

## การตรวจหา *Escherichia coli* ในผักสดจากตลาดมะขามเต่า

### Detection of *Escherichia coli* in Fresh Vegetables from MakhamTao Market

นุชรี ภูมิภักดี<sup>1</sup> ลัดดาวัลย์ พะวร<sup>2</sup> พหล แสนสมชัย<sup>2</sup> นพธนพงษ์ ตั้งพูนเลิศ<sup>2</sup> และ อรุมา จันทร์เสถียร<sup>3</sup>

#### บทคัดย่อ

*Escherichia coli* (*E. coli*) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง ขนาดสั้น ไม่สร้างสปอร์ แหล่งอาศัยของเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ คือลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่นทุกชนิด ฉะนั้น *E. coli* จึงถูกใช้เป็นดัชนีการปนเปื้อนจากอุจจาระ จากประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ปี พ. ศ. 2560 ประกาศให้อาหารพร้อมบริโภค ประเภทผักและผลไม้ ปริมาณที่คาดว่าจะตรวจพบเชื้อ *E. coli* ต้องน้อยกว่า 100 MPN/กรัม จุดประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *E. coli* ในอาหารพร้อมบริโภคประเภทผัก ที่เก็บตัวอย่างจากตลาดสดมะขามเต่า ตำบลบ้านใหม่ อำเภอเมืองนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา วิธีการตรวจวิเคราะห์ได้ทำการทดลองแบบเทคนิคการเกลี่ยเพลทตามวิธีการของสมาคมสาธารณสุขแห่งสหรัฐอเมริกา ปี 2544 การตรวจยืนยันหลักฐานวิทยาของเชื้อด้วยการย้อมแกรมและตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ ผลการทดลองพบว่า จากการเก็บตัวอย่างอาหารพร้อมบริโภคประเภทผักมาตรวจวิเคราะห์จำนวน 30 ตัวอย่าง ตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* ในปริมาณที่เกินเกณฑ์ดังกล่าวจำนวน 16 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 53.33 ปริมาณเชื้อที่พบอยู่ระหว่าง 120 ถึง มากกว่า 1,100 MPN/กรัม และตรวจไม่พบเชื้อ *E. coli* จำนวน 14 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 46.66

คำสำคัญ: การตรวจหา, *Escherichia coli*, ผักสด

#### Abstract

*Escherichia coli* (*E. coli*) is a Gram-negative bacterium, short rod shaped and non-spore forming. *E. coli* lives in intestine of homoeothermic animal. *E. coli* has been regarded as a biological indicator of fecal contamination. *E. coli* contaminated in ready-to-eat fresh vegetables must less than 100 MPN/g which informed to notification of Department of Medical Science, Ministry of Public Health in 2017. The objective of the study was to detect *E. coli* contaminating in fresh vegetables from MakhamTao Market, BanMai Sub-District, Mueang Nakhon Ratchasima District, Nakhon Ratchasima Province. Method for the detection of the bacterium was examined. *E. coli* in fresh vegetables was used spread plate method according to American Public Health Association Compendium of Methods

<sup>1</sup> นักศึกษาระดับปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ วิทยาลัยนครราชสีมา

<sup>2</sup> อาจารย์ประจำ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ วิทยาลัยนครราชสีมา

<sup>3</sup> Corresponding Author อาจารย์ประจำ คณะศึกษาศาสตร์และศิลปศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา

for the Microbiological Examination of Foods (APHA, compendium: 2001). Morphology of *E. coli* identification was examined by Gram staining under the microscope. In 16 of 30 samples contaminated with *E. coli* were 53.33%. The range of *E. coli* contaminant is between 120 and more than 1,100 MPN/g. Fourteen samples of fresh vegetables are without contamination with *E. coli* (53.33%).

**Keywords:** Contamination, *Escherichia coli*, Fresh Vegetables

### ความสำคัญและที่มาของปัญหาวิจัย

ผักเป็นอาหารที่มีคุณประโยชน์ นอกจากมีวิตามินและเกลือแร่ต่างๆที่มีประโยชน์ ต่อร่างกายแล้วยังมีเส้นใยจำนวนมากซึ่งช่วยป้องกัน โรคท้องผูกและลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ จึงมีการรณรงค์ให้บริโภคผักสดในอาหารทุกมื้อ ในประเทศไทยมีการปลูกผักนานาชนิด หลายชนิดนิยมทำให้สุกก่อนนำมารับประทาน เช่น ผัก ลวก ต้ม หรือทอด กระบวนการทำให้สุกทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนตายหรือลดโอกาสการเกิดโรคน้อยลงด้วย แต่มีผักสดหรือผักดิบอีกหลายชนิด ที่นิยมนำมาทำสลัดหรือนำมาบริโภคโดยตรง หรือทำเป็นเครื่องเคียงรับประทานร่วมกับอาหารพื้นเมืองอื่นๆ เช่น ผักกาดหอม กะหล่ำปลี ใบโหระพา ใบสะระแหน่ ซึ่งรับประทานร่วมกับส้มตำ ลาบ น้ำตก และยำชนิดต่างๆ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมี การนำผักสดตกแต่งบนจานอาหารหรือโรยบนตัวอาหารเช่น ผักชี ต้นหอม แต่งกว่า มะเขือเทศ ทำให้อาหารดูน่ารับประทานมากยิ่งขึ้น ซึ่งจากธรรมชาติของผักสดมักมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ค่อนข้างสูง และอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค การนำผักสดมารับประทานแบบดิบๆ หรือใช้ตกแต่งบนจานอาหาร ถ้ากระบวนการผลิตผักไม่ดี เช่น ล้างไม่สะอาด หรือน้ำที่ใช้ล้างไม่สะอาด รวมถึงการใช้มูลสัตว์ในการปลูกผัก จะทำให้มีเชื้อจุลินทรีย์หลงเหลือหรือปนเปื้อนเป็นจำนวนมาก และถ้าเชื้อจุลินทรีย์ที่หลงเหลือหรือปนเปื้อนเป็นเชื้อก่อโรคอาจทำให้ผู้บริโภคเกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ โดยเฉพาะการปนเปื้อนแบคทีเรียชนิด *E. coli* ใช้เป็นดัชนีการปนเปื้อนที่มาจากอุจจาระ เชื้อดังกล่าวมีทั้งสายพันธุ์ที่ก่อโรครุนแรงและไม่ก่อโรค แต่เพื่อเป็นการเฝ้าระวังการเกิดโรค กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์จึงเห็นควรกำหนดให้ผักสดไม่ควรพบ *E. coli* เกิน 100MPN/กรัม เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์และเทียบค่าจากตาราง MPN

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *E. coli* ในอาหารพร้อมบริโภคประเภทผัก ที่เก็บตัวอย่างจากตลาดมะขามเต่า ตำบลบ้านใหม่ อำเภอเมืองนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา

### วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่าง

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงสำรวจ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างผักสด จำนวน 30 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างจากตลาดมะขามเต่า ตำบลบ้านใหม่ อำเภอเมืองนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา โดยใช้ถุงพลาสติกปิดเชื้อ ปิดปากถุงให้แน่น เก็บรักษาในถังน้ำแข็งและนำส่งห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา วิทยาลัยนครราชสีมา เพื่อตรวจวิเคราะห์หาการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli*

การเตรียมตัวอย่าง

หั่นผักเป็นชิ้นขนาดเล็กด้วยมีดและซิดปราศจากเชื้อ ทำการเจือจางตัวอย่างอย่างอ่อนเป็นลำดับส่วน ด้วยสารละลายสำหรับเจือจางโดยซั่งตัวอย่างผักสด 25 g ใส่ในสารละลาย 0.85 % โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ปริมาตร 225 ml ตีปั่นให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างเจือจาง 1:10 ( $10^{-1}$ ) ปิเปิดตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 มา 1 ml ใส่ในสารละลาย 0.85 % NaCl ปริมาตร 9 ml เขย่าให้เข้ากันจะได้ตัวอย่างเจือจาง 1:100( $10^{-2}$ ) ปิเปิดตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 มา 1 ml ใส่ในสารละลาย 0.85 % NaCl ปริมาตร 9 ml เขย่าให้เข้ากันจะได้ตัวอย่างเจือจาง 1:1,000 ( $10^{-3}$ )

การตรวจหาปริมาณ (enumeration) *E. coli* โดยวิธีการ Spread Plate Technique

การตรวจวิเคราะห์ *E. coli* ได้ทำการตรวจวิเคราะห์ตามวิธีของ American Public Health Association Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (APHA, compendium: 2001) โดยปิเปิดตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างๆปริมาตร 0.1 ml ลงในจานเพาะเชื้อ EMB ระดับความเจือจางละ 2 จานเพาะเชื้อ (Duplicate) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยคว่ำจานเพาะเชื้อ เมื่อครบเวลา ทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อที่มี *E. coli* เจริญ

การตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยา

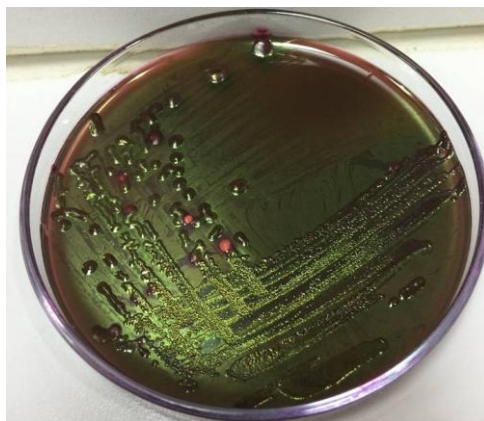
นำโคโลนี *E. coli* จากจานเพาะเชื้อ 5-10 โคโลนี ย้อมด้วยสีตามกรรมวิธีการย้อมแกรมและตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 4X ถึง 100X

การประเมินผล

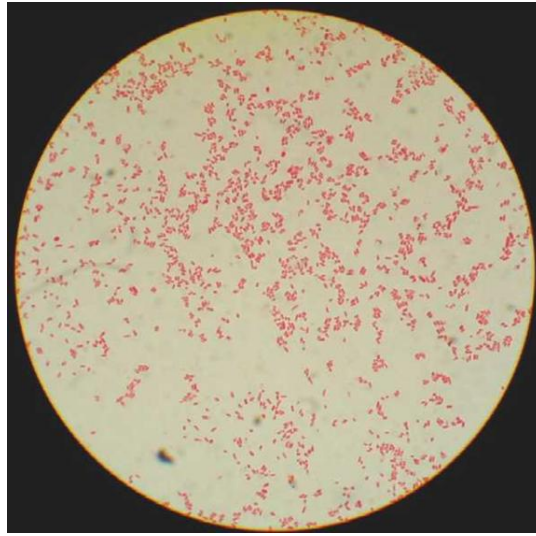
รายงานผลการตรวจวิเคราะห์ *E. coli* ในผักสดเป็น Most Probable Number (MPN)/กรัม ตามประกาศโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ประกาศให้อาหารพร้อมบริโภคประเภทผักและผลไม้ ให้ค่าปริมาณที่คาดว่า จะตรวจพบเชื้อ *E. coli* /กรัม ต้องน้อยกว่า 100 (ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2560)

### สรุปผลการวิจัย

จากการเก็บตัวอย่างอาหารพร้อมบริโภคประเภทผักมาตรวจวิเคราะห์จำนวน 30 ตัวอย่าง ตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* ในปริมาณที่เกินเกณฑ์ดังกล่าวจำนวน 16 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 53.33 ปริมาณเชื้อที่พบอยู่ระหว่าง 120 ถึง มากกว่า 1,100 และตรวจไม่พบเชื้อ *E. coli* จำนวน 14 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 46.66 รายละเอียดแสดงดังตารางที่1. ลักษณะโคโลนีของ *E. coli* บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง EMB และการตรวจยืนยันสัณฐานวิทยาของเชื้อด้วยการย้อมแกรม และตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ แสดงดังรูปที่ 1 และ 2 ตามลำดับ



รูปที่1. ลักษณะโคโลนีของ *E. coli* บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง EMB


 รูปที่ 2. ลักษณะ *E. coli* หลังการย้อมแกรมและตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์

 ตารางที่ 1. รายละเอียดตัวอย่างผักสดที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์และปริมาณ *E. coli* ที่ตรวจพบ

ตัวอย่างที่	ชื่อตัวอย่าง	ปริมาณ <i>E. coli</i> ที่พบ (MPN/g)			
		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	ค่า MPN
1	มะเขือเทศ	0	0	0	<3.0
2	พริก	0	0	0	<3.0
3	หัวไชเท้า	0	0	0	<3.0
4	กระชาย	0	0	0	<3.0
5	พริกไทย	0	0	0	<3.0
6	แตงกวา	0	0	0	<3.0
7	มะเขือ	0	0	0	<3.0
8	พริกหยวก	0	0	0	<3.0
9	สลัด	3	3	3	>1,100
10	ชะอม	3	2	1	150
11	คะน้า	0	0	0	<3.0
12	กะหล่ำปลี	3	3	1	460
13	ข้าวโพดอ่อน	0	0	0	<3.0
14	ผักชีฝรั่ง	3	1	3	160
15	ใบมะกรูด	3	2	2	210
16	ตะไคร้	3	2	3	290
17	ข่า	3	3	0	240

ตัวอย่างที่	ชื่อตัวอย่าง	ปริมาณ <i>E. coli</i> ที่พบ (MPN/g)			
		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	ค่า MPN
18	กะเพรา	3	3	1	460
19	โหระพา	3	3	2	1,100
20	สะระแหน่	0	0	0	<3.0
21	กวาดุ้ง	3	2	3	290
22	ผักชีลาว	3	2	3	290
23	ผักชีจีน	3	2	3	290
24	ต้นหอม	3	3	2	1,100
25	แคโรท	0	0	0	<3.0
26	ผักบุ้ง	0	0	0	<3.0
27	ถั่วพู	0	0	0	<3.0
28	ผักกาดขาว	3	1	2	120
29	ขึ้นฉ่าย	3	1	3	160
30	ใบแมงลัก	3	2	2	210

### อภิปรายผล

การบริโภคผักที่ไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนในการปรุงอาหาร ทำให้ผักยังคงวิตามินและเอนไซม์ต่างๆ ไว้อย่างครบถ้วน ทำให้ผู้บริโภคได้รับสารเหล่านั้นอย่างเต็มที่ แต่การรับประทานผักสดอาจได้รับเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนและเป็นสาเหตุของอาการอาหารเป็นพิษได้ การศึกษาครั้งนี้พบว่าผักสดยังคงมีการปนเปื้อน *E. coli* ในปริมาณสูงในผักหลายชนิด ผักสดที่ปนเปื้อนแบคทีเรีย *E. coli* อาจมาจากการเพาะปลูกที่ใช้มูลสัตว์ จากการวิจัยของปิยะมาศ โสมภีร์ และคณะ (2544) ศึกษาการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* ในดินและผักที่ปลูกโดยใช้มูลวัวหมักและไม่หมัก ผักทุกชนิดที่ใช้มูลวัวไม่ผ่านการหมักในการเพาะปลูกตรวจพบเชื้อ *E. coli* มากกว่า 1,100 ส่วนการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผักสดโดย ปรีชา จึงสมานกุล และคณะ (2553) พบปริมาณ MPN *E. coli* ต่อกรัมเท่ากับหรือมากกว่า 10 จำนวน 88 ตัวอย่าง (90.7%) และ มากกว่า 1,100 จำนวน 44 ตัวอย่าง (45.4%) ส่วนการทำเกษตรแบบการจัดการคุณภาพการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับพืช (Good Agricultural Practice: GAP) สามารถลดปริมาณการปนเปื้อน *E. coli* ลงได้และตรวจพบเชื่อน้อยกว่าการทำเกษตรแบบ non-GAP (ปราณี วรเนตรสุดาทิพย์ และคณะ, 2556) จากปัญหาการปนเปื้อน *E. coli* ในผักสด ได้มีนักวิจัยพยายามหากรรมวิธีที่จะลดเชื้อนี้ให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อการบริโภค ณัฐพงษ์ การถึง และคณะ (2558) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของการลดปริมาณ *E. coli* ในผัก ผลการศึกษาพบว่าน้ำมะนาวที่มีความเข้มข้น 15% มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดปริมาณเชื้อซึ่งควรได้รับการพัฒนาเป็นน้ำล้างผักสดเพื่อการบริโภคที่ปลอดภัยต่อไป



### ข้อเสนอแนะ

#### ข้อเสนอแนะในการนำผลวิจัยไปใช้

- (1) ผลการวิจัยสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับผู้บริโภคได้

#### ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

- (1) ตรวจวิเคราะห์หาเชื้อก่อโรคชนิดอื่นร่วมด้วย

### เอกสารอ้างอิง

- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2560). เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3. สืบค้นจาก <http://bqsf.dmsc.moph.go.th/bqsfWeb/wp-content/uploads/>.
- ณัฐพงศ์ การถึง สร้อยสุวรรณ อ้นทอง และอรุณศรี ว่องปฏิกรณ์. (2558). การทดสอบประสิทธิภาพของในการลดปริมาณ *Escherichia coli* และโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในผักกาดหอมเพื่อพัฒนาเป็นน้ำยาล้างผักวารสารสาธารณสุขศาสตร์. 45(3): 334-342.
- ปรานี วรเนตรสุตาทิพย์ ประยูทธ สีสวยหุต ชูสิทธิ์ ถิโนนลาน และสนิทพิมพ์ สิมมาทัน. (2556). สถานการณ์เชื้อจุลินทรีย์อีโคไลและซัลโมเนลลาในผักจากแปลงเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน. แก่นเกษตร 41 ฉบับพิเศษ 1: 532-537.
- ปรีชา จึงสมานกุล นวรัตน์ รัตน์ดิลก ณ ภูเก็ต และกมลวรรณ กันแต่ง. (2553). การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผักสด. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 52(1-2): 30-39.
- ปิยะมาศ โสมภีร์ อรรวรรณ ฉัตรสีรุ่ง และสมพร ชุนท์เชื้อชานนท์. (2544). การปนเปื้อนเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. ในดินและผักที่ปลูกโดยใช้มูลวัวหมักและไม่หมัก. วารสารเกษตรวิจัย. 29(3): 233-247.
- American Public Health Association. 2001. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.