ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงทะเลสตูล

ฝึกประสบการณ์วิชาชีพ
(ณ หน่วยตรวจ)

นางสาวสูมัยย๊ะ หลังจิ รหัสนักศึกษา 406352038
นักศึกษาจาก มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร
สาขาชีววิทยา ชั้นปีที่ 4

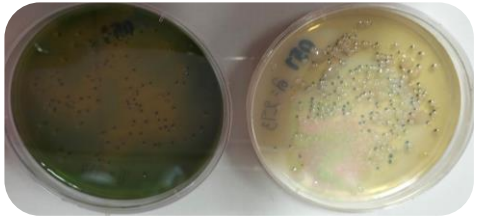
ลักษณะงานที่ฝึก

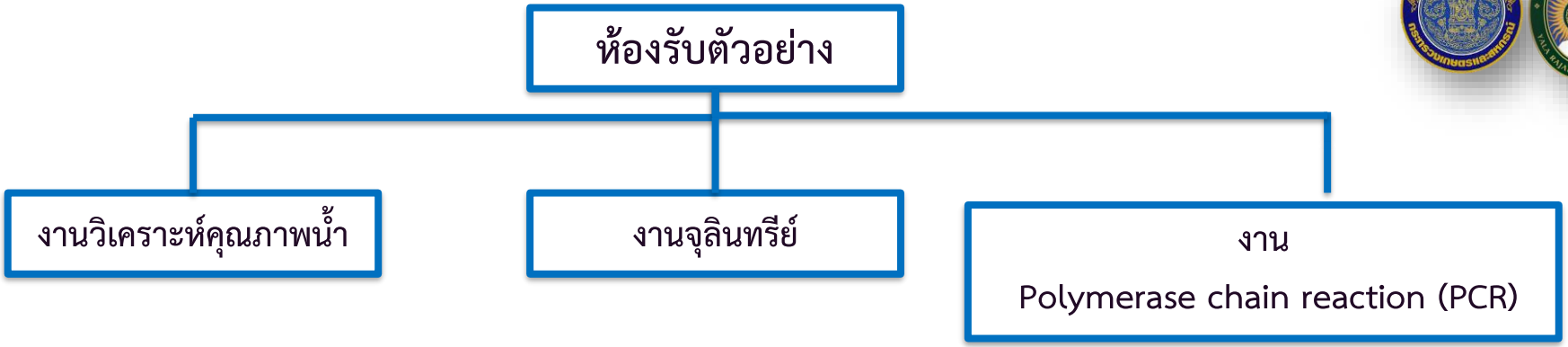
เป็นงานที่เกี่ยวข้องกับการสำรวจคุณภาพน้ำตามชายฝั่งทะเล การบริการเกษรตกร งานบริการรับรองฟาร์ม เช่น การตรวจคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง บ่อเลี้ยงปลา บ่อเลี้ยงปลิง การตรวจสารตกค้างในสัตว์ทะเล การตรวจโรคในสัตว์ทะเล

งานวิเคราะห์คุณภาพน้ำ
(WATER QUALITY ANALYSIS LABORATORY)

งาน Polymerase chain reaction PCR

งานจุลชีววิทยา
(MICROBIOLOGY LABORATORY1)




ห้องรับตัวอย่าง
งานวิเคราะห์คุณภาพน้ำ
งานจุลินทรีย์
งาน
Polymerase chain reaction (PCR)

1. งานวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

(WATER QUALITY ANALYSIS) LABORATORY

กรองน้ำตัวอย่าง , วัดค่า pH , การตรวจวัดความเค็มของน้ำ (SALINITY) , วัดความเป็นด่าง (Total Alkalinity) , การวิเคราะห์ไนไตรท์ (NO_2-N) , การวิเคราะห์ไนเตรท(NO_3-N) , การวิเคราะห์แอมโมเนียรวม(TAN) , การวิเคราะห์ Phosphate ($PO_4$3-) ,หาค่า BOD

กรองนำตัวอย่าง ปริมาตร 35 ml / 100 ml

วัดค่า pH (calibrate pH 4,7,10)

การวิเคราะห์ไนเตรท(NO_3-N)

น้ำตัวอย่าง 100 ml

เติม coac. NH_4Cl 2 ml

ผ่าน CD-Column

Sulfanilamide 1 ml

NED 1 ml

อ่านค่าผ่านเครื่อง

Spectrophotometer

ที่ความยาวคลื่น 543 nm

การวิเคราะห์ Phosphate ($PO_4 3-$)

น้ำตัวอย่าง 100 ml

เติม

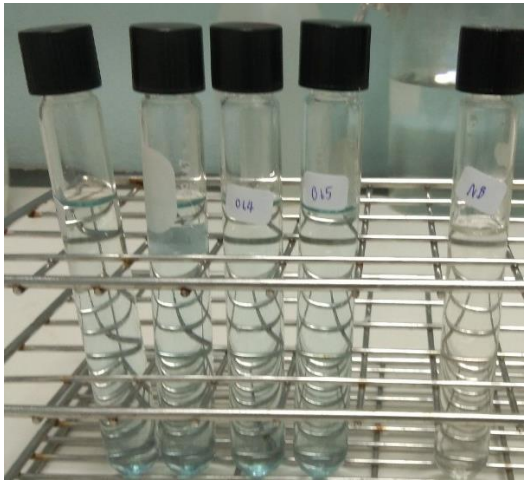
Mix reagent 10 ml

อ่านค่าผ่านเครื่อง

Spectrophotometer

การวิเคราะห์แอมโมเนียรวม(TAN)

น้ำตัวอย่าง 10 ml



เติม Phenol alcohol 0.4 ml

Sodium nitro pusside 0.4 ml

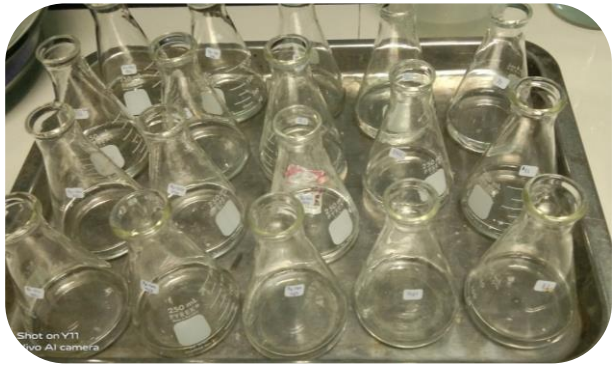
Oxidizing 1 ml

อ่านค่าผ่านเครื่อง

Spectrophotometer

ที่ความยาวคลื่น 640 nm

การวิเคราะห์ไนไตรท์ (NO_2-N)



น้ำตัวอย่าง 50 ml

Sulfanilamide 1 ml

NED 1 ml

อ่านค่าผ่านเครื่อง

Spectrophotometer

ที่ความยาวคลื่น 540 nm

2. งานจุลชีววิทยา

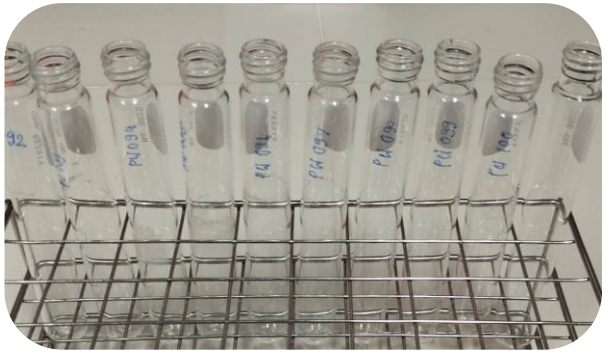
(MICROBIOLOGY LABORATORY1)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy Agar (TSA) และ TCBS Agar

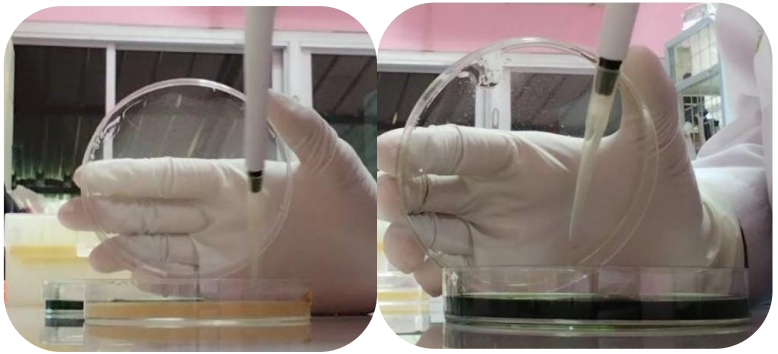
นำอาหารเลี้ยงที่เตรียมแล้ว
ละลายบน Hot plate จนเดือด

เทใส่ใน plate ในภาวะปลอดเชื้อ ใน
ตู้ Laminarflow จากนั้นรอให้เซ็ตตัว
และเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ

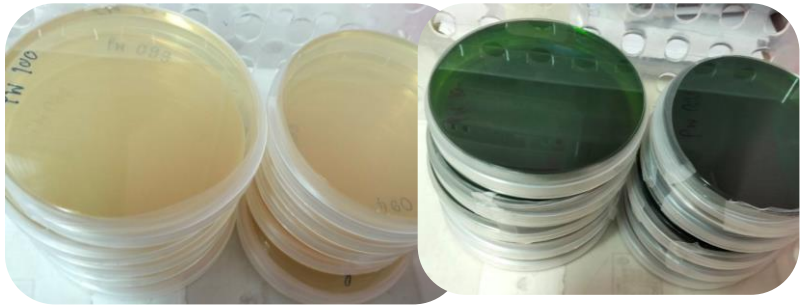
การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียจากน้ำตัวอย่าง

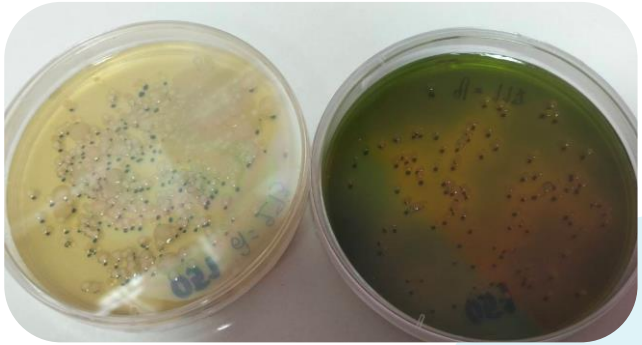


ดูดน้ำตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร



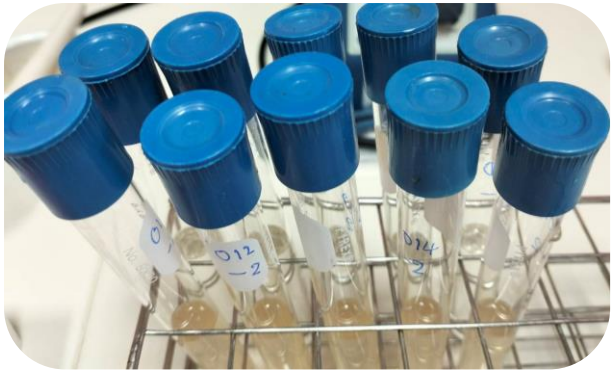
Spread น้ำตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA / TCBS



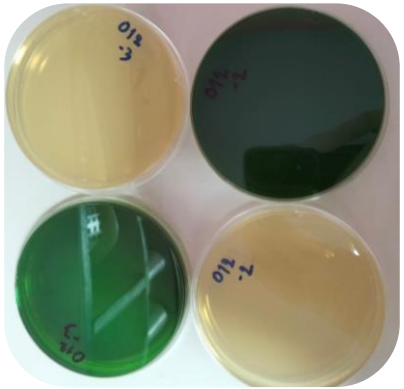


การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียวิบบริโอจากตัวอย่างกุ้งทะเล

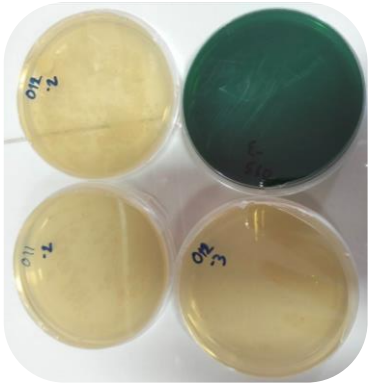
บดตัวอย่าง
กุ้งให้ละเอียด



เจือจางตัวอย่างที่
10^{-1} 10^{-2} 10^{-3}
เจือจางน้ำตัวอย่าง
ครั้งละ 1 ml / Nacl 1.5% 9 ml

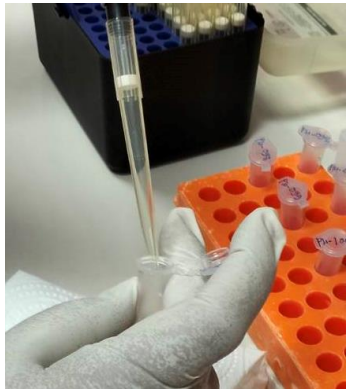


Spread ตัวอย่างบนผิวหน้า
อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA / TCBS
และนำไปบ่มเป็นเวลา 1 คืน

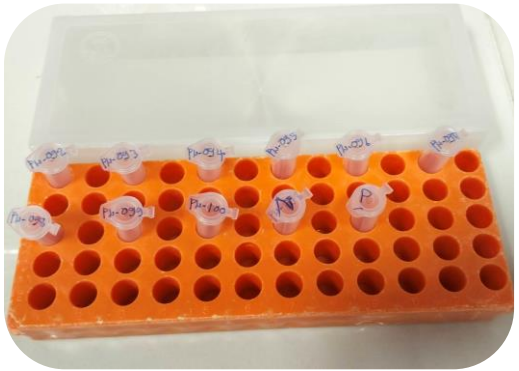


เตรียมตัวอย่างการทดสอบเชื้อ EMS/AHPND

ดูดตัวอย่าง 350 ไมโครลิตร
และอาหารเลี้ยงเชื้อ LTB 1000 ไมโครลิตร



ใส่ในหลอด
Centrifuge



นำไปบ่ม 1 คืน
(ส่งตัวอย่างให้ห้อง PCR)

เตรียมอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์

นำไป Autoclave และรอผสม
กับเชื้อแบคทีเรีย

3. งาน Polymerase chain reaction (PCR)

(Polymerase chain reaction PCR LABORATORY)

เตรียมตัวอย่างกุ้ง , เตรียมตัวอย่างปลา , การสกัด DNA , การสกัด RNA , เตรียมเจล , การหยอดเจลสารพันธุกรรม , และอ่านผลการรันเจล

เตรียมตัวอย่างกุ้ง

ตรวจเชื้อปรสิต Enterocytozoon hepatopenaei (EHP) สกัดแบบ DNA

ตรวจเชื้อหัวเหลือง (YHV) สกัดแบบ RNA

การสกัด DNA

เติม DNA ในตัวอย่างที่เตรียมไว้ 500 ไมโครลิตร

↓

centrifuge 10000 rpm 10 นาที

↓

ดูดส่วนใสของตัวอย่าง ใส่ในหลอด centrifuge 250 ไมโครลิตร

↓

เติม 100% Ethanol 300 ไมโครลิตร

↓

centrifuge 10000 rpm 10 นาที

↓

ล้างเซลล์ด้วย 75% Ethanol 400 ไมโครลิตร 2 ครั้ง

↓

ตากประมาณ 1 นาที

↓

ละลายตะกอนด้วย 8 Mm 100 ไมโครลิตร

↓

ส่งตัวอย่างไปที่ห้อง PCR

การสกัด RNA

ตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร ใส่ในหลอด centrifuge

↓

centrifuge 12000 rpm 10 นาที

↓

ดูดส่วนใสทิ้ง เหลือแค่ตะกอนเซลล์

↓

ละลายด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 200 ไมโครลิตร

↓

ต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 5 นาที

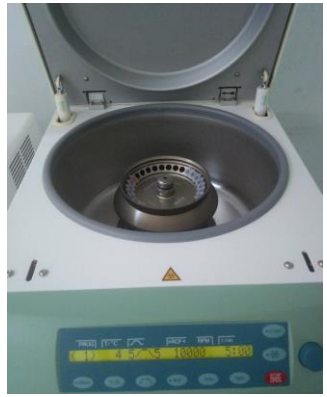
↓

centrifuge 12000 rpm 5 นาที

↓

ส่งตัวอย่างไปที่ห้อง PCR

การสกัด DNA / RNA



การเตรียม Primer

เตรียม 1.5% Agarose gen in 1X TBE buffer, pH 8.0

Agarose 1.5 กรัม

1X TBE buffer, pH 8.0 250 มิลลิลิตร

↓

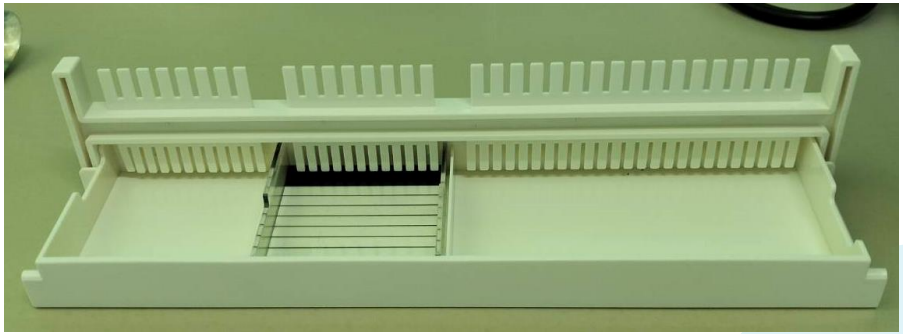
ต้มให้เดือด

↓

เติม SYBR 4 ไมโครลิตร

↓

เท่ใส่ใน บล็อคเจลทิ้งไว้ให้เย็น



ศึกษาการแปรผลรันเจล

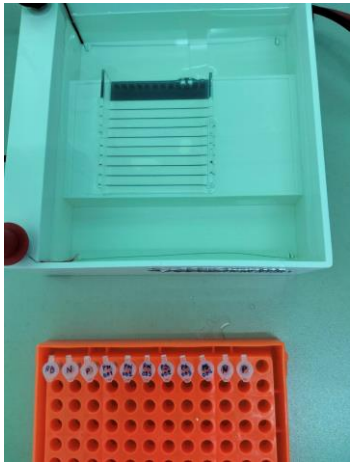
Post ตัวควบคุม 3 ตัว

การแปลผล: รันเจล 1.5% agarose gel

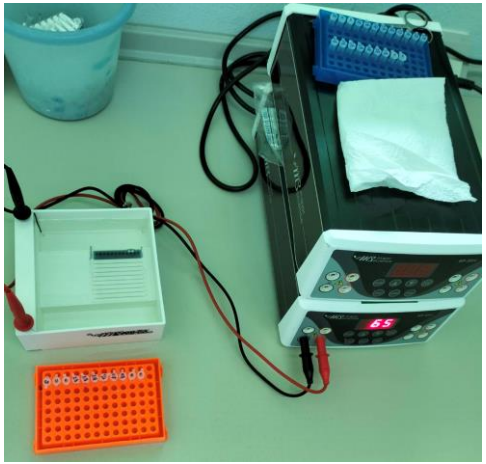
897 bp: Vibrio parahaemolyticus +ve

500 bp: Vibrio parahaemolyticus สายพันธุ์ที่มีพลาสมิดผิดปกติ

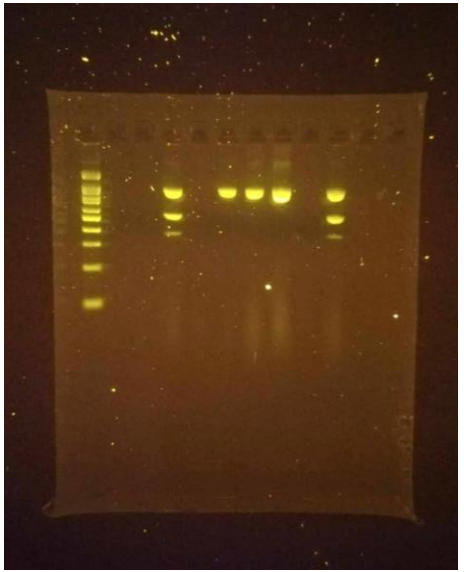
360 bp: Vibrio parahaemolyticus สายพันธุ์ที่มีพลาสมิดสร้างสารพิษ



หยอดเจล



รันเจล



แปรผล

จัดเก็บเอกสารข้องมูลแบบบันทึกการใช้อุปกรณ์
คีย์ข้อมูลการทวนชั่ง ของเครื่องชั่ง

เตรียมอุปกรณ์ เครื่องมือเพื่อใช้ในการทดสอบ
(ห้อง PCR)

Thank you