



รายงานการวิจัย

ศึกษาคูณลักษณะทางแบคทีเรีย น้ำอุปโภคและบริโภคของ
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

Study Bacteriological Characteristics Consumer Water of
Phetchabun Rajabhat University

สมเพียร พักทอง

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2563

รายงานการวิจัย

ศึกษาคุณลักษณะทางแบคทีเรีย น้ำอุปโภคและบริโภคของ
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

Study Bacteriological Characteristics Consumer Water of
Phetchabun Rajabhat University

สมเพียร พักทอง

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

แสงจันทร์ สอนสว่าง

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ทุนอุดหนุนโดย งบประมาณเงินรายได้ของมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประเภททุนอุดหนุนงานวิจัยสถาบัน

ประจำปีงบประมาณ 2563

ชื่องานวิจัย ศึกษาคุณลักษณะทางแบคทีเรีย น้ำอุปโภคและบริโภคของมหาวิทยาลัยราชภัฏ
 เพชรบูรณ์
Study Bacteriological Characteristics Consumer Water of
Phetchabun Rajabhat University

ผู้วิจัย นางสาวสมเพียร พักทอง

ผู้ร่วมวิจัย นางสาวแสงจันทร์ สอนสว่าง

สาขาวิชา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ **ปีเสร็จวิจัย** 2563

บทคัดย่อ

การศึกษาค้นคุณลักษณะทางแบคทีเรีย น้ำอุปโภคและบริโภคของมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาค้นคุณลักษณะทางแบคทีเรีย น้ำอุปโภคและบริโภคของมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ และเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์ม และอีโคไล และนำผลที่วัดได้เปรียบเทียบกับค่า มาตรฐานที่ยอมรับได้ในน้ำบริโภค กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณลักษณะทางแบคทีเรีย ของแหล่งน้ำบริโภคและอุปโภค ภายในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ โดยทำการสำรวจคุณภาพน้ำ จำนวน 8 เดือน ในช่วงเดือน มกราคม – สิงหาคม 2563 วิเคราะห์หาค่าจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี Standard plate count พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง $0 - 4.5 \times 10^3$ CFU/ml ซึ่งพบว่าช่วงเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ เมษายน มีค่าเกินมาตรฐาน และการวิเคราะห์หาปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และการตรวจหาปริมาณ อีโคไล พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 0-700 MPN/100 ml ซึ่งพบว่าช่วงเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ เมษายน พฤษภาคม และสิงหาคม มีค่าเกินมาตรฐาน จากการศึกษาคุณลักษณะทางแบคทีเรีย ในครั้งนี้สามารถบ่งบอกถึงความเป็นไปได้ที่น้ำอาจจะได้รับการปนเปื้อนจากเชื้อโรค อาจเนื่องมาจากกระบวนการและขั้นตอนการผลิต ไม่สะอาดและไม่ถูกต้อง

คำสำคัญ : คุณลักษณะทางแบคทีเรีย, จุลินทรีย์ทั้งหมด, โคลิฟอร์มแบคทีเรีย
และอีโคไล

Title Study Bacteriological Characteristics Consumer Water of
 Phetchabun Rajabhat University
Author Miss Sompian Fangtong
Researcher Miss Sangjan Sonsawang
Faculty Science and Technology
 Phetchabun Rajabhat University **Year of research**
completed 2020

ABSTRACT

Study bacteriological characteristics Consumer water of Phetchabun Rajabhat University. For the purpose of studying bacterial characteristics Water consumption and consumption of Phetchabun Rajabhat University And compare the Total Bacterial Content, Coliform and *Escherichia coli* And compare the measured results with the Acceptable standards for drinking water Samples used in bacterial character analysis Of water sources for consumption and consumption Within Phetchabun Rajabhat University. By conducting water quality surveys for 8 months during January - August 2020. All microorganisms were analyzed by standard plate count. 0 - 4.5×10^3 CFU/ml Which found that during January, February, April was above the standard. And analysis of coliform bacteria And the detection of *Escherichia coli* content was found to be between 0-700 MPN/100 ml It was found that the months of January, February, April, May and August were beyond the standard. From the study of bacterial characteristics This could indicate the possibility that the water might have been contaminated by pathogens. It may be due to the process and production process Not clean and inaccurate.

Keyword : Bacteriological characteristics, Total microbial, Coliform bacteria and
Escherichia coli

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยคำแนะนำต่าง ๆ จากคณาจารย์ และเจ้าหน้าที่ ในคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ และความร่วมมือช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากบุคคลหลายฝ่าย ที่สละเวลาให้คำแนะนำ คำปรึกษา รวมถึงข้อเสนอแนะต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ คณาจารย์ และเจ้าหน้าที่ ในคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เป็นอย่างสูง ที่ได้ให้ความกรุณา ให้ คำปรึกษาแนะนำ ให้แก่ผู้วิจัย จึงขอขอบพระคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่ได้ให้ทุนอุดหนุน โดยงบประมาณเงินรายได้ของมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประเภททุนอุดหนุนงานวิจัยสถาบัน ประจำปีงบประมาณ 2563 ครั้งนี้มา ณ ที่นี้ด้วย

นางสาวสมเพียร พักทอง

19 สิงหาคม 2563

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูป.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 สมมติฐานการวิจัย.....	2
1.4 ระเบียบวิธีวิจัย.....	2
1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ.....	2
1.6 ประโยชน์การวิจัย.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 การตรวจคุณภาพน้ำโดยวิธีการทางจุลชีววิทยา Microbiological Examination of Water.....	4
2.2 มาตรฐานน้ำบริโภคที่กำหนดโดยมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.	5
2.3 บทปฏิบัติการนี้จะอธิบายวิธีการตรวจวิเคราะห์.....	5
2.4 การหาค่าMPN.....	6
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	7
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	25
บทที่ 5 สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	28
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	28
5.2 อภิปรายผล.....	28
5.3 ข้อเสนอแนะ.....	29

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บรรณานุกรม.....	30
ภาคผนวก.....	31
ตาราง ดัชนี MPN.....	32
มาตรฐานน้ำเพื่อการบริโภค.....	33
ประวัติคณะผู้วิจัย.....	37

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	กิจกรรมและแผนการดำเนินการวิจัย.....	23
4.1	แสดงผลการตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางแบคทีเรียหาค่าจุลินทรีย์ทั้งหมด..	25
4.2	แสดงผลการตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางแบคทีเรีย หาค่าคอลิฟอร์ม แบคทีเรีย.....	21
4.3	แสดงผลการตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางแบคทีเรีย หาค่า <i>E.coli</i>	27

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

น้ำเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต เช่น มนุษย์ สัตว์และพืช ต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมนุษย์ซึ่งมีการใช้น้ำเป็นปัจจัยหลักในกิจกรรมต่างๆ ในชีวิตประจำวัน เช่น การอุปโภค การบริโภค การเกษตรกรรม การอุตสาหกรรม การชลประทาน การคมนาคมขนส่ง การกีฬาและ ด้านอื่นๆ ตั้งแต่อดีตกาล มนุษย์มักตั้งถิ่นฐานอยู่ในแถบลุ่มแม่น้ำหรือในบริเวณที่มีแหล่งน้ำให้มีแหล่ง อาศัยตามเขตลุ่มน้ำต่างๆมากมาย ดังนั้นจะเห็นได้ว่าน้ำมีความสำคัญอย่างมากต่อการดำรงอยู่ ของสิ่งมีชีวิต น้ำ แต่ปัจจุบันน้ำกลับเป็นปัญหาสำคัญ อย่างหนึ่ง ทางด้านมลพิษสิ่งแวดล้อม ปัญหาน้ำทิ้งจากบ้านเรือน น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม หรือน้ำทิ้งจากการเกษตรที่มีสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ซึ่งเป็นอาหารที่จำเป็นของการเจริญของ จุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญแพร่กระจายในแหล่งน้ำได้ การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในน้ำ นอกจากจะมีผลกระทบต่อคุณภาพน้ำแล้ว จุลินทรีย์เหล่านี้บางชนิดเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถก่อโรค ต่อมนุษย์ได้ เมื่อน้ำถูกนำไปอุปโภคและบริโภคก็จะเป็นอันตรายต่อมนุษย์ทำให้เกิดการเจ็บป่วย และอาจถึงเสียชีวิตได้

การตรวจสอบคุณภาพน้ำทางแบคทีเรีย เป็นดัชนีที่บ่งชี้ถึงความสกปรกของน้ำเนื่องจากมีแบคทีเรียหลายชนิดที่ก่อให้เกิดโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร เช่น ไทฟอยด์ บิด และอหิวาต์ ซึ่งสามารถตรวจพบได้ในอุจจาระ เมื่อถูกขับถ่ายปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำจะถูกแพร่กระจายไปโดยมีน้ำเป็นสื่อและจะมีผลกระทบโดยตรงต่อสุขภาพของคนที่ใช้ น้ำจากแหล่งน้ำนั้น ดังนั้นในการตรวจสอบคุณภาพน้ำทางแบคทีเรียจึงต้องวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของแบคทีเรียที่เป็นอันตราย (pathogens) ต่างๆ โดยเฉพาะแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์มเพื่อเป็นดัชนีชี้แนะว่าแหล่ง น้ำนั้นมีปริมาณการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่เป็นอันตรายเพียงใด

การศึกษารั้วนี้ จึงสนใจตรวจสอบคุณภาพน้ำทางด้านจุลชีววิทยาของน้ำมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ โดยมีดัชนีชี้วัดมาตรฐานคุณภาพน้ำเป็นปริมาณแบคทีเรีย และนำผลที่วัดได้เปรียบเทียบกับค่า มาตรฐานที่ยอมรับได้ในน้ำบริโภค โดยจะทำการเก็บตัวอย่างน้ำ จำนวน 8 เดือน เพื่อทำการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา โดยมี พารามิเตอร์คือ ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์มแบคทีเรียและอีโคไล

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาคุณลักษณะทางแบคทีเรีย น้ำอุปโภคและบริโภคของมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
2. เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์ม และอีโคไล น้ำอุปโภคและบริโภคของมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

1.3 สมมติฐานการวิจัย

ตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 332 (พ.ศ. 2521) ออกตามความในพระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม พ.ศ. 2511 เรื่องกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำ ค่าโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ต้องน้อยกว่า 1.1 ในตัวอย่าง 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยวิธีมัลติเพลทิวบ์เฟอร์เมนเทชันเทคนิค (multiple tube fermentation technique) ค่าเอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ค่าจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี Standard plate count ต้องไม่เกิน 500 โคโลนีต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

1.4 ระเบียบวิธีวิจัย

ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. พื้นที่ทำการศึกษาน้ำอุปโภคและบริโภค ในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
2. สักรวจคุณภาพน้ำอุปโภคและบริโภค ในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ จำนวน 8 เดือน ในช่วงเดือน มกราคม – สิงหาคม 2563

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

คุณลักษณะของน้ำ (Water Characteristics) คุณภาพน้ำ (Water Quality) เป็นคำที่มีความหมายกว้างมากแต่มีขอบเขตซึ่งจะถูกกำหนดโดย คุณลักษณะของน้ำที่ต้องการหรือเหมาะสมสำหรับกิจกรรมต่างๆ โดยปกติในธรรมชาติจะมี คุณลักษณะที่แตกต่างโดยมีสารเจือปนอยู่ในน้ำมากน้อยแตกต่างกันขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของ น้ำนั้น คุณลักษณะของน้ำที่เหมาะสมจะแตกต่างกันออกไปตามวัตถุประสงค์ของการใช้งานว่าต้องการ คุณลักษณะน้ำอย่างไร มีส่วนประกอบอะไรและไม่ควรมีส่วนประกอบหรือสารเจือปนชนิดใด คุณภาพ ของน้ำขึ้นอยู่กับสิ่งเจือปนหรือปนเปื้อนอยู่ในน้ำซึ่งมีอยู่หลากหลายชนิด

คุณลักษณะทางชีววิทยา (Biological Characteristics) เป็นคุณลักษณะที่แสดงถึงคุณภาพน้ำที่เกิดจากจุลินทรีย์ที่เจือปนในน้ำ โดย จุลินทรีย์บางชนิดทำให้เกิดโรคในคน เช่น แบคทีเรียชนิดวิบริโอชัลโมเนลา ชิกลেলা และ จุลินทรีย์บางชนิดทำให้คุณภาพน้ำเปลี่ยนไป

