

บทที่ 3

ผลการวิจัยและการวิเคราะห์

1. ศึกษาการตรวจน้ำบริโภคน้ำ โดยใช้ Microtiter plate ขนาด 96 หลุม/plate โดยแต่ละหลุมมีความจุประมาณ 200 ไมโครลิตร ใช้น้ำตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร ใช้อาหารเพาะเชื้อ 100 ไมโครลิตร มี Positive control และ Negative control ผลการทดลองเบื้องต้นพบว่าใช้ตรวจไม่ได้ เนื่องจากปริมาตรตัวอย่าง (Sample size) ปริมาตรเล็กเกินไป กล่าวคือ 96 หลุม เป็น positive control และ negative control อย่างละ 1 หลุม เหลือ 94 หลุม แต่ละหลุมใช้น้ำตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร จึงเท่ากับใช้น้ำตัวอย่างเพียง 9.4 มิลลิตร แม้จะเพิ่มใช้ 2 plate ต่อตัวอย่าง 1 ตัวอย่าง ก็จะใช้ปริมาตรน้ำเพียง $9.4 \times 2 = 18.8$ มิลลิตร (อีกทั้งเป็นการเพิ่มภาระงานในการตรวจวัดขึ้นมาก) ซึ่งน้อยกว่าวิธีมาตรฐาน MPN 5,5,5 ซึ่งใช้น้ำตัวอย่าง 55.5 มิลลิตร ผลของการใช้น้ำตัวอย่างน้อยเกินไปจะทำให้ sensitivity ของวิธีการตรวจวัดต่างงานไม่สามารถนำมาใช้งานได้ เนื่องจากมาตรฐานคุณภาพน้ำดื่มกำหนดไว้ว่า ใน 100 มิลลิตร ต้องไม่พบ fecal coliform จึงเปลี่ยนมาศึกษาใน multidish plate ที่มีหลุมขนาดใหญ่ขึ้น

2. ทดลองสร้างตาราง MPN ที่ใช้ multidish plate ชนิด 24 หลุม/plate โดยแต่ละหลุมมีปริมาตร 2.5 มิลลิตร ใช้ Media 0.5 มิลลิตร (ความเข้มข้น 5X) ใช้น้ำตัวอย่าง 2 มิลลิตร เป็น positive control และ negative control อย่างละหลุม ดังนั้นจะใช้น้ำตัวอย่างเท่ากับ $2 \times 22 = 44$ มิลลิตร ซึ่งต่ำกว่า วิธี MPN เล็กน้อย (MPN 5,5,5 ใช้น้ำตัวอย่าง 55.5 มิลลิตร) สร้างตารางโดยใช้ Thomas's simple formula

ตารางที่ 1 ตาราง MPN ระบบ 22 หลุม

จำนวนหลุมที่ให้ผลบวก	MPN/100 ml
0	<2.3
1	2.3
2	4.8
3	7.3
4	10.0
5	13.0
6	16.0
7	19.3
8	22.8
9	26.6
10	30.8
11	35.4
12	40.5
13	46.2
14	52.8
15	60.4
16	69.6
17	81.0
18	96
19	117
20	150.7
21	224
22	>224

เมื่อได้ตารางแล้วทำการศึกษาโดยใช้น้ำตัวอย่างจำนวน 40 ตัวอย่าง เปรียบเทียบวิธี MPN 22 หลุมกับวิธี Multiple tube technique มาตรฐานระบบ 5,5,5 ผลการศึกษาดังแสดงในตาราง ที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงผลการตรวจหาโคลิฟอร์ม และฟีคัล โคลิฟอร์ม เปรียบเทียบระหว่างวิธี multidish plate ชนิด 24 หลุมและ Multiple tube technique ระบบ 5,5,5

ตัวอย่าง	Multiple tube technique ระบบ 5,5,5		Multidish plate 24 หลุม	
	Coliform	Fecal coliform	Coliform	Fecal coliform
1	27	4	13	4.8
2	40	2	26.6	2.3
3	11	2	10	2.3
4	17	6	26.6	2.3
5	2	2	16.0*	2.3
6	2	2	2.3*	2.3
7	50	11	52.8	7.3
8	9	4	7.3	2.3
9	6	2	10	4.8
10	2	2	4.8*	2.3
11	40	8	30.8	10
12	220	60	150.7	30.8
13	12	4	7.3	7.3
14	9	2	10	2.3
15	33	6	40.5	10
16	21	2	26.6	2.3
17	4	2	4.8	2.3
18	26	7	19.3	7.3
19	70	4	96	2.3
20	6	2	10.0	2.3
21	2	2	2.3*	2.3
22	7	2	4.8	2.3
23	50	4	96	10
24	11	4	7.3	2.3
25	26	4	60.4	4.8

ตัวอย่าง	Multiple tube technique ระบบ 5,5,5		Multidish plate 22 หลุม	
	Coliform	Fecal coliform	Coliform	Fecal coliform
26	12	2	10	7.3
27	33	6	30.8	4.8
28	50	7	52.8	7.3
29	70	21	60.4	30.8
30	110	11	150.7	10.0
31	13	2	19.3	2.3
32	26	2	16	7.3
33	70	6	46.2	13
34	13	2	10	2.3
35	7	4	13	2.3
36	12	2	16	2.3
37	30	13	35.4	4.8
38	70	6	60.4	10
39	33	4	19.3	2.3
40	90	12	81	4.8

Coliform $P = 0.893$

Fecal coliform $P = 0.854$

เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วย pair t-test พบว่าค่าโคลิฟอร์มที่ตรวจวิเคราะห์ได้จากวิธี multiple tube technique และวิธี multidish plate 22 หลุม ให้ค่ามีความสัมพันธ์กัน (correlation) เท่ากับ 0.894 ในขณะที่ค่าฟีคัล โคลิฟอร์มของทั้ง 2 วิธีมีค่าความสัมพันธ์กันเท่ากับ 0.807 กล่าวคือมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันสูงและเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างโคลิฟอร์มและฟีคัล โคลิฟอร์ม ทั้งสองวิธีพบว่าไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) และเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากการตรวจทั้งสองวิธีมาแปลผลตามมาตรฐานน้ำบริโภคที่กำหนด ว่าค่าโคลิฟอร์มไม่เกิน 2.2 และไม่พบฟีคัล โคลิฟอร์มในน้ำ 100 มิลลิลิตร พบว่าวิธี multidish plate 22 หลุม มีความถูกต้องในการแปลเมื่อเทียบกับ multiple tube technique โดยให้ค่าโคลิฟอร์มถูกต้องเท่ากับร้อยละ 90 (36 ใน 40) ฟีคัล โคลิฟอร์มถูกต้องเท่ากับร้อยละ 100 (40/40)

3. ทดลองสร้างตาราง MPN ที่ใช้กับ multidish plate ชนิด 6 หลุมต่อ plate โดยใช้น้ำตัวอย่างหลุมละ 10 มิลลิลิตรและอาหารเลี้ยงเชื้อ phenol red lactose broth ความเข้มข้น 6X จำนวน 2 มิลลิลิตร ดังนั้นจะใช้น้ำตัวอย่างละ 60 มิลลิลิตร ซึ่งมากกว่าวิธีมาตรฐาน multiple tube technique ระบบ 5,5,5 ซึ่งใช้น้ำตัวอย่าง 55.5 มิลลิลิตร สร้างตารางโดยใช้ Thomas simple formula จะได้ตารางดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ตาราง MPN ระบบ 6 หลุม

จำนวนหลุมที่ให้ผลบวก	MPN/100 ml
0	<2
1	2
2	4.0
3	7.0
4	11
5	20
6	>20

นำตารางที่สร้างได้มาใช้ในการตรวจ coliform และ fecal coliform ในน้ำตัวอย่าง จำนวน 40 ตัวอย่างเปรียบเทียบระหว่างวิธี multidish plate 6 หลุม โดยใช้ตาราง MPN ระบบ 6 หลุม ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงผลการตรวจหาโคลิฟอร์มและฟีคัล โคลิฟอร์ม เปรียบเทียบระหว่างวิธี
multidish plate ชนิด 6 หลุม และ multiple tube technique ระบบ 5,5,5

ตัวอย่าง	Multiple tube technique ระบบ 5,5,5		Multidish plate 6 หลุม	
	Coliform	Fecal coliform	Coliform	Fecal coliform
1	2	2	2	2
2	6	2	7	2
3	12	7	11	4
4	2	2	2	2
5	9	9	11	7
6	21	17	20	7
7	2	2	2	2
8	4	2	2*	2
9	17	12	7	7
10	26	2	20	4
11	22	2	20	2
12	12	6	11	4
13	14	2	20	2
14	13	8	20	11
15	26	2	20	2
16	12	6	11	7
17	21	4	20	2
18	21	2	20	4
19	2	2	2	2
20	11	2	7	2
21	2	2	2	2
22	17	1	20	2
23	9	2	11	2
24	26	4	20	2
25	8	2	4	4
26	4	2	2*	2
27	8	4	7	2

ตัวอย่าง	Multiple tube technique ระบบ 5,5,5		Multidish plate 22 หลุม	
	Coliform	Fecal coliform	Coliform	Fecal coliform
28	21	7	20	7
29	8	2	11	4
30	12	9	7	2
31	27	4	11	7
32	23	17	20	7
33	17	11	11	4
34	4	2	2*	2
35	9	2	4	2
36	6	2	2*	2
37	7	4	11	2
38	21	2	20	7
39	30	2	20	2
40	7	4	11	2

Coliform $P = 0.016$

Fecal coliform $P = 0.088$

เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วย pair t-test พบว่าค่าโคลิฟอร์มที่ตรวจวิเคราะห์ได้จากวิธี multiple tube technique และวิธี multidish plate 6 หลุม ให้ค่ามีความสัมพันธ์ (correlation เท่ากับ 0.849 ในขณะที่ค่าพีคัลโคลิฟอร์มของทั้ง 2 วิธี มีค่าความสัมพันธ์กันเท่ากับ 0.620 กล่าวคือ มีความสัมพันธ์กันและไปในทิศทางเดียวกัน และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างโคลิฟอร์มและพีคัลโคลิฟอร์มทั้งสองวิธีพบว่า ค่าโคลิฟอร์มของทั้งสองวิธีแตกต่างกัน ($P < 0.05$) ในขณะที่ค่าพีคัลโคลิฟอร์มไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) และเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากการตรวจทั้งสองวิธีมาแปลผลตามมาตรฐานน้ำบริโภคที่กำหนดให้มีโคลิฟอร์มไม่เกิน 2.2/100 มิลลิลิตร และไม่พบพีคัลโคลิฟอร์ม พบว่า วิธี multidish plate ให้ความถูกต้องในการแปลเมื่อเทียบกับวิธี multiple tube technique โดยให้ค่าโคลิฟอร์มถูกต้องเท่ากับร้อยละ 90 (36/40) และให้ค่าพีคัลโคลิฟอร์มถูกต้องเท่ากับร้อยละ 100 (40/40)