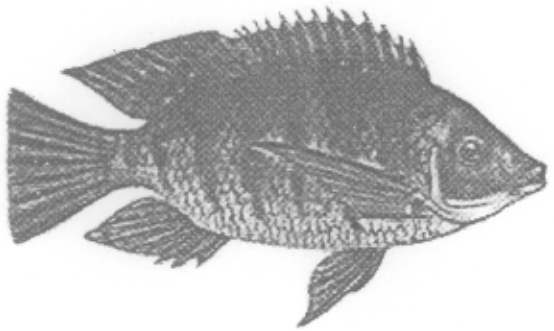
บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.1 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับปลานิล

ปลานิลมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Oreochromis niloticus* (Linn.) มีถิ่นฐานดั้งเดิมในแถบบริเวณลุ่มแม่น้ำไนล์ในแอฟริกาตะวันออก ตลอดจนบริเวณลุ่มน้ำเซเนกัลและไนเจอร์และในแอฟริกาตะวันออก ด้านข้างของปลานิลมีลักษณะแบน ริมฝีปากบนและล่างเสมอกัน ลำตัวมีสีเขียวปนน้ำตาล มีลายพาดขวาง 9-10 แถบ ครีบหลังมีอันเดียว ประกอบด้วยก้านครีบอ่อน 9 -10 อัน มีเกล็ดบนเส้นข้างลำตัว 33 เกล็ด เกล็ดข้างลำตัวจากครีบหลังถึงเส้นข้างลำตัว 5 เกล็ด และจากเส้นข้างลำตัวลงมาถึงส่วนหน้าของครีบก้น 15 เกล็ด ที่กระดูกแก้มมีจุดเข้ม 1 จุด (อุดม เรืองนพคุณ, 2547)



ภาพที่ 1 ปลานิล *Oreochromis niloticus* (Linn.)
ที่มา : www. koratzoo.or.th (2004)

ปลานิลเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย สามารถปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมได้ดี เจริญเติบโตรวดเร็วและสามารถแพร่ขยายพันธุ์ได้เองในธรรมชาติ สามารถแพร่ขยายพันธุ์ได้ดีจนแพร่กระจายไปทั่วภูมิภาคของโลก จากคุณสมบัติที่ดีดังกล่าว ปลานิลจึงถูกเลือกให้เป็นพันธุ์ปลาที่ได้รับการส่งเสริมให้เลี้ยงในประเทศกำลังพัฒนา เพื่อเป็นแหล่งผลิตอาหารโปรตีนอีกทางหนึ่ง ซึ่งต้นทุนการผลิตจะต่ำกว่าแหล่งโปรตีนอื่นเช่น เนื้อโค และเนื้อสุกร เป็นต้น

1.2 ความเป็นมาของปลานิลในประเทศไทย

ปลานิลได้ถูกนำมาเข้าสู่ประเทศไทยครั้งแรก โดยสมเด็จพระจักรพรรดิ์อากาฮิโต แห่งญี่ปุ่น เมื่อครั้งดำรงพระอิสริยยศมกุฎราชกุมาร ทรงจัดส่งปลานิลขนาดความยาวเฉลี่ย 9 เซนติเมตร จำนวน 50 ตัวเมื่อวันที่ 25 มีนาคม พ.ศ. 2508 ในระยะแรกพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวฯ ได้ทรงโปรดเกล้าฯ ให้ปล่อยลงในบ่อดินพื้นที่ประมาณ 10 ตารางเมตร ในบริเวณสวนจิตรลดา พระราชวังดุสิต หลังจากเลี้ยงได้ประมาณ 5 เดือนเศษ ปรากฏว่ามีลูกปลานิลเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก จึงทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้เจ้าหน้าที่ขุดบ่อเพิ่มขึ้นรวมเป็นบ่อสำหรับเลี้ยงปลานิลจำนวน 6 บ่อ เมื่อวันที่ 1 กันยายน พ.ศ. 2508 ทรงปล่อยปลาลงเลี้ยงในบ่อด้วยพระองค์เองและได้ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้เจ้าหน้าที่จากกรมประมงเข้าไปทำการตรวจสอบการเจริญเติบโตทุกๆเดือน ด้วยพระวิสัยทัศน์ที่กว้างไกล ทรงมีพระราชประสงค์ให้พันธุ์ปลานิลชนิดนี้แพร่ขยายพันธุ์ อันจะเป็นประโยชน์แก่พสกนิกรของพระองค์ ดังนั้นเมื่อวันที่ 17 มีนาคม พ.ศ. 2509 ได้ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯพระราชทานชื่อปลาชนิดนี้ว่า "ปลานิล" และได้พระราชทานปลานิลขนาด 3-5 เซนติเมตร จำนวน 10,000 ตัว ให้แก่กรมประมงเพื่อนำไปขยายพันธุ์ที่แผนกทดลองและเพาะเลี้ยง ในบริเวณเกษตรกลางบางเขน กรุงเทพฯ และสถานีประมงต่างๆอีกจำนวน 15 แห่ง ทั่วพระราชอาณาจักรเพื่อดำเนินการขยายพันธุ์พร้อมกัน ต่อมาปลานิลก็ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวางในการเพาะเลี้ยงและแพร่ขยายพันธุ์ออกไปอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งในปัจจุบันปลานิลได้เป็นพันธุ์ปลาหลักที่นำมาส่งเสริมให้ราษฎรเลี้ยง เพื่อแก้ปัญหาการขาดแคลนอาหารโปรตีนของราษฎรในชนบท (อุดม เรืองนพคุณ, 2547)

1.3 คุณสมบัติและนิสัย

ปลานิลมีนิสัยชอบอยู่รวมกันเป็นฝูง ยกเว้นเวลาสืบพันธุ์ มีความอดทนต่อสภาพแวดล้อมและสามารถปรับตัวได้เป็นอย่างดี จากการศึกษาพบว่าปลานิลสามารถทนต่อความเค็มได้ถึง 20 ส่วนในพันส่วน ทนต่อความเป็นกรด-ด่าง (pH) ได้ดีในช่วง 6.5- 8.3 และสามารถทนต่ออุณหภูมิได้สูงถึง 40^{0}ซ แต่ในอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 10^{0}ซ พบว่าปลานิลปรับตัวและเจริญเติบโตได้ไม่ดีนัก เนื่องจากถิ่นกำเนิดเดิมของปลาชนิดนี้อยู่ในเขตร้อน

1.4 ลักษณะเพศของปลานิล

ปกติปลานิลเพศผู้และเพศเมียหากดูจากลักษณะรูปร่างภายนอก จะมีลักษณะที่มักคล้ายคลึงกัน แต่มีลักษณะรูปร่างเริ่มแตกต่างกันไป เมื่อเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ ปลานิลเพศผู้มักมีขนาดใหญ่กว่า และในฤดูผสมพันธุ์จะมีสีสันสดใสกว่าเพศเมีย ความแตกต่างสามารถแยกได้ดังนี้

ปลานิลเพศผู้ อวัยวะเพศที่บริเวณใกล้กับช่องทวารจะมีลักษณะเรียวยาวยื่นออกมาปลาเพศผู้จะมีรูเปิด2 รู คือรูก้น (Anus) และรูเปิดรวมของท่อน้ำเชื้อและปัสสาวะ (Urogenital pore) สีของตัวปลาจะเข้มและสดใส แถบขวางลำตัวมองเห็นไม่ชัดเจน ครีบจะมีสีชมพูเข้มออกแดงและใต้คางจะมีสีแดง

ปลานิลเพศเมีย อวัยวะเพศจะมีลักษณะเป็นรูค่อนข้างใหญ่และกลม ปลาเพศเมียจะมีรูเปิด 3 รู คือ รูก้น รูท่อนำไข่ (Gentital pore) และรูท่อปัสสาวะ (Urinary pore) อวัยวะเพศจะมีลักษณะค่อนข้างกลมใหญ่และมีช่องเปิดเป็นขีดขวางตรงกลางของอวัยวะเพศ สีของตัวปลาจะซีดกว่าปลาเพศผู้

1.5 ความเป็นมาของการเลี้ยงปลาในกระชังในประเทศไทย

ศักดิ์ชัย ชูโชติ (2526) กล่าวว่า การเลี้ยงปลาในกระชังมีความเป็นมาดังนี้ การเลี้ยงปลานิลในกระชัง เป็นวิธีการเลี้ยงปลาที่มีมานานแล้ว อาจมีต้นกำเนิดมาจากประเทศกัมพูชา ซึ่งเลี้ยงกันอยู่ในบริเวณลุ่มแม่น้ำโขงตอนล่าง สาขาของแม่น้ำโขงและบริเวณทะเลสาบ การเลี้ยงปลาในกระชังของไทยได้แบบอย่างมาจากประเทศกัมพูชา ในปัจจุบันจังหวัดนครสวรรค์เป็นแหล่งที่มีการเลี้ยงปลาในกระชังมากที่สุด ซึ่งเลี้ยงกันอยู่ในลุ่มแม่น้ำน่าน ส่วนจังหวัดอื่นๆที่มีการเลี้ยงปลาในกระชังได้แก่ อยุธยา อุทัยธานี ลพบุรี สุพรรณบุรี ชัยนาท กาญจนบุรี เป็นต้น ปลาที่นิยมเลี้ยงในกระชัง ได้แก่ ปลาสวาย ปลาบู่ทราย ปลาชะโด ส่วนปลาอื่นๆก็มีบ้าง ได้แก่ ปลานิล ปลาตะเพียนขาว ปลาช่อน ปลาแรด เป็นต้น

การเลี้ยงปลาในกระชังสามารถดำเนินกิจการได้ในแหล่งน้ำทั่วไป เช่น แม่น้ำ ลำคลอง อ่างเก็บน้ำ เขื่อน คลองส่งน้ำ เป็นต้น แต่ความเหมาะสมของสถานที่ในการเลี้ยงปลาในกระชังมีส่วนช่วยให้ผลผลิตดีและการลงทุนต่ำ

1.6 การเลี้ยงปลานิลในจังหวัดขอนแก่น

จากข้อมูลของสำนักงานประมงจังหวัดขอนแก่นปี 2544 ได้สำรวจข้อมูลเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลในกระชังในจังหวัดขอนแก่นแสดงดังตารางที่ 1

จากตารางที่1 แสดงจำนวนเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลและจำนวนกระชังในจังหวัดขอนแก่นพบว่า เขตอำเภอที่มีจำนวนการเลี้ยงปลานิลในกระชังที่มีจำนวนมากที่สุดคือ เขตอำเภออุบลรัตน์ และรองลงมาคือเขตอำเถอน้ำพองซึ่งมีจำนวนกระชังปลาเท่ากับ 296 และ 228 กระชังตามลำดับ เนื่องจากเป็นบริเวณมีการไหลผ่านของแม่น้ำพองทำให้เขตอำเภอดังกล่าวจึงเป็นที่นิยมเลี้ยงปลานิลในกระชัง ซึ่งมีจำนวนมากกว่าอำเภออื่น

ตารางที่ 1 จำนวนเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลและจำนวนกระชังในจังหวัดขอนแก่น

ลำดับที่	อำเภอ	จำนวนราย	จำนวนกระชัง	พื้นที่ (ตร.ม.)
1	เมือง	15	166	4,150
2	น้ำพอง	35	228	4,070
3	หนองเรือ	8	38	608
4	อุบลรัตน์	25	296	4,736
5	ภูเวียง	3	16	282
6	บ้านแฮด	4	100	500
7	บ้านไผ่	13	26	260
8	พระยืน	10	24	600
9	กิ่งอำเภอหนองนาคำ	12	40	1,000
	รวม	125	945	16,910

ที่มา : ปาริชาด พะกะยะ, 2545

2. แบคทีเรียที่พบในปลานิลและปลาน้ำจืด

จุลินทรีย์ที่พบในปลาและสัตว์น้ำส่วนใหญ่ที่อาศัยอยู่ในน่านน้ำเขตอบอุ่น (Temperate water)และน่านน้ำเขตร้อน (Tropical water) ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียจำพวกที่ต้องการอากาศ (Aerobic) ในการเจริญเติบโต ย้อมติดสีแกรมลบ จัดอยู่ในกลุ่มไซโครไฟล์ (Psychrophiles) และสามารถอยู่ได้ที่อุณหภูมิ 0 ถึง 7 ^{0}ซ แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 10-20 ^{0}ซ (Longree, Armbruster, 1996) โดยพบว่าร้อยละ 60-80 ของแบคทีเรียที่พบบริเวณผิวหนังปลามี 2 กลุ่ม กลุ่มแรกได้แก่ สกุล *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Shewanella*, *Moraxella* และ *Acinetobacter* กลุ่มที่สอง ได้แก่ *Vibrio*, *Flavobacterium* และ *Cytophaga* (Ruiter, 1995) และอาจพบแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวกบางสกุลเช่น *Micrococcus* และ *Coryneforms* ส่วนสกุล *Clostridium* พบได้บ่อยเช่นกัน แบคทีเรียสกุลที่พบมากที่สุดในปลาทูที่จับได้จากอ่าวไทยคือ *Pseudomonas* โดยพบถึง ร้อยละ100 รองลงมาคือ *Coryneforms* พบประมาณร้อยละ 60 นอกจากนี้ มัทนา แสงจินดาวงษ์ (2545) ได้รายงานว่ายังพบแบคทีเรียสกุล *Vibrio* และ *Aeromonas* อีกด้วย

แบคทีเรียที่พบในปลาและสัตว์น้ำขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมที่อาศัยอยู่และในบางครั้งการจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียขึ้นอยู่กับอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อ เช่น ถ้าเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 3

เปอร์เซนต์ ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าแบคทีเรียสกุล *Vibrio* เจริญมากกว่าชนิดอื่น (Vanderzant et al., 1970) แต่ถ้าไม่เติมเกลือในอาหารพบว่าแบคทีเรียในกลุ่ม *Coryneforms* และแบคทีเรียในสกุล *Pseudomonas*, *Moraxella* และ *Micrococcus* เจริญมากกว่าแบคทีเรียชนิดอื่น (Vanderzant et al., 1970) จุลินทรีย์ที่พบในปลาและสัตว์น้ำของไทยแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 จุลินทรีย์ทั่วไปที่พบในปลาและสัตว์น้ำของไทย

จุลินทรีย์	ชนิดที่พบ
แบคทีเรีย	*Aeromonas hydrophilla* *Edwardsiella tarda* *Flavobacterium* sp. *Flexibacter columnaris* *Corynebacterium* sp. *Pseudomonas fluorescens* *Pseudomonas* sp. *Haemophilus piscium* *Vibrio parahaemolyticus* *Vibrio* sp. *Yersinia* sp. *Streptococcus* sp.
ไวรัส	*Lymphocysis* sp.
ปรสิต-โปรโตซัว (ซีลีเอต- Ciliate)	*Trichodina* sp. *Trichodinella* sp. *Ichtyophthirius* sp.
(แฟลเจลเลต- Flagellate)	*Trypanosoma ophicephali* *Oodinium* sp. *Bodomonas*

ที่มา : สิทธิ บุณยรัตผลิน, 2547

Ahmed et al. (2004) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาลต่อความหลากหลายของเชื้อแบคทีเรียบริเวณเครื่องใน (Intestine) ของปลานิลลูกผสม (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) จากบ่อเพาะเลี้ยงในประเทศซาอุดิอาระเบีย โดยตรวจสอบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) และจำแนกเชื้อแบคทีเรียด้วยชุดตรวจสอบ API 20E API 20 STREP และ API 50 CH (bioMerieux, France) ในฤดูกาลต่างๆคือ ต้นฤดูร้อน (22-35°ซ) ฤดูร้อน (23-39°ซ) ฤดูใบไม้ร่วง (12-31°ซ) และฤดูหนาว (7-20°ซ) พบว่า ฤดูใบไม้ร่วง (12-31°ซ) มีจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดมากที่สุดคือ $3.1 \pm 1.4x10^{8}$- $1.3 \pm 2.2x10^{9}$ cfu/g และฤดูหนาวมีจำนวนน้อยที่สุดคือ $8.9 \pm 1.8x10^{5}$-$1.3 \pm 0.9x10^{7}$ cfu/g นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (ร้อยละ77) และสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้ 17 สายพันธุ์ ซึ่งแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่พบได้แก่ *Aeromonas hydrophila*, *Shewanella putrefaciens*, *Corynebacterium urealyticum*, *Escherichia coli* และ *Vibrio cholerae* ซึ่งในฤดูหนาวพบจะเฉพาะ *Pseudomonas* spp. เท่านั้น ส่วน *Photobacterium damselae*, *Pasteurella* spp., *Cellulomonus* sp. และ *Bacillus* sp. จะพบในบางฤดูกาล

Ahmed et al. (2005) ได้ศึกษาชนิดและจำนวนของแบคทีเรียที่พบในส่วนต่างๆของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ได้แก่ เหงือก และ เครื่องใน จากบ่อเพาะเลี้ยงน้ำกร่อยในประเทศซาอุดิอาระเบีย จากการทดลองพบว่า สามารถจำแนกเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด 19 สายพันธุ์ด้วยชุดตรวจสอบ API 20E และ API 20 STREP (bioMerieux,France) แบคทีเรียที่พบเป็นส่วนใหญ่ได้แก่ *Vibrio parahaemolyticus*, *V. carchariae*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *Chryseomonas* sp. และ *Streptpcoccus* sp. ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (ร้อยละ87) และยังพบ *Aeromonas hydrophila* ในบริเวณเหงือก (ร้อยละ 3.06) อีกด้วย เมื่อตรวจสอบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) พบว่าแบคทีเรียในบริเวณเครื่องใน ($2.8x10^{7}$-$1x10^{8}$cfu/g) มีจำนวนมากกว่าแบคทีเรียในบริเวณเหงือก ($8.7x10^{5}$-$2.1x10^{6}$cfu/g) อย่างไรก็ตามพบว่าแบคทีเรียในบริเวณเหงือกมีความหลากหลายของสายพันธุ์มากกว่าบริเวณเครื่องใน เนื่องจากบริเวณเหงือกเป็นบริเวณที่สัมผัสกับน้ำเพื่อใช้ในการหายใจ ทำให้มีโอกาสเกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรียสูงกว่าในบริเวณเครื่องใน

Sugita et al. (1996) ได้ศึกษาชนิดของแบคทีเรียที่แยกได้จากบริเวณเครื่องในของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) พบว่าจำแนกได้ 9 สายพันธุ์ได้แก่ *Aeromonas caviae*, *A. hydrophila*, *Bacillus* sp., Coryneforms, *Moraxella* spp., *Plesiomonas shigellodies*, Bacterodies type A และ *Clostridium* spp.

2.1 แบคทีเรียที่พบในปลารมควันแบบเย็น

Basti et al. (2004) ได้ศึกษาการเหลือรอดของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในปลารมควันแบบเย็น (Cold smoking) พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลือรอดได้แก่ *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Staphylococcus aureus* นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในปลารมควันมีสูงกว่าในปลาสด ซึ่งเกิดเนื่องจากการปนเปื้อนในระหว่างการแปรรูปและการเก็บรักษาปลารมควัน

Kolodziejska et al. (2001) ได้ศึกษาการเหลือรอดของจุลินทรีย์ในทุกขั้นตอนของการผลิตปลารมควันแบบร้อน (Hot smoking) โดยการควบคุมความสะอาดและสุขอนามัยทุกขั้นตอน ในระหว่างขั้นตอนการผลิตพบว่า จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ภายหลังจากผ่านกระบวนการรมควันมีจำนวนลดลงจาก $1x10^2$-$5x10^4$cfu/g เหลือรอดเพียง 10-$1.6x10^2$ cfu/g ในเนื้อปลา และลดลงจาก $1x10^3$ cfu/25 cm^2 เหลือ 0- 12 cfu/25 cm^2 ในส่วนผิวหนัง และอุณหภูมิในการเก็บรักษาปลารมควันที่เหมาะสมคือ 2 ± 1^0ซ

Hansen et al. (1995) ได้ศึกษาอิทธิพลของปริมาณเกลือและอุณหภูมิในการเก็บรักษาปลาแซลมอน (Salmon) รมควันแบบเย็นแล้วบรรจุในถุงภายใต้สภาพสุญญากาศพบว่า เกลือความเข้มข้นร้อยละ 4.6 และอุณหภูมิ 5^0ซ สามารถช่วยชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าเกลือความเข้มข้นร้อยละ 2.2 และอุณหภูมิ 10^0ซ เนื่องจากมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่าในช่วง 10- 10^2 cfu/g

Vishwanath et al. (1998) ได้ศึกษาคุณภาพด้านจุลินทรีย์ของปลามัดเอ็ล (*Monopterus albus*) สดและรมควันจากห้างสรรพสินค้าในประเทศอินเดีย พบว่าปลารมควันมีจำนวนจุลินทรีย์สูงกว่าในปลาสดทั้งนี้เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนในระหว่างกระบวนการผลิต และในการหว่างการขนส่งตลอดจนการวางจำหน่าย นอกจากนี้ยังพบว่า *Penicillium* และ *Cladosporium* เป็นกลุ่มฟังไจที่พบมากที่สุด

Leroi et al. (1998) ได้ศึกษานิเวศวิทยาทางด้านจุลินทรีย์ในปลาแซลมอนรมควันแบบเย็นในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8^0ซ พบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นพวกแกรมลบได้แก่ *Shewanella putrefaciens*, *Aeromonas* spp., *Photobacterium phosphoreum* และแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) ได้แก่ *Lactobacillus farciminis, L. sake, L. alimentarius* และ *Carnobacterium piscicola* และนอกจากนี้พบว่าแบคทีเรียที่เกี่ยวกับการเสื่อมเสียได้แก่ *S. putrefaciens*, *Aeromonas* spp. และ *Brachothrix* spp.

Bovavita et al. (2001) ได้ศึกษาความหลากหลายทางจุลินทรีย์ในปลาแซลมอนรมควันโดยวิธีทางชีววิทยาโมเลกุลคือการใช้เทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (Polymerase chain reaction;

PCR) ร่วมกับวิธีวิเคราะห์การเพิ่มปริมาณไรโบโซมอลดีเอ็นเอจำเพาะ (Amplification ribosomal DNA restriction analysis; ARDRA) พบจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Vibrio, Enterobacteraceae* และ *Altermonas macleodii* ซึ่งตรวจสอบไม่พบในวิธีปกติในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Stohr et al. (2001) ได้ศึกษาคุณลักษณะของการเสื่อมเสียและลักษณะด้านประสาทสัมผัสจากแบคทีเรียที่แยกได้จากปลาแซลมอนรมควันแบบเย็นพบว่า จากแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมด 9 สายพันธุ์คือ *Shewanella putrefaciens, Photobacterium phosphoreum, Serratia liquefaciens, Aeromonas* spp., *Brochothrix thermosphacta, Carnobacterium pisciola, Lactobacillus alimentarius, Lactobacillus farciminis* และ *Lactobacillus sake* (Leroi et al., 1998) โดยการถ่ายเชื้อจำนวน 10^4-10^5 cfu/g ลงในปลาแซลมอนรมควันเย็นที่ปลอดเชื้อแล้ว พบแบคทีเรียแกรมบวกได้แก่ *L. sake, L. faciminis* และ *B. thermosphacta* ซึ่งเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียโดยทำให้เกิดกลิ่นซัลเฟอร์ (Sulphurous) กลิ่นกรด (Acidic) และกลิ่นเหม็นหืน (Rancid) ตามลำดับ ส่วน *Aeromonas* spp. พบว่าให้คุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสในด้านกลิ่นเนยแข็ง กลิ่นเปรี้ยวและ กลิ่นเนื้อสุก (Cheesy/sour/cooked meat)

Dondero et al. (2004) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านเคมี ด้านจุลินทรีย์และด้านประสาทสัมผัสในการเก็บรักษาปลาแซลมอนรมควัน ซึ่งบรรจุภายใต้สภาพสุญญากาศที่อุณหภูมิ 0 2 4 6 และ 8^0ซ ตามลำดับ พบว่าดัชนีที่เหมาะสมที่ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพปลาแซลมอนรมควันคือปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total volatile base) ค่าไตรเมทิลเอมีน (TMA) ค่าดัชนี K (K-value) จำนวนแบคทีเรียที่ใช้อากาศทั้งหมด (Total aerobic count) จำนวนแบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศทั้งหมด (Total anaerobic counts) และ *Lactobacillus* spp. ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในด้านระยะเวลาการเก็บรักษา อุณหภูมิในการเก็บรักษาและคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส และพบว่าอายุการเก็บรักษาของปลารมควัน คือ 26 21 20 10 และ 7 วันซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 0 2 4 6 และ 8^0ซ ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในปลารมควันส่วนใหญ่คือ *Lactobacillus* spp.

3. แบคทีเรียสกุล *Aeromonas*

Aeromonas เป็นแบคทีเรียแกรมลบ สามารถสร้างเอนไซม์ออกซิเดส (Oxidase) และคะตะเลส (Catalase) ลักษณะเซลล์มีรูปร่างท่อน (Rod) จัดเป็นพวกเจริญได้ในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ (Facultative anaerobe) สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส (Glucose) เชื้อ *Aeromonas* ได้ถูกจัดอยู่ในกลุ่มจีนัส (Genus) *Vibrionaceae* (Baumann, Schubert, 1984) แต่ในปัจจุบันถูกจัดอยู่

ในแฟมิลี่ (Family) ใหม่คือ *Aeromonadacea* เนื่องจากมีระดับของ DNA ต่ำกว่า *Vibrionaceae* (Colwell et al., 1986)

เชื้อ *Aeromonas* มีรูปร่างท่อนสั้น (Short-rod) มีเส้นใยฟีลาเมนต์ (Filament) บางชนิดอาจมีรูปร่างโค้ง ซึ่งแตกต่างจากกลุ่ม *Vibrionaceae* ค่อนข้างชัดเจน *Aeromonas* บางชนิดสามารถเคลื่อนที่ได้ (Motility) โดยการใช้แฟลเจลลาเพียง 1 เส้น (Monotrichous flagella) แม้ว่าบางสายพันธุ์อาจใช้แฟลกเจลาด้านข้าง (Lateral flagella) เมื่อเซลล์มีอายุน้อย

Propoff (1984) กล่าวว่า *Aeromonas* มีอยู่ 2 กลุ่มคือ พวกเคลื่อนที่ไม่ได้ (Non-motile) และพวกที่เคลื่อนที่ได้ (Motile aeromonas) ในกลุ่มพวกเคลื่อนที่ไม่ได้เป็นพวกไซโครโทรฟิก (Psychrotrophic) เช่น *A. salmonicida* ซึ่งจัดเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในปลาแต่ไม่เกิดโรคในคน ส่วนกลุ่มพวกที่เคลื่อนที่ได้จัดเป็นพวกมีโซฟิลิก (Mesophilic) ซึ่งจัดเป็นกลุ่มได้แก่ *A. hydrophila, A.sobria* และ *A. caviae* (Popoff et al., 1981) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในคน (Pathogen) ซึ่งเกิดจากการผสมของเชื้อภายในกลุ่มคือ *A. hydrophila, A. sobria* และ *A. caviae*

การเกิดปรากฏการทำลายตัวเอง (Suicide phenomenon) ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของเชื้อ *A. sobria* เนื่องจากการเกิดการยับยั้งวงจรของกรดไตรคาร์บอกซิลิก (Tricarboxylic acid) โดยการใช้น้ำตาลกลูโคส ส่งผลให้เกิดการสะสมของอะซิเตท (Acetate) และการตายของเซลล์ (Namdari, Gabelli, 1989) เกิดเป็นตะกอนขุ่นซึ่งใช้แยกความแตกต่างของ *A. hydrophila* และ *A. sobria*

Hickman-Brenner et al. (1987) กล่าวว่า *Aeromonas* พวกที่เคลื่อนที่ได้อาจจะแยกความแตกต่างได้ด้วยวิธีไฮบริไดเซชั่นของดีเอ็นเอ (DNA hybridization) แต่ไม่ใช้เรื่องง่ายที่จะแยกความแตกต่างด้วยปฏิกิริยาทางชีวเคมี (Biochemical reaction) นอกจากนี้ สายพันธุ์อื่นที่ไม่ใช่ *A. hydrophila* อาจจะมีเพียงความแตกต่างกันน้อยมากแม้ว่าจะทำการทดสอบเป็นจำนวนมากก็ตาม ดังนั้นจึงเป็นเหตุผลสำคัญในการจัดกลุ่มที่สามารถเคลื่อนที่ได้เป็นกลุ่มของ *A. hydrophila* ได้แก่ *A. hydrophila, A. sobria* และ *A. caviae* เพื่อให้สะดวกในทางปฏิบัติ ความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ของ *Aeromonas* แสดงในตารางที่3

ตารางที่ 3 ความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ของ *Aeromonas.*

ปฏิกิริยาทางชีวเคมี	*A. hydrophila*	*A. caviae*	*A. sobria*
Ornithine decarboxylase	-	-	-
Aseculin hydrolysis	+	+	-
Growth on KCN	+	+	-
Gas from glucose	+	-	+
Voges-Proskauer	+	-	+/-
H_2S from cysteien	+	-	+/-
Utilisation of			
L-histidine and L-arginine	+	+	-
L-arabinose	+	+	-
Acid from salicin	+	+	-

หมายเหตุ + เกิดปฏิกิริยา - ไม่เกิดปฏิกิริยา +/- เกิดและไม่เกิดปฏิกิริยา

ที่มา : Varnam, Evan, 1996

การแยก *Aeromonas* จากอาหาร สามารถปฏิบัติได้โดยวิธี Pour plate บนอาหารจำเพาะ (Selective media) หรือ วิธี Enrichment จากนั้นตามด้วยวิธีการ Streak plate บนอาหารวุ้นจำเพาะ เช่น Trytose-soy broth (TSB) ซึ่งมีการเติมสารปฏิชีวนะคือ แอมพิซิลิน (Ampicillin) (Okrend et al., 1987)

3.1 อาการของการติดเชื้อ *Aeromonas*

สายพันธุ์ในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อ *Aeromonas* คล้ายกับ *Vibrio vulnificus* ซึ่งส่วนใหญ่แล้วมักทำให้เกิดอาการลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis)

โรคลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis) มี 2 แบบ คือ

แบบที่ 1 ส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 75 มีอาการป่วยคล้ายอหิวาตกโรค (Cholera-like) มีอาการถ่ายเหลว มีไข้ไม่สูงมาก นอกจากนี้ในเด็กอายุต่ำกว่า 2 ปี มีอาการอาเจียน อาการท้องเสีย (Dirrhoea) มักเกิดรวมกับการเกิดตะคริวและอาการปวดท้อง

แบบที่2 อาการคล้ายโรคบิด (Dysentery-like) มีการถ่ายเป็นมูกเลือด พบอาการอาเจียนน้อยมาก แต่ส่วนใหญ่มักมีอาการปวดท้อง

เชื้อ *Aeromonas* สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อภายนอกได้ โรคที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่ได้แก่ โรคติดเชื้อที่ผิวหนังและโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (Davis et al., 1978; Ellison, Mostow, 1984) และมักเกิดรวมกับโรคความดันโลหิตต่ำ (Hypotension) อาการปวดกล้ามเนื้อท้อง (Abdominal pain) และการติดเชื้อบริเวณผิว นอกจากนี้ยังมีกรณีที่เชื้อ *Aeromonas* ทำให้เกิดการติดเชื้อบริเวณตา อาการติดเชื้อที่ปอด (Pneumonia) อาการปัสสาวะติดเชื้อและการติดเชื้อบริเวณกระดูกและข้อ (Osteomyelitis) (Turnbull et al., 1984) และการเกิดโรคหัวใจติดเชื้อ (Endocarditis) (Morgan, Wood, 1988) อัตราการเสียชีวิต (Mortality rate) เนื่องจากติดเชื้อในลำไส้ (Extraintestinal) เนื่องจากพิษของเชื้อ *Aeromonas* มีอัตราสูงกว่าร้อยละ 60 (Abeyta, Wekell,1988) ซึ่งส่วนใหญ่โอกาสการติดเชื้อโรคลำไส้อักเสบมาจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อน (Harris et al.,1985; Beebe,1986)

ประชากรที่มีโอกาสเสี่ยงในการเกิดโรคเนื่องจากเชื้อ *Aeromonas* ส่วนใหญ่คือเด็กเล็ก (Travis, Washington,1986; Megraud, 1986) ซึ่งมีอายุระหว่าง 6 เดือน ถึง 2 ปี และมีโอกาสเสี่ยงน้อยลงในเด็กที่มีอายุมากกว่า 5 ปีขึ้นไป ในผู้ใหญ่ ประชากรที่มีโอกาสติดเชื้อ *Aeromonas* ส่วนใหญ่มักเกิดการติดเชื้อในผู้ใหญ่ที่มีอายุมากกว่า 60 ปีขึ้นไป โดยทั่วไปการรักษาอาการเนื่องจากเชื้อ *Aeromonas* มักนิยมใช้ยาคลอแรมฟีนิคอล (Chloramphenicol) เทตร้าไซลีน (Tetracycline) และโคไทรโมซาโซล (Cotrimoxazole) (Janda, Duffey, 1988)

อย่างไรก็ตามกลไกในการก่อโรค (Mechansims of pathogenicity) ของเชื้อ *Aeromonas* ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด (Shattner et al., 1988) และจากรายงานของ Dooley et al. (1988) ระบุว่าโปรตีนบริเวณพื้นผิวภายนอก (Surface-layer protein) ของเชื้อ *A. hydrophila* มีความเป็นไปได้ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ

3.2 สารพิษ (Toxin) ที่ผลิตจาก *Aeromonas* spp.

Ljungh et al. (1981, 1982) รายงานว่า ไซโตโทนิก เอ็นเทอโรท็อกซิน (Cytotonic enterotoxin) มี น้ำหนักโมเลกุล 50,000 ดาลตัน สามารถทนความร้อนได้ที่อุณหภูมิ 56^0 ซ นาน 10 นาที และเป็นสารพิษที่ทำให้เกิดอาการท้องร่วง (Diarrhoea) อย่างไรก็ตามสารพิษพบว่ามีเปอร์เซนต์ต่ำมากซึ่งแยกได้จากเชื้อ *Aeromonas* (Stelma,1988)

Asao et al. (1984) รายงานว่า ไซโตโทอิก เอ็นเทอโรท็อกซิน (Cytotoxic enterotoxin) มีน้ำหนักโมเลกุล 50,000 ดาลตัน สามารถถูกทำลายด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 56^0 ซ เวลา 5 นาที ซึ่ง

เป็นสารพิษที่เกี่ยวข้องอย่างมากกับไซโตท็อกซิน (Cytotoxin) และฮีโมไลซิน (Haemolysin) (Burke et al., 1983)ซึ่งต่อมาพบว่าอยู่ในรูปเบต้า-ฮีโมไลซิน (β- haemolysin) โดย Steama et al. (1988) ระบุว่าเบต้า-ฮีมโมไลซินเพียงชนิดเดียวก็เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วง และนอกจากนี้ยังพบว่าไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างการสร้าง ไซโตท็อกซินและการเกิดโรคลำไส้อักเสบ

Rose et al. (1987) รายงานว่า ไซโตไลติก เอ็นเทอโรท็อกซิน ที่มีพิษคล้ายพิษโรคบิด (Cholera toxin-cross-reactive cytolytic enterotoxin) หรือ แอโรไลซิน (Aerolysin) พบว่าเชื้อ *Aeromonas* ส่วนน้อยเท่านั้นที่มีการผลิตไซโตไลติก เอ็นเทอโรท็อกซิน (Cytolytic enterotoxin) ซึ่งเกิดปฏิกิริยาข้ามระหว่างแอนตี้-ซีที (anti-CT) (Shimoda et al., 1984) สารพิษแอโรไลซินคือ β-haemolysin ซึ่งประกอบด้วยโพลีเป็บไทด์ (Polypeptide) สายเดี่ยว มีน้ำหนักโมเลกุล 52,000 ดาล ตันซึ่งควบคุมกิจกรรมของฮีโมไลติก(Haemolytic) เอ็นเทอโรท็อกซิน (Enterotoxic) และ ไซโตทอกซิค (Cytotoxic) โดยมีกลไกของสารพิษคล้ายกับการสร้างแอลฟาท็อกซิน (α-toxin) ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยเกิดจากการหยุดการทำงานของยูคาลิโอตเซลล์ (Eukaryotic cell) ทำให้เกิดรูรั่วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 นาโนเมตร ส่งผลให้ความสามารถในการส่งผ่านของผนังเซลล์ถูกทำลายไป รวมทั้งการเกิดการรั่วของเซลล์เนื่องจากการเกิดแรงดันออสโมติก (Osmotic lysis) (Howard et al., 1987)

การตรวจสอบเกิดฮีโมไลซีส (Haemolysis) ด้วยวิธีการตรวจสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี ได้แก่ เอนไซม์ ไลซีนดีคาร์บอกซิเดส (Lysine decarboxylase) ปฏิกิริยา Voges-proskauer (Kirov et al., 1986; Callister, Agger., 1987) และการหมักน้ำตาลซอร์บิทอล (Sorbitol) (Callister, Agger., 1987) จะเป็นตัวบ่งชี้สำคัญในการก่อให้เกิดโรค

Tsai and Chen (1996) ได้ศึกษาความเป็นพิษของ *Aeromonas hydrophila* ในอาหารทะเลจากตัวอย่างอาหารทะเลในประเทศไต้หวันโดยการศึกษา ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความจำเพาะ (Selective media) ทั้ง 3 ชนิดในการเจริญเติบโตของ *A. hydrophila* ในการสร้างสารพิษไซโตท็อกซิน (Cytotoxin) และ ฮีโมไลซิน (Haemolysin) และตรวจสอบอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการเจริญและการสร้างสารพิษของเชื้อ *A. hydrophila* ในอาหารทะเล พบว่าอาหาร Blood ampicillin agar (BA) เป็นอาหารที่ช่วยฟื้นฟูอัตราการเจริญจำนวนของ *A. hydrophila* ได้มากที่สุดและพบว่าหอยนางรมมีปริมาณ *A. hydrophila* สูงที่สุด (ร้อยละ50) และมีการสร้างฮีโมไลซินร้อยละ 79.2 และไซโตท็อกซินร้อยละ 91.7 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสร้างไซโตท็อกซินและ ฮีโมไลซิน คือ 28^{0}ซ

Tai et al. (1997) ได้ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเกลือ และการละลายของออกซิเจนต่อการผลิตฮีโมไลซินและไซโตท็อกซิน โดยเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ซึ่งแยกได้จากหอยนางรม พบว่าอาหาร Brain heart infusion broth

(BHIB) เป็นอาหารที่ดีที่สุดต่ออัตราการผลิตสารพิษในระหว่างการเจริญเติบโตของ *A. hydrophila* อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสร้างสาร Haemolysin และ Cytotoxin พบว่าอยู่ที่ 28°ซ แม้ว่าเชื้อ *A. hydrophila* สามารถทนต่อปริมาณเกลือถึงร้อยละ 5 (w/v) ในอาหาร BHIB และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในช่วง 5-10 พบว่า สารฮีมโมไลซิน และไซโตท็อกซิน มีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) อยู่ในช่วงร้อยละ 1-5 (w/v) หรือเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหารเลี้ยงสูงกว่า 7.2 การละลายของออกซิเจนในน้ำ (Dissolved Oxygen; DO) มีผลต่อการผลิตสารพิษพบว่าเมื่อค่า OD สูงขึ้นปริมาณการสร้างสารพิษก็จะมากขึ้นไปด้วย

Martins et al. (2002) ได้ศึกษาสารพิษของเชื้อ *Aeromonas* ที่แยกได้จากอาหารและจากผู้ป่วยที่ติดเชื้อ โดยสามารถแยกเชื้อ *Aeromonas* ได้จากตัวอย่างอาหารมีจำนวน 99 ชนิดและจากผู้ป่วยซึ่งติดเชื้อจำนวน 95 ชนิดพบว่าเชื้อ *Aeromonas* ที่แยกได้จากผู้ป่วยมีการผลิตสารพิษดังนี้เอ็นเทอโรโทซิจินิก (Enterotoxigenic) ร้อยละ 29.4 ฮีโมไลติก (Hemolytic) ร้อยละ43.1 ไซโตโทซิจินิก (Cytotoxigenic) ร้อยละ 89 และเชื้อ *Aeromonas* ที่แยกได้จากอาหารมีการสร้างสารพิษคือเอ็นเทอโรโทซิจินิกร้อยละ 18.2 ฮีโมไลติกร้อยละ 17.1 ไซโตโทซิจินิกร้อยละ 72 นอกจากนี้พบว่าเชื้อ *A. sobria* และ *A. veronii* สามารถผลิตสารพิษเอ็นเทอโรท็อกซิน (Enterotoxin) และไซโตท็อกซิน (Cytotoxin) มากกว่าสายพันธุ์อื่น ส่วน *A. veronii* และ *A. salmonicida* ผลิตฮีมโมไลซิน (Haemolysin) และพบว่าเชื้อ *Aeromonas* ที่แยกได้ส่วนใหญ่มีการสร้างไซโตท็อกซิน (ร้อยละ81)

3.3 อาหารที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อของ *Aeromonas*

เชื้อ *Aeromonas* ส่วนใหญ่ถูกแยกจากปลาน้ำจืด (Gram et al., 1987) หอยและอาหารทะเลอื่นๆ (Palumbo et al., 1985) จากรายงานพบว่าเกิดโรคลำไส้อักเสบจากเชื้อ *Aeromonas* เนื่องจากการบริโภคหอยนางรม ในประเทศสหรัฐอเมริกา (Herrington, 1984; Abeyta et al., 1986)

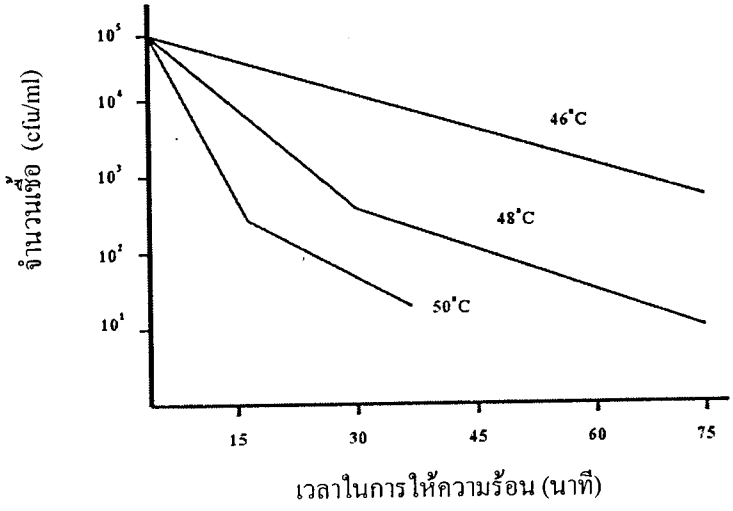
นม (Milk) พบว่าสามารถแยกเชื้อ *Aeromonas* จากนมดิบจากตัวอย่างประมาณ 50 เปอร์เซนต์ ของทั้งหมด (FDA, 1985) โดยการเพิ่มจำนวนเกิดขึ้นในระหว่าง การเก็บรักษาในถังที่อุณหภูมิตู้เย็น

อาหารอื่นๆ (Other products) พบว่าสามารถแยกเชื้อ *Aeromonas* ได้จากผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ไข่ ขากบ และ หอยทาก (Ablonglabor, 1982) พบเชื้อ *A. caviae* จากตัวอย่างไอศครีม 4.7 เปอร์เซนต์ ในเมืองเวลส์ ประเทศอังกฤษ (Hunter, Burge, 1987)

3.4 การควบคุมเชื้อ*Aeromonas*

3.4.1 อุณหภูมิ (Temperature):

เชื้อ *Aeromonas* สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 4^0ซ (Palumbo et al., 1985) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อ *Aeromonas* อยู่ที่ 28^0ซ และสูงสุดอยู่ในช่วง 38-41^0 ซ แต่ถ้าแยกเชื้อ *Aeromonas* จากบริเวณเขตหนาว (Cold environment) พบว่าอาจจะไม่เจริญที่อุณหภูมิ 37^0ซ เชื้อ *Aeromonas* สามารถถูกทำลายได้ด้วยความร้อนจากภาพที่ 2 (Palumbo et al., 1987)



ภาพที่ 2 Survival curve of *A. hydrophila*

ที่มา : Palumbo (1987)

3.4.2 การใช้รังสี (Irradiation)

เชื้อ *Aeromonas* มีความไวต่อการใช้รังสี ซึ่งมีค่าคงที่อัตราการตาย (D-value) อยู่ในช่วงการใช้ปริมาณรังสีแกมม่า 1.4 - 2.2 กิโลเกรย์ (Kgy) (Palumbo et al., 1986) ในระดับการพาสเจอไรซ์ (Pasteurize) ใช้รังสีปริมาณ 3 กิโลเกรย์ ก็เพียงพอในการทำลายเชื้อ *Aeromonas* ในอาหารสดได้

3.4.3 ระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

เชื้อ *Aeromonas* ไวต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ต่ำกว่า 6.0 (Palumbo, Buchanan, 1988) ซึ่งมักไม่เกิดปัญหากับอาหารที่เป็นกรดหรือ น้ำที่เติมคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) การลดจำนวนของเชื้อ *Aeromonas* สามารถตรวจสอบในระหว่างการ

เก็บรักษาหอยนางรม ซึ่งเกิดเนื่องจากกระบวนการหมัก ทำให้เกิดการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดแลคติก (Lactic acid) ซึ่งส่งผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงตามไปด้วย

3.4.4 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

เชื้อ *Aeromonas* ส่วนมากไวต่อเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) และไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับร้อยละ 5 NaCl (Popoff, 1984) ซึ่งมีความสัมพันธ์อย่างมากระหว่างค่าความเป็นกรด-ด่าง และการทนทานต่อเกลือโซเดียมคลอไรด์ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง เพียงเล็กน้อยมีผลต่อระดับในการทนทานต่อเกลือโซเดียมคลอไรด์ ในทางปฏิบัติไม่พบปัญหาการเจริญของ *Aeromonas* ในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ต่ำกว่า 6.5 และมีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ มากกว่าร้อยละ 3

3.4.5 องค์ประกอบของบรรยากาศ (Composition of atmosphere)

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) มีผลในการยับยั้งแบบจำเพาะในการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. hydrophila* โดยยืดระยะในช่วง Lag phase ให้นานขึ้น ที่อุณหภูมิ 30^0ซ และสามารถลดจำนวนลงได้ที่อุณหภูมิ 5^0ซ ในทางกลับกัน การใช้ก๊าซไนโตรเจน สามารถเพิ่มจำนวนของ *A. hydrophila* ทั้งเซลล์ที่บาดเจ็บและเจ็บที่ไม่บาดเจ็บที่อุณหภูมิ 5^0ซ (Gloden et al., 1989)

Huss et al. (1995) ศึกษาการควบคุมจุดอันตรายทางชีวภาพในกระบวนการผลิตปลาแซลมอนรมควันแบบเย็น โดยแนะนำให้ใช้ปริมาณเกลือที่เหมาะสมคือร้อยละ 3-4 (WPS; water phase salt) เพื่อป้องกันการเกิดโรคทางเดินอาหารและสามารถเก็บรักษาได้นาน 3 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 5^0ซ และกล่าวถึงปัจจัยสำคัญที่ทำให้ปลารมควันเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเสี่ยงได้แก่

1. ปลารมควันมีโอกาสเสี่ยงในการปนเปื้อนกลับ (Recontamination) ภายหลังจากการผลิตและก่อนที่จะเข้ากระบวนบรรจุ
2. ปลารมควันมีโอกาสเสี่ยงปนเปื้อนในการระหว่างการดูแลรักษา และการขนส่งซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค
3. ปลารมควันไม่มีกระบวนการให้ความร้อนภายหลังจากบรรจุ ซึ่งมักเป็นอาหารพร้อมบริโภค (Ready-to-eat)

อาหารเลี้ยงเชื้อสตาร์ช-แอมพิซิลิน (Starch-ampicillin) เป็นอาหารที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง (Callister, Agger., 1987) เนื่องจากเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้สะดวกเพื่อใช้ในการตรวจสอบ *Aeromonas* และมีความจำเพาะสูง ถึงแม้ว่าปัญหาส่วนใหญ่มาจากการเกิดกระบวนการหมักสตาร์ช (Starch) จากเชื้อ *Vibrio* ในปลาและอาหารทะเล นอกจากนี้ยังมีการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey-mannitol-ampicillin ซึ่งมีประสิทธิภาพเหมือนกับอาหาร Starch-ampicillin

เชื้อ *A. hydrophila* เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ ซึ่งต่อมามีรายงานว่าทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบในมนุษย์และถูกจัดให้เป็น แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในอาหารชนิดใหม่ในปี 1984 โดย FDA (Buchanan, 1984) เชื้อ *A. hydrophila* มีการปนเปื้อนในอาหารหลายชนิด รวมทั้งน้ำด้วย เชื้อสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 4-5^{0}ซ ในอาหารที่บรรจุในสภาพสุญญากาศ หรือในบรรยากาศที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ประมาณร้อยละ 36 (Berrang et al., 1989) ดังนั้นการถนอมอาหารโดยวิธีการแช่เย็น ในการบรรจุแบบสุญญากาศหรือ การเก็บรักษาในสภาวะควบคุมบรรยากาศจึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *A. hydrophila* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

กลไกในการเกิดโรคลำไส้อักเสบแม้ว่ายังไม่มีเอกสารยืนยันชัดเจน แต่ในอาหารพบว่าสารพิษที่เกี่ยวข้องกับเชื้อ *A. hydrophila* คือไซโตท็อกซิน (Cytotoxin) และฮีโมไลซิน (Haemolysin) ซึ่งเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรค (Burke et al., 1981)

3.5 ความสำคัญของ *Aeromonas hydrophila* ในด้านความปลอดภัยของอาหาร

Daskalov (2006) รายงานความสำคัญของ *A. hydrophila* ในด้านความปลอดภัยของอาหารดังนี้

3.5.1 เชื้อสกุล *Aeromonas* เป็นแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบ สามารถเจริญในสภาพที่มีและไม่มีอากาศ (Facultative anaerobic) ไม่สร้างสปอร์ (Non-spore forming) มีรูปร่างแท่ง (Rod-shaped bacteria) (Robert et al., 1996) และเคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลาสายเดียว (Single flagellum) สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดส-คะตะเลส (Oxidase-catalase test) และหมักน้ำตาลกลูโคส แต่ไม่สามารถทนต่อสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 6.0 และเกลือ ไม่เกินร้อยละ 5 มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเท่ากับ 28^{0}ซ (Adam, Moss, 2000) นอกจากนี้ยังสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำถึง -0.1^{0}ซ ในบางสายพันธุ์

3.5.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบ ได้แก่ สารพิษ เอ็กโซท็อกซิน (Exotoxins) ไซโตท็อกซิน (Cytotoxins) เอ็นโดท็อกซิน (Endotoxins) การบุกรุกเซลล์ (Invasions) ความสามารถในการเกาะติด (Adhesions) โปรตีนบริเวณพื้นผิวภายนอก (Surface-layer protein) และ แฟลเจลลา (Flagella)

3.5.3 สายพันธุ์ของเชื้อ *A. hydrophila* สามารถผลิตสารพิษกลุ่มเอ็กโซท็อกซิน (Exotoxin) ได้แก่ เอ็นเทอโรท็อกซิน (Enterotoxin) ฮีโมไลซิน (Haemolysin) และ ไซโตท็อกซิน (Cytotoxin)

เชื้อ *Aeromonas* เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis) ซึ่งส่วนใหญ่เกิดขึ้นกับเด็กที่มีอายุต่ำกว่า 5 ปีทำให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง นอกจากนี้เชื้อ *A. hydrophila*

และ เชื้อ *A. sobria* สามารถสร้างสารพิษได้แก่ ไซโตท็อกซิน (Cytotoxic) ไซโตโทนิก เอ็นเทอโรท็อกซิน (Cytotonic Enterotoxins) ซึ่งส่วนใหญ่สามารถผลิต แอโรไลซิน (Aerolysin) เบต้า-ฮีโมไลติก (β-haemolytic) และไซโตโทนิก เอ็นเทอโรท็อกซิน (Cytotoxic enterotoxin) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 52 กิโลดาลตัน (kDa) ซึ่งสารพิษทั้ง 3 ชนิด พบว่าทำให้เกิดโรคคล้ายอาการพิษจากโรคอหิวาห์ (Cholera toxin) (Adams, Moss, 2002)

เชื้อกลุ่ม *Aeromonas hydrophila* (ได้แก่ *A. hydrophila, A. sobria, A. caviae*) สามารถแยกได้จากอาหารประเภทต่างๆเช่น ปลา เนื้อ สัตว์ปีก นมดิบ และสลัดผักและน้ำ นอกจากนี้ยังสามารถเจริญเติบโตได้ในอุณหภูมิต่ำ ซึ่งทำมีการเพิ่มจำนวนของเชื้อมากขึ้นแม้ในสภาวะแช่เย็น ซึ่งมีความสำคัญในการทำให้เกิดการเสื่อมเสียของเนื้อแช่เย็น ซึ่งทำให้มีโอกาสในการปนเปื้อนภายหลังจากผ่านกระบวนผลิต จากอาหารดิบหรือน้ำที่มีการปนเปื้อน (Adams, Moss, 2002)

4. การเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ในปลาและผลิตภัณฑ์จากปลา (Gram, Huss, 1996)

การเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ในอาหารมีมากมายหลายรูปแบบ แต่ส่วนใหญ่แล้วเป็นผลเนื่องมาจากผลของการเจริญและกิจกรรมของจุลินทรีย์เอง หรือส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การเสื่อมเสียทางด้านจุลินทรีย์ในอาหาร

กิจกรรมทางจุลินทรีย์	คุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส
ทำลายองค์ประกอบของอาหาร	เกิดกลิ่นและรสที่ไม่พึงประสงค์
การผลิตสารโฟลีแซกคาไรด์ภายนอกเซลล์	การสร้างเมือก
อัตราการเติบโต/วินาที ของ รา แบคทีเรียและยีสต์	เกิดโคโลนีที่มีเม็ดสีขนาดใหญ่/ไม่มีสี
การสร้าง CO_2 จากคาร์โบไฮเดรตและกรดอะมิโน	การสร้างแก๊ส
การผลิตเม็ดสี	เกิดการปนเปื้อนสี

ที่มา : Gram, Huss, 1996

การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในวัตถุดิบมีมากมายหลายชนิด แต่มีเพียงบางชนิดที่สามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้ ซึ่งการเสื่อมเสียที่เกิดขึ้นจึงมีลักษณะที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยเช่น แหล่งที่มาของจุลินทรีย์ ชนิดของวัตถุดิบ ฯลฯ การเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ซึ่ง

เกี่ยวข้องกับคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสในปลา และผลิตภัณฑ์จากปลามีปัจจัยที่กี่ยวข้องมีดังนี้

4.1 ปลา: แหล่งอาหารในการเจริญของจุลินทรีย์

อาหารแต่ละชนิดมีลักษณะทางจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันอย่าชัดเจนปัจจัยสำคัญในการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆในอาหารทะเล คือ

1. การปนเปื้อนแบบจำเพาะและไม่จำเพาะของจุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อม และในระหว่างการแปรรูป

2. สภาวะในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เนื่องจากปัจจัยภายในและภายนอก ได้แก่ อุณหภูมิ (Temperature), ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ (a_w) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) รีดือกซ์โพเทนเชียล (Eh) และการปฏิสัมพันธ์กันระหว่างจุลินทรีย์

3. แหล่งที่มาของจุลินทรีย์เช่น น้ำจืด น้ำทะเล น้ำกร่อย

4. ความหลากหลายในขั้นตอนการแปรรูป เช่นการแปรรูปจากวัตถุดิบปลาแช่แข็งไปเป็นปลากระป๋อง

ซึ่งปัจจัยต่างๆล้วนเป็นที่เกี่ยวข้องกับปริมาณการปนเปื้อนเริ่มต้นของจุลินทรีย์ในวัตถุดิบ ในส่วนของแบคทีเรียทั่วไปที่เจริญอย่างรวดเร็วในผลิตภัณฑ์อาหาร สามารถตรวจสอบโดยค่าทางเคมีกายภาพ และปัจจัยภายในซึ่งเกี่ยวข้องอย่างมากในการเสื่อมเสียทางด้านจุลินทรีย์คือ

1. ธรรมชาติของปลาและสิ่งแวดล้อมที่อาศัยอยู่

2. ระดับค่าในช่วงหลังระยะการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ ในปลาสดซึ่งปกติมีค่าความเป็นกรด-ด่างมากกว่า 6.0

3. ปริมาณของไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (Non Protein Nitrogen; NPN)

4. ค่าไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ (Trimethylamine oxide;TMAO)

แบคทีเรียเริ่มต้นมีอยู่ทั้งบริเวณภายในและภายนอกตัวปลาที่มีชีวิตเช่นบริเวณ เหงือก ผิวหนัง ลำไส้ ฯลฯ ซึ่งอุณหภูมิของน้ำมีผลต่อประเภทของจุลินทรีย์ โดยที่แบคทีเรียในปลาบริเวณเขตน้ำอุ่นส่วนใหญ่จะเป็นพวกไซโครโทรฟิก (Psychrotrophic) ย้อมติดสีแกรมแกรมลบ มีรูปร่างแท่ง ซึ่งได้แก่แบคทีเรียพวก *Pseudomonas, Moraxella, Acinetobacter, Shewanella, Flavobacterium, Vibrionaceae* และ *Aeromonadaceae* และพวกแบคทีเรียแกรมบวกได้แก่ *Bacillus, Micrococcus, Clostridium, Lactobacillus* และ *Corynebacterium* แบคทีเรียในปลาแถบเขตร้อนมักมีปริมาณของแบคทีเรียแกรมบวกอยู่มากกว่าแกรมลบ (Liston, 1980)

ปัจจัยภายในที่มีผลต่อการเสื่อมเสียทางด้านจุลินทรีย์คือ ช่วงการเปลี่ยนแปลงจากปลาสดไปอยู่ในช่วงหลังระยะการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ (Post-mortem) ซึ่งมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

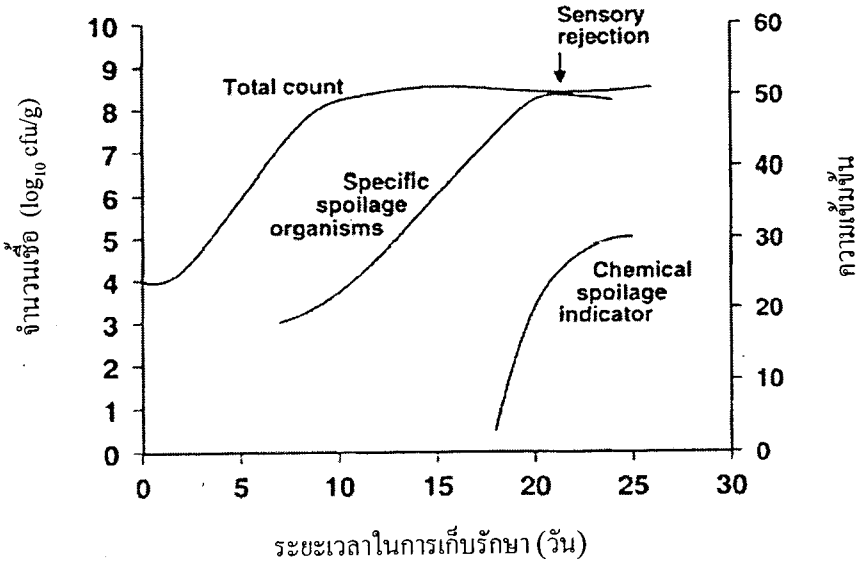
สูงกว่า 6.0 ส่วนใหญ่ในปลามีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตอยู่ไม่เกินร้อยละ 0.5 ในกล้ามเนื้อของปลา และปริมาณกรดแลคติกเพียงเล็กน้อยก็สามารถทำให้เกิดช่วงหลังระยะการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อได้ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้แบคทีเรียที่มีความไวต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เช่น *Shewanella putrefaciens* สามารถเจริญเติบโตและทำให้เกิดการเสื่อมเสียได้

สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (Non Protein Nitrogen; NPN) ประกอบด้วยไนโตรเจนที่สามารถละลายน้ำและมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ซึ่งประกอบด้วย กรดอะมิโนอิสระ และนิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารในการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย การแตกตัวของสารพวกซัลเฟอร์ ซึ่งมีพวก กรดอะมิโน พวกซีสเตอีน (Cysteine) และ เมทไทโอนีน (Methionine) เป็นองค์ประกอบเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดสีและกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ เนื่องจากโครงสร้างของไฮโดรเจนซัลไฟด์และเมทิลเมอเคปเทนตามลำดับ

ไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ (TMAO) คือองค์ประกอบย่อยของโปรตีนที่ไม่ใช่ไนโตรเจนซึ่งพบในปลาทะเลเป็นส่วนใหญ่ (Hebard et al., 1982) และในปลาน้ำจืดบางชนิด (Gram et al., 1989) เป็นที่ทราบกันดีว่า ไตรเมทิลเอมีน ออกไซด์ เป็นสาเหตุในการเพิ่มค่าปฏิกิริยารีดอกซ์ (Eh) ในปลาสด (Huss, Larsen, 1979) อย่างไรก็ตามก็ยังไม่ได้ข้อสรุป ในการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์มีอิทธิพลมาจากปริมาณไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ และปริมาณออกซิเจนด้วย พบว่าแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียได้แก่ *Shewanella putrefaciens, Photobacterium phosphoreum* และ *Vibrionaceae* สามารถใช้ไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ เป็นตัวรับอิเล็กตรอนสุดท้ายในกระบวนการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน มีผลทำให้เกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์เนื่องจากโครงสร้างของ ไตรเมทิลเอมีน (Trimethylamine; TMA) (Gram et al.,1987)

4.2 หลักการของการเสื่อมเสียเนื่องจากแบคทีเรีย

หลักการพื้นฐานในการการเสื่อมเสียเนื่องจากแบคทีเรีย โดยสังเกตจากการเจริญที่สามารถมองเห็นได้เช่น การเกิดรา การสร้างสี การเกิดเมือกและลักษณะของโคโลนี ในกรณีเช่นนี้แสดงว่ามีความสัมพันธ์กันระหว่างจำนวนแบคทีเรียและระดับของการเสื่อมเสียดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 รูปจำลองการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) ของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียและ การเสื่อมเสียทางเคมี ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ปลา

ที่มา : Gram, Huss, 1996

การเสื่อมเสียส่วนใหญ่เป็นผลเนื่องมาจากการสร้างกลิ่นและรสที่ไม่พึงประสงค์ โดยกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรีย ซึ่งในกรณีนี้ไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดและการเสื่อมเสีย (Castell et al., 1948) ซึ่งมีเพียงบางส่วนของแบคทีเรียทั้งหมดที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการเสื่อมเสีย เป็นเรื่องยากที่จะตรวจสอบโดยการแยกแบคทีเรียในปลาที่เน่าเสีย ซึ่งจำเป็นที่ต้องใช้การทดสอบทางประสาทสัมผัส ทางด้านจุลินทรีย์และทางด้านเคมีร่วมด้วย ซึ่ง Gram (1989) กล่าวว่ามีขั้นตอนดังนี้

1. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางด้าน เคมี จุลินทรีย์และทางด้านประสาทสัมผัส ในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งรวมถึงการตรวจสอบระดับขององค์ประกอบทางด้านเคมี ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเสื่อมเสีย

2. แยกแบคทีเรียที่เกิด ณ จุดที่ไม่เป็นที่พึงประสงค์ทางด้านประสาทสัมผัส เชื้อบริสุทธิ์และเชื้อผสมของแบคทีเรียที่แยกได้ จะถูกนำมาจำแนกในปลาที่ปลอดเชื้อเพื่อศึกษาความสามารถในการทำให้เกิดการเสื่อมเสีย เช่น ความสามารถในการสร้างกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ และการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีในระหว่างการเสื่อมเสีย

3. เลือกสายพันธ์ของแบคทีเรียเพื่อทดสอบความสามารถในการเสื่อมเสีย เช่น จลนศาสตร์การเจริญและการสร้างกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ทั้งชนิดและปริมาณในผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้อง

4.3 การเสื่อมเสียของปลาสด

โดยทั่วไปการเสื่อมเสียของปลาสดเนื่องจากการสูญเสียคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส เช่น รสหวานและรสเค็ม จากนั้นกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ก็จะเริ่มปรากฏ ซึ่งมีผลทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับ ระยะเวลาในการเสื่อมเสียขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิในการเก็บรักษาปลาและสายพันธุ์ของปลา

การสูญเสียคุณภาพเริ่มต้นในปลาเริ่มจากการเกิดย่อยตัวเอง (Autolysis) ซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมของจุลินทรีย์ สาเหตุในการเกิดการย่อยตัวเองเนื่องจากการย่อยสลายของสารนิวคลีโอไทด์ ด้วยเอนไซม์ เป็นที่ยอมรับว่าการสูญเสีย อิโนซินโมโนฟอสเฟส (Inosine monophosphate; IMP) ส่งผลให้คุณภาพของปลาสดเปลี่ยนแปลงไป อย่างไรก็ตามการย่อยตัวเองเป็นการช่วยทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ง่ายขึ้น เนื่องจากสามารถใช้สารอาหารที่ถูกย่อยเป็นโมเลกุลเล็กๆได้ง่ายกว่าสารประกอบเชิงซ้อน ทำให้เกิดการเสื่อมเสียได้รวดเร็วกว่า

การเกิดกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ในปลาที่เก็บรักษาไว้ในสภาวะที่มีอากาศ ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และแหล่งกำเนิดของปลาด้วย การเสื่อมเสียของปลาในบริเวณเขตอบอุ่น มักมีคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของ กลิ่น คาวปลา กลิ่นเน่าและไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งมีความแตกต่างทางด้านลักษณะประสาทสัมผัสในปลาที่อยู่ในเขตร้อนและปลาน้ำจืด ซึ่งจะทำให้เกิดกลิ่นผลไม้ (Fruity) และกลิ่นซัลไฟด์ (Sulphide) ซึ่งในปลาเขตร้อนจะมีปริมาณมากกว่า (Lima dos Santos, 1978)

การเสื่อมเสียของปลาที่เก็บรักษาในสภาพที่มีอากาศมักเกี่ยวข้องกับแบคทีเรียแกรมลบกลุ่ม Psychrotrophic มีรูปร่างแท่ง ไม่เกิดกระบวนการหมัก ดังนั้น ในการเก็บปลาแช่แข็งในสภาพที่มีอากาศแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง คือ *Pseudomonas* sp. และ *S. putrefaciens* (Levin, 1968) ในบริเวณที่อุณหภูมิปกติ (25^0ซ) แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องมักอยู่ในกลุ่มพวก Mesophilic คือ *Vibrionaceae* (Gorczyca, Pek Poh Len, 1985) และพบแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ในปลาที่จับมาจากแหล่งน้ำที่มีมลพิษ (Gram, 1992)

Shewanella putrefaciens เป็นแบคทีเรียที่พบเฉพาะในปลาทะเลที่อาศัยบริเวณเขตอบอุ่นและเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในปลาแช่แข็งซึ่งจำนวนของ *S. putrefaciens* เป็น

ปฏิภาคผันกลับกับอายุการเก็บรักษาของปลาคอดแช่แข็ง (Jorgensen et al., 1988) ซึ่งเชื้อ *Pseudomonas* sp. เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในปลาน้ำจืดแช่แข็ง (Lima dos Santos, 1978) บริเวณอุณหภูมิปกติ เชื้อ *Aeromonads* กลุ่มที่สามารถเคลื่อนที่ได้ (Motile-aeromonas) เป็นแบคทีเรียสำคัญที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของปลาน้ำจืดในสภาพมีอากาศ (Gorczyca, Pek Poh Len, 1985) แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียที่มีบทบาทสำคัญในปลาน้ำที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ คือ *Shewanella putrefaciencs* และ *Pseudomonas* spp.ปลาน้ำเค็มจากเขตอบอุ่นมักเสื่อมเสียเนื่องจาก *Photobacterium phosphoreum* ส่วนแบคทีเรียแกรมบวกเป็นสาเหตุในการเสื่อมเสียของปลาน้ำจืดหรือปลาในแถบเขตร้อน ซึ่งบรรจุภายใต้สภาวะที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูง แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของปลาสดและปลาแช่เย็นและเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (น้อยกว่า 4^0ซ) หรือเก็บรักษาในน้ำแข็ง แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่5 แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในปลาสดและปลาแช่เย็น (น้อยกว่า 4^0ซ) หรือบนน้ำแข็ง

สภาวะ	แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในปลาสดและปลาแช่แข็ง			
	เขตอบอุ่น		เขตร้อน	
	ปลาทะเล	ปลาสด	ปลาทะเล	ปลาสด
อากาศ	*S. putrefaciens* *Pseudomonas* spp.	*Pseudomonas* spp.	*S. putrefaclens* *Pseudomonas* spp.	*Pseudomonas* spp.
สุญญากาศ	*S. putrefaciens* *P.phosphoreum*	Gram-positive Bacteria Lactic acid bacteria	Lactic acid bacteria	Lactic acid bacteria
คาร์บอนไดออกไซด์	*P.phosphoreum*	Lactic acid bacteria	Lactic acid bacteria TMAO reducing bacteria	Lactic acid bacteria TMAO reducing bacteria

ที่มา : Gram, Huss, 1996

แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย เนื่องจากการสร้างสารซัลไฟด์ที่ระเหยได้ (Volatile sulphides) มากกว่า 1 ชนิด เช่น *S. putrefaciens* และเชื้อกลุ่ม *Vibrionaceae* บางชนิด สร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์จากซัลเฟอร์และกรดอะมิโน L-cycteien (Gram et al.,1987) แต่เชื้อ *Pseudomonas* และ *P. phosphoreum* ไม่สามารถสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้ ในสภาวะที่บรรจุภายใต้สภาวะที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) (Dalgaard et al.,1993) และเมทธิลเมอแคปแทน (Methylmercaptan; CH_3SH) รวมทั้ง ไดเมทิลซัลไฟด์ (Dimethylsulphide;$CH_{32}S$) ซึ่งผลิตมาจากเมทไธโอนิน (Methionine) (Herbert, Shewan, 1975)

แบคทีเรียที่สามารถรีดิวซ์ TMAO (TMAO reducing bacteria) จะรีดิวซ์ TMAO เป็น TMA นอกจากนี้อาจพบแอมโมเนีย (NH_3) แอมโมเนียจำนวนเล็กน้อยซึ่งได้จากการย่อยสลายตัวเอง แต่ส่วนใหญ่ได้จากการ Deamination ของกรดอะมิโน ระหว่างการเก็บรักษาปลากระดูกอ่อนมักพบแอมโมเนีย ซึ่งเกิดจากการสลายยูเรียโดยจุลินทรีย์ และในระหว่างการเก็บรักษาในสภาพไร้อากาศเป็นระยะเวลานานมีผลต่อการผลิตแอมโมเนีย เนื่องจากการสลายตัวของกรดอะมิโนโดยแบคทีเรียและการสะสมกรดไขมันที่มีโมเลกุลเล็ก เช่น กรดอะซิติก และกรดโพรพิโอนิก แบคทีเรียที่ผลิตแอมโมเนียที่สำคัญเป็นพวก Obligate anaerobic ซึ่งไม่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต เช่น *Bacteroidaceae, Fusobacterium* ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้ไม่มีโปรติเนสแต่จะเจริญโดยอาศัยกรดอะมิโนที่มีอยู่ ซึ่งอาจได้จากการสลายโปรตีนจากแบคทีเรียชนิดอื่น (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548)

การสร้างไตรเมทิลเอมีน (TMA) ในปลาหลายชนิด มักมีการผลิตไฮโปแซนทีน (Hypoxanthine) ไปด้วยกัน ซึ่งไฮโปแซนทีนเป็นสารที่ทำให้เกิดรสขมในปลา นอกจากนี้ไฮโปแซนทีนสามารถผลิตได้จากการย่อยสลายสารนิวคลีโอไทด์ นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียสามารถผลิตได้ด้วย และมีอัตราการผลิตไฮโปแซนทีนสูงกว่าการย่อยสลายตัวเองด้วย (Autolysis) จากงานวิจัยของ Jorgensen et al. (1988) และ Dalgaard et al. (1993) พบความสัมพันธ์เชิงเส้นของปริมาณไตรเมทิลเอมีนและไฮโปแซนทีนในระหว่างการเก็บรักษาปลาคอดแช่แข็ง แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียหลายชนิดสามารถผลิตไฮโปแซนทีนได้จาก อิโนซิน โมโนฟอสเฟต (Inosine mono-phosphate) รวมทั้งเชื้อ *Pseudomonas* sp., *S. puterfaciens* และ *P. phosphoreum* ก็สามารถผลิตได้ แบคทีเรียสามารถผลิตสารระเหยได้มากมายหลายชนิด เช่น ไตรเมทิลเอมีน สารประกอบซัลเฟอร์ แอลดีไฮด์ คีโตน เอสเทอร์ ไฮโปแซนทีน และสารประกอบที่มีโมเลกุลต่ำอื่นๆ สับสเตรทสำคัญในการผลิตสารระเหยต่างๆประกอบด้วย TMAO กรดอะมิโนที่มีซัลเฟอรเป็นองค์ประกอบ คาร์โบไฮเดรต (ไรโบส แลกเตต) นิวคลีโอไทด์ (อินโนซีนโมโนฟอสเฟต อินโนซิน) สารประกอบซัลไฟต์ และแอมโมเนีย โดยที่แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสีย สามารถผลิตสารประกอบจำพวกซัลไฟด์ที่ระเหยได้ *S. putrefaciens* และ *Vibrionaceae* สามารถผลิต

ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (HS_2) จากซีสเตอีนแต่ *Pseudomonas* และ P. *phosphoreum* ไม่ผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์ส่วนเมทิลเมอร์แคปเทน (CH_3SH) และไดเมทิลซัลไฟด์ ($(CH_3)_2S$) เกิดจากเมทไทโอนีน ส่วน *Pseudomonas* สามารถผลิตแอลดีไฮด์ คีโตน และซัลไฟด์ แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียในสัตว์น้ำหลายชนิดสามารถผลิตไฮโปแซนทีน จากอินโนซีน หรือ อินโนซีน โมโนฟอสเฟตเช่น *Pseudomonas* sp. *S. putrefaciens* และ *P. phosphoteum* (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548) สารตั้งต้นและสารประกอบที่ทำเกิดจากแบคทีเรียในระหว่างการเก็บรักษาสัตว์น้ำสดและสัตว์น้ำที่ผ่านการบรรจุแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 สารตั้งต้นและสารประกอบที่เกิดจากแบคทีเรียระหว่างการเก็บรักษาสัตว์น้ำสดและสัตว์น้ำที่ผ่านการบรรจุ

สารตั้งต้น	การผลิตสารประกอบ (+) ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย						ผลิตภัณฑ์
	TMAO	Cysteine	Methionine	Other amino acid	IMP inosine	Carbohydrate	
สารประกอบ	TMA	H_2S	CH_3SH, $(CH_3)_2S$	Ketones esters Aldehydes NH_3	Hypoxanthine	Lactate acid	
Spoliage bacteria							
S. putrefaciens	+	+	+	?	+	+	Iced fish
Pseudomonas sp.	-	-	+	+	+	?	Iced fish
P. phosporeum	+	-	-	?	+	?	CO_2 packed fish
Vibrionaceae	+	+	?	?	?	?	Ambient stored fresh fish
Enterbacteriacea	+	(+)	?	+	+	+	Lightly preserved fish
Lactic acid bacteria	-	(+)	?	+	?	+	Lightly preserved fish
Yeast	-	-	-	+	?	+	Sugar-salted fish
Anaerobic rods	-		?	+	?	?	Sour-vide fish

หมายเหตุ + คือ เกิดปฏิกิริยา - คือ ไม่เกิดปฏิกิริยา (+) คือ เกิดปฏิกิริยาเล็กน้อย ? คือ ไม่ทราบ

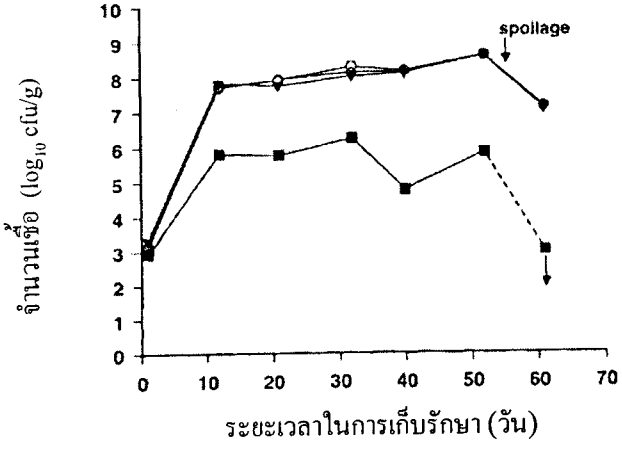
ที่มา : Gram, Huss, 1996

จากตารางที่ 6 พบว่าเชื้อ *S. putrefaciens* และ *Vibrionaceae* ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย เนื่องจากการสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) และไตรเมทิลเอมีน (TMA) ส่วน *Pseudomonas* sp. พบว่าไฮโดรเจนซัลไฟด์และไตรเมทิลเอมีนไม่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมเสีย แต่เกี่ยวข้องกับเมธิลเมเคปเทน (Methylmercaptan; CH_3SH) และไดเมธิลซัลไฟด์ (Dimethylsulphide; $(CH_3)_2S$)) และกรดอะมิโนรวมทั้ง คีโตน อีเทอร์และ อัลดีไฮด์ แต่ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดว่าการเกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ผลิตมาจากสารประกอบชนิดใด พบว่าเชื้อ *Pseudomonas fragi* สร้างกลิ่นผลไม้ (Fruity) มาจากกรดอะมิโนคือ โมโนอะมิโน-โมโนคาร์บอกซิลิก (Monoamino-monocarboxylic amino-acid) (Gram, Huss, 1996)

4.4 การเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ปลา

4.4.1 การถนอมผลิตภัณฑ์ปลาแบบเล็กน้อย (Lightly preserved fish product)

การถนอมผลิตภัณฑ์ปลาในกลุ่มนี้ มีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์น้อยกว่าร้อยละ 6 (w/v) และอาจมีการเติมวัตถุเจือปนได้แก่ ซอร์เบท (Sorbate) เบนโซเอท (Benzoate) ไนไตรท์ (NO_2) หรือควันไฟ (Wood smoke) ค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์สูงกว่า 5 และมักนิยมบรรจุในสภาพสุญญากาศและอุณหภูมิต่ำไม่เกิน 5°ซ ซึ่งอาหารในกลุ่มนี้คือ ปลารมควันแบบเย็น ปลาแช่เกลือ ซึ่งมุ่งเน้นเป็นอาหารพร้อมบริโภคซึ่งไม่ได้ผ่านกระบวนการให้ความร้อน



ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงค่า TPC ของ เชื้อกลุ่ม Psychrotrophic, Lactic acid bacteriaและ *Enterobacteriaceae*ในระหว่างการเก็บรักษาปลาแซลมอนรมควันแบบเย็นในสภาพสุญญากาศที่อุณหภูมิ 5°ซ ○ = Psychrotrophic ● = Lactic acid bacteriac ■ = *Enterobacteriaceae*

ที่มา : Truelstup Hansen et al. (1995)

จากภาพที่ 4 พบว่า *Lactobacillus curvatus* เป็นแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่พบในปลารมควันแบบเย็น นอกจากนี้ยังมี *L. sake, L. plantarum, Carnobacterium* และ *Leuconostoc* sp.ซึ่งพบบ้างเล็กน้อย โดยแบคทีเรียที่พบเกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อมภายในตู้รมควัน (Truelstrup Hansen et al., 1995)

เชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลกติค (Lactic acid bacteria) สามารถทำให้เกิดการเสื่อมเสียได้ เช่น การสร้างกลิ่นเปรี้ยวในปลารมควันแบบเย็น (Truelstrup Hansen et al., 1995) นอกจากนี้ *L. sake* สามารถสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ในระหว่างการเจริญเติบโตในปลาแซลมอนรมควันแบบเย็น

การเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ปลาที่ผ่านการถนอมอาหารเล็กน้อย (Lightly preserved fish product) อาจมีปริมาณของเชื้อ 10^3cfu/g หรือสูงถึง 10^6-10^7 cfu/g โดยอาจพบแบคทีเรียพวก Enterobacteriaceae *Brochotrix thermosphacta* Yeast และ *Photobacterium phosphoreum* (Cann et al., 1984)

Truelstrup Hansen (1996) สรุปว่าแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องในการเสื่อมเสียของปลารมควันแบบเย็นมีอยู่ 3 กลุ่มคือ

1. กลุ่มแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria) มีจำนวนเชื้ออยู่ในช่วง 10^7-10^9 cfu/g
2. กลุ่มแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria) และ *Enterobacteriaceae* มีจำนวนเชื้ออยู่ในช่วง10^7-10^8 cfu/g
3. กลุ่ม *Photobacterium phosphoreum* มีจำนวนเชื้ออยู่ในช่วง 10^6-10^7 cfu/g

แบคทีเรียในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ที่มีการเจริญพบว่าเป็นกลุ่ม Psychrotrophic ได้แก่ *Hafnia alvei, Serratia liquefaciens* หรือ พวก *Enterobacter* sp. ซึ่งสามารถสร้างกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์และยังสามารถรีดิวซ์ไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ (TMAO) (Truelstrup Hansen et al., 1995)

4.4.2 วิธีการหมักและการใช้เกลือ (Salt curing and fermentation)

วิธีการหมักเกลือที่นิยมได้แก่ วิธีใช้เกลือแห้ง (Dry-salting) และวิธีแช่น้ำเกลือ (Wet-salting) ซึ่งวิธี Dry-salting เหมาะสำหรับปลาที่ไม่ค่อยมีไขมัน ซึ่งมีการเสื่อมเสีย 2 แบบที่เกิดขึ้น คือแบบที่ 1 มักเกิดเนื่องจากแบคทีเรียพวกทนต่อเกลือ (Halophilic) ซึ่งทำให้เกิดลักษณะสีชมพู ในผลิตภัณฑ์อาหาร แบคทีเรีย *Halococcus, Halobacterium* มีสามารถในการย่อยโปรตีนสูง นอกจากนี้ยังสามารถสร้างกลิ่น-รสที่ไม่พึงประสงค์ได้ และแบคทีเรียอีกกลุ่มที่เกี่ยวข้องได้แก่พวก

ออสโมฟิลิก (Osmophilic) ซึ่งเป็นพวก ฟังไจซึ่งทำให้เกิดคุณลักษณะสีเหลืองขี้ม้า (Dun) เช่นพวก *Sporendonema* และ *Oospora*

วิธี Wet-salting หรือการแช่น้ำเกลือถูกใช้สำหรับปลาที่มีไขมันมาก เช่นปลาเฮอร์ริง (Herring) และปลาแองโชวี่ (Anchovy) โดยที่ปลาจะถูกผสมรวมกับเกลือและเก็บรักษาไว้ในภาชนะปิด การเสื่อมเสียเนื่องจากแบคทีเรียมีอยู่ 3 แบบดังนี้

การเสื่อมเสียแบบที่ 1 แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องส่วนมากเป็นชนิดที่ทำให้เกิดรสเปรี้ยว และกลิ่นเหม็นเน่า โดยที่แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องได้แก่แบคทีเรียแกรมลบ สามารถทนเกลือ (Halophilic) และไม่ใช้อากาศในการเจริญเติบโต (Obligate anaerobic) มีรูปร่างแท่ง (Rod) และมีจำนวนอยู่ในช่วง 10^6-10^7 cfu/g

การเสื่อมเสียแบบที่ 2 เป็นกลุ่มที่ทำให้เกิดกลิ่นผลไม้ (Fruity) มักเกิดจากยีสต์ออสโมโทเลอแรนท์ (Osmotolerant) ซึ่งสามารถเจริญได้ดีในที่มีค่า a_w สูง และสามารถทนความเข้มข้นของน้ำตาลที่สูงได้ได้ซึ่งทำให้เกิดเมือกเหนียว (Ropiness) และน้ำเกลือเป็นเมือก (Ropy brine) โดยน้ำเกลือมีลักษณะข้นเหนียว

การเสื่อมเสียแบบที่ 3 มักมีสาเหตุมาจาก แบคทีเรียกลุ่มแกรมลบเป็นพวกฮาโลไฟล์ (Halophiles) ซึ่งมีความสามารถในการทนเกลือ จำเป็นต้องใช้อากาศในการเจริญเติบโต (Aerobic) และไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ (Non-motile) มีรูปร่างแท่ง ได้แก่ *Moraxella* (Magnusson, Moller, 1985)

เนื่องจากปลารมควันแบบเย็นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผ่านความร้อนน้อย และไม่ทำให้เอนไซม์ถูกทำลายเนื่องจากผลของความร้อนต่ำกว่า 28^{0}ซ โดยดัชนีบ่งชี้คุณภาพทางด้านเคมีของปลารมควันที่เหมาะสมได้แก่ เอธานอล (Ethanol) ไตรเมทิลเอมีน (Trimethylamine) กรดอินทรีย์ (Organic acid) และอะดีโนซีน นิวคลีโอไทด์ (Adenosine nucleotides) ไฮโปแซนทีน (Hypoxanthine) และกรดแอซิติก (Truelstrup Hansen et al., 1995)

Hansen et al. (1996) ศึกษาความสำคัญระหว่างการเกิดการย่อยตัวเองเนื่องจากเอนไซม์ (Autolysis) และกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อคุณภาพของปลาแซลมอนรมควันแบบเย็นบรรจุสภาพสุญญากาศ รวมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าทางเคมี เช่นไฮโปแซนทีน (Hypoxanthine) กรดอะซิติก (Acetic acid) ไตรเมทิลเอมีน (Trimethylamine) และปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total volatile base) นอกจากนี้ยังตรวจสอบผลของวิธีการหมัก 2 วิธีคือ วิธีการแช่เกลือแบบแห้ง (Dry-salting) และวิธีการฉีดน้ำเกลือ (Injection-brining) ต่อการคุณลักษณะในการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ พบว่าการย่อยตัวเองเนื่องจากเอนไซม์ (Autolysis) เป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของลักษณะเนื้อสัมผัส แต่การเกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์เนื่องจากการเสื่อมเสียมีสาเหตุ

หลักมาจากกิจกรรมทางด้านจุลินทรีย์ และพบว่าเชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องในการหมักเกลือด้วยวิธีการแช่เกลือแบบแห้งคือเชื้อกลุ่ม *Vibrio* แต่เมื่อใช้วิธีการฉีดน้ำเกลือพบเชื้อผสมของ *Enterobacteriaceae* และแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งความแตกต่างของชนิดของแบคทีเรียมีผลต่ออัตราส่วนที่แตกต่างกันของไฮโปแซนทีน และไตรเมทิลเอมีน

5. การถนอมอาหาร (Food preservation) จากสัตว์น้ำ

เป็นกรรมวิธีที่ทำให้อาหารไม่เน่าเสีย สามารถเก็บไว้ได้นาน วิธีถนอมอาหารมีหลักสำคัญคือ ป้องกันการเน่าเสียจากจุลชีพต่างๆ ได้แก่ แบคทีเรียและฟังไจ (Fungi) ซึ่งรวมเอายีสต์และรา ไว้ในกลุ่มเดียวกัน (Koneman et al., 1979) โดยอาศัยหลักที่ว่าแบคทีเรียต้องการน้ำในการดำรงชีพ แบคทีเรียไม่สามารถทนต่อเกลือและความร้อน หรือหลักการควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์ (Enzyme activity) ทำโดยการควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วงที่เอนไซม์ของแบคทีเรียไม่สามารถทำงานได้ หรือการใช้สารเคมีและการใช้รังสี เป็นต้น (Doe, Olley, 1990 อ้างอิงใน มัทนา แสงจินดาวงษ์, 2545)

การถนอมอาหารจึงมีบทบาทสำคัญ 5 ประการ คือ

1. เป็นการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์
2. แปรรูปจากวัตถุดิบเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ
3. รักษาคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้ยาวนาน
4. รับประกันความปลอดภัยต่อผู้บริโภค
5. ใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบอย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีการแปรรูปเพื่อการถนอมอาหาร แบ่งเป็น 2 วิธี ได้แก่

วิธีการควบคุมอุณหภูมิ (Temperature control) อาจทำได้ทั้งโดยการลดอุณหภูมิ เช่น แช่เย็น (Chilling) โดยการใส่น้ำแข็งทันทีที่จับสัตว์น้ำได้หรือการแช่แข็ง (Freezing) ส่วนวิธีการเพิ่มอุณหภูมิ ได้แก่ บรรจุกระป๋อง (Canning) หรือต้มให้เดือด (Boiling)

วิธีกำจัดความชื้นออก (Removal of moisture) ได้แก่ การตากแห้ง การทำเค็ม และการรมควัน

การตากแห้ง (Drying) ทำได้ 2 แบบคือ การใช้แสงแดดธรรมชาติ (Natural drying) กับการใช้เครื่องมือช่วยให้ผลิตภัณฑ์แห้ง (Mechanical drying) เช่น ใช้เตาอบ เตารมควัน อุณหภูมิที่พอเหมาะสำหรับการตากแห้ง คือ 50-55^{0}ซ ความชื้นสัมพัทธ์ (Relative humidity) ของอากาศร้อยละ 45-55 วิธีการตากแห้งโดยใช้แสงแดดใช้กันมานานจนถึงปัจจุบัน และอาจเป็นวิธีแรกในการ

ถนอมอาหาร (Cutting,1995) หลักการทำให้อาหารแห้งก็เพื่อลดปริมาณน้ำที่จำเป็นต่อการดำรงชีพของจุลินทรีย์ (Water activity หรือ Available water) ออกจากผลิตภัณฑ์ จึงทำให้ผลิตภัณฑ์นั้นสามารถเก็บรักษาได้นาน โดยปราศจากจุลินทรีย์ ผลิตภัณฑ์ที่จะนำมาตากแห้งนิยมดองเกลือก่อน เพราะเกลือมีคุณสมบัติช่วยในการลดค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ (a_w) ของอาหารอีกทางหนึ่ง ในการถนอมอาหารจะต้องทำให้น้ำที่อยู่ในอาหารหรือในผลิตภัณฑ์นั้นน้อยกว่าค่าต่ำสุดของปริมาณน้ำที่จำเป็นต่อการดำรงชีพ (minimum a_w) อาหารนั้นจึงจะปลอดภัยจากจุลินทรีย์ต่างๆ แบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญที่ ค่า a_w ที่ต่ำกว่า 0.95 ค่า minimum a_w ของยีสต์มีค่า 0.80 – 0.88 ส่วนเชื้อรามีค่า minimum a_w คือ 0.60 -0.65 (Frazier, 1978; Sikorski et al., 1995)

คุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ตากแห้งขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่นำมาแปรรูป และการเก็บรักษาตลอดจนความพอใจของผู้บริโภคเช่น หอยเป๋าฮือตากแห้ง สามารถนำมารับประทานเป็นอาหารขบเคี้ยว รับประทานกับเบียร์ ช่วยเรียกน้ำย่อย (Olley, Thrower, 1997) ผลิตภัณฑ์ของไทย เช่น ปลาหมึกปรุงรสต่างๆ ปลาเส้นปรุงรส นิยมรับประทานเป็นกับแกล้มเช่นเดียวกัน ปลาสต็อกฟิช (Stockfish) คือ ปลาตากแห้งตามธรรมชาติ ไม่ใส่เกลือ เป็นผลิตภัณฑ์ของชาวสแกนดิเนเวียน กรรมวิธีผลิตครั้งแรกอาจมาจากชาวไวกิ้ง ซึ่งเดินเรือไปทั่วทวีปยุโรปมานานกว่าพันปีโดยสามารถทำมาจากปลาแทบทุกชนิด เช่น ปลาคอด (Cod) ปลาแฮดดอก (Haddock) ปลาเซท (Saithe) เป็นต้น (Pedersen, 1981a อ้างโดย Silkorski et al., 1995)

การทำเค็ม (Salt curing) วิธีนี้ส่วนใหญ่ทำควบคู่ไปกับการตากแห้ง เช่น การทำปลาเค็มจะต้องดองปลาในน้ำเกลือก่อน 4-5 วัน เพื่อให้น้ำจากตัวปลาลดลงร้อยละ 25-30 และทำให้เกลือซึมเข้าไปในเนื้อปลาร้อยละ 18-20 (ประเสริฐ สายสิทธิ์, 2524) ความบริสุทธิ์ของเกลือที่ใช้มีความสำคัญอย่างยิ่ง เพราะถ้าเกลือที่ใช้ไม่ได้ประกอบด้วยโซเดียมคลอไรด์ชนิดเดียว แต่มีแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมคลอไรด์ปนอยู่ด้วย เมื่อผลิตภัณฑ์นั้นแห้งแล้วจะกลับชื้นอีก เพราะสิ่งที่ปะปนมากับโซเดียมคลอไรด์จะดูดความชื้นจากอากาศทำให้แบคทีเรีย และราเจริญได้ บางครั้งทำให้ปลาเค็มมีสีชมพูหรือสีแดง ซึ่งเกิดจากอากาศทำให้แบคทีเรียพวกฮาโลฟิลิกสีแดง (Red halophilic) สามารถเจริญเติบโตได้ซึ่งมีทั้งพวกเซลล์รูปกลม ได้แก่ *Sarcina litoralis, Sarcina spp.* และเซลล์รูปท่อน ได้แก่ *Bacterium trapanicu, Serratia salinalia, Serratia cutrubra* (Kusher et al.,1965) แต่ปลาเค็มที่ใช้เกลือมากจะทำให้เนื้อปลาสูญเสียน้ำ เนื้อจะกระด้างทำให้รสชาติไม่ดี (Sikorski et al.,1995) แบคทีเรียที่ชอบเกลือ (Halophilic bacteria) ซึ่งพบในเกลือทะเลเป็นสาเหตุที่ทำให้ปลาเค็มเสีย แบคทีเรียดังกล่าวเป็นพวกที่ต้องการอากาศ สามารถย่อยโปรตีนได้ อุณหภูมิที่เหมาะในการเจริญเติบโตอยู่ที่ 37^0ซ ความเค็มของเกลือร้อยละ 16 ถึง 25 ผลเสียที่เกิดจากแบคทีเรียชอบเกลือทำให้ปลาเค็มมีสีชมพู นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ตากแห้งอาจเสียได้โดยการเกิดปฏิกิริยาออก

ซิเดชั่นของไขมันทำให้เกิดการหืนในระหว่างการเก็บรักษา (Blight et al.,1988) การป้องกันการเสื่อมเสียที่เกิดจากแบคทีเรียชอบเกลือ ทำได้โดยเก็บรักษาปลาเค็มไว้ที่อุณหภูมิต่ำ ทุกขั้นตอนตลอดกระบวนการผลิต (Wood, 1963) ปลาที่แช่ในน้ำเกลือจะไม่เสียเพราะอยู่ในสภาพที่ไม่อากาศ ทั้งนี้เพราะแบคทีเรียชอบเกลือเป็นพวกต้องการอากาศมาก (Strictly aerobic) จำเป็นต้องเจริญในสภาวะที่มีอากาศเท่านั้น

การรมควัน (Smoking) ปัจจุบันการรมควันผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำมักจะทำเพื่อทำให้รสชาติผลิตภัณฑ์ดีขึ้นมากกว่าที่จะมุ่งถึงการเก็บรักษา กระบวนการรมควันมี 2 วิธีที่ใช้กัน คือการรมควันแบบเย็น (Cold smoking) กับ การรมควันแบบร้อน (Hot smoking) สำหรับการรมควันแบบเย็นอุณหภูมิที่ใช้ไม่เกิน 30-35^{0}ซ เพื่อป้องกันการตกตะกอนของโปรตีน (Sikorski et al., 1995) และ การรมควันแบบร้อนใช้อุณหภูมิไม่เกิน 80-90^{0}ซ การใช้ความร้อนสูงทำให้สูญเสียกรดอะมิโนบางชนิด เช่น ไลซีน (Lysine) และทริพโทแฟน (Tryptophan) ซึ่งพบในปลาแมกเคเรลรมควัน (Bhuiyan et al., 1986) ระยะเวลาที่ใช้ในการรมควันขึ้นอยู่กับขนาดของผลิตภัณฑ์ เช่น ปลาที่มีน้ำหนักครึ่งกิโลกรัม ใช้เวลาประมาณ 4 ชั่วโมง อุณหภูมิไม่เกิน 90^{0}ซ เป็นต้น สารเคมีที่พบในควันไฟ คือ ฟีนอล (Phenols) ซึ่งสารดังกล่าวนี้จะช่วยยับยั้งการทำงานของแบคทีเรีย ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการรมควันสามารถเก็บไว้ได้นานขึ้น (Wheaton, Lawson, 1985) ปลาที่ใส่เกลือน้อยและผ่านการรมควันแบบร้อนอาจทำให้เกิดโรคโบทูลิซึ่ม (Botulism) โดยมีสาเหตุมาจาก *Clostridium botulinum* type E สร้างสารพิษขึ้นมา ดังนั้นจึงควรใช้เวลารมควัน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 82^{0}ซ โดยวัดอุณหภูมิที่จุดกึ่งกลางของส่วนที่หนาที่สุดของปลาและใช้เกลือร้อยละ 3.5 แช่ปลาก่อนรมควัน (Kosak, Toledo, 1980)

5.1 การรมควัน (Smoking)

การรมควันอาหาร หมายถึง การแปรรูปโดยการใช้ควันซึ่งได้จากการเผาไหม้ไม้หรือวัสดุที่สามารถเผาไหม้ได้ เช่น ซังข้าวโพด ชานอ้อย ไม้เนื้อแข็ง เป็นต้น การรมควันอาหารส่วนใหญ่จะเป็นประเภทเนื้อสัตว์รวมทั้งปลาชนิดต่างๆที่ผ่านการหมักได้ที่แล้ว หรือไม่ผ่านการหมักก็ตามไปรมควันที่ได้จากการเผาไหม้หรือวัสดุอื่นๆที่ได้รับการทดสอบแล้วว่าสามารถนำมาใช้ เพื่อวัตถุประสงค์นี้ได้อย่างเหมาะสม สำหรับอาหารประเภทปลามักถือว่าการรมควันเป็นกรรมวิธีสุดท้ายในการถนอมผลิตภัณฑ์ปลาเหล่านี้ให้เสร็จสมบูรณ์ ตามความมุ่งหมายพร้อมที่จะนำไปใช้เป็นอาหาร

การรมควันมีวัตถุประสงค์หลักอยู่ 2 ประการคือ เพื่อเป็นการเพิ่มรสชาติอาหารตามที่ต้องการ และเพื่อช่วยในการเก็บถนอมอาหาร สิ่งที่เป็นผลพลอยได้จากการรมควันอาหาร เช่น สีและความนุ่มของอาหาร กระบวนการรมควันช่วยป้องกันไม่ให้อาหารเน่าเสีย ไม้ที่ใช้รมควันมัก

เป็นไม้เนื้อแข็ง เช่น ไม้จากต้นฮิกคอรี ต้นโอ๊ก ต้นเมเปิล เป็นต้น หรืออาจใช้ซังข้าวโพด ขี้เลื่อย กากมะพร้าวและชานอ้อย ไม้ที่เหมาะสมสำหรับใช้รมควันปลาคือ ไม้เนื้อแข็งหรือไม้ที่มีซังน้อย (ประเสริฐ สายสิทธิ์, 2524) อุณหภูมิที่ใช้ในการรมควันอาหารประเภทเนื้อสัตว์แตกต่างกันในช่วง 43-71^{0}ซ ระยะเวลาในการรมควันแตกต่างกัน 2-3 ชั่วโมง จนถึงหลายวัน ในควันไม้มีส่วนประกอบของสารเคมีมากกว่า 200 ชนิดและสารดังกล่าวมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Bacteriostatic) และนอกจากนี้ยังมีผลในการทำลายแบคทีเรีย (Bactericidal) อีกด้วย สารเคมีที่ได้จากควันไม้ชนิดที่มีผลมากที่สุดคือ ฟอร์มาดีไฮด์ (Formaldehyde) รองลงมาคือ ฟีนอล (Phenols) และ ครีซอล (Cresols) ตามลำดับ และสารชนิดอื่นๆที่ได้จากการรมควันอาจรวมเรียกว่า Pyroligneous acid ได้แก่ คีโตน (Ketones) อะซิตอลดีไฮด์ (Acetaldehyde) และฮัลดีไฮด์อื่นๆ รวมทั้งแอลกอฮอล์ชั้นปฐมภูมิและชั้นทุติยภูมิ (Primary/Secondary alcohol) เป็นต้น สารเคมีที่ได้จากควันไม้มีผลต่อต้านส่วนของตัวเซล (Vegetative cells) ของแบคทีเรียมากกว่าสปอร์ และอัตราการทำลายจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและอุณหภูมิ ซึ่งเปลี่ยนแปลงไปตามชนิดของไม้ที่ใช้เป็นเชื้อเพลิงในการรมควันและควันที่เกิดขึ้นมีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียมากกว่าเชื้อรา เนื่องจากในขณะเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มีความชื้นจากบรรยากาศเพิ่มขึ้น ทำให้เชื้อราเจริญ ดังนั้น จำเป็นต้องที่จะต้องสามารถป้องกันเชื้อราเช่นกัน ในปัจจุบันมีการนำควันเหลว (Liquid smoke) มาใช้แทนไม้ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกันในเรื่องรสชาติ และให้ผลน้อยมากหรือแทบไม่ให้ผลในการป้องกันการเน่าเสีย (Burt, 1988) ประเภทของการรมควันแบ่งออกได้ 2 ลักษณะคือ

1.แบ่งออกตามลักษณะของระบบ แบ่งได้ 2 ชนิดคือ

1.1 แบบเปิด หรือแบบธรรมชาติ โดยการสุมไฟด้วยไม้ที่ให้ควันแล้วแขวนหรือแผ่อาหารไว้เหนือกองเพลิง วิธีนี้อาจจะรมควันปลาได้ครั้งละมากๆ โดยการทำแคร่ขนาดใหญ่แบบตากแห้งปกติ แต่สุมไฟอ่อนๆ ให้ควันรมอาหารไปพร้อมความร้อนจากไฟที่ช่วยให้อาหารแห้งเร็วขึ้นวิธีนี้เหมาะสำหรับรมควันปลาที่ไม่ต้องการควันมากนัก

1.2 แบบปิด คือมีสิ่งปกปิดมิให้ควันกระจายไปมาก ทำให้ปลารับควันได้เต็มที่และสม่ำเสมอ ระยะเวลาที่ใช้สั้นกว่าแบบระบบเปิด วิธีนี้ทำได้หลายแบบ ตั้งแต่แบบง่ายๆ ไม่ต้องลงทุนมาก คือใช้กระป๋องหรือถึงขนาดใหญ่ ตัดฝาออกทั้ง 2 ด้าน ตั้งบนแผ่นอิฐหรือกระเบื้องที่จะใช้สุมควัน แขวนอาหารไว้ด้านบน และปิดพอมิให้ควันกระจายออกมากนัก

2. แบ่งตามลักษณะของอุณหภูมิ แบ่งได้ 2 ชนิด

2.1 การรมควันแบบเย็น (Cold smoking)

เมื่อนำปลาใส่เข้าไปในเตาครั้งแรกในระยะ 6-8 ชั่วโมง ควรใช้อุณหภูมิในตู้รมควัน 30-38 ^{0}ซ หลังจากนี้จึงเพิ่มอุณหภูมิสูงถึง 50^{0}ซ ใช้เวลานาน 12 ชั่วโมง

2.2 การรมควันแบบร้อน (Hot smoking)

เตารมควัน (Kiln) ที่ใช้มี 2 แบบ คือ แบบตู้ (Chamber kiln) และแบบอุโมงค์ (Tunnel kiln) ปลาที่จะนำมารมควันจะต้องเป็นปลาสด ถ้าเป็นปลาแช่เยือกแข็งจะต้องนำมาทำให้ละลายน้ำแข็ง มักใช้เวลา 20-30 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 15-20^{0}ซ จากนั้นจึงนำไปผ่านกระบวนการล้าง ตัดแต่ง ใส่เกลือ ทำให้แห้ง และรมควัน ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมงโดยใช้อุณหภูมิ 100-120^{0}ซ หลังจากรมควันปลาจะเสียน้ำปริมาณร้อยละ 20

ตารางที่ 7 คุณลักษณะการรมควันแบบร้อนและแบบเย็น

คุณลักษณะ	การรมควันแบบร้อน	การรมควันแบบเย็น
วัตถุดิบ	สด หรือแช่เยือกแข็ง	หมักเกลือ
อุณหภูมิการรมควัน (°ซ)	80-70 °ซ	ต่ำกว่า 40 °ซ
ระยะเวลาการรมควัน	4-5 ชม.	5 วัน
ปริมาณเกลือ (ร้อยละ)	4	7-15
ความคงตัวของเนื้อ	ฉ่ำ นุ่ม	ลักษณะแน่น
ความเร็วลม		
แบบเก่า	4.5 เมตร/นาที	ไม่มีหรือมีเล็กน้อย
แบบใหม่พร้อมแรงบังคับหมุนเวียน	23-30 เมตร/นาที	-
ความชื้นสัมพัทธ์ของตู้รมควัน (ร้อยละ)	14	30
การสูญเสียน้ำหนัก (เปอร์เซนต์)	9.2-14.3	3-5
ปริมาณน้ำในผลิตภัณฑ์สุดท้าย (ร้อยละ)	60-70	48-55

ที่มา : ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก, 2529

Birkeland et al. (2004) ได้ศึกษาอิทธิพลของกระบวนการมควันแบบเย็นและคุณลักษณะของวัตถุดิบต่อผลิตผลและดัชนีคุณภาพของปลาแซลมอนรมควันแบบเย็น (Cold smoking) โดยแบ่งเป็น 2 วิธีคือ แบบเบา (Gentle) โดยการแล่ชิ้นปลาด้วยมือ (Manual filleting) ร่วมกับการแช่เกลือแบบแห้ง (Dry salting) และแบบแรง (Tough) โดยการแล่ชิ้นปลาด้วยเครื่องจักร (Machine filleting) ร่วมกับการฉีดน้ำเกลือเข้าสู่กล้ามเนื้อปลา (Injection salting) และมีขั้นตอนการอบแห้งก่อนนำไปรมควัน (Extended drying) พบว่ามีปริมาณไขมันร้อยละ 15.6-21.1 และองค์ประกอบ

ของคาโรทีนอยด์ (Carotenoid) ได้แก่เอสทาแซนทิน (Astaxanthin) 5.7-10.6 mg/kg, แคนทาแซนทิน (Canthaxanthin) 0.0-4.0 mg/kg ของทั้ง 2 วิธีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$) ซึ่งความสว่างของผิวหน้าอาหารเกี่ยวข้องกับปริมาณของแคนทาแซนทิน และปริมาณไขมันอย่างมาก นอกจากนี้พบว่าปริมาณผลผลิตและปริมาณน้ำ (Water content) ของวิธี ฉีดด้วยน้ำเกลือ (Injection salting) มีปริมาณสูงกว่าวิธี การแช่เกลือแบบแห้ง (Dry salting) และยังมีค่าคะแนนของความนุ่มของเนื้อสัมผัสสูงกว่าอีกด้วยซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$) และจากความแตกต่างของค่าสี ค่าเนื้อสัมผัส ค่าคะแนนช่องว่าง และการสูญเสียของเหลวทั้งหมด (Total liquid loss) ของวัตถุดิบภายหลังจากผ่านกระบวนการรมควันมีค่าไม่สม่ำเสมอจึงไม่สามารถทำนายคุณภาพของปลารมควันจากวัตถุดิบได้ อย่างไรก็ตามพบว่าแม้ว่าคุณภาพของวัตถุดิบจะแตกต่างแต่เมื่อผ่านกระบวนการรมควันทั้ง 2 แบบแล้ว คุณภาพของวัตถุดิบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.01$)

Hansen et al. (1995) ได้ศึกษาอิทธิพลของปริมาณเกลือและอุณหภูมิในการเก็บรักษาปลาแซลมอนรมควันแบบเย็นต่อการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมี จุลินทรีย์และด้านประสาทสัมผัส พบว่าการใช้ปริมาณเกลือสูง (ร้อยละ4.6) และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ 5^{0}ซ สามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้น2-3 สัปดาห์ และยังพบว่าอุณหภูมิการเก็บรักษาที่สูงขึ้น (10^{0}ซ) มีผลทำให้อายุการเก็บรักษาสั้นลงซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ระหว่างการใช้เกลือปริมาณสูง (ลดลง 1-2 สัปดาห์)และการใช้เกลือปริมาณต่ำ (ลดลง 2-3 สัปดาห์) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อประเมินทางด้านประสาทสัมผัส ผู้บริโภคไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์ปลารมควันเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงทางด้านต่างๆดังนี้ จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดสูงถึง 10^{8} cfu/g ค่าไตรเมทิลเอมีนที่ระดับ 10 mg TMA-N/100g กรดอะซิติก (Acetic acid) ที่ระดับ 5-7 μmol/g นอกจากนี้พบว่าปริมาณเอธานอลขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของเกลือแต่ไม่ขึ้นกับอุณหภูมิในการเก็บรักษา ส่วนกรดอะซิติกจะมีปริมาณสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นแต่จะลดลงเมื่อมีความเข้มข้นของเกลือสูง และจากการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสในปลาแซลมอน รมควันแบบเย็นพบว่าไฮโปแซนทีน (Hypoxanthine) เป็นดัชนีบ่งชี้ที่เหมาะสมที่ใช้ในการประเมินคุณภาพ

5.2 กระบวนการรมควัน

จากภาพที่ 5 แสดงกรรมวิธีการรมควันซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นขั้นตอนได้ดังนี้

5.2.1 การตัดแต่งและการทำความสะอาด

คุณภาพของผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับวัตถุดิบเริ่มต้นในการตัดแต่ง ต้องไม่ให้ปลาเกิดการบอบช้ำหรือฉีกขาด ส่วนที่เป็นลำไส้และเหงือกปลา เป็นปัจจัยที่ทำให้ปลาเน่าเสียเนื่องจากมีปริมาณจุลินทรีย์อยู่มาก ดังนั้นในการตัดแต่งจะต้องทำการตัดเหงือกและนำเอาอวัยวะภายในออก จากนั้นจึงนำครีบและหางออก ในกรณีที่ปลามีขนาดใหญ่จะทำการแหวะผ่ากลางลำตัวหรือแล่เฉพาะเนื้อหรืออาจรมควันทั้งตัวถ้าปลามีขนาดเล็ก

5.2.2 การแช่น้ำเกลือ

ปัจจุบันนิยมแช่ปลาในน้ำเกลือเข้มข้น เพราะทำให้สีของเนื้อปลาภายหลังการรมควันมีลักษณะที่ดีกว่า ปริมาณการซึมของเกลือในระหว่างการแช่น้ำเกลือ จะขึ้นอยู่กับขนาดของชิ้นปลา ปริมาณไขมันในปลา ชิ้นปลาที่มีขนาดไม่หนานัก ความเข้มข้นของเกลืออิ่มตัวที่ร้อยละ 70-80 เป็นที่นิยมมากที่สุด (Hall, 1997) การใช้ความเข้มข้นของเกลือสูงเกินไปทำให้เกิดการตกผลึกที่บริเวณผิวหน้าของชิ้นปลาในผลิตภัณฑ์สุดท้าย ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 50 ก็เพียงพอต่อการดึงน้ำออกจากเนื้อปลาและการเปลี่ยนถ่ายน้ำเกลือที่ใช้แช่อย่างน้อยวันละครั้ง เพื่อป้องกันการปนเปื้อนเนื่องจากจุลินทรีย์

Yasemen et al. (2005) ได้ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่ออายุการเก็บรักษาปลานิลรมควันแบบร้อน (Hot smoking) ซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -4^{0} ซ พบว่าความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสมคือร้อยละ 5 โดยที่สามารถเก็บรักษาปลารมควันแบบร้อนในอุณหภูมิตู้เย็น เป็นระยะเวลานานกว่า 35 วันได้

Antonios and Michael (2005) ได้ศึกษาอิทธิพลของการหมักเกลือและวิธีการรมควันแบบร้อนต่อการรักษาคุณภาพของปลา Chub Mackerel (*Scomber japonicus*) ในด้านชีวเคมี และคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส พบว่า การหมักเกลือมีอิทธิพลต่อการถนอมอาหารน้อยกว่าอิทธิพลร่วมระหว่างการหมักเกลือและการรมควัน โดยที่ค่าดัชนีที่ศึกษาได้แก่ กรด2-ไทโอบาบิทูลิก (2-Thiobarbituric acid) ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยทั้งหมด (Total volatile basic nitrogen) และ ไตรเมทิลเอมีนไนโตรเจน (Trimethylmine nitrogen) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการหมักเกลืออย่างเดียว ในระยะเวลา 30 วัน ส่วนค่าคะแนนทางด้านประสาทสัมผัสของปลารมควันพบว่า ปลาที่ผ่านการหมักเกลือและรมควันแล้วมีค่าคะแนนความชอบมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

Anna et al. (2004) ได้ศึกษาเทคนิคการหมักเกลือ 2 วิธีได้แก่ แบบแห้ง (Dry salting) และแบบฉีด (Injection salting) ต่อการเปลี่ยนแปลงทางด้าน ปริมาณและการกระจายตัวของเกลือ ผลผลิต ของปลาแซลมอน รมควันแบบเย็นที่ผ่านการแล่ก่อนระยะการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ (Pre-rigor) จนกระทั่งผ่านระยะหลังการเกร็งตัว (Post-mortem) พบว่าวิธีแบบฉีดมีการจัดเรียงตัวของเกลืออย่างมีระเบียบ แต่มีปริมาณความเข้มข้นของเกลือต่ำกว่าวิธีแบบแห้ง นอกจากนี้การหมักเกลือในระยะก่อนระยะการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ ให้ปริมาณเกลือมากกว่าในระยะหลังการเกร็งตัว

Sigurgisladottir et al. (2000) ได้ศึกษาอิทธิพลของการหมักเกลือและกระบวนการรมควันต่อโครงสร้างขนาดเล็ก (Microstructure) รวมทั้งลักษณะเนื้อสัมผัสและผลผลิตในปลาแซลมอน(*Salmo salar*) พบว่า วิธีการแช่เกลือแบบแห้ง (Dry-salting) ให้ขนาดพื้นที่ตัดขวางของกล้ามเนื้อปลาเล็กกว่าวิธีแช่เกลือ (Brining) และพบว่าทั้งวิธีการหมักเกลือและกระบวนการรมควันมีอิทธิพลต่อขนาดพื้นที่ตัดขวางของกล้ามเนื้อปลาด้วยเช่นกัน ส่วนผลผลิต (Yield) พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับขนาดพื้นที่ตัดขวางของกล้ามเนื้อปลาเริ่มต้น

Csonka (1989) กล่าวว่า เกลือมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตและการลดปริมาณของค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ (a_w) ซึ่งเป็นผลมาจากความแตกต่างของความดันระหว่างของเหลวภายในเซลล์ (Intracellular) และภายนอก (Surrounding medium) เกิดเป็นแรงดันภายในเซลล์ (Turgor pressure) เป็นสาเหตุในการเกิดพลาสโมไลซิส (Plasmolysis) ทำให้เซลล์ถูกทำลาย

Lyhs et al. (1998) ได้ศึกษาผลของการใช้สารไนไตรท์ (NO_2) และสารโปแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) ในการลดการเสื่อมเสียของปลา Rainbow trout รมควันแบบเย็นบรรจุภายใต้สภาพสุญญากาศ ซึ่งเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4^0ซ และ 8^0ซ พบว่าสามารถลดจำนวนของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) ซึ่งเป็นกลุ่มที่พบเป็นส่วนใหญ่ในปลารมควันแบบเย็นและแบคทีเรียแกรมลบชนิดอื่นๆลงได้ ยกเว้น Staphylococci และ *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งพบในตัวอย่างแม้ว่ามีการเติมไนเตรทแล้วก็ตาม อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาคือ 4^0ซ

Wijnker et al. (2005) ได้ศึกษาการใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์(NaCl) ในการเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยใช้เชื้อในการศึกษาคือ *E. coli, E.coli* O157:H7, *S. typhimurium, L. monocytogenes, S. aureus* และ *C. perfringens* โดยใช้เกลือที่ความเข้มข้นแตกต่างกันคือ 2.8 4.0 5.2 และ 6.2 โมลาร์ (M) ทำให้ค่า a_w มีค่าแตกต่างกันคือ 0.90 0.87 0.85 และ 0.75 ตามลำดับ พบว่าแบคทีเรียแกรมลบมีอัตราการตายสูงกว่าแบคทีเรียแกรมบวก แต่พบยังมีการเหลือรอดสปอร์ของ *Clostridium* การใช้เกลือเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มี

ประสิทธิภาพมากเพียงพอที่จะลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียลงในระดับที่ยอมรับได้โดยมีค่า a_w ที่ระดับ 0.85 หรือต่ำกว่าในระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 30 วัน

5.2.3 การทำให้ผิวปลาแห้งก่อนการรมควัน

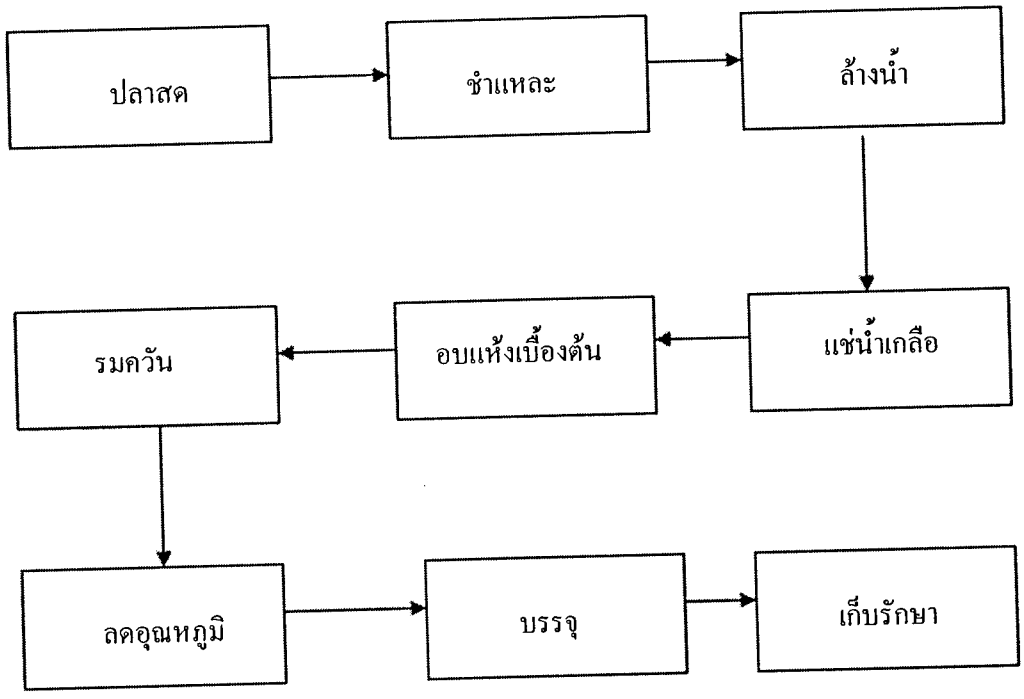
ปลาที่ผ่านแช่น้ำเกลือแล้วจะต้องนำไปวางตากแดดในที่ลมโกรก เพื่อให้ชิ้นปลาแห้งพอหมาดๆ โปรตีนที่ละลายได้ในน้ำเกลือจะละลายออกมาทำให้สารละลายมีความหนืดขึ้น ในระหว่างการทำแห้งช่วงนี้ น้ำจะระเหยและหยดไปบางส่วน โปรตีนส่วนหนึ่งจะเคลือบอยู่ที่ผิวของชิ้นปลาทำให้ผิวของปลามีลักษณะเป็นมัน ทำให้ควันสามารถเคลือบบริเวณผิวหน้าของชิ้นปลาได้ง่ายขึ้น เกิดสีค่อนข้างเหลือง แต่ถ้าบริเวณผิวหน้าชิ้นปลาเปียกเกินไปเมื่อนำไปรมควันจะทำให้เกิดสีดำและกลิ่นไม่ดี ส่วนถ้าผิวหน้าแห้งเกินไปจะทำให้ควันไม่ค่อยจับทำให้ไม่เกิดสีและกลิ่นไม่ดี

5.2.4 วิธีการรมควัน

อธิบายในประเภทของการรมควัน (ข้อ 5.1)

5.2.5 การบรรจุ

ปลารมควันที่ออกจากตู้รมควันจะยังคงมีอุณหภูมิสูงอยู่ ดังนั้นจึงต้องทิ้งไว้ให้เย็นก่อน ก่อนที่จะนำไปบรรจุ ในระหว่างนี้ น้ำหนักของปลารมควันจะลดลงเนื่องจากมีน้ำบางส่วนระเหยออกไป หากบรรจุในขณะร้อนน้ำที่ระเหยออกจากเนื้อปลาจะเกาะเป็นหยดน้ำที่ผิวภาชนะบรรจุและจะซึมเข้าสู่เนื้อปลาทำให้ปลารมควันมีลักษณะอ่อนตัว เนื่องจากการคืนกลับของความชื้น ส่งผลให้เชื้อราเจริญเติบโตได้ดี



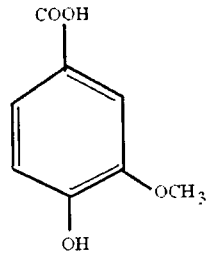
ภาพที่ 5 กระบวนการผลิตปลารมควัน

ที่มา : ดัดแปลงจาก Peter E DOE (1998)

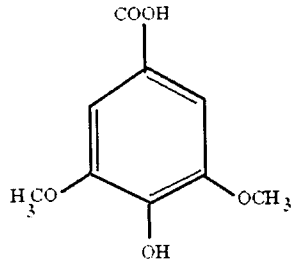
6. ควันไฟ (Wood Smoke)

Coultate (1996) กล่าวว่า ควันไฟ (Wood smoke) เป็นสิ่งที่นิยมใช้ในการถนอมผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเนื้อสัตว์และปลา กลิ่นและรสที่ได้จากควันไม้เป็นผลเนื่องมาจากการเผาไหม้ของไม้ ปัจจุบันการรมควันมีจุดประสงค์เพื่อรักษากลิ่นรสเฉพาะมากกว่ามุ่งหมาย เพื่อการถนอมอาหาร ควันประกอบด้วย 2 เฟสคือ เฟสการกระจายตัวของหยดของเหลว (Disperse phase of liquid droplets) และ เฟสต่อเนื่องของแก๊ส (Continuous gas phase) ในการรมควันซึ่งเป็นเฟสที่เกิดขึ้นมาก บริเวณพื้นผิวของผลิตภัณฑ์อาหารส่วนใหญ่

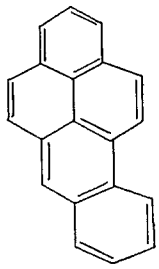
ส่วนประกอบในส่วนของควันมีมากกว่า 200 ชนิด ได้แก่ Formaldehyde (Methanal), Formic acid (Methanoic acid), Fatty acid, Vanillic acid และ Syringic acid, Furfural, Methanol, Ethanol, acetaldehyde (ethanal), Diacetyl (Butanedione), Acetone (Propanone), 3,4-Benzpyrene และสารที่มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์มากที่สุดคือ Formaldehyde (Coultate, 1996) ภาพที่ 6 แสดงสูตรโครงสร้างของสารประกอบบางชนิดที่พบในควันไฟ



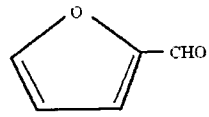
Vanillic



Syringic acids



3,4- Benzpyrene



Furfural

ภาพที่ 6 สูตรโครงสร้างของสารประกอบบางชนิดที่พบในควันไฟ

ที่มา : Coultate (1996)

6.1 ผลของการรมควันต่อการเก็บรักษาและสภาพกลิ่น รส

6.1.1 ผลของการรมควันในด้านการถนอมรักษาอาหาร

การที่อาหารที่ผ่านการรมควันสามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน โดยไม่เสื่อมเสีย เนื่องมาจากปัจจัยต่างๆหลายประการเช่น

1) อุณหภูมิ โดยทั่วไปอุณหภูมิที่ใช้ในการรมควันปลาจะอยู่ในช่วง 30-60^{0}ซ โดยทั่วไปขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร การใช้อุณหภูมิสูงๆมีผลดีต่อการทำลายจุลินทรีย์ต่างๆ แต่อาจเกิดผลเสียกับอาหารได้เช่น การไหม้เกรียม เกิดรสขม หรือเสื่อมเสียคุณลักษณะที่ดีบางประการเป็นต้น

2) ความชื้น การรมควันมีความร้อนมาเกี่ยวข้อง ทำให้อาหารแห้งหรือสูญเสียความชื้นไปซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยจุลินทรีย์ ส่วนมากจะหยุดการเจริญเติบโตในอาหารที่มีความชื้นน้อยกว่าร้อยละ 15

3) ควันไฟ เนื่องจากสารประกอบในควันไฟ มีสารหลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการถนอมรักษาอาหาร ประสิทธิภาพในการถนอมอาหารของสารเหล่านี้ขึ้นอยู่กับปริมาณที่สามารถซึมผ่านเข้าสู่อาหาร

Sunen et al. (2003) ได้ศึกษากิจกรรมของควันไม้เหลว (Wood smoke condensates) ต่อการยับยั้ง *A. hydrophila* ในปลา Rainbow trout รมควันแบบเย็นซึ่งบรรจุถุงภายใต้สภาพสุญญากาศ โดยเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4^0ซ นาน 0 1 7 14 และ 21 วัน ในการทดลองมีการเติม *A. hydrophila* ลงไปจำนวน $5x10^2$ cfu/g จากนั้นนำปลาเรนโบว์เทราว์ (Rainbow trout) มาผ่านการหยดควันไม้เข้มข้นนาน 1 นาที ตรวจสอบจำนวน *A. hydrophila* ที่เหลือรอด พบว่า *A. hydrophila* มีจำนวนเหลือรอดอยู่น้อยมาก (น้อยกว่า $2x10^2$ cfu/g) ในช่วง 0-1 วันและไม่สามารถตรวจสอบได้ ในช่วง 7 14 และ 21 วัน เนื่องจากผลของสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นองค์ประกอบในควันไม้เข้มข้น ส่วนใหญ่เป็นสารอนุพันธุ์ของฟีนอล (Phenol) และคาร์บอนิล (Carbonyl) ซึ่งมีปริมาณเฉลี่ยรวม 9,400 mg/kg และ 13,000 mg/kg ตามลำดับ และนอกจากนี้ยังมีผลของการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 4.5 % (NaCl) รวมลงไปด้วยซึ่งเป็นวิธีเฮอร์เดิล (Hurdle) ชนิดหนึ่งในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *A. hydrophila* ในปลารมควันแบบเย็น

Sunen et al. (2001) ได้ศึกษาความสามารถในยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของควันไม้เหลว (Wood smoke condensates) 4 ชนิด (L1 L2 L3 และ S) ในความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *A. hydrophila* ที่สภาวะอุณหภูมิตู้เย็น (5 °ซ) โดยเตรียม *A. hydrophila* ให้มีจำนวนอยู่ในช่วง 10^4-10^5 cfu/ml โดยใช้ Tryptic soy broth (TSB) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นตรวจสอบตัวอย่าง ณ เวลา 0 1 2 7 14 และ 21 วัน ด้วยวิธี Pour plate ใน Tryptic soy agar (TSA) เพื่อนับจำนวน *A. hydrophila* ที่เหลือรอด พบว่า *A. hydrophila* มีจำนวนลดลงจนไม่สามารถนับจำนวนได้เนื่องจากการใช้ ควันไม้เข้มข้น ชนิด L1 L2 และ S ส่วน L3 พบว่า *A. hydrophila* มีจำนวนเหลือรอด 4.5 ± 0.02 $\log_{10}$cfu/ml ทั้งนี้เมื่อตรวจสอบชนิดและปริมาณของสารประกอบในสารสกัดชนิด L1 L2 L3 และ S ในตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตรกราฟฟี (Gas Chromatography /Mass spectrometry) พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic) ไม่มีความสัมพันธ์กับการลดจำนวนของเชื้อ *A. hydrophila* พบว่าประสิทธิภาพของสารสกัดชนิด S มีมากที่สุดซึ่งสามารถลดจำนวน *A. hydrophila* ได้ทั้งหมดภายในเวลา 2 วัน อาจจะเป็นผลเนื่องจากกรดแอซิติก (Acetic acid) ที่มีปริมาณสูงกว่าสารสกัดชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ประสิทธิภาพของสารยับยั้งจุลินทรีย์ อาจเป็นผลมาเนื่องจากปฏิสัมพันธ์ร่วมกันของสารประกอบในควันไม้เข้มข้น ซึ่งทำหน้าที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์มากกว่าการทำงานของสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกเพียงชนิดเดียว

6.1.2 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของอาหารโดยการรมควัน

การรมควันนอกจากจะมีผลทางด้านการถนอมรักษาอาหารแล้ว ยังทำให้อาหารเปลี่ยนแปลงทางด้านเนื้อสัมผัส สี ตลอดจนกลิ่นรสอีกด้วย การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ส่วนใหญ่จะมีผลมาจากอุณหภูมิ ระยะเวลาที่ใช้ และชนิดของไม้ที่ใช้ในการรมควันอีกด้วย

การเปลี่ยนแปลงทางด้านเนื้อสัมผัส แบ่งตามระดับอุณหภูมิที่ใช้ได้ 2 ระดับ คือ

1) วิธีการรมควันในระดับอุณหภูมิต่ำ

การรมควันวิธีนี้มักจะใช้อุณหภูมิในตู้ควันให้อยู่ระหว่าง 20-40^{0}ซ ซึ่งจะช่วยให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารเปลี่ยนแปลงไปไม่มากนัก

2) การรมควันในระดับอุณหภูมิค่อนข้างสูง

ระดับอุณหภูมิในตู้รมควันค่อนข้างสูงในช่วง 45-110^{0}ซ ซึ่งระดับอุณหภูมิที่สูงนี้มีผลต่อเนื้อสัมผัสของอาหารทั้งด้านดีและเสีย คือ การเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นจะช่วยเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ เช่น เอนไซม์โพรติโอไลติก (Proteolytic enzyme) ให้ย่อยสลายโปรตีนให้เกิดการสลายตัวเร็วขึ้นทำให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารอ่อนนุ่มขึ้น ในขั้นแรก แต่เมื่อใช้ระดับอุณหภูมิสูงระยะเวลานาน จะทำให้เกิดการสูญเสียน้ำหรือความชื้นของเซลที่ผิวของอาหารเป็นไปอย่างรวดเร็ว และทำให้โปรตีนที่แตกตัวละลายกับน้ำในเซลกลับจับตัวกันเป็นก้อนแข็งทำให้เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารแน่นและเหนียวขึ้น

การเปลี่ยนแปลงทางด้านเนื้อสัมผัสของอาหารโดยทั่วไป อาจจะเปลี่ยนไปเพียงเล็กน้อย เนื่องจากตามธรรมชาติแล้วในอาหารจะมีแร่ธาตุต่างๆเป็นส่วนประกอบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกฟอสเฟต ซึ่งมีคุณสมบัติในการอุ้มน้ำได้อย่างดี ซึ่งจะช่วยลดร้อยละการสูญเสียน้ำที่เซลบริเวณผิวของปลาในการรมควัน

6.1.3 การเปลี่ยนแปลงทางด้านสีและกลิ่นรส

การเปลี่ยนแปลงทางด้านสีและกลิ่นรสของอาหารรมควันขึ้นอยู่กับอุณหภูมิการรมควัน และชนิดของไม้ที่ใช้ในการเผาไหม้

การเปลี่ยนแปลงทางด้านสีของอาหารนั้น ส่วนหนึ่งเกิดจากสารประกอบที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล (Browning compounds) ต่างๆ ที่มีอยู่ในควันไฟฉาบตามผิวของอาหารทำให้ผิวของปลามีสีน้ำตาล อีกส่วนหนึ่งเกิดจากสารพวก Browning compounds ต่างๆที่มีอยู่ในปลาเมื่อถูกความร้อนจากการรมควัน น้ำในปลาจะเกิดการแพร่กระจาย จากเซลชั้นถัดลงไปขึ้นมาที่ผิวของปลา ซึ่งสารพวก Browning compounds จะเคลื่อนที่ขึ้นมากับน้ำด้วย เมื่อมาอยู่ที่ผิวของปลาและได้รับความร้อนก็จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลฉาบตามผิวให้มีสีสวยขึ้น

สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางด้านกลิ่นรสของปลานั้น ถ้าใช้ไม้เนื้อแข็งในการเผาไหม้และควบคุมอุณหภูมิและระยะเวลาให้เหมาะสมกับปลาแต่ละชนิดแล้ว ผลิตภัณฑ์ปลาที่ได้จะมีกลิ่นหอมกลิ่นควันไฟน่ารับประทาน แต่ถ้าใช้ไม้เนื้ออ่อนหรือไม้ที่มียาง หรือสารพวกเรซิน (Resin) ในปริมาณมาก ยางหรือสารเหล่านี้อาจฉาบตามผิวหรือซึมเข้าไปในผิวของปลา ทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสขมและมีกลิ่นเหม็นไม่น่ารับประทาน

กรรมวิธีการเผาไหม้อาจเป็นสาเหตุแห่งการเปลี่ยนแปลงของปลา ทั้งลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่นและรสชาติได้ด้วย เช่นถ้าใช้กรรมวิธีการเผาไหม้ให้เกิดการสันดาปอย่างช้าๆ แล้วจะทำให้เกิดปริมาณควันขึ้นมากและมีความชื้นสูง ซึ่งจะช่วยให้ปลาสูญเสียความชื้นไปน้อย หรือลด เปอร์เซนต์การหดตัวของปลาลงทำให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของปลาอ่อนนุ่มน่ารับประทาน แต่ข้อเสียคือทำให้เกิดยางหรือสารพวกเรซิน และปริมาณกรดค่อนข้างสูงซึ่งจะมีผลทำให้ปลามีรสขมและกลิ่นเหม็นนอกจากนี้ควันไฟที่ได้จากการเผาไหม้จะมีสีเทา เป็นสาเหตุให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีเทาถึงดำไม่สวยงาม

วัตถุประสงค์ของการถนอมอาหารด้วยการรมควันเกี่ยวข้องกับปัจจัยต่างๆที่เกี่ยวข้อง 4 ปัจจัยคือ

1. Surface drying: การรักษาผิวหน้าให้แห้งเป็นการป้องกันทางกายภาพเพื่อป้องกันจุลินทรีย์และรักษาสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญโดยเฉพาะจุลินทรีย์พวกต้องการอากาศในการเจริญ

2. Salting: การแช่เกลือ เพื่อเป็นการลดค่า a_w และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ค่า a_w ต้องต่ำกว่า 0.95 เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ซึ่งความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ใช้ต้องสูง (ร้อยละ 5)

3. Phenol antioxidant substances: สารประกอบฟีนอลที่มีในควันไฟช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (Oxidation) ซึ่งทำให้เกิดการเหม็นหืน (Rancidity) เนื่องจากในปลามีไขมันไม่อิ่มตัวสูง

4. Antimicrobial substance: สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในควันไฟเช่น ฟีนอล (Phenol) ฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehyde) และการใช้ไนไตรท์ (Nitrites) สามารถยับยั้ง และชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ สารประกอบที่มีในควันไฟแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 สารประกอบส่วนใหญ่ที่พบในควันไฟ

Acid	Phenols	Carbonyl	Alcohol	Hydrocarbons
Formic	Syringols	Formaldehyde	Ethanol	Benzpyrene
Acetic	Guaiacols	Propionaldehyde	Methanol	Benzanthracene
Butyric	Cresols	Furfuralehyde		Indene
Caprylic	Xylenols	Octyl aldehyde		Napththalene
Oxalic		Acrolein		Stilbene
Vanillic		Methyl ethyl ketone		Fluorene
Syringic		Methyl glyoxal		Phenanthrene
Phthalic				

ที่มา: Hall, 1997