บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิ ร่วมกับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่ออัตราการเจริญของ *L.monocytogenes* ในเนื้อไก่ปรุงสุก โดยสร้างเส้นโค้งการเจริญระหว่างจำนวน *L.monocytogenes* ในรูปเลขยกกำลัง เทียบกับเวลา และวิเคราะห์ความเหมาะสมของข้อมูลการเจริญด้วยสมการของ Gompertz พบว่าทั้งอุณหภูมิ และเกลือโซเดียมคลอไรด์ ต่างมีผลต่ออัตราการเจริญของ *L.monocytogenes* มีค่า RMSE ของแต่ละคู่ปัจจัย น้อยกว่า 0.5 บ่งชี้ว่าสมการของ Gompertz สามารถใช้อธิบายข้อมูลการเจริญของ *L.monocytogenes* ในเนื้อไก่ปรุงสุก ที่มีปัจจัยกระทบเป็นอุณหภูมิ และความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Zwietering และคณะ (1990) ที่ได้เปรียบเทียบสมการสำหรับใช้อธิบายเส้นโค้งการเจริญของ *Lactobacillus plantarum* โดยสมการของ Gompertz มีค่าพารามิเตอร์ที่พอเพียงสำหรับการอธิบายการเจริญของ *Lactobacillus plantarum* มีค่าการยอมรับทางสถิติ วิเคราะห์จากการทดสอบ t test , F test และค่า residual sum of squares (RSS) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดีกว่าสมการของ logistic, Exponential, Linear, Quadratic และ *t* th power เช่นเดียวกับใช้อธิบายเส้นโค้งการเจริญของ *Salmonella* Heidelberg, *Nocardia sp.* และ *L.monocytogenes* นอกจากนี้สมการ Gompertz ยังเป็นสมการที่ผู้วิจัยนิยมใช้อย่างแพร่หลาย สำหรับการศึกษาการเจริญของแบคทีเรีย และการสร้างสมการสำหรับการทำนายการเจริญ เนื่องจากเป็นสมการที่ไม่ซับซ้อน ประกอบด้วยพารามิเตอร์เพียง 3 ค่า (Gibson et al.,1987; Buchanan et al.,1993; Sutherland et al.,1994; Eifert et al.,1997; Murphy et al.,1996; Chorin et al.,1997; McElroy et al.,2000; Zhao et al.,2000; Lebert et al.,2000; Wijtzes et al.,2001; Riva et al.,2001; Membre et al.,1994; Devlieghere et al.,1999 และ Juneja et al.,1999)

ผลกระทบของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่ออัตราการเจริญของ *L.monocytogenes* มีสาเหตุมาจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ มีคุณสมบัติสามารถละลายได้ในน้ำ เมื่อผสมอยู่กับอาหารจะไปจับกับโมเลกุลของน้ำอิสระในอาหาร ทำให้ปริมาณน้ำใช้ได้ในอาหารลดลง ซึ่งในอุตสาหกรรมอาหาร โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์อาหารที่มาจากเนื้อไก่จะมีการนำเกลือโซเดียมคลอไรด์ มาใช้สำหรับปรับปรุงคุณภาพของเนื้อไก่สด และใช้เป็นส่วนประกอบ (ingredient) ปรับปรุงรสชาด ซึ่งเกลือโซเดียมคลอไรด์จะช่วยทำให้ลดการสูญเสียความชื้นของเนื้อไก่ ระหว่างการเก็บ และกระบวนการผลิตอาหาร เมื่อใช้ร่วมกับสารกลุ่มฟอสเฟต (Froning and Sackett, 1985 และ Lemos et al., 1999) สอดคล้องกับงานวิจัยอื่นๆ ที่มีการรายงานว่า เกลือโซเดียมคลอไรด์ กับสารฟอสเฟต จะเสริมฤทธิ์กันมีผลต่อ water holding capacity ของเนื้อไก่ และช่วยเพิ่ม yield ของการผลิตอาหาร (Young and Lyon,1986; Young et al., 1987 ; Woelfel and Sams, 2001)

