บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในอาหารแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) ได้แก่ จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย จุลินทรีย์ที่ก่อโรค และจุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตอาหาร ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารจำเป็นต้องควบคุมจุลินทรีย์ที่ไม่เป็นที่ต้องการ คือจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียไม่ให้มีการเจริญจนก่อให้เกิดการเสื่อมเสียในอาหารได้ และควบคุมจุลินทรีย์ที่ก่อโรคไม่ให้สามารถเจริญและก่อโรคต่อผู้บริโภคได้

ปกติการควบคุมจุลินทรีย์ในอาหารมีหลายวิธีเช่น การใช้ความร้อน การใช้ความดัน การแช่แข็ง การควบคุมสภาวะของอาหาร รวมทั้งการใช้สารเคมีเข้ามาร่วมในการควบคุมจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ ซึ่งสารเคมีบางชนิดแม้จะได้รับอนุญาตให้ใช้ได้ แต่บางชนิดก็อาจเกิดการสะสมและเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้

เนื่องจากปัจจุบันประเทศไทยกำลังก้าวสู่นโยบายอาหารไทยสู่อาหารโลก มีการนำหลักการอาหารคุณภาพดีและปลอดภัยมาใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร เพื่อให้คุณภาพของอาหารไทยดีพอสำหรับส่งออกจำหน่ายทั่วโลกได้ โดยอาหารจะต้องปราศจากสิ่งเจือปนทั้งทางกายภาพ จุลินทรีย์ สารปฏิชีวนะ และรวมทั้งสารเคมีที่จะก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค ซึ่งผู้ผลิตจำเป็นต้องให้ความใส่ใจมากขึ้น การควบคุมจุลินทรีย์โดยวิธีการทางชีวภาพจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่ตอบรับนโยบายดังกล่าวและเป็นเทคโนโลยีที่กำลังเป็นที่สนใจในปัจจุบัน ซึ่งเป็นการควบคุมจุลินทรีย์โดยใช้สารที่ได้จากธรรมชาติ หรือจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อให้เกิดผลเสียแก่อาหารและผู้บริโภค นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการใช้เทคโนโลยีดังกล่าวร่วมกับเทคโนโลยีอื่นเช่น ใช้ร่วมกับการแช่เย็นในการยืดอายุการเก็บรักษาปลารมควัน (Duffes, 1999) ใช้ร่วมกับเชื้อเริ่มต้นในการผลิตโยเกิร์ต (Kasımoglu, Akgünn, 2004) และการผลิตเนยแข็ง (O'Sullivan et al., 2002) หรือใช้ร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Aymerich et al., 2002) เป็นต้น

โปรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่กำลังเป็นที่สนใจอย่างมากในปัจจุบัน โปรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต และให้ประโยชน์แก่ร่างกาย เมื่อบริโภคเข้าไปโปรไบโอติกจะช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ ผลิตสารอาหารที่มีประโยชน์ ช่วยย่อยอาหาร ยับยั้งการผลิตสารก่อมะเร็ง รวมทั้งลดโคเลสเตอรอลได้ จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโปรไบโอติกมีทั้งแบคทีเรีย ได้แก่ กลุ่มแบคทีเรียแลกติก (Lactic Acid Bacteria : LAB) ยีสต์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae, Candida pintolopesii* และรา ได้แก่ *Aspergillus niger* และ *Aspergillus oryzae* เป็นต้น มีการศึกษาพบว่าโปรไบโอติกสามารถใช้ควบคุมจุลินทรีย์ในอาหารได้ โดยเฉพาะกลุ่ม LAB เนื่องจากจุลินทรีย์กลุ่มนี้มักใช้ในการผลิตอาหารและเป็นจุลินทรีย์ที่มีความปลอดภัย (Generally Regarded As Safe : GRAS) โปรไบโอติกสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการได้เนื่องจากไปแย่งสารอาหารกับจุลินทรีย์ที่ต้องการยับยั้ง ทำให้สารอาหารไม่เพียงพอในการเจริญ ทำให้ถูกยับยั้งไปในที่สุด และยังไปเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมในอาหารจากสารเมแทบอไลท์ที่ผลิตขึ้นทำให้ไม่เหมาะในการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นและถูกยับยั้งไป เช่น ลดรีดอกซ์โพเทนเชียล (Eh) จากการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์ หรือลดความเป็นกรด-ด่าง (pH) จากการผลิตกรดอินทรีย์ เป็นต้น และยังสามารถผลิตสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ทั้งคาร์บอนไดออกไซด์ กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แอลกอฮอล์ ไดอะเซทิล ริวทิริน และสารเป็บไทด์โมเลกุลซับซ้อนได้แก่ แบคเทอริโอซินส์ ซึ่งมีผลต่อจุลินทรีย์แต่ละชนิดแตกต่างกันไป

