



การตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์มและ *Escherichia coli* ในน้ำแข็งที่จำหน่ายบริเวณใกล้กับ
มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี

Detection of Coliform Bacteria and *Escherichia coli* in Ice nearby Burapha
University, Chonburi Province

สุดสายชล หอมทอง*

Sudsaichon Homthong*

เบญจวรรณ ชุมพินิจ**

Banjawan Chumpinich**

Received : October 10, 2019

Revised : January 24, 2020

Accepted : May 14, 2020

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้ทำการตรวจประเมินการปนเปื้อนของแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* ในน้ำแข็งบริเวณใกล้มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี ซึ่งเก็บตัวอย่างในเดือนมีนาคม-เมษายน พ.ศ. 2561 จำนวน 30 ตัวอย่าง (น้ำแข็งเกล็ด 15 ตัวอย่าง, น้ำแข็งหลอดบรรจุจากร้านสะดวกซื้อ 6 ตัวอย่าง, น้ำแข็งหลอดจากโรงงาน 9 ตัวอย่าง) ด้วยวิธี MPN พบว่าตัวอย่างน้ำแข็งหลอด 11 ตัวอย่าง (น้ำแข็งหลอดบรรจุจากร้านสะดวกซื้อ 2 ตัวอย่าง น้ำแข็งหลอดจากโรงงาน 9 ตัวอย่าง) ปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* เกินเกณฑ์มาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2547 ส่วนน้ำแข็งเกล็ดไม่พบการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการปนเปื้อนของแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* ในตัวอย่างน้ำแข็งหลอด ซึ่งอาจจะเสี่ยงต่อการเกิดโรคที่มาจากอาหารได้สูง

คำสำคัญ : น้ำแข็งเกล็ด / น้ำแข็งหลอด / แบคทีเรียโคลิฟอร์ม / *Escherichia coli*

*อาจารย์ประจำภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Lecturer at the Department of Microbiology Faculty of Science Burapha University

**นักศึกษาลัทธิสุตรสาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Students of the program in microbiology Faculty of Science Burapha University

ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate contamination of coliform bacteria and *E. coli* nearby Burapha University, Chonburi Province. during March to May 2018. Thirty sample (15 samples of ice scales from ice making machine, 6 samples of ice tube from convenience store and 9 samples of ice tube from ice-making plant) were analyzed for coliform bacteria and *E. coli* using MPN method. The result showed that 11 samples (2 samples of ice tube from convenience store and 9 sample of ice tube from ice-making plant) were contaminated with coliform bacteria and *E. coli* higher than standard recommended by the department of medical science (2004) for ice. Coliform bacteria and *E. coli* were not found in all sample of ice scales from ice making machine. These result demonstrate that contamination of coliform and *E. coli* in ice tube samples suggest that the risk of foodborne illness from ice tube is high

Keywords : Ice Scales / Ice Tube / Coliform Bacteria / *Escherichia coli*

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีอากาศร้อน สภาพอากาศร้อนเช่นนี้น้ำแข็งจึงเป็นผลิตภัณฑ์หนึ่งซึ่งเข้ามามีบทบาทสำคัญในชีวิตประจำวันของทุกคน เพราะน้ำแข็งจะช่วยบรรเทาให้คลายร้อนจึงเป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลาย นอกจากจะนำน้ำแข็งมารับประทานโดยตรงแล้ว ยังมีกรนำน้ำแข็งมาใช้ประโยชน์ได้หลายทาง เช่น ผสมเครื่องดื่ม ใช้แช่อาหารสดเพื่อถนอมอาหาร รักษาสภาพของอาหาร และใช้ในอุตสาหกรรมประมง เป็นต้น ในปัจจุบันมีน้ำแข็งรูปแบบต่างๆ มาจำหน่ายไม่ว่าจะเป็นหลอดเล็ก หลอดใหญ่ น้ำแข็งบดและน้ำแข็งเกล็ด เป็นต้น แต่น้ำแข็งเกล็ดได้รับความนิยมและเป็นที่ชื่นชอบของผู้บริโภค ทุกเพศทุกวัย โดยเฉพาะเมื่อนำมาใช้กับน้ำหวาน เนื่องจากมีลักษณะเป็นก้อนทรงกระบอกผลิตโดยผ่านชุดทำน้ำแข็ง 2 ชั้น ที่มีเกลียวกักน้ำแข็งผ่านระบบทำความเย็นที่ทำให้น้ำแข็งมีความหนาแน่นของน้ำประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ จึงทำให้มีลักษณะกรอบ มีคุณสมบัติพิเศษคือให้ความเย็นที่เร็วและน้ำแข็งเป็นเกล็ดมีอุณหภูมิไม่หนาแน่นจึงละลายได้เร็วด้วยเอกลักษณ์ที่ความกรอบสามารถเคี้ยวเล่นได้ (จรัส, 2555) เนื่องจากน้ำแข็งเป็นอาหารที่สามารถบริโภคได้โดยไม่ต้องนำมาปรุงด้วยความร้อนด้วยเหตุนี้เมื่อมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ก่อโรคในน้ำแข็งก็อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค ทำให้ผู้บริโภคเจ็บป่วยและอาจเสียชีวิตได้

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (2558) ได้ระบุว่า *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งในกลุ่มที่โคลิฟอร์มนิยมใช้เป็นจุลินทรีย์บ่งชี้สุขภาพและการผลิตอาหารและน้ำดื่ม พบได้ทั่วไปตามสิ่งแวดล้อมและระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ การตรวจด้วยวิธี MPN หรือ multiple tube fermentation technique เป็นการวิเคราะห์ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียโคลิฟอร์มโดยอาศัยความสามารถในการย่อยสลายอาหารให้เกิดกรดและก๊าซในหลอดทดลอง จากนั้นนำจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกไปอ่านค่าในตาราง MPN (MPN index) ซึ่งแสดงปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มที่ตรวจพบในตัวอย่าง ค่าในตาราง MPN เป็นค่าจากการทดลองและคำนวณผลด้วยวิธีทางสถิติบ่งบอกปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มที่มีโอกาสตรวจพบได้ในน้ำโดยตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 78 (พ.ศ. 2527) และฉบับที่ 137 (พ.ศ. 2534) ได้กำหนดมาตรฐานของน้ำแข็งไทยไว้ดังนี้ *E. coli* ต้องไม่พบเลยในน้ำแข็งและแบคทีเรียโคลิฟอร์มต้องน้อยกว่า 2.2 MPN/100 มิลลิลิตร และต้องไม่พบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคทุกชนิดถ้าหากมีการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในน้ำแข็งก็อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคทำให้ผู้บริโภคเจ็บป่วยและอาจเสียชีวิตได้ จากการสำรวจของสำนักงาน

คณะกรรมการอาหารและยา (2545) ได้รายงานการศึกษาคุณภาพทางด้านแบคทีเรียของน้ำแข็งสำหรับบริโภค พบว่าน้ำแข็งหลอดที่ผลิตและจำหน่ายในท้องตลาดภายในประเทศมีคุณภาพต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่ได้กำหนดไว้แทบทั้งสิ้นมักพบการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์เช่นแบคทีเรียโคลิฟอร์มในปริมาณสูงเกินกว่ามาตรฐานกำหนด และยังพบการปนเปื้อน *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* และ *Salmonella* spp. อีกด้วย นอกจากนี้อำพร ทองศรีสุข (2555) ได้ศึกษาคุณภาพของน้ำแข็งบดจากโรงงานน้ำแข็งที่ตั้งอยู่ในเขต ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี จำนวน 15 ตัวอย่าง จาก 5 โรงน้ำแข็ง ซึ่งเก็บตัวอย่างในเดือน พฤศจิกายน-ธันวาคม พ.ศ. 2554 พบว่าน้ำแข็งบดทั้ง 15 ตัวอย่าง (100 เปอร์เซ็นต์) ตรวจพบปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มเกินมาตรฐาน พบ *E. coli* 12 ตัวอย่าง (80 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งโอกาสในการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคเหล่านี้มีเกือบทุกขั้นตอนของการผลิตตั้งแต่หน้าที่ใช้ผลิตน้ำแข็ง การปนเปื้อนระหว่างการผลิต ผู้ปฏิบัติงานมีสุขอนามัยไม่ดีพอโดยที่ไม่มีการล้างมือให้สะอาดก่อนการปฏิบัติงาน รวมไปถึงไม่ได้ดูแลบริเวณการผลิตและบรรจุภัณฑ์ให้สะอาดอยู่เสมอ นอกจากนี้ยังอาจมีสาเหตุจากขั้นตอนการฆ่าเชื้อและทำความสะอาดที่ไม่มีประสิทธิภาพดีพอทำให้ระบบอุปกรณ์ส่งน้ำอาจเกิดความหมักหมมจนเป็นแหล่งแพร่กระจายของแบคทีเรียดังกล่าว

ผู้วิจัยจึงได้สนใจที่จะศึกษาการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของน้ำแข็งเกล็ดสำหรับบริโภคจากเครื่องทำน้ำแข็งเกล็ดและเป็นเครื่องจ่ายน้ำแข็งในตู้ น้ำแข็งหลอดบรรจุถุงที่มีเครื่องหมายทางการค้าที่จำหน่ายในร้านสะดวกซื้อและน้ำแข็งหลอดจากโรงงานใกล้กับบริเวณมหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี เพื่อเปรียบเทียบชนิดของน้ำแข็งว่ามีการปนเปื้อนของแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* ต่างกันอย่างไร และมีการปนเปื้อนเกินกว่ามาตรฐานหรือไม่

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่าง (Sampling) (APHA, 2012)

ตัวอย่างน้ำแข็งเกล็ดจากเครื่องทำน้ำแข็งในร้านสะดวกซื้อ 15 ตัวอย่าง น้ำแข็งหลอดบรรจุถุงที่มีเครื่องหมายทางการค้า 6 ตัวอย่าง ในร้านสะดวกซื้อ และน้ำแข็งหลอดจากโรงงาน 9 ตัวอย่างวิธีการเก็บตัวอย่างคือ นำตัวอย่างใส่ลงในกล่องโฟมที่สามารถเก็บความเย็นได้ จากนั้นนำตัวอย่างมาอังห้องปฏิบัติการทันที เมื่อจะทำการวิเคราะห์ให้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้น้ำแข็งละลายให้ได้ปริมาณไม่น้อยกว่า 100 มิลลิลิตร จากนั้นเทใส่ขวดดูแวนที่ปราศจากเชื้อ แล้วเขย่าให้เข้ากัน 25 ครั้ง แล้วจึงทำการตรวจวิเคราะห์

2. การตรวจปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* โดยวิธี MPN (APHA, 2012)

2.1 การตรวจสอบเบื้องต้น (presumptive phase) ปิเปตตัวอย่างเริ่มต้นลงใน Lauryl tryptose (LST) broth ความเข้มข้น 2 เท่า หลอดละ 10 มิลลิลิตร จำนวน 10 หลอด (MPN แบบ 10 หลอด) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24±2 ชั่วโมง อ่านและบันทึกผล ผลบวก: เกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซหรือเกิดฟองก๊าซเมื่อเขย่าหลอด ผลลบ: ไม่เกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ (ถ้าให้ผลลบ นำไปบ่มเพิ่มอีก 24 ชั่วโมง อ่านและบันทึกผลที่ 48±3 ชั่วโมง)

2.2 การตรวจยืนยัน (confirmed phase) สำหรับแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ถ่ายเชื้อจากหลอด LST broth ที่ให้ผลบวกลงใน Brilliant Green Bile (BGLB) broth 1 loop โดยทำหลอดต่อหลอด บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 48±3 ชั่วโมง ผลบวก: เกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ ผลลบ: ไม่เกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ อ่านและบันทึกผลจำนวนหลอด BGLB broth ที่ให้ผลบวก นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับตาราง MPN

2.3 การตรวจยืนยันขั้นสมบูรณ์ว่าเป็น *E. coli* ถ่ายเชื้อจากหลอด LST broth ที่ให้ผลบวกลงใน Escherichia coli broth (EC broth) 1 loop โดยทำหลอดต่อหลอด บ่มที่อุณหภูมิ 45.5 องศาเซลเซียส

ปีที่ 7 ฉบับที่ 1 มกราคม - มิถุนายน 2563

นาน 24±2 ชั่วโมง ผลบวก: เกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ ผลลบ: ไม่เกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ (ถ้าให้ผลลบ นำไปบ่มเพิ่มอีก 24 ชั่วโมง อ่านและบันทึกผลที่ 48±2 ชั่วโมง) อ่านและบันทึกผลจำนวนหลอด EC broth ที่ให้ผลบวก นำ EC broth ที่ให้ผลบวกแต่ละหลอด มาขีดบน EMB agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง เลือกโคโลนีลักษณะแบนและมีสีดำตรงกลาง มีหรือไม่มี metallic sheen 1-3 โคโลนี จากแต่ละจาน เพาะเชื้อมาขีดบน Plate count agar (PCA) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง นำเชื้อจาก PCA slant มาย้อม สีแกรม กรณีที่พบเชื้อแกรมลบ รูปท่อนสั้น ให้ นำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี IMViC Test ขั้นตอนต่อไป โดยคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *E. coli* โดยวิธี IMViC Test จะให้ผลคือ ++ -- หรือ -- ++ ตามลำดับ บันทึกจำนวนหลอด EC broth ที่ได้ผลการตรวจยืนยันขั้นสมบูรณ์ว่าเป็น *E. coli* และนำผลบวกที่ได้ไปเทียบกับตาราง Most Probable Number (MPN)

ผลการวิจัย

การตรวจหาปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* ในน้ำแข็ง

จากการเก็บตัวอย่างน้ำแข็งที่จำหน่ายบริเวณใกล้กับมหาวิทยาลัยบูรพา ในช่วงเดือน มีนาคม-เมษายน พ.ศ. 2561 จำนวน 30 ตัวอย่าง โดยจำแนกเป็น น้ำแข็งเกล็ด 15 ตัวอย่าง น้ำแข็งหลอดบรรจุลงในร้านสะดวกซื้อ 6 ตัวอย่าง และน้ำแข็งหลอดจากโรงงานน้ำแข็ง 9 ตัวอย่าง นำมาตรวจหาปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* โดยวิธีการ MPN ซึ่งพบว่า จากการตรวจวิเคราะห์พบว่าน้ำแข็งเกล็ดทุกตัวอย่างตรวจไม่พบแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* แสดงดังตารางที่ 1 การตรวจน้ำแข็งหลอดบรรจุลงในร้านสะดวกซื้อ พบว่ามี 3 ตัวอย่าง คิดเป็น 50 เปอร์เซ็นต์ ตรวจพบแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ ตรวจพบ *E. coli* ตัวอย่าง คิดเป็น 33.33 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังตารางที่ 2 สำหรับการตรวจน้ำแข็งหลอดจากโรงงาน พบว่าทั้ง 9 ตัวอย่าง คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ตรวจพบแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* แสดงดังตารางที่ 3

สำหรับปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียโคลิฟอร์มและ *E. coli* ที่ปนเปื้อนในน้ำแข็งเกล็ด น้ำแข็งหลอดจากร้านสะดวกซื้อ และน้ำแข็งหลอดจากโรงงานบริเวณใกล้กับมหาวิทยาลัยบูรพาพบว่าทั้งปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มและ *E. coli* ในน้ำแข็งหลอดจากโรงงานมีปริมาณเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 23 และ 6.97 MPN/100ml ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 1

เมื่อนำผลการตรวจและหาปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* มาเปรียบเทียบกับประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 285 พ.ศ. 2547 เกินเกณฑ์มาตรฐาน ได้กำหนดเกี่ยวกับคุณภาพทางจุลชีววิทยาในน้ำแข็งไว้ว่าต้องตรวจพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มน้อยกว่า 2.2 MPN/100ml และต้องไม่พบ *E. coli* โดยวิธี MPN พบว่า ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำแข็งจำนวน 30 ตัวอย่าง มีน้ำแข็งจำนวน 12 ตัวอย่าง คิดเป็น 40.00 เปอร์เซ็นต์ ตรวจพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มซึ่งมีปริมาณเชื้ออยู่ที่ 2.2->23 MPN/100ml และ 11 ตัวอย่าง คิดเป็น 36.67 เปอร์เซ็นต์ ตรวจพบ *E. coli* มีปริมาณเชื้ออยู่ที่ 2.2->9.6 MPN/100ml ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 78 (พ.ศ.2527) ที่กำหนดไว้โดยมีปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* เกินมาตรฐาน แสดงดังตารางที่ 1-3

ตารางที่ 1 ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* ที่ปนเปื้อนในน้ำแข็งเกล็ดจากเครื่องในร้านสะดวกซื้อ

ตัวอย่าง	MPN/100 ml		มาตรฐาน กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*
	แบคทีเรียโคลิฟอร์ม	<i>E. coli</i>	
1	<1.1	<1.1	ผ่าน
2	<1.1	<1.1	ผ่าน
3	<1.1	<1.1	ผ่าน
4	<1.1	<1.1	ผ่าน
5	<1.1	<1.1	ผ่าน
6	<1.1	<1.1	ผ่าน
7	<1.1	<1.1	ผ่าน
8	<1.1	<1.1	ผ่าน
9	<1.1	<1.1	ผ่าน
10	<1.1	<1.1	ผ่าน
11	<1.1	<1.1	ผ่าน
12	<1.1	<1.1	ผ่าน
13	<1.1	<1.1	ผ่าน
14	<1.1	<1.1	ผ่าน
15	<1.1	<1.1	ผ่าน

*กระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 78 (พ.ศ.2527) อนุญาตให้พบแบคทีเรียโคลิฟอร์มน้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml และ ต้องไม่พบ *E. coli* ในน้ำแข็ง

ตารางที่ 2 ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* ที่ปนเปื้อนในน้ำแข็งหลอดจากร้านสะดวกซื้อ

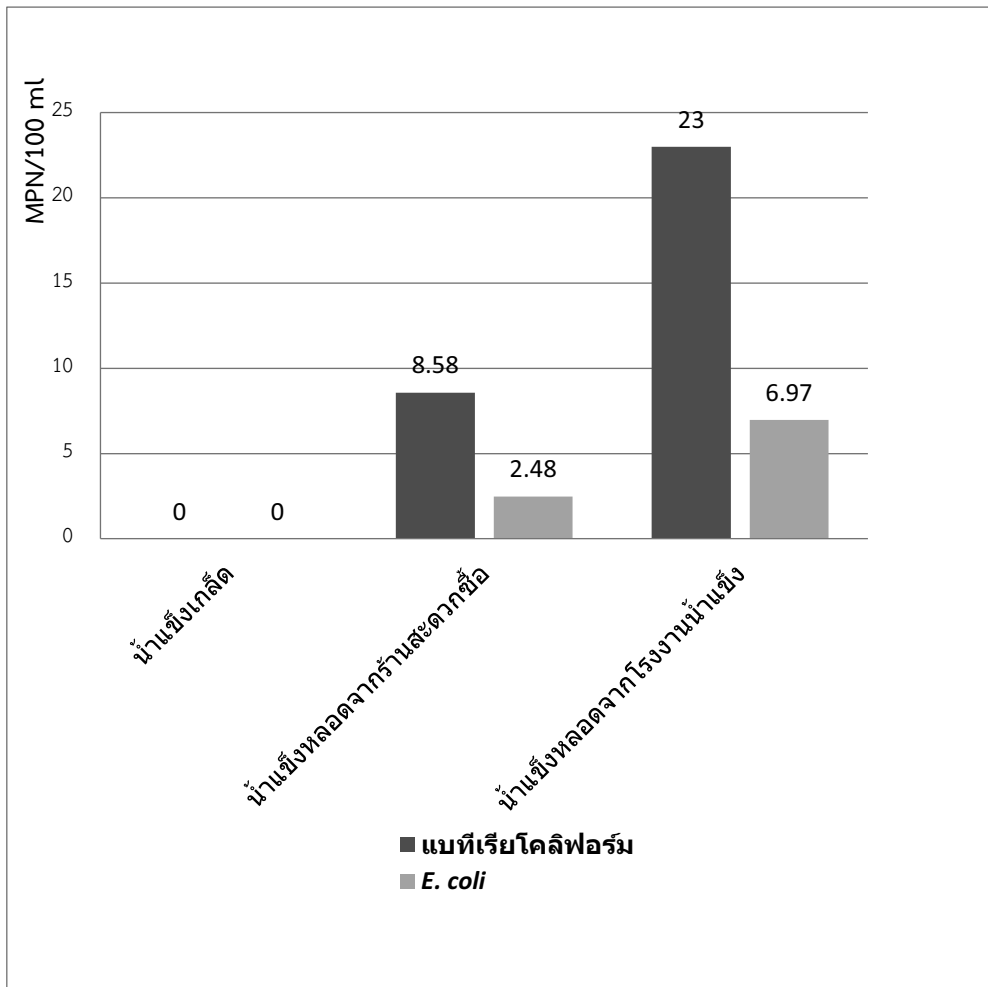
ตัวอย่าง	MPN/100 ml		มาตรฐาน กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*
	แบคทีเรียโคลิฟอร์ม	<i>E. coli</i>	
1	<1.1	<1.1	ผ่าน
2	<1.1	<1.1	ผ่าน
3	<1.1	<1.1	ผ่าน
4	2.2	<1.1	ไม่ผ่าน
5	>23	6.9	ไม่ผ่าน
6	23	3.6	ไม่ผ่าน

*กระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 78 (พ.ศ.2527) อนุญาตให้พบแบคทีเรียโคลิฟอร์มน้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml และ ต้องไม่พบ *E. coli* ในน้ำแข็ง

ตารางที่ 3 ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* ที่ปนเปื้อนในน้ำแข็งหลอดจากโรงงาน

ตัวอย่าง	MPN/100 ml		มาตรฐาน กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*
	แบคทีเรียโคลิฟอร์ม	<i>E. coli</i>	
1	>23	9.2	ไม่ผ่าน
2	>23	5.1	ไม่ผ่าน
3	>23	6.9	ไม่ผ่าน
4	>23	9.2	ไม่ผ่าน
5	>23	3.6	ไม่ผ่าน
6	>23	6.9	ไม่ผ่าน
7	>23	9.2	ไม่ผ่าน
8	>23	6.9	ไม่ผ่าน
9	>23	5.1	ไม่ผ่าน

*กระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 78 (พ.ศ.2527) อนุญาตให้พบแบคทีเรียโคลิฟอร์มน้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml และ ต้องไม่พบ *E. coli* ในน้ำแข็ง



ภาพที่ 1 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* ที่ปนเปื้อนในน้ำแข็งเกล็ดน้ำแข็งหลอดจากร้านสะดวกซื้อ และน้ำแข็งหลอดจากรองานบริเวณใกล้กับมหาวิทยาลัยบูรพา

อภิปรายผล

จากการตรวจหาปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* ในน้ำแข็งจำนวน 30 ตัวอย่าง ซึ่งจำแนกเป็นน้ำแข็งเกล็ดจำนวน 15 ตัวอย่าง น้ำแข็งหลอดบรรจุจากร้านสะดวกซื้อ 6 ตัวอย่าง และน้ำแข็งหลอดจากโรงงานน้ำแข็ง 9 ตัวอย่าง ด้วยวิธี MPN พบว่ามีน้ำแข็งเกล็ดจากเครื่องผลิตน้ำแข็งที่จำหน่ายในร้านสะดวกซื้อทุกตัวอย่างตรวจไม่พบแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* ทั้งนี้เนื่องจากเครื่องผลิตน้ำแข็งเกล็ดใช้น้ำประปาแล้วนำน้ำประปาดังกล่าวมาผ่านเครื่องกรองในเครื่องที่มีสารกรองคาร์บอน ซึ่งสามารถกรองตะกอน กลิ่น สี คลอรีน สารอินทรีย์ และ สารกรอง เรซิน เพื่อกรองหินปูน ลดความกระด้างในน้ำ ดูดซับสี กรองคลอรีนและจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมากับน้ำประปาได้ระดับหนึ่ง และผู้ปฏิบัติงานในร้านสะดวกซื้อยังเช็ดทำความสะอาดเครื่องผลิตน้ำแข็งทุกวันด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อจึงอาจทำให้ไม่มีเชื้อตกค้าง รวมทั้งเครื่องผลิตน้ำแข็งเกล็ดเป็นการผลิตระบบปิดขนาดเล็กซึ่งแต่ละในขั้นตอนการผลิตจะเสี่ยงต่อการปนเปื้อนได้น้อย นอกจากนี้น้ำแข็งยังไม่ผ่านการบรรจุลงถุงและไม่ผ่านการขนส่งที่เสี่ยงที่เสี่ยงต่อการปนเปื้อนอีกด้วย

จากการตรวจวิเคราะห์น้ำแข็งหลอดบรรจุจากร้านสะดวกซื้อ พบว่ามี 3 ตัวอย่าง (50 เปอร์เซ็นต์) ตรวจพบปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม 2.2->23 MPN/100 ml และพบปริมาณ *E. coli* 3.6-6.9 MPN/100 ml 2 ตัวอย่าง (33.33 เปอร์เซ็นต์) และตรวจวิเคราะห์น้ำแข็งหลอดจากโรงงาน พบว่าทั้ง 9 ตัวอย่าง (100 เปอร์เซ็นต์) ตรวจพบการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* โดยมีปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม >23 MPN/ml และ *E. coli* 3.6-9.1 MPN/100 ml จะเห็นได้ว่าน้ำแข็งหลอดจากโรงงาน มีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* ที่สูงกว่า แสดงถึงคุณภาพของน้ำแข็งที่ต่ำ ส่วนในน้ำแข็งหลอดบรรจุจากร้านสะดวกซื้อ พบการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* ที่น้อยกว่า เนื่องจากต้องปฏิบัติตามการควบคุมการผลิตที่ถูกต้องอย่างเคร่งครัด รวมทั้งการควบคุมสุขลักษณะส่วนบุคคลของผู้ปฏิบัติงานตามหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิต หรือ จีเอ็มพี (GMP : Good Manufacturing Practice) ซึ่งสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้กำหนดไว้ในประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 193) พ.ศ. 2543 เรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร ตามหลักเกณฑ์ที่ดีในการผลิตอาหารว่าด้วยสุขลักษณะทั่วไป แต่อาจจะมี การปนเปื้อนได้หากผู้ปฏิบัติงานละเลยการทำความสะอาดและปฏิบัติไม่ถูกสุขลักษณะ ซึ่งจากรายงานวิจัยของสุรชัย และคนอื่นๆ (2551) ได้ศึกษาการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* ในขั้นตอนการผลิตน้ำดื่มและน้ำแข็งในโรงงานผลิตน้ำดื่มและน้ำแข็งโดยสาเหตุที่มีการปนเปื้อนนั่นคือมีการใช้คลอรีนกำจัดเชื้อไม่ถูกต้อง การล้างอุปกรณ์ใส่กรองไม่ทำทุกวัน น้ำที่ใช้ล้างทำความสะอาด ถัง ผ่าถัง มีแบคทีเรียโคลิฟอร์มปนเปื้อน ถึงพักน้ำสะอาดเปิดโล่งเสี่ยงต่อการปนเปื้อนได้ง่าย คนงานไม่สวมชุดป้องกันและมีการเดินเข้าออกบริเวณผลิตน้ำแข็งตลอดเวลา และจากรายงานวิจัยของศิริทิพย์ และคนอื่นๆ (2543) พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* ในน้ำแข็งบดจากโรงงานปริมาณสูงจากถังที่ใช้สำหรับบรรจุน้ำแข็งสำหรับขนส่งอีกด้วยหรืออาจมาจากคนงานไม่มีสุขลักษณะที่ดีในการปฏิบัติงาน

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำแข็งจำนวน 30 ตัวอย่าง พบว่ามีน้ำแข็งจำนวน 12 ตัวอย่าง คิดเป็น 40.00 เปอร์เซ็นต์ ตรวจพบแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ 11 ตัวอย่าง คิดเป็น 36.67 เปอร์เซ็นต์ ตรวจพบ *E. coli* ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 285 พ.ศ. 2547 ได้กำหนดเกี่ยวกับคุณภาพทางจุลชีววิทยาในน้ำแข็ง คืออนุญาตให้ตรวจพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มไม่เกิน 2.2 MPN/100 ml และต้องไม่พบ *E. coli* และเชื้อก่อโรคชนิดอื่นโดยวิธี MPN ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน้ำแข็งหลอดจากโรงงานที่นำมาตรวจมีคุณภาพทางจุลชีววิทยาที่ต่ำที่สุด เมื่อเทียบกับน้ำแข็งหลอดในร้านสะดวกซื้อและน้ำแข็งเกล็ด โดยตรวจพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มเกินมาตรฐาน และพบ *E. coli* ทุกตัวอย่าง ซึ่งจากผลการพบแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* ในน้ำแข็งนี้ นี้สอดคล้องกับรายงานของผกาทิพย์ (2543) ที่ตรวจพบแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* เกินเกณฑ์มาตรฐานทุกตัวอย่างในน้ำแข็งบรรจุลงในเขตเทศบาลนครขอนแก่น นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับ จารุวรรณ (2546) ที่ได้ศึกษาคุณภาพของน้ำแข็งที่จำหน่ายในตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี โดยมีตัวอย่างน้ำแข็งที่นำมาตรวจวิเคราะห์ทั้งสิ้น 15 ตัวอย่าง แบ่งเป็นน้ำแข็งหลอดบรรจุที่มีเครื่องหมายการค้า 5 ตัวอย่าง และน้ำแข็งบดที่ไม่มีเครื่องหมายการค้าจำนวน 10 ตัวอย่าง โดยทำการตรวจ 2 ครั้ง คือทำการตรวจในเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม พ.ศ. 2544 พบว่าในเดือนพฤศจิกายนมีน้ำแข็งที่ปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มเกินมาตรฐาน 11 ตัวอย่าง (73.33 เปอร์เซ็นต์) และพบ *E. coli* 9 ตัวอย่าง (60 เปอร์เซ็นต์) ในเดือนธันวาคม มีน้ำแข็งที่ปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มเกินมาตรฐาน 9 ตัวอย่าง (4.45 เปอร์เซ็นต์) และพบ *E. coli* 5 ตัวอย่าง (33.33 เปอร์เซ็นต์) รวมทั้งยังสอดคล้องกับภรณ์การ์ (2558) ที่ได้ศึกษาคุณภาพของน้ำแข็งจากร้านจำหน่ายเครื่องดื่มรอบมหาวิทยาลัยนครสวรรค์ จังหวัดพิษณุโลก จำนวน 30 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างน้ำแข็งทั้งหมด (100 เปอร์เซ็นต์) มีการปนเปื้อนแบคทีเรียทั้งหมดเกินเกณฑ์มาตรฐานและตัวอย่างทั้งหมด

(100 เปอร์เซ็นต์) มีการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มเกินเกณฑ์มาตรฐาน สำหรับการตรวจพบกลุ่มแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้ อาจมีสาเหตุมาจากน้ำที่ใช้ผลิตน้ำแข็งได้มีเชื้อดังกล่าวปนเปื้อนอยู่ ดังรายงานการพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียดังกล่าวในน้ำที่นำมาผลิตน้ำแข็งในประเทศไนจีเรียซึ่งมีการตรวจพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มอยู่ในช่วง <math>< 2-110 \text{ MPN}/100 \text{ ml}</math> และยังตรวจพบ *E. coli* 2 ตัวอย่าง (Shamsuddeen., et al., 2010) นอกจากนี้ อาจเนื่องมาจากอุปกรณ์เครื่องใช้ในขั้นตอนการผลิต สถานที่ไม่สะอาด ภาชนะที่ใช้บรรจุน้ำแข็งไม่สะอาด หรือเชื้ออาจติดมากับมือของผู้ปฏิบัติงาน (กรรณิการ์, 2558) หากบริโภคน้ำแข็งที่ปนเปื้อน *E. coli* อาจทำให้เกิดโรคร่วมกับผู้บริโภคได้ เนื่องจาก *E. coli* บางสายพันธุ์ เช่น Enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) สามารถก่อให้เกิดอาการที่รุนแรง ทำให้เกิดโรคโดยการสร้างและปล่อยสารพิษชื่อ Shiga toxin ซึ่งสามารถทำลายเม็ดเลือดแดงและไตได้ (อรอนงค์, 2556) เชื้อ EHEC มีหลายสายพันธุ์ เช่น สายพันธุ์ *E. coli* O157: H7 และ *E. coli* serogroup O104 หากผู้บริโภคได้รับเชื้อ *E. coli* ในปริมาณมากอาจทำให้เกิดอาการไข้ หนาวสั่น ปวดศีรษะ ท้องเสีย อาเจียน มีอาการชาต่อน้ำ (ภัทรชัย, 2549) อาการของระบบทางเดินอาหารที่รุนแรง อุจจาระเหลวมักมีเลือดปน หรือมีมูกเลือดอาจเป็นอันตรายแก่ชีวิตจากไตวาย ซึ่งมักพบกับเด็กเล็ก พบได้ 3-7 เปอร์เซ็นต์ ของผู้ที่ติดเชื้อ ผู้ป่วยส่วนใหญ่จะหายภายใน 10 วัน (อรอนงค์, 2556) ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคน้ำแข็ง ผู้บริโภคควรตระหนักถึงความสะอาดของน้ำแข็งหลอดที่ผลิตจากโรงงาน เนื่องจากพบการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* มากที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ และงบประมาณในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- กรณีการ์ เครื่องชง. (2558). การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของน้ำแข็งจากร้านจำหน่ายเครื่องดื่มรอบ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรี มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- จรัส บุญยธรรมมา. (2555). เครื่องทำน้ำแข็งเกล็ด ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล. [Online]. Available : <http://www.rmutphysics.com/charud/howstuffwork/howstuff2/icemaker/icemakersthai3.htm> [2561, มีนาคม 9].
- จารุวรรณ สุขสุวรรณพร. (2544). คุณภาพทางจุลชีววิทยาของน้ำแข็งในตลาดหนองมนและตลาดชลบุรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ผกาทิพย์ หนองหารพิทักษ์. (2543). คุณภาพน้ำแข็งบรรจุซองในเขตเทศบาลนครขอนแก่น. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ภัทรชัย กิรติสิน. (2549). ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์. กรุงเทพฯ : วี. เจ. พริน ตั้ง.
- วิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, กรม. (2558). วิธีตรวจวิเคราะห์ Coliforms, Fecal coliforms และ *E. coli* ในน้ำและน้ำแข็งโดยวิธี MPN, วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหารเล่ม 3. กรุงเทพฯ : สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ.
- ศิรินทิพย์ อินทร์ชัย, สมชาย สิทธิโอภากุล และกรุณา ตีรสมิทธิ์. (2543). คุณภาพน้ำแข็งในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ [Online Serial], 42. Available : <http://www.newton-ice.com/index.php/ice-machine-nt505.html> [2561, มีนาคม 9].
- สุรัชย์ ศิลาวรรณ และคนอื่นๆ. (2551). การปนเปื้อนเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ในการผลิตน้ำดื่มและน้ำแข็งในเขตตรวจราชการ 13 ปี 2549. วารสารวิชาการเสริมสาธารณสุข, 17(3), 412-421.
- อาหารและยา กองพัฒนาศักยภาพผู้บริโภค, สำนักงานคณะกรรมการ. (2545). อย.คุมเข้ม ผู้ผลิตน้ำแข็งหลอดปฏิบัติให้ได้คุณภาพมาตรฐาน. [Online]. Available : <http://elib.fda.moph.go.th/elib/cgi-bin/opacexe.exe?op> [2561, มีนาคม 9].
- อาหารและยา, สำนักงานคณะกรรมการ. (2545). ปัญหาและแนวทางการแก้ไขการผลิตน้ำแข็ง. [Online]. Available : <http://food.fda.moph.go.th/data/trademain/1-4ice.pdf> [2561, มีนาคม 8].
- อรอนงค์ พริ้งศุลกะ. (2556). จุลชีววิทยาทางการแพทย์ : แบคทีเรียก่อโรค. (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ : จรัสสินทวงศ์การพิมพ์.
- อำพร ทองศรีสุข. (2555). การตรวจและหาปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *Escherichia coli* ในน้ำแข็งบดที่ตั้งอยู่ในเขตตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยบูรพา.
- American Public Health Association (APHA). (2012). **Standard Method for the Examination of Water and Wastewater.** (22 nd ed.). Washington DC : American Public Health Association (APHA).
- Shamsuddeen, U., et al. (2010). Bacteriological quality of water used for ice making in some parts of Kano metropolis, Nigeria. *Bayero journal of pure and applied science*, 3(1), 199-201.