

**ข้อมูลประกอบการจัดทำประกาศกระทรวงสาธารณสุข**  
**เรื่อง กำหนดปริมาณไขมันอนพยาริและแบคทีเรียอีโคไล (Escherichia coli) และวิธีการเก็บตัวอย่างและการตรวจหาไขมันอนพยาริและแบคทีเรียอีโคไล**  
**(Escherichia coli) ในน้ำทิ้งและกากตะกอนที่ผ่านระบบกำจัดสิ่งปฏิกูลแล้ว พ.ศ. ๒๕๖๑**

ภัสราภรณ์ รักษาแก้ว  
 กลุ่มพัฒนาการสุขาภิบาล สำนักอนามัยสิ่งแวดล้อม

วัตถุประสงค์เพื่อเป็นการกำหนดปริมาณไขมันอนพยาริและแบคทีเรียอีโคไล (Escherichia coli) และวิธีการเก็บตัวอย่างและการตรวจหาไขมันอนพยาริและแบคทีเรียอีโคไล (Escherichia coli) ในน้ำทิ้งและกากตะกอนที่ผ่านระบบกำจัดสิ่งปฏิกูลแล้ว การตรวจหาไขมันอนพยาริและแบคทีเรียอีโคไล (Escherichia coli) ในน้ำทิ้งและกากตะกอนที่ผ่านระบบกำจัดสิ่งปฏิกูลแล้ว มีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นการตรวจสอบประสิทธิภาพการบำบัดของระบบกำจัดสิ่งปฏิกูล และเพื่อเป็นการนำสิ่งปฏิกูลที่ผ่านการบำบัดไปใช้ให้เกิดประโยชน์ได้อย่างปลอดภัยต่อไป

| หัวข้อวิชาการในกฎหมาย                                              | ข้อมูลวิชาการ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | แหล่งอ้างอิง                                                                                                                                                            |        |                     |              |         |                         |          |                                       |                                    |         |                                                             |          |                                                                 |                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|---------------------|--------------|---------|-------------------------|----------|---------------------------------------|------------------------------------|---------|-------------------------------------------------------------|----------|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ๑. การกำหนดปริมาณไขมันอนพยาริและแบคทีเรียอีโคไล (Escherichia coli) | <table border="1"> <thead> <tr> <th>รายการทดสอบ</th><th>ประเภท</th><th>เกณฑ์ปริมาณที่กำหนด</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">ไขมันอนพยาริ</td><td>น้ำทิ้ง</td><td>น้อยกว่า ๑ ฟอง ต่อ ลิตร</td></tr> <tr> <td>กากตะกอน</td><td>น้อยกว่า ๑ ฟอง ต่อ กรัม (น้ำหนักแห้ง)</td></tr> <tr> <td rowspan="2">แบคทีเรียอีโคไล (Escherichia coli)</td><td>น้ำทิ้ง</td><td>น้อยกว่า ๑,๐๐๐ MPN (Most Probable Number) ต่อ ๑๐๐ มิลลิลิตร</td></tr> <tr> <td>กากตะกอน</td><td>น้อยกว่า ๑,๐๐๐ MPN (Most Probable Number) ต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)</td></tr> </tbody> </table> | รายการทดสอบ                                                                                                                                                             | ประเภท | เกณฑ์ปริมาณที่กำหนด | ไขมันอนพยาริ | น้ำทิ้ง | น้อยกว่า ๑ ฟอง ต่อ ลิตร | กากตะกอน | น้อยกว่า ๑ ฟอง ต่อ กรัม (น้ำหนักแห้ง) | แบคทีเรียอีโคไล (Escherichia coli) | น้ำทิ้ง | น้อยกว่า ๑,๐๐๐ MPN (Most Probable Number) ต่อ ๑๐๐ มิลลิลิตร | กากตะกอน | น้อยกว่า ๑,๐๐๐ MPN (Most Probable Number) ต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) | WHO Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater. Volume IV Excreta and Greywater Use in Agriculture. |
| รายการทดสอบ                                                        | ประเภท                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | เกณฑ์ปริมาณที่กำหนด                                                                                                                                                     |        |                     |              |         |                         |          |                                       |                                    |         |                                                             |          |                                                                 |                                                                                                                           |
| ไขมันอนพยาริ                                                       | น้ำทิ้ง                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | น้อยกว่า ๑ ฟอง ต่อ ลิตร                                                                                                                                                 |        |                     |              |         |                         |          |                                       |                                    |         |                                                             |          |                                                                 |                                                                                                                           |
|                                                                    | กากตะกอน                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | น้อยกว่า ๑ ฟอง ต่อ กรัม (น้ำหนักแห้ง)                                                                                                                                   |        |                     |              |         |                         |          |                                       |                                    |         |                                                             |          |                                                                 |                                                                                                                           |
| แบคทีเรียอีโคไล (Escherichia coli)                                 | น้ำทิ้ง                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | น้อยกว่า ๑,๐๐๐ MPN (Most Probable Number) ต่อ ๑๐๐ มิลลิลิตร                                                                                                             |        |                     |              |         |                         |          |                                       |                                    |         |                                                             |          |                                                                 |                                                                                                                           |
|                                                                    | กากตะกอน                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | น้อยกว่า ๑,๐๐๐ MPN (Most Probable Number) ต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)                                                                                                         |        |                     |              |         |                         |          |                                       |                                    |         |                                                             |          |                                                                 |                                                                                                                           |
| ๒. วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งที่ผ่านระบบกำจัดสิ่งปฏิกูล            | (๑) วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งสำหรับตรวจหาไขมันอนพยาริ ให้ใช้วิธีเก็บแบบจ้วง (Grab sampling) ในบ่อสุดท้ายของระบบกำจัดหรือจุดสุดท้ายก่อนระบายน้ำทิ้งออกสู่สิ่งแวดล้อมโดยเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งที่จุดกึ่งกลางความลึกสำหรับบ่อที่มีความลึกไม่เกิน ๒ เมตร และเก็บที่ระดับความลึกจากผิวน้ำ ๑ เมตร สำหรับบ่อที่มีความลึกเกินกว่า ๒ เมตร โดยเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งให้ได้ปริมาณ ๓ ลิตร บรรจุในภาชนะพลาสติก ขนาดความจุ ๔ ถึง ๕ ลิตร                                                                                                                                                    | - ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ ๘ (พ.ศ. ๒๕๓๓) ออกตามความในพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. ๒๕๓๕ เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำใน |        |                     |              |         |                         |          |                                       |                                    |         |                                                             |          |                                                                 |                                                                                                                           |

| หัวข้อความรู้                                                 | ข้อมูลวิชาการ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | แหล่งอ้างอิง                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|---------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ๒. วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งที่ผ่านระบบกำจัดสิ่งปฏิกูล (ต่อ) | (๒) วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งสำหรับตรวจหาแบคทีเรียอีโคไล ( <i>Escherichia coli</i> ) ให้เก็บตัวอย่างน้ำทิ้งที่ระดับความลึก ๓๐ เซนติเมตร ของบ่อสุดท้าย หรือภาชนะที่รองรับ ณ จุดตรวจสอบ โดยเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งให้ได้ปริมาณ ๑๐๐ มิลลิลิตร บรรจุในขวดแก้วขนาดความจุ ๑๒๕ มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ ๑๖๐ - ๑๘๐ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๒ ชั่วโมง ภายในมีคราบของสารละลายโซเดียมไฮโอซัลเฟตเข้มข้น ร้อยละ ๑๐ ปริมาตร ๐.๑ มิลลิลิตร หุ้มจุกขวดด้วยกระดาษอะลูมิเนียม และบรรจุในกระป๋องทำด้วยเหล็กกล้าไร้สนิม ในกรณีไม่สามารถทำการตรวจได้ทันที ให้เก็บรักษาตัวอย่างน้ำทิ้งในภาชนะควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ ๔ ถึง ๑๐ องศาเซลเซียส และดำเนินการตรวจภายในเวลา ๒๔ ชั่วโมง | แหล่งน้ำผิวดิน หมวด ๓<br>วิธีการเก็บตัวอย่างและ<br>ตรวจสอบคุณภาพน้ำในแหล่ง<br>น้ำผิวดิน<br>- คู่มือการสุ่มเก็บ การบรรจุ<br>และการเก็บรักษาสภาพ<br>ตัวอย่างน้ำเสีย/ น้ำทิ้ง เพื่อการ<br>ตรวจวิเคราะห์และทดสอบ<br>ในห้องปฏิบัติการ ศูนย์<br>ห้องปฏิบัติการกรมอนามัย                                                                     |
| ๓. วิธีการเก็บตัวอย่างกากตะกอนที่ผ่านระบบกำจัดสิ่งปฏิกูล      | วิธีการเก็บตัวอย่างกากตะกอน ให้เก็บตัวอย่างกากตะกอนจากที่กองเก็บกากตะกอน โดยสุ่มเก็บให้เป็นตัวแทน จำนวน ๑๐ จุด ๆ ละไม่น้อยกว่า ๑๐๐ กรัม คลุกผสมตัวอย่างกากตะกอนที่ได้ให้เข้ากันอย่างทั่วถึงรวมเป็นกองเดียวกัน แล้วแบ่งเป็น ๔ ส่วนเท่า ๆ กัน แล้วสุ่มเลือก ๒ ส่วน ที่อยู่ตรงข้ามมารวมกัน ตักตะกอนปริมาณ ๔๐๐ กรัม ใส่ในถุงพลาสติกที่สะอาดสำหรับตรวจหาไข่หนอนพยาธิและตักตะกอนอีกปริมาณ ๑๐๐ กรัม ใส่ในถุงพลาสติกหรือภาชนะที่สะอาดและปลอดเชื้อ สำหรับตรวจหาแบคทีเรียอีโคไล ( <i>Escherichia coli</i> ) ในกรณีไม่สามารถทำการตรวจได้ทันที ให้เก็บรักษาตัวอย่างกากตะกอนในภาชนะควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ ๔ ถึง ๑๐ องศาเซลเซียส และดำเนินการตรวจภายในเวลา ๒๔ ชั่วโมง            | - เอกสารคำแนะนำ การเก็บ<br>ตัวอย่างปุยหมักและน้ำหมัก<br>ชีวภาพ จัดทำโดย สำนัก<br>วิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนา<br>ที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน<br>กระทรวงเกษตรและสหกรณ์<br>- คู่มือการสุ่มเก็บ การบรรจุ<br>และการเก็บรักษาสภาพ<br>ตัวอย่างน้ำเสีย/ น้ำทิ้ง เพื่อการ<br>ตรวจวิเคราะห์และทดสอบ<br>ในห้องปฏิบัติการ ศูนย์<br>ห้องปฏิบัติการกรมอนามัย |
| ๔. การตรวจหาไข่หนอนพยาธิในน้ำทิ้งที่ผ่านระบบกำจัดสิ่งปฏิกูล   | วิธีการตรวจหาไข่หนอนพยาธิในน้ำทิ้ง การปฏิบัติงานจะแบ่งออกเป็น ๓ ขั้นตอน ดังนี้<br>- ขั้นตอนที่ ๑ วิธีการตรวจอย่างง่ายหรือการตกตะกอนโดยใช้การปั่นเหวี่ยง (Simple-Centrifugal sedimentation) โดยนำตัวอย่างน้ำทิ้งมาทำให้เข้มข้นด้วยการปั่นเหวี่ยง (Centrifugal Sedimentation)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Integrated Guide To<br>Sanitary Parasitology<br>(WHO) : Technique for the                                                                                                                                                                                                                                                             |

| หัวข้อความรู้                                                                                 | ข้อมูลวิชาการ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | แหล่งอ้างอิง                                                                                                                                    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ๔. การตรวจหาไข่หนอนพยาธิในน้ำทิ้งที่ผ่านระบบบำบัดสิ่งปฏิกูล (ต่อ)                             | <p>แล้วนำตะกอนที่ได้มาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ถ้าพบไข่หนอนพยาธิให้รายงานผลโดยไม่ต้องทำขั้นตอนต่อไป แต่ถ้าหากไม่พบไข่หนอนพยาธิ ต้องทำการทดสอบต่อไปในขั้นตอนที่ ๒</p> <p>- ขั้นตอนที่ ๒ วิธีฟอร์มาลิน-เอทิล อะซิเตต เซตติเม้นเตชัน (Formalin-Ethyl acetate sedimentation) โดยการนำตะกอนที่เหลือมาขจัดไขมันและสิ่งสกปรกอื่นๆ แล้วนำตะกอนที่ได้มาตรวจหาไข่หนอนพยาธิด้วยกล้องจุลทรรศน์ ถ้าพบไข่หนอนพยาธิ ให้รายงานผลโดยไม่ต้องทำขั้นตอนต่อไป แต่ถ้าหากไม่พบไข่หนอนพยาธิ ให้ทดสอบต่อไปในขั้นตอนที่ ๓</p> <p>- ขั้นตอนที่ ๓ วิธีการทำให้ตะกอนลอยตัว (Floatation) โดยใช้สารละลายที่มีความถ่วงจำเพาะที่เหมาะสม แล้วตรวจหาไข่หนอนพยาธิที่ลอยขึ้นมาด้วยกล้องจุลทรรศน์และรายงานผล</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | enumeration of parasitic helminth eggs from sewage sludge (Satchwell, ๑๙๘๖)                                                                     |
| ๕. การตรวจหาไข่หนอนพยาธิในกากตะกอนที่ผ่านระบบบำบัดสิ่งปฏิกูล                                  | <p><b>วิธีการตรวจหาไข่หนอนพยาธิในกากตะกอน</b> การปฏิบัติงานจะแบ่งออกเป็น ๓ ขั้นตอน ดังนี้</p> <p>- ขั้นตอนที่ ๑ วิธีการตรวจอย่างง่ายหรือการตกตะกอนโดยใช้การปั่นเหวี่ยง (Simple-Centrifugal sedimentation) โดยนำตัวอย่างกากตะกอนมาทำให้ละลายแล้วกรองเพื่อกำจัดเศษขยะขนาดใหญ่ และทำให้ตกตะกอนโดยการตั้งทิ้งไว้วัน ๑๒ ชั่วโมง หรือการปั่นเหวี่ยง และนำกากตะกอนที่ได้มาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ถ้าพบไข่หนอนพยาธิให้รายงานผลโดยไม่ต้องทดสอบด้วยขั้นตอนต่อไป แต่ถ้าหากไม่พบไข่หนอนพยาธิ ต้องทำการทดสอบต่อไปในขั้นตอนที่ ๒</p> <p>- ขั้นตอนที่ ๒ วิธีฟอร์มาลิน-เอทิล อะซิเตต เซตติเม้นเตชัน (Formalin-Ethyl acetate sedimentation) โดยการนำตะกอนที่เหลือมาขจัดไขมันและสิ่งสกปรกอื่นๆ แล้วนำตะกอนที่ได้มาตรวจหาไข่หนอนพยาธิด้วยกล้องจุลทรรศน์ ถ้าพบไข่หนอนพยาธิ ให้รายงานผลโดยไม่ต้องทำขั้นตอนต่อไป แต่ถ้าหากไม่พบไข่หนอนพยาธิ ให้ทดสอบต่อไปในขั้นตอนที่ ๓</p> <p>- ขั้นตอนที่ ๓ วิธีการทำให้ตะกอนลอยตัว (Floatation) โดยใช้สารละลายที่มีความถ่วงจำเพาะที่เหมาะสม แล้วตรวจหาไข่หนอนพยาธิที่ลอยขึ้นมาด้วยกล้องจุลทรรศน์และรายงานผล</p> | Integrated Guide To Sanitary Parasitology (WHO) : Technique for the enumeration of parasitic helminth eggs from sewage sludge (Satchwell, ๑๙๘๖) |
| ๖. การตรวจหาแบคทีเรียอีโคไล (Escherichia coli) ในน้ำทิ้งและกากตะกอนที่ผ่านระบบบำบัดสิ่งปฏิกูล | วิธี Most Probable Number (MPN) หรือ Multiple Tube Fermentation Technique (Standard Method Part ๙๒๒๑)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | ๙๒๒๑ Multiple-tube fermentation technique for members of the coliform group                                                                     |