

การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผักสด

ปรีชา จิงสมานกุล นวรัตน์ รัตนดิกล ญ ภูเก็ต และกมลวรรณ กันแต่ง

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ เนื่องจากมีรายงานการเกิดโรคอาหารเป็นพิษจากการบริโภคผักสด และการแจ้งเตือนจากประเทศผู้นำเข้าว่า มีการตรวจพบจุลินทรีย์ปนเปื้อนในสินค้าพืชผักและผลไม้ส่งออกของประเทศไทย สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร จึงตรวจวิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนกลุ่มที่ใช้บ่งชี้สู่ลักษณะการผลิตและกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคในผักสดที่จำหน่ายในตลาดสด 8 แห่งและซูเปอร์มาร์เก็ต 4 แห่งในเขตกรุงเทพมหานครและนนทบุรีจำนวน 97 ตัวอย่างในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงกันยายน 2551 พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้บ่งชี้สู่ลักษณะการผลิตชนิด coliforms มีปริมาณ MPN ต่อกรัมมากกว่า 1,100 และชนิด *Escherichia coli* มีปริมาณ MPN ต่อกรัมเท่ากับหรือมากกว่า 10 จำนวน 88 ตัวอย่าง (90.7%) และ 44 ตัวอย่าง (45.4%) ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคและ *Listeria spp.* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสัมพันธ์กับ *L. monocytogenes* ตรวจพบ *Salmonella spp.* 16 ตัวอย่าง (16.5%) *Vibrio cholerae* non O1/non O139 จำนวน 14 ตัวอย่าง (14.4%) *L. monocytogenes* 2 ตัวอย่าง (2.1%) และ *Listeria spp.* 47 ตัวอย่าง (48.4%) ส่วน *Shigella spp.*, *Staphylococcus aureus* และ *Vibrio parahaemolyticus* ตรวจไม่พบในผักสดทุกตัวอย่าง เมื่อนำผักสดจากตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ตมาหาความสัมพันธ์ทางสถิติของการตรวจพบหรือไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าผักสดจากซูเปอร์มาร์เก็ตมี *E. coli*, *Listeria spp.* และเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคน้อยกว่าผักสดจากตลาดสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สอดคล้องกับการประเมินด้านสุขลักษณะของซูเปอร์มาร์เก็ตที่มีการจัดการที่ดีกว่าตลาดสด จากการศึกษานี้ทำให้ทราบว่า การจัดการด้านสุขลักษณะสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์และได้ข้อมูลการปนเปื้อนทางวิชาการใช้ในการกำหนดเกณฑ์มาตรฐานทางจุลชีววิทยาของผักสดในประเทศ เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคและแก้ไขปัญหาการส่งออกสินค้าพืชไทยไปต่างประเทศ

บทนำ

ผักเป็นอาหารที่มีคุณค่าและประโยชน์ เพราะนอกจากมีวิตามินและเกลือแร่ต่างๆที่มีประโยชน์ต่อร่างกายแล้ว ยังมีเส้นใยจำนวนมากซึ่งช่วยป้องกันโรคท้องผูกและลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ จึงมีการรณรงค์ให้บริโภคผักสดในอาหารทุกมื้อ ในประเทศไทยมีการปลูกผักนานาชนิด หลายชนิดนิยมทำให้อ่อนก่อนนำมารับประทาน เช่น ผักลวก ต้ม หรือทอด กระบวนการทำให้อ่อนทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนตายหรือลดลง โอกาสการเกิดโรคจึงน้อยลงด้วย แต่มีผักสดหรือผักดิบอีกหลายชนิดที่นิยมนำมาทำสลัดหรือนำมาบริโภคโดยตรง หรือทำเป็นเครื่องเคียงรับประทานร่วมกับอาหารพื้นเมือง

อื่นๆ เช่น ผักกาดหอม กะหล่ำปลี ใบโหระพา ใบสะระแหน่ ซึ่งรับประทานร่วมกับส้มตำ ลาบ น้ำตก และยำชนิดต่างๆ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการนำผักสดตกแต่งบนจานอาหารหรือโรยบนตัวอาหาร เช่น ผักชี ต้นหอม แดงกวา มะเขือเทศ ทำให้อาหารดูน่ารับประทานมากยิ่งขึ้น ซึ่งจากธรรมชาติของผักสดมักมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ค่อนข้างสูง และอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค^(1, 2) การนำผักสดมารับประทานแบบดิบๆ หรือใช้ตกแต่งบนจานอาหาร ถ้ากระบวนการผลิตผักไม่ดี เช่น ล้างไม่สะอาดหรือน้ำที่ใช้ล้างไม่สะอาด จะมีเชื้อจุลินทรีย์หลงเหลือหรือปนเปื้อนเป็น

จำนวนมาก และถ้าเชื้อจุลินทรีย์ที่หลงเหลือหรือปนเปื้อนเป็นเชื้อก่อโรค อาจทำให้ผู้บริโภคเกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ มีรายงานหลายครั้งเกี่ยวกับการเกิดโรคอาหารเป็นพิษจากการรับประทานผักสด^(3, 4) และการตรวจพบจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิดในผักสดของประเทศไทย^(5, 6) นอกจากนั้นสำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติระบุว่าสินค้าพืชไทย เช่น ผักสวนครัวที่ส่งออกไปสหภาพยุโรปซึ่งเป็นตลาดนำเข้ารายใหญ่ตรวจพบจุลินทรีย์ปนเปื้อนอย่างต่อเนื่องบ่อยครั้ง โดยเฉพาะ *Salmonella* spp. และ *E. coli* หากไม่เร่งแก้ไขปัญหาดังกล่าวจะส่งผลกระทบต่อ การส่งออกสินค้าพืชไทยในระยะยาว เนื่องจากผู้นำเข้ามีมาตรฐานการตรวจสอบและควบคุมการนำเข้าเข้มงวดมากขึ้น อาจเป็นสาเหตุให้การส่งออกชะงักงันและหยุดชะงัก⁽⁷⁾

ผักสดที่จำหน่ายมีทั้งวางขายในตลาดสด ซูเปอร์มาร์เก็ต ตลาดนัด ร้านขายปลีก เป็นต้น ซึ่งผักจากซูเปอร์มาร์เก็ตจะมีการจัดการด้านสุขลักษณะที่ดีและมีราคาสูงกว่าผักที่ขายทั่วไป ในขณะที่ผักที่วางขายในตลาดสดและตลาดนัดไม่มีการจัดการด้านสุขลักษณะที่ดี แต่ผักจะสดและราคาถูกกว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่จึงนิยมซื้อผักจากตลาดสด ดังนั้นการสำรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผักสดทั้งจากตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ตในกรุงเทพมหานครและนนทบุรีจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อแสดงว่า การจัดการด้านสุขลักษณะที่ดีสามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์⁽⁸⁾ และทำให้ได้ข้อมูลทางวิชาการในการเฝ้าระวังการเกิดโรคอาหารเป็นพิษเนื่องจากผักสด นอกจากนี้ยังใช้ในการกำหนดเกณฑ์มาตรฐานทางจุลชีววิทยาของผักสดในประเทศเป็นการสนับสนุนการส่งออกพืชไทย

วัสดุและวิธีการ

เชื้อมาตรฐาน

เชื้อมาตรฐานใช้สำหรับการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ในงานวิจัย เป็นเชื้อจุลินทรีย์จากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จำนวน 14 สายพันธุ์ ได้แก่ *E. coli* DMST 24373 (E 67), *E. coli* DMST 4212 (ATCC 25922), *Salmonella* Typhimurium DMST 562 (ATCC 13311), *Shigella boydii* DMST 7776, *Shigella dysenteriae* DMST 15111, *Shigella flexneri* DMST 4423, *Shigella sonnei* DMST 561 (ATCC 11060), *S. aureus* DMST 8840 (ATCC 25923), *V. cholerae* non O1/non O139 DMST 2873, *V. parahaemolyticus* DMST 5665, *L. monocytogenes* DMST 17303, *L. innocua* DMST 9011, *L. ivanovii* DMST 9012, *Rodococcus equi* DMST 17256

อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ดังนี้

1. coliforms และ *Escherichia coli* : 2% brilliant green lactose bile broth, EC broth, Koser's citrate broth, lauryl sulphate tryptose broth, levine eosin methylene blue agar, methyl red-voges proskauer (MRVP) medium, plate count agar, tryptone broth, violet red bile agar

2. *Salmonella* spp.: Buffered peptone water, Hektoen enteric (HE) agar, Lysine indole motility medium or motility indole lysine medium (MIL), Muller-Kauffmann tetrathionate-

novobiocin broth (MKTn broth), Rappaport-Vassiliadis medium with soya (RVS broth), Triple sugar iron agar (TSI), Urea agar, Xylose lysine desoxycholate (XLD) agar

3. *Shigella* spp.: HE, McConkey agar, MIL, Shigella broth + novobiocin 0.5 µg/ml. (Sb), TSI, XLD

4. *Staphylococcus aureus*: brain heart infusion broth, Baird-Parker medium, coagulase plasma

5. *Vibrio cholerae* และ *V. parahaemolyticus*: alkaline saline peptone water, chromvibrio agar, MIL, thiosulfate citrate bile sucrose agar (TCBS), saline TSI

6. *Listeria* spp. และ *L. monocytogenes*: agar *Listeria* according to Ottaviani and Agosti (ALOA), frazer broth, half frazer broth, motility medium, oxford agar, trypticase soy broth with 0.6% yeast extract, blood agar, น้ำตาล (mannitol, rhamnose)

น้ำยาและสารเคมี

Butterfield's phosphate-buffered dilution water, Gram's stain reagent, 3% hydrogen peroxide solution, iodine-iodide solution, Kovacs' reagent, methyl red solution, saline peptone water (0%, 2%, 6%, 8% และ 10%), VP reagent, *Salmonella* polyvalent O antisera, *Salmonella* individual O antisera groups, sodium chloride 0.85% aqueous solution, polyvalent *V. cholerae* O1 และ O139, *V. cholerae* Inaba และ Ogawa antiserum

เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์

Autoclave, anaerobic incubator ($35 \pm 1^{\circ}\text{C}$), balance (sensitivity 0.1 กรัม), glass bottle with screw cap, glass spreading rod, glass slide, incubator ($35 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$), loop, needle, pH-meter, petri dishes, pipette (1, 5 และ 10 มิลลิลิตร), stomacher, stomacher bag, test tube, vortex mixer, water bath (41.5 ± 1 , 44.5 ± 0.2 , 45.5 ± 0.2 และ $47 \pm 2^{\circ}\text{C}$)

ตัวอย่างทดสอบ

ผักสดต่างๆ ได้แก่ ผักกาดหอม ผักกาดแก้ว ผักชี ต้นหอม ขึ้นฉ่าย ใบกะเพรา สารแหน่ โหระพา กะหล่ำปลี มะเขือเทศ แตงกวา และอื่นๆ จากตลาดสด 8 แห่ง 58 ตัวอย่าง และจากซูเปอร์มาร์เก็ต 4 แห่ง 39 ตัวอย่างในเขตกรุงเทพมหานคร และนนทบุรี รวมทั้งหมด 97 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์ระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงกันยายน พ.ศ. 2551 โดยขณะซื้อตัวอย่างมีการสังเกตและสอบถามรายละเอียดเกี่ยวกับการจัดการด้านสุขลักษณะด้วย

การทดสอบ

ผักสดแต่ละชนิดตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ 2 กลุ่ม กลุ่มแรกตรวจปริมาณ (Enumeration) ของเชื้อที่ใช้บ่งชี้สุขลักษณะการผลิต ได้แก่ coliforms และ *Escherichia coli* กลุ่มที่ 2 ตรวจคุณภาพว่าพบ/ไม่พบ (Detection) จุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes* และ *Listeria* spp. การตรวจวิเคราะห์ใช้วิธีต่างๆ ดังนี้

1. *coliforms* และ *Escherichia coli* ใช้วิธี
FDA BAM {Bacteriological Analytical Manual,
2002 (Chapter 4)}^(9,10)

2. *Salmonella* spp. ใช้วิธี ISO 6579:
2002⁽¹¹⁾

3. *Shigella* spp. ใช้วิธี ISO 21567:
2004⁽¹²⁾

4. *Staphylococcus aureus* ใช้วิธี FDA BAM
(Chapter 12)^(10, 13)

5. *Vibrio cholerae* และ *V. parahaemo-
lyticus* ใช้วิธี ISO/TS 21872-1: 2007⁽¹⁴⁾

6. *Listeria* spp. และ *L. monocytogenes*
ใช้วิธี ISO 11290-1: 1996/Amd. 1 : 2004(E)⁽¹⁵⁾

เกณฑ์ที่ใช้ตัดสิน การประเมินผลการตรวจ
วิเคราะห์ใช้เกณฑ์ต่างๆ ดังนี้

1. เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร
และภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์
การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ประเภทอาหาร
พร้อมบริโภค⁽¹⁶⁾ ซึ่งมีค่ากำหนดดังนี้

MPN coliforms/กรัม น้อยกว่า 500
(จากข้อ 2.2.3 ของประกาศฯ)

MPN *E. coli*/กรัม น้อยกว่า 10
(จากข้อ 2.1.1 ของประกาศฯ)

Salmonella spp./25 กรัม ไม่พบ
(จากข้อ 2.1.1 ของประกาศฯ)

Staphylococcus aureus/กรัม น้อยกว่า 100
(จากข้อ 2.2.3 ของประกาศฯ)

2. ประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่อง
มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค⁽¹⁷⁾
ซึ่งกำหนดว่าต้องไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค เช่น
Salmonella spp., *Shigella* spp., *Vibrio cholerae*,
V. parahaemolyticus และ *L. monocytogenes*
เป็นต้น

3. Codex Alimentarius. CAG/GC
61-2007⁽¹⁸⁾ กำหนดว่า อาหารพร้อมบริโภคที่
เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ต้องไม่พบ *L. mono-
cytogenes* และควรกำหนดให้ไม่พบ *Listeria* spp.
เพื่อการเฝ้าระวังอย่างมีประสิทธิภาพ

การคำนวณ หาค่าความสัมพันธ์ (ความแตกต่าง)
ทางสถิติระหว่างแหล่งที่มาของผัก (ตลาดสดและ
ซูเปอร์มาร์เก็ต) กับการตรวจพบหรือไม่พบเชื้อ
โดยใช้ไคสแควร์ (χ^2 -test) สำหรับข้อมูลตาราง
ขนาด 2×2 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ดังนี้⁽¹⁹⁾
(ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างแหล่งที่มาของผักสดจากตลาดสด ซูเปอร์มาร์เก็ต และการตรวจพบ
หรือไม่พบเชื้อ

ผลการตรวจ	แหล่งของตัวอย่าง		รวม
	ตลาดสด	ซูเปอร์มาร์เก็ต	
พบ	a	b	g
ไม่พบ	c	d	h
รวม	e	f	k

$$\chi^2 = \frac{k(ad - bc)^2}{efgh}$$

a = จำนวนตัวอย่างในตลาดสดที่พบเชื้อหรือมีปริมาณเชื้อมากกว่าเกณฑ์กำหนด

b = จำนวนตัวอย่างในซูเปอร์มาร์เก็ตที่พบเชื้อหรือมีปริมาณเชื้อมากกว่าเกณฑ์กำหนด

c = จำนวนตัวอย่างในตลาดสดที่ไม่พบเชื้อหรือมีปริมาณเชื้ออยู่ในเกณฑ์กำหนด

d = จำนวนตัวอย่างในซูเปอร์มาร์เก็ตที่ไม่พบเชื้อหรือมีปริมาณเชื้ออยู่ในเกณฑ์กำหนด

$$e = a + c$$

$$f = b + d$$

$$g = a + b$$

$$h = c + d$$

$$k = \text{จำนวนตัวอย่างทั้งหมด}$$

$$df = \text{ค่าชั้นแห่งความอิสระ}$$

$$= (r - 1)(c - 1)$$

$$r = \text{จำนวนแถว} = 2$$

$$c = \text{จำนวนสดมภ์} = 2$$

$$\therefore df = (2 - 1)(2 - 1) = 1$$

ค่า χ^2 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 df = 1 มีค่า

3.84

ถ้า χ^2 ที่คำนวณได้มีค่ามากกว่า 3.84 ($p < 0.05$) แสดงว่าผักสดจากตลาดและซูเปอร์มาร์เก็ตพบเชื้อจุลินทรีย์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ถ้าน้อยกว่า 3.84 ($p > 0.05$) แสดงว่าผักสดจากทั้ง 2 แหล่งไม่มีความแตกต่างกัน

ผล

การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน 2 กลุ่มในผักสดจากตลาดสด 8 แห่ง 58 ตัวอย่าง และซูเปอร์มาร์เก็ต 4 แห่ง 39 ตัวอย่าง รวม 97 ตัวอย่าง พบเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้บ่งชี้ลักษณะ

การผลิตชนิด coliforms มีปริมาณ MPN ต่อกรัม มากกว่า 1,100 รวม 88 ตัวอย่าง (ร้อยละ 90.7) ซึ่งเป็นตัวอย่างจากตลาดสด 55 ตัวอย่าง (ร้อยละ 94.8) และซูเปอร์มาร์เก็ต 33 ตัวอย่าง (ร้อยละ 84.6) ส่วน *E. coli* พบปริมาณ MPN ต่อกรัม เกินเกณฑ์กำหนด (เท่ากับหรือมากกว่า 10) รวม 44 ตัวอย่าง (ร้อยละ 45.4) ซึ่งเป็นตัวอย่างจากตลาดสด 32 ตัวอย่าง (ร้อยละ 55.2) และซูเปอร์มาร์เก็ต 12 ตัวอย่าง (ร้อยละ 30.8) โดย *E. coli* ของผักสดในตลาดสดพบปริมาณ MPN ต่อกรัม 10-100, 100-1,100 และมากกว่า 1,100 จำนวน 14, 8 และ 10 ตัวอย่างตามลำดับ สำหรับผักสดในซูเปอร์มาร์เก็ตพบปริมาณ MPN ต่อกรัม 10-100, 100-1,100 และมากกว่า 1,100 จำนวน 7, 2 และ 3 ตัวอย่างตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ส่วนการตรวจเชื้อก่อโรคและ *Listeria* spp. ในผักสดจากตลาดสดพบ *Salmonella* spp. 16 ตัวอย่าง (ร้อยละ 27.6) *Vibrio cholerae* non O1/non O139 จำนวน 13 ตัวอย่าง (ร้อยละ 22.4) *Listeria monocytogenes* 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3.4) และ *Listeria* spp. 36 ตัวอย่าง (ร้อยละ 61.1) แต่ไม่พบ *Shigella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Vibrio parahaemolyticus* สำหรับตัวอย่างจากซูเปอร์มาร์เก็ตตรวจไม่พบ *Shigella* spp., *S. aureus*, *V. parahaemolyticus*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* แต่พบ *V. cholerae* non O1/non O139 จำนวน 1 ตัวอย่าง และพบ *Listeria* spp. 11 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 2.6 และ 28.2 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

เมื่อนำผักสดจากตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ตมาหาความสัมพันธ์ (ความแตกต่าง) ทางสถิติกับการตรวจพบหรือไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยใช้ไคสแควร์ (χ^2 -test) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่าผักสดจากทั้ง 2 แหล่งมีปริมาณ MPN coliforms

ต่อกรัมมากกว่า 1,100 ($\chi^2 = 2.89$) ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนปริมาณ MPN *E. coli* ต่อกรัมที่เกินเกณฑ์กำหนด ($\chi^2 = 5.60$) การตรวจพบ *Listeria* spp. ($\chi^2 = 10.70$) และ

การพบเชื้อก่อโรค ($\chi^2 = 27.31$) จากผักสด 2 แหล่งพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) คือผักสดจากซูเปอร์มาร์เก็ตพบ *E. coli* และ *Listeria* spp. และเชื้อก่อโรคน้อยกว่าผักสดจากตลาดสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ⁽¹⁹⁾

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบจำนวนผักสดจากตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ตที่มีปริมาณ MPN ของ coliforms และ *E. coli* ต่อกรัมที่ระดับต่าง ๆ

แหล่งของ ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ (ร้อยละ)					รวม
		coliforms		E. coli			
		น้อยกว่า 500	มากกว่า 1,100	>10-100	100-1,100	>1,100	
ตลาดสด 8 แห่ง	58	3	55 (24.8)	14	8	10	32 (55.2)
ซูเปอร์มาร์เก็ต 4 แห่ง	39	6	33 (84.6)	7	2	3	12 (30.8)
รวม	97	9	88 (90.7)	21	10	13	44 (45.4)

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบจำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อโรคอาหารเป็นพิษและ *Listeria* spp. ในผักสด จากตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ต

แหล่งของตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ (ร้อยละ)					
		เชื้อโรคอาหารเป็นพิษ					
		<i>Salmonella</i> และ	<i>V. cholerae</i>	<i>L. monocytogenes</i> spp.	<i>Shigella</i> spp. <i>V. parahaemolyticus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Listeria</i> spp.
ตลาดสด	58	16 (27.6)	13 (22.4)	2 (3.4)	0	0	36 (61.1)
ซูเปอร์มาร์เก็ต	39	0	1 (2.6)	0	0	0	11 (28.2)
รวม	97	16 (16.5)	14 (14.4)	2 (2.1)	0	0	47 (48.4)

การตรวจสอบด้านสุขลักษณะของสถานที่จำหน่ายผักสดขณะซื้อตัวอย่างเพื่อนำกลับมามาตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ พบว่าบริเวณรากและผิวใบของผักสดในตลาดสดมีเศษดินติดอยู่ น้ำสะอาดที่ใช้ล้างมีไม่เพียงพอ บริเวณด้านนอกหรือผิวใบบางส่วนเน่าเสียไม่ได้ลอกออก ไม่มีภาชนะห่อหุ้มและวางจำหน่ายบนแผง/ร้าน ขณะที่ผักสดในซูเปอร์มาร์เก็ตส่วนใหญ่ค่อนข้างสะอาด ไม่มีส่วนเน่าเสีย บรรจุในถุงและวางจำหน่ายบนชั้นที่สะอาด และมีการควบคุมอุณหภูมิ แสดงให้เห็นว่าซูเปอร์มาร์เก็ตมีการจัดการด้านสุขลักษณะดีกว่าตลาดสด

วิจารณ์

จากการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์กลุ่มบ่งชี้สุขลักษณะการผลิตในผักสดซึ่งเก็บจากตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ต 97 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนของ coliforms ต่อกรัมมากกว่า 1,100 เกือบทุกตัวอย่าง (ตารางที่ 2) สาเหตุจากสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน น้ำ และปุ๋ยที่ใช้ในการเพาะปลูก เครื่องมือ รวมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต การขนส่ง การล้างก่อนการวางจำหน่าย และการปนเปื้อนข้ามขณะวางจำหน่าย^(2, 3) ส่วนการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* พบมากกว่าครึ่งของตัวอย่างจากตลาดสดที่พบ coliforms (32 จาก 55 ตัวอย่าง) และเกือบครึ่งหนึ่งของตัวอย่างจากซูเปอร์มาร์เก็ตที่พบ coliforms (12 จาก 33 ตัวอย่าง) การปนเปื้อนของ *E. coli* บ่งชี้ว่าผักสดมีการปนเปื้อนจากอุจจาระ อาจโดยตรงหรือทางอ้อม (fecal contamination)⁽⁴⁾ สำหรับจุลินทรีย์ก่อโรคและ *Listeria* spp. ซึ่งมีความสัมพันธ์กับ *L. monocytogenes* พบการปนเปื้อนในตัวอย่างสูง (ตารางที่ 3) และสูงขึ้นมากเมื่อเทียบกับการสำรวจผักสดในปี พ.ศ. 2537 ที่พบ *Salmonella* spp. ร้อยละ 8.8 *Listeria* spp. ร้อยละ 3.8 และตรวจไม่พบ *L. monocytogenes*⁽⁵⁾ สาเหตุ

การปนเปื้อนและการพบเชื้อเหล่านี้เพิ่มขึ้นอาจมาจากการที่เกษตรกรใช้ปุ๋ยหมักที่ทำจากมูลสัตว์ ซึ่งเป็นแหล่งของเชื้อเหล่านี้มากขึ้น มีการนำน้ำที่ไม่สะอาดมาใช้ในการเพาะปลูกหรือใช้ล้างผัก และอาจเกิดการปนเปื้อนข้ามจากสิ่งแวดล้อมขณะขนส่งและวางจำหน่ายในตลาดสด^(2, 3)

ดังนั้น การที่ผักสดจากซูเปอร์มาร์เก็ตตรวจพบปริมาณ *E. coli* เกินเกณฑ์กำหนด รวมทั้งตรวจพบ *Listeria* spp. และจุลินทรีย์ก่อโรคน้อยกว่าผักจากตลาดสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2, 3) เนื่องจากผักจากซูเปอร์มาร์เก็ตมีการลอกใบชั้นนอกและการล้างด้วยน้ำสะอาด จึงลดหรือกำจัดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่มีปริมาณไม่มาก (1 ถึง 2 log) ให้อยู่ในเกณฑ์กำหนดได้ ส่วนจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบปริมาณ coliforms มากกว่า 1,100 พบว่าทั้งสองแหล่งเก็บตัวอย่างแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เพราะปริมาณการปนเปื้อนของ coliforms ในผักสดสูงมากกว่า 1,100 การลอกใบหรือการล้างผักด้วยน้ำสะอาดในขั้นตอนของซูเปอร์มาร์เก็ตไม่สามารถทำให้ปริมาณ coliforms ลดลงเหลือน้อยกว่า 500 จึงทำให้การเปรียบเทียบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

การจัดการด้านสุขลักษณะของผักสดในซูเปอร์มาร์เก็ตที่ดีสามารถลดการปนเปื้อนและป้องกันการปนเปื้อนข้ามของเชื้อต่างๆ ได้⁽⁸⁾ โดยเฉพาะการลอกใบชั้นนอกช่วยกำจัดจุลินทรีย์ ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ที่ชั้นนอกของผักสดหรือผิวใบด้วย ขณะที่การล้างด้วยน้ำสะอาดสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อได้ร้อยละ 90 ถึง 99 หรือ 1 ถึง 2 log อย่างไรก็ตาม การล้างจะทำให้ผักสดมีความชื้นสูงและเน่าเสียเร็วขึ้น⁽³⁾ ดังนั้น ควรมีขั้นตอนสะเด็ดน้ำหรือผึ่งให้แห้ง ส่วนผักสดจากตลาดสดส่วนใหญ่จะมีการล้างเพียงเล็กน้อยเพื่อกำจัดเศษดินและทรายที่ติดมากับผักและไม่ค่อยเปลี่ยนน้ำที่ใช้ล้าง ไม่มีการ

บรรจุหีบห่อ และวางจำหน่ายในสภาวะแวดล้อมที่ไม่สะอาดเทียบเท่าซูเปอร์มาร์เก็ต ทำให้เกิดการปนเปื้อนข้ามได้ การไม่เปลี่ยนน้ำที่ใช้ล้างนอกจากจะไม่สามารถลดการปนเปื้อนให้น้อยลงแล้ว ยังทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อปริมาณสูงขึ้น

ผู้ประกอบการและผู้บริโภคสามารถหลีกเลี่ยงหรือลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ให้น้อยลง โดยต้องมีการจัดการที่ดี เช่น ในขั้นตอนการเพาะปลูกให้หลีกเลี่ยงการใช้น้ำโสโครกหรือปุ๋ยหมักที่ทำจากมูลสัตว์ซึ่งยังหมักไม่สมบูรณ์ เนื่องจากเป็นแหล่งของเชื้อเหล่านี้ ทำความสะอาดผักโดยการลอกใบชั้นนอก และหรือล้างด้วยน้ำสะอาด ทำให้แห้งหรือสะเด็ดน้ำเพื่อที่จะเก็บไว้ได้นานขึ้น ปรับปรุงให้มีการบรรจุหีบห่อและจัดบริเวณวางจำหน่ายในสถานที่เหมาะสม เช่น วางบนแผงหรือโต๊ะที่สะอาดไม่วางกับพื้น เป็นต้น

สรุป

การที่ผักสดจากตลาดมีการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli*, *Listeria* spp. และเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคมมากกว่าผักสดจากซูเปอร์มาร์เก็ตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p < 0.05$) แสดงว่าผักสดจากซูเปอร์มาร์เก็ตมีการจัดการด้านสุขลักษณะที่ดีสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อเหล่านี้ให้น้อยลงอยู่ในเกณฑ์กำหนดหรือหมดไปได้ ส่วนผักสดในตลาดสดยังขาดการจัดการที่ดี การจัดการผักสดของซูเปอร์มาร์เก็ตส่วนใหญ่ใช้หลายวิธีร่วมกันคือ ลอกส่วนที่อยู่ด้านนอกของผักสดออก ล้างด้วยน้ำสะอาด 2-3 ครั้ง หรืออาจใช้โฟแทสเซียมเพอร์แมงกาเนต (ต่างทับทิม) หรือน้ำส้มสายชู หรือน้ำที่เติมคลอรีนความเข้มข้น 10-50 ppm. ทำให้แห้งหรือสะเด็ดน้ำ และบรรจุหีบห่อ ดังนั้น เมื่อผู้บริโภคซื้อผักสดจากแหล่งต่างๆ ควรตัดแต่งโดยลอกส่วนนอกออก และล้างให้สะอาด จะทำให้ปลอดภัยต่อการบริโภคมากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนางลดาวัลย์ จิงสมานกุล นางดวงดาว วงศ์สมมาตร นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ที่ให้คำแนะนำและตรวจทานต้นฉบับ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์อาหารทางจุลชีววิทยาทุกคนที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. National Research Council (U.S.). Food Protection Committee. Subcommittee on Microbiological Criteria. An evaluation of the role of microbiological criteria for foods and food ingredients. Washington DC: National Academy Press; 1988. p 257-258.
2. International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF). Microbial ecology of foods Volume 2: Food Commodities. Academic Press Inc; 1980. p 606-12.
3. Brackett RE, Splittstoesser DF. Fruits and Vegetables. In: Downes FP, Ito K, editors. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. Washington DC: American Public Health Association; 2001. p 515-520.
4. Jackson GJ, Madden JM, Hill WE, Kloritz KC Investigation of Food Implicated in Illness. In: Bacteriological Analytical Manual. [online]. [cited 2009 Dec. 25]; Available from: URL: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-25.html>.
5. อติสร เสวตวัฒน์, ปรีชา จิงสมานกุล. ชาลโมเนลลาและลิสทีเรียในผักสด. ว อาหาร 2538; 25 (3) : 185-189.
6. ภวานาญ บุณนาค ขวรัตน์ ทับทิมไทย สุวณี กิตติลาภานนท์ กุลวิไล สุทธิลักษณ์วนิช พัจนา สุทาสุรีย์ ลิลลี่ พรานุสร และคณะ. งานบริการวิเคราะห์สินค้าเกษตร

- ด้านพืชเพื่อการส่งออก [ออนไลน์]. 2550; [สืบค้น 4 มกราคม 2553]: [9 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: <http://it.dao.go.th/re/5/show.php?record>
7. เติลินิวส์. โคเด็กซ์คุมจุลินทรีย์ก่อโรค. ฉบับที่ 22033. วันที่ 8 กุมภาพันธ์ 2553. หน้า 10.
 8. Codex Alimentarius CAC/RCP 1-1969, Rev.4-2003. Recommended international code of practice general principles of food hygiene; 2003.
 9. Feng P, Weagant SD, Grant MA. Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. In: Bacteriological Analytical Manual. [online] September 2002 [cited 2009 Dec. 25]; Available from: URL:<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html>.
 10. Blodgett R. Most probable number from serial dilution. In: Bacteriological Analytical Manual [online] February 2006 [cited 2009 Dec. 18]; Available from: URL:<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-a2.html>
 11. International Organization for Standardization. ISO 6579. Microbiological of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. 1st ed. Geneva. International Organization for Standardization (ISO); 2002.
 12. International Organization for Standardization. ISO 21567. Microbiological of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of *Shigella* spp. 1st ed. Geneva. International Organization for Standardization (ISO); 2004.
 13. Bennett R.W. and Lancette G.A.. “*Staphylococcus aureus*”. In: Bacteriological Analytical Manual [online] January 2001 [cited 2009 Dec. 18]; Available from: URL:<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-12.html>
 14. International Organization for Standardization. ISO 21872-1. Microbiological of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of potentially enteropathogenic *Vibrio* spp.- Part 1 Detection of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae*. 1st ed. Geneva. International Organization for Standardization (ISO); 2007.
 15. International Organization for Standardization. ISO 21567. Microbiological of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*- Part 1: Detection method and enumeration of *Listeria monocytogenes* 1st ed. Geneva. International Organization for Standardization (ISO); 1996/ Amd 1: 2004.
 16. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร. วันที่ 24 สิงหาคม 2536.
 17. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องมาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 126 ตอนพิเศษ 41 ง (วันที่ 19 มีนาคม 2552)
 18. Codex Alimentarius. CAC/GL 61-2007. Guideline on the application of general principles of food hygiene to the control of *Listeria monocytogenes* in foods; 2007.
 19. ทศนีย์ นุชประยูร เต็มศรี ชำนิจารกิจ. บรรณาธิการ. สถิติในงานวิจัยทางการแพทย์. กรุงเทพฯ: โอ เอส พรินติ้ง เฮ้าส์; 2537. หน้า 85-86 และ 265.

Microbial Contamination in Raw Vegetables

Preecha Chungsamanukool Nawarat Rattanadilok Na Phuket and Kamonwan Kantaeng

Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000, Thailand

ABSTRACT There have been reported cases of food poisoning due to consumption of fresh vegetables including warning from some imported countries for the existence of microbial contamination in Thai fresh vegetables. Therefore, during July to September 2008, ninety-seven samples of raw vegetables from 8 fresh markets and 4 supermarkets in Bangkok and Nonthaburi were examined for microbial contamination, both sanitary index microorganisms and food-borne pathogens. The results showed that the sanitary index microorganisms, coliforms found more than 1,100 MPN per gram and *Escherichia coli* found equal or more than 10 MPN per gram were detected in 88 samples (90.7%) and 44 samples (45.4%), respectively. The food-borne pathogenic bacteria comprising *Salmonella* spp., *Vibrio cholerae* non O1/non O 139, *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. (the group of *Listeria* related to *L. monocytogenes*) were also detected in 16, 14, 2, and 47 samples or 16.5, 14.4, 2.1, and 48.4 percent respectively whereas other pathogenic bacteria including *Shigella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Vibrio parahaemolyticus*, were not detected in all samples. The statistical evaluation for the relation between microbial contamination and sources fresh vegetable samples was demonstrated that the number of positive samples for *E. coli*, *Listeria* spp., and other food-borne pathogenic bacteria collected from supermarkets were significantly different from fresh markets ($p < 0.05$). This evaluation result is conformed to the hygienic management in supermarkets which is superior to fresh markets. The study concludes that good hygienic management can reduce microbial contamination in fresh vegetables. Moreover, the data gained from this study will be subsequently beneficial for the establishment of microbiological domestic standards for consumption of fresh vegetables in order to promote consumer safety as well as solve problem of Thai fresh vegetables for export.

Keywords : vegetables, sanitary index microorganisms, food-borne pathogens