บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหาที่นำไปสู่การค้นคว้าวิจัย

ประเทศไทยได้กำหนดให้ปี 2547 เป็นปีรณรงค์ความปลอดภัยของผู้บริโภคในการรับประทานอาหาร นอกจากอันตรายในอาหารที่เกิดจากสาเหตุด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพแล้ว ในอาหารอาจมีการปลอมปนได้ ซึ่งผู้บริโภคไม่ควรถูกหลอกลวงจากการซื้อสินค้าเพื่อบริโภค

ประเทศไทยมีสำนักงานคณะกรรมการแห่งชาติว่าด้วยมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ จัดตั้งขึ้นเพื่อประสานงานกับโครงการมาตรฐานอาหารของเอฟเอโอ/ดับบลิว เอช โอ (Codex Alimentarius Commission) เป็นหน่วยงานที่มีวัตถุประสงค์ เพื่อปกป้องคุ้มครองสุขภาพอนามัยของผู้บริโภคและป้องกันการหลอกลวงและเพื่อสร้างความเป็นธรรมในด้านการค้าระหว่างประเทศ โดยมาตรฐานที่จัดทำขึ้นอาศัยหลักการทางวิทยาศาสตร์ ใช้หลักการวิเคราะห์ความเสี่ยงและการควบคุมกระบวนการผลิตที่มีความยืดหยุ่นไม่ให้เกิดความเข้มงวดเกินไปในการผลิต เพื่อไม่ให้ผลประโยชน์ทางการค้าตกแก่ฝ่ายใดฝ่ายหนึ่ง ไม่ว่าจะเป็นประเทศพัฒนาหรือประเทศกำลังพัฒนา [1]

ธุรกิจเนื้อสัตว์มีการเจริญเติบโตทุกส่วนภูมิภาคของโลกแต่อัตราการเติบโตของธุรกิจแตกต่างกันตามภูมิภาค และผู้ผลิตต่างมีความมุ่งหวังที่จะเพิ่มรายได้ทางเศรษฐกิจโดยพัฒนารูปแบบและเทคนิคการผลิตเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค ทำให้มีโอกาสพบการปลอมปนชนิดเนื้อสัตว์ ดังเช่น Martin รายงานใน ค.ศ. 1981 พบการปลอมปนเนื้อม้าในเนื้อโคของประเทศอังกฤษ [2] Whittaker และคณะ รายงานใน ค.ศ. 1983 พบการปลอมปนเนื้อแกะ ม้า จิ้งโจ้ในเนื้อโคที่มาจากประเทศออสเตรเลีย [3] Rugraff รายงานใน ค.ศ. 1983 พบเนื้อสุกรปลอมปนในเนื้อโคและเนื้อแกะที่ส่งออกไปขายในแถบเอเชียกลาง [4] หรือ Hsieh รายงานใน ค.ศ. 1999 พบการปลอมปนเนื้อม้าเนื้อจิงโจ้ในเนื้อโค [5] และการต่อสู้กับปัญหาการปลอมปนอาหารประเภทเนื้อสัตว์ในเสบียงสำหรับกองทัพ [6]

การปลอมปนเนื้อสัตว์ที่มีราคาถูกในเนื้อสัตว์ราคาแพง ทำได้ง่ายในผลิตภัณฑ์จาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เนื้อสัตว์ที่ถูกตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ดังรายงานของอเมริกา อังกฤษ ออสเตรเลีย สเปน พบว่าผลิตภัณฑ์เนื้อที่ผลิตจากยุโรป เช่น ไส้กรอกแบบอังกฤษ เบอร์เกอร์ ขนมพายพบส่วนผสมของเนื้อสัตว์มากกว่า 1 ชนิดโดยมีการปลอมปนเนื้อสัตว์ราคาถูกในเนื้อสัตว์ชนิดอื่น ๆ [7] Rekha และคณะ รายงานใน ค.ศ. 1997 พบการปลอมปนเนื้อไก่และเนื้อสุกรในไส้กรอกโค [6] หรือการนำสัตว์ที่เป็นโรคหรือตายอย่างไม่ทราบสาเหตุ ผลิตเป็นอาหารโดยไม่ได้ผ่านการตรวจสอบจากสัตวแพทย์ก่อน

ตั้งแต่ ค.ศ. 1984 ประเทศอังกฤษออกกฎหมายเกี่ยวกับเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ห้ามไม่ให้มีการปลอมปนเนื้อสัตว์พร้อมทั้งให้ระบุชนิดและปริมาณเนื้อสัตว์บนฉลากบรรจุเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ [8] ส่วนสหภาพยุโรปเริ่มมีนโยบายพิสูจน์เอกลักษณ์และมีระบบลงทะเบียนตั้งแต่วัตถุดิบเริ่มต้นจนถึงมือผู้บริโภค ตั้งแต่ ค.ศ.1988 เนื่องจากการตื่นตัวเรื่องโรควัวบ้า ทำให้บางประเทศออกบทบัญญัติทางกฎหมายห้ามผสมเนื้อสัตว์กระเพาะรวมในอาหารสัตว์ หรือห้ามนำเข้าเนื้อสัตว์จากประเทศที่พบการระบาด ส่งผลให้บางประเทศโดยเฉพาะอังกฤษ ประเทศในยุโรปต่าง ๆ มีข้อตกลงหรือกฎระเบียบเกี่ยวกับอาหารสัตว์ที่ต้องระบุส่วนผสมและปริมาณส่วนผสม ทำให้มีการควบคุมตั้งแต่วัตถุดิบ อาหารสัตว์ การทำสัญลักษณ์เฉพาะตัวสัตว์ การใช้ระบบอิเล็คทรอนิคบันทึกรายละเอียดทุกอย่างที่เกี่ยวกับสัตว์และเจ้าของสัตว์ พ่อค้าคนกลาง การเคลื่อนย้ายสัตว์จนถึงโรงฆ่าสัตว์ ควบคู่กับการควบคุมคุณภาพการแปรรูปและติดฉลากแสดงรายละเอียดชนิดเนื้อสัตว์ องค์ประกอบภายในผลิตภัณฑ์และในฉลากมีข้อมูลย้อนกลับถึงข้อมูลฟาร์ม รวมทั้งมีการทดสอบในห้องปฏิบัติการตามสุขอนามัยพืชและสัตว์เพื่อพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์สำหรับงานคุ้มครองผู้บริโภค [9-10] และเมื่อ ค.ศ. 1990 สหรัฐอเมริกา เริ่มใช้มาตรการตรวจพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์เพื่อการส่งออกรวมถึงพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์เศรษฐกิจ และสัตว์ที่ได้จากเกมล่าสัตว์ที่ได้รับอนุญาตตามกฎหมาย [6]

การพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ที่นำมาบริโภคว่าเป็นเนื้อชนิดใด มีความสำคัญกับกลุ่มผู้บริโภคบางกลุ่มโดยเฉพาะประชากรที่นับถือศาสนาอิสลาม และลัทธิความเชื่อบางอย่าง ดังเช่นกลุ่มเสรีภาพสัตว์ในประเทศออสเตรเลียออกมาต่อต้านการส่งแกะไปเป็นอาหารในตะวันออกกลาง หลังจากบุกเข้าไปยังเขตจัดเตรียมฝูงแกะในเมืองพอร์ตแลนด์ รัฐวิคทอเรีย พบว่ามีการนำเนื้อสุกรไปเป็นอาหารแก่แกะที่ถูกส่งไปกลุ่มตะวันออกกลางซึ่งเป็นดินแดนของชาวมุสลิม[11] รวมถึงผู้มีภาวะภูมิคุ้มกันไวเกิน (Hypersentivity) ต่อการบริโภคเนื้อสัตว์ ร่างกายมีการตอบโต้ต่อเนื้อสัตว์จนทำให้มีอันตรายหรือเกิดพยาธิสภาพต่อร่างกาย [12]

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ถึงแม้ว่าปัจจุบันเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ของหลายประเทศไม่ได้มีกฎหมายระบุว่าต้องแสดงรายละเอียดชนิดของเนื้อสัตว์ แต่สำหรับบางประเทศ เช่น ประเทศอังกฤษ ฝรั่งเศส เยอรมันนี อิตาลี โปรตุเกส เนเธอร์แลนด์ ต้องระบุชนิดเนื้อสัตว์และแหล่งที่ผลิตอันส่งผลให้มีการพัฒนากระบวนการที่สามารถชี้เฉพาะเกี่ยวกับชนิดเลือด และเนื้อสัตว์ สำหรับเป็นมาตรฐานเพื่อพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ทั้งเพื่อประโยชน์เชิงธุรกิจและการคุ้มครองผู้บริโภค เพื่อพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นโค กระบือ แพะ แกะ กวาง สุกร และสัตว์ป่าเป็นต้น[1] หรือการที่ประเทศออสเตรเลียมีข้อบังคับให้ตรวจชนิดเนื้อสัตว์ที่แช่แข็งก่อนส่งออกต่างประเทศโดยสุ่มตัวอย่างจากกล่องแช่แข็งเนื้อสัตว์โดยใช้สว่านเจาะประมาณ 25 ถึง 100 กรัม ซึ่งแต่เดิมความแตกต่างเหล่านี้ทำให้ชัดเจนโดยสัตวแพทย์หรือผู้ตรวจเนื้อสัตว์ในโรงฆ่าสัตว์เป็นผู้ชี้เฉพาะ โดยใช้พื้นฐานลักษณะทางกายภาพจากการสังเกตสีของเนื้อสัตว์ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะแตกต่างกันไปตามชนิดหรือพันธุ์ ปัจจุบันเกิดข้อถกเถียงมากมายว่าในอาหารของผู้บริโภคหรืออาหารสัตว์ เป็นเนื้อสัตว์ชนิดใดแน่ หรือเป็นโปรตีนจากพืชหรือสัตว์ และมีปริมาณการปลอมปนหรือมีอัตราส่วนผสมอย่างไร

การปลอมปนอาจเริ่มต้นจากวัตถุดิบเนื้อสัตว์ ช่วงเตรียมไปผสมกับเนื้อสัตว์ชนิดอื่น ๆ ในวัตถุดิบ หรือเกิดจากการผลิตที่ไม่ควบคุมองค์ประกอบ ไม่แยกอุปกรณ์การผลิตเป็นสัดส่วน มีการบรรจุหรือติดฉลากไม่ถูกต้อง ประกอบกับธุรกิจการส่งออกเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่กำลังขยายตัวในประเทศต่าง ๆ และการพัฒนากฎหมายเพื่อคุ้มครองผู้บริโภคเพื่อให้ได้บริโภคชนิดเนื้อสัตว์ตามความต้องการอย่างแท้จริง นักวิทยาศาสตร์จึงต้องพัฒนาวิธีการต่าง ๆ ขึ้นมาพิสูจน์ชนิดของเนื้อสัตว์ในแต่ละชนิดให้จำเพาะ ใช้เวลาไม่นาน ใช้ได้กับเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่มีรูปแบบกระบวนการผลิตหลากหลาย และราคาไม่แพง

งานวิจัยนี้ต้องการพิสูจน์การปลอมปนเนื้อสุกรและเนื้อโคโดยวิธี Double gel diffusion พร้อมทั้งศึกษาความจำเพาะและปฏิกิริยาข้ามของแอนติซีรั่มต่อเนื้อสัตว์ชนิดต่าง ๆ ความเข้มข้นของแอนติซีรั่ม ปริมาณการปลอมปนขั้นต่ำสุดที่สามารถพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ได้ ปัจจัยด้านอุณหภูมิที่มีผลต่อผลิตภัณฑ์เนื้อในการพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ พร้อมทั้งสำรวจชนิดเนื้อสัตว์ที่วางจำหน่ายจากตลาดสดและห้างสรรพสินค้าในเขตอำเภอเมือง และอำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงพฤศจิกายน พ.ศ. 2546

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาความจำเพาะและปฏิกิริยาข้ามของแอนติซีรั่มต่อเนื้อสัตว์ชนิดต่าง ๆ
2. ศึกษาปริมาณความเข้มข้นของแอนติซีรั่มต่อเนื้อโคและเนื้อสุกร
3. ศึกษาปริมาณการปลอมปนของเนื้อสุกรและเนื้อโคขั้นต่ำสุด
4. ศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อผลิตภัณฑ์เนื้อในการพิสูจน์ชนิดเนื้อสุกรและเนื้อโค
5. สำรวจการปลอมปนเนื้อโคและเนื้อสุกรในเนื้อสดและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่วางจำหน่ายในตลาดสดและห้างสรรพสินค้าในเขตอำเภอเมือง และอำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงพฤศจิกายน พ.ศ. 2546

1.3 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย

ทราบความจำเพาะและปฏิกิริยาข้ามของแอนติซีรั่มที่ผลิตโดยงานวิจัยนี้ต่อเนื้อสัตว์ชนิดต่าง ๆ ทราบปริมาณความเข้มข้นของแอนติซีรั่ม ทราบปริมาณเปอร์เซ็นต์การปลอมปนขั้นต่ำสุด (w/w) ของเนื้อโคและเนื้อสุกรในผลิตภัณฑ์เนื้อชนิดต่าง ๆ ทราบถึงอุณหภูมิที่ผลิตภัณฑ์เนื้อได้รับซึ่งมีผลต่อการพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ พร้อมทั้งทราบการปลอมปนเนื้อสัตว์สดและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่วางจำหน่ายตามตลาดสดและห้างสรรพสินค้าในจังหวัดเชียงใหม่ โดยวิธี Double gel diffusion ผลการวิจัยนี้จึงอาจเป็นแรงกระตุ้นต่อภาคเอกชน ให้มีจิตสำนึกในการผลิตอาหารและจริยธรรมในการจำหน่ายอาหาร ซึ่งนอกจากต้องมีสุขอนามัยดีแล้วต้องไม่มีการปลอมปนชนิดเนื้อสัตว์ที่ผู้บริโภคไม่ต้องการ เนื่องจากผู้บริโภคบางคนอาจมีภาวะภูมิคุ้มกันไวเกิน (Hypersentivity) ต่อเนื้อสัตว์ชนิดนั้น ๆ หรือต้องปฏิบัติตามข้อกำหนดในบางศาสนา ลัทธิความเชื่อ พร้อมทั้งกระตุ้นภาครัฐบาลให้มีมาตรการ วิธีการทดสอบและมีความเข้มงวดในการคุ้มครองผู้บริโภคตามพระราชบัญญัติคุ้มครองผู้บริโภค พ.ศ. 2522 แก้ไขเพิ่มเติม (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2541 และการเฝ้าระวังการลักลอบหรือปลอมปนเนื้อสัตว์นำเข้าสู่ประเทศไทย

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

เริ่มจากการเตรียมสัตว์ทดลอง (กระต่าย) การเตรียมซีรั่มโคและสุกรใช้เป็นแอนติเจนเพื่อฉีดเข้าสัตว์ทดลอง การผลิตแอนติซีรั่ม การเตรียมน้ำเนื้อชนิดต่าง ๆ รวมทั้งการทดสอบความจำเพาะและปฏิกิริยาข้ามของแอนติซีรั่มต่อเนื้อสัตว์ชนิดต่าง ๆ การทดสอบปริมาณความเข้มข้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ของแอนติซีรั่ม การทดสอบปริมาณเปอร์เซ็นต์ขั้นต่ำสุด (w/w) ในการปลอมปนชนิดเนื้อสัตว์ การทดสอบอุณหภูมิที่มีผลต่อเนื้อสัตว์ในการพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ โดยวิธี Double gel diffusion พร้อมทั้งการสำรวจการปลอมปนเนื้อสัตว์สดและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่วางจำหน่ายในตลาดสดและห้างสรรพสินค้าในเขตอำเภอเมือง อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงพฤศจิกายน พ.ศ. 2546

1.5 หลักการ ทฤษฎี และเหตุผล

เหตุผลที่ทำงานวิจัย

ประเทศไทยมีกฎหมายเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ว่าด้วยประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 243 พ.ศ.2544 เรื่องผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์โดยในข้อ 5 ให้ระบุฉลากว่าต้องมีชื่ออาหาร เลขสารบบอาหาร ชื่อและที่ตั้งของผู้ผลิตหรือผู้แบ่งบรรจุสำหรับอาหารที่ผลิตในประเทศ ชื่อและที่ตั้งของผู้นำเข้า ประเทศผู้ผลิตสำหรับอาหารนำเข้า ปริมาณสุทธิเป็นระบบเมตริก มีข้อความว่า "ใช้วัตถุกันเสีย" ถ้ามีการใช้ ระบุวันเดือนและปีที่ผลิต หรือวันเดือนและปีที่หมดอายุการบริโภค [13] (ตามภาคผนวก ก)

พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 หมวดที่ 4 มาตรา 27 กล่างถึงการที่ผู้จำหน่ายผลิตอาหารปลอม หมายถึง อาหารที่มีฉลากเพื่อลวงหรือพยายามลวงผู้ซื้อให้เข้าใจผิดในเรื่อง คุณภาพ ปริมาณ ประโยชน์ หรือลักษณะพิเศษอย่างอื่น หรือ อาหารที่ผลิตเทียมอาหารอย่างหนึ่งอย่างใดและจำหน่ายเป็นอาหารแท้อย่างนั้น ถือว่าเป็นการทำผิดกฎหมาย [14]

ประเทศไทยมีการขายเนื้อสัตว์ที่หลากหลายชนิด แต่การฆ่าที่ถูกกฎหมาย ณ โรงฆ่าสัตว์ที่ได้รับการจดทะเบียนมีเพียงการฆ่าโค กระบือ ไก่ เป็ดและสุกร ตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบันมีการฆ่าสุนัขที่จังหวัดเลยประมาณ 300 – 400 ตัว /วัน ซึ่งเป็นสุนัขไม่มีเจ้าของและเป็นการฆ่าที่ผิดกฎหมายเพื่อส่งประเทศเวียดนาม จีน เนื่องจากประเทศเหล่านี้มีทัศนคติบริโภคเนื้อสุนัข เพื่อให้ร่างกายอบอุ่นและบำรุงสุขภาพ โดยสุนัข 1 ตัว สามารถแลกกับถังน้ำ 1 ใบ ซึ่งปัจจุบันมีการตระเวนซื้อสุนัขทั้งในเขตภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือทำให้ถูกจับในข้อหาค้าสัตว์ (สุนัข) โดยไม่มีใบอนุญาต [13] เช่นเดียวกับผู้บริโภคบางกลุ่มในอำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ที่มีความนิยมบริโภคเนื้อสุนัขเช่นกัน ปัจจุบันกรมปศุสัตว์ก็พยายามออกกฎหมายไม่ให้มีอาชีพฆ่าสุนัข แต่ก็อยู่ระหว่างการดำเนินการเพื่อเป็นการลดการแพร่ระบาดเชื้อโรคสัตว์ติดคนเช่น โรคพิษสุนัขบ้าและรักษาจารีตประเพณีอันดีของคนไทย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สิทธิของผู้บริโภค ตามรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทย พุทธศักราช 2540 เป็นรัฐธรรมนูญฉบับแรกที่ให้ความสำคัญการคุ้มครองผู้บริโภคโดยบัญญัติถึงสิทธิของผู้บริโภคย่อมได้รับการคุ้มครองตามที่กฎหมายบัญญัติ และพระราชบัญญัติคุ้มครองผู้บริโภค พ.ศ.2522 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2541 ได้บัญญัติสิทธิผู้บริโภคที่ได้รับความคุ้มครอง [16] เช่น

1. สิทธิที่จะได้รับข่าวสารรวมทั้งคำพรรณนาคุณภาพที่ถูกต้องและเพียงพอเกี่ยวกับสินค้าหรือบริการ ได้แก่ สิทธิที่จะได้รับการโฆษณา หรือการแสดงฉลากตามความจริงและปราศจากพิษภัย ตลอดถึงสิทธิที่จะได้รับทราบข้อความถูกต้องและเพียงพอที่จะไม่หลงผิดในการซื้อสินค้าหรือรับบริการโดยไม่เป็นธรรม

2. สิทธิที่จะได้รับความปลอดภัยจากการใช้สินค้าหรือบริการ ได้แก่ สิทธิที่จะได้รับสินค้าหรือบริการที่ปลอดภัย มีสภาพและคุณภาพได้มาตรฐานเหมาะสมแก่การใช้ ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อชีวิต ร่างกาย หรือระมัดระวังตามสภาพของสินค้าหรือบริการนั้น

3. สิทธิที่จะได้รับการพิจารณาและชดเชยความเสียหาย ได้แก่ สิทธิที่ได้รับการคุ้มครองและชดใช้ค่าเสียหาย เมื่อมีการละเมิดสิทธิของผู้บริโภค

ปัจจุบันมีการพัฒนาและการเติบโตของธุรกิจเนื้อสัตว์มากขึ้น ซึ่งผู้ผลิตต่างมีวัตถุประสงค์เพิ่มรายได้ทางเศรษฐกิจ และพัฒนารูปแบบและเทคโนโลยีเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค ขณะเดียวกันผู้บริโภคก็ต้องการได้รับความคุ้มครองด้านสุขอนามัย และได้รับสินค้าตามความต้องการ แต่นโยบายและกฎหมายยังไม่มีมาตรการตรวจสอบอย่างเข็มงวดโดยเฉพาะการพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ ประกอบกับกฎหมายของประเทศไทยไม่ได้ระบุฉลากของผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ต้องระบุส่วนผสม ปริมาณส่วนผสม อาจทำให้ผู้บริโภคได้รับอาหารปลอมจากการเข้าใจผิดในเรื่องชื่ออาหาร (ตามภาคผนวก ข) แต่บางประเทศเช่น ประเทศสหรัฐอเมริกา [6] ประเทศนิวซีแลนด์ [17] มีกฎหมายฉลากผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ต้องระบุส่วนผสม ปริมาณส่วนผสม ส่วนกรณีเนื้อสัตว์สดก่อนการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่จำหน่ายในประเทศไทยไม่มีกฎหมายระบุว่าต้องมีฉลากอาจทำให้ผู้บริโภคได้รับชนิดเนื้อสัตว์ที่ไม่ตรงความต้องการ โดยเฉพาะกรณีเนื้อบดที่จำหน่ายในตลาดสด รวมถึงปัจจุบันประเทศไทยไม่มีหน่วยงานทั้งภาครัฐบาลและเอกชนที่มีห้องปฏิบัติการพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ แต่บางประเทศ เช่น ประเทศออสเตรเลีย มีกฎหมายผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์และเนื้อสัตว์สด ระบุชื่ออาหาร ส่วนผสม ปริมาณส่วนผสม ชื่อและที่ตั้งของผู้ผลิตหรือผู้แบ่งบรรจุสำหรับอาหารที่ผลิตในประเทศ ชื่อและที่ตั้งของผู้นำเข้า และประเทศผู้ผลิตสำหรับอาหารนำเข้า ปริมาณสุทธิ ระบุวัน เดือนและปีที่ผลิต หรือวัน เดือนและปีที่หมดอายุการบริโภค และที่สำคัญประเทศออสเตรเลียมีห้องปฏิบัติการที่ให้การรับรองคุณภาพอาหารซึ่งสามารถพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ ได้ [17]

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หลักการของการผลิตแอนติซีรั่ม

งานวิจัยครั้งนี้ใช้หลักการทางภูมิคุ้มกันวิทยาซึ่งเกี่ยวข้องกับการตอบสนองของร่างกายที่จำเพาะต่อแอนติเจน การทดสอบครั้งนี้ใช้สิ่งแปลกปลอมหรือแอนติเจนที่เข้าสู่ร่างกาย คือ ซีรั่มโคและซีรั่มสุกรฉีดเข้าไปในสัตว์ทดลองซึ่งเป็นกระต่ายส่งผลให้ร่างกายสัตว์ทดลองมีการตอบสนองสร้างแอนติบอดีขึ้นมาเป็นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อซีรั่ม (แอนติเจน) จึงเรียกว่า แอนติซีรั่ม

หลักการทั่วไป

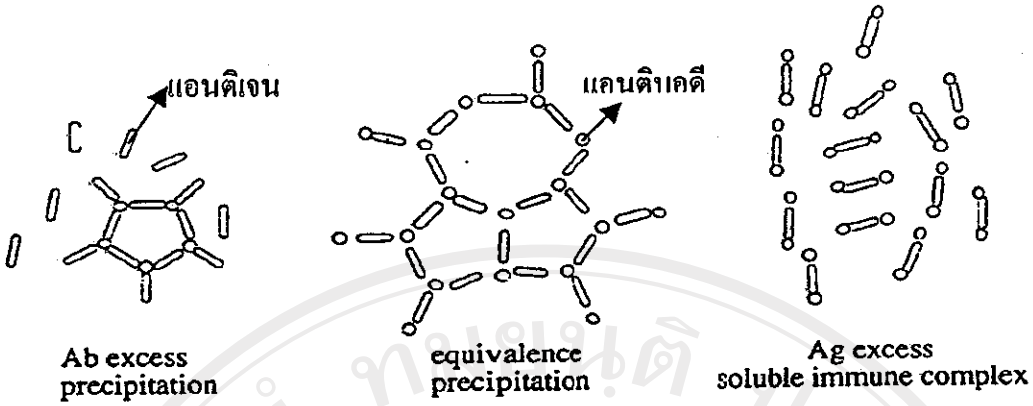
การทดสอบใช้หลักการตรวจหาแอนติเจนและแอนติบอดีซึ่งปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน (ในงานวิจัยครั้งนี้หมายถึง เนื้อสัตว์) กับแอนติบอดี (แอนติซีรั่ม) ที่มีความจำเพาะต่อกัน ใช้เทคนิคปฏิกิริยาการตกตะกอน (Precipitation) โดยอาศัยการเคลื่อนที่ทั้งแอนติเจนและแอนติบอดีที่สามารถมองเห็นเส้นตะกอนด้วยตาเปล่าในเนื้อเจล (Double gel diffusion)

หลักการตกตะกอนระหว่างปฏิกิริยาแอนติเจนกับแอนติบอดี

การทดสอบที่ใช้ปฏิกิริยาการตกตะกอน หมายถึง แอนติบอดีทำปฏิกิริยากับแอนติเจนที่อยู่ในรูปของสารละลายจะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจน–แอนติบอดี เกิดตะกอนให้เห็น ซึ่งอัตราส่วนระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีที่ใช้ในปฏิกิริยามีความสำคัญต่อการเกิดตะกอน สามารถอธิบายได้โดยอาศัย Lattice theory ซึ่งเชื่อว่าแอนติบอดีหนึ่งโมเลกุลจับกับแอนติเจนได้หลายโมเลกุล และแอนติเจนหนึ่งโมเลกุลจับกับแอนติบอดีได้มากกว่า 1โมเลกุล ดังนั้นเมื่อแอนติเจนและแอนติบอดีมีปริมาณพอเหมาะต่อกัน (equivalence zone) ก็สามารถจับกันในลักษณะต่อสายยาวเป็นร่างแหได้ ยิ่งแอนติเจนและแอนติบอดีจับกันมีขนาดใหญ่ขึ้นก็ยิ่งละลายได้น้อยและสามารถตกตะกอนให้เห็นได้ ส่วนในช่วงที่มีแอนติบอดีมากเกินไป (antibody excess หรือ prozone) หรือแอนติเจนมากเกินไป (antigen excess หรือ postzone) เกิดการตกตะกอนน้อยลงหรือไม่มีตะกอนใหญ่เกิดขึ้น [18-19] ตามรูปที่ 1.1

นอกจากอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแอนติเจนและแอนติบอดีที่เหมาะสมแล้ว ยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อการตกตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจน-แอนติบอดีอีก เช่น ความเป็นกรดด่างมีผลต่อการละลายของแอนติเจน-แอนติบอดี ชนิดของแอนติเจน ชนิดของแอนติบอดี ความเข้มข้นของเกลือ (ionic strength) มีผลต่อแรงยึดระหว่างพันธะ และอุณหภูมิที่มากเกินไปทำให้โปรตีนเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเป็นผลให้การละลายของโปรตีนลดลง [18]

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่1.1 อัตราส่วนระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีที่มีต่อการตกตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจน-แอนติบอดี

ที่มา: นภาธร บานชื่น. หลักการทดสอบในห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจหาแอนติเจนและแอนติบอดี. ใน: สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ, บรรณาธิการ. อิมมูโนวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพ : เค พี พริ้นติ้ง, 2532: 16.

หลักการ Double gel diffusion

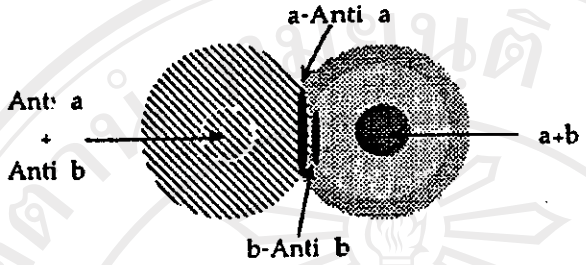
การทดสอบที่ใช้ปฏิกิริยาการตกตะกอนในเนื้อเจล ใช้หลักการเคลื่อนที่ของตัวทำปฏิกิริยาโดยอาศัยตัวกลางเป็นเจล เมื่อแอนติเจนและแอนติบอดีมีปริมาณพอเหมาะต่อกัน จะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจน – แอนติบอดี เป็นลักษณะเส้นตะกอนในเจลให้เห็น สามารถแบ่งออกได้ 2 ชนิด คือ Double gel immunodiffusion หรือ Double gel diffusion และ Single gel immunodiffusion หรือ Single gel diffusion ซึ่งในงานวิจัยครั้งนี้ ใช้วิธี Double gel diffusion

Double gel diffusion นิยมทำโดยการเทเจลหลอมละลายลงบนจานเพาะเชื้อ (plate) และสไลด์ (slide) เมื่อปล่อยให้เจลแข็งตัวจึงเจาะหลุมในเนื้อเจล ตามรูปแบบที่ต้องการแล้วใส่แอนติเจนและแอนติบอดีตามต้องการอย่างละหลุม เมื่อทิ้งไว้ทั้งแอนติเจนและแอนติบอดีต่างเคลื่อนที่ออกจากหลุมโดยรอบเข้ามาในเจล ทั้งในทิศทางที่ขนานและตั้งฉากกับแนวระหว่างหลุม 2 หลุม ตรงตำแหน่งที่อัตราส่วนระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดี และความเข้มข้นของแอนติเจนและแอนติบอดีมีความเหมาะสมกันจะเกิดเส้นตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจน-แอนติบอดีขึ้น กรณีที่ใช้แอนติเจนและแอนติบอดีมากกว่า 1 ชนิด อาจจะเกิดเส้นตะกอนได้มากกว่า 1 เส้น [20] ตามรูปที่ 1.2 ที่แสดงตำแหน่งของเส้นตะกอน 2 เส้นที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของแอนติเจนกับแอนติบอดี 2 ชนิดซึ่งมีอัตราเร็วของการซึมผ่านสัมพัทธ์ (relative diffusion rate) ต่างกัน ในรูปแสดงถึงแอนติเจนเอเคลื่อนที่ได้เร็วกว่า แอนติเจนบี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ปัจจัยที่มีผลต่อตำแหน่งของเส้นตะกอน

ตำแหน่งของเส้นตะกอนที่เกิด ขึ้นอยู่กับอัตราเร็วการซึมผ่านสัมพัทธ์ (relative diffusion) ระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี และความเข้มข้นสัมพัทธ์ (relative concentration) ของปฏิกิริยาทั้งสอง (ตามรูปที่ 1.2)



a คือ แอนติเจนเอ b คือ แอนติเจนบี

Anti A คือ แอนติบอดีเอ Anti B คือ แอนติบอดีบี

a-Anti A คือ เส้นตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจนเอ – แอนติบอดีเอ

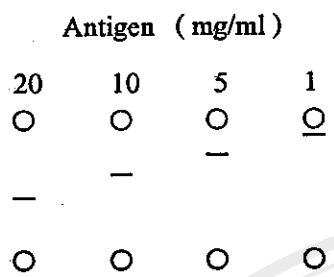
b-Anti B คือ เส้นตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจนบี – แอนติบอดีบี

รูปที่ 1.2 วิธีการทดสอบ Double gel diffusion กับการเคลื่อนที่ของสาร

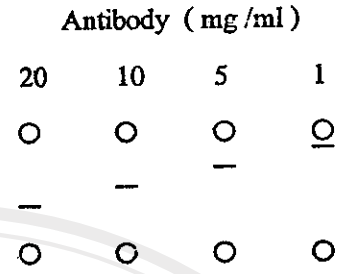
ที่มา: Munoz J. Precipitation analysis by diffusion in gels : Qualitative analysis of antigen-Antibody reactions in gels. Double diffusion in plates. Method Immunol Immunochem. 1971; 3: 146.

กรณีทดสอบปฏิกิริยาระหว่างแอนติบอดีที่จำเพาะกับแอนติเจน โดยที่ใช้แอนติบอดีในปริมาตรและความเข้มข้นคงที่ ทดสอบกับแอนติเจนที่มีปริมาตรที่เท่ากัน แต่มีความเข้มข้นต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบเส้นตะกอนที่เกิดขึ้น พบว่ากรณีที่ใช้ความเข้มข้นของแอนติเจนต่ำ เส้นตะกอนจะเกิดใกล้หลุมแอนติเจนมากกว่าเมื่อใช้แอนติเจนที่มีความเข้มข้นสูง (ตามรูปที่1.3 ก) ในทำนองเดียวกันถ้าใช้แอนติเจนปริมาตรและความเข้มข้นคงที่ โดยใช้แอนติบอดีที่มีความเข้มข้นต่างกันแต่มีปริมาตรเท่ากัน พบว่ากรณีที่ใช้แอนติบอดีที่มีความเข้มข้นต่ำเส้นตะกอนจะเกิดใกล้หลุมแอนติบอดีมากกว่าเมื่อใช้แอนติบอดีที่มีความเข้มข้นสูง (ตามรูปที่ 1.3 ข)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ก



ข

รูปที่ 1.3 วิธีการทดสอบ Double gel diffusion กับปริมาณความเข้มข้นของสาร

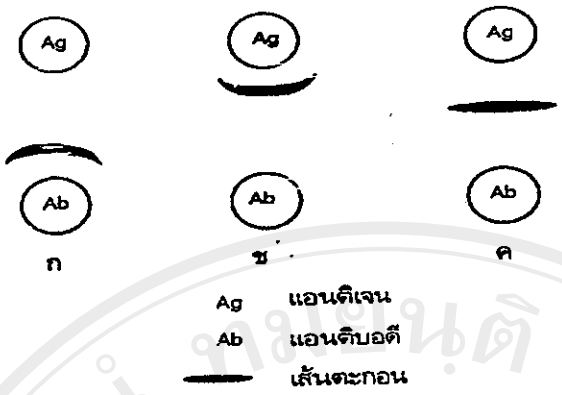
ที่มา: นภาธร บานชื่น. หลักการทดสอบในห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจหาแอนติเจนและแอนติบอดี. ใน: สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ, บรรณาธิการ. อิมมูโนวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพ : เค พี พริ้นติ้ง, 2532 : 162.

ปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะเส้นตะกอน

ก. น้ำหนักโมเลกุลของแอนติเจน

ลักษณะของเส้นตะกอนที่เกิดจะมีความเข้ม (intensity) มากหรือน้อยขึ้นกับปริมาณของแอนติบอดีเป็นหลักใหญ่ และอาจจะมีลักษณะเป็นเส้นตรงหรือเส้นโค้งก็ได้ ในกรณีที่แอนติเจนมีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกับ γ-globulin (แอนติบอดีส่วนใหญ่อยู่ในส่วนของ γ-globulin) เส้นตะกอนมีลักษณะเป็นเส้นตรง ถ้าแอนติเจนมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าและมี diffusion coefficient สูงกว่า γ-globulin มากจะเกิดเส้นตะกอนที่มีลักษณะเป็นเส้นโค้งเข้าหาหลุมที่ใส่แอนติบอดี เนื่องจากอัตราการซึมผ่านของแอนติบอดีได้ช้ากว่า (ตามรูปที่ 1.4 ก) ในทางตรงข้ามถ้าแอนติเจนมีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า γ-globulin และมีอัตราเร็วในการซึมผ่านต่ำทำให้เกิดเส้นตะกอนที่มีลักษณะโค้งเข้าหาหลุมที่ใส่แอนติเจน (ตามรูปที่ 1.4 ข) และกรณีที่แอนติเจนมีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงแอนติบอดี พบเส้นตะกอนเกิดกึ่งกลางระหว่างหลุมของแอนติเจนและแอนติบอดี (ตามรูปที่ 1.4 ค) นอกจากนี้การปรากฏเส้นตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจน–แอนติบอดี ต้องใช้ระยะเวลาและสภาวะที่มีความชื้นเพื่อให้มีการเคลื่อนที่ของแอนติเจนและแอนติบอดี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่1.4 ลักษณะของเส้นตะกอนที่เกิดขึ้นในการทดสอบ Double gel diffusion เมื่อใช้แอนติเจนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน

ก. แอนติเจนที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่าแอนติบอดี

ข. แอนติเจนที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่าแอนติบอดี

ค. แอนติเจนที่มีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงแอนติบอดี

ที่มา: นกาธร บานชื่น. หลักการทดสอบในห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจหาแอนติเจนและแอนติบอดี. ใน: สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ, บรรณาธิการ. อิมมูโนวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 4 กรุงเทพ : เค พี พริ้นติ้ง, 2532 : 162.

ข. ความสัมพันธ์ของแอนติเจนและแอนติบอดีมากกว่า 1 ชนิด

วิธีนี้สามารถใช้ศึกษาความสัมพันธ์ของแอนติเจนมากกว่าหนึ่งชนิดได้จากการศึกษาความเหมือนหรือแตกต่างกัน โดยการจัดวางตำแหน่งหลุมที่ใส่แอนติเจนที่ต้องการหากับแอนติบอดีซึ่งสามารถพบเส้นตะกอนเป็น 3 แบบ [18 - 19] คือ

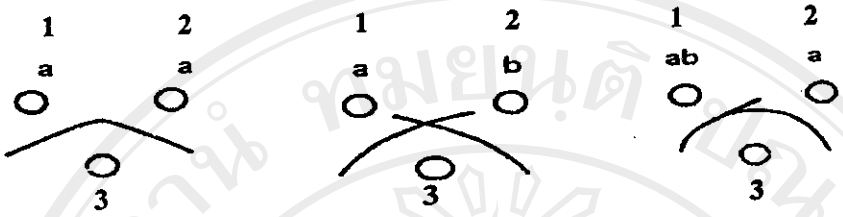
1. Reaction of identity เป็นปฏิกิริยาที่เกิดเนื่องจากหลุมที่หนึ่งและสองเป็นแอนติเจนชนิดเดียวกัน หรือมี Epitope ที่เหมือนกัน เช่น แอนติเจนเอที่เหมือนกัน สามารถทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีเอในหลุมที่สาม เส้นตะกอนที่เกิดขึ้นระหว่างแอนติเจนในหลุมทั้งสองกับแอนติบอดีจะมีปลายต่อกันสนิท และโค้งมนเป็นเส้นเดียวกัน (ตามรูปที่ 1. 5 ก)

2. Reaction of non-identity เป็นปฏิกิริยาที่เกิดเนื่องจากหลุมที่หนึ่งและสองเป็นแอนติเจนต่างชนิดกัน เช่น แอนติเจนเอกับแอนติเจนบี สามารถทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีเอและแอนติบอดีบีในหลุมที่สามที่ผสมกันเกิดเส้นตะกอนตัดกันไม่มีส่วนใดต่อกันเลย (ตามรูปที่ 1.5 ข)

3. Reaction of partial identity เป็นปฏิกิริยาที่เกิดเนื่องจากหลุมที่หนึ่งและสองเป็นแอนติเจนที่มี Epitope บางส่วนเหมือนกันและบางส่วนต่างกัน เช่น ในหลุมสองมี Epitope A ส่วนในหลุมหนึ่งมีทั้ง Epitope A และ B สามารถทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีเอและแอนติบอดีบีในหลุมที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สาม ลักษณะเส้นตะกอนที่เกิด ขึ้นกับ Epitope A ต่อกันได้สนิทและโค้งมนเป็นเส้นเดียวกัน เหมือนใน Reaction of identity แต่จะมีส่วนแอนติบอดีบี ทำปฏิกิริยากับ Epitope B ในหลุมที่หนึ่งเกิดเส้นตะกอนยาวต่อออกไปเรียกว่า Spur เช่น การตรวจพิสูจน์การปลอมปนเนื้อโคและเนื้อกระบือ ซึ่งมี Epitope บางส่วนที่แตกต่างกัน (ตามรูปที่ 1.5 ค)



a คือ แอนติเจนเอ b คือ แอนติเจนบี

anti a คือ แอนติบอดีเอ anti b คือ แอนติบอดีบี

รูปที่ 1.5 Double gel diffusion เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดี

ก) Reaction of identity ข) Reaction of non-identity ค) Reaction of partial identity

ที่มา: ไหม รัตนาวรารักษ์. ขอบเขตของวิทยาภูมิคุ้มกัน. ใน: ฤทัย สกุลแรมรุ่ง ,บรรณาธิการ. วิทยาภูมิคุ้มกัน. กรุงเทพ : ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2536: 86.

ประเทศไทยมีงานวิจัยการพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ด้วยวิธี Double gel diffusion ในปี พ.ศ. 2526 โดยโสมทัตและคณะ พบว่าว่าแหนมที่จำหน่ายในต่างจังหวัดซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากเนื้อสุกร พบว่ามีการปลอมปนเนื้อม้าในเนื้อสุกร 1 ตัวอย่าง และในเขตกรุงเทพ พร้อมทั้งพบเนื้อกระบือถูกแอบอ้างขายเป็นเนื้อโค 50.87 % [21] มีความเข้มข้นของแอนติซีรั่ม 1,000–5,000 Units/20 ไมโครลิตร สามารถตรวจปริมาณการปลอมปนของเนื้อสุกรและเนื้อโคขั้นต่ำสุดได้ 25 % [21]และพบปฏิกิริยาข้ามของแอนติบอดีระหว่างสัตว์แต่ละชนิดในกลุ่มสัตว์เดียวกัน เช่น กลุ่มสัตว์เคี้ยวเอื้อง คือ โค กระบือ แพะ และแกะ ในกลุ่มสัตว์ปีก คือ ไก่ ห่าน และเป็ด รวมถึงพบปฏิกิริยาข้ามที่ไม่รุนแรงระหว่างสัตว์ แต่ละชนิดที่ไม่ได้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน [22]

เนื่องจากผู้วิจัยคาดว่า การทดสอบในสภาวะที่แตกต่างกันอาจทำให้ได้ประสิทธิภาพของแอนติซีรั่มที่ต่างจากรายงานที่เคยปรากฏ สำหรับพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์และศึกษาการปลอมปนเนื้อสัตว์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การพัฒนาเทคนิคพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ที่จำเพาะ ใช้เวลาไม่นาน ใช้ได้กับเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่มีความหลากหลายรูปแบบการผลิต และราคาไม่แพง จึงมีความสำคัญ งานวิจัยนี้ต้องการพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ด้วยวิธี Double gel diffusion ซึ่งเป็นเทคนิคที่สะดวก ราคาไม่แพง ใช้เทคโนโลยี อุปกรณ์ที่หาได้ง่าย ซึ่งบางประเทศเช่น สหรัฐอเมริกาใช้เทคนิคนี้สำหรับพิสูจน์เบื้องต้นผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์สดและที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อนไม่สูงเช่นกัน ส่วนสาเหตุที่ผู้วิจัยศึกษาการปลอมปนเนื้อโคและเนื้อสุกร เนื่องจากโคและสุกรเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่นิยมบริโภคทั่วโลก แต่สำหรับกลุ่มผู้นับถือศาสนาอิสลามมีข้อห้ามในการบริโภคเนื้อสุกร และกลุ่มผู้นับถือลัทธิบางอย่างไม่นิยมบริโภคเนื้อโค โดยหากศึกษาการปลอมปนเนื้อสัตว์ชนิดอื่น ๆ อีกต้องใช้งบประมาณเพิ่มขึ้น ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงเลือกศึกษาการปลอมปนเนื้อสัตว์เพียง 2 ชนิด ส่วนการเตรียมแอนติเจนเพื่อฉีดเข้าสัตว์ทดลอง ผู้วิจัยเลือกใช้ซีรั่ม เนื่องจากมีวิธีการเตรียมสำหรับใช้เป็นแอนติเจนง่ายกว่าการเลือกใช้เนื้อสัตว์ซึ่งต้องสกัดแยกให้เป็นสารละลายก่อนนำไปใช้ [23] ทั้งนี้เพราะเนื้อสัตว์ประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ หลายชนิด เช่น myosin, actin, troponin และ myoglobin เป็นต้น ส่วนการศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อเนื้อสัตว์ในการพิสูจน์ชนิดเนื้อโคและเนื้อสุกร โดยใช้เวลาเพียง 1 นาที เนื่องจากโดยทั่วไปผลิตภัณฑ์แปรรูปเนื้อสัตว์มีการผ่านกระบวนการให้ความร้อนไม่น้อยกว่า 1 นาที เช่น ประเทศญี่ปุ่นมีการนำเข้าผลิตภัณฑ์จากสุกรของไทย ที่มีการต้มให้อุณหภูมิใจกลางเนื้อสุกรไม่ต่ำกว่า 70 องศาเซลเซียส ไม่น้อยกว่า 1 นาที [24] เนื่องจากถ้าใช้ระยะเวลาน้อยกว่า 1 นาที มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคระบาดของสัตว์ เช่น โรคปากและเท้าเปื่อย และก่อความไม่ปลอดภัยในการรับประทานอาหารได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved