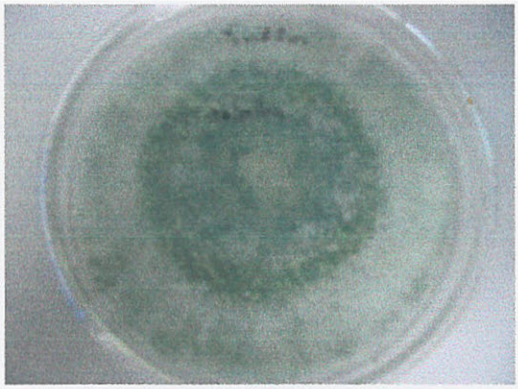
ตารางที่ 9 แสดงปริมาณเซลล์ในตัวอย่างน้ำชา Ohiyo ด้วยค่าABS

วันที่บ่ม	ตัวอย่าง	ค่า ABS		
		ครั้งที่1	ครั้งที่2	เฉลี่ย
0	น้ำชาจากขวด	0.00	0.00	0.00
	น้ำชาจากกล่อง	0.00	0.00	0.00
2	น้ำชาจากขวด	0.13	0.09	0.11
	น้ำชาจากกล่อง	0.01	0.01	0.01
3	น้ำชาจากขวด	0.24	0.26	0.25
	น้ำชาจากกล่อง	0.01	0.01	0.01
5	น้ำชาจากขวด	0.46	0.48	0.47
	น้ำชาจากกล่อง	0.03	0.03	0.03
6	น้ำชาจากขวด	0.48	0.48	0.48
	น้ำชาจากกล่อง	0.04	0.04	0.04
7	น้ำชาจากขวด	0.57	0.57	0.57
	น้ำชาจากกล่อง	0.05	0.05	0.05
8	น้ำชาจากขวด	0.26	0.25	0.255
	น้ำชาจากกล่อง	0.05	0.05	0.05
9	น้ำชาจากขวด	0.27	0.27	0.27
	น้ำชาจากกล่อง	0.05	0.05	0.05
10	น้ำชาจากขวด	0.86	0.82	0.84
	น้ำชาจากกล่อง	0.12	0.11	0.115

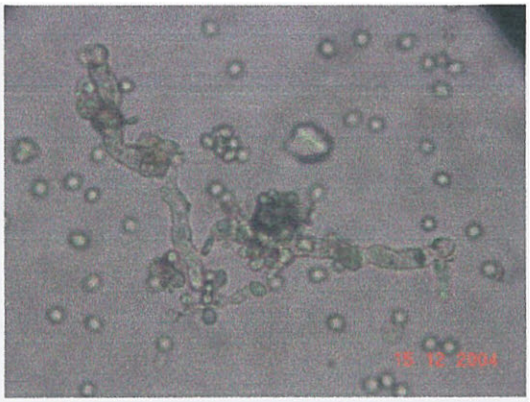
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



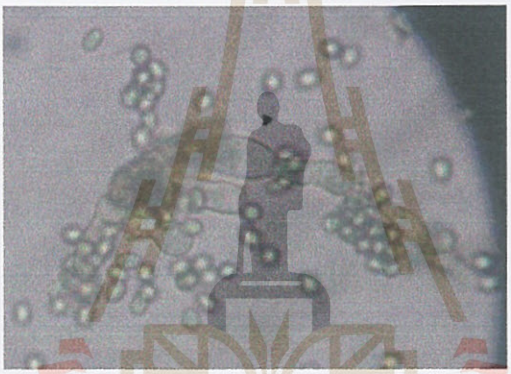
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 17 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ที่พบจาก
อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA



ภาพที่ 18 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้อง
จุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่าจาก
อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA



ภาพที่ 19 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่าจาก
อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิเคราะห์ผลการทดลองที่ 1

จากผลการทดลองข้างต้นต้องการใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนผลของการเหนี่ยวนำให้สปอร์ที่ยังหลงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์เจริญเติบโตขึ้น โดยในการทดลองจะเพิ่มช่องว่างของอากาศ (head space) ให้มากขึ้น เป็นการเพิ่มอากาศในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งลักษณะที่พบในขวดแก้วเกิดเป็นลักษณะเส้นใยที่รวมตัวกันเป็นก้อนลอยฟูอยู่ในขวดแก้วตัวอย่างของผลิตภัณฑ์น้ำชาเขียว(ขวด) ที่ฆ่าเชื้อแบบพาสเจอร์ไรส์ ซึ่งระยะเวลาในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์จะเจริญเร็วมาก คือหลังจากที่บ่มได้เพียง 3 วัน ก็เริ่มสังเกตเห็นลักษณะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างชัดเจน และเมื่อบ่มต่อจนครบกำหนดจะสังเกตลักษณะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างชัดเจนมากขึ้น(ฟูเต็มขวดแก้ว) ซึ่งสอดคล้องกับค่า ABS ที่ใช้ในการวัดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยการวัดปริมาณเซลล์ ซึ่งจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า ABS

กับระยะเวลาในการบ่มพบว่ามีปริมาณเซลล์ที่เกิดขึ้นมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อเวลาในการบ่มมากขึ้น และเมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในขวดแก้วมาลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่าลักษณะโคโลนีเกิดเป็นเส้นใยสีขาว สปอร์สีเขียว ลักษณะดังภาพที่ 17 และหลังจากนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่ามีลักษณะดังภาพที่ 18 และ 19 (ซึ่งเมื่อทำการเปรียบเทียบลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในขวดแก้วกับการทดลองของ หทัยภัทร นักศึกษาฝึกงาน 2547) พบว่าลักษณะที่พบเหมือนกับลักษณะที่พบใน finish product น้ำชาเขียว ซึ่งเป็นลักษณะคนละชนิดกับที่พบในวัตถุดิบ เนื่องลักษณะเชื้อที่พบในวัตถุดิบจะเป็นลักษณะโคโลนีที่มีสปอร์สีดำที่มาจากใบชา Yabukita Green Tea และโคโลนีที่มีเส้นใยสีขาว ฟูที่พบใน Fructose Syrup

ส่วนตัวอย่างน้ำชาที่บรรจุในกล่อง UHT จะพบโคโลนีที่เป็นลักษณะคล้ายเชื้อราลอยอยู่ในขวดแก้วซึ่งเริ่มเกิดขึ้นหลังจากบ่มได้ 9 วัน และขนาดของเชื้อราที่พบมีขนาดเล็กมาก และมีลักษณะในตัวอย่างน้ำชาที่บรรจุในกล่อง UHT พบว่าแตกต่างไปจากที่พบในขวดน้ำชาคือเกิดเป็นลักษณะเป็นวุ้นลอยอยู่ในน้ำชา เมื่อนำตัวอย่างดังกล่าวมาลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แล้วไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

สรุปผลการทดลองที่ 1

จากการทดลองที่ 1 ต้องการศึกษาลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจพบในน้ำชาเขียว (finish product) ทั้งที่บรรจุในกล่องUHT และที่บรรจุลงขวด พบว่าน้ำชาเขียว (finish product) ที่บรรจุลงขวดพาสเจอร์ไรส์ พบลักษณะของเชื้อราที่มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาว สปอร์สีเขียว ซึ่งเป็นคนละลักษณะกับที่พบในวัตถุดิบ แต่ไม่พบลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้ในน้ำชาเขียวที่บรรจุในกล่อง UHT

ผลการทดลองที่ 2

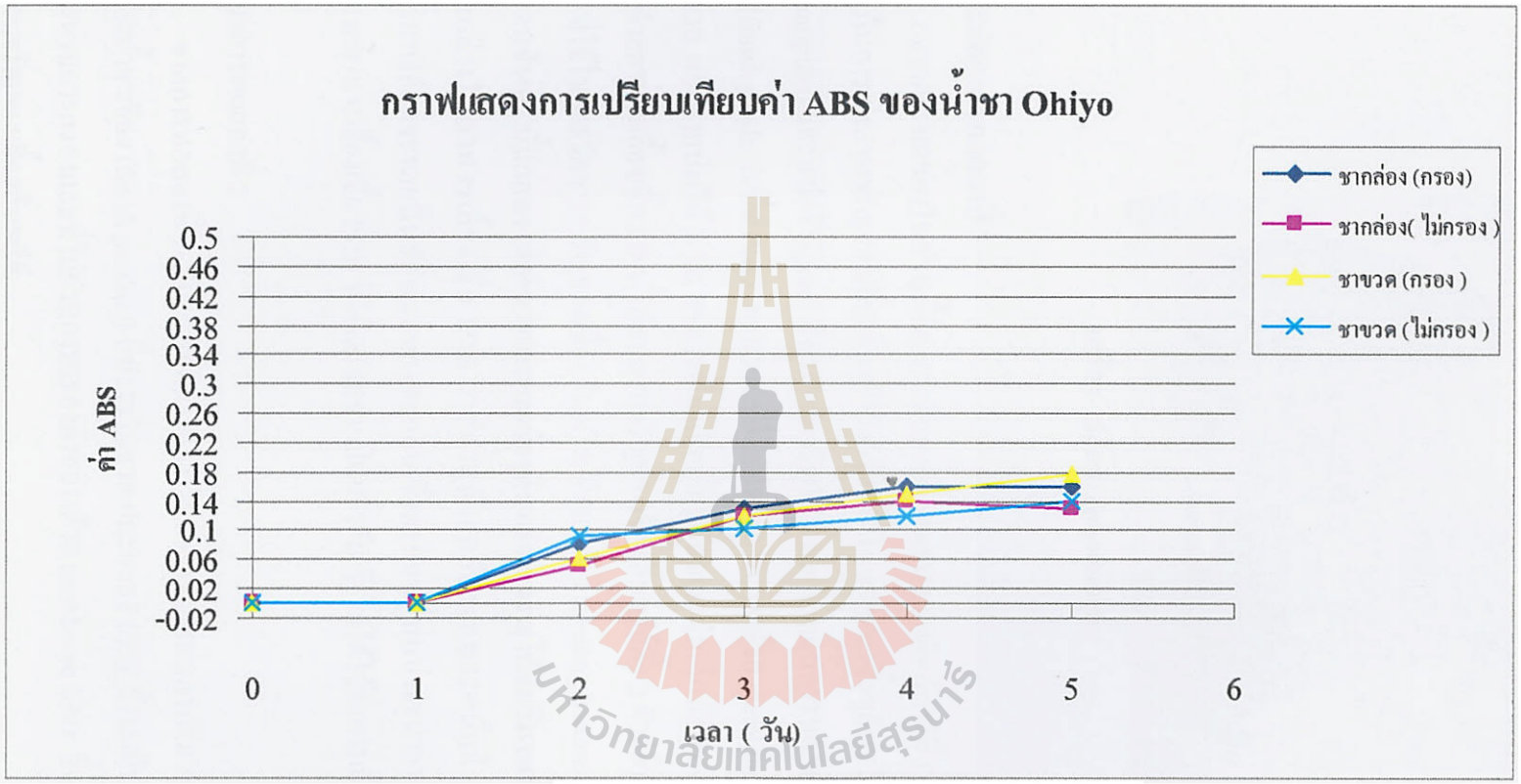
ตารางที่ 10 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์น้ำชาเขียว(***finish product***)

น้ำชาเขียว (finish product)		อาหารเลี้ยงเชื้อ	
		PDB	PDA
บรรจุขวด	ผ่านการกรอง	อาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะขุ่นเล็กน้อย	ไม่พบการเจริญของเชื้อ
	ไม่ผ่านการกรอง	อาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะขุ่นเล็กน้อย	ไม่พบการเจริญของเชื้อ
บรรจุกล่อง UHT	ผ่านการกรอง	อาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะใส	ไม่พบการเจริญของเชื้อ
	ไม่ผ่านการกรอง	อาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะใส	ไม่พบการเจริญของเชื้อ

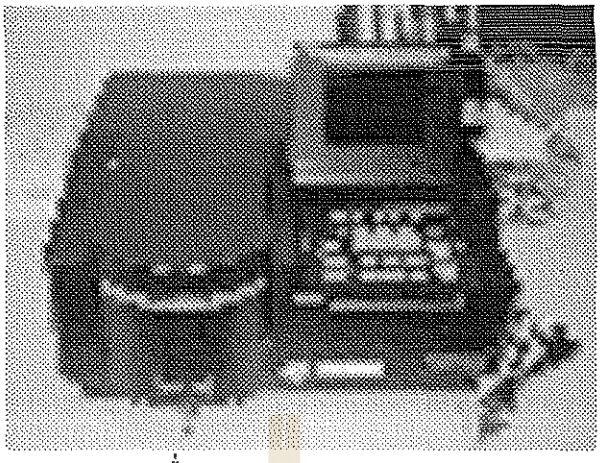
ตารางที่ 11 แสดงปริมาณเซลล์ในตัวอย่างน้ำชา Ohiyo ด้วยค่าABS

วันที่บ่ม	ตัวอย่าง	ค่า ABS					
		กรอง			ไม่กรอง		
		ครั้งที่1	ครั้งที่2	เฉลี่ย	ครั้งที่1	ครั้งที่2	เฉลี่ย
0	น้ำชาจากขวด	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	น้ำชาจากกล่อง	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	น้ำชาจากขวด	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	น้ำชาจากกล่อง	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	น้ำชาจากขวด	0.06	0.06	0.06	0.09	0.09	0.09
	น้ำชาจากกล่อง	0.08	0.09	0.085	0.05	0.05	0.05
3	น้ำชาจากขวด	0.12	0.14	0.13	0.1	0.1	0.1
	น้ำชาจากกล่อง	0.13	0.13	0.13	0.12	0.12	0.12
4	น้ำชาจากขวด	0.15	0.15	0.15	0.12	0.12	0.12
	น้ำชาจากกล่อง	0.16	0.15	0.155	0.14	0.14	0.14
5	น้ำชาจากขวด	0.18	0.17	0.175	0.14	0.14	0.14
	น้ำชาจากกล่อง	0.16	0.16	0.16	0.13	0.13	0.13

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



เครื่อง Spectrophotometer

วิเคราะห์ผลการทดลองที่ 2

จากการทดลองในส่วนนี้ต้องการศึกษาผลของการบ่มผลิตภัณฑ์ที่ 55 ^{0}C ซึ่งการบ่มที่ 55 ^{0}C ถือว่าเป็นการเร่งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ให้เร็วขึ้น โดยเฉพาะเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มเทอร์โมไฟล์ (Thermopiles) และสปอร์ (spore) ที่สามารถเจริญได้ดี และจากผลการทดลองพบว่า ตัวอย่างน้ำชาเขียว (finish product) ที่ผ่านการกรองและที่ไม่ผ่านการกรองด้วย membrane filter ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB หลังจากบ่มได้ 2 วัน อาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มมีลักษณะขุ่นเล็กน้อย แต่เมื่อนำมาทำการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ตัวอย่าง และจากผลการวัดค่า ABS ที่ใช้ในการวัดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยเครื่อง Spectrophotometer พบว่าค่าที่อ่านได้มีค่าที่ค่อนข้างต่ำ นั้นแสดงให้เห็นว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้มีปริมาณน้อยมาก และจากการนำตัวอย่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB มาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แล้วก็ไม่พบลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์แต่จะพบเป็นลักษณะของตะกอน ซึ่งตะกอนที่พบน่าจะมาจากอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ที่ใช้เตรียมจากมันฝรั่งต้ม ซึ่งไม่ได้ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDB สำเร็จรูป

สรุปผลการทดลองที่ 2

จากการทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาวิธีการในการตรวจสอบหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างน้ำชาเขียว (finish product) ที่บรรจุในขวด และกล่อง UHT ซึ่งจะเป็นการเปรียบเทียบด้วยวิธีการผ่านการกรองและที่ไม่ผ่านการกรองตัวอย่างด้วย membrane filter ซึ่งจากผลการทดลองไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

สรุปผลการทดลอง

เชื้อจุลินทรีย์ (เชื้อรา)ที่พบในน้ำชาเขียว (finish product) ที่บรรจุลงขวด เป็นคนละลักษณะกับที่พบในวัตถุดิบ แต่ไม่พบในน้ำชาเขียวที่บรรจุลงในกล่อง UHT ส่วนการทดสอบวิธีการตรวจสอบหาเชื้อจุลินทรีย์นั้นไม่พบการเจริญของเชื้อ จึงไม่สามารถยืนยันผลการทดลองได้อย่างชัดเจนว่าแบบใดดีกว่า

วิจารณ์การทดลอง

ในการทดลองข้างต้นของการทดลองที่ 1 และการทดลองที่ 2 ตัวอย่างที่นำมาทำการศึกษาเป็นตัวอย่างที่ผลิตคนละลอต (Lot) ซึ่งมีผลทำให้ผลการทดลองมีความแปรปรวนและคาดเคลื่อนได้ และในการทดลองควรเลือกใช้ตัวอย่างที่พบว่ามีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์มาทำการทดสอบเพื่อให้ได้ข้อสรุปที่ชัดเจน

ในการตรวจสอบที่ไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อาจจะเกิดจากปริมาณเชื้อที่สุ่มมามีปริมาณน้อย จึงไม่สามารถตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ได้ และจากการทดลองที่ 2 ซึ่งการศึกษาวิธีการในการตรวจสอบหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ โดยการเปรียบเทียบวิธีการที่ผ่านกรองและไม่ผ่านกรองของตัวอย่าง ด้วย membrane filter นั้น วิธีการกรองตัวอย่างน่าจะพบการเจริญของเชื้อมากกว่า เมื่อปริมาณของตัวอย่างที่ใช้เท่ากัน แต่ในการทดลองนี้ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ด้วยวิธีการกรองและไม่กรองมีปริมาณต่างกัน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การทดลองที่ 8

เรื่อง การศึกษาลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในนมสดพาสเจอไรส์

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาคุณลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในนมสดพาสเจอไรส์

อุปกรณ์และสารเคมี

1. plate ที่พบเชื้อจุลินทรีย์จากนมสดพาสเจอไรส์
2. หลอดทดลอง
3. จานเพาะเชื้อ (plate) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว
4. ปิเปตขนาด 10 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หรือ micro pipette
5. Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml
6. กระบอกตวง ขนาด 100 ml
7. Durham tube
8. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA)
9. อาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast extract Peptone Dextrose agar (YPD agar)
10. อาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast extract Peptone Dextrose (YPD broth)
11. อาหารเลี้ยงเชื้อ Standard plate count agar method (SPC)
12. อาหารเลี้ยงเชื้อ Basal medium
13. อาหารเลี้ยงเชื้อ Gorodkuowa Agar
14. 10 % Tartaric acid
15. TTC (2 ,3,5 Triphenyl tertrazolium chloride)
16. Ethyl alcohol 70 %

วิธีการ

1. เขี่ยเชื้อจาก plate ที่พบเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการ
2. นำเชื้อที่ได้มาทำการ steak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ SPC
3. นำเชื้อจุลินทรีย์ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD broth
4. บ่มที่อุณหภูมิ 25 ^{0}C จนกว่าเชื้อจะเจริญ (4 วัน)
5. หลังจากที่เชื้อจุลินทรีย์เริ่มเจริญแล้ว ปิเปตเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD broth 1.0 ml ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Basal medium + Durham tube วัดค่า pH เริ่มต้น และสังเกตการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงเชื้อ Basal medium และ Durham tube

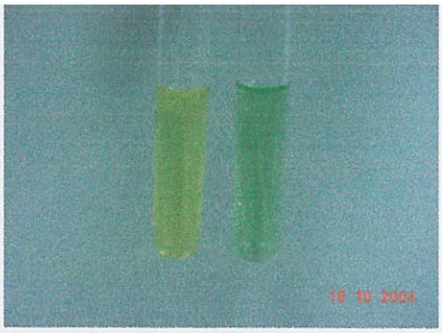
6. ปิเปตเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD broth 1.0 ml ลงในจานเพาะเชื้อ (plate) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Gorodkuowa Agar และ PDA
7. บ่มที่อุณหภูมิ 25 ^{0}C เป็นระยะเวลา 5 วัน
8. สังเกตลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด และค่า pH สุดท้ายของอาหารเลี้ยงเชื้อ Basal medium
9. นำมาส่องดูลักษณะของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์

หมายเหตุ อาหารเลี้ยงเชื้อ SPC agar ต้องเติมสารละลาย TTC (2 ,3,5 Triphenyl tertrazolium chloride) 2 ml / อาหารเลี้ยงเชื้อ 200 ml เนื่องจากสารละลาย TTC (2 ,3,5 Triphenyl tertrazolium chloride) เป็นตัวทำให้โคโลนี (colony)เกิดเป็นสีชมพู – สีแดง ซึ่งทำให้ง่ายต่อการอ่านผล

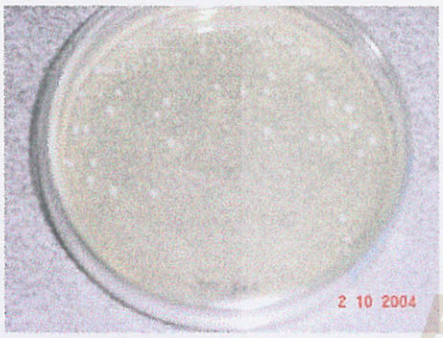
ผลการทดลอง

ตารางที่ 12 ลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในนมสดพาสเจอไรส์

ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ	ลักษณะที่พบ
SPC	โคโลนีมีสีแดง มีขนาดเล็ก
PDA	ไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์
YPD agar	โคโลนีมีสีขาวขุ่น ผิวและขอบเรียบ มีขนาดเล็ก
YPD broth	อาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะ ใส และมีตะกอนสีขาวอยู่บริเวณก้นหลอด
Gorodkuowa Agar	โคโลนีมีสีขาวขุ่นผิวและขอบเรียบ มีขนาดเล็ก
Basal medium + Durham tube	อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง และเกิดตะกอนสีขาวอยู่บริเวณก้นหลอด ไม่มีการสร้างแก๊สแต่สร้างกรดได้ ซึ่งค่า pH จะลดลงจาก 6.8 เป็น 5.5

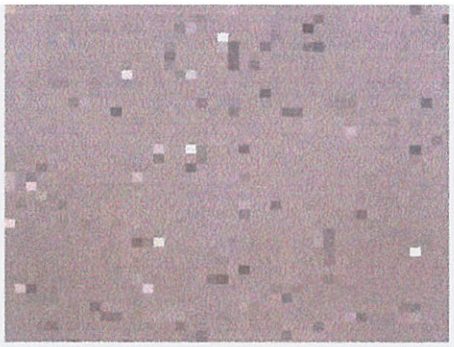


ภาพที่ 20 ลักษณะของอาหารเลี้ยงเชื้อ Basal medium + Durham tube

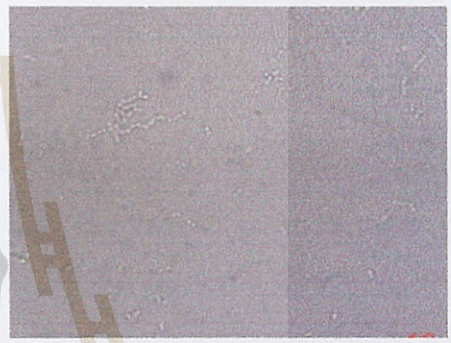


ภาพที่ 21 ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Gorodkuowa Agar

ภาพที่ 22 ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD agar



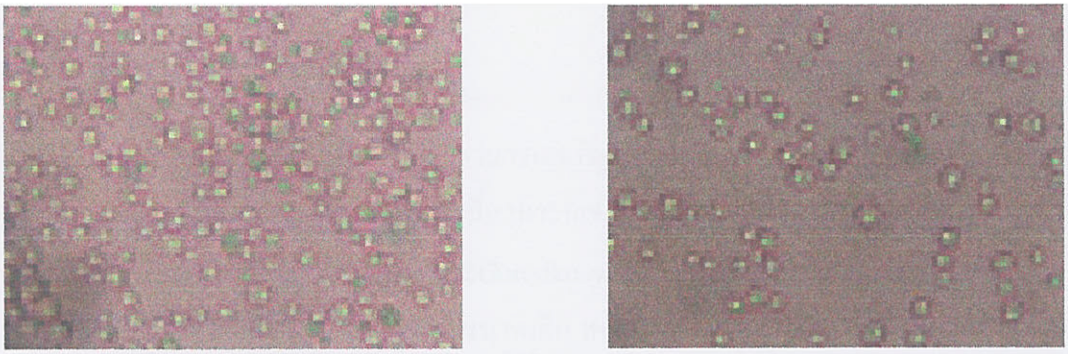
ภาพที่ 23 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่าจาก YPD agar



ภาพที่ 24 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่าจาก YPD broth

ภาพที่ 25 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่าจาก อาหารเลี้ยงเชื้อBasal medium

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 26 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่าจาก อาหารเลี้ยงเชื้อ Gorodkuowa Agar (ย้อมแกรม)

วิเคราะห์ผลการทดลอง

จากการทดลองข้างต้นต้องการศึกษาคุณลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในนมสดพาสเจอไรส์ โดยลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ที่พบเริ่มต้นมีลักษณะโคโลนี (Colony) สีขาวและสีชมพูอ่อนๆ ผิวและขอบเรียบ มีขนาดเล็กจะพบในนมสดพาสเจอไรส์รสธรรมชาติ รสพร่องมันเนย (ไขมันต่ำ) และรสกาแฟ โดยในการทดลองจะศึกษาคุณลักษณะต่างๆ ของเชื้อจุลินทรีย์จากการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นตัวทดสอบ ซึ่งการใช้ อาหารเลี้ยงเชื้อ Basal medium เพื่อต้องการดูคุณสมบัติด้านการหมักของเชื้อจุลินทรีย์ และการที่มีการใช้ Durham tube ร่วมด้วยเพื่อต้องการดูว่ามีการสร้างแก๊สหรือไม่ นอกจากนี้ยังใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Gorodkuowa Agar เพื่อดูการสร้างสปอร์ของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้ ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD agar และ PDA เพื่อแยกลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ว่าเป็นเชื้อยีสต์หรือไม่ และ YPD broth เป็นการเลี้ยงให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญและมีปริมาณมากขึ้น ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าจากลักษณะที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD agar โคโลนีมีสีขาวขุ่นผิวและขอบเรียบ โคโลนีมีขนาดเล็ก หลังจากนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าเชื้อจุลินทรีย์มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนต่อกัน 2-3 ท่อน และรูปทรงกลมรีซึ่งมี budding ด้วย ดังภาพที่ 23-24 ซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อยีสต์ และลักษณะที่พบในอาหารเลี้ยงเชื้อ Basal medium + Durham tube คือ อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง และเกิดตะกอนสีขาวอยู่บริเวณก้นหลอด ไม่มีการสร้างแก๊สแต่เชื้อชนิดนี้สามารถสร้างกรดได้ เนื่องจากค่า pH ลดลงจาก 6.8 เป็น 5.5 ดังภาพที่ 20 และในอาหารเลี้ยงเชื้อ Gorodkuowa Agar เป็นโคโลนีมีสีขาวขุ่นผิวและขอบเรียบ โคโลนีมีขนาดเล็ก หลังจากนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าเชื้อจุลินทรีย์มีลักษณะเป็นรูปทรงกลมรี และมีรูปทรงกลมเล็กสีเขียว 2-3วงอยู่ภายในทรงกลมรี ดังภาพที่ 25-26 และไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

สรุปผลการทดลอง

ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD agar , YPD broth , Gorodkuowa Agar เชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD broth ส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD broth , PDA และGorodkuowa Agar เจริญได้ไม่ดี ซึ่งมีลักษณะเป็นโคโลนี มีสีขาวขุ่นผิวและขอบเรียบ โคโลนีมีขนาดเล็ก หลังจากส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่ามีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนต่อกัน 2-3 ท่อน และรูปทรงกลมซึ่งมี budding ด้วย และในอาหารเลี้ยงเชื้อ Basal medium + Durham tube มีลักษณะคืออาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง และเกิดตะกอนสีขาวอยู่บริเวณก้นหลอด ไม่มีการสร้างแก๊สแต่สามารถสร้างกรดได้ หลังจากนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถสร้างสปอร์ได้ด้วย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3
สรุปผลการปฏิบัติงาน

การปฏิบัติงานในบริษัท ดัชมิลล์ จำกัด ในแผนกการตรวจสอบคุณภาพ (Quality control)นั้นได้ประโยชน์ในหลายๆ ด้านดังนี้

1. ด้านสังคม
    - ได้รู้จักบุคคลต่างๆ มากขึ้นทั้งในแผนกและต่างแผนก
    - ได้เข้าใจถึงลักษณะของการทำงานจริง วิธีการและชีวิตประจำวันในการทำงาน
    - ได้รู้จักการปรับตัวให้เข้ากับผู้อื่นและการทำงานเป็นหมู่คณะ
2. ด้านทฤษฎี
    - ได้รับความรู้เพิ่มเติมในส่วนของการตรวจสอบคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยาและด้านกายภาพ
    - ได้เรียนรู้การใช้เครื่องมือที่ทันสมัยและรวดเร็วในการตรวจสอบคุณภาพด้านเคมี
    - ได้เรียนรู้การตรวจสอบสินค้า (finish product)ในสายการผลิตจริง
    - ได้รับความรู้เกี่ยวกับหลักการและวิธีการแก้ปัญหาการทำงานในแต่ละส่วนงาน
3. ด้านปฏิบัติ
    - ได้ฝึกและเข้าร่วมอบรมเกี่ยวกับระบบ GMP
    - ได้ฝึกการตรวจติดตามเกี่ยวกับสัตว์พาหะ
    - ได้ฝึกในส่วนของการตรวจสอบคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
ปัญหาและข้อเสนอแนะ

จากการปฏิบัติงานในแผนกการจัดการระบบคุณภาพ (QSM) บริษัท ดัชมิลล์ จำกัด เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ นอกจากจะเป็นการนำความรู้ที่ได้จากมหาวิทยาลัยมาประยุกต์ใช้กับการปฏิบัติงานจริงแล้วยังได้รับความรู้เพิ่มเติมอีกมากทั้งในส่วนของการปฏิบัติงานจริงและประสบการณ์ที่ดีในการนำไปปรับปรุงในการทำงานในอนาคต ซึ่งในกระหว่างการปฏิบัติงานพบปัญหาและอุปสรรคบางประการ คือ

1. เนื่องจากการปฏิบัติงานในแผนกการจัดการระบบคุณภาพ (QSM) ในส่วนของการตรวจสอบคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา (Microbiology) และสุขาภิบาล (Sanitation) นั้นควรที่จะมีความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับเชื้อจุลินทรีย์มากพอสมควร โดยเฉพาะการจำแนกลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ตามลักษณะต่างๆ ที่พบได้

2. เนื่องจากบุคลากรในส่วนของการตรวจสอบคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา (Microbiology) และสุขาภิบาล (Sanitation) มีจำนวนบุคลากรพอดีกับส่วนงานที่รับผิดชอบ ทำให้เมื่อมีการทดลองในกรณีพิเศษหรือมีการตรวจสอบคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ตัวใหม่ซึ่งจะมีผลต่อส่วนงานที่รับผิดชอบปัจจุบัน ดังนั้นจึงควรรับบุคลากรเพิ่มอีก น่าจะทำให้การทำงานมีประสิทธิภาพมากขึ้น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก

ภาคผนวก

สูตรอาหารและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหาร

1. Yeast extract Peptone Dextrose agar (YPD agar)

Yeast extract	10 g
Peptone	20 g
Dextrose	20 g
Agar	15 g
Distilled water	1000 ml

2. Potato Dextrose agar (PDA)

Peptone	200 g
Dextrose	20 g
Agar	15 g
Distilled water	1000 ml

3. Standard plate count agar method (SPC / PCA)

Yeast extract	2.5 g
tryptone	5.0 g
Dextrose	1.0 g
Agar	15 g
Distilled water	1000 ml

4. Yeast Fermentation Medium

Basal medium ;

Yeast extract	4.5 g
Peptone	7.5 g
Distilled water	1000 g
Bromthymol blue (1.6 % solution)	1.0 ml

ปรับ pH 7.0 จนได้สีเขียว

- นำ Basal medium ใส่ในหลอดๆ ละ 5 ml แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ^{0}C นาน 15 นาที
- เมื่อเย็นแล้วเติมน้ำตาลที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการกรองลงไป 1.5 ml (สารละลาย 6 % แต่ยกเว้น ราฟฟิโนสใช้ 12 %)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

5. Gorodkuowa Agar

Peptone	10 g
Glucose	1.0 g
NaCl	5.0 g
Agar	30 g
Distilled water	1000 ml

6. SS agar (Salmonella Shigella Agar)

Peptone	10 g
Lactose	10 g
Ox bile	8.5 g
Sodium citrate	10 g
Sodium thiosulfate	8.5 g
Ammonium iron (lll)citrate	1.0 g
Brilliant green	0.0003 g
Neutral red	0.025 g
Agar-agar	12.0 g
Distilled water	1000 ml

7. EMB Agar (Eosin Methylene- blue Lactose Sucrose Agar)

Peptone	10 g
di-potassium hydrogen phosphate	2.0 g
Lactose	5.0 g
Sucose	5.0 g
Eosin Y ,yellowish	0.4 g
Methylene blue	0.07 g
Agar-agar	12.0 g
Distilled water	1000 ml

8. Violet Red bile Agar (VRB agar)

Peptone (meat)	7.0 g
Yeast extract	3.0 g
NaCl	5.0 g
Lactose	10 g

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Neutral red	0.03 g
Bile salt mixture	1.5 g
Crystal violet	0.002 g
Agar-agar	13.0 g
Distilled water	1000 ml

9. Fluorocult *E. coli* 0157:H7

Peptone (casein)	20 g
Meat extract	2.0 g
Yeat extract	1.0 g
Sorbitol	10.0g
Ammonium iron (lll)citrate	0.5 g
NaCl	5.0 g
Bromthymol blue	0.025 g
Sodium thiosulfate	2.0 g
Sodium deoxycholate	1.12 g
4-methlylumbelliferyl -β-D-glucuronide	0.1 g
Agar-agar	13.0 g
Distilled water	1000 ml

10. Chromocult Agar

Peptone	3.0 g
NaCl	5.0 g
Sodium dihydrogen phosphate	2.2 g
di- Sodium hydrogen phosphate	2.7 g
tryptophan	1.0 g
sodium pyruvate	1.0 g
Tergitol 7	0.15 g
Sorbitol	1.0 g
Chromogenic mix	0.4 g
Agar-agar	10.0 g
Distilled water	1000 ml

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

11. Dextrose Tryptone Agar

Peptone (casein)	10 g
D(+)glucose	5.0 g
Bromocresol purple	0.04 g
Agar-agar	12.0 g

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. **Standard plate count agar method " SPC"**

1.1 ชั่งตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป plate count agar 14.1 g สำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 600 ml

1.2 นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ชั่งเรียบร้อยแล้วใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 1000 ml

1.3 ใช้กระบอกตวงขนาด 1000 ml ตวงน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณขนาด 600 ml ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 1000 ml เขย่าให้เข้ากัน

1.4 นำไปต้มในไมโครเวฟจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายและสุก โดยสังเกตว่าไม่มีเม็ดเล็กๆ เกาะข้าง flask

1.5 ใช้ถ้วยตวงพลาสติกแบบมีหูจับขนาด 250 ml ตวงอาหารเลี้ยงเชื้อที่หลอมเรียบร้อยแล้วให้ได้ปริมาณ 200 ml

1.6 เทลงในขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปิดจุกสำลีแล้วปิดฝาขวดไม่ต้องแน่น

1.6 นำขวดที่ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ใส่ลงในตะกร้าสำหรับเข้า Autoclave นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclaveที่อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

1.7 *นำอาหารเลี้ยงเชื้อออกจาก Autoclave หมุนปิดฝาให้แน่นทันที ที่นำออกมาจาก* Autoclave แล้วนำไปเก็บที่ตู้บ่ม 55 ^{0}C

2. **Potato Dextrose agar (PDA)**

2.1 ชั่งตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Potato Dextrose agar 25.0 g สำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 600 ml

2.2 นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ชั่งเรียบร้อยแล้วใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 1000 ml

2.3 ใช้กระบอกตวงขนาด 1000 ml ตวงน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณขนาด 600 ml ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 1000 ml เขย่าให้เข้ากัน

2.4 นำไปต้มในไมโครเวฟจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายและสุก โดยสังเกตว่าไม่มีเม็ดเล็กๆ เกาะข้าง flask

2.5 ใช้ถ้วยตวงพลาสติกแบบมีหูจับขนาด 250 ml ตวงอาหารเลี้ยงเชื้อที่หลอมเรียบร้อยแล้วให้ได้ปริมาณ 200 ml

2.6 เทลงในขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปิดจุกสำลีแล้วปิดฝาขวดไม่ต้องแน่น

2.7 นำขวดที่ใสอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ใส่ลงในตะกร้าสำหรับเข้า Autoclave นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclaveที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2.8 นำอาหารเลี้ยงเชื้อออกจาก Autoclave หมุนปิดฝาให้แน่นทันที ที่นำออกมาจาก Autoclave แล้วนำไปเก็บที่ตู้บ่ม 55 °C

3. Violet Red bile Agar (VRB agar)

3.1 ชั่งตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Violet Red bile Agar มาชั่งตามปริมาณที่แจ้งไว้บนฉลากข้างกระปุกของอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป เพราะในแต่ละ Lots ของอาหารเลี้ยงเชื้อจะใช้ปริมาณไม่เท่ากัน จึงต้องอ่านฉลากทุก Lots สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ 350 ml

3.2 นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ชั่งเรียบร้อยแล้วใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 ml

3.3 ใช้กระบอกตวงขนาด 1000 ml ตวงน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณขนาด 350 ml ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 1000 ml เขย่าให้เข้ากัน

3.4 นำไปต้มในไมโครเวฟจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายและสุก โดยสังเกตว่าไม่มีเม็ดเล็กๆ เกาะข้าง flask และอาหารเลี้ยงเชื้อเดือด 2 รอบ

4. EMB Agar (Eosin Methylene- blue Lactose Sucrose Agar)

4.1 ชั่งตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป EMB Agar 7.2 g สำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 200 ml

4.2 นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ชั่งเรียบร้อยแล้วใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 ml

4.3 ใช้กระบอกตวงขนาด 1000 ml ตวงน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณขนาด 350 ml ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 1000 ml เขย่าให้เข้ากัน

4.4 นำไปต้มในไมโครเวฟจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายและสุก โดยสังเกตว่าไม่มีเม็ดเล็กๆ เกาะข้าง flask และอาหารเลี้ยงเชื้อเดือด 2 รอบ

4.5 นำ flask ที่หลอมอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ใส่ลงในตะกร้าสำหรับเข้า Autoclave นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclaveที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

4.6 นำอาหารเลี้ยงเชื้อออกจาก Autoclave หมุนปิดฝาให้แน่นทันที ที่นำออกมาจาก Autoclaveแล้วนำไปเก็บที่ตู้บ่ม 55 °C

5. **Dextrose Tryptone Agar**

5.1 ชั่งตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Dextrose Tryptone Agar 27 g สำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 1000 ml

5.2 นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ชั่งเรียบร้อยแล้วใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 1000 ml

5.3 ใช้กระบอกตวงขนาด 250 ml ตวงน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณขนาด 1000 ml ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 1000 ml เขย่าให้เข้ากัน

5.4 นำไปต้มในไมโครเวฟจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายและสุก โดยสังเกตว่าไม่มีเม็ดเล็กๆ เกาะข้าง flask

5.5 ใช้ถ้วยตวงพลาสติกแบบมีหูจับขนาด 250 ml ตวงอาหารเลี้ยงเชื้อที่หลอมเรียบร้อยแล้วให้ได้ปริมาณ 200 ml

5.6 เทลงในขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปิดจุกสำลีแล้วปิดฝาขวดไม่ต้องแน่น

5.7 นำขวดที่ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ใส่ลงในตะกร้าสำหรับเข้า Autoclave นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclaveที่อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

5.8 นำอาหารเลี้ยงเชื้อออกจาก Autoclave หมุนปิดฝาให้แน่นทันที ที่นำออกมาจาก *Autoclave แล้วนำไปเก็บที่ตู้บ่ม 55 ^{0}C*

6. **Yeast extract Peptone Dextrose agar**

6.1 ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปตามสูตร สำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD agar 200 ml

Yeast extract	2.0 g
Peptone	4.0 g
Dextrose	4.0 g
Agar	3.0 g

6.2 นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ชั่งเรียบร้อยแล้วใส่ลงในErlenmeyer flask ขนาด 250 ml

6.3 ใช้กระบอกตวงขนาด 100 ml ตวงน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณขนาด 200 ml ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml เขย่าให้เข้ากัน

6.4 นำไปต้มในไมโครเวฟจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายและสุก โดยสังเกตว่าไม่มีเม็ดเล็กๆ เกาะข้าง flask และอาหารเลี้ยงเชื้อเดือด 2 รอบ ปิดฝาด้วย Aluminum foil

6.5 นำ flask ที่หลอมอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ใส่ลงในตะกร้าสำหรับเข้า Autoclave นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

6.6 นำอาหารเลี้ยงเชื้อออกจาก Autoclave ที่นำออกมาจาก Autoclave แล้วนำไปเก็บที่ตู้บ่ม 55 ^{0}C

7 Gorodkuowa Agar

7.1 ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปตามสูตร สำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Gorodkuowa Agar 200 ml

Peptone	2.0 g
Glucose	0.2 g
NaCl	1.0 g
Agar	6.0 g

7.2 นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ชั่งเรียบร้อยแล้วใส่ลงในErlenmeyer flask ขนาด 250 ml

7.3 ใช้กระบอกตวงขนาด 100 ml ตวงน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณขนาด 200 ml ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml เขย่าให้เข้ากัน

7.4 นำไปต้มในไมโครเวฟจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายและสุก โดยสังเกตว่าไม่มีเม็ดเล็กๆ เกาะข้าง flask และอาหารเลี้ยงเชื้อเดือด 2 รอบ

7.5 ปิดฝาด้วย aluminum foil นำ flask ที่หลอมอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ใส่ลงในตะกร้าสำหรับเข้า Autoclave นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclaveที่อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

7.6 นำอาหารเลี้ยงเชื้อออกจาก Autoclave แล้วนำไปเก็บที่ตู้บ่ม 55 ^{0}C

8 Fluorocult *E. coli*

8.1 ชั่งตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Fluorocult *E. coli* 11 g สำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 200 ml

8.2 นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ชั่งเรียบร้อยแล้วใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml

8.3 ใช้กระบอกตวงขนาด 250 ml ตวงน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณขนาด 200 ml ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml เขย่าให้เข้ากัน

8.4 นำไปต้มในไมโครเวฟจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายและสุก โดยสังเกตว่าไม่มีเม็ดเล็กๆ เกาะข้าง flask

8.5 ปิดฝาด้วย aluminum foil นำ flask ที่หลอมอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ใส่ลงในตะกร้าสำหรับเข้า Autoclave นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclaveที่อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

8.6 นำอาหารเลี้ยงเชื้อออกจาก Autoclave ออกมาจาก Autoclave แล้วนำไปเก็บที่ตู้บ่มอุณหภูมิ 55 ^{0}C

9 Chromocult Agar

9.1 ชั่งตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Chromocult Agar 7.2 g สำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 200 ml

9.2 นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ชั่งเรียบร้อยแล้วใสลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 1000 ml

9.3 ใช้กระบอกตวงขนาด 100 ml ตวงน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณขนาด 200 ml ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml เขย่าให้เข้ากัน

9.4 นำไปต้มในไมโครเวฟจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายและสุก โดยสังเกตว่าไม่มีเม็ดเล็กๆ เกาะข้าง flask แล้วปิดฝาด้วย Aluminum foil

9.5 นำ flask ที่หลอมอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ใส่ลงในตะกร้าสำหรับเข้า Autoclave นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

9.6 นำอาหารเลี้ยงเชื้อออกจาก Autoclave ที่นำออกมาจาก Autoclave แล้วนำไปเก็บที่ตู้บ่ม 55 ^{0}C

10 SS agar (Salmonella Shigella Agar)

10.1 ชั่งตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป SS agar 12 g สำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 200 ml

10.2 นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ชั่งเรียบร้อยแล้วใสลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 1000 ml

10.3 ใช้กระบอกตวงขนาด 100 ml ตวงน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณขนาด 200 ml ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml เขย่าให้เข้ากัน

10.4 นำไปต้มในไมโครเวฟจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายและสุก โดยสังเกตว่าไม่มีเม็ดเล็กๆ เกาะข้าง flask ปิดฝาด้วย Aluminum foil

10.5 นำ flask ที่หลอมอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ใส่ลงในตะกร้าสำหรับเข้า Autoclave นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

10.6 นำอาหารเลี้ยงเชื้อออกจาก Autoclave ที่นำออกมาจาก Autoclave แล้วนำไปเก็บที่ตู้บ่ม 55 ^{0}C

11 Yeast Fermentation Medium

11.1 ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปตามสูตร สำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Gorodkuowa Agar 200 ml

Basal medium ;

Yeast extract	4.5 g
Peptone	7.5 g
Distilled water	1000 g
Bromthymol blue (1.6 % solution)	1.0 ml

ปรับ pH 7.0 จนได้สีเขียว

11.2 นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ชั่งเรียบร้อยแล้วใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml

11.3 ใช้กระบอกตวงขนาด 100 ml ตวงน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณขนาด 200 ml ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml เขย่าให้เข้ากัน

11.4 ปิดฝาด้วย aluminum foil นำ flask ที่หลอมอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ใส่ลงในตะกร้าสำหรับเข้า Autoclave นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

11.5 นำอาหารเลี้ยงเชื้อออกจาก Autoclaveเมื่อเย็นแล้วเติมน้ำตาลที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการกรองลงไป 100 ml (สารละลาย 6 % แต่ยกเว้น ราฟฟิโนสใช้ 12 %) แล้วนำไปเก็บที่ตู้บ่ม 55 ^{0}C

การเตรียมสารละลาย

1. สารละลาย 0.85 % NaCl

1.1 ตวงน้ำกลั่นด้วยกระบองตวง 100 ml ให้ได้ปริมาตร 100 ml เทลงในบีกเกอร์ขนาด 250 ml

1.2 ชั่ง NaCl 0.85 g เทลงในบีกเกอร์ในข้อ 1 ใช้แท่งแก้วคนให้สารละลาย NaCl ละลาย

1.3 ปิเปต สารละลาย 0.85 % NaCl ปริมาตร 9 ml หรือ 9.9 ml ลงในหลอดทดลอง

1.4 ปิดฝาหลอดทดลอง ไม่ต้องแน่น แล้วเรียงลงใน rack ก่อนลงในตะกร้าสำหรับใส่ใน Autoclave

1.5 นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclaveที่อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที เมื่อครบเวลานำอุปกรณ์ออกจาก Autoclave และปิดฝาให้สนิททันที ทิ้งไว้รอใช้งาน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2. **TTC (2 ,3,5 Triphenyl tertrazolium chloride)**

2.1 ตวงน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 ml ใส่ลงในขวดแก้วขนาด 250 ml ปิดฝาขวด ใส่ลงในตะกร้าสำหรับเข้า Autoclave แล้วนำไปฆ่าเชื้อใน Autoclaveที่อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2.2 ชั่งสาร TTC (2 ,3,5 Triphenyl tertrazolium chloride) ให้ได้ 0.5 กรัม เทลงในขวดแก้วจากข้อ 2.1 (ซึ่งตั้งทิ้งไว้จนเย็นแล้ว) ผสมให้ TTC (2 ,3,5 Triphenyl tertrazolium chloride) ละลายจนหมด

2.3 นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclaveที่อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที เสร็จแล้วทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำไปใช้

3. **Ethyl alcohol 70 %**

3.1 ตวง Ethyl alcohol 95 % มา 74 mlด้วย กระบอกตวง ขนาด 100 ml

3.2 เติมน้ำกลั่นลงในกระบอกตวงจากข้อ 3.1 จนได้ปริมาณ 100 ml

3.3 เทสารในกระบอกตวงลงในขวดหรือ foggy แล้วเขย่าให้เข้ากัน จะได้ Ethyl alcohol 70 %

4. **10 % Tartaric acid**

4.1 ตวงน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณ 100 ml เทลงในขวด หรือ Flask ปิดปากขวดหรือด้วย aluminum foil จากนั้น นำไปฆ่าเชื้อ เน Autoclaveทอุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

4.2 ชั่ง Tartaric acid 10 กรัม เทลงในขวดจากข้อ 4.1 (ซึ่งตั้งทิ้งไว้จนเย็นแล้ว) ผสมให้ Tartaric acid ละลายจนหมด

การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำ โดยใช้ Membrane filter technique

อุปกรณ์

1. suction flask ขนาด 500 หรือ 1000 ml
2. suction pump
3. สายยาง
4. filter ขนาด 47 mm
5. forceps ปลายแหลม
6. aluminum clamp
7. filter holder และจุกยาง
8. filter funnel
9. plate ที่เท media sterile และทิ้งให้แข็งตัว

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิธีการ

1. นำ filter holder และ filter funnel ห่อด้วย aluminum foil ส่วน filter (กรณีที่ไม่ใช่แบบ sterile) ให้ใส่ลงใน plate นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 ^{0}C ความดัน 15 psi นาน 20 นาที
2. ต่ออุปกรณ์ทั้งหมดเข้าด้วยกัน โดยงานทั้งหมดต้องทำใน Laminar flow
3. วาง Sterile filter บน filter holder ด้วยวิธี aseptic technique
4. วาง filter funnel บน filter holder แล้วใช้ aluminum clamp ยึดเข้าด้วยเข้าด้วยกัน
5. เทตัวอย่างลงใน filter funnel ให้ได้ 100 ml แล้วเปิด power on ให้ suction pump ทำงาน
6. หลังจากตัวอย่างถูกกรองผ่าน filter หมดแล้วปิด suction pump จากนั้นถอด aluminum clamp และ filter funnel อาจใช้ forceps คีบ filter วางบน agar ที่เตรียมไว้
7. นำไปบ่มที่สภาวะที่เหมาะสมตามชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บรรณานุกรม

บริษัท ดัชมิลล์ จำกัด ,เอกสารระบบคุณภาพและการจัดการสิ่งแวดล้อม แผนก QSM สำเนาฉบับที่ 117 ,นครปฐม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี