

## การใช้และการควบคุมคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ (ISO 11133:2014/Amd 2:2020)

นางสาวอภัสนันท์ สุดเจริญ ตำแหน่ง นักวิชาการเกษตรปฏิบัติการ กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน  
 ที่มา : การฝึกอบรม เรื่อง การใช้และการควบคุมคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ วันที่ 10 กรกฎาคม 2566  
 โดย นายปรีชา จึงสมานกุล ตำแหน่ง ข้าราชการบำนาญ สถานที่ทำงานของวิทยากร สำนักคุณภาพและ  
 ความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

หลักสูตนี้อิงตามข้อกำหนดมาตรฐาน ISO 11133:2014/Amd 2:2020 เพื่อให้การเตรียมอาหาร  
 เลี้ยงเชื้อถูกต้อง มีประสิทธิภาพ และให้ผลการทดสอบที่ถูกต้องแม่นยำ สามารถนำไปสู่การพัฒนาระบบการ  
 ทำงานของห้องปฏิบัติการต่อไป

**คุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ จะขึ้นอยู่กับ**

1. คุณภาพของส่วนประกอบต่างๆ
2. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ถูกต้อง
3. คุณภาพของวิธีการเตรียม เช่น การกำจัดเชื้อปนเปื้อน, การบรรจุในภาชนะที่เหมาะสม, การเก็บรักษา เป็นต้น
4. การควบคุมคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ ต้องมีการปรับให้เหมาะสมต่อการใช้งาน มีการทดสอบก่อนการนำไปใช้ หรือมีการทดสอบคู่ขนานและทดสอบตัวอย่าง

**การประกันคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ**

1. การรับอาหารเลี้ยงเชื้อ
  - 1.1 ตรวจสอบจำนวนที่รับ ลักษณะ ภาชนะบรรจุ และลักษณะทางกายภาพ
  - 1.2 มีเอกสารระบุรายละเอียดของผู้ผลิต เช่น ชื่อ ส่วนประกอบ ข้อมูลทางเทคนิค ข้อมูลความปลอดภัย การเก็บรักษา และวันหมดอายุ
  - 1.3 ใบรับรองคุณภาพผลการทดสอบและเชื้อที่ใช้ทดสอบ
  - 1.4 เอกสารประกอบการยอมรับหรือตรวจรับ เช่น วัน เดือน ปี ที่หมดอายุของอาหารเลี้ยงเชื้อ
  - 1.5 บันทึกวันที่รับตามจริง
2. การเก็บรักษา
  - 2.1 การเก็บรักษาอาหารเลี้ยงเชื้อที่ยังไม่เปิดใช้ ได้แก่ เก็บรักษาตามที่คุณผลิตแนะนำ เก็บที่อุณหภูมิปกติ และควรใช้ให้หมดภายใน 2 ปี
  - 2.2 การเก็บรักษาอาหารเลี้ยงเชื้อที่เปิดใช้แล้ว ได้แก่ ปิดฝาให้แน่น เก็บตามที่คุณผลิตแนะนำ เก็บที่อุณหภูมิปกติ ควรใช้ให้หมดภายใน 6 เดือน – 1 ปี สภาพอาหารเลี้ยงเชื้อต้องไม่เปลี่ยนแปลง และมีการบันทึกวันที่เปิดใช้และมีการกำหนดระยะเวลาเก็บ
  - 2.3 การเก็บรักษาอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมแล้ว ได้แก่ การเก็บตามที่คุณผลิตแนะนำ โดยทั่วไปมักเก็บในที่เย็น  $5 \pm 3$  องศาเซลเซียส และป้องกันแสง โดย

- Poured agar plates ในถุงที่ปิดสนิท จะเก็บได้ 2 – 4 สัปดาห์

- อาหารเลี้ยงเชื้อในขวดหรือในหลอด จะเก็บได้ 3 – 6 เดือน (ความชื้นหายไปไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ และสีไม่เปลี่ยน)

- อาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม supplements ที่สลายตัวง่าย ควรใช้ในวันนั้น

### 3. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1 มีเอกสารที่ระบุน้ำหนัก ปริมาตร ความเป็นกรด - ด่าง วัน เดือน ปี ที่เตรียม อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ฆ่าเชื้อ

3.2 น้ำที่ใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อต้องไม่มีสารยับยั้งที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อและมีความสมบูรณ์ เช่น จุลินทรีย์ต่อมิลลิลิตร น้อยกว่า  $10^3$

3.3 มีการวัดและปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง ก่อนฆ่าเชื้อ (ถ้าจำเป็น) และ ความเป็นกรด - ด่าง สุดท้ายที่ต้องการ โดยทั่วไปจะคลาดเคลื่อนได้ไม่เกิน  $\pm 0.2$

3.4 โดยทั่วไปต้องละลายให้เข้ากันก่อนนำไปฆ่าเชื้อ  $121 \pm 3$  องศาเซลเซียส

3.5 ภาชนะใส่อาหารเลี้ยงเชื้อต้องไม่มีสารตกค้างที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ และต้องมีปริมาณมากกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ อย่างน้อย 20 เปอร์เซ็นต์

3.6 การหลอมอาหารเลี้ยงเชื้อควรใช้เวลาอย่างน้อยที่สุด โดยเก็บที่  $47 - 50$  องศาเซลเซียส ไม่เกิน 4 ชั่วโมง ระหว่างเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อ ควรมีอุณหภูมิ  $44 - 47$  องศาเซลเซียส และอาหารเลี้ยงเชื้อที่หลอมแล้วใช้ไม่หมด ห้ามนำมาหลอมซ้ำ

3.7 การเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อควรเทหนาประมาณ 2 - 3 เซนติเมตร ไม่ควรเทบางเกินไป

3.8 การทำให้ผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อในจานเพาะเชื้อแห้ง ต้องทำการคว่ำจานเพาะเชื้อเปิด  $\frac{1}{2}$  ผา ในตู้ ที่อุณหภูมิ  $25 - 50$  องศาเซลเซียส หายและเปิดจานเพาะเชื้อ ในตู้ลามินาร์ ที่เวลา 30 - 60 นาที

### การควบคุมคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ

#### 1. การทดสอบที่เหมาะสมสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมเสร็จ

1.1 การควบคุมคุณภาพทางกายภาพและเคมี เช่น ลักษณะที่ปรากฏ ปริมาตรและความหนาของอาหารเลี้ยงเชื้อ ความชื้น และ ความเป็นกรด - ด่าง

1.2 การควบคุมคุณภาพทางจุลชีววิทยา เช่น การปนเปื้อน

#### 2. การควบคุมคุณภาพ ได้แก่

2.1 การทดสอบการปนเปื้อน โดยการบ่มตามวิธีทดสอบ และต้องไม่พบเชื้อ

2.2 การทดสอบความเหมาะสม เช่น Productivity Selectivity และ Specificity

### ข้อผิดพลาดในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่พบบ่อย

1. การใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เหมาะสม มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ หรือหมดอายุ
2. การใช้น้ำที่คุณภาพไม่ดีในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และตวงปริมาตรของน้ำที่ใช้ไม่ถูกต้อง
3. การชั่งน้ำหนักของอาหารเลี้ยงเชื้อและส่วนประกอบไม่ถูกต้อง
4. การละลายและการกระจายที่ไม่สม่ำเสมอ ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน
5. เวลาและอุณหภูมิที่ใช้ฆ่าเชื้อไม่เหมาะสม

6. ภาชนะและเครื่องแก้วไม่สะอาด
7. ความเป็นกรด - ด่าง ไม่เหมาะสม
8. เติมสาร Supplement หรือ Enrichment ในขณะที่อุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไป
9. ไม่มีการควบคุมคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนใช้ และไม่มีการควบคุมการระเหยของอาหารเลี้ยงเชื้อ

#### การเก็บรักษาเชื้อมาตรฐาน

1. Master culture เก็บโดยวิธีการ Freeze dried ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส หรือ -20 องศาเซลเซียส
2. Stock culture (เลี้ยงเพิ่มจำนวน) เก็บโดยแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส
3. Working culture และ Non selective media เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส