



คู่มือปฏิบัติงานหลัก

เรื่อง

เทคนิคการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม (Gram Staining)
พร้อมคลิปวิดีโอสาธิต

จัดทำโดย

นางสาวสุรีพร วิจิตรโสภา
นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

คำนำ

คู่มือปฏิบัติงานหลักเล่มนี้จัดทำขึ้นเพื่อช่วยให้หน่วยงานมีคู่มือไว้ใช้ในการปฏิบัติงาน และช่วยให้ผู้ปฏิบัติงานใหม่สามารถศึกษางานได้อย่างรวดเร็ว ทำให้งานของหน่วยงานมีระบบและมีประสิทธิภาพมากขึ้นจากคู่มือปฏิบัติงานหลักเล่มนี้

วัตถุประสงค์ของการจัดทำคู่มือปฏิบัติงานหลัก เรื่อง เทคนิคการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม (Gram Staining) พร้อมคลิปวิดีโอสาธิต เพื่อให้ผู้ปฏิบัติงานได้ทราบถึงขั้นตอนและเทคนิคในการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม ซึ่งผู้ที่ต้องการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม (Gram Staining) สามารถนำคู่มือปฏิบัติงานหลักฉบับนี้ไปใช้เป็นแนวทางในการปฏิบัติงานได้ ซึ่งในแต่ละขั้นตอนได้อธิบายถึงเทคนิคต่าง ๆ ปัญหา แนวทางการแก้ไขปัญหา และข้อเสนอแนะ โดยท่านสามารถดาวน์โหลดคู่มือบนเว็บไซต์ของคณะเทคโนโลยีการเกษตร และสามารถศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมจากวิดีโอสาธิตก่อนทำปฏิบัติการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม ทางช่องยูทูป nakwit channel หรือทางลิงก์และคิวอาร์โค้ดใน Google Drive

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา เป็นอย่างยิ่งที่สนับสนุนและส่งเสริมให้จัดทำคู่มือปฏิบัติงานหลักเล่มนี้ขึ้นมา โดยเฉพาะอย่างยิ่งคณบดีคณะเทคโนโลยีการเกษตรและเพื่อนร่วมงานทุกคน ที่เป็นกำลังใจให้คู่มือปฏิบัติงานหลักเล่มนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

นางสาวสุรีพร วิจิตรโสภา
นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ
มกราคม 2567

สารบัญ

	หน้า
คำนำ.....	ก
สารบัญ.....	ข
สารบัญตาราง.....	ง
สารบัญภาพ.....	จ
ส่วนที่ 1 บริบทมหาวิทยาลัย.....	1
ประวัติมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.....	1
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา วิทยาเขตจังหวัดสตูล.....	3
ปรัชญา ปณิธาน ค่านิยมองค์กร คติพจน์ของมหาวิทยาลัย.....	4
วัตถุประสงค์.....	4
อัตลักษณ์มหาวิทยาลัย.....	5
ตราสัญลักษณ์.....	6
สีประจำ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.....	6
ดอกไม้ประจำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาคือ ดอกปาริฉัตร.....	7
ต้นไม้ประจำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาคือ ต้นสารภีทะเล.....	7
โครงสร้างการแบ่งส่วนราชการของมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.....	8
ประวัติคณะเทคโนโลยีการเกษตร.....	9
ปรัชญา.....	9
วิสัยทัศน์.....	9
พันธกิจ.....	10
นโยบาย.....	10
ประเด็นยุทธศาสตร์.....	11
โครงสร้างองค์กร	12
การแบ่งส่วนราชการภายในคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา..	13

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ส่วนที่ 2 บทนำ.....	15
ความเป็นมา.....	15
วัตถุประสงค์ของการจัดทำคู่มือปฏิบัติงาน.....	15
นิยามศัพท์.....	16
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	16
ส่วนที่ 3 ขั้นตอนการปฏิบัติงาน.....	17
1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....	17
2 วัสดุอุปกรณ์ เชื้อจุลินทรีย์ สารเคมี และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ ที่ใช้ในการ ย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม.....	19
3 เทคนิคการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม (Gram Staining).....	27
ส่วนที่ 4 ปัญหา/อุปสรรค แนวทางแก้ไข และข้อเสนอแนะ.....	34
ปัญหา.....	34
แนวทางแก้ไข.....	34
ข้อเสนอแนะ.....	34
บรรณานุกรม.....	35
ประวัติผู้จัดทำ.....	36

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 แสดงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการย้อมสีแบบแกรม.....	33

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 หลักการติดสีในการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์.....	18
2 ห่วงถ่ายเชื้อ/ห่วงเชี่ยเชื้อ (Inoculating loop).....	19
3 แผ่นสไลด์ (Slide) และกระจกปิดสไลด์ (Cover glass).....	19
4 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol burner) และไฟแช็ค (Lighter).....	20
5 ปีกเกอร์ (Beaker).....	20
6 กระดาษทิชชู (Tissue paper).....	21
7 ถุงพลาสติก.....	21
8 แท่งเหล็กสำหรับวางแผ่นสไลด์.....	22
9 แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์.....	22
10 แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์.....	23
11 ปากกาเขียนเครื่องแก้ว.....	23
12 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S.aureus</i>).....	24
13 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> (<i>E.coli</i>).....	24
14 ชุดสีย้อมแกรม.....	25
15 Immersion oil.....	25
16 กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงเชิงซ้อน (Light Compound Microscope)....	26
17 วิธีการล้างแผ่นสไลด์ด้วยสบู่.....	27
18 วิธีการล้างแผ่นสไลด์ด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์.....	27
19 วิธีการหยดน้ำกลั่นลงบนแผ่นสไลด์.....	27
20 วิธีการฆ่าเชื้อห่วงถ่ายเชื้อ/ห่วงเชี่ยเชื้อ.....	28
21 วิธีการแตะเชื้อจุลินทรีย์ไปใช้ย้อมสีแบบแกรม.....	28
22 วิธีการเกลี่ยเชื้อจุลินทรีย์บนแผ่นสไลด์.....	28
23 วิธีการตรึงเชื้อจุลินทรีย์กับแผ่นสไลด์.....	29
24 วิธีการหยดสีคริสตัลไวโอเลต.....	29
25 วิธีการล้างสีคริสตัลไวโอเลตออกด้วยน้ำกลั่น.....	29
26 วิธีการหยดสารละลายไอโอดีน.....	30

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ	หน้า	
27	วิธีการล้างสีออกด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (Decolorizer).....	30
28	วิธีการล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อหยุดปฏิกิริยาการล้าง.....	30
29	วิธีการหยุดสีซาฟรานิน.....	31
30	วิธีการล้างสีซาฟรานินออกด้วยน้ำกลั่น.....	31
31	วิธีการซับน้ำส่วนเกินออกหลังจากการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์.....	31
32	วิธีการตรวจดูเชื้อจุลินทรีย์ด้วย Oil immersion lens ของกล้องจุลทรรศน์..	32
33	เชื้อจุลินทรีย์แกรมบวก ติดสี Crystal violet.....	32
34	เชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นแกรมลบ ติดสี Safranin.....	32
35	คิวอาร์โค้ดวิดีโอ ใน Google Drive.....	34

ส่วนที่ 1

บริบทมหาวิทยาลัย

ประวัติมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา เป็นสถาบันอุดมศึกษาที่เก่าแก่ที่สุดของภาคใต้ และเป็นสถาบันที่มีพัฒนาการอย่างต่อเนื่องตลอดมา ตั้งแต่ยังมีฐานะเป็นเพียงโรงเรียนฝึกหัดครูมณฑล จนกระทั่งเป็นมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ดังเช่นปัจจุบัน

ประวัติศาสตร์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาเริ่มต้นขึ้นในปี พ.ศ. 2462 เมื่อกรรมการมณฑลนครศรีธรรมราชซึ่งขณะนั้นอยู่ที่จังหวัดสงขลา และกรรมการจังหวัดสงขลาได้คิดผลิตครูมณฑลขึ้นเพื่อให้ไปทำหน้าที่สอนในระดับประถมศึกษาจึงได้จัดตั้งโรงเรียนฝึกหัดครูมณฑลขึ้น โดยให้เรียนร่วมกับโรงเรียนประจำมณฑลนครศรีธรรมราช (คือโรงเรียนมหาวชิราวุธ ซึ่งขณะนั้นตั้งอยู่ที่บริเวณโรงเรียนวิเชียรชมในปัจจุบัน) รับนักเรียนจบชั้นประถมศึกษาปีที่ 3 (ประถมปีที่ 3) เข้าเรียนตามหลักสูตร ป.4, ป.5 และ ป.6 โดยเพิ่มวิชาครูเป็นพิเศษ ผู้สำเร็จการศึกษาตามหลักสูตรดังกล่าวเรียกว่า ครูประกาศนียบัตรมณฑล

ในปี พ.ศ. 2464 มีการประกาศใช้พระราชบัญญัติประถมศึกษา กรรมการมณฑลจึงได้จัดตั้งโรงเรียนฝึกหัดครูประจำมณฑลขึ้นโดยเฉพาะเมื่อ พ.ศ. 2468 โดยตั้งที่ตำบลท่าชะมวง อำเภอท่าแพเพชร (ปัจจุบันคืออำเภอรัตนภูมิ) จังหวัดสงขลา เรียกว่าโรงเรียนฝึกหัดครูมณฑล (ปัจจุบันเป็นที่ตั้งของวิทยาลัยเกษตรกรรมและเทคโนโลยีสงขลา) โดยรับนักเรียนที่จบ ม. 3 หรือครูที่ทางอำเภอและจังหวัดต่าง ๆ ส่งมาเรียน กำหนด 2 ปี สำเร็จแล้วจะได้รับประกาศนียบัตรวิชาชีพครูมณฑล (ป.)

ต่อมาได้มีพระราชบัญญัติว่าด้วยการบริหารแห่งราชอาณาจักรสยาม พ.ศ. 2476 ให้เลิกการแบ่งเขตการปกครองเป็นมณฑล โรงเรียนฝึกหัดครูประจำ มณฑลนครศรีธรรมราชที่ท่าชะมวง จึงได้เปลี่ยนเป็นโรงเรียนฝึกหัดครูประกาศนียบัตรจังหวัด เมื่อปี พ.ศ. 2477 โดยรับนักเรียนที่เรียน ป. 6 หรือ ม. 2 (ตามแผนการศึกษาแห่งชาติ พ.ศ. 2475) เข้าเรียนมีกำหนด 2 ปี ต่อมาในปี พ.ศ. 2482 จึงได้เปลี่ยนมาเป็นรับนักเรียน ม. 3 เข้าเรียน มีกำหนด 2 ปี ผู้สำเร็จการศึกษาจะได้ประกาศนียบัตรจังหวัด (ว.)

นอกจากนี้โรงเรียนฝึกหัดครูประกาศนียบัตรจังหวัด ยังรับนักเรียนที่เตรียมไว้เพื่อบรรจุเป็นครูประจำตำบล ซึ่งทางจังหวัดต่าง ๆ ได้คัดเลือกนักเรียนที่จบ ป. 4 จากตำบลทุกตำบลในจังหวัดนั้น ๆ มาเข้าเรียน มีกำหนด 3 ปี เมื่อสำเร็จการศึกษาแล้ว จะได้ประโยคครูประจำตำบล (ป.บ.) และกลับไปเป็นครูในตำบลที่ตนมีภูมิลำเนาอยู่

ปี พ.ศ. 2482 โรงเรียนฝึกหัดครูประกาศนียบัตรจังหวัดสงขลา ได้ย้ายจากท่าชะมวงมาเรียนที่ตำบลคองหงส์ อำเภอหาดใหญ่ และในปี พ.ศ. 2490 เปลี่ยนฐานะจากโรงเรียนฝึกหัดครูประกาศนียบัตรจังหวัดเป็นโรงเรียนฝึกหัดครูมูลและมีการปรับปรุงหลักสูตรใหม่ โดยรับนักเรียนที่จบชั้นมัธยมปีที่ 6 หรือประโยคประกาศนียบัตรครูมูล (ว.) เข้าเรียนต่ออีก 1 ปี สำเร็จแล้วจะได้รับประกาศนียบัตรครูมูล (ป.)

ต่อมาใน พ.ศ. 2498 ก็ได้เปิดสอนหลักสูตรประกาศนียบัตรวิชาการศึกษา โดยรับนักเรียนที่จบ ม. 6 เข้าเรียน 2 ปี ผู้สำเร็จการศึกษาจะได้รับประกาศนียบัตรวิชาการศึกษา (ป.กศ.) และโรงเรียนฝึกหัดครูมูลสงขลา ก็เปลี่ยนเป็นโรงเรียนฝึกหัดครูสงขลา จนกระทั่งเมื่อวันที่ 1 มิถุนายน พ.ศ. 2499 จึงได้ย้ายมาตั้งอยู่ ณ บริเวณบ้านเขารูปช้าง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา อันเป็นสถานที่ตั้งในปัจจุบันและได้ยกฐานะเป็นวิทยาลัยครูสงขลา เมื่อวันที่ 1 พฤษภาคม พ.ศ. 2504 อีกทั้งได้ขยายชั้นเรียนไปจนถึงระดับประกาศนียบัตรวิชาการศึกษาชั้นสูง (ป.กศ.สูง) ในปีเดียวกันนั่นเอง

ครั้นเมื่อถึงปี พ.ศ. 2518 รัฐบาลได้ประกาศใช้พระราชบัญญัติวิทยาลัยครู พ.ศ. 2518 ทำให้วิทยาลัยครูสงขลาเปิดสอนถึงระดับปริญญาตรี ในสาขาครุศาสตร์ โดยรับนักศึกษาที่เรียนจบ ป.กศ.สูงหรือครูประจำการ ที่ได้รับวุฒิป.ม. เข้าศึกษาต่อ 2 ปี ผู้สำเร็จการศึกษาจะได้รับวุฒิศาตรบัณฑิต (ค.บ.) และในปี พ.ศ. 2522 ก็ได้เปิดโครงการอบรมครูประจำการและบุคลากรทางการศึกษา (อ.ค.ป.) ในระดับ ป.กศ.ชั้นสูงและระดับปริญญาตรี (ค.บ.) หลังจากนั้นในปี พ.ศ. 2524 ก็ได้ร่วมมือกับมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เปิดสอนหลักสูตรการโรงแรมและการท่องเที่ยว กับหลักสูตรการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำโดยเรียกโครงการนี้ว่า วิทยาลัยชุมชนสงขลา

ต่อมาในปี พ.ศ. 2527 รัฐบาลได้ประกาศใช้พระราชบัญญัติวิทยาลัยครู พ.ศ. 2527 ให้วิทยาลัยครูทำหน้าที่ผลิตครูและเปิดสอนวิชาชีพ ตามความต้องการและความจำเป็นของท้องถิ่น วิทยาลัยครูสงขลาจึงได้ผลิตครูระดับปริญญาตรี ครุศาสตร์บัณฑิต และบัณฑิตหรือประกาศนียบัตรวิชาชีพอื่น ๆ ตามความต้องการและความจำเป็น ของท้องถิ่นตั้งแต่บัดนั้นเป็นต้นมา และในปี พ.ศ. 2529 ได้เปิดการศึกษาสำหรับบุคลากรประจำการ (กศ.บป.) ในระดับอนุปริญญาและระดับปริญญาตรีสาขาครุศาสตร์ ซึ่งต่อมาก็ได้ขยายไปสู่สาขาอื่น ๆ คือ ศิลปศาสตร์ และวิทยาศาสตร์ ดังที่เป็นอยู่ในปัจจุบัน

เมื่อวันที่ 14 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2535 พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว รัชกาลที่ 9 ทรงพระกรุณาโปรดเกล้า ฯ พระราชทานนาม “ ราชภัฏ ” แทนชื่อวิทยาลัยครูทั่วประเทศ ทำให้วิทยาลัยครูสงขลา เปลี่ยนชื่อเป็น “สถาบันราชภัฏสงขลา” ตั้งแต่บัดนั้น เป็นต้นมา สถาบันราชภัฏสงขลาได้มีความเจริญก้าวหน้ามาเป็นลำดับ จนสามารถเปิดสอนถึงระดับบัณฑิตศึกษาได้ในปี พ.ศ. 2544 และเมื่อวันที่ 15 มิถุนายน พ.ศ. 2547 จึงได้รับการยกฐานะเป็น “มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา”

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา วิทยาเขตจังหวัดสตูล

จังหวัดสตูลเป็นจังหวัดที่มีความต้องการทางการศึกษาของเยาวชนมีจำนวนมาก โดยเฉพาะในระดับการศึกษาขั้นพื้นฐาน และมีแนวโน้มที่นักเรียนเข้าศึกษาต่อในระดับอุดมศึกษาค่อนข้างสูง ทั้งนี้สถิติที่ผ่านมานักเรียนที่จบการศึกษาต่อในระดับอุดมศึกษากว่าร้อยละ 60 ในขณะที่จังหวัดสตูลนั้นยังไม่มีสถานศึกษาในระดับอุดมศึกษาซึ่งหากได้มีการสนับสนุนให้จัดตั้งสถานศึกษาในระดับอุดมศึกษาจังหวัดสตูลนั้น ก็จะเป็นการยกระดับมาตรฐานการศึกษาของเยาวชน และสร้างคุณภาพชีวิตของประชาชนตามยุทธศาสตร์จังหวัดชายแดนภาคใต้ที่จะส่งผลให้เกิดความมั่นคงของประเทศอย่างยั่งยืน ประกอบกับทางองค์การบริหารส่วนจังหวัดสตูล มีแนวนโยบายในการส่งเสริมการศึกษาในระดับอุดมศึกษา ซึ่งสอดคล้องกับประเด็นยุทธศาสตร์ของจังหวัดสตูลที่ต้องการเพิ่มขีดความสามารถของบุคลากรและเป้าประสงค์ที่ต้องการเพิ่มรายได้จากการท่องเที่ยวและพัฒนาคุณภาพของสินค้าและบริการ

