



FOOD MICROBIOLOGY (4142601)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และการทำให้ปลอดเชื้อ



อาจารย์ ดร.จตุพัฒน์ สมป์ปิโต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ (culture medium) ???



Washed Cow Blood agar:

An agar with esculin indicator for general culture.



Mycoplasma agar:

A selective agar for the growth and isolation of Mycoplasma organisms.



MP2 agar:

A Gram Positive washed cow blood agar with esculin indicator for detection of Staph aureus and Strep agalactiae.



TNT plates:

A dual agar biplate test for the differentiation of Gram Positive and Gram Negative bacteria.



Modified Edwards agar:

A selective agar containing beta toxin for Strep agalactiae detection.



Inulin agar:

An inulin agar for Streptococcus uberis confirmation.



Camp agar:

A confirmation agar with full strength esculin to verify Streptococcus agalactiae suspects.



Salt agar:

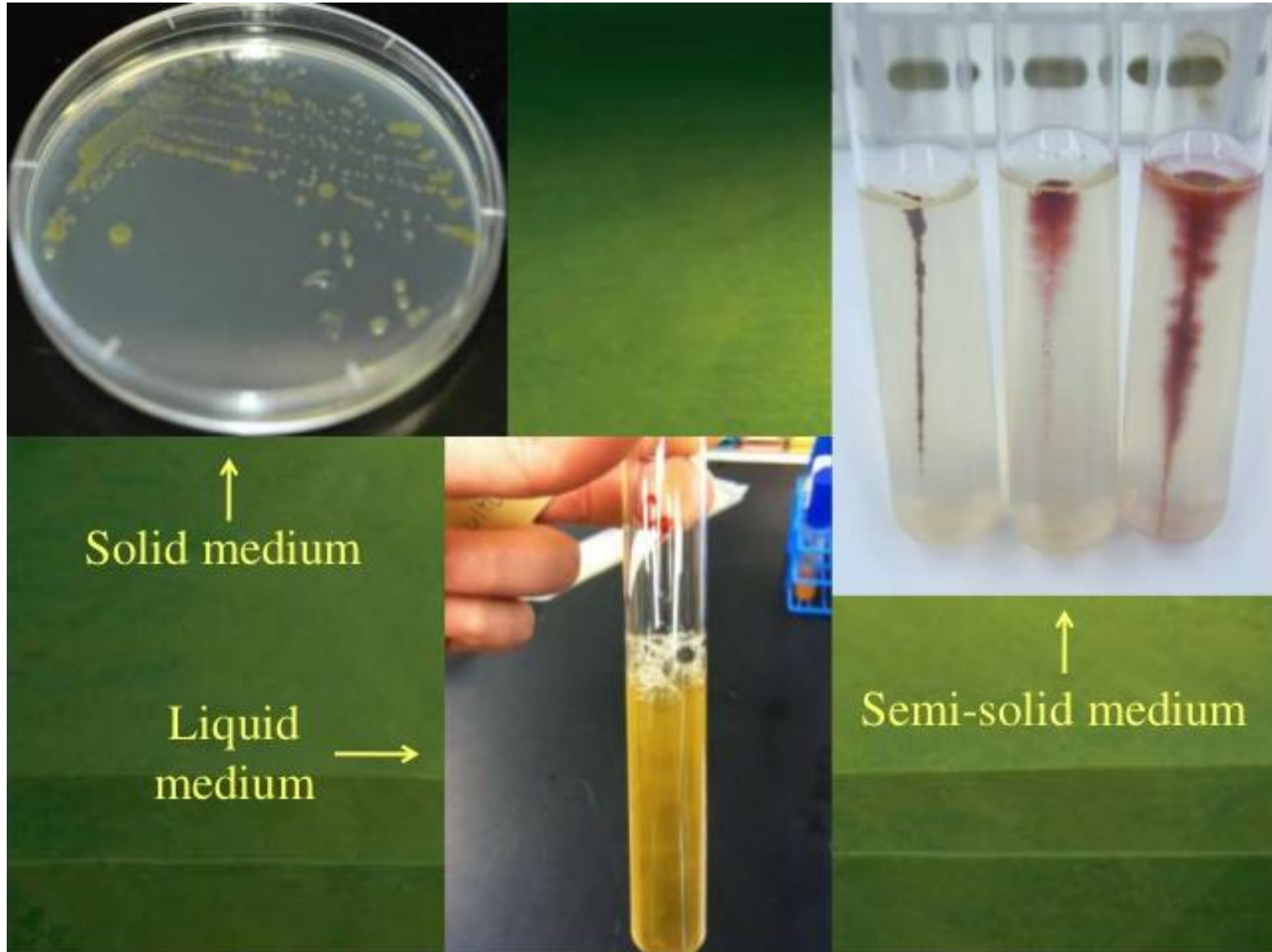
A selective agar with washed cow blood ideal for Staph species detection.



MacConkey agar:

A selective agar for isolating gram-negative bacteria.

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ (culture medium) ???



อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ (culture medium) ???

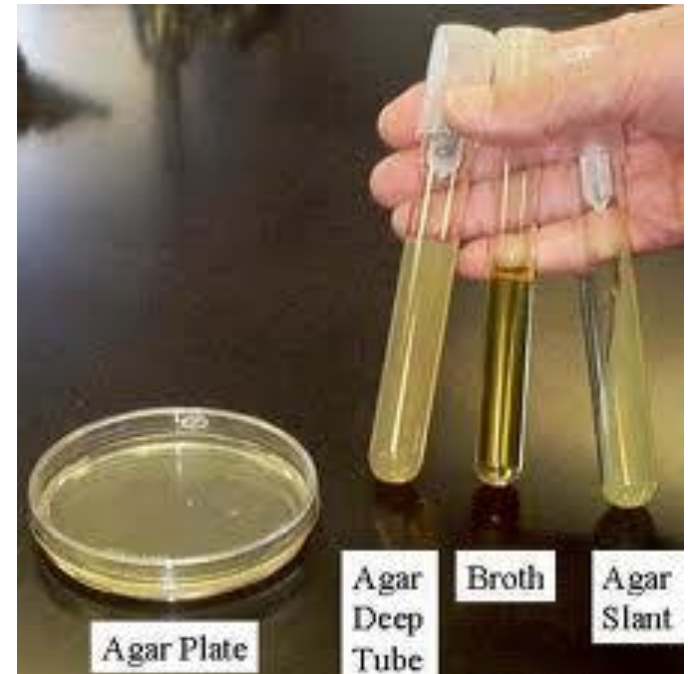
- ส่วนประกอบของอาหารที่ส่งเสริมให้จุลินทรีย์เจริญและเพิ่มจำนวน
- จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความต้องการสารอาหารและสภาพแวดล้อมในการเจริญที่แตกต่างกัน หรือ เหมือนกัน ?
- หลังจากเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วต้องนำอาหารเลี้ยงเชื้อมาผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เช่น.....?
 - -
 - -
 - -

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

- การศึกษารูปร่าง โครงสร้าง หรือคุณสมบัติต่างๆของจุลินทรีย์นั้น จะศึกษาจาก ตัวอย่างของจริงจากธรรมชาติอาจมีจำนวนไม่เพียงพอ จึงจำเป็นจะต้องนำจุลินทรีย์มา ทำการเพาะเลี้ยง เพื่อขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนในอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีปริมาณมากพอที่จะ ใช้เพื่อสังเกตลักษณะต่างๆ เพิ่มมากขึ้น
- ทั้งนี้อาหารเลี้ยงเชื้อสามารถจำแนกประเภทได้ตามลักษณะหรือคุณสมบัติต่างๆดังนี้
 - อาหารเลี้ยงเชื้อแบ่งตามลักษณะทางกายภาพ
 - อาหารเลี้ยงเชื้อแบ่งตามส่วนประกอบทางเคมี
 - อาหารเลี้ยงเชื้อแบ่งประเภทตามวัตถุประสงค์ของการใช้งาน
 - อาหารเลี้ยงเชื้อแบ่งตามวิธีการเตรียม

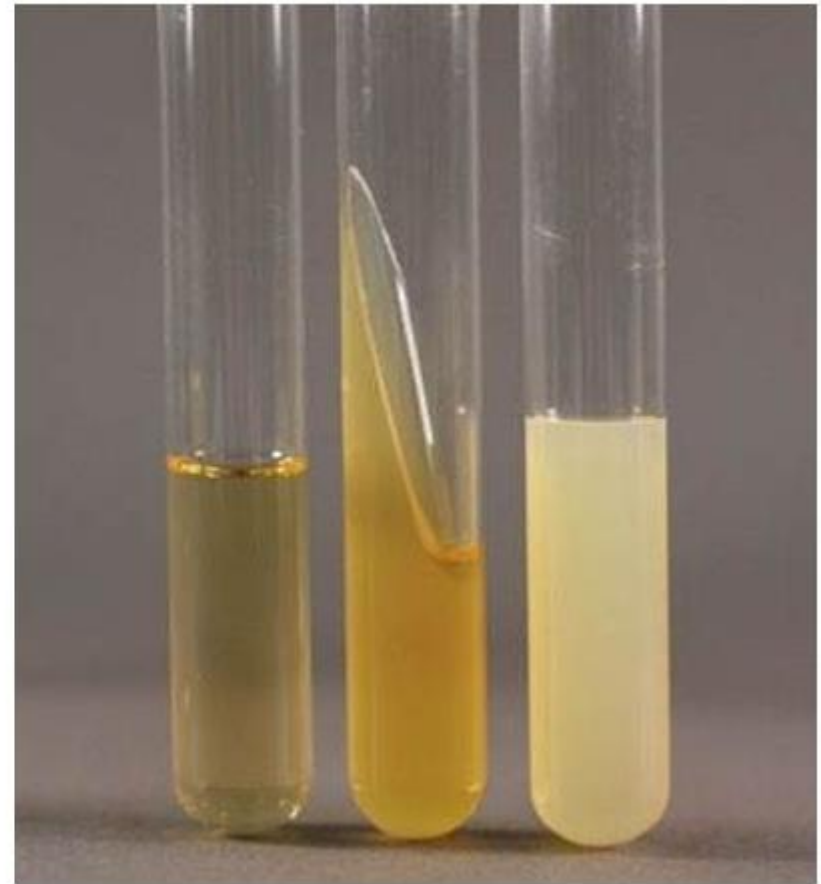
1. อาหารเลี้ยงเชื้อแบ่งตามลักษณะทางกายภาพ

- 1.1 Solid media (agar)
 - อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมผงวุ้นหรืออะการ์ลงไป ปกติจะเติมอะการ์ 15 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือ 1.5% (w/v)
 - Solid media จะอยู่ในจานเลี้ยงเชื้อ (petri dish) หรืออยู่ในหลอดทดลอง (tube)
 - Slant หรือ Slope
 - Deep tube



1. อาหารเลี้ยงเชื้อแบ่งตามลักษณะทางกายภาพ

- **Broth**: a liquid medium
- **Slant**: tube of solid medium at an angle
- **Agar deep**: tube of solid or semi-solid medium



Broth

Slant

Deep

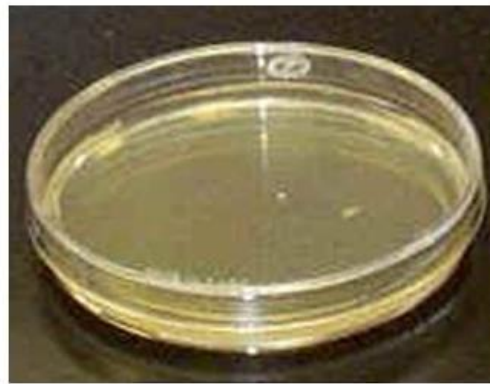
1. อาหารเลี้ยงเชื้อแบ่งตามลักษณะทางกายภาพ



Broth



Slant

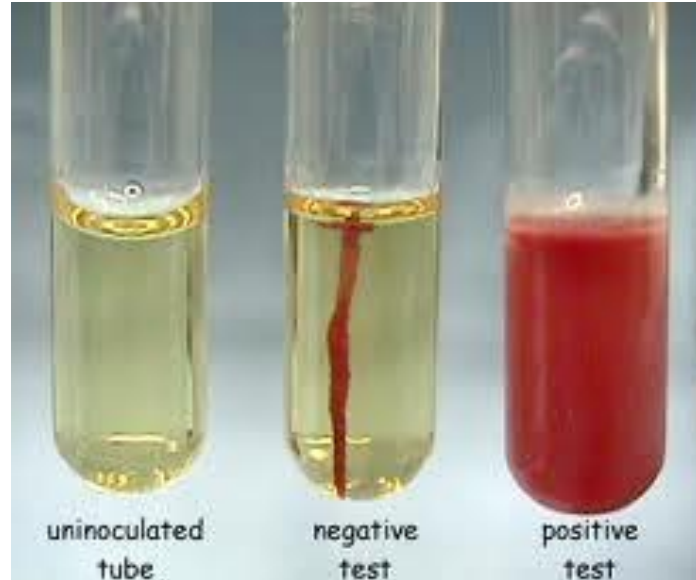


Petri plate



Tall/ deep

1. อาหารเลี้ยงเชื้อแบ่งตามลักษณะทางกายภาพ



- 1.2 Semi-solid media

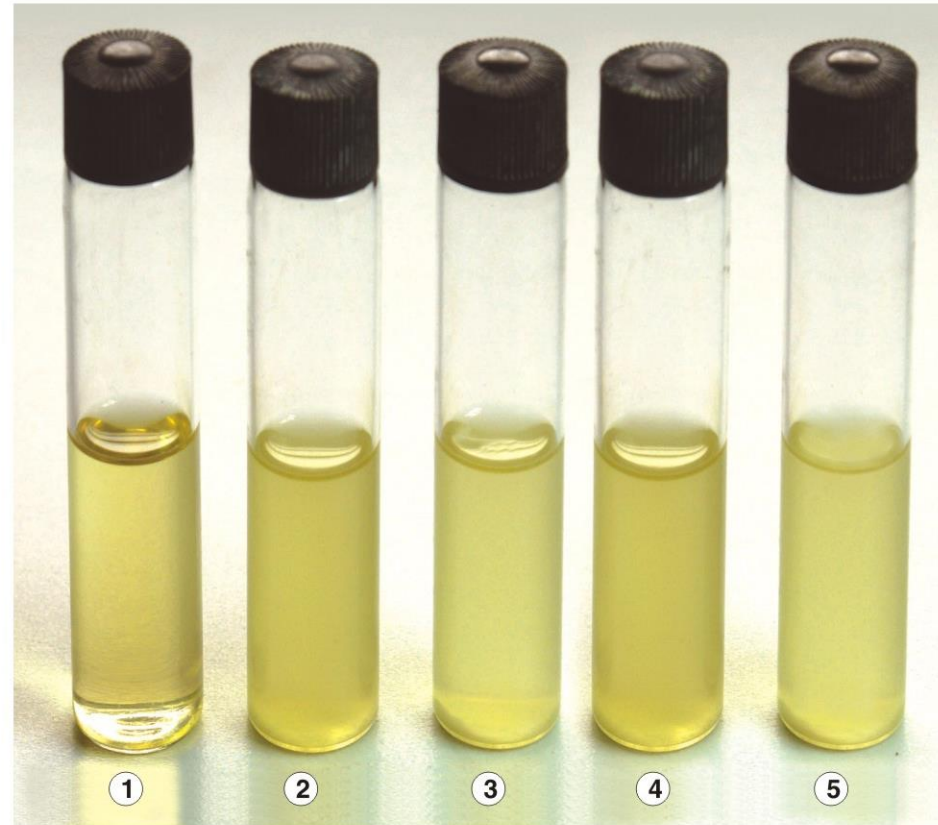
- อาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมวุ้นลงไปปริมาณต่ำกว่า solid media คือ ปริมาณ 0.5% หรือน้อยกว่า

- 1.3 Liquid media (Broth)

- อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้เติมวุ้นลงไป ดังนั้น อาหารเลี้ยงเชื้อจึงมีลักษณะเหลว เช่น Nutrient broth เป็นต้น

1. อาหารเลี้ยงเชื้อแบ่งตามลักษณะทางกายภาพ

- 1.3 Liquid media (Broth)



Nutrient Broth No. 2 (M1362)

1. Control
2. *Escherichia coli* ATCC 25922
3. *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048
4. *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883
5. *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028

2. อาหารเลี้ยงเชื้อแบ่งตามส่วนประกอบทางเคมี

- 2.1 Natural หรือ chemical non-defined media
 - เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่รู้องค์ประกอบทางเคมีที่แน่นอน
 - เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากธรรมชาติ (มันฝรั่ง) หรืออาหารที่ประกอบด้วยเปปโตน ยีสต์เอ็กซ์แทรกต์ บีปเอกแทรกต์ หรือเคซีนไฮโดรไลเซต



2. อาหารเลี้ยงเชื้อแบ่งตามส่วนประกอบทางเคมี

- 2.2 Synthetic หรือ Artificial หรือ Chemically defined media
 - เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทราบส่วนประกอบทางเคมีที่แน่นอนว่าประกอบด้วยสารอะไรบ้าง และในปริมาณเท่าไร
 - สามารถจะเตรียมได้เหมือนกันทุกครั้ง ซึ่งมีทั้งชนิดที่เป็นเกลือของกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆและชนิดที่เป็นกรดอินทรีย์สังเคราะห์
 - เช่น ทราบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดประกอบด้วยกรดอะมิโน อะไรบ้าง และมีปริมาณเท่าไร



3. อาหารเลี้ยงเชื้อ แบ่งประเภทตามวัตถุประสงค์การใช้งาน

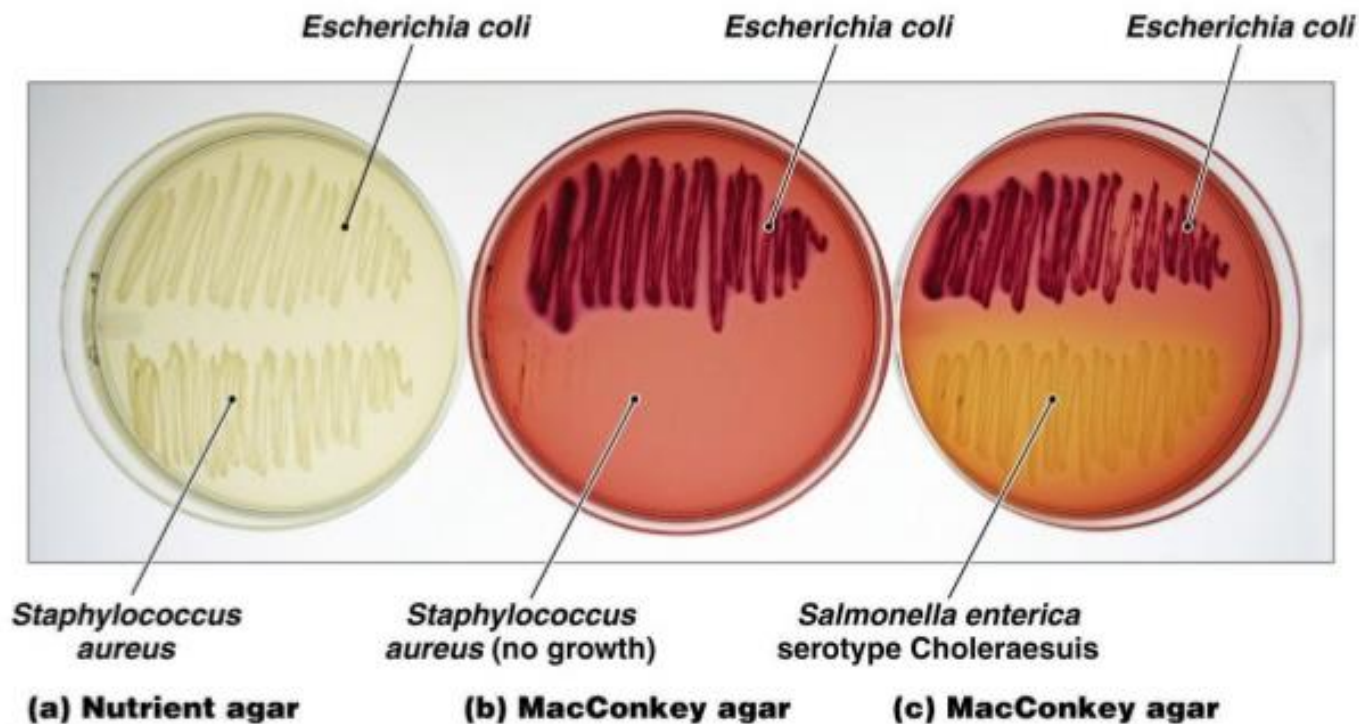
- 3.1 Enrichment media

- เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้เติมสารอาหารบางอย่างพิเศษ นอกเหนือไปจากธาตุอาหารที่จุลินทรีย์ทั่วไปใช้
- ทิ้งนี้เพื่อเหตุผลใด.....???
- เช่น การเติม ซีรั่มของเลือด วิตามิน หรือเติมสารสกัดที่ได้จากเนื้อเยื่อพืชหรือเนื้อเยื่อสัตว์ลงไป
- อาหารชนิดนี้ใช้สำหรับเลี้ยงจุลินทรีย์พวก fastidious heterotroph เช่น จุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่างๆ

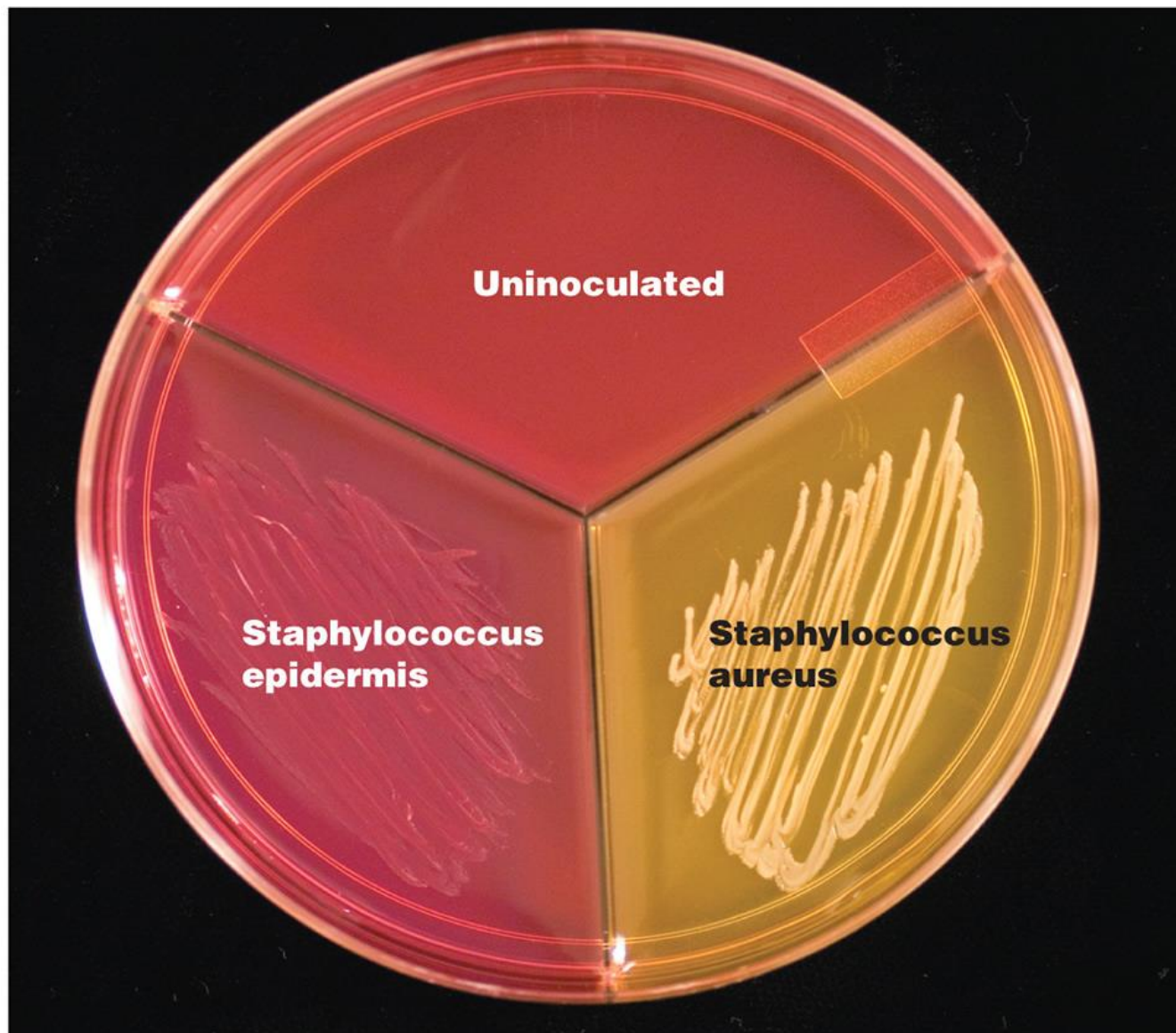
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ แบ่งประเภทตามวัตถุประสงค์การใช้งาน

• 3.2 Selective media

- เป็นอาหารที่เติมสารเคมีบางชนิดลงใน nutrient agar เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียบางกลุ่ม โดยสารนี้จะไม่ยับยั้งเชื้อกลุ่มที่เราต้องการจะเพาะเลี้ยง
- เช่น การเติม คริสตัลไวโอเลต มอลโตส



3. อาหารเลี้ยงเชื้อ แบ่งประเภทตามวัตถุประสงค์การใช้งาน



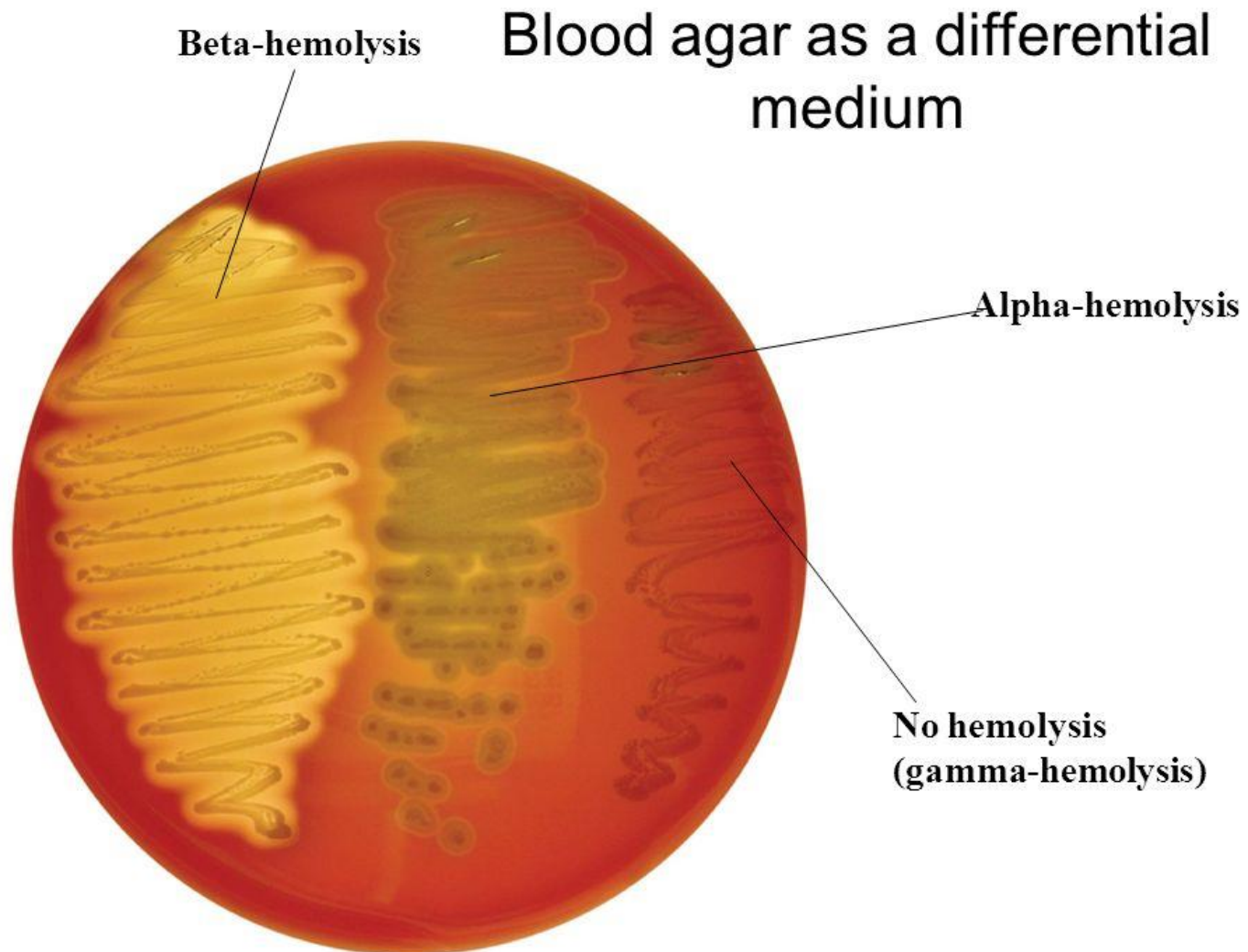
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ แบ่งประเภทตามวัตถุประสงค์การใช้งาน

- 3.3 Differential media

- เป็นอาหารที่เติมสารเคมีบางชนิดลงไป ซึ่งอาจมีผลต่อชนิดของจุลินทรีย์ที่จะเจริญหรือการเปลี่ยนแปลงลักษณะไปหลังจากเติมจุลินทรีย์และบ่มจุลินทรีย์ไว้
- เช่น การเติมจุลินทรีย์ผสมของแบคทีเรียลงใน blood-agar medium แบคทีเรียบางพวกอาจจะสลายเม็ดเลือดแดง ในขณะที่แบคทีเรียชนิดอื่นไม่มีความสามารถนี้สังเกตได้จาก clear zone
 - Blood-agar medium เป็นทั้งอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารอาหารมากเหมาะสมในการฟื้นฟูจุลินทรีย์ที่บาดเจ็บ (enrich) และสามารถจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ (differential medium)

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ แบ่งประเภทตามวัตถุประสงค์การใช้งาน

- 3.3 Differential media : Blood-agar medium



3. อาหารเลี้ยงเชื้อ แบ่งประเภทตามวัตถุประสงค์การใช้งาน

- 3.3 Differential media: Blood-agar medium



beta-hemolysis
Streptococcus pyogenes



alpha hemolysis
Escherichia coli



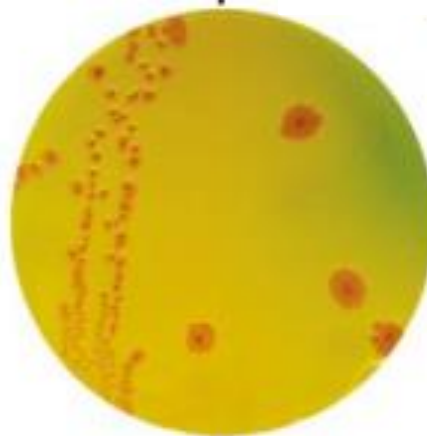
gamma hemolysis (no hemolysis)
Staphylococcus epidermidis

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ แบ่งประเภทตามวัตถุประสงค์การใช้งาน

- 3.3 Differential media : Chapman-Stone Agar



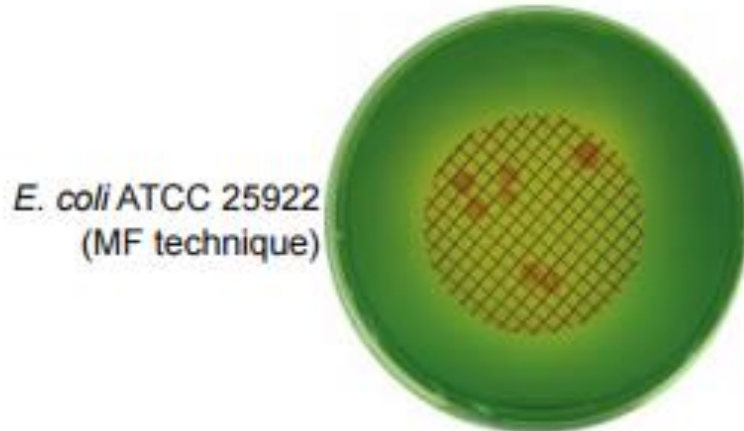
control



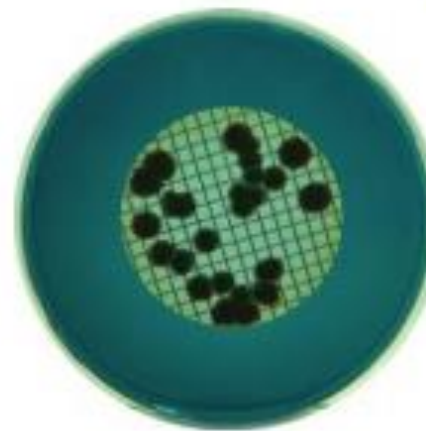
E. coli ATCC 25922



Salmonella typhimurium ATCC 14028



E. coli ATCC 25922
(MF technique)



Salmonella typhimurium
ATCC 14028
(MF technique)

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ แบ่งประเภทตามวัตถุประสงค์การใช้งาน

- 3.4 Assay medium
 - เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบที่ใช้ในการตรวจสอบหาวิตามิน กรดอะมิโน และยาปฏิชีวนะ (antibiotics) ต่างๆ
- 3.5 Media for enumeration of bacteria
 - เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความจำเพาะเจาะจงเพื่อใช้สำหรับตรวจสอบหาปริมาณของแบคทีเรียในวัตถุอย่างใดอย่างหนึ่ง เช่น น้ำ หรือ นม

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ แบ่งประเภทตามวัตถุประสงค์การใช้งาน

- 3.6 Media for characterization
 - เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถใช้จำแนกบ่งชี้ถึงชนิดของจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ หรือสร้างสารบางอย่างที่ทำให้อาหารเปลี่ยนแปลงไป ทำให้สังเกตเห็นความแตกต่างได้
- 3.7 Maintenance media
 - เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เก็บรักษาจุลินทรีย์ และลักษณะทางกายภาพของจุลินทรีย์ นั้น จะต้องเป็นสารอาหารที่แตกต่างจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสูตรเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์

4. อาหารเลี้ยงเชื้อแบ่งตามวิธีการเตรียม

- 4.1 อาหารเลี้ยงเชื้อแบบสำเร็จรูปพร้อมใช้งาน
 - ข้อดี
 - ข้อเสีย
- 4.2 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ต้องเตรียมขึ้นมาเองตามสูตรที่กำหนดในแต่ละชนิด
 - ข้อดี
 - ข้อเสีย

การบ้าน



Escherichia coli



Enterobacter aerogenes



↑
Lactose
fermenting
colonies

PINK

↑
Non-lactose
fermenting
colonies

COLORLESS



Proteus vulgaris



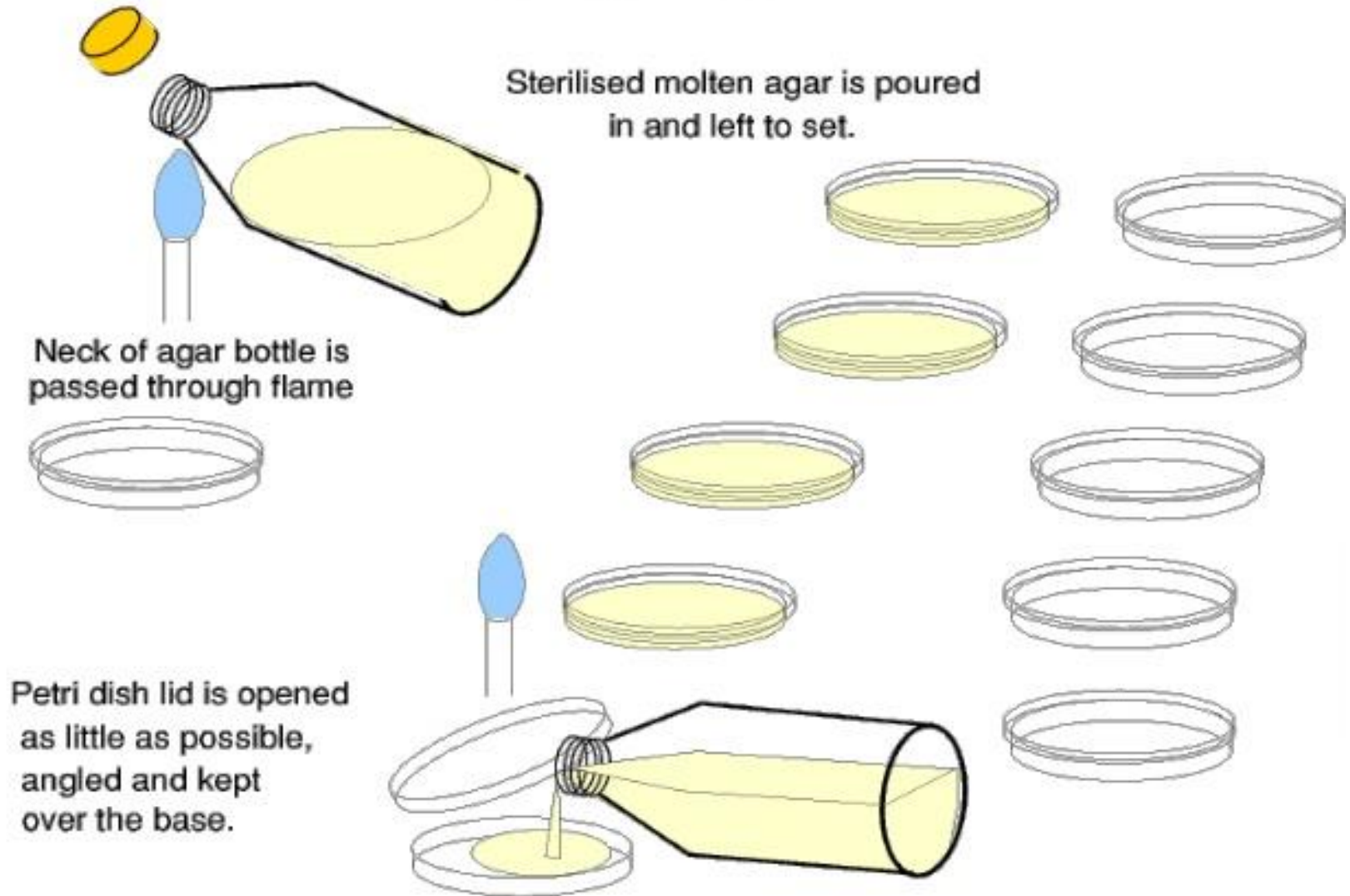
Salmonella typhimurium



Staphylococcus aureus

MacConkey's Agar

"Pouring a Plate"



Each Petri dish hold about 20 ml, so 200ml will do for 10.

THANKS