



การตรวจหาการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพในน้ำแข็งบริโภคที่ จำหน่ายรอบมหาวิทยาลัยนเรศวร

ณริศา ทิพยราช*, ธนบดี พาพันธ์*, สุปรียา ขำดี*, และศิริลักษณ์ ชีระภูธร**

Received: November 4, 2020

Revised: January 9, 2021

Accepted: April 3, 2021

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด เชื้อเอสเชอริเชีย โคลิ และเชื้อสแตฟีโลค็อกคัส ออเรียส ในน้ำแข็งบริโภคที่จำหน่ายในร้านค้ารอบมหาวิทยาลัยนเรศวรโดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำแข็งบริโภคทั้งหมด 41 ตัวอย่างที่จำหน่ายในร้านค้าย่อย และจากโรงงานผลิตน้ำแข็งที่ส่งมาจำหน่ายยังร้านค้ารอบมหาวิทยาลัยนเรศวร ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2563 นำมาตรวจหาเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมดและเชื้อเอสเชอริเชีย โคลิ ด้วยวิธีเอ็มพีเอ็น และเชื้อสแตฟีโลค็อกคัส ออเรียส ด้วยวิธีการกรองด้วยเยื่อกรองเมมเบรน และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนาพบว่า ตัวอย่างน้ำแข็งบริโภคที่พบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมดที่มีค่าดัชนีเอ็มพีเอ็นมากกว่าหรือเท่ากับ 2.2 จำนวน 31 ตัวอย่าง (ร้อยละ 75.61) และพบเชื้ออีโคไล จำนวน 32 ตัวอย่าง (ร้อยละ 78.05) ทั้งนี้ไม่พบเชื้อสแตฟีโลค็อกคัส ออเรียสในทุกตัวอย่าง จากผลการศึกษานี้ทำให้ทราบสถานการณ์การปนเปื้อนเชื้อจุลชีพในน้ำแข็งบริโภคที่จำหน่ายในร้านค้ารอบมหาวิทยาลัย และกระตุ้นให้มีการตรวจสอบคุณภาพน้ำแข็ง เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคต่อไป

คำสำคัญ: น้ำแข็งบริโภค / โคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด / คุณภาพด้านจุลินทรีย์ / ดัชนีเอ็มพีเอ็น

****ผู้รับผิดชอบบทความ:** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริลักษณ์ ชีระภูธร ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร, Email: sirilakt@nu.ac.th

*นิสิตหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

**ปร.ด. (จุลชีววิทยาการแพทย์) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ประจำภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร



Detection of Microbial Contamination in Ice around Naresuan University

Nerisa Thippayarat*, Thanabodee Paphan*, Supreeya Khamdee*, and Sirilak Teeraputon**

Abstract

This study aimed to detect the total coliform bacteria, Escherichia coli, and Staphylococcus aureus in the ice around Naresuan University. All 41 samples of consuming ice were collected from the ice factory and shops around Naresuan University during August to October 2020. They were detected the microbiological contamination using the Most Probable Number (MPN) method for total coliform bacteria and Escherichia coli. The membrane filter technique used for Staphylococcus aureus detection. Then, data analysis was done by descriptive statistics. 31 of 41 samples (75.61%) were found the total coliform bacteria with MPN Index greater than or equal to 2.2. E. coli were found in thirty-two samples (78.05%). Whereas S. aureus was not found in all samples. This study revealed the situation of microbial contamination in consuming ice sold in shops around the university and urged the ice quality to be checked for consumer safety.

Keywords: *Ice for consumption / Total coliform bacteria / Microbial quality / MPN Index*

****Corresponding Author:** Assistant Professor Dr. Sirilak Teeraputon, Department of Medical Technology Faculty of Allied Health Science, Naresuan University, E-mail : sirilakt@nu.ac.th

* B.Sc. (Medical Technology Program), Student in Faculty of Allied Health Science, Naresuan University

** Ph.D. (Medical Microbiology), Assistant Professor, Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Science, Naresuan University



1. บทนำ

เนื่องจากลักษณะทางกายภาพของประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศร้อนชื้นตลอดปี จึงทำให้คนต้องการหาน้ำและความเย็นเพื่อดับความร้อน และสิ่งหนึ่งที่ขาดไม่ได้คือ “น้ำแข็ง” ที่อยู่คู่กับคนไทยมาเป็นเวลานาน ทั้งประโยชน์ในการบริโภคเพื่อดับกระหายหรือคลายร้อน หรือเพื่อเป็นการถนอมและรักษาสภาพของอาหาร หรือใช้ในงานอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้อง ปัจจุบันคนไทยทุกเพศทุกวัยนิยมรับประทานน้ำแข็ง ส่งผลให้น้ำแข็งสำหรับการบริโภคมีความต้องการเป็นอย่างมาก (ธรา มะลัยจันทร์, 2558) โดยเฉพาะในกลุ่มนักเรียนและนักศึกษาที่นิยมดื่มน้ำเย็น หรือเครื่องดื่มเย็นกันเป็นจำนวนมาก เช่น น้ำใส่น้ำแข็ง เครื่องดื่มที่มีการเติมน้ำแข็ง น้ำแข็งใส น้ำผลไม้ปั่น ซึ่งมีส่วนประกอบของน้ำแข็งหลายชนิด ได้แก่ น้ำแข็งหลอด น้ำแข็งเกล็ด น้ำแข็งโมหรือน้ำแข็งปน หากน้ำแข็งที่ใช้บริโภคไม่สะอาดพอ อาจเสี่ยงให้มีเชื้อโรคปนเปื้อนเป็นสาเหตุให้เกิดโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารตามมาได้ จากรายงานของกรมควบคุมโรคกระทรวงสาธารณสุข พบผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากการรับประทานกลุ่มอาหารที่ไม่สะอาด ผลิตไม่ได้มาตรฐาน ซึ่งเสี่ยงต่อการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย หากน้ำแข็งที่ใช้บริโภคโดยตรงไม่สะอาด มีการปนเปื้อน จะส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค (กองโรคติดต่อทั่วไป, 2563) กระทรวงสาธารณสุขได้มีประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 78 (พ.ศ.2527) เรื่องน้ำแข็ง กำหนดให้น้ำแข็งเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ การผลิตน้ำแข็งเพื่อจำหน่ายที่มีวัตถุประสงค์ให้ใช้รับประทาน ต้องใช้น้ำสะอาดที่มีมาตรฐานและผ่านการตรวจสอบคุณสมบัติ 3 ด้านคือ (1) แบคทีเรีย น้อยกว่า 2.2 ต่อน้ำสะอาด 100 มิลลิลิตร โดยวิธี เอ็ม พี เอ็น (Most Probable Number) (2) ตรวจไม่พบแบคทีเรียชนิด *Escherichia coli* (3) ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (กระทรวงสาธารณสุข, 2527) ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยจึงเลือกที่จะทำการศึกษการปนเปื้อนของน้ำแข็งบริโภคที่จำหน่ายในร้านค้ารอบมหาวิทยาลัยนเรศวร โดยศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด เชื้อ *E. coli* และการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบ ทางเดินอาหาร ได้แก่ เชื้อ *S. aureus* เนื่องจากเป็นแหล่งที่มีนักศึกษาพักอาศัยอยู่เป็นจำนวนมาก และอยู่ในชุมชนของชาวบ้านที่มีประชากรอาศัยอยู่ด้วย ซึ่งมีทั้งบ้านเรือนของชาวบ้าน หอพักนักศึกษา ตลาดสด ตลาดนัด และร้านค้าต่าง ๆ อีกมากมาย

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อตรวจหาเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด (total coliform bacteria) เชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* ในน้ำแข็งบริโภคที่จำหน่ายในร้านค้ารอบมหาวิทยาลัยนเรศวร

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย เป็นการศึกษาเชิงสำรวจ เพื่อตรวจหาเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด และเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* ในน้ำแข็งที่จำหน่ายในร้านค้ารอบมหาวิทยาลัยนเรศวร

3.2 กลุ่มตัวอย่าง ตัวอย่างน้ำแข็งบริโภคที่นำมาตรวจวิเคราะห์ได้ทำการเก็บจากร้านค้าที่จำหน่ายรอบมหาวิทยาลัยนเรศวร ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2563 และจากการสำรวจร้านค้าที่



จำหน่ายน้ำแข็งสำหรับบริโภคครบมหาวิทยาลัยนเรศวรในเบื้องต้น พบว่า แหล่งที่มาของน้ำแข็งหลอดที่จำหน่าย มี 2 แหล่ง ดังนี้

3.2.1 โรงงานผลิตน้ำแข็ง โดยแบ่งเป็น

- 1) น้ำแข็งหลอดชนิดบรรจุถุงปิดสนิทจากโรงงาน โดยมีแหล่งผลิตจำนวน 2 โรง
- 2) น้ำแข็งหลอดชนิดที่มีการตัดแบ่งจำหน่ายหน้าโรงงานผลิต และร้านค้าย่อยรอบ

มหาวิทยาลัยซึ่งรับมาจากโรงงานผลิตน้ำแข็ง จำนวน 7 โรง

3.2.2 การผลิตผ่านเครื่องทำน้ำแข็ง (ระบบปิด) ในร้านสะดวกซื้อ จากทั้งหมด 12 ร้าน โดยมีการจำหน่ายผ่านตู้กดน้ำแข็งภายในร้าน

ในการศึกษานี้ได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำแข็งจากร้านค้าโดยวิธีการสุ่มอย่างง่าย ได้ตัวอย่างน้ำแข็งที่นำมาศึกษาทั้งสิ้น จำนวน 41 ตัวอย่าง โดยแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

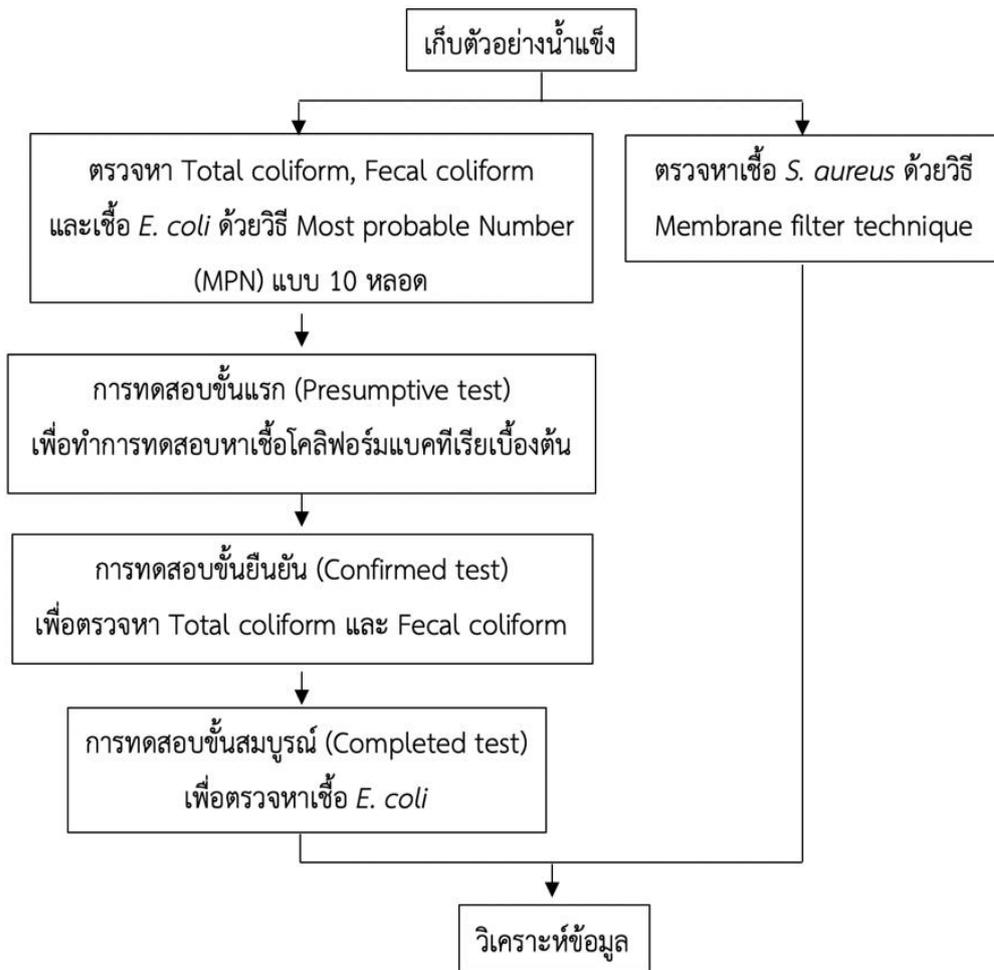
กลุ่มที่ 1 ตัวอย่างน้ำแข็งหลอดชนิดบรรจุถุงปิดสนิทจากโรงงานผลิต โดยเก็บตัวอย่างน้ำแข็งที่บรรจุถุงปิดสนิทสำหรับจำหน่ายในร้านค้ารอบมหาวิทยาลัยพบว่า มีการผลิตมาจาก 2 โรงคือ โรงงาน A และ โรงงาน B จึงทำการเก็บตัวอย่างจำนวน 6 ตัวอย่าง (โรงงานละ 3 ตัวอย่าง)

กลุ่มที่ 2 ตัวอย่างน้ำแข็งหลอดชนิดแบ่งจำหน่ายที่โรงงานและร้านค้าย่อย โดยเก็บตัวอย่างน้ำแข็งทั้งจากโรงงานผลิตโดยตรงทั้ง 7 โรงงาน และเก็บจากร้านค้าย่อยที่รับมาจากโรงงานผลิตที่ตั้งจำหน่ายอยู่รอบมหาวิทยาลัย จำนวน 26 ตัวอย่าง

กลุ่มที่ 3 ตัวอย่างน้ำแข็งชนิดที่ผลิตจากตู้ผลิตน้ำแข็งในร้านสะดวกซื้อ โดยเก็บตัวอย่างน้ำแข็งจากตู้ผลิตน้ำแข็งในร้านค้าสะดวกซื้อโดยตรง จำนวน 9 ตัวอย่าง จากร้านสะดวกซื้อทั้งหมด 12 ร้าน

3.3 ขั้นตอนการดำเนินงาน

ในการเก็บตัวอย่างน้ำแข็งในแต่ละครั้งจะเก็บในช่วงเวลาใกล้เคียงกันคือ ช่วงเวลาประมาณ 8.00 น. - 9.00 น. เพื่อให้ตัวอย่างทั้งหมดอยู่ในสภาวะเดียวกัน เก็บตัวอย่างน้ำแข็งปริมาณ 1 กิโลกรัม ใส่ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ และป้องกันการปนเปื้อนและการรั่วซึมของถุงโดยสวมถุงพลาสติกปราศจากเชื้ออีกชั้นหนึ่ง นำมายังห้องปฏิบัติการทันที จากนั้นนำมาตรวจหาการปนเปื้อนเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมดและเชื้อเอสเชอริเชีย โคลิ หรืออีโคไล (*E. coli*) ด้วยวิธีเอ็มพีเอ็น (Most Probable Number; MPN) และตรวจหาเชื้อสแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส (*S. aureus*) ด้วยวิธีกรองด้วยเยื่อกรองเมมเบรน (membrane filter technique) ดังแสดงในภาพที่ 1 หลังที่ปล่อยให้ตัวอย่างน้ำแข็งที่ละลายแล้วเขย่าให้เข้ากันดี ในการศึกษานี้ใช้น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ เป็นตัวอย่างน้ำควบคุมผลลบ และใช้เชื้อแบคทีเรีย *E. coli* (ATCC 25922) และเชื้อ *S. aureus* (ATCC 25923) ใส่ในตัวอย่างน้ำควบคุมผลบวก (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 แผนภาพสรุปขั้นตอนการดำเนินงาน

3.4 การตรวจหาเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด และเชื้อ *E. coli* ด้วยวิธีเอ็มพีเอ็น (Most Probable Number; MPN) ทำการตรวจหาเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมดและเชื้อ *E. coli* โดยใช้วิธีมาตรฐานการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำและน้ำเสีย (Standard Method for the Examination of Water and Wastewater) คือวิธีเอ็มพีเอ็น ระบบ 10 หลอด มี 3 ขั้นตอน ดังนี้

3.4.1 การทดสอบขั้นแรก (Presumptive Test) โดยปิเปตตัวอย่างน้ำแข็งที่ละลายหมดแล้ว ลงในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อลอริทริบโทส (Lauryl tryptose broth) ความเข้มข้นสองเท่า จำนวน 10 หลอด หลอดละ 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง อ่านผลโดยสังเกตการเจริญเติบโต ผลบวกคือ เกิดกรด(ขุ่น) และแก๊ส ถ้าไม่เกิดแก๊สให้ทำการบ่มต่อจนครบเวลา 48 ± 3 ชั่วโมง

3.4.2 การทดสอบขั้นยืนยัน (Confirmed Test) ในการทดสอบขั้นนี้จะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่จำเพาะต่อแบคทีเรียกลุ่มต่าง ๆ ได้แก่ อาหารเหลวบิลสีเขียวแลคทีสไบร์ล (brilliant green lactose bile broth; BGLB) สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด และอาหารเหลวอีซี (*Escherichia coli* broth; EC broth) สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อฟีคัลโคลิฟอร์ม (fecal coliform)



1) การทดสอบหาเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด โดยเขย่าหลอดอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อลอร์ริทริบโทสที่ให้ผลบวกในการทดสอบขั้นแรก แล้วใช้ลูปตักเชื้อปริมาณ 1 ลูป (loopful) หรือมากกว่า ลงในหลอด BGLB แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส อ่านผลโดยหลอดทดลองที่ให้ผลบวกจะขุ่นและเกิดแก๊สภายในเวลา 48 ± 3 ชั่วโมง แปลผลโดยนับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกไปเทียบกับค่าดัชนีเอ็มพีเอ็น (MPN Index) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ดัชนีเอ็มพีเอ็นที่ค่าความเชื่อมั่นที่ 95% เมื่อใช้การทดสอบแบบ 10 หลอด หลอดละ 10 มิลลิลิตร

จำนวนหลอดที่ให้ปฏิกิริยาบวก จาก 10 หลอด (หลอดละ 10 มล.)	MPN Index/100 มิลลิลิตร	ค่าความเชื่อมั่นที่ 95%	
		ขอบล่าง	ขอบบน
0	<1.1	-	3.4
1	1.1	0.051	5.9
2	2.2	0.37	8.2
3	3.6	0.91	9.7
4	5.1	1.6	13
5	6.9	2.5	15
6	9.2	3.3	19
7	12	4.8	24
8	16	5.8	34
9	23	8.1	53
10	>23	13	-

ที่มา : Standard Method for the Examination of Water and Wastewater, 23rd edition 2017

2) การทดสอบหาเชื้อฟิโคลิฟอร์ม โดยใช้ลูปตักเชื้อปริมาณ 1 ลูป (loop) หรือมากกว่า จากหลอดอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อลอร์ริทริบโทสที่ให้ผลบวกในการทดสอบขั้นแรก ลงในหลอดอาหารเหลวอีซี แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่ 44.5 ± 0.2 องศาเซลเซียส อ่านผลหลอดอาหารเหลวอีซีโดยหลอดที่ให้ผลบวกจะขุ่นและเกิดแก๊สภายในเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง แปลผลโดยนับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกไปเทียบกับค่า MPN Index ดังตารางที่ 1

3.4.3 การทดสอบขั้นสมบูรณ์ (Completed Test) นำหลอดอาหารเหลวอีซีที่ให้ผลบวกในการทดสอบขั้นยืนยันมาทำการตรวจหาเชื้อ *E. coli* โดยใช้ลูปตักเชื้อปริมาณ 1 ลูป มาเขี่ยลงบนอาหารเลี้ยงเชื้ออีเอ็มบี (Eosin methylene blue agar; EMB) นำไปบ่มที่ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยโคโลนีของเชื้อที่คาดว่าจะเป็เชื้อ *E. coli* คือ โคโลนีที่มีลักษณะเป็นเงาสีเขียวเมทัลลิก (metallic green sheen) มาทดสอบด้วยการทดสอบอิมิวิก (Indole test, MR-VP test and citrate test; IMViC test) เพื่อยืนยันการพบเชื้อ *E. coli* ต่อไป

3.5 การตรวจหาเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธีการกรองด้วยเยื่อกรองเมมเบรน (Membrane Filtration Technique)



การตรวจหาเชื้อ *S. aureus* โดยสุ่มตัวอย่างน้ำแข็งที่ละลายแล้ว มาทำการทดสอบในปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยเทลงในปิกรเกอร์ที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นนำไปกรองโดยเทผ่านชุดกรองที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว ซึ่งมีแผ่นกระดาษกรองปราศจากเชื้อที่มีรูขนาด 0.22 ไมโครเมตรวางอยู่ จากนั้นใช้ปากคีบที่ปราศจากเชื้อคีบแผ่นกรองที่น้ำกรองผ่านไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อแมนนิทอลซอลท์ (mannitol salt agar) นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา นำโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ *S. aureus* มาทำการย้อมสีแกรมและทำการทดสอบทางชีวเคมี (catalase test, coagulase test และ Mannitol salt agar slant) เพื่อยืนยันเชื้อ *S. aureus*

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล ศึกษาผลการตรวจหาโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด เชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างน้ำแข็ง ได้แก่ ค่า MPN Index และการตรวจพบเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* โดยทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติร้อยละ

4. ผลการวิจัย

4.1 การตรวจหาเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด และเชื้อ *E. coli* เมื่อทำการตรวจหาเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด และเชื้อ *E. coli* ด้วยวิธี Most Probable Number ในตัวอย่างน้ำแข็งบริเวณทั้ง 3 กลุ่ม จำนวนทั้งสิ้น 41 ตัวอย่าง พบตัวอย่างน้ำแข็งจำนวน 9 ตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมดที่มีค่า MPN Index น้อยกว่า 1.1 (ร้อยละ 21.95) โดยมีน้ำแข็งจำนวน 1 ตัวอย่างที่พบเชื้อ *E. coli* ด้วย ในขณะที่ตัวอย่างน้ำแข็งจำนวน 32 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด โดยมีค่า MPN Index มากกว่าหรือเท่ากับ 2.2 (ร้อยละ 75.61) และทุกตัวอย่างมีการพบเชื้อ *E. coli* ดังตารางที่ 2 โดยมีรายละเอียด ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ตัวอย่างน้ำแข็งหลอดบรรจุจุกปิดสนิทจากโรงงานผลิต จำนวน 6 ตัวอย่าง (จาก 2 โรงงาน) พบ จำนวน 3 ตัวอย่างที่พบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด โดยมีค่า MPN Index น้อยกว่า 1.1 และ ไม่พบ เชื้อ *E. coli* (ร้อยละ 50) ซึ่งทั้ง 3 ตัวอย่างนี้มาจากโรงงานผลิตเดียวกัน (โรงงาน A) ในขณะที่อีกจำนวน 3 ตัวอย่างที่พบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด โดยมีค่า MPN Index มากกว่าหรือเท่ากับ 2.2 มิลลิลิตร (ร้อยละ 50) และพบ เชื้อ *E. coli* ในทุกตัวอย่าง และทั้ง 3 ตัวอย่างนี้มาจากโรงงานผลิตเดียวกัน (โรงงาน B)

กลุ่มที่ 2 ตัวอย่างน้ำแข็งหลอดแบ่งจำหน่ายที่โรงงานและร้านค้าย่อย จำนวน 26 ตัวอย่าง (จาก 7 โรงงานและจากร้านค้าย่อยที่รับน้ำแข็งมาจากโรงงานทั้ง 7 โรง) พบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด ในทุกตัวอย่าง โดยมีค่า MPN Index มากกว่าหรือเท่ากับ 2.2 (ร้อยละ 100) และพบเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างน้ำแข็งจำนวน 24 ตัวอย่าง (ร้อยละ 92.31)

กลุ่มที่ 3 ตัวอย่างน้ำแข็งที่ผลิตจากตู้ผลิตน้ำแข็งในร้านสะดวกซื้อ จำนวน 9 ตัวอย่าง พบ น้ำแข็งจำนวน 6 ตัวอย่างที่พบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด โดยมีค่า MPN Index น้อยกว่า 1.1 (ร้อยละ 66.67) โดยมีหนึ่งตัวอย่างที่พบเชื้อ *E. coli* ในขณะที่อีกจำนวน 3 ตัวอย่าง พบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมดที่มีค่า MPN Index มากกว่าหรือเท่ากับ 2.2 และพบเชื้อ *E. coli* ในทุกตัวอย่าง (ร้อยละ 33.33)



4.2 การทดสอบหาเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี Membrane filtration technique จากการตรวจหาเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธีการกรองด้วยเยื่อกรองเมมเบรน ในตัวอย่างน้ำแข็งบริโภคทั้ง 3 กลุ่ม จำนวนทั้งสิ้น 41 ตัวอย่าง ไม่พบเชื้อ *S. aureus* ในทุกตัวอย่างน้ำแข็งที่นำมาศึกษา (ร้อยละ 100)

ตารางที่ 2 ผลการตรวจหาเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด (Total coliform) เชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างน้ำแข็ง จำนวน 41 ตัวอย่าง

ชนิดของน้ำแข็ง	จำนวน ตัวอย่าง	เชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด (ร้อยละ)		<i>E. coli</i>
		<1.1 MPN/100 mL	≥ 2.2 MPN/100 mL	
1. น้ำแข็งบรรจุถุงปิดสนิท	6	3 (50)	3 (50)	3 (50)
2. น้ำแข็งแบ่งขาย	26	0	26 (100)	26 (100)
3. น้ำแข็งจากตู้กด	9	6 (66.67)	2 (22.22)	3* (33.33)
รวม	41	9 (21.95)	31 (75.61)	32* (78.05)

หมายเหตุ * มี 1 ตัวอย่างที่ให้ผล MPN Index <1.1 แต่ตรวจพบเชื้อ *E. coli*

ทั้งนี้ไม่พบเชื้อ *S. aureus* ในทุกตัวอย่าง

5. อภิปรายผล

จากการศึกษาคุณภาพด้านจุลินทรีย์ในน้ำแข็งบริโภคที่ผ่านมาในประเทศไทย พบน้ำแข็งไม่ผ่านมาตรฐานที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนดคือ มีการตรวจพบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด เชื้อ *E. coli* ที่มีค่าสูงเกินมาตรฐาน (ซีไม่พร หงชาชุม, 2552) นอกจากนี้ ในบางรายงานมีการตรวจพบเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารปนเปื้อนในน้ำแข็งร่วมด้วย จากเหตุผลดังกล่าว คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการทดสอบมาตรฐานด้านจุลินทรีย์ของน้ำแข็งบริโภคที่จำหน่ายรอบมหาวิทยาลัยนเรศวร โดยการตรวจหาการปนเปื้อนเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมดและเชื้อ *E. coli* ด้วยวิธีเอ็มพีเอ็น และตรวจหาการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธีการกรองด้วยเยื่อกรองเมมเบรนในน้ำแข็งบริโภคที่จำหน่ายในร้านค้ารอบมหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

ในการศึกษาครั้งนี้พบตัวอย่างน้ำแข็งที่พบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด มีค่า MPN Index สูงเกินมาตรฐาน (≥ 2.2 MPN/100 mL) จำนวนมากถึงร้อยละ 75.61 และพบเชื้อ *E. coli* ร้อยละ 78.05 (ตารางที่ 2) โดยคณะผู้วิจัยได้แบ่งประเภทของน้ำแข็งหลอด เพื่อจะติดตามถึงคุณภาพในกระบวนการผลิตน้ำแข็ง และการจัดเก็บน้ำแข็งระหว่างรอการจำหน่ายให้มากยิ่งขึ้น โดยแบ่งเป็น 3 ประเภท และพบว่า ตัวอย่างน้ำแข็งหลอดชนิดแบ่งจำหน่ายที่โรงงานและร้านค้าย่อยทั้งหมดไม่ผ่านมาตรฐานคือ มีการตรวจพบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด โดยมีค่า MPN Index 2.2 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาใน พ.ศ. 2555 ของปิยะนุช จงสมักร, และคณะที่ทำการศึกษาค่าความปลอดภัยด้านจุลินทรีย์ของน้ำแข็งที่จำหน่ายในบริเวณโรงอาหารและตลาดนัดมหาวิทยาลัยศิลปากรพระราชวังสนามจันทร์ ด้วยวิธีเอ็มพีเอ็น ซึ่งพบว่าตัวอย่างน้ำแข็งทั้งหมดไม่ผ่านเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยา โดยทุกตัวอย่างพบการปนเปื้อนเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมดสูงกว่า (ร้อยละ 100) และยังสอดคล้องกับการศึกษาใน พ.ศ. 2552 ของซีไม่พร หงชาชุม, และคณะ ซึ่งทำการศึกษาค่าคุณภาพน้ำแข็งทางแบคทีเรียวิทยาตามร้านอาหารตามสั่งรอบมหาวิทยาลัยขอนแก่นด้วยวิธีเอ็มพีเอ็นที่พบการปนเปื้อนเชื้อ



โคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมดสูงกว่ามาตรฐาน (ร้อยละ 98.30) สาเหตุที่สำคัญน่าจะเกิดจากน้ำหรือแหล่งน้ำที่นำมาใช้ในการผลิตน้ำแข็งไม่ได้มาตรฐาน หรือกระบวนการผลิตที่ไม่ได้มาตรฐาน (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545) นอกจากนี้ ยังอาจมีการปนเปื้อนในการจัดเก็บน้ำแข็งก่อนจำหน่ายโดยเฉพาะในร้านค้าย่อย

ในขณะที่น้ำแข็งหลอดชนิดบรรจุถุงปิดสนิทที่โรงงาน โดยคาดว่าจะไม่มีการปนเปื้อนหลังการผลิตน้ำแข็ง หากแหล่งน้ำและกระบวนการผลิตนั้นมีคุณภาพและได้มาตรฐาน ยังตรวจพบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด และเชื้อ *E. coli* ที่มีค่า MPN Index สูงเกินมาตรฐานจำนวนร้อยละ 50 และเมื่อตรวจสอบข้อมูลพบว่าทั้ง 3 ตัวอย่างนี้เป็นน้ำแข็งหลอดที่ผลิตมาจากโรงงานเดียวกันกับน้ำแข็งหลอดชนิดแบ่งขายที่เก็บตัวอย่างมาจากโรงงานและร้านค้าย่อยที่พบว่า ทุกตัวอย่างมีค่า MPN Index สูงเกินมาตรฐาน ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากคุณภาพของน้ำที่นำมาใช้ในการผลิตน้ำแข็ง

ส่วนน้ำแข็งชนิดที่ผลิตจากตู้ทำน้ำแข็งภายในร้านสะดวกซื้อที่มีกระบวนการผลิตที่แตกต่างไปจากโรงผลิตน้ำแข็งทั้ง 2 ประเภท (ชนิดแบ่งขาย และชนิดบรรจุถุงปิดสนิทจากโรงงาน) คือ น้ำแข็งชนิดนี้จะผ่านการผลิตจากเครื่องผลิตน้ำแข็งขนาดเล็ก โดยมีขั้นตอนการกรองน้ำก่อนเข้าเครื่องทำน้ำแข็งซึ่งเป็นระบบปิด ซึ่งจากการศึกษานี้ยังตรวจพบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมดที่มีค่า MPN Index สูงเกินมาตรฐาน (ร้อยละ 22.22) และเชื้อ *E. coli* (ร้อยละ 33.33) (ตารางที่ 2) โดยคาดว่าน่าจะมาจากคุณภาพของน้ำในการผลิต หรือกระบวนการผลิตที่มีเครื่องกรองน้ำที่ไม่ได้รับการตรวจสอบคุณภาพการใช้งานอย่างสม่ำเสมอ เช่น อายุการใช้งานของไส้กรอง หรือเครื่องกรองไม่ได้มาตรฐาน ส่งผลทำให้น้ำที่ผ่านเครื่องกรองไม่ได้มาตรฐาน เป็นต้น ตลอดจนการตรวจสอบคุณภาพของเครื่องผลิตน้ำแข็งอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนี้ยังมีสาเหตุจากการปนเปื้อนระหว่างการขนถ่ายน้ำแข็งจากเครื่องผลิตน้ำแข็งมายังตู้กดน้ำแข็ง ที่ต้องมีการใช้คน และภาชนะในการขนถ่ายน้ำแข็ง

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น ทำให้ทราบสถานการณ์ความปลอดภัยของน้ำแข็งบริโภคที่จำหน่ายในร้านค้ารอบมหาวิทยาลัย เพื่อใช้เป็นแนวทางในการเลือกซื้อน้ำแข็งเพื่อการบริโภค และกระตุ้นให้มีการตรวจสอบคุณภาพน้ำแข็งจากแหล่งผลิต การขนส่ง การจัดเก็บเพื่อจำหน่าย รวมถึงสุขอนามัยของผู้จำหน่าย เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

6. สรุปผลการวิจัย

จากผลการศึกษาพบว่าน้ำแข็งบริโภคที่จำหน่ายในร้านค้ารอบมหาวิทยาลัยนเรศวร พบเชื้อ โคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมดที่มีค่า MPN Index มากกว่าหรือเท่ากับ 2.2 จำนวน 31 ตัวอย่าง (ร้อยละ 75.61) และพบเชื้อ *E. coli* จำนวน 32 ตัวอย่าง (ร้อยละ 78.05) ทั้งนี้ไม่พบเชื้อ *S. aureus* ในทุกตัวอย่าง โดยแบ่งเป็น 1) ตัวอย่างน้ำแข็งหลอดบรรจุถุงปิดสนิทจากโรงงานผลิต พบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมดที่มีค่า MPN Index มากกว่าหรือเท่ากับ 2.2 มิลลิตร (ร้อยละ 50) และพบ เชื้อ *E. coli* ในทุกตัวอย่าง โดยทุกตัวอย่างนี้มาจากโรงงานผลิตเดียวกัน 2) ตัวอย่างน้ำแข็งหลอดแบ่งจำหน่ายที่โรงงานและร้านค้าย่อย พบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมด ในทุกตัวอย่างที่มีค่า MPN Index มากกว่าหรือเท่ากับ 2.2 (ร้อยละ 100) และ



พบเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างน้ำแข็ง จำนวน 24 ตัวอย่าง (ร้อยละ 92.31) และ 3) ตัวอย่างน้ำแข็งที่ผลิตจากตู้ผลิตน้ำแข็งในร้านสะดวกซื้อ พบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมดที่มีค่า MPN Index มากกว่าหรือเท่ากับ 2.2 และพบเชื้อ *E. coli* ในทุกตัวอย่าง (ร้อยละ 33.33)

7. ข้อเสนอแนะ

7.1 ข้อเสนอแนะที่ได้จากการทำวิจัย ในการเลือกน้ำแข็งสำหรับการบริโภค ควรเลือกซื้อน้ำแข็งที่ผ่านการผลิตจากโรงงานที่มีคุณภาพได้มาตรฐาน มีการบรรจุในถุงที่สะอาดปิดสนิท และเมื่อน้ำแข็งละลายจะต้องใส ไม่มีตะกอนขาวขุ่น ๆ อยู่กันแก้ว

7.2 ข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยครั้งต่อไป ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ทำการตรวจหาจุลินทรีย์ก่อโรคตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 364) พ.ศ. 2556 เรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคครบทุกเชื้อ หากต้องการทราบว่าผ่านเกณฑ์มาตรฐานด้านจุลินทรีย์ก่อโรคควรมีการตรวจหา เชื้อ *Salmonella* spp. เชื้อ *Bacillus cereus* เชื้อ *Clostridium perfringens* เชื้อ *Listeria monocytogenes* และเชื้อ *Cronobacter sakazakii* เพิ่มเติมต่อไป

8. กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรี จากคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

9. เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 78) พ.ศ. 2527 เรื่อง น้ำแข็ง. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 101 ตอนที่ 23 (ฉบับพิเศษ แผนกราชกิจจานุเบกษา) ณ วันที่ 22 กุมภาพันธ์ 2527.
- กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 364) พ.ศ. 2556 เรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 130 ตอนพิเศษ 148 ง หน้า 42 ณ วันที่ 31 ตุลาคม 2556
- กองโรคติดต่อทั่วไป, สำนักสื่อสารความเสี่ยงฯ กรมควบคุมโรค .กรมควบคุมโรค เตือนประชาชน ระวังดื่มเครื่องดื่มร้อน เสี่ยงโรคอาหารเป็นพิษ แน่ชัดหลัก "สุก ร้อน สะอาด" สืบค้นเมื่อ 12 มิ .ย. 2563 จาก: https://www.ddc.moph.go.th/brc/news.php?news= 11907&deptcode=brc&fbclid=IwAR2THB_cr0pLsmdhExzhHYPXEWc8g_vNWVP WejhPMixbf8YfuBnihBiSlkg.
- ซีไมพร หงษาชুম, และ Ammala Monsouvanh. (2552). คุณภาพน้ำแข็งทางแบคทีเรียวิทยาตามร้านอาหารตามสั่งรอบมหาวิทยาลัยขอนแก่น. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคนิคการแพทย์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.



ธรา มะลัยจันทร์. (2558). *แผนธุรกิจโรงงานน้ำแข็งปลอดปลอดสาร (Business Plan for Pure Ice Factory)*.

กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยกรุงเทพ.

ปิยะนุช จงสมัคร, จุรีย์ เจริญธีรบูรณ์, และสุนีย์ เตชะอาภรณ์กุล. (2555). การสำรวจความปลอดภัยด้าน
จุลินทรีย์ของน้ำแข็งบริโภคที่จำหน่ายในร้านอาหารและตลาดนัด มหาวิทยาลัยศิลปากรพระราชวัง
สนามจันทร์. *วารสารไทยเฝ้าช่วยนิพนธ์*. 9(1), 14-23.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2545). *ปัญหาและแนวทางการแก้ไขการผลิตน้ำแข็ง*. นนทบุรี :
โรงพิมพ์ชุมนุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

American Public Health Association. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (23rd ed)*. Washington, DC: APHA.