คู่มือปฏิบัติงานหลัก

เรื่อง

การตรวจวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform ในน้ำ

จัดทำโดย
นายปริญญา ทับเที่ยง

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

คู่มือปฏิบัติงานหลัก

เรื่อง

การตรวจวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform ในน้ำ

จัดทำโดย
นายปริญญา ทับเที่ยง
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ตรวจสอบการจัดทำ ครั้งที่ ๑

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร.อนุมัติ เดชนะ)
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

คำนำ

คู่มือปฏิบัติงานหลักเล่มนี้จัดทำตามประกาศ ก.พ.อ. เรื่องมาตรฐานการกำหนดตำแหน่ง และการแต่งตั้งข้าราชการพลเรือนในสถาบันอุดมศึกษาให้ดำรงตำแหน่งสูงขึ้น พ.ศ. 2553 ซึ่งเป็นเอกสารแสดงเส้นทางการทำงานหลักตั้งแต่เริ่มต้นจนสุดกระบวนการ โดยระบุขั้นตอนการดำเนินการต่าง ๆ โดยคู่มือปฏิบัติงานหลักมีความสำคัญอย่างยิ่งในการปฏิบัติงาน เพื่อช่วยให้หน่วยงานมีคู่มือไว้ใช้ในการปฏิบัติงาน และช่วยให้ผู้ปฏิบัติงานให้สามารถศึกษาได้อย่างรวดเร็ว ทำให้งานของหน่วยงานมีระบบและมีประสิทธิภาพมากขึ้นจากคู่มือปฏิบัติงานหลักเล่มนี้

วัตถุประสงค์ของการจัดทำคู่มือปฏิบัติงานหลักเกี่ยวกับการตรวจวิเคราะห์ Coliform Bacteria ในน้ำของงานนักวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราภัฏสงขลา เพื่อให้ผู้ปฏิบัติงานทราบขั้นตอน วิธีปฏิบัติงาน และเป็นแนวทางในการปฏิบัติงานสำหรับบุคลากรในนหน่วยงานให้สามารถปฏิบัติงานทดแทนกันได้เพราะการตรวจวิเคราะห์ Coliform Bacteria ในน้ำ เป็นงานด้านจุลชีววิทยาที่มีความละเอียด รอบคอบ ความถูกต้อง รวดเร็ว เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สู่ตัวผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อม

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณผู้ทรงคุณวุฒิที่ให้ความรู้และคำแนะนำด้วยดีตลอดมาและขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา เป็นอย่างยิ่งที่สนับสนุนและส่งเสริมให้จัดทำคู่มือปฏิบัติงานหลักเล่มนี้ขึ้นมา โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาวิชาจุลชีววิทยา อาจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาวิชาชีววิทยา คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และเพื่อนร่วมงานทุกคนที่เป็นกำลังใจให้คู่มือปฏิบัติงานหลักเล่มนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

นายปริญญา ทับเที่ยง
นักวิทยาศาสตร์
เมษายน 2562

สารบัญ

หน้า

คำนำ

สารบัญ

ส่วนที่ 1 บริบทมหาวิทยาลัย 1

1. ประวัติมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา 1
2. ปรัชญา ปณิธาน ค่านิยมองค์กร คติพจน์ 3
3. วัตถุประสงค์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา 3
4. อัตลักษณ์มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา 4
5. ตราสัญลักษณ์มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา 4
6. สีประจำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา 4
7. ดอกไม้ประจำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา 5
8. ต้นไม้ประจำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา 5
9. โครงสร้างการแบ่งส่วนราชการของมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา 6
10. ประวัติคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 7
11. วิสัยทัศน์ พันธกิจ ยุทธศาสตร์การดำเนินงาน 10
12. โครงสร้างการบริหารคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 11
13. โครงสร้างอัตรากำลัง/ตำแหน่ง/คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 12

ส่วนที่ 2 ขั้นตอนการปฏิบัติงาน 13

ขั้นตอนการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform ในน้ำ 14

ขั้นตอนที่ 1 เตรียมวัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ 15

1. เตรียมขวดสำหรับเก็บตัวอย่างน้ำ 15
2. เตรียมจานเพาะเชื้อ 15
3. เตรียมปิเปต 16
4. เตรียมวัสดุที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ 16
5. เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ 17

ปัญหา แนวทางการแก้ปัญหา ข้อเสนอแนะ 20

ขั้นตอนที่ 2 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และน้ำยาทดสอบ 21

1. Lauryl tryptose broth 21
2. Brilliant green lactose bile broth 22
3. EC broth 22
4. Eosin methylene blue agar 23
5. Nutrient agar 24
6. Simmons Citrate agar 25
7. MR-VP broth 25

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
8. Tryptone broth	26
9. Kovac's regent	26
10. Methyl red solution	26
11. Voges-Proskauer test reagent	27
ปัญหา แนวทางการแก้ปัญหา ข้อเสนอแนะ	27
ขั้นตอนที่ 3 การเก็บตัวอย่างน้ำ	28
1. ภาชนะบรรจุตัวอย่างน้ำ	28
2. วิธีเก็บตัวอย่างน้ำ	28
3. ฉลากปิดขวดบรรจุตัวอย่างน้ำ	32
4. การเก็บรักษาสภาพตัวอย่างน้ำ	32
ปัญหา แนวทางการแก้ปัญหา ข้อเสนอแนะ	33
ขั้นตอนที่ 4 ขั้นวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform ในน้ำ	34
1. ขั้นตรวจสอบเบื้องต้น (Presumtive coliform test)	34
2. การตรวจสอบขั้นยืนยัน (Confirm test)	36
3. การตรวจสอบขั้นสมบูรณ์ (Completed test)	40
ปัญหา แนวทางการแก้ปัญหา ข้อเสนอแนะ	40
ขั้นตอนที่ 5 การแยกและเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์	41
1. การแยกเชื้อบริสุทธิ์	41
2. การเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์	42
ปัญหา แนวทางการแก้ปัญหา ข้อเสนอแนะ	42
ขั้นตอนที่ 6 ทดสอบชีวเคมี	43
1. ทดสอบ Indole	43
2. ทดสอบ Methyl Red	44
3. ทดสอบ Voges-Proskauer	45
4. ทดสอบ Citrate	45
ปัญหา แนวทางการแก้ปัญหา ข้อเสนอแนะ	46
ประวัติผู้เขียน	47

ส่วนที่ 1 บริบทมหาวิทยาลัย

ประวัติมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาเป็นสถาบันอุดมศึกษาที่เก่าแก่ที่สุดแห่งหนึ่งของภาคใต้ และเป็นสถาบันที่มีพัฒนาการอย่างต่อเนื่องตลอดมา ตั้งแต่ยังมีฐานะเป็นเพียงโรงเรียนฝึกหัดครูมณฑล จนกระทั่งเป็นมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ดังเช่นปัจจุบัน

ประวัติศาสตร์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาเริ่มต้นขึ้นในปี พ.ศ. 2462 เมื่อธรรมการมณฑลนครศรีธรรมราชซึ่งขณะนั้นอยู่ที่จังหวัดสงขลา และธรรมการจังหวัดสงขลาได้คิดผลิตครูมณฑลขึ้นเพื่อให้ไปทำหน้าที่สอนในระดับประถมศึกษาจึงได้จัดตั้งโรงเรียนฝึกหัดครูมณฑลขึ้น โดยให้เรียนร่วมกับโรงเรียนประจำมณฑลนครศรีธรรมราช (คือโรงเรียนมหาวชิราวุธซึ่งขณะนั้นตั้งอยู่ที่บริเวณโรงเรียนวิเชียรชมในปัจจุบัน) รับนักเรียน จบชั้นประถมบริบูรณ์ (ประถมปีที่3) เข้าเรียนตามหลักสูตรป.4, ป.5 และ ป.6 โดยเพิ่มวิชาครูเป็นพิเศษ ผู้สำเร็จการศึกษาตามหลักสูตรดังกล่าวเรียกว่าครูประกาศนียบัตรมณฑล

ในปี พ.ศ. 2464 มีการประกาศใช้พระราชบัญญัติประถมศึกษา ธรรมการมณฑลจึงได้จัดตั้งโรงเรียนฝึกหัดครูประจำมณฑลขึ้นโดยเฉพาะเมื่อ พ.ศ. 2468 โดยตั้งที่ตำบลท่าชะมวง อำเภอกำแพงเพชร (ปัจจุบันคืออำเภอรัตภูมิ) จังหวัดสงขลา เรียกว่าโรงเรียนฝึกหัดครูมูล (ปัจจุบันเป็นที่ตั้งของวิทยาลัยเกษตรกรรมและเทคโนโลยีสงขลา) โดยรับนักเรียนที่จบ ม.3 หรือครูที่ทางอำเภอและจังหวัดต่าง ๆ ส่งมาเรียน กำหนด 2 ปี สำเร็จแล้วจะได้รับประกาศนียบัตรวิชาชีพครูมูล (ป.)

ต่อมาได้มีพระราชบัญญัติว่าด้วยการบริหารแห่งราชอาณาจักรสยาม พ.ศ. 2476 ให้เลิกการแบ่งเขตการ ปกครองเป็นมณฑล โรงเรียนฝึกหัดครูมูลประจำ มณฑลนครศรีธรรมราชที่ท่าชะมวง จึงได้เปลี่ยนเป็นโรงเรียนฝึกหัดครูประกาศนียบัตรจังหวัด เมื่อปี พ.ศ. 2477 โดยรับนักเรียนที่เรียน ป.6 หรือ ม.2 (ตามแผน การศึกษาแห่งชาติ พ.ศ. 2475) เข้าเรียนมีกำหนด 2 ปี ต่อมาในปี พ.ศ. 2482 จึงได้เปลี่ยนมาเป็นรับนักเรียน ม.3 เข้าเรียน มีกำหนด 2 ปี ผู้สำเร็จการศึกษาจะได้ประกาศนียบัตรจังหวัด (ว.)

นอกจากนี้โรงเรียนฝึกหัดครูประกาศนียบัตรจังหวัด ยังรับนักเรียนที่เตรียมไว้เพื่อบรรจุเป็นครูประชาบาล ซึ่งทางจังหวัดต่าง ๆ ได้คัดเลือกนักเรียนที่จบ ป.4 จากตำบลทุรกันดารในจังหวัดนั้น ๆ มาเข้าเรียน มีกำหนด 3 ปี เมื่อสำเร็จการศึกษาแล้ว จะได้ประโยคครูประชาบาล (ป.บ.) และกลับไปเป็นครูในตำบลที่ตนมีภูมิลำเนาอยู่

ปี พ.ศ. 2482 โรงเรียนฝึกหัดครูประกาศนียบัตรจังหวัดสงขลา ได้ย้ายจากท่าชะมวงมาเรียนที่ตำบลคอหงส์ อำเภอหาดใหญ่ และในปี พ.ศ.2490 เปลี่ยนฐานะจากโรงเรียนฝึกหัดครูประกาศนียบัตรจังหวัดเป็นโรงเรียนฝึกหัดครูมูลและมีการปรับปรุงหลักสูตรใหม่ โดยรับนักเรียนที่จบชั้นมัธยมปีที่ 6 หรือประโยคประกาศนียบัตรครูมูล (ว.) เข้าเรียนต่ออีก 1 ปี สำเร็จแล้วจะได้รับประกาศนียบัตรครูมูล (ป.)

ต่อมาใน พ.ศ.2498 ก็ได้เปิดสอนหลักสูตรประกาศนียบัตรวิชาการศึกษา โดยรับนักเรียนที่จบ ม.6 เข้าเรียน 2 ปี ผู้สำเร็จการศึกษาจะได้รับประกาศนียบัตร วิชาการศึกษา (ป.กศ.) และโรงเรียนฝึกหัดครูมูลสงขลาก็เปลี่ยนเป็นโรงเรียนฝึกหัดครูสงขลา จนกระทั่งเมื่อวันที่ 1 มิถุนายน พ.ศ. 2499 จึงได้ย้ายมาตั้งอยู่ ณ บริเวณ บ้านเขารูปช้าง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา อันเป็นสถานที่ตั้งในปัจจุบันและได้ยกฐานะเป็นวิทยาลัยครูสงขลา เมื่อวันที่ 1 พฤษภาคม พ.ศ. 2504 อีกทั้งได้ขยายชั้นเรียนไปจนถึงระดับประกาศนียบัตรวิชาการศึกษาชั้นสูง (ป.กศ.สูง) ในปีเดียวกันนั้นเอง

ครั้นเมื่อถึงปี พ.ศ. 2518 รัฐบาลได้ประกาศใช้พระราชบัญญัติวิทยาลัยครู พ.ศ. 2518 ทำให้วิทยาลัยครูสงขลาเปิดสอนถึงระดับปริญญาตรี ในสาขาครุศาสตร์ โดยรับนักศึกษาที่เรียนจบ ป.กศ.สูง หรือครูประจำการ ที่ได้รับวุฒิ พ.ม. เข้าศึกษาต่อ 2 ปี ผู้สำเร็จการศึกษาจะได้รับวุฒิ
ครุศาสตรบัณฑิต (ค.บ.) และในปี พ.ศ. 2522 ก็ได้เปิดโครงการอบรมครูประจำการและบุคลากรทางการศึกษา (อ.ค.ป.) ในระดับ ป.กศ.ชั้นสูงและระดับปริญญาตรี (ค.บ.) หลังจากนั้นในปี
พ.ศ. 2524 ก็ได้ร่วมมือกับ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เปิดสอนหลักสูตรการโรงแรมและการท่องเที่ยวกับหลักสูตรการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำโดยเรียกโครงการนี้ว่า วิทยาลัยชุมชนสงขลา

ต่อมาในปี พ.ศ. 2527 รัฐบาลได้ประกาศใช้พระราชบัญญัติวิทยาลัยครู พ.ศ. 2527 ให้วิทยาลัยครูทำหน้าที่ผลิตครูและเปิดสอนวิชาชีพ ตามความต้องการและความจำเป็นของท้องถิ่น วิทยาลัยครูสงขลาจึงได้ผลิตครูระดับปริญญาตรี ครุศาสตรบัณฑิต และบัณฑิตหรือประกาศนียบัตรวิชาชีพอื่นๆ ตามความต้องการและความจำเป็น ของท้องถิ่นตั้งแต่บัดนั้นเป็นต้นมา และในปี พ.ศ. 2529 ได้เปิดการศึกษาสำหรับบุคลากรประจำการ (กศ.บป.) ในระดับอนุปริญญาและระดับปริญญาตรีสาขาครุศาสตร์ ซึ่งต่อมาก็ได้ขยายไปสู่สาขาอื่นๆ คือ ศิลปศาสตร์ และวิทยาศาสตร์ ดังที่เป็นอยู่ในปัจจุบัน

เมื่อวันที่ 14 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2535 พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว รัชกาลที่ 9 ทรงพระกรุณาโปรดเกล้า ฯ พระราชทานนาม “ ราชภัฏ ” แทนชื่อวิทยาลัยครูทั่วประเทศ ทำให้วิทยาลัยครูสงขลา เปลี่ยนชื่อเป็น “สถาบันราชภัฏสงขลา” ตั้งแต่บัดนั้น เป็นต้นมา สถาบันราชภัฏสงขลาได้มีความเจริญก้าวหน้ามาเป็นลำดับ จนสามารถเปิดสอนถึงระดับบัณฑิตศึกษาได้ในปี พ.ศ. 2544 และเมื่อวันที่ 15 มิถุนายน พ.ศ. 2547 จึงได้รับการยกฐานะเป็น **“มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา”**

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา วิทยาเขตจังหวัดสตูล

จังหวัดสตูลเป็นจังหวัดที่มีความต้องการทางด้านการศึกษาของเยาวชนมีจำนวนมาก โดยเฉพาะในระดับการศึกษาขั้นพื้นฐาน และมีแนวโน้มที่นักเรียนเข้าศึกษาต่อในระดับอุดมศึกษาค่อนข้างสูง ทั้งนี้สถิติที่ผ่านมานักเรียนที่จบการศึกษาต่อในระดับอุดมศึกษากว่าร้อยละ 60 ในขณะที่จังหวัดสตูลนั้นยังไม่มีสถานศึกษาในระดับอุดมศึกษาซึ่งหากได้มีการสนับสนุนให้จัดตั้งสถานศึกษาในระดับอุดมศึกษาจังหวัดสตูลนั้น ก็จะเป็นการยกระดับมาตรฐานการศึกษาของเยาวชน และสร้างคุณภาพชีวิตของประชาชนตามยุทธศาสตร์จังหวัดชายแดนภาคใต้ที่จะส่งผลให้เกิดความมั่นคงของประเทศอย่างยั่งยืนประกอบกับทางองค์การบริหารส่วนจังหวัดสตูลมีแนวนโยบายในการส่งเสริมการศึกษาในระดับอุดมศึกษา ซึ่งสอดคล้องกับประเด็นยุทธศาสตร์ของจังหวัดสตูล ที่ต้องการเพิ่มขีดความสามารถของบุคลากรและเป้าประสงค์ที่ต้องการเพิ่มรายได้จากการท่องเที่ยวและพัฒนาคุณภาพของสินค้าและบริการ

สตูลได้รับการพัฒนาโครงสร้างทางเศรษฐกิจให้เป็นเขตเศรษฐกิจพิเศษตามยุทธศาสตร์จังหวัดชายแดนใต้ และเป็นประตูสู่เวทีอาเซียน ทั้งนี้เพื่อรองรับการพัฒนาด้านต่าง ๆ จึงควรมีสถาบันอุดมศึกษาในการพัฒนาทรัพยากรมนุษย์อย่างมีคุณภาพอย่างแท้จริงทำให้มีโครงการจัดตั้งมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาวิทยาเขตจังหวัดสตูลด้วยการผลักดันของทุกภาคส่วนในจังหวัดสตูลและประชาชนในพื้นที่ เพื่อการพัฒนาท้องถิ่นอย่างยั่งยืน

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาได้ดำเนินโครงการจัดตั้งมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาวิทยาเขตจังหวัดสตูล โดยได้รับอนุมัติจากสภามหาวิทยาลัย เมื่อวันที่ 24 มกราคม 2552 เพื่อรองรับการพัฒนาจังหวัดให้สอดคล้องตามประเด็นยุทธศาสตร์จังหวัดชายแดนใต้ โดยให้ประสานงบประมาณการดำเนินงานจากทุก

ภาคส่วนทั้งในระดับชาติและระดับจังหวัด ทั้งนี้มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
ได้ดำเนินการเพื่อขอถอนสถานภาพและดำเนินการเพื่อขอใช้พื้นที่ตามหนังสือสำคัญสำหรับที่หลวง ฉบับที่ 4036/2515 (ทุ่งใหญ่สาธารณประโยชน์) ได้เนื้อที่ 346 ไร่ 93 ตารางวา ตามระเบียบกระทรวงมหาดไทยว่าด้วยวิธีปฏิบัติการถอนสภาพการขึ้นทะเบียนและการจัดหาผลประโยชน์ในที่ดินของรัฐ ตามประมวลกฎหมายที่ดิน พ.ศ. 2551 ณ พื้นที่สาธารณประโยชน์ทุ่งใหญ่สารภี ตำบลละงู อำเภอละงู จังหวัดสตูล

ดังนั้น มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา จังหวัดสตูล จึงได้ตั้งเจตนารมณ์ที่แน่วแน่และพันธะสัญญาที่ให้ไว้กับประชาชนในท้องถิ่น เป็นมหาวิทยาลัยเพื่อการพัฒนาท้องถิ่น มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา จะขยายโอกาสทางการศึกษาเพื่อการพัฒนาท้องถิ่น โดยการพัฒนาหลักสูตรเปิดสาขาที่ตอบสนองและสอดคล้องกับความต้องการของประชาชนในจังหวัดชายแดนใต้ ที่เป็นประโยชน์กับท้องถิ่นเพื่อการพัฒนาประเทศชาติอย่างยั่งยืนสืบต่อไป

ปรัชญา ปณิธาน ค่านิยมองค์กรคติพจน์

ปรัชญา

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา : สถาบันอุดมศึกษาเพื่อการพัฒนาท้องถิ่น

ปณิธาน

ปัญญาญาณของท้องถิ่น พลังแผ่นดินแห่งสยาม
สนองพระราชปิตุคาม งดงามอย่างยั่งยืน

ค่านิยมองค์กร

S = Skill K = Knowledge
R = Responsibility U = Unity

คติพจน์

ปญฺญานรานำรตนำ - ปัญญาเป็นดวงแก้วของนรชน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อผลิตครูและพัฒนาบุคลากรทางการศึกษาให้มีคุณภาพ มีความเข้มแข็งในวิชาชีพครูและเป็นผู้นำในการปฏิรูปการศึกษา
2. เพื่อผลิตบัณฑิตและพัฒนาบุคลากรในท้องถิ่นอย่างต่อเนื่องให้เป็นผู้ที่มีความรู้ มีคุณธรรมและจริยธรรม และมีขีดความสามารถที่สอดคล้องกับทิศทางการพัฒนาประเทศ
3. เพื่อสั่งสมองค์ความรู้จากการวิจัยและเชื่อมศาสตร์สู่สากลให้เกิดเป็นแหล่งเรียนรู้และถ่ายทอดเทคโนโลยีเพื่อการแก้ไขปัญหาและพัฒนาท้องถิ่นอย่างยั่งยืน
4. เพื่อบริการวิชาการและถ่ายทอดเทคโนโลยีจากฐานการวิจัยตามแนวคิดเศรษฐกิจพอเพียงในการสร้างความเข้มแข็งให้กับชุมชน
5. เพื่อส่งเสริม สืบสาน สร้างความรู้ความเข้าใจ และสร้างสรรค์ศิลปวัฒนธรรมของท้องถิ่นและของชาติ เพื่อให้เกิดความสำนึก ความภูมิใจ รักและผูกพันในท้องถิ่นและประเทศชาติ
6. เพื่อส่งเสริมและสืบสานพระบรมราโชบายและโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
7. เพื่อพัฒนาประสิทธิภาพการบริหารจัดการของมหาวิทยาลัยให้สามารถดำเนินภารกิจได้อย่างมีคุณภาพ

อัตลักษณ์มหาวิทยาลัย

“เป็นคนดี มีทักษะชีวิต มีจิตสาธารณะ”

นิยาม “เป็นคนดี” เป็นผู้ที่คิดดี พูดดี และทำดี หมายถึง คิด พูด และทำสิ่งที่เป็นประโยชน์ตนและสิ่งที่เป็นประโยชน์ท่าน

นิยาม“มีทักษะชีวิต” มีความชำนาญ มีความสามารถในการประยุกต์ใช้ปัญญาและเหตุผลในการดำเนินชีวิต ผ่านกระบวนการฝึกทักษะการคิด ทักษะการตัดสินใจ ทักษะการแก้ปัญหา ทักษะการคิดสร้างสรรค์ ทักษะการคิดอย่างมีวิจารณญาณทักษะการสื่อสารอย่างมีประสิทธิภาพทักษะการสร้างความสัมพันธ์ระหว่างบุคคล ทักษะการตระหนักรู้ในตน ทักษะการเข้าใจผู้อื่น ทักษะการจัดการกับอารมณ์และทักษะการจัดการกับความเครียด

นิยาม “มีจิตสาธารณะ” จิตที่คิดสร้างสรรค์ เป็นกุศล และมุ่งทำกรรมดีที่เป็นประโยชน์ต่อส่วนรวม ตั้งอยู่บน พื้นฐานของความตั้งใจดี และเจตนาดี

คิดสร้างสรรค์ คือ คิดในทางที่ดี ไม่ทำลายบุคคล สังคม วัฒนธรรม ประเทศชาติและสิ่งแวดล้อม

กรรมดี คือ การกระทำ และคำพูดที่มาจากความคิดที่ดี

ตราสัญลักษณ์

	สีน้ำเงิน	แทนค่า สถาบันพระมหากษัตริย์ผู้ให้กำเนิด และพระราชทานนามมหาวิทยาลัยราชภัฏ
	สีเขียว	แทนค่า แหล่งที่ตั้งของมหาวิทยาลัยราชภัฏ ทั้ง 36 แห่ง ในแหล่งธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมที่สวยงาม
	สีทอง	แทนค่า ความเจริญรุ่งเรืองทางภูมิปัญญา
	สีส้ม	แทนค่า ความเจริญรุ่งเรืองของศิลปวัฒนธรรมท้องถิ่นที่ก้าวไกลใน 36 สถาบัน

สีประจำ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

	สีขาว	หมายถึง ความถูกต้อง ความบริสุทธิ์
	สีแดง	หมายถึง ความรัก ความเข้มแข็ง

สีขาว - สีแดง หมายความว่า นักศึกษาของมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาทุกคนต้องกล้าคิด กล้าทำในสิ่งที่ถูกต้องดีงามด้วย ความบริสุทธิ์ใจ

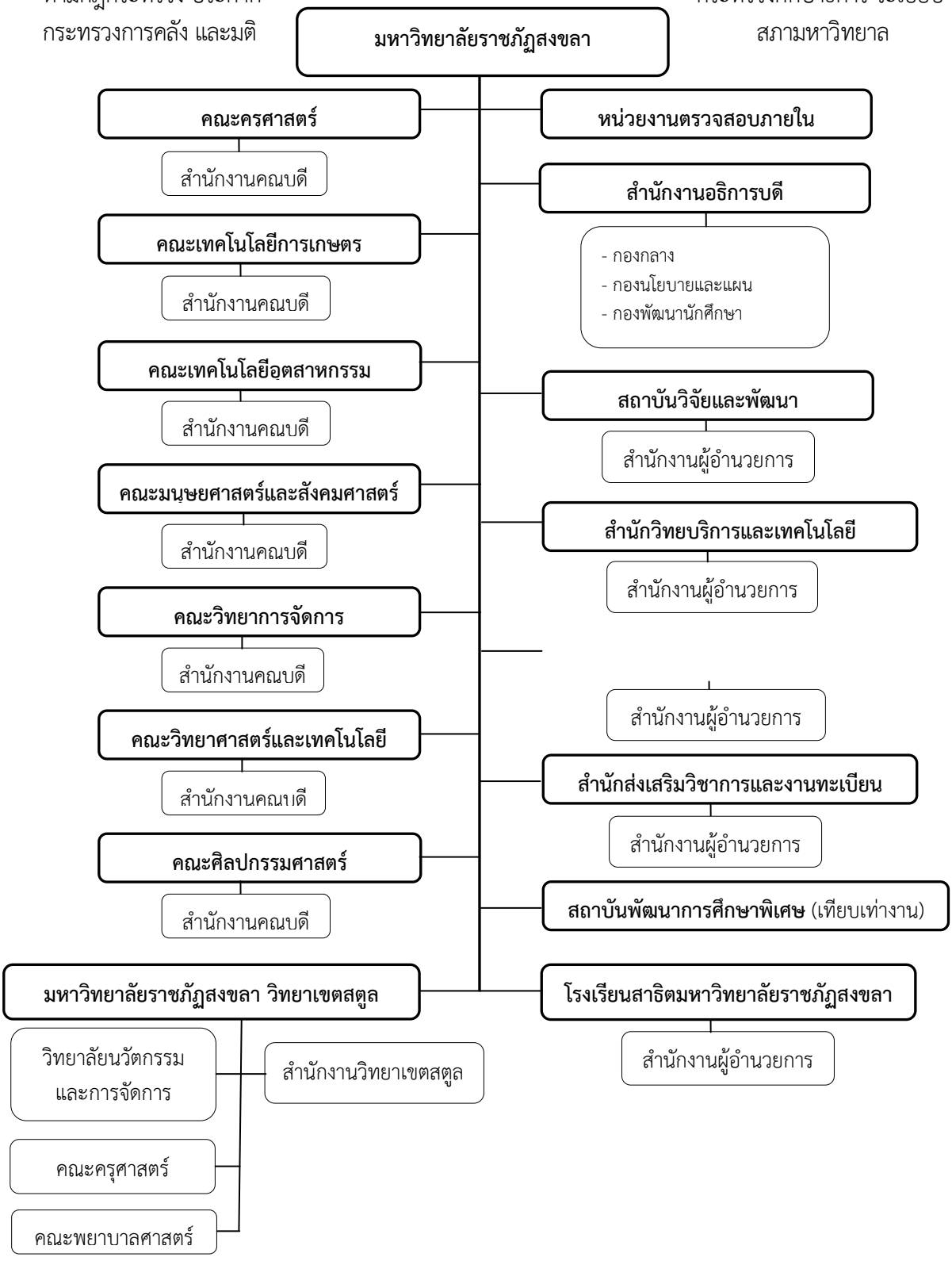
ดอกไม้ประจำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาคือ ดอกปาริฉัตร

ต้นไม้ประจำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาคือ ต้นสารภีทะเล

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ตามกฎกระทรวง ประกาศ กระทรวงการคลัง และมติ

กระทรวงศึกษาธิการ ระเบียบ สภามหาวิทยาล



ประวัติคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา เป็นหน่วยงานที่จัดตั้งขึ้นตามการแบ่งส่วนราชการของวิทยาลัยครูสงขลา เมื่อมีการประกาศใช้พระราชบัญญัติวิทยาลัยครู พุทธศักราช ๒๕๑๘ จึงเริ่มมีคณะเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. ๒๕๑๘ และเมื่อมีการประกาศใช้พระราชบัญญัติฉบับต่อ ๆ มา ได้มีการเปลี่ยนแปลงชื่อคณะและหน่วยงานในคณะตามลำดับ ดังนี้

