บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อาหารที่มีแหล่งกำเนิดมาจากเนื้อไก่ กำลังเป็นที่นิยมของผู้บริโภคทั่วโลก เนื่องจากเนื้อไก่ถือเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพ ราคาถูก อีกทั้งยังมีปริมาณไขมันต่ำเมื่อเทียบกับเนื้อสัตว์ประเภทอื่น ปัจจุบันการผลิตอาหารจากเนื้อไก่จัดว่าเป็นอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ ที่มีลักษณะการผลิตแบบครบวงจร กล่าวคือ เริ่มตั้งแต่ฟาร์มเลี้ยงไก่พ่อแม่พันธุ์ โรงฟักลูกไก่ ฟาร์มเลี้ยงไก่เนื้อ โรงงานผลิตอาหารสัตว์ กิจการขนส่ง โรงเชือด และโรงงานแปรรูป ซึ่งผู้ผลิตจะมีการนำระบบการจัดการที่เป็นมาตรฐานสากลมาใช้ควบคุมการผลิตในทุกขั้นตอนเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณภาพ และมีความปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค ซึ่งความปลอดภัยของอาหารที่ผู้บริโภคในปัจจุบันให้ความสำคัญเป็นอย่างมาก คือ ความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนมากับอาหาร ซึ่งสอดคล้องกับแนวโน้มการเกิดปัญหาการเจ็บป่วยจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคอันเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประชากรทั่วโลก

ผลิตภัณฑ์อาหารแช่แข็ง และผลิตภัณฑ์อาหารแช่เย็น มักพบการปนเปื้อนด้วย *Listeria monocytogenes* (*L.monocytogenes*) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคลิสเทอริโอซิส (Listeriosis) สาเหตุที่ทำให้ *L.monocytogenes* ก่อปัญหาการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุก เกิดจากหลายปัจจัย เช่น การใช้เทคโนโลยี ในขั้นตอนการบรรจุผลิตภัณฑ์ โดยการจำกัดปริมาณก๊าซออกซิเจนเพื่อเพิ่มอายุของผลิตภัณฑ์ หรือ การควบคุมจุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียของอาหาร (Parry, 1993) เป็นต้น ขณะเดียวกันเทคโนโลยีดังกล่าวอาจเป็นการส่งเสริมการเจริญเติบโต หรือเพิ่มโอกาสการอยู่รอดของ *L.monocytogenes* เนื่องจาก *L.monocytogenes* เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในสภาวะที่ต้องการก๊าซออกซิเจนปริมาณต่ำ (Buchanan and Klawitter,1990) และสามารถเจริญได้ในอุณหภูมิแช่เย็น (ช่วงอุณหภูมิ 0-8 องศาเซลเซียส) รวมทั้งทนต่อสารถนอมอาหารต่างๆ ได้ดี โดยปกติแล้วกระบวนการปรุงสุกเนื้อไก่ด้วยความร้อนในรูปแบบต่างๆ ทั้งการใช้ความร้อนแห้ง และความร้อนเปียก ในกระบวนการผลิตอาหาร สามารถกำจัด *L.monocytogenes* ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Jørgensen et al.,1995) ทั้งนี้การปรากฏของ *L.monocytogenes* ในอาหารพร้อมบริโภคนั้น อาจจะเนื่องมาจาก มี *L.monocytogenes* เหลือ

รอดปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์ หรืออาจจะมีการปนเปื้อนของ *L.monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์อาหารภายหลังกระบวนการปรุงสุก ซึ่งจะมีการเพิ่มจำนวน และเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาในทุกขั้นตอนของกระบวนการผลิตอาหาร ขึ้นอยู่กับวิธีการจัดการอาหารเหล่านั้น ในอาหาร RTE บางประเภท เช่น ไส้กรอกเยอรมัน หรือผลิตภัณฑ์อาหาร deli meats ต่างๆ ผู้บริโภคบางกลุ่มมักนิยมบริโภคโดยไม่ผ่านความร้อนซ้ำ หากในอาหารเหล่านี้มีการปนเปื้อน *L.monocytogenes* ในระดับต่ำๆ แต่ยังถือว่าอาหารยังไม่ปลอดภัยจากจุลินทรีย์ก่อโรค เนื่องจากอาหารประเภทนี้จะเก็บในตู้เย็นเพื่อเพิ่มอายุอาหาร และระยะเวลาอาจมากพอที่จะทำให้ *L.monocytogenes* เจริญเพิ่มจำนวนจึงกระทั่งอยู่ในระดับทำให้เกิดการเจ็บป่วย (อ้างถึงโดย Gonzalez et al.,2007)

ที่ผ่านมา มีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการหาอุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการปรุงสุกเนื้อไก่ด้วยความร้อน เพื่อกำจัด *L.monocytogenes* ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ โดยแนะนำอุณหภูมิ และเวลาสำหรับใช้ในกระบวนการปรุงสุกเนื้อไก่ด้วยความร้อนเปียก อยู่ในช่วง 55-70 องศาเซลเซียส ที่เวลา 38.94-0.07 นาที (Murphy et al.,2004) แต่ปัญหาการพบ *L.monocytogenes* ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหาร ณ จุดบริโภค ยังคงอยู่ ซึ่งทำให้มีการเรียกคืนสินค้าผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกจำนวนมาก โดยในปี 2007-2008 จากข้อมูลของ United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service (USDA-FSIS) รายงานว่ามีการเรียกคืนสินค้าที่มีสาเหตุมาจากการพบการปนเปื้อนของ *L.monocytogenes* ทั้งหมด 24 ครั้ง คิดเป็นร้อยละ 22 จากจำนวนที่เรียกคืนสินค้าทั้งหมด และเป็นสินค้าประเภทเนื้อไก่สูงถึงร้อยละ 50 โดย USDA-FSIS ซึ่งเป็นหน่วยงานของประเทศสหรัฐอเมริกาที่กำกับดูแลผลิตภัณฑ์อาหารที่มาจากเนื้อหมู เนื้อไก่ และผลิตภัณฑ์ไข่โดยเฉพาะ กำหนดเป้าหมายอาหารปลอดภัยสำหรับ *L.monocytogenes* อยู่ที่ระดับ Zero tolerance ในตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ในขณะที่คณะกรรมาธิการยุโรป ซึ่งเป็นหน่วยงานรับผิดชอบออกกฎระเบียบที่ใช้ในกลุ่มประเทศสมาชิกสหภาพยุโรป ได้กำหนดให้ในผลิตภัณฑ์อาหารพร้อมบริโภคสำหรับทารก และผู้ป่วยในโรงพยาบาล ต้องปราศจาก *L.monocytogenes* ที่ระดับจุดบริโภค เช่นกัน แต่สำหรับอาหารพร้อมบริโภคประเภทอื่น อนุญาตให้พบจุลินทรีย์ดังกล่าวปนเปื้อนได้ไม่เกิน 100 เซลล์ต่อกรัม ณ จุดขายปลีกตลอดอายุของผลิตภัณฑ์

L.monocytogenes จึงเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีความสำคัญทั้งทางด้านสาธารณสุข และด้านอุตสาหกรรมผลิตอาหารจากเนื้อสัตว์เป็นอย่างยิ่ง ซึ่งการบริโภคอาหารที่อาจมีจุลินทรีย์ หรือพิษที่สร้างจากจุลินทรีย์ในปริมาณหนึ่งจะถือว่า มีความเสี่ยงในการเจ็บป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษ ปัจจุบันการตรวจหาการปนเปื้อนของ *L.monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์อาหารจากเนื้อไก่ ด้วยวิธี conventional method เป็นวิธีการทดสอบแบบดั้งเดิมอ้างอิงตามมาตรฐานสากล แต่ในสถานการณ์ฉุกเฉินวิธีการนี้ถือว่าจะค่อนข้างมีศักยภาพต่ำ เนื่องจากมีข้อจำกัดด้านเวลาที่ใช้ในกระบวนการทดสอบ และข้อจำกัดด้านจำนวนตัวอย่าง ทำให้ไม่สามารถตอบสนองสถานการณ์ได้อย่างทันที อาจทำให้เกิดความคลาดเคลื่อน และเพิ่มค่าความไม่แน่นอน (uncertainty) ด้านความปลอดภัยของอาหารสำหรับผู้บริโภค ในห่วงโซ่อาหารระหว่างการส่งต่ออาหารจากโรงงานผู้ผลิตถึงผู้บริโภค (อ้างถึงโดย Wei and Fang, 2001) อีกทั้งมีข้อมูลบ่งชี้ว่าระยะเวลาที่จะสามารถตรวจพบ (time to detect) *L.monocytogenes* ในตัวอย่างมีผลต่อความปลอดภัยของอาหารด้วย หลังกระบวนการให้ความร้อนเซลล์ของ *L.monocytogenes* อาจจะอยู่ในสภาพที่ไม่สามารถแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนได้ในทันที หรือมีจำนวนต่ำมาก ซึ่งการตรวจผลิตภัณฑ์สุดท้ายทันทีหลังผ่านกระบวนการความร้อนแล้วพบว่าปลอดจากการปนเปื้อน ไม่สามารถมั่นใจได้ว่าอาหารนั้นปลอดภัยจริง โดยพบว่า time to detect ของ *L.monocytogenes* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB และในไส้กรอกปั่นเหลว ที่ 4 องศาเซลเซียส เท่ากับ 217 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับเมื่อจำนวนเซลล์ตั้งต้นประมาณ 0.1 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Gonzalez et al.,2007)

แม้ว่าผู้ประกอบการอาหาร จะมีความมุ่งมั่นต่อความปลอดภัย และคุณภาพของอาหารเป็นสำคัญ โดยพยายามนำเทคโนโลยีที่ทันสมัย มาใช้ในกระบวนการผลิตเพื่อให้ได้อาหารที่มีคุณภาพ และสามารถแข่งขันในตลาดโลกได้ รวมทั้งการปฏิบัติตามกฎระเบียบมาตรฐานอาหารอย่างเคร่งครัด แต่ยังไม่สามารถรับประกันความปลอดภัยของผู้บริโภคได้ทั้งหมด นอกจากผู้ประกอบการอาหารจะมีศักยภาพสามารถตรวจสอบผลิตภัณฑ์อาหาร และเก็บตัวอย่างตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการได้ทั้ง 100 เปอร์เซ็นต์ แต่อุปสรรคด้านต้นทุน และแรงงานทำให้ไม่สามารถกระทำการดังกล่าวได้ (Armitage, 1997) นอกเหนือไปกว่านั้นการควบคุมความปลอดภัยของอาหารด้านจุลินทรีย์ ผู้ประกอบการจะต้องควบคุมไม่ให้จุลินทรีย์ก่อโรคมีโอกาสเจริญเพิ่มจำนวนตลอดทั้งห่วงโซ่อาหาร รวมถึงขั้นตอนการขนส่ง และการกระจายสินค้าด้วย แต่

ผู้ประกอบการคงไม่สามารถสุ่มเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ ณ จุดบริโภคได้ จากระเบียบการควบคุมความปลอดภัยของอาหารสำหรับบริโภคด้านจุลินทรีย์ของกลุ่มสหภาพยุโรปตาม COMMISSION REGULATION (EC) NO.2073/2005 กำหนดว่า อาหารพร้อมบริโภคทุกประเภท ยกเว้นอาหารสำหรับเด็กทารก และอาหารสำหรับผู้ป่วยของโรงพยาบาล ที่จุดขายปลีก (products placed on the market) อนุญาตให้พบ *L.monocytogenes* ปนเปื้อนได้ไม่เกิน 100 เซลล์ต่อกรัม ตลอดอายุของอาหาร (shelf-life) จึงจะเห็นว่ายังมีความเสี่ยงต่อการพบ *L.monocytogenes* ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์สุดท้ายในระดับที่มีอันตรายต่อสุขภาพอยู่ หากมีปัจจัยอย่างใดอย่างหนึ่งที่อาจไปสนับสนุนการเจริญเติบโตของ *L.monocytogenes* เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการขนส่ง การเก็บรักษาเพื่อรอจำหน่าย หรือระหว่างที่อาหารอยู่ที่จุดจำหน่าย

ด้วยเหตุนี้แนวคิดของจุลชีววิทยาพยากรณ์ (Predictive microbiology) จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจสำหรับประยุกต์ใช้ในงานด้านความปลอดภัยของอาหารที่เกี่ยวข้องกับตรวจสอบการปนเปื้อนของ *L.monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่จุดบริโภค (point of consumption) โดยหากทราบถึงจำนวน *L.monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์ก่อนออกจากโรงงานผลิต และมีข้อมูลเกี่ยวกับสภาวะแวดล้อมที่จุลินทรีย์ชนิดนี้อาศัยอยู่ เช่น อุณหภูมิ ปริมาณน้ำใช้ได้ (water activity; a_w) หรือ ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) เป็นต้น ตลอดเส้นทางกระจายสินค้า ไปยังจุดจำหน่าย ก็จะสามารถทำนายจำนวน *L.monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์ ณ จุดบริโภค และความเสี่ยงของผู้บริโภคได้ นอกจากนี้จุลชีววิทยาพยากรณ์ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการออกแบบกระบวนปรุงสุกด้วยความร้อนที่สามารถกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคต่างๆ (thermal inactivity) อย่างมีประสิทธิภาพ (Farber and Peterkin, 2000) โดยการทำนายการอยู่รอดของจุลินทรีย์ก่อโรคหลังการให้ความร้อน เมื่อมีปัจจัยต่างๆของอาหารมากระทบ เช่น ค่าพีเอช ปริมาณน้ำใช้ได้ สารถนอมอาหาร หรือสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Fernandez et al.,2007; Shabala et al.,2008) โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรณีของ *L.monocytogenes* เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่ทนความร้อน (heat-resistant) และความแห้งได้ดี หรือประยุกต์ใช้ในการศึกษาการกำหนดอายุ (shelf lift) ผลิตภัณฑ์อาหารประเภท RTE ที่ปลอดภัยจากจุลินทรีย์ก่อโรคภายใต้เงื่อนไขของ Regulation(EC) No 2073/2005 โดยใช้จุลชีววิทยาพยากรณ์มาประมาณการเจริญของ *L.monocytogenes* ในอาหาร

โดยความรับผิดชอบของ SANCO หรือประยุกต์ใช้ในงานการประเมินความเสี่ยงด้านจุลินทรีย์ในอาหาร (Walls and Scott, 1997a)

จุลชีววิทยาพยากรณ์อาศัยข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในการอธิบายการตอบสนองของจุลินทรีย์ต่อสิ่งแวดล้อมที่ทำให้จำนวนของจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงไป และเป็นข้อมูลที่ได้มาจากการทดลองจริงโดยการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และการอยู่รอดของจุลินทรีย์นั้นๆ เพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์ และทำนายความปลอดภัยของอาหารล่วงหน้า ซึ่งข้อมูลเหล่านี้สามารถนำเสนอในรูปแบบของสมการคณิตศาสตร์ หรือแบบจำลองคณิตศาสตร์ (Mathematical model) ที่ประกอบด้วยตัวแปรอิสระ (independent variable) และตัวแปรตาม (dependent variable) โดยที่ตัวแปรอิสระมักเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตหรือการอยู่รอดของจุลินทรีย์ ส่วนตัวแปรตามจะเป็นปริมาณ หรือความเข้มข้นของจุลินทรีย์ในอาหาร ความก้าวหน้าของงานด้านจุลชีววิทยาพยากรณ์ในปัจจุบันจะเห็นว่ามีการวิจัยอย่างแพร่หลายแต่ยังไม่ถูกนำไปใช้ในงานของอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องมาจากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาส่วนใหญ่จะดำเนินการโดยใช้ข้อมูลการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ ซึ่งอาจจะไม่มีความจำเพาะมากพอหากนำไปใช้ทำนายการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารจริง เพราะองค์ประกอบของอาหารสำหรับมนุษย์บริโภคจะมีความซับซ้อนมากกว่าโดยเฉพาะอาหารที่ผลิตจากเนื้อสัตว์ (McMeekin et al.,1987)

ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิ และเกลือโซเดียมคลอไรด์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่ออัตราการเจริญของ *L.monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุก และสร้างแบบจำลองคณิตศาสตร์ที่จำเพาะเพื่อใช้สำหรับในการทำนายอัตราการเจริญเติบโตของ *L.monocytogenes* ที่แยกได้ในโรงงาน

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) ศึกษาผลของอุณหภูมิ และความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ ต่ออัตราการเจริญของ *L.monocytogenes* ในเนื้อไก่ปรุงสุก
2) ดำเนินการทวนสอบแบบจำลองคณิตศาสตร์สำหรับการทำนายอัตราการเจริญของ *L.monocytogenes* ในเนื้อไก่ปรุงสุก โดยอาศัยปัจจัยอุณหภูมิ และความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

จากการศึกษาจะได้แบบจำลองคณิตศาสตร์ที่มาจากผลกระทบของอุณหภูมิ และเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่มีความจำเพาะต่ออัตราการเจริญของ *L.monocytogenes* ในเนื้อไก่ปรุงสุก สายพันธุ์ที่พบในโรงงาน สามารถใช้ทำนายจำนวน *L.monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ ซึ่งคาดว่าประโยชน์ที่ได้รับ คือ

1) สามารถใช้ประเมินอันตราย หรือโอกาสการเจ็บป่วยของผู้บริโภค ที่มีสาเหตุมาจากการพบการปนเปื้อนของ *L.monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกเพิ่มจากวิธี conventional เพื่อประกอบการตัดสินใจ ช่วยลดเวลา และต้นทุนค่าตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ
2) สามารถประกันความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกที่ออกจากโรงงานผลิต ณ จุดการบริโภค และสามารถลดความไม่แน่นอนด้านความปลอดภัยของอาหารในห่วงโซ่อาหารได้
3) แบบจำลองคณิตศาสตร์ที่ได้จากการศึกษาสามารถเป็นต้นแบบ (prototype) สำหรับใช้ศึกษากับจุลินทรีย์ก่อโรคกลุ่ม foodborne pathogen ชนิดอื่น หรือในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดอื่น

นอกจากนี้งานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นแนวทางการศึกษาแบบจำลองคณิตศาสตร์เพื่อการทำนายจำนวนจุลินทรีย์สำหรับงานด้านอื่น อาทิ แบบจำลองสำหรับการทวนสอบกระบวนการฆ่าจุลินทรีย์ด้วยความร้อน หรือประยุกต์ใช้ในการประเมินความปลอดภัยของอาหาร กรณีมีการพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์อาหาร เป็นต้น