แต่อย่างไรก็ตาม ในสภาวะที่เป็น suboptimal จากผลการศึกษาพบว่าอุณหภูมิ ซึ่งเป็นปัจจัยภายนอก (extrinsic) จะมีอิทธิพลต่ออัตราการเจริญของ *L.monocytogenes* มากกว่าปริมาณน้ำใช้ได้ ซึ่งเป็นปัจจัยภายใน (intrinsic) ดังจะเห็นได้จากเมื่อนำอัตราการเจริญไปทดสอบความแตกต่างภายในกลุ่ม โดยการตรวจสอบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT (Duncan's New Multiple Rang Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรม SPSS version 11.5 พบว่าอัตราการเจริญของ *L.monocytogenes* ที่ร้อยละความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์เดียวกัน แต่อุณหภูมิต่างกัน จะมีอัตราการเจริญที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในขณะที่อุณหภูมิเดียวกัน แต่ร้อยละความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์แตกต่างกันจะมีเพียงที่ร้อยละความเข้มข้นเกลือโซเดียวคลอไรด์เท่ากับ 2 และ 4 เท่านั้นที่มีอัตราการเจริญของ *L.monocytogenes* ในเนื้อไก่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับพฤติกรรมการเจริญของ *L.monocytogenes* ในสภาวะแวดล้อมต่างๆ มีรายงานว่า *L.monocytogenes* สามารถมีชีวิตอยู่รอด (survival) และเจริญในสภาวะความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ได้ค่อนข้างสูง โดย Hudson (1992) รายงานว่า *L.monocytogenes* สามารถเจริญได้ในอาหาร BHI ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 6 (w/v) โดยเพิ่มขึ้นประมาณ 4 log CFU ภายใน 15 วัน และ 3 log CFU ภายใน 35 วัน ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

และ 2 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และสามารถทนเกลือโซเดียมคลอไรด์ได้ถึงความเข้มข้นร้อยละ 25 นานถึง 33 วัน

การทวนสอบแบบจำลองผลของอุณหภูมิ ต่ออัตราการเจริญของ *L.monocytogenes* ตามสมการ $\sqrt{r} = b(T - T_{min})$ จากการวิเคราะห์ค่า RMSE ของสมการถดถอย (linear regression) พบว่า อุณหภูมิ มีความสัมพันธ์ในเชิงเส้นตรงกับอัตราการเจริญในรูปเลขยกกำลัง ในทุกๆร้อยละความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$) ค่า T_{min} ของแต่ร้อยละความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ จะมีค่า T_{min} ใกล้เคียงกัน เมื่อปริมาณน้ำใช้ได้ลดลง ซึ่งจะให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ McMeekin และคณะ (1987) ที่ศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิ ร่วมกับเกลือเดียมคลอไรด์ ต่อการเจริญของ *Staphylococcus xylosus* CM21/3 ผลกระทบของอุณหภูมิ ต่ออัตราการเจริญของแบคทีเรีย สามารถอธิบายตามทฤษฎีความสัมพันธ์ (theoretical relationship) ของอัตราการเจริญสูงสุดในช่วงอุณหภูมิระหว่างอุณหภูมิต่ำสุด (T_{min}) และอุณหภูมิสูงสุด (T_{max}) ที่แบคทีเรียสามารถเจริญได้ ซึ่งทั้ง T_{min} และ T_{max} จะได้มาจากการประมาณค่าที่เป็นไปได้ตามทฤษฎีในแต่ละชุดการทดลอง โดยอาจจะไม่สอดคล้องกับค่าการสังเกตจากการทดลอง ค่า T_{min} และ T_{max} เป็นค่าที่ใช้พิจารณาช่วงอุณหภูมิจำกัดของการเจริญ (Bajard et al.,1996, McMeekin et al.,1987, Ratkowsky et al.,1982) และเป็นไปได้ว่าการประมาณค่า T_{min} อาจจะได้ไม่เท่ากันในแต่ละครั้งที่ศึกษา แม้จะเป็นจุลินทรีย์ชนิดเดียวกัน เช่นเดียวกับที่ Walker และคณะ (1990) รายงานว่า *L.monocytogenes* เจริญใน chicken broth ได้ต่ำสุดที่อุณหภูมิ -0.4 องศาเซลเซียส ซึ่งต่ำกว่าค่าการประมาณของ Seeliger และ Jones (1986) นอกจากนี้ Michener และ Elliott (1964) เสนอแนะว่าค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่เป็นค่าที่แท้จริง (ture values) ที่ *L.monocytogenes* สามารถเจริญได้ สามารถหาได้เพียงกรณีที่ทุกปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการเจริญ เป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเท่านั้น (optimal conditions)

การทวนสอบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำใช้ได้ และค่าสมประสิทธิ์ถดถอย (*b*) ของสมการที่ (1) ในรูป b^2 สำหรับการสร้างแบบจำลองคณิตศาสตร์ สำหรับทำนายอัตราการเจริญโดยมีอุณหภูมิ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ เป็นปัจจัยกระทบ พบว่า ทั้งสองพารามิเตอร์มีความสัมพันธ์กันค่อนข้างดี โดยมีค่า R square เท่ากับ 0.943 และค่า RMSE เท่ากับ 1.5E05 ดังนั้นถ้า b^2 ซึ่งเป็นค่าที่ได้จากสมการที่ (1) และเป็นสัดส่วนของค่า $\sqrt{r}$ มีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำใช้ได้ ขณะเดียวกันค่า $\sqrt{r}$ เป็นพารามิเตอร์ที่ตอบสนองตามการปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิร่วมกับปริมาณน้ำใช้ได้ ฉะนั้นจึงอนุมาณได้ว่า $\sqrt{r}$ กับปริมาณน้ำใช้ได้มีความสัมพันธ์กัน และจากการทวนสอบความสัมพันธ์ระหว่าง $\sqrt{r}$ และ $\sqrt{a_w}$ ในแต่ละอุณหภูมิโดยวิเคราะห์จากค่า R square และ RMSE สามารถสรุปได้ว่าที่อุณหภูมิ 5, 10 และ 20 องศาเซลเซียส ทั้งสองมีความสัมพันธ์กัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ขณะที่ที่อุณหภูมิ 15 และ 25 จะมีค่า RMSE ประมาณ 0.05 และค่า R square ประมาณ 0.72-0.74 แสดงว่าพารามิเตอร์ทั้งสองค่อนข้างมีความสัมพันธ์กัน

จากสมการความสัมพันธ์สามารถประมาณค่า T_{min} จากสมการที่ (1) ได้เท่ากับ 272.4 องศาเคลวิน และ ค่า a_{wmin} จากสมการที่ (2) ได้เท่ากับ 0.902 และค่าสัมประสิทธิ์ของสมการความสัมพันธ์ของสองปัจจัยกระทบ จากสมการที่ (3) ซึ่งเป็นค่าจำเพาะ ได้เท่ากับ 0.061 นำไปแทนค่าสร้างแบบจำลองคณิตศาสตร์สำหรับการทำนาย คือ

$$\sqrt{r} = 0.061\sqrt{a_w - 0.902}(T - 272.4)$$

เมื่อนำแบบจำลองคณิตศาสตร์ที่ได้จากงานวิจัย ไปทดสอบทำนายค่าอัตราการเจริญของ *L.monocytogenes* ในเนื้อไก่ปรุงสุก ในช่วงอุณหภูมิ 5-25 องศาเซลเซียส และปริมาณน้ำใช้ได้ระหว่าง 0.979-0.947 และเปรียบเทียบความใช้ได้ของแบบจำลองกับค่าที่ได้จากการทดลอง พบว่า ค่าที่ได้จากการทำนายด้วยแบบจำลองคณิตศาสตร์ มีค่าความแตกต่างประมาณ 52 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่อนข้างสูง แต่ยังอยู่ในขอบเขตการยอมรับ โดยค่า RMSE เท่ากับ 0.02 ค่า bias factor เท่ากับ 0.93 และค่า accuracy factor เท่ากับ 1.47

ถ้าพิจารณาค่าความแตกต่างของการทำนายในแต่ละคู่ปัจจัย จะเห็นว่า ค่าการทำนายที่เบี่ยงเบนสูงจะเป็นค่าการทำนายที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ในทุกความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ และถ้ามีปัจจัยความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรที่ระดับสูงๆ (ที่ร้อยละ 6 และ 8) ร่วมด้วย จะยิ่งมีผลทำให้ค่าการทำนายเบี่ยงเบนในเปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้น กล่าวคือ แบบจำลองคณิตศาสตร์ที่ได้ไม่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ทำนายค่าการเจริญของ *L.monocytogenes* ในช่วงของอุณหภูมิ และความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่เป็นช่วงที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของ *L.monocytogenes* ซึ่งจะสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ingraham และคณะ (1983) ที่เสนอแนะว่าในช่วงสภาวะการเจริญที่เป็น extreme low rang ของ *L.monocytogenes* แบบจำลอง square root model อาจจะไม่เหมาะสมในการนำมาใช้ทำนาย และ Bajard และคณะ (1996) บ่งชี้ว่าการเจริญของ *L.monocytogenes* ระหว่างช่วงอุณหภูมิที่สามารถเจริญได้ คือระหว่าง -2 ถึง 42 องศาเซลเซียส การเจริญในช่วงอุณหภูมิที่เป็น suboptimal จะไม่เป็นสมการเส้นตรง โดยจุดเปลี่ยนจะอยู่ที่จุดที่เรียกว่า T_c คือประมาณ 10-15 องศาเซลเซียส ฉะนั้นถ้าการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญซ้อนทับกับจุด T_c จะทำให้ค่า T_{min} ของแบบจำลองไม่ถูกต้อง ซึ่งจะมีผลรวมไปถึงค่าการทำนายของแบบจำลองที่ได้ด้วย

การใช้แบบจำลองคณิตศาสตร์ที่ได้จากงานวิจัย สำหรับการทำนายการเจริญของ *L.monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์อาหารที่ผลิตจากเนื้อไก่ ต้องพิจารณาอย่างระมัดระวัง โดยผู้วิจัยนำเสนอทางเลือกสำหรับการนำไปใช้ทำนายสามารถแบ่งออกเป็น 3 กรณี

1. แบบจำลองคณิตศาสตร์ที่ได้จากการวิจัยสามารถใช้ทำนายการเจริญของ *L.monocytogenes* ในเนื้อไก่ปรุงสุก โดยมีขอบเขตของอุณหภูมิระหว่าง 10-25 องศาเซลเซียส และปริมาณน้ำใช้ได้อยู่ในช่วงเท่ากับ 0.979-0.950 ซึ่งค่าความแตกต่างของการทำนายจะประมาณ 27 เปอร์เซ็นต์ ค่า RMSE เท่ากับ 0.02 ค่า bias factor เท่ากับ 1.03 และค่า accuracy factor เท่ากับ 1.21 ตามตารางที่ 1 ในภาคผนวก ค
2. พิจารณาปรับใช้ค่า T_{min} และ a_{wmin} ในแบบจำลองคณิตศาสตร์การทำนาย แยกกันในแต่ละชุดการทดสอบ (individual) ตามตารางที่ 2 ในภาคผนวก ค โดยมีขอบเขตของอุณหภูมิระหว่าง 5-25 องศาเซลเซียส และปริมาณน้ำใช้ได้อยู่ในช่วงเท่ากับ 0.979-

0.947 ซึ่งค่าความแตกต่างของการทำนายจะประมาณ 33 เปอร์เซ็นต์ ค่า RMSE เท่ากับ 0.02 ค่า bias factor เท่ากับ 0.98 และค่า accuracy factor เท่ากับ 1.38

3. พิจารณาปรับใช้ค่า T_{min} ในแบบจำลองคณิตศาสตร์การทำนาย แยกกันในแต่ละชุดการทดสอบ (individual) แต่ a_{wmin} ค่าเดียวกัน ตามตารางที่ 3 ในภาคผนวก ค โดยมีขอบเขตของอุณหภูมิระหว่าง 5-25 องศาเซลเซียส และปริมาณน้ำใช้ได้อยู่ในช่วงเท่ากับ 0.979-0.947 ซึ่งค่าความแตกต่างของการทำนายจะประมาณ 33 เปอร์เซ็นต์ ค่า RMSE เท่ากับ 0.02 ค่า bias factor เท่ากับ 0.98 และค่า accuracy factor เท่ากับ 1.37

จะเห็นว่ากรณีที่ 2 และ 3 จะให้ผลการทำนายไม่แตกต่างกัน เนื่องจากอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่มีผลกระทบต่ออัตราการเจริญ มากกว่าปริมาณน้ำใช้ได้

ดังนั้นจากผลการวิจัยในครั้งนี้ จะเห็นว่าแบบจำลองคณิตศาสตร์สำหรับการทำนายการเจริญเติบโตของ *L.monocytogenes* ที่พัฒนาตามแบบจำลองของ McMeekin และคณะ (1987) สามารถนำไปใช้อธิบายการเจริญของจุลินทรีย์เป้าหมายได้อย่างค่อนข้างถูกต้อง แม่นยำ และเป็นตัวแทนที่น่าเชื่อถือสามารถใช้ได้ในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารอื่น เนื่องจากเป็นการศึกษาที่เกี่ยวกับการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งเชื่อว่าไม่มีความจำเพาะถึงระดับจีโนไทป์ แต่ต้องใช้ในสถานการณ์ของสภาวะในขอบเขตที่ศึกษาวิจัยเท่านั้น ซึ่งถือได้ว่ามีประโยชน์เป็นอย่างมากสำหรับการประกันคุณภาพสินค้าอาหารที่ผลิตจากเนื้อไก่ในด้านความปลอดภัยของอาหารที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ก่อโรค โดยจะเพิ่มความมั่นใจให้แก่ทั้งผู้ผลิต และผู้บริโภค และช่วยลดโอกาสการเจ็บป่วย หรือความเสี่ยงที่จะเกิดจากการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนด้วย *L.monocytogenes* ในห่วงโซ่อาหาร อีกทั้งสามารถใช้เป็นต้นแบบสำหรับการพัฒนาแบบจำลองคณิตศาสตร์สำหรับการทำนายในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดอื่น หรือจุลินทรีย์ก่อโรคที่เป็นปัญหาด้านสาธารณสุขชนิดอื่น โดยอาศัยข้อมูลการเจริญที่มีความน่าเชื่อถือ ซึ่งจะทำให้อุบัติการณ์การพบผู้ป่วยที่เกิดจากจุลินทรีย์ก่อโรคติดต่อผ่านอาหารทั่วโลกลดลง อีกทั้งยังอาจช่วยลดการสูญเสียด้านเศรษฐกิจเนื่องจากต้องเรียกคืนสินค้า หรือทำลายผลิตภัณฑ์อาหารที่พบการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ก่อโรค