บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป

การแปรรูปเนื้อสัตว์ หมายถึง การดำเนินการใดๆ ก็ตาม ที่ทำให้สภาพเนื้อสดแปรเปลี่ยนไปจากเดิม เป็นการใช้กระบวนการที่มีขั้นตอนหลายๆ ขั้นตอนร่วมกัน เช่น การหมัก การรมควัน การบรรจุกระป๋อง การทำให้สุก การแช่แข็ง การไล่น้ำออก (dehydration) การผลิต intermediate moisture products (IMP) และการเติมวัตถุเจือปนในอาหาร (additives) เพื่อเปลี่ยนเนื้อสัตว์ให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่พร้อมรับประทานและสามารถเก็บรักษาไว้บริโภคได้นานขึ้น การแปรรูปเนื้อสัตว์ทำได้ 2 วิธี คือ วิธีที่ใช้เทคโนโลยีพื้นบ้าน เช่น แหนม หมูยอ กุนเชียง เป็นต้น และวิธีที่ใช้เทคโนโลยีจากต่างประเทศ เช่น ไส้กรอก แฮมและเบคอน (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2536, หน้า 1-12) ซึ่งประเทศไทยได้มีการพัฒนาการผลิตทั้งสองรูปแบบจนกระทั่งสามารถส่งออกไปยังต่างประเทศได้ ดังตาราง 1

ตาราง 1 ปริมาณการจำหน่ายผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ในประเทศ ปริมาณการส่งออก และมูลค่าการจำหน่าย ในปี พ.ศ. 2543-2549

ผลิตภัณฑ์	ปริมาณการจำหน่ายในประเทศ (ตัน)							ปริมาณการส่งออก (ตัน)						
	2543	2544	2545	2546	2547	2548	2549	2543	2544	2545	2546	2547	2548	2549
ไส้กรอก	20,438	32,956	40,752	41,783	44,822	21,720	20,226	17.80	14.17	0	0	14.89	0	0
แฮม	776	538	641	676	752	636	628	0	0	0	0	0	0	0
ลูกชิ้นไก่	-	7,711	7,423	-	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-
ลูกชิ้นหมู	569	511	634	519	490	416	400	0	0	0	1.8	0	0	0

ที่มา: ศูนย์สารสนเทศอุตสาหกรรม สำนักงานเศรษฐกิจอุตสาหกรรม (พ.ศ. 2550)

ไส้กรอกอิมัลชั่น (sausage) เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่เตรียมได้จากการผสมเนื้อสัตว์และไขมันสัตว์รวมกับเกลือ เครื่องเทศ และเครื่องปรุงรสอื่นๆ และบดให้ละเอียดภายใต้สภาวะที่มีการควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นนำไปบรรจุในไส้ ตลาดไส้กรอกส่วนใหญ่จะเป็นตลาดภายในประเทศ โดยเฉพาะกรุงเทพฯ และปริมณฑลรวมถึงตัวเมืองในจังหวัดต่าง ๆ และเป็นผลิตภัณฑ์ซึ่งมีแนวโน้ม

ได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากไส้กรอกเป็นอาหารที่มีคุณค่าโปรตีนสูง มีความสะดวกและประหยัดเวลาในการจัดเตรียมเพื่อบริโภค แต่มีข้อจำกัดคือ ไส้กรอกเป็นสินค้าที่มีอายุการเก็บรักษาค่อนข้างสั้นโดยต้องเก็บรักษาในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำ โดยปริมาณความต้องการบริโภคในปี 2549 มีมูลค่าตลาดไส้กรอกอยู่ที่ประมาณ 912 ล้านบาท

ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ตามที่ระบุไว้ในประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 243) พ.ศ. 2544 เรื่องผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะลูกชิ้น ไส้กรอก แหนม หมูยอ กุนเชียง จัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนสูงทั้งทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ดังนั้นผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์จึงเป็นหนึ่งในอาหาร 54 ชนิดที่ถูกกำหนดให้นำหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 193) พ.ศ. 2543 เรื่องวิธีการผลิตเครื่องมือที่ใช้ในการผลิตและการเก็บรักษาอาหารมาใช้เป็นแนวทางในการปฏิบัติเพื่อให้ทุกขั้นตอนในการผลิตเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและมีความปลอดภัย (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545) บริเวณที่พบการปนเปื้อนสูงที่สุดได้แก่ บริเวณผิวหน้าของไส้กรอก เนื่องจากเป็นส่วนที่มีปริมาณความชื้นสูง ซึ่งการปนเปื้อนอาจมีสาเหตุมาจากส่วนผสมของเครื่องปรุงต่างๆ ที่ใช้ในการผลิต อุปกรณ์การผลิตหรือผู้ผลิตเอง จุลินทรีย์ที่พบบริเวณผิวสัมผัสของไส้กรอกมักจะเป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียจำพวก *Lactobacillus, Enterococcus* และ *Bacillus thermosphacta* จุลินทรีย์เหล่านี้มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำตาลและให้ผลผลิตเป็นกรด ก่อให้เกิดรสเปรี้ยว ซึ่งส่งผลให้เกิดการเน่าเสียในลักษณะที่เป็นเมือกและทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติผิดปกติ นอกจากนี้ไส้กรอกอาจมีการเปลี่ยนสีได้โดยแบคทีเรียจำพวก *Lactobacilli* ที่เป็น heterofermentative และ *Leuconostoc* ซึ่งสามารถสร้างสารไฮโดรเจนซัลไฟด์และทำปฏิกิริยากับอนุมูลโลหะในฮีโมโกลบิน ทำให้เกิดสีเขียวบนไส้กรอก (สัญชัย จตุรสิทธา, 2543, หน้า 13-96) นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอาจมีการปนเปื้อนจากแบคทีเรียก่อโรค ซึ่งมีสาเหตุการปนเปื้อนจากอุปกรณ์การผลิตหรือผู้ประกอบการที่ไม่ถูกสุขลักษณะ แบคทีเรียก่อโรคที่พบมากในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกได้แก่ *B. cereus, Campylobacter jejuni, Clostridium botulinum, Clostridium perfringens, Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes, Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Yersinia enterocolitica* (Association of Food and Drug Officials, 1999)

จุลินทรีย์ที่มีบทบาทต่อความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ไส้กรอก

ในบรรดาอาหารหลัก 5 หมู่ เนื้อสัตว์จัดเป็นอาหารในกลุ่มที่เกิดการเน่าเสียได้ง่ายที่สุด เนื่องจากมีสารอาหารที่บริบูรณ์ มีความชื้น เกลือแร่ และ pH ที่เหมาะสม ทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ดี การเน่าเสียยังขึ้นอยู่กับจำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ที่พบในเนื้อที่ได้จากสัตว์บ่อยมากที่สุดคือแบคทีเรียในจีนัส *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Acromona* และ *Enterococcus* ราในจีนัส *Cladosporium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Sporotrichum* และ *Chamnidium* ยีสต์ในจีนัส *Candida* และ *Torulopsis* จุลินทรีย์ชนิดใดจะเจริญในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ดีที่สุดขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ปริมาณสารอาหาร ปริมาณออกซิเจน อุณหภูมิในที่เก็บ pH และระยะเวลาการเก็บรักษา (นวพร ล้ำเลิศกุล, 2549, หน้า 89)

ในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อที่มีชีวิตของสัตว์ที่มีสุขภาพดีจะปราศจากจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ที่พบมากในซากสัตว์มาจากต่อมน้ำเหลือง การปนเปื้อนของแบคทีเรียจากต่อมน้ำเหลืองจึงเป็นแหล่งสำคัญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียภายในเนื้อสัตว์ภายหลังจากสัตว์ตายและอยู่ในสภาวะ rigor mortis หลังจากการชำแหละเนื้อสัตว์กลไกในการต่อต้านจุลินทรีย์ในร่างกายของสัตว์จะช้าลงหรือหยุด เป็นสาเหตุทำให้แบคทีเรียสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและกระจายผ่านเนื้อเยื่อสัตว์ไปยังบริเวณต่างๆ ได้ โดยเนื้อที่ถูกบดละเอียดจะมีจำนวนจุลินทรีย์มากกว่าเนื้อชิ้นใหญ่ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสาเหตุดังต่อไปนี้

1. เนื้อบดเพื่อการค้า จะมีส่วนขอบที่ถูกตัดออกมากทำให้มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้มากกว่าเนื้อก้อนโต

2. เนื้อบดละเอียดจะมีพื้นที่ผิวสัมผัสมาก จะทำให้จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต เช่น ยีสต์ รา และแบคทีเรีย เจริญได้ดีที่ผิวนอกและพื้นที่ผิวยิ่งมากจำนวนจุลินทรีย์ที่พบจะมากขึ้นด้วย

3. เครื่องบดเนื้อ มีดที่ใช้หั่น และภาชนะบรรจุเนื้ออาจเป็นสาเหตุสำคัญของการปนเปื้อน ต้องสะอาดและหมั่นทำความสะอาดบ่อยๆ ซึ่งจะช่วยป้องกันการปนเปื้อนและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์

4. ชิ้นเนื้อมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จากต่อมน้ำเหลือง เมื่อนำมาบดจะเกิดการแพร่กระจายจุลินทรีย์ไปสู่ชิ้นเนื้ออื่นๆ ได้ (นวพร ล้ำเลิศกุล, 2549, หน้า 86-87)

สำหรับเนื้อบด การเน่าเสียมักเกิดจากแบคทีเรียที่ต้องการอากาศเป็นสำคัญ ก่อนที่เนื้อจะเน่าเสีย จะพบจุลินทรีย์ที่สร้างเม็ดสี (pigment) จำนวนมาก ทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ รา และแบคทีเรียสร้างสปอร์ แต่หลังจากเนื้อเน่าเสียแล้วจะพบแบคทีเรียไม่สร้างเม็ดสี แบคทีเรียท่อนสั้นติดสีแกรมลบ และเจริญที่อุณหภูมิต่ำ แต่ถ้านำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ

จะเจริญไม่ดีเท่าแบคทีเรียจำพวก *Pseudomonas* และ *Acinetobacter- Moraxella* จึงไม่ปรากฏขึ้นบนจานเพาะเชื้อ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545, หน้า 105)

จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาจากเนื้อสัตว์ ได้แก่ แบคทีเรียพวกโคลิฟอร์มที่มีอยู่ในเศษอุจจาระและอวัยวะในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งสามารถปนเปื้อนเข้าไปในซากได้ ทำให้เนื้อสัตว์ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าซากเกิดการปนเปื้อนจากแบคทีเรียก่อโรค และหากเนื้อสัตว์นั้นผ่านการให้ความร้อนไม่เพียงพอสำหรับการทำลายเชื้อเหล่านี้ ก็สามารถเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษได้ ตัวอย่างเช่น การเกิดโรคอาหารเป็นพิษ เนื่องจากเชื้อ *E. coli* O157:H7 ในประเทศสหรัฐอเมริกา เนื่องจากการบริโภคเนื้อวัวบดที่ผ่านการให้ความร้อนไม่เพียงพอ ดังนั้นในปี ค.ศ. 1993 FSIS-USDA (The Food Safety and Inspection Service of the U.S. Department of Agriculture) จึงได้กำหนดให้โรงงานฆ่าสัตว์มีการกำจัดสิ่งปนเปื้อนอื่นๆ ออกไปจากซากให้หมดก่อนที่จะทำการล้างและจำหน่ายให้แก่ผู้บริโภคหรือลูกค้า นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียที่สามารถทนความร้อนสูงและเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้นพร้อมกับผลิตสารพิษ (foodborne intoxication) ในอาหารพวกเนื้อสัตว์ ได้แก่ *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรียที่ติดเชื้อจากอาหารพวกเนื้อสัตว์ (foodborne infection) พวก *Salmonella* (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2536, หน้า 47-48)

จุลินทรีย์ก่อโรคในไส้กรอก

โรคอาหารเป็นพิษ หมายถึง โรคที่เกิดจากการบริโภคอาหาร ซึ่งส่วนมากมีสาเหตุจากจุลินทรีย์ อาการของโรคอาหารเป็นพิษที่รู้จักกันทั่วไป คือ ปวดท้อง ท้องเสีย และบางครั้งอาจมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน และ/หรืออาจมีไข้ร่วมด้วย การระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ ตามปกติจะต้องมีผู้ป่วยที่อยู่ในเหตุการณ์เดียวกัน บริโภคอาหารอย่างเดียวกันและเกิดอาการป่วยคล้ายๆ กันตั้งแต่สองคนขึ้นไป ยกเว้นโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากสารพิษของเชื้อ *Clostridium botulinum* โรคอาหารเป็นพิษเกิดจากการบริโภคจุลินทรีย์หรือสารพิษที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น เชื้อโรคอาหารเป็นพิษอาจติดมากับตัวอาหารเองหรือปนเปื้อนผ่านมากับอุจจาระของคนและสัตว์เลือดอุ่นสู่สิ่งแวดล้อมผ่านนิ้วมือของผู้ประกอบอาหารหรือผ่านการสัมผัสกับอาหารอย่างไม่ถูกสุขลักษณะหรือผ่านมากับขน ปีก และร่างกายของแมลงและสัตว์นำโรค หรืออาจผ่านมากับน้ำ ภาชนะเครื่องมือและอุปกรณ์ประกอบอาหาร ตลอดจนสิ่งแวดล้อมในการผลิตอาหาร เข้าสู่ร่างกายหรือทางเดินอาหารของมนุษย์ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545, หน้า 136)

ในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2548 สำนักระบาดวิทยา ได้รับรายงานผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษจากเครือข่ายทั้งในและนอกกระทรวงสาธารณสุข รวมทั้งสิ้น 140,949 ราย คิดเป็นอัตราป่วย

226.62 ต่อประชากรแสนคน จำแนกเป็นผู้ป่วยจากเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* 533 ราย ผู้ป่วยจากเชื้อ *Salmonella* spp. 219 ราย ผู้ป่วยจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* 61 ราย ผู้ป่วยจากเชื้อ *Clostridium perfringens* 13 ราย ส่วนอีก 140,123 ราย ที่ได้รับรายงานในปีนี้ ไม่ได้ระบุชนิดของเชื้อก่อโรค (ตาราง 2) นอกจากนี้งานทดลองของ Smith and Graham (1978) พบว่า การแช่ชากในน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 °C นาน 10 วินาที จะช่วยลดปริมาณแบคทีเรียพวกโคลิฟอร์มลงไปได้ถึงร้อยละ 99 Dontorou et al. (2003) ได้สุ่มตรวจอาหารที่ทำมาจากเนื้อสัตว์ พบว่ามีการปนเปื้อนของ *E. coli* O157:H7 ในนมแกะ และไส้กรอกสด นอกจากนี้ Fang et al. (2003) ยังพบว่าอาหารพร้อมรับประทานที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 18 °C มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนได้แก่ *E. coli*, coliforms, *Bacillus cereus* และ *S. aureus* ในปริมาณ 7.9, 75.0, 49.8 และ 17.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับในตัวอย่างที่สุ่มตรวจ และยังพบว่าซูชิมี *E. coli* ปนเปื้อนมากที่สุด สำหรับก๋วยเตี๋ยวและอาหารที่มีแฮมเป็นส่วนประกอบจะมี *S. aureus* อยู่มากที่สุด

ตาราง 2 จำนวนผู้ป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษ จำแนกตามชนิดของเชื้อก่อโรค ในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2539-2548

ปี พ.ศ.	รวม (คน)	*Vibrio parahaemolyticus*	*Salmonella* spp.	*Staphylococcus aureus*	*Clostridium botulinum*	*Clostridium perfingens*	*Unknown Organism*
2548	140,949	533	219	61	0	13	140,123
2547	154,678	613	321	40	27	16	153,661
2546	131,561	424	350	28	30	11	130,718
2545	136,891	125	13	6	0	17	136,730
2544	138,795	624	323	73	17	15	137,743
2543	130,777	381	125	155	3	3	130,110
2542	110,291	187	48	87	1	1	109,967
2541	115,142	2,879	1,736	422	128	104	109,873
2540	102,454	2,741	1,532	572	46	113	97,450
2539	82,281	2,337	1,311	167	66	73	78,327

ที่มา: สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข (2548)

1. *Staphylococcus aureus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ที่ก่อให้เกิดโรคในคน จัดอยู่ในวงศ์ Micrococcaceae เซลล์มีลักษณะรูปทรงกลม เรียงตัวคล้ายพวงองุ่น(ภาพ 2) มีการเจริญแบบ facultative anaerobes เจริญได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 7-48 °C สามารถเจริญเติบโตได้ที่ pH ในช่วง 4.0-9.8 และมักเป็นแบคทีเรียทนเกลือสามารถเจริญได้ในที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 20 % แหล่งสะสมของโรคพบได้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและคน โดยพบได้ตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย ทำให้เกิดการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม ในอากาศ นม และของเสีย การติดเชื้อเกิดจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของสารพิษของเชื้อ(Staphylococcal Enterotoxin, SE) หรืออาจติดต่อโดยผู้ประกอบการ รวมทั้งการขาดสุขลักษณะที่ดีในการประกอบอาหาร อาหารที่พบมีการปนเปื้อน ได้แก่ อาหารประเภทเนื้อสัตว์ ไข่ ผลิตภัณฑ์นม และคัสตาร์ด รวมถึงอาหารพร้อมรับประทาน ระยะเวลาในการฟักตัวของโรคประมาณ 2-4 ชั่วโมง ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องอย่างรุนแรง และมีอาการท้องเสีย อาจมีไข้บ้างเป็นบางราย ระยะเวลาที่เกิดโรค 24-48 ชั่วโมง จะมีอาการเมื่อปริมาณ enterotoxin ที่ร่างกายได้รับน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม (μg) ซึ่งเท่ากับขนาดเชื้อมากกว่า $1x10^5$ CFU/g (Center for food safety and applied nutrition, 2006)การเกิดโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *S. aureus* เป็นผลมาจากเมื่อเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อนในอาหาร และมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโต รวมทั้งมีระยะเวลานานเพียงพอต่อการเติบโต จะสร้าง SE ขึ้นภายในเซลล์ แล้วปล่อยออกนอกเซลล์ลงสู่อาหาร ชนิดของสารพิษที่สร้างมี 5 ชนิด คือ A B C D และ E ซึ่งเป็นสารพิษที่มีคุณสมบัติในการทนความร้อน (heat-stable toxin) ในระดับอุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์ คือ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และยังทนความร้อนระดับ 143.3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วินาที ซึ่งเป็นระดับความร้อนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อในน้ำนมแบบ ultra high temperature สารพิษชนิดนี้ไม่ทำให้รูปสัมผัสของอาหารมีการเปลี่ยนแปลงใดๆ ผู้บริโภคจึงไม่ทราบได้ว่า มีสารพิษเกิดขึ้นในอาหาร เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษเกิดขึ้นในอาหาร เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษเข้าไปเป็นเวลาประมาณ 1 – 6 ชั่วโมง จะมีอาการอาหารเป็นพิษเกิดขึ้น เนื่องจากสารพิษไปออกฤทธิ์ที่เยื่อบุลำไส้ ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และท้องเดิน อาการป่วยจะดีขึ้นในเวลา 8 – 24 ชั่วโมง (บุษกร อุตรภิชาติ, 2545, หน้า 320) ในกรณีที่เกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษขึ้น ส่วนมากจะแยกได้ enterotoxin ชนิด SEA (สุมณฑา วัฒนสินธุ์ และคณะ, 2522 ; Sperber, 1977)

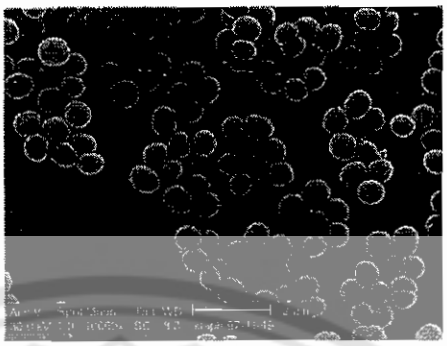
การระบาดของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจาก *Staphylococcus* sp. ในประเทศสหรัฐอเมริการะหว่างปี 1973 และ 1987 ดังแสดงในตาราง 3

ตาราง 3 การระบาดของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจาก *Staphylococcus* sp. ในประเทศสหรัฐอเมริการะหว่างปี 1973 และ 1987

Food Type	% Outbreaks	Food Type	% Outbreaks
Pork	16.2	Fish	1.3
Bakery products	7.1	Dairy products	1.7
Beef	6.0	Fruits and vegetables	1.1
Turkey	5.5	Ethnic foods	1.1
Chicken	3.8	Other	37.2
Eggs	2.5	Unknown	6.5

ที่มา: ดัดแปลงจาก Ray (2001)

ในประเทศไทย จังหวัดชัยภูมิ เมื่อวันที่ 10 พฤษภาคม พ.ศ. 2548 มีผู้ป่วยเข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลชัยภูมิและสถานีอนามัยนาฝาย ด้วยอาการคลื่นไส้ อาเจียน และถ่ายเหลวเป็นน้ำ จากการค้นหาผู้ป่วย พบผู้ป่วยทั้งหมด 51 ราย ผลการสอบสวนโรคเบื้องต้นพบว่ามีเชื้อ *S. aureus* ในขนมจีน และพบเชื้อเดียวกันในอุจจาระผู้ป่วยจำนวน 11 ราย จากอุจจาระที่ส่งตรวจจำนวน 46 ราย(สำนักระบาดวิทยา, 2548) เมื่อปี พ.ศ. 2549 จังหวัดนครสวรรค์ พบเด็กนักเรียนและครูในโรงเรียนแห่งหนึ่ง อำเภอโกรกพระ มีอาการอาหารเป็นพิษ รักษาที่โรงพยาบาลโกรกพระด้วยอาการมีไข้ ปวดท้อง ถ่ายเหลว คลื่นไส้ อาเจียน จากการสอบสวน พบว่าอาหารที่สงสัยเป็นอาหารกลางวันที่โรงเรียน ทีม SRRT (Surveillance and Rapid Response Team) ดำเนินการเก็บ Rectal Swab ผู้ที่มีอาการถ่ายเหลว พบเชื้อ *S. aureus* จำนวน 2 ราย (สำนักระบาดวิทยา, 2549) ในกรุงเทพมหานคร มีผู้ป่วยเป็นนักเรียนโรงเรียนแห่งหนึ่ง เริ่มป่วยวันที่ 29 สิงหาคม 2550 มีอาการไข้ ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน อุจจาระร่วง รับการรักษาเป็นผู้ป่วยใน 9 ราย อาหารที่สงสัยไม่สามารถระบุได้ ทีม SRRT ได้เก็บตัวอย่าง rectal swab ส่งตรวจที่กองชันสูตร กรุงเทพมหานคร จำนวน 204 ตัวอย่าง พบเชื้อ *Staphylococcus aureus* จำนวน 7 ราย (สำนักระบาดวิทยา, 2550)



ภาพ 2 ภาพ SEM ของ *S. aureus*

ที่มา: Wikimedia Commons (http://commons.wikimedia.org)

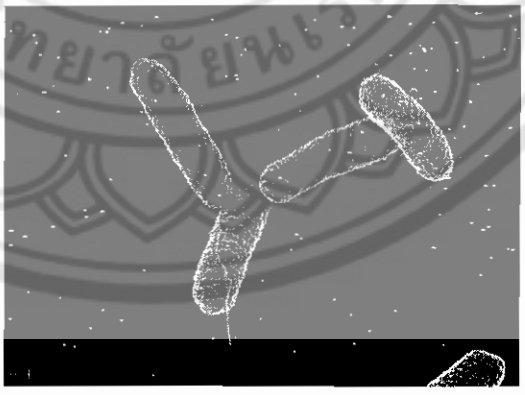
2. *Salmonella* spp.

Salmonella อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae เป็นเซลล์รูปท่อน ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ มีการเจริญแบบ facultative anaerobes เป็นเชื้อที่เคลื่อนที่ได้ (mobile) สามารถสร้างแก๊สได้จากการเติบโตในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส เป็นเชื้อที่มีอุณหภูมิเหมาะสมในการเติบโตระหว่าง35-37 องศาเซลเซียส ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์สามารถฆ่าเชื้อนี้ได้ ใน pH ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 4.5 เชื้อจะตาย และไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้เมื่อ Aw เท่ากับ 0.94 และมี pH ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 5.5 เชื้อจะสามารถมีชีวิตรอดได้ ภายใต้การแช่เยือกแข็ง และในสภาพแห้งเป็นเวลานาน *Salmonella* สามารถเพิ่มจำนวนได้ในอาหารหลายชนิด โดยไม่ทำให้คุณภาพของอาหารผิดปกติ เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางด้านอาหารเนื่องจากแบคทีเรียพวกนี้ทำให้อาหารเป็นพิษและสามารถถ่ายทอดได้ทางอาหารเท่านั้น อาหารที่พบ *Salmonella* ได้แก่ อาหารประเภทเนื้อ เช่น พายเนื้อ ไส้กรอก แฮม เบคอน แซนวิช และอาหารที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง นอกจากนี้ยังพบในไก่ ไข่ นม ผลิตภัณฑ์นม ปลา และอาหารทะเล อาการที่เกิดจากความเป็นพิษของ *Salmonella* เรียกว่าซาลโมเนลโลซิส (Salmonellosis) ภายหลังจากรับประทานเชื้อนี้เข้าไป เชื้อจะไปเกาะติดกับเยื่อเมือก (mucosa) ในลำไส้เล็กและแพร่พันธุ์บนเยื่อบุ (epithelial cell) ลำไส้เล็ก พร้อมกับมีการสร้างสารพิษที่ทำให้ลำไส้บวม เนื่องจากมีการสะสมของของเหลวในลำไส้ ความสามารถของเชื้อโรคในการบุกรุก (invade) และทำลายเซลล์ ซึ่งเกิดจากการสร้าง thermostable cytotoxic factor เชื้อโรคแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและสร้างสารพิษที่ไม่ทนความร้อน (thermolabile enterotoxin) ซึ่งมีผลต่อการหลั่ง (secretion) ของของเหลวและสารเกลือแร่ (electrolyte) การสร้างสารพิษเกี่ยวข้องกับอัตราการเติบโตของเชื้อโรค (บุษกร อุตรภิชาติ, 2545, หน้า 323-324)

การก่อโรคของเชื้อ *Salmonella* ในคนและสัตว์ แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

2.1 Typhoidal Salmonella เกิดจาก *Sal.* Typhi และ *Sal.* Paratyphi ก่อให้เกิดโรคไข้รากสาด (typhoid) และไข้รากสาดเทียม (paratyphoid) ในคน การติดต่อจากการปนเปื้อนของเชื้อจากอุจจาระคนปนเปื้อนสู่สภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น อาหาร น้ำ หรือเครื่องมือเครื่องใช้อื่นๆ แหล่งสะสมพบได้ใน ผลไม้ ผักดิบ นม และผลิตภัณฑ์จากนม มีระยะฟักตัวประมาณ 8-14 วัน อาการที่เกิดคือ ปวดหัวรุนแรง คลื่นไส้ อาเจียน มีไข้ต่ำ มีอาการทางลำไส้ตามมา คือ ท้องผูก และต่อมาท้องร่วงมีเลือดปนออกมาเนื่องจากเชื้อบุกรุกผนังลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ไปยังอวัยวะอื่นและเชื้อปล่อย enterotoxin ออกมา ระยะเวลาของโรคที่เกิด 1-4 สัปดาห์ (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2544)

2.2 Non-Typhoidal Salmonella ได้แก่ *Sal. Enteritidis* และ *Sal. typhimurium* พบว่าเป็นสาเหตุของโรค Salmonellosis โดยมีแหล่งสะสมและแพร่กระจายของโรคได้แก่ สัตว์เลี้ยง สัตว์ปีก รวมทั้งแมลง การติดต่อมักเกิดจากการบริโภคอาหารที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อนมาในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ ที่ทำมาจากเนื้อสัตว์ และนม ขนาดของเชื้อที่สามารถทำให้เกิดโรคได้อยู่ที่ 10^5-10^6 CFU/g มีระยะฟักตัว 8-24 ชั่วโมง อาการที่เกิดขึ้น คือ มีไข้ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และท้องเสีย ผลที่ตามมาอื่นๆ ได้แก่ โลหิตเป็นพิษ ถุงน้ำดีอักเสบ ระยะเวลาที่เกิด 1-5 วัน (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2544)



ภาพ 3 ภาพ SEM ของ *Sal. Typhimurium*

ที่มา: Wikimedia Commons (http://commons.wikimedia.org)

ในประเทศไทยมีการศึกษาของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์และกรุงเทพมหานคร เพื่อเฝ้าระวังการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ขึ้นเป็นครั้งแรกในปี 2514-2515 โดยมีกลุ่มตัวอย่างคืออาหารภัตตาคารและร้านอาหารในเขตกรุงเทพมหานคร ผลการศึกษาพบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ซีโรวาร์ที่พบคือ *S. derby*, *S. anatum*, *S. lexington*, *S. newport*, *S. weltevreden* และพบสายพันธุ์ *S. hadar* และ *S. luciana* นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาถึงการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในอาหารชนิดต่างๆ อีก เช่น อาหารพร้อมบริโภคในโรงเรียน ซุปเปอร์มาร์เก็ต อาหารแช่แข็งเพื่อการส่งออก เนื้อไก่ เนื้อหมู และแหนม มีการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ในอาหารต่างๆ มาโดยตลอด แต่ข้อมูลเรื่องการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Salmonella* ของประเทศไทยเองไม่ได้มีการเก็บรวบรวมไว้อย่างชัดเจนว่ามีการเกิดขึ้นกี่ราย กี่ครั้ง รวมถึงจำนวนผู้เสียชีวิตในแต่ละปีด้วย (มาลัย บุญรัตนกรกิจ, 2546) โดยในปี พ.ศ. 2528 ได้มีรายงานการระบาดของเชื้อ *Salmonella* ถึง 16,000 ครั้ง ใน 6 รัฐของสหรัฐอเมริกา เนื่องมาจากการบริโภคนมสดและนมสดขาดมันเนยจากโรงงานนมในชิคาโก ซึ่งถือว่าเป็นการระบาดของ *Salmonella* ครั้งรุนแรงที่สุดที่เกิดขึ้นในสหรัฐอเมริกา และในปี พ.ศ. 2548 ที่รัฐ South Carolina เกิดการระบาดที่ Camden ผลการตรวจพิสูจน์ไก่งวงพบเชื้อ *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* ระหว่างวันที่ 19-22 พฤษภาคม 2548 มีผู้ป่วยยืนยัน และต้องสงสัยรวม 304 ราย เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล 53 ราย (สำนักระบาดวิทยา, 2548) ในวันที่ 5 มิถุนายน 2549 พบการระบาดของโรคในนักเรียนชั้นประถมศึกษาปีที่ 5 โรงเรียนแห่งหนึ่งในรัฐแมสซาชูเซส มีผู้ป่วยประมาณ 40-50 ราย ผลการเพาะเชื้ออุจจาระของผู้ป่วย พบเชื้อ *Salmonella* 23 ราย สาเหตุคาดว่าจากผู้ป่วยสัมผัสเต่าที่เลี้ยงไว้ในบ่อและอาหารเลี้ยงสัตว์ ซึ่งอยู่ในการทดลอง (สำนักระบาดวิทยา, 2549) ในประเทศสวีเดน ปี พ.ศ. 2549 มีการระบาดของเชื้อ *Salmonella* พบผู้ป่วยมากกว่า 90 ราย หลังจากไปรับประทานอาหารที่ภัตตาคารแห่งหนึ่งในกรุง Stockholm อาหารที่สงสัยคือ ถั่วเขียว (mung bean) ซึ่งครั้งนี้เป็นการระบาดของเชื้อแบคทีเรียที่ใหญ่ที่สุดในรอบ 3 ปีที่ผ่านมา (สำนักระบาดวิทยา, 2549) และข้อมูลการระบาดของโรคซาลโมเนลโลซิส ระหว่างปี 1973 และ 1987 ในสหรัฐอเมริกา ดังแสดงในตาราง 4

ตาราง 4 การระบาดของโรคซาลโมเนลโลซิสในประเทศสหรัฐอเมริการะหว่างปี 1973 และ 1987

Food	Number of Outbreaks[a]	Food	Number of Outbreaks
Beef	77	Bakery products	12
Chicken	30	Fruits and vegetables	9
Turkey	36	Beverages	4
Pork	25	Chinese food	2
Eggs	16	Maxican food	10
Dairy products	50	Other foods	191
Shellfish and fin fish	8	Unknown	320

[a]Total number of outbreaks, 790 ; number of cases, 55, 864 ; number of death, 88.

ที่มา: Ray, 2001

การบรรจุแบบแอคทีฟโดยใช้ไคโตซาน ในการยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร

การบรรจุแบบแอคทีฟ มีความหมายกว้างๆ คือ ภาชนะบรรจุที่ทำหน้าที่มากกว่าการป้องกัน โดยบรรจุภัณฑ์ชนิดพิเศษ ยังมีความหมายในแง่ของการช่วยรักษาสภาวะที่เหมาะสมของอาหารให้มีอายุยาวนานขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาหรือระหว่างการแปรรูป มีการศึกษาพบว่าบริเวณผิวหน้าของอาหารมีการเสื่อมเสียอันเนื่องจากจุลินทรีย์และปัจจัยภายนอกหลายประการ ซึ่งเดิมการใช้ สารป้องกันจุลินทรีย์และสารป้องกันก๊าซออกซิเจนมักใช้การเติมโดยตรงในอาหารซึ่งจะเกิดการแพร่ขึ้นอย่างรวดเร็วจากบริเวณผิวหน้าของอาหารสู่ภายในชิ้นอาหารทำให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตหรือทำให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหารอย่างรวดเร็ว ดังนั้นเพื่อเป็นการช่วยควบคุมปฏิกิริยาการแพร่ของสารป้องกันจุลินทรีย์และสารป้องกันก๊าซออกซิเจนจึงได้มีการใช้สารป้องกันจุลินทรีย์และสารป้องกันก๊าซออกซิเจนเติมลงในฟิล์มและสารเคลือบผิวที่รับประทานได้ มีการใช้การบรรจุแบบแอคทีฟในผลิตภัณฑ์อาหารหลายประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์ขนมอบ อาหารขบเคี้ยว และอาหารแห้งเพื่อรักษาคุณภาพและยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ (วาณี ชนเห็นชอบ, 2547)

บรรจุภัณฑ์แบบต่อต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial food packaging) เป็นรูปแบบหนึ่งของการบรรจุแบบแอคทีฟ ที่สามารถพัฒนาต่อไปในเชิงธุรกิจ วัสดุบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์ สามารถลดอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ และ/หรือ ยืดระยะ lag phase ของการเจริญ และประกัน

ความปลอดภัยของอาหาร วัสดุบรรจุนี้ช่วยรักษาความเสถียรของอาหารพาสเจอร์ไรซ์ให้ปราศจากการปนเปื้อนหลังการบรรจุ หรือช่วยลดการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการสเตอริไลเซชั่น (ภาณุวัฒน์ สรรพกุล, 2547)

รูปแบบของการบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์ (ภาณุวัฒน์ สรรพกุล, 2547) มีดังนี้

1. ซอง หรือ แผ่นปลดปล่อยสารระเหย (volatile releasing sachets or pads) การประยุกต์เชิงการค้าที่ประสบความสำเร็จของรูปแบบนี้คือ ซองปลดปล่อยไอเอทานอล ซึ่งประกอบด้วยเอทานอลซึ่งถูกดูดซับอยู่ในวัสดุตัวพาและบรรจุในซองพอลิเมอร์ เอทานอลจะซึมผ่านชั้นเลือกผ่าน และผ่านซองออกมาสู่บรรยากาศที่ล้อมรอบผลิตภัณฑ์ซึ่งบรรจุอยู่ในภาชนะบรรจุ ระบบนี้ถูกใช้ในการยืดอายุการเก็บโดยปราศจากการขึ้นราของผลิตภัณฑ์ขนมอบ และผลิตภัณฑ์ปลาแห้ง

2. การพ่นก๊าซ หรือ แผ่นปลดปล่อยก๊าซ (Gas flushings or emitting pads) การพ่นก๊าซหรือการปลดปล่อยก๊าซจะควบคุมการเจริญของราเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของผลไม้ โดยมีการใช้ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเสื่อมเสียขององุ่นซึ่งได้ผลดีกว่าการฉายรังสีแกมมาและการใช้ร่วมกันระหว่างความร้อนและฉายรังสี แต่ระบบการพ่นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์อาจก่อให้เกิดปัญหาหลายด้าน ซึ่งรวมถึงการฟอกขาวของผิวองุ่น และการตกค้างของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เมื่อประมาณทศวรรษที่แล้ว ได้มีการพัฒนาระบบการปลดปล่อยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ภายใต้การควบคุม พบว่าสามารถยับยั้งราได้ผลอย่างน่าพอใจ ในขณะที่ช่วยลดปัญหาดังกล่าวมาแล้ว

3. สารเคลือบ หรือ ฟิล์มเคลือบต่อต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial coatings or coated films) เป็นการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงในสารเคลือบที่เหมาะสมเพื่อชะลอการเจริญของยีสต์ รา และแบคทีเรีย ระหว่างการเก็บรักษาและการกระจายสินค้า สารต่อต้านจุลินทรีย์โดยทั่วไปที่ใช้ได้แก่ กรดอินทรีย์ และเกลือของกรดอินทรีย์ นอกจากนี้สารต่อต้านจุลินทรีย์บางชนิดซึ่งไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิที่ใช้ในการผลิตฟิล์มพลาสติก จะถูกนำมาเคลือบบนแผ่นฟิล์มแทน ตัวอย่างเช่น ไนซิน/เซลลูโลส อีเทอร์เคลือบบนฟิล์มพอลิเอทิลีน ซึ่งเซลลูโลสอีเทอร์ที่ถูกนำมาใช้เป็นสารตัวพาสำหรับการเคลือบฟิล์มเคลือบนี้ สามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* และ *Listeria monocytogenes* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

4. ฟิล์มดูดซับต่อต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial adsorbed films) การดูดซับสารต่อต้านจุลินทรีย์ในฟิล์มพลาสติกเป็นอีกทางเลือกหนึ่งนอกจากเทคนิคการเคลือบ เพื่อที่จะช่วยให้สารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ไวต่อความร้อน สามารถใช้ในการเติมลงไปในฟิล์มได้

5. ฟิล์มเกาะติดต่อต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial immobilized films) นอกเหนือจากการแพร่และการดูดซับ ระบบการบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์ซึ่งมีการใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เกาะติดโดยอาศัยพันธะโควาเลนท์ หรือพันธะไอออนิกสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นการเกาะติดจะต้องอาศัยฟังก์ชั่นนอลกรุ๊ปทั้งของสารต่อต้านจุลินทรีย์ และพอลิเมอร์ ตัวอย่างของสารต่อต้านจุลินทรีย์ซึ่งมีฟังก์ชั่นนอลกรุ๊ป ได้แก่ เปปไทด์ เอนไซม์ พอลิเอมีน และกรดอินทรีย์ การเกาะติดอาจจะต้องมีโมเลกุลตัวเชื่อมประสาน (spacer) ซึ่งทำหน้าที่เชื่อมพื้นผิวของพอลิเมอร์กับสารต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดไบโอแอคทีฟ

6. ฟิล์มแต่งเติมต่อต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial incorporated films) การเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงไปในฟิล์มพลาสติกโดยตรงนั้น เป็นวิธีการที่สะดวก ที่จะได้คุณสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์ของฟิล์ม สารต่อต้านจุลินทรีย์อาจเติมลงในฟิล์มพอลิเมอร์ในช่วงของการหลอม หรือโดยการใช้ตัวทำละลายกระบวนการผลิตพอลิเมอร์เชิงความร้อน เช่น การอัดรีดและการฉีดขึ้นรูป อาจนำมาใช้ได้กับสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีความเสถียรเชิงความร้อน สำหรับสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ไวต่อความร้อน เช่น เอนไซม์และสารระเหย การใช้ตัวทำละลายอาจเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการเติมสารดังกล่าวลงในวัสดุพอลิเมอร์ ตัวอย่างเช่น ไลโซไซม์(Lysozyme) ถูกเติมลงในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์โดยใช้ตัวทำละลายเพื่อป้องกันการเสียสภาพโดยความร้อนของเอนไซม์

7. สารเคลือบหรือฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์โดยกำเนิด (Inherently antimicrobial coating or films) พอลิเมอร์บางชนิดแสดงคุณสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์โดยกำเนิด และนำมาประยุกต์ใช้ในสารเคลือบ และฟิล์ม พอลิเมอร์ที่มีประจุบวก เช่น พอลิ-แอล-ไลซีนและไคโตซาน จะก่อให้เกิดการจับตัวของเซลล์ ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการรั่วของสารสำคัญภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ เนื่องจากประจุบวกของเอมีนจะทำปฏิกิริยาสัมพันธ์กับประจุลบของเยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากนี้พอลิเมอร์ที่มีประจุบวก เช่น ไคโตซาน ยังสามารถใช้ร่วมกับสารต่อต้านจุลินทรีย์อื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์และสารสกัดจากพืช เพื่อที่จะเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งได้สูงสุดต่อการเจริญของจุลินทรีย์

8. ฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ดัดแปรพื้นผิว (Surface modified antimicrobial films) การดัดแปรพื้นผิวของพอลิเมอร์เป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถก่อให้เกิดคุณสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์ของฟิล์ม ยกตัวอย่างเช่น การดัดแปรอิเลคตรอนของพอลิเมอร์ ก่อให้เกิดเอมีนกรุ๊ปเกิดขึ้นที่พื้นผิวฟิล์ม ซึ่งมีคุณสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์

สำหรับวัสดุสัมผัสอาหารกรดอินทรีย์บางชนิด สารยับยั้งแบคทีเรีย และสารสกัดจากพืชได้รับอนุมัติจากองค์การอาหารและยา(เอฟดีเอ) สหรัฐอเมริกา เป็นสารแต่งเติมสำหรับอาหารบางชนิด ภาชนะบรรจุซึ่งใช้สำหรับการสัมผัสอาหารจะต้องอยู่ในบัญชีรายชื่อของสารประกอบ

ที่ผ่านการอนุมัติ และปริมาณการเคลื่อนย้ายสารจากวัสดุบรรจุไปสู่อาหารหรือแบบจำลองอาหารโดยรวม จะต้องไม่เกิน 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งจะขัดแย้งกับวัตถุประสงค์ของการบรรจุแบบแอคทีฟโดยเฉพาะอย่างยิ่งในระบบที่ออกแบบมาเพื่อต้องการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ไปสู่อาหาร ดังนั้นการประยุกต์ใช้การบรรจุอาหารแบบต่อต้านจุลินทรีย์ในปัจจุบันจึงอยู่ในวงจำกัดถึงแม้ว่าจะมีความเป็นไปได้เชิงธุรกิจ ในปี 2546 ร่างแก้ไขกฎข้อบังคับของสหภาพยุโรป 89/109/EEC (วัสดุบรรจุสำหรับสัมผัสอาหาร) ได้รับการอนุมัติโดยคณะกรรมการสหภาพยุโรป ภายใต้เงื่อนไขบางอย่าง ร่างดังกล่าวจะสนับสนุนให้เกิดการใช้การบรรจุแบบแอคทีฟและ intelligent อย่างเป็นรูปธรรม อย่างไรก็ดียังคงจะต้องมีการผ่านการอนุมัติโดยสภาสหภาพยุโรปและรัฐสภาสหภาพยุโรปต่อไป ซึ่งคาดว่ากฎข้อบังคับดังกล่าวอาจจะต้องใช้เวลาในการอนุมัติอีกอย่างน้อย 4 ปี (ภาณุวัฒน์ สรรพกุล, 2547)

การบรรจุอาหารแบบต่อต้านจุลินทรีย์เป็นเทคโนโลยีที่มีวิวัฒนาการอย่างรวดเร็ว ความต้องการที่จะบรรจุอาหารเพื่อตอบสนองความต้องการในหลายด้านสำหรับการขนส่ง และการเก็บรักษา ซึ่งรวมไปถึงความต้องการของผู้บริโภคที่มีเพิ่มมากขึ้นสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารที่สด สะดวก และปลอดภัย จะเป็นเครื่องแสดงถึงอนาคตที่สดใสของการบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์ ปัจจุบันนี้การวิจัยทางด้านนี้ได้มุ่งเน้นไปที่การเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติ เช่น สารสกัดจากพืชและสารยับยั้งแบคทีเรีย นอกจากนี้การวิจัยในอนาคตยังมีแนวโน้มของการร่วมใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติ วัตถุกันเสียชีวภาพ และวัสดุบรรจุย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ซึ่งจะเน้นคุณประโยชน์ของการบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์ในแง่ของคุณภาพ ความปลอดภัยของอาหาร อายุการเก็บรักษา และการเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม การบรรจุอาหารแบบต่อต้านจุลินทรีย์จะเปิดขอบเขตใหม่ ถ้าสถานภาพทางด้านกฎหมายข้อบังคับ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์ในวัสดุสัมผัสอาหารได้รับดูแลแก้ไข (ภาณุวัฒน์ สรรพกุล, 2547)

ไคโตซาน (chitosan)

ไคโตซานเป็นโพลิเมอร์ชีวภาพอย่างหนึ่งซึ่งมีองค์ประกอบสำคัญในรูปของ D – glucosamine พบได้ในธรรมชาติ โดยเป็นองค์ประกอบอยู่ในเปลือกนอกของสัตว์พวก กุ้ง ปู แมลง และเชื้อรา เป็นสารธรรมชาติที่มีลักษณะโดดเด่นเฉพาะตัว คือ เป็นวัสดุชีวภาพ (Biomaterials) ย่อยสลายตามธรรมชาติ มีความปลอดภัยในการนำมาใช้กับมนุษย์ ไม่เกิดผลเสียและปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม ไม่เกิดการแพ้ ไม่ไวไฟและไม่เป็นพิษต่อพืช (non – phytotoxic) ในหลายประเทศได้ขึ้นทะเบียนไคติน-ไคโตซานเป็นสารที่ใช้เติมในอาหารและยาได้ โดยเฉพาะในประเทศญี่ปุ่นได้มีผลิตภัณฑ์อาหารที่ผสมไคติน-ไคโตซานเป็นจำนวนมากออกวางขายใน

ท้องตลาดเป็นเวลานานแล้ว จากสมบัติที่สามารถต่อต้านจุลินทรีย์และเชื้อราบางชนิด จึงมีการใช้ไคติน-ไคโตซานเป็นสารกันบูด สารปรุงแต่งเพื่อความคงรูปและคงสีในอาหารต่างๆ ใช้เคลือบอาหารและผักผลไม้ (ภาวดี เมธะดานนท์, 2544)

สารละลายของไคโตซานมีความเหนียว ใส มีพฤติกรรมแบบนอน-นิวโตเนียน (non-newtonian) สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นเยื่อบางได้ตามธรรมชาติ มีลักษณะของพลาสติกใสและยืดหยุ่นได้ ดังนั้นไคโตซานสามารถขึ้นรูปได้หลายแบบ เช่น แผ่นเยื่อบาง เจล เม็ด เส้นใย คอลลอยด์ และสารเคลือบเป็นต้น จากลักษณะสมบัติที่โดดเด่นเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวที่ไม่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ จึงมีความปลอดภัยในการนำไคโตซานมาประยุกต์งานด้านต่าง ๆ เช่น การเกษตร อาหาร การจัดการคุณภาพน้ำ การทอ การแยกสาร การแพทย์ ยา และเครื่องสำอาง รวมทั้งอาหารสัตว์บกและสัตว์น้ำ ฯลฯ (รัฐ พิชญางกูร, 2543 ; สุวลี จันทร์กระจ่าง, 2543)

ไคโตซานมีลักษณะพิเศษในการนำมาใช้ดูดซับจับตะกอนต่างๆ และสามารถนำมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มที่มีลักษณะใส เหนียว ยืดหยุ่น ทนทานได้ดีที่อุณหภูมิสูงจึงใช้ในการห่อหุ้มอาหารและสามารถบริโภคได้ (Averbach, 1978) เนื่องจากไคโตซานมีลักษณะเป็นร่างแห (matrix) และเป็นเจล (Ionotropic gel) จึงสามารถหุ้มสารที่จะพาไว้ข้างในได้และย่อยสลายได้ด้วยไลโซไซม์ (lysozyme) ซึ่งเป็นเอนไซม์ในร่างกาย จึงไม่ก่อให้เกิดโทษแก่ร่างกาย นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมการเข้าออกของก๊าซออกซิเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ช่วยรักษาความชื้นให้อยู่ในสภาพสมดุล และยังมีคุณสมบัติในการป้องกันเชื้อราและแบคทีเรียอีกด้วย (พิสิฏฐ์ ธรรมวิถี, 2544)

Sagoo et al. (2002) ได้ศึกษาการใช้ไคโตซาน ซึ่งเป็นสารประกอบจากธรรมชาติในการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารของผลิตภัณฑ์จากเนื้อสุกรแช่เย็นพบว่าการใช้ไคโตซานเข้มข้น 0.25 และ 0.5 % สามารถยับยั้งการทำงานของ *Lac. viridescens, Lac. sake* และ *L. innocua* ได้ เมื่อนำไส้กรอกไปจุ่มในสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1 % จะสามารถลดจำนวนของยีสต์ รา และแบคทีเรียแลคติกได้ประมาณ 1-3 log CFU/g ในเวลา 18 วัน ที่อุณหภูมิ 7 °C โดยไคโตซานจะสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของไส้กรอกจาก 7 เป็น 15 วัน

Tanabe et al. (2002) เตรียมฟิล์มเคราติน (karatin) ผสมกับไคโตซาน เนื่องจากฟิล์มเคราตินเปราะ แตกหักง่าย เมื่อเพิ่มไคโตซาน 10-30 % โดยน้ำหนัก พบว่าฟิล์มมีค่าความแข็งแรงและค่ามอดูลัสเพิ่มขึ้น เมื่อใส่กลีเซอรอลยิ่งทำให้ฟิล์มมีความยืดหยุ่นสูงขึ้นด้วย นอกจากนี้ไคโตซานยังสามารถทำให้ฟิล์มไม่สามารถละลายน้ำได้และทำให้อัตราการกระจายตัวของเชื้อ *E. coli* ลดลงด้วย

Ouattara et al. (2000) ศึกษาการทำฟิล์มยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ปลดปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์อย่างช้าๆ เพื่อพัฒนาวิธีการเก็บรักษาเนื้อสัตว์แปรรูปในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศและเก็บรักษาโดยการแช่เย็น ฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์เตรียมได้จากกรดอะซิติก (acetic acid) หรือโพรไพโอนิก (propionic acid) ในไคโตซานร่วมกับกรดลอริก (lauric acid) หรือซินนามัลดีไฮด์ (cinnamaldehyde) และนำไปใช้กับไส้กรอกโบโลญา (bologna) แฮมสุกและพาสตรามิ (pastrami) พบว่ากรดโพรไพโอนิกถูกปลดปล่อยออกมาจากสารไคโตซานเกือบจะสมบูรณ์ในเวลา 48 ชั่วโมง ในขณะที่กรดอะซิติกถูกปล่อยออกมาน้อยกว่าทำให้ยังคงอยู่ในสารไคโตซาน 2-22 % หลังจากการเก็บรักษา 168 ชั่วโมง โดยการเพิ่มกรดลอริกเพียงอย่างเดียวในฟิล์มทำให้ลดการปล่อยกรดอะซิติกออกมาอย่างมีนัยสำคัญ และการปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์ออกมาในโบโลญาจะมีขีดจำกัดมากกว่าในแฮมหรือพาสตรามิ ซึ่งประสิทธิภาพของฟิล์มดังกล่าวในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ถูกทดสอบกับเชื้อที่สามารถสร้างกรดแลคติกได้ (indigenous lactic acid bacteria) ได้แก่ Enterobacteriaceae, *Lac. sakei* และ *S. liquefaciens* บนพื้นผิวของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยพบว่าฟิล์มยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ไม่มีผลต่อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก ส่วนเชื้อ Enterobacteriaceae และ *S. liquefaciens* มีการเจริญที่ช้าซึ่งเกิดจากการยับยั้งที่สมบูรณ์จากฟิล์ม โดยประสิทธิภาพของฟิล์มจะมีมากที่สุดในไส้กรอกโบโลญาที่มีพื้นผิวแห้งซึ่งทำให้การปล่อยกรดออกมาอย่างช้าๆ

น้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหย (volatile oil/ essential oil) เป็นสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบสลับซับซ้อน ได้จากการสกัดน้ำมันที่พืชสมุนไพรสร้างขึ้น โดยเก็บไว้ในส่วนต่าง ๆ ของพืชสมุนไพร เช่น เมล็ด ดอก ใบ ผล เปลือก ลำต้น หรือที่รากและเหง้า เป็นต้น น้ำมันหอมระเหยมีลักษณะทั่วไปเป็นของเหลว ใส ไม่มีสีหรือมีสีอ่อน ๆ มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติ เมื่อได้รับความร้อน น้ำมันจะระเหยได้ดียิ่งขึ้น กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไปขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่อยู่ในพืชสมุนไพรแต่ละชนิด และมีการนำน้ำมันหอมระเหยไปใช้ประโยชน์ต่างๆ เช่น คุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรค สุวคนธบำบัด เคมีบำบัด การใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เครื่องสำอาง และแต่งกลิ่นรสอาหาร เป็นต้น (สิริลักษณ์ มาลานิยม, 2545)

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยมีอยู่มากมาย มีการจัดแบ่งน้ำมันหอมระเหยตามกลุ่มขององค์ประกอบหลักออกเป็น 8 กลุ่ม (สุนีย์ จันทร์สกาว, 2546, หน้า33-44) ได้แก่

1. น้ำมันหอมระเหยกลุ่มแอลกอฮอล์ (Alcohol volatile oils) เป็นน้ำมันหอมระเหยที่มีแอลกอฮอล์เป็นองค์ประกอบหลักที่สำคัญ ตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มนี้ ได้แก่ น้ำมันมินต์ น้ำมันลูกผักชี ลูกกระวาน ดอกส้ม ดอกกุหลาบและน้ำมันสน ตัวอย่างของแอลกอฮอล์ที่พบบ่อยๆ ได้แก่ geraniol และ α-terpineol ในรูป monocyclic alcohol เป็นต้น

2. น้ำมันหอมระเหยกลุ่มอัลดีไฮด์ (Aldehyde volatile oils) เป็นน้ำมันหอมระเหยที่มีสารจำพวก อัลดีไฮด์เป็นองค์ประกอบหลัก น้ำมันหอมระเหยที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ที่สำคัญ ได้แก่ น้ำมันอบเชย น้ำมันจากส้ม มะนาว และตะไคร้หอม ตัวอย่างของอัลดีไฮด์ที่พบได้แก่ geraniol, neral และ citronellal เป็นต้น

3. น้ำมันหอมระเหยกลุ่มเอสเทอร์ (Ester volatile oils) เป็นน้ำมันหอมระเหยที่มีสารจำพวกเอสเทอร์เป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างของสารจำพวกเอสเทอร์ที่พบได้แก่ allyl isothiocyanate พบในน้ำมันมัสตาร์ด (mustard oil) และ methyl salicylate พบได้ใน wintergreen oil

4. น้ำมันหอมระเหยกลุ่มคีโตน (Ketone volatile oils) เป็นน้ำมันหอมระเหยที่มีสารจำพวกคีโตนเป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างของคีโตนที่พบได้แก่ menthone, carvone, pipertone และ pulegone ซึ่งเป็น monocyclic terpene ketone นอกจากนี้ยังพบ camphor, tenchone และ thujone ซึ่งเป็น dicyclic ketone น้ำมันหอมระเหยที่สำคัญในกลุ่มนี้ ได้แก่ การบูร และมิ้นต์

5. น้ำมันหอมระเหยกลุ่มออกไซด์ (Oxide volatile oils) เป็นน้ำมันหอมระเหยที่มีสารจำพวกออกไซด์เป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างของสารออกไซด์ที่พบในน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ cineole (eucalyptol) ซึ่งพบในน้ำมันยูคาลิปตัส

6. น้ำมันหอมระเหยกลุ่มฟีนอล/ฟีนอลิก (Phenol volatile oils) เป็นน้ำมันหอมระเหยที่มีสารจำพวกฟีนอลเป็นองค์ประกอบหลัก ฟีนอลที่พบได้แก่ eugenol, thymol, carvacrol เป็นต้น น้ำมันระเหยง่ายในกลุ่มนี้ ได้แก่ clove, thyme oil, creosote, pine tar และ juniper tar

7. น้ำมันหอมระเหยกลุ่มเทอร์ปีน/ไฮโดรคาร์บอน (Terpene/Hydrocarbon volatile oils) เป็นน้ำมันหอมระเหยที่มีสารจำพวกไฮโดรคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างสารที่จัดเป็น hydrocarbon monocyclic terpene ได้แก่ limonene ซึ่งพบได้ในน้ำมันจากมิ้นต์ ส้ม กระวาน และน้ำมันสน และ p-cymens ซึ่งพบในน้ำมันจากลูกผักชี อบเชย นอกจากนี้

พวก dicyclic monoterpene เช่น pinene ซึ่งพบได้ในน้ำมันยูคาลิปตัส น้ำมันดอกส้ม และน้ำมันลูกผักชี

8. น้ำมันหอมระเหยกลุ่มฟีนอลิกอีเทอร์ (Phenolic ether volatile oils) เป็นน้ำมันหอมระเหยที่มีสารจำพวกฟีนอลิก อีเทอร์เป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างน้ำมันระเหยง่ายในกลุ่มนี้ ได้แก่ น้ำมันโป๊ยกั๊กซึ่งพบสาร anethole น้ำมันจันทน์เทศ และน้ำมัน sassafras ซึ่งพบสาร safrol เป็นต้น

การสกัดแยกน้ำมันหอมระเหย

การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชทำได้หลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย คือ ไม่สามารถแยกองค์ประกอบต่างๆ ออกมาได้เท่ากัน หรืออาจเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบบางอย่าง ในระหว่างแยก ส่งผลให้คุณภาพน้ำมันหอมระเหยเปลี่ยนไป วิธีทั่วไปในการแยกน้ำมันหอมระเหย (นวลจันทร์ ใจใส, 2550) ได้แก่

1. การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากส่วนของพืชด้วยสารที่เป็นตัวทำละลาย ก่อนทำการแยกตัวละลายออก ตัวทำละลายที่ใช้กันมาก ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเทอร์ เบนซีน แอลกอฮอล์ เฮกเซน และไดคลอโรมีเทน และตัวทำละลายที่นิยมในปัจจุบันคือ คาร์บอนไดออกไซด์เหลว ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีกลิ่น รส ไม่เป็นพิษ ไม่ติดไฟ และมีจุดเดือดต่ำทำให้ง่ายต่อการแยกออกภายหลัง แต่มีราคาแพง

2. การบีบและคั้น เป็นการนำชิ้นส่วนพืชมาบีบ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกน้ำมันหอมระเหยออกจากของเหลวอื่นๆ ข้อดี คือ เป็นวิธีการที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน ไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนจึงทำให้องค์ประกอบทางเคมีไม่สลายตัว มักนิยมใช้สกัดเฉพาะน้ำมันหอมระเหยของพืชที่สลายตัวง่ายด้วยความร้อน เช่น พืชตระกูลส้ม ข้อเสียของวิธีนี้คือ น้ำมันหอมระเหยที่ได้จะมีปริมาณน้อย

3. การกลั่น ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่ สามารถทำได้โดยการต้มโดยนำส่วนของพืชมาต้มในหม้อต้มแล้วทำการควบแน่นไอที่ระเหยออกมา น้ำมันหอมระเหยจะถูกแยกออกจากส่วนของน้ำ วิธีนี้ชิ้นส่วนพืชจะสัมผัสน้ำโดยตรง หรืออาจจะทำด้วยการกลั่นด้วยไอน้ำ เป็นการใช้ไอน้ำพ่นผ่านเข้ามายังชิ้นส่วนของพืช ไอน้ำจะพาส่วนของน้ำมันหอมระเหยออกมาด้วย แล้วจึงทำการควบแน่นแยกน้ำออกจากน้ำมันหอมระเหยภายหลัง ข้อดีของวิธีนี้คือสามารถควบคุมไอน้ำและอุณหภูมิได้ นอกจากนี้ยังสามารถแยกน้ำมันหอมระเหยโดยการกลั่นที่อุณหภูมิและความดันไอน้ำต่ำ เป็นการใช้แรงดันไอน้ำต่ำผ่านชิ้นส่วนพืช และสารระเหยถูกสกัดออกมาจากส่วนของพืชโดยกระบวนการออสโมซิส ข้อดีคือ ใช้เวลาสั้น น้ำมันหอมระเหยที่ได้มีปริมาณและคุณภาพสูง

กลไกการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหย

องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจะแตกต่างกันไปตามส่วนของพืช แหล่งที่ปลูก ฤดูกาลเก็บเกี่ยว และภูมิประเทศ ทำให้มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่างกัน น้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติที่สำคัญของส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหย คือ การเป็น hydrophobic จึงสามารถแทรกเข้าไปอยู่ในส่วนของชั้นไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์และในไมโทคอนเดรีย (mitocondria) โดยจะไปรบกวนการทำงานโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เกิดการรั่วไหลของไอออนและองค์ประกอบภายในเซลล์ นอกจากนี้ยังมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ทำให้กระบวนการสังเคราะห์พลังงานหรือกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์เปลี่ยนไป (Burt, 2004)

จากหลายการศึกษาพบว่าฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่เป็นผลมาจากสารประกอบจำพวกฟีนอลิก ส่วนองค์ประกอบอื่นๆ มีฤทธิ์ค่อนข้างน้อย eugenol ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันกานพลู มีฤทธิ์ในการยับยั้งการผลิตเอนไซม์ amylase และ protease ใน *B. cereus* และ *Enterobacter aerogenes* โดยหมู่ hydroxyl ใน eugenol จะจับกับโปรตีนมีผลป้องกันการผลิตเอนไซม์ดังกล่าว (Burt, 2004)

บัญญัติ สุขศรีงาม (2518) ทดสอบความสามารถของเครื่องเทศ 27 ชนิดในการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ 33 ชนิด พบว่าน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราจะยับยั้งการเติบโตของเชื้อราได้ดีกว่าจุลินทรีย์อื่นๆ และใบแมงลักจะให้ผลยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียเท่านั้น

Vazquez et al. (2001) ศึกษาความสามารถของ eugenol และ thymol ในการยับยั้งการเติบโตและการผลิตซิตรินิน (citrinin) ของ *Penicillium citrinum* พบว่า eugenol มีประสิทธิภาพดีกว่า thymol โดยที่ความเข้มข้นของ eugenol 200 µg/ml สามารถยืดช่วง lag time ของการเจริญได้สูงถึง 9 วัน และลดอัตราการเจริญของ *P. citrinum* ได้เฉพาะในอาหารแข็ง แต่ thymol จะสามารถยับยั้งอัตราการเจริญของ *P. citrinum* ได้เฉพาะในอาหารเหลว นอกจากนี้เมื่อความเข้มข้นของ eugenol และ thymol เป็น 150 µg /ml จะสามารถยับยั้งการผลิตซิตรินินได้

Karapinar and Aktug (1987) ได้ทดสอบฤทธิ์ของ thymol, eugenol, mentol และ anethole ในการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus* และ *Vibrio parahaemolyticus* พบว่า eugenol มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อเหล่านี้สูงที่สุด รองลงมาคือ thymol, anethole และ menthol ตามลำดับ

Cressy (2003) ประยุกต์กระบวนการแช่เยือกแข็งและการละลายร่วมกับการใช้ไอโซยูจีนอล (isoeugenol) ในการยับยั้งการเติบโตของ *L. monocytogenes* ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย พบว่าปริมาณของ *L. monocytogenes* ลดลง ซึ่งการใช้กระบวนการการทำละลาย

ว. TP
958
ก672ผ
2551
16 มี.ค. 2552
i 4429051 c.6
สำนักหอสมุด

จากเยือกแข็งเพียงครั้งเดียวร่วมกับไอโซยูจีนอลเข้มข้น 0 และ 100 ppm จะทำให้ปริมาณเซลล์ของ *L. monocytogenes* ลดลงถึง 1.42 และ 2.83 $\log_{10}$MPN/ml ตามลำดับ และถ้าใช้ไอโซยูจีนอลเข้มข้น 100 ppm ร่วมกับกระบวนการแช่แข็งและการละลาย 2 ครั้ง จะทำให้ปริมาณเซลล์ลดลงมากถึง 4.63 $\log_{10}$MPN/ml

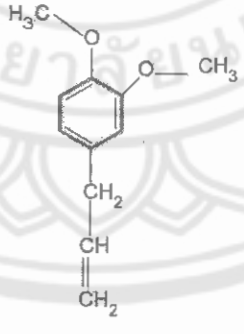
Nazer et al. (2005) ศึกษาถึงผลของการใช้สารประกอบอะโรมาติก 5 ชนิด คือ thymol carvacrol citral eugenol และ geraniol พบว่า eugenol สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* ได้ และพบว่าการใช้สารประกอบอะโรมาติกร่วมกันนั้นไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่เพิ่มขึ้น

น้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรา

กะเพราเป็นพืชสมุนไพรที่เป็นที่รู้จักอย่างกว้างขวาง และมีการบริโภคอย่างแพร่หลายในประเทศไทยมาเป็นเวลานาน กะเพราเป็นพืชล้มลุกที่แตกกิ่งก้านสาขามาก เป็นพืชที่พบทั่วไปในเขตร้อน ใบรูปไข่ยาว ขอบใบเรียบหรือหยักแบบซี่ฟัน ใบปกคลุมด้วยขนนิ่มทั้งสองด้าน ดอกสีม่วงแดง หรือแดงเลือดหมู กะเพราเป็นพืชสวนครัว เป็นต้นไม้ศักดิ์สิทธิ์ของศาสนาฮินดู นิยมปลูกไว้ตามโบสถ์ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Ocimum sanctum* Linn. ชื่ออังกฤษ sacred basil หรือ holy basil วงศ์ *Labiatae* มีชื่อท้องถิ่นว่า กอมก้อ กะเพราขาว กะเพราแดง พันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศไทยมี 2 ชนิด คือ กะเพราขาว (*Lakshim / Sri tulsi*) ชนิดนี้มีใบและลำต้นสีเขียว อีกชนิดหนึ่งเรียกว่ากะเพราแดง (*Krishna tulsi*) มีลำต้นและใบสีเขียวอมม่วงแดง พืชนี้ปลูกโดยเมล็ดหรือโดยการตัดกิ่งชำ เป็นพืชสมุนไพรที่นิยมนำมาใช้เป็นยาธาตุแก้ปวดท้อง ท้องขึ้น ขับลม แก้จุกเสียดในท้องและยังนำมาใช้ในการประกอบอาหาร นอกจากนี้ในปัจจุบันยังได้พบสรรพคุณต่างๆ อีกมากมายในกะเพรา เช่น มีคุณสมบัติปรับสภาพร่างกาย (adaptogenic), immonumodulating, anticarcinogenic, radioprotective, hypoglycemic blood lipid lowering และ antiulcerogenic นอกจากนี้กะเพรายังสามารถนำมารับประทาน โดยใช้ปรุงอาหารในหลายๆ ประเภท เป็นการให้คุณค่าทางอาหาร เพิ่มรสชาติ ดับกลิ่นคาว และยังช่วยย่อยอาหาร ซึ่งเป็นที่นิยมอย่างมาก โดยเอกชัย วงษ์เกิด และคณะ (2548) ได้พัฒนาผลิตภัณฑ์ฮาลาลทูน่าเชียงรสกะเพรา เนื่องจากเป็นรสชาติสมุนไพรในอุดมคติที่ได้รับความนิยมสูงสุด และ วิชุดา สังข์แก้ว (2547) ได้ผสมผงกะเพราในคุกกี้และเค้กเนยสด พบว่าสามารถลดกลิ่นหืน และการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราได้ นอกจากนี้ยังได้มีการส่งออกใบกะเพราในรูปของใบกะเพราสดและใบกะเพราแห้งในต่างประเทศเพื่อใช้ในการประกอบอาหารและใช้เป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปต่างๆ ใบกะเพราเมื่อนำมากลั่นด้วยไอน้ำให้น้ำมันหอมระเหยสีเหลืองสดและมีกลิ่นชวนดม กลิ่นของน้ำมันคล้ายกลิ่นกานพลู

น้ำมันที่กลั่นได้มีคุณสมบัติแตกต่างกันไปขึ้นกับสิ่งแวดล้อมในการปลูก เช่น ฤดูท้องถิ่น อุณหภูมิ อายุของพืช ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่พบจากส่วนเหนือดิน คือ ประมาณ 0.53 % ประกอบด้วยสารสำคัญ คือ methyl eugenol, chavinol, borneol และ linalool องค์ประกอบหลักในการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ได้แก่ methyl eugenol โดยมี borneol และ linalool ช่วยเสริมแต่มีปริมาณต่ำและมีผลต่อแบคทีเรียน้อย น้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดระเหยยากสีเหลืองอมเขียว ประกอบด้วยกรดไขมัน คือ Palmitic, Stearic, Oleic, Linoleic และ Linolenic acids และมีเมือก (mucilage) ซึ่งเมื่อสลายตัวให้ Xylose และ Glucuronic acid (นิจศิริ เรืองรังษี, 2534) มีรายงานฤทธิ์ของน้ำมันกะเพราในการต้านแบคทีเรียหลายชนิด ทั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร และแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ได้แก่ ฤทธิ์ต้าน *E. coli* และ *P. aeruginosa* และประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *Microbacterium tuberculosis* ซึ่งเป็นสาเหตุของเชื้อวัณโรค โดยที่ สารสกัดชนิดนี้จะมีความแรงเป็น 10 เท่า ของยาปฏิชีวนะสเตรพโตไมซิน (streptomycin) และเป็น 4 เท่าของไอโซไนซิด (isonaizid) (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2527, หน้า 9-10)

Kothari, Bhattacharya and Ramesh (2004) ศึกษาผลของการเก็บเกี่ยวกะเพราต่อองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราซึ่งประกอบไปด้วย methyl eugenol 72-78 % eugenol 4- 8 % และ caryophyllene 2-7 % พบว่าการเก็บเกี่ยวกะเพราเมื่อมีการแตกกิ่งก้านในระยะที่สองเพื่อนำมาสกัดเป็นน้ำมันหอมระเหยจะทำให้ได้ปริมาณ methyl eugenol (ภาพ 4) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของกะเพรามากที่สุดเมื่อเทียบกับวิธีอื่นๆ



ภาพ 4 โครงสร้างของ methyl eugenol ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของกะเพรา

ที่มา: Burt, 2004

การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหย

การตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในหลอดทดลองของน้ำมันหอมระเหยยังไม่มีวิธีการตรวจสอบที่เป็นมาตรฐานโดยตรง แต่ได้พัฒนานำเอาวิธีการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ (antimicrobial susceptibility test) ของ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) มาประยุกต์ใช้ ได้แก่ วิธีการแพร่ (agar diffusion test) และวิธีการเจือจาง (dilution test) ซึ่งสามารถทำได้ทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (broth medium) และอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง (agar medium) โดยมีวิธีหลักอยู่ 3 รูปแบบ คือ

1. วิธี Agar dilution susceptibility test
2. วิธี Agar diffusion test
3. วิธี Broth dilution susceptibility test

การเลือกใช้วิธีการทดสอบรูปแบบใดนั้น ขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง วิธีการแต่ละรูปแบบก็มีปัจจัย ที่มีผลกระทบต่อการทดสอบดังต่อไปนี้ (มาลิน จุลศิริ, 2540, หน้า 84-85)

1. ชนิดของเชื้อทดสอบ เช่น เชื้อที่เจริญช้า หรือต้องการสารอาหารหลายชนิดในการเจริญเติบโต (fastidious organism) จะนิยมใช้วิธี broth dilution test ขณะที่เชื้อซึ่งต้องเจริญบนเลือด หรือไม่ต้องการออกซิเจน (anaerobe) มักใช้วิธี agar diffusion test ส่วนเชื้อที่มีอัตราการเจริญไม่คงที่ ควรเลือกใช้วิธี dilution test

2. จำนวนเชื้อทดสอบ เช่น หากจำนวนเชื้อทดสอบมาก และต้องการหาค่า MIC จะนิยมใช้วิธี agar dilution test

3. ชนิดของยาทดสอบ เช่น ตัวยาที่แพร่กระจาย (diffuse) ในวุ้นไม่ดี จะนิยมใช้วิธี dilution test หรือยาที่มีขอบข่ายความปลอดภัยแคบ ดังตัวอย่างยาในกลุ่ม aminoglycosides ซึ่งบางครั้งจำเป็นต้องทำขอบข่ายยาที่เชื้อไว เพื่อปรับขนาดยาในการรักษาให้ปลอดภัยขึ้น จะนิยมหาค่า MIC ด้วยวิธี dilution test สำหรับยาบางชนิด เช่น กลุ่ม sulfonamides หากต้องการหาค่า MIC มักให้ดูจากความเข้มข้นต่ำสุดของยาดังกล่าวด้วย ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ 80% ดังนั้นจึงนิยมใช้วิธี agar diffusion test

4. จำนวนยาทดสอบ เช่น มีตัวยาจำนวนมาก แต่มีเชื้อจำนวนน้อย จะนิยมใช้วิธี agar diffusion test

เมื่อเลือกรูปแบบวิธีการทดสอบได้แล้ว อาจพบว่า รูปแบบนั้นมีรายละเอียดวิธีการทำแตกต่างกัน โดยเฉพาะชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ ขนาดของเชื้อที่ใช้ทดสอบ แต่ไม่ว่ารายละเอียดของวิธีการจะแตกต่างกันในลักษณะใด ข้อสำคัญคือ ผลการทดสอบควรเชื่อถือได้ ทั้งนี้โดยค่าที่มา

จากผลการทดสอบของวิธีการหนึ่ง จะเหมือนหรือใกล้เคียงกับผลที่ได้จากอีกการทดลอง หรือค่าที่ได้มีความสัมพันธ์กับผลที่ได้จากอีกวิธีการหนึ่ง รายละเอียดของวิธีการทั้ง 3 รูปแบบ มีดังต่อไปนี้

1. วิธี Broth dilution susceptibility test เป็นการประเมินเชิงปริมาณวิเคราะห์คือต้องการทราบค่า MIC (minimum inhibitory concentration) และ ค่า MBC (minimal bactericidal concentration) เป็นวิธีการที่ยาหรือสารทดสอบถูกเจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว ให้ได้ความเข้มข้นในระดับต่างๆ แล้วจึงใส่เชื้อในปริมาณเท่ากัน คือประมาณ 10^5-10^6 CFU/ml ลงใน อาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลวที่มียา หรือสารทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เหล่านี้ แล้วนำไปบ่มเพาะ ภายหลังการบ่มเพาะสังเกตการเจริญของเชื้อจากความขุ่นของอาหารเหลว โดยค่า MIC หาได้จากค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ ซึ่งสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ลงได้ 90 % วิธีการนี้ยังสามารถแบ่งเป็น macrodilution (หรือ tube) dilution test และ microdilution test สำหรับ macrodilution test ทำในหลอดทดลองขนาด 13 x 100 มิลลิเมตร และ microdilution test ทำใน microtiter tray (plate) (มาลิน จุลศิริ, 2540, หน้า 96-98; นวลจันทร์ ใจใส, 2550)

2. วิธี Agar dilution susceptibility test มีหลักการทดสอบที่คล้ายคลึงกับวิธี Broth dilution susceptibility test คือเจือจางยาหรือสารทดสอบให้มีความเข้มข้นต่างๆ กัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง แล้วเติมเชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปประมาณ 10^5-10^6 CFU/ml ในการเจือจางแต่ละความเข้มข้น หลังจากนั้นนำไปบ่มตามสภาวะที่กำหนด สามารถหาค่า MIC ได้จากค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่สังเกตพบการเจริญของเชื้อ โดยสังเกตจากการเจริญของเชื้อขึ้นบนผิวหน้าวุ้น (มาลิน จุลศิริ, 2540, หน้า 98-99)

3. วิธี Agar diffusion test เป็นการทดสอบเบื้องต้นเพื่อประเมินเชิงคุณภาพว่ามีฤทธิ์หรือไม่ โดยใส่ยาต้านจุลชีพหรือสารทดสอบปริมาณหนึ่งไว้ในภาชนะบรรจุ ได้แก่ กระดาษทดสอบ (paper disc), agar (well) หรือ cylinder cup บนอาหารแข็งที่มีเชื้อเจริญในปริมาณมาก ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml บนผิวหน้า แล้วยาหรือสารทดสอบจะแพร่จากบริเวณภาชนะบรรจุ ภายหลังการบ่มเพาะ สังเกตดูโซนใสรอบบริเวณภาชนะบรรจุ ขนาดโซนใส (clear zone) สามารถนำมาประเมินถึงความไวของเชื้อต่อสารทดสอบ โดยขนาดโซนที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวเชื้อทดสอบ สำหรับ well และ cylinder cup ยุ่งยากในการใช้ และผลที่ได้แปรผันมาก จึงนิยมใช้ภาชนะบรรจุแบบ paper disc ((มาลิน จุลศิริ, 2540, หน้า 102-103 ; นวลจันทร์ ใจใส, 2550)

วิธี broth dilution susceptibility test ให้ผลการทดสอบที่แน่นอน ทราบปริมาณยาต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างละเอียด และถูกต้อง ซึ่งเป็นวิธีที่นำมาใช้ในการตรวจสอบหาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในหลอดทดลองของน้ำมันหอมระเหยในครั้งนี้

ความปลอดภัยในการใช้น้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหารกลุ่มหนึ่งเป็นสารธรรมชาติที่จัดอยู่ในหมวดยอมรับเป็นสารปลอดภัยทั่วไป หรือ Generally Recognized As Safe (GRAS) ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และเครื่องดื่มเพื่อวัตถุประสงค์ในการแต่งกลิ่นอาหาร และในปัจจุบันได้รับความสนใจที่จะนำมาใช้แทนวัตถุกันเสียมากขึ้น การนำน้ำมันหอมระเหยมาใช้สิ่งที่ควรคำนึงถึงคือความปลอดภัย ซึ่งจะต้องผ่านกระบวนการทดสอบประเมินความปลอดภัยทางด้านพิษวิทยา ผลในด้านการสะสม การเสริมฤทธิ์ มีการเฝ้าระวังผลอย่างต่อเนื่อง มีข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะการกำหนดค่าที่ปลอดภัยสำหรับมนุษย์ในการรับสัมผัสโดยการรับประทานต่อวัน (Acceptable Daily Intake: ADI) (พระราชบัญญัติอาหาร, 2547)

มีรายงานผลการวิเคราะห์ความปลอดภัยของการใช้สารสกัดจากใบกะเพราดังนี้ เมื่อป้อนหรือฉีดสารสกัดกะเพราทั้งต้นด้วยเอทานอล (70%) ทดสอบในหนูถีบจักรพบว่า ขนาดที่ทำให้สัตว์ทดลองตายครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 4.5 ก./กก. และ 3.24 ก./กก. ตามลำดับ สารสกัดใบจากเอทานอลและน้ำ (1:1) ฉีดเข้าทางช่องท้องของหนูพบว่าขนาดสูงสุดที่ทนได้คือ 1 ก./กก. สารสกัดใบจากเอทานอล (70%) ทดสอบโดยฉีดเข้าทางกระเพาะหนูพบว่า ขนาดที่ทำให้สัตว์ทดลองตายครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) เท่ากับ 4.85 ก./กก. (Chattopadhyay, 1999) ยาดอง (tinctures) ใบกะเพราเมื่อนำมาทดสอบกับไข่ไรกุ้งในหลอดทดลอง ด้วยความเข้มข้น 10, 100, 1,000 มคก./มล. พบว่า (LD_{50}) เท่ากับ 18.75 มคก./มล. ในขณะที่เมื่อป้อนให้กับหนูถีบจักร พบว่า (LD_{50}) เท่ากับ 1.54 ก./กก. สารสกัดตำรับยา (abana) ที่มีกะเพราเป็นส่วนประกอบหนึ่ง เมื่อฉีดเข้าทางช่องท้องหนูถีบจักร พบว่า (LD_{50}) เท่ากับ 1.8 ก./กก. และขนาด 2.1 ก./กก. จะทำให้หนูตายทั้งหมด (Chandra et al., 2003)

เมื่อป้อนสารสกัดใบกะเพราด้วย 70% แอลกอฮอล์ ขนาด 2.5, 5.0, 7.5 ก./กก.นน.ตัว ให้กับหนูถีบจักร และขนาด 15 ก./กก.นน.ตัว ให้กับหนูขาว ภายใน 24 ชม. พบว่าไม่ก่อให้เกิดพิษเฉียบพลันในหนูทั้ง 2 ชนิด (ธานี ศุขกลิ่น และคณะ, 2546) สารสกัดเอทานอลและน้ำ (1:1) ขนาด 10 ก./กก. ให้ทางสายยางเข้าสู่กระเพาะไม่แสดงความเป็นพิษ (Mokkhasmit, Swatdimongkol and Satrawaha, 1971) น้ำมันจากเมล็ด ขนาด 3 มล./กก. ทดสอบโดยฉีดเข้าทางช่องท้องหนู ไม่แสดงความเป็นพิษ (Singh et al., 1995) สารสกัดใบด้วยเอทานอล (50%) ป้อนและ

ฉีดเข้าช่องท้องหนูถีบจักร ขนาด 10 ก./กก. ไม่พบความเป็นพิษ (Mokkhasmit, Swatdimongkol and Satrawaha, 1971)

สารสกัดใบกะเพราจากน้ำ ขนาด 0.5 มล./จานเพาะเชื้อ ทดสอบใน *Bacillus subtilis* M-45, *B. subtilis* H-17 ไม่พบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ (Ungsurungsie Suthienkul and Paovalo, 1982) เมื่อป้อนสารสกัดใบกะเพรา ขนาด 2.5 ก./กก. ให้กับหนูถีบจักร นาน 21 วัน เพื่อทดสอบฤทธิ์การก่อกลายพันธุ์ และการยับยั้งการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ในเซลเม็ดเลือดแดงของหนูถีบจักรที่ถูกกระตุ้นด้วยไซโครฟอสฟามายด์ ไมโตมายซิน ซี และโคลซีซิน พบว่าไม่พบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ และมีผลต้านการก่อกลายพันธุ์ในเม็ดเลือดแดง (ธานี ศุขกลิ่น และ ดรุณี บุรีภักดีลอว์สัน, 2545)