



การตรวจหาเชื้อ บาซิลลัส ซีเรียส ในน้ำพริกพร้อมบริโภค Detection of *Bacillus cereus* in Ready-to-Eat Chili Paste

สิริยากร แสนแก้ว¹ วันซุกกิติ์ หะยิตาห์¹ ธัญญา ทิพย์อักษร¹

อรอมา จันท์เสถียร²

บทคัดย่อ

เชื้อ *Bacillus cereus* (*B. cereus*) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก สามารถก่อโรกระบบทางเดินอาหารได้ในมนุษย์ งานวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อการตรวจหาเชื้อ *B. cereus* ในน้ำพริกพร้อมบริโภคที่จัดจำหน่ายตามท้องตลาดใน ตำบลบ้านใหม่ อำเภอเมืองนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา โดยใช้เทคนิค spread plate ตามวิธีมาตรฐานของ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งจำเพาะ Mannitol-egg yolk-polymyxin (MYP) agar ตรวจสอบสัณฐานวิทยาของเซลล์ (Cell Morphology) ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์หลังจากการย้อมแบบแกรม (Gram's Staining) และตรวจยืนยันผลทางชีวเคมี โดยการตรวจสอบ Motility Test ผลการวิจัยพบว่า แบคทีเรียที่ แยกได้จากน้ำพริกพร้อมบริโภคจำนวน 30 ตัวอย่าง ทั้งหมดเป็นแกรมบวก (Gram-positive bacteria) รูปร่างเซลล์ แบบท่อน (Rod) เมื่อตรวจยืนยันผลทางชีวเคมี พบเชื้อที่คาดว่าจะเป็แบคทีเรียชนิด *B. cereus* ในน้ำพริกพร้อม บริโภคที่จัดจำหน่ายตามท้องตลาดในตำบลบ้านใหม่ อำเภอเมืองนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา จำนวนทั้งสิ้น 24 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 80) ซึ่งแบ่งตามประเภทของน้ำพริกพร้อมบริโภคได้ดังนี้ ประเภทน้ำพริกตามส่วนประกอบ เนื้อสัตว์ จำนวน 11 ตัวอย่าง (ได้แก่ กุ้งเสียบ ปลาฉลาด กากหมู นรกกุ้ง ปลาอย่าง นรกแมงดา หมูย่าง ปลาหู ตาแดง แมงดา และพริกเผา) ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 36.67) มีปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง 2.5×10^3 - 4.6×10^4 CFU/g ประเภทน้ำพริก ตามวิธีหุงต้ม จำนวน 4 ตัวอย่าง (ได้แก่ น้ำพริกแจ่ว น้ำพริกเผา น้ำพริกหนุ่ม และน้ำพริกมะขาม ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 13.33) มีปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง 2×10^3 - 7×10^3 CFU/g ประเภทน้ำพริกตามรสชาติ จำนวน 3 ตัวอย่าง (ได้แก่ น้ำพริกกะปิ ปลาร้า และปลาร้าบอง คิดเป็นร้อยละ 10.00) มีปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง 3×10^3 - 6×10^3 CFU/g และ ประเภทน้ำพริกตามส่วนประกอบทั่วไป จำนวน 6 ตัวอย่าง (ได้แก่ ตาแดง ตาแดงแมงดา น้ำจิ้มซีฟู้ด น้ำจิ้มซีฟู้ด (แดง) น้ำจิ้มซีฟู้ด (เขียว) และน้ำจิ้มสุกี้ ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 20) มีปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง 8×10^2 - 1.3×10^4 CFU/g งานวิจัยนี้ สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการเลือกบริโภคอาหารที่ปลอดภัยให้กับผู้บริโภคได้

คำสำคัญ: การตรวจหาเชื้อ *B. cereus* น้ำพริกพร้อมบริโภค

¹ นักศึกษา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ วิทยาลัยนครราชสีมา



² อาจารย์ คณะศึกษาศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา

Abstract

Bacillus cereus (*B. cereus*) is a Gram-positive bacterium. It is a bacterial pathogen of gastrointestinal tract in human. Research objective was to detection of *B. cereus* in ready-to-eat chili paste at local market in BanMai sub-district, Mueang Nakhon Ratchasima district, Nakhon Ratchasima province. The samples were poured on Mannitol-egg yolk-polymyxin (MYP) agar with duplication plates according to Department of Medical Science. Colony morphology of *B. cereus* on MPY ager was pink and opaque zone was presented. Cell morphology was detected after stained with Gram's staining and observed under light microscopy. Motility test was used as biochemical confirmation test of the bacterium. Results, all isolates isolated from the samples were Gram-positive and rod shape. Twenty-four samples (80%) were positive of motility and could be *B. cereus*. Eleven samples (36.67%) of mixed between meat and chili paste type, 4 samples (13.33%) of cooked chili paste type, 3 samples (10.00%) of tasted chili paste type and 6 samples (20.00%) of ingredient chili paste type were 2.5×10^3 - 4.6×10^4 , 2×10^3 - 7×10^3 , 3×10^3 - 6×10^3 and 8×10^2 - 1.3×10^4 CFU/g of *B. cereus*, respectively. This research could be potential of food safety for consumers.

Keywords: Detection, *B. cereus*, Chili Paste

ความสำคัญและที่มาของปัญหาวิจัย

น้ำพริกเป็นอาหารประจำถิ่นสำหรับคนไทยมานานและจัดเป็นอาหารพื้นบ้านที่มีผู้รู้จักและนิยมบริโภคทั่วประเทศ แม้ว่าผลิตภัณฑ์น้ำพริกในรูปแบบต่างๆเป็นที่นิยมของผู้บริโภค แต่ยังคงขาดมาตรฐานการผลิตและการจัดการทางด้านสาธารณสุขอย่างเหมาะสม (นิภัชราพร สถาพร และพัชราภรณ์ น้อยพันธ์, 2558) ดังนั้นจึงมีโอกาสนในการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำพริกค่อนข้างสูง ซึ่งการปนเปื้อนเหล่านี้ส่วนใหญ่มาจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบขั้นตอนการผลิต หรืออาจปนเปื้อนมาจากเครื่องมือที่ใช้ในการผลิต รวมถึงร่างกายและสุขลักษณะส่วนบุคคลของผู้ผลิตเอง ตลอดจนถึงขั้นตอนการเก็บรักษาสินค้าก่อนการจำหน่าย เชื้อ *B. cereus* เป็นแบคทีเรียที่พบว่ามี การปนเปื้อนในอาหารจำนวนมาก โดยสามารถพบ *B. cereus* ได้ทั่วไปในอากาศหรือดิน ในส่วนของการปนเปื้อนในอาหารนั้นมักจะพบการปนเปื้อนในอาหารที่มีโปรตีนสูงจำพวกเนื้อสัตว์ นม และไข่ เช่น ขนมไส้สังขยาหรือวานิลาสอดไส้ครีม เป็นต้น และยังสามารถพบการปนเปื้อนได้ในของแห้ง เช่น ธัญพืช แป้ง และเครื่องเทศ *B. cereus* มีการปนเปื้อนมากในอาหารอาจเนื่องจากเชื้อนี้สามารถสร้างสปอร์ซึ่งทนต่อ ความร้อนได้สูง เมื่อรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนของ *B. cereus* หรือสปอร์ของ *B. cereus* จะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษหรือโรคกระเพาะและลำไส้อักเสบ (gastroenteritis) ซึ่งโรคอาหารเป็นพิษ ที่เกิดจาก *B. cereus* นั้น สาเหตุเกิดจากสารพิษที่ *B. cereus* สร้างขึ้น เรียกว่า เอนเทอโรท็อกซิน (enterotoxin) โดยสามารถจำแนกได้เป็น 2 ชนิด คือ เอนเทอโรท็อกซินที่ทนร้อน (heat stable enterotoxin) ทำให้



เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีการอาเจียน (emetic form) และเอนเทอโรท็อกซินที่ไม่ทนร้อน (heat labile enterotoxin) ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีแบบท้องร่วง (diarrheal form) ฉะนั้นการตรวจหาเชื้อ *B. cereus* ในซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เป็นการประเมินคุณภาพในน้ำพริกพร้อมบริโภค เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการตัดใจของผู้บริโภคได้

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อตรวจหาเชื้อ *B. cereus* ตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3 ลงวันที่ 11 มกราคม 2560 ในน้ำพริกพร้อมบริโภคที่จำหน่ายตามท้องตลาด ตำบลบ้านใหม่ อำเภอเมืองนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างน้ำพริกพร้อมบริโภค น้ำหนักตัวอย่างอย่างน้อย 100 กรัม ที่จำหน่ายตามท้องตลาด ในเขตตำบลบ้านใหม่ อำเภอเมืองนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา ใส่ในภาชนะบรรจุที่ปราศจากเชื้อและปิดสนิท นำมายังห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ วิทยาลัยนครราชสีมา และทำการตรวจวิเคราะห์ทันที

การนับจำนวนเชื้อ *B. cereus*

ซึ่งตัวอย่างน้ำพริกด้วยเทคนิคปลอดเชื้อปริมาณ 25 กรัม เติมน้ำใน 0.85% NaCl ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ปิเปตเชื้อจากตัวอย่างที่เจือจางแล้ว 0.1 มิลลิลิตร โดยวิธีการ spread plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar จำนวน 2 ซ้ำ ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลที่ปลอดเชื้อเกลี่ยตัวอย่างเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนดให้นับจำนวนโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะของ *B. cereus* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar และทำการจดบันทึกเพื่อนำไปคำนวณค่า CFU/g

สัณฐานวิทยาของโคโลนี

ลักษณะเฉพาะของ *B. cereus* คือ โคโลนีจะมีสีชมพูหรือสีขาวอมชมพู ขอบหยัก หรือโค้งมน มีโซนตะกอนสีขาวขุ่นรอบๆ โคโลนี เลือกโคโลนีที่คาดว่าจะเป็น *B. cereus* มา streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA slant และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนดแล้ว นำโคโลนีเชื้อ *B. cereus* ที่ได้ไปทดสอบทางชีวเคมีและตรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่อไป

สัณฐานวิทยาของเซลล์

เขี่ยเชื้อแต่ละบนแผ่นสไลด์ที่มีน้ำอยู่เล็กน้อย smear เชื้อให้กระจายบนแผ่นสไลด์ ทำให้แห้ง (air dry) จากนั้นผ่านเปลวไฟ 2-3 รอบ เพื่อ heat fix ให้เชื้อติดกับแผ่นสไลด์ วิธีการย้อมแกรม ย้อมด้วยสีย้อม ที่ 1 คือ crystal violet นาน 1 นาที ตามด้วย iodine แล้ว ชะล้างด้วยน้ำ จากนั้นหยด 95% alcohol ไม่เกิน 20วินาที ล้างน้ำอีกครั้ง



จากนั้นย้อมด้วยสีย้อมที่ 2 คือ safranin O นาน 1 นาที ล้างน้ำแล้วซับสไลด์ให้แห้ง นำไปตรวจจลฐฐานวิทยาของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์

การทดสอบทางชีวเคมี

นำโคโลนีของเชื้อ *B. cereus* มา Stab ลงใน motility medium นำเข้าบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง motility ที่เป็นผลบวกคือเชื้อเจริญแผ่ออกจากแนว stab ส่วน motility ที่เป็นผลลบคือเชื้อเจริญเฉพาะแนว stab โดยปกติ *B. cereus* จะให้ผล motility เป็นบวก

สรุปผลการวิจัย

แบคทีเรียที่แยกได้จากน้ำพริกพร้อมบริโภคจำนวน 30 ตัวอย่าง ทั้งหมดเป็นแกรมบวก (Gram-positive bacteria) รูปร่างเซลล์แบบท่อน (Rod) เมื่อตรวจยืนยันผลทางชีวเคมี พบเชื้อที่คาดว่าจะแบคทีเรียชนิด *B. cereus* ในน้ำพริกพร้อมบริโภคที่จัดจำหน่ายตามท้องตลาดในตำบลบ้านใหม่ อำเภอเมืองนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา จำนวนทั้งสิ้น 24 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 80) ซึ่งแบ่งตามประเภทของน้ำพริกพร้อมบริโภคได้ดังนี้

ประเภทน้ำพริกตามส่วนประกอบเนื้อสัตว์ จำนวน 11 ตัวอย่าง (ได้แก่ กุ้งเสียบ ปลาฉลาด กากหมู นรกกุ้ง ปลาอย่าง นรกแมงดา หมูย่าง ปลาหู ตาแดงแมงดา และพริกเผากุ้ง ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 36.67) มีปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง $2.5 \times 10^3 - 4.6 \times 10^4$ CFU/g

ประเภทน้ำพริกตามวิธีหุงต้ม จำนวน 4 ตัวอย่าง (ได้แก่ น้ำพริกแจ่ว น้ำพริกเผา น้ำพริกหนุ่ม และน้ำพริกมะขาม ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 13.33) มีปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง $2 \times 10^3 - 7 \times 10^3$ CFU/g

ประเภทน้ำพริกตามรสชาติ จำนวน 3 ตัวอย่าง (ได้แก่ น้ำพริกกะปิ ปลาร้า และปลาร้าบอง คิดเป็นร้อยละ 10.00) มีปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง $3 \times 10^3 - 6 \times 10^3$ CFU/g

ประเภทน้ำพริกตามส่วนประกอบทั่วไป จำนวน 6 ตัวอย่าง (ได้แก่ ตาแดง ตาแดงแมงดา น้ำจิ้มซีฟู้ด น้ำจิ้มซีฟู้ด (แดง) น้ำจิ้มซีฟู้ด (เขียว) และน้ำจิ้มสุกี้ ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 20) มีปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง $8 \times 10^2 - 1.3 \times 10^4$ CFU/g

อภิปรายผล

การตรวจวิเคราะห์แบคทีเรียในน้ำพริกพร้อมบริโภคที่จัดจำหน่ายตามท้องตลาดในตำบลบ้านใหม่ อำเภอเมืองนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา ผลงานวิจัยที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ นิภัชราพร สภาพร และพัชราภรณ์ น้อยพันธ์ (2558) ซึ่งศึกษาการตรวจหาปริมาณเชื้อ *B. cereus* ในน้ำพริกจากร้านขายน้ำพริกที่บริเวณตลาดไนท์บาซาร์กำแพงเพชรและบริเวณตลาดศูนย์การค้าในอำเภอเมืองกำแพงเพชร จังหวัดกำแพงเพชร มาทำการตรวจนับจำนวนเชื้อ *B. cereus* น้ำพริกพร้อมบริโภค ซึ่งเป็นไปในแนวทางเดียวกันกับงานวิจัยในครั้งนี้ ซึ่งพบ *B. cereus* ในน้ำพริกพร้อมคือน้ำพริกปลาอย่าง น้ำพริกปลาร้า น้ำพริกปลาหู และน้ำพริกกะปิ เช่นเดียวกัน

ข้อเสนอแนะ



**NMCCON
2021**

การประชุมวิชาการระดับชาติ วิทยาลัยนครราชสีมา

ครั้งที่ 8 ประจำปี พ.ศ.2564

“สู่ชีวิตวิถีใหม่ ด้วยงานวิจัยทางสุขภาพและการบริการ”

27 มีนาคม พ.ศ. 2564

ข้อเสนอแนะในการนำผลวิจัยไปใช้

หน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรตระหนักและมีการเฝ้าระวัง รวมทั้งให้ความรู้แก่ผู้บริโภค ผู้ผลิต และผู้จัดจำหน่ายอาหารให้ถูกสุขลักษณะตามหลักการของอาหารที่ปลอดภัยต่อไป และเพื่อเป็นกันป้องกันโรคแก่ผู้บริโภคได้

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

ควรมีความหลากหลายของตัวอย่างและสถานที่เก็บตัวอย่างของน้ำพริกที่จะนำมาตรวจวิเคราะห์ เช่น ในโรงเรียน ตลาด ห้างสรรพสินค้า เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ วิทยาลัยนครราชสีมา ที่ให้ความอนุเคราะห์สารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อ และอุปกรณ์ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา ในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2560. **เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร.** กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.
- นิภัชราพร สภาพพร และพัชราภรณ์ น้อยพันธ์. (2558). **การตรวจหาปริมาณเชื้อ *Bacillus cereus* ในน้ำพริก.** นเรศวรวิจัย ครั้งที่ 12: วิจัยและนวัตกรรมกับการพัฒนาประเทศ
- สิริพร สธนเสาวภาคย์, ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ และกาญจนิจ วาจนะวินิจ.(2538). **สุขลักษณะของน้ำพริกสำเร็จรูป.** ว.เกษตรศาสตร์ (วิทย.). ปีที่ 29:471-478.