บทที่ 1
บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในยุคปัจจุบันผู้บริโภคต่างเริ่มให้ความสนใจในด้านความปลอดภัยของอาหารมาก และตลาดต่างก็มีแนวโน้มที่ให้ความใส่ใจในด้านคุณภาพของอาหาร ด้านความสดและความสะดวกในการบริโภคอาหารแก่ผู้บริโภคทั้งยังเพิ่มการปรับปรุงประสิทธิภาพในการผลิตและลดต้นทุนในการผลิตลง (Cynthia et al., 2002) และจากรายงานพบว่าพฤติกรรมของผู้บริโภคเปลี่ยนแปลงไปโดยหันมาสนใจบริโภคอาหารที่มีมาตรฐาน เมื่อสินค้าอาหารหลายชนิดมีการปนเปื้อนและมีสารตกค้างที่เป็นอันตราย ความมั่นใจในอาหารจึงลดลงเรื่อยๆ กลุ่มผู้ค้าส่งและปลีกจึงเรียกร้องให้มีการใช้ระบบควบคุมคุณภาพเช่น หลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิต (GMP; Good manufacturing practice) และการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (HACCP; Hazard analysis and critical control point) มาใช้กันอย่างกว้างขวาง เช่นเดียวกับในประเทศสหรัฐอเมริกาและสหภาพยุโรป และมีความเป็นไปได้ว่า อาจมีการนำระบบความปลอดภัยของอาหาร (Food safety) และ การสืบย้อนกลับของอาหาร (Food traceability) มาใช้กับสินค้าอาหารที่นำเข้าเพื่อสร้างความมั่นใจให้กับสินค้าของตนในระยะอันใกล้นี้ ปัจจุบันประเทศไทยกำลังก้าวเข้าสู่นโยบายอาหารไทยสู่อาหารโลก ได้มีการนำหลักการอาหารคุณภาพดีและปลอดภัยมาใช้ในกระบวนการผลิต เพื่อให้ได้อาหารที่มีคุณภาพส่งออกสู่ตลาดโลกได้

ดังนั้นการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในอาหารจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่ง ที่จะต้องนำมาพิจารณา เนื่องจากอันตรายที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนไปในอาหารสู่ผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อส่งออกส่งผลทำให้ประเทศเสียดุลการค้าในการแข่งขันทางด้านอุตสาหกรรมอาหารและผลิตภัณฑ์ปลาเป็นสินค้าอุตสาหกรรมแปรรูปอย่างหนึ่ง ที่นำรายได้เข้าสู่ประเทศเป็นอันดับต้นๆ ของสินค้าส่งออกระหว่างประเทศ กรมส่งเสริมการส่งออก (2544) รายงานว่ามีสัดส่วนมูลค่าในการส่งออกร้อยละ 63.13

ปลานิล (*Tilapia nilotica*) เป็นปลาน้ำจืดที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจและเป็นสินค้าส่งออกที่มีศักยภาพสูงเนื่องจาก สามารถเลี้ยงได้ในทุกสภาพ เจริญเติบโตรวดเร็ว เป็นที่นิยมบริโภคกันแพร่หลาย อาจมีปัญหาและอุปสรรคในการส่งออกปลานิลสดได้เนื่องจาก ปัญหาปลานิลราคาต่ำ ปัญหาน้ำท่วม เป็นต้น ด้วยเหตุนี้เองการหาแนวทางในการเพิ่มมูลค่าในการส่งออกผลิตภัณฑ์เพื่อการส่งออกจึงเป็นแนวทางสำคัญ

การแปรรูปด้วยการรมควัน (Smoking process) เป็นแนวทางหนึ่งที่ช่วยเพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบและช่วยยืดอายุการเก็บรักษาปลานิล นอกจากนี้ยังเป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปด้วยความร้อนที่เป็นที่นิยมมานาน ทั้งในประเทศและต่างประเทศ การแปรรูปด้วยความร้อนด้วยวิธีการรมควันประกอบด้วยการรมควันแบบเย็น (Cold smoking) ซึ่งใช้อุณหภูมิต่ำกว่า 30^{0}ซ และการรมควันแบบร้อน (Hot smoking) ซึ่งใช้อุณหภูมิสูงกว่า 60^{0}ซ การแปรรูปด้วยวิธีการรมควันเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาโดยอาศัยหลักการลดค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ (a_w) ลงบางส่วนร่วมกับผลจากการเติมเกลือและการทำแห้ง ซึ่งทำหน้าที่ป้องกันและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้องค์ประกอบของควันที่ใช้ในการแปรรูปประกอบด้วยสารฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehydes) และสารฟีนอล(Phenol) ยังมีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์อีกด้วย อย่างไรก็ตามอาจมีเชื้อจุลินทรีย์ที่ยังคงเหลือรอดอยู่ในระหว่างกระบวนการรมควัน โดยเฉพาะการรมควันแบบเย็นซึ่งใช้อุณหภูมิต่ำในการแปรรูป

Novotny et al. (2004) พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในปลาทั่วไปดังนี้ คือ *Mycobacterium* spp., *Streptococcus iniae, Photobaceterium damselae, Vibrio alginolyticus, V. vulnificus, V. parahaemolyticus, V. cholerae, Erysipelothrix rhusiopathiae, Escherichia coli, Aeromonas* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Clostridium botulinum, C. perfringens, Campylobacter jejuni, Delftia acidovorans, Edwardsiella tarda, Legionella pneumophila* และ *Plesiomonas shigelloides* มีงานวิจัยจำนวนมากที่กล่าวถึง *Aeromonas hydrophila* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ พบในสัตว์ปีก เนื้อสัตว์และปลาโดยพบในปลาน้ำจืดเป็นส่วนใหญ่และสามารถเจริญเติบโตในที่อุณหภูมิตู้เย็น นอกจากนี้ยังมีรายงานระบุถึงอันตรายจากสารเอนเทอโรท็อกซิน (Enterotoxin) ที่สร้างขึ้นเป็นผลทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis) ก่อให้เกิดนตรายต่อเด็กและผู้สูงอายุ (Hristo, 2005)

ปัจจุบันประเทศไทยได้เริ่มมีการนำเอาเทคนิคการตรวจสอบแบบรวดเร็ว มาใช้กันมากขึ้นในงานทางด้านอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากการรักษาคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารเป็นสิ่งสำคัญที่ใช้ในการแข่งขันทางด้านการค้าระหว่างประเทศโดยเฉพาะอย่างยิ่ง มาตรฐานระบบ GMP และ HACCP เป็นต้น เพื่อเป็นการจัดการด้านการตรวจสอบคุณภาพและการประเมินในด้านกระบวนการผลิตที่ต่อเนื่องจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เทคนิค API (Analytical profile index) เป็นวิธีมาตรฐานวิธีหนึ่งซึ่งใช้ในการระบุสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ เช่น *Staphylococcus aureus, Salmonella typhimurium, Listeria monocytogenes, Aeromonas hydrophila* ฯลฯ ซึ่งอาศัยหลักการทดสอบทางชีวเคมีในการบ่งชี้จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เทคนิค API ให้ผลการวิเคราะห์ที่น่าเชื่อถือ ใช้ระยะเวลาสั้นกว่าวิธีมาตรฐานทั่วไป เนื่องจากมีงานวิจัยหลายเรื่องที่มีการใช้เทคนิคAPI ในการบ่งชี้ชนิดของ

เชื้อจุลินทรีย์ โดยมีแนวคิดว่าเชื้อจุลินทรีย์จากแหล่งที่แตกต่างกันรูปแบบของจุลินทรีย์ที่พบอาจแตกต่างตามแหล่งที่มานั้นๆ ในงานวิจัยนี้จึงใช้เทคนิคการตรวจสอบแบบรวดเร็วในการระบุเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถพบได้ในปลานิลที่มาจากแหล่งน้ำในประเทศไทยซึ่งผลการทดลองสามารถนำไปเก็บเป็นฐานข้อมูลสำคัญเพื่อใช้ในการอ้างอิงถึงแหล่งที่มาของวัตถุดิบ โดยศึกษาจากรูปแบบของจุลินทรีย์ที่พบในแหล่งน้ำต่างๆเพื่อใช้เป็นบาร์โค้ดทางชีววิทยา (Biological barcode) ในการตรวจสอบคุณภาพและแหล่งที่มาของวัตถุดิบซึ่งสอดคล้องกับหลักการของความปลอดภัยของอาหาร และการสืบย้อนกลับของอาหาร (Food safety and traceability)

เชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (Pathogen) ที่เหลือรอดจากการแปรรูปด้วยการรมควันจะมีผลทำให้เกิดความเสี่ยงและอันตรายที่อาจเกิดขึ้นกับผู้บริโภคและความเสียหายในการส่งออกสินค้าไปต่างประเทศเมื่อมีการตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร ทำให้สินค้าอาหารถูกยกเลิกและส่งคืนกลับ เกิดการเสียดุลการค้าระหว่างประเทศ ดังนั้นเมื่อทราบข้อมูลชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในปลารมควันจึงสามารถควบคุม และป้องกันสาเหตุในการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และสามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคที่ยังคงเหลือรอดในผลิตภัณฑ์ปลารมควันให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยได้ ซึ่งเป็นการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์แปรรูปให้ได้ตามมาตรฐานและส่งผลให้สินค้าอาหารของประเทศไทย ทำให้มีความสามารถแข่งขันทางการค้าเพิ่มมากขึ้นอีกด้วย

2. วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อแยกและจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ที่พบในส่วนต่างๆของปลานิล ก่อนนำไปแปรรูปโดยการรมควันแบบเย็น

2.2 เพื่อศึกษากราฟการเจริญเติบของเชื้อ *Aeromonas sobria*

2.3 เพื่อศึกษาการเหลือรอดของ *Aeromonas sobria* ระหว่างการแปรรูปโดยการรมควันแบบเย็น

3. ขอบเขตและข้อจำกัดของการวิจัย

3.1 ปลานิลที่ใช้ในการทดลองถูกเพาะเลี้ยงในกระชัง ขนาด 3x3 เมตร จำนวน 7 กระชัง โดยมีจำนวนปลานิล 400-500 ตัว/กระชัง มีอายุ 4-5 เดือนภายหลังการเก็บเกี่ยว จากบ้านห้วยเสือเต้น ต.น้ำพอง อ.น้ำพอง จ.ขอนแก่น โดยการแช่น้ำแข็งภายหลังจากการจับและในระหว่างการขนส่ง อุณหภูมิในการขนส่ง 0-2^{o}ซ ระยะเวลาในการขนส่ง 70 นาที ต่อมานำปลานิลมาแช่เยือกแข็ง

ที่อุณหภูมิ -35°ซ จนอุณหภูมิบริเวณกึ่งกลางลดต่ำถึง -18°ซ วัดค่าอัตราการแช่เยือกแข็ง (Freezing rate) เท่ากับ8.47 ± 0.47 ม.ม./ชม. บรรจุภายใต้สภาพสุญญากาศ และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20°ซ

3.2 ตรวจสอบชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ด้วย API 20E ร่วมกับโปรแกรมสำเร็จรูป Apident เวอร์ชั่น 2.0

4. สถานที่ทำการวิจัย

4.1 อาคารแปรรูปอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยขอนแก่น

4.2 ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

5.1 ทราบชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งประเภทที่ทำให้เกิดโรคและไม่ทำให้เกิดโรค ที่พบในส่วนต่างๆของปลานิล เช่น หนัง เหงือก และ เครื่องใน หลังจากการจับหรือการเก็บเกี่ยวจากแหล่งน้ำในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

5.2 ทราบกราฟการเจริญเติบโตของเชื้อ *Aeromonas sobria*

5.3 ทราบถึงการเหลือรอดของเชื้อ *A. sobria*ในระหว่างกระบวนการแปรรูปปลานิล โดยการรมควันแบบเย็น

5.4 สามารถนำผลที่ได้ไปใช้ในการตรวจสอบแหล่งที่มาของวัตถุดิบ ทางด้านจุลินทรีย์ (Food Traceability) ในรูปแบบ ของบาร์โค้ดทางชีววิทยา (Biological barcode)

5.5 ใช้เป็นข้อมูลสำคัญในการควบคุม และป้องกันอันตรายจากจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในปลารมควัน

5.6 นำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการควบคุมคุณภาพและความปลอดภัย (Food quality and safety) ของปลานิลสดและปลานิลแปรรูป (Fresh and processed tilapia) ที่จะส่งออกไปจำหน่ายในตลาดต่างประเทศทั้งในประเทศสหรัฐอเมริกาและยุโรป

5.7 สามารถนำมาเก็บเป็นฐานข้อมูลเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมต่อไปในอนาคต