





ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

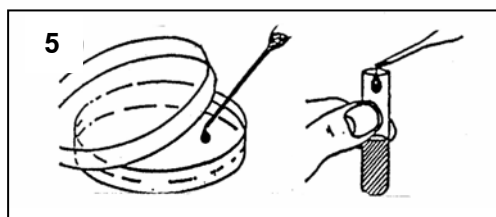
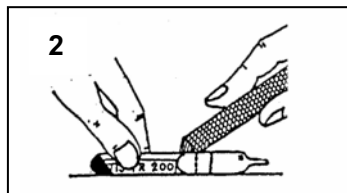
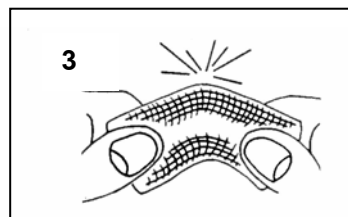
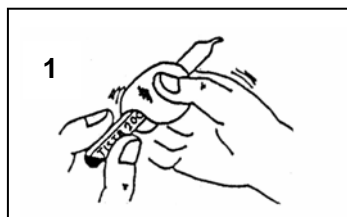
35 หมู่ที่ 3 เทคโนโลยีธานี ตำบลคลองห้า อำเภอลำลูกกา จังหวัดปทุมธานี 12120

โทรศัพท์ 0 2577 9034, 0 2577 9041 โทรสาร 0 2577 9031

E-mail: mircen@tistr.or.th

วิธีการเพาะจุลินทรีย์จากหลอดเชื้อแห้งแข็ง (Revival of Freeze-Dried Cultures)

- ใช้กระดาษทิชชูชุบแอลกอฮอล์ 70% พอหมาดเช็ดบริเวณรอบ ๆ หลอดจุลินทรีย์ (ampoule) จากนั้นใช้ตะไบเหล็กเลื่อยลงบนหลอดบริเวณกึ่งกลางลำดให้เป็นรอยลึกลงไปในเนื้อแก้ว
- ใช้ผ้าที่มีความหนาและสะอาดรองและมีกระดาษทิชชูชุบแอลกอฮอล์ 70% (จากข้อ 1) หนุนหลอดจุลินทรีย์ไว้
- ทำการหักหลอดจุลินทรีย์ โดยใช้นิ้วหัวแม่มือทั้งสองกดเบา ๆ บริเวณที่ด้านตรงข้ามกับรอยเลื่อยนั้น
- ดึงปลายหลอดจุลินทรีย์และลำดทิ้งในขวดน้ำยาฆ่าเชื้อ ใช้ Pasture pipette ดูดอาหารเหลวที่เหมาะสมกับจุลินทรีย์แต่ละชนิด ประมาณ 0.3-0.4 มิลลิลิตร จากปริมาตร 5 มิลลิลิตรถ่ายลงในหลอดจุลินทรีย์ เพื่อละลายสารผสมเซลล์จุลินทรีย์ในหลอด ต้องทำในสภาพที่ปลอดเชื้อ
- ดูดสารละลายผสมเซลล์จุลินทรีย์จากหลอดจุลินทรีย์ให้หมด พร้อมกับเขี่ยกระดาษหัดเชื้อใส่ลงในหลอดอาหารเหลวเดิม จากนั้นหยดสารละลายเซลล์จุลินทรีย์ลงบนจานอาหารแข็ง (agar plate) จำนวน 1 หยด สารละลายเซลล์จุลินทรีย์ที่เหลือทั้งหมดถ่ายใส่ลงในอาหารเหลวในข้อ 4 สำหรับเซลล์จุลินทรีย์ที่หยดลงบนจานอาหารแข็งใช้ห่วงเหล็ก (loop) ฆ่าเชื้อเขี่ยกระจายเชื้อ(streak plate) ให้ได้เป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ (สำหรับจุลินทรีย์ที่เป็นสายพันธุ์จะใช้ Pasture pipette ดูดสารละลายเซลล์จุลินทรีย์หยดลงบนอาหารแข็งที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา จำนวน 3 หยด และไม่ต้องกระจายเชื้อบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ)
- จุลินทรีย์ที่ถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว (ทั้งในจานอาหารแข็งและในหลอดอาหารเหลว) นำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมของจุลินทรีย์แต่ละชนิด เพื่อดูการเจริญของจุลินทรีย์





TISTR CULTURE COLLECTION

Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR)

35 Moo 3 Technopolis, Klong 5, Klong Luang,

Pathum Thani 12120, Thailand

Tel: (662) 577 9034, (662) 577 9041 Fax: (662) 577 9031

E-mail: mircen@tistr.or.th

### Revival of Lyophilized or Freeze-Dried Cultures

1. After sterilizing ampoule with 70% alcohol-dampened gauze, make a file cut on the ampoule at the mid-point of the cotton wool plug.
2. Wipe the ampoule with 70% alcohol-dampened gauze.
3. Carefully break the ampoule at the scored area, break it gently.
4. Aseptically add to the freeze-dried culture 0.3 to 0.4 ml of an appropriate liquid medium with a Pasteur pipette; mix well.
5. Transfer a one drop of the suspension and streak on to the surface of an appropriate agar plate and rest of the suspension to a test tube containing 5 ml of the same liquid medium.  
[For fungi will be transfer three drops (make three points) of the suspension on to the surface of an appropriate agar plate just drop not streak]
6. Incubate the culture (Both agar plate and liquid medium) at the appropriate temperature and allow sufficient time for growth to occur.

