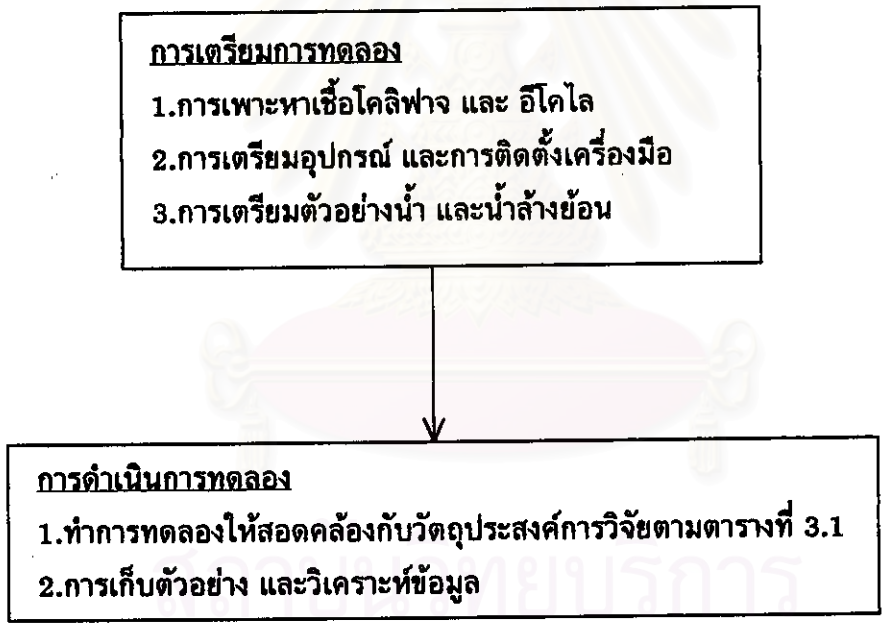
บทที่ 3

แผนการ และการดำเนินการวิจัย

แผนการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แผนผังการดำเนินการวิจัย แสดงดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แสดงแผนผังการดำเนินการวิจัย

ตารางที่ 3.1 แสดงจำนวนชุดการทดลองตามวัตถุประสงค์ของการวิจัย

ขนาดรูเมมเบรน (ไมครอน)	ตัวอย่างน้ำ	จำนวนชุดการทดลองที่อัตรากรอง (ลิตร/นาที) ต่าง ๆ กัน			
		0.5	1.0	1.5	2.0
0.1	น้ำประปาเติมอีโคไล	1	1	1	1
	น้ำประปาเติมโคลิฟาจ	1	1	1	1
	น้ำประปาเติมอีโคไล และโคลิฟาจ	3	3	3	3
0.03	น้ำประปาเติมอีโคไล	1	1	1	1
	น้ำประปาเติมโคลิฟาจ	1	1	1	1
	น้ำประปาเติมอีโคไล และโคลิฟาจ	3	3	3	3
-	น้ำประปาเติมอีโคไล และโคลิฟาจ	1			

ตัวแปรต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลองมีดังนี้

ตัวแปรอิสระ ได้แก่

1. ขนาดช่องว่างของเมมเบรน
2. อัตราการกรอง
3. ตัวอย่างน้ำ

ตัวแปรตาม ได้แก่

1. ปริมาณความเข้มข้นของโคลิฟาจของน้ำกรอง
2. ปริมาณความเข้มข้นของอีโคไลของน้ำกรอง
3. ความดัน

ตัวแปรคงที่ ได้แก่

1. พื้นที่เมมเบรน 0.3 ตารางเมตร
2. ความยาวเมมเบรน 330 มิลลิเมตร
3. ชนิดของไวรัส คือ โคลิฟาจ
4. ชนิดของแบคทีเรีย คือ อีโคไล
5. ความดันในการล้างย้อน 3 บาร์ นาน 5 นาที

6. สารที่ใช้ล้างเมมเบรน คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3 เปอร์เซนต์

7. จุดสิ้นสุดการทดลองเมื่อความดันเท่ากับ 1 หรือ 2 บาร์

การเตรียมการทดลอง

1. <u>การเพาะหาเชื้ออีโคไลและโคลิฟาจเพื่อใช้ในการวิจัย</u>

1.1 อาหารเพาะเชื้อ (Culture media)และสารเคมีที่ใช้

อาหารเพาะเชื้อ ประกอบด้วย

1.1.1 EMB agar เป็นอาหารสำหรับการเพาะ โคไลฟอร์มแบคทีเรีย (Coliform bacteria)

1.1.2 Nutrient agar ใช้สำหรับเก็บรักษา E.coli stock โดยวิธี agar slant

1.1.3 Tryptic(ase) soy broth (TSB)

1.1.4 Agar agar

อาหารเพาะเชื้อที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารเพาะเชื้อสำเร็จรูป ดังนั้น การเตรียมอาหารเพาะเชื้อดังกล่าว ให้ปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ผลิต

สารเคมีที่ใช้ในการเพาะเชื้อ ประกอบด้วย

1.1.5 Glycerine

1.1.6 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride (TPTZ) ใช้เป็นสีย้อมช่วยในการสังเกตุพลัก (Plaque) ที่เกิดขึ้น

1.1.7 Ethyl alcohol

1.1.8 Ammonium nitrate (NH_4NO_3)

1.1.9 Strontium nitrate ($Sr(NO_3)_2$)

1.1.10 น้ำกลั่น

1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะหาเชื้ออีโคไลและโคลิฟาจ ประกอบด้วย

1.2.1 หม้อนึ่งอัดไอ (autoclave) ของ Hirayama รุ่น HA-3D

1.2.2 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (incubator) ของ Heraeus รุ่น KB 900

1.2.3 ตู้อบ (oven) ของ WTB binder รุ่น F-115

1.2.4 เครื่องช่วยนับโคโลนี ของ American Optical รุ่น 3330

1.2.5 เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ของ Shimadzu รุ่น UV-1201

1.2.6 เครื่องเขย่าหลอด (vortex mixe) ของ Scientific Industries รุ่น G 560

1.2.7 ชุดเยื่อกรอง ของ Millipore ขนาด 47 มิลลิเมตร

1.2.8 เครื่องสูบสูญญากาศ ของ Makashi Seisakusho รุ่น RP-S 50H

1.3 การเพาะแบคทีเรีย สำหรับใช้ในการทดลอง และเป็นอาหารของไวรัส (Host bacterium) มีวิธีการดังนี้

1.3.1 เลือกเก็บตัวอย่างน้ำจากสถานที่ที่จะมีอีโคไล ซึ่งเป็น host ของไวรัส เช่น รางระบายน้ำใกล้กับห้องน้ำ เนื่องจากอีโคไลจะปะปนมากับอุจจาระของคน

1.3.2 ทำการ inoculate ตัวอย่างน้ำข้างต้นบน EMB agar

1.3.3 นำไปบ่มในตู้บ่ม (incubator) อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง

1.3.4 เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำจานเพาะเชื้อ (Petri dish) จากตู้บ่มออกมาสังเกตดูจะปรากฏลักษณะของโคไลฟอร์ม แบคทีเรีย เป็นแถบ จุด หรือขีดสีทอง ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียผสม (mixed culture) นอกจากการแสดงลักษณะเงาโลหะสีทองบนโคโลนี ซึ่งเป็นลักษณะของโคไลฟอร์มแบคทีเรียแล้วจะทำการตรวจสอบลักษณะของอีโคไลที่ได้ โดยการย้อมแบคทีเรียแบบแกรม (Gram stain) และส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ (ภาคผนวก ค) โดยลักษณะเฉพาะของโคไลฟอร์มแบคทีเรียจะมีรูปร่างเป็นแท่ง ย้อมติดสีแกรมลบ ไม่มีสปอร์

1.3.5 จากเชื้อแบบผสมที่ได้ นำไปแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ (pure culture) โดยวิธี cross steak plate (ภาคผนวก ง)

1.3.6 ทำการแยกเชื้อหลาย ๆ ครั้ง จนได้เชื้อที่บริสุทธิ์ของอีโคไล

1.3.7 ทำการ inoculate อีโคไลที่บริสุทธิ์แล้วลงใน Nutrient agar โดยวิธี agar slant หลังจากนั้นนำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปเป็น E. coli stock และhost stock สำหรับใช้ในการทดลองและการตรวจสอบไวรัสตามลำดับ หากจำเป็นจะต้องเก็บ ควรเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.4 การตรวจสอบไวรัสด้วยวิธีพลักแอสเส (Plaque Assay)

เป็นการหาปริมาณไวรัสในตัวอย่างน้ำ โดยวิธีของ AWWA (1992) ซึ่งมีการดัดแปลงบางส่วนเพื่อให้เหมาะสม และสามารถใช้งานได้จริงดังนี้

1.4.1 การเตรียม Modified tryptic(ase) soy agar (MTSA)

TSB	30.00	g.
NH_4NO_3	1.60	g.
$Sr(NO_3)_2$	0.21	g.
agar-agar	15.00	g.
น้ำกลั่น	1.00	L.

ละลายส่วนผสมข้างต้น โดยนำไปต้มให้เดือด แบ่งใส่หลอดฝาเกลียว (screw-capped tube) หลอดละ 5.5 มิลลิลิตร นำไปสเตอริไลส์ด้วยหม้อนึ่งอัดไอ ถ้าต้องการเติมสีย้อมให้เติม TPTZ ลงไปหลังจากสเตอริไลส์แล้ว และนำไปเก็บไว้ที่ อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เพื่อไม่ให้วุ้นแข็งตัว

1.4.2 การเตรียม Cell suspension

เตรียม TSB ตามปริมาตรที่ต้องการ แล้วเติม glycerine 10% (W/V) ทำการอุ่นสารละลายแล้วสเตอริไลส์ด้วยหม้อนึ่งอัดไอ จากนั้นทิ้งให้เย็นเก็บส่วนหนึ่งใส่หลอดฝาเกลียวไว้ทำ blank ทำการ inoculate E.Coli จาก stock (1.3) ที่เตรียมไว้ลงในสารละลายข้างต้น นำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งสารละลายที่ได้ (Cell suspension) มีค่า optical density (absorbence) เท่ากับ 0.5 ที่ 520 นาโนเมตร วัดโดยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ถ้าต้องการเพิ่มปริมาณ cell suspension ทำได้โดยเติม cell suspension ลงใน TSB โดยอัตราส่วน cell suspension ต่อ TSB เท่ากับ 1 ต่อ 20 โดยปริมาตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง

สำหรับ cell suspension ที่เตรียมได้ สามารถเก็บแช่แข็งในตู้เย็นได้นาน 6 เดือน เพื่อใช้เตรียม cell suspension ครั้งต่อไป ซึ่งควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่จะนำมาใช้

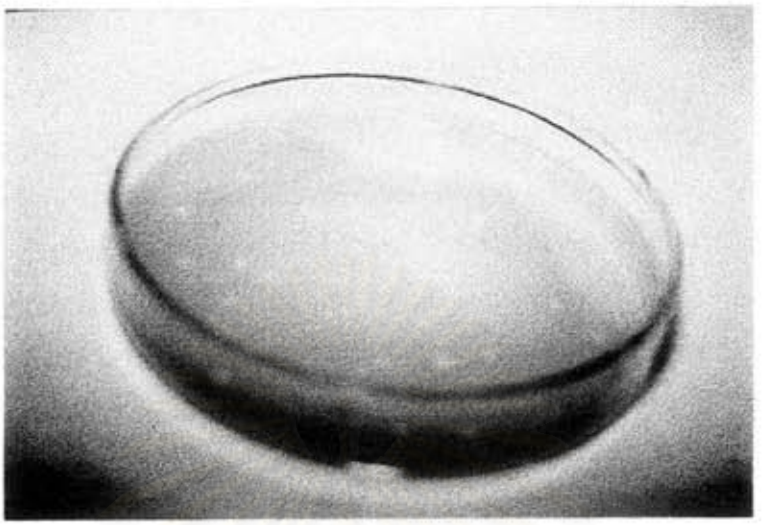
1.4.3 การเตรียมตัวอย่างน้ำ เพื่อให้จำนวนพลักที่เกิดในจานเพาะเชื้ออยู่ระหว่าง 20 ถึง 200 พลัก โดยการเจือจางตัวอย่างน้ำด้วย TSB ที่ผ่านการสเตอริไลส์แล้ว

