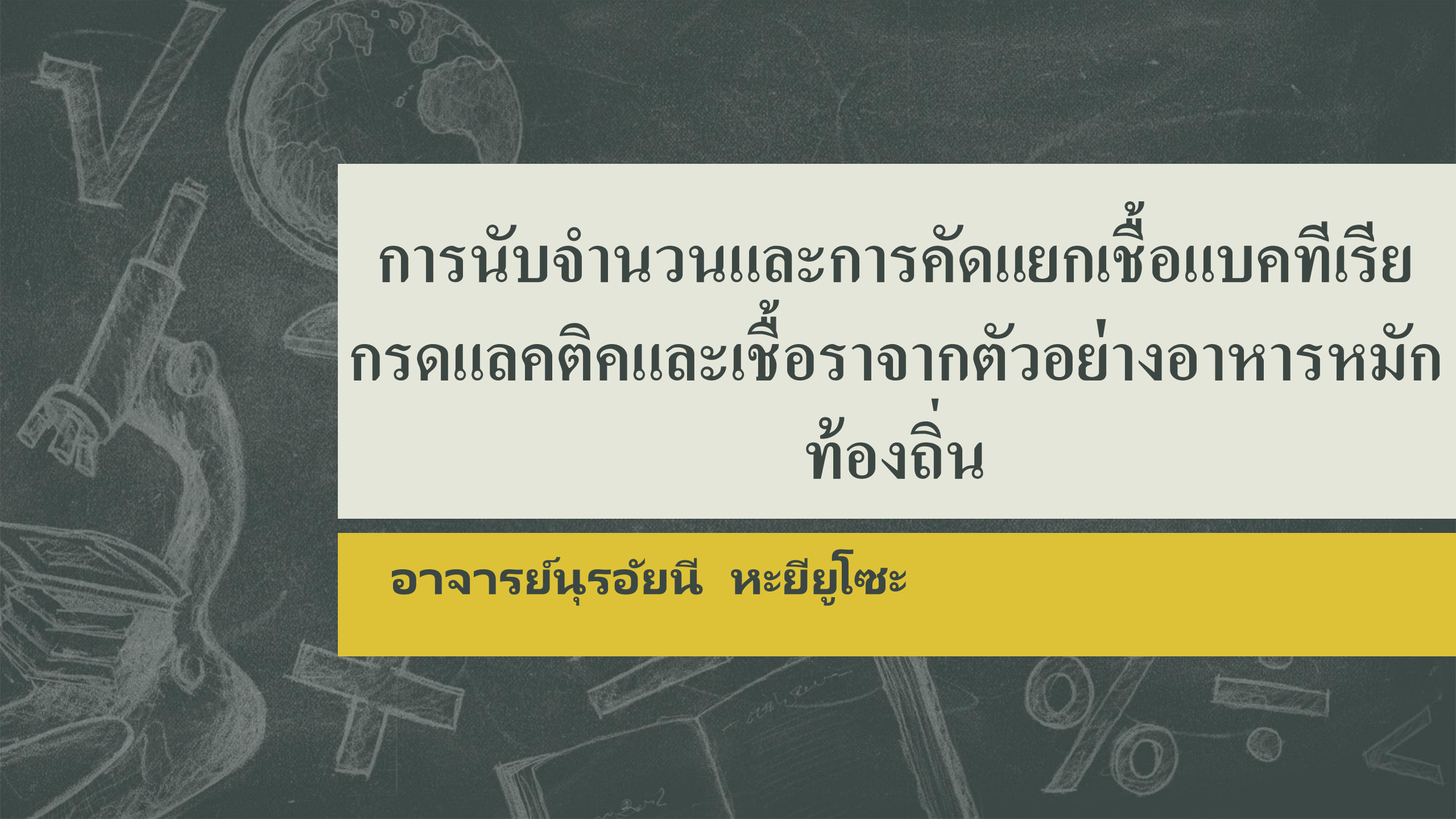




การนับจำนวนและการคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย กรดแลคติกและเชื้อราจากตัวอย่างอาหารหมัก ท้องถิ่น

อาจารย์นุรฮัยนี หะยียูโซะ

วัตถุประสงค์

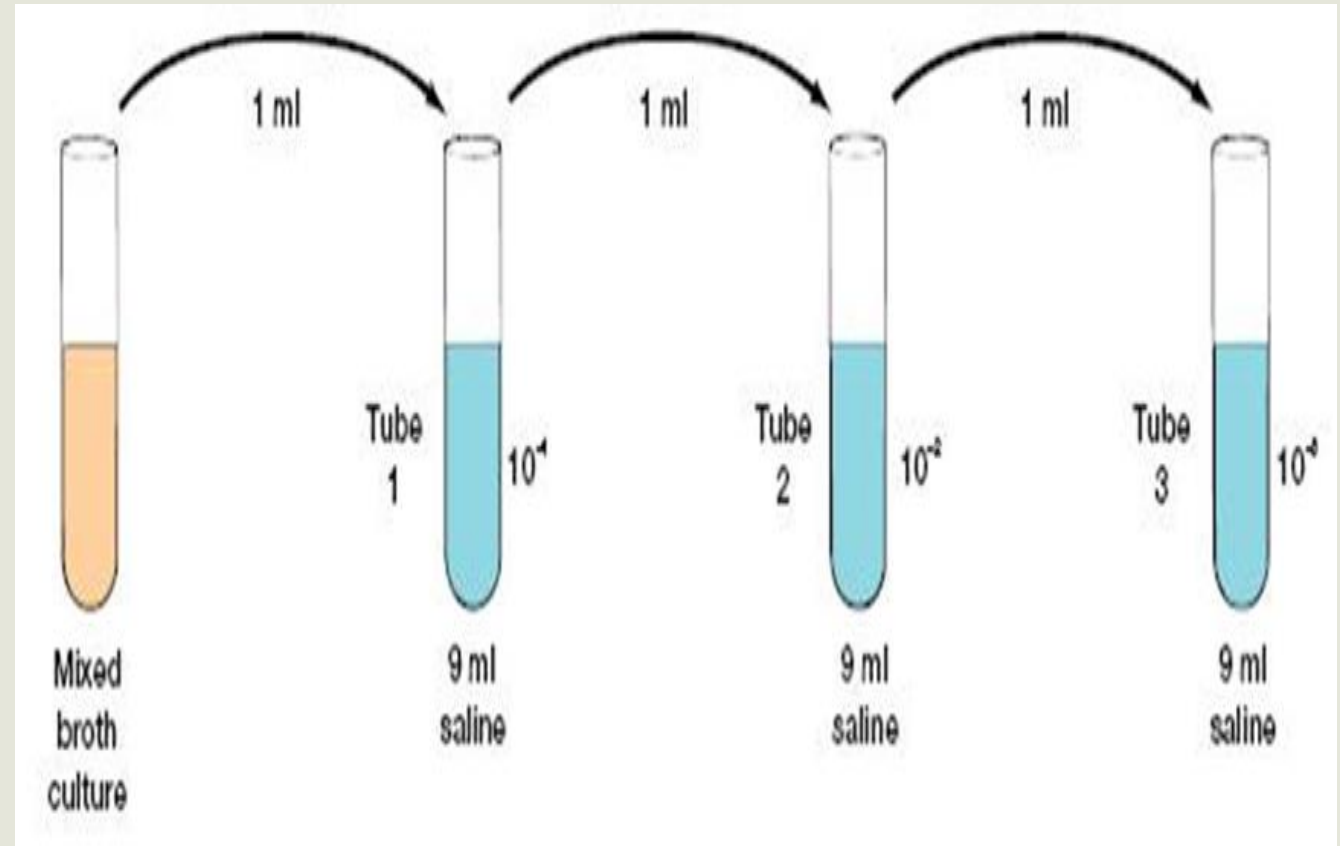
1. เพื่อให้นักศึกษาเทคนิคพื้นฐานเกี่ยวกับทางจุลชีววิทยาการคัดเลือกเชื้อทางอุตสาหกรรมได้
2. มีทักษะการทำ Serial dilution, Spread plate และ Streak plate
3. เพื่อให้นักศึกษาเรียนรู้และเข้าใจเกี่ยวกับข้อควรระวังและความปลอดภัยในการปฏิบัติงาน

บทปฏิบัติการที่ 2
การนับจำนวนและทดสอบยาแบคทีเรียการทดสอบความไว
จากตัวอย่างอาหารที่รับประทาน
อาจารย์ นุรฮัยนี

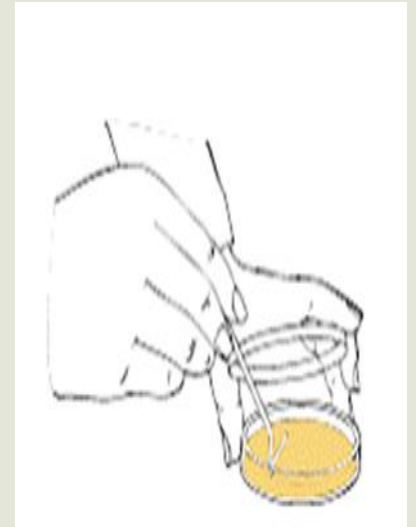
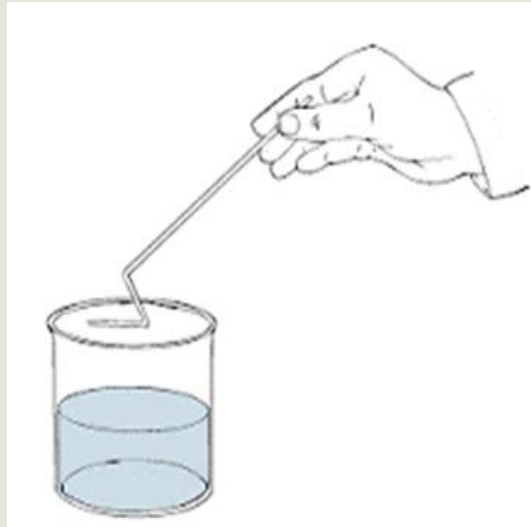
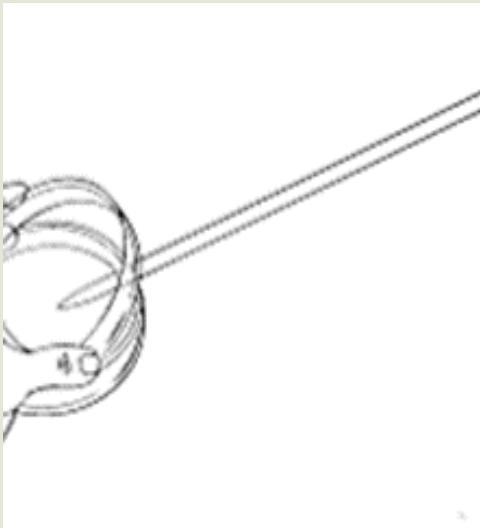


การเจือจางแบบ 10 serial dilutions

1. ปิเปต 1 ml ชัสเพนชันของเชื้อตั้งต้น (100) มาใส่หลอดที่มีน้ำเกลือ (0.85 % NaCl) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 9 ml ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ เขย่าให้เข้ากัน จะได้เป็นชัสเพนชันของเชื้อที่ 10^{-1}
2. ปิเปตชัสเพนชันของเชื้อที่ได้ (10^{-1}) 1 ml ใส่หลอดที่มีน้ำเกลือ (0.85 % NaCl) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 9 ml ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ เขย่าให้เข้ากัน จะได้เป็นชัสเพนชันของเชื้อที่ 10^{-2}
3. ปิเปตชัสเพนชันของเชื้อที่ได้ (10^{-2}) 1 ml ใส่หลอดที่มีน้ำเกลือ (0.85 % NaCl) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 9 ml ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ เขย่าให้เข้ากัน จะได้เป็นชัสเพนชันของเชื้อที่ 10^{-3}
4. นำไปทดลองต่อในขั้นต่อไป : การเพาะเชื้อแบบ Spread Plate



Spread plate



ขั้นตอนเพาะเชื้อด้วยเทคนิค spread plate technique

การเพาะเชื้อแบบ Spread Plate

การเพาะเชื้อแบบ spread plate

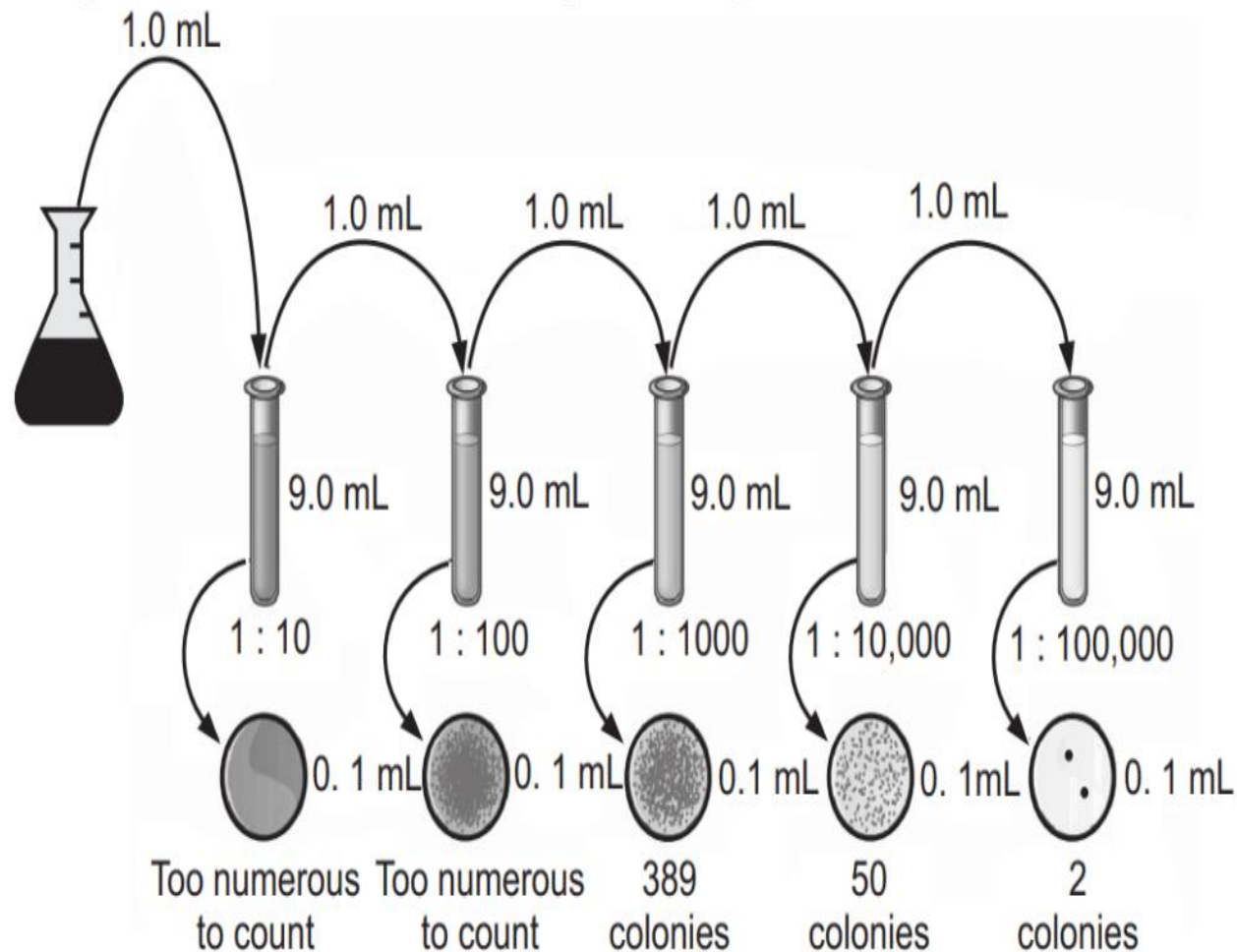
เตรียมจานเพาะเชื้อ (เพล้า) เขียนชื่อ-สกุล วันที่ทำการทดลองที่ด้านล่างของจานเพาะเชื้อ

- เตรียมอาหาร MRS agar (สำหรับแบคทีเรียกรดแลคติก) และ PDA ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

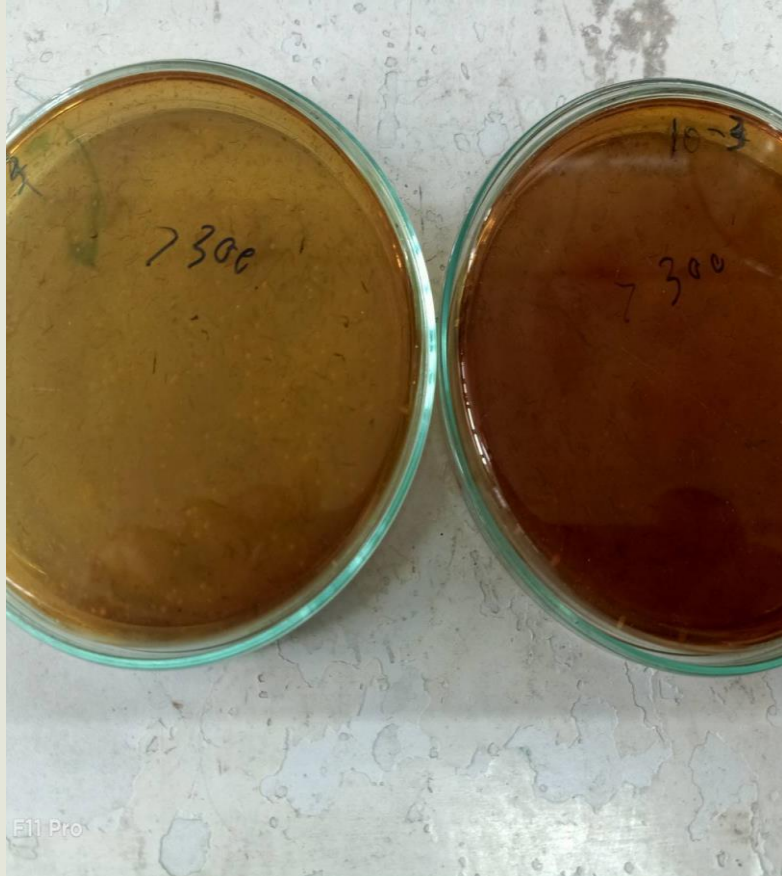
- เตรียมปิเปตขนาด 1 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

- ปิเปตซัสเพนชันของเชื้อที่อัตราการเจือจาง 10^{-2} 10^{-3} 10^{-4} ปริมาตร 0.1 ml ปล่อยลงในจานเพาะเชื้อด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ

- ใช้ spreader ที่ฆ่าเชื้อแล้วหมุนจานเพาะเชื้อเพื่อให้เชื้อกระจายให้ทั่วบนผิวหน้าอาหารแล้วจึงคว่ำจานเพาะเชื้อ สำหรับ อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS นำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง และบ่มใน candle jar ส่วน PDA นำไปบ่มที่ 28-30 องศาเซลเซียส นาน 2-3 วัน



ผลการทดลอง หลังบ่ม



คำนวณ จำนวนแบคทีเรียที่ได้

วิธีการคำนวณ

นับเฉพาะ dilution ที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี

คำนวณจากจำนวนโคโลนีในแต่ละ Dilution ที่นับได้

สูตร (หน่วยเท่ากับ CFU/ml)

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด = จำนวนโคโลนีที่นับได้/Dilution factor x จำนวนที่เอามาทำการหยด

หน่วยเท่ากับ CFU/ml

การทำให้เชื้อบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค Streak plate

1. ระบุชื่อ-สกุล นักศึกษา วันที่ทำการทดลองที่ด้านล่างของจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงอยู่
2. ใช้ลูปเขี่ยเชื้อ (Loop) เขี่ยเอาเชื้อออกจากหลอดที่มีเชื้อด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic technique)

