คู่มือปฏิบัติงาน

เรื่อง

การตรวจวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* ในอาหาร

จัดทำโดย

นายปริญญา ทับเที่ยง

ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

คู่มือปฏิบัติงาน

เรื่อง

การตรวจวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* ในอาหาร

จัดทำโดย

นายปริญญา ทับเที่ยง

ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

คำนำ

คู่มือปฏิบัติงานเล่มนี้จัดทำขึ้นเพื่อเป็นเอกสารแสดงเส้นทางการทำงานตั้งแต่เริ่มต้นจนสุดกระบวนการ ระบุขั้นตอนการดำเนินการต่าง ๆ โดยคู่มือปฏิบัติงานนี้มีความสำคัญอย่างยิ่งในการปฏิบัติงานเพื่อช่วยให้หน่วยงานมีคู่มือไว้ใช้ในการปฏิบัติงาน และช่วยให้ผู้ปฏิบัติงานให้สามารถศึกษาได้อย่างรวดเร็ว ทำให้งานของหน่วยงานมีระบบและมีประสิทธิภาพมากขึ้นจากคู่มือปฏิบัติงานเล่มนี้

วัตถุประสงค์ของการจัดทำคู่มือปฏิบัติงานเกี่ยวกับการตรวจวิเคราะห์ Coliform Bacteria และ *Escherichia coli* ในอาหาร ของงานนักวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราภัฏสงขลา เพื่อให้ผู้ปฏิบัติงานทราบขั้นตอน วิธีปฏิบัติงาน และเป็นแนวทางในการปฏิบัติงานสำหรับบุคลากรในนหน่วยงานให้สามารถปฏิบัติงานทดแทนกันได้เพราะการตรวจวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* ในอาหาร เป็นงานด้านจุลชีววิทยาที่มีความละเอียด รอบคอบ ความถูกต้อง รวดเร็ว เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สู่ตัวผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อม

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณผู้ทรงคุณวุฒิที่ให้ความรู้และคำแนะนำด้วยดีตลอดมาและขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา เป็นอย่างยิ่งที่สนับสนุนและส่งเสริมให้จัดทำคู่มือปฏิบัติงานนี้ขึ้นมา โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ อาจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขานวัตกรรมการเกษตรเพื่อความยั่งยืน คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และเพื่อนร่วมงานทุกคนที่เป็นกำลังใจให้คู่มือปฏิบัติงานเล่มนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

นายปริญญา ทับเที่ยง
นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ
กันยายน 2565

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	ก
สารบัญ	ข
สารบัญภาพ	ง
บทที่ 1 ข้อมูลทั่วไป	1
1. ประวัติความเป็นมาคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี	1
2. ปรัชญา วิสัยทัศน์ พันธกิจ ประเด็นยุทธศาสตร์ และนโยบาย	4
3. สีประจำคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี	8
4. ตราสัญลักษณ์คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี	8
5. ต้นไม้ประจำคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี	8
6. โครงสร้างการบริหารคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี	9
7. คณะกรรมการบริหารคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี	10
8. หลักสูตรที่เปิดสอน และจำนวนนักศึกษา	13
9. จำนวนบุคลากร	14
10. อาคารสถานที่	14
บทที่ 2 ขั้นตอนการปฏิบัติงาน	15
ขั้นตอนการปฏิบัติงาน	15
แผนภูมิขั้นตอนการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* ในอาหาร	17
ขั้นตอนที่ 1 เตรียมวัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ	18
1. เตรียมถุงเก็บตัวอย่างอาหาร	18
2. เตรียมจานเพาะเชื้อ	18
3. เตรียมปิเปต	19
4. เตรียมวัสดุที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์	19
5. เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์	20
ขั้นตอนที่ 2 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และน้ำยาทดสอบ	24
1. Lauryl tryptose broth	24
2. Brilliant green lactose bile broth	25
3. EC broth	26
4. Eosin methylene blue agar	27
5. Nutrient agar	28

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
6. Simmons Citrate agar	29
7. MR-VP broth	30
8. Tryptone broth	31
9. Kovac's regent	32
10. Methyl red solution	32
11. Voges-Proskauer test reagent	33
ขั้นตอนที่ 3 การเก็บตัวอย่างอาหาร	34
1. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างอาหาร	34
2. วิธีเก็บตัวอย่างอาหาร	34
3. ฉลากบันทึกรายละเอียดของตัวอย่างอาหาร	36
ขั้นตอนที่ 4 ขั้นวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli*	37
1. ขั้นตรวจสอบเบื้องต้น (Presumtive coliform test)	37
2. การตรวจสอบขั้นยืนยัน (Confirm test)	38
3. การตรวจสอบขั้นสมบูรณ์ (Completed test)	43
ขั้นตอนที่ 5 การแยกและเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์	44
1. การแยกเชื้อบริสุทธิ์	44
2. การเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์	45
ขั้นตอนที่ 6 ทดสอบชีวเคมี	46
1. ทดสอบ Indole	46
2. ทดสอบ Methyl Red	47
3. ทดสอบ Voges-Proskauer	48
4. ทดสอบ Citrate	48
เอกสารอ้างอิง	50

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1.1 สัญลักษณ์คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 8
ภาพที่ 1.2 ต้นไม้ใบสีทอง 8
ภาพที่ 1.3 โครงสร้างการบริหารคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 9
ภาพที่ 2.1 ถุงเก็บตัวอย่างอาหารสำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา 18
ภาพที่ 2.2 จานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ 18
ภาพที่ 2.3. ปิเปตที่ปราศจากเชื้อ 19
ภาพที่ 2.4 วัสดุที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* 19
ภาพที่ 2.5 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ 20
ภาพที่ 2.6 ตู้ปลอดเชื้อ 21
ภาพที่ 2.7 ตู้บ่มเชื้อ 21
ภาพที่ 2.8 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 22
ภาพที่ 2.9 ตู้อบลมร้อน 22
ภาพที่ 2.10 ตู้แช่แข็งอุณหภูมิต่ำ (-80 °C) 23
ภาพที่ 2.11 เครื่องตีป่นอาหาร 23
ภาพที่ 2.12 Lauryl tryptose broth 24
ภาพที่ 2.13 Brilliant green lactose bile broth 25
ภาพที่ 2.14 EC broth 26
ภาพที่ 2.15 Eosin methylene blue agar 27
ภาพที่ 2.16 Nutrient agar 28
ภาพที่ 2.17 Simmons Citrate agar 29
ภาพที่ 2.18 MR-VP broth 30
ภาพที่ 2.19 Tryptone broth 31
ภาพที่ 2.20 Kovac's regent 32
ภาพที่ 2.21 Methyl red solution 32
ภาพที่ 2.22 Voges-Proskauer test reagent 33
ภาพที่ 2.23 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างอาหาร 34
ภาพที่ 2.24 วิธีการเช็ดมือด้วย แอลกอฮอล์ 70% 34

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 2.25 การฆ่าเชื้อบริเวณที่เก็บตัวอย่าง 35
ภาพที่ 2.26 การเปิดปากถุงหรือสิ่งห่อหุ้มตัวอย่าง 35
ภาพที่ 2.27 การสุ่มตักตัวอย่าง 35
ภาพที่ 2.28 การเติมสารละลาย 36
ภาพที่ 2.29 การตีปั่นตัวอย่างอาหาร 36
ภาพที่ 2.30 การบันทึกรายละเอียดของตัวอย่าง 36
ภาพที่ 2.31 การจัดเรียงหลอดอาหาร 37
ภาพที่ 2.32 การบ่มเพาะเชื้อ 38
ภาพที่ 2.33 หลอดที่แสดงผลเป็นบวก และแสดงผลเป็นลบ 38
ภาพที่ 2.34 การจัดหลอด Brilliant green lactose bile broth 39
ภาพที่ 2.35 การเขี่ยเชื้อแบบหลอดต่อหลอด 39
ภาพที่ 2.36 การจัดหลอด EC medium 40
ภาพที่ 2.37 การเขี่ยเชื้อแบบหลอดต่อหลอด 40
ภาพที่ 2.38 ตารางอ่านค่า MPN 41
ภาพที่ 2.39 ขั้นตอนการทดสอบ Coliform bacteria และ Fecal coliform 42
ภาพที่ 2.40 เชื้อ *Escherichia coli* เจริญ บนอาหาร EMB agar 43
ภาพที่ 2.41 การแยกเชื้อด้วยเทคนิค cross streak 44
ภาพที่ 2.42 ตัวอย่างการเขี่ยเชื้อ 45
ภาพที่ 2.43 การเก็บเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 45
ภาพที่ 2.44 ผลการทดสอบ IMVic 46
ภาพที่ 2.45 ผลการทดสอบ Indole 47
ภาพที่ 2.46 ผลการทดสอบ Methyl Red 47
ภาพที่ 2.47 ผลการทดสอบ Voges-Proskauer 48
ภาพที่ 2.48 ผลการทดสอบ Citrate 49

บทที่ 1 ข้อมูลทั่วไป
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

1.1 ประวัติความเป็นมา

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา เป็นหน่วยงานที่จัดตั้งขึ้นตามการแบ่งส่วนราชการของวิทยาลัยครูสงขลา เมื่อมีการประกาศใช้พระราชบัญญัติวิทยาลัยครู พ.ศ. 2518 จึงเริ่มมีคณะเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2518 และเมื่อมีการประกาศใช้พระราชบัญญัติฉบับต่อ ๆ มา ได้มีการเปลี่ยนแปลงชื่อคณะและหน่วยงานในคณะตามลำดับ ดังนี้

พ.ศ. 2518 มีการประกาศใช้พระราชบัญญัติวิทยาลัยครู พ.ศ.2518 และประกาศกระทรวงศึกษาธิการ เรื่อง การแบ่งส่วนราชการในวิทยาลัยครู มีการจัดตั้ง “คณะวิชาวิทยาศาสตร์” ขึ้น โดยมีหน่วยงานในสังกัด ดังนี้ 1) หมวดวิชาพลานามัย 2) หมวดวิชาคณิตศาสตร์ 3) หมวดวิชาหัตถศึกษาและอุตสาหกรรมศิลป์ 4) หมวดวิชาคหกรรมศาสตร์ 5) หมวดวิชาเกษตรกรรม 6) หมวดวิชาวิทยาศาสตร์

พ.ศ. 2519 เปลี่ยนชื่อ “หมวดวิชาพลานามัย” เป็น “หมวดวิชาพลศึกษาและนันทนาการ” และจัดตั้งหมวดวิชาสุขศึกษา

พ.ศ. 2527 มีการแก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติวิทยาลัยครู พ.ศ. 2518 จึงมีการเปลี่ยนชื่อเป็น “คณะวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี” และเปลี่ยนชื่อหน่วยงานในสังกัดจากหมวดวิชาเป็น “ภาควิชา” ในคณะวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมีหน่วยงานในสังกัด ดังนี้ 1) ภาควิชาคณิตศาสตร์และสถิติ 2) ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ 3) ภาควิชาอุตสาหกรรมศิลป์ 4) ภาควิชาเกษตรศาสตร์ 5) ภาควิชาพลศึกษาและนันทนาการ 6) ภาควิชาสุขศึกษา 7) ภาควิชาเคมี 8) ภาควิชาชีววิทยา 9) ภาควิชาฟิสิกส์และวิทยาศาสตร์ทั่วไป

พ.ศ. 2530 แยกภาควิชาเกษตรศาสตร์ไปจัดตั้งเป็น “คณะวิชาเกษตรและอุตสาหกรรม” ปัจจุบันเปลี่ยนชื่อเป็น “คณะเทคโนโลยีการเกษตร”

พ.ศ. 2535 พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวฯ ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ พระราชทานนาม “สถาบันราชภัฏ” แทน “วิทยาลัยครู” เมื่อวันที่ 14 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2535 วิทยาลัยครูสงขลาจึงใช้ชื่อใหม่ว่า “สถาบันราชภัฏสงขลา” มีฐานะเป็นสถาบันอุดมศึกษา คณะวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มีหน่วยงานในสังกัด ดังนี้ 1) ภาควิชาคณิตศาสตร์และสถิติ 2) ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ 3) ภาควิชาอุตสาหกรรมศิลป์ 4) ภาควิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ 5) ภาควิชาเคมี 6) ภาควิชาชีววิทยา 7) ภาควิชาฟิสิกส์และวิทยาศาสตร์ทั่วไป 8) ภาควิชาคอมพิวเตอร์ 9) ภาควิชาเทคโนโลยีการยาง 10) ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

พ.ศ. 2538 เปลี่ยนชื่อคณะเป็นคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มีหน่วยงานในสังกัด ดังนี้ 1) ภาควิชาคณิตศาสตร์และสถิติ 2) ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ 3) ภาควิชาอุตสาหกรรมศิลป์ 4) ภาควิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ 5) ภาควิชาเคมี 6) ภาควิชาฟิสิกส์และวิทยาศาสตร์ทั่วไป 7) ภาควิชาคอมพิวเตอร์ 8) ภาควิชาชีววิทยา 9) ภาควิชาเทคโนโลยีการยาง 10) ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม และได้มีการจัดตั้งหน่วยงานเพิ่มขึ้น 1 หน่วยงาน รวมเป็น 11 หน่วยงาน คือ 11) สำนักงานเลขานุการคณะ

พ.ศ. 2540 แยกภาควิชาอุตสาหกรรมศิลป์ไปจัดตั้งเป็น “คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม”

พ.ศ. 2541 ทดลองนำระบบบริหารแบบโปรแกรมวิชามาใช้ในคณะ เปลี่ยนจากการบริหารแบบ“ภาควิชา”

เป็น “โปรแกรมวิชา” โดยโปรแกรมวิชาประกอบด้วย คณะกรรมการบริหารโปรแกรมวิชาที่ทำหน้าที่บริหารงานวิชาการ ดังนั้นคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จึงมีหน่วยงานในสังกัด ดังนี้ 1) สำนักงานเลขานุการคณะ 2) โปรแกรมวิชาคณิตศาสตร์ 3) โปรแกรมวิชาสถิติประยุกต์ 4) โปรแกรมวิชาคหกรรมศาสตร์ 5) โปรแกรมวิชาคหกรรมศาสตร์ทั่วไป 6) โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ 7) โปรแกรมวิชาสุขศึกษา 8) โปรแกรมวิชาเคมี 9) โปรแกรมวิชาเคมีปฏิบัติ 10) โปรแกรมวิชาชีววิทยา 11) โปรแกรมวิชาชีววิทยาประยุกต์ 12) โปรแกรมวิชาฟิสิกส์ 13) โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป 14) โปรแกรมวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์ 15) โปรแกรมวิชาคอมพิวเตอร์ศึกษา 16) โปรแกรมวิชาเทคโนโลยีการยาง 17) โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

พ.ศ. 2543 มีการปรับเปลี่ยนหน่วยงานสังกัดคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีใหม่ โดยยุบรวมโปรแกรมวิชาในสาขาวิชาเดียวกันเข้าด้วยกัน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มีหน่วยงานในสังกัด ดังนี้ 1) สำนักงานเลขานุการคณะ 2) โปรแกรมวิชาคณิตศาสตร์และสถิติ 3) โปรแกรมวิชาคหกรรมศาสตร์ 4) โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ 5) โปรแกรมวิชาเคมีและเคมีประยุกต์ 6) โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ 7) โปรแกรมวิชาฟิสิกส์และวิทยาศาสตร์ทั่วไป 8) โปรแกรมวิชาคอมพิวเตอร์ 9) โปรแกรมวิชาเทคโนโลยียางและพอลิเมอร์ 10) โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

พ.ศ. 2544 ผ่านร่างพระราชบัญญัติมหาวิทยาลัยราชภัฏ

พ.ศ. 2547 (15 มิ.ย.) มีพระราชบัญญัติมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา พ.ศ. 2547 มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา จึงเป็นมหาวิทยาลัยในสังกัดสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยียังคงมีหน่วยงานในสังกัดเหมือนเดิม

พ.ศ. 2549 (22 พ.ค.) มีประกาศกระทรวงศึกษาธิการ เรื่องการแบ่งส่วนราชการในมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา แบ่งส่วนราชการในคณะ เป็น “สำนักงานคณบดี”

พ.ศ. 2549 ปรับเปลี่ยนหน่วยงานสังกัดคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีใหม่ตามเกณฑ์ของสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา มีหน่วยงานในสังกัดประกอบด้วย 1) สำนักงานคณบดี 2) ภาควิชาคณิตศาสตร์และคอมพิวเตอร์ประกอบด้วย โปรแกรมวิชาคณิตศาสตร์และสถิติประยุกต์ และโปรแกรมวิชาคอมพิวเตอร์ 3) ภาควิชาวิทยาศาสตร์ประกอบด้วย โปรแกรมวิชาเคมีและเคมีประยุกต์ โปรแกรมวิชาฟิสิกส์และวิทยาศาสตร์ทั่วไป โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม และโปรแกรมวิชาเทคโนโลยียางและพอลิเมอร์ 4) โครงการจัดตั้งภาควิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพและคหกรรมศาสตร์ ประกอบด้วย โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ และโปรแกรมวิชาคหกรรมศาสตร์

พ.ศ. 2551 ปรับเปลี่ยนหน่วยงานสังกัดคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีใหม่ มีหน่วยงานในสังกัดประกอบด้วย 1) สำนักงานคณบดี 2) โปรแกรมวิชาคณิตศาสตร์และสถิติ 3) โปรแกรมวิชาคอมพิวเตอร์ 4) โปรแกรมวิชาเคมีและเคมีประยุกต์ 5) โปรแกรมวิชาฟิสิกส์และวิทยาศาสตร์ทั่วไป 6) โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ 7) โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม 8) โปรแกรมวิชาเทคโนโลยียางและพอลิเมอร์ 9) โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ 10) โปรแกรมวิชาคหกรรมศาสตร์

พ.ศ. 2560 มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาออกประกาศเรื่องการแบ่งส่วนราชการเป็นงานส่วนราชการหรือ หน่วยงานที่เรียกชื่ออย่างอื่นที่มีฐานะเทียบเท่างานในมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา พ.ศ. 2560 สำนักงานคณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ให้แบ่งส่วนราชการเป็นงานดังนี้ 1) งานบริหารงานทั่วไป 2) งานสนับสนุนพันธกิจอุดมศึกษา

พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลายกเลิกการจัดตั้งและการบริหารงานโปรแกรมวิชา และได้ออกประกาศเรื่องการบริหารงานวิชาการระดับปริญญาตรี พ.ศ. 2561 คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จึงมีโครงการสร้างการบริหารงานวิชาการเป็นหลักสูตร จำนวน 13 หลักสูตร ดังนี้

1) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาคณิตศาสตร์
2) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์
3) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
4) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
5) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาประยุกต์
6) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยียางและพอลิเมอร์
7) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีสารสนเทศ
8) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาฟิสิกส์
9) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์
10) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม
11) หลักสูตรสาธารณสุขศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาสาธารณสุขชุมชน
12) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพและสปา
13) หลักสูตรสาธารณสุขศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสาธารณสุขชุมชน

พ.ศ. 2564 คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มีโครงการสร้างการบริหารงานวิชาการเป็นหลักสูตร จำนวน 16 หลักสูตร ดังนี้

1) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์เชิงอุตสาหกรรม
2) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์
3) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีสารสนเทศและนวัตกรรมดิจิทัล
4) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
5) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์
6) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
7) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาคณิตศาสตร์
8) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
9) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
10) หลักสูตรสาธารณสุขศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาสาธารณสุขชุมชน
11) หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพและสปา
12) หลักสูตรครุศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาคอมพิวเตอร์ศึกษา
13) หลักสูตรครุศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
14) หลักสูตรครุศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาฟิสิกส์
15) หลักสูตรเทคโนโลยีบัณฑิต สาขาวิชานวัตกรรมการเกษตรเพื่อความยั่งยืน
16) หลักสูตรสาธารณสุขศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสาธารณสุขชุมชน

1.2 ปรัชญา วิสัยทัศน์ พันธกิจ ประเด็นยุทธศาสตร์ และนโยบาย

ปรัชญา เน้นคุณธรรม นำวิทยาศาสตร์ก้าวหน้า พัฒนาท้องถิ่น

วิสัยทัศน์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เป็นคณะชั้นนำที่ผลิตบัณฑิตมีคุณภาพและคุณธรรม เพื่อพัฒนาท้องถิ่นสู่สากล

พันธกิจ

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

คำนิยม

W = Wisdom

หมายถึง เป็นผู้มีภูมิปัญญา และใฝ่หาความรู้อยู่เสมอ

I = Innovation

หมายถึง เราจะเป็นผู้ที่สรรสร้างนวัตกรรมใหม่ ๆ ได้ และปรับตัวให้เข้ากับยุคสมัยที่มีการเปลี่ยนแปลง

S = Smart

หมายถึง เราจะเป็นคนที่มีความเฉลียวฉลาด ไม่ว่าจะเป็นความคิด การเรียน การใช้ชีวิต และบุคลิกภาพที่ดีด้วย

H = Happiness

หมายถึง เรียนและใช้ชีวิตในรั้วมหาวิทยาลัยอย่างมีความสุข

อัตลักษณ์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กำหนดอัตลักษณ์เช่นเดียวกับมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา คือ **“เป็นคนดี มีทักษะชีวิต มีจิตสาธารณะ”**

นิยาม **เป็นคนดี** เป็นผู้ที่คิดดี พูดดี และทำดี หมายถึง คิด พูด และทำ สิ่งที่เป็นประโยชน์ตนและสิ่งที่เป็นประโยชน์ท่าน

นิยาม **มีทักษะชีวิต** มีความชำนาญ มีความสามารถในการประยุกต์ใช้ปัญญาและเหตุผลในการดำเนินชีวิต ผ่านกระบวนการฝึกทักษะการคิด ทักษะการตัดสินใจ ทักษะการแก้ปัญหา ทักษะการคิดสร้างสรรค์ทักษะการคิดอย่างมีวิจารณญาณ ทักษะการสื่อสารอย่างมีประสิทธิภาพ ทักษะการสร้างความสัมพันธ์ระหว่างบุคคล ทักษะการตระหนักรู้ในตน ทักษะการเข้าใจผู้อื่น ทักษะการจัดการกับอารมณ์ และทักษะการจัดการกับความเครียด

นิยาม **มีจิตสาธารณะ** จิตที่คิดสร้างสรรค์ เป็นกุศล และมุ่งทำกรรมดีที่เป็นประโยชน์ต่อส่วนรวมตั้งอยู่บนพื้นฐานของความตั้งใจดี และเจตนาดี

เอกลักษณ์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กำหนดเอกลักษณ์เช่นเดียวกับมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา คือ **“มหาวิทยาลัยเพื่อการพัฒนาท้องถิ่น”**

นิยาม **การพัฒนาท้องถิ่น** หมายถึง การทำให้พื้นที่ที่เป็นที่อยู่อาศัยเจริญขึ้นงอกงามขึ้น ทั้งนี้ การทำให้ท้องถิ่นเกิดการพัฒนานั้น มหาวิทยาลัยมุ่งเน้นการพัฒนาท้องถิ่นโดยยึดตามพันธกิจของมหาวิทยาลัยทั้งด้านการจัดการเรียนการสอน การวิจัย การบริการวิชาการ และการทำนุบำรุงศิลปะและวัฒนธรรม

ประเด็นยุทธศาสตร์ / นโยบาย

ประเด็นยุทธศาสตร์การพัฒนาระยะ 5 ปี (พ.ศ. 2566-2570) ฉบับทบทวนประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 มีดังนี้

ยุทธศาสตร์เชิงรุกที่ 1 ยกระดับคุณภาพการศึกษาสู่สากล
ยุทธศาสตร์เชิงรุกที่ 2 สร้างชุมชนแห่งปัญญา
ยุทธศาสตร์เชิงรุกที่ 3 นำพาองค์กรความสุขและความมั่นคง
ยุทธศาสตร์เชิงรุกที่ 4 ธำรงศาสตร์พระราชาพัฒนาท้องถิ่นตนอย่างยั่งยืน

นโยบายคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พ.ศ. 2566-2570) ประกอบด้วย

1. นโยบายด้านการจัดการศึกษา

1.1) มุ่งเน้นการผลิตบัณฑิตสายวิทยาศาสตร์ให้เป็นไปตามทักษะการเรียนรู้ในศตวรรษที่ 21 และเป็นไปตามนโยบายไทยแลนด์ 4.0

1.2) ปรับปรุงพัฒนาหลักสูตรระดับปริญญาตรี และบัณฑิตศึกษาให้เป็นไปตามกรอบมาตรฐานคุณวุฒิระดับอุดมศึกษา เพื่อตอบสนองความต้องการของท้องถิ่นและให้ทันต่อการเปลี่ยนแปลงของสังคมโลก

1.3) พัฒนารูปแบบการจัดการศึกษาโดยนำเทคโนโลยีสารสนเทศมาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเรียนการสอนและการเรียนรู้ด้วยตนเองของนักศึกษา

1.4) มุ่งเน้นการประชาสัมพันธ์การรับนักศึกษาเชิงรุกด้วยวิธีการที่หลากหลาย เพื่อให้ได้นักศึกษาที่มีศักยภาพตรงตามสาขาวิชา

1.5) จัดให้มีการปรับพื้นฐานความรู้ทางวิชาการ และคณิตศาสตร์ เพื่อเตรียมความพร้อมให้กับนักศึกษาใหม่

1.6) ส่งเสริมและสนับสนุนการผลิตครูระดับปริญญาตรีและบัณฑิตศึกษา

1.7) จัดกิจกรรมเสริมความรู้ และทักษะ เพื่อเป็นไปตามคุณลักษณะของบัณฑิตที่พึงประสงค์

2. นโยบายด้านงานวิจัย

2.1) ส่งเสริมการพัฒนางานวิจัยและนวัตกรรมที่ดีมีคุณภาพ

2.2) พัฒนาศักยภาพนักวิจัยและนักวิจัยมืออาชีพ

2.3) สนับสนุนและจัดหาแหล่งทุนสนับสนุนการวิจัย

2.4) สร้างเครือข่ายการวิจัยระหว่างกลุ่มวิจัยหรือหน่วยวิจัย (Research Unit) ของคณะกับมหาวิทยาลัย หรือหน่วยงานอื่นในระดับท้องถิ่น ระดับชาติ และนานาชาติ

2.5) ส่งเสริมให้มีการตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานวิจัย ในวารสารที่ได้รับมาตรฐานทางวิชาการ ในระดับชาติและนานาชาติ

2.6) ส่งเสริมพัฒนาวารสารวิชาการด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

2.7) ส่งเสริมให้นักวิจัยทำงานวิจัยระยะสั้นในต่างประเทศ

2.8) ส่งเสริมการวิจัยเพื่อสนองโครงการตามพระราโชบาย

2.9) ยกย่องและเชิดชูเกียรติอาจารย์ และบุคลากรที่มีผลงานวิจัยดีเด่น

3. นโยบายด้านการบริการวิชาการ

3.1) บริการวิชาการตามความต้องการของท้องถิ่น

3.2) สร้างเครือข่ายการให้บริการวิชาการกับหน่วยงานอื่นทั้งภาครัฐและเอกชน

3.3) ส่งเสริมสนับสนุนการบูรณาการงานบริการวิชาการกับการเรียนการสอน และงานวิจัย

3.4) ส่งเสริมสนับสนุนให้อาจารย์ บุคลากร นักศึกษา มีส่วนร่วมในการให้บริการวิชาการแก่ท้องถิ่น

3.5) จัดตั้งศูนย์บริการวิชาการแก่ท้องถิ่น เช่น ศูนย์การแพทย์แผนไทย เป็นต้น

4. นโยบายด้านการพัฒนานักศึกษา

4.1) ส่งเสริมและสนับสนุนการพัฒนานักศึกษา ให้เป็นไปตามคุณลักษณะบัณฑิตที่พึงประสงค์ตามกรอบมาตรฐานคุณวุฒิระดับอุดมศึกษาแห่งชาติ และอัตลักษณ์ของมหาวิทยาลัย

4.2) ส่งเสริมและพัฒนานักศึกษาให้มีเอกลักษณ์ความเป็นวิทยาศาสตร์

4.3) จัดให้มีสิ่งอำนวยความสะดวกที่เอื้อต่อการพัฒนาการเรียนรู้ และทักษะการใช้ชีวิตของนักศึกษา

4.4) ส่งเสริมให้นักศึกษา ศิษย์เก่า และคณะ มีความรักและภาคภูมิใจต่อสถาบันโดยผ่านกิจกรรมนักศึกษา

4.5) ยกย่องและให้ขวัญกำลังใจกับนักศึกษาที่มีผลการเรียนดี กิจกรรมเด่น

4.6) ส่งเสริมสนับสนุนการจัดหาทุนการศึกษาให้นักศึกษาที่เรียนดีแต่ขาดแคลนทุนทรัพย์

5. นโยบายการด้านพัฒนาบุคลากร

5.1) ส่งเสริมสนับสนุนอาจารย์และบุคลากรให้มีตำแหน่งทางวิชาการ และมีความก้าวหน้าทางสายงาน

5.2) ส่งเสริมสนับสนุนให้อาจารย์และบุคลากรศึกษาต่อรวมทั้งฝึกอบรมระยะสั้น และประชุมสัมมนาทั้งระดับชาติและนานาชาติ

5.3) ยกย่องและเชิดชูเกียรติอาจารย์ บุคลากรที่เป็นคนดี มีคุณธรรม และผลงานเด่น

6. นโยบายด้านการบริหารจัดการ

6.1) กำหนดแผนและกลยุทธ์ของคณะ โดยการมีส่วนร่วมของอาจารย์ บุคลากรของคณะและผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

6.2) จัดสรรทรัพยากรสนับสนุนการพัฒนาการเรียนการสอน การวิจัยและการบริการวิชาการและการพัฒนานักศึกษา รวมถึงสนับสนุนให้มีการใช้ทรัพยากรร่วมกันระหว่างหน่วยงานภายในและภายนอก

6.3) นำเทคโนโลยีสารสนเทศมาใช้ในการบริหารจัดการ

6.4) นำระบบการจัดการความรู้มาใช้พัฒนางานและเสริมสร้างบรรยากาศการทำงานในคณะ

6.5) นำระบบบริหารความเสี่ยงมาใช้ในการบริหารจัดการ

6.6) ใช้หลักธรรมาภิบาลในการบริหารจัดการ มุ่งเน้นให้อาจารย์ บุคลากร มีความสุขรักองค์กรและเสริมสร้างขวัญกำลังใจในการทำงาน

6.7) การบริหารจัดการเงินรายได้ของคณะ

7. นโยบายด้านการวิเทศสัมพันธ์และประชาสัมพันธ์

7.1) กำหนดแผนงานประชาสัมพันธ์ภายในและภายนอกมหาวิทยาลัย

7.2) ใช้เทคโนโลยีสารสนเทศเพื่อช่วยการประชาสัมพันธ์

7.3) ประสานความร่วมมือ สร้างความสัมพันธ์อันดี และส่งเสริมกิจการความสัมพันธ์กับต่างประเทศ

8. นโยบายด้านการประกันคุณภาพการศึกษา

8.1) พัฒนาระบบและกลไกการประกันคุณภาพการศึกษาให้มีประสิทธิภาพอย่างต่อเนื่อง

8.2) พัฒนาและสร้างเครือข่ายการประกันคุณภาพการศึกษาระหว่างคณะและสถาบัน

8.3) นำผลประเมินการประกันคุณภาพการศึกษามาเป็นแนวทางในการพัฒนาคณะ

9. นโยบายด้านการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

9.1) ส่งเสริมและสนับสนุนให้อาจารย์ บุคลากร และนักศึกษามีส่วนร่วมในกิจกรรมทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม

9.2) ส่งเสริมให้มีการบูรณาการศิลปวัฒนธรรม ภูมิปัญญาท้องถิ่น กับการวิจัยและการเรียนการสอน

9.3) ส่งเสริมให้อาจารย์ บุคลากร และนักศึกษา อนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

10. นโยบายด้านการเตรียมความพร้อมสู่สากล

10.1) พัฒนาทักษะการใช้ภาษาอังกฤษ ภาษาประเทศสมาชิกอาเซียน เพื่อการสื่อสารของอาจารย์บุคลากรและนักศึกษา

10.2) ส่งเสริมสนับสนุนให้อาจารย์ บุคลากร และนักศึกษา ได้เปิดโลกทัศน์เข้าร่วมกิจกรรมทางวิชาการ การนำเสนอผลงานวิจัยนวัตกรรมแลกเปลี่ยนเรียนรู้ และหาประสบการณ์ในต่างประเทศ

10.3) ส่งเสริมให้มีการแลกเปลี่ยนอาจารย์เพื่อสอน วิจัย และบริการวิชาการ ในสถาบันอุดมศึกษาของประชาคมอาเซียน

สีประจำคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

สีเหลือง คือ สีประจำคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เป็นสีที่แสดงถึงความสว่างรุ่งโรจน์ การประสบความสำเร็จ เป็นสีแห่งความเป็นมงคล ความเจริญรุ่งเรือง

รหัสสี CMYK = 1,12,100,0

สัญลักษณ์คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ในปีการศึกษา 2564 คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีได้จัดให้มีสัญลักษณ์ของคณะ ดังภาพที่ 1.1

ภาพที่ 1.1 สัญลักษณ์คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ต้นไม้ประจำคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

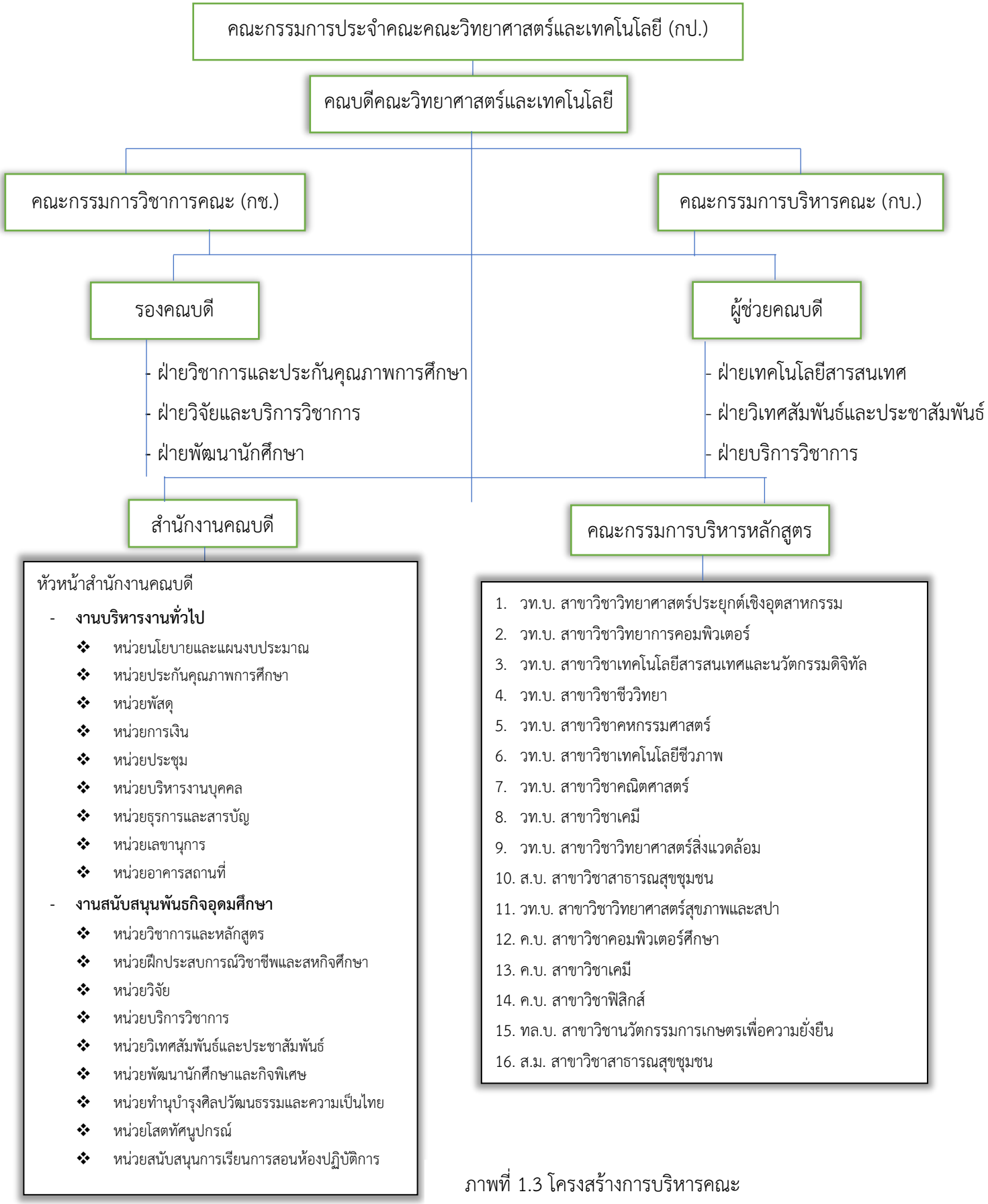
ต้นไม้ประจำคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คือ ใบไม้สีทอง หรือ ต้นดาโอ๊ะ ชื่อวิทยาศาสตร์ *Bauhinia aureifolia* K.&S.S.Larsen เป็นไม้มงคล มีลักษณะเด่นตรงที่มีใบสีทองสวยงาม ดังภาพที่ 1.2

ภาพที่ 1.2 ต้นใบไม้สีทอง

ที่มา : อมรรัตน์ ชูชื่น, 2563

1.3 โครงสร้างการบริหารคณะ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มีการแบ่งส่วนราชการดังนี้ (ภาพที่ 1.3)



ภาพที่ 1.3 โครงสร้างการบริหารคณะ

คณบดีเป็นผู้กำหนดนโยบายคณะ ด้านการบริหารงานมีรองคณบดี และผู้ช่วยคณบดีฝ่ายต่าง ๆ เป็นผู้ช่วย บริหารงานในด้านวิชาการ ด้านงานวิจัย และด้านการพัฒนานักศึกษา โดยคณบดีกำกับดูแล การดำเนินงานเป็นไปตามนโยบายของมหาวิทยาลัย นอกจากนี้ยังมีคณะกรรมการบริหารคณะ (กบ.) คณะกรรมการบริหารวิชาการคณะ (กช.) และคณะกรรมการประจำคณะ (กป.) ที่กำกับการดำเนินงานของคณะให้เป็นไปตามนโยบายและแผนยุทธศาสตร์ของคณะ

1.4 คณะกรรมการบริหารคณะ

ในการบริหารงานของคณะ ประกอบด้วยคณะกรรมการบริหารคณะ (กบ.) คณะกรรมการ บริหารวิชาการคณะ (กช.) และคณะกรรมการประจำคณะ (กป.) โดยมีรายละเอียดดังนี้

1.4.1 คณะกรรมการบริหารคณะ (กบ.)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี	ผศ.ขวัญกมล ขุนพิทักษ์
รองคณบดีฝ่ายวิชาการและประกันคุณภาพการศึกษา	อ.ดร.สายสิริ ไชยชนะ
รองคณบดีฝ่ายวิจัยและบริการวิชาการ	ผศ.ดร.ทวีสิน นาวารัตน์
รองคณบดีฝ่ายพัฒนานักศึกษา	อ.อดิศักดิ์ เด็นเพ็ชรหน่อง
ผู้ช่วยคณบดีฝ่ายเทคโนโลยีสารสนเทศ	อ.ญาณพัฒน์ ชูชื่น
ผู้ช่วยคณบดีฝ่ายวิเทศสัมพันธ์และประชาสัมพันธ์	ผศ.ดร.ภวิกา มหาสวัสดิ์
ผู้ช่วยคณบดีฝ่ายบริการวิชาการ	อ.ดร.ธีรยุทธ์ ศรียาเทพ
ประธานกรรมการบริหารหลักสูตร	
วท.บ. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์เชิงอุตสาหกรรม	อ.ดร.ปุรินทร จันทร์เลิศ
วท.บ. สาขาวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์	อ.ยุพดี อินทสร
วท.บ. สาขาวิชาเทคโนโลยีสารสนเทศและนวัตกรรมดิจิทัล	ผศ.ดินาถ หลำสุบ
วท.บ. สาขาวิชาชีววิทยา	อ.ดร.เบญจวรรณ ยันต์วิเศษภักดี
วท.บ. สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์	ผศ.ดร.สุรีย์พร กังสนันท์
วท.บ. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผศ.ดร.ภวิกา มหาสวัสดิ์
วท.บ. สาขาวิชาคณิตศาสตร์	อ.ดร.ศิรฉัตร ทิพย์ศรี
วท.บ. สาขาวิชาเคมี	ผศ.ดร.วิภาพรรณ คงเย็น
วท.บ. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม	อ.นัดดา โปดำ
ส.บ. สาขาวิชาสาธารณสุขชุมชน	อ.ดร.ภัชชนก รัตนกรปรีดา
วท.บ. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพและสปา	อ.วัชราภรณ์ พัทคัน
ค.บ. สาขาวิชาคอมพิวเตอร์ศึกษา	ผศ.ดร.ทวีรัตน์ นวลช่วย
ค.บ. สาขาวิชาเคมี	ผศ.เชาวนีพร ชีพประสพ
ค.บ. สาขาวิชาฟิสิกส์	ผศ.พิชญ์พิไล ขุนพรรณราย
ทล.บ. สาขาวิชานวัตกรรมการเกษตรเพื่อความยั่งยืน	ผศ.เสาวนิตย์ ชอบบุญ
ส.ม. สาขาวิชาสาธารณสุขชุมชน	ผศ.ดร.คันธมาทน์ กาญจนภูมิ
หัวหน้าสำนักงานคณบดี	นางพิไลพร คงเรือง

1.4.2 คณะกรรมการบริหารวิชาการคณะ (กช.)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี	ผศ.ขวัญกมล ขุนพิทักษ์
รองคณบดีฝ่ายวิชาการและประกันคุณภาพการศึกษา	อ.ดร.สายสิริ ไชยชนะ
ตัวแทนสภาวิชาการคณะ	ผศ.ขวัญกมล ขุนพิทักษ์
ประธานกรรมการบริหารหลักสูตร	
วท.บ. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์เชิงอุตสาหกรรม	อ.ดร.ปุรินทร จันทร์เลิศ
วท.บ. สาขาวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์	อ.ยุพดี อินทสร
วท.บ. สาขาวิชาเทคโนโลยีสารสนเทศและนวัตกรรมดิจิทัล	ผศ.ดินาถ หลำสุบ
วท.บ. สาขาวิชาชีววิทยา	อ.ดร.เบญจวรรณ ยันต์วิเศษภักดี
วท.บ. สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์	ผศ.ดร.สุรีย์พร กังสนันท์
วท.บ. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผศ.ดร.ภวิกา มหาสวัสดิ์
วท.บ. สาขาวิชาคณิตศาสตร์	อ.ดร.ศิรฉัตร ทิพย์ศรี
วท.บ. สาขาวิชาเคมี	ผศ.ดร.วิภาพรรณ คงเย็น
วท.บ. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม	อ.นัดดา โปดำ
ส.บ. สาขาวิชาสาธารณสุขชุมชน	อ.ดร.ภัชชนก รัตนกรปรีดา
วท.บ. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพและสปา	อ.วัชราภรณ์ พัทคัน
ค.บ. สาขาวิชาคอมพิวเตอร์ศึกษา	ผศ.ดร.ทวีรัตน์ นวลช่วย
ค.บ. สาขาวิชาเคมี	ผศ.เชาวนีพร ชีพประสพ
ค.บ. สาขาวิชาฟิสิกส์	ผศ.พิชญ์พิไล ขุนพรรณราย
ทล.บ. สาขาวิชานวัตกรรมการเกษตรเพื่อความยั่งยืน	ผศ.เสาวนิตย์ ชอบบุญ
ส.ม. สาขาวิชาสาธารณสุขชุมชน	ผศ.ดร.คันธมาทน์ กาญจนภูมิ
หัวหน้าสำนักงานคณบดี	นางพิไลพร คงเรือง
หัวหน้างานสนับสนุนพันธกิจอุดมศึกษา	นางอมรรัตน์ ชูชื่น

1.4.3 คณะกรรมการประจำคณะ (กป.)

ผศ.ขวัญกมล ขุนพิทักษ์	คณบดี	ประธานกรรมการ
อ.ดร.สายสิริ ไชยชนะ	รองคณบดี	รองประธานกรรมการ
รศ.ดร.ธวัช ชิตตระการ	ผู้ทรงคุณวุฒิ	กรรมการ
รศ.ประดิษฐ์ มีสุข	ผู้ทรงคุณวุฒิ	กรรมการ
ผศ.คำรณ พิทักษ์	ผู้ทรงคุณวุฒิ	กรรมการ
รศ.ดร.สรรพสิทธิ์ กล่อมเกล้า	ผู้ทรงคุณวุฒิ	กรรมการ
ผศ.ดร.พลพัฒน์ รวมเจริญ	ผู้แทนคณาจารย์	กรรมการ
อ.ดร.สุชีวรรณ ยอยรู้รอบ	ผู้แทนคณาจารย์	กรรมการ
ผศ.ดร.ภวิกา มหาสวัสดิ์	ประธานกรรมการบริหารหลักสูตร	กรรมการ
อ.ดร.ศิรฉัตร ทิพย์ศรี	ประธานกรรมการบริหารหลักสูตร	กรรมการ
นางพิไลพร คงเรือง	หัวหน้าสำนักงานคณบดี	กรรมการและเลขานุการ

1.5 หลักสูตรที่เปิดสอน และจำนวนนักศึกษา

ปีการศึกษา 2565 คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จัดการเรียนการสอน 2 ระดับ รวมทั้งสิ้น 16 หลักสูตร

นักศึกษาภาคปกติ มีนักศึกษาทั้งสิ้น 1,395 คน ประกอบด้วย

- ระดับปริญญาตรี จำนวน 15 หลักสูตร มีนักศึกษา 1,387 คน
- ระดับปริญญาโท จำนวน 1 หลักสูตร มีนักศึกษา 8 คน

นักศึกษาภาค กศ.บป. ประกอบด้วย

- ระดับปริญญาตรี จำนวน 1 หลักสูตร มีนักศึกษา 66 คน

ตารางที่ 1.1 จำนวนนักศึกษาจำแนกตามสาขาวิชาและระดับการศึกษา

หลักสูตร-สาขาวิชา	จำนวนนักศึกษาทั้งหมด	
	ปริญญาตรี	ปริญญาโท
ภาคปกติ		
1) วท.บ. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์เชิงอุตสาหกรรม	21	
2) วท.บ. สาขาวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์	119	
3) วท.บ. สาขาวิชาเทคโนโลยีสารสนเทศและนวัตกรรมดิจิทัล	194	
4) วท.บ. สาขาวิชาชีววิทยา	133	
5) วท.บ. สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์	148	
6) วท.บ. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ	50	
7) วท.บ. สาขาวิชาคณิตศาสตร์	179	
8) วท.บ. สาขาวิชาเคมี	46	
9) วท.บ. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม	65	
10) ส.บ. สาขาวิชาสาธารณสุขชุมชน	272	
11) วท.บ. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพและสปา	19	
12) ค.บ. สาขาวิชาคอมพิวเตอร์ศึกษา	58	
13) ค.บ. สาขาวิชาเคมี	34	
14) ค.บ. สาขาวิชาฟิสิกส์	37	
15) ทล.บ. สาขาวิชานวัตกรรมการเกษตรเพื่อความยั่งยืน	12	
16) ส.ม. สาขาวิชาสาธารณสุขชุมชน		8
รวม	**1,387**	**8**
รวมทั้งสิ้น	**1,395**	
ภาค กศ.บป.		
ส.บ. สาขาวิชาสาธารณสุขชุมชน	66	
รวมทั้งสิ้น	**66**	

ที่มา: สำนักส่งเสริมวิชาการและงานทะเบียน (20 สิงหาคม 2565)

1.6 จำนวนบุคลากร

ปีการศึกษา 2565 คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มีบุคลากรทั้งหมดจำนวน 116 คน แบ่งเป็นสายวิชาการ จำนวน 98 คน สายสนับสนุน จำนวน 18 คน (ตารางที่ 1.2 และตารางที่ 1.3)

ตารางที่ 1.2 จำนวนอาจารย์ประจำทั้งหมดที่ปฏิบัติงานจริงและลาศึกษาต่อ ปีการศึกษา 2565

ตำแหน่งทางวิชาการ	คุณวุฒิ			รวม	ปฏิบัติงานจริง	ลาศึกษาต่อ
	ปริญญาตรี	ปริญญาโท	ปริญญาเอก			
อาจารย์	1	39	25	65	62	3
ผู้ช่วยศาสตราจารย์		18	14	32	29	3
รองศาสตราจารย์			1	1	1	
รวม (คน)	**1**	**57**	**40**	**98**	**92**	**6**

ที่มา: งานการเจ้าหน้าที่ (20 สิงหาคม 2565)

ตารางที่ 1.3 จำนวนบุคลากรสายสนับสนุนทั้งหมด ประจำปีการศึกษา 2565

ประเภท	จำนวน (คน)
ข้าราชการ	1
พนักงานราชการ	2
พนักงานมหาวิทยาลัย	9
พนักงานประจำตามสัญญา	6
รวม	**18**

ที่มา: งานบุคลากร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (20 สิงหาคม 2565)

1.7 อาคารสถานที่

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มีอาคารที่ใช้ในการจัดการเรียนการสอน 6 อาคาร (ตารางที่ 1.4)

ตารางที่ 1.4 อาคารสถานที่ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

หมายเลขอาคาร	ชื่ออาคาร
1	อาคารเรียน
8	อาคารเรียน
10	อาคารเรียน
35	อาคารปฏิบัติการเทคโนโลยียางและพอลิเมอร์
64	อาคารปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ
72	อาคารปฏิบัติการคหกรรมศาสตร์
73	อาคารเรียนรวมและปฏิบัติการ

ที่มา: ฝ่ายอาคารและสถานที่ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา (20 สิงหาคม 2565)

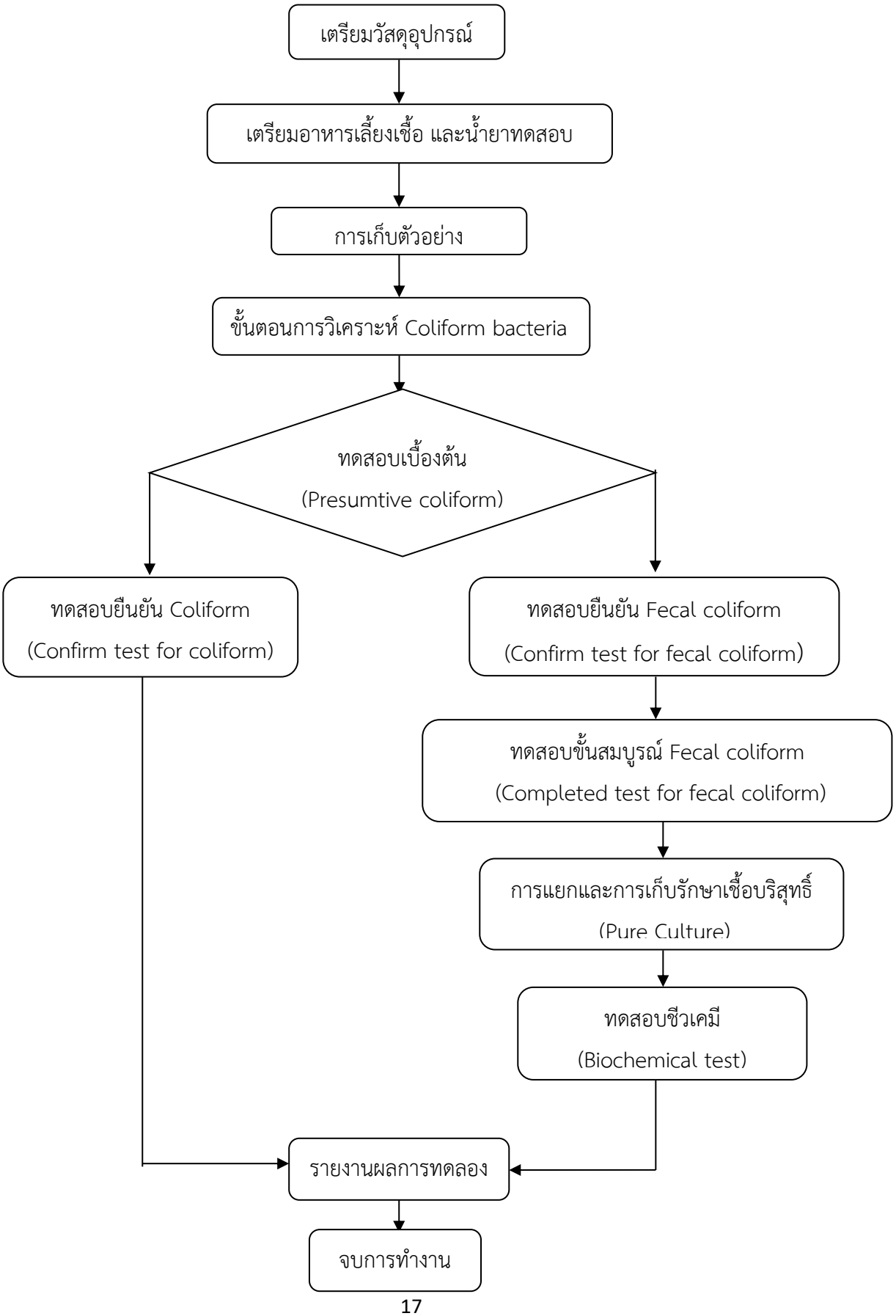
บทที่ 2 ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

การตรวจวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* ในอาหาร เป็นบทปฏิบัติการหนึ่งในรายวิชาจุลชีววิทยา เป็นการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร เช่น อาหารแช่แข็ง อาหารสด อาหารสำเร็จรูป เป็นต้น จุลินทรีย์ทีมักตรวจพบปนเปื้อนในอาหารมี 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่เป็นดัชนีชี้วัดสุขลักษณะในการผลิต เช่น โคลิฟอร์มแบคทีเรีย ยีสต์และรา และกลุ่มที่เป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค เช่น Salmonella ซึ่งจุลินทรีย์ทั้ง 2 กลุ่มมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์และสุขภาพอนามัยของผู้บริโภค (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2556) *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียในสกุล *Enterobacteriaceae* ติดสีแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่งตรง ดำรงชีวิตแบบ Facultative anaerobe และเป็นเชื้อประจำถิ่น (Normal flora) ที่อยู่บริเวณลำไส้คนและเป็นสัตว์เลือดอุ่น (นงลักษณ์ พิสุทธิลาภ และนิตยา แสงเศวตมณีงาม, 2544) แบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดอาการท้องเสียบ่อยที่สุด เชื้อมักจะปนเปื้อนมากับอาหาร น้ำ หรือมือของผู้ประกอบการ (จิราพร มูลชาติ และเนตรนภา เกล็ดจีน, 2562) การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาเป็นขั้นตอนสำคัญในการประเมินคุณภาพของน้ำและอาหาร รวมทั้งใช้บ่งชี้ความสะอาดและสุขอนามัยของผู้ผลิต ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค การตรวจหาจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหารเป็นพิษโดยตรงทำได้ยากเพราะมักพบเชื้อปนเปื้อนปริมาณน้อย อีกทั้งวิธีการตรวจสอบมีความยุ่งยากและใช้ระยะเวลานาน วิธีมาตรฐานที่นิยมใช้ในการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของน้ำและอาหาร จึงเป็นการตรวจหาแบคทีเรียบ่งชี้ (biological indicators) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์มทั้งหมด (total coliforms) และ *Escherichia coli* โดยใช้เทคนิค multiple tube fermentation หรือ เทคนิค most probable number (MPN) ซึ่งเป็นวิธีการประมาณจำนวนเชื้อในตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์ โดยใช้หลักการทางสถิติ ซึ่งตรวจสอบผลจากการเจริญของเชื้อและความสามารถในการหมักน้ำตาลแล็กโทสแล้วให้กรดกับแก๊สในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบหลายหลอด (ชนนิกานต์ ทองพรม, 2559)

จุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ (indicator) คุณภาพอาหารจึงใช้จุลินทรีย์ (coliform bacteria) เป็นดัชนีบ่งบอกถึงการปนเปื้อนจากอุจจาระ จุลินทรีย์ดัชนีกลุ่ม Enterobacteriaceae เช่น coliform และ fecal coliform เป็นพวกที่มีแหล่งอาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ ซึ่งเชื้อโรคเหล่านี้สามารถถูกขับถ่ายออกจากร่างกายคน และสัตว์ลงสู่แหล่งน้ำโดยทางอุจจาระ หากพบเชื้อกลุ่มนี้ในอาหารแสดงว่าวัตถุดิบที่นำมาผลิตอาหารนี้มีการปนเปื้อนโดยอุจจาระของคนและสัตว์ การตรวจหา Coliform bacteria และ *Escherichia coli* ต้องทำหลายขั้นตอนเป็นเพราะว่าหากวิเคราะห์แค่ขั้นตอนเดียวยังไม่สามารถยืนยันได้ เนื่องจากเชื้อบางตัวที่ไม่ใช่กลุ่มนี้ก็สามารถย่อยสลายน้ำตาล lactose ได้เหมือนกัน ดังนั้นควรจะต้องมีขั้นการวิเคราะห์ทั้ง 3 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนการยืนยัน การตรวจขั้นสมบูรณ์และตรวจสอบทางชีวเคมี

เมื่อมีการปฏิบัติการ เรื่อง การตรวจวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* ในอาหาร จะต้องมีการวางแผนการปฏิบัติการล่วงหน้าเนื่องจากวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ต้องผ่านการฆ่าเชื้อทั้งหมดไม่ให้มีการปนเปื้อนในกระบวนการตั้งแต่เริ่มเก็บตัวอย่าง จนถึงขั้นการอ่านผลการทดลอง เนื่องจากโอกาสที่มีการปนเปื้อนในระหว่างการปฏิบัติการทุกกระบวนการสูงมาก ผู้ปฏิบัติงานจึงมีความจำเป็นต้องใช้วิธีการ Aseptic technique เข้ามาเกี่ยวข้องในการตรวจวิเคราะห์จึงจะทำให้มั่นใจว่าผลการวิเคราะห์ที่ได้มีความแม่นยำมากขึ้น เมื่อทำการวิเคราะห์ทุกขั้นตอนแล้วเสร็จจะต้องมีการสรุปผลการทดลอง เพื่อเป็นตัวชี้วัดความสำเร็จของงาน และสามารถนำมาพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ต่อไปให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ซึ่งในการตรวจวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* ในอาหาร มีขั้นตอนการดำเนินงาน ดังแผนภาพต่อไปนี้

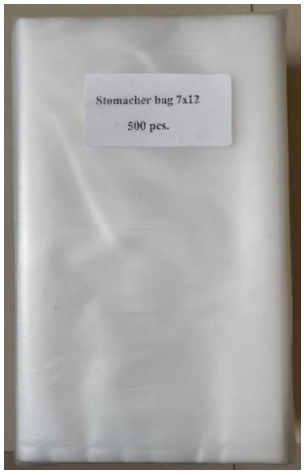
แผนภูมิขั้นตอนการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* ในอาหาร



ขั้นตอนที่ 1 เตรียมวัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือ

1.1 รับงานจากหัวหน้าหรือผู้บังคับบัญชา หรือหนังสือขอความอนุเคราะห์ในการจัดเตรียมการเรียนการสอนในบทปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาให้เริ่มวางแผนการปฏิบัติการโดยเตรียมวัสดุอุปกรณ์ดังต่อไปนี้

1.1.1 เตรียมถุงเก็บตัวอย่างอาหาร ถุงสำหรับเก็บตัวอย่างอาหารในการตรวจวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* ของห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาใช้ถุงที่ปราศจากเชื้อ และหนาทนต่อการตีป่นอาหารโดยไม่ฉีกขาด ดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 ถุงเก็บตัวอย่างอาหารสำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

1.1.2 เตรียมจานเพาะเชื้อ จานเพาะเชื้อสำหรับการตรวจวิเคราะห์ Coliform Bacteria และ *Escherichia coli* ของห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา จะต้องเป็นจานแก้วที่ปราศจากเชื้อ โดยการนำจานเพาะเชื้อบรรจุลงในกระบอก stainless steel แล้วอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ดังภาพที่ 2.2

ภาพที่ 2.2 จานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ

1.1.3 เตรียมปิเปต ปิเปตที่ใช้ในการวิเคราะห์วิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* ใช้จำนวน 2 ปริมาตร คือ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กับปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะต้องเป็นปิเปตที่ปราศจากเชื้อ โดยการนำปิเปตแต่ละปริมาตรที่ต้องใช้บรรจุในกระบอก stainless steel แล้วอบรมร้อนที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ดังภาพที่ 2.3

ภาพที่ 2.3 ปิเปตที่ปราศจากเชื้อ

1.1.4 เตรียมวัสดุที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* จะต้องเตรียมให้พร้อมและต้องเตรียมไว้ให้ครบเนื่องจากในขณะวิเคราะห์ไม่ควรเดินไปเดินมา อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนในตัวอย่างได้ ดังนั้นต้องมีการวางแผนการเตรียมวัสดุที่ใช้ให้พร้อม ประกอบด้วย ตะเกียงแอลกอฮอล์ จุกยาง ตะแกรงวางหลอดทดลอง กระบอกฉีดแอลกอฮอล์ ผ้าเช็ดมือ ไม้ขีดไฟ ดังภาพที่ 2.4

ภาพที่ 2.4 วัสดุที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli*

1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* จะต้องเป็นเครื่องมือที่ผ่านการตรวจสอบ (Calibrate) ว่าใช้งานได้และเที่ยงตรง มีดังต่อไปนี้

1.2.1 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Auto clave) เป็นเครื่องมือใช้สำหรับ sterile อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการวิเคราะห์ อุปกรณ์บางชนิดที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* อุปกรณ์ที่นำมา sterile ต้องมีฝาปิดสนิท หากอุปกรณ์ที่ไม่มีฝาปิดสนิทให้บรรจุใส่ถุงร้อนผูกด้วยยางแล้วนำไป sterile ได้ โดยเครื่องนี้เป็นเครื่องที่ฆ่าเชื้อโดยการนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ดังภาพที่ 2.5

ภาพที่ 2.5 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ

1.2.2 ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow) เป็นเครื่องมือใช้สำหรับการวิเคราะห์ที่เกี่ยวกับเชื้อจุลินทรีย์ เป็นเครื่องที่ป้องกันไม่ให้เกิดการฟุ้งกระจายของเชื้อจุลินทรีย์ออกสู่สิ่งแวดล้อม และป้องกันไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อมปนเปื้อนตัวอย่างที่วิเคราะห์ หลักการของเครื่องมือนี้เป็นการหมุนเวียนของอากาศไม่ให้อากาศไหลย้อนกลับ ดังภาพที่ 2.6

ภาพที่ 2.6 ตู้ปลอดเชื้อ

1.2.3 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* เป็นตู้ที่ใช้บ่มเพาะเชื้อที่ควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ Coliform Bacteria และ *Escherichia coli* อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเพาะเชื้อขั้น Presumtive อยู่ที่อุณหภูมิ 35$\pm$1 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 2.7

ภาพที่ 2.7 ตู้บ่มเชื้อ

1.2.4 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* เป็นอ่างน้ำสำหรับบ่มเชื้อที่ควบคุมอุณหภูมิเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อกลุ่มนี้ และอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเพาะเชื้อขั้น Confirmed test หา Fecal coliform อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่ม 44.5±0.5 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 2.8

ภาพที่ 2.8 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

1.2.5 ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการ Sterile วัสดุที่ใช้ในการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* วัสดุที่ใช้อบกับเครื่องนี้ ได้แก่ จานเพาะเชื้อ ปิเปต โดยใช้ความร้อนแบบลมร้อนที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวัสดุที่นำมาอบลมร้อนนั้นต้องใส่ในภาชนะที่ทนความร้อนมักใช้ กระบอก stainless steel ดังภาพที่ 2.9

ภาพที่ 2.9 ตู้อบลมร้อน

1.2.6 ตู้แช่แข็งอุณหภูมิต่ำ (Refrigerator) เป็นตู้ใช้สำหรับเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์หลังจากการคัดแยกให้บริสุทธิ์แล้ว เก็บเชื้อไว้เป็น Stock และเก็บไว้ได้เป็นเวลานาน และไม่กลายพันธุ์ ดังภาพที่ 2.10

ภาพที่ 2.10 ตู้แช่แข็งอุณหภูมิต่ำ (-80 ˚C)

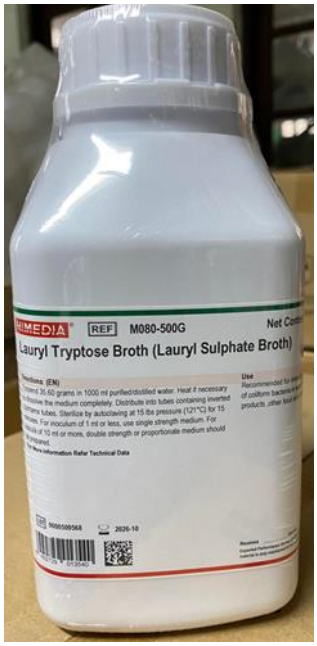
1.2.7 เครื่องตีปั่น (stomacher) เป็นเครื่องที่ใช้สำหรับตี่ป่นตัวอย่างอาหารให้เป็นเนื้อเดียวกัน ก่อนจะนำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* โดยใช้กับถุงเก็บตัวอย่างอาหาร ดังภาพที่ 2.11

ภาพที่ 2.11 เครื่องตีป่นอาหาร

ขั้นตอนที่ 2 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และน้ำยาทดสอบ

2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ (Culture medium) คือ อาหารที่มีส่วนประกอบของสารอาหารที่เอื้ออำนวยให้จุลินทรีย์เจริญและสามารถเพิ่มจำนวน โดยจุลินทรีย์ต่างชนิดกันมีความต้องการสารอาหารที่แตกต่างกัน ดังนั้นการเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อจึงต่างกันไปตามความต้องการของจุลินทรีย์ เช่น อาหารเหลว อาหารแข็ง และอาหารกึ่งแข็ง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* มีอยู่ด้วยกันดังต่อไปนี้

2.1.1 Lauryl tryptose broth



ภาพที่ 2.12 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 2.13 Brilliant green lactose bile broth

- สูตรอาหาร

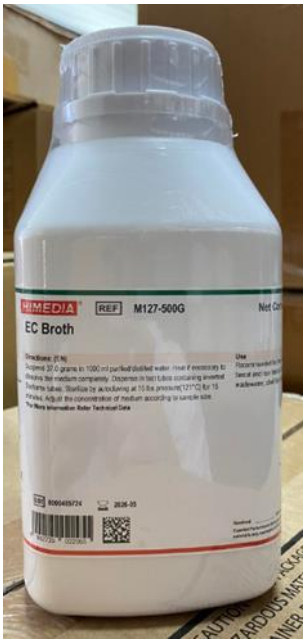
Peptone	10.0	กรัม
Lactose	10.0	กรัม
Oxgall	20.0	กรัม
Brilliant green	0.0133	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

- วิธีการเตรียม

ตวงน้ำกลั่นมา 1,000 มิลลิลิตรใส่บิกเกอร์ หลังจากนั้นชั่งสารทุกตัวผสมลงในบิกเกอร์ แล้วกวนให้เข้ากันดูจากความใสของอาหาร ปรับพีเอชให้ได้ 7.2 กรณีใช้อาหารสำเร็จรูปให้ชั่งตามฉลากบอกข้างขวด แล้วดูดใส่หลอดตามต้องการ ก่อนการนึ่งฆ่าเชื้อบรรจุหลอดดักแก๊สลงในหลอดอาหารใน

ลักษณะคว่ำหลอดแล้วจึงนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2.1.3 EC broth



ภาพที่ 2.14 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 2.15 Eosin methylene blue agar

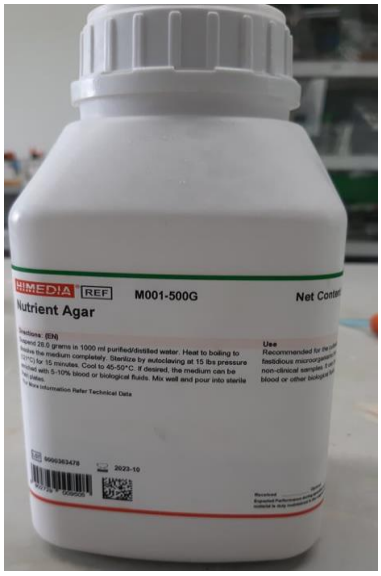
- สูตรอาหาร

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 2.16 Nutrient agar

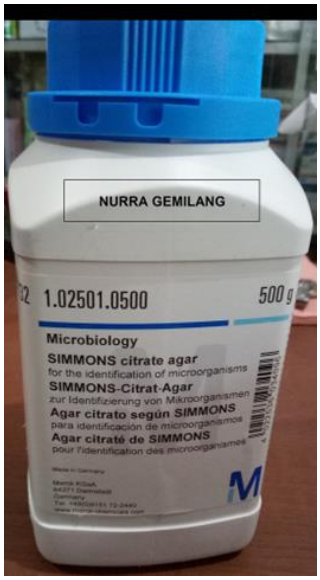
- สูตรอาหาร

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 แล้วกวนให้เข้ากันนำไปใส่ในภาชนะสำหรับนำไปฆ่าเชื้อ กรณีใช้อาหารสำเร็จรูปให้ชั่งตามฉลากบอกข้างขวด แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2.1.6 Simmons Citrate agar



ภาพที่ 2.17 Simmons Citrate agar

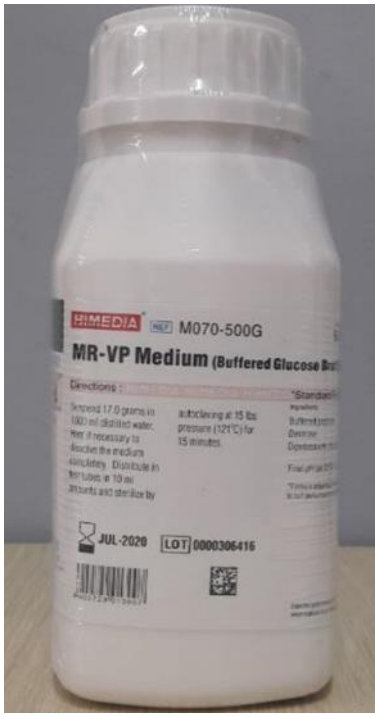
- สูตรอาหาร

$(NH_4)H_2PO_4$	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



ภาพที่ 2.18 MR-VP broth

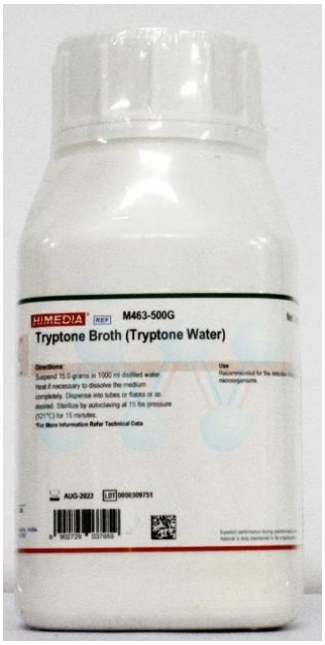
- สูตรอาหาร

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



ภาพที่ 2.19 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

ภาพที่ 2.20 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

ภาพที่ 2.21 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

ภาพที่ 2.22 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

ขั้นตอนที่ 3 การเก็บตัวอย่างอาหาร

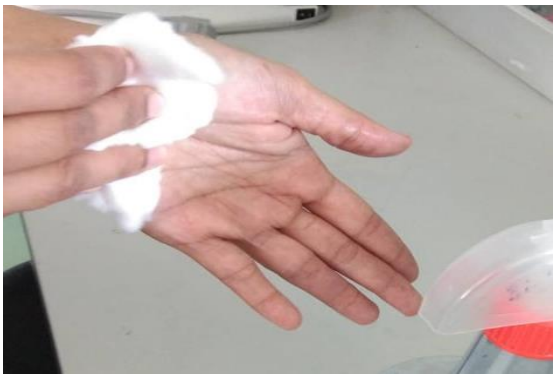
การเก็บตัวอย่างอาหารมีความสำคัญต่อผลการวิเคราะห์มาก หากการเก็บตัวอย่างอาหารไม่ถูกต้องจะทำให้ผลการวิเคราะห์ที่ได้ไม่ถูกต้องไปด้วย การเก็บตัวอย่างอาหารควรมีการวางแผนในการเก็บ และการเก็บตัวอย่างอาหารเพื่อนำมาวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* จะต้องดำเนินการด้วยความรอบคอบและระมัดระวัง และรวดเร็ว

3.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างอาหาร ต้องผ่านการฆ่าเชื้อทุกชิ้น ได้แก่ ช้อน (stainless steel) สำหรับตักตัวอย่าง กรรไกร (stainless steel) สำหรับตัดสิ่งที่ห่อหุ้มตัวอย่าง ปากคีบ (stainless steel) และถุงเก็บตัวอย่าง ดังภาพที่ 2.23

ภาพที่ 2.23 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างอาหาร

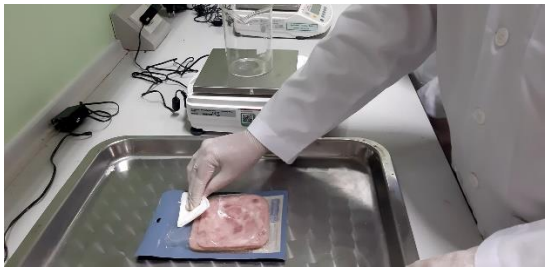
3.2 วิธีเก็บตัวอย่างอาหาร ในการเก็บตัวอย่างอาหารสำหรับการวิเคราะห์ Coliform Bacteria และ *Escherichia coli* สามารถทำเป็นขั้นตอนได้ดังต่อไปนี้

1. เช็ดมือให้สะอาด ด้วยสำลีชุบแอลกอฮอล์ 70%



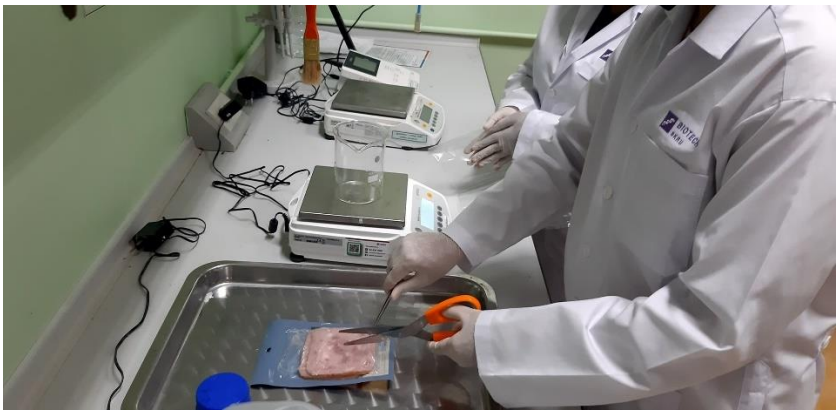
ภาพที่ 2.24 วิธีการเช็ดมือด้วย แอลกอฮอล์ 70%

2. ใช้ alcohol 70 % ฉีดให้ทั่วบริเวณที่เก็บตัวอย่าง



ภาพที่ 2.25 การฆ่าเชื้อบริเวณที่เก็บตัวอย่าง

3. ใช้กรรไกร หรือมีด ชนิด stainless steel เลือกใช้ให้เหมาะสมกับสิ่งห่อหุ้มตัวอย่าง ทำการฆ่าเชื้อด้วยการจุ่ม alcohol 95% แล้วเผาไฟกับตะเกียง alcohol เมื่อฆ่าเชื้อแล้วให้ตัดหรือกรีดสิ่งห่อหุ้มตัวอย่างให้กว้างขึ้น

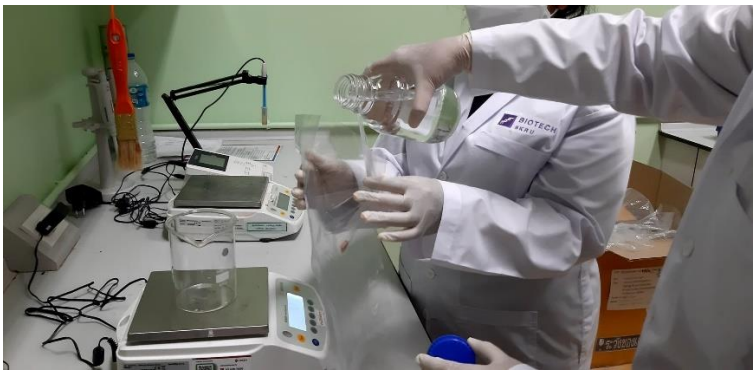


ภาพที่ 2.26 การเปิดปากถุงหรือสิ่งห่อหุ้มตัวอย่าง

3. ใช้ช้อนที่ปราศจากเชื้อตักตัวอย่าง จำนวน 10 จุด ปริมาณ 25 กรัม หรือ 50 กรัม ขึ้นอยู่กับวิธีวิเคราะห์ ใส่ลงในถุงที่ปราศจากเชื้อสำหรับเครื่องตีปั่นอาหาร (stomacher)

ภาพที่ 2.27 การสุ่มตักตัวอย่าง

4. เติมสารละลาย 0.1 % peptone water buffer หรือ Butterfield’s phosphate buffer หรือ 0.85% NaCl ปริมาตร 225 มิลลิลิตร หรือ 450 มิลลิลิตร ขึ้นอยู่กับวิธีวิเคราะห์



ภาพที่ 2.28 การเติมสารละลาย

5. เมื่อเติมสารลายแล้วนำไปตีปั่นด้วยเครื่อง Stomacher ที่ ความเร็ว 260 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที (รัตนา เตียงทิพ์ และคณะ, 2021) จะได้ตัวอย่างอาหารที่ระดับความเจือจาง 10 เท่า

ภาพที่ 2.29 การตีปั่นตัวอย่างอาหาร

6. ฉลากบันทึกรายละเอียดของตัวอย่างอาหาร ลงในฉลากบันทึกรายละเอียดของตัวอย่างอาหาร

ตัวอย่างอาหาร

ประเภทอาหาร.....

สถานที่เก็บ.....

วันที่เก็บ.....เวลา.....

ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง.....

การรักษาคุณภาพตัวอย่าง.....

หมายเหตุ.....

ภาพที่ 2.30 การบันทึกรายละเอียดของตัวอย่าง

ขั้นตอนที่ 4 ขั้นวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli*

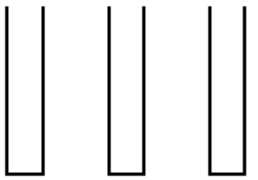
การวิเคราะห์ Coliform bacteria และ *Escherichia coli* แบ่งออกเป็นได้ 3 ขั้นตอนดังนี้

4.1 ขั้นตรวจสอบเบื้องต้น (Presumtive coliform test)

การทดสอบขั้นนี้เป็นการตรวจ screen เบื้องต้น เพื่อจะแยก Coliform bacteria และ *Escherichia coli* ออกจากแบคทีเรียชนิดอื่น โดยวิธี Most Probable Number ในการทดสอบในครั้งนี้ใช้ระบบเลี้ยงเชื้อแบบ 3 หลอด กับอนุกรม 3 การเจือจาง คือจำนวนของตัวอย่างที่ต่างกันคือ 10^{-1},10^{-2},10^{-3} โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

4.1.1 เมื่อเก็บตัวอย่างตามขั้นตอนที่ 3 แล้วทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นตามที่ต้องการ คือ 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} ด้วยสารละลาย 0.1 % peptone water buffer หรือ Butterfield's phosphate buffer หรือ 0.85% NaCl

4.1.2 ปิเปตตัวอย่างในแต่ละระดับความเจือจาง 1 มิลลิลิตร ลงในอาหาร Lauryl tryptose broth (LST) ที่บรรจุหลอดดักแก๊ส ความเจือจางละ 3 หลอด รวม 9 หลอด ดังภาพที่ 2.31



แถวที่ 1 ความเข้มข้น 10^{-1} Lauryl tryptose broth (LST)

แถวที่ 2 ความเข้มข้น 10^{-2} Lauryl tryptose broth (LST)

แถวที่ 3 ความเข้มข้น 10^{-3} Lauryl tryptose broth (LST)

ภาพที่ 2.31 การจัดเรียงหลอดอาหาร

4.1.3 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35$\pm$1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24$\pm$2 ชั่วโมง หากยังไม่เกิดแก๊สให้บ่มต่อจนครบ 48$\pm$2 ชั่วโมง แล้วอ่านผลการทดลอง ดังภาพที่ 2.32

ภาพที่ 232 การบ่มเพาะเชื้อ

4.1.4 อ่านผลเมื่อครบเวลา 24±2 ชั่วโมงหรือ 48±2 ชั่วโมง โดยสังเกตจากความขุ่นและแก๊สที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอด หลอดที่เกิดแก๊สดูจากการแทนที่ของอากาศในหลอดดอร์แลม หรือมีฟองเล็กในอาหารเมื่อมีการเขย่าเล็กน้อย แสดงว่าหลอดนั้นให้ผลเป็นบวก ถ้าหลอดใดไม่เกิดแก๊สและไม่มีฟองเมื่อเขย่า แสดงว่าหลอดนั้นให้ผลเป็นลบ ให้นำกลับไปบ่มเพาะเชื้อต่ออีก 24 ชั่วโมง และอ่านผลเหมือนเดิม ดังภาพที่ 2.33

(+) (-)

ภาพที่ 2.33 หลอดที่แสดงผลเป็นบวก และแสดงผลเป็นลบ

4.2 การตรวจสอบขั้นยืนยัน (Confirm test)

จากการเกิดแก๊สในการทดสอบขั้นแรกเรายังไม่สามารถชี้ชัดได้ว่าแบคทีเรียที่อยู่ในตัวอย่างน้ำเป็น Coliform bacteria และ *Escherichia coli* ดังนั้นจึงต้องมีการทดสอบเพื่อยืนยันโดยการถ่ายเชื้อจากหลอดที่ให้ผลเป็นบวกลงในอาหาร Brilliant green lactose bile broth (BGLB) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35±1 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 (BGLB) ที่เตรียมไว้เท่ากับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในขั้นตรวจสอบเบื้องต้น และเรียงให้ตรงกับหลอด Lauryl tryptose broth ที่ให้ผลบวก ดังภาพที่ 2.34

Lauryl tryptose broth (+) Brilliant green lactose bile broth

ภาพที่ 2.34 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 2.35

ภาพที่ 2.35 การเขี่ยเชื้อแบบหลอดต่อหลอด

4.2.1.3 เข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35±1 องศาเซลเซียส 24±2 ชั่วโมง ถึง 48±2 ชั่วโมง

4.2.1.4 อ่านผลครั้งแรกเมื่อครบเวลา 24±2 ชั่วโมง โดยสังเกตจากความขุ่นและแก๊สที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอด ถ้าหลอดใดเกิดแก๊สจะดูได้จากการแทนที่ของอากาศในหลอดดอร์แลม หรือเกิดฟองเมื่อเขย่าหลอดเล็กน้อย แสดงว่าหลอดนั้นให้ผลเป็นบวก ถ้าหลอดใดไม่เกิดแก๊ส แสดงว่าหลอดนั้นให้ผลเป็นลบ ให้นำกลับไปบ่มเพาะเชื้อต่อให้ครบ 48±2 ชั่วโมง และอ่านผล เช่นเดียวกัน

4.2.1.5 นำค่าจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในแต่ละเจือจางไปเปิดเทียบตาราง MPN ค่าที่ได้จะเป็นค่า Coliform bacteria ทั้งหมด

4.2.2 การทดสอบหา Fecal coliform, *Escherichia coli*

4.2.2.1 นำอาหารเลี้ยงเชื้อ EC medium ที่เตรียมไว้เท่ากับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในขั้นตรวจสอบเบื้องต้น และเรียงให้ตรงกับหลอด Lauryl tryptose broth ที่ให้ผลบวก ดังภาพที่ 2.36

Lauryl tryptose broth (+) EC medium

ภาพที่ 2.36 การจัดหลอด EC medium

4.2.2.2 เขย่าหลอด Lauryl tryptose broth ที่ให้ผลบวก และใช้ Loop เขี่ยเชื้อใส่ในอาหาร EC medium หลอดต่อหลอดโดยวิธี Aseptic technique ดังภาพที่ 2.37

ภาพที่ 2.37 การเขี่ยเชื้อแบบหลอดต่อหลอด

4.2.2.3 เข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 44.5±0.2 องศาเซลเซียส โดยใช้ Water bath 24±2 ชั่วโมง ถึง 48±2 ชั่วโมง

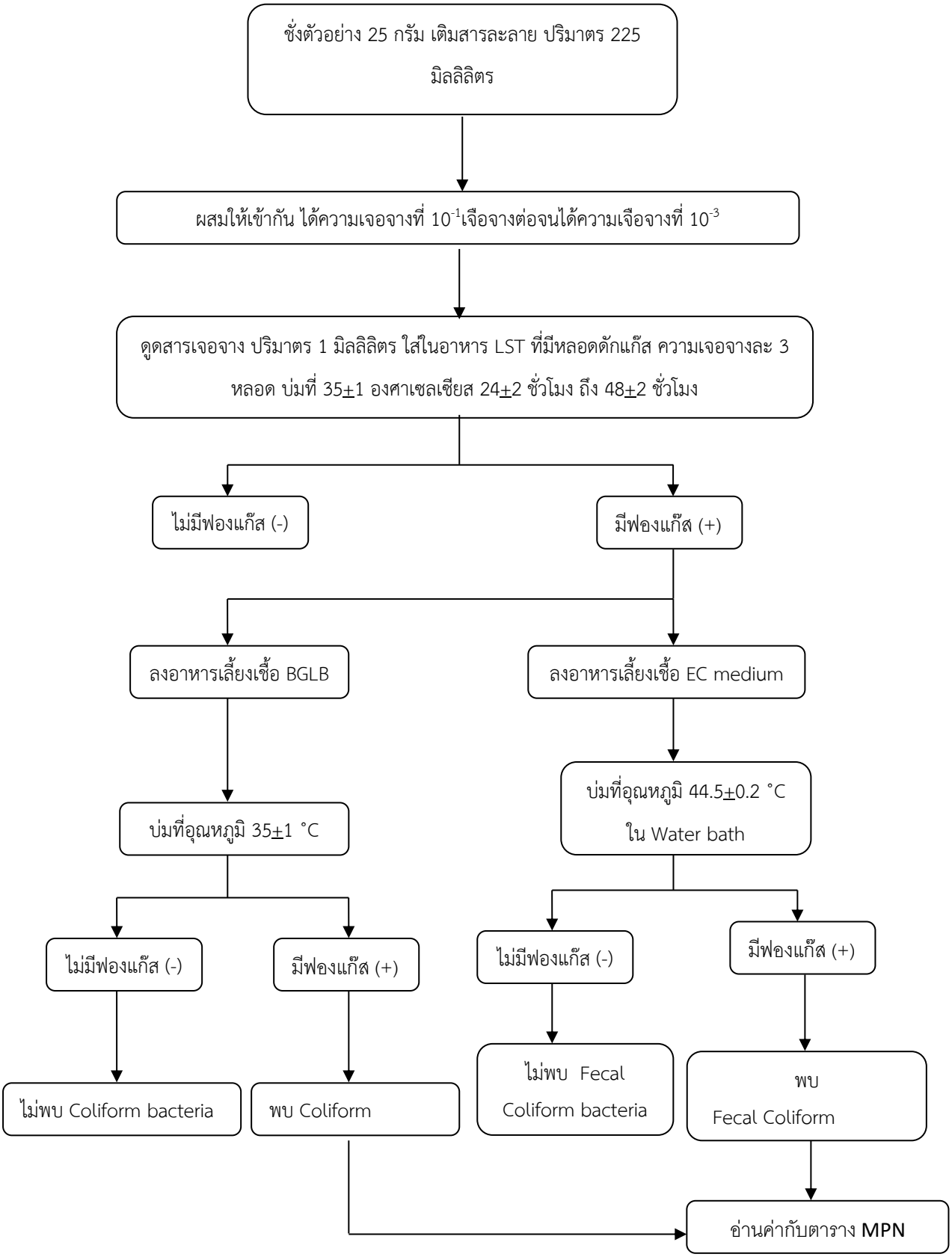
4.2.2.4 อ่านผลครั้งแรกเมื่อครบเวลา 24±2 ชั่วโมง โดยสังเกตจากความขุ่นและแก๊สที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอด ถ้าหลอดใดเกิดแก๊สจะดูได้จากการแทนที่ของอากาศในหลอดดอร์แลม หรือเกิดฟองเมื่อเขย่าหลอดเล็กน้อย แสดงว่าหลอดนั้นให้ผลเป็นบวก ถ้าหลอดใดไม่เกิดแก๊ส แสดงว่าหลอดนั้นให้ผลเป็นลบ ให้นำกลับไปบ่มเพาะเชื้อต่อให้ครบ 48±2 ชั่วโมง และอ่านผล เช่นเดียวกัน

4.2.2.5 นำค่าจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในแต่ละเจือจางไปเปิดเทียบตาราง MPN ค่าที่ได้จะเป็นค่า Fecal coliform, *Escherichia coli* ดังภาพที่ 2.38

Pos. Tubes				Conf. lim.		Pos. tubes				Conf. lim.	
0.10	0.01	0.001	MPN/g	Low	High	0.10	0.01	0.001	MPN/g	Low	High
0	0	0	<>	–	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	–

ภาพที่ 2.38 ตารางอ่านค่า MPN

ที่มา : bacteriological analytical manual (blodgett,2020)



ภาพที่ 2.39 ขั้นตอนการทดสอบ Coliform bacteria และ Fecal coliform

4.3 การตรวจสอบขั้นสมบูรณ์ (Completed test)

นำเชื้อจากหลอดที่เกิดฟองอากาศในขั้นยืนยันมาเขี่ยลงบนอาหาร Eosin Methylene Blue agar (EMB agar) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35$\pm$1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24$\pm$2 ชั่วโมง หากมีการเจริญเติบโตเป็นโคโลนี ที่มีลักษณะสีเขียวคล้ำ มันวาว ซึ่งเชื้อกลุ่ม Coliform bacteria และ *Escherichia coli* เท่านั้นที่สามารถเจริญได้ เนื่องจากเป็นอาหารเฉพาะ (Selective media) ดังภาพที่ 2.40

Control *Escherichia coli*

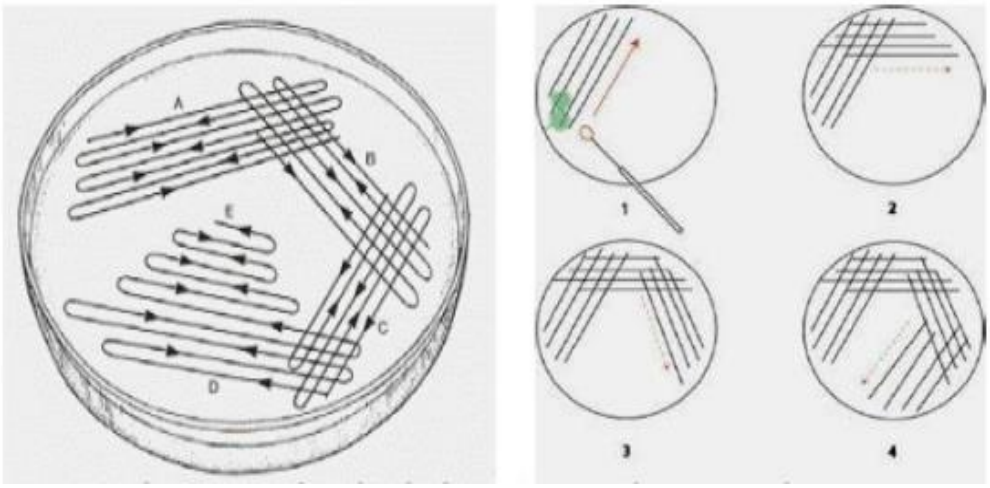
ภาพที่ 2.40 เชื้อ *Escherichia coli* เจริญ บนอาหาร EMB agar

ขั้นตอนที่ 5 การแยกและเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ (Pure culture)

การที่จะจำแนกชนิดของแบคทีเรีย ไม่ว่าจะระดับใด จะต้องมั่นใจว่าแบคทีเรียชนิดนั้นเป็นเชื้อบริสุทธิ์ หรือเป็นเชื้อชนิดเดียวเท่านั้น ไม่มีการปนเปื้อน (Contaminate) ของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น

5.1 การแยกเชื้อบริสุทธิ์

เขี่ยเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากอาหาร EMB เลือกโคโลนีที่มีแนวโน้มว่าจะเป็นเชื้อ *Escherichia coli* คือ โคโลนีมีสีเขียวเข้ม มันวาว จำนวน 3 โคโลนี นำแต่ละโคโลนีมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยวิธีการ streak plate ด้วยเทคนิค cross streak ดังภาพที่ 2.41 ลงบนอาหาร nutrient agar plate แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±1 องศาเซลเซียส 24±2 ชั่วโมง

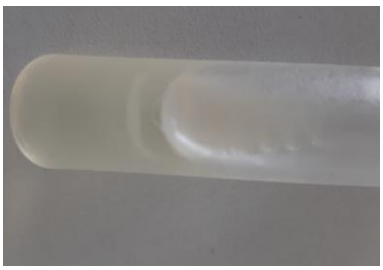


ภาพที่ 2.41 การแยกเชื้อด้วยเทคนิค cross streak

ภาพที่ 2.42 ตัวอย่างการเขี่ยเชื้อ

5.2 การเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

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



Nutrient agar slant

Nutrient broth

ภาพที่ 2.43 การเก็บเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ขั้นตอนที่ 6 ทดสอบชีวเคมี (Biochemical test)

เมื่อได้เชื้อจากอาหาร EMB ในการตรวจขั้นสมบูรณ์ (Completed test) นำมาทำให้เชื้อบริสุทธิ์แล้วขั้นตอนสุดท้ายเป็นการนำเชื้อที่บริสุทธิ์มาทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีเพื่อบ่งบอกว่าเป็นเชื้อ *Escherichia coli* โดยการทดสอบปฏิกิริยา IMViC (indole, methyl red, Voges-Proskauer, citrate test) เชื้อ *Escherichia coli* ให้ผลเป็น ++-- กับ ดังภาพที่ 2.44

ภาพที่ 2.44 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$1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24$\pm$24 ชั่วโมง ถึง48$\pm$2 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 2.45 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±1 เซลเซียส เป็นเวลา 24±2 ชั่วโมง ถึง48±2 ชั่วโมง

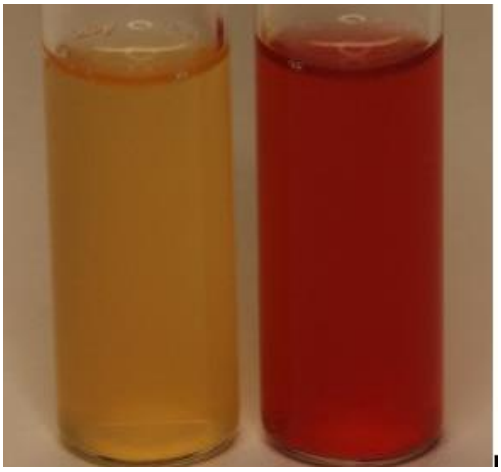
6.2.3 หยด Methyl Red Test Reagent จำนวน 5 หยด

6.2.4 สังเกตการณ์เปลี่ยนสีที่ผิวของอาหารทันทีหลังจากหยด Indicator

การอ่านผล

ผลบวก : อาหารเปลี่ยนเป็นสีแดง

ผลลบ : อาหารมีสีเหลือง



(-) (+)

ภาพที่ 2.46 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±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24±2 ชั่วโมง ถึง 48±2 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 2.47 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

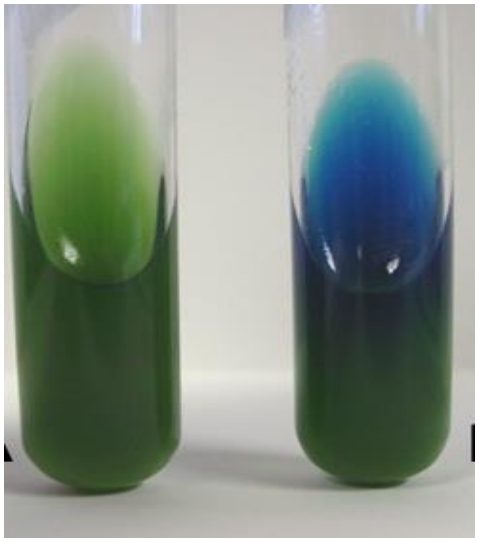
6.4.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24±2 ชั่วโมง ถึง 48±2 ชั่วโมง

6.4.3 สังเกตการณ์เปลี่ยนสีของอาหาร และการเติบโตของแบคทีเรีย

การอ่านผล

ผลบวก : มีเชื้อขึ้น และอาหารเปลี่ยนสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน

ผลลบ : ไม่มีเชื้อขึ้น และอาหารไม่เปลี่ยนสี (สีเขียว)



(-) (+)

ภาพที่ 2.48 ผลการทดสอบ Citrate

เอกสารอ้างอิง

จิราพร มูลชาติ และเนตรนภา เกล็ดจีน.2562.การปนเปื้อนของเชื้อ *Escherichia coli* ในส้มตำ บริเวณศึกษาของจังหวัดเลย.การประชุมวิชาการระดับชาติด้านวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และนวัตกรรม ครั้งที่ 1 มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย.

ชนนิกานต์ ทองพรม.2559.การพัฒนาเทคนิค Most Probable Number ร่วมกับ Loop-mediated Isothermal Amplification (MPN-LAMP)เพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์แบคทีเรียโคลิฟอร์มทั้งหมด และ *Escherichia coli* ในน้ำดื่มและผัก.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ณัฏฐวี ชั่งชัย และคณะ.ไม่พบปีที่พิมพ์.การสำรวจแหล่งโรคของ *Escherichia coli* ในตลาดสด อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ.การประชุมสัมมนาวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ เครือข่ายบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ ครั้งที่ 16 และการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ครั้งที่ 3 : 646-658

นงลักษณ์ พิสุทธิลาภ และนิตยา แสงเศวตมณีงาม.2544.ศึกษาการวิเคราะห์ *Escherichia coli* ในอาหารทะเลแช่แข็งด้วยวิธี MPN technique.วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 43(2):95-101

นุชรี ภูมิภักดิ์ และคณะ.2562.การตรวจหา *Escherichia coli* ในผักสดจากตลาดมะขามเฒ่า.การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 6 วิทยาลัยนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา.

นฤมล มาแทน. 2560. ปฏิบัติการจุลชีววิทยาอาหาร.สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

บุญเลี้ยง สุพิมพ์ และคณะ.2559.การปนเปื้อนของโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *Escherichia coli* ในอาหารปรุงสำเร็จที่จำหน่ายในโรงอาหารมหาวิทยาลัยราชภัฏเลย.การประชุมวิชาการระดับชาติและนานาชาติ “ราชภัฏวิจัย ครั้งที่ 4” มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ .1079-1090

รัตนา เตียงทิพย์ และคณะ.2021.การตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์ในอาหารพร้อมบริโภคจากโรงอาหารมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต.วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 29 ฉบับที่ 6 พฤศจิกายน-ธันวาคม : 1021-1031

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา.2556.คู่มือการปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่364) พ.ศ.2556 เรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค.สำนักอาหาร. กรุงเทพฯ.

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร.2558.การตรวจวิเคราะห์ Coliforms, Fecal coliforms และ *Escherichia coli* ในตัวอย่างน้ำ น้ำแข็ง และเครื่องดื่ม.

สุดสายชล หอมทอง และเบญจวรรณ ชุมพินิจ.2563.การตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *Escherichia coli* ในน้ำแข็งที่จำหน่ายบริเวณใกล้กับมหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี.วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.ปีที่ 7 ฉบับที่ 1มกราคม-มิถุนายน 2563 : 35-44

Robert Blodgett (retired).2020. BAM Appendix 2: Most Probable Number from Serial Dilutions. สืบค้นเมื่อ 17 กันยายน 2565 จาก https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-appendix-2-most-probable-number-serial-dilutions