1.6 ประโยชน์การวิจัย

1. ทำให้ทราบคุณภาพน้ำที่ใช้ในการบริโภคและอุปโภค เพื่อป้องกันผลกระทบต่อสุขภาพของบุคลากรในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
2. เพื่อให้เป็นแนวทางในการจัดการคุณภาพน้ำให้กับหน่วยงานและผู้ที่เกี่ยวข้องสามารถนำไปใช้ต่อไปได้

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การตรวจคุณภาพน้ำโดยวิธีการทางจุลชีววิทยา Microbiological Examination of Water

น้ำธรรมชาติมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่มาก ทั้งชนิดและปริมาณ การตรวจคุณภาพของน้ำทางจุลชีววิทยานอกจากจะตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดแล้ว ยังนิยมตรวจจุลินทรีย์บางชนิดที่เมื่อมีอยู่ในน้ำแล้ว สามารถบ่งบอกถึงความเป็นไปได้ที่น้ำอาจจะได้รับการปนเปื้อนจากเชื้อโรค โดยเฉพาะเชื้อโรคทางเดินอาหารของคนหรือสัตว์ เช่นแบคทีเรียที่ก่อโรคอุจจาระร่วง ได้แก่ *Vibrio cholera* (อหิวาตกโรค), *Shigella dysenteriae* (โรคบิด) และ *Salmonella sp.* เป็นต้น ซึ่งเชื้อโรคเหล่านี้จะติดมากับอุจจาระของคนหรือสัตว์ที่เป็นโรคหรือพาหะ (carrier) ของเชื้อโรคดังกล่าว

จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นดัชนีบ่งชี้การปนเปื้อนของอุจจาระทั้งโดยทางตรงและทางอ้อม (index of fecal contamination) มีหลายกลุ่มด้วยกัน เช่น coliform, fecal coliform, *E.coli* แบคทีเรียในวงศ์ (family) Enterobacteriaceae ทั้งกลุ่ม และ enterococci เนื่องจากจุลินทรีย์เหล่านี้เป็นพวกที่มีแหล่งอาศัยปกติอยู่ในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์จึงพบเป็นปริมาณมากในอุจจาระ ปกติไม่ก่อให้เกิดโรค (แต่บางสายพันธุ์อาจก่อโรคได้) ทนต่อสภาพแวดล้อมภายนอกได้ดี สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ง่าย รวดเร็ว และไม่สิ้นเปลืองซึ่งตรวจได้ง่ายกว่าการตรวจจุลินทรีย์เป็นเชื้อโรค ส่วนจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคนั้นเมื่อออกจากทางเดินอาหารแล้วจะไม่ค่อยทนต่อสภาพแวดล้อมภายนอก จึงพบปริมาณน้อยในน้ำ ทำให้ยากต่อการตรวจวิเคราะห์

น้ำดื่ม น้ำใช้ น้ำใสลำน้ำธรรมชาติ น้ำในสระว่ายน้ำ บ่อเก็บน้ำ น้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัด น้ำทิ้งที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ควรมีปริมาณจุลินทรีย์ในปริมาณสูงสุด ได้เพียงใดจึงจะปลอดภัยนั้น ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการใช้น้ำนั้นๆ ดังนั้นมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของน้ำจึงกำหนดไว้แตกต่างกัน

2.2 มาตรฐานน้ำบริโภคที่กำหนดโดยมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ซึ่งมีข้อกำหนดไว้ใหม่ (มอก 257-2549) คือ สุขลักษณะที่ดีของน้ำบริโภคซึ่งครอบคลุมน้ำที่บริโภคทั่วไปและน้ำที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจุลินทรีย์ในน้ำบริโภคต้องไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนดดังนี้

1. โคลิฟอร์มแบคทีเรียต้องน้อยกว่า 2.2 ต่อตัวอย่างน้ำ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยการประเมินจำนวนด้วยวิธี MPN แบบ multiple tube technique

2. *Escherichia coli* ต้องไม่พบในตัวอย่างน้ำ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

3. *Staphylococcus aureus* ต้องไม่พบในตัวอย่างน้ำ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

4. *Salmonella* sp. ต้องไม่พบในตัวอย่างน้ำ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

5. *Clostridium perfringens* ต้องไม่พบในตัวอย่างน้ำ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

6. ในกรณีที่มีโรคระบาดเกี่ยวกับน้ำในท้องถิ่นนั้นให้ตรวจจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคระบาดในขณะนั้นด้วย เช่น อหิวาตกโรค ไทฟอยด์ บิด เป็นต้น

สำหรับมาตรฐานหรือเกณฑ์กำหนดของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 500 CFU / มิลลิลิตร

2.3 บทปฏิบัติการนี้จะอธิบายวิธีการตรวจวิเคราะห์ coliform bacteria, fecal coliform, *E. coli* รวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคอีก 3 ชนิดที่มีข้อกำหนดตาม มอก. 257-2549

แบคทีเรียโคลิฟอร์ม (coliform bacteria)

หมายถึงกลุ่มแบคทีเรียรูปร่างท่อนสั้น ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เป็น aerobe หรือ facultative anaerobe สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลแลคโทสให้กรด และแก๊สภายในเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติดังกล่าวได้แก่ *Escherichia coli* ซึ่งมีแหล่งอาศัยปกติในทางเดินอาหารของคนและสัตว์เลือดอุ่น ดังนั้นจึงพบเป็นจำนวนมากในอุจจาระ และแบคทีเรียอื่น ๆ เช่น *Enterobacter* (ชื่อเดิม *Aerobacter*) ซึ่งนอกจากจะพบในทางเดินอาหารแล้ว ยังพบได้ในดิน และปนเปื้อนกับพืชผักต่างๆ ดังนั้นการตรวจพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มหรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า coli-aerogenes group จึงเป็นดัชนีแสดงว่าอาจจะมีการปนเปื้อนของอุจจาระ ซึ่งเป็นที่มาของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรค แต่อย่างไรก็ตามในเรื่องของน้ำดื่ม น้ำที่ใช้เพื่อการบริโภค หรือน้ำที่จะนำไปใช้ในกระบวนการใดก็ตามที่ต้องการให้มีความสะอาดมาก ก็ไม่ควรให้มีการปนเปื้อนจากดิน ดังนั้น มาตรฐานของน้ำดื่ม จึงกำหนดให้การตรวจค่า MPN ของแบคทีเรียโคลิฟอร์มมีน้อยกว่า 1.1 ต่อ น้ำ 100 มิลลิลิตรจึงจะปลอดภัยต่อผู้บริโภค

ฟีคัลโคลิฟอร์ม (Fecal coliform) และ *E. coli*

E. coli เป็นแบคทีเรียที่มีแหล่งอาศัยปกติในทางเดินอาหารของคนและสัตว์เลือดอุ่น การตรวจพบ *E. coli* จึงแสดงว่ามีการปนเปื้อนของอุจจาระโดยตรง แบคทีเรียโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนจากอุจจาระโดยตรงเรียกว่า fecal coliform ส่วนแบคทีเรียโคลิฟอร์มอื่นๆ เช่น *Enterobacter aerogenes* ซึ่งไม่อาจใช้เป็นดัชนีแสดงการปนเปื้อนอุจจาระโดยตรงเพราะอาจพบในแหล่งอื่นๆ ด้วย จึงเรียกกลุ่มนี้ว่าเป็น non-fecal coliform เนื่องจาก *E. coli* มีคุณสมบัติต่างจาก *Enterobacter* sp. คือ

1. *E. coli* สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลแลคโทส แล้วเกิดแก๊สที่อุณหภูมิ 44.5 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง ซึ่งการทดสอบทำได้ง่าย

2. *E.coli* ให้ผลการทดสอบปฏิกิริยา IMViC (indole, methyl red, Voges-Proskauer, citrate test) เป็น ++-- ส่วน *Enterobacter aerogenes* ให้ผลเป็น --++ แต่การตรวจวิเคราะห์ยุ่งยากและสิ้นเปลืองกว่าวิธีที่ 1

ด้วยเหตุนี้จึงใช้ปฏิกิริยาการเฟอร์เมนต้น้ำตาลแลคโทสแล้วเกิดแก๊สที่อุณหภูมิ 44.5 องศาเซลเซียส เป็นการแยกกลุ่มแบคทีเรียโคลิฟอร์มเป็น 2 พวก คือ fecal coliform และ non-fecal coliform *E.coli*

2.4 การหาค่า MPN

MPN ย่อมาจาก Most Probable Number เป็นจำนวนสูงสุดของจุลินทรีย์ที่อาจมีได้ในตัวอย่าง คำนี้นี้ได้จากการประเมินโดยใช้หลักการทางสถิติ

สำหรับการหาค่า MPN โดยวิธี multiple-tube technique นั้นเป็นเทคนิควิธีการประเมินจำนวนสูงสุดของจุลินทรีย์ในตัวอย่าง โดยเฉพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จากตัวอย่างนั้นในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ซึ่งเป็นอาหารที่เหมาะสมกับจุลินทรีย์ที่ต้องการจะประเมินจำนวน ดังนั้นจำนวนจุลินทรีย์ที่ประเมินได้จึงเป็นจุลินทรีย์ยังมีชีวิตอยู่และสามารถเจริญในอาหารที่ใช้เลี้ยงเท่านั้น

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 กลุ่มเป้าหมาย

สำรวจแหล่งน้ำบริโภคและอุปโภค ภายในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์โดยทำการสำรวจคุณภาพน้ำอุปโภคและบริโภค ภายในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ จำนวน 8 เดือน ในช่วงเดือน มกราคม – สิงหาคม 2563

3.2 ระยะเวลาการดำเนินโครงการ

มกราคม – สิงหาคม 2563

3.3 เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บข้อมูล

การเก็บตัวอย่างน้ำและตรวจวัดวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ดังนี้

-วิเคราะห์หาค่าโคลิฟอร์มแบคทีเรีย โดยวิธีมัลติเพิลทิวบ์เฟอร์เมนเทชันเทคนิค (multiple tube fermentation technique) หรือ MPN ตามวิธีมาตรฐาน Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater ของ APHA, AWWA & WEF

-วิเคราะห์หาค่าเอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*) โดยวิธีมัลติเพิลทิวบ์เฟอร์เมนเทชันเทคนิค (multiple tube fermentation technique) หรือ MPN ตามวิธีมาตรฐาน Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater ของ APHA, AWWA & WEF

-วิเคราะห์หาค่าจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี Standard plate count ตามวิธีมาตรฐาน Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater ของ APHA, AWWA & WEF

3.4 วิธีการดำเนินงาน

1. การหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด(Total Plate Count หรือ Aerobic Plate Count หรือ Heterotrophic Plate count)

1. วัดอุปประสงค์

เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด(Total Plate Count หรือ Aerobic Plate Count หรือ Heterotrophic Plate count) ในน้ำ

2. ขอบข่าย

วิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count หรือ Aerobic Plate Count หรือ Heterotrophic Plate count) ในน้ำ

3. นิยาม

ในการหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำนั้น กฎหมายที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพน้ำในประเทศไทย ได้กำหนดวิธีการมาตรฐานไว้ว่า ให้ดำเนินการตามวิธีการมาตรฐาน Standard Methods for the Water and Wastewater ของ APHA, AWWA & WEF ซึ่งเป็นมาตรฐานที่ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลาย สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างน้ำและน้ำเสีย โดยจะแบ่งประเภทของน้ำที่จะทำการวิเคราะห์ไว้ดังนี้

3.1 น้ำบริโภค (Potable Water) เป็นน้ำที่ใช้ดื่ม รวมทั้งน้ำที่ใช้ทำอาหารและเครื่องดื่มโดยอาจ ความกระด้างของน้ำลง โดยการจับเกลือแร่ที่มีประจุ เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม หลังจากนั้นก็เชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนในน้ำโดยผ่านแสงอัลตราไวโอเล็ตหรือก๊าซโอโซน นอกจากนี้ยังรวมน้ำแร่ ซึ่งโดยทั่วไปการผลิตน้ำแร่ไม่มีกระบวนการอื่นใดนอกจากการฆ่าเชื้อตามวิธีเดียวกับน้ำดื่ม น้ำแร่ จึงมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำจากแหล่งกำเนิดมาก

