

## บทที่ 2

### ระเบียบวิธีวิจัย

#### 1. ตัวอย่างน้ำที่ใช้ในการศึกษา

เก็บตัวอย่างน้ำอุปโภคบริโภคภายในมหาวิทยาลัยขอนแก่น มาศึกษาโดยสุ่มตัวอย่างเพื่อหาคอร์อบคลุมช่วงคุณภาพต่างๆ ของการศึกษารวม 80 ตัวอย่าง

#### 2. วิธีการศึกษา

2.1 สร้างตาราง MPN สำหรับตรวจหา coliform และ fecal coliform ด้วย culture plate ชนิด 24 หลุม และ 6 หลุม ต่อถาด โดยใช้ Thomas's simple formula เป็นสมการในการคำนวณสร้างตาราง (11)

2.2 สุ่มตัวอย่างน้ำดื่มมาใช้จากแหล่งต่าง ๆ มาทำการตรวจวัดหาค่า coliform และ fecal coliform โดยใช้ multidish plate และตาราง MPN ที่สร้างขึ้นในขั้น Presumptive test เทียบกับวิธีมาตรฐานที่ใช้ multiple tube technique ที่ใช้ตาราง MPN 5,5,5

2.3 วิธีการตรวจด้วย multidish plate ชนิด 24 หลุม ต่อถาด ใช้ multidish plate ชนิด 24 หลุมที่ปราศจากเชื้อ ใช้เป็นหลุม positive control 1 หลุม และ negative control 1 หลุมที่เหลือ 22 หลุมใช้ตรวจหา coliform และ fecal coliform โดยใช้ media phenol red lactose broth (phenol red broth base + 1% lactose) ความเข้มข้น 5X ใส่หลุมละ 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำตัวอย่างหลุมละ 2 มิลลิลิตร นำไปอบที่ 35°C 18-24 ชั่วโมง อ่านผลโดยหลุมที่ให้กรดถือว่าเป็นบวก นำหลุมที่ให้ผลบวกทำการตรวจต่อในขั้น confirm test และ complete test เพื่อหาค่า coliform และ ทำการตรวจหา fecal coliform ด้วย E.C. broth ตามวิธีมาตรฐาน (2)

2.4 วิธีการตรวจด้วย multidish plate ชนิด 6 หลุมต่อถาด แต่ละหลุมมีความจุ 12 มิลลิลิตร ใส่อาหารเพาะเชื้อ phenol red lactose broth ความเข้มข้น 6X จำนวน 2 มิลลิลิตร และเติมน้ำตัวอย่างที่ต้องการตรวจ 10 มิลลิลิตร ทำ 6 หลุม (ดังนั้น น้ำ 1 ตัวอย่างจะใช้ปริมาตรในการตรวจรวม 60 มิลลิลิตร) นำไปอบที่ 35°C 18-24 ชั่วโมง การอ่านผลหลุมที่ให้กรดถือว่าเป็นบวก นำหลุมที่ให้ผลบวกทำการตรวจต่อในขั้น confirm test และ complete test เพื่อหาค่า coliform และทำการตรวจหาค่า fecal coliform ด้วย E.C. broth ตามวิธีมาตรฐาน

#### 3. เปรียบเทียบผลการตรวจวัด coliform และ fecal coliform

ระหว่างวิธีที่ดัดแปลงใช้ multidish plate กับวิธีมาตรฐาน multiple tube technique ระบบ MPN 5,5,5 โดยใช้สถิติ pair t-test และการแปลผลตามค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำบริโภคกระทรวงสาธารณสุข