วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มทร.สุวรรณภูมิ Print ISSN: 2586-8101 Online ISSN: 2697-6447
ปีที่ 7 ฉบับที่ 2 (กรกฎาคม 2566-ธันวาคม 2566)

การเปรียบเทียบจำนวนแบคทีเรียรวมที่พบในตัวอย่างน้ำโดยใช้ขวดเก็บตัวอย่างต่างกัน

COMPARATIVE THE TOTAL BACTERIA COUNTS FOUND IN MULTIPLE SAMPLES TAKEN FROM DIFFERENCE SAMPLING BOTTLES

นิตยา ชะนะญาติ[1*] ธีรยา รินอุตย์[1] ยุทธนา ชะนะญาติ[1]
Nittaya Chanayat[1*] Teeraya Rin-Ut[1] Yuttana Chanayat[1]

[1]ศูนย์ชันสูตรโรคสัตว์และถ่ายทอดเทคโนโลยี คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
[1]Center of Veterinary Diagnosis and Technology Transfer, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University
** E-mail ผู้รับผิดชอบบทความ (Corresponding Author): nittaya.cha@cmu.ac.th*

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการตรวจจำนวนนับแบคทีเรียรวมในภาชนะที่เก็บ 3 ชนิดคือขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อและขวดบรรจุน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อ ตัวอย่างน้ำ 30 ตัวอย่าง เก็บโดยวิธีปลอดเชื้อ ได้ผลค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรียรวมเท่ากับ 369.77 cfu/ml, 370.07 cfu/ml และ 370.67 cfu/ml มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 471.73, 471.77 และ 471.76 ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญระหว่างความแปรปรวนของกลุ่มตัวอย่างที่เก็บในขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อและในน้ำที่เก็บในขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อ มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญระหว่างความแปรปรวนของกลุ่มตัวอย่างที่เก็บในขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อและในน้ำที่เก็บในขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อและมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญระหว่างความแปรปรวนของกลุ่มตัวอย่างที่เก็บในขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อและในน้ำที่เก็บในขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อ (p- value=0.9996, p-value=0.9998 และ p-value=0.9999) ตามลำดับ ทั้งนี้ค่ามัธยฐานของจำนวนแบคทีเรียรวมในน้ำที่เก็บในขวดเก็บน้ำทั้ง 3 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกัน (p-value=0.9937)จากผลการศึกษากล่าวได้ว่าสามารถใช้ขวด 3 ชนิดนี้เก็บตัวอย่างน้ำส่งตรวจทดแทนกันได้ สามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการเก็บตัวอย่างน้ำที่เหมาะสม ได้ผลตรวจที่ถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือและลดข้อจำกัดในการจัดหาขวดเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อพัฒนางานตรวจคุณภาพน้ำของหน่วยชันสูตรโรคสัตว์และถ่ายทอดเทคโนโลยี

คำสำคัญ: จำนวนแบคทีเรียรวม, เทคนิคการปลอดเชื้อ, วิธีเทเพลท

วันที่รับบทความ 19 กันยายน 2566
วันแก้ไขบทความ 23 กันยายน 2566
วันตอบรับบทความ 1 ธันวาคม 2566

ABSTRACT

This paper attempted to study the result of total bacteria count in different container, steriled wide mouth glass bottle, steriled narrow mouth glass bottle and plastic drinking water bottle sold in convenient stores. 30 water samples were collected by aseptic technique. The mean of the total number of bacteria were 369.77 cfu/ml, 370.07 cfu/ml and 370.67 cfu/ml the standard deviation (SD) were 471.73, 471.77 and 471.76 , respectively. While the finding of the variance of the total number of bacteria in steriled wide mouth glass bottle and steriled narrow mouth glass bottle, the variance of the total number of bacteria in steriled wide mouth glass bottle and plastic drinking water bottle and the variance of the total number of bacteria in steriled narrow mouth glass bottle and plastic drinking water bottle were not different (p- value=0.9996, p-value=0.9998 and p-value=0.9999), respectively. The median of the total number of bacteria in 3 type of bottle was not different (p-value=0.9937). In this study, it can be concluded that 3 type of bottle can be used containers. The findings of this study can be useful for sampling collection of microbiological water quality test at center of veterinary diagnosis and technology transfer, Chiang Mai University due to limited availability, but still provide accurate test result.

Keywords: Total bacteria count, Aseptic technique, Pour plate method

1. บทนำ

การตรวจคุณภาพน้ำทางแบคทีเรียเป็นดัชนีที่บ่งชี้ถึงความสกปรกของน้ำ เนื่องจากมีแบคทีเรียหลายชนิดที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารเช่น ไทฟอยด์ บิดและอหิวาห์ ซึ่งตรวจพบได้ในอุจจาระเมื่อถูกขับถ่ายและปนเปื้อนสู่แหล่งน้ำจะแพร่กระจายไปโดยมีน้ำเป็นสื่อและมีผลกระทบโดยตรงต่อสุขภาพของคนและสัตว์ที่ใช้น้ำจากแหล่งน้ำนั้น ดังนั้นการตรวจสอบคุณภาพของน้ำทางแบคทีเรียจึงมีความสำคัญ การจัดเก็บตัวอย่างจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งทั้งกระบวนการเก็บและภาชนะที่เก็บ เพื่อไม่ให้ตัวอย่างเกิดการปนเปื้อนกับแบคทีเรียที่อยู่ตามมือของผู้เก็บหรือสภาวะแวดล้อม ที่สำคัญภาชนะที่จัดเก็บต้องไม่มีสิ่งปนเปื้อนใดๆ เพราะจะมีผลกระทบต่อการตรวจวิเคราะห์และการแปลผลซึ่งอาจผิดพลาดได้ กระบวนการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียรวมทุกขั้นตอนตั้งแต่การเตรียมอุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง การเก็บตัวอย่าง อาหารเลี้ยงเชื้อ น้ำยาเจือจาง เครื่องแก้วและเครื่องใช้ทุกชนิดที่สัมผัสกับตัวอย่างต้องผ่านการอบหรือนึ่งฆ่าเชื้อก่อนและการตรวจตัวอย่างต้องทำแบบปลอดเชื้อ การมีข้อจำกัดเรื่องการจัดหาขวดเก็บตัวอย่างที่เหมาะสม การเตรียมขวดเก็บตัวอย่างที่เหมาะสมเนื่องจากสถานที่เก็บตัวอย่างไม่มีเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อหรือเครื่องอบฆ่าเชื้อส่งผลกระทบต่อการส่งตัวอย่างเช่น ระยะทางและเวลาที่ใช้ในการเดินทางมาขอรับขวดแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อ งบประมาณมีจำกัดทั้งค่าเดินทาง ค่าแรง ค่าการจัดซื้ออุปกรณ์ ฯลฯ ในปัจจุบันการเก็บตัวอย่างน้ำส่งตรวจมาที่หน่วยชันสูตรโรคสัตว์และถ่ายทอดเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ใช้ภาชนะบรรจุ 2 แบบคือขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อและขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อโดยจะเทน้ำดื่มทิ้งก่อนแล้วนำขวดนั้นใส่ตัวอย่างน้ำเพื่อส่งตรวจ

การใช้ขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อและขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อใส่ตัวอย่างน้ำเพื่อส่งตรวจนั้นอาจทำให้ผลการตรวจมีค่าผิดพลาดจากการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับขวดน้ำนั้นๆ ทำให้การแปลผลผิดพลาดได้ จึงควรมีการศึกษาว่าจำนวนแบคทีเรียรวมในตัวอย่างน้ำที่เก็บโดยใช้ขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อและขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อซึ่งเป็นขวดเก็บตัวอย่างน้ำที่ใช้ในหน่วยชันสูตรโรคสัตว์และถ่ายทอดเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่นั้นแตกต่างจากการใช้ขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อซึ่งเป็นขวดที่ใช้เก็บตัวอย่างน้ำตามมาตรฐานหรือไม่ ผลการศึกษาจะนำไปสู่การนำไปปฏิบัติใช้จริงในการทำงาน

วัตถุประสงค์การวิจัย

ผู้ศึกษาได้กำหนดเป้าหมายของการศึกษาในครั้งนี้โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลการนับจำนวนแบคทีเรียรวมที่พบในสิ่งส่งตรวจที่เป็นน้ำเมื่อใช้ขวดเก็บตัวอย่างต่างๆ กัน เพื่อนำไปสู่การพัฒนาการเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่เป็นน้ำโดยใช้ภาชนะบรรจุที่เหมาะสมและไม่มีผลกระทบต่อผลการตรวจของหน่วยชันสูตรโรคสัตว์และถ่ายทอดเทคโนโลยี

2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การตรวจจำนวนแบคทีเรียรวม (Total Bacteria Count) เป็นการตรวจวัดมาตรฐานน้ำไม่ว่าจะเป็นน้ำดื่มหรือน้ำใช้ โดยมาตรฐานน้ำดื่มจะต้องพบจำนวนแบคทีเรียรวม <100 cfu/ml [1] ส่วนมาตรฐานน้ำที่ใช้เลี้ยงสัตว์จะต้องพบจำนวนแบคทีเรียรวม <500 cfu/ml [2] การจัดเก็บตัวอย่างจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งทั้งกระบวนการเก็บและภาชนะที่เก็บ ขวดเก็บตัวอย่างน้ำที่เหมาะสมคือขวดแก้วปากกว้างขนาดความจุ 500 มิลลิลิตร หุ้มฝาขวดด้วยกระดาษอะลูมิเนียม [3] ภายในขวดเก็บตัวอย่างน้ำบรรจุสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$) ความเข้มข้น 10% จำนวน 0.1 มิลลิลิตรต่อตัวอย่างน้ำ 150 มิลลิลิตร ลงไปในขวดเก็บตัวอย่างก่อน เพื่อกำจัดคลอรีนอิสระ (Residual Chlorine) [4] ใช้วิธีอบฆ่าเชื้อที่ 160 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมงหรือใช้วิธีนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์เป็นเวลา 20 นาที [5-6]

การเก็บตัวอย่างต้องทำแบบปลอดเชื้อ (Aseptic technique) เพื่อไม่ให้ตัวอย่างเกิดการปนเปื้อนกับแบคทีเรียที่อยู่ตามมือของผู้เก็บหรือสภาวะแวดล้อม ที่สำคัญภาชนะที่จัดเก็บต้องไม่มีสิ่งปนเปื้อนใดๆ เพราะจะมีผลกระทบต่อการตรวจวิเคราะห์และการแปลผลซึ่งอาจผิดพลาดได้ ในการปฏิบัติทุกขั้นตอน อาหารเลี้ยงเชื้อ น้ำยาเจือจาง เครื่องแก้วและเครื่องใช้ทุกชนิดที่สัมผัสกับตัวอย่างต้องผ่านการอบหรือนึ่งฆ่าเชื้อก่อน

วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำให้ทำความสะอาดก๊อกน้ำโดยใช้แอลกอฮอล์ 70% เช็ดหรือสเปรย์ให้ทั่ว เปิดน้ำที่ค้างในท่อให้ไหลเต็มที่ทิ้ง 1 นาทีเพื่อระบายน้ำที่ค้างอยู่ในเส้นท่อทิ้งแล้วปรับให้ไหลปานกลางก่อนสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ทำความสะอาดมือด้วยแอลกอฮอล์ 70% เปิดฝาขวดเก็บตัวอย่างออก เก็บตัวอย่างน้ำโดยระวังไม่ให้มือสัมผัสฝาขวดด้านในเพื่อป้องกันการปนเปื้อน นำขวดไปรองน้ำจากก๊อกให้ได้ประมาณ 4/5 ของขวด (ประมาณ 500 มิลลิลิตร) แล้วปิดฝาขวด บันทึกรายละเอียดของตัวอย่างให้ถูกต้องและชัดเจนลงบนฉลาก ติดฉลากกับภาชนะบรรจุตัวอย่างให้เรียบร้อย เก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิต่ำกว่า 6 องศาเซลเซียส หรือเก็บในภาชนะควบคุมอุณหภูมิที่มีน้ำแข็งให้ความเย็นแล้วนำส่งห้องปฏิบัติการทันที [3]

การวิเคราะห์ทางแบคทีเรียควรทำทันทีภายหลังการเก็บตัวอย่าง เพื่อหลีกเลี่ยงการเปลี่ยนแปลงที่อาจเกิดขึ้นในระหว่างการขนส่งซึ่งควรใช้เวลาในการขนส่งไม่เกิน 6 ชั่วโมง เมื่อถึงห้องปฏิบัติการให้แช่ในตู้เย็นทันทีและทำการวิเคราะห์ภายในเวลา 2 ชั่วโมง [2]

การตรวจจำนวนแบคทีเรียรวมเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในอาหารและน้ำโดยใช้เทคนิคการนับโคโลนีด้วยวิธีเทเพลท (Pour plate method) ตามมาตรฐาน ISO 4833 ปี ค.ศ.1991 [7] เป็นการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียรวมที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) เป็นวิธีที่ใช้ในการตรวจเพื่อประเมินความปลอดภัยในอาหารหรือน้ำซึ่งอาจปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียก่อโรคหรือใช้สำหรับวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์สุดท้ายหรือพื้นผิวต่างๆ ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารนอกจากนั้นอาจใช้ในการประมาณอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร

การตรวจนับแบคทีเรียที่ยังมีชีวิตอยู่ในตัวอย่างโดยวิธีเทเพลททำได้โดยการเจือจางตัวอย่างให้อยู่ในช่วงที่สามารถนับจำนวนของแบคทีเรียได้ แบคทีเรียในตัวอย่างจะเจริญเป็นโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อเรียกว่า Colony Forming Unit (cfu) จำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่นับได้นำไปคำนวณเป็นจำนวนแบคทีเรียรวมในตัวอย่างและรายงานผลเป็น cfu ต่อหน่วยของตัวอย่าง

หลักการของวิธีนี้คือแบคทีเรียที่มีชีวิตจะเติบโตและเพิ่มปริมาณภายในหรือบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมและทำให้เห็นเป็นโคโลนีซึ่งสามารถนับจำนวนได้ วิธีการแรกทำโดยเจือจางตัวอย่างตามลำดับ 10 เท่า (10-fold dilution) จากนั้นถ่ายตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ในแต่ละความเจือจางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มจานเพาะเชื้อและนับปริมาณโคโลนีที่เกิดขึ้นแล้วคำนวณให้อยู่ในรูป cfu วิธีนี้จะเห็นว่าใช้ cfu แทนปริมาณของแบคทีเรียซึ่งโดยทั่วไปแบคทีเรียจะเจริญเป็นโคโลนีขนาดเล็กหรือเจริญกันอยู่เป็นกลุ่มที่มีขนาดแตกต่างกัน เมื่อตัวอย่างถูกนำมาเจือจางกับสารละลายที่ใช้จะทำให้โคโลนีขนาดเล็กเหล่านี้แตกออกดังนั้นโคโลนีที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะสามารถเจริญขึ้นมาจากเซลล์ของแบคทีเรียหนึ่งหรือหลายเซลล์การรายงานผลเป็น cfu จึงช่วยแก้ปัญหาดังกล่าว ในส่วนของการทำให้ตัวอย่างเจือจางก็เพื่อทำให้แบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อมีปริมาณอยู่ระหว่าง 30 - 300 โคโลนี ปริมาตรที่ใช้ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อคือ 1 มิลลิลิตร

เลือกสารละลายที่ใช้เจือจางตัวอย่างโดยใช้ Maximum Recovery Diluent (MRD) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น maintenance media มีองค์ประกอบที่ทำให้เชื้อมีคุณสมบัติดังเดิม ความเข้มข้นเท่ากับภายในเซลล์ (isotonic) รักษาเชื้อให้มีชีวิตได้นานและไม่ทำให้เชื้อเพิ่ม [8]

เลือกใช้ PCA เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเนื่องจากเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีคุณสมบัติให้เชื้อเจริญเติบโตได้ทุกชนิด (non-selective media) มีสารอาหารครบถ้วนพอเพียงกับการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย อาหารชนิดนี้จึงนิยมใช้เพื่อเก็บรักษาเชื้อและวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียรวม [9]

การอ่านผลเพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณเชื้อของแต่ละวิธีก็แตกต่างกัน โดยวิธีเทเพลทจะนับความเข้มข้นที่พบโคโลนีของแบคทีเรีย 30 - 300 โคโลนี [7] หลังจากนั้นจึงนำจำนวนโคโลนีที่นับได้มาคำนวณในสูตร ซึ่งจะได้ผลออกมาอยู่ในรูป cfu ซึ่งผลที่ได้บ่งชี้ถึงการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในน้ำและความสะอาดของน้ำ โอกาสที่จะก่อให้เกิดโรคในผู้บริโภคและสามารถที่จะหาระยะเวลาในการเก็บรักษาได้

การตรวจหาแบคทีเรียรวมจากตัวอย่างน้ำมักจะเป็นการตรวจหาแบคทีเรียรวมจากตัวอย่างน้ำที่เก็บมาในขวดที่ทำด้วยแก้วและมีลักษณะปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ซึ่งเป็นขวดที่ใช้เป็นมาตรฐานในการเก็บตัวอย่างน้ำ จากการสืบค้นข้อมูลยังไม่มีการการตรวจหาแบคทีเรียรวมจากตัวอย่างน้ำที่เก็บมาในขวดขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อหรือภาชนะบรรจุอื่นมาก่อน จึงน่าจะมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนนี้ ผลการศึกษาจะนำไปสู่การพัฒนาการเลือกใช้ภาชนะบรรจุน้ำให้เหมาะสม หาง่ายและไม่มีผลกระทบต่อการตรวจ ลดปัญหาข้อจำกัดเรื่องการจัดหา

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มทร.สุวรรณภูมิ Print ISSN: 2586-8101 Online ISSN: 2697-6447
ปีที่ 7 ฉบับที่ 2 (กรกฎาคม 2566-ธันวาคม 2566)

ภาชนะบรรจุที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เช่น ระยะทางและเวลาที่ใช้ในการเดินทางมาขอรับขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อ งบประมาณมีจำกัดทั้งค่าเดินทาง ค่าแรง ค่าจัดซื้ออุปกรณ์ ฯลฯ

3. วิธีการวิจัย

3.1 การเตรียมตัวอย่าง

ประชากรและกลุ่มตัวอย่างคือตัวอย่างน้ำที่สุ่มเก็บจากแหล่งน้ำต่างๆ จำนวน 30 ตัวอย่างจากการคาดหวังว่าค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรียรวมที่พบในตัวอย่างน้ำเมื่อใช้ขวดเก็บตัวอย่าง คือ ขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อและขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อแตกต่างกัน ค่าความแปรปรวนของแบคทีเรียรวมในน้ำที่เก็บในขวดเก็บน้ำต่างชนิดกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ค่ามัธยฐานของจำนวนแบคทีเรียรวมในน้ำที่เก็บในขวดเก็บน้ำทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\text{-value} < 0.05$)

กลุ่มควบคุมใช้วิธี Rinse test โดยใช้น้ำปราศจากเชื้อ 10 มิลลิลิตร [10] กลั้วในขวดเก็บน้ำแต่ละชนิดคือ ขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (ภาพที่1) ขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (ภาพที่2) และขวดบรรจุน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อ (ภาพที่3) นำน้ำที่ผ่านการกลั้ววิเคราะห์หาจำนวนแบคทีเรียรวมต่อไป

กลุ่มทดสอบใช้ตัวอย่างน้ำที่เก็บจากฟาร์มเลี้ยงสัตว์หลายๆแห่ง โดยเก็บทั้งน้ำที่ใช้ทั่วไปในฟาร์มและน้ำที่ให้สัตว์บริโภค เก็บโดยวิธีปลอดเชื้อ ปริมาตรไม่ต่ำกว่า 500 มิลลิลิตร ทั้งนี้น้ำจากจุดเดียวกันจะเก็บ 3 ตัวอย่างโดยใช้ขวดเก็บน้ำ 3 ชนิดเช่นเดียวกับกลุ่มควบคุมคือขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (ภาพที่1) ขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (ภาพที่2) และขวดบรรจุน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อ (ภาพที่3) การเก็บตัวอย่างน้ำใส่ในขวดน้ำจากร้านสะดวกซื้อจะใช้แอลกอฮอล์ 70% เช็ดพื้นผิวภายนอกขวดเพื่อทำความสะอาดก่อนเปิดฝา เทน้ำดื่มทิ้งแล้วนำขวดนั้นใส่ตัวอย่างน้ำไม่น้อยกว่า 500 มิลลิลิตรและนำส่งห้องปฏิบัติการภายใน 6 ชั่วโมงเพื่อวิเคราะห์หาจำนวนแบคทีเรียรวมต่อไป

ภาพที่ 1 ขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ภาพที่ 2 ขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ภาพที่ 3 ขวดบรรจุน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อ

3.2 วิธีการหาจำนวนแบคทีเรียรวม

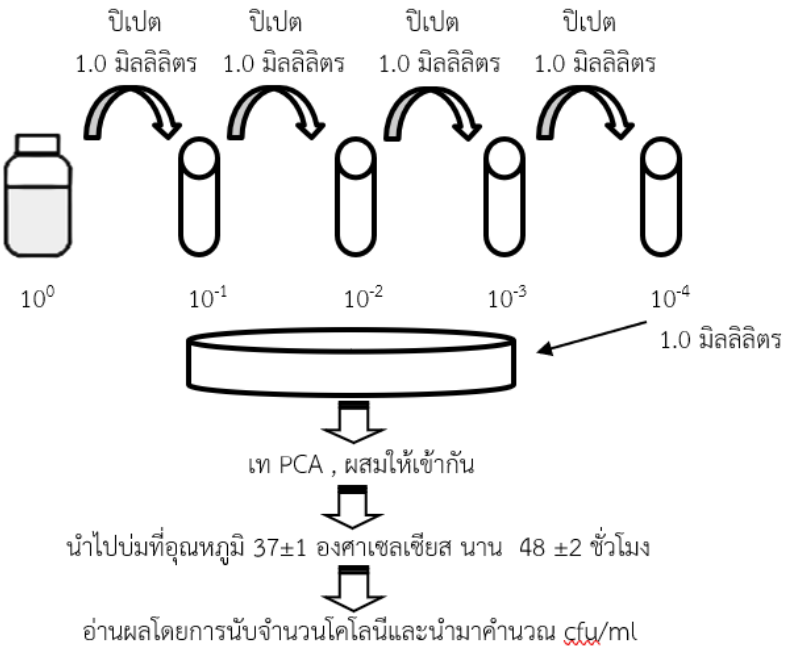
ตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียรวมโดยวิธีเทเพลท [7] ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA มีรายละเอียดถึงขั้นตอนการตรวจดังนี้ (ภาพที่4)

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มทร.สุวรรณภูมิ Print ISSN: 2586-8101 Online ISSN: 2697-6447
ปีที่ 7 ฉบับที่ 2 (กรกฎาคม 2566-ธันวาคม 2566)

ใช้วิธีปลอดเชื้อในการปฏิบัติงานทุกขั้นตอน อาหารเลี้ยงเชื้อ น้ำยาเจือจาง เครื่องแก้วและเครื่องใช้ทุกชนิดที่สัมผัสกับตัวอย่าง ต้องผ่านการอบหรือนึ่งฆ่าเชื้อก่อน

1. ตัวอย่างน้ำเริ่มต้นจะมีความเจือจาง 10^0 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างน้ำนี้จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน 9 มิลลิลิตรของ MRD ที่เตรียมไว้ในหลอดทดลอง นำปิเปตที่ใช้แล้วใส่ในภาชนะที่มีสารละลายฆ่าเชื้อ
2. เขียนตัวเลขกำกับข้างหลอดนี้เป็น 10^{-1} แล้วเขย่าหลอดด้วยเครื่องเขย่าสาร เขย่าหลอดประมาณ 15 วินาที (ตัวอย่างในขั้นตอนนี้จะมีความเจือจางเป็น 1:10 = 10^{-1})
3. ใช้ปิเปตดูดสารละลายที่มีความเข้มข้น 10^{-1}มาปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน 9 มิลลิลิตรของ MRD ซึ่งตัวอย่างในขั้นตอนนี้จะมีความเจือจางเป็น 10^{-2} ทำซ้ำเช่นนี้จนได้สารละลายที่มีความเจือจางสูงสุดตามที่ต้องการตั้งแต่ 10^0 จนถึง 10^{-4} โดยเปลี่ยนปิเปตใหม่ทุกๆ ระดับความเจือจางที่เตรียมและผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร
4. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรที่ฆ่าเชื้อแล้วดูดสารละลายจากหลอดที่มีความเข้มข้นต่ำที่สุดคือ 10^{-4} จำนวน 1 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วและเขียนวันที่ ความเข้มข้นของสารละลายและรหัสของตัวอย่างไว้ที่ก้นจานอาหารเลี้ยงเชื้อทุกใบแล้ว จำนวน 2 จานต่อ 1 ความเข้มข้น
5. ใช้ปิเปตอันเดิมดูดสารละลาย 1 มิลลิลิตรที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นอันดับถัดไปคือ 10^{-3} ลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 2 จานต่อ 1 ความเข้มข้นเช่นกัน และทำเช่นนี้จนถึงระดับความเข้มข้นสูงสุด
6. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่ได้ฆ่าเชื้อและหลอมเหลวแล้วประมาณ 15-20 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อที่ปิเปตตัวอย่างไว้โดยที่อุณหภูมิอาหารเลี้ยงเชื้อต้องอยู่ระหว่าง 45±2 องศาเซลเซียส จากนั้นผสมสารละลายของเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อให้กระจายเข้ากันดี ในขณะที่เขย่าควรระมัดระวังไม่ให้อาหารเลอะติดฝาจานเลี้ยงเชื้อ
7. ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวแล้วกลับจานเลี้ยงเชื้อให้คว่ำลง
8. นำไปบ่มที่ตู้บ่มเพาะเชื้อที่ อุณหภูมิ 37$\pm$1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48$\pm$2 ชั่วโมง
9. นับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยนับบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30 - 300 โคโลนี ต่อ 1 ความเข้มข้น
10. คำนวณปริมาณเชื้อและรายงานผล

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มทร.สุวรรณภูมิ Print ISSN: 2586-8101 Online ISSN: 2697-6447
ปีที่ 7 ฉบับที่ 2 (กรกฎาคม 2566-ธันวาคม 2566)



ภาพที่ 4 วิธีการตรวจนับแบคทีเรียรวมด้วยวิธีเทเพลท

3.3 การคำนวณและแปรผล

การนับจำนวนโคโลนีในจานเลี้ยงเชื้อจะนับบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30 - 300 โคโลนี cfu/ml คำนวณจากสูตรสมการที่ 1

$$N = \frac{\sum C}{V[(n_1 x 1) + (n_2 x 0.1)]xd} \quad (1)$$

โดยที่ N คือ ปริมาณเชื้อ cfu/ml

$\sum C$ คือ ผลรวมของจำนวนโคโลนีที่เลือกมาคำนวณ

V คือ ปริมาตรของสารละลายเชื้อที่นำมาทดสอบ (1 มิลลิลิตร)

n_1 คือ จำนวนของจานเพาะเชื้อที่เลือกมาของความเข้มข้นแรก

n_2 คือ จำนวนของจานเพาะเชื้อที่เลือกมาของความเข้มข้นถัดไปที่เจือจางกว่า

d คือ ระดับการเจือจางที่สูงที่สุดที่เลือกโดยเป็นระดับการเจือจางที่จำนวนโคโลนีอยู่ในช่วงที่นับได้

ค่าที่คำนวณได้ควรปัดเป็นทศนิยม 1 ตำแหน่ง โดยที่ถ้าทศนิยมตำแหน่งที่ 2 มีค่าตั้งแต่ 5 ขึ้นไปให้ปัดตัวเลขทศนิยมตำแหน่งที่ 1 ขึ้น แต่ถ้าตัวเลขทศนิยมตำแหน่งที่ 2 มีค่าน้อยกว่า 5 ลงมาให้คงตัวเลขทศนิยมตำแหน่งที่ 1 ไว้ หลังจากได้ปริมาณเชื้อแล้ว นำผลที่ได้ไปเทียบกับค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ว่ามากหรือน้อยกว่าที่มาตรฐานกำหนดหรือไม่

1. หากไม่มีโคโลนีเจริญบนจานเลยหรือมีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 10 โคโลนี ให้รายงานผลเป็นน้อยกว่า 1.0 X ระดับการเจือจางน้อยที่สุดที่ทำ

2. ในกรณีที่ทุกจานมีการเจริญของเชื้อมากจนไม่สามารถนับได้ ให้รายงานผลเป็น TNTC (Too Numerous To Count) นำตัวอย่างที่ตัดสำรองไว้มาทำซ้ำเพื่อยืนยันผลอีกครั้งหนึ่ง

3.4 การควบคุมคุณภาพ

ผู้ปฏิบัติงานต้องปฏิบัติตามข้อปฏิบัติของการใช้ห้องปฏิบัติการอย่างเคร่งครัด หากมีตู้ปลอดเชื้อควรปฏิบัติงานในตู้ปลอดเชื้อ

ก่อนการปฏิบัติงานควรทำความสะอาดพื้นโต๊ะด้วย 70% แอลกอฮอล์ และฆ่าเชื้ออุปกรณ์และเครื่องแก้วด้วยการผ่านเปลวไฟทุกครั้งเมื่อใช้งาน

กำหนดตารางเวลาและเปิดแสงอัลตร้าไวโอเลต (UV) เพื่อฆ่าเชื้อในห้อง โดยเปิดทิ้งไว้เป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที หลังจากปิดแสงอัลตร้าไวโอเลตแล้วควรเปิดห้องทิ้งไว้ 20-30 นาทีเพื่อระบายอากาศ

หากไม่ได้ตรวจวิเคราะห์ทันทีให้เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4–8 องศาเซลเซียสไม่เกิน 24 ชั่วโมงและไม่ควรวางตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องนานเกิน 1 ชั่วโมงก่อนการตรวจวิเคราะห์

บันทึกอุณหภูมิตู้เย็นและตู้แช่ทุกวัน

ตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานของหม้อนึ่งความดัน(Autoclave) ด้วย Spore test คือการใช้ชุดทดสอบสปอร์ที่มีลักษณะเป็นหลอดที่บรรจุสปอร์ของแบคทีเรียพวก *Bacillus stearothermophilus* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ทนความร้อนได้สูงและมีอาหารเลี้ยงเชื้อแยกบรรจุอยู่ในหลอดด้วย วิธีทดสอบทำโดยใส่ชุดทดสอบลงไปนึ่งฆ่าเชื้อ หลังจากสิ้นสุดการทำงานหม้อนึ่งความดันต้องบีบหลอดแก้วภายในชุดทดสอบให้แตก อาหารเหลวภายในจะไหลมาที่สปอร์แล้วนำชุดทดสอบไปบ่มที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน ถ้าสปอร์ถูกทำลายทั้งหมดสีของอาหารภายในชุดทดสอบจะยังคงเป็นสีม่วงเหมือนเดิมแต่ถ้าสปอร์มีการเจริญเติบโตและมีกระบวนการเมตาบอลิซึมเกิดขึ้นจะทำให้อาหารเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและชุดทดสอบควรวางอยู่ในหลาย ๆ ตำแหน่งในห้องนึ่ง ทั้งด้านบน ล่าง หน้า หลังและบริเวณกลางห้องนึ่งและควรวางชุดทดสอบไว้ในตำแหน่งที่ไอน้ำสามารถเข้าถึงได้ยาก เช่น บริเวณกลางถุงใส่ของฆ่าเชื้อด้วยโดยจะมีการทดสอบทุกๆ 1 เดือน วิธีทดสอบนี้สามารถบอกได้ว่าการนึ่งฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพเพียงพอหรือไม่และหากทดสอบเครื่องไม่ผ่านก็ควรส่งเครื่องซ่อมแซมและบำรุงรักษาต่อไป

ตรวจสอบความสะอาดของอากาศภายในห้องปฏิบัติการโดยระหว่างการปฏิบัติงานให้วางจานที่ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่เปิดทิ้งไว้กลางโต๊ะปฏิบัติงานเป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 24 ชั่วโมง จำนวนเชื้อแบคทีเรียที่พบต้องไม่เกิน 15 โคโลนี

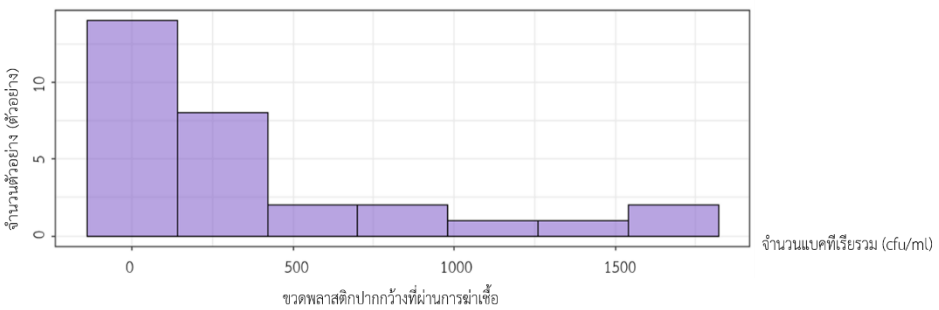
จำนวนแบคทีเรียรวมในน้ำที่นับได้จากขวดเก็บทั้ง 3 ชนิดจะถูกนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยจะบรรยายด้วยค่าเฉลี่ย และค่าความแปรปรวนของจำนวนแบคทีเรียรวมในน้ำที่เก็บในขวดเก็บน้ำต่างชนิดกัน ค่ามัธยฐานของจำนวนแบคทีเรียรวมในน้ำที่เก็บในขวดเก็บน้ำทั้ง 3 ชนิด โดยคาดหวังว่าค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรียรวม ค่าความแปรปรวนของแบคทีเรียรวมและค่ามัธยฐานของจำนวนแบคทีเรียรวมในน้ำที่เก็บในขวดเก็บน้ำทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\text{-value} < 0.05$)

4. ผลการวิจัย

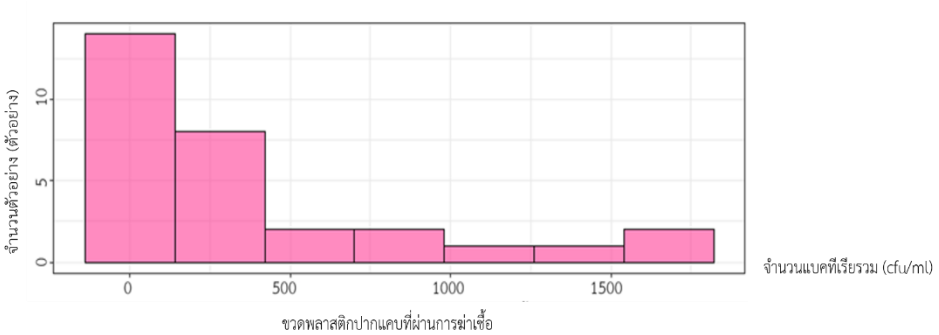
จากการตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียรวมกลุ่มควบคุมพบว่าไม่พบเชื้อแบคทีเรียในตัวอย่างน้ำที่ใช้กลั้วขวดเก็บน้ำกลุ่มควบคุมคือขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อและขวดบรรจุน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อ

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มทร.สุวรรณภูมิ Print ISSN: 2586-8101 Online ISSN: 2697-6447
ปีที่ 7 ฉบับที่ 2 (กรกฎาคม 2566-ธันวาคม 2566)

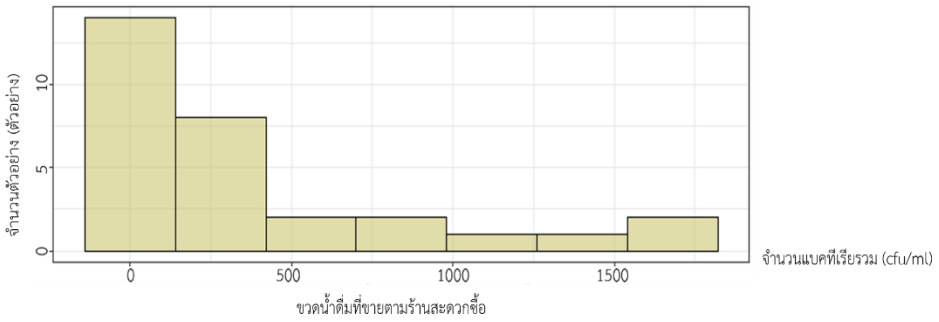
ส่วนตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆ ที่ใช้ภาชนะในการบรรจุต่างกันคือขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อและขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อจำนวน 30 ตัวอย่าง โดยตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียรวมด้วยวิธีเทเพลทพบว่าไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 5, ภาพที่ 6และภาพที่ 7) ค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรียรวมในขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อเท่ากับ 369.77 cfu/ml โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 471.73 cfu/ml ค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรียรวมในขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อเท่ากับ 370.07 cfu/ml โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 471.77 cfu/ml ค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรียรวมในขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อมีค่าเท่ากับ 370.67 cfu/ml โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 471.76 cfu/ml (ตารางที่ 1, ภาพที่ 8)



ภาพที่ 5 แผนภูมิจำนวนแบคทีเรียรวมในน้ำที่เก็บในขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อ



ภาพที่ 6 แผนภูมิจำนวนแบคทีเรียรวมในน้ำที่เก็บในขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

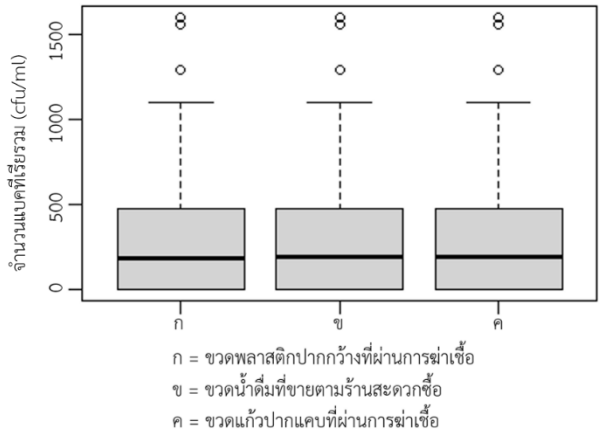


ภาพที่ 7 แผนภูมิจำนวนแบคทีเรียรวมในน้ำที่เก็บในขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อ

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มทร.สุวรรณภูมิ Print ISSN: 2586-8101 Online ISSN: 2697-6447
ปีที่ 7 ฉบับที่ 2 (กรกฎาคม 2566-ธันวาคม 2566)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนแบคทีเรียรวมในน้ำ 30 ตัวอย่างจากขวดบรรจุน้ำ 3 ชนิด

ชนิดของขวดเก็บน้ำ	จำนวน (ขวด)	ค่าต่ำสุด	ค่ากลาง	ค่าสูงสุด	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อ	30	1	369.77	1604	471.73
ขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อ	30	1	370.07	1604	471.77
ขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อ	30	1	370.67	1604	471.76



ภาพที่ 8 ค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรียรวมในน้ำที่เก็บในขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อและขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

การทดสอบความแปรปรวนของแบคทีเรียรวมในน้ำที่เก็บในขวดเก็บน้ำต่างชนิดกันพบว่ามีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญระหว่างความแปรปรวนของกลุ่มตัวอย่างที่เก็บในขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อและในน้ำที่เก็บในขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (p-value=0.9996) มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญระหว่างความแปรปรวนของกลุ่มตัวอย่างที่เก็บในขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อและในน้ำที่เก็บในขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (p-value=0.9998) มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญระหว่างความแปรปรวนของกลุ่มตัวอย่างที่เก็บในขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อและในน้ำที่เก็บในขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (p-value=0.9999) ค่ามัธยฐานของจำนวนแบคทีเรียรวมในน้ำที่เก็บในขวดเก็บน้ำทั้ง 3 ชนิดไม่มีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (p-value=0.9937)

5. อภิปรายผลและข้อเสนอแนะการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบผลการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียรวมที่พบในตัวอย่างเป็นน้ำเมื่อใช้ขวดเก็บตัวอย่างต่าง ๆ นำไปสู่การพัฒนาการเก็บตัวอย่างน้ำโดยใช้ภาชนะบรรจุที่เหมาะสมและไม่มีผลกระทบต่อผลการตรวจของหน่วยชันสูตรโรคสัตว์และถ่ายทอดเทคโนโลยี ขวดเก็บน้ำที่ใช้มี 2 ชนิดคือ ขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อและขวดน้ำที่ขายตามร้านสะดวกซื้อซึ่งไม่ใช่ขวดเก็บน้ำที่ได้มาตรฐานจึงศึกษาเปรียบเทียบกับขวดเก็บน้ำที่ได้มาตรฐานคือขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จากการศึกษาพบว่าจำนวนเชื้อแบคทีเรียรวมที่

พบในตัวอย่างน้ำที่เก็บในขวดเก็บน้ำทั้ง 3 ชนิดไม่แตกต่างกัน ค่าผลการทดสอบความแปรปรวนของแบคทีเรียรวมในน้ำที่เก็บในขวดเก็บน้ำต่างชนิดกันพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างความแปรปรวนของกลุ่มตัวอย่างที่เก็บในขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อและในน้ำที่เก็บในขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างความแปรปรวนของกลุ่มตัวอย่างที่เก็บในขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อและในน้ำที่เก็บในขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างความแปรปรวนของกลุ่มตัวอย่างที่เก็บในขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อและในน้ำที่เก็บในขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อ ค่ามัธยฐานของจำนวนแบคทีเรียรวมในน้ำที่เก็บในขวดเก็บน้ำทั้ง 3 ชนิดไม่มีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 จึงสามารถกล่าวได้ว่าสามารถใช้ขวดทั้ง 3 ชนิดดังกล่าวทดแทนกันได้ในการเก็บตัวอย่างน้ำส่งตรวจจำนวนแบคทีเรียรวม

ทั้งนี้ขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อที่นำมาใช้เก็บตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้ต้องเป็นขวดที่ซื้อมาใหม่ ต้องเป็นขวดใส ฝาปิดสนิท ไม่มีรอยขีดข่วนหรือรอยบุบและต้องเทน้ำดื่มทิ้งก่อนโดยไม่ต้องทำความสะอาดแล้วนำขวดนั้นไปบรรจุตัวอย่างเพื่อส่งน้ำมาตรวจทันที (ไม่เกิน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 6 องศาเซลเซียส) การใช้ขวดน้ำเก่าหรือเก็บไว้เป็นระยะเวลานานมาใช้เก็บตัวอย่างน้ำเพื่อตรวจนับจำนวนแบคทีเรียรวมอาจจะได้ผลการตรวจที่คลาดเคลื่อนเนื่องจากมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียหรือสาหร่าย [11] และพบว่ามีตัวอย่างน้ำ 48% ที่มีจำนวนโคลิฟอร์มทั้งหมดภายในช่วงที่ยอมรับได้ (<25 cfu/ml) โดย 43% มาจากน้ำดื่มบรรจุขวดที่ไม่มีรอยและไม่มีการบุบ และ 5% จากน้ำที่มีรอยขีดข่วนและ/หรือบุบ [12-16] และขวดน้ำพลาสติกมีแนวโน้มที่จะเกิดรอยแตก รอยแตกทำให้เป็นที่กำบังให้แบคทีเรียเติบโต [17]

การศึกษาที่ได้สามารถนำผลที่ได้ไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำมาปรับใช้การเก็บตัวอย่างน้ำที่เหมาะสมในการส่งตรวจแบคทีเรียรวมซึ่งเป็นการตรวจคุณภาพของน้ำทางจุลชีววิทยาประเภทหนึ่งที่หน่วยชันสูตรโรคสัตว์และถ่ายทอดเทคโนโลยี นำไปสู่การพัฒนาการเก็บตัวอย่างน้ำโดยใช้ภาชนะบรรจุที่เหมาะสม หาง่ายและไม่มีผลกระทบต่อการตรวจ ลดปัญหาข้อจำกัดเรื่องการจัดหาภาชนะบรรจุที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เช่น ระยะทางและเวลาที่ใช้ในการเดินทางมาขอรับขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อ งบประมาณมีจำกัดทั้งค่าเดินทาง ค่าแรง ค่าจัดซื้ออุปกรณ์ ฯลฯ การที่สามารถใช้ขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อมาทดแทนขวดแก้วปากแคบที่ผ่านการฆ่าเชื้อและขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อได้ทำให้ผู้รับบริการมีทางเลือกมากขึ้นในการเก็บตัวอย่างน้ำส่งตรวจ ลดเวลา ลดกำลังคน ลดค่าใช้จ่ายในการเดินทางและค่าใช้จ่ายในการจัดหาขวดแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อเนื่องจากขวดแก้วปากกว้างที่ใช้เป็นขวดมาตรฐานในการเก็บตัวอย่างน้ำมีราคาแพง การที่สามารถใช้ขวดน้ำดื่มที่ขายตามร้านสะดวกซื้อมาทดแทนได้ทำให้ลดค่าใช้จ่ายได้ถึง 200-250 บาทต่อการเก็บน้ำ 1 ตัวอย่าง และยังมีความปลอดภัยในการใช้งานรวมถึงความปลอดภัยในการขนส่ง ซึ่งส่งผลให้จำนวนตัวอย่างน้ำที่ส่งตรวจแบคทีเรียรวมมีจำนวนมากขึ้นและเพิ่มรายได้ให้กับหน่วยชันสูตรโรคสัตว์และถ่ายทอดเทคโนโลยีอย่างยั่งยืน

นอกจากการตรวจคุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยาโดยการนับแบคทีเรียรวมแล้วหน่วยชันสูตรโรคสัตว์และถ่ายทอดเทคโนโลยี คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ยังมีการตรวจคุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยารายการอื่นๆเช่น Colifrom bacteria, *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. การตรวจคุณภาพทางด้านเคมีเช่น ความเป็นกรด-ด่าง คลอรีน คาร์บอไดออกไซด์ ค่าDO (ค่าออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำ) ไนไตรท์ ความเค็ม ความกระด้าง แอมโมเนียและอื่นๆ จึงน่าจะมีการศึกษาเกี่ยวกับการเลือกใช้ภาชนะเก็บตัวอย่างที่เหมาะสม หาง่ายและไม่มีผลกระทบต่อ การตรวจรายการอื่นๆ เพิ่มเติมต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในการสนับสนุนงบประมาณวิจัย และขอขอบคุณ ผศ.สพ.ญ.ดร.กรรณิการ์ ณ ลำปาง หัวหน้าภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้คำปรึกษาและช่วยเหลือในการศึกษาครั้งนี้จนสำเร็จได้ด้วยดี

6. เอกสารอ้างอิง

[1] ธีรพล กงบังเกิด. (2546). **จุลชีววิทยาอาหาร**. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร. พิษณุโลก.

[2] พรศิริ ตั้งใจพัฒนา. (2546). **คู่มือระเบียบการปฏิบัติงาน การปฏิบัติงานตามมาตรฐานฟาร์มเลี้ยงสุกร สำหรับสัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์ม P-PIG-VET-001**. สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์. กรุงเทพ.

[3] กรมอนามัย. (2563). **คู่มือการสุ่มเก็บ การบรรจุและการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างน้ำประปาดื่มได้**. ศูนย์ห้องปฏิบัติการกรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. สืบค้นจาก http://rldc.anamai.moph.go.th

[4] กองมาตรฐานคุณภาพน้ำบาดาล. **เทคนิคและวิธีการเก็บตัวอย่างน้ำ**. สืบค้นจาก http://www.dgr.go.th/skr/th/newsAll/243/3155

[5] เรณู ปิ่นทอง. (2543). **คู่มือบทปฏิบัติการจุลินทรีย์ในอาหาร**. ภาควิชาวิทยาศาตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.

[6] สุมาลี เหลืองสกุล. (2540). **คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร**. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร. กรุงเทพฯ.

[7] ISO 4833. (1991). **Microbiology-general guidance for the enumeration of micro-organisms-Colony count technique at 30°C**.

[8] ภาวิณี ศิลาเกษ. (2663). **สื่อการสอนรายวิชาจุลชีววิทยา(4032601) ปรับปรุง**. สืบค้นจาก blog.bru.ac.th/members/pawinee/document/

[9] ปิยะมาศ แจ่มศรี และ ขวัญมิตร รู้จัก. (2560). การทวนสอบอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง Plate count agar (PCA) และ Reasoner's 2A (R2A) agar สำหรับการตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำและน้ำแข็ง. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. ปีที่ 59 ฉบับที่ 4. หน้า 242-251.

[10] นฤมล มาแทน. (2560). **ปฏิบัติการจุลชีววิทยาอาหาร**. สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์. นครศรีธรรมราช.

[11] Kubwabo, C., Kosarac, I., Stewart, B., Gauthier, B. R., Lalonde K. and P. J. Lalonde. (2009). **Migration of bisphenol a from plastic baby bottles, baby bottle liners and reusable polycarbonate drinking bottles**. Food Additives & Contaminants: Part A, 26(6), 928–937.

[12] Gautam, B., Gyanwali, G. and D. W. Ussery. (2021). **Assessment of bacteria load in polyethylene terephthalate (PET) bottled water marketed in Kathmandu valley, Nepal**. Hindawi International Journal of Polymer Science, 2021:10 pages.

[13] Halag, A. A., Ssemugabo, C. and D. K. Ssemwanga. (2015). **Bacteriological and physical quality of locally packaged drinking water in Kampala, Uganda**. Journal of Environmental and Public Health. vol 2015: 6 pages.

[14] Timilshina, M., Dahal, I. and B. Thapa. (2013). **Microbial assessment of bottled drinking water of Kathmandu valley**. International Journal of Infection and Microbiology, 1(2), 84–86.

[15] Da Silva, M. E. Z., Santana, R. G. and M. Guilhermetti. (2008). **Comparison of the bacteriological quality of tap water and bottled mineral water.** International journal of hygiene and environmental health, 211(5-6), 504–509.

[16] Bashir, A. and A. M. Aish. (2011). **Bacteriological quality evaluation of bottled water sold in the Gaza strip, Palestine**. International Water Technology Conference. 16th

[17] Bower, C.K., McGuire, J. and M. Daeschel. (1996). **The adhesion and detachment of bacteria and spores on food-contact surfaces**. Trends Food Science Technology, 7(5), 152–157.