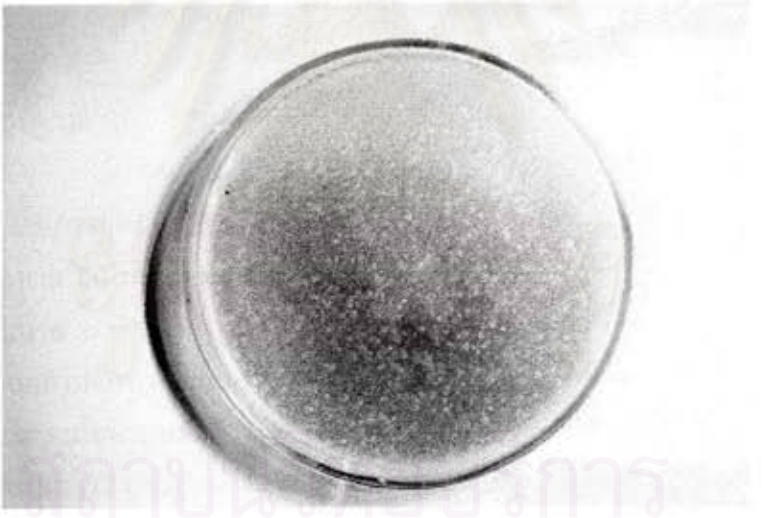
1.4.4 ผสม cell suspension 1 มิลลิลิตร และ ตัวอย่างน้ำ หรือ ตัวอย่างน้ำที่เจือจางแล้ว 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเติมลงในหลอด MTSA ที่ทำให้อุณหภูมิลดลงเหลือประมาณ 45 องศาเซลเซียส เขย่าให้เข้ากัน

1.4.5 เทส่วนผสมในข้อ 1.4.4 ลงในจานเพาะเชื้อ ที่ผ่านการสเตอริไลส์แล้ว หลังจากที่ส่วนผสมในจานเพาะเชื้อแข็งตัว นำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 18 - 24 ชั่วโมง

1.4.6 นับจำนวนพลักที่เกิดขึ้นบนจานเพาะเชื้อ ดังรูปที่ 3.2 โดยใช้เฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนพลักระหว่าง 20 ถึง 200 พลักเท่านั้น

1.4.7 คำนวณหาจำนวนไวรัสในตัวอย่างน้ำตามสูตรข้างล่างนี้ แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยกับค่าที่ได้จากจานเพาะเชื้อที่ใช้ตัวอย่างน้ำเหมือนกัน โดยทั่วไปจะทำซ้ำ 3 ค่า





รูปที่ 3.2 ลักษณะของพลักที่เกิดขึ้นบนจานเพาะเชื้อ
บน : ลักษณะของพลักที่เกิดขึ้นระหว่าง 20 - 200 พลัก
ล่าง : ลักษณะของพลักที่เกิดขึ้นมากกว่า 200 พลัก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

$$\text{จำนวนไวรัสในตัวอย่างน้ำ (พีเอฟยู/มิลลิลิตร)} = \frac{\text{จำนวนพลัก x อัตราการเจือจางของตัวอย่างน้ำ}}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างน้ำ}}$$

1.5 การเตรียมสต็อกโคลิฟาจ (stock coliphage)

เป็นการเตรียมเชื้อโคลิฟาจเพื่อนำมาใช้ในการวิจัย โดยมีขั้นตอนดังนี้

1.5.1 เก็บน้ำเสียจากท่อระบายน้ำมาทำพลักแอสเส

1.5.2 เมื่อมีไวรัสก่อรูปพลักขึ้นให้เขี่ยพลักที่เกิดใส่ใน cell suspension นำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง หรือจน cell suspension ใส

1.5.3 นำไปกรองผ่านแผ่นเยื่อกรอง cellulose nitrate ขนาด 0.45 ไมครอนเพื่อแยก อีโคไลออก สารละลายที่ได้ คือ สต็อกโคลิฟาจ แต่ความเข้มข้นที่ได้ไม่สูงมากนัก

1.5.4 เพิ่มความเข้มข้นของสต็อกโคลิฟาจ ทำได้โดยนำสต็อกโคลิฟาจที่ได้จากข้อ 1.5.3 ใส่ใน cell suspension ในอัตราส่วน สต็อกโคลิฟาจ ต่อ cell suspension เท่ากับ 1 ต่อ 10 นำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นานประมาณ 4 ชั่วโมง หรือจนกระทั่ง cell suspension ใส นำไปกรองผ่านแผ่นเยื่อกรอง และนำส่วนใสไปทำพลักแอสเส

1.5.5 ทำตามวิธีในข้อ 1.5.4 จนกระทั่งได้ความเข้มข้นของสต็อกโคลิฟาจสูงขึ้นตามต้องการ โดยจะเตรียมได้สูงสุดประมาณ 10^{10} - 10^{11} พีเอฟยู/มิลลิลิตร

2. <u>การเตรียมอุปกรณ์</u>

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ประกอบด้วย

2.1 ถังน้ำขนาด 500 ลิตร 1 ถัง

2.2 ถังน้ำขนาด 200 ลิตร 2 ถัง

2.3 กระบอกสำหรับบรรจุมัดเส้นใยกลวง (membrane housing) จำนวน 2 ชุด ของ Mitsubishi Rayon ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 42 มิลลิเมตร ความยาว 471 มิลลิเมตร

2.4 มัดเส้นใยกลวง (Hollow-fibre bundle) ขนาด 0.03 และ 0.1 ไมครอน ของ Mitsubishi Rayon พื้นที่เมมเบรน 0.3 ตารางเมตร ความยาว 330 มิลลิเมตร

2.5 เครื่องสูบน้ำหอยโข่ง (centrifugal pump) ของ Nocchi pumps รุ่น EP-2M 1 เครื่อง

2.6 เครื่องสูบน้ำแบบรีด (peristatic pump) ของ Watson-Marlow รุ่น 604U/R 2 เครื่อง

2.7 สายยางซิลิโคน ขนาด 6.4 มิลลิเมตร

2.8 มาตรวัดการไหล (flow meter) ของ Blue White ขนาด 1.0 ลิตร/นาที 1 ตัว และของ Flusslgkeit ขนาด 5 ลิตร/นาที 1 ตัว

2.9 เครื่องวัดความดัน (pressure gauge) ของ Hi-light ขนาด 3 kg/m^2 3 ตัว

2.10 ท่อ ข้อต่อ และวาล์วต่าง ๆ

3. <u>การเตรียมตัวอย่างน้ำ และน้ำล้างย้อน</u>

3.1 ตัวอย่างน้ำที่ใช้ในการทดลองมี 3 ชนิด คือ

3.1.1 น้ำประปาเติมโคลิฟาจ นำสต็อกโคลิฟาจที่ทราบความเข้มข้น โดยเตรียมตามหัวข้อ 1.5 มาเจือจางด้วยน้ำประปาที่กำจัดคลอรีนแล้วในปริมาตรที่ต้องการ และเหลือคววมเข้มข้นของโคลิฟาจ ประมาณ $10^6 - 10^7$ พีเอฟยู/มิลลิลิตร

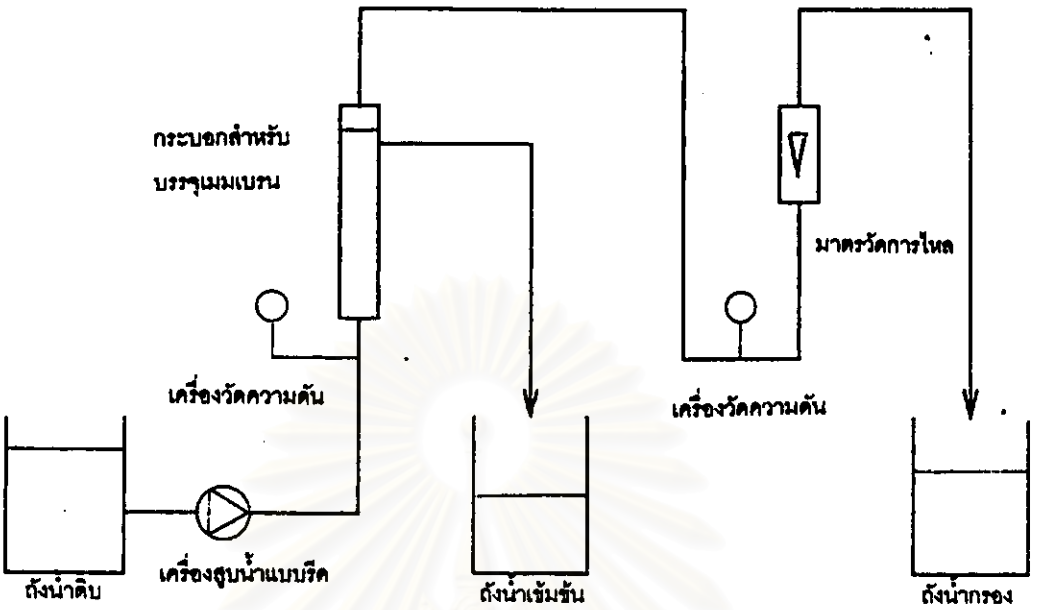
3.2.2 น้ำประปาเติมอีโคไลนำสต็อกอีโคไลที่ทราบความเข้มข้น มาเจือจางด้วยน้ำประปาที่กำจัดคลอรีนแล้วในปริมาณที่ต้องการ และเหลือความเข้มข้นของอีโคไลประมาณ $10^7 - 10^8$ โคโลนี/มิลลิลิตร

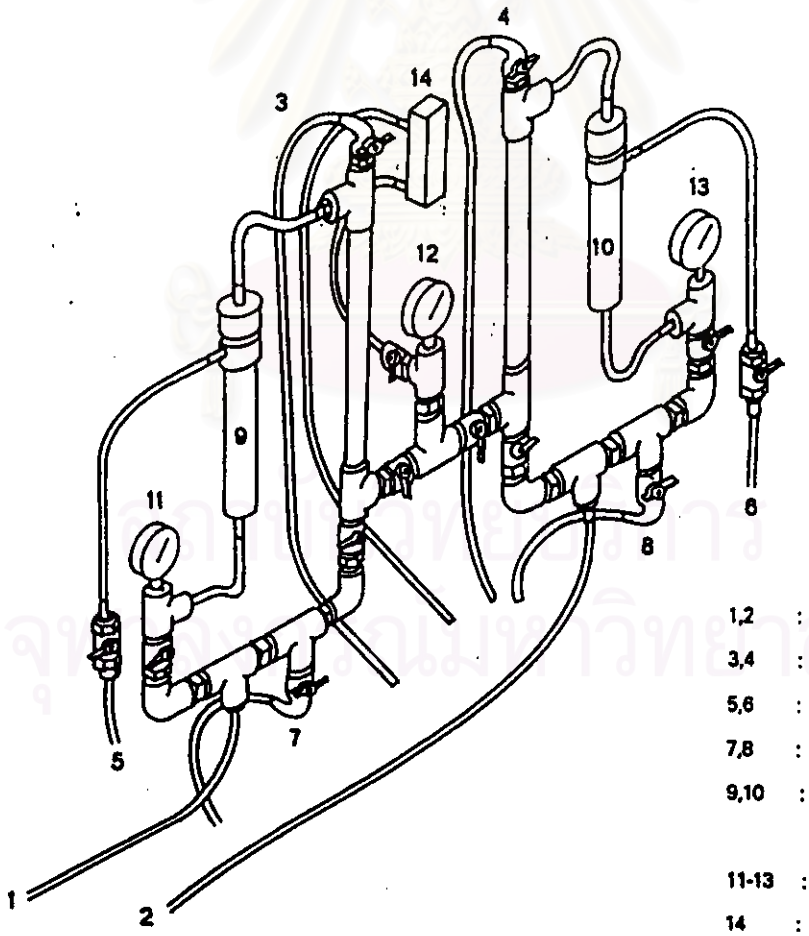
3.2.3 น้ำประปาเติมโคลิฟาจและอีโคไล เตรียมโคลิฟาจและอีโคไล ตามข้อ 1และ 2 ตามลำดับ แล้วผสมให้ได้ปริมาตรที่ต้องการ

3.2 น้ำล้างย้อน ใช้น้ำประปาผ่านการกรองด้วยเมมเบรนขนาด 0.03 ไมครอน

3.3 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เตรียม H_2O_2 3 % เพื่อใช้ล้างเมมเบรนทุกครั้งก่อนการเปลี่ยนค่าอัตราการกรองใหม่

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





1,2 : ทางน้ำเข้า
3,4 : ทางน้ำกรอง
5,6 : ทางน้ำเข้มข้น
7,8 : ท่อย้อม
9,10 : กระบอกสำหรับ
บรรจุเมมเบรน
11-13 : เครื่องวัดความดัน
14 : มาตรวัดการไหล

รูปที่ 3.3 แผนภาพการไหล(บน) และอุปกรณ์การทดลอง(ล่าง)

วิธีการดำเนินการวิจัย

ในการดำเนินการวิจัยจะทำการกรองตัวอย่างน้ำทั้ง 3 ชนิด ผ่านเมมเบรนระบบอุลตราฟิลเตรชัน โดยเปลี่ยนขนาดช่องว่างเมมเบรน และอัตรากรอง ตามตารางที่ 3.1

1. การทดลอง

เตรียมตัวอย่างน้ำตามหัวข้อ 3.1 จากนั้นสูบน้ำเข้าระบบการกรอง แล้วทำการกรองด้วยเมมเบรนขนาดต่างกัน 2 ขนาด คือ 0.1 และ 0.03 ไมครอน โดยเปลี่ยนอัตรากรอง 4 ค่า คือ

- 0.5 ลิตร/นาที
- 1.0 ลิตร/นาที
- 1.5 ลิตร/นาที
- 2.0 ลิตร/นาที

ในการทดลองนี้จะทำการล้างย้อนเมื่อกรองตัวอย่างน้ำจนความดันถึง 1 หรือ 2 บาร์ จึงสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งจะทำการล้างย้อนด้วยน้ำล้างย้อน โดยจะล้างย้อนที่ความดัน 3 บาร์ เป็นเวลา 5 นาที จึงจะเริ่มทำการทดลองชุดใหม่ ทำเช่นนี้จนครบ 3 ครั้ง แล้วทำการล้างเมมเบรนด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3 เปอร์เซนต์ ก่อนจึงเปลี่ยนอัตราการกรองค่าใหม่ต่อไป

สำหรับตัวอย่างน้ำที่เป็นน้ำประปาเติมอีโคไล และน้ำประปาเติมโคลิฟาจจะทำการทดลองในแต่ละอัตรากรองเพียงชุดเดียว เนื่องจากตัวอย่างน้ำทั้งสองดังกล่าว ใช้ในการเปรียบเทียบกับผลที่ได้จากตัวอย่างน้ำซึ่งเป็นน้ำประปาที่เติมทั้งอีโคไล และโคลิฟาจ ซึ่งจะทำการทดลองในแต่ละอัตรากรอง 3 ชุด

2. การเก็บตัวอย่าง และการบันทึกผลการทดลอง

ข้อมูลที่ต้องการวิเคราะห์ แสดงดังตารางที่ 3.2 และวิธีการที่จะใช้มีดังนี้ คือ

2.1 ความเข้มข้นของโคลิฟาจ ใช้การตรวจสอบด้วยวิธี Plaque assay

2.2 ความเข้มข้นของอีโคไล ใช้การตรวจสอบด้วยวิธี Plate count

2.3 ความดัน ใช้เครื่องวัดความดัน

2.4 อัตราการไหล ใช้มาตรวัดการไหล

ตารางที่ 3.2 ตารางการเก็บข้อมูล

ขนาดเมมเบรน_____ไมครอน
ตัวอย่างน้ำ_____
อัตราการกรอง _____ลิตร/นาที

วันที่ทดลอง (ชุดที่)	เวลากรอง (นาที)	ความดัน (บาร์)	ความเข้มของอีโคไล (โคโลนี/มิลลิลิตร)		ความเข้มของโคลิฟาจ (พีเอฟยู/มิลลิลิตร)	
			น้ำเข้า	น้ำกรอง	น้ำเข้า	น้ำกรอง
1	#	0	#	#	#	#
	#	0.1				
	#	0.2		#		#
	.	.				
	.	.				
	.	.				
	#	1.0		#		#
2						
3						
4						
5						

การเก็บตัวอย่างเพื่อหาค่าความเข้มข้นของโคลิฟาจ และอีโคไลของน้ำกรองจะทำการเก็บตัวอย่างชุดละ 4 ค่า

เมื่อจบแต่ละชุดการทดลองจะทำการล้างย้อน ด้วยน้ำล้างย้อน และเมื่อทำการทดลองครบ 3 ชุดการทดลอง ให้ล้างเมมเบรนด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3%

ผลที่คาดว่าจะได้รับจากการทดลอง

1. จากผลการวิเคราะห์น้ำที่ผ่านการกรองแล้ว จากการทดลองที่ใช้น้ำดิบจากน้ำประปาเติมโคลิฟาจ จะทำให้ได้ค่าของปริมาณโคลิฟาจในน้ำกรองแต่ละอัตรากรอง ซึ่งจะทำให้ทราบถึง ประสิทธิภาพในการกำจัดโคลิฟาจของเมมเบรนขนาดต่าง ๆ ในแต่ละอัตรากรองต่อพื้นที่ผิวของเมมเบรน

2. จากผลการวิเคราะห์น้ำที่ผ่านการกรองแล้ว จากการทดลองที่ใช้น้ำดิบจากน้ำประปาเติมอีโคไล จะทำให้ได้ค่าของปริมาณอีโคไลในน้ำกรองแต่ละอัตรากรอง ซึ่งจะทำให้ทราบถึง ประสิทธิภาพในการกำจัดอีโคไลของเมมเบรนขนาดต่าง ๆ ในแต่ละอัตรากรองต่อพื้นผิวของเมมเบรน

3. จากผลการวิเคราะห์น้ำที่ผ่านการกรองแล้ว จากการทดลองที่ใช้น้ำดิบจากน้ำประปาเติมอีโคไลและโคลิฟาจ จะทำให้ได้ค่าของปริมาณโคลิฟาจในน้ำกรองแต่ละอัตรากรอง ซึ่งจะทำให้ทราบถึง ประสิทธิภาพในการกำจัดโคลิฟาจของเมมเบรนขนาดต่าง ๆ ในแต่ละอัตรากรองต่อพื้นที่ผิวของเมมเบรน ในกรณีที่น้ำดิบมีทั้งโคลิฟาจ และอีโคไลผสมอยู่ ซึ่งจะใกล้เคียงกับน้ำดิบจริง

4. จากการเปรียบเทียบผลในข้อ 1 และ 3 จะทำให้ทราบว่าในกรณีที่น้ำมีอีโคไลปนอยู่ จะมีผลกระทบในด้านบวกหรือลบ หรือไม่มีผลใด ๆ ต่อการกำจัดโคลิฟาจโดยอาศัยวิธีการกรองด้วยเมมเบรน ซึ่งจะทำให้ทราบว่า ในการใช้งานจริงนั้นต้องมีการกำจัดอีโคไลก่อนการกำจัดโคลิฟาจหรือไม่

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย