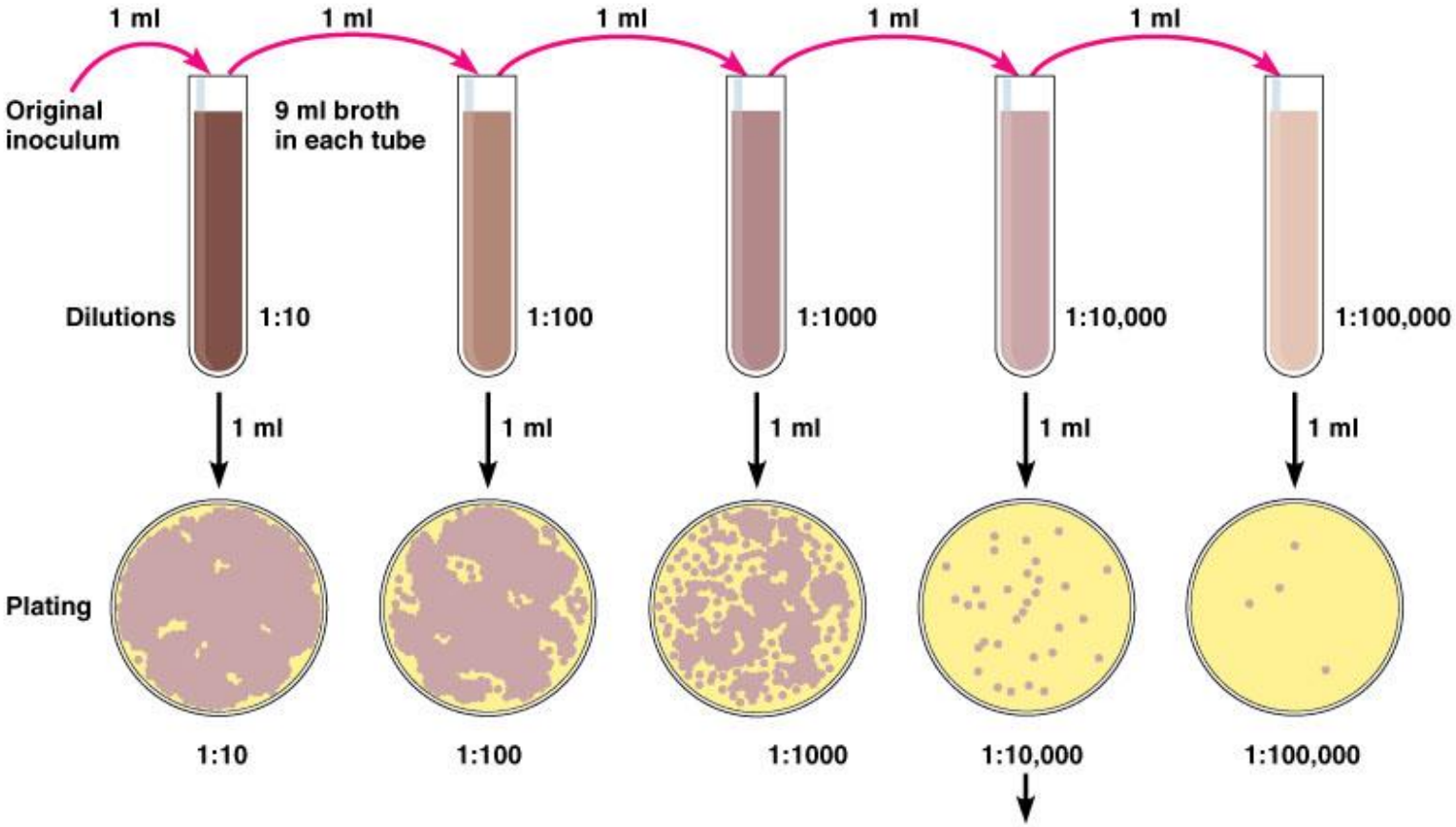
Plate count



Calculation: Number of colonies on plate × reciprocal of dilution of sample = number of bacteria/ml
(For example, if 32 colonies are on a plate of $^{1}/_{10,000}$ dilution, then the count is 32 × 10,000 = 320,000/ml in sample.)

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์

นอกจากองค์ประกอบของสารอาหารที่ใช้เลี้ยงจุลินทรีย์แล้ว สภาพแวดล้อมต่าง ๆก็มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วย สภาพแวดล้อมได้แก่

- **1. อุณหภูมิ(temperature)**

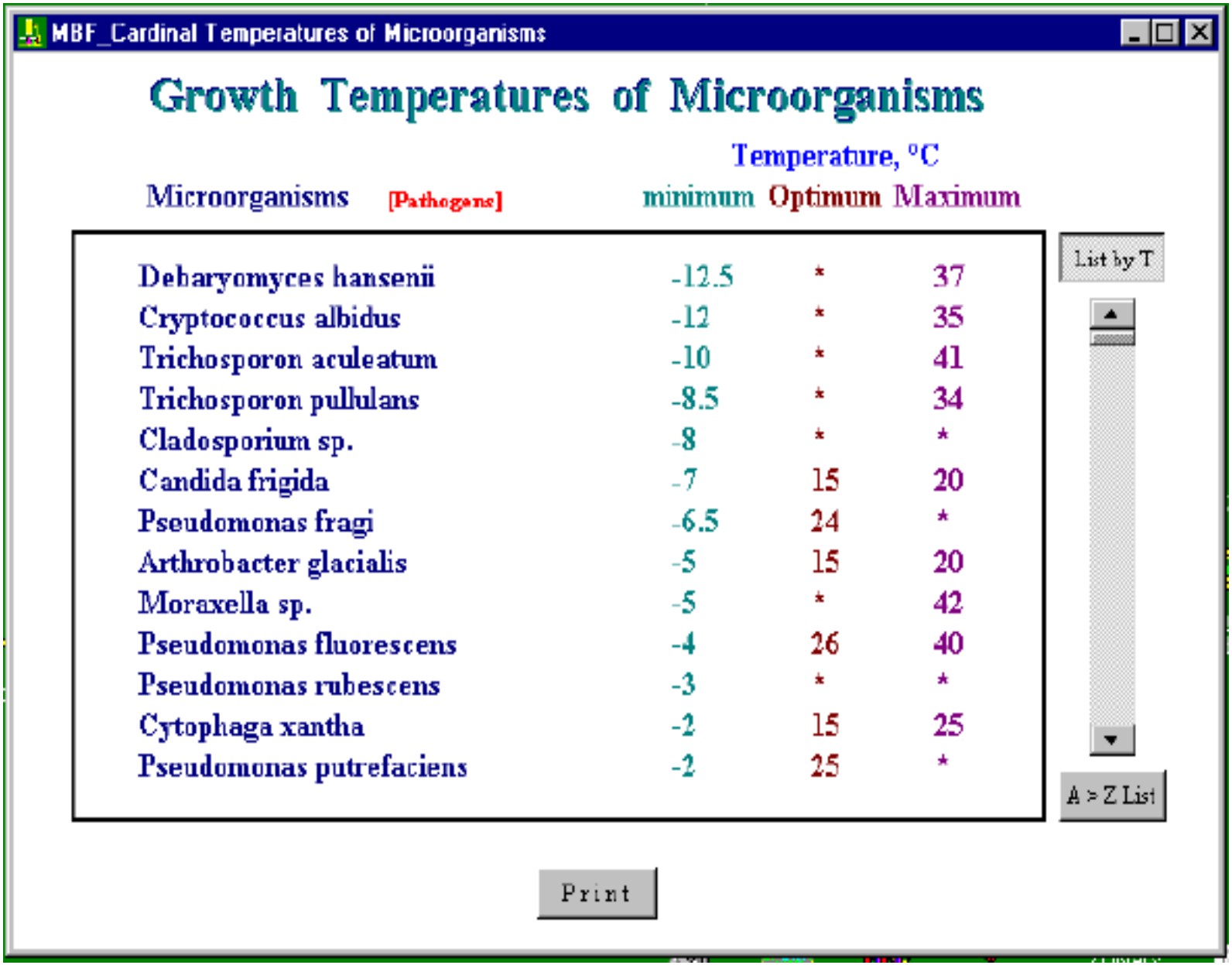
- จุลินทรีย์มีความต้องการอุณหภูมิเพื่อการเจริญเติบโตแตกต่างกัน อุณหภูมิที่จุลินทรีย์เจริญได้ จะอยู่ระหว่างอุณหภูมิสูงสุด(maximum temperature) และอุณหภูมิต่ำสุด(minimum temperature) ซึ่งถ้าอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่านี้ จุลินทรีย์จะไม่เจริญเติบโต

"อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเรียกว่า อุณหภูมิเหมาะสม(optimum temperature) อุณหภูมิทั้ง 3 ชนิดนี้ เรียกอุณหภูมิคาร์ดินัล (cardinal temperature)"

ตารางแสดงช่วงอุณหภูมิในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

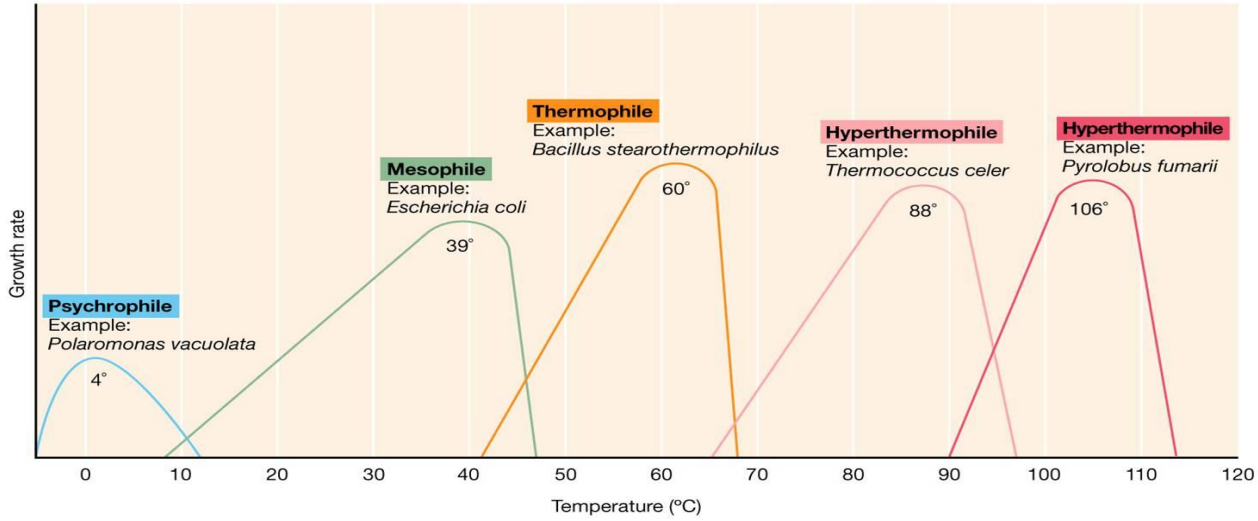
	อุณหภูมิในการเจริญ(องศาเซลเซียส)		
แบคทีเรีย	ต่ำสุด	เหมาะสม	สูงสุด
Pseudomonas fluorescens	4	35-30	40
Staphylococcus aureus	6.5	30-37	46
Thiobacillus thiooxidants	10	28-30	37

เห็นได้ว่าจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญที่แตกต่างกัน จึงสามารถแบ่งจุลินทรีย์ออกเป็น 3 กลุ่มดังนี้

