รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองสิ้นสุดปี 2555

1. ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตผักขะแยงในเขตพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี

2. โครงการวิจัย ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* และ *Salmonella* spp.

กิจกรรม ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* และ *Salmonella* spp. และสารพิษตกค้างในระบบการผลิตผักขะแยงจังหวัดอุบลราชธานี

กิจกรรมย่อย ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* และ *Salmonella* spp. และสารพิษตกค้างในระบบการผลิตผักขะแยงจังหวัดอุบลราชธานี

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* และ *Salmonella* spp. ในระบบการผลิตผักขะแยงจังหวัดอุบลราชธานี

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	นางนาตยา จันทร์ส่อง	สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4
ผู้ร่วมงาน	นางนวลจันทร์ ศรีสมบัติ	สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4
	นางสาวสุพัตรา สุภาการ	สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4
	นายอิทธิพล บ้งพรม	สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4
	นางโสภิตา สมคิด	สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4
	นางรัชดาวัลย์ สิริธนิตนันท์	สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

บทคัดย่อ

ปี 2554-2555 กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต ได้ดำเนินการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* และ *Salmonella* spp. ในระบบการผลิตผักขะแยงจังหวัดอุบลราชธานี โดยการคัดเลือกแปลงปลูกผักขะแยงในพื้นที่ตำบลบุ่งหวาย อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานีเข้าโครงการจำนวน 19 ราย จากนั้นดำเนินการสุ่มเก็บตัวอย่างผักขะแยง น้ำเพาะปลูก ดินเพาะปลูก และน้ำล้างผักขะแยง จากแปลงเกษตรกร 10 ตัวอย่างต่อราย นำมาตรวจวิเคราะห์หาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella* spp. และ *E.coli* และสุ่มเก็บตัวอย่างผักขะแยงจากตลาดในจังหวัดอุบลราชธานีจำนวน 60 ตัวอย่าง เพื่อตรวจสอบหาเชื้อ *E.coli* และ *Salmonella* spp. ผลการตรวจสอบพบว่าตัวอย่างผักขะแยง ดินเพาะปลูก น้ำเพาะปลูก และน้ำล้างผักในระบบการผลิตผักขะแยง ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ปนเปื้อนในผักขะแยงทุกตัวอย่างที่เก็บมาจากแปลงเกษตรกร 19 ราย แต่พบไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน ปริมาณที่พบ <10-60 cfu/g และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในผักขะแยงทุกตัวอย่าง สำหรับตัวอย่างดินและน้ำตรวจไม่พบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ทุกตัวอย่าง พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E.coli* ทุกตัวอย่าง แต่พบในปริมาณน้อยซึ่งสามารถตรวจพบได้ตามธรรมชาติ และผลการตรวจสอบผักขะแยงจากแหล่งจำหน่ายต่างๆภายในจังหวัดอุบลราชธานี 60 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ทุกตัวอย่าง แต่ตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อ *E.coli* ทุกตัวอย่าง โดยพบปนเปื้อนเกินเกณฑ์มาตรฐาน 18 ตัวอย่าง คิดเป็น 60% ของตัวอย่างทั้งหมด ปริมาณที่พบเกินเกณฑ์มาตรฐาน 120-1,200 cfu/g

จากข้อมูลจะเห็นได้ว่าตัวอย่างผักขะแยงที่สุ่มเก็บมาจากตลาดมีความเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์มากกว่าในแปลง ทั้งนี้เนื่องจากบริเวณที่วางจำหน่ายไม่ถูกสุขอนามัย จึงทำให้เชื้อ *E..coli* ที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อม เช่น ตามเศษดิน น้ำ มูลสัตว์ และสิ่งปฏิกูลติดมาได้ ส่วนผักขะแยงที่สุ่มเก็บมาจากแปลงปลอดภัยทุกตัวอย่าง