พ.ศ. ๒๕๑๘ มี การประกาศใช้ พระราชบัญญัติวิทยาลัยครู พุทธศักราช๒๕๑๘ และประกาศกระทรวงศึกษาธิการ เรื่อง การแบ่งส่วนราชการในวิทยาลัยครู

มี การจัดตั้ง “คณะวิชาวิทยาศาสตร์” ขึ้นโดยมีหน่วยงานในสังกัด ดังนี้

- หมวดวิชาพลานามัย
- หมวดวิชาคณิตศาสตร์
- หมวดวิชาหัตถศึกษาและอุตสาหกรรมศิลป์
- หมวดวิชาคหกรรมศาสตร์
- หมวดวิชาเกษตรกรรม
- หมวดวิชาวิทยาศาสตร์

พ.ศ. ๒๕๑๙ เปลี่ยนชื่อ “หมวดวิชาพลานามัย” เป็น “หมวดวิชาพลศึกษาและนันทนาการ” และจัดตั้งหมวดวิชาสุขศึกษา

พ.ศ. ๒๕๒๗ มีการแก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติวิทยาลัยครู พุทธศักราช ๒๕๑๘ จึงมีการเปลี่ยนชื่อเป็น “คณะวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี” และเปลี่ยนชื่อหน่วยงานในสังกัดจากหมวดวิชาเป็น “ภาควิชา” ในคณะวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมีหน่วยงานในสังกัดดังนี้

- ภาควิชาคณิตศาสตร์และสถิติ
- ภาควิชาคหกรรมศาสตร์
- ภาควิชาอุตสาหกรรมศิลป์
- ภาควิชาเกษตรศาสตร์
- ภาควิชาพลศึกษาและนันทนาการ
- ภาควิชาสุขศึกษา
- ภาควิชาเคมี
- ภาควิชาชีววิทยา
- ภาควิชาฟิสิกส์และวิทยาศาสตร์ทั่วไป

พ.ศ. ๒๕๒๙ จัดตั้งโปรแกรมวิชาใหม่ คือ โปรแกรมวิชาเทคโนโลยีการยาง และจัดตั้งภาควิชาคอมพิวเตอร์ เปลี่ยนสังกัด ภาควิชาพลศึกษาและนันทนาการ ไปสังกัด คณะวิชาครุศาสตร์

พ.ศ. ๒๕๓๐ แยกภาควิชาเกษตรศาสตร์ไปจัดตั้งเป็น “คณะวิชาเกษตรและอุตสาหกรรม” (ปัจจุบันเปลี่ยนชื่อเป็น “คณะเทคโนโลยีการเกษตร”)

พ.ศ. ๒๕๓๕ พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวฯทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯพระราชทานนาม“สถาบันราชภัฏ” แทน “วิทยาลัยครู” เมื่อวันที่ ๑๔ กุมภาพันธ์ พ.ศ. ๒๕๓๕ วิทยาลัยครูสงขลาจึงใช้ชื่อใหม่ว่า “สถาบันราชภัฏสงขลา” มีฐานะเป็นสถาบันอุดมศึกษาคณะวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มีหน่วยงานในสังกัด ดังนี้

- ภาควิชาคณิตศาสตร์และสถิติ
- ภาควิชาคหกรรมศาสตร์
- ภาควิชาอุตสาหกรรมศิลป์
- ภาควิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ (ภาควิชาสุขศึกษา)
- ภาควิชาเคมี
- ภาควิชาชีววิทยา
- ภาควิชาฟิสิกส์และวิทยาศาสตร์ทั่วไป
- ภาควิชาคอมพิวเตอร์
- โปรแกรมวิชาเทคโนโลยีการยาง

พ.ศ. ๒๕๓๘ มีพระราชบัญญัติสถาบันราชภัฏ พุทธศักราช ๒๕๓๘ สถาบันราชภัฏสงขลา จึงมีฐานะเป็นสถาบันราชภัฏสงขลา ตามพระราชบัญญัติสถาบันราชภัฏ พ.ศ. ๒๕๓๘ เมื่อวันที่ ๒๔ มกราคม พ.ศ. ๒๕๓๘ และคณะวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเปลี่ยนชื่อเป็น “คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี” มีหน่วยงานในสังกัด ดังนี้

- สำนักงานเลขานุการคณะ
- ภาควิชาคณิตศาสตร์และสถิติ
- ภาควิชาคหกรรมศาสตร์
- ภาควิชาอุตสาหกรรมศิลป์
- ภาควิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ
- ภาควิชาเคมี
- ภาควิชาฟิสิกส์และวิทยาศาสตร์ทั่วไป
- ภาควิชาคอมพิวเตอร์
- ภาควิชาชีววิทยา
- โปรแกรมวิชาเทคโนโลยีการยาง
- โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

พ.ศ. ๒๕๔๐ แยกภาควิชาอุตสาหกรรมศิลป์ไปจัดตั้งเป็น “คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม”

พ.ศ. ๒๕๔๑ ทดลองนำระบบบริหารแบบโปรแกรมวิชามาใช้ในคณะ เปลี่ยนจากการบริหารแบบ“ภาควิชา” เป็น “โปรแกรมวิชา” โดยโปรแกรมวิชาประกอบด้วย คณะกรรมการบริหารโปรแกรมวิชาที่ทำหน้าที่บริหารงานวิชาการ ดังนั้นคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จึงมีหน่วยงานในสังกัด ดังนี้

- สำนักงานเลขานุการคณะ
- โปรแกรมวิชาคณิตศาสตร์
- โปรแกรมวิชาสถิติประยุกต์
- โปรแกรมวิชาคหกรรมศาสตร์
- โปรแกรมวิชาคหกรรมศาสตร์ทั่วไป
- โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ
- โปรแกรมวิชาสุขศึกษา
- โปรแกรมวิชาเคมี
- โปรแกรมวิชาเคมีปฏิบัติ
- โปรแกรมวิชาชีววิทยา
- โปรแกรมวิชาชีววิทยาประยุกต์
- โปรแกรมวิชาฟิสิกส์
- โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป
- โปรแกรมวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์
- โปรแกรมวิชาคอมพิวเตอร์ศึกษา
- โปรแกรมวิชาเทคโนโลยีการยาง
- โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

พ.ศ. ๒๕๔๓ มีการปรับเปลี่ยนหน่วยงานสังกัดคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีใหม่ โดยยุบรวมโปรแกรมวิชาในสาขาวิชาเดียวกันเข้าด้วยกัน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มีหน่วยงานในสังกัด ดังนี้

- สำนักงานเลขานุการคณะ
- โปรแกรมวิชาคณิตศาสตร์และสถิติ

- โปรแกรมวิชาคหกรรมศาสตร์
- โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ
- โปรแกรมวิชาเคมีและเคมีประยุกต์
- โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์
- โปรแกรมวิชาฟิสิกส์และวิทยาศาสตร์ทั่วไป
- โปรแกรมวิชาคอมพิวเตอร์
- โปรแกรมวิชาเทคโนโลยียางและพอลิเมอร์
- โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

พ.ศ. ๒๕๔๔ ผ่านร่างพระราชบัญญัติมหาวิทยาลัยราชภัฏ

พ.ศ. ๒๕๔๗ (๑๕ มิ.ย.) มีพระราชบัญญัติมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา พุทธศักราช ๒๕๔๗ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา จึงเป็นมหาวิทยาลัยในสังกัดสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ยังคงมีหน่วยงานในสังกัดเหมือนเดิม

พ.ศ.๒๕๔๙ (๒๒ พ.ค.) มีประกาศกระทรวงศึกษาธิการ เรื่อง การแบ่งส่วนราชการในมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาแบ่งส่วนราชการในคณะ เป็น “สำนักงานคณบดี”

พ.ศ. ๒๕๔๙ ปรับเปลี่ยนหน่วยงานสังกัดคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีใหม่ตามเกณฑ์ของสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา มีหน่วยงานในสังกัดประกอบด้วย

- สำนักงานคณบดี
- ภาควิชาคณิตศาสตร์และคอมพิวเตอร์ประกอบด้วย
  - โปรแกรมวิชาคณิตศาสตร์และสถิติประยุกต์
  - โปรแกรมวิชาคอมพิวเตอร์
- ภาควิชาวิทยาศาสตร์ประกอบด้วย
  - โปรแกรมวิชาเคมีและเคมีประยุกต์
  - โปรแกรมวิชาฟิสิกส์และวิทยาศาสตร์ทั่วไป
  - โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์
  - โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
  - โปรแกรมวิชาเทคโนโลยียางและพอลิเมอร์
- โครงการจัดตั้งภาควิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพและคหกรรมศาสตร์ ประกอบด้วย
  - โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ
  - โปรแกรมวิชาคหกรรมศาสตร์

พ.ศ. ๒๕๕๑ ปรับเปลี่ยนหน่วยงานสังกัดคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีใหม่ มีหน่วยงานในสังกัด

ประกอบด้วย

- สำนักงานคณบดี
- โปรแกรมวิชาคณิตศาสตร์และสถิติ
- โปรแกรมวิชาคอมพิวเตอร์
- โปรแกรมวิชาเคมีและเคมีประยุกต์
- โปรแกรมวิชาฟิสิกส์และวิทยาศาสตร์ทั่วไป
- โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์
- โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
- โปรแกรมวิชาเทคโนโลยียางและพอลิเมอร์
- โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ
- โปรแกรมวิชาคหกรรมศาสตร์

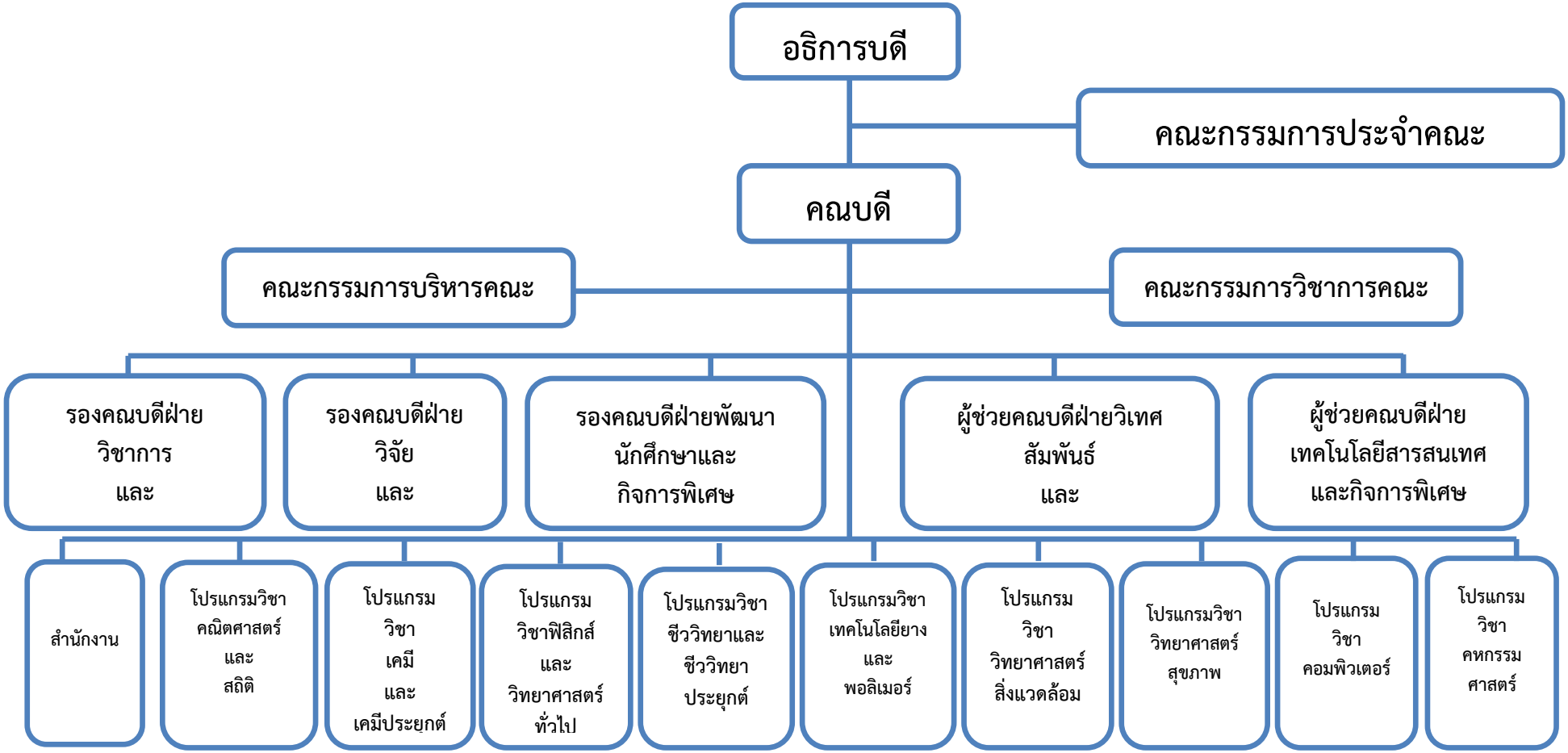
วิสัยทัศน์ พันธกิจ ยุทธศาสตร์การดำเนินงาน

วิสัยทัศน์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เป็นคณะชั้นนำที่ผลิตบัณฑิตมีคุณภาพและคุณธรรม เพื่อพัฒนาท้องถิ่นสู่สากล

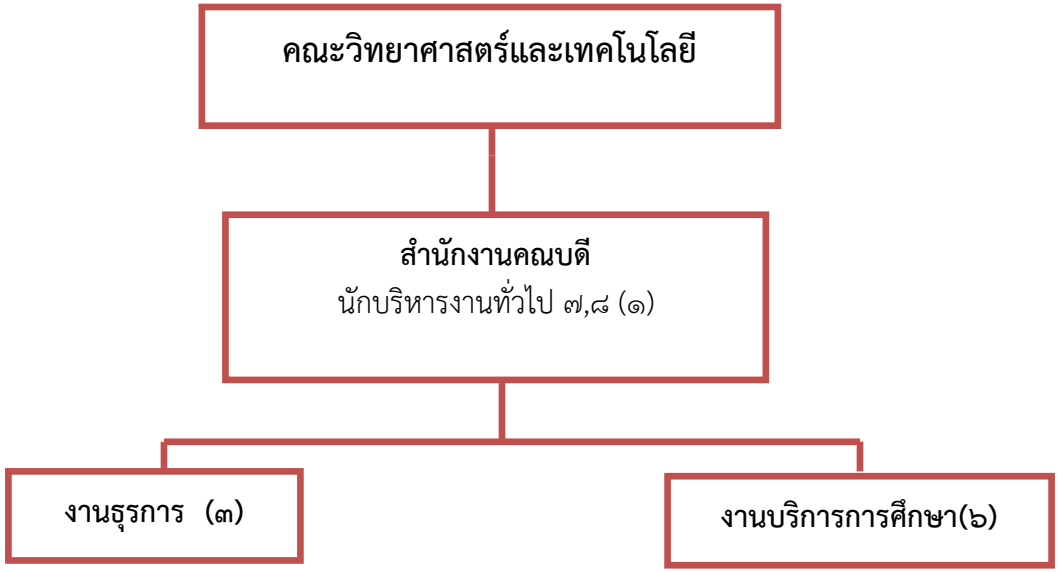
พันธกิจ

1. จัดการศึกษาเพื่อผลิตบัณฑิตและพัฒนาบุคลากรด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
2. ส่งเสริมการผลิตและพัฒนาครูด้านวิทยาศาสตร์
3. ศึกษา วิจัย สร้างองค์ความรู้พัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
4. บริการวิชาการ และถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ท้องถิ่น
5. ทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม ภูมิปัญญาท้องถิ่น และอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม
6. ส่งเสริมและสืบสานโครงการอันเนื่องมาจากแนวพระราชดำริ

โครงสร้างการบริหารคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี



โครงสร้างอัตรากำลัง/ตำแหน่ง/สำนักงานคณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา



- เจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไป ๗ (๑)
- เจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไป ๓-๖ (๔)
- ผู้ปฏิบัติงานบริหาร ๒-๔ , ๕,๖ (๑)

- นักวิชาการศึกษา ๗ (๑)
- นักวิชาการศึกษา๓-๖ (๒)
- นักวิทยาศาสตร์ ๓-๖ (๘)
- ผู้ปฏิบัติงานวิทยาศาสตร์ ๒-๔ , ๕,๖ (๑)
- ผู้ปฏิบัติงานโภชนาการ๒-๔ , ๕,๖ (๑)
- นักวิชาการคอมพิวเตอร์ ๓-๖ (๒)

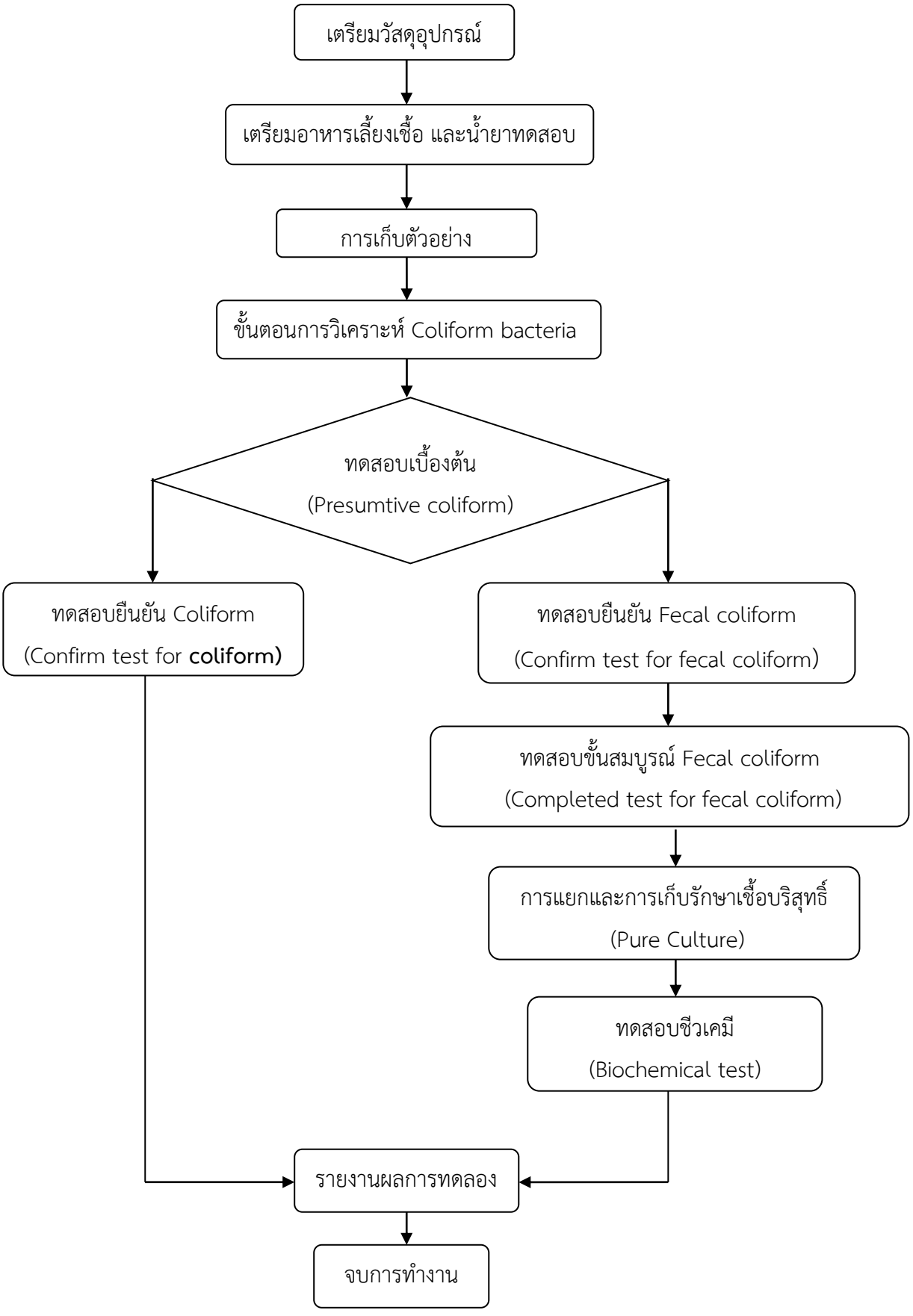
ส่วนที่ 2 ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

การตรวจวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform ในน้ำ เป็นบทปฏิบัติการหนึ่งในรายวิชาจุลชีววิทยา เป็นการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำ จุลินทรีย์ในน้ำ ได้แก่ แบคทีเรีย ไวรัส และโปรโตซัว จุลินทรีย์เหล่านี้มีหลายชนิดที่เป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคที่ตรวจพบได้ในน้ำเป็นผลมาจากการปนเปื้อนอุจจาระของคนและสัตว์

น้ำเป็นปัจจัยสำคัญในการดำรงชีวิต ปัจจุบันมีการใช้น้ำในกิจกรรมต่างๆ ทั้งการอุปโภคและบริโภค ภาคอุตสาหกรรม เกษตรกรรม และชุมชน น้ำที่นำมาใช้ในแต่ละกิจกรรมนั้นควรเป็นน้ำที่สะอาด ปลอดภัย ปราศจากเชื้อที่อาจทำให้เกิดโรคโดยมีน้ำเป็นสื่อ เพราะการนำน้ำที่มีการปนเปื้อนไปใช้ในการอุปโภค และบริโภคอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพได้ แต่การที่จะระบุน้ำแบบใดปลอดภัยเหมาะสมที่จะนำมาบริโภคควรมีการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันความสะอาดและปลอดภัย ดังนั้นการที่จะบ่งชี้ว่าน้ำนั้นมีความปลอดภัยหรือไม่ นิยมตรวจหาจุลินทรีย์ดัชนี (microbial indicator) คุณภาพน้ำ จุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีคุณภาพน้ำจึงใช้จุลินทรีย์ (coliform bacteria) เป็นดัชนีบ่งบอกถึงการปนเปื้อนจากอุจจาระ จุลินทรีย์ดัชนีกลุ่ม Enterobacteriaceae เช่น coliform และ fecal coliform เป็นพวกที่มีแหล่งอาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ ซึ่งเชื้อโรคเหล่านี้สามารถถูกขับถ่ายออกจากร่างกายคน และสัตว์ลงสู่แหล่งน้ำโดยทางอุจจาระ หากพบเชื้อกลุ่มนี้ในแหล่งน้ำ แสดงว่าแหล่งน้ำนี้มาการปนเปื้อนโดยอุจจาระของคนและสัตว์ การตรวจหา Coliform bacteria และ fecal coliform ต้องทำหลายขั้นตอนเป็นเพราะว่าหากวิเคราะห์แค่ขั้นตอนเดียวยังไม่สามารถยืนยันได้ เนื่องจากเชื้อบางตัวที่ไม่ใช่กลุ่มนี้ก็สามารถย่อยสลายน้ำตาล lactose ได้เหมือนกัน จึงต้องมีขั้นตอนการยืนยัน การตรวจขั้นสมบูรณ์ และตรวจสอบทางชีวเคมี

เมื่อมีการปฏิบัติการ เรื่อง การตรวจวิเคราะห์ Coliform bacteria และ fecal coliform ในน้ำ จะต้องมีการวางแผนการปฏิบัติการล่วงหน้าเนื่องจากวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ต้องผ่านการฆ่าเชื้อทั้งหมดไม่ให้มีการปนเปื้อนในกระบวนการตั้งแต่เริ่มเก็บตัวอย่าง จนถึงขั้นการอ่านผลการทดลอง เนื่องจากโอกาสที่มีการปนเปื้อนในระหว่างการปฏิบัติการทุกกระบวนการสูงมาก ผู้ปฏิบัติงานจึงมีความจำเป็นต้องใช้วิธีการ Aseptic technique เข้ามาเกี่ยวข้องในการตรวจวิเคราะห์ จึงจะทำให้มั่นใจว่าผลการวิเคราะห์ที่ได้มีความแม่นยำมากขึ้น วิธีการที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ จะใช้วิธี MPN method (Most Probable Number) เป็นจำนวนสูงสุดของจุลินทรีย์อาจมีได้ในตัวอย่าง ค่านี้ได้จากการประเมินโดยใช้หลักสถิติสำหรับการหาค่า MPN โดยวิธี multiple-tube technique เป็นวิธีการประเมินจำนวนสูงสุดของจุลินทรีย์ในตัวอย่างโดยเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จากตัวอย่างนั้น เมื่อทำการวิเคราะห์ทุกขั้นตอนแล้วเสร็จจะต้องมีการสรุปผลการทดลอง เพื่อเป็นตัวชี้วัดความสำเร็จของงาน และสามารถนำมาพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ต่อไปให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ซึ่งในการตรวจวิเคราะห์ Coliform bacteria และ fecal coliform ในน้ำ มีขั้นตอนการดำเนินงาน 6 ขั้นตอน ดังแผนภาพต่อไปนี้

แผนภูมิขั้นตอนการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform ในน้ำ



ขั้นตอนที่ 1 เตรียมวัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือ

1.1 รับงานจากหัวหน้า หรือหนังสือขอความอนุเคราะห์ในการจัดเตรียมการเรียนการสอนในบทปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาให้เริ่มวางแผนการปฏิบัติการโดยเตรียมวัสดุอุปกรณ์ดังต่อไปนี้

1.1.1 เตรียมขวดสำหรับเก็บตัวอย่างน้ำ ขวดสำหรับเก็บตัวอย่างน้ำในการตรวจวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform ของห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาใช้ขวดแก้วที่ปราศจากเชื้อ โดยนำขวดแก้วปิดฝาให้สนิท บรรจุลงหม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ดังภาพที่ 1

ภาพที่ 1 ขวดสำหรับเก็บตัวอย่างน้ำสำหรับวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา

1.1.2 เตรียมจานเพาะเชื้อ จานเพาะเชื้อสำหรับการตรวจวิเคราะห์ Coliform Bacteria และ Fecal coliform ของห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา จะต้องเป็นจานแก้วที่ปราศจากเชื้อ โดยการนำจานเพาะเชื้อบรรจุลงในกระบอก stainless steel แล้วอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ดังภาพที่ 2

ภาพที่ 2 จานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ

1.1.3 เตรียมปิเปต ปิเปตที่ใช้ในการวิเคราะห์วิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform ใช้จำนวน 2 ปริมาตร คือ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กับปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะต้องเป็นปิเปตที่ปราศจากเชื้อ โดยการนำปิเปตแต่ละปริมาตรที่ต้องใช้บรรจุในกระบอก stainless steel แล้วอบรมร้อนที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ดังภาพที่ 3

ภาพที่ 3 ปิเปตที่ปราศจากเชื้อ

1.1.4 เตรียมวัสดุที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform จะต้องเตรียมให้พร้อมและต้องเตรียมไว้ให้ครบเนื่องจากในขณะวิเคราะห์ไม่ควรเดินไปเดินมา อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนในตัวอย่างได้ ดังนั้นต้องมีการวางแผนการเตรียมวัสดุที่ใช้ให้พร้อม ประกอบด้วย ตะเกียงแอลกอฮอล์ จุกยาง ตะแกรงวางหลอดทดลอง กระบอกฉีดแอลกอฮอล์ ผ้าเช็ดมือ ไม้ขีดไฟ ดังภาพที่ 4

ภาพที่ 4 วัสดุที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform

1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform จะต้องเป็นเครื่องมือที่ผ่านการตรวจสอบ (Calibrate) ว่าใช้งานได้และเที่ยงตรง มีดังต่อไปนี้

1.2.1 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) เป็นเครื่องมือใช้สำหรับ sterile อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการวิเคราะห์ อุปกรณ์บางชนิดที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ Coliform bacteria และFecal coliform อุปกรณ์ที่นำมา sterile ต้องมีฝาปิดสนิท หากอุปกรณ์ที่ไม่มีฝาปิดสนิทให้บรรจุใส่ถุงร้อนผูกด้วยยางแล้วนำไป sterile ได้ โดยเครื่องนี้เป็นเครื่องที่ฆ่าเชื้อโดยการนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ดังภาพที่ 5

ภาพที่ 5 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ

1.2.2 ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow) เป็นเครื่องมือใช้สำหรับการวิเคราะห์ที่เกี่ยวกับเชื้อจุลินทรีย์ เป็นเครื่องที่ป้องกันไม่ให้เกิดการฟุ้งกระจายของเชื้อจุลินทรีย์ออกสู่สิ่งแวดล้อม และป้องกันไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อมปนเปื้อนตัวอย่างที่วิเคราะห์ หลักการของเครื่องมือนี้เป็นการหมุนเวียนของอากาศไม่ให้อากาศไหลย้อนกลับ ดังภาพที่ 6

ภาพที่ 6 ตู้ปลอดเชื้อ

1.2.3 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform เป็นตู้ที่ใช้บ่มเพาะเชื้อที่ควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ Coliform Bacteria และอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเพาะเชื้อ Coliform bacteria และ Fecal coliform ขั้น Presumtive อยู่ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 7

ภาพที่ 7 ตู้บ่มเชื้อ

1.2.4 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform เป็นอ่างน้ำสำหรับบ่มเชื้อที่ควบคุมอุณหภูมิเหมาะสมต่อการเจริญของ Coliform bacteria และ Fecal coliform และอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเพาะเชื้อ Coliform bacteria และ Fecal coliform ขั้น Confirm หา Fecal coliform อุณหภูมิที่ใช่ในการบ่ม 44.5 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 8

ภาพที่ 8 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

1.2.5 ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการ Sterile วัสดุที่ใช้ในการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform วัสดุที่ใช้อบกับเครื่องนี้ ได้แก่ จานเพาะเชื้อ ปิเปต โดยใช้ความร้อนแบบลมร้อนที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวัสดุที่นำมาอบลมร้อนนั้นต้องใส่ในภาชนะที่ทนความร้อนมักใช้ กระบอก stainless steel ดังภาพที่ 9

ภาพที่ 9 ตู้อบลมร้อน

1.2.6 ตู้แช่แข็งอุณหภูมิต่ำ (Refrigerator) เป็นตู้ใช้สำหรับเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์หลังจากการคัดแยกให้บริสุทธิ์แล้ว เก็บเชื้อไว้เป็น Stock และเก็บไว้ได้เป็นเวลานาน และไม่กลายพันธุ์ ดังภาพที่ 10

ภาพที่ 10 ตู้แช่แข็งอุณหภูมิต่ำ (-80 ˚C)

ปัญหา

เครื่องมือมีจำนวนจำกัด อาจไม่เพียงพอต่อการใช้งาน เนื่องจากเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับการเรียนการสอน การวิจัยของนักศึกษา อาจารย์ทั้งภายใน และนอกสาขาวิชา โดยแต่ละเครื่องใช้มีระยะเวลาที่ใช้นาน จึงทำให้ไม่เพียงพอต่อการใช้งาน

แนวทางการแก้ปัญหา

ลงชื่อขอใช้อุปกรณ์ และเครื่องมือล่วงหน้า

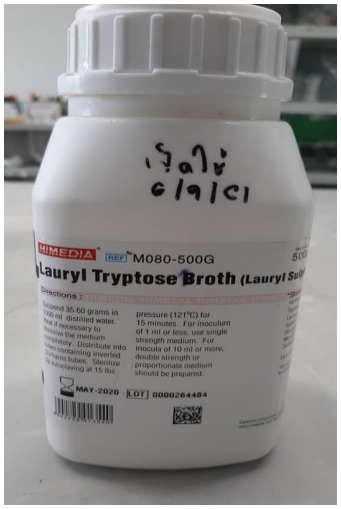
ข้อเสนอแนะ

ก่อนลงมือปฏิบัติการวิเคราะห์ควรมีการวางแผนล่วงหน้าและเช็คการใช้เครื่องมือแต่ละเครื่องว่าอยู่ในสภาวะพร้อมใช้งานหรือไม่ แล้วลงบันทึกขอใช้เครื่องมือให้เป็นลายลักษณ์อักษรโดยเขียนวันเวลาที่ขอใช้ให้ชัดเจน ซึ่งจะช่วยลดการสูญเสีย ทั้งเวลาและทรัพย์สิน หากเกิดการปฏิบัติงานที่ทับซ้อนกับคนอื่น และไม่สามารถปฏิบัติงานให้ทันในเวลาที่กำหนด

ขั้นตอนที่ 2 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และน้ำยาทดสอบ

2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ (Culture medium) คือ อาหารที่มีส่วนประกอบของสารอาหารที่เอื้ออำนวยให้จุลินทรีย์เจริญและสามารถเพิ่มจำนวน โดยจุลินทรีย์ต่างชนิดกันมีความต้องการสารอาหารที่แตกต่างกัน ดังนั้นการเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อจึงต่างกันไปตามความต้องการของจุลินทรีย์ เช่น อาหารเหลว อาหารแข็ง และอาหารกึ่งแข็ง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform มีอยู่ด้วยกันดังต่อไปนี้

2.1.1 Lauryl tryptose broth



ภาพที่ 11 Lauryl tryptose broth

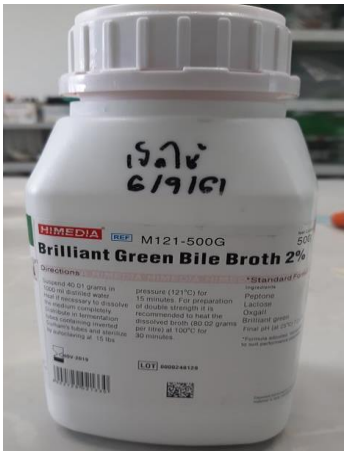
- สูตรอาหาร

Tryptose	20.0	กรัม
Lactose	5.0	กรัม
K_2HPO_4	2.75	กรัม
KH_2PO_4	2.75	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
Sodium lauryl sulfate	0.1	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

- วิธีการเตรียม

ตวงน้ำกลั่นมา 1,000 มิลลิลิตรใส่บิกเกอร์ หลังจากนั้นชั่งสารทุกตัวผสมลงในบิกเกอร์ แล้วกวนให้เข้ากันดูจากความใสของอาหาร ปรับพีเอชให้ได้ 6.8 กรณีใช้อาหารสำเร็จรูปให้ชั่งตามฉลากบอกข้างขวด แล้วดูดใส่หลอดตามต้องการ ก่อนการนึ่งฆ่าเชื้อบรรจุหลอดดักแก๊สลงในหลอดอาหารในลักษณะคว่ำหลอดแล้วจึงนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2.1.2 Brilliant green lactose bile broth (BGLB)



ภาพที่ 12 Brilliant green lactose bile broth

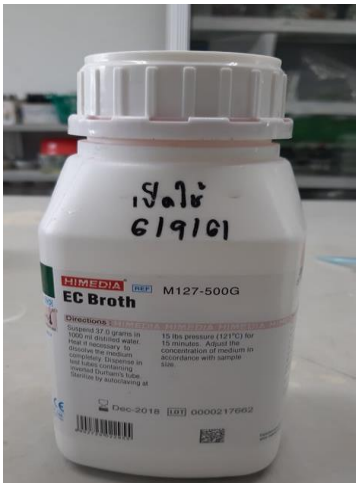
- สูตรอาหาร

Peptone	10.0	กรัม
Lactose	10.0	กรัม
Oxgall	20.0	กรัม
Brilliant green	0.0133	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

- วิธีการเตรียม

ตวงน้ำกลั่นมา 1,000 มิลลิลิตรใส่บิกเกอร์ หลังจากนั้นชั่งสารทุกตัวผสมลงในบิกเกอร์ แล้วกวนให้เข้ากันดูจากความใสของอาหาร ปรับพีเอชให้ได้ 7.2 กรณีใช้อาหารสำเร็จรูปให้ชั่งตามฉลากบอกข้างขวด แล้วดูดใส่หลอดตามต้องการ ก่อนการนึ่งฆ่าเชื้อบรรจุหลอดดักแก๊สลงในหลอดอาหารในลักษณะคว่ำหลอดแล้วจึงนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2.1.3 EC broth



ภาพที่ 13 EC broth

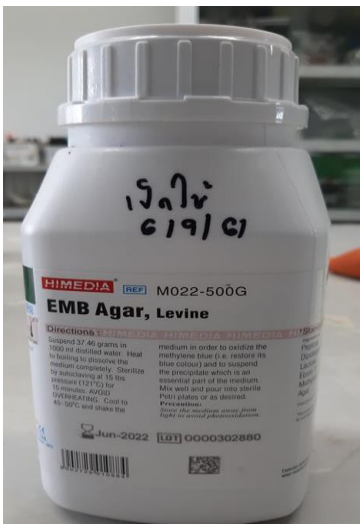
- สูตรอาหาร

Tryptose หรือ trypticase	20.0	กรัม
Lactose	5.0	กรัม
Bile salt หรือBile salt mixture	1.5	กรัม
K_2HPO_4	4.0	กรัม
KH_2PO_4	1.5	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

- วิธีการเตรียม

ตวงน้ำกลั่นมา 1,000 มิลลิลิตรใส่บิกเกอร์ หลังจากนั้นชั่งสารทุกตัวผสมลงในบิกเกอร์ แล้วกวนให้เข้ากันดูจากความใสของอาหาร ปรับพีเอชให้ได้ 6.9 กรณีใช้อาหารสำเร็จรูปให้ชั่งตามฉลากบอกข้างขวด แล้วดูดใส่หลอดตามต้องการ ก่อนการนึ่งฆ่าเชื้อบรรจุหลอดดักแก๊สลงในหลอดอาหารในลักษณะคว่ำหลอดแล้วจึงนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2.1.4 Eosin methylene blue agar (EMB)



ภาพที่ 14 Eosin methylene blue agar

- สูตรอาหาร

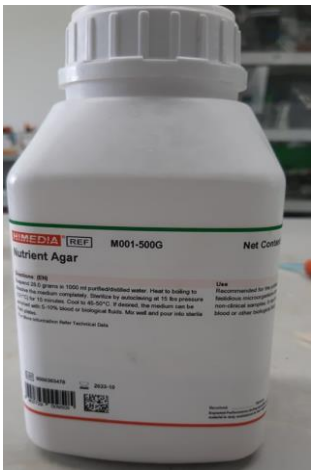
Peptone	10	กรัม
K_2HPO_4	2.0	กรัม
Lactose	5.0	กรัม
Sucrose	5.0	กรัม
Eosin yellowish	0.4	กรัม

Methylene blue	0.07	กรัม
Agar	13.5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

- วิธีการเตรียม

ตวงน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แบ่งน้ำออกเป็น 2 ส่วน ส่วนละ 500 มิลลิลิตร ส่วนแรกเอาผสมกับวุ้นผงละลายโดยการใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากันตั้งไฟให้วุ้นผงละลายจนสุก น้ำอีก 500 มิลลิลิตร ใช้ผสมกับส่วนผสมที่เหลือ ตั้งไฟพอหลอมเข้ากันดีแล้วเอาทั้ง 2 ส่วนมาผสมกัน ปรับพีเอชให้ได้ 7.2 ตั้งไฟอีกครั้งจนกว่าจะเดือด ปรับปริมาณใหม่ให้ครับ 1,000 มิลลิลิตร แล้วกวนให้เข้ากันนำไปใส่ในภาชนะสำหรับนำไปฆ่าเชื้อ กรณีใช้อาหารสำเร็จรูปให้ชั่งตามฉลากบอกข้างขวด แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2.1.5 Nutrient agar (NA)



ภาพที่ 15 Nutrient agar

- สูตรอาหาร

Peptone	5.0	กรัม
Beef extract	3.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

- วิธีการเตรียม

ตวงน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แบ่งน้ำออกเป็น 2 ส่วน ส่วนละ 500 มิลลิลิตร ส่วนแรกเอาผสมกับวุ้นผงละลายโดยการใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากันตั้งไฟให้วุ้นผงละลายจนสุก น้ำอีก 500 มิลลิลิตร ใช้ผสมกับ peptone และ beef extract ตั้งไฟพอหลอมเข้ากันดีแล้วเอาทั้ง 2 ส่วนมาผสมกัน ปรับพีเอชให้ได้ 6.8 ตั้งไฟอีกครั้งจนกว่าจะเดือด ปรับปริมาณใหม่ให้ครับ 1,000 มิลลิลิตร แล้วกวนให้เข้ากันนำไปใส่ใน

ภาชนะสำหรับนำไปฆ่าเชื้อ กรณีใช้อาหารสำเร็จรูปให้ชั่งตามฉลากบอกข้างขวด แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2.1.6 Simmons Citrate agar

- สูตรอาหาร

$(NH_4)H_2PO_4$	1.0	กรัม
K_2HPO_4	1.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
Sodium citrate	2.0	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.2	กรัม
Brom thymol blue	0.08	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

- วิธีการเตรียม

ตวงน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แบ่งน้ำออกเป็น 2 ส่วน ส่วนละ 500 มิลลิลิตร ส่วนแรกเอาผสมกับวุ้นผงละลายโดยการใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากันตั้งไฟให้วุ้นผงละลายจนสุก น้ำอีก 500 มิลลิลิตร ใช้ผสมกับส่วนผสมที่เหลือ ตั้งไฟพอหลอมเข้ากันดีแล้วเอาทั้ง 2 ส่วนมาผสมกัน ปรับพีเอชให้ได้ 6.8 ตั้งไฟอีกครั้งจนกว่าจะเดือด ปรับปริมาณใหม่ให้ครับ 1,000 มิลลิลิตร แล้วกวนให้เข้ากันนำไปใส่ในภาชนะสำหรับนำไปฆ่าเชื้อ กรณีใช้อาหารสำเร็จรูปให้ชั่งตามฉลากบอกข้างขวด แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2.1.7 MR-VP broth

- สูตรอาหาร

Buffered peptone	7.0	กรัม
Dextrose	5.0	กรัม
K_2PO_4	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

- วิธีการเตรียม

ตวงน้ำกลั่นมา 1,000 มิลลิลิตรใส่บิกเกอร์ หลังจากนั้นชั่งสารทุกตัวผสมลงในบิกเกอร์ แล้วกวนให้เข้ากันดูจากความใสของอาหาร ปรับพีเอชให้ได้ 6.9 กรณีใช้อาหารสำเร็จรูปให้ชั่งตามฉลากบอกข้างขวด แล้วดูดใส่หลอดตามต้องการ นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2.1.8 Tryptone broth

- สูตรอาหาร

Tryptone	10.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

- วิธีการเตรียม

ตวงน้ำกลั่นมา 1,000 มิลลิลิตรใส่บิกเกอร์ หลังจากนั้นชั่งสารทุกตัวผสมลงในบิกเกอร์ แล้วกวนให้เข้ากันดูจากความใสของอาหาร ปรับพีเอชให้ได้ 7.5 กรณีใช้อาหารสำเร็จรูปให้ชั่งตามฉลากบอกข้างขวด แล้วดูดใส่หลอดตามต้องการ นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2.2 น้ำยาทดสอบ Bacteria Coliform มีดังต่อไปนี้

2.2.1 Kovac’s regent

- ส่วนประกอบ

Pentanol (amyl หรือ isoamyl alcohol)	150.0	มิลลิลิตร
p-Diamethyl aminobenzaldehyde	10.0	กรัม
HCl (conc.)	50.0	มิลลิลิตร

- วิธีการเตรียม

ละลายอัลดีไฮด์แอลกอฮอล์จากนั้นเติมกรดลงไปอย่างช้า ๆ เก็บไว้ในตู้เย็น เนื่องจาก pentanol เป็นสารละเหยง่ายโดยไอทำให้เกิดอาการแสบคันจึงควรทำการทดสอบในตู้ดูดควัน

2.2.2 Methyl red solution

- ส่วนประกอบ

Methyl red	0.1	กรัม
Ethyl alcohol 95%	300.0	มิลลิลิตร

- วิธีการเตรียม

ละลาย methyl red ในแอลกอฮอล์ จากนั้นนำไปกรองก่อนนำไปใช้

2.2.3 Voges-Proskauer test reagent

- ส่วนประกอบ

สารละลาย A		
$CuSO_4.5H_2O$	1.0	กรัม
NH_4OH conc.	40.0	มิลลิลิตร
สารละลาย B		
KOH	10.0	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

- วิธีการเตรียม

ผสมสารละลาย A 40 มิลลิลิตร กับสารละลาย B 96.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นนำไปกรองก่อนนำไปใช้

ปัญหา

ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ความร้อยในการละลายอาหารอาจเกิดอุบัติเหตุได้เนื่องจากเมื่อถึงจุดเดือดผู้ปฏิบัติงานอาจรู้เท่าไม่ถึงการณ์นำอุปกรณ์ไปคนอาหาร ทำให้อาหารที่มีความร้อนแฝงอยู่เดือดขึ้นมาโดนมือได้

การใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำในการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ หากใช้เครื่องมือโดยขาดความระมัดระวังอาจเกิดอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงานได้เนื่องจากหม้อนึ่งความดันไอน้ำในขณะเครื่องกำลังทำงานภายในเครื่องจะมีความดันสูงและความร้อนสูง

แนวทางการแก้ปัญหา

การเตรียมอาหารที่ใช้ความร้อนนั้นเมื่อต้องการคนให้สารผสมกันนั้น ให้ยกหม้อหรือภาชนะลงจากไฟก่อนแล้วจึงใช้อุปกรณ์คนสารแล้วค่อยนำไปให้ความร้อนใหม่

การใช้หม้อนึ่งความดันไอในการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อควรเช็คเครื่องมือให้อยู่ในสภาพพร้อมใช้งานและขณะใช้งานต้องให้เครื่องส่งสัญญาณบอกว่าเสร็จงานแล้วถึงจะเปิดเครื่องได้

ข้อเสนอแนะ

ก่อนการปฏิบัติงานโดยเริ่มตั้งแต่การเตรียมอาหารจนถึงการใช้เครื่องมือ ควรมีการศึกษารายละเอียดก่อน การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้ออาจจะเปิดจากคู่มือจากหนังสือหรือเปิดค้นหาจากสื่ออิเล็กทรอนิค ส่วนวิธีการใช้เครื่องมือศึกษาได้จากคู่มือที่ติดมากับเครื่อง หรือเจ้าหน้าที่ผู้ดูแลเครื่องโดยตรงเพื่อลดปัญหาที่จะเกิดขึ้นซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อและทรัพย์สินได้

ขั้นตอนที่ 3 การเก็บตัวอย่างน้ำ

การเก็บตัวอย่างน้ำมีความสำคัญต่อผลการวิเคราะห์มาก หากการเก็บตัวอย่างน้ำไม่ถูกต้องจะทำให้ผลการวิเคราะห์ที่ได้ไม่ถูกต้องไปด้วย การเก็บตัวอย่างน้ำควรมีการวางแผนในการเก็บซึ่งต้องคำนึงถึงเวลา จำนวนตัวอย่างที่จะเก็บ สถานที่เก็บ จุดที่เก็บตัวอย่าง และตัวอย่างที่เก็บควรมีการบันทึก การเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อนำมาวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform จะต้องดำเนินการด้วยความรอบคอบและระมัดระวัง

3.1 ภาชนะบรรจุตัวอย่างน้ำ ภาชนะที่ใช้สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อการวิเคราะห์ ควรเลือกให้เหมาะสมว่าควรใช้ภาชนะบรรจุประเภทใดในการเก็บรักษาสภาพน้ำตัวอย่าง โดยภาชนะที่เหมาะสมกับการเก็บตัวอย่างน้ำสำหรับวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform เป็นแบบขวดแก้ว ดังภาพที่ 16

ภาพที่ 16 ภาชนะเก็บตัวอย่างน้ำสำหรับวิเคราะห์ Coliform Bacteria ในน้ำ

3.2 วิธีเก็บตัวอย่างน้ำ ในการเก็บตัวอย่างน้ำสำหรับการวิเคราะห์ Coliform Bacteria และ Fecal coliform จากก๊อกน้ำ สามารถทำเป็นขั้นตอนได้ดังต่อไปนี้

1. ทำความสะอาดหัวก๊อกโดยใช้ผ้าสะอาด

ภาพที่ 17 การทำความสะอาดหัวก๊อก

2. การทำความสะอาดหัวก๊อกอีกครั้งด้วยสำลีชุบแอลกอฮอล์ 70%

ภาพที่ 18 การเช็ดหัวก๊อกโดยใช้แอลกอฮอล์ 70 %

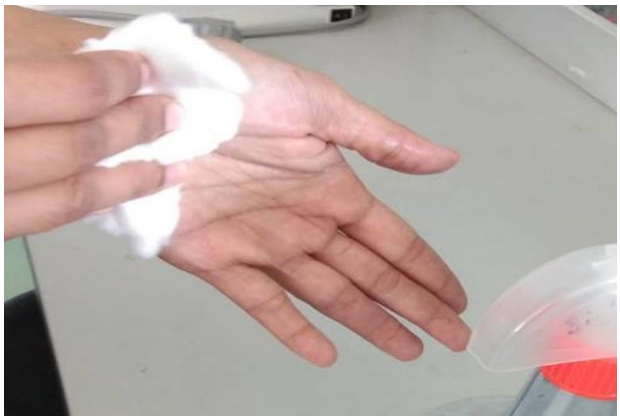
3. การเปิดก๊อกน้ำให้น้ำไหลเต็มที่ เป็นเวลา 1 นาที เพื่อระบายน้ำที่ค้างอยู่ในท่อทิ้ง

ภาพที่ 19 การเปิดก๊อกน้ำให้ไหลเต็มที่

4. ปรับให้น้ำไหลปานกลางก่อนสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ โดยให้น้ำไหลเป็นลำไม่กระจาย

ภาพที่ 20 การปรับน้ำก่อนสุ่มเก็บ

5. เช็ดมือให้สะอาด ด้วยสำลีชุบแอลกอฮอล์ 70%



ภาพที่ 21 วิธีการเช็ดมือด้วย แอลกอฮอล์ 70%

6. ใช้มือจับฝาขวดแล้วหมุนเพื่อเปิดฝาออกจากขวด

ภาพที่ 22 วิธีการจับฝาขวดเก็บตัวอย่างน้ำ

7. ดึงฝาขวดออกจากตัวขวด แล้วถือไว้โดยระวังไม่ให้มือ สัมผัสฝาขวดด้านในเพื่อป้องกันการปนเปื้อน

ภาพที่ 23 วิธีการเปิดฝาขวดเก็บตัวอย่างน้ำ

8. นำขวดไปรองน้ำจากก๊อกให้ได้ประมาณ 4/5 ของขวด (ประมาณ 400 มิลลิลิตร)

ภาพที่ 24 การเก็บตัวอย่างน้ำ

9. นำฝาจุกขวดมาปิดขวด โดยมือไม่สัมผัสจุกขวดโดยตรง

ภาพที่ 25 การปิดฝาขวดเก็บตัวอย่าง

10. หมุนเพื่อปิดฝาจุกขวดให้แน่น ซึ่งตัวอย่างน้ำต้องไม่ซึมออกนอกขวด

ภาพที่ 26 การปิดฝาให้แน่น

11. บันทึกรายละเอียดของตัวอย่างน้ำ ลงในฉลากบันทึกรายละเอียดของตัวอย่างน้ำ

ตัวอย่างน้ำ

ประเภทแหล่งน้ำ.....
สถานที่เก็บ.....
วันที่เก็บ.....เวลา.....
ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง.....
การรักษาคุณภาพตัวอย่าง.....
หมายเหตุ.....

ภาพที่ 27 การบันทึกรายละเอียดของตัวอย่าง

3.3 ฉลากปิดขวดบรรจุตัวอย่างน้ำ การปิดฉลากเป็นขั้นสุดท้ายในการเก็บตัวอย่างน้ำโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อไม่ให้เกิดการสับสน และเพื่อเป็นฐานข้อมูล การเขียนรายละเอียดบนฉลากต้องใช้ปากกาลูกลื่นที่หมึกไม่ละลายน้ำ ไม่ควรใช้ดินสอหรือปากกาหมึกซึมอาจจะทำให้เมื่อโดนน้ำตัวอย่างน้ำให้ข้อมูลที่บันทึกไว้เลือนหายไปได้ ฉลากปิดข้างขวดเก็บตัวอย่างน้ำควรมีรายละเอียดที่ชัดเจน

ภาพที่ 28 การปิดฉลากตัวอย่าง

3.4 การเก็บรักษาสภาพตัวอย่างน้ำ ตัวอย่างน้ำที่เก็บมาเพื่อทำการวิเคราะห์นั้นเราไม่สามารถวิเคราะห์ในสถานที่นั้นได้เลย เนื่องจากสภาพพื้นที่ในการวิเคราะห์ Coliform Bacteria นั้น ต้องสะอาดจึงมีความจำเป็นต้องวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาเท่านั้น เพื่อลดการปนเปื้อน ดังนั้นเมื่อเก็บตัวอย่างเสร็จจึงต้องรักษาคุณภาพของตัวอย่างน้ำไว้เพื่อไม่ให้คุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากการเติบโตของ

สิ่งมีชีวิตในน้ำ วิธีการรักษาสภาพน้ำสำหรับวิเคราะห์ Coliform Bacteria ใช้วิธีการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อลดการทำงานของพวกจุลินทรีย์

ภาพที่ 29 การเก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ปัญหา

ปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการเก็บตัวอย่างคือเมื่อเก็บตัวอย่างเสร็จต้องวิเคราะห์ในทันทีหรือหากไม่สามารถวิเคราะห์ได้ทันที่ให้เก็บรักษาด้วยการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หากแต่การเก็บตัวอย่างนอกสถานที่ทำให้ระหว่างการเดินทางถึงห้องปฏิบัติการโดยใช้ระยะเวลานานอาจทำให้ผลคลาดเคลื่อนได้ เนื่องจากจุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว

แนวทางการแก้ปัญหา

หากทราบล่วงหน้าว่ามีการเก็บตัวอย่างนอกสถานที่ให้เตรียมกระติกสำหรับใส่ก้อนน้ำแข็งเพื่อใช้ในการเก็บรักษาตัวอย่างชั่วคราวเมื่อถึงห้องปฏิบัติการให้วิเคราะห์ทันทีหรือแช่เย็นไว้แต่ไม่ควรเกิน 6 ชั่วโมง

ข้อเสนอแนะ

ในกรณีรู้ล่วงหน้าว่าต้องเก็บตัวอย่างน้ำนอกสถานที่เพื่อนำมาวิเคราะห์ Coliform Bacteria ให้วางแผน และเตรียมการทุกอย่างสำหรับวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการให้พร้อม เมื่อเก็บตัวอย่างเสร็จนำตัวอย่างเข้าห้องปฏิบัติการแล้วสามารถวิเคราะห์ได้ทันทีจะทำให้ผลที่ได้มีความแม่นยำมากขึ้น

ขั้นตอนที่ 4 ขั้นวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform

การวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform แบ่งออกเป็นด้ 3 ขั้นตอนดังนี้

4.1 ขั้นตรวจสอบเบื้องต้น (Presumtive coliform test)

การทดสอบขั้นนี้เป็นการตรวจ screen เบื้องต้น เพื่อจะแยก Coliform bacteria และ Fecal coliform ออกจากแบคทีเรียชนิดอื่น ในการทดสอบในครั้งนี้ใช้ระบบเลี้ยงเชื้อแบบ 5 หลอด กับอนุกรม 3 การเจือจาง คือจำนวนของตัวอย่างที่ต่างกันคือ 10-1-0.1 mg/L หรือ 1-0.1-0.01 mg/L หรือ 0.1-0.01-0.001 mg/l ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสกปรกของน้ำตัวอย่าง โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

4.1.1 นำอาหาร Lauryl tryptose broth ที่เตรียมไว้ คือ (LST) ความเข้มข้น 2 เท่า จำนวน 5 หลอด ๆ ละ 10 มิลลิลิตร และ (LST) ความเข้มข้น 1 เท่า จำนวน 10 หลอด ๆ ละ 10 มิลลิลิตร ออกจากตู้เย็นวางทิ้งไว้ให้หายเย็น ดังภาพที่ 30

ภาพที่ 30 ตัวอย่างอาหาร Lauryl tryptose broth

4.1.2 จัดเรียง Lauryl tryptose broth เป็น 3 แถว ๆ ละ 5 หลอด ดังภาพที่ 31

แถวที่ 1 ความเข้มข้น 10 เท่า Doubble-strength LST

แถวที่ 2 ความเข้มข้น 1 เท่า Single-strength LST

แถวที่ 3 ความเข้มข้น 0.1 เท่า Single- strength LST

ภาพที่ 31 การจัดเรียงหลอดอาหาร

4.1.3 เปิดฝาขวดเก็บตัวอย่าง และลนไฟปากขวด ปิเปตตัวอย่างน้ำใส่ใน Lauryl tryptose broth แถวที่ 1จำนวน 5 หลอด ๆ ละ 10 มิลลิลิตร ปิเปตใส่ในหลอดแถวที่ 2 จำนวน 5 หลอด ๆ ละ 1 มิลลิลิตร และปิเปตใส่ในหลอดแถวที่ 3 จำนวน 5 หลอด ๆ ละ 0.1 มิลลิลิตร (ทุกครั้งที่เปิดหลอดอาหารแต่ละหลอดให้นำปากหลอดไปลนเปลวไฟทุกครั้ง) แล้วเขย่าหลอดประมาณ 5 ครั้ง เพื่อการผสมให้เข้ากัน ดังภาพ 32

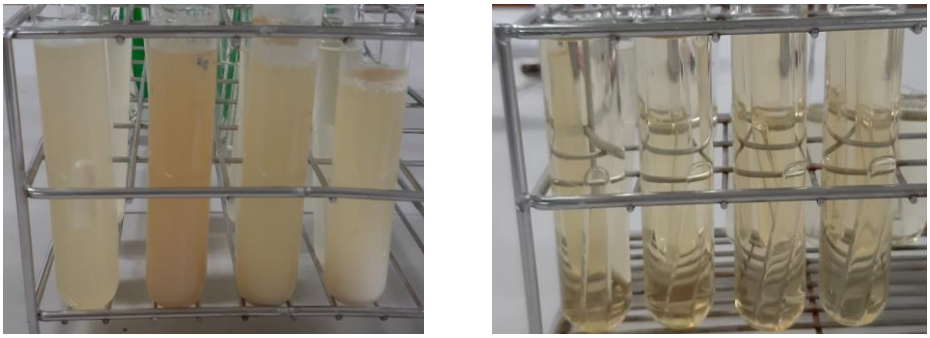
ภาพที่ 32 การปิเปตตัวอย่างน้ำลงในหลอดอาหาร

4.1.4 นำหลอดอาหารทั้งหมดที่ปิเปตตัวอย่างเรียบร้อยแล้วไปบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35±0.5 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง ดังภาพที่ 33

ภาพที่ 33 การบ่มเพาะเชื้อ

4.1.5 อ่านผลเมื่อครบเวลา 24 ชั่วโมง โดยสังเกตจากความขุ่นและแก๊สที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอด หลอดที่เกิดแก๊สดูจากการแทนที่ของอากาศในหลอดดอร์แลม หรือมีฟองเล็กในอาหารเมื่อมีการเขย่า

เล็กน้อย แสดงว่าหลอดนั้นให้ผลเป็นบวก ถ้าหลอดใดไม่เกิดแก๊สและไม่มีฟองเมื่อเขย่า แสดงว่าหลอดนั้นให้ผลเป็นลบ ให้นำกลับไปบ่มเพาะเชื้อต่ออีก 24 ชั่วโมง และอ่านผลเหมือนเดิม ดังภาพที่ 34



(+) (-)

ภาพที่ 34 หลอดที่แสดงผลเป็นบวก และแสดงผลเป็นลบ

4.2 การตรวจสอบขั้นยืนยัน (Confirm test)

จากการเกิดแก๊สในการทดสอบขั้นแรกเรายังไม่สามารถชี้ชัดได้ว่าแบคทีเรียที่อยู่ในตัวอย่างน้ำเป็น Coliform bacteria และ Fecal coliform ดังนั้นจึงต้องมีการทดสอบเพื่อยืนยันโดยการถ่ายเชื้อจากหลอดที่ให้ผลเป็นบวกลงในอาหาร Brilliant green lactose bile broth บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35±0.5 องศาเซลเซียส เพื่อทดสอบหา Coliform Bacteria และ EC medium บ่มเชื้อที่ 44.5±0.2 องศาเซลเซียส เพื่อทดสอบหา fecal coliform bacteria ดังนี้

4.2.1 การทดสอบหา Coliform bacteria

4.2.1.1 นำอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant green lactose bile broth ที่เตรียมไว้เท่ากับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในขั้นตรวจสอบเบื้องต้น และเรียงให้ตรงกับหลอด Lauryl tryptose broth ที่ให้ผลบวก ดังภาพที่ 35

Lauryl tryptose broth (+) Brilliant green lactose bile broth

ภาพที่ 35 การจัดหลอด Brilliant green lactose bile broth

4.2.1.2 เขย่าหลอด Lauryl tryptose broth ที่ให้ผลบวก และใช้ Loop เขี่ยเชื้อใส่ในอาหาร Brilliant green lactose bile broth หลอดต่อหลอดโดยวิธี Aseptic technique ดังภาพที่ 36

ภาพที่ 36 การเขี่ยเชื้อแบบหลอดต่อหลอด

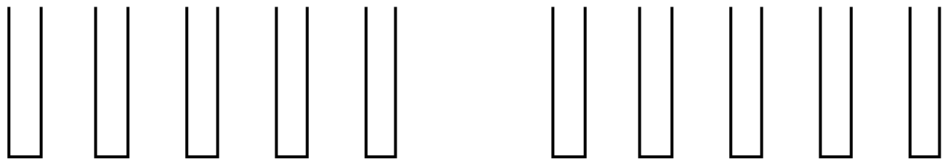
4.2.1.3 เข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35±0.5 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมง

4.2.1.4 อ่านผลครั้งแรกเมื่อครบเวลา 24 ชั่วโมง โดยสังเกตจากความขุ่นและแก๊สที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอด ถ้าหลอดใดเกิดแก๊สจะดูได้จากการแทนที่ของอากาศในหลอดดอร์แลม หรือเกิดฟองเมื่อเขย่าหลอดเล็กน้อย แสดงว่าหลอดนั้นให้ผลเป็นบวก ถ้าหลอดใดไม่เกิดแก๊ส แสดงว่าหลอดนั้นให้ผลเป็นลบ ให้นำกลับไปบ่มเพาะเชื้อต่ออีก 24 ชั่วโมง และอ่านผลเช่นเดียวกัน

4.2.1.5 นำค่าจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในแต่ละเจือจางไปเปิดเทียบตาราง MPN ค่าที่ได้จะเป็นค่า Coliform bacteria ทั้งหมด

4.2.2 การทดสอบหา Fecal coliform

4.2.2.1 นำอาหารเลี้ยงเชื้อ EC medium ที่เตรียมไว้เท่ากับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในขั้นตรวจสอบเบื้องต้น และเรียงให้ตรงกับหลอด Lauryl tryptose broth ที่ให้ผลบวก ดังภาพที่ 37



Lauryl tryptose broth (+) EC medium

ภาพที่ 37 การจัดหลอด EC medium

4.2.2.2 เขย่าหลอด Lauryl tryptose broth ที่ให้ผลบวก และใช้ Loop เขี่ยเชื้อใส่ในอาหาร EC medium หลอดต่อหลอดโดยวิธี Aseptic technique ดังภาพที่ 38

ภาพที่ 38 การเขี่ยเชื้อแบบหลอดต่อหลอด

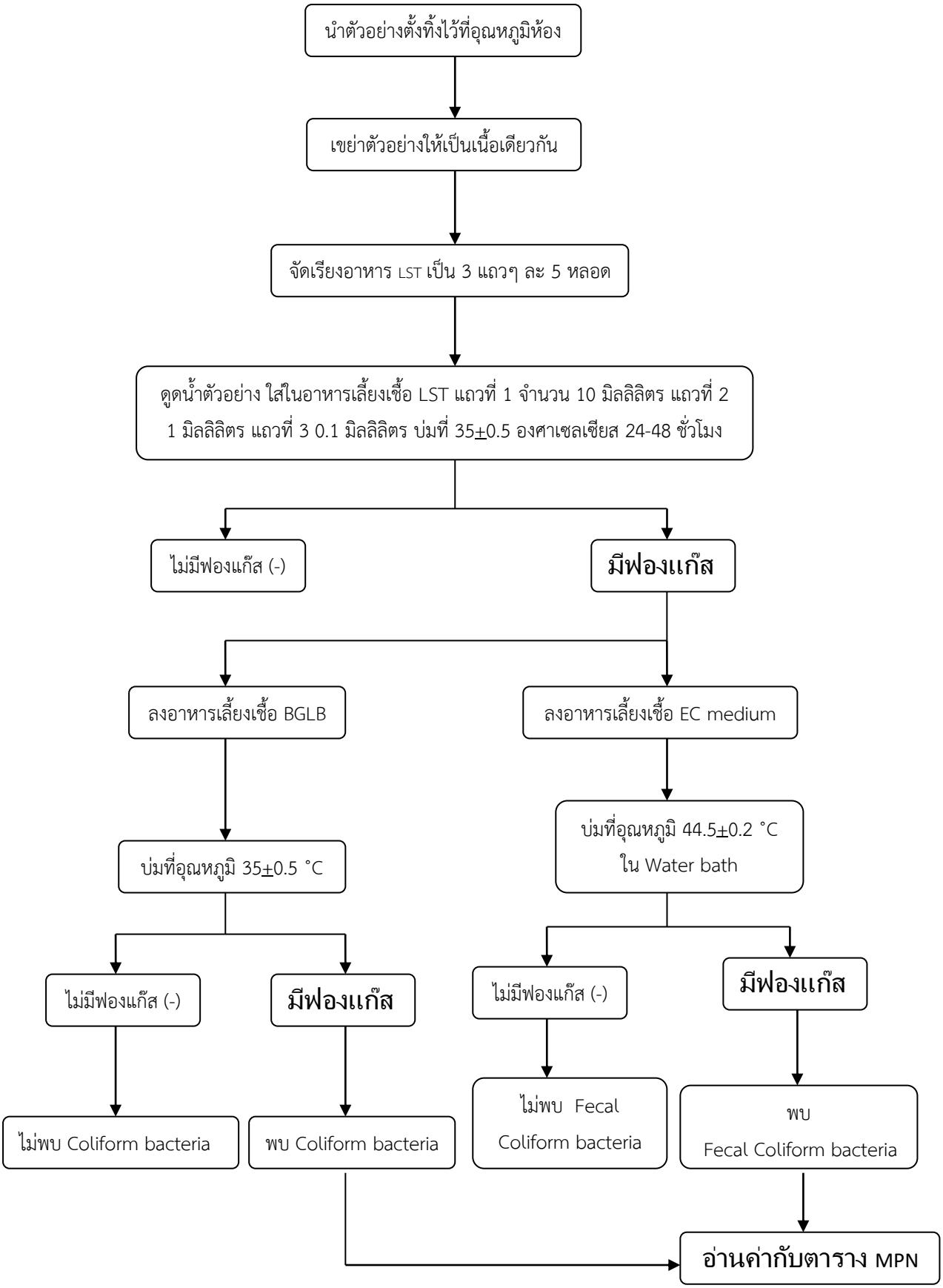
4.2.2.3 เข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 44.5±0.2 องศาเซลเซียส โดยใช้ Water bath 24 ชั่วโมง

4.2.2.4 อ่านผลครั้งแรกเมื่อครบเวลา 24 ชั่วโมง โดยสังเกตจากความขุ่นและแก๊สที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอด ถ้าหลอดใดเกิดแก๊สจะดูได้จากการแทนที่ของอากาศในหลอดดอร์แลม หรือเกิดฟองเมื่อเขย่าหลอดเล็กน้อย แสดงว่าหลอดนั้นให้ผลเป็นบวก ถ้าหลอดใดไม่เกิดแก๊ส แสดงว่าหลอดนั้นให้ผลเป็นลบ

4.2.2.5 นำค่าจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในแต่ละเจือจางไปเปิดเทียบตาราง MPN ค่าที่ได้จะเป็นค่า Fecal coliform bacteria ดังภาพที่ 39

Number of positive tubes			MPN index per 100 mL	Number of positive tubes			MPN index per 100 mL
First dilution set	Second dilution set	Third dilution set		First dilution set	Second dilution set	Third dilution set	
0	0	0	< 2	4	2	1	26
0	0	1	2	4	3	0	27
0	1	0	2	4	3	1	33
0	2	0	4	4	4	0	34
1	0	0	2	5	0	0	23
1	0	1	4	5	0	1	30
1	1	0	4	5	0	2	40
1	1	1	6	5	1	0	30
1	2	0	6	5	1	1	50
2	0	0	4	5	1	2	60
2	0	1	7	5	2	0	50
2	1	0	7	5	2	1	70
2	1	1	9	5	2	2	90
2	2	0	9	5	3	0	80
2	3	0	12	5	3	1	110
3	0	0	8	5	3	2	140
3	0	1	11	5	3	3	170
3	1	0	11	5	4	0	130
3	1	1	14	5	4	1	170
3	2	0	14	5	4	2	220
3	2	1	17	5	4	3	280
4	0	0	13	5	4	4	350
4	0	1	17	5	5	0	240
4	1	0	17	5	5	1	300
4	1	1	21	5	5	2	500
4	1	1	26	5	5	3	900
4	2	0	22	5	5	4	1600
				5	5	5	i 1600

ภาพที่ 39 ตารางอ่านค่า MPN



ภาพที่ 40 ขั้นตอนการทดสอบ Coliform bacteria และ Fecal coliform bacteria

4.3 การตรวจสอบขั้นสมบูรณ์ (Completed test)

นำเชื้อจากหลอดที่เกิดฟองอากาศในขั้นยืนยันมาเขี่ยลงบนอาหาร Eosin Methylene Blue agar (EMB agar) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หากมีการเจริญเติบโตเป็นโคโลนี ที่มีลักษณะสีเขียวคล้ำ มันวาว ซึ่งเชื้อกลุ่ม Coliform bacteria และ Fecal coliform เท่านั้นที่สามารถเจริญได้ เนื่องจากเป็นอาหารเฉพาะ (Selective media) ดังภาพที่ 41

Control E.*coli*

ภาพที่ 41 เชื้อ Fecal coliform เจริญ บนอาหาร EMB agar

ปัญหา

ในการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Fecal coliform อาจเกิดการอ่านผลวิเคราะห์คลาดเคลื่อนได้เนื่องจากการสลับหลอดอาหารในแต่ละความเข้มข้น ทำให้ผลที่ได้ไม่ตรงกับความเป็นจริง และทำให้การทดลองนั้นใช้ไม่ได้ ซึ่งการสลับกันของหลอดทดลอง อาจเกิดขึ้นระหว่างการจับคู่หลอดขณะถ่ายเชื้อเมื่อวางไม่ตรงช่องลำดับก็จะสับสนได้

แนวทางการแก้ปัญหา

ในการทดลองแต่ละครั้งให้เขียนกำกับหลอดในแต่ละความเข้มข้นให้ชัดเจนและการวางหลอดควรให้วางแบบช่องเว้นช่องเพื่อง่ายต่อการหยิบขึ้นมาเขี่ยเชื้อกับการวางลง

ข้อเสนอแนะ

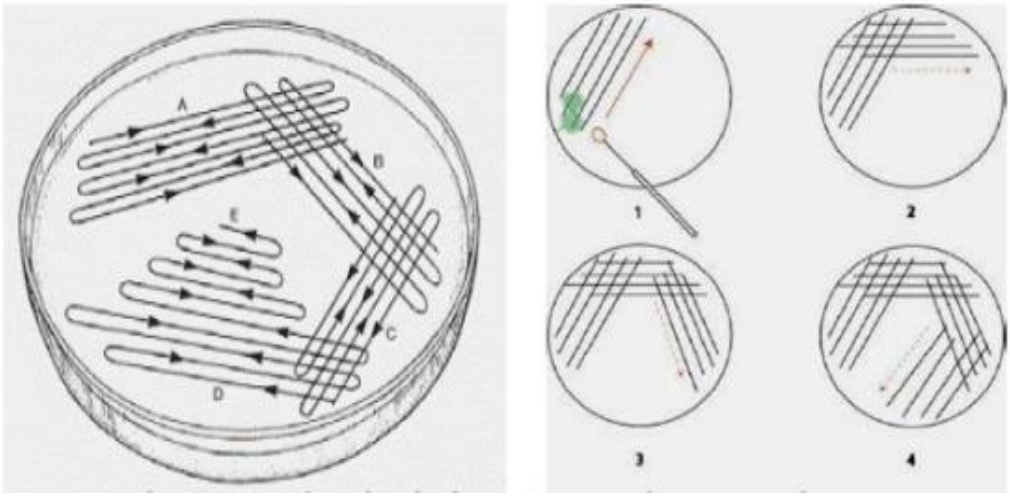
หากมีการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำหลายตัวอย่างพร้อมกันควรวิเคราะห์ให้เสร็จไปทีละตัวอย่างเพื่อไม่ให้เกิดการสับสน และการวิเคราะห์แต่ละครั้งควรมีการเตรียมอาหารสำหรับเป็นตัวควบคุมคุณภาพ (method blank) เพื่อทดสอบการปนเปื้อน (Contaminate) ระหว่างการวิเคราะห์

ขั้นตอนที่ 5 การแยกและเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ (Pure culture)

การที่จะจำแนกชนิดของแบคทีเรีย ไม่ว่าจะระดับใด จะต้องมั่นใจว่าแบคทีเรียชนิดนั้นเป็นเชื้อบริสุทธิ์ หรือเป็นเชื้อชนิดเดียวเท่านั้น ไม่มีการปนเปื้อน (Contaminate) ของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น

5.1 การแยกเชื้อบริสุทธิ์

เขี่ยเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากอาหาร EMB เลือกโคโลนีที่มีแนวโน้มว่าจะเป็นเชื้อ E.*coli* คือ โคโลนีมีสีเขียวเข้ม มันวาว จำนวน 3 โคโลนี นำแต่ละโคโลนีมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยวิธีการ streak plate ด้วยเทคนิค cross streak ดังภาพที่ 42 ลงบนอาหาร nutrient agar plate แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±0.5 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง

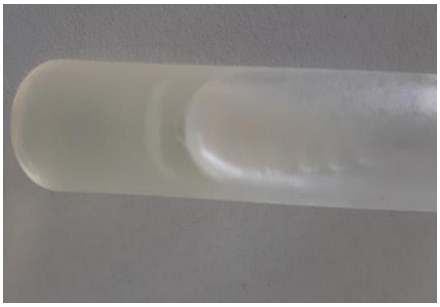


ภาพที่ 42 การแยกเชื้อด้วยเทคนิค cross streak

ภาพที่ 43 ตัวอย่างการเขี่ยเชื้อ

5.2 การเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

เมื่อเราแยกเชื้อ E.*coli* บริสุทธิ์แล้วให้แยกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกให้ทำไปทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีเพื่อยืนยัน E.*Coli* ส่วนที่สองนำไปเลี้ยงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar slant (วิธี subculture) โดยใช้หลอดแบบฝาเกลียวปิดสนิทสามารถเก็บในที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งต้องถ่ายเชื้อในหลอดอาหารใหม่ทุกเดือน หรือใช้เก็บในสารแขวนลอย โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว nutrient broth นำไปเขย่าที่อุณหภูมิ 35±0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผสมกับกลีเซอรอลที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 30 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรสารละลายรวม 1 มิลลิลิตร เก็บในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส



Nutrient agar slant

Nutrient broth

ภาพที่ 44 การเก็บเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ปัญหา

การปนเปื้อนของเชื้อในการแยกเชื้อจุลินทรีย์เนื่องจากในอาหาร EMB กลุ่มที่สามารถเจริญได้นอกจาก fecal coliform แล้วยังมีแบคทีเรีย *Enterobacter* spp. สามารถเจริญได้เช่นกัน ในวิธีการคัดแยกหากเขี่ยเชื้อจากโคโลนีที่เชื้อสองตัวผสมกันอยู่จะทำให้เกิดความยุ่งยากในการคัดแยก และในการถ่ายเชื้อ (Subculture) มีโอกาสทำให้เชื้อเกิดการกลายพันธุ์ (mutation) ได้

แนวทางแก้ปัญหา

ให้เลือกโคโลนีเดี่ยวที่แยกตัวจากกลุ่มโคโลนีที่สามารถเห็นได้ชัดว่าลักษณะของโคโลนีบ่งชี้ว่าเป็นเชื้อ E.*coli* จะทำให้ลดปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อในการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ ทุกครั้งที่มีการถ่ายเชื้อ (Subculture) ควรมีการทดสอบเบื้องต้นว่าเชื้อมีการกลายพันธุ์หรือไม่ด้วยการย้อมแกรม

ข้อเสนอแนะ

เมื่อเก็บเชื้อในกลีเซอรอล และเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสแล้ว การจะนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้นั้นต้องต้องอย่างระมัดระวัง และต้องทำอย่างรวดเร็ว เนื่องจากการเปลี่ยนอุณหภูมิกระทันหันมีโอกาสทำให้เชื้อนั้นตายได้ ดังนั้นก่อนจะนำเชื้อออกมาให้วางแผนการปฏิบัติงานก่อนล่วงหน้า

ขั้นตอนที่ 6 ทดสอบชีวเคมี (Biochemical test)

เมื่อได้เชื้อจากอาหาร EMB ในการตรวจขั้นสมบูรณ์ (Completed test) นำมาทำให้เชื้อบริสุทธิ์ แล้วขั้นตอนสุดท้ายเป็นการนำเชื้อที่บริสุทธิ์มาทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีเพื่อบ่งบอกว่าเป็นเชื้อ E.*coli* โดยการทดสอบปฏิกิริยา IMViC (indole, methyl red, Voges-Proskauer, citrate test) เชื้อ E.*coli* ให้ผลเป็น ++-- กับ ดังภาพที่ 45

ภาพที่ 45 ผลการทดสอบ IMVic

6.1 การทดสอบ Indole test

เป็นการทดสอบว่าแบคทีเรียสามารถเปลี่ยน Tryptophan เป็น Indole ได้หรือไม่ ซึ่ง Tryptophan เป็น Amino Acid ชนิดหนึ่งที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อจำพวก Peptone Casein โดยการนำเชื้อที่คัดแยกบริสุทธิ์แล้ว (ที่มีอายุ 24-48 ชั่วโมง) ลงในอาหาร tryptone broth นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35$\pm$0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แล้วนำมาทดสอบ ตามขั้นตอนดังนี้

6.1.1 Inoculate เชื้อที่ต้องการทดสอบลงใน 1% tryptone broth

6.1.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35$\pm$0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

6.1.3 หยด Kovac'Reagent จำนวน 5 หยด

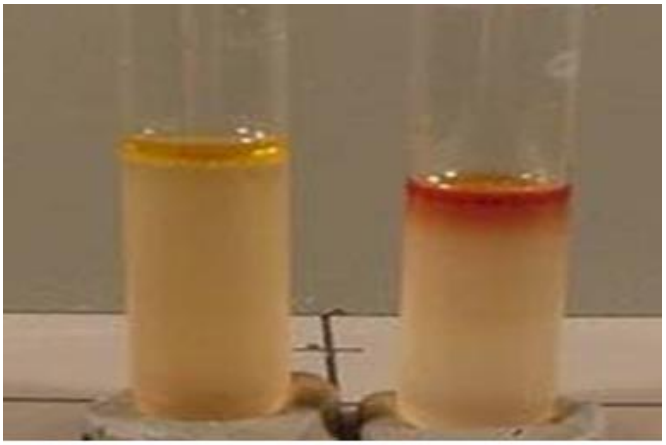
6.1.4 เขย่าหลอดทดลองเบาๆ 2-3 ครั้ง

6.1.5 สังเกตการณ์เปลี่ยนสีผิวจองอาหาร

การอ่านผล

ผลบวก : มีสีแดงที่ผิวของอาหาร

ผลลบ : มีมีการเปลี่ยนแปลงเป็นสีเหลือง สีเหมือน Kovac'Reagent



(-) (+)

ภาพที่ 46 ผลการทดสอบ Indole

6.2 การทดสอบ Methyl Red Test

เป็นการทดสอบว่าแบคทีเรียสามารถสร้างกรดจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี glucose ได้มากหรือน้อย โดยการตรวจดูพีเอชของอาหารนั้น เชื้อที่สร้างกรดได้มากจะทำให้พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำกว่า 4.2 ซึ่งจะเปลี่ยนสี Indicator ของ Methyl Red เป็นสีแดงได้ ทดสอบตามขั้นตอนดังนี้

6.2.1 Inoculate เชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปในอาหาร MR/VP Broth

6.2.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35$\pm$0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

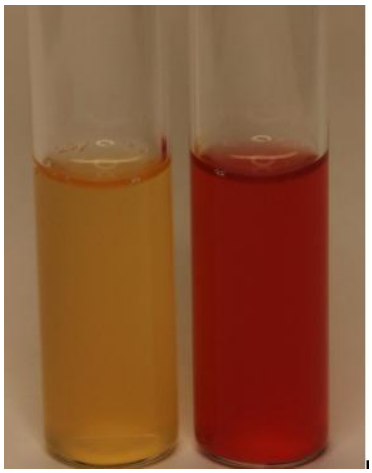
6.2.3 หยด Methyl Red Test Reagent จำนวน 5 หยด

6.2.4 สังเกตการณ์เปลี่ยนสีที่ผิวของอาหารทันทีหลังจากหยด Indicator

การอ่านผล

ผลบวก : อาหารเปลี่ยนเป็นสีแดง

ผลลบ : อาหารมีสีเหลือง



(-) (+)

ภาพที่ 47 ผลการทดสอบ Methyl Red

6.3 การทดสอบ Voges-Proskauer Test

เป็นการทดสอบว่าแบคทีเรียสามารถสร้าง Acethyl Methyl Carbinol จาก Glucose ได้หรือไม่ ทดสอบตามขั้นตอนดังนี้

6.3.1 Inoculate เชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปในอาหาร MR/VP Broth

6.3.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

6.3.3 หยด 5% Naphthol ลงไปจำนวน 6 หยดแล้วเขย่า

6.3.4 หยด 40% KOH ลงไปจำนวน 2 หยด

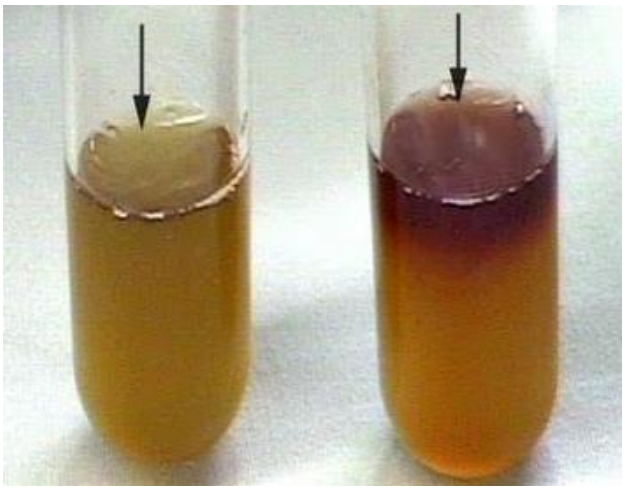
6.3.5 เขย่าให้เข้ากันดีทิ้งไว้ 10-15 นาที

6.3.6 สังเกตการณ์เปลี่ยนสีที่ผิวของอาหาร

การอ่านผล

ผลบวก : อาหารเปลี่ยนเป็นสีแดง

ผลลบ : อาหารเป็นสีเหลือง



(-) (+)

ภาพที่ 48 ผลการทดสอบ Voges-Proskauer

6.4 การทดสอบ Citrate Test

เป็นการทดสอบว่าแบคทีเรียสามารถใช้ Citrate เพียงอย่างเดียวเป็นแหล่งคาร์บอน (Carbon Source) ได้หรือไม่ ทดสอบตามขั้นตอนดังนี้

6.4.1 Inoculate เชื้อที่ต้องการทดสอบโดยการ Streak บนผิว Simmon'Citrate Agar

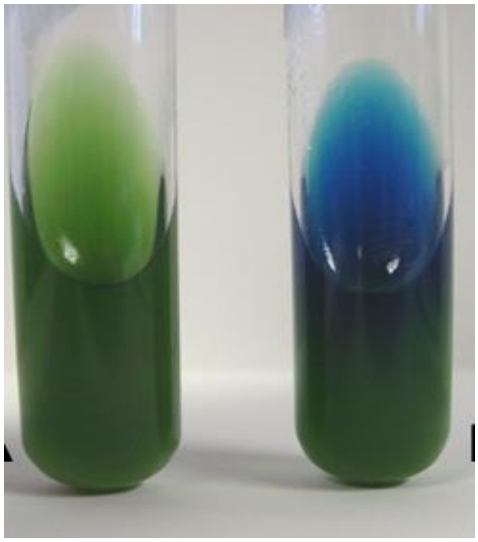
6.4.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

6.4.3 สังเกตการณ์เปลี่ยนสีของอาหาร และการเติบโตของแบคทีเรีย

การอ่านผล

ผลบวก : มีเชื้อขึ้น และอาหารเปลี่ยนสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน

ผลลบ : ไม่มีเชื้อขึ้น และอาหารไม่เปลี่ยนสี (สีเขียว)



(-) (+)

ภาพที่ 49 ผลการทดสอบ Citrate

ปัญหา

การตรวจวิเคราะห์เชื้อ E. coli ด้วยปฏิกิริยา IMViC นั้น มีความยุ่งยากในการเตรียมอาหาร และสารทดสอบ (reagent) การสังเกตลักษณะทางชีวเคมีที่ปรากฏ ได้แก่ การเปลี่ยนสีของอาหาร ในการทดสอบ Voges-Proskauer (VP test) สีที่ได้ยากในการตัดสินว่าเป็นผลบวกหรือ ผลลบ โอกาสที่จะระบุชนิดของเชื้อที่นำมาทดสอบผิดพลาดเกิดขึ้นได้ง่าย อีกทั้งสารทดสอบยัง อาจเสื่อมสภาพได้เร็วเมื่อเก็บไว้นาน

แนวทางแก้ปัญหา

ทุกครั้งทีมีการทดสอบ IMVic ควรมีการทำตัวควบคุม (Control) ไว้หนึ่งชุดสำหรับเป็นตัวเปรียบเทียบหลังการหยดสารทดสอบ จะได้เห็นความแตกต่างที่ชัดเจนขึ้น ส่วนน้ำยาทดสอบเมื่อใช้งานเสร็จควรนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อยืดอายุการใช้งาน

ข้อเสนอแนะ

ทุกครั้งก่อนทำการทดสอบ IMVic ควรเอานำยาทดสอบทั้งหมดที่เก็บไว้เป็นระยะเวลานานมาทดสอบประสิทธิภาพก่อนลงมือปฏิบัติจริง เพื่อลดความผิดพลาดของผลการทดสอบ และควรศึกษาวิธีการและการอ่านผลให้ละเอียดก่อนลงมือปฏิบัติ จะทำให้การทดสอบ IMVic มีประสิทธิภาพมากขึ้น

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นายปริญญา ทับเที่ยง
ที่อยู่	53/3 หมู่ที่ 1 ตำบลเขารูปช้าง อำเภอเมืองสงขลา จังหวัดสงขลา 90000
โทรศัพท์	086-5987363
อีเมล์	parinya149@gmail.com
ประวัติการศึกษา	1. วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ (แขนงจุลชีววิทยา) สถาบันราชภัฏสงขลา (2546) 2. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง
ประสบการณ์ทำงาน	พ.ศ. 2546-2547 ตำแหน่ง : supervisor บริษัท ปิติซีฟู้ด จำกัด พ.ศ. 2548-2553 ตำแหน่ง : เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ปัจจุบัน ตำแหน่ง : นักวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา