



## การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียรวมในผลไม้ขายปลีกพร้อมบริโภค Detection of Total Bacteria in Retail Ready-to-Eat Fresh Fruits

อรอุมา จันทรเสถียร<sup>1</sup> ลัดดาวลย์ พะวร<sup>1</sup> สุธิดา พันแสน<sup>2</sup>

### บทคัดย่อ

ผลไม้ เป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ เป็นแหล่งรวมวิตามินและเอนไซม์หลากหลายชนิด รวมทั้งเป็นอาหารที่มีกากใยสูง ช่วยในระบบการย่อยและระบบขับถ่ายของมนุษย์ แต่การรับประทานผลไม้ส่วนใหญ่เป็นการรับประทานแบบผลสด โดยไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน ฉะนั้นผลไม้อาจมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย รา และยีสต์ รวมทั้งยาฆ่าแมลง ซึ่งอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อผู้บริโภค ตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กำหนดให้ปริมาณแบคทีเรียรวมในผลไม้ ต้องพบในปริมาณที่น้อยกว่า  $10^6$  CFU/g งานวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียรวมในผลไม้ขายปลีกพร้อมบริโภค จำนวน 30 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิค spread plate ในการแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Nutrient agar (NA) ตรวจสอบสีของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากการย้อมสีแบบแกรม (Gram-staining) ผลการทดลองพบว่า พบแบคทีเรียแกรมบวกจำนวน 22 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 73.33 แบคทีเรียแกรมลบจำนวน 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26.67 ปริมาณแบคทีเรียรวมอยู่ระหว่าง  $5 \times 10^3 - 6.5 \times 10^6$  CFU/g ปริมาณแบคทีเรียรวมที่พบมากที่สุดผลไม้ ได้แก่ แอปเปิ้ลเขียว และปริมาณแบคทีเรียรวมที่พบน้อยที่สุด ได้แก่ มะกอกน้ำ มะพร้าว และองุ่น ซึ่งตัวอย่างผลไม้ทั้งหมดที่นำมาศึกษาพบว่า ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์จำนวน 23 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 76.67) ได้แก่ ส้มโอ, แดงโม, กัลย, องุ่น, สับปะรด, แคนตาลูป, มะม่วงแช่บัว, มะกอกน้ำ, มะม่วง, มะขามดอง, กระท้อนดอง, มะพร้าว, มะปรางดอง, พุทราดอง, มะม่วงดอง, ฝรั่งแช่บ๊วย, มะดันดอง, องุ่นดอง, มะขาม 3 รส, มะยมดอง, ฝรั่ง, มันแกว และมะกอกน้ำดอง ส่วนผลไม้อีก 7 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 23.33) ซึ่งไม่ผ่านมาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้แก่ แอปเปิ้ลเขียว, แอปเปิ้ลแดง, สตรอเบอร์รี่, สาลี่, แก้วมังกร, มะละกอ และขนุน ดังนั้นงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการให้คำแนะนำและตัดสินใจเลือกซื้อผลไม้สดขายปลีกพร้อมบริโภคได้

**คำสำคัญ:** การตรวจหา, แบคทีเรียรวม, ผลไม้

<sup>1</sup> อาจารย์ คณะศึกษาศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา

<sup>2</sup> อาจารย์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ วิทยาลัยนครราชสีมา



## Abstract

Fruit is a nourish nutrient. Many enzymes and vitamins are in fruits. Fruits are also high fiber which is plays an important role of digestion and secretion system of human. All fruits are eaten without heating thus microorganisms such as bacteria, fungi and yeasts could be contaminated, insecticide also. They may affect to consumers. Total bacteria contaminated in fresh fruit must less than  $10^6$  CFU/g which informed to notification of Department of Medical Science in 2017. The objective of the study is to detect total bacteria in retail ready-to-eat fruit collected from at Ban Mai Sub-district, Mueang Nakhon Ratchasima District, Nakhon Ratchasima Province. Thirty samples of fresh fruit were collected from retail sellers. The detection of total bacteria was cultured on nutrient agar (NA) using spread plate technique. Cell morphology was obserbed under light microscopy after stained with Gram's staining. Results, all Gram-positive and -negative bacteria were found which were 22 (73.33%) and 8 (26.67%), respectively. Total bacteria in fresh fruit were found in between  $5 \times 10^3$  and  $6.5 \times 10^6$  CFU/g. Green apple was the highest contamination with bacteria. In the other hands, olive oil, coconut and grape were less contaminated with bacteria. In this study, 23 samples (76.67%) of fresh fruit were pass the criteria particularly of pomelo, watermelon, banana, grape, pineapple, cantaloupe, mango plum, olive oil, mango, pickled tamarind, pickled santol, coconut, pickled Maprang, pickled jujube, pickled Mango, plum marinated guava, pickled madan, pickled grape, 3 flavors of tamarind, pickled gooseberry, guava, yam and olives. Seven samples (23.33%) particularly of strawberry, pear, dragon fruit, green apple, red apple, papaya and jackfruit were contaminated with bacteria more than the notification of Department of Medical Science. This research could be a basic knowledge and useful for customer decision of buying retail ready-to-eat fruits.

**Keywords:** Detection, Total Bacteria, Fruit

## ความสำคัญและที่มาของปัญหาวิจัย

ผลไม้ เป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ เป็นแหล่งรวมวิตามินและเอนไซม์หลากหลายชนิด รวมทั้งเป็นอาหารที่มีกากใยสูง ซึ่งช่วยในระบบการย่อยและระบบขับถ่ายของมนุษย์ ที่สำคัญผลไม้หลายชนิดมีสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และสารพฤกษเคมี (phytochemicals) เช่น ไลโคปีน (lycopene) เบตาแคโรทีน รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล โดยสารต้านอนุมูลอิสระมีคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระต่างที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาภายในร่างกาย แต่การรับประทานผลไม้ส่วนใหญ่เป็นการรับประทานแบบผลสดโดยไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน ฉะนั้นผลไม้อาจมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย รา และยีสต์ รวมทั้งยาฆ่าแมลง ซึ่งอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อผู้บริโภค (คูทรัพย์ มาตราคุณ และดาร์วรรณ เศรษฐีธรรม, 2559) เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค ตามประกาศ



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปี พ.ศ. 2560 กำหนดให้ปริมาณแบคทีเรียรวมในผลไม้ ต้องพบในปริมาณที่น้อยกว่า  $1 \times 10^6$  CFU/g

### วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียรวมในผลไม้ขายปลีกพร้อมบริโภคน ในตำบลบ้านใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### การสุ่มตัวอย่าง (Sampling)

ตัดตัวอย่างผลไม้สดพร้อมบริโภคนจากร้านขายปลีกจากหลายๆ ตำแหน่ง ทำให้เป็นชิ้นเล็กๆ ผสมให้เข้ากัน สุ่มตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในภาชนะปราศจากเชื้อ

#### การเตรียมตัวอย่าง (Preparation of test sample)

เจือจางตัวอย่างตามลำดับๆ ละ 10 เท่า (serial ten-fold dilutions) ด้วยสารละลายสำหรับเจือจาง (0.85% Normal Saline) เติสารละลายสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ เครื่องบดปั่นหรือเครื่องตีผสมอาหาร เป็นเวลา 1-2 นาที (initial suspension หรือ primary dilution) จากนั้นปิเปตตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลายสำหรับเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร ทำเช่นนี้ต่อไปจนได้ตัวอย่างที่เจือจางตามต้องการ

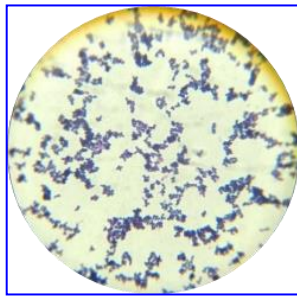
#### การตรวจปริมาณ (enumeration)

โดยวิธี conventional plate count method ปิเปตตัวอย่างเริ่มต้นหรือตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 1:10 หรืออื่นๆ ตาม ความเหมาะสมปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนจานเพาะเชื้อซึ่งมีอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA อยู่ ที่ระดับความเจือจางละ 2 จานเพาะเชื้อ (duplicate) เกลี่ยตัวอย่างที่ต้องการทดสอบให้แห้งด้วยแท่งแก้วปราศจากเชื้อแล้วนำเข้าตู้บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, 2557)

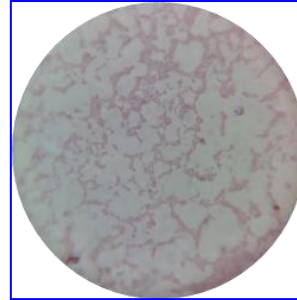
#### การตรวจสอบสัณฐานวิทยาของเซลล์ (Cell Morphology)

ตรวจสอบสัณฐานวิทยาของเซลล์ (Cell Morphology) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หลังจากการย้อมสีแบบแกรม (Gram's Staining) การย้อมสีแบบแกรมทำได้โดยการนำเชื้อปริมาณเล็กน้อยเกลี่ย (Smear) ลงบนแผ่นสไลด์แก้วที่สะอาดซึ่งมีน้ำกลั่นประมาณ 1 loopful บนแผ่นสไลด์ จากนั้นปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง (Air Dry) เมื่อตัวอย่างที่จะทำการทดสอบบนสไลด์แห้งแล้วให้ผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง (Heat Fixed) เพื่อให้ตัวอย่างที่จะทำการทดสอบติดแน่นบนสไลด์ จากนั้นย้อมด้วยสีย้อมคริสตัลไวโอเล็ตเป็นเวลา 1 นาที ล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่น ตามด้วยไอโอดีนเป็นเวลา 1 นาที ล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง ซะสีย้อมออกด้วย 95% เอทิลแอลกอฮอล์ เป็นเวลาไม่เกิน 20 วินาที ล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่น และหยดสีย้อมซาฟรานิน-โอ ให้ท่วมรอยสเมียร์เวลา 1 นาที ล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง ซับสไลด์ให้แห้ง นำไปตรวจสอบตรวจสอบสัณฐานวิทยาของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ภายใต้กำลังขยาย 1,000X





2a



2b

ภาพที่ 2. ลักษณะเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก (2a) และแกรมลบ (2b)

### การตรวจปริมาณ (enumeration)

ปริมาณแบคทีเรียรวมที่พบในผลไม้พร้อมบริโภค พบว่ามีปริมาณมากที่สุดในแอปเปิ้ลเขียว ปริมาณเชื้อพบที่  $6.5 \times 10^6$  CFU/g และรองลงมาคือขนุน พบเชื้อปริมาณ  $2.1 \times 10^6$  CFU/g ปริมาณแบคทีเรียรวมที่พบน้อยที่สุดได้แก่ มะกอกน้ำ มะพร้าว และองุ่น พบเชื้อที่ปริมาณ  $5 \times 10^3$  CFU/g และปริมาณแบคทีเรียรวมทั้งหมดในการวิจัยครั้งนี้ปริมาณเชื้อแบคทีเรียรวมอยู่ระหว่าง  $5 \times 10^3 - 6.5 \times 10^6$  CFU/g

### สรุปผลการวิจัย

ผลการวิจัยสรุปได้ว่า พบแบคทีเรียแกรมบวกจำนวน 22 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 73.33 แบคทีเรียแกรมลบจำนวน 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26.67 ปริมาณแบคทีเรียรวมอยู่ระหว่าง  $5 \times 10^3 - 6.5 \times 10^6$  CFU/g ปริมาณแบคทีเรียรวมที่พบมากที่สุดในผลไม้ ได้แก่ แอปเปิ้ลเขียว และปริมาณแบคทีเรียรวมที่พบน้อยที่สุด ได้แก่ มะกอกน้ำ มะพร้าว และองุ่น ซึ่งตัวอย่างผลไม้ทั้งหมดที่นำมาศึกษาพบว่า ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์จำนวน 23 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 76.67) ได้แก่ ส้มโอ, แตงโม, ถั่วลิสง, องุ่น, สับปะรด, แคนตาลูป, มะม่วงแช่แข็ง, มะกอกน้ำ, มะม่วง, มะขามทอง, กระท้อนทอง, มะพร้าว, มะปรางทอง, พุทราทอง, มะม่วงทอง, ฝรั่งแช่บ๊วย, มะดันทอง, องุ่นทอง, มะขาม 3 รส, มะยมทอง, ฝรั่ง, มันแกว และมะกอกน้ำทอง ส่วนผลไม้อีก 7 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 23.33) ซึ่งไม่ผ่านมาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้แก่ แอปเปิ้ลเขียว, แอปเปิ้ลแดง, สตรอเบอร์รี่, สาลี่, แก้วมังกร, มะละกอ และขนุน

### อภิปรายผลการวิจัย

จากการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียรวมในผลไม้ขายปลีกพร้อมบริโภค จำนวน 30 ตัวอย่าง พบว่าผลไม้จำนวน 7 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 23.33) ไม่ผ่านมาตรฐานตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปี พ.ศ. 2560 ที่กำหนดให้ปริมาณแบคทีเรียรวมในผลไม้ ต้องพบในปริมาณที่น้อยกว่า  $1 \times 10^6$  CFU/g การปนเปื้อนและการพบแบคทีเรียเหล่านี้ อาจมีสาเหตุจากผลไม้ขายปลีกพร้อมบริโภคโดยส่วนใหญ่เป็นการจำหน่ายแบบผลสด โดยไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน รวมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต การขนส่ง การล้างก่อนการวางจำหน่าย และการปนเปื้อนขณะวาง



**NMCCON  
2021**

**การประชุมวิชาการระดับชาติ วิทยาลัยนครราชสีมา**

ครั้งที่ 8 ประจำปี พ.ศ.2564

“สู่ชีวิตวิถีใหม่ ด้วยงานวิจัยทางสุขภาพและการบริการ”

27 มีนาคม พ.ศ. 2564

จำหน่าย ผลไม้จึงมีการปนเปื้อนแบคทีเรียได้ จากงานวิจัยของคู่ทรัพย์ มาตรณาคุณ และदारिवรรณ เศรษฐีธรรม (2559) ศึกษาการปนเปื้อนด้านจุลินทรีย์ในผลไม้แปรรูปที่วางจำหน่ายในตลาดอินโดจีนจังหวัดหนองคาย พบว่าผักสดจากซูเปอร์มาร์เก็ตมี *E. coli*, *Listeria* spp. และเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคน้อยกว่าผักสดจากตลาดสด หากผู้บริโภครับประทานผลไม้ที่ปนเปื้อนแบคทีเรีย อาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพได้

ดังนั้นผู้ประกอบการและผู้บริโภคสามารถหลีกเลี่ยงหรือลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียให้น้อยลง โดยมีการจัดการด้านสุขลักษณะที่ดี เช่น ขั้นตอนการในการผลิต การขนส่ง การล้างก่อนการวางจำหน่าย ผู้บริโภคควรระมัดระวังในการเลือกซื้อผลไม้สด โดยพิจารณาสุขลักษณะของสถานที่จำหน่าย ภาชนะบรรจุ สุขลักษณะส่วนบุคคลของผู้จำหน่าย และควรล้างผลไม้ด้วยน้ำสะอาดก่อนบริโภค เป็นต้น

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ วิทยาลัยนครราชสีมา ที่ให้ความอนุเคราะห์สารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อ และอุปกรณ์ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา ในการทำวิจัยในครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2560. **เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร.**

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, **วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหาร เล่มที่ 2 พ.ศ. 2557.**

คู่ทรัพย์ มาตรณาคุณ และदारिवรรณ เศรษฐีธรรม. (2559). การปนเปื้อนด้านจุลินทรีย์ในผลไม้แปรรูปที่วางจำหน่ายใน

ตลาดอินโดจีนจังหวัดหนองคาย. **วารสารวิจัย มข. (บศ.) 16 (2) : เม.ย. - มิ.ย. 2559**