คำนำ

ปัจจุบันสินค้าเกษตรของไทยโดยเฉพาะพืชผักสวนครัวที่ส่งออกไปจำหน่ายยังประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป หรืออียู (EU) ซึ่งเป็นตลาดส่งออกสินค้าพืชผักและผลไม้ที่สำคัญของ กำลังประสบปัญหาถูก EU แจ้งเตือนเกี่ยวกับปัญหาด้านสุขอนามัยพืชบ่อยครั้ง โดยในปี 2552 มีสถิติการแจ้งเตือนปัญหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และสารตกค้างในสินค้าพืชผักและผลไม้ที่นำเข้าจากไทย (RASFF) 62 ครั้ง และปี 2553 ได้รับการแจ้งเตือนแล้ว 73 ครั้ง (กลุ่มพัฒนาระบบความปลอดภัยสินค้าเกษตร,2553) แต่ในปัจจุบันพบว่าการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในพืชผักของไทยได้กลายเป็นปัญหาที่สำคัญในการส่งออกไป EU โดยเริ่มตรวจพบมาตั้งแต่ปี 2548 และเชื้อจุลินทรีย์ที่ตรวจพบส่วนมากจะเป็น *Escherichia coli (E.coli)* และ *Salmonella* spp. เชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์โดยทำให้เกิดอาการท้องร่วงไปจนถึงเสียชีวิตด้วยการติดเชื้อในกระแสเลือด โดยเกณฑ์มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มกอช. 9007-2548 กำหนดให้ตัวอย่างอาหารปริมาณ 25 g ต้องตรวจพบเชื้อ *E.coli* ได้ไม่เกิน 100 cfu/g และต้องตรวจไม่พบ *Salmonella* spp. ซึ่งเป็นเกณฑ์มาตรฐานเดียวกับที่ EU นำมาใช้ควบคุมการนำเข้าผักจากไทย โดยปกติจะพบเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดนี้ปนเปื้อนได้ในธรรมชาติและปัจจัยการผลิต เช่น ดิน น้ำ สิ่งปฏิกูล โดยเฉพาะมูลสัตว์ที่นำมาใช้ทำปุ๋ยหมัก เช่น มูลวัว ควาย สุกร ไก่ ฯลฯ ดังนั้นเชื้อจึงมีโอกาสปนเปื้อนในผลผลิตได้ตั้งแต่ในแปลงไปจนถึงการเก็บเกี่ยว การคัดบรรจุ และการขนส่งเพื่อจำหน่าย หากพบว่ามีการจัดการที่ไม่ถูกสุขลักษณะ ตามรายงานที่มีการแจ้งเตือนในระบบ RASFF ของ EU พบว่าชนิดพืชที่ตรวจพบส่วนใหญ่จะเป็นพืชผักสมุนไพร เช่น กระเพรา โหระพา แมงลัก ใบชะพลู ชะอม ฯลฯ จากปัญหาดังกล่าวกรมวิชาการเกษตรได้พยายามแก้ไขมาตลอด ปัจจุบันยังมีการตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในพืชผักอย่างต่อเนื่อง โดยสหภาพยุโรปได้มีระบบแจ้งเตือนภัยด้านอาหารและอาหารสัตว์ Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) ไปยังประเทศผู้ส่งออกรวมทั้งประเทศไทย ในปี 2552 มีสถิติการแจ้งเตือนปัญหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และสารตกค้างในสินค้าพืชผักและผลไม้ที่นำเข้าจากไทย (RASFF) 62 ครั้ง และปี 2553 ได้รับการแจ้งเตือนแล้ว 73 ครั้ง (กลุ่มพัฒนาระบบความปลอดภัยสินค้าเกษตร ,2553)

ผักขะแยงเป็นพืชผักสมุนไพรอีกชนิดหนึ่งทีมีความเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากระบบการผลิตผักขะแยง ซึ่งหลายๆพื้นที่ปลูกโดยการใช้น้ำขังท่วมแปลงนาน 45 วัน น้ำไม่สะอาด จึงมีโอกาสที่เชื้อจุลินทรีย์ *Samonella* spp.และ *E.coli* ที่ปนเปื้อนมากับน้ำหรือจากการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ทำให้เชื้อดังกล่าวติดปนเปื้อนไปกับต้นผักขะแยงได้ นอกจากนี้การล้างทำความสะอาด การจัดการก่อนนำไปจำหน่ายเชื้อจุลินทรีย์มีโอกาสปนเปื้อนได้ จังหวัดอุบลราชธานีเป็นแหล่งปลูกผักขะแยงเป็นพืชเศรษฐกิจมานานกว่า 10 ปี ในพื้นที่บ้านวังยาง ตำบลบุ่งหวาย

อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี ในปี 2552 มีเกษตรกรปลูกผักขะแยงเป็นพืชเศรษฐกิจหลักของครอบครัวมากกว่า 100 ครอบครัว พื้นที่รวม 150 ไร่ มีผลผลิตออกสู่ตลาดวันละ 8 ตัน รายได้รวม 42,000 บาท/วัน ซึ่งสามารถสร้างรายได้ให้เกษตรกรในพื้นที่ปีละไม่ต่ำกว่า 10 ล้านบาท ปัจจุบันยังไม่พบการแจ้งเตือนในผักขะแยงจากไทย (นวลจันทร์, 2552) แต่จากข้อมูลของกลุ่มประสานการตรวจรับรองมาตรฐาน สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืชปี 2553-2554 พบว่าจากการสุ่มเก็บตัวอย่างผักขะแยงก่อนการส่งออกไปประเทศในกลุ่มยุโรปตั้งแต่ปี 2553 จำนวน 963 ตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์หาสารพิษตกค้างและจุลินทรีย์ พบสิ่งต้องห้ามปนเปื้อนในผักขะแยง 21 ตัวอย่าง พบไม่ผ่านเกณฑ์ 16 ตัวอย่าง และผ่านเกณฑ์ 5 ตัวอย่าง ในตัวอย่างผักขะแยง 21 ตัวอย่างที่พบสิ่งต้องห้ามนั้น พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 21 ตัวอย่าง โดยเป็นการปนเปื้อนเกิดจากเชื้อ *E.coli* 19 ตัวอย่าง ผ่านเกณฑ์ 5 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์ 14 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบตั้งแต่ 110-1,600 cfu/g (เกณฑ์ตรวจ
พบไม่เกิน 100 cfu/g) และอีก 2 ตัวอย่างเป็นการปนเปื้อนที่เกิดจากเชื้อ *Salmonella* spp. ซึ่งไม่ผ่านเกณฑ์ทั้ง 2 ตัวอย่าง (เกณฑ์ไม่ให้มีการตรวจพบ) จากข้อมูลนี้ถือได้ว่าผักขะแยงเป็นพืชอีกชนิดที่มีความเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และอาจพบปัญหาในการนำไปส่งออกได้ในอนาคต

จากปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวส่งผลกระทบต่อระบบความเชื่อมั่นในมาตรฐานสุขอนามัยพืช และระบบตรวจสอบรับรองระบบคุณภาพพืช สินค้าเกษตรมีความจำเป็นต้องมีระบบการผลิตที่สามารถทวนสอบย้อนกลับได้ในทุกขั้นตอนการผลิตจากแหล่งผลิตจนถึงผู้บริโภค (นนทพันธุ์. 2552) ดังนั้นการศึกษาข้อมูลความเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในผลผลิตผักขะแยง และปัจจัยการผลิตตั้งแต่กระบวนการผลิตในแปลงไปจนถึงการล้าง การมัดกำ การบรรจุ และการส่งจำหน่ายในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี จะนำไปสู่แนวทางการแก้ไขปัญหาให้เกษตรกรสามารถผลิตผักขะแยงให้ได้คุณภาพมาตรฐาน เพื่อเตรียมความพร้อมหากในอนาคตจะมีการผลิตผักขะแยงในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานีเพื่อส่งออก และข้อมูลการการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในผลผลิตผักขะแยงจากแหล่งจำหน่ายในจังหวัดอุบลราชธานีสามารถนำไปเผยแพร่ให้ผู้บริโภค รวมทั้งผู้ที่เกี่ยวข้องอื่นๆ ได้ทราบและตระหนักถึงอันตรายได้

วิธีดำเนินการ

1.การตรวจสอบจุลินทรีย์ *E.coli*

- ใช้วิธี Petrifilm ที่อ้างอิงจาก AOAC. 2000. AOAC official method 991.14. Coliform and *Escherichia coli* Counts in Foods Dry Rehydratable Film (Petrifilm *E. coli* coliform Count plate) Method. 17th edition. Gaithersburg, MD. P.22.

1.1 อุปกรณ์

1.1.1 ตู้อบฆ่าเชื้อ (Hot Air Oven)

1.1.2 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

1.1.3 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

1.1.4 เครื่องตีบดผสมอาหาร (Stomacher)

1.1.5 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง

1.1.6 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer)

1.1.7 ตะเกียงแอลกอฮอล์

1.1.8 ปิเปต : ขนาด 10 มล. และ 1 มล. ถุง stomacher และ หลอดทดลอง

1.2 สารเคมี

1.2.1 Butterfield's phosphate-buffered water (BF) or equivalent dilution (except for shellfish)

1.2.2 petrifilm *E. coli/* coliform count plate

1.3 วิธีทดสอบ

1.3.1 นำตัวอย่างผักที่ต้องการทดสอบ สุ่มชั่งตัวอย่างปริมาณ 25 กรัมใส่ในถุง stomacher

1.3.2 เติม Butterfield's phosphate buffered water (BF) 225 มล. ลงในถุง stomacher นำไปผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง stomacher จะได้สาระลายตัวอย่างที่มีความเจือจาง 10^{-1}

1.3.3 ดูดสารละลายตัวอย่างเจือจาง 10^{-1} จากข้อ 1.3.2 ใส่ลงใน petrifilm EC ปริมาณ 1 มล. ต่อแผ่น แล้วใช้แผ่นพลาสติกสำหรับกด กดให้สารละลายตัวอย่างซึมทั่วแผ่น petrifilm EC และดูดสารละลายตัวอย่างเจือจางที่ 10^{-1} ปริมาณ 1 มล.ใส่ลงในหลอดทดลองที่มี BF ปริมาณ 9 มล. เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจาง 10^{-3}

1.3.4 ดูดสารละลายตัวอย่างเจือจางที่ 10^{-2} จากข้อ 1.3.3 ใส่ลงใน petrifilm EC ปริมาณ 1 มล. ต่อแผ่น แล้วใช้แผ่นพลาสติกสำหรับกด กดให้สารละลายตัวอย่างซึมทั่วแผ่น petrifilm EC แล้วดูดสารละลายตัวอย่างเจือจางที่ 10^{-2} ปริมาณ 1 มล. ใส่ลงในหลอดทดลองที่มี BF ปริมาณ 9 มล. เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจาง 10^{-3}

1.3.5 ดูดสารละลายตัวอย่างเจือจางที่ 10^{-3} จากข้อ 1.3.4 ใส่ลงใน petrifilm EC ปริมาณ 1 มล. ต่อแผ่น แล้วใช้แผ่นพลาสติกสำหรับกด กดให้สารละลายตัวอย่างซึมทั่วแผ่น petrifilm EC

1.3.6 ในกรณีที่คาดว่าตัวอย่างมีปริมาณเชื้อมากให้เตรียมสารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจางเพิ่มขึ้นอีกเป็น 10^{-4} และ 10^{-5} แล้วดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 1.3.4

1.3.7 นำ Petrifilm EC ไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 ^{0}C บ่มนาน 48 ± 2 ชั่วโมง เพื่อนับจำนวน *E. coli*

1.3.8 นับจำนวนโคโลนีที่มีสีน้ำเงินและมีฟองแก๊สรอบๆโคโลนีในช่วง 15-150 โคโลนีต่อแผ่น petrifilm EC สำหรับ *E. coli* หลังจากนับให้นำจำนวนโคโลนีที่นับได้มาคูณด้วยความเจือจางแต่ละความเข้มข้น

1.3.9 บันทึกผลการทดสอบลงในใบบันทึกผลการทดสอบ

1.3.10 รายงานผลการทดสอบเป็น cfu/g ให้แก่ผู้ส่งตัวอย่างพร้อมแจ้งเกณฑ์มาตรฐานที่อ้างอิงจาก มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มกอช.9007-2548 ข้อกำหนดด้านความปลอดภัยสินค้าเกษตรและอาหารกำหนดให้ตัวอย่างปริมาณ 25 กรัม ตรวจพบจำนวน *E.coli* ได้ไม่เกิน 100 cfu/g

2. การตรวจสอบจุลินทรีย์ *Salmonella* spp.

- สำหรับการตรวจสอบเชื้อ *Salmonella* spp. ใช้วิธีการที่อ้างอิงจาก ISO 6579:2000 ,Microbiology of food and animal feeding Stuffs – Horizontal method for the detection of *salmonella* spp. International standard

2.1 อุปกรณ์

2.1.1 ตู้อบฆ่าเชื้อ (Hot Air Oven)

2.1.2 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

2.1.3 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

2.1.4 เครื่องตีบดผสมอาหาร (Stomacher)

2.1.5 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง

2.1.6 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer)

2.1.7 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath)

2.1.8 ตะเกียงแอลกอฮอล์

2.1.9 ปิเปต : ขนาด 10 มล. และ ขนาด 1 มล.

2.1.10 ถุง Stomacher

2.1.11 หลอดทดลอง

2.1.12 กรรไกร

2.1.13 จานเพาะเชื้อ

2.1.14 เข็มเขี่ยเชื้อ และ loop

2.2 สารเคมี

2.2.1 Peptone water

2.2.2 Rappaport vassiliadis soya broth (RVS broth)

2.2.3 Muller – Kauffmann tetrahionate novobiocin broth (MKTTn)

2.2.4 Xylose Lysine deoxycholate agar base (XLD)

2.2.5 Nutrient agar (NA)

2.2.6 Triple Sugar Iron agar (TSI)

2.2.7 L- lysine decarboxylation medium

2.2.8 MR – VP medium

2.2.9 Tryptone broth

2.2.10 Lysine Iron agar (LIA)

2.2.11 Reagents for Voges Proskauer (VP) reaction

2.2.12 α – Naphthol ethanolic solution

2.2.13 Potassium hydroxide solution

2.2.14 Creatine solution

2.2.15 Novobiocin

2.2.16 Potassium iodine solution

2.2.17 Ethyl alcohol 95 %

2.3 วิธีทดสอบ

2.3.1 เตรียมตัวอย่างโดยใช้กรรไกรนึ่งฆ่าเชื้อตัดสุ่มตัวอย่างให้เป็นชิ้นเล็กๆ น้ำหนัก 25 กรัม ใส่ในถุง stomach

2.3.2 นำตัวอย่างที่ได้จากข้อ 2.3.1 มาเติม Peptone water ปริมาตร 225 มล. นำไปเข้าเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 1 นาที เพื่อเพิ่มจำนวน (Pre - enrichment) แล้วนำไปบ่มที่ 37 ± 1 องศาเซลเซียส 18±2 ชั่วโมง

2.3.3 ดูดสารละลายตัวอย่าง 0.1 มล. จากข้อ 2.3.2 ลงในอาหารเหลว RVS ที่มีปริมาตร 10 มล. บ่มที่ 41.5 ± 1 องศาเซลเซียส 24±3 ชั่วโมง

2.3.4 ดูดสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2.3.2 ลงในอาหารเหลว MKTTn ที่มีปริมาตร 10 มล. บ่มที่ 37 ± 1 องศาเซลเซียส 24±3 ชั่วโมง

2.3.5 ใช้ loop ถ่ายเชื้อจากอาหารเหลว RVS ในข้อ 2.3.3 และในอาหารเหลว MKTTn ในข้อ 2.3.4 ทำ cross streak ลงในอาหาร XLD agar บ่มที่ บ่มที่ 37 ± 1 องศาเซลเซียส 24±3 ชั่วโมง

2.3.6 เลือกโคโลนีที่มีสีแดง ใส อาจมีหรือไม่มีจุดสีดำ มา streak ลงบนอาหาร NA slant บ่มที่ 37 ± 1 องศาเซลเซียส 24±3 ชั่วโมง

2.3.7 นำมาทดสอบ Biochemical test ได้แก่ TSI, Voges-proskauer test, Indole test, Lysine decarboxylation และ Lysine Iron agar

2.3.8 ย้อมสีแกรม

2.3.9 รายงานผลการทดสอบว่าพบหรือไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ต่ออาหาร 25 กรัม ให้แก่ผู้ส่งตัวอย่าง เนื่องจากข้อกำหนดด้านความปลอดภัยสินค้าเกษตรและอาหารกำหนดให้ตัวอย่างปริมาณ 25 กรัม ต้องตรวจไม่พบ *Salmonella* spp. อ้างอิงจาก มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มกอช. 9007-2548

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2553- กันยายน 2555

กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต

ผลการทดลองและวิจารณ์

1) ดำเนินการสุ่มเก็บตัวอย่างผักขะแยงจากแหล่งจำหน่ายต่างๆภายในจังหวัดอุบลราชธานีมาตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนรวม 60 ตัวอย่าง ผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ทุกตัวอย่าง แต่ตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อ *E.coli* ทุกตัวอย่าง โดยพบปนเปื้อนเกินเกณฑ์มาตรฐาน 37 ตัวอย่าง คิดเป็น 61.6% ของตัวอย่างทั้งหมด ปริมาณที่พบเกินเกณฑ์มาตรฐาน 120-104,000 cfu/g (ตารางที่ 1) เกณฑ์มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มกอช. 9007-2548 ข้อกำหนดด้านความปลอดภัยสินค้าเกษตรและอาหารกำหนดให้ตัวอย่าง

ผัก/ผลไม้สดตัดแต่งกิ่งพร้อมบริโภค ปริมาณ 25 g ต้องตรวจพบเชื้อ *E.coli* ได้ไม่เกิน 100 cfu/g และต้องตรวจไม่พบ *Salmonella* spp. โดยมีรายละเอียดข้อมูลผลการตรวจสอบจุลินทรีย์แยกเป็นรายตลาดตามตารางที่ 3

2) ดำเนินการสุ่มเก็บตัวอย่างผักขะแยงก่อนเก็บเกี่ยว ก่อนล้างน้ำ หลังล้าง หลังมัดกำ (กองบน) หลังมัดกำ (กองล่าง) และในถุงบรรจุพร้อมจำหน่าย รวม 6 ตัวอย่าง/แปลง ดินเพาะปลูก 1 ตัวอย่าง/แปลง น้ำเพาะปลูก น้ำก่อนและหลังล้างผักขะแยง รวม 3 ตัวอย่าง/แปลง โดยเก็บจากแปลงผักขะแยงตำบลบุ่งหวาย อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 19 แปลง นำมาตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน *Salmonella* spp. และ *E.coli* ผลการตรวจสอบพบเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ปนเปื้อนในผักขะแยงทุกตัวอย่างที่เก็บมาจากแปลงเกษตรกร 19 ราย รวม 114 ตัวอย่าง แต่พบไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน ปริมาณที่พบ <10-60 cfu/g (ตารางที่ 2) และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในผักขะแยงทุกตัวอย่าง ในตัวอย่างดินและน้ำตรวจไม่พบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ทุกตัวอย่าง แต่พบการปนเปื้อนเชื้อ *E.coli* ทุกตัวอย่าง แต่พบในปริมาณน้อย ในดินพบ 10-200 cfu/g และในน้ำพบ 10-90 cfu/g ในธรรมชาติโอกาสปนเปื้อนของเชื้อ *E.coli* พบได้เสมอ

โดยปกติจะพบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย *E.coli* และ *Salmonella* spp. ได้ในธรรมชาติ โดยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้จะก่อให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหาร เชื้อ *E.coli* เป็นเชื้อที่พบได้ในลำไส้มนุษย์ สัตว์เลือดอุ่นและสิ่งแวดล้อม การพบเชื้อชนิดนี้บ่งชี้ได้ว่าอาหารนั้นมีกระบวนการผลิตหรือการเก็บที่ไม่เหมาะสม ทำให้อาหารไม่ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค แต่ก็มีเชื้อบางสายพันธุ์เท่านั้นที่ทำให้ก่อโรคทางเดินอาหารเป็นพิษ แต่เกณฑ์ทั่วไปจะให้ตรวจพบเชื้อ *E.coli* ทุกสายพันธุ์ได้ไม่เกิน 100 cfu/g ส่วนเชื้อ *Salmonella* spp. นั้นมีหลายสายพันธุ์ พบได้ในลำไส้สัตว์เลือดอุ่น สัตย์เลื้อยคลาน สัตว์ปีก ดิน น้ำ สิ่งปฏิกูลต่างๆ ก่อให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหาร ปวดท้อง และท้องเสีย ผลที่ตามมาคือโลหิตเป็นพิษ หรืออาจเกิดไทฟอยด์ได้ เชื้อชนิดนี้จะอันตรายมากเมื่อเข้าสู่กระแสเลือด ดังนั้นมาตรฐานสากลกำหนดให้ไม่มีเชื้อชนิดนี้เลยในอาหารทุกชนิด (ปดารณี, 2549)

สาเหตุที่ปัจจุบันพบตรวจเชื้อ 2 ชนิดนี้ปนเปื้อนในพืชผักหรือผลผลิตทางการเกษตรกรมากนั้น เนื่องจากเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้มีโอกาสปนเปื้อนอยู่ในธรรมชาติ และปัจจัยการผลิต เช่น ดิน แหล่งน้ำ และที่สำคัญในวัตถุดิบที่นำมาใช้ผลิตปุ๋ยอินทรีย์ ซึ่งส่วนใหญ่จะนำอุจจาระหรือมูลสัตว์ที่มีโอกาสปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ เช่น วัว ควาย สุกร ไก่ มาผสมทำเป็นปุ๋ยหมักซึ่งหากผ่านกระบวนการหมักที่ไม่สมบูรณ์ ความร้อนสะสมในกองปุ๋ยก็ไม่สามารถทำลายเชื้อนี้ได้ ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับมูลสัตว์ปนเปื้อนไปกับปุ๋ยหมัก เมื่อนำไปใส่แปลงพืชผัก อาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนได้ มีรายงานว่าเชื้อ *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7 และ *Listeria monocytogenes* สามารถมีชีวิตรอดอยู่ในปุ๋ยคอกได้เป็นระยะเวลานาน (Tauxe, 1997; Brackett, 1999 อ้างถึงโดยนภาพร,2546) และนอกจากปนเปื้อนในแปลงแล้ว อาจจะพบปนเปื้อนของเชื้อทั้ง 2 ชนิดหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิต หากสถานที่การจัดการไม่ถูกสุขอนามัย ดังนั้นการควบคุมการผลิตพืชเพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ดีที่สุด คือ การควบคุมตั้งแต่กระบวนการเพาะปลูก โดยการป้องกันพืชจากแหล่งที่อาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนในแปลงไปจนถึงการควบคุมทันทีเมื่อวัตถุดิบเข้าสู่กระบวนการผลิตในโรงคัดบรรจุ โดยกระบวนการผลิตขั้นต้นที่ดีจะขึ้นกับวิธีการทำความสะอาดวัตถุดิบที่เหมาะสม เพื่อที่จะลดการปนเปื้อนที่ผิวให้ได้มากที่สุด ซึ่งขั้นตอนนี้รวมถึงการตรวจสอบวัตถุดิบ การคัดเลือกเอาส่วนเสียออก จนกระทั่งการเปลี่ยนถ่ายภาชนะบรรจุวัตถุดิบเพื่อการขนส่ง ลงสู่ภาชนะบรรจุที่สะอาด นอกจากนี้ยังต้องควบคุมในเรื่องของความสะอาดและการปฏิบัติในระหว่างกระบวนการผลิต การ

ขนส่ง รวมไปถึงร้านค้าที่จำหน่าย เพื่อให้ผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ยังคงคุณภาพและความปลอดภัยสำหรับการบริโภค

จากข้อมูลจะเห็นได้ว่าตัวอย่างผักขะแยงที่สุ่มเก็บมาจากตลาดมีความเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์มากกว่าในแปลง ทั้งนี้เนื่องจากบริเวณที่วางจำหน่ายไม่ถูกสุขอนามัย จึงทำให้เชื้อ *E.coli* ที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อม เช่น ตามเศษดิน น้ำ มูลสัตว์ และสิ่งปฏิกูลติดมาได้ ดังนั้นผู้บริโภคที่ซื้อผักขะแยงจากตลาดก่อนนำไปปรุงอาหารควรล้างให้สะอาดและปรุงให้สุกก่อนนำมารับประทาน เนื่องจากความร้อนในการปรุงอาหารให้สุกไม่ว่าวิธีการต้มผัด แกงหรือทอดนั้นสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดที่ติดมากับผักได้ ซึ่งจะปลอดภัยกว่าการนำมายริโภคสดๆ ส่วนผักขะแยงที่เก็บจากแหล่งผลิตนั้นปลอดภัย เนื่องจากเกษตรกรไม่ใช้ปุ๋ยอินทรีย์ซึ่งเป็นปัจจัยการผลิตที่เสี่ยงต่อการปนเปื้อนตามที่กล่าวมาแล้ว และน้ำที่เกษตรกรใช้ล้างผักไม่มีความเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดเนื่องจากเป็นน้ำบาดาลและเป็นห้วยหนองริมแท่น้ำที่มีน้ำไหลตามธรรมชาติตลอดเวลา

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อนในผักขะแยงจากตลาด ปี 2554-2555

	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	**จำนวนตัวอย่างพบเชื้อ**	**จำนวนตัวอย่างพบเชื้อเกินเกณฑ์มาตรฐาน**	**ผลการตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ ***		
				จำนวนตัวอย่างพบเชื้อ *E.coli* ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน (ปริมาณที่พบ)	จำนวนตัวอย่างพบเชื้อ *E.coli* เกินเกณฑ์มาตรฐาน (ปริมาณที่พบ)	จำนวนตัวอย่างพบเชื้อ *Salmonella* spp. เกินเกณฑ์มาตรฐาน (ปริมาณที่พบ)
ตลาดสด	**60**	**60**	**37 (61.6%)**	**23 (<10-100 cfu/g)**	**37 (120-140,000 cfu/g)**	**0**

หมายเหตุ : เกณฑ์มาตรฐานสินค้า กษตรและอาหารแห่งชาติ มกอช. 9007-2548 ข้อกำหนดด้านความปลอดภัยสินค้าเกษตรและอาหารกำหนดให้ตัวอย่างผัก/ผลไม้สดตัดแต่งกิ่งพร้อมบริโภค ปริมาณ 25 g ต้องตรวจพบเชื้อ *E.coli* ได้ไม่เกิน 100 cfu/g และต้องตรวจไม่พบ *Salmonella* spp.

ตารางที่ 2 ผลการตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อนในผักขะแยง ดิน และน้ำจากแปลงเกษตรกร 19 ราย ปี 54-56

ชนิดตัวอย่าง	**จำนวนตัวอย่างทั้งหมด**	**จำนวนตัวอย่างพบเชื้อ**	**จำนวนตัวอย่างพบเชื้อเกินเกณฑ์มาตรฐาน**	**ผลการตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ ***	
				จำนวนตัวอย่างพบเชื้อ *E.coli* (ปริมาณที่พบ)	**จำนวนตัวอย่างพบเชื้อ *Salmonella* spp. (ปริมาณที่พบ)**
ผักขะแยง	114	114	0	54 (<10-60 cfu/g)	0
ดิน	19	19	0	9 (10-200 cfu/g)	0
น้ำ	57	27	0	27	0

				(<10-90 cfu/g)	

หมายเหตุ : เกณฑ์มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มกอช. 9007-2548 ข้อกำหนดด้านความปลอดภัยสินค้าเกษตรและอาหารกำหนดให้ตัวอย่างผัก/ผลไม้สดตัดแต่งกิ่งพร้อมบริโภค ปริมาณ 25 g ต้องตรวจพบเชื้อ *E.coli* ได้ไม่เกิน 100 cfu/g และต้องตรวจไม่พบ *Salmonella* spp.

ตาราง 3 แสดงผลการตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อนในตัวอย่างผักขะแยงแยกสรุปเป็นรายตามแหล่งจำหน่ายต่างๆภายในจังหวัดอุบลราชธานี ปี 2554-2555

ลำดับที่	แหล่งจำหน่าย	ผลการตรวจสอบ *E.coli*				ผลการตรวจสอบ *Salmonella* spp.		
		จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ไม่พบ	จำนวนตัวอย่างที่พบปลอดภัย (ปริมาณที่พบ,cfu/g)	ตัวอย่างที่พบไม่ปลอดภัย (ปริมาณที่พบ,cfu/g)	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ไม่พบ	จำนวนตัวอย่างที่พบ (ปริมาณที่พบ,cfu/g)
1	ตลาดกกยาง	**7**	**0**	**3**	**4**	**7**	**7**	**0**
2	ตลาดเจริญศรี	10	0	6	4	10	10	0
3	ตลาดดอนกลาง	1	0	1	0	1	1	0
4	ตลาดเทศบาล 3 ตลาดใหญ่	2	0	0	2	2	2	0
5	ตลาดน้อย	1	0	0	1	1	1	0
6	ตลาดบ้านดู่	7	0	4	3	7	7	0
7	ตลาดพยาประศาสน	7	0	1	6	7	7	0
8	ตลาดพิบูลฯ	2	0	1	1	2	2	0
9	ตลาดวารินฯ	11	0	4	7	11	11	0
10	ตลาดสันติสุขดอนกลาง	1	0	0	1	1	1	0
11	ตลาดหนองบัว	10	0	2	8	10	10	0
12	ตลาดห้วยวังนอง	1	0	1	0	1	1	0
		60	**0**	**23**	**37**	**60**	**60**	**0**

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สุ่มเก็บตัวอย่างผักขะแยงจากแหล่งจำหน่ายต่างๆภายในจังหวัดอุบลราชธานีมาตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนรวม 60 ตัวอย่าง ผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ทุกตัวอย่าง แต่ตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อ *E.coli* ทุกตัวอย่าง โดยพบปนเปื้อนเกินเกณฑ์มาตรฐาน 37 ตัวอย่าง คิดเป็น 61.6% ของตัวอย่างทั้งหมด ปริมาณที่พบเกินเกณฑ์มาตรฐาน 120-104,000 cfu/g และสุ่มเก็บตัวอย่างผักขะแยงก่อนเก็บเกี่ยว ก่อนล้างน้ำ หลังล้าง หลังมัดกำ (กองบน) หลังมัดกำ (กองล่าง) และในถุงบรรจุพร้อมจำหน่าย รวม 6 ตัวอย่าง/แปลง ดินเพาะปลูก 1 ตัวอย่าง/แปลง น้ำเพาะปลูก น้ำก่อนและหลังล้างผักขะแยง รวม 3 ตัวอย่าง/แปลง โดยเก็บจากแปลงผักขะแยงตำบลบุ่งหวาย อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 19 แปลง นำมาตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน *Salmonella* spp. และ *E.coli* ผลการตรวจสอบพบเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ปนเปื้อนในผักขะแยงทุกตัวอย่างที่เก็บมาจากแปลงเกษตรกร 19 ราย รวม 114 ตัวอย่าง แต่พบไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน ปริมาณที่พบ <10-60 cfu/g และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในผักขะแยงทุกตัวอย่าง ในตัวอย่างดินและน้ำตรวจไม่พบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ทุกตัวอย่าง แต่พบการปนเปื้อนเชื้อ *E.coli* ทุกตัวอย่าง แต่พบในปริมาณน้อย ในดินพบ 10-200 cfu/g และในน้ำพบ 10-90 cfu/g ในธรรมชาติโอกาสปนเปื้อนของเชื้อ *E.coli* พบได้เสมอ และ ข้อแนะนำสำหรับผู้บริโภคที่ซื้อผักขะแยงจากตลาดก่อนนำไปปรุงอาหาร ควรล้างให้สะอาดและปรุงให้สุกก่อนนำมารับประทาน เนื่องจากความร้อนในการปรุงอาหารให้สุกไม่ว่าวิธีการต้ม ผัด แกงหรือทอดนั้นสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดที่ติดมากับผักได้ ซึ่งจะปลอดภัยกว่าการนำมายริโภคสดๆ

การนำผลงานไปใช้ประโยชน์

1. ได้ข้อมูลความเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในผลผลิตผักขะแยง และปัจจัยการผลิตตั้งแต่กระบวนการผลิตในแปลงไปจนถึงการล้าง การมัดกำ การบรรจุ และ การส่งจำหน่ายในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี ซึ่งนำไปสู่การวิจัยเพื่อผลิตผักขะแยงให้ได้คุณภาพมาตรฐานต่อไป

2. ได้ข้อมูลการการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในผลผลิตผักขะแยงจากแหล่งจำหน่ายในจังหวัดอุบลราชธานี เพื่อเผยแพร่ให้ผู้บริโภค รวมทั้งผู้ที่เกี่ยวข้องอื่นๆ ได้ทราบ และตระหนักถึงอันตราย

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สวพ.1-8 .2551 . คู่มือการปฏิบัติงานวิเคราะห์จุลินทรีย์ปนเปื้อนในผักและผลไม้.สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1-8 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กลุ่มพัฒนาระบบความปลอดภัยสินค้าเกษตร.2553. ข้อมูลการส่งออกสินค้าเกษตรของไทย. สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช กรมวิชากาเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

นวลจันทร์ ศรีสมบัติ. 2552. รายงานสรุปผลการวิเคราะห์ศักยภาพการผลิตผักขะแยง. สัมภาษณ์เกษตรกรผู้ปลูกผักขะแยงบ้านวังยาง ตำบลบุ่งหวาย อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี : โรเนียว

นนทพันธ์ นาคสุริยวงศ์. 2552. การเสวนาบทบาทของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4 ต่อการผลิตและการส่งออกสินค้าเกษตร : วันที่ 4-6 มีนาคม 2552 ณ โรงแรมตักสิลา อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม โรเนียว.

นภาพร เชี่ยวชาญ .2546.การควบคุมการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผักและผลไม้.วารสารจาร์พา ปีที่ 10 ฉบับที่ 73 (กรกฎาคม/สิงหาคม 2546) หน้า 38-41

ปดารณี ทองใบ.2549.การป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อ *E.coli* และ *Salmonella* spp.ในผักสด.ใน จดหมายข่าว สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร ปีที่ 3 ฉบับที่ 16.

ปรียานุช ทิพยะวัฒน์.2551. เอกสาร สรุปภาพรวมความปลอดภัยด้านพืชส่งออกปี พ.ศ.2551- 2552 กลุ่มพัฒนาระบบความปลอดภัยสินค้าเกษตร สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช กรมวิชากาเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ระบบการเตือนภัยด้านอาหารและอาหารสัตว์ของสหภาพยุโรป(RASFF) (ออนไลน์) อ้างถึงวันที่ 23 มีนาคม 2553 : เข้าถึงได้จาก http://thaibe.moc.co.th

สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ .2548. มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มกอช.9007-2548 (ข้อกำหนดด้านความปลอดภัยสินค้าเกษตรและอาหาร) กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์.2551. การปนเปื้อนจุลินทรีย์และการควบคุมในผลิตภัณฑ์อาหาร. *ใน* เอกสารประกอบการฝึกอบรม การตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในแหล่งผลิต GAP วันที่ 15-16 มิถุนายน 2552 ณ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 6.

AOAC. 2000. AOAC official method 991.14. Coliform and *Escherichia coli* Counts in Foods Dry Rehydratable Film (Petrifilm *E. coli* coliform Count plate) Method. 17th edition. Gaithersburg, MD. P.22.

ISO 6579 : 2002 (E). 4th edition. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella.*spp