

คุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ที่สุ่มจากห้างสรรพสินค้าในกรุงเทพมหานคร และร้านค้าออนไลน์ Microbiological quality of dietary supplement products randomly collected from department stores in Bangkok and online shops

5

ธัญชา ผาติพงศ์¹, นริศรา ทศวงศ์¹, จารุณี เมฆสุวรรณ¹, อีระ ปานทิพย์อำพร¹, นพมาศ สะพู¹
Tanutcha Patipong¹, Naritsara Tatsawong¹, Jarunee Meksuwan¹, Theera Panthipamporn¹, Nopamart Sapoo¹
รับบทความ: 26 พฤษภาคม 2566 แก้ไขบทความ: 18 กันยายน 2566 ยอมรับตีพิมพ์: 6 ตุลาคม 2566

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีจำหน่ายโดยทั่วไป โดยมุ่งตรวจสอบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค 3 ชนิด คือ *Salmonella* spp. *Staphylococcus aureus* และ *Clostridium* spp. และจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งบอกถึงสุขอนามัยของกระบวนการผลิต คือ *Escherichia coli* จากการตรวจสอบ พบว่า ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารทั้งหมด 33 ตัวอย่าง ไม่มีการปนเปื้อนของ *Salmonella* spp. *S. aureus* และ *E. coli* อย่างไรก็ตามพบการปนเปื้อนของ *Clostridium* spp. ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจำนวน 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 15) การปนเปื้อนดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ามีการจำหน่ายผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ไม่ได้คุณภาพ ตามมาตรฐานทางจุลชีววิทยาที่กำหนดโดยกระทรวงสาธารณสุขและสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้

คำสำคัญ: คุณภาพทางจุลชีววิทยา ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร การปนเปื้อน

¹ กองผลิตภัณฑ์อาหารและวัสดุสัมผัสอาหาร กรมวิทยาศาสตร์บริการ

Abstract

This research aimed to study the microbiological quality of commercially available dietary supplement products. The contamination of three pathogenic bacteria, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Clostridium* spp., as well as an indicator of unhygienic manufacturing process, *Escherichia coli*, were investigated. The results showed that a total of 33 products did not contain *Salmonella* spp. *S. aureus* and *E. coli*. However, five products (15%) contaminated with *Clostridium* spp. were found. The contamination indicated the distribution of dietary supplement products which do not meet the microbiological standard according to Ministry of Public Health and Food and Drug Administration. These products may be the cause of adverse impacts to customer health.

Keywords: Microbiological quality, Dietary supplement product, Contamination

¹ Food Products and Contact Materials Division, Department of Science Service

* Corresponding author e-mail address: tanutch@ds.go.th

1. บทนำ (Introduction)

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีองค์ประกอบของสารอาหารหรือสารอื่นซึ่งมีประโยชน์ทางด้านการส่งเสริมสุขภาพ ซึ่งได้รับประทานนอกเหนือจากการรับประทานอาหารตามปกติโดยมิได้อยู่ในรูปแบบอาหารตามปกติ แต่อยู่ในรูปแบบเม็ด แคปซูล ผง เกล็ด ของเหลว หรือลักษณะอื่น ๆ [1] เนื่องจากกระแสด้านการดูแลสุขภาพได้รับความนิยมอย่างต่อเนื่อง ทำให้ผู้คนจำนวนมากหันมาสนใจบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารอย่างแพร่หลาย ส่งผลให้ธุรกิจผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเติบโตขึ้นอย่างรวดเร็ว ปัจจุบันจึงมีผลิตภัณฑ์เสริมอาหารชนิดต่าง ๆ หลากหลายรูปแบบวางจำหน่ายโดยทั่วไป อย่างไรก็ตาม สิ่งสำคัญที่ผู้ประกอบการและผู้บริโภคควรคำนึงถึง คือ คุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์

การปนเปื้อนทางจุลชีววิทยาเป็นตัวชี้วัดหนึ่งซึ่งบ่งบอกถึงความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสามารถเกิดการปนเปื้อนได้จากวัตถุดิบ โดยเฉพาะวัตถุดิบที่มาจากพืช ซึ่งอาจมีการสัมผัสจุลินทรีย์ต่าง ๆ จากดิน น้ำ และอากาศตามธรรมชาติ โดยมีรายงานในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีองค์ประกอบของพืช รวมถึงวัตถุดิบจากพืชซึ่งใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์เสริมอาหารว่า พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในปริมาณสูงกว่า 105 CFU/g การปนเปื้อนของแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae ซึ่งเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ของคนและสัตว์ในปริมาณสูงกว่า 103 CFU/g อีกทั้งยังพบการปนเปื้อนของเชื้อราอีกด้วย [2] นอกจากนี้ การปนเปื้อนทางจุลชีววิทยายังสามารถเกิดจากกระบวนการผลิต การบรรจุ และการขนส่ง โดยอาจปนเปื้อนมากับวัสดุอุปกรณ์ต่าง ๆ รวมถึงบรรจุภัณฑ์และบุคลากรที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการดังกล่าว [3]

ในประเทศไทย ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเป็นอาหารที่มีการกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 293) พ.ศ. 2548 เรื่อง ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร [1] และประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) เรื่อง หลักฐานและเอกสารประกอบการยื่นขออนุญาตใช้ฉลากของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และคุณภาพหรือมาตรฐานด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค [4] ซึ่งประกาศดังกล่าวครอบคลุมจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ได้แก่ *Salmonella* spp. *Staphylococcus aureus* และ *Clostridium* spp. รวมถึง *Escherichia coli* ซึ่งเป็นดัชนีบ่งบอกถึงสุขอนามัยของกระบวนการผลิต อย่างไรก็ตาม ยังมีรายงานที่แสดงให้เห็นถึงการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ปริมาณสูงกว่าเกณฑ์ โดยพบการปนเปื้อนของ *E. coli* มากกว่า 3 ต่อผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร 1 กรัม โดยวิธีเอ็มพีเอ็น ในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น [5]

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร โดยสุ่มตรวจผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีจำหน่ายทั่วไปในห้างสรรพสินค้าในกรุงเทพมหานคร และร้านค้าออนไลน์ โดยมุ่งตรวจสอบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค 3 ชนิด คือ *Salmonella* spp. *S. aureus* และ *Clostridium* spp. และจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งบอกถึงสุขอนามัยของกระบวนการผลิต คือ *E. coli* เพื่อเป็นแนวทางบ่งชี้ถึงความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

2. วิธีการวิจัย (Experimental methods)

2.1 ตัวอย่าง

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารประเภทต่าง ๆ ที่ได้จากการจัดซื้อจากห้างสรรพสินค้าในกรุงเทพมหานคร และร้านค้าออนไลน์ จำนวน 33 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบหลักและวัตถุเจือปนอาหารบนฉลากของตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในงานวิจัยนี้

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ประเภท (สถานะ)	ส่วนประกอบหลัก	วัตถุเจือปนอาหาร	วันที่ผลิต
1	S01	ไฟเบอร์ (ผง)	ฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ ไซเลียมฮัสค์	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส), สารควบคุมความเป็นกรด (กรดซิตริก), สารแต่งกลิ่นธรรมชาติ	1 ก.พ. 65
2	S02	ไฟเบอร์ (ผง)	อินูลิน ไซเลียมฮัสค์	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส และ แล็กทิทอล), สารควบคุมความเป็นกรด (กรดซิตริก), สารป้องกันการจับเป็นก้อน (ซิลิกอนไดออกไซด์), สารเพิ่มปริมาณ (มอลโทเดกซ์ทรีน), สีสังเคราะห์, สารแต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ	16 มี.ย. 64
3	S03	คอลลาเจน (ผง)	คอลลาเจนเปปไทด์ ฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส), สารแต่งกลิ่นสังเคราะห์	14 ก.พ. 65
4	S04	ไฟเบอร์ (ผง)	ไซเลียมฮัสค์ โพลีเด็กซ์โตรอส	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส)	4 มี.ค. 65
5	S05	คอลลาเจน (ผง)	คอลลาเจนเปปไทด์	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (อิริทริทอล), สารเพิ่มปริมาณ (มอลโทเดกซ์ทรีน), สีธรรมชาติ, สีสังเคราะห์	1 ธ.ค. 64
6	S06	คอลลาเจน (ผง)	คอลลาเจนเปปไทด์	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส และ แอซีซัลเฟมเค), สารควบคุมความเป็นกรด (กรดซิตริก), สารแต่งกลิ่น	11 ก.พ. 65
7	S07	คอลลาเจน (ผง)	คอลลาเจนเปปไทด์ อินูลิน	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส), สารควบคุมความเป็นกรด (กรดมาลิก), สีสังเคราะห์, สารแต่งกลิ่นรสเลียนธรรมชาติ	4 เม.ย. 65
8	S08	เครื่องดื่ม (ผง)	โพลีเด็กซ์โตรอส ผงโกโก้	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส และ แอซีซัลเฟมเค), สารป้องกันการจับเป็นก้อน (ซิลิกอนไดออกไซด์), สารเพิ่มปริมาณ (มอลโทเดกซ์ทรีน), สารทำให้คงตัว (ไฮดรอกซีโพรพิลสตาแรช), สารแต่งกลิ่นสังเคราะห์	26 ม.ค. 65*
9	S09	เครื่องดื่ม (ผง)	โพลีเด็กซ์โตรอส ผงกาแฟ ครีมเทียม	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส)	ม.ค. 65**
10	S10	ไฟเบอร์ (ผง)	ผงมะขาม ผงสาหร่ายคลอเรลลา ไซเลียมฮัสค์	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส), สารควบคุมความเป็นกรด (กรดซิตริก)	25 ก.พ. 65

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบหลักและวัตถุเจือปนอาหารบนฉลากของตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในงานวิจัยนี้ (ต่อ)

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ประเภท (สถานะ)	ส่วนประกอบหลัก	วัตถุเจือปนอาหาร	วันที่ผลิต
11	S11	ไฟเบอร์ (ผง)	ผงมะนาว ผงน้ำผึ้ง ไซเลียมฮัสค์ ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ ผงแอปเปิ้ล	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส), สารควบคุมความเป็นกรด (กรดซิตริก)	25 ม.ค. 65
12	S12	คอลลาเจน (ผง)	คอลลาเจนเปปไทด์		23 เม.ย. 64
13	S13	วิตามินซี (เม็ด)	ซูโครส วิตามินซี	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส และ โซเดียมแซ็กคาริน), สารป้องกันการจับเป็นก้อน (แมกนีเซียมสเตียเรต และทาลคัม), สารให้ความชื้นเหนียว (โพลีไวนิลไพโรลิโดน), สีสังเคราะห์, สารแต่งกลิ่นสังเคราะห์	ไม่ระบุ
14	S14	วิตามินซี (เม็ด)	ซูโครส วิตามินซี	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส และ โซเดียมแซ็กคาริน), สารป้องกันการจับเป็นก้อน (แมกนีเซียมสเตียเรต และทาลคัม), สารให้ความชื้นเหนียว (โพลีไวนิลไพโรลิโดน), สีสังเคราะห์, สารแต่งกลิ่นสังเคราะห์	ไม่ระบุ
15	S15	เครื่องดื่ม (ของเหลว)	น้ำเสาวรสเข้มข้น	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ไซลิทอล และ สตีวียอลไกลโคไซด์), สารควบคุมความเป็นกรด (กรดมาลิก), สารทำให้คงตัว (เพ็กทิน), สารแต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ	29 ก.ค. 64
16	S16	โอเมก้า 3 (ของเหลว)	น้ำมันปลา	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซอร์บิทอล ไซรัป), สารควบคุมความเป็นกรด (กรดซิตริก และ โพแทสเซียมซิเตรต), สารให้ความชื้นเหนียว (แซนแทนกัม), สารทำให้เกิดความชุ่มชื้น (กลีเซอรอล), สารกันเสีย (โซเดียมเบนโซเอต), สารแต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ	19 เม.ย. 65
17	S17	สารสกัด (ของเหลว)	โสมเกาหลีสกัด เห็ดหลินจือสกัด	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (มอลติทอล ไซรัป), สารควบคุมความเป็นกรด (กรดซิตริก และ โพแทสเซียมซิเตรต), สารทำให้คงตัว (แซนแทนกัม), สารกันเสีย (โซเดียมเบนโซเอต), สารแต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ	14 ก.ค. 64
18	S18	เครื่องดื่ม (ผง)	ผงชาเขียว ใยอาหารจากแอปเปิ้ล ผงน้ำมัน MCT	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (สตีวียอลไกลโคไซด์), สารแต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ	2 ธ.ค. 64
19	S19	เครื่องดื่ม (ผง)	ผงสตอเบอรี่ ผงน้ำมัน MCT	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (สตีวียอลไกลโคไซด์), สารแต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ	13 ธ.ค. 64
20	S20	เครื่องดื่ม (ผง)	ผงชาดำ ผงน้ำมัน MCT	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (สตีวียอลไกลโคไซด์), สารแต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ	13 ธ.ค. 64
21	S21	เครื่องดื่ม (ผง)	ผงโกโก้ ใยอาหารจากแอปเปิ้ล	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (สตีวียอลไกลโคไซด์), สารเพิ่มปริมาณ (มอลโทเดกซ์ทรีน), สารแต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ	18 ม.ค. 65

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบหลักและวัตถุดิบอาหารบนฉลากของตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในงานวิจัยนี้ (ต่อ)

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ประเภท (สถานะ)	ส่วนประกอบหลัก	วัตถุดิบอาหาร	วันที่ผลิต
22	S22	เครื่องดื่ม (ผง)	ฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ อินูลิน	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (สตีวียอลไกลโคไซด์), สารแต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ	21 ม.ค. 65
23	S23	คอลลาเจน (ผง)	คอลลาเจนเปปไทด์	-	3 พ.ค. 65
24	S24	ไฟเบอร์ (ผง)	ฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ ไฮเลียมฮัสค์	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส), สารควบคุมความเป็นกรด (กรดซิตริก), สีส้มแครอท, สารแต่งกลิ่นรสเลียนธรรมชาติ	3 พ.ค. 65
25	S25	คอลลาเจน (ผง)	คอลลาเจนเปปไทด์ ฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส), สารควบคุมความเป็นกรด (กรดมาลิก), สารเพิ่มปริมาณ (มอลโทเดกซ์ทริน), สารแต่งกลิ่นธรรมชาติ, สารแต่งกลิ่นสังเคราะห์	20 ธ.ค. 64
26	S26	ไฟเบอร์ (ผง)	ฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ อินูลิน ไฮเลียมฮัสค์	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (สตีวียอลไกลโคไซด์)	29 เม.ย. 65
27	S27	คอลลาเจน (ผง)	คอลลาเจนเปปไทด์	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส และ ไอโซมอลต์), สารเพิ่มปริมาณ (มอลโทเดกซ์ทริน), สีส้มแครอท, สารแต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ	22 ต.ค. 64
28	S28	คอลลาเจน (ผง)	คอลลาเจนเปปไทด์	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส และ มัลติตอล), สารควบคุมความเป็นกรด (กรดซิตริก), สารเพิ่มปริมาณ (มอลโทเดกซ์ทริน), สีส้มแครอท, สารแต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ	15 ก.พ. 64
29	S29	ไฟเบอร์ (ผง)	ใยอาหารจากข้าวสาลี ฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส), สารควบคุมความเป็นกรด (กรดซิตริก), สารป้องกันการจับเป็นก้อน (ซิลิกอนไดออกไซด์), สีส้มแครอท, สารแต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ	14 ม.ค. 65
30	S30	คอลลาเจน (ผง)	คอลลาเจนเปปไทด์	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส), สารควบคุมความเป็นกรด (กรดซิตริก), สารเพิ่มปริมาณ (มอลโทเดกซ์ทริน), สีส้มแครอท, สารแต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ	8 ก.ย. 63
31	S31	เวย์โปรตีน (ผง)	เวย์โปรตีน	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส), สารแต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ	14 ธ.ค. 64
32	S32	ไฟเบอร์ (ผง)	ใยอาหารจากแอปเปิ้ล ผงมะขาม ผงสับประรด ไฮเลียมฮัสค์	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส), สารควบคุมความเป็นกรด (กรดซิตริก), สีส้มแครอท, สารแต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ	12 ก.พ. 65
33	S33	ไฟเบอร์ (ผง)	ฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ อินูลิน ไคโตซาน	สารให้ความหวานแทนน้ำตาล (ซูคราโลส), สารเพิ่มปริมาณ (โพลีเด็กซ์โตรอส), สีส้มแครอท, สารแต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ	1 ก.ค. 65

* พบการขาดทำลายที่ผิวของกล่องบรรจุในตำแหน่งที่ระบุ LOT

** พบการขาดทำลายที่ผิวของกล่องบรรจุในตำแหน่งที่ระบุวันที่ผลิต วันที่หมดอายุ และครั้งที่ผลิต (Batch No.)

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 2.2.1 AnaeroGen™ 2.5 L (Thermo Scientific, US)
- 2.2.2 Dry anaerobic indicator strips (BD, US)
- 2.2.3 กล้องจุลทรรศน์ (Olympus, Japan)
- 2.2.4 เครื่องควบคุมการดูดจ่ายสารละลาย (Pipette aid) (Thermo Scientific, US)
- 2.2.5 เครื่องชั่ง (Sartorius, Germany)
- 2.2.6 เครื่องบด และโถแก้วสำหรับใช้กับเครื่องบด (Waring Commercial, US)
- 2.2.7 จานเพาะเชื้อพลาสติก (Thermo Scientific, US)
- 2.2.8 ตู้ชีวนิรภัย (Biological safety cabinet) (Astec, UK)
- 2.2.9 ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ (Binder, Germany)
- 2.2.10 ถุงปลอดเชื้อ (Nasco Whirl-Pak, US)
- 2.2.11 โถบ่มไร้ออกซิเจน (Anaerobic jar) (Oxoid, UK)
- 2.2.12 ปีเปตต์ (Falcon, US)
- 2.2.13 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Julabo, Germany)

2.3 สารเคมี

- 2.3.1 Baird-parker agar (BPA) base (Oxoid, UK)
- 2.3.2 Barrit's reagent (Scharlau, Spain)
- 2.3.3 Brain heart infusion (BHI) broth (Oxoid, UK)
- 2.3.4 Buffered peptone water (BPW) (Oxoid, UK)
- 2.3.5 Coagulase plasma (rabbit) with EDTA (BD, US)
- 2.3.6 Columbia agar (Merck, Germany)
- 2.3.7 EC broth (Oxoid, UK)
- 2.3.8 Egg yolk-tellurite emulsion (Oxoid, UK)
- 2.3.9 Gentamicin (PanReac AppliChem, Germany)
- 2.3.10 Gram stain reagents (Clinag, Thailand)
- 2.3.11 Hektoen enteric (HE) agar (Oxoid, UK)
- 2.3.12 Hydrogen peroxide (H₂O₂) (Merck, Germany)
- 2.3.13 Iodine (Merck, Germany)
- 2.3.14 Koser's citrate broth (HiMedia, India)
- 2.3.15 Kovacs' reagent (Scharlau, Spain)
- 2.3.16 Lauryl tryptose (LST) broth (Oxoid, UK)
- 2.3.17 Levine's eosin-methylene blue (L-EMB) agar (Oxoid, UK)
- 2.3.18 L-Lysine decarboxylation medium (HiMedia, India)
- 2.3.19 Methyl red (Scharlau, Spain)

- 2.3.20 MR-VP broth (HiMedia, India)
- 2.3.21 Muller-Kauffmann tetrathionate-novobiocin (MKTn) broth (Oxoid, UK)
- 2.3.22 Nutrient agar (NA) (Oxoid, UK)
- 2.3.23 O'Meara's reagent (Scharlau, Spain)
- 2.3.24 Plate count agar (PCA) (Oxoid, UK)
- 2.3.25 Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) (Merck, Germany)
- 2.3.26 Rappaport-Vassiliadis medium with soya (RVS broth) (Oxoid, UK)
- 2.3.27 Reinforced medium for clostridia (Oxoid, UK)
- 2.3.28 *Salmonella* O polyvalent antisera (Clinag, Thailand)
- 2.3.29 *Salmonella* H antisera (Clinag, Thailand)
- 2.3.30 Sodium chloride (NaCl) (Oxoid, UK)
- 2.3.31 Sodium hydroxide (NaOH) (Merck, Germany)
- 2.3.32 Thioglycollate medium (Oxoid, UK)
- 2.3.33 Triple sugar/iron (TSI) agar (Oxoid, UK)
- 2.3.34 Tryptic soy broth (TSB) (Merck, Germany)
- 2.3.35 Tryptone (Oxoid, UK)
- 2.3.36 Tryptone soya agar (TSA) (Oxoid, UK)
- 2.3.37 Urea 40% (Oxoid, UK)
- 2.3.38 Urea agar base (Oxoid, UK)
- 2.3.39 Xylose lysine deoxycholate (XLD) agar (Oxoid, UK)

2.4 วิธีดำเนินงาน

2.4.1 การเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

สุ่มตัวอย่างปริมาณ 100 กรัม ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันในถุงปลอดเชื้อ กรณีที่ตัวอย่างมีลักษณะเป็นเม็ดจะทำการสับซึ่งตัวอย่างปริมาณ 100 กรัม ลงในโถแก้วที่ทำให้ปลอดเชื้อด้วยหมอนึ่งความดันไอล้างขวดให้ละเอียดจนเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องบด

2.4.2 การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

2.4.2.1 การตรวจสอบ *Salmonella* spp.

ตรวจสอบ *Salmonella* spp. ด้วยวิธีมาตรฐาน ISO 6579 : 2017 [6] โดยชั่งตัวอย่างปริมาณ 25 กรัม ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Buffered peptone water (BPW) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ± 2 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Rappaport-Vassiliadis medium with soya (RVS broth) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 41.5 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง และถ่ายเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller-Kauffmann tetrathionate-novobiocin (MKTn) broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อจากอาหารทั้งสองชนิดปริมาณ 1 ลูบ ขีดลงบนอาหาร

เลี้ยงเชื้อ Xylose lysine deoxycholate (XLD) agar และอาหารเลี้ยงเชื้อ Hektoen enteric (HE) agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีสีแดง มีหรือไม่มีจุดดำตรงกลาง โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD agar และ/หรือ โคโลนีสีเขียวเข้มออกดำเช่นเดียวกับสีอาหารบนอาหารเลี้ยงเชื้อ HE agar แล้วเลือกโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะดังกล่าวขีดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) และบ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง เพื่อรอการตรวจยืนยัน

การตรวจยืนยัน *Salmonella* spp. ประกอบด้วยการทดสอบทางชีวเคมีในอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิด ได้แก่

1) Triple sugar iron (TSI) agar

ถ่ายเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ขีดลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI agar slant และแทงลงในส่วนของอาหารเต็มหลอด (Butt) บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง *Salmonella* ให้ผลบวก ซึ่งสังเกตได้จาก บริเวณผิวหน้า Slant มีสีแดง บริเวณก้นหลอดมีสีเหลือง มีแก๊สเกิดขึ้นและมีการสร้าง Hydrogen sulfide (H_2S) ซึ่งสังเกตได้จากสีดำที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ

2) Urea agar

ถ่ายเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ขีดลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ Urea agar slant บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง *Salmonella* ให้ผลลบ คือ ไม่เกิดการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ

3) L-Lysine decarboxylation medium

ถ่ายเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ลงใน L-Lysine decarboxylation medium โดยใช้หลอดหยด บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง *Salmonella* ให้ผลบวก คือ อาหารเลี้ยงเชื้อขุ่นและมีสีม่วง

หากผลการทดสอบทางชีวเคมีในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 ชนิดบ่งชี้ว่าเป็น *Salmonella* จะทำการทดสอบทางน้ำเหลืองวิทยา (Serological testing) ดังนี้

1) การทดสอบ Auto-agglutination

หยดสารละลาย Sodium chloride (NaCl) ที่ความเข้มข้น 0.85% โดยมวลต่อปริมาตร 1 หยด ลงบนสไลด์ เชื้อเชื้อจากโคโลนีเดียวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA กระจายลงในสารละลาย เหยียงสไลด์กลับไปมาประมาณ 1 นาที หากเกิดการจับตัวเป็นเม็ด (Agglutination) แสดงว่าเกิด Auto-agglutination ซึ่งตัวอย่างนั้นจะไม่สามารถนำมาทดสอบทางน้ำเหลืองวิทยาได้ ส่วนตัวอย่างที่ไม่เกิด Auto-agglutination จะนำมาทดสอบ O-antigens และ H-antigens ต่อไป

2) การทดสอบ O-antigens

หยด *Salmonella* O polyvalent antisera 1 หยด ลงบนสไลด์ เชื้อเชื้อจากโคโลนีเดียวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA กระจายลงใน *Salmonella* O polyvalent antisera เหยียงสไลด์กลับไปมาประมาณ 1 นาที สังเกตการเกิด Agglutination

3) การทดสอบ H-antigens

หยด *Salmonella* H antisera 1 หยด ลงบนสไลด์ เชื้อเชื้อจากโคโลนีเดียวบนอาหาร

เลี้ยงเชื้อ NA กระจายลงใน *Salmonella* H antisera เอียงสไลด์กลับไปมาประมาณ 1 นาที สังเกตการเกิด Agglutination *Salmonella* spp. ให้ผลการเกิด Agglutination ทั้งใน *Salmonella* O polyvalent antisera และ *Salmonella* H antisera

2.4.2.2 การตรวจสอบ *S. aureus*

ตรวจสอบ *S. aureus* ด้วยวิธีมาตรฐาน FDA BAM Online, 2016, Chapter 12 [7] โดยชั่งตัวอย่างปริมาณ 50 กรัม ลงในสารละลาย Butterfield's phosphate-buffered dilution water (PB) ปริมาตร 450 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน แล้วถ่ายสารละลายปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker agar (BPA) โดยแบ่งเป็น 0.3 มิลลิลิตร 2 จาน และ 0.4 มิลลิลิตร 1 จาน กระจายสารละลายให้ทั่วจานเพาะเชื้อด้วยเทคนิค spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีสีเทาดำ ลักษณะ กลม นูน ผิวเรียบขึ้น มีบริเวณขุ่นรอบโคโลนี และมีบริเวณใสรอบนอกบริเวณขุ่นอีกชั้น เลือกลโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะดังกล่าวมาทำการทดสอบ coagulase โดยถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain heart infusion (BHI) broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วถ่ายเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI broth ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมกับ coagulase plasma (rabbit) with EDTA ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองปลอดเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง สังเกตผลบวกของ *S. aureus* คือเกิดการแข็งตัวอย่างสมบูรณ์ของสารในหลอดทดลอง

2.4.2.3 การตรวจสอบ *Clostridium* spp.

ตรวจสอบ *Clostridium* spp. ด้วยวิธีมาตรฐาน USP 42/NF 37 Volume 5, 2019, <2022> Microbiological procedures for absence of specified microorganisms-nutritional and dietary supplements [9] โดยชั่งตัวอย่างปริมาณ 10 กรัม ลงในสารละลาย PB ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน แบ่งสารละลายตัวอย่างปริมาตร 15 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองปลอดเชื้อแล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้องโดยการแช่หลอดทดลองในน้ำ ถ่ายเชื้อจากสารละลายตัวอย่างที่ไม่ผ่านความร้อนปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Reinforced medium for Clostridia ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และถ่ายเชื้อจากสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Reinforced medium for Clostridia ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มที่สภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อโดยขีดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Columbia agar ที่ผสมยาปฏิชีวนะ Gentamicin ที่ความเข้มข้น 0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มที่สภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หากพบการเจริญของเชื้อ ให้ถ่ายเชื้อจากแต่ละโคโลนีที่แตกต่างกันโดยขีดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Columbia agar โคโลนีละ 2 จานเพาะเชื้อ เพื่อบ่มที่สภาวะที่มีแก๊สออกซิเจน และสภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หากพบการเจริญของเชื้อ ให้ทำการย้อมแกรม และทดสอบเอนไซม์ Catalase โดยใช้สารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่ความเข้มข้น 3% (v/v) แล้วสังเกตการเกิดฟองแก๊ส ตัวอย่างที่สามารถเจริญได้ในสภาวะไร้ออกซิเจน ไม่เจริญในสภาวะที่มีแก๊สออกซิเจน ให้ผลแกรมบวก รูปร่างท่อน และให้ผลลบในการทดสอบเอนไซม์ Catalase ซึ่งจะไม่มีการเกิดฟองแก๊สเกิดขึ้นในระหว่างการทดสอบ จะถูกพิจารณาว่าพบ *Clostridium* spp.

2.4.2.4 การตรวจสอบ *E. coli*

ตรวจสอบ *E. coli* ด้วยวิธีมาตรฐาน FDA BAM Online, 2020, Chapter 4 [8] โดยชั่งตัวอย่างปริมาณ 50 กรัม ลงในสารละลาย PB ปริมาตร 450 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน จะได้ระดับความเจือจางที่ 10^{-1} ทำการเจือจางต่อไปในสารละลาย PB โดยเจือจาง 10 เท่า อย่างเป็นลำดับ (Serial dilution) ให้ได้ระดับความเจือจางที่ 10^{-2} และ 10^{-3} จากนั้นถ่ายตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl tryptose (LST) broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และมีหลอดดักแก๊สอยู่ภายใน โดยถ่ายตัวอย่างระดับความเจือจางละ 3 หลอด บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 3 ชั่วโมง สังเกตความขุ่นและการเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส

การตรวจยืนยัน *E. coli* ทำได้โดยถ่ายเชื้อจากหลอดที่ขุ่นและ/หรือเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส 1 หลอด ลงในหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และมีหลอดดักแก๊สอยู่ภายใน บ่มที่อุณหภูมิ 44.5 ± 0.2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง สังเกตความขุ่นและการเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส

การตรวจสอบ *E. coli* ขั้นสมบรูณ์ทำได้โดยถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth ที่ขุ่นและ/หรือเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส 1 หลอด ชีดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Levine's eosin-methylene blue (L-EMB) agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีที่มีลักษณะแบนราบ มีสีดำตรงกลาง มีหรือไม่มีเงาโลหะ (Metallic sheen) ถ่ายเชื้อจากโคโลนีที่มีลักษณะดังกล่าวลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการย้อมแกรม โคโลนีที่ให้ผล แกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น จะถูกนำไปยืนยันการเกิดแก๊สในอาหาร LST broth อีกครั้ง โดยถ่ายเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ลงในหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ LST broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และมีหลอดดักแก๊สอยู่ภายใน บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง สังเกตความขุ่นและการเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส และโคโลนีดังกล่าวจะถูกนำไปทดสอบปฏิกิริยา IMViC ดังนี้

1) Indole production

ถ่ายเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptone broth บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง ทดสอบ Indole โดยเติม Kovacs' reagent ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร *E. coli* ให้ผลบวกหรือผลลบ ซึ่งสังเกตได้จากการเกิดวงแหวนสีแดงหรือสีเหลืองที่ส่วนบนของอาหารเลี้ยงเชื้อตามลำดับ

2) Voges-Proskauer (VP)-reactive compounds

ถ่ายเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MR-VP broth บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง แล้วถ่ายเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองเปล่า เติมน้ำ Barrit's Reagent ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร และเติมน้ำ O'Meara's Reagent ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง *E. coli* ให้ผลลบ ซึ่งสังเกตได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เปลี่ยนสี

3) Methyl red-reactive compounds

บ่มเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ MR-VP broth หลังจากทดสอบ VP-reactive compounds ต่อไปที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง แล้วเติมสารละลาย Methyl red 5 หยด *E. coli* ให้ผลบวก ซึ่งสังเกตได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีแดง

4) Citrate

ถ่ายเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Koser's citrate broth บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง *E. coli* ให้ผลลบ ซึ่งสังเกตได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ขุ่น

3. ผลและวิจารณ์ (Results and discussion)

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ได้จากการจัดซื้อจากห้างสรรพสินค้า และร้านค้าออนไลน์ จำนวน 33 ตัวอย่าง ซึ่งมีสถานะเป็นผงจำนวน 28 ตัวอย่าง เป็นเม็ดจำนวน 2 ตัวอย่าง และเป็นของเหลวจำนวน 3 ตัวอย่าง สามารถจัดประเภทโดยพิจารณาจากส่วนประกอบหลักได้เป็น 7 ประเภท ได้แก่ ไฟเบอร์จำนวน 10 ตัวอย่าง คอลลาเจนจำนวน 10 ตัวอย่าง เครื่องดื่มจำนวน 8 ตัวอย่าง วิตามินซีจำนวน 2 ตัวอย่าง โปรตีนเวย์จำนวน 1 ตัวอย่าง โอเมก้า 3 จำนวน 1 ตัวอย่าง และสารสกัดจำนวน 1 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1) เมื่อพิจารณาส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร พบว่า มีสารบางชนิดที่เป็นส่วนประกอบหลักในหลายผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ ไชเลียมฮัสค์ คอลลาเจนเปปไทด์ และอินูลิน ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ และอินูลินจัดเป็นไฟเบอร์ที่ละลายน้ำได้ ซึ่งเป็นสารจำพวกคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ แต่สามารถเป็นแหล่งอาหารให้กับแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อร่างกายที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ได้ ให้ความหวานน้อย ไม่ให้พลังงาน และไม่ทำให้ฟันผุ [10] ไชเลียมฮัสค์เป็นเปลือกของเมล็ดพืช Psyllium หรือเทียนเกล็ดหอย (*Plantago ovata*) องค์ประกอบของไชเลียมฮัสค์เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ย่อยสลายในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ประเภทอะราบิโนไซแลน ซึ่งมีหน่วยย่อยเป็นน้ำตาลไซโลสและน้ำตาลอะราบิโนสเป็นหลัก มีคุณสมบัติเป็นไฟเบอร์ที่ละลายน้ำได้ มีสมบัติในการเกิดเจล สามารถใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารโดยไม่ทำให้รสชาติเปลี่ยนไป [11] ส่วนคอลลาเจนเปปไทด์นั้นเป็นเปปไทด์สายสั้นที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนคอลลาเจน สามารถละลายน้ำได้ ถูกย่อยสลายและถูกดูดซึมได้ดีในร่างกายมนุษย์ รวมถึงมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและจุลินทรีย์ได้ โดยคุณสมบัติดังกล่าวขึ้นอยู่กับความยาวของสายเปปไทด์และกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในสายเปปไทด์ด้วย [12] นอกจากนี้ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารส่วนใหญ่ยังมีส่วนประกอบของวัตถุเจือปนอาหารชนิดต่าง ๆ เพื่อให้มีสี กลิ่น และรสชาติที่พึงประสงค์ ได้แก่ สารให้ความหวานแทนน้ำตาล สารควบคุมความเป็นกรด สารป้องกันการจับเป็นก้อน สารเพิ่มปริมาณ สารทำให้คงตัว สารให้ความข้นเหนียว สารทำให้เกิดความชุ่มชื้น สารกันเสีย สารแต่งกลิ่น สี รสชาติ และสีสังเคราะห์ (ตารางที่ 1) ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารส่วนใหญ่มักมีรสชาติหวานเพื่อให้เข้าถึงผู้บริโภคได้ง่าย อย่างไรก็ตาม การใช้น้ำตาลที่ให้พลังงานตามปกติอาจไม่ตรงตามความต้องการของผู้บริโภค ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ส่วนใหญ่เป็นผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนักและไม่ต้องการได้รับพลังงานจากอาหารที่รับประทาน ผู้ผลิตจึงมักใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาลทดแทน โดยสารให้ความหวานแทน

น้ำตาลส่วนใหญ่ที่เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในงานวิจัยนี้คือซูคราโลส ซึ่งถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยการดัดแปลงโครงสร้างของน้ำตาลซูโครส มีความหวานมากกว่าน้ำตาลซูโครสถึง 600 เท่า เป็นสารที่ไม่ถูกย่อยในร่างกาย ไม่ให้พลังงาน และได้รับการยอมรับทั่วโลกว่าเป็นสารที่ปลอดภัยต่อร่างกาย [13]

จากการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร โดยตรวจสอบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ *Salmonella* spp. *S. aureus* *Clostridium* spp. และ *E. coli* ด้วยวิธีมาตรฐาน พบว่า ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารทั้ง 33 ตัวอย่าง ไม่มีการปนเปื้อนของ *Salmonella* spp. *S. aureus* และ *E. coli* อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่พบการปนเปื้อนของ *Clostridium* spp. มีจำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ S08, S12, S28 S29 และ S31 ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารประเภทเครื่องดื่ม คอลลาเจน คอลลาเจน ไฟเบอร์ และเวย์โปรตีน ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การปนเปื้อนของ *Salmonella* spp. *S. aureus* *Clostridium* spp. และ *E. coli* ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร จำนวน 33 ตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ผลการตรวจสอบ			
	<i>Salmonella</i> spp. ใน 25 กรัม (พบ/ไม่พบ)	<i>S. aureus</i> ใน 0.1 กรัม (พบ/ไม่พบ)	<i>Clostridium</i> spp. ใน 0.1 กรัม (พบ/ไม่พบ)	<i>E. coli</i> (เอ็มพีเอ็น/กรัม)
S01	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S02	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S03	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S04	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S05	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S06	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S07	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S08	ไม่พบ	ไม่พบ	พบ	<3.0
S09	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S10	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S11	ไม่พบ	ไม่พบ	พบ	<3.0
S12	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S13	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S14	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S15	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S16	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S17	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S18	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S19	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0

ตารางที่ 2 การปนเปื้อนของ *Salmonella* spp. *S. aureus* *Clostridium* spp. และ *E. coli* ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร จำนวน 33 ตัวอย่าง (ต่อ)

ตัวอย่าง	ผลการตรวจสอบ			
	<i>Salmonella</i> spp. ใน 25 กรัม (พบ/ไม่พบ)	<i>S. aureus</i> ใน 0.1 กรัม (พบ/ไม่พบ)	<i>Clostridium</i> spp. ใน 0.1 กรัม (พบ/ไม่พบ)	<i>E. coli</i> (เอ็มพีเอ็น/กรัม)
S20	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S21	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S22	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S23	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S24	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S25	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S26	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S27	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S28	ไม่พบ	ไม่พบ	พบ	<3.0
S29	ไม่พบ	ไม่พบ	พบ	<3.0
S30	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S31	ไม่พบ	ไม่พบ	พบ	<3.0
S32	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0
S33	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<3.0

คุณภาพหรือมาตรฐานของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้ถูกกำหนดไว้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 293) พ.ศ. 2548 เรื่อง ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) เรื่อง หลักฐานและเอกสารประกอบการยื่นขออนุญาตใช้ฉลากของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และคุณภาพหรือมาตรฐานด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ซึ่งกำหนดไว้ว่า ตรวจพบ *E. coli* น้อยกว่า 3 ต่ออาหาร 1 กรัม โดยวิธี เอ็ม พี เอ็น (Most probable number) ในส่วนของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ได้กำหนดไว้ว่า ตรวจไม่พบ *S. aureus* ต่ออาหาร 0.1 กรัม ตรวจไม่พบ *Clostridium* spp. ต่ออาหาร 0.1 กรัม และตรวจไม่พบ *Salmonella* spp. ต่ออาหาร 25 กรัม อย่างไรก็ตาม การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในงานวิจัยนี้จำนวน 33 ตัวอย่าง พบว่า มีผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจำนวน 5 ตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานเนื่องจากพบ *Clostridium* spp. ต่ออาหาร 0.1 กรัม ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 15 แบคทีเรียในสกุล *Clostridium* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อน สร้างสปอร์ และไม่ต้องการออกซิเจนในการดำรงชีวิต มีรายงานประมาณ 180 สปีชีส์ บางสปีชีส์เป็นแบคทีเรียก่อโรค เช่น *C. perfringens* ซึ่งสามารถสร้างสารพิษได้หลายชนิด ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ *C. botulinum* ซึ่งสามารถสร้างสารพิษที่เป็นอันตรายต่อระบบประสาท ทำให้เกิดอัมพาตได้ และ *C. difficile* ซึ่งทำให้ท้องเสียและติดเชื้อในลำไส้ใหญ่ [14-15] เนื่องจากผลิตภัณฑ์ทั้งหมดที่พบการปนเปื้อนของ *Clostridium* spp. มีสถานะเป็นผง ซึ่งมีค่าแอดติวิตีของ

น้ำ (Water activity, a_w) ต่ำ โดยต่ำกว่าระดับที่ *C. perfringens* และ *C. botulinum* สามารถเจริญได้ [16] จึงจัดว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเสี่ยงต่ำที่จะเกิดการปนเปื้อนของสารพิษที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ ทั้งสองชนิดดังกล่าว อย่างไรก็ตาม *Clostridium* เป็นจุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์ โดยสปอร์ของ *Clostridium* สามารถทนต่ออุณหภูมิ ความดัน รังสี เอนไซม์ และสารเคมี [15] ดังนั้น สปอร์ของ *Clostridium* จึงอาจปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ หรืออาจเกิดการปนเปื้อนในระหว่างกระบวนการผลิต และสามารถรอดชีวิตไปจนถึงผลิตภัณฑ์สุดท้าย ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ดังนั้น ผู้ผลิตจึงควรตระหนักและให้ความสำคัญกับควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารอย่างเคร่งครัด โดยผู้ผลิตสามารถดำเนินการผลิตตามมาตรฐานการปฏิบัติสุขลักษณะที่ดี (Good hygiene practices (GHPs)) และสามารถใช้ระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (Hazard analysis and critical point (HACCP) system) ในการผลิตอาหาร เพื่อป้องกันอันตรายที่อาจปนเปื้อนในอาหาร และสร้างความมั่นใจให้กับผู้บริโภค

4. สรุป (Conclusion)

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเป็นอาหารที่มีการกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานไว้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ได้สุ่มตรวจพบผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีคุณภาพทางจุลชีววิทยาไม่เป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด โดยกระทรวงสาธารณสุขและสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา แสดงให้เห็นถึงความเสี่ยงที่ผู้บริโภคอาจได้รับเมื่อบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเหล่านี้ โดยอาจก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารและเป็นอันตรายต่อสุขภาพได้

5. กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) รหัสโครงการ 65FF01

6. เอกสารอ้างอิง (References)

- [1] กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 293) พ.ศ. 2548 เรื่อง ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 122 ตอนพิเศษ 150 ง, 28 ธันวาคม 2548. 2-5.
- [2] Dlugaszewska J, Ratajczak M, Kaminska D, Gajeczka M. Are dietary supplements containing plant-derived ingredients safe microbiologically?. Saudi Pharm J. 2019;27(2):240-5.
- [3] Ratajczak M, Kaminska D, Swiatly-Blaskiewicz A, Matysiak J. Quality of dietary supplements containing plant-derived ingredients reconsidered by microbiological approach. Int J Environ Res Public Health. 2020;17(18):6837.
- [4] สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง หลักฐานและเอกสารประกอบการยื่นขออนุญาตใช้ฉลากของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และคุณภาพหรือมาตรฐานด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 123 ตอนพิเศษ 12 ง, 26 มกราคม 2549. 14-17.

- [5] นฤมล จำเริญ, ดาวิวรรณ เศรษฐธรรม. การปนเปื้อนจุลินทรีย์และมาตรฐานของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่บริโภคในครัวเรือน กรณีศึกษาเทศบาลตำบลท่าพระ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น. วารสารวิจัย มข. 2557;14:81-91.
- [6] International Organization for Standardization (ISO). Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.. ISO 6579-1:2017(E). Geneva, Switzerland: ISO; 2017.
- [7] U.S. Food and Drug Administration (FDA). Bacteriological analytical manual Chapter 12: *Staphylococcus aureus* [Internet]. 2016 [cited 2022 May 15]. Available from: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-12-staphylococcus-aureus>
- [8] U.S. Food and Drug Administration (FDA). Bacteriological analytical manual Chapter 4: enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria [Internet]. 2020 [cited 2022 May 15]. Available from: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria>
- [9] United States Pharmacopeia (USP). <2022> Microbiological procedures for absence of specified microorganisms-nutritional and dietary supplements. USP 42/NF 37 Vol. 5. Rockville, Maryland: United States Pharmacopeia; 2019. p. 9057-749.
- [10] Sabater-Molina M, Larqué E, Torrella F, Zamora S. Dietary fructooligosaccharides and potential benefits on health. J Physiol Biochem. 2009;65(3):315-28.
- [11] Franco EAN, Sanches-Silva A, Ribeiro-Santos R, de Melo NR. Psyllium (*Plantago ovata* Forsk): from evidence of health benefits to its food application. Trends Food Sci Technol. 2020;96(1):166-75.
- [12] León-López A, Morales-Peñaloza A, Martínez-Juárez VM, Vargas-Torres A, Zeugolis DI, Aguirre-Álvarez G. Hydrolyzed collagen—Sources and applications. Molecules. 2019;24(22):4031.
- [13] Magnuson BA, Roberts A, Nestmann ER. Critical review of the current literature on the safety of sucralose. Food Chem Toxicol. 2017;106(Pt A):324-55.
- [14] Dürre P. Physiology and sporulation in *Clostridium*. Microbiol Spectr. 2014;2(4):1-14.
- [15] Shen A, Edwards AN, Sarker MR, Paredes-Sabja D. Sporulation and germination in clostridial pathogens. Microbiol Spectr. 2019;7(6):1-47.
- [16] Tapia MS, Alzamora SM, Chirife, J. Effects of water activity (aw) on microbial stability: as a hurdle in food preservation. In: Barbosa-Cánovas GV, Fontana AJ, Schmidt SJ, Labuza TP, editors. Water activity in foods. Iowa: Blackwell Publishing; 2007. p. 323-55.