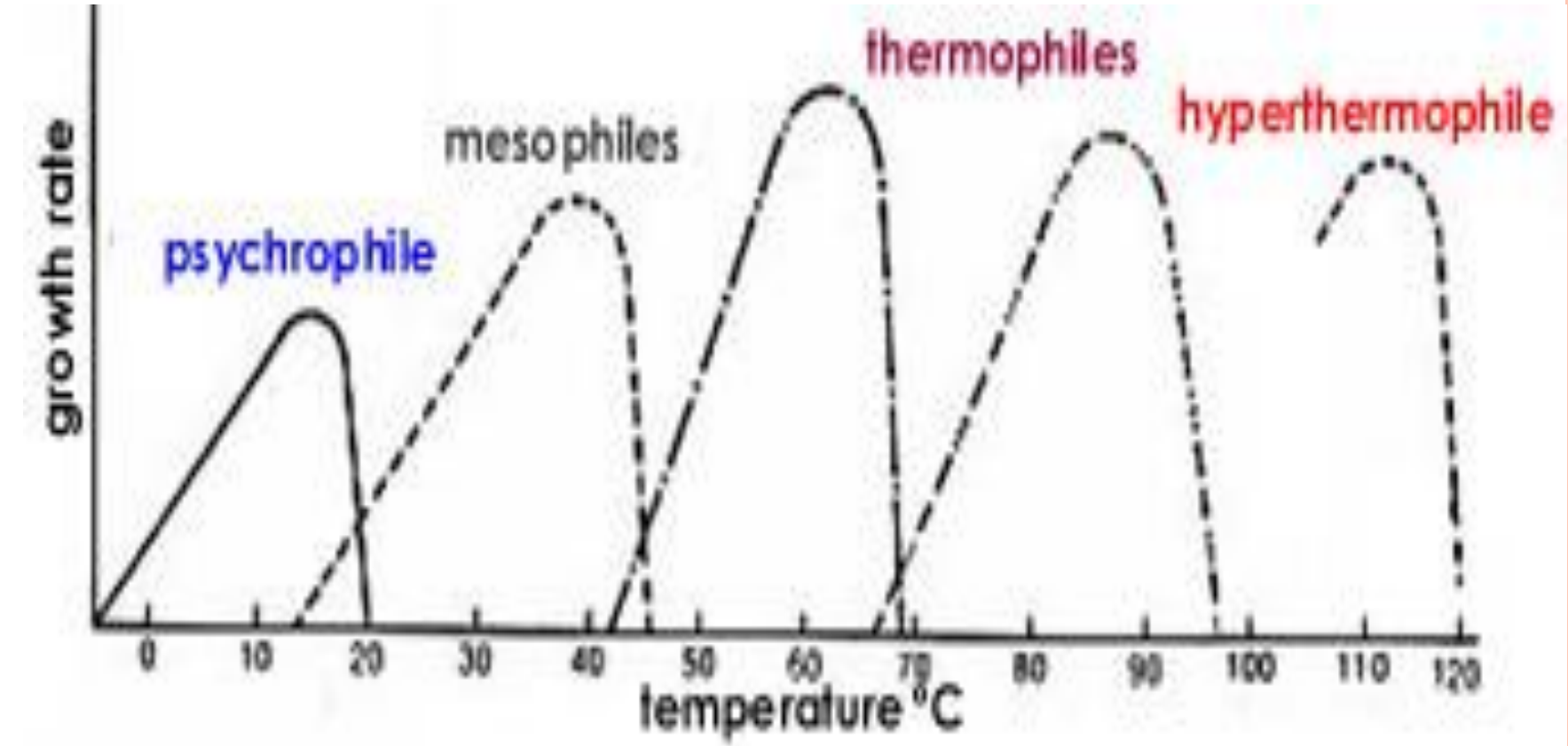

MBF_Cardinal Temperatures of Microorganisms
Growth Temperatures of Microorganisms
Temperature, °C
Microorganisms [Pathogens]
minimum Optimum Maximum
Deharyomyces hansenii -12.5 * 37
Cryptococcus albidus -12 * 35
Trichosporon aculeatum -10 * 41
Trichosporon pullulans -8.5 * 34
Cladosporium sp. -8 * *
Candida frigida -7 15 20
Pseudomonas fragi -6.5 24 *
Arthrobacter glacialis -5 15 20
Moraxella sp. -5 * 42
Pseudomonas fluorescens -4 26 40
Pseudomonas rubescens -3 * *
Cytophaga xantha -2 15 25
Pseudomonas putrefaciens -2 25 *
List by T
A > Z List
Print

ก. ไซโครไฟล์(psychrophile) เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่ 0 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 15 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า พวกนี้จัดเป็นไซโครไฟล์ที่แท้จริง (obligate psychrophile) อุณหภูมิสูงสุดที่เจริญคือ 30 องศาเซลเซียส

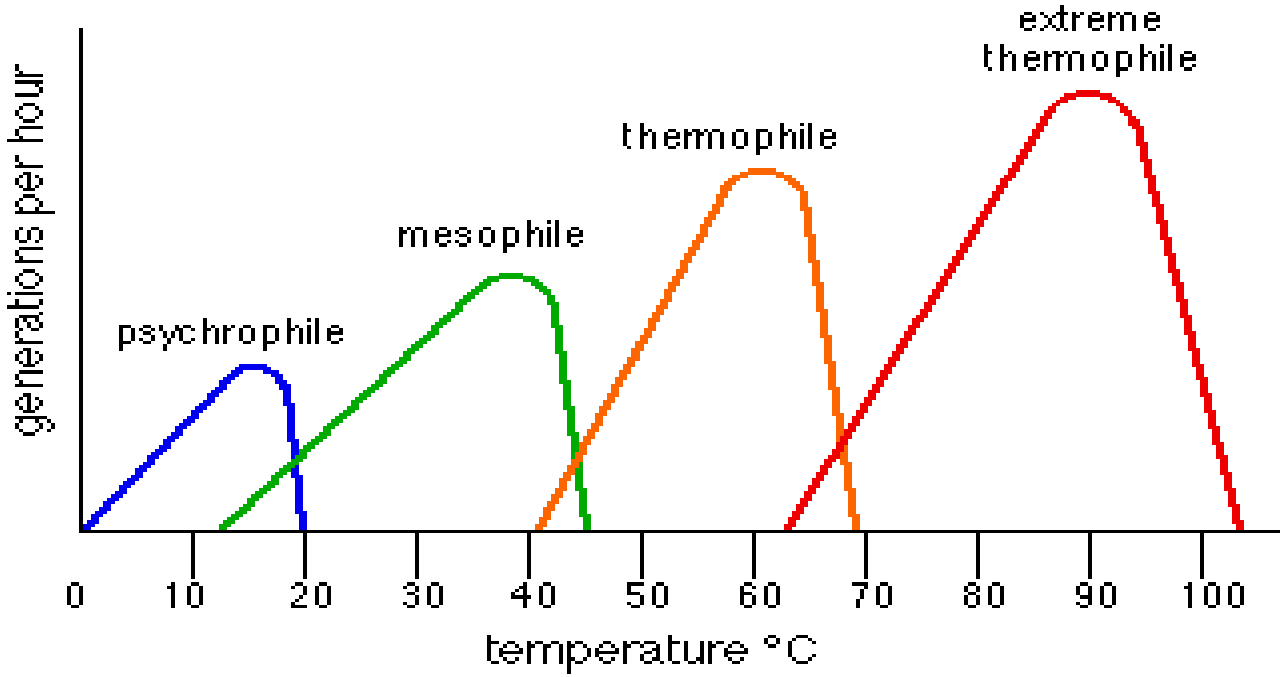
- บางพวกมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมระหว่าง 25–30 องศาเซลเซียส และมีอุณหภูมิสูงสุดในการเจริญคือ 35 องศาเซลเซียสจัดเป็น แฟคัลเตตัฟไซโครไฟล์ (facultative psychrophile) หรือ ไซโครโทรฟ(psychrotroph)



ข. มีโซไฟล์(mesophile) เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลางระหว่าง 25–40 องศาเซลเซียส โดยมีอุณหภูมิต่ำสุดที่จะเจริญได้ที่ 5–25 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมที่ 37 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้ที่ 43 องศาเซลเซียส ตัวอย่างมีโซฟิลิกแบคทีเรีย (mesophilic bacteria) เช่น ***Neisseria, Salmonella, Vibrio*** เป็นต้น

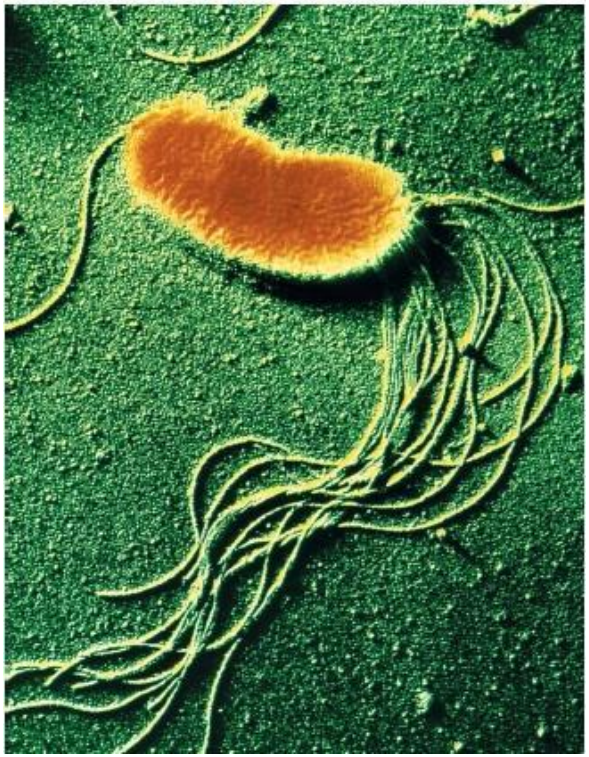


ค. เทอร์โมไฟล์(thermophile) เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิสูงระหว่าง 45–60 องศาเซลเซียส อุณหภูมิหมาะสมอยู่ระหว่าง 50–55 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้อยู่ระหว่าง 60–85 องศาเซลเซียส ตัวอย่างเทอร์โมฟิลิกแบคทีเรียได้แก่ ***Bacillus, Clostridium, Thermoactinomyces, Methanobacterium*** เทอรโมไฟล์บางช่วงเจริญมาในช่วงของมีโซไฟล์ จึงเรียกว่า แฟคัลเตตีฟเทอร์โมไฟล์(facultative thermophile) หรือเรียกว่า ยูริเทอร์โมไฟล์(eurithermophile) บางพวกเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส เรียกว่า เทอร์โมไฟล์แท้จริงหรือสตีโนเทอร์โมไฟล์(stenothermophile)

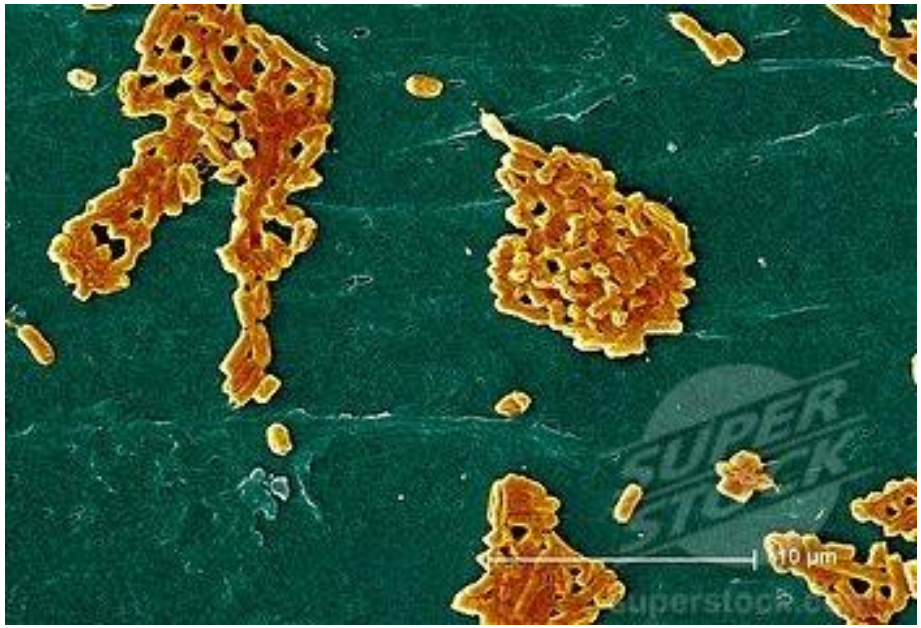


2. ก๊าซ(gases) ก๊าซจำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ คือออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ เราสามารถจำแนกจุลินทรีย์ออกเป็น 4 กลุ่ม ตามความต้องการออกซิเจน

1. จุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจน(aerobic microorganism หรือ aerobes) มีความต้องการออกซิเจนเพื่อใช้สร้างพลังงาน เนื่องจากไม่สามารถสร้างพลังงานโดยกระบวนการหมัก(fermentation) ได้ จึงถือว่าเป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนอย่างแท้จริง(obligate aerobes) ได้แก่ *Bacillus*, *Pseudomonas*



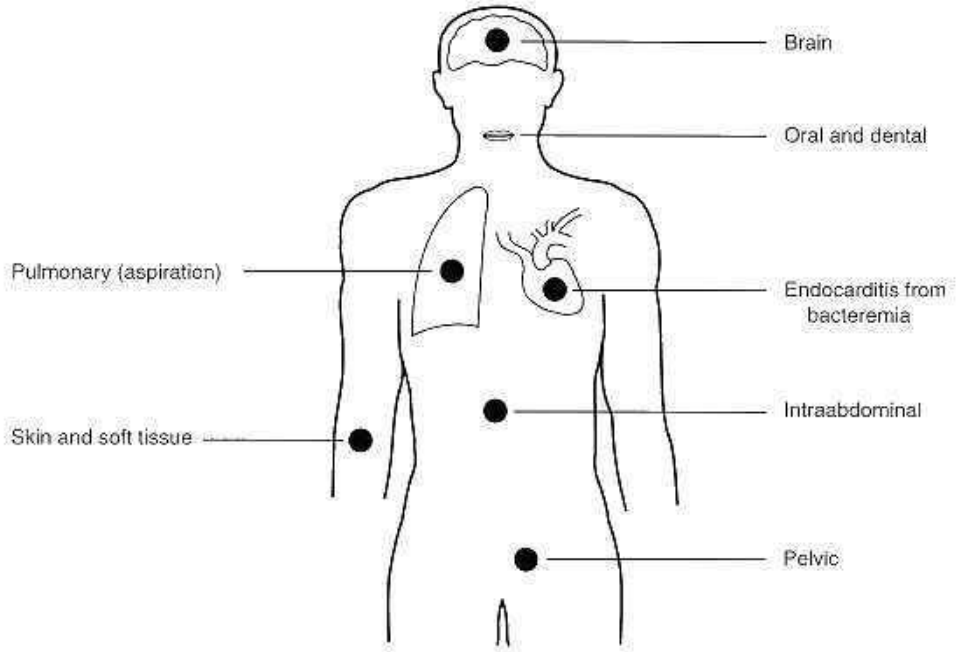
2. จุลินทรีย์ที่เจริญในที่มีออกซิเจนหรือไม่มีก็ได้(facultative microorganism) พวกนี้สามารถสร้างพลังงานได้จากกระบวนการหายใจหรือกระบวนการหมัก และไม่จำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในการสังเคราะห์ต่าง ๆ เช่น *Escherichia, Proteus,Enterobacter*



3. จุลินทรีย์ที่เจริญในที่มีออกซิเจนน้อย(microaerophilic microorganism) พวกนี้มีความต้องการออกซิเจนน้อยกว่า 0.2 บรรยากาศ อาจเนื่องจากออกซิเจนเป็นพิษต่อจุลินทรีย์เหล่านั้น เช่น ***Lactobacillus , Neisseria***

- **4. จุลินทรีย์ที่เจริญในที่ไม่มีออกซิเจน(anaerobic microorganisms)** เพราะออกซิเจนรวมกับน้ำเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งเป็นพิษ จุลินทรีย์พวกนี้ได้แก่ ***Clostridium, Methanobacterium***

Clostridium botulinum



การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนและพวกต้องการหรือไม่ต้องการออกซิเจนนั้น อาจเลี้ยงในสภาพปกติของห้องก็ได้ แต่พวกต้องการออกซิเจนควรเลี้ยงในอาหารที่มีการเขย่า หรือเลี้ยงในภาชนะต้นๆที่มีพื้นที่ผิวมากให้สัมผัสกับอากาศ หรืออาจอัดอากาศลงไปในอาหาร

ส่วนพวกไม่ต้องการออกซิเจน อาจทำได้หลายวิธี เช่น

1. การใช้การแทนที่อากาศด้วยก๊าซเฉื่อย โดยการดูดอากาศออกแล้วใส่ก๊าซอื่น เช่นก๊าซไนโตรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เข้าไปแทนที่

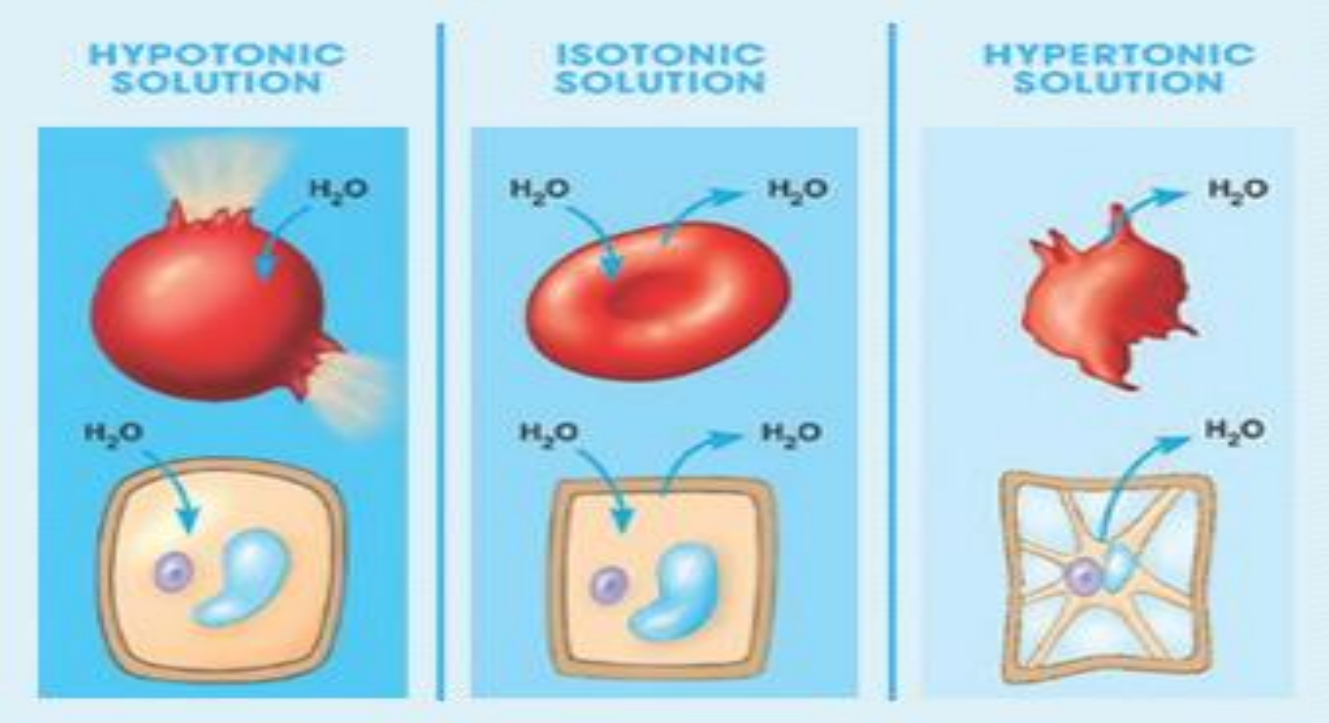
2. ใช้วีเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนไปเป็นสารอื่น เช่น จุดไฟหรือเทียนไขในภาชนะปิด ก๊าซออกซิเจนจะถูกไปใช้ในการเผาไหม้ เมื่อเปลวไฟดับแสดงว่า บรรยากาศในภาชนะมีแต่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

3. ความเป็นกรด-เบส

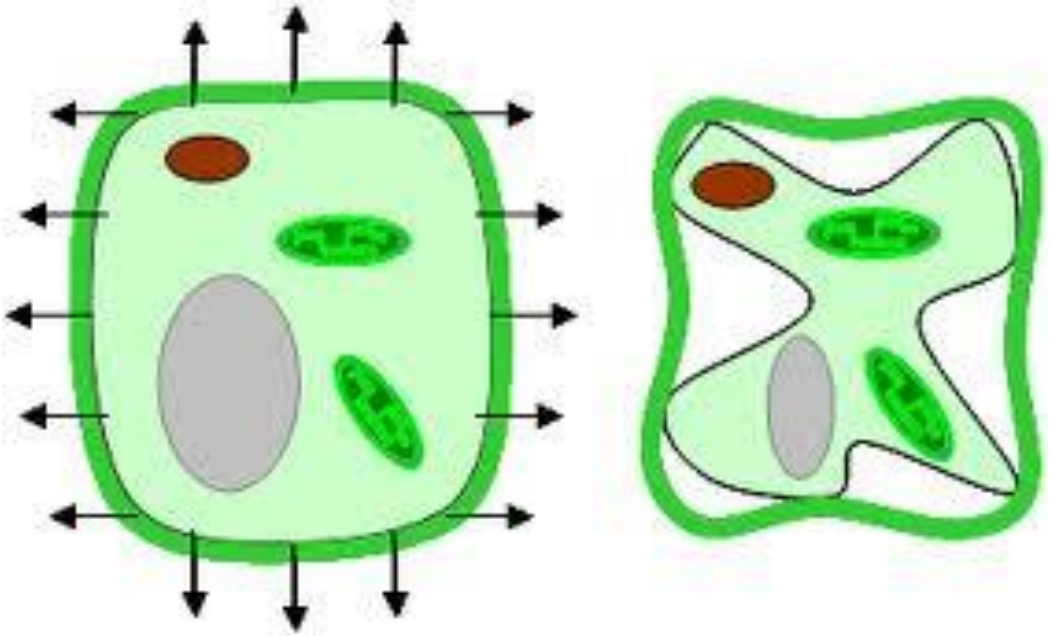
- แบคทีเรียส่วนใหญ่มีค่า pH ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 6.5-7.5 อนึ่งเมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารไปนานๆ จะทำให้ค่าความเป็นกรด-เบสของอาหารเปลี่ยนไป เนื่องมาจากจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตมาก และปล่อยสารบางอย่างออกมา อาจเป็นกรด-ด่างทำให้ pH เปลี่ยนไปมาก และเข้าไปขัดขวางการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วย ดังนั้นในการเตรียมอาหารต้องใส่สารบางอย่างทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ (buffer) ซึ่งเป็นสารต้านทานการเปลี่ยนค่าความเป็นกรด-ด่าง ตัวอย่างสารที่ทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์คือ KH_2PO_4, K_2HPO_4

4. แรงดันออสโมติก

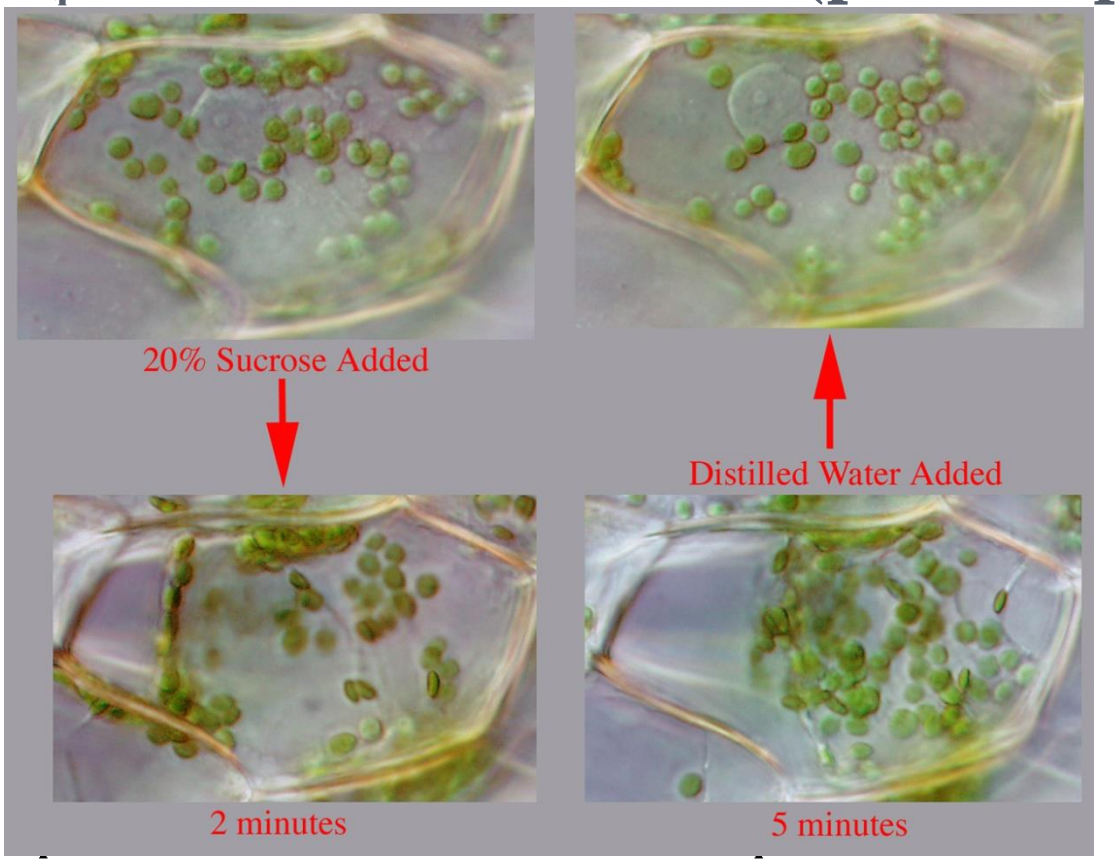
- กระบวนการออสโมซีสเกิดขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารในสารละลายที่อยู่ภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ไม่เท่ากัน ทำให้เกิดแรงดันออสโมติก สารละลายที่มีแรงดันออสโมติกสูงกว่าเรียกว่า สารละลายไฮเปอร์ทอนิก(hypertonic solution) ส่วนสารละลายที่มีแรงดันออสโมติกต่ำกว่า เรียกว่า สารละลายไฮโพทอนิก(hypotonic solution)



ถ้านำเซลล์แบคทีเรียใส่ในสารละลายน้ำเกลือเข้มข้น 20% สารละลายภายนอกเซลล์จะมีแรงดันออสโมติกสูงกว่าในเซลล์ น้ำจากในเซลล์จะไหลออกสู่ภายนอก ทำให้เซลล์เหี่ยว กระบวนการนี้เรียกว่า พลาสโมไลซีส (plasmolysis)



ในทางตรงข้าม ถ้านำแบคทีเรียใส่ในสารละลายน้ำเกลือเข้มข้น 0.01% น้ำจากภายนอกเซลล์จะไหลเข้าสู่เซลล์ทำให้เซลล์เต่งเรียกว่า พลาสมอฟซีส(plasmoplysis)



- แรงดันที่เกิดขึ้นดังกล่าวอาจทำให้เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงได้ เช่นเม็ดเลือดแดงแตกได้ แต่แบคทีเรียมีผนังเซลล์ที่แข็งแรง จึงไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและขนาดมากนัก เช่น อาจมีรูปร่างยาวกว่าปกติหรือรูปร่างไม่แน่นอน ดังนั้นการเลี้ยงแบคทีเรียจึงควรคำนึงถึงแรงดันออสโมติกที่เหมาะสมด้วย

แบ่งจุลินทรีย์ ตามความสามารถในการปรับตัวในสภาพแรงดันออสโมติกต่างกัน ดังนี้

- 1. พวกชอบแรงดันออสโมติก(osmophile) สามารถปรับตัวให้เหมาะกับที่มีแรงดันออสโมติกสูงๆ พร้อมทั้งเจริญและเพิ่มจำนวนด้วย เช่น ยีสต์ที่เจริญในที่มีน้ำตาลเข้มข้น เรียกว่า **saccharophile** หรือ พวกชอบน้ำตาล เช่น ***Saccharomyces bailii***

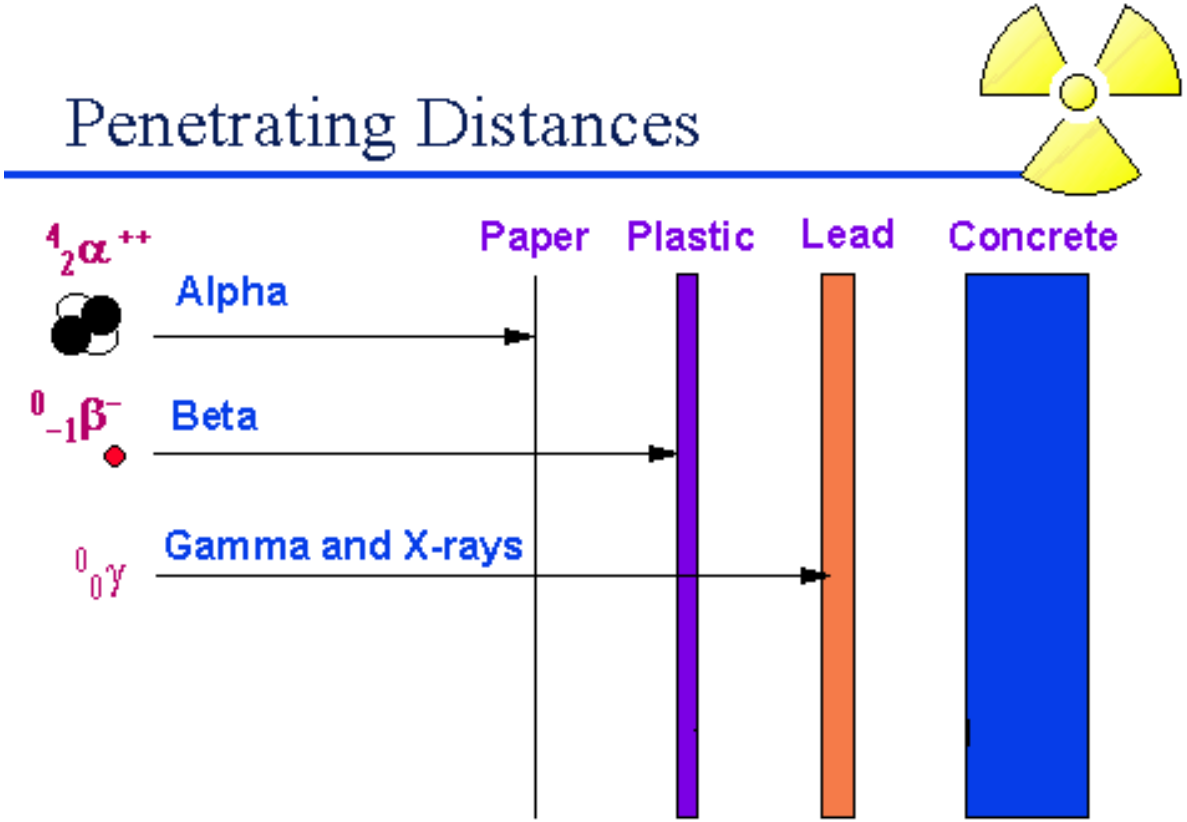
- 2. พวกชอบความเข้มข้นของเกลือสูงๆ(halophile) เจริญในน้ำทะเลที่มีเกลือ 3.5–4% แม้ในทะเล **dead sea** ที่มีเกลือ 29% ยังพบว่ามี ***Halobacterium spp.***

- โดยทั่วไปแบคทีเรียไม่สามารถเจริยในเกลือ 10–15% หรือน้ำตาล 50–70% จึงใช้หลักการในการถนอมอาหารแช่อิ่ม

5. รังสี(RADIATION)

- รังสีที่มีผลในการทำลายจุลินทรีย์มี 2 ชนิดคือ

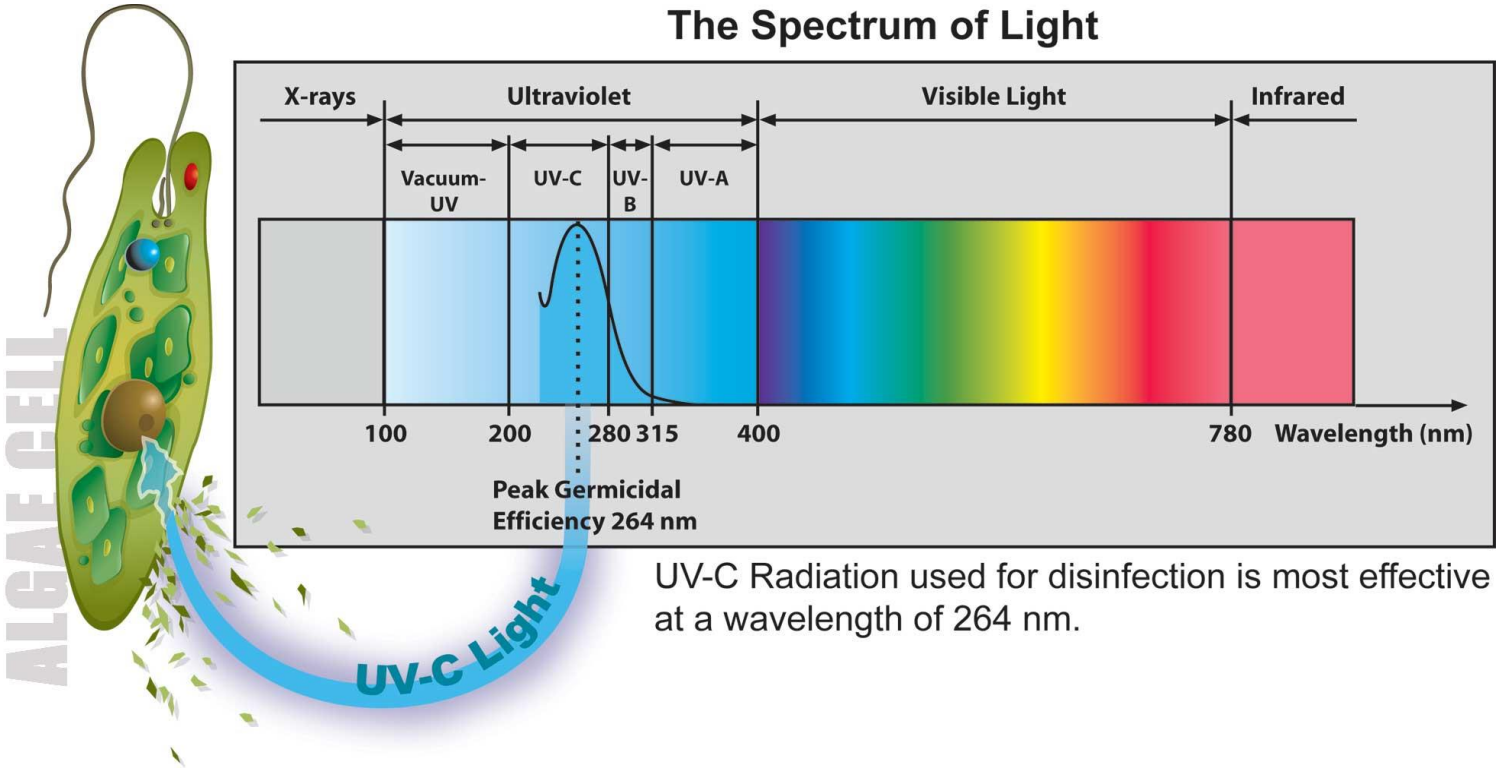
1. รังสีที่แตกตัวเป็นไอออน โดยรังสีมีพลังงานไปดึงอิเล็กตรอนออกจากสาร ได้แก่ รังสีเอกซ์ รังสีแกมมา รังสีนี้ทำลายจุลินทรีย์ได้ แต่ไม่นิยมใช้ เพราะมีราคาสูง



2. รังสีอัลตราไวโอเลต สามารถทำให้จุลินทรีย์

- ตาย
- ผ่าเหล่า

- รังสีนี้มีอำนาจทะลุทะลวงต่ำ จึงสามารถฆ่าได้เฉพาะจุลินทรีย์บริเวณพื้นผิวเท่านั้น



UV-C Radiation used for disinfection is most effective at a wavelength of 264 nm.

THE END