3.2 น้ำอุปโภค (Non – potable water) เป็นน้ำที่ไม่ได้ใช้สำหรับการดื่มกิน หรือ ทำอาหาร และ เครื่องดื่ม โดยจะได้มาจากแหล่งกำเนิด หรือแหล่งน้ำตามธรรมชาติต่างๆ เช่น ห้วย หนอง คลอง บึง อ่างน้ำ ลำธาร แม่น้ำ เป็นต้น ซึ่งยังไม่ผ่านกระบวนการในการฆ่าเชื้อหรือกำจัดสิ่งปนเปื้อนใดใด

3.3 น้ำเสีย (Wastewater) เป็นน้ำหรือของเหลวที่มีสิ่งเจือปนต่างๆ ในปริมาณที่สูงจนกระทั่งเป็นน้ำที่ไม่ต้องการ และน่ารังเกียจสำหรับคนทั่วไป เป็นมลพิษทางทัศนียภาพและก่อให้เกิดผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม

4. หลักการ

ในการทดลอง Aerobic Plate Count นำตัวอย่างมาทำการเจือจาง 10 เท่าแบ่งตัวอย่างแต่ละความเจือจางใส่จานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงไป แล้วทำการหมวนวน (Pour Plate) จานเพาะเชื้อ จนตัวอย่างกับอาหารผสมเข้ากันดี ทั้งให้อาหารแข็งตัวนำไปบ่มในอุณหภูมิที่เหมาะสมเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำจานเพาะเชื้อ มานับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญและรายงานผลการทดลอง

5. เครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี สารมาตรฐาน อาหารเลี้ยงเชื้อ และวัสดุอื่นๆ

5.1 เครื่องมือ

5.1.1 เครื่องชั่งความละเอียด 0.01 กรัม

5.1.2 Water bath สำหรับอุ่นอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 45 ± 1 องศาเซลเซียส

5.1.3 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) สามารถปรับและควบคุมอุณหภูมิ ที่ 35 ± 1 องศาเซลเซียส

5.1.4 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) สามารถปรับและควบคุมอุณหภูมิ ที่ 121 องศาเซลเซียส

5.1.5 ตู้อบ (Hot air oven) สามารถปรับและควบคุมอุณหภูมิ ที่ 170 ± 10 องศาเซลเซียส

5.1.6 เครื่องเขย่า (Vortex mixer)

5.1.7 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meters)

5.1.8 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)

6.2 อุปกรณ์

6.2.1 หลอดแก้วขนาด 16 x 150 mm

6.2.2 Pipette ขนาด 1 และ 10 ml ความละเอียด 0.1 ml

6.2.3 Pipette can สำหรับบรรจุ Pipette อบฆ่าเชื้อ

6.2.4 Petri dish can สำหรับบรรจุ Petri dish อบฆ่าเชื้อ

6.2.5 Petri dish glass (ขนาด 15 x 90 มิลลิเมตร)

6.2.6 อุปกรณ์ที่สัมผัสกับตัวอย่าง เช่น forceps กรรไกร ช้อน ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

6.3 สารเคมี สารมาตรฐาน อาหารเลี้ยงเชื้อ และวัสดุอื่นๆ

6.3.1 Butterfield's phosphate-buffered dilution water (BPB) ปริมาตร 90 ± 1 ml

6.3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA)

7. สภาวะทดสอบ

ปฏิบัติตามเอกสารวิธีปฏิบัติงานเรื่อง การควบคุมภาวะแวดล้อมในการทดสอบทางจุลชีววิทยา

8. ขั้นตอนการทดสอบ

8.1. การเตรียมตัวอย่าง

เลือกกระดับการเจือจางที่เหมาะสมของตัวอย่าง โดยให้สามารถนับโคโลนีที่เกิดขึ้นบนจานเพาะเชื้อได้ระหว่าง 30 – 300 โคโลนี ต่อ 1 จานเพาะเชื้อ แล้วทำการเตรียมตัวอย่าง ดังนี้

8.1.1 ทำการเจือจางโดยใช้ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ขนาด 1 มิลลิลิตร ผสมน้ำก้นด้วยเครื่องเขย่าสารในหลอดทดลอง ประมาณ 15 วินาที หรือ เขย่าอย่างรวดเร็วประมาณ 25 ครั้ง จะได้ตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-2} (1:100)

8.1.2 จากนั้นใช้ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ขนาด 1 มิลลิลิตร คูดสารละลายที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่มี PW ปริมาตร 9 ± 0.18 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ด้วยเครื่องเขย่าสารในหลอดทดลอง ประมาณ 30 วินาที ได้ระดับความเจือจาง 10^{-2} (1:100) ทำการเจือจางจนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม

8.2 วิธีการทดลอง

8.2.1 ใช้ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ขนาด 1 มิลลิลิตร คูดตัวอย่างหรือตัวอย่างที่เจือจางแล้ว จำนวน 1 และ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ บริเวณกลางจานโดยเอียงปิเปตทำมุมประมาณ 45 องศาเซลเซียส แล้วปล่อยให้สารละลายไหลออกมาเป็นเวลา 2 – 4 วินาที และ เมื่อนำปิเปตออกจากจานเพาะเชื้อ ต้องไม่ให้สัมผัสส่วนใดของจานเพาะเชื้อเลย

8.2.2 ให้ใส่ตัวอย่างระดับความเจือจางอย่างน้อย 3 จานเพาะเชื้อ โดยทำทุกระดับความเจือจางที่เหมาะสม

8.2.3 เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่มีอุณหภูมิประมาณ 44 - 46 องศาเซลเซียส (หลอมเหลวไว้ไม่เกิน 3 ชั่วโมง) ประมาณ 18 – 20 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่ใส่ตัวอย่างเจือจางไว้แล้ว ทุกจาน

8.2.4 หมุนวน (pour plate) จานเพาะเชื้อ ตามเข็มนาฬิกา ขึ้นบนและลงล่าง จนตัวอย่างกระจายอย่างสม่ำเสมอในอาหารเลี้ยงเชื้อ

8.2.5 วางไว้จนอาหารแข็งตัว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยให้วางจานเพาะเชื้อในลักษณะคว่ำจานให้ฝาอยู่ด้านล่าง

8.2.6 เมื่อครบเวลา นำจานเพาะเชื้อที่บ่มไว้นานับจำนวนโคโลนีของทุกระดับความเจือจาง

9. การควบคุมคุณภาพการทดสอบ

9.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ตามเอกสารวิธีปฏิบัติงานเรื่อง การควบคุมคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ

9.2 การเตรียมเครื่องมือสำหรับใช้งาน เครื่องมือ และอุปกรณ์ทุกชนิดที่ต้องนำไปในงานทดสอบ ต้องอยู่ในช่วงที่ใช้งานตลอดการทดสอบ ตามเอกสารวิธีปฏิบัติงานเรื่อง การควบคุมคุณภาพเครื่องมือและอุปกรณ์

10. การรายงานผล

ให้รายงานผลจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในหน่วย โคโลนีต่อมิลลิลิตร (CFU / ml) เป็นตัวเลขเพียง 2 หลักแรก ให้มีทศนิยม 1 ตำแหน่ง คู่กับตัวเลขในฐานสิบ หลักการพิเศษให้ปฏิบัติดังนี้

10.1 ถ้าตัวเลขในหลักที่ 3 มีค่าเท่ากับ 5, 6, 7, 8 และ 9 ให้เพิ่มตัวเลขในหลักที่ 2 ไป 1 ค่า เมื่อตัวเลข 0 แทนตัวเลขในหลักถัดไป เช่น นับโคโลนีได้ 155 โคโลนีได้ 155 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ให้รายงานเป็น 160 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

10.2 ถ้าตัวเลขในหลักที่ 3 มีค่าเท่ากับ 1, 2, 3 และ 4 ให้ปัดตัวเลขนั้นทิ้งไปและใส่ 0 แทนในหลักถัดไป เช่น นับโคโลนีได้ 142 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ให้รายงานเป็น 140 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

10.3 ถ้าตัวเลขมีเพียง 2 หลัก ให้รายงานเป็นตัวเลขเดิม เช่น นับจำนวนโคโลนีได้ 35 โคโลนีต่อมิลลิเมตร ให้รายงานเป็นจำนวน 35 โคโลนีต่อมิลลิเมตร

11. การคำนวณ

11.1 ถ้าในงานเพาะเชื้อพบเชื้อจุลินทรีย์ที่มีโคโลนีลักษณะกระจาย (Spreader) และพื้นที่ไม่เกินครึ่งหนึ่งของจานเพาะเชื้อ ให้นับจำนวน ดังนี้

- ให้นับโคโลนีที่มีลักษณะเป็นสายที่เกิดจากกลุ่มของจุลินทรีย์เป็น 1 โคโลนี
- โคโลนีที่มีลักษณะเป็นฟิล์มด้านล่างและในอาหารเลี้ยงเชื้อ
- โคโลนีที่มีการเจริญทับโคโลนีอื่นๆ และมีพื้นที่มากกว่าครึ่งหนึ่งของจานเพาะเชื้อให้นับเป็น 1 โคโลนี

- โคโลนีที่มีลักษณะคล้ายกัน เจริญอยู่ใกล้กัน แต่ขอบโคโลนีไม่ได้ทับกัน และมีระยะห่างระหว่างกัน ให้นับแต่ละจำนวนของโคโลนีที่มีสี หรือ ขอบเขตของโคโลนีที่ชัดเจน

11.2 ถ้าจำนวนโคโลนีที่นับได้ ในแต่ละจานเพาะเชื้อ อยู่ระหว่าง 30 – 300 โคโลนี ให้คำนวณตามสูตร

$$\text{ooo(oo)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้}}{\text{ปริมาตรที่แท้จริงของตัวอย่างในจานเพาะเชื้อ (มิลลิลิตร)}}$$

โดย CFU(ml) คือ จำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรของจุลินทรีย์ในตัวอย่าง

11.3 ถ้าจำนวนโคโลนีที่นับได้มากกว่า 300 โคโลนี อย่างน้อย 1 จานเพาะเชื้อให้เลือกจานเพาะเชื้อที่มีค่าใกล้เคียง 300 โคโลนี มากที่สุด มาคำนวณตามข้อ 2.7.2

11.4 ถ้าจำนวนโคโลนีที่นับได้เกิน 300 โคโลนี และมีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อ 1 ตารางเซนติเมตร ให้นับจำนวนโคโลนีในช่องของเครื่องนับโคโลนีจำนวน 13 ช่อง โดยนับช่องที่ติดกันในแนวนอน 7 ช่อง และ แนวตั้ง 6 ช่อง

$$000(00) = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้} \times 5}{\text{ปริมาตรที่แท้จริงของตัวอย่างในจานเพาะเชื้อ (มิลลิลิตร)}}$$

โดย CFU(ml) คือ จำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรของจุลินทรีย์ในตัวอย่าง

11.5 ถ้าจำนวนโคโลนีที่นับได้ มีเกิน 300 โคโลนี และมีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 100 โคโลนีในช่องของเครื่องนับโคโลนีจำนวน 4 ช่อง แล้วหาค่าเฉลี่ยของ 1 ช่อง

$$000(00) = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้เฉลี่ย}}{100 \times \text{ปริมาตรที่แท้จริงของตัวอย่างในจานเพาะเชื้อ (มิลลิลิตร)}}$$

โดย CFU(ml) คือ จำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรของจุลินทรีย์ในตัวอย่าง

12.6 ถ้าจำนวนโคโลนีที่นับได้ มีเกิน 300 โคโลนี และมีจำนวนโคโลนีมากกว่า 100 โคโลนี

ต่อ 1 ตารางเซนติเมตร

$$000(00) = \frac{>6,500}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างในจานเพาะเชื้อน้อยที่สุด (มิลลิลิตร)}}$$

โดย CFU(ml) คือ จำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรของจุลินทรีย์ในตัวอย่าง

11.7 ถ้าทุกจานเพาะเชื้อไม่มีโคโลนี

$$000(00) = \frac{<1}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างในจานเพาะเชื้อที่มากที่สุด (มิลลิลิตร)}}$$

โดย CFU(ml) คือ จำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรของจุลินทรีย์ในตัวอย่าง

2. การหาปริมาณโคลิฟอร์ม (Coliform)

1. วัตถุประสงค์

เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณโคลิฟอร์มในน้ำด้วยเทคนิค Multiple tube fermentation หรือ MPN ในน้ำ

2. ขอบข่าย

วิเคราะห์หาปริมาณโคลิฟอร์มในน้ำด้วยเทคนิค Multiple tube fermentation หรือ MPN ในน้ำ

3. นิยาม

ในการหาปริมาณโคลิฟอร์มในน้ำด้วยเทคนิค Multiple tube fermentation หรือ MPN นั้นในกฎหมายที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพน้ำในประเทศ ได้กำหนดมีวิธีการมาตรฐานไว้ว่า ให้ดำเนินการตามวิธีการมาตรฐาน Standard Methods for the Examination of water and Wastewater ของ APHA AWWA & WEF ซึ่งเป็นมาตรฐานที่ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลาย โดยจะแบ่งประเภทของน้ำที่จะทำการวิเคราะห์ไว้ดังที่กล่าวไปแล้วในบทที่ 8 และในบทนี้จะได้อธิบายวิธีการสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณโคลิฟอร์มในน้ำเสียตามมาตรฐานคุณภาพน้ำประปาไทย

3.1 น้ำบริโภค (Potable Water) เป็นน้ำที่ใช้ดื่ม รวมทั้งน้ำที่ใช้ทำอาหารและเครื่องดื่มโดยอาจความกระด้างของน้ำลง โดยการจับเกลือแร่ที่มีประจุ เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม หลังจากนั้นก็เชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนในน้ำโดยผ่านแสงอัลตราไวโอเลตหรือก๊าซโอโซน นอกจากนี้ยังรวมน้ำแร่ ซึ่งโดยทั่วไปการผลิตน้ำแร่ไม่มีกระบวนการอื่นใดนอกจากการฆ่าเชื้อตามวิธีเดียวกับน้ำดื่ม น้ำแร่ จึงมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำจากแหล่งกำเนิดมาก

3.2 น้ำอุปโภค (Non – potable water) เป็นน้ำที่ไม่ได้ใช้สำหรับการดื่มกิน หรือ ทำอาหาร และ เครื่องดื่ม โดยจะได้มาจากแหล่งกำเนิด หรือ แหล่งน้ำตามธรรมชาติต่างๆ เช่น ห้วย หนอง คลอง บึง อ่างน้ำ ลำธาร แม่น้ำ เป็นต้น ซึ่งยังไม่ผ่านกระบวนการในการฆ่าเชื้อหรือกำจัดสิ่งปนเปื้อนใดใด

3.3 น้ำเสีย (Wastewater) เป็นน้ำหรือของเหลวที่มีสิ่งเจือปนต่างๆในปริมาณที่สูงจนกระทั่งเป็นน้ำที่ไม่ต้องการ และน่ารังเกียจสำหรับคนทั่วไป เป็นมลพิษทางทัศนียภาพและก่อให้เกิดผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม

4. หลักการ

1 การใช้เทคนิค Multiple tube fermentation หรือ MPN ซึ่งเป็นการประมาณค่าปริมาณโคลิฟอร์มในตัวอย่างทดสอบ เป็นวิธีการหนึ่งที่หลายห้องปฏิบัติการเลือกใช้ โดยโคลิฟอร์มสามารถสร้างก๊าซได้เมื่อเพราะเลี้ยงในอาหาร Brilliant Green Lactose Bile broth (BGLB) ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 48 ชั่วโมง หรือ เร็วกว่านั้น และสามารถเจริญเติบโตในอาหารแข็ง Eosine Methylene Blue Agar (EMB) ที่ 35 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่ง จะทำการประมาณจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียโดยการคำนวณจากตาราง MPN

5. เครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี สารมาตรฐาน อาหารเลี้ยงเชื้อ และวัสดุอื่นๆ

5.1 เครื่องมือ

5.1.1 เครื่องชั่งความละเอียด 0.01 กรัม

5.1.2 Water bath สำหรับอุ่นอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 45 ± 1 องศาเซลเซียส

5.1.3 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) สามารถปรับและควบคุมอุณหภูมิ ที่ 35 ± 1 องศาเซลเซียส

5.1.4 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) สามารถปรับและควบคุมอุณหภูมิ ที่ 121 องศาเซลเซียส

5.1.5 ตู้อบ (Hot air oven) สามารถปรับและควบคุมอุณหภูมิ ที่ 170 ± 10 องศาเซลเซียส

5.1.6 เครื่องเขย่า (Vortex mixer)

5.1.7 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meters)

5.1.8 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)

5.2 อุปกรณ์

5.2.1 หลอดแก้วขนาด 16 x 150 mm

5.2.2 Pipette ขนาด 1 และ 10 ml ความละเอียด 0.1 ml

5.2.3 Pipette can สำหรับบรรจุ Pipette อบฆ่าเชื้อเชื้อ

5.2.4 Petri dish glass (ขนาด 15 x 90 มิลลิเมตร)

5.2.5 อุปกรณ์ที่สัมผัสกับตัวอย่าง เช่น forceps กรรไกร ช้อน ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

5.3 สารเคมี สารมาตรฐาน อาหารเลี้ยงเชื้อ และวัสดุอื่นๆ

5.3.1 สารละลาย Peptone water (PW) เข้มข้นร้อยละ 0.1

5.3.2 อาหาร Lauryl tryptose bacoth\pH 6.8 ± 0.2

5.3.3 อาหาร Brilliant Green Lactose Bile broth (BGLB) pH 7.2 ± 0.2

หมายเหตุ : การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ดูวิธีการเตรียมจากวิธีปฏิบัติงานเรื่อง การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

6. สภาวะทดสอบ

ปฏิบัติตามเอกสารวิธีปฏิบัติงานเรื่อง การควบคุมภาวะแวดล้อมในการทดสอบทางจุลชีววิทยา

7. ขั้นตอนการทดสอบ

7.1 การเตรียมตัวอย่าง

7.1.1 น้ำดื่ม หรือน้ำบริโภค (potable water) ไม่ต้องทำการเจือจาง

7.1.2 น้ำที่ไม่ใช่ น้ำดื่ม (non-potable water) และน้ำเสีย (wastewater)

ให้ใช้การเจือจางที่เหมาะสม ขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของโคลิฟอร์มโดยทำการเจือจางโดยใช้ปิเปตหรือไมโครปิเปตที่มีทิปที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ดูดน้ำตัวอย่างมา 1 มิลลิตร ใส่ในขวดที่

มี Peptone water ปริมาตร 99 ± 0.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยเขย่าอย่างรวดเร็วประมาณ 25 ครั้ง จะได้ตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-2} (1:100)

หากตัวอย่างจะต้องเจือจางมากกว่าที่ระดับความเจือจาง 10^{-2} ให้ใช้ปิเปตหรือไมโครปิเปต ที่มีทิปที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ดูดตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-2} มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่มี PW ปริมาตร 9 ± 0.18 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสารในหลอดทดลอง ประมาณ 30 วินาที ได้ระดับความเจือจาง 10^{-3} (1:1000) แล้วทำการเจือจางจนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม

7.2 วิธีการทดสอบ

7.2.1 การทดสอบขั้นต้น (Presumptive test)

ใช้อาหาร Lauryl Tryptose Broth ถ้าอาหารเก็บไว้ในตู้เย็นให้นำมาบ่มที่ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-20 ชั่วโมง ก่อนใช้ และให้ทิ้งหลอดที่เกิดการเจริญของจุลินทรีย์หรือเกิดฟองอากาศ โดยเลือกใช้ความเข้มข้นของอาหาร Lauryl Tryptose Broth ตามตาราง

7.2.1.1 จัดเรียงหลอดเป็นแถว 5 หรือ 10 หลอด ในแต่ละ Test จำนวนตัวอย่าง และปริมาตรขึ้นอยู่กับคุณภาพ หรือลักษณะของน้ำ

7.2.1.1.1 น้ำดื่มหรือน้ำบริโภค ใช้ 10 หลอด ๆ ละ 10 มิลลิลิตร

7.2.1.1.2 น้ำที่ไม่ใช่ น้ำดื่ม ให้เลือกกระดับการเจือจางที่เหมาะสม ระดับและใช้ ปริมาตร 10, 1 และ 0.1 มิลลิลิตร โดยแต่ละปริมาตรให้ทำซ้ำ 5 หลอด

7.2.1.2 เติมตัวอย่างลงในหลอดทดสอบซึ่งมีอาหาร LST ตามปริมาตรที่เหมาะสม จากนั้นผสมให้เข้ากัน

7.2.1.3 บ่มที่ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส นาน 24 ± 2 ชั่วโมง

7.2.1.4 จากนั้นแกว่งหลอด (swirl) แต่ละหลอด หรือขวด เบาๆ และประมาณการเจริญเติบโตการเกิดก๊าซถ้าไม่เกิดก๊าซให้บ่มต่อจนครบ เวลา 48 ± 3 ชั่วโมง บันทึกผลการเจริญ/การเกิดก๊าซ

7.2.1.5 การแปลผล

- ถ้าในหลอดทดลองอาหารเกิดความขุ่น แสดงว่ามีการเจริญของจุลินทรีย์ในหลอดทดลอง

- ถ้าหลอดแกว่งด้านในเกิดช่องว่างของอากาศแสดงว่า มีก๊าซ

- หลอดทดลองที่เกิดขึ้นการเจริญของจุลินทรีย์ และเกิดก๊าซแสดงว่าให้ผล
เป็นบวก (+)

- หลอดทดลองที่ไม่เกิดการเจริญของจุลินทรีย์ และไม่เกิดก๊าซแสดงว่าให้ผล
เป็นลบ (-)

7.2.2 การทดสอบขั้นยืนยัน (Confirmed test)

7.2.2.1 นำหลอดหรือขวดจากการทดสอบขั้นต้นที่ให้ผลบวก มาทดสอบโดยการ
เขย่าเบาๆ เพื่อ resuspend เชื้อจุลินทรีย์ แล้วใช้หัวฉีดย้ายสารละลายไปยังหลอดอาหาร
BGLB

สำหรับน้ำเสียหรือน้ำที่ปนเปื้อน ถ้าเกิดผลบวก (+) ใน 2 หลอดหรือมากกว่า
Consecutive dilutions tube ภายใน 24 ชั่วโมง ให้ทำการยืนยันผลเฉพาะหลอดที่เจือจางมาก
ที่สุด (เติมตัวอย่างน้อยที่สุด) ถ้าทุกหลอดให้ผลบวก (+) และในอัตราการเจือจางสูงสุดให้
ผลบวก (+) ให้ทำการยืนยันทุกหลอดที่เกิดกรดหรือก๊าซ หลังจาก 24 ชั่วโมง เท่านั้น

7.2.2.2 บ่มที่ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส สังเกตผลเมื่อครบ 6 ± 1 ชั่วโมง ถ้าไม่เกิดผล
บวก ให้ทำการบ่มต่อจนครบ 24 ± 2 ชั่วโมง หากพบว่า ไม่เกิดผลบวก ให้ทำการบ่มจนครบ 48 ± 3
ชั่วโมง และสังเกตการเกิดผล

8. การรายงานผล

8.1 การแปลผล

- ถ้าในหลอดทดลองอาหารเกิดความขุ่น แสดงว่ามีการเจริญของจุลินทรีย์ในหลอดทดลอง
- ถ้าหลอดแก้วด้านในเกิดช่องว่างของอากาศแสดงว่า มีก๊าซขึ้น
- หลอดทดลองที่เกิดการเจริญของจุลินทรีย์ และเกิดก๊าซแสดงว่าให้ผลบวก (+)
- หลอดทดลองที่ไม่เกิดการเจริญของจุลินทรีย์ และไม่เกิดก๊าซแสดงว่าให้ผลเป็นลบ (-)

12.2 การรายงานผล

ให้รายงานจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในหน่วย เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร (MPN/100ml)

3.การหาปริมาณ *Escherichia coli*

1. วัตถุประสงค์

เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณการหาปริมาณ *Escherichia coli* ในน้ำด้วยเทคนิค Multiple
tube fermentation หรือ MPN ในน้ำ

2. ขอบข่าย

วิเคราะห์หาปริมาณโคลิฟอร์มในน้ำด้วยเทคนิค Multiple tube fermentation หรือ MPN ในน้ำ

3. นิยาม

ในการหาปริมาณโคลิฟอร์มในน้ำด้วยเทคนิค Multiple tube fermentation หรือ MPN นั้นในกฎหมายที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพน้ำในประเทศ ได้กำหนดมีวิธีการมาตรฐานไว้ว่า ให้ดำเนินการตามวิธีการมาตรฐาน Standard Methods for the Examination of water and Wastewater ของ APHA AWWA & WEF ซึ่งเป็นมาตรฐานที่ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลาย โดยจะแบ่งประเภทของน้ำที่จะทำการวิเคราะห์ไว้ดังที่กล่าวไปแล้วในบทที่ 8 และในบทนี้จะได้อธิบายวิธีการสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณโคลิฟอร์มในน้ำเสียตามมาตรฐานคุณภาพน้ำประเทศไทย

3.1 น้ำบริโภค (Potable Water) เป็นน้ำที่ใช้ดื่ม รวมทั้งน้ำที่ใช้ทำอาหารและเครื่องดื่ม โดยอาจ ความกระด้างของน้ำลง โดยการจับเกลือแร่ที่มีประจุ เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม หลังจากนั้นก็เชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนในน้ำโดยผ่านแสงอัลตราไวโอเล็ตหรือก๊าซโอโซน นอกจากนี้ยังรวมน้ำแร่ ซึ่งโดยทั่วไปการผลิตน้ำแร่ไม่มีกระบวนการอื่นใดนอกจากการฆ่าเชื้อตามวิธีเดียวกับน้ำดื่ม น้ำแร่ จึงมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำจากแหล่งกำเนิดมาก

3.2 น้ำอุปโภค (Non – potable water) เป็นน้ำที่ไม่ได้ใช้สำหรับการดื่มกิน หรือ ทำอาหาร และ เครื่องดื่ม โดยจะได้มาจากแหล่งกำเนิด หรือแหล่งน้ำตามธรรมชาติต่างๆ เช่น ห้วย หนอง คลอง บึง อ่างน้ำ ลำธาร แม่น้ำ เป็นต้น ซึ่งยังไม่ผ่านกระบวนการในการฆ่าเชื้อหรือกำจัดสิ่งปนเปื้อนใดใด

3.3 น้ำเสีย (Wastewater) เป็นน้ำหรือของเหลวที่มีสิ่งเจือปนต่างๆในปริมาณที่สูงจนกระทั่งเป็นน้ำที่ไม่ต้องการ และน่ารังเกียจสำหรับคนทั่วไป เป็นมลพิษทางทัศนียภาพและก่อให้เกิดผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม

4. หลักการ

การหาปริมาณ การหาปริมาณ *Escherichia coli* ในน้ำโดยใช้เทคนิค Multiple tube fermentation หรือ MPN ในการหาจำนวน E.coli ในน้ำด้วยเทคนิค Multiple tube fermentation หรือ MPN นั้น ในกฎหมายที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพน้ำในประเทศไทย ได้กำหนดให้ดำเนินการเตรียมวิธีการมาตรฐาน Standard Methods for the Water and Wastewater ของ APHA, AWWA & WEF และได้แบ่งประเภทของน้ำที่จะทำการวิเคราะห์ไว้เช่นเดียวกับการหาปริมาณโคลิฟอร์มในน้ำด้วยเทคนิค Multiple tube fermentation

5. เครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี สารมาตรฐาน อาหารเลี้ยงเชื้อ และวัสดุอื่นๆ

5.1 เครื่องมือ

- 5.1.1 เครื่องชั่งความละเอียด 0.01 กรัม
- 5.1.2 Water bath สำหรับอุ่นอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 45 ± 1 องศาเซลเซียส
- 5.1.3 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)
- 5.1.4 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)
- 5.1.5 ตู้อบ (Hot air oven)
- 5.1.6 เครื่องเขย่า (Vortex mixer)
- 5.1.7 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meters) ดู
- 5.1.8 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)

5.2 อุปกรณ์

- 5.2.1 หลอดแก้วขนาด 16 x 150 mm
- 5.2.2 Pipette ขนาด 1 และ 10 ml ความละเอียด 0.1 ml
- 5.2.3 Pipette can สำหรับบรรจุ Pipette อบฆ่าเชื้อเชื้อ
- 5.2.4 Petri dish glass (ขนาด 15 x 90 มิลลิเมตร)
- 5.2.5 อุปกรณ์ที่สัมผัสกับตัวอย่าง เช่น forceps กรรไกร ช้อน ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

5.3 สารเคมี สารมาตรฐาน อาหารเลี้ยงเชื้อ และวัสดุอื่นๆ

- 5.3.1 สารละลาย Peptone water (PW) เข้มข้นร้อยละ 0.1
- 5.3.2 อาหาร Lauryl tryptose bacoth\pH 6.8 ± 0.2
- 5.3.3 อาหาร EC broth pH 7.2 ± 0.2
- 5.3.4 อาหารแข็ง Levine 's eosin-methylene blue (I-EMB)

6. สภาวะทดสอบ

ปฏิบัติตามเอกสารวิธีปฏิบัติงานเรื่อง การควบคุมภาวะแวดล้อมในการทดสอบทางจุลชีววิทยา

7. ขั้นตอนการทดสอบ

7.1 การเตรียมตัวอย่าง

- 7.1.1 น้ำดื่ม หรือน้ำบริโภค (potable water) ไม่ต้องทำการเจือจาง
- 7.1.2 น้ำที่ไม่ใช่ น้ำดื่ม (non-potable water) และน้ำเสีย (wastewater)

ให้ใช้การเจือจางที่เหมาะสม ขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของโคลิฟอร์มโดยทำการเจือจางโดยใช้ปิเปตหรือไมโครปิเปตที่มีทิปที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ดูดน้ำตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดที่มี Peptone water ปริมาตร 99 ± 0.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยเขย่าอย่างรวดเร็วประมาณ 25 ครั้ง จะได้ตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-2} (1:100)

หากตัวอย่างจะต้องเจือจางมากกว่าที่ระดับความเจือจาง 10^{-2} ให้ใช้ปิเปตหรือไมโครปิเปตที่มีทิปที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ดูดตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-2} มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่มี PW ปริมาตร 9 ± 0.18 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสารในหลอดทดลอง ประมาณ 30 วินาที ได้ระดับความเจือจาง 10^{-3} (1:1000) แล้วทำการเจือจางจนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม

7.2 วิธีการทดสอบ

7.2.1 การทดสอบขั้นต้น (Presumptive test)

ใช้อาหาร Lauryl Tryptose Broth ถ้าอาหารเก็บไว้ในตู้เย็นให้นำมาบ่มที่ 20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16-20 ชั่วโมง ก่อนใช้ และให้ทิ้งหลอดที่เกิดการเจริญของจุลินทรีย์หรือเกิดฟองอากาศ โดยเลือกใช้ความเข้มข้นของอาหาร Lauryl Tryptose Broth ตามตาราง

7.2.1.1 จัดเรียงหลอดเป็นแถว 5 หรือ 10 หลอด ในแต่ละ Test จำนวนตัวอย่างและปริมาตรขึ้นอยู่กับคุณภาพ หรือลักษณะของน้ำ

7.2.1.1.1 น้ำดื่มหรือน้ำบริโภค ใช้ 10 หลอด ๆ ละ 10 มิลลิลิตร

7.2.1.1.2 น้ำที่ไม่ใช่ น้ำดื่ม ให้เลือกกระดับการเจือจางที่เหมาะสม ระดับและใช้ปริมาตร 10, 1 และ 0.1 มิลลิลิตร โดยแต่ละปริมาตรให้ทำซ้ำ 5 หลอด

7.2.1.2 เติมตัวอย่างลงในหลอดทดสอบซึ่งมีอาหาร LST ตามปริมาตรที่เหมาะสม จากนั้นผสมให้เข้ากัน

7.2.1.3 บ่มที่ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส นาน 24 ± 2 ชั่วโมง

7.2.1.4 จากนั้นแกว่งหลอด (swirl) แต่ละหลอด หรือขวด เบาๆ และประมาณการเจริญเติบโตการเกิดก๊าซถ้าไม่เกิดก๊าซให้บ่มต่อจนครบ เวลา 48 ± 3 ชั่วโมง บันทึกผลการเจริญ/การเกิดก๊าซ

7.2.1.5 การแปลผล

- ถ้าในหลอดทดลองอาหารเกิดความขุ่น แสดงว่ามีการเจริญของจุลินทรีย์ในหลอดทดลอง

- ถ้าหลอดแก้วด้านในเกิดช่องว่างของอากาศแสดงว่า มีก๊าซ
- หลอดทดลองที่เกิดขึ้นการเจริญของจุลินทรีย์ และเกิดก๊าซแสดงว่าให้ผลเป็นบวก (+)
- หลอดทดลองที่ไม่เกิดการเจริญของจุลินทรีย์ และไม่เกิดก๊าซแสดงว่าให้ผลเป็นลบ (-)

7.2.2 การทดสอบขั้นยืนยัน (Confirmed test)

7.2.2.1 นำหลอดหรือขวดจากการทดสอบขั้นต้นที่ให้ผลบวก (+) มาทดสอบโดยการเขย่าเบาๆเพื่อ ละลายตะกอนเชื้อจุลินทรีย์ แล้วใช้ห่วงถ่ายเชื้อย้ายสารละลายไปยังหลอดอาหารเหลว EC

สำหรับน้ำเสียหรือน้ำที่ปนเปื้อน ถ้าเกิดผลบวก (+) ใน 2 หลอดหรือมากกว่า Consecutive dilutions tube ภายใน 24 ชั่วโมง ให้ทำการยืนยันผลเฉพาะหลอดที่เจือจางมากที่สุด (เติมตัวอย่างน้อยที่สุด) ถ้าทุกหลอดให้ผลบวก (+) และในอัตราการเจือจางสูงสุดให้ผลบวก (+) ให้ทำการยืนยันทุกหลอดที่เกิดกรดหรือก๊าซ หลังจาก 24 ชั่วโมง เท่านั้น

7.2.2.2 บ่มที่ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส สังเกตผลเมื่อครบ 24 ± 2 ชั่วโมง ถ้าไม่เกิดผลบวกให้ทำการบ่มจนครบ 48 ± 3 ชั่วโมง และสังเกตการเกิดผล

7.2.2.3 การแปรผล

- ถ้าในหลอดทดลองอาหารเกิดความขุ่น แสดงว่ามีการเจริญของจุลินทรีย์ในหลอดทดลอง

- ถ้าหลอดแก้วด้านในเกิดช่องว่างของอากาศแสดงว่า มีก๊าซขึ้น
- หลอดทดลองที่เกิดขึ้นการเจริญของจุลินทรีย์ และเกิดก๊าซแสดงว่าให้ผลเป็นบวก (+)
- หลอดทดลองที่ไม่เกิดการเจริญของจุลินทรีย์ และไม่เกิดก๊าซแสดงว่าให้ผลเป็นลบ (-)

7.2.3 การทดสอบขั้นสมบูรณ์ (Completed test)

7.2.3.1 ใช้ loop ถ่ายเชื้อจาก EC broth ที่เกิดแก๊สมา Streak บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

L-EMB agar

7.2.3.2 บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง

7.2.3.3 สังเกตโคโลนีของเชื้อ *E. coli* บนอาหารแข็ง L-EMB agar จะมีลักษณะสีม่วงหรือดำ ตรงกลางโคโลนีมีสีดำ อาจมีหรือไม่มีลักษณะมันวาวคล้ายโลหะ (Metallic sheen)

7.2.3.4 เลือกโคโลนีที่มีลักษณะคล้าย *E. coli* ดังกล่าวมา Streak บน PCA Slant จำนวน 5 โคโลนี นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง เพื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีต่อไป

หมายเหตุ ในขั้นตอนการทำให้เชื้อบริสุทธิ์ก่อนนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีสามารถเลือก 1 โคโลนี ก็เพียงพอแล้วในการพิจารณาผล positive ในหลอด EC broth ดังนั้นไม่ต้องเลือก 5 โคโลนีในการทดสอบชีวเคมีก็ได้

7.2.4 การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี

7.2.4.1 ทดสอบการสร้าง Indole

ถ่ายเชื้อจาก PCA Slant ใส่ในหลอด Tryptone broth นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทดสอบการสร้าง Indole โดยหยดสารทดสอบ Kovac ' s reagent 0.2 - 0.3 มิลลิลิตร หากเชื้อสามารถสร้าง Indole ได้ จะเกิดวงแหวนสีแดงอ่านผลเป็นบวก ส่วนผลลบจะไม่เกิดวงแหวนสีแดง

7.2.4.2 การทดสอบ Voges-Proskauer (VP)

ถ่ายเชื้อจาก PCA Slant ใส่ในหลอด MR-VP medium นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง ดูดมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเปล่าขนาด 13 X 100 มิลลิเมตร ที่ฆ่าเชื้อแล้วจากนั้นนำมาหยดสาร α -naphthol 0.6 มิลลิลิตร สารละลาย KOH เข้มข้นร้อยละ 40 ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และเติมผง creatine เล็กน้อยเขย่าให้ผสมกัน อ่านผลภายใน 2 ชั่วโมง หากเกิดสีชมพูแดงอ่านผลเป็นบวก และไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงอ่านผลเป็นลบ

7.2.4.3 การทดสอบ Methyl red (MR)

หลังจากทดสอบ VP แล้วให้บ่ม MR-VP medium ต่อไปอีกให้ครบ 48 ± 2 ชม. ที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาทดสอบ Methyl Red โดยค่อยๆ หยดสารทดสอบ Methyl red 5 หยด หากสีของอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีแดงอ่านผลเป็นบวก แต่ถ้าเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่านผลเป็นลบ

7.2.4.4 การทดสอบการใช้ Citrate

ถ่ายเชื้อจาก PCA Slant ลงใน Koser's citrate broth นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 96 ± 2 ชั่วโมง หากอาหารเลี้ยงเชื้อขุ่น อ่านผลเป็นบวกถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เปลี่ยนแปลงอ่านผลเป็นลบ *E.coli* จะให้ผลลบเสมอ

7.2.4.5 การทดสอบการสร้างแก๊สจากน้ำตาล Lactose

ถ่ายเชื้อจาก PCA Slant ลงในหลอด LST นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 48 ± 2 ชั่วโมง ถ้าเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊สอ่านผลเป็นบวกคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *E. coli*

7.2.4.6 การแปรผล

ให้แปลผลชนิดของ *E.coli* ตามคุณสมบัติทางชีวเคมี ตาราง

ชนิดของ <i>E. coli</i>	Indole	MR	VP	Citrate
<i>E. coli</i> Type I	+	+	-	-
<i>E. coli</i>	-	+	-	-

7.2.5 การอ่านผล

นับจำนวนหลอดทดลองที่พบเชื้อ *E. coli* ของแต่ละความเจือจาง นำไปอ่านค่าจากตาราง MPN โดยใช้วิธีการเช่นเดียวกับการหาปริมาณโคลิฟอร์ม

7.3 การรายงานผล

ให้รายงานจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในหน่วย เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร (MPN/100ml)

ตารางที่ 3-1 กิจกรรมและแผนการดำเนินการวิจัย

กิจกรรม	ระยะเวลา (เดือน)												ผู้ทำการศึกษาและ สถานที่ ทำการศึกษา
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1.การประชุมวางแผน งาน	←→												ศูนย์วิทยาศาสตร์
2.การสำรวจข้อมูลเบื้องต้น และค้นคว้าเอกสารที่ เกี่ยวข้อง	←→												ศูนย์วิทยาศาสตร์
3.การเก็บรวบรวมข้อมูล		←→											ศูนย์วิทยาศาสตร์
4.การวิเคราะห์ข้อมูล			←→										ศูนย์วิทยาศาสตร์
5.การสรุปผลและ รายงานผลการวิจัย									←→				ศูนย์วิทยาศาสตร์

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ผลการวิจัย

ผลการวิเคราะห์คุณลักษณะทางแบคทีเรีย ของแหล่งน้ำบริโภคและอุปโภค ภายในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ โดยทำการสำรวจคุณภาพน้ำ จำนวน 8 เดือน ในช่วงเดือน มกราคม – สิงหาคม 2563 โดยหาค่าจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี Standard plate count วิเคราะห์หาค่าโคลิฟอร์มแบคทีเรีย โดยวิธีมัลติเพิลทิวบ์เฟอร์เมนเทชันเทคนิค (multiple tube fermentation technique) หรือ MPN และวิเคราะห์หาค่าเอสเชอริเชีย โคไล (Escherichia coli) โดยวิธีมัลติเพิลทิวบ์เฟอร์เมนเทชันเทคนิค (multiple tube fermentation technique) หรือ MPN ตามวิธีมาตรฐาน Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater ของ APHA, AWWA & WEF

ตารางที่ 4-1 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์คุณลักษณะทางแบคทีเรีย หาค่าจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำอุปโภคและบริโภคของมหาวิทยาลัย ราชภัฏเพชรบูรณ์ ในช่วงเดือน มกราคม – สิงหาคม 2563

ลำดับที่	เกณฑ์กำหนดที่เหมาะสม	แบคทีเรียทั้งหมด	หมายเหตุ
1 มกราคม	ไม่เกิน 500 CFU/ml	1.3×10^3	เกินมาตรฐาน
2 กุมภาพันธ์	ไม่เกิน 500 CFU/ml	4.5×10^3	เกินมาตรฐาน
3 มีนาคม	ไม่เกิน 500 CFU/ml	72	
4 เมษายน	ไม่เกิน 500 CFU/ml	4.5×10^3	เกินมาตรฐาน
5 พฤษภาคม	ไม่เกิน 500 CFU/ml	200	
6 มิถุนายน	ไม่เกิน 500 CFU/ml	ไม่พบ	
7 กรกฎาคม	ไม่เกิน 500 CFU/ml	73	
8 สิงหาคม	ไม่เกิน 500 CFU/ml	180	

จากการตรวจหาจุลินทรีย์ทั้งหมด ของแหล่งน้ำบริโภคและอุปโภค ภายในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง $0 - 4.5 \times 10^3$ CFU/ml โดยช่วงเดือนกุมภาพันธ์และเดือนเมษายน มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด สูงที่สุดคือ 4.5×10^3 CFU/ml ค่าเกินมาตรฐาน เดือนมกราคม มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เท่ากับ 1.3×10^3 CFU/ml ค่าเกินมาตรฐาน เดือนพฤษภาคม มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เท่ากับ 200 CFU/ml เดือนกรกฎาคม มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เท่ากับ 73

CFU/ml เดือนมีนาคม มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เท่ากับ 72 CFU/ml และเดือนมิถุนายน ไม่พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

ตารางที่ 4-2 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์หาค่าโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ในน้ำอุปโภคและบริโภคของมหาวิทยาลัย ราชภัฏเพชรบูรณ์ ในช่วงเดือน มกราคม – สิงหาคม 2563

ลำดับที่	เกณฑ์กำหนดที่เหมาะสม	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย	หมายเหตุ
1 มกราคม	น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml	490	เกินมาตรฐาน
2 กุมภาพันธ์	น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml	78	เกินมาตรฐาน
3 มีนาคม	น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml	ไม่พบ	
4 เมษายน	น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml	7.8	เกินมาตรฐาน
5 พฤษภาคม	น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml	23	เกินมาตรฐาน
6 มิถุนายน	น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml	ไม่พบ	
7 กรกฎาคม	น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml	2	
8 สิงหาคม	น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml	23	เกินมาตรฐาน

จากการตรวจหาปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ของแหล่งน้ำบริโภคและอุปโภค ภายในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 0-240 MPN/100 มิลลิลิตร โดยช่วงเดือน มกราคม มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียสูงที่สุดคือ 240 MPN/100 มิลลิลิตร ค่าเกินมาตรฐาน เดือนกุมภาพันธ์ มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียเท่ากับ 78 MPN/100 มิลลิลิตร ค่าเกินมาตรฐาน เดือนพฤษภาคมและสิงหาคม มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียเท่ากับ 23 MPN/100 มิลลิลิตร ค่าเกินมาตรฐาน เดือนเมษายน มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียเท่ากับ 7.8 MPN/100 มิลลิลิตร ค่าเกินมาตรฐาน เดือนกรกฎาคม มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียเท่ากับ 2 MPN/100 มิลลิลิตร และเดือน มีนาคมและมิถุนายน ไม่พบปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย

ตารางที่ 4-3 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์หาค่า *E.coli* ในน้ำอุปโภค และบริโภคของมหาวิทยาลัย ราชภัฏเพชรบูรณ์ ในช่วงเดือน มกราคม – สิงหาคม 2563

ลำดับที่	เกณฑ์กำหนดที่เหมาะสม	<i>E.coli</i>	หมายเหตุ
1 มกราคม	น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml	700	เกินมาตรฐาน
2 กุมภาพันธ์	น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml	140	เกินมาตรฐาน
3 มีนาคม	น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml	ไม่พบ	
4 เมษายน	น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml	7.8	เกินมาตรฐาน
5 พฤษภาคม	น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml	23	เกินมาตรฐาน
6 มิถุนายน	น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml	ไม่พบ	
7 กรกฎาคม	น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml	2	
8 สิงหาคม	น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml	23	เกินมาตรฐาน

จากการตรวจหาปริมาณ *E.coli* ของแหล่งน้ำบริโภคและอุปโภค ภายในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 0-700 MPN/100 มิลลิลิตร โดยช่วงเดือนมกราคม มีปริมาณ *E.coli* สูงที่สุดคือ 700 MPN/100 มิลลิลิตร ค่าเกินมาตรฐาน เดือนกุมภาพันธ์ มีปริมาณ *E.coli* เท่ากับ 140 MPN/100 มิลลิลิตร ค่าเกินมาตรฐาน เดือนพฤษภาคมและสิงหาคม มีปริมาณ *E.coli* เท่ากับ 23 MPN/100 มิลลิลิตร ค่าเกินมาตรฐาน เดือนเมษายน มีปริมาณ *E.coli* เท่ากับ 7.8 MPN/100 มิลลิลิตร ค่าเกินมาตรฐาน เดือนกรกฎาคม มีปริมาณ *E.coli* เท่ากับ 2 MPN/100 มิลลิลิตร และเดือนมีนาคมและมิถุนายน ไม่พบปริมาณ *E.coli*

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ผลการวิเคราะห์คุณลักษณะทางแบคทีเรีย ของแหล่งน้ำบริโภคและอุปโภค ภายในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ โดยทำการสำรวจคุณภาพน้ำ จำนวน 8 เดือน ในช่วงเดือน มกราคม – สิงหาคม 2563 โดยวิเคราะห์หาค่าจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี Standard plate count พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง $0 - 4.5 \times 10^3$ CFU/ml โดยช่วงเดือนกุมภาพันธ์และเดือนเมษายน มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด สูงที่สุดคือ 4.5×10^3 CFU/ml ค่าเกินมาตรฐาน และเดือนมิถุนายน ไม่พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด การวิเคราะห์หาค่าโคลิฟอร์มแบคทีเรีย โดยวิธีมัลติเพลทวอร์เมนเทชันเทคนิค พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง $0 - 240$ MPN/100 มิลลิลิตร โดยช่วงเดือนมกราคม มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียสูงที่สุดคือ 240 MPN/100 มิลลิลิตร ค่าเกินมาตรฐาน และเดือนมีนาคมและมิถุนายน ไม่พบปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และวิเคราะห์หาค่าเอสเชอริเชีย โคไล พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง $0 - 700$ MPN/100 มิลลิลิตร โดยช่วงเดือนมกราคม มีปริมาณ *E.coli* สูงที่สุดคือ 700 MPN/100 มิลลิลิตร ค่าเกินมาตรฐาน และเดือนมีนาคมและมิถุนายน ไม่พบปริมาณ *E.coli*

5.2 อภิปรายผล

จากการตรวจวิเคราะห์หาค่าจุลินทรีย์ทั้งหมด ของแหล่งน้ำบริโภคและอุปโภค ภายในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ โดยทำการสำรวจคุณภาพน้ำ จำนวน 8 เดือน จากการสำรวจพบว่า ช่วงเดือน มกราคม – สิงหาคม 2563 พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง $0 - 4.5 \times 10^3$ CFU/ml ซึ่งพบว่าช่วงเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ เมษายน มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด มีค่าเกินมาตรฐาน โดยจุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องไม่เกิน 500 โคโลนีต่อลูกบาศก์เซนติเมตร สามารถบ่งบอกถึงความเป็นไปได้ที่น้ำอาจจะได้รับการปนเปื้อนจากเชื้อโรค อาจเนื่องจากระบบการและขั้นตอนการผลิต ไม่สะอาด และไม่ถูกต้อง

จากการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และการตรวจหาปริมาณ *E.coli* พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 0-700 MPN/100 มิลลิลิตร โดยช่วงเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ เมษายน พฤษภาคม และสิงหาคม มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย มีค่าเกินมาตรฐาน โดยโคลิฟอร์มแบคทีเรียต้องน้อยกว่า 2.2 ต่อตัวอย่างน้ำ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร เป็นดัชนีแสดงว่าอาจจะมีการปนเปื้อนของอุจจาระ ซึ่งเป็นที่มาของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรค แต่อย่างไรก็ตามในเรื่องของน้ำดื่ม น้ำที่ใช้เพื่อการบริโภค หรือน้ำที่จะนำไปใช้ในกระบวนการใดก็ตามที่ต้องการให้มีความสะอาดมาก ก็ไม่ควรให้มีการปนเปื้อนจากดิน

5.3 ข้อเสนอแนะ

การให้น้ำให้ใสจากแหล่งน้ำผิวดินตามธรรมชาติ โดยปกติจะใช้กระบวนการทำระบบเติมสารเคมีเพื่อเร่งตะกอนให้ตกตะกอนลงในถังตกตะกอน ก่อนที่น้ำใสจะไหลลงรางรับน้ำด้านบนของถังตกตะกอนและเข้าสู่ถังเก็บน้ำใสต่อไป หลังจากนั้นจะเข้าสู่กระบวนการกรองน้ำเพื่อให้ได้คุณภาพน้ำที่ต้องการ

กระบวนการหรือขั้นตอนการผลิตน้ำประปาผิวดิน เริ่มจากการสูบน้ำดิบ แล้วเข้าสู่กระบวนการเติมสารเคมีเร่งตกตะกอน อาทิ สารส้ม แคล หรือโพลิเมอร์ โซดาไฟหรือคลอรีน ก่อนเข้าสู่ถังตกตะกอน อนุภาคของสารแขวนลอยจะรวมกันสู่กันถึงตะกอน น้ำใสจะถูกดันขึ้นด้านบนถึงตะกอน ต่อไป และจะเข้าสู่ถังพักน้ำใส หลังจากนั้นจะผ่านกระบวนการกรองน้ำ และอาจจะเติมคลอรีนฆ่าเชื้อในน้ำ เพื่อนำน้ำประปาไปใช้ต่อไป

บรรณานุกรม

- กรณีการ เครื่องชนะ. การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของน้ำแข็งจากร้านจำหน่ายเครื่องดื่มรอบ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรี ภาควิชา ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร. 2558.
- นิคมล ธรรมรักษ์. คู่มือการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา อาหารและน้ำ. สถาบันบริการตรวจสอบคุณภาพและ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 2555.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจและปรีชา สุวรรณพินิจ. จุลชีววิทยาทั่วไป (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. (2544).
- วันนิศา รักษามาตย์. การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำที่ใช้ในการอุปโภคและบริโภค ของวิทยาลัยเทคโนโลยีทางการแพทย์และสาธารณสุข กาญจนภิเษก อำเภไทรน้อย จังหวัดนนทบุรี. วิทยาลัยเทคโนโลยีทางการแพทย์และสาธารณสุข กาญจนภิเษก สถาบันพระบรมราชชนก กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2558
- ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เรื่อง กำหนดหลักเกณฑ์และมาตรการ ในทางวิชาการสำหรับการป้องกัน ด้านสาธารณสุขและการป้องกันในเรื่องสิ่งแวดล้อม เป็นพิษ พ.ศ. 2551ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 332 เรื่องกำหนดมาตรฐาน ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค พ.ศ.2521
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 เรื่องน้ำบริโภคในภาชนะที่ปิดสนิท พ.ศ. 2524
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA, AWWA & WEF, 23rd Edition, 2017, part 9221 B
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA, AWWA & WEF, 23rd Edition, 2017, part 9221 G

ภาคผนวก

ตาราง ดัชนี MPN ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 สำหรับผลการทดสอบที่เป็นบวก เมื่อทำการทดสอบแบบ 5 หลอด ต่อ 1 ระดับการเจือจาง (ปริมาตรหลอดละ 10, 1 และ 0.1 มิลลิลิตร)

TABLE 9221:IV. MPN INDEX AND 95% CONFIDENCE LIMITS FOR VARIOUS COMBINATIONS OF POSITIVE RESULTS WHEN FIVE TUBES ARE USED PER DILUTION (10 mL, 1.0 mL, 0.1 mL)*

Combination of Positives	MPN Index/100 mL	Confidence Limits		Combination of Positives	MPN Index/100 mL	Confidence Limits	
		Low	High			Low	High
0-0-0	<1.8	—	6.8	4-0-3	25	9.8	70
0-0-1	1.8	0.090	6.8	4-1-0	17	6.0	40
0-1-0	1.8	0.090	6.9	4-1-1	21	6.8	42
0-1-1	3.6	0.70	10	4-1-2	26	9.8	70
0-2-0	3.7	0.70	10	4-1-3	31	10	70
0-2-1	5.5	1.8	15	4-2-0	22	6.8	50
0-3-0	5.6	1.8	15	4-2-1	26	9.8	70
1-0-0	2.0	0.10	10	4-2-2	32	10	70
1-0-1	4.0	0.70	10	4-2-3	38	14	100
1-0-2	6.0	1.8	15	4-3-0	27	9.9	70
1-1-0	4.0	0.71	12	4-3-1	33	10	70
1-1-1	6.1	1.8	15	4-3-2	39	14	100
1-1-2	8.1	3.4	22	4-4-0	34	14	100
1-2-0	6.1	1.8	15	4-4-1	40	14	100
1-2-1	8.2	3.4	22	4-4-2	47	15	120
1-3-0	8.3	3.4	22	4-5-0	41	14	100
1-3-1	10	3.5	22	4-5-1	48	15	120
1-4-0	11	3.5	22	5-0-0	23	6.8	70
2-0-0	4.5	0.79	15	5-0-1	31	10	70
2-0-1	6.8	1.8	15	5-0-2	43	14	100
2-0-2	9.1	3.4	22	5-0-3	58	22	150
2-1-0	6.8	1.8	17	5-1-0	33	10	100
2-1-1	9.2	3.4	22	5-1-1	46	14	120
2-1-2	12	4.1	26	5-1-2	63	22	150
2-2-0	9.3	3.4	22	5-1-3	84	34	220
2-2-1	12	4.1	26	5-2-0	49	15	150
2-2-2	14	5.9	36	5-2-1	70	22	170
2-3-0	12	4.1	26	5-2-2	94	34	230
2-3-1	14	5.9	36	5-2-3	120	36	250
2-4-0	15	5.9	36	5-2-4	150	58	400
3-0-0	7.8	2.1	22	5-3-0	79	22	220
3-0-1	11	3.5	23	5-3-1	110	34	250
3-0-2	13	5.6	35	5-3-2	140	52	400
3-1-0	11	3.5	26	5-3-3	170	70	400
3-1-1	14	5.6	36	5-3-4	210	70	400
3-1-2	17	6.0	36	5-4-0	130	36	400
3-2-0	14	5.7	36	5-4-1	170	58	400
3-2-1	17	6.8	40	5-4-2	220	70	440
3-2-2	20	6.8	40	5-4-3	280	100	710
3-3-0	17	6.8	40	5-4-4	350	100	710
3-3-1	21	6.8	40	5-4-5	430	150	1100
3-3-2	24	9.8	70	5-5-0	240	70	710
3-4-0	21	6.8	40	5-5-1	350	100	1100
3-4-1	24	9.8	70	5-5-2	540	150	1700
3-5-0	25	9.8	70	5-5-3	920	220	2600
4-0-0	13	4.1	35	5-5-4	1600	400	4600
4-0-1	17	5.9	36	5-5-5	>1600	700	—
4-0-2	21	6.8	40				

* Results to two significant figures.

More than three dilutions may remain after removal of the lowest dilution with all positive tubes and high dilutions with all negative tubes. In this case, if the highest dilution with all positive tubes is within two dilutions of the highest dilution with any positive tubes, then use the highest dilution with any positive tubes and the two immediately lower dilutions. In Example C, the highest dilution

with all positive tubes is 0.1 mL, which is within two dilutions of 0.001 mL, which has one positive tube. In Example D, the highest dilution with all positive tubes is 0.01 mL, which is within two decimal dilutions of 0.001 mL, to yield a combination of 4-5-1.

If, after removal of the lowest dilution with all positive tubes, no dilution with all positive reactions remains, then select the lowest

มาตรฐานน้ำเพื่อการบริโภค

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค				
คุณลักษณะ	ดัชนีคุณภาพน้ำ	หน่วย	มาตรฐาน	
			เกณฑ์กำหนดสูงสุด (Maximum Acceptable Concentration)	เกณฑ์อนุโลมสูงสุด ^a (Maximum Allowable Concentration)
ทางกายภาพ	1.สี (Colour)	แพลตินัม-โคบอลต์ (Platinum-Cobalt)	5	15
	2.รส (Taste)	-	ไม่เป็นที่รังเกียจ	ไม่เป็นที่รังเกียจ
	3.กลิ่น (Odour)	-	ไม่เป็นที่รังเกียจ	ไม่เป็นที่รังเกียจ
	4.ความขุ่น (Turbidity)	ซิลิกา สเกล ยูนิต (Silica scale unit)	5	20
	5.ความเป็นกรด-ด่าง(pH)	-	6.5-8.5	9.2
ทางเคมี	6.ปริมาณสารทั้งหมด (Total Solids)	มก./ล.	500	1,500
	7.เหล็ก (Fe)	มก./ล.	0.5	1.0
	8.แมงกานีส (Mn)	มก./ล.	0.3	0.5
	9.เหล็กและแมงกานีส (Fe & Mn)	มก./ล.	0.5	1.0
	10.ทองแดง (Cu)	มก./ล.	1.0	1.5
	11.สังกะสี (Zn)	มก./ล.	5.0	15.0
	12.แคลเซียม (Ca)	มก./ล.	75 ^b	200
	13.แมกนีเซียม (Mg)	มก./ล.	50	150
	14.ซัลเฟต (SO ₄)	มก./ล.	200	250 ^c
	15.คลอไรด์ (Cl)	มก./ล.	250	600
	16.ฟลูออไรด์ (F)	มก./ล.	0.7	1.0
	17.ไนเตรต (NO ₃)	มก./ล.	45	45
	18.อัลคิลเบนซีสัลโฟเนต (Alkylbenzyl Sulfonate, ABS)	มก./ล.	0.5	1.0
	19.ฟีนอลิกซับสแตนซ์(Phenolic substances as phenol)	มก./ล.	0.001	0.002
สารเป็นพิษ	20.ปรอท (Hg)	มก./ล.	0.001	-
	21.ตะกั่ว (Pb)	มก./ล.	0.05	-
	22.อาร์เซนิก (As)	มก./ล.	0.05	-

	23.ซีลีเนียม (Se)	มก./ล.	0.01	-
	24.โครเมียม (Cr hexavalent)	มก./ล.	0.05	-
	25.ไซยาไนด์ (CN)	มก./ล.	0.2	-
	26.แคดเมียม (Cd)	มก./ล.	0.01	-
	27.แบเรียม (Ba)	มก./ล.	1.0	-
ทางจุลชีววิทยา	28.แอสตันดาร์ดเพลตเคานต์ (Standard Plate Count)	โคโลนีต่อลูกบาศก์ เซนติเมตร (Colonies/cm ³)	500	-
	29.เอ็มพีเอ็น (MPN)	โคลิฟอร์มอร์แกนีสซึม ต่อ 100 ลูกบาศก์ เซนติเมตร (Coliform Organism/100 cm ³)	น้อยกว่า 2.2	-
	30.อีโคไล (E.coli)		ไม่มี	-

a

หมายเหตุ : เกณฑ์ที่อนุโลมให้สูงสุดเป็นเกณฑ์ที่อนุญาตให้สำหรับน้ำประปาหรือน้ำบาดาลที่มีความจำเป็นต้องใช้บริโภคเป็นการชั่วคราวและน้ำที่มีคุณลักษณะอยู่ในระหว่างเกณฑ์กำหนดสูงสุด กับเกณฑ์อนุโลมสูงสุดนั้นไม่ใช่ทำให้เครื่องหมายมาตรฐานได้

b

หากคลอรีนมีปริมาณสูงกว่าที่กำหนด และมักเนเซียม มีปริมาณต่ำกว่าที่กำหนดในมาตรฐานให้พิจารณาคลอรีนและมักเนเซียมในเทอมของความกระด้างทั้งหมด (Total Hardness) ถ้ารวมความกระด้างทั้งหมดเมื่อคำนวณเป็นคลอรีนคาร์บอเนต มีปริมาณต่ำกว่า 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ถือว่าน้ำนั้นเป็นไปตามมาตรฐานการแบ่งระดับความกระด้างของน้ำดังต่อไปนี้

0 ถึง 75 มิลลิกรัมต่อลิตร	เรียก น้ำอ่อน
75 ถึง 150 มิลลิกรัมต่อลิตร	เรียก น้ำกระด้างปานกลาง
150 ถึง 300 มิลลิกรัมต่อลิตร	เรียก น้ำกระด้าง
300 มิลลิกรัมต่อลิตรขึ้นไป	เรียก น้ำกระด้างมาก

c

หากซัลเฟต มีปริมาณถึง 250 มิลลิกรัมต่อลิตร มักเนเซียม ต้องมีปริมาณไม่เกิน 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (มิลลิกรัมต่อลิตร = มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร)

แหล่งที่มา : ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 332 (พ.ศ. 2521) ออกตามความในพระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม พ.ศ. 2511 เรื่องกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 95 ตอนที่ 68 ลงวันที่ 4 กรกฎาคม 2521

มาตรฐานคุณภาพน้ำบาดาลที่ใช้บริโภค				
คุณลักษณะ	ดัชนีคุณภาพน้ำ	หน่วย	ค่ามาตรฐาน	
			เกณฑ์กำหนดที่เหมาะสม	เกณฑ์อนุโลมสูงสุด
ทางกายภาพ	1.สี(Colour)	แพลทินัม-โคบอลต์	5	15
	2.ความขุ่น(Turbidity)	หน่วยความขุ่น	5	20
	3.ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	-	7.0-8.5	6.5-9.2
ทางเคมี	4.เหล็ก (Fe)	มก./ล.	ไม่เกินกว่า 0.5	1.0
	5.แมงกานีส (Mn)	มก./ล.	ไม่เกินกว่า 0.3	0.5
	6.ทองแดง (Cu)	มก./ล.	ไม่เกินกว่า 1.0	1.5
	7.สังกะสี (Zn)	มก./ล.	ไม่เกินกว่า 5.0	15.0
	8.ซัลเฟต (SO ₄)	มก./ล.	ไม่เกินกว่า 200	250
	9.คลอไรด์ (Cl)	มก./ล.	ไม่เกินกว่า 250	600
	10.ฟลูออไรด์ (F)	มก./ล.	ไม่เกินกว่า 0.7	1.0
	11.ไนเตรด (NO ₃)	มก./ล.	ไม่เกินกว่า 45	45
	12.ความกระด้างทั้งหมด (Total Hardness as CaCO ₃)	มก./ล.	ไม่เกินกว่า 300	500
	13.ความกระด้างถาวร (Non carbonate hardness as CaCO ₃)	มก./ล.	ไม่เกินกว่า 200	250
	14.ปริมาณสารทั้งหมดที่ละลายได้ (Total dissolved solids)	มก./ล.	ไม่เกินกว่า 600	1,200
สารพิษ	15.สารหนู (As)	มก./ล.	ต้องไม่มีเลย	0.05
	16.ไซยาไนด์ (CN)	มก./ล.	ต้องไม่มีเลย	0.1
	17.ตะกั่ว (Pb)	มก./ล.	ต้องไม่มีเลย	0.05

	18.ปรอท (Hg)	มก./ล.	ต้องไม่มีเลย	0.001
	19.แคดเมียม (Cd)	มก./ล.	ต้องไม่มีเลย	0.01
	20.ซีลีเนียม (Se)	มก./ล.	ต้องไม่มีเลย	0.01
ทางแบคทีเรีย	21.แบคทีเรียที่ตรวจพบโดยวิธี Standard plate count	โคโลนีต่อ ลบ.ซม.	ไม่เกินกว่า 500	-
	22.แบคทีเรียที่ตรวจพบโดยวิธี Most Probable Number (MPN)	เอ็ม.พี.เอ็น ต่อ 100 ลบ.ซม.	น้อยกว่า 2.2	-
	23.อี.โคไล (E.coli)	-	ต้องไม่มีเลย	-

แหล่งที่มา : ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เรื่อง กำหนดหลักเกณฑ์และมาตรการในทางวิชาการสำหรับการป้องกัน ด้านสาธารณสุขและการป้องกันในเรื่องสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ พ.ศ. 2551 ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 125 ตอนพิเศษ 85 ง ลงวันที่ 21 พฤษภาคม 2552

ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล นางสาวสมเพียร พักทอง
Miss Sompian Fagtong
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3670100751040
3. ตำแหน่งปัจจุบัน พนักงานมหาวิทยาลัย ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏ
เพชรบูรณ์ 83 หมู่ 11 ตำบลสะเดียง อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์
ไปรษณีย์ 67000 หมายเลขโทรศัพท์ 056-717122 ต่อ 2709 โทรสาร
056 – 717123 อีเล็กทรอนิกส์ (e-mail) mai_bio45@hotmail.com
5. ประวัติการศึกษา
ประถมศึกษา โรงเรียนบ้านนาป่า
มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนวิทยานุกูลนารี
มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนวิทยานุกูลนารี (วิทย์ – คณิต)
ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต โปรแกรมวิชาชีววิทยาประยุกต์
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
มีความสามารถพิเศษด้านการใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์ขั้นสูงและการใช้
คอมพิวเตอร์ โปรแกรมมาตรฐาน และโปรแกรมด้านสถิติที่ใช้ในการ
วิจัย เช่น SPSS
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุ
สถานภาพในการ ทำการวิจัยว่าเป็นหัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย
 - 7.1 โครงการวิจัยเรื่องการขยายพันธุ์ดีปลากั้งโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยง
เนื้อเยื่อ ปี 2549 (ปริญญานิพนธ์)
 - 7.2 ผู้ช่วยวิจัยโครงการวิจัย เรื่องความหลากหลายชนิดของเห็ดไมคอร์ไรซา
และการเพาะเชื้อในห้องปฏิบัติการ ปีงบประมาณ 2557 (หัวหน้าโครงการวิจัย ผศ.ดร.พวงผกา
แก้วกรม)

7.3 ผู้ร่วมการบูรณาการความรู้และภูมิปัญญาท้องถิ่นของสมุนไพรประจำถิ่น(ทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2559 หัวหน้าโครงการวิจัย อาจารย์สุรางค์รัตน์ พันแสง)

7.4 ผู้ร่วมโครงการวิจัย เรื่อง การหาทางอนุรักษ์ชนิดพันธุ์ปูน้ำจืด Potamidae ชนิดหายาก และการเพาะเลี้ยงนอกถิ่นกำเนิด (ทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2559 หัวหน้าโครงการวิจัย ผศ.ดร.พวงผกา แก้วกรม)

7.5 ผู้ร่วมโครงการวิจัยเรื่องการทดสอบโคโคซานจากปูน้ำจืดเพื่อส่งเสริมการเจริญและควบคุมเชื้อโรคโคนำของข้าวและพืชผัก (ทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2560 โครงการวิจัยเพื่อพัฒนาชุมชนและท้องถิ่น หัวหน้าโครงการวิจัย ผศ.ดร.พวงผกา แก้วกรม)

7.6 ผู้ร่วมโครงการวิจัย เรื่อง การประเมินคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันที่ได้จากสมุนไพรบางชนิดในหนู BALB/cMLac (ทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2560 โครงการวิจัยเพื่อสร้างสะสมองค์ความรู้ที่มีศักยภาพ หัวหน้าโครงการวิจัย อาจารย์สุรางค์รัตน์ พันแสง)

7.7 ผู้ร่วมโครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของค้อ (Livistona sp.) เพื่อใช้ยับยั้ง Helicobacter pylori และการขยายพันธุ์โดยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2561 หัวหน้าโครงการวิจัย อาจารย์สุรางค์รัตน์ พันแสง)

ประวัติผู้ร่วมโครงการ

1. ชื่อ - นามสกุล นางสาวแสงจันทร์ สอนสว่าง

Miss Sangjan Sonswang

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3670100389472

3. ตำแหน่งปัจจุบัน พนักงานมหาวิทยาลัย ตำแหน่ง นักวิชาการศึกษา

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ติดต่อได้สะดวก

หลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ 83 หมู่ 11 ตำบลสะเดียง อำเภอ

เมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ไปรษณีย์ 67000

หมายเลขโทรศัพท์ 056-717122 ต่อ 2709 โทรสาร 056 – 717123

อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail) sangjanbio@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา

ประถมศึกษา โรงเรียนบ้านทุ่งหินปูน

มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนเพชรบูรณ์วิทยา (วิทยุ – คณิต)

มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเพชรบูรณ์วิทยา (วิทยุ – คณิต)

ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต โปรแกรมวิชาชีววิทยาประยุกต์

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

มีความสามารถพิเศษด้านการใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์และการใช้

คอมพิวเตอร์ โปรแกรมมาตรฐาน และโปรแกรมด้านสถิติที่ใช้ในการ

วิจัย เช่น SPSS

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำ การวิจัยว่าเป็นหัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย

7.1 โครงการวิจัยเรื่อง เปรียบการเจริญเติบโตของรึ้นน้ำจืดในอาหาร

4 สูตร โดยการเพาะเลี้ยงในภาชนะแบบประยุกต์ ปี 2549 (ปริญญานิพนธ์)

7.2 ผู้ช่วยวิจัยโครงการวิจัย เรื่องความหลากหลายชนิดของเห็ดไมคอร์ไรซา

และการเพาะเชื้อในห้องปฏิบัติการ ปีงบประมาณ 2557 (หัวหน้าโครงการวิจัย ผศ.ดร.พวงผกา แก้วกรม)

7.3 ผู้ร่วมการบูรณาการความรู้และภูมิปัญญาท้องถิ่นของสมุนไพร

ประจำถิ่น (ทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2559 หัวหน้าโครงการวิจัย อาจารย์สุรางค์รัตน์ พันแสง)

7.4 ผู้ร่วมโครงการวิจัย เรื่อง การหาทางอนุรักษ์ชนิดพันธุ์ปูน้ำจืด

Potamidae ชนิดหายาก และการเพาะเลี้ยงนอกถิ่นกำเนิด (ทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2559 หัวหน้าโครงการวิจัย ผศ.ดร.พวงผกา แก้วกรม)

7.5 ผู้ร่วมโครงการวิจัยเรื่องการทดสอบไคโตซานจากปูน้ำจืดเพื่อส่งเสริม

การเจริญและควบคุมเชื้อโรคโคนเน่าของข้าวและพืชผัก (ทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2560 โครงการวิจัยเพื่อพัฒนาชุมชนและท้องถิ่น หัวหน้าโครงการวิจัย ผศ.ดร.พวงผกา แก้วกรม)

7.6 ผู้ร่วมโครงการวิจัย เรื่อง การประเมินคุณสมบัติด้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันที่ได้จากสมุนไพรบางชนิดในหนู BALB/cMLac (ทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2560 โครงการวิจัยเพื่อสร้างสะสมองค์ความรู้ที่มีศักยภาพ หัวหน้าโครงการวิจัย อาจารย์สุรางค์รัตน์ พันแสง)

7.7 ผู้ร่วมโครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของค้อ (Livistona sp.) เพื่อใช้ยับยั้ง *Helicobacter pylori* และการขยายพันธุ์โดยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2561 หัวหน้าโครงการวิจัย อาจารย์สุรางค์รัตน์ พันแสง)