การตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์มในเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทด้วยเทคนิคเอ็มพีเอ็น

สุนิสา ไกรนรา*, รัตน์ติพร โกสุวินทร์***, กวินทิพย์ ถิ่นทัพไทย**,
นิอรีช อับดุลรอแม** และสุธิดา พิพัฒน์สิริเมธี**

Received: July 11, 2024
Revised: August 23, 2024
Accepted: September 16, 2024

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาการปนเปื้อนของแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ฟีคัลโคลิฟอร์มและ *Escherichia coli* ในเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทด้วยวิธี Most Probable Number (MPN) และเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มและการปนเปื้อนแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มในเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท โดยการเก็บเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท 35 ตัวอย่าง จากร้านแผงลอยในพื้นที่เทศบาลตำบลองครักษ์ จำนวน 7 ร้าน ผลการศึกษาพบว่า ตัวอย่างมีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม จำนวน 28 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 80 มีการปนเปื้อนแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์ม จำนวน 23 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 65.7 และตรวจพบการปนเปื้อน *Escherichia coli* จำนวน 19 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 54.3 โดยตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานมีปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มและแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์ม >2.2 MPN/100 มิลลิลิตร และพบว่าการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มและแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มในเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value<0.05) จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการบริโภคเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียโคลิฟอร์ม แบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์ม และ *Escherichia coli* ซึ่งมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร ดังนั้นจึงต้องมีขั้นตอนในการปฏิบัติด้านสุขลักษณะและสุขอนามัยที่ดี เช่น ผู้ที่สัมผัสอาหารควรมีการสวมถุงมือ การใส่หน้ากากอนามัย และการล้างมือ และร้านค้าต่างๆ ควรมีอุปกรณ์ในการป้องกันสัตว์และแมลงพาหะ เป็นต้น เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคได้

คำสำคัญ: แบคทีเรียโคลิฟอร์ม / เอสเชอริเชีย โคไล / เครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท / เทคนิคเอ็มพีเอ็น

*__ผู้รับผิดชอบบทความ:__ *อาจารย์ ดร.สุนิสา ไกรนรา สาขาการส่งเสริมสุขภาพ คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 63 หมู่ 7 ตำบลองครักษ์ อำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก 26120 E-mail: sunisaso@g.swu.ac.th*

**วท.ด. อาจารย์ประจำสาขาการส่งเสริมสุขภาพ คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ*

***วท.บ. นิสิตหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาการส่งเสริมสุขภาพ คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ*

****วท.ด. อาจารย์ประจำสาขาการส่งเสริมสุขภาพ คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ*

Detection of Coliform Bacteria in Unsealed Drink using the Most Probable Number Technique

Sunisa Krainara*, Rattiporn Kosuwin***, Kawinthip Thintupthai**,
Niaris Abdulromae** and Suthida Pipatsirimatee**

Abstract

The objectives of this study were to detect the contamination of coliform bacteria fecal coliform bacteria and *Escherichia Coli* in unsealed drinks using the Most Probable Number (MPN) method and to find the relationship between contamination of coliform bacteria and contamination of fecal coliform bacteria in unsealed drinks. We collected 35 samples of unsealed drinks from 7 drink stalls at Ongkharak Subdistrict Municipality area. The results found that 28 samples were contaminated with coliform bacteria, representing 80 percent; 23 samples were contaminated with fecal coliform bacteria, representing 65.7 percent; and 19 samples were contaminated with *Escherichia coli*, representing 54.3 percent. The sample that does not meet the standard with the number of coliform bacteria and fecal coliform bacteria >2.2 MPN/ 100 ml. It was found that contaminated coliform bacteria and fecal coliform bacteria in unsealed drinks had a statistically significant relationship (p-value<0.05). This study has shown that consumption of unsealed drinks is contaminated with coliform bacteria, fecal coliform bacteria, and *Escherichia coli*, which are at risk of gastrointestinal infections. Therefore, hygiene and good hygiene procedures must be required to prevent contamination of pathogenic microorganisms. For example, people who handle food should wear gloves, sanitary masks and wash their hands. Shops should also be equipped with equipment to protect animals and insect carriers.

Kewords: Coliform Bacteria / *Escherichia coli* / Unsealed Drinks / Most Probable Number

Corresponding Author: *Sunisa Krainara, Faculty of Physical Therapy, Srinakharinwirot University, E-mail: sunisaso@g.swu.ac.th*

**Ph.D. Lecturer, Faculty of Physical Therapy, Srinakharinwirot University*

***Bachelor's degree in health Promotion, Faculty of Physical Therapy, Srinakharinwirot University*

****Ph.D. Lecturer, Faculty of Physical Therapy, Srinakharinwirot University*

1. บทนำ

ปัจจุบันเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทในประเทศไทยมีความหลากหลายมากยิ่งขึ้นด้วยลักษณะภูมิอากาศที่ร้อนทำให้การใช้ชีวิตของคนไทยในสังคมเกิดความเร่งรีบ ส่งผลให้มีการซื้อเครื่องดื่มมาคลายร้อนและเป็นเครื่องดื่มที่ไม่ต้องต่อคิวรอซื้อนาน มีขายตามท้องตลาดทั่วไป

เครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท ยกตัวอย่างเช่น น้ำหวาน น้ำสมุนไพร น้ำผลไม้ ชาต่างๆ ซึ่งเป็นเครื่องดื่มที่ใช้ในการตัก การเท การกด โดยมีการบรรจุอยู่ในรูปแบบของภาชนะที่ไม่ปิดสนิท เช่น ขวดโหลแก้ว เหยือกใส่น้ำ ถัง ถุง เป็นต้น เป็นภาชนะสำหรับบรรจุเครื่องดื่มรสหวานที่มีปริมาณมาก พ่อค้าแม่ค้าตามท้องตลาดส่วนใหญ่จะใช้เพื่อค้าขายเครื่องดื่มเพราะสามารถแบ่งบรรจุได้อย่างสะดวกรวดเร็วในการตักขาย ทำให้เครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท เป็นทางเลือกในการเลือกซื้อที่ดีเหมาะกับสังคมไทยในปัจจุบันที่ต้องการความรวดเร็วในการบริโภค (กรมอนามัย, 2565)

ในช่วงฤดูร้อนที่ผ่านมา กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ได้เตือนให้กับประชาชนเรื่องการระวังการบริโภคน้ำแข็ง และน้ำดื่มในหน้าร้อน ต้องเน้นสะอาดปลอดภัย ผ่านการรับรองมาตรฐาน GMP ช่วยลดความเสี่ยงจากโรคอาหารและน้ำเป็นสื่อ นายแพทย์อรรถพล แก้วสัมฤทธิ์ รองอธิบดีกรมอนามัย กล่าวว่า “ในช่วงหน้าร้อนน้ำแข็ง น้ำดื่ม อาจเสี่ยงปนเปื้อนเชื้อโรคที่ทำให้เกิดโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารตามมาได้ ผู้บริโภคจึงควรใส่ใจในเรื่องความสะอาดปลอดภัยเป็นหลัก” เนื่องจากอุณหภูมิสูงพอเหมาะกับการเจริญเติบโตของเชื้อโรค โดยเลือกน้ำแข็ง น้ำดื่ม จากแหล่งผลิตที่ถูกสุขลักษณะได้มาตรฐาน GMP เมื่อน้ำแข็งละลายจะต้องใส ไม่มีตะกอนขาวขุ่นๆ อยู่ก้นแก้ว สถานที่เก็บรักษาเพื่อจำหน่ายต้องสะอาด ไม่มีสิ่งสกปรกใกล้ๆ วางสูงกว่าพื้นหรือทางเดินอย่างน้อย 60 เซนติเมตร ภาชนะที่ใช้บรรจุน้ำแข็งต้องสะอาด ไม่ฉีกขาด แตกร้าว สำหรับน้ำแข็งที่แบ่งบรรจุเพื่อจำหน่าย หรือร้านอาหาร แผงลอย ที่ใช้น้ำแข็ง ต้องเก็บในภาชนะที่สะอาด ไม่มีสนิม มีฝาปิด สามารถล้างทำความสะอาดได้ง่าย ไม่ควรวางอยู่บนพื้น ทางเท้า หรือใกล้ถังขยะ ตั้งสูงจากพื้นอย่างน้อย 60 เซนติเมตร ภาชนะที่ใช้ตักต้องมีด้ามจับ ไม่ใช้มือหยิบจับน้ำแข็งโดยตรง และที่สำคัญห้ามนำอาหาร หรือเครื่องดื่มมาแช่ในน้ำแข็งที่ใช้บริโภคโดยเด็ดขาด (กรมอนามัย, 2565) พ่อค้าแม่ค้าตามท้องตลาดส่วนใหญ่ที่ค้าขายทำให้บางครั้งไม่ตระหนักถึงขั้นตอนในการทำที่ถูกต้อง บางขั้นตอนก็เกิดการละเลยจึงทำให้เครื่องดื่มไม่ถูกสุขลักษณะ ไม่ว่าเรื่องการเลือกวัตถุดิบ กรรมวิธีการชง การเก็บรักษาวัตถุดิบจนไปถึงในเรื่องการล้างจัดเตรียมภาชนะอุปกรณ์ ซึ่งขั้นตอนเหล่านี้อาจมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้ ก่อให้เกิดโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร ทำให้เกิดอาการท้องเสีย ปวดท้อง อาเจียน อ่อนเพลียได้ (กรมอนามัย, 2565)

จุลินทรีย์ที่มีการปนเปื้อนในน้ำส่วนใหญ่มีชื่อเรียกว่า แบคทีเรียโคลิฟอร์ม (Coliform bacteria) โดยแบคทีเรียโคลิฟอร์ม คือ กลุ่มของแบคทีเรียในวงศ์ *Enterobacteriaceae* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) รูปร่างท่อน เจริญได้ทั้งมีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ไม่สร้างสปอร์ ไม่ทนความร้อน สามารถทำลายได้ด้วยความร้อนระดับการพาสเจอไรซ์ (pasteurization) แบคทีเรียโคลิฟอร์มสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ ฟีคอลโคลิฟอร์ม และนันฟีคอลโคลิฟอร์ม โดยฟีคอลโคลิฟอร์ม ได้แก่ *Escherichia* มักพบในลำไส้มนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น และนันฟีคอลโคลิฟอร์ม ได้แก่ *Citrobacter, Enterobacter, Serratia* และ *Klebsiella* พบอยู่ในดินและพืช ซึ่งถ้าตรวจพบในน้ำแสดงว่าน้ำนั้นไม่สะอาด มีการปนเปื้อนของเสียและเชื้อโรคที่ก่อให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหาร (กรมควบคุมมลพิษ, 2561)

จากงานวิจัยการตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์มในเครื่องดื่มสมุนไพรที่วางจำหน่ายในตลาดสด ใกล้กับมหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี โดยเก็บตัวอย่างเครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพที่จำหน่ายในตลาดสดทั้งหมด 24 ตัวอย่าง และทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มพบว่า มีการปนเปื้อนและไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของแบคทีเรียโคลิฟอร์มทั้งหมด 17 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำใบเตย 8 ตัวอย่าง (จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 8 ตัวอย่าง) คิดเป็น 100% น้ำดอกเก๊กฮวย 5 ตัวอย่าง (จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 8 ตัวอย่าง) คิดเป็น 62.5% และน้ำตะไคร้ 4 ตัวอย่าง (จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 8 ตัวอย่าง) คิดเป็น 50% สำหรับเครื่องดื่มที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของ *Escherichia coli* มีทั้งหมด 7 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำใบเตย 3 ตัวอย่าง (จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 8 ตัวอย่าง) คิดเป็น 37.5% น้ำเก๊กฮวย 2 ตัวอย่าง (จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 8 ตัวอย่าง) คิดเป็น 25% และน้ำตะไคร้ 2 ตัวอย่าง (จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 8 ตัวอย่าง) คิดเป็น 25% (สุดสายชล หอมทอง และอมรรัตน์ ชำนาญ, 2561) นอกจากนี้ ในปี 2564 มีการศึกษาถึงการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มในชาไทย จำนวน 30 ตัวอย่างในประเทศอินโดนีเซีย พบว่า ชาไทยครึ่งหนึ่งมีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (Suryani et al., 2021)

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มในเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทยังมีอยู่น้อยและยังไม่พบว่า มีการศึกษาวิจัยดังกล่าวในพื้นที่เทศบาลตำบลองครักษ์ อีกทั้งการตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์จะใช้บ่งชี้ความปลอดภัยของอาหารที่ยังมีการจัดสุขาภิบาลไม่ถูกสุขลักษณะนำไปสู่การเกิดโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลันได้ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะสำรวจการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม แบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มและ *Escherichia Coli* ในเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทเพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิชาการในการเฝ้าระวังการเกิดโรค

2. วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อตรวจหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียโคลิฟอร์ม แบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มและ *Escherichia coli* ในเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท

2.2 เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มและการปนเปื้อนแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มในเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการศึกษา การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาวิจัยเชิงสำรวจ (Survey research)

3.2 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

เครื่องดื่มไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทที่นิยมขายทั่วไปเป็นจำนวน 7 ร้าน จำนวน 35 ตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่างแบบเจาะจง จำนวน 35 ตัวอย่าง แบ่งออกเป็น 3 ประเภทเครื่องดื่ม ได้แก่ น้ำชา น้ำผลไม้ และน้ำสมุนไพรที่จำหน่ายในร้านค้าแผงลอย พื้นที่เทศบาลตำบลองครักษ์

3.3 วิธีการเก็บตัวอย่าง

สำรวจพื้นที่เก็บตัวอย่างเครื่องดื่มไม่บรรจุภาชนะบรรจุปิดสนิทในพื้นที่เทศบาลตำบลองครักษ์ จำนวน 7 ร้าน 35 ตัวอย่าง ทำการเก็บตัวอย่างเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท โดยในแต่ละตัวอย่างบรรจุอยู่ในขวดพลาสติกบรรจุปิดสนิท ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จากนั้นนำมายังห้องปฏิบัติการภายใน 30-60 นาที ใช้ความร้อนลนบริเวณฝาขวดเพื่อฆ่าเชื้อที่ติดมาจากสิ่งแวดล้อมภายนอก

3.4 วิธีการตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์มด้วยวิธี Most Probable Number (MPN) (ปริญญา ทับเที่ยง, 2565) ดังนี้

3.4.1 การทดสอบขั้นแรก (Presumptive test)

นำตัวอย่างเครื่องดื่มไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท 100 มิลลิลิตรมาเขย่า 25 ครั้ง นำเครื่องดื่มที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิลิตร มาเจือจางให้ได้ตามความเข้มข้นที่ 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} มิลลิลิตร แล้วปิเปตตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดดักแก๊ส (Durham's tube) ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ lauryl sulphate tryptose broth (LST) ความเข้มข้น 2 เท่า ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าหลอดอาหารเบาๆ จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นสังเกตความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อและแก๊สที่เกิดใน Durham's tube ถ้ามีให้อ่านเป็นผลบวก ถ้าขุ่นหรือเกิดแก๊สน้อยหรือไม่มี ให้บ่มต่อไปอีกจนครบ 48 ± 3 ชั่วโมง แล้วอ่านผลอีกครั้งหนึ่ง นับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกเพื่อนำไปทำ confirmed test ในขั้นตอนถัดไป

3.4.2 การทดสอบขั้นยืนยัน (Confirmed test) สำหรับแบคทีเรียโคลิฟอร์ม

ทำการถ่ายเชื้อจากหลอดที่ให้ผลบวกในขั้น Presumptive test หลอดละ 1 ลูป (loop) ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ 2% Brilliant Green Lactose Bile broth (BGLB) เขย่าหลอดเบาๆ จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้ามีแก๊สในหลอด Durham's tube ถือว่าให้ผลบวก ถ้าไม่มีให้บ่มต่อไปอีกจนครบ 48 ชั่วโมง แล้วอ่านผลและนับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวก และนำตัวเลขที่ได้ไปเทียบกับตาราง most probable number (MPN) จะได้ค่า MPN coliform/100 mL

3.4.3 การทดสอบขั้นสมบูรณ์ (Complete test) ของ E. coli ในการยืนยันผล

ทำการคัดเลือกหลอดที่มีแก๊สจาก BGLB broth มาเลี้ยงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth หลอดละ 2-3 loop เขย่าเบาๆ จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อที่ 44.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้ามีแก๊สในหลอด Durham's tube ถือว่าให้ผลบวก ถ้าไม่มีให้บ่มต่อไปอีกจนครบ 48 ชั่วโมงแล้วอ่านผล จากนั้นเขี่ยเชื้อจากหลอดที่ให้ผลบวกลงบนอาหาร Eosin Methylene Blue agar (EMB) บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ลักษณะเฉพาะโคโลนีของ *E. coli* มีสีเขียวสะท้อนเงาโลหะ (Metallic sheen) จากนั้นแต่ละจานเพาะเชื้อมาขีดบน nutrient agar slant เพื่อทำให้เชื้อบริสุทธิ์บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีด้วย Indole, methyl red, Voges-Proskauer, citrate (IMVIC test) ขั้นตอนต่อไป โดยคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *E.coli* โดยวิธี IMVIC test จะให้ผลคือ ++-- หรือ -+-- ตามลำดับ และนำผลบวกที่ได้ไปเทียบกับตาราง MPN

3.5 วิธีการตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางชีวเคมีของ *E. coli* (Tankeshwar, n. d.)

เมื่อได้เชื้อจากอาหาร Eosin Methylene Blue agar (EMB) ในขั้นตอนการทดสอบขั้นสมบูรณ์ (Complete test) ของ *E. coli* จากนั้นนำเชื้อมาทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี โดยวิธีการ IMViC Test ดังนี้

3.5.1 การทดสอบ Indole test

เพาะเชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อเปปโตน ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง หลังจากนั้นหยด Kovac's Reagent 5 หยด เขย่าหลอดทดลองเบาๆ 2-3 ครั้ง สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีที่ผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยการแปรผล ผลบวก คือ มีสีแดงที่ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ (Red Ring) ผลลบ คือ อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเหลืองเหมือน Kovac's Reagent

3.5.2 การทดสอบ Methyl red test

เพาะเชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRVR ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง หยด Methyl Red Test Reagent 5 หยด สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีที่ผิวอาหาร

เลี้ยงเชื้อทันทีหลังจากหยด Indicator โดยการแปรผล ผลบวก คือ อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีแดง ผลลบ คือ อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเหลือง

3.5.3 การทดสอบ Voges-Proskauer Test

เพาะเชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRVP ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง หลังจากนั้นหยด 5% Naphthol 6 หยด แล้วเขย่า หยด 40% KOH 2 หยด เขย่าให้เข้ากันดี ทิ้งไว้ 10-15 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีที่ผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยการแปรผล ผลบวก คือ อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีแดงน้ำตาล ผลลบ คือ อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเหลือง

3.5.4 การทดสอบ Citrate Utilization test

เพาะเชื้อที่ต้องการทดสอบโดยการขีดเชื้อ (Streak) บนผิว Simmon's citrate agar ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีอาหารเลี้ยงเชื้อและการเติบโตของแบคทีเรีย โดยการแปรผล ผลบวก คือ มีแบคทีเรียขึ้นและอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน ผลลบ คือ ไม่มีแบคทีเรียขึ้นและอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เปลี่ยนสี (สีเขียว)

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ใช้สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive Statistic) ได้แก่ ร้อยละและการวิเคราะห์ถึงความสัมพันธ์ระหว่างการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มและการปนเปื้อนแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มในเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท โดยใช้สถิติ Phi Correlation Coefficient

4. ผลการวิจัย

จากการเก็บตัวอย่างเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท จากร้านแผงลอย ในพื้นที่เทศบาลตำบล องครักษ์ จำนวน 7 ร้าน ทั้งหมด 35 ตัวอย่าง นำมาตรวจหาปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม แบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์ม และการปนเปื้อน *E. coli* ด้วยเทคนิค MPN จากผลการทดลองพบว่า ตัวอย่างมีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ปริมาณ <2.2 MPN/100 มิลลิลิตร จำนวน 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 20.0 ตัวอย่างมีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ปริมาณ >2.2 MPN/100 มิลลิลิตร จำนวน 28 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 80.0

ตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์ม ปริมาณ <2.2 MPN/100 มิลลิลิตร จำนวน 12 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 34.3 ตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์ม ปริมาณ >2.2 MPN/100 มิลลิลิตร จำนวน 23 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 65.7

ตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* มีจำนวน 19 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 54.3 และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* มีจำนวน 16 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 45.7

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า มีปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 28 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 80.0 และผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 20.0 โดยใช้เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท คือ ต้องพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มและฟีคัลโคลิฟอร์มน้อยกว่า 2.2 MPN/100 มิลลิลิตร และต้องไม่พบ *E. coli* ในตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนและร้อยละของเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทที่พบว่ามีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ฟีคัลโคลิฟอร์ม และ *E. coli*

จำนวนตัวอย่าง	แบคทีเรียโคลิฟอร์ม (MPN/100 มล.) จำนวน (%)		แบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์ม (MPN/100 มล.) จำนวน (%)		*E. coli* จำนวน (%)		*เกณฑ์มาตรฐาน จำนวน (%)	
	<2.2	>2.2	<2.2	>2.2	พบ	ไม่พบ	ผ่านเกณฑ์	ไม่ผ่านเกณฑ์
35	7 (20.0)	28 (80.0)	12 (34.3)	23 (65.7)	19 (54.3)	16 (45.7)	7 (20.0)	28 (80.0)

***ที่มา:** ประกาศของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กำหนดเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท คือ ต้องพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มและฟีคัลโคลิฟอร์ม น้อยกว่า 2.2 MPN/100 มิลลิลิตร และต้องไม่พบ *E. coli* ในตัวอย่าง (กระทรวงสาธารณสุข, 2560)

จากการแยกประเภทชนิดของเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทพบว่า ตัวอย่างน้ำชามีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มและฟีคัลโคลิฟอร์ม ปริมาณ <2.2 MPN/100 มิลลิลิตร จำนวน 5 และ 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 38.5 และ 30.5 ตามลำดับ มีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มและฟีคัลโคลิฟอร์ม ปริมาณ >2.2 MPN/100 มิลลิลิตร จำนวน 8 และ 9 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 61.5 และ 69.2 ตามลำดับ ตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* มีจำนวน 5 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 38.5 และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* มีจำนวน 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 61.5 และตัวอย่างน้ำชามีปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 61.5 และผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 5 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 38.5

ตัวอย่างน้ำสมุนไพร มีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มและฟีคัลโคลิฟอร์ม ปริมาณ <2.2 MPN/100 มิลลิลิตร จำนวน 2 และ 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 15.4 และ 53.8 ตามลำดับ มีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มและฟีคัลโคลิฟอร์ม ปริมาณ >2.2 MPN/100 มิลลิลิตร จำนวน 11 และ 6 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 84.6 และ 46.2 ตามลำดับ ตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* มีจำนวน 11 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 84.6 และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* มีจำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 15.4 และตัวอย่างน้ำสมุนไพรมีปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 11 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 84.6 และผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 15.4

ตัวอย่างน้ำผลไม้ มีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มและฟีคัลโคลิฟอร์ม ปริมาณ <2.2 MPN/100 มิลลิลิตร จำนวน 0 และ 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 0.0 และ 11.1 ตามลำดับ มีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มและฟีคัลโคลิฟอร์ม ปริมาณ >2.2 MPN/100 มิลลิลิตร จำนวน 9 และ 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 100.0 และ 88.9 ตามลำดับ ตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* มีจำนวน 3 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 33.3 และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* มีจำนวน 6 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 66.7 และตัวอย่างน้ำผลไม้มีปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 9 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 100.0 และผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 0 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 0.0 ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 จำนวนและร้อยละของเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทแยกตามประเภทที่พบว่ามีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ฟีคัลโคลิฟอร์ม และ *E. coli*

ตัวอย่าง (N)	แบคทีเรียโคลิฟอร์ม (MPN/100 มล.) จำนวน (%)		แบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์ม (MPN/100 มล.) จำนวน (%)		*E. coli* จำนวน (%)		*เกณฑ์มาตรฐาน จำนวน (%)	
	<2.2	>2.2	<2.2	>2.2	พบ	ไม่พบ	ผ่านเกณฑ์	ไม่ผ่านเกณฑ์
น้ำชา (13)	5 (38.5)	8 (61.5)	4 (30.8)	9 (69.2)	5 (38.5)	8 (61.5)	5 (38.5)	8 (61.5)
น้ำสมุนไพร (13)	2 (15.4)	11 (84.6)	7 (53.8)	6 (46.2)	11 (84.6)	2 (15.4)	2 (15.4)	11 (84.6)
น้ำผลไม้ (9)	0 (0.0)	9 (100)	1 (11.1)	8 (88.9)	3 (33.3)	6 (66.7)	0 (0.0)	9 (100)

จากการหาความสัมพันธ์ระหว่างการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มและการปนเปื้อนแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มในเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท พบว่า ตัวอย่างเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท 35 ตัวอย่าง มีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ร้อยละ 80.0 ไม่พบการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ร้อยละ 20.0 ส่วนใหญ่ตัวอย่างเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทที่มีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มจะพบการปนเปื้อนแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์ม ร้อยละ 82.1 และตัวอย่างเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทที่ไม่มีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มและไม่มีการปนเปื้อนแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์ม ร้อยละ 100.0 พบว่าการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มมีความสัมพันธ์กับการปนเปื้อนแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value<0.05) ในทางบวกระดับปานกลาง ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ฟาย (Phi Correlation Coefficient) เท่ากับ 0.69 ดังนั้นเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทที่มีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มจะมีการปนเปื้อนแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มมากกว่าเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทที่ไม่พบการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การหาความสัมพันธ์ระหว่างการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มและการปนเปื้อนแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มในเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท

การปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม	การปนเปื้อนเชื้อฟีคัลแบคทีเรียโคลิฟอร์ม		รวม	Ø	P-value
	พบ (ร้อยละ)	ไม่พบ (ร้อยละ)			
พบ	23 (82.1)	5 (17.9)	28 (80.0)	0.69	<0.001*
ไม่พบ	0 (0.0)	7 (100.0)	7 (20.0)		

Statistical analysis: Phi Correlation Coefficient

*มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$

5. อภิปรายผล

จากการวิเคราะห์ผลการตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มในเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท โดยเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท ยกตัวอย่าง เช่น ชาต่างๆ น้ำสมุนไพร น้ำผลไม้ ซึ่งเป็นเครื่องดื่มที่ใช้ในการตัก การเท การกด โดยมีการบรรจุอยู่ในรูปแบบของภาชนะที่ไม่ปิดสนิท เช่น ขวดโหลแก้ว เหยือกใส่น้ำ ถัง ถุง เป็นต้น ที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานอยู่ในช่วง >2.2 MPN/100 มิลลิลิตร สอดคล้องกับงานของ Suryani et al. (2021) มีการศึกษาถึงการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มในชาไทย จำนวน 30 ตัวอย่างในประเทศอินโดนีเซีย พบว่า ชาไทยครึ่งหนึ่งมีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ลักษณะของการประกอบเครื่องดื่มจากร้านค้าเป็นการชง สาเหตุการปนเปื้อนมีสาเหตุมาจากน้ำที่ใช้ในการชงมีอุณหภูมิไม่สูงพอหรือต่ำกว่าอุณหภูมิพาสเจอไรซ์ รวมทั้งภาชนะที่สัมผัสอาหาร เช่น แก้วชง ช้อนคน ที่มีการใช้ซ้ำก่อให้เกิดการปนเปื้อนได้ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าเครื่องดื่มชาและเครื่องดื่มสมุนไพรที่มีส่วนผสมของมะนาว ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของเครื่องดื่ม ตรวจพบปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม <2.2 MPN/100 มิลลิลิตร และฟีคัลโคลิฟอร์ม <2.2 MPN/100 มิลลิลิตร จากรายงานวิจัยของณัฐพงศ์ การถึง และคณะ (2558) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมะนาวในการลดปริมาณ *E. coli* และแบคทีเรียโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนในผักกาดหอม โดยรายงานดังกล่าวพบว่าการล้างผักด้วยการแช่ในน้ำมะนาวทุกความเข้มข้นประมาณ 30 นาที ล้วนมีประสิทธิภาพในการลดจำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์มมากกว่าการใช้น้ำประปาในการล้างผัก น้ำมะนาวที่มีความเข้มข้นสูงมีประสิทธิภาพในการลดจำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์มมากกว่าน้ำมะนาวที่มีความเข้มข้นต่ำ จากข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าน้ำมะนาวในเครื่องดื่มมีส่วนช่วยให้ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มลดลงได้

นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ผลการตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มในเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิท ตัวอย่างน้ำผลไม้ เช่น น้ำอ้อย พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม 110 MPN/100 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นปริมาณที่เกินเกณฑ์มาตรฐานความปลอดภัยของอาหารและเครื่องดื่ม สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของสุดสายชล หอมทอง และพิมพร มนตรี (2562) ที่ตรวจพบการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มในน้ำอ้อยสด ทั้งหมด 20 ตัวอย่าง โดยพบการปนเปื้อนปริมาณมากกว่า 23 MPN/100 มิลลิลิตร เมื่อนำผลการตรวจหาปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มและ *E. coli* มาเปรียบเทียบกับเกณฑ์มาตรฐานทางจุลชีววิทยาของเครื่องดื่มผลิตภัณฑ์ชุมชนของน้ำอ้อย ระบุว่าจะต้องตรวจพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มน้อยกว่า 2.2 MPN/100 มิลลิลิตร ต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร โดยวิธี MPN จากผลการทดลองพบว่าเครื่องดื่มน้ำอ้อย ทั้งหมด 20 ตัวอย่างไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานทางจุลชีววิทยาของเครื่องดื่มผลิตภัณฑ์ชุมชนตามประกาศที่ได้ระบุไว้ เนื่องจากการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะของผู้ผลิตและผู้ขายไม่มีความรู้ด้านสุขอนามัยที่ถูกต้อง และมักจะเกิดขึ้นได้จากวัตถุดิบที่นำมาผลิตและกระบวนการผลิตน้ำอ้อยคั้นที่ไม่ถูกสุขลักษณะ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Khan et al. (2015) ได้ศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของเครื่องดื่มประเภทน้ำผลไม้ ได้แก่ น้ำอ้อย น้ำมะละกอ ที่จำหน่ายโดยรอบมหาวิทยาลัย Dhaka ประเทศบังคลาเทศ โดยตรวจพบการปนเปื้อนในระดับสูงของแบคทีเรีย *E. coli* และแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ปัจจัยที่ก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนเชื้อโรค ประกอบด้วยการใช้น้ำดื่มสำหรับผสมและน้ำแข็งที่ไม่ถูกสุขลักษณะเช่นเดียวกับงานวิจัยของอนุสรณ์ เป่าสูงเนิน และคณะ (2560) พบว่าน้ำแข็งสำหรับบริโภคจากร้านค้าขายปลีกและร้านขายเครื่องดื่มบางร้าน บริเวณด้านหน้ามหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา มีการปนเปื้อนเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย หรือแม้กระทั่งการเก็บวัตถุดิบ เช่น ชิ้นผลไม้ต่างๆ ภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิก่อให้เกิดการปนเปื้อน นอกจากนี้สิ่งแวดล้อมโดยรอบไม่ถูกต้องตามหลักสุขาภิบาล หรือแม้กระทั่งการมีสัตว์พาหะ เช่น แมลงวันที่มาตอมผลไม้ หรือฝุ่นละอองที่มีเชื้อก่อโรคปนเปื้อนอยู่

นอกจากนี้พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียโคลิฟอร์มในน้ำสมุนไพร ได้แก่ น้ำดอกคำฝอย น้ำตะไคร้ใบเตย น้ำชาใบเตย น้ำอัญชันมะนาว น้ำกระเจี๊ยบ น้ำเก๊กฮวย น้ำรากบัว น้ำมะตูม ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มอยู่ในช่วง >2.2 MPN/100 มิลลิลิตร สอดคล้องกับรายงานวิจัยของสุดสายชล หอมทอง และอมรรัตน์ ชำนาญ (2561) ที่มีการตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์มในเครื่องดื่มสมุนไพรที่วางจำหน่ายในตลาดสดใกล้กับมหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี จากตัวอย่างที่เก็บเครื่องดื่มสมุนไพร 24 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำเก๊กฮวย น้ำใบเตยและน้ำตะไคร้ เครื่องดื่มละ 8 ตัวอย่าง พบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรที่มีค่าปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 17 ตัวอย่าง และจากการวิเคราะห์เครื่องดื่มชนิดเก๊กฮวย พบว่า มีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มและตรวจพบ *E. coli* โดยสาเหตุที่แบคทีเรียโคลิฟอร์มมักจะปนเปื้อนในน้ำสมุนไพร เนื่องจากสิ่งแวดล้อม วัตถุดิบ อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการผลิต กรรมวิธีและรวมถึงตัวผู้ผลิตเอง โดยปกติแล้วจุลินทรีย์มีอยู่ทั่วไปตามสิ่งแวดล้อม ถ้ามีการล้างสมุนไพรที่ใช้เป็นวัตถุดิบด้วยน้ำไม่สะอาด หรือการวางสมุนไพรทิ้งไว้ในที่โล่งมีฝุ่นละอองจะทำให้ปนเปื้อนได้ กรรมวิธีในการผลิตที่จะกำจัดหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มีความสำคัญมาก หากกรรมวิธีที่ไม่ถูกต้องก็จะทำให้เกิดความเสี่ยงต่อผู้บริโภคที่ดื่มน้ำสมุนไพรได้

การทดลองครั้งนี้ยังแสดงให้เห็นได้ว่า เครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทพบการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ร้อยละ 80 ส่วนใหญ่ตัวอย่างเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทที่มีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มจะพบการปนเปื้อนแบคทีเรียฟีคัลแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ร้อยละ 82.1 และตัวอย่างเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทที่ไม่มีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มและไม่มีการปนเปื้อนแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์ม ร้อยละ 100 พบว่าการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มมีความสัมพันธ์กับการปนเปื้อนแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value}<0.05$) สอดคล้องกับรายงานของทิฆัมพร กรรเจียก และคณะ (2561) ซึ่งพบเช่นเดียวกันว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโคลิฟอร์มทั้งหมด และปริมาณฟีคัลโคลิฟอร์ม มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ ($r=0.506$, $p\text{-value} < 0.01$) ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มเป็นแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่มแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ดังนั้นถ้าตรวจพบการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มสูงก็จะพบการปนเปื้อนแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มสูงไปด้วย

การตรวจพบปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มและการตรวจพบ *E. coli* ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข แสดงให้เห็นว่าเครื่องดื่มดังกล่าวมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่สูงมากกว่าเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งเกิดจากผู้ผลิตไม่ว่าในเรื่องความสะอาดของสถานที่ผลิต การทำความสะอาดวัตถุดิบ การบรรจุในภาชนะที่ไม่สะอาด การควบคุมอุณภูมิในการเก็บรักษาที่ไม่ถูกต้องและการปรุงเครื่องดื่มที่ไม่เหมาะสม (จรวยพร สมทรัพย์ และคณะ, 2565) สอดคล้องกับงานวิจัยของขนิษฐา สมตระกูล และคณะ (2561) ซึ่งศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของเครื่องดื่มนมสดปั่นที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิท จัดจำหน่ายในร้านค้า ตลาดนัด ร้านค้าริมถนนและแผงลอยโดยรอบมหาวิทยาลัยมหาสารคาม โดยพบว่าในทุกร้านไม่มีอุปกรณ์ในการป้องกันสัตว์และแมลงที่เป็นสัตวพาหะ และผู้สัมผัสอาหารไม่ปฏิบัติตามสุขลักษณะ ได้แก่ การสวมหมวกคลุมผม การสวมถุงมือ การใส่หน้ากากอนามัยและการล้างมือ และพบว่าการพบการปนเปื้อนจุลินทรีย์มีความสัมพันธ์กับสุขลักษณะของร้านค้าและผู้สัมผัสอาหาร ถึงแม้ว่าผู้สัมผัสอาหารจะล้างมือทุกครั้งแต่ก็ยังพบการปนเปื้อน ซึ่งอาจเกิดจากการล้างมือที่ไม่ถูกวิธีหรือน้ำล้างมือที่ไม่ถูกสุขลักษณะ อีกทั้งการใช้ผ้าเช็ดมือที่ไม่สะอาดและก่อให้เกิดการปนเปื้อนข้ามได้ โดยจากสาเหตุนี้ทำให้ผู้บริโภคมีความเสี่ยงในการดื่มเครื่องดื่มที่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่สูง หากดื่มในปริมาณมากอาจจะส่งผลต่อการเป็นโรคทางระบบอาหาร

จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเครื่องดื่มที่ไม่บรรจุภาชนะปิดสนิทที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในปริมาณที่สูงเกินกว่าเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งถ้าหากมีการบริโภคเข้าไปอาจทำให้เกิดโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารได้ ดังนั้นจึงต้องมีขั้นตอนในการปฏิบัติด้านสุขลักษณะและสุขอนามัยที่ดีและถูกต้อง เช่น ผู้ที่สัมผัสอาหารควรมีการสวมถุงมือ การใส่หน้ากากอนามัย และการล้างมือ และร้านค้าต่างๆ ควรมีอุปกรณ์ในการป้องกันสัตว์และแมลงพาหะ

เป็นต้น เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค และผู้บริโภคควรตระหนักถึงการเลือกซื้อเครื่องดื่มที่ถูกสุขอนามัย และตระหนักในเรื่องของความสะอาด

6. ข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาเป็นแนวทางในการแก้ไข การป้องกัน การจัดการด้านสุขลักษณะและด้านสุขอนามัยของร้านค้าที่จำหน่ายเครื่องดื่ม และในการศึกษาวิจัยครั้งต่อไปควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการปนเปื้อนแบคทีเรียที่ก่อโรคอาหารเป็นพิษ เช่น การศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับเชื้อ *Staphylococcus aureus, Salmonella, Shigella* และศึกษาความสัมพันธ์ทางสุขลักษณะของร้านค้าและผู้สัมผัสอาหารเพิ่มเติม

7. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากคณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประจำปี 2566 สัญญาทุนเลขที่ 229/2566

8. เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ, สำนักจัดการคุณภาพน้ำ. (2561, 16 มกราคม). *ดัชนีคุณภาพน้ำ “โคลิฟอร์มแบคทีเรีย”*. https://www.facebook.com/photo/?fbid=1579192825497432&set=a.174461189303943&locale=th_TH.

กรมอนามัย. (2565, 14 มีนาคม). *กรมอนามัย ย้ำ หน้าร้อน ระวัง 'น้ำแข็ง - น้ำดื่ม' ต้องสะอาด ลดเสี่ยงปนเปื้อนเชื้อโรค*. สื่อมัลติมีเดียกรมอนามัย, https://multimedia.anamai.moph.go.th/news/140365/.

กระทรวงสาธารณสุข, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร. (2560). *เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2560)*. พีทู ดีไซน์แอนด์พริ้นท์.

ขนิษฐา สมตระกูล, ชุติมา ภูบรรทัด, สันติชัย แสงสุริยะ, อุไรวรรณ ไกยะวัตร และสุจิรา มณีรัตน์. (2561). คุณภาพทางจุลชีววิทยาของเครื่องดื่มนมสดปั่นที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิทซึ่งจัดจำหน่ายในร้านค้าในตลาดนัด ร้านค้าริมถนนและแผงลอยโดยรอบมหาวิทยาลัยมหาสารคาม. *วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร, 12*(1), 14-26.

จรวยพร สมทรัพย์, ธัญชนก เหลือลมัย, ฤดีวลิดล จงผล และดลลชา ชาลวันกุมภีร์. (7-8 กรกฎาคม, 2567). *การตรวจหาแบคทีเรีย โคลิฟอร์มและเอสเชอริเชีย โคไล ในเครื่องดื่มที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิทซึ่งจำหน่ายโดยรอบมหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี จังหวัดกาญจนบุรี* [Paper]. การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 14 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม, สถาบันและพัฒนามหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม.

ณัฐพงศ์ การถึง, สร้อยสุวรรณ อั้นทอง และอรุณศรี ว่องปฏิการ. (2558). การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมะนาวในการลดปริมาณ *Escherichia coli* และโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในผักกาดหอมเพื่อพัฒนาเป็นน้ำยาล้างผัก. *วารสารสาธารณสุขศาสตร์, 45*(3), 334-342.

ทิฆัมพร กรรเจียก, พัฒนา ภูลเปี่ยม, ฉลวย มุสิกะ, วันชัย วงสุดาวรรณ และอาวุธ หมั่นหาผล. (2561). การปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และฟีคอลโคลิฟอร์มในแหล่งเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำบริเวณอ่าวชลบุรี ถึงอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี. *วารสารแก่นเกษตร, 46*(ฉบับพิเศษ), 992-997.

ปริญญา ทับเที่ยง. (2565, กันยายน). *คู่มือปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจวิเคราะห์ Coliform bacteria และ Escherichia coli ในอาหาร.* คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา, https://sci.skru.ac.th/th/file/gam/toolsci/file_04.pdf.

สุดสายชล หอมทอง และพิมพร มนตรี. (2561). การตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์มในเครื่องดื่มสมุนไพรที่วางจำหน่ายในตลาดสด ใกล้กับมหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สทวท.), 5*(2), 11-21.

สุดสายชล หอมทอง และพิมพร มนตรี. (2562). การตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์มและ *Escherichia coli* ในตัวอย่างน้ำอ้อยสดบริเวณอำเภอเมืองชลบุรี จังหวัดชลบุรี. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สทวท.), 6*(2), 43-50.

อนุสรณ์ เป๋าสูงเนิน, สาริการ์ ลาจำนงค์, สุชาวดี ฉิมกูล, สุวนันท์ ก้องเมือง และวัลลภ ภิญโยวงษ์. (2560). การปนเปื้อนเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียในน้ำแข็งและสภาพสุขาภิบาลร้านค้าขายปลีก ร้านขายเครื่องดื่มบริเวณด้านหน้ามหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา. *วารสารวิชาการซายน์เทค มรภ.ภูเก็ต, 1*(1), 10-18.

Khan, M. M., Islam, M. T., Chowdhury, M. M. H., & Alim, S. R. (2015). Assessment of microbiological quality of some drinks sold in the streets of Dhaka University Campus in Bangladesh. *International Journal of Food Contamination, 2*, 1-5. https://doi.org/10.1186/s40550-015-0010-6

Suryani, D., Sunarti, D., Safitri, Safitri, R. A., Khofifah , H., & Suyitno. (2021). Identification of Coliform bacteria content in Thai Tea drinks and its correlation with hygiene factors in Yogyakarta, Indonesia. *Public Health of Indonesia, 7*(1), 41-47. https://doi.org/10.36685/phi.v7i1.388

Tankeshwar, A. (n.d.). *IMViC Tests Principal Procedure*. Microbe Online, https://microbeonline.com/imvic-tests-principle-procedure-and-results/.