โยเกิร์ตเป็นอาหารสุขภาพที่นิยมบริโภคกันมาเป็นเวลานานจนถึงในปัจจุบัน เนื่องจากเชื่อกันว่าจุลินทรีย์ในโยเกิร์ต จะไปปรับสมดุลจุลินทรีย์ในลำไส้ ช่วยให้ผู้บริโภคมีสุขภาพที่ดี จุลินทรีย์ดังกล่าวได้แก่ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* ปกติจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการจะถูกยับยั้งระหว่างการหมักโยเกิร์ต แต่บางครั้งหากการจัดการการผลิตไม่ดีพอก็อาจมีการเหลือรอดหรือการปนเปื้อนของเชื้อที่ไม่ต้องการได้ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ก่อโรค หากมีการปนเปื้อนย่อมส่งผลร้ายแรงกว่า เชื้อก่อโรคที่ปนเปื้อนในโยเกิร์ตอาจเป็นพวกทนความร้อนที่เหลือรอดจากการพาสเจอไรซ์ หรือปนเปื้อนจากวัตถุดิบ เช่น หางนมผง สารให้ความคงตัว เป็นต้น และยังอาจปนเปื้อนหลังกระบวนการหมักระหว่างการผสมแต่งกลิ่นรส ซึ่งอาจปนเปื้อนจากสารแต่งกลิ่นรส ภาชนะ เครื่องมือ และพนักงาน เป็นต้น ปกติจุลินทรีย์ที่ก่อโรคมักไม่เจริญในโยเกิร์ต แต่สามารถมีชีวิตอยู่ในโยเกิร์ตได้หลายวัน โยเกิร์ตจึงเป็นพาหะนำเชื้อมาสู่ผู้บริโภคได้ จุลินทรีย์ก่อโรคที่มักพบในโยเกิร์ตได้แก่ *Salmonella* sp., *Shigella* sp. และ *Brucella* sp. เป็นต้น (พวงพร โชติไกร, 2542) ส่วนจุลินทรีย์ที่ไม่ทนความร้อน เช่น *Escherichia coli* O157:H7 อาจเหลือรอดจากการพาสเจอไรซ์ได้ หากการควบคุมอุณหภูมิไม่ดีพอหรือนมมีเชื้อเริ่มต้นสูง ซึ่งในประเทศไทยยังมีฟาร์มโคนมที่ไม่ได้มาตรฐานอยู่จำนวนมาก โดยมีการศึกษาพบว่ามี *E. coli* O157:H7 ในอุจจาระวัว 11-84 เปอร์เซ็นต์ (Suthienkul et al., 1990) จึงมีความเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อชนิดนี้ได้

E. coli O157:H7 เป็น Enterohemorrhagic *E. coli* หรือ EHEC เป็น *E. coli* กลุ่มที่ผลิตสารพิษ verotoxin หรือ verocytotoxin ทำให้เกิดอาการเลือดออกในระบบทางเดินอาหารและอาการโลหิตจางเฉียบพลัน เสี่ยงต่อการเกิดไตวายได้ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) โดย Morgan et al. (1993) รายงานว่าการบริโภคโยเกิร์ตที่มี *E. coli* O157:H7 สามารถทำให้เกิดโรคแก่ผู้บริโภคได้ และเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคแม้จะได้รับเชื้อจำนวนไม่มาก มีรายงานว่า *E. coli* O175:H7 จำนวน 10-100 เซลล์นั้นเพียงพอที่จะทำให้ผู้บริโภคเจ็บป่วยได้ (Garbutt, 1997; Food Safety and Inspection Service [FSIS], 1999) และ Leyer et al. (1995) พบว่าจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถปรับตัวให้ทนต่อสภาวะกรดได้ จึงเป็นไปได้ที่จะเหลือรอดในโยเกิร์ตซึ่งมีสภาวะเป็นกรด ซึ่งจำเป็นต้องควบคุมไม่ให้จุลินทรีย์ดังกล่าวเหลือรอดเป็นพาหะทั้งในโยเกิร์ตและอาหารชนิดอื่น การใช้โปรไบโอติกเพื่อควบคุมเชื้อดังกล่าว นอกจากจะให้ประโยชน์ต่อร่างกายแล้ว ยังลดความเสี่ยงด้านจุลินทรีย์และเพิ่มความมั่นใจแก่ผู้บริโภคด้วย

เนื่องจากมีการศึกษาพบว่าโปรไบโอติกบางชนิดสามารถยับยั้ง *E. coli* O157:H7 ได้ จึงได้สนใจศึกษาผลของโปรไบโอติกในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7 ในโยเกิร์ตโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของโปรไบโอติกแต่ละชนิดในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7 ทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อและในโยเกิร์ต และศึกษาผลการยับยั้งเมื่ออัตราส่วนระหว่างโปรไบโอติกและเชื้อโยเกิร์ตต่างกัน รวมทั้งศึกษาผลการยับยั้งเมื่อมีการปนเปื้อนก่อนและหลังการหมัก ซึ่ง *E. coli* O157:H7 จะถูกเติมลงในโยเกิร์ตจำนวนเริ่มต้นต่างกัน และติดตามผลระหว่างการหมักจนถึงการเก็บรักษา ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสามารถนำมาพัฒนาใช้ในการควบคุม *E. coli* O157:H7 ในโยเกิร์ตได้และสามารถนำมาศึกษากับผลิตภัณฑ์อาหารชนิดอื่น ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

2. วัตถุประสงค์

2.1 ศึกษาผลของโปรไบโอติกแต่ละชนิดในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7

2.2 ศึกษาผลของโปรไบโอติกแต่ละชนิดในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7 ในโยเกิร์ตระหว่างการหมักและเก็บรักษาเมื่อจำนวน *E. coli* O157:H7 เริ่มต้นต่างกัน

2.3 ศึกษาผลของโปรไบโอติกในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7 ในโยเกิร์ตระหว่างการหมักและเก็บรักษาเมื่ออัตราส่วนระหว่างโปรไบโอติกและเชื้อโยเกิร์ตต่างกัน

2.4 ศึกษาผลของโปรไบโอติกในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7 ในโยเกิร์ตที่ปนเปื้อนก่อนและหลังการหมัก

3. ขอบเขตและข้อจำกัดของการวิจัย

3.1 โปรไบโอติกที่ใช้ศึกษา ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* และ *Lactococcus lactis* IO-1

3.2 เชื้อเริ่มต้นที่ใช้หมักโยเกิร์ต ได้แก่ *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* และ *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* จากเชื้อโยเกิร์ตแห้งสำเร็จรูปยี่ห้อ CH-1 – Yo-Flex ® ของ Chr.Hunsen, Australia

3.3 หมักโยเกิร์ตที่อุณหภูมิ 43 °ซ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลาไม่ต่ำกว่า 72 ชั่วโมง

3.4 จุลินทรีย์ก่อโรคที่ใช้ศึกษา ได้แก่ *Escherichia coli* O157:H7

3.5 จุดยุติของการทดลองคือการเก็บรักษาตัวอย่างเป็นเวลา 72 ชั่วโมง หรือจนตรวจไม่พบ *E. coli* O157:H7 ในตัวอย่างโยเกิร์ต

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

4.1 ทราบถึงผลของโปรไบโอติกชนิดต่าง ๆ ในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7

4.2 ทราบถึงผลของผลของโปรไบโอติกแต่ละชนิดในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7 ในโยเกิร์ตระหว่างการหมักและเก็บรักษาเมื่อจำนวน *E. coli* O157:H7 เริ่มต้นต่างกัน

4.3 ทราบถึงผลของโปรไบโอติกในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7 ในโยเกิร์ตระหว่างการหมักและเก็บรักษาเมื่ออัตราส่วนระหว่างโปรไบโอติกและเชื้อโยเกิร์ตต่างกัน

4.4 ทราบถึงผลของโปรไบโอติกในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7 ในโยเกิร์ตที่ปนเปื้อนก่อนและหลังการหมัก

4.5 ผลการทดลองสามารถนำมาพัฒนาใช้ในการควบคุม *E. coli* O157:H7 ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและผลิตภัณฑ์อาหารชนิดอื่นได้ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป