

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๕/๒๕๖๓



Technical Paper No. 5/2020

ปริมาณไบโอจีนิกเอมีนในผลิตภัณฑ์ปลาร้าปลานิล
Biogenic Amines in Fermented Fish (Pla-Ra) from Tilapia

ชนากานต์ จันทร์สมบูรณ์

Chanakan Chansomboon

อาภาานวล ณะศรีสุธารัตน์

Arphanuan Thanasrisutarat

จณิสตา ภัทรวิวัฒน์

Janista Pattaravivat

กองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

Fisheries Industrial Technology

Research and Development Division

กรมประมง

Department of Fisheries

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Ministry of Agriculture and Cooperative

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๕/๒๕๖๓



Technical Paper No. 5/2020

ปริมาณไบโอจีนิกเอมีนในผลิตภัณฑ์ปลาร้าปลานิล
Biogenic Amines in Fermented Fish (Pla-Ra) from Tilapia

ชนากานต์ จันทร์สมบุญ

Chanakan Chansomboon

อาภาณุพล ธนะศรีสุธารัตน์

Arphanuan Thanasrisutarat

จณิสตา ภัทรวิวัฒน์

Janista Pattaravivat

กองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

Fisheries Industrial Technology

Research and Development Division

กรมประมง

Department of Fisheries

๒๕๖๓

2020

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	4
วัตถุประสงค์	7
วิธีดำเนินการ	8
1. วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ	8
2. วิธีดำเนินงาน	9
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล	12
1. ผลการสำรวจคุณภาพของปลาร้าปลานิลที่จำหน่ายในท้องตลาด	12
2. ผลของความสดของปลานิล และปริมาณเกลือต่อการเปลี่ยนแปลงไบโอจีนิกเอมีน ในกระบวนการหมักปลาร้าปลานิล	16
3. ผลของกระบวนการผลิตต่อการเปลี่ยนแปลงไบโอจีนิกเอมีนในการหมักปลาร้าปลานิล	24
สรุปผลการทดลอง	29
คำขอขอบคุณ	29
เอกสารอ้างอิง	29
ภาคผนวก	36

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	4
2	14
3	15
4	21
ตารางผนวกที่	
1	36
2	36
3	37
4	37
5	38
6	38
7	39
8	39
9	40
10	40

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ปฏิบัติการเกิดฮีสตามีน พิวทรีซิน และคาร์ตาเวรีน	6
2 กระบวนการผลิตปลาร้าปลานิล	10
3 กระบวนการผลิตปลาร้าปลานิลที่แตกต่างกัน 3 กระบวนการ	12
4 ลักษณะของปลานิลสด (F) และปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C)เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (S)	16
5 ลักษณะของปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลซึ่งมีความสด และปริมาณเกลือที่ใช้ในการหมักต่างกัน เมื่อหมักครบ 4 เดือน	17
6 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี (a) เกลือ และ (b) pH ของปลาร้าปลานิลในระหว่างกระบวนการหมัก	19
7 การเปลี่ยนแปลงไปโอจีนิกเอมีน (a) คาร์ตาเวรีน (b) พิวทรีซิน และ (c) ฮีสตามีน ของปลาร้าปลานิลในระหว่างกระบวนการหมัก	22
8 การเปลี่ยนแปลงทางจุลชีววิทยาของปลาร้าปลานิลในระหว่างกระบวนการหมัก	24
9 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี (a) เกลือ และ (b) pH ของปลาร้าปลานิลจากกระบวนการผลิตที่ต่างกัน	25
10 การเปลี่ยนแปลงไปโอจีนิกเอมีน (a) คาร์ตาเวรีน (b) พิวทรีซิน และ (c) ฮีสตามีน ของปลาร้าปลานิลจากกระบวนการผลิตที่ต่างกัน	27
11 การเปลี่ยนแปลงทางจุลชีววิทยาของปลาร้าปลานิลจากกระบวนการผลิตที่ต่างกัน	28

ปริมาณไบโोजีนิกเอมีนในผลิตภัณฑ์ปลาร้าปลานิล

ชนากานต์ จันทร์สมบูรณ์*, อาภาณวล ธนะศรีสุธารัตน์ และ จณิสตา ภัทรวิวัฒน์

กองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณภาพของปลาร้าปลานิลที่จำหน่ายในท้องตลาด ปัจจัยความสดและปริมาณเกลือต่อการเปลี่ยนแปลงไบโोजีนิกเอมีนในกระบวนการหมักปลาร้าปลานิล และการควบคุมกระบวนการผลิตต่อการเปลี่ยนแปลงไบโोजีนิกเอมีนในกระบวนการหมักปลาร้าปลานิล โดยการสำรวจตัวอย่างปลาร้าปลานิลจำนวน 8 ตัวอย่าง มาตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและจุลชีววิทยา พบว่า TVC ในปลาร้าอยู่ในช่วง $1.1 \times 10^2 - 9.5 \times 10^4$ CFU/g โดยมี 1 ตัวอย่าง พบ *E. coli* และ 2 ตัวอย่าง พบ Yeasts and Molds ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาร้า (มผช.37/2557) และพบ 4 ตัวอย่าง มีปริมาณ Yeasts and Molds ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานสินค้าเกษตร: ปลาร้า (มกษ.7023-2561) และทุกตัวอย่างมีปริมาณฮีสตามีนอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของสหภาพยุโรป ผลของความสดและปริมาณเกลือต่อการเปลี่ยนแปลงไบโोजีนิกเอมีนในกระบวนการหมักปลาร้าปลานิลจากปลานิลสด (F) และปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (S) กับเกลือร้อยละ 15 (F15% และ S15%) และร้อยละ 20 (F20% และ S20%) ปริมาณเกลือของทุกตัวอย่างเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการหมัก เมื่อหมักครบ 4 เดือนปริมาณเกลือของ S20% อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาร้า (มผช.37/2557) และมาตรฐานสินค้าเกษตร: ปลาร้า (มกษ.7023-2561) ในขณะที่ปริมาณเกลือของ F15%, F20% และ S15% อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาร้า (มผช.37/2557) เท่านั้น สำหรับปริมาณไบโोजีนิกเอมีน ได้แก่ คาร์ดาเวอรีน พิวทรีซิน และฮีสตามีน พบว่า F20% มีค่าต่ำกว่าทุกตัวอย่าง รวมทั้งมีปริมาณ TVC ต่ำที่สุด ส่วน S15% มีปริมาณ TVC สูงที่สุด และการควบคุมกระบวนการผลิตต่อการเปลี่ยนแปลงไบโोजีนิกเอมีนในกระบวนการหมักปลาร้าปลานิล 3 กระบวนการ คือ 1. ผลิตปลาร้าตามกระบวนการผลิตของกลุ่มแม่บ้าน และอุณหภูมิของวัตถุดิบอยู่ในช่วง 15–20 °C (P1) 2. ผลิตตาม P1 แต่เพิ่มการล้างปลาด้วยน้ำประปา 1 ครั้ง และอุณหภูมิของวัตถุดิบอยู่ในช่วง 10–12 °C (P2) 3. ผลิตตาม P2 แต่เพิ่มการล้างเอาไส้ออกจากช่องท้องปลาจนสะอาดด้วยน้ำประปา 1 ครั้ง (P3) พบว่า เมื่อหมักครบ 6 เดือน ปริมาณเกลือของทุกตัวอย่างเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมัก ปริมาณไบโोजีนิกเอมีนทั้ง 3 ชนิด และปริมาณ TVC ในปลาร้าจาก P3 ต่ำที่สุด จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความสดของวัตถุดิบ ปริมาณเกลือ การควบคุมกระบวนการผลิต และสุขลักษณะมีผลต่อปริมาณไบโोजีนิกเอมีนที่เกิดขึ้น

คำสำคัญ: ปลาร้า, ปลานิล, ไบโोजีนิกเอมีน, ฮีสตามีน

Biogenic Amines in Fermented Fish (Pla-Ra) from Tilapia

Chanakan Chansomboon*, Arphanuan Thanasrisutarat and Janista Pattaravivat

Fisheries Industrial Technology Research and Development Division

Abstract

The objective of this research is to study the quality of fermented tilapia (Pla-Ra) from the market, the impact of the freshness of the raw materials and the salt content on the changes in biogenic amines during the fermentation process of fermented tilapia and the process control methods in relation to the changes in biogenic amines in the 3 fermentation processes of tilapia. Eight containers of fermented tilapia samples were obtained and analyzed for their chemical and microbiological qualities. It was found that the TVC in Pla-Ra was 1.1×10^2 - 9.5×10^4 CFU/g. *E. coli* was found in 1 sample, yeasts and molds were found in 2 samples that did not meet the Thai Community Product Standard (Pla-Ra), while 4 samples were found yeasts and molds to not meet the Agricultural Standard ACT (Pla-Ra). In terms of the histamine content, all samples comply with the European Union regulations. The fermentation of the fresh tilapia (F) and tilapia placed at room temperature (30 ± 2 °C) for 12 hours (S), with 15% salt (F15% and S15%) and 20% salt (F20% and S20%) were conducted. The salt content of all samples increased continuously during the fermentation period. After 4 months, the salt content of S20% complied with both the Thai Community Product Standard (Pla-Ra) and the Agricultural Standard ACT (Pla-Ra) whereas those of F15%, F20% and S15% complied with only the Thai Community Product Standard (Pla-Ra). Biogenic amines such as cadaverine, putrescine and histamine that are normally generated during fermentation, were found to be the lowest in F20% compared to all other samples, in addition to the lowest level of TVC. S15%, on the other hand, had the highest TVC level. Also, the process control methods in relation to the changes in biogenic amines in the 3 fermentation processes of tilapia were studied; (1) the first process (P1) was the fermentation process of small community enterprises, where the temperature of the raw materials was within the range of 15–20 °C, (2) the second process (P2) was similar to P1, with an addition of 1 time tap water rinsing of the fish, with the temperature of raw materials in the range of 10-12 °C, and (3) the third process (P3) was similar

*Corresponding author: Kaset-klang Chatuchak, Bangkok 10900 Tel. 0 2940 6130-45 ext. 4207

E-mail: chanakanc@fisheries.go.th

to P2, but with an increase in 1 more time tap water rinsing and thoroughly washing the fish abdomen, and the temperature of the raw materials in the range of 10 – 12 °C. After fermenting for 6 months, the salt content of all samples increased throughout the fermentation period. All 3 types of biogenic amines and the TVC content in Pla-Ra from P3 were the lowest. The results showed that the freshness of raw materials, the salt content, the processing methods and sanitation affected the amount of biogenic amines.

Keywords: fermented fish, tilapia, biogenic amines, histamine

คำนำ

ปลาร้า เป็นผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำหมักดอง นิยมทำจากปลาน้ำจืด เช่น ปลานิล ปลาสวาย และปลากระดี โดยนำปลามาคลุกเคล้ากับเกลือ เติมห้าข้าวคั่วหรือรำข้าวในอัตราส่วนที่เหมาะสม หรืออาจเติมภายหลังการหมักปลา กับเกลือ เพื่อให้ได้กลิ่นรสตามธรรมชาติของปลาร้า โดยส่วนใหญ่จะหมักปลาร้าไว้ประมาณ 7-8 เดือน หรืออาจนาน เป็นปี แล้วจึงนำมารับประทาน ปลาร้าได้รับความนิยมในการบริโภคอย่างแพร่หลายและมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้การผลิตปลาร้าขยายตัวขึ้นจากระดับครัวเรือนหรือธุรกิจขนาดเล็ก เป็นการผลิตขนาดกลางและขนาดใหญ่ โดยมีปริมาณการผลิตสูงถึง 40,000 ตันต่อปี ตลาดหลักของปลาร้า คือ ตลาดในประเทศ โดยมีมูลค่าตลาดรวม ปีละกว่า 800 ล้านบาท สำหรับตลาดต่างประเทศโดยเฉพาะกลุ่มประเทศอาเซียน เช่น ลาว เวียดนาม กัมพูชา และ ประเทศที่มีคนเอเชียอาศัยอยู่ ทั้งสหรัฐอเมริกา กลุ่มสหภาพยุโรป และประเทศในตะวันออกกลาง ซึ่งมีมูลค่า การส่งออกรวมกว่า 20 ล้านบาทต่อปี ปริมาณและมูลค่าการส่งออกมีแนวโน้มขยายตัวสูงขึ้นโดยเฉพาะสหรัฐอเมริกา (ไทยโพสต์, 2561) ปัจจุบันปลาร้ามีการแปรรูปเป็นน้ำปลาร้าต้มสุกปรุงรสสำเร็จรูป และเป็นที่นิยมอย่างมากในตลาด ทั้งในและต่างประเทศ เนื่องจากมีรสชาติอร่อย สะอาด ปลอดภัย สะดวกสามารถนำไปประกอบอาหารได้ทันที และ ได้การรับรองจากองค์การอาหารและยา (ไทยรัฐออนไลน์, 2561) สำหรับมาตรฐานของปลาร้าในประเทศ มี 2 มาตรฐาน คือ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาร้า (มพช.37/2557) (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2557) และมาตรฐานสินค้าเกษตร: ปลาร้า (มกษ.7023-2561) (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2561) ซึ่งปริมาณเกลือ (โซเดียมคลอไรด์) ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาร้า (มพช.37/2557) ต้องไม่น้อยกว่า ร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก ส่วนมาตรฐานสินค้าเกษตร: ปลาร้า (มกษ.7023-2561) เกลือต้องไม่น้อยกว่า ร้อยละ 18 โดยน้ำหนัก สำหรับด้านจุลชีววิทยาตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาร้า (มพช.37/2557) มาตรฐานสินค้าเกษตร: ปลาร้า (มกษ.7023-2561) และตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่อง เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ในส่วนของอาหารหมักพื้นเมือง (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2560) มีข้อกำหนด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 มาตรฐานด้านจุลชีววิทยาของปลาร้า และอาหารหมักพื้นเมือง

จุลินทรีย์	มพช. 37/2557	มกษ. 7023-2561	ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2560)
<i>Bacillus cereus</i>	< 1,000 CFU/g	< 100 CFU/g	< 1,000 CFU/g
<i>Clostridium perfringens</i>	< 1,000 CFU/g	< 100 CFU/g	< 1,000 CFU/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 1,000 CFU/g	< 100 CFU/g	< 100 CFU/g
Yeasts and Molds	< 1,000 CFU/g	< 100 CFU/g	-
<i>Escherichia coli</i>	< 3 MPN/g	< 3 MPN/g	< 3 MPN/g
<i>Salmonella</i> spp.	ไม่พบ/25 กรัม	ไม่พบ/25 กรัม	ไม่พบ/25 กรัม

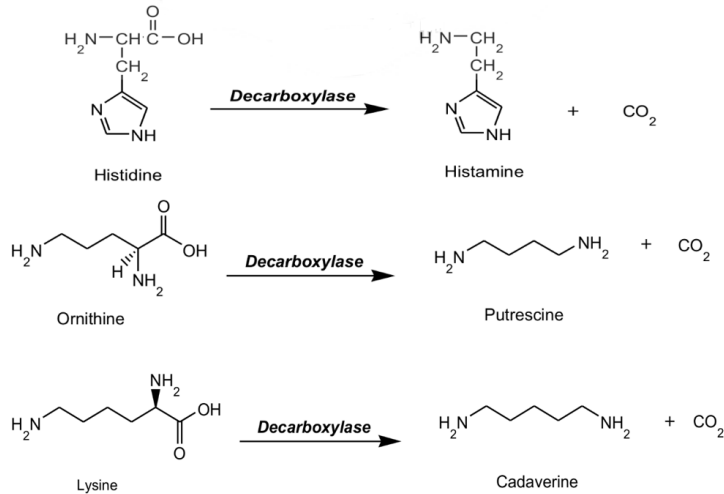
ปลาร้าแบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่ ปลาร้าข้าวคั่ว และปลาร้ารำ โดยปลาร้าข้าวคั่วได้จากการนำปลาหมักกับเกลือแล้วใส่ข้าวคั่ว ผลิตภัณฑ์มีลักษณะฉ่ำ เนื้ออ่อนนุ่ม สีเหลืองเข้ม และมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ส่วนมากผลิตจากปลาตะเพียน ปลานิล และปลาหมอเทศ ซึ่งมีจำหน่ายอย่างแพร่หลาย ส่วนปลาร้าที่ผลิตจากปลาอุกจะมีลักษณะ

เป็นตัว เนื้อนิ่ม ไม่ละเอียด แต่ค่อนข้างแห้ง และข้าวคั่วจะมีลักษณะเปียกพอมหาต ๆ แหล่งผลิตที่สำคัญอยู่ในจังหวัดทางภาคกลาง เช่น จังหวัดพระนครศรีอยุธยา อ่างทอง สิงห์บุรี สระบุรี ลพบุรี ชัยนาท และนครสวรรค์ สำหรับปลาร้าทำได้จากการนำปลามาหมักกับเกลือแล้วใส่รำหรือรำผสมข้าวคั่ว ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นตัว สีคล้ำ และมีกลิ่นแรงกว่าปลาร้าข้าวคั่ว มักใช้ปลาขนาดเล็ก เช่น ปลาสวาย ปลาชิว ปลากระดี่ และปลาเบญจพรรณ แหล่งผลิตที่สำคัญอยู่ในจังหวัดทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ชาญชัย, 2539) สำหรับปริมาณเกลือที่นำมาคลุกเคล้ากับปลาจะมีปริมาณแตกต่างกันไป ขึ้นกับแต่ละสูตรแต่ละท้องถิ่น แต่ปริมาณเกลือที่ยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ได้ คือ ปริมาณเกลือร้อยละ 20 จึงจะสามารถป้องกันการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ได้ (ฉนิษฐา และบดินทร์, 2563)

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักทำให้อาหารเปลี่ยนไปทั้งลักษณะทางกายภาพ เนื้อสัมผัสและกลิ่นรส โดยจุลินทรีย์บางชนิดมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายอาหารต่าง ๆ ในโปรตีน ไชมัน และคาร์โบไฮเดรตด้วยเอนไซม์ที่มีในตัวของจุลินทรีย์เอง ปัจจัยที่มีผลต่อการหมัก ได้แก่ คุณภาพวัตถุดิบ ปริมาณเกลือ จุลินทรีย์ สารอาหารที่จุลินทรีย์ใช้เป็นแหล่งพลังงาน ความเป็นกรด-ด่าง (pH) อุณหภูมิ และปริมาณออกซิเจน (นฤมล, 2557) การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในปลาร้าระหว่างการหมัก มี 2 ระยะ คือ ระยะแรกเกิดการย่อยสลายโปรตีนจากเอนไซม์ที่มีอยู่ในตัวปลา (autolysis) และระยะที่สองมีการเติมคาร์โบไฮเดรต (ข้าวคั่ว หรือรำข้าว) เข้าไปเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อเป็นแหล่งอาหารให้จุลินทรีย์ที่มีบทบาทในกระบวนการหมักปลาร้า (อุษณีย์, 2556) โดยในระหว่างการหมักจุลินทรีย์จะผลิตเอนไซม์โปรติเอส เพื่อย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลา ได้เป็นกรดอะมิโน และผลิตเอนไซม์อะไมเลส เพื่อย่อยสลายแป้งจากแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่เติมลงไป กลายเป็นกรดแลคติกทำให้ปลาร้ามีค่า pH ลดลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้ ทำให้ปลาร้ามีกลิ่นรสเฉพาะของผลิตภัณฑ์ (จิตต์เลขา, 2544) จากการศึกษาคุณสมบัติทางจุลชีววิทยาของปลาร้าจากแหล่งต่าง ๆ จำนวน 280 ตัวอย่าง มีจุลินทรีย์ที่พบมาก ได้แก่ *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Pediococcus* spp., *Tetragenococcus halophilus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* และ *Bacillus licheniformis* (พงษ์เทพ, 2546) อ้างตาม National Research Council of Thailand, 1982) เช่นเดียวกับแพรวพรรณ 2522 พบจุลินทรีย์กลุ่มหลัก ๆ ในกระบวนการหมักปลาร้า คือ *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp. และ *Pediococcus* spp. แต่จุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดในช่วงกระบวนการหมักปลาร้า มี 3 กลุ่ม คือ *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp. และ *Bacillus* spp. (อำนาจ, 2544) สำหรับแบคทีเรียกรดแลคติกที่สามารถย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต และผลิตกรดแลคติกในช่วงกระบวนการหมัก จะทำให้ได้กลิ่นรสและสีที่แตกต่างกันในปลาร้า (Riebroy *et al.*, 2004; สุพินดา และลินดา, 2563)

ไบโอจีนิกเอมีน (Biogenic Amines, BAs) เป็นสารประกอบอินทรีย์ เกิดจากจุลินทรีย์ในอาหารที่สามารถสร้างเอนไซม์ดีคาร์บอกซิเลส (Decarboxylase) เช่น *Bacillus* spp., *Citrobacter* spp., *Clostridium* spp., *Klebsiella* spp., *Escherichia* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Shigella* spp., *Photobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Pediococcus* spp. และ *Streptococcus* spp. (Karovičová and Kohajdová, 2003) เอนไซม์ดีคาร์บอกซิเลสเป็นเอนไซม์ที่ดึงหมู่คาร์บอกซิลออกจากกรดอะมิโน เกิดเป็นไบโอจีนิกเอมีน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ประกอบด้วย คาร์ดาเวอรีน (Cadaverine) ทริปตามีน (Tryptamine) ไทรามีน (Tyramine) พิวทรีซีน (Putrescine) ฟีนิลเอธิลลามีน (Phenylethylamine) สเปอมีดีน (Spermidine) สเปอมีน (Spermine) และฮีสตามีน (Histamine) (Santos, 1996) โดยกรดอะมิโนฮีสติดีน (Histidine) จะถูกเปลี่ยนเป็นฮีสตามีน (Histamine) กรดอะมิโนออร์นิธิน (Ornithine) ถูกเปลี่ยนเป็นพิวทรีซีน (Putrescine) และกรดอะมิโนไลซีน (Lysine) ถูกเปลี่ยนเป็นคาร์ดาเวอรีน (Cadaverine) ดังภาพที่ 1 โดยไบโอจีนิกเอมีนสามารถพบได้ทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ผู้บริโภคที่รับประทานอาหารที่มีไบโอจีนิกเอมีน จะเกิดอาการแพ้แตกต่างกันในแต่ละบุคคล ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ

ปริมาณของไบโอจีนิกเอมีนและภูมิต้านทานของร่างกาย เช่น เกิดผื่นคัน ลมพิษ ปากบวม คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง วิงเวียน หน้าแดง หัวใจเต้นเร็ว และความดันโลหิตต่ำ (Pereira *et al.*, 2001) อาหารที่มีโอกาสพบไบโอจีนิกเอมีนมี 2 กลุ่ม กลุ่มแรก คือ อาหารที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก เช่น เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ผัก ผลไม้ นม ปลา และผลิตภัณฑ์ประมง กลุ่มที่สอง คือ อาหารที่ผ่านกระบวนการหมัก เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์หมัก ผลิตภัณฑ์ปลาหมัก เนยแข็ง เบียร์ และไวน์ (Gibson, 1995)



ภาพที่ 1 ปฏิกริยาการเกิดฮีสตามีน พิวทรีซีน และคาร์ดาเวรีน
(ที่มา: วีรชัย, 2556)

ตามมาตรฐานขององค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (United States Food and Drug Administration, USFDA) ระบุว่า ปลาในกลุ่ม Scrombroid เช่น ปลาทูน่า ปลาแมคเคอเรล และปลาทะเลกลุ่มที่ไม่ใช่กลุ่ม Scrombroid เช่น ปลาหิมะ (Bluefish) ปลาอีโต้มอญ (Mahi mahi) ปลาเกะตัก และปลาชาร์ดิน ปริมาณฮีสตามีนที่พบต้องไม่เกิน 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (กองตรวจสอบคุณภาพสินค้าประมง, 2563ก) ประเทศออสเตรเลียและนิวซีแลนด์ กำหนดให้พบปริมาณฮีสตามีนในอาหารไม่เกิน 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (กองตรวจสอบคุณภาพสินค้าประมง, 2563ข) กลุ่มประเทศในสหภาพยุโรป ระบุว่า สามารถพบฮีสตามีนในผลิตภัณฑ์ประมงได้ไม่เกิน 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และในน้ำปลาไม่เกิน 400 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ยกเว้นผลิตภัณฑ์จากกลุ่มปลาที่มีปริมาณฮีสตามีนสูง พบได้ไม่เกิน 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (กองตรวจสอบคุณภาพสินค้าประมง, 2563ค) ผลิตภัณฑ์ประมงของประเทศต่าง ๆ เช่น ปลาเค็มแห้งของประเทศมาเลเซีย พบปริมาณฮีสตามีน 265-803 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ปลาแฮร์ริงเค็มตากแห้งของประเทศฟิลิปปินส์พบปริมาณฮีสตามีน 21 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (Wootton *et al.*, 1989) ปลาไส้ตันตากแห้งมีปริมาณฮีสตามีน 5.0-1,424.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ปรานี และคณะ, 2534) สำหรับคาร์ดาเวรีน และพิวทรีซีน ยังไม่มีการกำหนดปริมาณออกมาเป็นมาตรฐาน แต่สารทั้งสองจะเสริมความเป็นพิษของไบโอจีนิกเอมีนชนิดอื่น ๆ โดยเฉพาะฮีสตามีน (วีรชัย, 2556) คาร์ดาเวรีน และพิวทรีซีนจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเนื้อสัตว์มีการเน่าเสีย จึงอาจใช้สารทั้งสองเป็นดัชนีบ่งบอกถึงความสดของเนื้อสัตว์ได้ (สุมณฑา, 2549)

ไบโอจีนิกเอมีนไม่สามารถสลายตัวได้โดยความเย็นและความร้อน (Food and Drug Administration, 2020) แต่จะถูกสลายได้โดยผ่านปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะมิโนชนิดออกซิเดชัน (oxidative deamination) ซึ่งเอนไซม์เอมีนออกซิเดส (amine oxidase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้ผลิตภัณฑ์เป็นแอลดีไฮด์ แอมโมเนีย และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Kongkiattikajorn, 2015) เช่น ฮีสตามีน และพิวทรีซีน ถูกย่อยสลายโดย

เอนไซม์ไดเอมีนออกซิเดส (diamine oxidase) ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์นี้จะทำงานได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน และจะทำงานได้ดีที่สุดหากมีสภาวะที่เป็นกลางถึงสภาวะที่เป็นด่าง (Dapkevicius *et al.*, 2000) เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส (monoamine oxidase) และเอนไซม์ไดเอมีนออกซิเดสที่พบในจุลินทรีย์บางกลุ่ม สามารถช่วยลดปริมาณไบโอจีนิกเอมีนลงได้ เช่น *Enterobacteriaceae* (Yamashita *et al.*, 1993) *Staphylococcus xylosus* No.0538 ที่แยกได้จากปลากระตักหมักเกลือ สามารถย่อยสลายฮีสตามีนได้ถึงร้อยละ 38 และเมื่อนำ *Staphylococcus xylosus* มาใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในการหมักปลากระตัก สามารถลดปริมาณไบโอจีนิกเอมีนได้ร้อยละ 16 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดตัวอย่างควบคุม (Mah และ Hwang, 2009a)

คนทั่วไปมีความเข้าใจว่าการใช้ปลาน้ำจืดเป็นวัตถุดิบทำปลาร้ามีความเสี่ยงต่อการเกิดฮีสตามีนต่ำ เนื่องจากปลาน้ำจืดมีปริมาณของฮีสติดีนต่ำ จึงมีการศึกษาด้านความเสี่ยงต่อการเกิดของฮีสตามีนในปลาร้าจากปลาน้ำจืดน้อย ทั้งนี้ การเกิดไบโอจีนิกเอมีนขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น กระบวนการผลิต คุณภาพของวัตถุดิบ ชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ที่มีในอาหาร ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ อุณหภูมิ pH ปริมาณเกลือ หรือสารปรุงแต่งอื่น โดยการควบคุมกระบวนการผลิตที่ดีจะช่วยควบคุมการเกิดของไบโอจีนิกเอมีนได้ ในเรื่องคุณภาพของวัตถุดิบ โดยทั่วไประดับฮีสตามีนในปลาสดมักจะน้อยกว่า 1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (Auerswald *et al.*, 2006) ชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ รวมทั้งปริมาณกรดอะมิโนอิสระที่มีในอาหาร เป็นปัจจัยสำคัญ คือ หากมีจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์ดีคาร์บอกซิเลส และมีกรดอะมิโนตั้งต้นอยู่ก็จะมีโอกาสเกิดไบโอจีนิกเอมีน สำหรับอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่มีผลต่อแบคทีเรียสร้างฮีสตามีน (Histamine-forming bacteria) สามารถเจริญเติบโต และสร้างฮีสตามีนได้ในช่วงอุณหภูมิกว้าง โดยเฉพาะอุณหภูมิประมาณ 32 °C และเอนไซม์ดีคาร์บอกซิเลสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เปลี่ยนกรดอะมิโนให้กลายเป็นไบโอจีนิกเอมีนจะทำงานได้ที่อุณหภูมิใกล้เคียงอุณหภูมิตู้เย็น แต่จะชะลอการทำงานในขณะที่อยู่ในสถานะแช่แข็ง และสามารถทำงานได้อีกครั้งหลังจากละลาย และการปรุงสุกจะช่วยยับยั้งเอนไซม์และจุลินทรีย์ได้ (Food and Drug Administration, 2020) pH จะมีผลต่อจุลินทรีย์ในการสร้างเอนไซม์ดีคาร์บอกซิเลส และมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งจะทำงานได้ในช่วง pH 2.5-7 แต่จะทำงานได้ดีในช่วง pH 4.0-5.5 (เยาวลักษณ์, 2543) นอกจากนี้ ปริมาณเกลือ และสารปรุงแต่งอื่น ๆ สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ดีคาร์บอกซิเลสได้ (Halasz *et al.*, 1994; Suzzi and Gardini, 2003)

ปัจจุบันปลาร้ามีการผลิตจากปลาหลากหลายชนิด โดยปลานิลเป็นหนึ่งในปลาที่มีการนำมาผลิตปลาร้า เนื่องจากเป็นปลาที่มีการเพาะเลี้ยงอย่างกว้างขวาง และเป็นที่ยอมรับโรค สำหรับการผลักดันผลิตภัณฑ์ปลาร้าสู่ตลาดโลก ควรมีมาตรฐานที่สามารถควบคุมความเสี่ยงจากอันตรายในการบริโภคปลาร้าโดยเฉพาะฮีสตามีน ดังนั้น การศึกษาปริมาณไบโอจีนิกเอมีนในผลิตภัณฑ์ปลาร้า และปัจจัยที่คาดว่าจะมีผลต่อปริมาณไบโอจีนิกเอมีนในผลิตภัณฑ์ปลาร้าจึงเป็นสิ่งที่มีความสำคัญ เพื่อเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์บ่งชี้ถึงความปลอดภัยในการบริโภค และอาจใช้เป็นข้อมูลในการจัดทำมาตรฐานความปลอดภัยในการบริโภคปลาร้าและผลิตภัณฑ์ในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. สสำรวจคุณภาพของปลาร้าปลานิลที่จำหน่ายในท้องตลาด
2. ศึกษาผลของความสดของปลานิล และปริมาณเกลือต่อการเปลี่ยนแปลงไบโอจีนิกเอมีนในกระบวนการหมักปลาร้าปลานิล
3. ศึกษาผลของกระบวนการผลิตต่อการเปลี่ยนแปลงไบโอจีนิกเอมีนในการหมักปลาร้าปลานิล

วิธีดำเนินการ

1. วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ

1.1 วัสดุดิบ

1.1.1 ปลาข้าวปลานิลที่จำหน่ายในท้องตลาด

1.1.2 ปลานิลขนาด 4 ตัว/กิโลกรัม

1.1.3 เกล็ดสมุทร

1.1.4 ข้าวคั่ว

1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1.2.1 โถงสำหรับหมักปลาร้า ขนาด 30 ลิตร

1.2.2 เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Waters รุ่น 2695

1.2.3 เครื่องย่อยและกลั่นวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน ยี่ห้อ Buchi รุ่น K-435 และ B324

1.2.4 เครื่องสกัดไขมัน ยี่ห้อ Tecator Soxtec รุ่น system HT

1.2.5 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ยี่ห้อ Radiometer รุ่น PHM210

1.2.6 ตู้อบ (Hot air oven) ยี่ห้อ Termaks รุ่น Type. TS 8265

1.2.7 เตาเผาแก้ว ยี่ห้อ Carbolite รุ่น CWF 1100

1.2.8 เครื่องปั่นผสม ยี่ห้อ Ystral รุ่น X 10/20

1.2.9 เครื่องเหวี่ยงตกตะกอน ยี่ห้อ Tomy รุ่น MX - 301

1.2.10 ตู้บ่มเชื้อ ยี่ห้อ Memmert รุ่น UNE 200-800

1.2.11 ตู้ดูดความชื้น ยี่ห้อ Sanplatec

1.2.12 เครื่องชั่งแบบละเอียด 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler toledo รุ่น MS 6001 S

1.2.13 เครื่องชั่งแบบละเอียด 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น AC 210 S

1.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.3.1 สารเคมี ได้แก่ Petroleum ether, Sulfuric acid, Catalyst, Boric acid, Sodium hydroxide, Bromothymol blue, Buchi indicator, Silver nitrate, Potassium Chromate, Toluene, Acetone, Perchloric acid, Dansyl chloride, L-Proline, Acetonitrile, Histamine dihydrochloride, Cadaverine dihydrochloride, Putrescine dihydrochloride, Hydrochloric acid, Methanol

1.3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Perfringens agar base (TSC-SFP), Agar galactose, Gelatin Porcine skin 90-110 Bloom, Agar base, Eosin methylene blue Agar, EC broth, Nutrient agar, Tryptone, M.R.V.P. medium, Koser citrate medium, Lauryl tryptose broth, Tryptone soya broth, Baird-Parker agar base, M.Y.P. agar base, Buffered peptone water, X.L.D. Medium

2. วิธีดำเนินงาน

2.1 สํารวจคุณภาพของปลาร้าปลานิลที่จำหน่ายในท้องตลาด

สุ่มเก็บตัวอย่างปลาร้าปลานิลตัวอย่างละ 2 กิโลกรัม จากจังหวัดกาฬสินธุ์ ขอนแก่น ร้อยเอ็ด และอุดรธานี จังหวัดละ 1 ตัวอย่าง จังหวัดชัยนาท และสุพรรณบุรี จังหวัดละ 2 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์ ดังนี้

2.1.1 ตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ โปรตีน ไขมัน และความชื้น ตามวิธี AOAC (2016) เถ้า ตามวิธี ISO (1998) ค่าเกลือตามวิธี FAO (1981) pH ตามวิธี Hasegawa (1987) และไบโอจีนิกเอมีน ได้แก่ คาร์ดาเวอรีน พิพทรีซิน และฮีสตามีน ตามวิธี In-House Method Based on Journal of AOAC International (1999)

2.1.2 ตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา ได้แก่ Total Viable Count (TVC) ตามวิธีของ Maturin *et al.* (2001) *Clostridium perfringens* ตามวิธีของ Rhodehamel *et al.* (2001) Yeasts and Molds ตามวิธีของ Tournas *et al.* (2001) *Bacillus cereus* ตามวิธีของ Tallent *et al.* (2012) *Escherichia coli* ตามวิธีของ Feng *et al.* (2017) *Staphylococcus aureus* ตามวิธีของ Tallent *et al.* (2016) และ *Salmonella* spp. ตามวิธี ISO 6579 (2017)

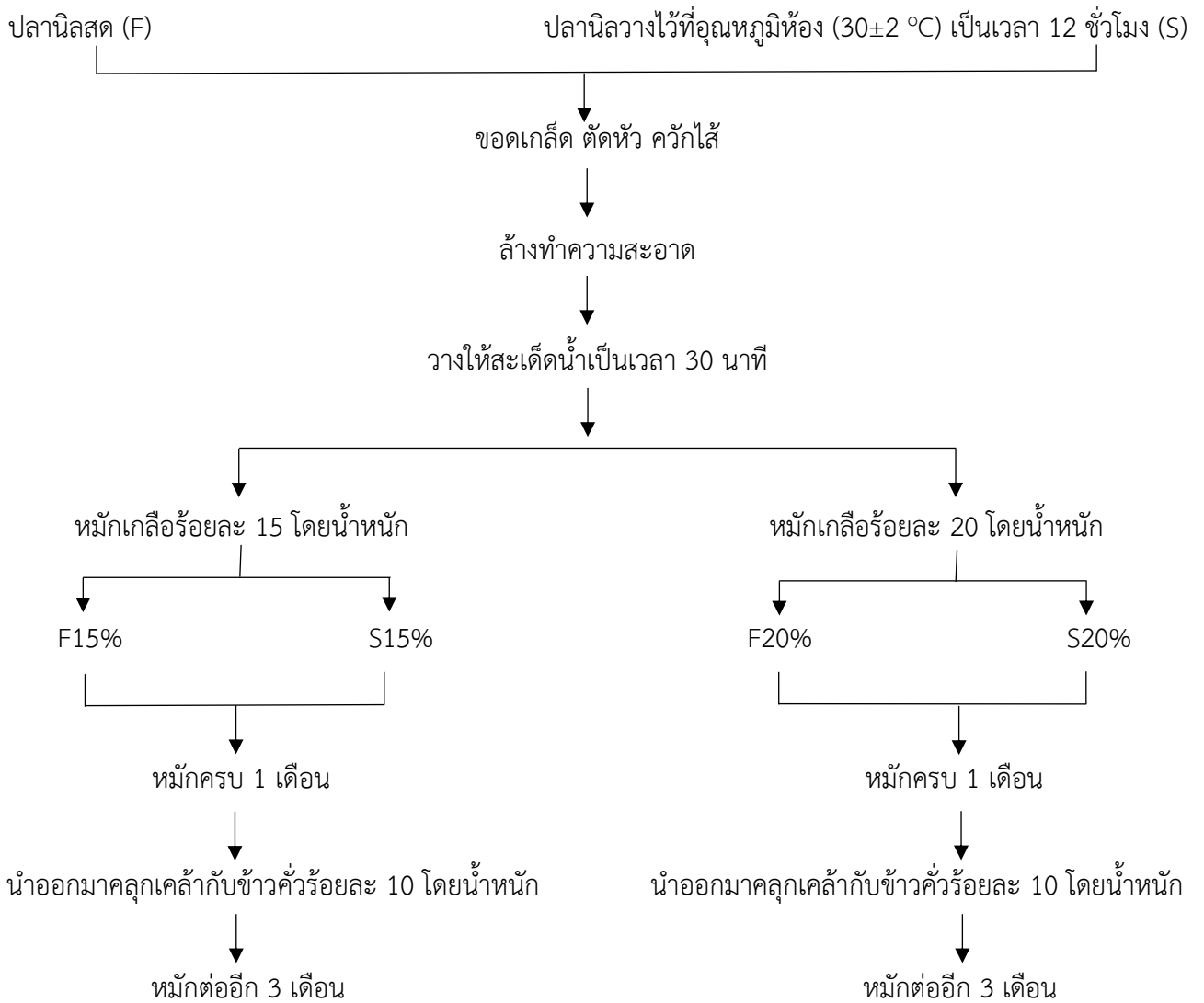
2.2 ศึกษาผลของความสดของปลานิล และปริมาณเกลือต่อการเปลี่ยนแปลงไบโอจีนิกเอมีน ในกระบวนการหมักปลาร้าปลานิล

ปลานิลสดบรรจุใส่ถุง ๆ ละ 5 กิโลกรัม วางถุงปลาเรียงสลับชั้นระหว่างน้ำแข็งกับปลาในถังพลาสติก บุฉนวน แล้วขนส่งมายังกองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง นำปลานิลมา แบ่งเป็น 2 ชุด คือ 1. ปลานิลสด (F) และ 2. ปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (S) จากนั้น ผลิตปลาร้าปลานิลตามวิธีของกองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ (2561) โดยนำปลามาทอดเกลือ ตัดหัว ควักไส้ ล้างทำความสะอาดแบบน้ำไหลผ่าน และวางให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเคล้าด้วยเกลือ ดังนี้ 1. ปลานิลสดเคล้าด้วยเกลือร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก (F15%) 2. ปลานิลสดเคล้าด้วยเกลือร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก (F20%) 3. ปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เคล้าด้วยเกลือร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก (S15%) และ 4. ปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เคล้าด้วยเกลือร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก (S20%) หมักปลาในโถงที่มีเกลือรองก้นโถงเล็กน้อย เรียงตัวปลาให้แน่น และโรยเกลือปิดบนตัวปลาอีกครั้ง จากนั้น ปิดโถงด้วยพลาสติกใส เมื่อหมักครบ 1 เดือน นำปลาออกมาคลุกเคล้ากับข้าวคั่วร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก และหมักต่อ อีก 3 เดือน สุ่มเก็บตัวอย่าง F, S, ตัวอย่างหมักเกลือ 1 คั้น และตัวอย่างระหว่างการหมักทุก 1 เดือน โดยตัวอย่าง หมัก 1 เดือนเป็นตัวอย่างไม่ใส่ข้าวคั่ว ดังภาพที่ 2 สุ่มตัวอย่างทั้งเนื้อและน้ำเพื่อตรวจวิเคราะห์คุณภาพ ดังนี้

2.2.1 ตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ โดยตรวจวิเคราะห์คุณภาพในปลานิลสด (F) และปลานิล วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (S) ตามวิธีของพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ (2547)

2.2.2 ตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ กรดอะมิโนในปลานิลสด โดยห้องปฏิบัติการกลาง (Central Lab) ตามวิธี Official Journal of the European Communities (1998) เกลือ pH และไบโอจีนิกเอมีน ตามวิธีข้อ 2.1.1 ปริมาณต่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total Volatile Basic Nitrogen, TVB-N) ตามวิธี Siang and Kim (1992)

2.2.3 ตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา คือ TVC ตามวิธีของ Maturin *et al.* (2001)



ภาพที่ 2 กระบวนการผลิตปลาร้าปลานิล

2.3 ศึกษาผลของกระบวนการผลิตต่อการเปลี่ยนแปลงไบโอจีนิกเอมีนในกระบวนการหมักปลาร้าปลานิล

ผลิตปลาร้าปลานิลตามกระบวนการผลิตที่แตกต่างกัน 3 กระบวนการ ดังภาพที่ 3 คือ

1. กระบวนการผลิตที่ 1 (P1) ผลิตปลาร้าตามกระบวนการผลิตของกลุ่มแม่บ้าน จังหวัดสุพรรณบุรี ควบคุมคุณภาพของปลานิลสด โดยใส่น้ำแข็งรองพื้นที่กั้นถังพลาสติกบุฉนวน ความหนาของน้ำแข็งประมาณ 2 เซนติเมตร ใสปลานิลจนหมดแล้วใส่น้ำแข็งปิดไว้ข้างบน หนาประมาณ 2 เซนติเมตร ขนส่งไปยังกลุ่มแม่บ้าน ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง 30 นาที โดยอุณหภูมิตัวปลาอยู่ในช่วง 15–20 °C ในระหว่างการขนส่ง จากนั้นนำปลามา ขอดเกล็ด ตัดหัว คั่วกล้วย ล้างด้วยน้ำคลอง วางให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 15 นาที นำปลามาเคล้าด้วยเกลือ ร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก เรียงปลาเคล้าเกลือ 25 กิโลกรัม ในโอ่งขนาด 30 ลิตรให้แน่น แล้วโรยเกลือปิดทับบนตัวปลา จากนั้นปิดโอ่งด้วยพลาสติกใส เมื่อหมักครบ 1 สัปดาห์ นำปลาออกมาคลุกเคล้ากับข้าวคั่วร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก แล้วหมักต่อจนครบ 6 เดือน

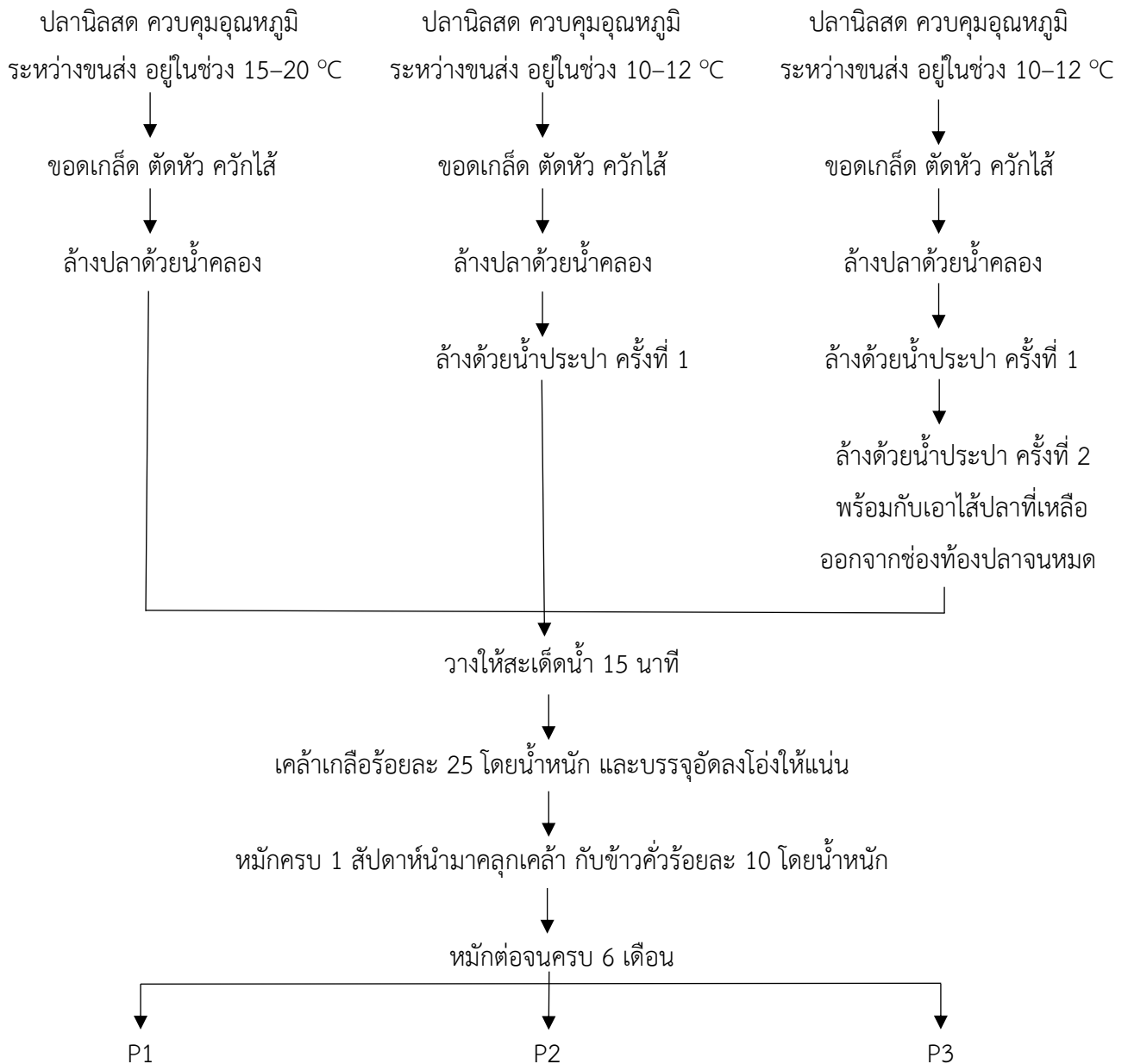
2. กระบวนการผลิตที่ 2 (P2) ควบคุมคุณภาพของปลานิลสด โดยการเรียงปลาสลับกับน้ำแข็ง ความหนาของน้ำแข็งประมาณ 2 เซนติเมตร อุณหภูมิตัวปลาอยู่ในช่วง 10–12 °C จากนั้นผลิตปลาร้าตามกระบวนการผลิตที่ 1 แต่เพิ่มขึ้นขั้นตอนการล้างปลาด้วยน้ำประปา 1 ครั้ง ก่อนนำปลามาเคล้าด้วยเกลือ

3. กระบวนการผลิตที่ 3 (P3) ควบคุมคุณภาพของปลานิลสด โดยการเรียงปลาสลับกับน้ำแข็ง ความหนาของน้ำแข็งประมาณ 2 เซนติเมตร อุณหภูมิตัวปลาอยู่ในช่วง 10–12 °C จากนั้นผลิตปลาร้าตามกระบวนการผลิตที่ 2 แต่เอาไส้ปลาที่เหลืออยู่ออกและล้างช่องท้องปลาให้สะอาดด้วยน้ำประปาอีกครั้ง ก่อนนำปลามาเคล้าด้วยเกลือ

สุ่มเก็บตัวอย่างปลานิลสดหลังการขนส่งของแต่ละกระบวนการ ตัวอย่างหมักเกลือ 1 คีน และตัวอย่างระหว่างการหมักทุก 1 เดือน ตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ เกลือ pH และไบโอจีนิกเอมีน ตามวิธีข้อ 2.1.1 TVB-N ตามวิธี Siang and Kim (1992) และตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา คือ TVC ตามวิธีของ Maturin *et al.* (2001)

2.4 วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มทดลองอย่างสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามวิธี Duncan' New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป



ภาพที่ 3 กระบวนการผลิตปลาร้าปลานิลที่แตกต่างกัน 3 กระบวนการ

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

1. ผลการสำรวจคุณภาพของปลาร้าปลานิลที่จำหน่ายในท้องตลาด

1.1 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

ตัวอย่างปลาร้าปลานิล จำนวน 8 ตัวอย่าง พบว่า ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า และเกลือ อยู่ในช่วงร้อยละ 13.71-19.95, 1.38-6.42, 56.74-64.50, 11.23-17.83 และ 7.74-18.52 ตามลำดับ ค่า pH อยู่ในช่วง 4.49-6.20 (ตารางที่ 2) องค์ประกอบทางเคมีของปลาร้าปลานิลแต่ละตัวอย่างมีปริมาณที่แตกต่างกัน อาจเนื่องจากอายุของปลา ขนาดของปลา วิธีการเลี้ยง แหล่งจับ ความสดของปลา อัตราส่วนของส่วนผสม และระยะเวลาการหมักที่ต่างกัน ซึ่งเป็นทำนองเดียวกับงานวิจัยของแพรวพรรณ (2522) รายงานว่า ปลาร้า 28 ตัวอย่าง มีค่า pH และปริมาณเกลืออยู่ในช่วงกว้าง คือ ค่า pH อยู่ในช่วง 5.10-5.80 ปริมาณเกลืออยู่ในช่วงร้อยละ 7.77-17.88

ทั้งนี้อาจเนื่องจาก วิธีการผลิต ปริมาณข้าวคั่ว ปริมาณเกลือ และเทคนิคต่าง ๆ ในการหมักที่นิยมกันในแต่ละภาค ไม่เหมือนกัน อำนาจ (2544) รายงานว่า องค์ประกอบทางเคมีของปลาร้าจากจังหวัดต่าง ๆ ในเขตภาคกลาง จำนวน 20 ตัวอย่าง มีปริมาณโปรตีน ไขมัน และความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 10.82–13.83, 2.61-5.86 และ 52.50-59.47 ตามลำดับ ค่า pH อยู่ในช่วง 4.3-5.7 พงษ์เทพ (2546) รายงานว่า ปลาร้าปลาน้ำจืดจากตลาด ในกรุงเทพมหานคร และจังหวัดต่าง ๆ จำนวน 60 ตัวอย่าง มีปริมาณเกลืออยู่ในช่วงร้อยละ 6.86-21.15 และ pH อยู่ในช่วง 4.76-7.32 เมื่อพิจารณาคุณภาพด้านมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ ปลาร้าปลานิลจากงานวิจัยนี้ จำนวน 8 ตัวอย่าง พบปลาร้าปลานิล จำนวน 6 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 75 มีปริมาณเกลืออยู่ในเกณฑ์กำหนดของ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาร้า (มผช.37/2557) คือ กำหนดปริมาณเกลือต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 12 และ พบเพียง 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 25 มีปริมาณเกลืออยู่ในเกณฑ์กำหนดของมาตรฐานสินค้าเกษตร: ปลาร้า (มกษ.7023-2561) คือ ปริมาณเกลือต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 18

สำหรับปริมาณไบโอจีนิกเอมีนในปลาร้าปลานิล พบว่า คาร์ดาเวอรีน พิพทรีซีน และฮีสตามีน อยู่ในช่วง 45.79-306.59, 28.14-184.17 และ 15.73-77.77 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ดังตารางที่ 2 โดยปลาร้าปลานิลทุกตัวอย่างมีปริมาณฮีสตามีนอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของสหภาพยุโรป ในขณะที่งานวิจัยของอำนาจ (2544) รายงานปริมาณฮีสตามีนในปลาร้าจากปลาน้ำจืด จำนวน 18 ตัวอย่าง อยู่ในช่วง 58-237 มิลลิกรัม/กิโลกรัม มีจำนวน 6 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นปลาร้าปลากระดี่ 5 ตัวอย่าง และปลาร้าปลาเบญจพรรณ 1 ตัวอย่าง ที่ไม่อยู่ในเกณฑ์ มาตรฐานของสหภาพยุโรป และจากงานวิจัยของจิรวัดน์ และสุรลักษณ์ (2547) รายงานว่า ปลาร้าจากปลาน้ำจืด จำนวน 6 ตัวอย่าง มีจำนวน 2 ตัวอย่าง คือ ปลาร้าปลารวมและปลาร้าปลาตะเพียนที่ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ของสหภาพยุโรป เมื่อพิจารณาถึงความปลอดภัยในการบริโภคปลาร้า พบว่าปลาร้ามีความเสี่ยงสูงกว่าน้ำปลา เพราะการบริโภคต่อหนึ่งหน่วยของปลาร้าสูงกว่าการบริโภคของน้ำปลา สำหรับในประเทศไทยมีอัตราการบริโภค ปลาร้าโดยเฉลี่ยประมาณ 15-40 กรัมต่อคนต่อวัน (อภิพันธ์, 2562) และมีอัตราการบริโภคน้ำปลาโดยเฉลี่ย ประมาณ 9.07 กรัมต่อคนต่อวัน (Codex Alimentarius Commission, 2011) ดังนั้น หากบริโภคปลาร้าที่มี ปริมาณไบโอจีนิกเอมีนเท่ากันกับน้ำปลาอาจก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อผู้บริโภคได้สูงกว่า

1.2 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

จากตารางที่ 3 พบว่า TVC ในปลาร้าอยู่ในช่วง 1.1×10^2 - 9.5×10^4 CFU/g มีจำนวน 1 ตัวอย่าง ที่มีปริมาณ *E. coli* ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาร้า (มผช.37/2557) และเกณฑ์มาตรฐานสินค้า เกษตร: ปลาร้า (มกษ.7023-2561) คือ เกิน 3 MPN/g สำหรับปริมาณ Yeasts and Molds พบจำนวน 2 ตัวอย่าง ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาร้า (มผช.37/2557) คือ เกิน 1,000 CFU/g และจำนวน 4 ตัวอย่าง ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานสินค้าเกษตร: ปลาร้า (มกษ.7023-2561) คือ เกิน 100 CFU/g ปริมาณจุลินทรีย์ที่พบ ในแต่ละตัวอย่างมีปริมาณที่แตกต่างกัน เนื่องจากปลาร้าปลานิลแต่ละตัวอย่างมีกระบวนการผลิต ขนาดของปลา วิธีการเลี้ยง แหล่งจับ ความสดของปลา อัตราส่วนของส่วนผสม และระยะเวลาการหมักที่ต่างกันดังที่กล่าวข้างต้น อำนาจ (2544) พบว่า ปลาร้าจำนวน 20 ตัวอย่าง มี TVC ในปลาร้าอยู่ในช่วง 4×10^2 - 3.8×10^6 CFU/g และไม่พบ จุลินทรีย์ที่ก่อโรค สำหรับวัลย์ และคณะ (2562) รายงานว่า คุณภาพของตัวอย่างปลาร้าจากกลุ่มแม่บ้าน 14 แห่ง บางตัวอย่างมีคุณภาพทางจุลชีววิทยาไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน คือ พบ *E. coli* ในปลาร้าปลาตุกและปลาร้าปลานิล อย่างละ 1 ตัวอย่าง พบปริมาณ Yeasts and Molds ในปลาร้าปลานิล 1 ตัวอย่าง เกินเกณฑ์มาตรฐาน และพบ *Salmonella* spp. ในปลาร้าปลานิลและปลาร้าปลาสร้อย อย่างละ 1 ตัวอย่าง

ตารางที่ 2 คุณภาพทางเคมีและปริมาณไบโอจีนิกเอมีนของปลาร้าปลานิลที่จำหน่ายในท้องตลาด

แหล่งผลิต	คุณภาพทางเคมี						ไบโอจีนิกเอมีน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)		
	โปรตีน (ร้อยละ)	ไขมัน (ร้อยละ)	ความชื้น (ร้อยละ)	เถ้า (ร้อยละ)	เกลือ (ร้อยละ)	pH	คาร์ดาเวรีน	พิวทริน	ฮีสตามีน
ภาพสินธุ์	15.25±0.10	2.75±0.02	64.36±0.05	15.82±0.20	17.04±0.11	6.20±0.01	192.35±13.59	82.77±4.99	16.32±0.11
ชัยนาท 1	15.19±0.07	1.98±0.03	62.90±0.19	17.39±0.08	18.44±0.08	4.49±0.01	45.79±4.50	37.92±3.96	15.73±1.21
ชัยนาท 2	19.67±0.19	6.42±0.10	61.01±0.02	11.23±0.21	7.74±0.03	4.61±0.02	197.89±6.85	184.17±7.56	77.77±3.07
มหาสารคาม	13.71±0.05	5.95±0.16	64.50±0.04	14.51±0.16	17.61±0.14	5.66±0.01	102.07±10.41	35.21±3.85	31.79±3.09
ร้อยเอ็ด	15.76±0.13	3.63±0.08	61.93±0.11	16.74±0.07	18.52±0.05	5.29±0.01	69.18±1.58	28.14±0.37	18.52±0.90
สุพรรณบุรี 1	19.95±0.08	3.68±0.03	56.74±0.06	16.88±0.05	12.00±0.17	5.02±0.02	105.83±7.68	60.93±6.19	63.97±4.58
สุพรรณบุรี 2	16.60±0.14	1.38±0.01	63.90±0.03	16.46±0.13	10.58±0.12	4.65±0.01	306.59±7.44	162.22±3.95	49.55±0.68
อุดรธานี	15.74±0.17	5.12±0.05	60.97±0.09	17.83±0.10	15.25±0.09	5.65±0.01	74.66±8.01	58.00±6.27	34.66±2.74

ตารางที่ 3 คุณภาพทางจุลชีววิทยาของปลาร้าปลานิลที่จำหน่ายในท้องตลาด

แหล่งผลิต	TVC (CFU/g)	<i>E. coli</i> (MPN/g)	<i>S. aureus</i> (MPN/g)	<i>C. perfringens</i> (CFU/g)	<i>B. cereus</i> (CFU/g)	<i>Salmonella</i> spp.	Yeasts & Molds (CFU/g)
กาฬสินธุ์	1.5×10 ³	<3	<3	<10	<10	ND	1.3×10 ²
ชัยนาท 1	9.3×10 ²	<3	<3	<10	<10	ND	6.0×10 ¹
ชัยนาท 2	9.5×10 ⁴	4	<3	<10	540	ND	3.2×10 ³
มหาสารคาม	1.5×10 ³	<3	<3	<10	<10	ND	3.0×10 ¹
ร้อยเอ็ด	1.1×10 ²	<3	<3	<10	<10	ND	<10
สุพรรณบุรี 1	5.3×10 ³	<3	<3	<10	260	ND	2.2×10 ²
สุพรรณบุรี 2	8.0×10 ⁴	<3	<3	<10	290	ND	1.9×10 ³
อุดรธานี	2.3×10 ³	<3	<3	<10	<10	ND	<10

ND หมายถึง ตรวจไม่พบ (Not detected)

2. ผลของความสดของปลานิล และปริมาณเกลือต่อการเปลี่ยนแปลงไบโอจีนิกเอมีนในกระบวนการหมักปลาร้าปลานิล

2.1 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

ปลานิลสด (F) ใช้เป็นวัตถุดิบผลิตปลาร้า มีลักษณะตาใส เกล็ดเรียบติดแน่น แฉววาว เมื่อกไส ลำตัวสั้น เหงือกแดง มีกลิ่นคาวปลาตามธรรมชาติ เมื่อใช้น้ำกดบนตัวปลา เนื้อยุบลงแต่คืนตัวกลับตามเดิม ทันทึ ซึ่งเป็นพลาสติกที่อยู่ในระยะก่อนการเกร็งตัว (pre-rigor mortis) ผนังท้องสมบูรณ์ เนื้อแน่น ไม่บวม เนื้อปลาขาว ไม่ขุ่น ผนังท้องด้านในมันวาว ดังภาพที่ 4(F) ส่วนปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 ± 2 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (S) มีลักษณะตาขุ่นแดง ไม่ใส เกล็ดเริ่มไม่เรียบ ความแวววาวลดลง ความใสของเมือกลดลง เหงือกเริ่มมีสีคล้ำขึ้น เมื่อใช้น้ำกดบนตัวปลา เนื้อยุบลงและค่อย ๆ คืนตัวกลับ ท้องเริ่มบวม มีกลิ่นคาวปลาเล็กน้อย เนื้อปลามีสีคล้ำขึ้น และผนังท้องด้านในไม่มันวาว ดังภาพที่ 4(S) และปริมาณ TVB-N ของ F ต่ำกว่าปริมาณ TVB-N ของ S คือ มีปริมาณเท่ากับ 13.75 และ 16.33 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ



F



S

ภาพที่ 4 ลักษณะของปลานิลสด (F) และปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (S)

จากภาพที่ 5 ปลาร้าที่ผลิตจากวัตถุดิบที่มีความสด และปริมาณเกลือที่ใช้ในการหมักต่างกัน เมื่อหมักครบ 4 เดือน มีลักษณะปรากฏไม่แตกต่างกัน ขึ้นปลาสมบูรณ์ เนื้อไม่ยุบเละ ผนังปลาไม่ฉีกขาด เนื้อปลามีสีน้ำตาล มีข้าวคั่วติดตามผิวหนังปลา มีกลิ่นหอมของข้าวคั่วเล็กน้อย เมื่อกดลงบนขึ้นปลา พบว่า F15% และ S15% มีเนื้อนุ่ม แต่ไม่ยุบเละ ส่วน F20% และ S20% มีเนื้อแน่นแข็งกว่าขึ้นปลาที่หมักด้วยเกลือร้อยละ 15 ทั้งนี้เนื่องจากเนื้อปลาที่มีปริมาณเกลือสูงกว่า จะส่งผลให้โปรตีนเกิดการสูญเสียคุณสมบัติด้านการอุ้มน้ำ ทำให้ปริมาณน้ำในเนื้อปลาลดลง จึงทำให้เนื้อปลาแข็งขึ้น (เยาวลักษณะ, 2543)



F15%



F20%



S15%



S20%

F15% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 15

F20% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 20

S15% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 15

S20% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 20

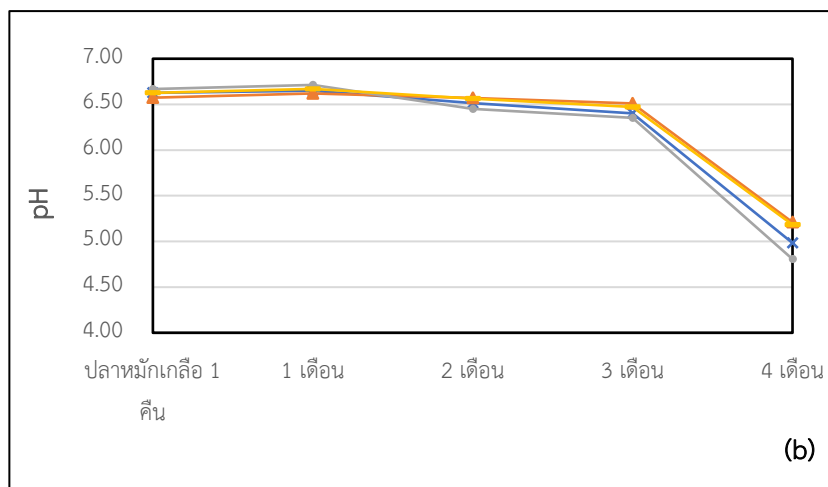
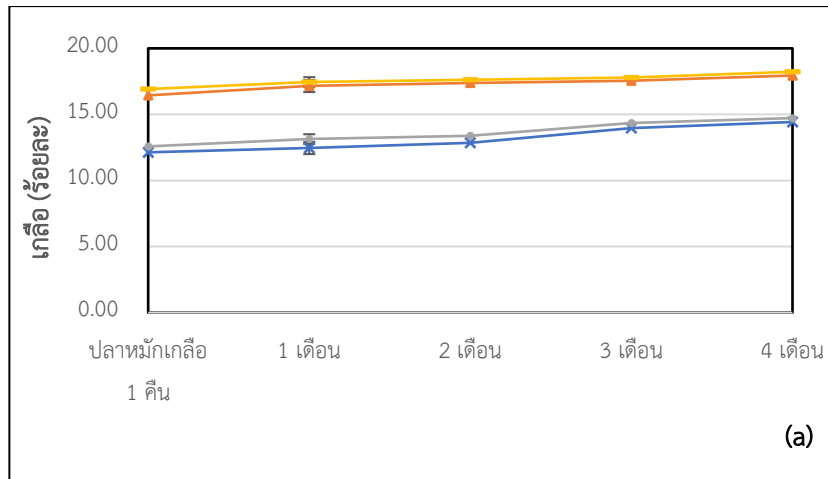
ภาพที่ 5 ลักษณะของปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลซึ่งมีความสด และปริมาณเกลือที่ใช้ในการหมักต่างกัน เมื่อหมักครบ 4 เดือน

2.2 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

วัตถุดิบปลานิลเริ่มต้น F และ S มีปริมาณเกลือร้อยละ 0.46 และ 0.37 ตามลำดับ หลังจากหมักเกลือไว้ 1 คืน ปริมาณเกลือของ F15%, F20%, S15% และ S20% เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็นร้อยละ 12.13, 16.44, 12.58 และ 16.92 ตามลำดับ จากนั้นปริมาณเกลือของทุกตัวอย่างค่อยๆ เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมักเมื่อครบ 4 เดือน ปริมาณเกลือของ F15%, F20%, S15% และ S20% เท่ากับ 14.43, 17.95, 14.72 และ 18.23 ตามลำดับ ดังภาพที่ 6(a) เมื่อพิจารณาถึงมาตรฐานของปลาร้า พบว่า F15%, S15% และ F20% มีปริมาณเกลืออยู่ในเกณฑ์กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาร้า (มพช.37/2557) ในขณะที่ S20% มีปริมาณเกลืออยู่ในเกณฑ์กำหนดของทั้งมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาร้า (มพช.37/2557) และมาตรฐานสินค้าเกษตร: ปลาร้า (มกษ. 7023-2561) คือ ปริมาณเกลือไม่ต่ำกว่าร้อยละ 12 และ 18 ตามลำดับ โดยเมื่อปลาสัมผัสกับเกลือเกลือจะแพร่เข้าสู่ตัวปลา ในขณะที่เดียวกันน้ำในตัวปลาจะแพร่ออกมาจนเนื้อปลามีปริมาณเกลือสูงขึ้น หลังจากนั้น

การแพร่ของเกลือเข้าสู่เนื้อปลาจะลดน้อยลง เพราะปริมาณเกลือภายในและภายนอกเนื้อปลามีค่าใกล้เคียงกันมากขึ้น จนในที่สุดการแพร่ของเกลือเข้าสู่เนื้อปลามีปริมาณเท่ากันทุกส่วน (วรรณวิบูลย์, 2529; Olley *et al.*, 1988; Poulte, 1988; Albarracín *et al.*, 2011) ในระหว่างการหมัก ปลาที่ตองเกลือจะมีปริมาณเกลือสูงขึ้น เพราะปริมาณน้ำในเนื้อปลาลดลง จุลินทรีย์ไม่สามารถนำน้ำอิสระซึ่งจำเป็นต่อการเจริญไปใช้ประโยชน์ได้ จึงทำให้ปริมาณของจุลินทรีย์ลดน้อยลง (เขาวลักษณะ, 2543; นิธิยา, 2553) และตัวอย่างที่ใส่ปริมาณเกลือต่างกัน จะมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต่างกัน Oliveira *et al.* (2012) พบว่า ปริมาณเกลือที่เพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 8 ถือว่าเป็นจุดวิกฤตที่ทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ลดลง

ค่า pH ของวัตถุดิบปลานิลเริ่มต้น F และ S เท่ากับ 6.56 และ 6.61 ตามลำดับ เมื่อหมักได้ 1 เดือน pH ของทุกตัวอย่างเพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยมีค่า pH ของ F15%, F20%, S15% และ S20% เท่ากับ 6.65, 6.61, 6.71 และ 6.67 ตามลำดับ ปลามีชีวิตจะมีค่า pH ประมาณ 7.00 แต่หลังจากปลาตายจะมีค่า pH ต่ำลง เนื่องจากการเกิดกระบวนการไกลโคไลซิสที่ไม่ใช้ออกซิเจน (Glycolysis) โดยเอนไซม์ในกล้ามเนื้อปลาย่อยสลายไกลโคเจนได้เป็นกรดแลคติก ทั้งนี้ ปริมาณกรดแลคติกที่เกิดขึ้นจะขึ้นอยู่กับปริมาณไกลโคเจนที่สะสมในกล้ามเนื้อปลาก่อนตาย รวมทั้งการปฏิบัติต่อสัตว์น้ำหลังการจับ (อรพิน, 2526) จากนั้นเมื่อปลามีสภาพการเสื่อมเสียมากขึ้น ค่า pH จะสูงขึ้น อาจมีสาเหตุมาจากเนื้อปลาเกิดการย่อยสลายตัวเอง โดยเอนไซม์ทำให้โปรตีนเสียสภาพหรือเกิดการแตกตัวของโปรตีนเกิดเป็นสารประกอบไนโตรเจนและสารประเภทเอมีนที่มีฤทธิ์เป็นด่างออกมา (แพรวพรรณ, 2522) หลังการหมักด้วยเกลือจนถึง 3 เดือน ค่า pH ลดลงเล็กน้อย เมื่อหมักครบ 4 เดือน ค่า pH ของทุกตัวอย่างลดลงอย่างเห็นได้ชัด โดยมีค่า pH เท่ากับ 4.98, 5.21, 4.81 และ 5.18 ตามลำดับ ดังภาพที่ 6(b) ในระหว่างการหมัก ค่า pH ลดลงเรื่อย ๆ เนื่องจากมีกรดแลคติกเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักจากแบคทีเรียกรดแลคติกที่ย่อยข้าวคั่ว ซึ่งเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่เติมลงไป (Riebroy *et al.*, 2004) Ijong and Ohta (1995) รายงานว่า ตัวอย่างน้ำปลาที่ใช้ปริมาณเกลือในการหมักน้อยกว่าจะมีค่า pH ต่ำกว่าตัวอย่างที่ใช้ปริมาณเกลือในการหมักมากกว่า โดยปริมาณเกลือจะมีส่วนไปยับยั้งการสร้างเอนไซม์ของจุลินทรีย์บางชนิดในระหว่างกระบวนการหมัก จากผลการศึกษานี้จะเห็นได้ว่า ค่า pH ในตัวอย่างสอดคล้องกับปริมาณเกลือที่พบ คือ เมื่อปลาหมักด้วยเกลือปริมาณน้อย ค่า pH ของตัวอย่างจะต่ำกว่าตัวอย่างที่มาจากปลาหมักด้วยเกลือที่มีปริมาณมากกว่า



- ×— F15% คือ ปลายร้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 15
- ▲— F20% คือ ปลายร้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 20
- S15% คือ ปลายร้าที่ผลิตจากปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 15
- S20% คือ ปลายร้าที่ผลิตจากปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 20

ภาพที่ 6 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี (a) เกลือ และ (b) pH ของปลายร้าปลานิลในระหว่างกระบวนการหมัก

จากตารางที่ 4 พบว่า ปลานิลสด (F) มีกรดอะมิโนซึ่งเป็นสารตั้งต้นของไบโอจีนิกเอมีน คือ คาร์ตาเวอรีน พิวทรีซีน และฮีสตามีน ได้แก่ ไลซีน (Lysine) อาร์จินีน (Arginine) และฮีสติดีน (Histidine) มีปริมาณเท่ากับ 15,852.3, 10,539.5 และ 4,337.8 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งจากงานวิจัยของ Wang *et al.* (2014) รายงานว่า ปลายร้าจืดสามารถพบไบโอจีนิกเอมีนได้ เนื่องจากพบแบคทีเรีย *Aeromonas* ที่สามารถสร้างพิวทรีซีน และคาร์ตาเวอรีนได้มาก รวมถึงพบ *Acinetobacter* ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้สามารถสร้างไบโอจีนิกเอมีนได้ในปลายร้าจืด แสดงว่า ปลายร้าปลานิลอาจมีโอกาสพบไบโอจีนิกเอมีนทั้ง 3 ชนิด

จากการตรวจวิเคราะห์ไบโอจีนิกเอมีน คือ คาร์ตาเวอรีน พิวทรีซีน และฮีสตามีนในระหว่างการหมัก ปลายร้าปลานิล พบว่า ในตัวอย่างปลานิลทั้ง F และ S ตรวจไม่พบไบโอจีนิกเอมีนทั้ง 3 ชนิด แต่เมื่อหมักปลา

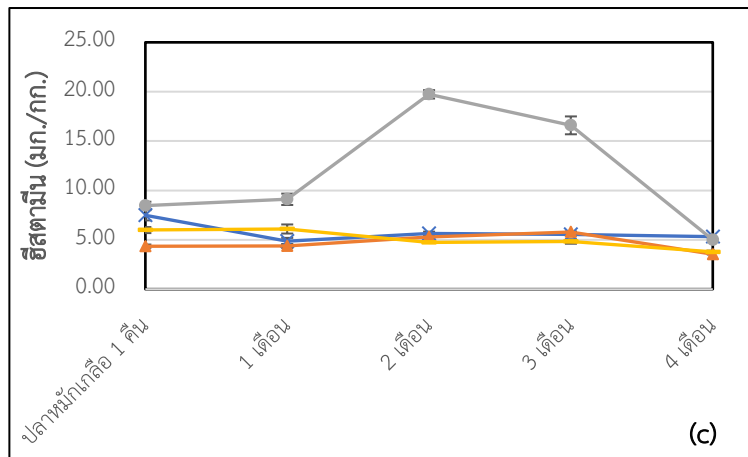
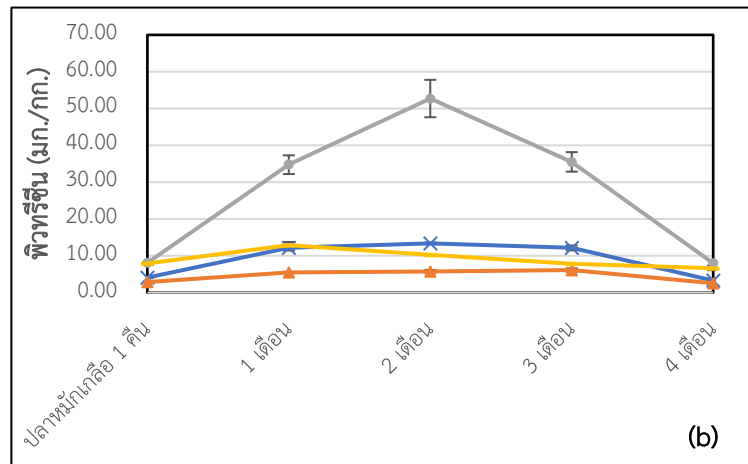
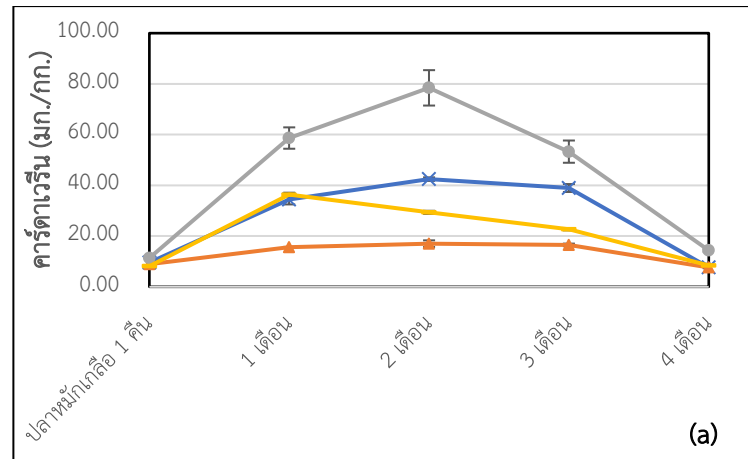
ด้วยเกลือ 1 คีน F15%, F20%, S15% และ S20% มีปริมาณคาร์ดาเวรีนเพิ่มขึ้นเป็น 9.51, 8.98, 11.35 และ 8.15 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พิวทรีซิน 4.07, 2.91, 8.07 และ 7.91 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และฮีสตามีน 7.48, 4.36, 8.46 และ 5.99 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ เมื่อครบระยะเวลาการหมัก 4 เดือน F20% มีปริมาณคาร์ดาเวรีน พิวทรีซิน และฮีสตามีนต่ำกว่าตัวอย่างอื่น ๆ โดยตัวอย่าง F15%, F20%, S15% และ S20% มีปริมาณคาร์ดาเวรีน 7.64, 7.63, 14.30 และ 8.49 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พิวทรีซิน 3.28, 2.55, 8.01 และ 6.64 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และฮีสตามีน 5.31, 3.54, 5.00 และ 3.78 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ดังภาพที่ 7(a), 7(b) และ 7(c) ตามลำดับ ปริมาณเกลือ และ pH มีผลต่อปริมาณไบโอจีนิกเอมีน ซึ่งพบปริมาณไบโอจีนิกเอมีนของตัวอย่างที่หมักด้วยเกลือร้อยละ 20 (F20% และ S20%) ต่ำกว่าตัวอย่างที่หมักด้วยเกลือร้อยละ 15 (F15% และ S15%) โดยปริมาณเกลืออาจมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ดีคาร์บอกซิเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เป็นปัจจัยในการเกิดไบโอจีนิกเอมีน (Halasz *et al.*, 1994; Suzzi and Gardini, 2003) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Konagaya *et al.* (2002); Kuda *et al.* (2002); An *et al.* (2010); Kuda *et al.* (2012) ศึกษาการหมักปลาด้วยเกลือที่ร้อยละ 5-15 ค่า pH อยู่ในช่วง 4.9-5.6 พบว่า เอนไซม์ฮีสติดีนดีคาร์บอกซิเลสจากแบคทีเรียแลคติกบางชนิดยังคงทำงาน จึงสร้างฮีสตามีนขึ้น โดยพบปริมาณฮีสตามีนสูงในตัวอย่างที่มีปริมาณเกลือต่ำ นอกจากนี้ค่า pH เป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ดีคาร์บอกซิเลส และต่อการทำงานของเอนไซม์ดีคาร์บอกซิเลส โดยเอนไซม์สามารถทำงานได้ในช่วง 2.5-7 และทำงานได้ดีในช่วง 4.0-5.5 (ยาวลักษณ์, 2543) จากงานวิจัยนี้ พบว่า ค่า pH ของตัวอย่างในระหว่างกระบวนการหมักอยู่ในช่วงที่จุลินทรีย์สามารถสร้างเอนไซม์ดีคาร์บอกซิเลส และเอนไซม์ทำงานได้ จึงอาจเกิดไบโอจีนิกเอมีนขึ้น

อย่างไรก็ตามในระหว่างการหมัก ปริมาณไบโอจีนิกเอมีนทั้ง 3 ชนิด มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงแรก และมีปริมาณลดลงในเดือนที่ 4 อาจเกิดจากจุลินทรีย์บางชนิดในผลิตภัณฑ์ที่สามารถสร้างสารต้านจุลชีพ (antimicrobial substance) ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างเอมีนหรือสามารถช่วยลดปริมาณไบโอจีนิกเอมีน (Mah and Hwang, 2009a) เช่น เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส และ เอนไซม์ไดเอมีนออกซิเดส ที่พบในจุลินทรีย์บางกลุ่มสามารถช่วยลดปริมาณไบโอจีนิกเอมีนลงได้ เช่น *Enterobacteriaceae* (Yamashita *et al.*, 1993) ฮีสตามีน และพิวทรีซิน ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ไดเอมีนออกซิเดส ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์นี้จะทำงานได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน และจะทำงานได้ดีที่สุดหากมีสภาวะที่เป็นกลางถึงสภาวะที่เป็นด่าง (Dapkevicius *et al.*, 2000) จุลินทรีย์บางชนิดสร้างเอนไซม์ที่สามารถย่อยไบโอจีนิกเอมีนได้ เช่น เอนไซม์ฮีสตามีนออกซิเดส พบใน *Brevibacterium linens* (Leuschner *et al.*, 1998), *Lactobacillus sakei* (Dapkevicius *et al.*, 2000) และ *Staphylococcus xylosus* (Martuscelli *et al.*, 2000) เอนไซม์เอมีนดีไฮโดรจีเนส เป็นอีกหนึ่งเอนไซม์ที่สามารถช่วยย่อยสลายเอมีนได้ พบใน *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida* และ *Paracoccus versutus* (Hacisalihoglu *et al.*, 1997) และ *Lactobacillus plantarum* ZY-40 สามารถช่วยลดปริมาณไบโอจีนิกเอมีน โดยเฉพาะคาร์ดาเวรีน และพิวทรีซิน ในระหว่างการหมักไส้กรอกปลาเกล็ดเงิน (silver carp) (Zhang *et al.*, 2013)

เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก พบว่า ทุกตัวอย่างมีปริมาณฮีสตามีนอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของสหภาพยุโรป และเกณฑ์มาตรฐานของออสเตรเลียและนิวซีแลนด์ สำหรับคาร์ดาเวรีนและพิวทรีซิน Ezzat *et al.* (2015) กล่าวว่า หากพิจารณาความเป็นพิษของตัวเองยังถือว่าอาจไม่เป็นพิษมากนัก จึงยังไม่มีเกณฑ์กำหนดมาตรฐานของไบโอจีนิกทั้งสองชนิด แต่ไบโอจีนิกทั้งสองชนิดนี้จะช่วยเสริมความเป็นพิษให้กับฮีสตามีน

ตารางที่ 4 กรดอะมิโนในปลานิลสด

กรดอะมิโน	มิลลิกรัม/กิโลกรัม
Alanine	10,815.1
Arginine	10,539.5
Aspartic acid	18,790.7
Cystine	< 2,000.0
Glutamic acid	23,980.2
Glycine	10,924.7
Histidine	4,337.8
Hydroxylysine	Not Detected: LOD 1,000
Hydroxyproline	Not Detected: LOD 2,000
Isoleucine	7,084.9
Leucine	13,819.6
Lysine	15,852.3
Methionine	4,684.5
Phenylalanine	7,505.4
Proline	6,543.3
Serine	6,476.8
Threonine	7,833.2
Tyrosine	6,350.1
Valine	9,252.3
Tryptophan	< 1,500.0

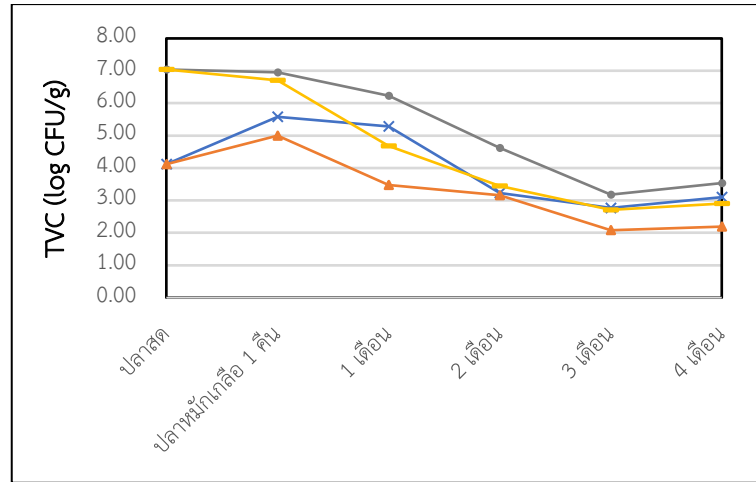


- × F15% คือ ปลายี่ห้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 15
- ▲ F20% คือ ปลายี่ห้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 20
- S15% คือ ปลายี่ห้าที่ผลิตจากปลานิลวางไว้ในอุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 15
- S20% คือ ปลายี่ห้าที่ผลิตจากปลานิลวางไว้ในอุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 20

ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงไบโอจีนิกเอมีน (a) คาร์ตาเวอรีน (b) พิวพรีซิน และ (c) ฮีสตามีน ของปลายี่ห้าปลานิลในระหว่างกระบวนการหมัก

2.3 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

การเปลี่ยนแปลงทางจุลชีววิทยาของปลาร้าปลานิล ดังภาพที่ 8 พบว่า ในตัวอย่างพลาสติก F และ S มีปริมาณ TVC เท่ากับ 4.11 และ 7.04 log CFU/g ตามลำดับ หลังจากหมักเกลือไว้ 1 คืน ปริมาณ TVC ของ F15% และ F20% เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 5.8 และ 5.0 log CFU/g ในขณะที่ S15% และ S20% มีปริมาณ TVC ลดลงเล็กน้อยเป็น 6.95 และ 6.71 log CFU/g เนื่องจากเกลือจะซึมผ่านเข้าสู่เนื้อปลาที่ไม่สดได้เร็วกว่าเนื้อปลาที่สด โดยเฉพาะที่ระดับปริมาณเกลือร้อยละ 20 เนื่องจากผนังเซลล์ของเนื้อปลาที่ไม่สดมีการเปลี่ยนแปลง (พิมพ์ชนก, ม.ป.ป.) หลังจากนั้นปริมาณ TVC ในทุกตัวอย่างลดลงตลอดระยะเวลาการหมักจนถึงเดือนที่ 3 ปริมาณ TVC ลดลงอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะ F20% ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณเกลือสูงถึงร้อยละ 17.78 จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ แต่มีจุลินทรีย์บางชนิดที่จะสามารถเจริญเติบโตได้ คือ กลุ่ม Moderately halophile ที่ต้องการเกลือในการเติบโตร้อยละ 5-20 เช่น *Pediococcus*, *Staphylococcus*, *Achromobacter*, *Micrococcus* และ *Pseudomonas* (บุษกร, 2555) ผลการวิจัยของสถาบันวิจัยแห่งชาติ พบว่า ผลการศึกษาคุณสมบัติทางจุลชีววิทยาของปลาร้าจากแหล่งต่าง ๆ จำนวน 280 ตัวอย่าง จุลินทรีย์ที่พบมาก ได้แก่ *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Pediococcus* spp., *Tetragenococcus halophilus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* และ *Bacillus licheniformis* (พงษ์เทพ, 2546) อ้างตาม National Research Council of Thailand, 1982) เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของแพรวพรรณ (2522) พบว่า จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหมักปลาร้า คือ *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp. และ *Pediococcus* spp. และอำนาจ (2544) รายงานว่า จุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ที่พบมากที่สุดในช่วงกระบวนการหมักปลาร้า คือ *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp. และ *Bacillus* spp. ในเดือนที่ 4 F15%, F20%, S15% และ S20% มีปริมาณ TVC 3.10, 2.19, 3.54 และ 2.90 log CFU/g ตามลำดับ จากผลการทดลองเห็นได้ว่า ตัวอย่างที่มีปริมาณ TVC ต่ำที่สุด คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 20 (F20%) ส่วนตัวอย่างที่มีปริมาณ TVC สูงที่สุด คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 15 (S15%) อาจเนื่องจาก S มีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นสูงกว่า F และปริมาณเกลือไม่เพียงพอในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในบางกลุ่ม เช่น จุลินทรีย์กลุ่มที่เจริญได้ดีในสภาวะที่มีปริมาณเกลือสูง (Halophilic bacteria) และจุลินทรีย์กลุ่มทนเกลือ (Halotolerant bacteria) (แพรวพรรณ, 2522)



- x— F15% คือ ปลาแร่ที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 15
- ▲— F20% คือ ปลาแร่ที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 20
- S15% คือ ปลาแร่ที่ผลิตจากปลานิลวางไว้ในอุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 15
- S20% คือ ปลาแร่ที่ผลิตจากปลานิลวางไว้ในอุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 20

ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงทางจุลชีววิทยาของปลาแร่ปลานิลในระหว่างกระบวนการหมัก

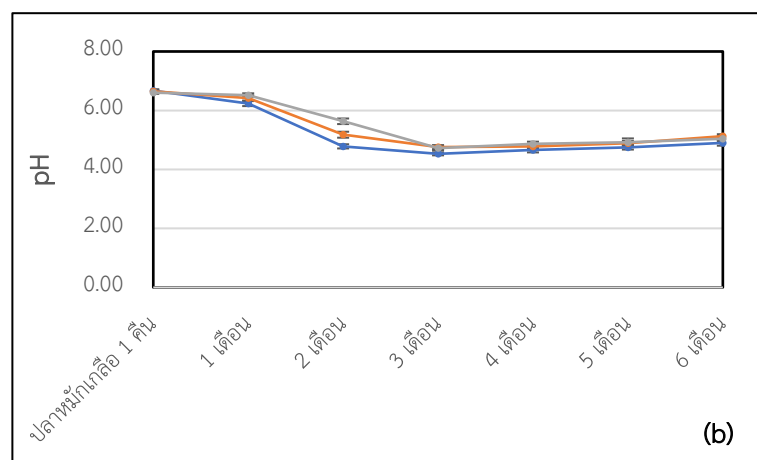
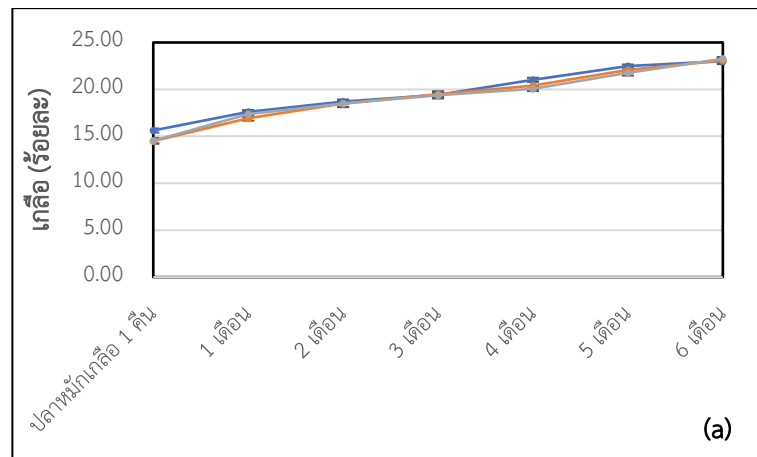
3. ผลของกระบวนการผลิตต่อการเปลี่ยนแปลงไบโอจีนิกเอมีนในการหมักปลาแร่ปลานิล

3.1 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีในปลาแร่ปลานิลจากกระบวนการผลิตที่ต่างกัน

จากผลการวิเคราะห์ TVB-N ของปลาที่ใช้ในกระบวนการผลิตทั้ง 3 กระบวนการ ตัวอย่างปลาสด P1, P2 และ P3 มีปริมาณ TVB-N เท่ากับ 16.70, 15.57 และ 15.13 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ โดย P2 และ P3 ขนส่งวัตถุดิบที่อุณหภูมิต่ำอยู่ในช่วง 10–12 °C ส่วน P1 ขนส่งวัตถุดิบที่อุณหภูมิสูงกว่าอยู่ในช่วง 15–20 °C การเก็บรักษาวัตถุดิบที่อุณหภูมิต่ำจะช่วยรักษาความสด และควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ในวัตถุดิบได้ดีกว่าการขนส่งที่อุณหภูมิสูง จึงทำให้ปริมาณ TVB-N ของ P2 และ P3 ต่ำกว่า P1 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Dudnyk *et al.* (2018) พบว่า เนื้อปลาแช่ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 21 °C มีค่า TVB-N สูงกว่าปลาแช่ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C

ปริมาณเกลือของปลานิลสดจาก P1, P2 และ P3 เท่ากับร้อยละ 0.56, 0.51 และ 0.50 ตามลำดับ หลังจากหมักเกลือ 1 คืน ปริมาณเกลือของปลานิลจาก P1, P2 และ P3 เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็นร้อยละ 15.62, 14.49 และ 14.53 จากนั้นปริมาณเกลือของทุกตัวอย่างเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดการหมัก เมื่อครบ 6 เดือน ปริมาณเกลือของปลาแร่ปลานิลจาก P1, P2 และ P3 เท่ากับร้อยละ 23.01, 23.09 และ 23.26 ตามลำดับ โดยปลาแร่ปลานิลจาก P1, P2 และ P3 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ดังภาพที่ 9(a) สอดคล้องกับการทดลองของชลันธร (2548) ศึกษาแบคทีเรียกรดแลคติกในปลาแร่ปลาทุ พบว่า ปลาแร่ปลาทุทุกตัวอย่างมีปริมาณเกลือเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมักตลอด 6 เดือน เนื่องจากเกลือมีการละลายเพิ่มมากขึ้นและแพร่เข้าไปในเนื้อปลาแร่ปลาทุได้ดีขึ้น จึงทำให้ปริมาณเกลือมีค่าเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการหมักนานขึ้น โดยปลาแร่ทุกตัวอย่างมีปริมาณเกลืออยู่ในเกณฑ์กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาแร่ (มผช.37/2557) และเกณฑ์กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร: ปลาแร่ (มกษ. 7023-2561) คือ ปริมาณเกลือไม่ต่ำกว่าร้อยละ 12 และ 18 ตามลำดับ

ค่า pH ของปลานิลสดจาก P1, P2 และ P3 เท่ากับ 6.53, 6.49 และ 6.46 ตามลำดับ หลังจากนั้นค่า pH ลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยในเดือนที่ 2 pH ของทุกตัวอย่างลดลงอย่างเห็นได้ชัด มีค่า pH เท่ากับ 4.78, 5.18 และ 5.63 และเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก 6 เดือน pH ของปลาร้าปลานิลจาก P1, P2 และ P3 เท่ากับ 4.90, 5.13 และ 5.05 ตามลำดับ ดังภาพที่ 9(b) ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกันกับการทดลองของชลันธร (2548) รายงานว่า ค่า pH ของปลาร้าปลาทุทุกตัวอย่างในเดือนที่ 0 มีค่าอยู่ระหว่าง 6.10–6.21 จากนั้นค่า pH ของปลาร้าปลาทุทุกตัวอย่างลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก 6 เดือน โดย pH ลดลงอย่างรวดเร็วในเดือนที่ 1

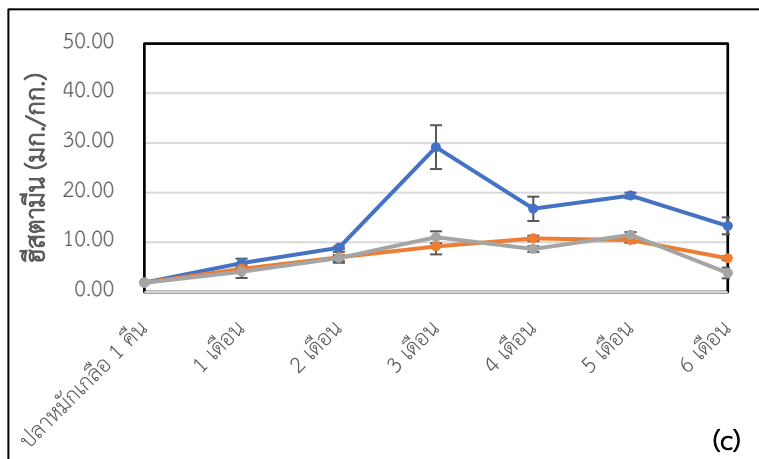
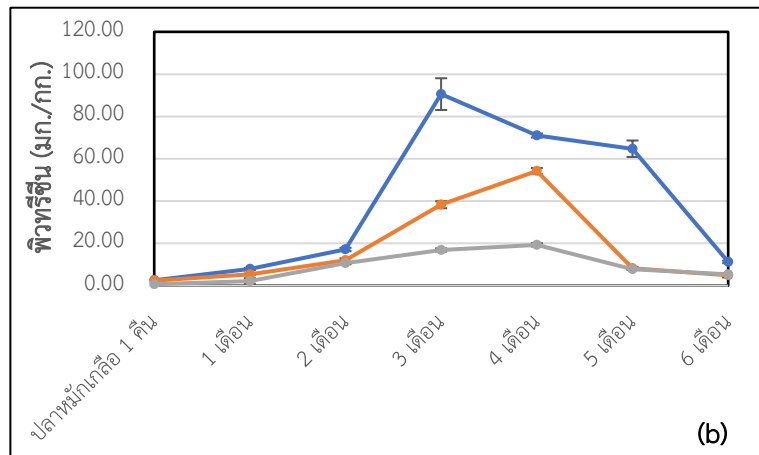
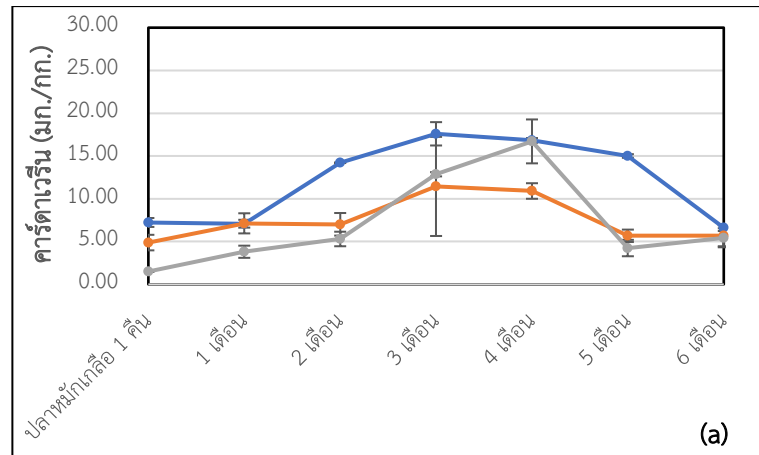


- P1 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 1
- P2 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 2
- P3 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 3

ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี (a) เกลือ และ (b) pH ของปลาร้าปลานิลจากกระบวนการผลิตที่ต่างกัน

ปลานิลสดที่ใช้ในกระบวนการผลิต P1, P2 และ P3 ไม่พบไบโอจีนิกเอมีน แต่เมื่อหมักปลา กับเกลือ 1 คีน ดังภาพที่ 10 พบ ปริมาณคาร์ดาเวอรีน 14.45, 9.75 และ 3.00 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ($p \leq 0.05$) พิวทรีซิน 5.09, 4.71 และ 1.36 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และฮีสตามีน 3.79, 3.82 และ 3.72 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ($p > 0.05$) ตามลำดับ ปริมาณคาร์ดาเวอรีน พิวทรีซิน และฮีสตามีนของปลาร้าปลานิลจาก P1, P2 และ P3 เพิ่มขึ้น ตลอดระยะเวลาการหมักจนถึงเดือนที่ 3 และหลังจากนั้นจึงลดลงเรื่อย ๆ จนถึงเดือนที่ 6 ซึ่งคาร์ดาเวอรีนในตัวอย่าง P1, P2 และ P3 มีปริมาณแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยมีปริมาณคาร์ดาเวอรีนเท่ากับ 13.22, 11.34 และ 10.87 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ปริมาณพิวทรีซิน P2 และ P3 แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่ทั้งสอง ตัวอย่างมีปริมาณน้อยกว่า P1 ($p \leq 0.05$) โดยมีปริมาณเท่ากับ 22.44, 9.81 และ 10.57 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ปริมาณฮีสตามีนของปลาร้าปลานิลจาก P1, P2 และ P3 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีปริมาณ เท่ากับ 26.63, 13.62 และ 7.68 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ จากผลการทดลอง P1 มีปริมาณไบโอจีนิกเอมีน ทั้ง 3 ชนิดสูงที่สุด โดยเฉพาะฮีสตามีน รองลงมา คือ P2 และ P3 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการควบคุมกระบวนการผลิตที่ดี และถูกสุขลักษณะช่วยลดการเกิดไบโอจีนิกในปลาร้าได้ เนื่องจาก P1 ในระหว่างการขนส่งมีการควบคุมอุณหภูมิ ได้ไม่ดีพอ โดยวัตถุดิบถูกเก็บไว้ในถังบุฉนวนที่มีน้ำแข็งรองกันถัง และปิดทับด้วยน้ำแข็งด้านบนของปลาไว้เท่านั้น อุณหภูมิของปลาสูงกว่า P2 และ P3 รวมถึงไม่มีการควบคุมสุขลักษณะในกระบวนการผลิต คือ นำปลาที่ตัดหัว ควักไส้ ขอดเกล็ดแล้ว ไปล้างด้วยน้ำคลองที่ไม่สะอาด ชุน ไมส ไมมีการล้างด้วยน้ำประปา และไม่มีการเอาไส้ออก จากช่องท้องปลาจนหมด ก่อนนำมาเคล้าด้วยเกลือ ส่วน P2 วัตถุดิบได้รับการจัดการในระหว่างการขนส่งที่ดี โดยเรียง ปลาสลับกับน้ำแข็ง อุณหภูมิของปลาอยู่ในช่วง 10–12 °C ส่วนการควบคุมสุขลักษณะในกระบวนการผลิตดีกว่า P1 คือ นำปลาที่ตัดหัว ควักไส้ ขอดเกล็ด ล้างด้วยน้ำคลอง และล้างด้วยน้ำประปาอีก 1 ครั้ง ก่อนนำไปเคล้ากับเกลือ และ P3 วัตถุดิบได้รับการจัดการเช่นเดียวกับ P2 โดยเพิ่มการล้างปลาด้วยน้ำประปาอีก 1 ครั้ง พร้อมทั้งเอาไส้ออก จากช่องท้องปลาทุกตัวจนหมด แล้วจึงนำไปเคล้ากับเกลือ ดังนั้น การควบคุมอุณหภูมิของวัตถุดิบ และกระบวนการ ผลิตที่ดี มีผลช่วยลดการเกิดปริมาณไบโอจีนิกเอมีนในปลาร้าปลานิลจาก P2 และ P3

นอกจากนี้ ปริมาณไบโอจีนิกเอมีนที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์สามารถลดลงได้โดยปฏิกิริยา oxidative deamination ซึ่งมีเอนไซม์เอมีนออกซิเดส เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้ผลิตภัณฑ์เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แอลดีไฮด์ และแอมโมเนีย และเอนไซม์เอมีนดีไฮโดรจีเนสที่ถูกสร้างจากจุลินทรีย์บางชนิดสามารถช่วยย่อยสลายเอมีนได้ (Hacisalihoglu *et al.*, 1997) จากงานวิจัย Mah และ Hwang (2009a) พบว่า *Staphylococcus xylosus* No.0538 ที่แยกได้จากปลากะตักหมักเกลือ สามารถย่อยสลายฮีสตามีนได้ถึงร้อยละ 38 และเมื่อนำ *Staphylococcus xylosus* มาใช้เป็นก้ำเชื้อเริ่มต้นในการหมักปลากะตัก สามารถลดปริมาณไบโอจีนิกเอมีนได้ร้อยละ 16 เมื่อเทียบกับ ชุดตัวอย่างควบคุม ทั้งนี้ เอนไซม์ดังกล่าวอาจเกิดขึ้นได้จากจุลินทรีย์บางชนิดที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการ หมักปลาร้า

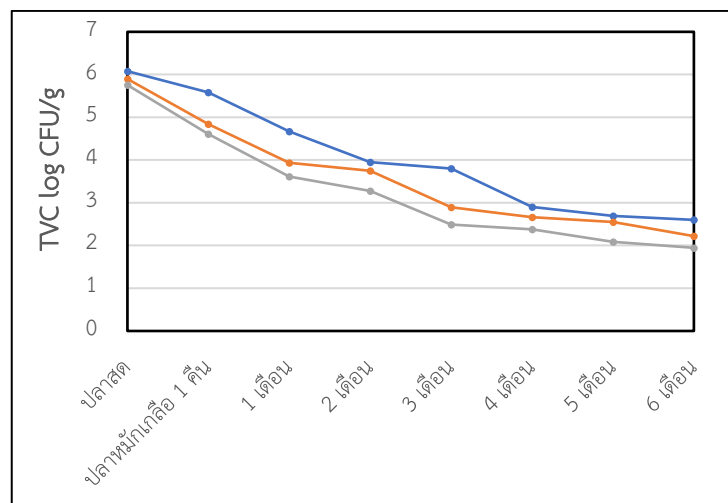


- P1 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 1
- P2 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 2
- P3 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 3

ภาพที่ 10 การเปลี่ยนแปลงไบโอจีนิกเอมีน (a) คาร์ตาเวรีน (b) ฟิวทรีซีน และ (c) ซีสตามีน ของปลาร้าปลานิลจากกระบวนการผลิตที่ต่างกัน

3.2 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาในปลาร้าปลานิลจากกระบวนการผลิตที่ต่างกัน

การเปลี่ยนแปลงทางจุลชีววิทยาในปลาร้าปลานิลที่มีกระบวนการผลิตต่างกัน 3 กระบวนการ ดังภาพที่ 11 พบว่า ปริมาณ TVC ในปลานิลสดจาก P1, P2 และ P3 เท่ากับ 6.08, 5.90 และ 5.76 log CFU/g ตามลำดับ ซึ่งปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นมีความสอดคล้องกับค่า TVB-N ที่เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน หลังจากหมักเกลือ 1 คืน ปลานิลเค็ล้าเกลือจาก P1, P2 และ P3 มีปริมาณ TVC ลดลง เท่ากับ 5.58, 4.85 และ 4.61 log CFU/g ตามลำดับ โดยปริมาณ TVC ในปลานิลจาก P2 ที่เพิ่มกระบวนการล้างปลาด้วยน้ำประปา 1 ครั้ง และปลานิลจาก P3 ซึ่งเอาไส้ออกจากท้องปลาจนหมด และล้างปลาด้วยน้ำประปาอีก 1 ครั้ง ช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นได้มากขึ้น การล้างปลาด้วยน้ำสะอาดจะช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ตัวปลา นอกจากนี้ การเอาไส้ปลาออกจากท้องปลาจะช่วยลดแหล่งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (วรรณวิบูลย์, 2560) จากนั้นในระหว่างกระบวนการหมัก ปริมาณ TVC ค่อย ๆ ลดลง เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักปลาร้าปลานิลจาก P1, P2 และ P3 มีปริมาณ TVC เท่ากับ 2.60, 2.22 และ 1.95 log CFU/g ตามลำดับ แสดงว่าการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบ และกระบวนการผลิตอาจช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างไบโอจินิกเอมีน รวมทั้งการควบคุมอุณหภูมิวัตถุดิบจะช่วยชะลอการเกิดฮีสตามีนได้ จิรวัดน์ (2557) รายงานว่า ฮีสตามีนสามารถทนความร้อนสูง จึงพบได้ในผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการนึ่งฆ่าเชื้อ เช่น ปลากระป๋อง ซึ่งหากในผลิตภัณฑ์มีปริมาณฮีสตามีนสูงอาจสันนิษฐานได้ว่า ปลาที่นำมาเป็นวัตถุดิบมีคุณภาพความสดต่ำ ดังนั้น จึงต้องมีการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบเพื่อป้องกันการเกิดฮีสตามีนในผลิตภัณฑ์



- P1 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 1
- P2 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 2
- P3 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 3

ภาพที่ 11 การเปลี่ยนแปลงทางจุลชีววิทยาของปลาร้าปลานิลจากกระบวนการผลิตที่ต่างกัน

สรุปผลการทดลอง

1. ปลาแร้าปลานิลที่จำหน่ายในท้องตลาด จำนวน 8 ตัวอย่าง มีปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า และเกลือ อยู่ในช่วงร้อยละ 13.71-19.95, 1.38-6.42, 56.74-64.50, 11.23-17.83 และ 7.74-18.52 ตามลำดับ ค่า pH อยู่ในช่วง 4.49-6.20 ปริมาณคาร์ดาเวรีน พิวทรีซิน และฮีสตามีน อยู่ในช่วง 45.79-306.59, 28.14-184.17 และ 15.73-77.77 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ โดยปลาแร้าปลานิลทุกตัวอย่างมีปริมาณฮีสตามีนอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของสหภาพยุโรป สำหรับปริมาณ TVC ของตัวอย่างปลาแร้าอยู่ในช่วง 1.1×10^2 - 9.5×10^4 CFU/g แต่จำนวน 1 ตัวอย่างมีปริมาณ *E. coli* ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาแร้า (มผช.37/2557) และมาตรฐานสินค้าเกษตร: ปลาแร้า (มกษ.7023-2561) และพบปริมาณ Yeasts and Molds จำนวน 2 ตัวอย่าง ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาแร้า (มผช.37/2557) และ 4 ตัวอย่างไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานสินค้าเกษตร: ปลาแร้า (มกษ.7023-2561)

2. ปริมาณเกลือของ S20% อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาแร้า (มผช.37/2557) และมาตรฐานสินค้าเกษตร: ปลาแร้า (มกษ.7023-2561) ในขณะที่ปริมาณเกลือของ F15%, F20% และ S15% อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาแร้า (มผช.37/2557) เท่านั้น ตัวอย่าง F และ S ตรวจไม่พบคาร์ดาเวรีน พิวทรีซิน และฮีสตามีน แต่เมื่อหมักด้วยเกลือ 1 คืบ พบปริมาณไบโอจีนิกเอมีนทั้ง 3 ชนิดเกิดขึ้น และในระหว่างการหมัก F20% มีปริมาณคาร์ดาเวรีน พิวทรีซิน และฮีสตามีนต่ำที่สุด รวมทั้งมีปริมาณ TVC ต่ำที่สุด ส่วนตัวอย่างที่มีปริมาณ TVC สูงที่สุด คือ S15% แสดงว่า การใช้วัตถุดิบที่มีความสด และปริมาณเกลือร้อยละ 20 จะทำให้ได้ปลาแร้ามีคุณภาพที่ดี

3. การควบคุมสุขลักษณะที่ดีในกระบวนการผลิตปลาแร้าปลานิลมีผลต่อปริมาณไบโอจีนิกเอมีน โดยการควบคุมอุณหภูมิวัตถุดิบระหว่างขนส่งในช่วง 10-12 °C ล้างทำความสะอาดปลาด้วยน้ำประปา 2 ครั้ง และล้างใส่ปลาออกจากช่องท้องจนหมด (P3) มีปริมาณไบโอจีนิกเอมีน และปริมาณ TVC ต่ำที่สุด

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณข้าราชการ และเจ้าหน้าที่ของกองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ ที่เป็นกำลังสำคัญ และช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในการวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2560. ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่อง เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3. กระทรวงสาธารณสุข. 9 หน้า
กองตรวจสอบคุณภาพสินค้าประมง. 2563ก. มาตรฐานผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำทางเคมีตามประเทศผู้นำเข้า ประเทศสหรัฐอเมริกา. แหล่งที่มา https://www.fisheries.go.th/quality/analyse/chem/2020/USA_27%20March%202020.pdf. 8 กรกฎาคม 2563.

- กองตรวจสอบคุณภาพสินค้าประมง. 2563ข. มาตรฐานผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำทางเคมีตามประเทศผู้นำเข้า ประเทศออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์. แหล่งที่มา https://www.fisheries.go.th/quality/analyse/chem/2020/Chem-Austarlai&New%20Zeland_March%202020.pdf. 8 กรกฎาคม 2563.
- กองตรวจสอบคุณภาพสินค้าประมง. 2563ค. มาตรฐานผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำทางเคมีตามประเทศผู้นำเข้า กลุ่มประเทศในสหภาพยุโรป. แหล่งที่มา https://www.fisheries.go.th/quality/analyse/chem/2020/Chem-EU_March%202020.pdf. 8 กรกฎาคม 2563.
- กองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ. 2561. การแปรรูปสัตว์น้ำ. ห้างหุ้นส่วนจำกัดวนิดาการพิมพ์, นนทบุรี. 81 หน้า.
- จณิสตา ภัทรวิวัฒน์ และ บดินทร์ อิทธิพงษ์. 2563. “ปลาร้า” (Pla-Ra). แหล่งที่มา https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20200615132142_1_file.pdf. 1 กรกฎาคม 2563.
- จันทร์เพ็ญ ไชยบุญ. ม.ป.ป. การทำเค็ม (Salting). แหล่งที่มา http://www.pfcollege.com/images/column_1521191992/%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%97%E0%B8%B3%E0%B9%80%E0%B8%84%E0%B9%87%E0%B8%A1-Salting.pdf. 29 กุมภาพันธ์ 2563.
- จิตต์เลขา ทองมณี. 2544. จุลินทรีย์ในอาหารหมัก. วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ 49 (157): 28-29.
- จิรวัดน์ ยงสวัสดิกุล และ สุรสิทธิ์ รอดทอง. 2547. การเกิดไบโอจินิกเอมีนในปลากระตักและผลิตภัณฑ์ปลาหมักดอง. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 86 หน้า.
- จิรวัดน์ ยงสวัสดิกุล. 2557. ดัชนีเคมีเพื่อการตรวจสอบย้อนกลับคุณภาพความสดของวัตถุดิบสำหรับซูริมิปลาเซตร้อน. แหล่งที่มา <http://sutir.sut.ac.th:8080/sutir/bitstream/123456789/5652/1/Fulltext.pdf>. 18 เมษายน 2563.
- ชลันธร วิชาศิลป์. 2548. การคัดแยกแบคทีเรียแล็กติกและการนำไปใช้ประโยชน์เป็นก้ำเชื้อในการหมักปลาร้าปลาทะเล. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 190 หน้า.
- ชาญชัย ผู้เสรีภาพ. 2539. การผลิตปลาร้า. หนังสือพิมพ์กสิกร 69 (5): 469-474.
- นฤมล อิศวเกษมณี. 2557. การถนอมสัตว์น้ำแบบพื้นบ้าน. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 276 หน้า.
- นิธิยา รัตนาปนนท์. 2553. เคมีอาหาร. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพมหานคร. 487 หน้า.
- เนตรนรินทร์ ขุนสูงเนิน. 2549. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อปลานิลซึ่งเก็บรักษาภายใต้การปรับเปลี่ยนบรรยากาศ. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 104 หน้า.
- บุษกร อุตริชาติ. 2555. จุลชีววิทยาทางอาหาร. บริษัทนำศิลป์โฆษณา จำกัด, สงขลา. 437 หน้า.
- ปราณี ศรีสมบูรณ์, จันทร์ฉาย แจ้งสว่าง และ มาลี เจริญวิทย์วรกุล. 2534. การศึกษาฮีสตามีนในผลิตภัณฑ์ปลาบางชนิด. วารสารอาหาร 25 (1): 35-42.
- ปัญญาภรณ์ ทัดพิชญางกู พรหมโชติ. 2560. องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของปลาร้า. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 19(2): 159-172.
- พิมพ์ชนก พริกบุญจันทร์. ม.ป.ป. เทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ประมง. แหล่งที่มา <http://elearning.psu.ac.th/courses/152/บทที่%205/บทที่%205%20การแปรรูปสัตว์น้ำโดยการทำเค็ม.pdf>. 3 มกราคม 2563.
- แพรวพรรณ ห่องทองแดง. 2522. การศึกษาจุลชีววิทยาของอาหารหมักพื้นเมือง: ปลาร้า. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 107 หน้า.

- พงษ์เทพ วิไลพันธ์. 2546. แบคทีเรียโอซินจากแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบในปลาร้า. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ดุสิต บัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 165 หน้า.
- พงษ์เทพ วิไลพันธ์. 2546. แบคทีเรียโอซินจากแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบในปลาร้า. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 165 หน้า. อ้างตาม National Research Council of Thailand. 1982. Report on Thai Traditional Fermented Food Research Project Phase I. 51 pp.
- ไทยโพสต์. 2561. ปลาร้าไทยดีตลาดทำเงินปีละ 800ล. แหล่งที่มา <https://www.thaipost.net/main/detail/7454>. 15 ธันวาคม 2562.
- ไทยรัฐออนไลน์. 2561. ปลาร้าพาสเจอร์ไรซ์ ของฝากขายดีปีใหม่ โรงงานกาฬสินธุ์ ผลิตออเดอร์ทะลัก. แหล่งที่มา <https://www.thairath.co.th/news/local/northeast/1167395>. 15 ธันวาคม 2562.
- เยาวลักษณ์ จิตต์ภักดี. 2543. แบคทีเรียที่ทำให้เกิดฮีستามีนในปลาอินทรีเค็ม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 110 หน้า.
- รัตติยา พรหมขำ, ศิริเนตร ชุนทอง และ มลฤดี ลิ้มสุวรรณ. 2549. การเปลี่ยนแปลงปริมาณต่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ในขั้นตอนการผลิตปลาบรรจุกระป๋อง. เอกสารวิชาการฉบับที่ 9/2549. ศูนย์วิจัยและตรวจสอบคุณภาพสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ สมุทรสาคร, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 23 หน้า.
- วีรชัย สิงห์ทอง. 2556. การวิเคราะห์ปริมาณสารไบโอจีนิกเอมีนในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกพื้นเมืองไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 141 หน้า.
- วรรณวิบูลย์ กาญจนกฤษ. 2529. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร. 177 หน้า.
- วรรณวิบูลย์ กาญจนกฤษ. 2560. สัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์. ใน: คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร (ผู้รวบรวม). วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร เล่ม 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 69-81.
- วลัย คลีฉายา, วชิร คงรัตน์ และ สมยศ ราชนิยม. 2562. คุณภาพวัตถุดิบและสุขลักษณะการผลิตต่อคุณภาพปลาร้า. เอกสารวิชาการฉบับที่ 5/2562. กองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 35 หน้า.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2557. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาร้า. มผช. 37-2557.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2561. มาตรฐานสินค้าเกษตร: ปลาร้า. มกษ. 7023-2561.
- สุพินดา จงสืบสุข และ ลินดา แซ่ลก. 2563. การผลิต คุณภาพ และความปลอดภัยของน้ำปลาร้าปรุงรส. เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2563. กองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 50 หน้า.
- สมณฑา วัฒนสินธุ์. 2549. ตำราจุลชีววิทยาทางอาหาร. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพมหานคร. 436 หน้า.
- อภินันท์ บัวหัทธิน. 2562. ปลาร้า... อาหารปลาหมัก อัตลักษณ์ประชาคมอาเซียน. แหล่งที่มา http://www.culture.go.th/culture_th/mobile_detail.php?cid=11&nid=4522. 23 เมษายน 2563.

- อุษณีย์ อภิบาลแบ. 2556. การคัดแยกและคุณลักษณะของแบคทีเรียกรดแลคติกจากปลาหมักเกลือความเข้มข้นสูง. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 66 หน้า.
- อำนาจ ยอแสง. 2544. ฮีสตามีนและกลีในระหว่างกระบวนการหมักปลาร้าข้าวคั่ว. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 149 หน้า.
- อรพิน ภูมิภมร. 2526. จุลินทรีย์ในเครื่องต้มประเภทแอลกอฮอล์และอาหารหมักพื้นบ้าน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร. 156 หน้า.
- A.O.A.C. 2016. Official methods of analysis of AOAC International 20th ed. AOAC International, USA. 3172 pp.
- An, C., H. Takahashi, B. Kimura and T. Kuda. 2010. Comparison of PCR-DGGE and PCR-SSCP Analysis for Bacterial Flora of Japanese Traditional Fermented Fish Products, *Aji-Narezushi* and *Iwashi-Nukazuke*. *J. Sci. Food Agric.* 90 (11): 1796–1801.
- Albarracín, W., I. C. Sánchez, R. Grau and J. M. Barat. 2011. Invited Review Salt in Food Processing; Usage and Reduction: A Review. *Int. J. Food Sci. Tech.* 46: 1329-1336.
- Auerswald, L., C. Moreen and A.L. Lopata. 2006. Histamine Levels in Seventeen Species of Fresh and Processed South African Seafood. *Food Chem.* 98: 231-239.
- Besas, J. R. and E. I. Dizon. 2014. Biochemical Changes of Salt-Fermented Tuna Viscera (Dayok) and Its Effect on Histamine Content During Fermentation. *IPCBE*. 67 (19): 97-102.
- Codex Alimentarius Commission. 2011. Thailand Information Paper on Estimating the Risk of Developing Histamine Poisoning from the Consumption Thai Fish Sauces. Available source: http://www.fao.org/tempref/codex/Meetings/CCFFP/ccffp31/CRD/CRD_18_Thailand.pdf. 15 July, 2020.
- Dapkevicius, M. L. N. E., M. J. R. Nout, F. M. Rombouts, J. H. Houben and W. Wimenga. 2000. Biogenic Amine Formation and Degradation by Potential Fish Silage Starter Microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.* 57: 107–114.
- Dudnyk, I., E.R. Janeček, J. Vaucher-Joset and F. Stellacci. 2018. Edible Sensors for Meat and Seafood Freshness. *Sensor Actuat B-Chem.* 259: 1108-1112.
- Ezzat, M. A., D. Zare, R. Karim and H.M. Ghazali. 2015. Trans- and Cis-urocanic acid, Biogenic Amine and Amino Acid Contents in Ikan Pekasam (Fermented Fish) Produced from Javanese Carp (*Puntius gonionotus*) and Black Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Food Chem.* 172: 893-899.
- Feng, P., S.D. Weagant, M.A. Grant, W. Burkhardt. 2017. BAM 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Available source: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria>. January 3, 2020.
- Food and Drug Administration. 2020. Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance Fourth Edition – MARCH 2020. Available source: <https://www.fda.gov/media/80637/download>. May 8, 2020.

- Food and Agriculture Organization of the United Nation. 1981. The Prevention of Losses in Cured Fish. *FAO Fish Technology Paper* 219: 1-87.
- In-house method based on Journal of AOAC International. 1999. Food Chemical Contaminants: Relevance of Matrix Effect in Determination of Biogenic Amines in Plaice (*Pleuronectes plastessa*) and Whiting (*Merlangus merlangus*). pp. 1097-1101.
- Gibson D. M. 1995. Hygiene and Safety of Seafood. In Fish and Fisheries Products. CAB International, Oxon, UK. pp. 243-260.
- Hacisalihoglu, A., J. A. Jongejan and J. A. Duine. 1997. Distribution of Amine Oxidase and Amine Dehydrogenase in Bacteria Grown in Primary Amines and Characterization of the Amine Oxidase from *Klebsiella oxytoca*. *Microbiology*. 143: 505–512.
- Hasegawa, H. (ed). 1987. Laboratory manual on analytical methods and procedures for fish and fish products. Southeast Asian Fisheries Development Center, Singapore. pp. A-3.1-A-3.2.
- Halasz, A., A. Barath, L. S. Sakardi and W. H. Holzapfel. 1994. Biogenic Amines and Their Production by Microorganisms in Food. *Trends Food Sci. Tech.* 5: 42-49.
- Ijong, F. G. and Y. Ohta. 1995. Microflora and Chemical Assessment of an Indonesian Traditional Fermented Fish Sauce “Bakasang”. *J. Fac. Appl. Biol. Sci.* 34: 95-100.
- ISO. 1998. Meat and meat products-Determination of total ash. Switzerland.
- ISO. 2017. Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection, enumeration and stereotyping of Salmonella-Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
- Karovičová, J. and Z. Kohajdová. 2005. Biogenic Amines in Food. *Chem. Pap.* 59 (1): 70-79.
- Konagaya, Y., B. Kimura, M. Ishida and T. Fujii. 2002. Purification and Properties of a Histidine Decarboxylase from *Tetragenococcus Muriaticus*, a Halophilic Lactic Acid Bacterium. *J. Appl. Microbiol.* 92: 1136–1142.
- Kongkiattikajorn, J. Potential of starter culture to reduce biogenic amines accumulation in som-fug, a Thai traditional fermented fish sausage. *J. Ethn. Foods* 2: 186-194.
- Kuda, T., K., Okamoto and T. Yano. 2002. Population of Halophilic Bacteria in Salted Fish Products Made in the Loochoo Islands, Okinawa and the Noto Peninsula, Ishikawa, Japan. *Fisheries Sci.* 68: 1265–1273.
- Kuda, T., Y. Izawa, S. Ishii, H. Takahashi, Y. Torido and B. Kimura. 2012. Suppressive Effect of *Tetragenococcus Halophilus*, Isolated from Fish-Nukazuke. *Food Chem.* 130: 569-574.
- Leuschner, R. G., M. Heidel and W. P. Hammes. 1998. Histamine and Tyramine Degradation by Food Fermenting Microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.* 39: 1–10.
- Lyu, J., Q. Li, L. Zhang, J. Zhang, Z. Dong, L. Feng and Y. Luo. 2017. Changes in Quality of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fillets Preserved with Salt and Sugar at Low Concentrations and Stored at 4 °C. *Int. J. Food Prop.* 20: 2286–2298.

- Mah, J. H. and H. J. Hwang. 2009a. Inhibition of biogenic amine formation in a salted and fermented anchovy by *Staphylococcus xylosus* as a protective culture. *Food Control* 20: 796-801.
- Mah, J. H. and H. J. Hwang. 2009b. Effect of Food Additives on Biogenic Amine Formation in *Myeolchi-jeot*, a Salted and Fermented Anchovy (*Engraulis japonicas*). *Food Chem.* 114: 168-173.
- Martuscelli, M., M. A. Crudele, F. Gardini and G. Suzzi. 2000. Biogenic Amine Formation and Oxidation by *Staphylococcus xylosus* Strains from Artisanal Fermented Sausages. *Lett. Appl. Microbiol.* 31: 228-232.
- Maturin L. and J. T. Peeler. 2001. Bacteriological Analytical Manual Chapter 3 Aerobic Plate Count. Available source: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-aerobic-plate-count#references>. January 3, 2020.
- Official Journal of the European Communities. 1998. Establishing Community Methods of Analysis for the Determination of Amino Acids, Crude Oils and Fats, and Olaquinox in Feedingstuffs and Amending. pp. 14-28.
- Olley, J., P. E. Doe and E. S. Heruwati. 1988. The Influence of Drying and Smoking on the Nutritional Properties of Fish: An Introductory Overview. In: Burt, J.R. (ed). *Fish Smoking and Drying*. Elsevier Applied Science, London and New York. pp. 1-21.
- Oliveira, H., S. Pedro, M. L. Nunes, R. Costa and P. Vaz-Pires. 2012. Processing of Salted Cod (*Gadus* spp.): A Review. *Compr. Rev. Food Sci. F.* 11 (6): 546-564.
- Pereira, C. I., M. T. BarretoCrespo and M. V. San Romao. 2001. Evidence for Proteolytic Activity and Biogenic Amines Production in *Lactobacillus curvatus* and *L. homohiochii*. *Int. J. Food Microbiol.* 68: 211-216.
- Poulte, R. G. 1988. Processing and Storage of Traditional Dried and Smoked Fish Products. In: Burt, J.R. (ed). *Fish Smoking and Drying*. Elsevier Applied Science, London and New York. pp. 85-90.
- Riebroy, S., S. Benjakul, W. Visessanguan, K. Kijrongrojana and M. Tanaka. 2004. Some Characteristics of Commercial Som-fug produced in Thailand. *Food Chem.* 88: 527-535.
- Rhodehamel, E. J. and S. M. Harmon. 2001. Bacteriological Analytical Manual Chapter 16 *Clostridium perfringens*. Available source: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-16-clostridium-perfringens>. January 3, 2020.
- Santos, M. H. S. 1996. Biogenic Amines: Their Importance in Foods. *Int. J. Food Microbiol.* 29: 213-231.
- Siang, N. C. and L. L. Kim. 1992. Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fish Products 2nd Edition. SEAFDEC. pp. B3.1-3.7
- Suzzi, G. and F. Gardini. 2003. Biogenic Amines in Dry Fermented Sausages: A Review. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 41-54.

- Tallent S. M., A. Knolhoff, E. J. Rhodehamel, S. M. Harmon and R. W. Bennett. 2012. Bacteriological Analytical Manual Chapter 14 *Bacillus cereus*. Available source: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-bacillus-cereus>. January 3, 2020.
- Tallent, S. M., J. Hait, R. W. Bennett, and G. A. Lancette. 2016. Bacteriological Analytical Manual Chapter 12 *Staphylococcus aureus*. Available source: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-staphylococcus-aureus>. January 3, 2020.
- Tournas, V., M. E. Stack, P. B. Mislivec, H. A. Koch and R. Bandler. 2001. Bacteriological Analytical Manual Chapter 18 Yeasts, Molds and Mycotoxins. Available source: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-yeasts-molds-and-mycotoxins>. January 3, 2020.
- Wang H., Y. Luo, H. Huang and Q. Xu. 2014. Microbial succession of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) filets during storage at 4 °C and its contribution to biogenic amines' formation. *Int. J. Food Microbiol.* 190, 66–71.
- Wootton, M., J. Silalahi and R. B.H. Wills. 1989. Amine Levels in Some Asian Seafood Products. *J. Sci. Food Agric.* 49: 503-506.
- Yamashita, M., M. Sakaue, M. Iwata, H. Sugino and Y. Murooka. 1993. Purification and Characterization of Monoamine Oxidase from *Klebsiella aerogenes*. *J. Ferment. Bioeng.* 76: 289–295.
- Yongsawatdigul, J. Y., J. Choi and S. Udornporn. 2004. Biogenic Amines Formation in Fish Sauce Prepared from Fresh and Temperature-abused Indian Anchovy (*Stolephorus indicus*). *J. Food Sci.* 69 (4): 312-319.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ปริมาณเกลือ (ร้อยละ) ของปลาร้าปลานิลในระหว่างกระบวนการหมัก

ตัวอย่าง	หมัก 1 คืน	หมัก 1 เดือน	หมัก 2 เดือน	หมัก 3 เดือน	หมัก 4 เดือน
F15%	12.13±0.09	12.46±0.06	12.85±0.07	13.98±0.08	14.43±0.06
F20%	16.44±0.06	17.15±0.08	17.38±0.07	17.56±0.09	17.95±0.08
S15%	12.58±0.05	13.13±0.07	13.38±0.10	14.34±0.08	14.72±0.09
S20%	16.92±0.06	17.45±0.07	17.63±0.05	17.78±0.07	18.23±0.10

F15% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 15

S15% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลาลวกไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 15

F20% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 20

S20% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลาลวกไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 20

ตารางผนวกที่ 2 ค่า pH ของปลาร้าปลานิลในระหว่างกระบวนการหมัก

ตัวอย่าง	หมัก 1 คืน	หมัก 1 เดือน	หมัก 2 เดือน	หมัก 3 เดือน	หมัก 4 เดือน
F15%	6.63±0.02	6.65±0.03	6.51±0.02	6.40±0.02	4.98±0.01
F20%	6.57±0.01	6.61±0.02	6.57±0.01	6.51±0.03	5.21±0.02
S15%	6.67±0.02	6.71±0.02	6.45±0.02	6.35±0.01	4.81±0.02
S20%	6.63±0.02	6.67±0.01	6.56±0.02	6.47±0.02	5.18±0.03

F15% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 15

S15% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลลวกไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 15

F20% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 20

S20% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลลวกไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30± 2°C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 20

ตารางผนวกที่ 3 ปริมาณคาร์ดาเวรีน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ของปลาร้าปลานิลในระหว่างกระบวนการหมัก

ตัวอย่าง	หมัก 1 คืน	หมัก 1 เดือน	หมัก 2 เดือน	หมัก 3 เดือน	หมัก 4 เดือน
F15%	9.51±0.43	34.40±1.92	42.46±0.70	38.95±1.56	7.64±0.36
F20%	8.98±0.55	15.62±0.11	17.00±1.31	16.52±0.51	7.63±0.18
S15%	11.35±0.65	58.65±4.21	78.44±6.98	53.29±4.39	14.30±0.59
S20%	8.15±0.38	36.36±0.75	29.35±0.62	22.72±0.46	8.49±0.62

F15% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 15

F20% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 20

S15% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 15

S20% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 20

ตารางผนวกที่ 4 ปริมาณพิวรีซิน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ของปลาร้าปลานิลในระหว่างกระบวนการหมัก

ตัวอย่าง	หมัก 1 คืน	หมัก 1 เดือน	หมัก 2 เดือน	หมัก 3 เดือน	หมัก 4 เดือน
F15%	4.07±0.14	12.18±0.75	13.39±0.24	12.14±0.65	3.28±0.24
F20%	2.91±0.11	5.53±0.11	5.79±0.36	6.13±0.45	2.55±0.12
S15%	8.07±0.50	34.75±2.54	52.72±5.08	35.51±2.65	8.01±0.68
S20%	7.91±0.42	12.90±0.85	10.23±0.14	7.85±0.13	6.64±0.55

F15% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 15

F20% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 20

S15% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 15

S20% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 20

ตารางผนวกที่ 5 ปริมาณฮีสตามีน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ของปลาร้าปลานิลในระหว่างกระบวนการหมัก

ตัวอย่าง	หมัก 1 คืน	หมัก 1 เดือน	หมัก 2 เดือน	หมัก 3 เดือน	หมัก 4 เดือน
F15%	7.48±0.52	4.86±0.34	5.64±0.18	5.54±0.11	5.31±0.10
F20%	4.36±0.16	4.38±0.19	5.28±0.14	5.79±0.06	3.54±0.03
S15%	8.46±0.39	9.10±0.57	19.74±0.43	16.59±0.90	5.00±0.14
S20%	5.99±0.31	6.09±0.46	4.75±0.05	4.83±0.22	3.78±0.13

F15% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 15

F20% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลสดหมักเกลือร้อยละ 20

S15% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 15

S20% คือ ปลาร้าที่ผลิตจากปลานิลวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หมักเกลือร้อยละ 20

ตารางผนวกที่ 6 ปริมาณเกลือ (ร้อยละ) ของปลาร้าปลานิลจากกระบวนการผลิตที่ต่างกัน

ตัวอย่าง	หมัก 1 คืน	หมัก 1 เดือน	หมัก 2 เดือน	หมัก 3 เดือน	หมัก 4 เดือน	หมัก 5 เดือน	หมัก 6 เดือน
P1	15.62±0.22 ^{Ca}	17.61±0.19 ^{Ab}	18.69±0.23 ^{Ac}	19.42±0.20 ^{Ad}	21.03±0.21 ^{Be}	22.48±0.17 ^{Af}	23.01±0.31 ^{Ag}
P2	14.49±0.25 ^{Aa}	16.94±0.27 ^{Ab}	18.48±0.38 ^{Ac}	19.47±0.32 ^{Ad}	20.40±0.42 ^{ABe}	22.09±0.29 ^{Af}	23.09±0.33 ^{Ag}
P3	14.53±0.29 ^{Ba}	17.38±0.32 ^{Ab}	18.49±0.35 ^{Ac}	19.34±0.36 ^{Ad}	20.06±0.24 ^{Ad}	21.76±0.28 ^{Ae}	23.26±0.18 ^{Af}

^{A, B} ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่มีอักษรยกกำลังแตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

^{a, b, c} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรยกกำลังแตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

P1 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 1 P2 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 2 P3 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 3

ตารางผนวกที่ 7 ค่า pH ของปลาร้าปลานิลจากกระบวนการผลิตที่ต่างกัน

ตัวอย่าง	หมัก 1 คืน	หมัก 1 เดือน	หมัก 2 เดือน	หมัก 3 เดือน	หมัก 4 เดือน	หมัก 5 เดือน	หมัก 6 เดือน
P1	6.67±0.05 ^{Ae}	6.23±0.08 ^{Ad}	4.78±0.07 ^{Abc}	4.53±0.05 ^{Aa}	4.67±0.09 ^{Aab}	4.75±0.08 ^{Abc}	4.90±0.10 ^{Ac}
P2	6.65±0.04 ^{Ad}	6.43±0.09 ^{ABc}	5.18±0.10 ^{Bb}	4.76±0.07 ^{Ba}	4.78±0.05 ^{Aa}	4.89±0.07 ^{Aa}	5.13±0.06 ^{Ab}
P3	6.61±0.04 ^{Ad}	6.52±0.06 ^{Bd}	5.63±0.09 ^{Cc}	4.72±0.07 ^{ABa}	4.87±0.08 ^{Aab}	4.92±0.13 ^{Aab}	5.05±0.08 ^{Ab}

A, B ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีอักษรยกกำลังแตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

a, b, c ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรยกกำลังแตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

P1 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 1 P2 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 2 P3 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 3

ตารางผนวกที่ 8 ปริมาณคาร์ดาเวรีน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ของปลาร้าปลานิลจากกระบวนการผลิตที่ต่างกัน

ตัวอย่าง	หมัก 1 คืน	หมัก 1 เดือน	หมัก 2 เดือน	หมัก 3 เดือน	หมัก 4 เดือน	หมัก 5 เดือน	หมัก 6 เดือน
P1	14.45±1.03 ^{Ca}	14.15±0.91 ^{Ba}	28.40±0.08 ^{Cb}	35.13±2.72 ^{Ac}	33.61±0.53 ^{Bc}	29.98±0.42 ^{Bb}	13.22±0.77 ^{Aa}
P2	9.75±1.81 ^{Ba}	14.25±2.36 ^{Bab}	14.01±2.63 ^{Bab}	22.87±11.57 ^{Ab}	21.81±1.82 ^{Aab}	11.33±1.45 ^{Aab}	11.34±2.45 ^{Aab}
P3	3.00±0.02 ^{Aa}	7.61±1.42 ^{Aab}	10.59±1.70 ^{Ab}	25.71±0.49 ^{Ac}	33.38±5.15 ^{Bd}	8.47±1.91 ^{Aab}	10.87±2.23 ^{Ab}

A, B ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีอักษรยกกำลังแตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

a, b, c ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรยกกำลังแตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

P1 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 1 P2 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 2 P3 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 3

ตารางผนวกที่ 9 ปริมาณพิวทรีซิน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ของปลาร้าปลานิลจากกระบวนการผลิตที่ต่างกัน

ตัวอย่าง	หมัก 1 คืน	หมัก 1 เดือน	หมัก 2 เดือน	หมัก 3 เดือน	หมัก 4 เดือน	หมัก 5 เดือน	หมัก 6 เดือน
P1	5.09±0.96 ^{Ba}	15.70±1.04 ^{Cb}	34.21±1.64 ^{Cd}	180.82±15.01 ^{Bs}	141.82±1.81 ^{Cf}	129.35±7.80 ^{Be}	22.44±1.17 ^{Bc}
P2	4.71±1.29 ^{Ba}	10.75±0.79 ^{Bb}	23.98±1.84 ^{Bd}	76.49±3.36 ^{Be}	108.34±2.84 ^{Bf}	16.37±1.38 ^{Ac}	9.81±2.11 ^{Ab}
P3	1.36±0.20 ^{Aa}	4.39±2.61 ^{Ab}	21.35±1.19 ^{Ac}	33.71±1.50 ^{Ad}	38.53±1.53 ^{Ad}	15.67±0.19 ^{Ac}	10.57±0.03 ^{Aab}

A, B ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีอักษรยกกำลังแตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

a, b, c ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรยกกำลังแตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

P1 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 1 P2 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 2 P3 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 3

ตารางผนวกที่ 10 ปริมาณฮีสตามีน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ของปลาร้าปลานิลจากกระบวนการผลิตที่ต่างกัน

ตัวอย่าง	หมัก 1 คืน	หมัก 1 เดือน	หมัก 2 เดือน	หมัก 3 เดือน	หมัก 4 เดือน	หมัก 5 เดือน	หมัก 6 เดือน
P1	3.79±0.16 ^{Aa}	11.64±1.78 ^{Bab}	17.82±0.45 ^{Bbc}	58.24±8.82 ^{Bf}	33.47±4.87 ^{Cde}	38.84±1.14 ^{Be}	26.63±3.42 ^{Ccd}
P2	3.82±0.11 ^{Aa}	9.30±0.34 ^{Ab}	13.97±2.19 ^{Ac}	18.33±3.18 ^{Ad}	21.57±1.11 ^{Bd}	20.94±1.10 ^{Ad}	13.62±0.79 ^{Bc}
P3	3.72±0.18 ^{Aa}	8.16±2.50 ^{Ab}	13.70±1.18 ^{Ac}	22.01±2.42 ^{Ad}	17.27±1.14 ^{Ac}	23.00±1.10 ^{Ad}	7.68±2.15 ^{Aab}

A, B ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีอักษรยกกำลังแตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

a, b, c ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรยกกำลังแตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

P1 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 1 P2 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 2 P3 คือ ปลาร้าปลานิลที่ผลิตตามกระบวนการผลิตที่ 3