สตูลได้รับการพัฒนาโครงสร้างทางเศรษฐกิจให้เป็นเขตเศรษฐกิจพิเศษตามยุทธศาสตร์จังหวัดชายแดนใต้ และเป็นประตูสู่เวทีอาเซียน ทั้งนี้เพื่อรองรับการพัฒนาในด้านต่าง ๆ จึงควรมีสถาบันอุดมศึกษาในการพัฒนาทรัพยากรมนุษย์อย่างมีคุณภาพอย่างแท้จริงทำให้มีโครงการจัดตั้งมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาวิทยาเขตจังหวัดสตูลด้วยการผลักดันของทุกภาคส่วนในจังหวัดสตูลและประชาชนในพื้นที่ เพื่อการพัฒนาท้องถิ่นอย่างยั่งยืน

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาได้ดำเนินโครงการจัดตั้งมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาวิทยาเขตจังหวัดสตูล โดยได้รับอนุมัติจากสภามหาวิทยาลัย เมื่อวันที่ 24 มกราคม 2552 เพื่อรองรับการพัฒนาจังหวัดให้สอดคล้องตามประเด็นยุทธศาสตร์จังหวัดชายแดนใต้ โดยให้ประสานงบประมาณการดำเนินงานจากทุกภาคส่วนทั้งในระดับชาติและระดับจังหวัด ทั้งนี้มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ได้ดำเนินการเพื่อขอลอนสถานภาพและดำเนินการเพื่อขอใช้พื้นที่ตามหนังสือสำคัญสำหรับที่หลวง ฉบับที่ 4036/2515 (ทุ่งใหญ่สาธารณประโยชน์) ได้น้อยที่ 346 ไร่ 93 ตารางวา ตามระเบียบกระทรวงมหาดไทยว่าด้วยวิธีปฏิบัติการถอนสภาพการขึ้นทะเบียนและการจัดหาผลประโยชน์ในที่ดินของรัฐ ตามประมวลกฎหมายที่ดิน พ.ศ. 2551 ณ พื้นที่สาธารณประโยชน์ทุ่งใหญ่สารภี ตำบลละงู อำเภอละงู จังหวัดสตูล

ดังนั้น มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา จังหวัดสตูล จึงได้ตั้งเจตนารมณ์ที่แน่วแน่และพันธะสัญญาที่ให้ไว้กับประชาชนในท้องถิ่น เป็นมหาวิทยาลัยเพื่อการพัฒนาท้องถิ่น มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา จะขยายโอกาสทางการศึกษาเพื่อการพัฒนาท้องถิ่น โดยการพัฒนาหลักสูตรเปิดสาขาที่ตอบสนองและสอดคล้องกับความต้องการของประชาชนในจังหวัดชายแดนใต้ ที่เป็นประโยชน์กับท้องถิ่นเพื่อการพัฒนาประเทศชาติอย่างยั่งยืนสืบต่อไป

ปรัชญา ปณิธาน ค่านิยมองค์กร คติพจน์

ปรัชญา

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา : สถาบันอุดมศึกษาเพื่อการพัฒนาท้องถิ่น

ปณิธาน

ปัญญาญาณของท้องถิ่น

พลังแผ่นดินแห่งสยาม

สนองพระราชปิตุคาม

งดงามอย่างยั่งยืน

ค่านิยมองค์กร

S = Skill

K = Knowledge

R = Responsibility

U = Unity

คติพจน์

ปถุญานรานรตนํ - ปัญญาเป็นดวงแก้วของนรชน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อผลิตครูและพัฒนาบุคลากรทางการศึกษาให้มีคุณภาพ มีความเข้มแข็งในวิชาชีพครู และเป็นผู้ดำเนินการปฏิรูปการศึกษา
2. เพื่อผลิตบัณฑิตและพัฒนาบุคลากรในท้องถิ่นอย่างต่อเนื่องให้เป็นผู้ที่มีความรู้ มีคุณธรรม และจริยธรรม และมีขีดความสามารถที่สอดคล้องกับทิศทางการพัฒนาประเทศ
3. เพื่อส่งเสริมองค์ความรู้จากการวิจัยและเชื่อมศาสตร์สู่สากลให้เกิดเป็นแหล่งเรียนรู้และถ่ายทอดเทคโนโลยีเพื่อการแก้ไขปัญหาและพัฒนาท้องถิ่นอย่างยั่งยืน
4. เพื่อบริการวิชาการและถ่ายทอดเทคโนโลยีจากฐานการวิจัยตามแนวคิดเศรษฐกิจพอเพียงในการสร้างความเข้มแข็งให้กับชุมชน
5. เพื่อส่งเสริม สืบสาน สร้างความรู้ความเข้าใจ และสร้างสรรค์ศิลปวัฒนธรรมของท้องถิ่น และของชาติ เพื่อให้เกิดความสำนึก ความภูมิใจ รักและผูกพันในท้องถิ่นและประเทศชาติ
6. เพื่อส่งเสริมและสืบสานพระบรมราชาบายและโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
7. เพื่อพัฒนาประสิทธิภาพการบริหารจัดการของมหาวิทยาลัยให้สามารถดำเนินภารกิจได้อย่างมีคุณภาพ

อัตลักษณ์มหาวิทยาลัย

“เป็นคนดี มีทักษะชีวิต มีจิตสาธารณะ”

นิยาม “เป็นคนดี” เป็นผู้ที่คิดดี พูดดี และทำดี หมายถึง คิด พูด และทำสิ่งที่เป็นประโยชน์ ตนและสิ่งที่เป็นประโยชน์ท่าน

นิยาม “มีทักษะชีวิต” มีความชำนาญ มีความสามารถในการประยุกต์ใช้ปัญญาและเหตุผล ในการดำเนินชีวิต ผ่านกระบวนการฝึกทักษะการคิด ทักษะการตัดสินใจ ทักษะการแก้ปัญหา ทักษะการคิดสร้างสรรค์ ทักษะการคิดอย่างมีวิจารณญาณ ทักษะการสื่อสารอย่างมีประสิทธิภาพ ทักษะการสร้างความสัมพันธ์ระหว่างบุคคล ทักษะการตระหนักรู้ในตน ทักษะการเข้าใจผู้อื่น ทักษะการจัดการกับอารมณ์ และทักษะการจัดการกับความเครียด






นิยาม “มีจิตสาธารณะ” จิตที่คิดสร้างสรรค์ เป็นกุศล และมุ่งทำกรรมดีที่เป็นประโยชน์ต่อส่วนรวม ตั้งอยู่บน พื้นฐานของความตั้งใจดี และเจตนาดี

คิดสร้างสรรค์ คือ คิดในทางที่ดี ไม่ทำลายบุคคล สังคม วัฒนธรรม ประเทศชาติและสิ่งแวดล้อม



กรรมดี คือ การกระทำ และคำพูดที่มาจากความคิดที่ดี

ตราสัญลักษณ์



	สีน้ำเงิน	แทนค่า สถาบันพระมหากษัตริย์ผู้ให้กำเนิด และพระราชทานนามมหาวิทยาลัยราชภัฏ
	สีเขียว	แทนค่า แหล่งที่ตั้งของมหาวิทยาลัยราชภัฏ ทั้ง ๓๖ แห่ง ในแหล่งธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมที่สวยงาม
	สีทอง	แทนค่า ความเจริญรุ่งเรืองทางภูมิปัญญา
	สีส้ม	แทนค่า ความเจริญรุ่งเรืองของศิลปวัฒนธรรมท้องถิ่นที่ก้าวไกลใน ๓๖ สถาบัน
	สีขาว	แทนค่า ความคิดอันบริสุทธิ์ของนักปราชญ์แห่งพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว

สีประจำ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

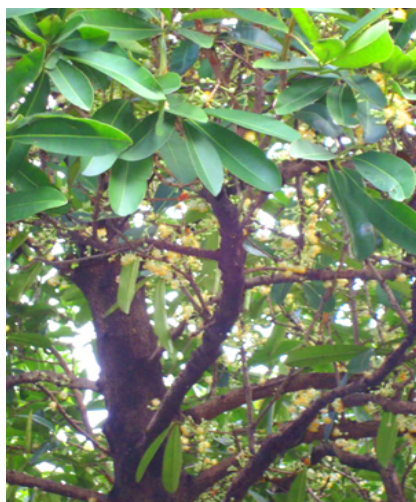
	สีขาว	หมายถึง ความถูกต้อง ความบริสุทธิ์
	สีแดง	หมายถึง ความรัก ความเข้มแข็ง

สีขาว - สีแดง หมายความว่า นักศึกษาของมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาทุกคนต้องกล้าคิด กล้าทำในสิ่งที่ถูกต้อง ตั้งใจด้วยความบริสุทธิ์ใจ

ดอกไม้ประจำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาคือ ดอกปาริฉัตร

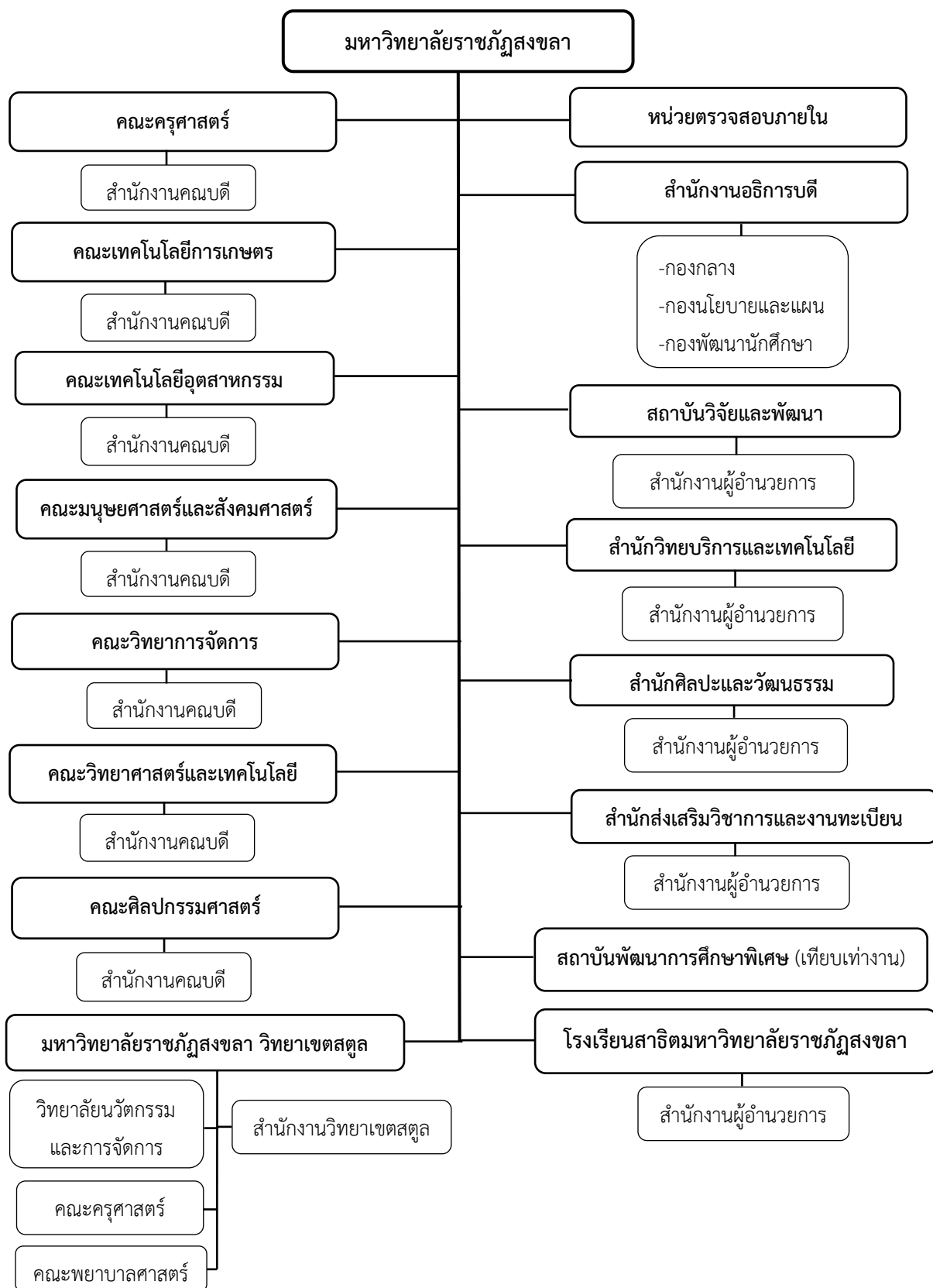


ต้นไม้ประจำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาคือ ต้นสารภีทะเล



โครงสร้างการแบ่งส่วนราชการของมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ตามกฎกระทรวง ประกาศกระทรวงศึกษาธิการ ระเบียบกระทรวงการคลัง และมติสภามหาวิทยาลัย



ประวัติคณะเทคโนโลยีการเกษตร

พ.ศ. 2530 วิทยาลัยครูสงขลา ได้รับการอนุมัติให้จัดตั้งคณะวิชาเกษตรและอุตสาหกรรม ประกอบด้วย ภาควิชาเกษตรศาสตร์ และภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โดยในภาควิชาเกษตรศาสตร์ ได้เปิดสอนสาขาวิทยาศาสตร์ระดับอนุปริญญา ปริญญาตรี 2 ปี ในวิชาเอกเทคโนโลยีการเกษตรและปริญญาตรี 4 ปี วิชาเอกเกษตรศาสตร์ ส่วนภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร ได้เปิดสอนระดับอนุปริญญา วิชาเอกวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

พ.ศ. 2535 พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว ได้ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ พระราชทานนามวิทยาลัยครูใหม่เป็นสถาบันราชภัฏทำให้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างการบริหารใหม่มีผลให้คณะวิชาเกษตรและอุตสาหกรรมเปลี่ยนเป็นคณะเกษตรและอุตสาหกรรมมีคณบดีเป็นผู้บริหารสูงสุดและมีการเปิดสอนวิชาเอกวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารเพิ่มขึ้น

เมื่อวันที่ 12 ตุลาคม พ.ศ.2542 สถาบันราชภัฏสงขลา ได้เปลี่ยนชื่อคณะเกษตรและอุตสาหกรรม เป็นคณะเทคโนโลยีการเกษตร มีการบริหารแบบโปรแกรมวิชาประกอบด้วย 4 โปรแกรมวิชา คือ โปรแกรมวิชาเกษตรศาสตร์ โปรแกรมวิชาเทคโนโลยีการเกษตร โปรแกรมวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และโปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

ปัจจุบัน คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา เปิดสอนในระดับปริญญาตรี 4 หลักสูตร ประกอบด้วย หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตรและอาหาร หลักสูตรเทคโนโลยีบัณฑิตสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ และสาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการผลิตภัณฑ์อาหาร

ปรัชญา

ความรู้คู่คุณธรรม นำวิชาชีพ สู่การพัฒนาท้องถิ่น

วิสัยทัศน์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร เป็นองค์กรการศึกษาชั้นนำด้านเกษตรและอาหาร เพื่อพัฒนาท้องถิ่นของภาคใต้

พันธกิจ

1. จัดการศึกษาเพื่อผลิตบัณฑิตทางการเกษตรและอาหาร
2. วิจัยและพัฒนาองค์ความรู้ทางการเกษตรและอาหาร
3. บริการวิชาการเพื่อการพัฒนาท้องถิ่น
4. อนุรักษ์ศิลปวัฒนธรรม และภูมิปัญญาท้องถิ่นทางการเกษตร
5. สืบสานโครงการอันเนื่องมาจากแนวพระราชดำริและพระบรมราโชบาย

นโยบาย

1. **นโยบายด้านการจัดการเรียนการสอน**
 - 1.1 สร้างบัณฑิตที่มีความเชี่ยวชาญทักษะในวิชาชีพ มีคุณธรรม
 - 1.2 พัฒนา/ปรับปรุงหลักสูตรที่สอดคล้องกับทิศทางการพัฒนาประเทศ
 - 1.3 จัดให้มีการเรียนรู้ที่เน้นเรียนรู้จากการปฏิบัติในสถานที่จริง
2. **นโยบายด้านการวิจัย**
 - 2.1 เพิ่มงานวิจัยและสร้างนวัตกรรมตามความต้องการของท้องถิ่น
 - 2.2 บูรณาการงานวิจัยสู่การเรียนการสอน
 - 2.3 สนับสนุน ส่งเสริมการเผยแพร่ผลงานวิจัยในระดับชาติและนานาชาติ
 - 2.4 ตั้งศูนย์ความเป็นเลิศทางการวิจัย
 - 2.5 สร้างเครือข่ายการวิจัยระดับชาติและนานาชาติ เพื่อผลิตผลงานวิจัยที่มีคุณภาพ
3. **นโยบายด้านการบริการวิชาการแก่ชุมชน**
 - 3.1 ส่งเสริม สืบสาน แนวพระราชดำริพระบรมราโชบายและปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียงในการพัฒนาท้องถิ่น
 - 3.2 จัดให้มีการฝึกอบรมและถ่ายทอดเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางการเกษตรและอาหารที่สอดคล้องกับนโยบายรัฐ จังหวัด ตามความต้องการของท้องถิ่น
 - 3.3 ส่งเสริมการบูรณาการการเรียนการสอน การทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม และการบริการวิชาการสู่ท้องถิ่น
 - 3.4 จัดให้มีวารสารทางวิชาการของคณะ
4. **นโยบายด้านการบริหารองค์กร**
 - 4.1 ส่งเสริมการจัดองค์กรในลักษณะบูรณาการ และสามารถตรวจสอบการบริหารงานได้ตลอดเวลา
 - 4.2 พัฒนาระบบสารสนเทศให้เป็นเครื่องมือในการบริหาร
 - 4.3 พัฒนาศักยภาพของบุคลากรสายสนับสนุนทั้งในด้านระบบการทำงาน และหน้าที่การงาน
 - 4.4 จัดให้มีการหารายได้ของคณะ

ประเด็นยุทธศาสตร์

ยุทธศาสตร์ที่ 1 การพัฒนาท้องถิ่น

Objective

- 1.1 นวัตกรรมชุมชนในพื้นที่เป้าหมาย
- 1.2 พัฒนาองค์ความรู้ที่ตอบโจทย์ความต้องการของพื้นที่
- 1.3 เพื่อการพัฒนาท้องถิ่นตามพระบรมราโชบาย

ยุทธศาสตร์ที่ 2 การยกระดับคุณภาพทางการศึกษา

Objective

- 2.1 พัฒนาหลักสูตรเพื่อรองรับการเปลี่ยนแปลงในอนาคต
- 2.2 เชื่อมโยงนานาชาติ สร้างความเป็นเลิศทางการศึกษาในสาขาที่มีฐานความเข้มแข็งและอัตลักษณ์ที่สอดคล้องกับต้นทุนทางวัฒนธรรมและภูมิสังคมของพื้นที่
- 2.3 พัฒนาคณะเทคโนโลยีการเกษตรให้เป็นแหล่งเรียนรู้ตลอดช่วงชีวิตสำหรับทุกคน
- 2.4 บัณฑิตมีคุณลักษณะในศตวรรษที่ 21 สอดคล้องกับความต้องการกับชุมชนท้องถิ่น

ยุทธศาสตร์ที่ 3 การพัฒนาระบบบริหารจัดการ

Objective

- 3.1 เสริมสร้างความมั่นคงทางอาชีพและสวัสดิการ
- 3.2 สร้างรายได้เพื่อเสริมสร้างความมั่นคงทางการเงิน และบริหารคณะเทคโนโลยีการเกษตรอย่างยั่งยืน

โครงสร้างองค์กร

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มีคณะกรรมการประจำคณะ และคณะกรรมการบริหารคณะ ทำหน้าที่กำหนดนโยบาย วางแผน และให้คำปรึกษาในการดำเนินงานของคณะ ซึ่งโครงสร้างการทำงานภายในคณะแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ดังนี้

1. หลักสูตร ประกอบด้วย

1.1 หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตรและอาหาร

1.2 หลักสูตรเทคโนโลยีบัณฑิต มี 3 สาขา คือ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ และสาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการผลิตภัณฑ์อาหาร

มีภารกิจหลักในการดูแลงานวิชาการ โดยแต่ละหลักสูตรมีประธานกรรมการบริหารหลักสูตรเป็นผู้บริหารจัดการ

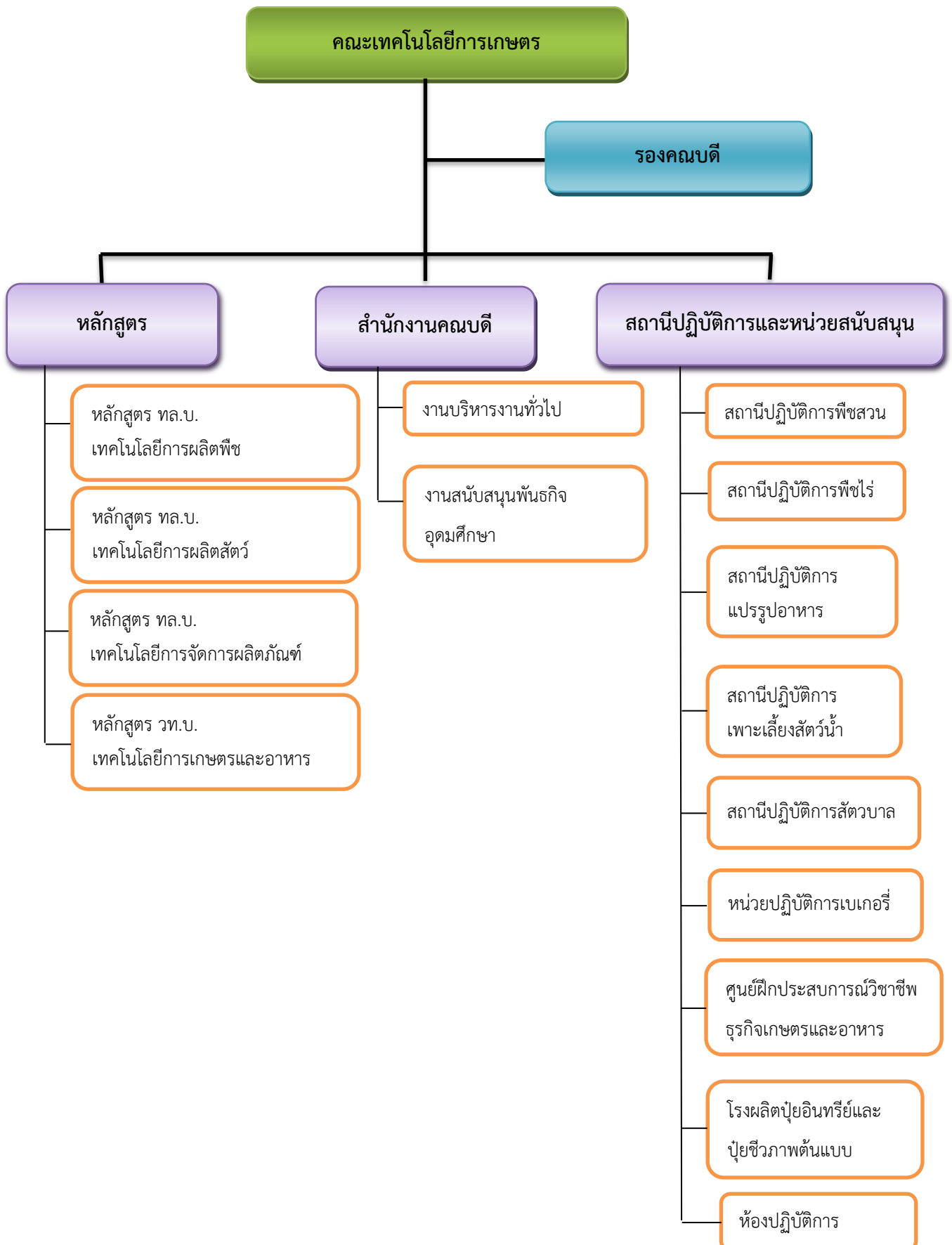
2. สำนักงานคณบดี ประกอบด้วย 2 งาน คือ งานบริหารงานทั่วไป และ งานสนับสนุนพันธกิจอุดมศึกษา โดยแต่ละงาน แยกออกเป็นหน่วยดังนี้

2.1 งานบริหารงานทั่วไป ประกอบด้วย หน่วยธุรการและสารบรรณ หน่วยเลขานุการ หน่วยบุคคล หน่วยแผนและงบประมาณ หน่วยการเงิน หน่วยพัสดุ หน่วยบริการโสตและอาคารสถานที่

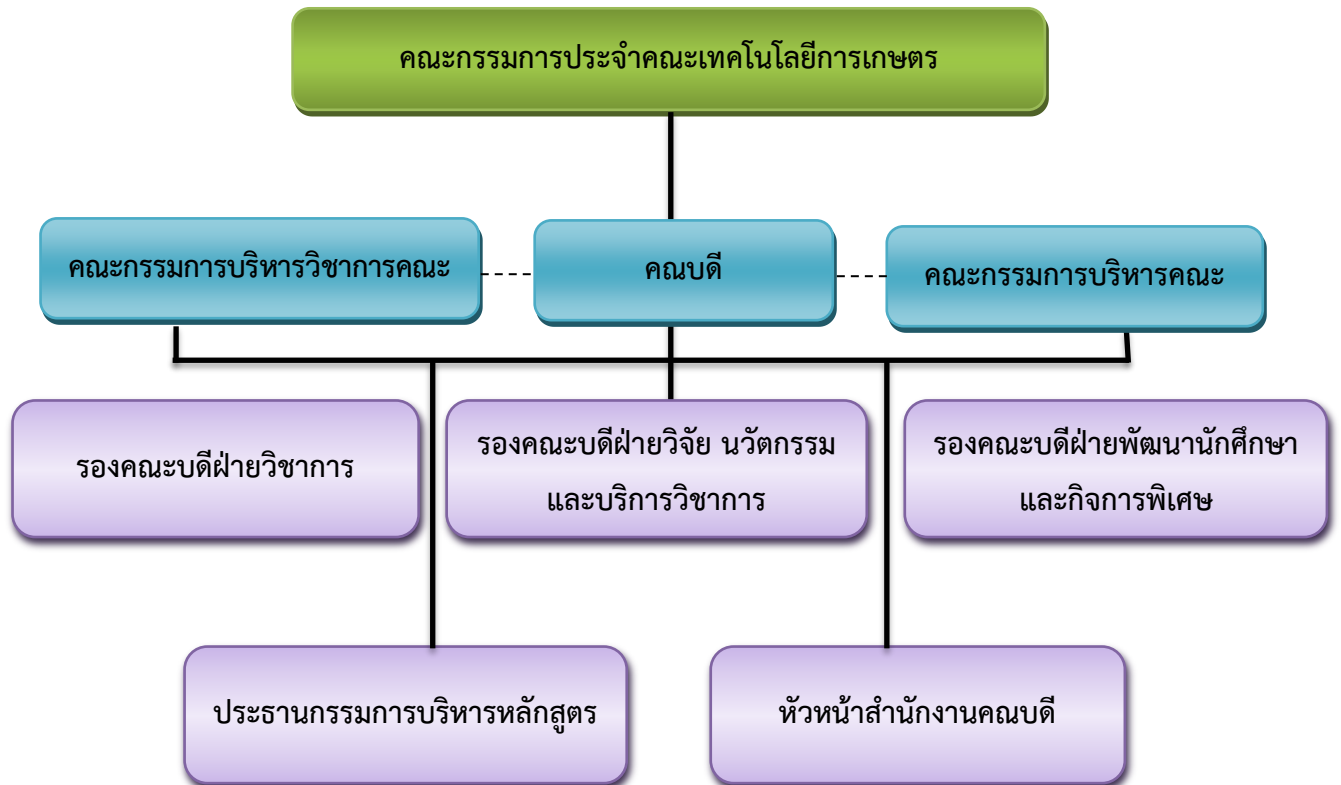
2.2 งานสนับสนุนพันธกิจอุดมศึกษา ประกอบด้วย หน่วยวิชาการ หน่วยกิจการนักศึกษา หน่วยวิจัยและบริการวิชาการ หน่วยประกันคุณภาพการศึกษา

3. สถานีปฏิบัติการและหน่วยสนับสนุน ประกอบด้วย สถานีปฏิบัติการสัตวบาล สถานีปฏิบัติการพืชไร่ สถานีปฏิบัติการพืชสวน สถานีปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ สถานีปฏิบัติการแปรรูปอาหาร หน่วยปฏิบัติการเบเกอร์รี่ ศูนย์ฝึกประสบการณ์วิชาชีพธุรกิจเกษตรและอาหาร โรงผลิตปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพต้นแบบ และห้องปฏิบัติการ

การแบ่งส่วนราชการภายในคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา



โครงสร้างการบริหารคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา



ส่วนที่ 2

บทนำ

ความเป็นมา

การถ่ายทอดองค์ความรู้จากการปฏิบัติงาน ควรจัดทำให้เป็นลายลักษณ์อักษร โดยการจัดทำในรูปแบบของคู่มือการปฏิบัติงานหลัก เพื่อให้ผู้อื่นสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางปฏิบัติงาน นอกจากนี้คู่มือการปฏิบัติงานหลักยังเป็นเครื่องมือในการสร้างมาตรฐานการปฏิบัติงานให้องค์กรสามารถนำมาใช้ในการบริหารจัดการให้เกิดประสิทธิภาพและบรรลุวัตถุประสงค์ของการทำงาน

บุคลากรสายสนับสนุนในสถาบันอุดมศึกษา จะต้องได้รับการสนับสนุนจากองค์กรในการสร้างผลงานในแต่ละตำแหน่งงาน จัดทำคู่มือปฏิบัติงานหลัก เพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการปฏิบัติงานแต่ละตำแหน่ง และสามารถนำมาใช้เป็นแนวทางให้บุคลากรในองค์กรสามารถปฏิบัติหน้าที่แทนกันได้ ซึ่งจะส่งผลให้การบริหารจัดการองค์กรเกิดประสิทธิภาพ

คู่มือการปฏิบัติงานหลัก จึงเป็นวิธีการถ่ายทอดองค์ความรู้ที่เกิดจากประสบการณ์การปฏิบัติงาน โดยได้รวบรวมขั้นตอนการปฏิบัติงาน วิธีการ และเทคนิคต่าง ๆ ของการปฏิบัติงาน เพื่อใช้เป็นแนวปฏิบัติและมาตรฐานการปฏิบัติงานในแต่ละตำแหน่งงาน

วัตถุประสงค์ของการจัดทำคู่มือปฏิบัติงาน

- เพื่อให้นักศึกษา หรือผู้ปฏิบัติงาน ได้ศึกษาและเรียนรู้เทคนิคการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม (Gram Staining) และสามารถนำไปปฏิบัติได้จริง
- เพื่อให้ผู้ปฏิบัติงานสามารถปฏิบัติงานแทนกันได้
- เพื่อให้การปฏิบัติงานเป็นมาตรฐานเดียวกัน

นิยามศัพท์

จุลินทรีย์ หมายถึง สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มีอยู่มากมายหลายชนิด ทั้งมีอยู่ในสภาพแวดล้อมทั่วไป โดยไม่ก่อโรคและก่อโรคในคนหรือในสัตว์

สีย้อมแกรม หมายถึง น้ำยาที่ใช้ย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม ประกอบไปด้วย Crystal violet, Iodine, Decolorizer และ Safranin

การย้อมสีจุลินทรีย์ หมายถึง วิธีการอย่างหนึ่งที่ย่างและสะดวกรวดเร็วในการศึกษาสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กตามลักษณะการติดสี

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- เป็นคู่มือปฏิบัติงานหลักที่ผู้มาใช้งานสามารถนำไปปฏิบัติได้ง่าย และสามารถทำได้ด้วยตนเอง

ส่วนที่ 3

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ห้องปฏิบัติการกลางทางด้านชีววิทยาและจุลชีววิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ให้บริการในการทำปฏิบัติการทั้งทางด้านการเรียนการสอน และการทำวิจัย ในการทำปฏิบัติการทางด้านจุลชีววิทยา ผู้ปฏิบัติงานควรมีความรู้พื้นฐานต่าง ๆ เกี่ยวกับการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งในการศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ นักศึกษาหรือผู้ปฏิบัติงานสามารถนำความรู้พื้นฐานนี้ไปใช้ในการเรียน การทำปัญหาพิเศษ และโครงการพิเศษได้

สำหรับเทคนิคการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม (Gram Staining) ยังเกิดปัญหาในขั้นตอนการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แล้วไม่ติดสีหรือติดสีผิดเพี้ยนจากความเป็นจริง นักวิทยาศาสตร์จึงได้นำเสนอคู่มือปฏิบัติงานหลัก เรื่อง เทคนิคการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม (Gram Staining) พร้อมคลิปวิดีโอสาธิต ขึ้นมาเพื่อเป็นแนวทางให้แก่ นักศึกษาหรือผู้ปฏิบัติงานทางด้านจุลชีววิทยา ห้องปฏิบัติการกลางทางด้านชีววิทยาและจุลชีววิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร ได้ปฏิบัติงานให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน โดยมี 2 ขั้นตอน ประกอบด้วย

1. วัสดุอุปกรณ์ เชื้อจุลินทรีย์ สารเคมี และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ ที่ใช้ในการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม
2. เทคนิคการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม (Gram Staining)

ทั้งนี้ ผู้ที่สนใจสามารถดาวน์โหลดคู่มือบนเว็บไซต์ของคณะเทคโนโลยีการเกษตร และผู้จัดทำได้เพิ่มช่องทางของการเข้าถึงคู่มือปฏิบัติงานหลัก เรื่อง เทคนิคการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม (Gram Staining) พร้อมคลิปวิดีโอสาธิต ผ่านทางช่องยูทูป nakwit channel หรือทางลิงก์และคิวอาร์โค้ดใน Google Drive

หลักการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม

การย้อมสีแบบแกรมเป็นเทคนิคในการศึกษาจุลินทรีย์ โดยดูสีที่ย้อมติดกับตัวจุลินทรีย์ ลักษณะการย้อมติดที่ตัวเซลล์เป็นแบบ differential strain ซึ่งเป็นการใช้สีย้อมมากกว่าหนึ่งชนิด สีจะติดตามไซโตพลาสซึมและผนังเซลล์ทำให้เห็นความแตกต่างระหว่างเซลล์จุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้

กลไกในการติดสีของเซลล์จุลินทรีย์

การย้อมสีเป็นปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนไอออนของเซลล์กับสี คือ ไอออนของสีจะเข้าไปแทนที่ไอออนบนส่วนประกอบของเซลล์ จึงเกิดสารประกอบของเกลือออกมาและสีจะติดที่เซลล์แทน นอกจากนี้องค์ประกอบทางเคมีของกรดนิวคลีอิกยังมีส่วนในการเกิดเกลือ เนื่องจากเซลล์ของจุลินทรีย์มีประจุไฟฟ้าลบ จึงดึงดูดได้ดีกับไอออนที่มีประจุไฟฟ้าบวก เนื่องจากสีที่ใช้อย้อมสีจุลินทรีย์อยู่ในรูปของเกลือ ซึ่งมีทั้งประจุลบและประจุบวก เมื่อย้อมเซลล์จุลินทรีย์ทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนประจุระหว่างสีและเซลล์

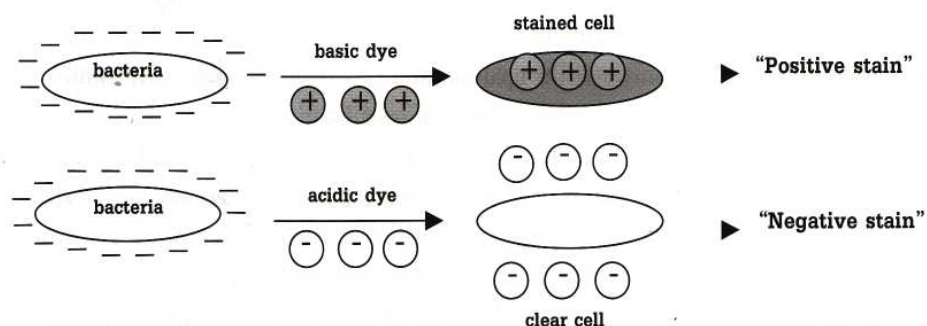
การย้อมสีเป็นวิธีการอย่างหนึ่งที่ย่าง และสะดวกรวดเร็วในการศึกษาจุลินทรีย์ ทั้งนี้เพราะจุลินทรีย์เป็นเซลล์ที่มีขนาดเล็ก และมักโปร่งแสง จึงสังเกตลักษณะต่าง ๆ ได้ยาก แต่การย้อมสีจะช่วยให้เห็นได้ชัดเจนยิ่งขึ้น การย้อมสีนี้อาศัยหลักที่สำคัญ คือ

1. เซลล์จุลินทรีย์ที่ย้อมสีจะสังเกตเห็นรูปร่างได้ชัดเจนกว่าจุลินทรีย์ที่ไม่ย้อมสี
2. โครงสร้างของเซลล์แบคทีเรียแต่ละชนิดต้องใช้สีย้อมต่างกัน จึงจะเห็นได้ชัดเจน สีที่ใช้ในการย้อมจุลินทรีย์นั้นเป็นสีที่อยู่ในรูปของเกลือ ซึ่งจะประกอบไปด้วยไอออนบวกและลบ ส่วนที่แสดงสีหรือ Chromophoric group ซึ่งเป็นส่วนที่มีประจุเป็นไอออนบวกหรือลบบนี้ สามารถใช้ในการแบ่งออกเป็นสี 3 ชนิดตามประจุไฟฟ้า คือ

2.1 Acidic dye ได้แก่ สีที่มีอนุภาคเม็ดสีเป็นประจุลบ (-) เช่นสี Eosin Y, Indian ink, Nigrosin ใช้อย้อม Cytoplasm

2.2 Basic หรือ Basicdic dye ได้แก่ สีที่มีอนุภาคเม็ดสีเป็นประจุ (+) เป็นสีที่ใช้กันเป็นส่วนใหญ่ เช่น Methylene blue, Crystal violet, Safranin O, Carbol fuchsin ใช้อย้อมนิวเคลียสและโครมาติน

2.3 Netral dye ได้แก่ สีที่อนุภาคเม็ดสีไม่มีประจุ เช่นสี Sudan III



ภาพ 1 หลักการติดสีในการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์

ที่มา: จุริรัตน์ สีสิมิทธิ์. ปฏิบัติการจุลชีววิทยาทั่วไป. หน้า 27

1. วัสดุอุปกรณ์ เชื้อจุลินทรีย์ สารเคมี และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ ที่ใช้ในการย้อมสี เชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม

1.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้

1.1.1 หลังกถ่ายเชื้อ/หลังกเขี่ยเชื้อ (Inoculating loop)



ภาพ 2 หลังกถ่ายเชื้อ/หลังกเขี่ยเชื้อ (Inoculating loop)

1.1.2 แผ่นสไลด์ (Slide) และกระจกปิดสไลด์ (Cover glass)



ภาพ 3 แผ่นสไลด์ (Slide) และกระจกปิดสไลด์ (Cover glass)

1.1.3 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol burner) และไฟแช็ค (Lighter)



ภาพ 4 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol burner) และไฟแช็ค (Lighter)

1.1.4 ปีกเกอร์ (Beaker)



ภาพ 5 ปีกเกอร์ (Beaker)

1.1.5 กระดาษทิชชู (Tissue paper)



ภาพ 6 กระดาษทิชชู (Tissue paper)

1.1.6 ถุงพลาสติก



ภาพ 7 ถุงพลาสติก

1.1.7 แท่งเหล็กสำหรับวางแผ่นสไลด์



ภาพ 8 แท่งเหล็กสำหรับวางแผ่นสไลด์

1.1.8 แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์



ภาพ 9 แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์

1.1.9 แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพ 10 แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์

1.1.10 ปากกาเขียนเครื่องแก้ว



ภาพ 11 ปากกาเขียนเครื่องแก้ว

1.2 เชื้อจุลินทรีย์

1.2.1 เชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*)



ภาพ 12 เชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*)

1.2.2 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* (*E.coli*)



ภาพ 13 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* (*E.coli*)

1.3 สารเคมี

1.3.1 ชุดสีย้อมแกรม ประกอบด้วย crystal violet, iodine, decolorizer และ safranin



ภาพ 14 ชุดสีย้อมแกรม

1.3.2 Immersion oil



ภาพ 15 Immersion oil

1.4 เครื่องมือวิทยาศาสตร์

1.4.1 กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงเชิงซ้อน (Light Compound Microscope)



ภาพ 16 กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงเชิงซ้อน (Light Compound Microscope)

2. เทคนิคการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม (Gram Staining)

2.1 วิธีการเตรียมสไลด์

2.1.1 นำแผ่นสไลด์ ไปล้างด้วยสบู่ แล้วล้างซ้ำด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เพื่อขจัดคราบไขมันออกจากแผ่นสไลด์ จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้ง



ภาพ 17 วิธีการล้างแผ่นสไลด์ด้วยสบู่



ภาพ 18 วิธีการล้างแผ่นสไลด์ด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์

2.1.2 หยดน้ำกลั่นลงบนแผ่นสไลด์เป็นหยดเล็ก ๆ



ภาพ 19 วิธีการหยดน้ำกลั่นลงบนแผ่นสไลด์

2.1.3 นำห้วงถ่ายเชื้อ/ห้วงเชื้อเชื้อ เผาไฟจนแดง ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปแตะเชื้อจุลินทรีย์ (ตัวอย่างเชื้อ *S.aureus* และ *E.coli*) มาผสมกับน้ำที่หยดไว้บนแผ่นสไลด์



ภาพ 20 วิธีการฆ่าเชื้อห้วงถ่ายเชื้อ/ห้วงเชื้อเชื้อ



ภาพ 21 วิธีการแตะเชื้อจุลินทรีย์ไปใช้ย้อมสีแบบแกรม

2.1.4 เกลี่ยเชื้อ (Smear) บนแผ่นสไลด์ให้กระจายเป็นฟิล์มบาง ๆ ไม่ให้หนาแน่นมากเกินไปและปล่อยให้แห้งในอากาศ (air dry)



ภาพ 22 วิธีการเกลี่ยเชื้อจุลินทรีย์บนแผ่นสไลด์

2.1.5 ตรึงเชื้อ (Fix) ให้ติดแน่นกับแผ่นสไลด์ ทำให้ไม่หลุดออกขณะย้อมสี การตรึงเชื้อทำได้โดยการผ่านสไลด์ที่เกลี่ยเชื้อไว้แล้วไปมาบนเปลวไฟอย่างรวดเร็ว 2-3 ครั้ง



ภาพ 23 วิธีการตรึงเชื้อจุลินทรีย์กับแผ่นสไลด์

2.2 วิธีการย้อมสี

2.2.1 หยดสีคริสตัลไวโอเลต (Crystal violet) บนรอยเกลี่ยของเชื้อให้ท่วม ทิ้งไว้ 1 นาที เมื่อครบเวลาให้เททิ้ง แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่น



ภาพ 24 วิธีการหยดสีคริสตัลไวโอเลต



ภาพ 25 วิธีการล้างสีคริสตัลไวโอเลตออกด้วยน้ำกลั่น

2.2.2 หยดสารละลายไอโอดีน (Iodine) บนรอยเกลี่ยของเชื้อให้ทั่วม ทั้งไว้ 1 นาที เมื่อครบเวลา ให้เทสารละลายทิ้ง แล้วล้างออกด้วย Decolorizer สารละลายไอโอดีนทำหน้าที่เป็นมอร์แดนต์ (mordant) ช่วยให้เซลล์ติดสีย้อมได้ดีขึ้น



ภาพ 26 วิธีการหยดสารละลายไอโอดีน

2.2.3 ล้างสีออกด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (Decolorizer) แล้วล้างน้ำกลั่นทันที ขั้นตอนการล้างน้ำนี้สำคัญมากเพราะเป็นการหยุดปฏิกิริยาการล้างสี



ภาพ 27 วิธีการล้างสีออกด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (Decolorizer)



ภาพ 28 วิธีการล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อหยุดปฏิกิริยาการล้าง

2.2.4 หยดสีซาฟรานิน (Safranin) บนรอยเกลี่ยของเชื้อให้ท่วม ทิ้งไว้ 1 นาที เมื่อครบเวลาให้เททิ้ง แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นและซับให้แห้ง



ภาพ 29 วิธีการหยดสีซาฟรานิน



ภาพ 30 วิธีการล้างสีซาฟรานินออกด้วยน้ำกลั่น

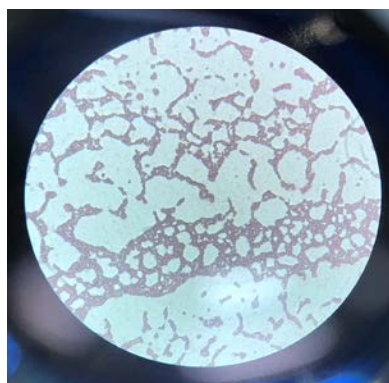


ภาพ 31 วิธีการซับน้ำส่วนเกินออกหลังจากการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์

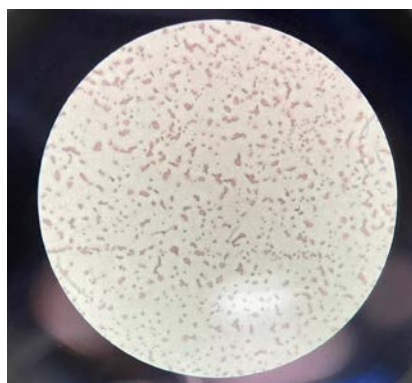
2.2.5 ทำการตรวจดูเชื้อจุลินทรีย์หลังจากการย้อมสีแบบแกรมด้วย Oil immersion lens ของกล้องจุลทรรศน์ (จุลินทรีย์ที่เป็นแกรมบวก จะติดสีม่วงของ Crystal violet ส่วน จุลินทรีย์ที่เป็นแกรมลบ จะติดสีแดงของ Safranin)



ภาพ 32 วิธีการตรวจดูเชื้อจุลินทรีย์ด้วย Oil immersion lens ของกล้องจุลทรรศน์



ภาพ 33 เชื้อจุลินทรีย์แกรมบวก ติดสี Crystal violet



ภาพ 34 เชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นแกรมลบ ติดสี Safranin

ตาราง 1 แสดงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการย้อมสีแบบแกรม

สีและสารละลายที่ใช้	ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น	
	แบคทีเรียแกรมบวก	แบคทีเรียแกรมลบ
1. Crystal violet	เซลล์ติดสีม่วง	เซลล์ติดสีม่วง
2. Iodine	สารละลายไอโอดีนจะรวมกับ Crystal violet เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ในเซลล์ เซลล์ยังติดสีม่วง	สารละลายไอโอดีนจะรวมกับ Crystal violet เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ภายในเซลล์ เซลล์ยังติดสีม่วง
3. Decolorizer	ไซโตพลาสซึมและผนังเซลล์จะสูญเสียน้ำจึงเกิดการเหี่ยวหรือหดตัวทำให้รูของผนังเซลล์มีขนาดเล็ก สารประกอบของสีมีโมเลกุลขนาดใหญ่ไม่สามารถละลายออกมาได้ เซลล์จึงติดสีม่วง	สารพอกลิปิดที่ผนังเซลล์ถูกละลายออกไปทำให้รูของผนังเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น สารประกอบของสีจึงสามารถละลายออกจากเซลล์ได้ เซลล์ไม่ติดสี
4. Safranin	เซลล์ไม่ทำปฏิกิริยากับสีนี้ เซลล์ติดสีม่วงตามเดิม	เซลล์ติดสีแดงของ Safranin

ส่วนที่ 4

ปัญหา/อุปสรรค แนวทางแก้ไข และข้อเสนอแนะ

ปัญหา นักศึกษาหรือผู้ปฏิบัติงานทำการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรมแล้วไม่ติดสีหรือติดสีผิดเพี้ยนจากความเป็นจริง

แนวทางการแก้ไขปัญหา นักวิทยาศาสตร์แนะนำนักศึกษาหรือผู้ปฏิบัติงานให้ทำตามขั้นตอนการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม ไม่ทำลัดขั้นตอน

ข้อเสนอแนะ นักวิทยาศาสตร์จัดทำคู่มือปฏิบัติงานหลัก เรื่อง เทคนิคการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม (Gram Staining) พร้อมคลิปวิดีโอสาธิต แขนงไว้ทางช่องยูทูป nakwit channel

คลิปวิดีโอสาธิตการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม (Gram Staining)

คิวอาร์โค้ด และลิงก์คลิปวิดีโอ

1. ลิงก์คลิปวิดีโอทางช่องยูทูป nakwit channel

<https://youtu.be/SO7s2kkrl7o?si=dFrwsKcRbjwJAafF>

2. ลิงก์และคิวอาร์โค้ดวิดีโอ ใน Google Drive

- ลิงก์วิดีโอวิธีการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม

<https://shorturl.asia/s3rjZ>

- คิวอาร์โค้ดวิดีโอวิธีการย้อมสีเชื้อจุลินทรีย์แบบแกรม



ภาพ 35 คิวอาร์โค้ดวิดีโอ ใน Google Drive

บรรณานุกรม

จूरรัตน์ ลีสมิทธิ์. (2552). ปฏิบัติการจุลชีววิทยาทั่วไป. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาควิชาจุลชีววิทยา. (2547). จุลชีววิทยาปฏิบัติการ. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศรีนวล สมรูป. (2555). การตรวจทางจุลภาคพื้นฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.

วิธีการย้อมสีแกรม. สืบค้นเมื่อ 24 ตุลาคม 2566. จาก <http://www.thaifoodscience.com/การย้อมสีแกรม.html>

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ - นามสกุล	นางสาวสุรีพร วิจิตรโสภ
วัน เดือน ปีเกิด	25 มกราคม 2529
ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้	16 หมู่ 6 ตำบลระวะ อำเภอรโนด จังหวัดสงขลา 90140 โทร 080-7079610
ตำแหน่งหน้าที่ปัจจุบัน	นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา โทร 074-260272

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2545	ชั้นมัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนระโนด จังหวัดสงขลา
พ.ศ. 2548	ชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนวรนาเรเฉลิม จังหวัดสงขลา
พ.ศ. 2552	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับสอง) สาขาการจัดการ เทคโนโลยีอุตสาหกรรม (การจัดการอุตสาหกรรมชีวภาพ) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี

ประวัติการทำงาน

พ.ศ. 2552 – มิ.ย. พ.ศ. 2564	นักวิทยาศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัย ราชภัฏสงขลา
มิ.ย. พ.ศ. 2564 – ปัจจุบัน	นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
มิ.ย. พ.ศ. 2565 – มี.ค. พ.ศ. 2566	นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ ปฏิบัติหน้าที่ในตำแหน่งหัวหน้างาน บริหารงานทั่วไป คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัย ราชภัฏสงขลา
มี.ค. พ.ศ. 2566 – ปัจจุบัน	นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ รักษาการในตำแหน่งหัวหน้างาน บริหารงานทั่วไป คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัย ราชภัฏสงขลา