สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ค
กิตติกรรมประกาศ		จ
สารบัญตาราง		ช
สารบัญภาพ		ฎ
บทที่ 1	บทนำ	1
	1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
	2. วัตถุประสงค์	3
	3. ขอบเขตการวิจัย	3
	4. สถานที่ทำการวิจัย	4
	5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2	วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
	1. ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
	2. แบคทีเรียที่พบในปลานิลและปลาน้ำจืด	8
	3. แบคทีเรียสกุล *Aeromonas*	12
	4. การเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ในปลาและผลิตภัณฑ์จากปลา	21
	5. การถนอมอาหาร (Food preservation) จากสัตว์น้ำ	33
	6. ควันไฟ (Wood Smoke)	42
บทที่ 3	วิธีการดำเนินการวิจัย	48
	1. วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือ	48
	2. ระเบียบวิธีการวิจัย	49
บทที่ 4	ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	60
	1. ศึกษาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดจากบริเวณ ผิวหนัง เหงือก และ เครื่องในของปลานิล	60
	2. ศึกษาการแยกและจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปลานิล	62
	3. ศึกษาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในระหว่างการแปรรูปโดยการรมควันแบบเย็น	65

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
4.	ศึกษาจำนวนเชื้อ *A. sobria* ในส่วนผิวหนัง เหงือก เครื่องใน และเนื้อ ของปลานิล	67
5.	ศึกษากราฟการเจริญของเชื้อ *A. sobria* ที่แยกได้จากปลานิล	69
6.	ศึกษาการเหลือรอดของเชื้อ *A. sobria* ในระหว่างการแปรรูปโดยการรมควันแบบเย็น	72
บทที่ 5	สรุปผลการวิจัย	81
เอกสารอ้างอิง		83
ภาคผนวก		93
ภาคผนวก ก	ผลการตรวจสอบน้ำหนักและขนาดของปลานิล	94
ภาคผนวก ข	ผลการตรวจสอบคุณภาพน้ำแข็งที่ใช้ในการขนส่ง	96
ภาคผนวก ค	ผลการวัดอัตราการแช่เยือกแข็งปลานิล	99
ภาคผนวก ง	ผลการแยกและจำแนกแบคทีเรียจากส่วนต่างๆของปลานิล	103
ภาคผนวก จ	ผลการตรวจสอบการย้อมแกรม การเคลื่อนที่และการทดสอบปฏิกิริยาออกซิเดส-คะตะเลส	116
ภาคผนวก ฉ	ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	122
ภาคผนวก ช	ข้อมูลทางด้านเทคนิคของตู้รมควัน	126
ภาคผนวก ซ	การเตรียมชานอ้อยอบแห้ง	129
ภาคผนวก ฌ	การตรวจสอบจำนวนแบคทีเรียบนผิวหนังปลานิล	132

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	จำนวนเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลและจำนวนกระชังในจังหวัดขอนแก่น	8
ตารางที่ 2	จุลินทรีย์ทั่วไปที่พบในปลาและสัตว์น้ำของไทย	9
ตารางที่ 3	ความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ของ *Aeromonas.*	14
ตารางที่ 4	การเสื่อมเสียทางด้านจุลินทรีย์ในอาหาร	21
ตารางที่ 5	แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในปลาสดและปลาแช่เย็น (น้อยกว่า4^{0}ซ) หรือบนน้ำแข็ง	26
ตารางที่ 6	สารตั้งต้นและสารประกอบที่เกิดจากแบคทีเรียระหว่างการเก็บรักษาสัตว์น้ำสดและสัตว์น้ำที่ผ่านการบรรจุ	29
ตารางที่ 7	คุณลักษณะการรมควันแบบร้อนและแบบเย็น	37
ตารางที่ 8	สารประกอบส่วนใหญ่ที่พบในควันไฟ	47
ตารางที่ 9	จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count, $\log_{10}$cfu/g ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) จากส่วนผิวหนัง เหงือก และเครื่องใน ของปลานิล บ่มที่อุณหภูมิ 37^{0}ซ 24 ชม.	60
ตารางที่ 10	เชื้อแบคทีเรียที่แยกและจำแนกได้จากบริเวณ ผิวหนัง เหงือก และเครื่องใน	63
ตารางที่ 11	จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count, $\log_{10}$cfu/g ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ในระหว่างการแปรภาพโดยการรมควันแบบเย็น บ่มที่อุณหภูมิ 37^{0}ซ นาน 24 ชม.	65
ตารางที่ 12	จำนวน *A. sobria* จากส่วน ผิวหนัง เหงือก เครื่องใน และเนื้อของปลานิลบนอาหาร SAA บ่มที่อุณหภูมิ 28^0 ซ นาน 24 ชม.ตรวจสอบโดยวิธี Surface plate	68
ตารางที่ 13	เชื้อ *A. sobria* ($\log_{10}$cfu/g ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) โดยพิจารณาเฉพาะอิทธิพลร่วมระหว่างขั้นตอนในการแปรรูปและระดับของการปนเปื้อนแบบสังเคราะห์ของเชื้อ *A. sobria*	73
ตารางที่ 14	จำนวนร้อยละการเหลือรอด ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของเชื้อ *A. sobria* โดยพิจารณาเฉพาะอิทธิพลร่วมระหว่างขั้นตอนในการแปรรูปและระดับของการปนเปื้อนแบบสังเคราะห์ของเชื้อ *A. sobria*	76

สารบัญตาราง (ต่อ)

		หน้า
ตารางที่ 15	ค่าล็อกผลต่างเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของเชื้อ *A. sobria* โดยพิจารณาเฉพาะอิทธิพลร่วมระหว่างขั้นตอนในการแปรรูปและระดับของการปนเปื้อนแบบสังเคราะห์ของเชื้อ *A. sobria*	78
ตารางที่ 16	ความยาว ความหนา และน้ำหนัก ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของปลานิล	95
ตารางที่ 17	ตรวจสอบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำ (cfu/ml) ด้วยวิธี Pour plate	97
ตารางที่ 18	ตรวจหา Coliform bacteria โดยวิธี Most Probable Number (MPN) 9 หลอด บ่มที่ อุณหภูมิ 37^{0}ซ นาน 24 ชม.	97
ตารางที่ 19	การตรวจหา *E. coli* โดยวิธี MPN 9 หลอดด้วย Brilliant Green Lactose Broth	98
ตารางที่ 20	อัตราการแช่เยือกแข็งปลานิล (มม./ชม.) จนอุณหภูมิบริเวณกึ่งกลางลดลงต่ำถึง -18^{0}ซ	100
ตารางที่ 21	ระยะเวลาในการแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิกึ่งกลางมีค่า – 18^0 ซ และ – 30^0 ซ	101
ตารางที่ 22	อัตราเร็วในการแช่เยือกแข็ง (Freezing rate) ของปลานิล	101
ตารางที่ 23	คุณลักษณะของแบคทีเรียที่แยกได้จากเหงือกของปลานิลในอาหาร NA XLD และ TCBS	104
ตารางที่ 24	คุณลักษณะของแบคทีเรียที่แยกได้จากผิวหนังของปลานิลในอาหาร NA XLD และ TCBS	105
ตารางที่ 25	คุณลักษณะของแบคทีเรียที่แยกได้จากเครื่องในของปลานิลในอาหาร NA XLD และ TCBS	106
ตารางที่ 26	การย้อมแกรม (Gram stain) และการทดสอบการเคลื่อนที่ (Mobility test) ของแบคทีเรียซึ่งแยกได้จากส่วนต่างๆของปลานิล	119
ตารางที่ 27	การทดสอบปฏิกิริยาออกซิเดสและคะตะเลส (Oxidase - Catalase) ของแบคทีเรียที่แยกได้จากส่วนต่างๆของปลานิล	120
ตารางที่ 28	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) ในส่วน (Parts) ผิวหนัง เหงือกและเครื่องในของปลานิล	123
ตารางที่ 29	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) ภายหลังจากผ่านขั้นตอน ปลานิลแช่แข็ง ชำแหละ และล้างน้ำแช่น้ำเกลือ รมควันแบบเย็น และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2^{0}ซ นาน 12 ชม.	123

สารบัญตาราง (ต่อ)

		หน้า
ตารางที่ 30	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเชื้อ *A. sobria* ในส่วน (Parts) ผิวหนัง เหงือก เครื่องใน และเนื้อ ของปลานิล	123
ตารางที่ 31	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเหลือรอดของเชื้อ *A. sobria* ที่ระดับการปนเปื้อน 10^2 10^4 10^6และ 10^8 cfu/ml ภายหลังจากผ่านขั้นตอน การชำแหละและล้างน้ำการแช่น้ำเกลือและ การรมควันแบบเย็น	124
ตารางที่ 32	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละการเหลือรอด (ร้อยละ) ของเชื้อ *A. sobria* ที่ระดับการปนเปื้อน 10^2 10^4 10^6และ 10^8 cfu/ml ภายหลังจากผ่านขั้นตอน การแช่น้ำเกลือ การรมควันแบบเย็น และการแช่น้ำเหลือรวมกับการรมควันแบบเย็น	124
ตารางที่ 33	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าล็อกผลต่างของ เชื้อ *A. sobria* ที่ระดับการ ปนเปื้อน10^2 10^4 10^6และ 10^8 cfu/ml ภายหลังจากผ่านขั้นตอน การแช่น้ำเกลือ การรมควันแบบเย็น และการแช่น้ำเหลือ การรมควันแบบเย็น	124

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	ปลานิล *Oreochromis niloticus* (Linn.)	5
ภาพที่ 2	Survival curve of *A. hydrophila*	18
ภาพที่ 3	ภาพจำลองการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียและการเสื่อมเสียทางเคมี ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ปลา	24
ภาพที่ 4	การเปลี่ยนแปลงค่า TPC ของ เชื้อกลุ่ม Psychrotrophic, Lactic acid bacteria และ *Enterobacteriaceae* ในระหว่างการเก็บรักษาปลาแซลมอนรมควันแบบเย็นในสภาพสุญญากาศที่อุณหภูมิ 5^0ซ	30
ภาพที่ 5	กระบวนการผลิตปลารมควัน	42
ภาพที่ 6	สูตรโครงสร้างของสารประกอบบางชนิดที่พบในควันไฟ	43
ภาพที่ 7	แผนการสุ่มตัวอย่างมาตรฐานของ USFWS/AFS- FHS	50
ภาพที่ 8	การเตรียม *A. sobria* ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	57
ภาพที่ 9	ปลานิลจากกระชัง อ.น้ำพอง จ.ขอนแก่น	59
ภาพที่ 10	ปลานิลที่ผ่านการตัดแต่ง	59
ภาพที่ 11	ขั้นตอนการแช่เกลือปลานิล	59
ภาพที่ 12	ขั้นตอนการรมควันแบบเย็น	59
ภาพที่ 13	ปลานิลที่ผ่านกระบวนการรมควันแบบเย็น	59
ภาพที่ 14	*A.sobria* บนอาหาร SAA	59
ภาพที่ 15	จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) จากส่วน ผิวหนัง เหงือกและเครื่องในของปลานิล บ่มที่อุณหภูมิ 37^0 ซ นาน 24 ชม	61
ภาพที่ 16	API 20E ของเชื้อ *Aeromonas sobria* ที่แยกได้จากปลานิล	64
ภาพที่ 17	จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) ในระหว่างขั้นตอนการแปรรูปโดยการรมควันแบบเย็น	66
ภาพที่ 18	ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *A. sobria* บนอาหาร Starch-ampicillin agar (SAA) 10 mg/L Ampicillin บ่มที่อุณหภูมิ 28^0ซ นาน 24 ชม.	67
ภาพที่ 19	จำนวน *A. sobria* ในส่วนผิวหนัง เหงือก เครื่องใน และเนื้อ ของปลานิล ในอาหาร SAA บ่มที่อุณหภูมิ 28^0ซ นาน 24 ชม. โดยวิธี Surface plate	69

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 20	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{600}) ของเชื้อ *Aeromonas sobria* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB บ่มที่อุณหภูมิ 37^{0}ซ นาน 24 ชม.	70
ภาพที่ 21	กราฟการเจริญเติบโต (Growth curve) ของเชื้อ *Aeromonas sobria* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB บ่มที่อุณหภูมิ 37^{0}ซ นาน 24 ชม.	71
ภาพที่ 22	การเหลือรอดของเชื้อ *A. sobria* ระหว่างกระบวนการแปรรูปโดยการรมควันแบบเย็น	75
ภาพที่ 23	ค่าการเหลือรอด (ร้อยละ) ของเชื้อ *A. sobria* ระหว่างการแปรรูปโดยการรมควันแบบเย็น	77
ภาพที่ 24	ค่าผลต่างของเชื้อ *A. sobria* ในระหว่างกระบวนการแปรรูปโดยการรมควันแบบเย็น	79
ภาพที่ 25	การวัดระยะจุดกึ่งกลางของปลานิล	100
ภาพที่ 26	กราฟการแช่เยือกแข็งของปลานิล	102
ภาพที่ 27	*Aeromonas sobria*, GN 1/1	107
ภาพที่ 28	*Flavimonas orzihaditans*, GN 2/1	107
ภาพที่ 29	Unidentified, GN 3/1	107
ภาพที่ 30	*Pseudomonas putrefaciens*, GN 4/1	107
ภาพที่ 31	*Proteus mirabilis*, GT 1/1	107
ภาพที่ 32	*Proteus mirabilis*, GT 2/1	107
ภาพที่ 33	*Proteus mirabilis*, GT3/1	108
ภาพที่ 34	*Pseudomonas putrefaciens*, GX 3/1	108
ภาพที่ 35	*Aeromonas sobria*, GX2/1	108
ภาพที่ 36	*Aeromonas sobria*, GX1/1	108
ภาพที่ 37	*Bordetell alcaligenes*, SN 3/1	108
ภาพที่ 38	*Proteus mirabilis*, ST1/1	108
ภาพที่ 39	*Proteus peneri*, ST 2/1	109
ภาพที่ 40	*Proteus mirabilis*, ST3/1	109
ภาพที่ 41	*Aeromonas sobria*, SX1/1	109
ภาพที่ 42	*Pseudomonas aeruginosa*, SX2/1	109

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 43	Unidentified, SX3/2	109
ภาพที่ 44	*Pleiomonas shigelloids*, SX3/1	109
ภาพที่ 45	*Proteus vulgaris*, IT1/1	110
ภาพที่ 46	*Providencia alcaligenes*, IT2/1	110
ภาพที่ 47	*Edwardsiella tarda*, IX1/1	110
ภาพที่ 48	*Aeromonas sobria*, IX 2/1	110
ภาพที่ 49	*Aeromonas sobria*, SN 1/1	110
ภาพที่ 50	*Weeksella virosa*, SN 2/1	110
ภาพที่ 51	Unidentified, IN 1/1	111
ภาพที่ 52	*Aeromonas sobria* ตรวจสอบด้วย API20E	112
ภาพที่ 53	*Proteus mirabilis* ตรวจสอบด้วย API20E	112
ภาพที่ 54	*Flavimonas oryzihaditans* ตรวจสอบด้วย API20E	112
ภาพที่ 55	*Pseudomonas putrefaciens* ตรวจสอบด้วย API20E	112
ภาพที่ 56	*Weeksella virosa* ตรวจสอบด้วย API20E	113
ภาพที่ 57	*Providencia alcalifaciens* ตรวจสอบด้วย API20E	113
ภาพที่ 58	*Proteus vulgaris* ตรวจสอบด้วย API20E	113
ภาพที่ 59	*Pseudomonas aeruginosa* ตรวจสอบด้วย API20E	113
ภาพที่ 60	*Plesiomonas shigelloids* ตรวจสอบด้วย API20E	114
ภาพที่ 61	*Bordetella alcaligenes* ตรวจสอบด้วย API20E	114
ภาพที่ 62	*Proteus penneri* ตรวจสอบด้วย API20E	114
ภาพที่ 63	*Edwardsiella tarda* ตรวจสอบด้วย API20E	114
ภาพที่ 64	การ Swab ผิวหนังปลานิล	115
ภาพที่ 65	การผสมด้วยด้วย Votex mixture	115
ภาพที่ 66	ทุกขั้นตอนปฏิบัติด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ	115
ภาพที่ 67	การแยกเหงือกปลานิล	115
ภาพที่ 68	เหงือกปลานิลที่แยกแล้ว	115
ภาพที่ 69	เครื่องในปลานิลที่แยกแล้ว	115
ภาพที่ 70	ทดสอบปฏิกิริยาออกซิเดส ด้วยชุดตรวจสอบ Bactident®	121

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 71	ทดสอบปฏิกิริยาคะตะเลส	121
ภาพที่ 72	แผงควบคุมตู้รมควัน	129
ภาพที่ 73	ชานอ้อยก่อนการอบแห้ง	131
ภาพที่ 74	ชานอ้อยที่ผ่านการอบแห้งที่ อุณหภูมิ 75 ^{0} ซ นาน 24 ชม.	131
ภาพที่ 75	กรอบ (Frame) ที่ใช้ในการตรวจสอบจำนวนแบคทีเรียบริเวณผิวหนังปลานิล	133