การคัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตฮีสทามีนและการวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมักในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช

Isolation of Histamine-Forming Bacteria and Quality Evaluation of Fermented Seafood Products in Nakhon Si Thammarat Province

ลัญจกร จันทร์อุดม[1*] และ มณฑกานต์ ทองสม[1]
Lanchakon Chanudom[1*] and Montakarn Thongsom[1]

บทคัดย่อ

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารทะเลหมักในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราชจาก 6 อำเภอ อำเภอละ 5 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 30 ตัวอย่าง โดยร้อยละ 60 ของตัวอย่างเป็นผลิตภัณฑ์ไตปลาหมัก ร้อยละ 20 เป็นผลิตภัณฑ์กะปิ ร้อยละ 10 เป็นผลิตภัณฑ์ปลาเค็ม ร้อยละ 7 เป็นผลิตภัณฑ์หอยดอง และร้อยละ 3 เป็นผลิตภัณฑ์กุ้งส้ม ซึ่งสามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตฮีสทามีนได้ทั้งหมด 27 ไอโซเลท และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณฮีสทามีนที่เชื้อสร้างขึ้นด้วยชุดวิเคราะห์หาปริมาณฮีสทามีน Veratox® พบว่าสามารถผลิตฮีสทามีนอยู่ในช่วง 35.49±0.01–41.29±0.02 ppm โดยไอโซเลท รหัส A18 A412 และ A51 สามารถสร้างฮีสทามีนได้ในปริมาณสูงอยู่ที่ระดับ 41.28±0.02 41.26±0.02 และ 41.29±0.02 ppm ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์พบว่าค่า pH ของตัวอย่างทั้งหมดอยู่ในช่วงระหว่าง 4-7 โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 5.67±0.63 ในขณะที่ปริมาณเกลือของตัวอย่างทั้งหมดอยู่ในช่วงร้อยละ 5-30 โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 19.56±5.62 ปริมาณ TVB-N ในตัวอย่างทั้งหมดอยู่ในช่วง 200-1,300 mgN/100 g ตัวอย่าง โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 697.53±26.05 mgN/100 g ตัวอย่าง และปริมาณ TMA ในตัวอย่างทั้งหมดอยู่ในช่วง 14-150 mgN/100 g ตัวอย่าง โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 64.02±5.72 mgN/100 g ตัวอย่าง ทั้งนี้จากการวิเคราะห์ปริมาณฮีสทามีนโดยใช้ชุดทดสอบ HistaStrip™ Test manual พบว่าในตัวอย่างรหัส B1 (ผลิตภัณฑ์ปลาเค็ม) และ E3 (ผลิตภัณฑ์ไตปลา) มีปริมาณฮีสทามีนสูงสุดอยู่ในช่วง 75 – 100 ppm เมื่อวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่าในตัวอย่างรหัส B3 (ผลิตภัณฑ์ปลาเค็ม) มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงที่สุดอยู่ที่ 8.8 x 10^6 CFU/g และพบเชื้อ *Escherichia coli* ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์รหัส A2 A4 B3 และ F5

คำสำคัญ: ฮีสทามีน การคัดแยก แบคทีเรียสร้างฮีสทามีน อาหารทะเลหมัก

[1] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

* Corresponding author e-mail: lanchakon@gmail.com

Abstract

Thirty samples of fermented seafood products were collected from 6 cities which was 5 samples per city in the area of Nakhon si thammarat province. Sixty percentages of samples was Tai-pla, 20% of samples was Ka-pi, 10% of samples was Pla-kem, 7% of samples was Hoi-dong and 3% of samples was Kung-som. The isolation of histamine forming bacteria was done on Niven agar and 27 isolates were obtained. Histamine contents were evaluated by Veratox® test kit and were found in the range of 35.49±0.01–41.29±0.02 ppm. Isolates A18 A412 and A51 had the highest histamine contents at 41.28±0.02, 41.26±0.02 and 41.29±0.02 ppm, respectively. The pH of samples was between 4-7 and an average value was 5.67±0.63. Total salt content of samples was between 5-30%, which was the mean value of 19.56±5.62%. TVB-N was ranged 200-1,300 mgN/100 g sample and mean value of 697.53±26.05 mgN/100g sample, TMA of tested samples was 14-150 mgN/100 g sample and mean value at 64.02±5.72 mgN/100 g sample. Moreover the highest histamine content, which was tested by HistaStrip™ Test manual, was found in sample code B1 (Pla-kem) and E3 (Tai-pla) at 75-100 ppm. The highest total microorganism content was observed in sample code B3 (Pla-kem) at $8.8X10^6$ CFU/g. The sample code A2 A4 B3 and F5 were contaminated by *Escherichia coli*.

Keywords: histamine, isolation, histamine forming bacteria, fermented sea food products

บทนำ

จังหวัดนครศรีธรรมราชมีพื้นที่บางส่วนติดกับทะเลอ่าวไทย ทำให้ประชาชนทั่วไปเข้ามาท่องเที่ยวเป็นจำนวนมาก โดยมุ่งเน้นการมารับประทานอาหารทะเล และชมทัศนียภาพบริเวณชายฝั่ง ส่งผลให้มีการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารทะเลในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราชที่มีความหลากหลาย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มรายได้ ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่ายในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราชมีทั้งในรูปของปลาตากแห้ง กะปิ น้ำปลา และอาหารทะเลหมักหลายประเภท อย่างไรก็ตามการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมักในปัจจุบันยังคงอาศัยกรรมวิธีการผลิตอย่างง่าย เป็นธุรกิจขนาดเล็กในครัวเรือน และวางขายในชุมชน ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่ายในพื้นที่ดังกล่าวยังคงมีคุณภาพไม่ได้มาตรฐาน และอาจส่งผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้

ไบโอเจนิกเอมีน (biogenic amine) เป็นสารประกอบไนโตรเจนที่เกิดจากปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิลเลชั่นของกรดอะมิโน (amino acid decarboxylation) โดยอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ (Tsai, Y. H., Lin, C. Y., Chang, S. C., Chen, H. C., Kung, H. F., & Wei, C. I., 2005; Tsai, Y. H., Lin, C. Y., Chien, L. T., Lee, T. M., Wei, C. I., & Hwang, D. F., 2006) พบได้ในอาหารหลายๆ ชนิด

โดยเฉพาะอาหารหมัก เช่น ชีส กิมจิ ไวน์ มิโซ เนื้อหมัก และอาหารทะเลหมัก เป็นต้น ฮีสทามีน (histamine) เป็นสารชนิดหนึ่งที่จัดอยู่ในกลุ่มของไบโอเจนิกเอมีนที่พบได้ทั่วไปในอาหาร และเป็นสารที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพเมื่อบริโภคอาหารที่มีระดับของฮีสทามีนสูง โดยจะส่งผลให้เกิดอาการแพ้ที่เรียกว่า สคอมโบรทอกซิโคซิส (scombrotoxicosis) โดยฮีสทามีนจะไปเพิ่มปริมาณไบโอเจนิกเอมีนชนิดอื่นๆ ได้แก่ คาดาเวอรีน (cadaverine) และพิวเตรสซีน (putrescine) ซึ่งสารทั้งสองนี้จะส่งเสริมความเป็นพิษของฮีสทามีน โดยไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ย่อยฮีสทามีน เช่น ไดเอมีนออกซิเดส (diamine oxidase) และฮีสทามีนเมธิลทรานสเฟอร์เรส (histamine methyl transferase) (Taylor, S. L. & Speckhard, M. W., 1983) ทำให้ร่างกายไม่สามารถย่อยฮีสทามีนได้จึงส่งผลให้ระดับของฮีสทามีนในร่างกายสูงขึ้น ซึ่งจะทำให้เกิดอาการที่แตกต่างกันไปในแต่ละบุคคล เช่น คลื่นไส้ หายใจขัด ปวดหัว มีผื่นแดง และความดันเลือดต่ำ เป็นต้น การสร้างสารพิษฮีสทามีนเกิดจากแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ดีคาร์บอกซิลเลส (decarboxylase) ย่อยสลายกรดอะมิโนฮีสติดีน (histidine) โดยการดึงหมู่คาร์บอกซิลออกจากโมเลกุลของฮีสติดีน (วงศ์ทิพา โรจนประภพ, 2551) แบคทีเรียเหล่านี้พบได้ในผลิตภัณฑ์ปลา อาหารทะเล และอาหารหมัก ในอาหารหมักหลายชนิดสามารถพบแบคทีเรียแลกติกที่ผลิตฮีสทามีนได้ ได้แก่ *Lactobacillus*, *Leuconostoc* และ *Pediococcus* ส่วนจุลินทรีย์อื่นๆ ที่สามารถผลิตฮีสทามีนได้ในอาหารหมัก ได้แก่ *Staphylococcus* spp., *Enterobacter cloacae* และ *Candida* spp. เป็นต้น (Wyder, M. T., Bachmann, H. P. & Puhan, Z., 1999) ดังนั้นการรับประทานปลา อาหารทะเล และอาหารทะเลหมัก อาจได้รับสารฮีสทามีนปนเปื้อนมากับอาหาร สำหรับปริมาณฮีสทามีนที่พบในผลิตภัณฑ์นั้นสามารถบ่งบอกถึงคุณภาพอาหารได้ เนื่องจากปริมาณที่พบจะสัมพันธ์กับปริมาณของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ดีคาร์บอกซิเลส (decarboxylase enzyme) ในผลิตภัณฑ์ อย่างไรก็ตามฮีสทามีนเป็นสารที่สามารถพบได้ในร่างกาย โดยมีบทบาทในการควบคุมการทำงานของส่วนต่างๆ ในร่างกาย เช่น ควบคุมการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร กระตุ้นการทำงานของระบบอิมมูนในระบบทางเดินอาหาร และควบคุมการทำงานของระบบประสาท (Gloria, M. B. A., 2005; Smolinska, S., Jutel, M., Crameri, R., & O'Mahony, L., 2014)

ทั้งนี้ในปี พ.ศ. 2550 พบปัญหาสุขภาพที่เกิดจากการรับประทานอาหารทะเลหมักในประเทศไทย ที่จังหวัดสมุทรปราการ โดยมีผู้ป่วย 28 คน เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน และชาปลายมือปลายเท้า หลังจากการรับประทานปลาทูน่าส้มทอดที่มีปริมาณฮีสทามีนสูงกว่า 400 ppm เข้าไป ซึ่งถือเป็นผลเสียที่เกิดขึ้นจากการบริโภคผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมัก นอกจากนี้ในปัจจุบันหลายประเทศได้หันมาให้ความสำคัญกับปริมาณฮีสทามีนในอาหารทะเลและผลิตภัณฑ์ทางทะเลกันมากขึ้น เช่น ในผลิตภัณฑ์น้ำปลานั้น ทุกประเทศกำหนดให้สามารถตรวจพบฮีสทามีนได้ไม่เกิน 500 ppm ยกเว้นประเทศแคนาดา ที่กำหนดให้สามารถตรวจพบได้ไม่เกิน 200 ppm หรือในผลิตภัณฑ์ปลาทูเค็ม ทุกประเทศกำหนดให้สามารถตรวจพบได้ไม่เกิน 200 ppm เป็นต้น (European Food Safety Authority, 2011) ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค การศึกษาเพื่อคัดแยกแบคทีเรียที่สร้างฮีสทามีนและการวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมักในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราชจึงมีความจำเป็น ทั้งนี้เพื่อให้เกิดการพัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมักในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราชสำหรับประโยชน์ด้านการส่งออกต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่าง

สุ่มตัวอย่างอาหารทะเลหมักในเขตพื้นที่ 6 อำเภอที่ติดกับทะเลอ่าวไทยของจังหวัดนครศรีธรรมราช ได้แก่ อำเภอขนอม อำเภอสิชล อำเภอท่าศาลา อำเภอเมือง อำเภอปากพนัง และอำเภอหัวไทร อำเภอละ 5 ตัวอย่าง เป็นจำนวนทั้งหมด 30 ตัวอย่าง

2. การคัดแยกแบคทีเรียที่สร้างฮีสทามีนจากตัวอย่างอาหารทะเลหมัก

นำตัวอย่างอาหารทะเลหมักมา 25 g ผสมกับสารละลาย potassium phosphate buffer (0.05 M, pH 7.0) ปริมาตร 225 ml จากนั้นโฮโมจีไนส์เป็นเวลา 2 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างปริมาตร 0.1 ml เกลี่ยลงบนอาหาร Niven agar ที่ประกอบไปด้วย 0.5% tryptone, 0.5% yeast extract, 2% L-histidine monohydrochloride, 0.5% NaCl, 0.1% $CaCO_3$, 2.0% agar และ 0.006% bromocresol purple (pH 5.3) บ่มเป็นเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิ 35°C เลือกโคโลนีที่เป็นสีน้ำเงินหรือม่วง ไป streak ลงบนอาหาร Trypticase soy agar (TSA) เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์สำหรับการวิเคราะห์การสร้างฮีสทามีนของเชื้อที่คัดแยกได้ จากนั้นทำการเลี้ยงเชื้อที่คัดแยกได้ในอาหารเหลว Trypticase soy broth (TSB) ที่มีการเติม 1% L-histidine และ 3% NaCl (TSBH) บ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 °C โดยไม่ต้องเขย่า ทำการเก็บตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ml ไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณฮีสทามีนด้วยชุดวิเคราะห์หาปริมาณฮีสทามีน Veratox® โดยนำเชื้อที่สร้างฮีสตามีนที่คัดแยกได้มาทำการย้อมแกรม และศึกษาลักษณะรูปร่างของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3. การวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมัก

3.1 การวิเคราะห์ค่าพีเอช ปริมาณเกลือ ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total volatile base nitrogen: TVB-N) และปริมาณไตรเมทิลเอมีน (Trimethylamine: TMA)

การวิเคราะห์ค่าพีเอช ทำโดยนำตัวอย่างมา 10 g เติมน้ำกลั่นลงไป 10 ml ปั่นด้วยเครื่องปั่นเป็นเวลา 5 นาที วัดค่าพีเอชด้วยเครื่อง pH meter วิเคราะห์ปริมาณเกลือในตัวอย่างอาหารทะเลหมักตามวิธี AOAC (1995) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ TVB-N และปริมาณ TMA ทำโดยเตรียมตัวอย่างโดยการชั่งอาหารทะเลหมัก 2 g และบดตัวอย่างให้ละเอียด เติม 4 % trichloroacetic acid (TCA) ปริมาตร 8 ml บดรวมกัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที และบดเป็นระยะๆ กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 นำไปใส่ในเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 30 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที วิเคราะห์ปริมาณ TVB-N โดยใช้ Conway's dish และวิเคราะห์ปริมาณ TMA เช่นเดียวกับการหาปริมาณ TVB-N (Hasegawa, H., 1987)

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณฮีสทามีนในตัวอย่างอาหารทะเลหมัก

ทำการวิเคราะห์ปริมาณฮีสทามีนในตัวอย่างอาหารทะเลหมักโดยใช้ชุดทดสอบ HistaStrip™ Test Manual ซึ่งมีวิธีการทดสอบดังนี้ เตรียมตัวอย่างจากอาหารทะเลหมัก โดยการเตรียม enrichment solution (1X) : ให้ผสม 1 ส่วน ของขวด enrichment solution (20X) เข้ากับอีก 19 ส่วน ของน้ำกลั่น ชั่งตัวอย่างมา 20 g แล้วบดให้ละเอียด หลังจากนั้นแบ่งตัวอย่างมา 4 g เพื่อขจัดสิ่งปนเปื้อน ใส่สาร enrichment solution จำนวน 16 ml นำไปปั่นด้วยเครื่อง vortex ที่

ความเร็วสูงสุด เป็นเวลา 30 วินาที บ่มตัวอย่างเป็นเวลา 1 นาที เขย่าอีก 30 วินาที และบ่มตัวอย่างอีกครั้งเป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้เศษตัวอย่างตกลงก้นหลอด

นำ color solution ผสมกับ neutralization buffer ในอัตราส่วนเท่าๆ กัน ได้เป็นสารปฏิกิริยาผสม (reaction mixture) เติม 40 µl ของสารปฏิกิริยาผสมลงในหลุมทดสอบ หลังจากนั้นเติมตัวอย่างอาหารทะเลหมักและตัวอย่างควบคุม (ฮีสทามีน 50 ppm) ปริมาตร 200 µl ลงไปในหลุมที่มีสารปฏิกิริยาผสม จุ่มแผ่นทดสอบลงในแต่ละหลุม จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 1 นาที นำแผ่นทดสอบออกมาวางทิ้งไว้ 3 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไปอ่านเทียบกับแผ่นเทียบระดับสี

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในตัวอย่างอาหารทะเลหมัก

นำตัวอย่างอาหารทะเลหมักมา 25 g ผสมกับสารละลาย potassium phosphate buffer (0.05 M, pH 7.0) ปริมาตร 225 ml จากนั้นโฮโมจีไนส์เป็นเวลา 2 นาที ทำการเจือจางตัวอย่างที่ระดับการเจือจางต่างๆ แล้วจึงปิเปต 1 ml ของแต่ละระดับการเจือจางลงบนอาหาร plate count agar (PCA) ที่เติม 3% NaCl ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 35 $^{\circ}$C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนและรายงานปริมาณจุลินทรีย์ในหน่วย $\log_{10}$ colony forming units (CFU)/g วิเคราะห์ปริมาณ total coliform และ *Escherichia coli* ในตัวอย่างตามวิธีมาตรฐาน (AOAC, 2000)

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ในทุกชุดการทดลอง และแสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean ± S.D.) วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามวิธี Duncan's new multiple range test ซึ่งวิเคราะห์โดยเครื่องคอมพิวเตอร์และใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

ผลการวิจัย และอภิปรายผลการวิจัย

จากการลงพื้นที่สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารทะเลหมักในเขตพื้นที่ 6 อำเภอที่ติดกับทะเลอ่าวไทยของจังหวัดนครศรีธรรมราช ได้แก่ อำเภอขนอม อำเภอสิชล อำเภอท่าศาลา อำเภอเมือง อำเภอปากพนัง และอำเภอหัวไทร จำนวน 30 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบไปด้วยผลิตภัณฑ์ไตปลา กะปิ กุ้งส้ม หอยดอง และปลาเค็ม เมื่อนำมาจำแนกประเภทของตัวอย่างออกเป็นกลุ่มๆ พบว่าร้อยละ 60 ของตัวอย่างที่นำมาศึกษาเป็นผลิตภัณฑ์ไตปลาหมัก ร้อยละ 20 เป็นผลิตภัณฑ์กะปิ ร้อยละ 10 เป็นผลิตภัณฑ์ปลาเค็ม ร้อยละ 7 เป็นผลิตภัณฑ์หอยดอง และร้อยละ 3 เป็นผลิตภัณฑ์กุ้งส้ม จากนั้นทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สร้างฮีสทามีน และนำตัวอย่างทั้ง 30 ตัวอย่าง ไปทำการวิเคราะห์หาค่าพีเอช ปริมาณเกลือ ปริมาณ TVB-N ปริมาณ TMA ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณ coliform ทั้งหมด และ *E. coli* ให้ผลการวิจัย ดังนี้

1. การคัดแยกแบคทีเรียที่สร้างฮีสทามีนและการสร้างฮีสทามีนของเชื้อที่คัดแยกได้

จากการคัดแยกเชื้อโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Niven agar ที่มีการเติม 1% L-histidine และ 5% NaCl และทำการคัดแยกโคโลนีที่เป็นสีน้ำเงินอมม่วงหรือสีชมพู ไป streak ลงบนอาหาร TSA เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ จากการทดลองคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สร้างฮีสทามีนจากตัวอย่างอาหารทะเลหมักจำนวน 30 ตัวอย่าง สามารถคัดแยกเชื้อได้ทั้งหมด 27 isolates โดยพบว่ามีทั้งรูปร่างกลมเดี่ยว กลมคู่ ท่อน และท่อนสั้น โดยมีแบคทีเรียที่ติดสีแกรมบวก (positive) ทั้งสิ้น 5 isolates (A14 A16

A47 A51 และ B25) และติดสีแกรมลบ (negative) ทั้งสิ้น 22 isolates (A11 A12 A13 A15 A17 A18 A110 A41 A42 A43 A44 A45 A46 A48 A49 A4110 A412 A52 B21 B22 B23 และ B24) จากการวิเคราะห์ปริมาณการสร้างฮีสทามีนของเชื้อทั้ง 27 isolates พบว่า isolates A18 A412 และ A51 สามารถสร้างฮีสทามีนได้สูงสุด ซึ่งอยู่ที่ระดับ 41.28±0.02, 41.26±0.02 และ 41.29±0.02 ppm ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

จากตารางที่ 1 ปริมาณฮีสทามีนที่สร้างขึ้นจากเชื้อที่คัดแยกทั้ง 27 isolates มีค่าอยู่ในช่วง 35.49±1.2 – 41.29±0.02 ppm โดย isolate A47 สามารถผลิตฮีสทามีนได้ต่ำสุดในอาหาร TSBH ศิริรัตน์ ตันไสว (2547) ได้รายงานผลการคัดแยกแบคทีเรียแลกติกจำนวน 251 isolates จากตัวอย่างอาหารหมักไทย 33 ตัวอย่าง พบว่ามี 115 isolates ที่เจริญที่อุณหภูมิ 45 °C และมีเพียง 16 isolates ที่สามารถสร้างเอนไซม์โปรติเอส เมื่อนำเชื้อที่สร้างเอนไซม์โปรติเอสไปทดสอบความสามารถในการสังเคราะห์ไบโอเจนิกเอมีน พบว่าแบคทีเรียแลกติกจำนวน 3 isolates คือ *Lactobacillus* sp. H2 H5 และ H15 แสดงความสามารถในการสร้างฮีสทามีน และ 4 isolates คือ *Lactobacillus* sp. R1 และ R2 และ *Enterococcus* sp. AC2 และ AC3 แสดงความสามารถในการสร้าง tyramine ได้ ในขณะที่ Lin, C. S., Liu, F. L., Lee, Y. C., Hwang, C.C., & Tsai, Y.H., (2012) ได้ทำการเก็บตัวอย่างอาหารทะเลหมักเกลือจำนวน 57 ตัวอย่าง (ผลิตภัณฑ์ปลา, หอย และกุ้งหมัก) จากหมู่บ้านประมงในประเทศไต้หวัน และสามารถคัดแยกเชื้อที่สามารถผลิตฮีสทามีน ได้ 78.5 ppm ในอาหาร trypticase soy broth (TSB) ที่เติม 1% L-histidine (TSBH) โดยสามารถระบุได้ว่าเป็นเชื้อ *Bacillus megaterium* ซึ่งเชื้อ *B. megaterium* เป็นเชื้อที่ทนเกลือได้ดี

ตารางที่ 1 ปริมาณฮีสทามีนที่สร้างขึ้นในอาหาร TSBH ของเชื้อที่คัดแยกได้ ทั้ง 27 isolates

Isolates	ปริมาณฮีสทามีน (ppm)	Isolates	ปริมาณฮีสทามีน (ppm)
A11	39.49 ± 1.11^{g}	A46	$41.19\pm1.33^{n,o}$
A12	40.05 ± 1.80^{i}	A47	35.49 ± 1.20^{a}
A13	38.53 ± 1.20^{e}	A48	41.07 ± 1.44^{m}
A14	$41.21\pm1.72^{n,o,p}$	A49	40.59 ± 1.70^{k}
A15	$41.23\pm1.61^{o,p,q}$	A410	39.21 ± 0.69^{f}
A16	41.18 ± 0.90^{n}	A412	$41.26\pm0.02^{q,r}$
A17	$41.25\pm1.43^{p,q,r}$	A51	41.29 ± 0.02^{r}
A18	41.28 ± 0.02^{r}	A52	36.81 ± 1.48^{b}
A110	$41.26\pm0.67^{q,r}$	B21	37.32 ± 1.69^{d}
A41	41.01 ± 1.62^{l}	B22	36.85 ± 1.15^{c}
A42	39.98 ± 2.29^{h}	B23	$41.26\pm0.91^{q,r}$
A43	40.21 ± 0.57^{j}	B24	41.17 ± 1.57^{n}
A44	$41.23\pm1.61^{o,p,q}$	B25	$41.23\pm0.99^{o,p,q}$
A45	$41.25\pm1.40^{p,q,r}$		

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละตัวอย่าง แสดงถึงการมีค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

2. การวิเคราะห์ค่าพีเอช ปริมาณเกลือ ปริมาณ TVB-N และปริมาณ TMA ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมัก

จากการวิเคราะห์ค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมักทั้ง 30 ตัวอย่าง พบว่าค่าพีเอชของตัวอย่างทั้งหมดอยู่ในช่วง 4-7 โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 5.67±0.63 (ตารางที่ 2) เมื่อพิจารณาตามประเภทของผลิตภัณฑ์โดยนำผลการวิเคราะห์ที่ได้เปรียบเทียบกับเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ในแต่ละผลิตภัณฑ์ โดยผลิตภัณฑ์กะปิควรมีค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 6.5-7.8 (มอก. 1080-2535) ผลิตภัณฑ์หอยดองและกุ้งส้มเกณฑ์ควรมีค่าพีเอชเท่ากับ 4.6 ผลิตภัณฑ์ไตปลาควรมีค่าพีเอชระหว่าง 5-6 (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน, 2546) ส่วนในผลิตภัณฑ์ปลาเค็มไม่ได้กำหนดเกณฑ์มาตรฐานของค่าพีเอชไว้ โดยพบว่าค่าพีเอชเฉลี่ยของตัวอย่างผลิตภัณฑ์กะปิมีค่าเท่ากับ 6.61±0.19 ในขณะที่ค่าพีเอชเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์หอยดองมีค่าเท่ากับ 4.65±0.21 ผลิตภัณฑ์กุ้งส้มมีค่าเท่ากับ 4.57±0.00 ค่าพีเอชเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์ไตปลามีค่าเท่ากับ 5.62±0.04 และพีเอชเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์ปลาเค็มมีค่าเท่ากับ 5.16±0.22 ตามลำดับ ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมักทั้งหมดที่นำมาทำการทดสอบในครั้งนี้ ส่วนใหญ่มีค่าพีเอชอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์ที่กำหนดไว้

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณเกลือของผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมักทั้ง 30 ตัวอย่าง พบว่าปริมาณเกลือของตัวอย่างทั้งหมดอยู่ในช่วงร้อยละ 5-30 โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 19.56±5.62 และเมื่อพิจารณาตามประเภทของผลิตภัณฑ์โดยนำผลการวิเคราะห์ปริมาณเกลือที่ได้ไปเปรียบเทียบกับเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนที่กำหนดไว้ให้ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ดังนี้ เกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกำหนดให้ในผลิตภัณฑ์กะปิมีปริมาณเกลือไม่น้อยกว่าร้อยละ 36 ผลิตภัณฑ์หอยดองและกุ้งส้มเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนได้กำหนดให้มีปริมาณเกลือไม่น้อยกว่าร้อยละ 3.5 ผลิตภัณฑ์ไตปลาเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนได้กำหนดให้มีปริมาณเกลือไม่น้อยกว่าร้อยละ 12 และในผลิตภัณฑ์ปลาเค็มเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนได้กำหนดให้มีปริมาณเกลือไม่น้อยกว่าร้อยละ 10 พบว่าปริมาณเกลือเฉลี่ยในผลิตภัณฑ์กะปิมีค่าเท่ากับร้อยละ 25.07±1.89 ในขณะที่ปริมาณเกลือเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์หอยดองมีค่าเท่ากับร้อยละ 12.40±6.08 ปริมาณเกลือเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มมีค่าเท่ากับร้อยละ 6.40±0.00 ปริมาณเกลือเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์ไตปลามีค่าเท่ากับร้อยละ 19.77±0.69 และปริมาณเกลือเฉลี่ยของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ปลาเค็มมีค่าเท่ากับร้อยละ 16.43±4.75 ตามลำดับ ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าในผลิตภัณฑ์กะปิส่วนใหญ่จะมีปริมาณเกลือในผลิตภัณฑ์ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนที่กำหนด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความต้องการของผู้บริโภคที่นิยมผลิตภัณฑ์กะปิที่มีความเค็มไม่มาก ส่งผลให้ผู้ผลิตปรับลดปริมาณเกลือในกระบวนการผลิต อย่างไรก็ตามในผลิตภัณฑ์ประเภทอื่นๆ ปริมาณเกลืออยู่ในระดับตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ดังแสดงในตารางที่ 2

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณ TVB-N ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมักทั้ง 30 ตัวอย่าง พบว่าปริมาณ TVB-N ในตัวอย่างทั้งหมดอยู่ในช่วง 200-1,300 mgN/100 g ตัวอย่าง โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 697.53±26.05 mgN/100 g ตัวอย่าง (ดังแสดงในตารางที่ 2) ทั้งนี้ปริมาณ TVB-N ไม่ได้ถูกกำหนดไว้ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมัก เนื่องจาก TVB-N เป็นดัชนีที่ใช้บ่งชี้ความสดของผลิตภัณฑ์ จึงไม่สามารถนำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารหมักได้ อย่างไรก็ตามปริมาณ TVB-N แสดงถึงปริมาณด่างที่ระเหยได้ซึ่งหมายรวมถึงปริมาณไนโตรเจนที่มีในผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการวิเคราะห์ปริมาณ TVB-N จึงถูกนำมาทดสอบเพื่อ

บ่งชี้ปริมาณไนโตรเจนที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ โดยปริมาณ TVB-N จะสัมพันธ์กับปริมาณฮีสทามีนที่พบในผลิตภัณฑ์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25°C (Al-Busaidi, M. A., Poulose, Y., Khamis, S. A., Adel, K. A., Nashwa, A. A., & Saoud, H. A., 2011)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณ TMA ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมักทั้ง 30 ตัวอย่าง พบว่าปริมาณ TMA ในตัวอย่างทั้งหมดมีค่าอยู่ในช่วง 14-150 mgN/100 g ตัวอย่าง โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 64.02±5.72 mgN/100 g ตัวอย่าง โดยพบปริมาณ TMA สูงที่สุดในผลิตภัณฑ์รหัส A2 ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์กะปิ โดย TMA เกิดขึ้นจากการเปลี่ยน Trimethylamine oxide (TMAO) ด้วยเอนไซม์ trimethylamine oxidase จากปฏิกิริยารีดักชันของแบคทีเรีย ไปเป็น TMA ซึ่งพบมากในแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriacae ซึ่งปริมาณ TMA ที่พบในผลิตภัณฑ์สามารถบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriacae ได้ โดยผลการวิเคราะห์ปริมาณ TMA แสดงดังตารางที่ 2

3. การวิเคราะห์ปริมาณฮีสทามีนในตัวอย่างอาหารทะเลหมัก

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฮีสทามีนโดยใช้ชุดทดสอบ HistaStrip™ Test Manual ในตัวอย่างอาหารทะเลหมัก 30 ตัวอย่าง แสดงผลในตารางที่ 2 จากตารางพบว่าในตัวอย่างรหัส A3 A4 A5 B3 B4 B5 C4 D2 D5 E1 F2 และ F5 มีปริมาณฮีสทามีนอยู่ในช่วง 0–25 ppm ในขณะที่ตัวอย่างรหัส A1 A2 B2 C1 C2 C3 C5 D1 D3 D4 E2 E5 F1 และ F3 มีปริมาณฮีสทามีนอยู่ในช่วง 25–50 ppm ตัวอย่างรหัส E4 และ F4 มีปริมาณฮีสทามีนอยู่ในช่วง 50–75 ppm และในตัวอย่างรหัส B1 และ E3 มีปริมาณฮีสทามีนสูงสุดอยู่ในช่วง 75–100 ppm โดยรหัสตัวอย่าง B1 เป็นผลิตภัณฑ์ปลาเค็ม และตัวอย่างรหัส E3 เป็นผลิตภัณฑ์ไตปลา โดยการสร้างสารฮีสทามีนในอาหารที่มีแหล่งโปรตีนเกิดจากแบคทีเรียที่อยู่ในอาหารมีการเจริญและสร้างเอนไซม์ดีคาร์บอกซิลเลสย่อยสลายกรดอะมิโนฮีสติดีน โดยการดึงหมู่คาร์บอกซิลออกจากโมเลกุลของฮีสติดีน ได้เป็นฮีสทามีนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (วงศ์ทิพา โรจนประภพ, 2551) เมื่อบริโภคอาหารที่มีระดับของฮีสทามีนสูงจะมีผลทำให้เกิดอาการแพ้ ที่เรียกว่า scombrotoxicosis อย่างไรก็ตามปริมาณฮีสทามีนที่พบในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมักที่นำมาทดสอบในครั้งนี้ยังคงอยู่ในระดับต่ำ ทั้งนี้ในผลิตภัณฑ์น้ำปลาทุกประเทศกำหนดให้สามารถตรวจพบได้ไม่เกิน 500 ppm ยกเว้นประเทศแคนนาดา ที่กำหนดให้สามารถตรวจพบได้ไม่เกิน 200 ppm หรือในผลิตภัณฑ์ปลาทูเค็ม ทุกประเทศกำหนดให้สามารถตรวจพบได้ไม่เกิน 200 ppm Zhai, H., Yang, X., Li, L., Xia, G., Cen, J., & Huang, H., *et al*. (2012) ทำการศึกษาปริมาณไบโอเจนิกเอมีน 8 ชนิด (histamine, tryptamine, putrescine, 2-phenylethylamine, cadaverine, tyramine, spermidine และ spermine) ในปลา 13 ชนิด และในผลิตภัณฑ์ปลา 49 ชนิด ที่นิยมรับประทานทางตอนใต้ของจีน พบว่าปริมาณไบโอเจนิกเอมีนในตัวอย่างปลา อยู่ในช่วง 5.03–156.17 mg/kg โดยมีปริมาณฮีสทามีนต่ำกว่า 21.85 mg/kg และพบปริมาณไบโอเจนิกเอมีนสูงในผลิตภัณฑ์ปลาหมักและปลาบรรจุถุง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์ปลาแมกคาเรลหมักเกลือความเข้มข้นต่ำ (lightly cured horse mackerel) พบปริมาณ 2-phenylethylamine เท่ากับ 57.61 mg/kg cadaverine เท่ากับ 244.41 mg/kg และมีปริมาณ tyramine เท่ากับ 62.85 mg/kg

ตารางที่ 2 คุณภาพทางเคมีของผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมัก

รหัสตัวอย่าง	พีเอช	NaCl (%)	TVB-N (mgN/100g sample)	TMA (mgN/100g sample)	Histamine (ppm)
A1	5.27±0.15^{d}	19.13±0.25^{k}	1316.65±56.43^{m}	124.21±8.61^{h}	25-50
A2	6.33±0.12^{k}	18.87±0.12^{j}	596.22±14.91^{f}	149.05±14.91^{i}	25-50
A3	5.60±0.10^{f,g,h}	19.55±0.05$_{l,m}$	772.37±30.72^{g}	122.99±8.52^{g,h}	0-25
A4	5.25±0.05^{d}	18.30±0.10^{h}	1003.59±14.76^{i,j}	108.23±8.52^{g}	0-25
A5	5.73±0.06^{g,h,l,j}	16.10±0.10^{f}	978.99±22.54^{i,j}	83.63±8.52^{f}	0-25
B1	5.47±0.12^{d,e,f}	23.05±0.05^{t}	760.18±39.44^{g}	79.50±8.61^{e,f}	75-100
B2	5.57±0.06^{f,g}	19.07±0.06^{k}	360.90±30.87^{c}	84.05±17.13^{f}	25-50
B3	4.73±0.12^{b,c}	7.30±0.10^{b}	269.64±54.01^{b}	64.91±17.29^{d,e}	0-25
B4	5.87±0.06^{i,j}	21.30±0.10^{p}	1027.90±8.44^{j}	87.69±14.61^{f}	0-25
B5	6.97±0.15^{m}	24.20±0.10^{v}	736.64±37.33^{g}	54.38±8.56^{c,d}	0-25
C1	5.53±0.21^{e,f,g}	22.35±0.05^{r,s}	894.84±30.87^{h}	84.05±8.56^{f}	25-50
C2	5.70±0.10^{f,g,h,l,j}	22.45±0.05^{s}	904.27±22.77^{h}	64.59±8.61^{d,e}	25-50
C3	6.63±0.06^{l}	30.77±0.15^{y}	329.61±8.52^{c}	44.28±0.13^{b,c}	25-50
C4	5.63±0.15^{f,g,h,i}	19.45±0.05^{l}	745.35±29.23^{g}	63.33±8.44^{d,e}	0-25
C5	5.63±0.06^{f,g,h,i}	23.77±0.06^{u}	594.33±30.42^{f}	63.33±8.44^{d,e}	25-50
D1	5.33±0.06^{d,e}	22.20±0.10^{r}	969.29±29.37^{i}	48.95±8.48^{c,d}	25-50
D2	5.63±0.15^{f,g,h,i}	19.80±0.10^{n}	964.40±22.43^{i}	48.95±8.48^{c,d}	0-25
D3	5.83±0.06^{h,l,j}	20.70±0.10^{o}	435.69±16.96^{d}	44.06±0.92^{b,c}	25-50
D4	4.50±0.10^{a}	16.60±0.10^{g}	1248.33±52.95^{l}	48.95±8.48^{c,d}	25-50
D5	6.55±0.05^{l}	26.00±0.10^{w}	279.04±14.69^{b}	48.95±8.48^{c,d}	0-25
E1	4.80±0.10^{c}	8.12±0.76^{c}	270.57±22.54^{b}	14.76±0.84^{a}	0-25
E2	5.90±0.10^{j}	12.20±0.10^{d}	437.23±31.03^{d}	54.65±8.61^{c,d}	25-50
E3	5.60±0.10^{f,g,h}	15.40±0.10^{e}	901.24±22.32^{h}	29.23±1.02^{a,b}	75-100
E4	5.90±0.10^{j}	21.20±0.10^{p}	198.74±47.91^{a}	14.91±0.56^{a}	50-75
E5	5.57±0.21^{f,g}	19.70±0.10^{m,n}	1096.58±30.57^{k}	39.16±8.48^{b,c}	25-50
F1	5.47±0.15^{d,e,f}	18.50±0.10^{i}	720.43±22.77^{g}	49.68±8.61^{c,d}	25-50
F2	5.63±0.21^{f,g,h,i}	23.00±0.10^{t}	467.67±14.61^{d,e}	53.59±8.44^{c,d}	0-25
F3	4.57±0.15^{a,b}	6.40±0.05^{a}	764.83±8.44^{g}	63.33±8.44^{d,e}	25-50
F4	5.70±0.20^{f,g,h,l,j}	21.60±0.10^{q}	511.51±14.61^{e}	29.23±3.25^{a,b}	50-75
F5	7.30±0.10^{n}	29.40±0.10^{x}	368.97±29.52^{c}	54.11±8.52^{c,d}	0-25

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงถึงการมีค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4. การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด total coliform และ *E. coli* ในตัวอย่างอาหารทะเลหมัก

จากการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมัก พบว่าตัวอย่าง B3 (ผลิตภัณฑ์ปลาเค็ม) มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงที่สุดอยู่ที่ 8.8×10^6 CFU/g รองลงมาคือตัวอย่าง D1 และ C2 (ผลิตภัณฑ์ไตปลา) ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 5.8×10^5 และ 5.7×10^5 CFU/g ตามลำดับ และเมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มทั้งหมดและ *E. coli* ตามวิธีมาตรฐาน พบว่าผลิตภัณฑ์ F5 (ผลิตภัณฑ์กะปิ) มีปริมาณโคลิฟอร์มทั้งหมดสูงที่สุด และพบเชื้อ *E. coli* ในผลิตภัณฑ์ A2 A4 B3 และ F5 โดยจุลินทรีย์กลุ่มที่เกี่ยวข้องกับอาหารหมักมากที่สุด คือ แบคทีเรียแลกติก โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้จะผลิตสารต่างๆ เช่น กรดอินทรีย์ เอนไซม์ สารให้กลิ่นรส และสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอื่นๆ ที่ไม่ต้องการในระหว่างกระบวนการผลิต ดังนั้นปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบในตัวอย่างที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ จึงมิได้บ่งบอกถึงอันตรายในการบริโภคผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมัก (ตารางที่ 3) แต่อย่างไรก็ตามการตรวจพบเชื้อ *E. coli* ในผลิตภัณฑ์บางตัวอย่างนั้นสามารถบอกได้ถึงการสุขาภิบาลที่ไม่ดีพอในระหว่างกระบวนการผลิต ผู้บริโภคจึงควรปรุงสุกอาหารก่อนการรับประทาน

ตารางที่ 3 คุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมัก

รหัสตัวอย่าง	Total bacteria (CFU/g)	Total coliform (MPN index/100ml)	รหัสตัวอย่าง	Total bacteria (CFU/g)	Total coliform (MPN index/100ml)
A1	1.0×10^4	3	D1	5.8×10^5	21
A2	9.7×10^4	23	D2	>30	3
A3	>30	3	D3	5.5×10^4	3
A4	1.0×10^4	240	D4	1.9×10^4	3
A5	1.0×10^3	3	D5	5.4×10^4	3
B1	6.2×10^3	9	E1	>30	23
B2	3.0×10^3	3	E2	4.7×10^3	240
B3	8.8×10^6	43	E3	>30	3
B4	5.5×10^3	3	E4	1.4×10^5	4
B5	7.1×10^3	23	E5	>30	3
C1	5.7×10^5	3	F1	>30	3
C2	2.7×10^3	3	F2	>30	3
C3	8.0×10^3	4	F3	>30	3
C4	3.1×10^3	3	F4	>30	3
C5	>30	3	F5	4.7×10^4	1,100

สรุปผลการวิจัย

จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สร้างฮีสทามีนในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมักใน 6 อำเภอ ในจังหวัดนครศรีธรรมราช สามารถคัดแยกเชื้อได้ทั้งหมด 27 isolates โดยพบว่าเชื้อที่คัดแยกได้มีรูปร่างเป็นทั้งแบบกลมเดี่ยว กลมคู่ ท่อนและท่อนสั้น โดยมีแบคทีเรียที่ติดสีแกรมบวกทั้งสิ้น 5 isolates และติดสีแกรมลบทั้งสิ้น 22 isolates ทั้งนี้พบว่า isolates A18 A412 และ A51 สามารถสร้างฮีสทามีนได้ในปริมาณสูงสุด และจากการวิเคราะห์ค่าพีเอชปริมาณเกลือ ปริมาณ TVB-N และปริมาณ TMA ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมักทั้ง 30 ตัวอย่าง พบว่าค่าพีเอชของตัวอย่างทั้งหมดอยู่ในช่วง 4-7 ในขณะที่ปริมาณเกลือของตัวอย่างทั้งหมดอยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 5-30 อย่างไรก็ตามในผลิตภัณฑ์กะปิส่วนใหญ่ปริมาณเกลือในผลิตภัณฑ์ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน การวิเคราะห์ปริมาณ TVB-N ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลทั้ง 30 ตัวอย่าง พบว่าปริมาณ TVB-N อยู่ในช่วง 200-1,300 mgN/100 g ตัวอย่าง สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณ TMA ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลทั้ง 30 ตัวอย่าง พบว่าปริมาณ TMA ในตัวอย่างทั้งหมดอยู่ในช่วง 14-150 mgN/100 g ตัวอย่าง โดยพบปริมาณ TMA สูงที่สุดในผลิตภัณฑ์รหัส A2 ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์กะปิ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฮีสทามีนในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมัก พบว่ามี 12 ตัวอย่าง ที่มีปริมาณฮีสทามีนอยู่ในช่วง 0–25 ppm มี 14 ตัวอย่าง ที่มีปริมาณฮีสทามีนอยู่ในช่วง 25–50 ppm และมี 2 ตัวอย่าง ที่มีปริมาณฮีสทามีน อยู่ในช่วง 50–75 ppm โดยที่ตัวอย่างรหัส B1 (ปลาเค็ม) และ E3 (ไตปลา) มีปริมาณฮีสทามีนสูงสุด โดยมีค่าอยู่ในช่วง 75–100 ppm จากการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมัก พบว่าตัวอย่าง B3 (ผลิตภัณฑ์ปลาเค็ม) มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงที่สุดอยู่ที่ 8.8 x 10^6 CFU/g รองลงมาคือตัวอย่าง D1 และ C2 (ผลิตภัณฑ์ไตปลา) ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 5.8 x 10^5 และ 5.7 x 10^5 CFU/g ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มทั้งหมด และ *E. coli* พบว่าผลิตภัณฑ์ F5 (ผลิตภัณฑ์กะปิ) มีปริมาณโคลิฟอร์ม ทั้งหมดสูงที่สุด และพบเชื้อ *E. coli* ในผลิตภัณฑ์ A2 A4 B3 และ F5

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

เอกสารอ้างอิง

วงศ์ทิพา โรจนประภพ. (2551). *ฮีสทามีนสารที่ทำให้เกิดอาการแพ้เมื่อรับประทานอาหารทะเล บทความกระจายเสียงรายการวันนี้กับวิทยาศาสตร์ ครั้งที่ 3*, ค้นเมื่อ 25 กันยายน 2555, จาก: http:// siweb.dss.go.th/dss_doc/fulltext/radio/R3.pdf.

ศิริรัตน์ ตันไสว. (2547). *การศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียกรดแลกติกทนร้อนที่ผลิตสารไบโอเจนิกเอมีนจากอาหารหมักไทย*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. (2546). *มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน*. ค้นเมื่อ 3 พฤษภาคม 2560, จาก: http://tcps.tisi.go.th/public/StandardList.aspx.

A.O.A.C. (1995). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. (16th ed). Arlington, Virginia: The association of Official Analytical Chemists.

A.O.A.C. (2000). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. (17th ed). Arlington, Virginia: The association of Official Analytical Chemists.

Al-Busaidi M. A., Poulose Y., Khamis S. A., Adel K. A., Nashwa A. A., & Saoud H. A. (2011). Changes in scomberotoxin (histamine) and volatile amine (TVB-N) formation in Longtail Tuna (*Thunnus tonggol*) stored at different temperatures. *Agricultural and Marine Sciences*, 16, 13-22.

European Food Safety Authority. (2011). Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. Panel on biological hazards. *European Food Safety Authority Journal*. 9(10), 2393-2487.

Gloria, M. B. A. (2005). Bioactive amines. In Hui, H. & Nollet, L. L. (Eds.). *Handbook of food science, technology and engineering*. (Vol. 4, pp. 1–38). USA: Marcel Dekker.

Hasegawa, H. (1987). Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fish Products. In E. and H. Hasegawa (eds.). *Marine Fisheries Research Department*. Singapore.

Lin, C. S., Liu, F. L., Lee, Y. C., Hwang, C. C., & Tsai, Y. H. (2012). Histamine contents of salted seafood products in Taiwan and isolation of halotolerant histamine-forming bacteria. *Food Chemistry*, 131, 574-579.

Smolinska, S., Jutel, M., Crameri, R., & O'Mahony, L. (2014). Histamine and gut mucosal immune regulation. *European Journal of allergy and Clinical Immunology*, 69, 273–281.

Taylor, S. L. & Speckhard, M. W. (1983). Isolation of histamine-producing bacteria from frozen tuna. *Marine Fisheries Review*. 45, 35-39.

Tsai, Y. H., Lin, C. Y., Chang, S. C., Chen, H. C., Kung, H. F., & Wei, C. I. (2005). Occurrence of histamine and histamine-forming bacteria in salted mackerel in Taiwan. *Food Microbiology*, 22, 461-467.

Tsai, Y. H., Lin, C. Y., Chien, L. T., Lee, T. M., Wei, C. I., & Hwang, D. F. (2006). Histamine contents of fermented fish products in Taiwan and isolation of histamine-forming bacteria. *Food Chemistry*, 98, 64-70.

Wyder, M. T., Bachmann, H. P., & Puhan, Z. (1999). Role of selected yeasts in cheese ripening: an evaluation in foil wrapped Raclette Cheese. *Lebensm. Wiss. u. Technol*, 32, 333-343.

Zhai, H., Yang, X., Li, L., Xia, G., Cen, J., & Huang, H., *et al*. (2012). Biogenic amines in commercial fish and fish products sold in Southern China. *Food Chemistry*, 25, 303-308.