

โภชนาการและการปนเปื้อนแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดของขี้แพะวัว NUTRITION AND SOME PATHOGENIC BACTERIA CONTAMINATION OF COW'S INTESTINAL CONTENTS

เพ็ญศักดิ์ ยะมิน*, จิราภรณ์ สุ่มังคะ และ แก้วกัลยา โสทธิสวัสดิ์

Permsak Yeemin, Jiraporn Sumangka and Kaewkanlaya Sotthisawad

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร

Division of Biology, Faculty of Science and Technology, Sakon Nakhon Rajabhat University

Received: 1 February 2022

Accepted: 24 June 2022

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาโภชนาการและการปนเปื้อนแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดของขี้แพะวัว โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างจากโรงฆ่าสัตว์ ร้านจำหน่ายเนื้อโคในตลาดสดเทศบาลนครสกลนครและริมทางในเขตพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร จากผลการศึกษาปริมาณโภชนาการเฉลี่ยของขี้แพะวัว พบว่าขี้แพะวัวมีความชื้นเป็นองค์ประกอบสูงมากที่สุดคือ ร้อยละ 87.02 ± 0.10 รองลงมาคือ คาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ 6.35 ± 0.15) เส้นใย (ร้อยละ 2.27 ± 0.08) เถ้า (ร้อยละ 1.81 ± 0.22) โปรตีน (ร้อยละ 1.75 ± 0.06) และไขมัน (ร้อยละ 0.80 ± 0.13) ตามลำดับ สำหรับผลการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดในขี้แพะวัว พบว่าในฤดูฝนมีค่าเฉลี่ยของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดในขี้แพะวัวทุกตัวอย่างสูงมากที่สุด คือ 1.1×10^6 CFU/mL รองลงมาคือ ฤดูร้อน และฤดูหนาว โดยมีปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 3.5×10^5 และ 2.2×10^5 CFU/mL ตามลำดับ ซึ่งการปนเปื้อนดังกล่าวพบ *Escherichia coli* ในขี้แพะวัวทุกตัวอย่างที่เก็บในทุกฤดูกาลมีปริมาณที่เกินเกณฑ์มาตรฐานฯ ที่กำหนดไว้ สำหรับการตรวจหา *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างขี้แพะวัว พบว่ามีการตรวจพบ *S. aureus* ใน 4 แหล่งที่เก็บในฤดูฝน โดยมีการปนเปื้อนในปริมาณที่น้อยกว่าค่าเกณฑ์มาตรฐานฯ กำหนดไว้ (<100 MPN/mL) ในขณะที่การตรวจหา *Salmonella* sp. นั้นไม่พบการปนเปื้อนในทุกตัวอย่างขี้แพะวัวที่เก็บมาจากทุกฤดูกาล

* ผู้ประสานงาน: เพ็ญศักดิ์ ยะมิน

อีเมลล์: permsak_y@snru.ac.th

สำหรับการศึกษาจุลินทรีย์ชนิดเด่นที่พบในตัวอย่างขี้แพะวัว พบจุลินทรีย์ชนิดเด่นทั้งหมด 7 ไอโซเลท เมื่อทำการจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียพบว่าจัดเป็น Gram negative bacilli จำนวน 4 ไอโซเลท (RA-1, WA-2, SA-3 และ SB-1), Gram positive bacilli จำนวน 2 ไอโซเลท (WA-1 และ SA-1) และ Gram positive cocci จำนวน 1 ไอโซเลท (SA-2)

คำสำคัญ: แบคทีเรียก่อโรค, ปริมาณโภชนาการ, ขี้แพะวัว

Abstract

This research aimed to study nutrition and contamination of some pathogenic bacteria in cow's intestinal contents. Randomly sampling from slaughterhouses, beef shop in municipality market and sideways in Amphoe Mueang, Sakon Nakhon were used as the sample. The study of nutritional value, found the highest moisture content of $87.02 \pm 0.10\%$ followed by the carbohydrate ($6.35 \pm 0.15\%$), fiber ($2.27 \pm 0.08\%$), ash ($1.81 \pm 0.22\%$), protein ($1.75 \pm 0.06\%$) and fat ($0.80 \pm 0.13\%$), respectively. The determination of some pathogenic bacteria contamination in cow's intestinal contents, showed that the highest level of contamination was in the rainy season with 1.1×10^6 CFU/mL, followed by summer and winter, which are 3.5×10^5 CFU/mL and 2.2×10^5 CFU/mL, respectively. For this contamination, found *Escherichia coli* in all samples of cow's intestinal contents with a higher amount than the MPN *E. coli* criteria defined. Determination of *Staphylococcus aureus*, exposed the contamination *S. aureus* in lower level than the standards defined (<100 MPN/mL) in sample that collected from four sources within rainy season. Whereas *Salmonella* sp. was not found in all samples. For the study of the dominant microbial species considered, found seven isolates that classified into four isolates of Gram negative bacilli (RA-1, WA-2, SA-3 and SB-1), two isolates of Gram positive bacilli (WA-1 and SA-1) and one isolate of Gram positive cocci (SA-2).

Keywords: Pathogenic bacteria, Nutritional value, Cow's intestinal contents

บทนำ

ชี้เพี้ยว หรือเพี้ยว คือส่วนของอาหารที่ย่อยละเอียดแล้วหรือเรียกว่าชี้อ่อนที่อยู่ในลำไส้เล็กของวัวหรือสัตว์เคี้ยวเอื้อง (แสงอรุณ กนกพงศ์ชัย, 2546) โดยบริเวณลำไส้เล็กตอนต้นของวัวนั้นจะมีช่องเปิดของท่อน้ำดี (Common bile duct) และท่อเปิดของของเหลวจากตับอ่อน (Pancreatic duct) ลักษณะของอาหารที่เข้ามาในลำไส้เล็กเป็นอาหารที่มีลักษณะกึ่งเหลว หรือเป็นของเหลว (Chyme) มีสภาพความเป็นกรดสูง มีส่วนประกอบคือ สารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ไขมัน แร่ธาตุ น้ำ และกรดเกลือ รวมถึงจุลินทรีย์ต่าง ๆ การย่อยอาหารที่ลำไส้เล็กเกิดจากเอนไซม์จากตับอ่อนและผนังลำไส้เล็ก (วิศิษฐพร สุขสมบัติ, 2546) ประชาชนส่วนใหญ่ที่มีภูมิลำเนาอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย นิยมนำชี้เพี้ยวมาใช้ประกอบอาหารอีสานเพื่อเพิ่มรสขมในอาหาร ไม่ว่าจะเป็นเมนูลาบดิบ หรือที่ชาวอีสานเรียกว่า ก้อย โดยการใส่เลือดสดลงในเนื้อดิบ ๆ (ศูนย์การเรียนรู้อาหารไทย, 2560) รวมทั้งการนำชี้เพี้ยวมาปรุงใสในอาหารอีสานหลากหลายเมนู เช่น แก้วอีสาน อ่อมเนื้อ และแก้วฮ้อน ด้วยพฤติกรรมกรรมการบริโภคอาหารสุก ๆ ดิบ ๆ ของคนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ยังคงเป็นพฤติกรรมที่พบเห็นได้ทั่วไปในปัจจุบัน ซึ่งล้วนแต่ส่งผลทำให้เกิดความเสี่ยงในการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารบางชนิดที่เจริญหรือปนเปื้อนอยู่ภายในระบบการย่อยอาหารของวัว โดยแบคทีเรียก่อโรคที่อาจพบการปนเปื้อนในลำไส้วัวมีหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นในกลุ่มพวกที่ใช้และไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพ แต่ที่พบว่าเป็นปัญหาสำคัญด้านสาธารณสุข และมีผลกระทบต่อการส่งออกผลิตภัณฑ์อาหาร ได้แก่ แบคทีเรีย *Salmonella* sp., *Clostridium* sp., *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* อันตรายจากแบคทีเรียเหล่านี้ หากมีการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหาร ผู้บริโภคก็จะเป็นผู้ได้รับอันตรายจากโรคอาหารเป็นพิษที่มีสาเหตุเกิดจากแบคทีเรียชนิดดังกล่าว จึงถือเป็นความรับผิดชอบของผู้ผลิต ที่จะต้องดำเนินการเพื่อลดความเสี่ยงจากโรคอาหารเป็นพิษมาอยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคต่อไป

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะศึกษาการปนเปื้อนแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดและปริมาณโภชนาการของตัวอย่างชี้เพี้ยวภายในเขตพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร เพื่อนำไปสู่ข้อมูลทางวิชาการที่มีความน่าเชื่อถือ สามารถเผยแพร่ความรู้และประชาสัมพันธ์ให้แก่หน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชน เพื่อนำไปพัฒนาหรือปรับปรุงกระบวนการผลิตให้มี

คุณภาพตามเกณฑ์มาตรฐาน และช่วยป้องกันความเสี่ยงจากโรคอาหารเป็นพิษที่มีสาเหตุเกิดจากการปนเปื้อนของแบคทีเรียในกระบวนการฆ่าล้างและ และสถานที่จำหน่ายต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างซีเพี้ยวัว

สุ่มเก็บตัวอย่างซีเพี้ยวัวในเขตพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร จากโรงฆ่าสัตว์ (จำนวน 2 แห่ง) ร้านจำหน่ายเนื้อโคในตลาดสดเทศบาลนครสกลนคร (จำนวน 2 ร้าน) และร้านจำหน่ายเนื้อโคริมทาง (จำนวน 2 ร้าน) โดยทำการสุ่มเก็บ 3 ครั้ง ในเดือนสิงหาคม (ฤดูฝน) ธันวาคม (ฤดูหนาว) และเมษายน (ฤดูร้อน) โดยทำการเก็บอย่างซีเพี้ยวัวในถุงพลาสติกขนาด 7 x 11 นิ้ว และเก็บรักษาที่อุณหภูมิเย็นในกล่องโฟมบรรจุน้ำแข็งก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

2. การศึกษาปริมาณโภชนาการของซีเพี้ยวัว

นำตัวอย่างซีเพี้ยวัวมาวิเคราะห์หาปริมาณโภชนาการโดยเฉลี่ยด้วยวิธีการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีแบบประมาณ (Proximate analysis) ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน ไขมัน ความชื้น เถ้า และเส้นใย ตามวิธีของ Association of Official Analytical Chemist หรือ AOAC (2016) ร่วมกับการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตตามวิธีของ Compendium of method for food analysis (National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards, 2003)

3. การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาในตัวอย่างซีเพี้ยวัว

เตรียมตัวอย่างซีเพี้ยวัว โดยปิเปตตัวอย่างซีเพี้ยวัว 25 mL มาเจือจางใน Buffered peptone water 225 mL แล้วเจือจางตัวอย่างต่อไปเพื่อให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสมด้วยเทคนิค Serial dilution ตามวิธี ISO 6579: 2002 (Kramarenko et al., 2013) ก่อนนำไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์หา (1) จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดตามวิธีของ Bacteriological Analytical Manual (BAM, 2001a) Chapter 3 (2) ค่า MPN *Escherichia coli* ตามวิธีของ BAM (2002) (3) จำนวน *Staphylococcus aureus* ตามวิธีของ BAM (2001b) และ (4) จำนวน *Salmonella* spp. ตามวิธีของ ISO 6579: 2002 ร่วมกับวิธีของ วีรานูช หลาง (2552) ซึ่งผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้จะถูกนำมาเปรียบเทียบกับเกณฑ์ คุณภาพทางจุลชีววิทยา

ของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3 (พ.ศ.2560) ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2560)

4. ศึกษาจุลินทรีย์ชนิดเด่นที่ตรวจพบในทุกตัวอย่างซีพีเยี้ยว

ศึกษาจุลินทรีย์ชนิดเด่นที่ตรวจพบในแต่ละตัวอย่างซีพีเยี้ยว โดยพิจารณาจากความรู้ในการตรวจพบลักษณะทางสัณฐานของโคโลนีในทุกตัวอย่างของผลการตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) เพื่อทำการจำแนกชนิดโดยการแยกโคโลนีเดี่ยวให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี Cross streak แล้วนำไปบ่มในอุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงทำการย้อมสีแกรม (Gram Staining) และศึกษาลักษณะทางสัณฐานของโคโลนี ได้แก่ รูปร่าง ขอบ ผิวหน้า ความหนูน และสีของโคโลนี ร่วมกับการศึกษา ลักษณะสัณฐานของเซลล์ได้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light Microscope, Nikon E600) (นันทวัน ฤทธิ์เดช และ งามนิจ นนทโส, 2551)

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. การศึกษาปริมาณโภชนาการของซีพีเยี้ยว

ในการวิเคราะห์ปริมาณโภชนาการของซีพีเยี้ยว นั้น ได้ใช้วิธีการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี Proximate analysis ในตัวอย่างซีพีเยี้ยวที่เก็บในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร โดยมีผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 1 ซึ่งพบว่าในตัวอย่างซีพีเยี้ยวมีความชื้นเป็นองค์ประกอบสูงมากที่สุดคือ เฉลี่ยร้อยละ 87.02±0.10 รองลงมาคือ คาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ 6.35±0.15) เส้นใย (ร้อยละ 2.27±0.08) เถ้า (ร้อยละ 1.81±0.22) โปรตีน (ร้อยละ 1.75±0.06) และไขมัน (ร้อยละ 0.80±0.13) ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ปริมาณโภชนาการของตัวอย่างซีพีเยี้ยวที่เก็บในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (ร้อยละ)
โปรตีน (Crude protein)	1.75±0.06
คาร์โบไฮเดรต (Crude Carbohydrate)	6.35±0.15
ไขมัน (Crude fat)	0.80±0.13
ความชื้น (Moisture)	87.02±0.10
เถ้า (Crude ash)	1.81±0.22
เส้นใย (Crude fiber)	2.27±0.08

จากตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าในซี่เพี้ยวมีสารอาหารหลักที่สำคัญของสิ่งมีชีวิต ได้แก่ คาร์โบไฮเดรตและโปรตีน ซึ่งสารทั้งสองชนิดจัดเป็นสารชีวโมเลกุลที่มีบทบาทสำคัญต่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิต โดยที่คาร์โบไฮเดรต ซึ่งได้แก่ น้ำตาล แป้ง เซลลูโลส และไกลโคเจน ทำหน้าที่สะสมพลังงานและเป็นสารตัวกลางในระบบเมแทบอลิซึม ในขณะที่โปรตีนทำหน้าที่เป็นส่วนประกอบทางโครงสร้าง ฮอร์โมน โปรตีนขนส่ง และเร่งปฏิกิริยาทางเคมีของเอนไซม์ ทั้งภายนอกและภายในเซลล์ (สุกัญญา สุนทรส และ วิเชียร ริมพนิชยกิจ, 2553) เนื่องจากซี่เพี้ยว คือ ส่วนของอาหารที่ย่อยละเอียดแล้ว หรือหมายถึงชิ้นที่อยู่ในลำไส้เล็กของวัว ซึ่งลักษณะของอาหารที่เข้ามาในส่วนของลำไส้เล็กของวัวหรือสัตว์เคี้ยวเอื้องนั้นประกอบด้วย สารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ เซลล์ของจุลินทรีย์ ไขมัน แร่ธาตุ น้ำ และกรดเกลือ การย่อยอาหารที่ลำไส้เล็กเกิดจากเอนไซม์จากตับอ่อนและผนังลำไส้เล็ก โดยมี น้ำดีช่วยในการย่อยไขมัน สารอาหารที่ได้จากการย่อยสลายในลำไส้เล็ก ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมันแร่ธาตุ และวิตามิน (วิศิษฐ์พร สุขสมบัติ, 2546)

2. การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาในตัวอย่างซี่เพี้ยว

การตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ปนเปื้อนในตัวอย่างซี่เพี้ยว โดยใช้เทคนิค Pour plate บนอาหาร PCA แล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงได้ทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ทั้งหมดในแต่ละตัวอย่าง ซึ่งผลการศึกษาที่ได้แสดงดังตารางที่ 2 พบว่าตัวอย่างซี่เพี้ยวที่เก็บในเดือนสิงหาคม (ฤดูฝน) มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมดเฉลี่ยมากคือ 1.1×10^6 CFU/mL โดยผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างซี่เพี้ยวที่ตรวจนับได้ในแต่ละช่วงเวลาหรือฤดูกาลนั้น พบว่ามีค่าเฉลี่ยของการปนเปื้อนในทุกตัวอย่างอยู่ในช่วงที่เกณฑ์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขยอมรับได้ คือ ต้องพบในปริมาณที่น้อยกว่า 5×10^6 CFU/mL

ตารางที่ 2 จำนวนของจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างซีพีเยี้ยวที่ตรวจพบในแต่ละฤดูกาล

ตัวอย่าง	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/mL)			เกณฑ์มาตรฐาน (CFU/mL)
	ฤดูฝน	ฤดูหนาว	ฤดูร้อน	
โรงฆ่าสัตว์ 1	3.3×10^5	9.0×10^5	7.4×10^5	$< 5 \times 10^6$
โรงฆ่าสัตว์ 2	3.2×10^5	2.4×10^5	5.1×10^5	
ตลาดสด 1	3.6×10^5	1.6×10^4	7.6×10^5	
ตลาดสด 2	1.7×10^5	1.5×10^4	5.0×10^4	
ร้านริมทาง 1	3.8×10^5	2.9×10^4	5.0×10^4	
ร้านริมทาง 2	5.0×10^6	1.2×10^5	5.0×10^3	
ค่าเฉลี่ย	1.1×10^6	2.2×10^5	3.5×10^5	

การตรวจวิเคราะห์หา *E. coli* ซึ่งเป็นกลุ่มของแบคทีเรียฟีคอลโคลิฟอร์ม (Fecal coliform) ที่พบในอุจจาระ จึงถูกนำมาใช้เป็นดัชนีหลักในการประเมินสุขลักษณะของการผลิตอาหารและน้ำดื่ม สำหรับการตรวจหา *E. coli* ด้วยวิธี Most probable number (MPN) ในตัวอย่างซีพีเยี้ยว นั้น พบว่าทุกตัวอย่างในทุกฤดูกาลมีค่า MPN *E. coli* มากกว่า 1,100 MPN/mL (ตารางที่ 3) ซึ่งเป็นการปนเปื้อน *E. coli* ในปริมาณที่เกินเกณฑ์มาตรฐานที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้ คือต้องมีค่าน้อยกว่า 100 MPN/mL จึงจะเป็นที่ยอมรับได้ การตรวจพบการปนเปื้อน *E. coli* ของตัวอย่างซีพีเยี้ยวในปริมาณที่เกินมาตรฐาน แสดงให้เห็นถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร (ซีพีเยี้ยว) ที่อาจก่อให้เกิดความไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค เนื่องจาก *E. coli* จัดเป็นจุลินทรีย์ก่อโรค ชนิดโรคอาหารเป็นพิษแบบติดเชื้อ (Food infection) โดยเมื่อ *E. coli* ผ่านเข้าสู่ร่างกาย แล้วสามารถเพิ่มจำนวนได้และก่อให้เกิดอาการผิดปกติของร่างกายได้ โดยในขณะที่ *E. coli* มีการเจริญในโฮสต์ (Colonized host) จะมีการสร้างสารเมตาบอไลต์ต่าง ๆ ขึ้น ซึ่งอาจมีผลทำให้เกิดอาการอักเสบหรือเกิดโรคได้ (นิอร โฉมศรี, 2555)

ตารางที่ 3 จำนวน *S. aureus* ที่ตรวจพบในตัวอย่างซีพีเยี้ยวในแต่ละฤดูกาล

ตัวอย่าง	MPN <i>E. coli</i> (MPN/mL)			เกณฑ์มาตรฐาน (MPN/mL)
	ฤดูฝน	ฤดูหนาว	ฤดูร้อน	
โรงฆ่าสัตว์ 1	>1,100	>1,100	>1,100	<100
โรงฆ่าสัตว์ 2	>1,100	>1,100	>1,100	
ตลาดสด 1	>1,100	>1,100	>1,100	
ตลาดสด 2	>1,100	>1,100	>1,100	
ร้านริมทาง 1	>1,100	>1,100	>1,100	
ร้านริมทาง 2	>1,100	>1,100	>1,100	

สำหรับผลการตรวจวิเคราะห์หา *S. aureus* ในตัวอย่างซีพีเยี้ยวตามวิธีของ BAM (2001b) ภายหลังจากบ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ามี 4 ตัวอย่างที่เก็บในฤดูฝน ที่ตรวจพบการปนเปื้อนของ *S. aureus* ซึ่งพบในปริมาณที่น้อยกว่าค่าเกณฑ์มาตรฐานที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้ (คือ <100 /mL) โดยที่ตัวอย่างที่เก็บได้จากร้านจำหน่ายในตลาดสดพบการปนเปื้อนมากที่สุด ในขณะที่ตัวอย่างจากโรงฆ่าสัตว์และร้านริมทางมีปริมาณการปนเปื้อนที่ต่ำกว่า (ตารางที่ 4) ซึ่งสาเหตุของการปนเปื้อน *S. aureus* ในตัวอย่างซีพีเยี้ยวที่เก็บจากตลาดสดในช่วงฤดูฝนนี้ อาจมีสาเหตุจากกระบวนการขนส่ง ความสะอาดของสถานที่ หรือตัวผู้ปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้อง รวมถึงสภาวะแวดล้อม ได้แก่ ความชื้น อุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม และอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ พบว่ามีความสัมพันธ์กับความชุกของ *S. aureus* ในขณะที่ผลการตรวจวิเคราะห์หา *Salmonella* sp. ในตัวอย่างซีพีเยี้ยว นั้น พบว่าไม่พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ในตัวอย่างซีพีเยี้ยวที่เก็บมาจากทุกแหล่งและในทุกช่วงฤดูกาล (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้ คือต้องไม่พบปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ในผลิตภัณฑ์อาหารสดจากโค

ตารางที่ 4 จำนวน *S. aureus* ที่ตรวจพบในตัวอย่างซีพีเยวว์ในแต่ละฤดูกาล

ตัวอย่าง	จำนวน <i>S. aureus</i> (โคโลนี/mL)			เกณฑ์มาตรฐาน (โคโลนี/mL)
	ฤดูฝน	ฤดูหนาว	ฤดูร้อน	
โรงฆ่าสัตว์ 1	10±0.86	-	-	<100
โรงฆ่าสัตว์ 2	13±0.52	-	-	
ตลาดสด 1	71±3.55	-	-	
ตลาดสด 2	30±2.20	-	-	
ร้านริมทาง 1	-	-	-	
ร้านริมทาง 2	-	-	-	

หมายเหตุ: - หมายถึงไม่พบการปนเปื้อน

3. ผลการศึกษาจุลินทรีย์ชนิดเด่นในตัวอย่างซีพีเยวว์

การศึกษาด้านจุลินทรีย์ชนิดเด่นที่ตรวจพบในแต่ละตัวอย่างของซีพีเยวว์นั้น ได้พิจารณาจากความถี่ในการตรวจพบลักษณะทางสัณฐานของโคโลนีในทุกตัวอย่าง ซึ่งพบว่าส่วนใหญ่เป็นกลุ่มของแบคทีเรีย เมื่อทำการจัดจำแนกชนิด (Classification) โดยพิจารณาจากการติดสีย้อมแกรม และการศึกษาลักษณะของโคโลนีของเชื้อบริสุทธิ์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง ร่วมกับการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ได้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงจากการศึกษานี้สามารถคัดแยกแบคทีเรียชนิดเด่นได้ทั้งหมด 7 ไอโซเลท (ตารางที่ 5) โดยแบคทีเรียชนิดเด่นที่คัดแยกได้ในตัวอย่างซีพีเยวว์ที่เก็บมาในฤดูฝนมี 1 ไอโซเลท (ได้แก่ RA-1) ฤดูหนาว 2 ไอโซเลท (ได้แก่ WA-1 และ WA-2) และฤดูร้อน 4 ไอโซเลท (ได้แก่ SA-1, SA-2, SA-3 และ SB-1) และเมื่อจำแนกชนิดตามกลุ่มของแบคทีเรียพบว่า สามารถจัดเป็น Gram negative bacilli จำนวน 4 ไอโซเลท (RA-1, WA-2, SA-3 และ SB-1) จัดเป็น Gram positive bacilli จำนวน 2 ไอโซเลท (WA-1 และ SA-1) และ Gram positive cocci จำนวน 1 ไอโซเลท (SA-2)

การตรวจพบการปนเปื้อนแบคทีเรียพวก Gram negative bacilli ซึ่งถือเป็นกลุ่มแบคทีเรียชนิดเด่นที่ตรวจพบในทุกฤดูกาล โดยเมื่อพิจารณาผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการติดสีแกรม ร่วมกับการตรวจวิเคราะห์ MPN *Escherichia coli* ในตัวอย่างซีพีเยวว์ที่ตรวจวิเคราะห์ในแต่ละฤดูกาล พบว่าทุกตัวอย่างตรวจพบการปนเปื้อน *E. coli*

ในปริมาณที่เกินเกณฑ์มาตรฐานฯ ที่กำหนดไว้ในทุกตัวอย่าง ทำให้มีความเป็นไปได้ว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้น่าจะเป็น *E. coli* เนื่องจาก *E. coli* จัดเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ของมนุษย์ และสัตว์เลื้อยคืบ (ธารารัตน์ ซื่อตอฟ, 2558) จึงทำให้มีโอกาสในการปนเปื้อน *E. coli* สูงมากในชี้เพี้ยวัว

ตารางที่ 5 ลักษณะจุลินทรีย์ชนิดเด่นในตัวอย่างชี้เพี้ยวัว

ไอโซเลท	แกรม	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะเซลล์	การจัดจำแนกกลุ่ม
RA-1	Negative	รูปร่าง: Round	ขนาด: 2-3 μm	Gram negative bacilli
WA-2		ขอบ: Entire	รูปร่าง: Short-rod	
SA-3		ผิวหน้า: Smooth		
SB-1		ความนูน: Convex สี: Creamy-white		
WA-1	Positive	รูปร่าง: Irregular	ขนาด: 3-4 μm	Gram positive bacilli
		ขอบ: Undulate	รูปร่าง: Rod	
		ผิวหน้า: Smooth		
		ความนูน: Raised สี: Yellow		
SA-1	Positive	รูปร่าง: Round	ขนาด: 3-4 μm	Gram positive bacilli
		ขอบ: Entire	รูปร่าง: Rod,	
		ผิวหน้า: Smooth	Diplobacilli	
		ความนูน: Convex สี: Yellow		
SA-2	Positive	รูปร่าง: Round	ขนาด: 1-2 μm	Gram positive cocci
		ขอบ: Entire	รูปร่าง: Sphere	
		ผิวหน้า: Smooth		
		ความนูน: Convex สี: White		

จากผลการตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาในตัวอย่างชี้เพี้ยวครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า ฤดูกาลมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียชนิดเด่นแต่ละกลุ่ม (ชนิด) ทั้งนี้เนื่องจากในแต่ละฤดูกาลนั้นมีสภาวะแวดล้อมของอุณหภูมิและความชื้นในบรรยากาศที่แตกต่างกัน โดยธีระศักดิ์ สมดี (2556) กล่าวว่า ทั้งอุณหภูมิและความชื้นต่างเป็นปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์แต่ละกลุ่ม ซึ่งจุลินทรีย์แต่ละชนิดนั้นมีค่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญที่แตกต่างกันไป ด้วยเหตุนี้จึงทำให้การศึกษาค้นคว้าพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียชนิดเด่นในกลุ่มที่แตกต่างกันไปในแต่ละฤดูกาล

สรุปผลการวิจัย

ชี้เพี้ยวจัดเป็นส่วนประกอบในการปรุงอาหารท้องถิ่นหรืออาหารพื้นเมืองชนิดหนึ่ง ที่ให้รสชาติขมที่เป็นเอกลักษณ์ ในด้านโภชนาการพบว่าชี้เพี้ยวนั้นมีความชื้นเป็นองค์ประกอบหลัก และมีคาร์โบไฮเดรตเป็นสารอาหารหลักที่พบรองลงมา จากผลการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้พบว่าทั้งฤดูกาล สถานที่ผลิต (โรงฆ่าสัตว์) และแหล่งจำหน่ายชี้เพี้ยวมีผลต่อการแพร่กระจายเชื้อก่อโรค เช่น การตรวจพบการปนเปื้อน *S. aureus* ในตัวอย่างชี้เพี้ยวที่เก็บในฤดูฝน ในขณะที่ *E. coli* นั้นพบการปนเปื้อนสูงมากในทุกตัวอย่างที่เก็บในทุกฤดูกาล และมีปริมาณเกินค่าเกณฑ์มาตรฐานที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กำหนดไว้ ทั้งนี้เนื่องจาก *E. coli* จัดเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นที่พบได้ทั้งในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลื้อยคืบอยู่แล้ว จึงทำให้มีโอกาสสูงที่จะพบการปนเปื้อน *E. coli* ในปริมาณสูงในชี้เพี้ยว ดังนั้นการนำชี้เพี้ยวมาประกอบอาหารเพื่อบริโภคในรูปแบบไม่ปรุงสุกอาจเป็นการเพิ่มโอกาสเสี่ยงในการได้รับเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดสำคัญในกลุ่มโรคอาหารเป็นพิษแบบติดเชื้อ (Food infection) ซึ่งทำให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้ สำหรับแนวทางในการควบคุม ป้องกันหรือลดโอกาสการปนเปื้อน *E. coli* หรือเชื้อก่อโรคชนิดอื่น ๆ ในชี้เพี้ยวนั้นสามารถกระทำได้โดยผู้ปฏิบัติงานหรือผู้รับผิดชอบตั้งแต่กระบวนการผลิต การบรรจุ การจำหน่าย การเก็บรักษา และการประกอบอาหาร ซึ่งควรตระหนักถึงความปลอดภัยต่อสุขภาพของผู้บริโภคเป็นสำคัญ และควรเน้นให้ความสำคัญในเรื่องการประกอบอาหารแบบปรุงสุก รวมถึงการควบคุมทุกปัจจัยที่มีผลต่อสภาพทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ให้มีความเหมาะสมอยู่เสมอ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร ที่ให้การสนับสนุน ด้านทุนวิจัยจากทุนสนับสนุนสำหรับบุคลากรมหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร จากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2559 และสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร ที่ให้การสนับสนุนด้านห้องปฏิบัติการ ตลอดจนเครื่องมือต่าง ๆ ในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2560). *เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3 (พ.ศ.2560)*. สืบค้นเมื่อ 24 ตุลาคม 2564, จาก <http://bqsf.dmsc.moph.go.th/bqsfWeb/index.php/bio/>.
- ธารารัตน์ ชื่อดอพล. (2558). *จุลชีววิทยาทางอาหาร*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ธีระศักดิ์ สมติ. (2556). *จุลชีววิทยาพื้นฐาน*. ขอนแก่น: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- นันทวัน ฤทธิ์เดช และ งามนิจ นนทโส. (2551). *คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยาทั่วไป*. พิมพ์ครั้งที่ 2. ขอนแก่น: ขอนแก่นการพิมพ์.
- นิอร โฉมศรี. (2555). *จุลชีววิทยาทางอาหาร (Food Microbiology)*. เชียงใหม่: เชียงใหม่ปริ้นท์ติ้ง.
- วิศิษฐ์พร สุขสมบัติ. (2546). *เอกสารประกอบการสอนวิชาโภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง*. นครราชสีมา: สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- วีรานุช หลาง. (2552). *คู่มือตรวจวิเคราะห์ด้านจุลชีววิทยาทางอาหาร*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศูนย์การเรียนรู้อาหารไทย. (2560). *ลาบชม*. สืบค้นเมื่อ 2 มิถุนายน 2560, จาก http://www.thaifoodheritage.com/recipe_list/detail/54.
- สุกัญญา สุนทรส และ วิเชียร ริมพนิชยกิจ. (2553). *ชีวโมเลกุล*. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

- แสงอรุณ กนกพงศ์ชัย. (2546). *อาหาร: ทรัพย์และศิลป์แผ่นดินไทย (Thai cuisine : treasure and art of the land)*. กรุงเทพฯ: แพลน โมทีฟ.
- AOAC. (2016). *Official Method of Analysis*. The Association of Official Analytical Chemist. 20th ed. Gaithersburg, Maryland.
- Bacteriological Analytical Manual. (2001 a). *Chapter 3: Aerobic Plate Count*. Retrieved February 15, 2019, from <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063346.htm>.
- Bacteriological Analytical Manual. (2001b). *Chapter 12: Staphylococcus aureus*. Retrieved February 17, 2019, from <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071429.htm>.
- Bacteriological Analytical Manual. (2002). *Chapter 4: MPN Escherichia coli*. Retrieved February 17, 2019, from <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>.
- Kramarenko, T., Nurmoja, I., Meremae, K., Horman, A. & Roasto, M. (2013). The prevalence and serovar diversity of *Salmonella* in various food products in Estonia. *Food Control*. 42, 43 – 47.
- National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards. (2003). *Compendium of method for food analysis*. Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok.