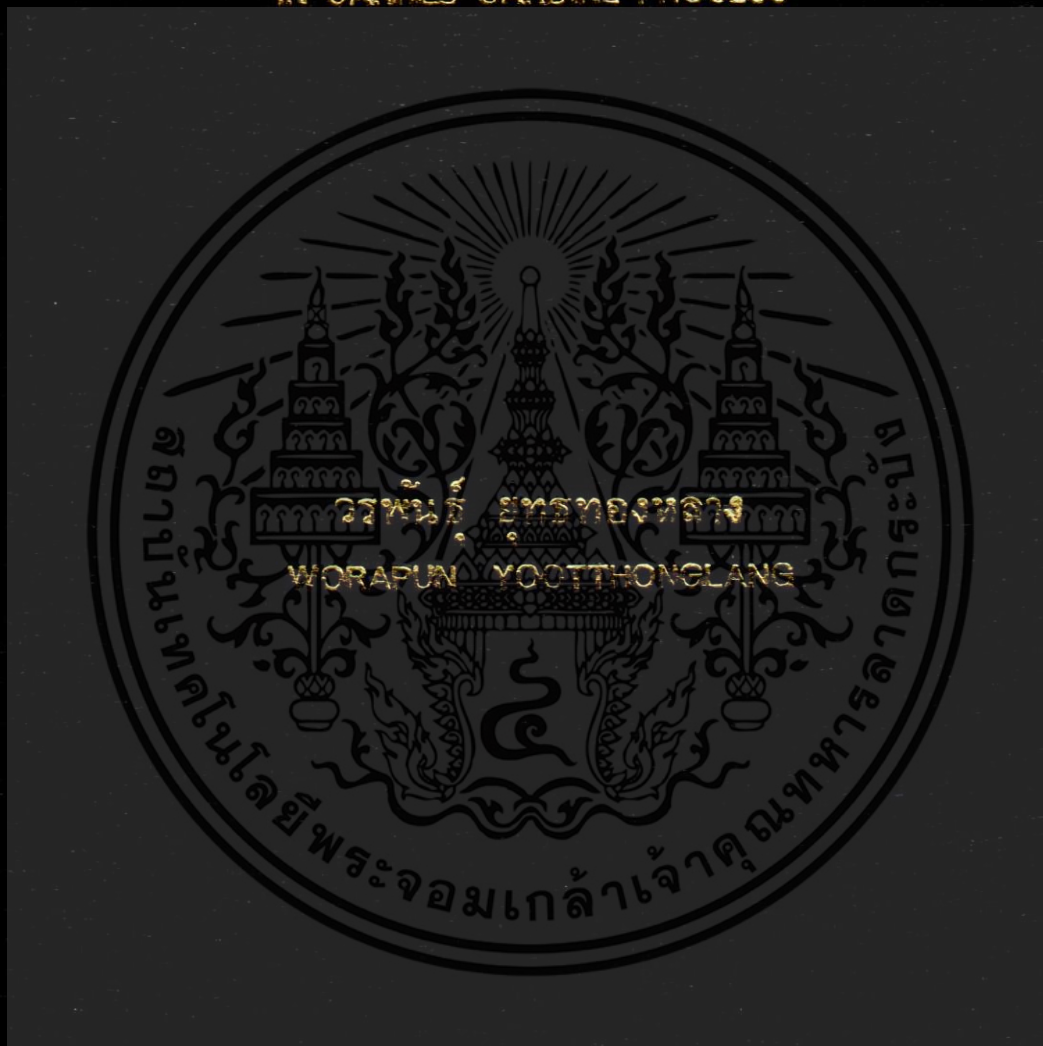


การประเมินความปลอดภัยของฮีสตามีน
ในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง

SAFETY EVALUATION OF HISTAMINE
IN CANNED SARONNE PROCESS



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาคณะหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขอนามัยอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2558

KMITL-2015-AI-M-054-247

การประเมินความปลอดภัยของฮิสตามีน
ในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง

**SAFETY EVALUATION OF HISTAMINE
IN CANNED SARDINE PROCESS**



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2558

KMITL-2015-AI-M-054-247

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**SAFETY EVALUATION OF HISTAMINE
IN CANNED SARDINE PROCESS**



WORAPUN YOOTTHONGLANG

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SANITATION**

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2015

KMITL-2015-AI-M-054-247

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2015

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การประเมินความปลอดภัยของฮิสตามีนในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง
SAFETY EVALUATION OF HISTAMINE IN CANNED SARDINE PROCESS

ชื่อนักศึกษา นายวรพันธุ์ ยูทธองกลาง
รหัสประจำตัว 53680456
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา สาขาวิชาโภชนาการ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.วริพัทธ์ อารีกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม -

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.วริพัทธ์ อารีกุล	
รศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิริโรคม	
ดร.สิทธิพงษ์ นลินานนท์	
รศ.ดร.ประภาพร ขอไพบุลย์	

วัน / เดือน / ปีที่ 22 ธันวาคม 2558 เวลา 14.00 น. เป็นต้นไป
สถานที่สอบ ณ ห้อง A 302 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิริโรคม)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 23 เดือน 12 พ.ศ. 2558

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การประเมินความปลอดภัยของฮีสตามีนในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง
นักศึกษา	นายวรพันธุ์ ยุทธทองกลาง
รหัสประจำตัว	53680456
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2558
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.วิรัชย์ อารีกุล

บทคัดย่อ

กระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋องอาจมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮีสตามีนในผลิตภัณฑ์ จากการสำรวจขั้นตอนของโรงงานต้นแบบผลิตภัณฑ์ ที่อุณหภูมิของปลาเพิ่มขึ้นสูงถึง 13.2 องศาเซลเซียสและอาจเกิดความล่าช้าในกระบวนการผลิต มีจำนวน 4 ขั้นตอน ได้แก่ 1) ละลายละลายน้ำแข็งปลาซาร์ดีนแช่เยือกแข็ง 2) การฆ่าท้อง ควักไส้ และตัดหัวปลา 3) การบรรจุปลาลงกระป๋อง และ 4) การนึ่งด้วยไอน้ำเมื่อเก็บตัวอย่างจากทั้ง 4 ขั้นตอนมาวิเคราะห์ปริมาณฮีสตามีนในกระบวนการผลิต ทุกๆ 10 สัปดาห์ รวมจำนวน 3 ชุดตัวอย่างพบว่า ปริมาณฮีสตามีนในแต่ละขั้นตอนการผลิตของแต่ละชุดตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่ชุดตัวอย่างมีปริมาณฮีสตามีนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่า ปริมาณฮีสตามีนในผลิตภัณฑ์น่าจะเป็นผลมาจากปริมาณฮีสตามีนเริ่มต้นในวัตถุดิบปลาซาร์ดีนแช่เยือกแข็ง

ปลาซาร์ดีนที่ผ่านการฆ่าท้อง ควักไส้และตัดหัวแล้ว และผสมเชื้อ *Morganella morganii* ที่ความเข้มข้น 10^7 เซลล์ต่อกรัมตัวอย่างนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 10-25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบว่า ปริมาณฮีสตามีนในตัวอย่างปลาที่บ่มที่อุณหภูมิ 10 และ 15 องศาเซลเซียสไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่การบ่มปลาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสนั้น มีปริมาณฮีสตามีนเพิ่มขึ้นที่เวลา 12 ชั่วโมง และมีค่า 457.67 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในเวลา 24 ชั่วโมง ดังนั้น การควบคุมอุณหภูมิปลาซาร์ดีนที่ปนเปื้อนเชื้อ *M. morganii* ในกระบวนการผลิตควรทำที่อุณหภูมิไม่เกิน 15 องศาเซลเซียส ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำผลการทดลองไปใช้ในการวิเคราะห์อันตรายเพื่อกำหนดมาตรการควบคุมป้องกันการเพิ่มขึ้นของฮีสตามีนในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋องตามหลักการระบบการจัดการด้านความปลอดภัยอาหาร HACCP พบว่ามีจุดควบคุมวิกฤติ 4 ขั้นตอน ได้แก่ 1) ขั้นตอนการละลายละลายน้ำแข็งปลาซาร์ดีนแช่เยือกแข็ง 2) ขั้นตอนการฆ่าห้อง ลวกไข่ และตัดหัวปลา 3) ขั้นตอนการบรรจุปลาลงกระป๋อง และ 4) ขั้นตอนการนึ่งด้วยไอน้ำซึ่งต้องยืนยันความถูกต้องของค่าควบคุมก่อนนำไปประยุกต์ใช้งานในระดับอุตสาหกรรม



Thesis Title	SAFETY EVALUATION OF HISTAMINE IN CANNED SARDINE PROCESS
Student	Mr.Worapun Yootthonglang
Student ID.	53680456
Degree	Master of Science
Program	Food Sanitation
Year	2015
Thesis Advisor	Dr. Varipat Areekul

ABSTRACT

Canned sardine process may result in an increase of histamine level in the product. The plant model was evaluated for the probability of histamine production in each process step. There were a temperature of sardine raised up to 13.2°C and a delay in certain process step. There were four steps including 1) thawing, 2) gutting, butchering and de-heading 3) can filling and 4) steaming (pre-cooking). Three samples were collected every 10 weeks from those steps to monitor the change in histamine level during process. The results showed that the histamine levels in process steps showed no statistical difference ($p > 0.05$) but the sampling sets were significant difference ($p \leq 0.05$). These results indicated that the histamine level in canned product attributed to the initial histamine level in frozen raw sardines.

Butchered and de-headed sardines were inoculated with *Morganella morganii* at a level of 10^5 CFU/g. and stored at 10- 25°C to study the change of histamine level during the storage time for 24 hours. The result showed that histamine level in samples stored at 10 and 15°C showed no statistical difference ($p > 0.05$) while when stored at 25°C, the histamine level increased at 12 hours and was up to 457.67 mg./kg. at the 24 hours. Therefore, temperature control of sardine contaminated with *M. morganii* shall be lower than 15°C and less than 24 hours during the production.

These results were applied for hazard analysis according to the principle of HACCP system to establish the control measure in order to prevent the histamine production in canned sardine processing. It was found 4 critical control points including 1) frozen sardine thawing 2) gutting, butchering and de-heading 3) can filling and 4) steaming (pre-cooking). However, those critical control points shall be verified prior to apply for the industry.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดีและสมบูรณ์ โดยได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก ผศ.ดร.วิพัทธ์ อารีกุลที่เป็นเกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้ให้คำปรึกษา แนะนำการวางแผนการทดลอง และให้แนวคิดเพื่อแก้ไขปัญหา /อุปสรรคต่างๆ ในระหว่างการวิจัย ตลอดจนติดตามความก้าวหน้าของงานวิจัย ให้ความช่วยเหลือในการตรวจ และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสมบูรณ์ นอกจากนี้ขอขอบพระคุณรศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม, ดร.สิทธิพงศ์ นลินานนท์ และรศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์ ที่ช่วยให้คำแนะนำในระหว่างการสอบวิทยานิพนธ์ ตลอดจนตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เพื่อทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ที่สนับสนุนทุนวิจัยตามโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ระดับปริญญาโท

ขอขอบพระคุณคุณนาฏฤดี มีศิลป์ ผู้จัดการฝ่ายห้องปฏิบัติการ เครื่องป.เจริญพันธุ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ และคำแนะนำเกี่ยวกับห้องปฏิบัติการทางด้านจุลชีววิทยา

ขอขอบพระคุณบริษัท ห้องปฏิบัติการกลางประเทศไทย จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการรับตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ฮีستามีน

ขอขอบพระคุณบริษัท ไทยยูเนี่ยน โฟรเซ่น โปรดักส์ จำกัด (มหาชน) ที่เข้าร่วมงานวิจัย ตลอดจนให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างปลาซาร์ดีน

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านในภาควิชาสาขาวิชาโภชนาการ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาให้กับข้าพเจ้า ตลอดระยะเวลาการศึกษา

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา รวมถึงครูอาจารย์ ตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่านที่คอยเป็นกำลังใจ และให้ความช่วยเหลืออีกทั้งให้การสนับสนุนในทุก ๆ ด้านแก่ข้าพเจ้า ทำให้ข้าพเจ้าสามารถทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วง

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดามารดา ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า

วรพันธุ์ ยูทธทองกลาง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	IV
สารบัญ.....	V
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญภาพ.....	VIII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 ฮีสตามีน.....	5
2.2 การเกิดฮีสตามีนในปลาทูน่า และปลาชนิดอื่นๆ.....	6
2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดฮีสตามีนในปลาโดยเชื้อจุลินทรีย์.....	10
2.4 เชื้อแบคทีเรีย <i>Morganella morganii</i>	11
2.5 เอนไซม์ฮีสทีดิลคาร์บอกซิเลส.....	12
2.6 ปลาทูน่า.....	12
2.7 กระบวนการผลิตปลากระป๋องโดยทั่วไป.....	15
2.8 ข้อกำหนดสุขลักษณะในการผลิตผลิตภัณฑ์ปลาทูน่า.....	17
2.9 ระบบบริหารจัดการด้านความปลอดภัยอาหาร.....	19
บทที่ 3 อุปกรณ์ และวิธีการ.....	31
3.1 วัสดุดิบ และอุปกรณ์.....	31
3.2 วิธีการ.....	32
3.3 สถานที่ทำการทดลอง.....	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และเผยแพร่ไปยังเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลอง และวิจารณ์ผล	37
4.1 การตรวจสอบกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋องโรงงานต้นแบบ	37
4.2 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของระดับฮีสตามีนในการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุ กระป๋อง	46
4.3 ศึกษาผลของระยะเวลาการบ่มปลา และอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮีสตามีน ในปลาซาร์ดีน	49
4.4 การวิเคราะห์อันตรายในกระบวนการผลิตเพื่อกำหนดมาตรการควบคุมตามหลักการ ระบบการจัดการด้านความปลอดภัยอาหาร	53
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	68
5.1 สรุปผลการทดลอง	68
5.2 ข้อเสนอแนะ	68
บรรณานุกรม	70
ภาคผนวก	74
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์ Histamine	74
ประวัติผู้วิจัย	75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และตั้ง VI ่างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ลักษณะของฮีสตามีน.....	5
2.2	อาการของการได้รับสัมผัสฮีสตามีนในรูปแบบต่างๆ.....	5
2.3	อุบัติการณ์ปัญหาสารฮีสตามีน และเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุ.....	7
2.4	ระดับฮีสตามีนสูงสุดที่ยอมรับในผลิตภัณฑ์ประมงตามข้อกำหนดแต่ละประเทศ.....	8
2.5	สถิติการพบปัญหาหระดับฮีสตามีนเกินเกณฑ์ยอมรับสูงสุดในกลุ่มสหภาพยุโรป.....	8
2.6	สถิติการพบปัญหาหระดับฮีสตามีนเกินเกณฑ์ยอมรับในประเทศอื่นๆ.....	9
2.7	มูลค่าการส่งออกผลิตภัณฑ์ปลาชาวดินบรจุงระปอง.....	14
2.8	การควบคุมระยะเวลาในระหว่างกระบวนการฆ่าห้อง และเรียงปลา.....	18
4.1	อุณหภูมิปลา และระยะเวลาที่ใช้ (Delayed time) ในแต่ละขั้นตอนการผลิต.....	38
4.2	ระดับฮีสตามีนเฉลี่ย และอุณหภูมิเฉลี่ยในแต่ละขั้นตอนการผลิต.....	46
4.3	ระดับฮีสตามีนเฉลี่ยในตัวอย่างปลาที่บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ.....	49
4.4	ค่า R-Square และสมการแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณฮีสตามีน และระยะเวลาใช้ในการบ่มปลา แบบต่างๆ.....	51
4.5	ผลการวิเคราะห์อันตรายของการเพิ่มขึ้นของฮีสตามีนในกระบวนการผลิตปลาชาวดินบรจุงระปอง.....	55
4.6	แผนการตรวจติดตามจุดควบคุมวิกฤติของการควบคุมการเกิดฮีสตามีนในกระบวนการผลิตปลาชาวดินบรจุงระปอง.....	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และตั้ง VII อิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1	การเปลี่ยนฮิสทีดินไปเป็นฮิสตามีนโดยเอนไซม์ฮิสทีดินดีคาร์บอกซิเลส..... 6
2.2	ปลาซาร์ดีน <i>Sardinella gibbosa</i> 13
2.3	บริเวณน่านน้ำที่พบปลา <i>Sardinella gibbosa</i> 13
2.4	สถิติการจับปลาซาร์ดีน 14
2.5	กระบวนการผลิตปลากระป๋องโดยทั่วไป 15
2.6	ผังการตัดสินใจจุด CCP (CCP Decision Tree) 24
2.7	รูปแบบตารางสรุปการวิเคราะห์อันตราย 26
2.8	รูปแบบตารางระบบตรวจติดตามจุดควบคุมวิกฤติ 27
3.1	ตัวอย่างปลาซาร์ดีน 31
4.1	กระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง 37
4.2	ขั้นตอนการละลายน้ำแข็งปลาซาร์ดีนแช่เยือกแข็ง (Thawing) 39
4.3	การลำเลียงปลาที่บรรจุลงกระป๋องแล้วไปเครื่องนึ่งด้วยไอน้ำ 41
4.4	เครื่องนึ่งด้วยไอน้ำ 42
4.5	ระดับฮิสตามีนในตัวอย่าง 3 ชุดการทดลอง 48
4.6	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฮิสตามีน และระยะเวลาบ่มปลาที่ 25 องศาเซลเซียส 51

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา

ปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋องจัดเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายทั้งในและต่างประเทศ เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่มีราคาถูก มีคุณค่าทางด้านโปรตีน สะดวกต่อการขนส่ง และสามารถเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน นอกจากนี้ยังมีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกด้วย โดยปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋องมีมูลค่าการส่งออกในปี พ.ศ. 2554 สูงถึง 127.49 ล้านดอลลาร์สหรัฐอเมริกา ซึ่งมีอัตราการขยายตัวจากปี พ.ศ. 2553 สูงถึง 33.89 เปอร์เซ็นต์ (กรมส่งเสริมการส่งออก, 2555) นับเป็นผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง อย่างไรก็ตามในการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋องนั้น นอกจากจะต้องควบคุมกระบวนการฆ่าเชื้ออย่างเข้มงวด เพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย และจุลินทรีย์ก่อโรค ตามหลักการสเตอริไรเซชันทางการค้าแล้วนั้น ยังต้องควบคุมคุณภาพวัตถุดิบเพื่อรักษาคุณภาพ เนื่องจากระบวนการย่อยสลายด้วยตัวเอง (Autolysis) ในตัวปลาเกิดขึ้นทันทีที่ปลาตาย ทำให้ปลาจัดเป็นวัตถุดิบที่เน่าเสียได้รวดเร็ว อีกทั้งยังต้องป้องกันการเกิดโรคอาหารเป็นพิษที่เรียกว่า Scombroid poisoning อันเกิดจากฮิสตามีน (Histamine) ที่พบในปลากลุ่มสคอมบรอยด์ เช่น ปลาทูน่า และปลาแมคเคอเรล เป็นต้น รวมถึงปลาในกลุ่มอื่นๆ อาทิ ซาร์ดีน และ แฮร์ริง โดยฮิสตามีนที่เกิดขึ้นในปลานั้นเกิดจากแบคทีเรียในวงศ์ *Enterobacteriaceae* และวงศ์อื่นๆ ที่พบทั่วไปในบริเวณเหงือก ผิวหนัง และเมื่อกปลา โดยแบคทีเรียดังกล่าวจะสร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซิเลส (Histidine decarboxylase) แล้วเอนไซม์ดังกล่าวจะเปลี่ยนกรดอะมิโนฮิสติดีนอิสระที่มีในกล้ามเนื้อปลาให้กลายเป็นฮิสตามีนได้ (มีทนา แสงจินดาวงษ์, 2548) สารดังกล่าวเมื่อผู้บริโภคได้รับเข้าไปจะทำให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพ ซึ่งอาการที่แสดงออกนั้นอาจแตกต่างกันตามอายุของผู้บริโภค และปริมาณของสารฮิสตามีนที่ได้รับ

นอกจากนี้แล้วปลากระป๋องจัดเป็นอาหารประเภทอาหารในภาชนะบรรจุปิดสนิทที่มีความเป็นกรดต่ำ จึงมีมาตรการในการควบคุมกระบวนการผลิตอย่างเข้มงวด รวมถึงมาตรการตรวจรับวัตถุดิบปลาเป็นอย่างมาก เนื่องจากหากไม่ควบคุมอุณหภูมิของวัตถุดิบ หรือปลาสดในระหว่างการขนส่งและเก็บรักษา จะส่งผลโดยตรงต่อระดับฮิสตามีนในวัตถุดิบปลาที่รับเข้า และไม่สามารถลดปริมาณฮิสตามีนในขั้นตอนการผลิตได้ นอกจากนี้จำเป็นต้องควบคุมกระบวนการผลิตเป็นอย่างดี ซึ่งปลาที่มีขนาดใหญ่ เช่น ปลาทูน่า จะใช้เวลาในขั้นตอนการเตรียมเนื้อปลา ตั้งแต่ การละลาย (thawing) การควักไส้ ผ่าท้อง การนึ่ง การหั่น การแบ่งขนาด การแกะกระดูก/ก้าง และการบรรจุที่

ก่อนข้างานาน จึงจำเป็นต้องควบคุมกระบวนการผลิตไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียสตามเอกสารนี้เป็นเอกสารทรัพย์สินทางปัญญาของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ห้ามเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อกำหนดของกรมประมง เรื่องสุขลักษณะการผลิตผลิตภัณฑ์ประมงบรรจุภาชนะปิดสนิท และ สุขลักษณะในการผลิตผลิตภัณฑ์ปลาทูน่า (กองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำ และ ผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ, 2552) ทั้งนี้เพื่อป้องกันการเจริญของแบคทีเรีย และการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องจนมีผลทำให้ปริมาณฮีสตามีนเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเพิ่มขึ้นจนสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานได้ อย่างไรก็ตามแม้ว่าข้อกำหนดของกรมประมงจะระบุว่าเป็นชนิดของปลาทูน่าเท่านั้น แต่ก็ไม่มีข้อกำหนดถึงชนิดของปลาอื่นๆ ในกระบวนการผลิตปลาบรรจุกระป๋อง ตามแนวทางปฏิบัติ เจ้าหน้าที่ตรวจประเมินระบบคุณภาพของกรมประมงจึงใช้ข้อกำหนดเดียวกันนี้กับปลาชนิดอื่นที่บรรจุกระป๋อง ทั้งนี้รวมถึงปลาซาร์ดีนด้วย

อย่างไรก็ตาม จากการสำรวจโรงงานผลิตปลาซาร์ดีนกระป๋องเบื้องต้น พบว่า ปลาชนิดนี้เป็นปลาขนาดเล็ก จึงไม่จำเป็นต้องมีขั้นตอนต่างๆ หลายขั้นตอนที่ใช้ระยะเวลา และอาจเสี่ยงต่อการเพิ่มปริมาณฮีสตามีน ดังเช่นปลาทูน่า อาทิ ขั้นตอนการละลายที่ใช้เวลานาน เป็นต้น ดังนั้นกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนกระป๋อง จึงใช้ระยะเวลาสั้นจนแทบไม่มีโอกาสที่แบคทีเรียจะเจริญสร้างเอนไซม์ หรือเอนไซม์ที่มีอยู่ในวัตถุดิบจะทำงาน จนทำให้ปริมาณฮีสตามีนเพิ่มขึ้นสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งการควบคุมอุณหภูมิในขั้นตอนการเตรียมปลากลุ่มนี้อาจทำให้เกิดค่าใช้จ่ายที่อาจไม่จำเป็นสำหรับผู้ประกอบการ นอกจากนี้ยังจากการทบทวนเอกสารทางวิชาการทั้งในและต่างประเทศ พบว่า ยังขาดข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับปลาซาร์ดีนโดยเฉพาะอีกด้วย

จากปัญหาดังกล่าว ทำให้เมื่อเกิดกรณีการเบี่ยงเบนของการควบคุมอุณหภูมิในระหว่างกระบวนการผลิตนั้น จึงไม่สามารถการประเมินความเสี่ยงเพื่อพิจารณามาตรการสำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีแนวโน้มจะไม่ปลอดภัยนั้น ได้อย่างทันทั่วถึง และมักใช้วิธีการกักผลิตภัณฑ์เพื่อรอผลการวิเคราะห์สารฮีสตามีนจากห้องปฏิบัติการ ซึ่งทำให้เสียโอกาสในการส่งมอบผลิตภัณฑ์ และเป็นการเพิ่มต้นทุนของการผลิตโดยไม่จำเป็นอีกด้วย นอกจากนี้แล้วการประยุกต์ใช้ระบบบริหารจัดการด้านความปลอดภัยอาหารต่างๆ ในโรงงานอุตสาหกรรม อาทิ ระบบ GMP, HACCP, ISO22000 หรือ BRC เป็นต้น ยังต้องการข้อมูลดังกล่าวไปใช้เพื่อกำหนดมาตรการควบคุม เพื่อลด หรือ ขจัดอันตรายไม่ให้คิดปนไปกับผลิตภัณฑ์ที่ส่งมอบให้กับผู้บริโภคอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อตรวจสอบกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง และพิจารณาขั้นตอนที่อาจมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮีสตามีน

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของระยะเวลา และอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮีสตามีนในปลาซาร์ดีน ตั้งแต่ขั้นตอนการทำละลายปลา จนถึงขั้นตอนก่อนการฆ่าเชื้อ

1.2.3 เพื่อวิเคราะห์ และประเมินความเสี่ยงด้านฮิสตามีนในปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง และนำไปใช้กำหนดค่าควบคุมกระบวนการผลิตสำหรับมาตรการควบคุมอันตราย (Control measure) ของระบบบริหารจัดการด้านความปลอดภัยอาหาร อาทิ GMP, HACCP, ISO22000 เป็นต้น

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของกระบวนการผลิตต่อการเปลี่ยนแปลงระดับฮิสตามีนในปลาซาร์ดีน โดยเข้าเยี่ยมชมกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋องของโรงงานต้นแบบคือ บริษัท ไทยยูเนี่ยน โฟรเซ่น โปรดักส์ จำกัด (มหาชน) หรือ TUF ตั้งแต่การตรวจรับวัตถุดิบ จนถึงการจัดเก็บผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป และจัดบันทึกข้อมูลรายละเอียดของกระบวนการผลิตในแต่ละขั้นตอน พร้อมทั้งตรวจวัดอุณหภูมิปลา ตลอดจนถึงระยะเวลาที่ใช้ในแต่ละกระบวนการผลิตเพื่อประเมินขั้นตอนการผลิตที่อาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับฮิสตามีนในปลา

นอกจากนี้แล้วยังศึกษาผลของระยะเวลา และอุณหภูมิต่อปริมาณฮิสตามีนในปลาซาร์ดีน โดยการเติมเชื้อจุลินทรีย์ *Morganella morganii* ในปลาซาร์ดีนแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ 3 ระดับ แล้วสุ่มตัวอย่างสำหรับการตรวจวิเคราะห์ระดับฮิสตามีนในแต่ละช่วงเวลาที่กำหนด จากนั้นนำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ด้วยหลักการทางสถิติ เพื่อนำผลการวิเคราะห์มาใช้ในการประเมินความเสี่ยงอันตรายทางด้านเคมีตามหลักระบบบริหารจัดการด้านความปลอดภัยอาหาร และกำหนดค่าควบคุมกระบวนการผลิต ตลอดจนการพิจารณามาตรการดำเนินการแก้ไขกับผลิตภัณฑ์ที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ข้อมูลผลการศึกษานำไปใช้ในการควบคุมกระบวนการผลิต เพื่อป้องกันมิให้ระดับฮิสตามีนเพิ่มสูงขึ้นได้ โดยสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ ได้ดังนี้

1.4.1 นำไปใช้พิจารณาประเมินความเสี่ยง เพื่อกำหนดค่าควบคุมในกระบวนการผลิต ได้แก่การควบคุมอุณหภูมิปลาในระหว่างกระบวนการ และการควบคุมเวลา (Delayed time) ในระหว่างการผลิต

1.4.2 นำไปใช้ในการพิจารณาระดับความเข้มงวดในการควบคุมกระบวนการผลิต และต้องควบคุมอย่างเข้มงวดพิเศษ

1.4.3 นำมาใช้ในการพิจารณาประเมินความเสี่ยงเพื่อกำหนดมาตรการดำเนินการได้อย่างเหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ที่เกิดการเบี่ยงเบนของการควบคุมอุณหภูมิในระหว่างกระบวนการผลิตได้

1.4.4 ถ่ายทอดให้กับผู้ประกอบการธุรกิจปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋องรายอื่นๆ เพื่อควบคุม

กระบวนการผลิตให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัย และเป็นไปตามข้อกำหนดของประเทศคู่ค้า

1.4.5 หน่วยงานราชการสามารถนำผลวิจัยไปกำหนดกรอบ หรือค่าควบคุม ให้กับผู้ประกอบการ ได้ เพื่อให้มีทิศทางปฏิบัติเดียวกัน ซึ่งจะช่วยลดปัญหาปริมาณฮีสตามีนสูงเกินกว่าค่ามาตรฐาน ในผลิตภัณฑ์ปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋องได้

1.4.6 สามารถประยุกต์ใช้ค่าควบคุมในธุรกิจอื่นที่ใช้ปลาซาร์ดีนเป็นวัตถุดิบได้ อาทิ อาหารแช่แข็ง ปลาตากแห้ง/อบแห้ง เป็นต้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ฮีสตามีน

ฮีสตามีนเป็นสารในกลุ่มเอมีนที่ระเหยไม่ได้ (Non-volatile amine) มีสูตรโมเลกุลคือ $C_5H_9N_3$ McLauchlin et.al. (2005) พบว่าฮีสตามีนทนความร้อนสูงได้ แม้จะใช้ความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อระดับเตอริไรเซชันก็ไม่สามารถทำลายสารประกอบนี้ได้ สำหรับลักษณะอื่นๆของฮีสตามีนแสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ลักษณะของฮีสตามีน

สมบัติ	ลักษณะ
น้ำหนักโมเลกุล	111.14506 g./mol
จุดเดือด	209 – 210 องศาเซลเซียส
จุดหลอมเหลว	83 – 84 องศาเซลเซียส
การละลาย	ละลายได้ดีในน้ำ และแอลกอฮอล์

ที่มา: National Center for Biotechnology Information (2015)

ฮีสตามีนเมื่อถูกซึมเข้าสู่ร่างกาย จะแสดงอาการได้หลายระยะ ตั้งแต่ภายใน 10 นาที หลังจากร่างกายได้รับสารฮีสตามีน ไปจนถึงภายใน 2 ชั่วโมง โดยอาการของผู้บริโภคที่ได้รับสารฮีสตามีนนั้นจะแตกต่างกันไปตามปริมาณการได้รับสัมผัส โดยอาจมีอาการดังนี้

ตารางที่ 2.2 อาการของการได้รับสัมผัสฮีสตามีนในรูปแบบต่างๆ

การได้รับสัมผัส	อาการ / โทษ
ผิวหนัง	แสบร้อน
ทางเดินอาหาร	คลื่นไส้, อาเจียน, ท้องร่วง
ระบบหมุนเวียนโลหิต	ความดันโลหิตต่ำ
ระบบประสาท	ปวดศีรษะ, เวียนศีรษะ

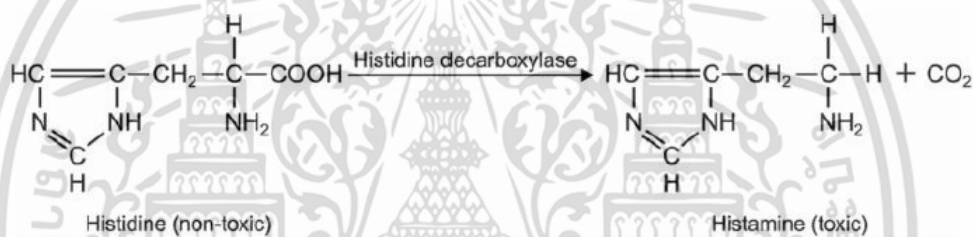
ที่มา: McLauchlin et.al. (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตามอาการอาหารเป็นพิษจากสารฮิสตามีนนั้นไม่ถึงขั้นอันตรายถึงเสียชีวิต โดยส่วนใหญ่อาการดังกล่าวจะหายได้เองภายใน 24 ชั่วโมงโดยไม่ต้องพบแพทย์ เว้นแต่รายที่มีอาการรุนแรงมาก อาจจะต้องพบแพทย์เพื่อรับยาต้านฮิสตามีนในการบรรเทาอาการ (McLauchlin et.al. 2005)

2.2 การเกิดฮิสตามีนในปลาซาร์ดีน และปลาชนิดอื่นๆ

ปลาซาร์ดีนจัดเป็นปลาชนิดหนึ่งที่มีกรดอะมิโนฮิสทีดอินอิสระ (Free histidine) ปริมาณมาก ในกล้ามเนื้อ โดยกรดอะมิโนฮิสทีดอินนั้นสามารถถูกย่อยสลายโดยกระบวนการ Decarboxylation เปลี่ยนเป็นสารฮิสตามีนด้วยเอนไซม์ฮิสทีดอิน ดีคาร์บอกซิเลส (Histidine decarboxylase) ตามที่แสดงในภาพที่ 2.1 ซึ่งเมื่อผู้บริโภคได้บริโภคปลาที่มีฮิสตามีนเข้าไปอาจทำให้เกิดปัญหาอาหารเป็นพิษได้ (Histamine fish poisoning, HFP)



ภาพที่ 2.1 การเปลี่ยนฮิสทีดอินไปเป็นฮิสตามีนโดยเอนไซม์ฮิสทีดอิน ดีคาร์บอกซิเลส

ที่มา: McLauchlin et.al. (2005)

นอกจากปลาซาร์ดีนแล้วยังพบปัญหาอาหารเป็นพิษจากฮิสตามีนในปลาวงศ์ *Scombridae* ด้วย อาทิ ปลาทูน่า เนื่องจากในกล้ามเนื้อของปลากลุ่มนี้มีกรดอะมิโนฮิสทีดอินเช่นเดียวกัน ซึ่งเป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์ฮิสทีดอิน ดีคาร์บอกซิเลส (Histidine decarboxylase) ที่ถูกสร้างขึ้นจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับปลา ซึ่งพบได้ตามบริเวณเหงือก, ผิวหนัง และเมื่ออกปลา (มัทนา แสงจินดาวงษ์. 2548) โดย Ababouch et.al. (1991) พบว่าจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดฮิสตามีนในปลาซาร์ดีนมีด้วยกันหลายชนิด อาทิ *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* เป็นต้น

Taylor et.al. (1978) ได้ระบุว่าแบคทีเรียกลุ่มที่สามารถสร้างเอนไซม์ฮิสทีดอิน ดีคาร์บอกซิเลสได้นั้นส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียในวงศ์ *Enterobacteriaceae* โดย *Morganella morganii* และ *Klebsiella pneumoniae* จัดเป็นแบคทีเรียในวงศ์นี้ที่ส่งผลให้เกิดการสร้างฮิสตามีนในปลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่สุดเมื่อจัดเก็บปลาไว้ที่อุณหภูมิสูงเกิน 4 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังมีเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Clostridium* กับ *Lactobacillus* ด้วยเช่นกันที่สามารถสร้างเอนไซม์ฮีสทีดิน ดีคาร์บอกซิเลส โดย *Lactobacillus* มักจะสร้างปัญหาฮีสตามีนในกลุ่มผลิตภัณฑ์ปลาที่ผ่านกระบวนการหมัก (Taylor, 1986) ทั้งนี้ Blackburn and McClure (2009) ได้สรุปอุบัติการณ์ที่เกี่ยวข้องกับปัญหาสารฮีสตามีน และเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุไว้ ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 อุตบัติการณ์ปัญหาสารฮีสตามีน และเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุ

อาหาร	เชื้อจุลินทรีย์	ปีค.ศ.
ปลาทูน่าสด	<i>Morganella morganii</i>	1956
ปลาทูน่าสด	<i>Hafmia alvei</i>	1967
ปลาทูน่าสด	<i>Morganella morganii</i>	1973
ปลาทูน่าสด	<i>Raoultella planticola</i>	1978
ปลาชาร์ดินแห้ง	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	2004
ปลาทูน่าในซอสหริก	<i>Morganella psychrotolerans</i>	2005
	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	
ปลาทูน่ารมควัน	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	2006
ปลาทูน่ารมควัน	<i>Morganella psychrotolerans</i>	2006
ปลาทูน่าสด	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	2006
ปลาทูน่าที่ผ่านความร้อน	<i>Morganella morganii</i>	2006

ที่มา: Blackburn and McClure (2009)

ดังนั้นฮีสตามีนจึงจัดเป็นอันตรายทางอาหาร (Food safety hazard) ที่จะต้องตรวจวิเคราะห์ และควบคุมกระบวนการผลิตเพื่อป้องกันมิให้เกิดผลกระทบต่อผู้บริโภค โดยในต่างประเทศมีข้อกำหนดของระดับฮีสตามีนสูงสุดที่ยอมรับได้ในผลิตภัณฑ์ประมง และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่แตกต่างกัน ตามที่แสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ระดับฮีสตามีนสูงสุดที่ยอมรับในผลิตภัณฑ์ประมงตามข้อกำหนดแต่ละประเทศ

ประเทศ / กลุ่มประเทศ	ระดับฮีสตามีนสูงสุดในผลิตภัณฑ์ประมง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
สหรัฐอเมริกา	50
แคนาดา	100
สหภาพยุโรป	100
สิงคโปร์	100
ออสเตรเลีย	200

ที่มา: กองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ (2554)

จากข้อมูลสถิติการแจ้งเตือนภัยของของกลุ่มประเทศในสหภาพยุโรป หรือ RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) พบว่ามีการตรวจพบสารฮีสตามีนในผลิตภัณฑ์ปลาซาร์ดีนที่นำเข้ายังกลุ่มประเทศในสหภาพยุโรปบ่อยครั้ง เป็นผลให้ผลิตภัณฑ์ที่พบระดับสารฮีสตามีนสูงเกินมาตรฐานนั้นต้องถูกเรียกคืน หรือส่งกลับ ดังแสดงในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 สถิติการพบปัญหาสารฮีสตามีนเกินเกณฑ์ยอมรับสูงสุดในกลุ่มสหภาพยุโรป

ปี	จำนวนปัญหา (ครั้ง)	ประเทศที่พบปัญหา
2012	14	เยอรมนี, อิตาลี, ฝรั่งเศส, โปแลนด์
2013	9	อิตาลี, ฝรั่งเศส, ไชปรัส, สเปน
2014	7	เยอรมนี, อิตาลี, สโลวีเนีย, สหราชอาณาจักร, ฝรั่งเศส

ที่มา: European commission (2015)

นอกจากกลุ่มประเทศในสหภาพยุโรปแล้ว ปัญหาอาหารเป็นพิษจากสารฮีสตามีนยังตรวจพบในภูมิภาคอื่นๆของโลกอีกด้วย Blackburn and McClure (2009) ได้สรุปอุบัติการณ์ที่เกี่ยวข้องกับปัญหาสารฮีสตามีนที่เกิดขึ้นทั่วโลก ดังแสดงในตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 สถิติการพบปัญหาในระดับฮีสตามีนเกินเกณฑ์ยอมรับในประเทศอื่นๆ

ประเทศ	ช่วงปี.ศ.	จำนวนผู้ป่วย	จำนวนผู้ป่วย / ปี / ประชากร 1 ล้านคน
ฮาวาย, สหรัฐอเมริกา	1990-2003	526	31.0
เคนมาร์ค	1986-2005	489	4.9
นิวซีแลนด์	2001-2005	62	3.1
ญี่ปุ่น	1970-1980	4,122	3.2
	1994-2005	1,523	1.1
ฝรั่งเศส	1987-2005	2,635	2.5
ฟินแลนด์	1983-2005	162	2.1
ไต้หวัน	1986-2001	535	1.5

ที่มา: Blackburn and McClure (2009)

Lehane and Olley (2000) ได้รวบรวมสถิติอุบัติการณ์ของอาหารเป็นพิษจากฮีสตามีนแต่ละภูมิภาคของโลกไว้ดังนี้

ภูมิภาคเอเชีย

จากสถิติของกระทรวงสาธารณสุข และสถิติการสังคมของประเทศญี่ปุ่น พบว่าระหว่างปี ค.ศ.1970 – 1980 พบการรายงานปัญหาอาหารเป็นพิษจากฮีสตามีนสูงถึง 4,122 ราย ในปลาหลายๆ ชนิด ได้แก่ ปลาแมคเคอเรล, ปลาทูน่า, ปลาเกะตัก และปลาชาร์ดิน โดยปัญหาครั้งที่รุนแรงที่สุดนั้น พบในปี.ศ.1973 ซึ่งมีการรายงานปัญหามากถึง 2,656 รายจากการบริโภคปลาแมคเคอเรลแห่ง

ภูมิภาคแคนาดา

ในประเทศแคนาดา ได้มีรายงานปัญหาอาหารเป็นพิษจากฮีสตามีนครั้งแรกในปี.ศ. 1975 โดยในช่วงปี.ศ.1980 นั้นพบว่าปัญหาส่วนใหญ่มาจากผลิตภัณฑ์ปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง ต่อมาในช่วงระหว่างปี.ศ.1990 ถึง 1995 นั้นพบว่าปัญหาส่วนใหญ่มาจากปลาทูน่าสด อย่างไรก็ตามจากข้อมูลที่ผ่านมาพบว่าในแคนาดามีการรายงานปัญหาอาหารเป็นพิษจากฮีสตามีนที่รุนแรงถึง 3 ครั้งด้วยกัน ได้แก่ในปี.ศ 1987 ที่มีการรายงานปัญหาถึง 14 รายจากผลิตภัณฑ์ปลาแมคเคอเรลรมควัน ต่อมาในปี.ศ.1991 ได้มีการรายงานปัญหาถึง 12 ราย โดยมาจากปลาชาร์ดิน และในปี.ศ.1994 ที่มีการรายงานปัญหา 12 ครั้งจากปลาทูน่าสด โดยส่วนใหญ่แล้วปัญหาอาหารเป็นพิษจากฮีสตามีนที่พบในประเทศแคนาดานั้นมาจากปลาที่นำเข้าจากต่างประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดฮีสตามีนในปลาโดยเชื้อจุลินทรีย์

2.3.1 อุณหภูมิในการเก็บรักษาปลา

ตามที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้นถึงการเกิดฮีสตามีนในปลา ที่เป็นผลจากกระบวนการ Decarboxylation โดยเอนไซม์ฮีสทีดีน ดีคาร์บอกซิเลสซึ่งสร้างโดยจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในตัวปลา ดังนั้นการเก็บรักษาปลาที่อุณหภูมิสูงอาจมีผลให้ปริมาณฮีสตามีนเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากมีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งอาจเป็นกลุ่มที่สามารถสร้างเอนไซม์ฮีสทีดีนดีคาร์บอกซิเลสได้ (McLauchlin et.al. 2005) โดยจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ (Optimum temperature) แตกต่างกันไป เช่น

- *Morganella morganii* มีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 25 องศาเซลเซียส (Kim et.al. 2002)
- *Photobacterium phosphoreum* มีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 25 องศาเซลเซียส (Kanki et.al. 2004)
- *Photobacterium illoposcarium* มีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 20 องศาเซลเซียส (Onarheim et.al. 1994)

อีกทั้งยังมีงานวิจัยที่ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงระดับฮีสตามีนในผลิตภัณฑ์ที่มีความเสี่ยงหลายชนิดดังเช่นผลการทดลองของ Lee et.al. (2012) ซึ่งได้ทดลองบ่มไส้ของ Tuna dumpling ที่เติมเชื้อ *Enterobacter aerogenes* ที่อุณหภูมิ 4, 15, 25 และ 37 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 4 และ 15 องศาเซลเซียสนั้นระดับฮีสตามีนในตัวอย่างไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดช่วงการบ่ม 24 ชั่วโมงแต่ที่อุณหภูมิ 25 และ 37 องศาเซลเซียสนั้นระดับฮีสตามีนเพิ่มขึ้นสูงมาก นอกจากนี้แล้วจากการทดลองของ Lin et.al. (2012) ที่ได้บ่มเนื้อปลาทูน่ากระป๋องที่เติมเชื้อ *Raoultella ornithinolytica* ที่อุณหภูมิ 4, 15, 25 และ 37 องศาเซลเซียส หรือการบ่มเนื้อปลา Mahi-Mahi เติมเชื้อ *Raoultella ornithinolytica* ที่อุณหภูมิ 4, 15, 25 และ 37 องศาเซลเซียส (Lin et.al. 2015) ก็ให้ผลการทดลองเช่นเดียวกันสำหรับเชื้อ *Morganella morganii* ซึ่งพบว่าระดับอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียสจะช่วยลดการเกิดฮีสตามีนได้ (Rehbein and Oehlenschlaeger. 2009)

โดยนอกจากอุณหภูมิจะมีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างเอนไซม์ฮีสทีดีน ดีคาร์บอกซิเลสแล้ว ยังมีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่ถูกสร้างขึ้นอีกด้วย โดยปกติแล้วพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์จะเพิ่มสูงขึ้น เว้นแต่ว่าอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นนั้นไปมีผลทำให้เอนไซม์เกิดการเสียสภาพ (Denature) ทั้งนี้เอนไซม์แต่ละชนิดจะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการเกิดปฏิกิริยา (Optimum temperature) โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ฮีสทีดีน ดีคาร์บอกซิเลสของเชื้อจุลินทรีย์ *Morganella morganii* คือ 37 องศาเซลเซียส (Pan and James. 1985)

2.3.2 ระยะเวลาในการเก็บรักษาปลา

ปริมาณฮีสตามีนมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาของการจัดเก็บรักษาปลา โดย Humaid and Jamal (2014) พบว่าตัวอย่างปลาแมคเคอเรล และชาร์ดินที่ถูกจัดเก็บในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเมื่อเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง ปริมาณฮีสตามีนมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก แต่เมื่อจัดเก็บต่อไปจนถึง 12 ชั่วโมง ในอุณหภูมิเดิม พบว่าระดับฮีสตามีนเพิ่มสูงมากขึ้น ซึ่งเป็นผลจากจุลินทรีย์ที่มีในปลาเจริญเติบโตมากขึ้น และอาจสร้างเอนไซม์ฮีสทีดิน ดีคาร์บอกซิเลส นำไปสู่การเพิ่มขึ้นของฮีสตามีนตามที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้นนั่นเอง

2.3.3 ความเป็นกรดต่าง หรือค่า pH

ตามที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้นถึงการทำงานของเอนไซม์ฮีสทีดิน ดีคาร์บอกซิเลส ที่เป็นสาเหตุสำคัญของการเปลี่ยนกรดอะมิโนฮีสทีดินอิสระในปลา ให้กลายเป็นฮีสตามีน โดยปกติแล้วการทำงานของเอนไซม์นั้นต้องการสภาวะของความเป็นกรดต่าง หรือพีเอชที่เหมาะสมเช่นเดียวกับอุณหภูมิ โดยพบว่าช่วงพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ฮีสทีดิน ดีคาร์บอกซิเลสคือ 5.5-9.0 (Savany and Cronenberger, 1982)

2.4 เชื้อแบคทีเรีย *Morganella morganii*

เชื้อ *Morganella morganii* หรือเดิมรู้จักในชื่อ *Proteus morganii* เชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้เป็นหนึ่งในกลุ่มที่ทำให้เกิดปัญหาอาหารเป็นพิษจากสารฮีสตามีนในปลา (Histamine fish poisoning) เนื่องจากเป็นกลุ่มที่สามารถสร้างเอนไซม์ฮีสทีดิน ดีคาร์บอกซิเลสได้ โดย Kim et.al. (2002) พบว่าเชื้อ *Morganella morganii* นี้สามารถทำให้เกิดฮีสตามีนในอาหารเลี้ยงเชื้อได้สูงกว่า 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม รายละเอียดข้อมูลเป็นดังนี้ (Costin, 2014)

- การย้อมติดสีแกรม: แกรมลบ (Gram negative)
- รูปร่าง: มีรูปร่างเป็นท่อนตรง เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6-0.7 ไมโครเมตร และความยาวประมาณ 1.0-1.7 ไมโครเมตร
- การเคลื่อนที่: สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วย flagella
- การเจริญเติบโต: การเจริญของเชื้อชนิดนี้เป็นแบบ Facultative anaerobic
- ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต: 25 องศาเซลเซียส (Tao et.al. 2009) โดยระดับอุณหภูมิจะมีผลต่ออัตราการเจริญ (Regeneration time) กล่าวคือที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสจะมี Regeneration time ที่ 2.6 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสจะมี Regeneration time ที่ 1.08 ชั่วโมง (Klausen and Huss, 1987)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แหล่งที่พบเชื้อ: พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ อาทิ ในดิน, ในแหล่งน้ำ ตลอดจนถึงในสิ่งมีชีวิต เช่น คน หรือสัตว์

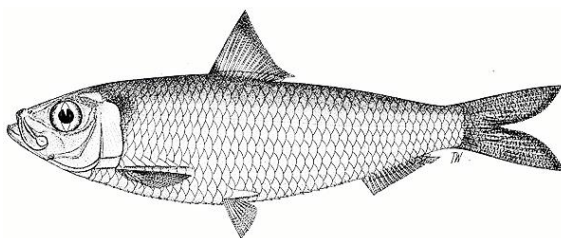
2.5 เอนไซม์ฮีสทีดิลคาร์บอกซิเลส (Histidine Decarboxylase)

เอนไซม์ฮีสทีดิลคาร์บอกซิเลส จัดเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม Lyase มีน้ำหนักโมเลกุล 210,000 โดยประกอบไปด้วยหน่วยย่อย 2 หน่วย ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 145,000 และ 66,000 ตามลำดับ เอนไซม์ชนิดนี้สามารถถูกยับยั้งได้ด้วยไอออนของโลหะหนัก อาทิ Hg^{2+} เป็นต้น (Tran and Snyder. 1981) โดย Savany and Cronenberger (1982) พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์นี้ ได้แก่

- ค่าพีเอช ซึ่งช่วงค่าพีเอชที่เอนไซม์สามารถทำงานได้คือ 5.5 – 9.0 และเมื่อค่าพีเอชลดลงต่ำกว่า 4 จะมีผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ถูกยับยั้งได้
- อุณหภูมิ เมื่อทดลองเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นจาก 17 องศาเซลเซียสไปจนถึง 56 องศาเซลเซียส กิจกรรมของเอนไซม์จะเพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อเกินอุณหภูมิดังกล่าวกลับพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ลดลงอย่างรวดเร็ว โดยเอนไซม์จะเริ่มเสียสภาพที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งหากปล่อยทิ้งไว้ที่อุณหภูมิดังกล่าวนาน 30 นาที กิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงถึง 40 เปอร์เซ็นต์และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจนถึง 64 องศาเซลเซียส พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลาเพียง 30 วินาที ทั้งนี้ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์หลงเหลือที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส
- แคทไอออนพบว่าแคทไอออนบางชนิดมีผลเสริมกิจกรรมของเอนไซม์ อาทิ Mn^{2+} , Fe^{3+} เป็นต้น ในขณะที่บางชนิดมีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ อาทิ Cu^{2+} และ Hg^{2+} ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมล
- สารรีดิวซ์ (Reducing agent) บางชนิดมีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสาร และความเข้มข้น อาทิ สาร *p*-hydroxymercuribenzoate ที่ความเข้มข้น 33 ไมโครโมลสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้โดยสมบูรณ์ ในขณะที่สาร *N*-ethylmaleimide 1 มิลลิโมลสามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ได้ 25 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้น

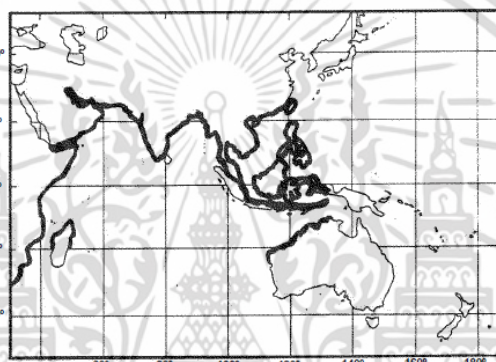
2.6 ปลาซาร์ดีน

ปลาซาร์ดีน หรือชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Sardinella gibbosa* หรือ *Goldstripe sardinella* (ภาพที่ 2.2) มีชื่อเรียกในภาษาไทยว่า ปลาแซ่ล้งหรือ ปลาหลังเขียว และมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามแต่ละประเทศ อาทิ เขตปกครองพิเศษฮ่องกง, ประเทศจีน เรียกว่า Hwang lum, ประเทศอินโดนีเซีย เรียกว่า Tembang และประเทศอินเดียเรียกว่า Chalamathi



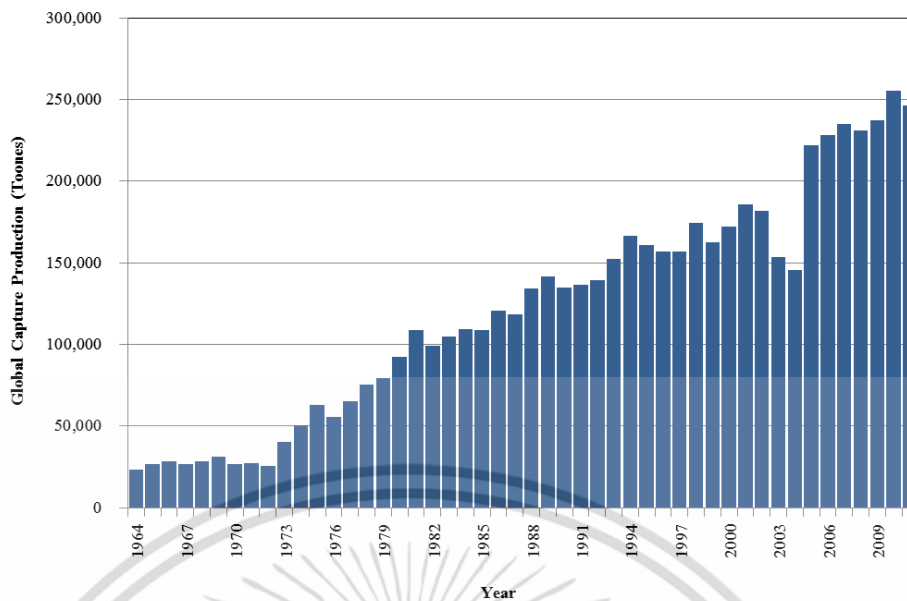
ภาพที่ 2.2 ปลาซาร์ดีน *Sardinella gibbosa* ที่มา: Whitehead (1985)

ปลาชนิดนี้มีขนาดลำตัวประมาณ 15-17 เซนติเมตร จัดเป็นปลาในวงศ์ *Clupeidae* ซึ่งได้โดยทั่วไปในพื้นที่อินโดแปซิฟิกฝั่งตะวันตก (Indo-West Pacific region) ดังแสดงในภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 บริเวณน่านน้ำที่พบปลา *Sardinella gibbosa* ที่มา: Whitehead (1985)

จากสถิติการจับปลาของประเทศอินโดนีเซียที่ผ่านมา พบว่าในแต่ละปีปริมาณปลาซาร์ดีนที่จับได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 2.4 (FAO, 2015) ดังนั้นปลาซาร์ดีนจึงเป็นปลาที่มีความสำคัญเชิงเศรษฐกิจต่อการประมงทั้งประเทศไทย และต่างประเทศ



ภาพที่ 2.4 สถิติการจับปลาชาวดิน ที่มา: FAO. (2015)

เนื่องจากเป็นปลาที่สามารถนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารได้หลากหลายชนิด ที่สำคัญได้แก่ผลิตภัณฑ์ปลากระป๋อง ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้รับความนิยมทั้งใน และต่างประเทศ เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีราคาถูก ตลอดจนจนถึงการขนส่งกระจายสินค้าทำได้ง่าย โดยจากข้อมูลสถิติการค้าของศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร สำนักงานปลัดกระทรวงพาณิชย์พบว่ามูลค่าของการส่งออกผลิตภัณฑ์ปลาชาวดินบรรจุกระป๋องดังแสดงในตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 มูลค่าการส่งออกผลิตภัณฑ์ปลาชาวดินบรรจุกระป๋อง

ปีพ.ศ.	มูลค่า (ล้านบาท)
2554	3,849.62
2555	8,511.03
2556	6,972.66
2557	5,483.80

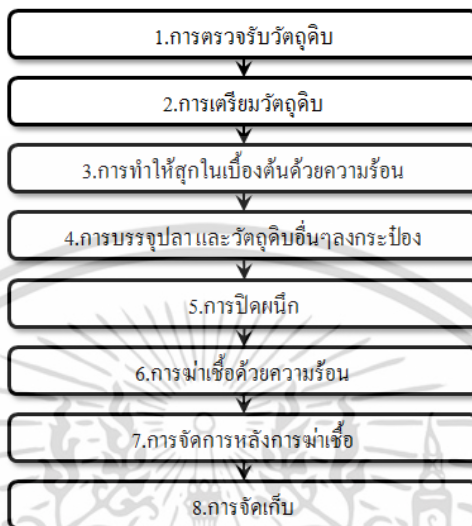
ที่มา: ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร (2555)

แต่การบริโภคผลิตภัณฑ์ปลาชาวดินบรรจุกระป๋องนั้นอาจได้รับอันตรายทางด้านอาหาร (Food Safety Hazard) จนเกิดผลกระทบต่อผู้บริโภคได้ตามที่ได้กล่าวมาแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 กระบวนการผลิตปลากระป๋องโดยทั่วไป

FAO (1988) ได้ระบุถึงกระบวนการผลิตปลากระป๋องโดยทั่วไปว่าประกอบไปด้วยขั้นตอน ดังแสดงในภาพที่ 2.5



ภาพที่ 2.5 กระบวนการผลิตปลากระป๋องโดยทั่วไป ที่มา: FAO (1988)

FAO (1988) ได้กล่าวถึงรายละเอียดแต่ละขั้นตอน เป็นดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การตรวจรับวัตถุดิบปลา ต้องสุ่มตรวจสอบตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด ซึ่งครอบคลุมลักษณะทางกายภาพ เช่น ความสด หรือ รอยชำ เป็นต้น ตลอดจนถึงคุณลักษณะอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับด้านสุขอนามัย เช่น สิ่งแปลกปลอม และ อันตรายทางเคมีต่างๆ เนื่องจากคุณภาพของวัตถุดิบปลามีผลโดยตรงกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป ทั้งนี้กองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำ และผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ (2552) ได้กำหนดให้ต้องสุ่มตรวจปัจจัยที่มีผลด้านความปลอดภัยอาหารขั้นตอนการตรวจรับเข้า เช่น การสุ่มตรวจสอบปริมาณฮีตตามีน การสุ่มตรวจสอบสารโลหะหนักตกค้างในวัตถุดิบปลา และ การตรวจวัดอุณหภูมิปลาในระหว่างการรับวัตถุดิบ

ขั้นตอนที่ 2 การเตรียมวัตถุดิบ การเตรียมวัตถุดิบมีความแตกต่างกันในแต่ละโรงงาน หรือชนิดของผลิต การเตรียมวัตถุดิบ ได้แก่ กระบวนการละลายน้ำแข็งปลาแช่เยือกแข็ง, ผ่าท้อง, ลวกไส้, ล้างทำความสะอาด, ขอดเกล็ด, หั่นชิ้น หรือมีการตัดแต่งตามรูปแบบที่กำหนด โดยวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมวัตถุดิบให้เป็นไปตามข้อกำหนดของผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป โดยอาจใช้ทั้งแรงงานคน และ เครื่องจักรอัตโนมัติในการเพิ่มกำลังการผลิต ในกระบวนการเตรียมวัตถุดิบต้องควบคุมกระบวนการให้เกิดสุขอนามัยที่ดี อาทิ การควบคุมอุณหภูมิ และระยะเวลาระหว่างกระบวนการเพื่อ

ลดโอกาสการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในขั้นการเตรียมวัตถุดิบอาจเกิดความล่าช้าในกระบวนการขึ้น จนอาจส่งผลกระทบต่อให้เกิดปัญหาด้านความปลอดภัยอาหาร เช่น ฮีสตามีน ที่เกิดจากการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างเอนไซม์ฮีสทีดีนคือคาร์บอกซิเลสได้ เป็นต้น ดังนั้นในขั้นตอนนี้มักถูกควบคุมอย่างเข้มงวด หรือถูกกำหนดเป็นจุดควบคุมวิกฤติเพื่อป้องกันการปัญหาดังกล่าว

ขั้นตอนที่ 3 การทำให้สุกในเบื้องต้นด้วยความร้อน ในขั้นตอนนี้มีวิธีการให้ความร้อนหลายแบบ เช่น การใช้ไอน้ำ, การใช้น้ำร้อน, ลมร้อน ตลอดจนถึงการรมควัน วัตถุประสงค์ของขั้นตอนนี้เพื่อคั่งน้ำบางส่วนออกจากตัวปลา ลดปริมาณน้ำจากวัตถุดิบในระหว่างการฆ่าเชื้อ จนน้ำซอสเจือจางลง และมีผลต่อรสชาติของผลิตภัณฑ์ หรืออาจช่วยลดปริมาณน้ำมันมีกลิ่นที่รุนแรงบางส่วน ออกจากปลา ซึ่งมัก กระบวนการผลิตอาจติดตั้งระบบการสะเด็ดของเหลวควบคู่กับกระบวนการทำให้สุกในขั้นต้น อย่างไรก็ตาม โรงงานต้องตรวจสอบ และควบคุมกระบวนการ เช่น การควบคุมอุณหภูมิ และเวลาในการให้ความร้อน เป็นต้นเพื่อให้มั่นใจว่าเป็นไปตามที่กำหนด

นอกจากผลด้านคุณภาพแล้ว หากการทำให้สุกในเบื้องต้นนี้มีช่วยลดโอกาสในการเกิดอาหารเป็นพิษจากฮีสตามีนลงได้ เช่น หากให้ความร้อนจนปลา มีอุณหภูมิใจกลางไม่น้อยกว่า 64 องศาเซลเซียสนาน 10 นาทีขึ้นไป จะช่วยกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดฮีสตามีนได้ โดย Enache et.al. (2013) พบว่าค่า D_{60} ของเชื้อ *M. morgani* เท่ากับ 0.1 นาที และ Savany and Cronenberger (1982) ได้รายงานว่าเอนไซม์ฮีสทีดีนคือคาร์บอกซิเลสจะถูกทำลายทั้งหมด หากได้รับความร้อน 64 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 10 นาที เป็นต้น ดังนั้นขั้นตอนการเตรียมปลาจึงมักถูกกำหนดเป็นจุดควบคุมวิกฤติ (CCP) เป็นขั้นตอนที่สามารถควบคุมอันตรายทางอาหารได้

ขั้นตอนที่ 4 การบรรจุปลา และวัตถุดิบอื่นๆลงกระป๋อง โดยในการขั้นตอนการบรรจุ ต้องตรวจสอบ น้ำหนักบรรจุ (Fill weight) และอุณหภูมิของสินค้าที่บรรจุ เนื่องจากปัจจัยทั้งสองมีผลต่อกระบวนการฆ่าเชื้อได้ เช่น น้ำหนักบรรจุที่มากกว่าปกติ อาจทำให้การฆ่าเชื้อไม่สมบูรณ์ ทำให้เชื้อ *Clostridium botulinum* สามารถเจริญในสภาวะกรดต่ำ และปราศจากออกซิเจนได้ ดังนั้นจึงกำหนดอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ก่อนทำการฆ่าเชื้อ (Initial temperature) เป็นค่าวิกฤติ (กองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำ และผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ, 2552)

ขั้นตอนที่ 5 การปิดผนึก ขั้นตอนนี้มีผลต่อความปลอดภัยอาหาร และอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ หากการปิดผนึกไม่สมบูรณ์อาจเกิดการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรครายหลังจากกระบวนการฆ่าเชื้อได้ ดังนั้น การปรับตั้งเครื่องปิดผนึกต้องตรวจสอบความสมบูรณ์ของผนึก โดยสามารถกำหนดให้การปิดผนึกเป็นจุดควบคุมวิกฤติ ซึ่งมีค่าควบคุมวิกฤติ เน้นการตรวจสอบลักษณะของ

การปิดผนึก ซึ่งอาจแบ่งได้เป็นสองส่วน คือ การตรวจสอบด้วยสายตา (Visual check) เพื่อดูแลเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะตะเข็บของกระป๋องจากภายนอก และการตรวจสอบโดยการฉีกและตะเข็บแล้ววัดด้วยเครื่องมือ (Tear down) ซึ่งเกณฑ์ยอมรับที่ถูกกำหนดเป็นค่าควบคุมวิกฤติจะแตกต่างกันไปตามชนิดของกระป๋อง

ขั้นตอนที่ 6 การฆ่าเชื้อด้วยความร้อน ผลิตภัณฑ์ปลากระป๋องจัดเป็นผลิตภัณฑ์ในกลุ่ม Low-acid canned food ประกอบกับบรรจุภัณฑ์ที่ปิดสนิทไร้ออกซิเจน จึงเอื้อต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคทางอาหารที่สำคัญ คือ *Clostridium botulinum* ขั้นตอนนี้จึงถูกกำหนดเป็นจุดควบคุมวิกฤติ โดยมีค่าควบคุมวิกฤติคือ อุณหภูมิของการฆ่าเชื้อ และระยะเวลาของการฆ่าเชื้อ ที่ต้องสูงพอที่จะทำลายเชื้อจุลินทรีย์ รวมถึงสปอร์ของเชืวดังกล่าวได้ ทั้งนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ เช่น อุณหภูมิผลิตภัณฑ์ก่อนทำการฆ่าเชื้อ (Initial temperature) และน้ำหนักของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุ (Fill weight) ตามที่ได้กล่าวไปแล้ว อย่างไรก็ตามอุณหภูมิการฆ่าเชื้อ อุณหภูมิผลิตภัณฑ์ก่อนการฆ่าเชื้อ และระยะเวลาของการฆ่าเชื้ออาจแตกต่างกันตามชนิด, ขนาด และลักษณะของผลิตภัณฑ์

ขั้นตอนที่ 7 การจัดการหลังการฆ่าเชื้อ การจัดการที่ไม่เหมาะสม อาจเกิดการปนเปื้อนภายหลังการฆ่าเชื้อได้ ภายหลังการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนจะลดอุณหภูมิของอาหารกระป๋องด้วยน้ำ คุณภาพของน้ำที่ใช้จึงต้องตรวจสอบ และควบคุม เช่น การเติมคลอรีนเพื่อฆ่าเชื้อ เนื่องจากน้ำที่ใช้ในการถ่ายเทความร้อนซึมเข้าในกระป๋องที่ปิดสนิทที่ไม่สมบูรณ์ได้ นอกจากนี้แล้วต้องดูแลรักษาความสะอาดอุปกรณ์เครื่องมือ เพื่อให้เกิดสุขอนามัยที่ดีด้วยเช่นกัน ซึ่งปริมาณคลอรีนในน้ำอาจถูกกำหนดเป็นค่าวิกฤติของกระบวนการลดอุณหภูมิ

ขั้นตอนที่ 8 การจัดเก็บ การจัดเก็บกระป๋องหลังจากผ่านกระบวนการฆ่าเชื้ออาจทำได้ทั้งโดยคนหรือด้วยเครื่องจักร ผลิตภัณฑ์ที่ปนเปื้อนจากขั้นตอนก่อนหน้า เช่น จากคุณภาพน้ำในการลดอุณหภูมิไม่เหมาะสม โดยจะแสดงลักษณะของการเน่าเสียในระหว่างการจัดเก็บได้เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเจริญเติบโตในกระป๋อง เช่น ลักษณะกระป๋องบวมจากแก๊สที่สร้างจากจุลินทรีย์ เป็นต้น

2.8 ข้อกำหนดสุขลักษณะในการผลิตผลิตภัณฑ์ปลาทูน่า

กองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำ และผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ กรมประมง ได้จัดทำข้อกำหนดสุขลักษณะในการผลิตผลิตภัณฑ์ปลาทูน่า เพื่อเป็นหลักปฏิบัติให้กับผู้ประกอบการใช้ในการควบคุมกระบวนการผลิต ซึ่งช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์ปลาทูน่ามีคุณภาพ และมีความปลอดภัยอาหาร โดยเฉพาะปัญหาอาหารเป็นพิษจากสารฮีสตามีน เนื่องจากปลาทูน่าเป็นปลาที่จัดอยู่ในวงศ์

Scombridae ซึ่งมีกรดอะมิโนฮิสทีดรีนในกล้ามเนื้อ และมีโอกาสถูกเปลี่ยนเป็นสารฮีสตามีน เนื่องจากเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่หรือใช้ในการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทำงานของเอนไซม์ฮีสทีดินดีคาร์บอกซิเลสตามที่กล่าวไปแล้วในข้างต้น (McLauchlin et.al. 2005)

นอกจากข้อกำหนดดังกล่าวจะใช้สำหรับเป็นแนวทางในการควบคุมคุณภาพสำหรับกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ปลาทูน่าแล้ว ยังประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์ปลาประเภทอื่นๆ ซึ่งมีความเสี่ยงเดียวกัน เช่น ปลาแมคเคอเรล และ ปลาซาร์ดีน เป็นต้น โดยข้อกำหนดดังกล่าวจะครอบคลุมตั้งแต่กระบวนการรับวัตถุดิบปลา ถึงกระบวนการบรรจุ (กองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำ และผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ. 2552) ดังนี้

1) การรับวัตถุดิบปลา การสุ่มตัวอย่าง การดูแล และเก็บรักษาปลา

กำหนดให้ตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบปลาที่รับเข้า ในด้านต่างๆ เช่น ลักษณะปรากฏ อุณหภูมิ ตลอดจนผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ เช่น สารฮีสตามีน และสารโลหะหนัก เป็นต้น นอกจากนี้ ยังกำหนดให้การขนถ่ายวัตถุดิบปลาต้องระมัดระวังการปนเปื้อน และการสูญเสียการควบคุมอุณหภูมิในระหว่างการขนส่ง

2) การละลายปลา

กำหนดอุณหภูมิปลาภายหลังการละลายต้องไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส

3) การผ่าท้อง เรียงปลาในตะแกรง

ในขั้นตอนนี้ ข้อกำหนดได้ระบุให้ควบคุมอุณหภูมิปลาไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส และกำหนดการควบคุมระยะเวลาที่ใช้ โดยพิจารณาจากขนาดของปลา และมีเกณฑ์การควบคุมตามตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 การควบคุมระยะเวลาในระหว่างกระบวนการผ่าท้องและเรียงปลา

ขั้นตอน	ขนาดปลา	ระยะเวลา
เริ่มปล่อยน้ำที่ใช้ในการละลาย – สิ้นสุดการผ่าท้อง	น้อยกว่า 5 กก.	ไม่เกิน 2 ชั่วโมง
	5 กก.ขึ้นไป	ไม่เกิน 4 ชั่วโมง
การจัดเรียงปลาบนตะแกรงนี้้ง – เปิดไอน้ำในตู้นี้้ง	น้อยกว่า 5 กก.	ไม่เกิน 2 ชั่วโมง
	5 กก.ขึ้นไป	ไม่เกิน 4 ชั่วโมง

(ทั้งนี้หากอุณหภูมิปลาสูงเกิน 5 องศาเซลเซียสจะต้องนำปลาเข้านี้้งภายใน 1 ชั่วโมง)

ที่มา: กองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำ และผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ (2552)

4) การนึ่งด้วยไอน้ำ (Pre-cooking)

กระบวนการนึ่งปลาต้องควบคุมอุณหภูมิ และเวลาให้เหมาะสมเพื่อให้สามารถแยกกระดูกออกจากเนื้อปลาได้ง่าย (ในขั้นตอนถัดไป)

5) การลดอุณหภูมิของปลา

เป็นการลดอุณหภูมิของปลาเพื่อทำความสะอาดชิ้นปลา โดยกำหนดระยะเวลาตั้งแต่ออกจากหม้อนึ่งจนถึงจุดทำความสะอาดชิ้นปลาเป็นดังนี้

- ปลาที่มีน้ำหนักน้อยกว่า 10 กิโลกรัมต้องใช้เวลาไม่เกิน 8 ชั่วโมง
- ปลาที่มีน้ำหนัก 10 กิโลกรัมขึ้นไปต้องใช้เวลาไม่เกิน 10 ชั่วโมง

6) การชุดสะอาดชิ้นปลา

เป็นการตรวจสอบคุณภาพของชิ้นปลาภายหลังการทำความสะอาด ได้แก่ ลักษณะปรากฏของชิ้นปลา เช่น สี และ กลิ่น เพื่อคัดแยกปลาที่ผิดปกติออก ตลอดจนตรวจสอบสิ่งแปลกปลอม เช่น หน้างู กุ้ง ปลา และ ก้างปลา นอกจากนี้แล้วยังกำหนดให้ต้องทำความสะอาดโต๊ะใช้งานเป็นประจำทุก 4 ชั่วโมง และปลาที่ชุดทำความสะอาดแล้วต้องเข้าสู่กระบวนการบรรจุภายใน 1 ชั่วโมง

2.9 ระบบบริหารจัดการด้านความปลอดภัยอาหาร

นอกจากข้อกำหนดกฎหมายจากหน่วยงานราชการที่เกี่ยวข้องในการผลิตอาหาร อาทิ พระราชบัญญัติอาหาร, ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, ประกาศกระทรวงเกษตร และสหกรณ์ เป็นต้น ในปัจจุบันระบบบริหารจัดการด้านความปลอดภัยอาหารเป็นสิ่งสำคัญสำหรับผู้ประกอบการธุรกิจอาหาร เพื่อลดโอกาสการปนเปื้อนอันตรายทางอาหาร (Food safety hazard) และ สร้างความเชื่อมั่นให้กับลูกค้า, ผู้บริโภค ตลอดจนไปจนถึงลดปัญหาการกีดกันทางการค้าด้วยมาตรการที่มีใช่มิใช่ภาษี (Non-Tariff Barriers – NTB) โดยระบบบริหารจัดการด้านความปลอดภัยอาหารมีมากมาย หลากหลาย แต่ที่เป็นพื้นฐานที่สำคัญ และเป็นที่รู้จักแพร่หลาย ได้แก่

2.9.1 GMP (Good Manufacturing Practice)

GMP คือ หลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตอาหารหรืออาจเรียกว่า โปรแกรมพื้นฐาน (Prerequisite Program, PRP) จัดเป็นรากฐานที่สำคัญของกระบวนการผลิต และการจัดทําระบบด้านความปลอดภัยอาหาร โดยสาระสำคัญของระบบ GMP จะมุ่งเน้นเรื่องสุขลักษณะของสถานที่ผลิต, สภาพแวดล้อม และการควบคุมกระบวนการผลิต เพื่อป้องกันมิให้เกิดการปนเปื้อนของอันตรายทางอาหาร (Food safety hazard) ยิ่งไปยิ่งผลิตภัณฑ์ โดยอันตรายทางอาหารคือสิ่งก่อให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) อันตรายทางชีวภาพ (Biological hazard) ได้แก่ สิ่งมีชีวิตในกลุ่มจุลินทรีย์ และปรสิตที่ทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค

2) อันตรายทางเคมี (Chemical hazard) ได้แก่ สารเคมีที่อาจปนเปื้อนได้จากขั้นตอนต่างๆของห่วงโซ่อาหาร ซึ่งมีด้วยกัน 4 แหล่ง ได้แก่ สารเคมีที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ (อาทิ สารฮีสตามีนที่เกิดขึ้นในปลา), สารเคมีที่เติมลงไปโดยเจตนา (อาทิ การใช้ Food additive ที่ไม่ถูกต้องตามกำหนด), สารเคมีที่ปะปนมาโดยไม่เจตนา (อาทิ สารกำจัดแมลงในวัตถุดิบทางการเกษตร) และสารเคมีที่ใช้ในโรงงาน (อาทิ สารหล่อลื่นเครื่องจักร)

3) อันตรายทางกายภาพ (Physical hazard) ได้แก่ สิ่งแปลกปลอมในอาหาร ที่เมื่อรับประทานเข้าไปจะทำให้เกิดการบาดเจ็บ เช่น เศษโลหะ, เศษไม้ เป็นต้น

โดยข้อกำหนดมาตรฐาน GMP ที่เป็นหลักปฏิบัติในปัจจุบันนี้มีพื้นฐานมาจากหลักการของ Codex Alimentarius คือ CAC/RCP 1-1969, Rev. 4-2003 (RECOMMENDED INTERNATIONAL CODE OF PRACTICE GENERAL PRINCIPLES OF FOOD HYGIENE) ซึ่งมีข้อที่ต้องประยุกต์ใช้ (Codex Alimentarius, 2003) ดังต่อไปนี้

- 1) วัตถุประสงค์
- 2) ขอบข่าย, การนำไปใช้ และนิยามศัพท์
- 3) การผลิตเบื้องต้น
- 4) การออกแบบ และสิ่งอำนวยความสะดวกสำหรับสถานประกอบการ
- 5) การควบคุมการปฏิบัติงาน
- 6) การบำรุงรักษา และการสุขาภิบาล
- 7) สุขอนามัยส่วนบุคคล
- 8) การขนส่ง
- 9) ข้อมูลเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ และการสร้างความเข้าใจให้ผู้บริโภค
- 10) การฝึกอบรม

ในการประยุกต์ใช้ระบบบริหารจัดการด้านความปลอดภัยอาหารต้องมีโปรแกรมพื้นฐาน หรือ GMP เพื่อลดการปนเปื้อนและ ใช้เป็นองค์ประกอบสำคัญในการวิเคราะห์อันตราย (Hazard analysis) ในการจัดทำระบบ HACCP สำหรับการกำหนดมาตรการควบคุมอันตรายทางอาหาร เช่น

ข้อ 5.2.1 เรื่องการควบคุมอุณหภูมิ และเวลา ในระหว่างกระบวนการผลิต เนื่องจาก หากควบคุมไม่เหมาะสม อาจมีผลกระทบต่อปลอดภัยของอาหาร เช่น การเพิ่มขึ้นของฮีสตามีนในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง

ข้อ 5.3 เรื่องการรับวัสดุเพื่อให้มั่นใจว่าไม่ก่อให้เกิดอันตรายทางอาหาร เนื่องจาก กระบวนการผลิตของโรงงานอาจไม่สามารถกำจัด หรือลดอันตรายที่ปนเปื้อนมาได้ เช่น การตรวจสอบปริมาณ

ฮีสตามีนในวัตถุดิบปลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.2 HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points)

HACCP คือระบบการวิเคราะห์อันตราย และจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม เป็นระบบบริหารจัดการที่ช่วยควบคุมกระบวนการผลิตอาหารให้มีความปลอดภัยจากอันตรายทางอาหาร (Food safety hazard) โดยเป็นระบบที่เน้นการควบคุมกระบวนการผลิต (Process control) โดยเฉพาะขั้นตอนการผลิตที่มีความสำคัญ ซึ่งผ่านกระบวนการวิเคราะห์แล้วว่าเป็นจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม (Critical Control Point หรือ CCP) (สุวิมล กิริติพิบูล. 2550)

ระบบ HACCP ได้ถูกพัฒนา และนำมาใช้งานครั้งแรกในปีค.ศ.1960 ซึ่งนำไปใช้เพื่อควบคุมกระบวนการผลิตอาหารให้ปลอดภัยสำหรับนักบินอวกาศในโครงการอวกาศ NASA (The National Aeronautics and Space Administration) หลังจากนั้น ได้ถูกปรับปรุง และนำมาประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตอาหารของโรงงานอุตสาหกรรมทั่วไป โดยในปีค.ศ. 1997 ประเทศสหรัฐอเมริกา เป็นประเทศแรกที่ได้นำระบบ HACCP มาเป็นมาตรการบังคับสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ

ในปัจจุบันการประยุกต์ใช้ระบบ HACCP เป็นไปตามหลักเกณฑ์ที่ระบุในส่วนภาคผนวกของเอกสาร RECOMMENDED INTERNATIONAL CODE OF PRACTICE GENERAL PRINCIPLES OF FOOD HYGIENE (CAC/RCP 1-1969, Rev.4-2003) ของหน่วยงาน Codex Alimentarius commission ซึ่งประกอบไปด้วยขั้นตอนรวมทั้งหมด 12 ขั้นตอน (5 ขั้นตอนพื้นฐาน และ 7 หลักการ) (Codex Alimentarius. 2003) ดังนี้

1) ขั้นตอนที่ 1: การจัดตั้งคณะกรรมการ HACCP

โรงงานที่จัดทำระบบ HACCP จะต้องเริ่มต้นด้วยการจัดตั้งคณะกรรมการ เพื่อจัดทำแผน HACCP โดยสมาชิกของคณะกรรมการควรมาจากหลากหลายส่วนงาน และต้องมีความรู้ความเข้าใจในหลักการ HACCP และกระบวนการผลิตเป็นอย่างดี

2) ขั้นตอนที่ 2: การบรรยายรายละเอียดของผลิตภัณฑ์

การจัดทำเอกสารบรรยายลักษณะของผลิตภัณฑ์โดยละเอียด เพื่อเป็นข้อมูลในการวิเคราะห์อันตรายต่อไป ซึ่งรวมถึงส่วนผสม, คุณลักษณะทางกายภาพ, เคมี, ชีวภาพ, กระบวนการผลิต, การบรรจุ, สภาพการจัดเก็บ, อายุการเก็บรักษา เป็นต้น ซึ่งสามารถจัดทำเป็นกลุ่มผลิตภัณฑ์ได้

3) ขั้นตอนที่ 3: การระบุวิธีการนำผลิตภัณฑ์ไปใช้

การกำหนดการนำผลิตภัณฑ์ไปใช้งาน อาทิ วิธีการใช้งาน, วิธีการเตรียมก่อนการใช้งาน กลุ่มเป้าหมาย ตลอดจนถึงกลุ่มผู้บริโภคที่ควรต้องระมัดระวังในการนำไปใช้เนื่องจากอาจเกิดปัญหาด้านความปลอดภัยอาหาร เช่น กลุ่มผู้แพ้อาหาร เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) ขั้นตอนที่ 4: การสร้างแผนภูมิการผลิต

การจัดทำแผนภูมิการผลิตให้สอดคล้องกับการผลิตจริง ที่ใช้ในการระบุอันตราย รวมถึงครอบคลุมองค์ประกอบการผลิต, การผลิตซ้ำ, ระบบสาธารณสุขปโภค ตลอดจนถึง บรรลุภัณฑ์ด้วยเช่นกัน

5) ขั้นตอนที่ 5: การทวนสอบแผนภูมิการผลิตที่จุดผลิตจริง

การทวนสอบแผนภูมิการผลิตว่าสอดคล้องกับกระบวนการผลิตจริง โดยครอบคลุมทั้งผลิตภัณฑ์ที่ผลิตเป็นประจำ และผลิตภัณฑ์ที่ผลิตเป็นครั้งคราวด้วย

6) ขั้นตอนที่ 6 (หลักการที่ 1): การระบุอันตรายทั้งหมดที่มีโอกาสเกิดขึ้น

การระบุอันตรายที่ต้องดำเนินการให้ครอบคลุมทุกขั้นตอนในแผนภูมิการผลิต และครอบคลุมอันตรายทางอาหารทั้ง 3 กลุ่ม ได้แก่ อันตรายทางกายภาพ, อันตรายทางเคมี และอันตรายทางชีวภาพ โดยหากพบว่ามีอันตรายในขั้นตอนใดจะต้องพิจารณากำหนดมาตรการควบคุมรองรับควบคู่กันไปด้วย

7) ขั้นตอนที่ 7 (หลักการที่ 2): การกำหนดจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม

การพิจารณากระบวนการผลิตที่จะต้องควบคุมอย่างเข้มงวดให้เป็นจุดควบคุมวิกฤติ (Critical control point) โดยใช้ผังการตัดสินใจ (ภาพที่ 2.6) เป็นเกณฑ์ในการพิจารณาร่วมกับผลการระบุอันตราย และมาตรการควบคุมที่จัดทำขึ้น

8) ขั้นตอนที่ 8 (หลักการที่ 3): การกำหนดค่าวิกฤติสำหรับจุดวิกฤติแต่ละจุด

การกำหนดค่าวิกฤติ (Critical limit) สำหรับกระบวนการผลิตที่เป็นจุดควบคุมวิกฤติ เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจว่า การยอมรับผลการควบคุมจุด CCP นั้นๆ ค่าวิกฤติจะต้องเป็นค่าที่สามารถตรวจวัดได้สะดวก และรวดเร็ว โดยอาจกำหนดจากข้อกำหนดกฎหมาย หรือ งานวิจัย

9) ขั้นตอนที่ 9 (หลักการที่ 4): การจัดทำระบบการตรวจติดตามสำหรับจุดวิกฤติแต่ละจุด

การจัดทำแผนตรวจติดตามจุดวิกฤติ เพื่อใช้เป็นแนวทางปฏิบัติในการติดตามวัดผลการควบคุมว่าเบี่ยงเบนไปจากค่าวิกฤติที่กำหนดหรือไม่ โดยต้องกำหนดอย่างชัดเจน ในวิธีการตรวจวัด สถานที่ ความถี่ และ ผู้รับผิดชอบ ตลอดจนถึงเอกสารรายงานที่เกี่ยวข้อง

10) ขั้นตอนที่ 10 (หลักการที่ 5): การกำหนดวิธีการแก้ไข

การกำหนดวิธีการแก้ไขในกรณีที่เกิดวิกฤติเชิงเบนไปจากค่าควบคุมที่กำหนด ซึ่งมาตรการแก้ไขต้องครอบคลุม การแก้ไขสถานการณ์เพื่อให้จุดควบคุมวิกฤติกลับมาอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด และการแก้ไขผลิตภัณฑ์ที่ได้รับผลกระทบจากการเบี่ยงเบนดังกล่าวด้วย เพื่อให้ไม่ปล่อยผลิตภัณฑ์ที่อาจไม่ปลอดภัยออกสู่ท้องตลาด

11) ขั้นตอนที่ 11 (หลักการที่ 6): การกำหนดกระบวนการทวนสอบ

การดำเนินกิจกรรมการทวนสอบ เพื่อให้มั่นใจว่ามาตรการที่กำหนดถูกนำไปปฏิบัติอย่างมีประสิทธิภาพ เช่น การทวนสอบข้อมูลในรายงานการตรวจติดตามจุดควบคุมวิกฤติ และการตรวจประเมินภายใน เป็นต้น หากมาตรการไม่มีประสิทธิภาพจะต้องดำเนินการแก้ไข

12) ขั้นตอนที่ 12 (หลักการที่ 7): การจัดทำระบบเอกสาร และการจัดเก็บบันทึก

การจัดทำเอกสาร HACCP Plan ไว้เพื่อนำไปใช้เป็นเกณฑ์ในการปฏิบัติงานของบุคลากร นอกจากนี้ ต้องบันทึกเก็บผลการปฏิบัติงานตามมาตรการที่กำหนดไว้ เช่น ผลของการตรวจติดตามจุดควบคุมวิกฤติ เป็นต้น เพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการทวนสอบระบบได้

สุวิมล กิริติพิบูล (2550) ได้ระบุว่าจากหลักการดังกล่าวข้างต้น สามารถสรุปหัวใจสำคัญในการจัดทำระบบ HACCP ได้ 3 ประการ คือ

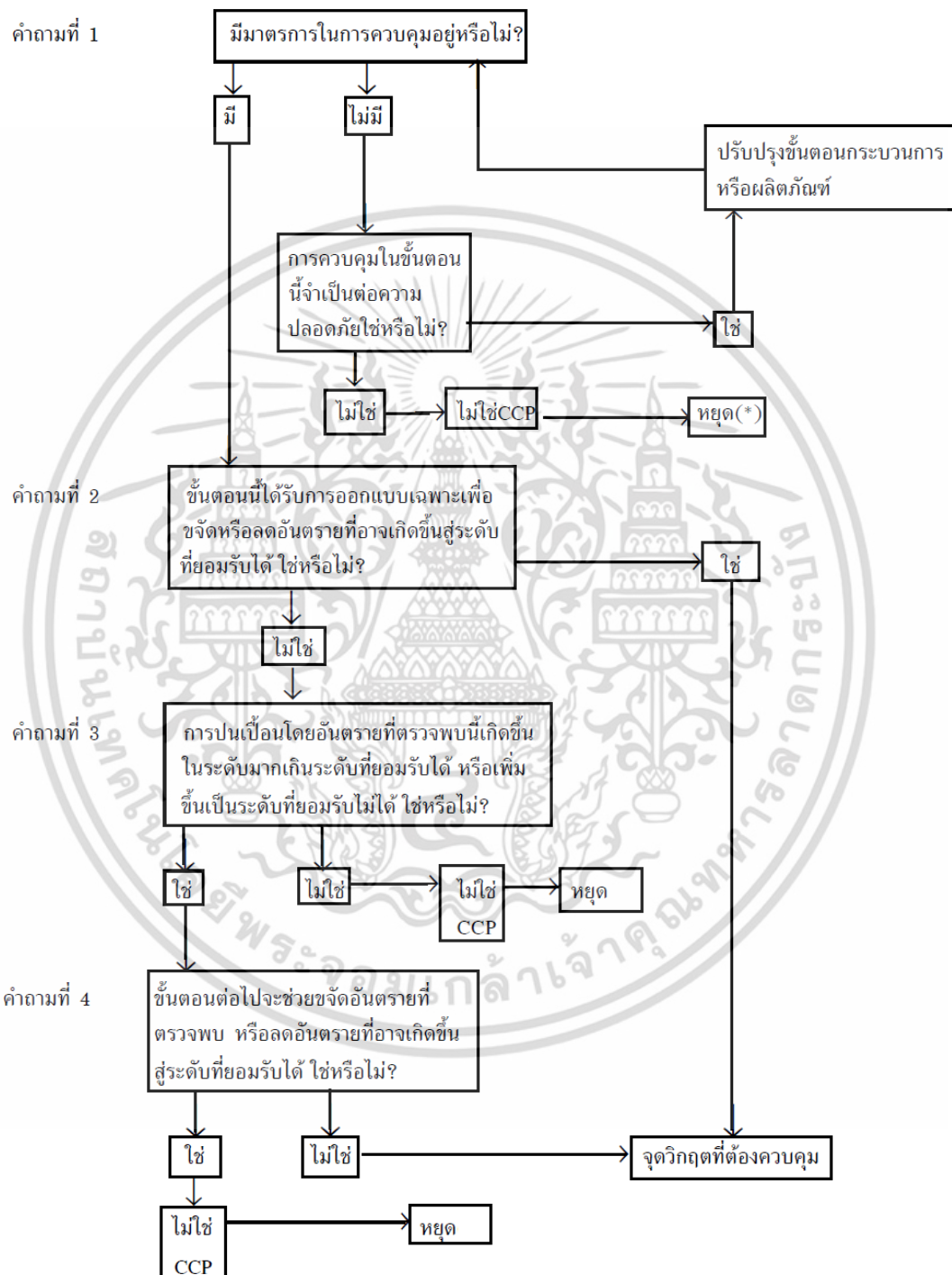
1) การระบุนอันตรายทั้งหมดที่มีโอกาสเกิดขึ้น โดยการวิเคราะห์อันตรายในทุกขั้นตอนของกระบวนการผลิต ตั้งแต่การรับเข้าวัตถุดิบ ไปจนถึงกระบวนการส่งมอบ เพื่อพิจารณาถึงอันตรายต่างๆที่มีโอกาสเกิดขึ้นได้จริงซึ่งต้องครอบคลุมอันตรายทั้ง 3 ทางด้านชีวภาพ เคมี และกายภาพ

2) การกำหนดจุดวิกฤติที่ต้องควบคุมหรือจุด CCP โดยนิยามของทาง Codex นั้นหมายถึงขั้นตอนในกระบวนการผลิตที่จำเป็นต้องมีมาตรการควบคุม เพื่อป้องกัน หรือจัดอันตรายที่มีต่อความปลอดภัยของอาหาร หรือลดอันตรายดังกล่าวจนถึงระดับที่ยอมรับได้ การคัดเลือกจุด CCP นั้นดำเนินการได้โดยการใช้ผังการตัดสินใจ (CCP Decision Tree) ดังแสดงในภาพที่ 2.6

3) การจัดการณ.จุดวิกฤติที่ต้องควบคุมได้แก่การกำหนดค่าวิกฤติ (Critical limit) และการจัดทำระบบการตรวจติดตามสำหรับแต่ละจุดวิกฤติ (CCP monitoring plan)

ทั้งนี้การจัดทำระบบ HACCP เป็นระบบที่มีแนวคิดอยู่บนพื้นฐานหลักการทางวิทยาศาสตร์ และเป็นเหตุเป็นผล โดยในการจัดทำนั้นจะต้องมีหลักฐาน, มาตรฐาน หรือข้อมูลสนับสนุนที่ชัดเจน เช่น การระบุนอันตรายทั้งหมดที่มีโอกาสเกิดขึ้นนั้น จะต้องอ้างอิงจากหลักฐานทางวิชาการ งานศึกษาวิจัย หรือทฤษฎีที่ได้มีการศึกษาไว้แล้วถึงอันตรายทางอาหารที่อาจพบได้ทั้งในวัตถุดิบ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และกระบวนการผลิต ตลอดจนถึงการกำหนดค่าวิกฤติ (Critical limit) ซึ่งต้องอ้างอิงข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เพื่อให้สามารถลด, ขจัด หรือ ควบคุมอันตรายที่อาจเกิดขึ้นได้เช่นกัน และต้องดำเนินการทวนสอบมาตรการดังกล่าวอีกด้วย (Verification)



ภาพที่ 2.6 ฟังการตัดสินใจจุด CCP (CCP Decision Tree)

ที่มา: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2549); เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผังการตัดสินใจจุด CCP (ภาพที่ 2.6) พบว่า การตัดสินใจว่ากระบวนการผลิตนั้นจะเป็นจุดควบคุมวิกฤติ (Critical Control Point – CCP) หรือไม่นั้น จะต้องตอบคำถามตามที่กำหนด โดยในการตอบคำถามนั้นอาจตอบ 2, 3 หรือ 4 คำถามก็ได้ ทั้งนี้ขึ้นกับคำตอบของคำถามก่อนหน้า โดยผลของการจัดทำแผนวิเคราะห์อันตรายตามหลักการ HACCP รวมถึงผลของการพิจารณาตามผังการตัดสินใจจุด CCP นั้นจะต้องบันทึกไว้เป็นข้อมูล โดยมักจัดทำในรูปแบบตารางตามที่ระบุในภาพที่ 2.7

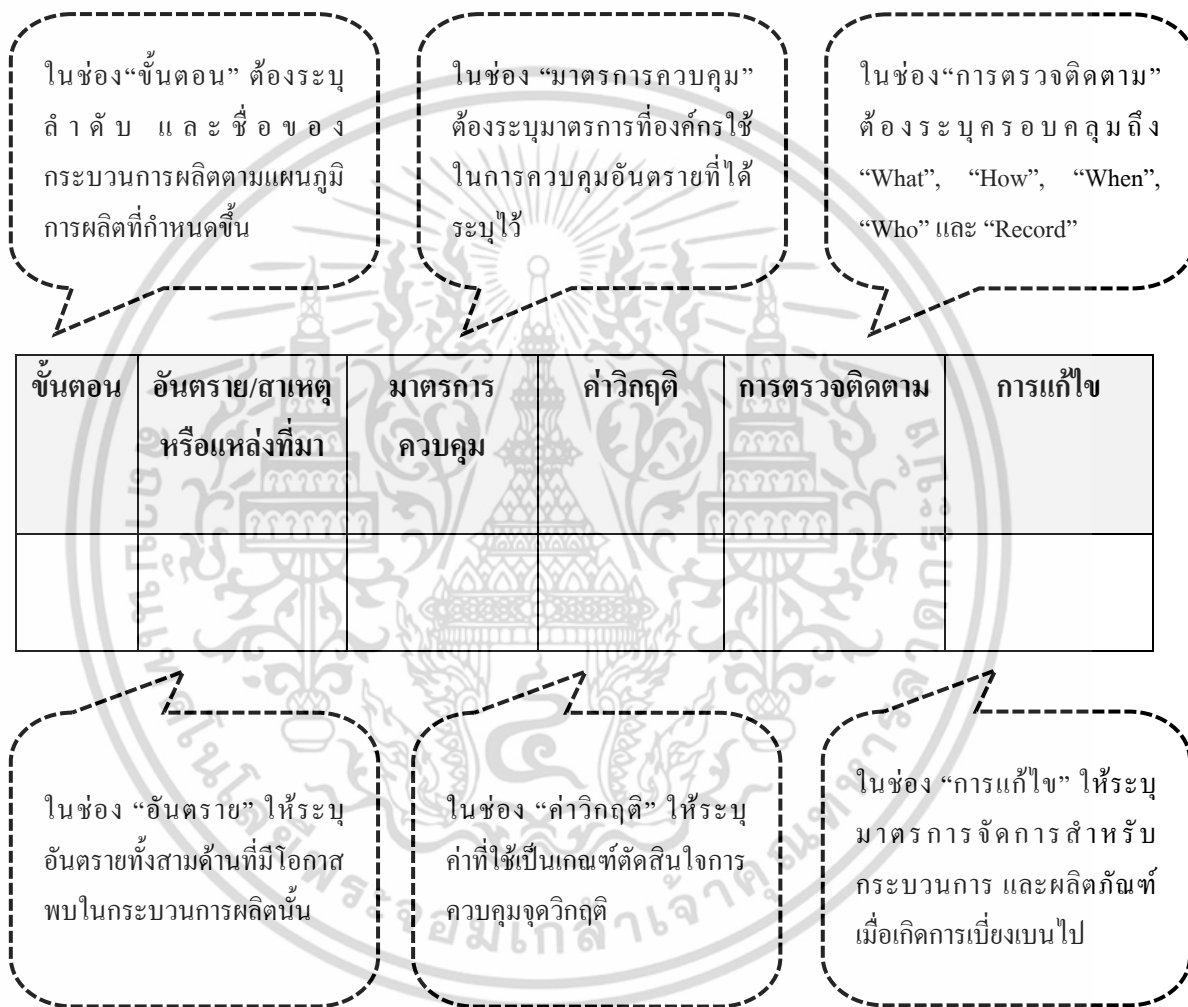


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.7 รูปแบบตารางสรุปการวิเคราะห์อันตราย ที่มา: สุวิมล กิริติพิบูล (2550)

หากกระบวนการผลิตใดเป็นจุดควบคุมวิกฤติแล้ว ต้องจัดทำระบบการตรวจติดตาม ตลอดจนถึงกำหนดมาตรการแก้ไขกรณีที่เกิดการเบี่ยงเบนของการควบคุมตามที่ระบุในขั้นตอนที่ 9 และ 10 ตามลำดับ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ยืนยันการปฏิบัติในขั้นต่อนั้น เป็นไปตามที่กำหนด ตลอดจนต้องเป็นสัญญาณเตือนผู้ปฏิบัติงานว่ากระบวนการผลิตดังกล่าวยังอยู่ภายใต้การควบคุมหรือไม่ และจำเป็นต้องดำเนินมาตรการแก้ไขหรือไม่ (สุวิมล กิริติพิบูล. 2550) ทั้งนี้รูปแบบของระบบการตรวจติดตามจุดควบคุมวิกฤติเป็นดังแสดงในภาพที่ 2.8



ภาพที่ 2.8 รูปแบบตารางระบบตรวจติดตามจุดควบคุมวิกฤติ ที่มา: สุวิมล กิริติพิบูล (2550)

การพิจารณาเลือกค่าวิกฤติในการตรวจติดตาม ให้สามารถตรวจวัดได้สะดวก โดย ต้องตรวจวัดได้อย่างรวดเร็ว เพื่อให้สามารถตัดสินใจดำเนินการกับผลิตภัณฑ์ในระหว่างกระบวนการได้ ตลอดจนมีค่าใช้จ่ายไม่สูงมากนัก เนื่องจาก ต้องตรวจติดตามบ่อยครั้ง อีกทั้งหากค่าวิกฤติที่ต้องการตรวจวัดไม่เหมาะสมตามเงื่อนไข อาจต้องเลือกตรวจติดตามค่าวิกฤติอื่น (สุวิมล กิริติพิบูล. 2550)

อาทิ ในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง ซึ่งต้องการติดตามปริมาณฮีสตามีนในปลา เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการเชิงวิชาการเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่ขึ้นด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่ให้เพิ่มขึ้นจนเกินเกณฑ์มาตรฐาน แต่เนื่องด้วยการตรวจติดตามฮีสตามีนมีขั้นตอนที่ยุ่งยาก และใช้ระยะเวลานาน จึงอาจพิจารณาตรวจติดตามค่าอื่นที่ผลกระทบต่อกรเพิ่มของปริมาณฮีสตามีนแทน อาทิ อุณหภูมิปลา และ/หรือระยะเวลาในระหว่างกระบวนการผลิต เป็นต้น ทั้งนี้ค่าวิกฤติที่เลือกใช้จะต้องทำการยืนยันความถูกต้องตามที่ได้กล่าวไปแล้วก่อนหน้า

2.9.3 ISO22000 (Food Safety Management System)

ISO22000 เป็นระบบบริหารจัดการด้านความปลอดภัยอาหารจากหน่วยงานระหว่างประเทศ International Organization for Standardization (ISO) ซึ่งเป็นหน่วยงานระหว่างประเทศที่ทำหน้าที่พัฒนา และกำหนดมาตรฐาน โดยหน่วยงานดังกล่าวได้ก่อตั้งขึ้นไปใน ค.ศ.1947 ในปัจจุบันมีสมาชิกจาก 163 ประเทศที่เข้าร่วมในการพัฒนา และกำหนดมาตรฐาน สำหรับ ISO22000 เป็นมาตรฐานที่มุ่งเน้นเรื่องความปลอดภัยอาหารสำหรับผู้บริโภค เพื่อป้องกันมิให้อาหารปนเปื้อนอันตรายทางอาหาร (Food safety hazard) โดยสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับองค์กรใดๆก็ตามที่อยู่ในห่วงโซ่อาหาร ทั้งผู้ที่เกี่ยวข้องกับห่วงโซ่อาหารโดยตรง เช่น เกษตรกรผู้เพาะปลูกพืช เกษตรผู้เลี้ยงสัตว์ผู้ผลิตอาหารสัตว์ ผู้ผลิตผลิตภัณฑ์อาหาร คลังสินค้า ศูนย์กระจายสินค้า บริการขนส่งสินค้า และ ครัว/ภัตตาคาร ไปจนถึงผู้ที่เกี่ยวข้องกับห่วงโซ่อาหารโดยอ้อม เช่น ผู้ผลิตบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหาร, ผู้ผลิตเครื่องจักรสำหรับผลิตอาหาร และผู้ผลิตสารเคมีเพื่อใช้ในการทำความสะอาด เป็นต้น โดยมาตรฐาน ISO22000 ฉบับแรกคือ ISO22000:2005 ซึ่งประกาศใช้งานเมื่อปีค.ศ.2015 โดยขณะนี้ในปี ค.ศ.2015 อยู่ในระหว่างการทบทวน และคาดว่าจะมีการจะประกาศใช้ฉบับใหม่ในปีค.ศ.2017 สำหรับมาตรฐานฉบับดังกล่าวถูกจัดทำขึ้น โดยมีโครงสร้างของมาตรฐานอ้างอิงจากข้อกำหนดระบบบริหารจัดการด้านคุณภาพ ISO9001 และได้รวมเนื้อระบบบริหารจัดการด้านความปลอดภัยอาหาร HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) ตามแนวทางของ Codex Alimentarius Commission เข้าไว้ด้วยกัน โครงสร้างของข้อกำหนดระบบ ISO22000:2005 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2548)ประกอบไปด้วยหัวข้อดังนี้

ข้อกำหนดที่ 1: ขอบข่าย (Scope)

ข้อกำหนดที่ 2: เอกสารอ้างอิง (Normative references)

ข้อกำหนดที่ 3: นิยามศัพท์

ข้อกำหนดที่ 4: ระบบการจัดการด้านความปลอดภัยอาหาร

ข้อกำหนดที่ 5: ความรับผิดชอบส่วนบริหาร

ข้อกำหนดที่ 6: การจัดการทรัพยากร

ข้อกำหนดที่ 7: การวางแผน และการทำให้ได้มาซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัย

ข้อกำหนดที่ 8: การยืนยันความถูกต้อง, การทวนสอบ และการปรับปรุงระบบบริหาร

จัดการด้านความปลอดภัยอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้างของข้อกำหนดระบบ ISO22000:2005 นั้นมีความแตกต่างจากมาตรฐาน GMP และ HACCP แต่เมื่อพิจารณาในรายละเอียดของเนื้อหาพบว่ามีความใกล้เคียงกัน โดยข้อกำหนดของระบบ ISO22000:2005 กล่าวถึงโปรแกรมพื้นฐาน (Prerequisite Program, PRP) และการวิเคราะห์อันตรายในกระบวนการผลิต (Hazard analysis) ไว้เช่นกัน ดังนี้

โปรแกรมพื้นฐาน (Prerequisite Program, PRP) ได้ถูกกล่าวถึงไว้ในข้อกำหนด 7.2 ของระบบ ISO22000:2005 โดยกำหนดให้องค์กรที่ประยุกต์ใช้ระบบมาตรฐานนี้จะต้องจัดทำ และใช้งานโปรแกรมพื้นฐานเพื่อให้เกิดสุขลักษณะที่ดีในการผลิต โดยตัวมาตรฐานได้ยกตัวอย่างโปรแกรมพื้นฐานที่ต้องนำไปใช้งานไว้ อาทิ การจัดสรรพื้นที่กระบวนการ การจัดเตรียมระบบสนับสนุนการผลิต (สาธารณูปโภค) การจัดการขยะของเสีย การทำความสะอาด การซ่อมบำรุงรักษา การจัดซื้อ การกำหนดมาตรการป้องกันการปนเปื้อนข้าม มาตรการที่เกี่ยวข้องกับสุขลักษณะส่วนบุคคล นอกจากนี้แล้วยังแนะนำให้พิจารณาแนวทางการเลือกโปรแกรมพื้นฐานเพื่อใช้งานจากข้อมูลต่างๆ อาทิ ข้อกำหนดกฎหมาย, ข้อกำหนดลูกค้า ตลอดจนถึงแนวทางปฏิบัติของทาง Codex Alimentarius Commission อีกด้วย

การวิเคราะห์อันตรายในกระบวนการผลิต (Hazard analysis) อยู่ในข้อกำหนด 7.3 (Preliminary steps to enable hazard analysis) และ 7.4 (Hazard analysis) โดยมีหลักการคล้ายคลึงกับระบบ HACCP สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2549) ประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

ข้อกำหนด 7.3.2 การจัดตั้งคณะทำงานด้านความปลอดภัยอาหาร

ข้อกำหนด 7.3.3 การบรรยายคุณลักษณะขององค์ประกอบการผลิต และผลิตภัณฑ์

ข้อกำหนด 7.3.4 การระบุวิธีการใช้งานผลิตภัณฑ์

ข้อกำหนด 7.3.5 การจัดทำแผนภูมิการผลิต และมาตรการควบคุม

ข้อกำหนด 7.4.3 การประเมินอันตราย

ข้อกำหนด 7.4.4 การคัดเลือกมาตรการควบคุม

โดยภายหลังจากการคัดเลือกมาตรการควบคุมจะทำให้ทราบว่าขั้นตอนที่จำเป็นต้องกำหนดมาตรการควบคุมพิเศษ โดยใช้เครื่องมือการคัดเลือกที่แตกต่างจาก HACCP แต่มีหลักการที่ใกล้เคียงกัน กล่าวคือมาตรฐาน ISO22000 ได้ระบุในข้อกำหนด 7.4.4 เกี่ยวกับสิ่งที่ต้องพิจารณาถึงเมื่อคัดเลือกมาตรการควบคุม (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2548) ได้แก่

7.4.4 a) ผลกระทบของมาตรการควบคุมต่ออันตรายที่พิจารณา

7.4.4 b) ความสามารถในการตรวจเฝ้าติดตาม

7.4.4 c) ตำแหน่งของมาตรการในกระบวนการ และความสัมพันธ์กับมาตรการอื่นๆ

7.4.4 d) โอกาสในการเกิดความล้มเหลวของมาตรการ

7.4.4 e) ผลกระทบที่ตามมาเมื่อเกิดความล้มเหลวของมาตรการ

7.4.4 f) เป็นมาตรการเฉพาะที่กำหนดขึ้นเพื่อควบคุมอันตราย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7.4.4 g) มีผลกระทบร่วม

ภายหลังจากการพิจารณาขั้นตอนที่ต้องกำหนดมาตรการควบคุมพิเศษ ได้แก่ ขั้นตอนการผลิตที่เป็นจุดควบคุมวิกฤติ (Critical Control Point, CCP) หรืออาจเป็นจุดควบคุม Operational PRP (OPRP) ทั้งนี้ขั้นตอนการผลิตดังกล่าวต้องมีมาตรการควบคุมเพื่อป้องกัน หรือขจัดอันตรายทางอาหารที่อาจปนเปื้อนไปสู่ผลิตภัณฑ์ได้

การจัดทำระบบบริหารจัดการ ISO22000 โดยเฉพาะการวิเคราะห์อันตรายในกระบวนการผลิตตามที่กล่าวมาข้างต้น จะต้องอยู่บนพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ ซึ่งจะต้องมีข้อมูลทางวิชาการ งานวิจัย ทฤษฎี ตลอดจนถึงข้อกำหนดกฎหมายที่เกี่ยวข้องเช่นเดียวกับระบบ HACCP ทั้งนี้ขั้นตอนการผลิตที่ถูกวิเคราะห์ว่ามีโอกาสเกิดอันตรายใดๆ ขึ้น จะต้องกำหนดมาตรการควบคุมสำหรับอันตรายนั้นในการลด หรือขจัดอันตรายลงได้ (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2548)

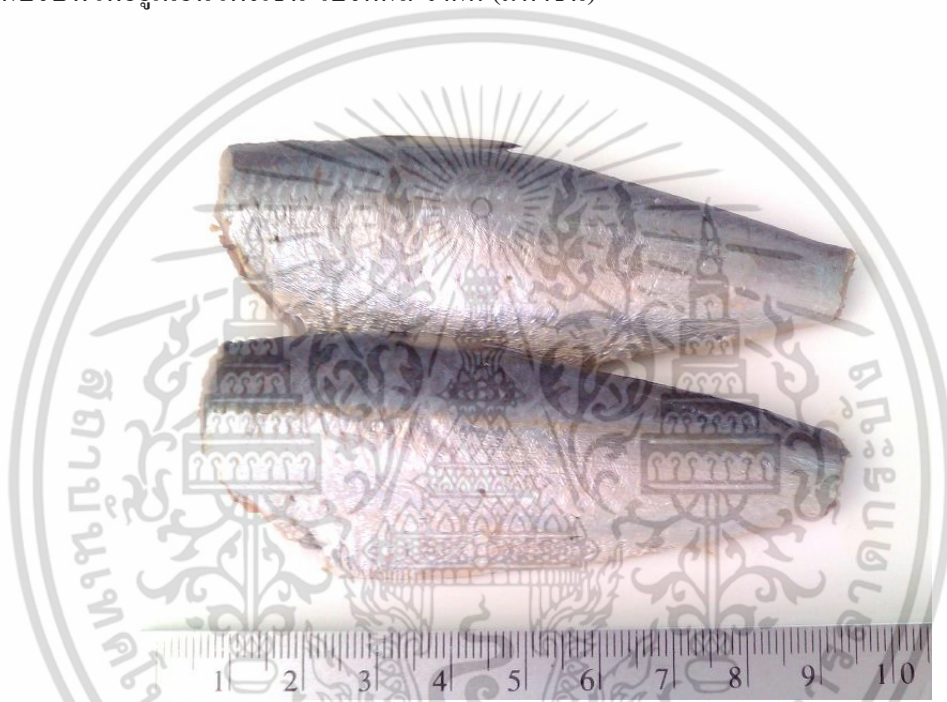
บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีการ

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 ปลา

ปลาซาร์ดีน (*Sardinella gibbosa*) ที่ผ่านกระบวนการฆ่าล้าง, ควักไส้ และตัดหัว (ภาพที่ 3.1) จากบริษัทไทยยูเนียน โพรเซ่น โปรดักส์ จำกัด (มหาชน)



ภาพที่ 3.1 ตัวอย่างปลาซาร์ดีน

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Phosphate-buffered saline

- 1) Tryptic Soy Agar (TSA, Merck, Germany)
- 2) Tryptic Soy Broth (TSB, Merck, Germany)
- 3) Phosphate-buffered saline (PBS) (Invitrogen Gibco, USA)
- 4) Peptone water (Difco, USA)

3.1.3 สารเคมี

- 1) Acetone (Carlo, Italy)
- 2) Ethanol alcohol (Gammaco, Thailand)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) L-Histidine amino acid (Merck, Germany)

4) น้ำกลั่น

3.1.4 เครื่องมือ และอุปกรณ์

1) เครื่องแก้ว

2) ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)(Mettler รุ่น BE500, Germany)

3) ตู้แช่เย็น (ชื่อ:Accuplus, รุ่น: i250, Thailand)

4) เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ Autoclave (ชื่อ: Hirayama, รุ่น: HV-85, Japan)

5) ตู้เขี่ยเชื้อ Biological Safety Cabinet (ชื่อ: Heal Force, รุ่น: HF Safe-900, China)

6) ตู้แช่แข็ง (ชื่อ: Sanyo, รุ่น: SF-C997, Thailand)

7) ตู้แช่เย็น (ชื่อ: Sanyo, Thailand)

8) เครื่องชั่งน้ำหนักดิจิทัล 2 ตำแหน่ง (ชื่อ: Mettler-Toledo, รุ่น: DRAGON3002, USA)

9) เครื่องกวนสารละลายพร้อมให้ความร้อน (Hot Plate Stirrer) (ชื่อ Thermolyne, รุ่น RT2, USA)

10) เครื่องวัดอุณหภูมิ (Thermocouple) (ชื่อ Fluke, รุ่น:51 Series, USA)

11) เครื่องวัดพีเอช (pH meter) (ชื่อ Metrohm, รุ่น: 744, Switzerland)

12) เครื่องดูดจ่ายสารละลาย (Auto Pipette) (ชื่อ: Rainin, รุ่น: SL-1000, USA)

13) นาฬิกาจับเวลา (ชื่อ Casio, รุ่น: HS-3, China)

14) เครื่องวัดความขุ่นเชื้อจุลินทรีย์ (ชื่อ Biomerieux, France)

15) อุปกรณ์อื่นๆ เช่น ถังมือ,

ถุงพลาสติกสะอาด

และ กล่องโฟม เป็นต้น

3.1.5 สายพันธุ์เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ *Morganella morganii* ATCC25830 ซึ่งจากศูนย์เก็บรักษาจุลินทรีย์ทางการแพทย์แห่งชาติ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข โดยเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวถูกเก็บรักษาในรูปแบบ Stab Culture

3.2 วิธีการ

3.2.1 การตรวจสอบกระบวนการผลิตปลาซาร์ดินบรรจุกระป๋องโรงงานต้นแบบ

การเยี่ยมชมกระบวนการผลิตปลาซาร์ดินบรรจุกระป๋องของโรงงานต้นแบบ ตั้งแต่การตรวจรับวัตถุดิบ จนถึงการจัดเก็บผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป โดยจดบันทึกข้อมูลรายละเอียดของกระบวนการผลิต เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในแต่ละขั้นตอน จากนั้นบันทึกอุณหภูมิปลา โดยใช้เครื่องวัดอุณหภูมิวัดอุณหภูมิปลาในแต่ละขั้นตอนการผลิต และบันทึกเวลาเวลาที่ใช้ในแต่ละกระบวนการผลิต โดยใช้นาฬิกาจับเวลา

นำข้อมูลที่ได้มาจัดทำแผนภูมิกระบวนการผลิตและนำผลของอุณหภูมิและระยะเวลาประกอบพิจารณาขั้นตอนการผลิตที่อาจมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮีสตามีน เพื่อกำหนดจุดเก็บตัวอย่าง

นำแผนภูมิกระบวนการผลิตและจุดเก็บตัวอย่างที่พิจารณาเข้าเสนอกณะทำงานด้านความปลอดภัยอาหารของโรงงานต้นแบบ เพื่อขอความเห็นและข้อสรุปในการกำหนดจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมด 5 จุด

3.2.2 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของระดับฮีสตามีนในการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง

จากผลการตรวจสอบกระบวนการผลิตในข้อ 3.2.1 และผลสรุปคณะทำงานด้านความปลอดภัยอาหารของโรงงานต้นแบบ สามารถระบุกระบวนการผลิตที่มีความเสี่ยงต่อการเปลี่ยนแปลงระดับฮีสตามีนในการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง จำนวน 5 จุด ได้แก่

- 1) ตัวอย่างปลาหลังละลายน้ำแข็ง
- 2) ปลาหลังกระบวนการผ่าท้อง, ควักไส้, ตัดหัวปลา
- 3) ปลาหลังกระบวนการบรรจุลงกระป๋อง
- 4) ปลาหลังผ่านการนึ่งด้วยไอน้ำ
- 5) ปลาหลังผ่านการฆ่าเชื้อ (Retorting)

จากนั้นจึงกำหนดแผนการเก็บตัวอย่างในทุก 10 สัปดาห์ รวมทั้งสิ้น 3 ครั้ง คือ เดือน พฤษภาคม, กรกฎาคม และกันยายน ตามลำดับ ซึ่งมีจุดเก็บตัวอย่างตามขั้นตอนการผลิตดังนี้คือ

- ปลาหลังกระบวนการละลายน้ำแข็งจำนวนจุดละ 5 ตัวอย่าง
- ปลาหลังกระบวนการผ่าท้อง, ควักไส้, ตัดหัวปลาจำนวนจุดละ 5 ตัวอย่าง
- ปลาหลังกระบวนการบรรจุลงกระป๋อง จำนวนจุดละ 5 ตัวอย่าง
- ปลาหลังผ่านการนึ่งด้วยไอน้ำจำนวน 3 ตัวอย่าง
- ปลาหลังผ่านการฆ่าเชื้อจำนวน 2 ตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างปลา ไม่น้อยกว่า 500 กรัม ใส่ลงในถุงพลาสติกซีป्लीค LDPE ที่สะอาด มัดปากถุงให้แน่น และใส่ลงในกล่องโฟมที่บรรจุถุงน้ำแข็ง และควบคุมอุณหภูมิให้ไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส นำส่ง ในแต่ละครั้งของการเก็บตัวอย่างจะได้จำนวนตัวอย่างรวมทั้งสิ้น 20 ตัวอย่าง ต่อการเก็บตัวอย่างหนึ่งครั้ง จากนั้นนำส่งตัวอย่างไปยังห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด จังหวัดสมุทรสาคร ภายในเวลา 4 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณฮีสตามีน โดยใช้วิธีการของ AOAC c.35, 997.13 (2012) (ภาคผนวก ก.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำผลการวิเคราะห์ปริมาณฮีสตามีนมาวิเคราะห์ทางสถิติ ในแต่ละครั้งของการเก็บตัวอย่าง และในแต่ละจุดของกระบวนการผลิต โดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS Version 17 (Trial Version)

3.2.3 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ *Morganellamorganii*

ใช้ห้วงเย็บเชื้อ (Loop) เช็บเชื้อจุลินทรีย์ *M. morganii* มาเพาะเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Agar (TSA) แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อโดยจะต้องไม่พบโคโลนีแปลกปลอมบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

นำเชื้อจุลินทรีย์ *M. morganii* มาทดสอบเพื่อยืนยันความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ฮีสติดินดีคาร์บอกซิเลสของเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยการเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth (TSB) ที่เติมกรดอะมิโนฮีสติดิน 1 เปอร์เซ็นต์พีเอช pH 7 แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 24 ชั่วโมง จากนั้นส่งตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยควบคุมอุณหภูมิตัวอย่างไม่เกิน 4 องศาเซลเซียสด้วยน้ำแข็งในระหว่างการส่งตัวอย่างไปยังห้องปฏิบัติการกลาง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณฮีสตามีน

เตรียมสารแขวนลอยเซลล์โดยใช้ห้วงเย็บเชื้อเช็บเชื้อ *M. Morganii* ที่เพาะในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ลงในหลอด PBS วัดความขุ่นของเชื้อด้วยเครื่องวัดความขุ่นให้มีค่า 0.5 McFarland หรือความเข้มข้นของเชื้อเท่ากับ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แล้วนำสารแขวนลอยเซลล์ มาเจือจางด้วยด้วย PBS buffer จนได้สารแขวนลอยเซลล์ที่ความเข้มข้น 1.5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้น แบ่งสารแขวนลอยเซลล์ใส่ขวดแก้วปลอดเชื้อขวดละ 20 มิลลิลิตรแล้วเก็บรักษาในอุณหภูมิไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองในข้อต่อไป

3.2.4 ผลของอุณหภูมิ และเวลาต่อการสร้างฮีสตามีนในปลาซาร์ดีน

นำปลาซาร์ดีน (*Sardinella gibbosa*) ที่ผ่านกระบวนการฆ่าล้าง คัดไส้ และตัดหัวใส่ลงในถุงพลาสติก LDPE ที่สะอาด ถูละ 5 กิโลกรัม มัดปากถุงให้แน่น แล้วใส่ลงในกล่องโฟม จากนั้นใส่น้ำแข็งผสมเกลือ เพื่อควบคุมอุณหภูมิให้ไม่เกิน 0 องศาเซลเซียสด้วย แล้วนำส่งห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร ภายในเวลาไม่เกิน 4 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างปลาในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -12 องศาเซลเซียส) ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง

ละลายน้ำแข็งในปลาแช่เยือกแข็ง ด้วยการเปิดน้ำสะอาดไหลผ่าน และควบคุมอุณหภูมิปลาในระหว่างการทำละลายไม่ให้สูงเกิน 4 องศาเซลเซียสโดยใช้เครื่องวัดอุณหภูมิตรวจสอบอุณหภูมิปลาตลอดการละลายปลา หากมีอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นให้เติมน้ำแข็งสะอาดเพื่อลดอุณหภูมิลง จากนั้นนำปลามาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยสารละลายเอธานอล-อะซิโตน ในอัตราส่วน 1:1 (โดยปริมาตร) ตาม

วิธีการของ Tsai et.al. (2005) โดยการจุ่มปลาลงในสารละลายให้ท่วม จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาด ปลอดภัย โดยเทน้ำไหลผ่านปลาอย่างน้อย 10 ลิตรต่อปลา 5 กิโลกรัม

ซึ่งปลาบรรจุลงในถุงพลาสติกถุงละ 300 กรัม แล้วเติมสารแขวนลอยเชื้อจากข้อ 3.2.3 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ลงไปลงในถุงที่บรรจุปลาด้วยเทคนิคปราศจากเชื้อ คลุกเคล้าโดยการเขย่าถุงเล็กน้อย เพื่อให้สารแขวนลอยเชื้อไหลท่วมตัวปลาอย่างทั่วถึง ตัวอย่างปลาที่ได้จะมีความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้นประมาณ 1×10^5 เซลล์ต่อกรัมตัวอย่าง

นำตัวอย่างปลาที่ผสมเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 10, 15 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 4, 8, 12 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ โดยเก็บตัวอย่างจำนวน 3 ตัวอย่างในแต่ละอุณหภูมิ แล้วนำส่งห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด จังหวัดสมุทรสาคร เพื่อวิเคราะห์ปริมาณฮีสตามีน

นำผลการวิเคราะห์ปริมาณฮีสตามีน มาวิเคราะห์ทางสถิติ ด้วยการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS Version 17 (Trial Version) จากนั้นสร้างสมการเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ และเวลาเพื่อใช้ทำนายปริมาณของฮีสตามีนในปลา ตามวิธี Regression ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยทดสอบความถูกต้องของสมการโดยใช้ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard Error of Estimate, SEE) ซึ่งคำนวณได้จากสูตร ดังนี้

$$SEE = \sqrt{\frac{\sum(Y - Y')^2}{N - 2}}$$

โดย

SEE	=	ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
Y	=	ค่าที่แท้จริงจากการทดลอง
Y'	=	ค่าจากสมการ
N	=	จำนวนตัวอย่าง

3.2.5 การวิเคราะห์อันตรายในกระบวนการผลิตเพื่อกำหนดมาตรการควบคุมตามหลักการระบบการจัดการด้านความปลอดภัยอาหาร

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองก่อนหน้ามาวิเคราะห์ความน่าจะเป็นในการเพิ่มขึ้นของฮีสตามีนในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง และการระบุมาตรการควบคุมโดยใช้วิธีการตามหลักการ RECOMMENDED INTERNATIONAL CODE OF PRACTICE GENERAL PRINCIPLES OF FOOD HYGIENE หรือ CAC/RCP 1-1969, Rev. 4-2003 เพื่อพิจารณาคัดเลือกระบวนการผลิตที่ต้องควบคุมอย่างเข้มงวด หรือ การพิจารณาคัดเลือกจุดควบคุมวิกฤติ (Critical เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Control Point, CCP) และการกำหนดค่าควบคุมวิกฤติ (Critical Limit) สำหรับแผนการตรวจติดตามจุดควบคุมวิกฤติ (CCP Monitoring plan) ตลอดจนถึงการกำหนดมาตรการแก้ไขกรณีพบว่าจุดควบคุมวิกฤติมีการเบี่ยงเบนไป

3.3 สถานที่ทำการทดลอง

ระยะเวลาของการทำวิจัยคือเดือนเมษายน พ.ศ.2557 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ.2558 โดยสถานที่ทำการทดลองดังนี้

3.3.1 การศึกษากระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง และการรับตัวอย่างปลาซาร์ดีน ได้ดำเนินการที่โรงงานต้นแบบคือ บริษัทไทยยูเนียนโพรเซส โปรดักส์ จำกัด (มหาชน) จังหวัดสมุทรสาคร

3.3.2 ห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผล

4.1 การตรวจสอบกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋องโรงงานต้นแบบ

จากการเข้าศึกษากระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋องของโรงงานต้นแบบ พบว่า กระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง เริ่มจากการเบิกจ่ายปลาซาร์ดีนแช่เยือกแข็งจากห้องแช่แข็ง โดยมีขั้นตอนการผลิตดังแสดงในภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 กระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง

ในแต่ละขั้นตอนการผลิตนั้น มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ และใช้ระยะเวลาที่แตกต่างกัน โดยพบว่าระยะเวลา และอุณหภูมิปลาในแต่ละขั้นตอนการผลิตดังแสดงในตารางที่ 4.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 อุณหภูมิปลา และระยะเวลาที่ใช้ (Delayed time) ในแต่ละขั้นตอนการผลิต

ลำดับ	กระบวนการ	Delayed time	อุณหภูมิปลา(⁰ C)
1	การรับปลาซาร์ดีนแช่เยือกแข็ง	15 นาที	-18
2	การละลายน้ำแข็ง	2-4 ชั่วโมง	3.7 – 13.2
3	การผ่าท้อง, คั่วไส้, ตัดหัวปลา	4 ชั่วโมง	5.4 – 11.7
4	การล้างทำความสะอาดปลา		-
5	การจัดเก็บในน้ำแข็ง		-
6	การบรรจุปลาลงกระป๋อง		2.6 – 11.2
7	การนึ่งด้วยไอน้ำ	25 นาที	70.2 – 77.6
8	การสะเด็ดของเหลว	1 ชั่วโมง	-
9	การบรรจุน้ำซอส หรือน้ำปรุงรส		-
10	การปิดฝากระป๋อง		-
11	การฆ่าเชื้อด้วยความร้อน	67 นาที	116
12	การลดอุณหภูมิกระป๋อง	-	< 40
13	การจัดเก็บ	-	-

- ยังไม่มีการบันทึกข้อมูล

โดยรายละเอียดกระบวนการผลิตแต่ละขั้นตอน เป็นดังนี้
ขั้นตอนที่ 1 การรับปลาซาร์ดีนแช่เยือกแข็ง (Frozen sardines)

ปลาซาร์ดีนแช่เยือกแข็งมีลักษณะเป็นก้อนสี่เหลี่ยมถูกเบกจ่ายจากห้องแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ขั้นตอนนี้ไม่มีการเพิ่มของปริมาณฮีสตามีน ทั้งนี้เนื่องจากวัตถุดิบดังกล่าวผ่านขั้นตอนการตรวจสอบปริมาณฮีสตามีนให้อยู่ในระดับที่ไม่เกิน 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตั้งแต่ขั้นตอนการตรวจรับวัตถุดิบก่อนเข้าโรงงาน นอกจากนี้อุณหภูมิของปลาที่ต่ำกว่าจุดเยือกแข็งทำให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนไม่สามารถเจริญได้ (คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีการอาหาร. 2539) ตลอดจนจนถึงเอนไซม์ฮีสทีดีนดีคาร์บอกซิเลส ไม่มีกิจกรรมที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส (Guizani et.al. 2005 ; Pan and James. 1985) ดังนั้น ในขั้นตอนการรับปลาซาร์ดีนนี้จึงไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของฮีสตามีน โดยปลาแช่แข็งจะลำเลียงเข้าสู่กระบวนการผลิตภายใน 15 นาที น้ำในปลาจะยังคงอยู่ในรูปผลึกน้ำแข็ง และยังคงมีอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่ 2 การละลายน้ำแข็งปลาซาร์ดีนแช่เยือกแข็ง (Thawing)

ปลาแช่เยือกแข็งจำนวน 700-800 กิโลกรัม จะถูกบรรจุใส่ลงในถังสแตนเลส จากนั้นเติมน้ำสะอาดจนเต็มถัง แล้วเป่าอากาศในถังเพื่อให้เกิดการหมุนเวียนของน้ำ เป็นเวลา 2-4 ชั่วโมง น้ำแข็งในปลาจะเริ่มละลายจากผิวด้านนอกสุดของก้อนปลา เข้าสู่กึ่งกลางของก้อน ดังนั้นอุณหภูมิของปลาที่ผิวของก้อนปลาจะเพิ่มขึ้นสูงกว่าอุณหภูมิกึ่งกลางของก้อนปลา และอุณหภูมิที่ผิวของก้อนปลาเพิ่มขึ้นจาก -18 เป็น 13.2 องศาเซลเซียสในระยะเวลา 2 – 4 ชั่วโมง จากนั้นปลาที่ละลายเหล่านี้จะถูกใส่ถังแล้วเทกลับด้านหน้าด้วยน้ำแข็ง อุณหภูมิปลาจะลดลงอย่างรวดเร็วจนเข้าใกล้ 0 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ โรงงานกำหนดการควบคุมอุณหภูมิปลาไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิดังกล่าวจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ทำให้ปริมาณฮีสตามีนในปลาไม่เปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตาม Yoshinaga and Frank (1982) รายงานว่าเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* และ *Clostridium perfringens* จากปลา skipjack จะยังคงสามารถผลิตเอนไซม์ได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในขณะที่ *Morganella morganii* จะไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิดังกล่าว Lin et.al. (2012) พบว่าเชื้อ *Raoultella ornithinolytica* ไม่เจริญและสร้างฮีสตามีนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แต่สามารถเจริญและสร้างฮีสตามีนที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องผลการทดลองของ Lee et.al. (2012) ที่รายงานเชื้อ *Enterobacter aerogenes* ว่าสามารถเจริญ และสร้างฮีสตามีนที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.2 ขั้นตอนการละลายน้ำแข็งปลาซาร์ดีนแช่เยือกแข็ง(Thawing)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่ 3 การผ่าท้อง, คั่วไส้ และตัดหัว (Gutting, Butchering and de-heading)

พนักงานจะเทตระกร้าที่บรรจุปลา ลงบนสายพาน ปลาและน้ำแข็งจะกระจายอยู่บนสายพาน กระบวนการนี้โรงงานควบคุมอุณหภูมิปลาต้องไม่สูงเกิน 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของปลาเพิ่มขึ้นทีละน้อย ตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น จากนั้นพนักงานจะผ่าท้อง, คั่วไส้ และตัดหัวปลาทีละตัวด้วยมีด ขั้นตอนนี้ใช้แรงงานคน อุณหภูมิที่ตรวจวัดของตัวอย่างปลา ณ จุดนี้ มีค่าระหว่าง 5.4 – 11.7 องศาเซลเซียส Rodtong et.al. (2005) รายงานว่า เชื้อ *M. organii*, *E.aerogenes* และ *Proteus Vulgaris* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ฮีสทีดีนดีคาร์บอกซิเลส สามารถเจริญเติบโตและสร้างฮีสตามีนได้ โดยกลุ่มจุลินทรีย์จะเพิ่มเพิ่มจำนวนอย่างช้าๆ ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องผลการทดลองของ Lin et.al.(2012) และ Lee et.al. (2012) ในเชื้อ *R. ornithinolytica* และ *E. aerogenes* ดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น ดังนั้นในขั้นตอนนี้จึงอาจทำให้ปริมาณฮีสตามีนในปลาเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม หากเจ้าหน้าที่ฝ่ายตรวจสอบคุณภาพตรวจพบว่าปลามีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นจนสูงเกินเกณฑ์ยอมรับ คือ 4 องศาเซลเซียส ทางโรงงานจะดำเนินการแก้ไขในทันที โดยการเร่งทำการผลิต และนำปลาที่มีอุณหภูมิสูงไปลดอุณหภูมิด้วยการกลบด้วยน้ำแข็ง นอกจากนี้การผ่าท้อง, คั่วไส้ และตัดหัวนั้น อาจทำให้เชื้อจุลินทรีย์พบบนผิวปลา กระจายไปปนเปื้อนในส่วนอื่นๆ ของปลาได้อีกด้วย

ขั้นตอนที่ 4 การล้าง (Washing)

พนักงานจุ่มปลาลงในอ่างน้ำผสมน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ให้เศษปลาและชิ้นส่วนที่ไม่ต้องการหลุดออกจากตัวปลา จากนั้นจะใช้ตะกร้าช้อนปลาออก ขั้นตอนนี้ใช้ระยะเวลาประมาณ 1 นาที หรือนานกว่า อุณหภูมิของปลาจะลดลง จนเข้าใกล้ 0 องศาเซลเซียสอีกครั้ง ซึ่งอุณหภูมิจะยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ฮีสทีดีนดีคาร์บอกซิเลสได้ตลอดจนถึงยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ฮีสทีดีนดีคาร์บอกซิเลสในเนื้อปลาลงด้วยเช่นกัน (Yoshinaga and Frank,1982 ; Rodtong et.al. 2005 ; Lin et.al. 2012 ; Lee et.al. 2012) จากการประเมินในขั้นตอนนี้ ปริมาณฮีสตามีนอาจมีค่าคงที่ และอาจตรวจไม่พบการเพิ่มขึ้นของฮีสตามีน

ขั้นตอนที่ 5 การจัดเก็บในน้ำแข็ง (Storage in ice)

พนักงานใส่ปลาในถังสแตนเลส หรือถังพลาสติกให้มีความหนาประมาณ 5-10 เซนติเมตร จากนั้นใส่น้ำแข็งในปริมาณที่ใกล้เคียงกันลงบนผิวปลา ทำเช่นนี้สลับกันจนเต็มถัง ในขั้นตอนนี้อุณหภูมิของปลาจะลดลงอย่างต่อเนื่อง จนอาจถึง 0 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิดังกล่าวไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของฮีสตามีนดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

ขั้นตอนที่ 6 การบรรจุปลาลงกระป๋อง (Can Filling)

พนักงานตักปลา และน้ำแข็งใส่ลงในบนสายพาน แล้วลำเลียงเข้าสู่กระบวนการผลิต พนักงานจะหยิบขึ้นปลา และบรรจุลงกระป๋องทีละตัว จนได้น้ำหนักที่กำหนด ขั้นตอนนี้ดำเนินการในอุณหภูมิห้อง และใช้ระยะเวลาประมาณ 10-20 นาที เนื่องจากต้องใช้แรงงานคนในการบรรจุ และต้องตรวจสอบน้ำหนักในการบรรจุทุกกระป๋อง ทั้งนี้แม้ว่าปลาจะถูกตัดขึ้นพร้อมน้ำแข็ง แต่ปลานั้นไม่ได้สัมผัสกับน้ำแข็งทั่วทั้งชิ้น อุณหภูมิปลาอาจเพิ่มขึ้นถึง 11.2 องศาเซลเซียส การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิปลา อาจทำให้เอนไซม์ฮีสทีดินดีคาร์บอกซิเลส สามารถดำเนินกิจกรรมได้ หรืออาจทำให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเจริญและสร้างเอนไซม์ได้ ส่งผลให้ปริมาณฮีสตามีนจึงอาจเพิ่มขึ้นได้ (Lin et.al. 2012 ; Lee et.al. 2012) ทั้งนี้เมื่ออุณหภูมิปลาเพิ่มจนสูงเกิน 4 องศาเซลเซียส ทางโรงงานจะเร่งทำการผลิตให้รวดเร็วมากขึ้น และนำปลาใส่ลงในถังบรรจุน้ำแข็ง เพื่อลดอุณหภูมิปลาที่ในระหว่างการบรรจุ



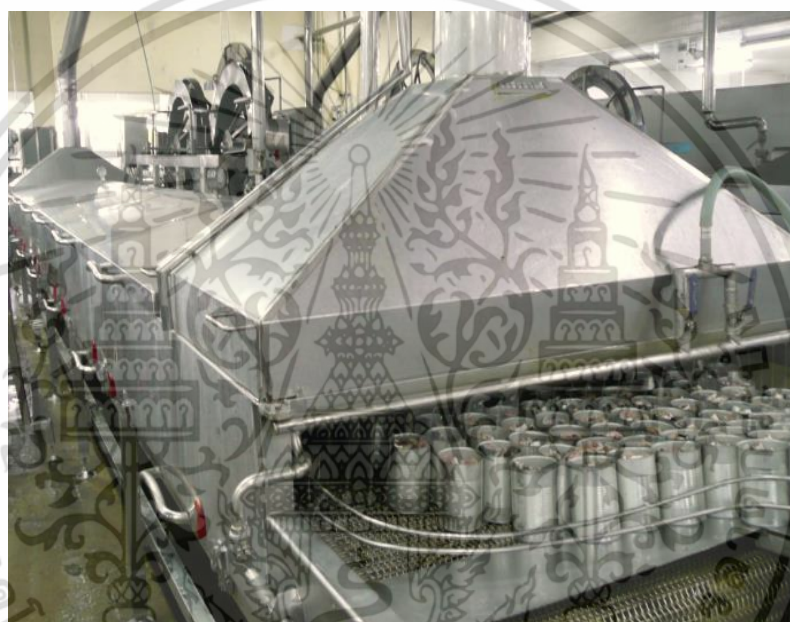
ภาพที่ 4.3 การลำเลียงปลาที่บรรจุลงกระป๋องแล้วไปเครื่องนึ่งด้วยไอน้ำ

ขั้นตอนที่ 7 การนึ่งด้วยไอน้ำ (Steaming /Exhausting)

ปลาที่บรรจุในกระป๋องจะถูกลำเลียงโดยสายพานเข้าสู่เครื่องนึ่งด้วยไอน้ำ ที่ควบคุมอุณหภูมิเครื่องนึ่งที่ 98 องศาเซลเซียสหรือสูงกว่า ขั้นตอนนี้ใช้ระยะเวลาประมาณ 25 นาที อุณหภูมิใจกลางของปลามีค่าไม่ต่ำกว่า 70 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์จะถูกทำลายด้วยความร้อน โดย Enache et.al. (2013) รายงานว่า เชื้อ *M. organii*, *R. planticola*, *Hafnia alvei* และ *E. aerogenes* ที่สร้างเอนไซม์ฮีสทีดินดีคาร์บอกซิเลส เป็นเชื้อที่ต้านทานความร้อนต่ำ และการใช้

อุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส สามารถทำลายเชื้อทั้งหมดได้ โดย *M. organii* เป็นเชื้อที่ต้านทาน
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่หรือใช้
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความร้อนได้ดีที่สุดนั้น มีค่า D_{60} เท่ากับ 0.1 นาที นอกจากนี้ Savany and Cronenberger (1982) รายงานว่า ที่อุณหภูมิ 64 องศาเซลเซียส เอนไซม์ชนิดนี้จะถูกทำลายทั้งหมด ภายในเวลา 10 นาที ซึ่งกระบวนการที่ใช้หนึ่งปลานี้ ใช้ไอน้ำที่อุณหภูมิ 98 เซลเซียส จึงมีอุณหภูมิสูงกว่าที่ถูกรายงานไว้ ดังนั้น มีความเป็นไปได้ว่าทั้งจุลินทรีย์และเอนไซม์จะถูกทำลายทั้งหมด และหากกระบวนการผลิตเป็นไปตามที่กำหนด จะไม่พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮีสตามีนในขั้นตอนการนี้ อย่างไรก็ตาม ใดๆก็ตามจากการตรวจสอบขั้นตอนนี้ พบว่า การปิดรูปปลาที่บรรจุกระป๋องแล้ว ก่อนจะลำเลียงเข้าสู่เครื่องนี้ อาจใช้เวลาจนถึง 4 - 5 นาที จึงอาจมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ และเกิดการสร้างฮีสตามีนในการปิดรูปปลาได้



ภาพที่ 4.4 เครื่องนึ่งด้วยไอน้ำ

ขั้นตอนที่ 8 การสะเด็ดของเหลว (Draining)

ปลาที่ผ่านการนึ่งแล้ว จะมีของเหลวจากตัวปลา และน้ำจากการกลั่นตัวของไอน้ำอยู่ภายในกระป๋อง จึงต้องทำการเทของเหลวทิ้ง หรือสะเด็ดของเหลวออกก่อน โดยกระป๋องจะเคลื่อนที่ผ่านรางที่ทำให้เกิดพลิกคว่ำของกระป๋องทำให้ของเหลวไหลออก จากนั้นจะเคลื่อนที่ผ่านรางที่ทำให้พลิกกระป๋องกลับทันที ขั้นตอนนี้ใช้เวลาไม่นานเกิน 1 นาที อุณหภูมิใจกลางของปลาจะใกล้เคียงกับอุณหภูมิภายหลังการนึ่ง และไม่มีเปลี่ยนแปลงมากเนื่องจากขั้นตอนนี้เป็นกระบวนการผลิตที่เกิดขึ้นต่อเนื่อง ไม่มีการพักอีกทั้งเชื้อจุลินทรีย์ และเอนไซม์น่าจะถูกทำลายทั้งหมดในขั้นตอนนี้ไปแล้ว ดังนั้น ปริมาณฮีสตามีนจึงไม่ควรเพิ่มขึ้น หากกระบวนการนึ่งด้วยไอน้ำเกิดการเบี่ยงเบนจากเกณฑ์ที่กำหนดตามที่ระบุในขั้นตอนก่อนหน้า ซึ่งอาจเป็นผลให้มีจุลินทรีย์

และ/หรือเอนไซม์หลงเหลือในปลา โรงงานจะดำเนินการแก้ไขโดยเพิ่มอุณหภูมิการนึ่งด้วยไอน้ำ หรือใช้วิธีการอื่น ๆ ที่เหมาะสมเพื่อป้องกันการเกิดฮีสตามีน เมื่อผู้ผลิตเห็นใบแจ้งประวัติการดำเนินการที่ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การปรับเพิ่มวาล์วไอน้ำ ตลอดจนถึงมีการกักกันผลิตภัณฑ์ในช่วงที่พบปัญหาเพื่อนำไปผ่านความร้อนซ้ำ หรือรอการตัดสินใจด้วยวิธีการอื่นๆ

ขั้นตอนที่ 9 การบรรจุน้ำซอสหรือน้ำปรุงรส (Media filling)

กระป๋องที่บรรจุปลา และสะเก็ดของเหลวแล้ว จะเคลื่อนที่ไปตามสายพาน ผ่านท่อที่เชื่อมต่อกับถังบรรจุน้ำซอส หรือน้ำปรุงรสที่จะไหลลงสู่กระป๋องจากด้านบนด้วยแรงโน้มถ่วง โดยแตกต่างกันตามชนิดของผลิตภัณฑ์ เช่น น้ำมันพืช, ซอสมะเขือเทศ เป็นต้น ในการบรรจุน้ำซอสหรือน้ำปรุงรสจะถูกสุ่มตรวจสอบน้ำหนักภายหลังการบรรจุ เพื่อให้มั่นใจว่าเป็นไปตามข้อกำหนดผลิตภัณฑ์ (Product specification) กระบวนการบรรจุน้ำซอส หรือน้ำปรุงรสนี้เป็นกระบวนการต่อเนื่องจากขั้นตอนก่อนหน้า และใช้เวลาไม่นาน ตลอดจนถึงเอนไซม์ และจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเพิ่มฮีสตามีนน่าจะถูกทำลายทั้งหมดในขั้นตอนก่อนหน้า ปริมาณฮีสตามีนจึงไม่ควรเพิ่มขึ้นในขั้นตอนนี้

ขั้นตอนที่ 10 การปิดฝากระป๋อง (Can seaming)

กระป๋องที่บรรจุน้ำซอส หรือน้ำปรุงรสจะถูกลำเลียงผ่านสายพานเข้าเครื่องปิดฝา (Can seamer) ที่มี Vacuum chamber หรือเครื่องปิดฝาที่พ่นไอน้ำบนช่องว่างผลิตภัณฑ์ก่อนการปิดฝาเพื่อเป็นการไล่อากาศ ซึ่งจะต้องตรวจสอบสุญญากาศในกระป๋องอย่างสม่ำเสมอ ในสถานการณ์การผลิตปกติ กระป๋องจะถูกลำเลียงเข้าเครื่องปิดฝาอย่างต่อเนื่อง โดยไม่มีการพักรอ ซึ่งใช้เวลาน้อยกว่า 1 นาที ปริมาณฮีสตามีนจึงไม่มีโอกาสเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามแม้ในสถานการณ์ที่เครื่องปิดฝาชำรุดจนเป็นเหตุให้กระบวนการปิดฝาดึงหยุดชะงัก และมีกระป๋องที่บรรจุปลาส่วนหนึ่งถูกพักรอ ปริมาณฮีสตามีนก็ไม่ควรเพิ่มขึ้น เนื่องจากเอนไซม์ และเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุนั้นได้ถูกทำลายไปแล้วในขั้นตอนการนึ่งด้วยไอน้ำ

กระป๋องหลังการปิดฝาจะถูกสุ่มตรวจสอบความสมบูรณ์โดยการตรวจสอบด้วยสายตา และการตรวจวัดด้วยเครื่องมือวัด เช่น ไมโครมิเตอร์ กระป๋องที่ผ่านการปิดฝาแล้วจะถูกทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาด แล้วลำเลียงผ่านรางลำเลียงเพื่อส่งเข้าสู่กระบวนการถัดไป โดยปกติแล้วขั้นตอนการปิดฝากระป๋องมักกำหนดเป็นจุดควบคุมวิกฤติ (Critical Control Point, CCP) เนื่องจากเป็นขั้นตอนที่ต้องมีการควบคุมอย่างเข้มงวด และมีผลกระทบต่อด้านความปลอดภัยทางอาหารของผลิตภัณฑ์หากเกิดการเบี่ยงเบนไป ซึ่งการปิดฝากระป๋องจะต้องทำให้เกิดตะเข็บคู่ (Double seam) อย่างสมบูรณ์ เพื่อป้องกันปัญหากระป๋องรั่ว และอาจเกิดการปนเปื้อนภายหลังได้

ขั้นตอนที่ 11 การฆ่าเชื้อด้วยความร้อน (Heating by Retort)

กระป๋องจะถูกเรียงลงในตะกร้าโลหะ และกั้นระหว่างชั้นด้วยแผ่นกั้น (Partition sheet) ตามรูปแบบที่กำหนดซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของผลิตภัณฑ์ และขนาดกระป๋องเพื่อให้เกิดการกระจายความร้อนอย่างเหมาะสม หลังจากนั้นตะกร้าโลหะที่บรรจุสินค้าจนเต็มจะนำเข้าสู่การฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งแรงดันแบบแนวนอน (Retort) ซึ่งในกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน โรงงานจะควบคุมเวลาตั้งแต่การปิดภาชนะ จนถึงเวลาเริ่มเดินไอน้ำต้องไม่น้อยเกิน 2 ชั่วโมง เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย และจุลินทรีย์ด้านความปลอดภัยอาหารอาจเกิดการเจริญเติบโตจนทำให้เกิดปัญหาอาหารเป็นพิษได้ อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะมีการฟักรอกของสินค้าก่อนการฆ่าเชื้อ แต่ปริมาณฮีสตามีนไม่ควรเพิ่มขึ้น เนื่องจากจุลินทรีย์ และเอนไซม์นั้น ได้ถูกทำลายตามที่ได้กล่าวไปแล้วก่อนหน้านี้

นอกจากนี้โรงงานจะต้องมีการควบคุมอุณหภูมิ และระยะเวลาของการฆ่าเชื้อ ซึ่งรวมถึงอุณหภูมิเริ่มต้น (Initial temperature) ของผลิตภัณฑ์ด้วยเช่นกัน ซึ่งการควบคุมดังกล่าวจะแตกต่างกันไปตามชนิด และขนาดบรรจุของผลิตภัณฑ์ เช่น อุณหภูมิการฆ่าเชื้อไม่น้อยกว่า 116 องศาเซลเซียส และเวลาอย่างน้อย 67 นาที เป็นต้น ขั้นตอนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนมักถูกกำหนดให้เป็นจุดควบคุมวิกฤติ (Critical control point, CCP) เช่นเดียวกับการปิดฝา เนื่องจากเป็นขั้นตอนที่สามารถลด หรือขจัดอันตรายทางชีวภาพได้

ขั้นตอนที่ 12 การลดอุณหภูมิกระป๋อง (Cooling)

ภายหลังการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนตามอุณหภูมิ และเวลาที่กำหนด กระป๋องจะถูกลดอุณหภูมิลงโดยการหล่อเย็นด้วยน้ำสะอาดที่มีคุณภาพเทียบเท่าน้ำบริโภคน้ำ ซึ่งผ่านการเติมสารคลอรีนฆ่าเชื้อ จนกระป๋องมีอุณหภูมิประมาณ 40 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงถูกนำออกจากหม้อนึ่งแรงดันเพื่อฟักรอกเย็นในพื้นที่ควบคุม (Restricted Area) ต่อไป นับจากขั้นตอนนี้ปริมาณฮีสตามีนไม่มีโอกาสเพิ่มขึ้น เนื่องจากจุลินทรีย์ และเอนไซม์ทั้งหมด ได้ถูกทำลายลง ทั้งจากขั้นตอนการนึ่งด้วยไอน้ำ และการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน

ขั้นตอนที่ 13 การจัดเก็บ (Storage)

ขั้นตอนสุดท้ายเป็นการจัดเก็บผลิตภัณฑ์ในคลังสินค้า โดยจะซีบ่งผลิตภัณฑ์ที่ฆ่าเชื้อแล้วด้วยป้ายซีบ่ง ข้อมูลในป้ายซีบ่งระบุถึงชื่อผลิตภัณฑ์, รุ่น/ชุดการผลิต เพื่อนำไปปิดฉลากต่อไป พนักงานจะทำการสุ่มตรวจสอบผลิตภัณฑ์ และคัดแยกผลิตภัณฑ์ที่มีความผิดปกติออกก่อนเข้าสู่การปิดฉลาก อาทิ กระป๋องบวม, มีสนิม เป็นต้น

จากการตรวจสอบกระบวนการผลิตของโรงงานต้นแบบ พบว่ากระบวนการผลิตบางขั้นตอนมีความเสี่ยงของการเพิ่มปริมาณฮีสตามีนได้ เนื่องจากเป็นกระบวนการผลิตที่เกิดการพักรอหรือเกิดความล่าช้าของกระบวนการ ประกอบกับมีการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิปลาในระหว่างกระบวนการผลิต ซึ่งเป็นผลให้จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดฮีสตามีนเกิดการเจริญเติบโตจนสามารถสร้างเอนไซม์ได้ นอกจากนี้ความล่าช้าของกระบวนการผลิตอาจทำให้เอนไซม์ฮีสทีดีนดีคาร์บอกซิเลสที่มีอยู่ในปลาทำการเปลี่ยนกรดอะมิโนฮีสทีดีนให้เป็นฮีสตามีนได้ โดยขั้นตอนการผลิตที่อาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลง/เพิ่มขึ้นของปริมาณฮีสตามีนใน ได้แก่

- 1) ขั้นตอนที่ 2: การละลายน้ำแข็งปลาซาร์ดีนแช่เยือกแข็ง
- 2) ขั้นตอนที่ 3: การผ่าท้อง, ควักไส้ และตัดหัวปลา
- 3) ขั้นตอนที่ 6: การบรรจุปลาลงกระป๋อง
- 4) ขั้นตอนที่ 7: การให้ความร้อนโดยการนึ่งด้วยไอน้ำ

4.2 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของระดับฮีสตามีนในการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง

จากผลการตรวจสอบกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง พบว่าขั้นตอนการผลิตที่อาจมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณฮีสตามีนจำนวน 4 จุด ได้แก่ ขั้นตอนการละลายน้ำแข็งปลาซาร์ดีนแช่เยือกแข็ง, การผ่าท้อง, คั่วไส้ และตัดหัวปลา, การบรรจุปลาลงกระป๋อง และการให้ความร้อนโดยการนึ่งด้วยไอน้ำจึงสุ่มเก็บตัวอย่างจากแต่ละขั้นตอนจำนวน 3 ชุด โดยค่าเฉลี่ยปริมาณฮีสตามีนในปลา แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ปริมาณฮีสตามีนเฉลี่ย และอุณหภูมิเฉลี่ยในแต่ละขั้นตอนการผลิต

ขั้นตอนการผลิต	ชุดที่	ปริมาณฮีสตามีน ^{NS} (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	อุณหภูมิปลา (⁰ C)
การละลายน้ำแข็ง	1	7.43 ± 0.89	9.31 ± 2.54
	2	7.37 ± 0.50	5.60 ± 2.14
	3	6.02 ± 0.71	5.60 ± 2.19
การผ่าท้อง, คั่วไส้ และตัดหัวปลา	1	7.08 ± 0.60	9.37 ± 2.33
	2	7.89 ± 0.50	10.03 ± 1.32
	3	5.27 ± 0.22	9.89 ± 1.33
การบรรจุปลาลงกระป๋อง	1	7.89 ± 1.35	6.76 ± 3.89
	2	7.44 ± 0.11	7.10 ± 2.84
	3	5.75 ± 1.10	5.83 ± 2.83
การให้ความร้อน โดยการนึ่งด้วยไอน้ำ	1	7.51 ± 0.14	73.07 ± 3.93
	2	7.64 ± 0.16	71.47 ± 1.02
	3	6.22 ± 0.94	70.93 ± 0.31
การฆ่าเชื้อด้วยความร้อน	1	7.52 ± 0.96	-
	2	7.75 ± 0.18	-
	3	5.51 ± 0.57	-

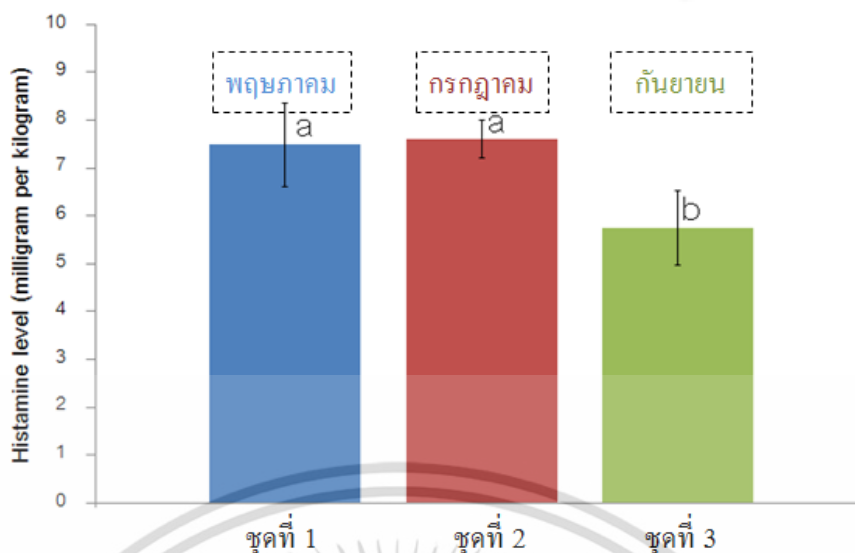
หมายเหตุ - หมายถึง ไม่มีการบันทึกข้อมูล

NS หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ชุดที่ หมายถึง ชุดของการเก็บตัวอย่าง แต่ละชุดห่างกัน 10 สัปดาห์

จากตารางที่ 4.2 ค่าเฉลี่ยปริมาณฮีสตามีนในแต่ละจุดของการผลิตไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แสดงว่าการควบคุมอุณหภูมิและระยะเวลาในการผลิตของโรงงานต้นแบบนี้ไม่ทำให้ปริมาณฮีสตามีนเพิ่มขึ้นในระหว่างขั้นตอนการผลิตทั้งนี้ อุณหภูมิในขั้นตอนการผลิตที่กำหนดให้เป็นขั้นตอนที่มีความเสี่ยงต่อการเพิ่มขึ้นของฮีสตามีนนั้น มีค่าอยู่ระหว่าง 2.6 – 13.2 องศาเซลเซียส แสดงว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ฮีสทีดีนดีคาร์บอกซิเลสไม่สามารถเจริญได้ หรือเจริญได้เพียงเล็กน้อย ในขณะเดียวกัน เอนไซม์ฮีสทีดีนดีคาร์บอกซิเลสก็ไม่มีกิจกรรมที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส นอกจากนี้โรงงานต้นแบบยังดำเนินมาตรการแก้ไขอย่างทันทั่วที่เมื่อพบว่าอุณหภูมิเพิ่มสูงเกินมาตรฐานที่กำหนด โดยการจัดเก็บปลาในน้ำแข็งเพื่อลดอุณหภูมิปลาอย่างรวดเร็ว อีกทั้งยังควบคุมระยะเวลาในการผลิตตั้งแต่หลังจากปลาผ่านกระบวนการละลายน้ำแข็ง ไปจนถึงการนึ่งด้วยไอน้ำไม่ให้เกิน 4 ชั่วโมง จึงทำให้ไม่พบการเพิ่มขึ้นของฮีสตามีนในปลา เนื่องจากจะยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ ตลอดจนถึงยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ฮีสทีดีนดีคาร์บอกซิเลสในเนื้อปลาลงด้วย (Yoshinaga and Frank.1982 ; Rodtong et.al. 2005) ภายหลังจากให้ความร้อนโดยการนึ่งด้วยไอน้ำ และการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งแรงดัน พบว่าปริมาณฮีสตามีนในปลามีค่าคงที่ เนื่องจากฮีสตามีนสามารถทนความร้อนถึงในระดับการฆ่าเชื้อระดับสเตอริไรเซชัน (McLauchlin et.al. 2005)

จากการวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของฮีสตามีนในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าระดับฮีสตามีนเฉลี่ยในชุดที่ 3 มีค่าต่ำกว่าในชุดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 4.5) แสดงให้เห็นว่า ปริมาณฮีสตามีนตั้งต้นของปลาที่ใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิตมีผลต่อปริมาณฮีสตามีนในผลิตภัณฑ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้การเก็บตัวอย่างปลาแต่ละชุดการทดลองจะเก็บห่างกันประมาณ 10 สัปดาห์ โดยการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 และ 2 ทำในเดือนพฤษภาคม และ กรกฎาคม ตามลำดับ ส่วนครั้งที่ 3 เก็บตัวอย่างในเดือนกันยายน



ภาพที่ 4.5 ระดับฮิสตามีนเฉลี่ยในตัวอย่าง 3 ชนิดการทดลอง

a, b หมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

การที่ปริมาณฮิสตามีนเริ่มต้นในวัตถุดิบปลาไม่เท่ากันนั้น อาจเนื่องมาจากหลายๆ ปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิของน้ำทะเลในช่วงที่จับปลา โดย Center for Food Safety and Applied Nutrition (2015) พบว่าในระหว่างการจับปลา ปลาบางตัวอาจตายก่อนถูกนำขึ้นเรือเพื่อเข้าสู่ขั้นตอนการแช่แข็ง เมื่อปลาตาย อาจทำให้จุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างเอนไซม์ดังกล่าว ที่ปนเปื้อนบนผิวหนังของปลา มีจำนวนเพิ่มขึ้น และสร้างฮิสตามีนในเพิ่มขึ้นได้ นอกจากนี้ ปริมาณฮิสตามีนในวัตถุดิบปลา ยังขึ้นกับการจัดการวัตถุดิบบนเรือของชาวประมงที่แตกต่างกัน โดย Frank and Yoshinaga (1987) ได้ทดลองบ่มปลาหน้าทีอุณหภูมิต่างๆ เพื่อสร้างสมการในการทำนายระยะเวลาที่ทำให้ปริมาณฮิสตามีนเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งพบว่าหากเรือประมงมีการแช่เยือกแข็งปลาในทันทีหลังจากการจับ ตลอดจนถึงการควบคุมการขนส่ง และการรับวัตถุดิบของโรงงาน ปลาจะยังคงมีฮิสตามีนไม่เพิ่มขึ้น ซึ่งหากไม่รักษาอุณหภูมิปลาระหว่างการขนส่งอย่างเหมาะสมจนปลามีอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น อาจทำให้จุลินทรีย์บนตัวปลาสามารถเจริญเติบโต และสร้างเอนไซม์ได้ ตลอดจนถึงเอนไซม์ฮิสทีดอินตีคาร์บอกซิเลสที่มีอยู่ในตัวปลาอาจทำงานได้ เมื่อมีอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นจากจุดเยือกแข็ง ซึ่งขั้นตอนการควบคุมอุณหภูมิของวัตถุดิบมีความสำคัญต่อการเจริญของเชื้อและการทำงานของเอนไซม์ (Lin et.al. 2012) อีกปัจจัยหนึ่งได้แก่ ระยะเวลาที่ใช้ในการแช่เยือกแข็งปลาที่แตกต่างกัน เนื่องจากปลาจะถูกบรรจุลงในถังแช่แข็งขนาดใหญ่ (box) และแช่ในสารให้ความเย็น (refrigerant) ดังนั้นปลาที่อยู่ติดกับภาชนะบรรจุจะถูกถ่ายเทความร้อนออกได้รวดเร็วกว่า น้ำในปลาจะเปลี่ยนเป็นน้ำแข็ง ได้เร็วกว่าปลาที่อยู่กึ่งกลางโดยปกติการแช่แข็งปลาของโรงงานใช้เวลา 8 -10 ชั่วโมงเพื่อให้อุณหภูมิของปลาเท่ากับ -18 องศาเซลเซียส Frank and Yoshinaga (1987) ดังนั้น ขั้นตอนภายหลังจากเก็บรักษาปลาจึงมีผลต่อการเพิ่มปริมาณฮิสตามีน ทั้งในแง่การเพิ่มจำนวนของเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์ และปริมาณเอนไซม์ที่พบในปลา โดย Yoshinaga and Frank (1982) สรุปว่า ทั้งอุณหภูมิ และเวลาเป็นปัจจัยร่วม ต่อการเพิ่มปริมาณฮีสตามีนในปลา

4.3 ศึกษาผลของระยะเวลาการบ่มปลา และอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮีสตามีนในปลาซาร์ดีน

ปริมาณฮีสตามีนในตัวอย่างปลาซาร์ดีนที่เติมเชื้อจุลินทรีย์ *M. organii* ในระดับความเข้มข้น 1×10^5 เซลล์ต่อกรัม (ปลา) แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 10, 15 และ 25 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างที่แต่ละช่วงเวลา ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ปริมาณฮีสตามีนในตัวอย่างปลาที่บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (°C)	ชั่วโมง (ชั่วโมง)	ค่าต่ำสุด และสูงสุด	ค่าเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลง
		ของฮีสตามีน (mg/kg)	ปริมาณฮีสตามีน (mg/kg)
10	0	5.80	0.00 ± 0.00
	4	5.94 – 6.39	0.49 ± 0.25
	8	5.35 – 5.94	-0.15 ± 0.24
	12	5.50 – 7.28	0.59 ± 0.73
	24	5.65 – 5.80	-0.10 ± 0.07
15	0	22.43 – 26.74	0.00 ± 0.00
	4	24.20 – 27.96	0.96 ± 2.16
	8	25.52 – 28.62	2.50 ± 3.03
	12	23.09 – 25.74	-0.06 ± 0.70
	24	25.74 – 30.16	3.20 ± 2.97
25	0	5.80	0.00 ± 0.00
	4	5.35 – 6.65	0.08 ± 0.56
	8	5.94 – 6.99	0.59 ± 0.44
	12	11.75 – 18.10	9.41 ± 2.62
	24	416.90 – 485.50	451.87 ± 29.46 ^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮีสตามีน (mg/kg) คำนวณได้จากผลต่างระหว่างปริมาณฮีสตามีนที่ชั่วโมงต่างๆ กับ ที่ชั่วโมงที่ 0

จากตารางที่ 4.3 พบว่า ปริมาณฮีสตามีนตั้งต้นของตัวอย่างปลามีค่าเท่ากับ 5.80, 22.43 – 26.74 และ 5.80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่บ่มที่ 10, 15 และ 25 องศาเซลเซียสตามลำดับ โดยวัดดูดิบปลาที่ใช้ในในอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสนั้น มีปริมาณฮีสตามีนสูงกว่าวัดดูดิบที่อุณหภูมิอื่นๆ เนื่องจาก ใช้วัดดูดิบปลาคนละล็อต ในขณะที่วัดดูดิบใช้ที่อุณหภูมิ 10 และ 25 องศาเซลเซียสนั้น ใช้เป็นปลาล็อตเดียวกัน

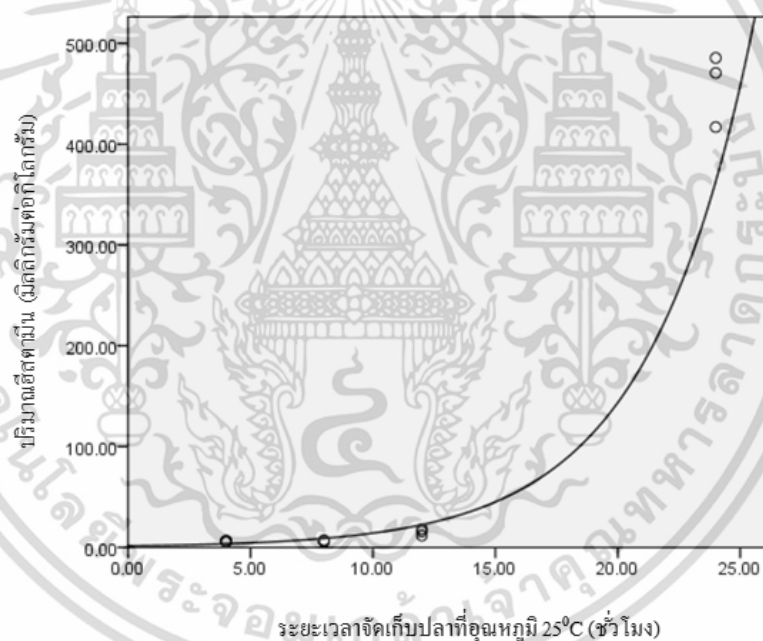
จากผลการทดลองพบว่า การบ่มเชื้อ *M. organii* ในปลาซาร์ดีนสด ที่อุณหภูมิ 10 และ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮีสตามีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) อาจเนื่องจากที่อุณหภูมิดังกล่าว เชื้อ *M. organii* มีอัตราการเจริญลดลง เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการแบ่งตัว (Regeneration time) ที่นานขึ้น ซึ่ง Klausen and Huss (1987) ได้ศึกษาโดยการเติมเชื้อ *M. organii* ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกรดอะมิโนฮีสทีดีน และในเนื้อปลาแมคเคอเรล แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิดังกล่าว ทั้งนี้อุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *M. organii* การบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า จะลดอัตราการเจริญของเชื้อ ที่สร้างเอนไซม์ฮีสตามีนดีคาร์บอกซิเลส ช่วยการผลิตเอนไซม์ลงได้ ดังนั้น อัตราการเกิดฮีสตามีนจึงลดลง (Rehbein and Oehlenschläger, 2009) นอกจากนี้แล้ว การลดอุณหภูมิยังมีผลต่อการลดกิจกรรมของเอนไซม์ฮีสทีดีนดีคาร์บอกซิเลสอีกด้วย โดย Frank and Yoshinaga (1987) พบว่า ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เอนไซม์จะหยุดกิจกรรม ทำให้ไม่พบเพิ่มขึ้นของฮีสตามีน โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงาน (Optimum temperature) ของเอนไซม์ชนิดนี้ คือ 37 องศาเซลเซียส (Pan and James, 1985) แต่การบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปริมาณฮีสตามีนจะเพิ่มขึ้นอย่างมากโดยเฉพาะการเพิ่มระยะเวลาจาก 12 เป็น 24 ชั่วโมง โดยเพิ่มจาก 15.21 เป็น 457.67 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ($p \leq 0.05$) และปริมาณฮีสตามีนดังกล่าวมีค่าสูงกว่าข้อกำหนดทางกฎหมายของประเทศสหรัฐอเมริกา (ไม่เกิน 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และ สหภาพยุโรป (ไม่เกิน 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (กองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำ และผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ, 2554) จากผลการทดลองดังกล่าว หากเพิ่มความถี่ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง จะทำให้สามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงระดับฮีสตามีนในปลาได้ดียิ่งขึ้น

เมื่อนำผลการทดลองมาศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฮีสตามีน และระยะเวลาใช้ในการบ่มปลา โดยการวิเคราะห์หาสมการรูปแบบต่างๆ โดยเลือกเพียงการบ่มปลาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเท่านั้น เนื่องจาก ปริมาณฮีสตามีนที่การบ่มปลาอุณหภูมิอื่นๆ ไม่เพิ่มขึ้น หรือเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยกำหนดให้ Y คือระดับฮีสตามีน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และ T คือ ระยะเวลาใช้ในการบ่มปลา (ชั่วโมง) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ผลการวิเคราะห์หาสมการเป็นตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ค่า R-Square และสมการแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณฮีสตามีน และระยะเวลาใช้ในการบ่มปลา แบบต่างๆ

รูปแบบความสัมพันธ์	สมการที่ได้	ค่า R ²
Linear	$Y = 24.194T - 169.04$	86.37
Logarithm	$Y = 240.92\ln(T) - 428.54$	64.52
Exponential	$Y = 1.3797e^{0.2303T}$	93.83

สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฮีสตามีน และระยะเวลาใช้ในการบ่มปลาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสนั้น ที่มีค่า สัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (Coefficient of determination, R²) สูงที่สุด เท่ากับ 93.83 เป็นสมการความสัมพันธ์แบบเอ็กซ์โปเนนเชียล (ตารางที่ 4.4) โดยความสัมพันธ์ระหว่างทั้งสองปัจจัยสามารถแสดงในรูปกราฟได้ดังภาพที่ 4.6



ภาพที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฮีสตามีน และระยะเวลาบ่มปลาที่ 25 องศาเซลเซียส

เมื่อนำสมการแบบ เอ็กซ์โปเนนเชียล มาตรวจสอบความถูกต้องของสมการ ด้วยการวิเคราะห์ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard Error of Estimate, SEE) โดยการเปรียบเทียบปริมาณฮีสตามีนที่ได้จากการทดลองกับปริมาณฮีสตามีนที่ได้จากการคำนวณด้วยสมการข้างต้น ซึ่งค่า SEE แสดงถึง ความคลาดเคลื่อนในการพยากรณ์ได้ และควรมีค่าต่ำ จึงจะแสดงว่า สมการพิต หรือมีความเหมาะสมกับค่าที่ได้จากการทดลอง แต่ถ้ามีค่ามากจะมีความคลาดเคลื่อนจากการพยากรณ์มาก (มนต์ชัย, 2558) ผลการทดลองพบว่า ค่า SEE ของสมการทำนายมีค่าได้ 87.52 ซึ่งมีเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าค่อนข้างสูง และเป็นค่าที่อาจจะไม่ถูกต้องนัก เนื่องจากจำนวนข้อมูลในการทดลองนี้ มีน้อย ประกอบกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮีستามีนอย่างมากในระหว่างช่วงเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง ดังนั้นสมการที่ได้ อาจยังไม่มีความถูกต้องโดยสมบูรณ์ นอกจากนี้ อาจมีอีกหลายปัจจัยที่อาจกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงระดับฮีستามีน อาทิ ปริมาณฮีستามีน และ/หรือปริมาณเอนไซม์ฮีสทีดอินดีคาร์บอกซิเลสตั้งต้นที่มีในปลาที่แตกต่างกัน เนื่องด้วยกระบวนการจัดการปลาของชาวประมง ซึ่งไม่มีการรักษาอุณหภูมิที่เหมาะสมจะส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์ในปลาเจริญเติบโต และอาจมีผลต่อปริมาณฮีستามีน และ/หรือปริมาณเอนไซม์ฮีสทีดอินดีคาร์บอกซิเลสตามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น นอกจากนี้แล้วอาจเนื่องจากขนาดของตัวปลาที่แตกต่างกันตามธรรมชาติ ซึ่งส่งผลให้พื้นที่ผิวมีมากน้อยไม่เท่ากัน การเกาะติดของเชื้อจุลินทรีย์ ตลอดจนจนถึงการเข้าทำงานของเอนไซม์ฮีสทีดอินดีคาร์บอกซิเลส จึงแตกต่างกัน (Center for Food Safety and Applied Nutrition, 2015) ด้วยเช่นกัน ทั้งนี้ หากเพิ่มจำนวนตัวอย่าง หรือจำนวนชุดการทดลองที่มากขึ้น ข้อมูลที่ได้ อาจทำให้สมการที่มีความแม่นยำมากขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การวิเคราะห์อันตรายในกระบวนการผลิตเพื่อกำหนดมาตรการควบคุมตามหลักการระบบการจัดการด้านความปลอดภัยอาหาร

จากการศึกษากระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋องของโรงงานต้นแบบตลอดจนถึงการศึกษาผลของอุณหภูมิ และระยะเวลาต่อการเปลี่ยนแปลงระดับฮีสตามีน โดยเชื้อ *Morganella morganii* สามารถนำข้อมูลที่ได้มาประกอบการจัดทำระบบบริหารจัดการด้านความปลอดภัยอาหารได้ ทั้งในระบบ GMP, HACCP, ISO 22000 ตลอดจนถึงระบบอื่นๆที่มีหลักการคล้ายคลึงกัน อาทิ BRC Global Standard for Food Safety ดังต่อไปนี้

1. เป็นข้อมูลในการวิเคราะห์อันตรายเพื่อกำหนดมาตรการควบคุมกระบวนการผลิต

จากการศึกษากระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋องพบว่ามีหลายขั้นตอนที่อาจเกิดความล่าช้าเนื่องด้วยข้อจำกัดด้านแรงงาน, วิธีการผลิต ตลอดจนถึงเครื่องจักรการผลิต ตามที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ซึ่งอาจส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิปลาในระหว่างกระบวนการผลิต จึงนำผลของอุณหภูมิและเวลา มากำหนดเกณฑ์การควบคุมกระบวนการผลิตที่จำเพาะสำหรับปลาซาร์ดีนซึ่งเดิม จำเป็นต้องอ้างอิงข้อกำหนดสัญลักษณ์ในการผลิตผลิตภัณฑ์ปลาทูน่าของกองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำ และผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ กรมประมง เช่น การกำหนดระยะเวลาที่ใช้ในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีน จากขั้นตอนการละลายปลา จนถึงขั้นตอนการนำปลาเข้านึ่ง ต้องใช้ระยะเวลาไม่เกิน 24 ชั่วโมง โดยจะต้องมีอุณหภูมิปลาไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส (พิจารณาจากปริมาณเชื้อตั้งต้นที่ระดับ 1×10^5 เซลล์ต่อกรัม) เป็นต้น

อย่างไรก็ตาม โดยหลักการของการกำหนดค่าควบคุมกระบวนการผลิต จะต้องพิสูจน์ยืนยันความถูกต้องของค่าควบคุมที่กำหนดหรือ Verification ก่อน ซึ่งทำได้โดยการทดลองเก็บข้อมูลในกระบวนการผลิตจริงเมื่อนำค่าควบคุมดังกล่าวไปใช้งาน อาทิ ทดลองเก็บตัวอย่างปลาที่มีการนำค่าควบคุมดังกล่าวไปใช้งานเพื่อส่งวิเคราะห์สารฮีสตามีนเปรียบเทียบกับระดับสารฮีสตามีนในวัตถุดิบปลาเริ่มต้น เพื่อพิจารณาการเพิ่มขึ้นของฮีสตามีน และนำข้อมูลดังกล่าวไปยืนยันความเหมาะสมของค่าควบคุม

2. เป็นข้อมูลการพิจารณาความเสี่ยง เมื่อกระบวนการเกิดการเบี่ยงเบนจากที่กำหนด

ในกรณีที่ค่าควบคุมกระบวนการผลิตเบี่ยงเบนไป และอาจมีผลกระทบต่อ การเพิ่มขึ้นของฮีสตามีนในผลิตภัณฑ์จนถึงระดับที่ไม่ปลอดภัย โดยปกติแล้วผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจะจัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีแนวโน้มจะไม่ปลอดภัย (Potentially unsafe product) หรือผลิตภัณฑ์ที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนด (Non-conforming product) และจะถูกกัก/แยกไว้ เพื่อรอผลจากห้องปฏิบัติการ หรือพิจารณามาตรการอื่นๆ ข้อมูลจากการศึกษาผลของอุณหภูมิ และระยะเวลาต่อการเปลี่ยนแปลงระดับฮีสตามีนนั้นสามารถนำมาใช้ประกอบการประเมินความเสี่ยงเพื่อกำหนดมาตรการที่

เหมาะสมในการดำเนินการกับผลิตภัณฑ์ได้ตามหลักการระบบบริหารจัดการด้านความปลอดภัย
อาหาร HACCP ดังแสดงในตารางที่ 4.5



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์อันตรายของสารเพิ่มชั้นของฮีสตามีนในกระบวนการผลิตสารตั้งต้นบรอกาซบ็อกซ์

ลำดับ	ขั้นตอน	อันตรายจากการเพิ่มขึ้นของฮีสตามีน	มาตรการควบคุม	CCP Decision Tree					ขั้นตอนถัดไป
				Q1	Q2	Q3	Q4	CCP?	
1	รับวัตถุดิบปลาซาร์ดีนแห้งเยือกแข็ง	ปริมาณฮีสตามีนตั้งต้นในวัตถุดิบปลาสูงเกินมาตรฐานที่กำหนด	คุ้มครองสอบปริมาณฮีสตามีนในวัตถุดิบปลาก่อนตรวจรับเข้า	Y	N	N	-	-	-
2	การทำละลาย	ปริมาณฮีสตามีนในวัตถุดิบปลาเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิปลาระหว่างและ/หรือหลังการทำละลายสูงเกินมาตรฐาน	ควบคุมอุณหภูมิปลาระหว่างและระยะเวลาการละลายปลา	Y	N	Y	N	CCP	-
3	การฆ่าเชื้อ, คั่วกึ่งและตัดหัว	ปริมาณฮีสตามีนในวัตถุดิบปลาเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิปลาระหว่างและ/หรือหลังการฆ่าเชื้อ, คั่วกึ่งและตัดหัวสูงเกินมาตรฐาน	ควบคุมอุณหภูมิปลาระหว่างและระยะเวลาตั้งแต่ปลายเริ่มละลายจนถึงการให้ความร้อนต้องไม่น้อยเกินเวลาที่กำหนด	Y	N	Y	N	CCP	-

ตารางที่ 4.5 (ต่อ) ผลการวิเคราะห์อันตรายของการเพิ่มขึ้นของอัตราเงินเฟ้อในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง

ลำดับ	ขั้นตอน	อันตราย	มาตรการควบคุม	CCP Decision Tree					ขั้นตอนถัดไป
				Q1	Q2	Q3	Q4	CCP?	
4	การล้าง	ปริมาณอัตราเงินเฟ้อในวัตถุดิบปลาเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิปลาระหว่างและ/หรือหลังการล้างสูงเกินมาตรฐาน	ควบคุมอุณหภูมิปลาระหว่างและหลังล้างต้องไม่สูงเกิน 4 องศาเซลเซียส	Y	N	N	-	-	-
5	การจัดเก็บในน้ำแข็ง	ปริมาณอัตราเงินเฟ้อในวัตถุดิบปลาเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิปลาระหว่างจัดเก็บสูงเกินมาตรฐาน	ควบคุมการจัดเรียงปลาในถังเก็บโดยจะต้องมีน้ำแข็งอย่างเพียงพอ และอุณหภูมิปลาต้องไม่สูงกว่า 4 องศาเซลเซียส	Y	N	N	-	-	-
6	การบรรจุปลาลงกระป๋อง	ปริมาณอัตราเงินเฟ้อในวัตถุดิบปลาเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิปลาระหว่างและ/หรือหลังการบรรจุ	ควบคุมอุณหภูมิปลาระหว่างและหลังการบรรจุ และระยะเวลาตั้งแต่ปลาเริ่มละลายจนถึงการให้ความร้อนต้องไม่นานเกินเวลาที่กำหนด	Y	N	Y	N	CCP	-

ตารางที่ 4.5 (ต่อ) ผลการวิเคราะห์อันตรายของการเพิ่มขึ้นของอีตามีในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง

ลำดับ	ขั้นตอน	อันตราย	มาตรการควบคุม	CCP Decision Tree					ขั้นตอนถัดไป
				Q1	Q2	Q3	Q4	CCP?	
7	การนึ่งด้วยไอน้ำ	ปริมาณอีตามีในวัตถุดิบปลาเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากถูกฟักหรือเป็นเวลานานก่อนเข้าเครื่องนึ่งด้วยไอน้ำ	ควบคุมอุณหภูมิปลาขณะอบเข้ารางนึ่งด้วยน้ำ และระยะเวลาตั้งแต่ปลาเริ่มละลายจนถึงการให้ความร้อนต้องไม่น้อยเกินเวลาที่กำหนด	Y	N	Y	N	CCP	-
		อุณหภูมิการนึ่งต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนด เป็นผลให้อุณหภูมิที่สามารรถสร้างเอนไซม์อีตัสที่ติดคาร์บอกซีเลตลงเหลือในปลาหรือเอนไซม์หลงเหลือจนเป็นผลให้ระดับอีตามีเพิ่มสูงขึ้น	อุณหภูมิการนึ่งต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนด เป็นผลให้อุณหภูมิที่สามารรถสร้างเอนไซม์อีตัสที่ติดคาร์บอกซีเลตลงเหลือในปลาหรือเอนไซม์หลงเหลือจนเป็นผลให้ระดับอีตามีเพิ่มสูงขึ้น	Y	N	Y	N	CCP	-
8	การสะเด็ดของเหลว	ไม่มีอันตรายจากการเพิ่มของอีตามี	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 4.5 (ต่อ) ผลการวิเคราะห์อันตรายของการเพิ่มขึ้นของอีستามีนในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง

ลำดับ	ขั้นตอน	อันตราย	มาตรการควบคุม	CCP Decision Tree					ขั้นตอน ถัดไป
				Q1	Q2	Q3	Q4	CCP?	
9	การบรรจุน้ำซอส	ไม่มีอันตรายจากการเพิ่มของอีستามีน	-	-	-	-	-	-	-
10	การปิดฝากระป๋อง	ไม่มีอันตรายจากการเพิ่มของอีستามีน	-	-	-	-	-	-	-
11	การฆ่าเชื้อด้วยความร้อน	ไม่มีอันตรายจากการเพิ่มของอีستามีน	-	-	-	-	-	-	-
12	การลดอุณหภูมิ กระป๋อง	ไม่มีอันตรายจากการเพิ่มของอีستามีน	-	-	-	-	-	-	-
13	การจัดเก็บ	ไม่มีอันตรายจากการเพิ่มของอีستามีน	-	-	-	-	-	-	-

จากตารางที่ 4.5 มีรายละเอียดของการวิเคราะห์อันตรายดังนี้
ขั้นตอนที่ 1 รับวัตถุดิบปลาซาร์ดีนแช่เยือกแข็ง

จากผลการทดลองในข้อ 4.1 และ 4.2 พบว่าโรงงานที่ควบคุมอุณหภูมิปลา และระยะเวลาการผลิตในแต่ละกระบวนการให้เป็นไปตามเกณฑ์อย่างเข้มงวด จะสามารถควบคุมปริมาณฮีสตามีนในผลิตภัณฑ์ให้คงที่ หรือใกล้เคียงกับวัตถุดิบได้ ซึ่งกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋องไม่สามารถทำลายฮีสตามีนได้ ปริมาณฮีสตามีนในวัตถุดิบตั้งต้นนั้นมีผลกระทบต่อปริมาณฮีสตามีนในผลิตภัณฑ์สุดท้าย McLauchlin et.al. (2005) ได้รายงานว่าฮีสตามีนทนความร้อนสูง แม้ความร้อนในระดับการฆ่าเชื้อในกระบวนการผลิตอาหารกระป๋องก็ไม่สามารถทำลายได้ ดังนั้น โรงงานผู้ผลิตจะต้องดำเนินการสุ่มตรวจสอบปริมาณฮีสตามีนในวัตถุดิบปลาที่รับเข้าก่อนนำมาใช้ในกระบวนการผลิต โดยมาตรการควบคุมนี้ไม่ถูกระบุเป็นจุดควบคุมวิกฤติ เนื่องจากสามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮีสตามีนและกำหนดเกณฑ์ยอมรับ หรือ ไม่ยอมรับของปลาได้ก่อนนำมาใช้เป็นวัตถุดิบ

ขั้นตอนที่ 2 การละลายน้ำแข็งปลาซาร์ดีนแช่เยือกแข็ง

จากผลการทดลองในข้อ 4.1 พบว่าขั้นตอนนี้อุณหภูมิปลามีโอกาสเพิ่มสูงขึ้น และเป็นขั้นตอนที่ใช้เวลานาน จึงอาจมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับฮีสตามีนตามที่ได้กล่าวมาแล้วก่อนหน้านี้ ซึ่งสอดคล้องกับ Nei (2014) ที่พบว่า การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างเอโนไซม์ฮีสทีดีนคาร์บอกซิเลสเป็นปัจจัยสำคัญของการเพิ่มระดับฮีสตามีนในเนื้อปลา ดังนั้นขั้นตอนการละลายน้ำแข็งของปลาแช่เยือกแข็ง จำเป็นต้องกำหนดมาตรการควบคุมอุณหภูมิ และระยะเวลาในการละลายน้ำแข็งในปลาอย่างเข้มงวด ซึ่งสอดคล้องกับเมื่อใช้ฟังก์ชันใจจุด CCP ในการพิจารณา พบว่าการควบคุมอุณหภูมิ และระยะเวลาในระหว่างการกระบวนการผลิตนั้นถูกกำหนดให้เป็นจุดควบคุมวิกฤติเช่นเดียวกัน ซึ่งจะต้องจัดทำแผนตรวจติดตามดังแสดงในตารางที่ 4.6 โดยจะต้องควบคุมอุณหภูมิปลาไม่ให้สูงเกิน 10 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการละลายน้ำแข็งสูงสุดไม่เกิน 4 ชั่วโมง (นับตั้งแต่เริ่มทำลาย จนถึงน้ำแข็งในปลาแช่เยือกแข็งละลายทั้งหมด)

ขั้นตอนที่ 3 การผ่าท้อง, ควักไส้ และตัดหัว

จากผลการทดลองก่อนหน้านี้ พบว่าขั้นตอนนี้ดำเนินการด้วยแรงงานคน โดยพนักงานจะผ่าท้อง, ควักไส้ และตัดหัวปลาทีละตัว จึงอาจมีความเสี่ยงให้อุณหภูมิปลาเพิ่มสูงขึ้น หรือใช้ระยะเวลานานได้ จึงเป็นอีกขั้นตอนที่ต้องกำหนดมาตรการการควบคุม กล่าวคือการควบคุมอุณหภูมิปลา และระยะในระหว่างกระบวนการผ่าท้อง, ควักไส้ และตัดหัว โดยอุณหภูมิปลาต้องไม่สูงเกิน 10 องศาเซลเซียส และระยะเวลาที่ใช้ในขั้นตอนนี้ต้องไม่นานเกิน 1 ชั่วโมง (นับตั้งแต่ภายหลังจากการละลาย จนถึงกระบวนการผ่าท้อง, ควักไส้ และตัดหัวแล้วเสร็จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่ 4 การล้างปลา

ในขั้นตอนนี้ปลาจะถูกล้างในน้ำผสมน้ำแข็ง ซึ่งมีอุณหภูมิเท่ากับ 0 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิดังกล่าวไม่มีความเสี่ยงการเพิ่มของฮิสตามีน แม้ว่าขั้นตอนนี้จะไม่ถูกกำหนดเป็นจุดควบคุมวิกฤติ (CCP) แต่ยังคงต้องกำหนดมาตรการควบคุม เพื่อรักษาอุณหภูมิน้ำล้างปลาดังกล่าว

ขั้นตอนที่ 5 การจัดเก็บในน้ำแข็ง

ปลาจะถูกจัดเก็บลงในถังบรรจุ โดยมีการวางสลับชั้นกับน้ำแข็งเพื่อช่วยรักษาอุณหภูมิปลา จนปลามีอุณหภูมิตกลงเกือบ 0 องศาเซลเซียส ขั้นตอนนี้จึงไม่มีความเสี่ยงจากการเพิ่มขึ้นของฮิสตามีน อย่างไรก็ตามยังคงต้องกำหนดมาตรการควบคุมการจัดเรียงปลา และการใช้น้ำแข็งในปริมาณที่เพียงพอในการรักษาอุณหภูมิปลา

ขั้นตอนที่ 6 การบรรจุปลาลงกระป๋อง

การบรรจุปลาลงกระป๋องดำเนินการโดยใช้แรงงานคนในการหยิบขึ้นปลาลงในกระป๋องทีละชิ้น ซึ่งอาจใช้เวลาในกระบวนการบรรจุ และปลามีอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น จนเป็นสาเหตุให้ปริมาณฮิสตามีนเพิ่มขึ้นได้ตามที่ได้กล่าวไว้ก่อนหน้านี้ ขั้นตอนนี้จึงจำเป็นต้องกำหนดมาตรการควบคุมอย่างเข้มงวด โดยต้องควบคุมอุณหภูมิปลาในระหว่างบรรจุไม่สูงเกิน 10 องศาเซลเซียส และใช้ระยะเวลาไม่เกิน 2 ชั่วโมง (นับจากขั้นตอนนี้จนถึงปลาถูกส่งเข้าเครื่องนึ่งด้วยไอน้ำ)

ขั้นตอนที่ 7 การนึ่งด้วยไอน้ำ

ปลาบางส่วน อาจถูกพักรอก่อนลำเลียงเข้ากระบวนการนึ่ง ทำให้อาจมีความเสี่ยงของปริมาณฮิสตามีนที่เพิ่มขึ้น จึงจำเป็นต้องมีการควบคุมระยะเวลาของปลาที่รอเข้าเครื่องนึ่งต้องไม่น้อยเกิน 1 ชั่วโมง และอุณหภูมิปลาต้องไม่สูงเกิน 10 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้แล้วในขั้นตอนการนึ่งด้วยไอน้ำ ยังสามารถลดความเสี่ยงของการเพิ่มฮิสตามีนในขั้นตอนนี้ได้ เนื่องจากเอนไซม์ในปลา และเชื้อจุลินทรีย์ที่หลงเหลือนั้นถูกทำลายที่ระดับอุณหภูมิของการนึ่งตามที่ได้กล่าวไปแล้ว ดังนั้นกระบวนการนึ่งด้วยไอน้ำ จึงต้องกำหนดมาตรการควบคุมอย่างเข้มงวด ซึ่งจะต้องตรวจสอบอุณหภูมิใจกลางของปลาไม่ต่ำกว่า 70 องศาเซลเซียส

ขั้นตอนที่ 8 การเสิร์ฟของเหลว จนถึง ขั้นตอนที่ 13 การจัดเก็บ

ภายหลังจากขั้นตอนการนึ่งด้วยไอน้ำ ปริมาณฮิสตามีนไม่ควรเพิ่มขึ้นเนื่องจากจุลินทรีย์และเอนไซม์ถูกทำลายทั้งหมด ดังนั้นเมื่อวิเคราะห์อันตรายในกระบวนการผลิตดังกล่าวจึงไม่พบอันตรายจากการเพิ่มของฮิสตามีน

อย่างไรก็ตามในการจัดทำระบบ HACCP สำหรับการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง ต้องพิจารณาถึงอันตรายกลุ่มอื่นๆนอกเหนือจากฮิสตามีนด้วยเช่นกัน อาทิ ในขั้นตอนการปิดฝา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ดูแลเนื้อหาไปใช้ประโยชน์ในการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระป๋อง จะถูกกำหนดเป็นจุดควบคุมวิกฤติ เพื่อป้องกันอันตรายทางชีวภาพ คือการปนเปื้อน เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเนื่องจากการปิดฝากระป๋องที่ไม่สมบูรณ์ หรือในขั้นตอนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน ซึ่งจะถูกกำหนดจุดควบคุมวิกฤติเช่นเดียวกัน เพื่อป้องกันอันตรายจากการหลงเหลือของ เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Clostridium botulinum* และสปอร์ของเชื้อดังกล่าว

จากการวิเคราะห์อันตรายของการเพิ่มขึ้นของฮีสตามีนในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง สามารถกำหนดจุด CCP ที่อาจมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของฮีสตามีนได้ 4 จุด ดังนี้ คือ 1) การละลายน้ำแข็งในปลาแช่เยือกแข็ง 2) การผ่าท้อง, ควักไส้ และตัดหัว 3) การบรรจุปลาลงกระป๋อง 4) การนึ่งด้วยไอน้ำ โดยในการนึ่งด้วยไอน้ำจะมีมาตรการตรวจติดตามแยกเป็น 2 มาตรการ ซึ่งพิจารณาถึงการควบคุมระหว่างการพักรอกก่อนเข้านึ่ง และการควบคุมอุณหภูมิใจกลางของปลา หลังจากการนึ่งด้วยไอน้ำ จากนั้นจึงกำหนดค่าวิกฤติเพื่อป้องกันการเพิ่มขึ้นของฮีสตามีน โดยควบคุมระยะเวลาและอุณหภูมิในระหว่างแต่ละกระบวนการผลิต ดังแสดงในตารางที่ 4.6



ตารางที่ 4.6 แผนการตรวจติดตามจุดความถูกต้องของการควบคุมการเกิดอีตตามีนในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง

ขั้นตอน	อันตราย/สาเหตุหรือแหล่งที่มา	มาตรการควบคุม	ค่าวิกฤติ	การตรวจติดตาม	การแก้ไข
2. การละลายน้ำแข็งในปลาแช่เยือกแข็ง	ปริมาณอีตตามีนในวัตถุดิบปลาเพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากอุณหภูมิระหว่างและ/หรือหลังการทำละลายการทำละลายน้ำแข็งสูงเกินมาตรฐาน	ควบคุมอุณหภูมิระหว่างและหลังการละลายน้ำแข็งระยะเวลาการละลายน้ำแข็งในปลาแช่แข็ง	ไม่สูงเกิน 10 องศาเซลเซียส	What: 1. อุณหภูมิปลาน้ำแข็งในปลา How: 1. ใช้เทอร์โมมิเตอร์ 2. ใช้นาฬิกา When: 1. ทุก 30 นาที 2. ทุกชุดการละลาย Who: พนักงานควบคุมคุณภาพ Record: รายงานการละลายปลา	เมื่ออุณหภูมิปลาสูงเกินมาตรฐานที่กำหนด (แต่ไม่สูงเกิน 15 องศาเซลเซียส): พนักงาน: เติมน้ำแข็งเพื่อรักษาอุณหภูมิปลา ผลิตภัณฑ์: เร่งการส่งปลาเข้าสู่การให้ความร้อนภายใน 12 ชั่วโมงนับตั้งแต่วเวลาที่ปลาละลายน้ำแข็งเสร็จ) เมื่อระยะเวลาเกิน 4 ชั่วโมง: พนักงาน: เร่งกระบวนการให้เร็วขึ้น ผลิตภัณฑ์: เร่งการส่งปลาเข้าสู่การให้ความร้อนภายใน 12 ชั่วโมงนับตั้งแต่วเวลาที่ปลาละลายน้ำแข็งเสร็จ) เมื่ออุณหภูมิสูงเกิน และระยะเวลาเกินเกณฑ์ข้างต้น: ให้กักแยกผลิตภัณฑ์ที่ได้รับผลกระทบไว้เพื่อรอการพิจารณาระดับอีตตามีน โดยการส่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์เพื่อวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ภายในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 (ต่อ) แผนการตรวจติดตามจุดควบคุมวิกฤติของการควบคุมการเกิดอีستามีนในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง

ขั้นตอน	อันตราย/สาเหตุหรือแหล่งที่มา	มาตรการควบคุม	ค่าวิกฤติ	การตรวจติดตาม	การแก้ไข
3. การผ่าท้อง, ควักไส้ และตัดหัว	ปริมาณอีستามีนในวัตถุดิบปลาเพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากอุณหภูมิปลาระหว่างกระบวนการสูงเกินมาตรฐาน	ควบคุมอุณหภูมิปลา ปลาดังแต่ หลังจากการละลาย จนถึงการผ่าท้อง, ควักไส้ และตัดหัวเสร็จ	ไม่สูงเกิน 10 องศาเซลเซียส ไม่เกิน 1 ชั่วโมง	What: 1. อุณหภูมิปลา 2. ระยะเวลา How: 1. ใช้เทอร์โมมิเตอร์ 2. ใช้นาฬิกา When: 1. ทุก 30 นาที 2. ทุก 4 ชั่วโมง Who: พนักงานควบคุมคุณภาพ Record: รายงานปลาระหว่างกระบวนการ	เมื่ออุณหภูมิปลาสูงเกินมาตรฐานที่กำหนด (แต่ไม่สูงเกิน 15 องศาเซลเซียส): พนักงาน: เติมน้ำแข็ง เพื่อรักษาอุณหภูมิปลา ผลิตภัณฑ์: เร่งการส่งปลาเข้าสู่การให้ความร้อนภายใน 12 ชั่วโมงนับตั้งแต่ระยะเวลาที่ปลาละลายน้ำแข็งเสร็จ) เมื่อระยะเวลาเกิน 1 ชั่วโมง: พนักงาน: เร่งกระบวนการให้เร็วขึ้น ผลิตภัณฑ์: เร่งการส่งปลาเข้าสู่การให้ความร้อนภายใน 12 ชั่วโมงนับตั้งแต่ระยะเวลาที่ปลาละลายน้ำแข็งเสร็จ) เมื่ออุณหภูมิสูงเกิน และระยะเวลาเกินเกณฑ์ข้างต้น: ให้กักแยกผลิตภัณฑ์ที่ได้รับผลกระทบแยกไว้เพื่อรอการพิจารณาระดับอีستามีน โดยการส่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์เพื่อวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 4.6 (ต่อ) แผนการตรวจติดตามจุดควบคุมวิกฤติของการควบคุมการเกิดอีستามีในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง

ขั้นตอน	อันตราย/สาเหตุหรือแหล่งที่มา	มาตรการควบคุม	ค่าวิกฤติ	การตรวจติดตาม	การแก้ไข
6. การบรรจุปลากระป๋อง	ปริมาณอีสตามีในวัตถุดิบปลาเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิปลาระหว่างกระบวนการสูงเกินมาตรฐาน	ควบคุมอุณหภูมิปลา	ไม่สูงเกิน 10 องศาเซลเซียส	What: 1. อุณหภูมิปลา 2. ระยะเวลา How: 1. ใช้เทอร์โมมิเตอร์ 2. ใช้นาฬิกา When: 1. ทุก 30 นาที 2. ทุก 4 ชั่วโมง Who: พนักงานควบคุมคุณภาพ	เมื่ออุณหภูมิปลาสูงเกินมาตรฐานที่กำหนด (แต่ไม่สูงเกิน 15 องศาเซลเซียส): หน้างาน: เติมน้ำแข็ง เพื่อรักษาอุณหภูมิปลา ผลิตภัณฑ์: เร่งการส่งปลาเข้าสู่การให้ความร้อนภายใน 12 ชั่วโมง(นับตั้งแต่ระยะเวลาที่ปลาละลายน้ำแข็งเสร็จ) เมื่อระยะเวลาเกิน 2 ชั่วโมง: หน้างาน: เร่งกระบวนการให้เร็วขึ้น ผลิตภัณฑ์: เร่งการส่งปลาเข้าสู่การให้ความร้อนภายใน 12 ชั่วโมง(นับตั้งแต่ระยะเวลาที่ปลาละลายน้ำแข็งเสร็จ) เมื่ออุณหภูมิสูงเกิน และระยะเวลาเกินเกณฑ์ข้างต้น: ให้กักแยกผลิตภัณฑ์ที่ได้รับผลกระทบแยกไว้เพื่อรอการพิจารณาระดับอีสตามีในโดยการส่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์เพื่อวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ
				Record: รายงานผลการตรวจ กระบวนการ	

ตารางที่ 4.6 (ต่อ) แผนการตรวจติดตามจุดควบคุมวิกฤติของการควบคุมการเกิดอีستามีนในกระบวนการผลิตพลาสติกบรรจุกระป๋อง

ขั้นตอน	อันตราย/สาเหตุหรือแหล่งที่มา	มาตรการควบคุม	คำvikฤติ	การตรวจติดตาม	การแก้ไข
7. การนึ่งด้วยไอน้ำ	ปริมาณอีستามีนในวัตถุดิบปลาเพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากปลาถูกพักรอเป็นเวลานานก่อนเข้าเครื่องนึ่งด้วยไอน้ำ	ควบคุมอุณหภูมิปลาในการพักรอเข้าเครื่องนึ่งด้วยไอน้ำ	ไม่สูงเกิน 10 องศาเซลเซียส	What: 1. อุณหภูมิปลา 2. ระยะเวลา How: 1. ใช้เทอร์โมมิเตอร์ 2. ใช้นาฬิกา When: 1. ทุก 30 นาที 2. ทุก 4 ชั่วโมง Who: พนักงานควบคุมคุณภาพ Record: รายงานผลการตรวจ กระบวนการ	เมื่ออุณหภูมิปลาสูงเกินมาตรฐานที่กำหนด (แต่ไม่สูงเกิน 15 องศาเซลเซียส): หน้างาน: เติมน้ำแข็ง เพื่อรักษาอุณหภูมิปลา ผลิตภัณฑ์: เร่งการส่งปลาเข้าสู่การให้ความร้อนภายใน 12 ชั่วโมง(นับตั้งแต่ระยะเวลาที่ปลาละลายน้ำแข็งเสร็จ) เมื่อระยะเวลาเกินชั่วโมง: หน้างาน: เร่งกระบวนการให้เร็วขึ้น ผลิตภัณฑ์: เร่งการส่งปลาเข้าสู่การให้ความร้อนภายใน 12 ชั่วโมง(นับตั้งแต่ระยะเวลาที่ปลาละลายน้ำแข็งเสร็จ) เมื่ออุณหภูมิสูงเกิน และระยะเวลาเกินเกณฑ์ข้างต้น: ให้กักแยกผลิตภัณฑ์ที่ได้รับผลกระทบแยกไว้เพื่อรอการพิจารณาระดับอีستามีน โดยการส่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์เพื่อวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 4.6 (ต่อ) แผนการตรวจติดตามจุดควบคุมวิกฤติของการควบคุมการเกิดอีตามีในกระบวนการผลิตพลาสติกบรรจุกระป๋อง

ขั้นตอน	อันตราย/สาเหตุหรือแหล่งที่มา	มาตรการควบคุม	คำวิฤติ	การตรวจติดตาม	การแก้ไข
7. การนำชิ้นด้วย	อุณหภูมิการนำต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนด อุณหภูมิการนำสูงเกินไป อุณหภูมิการนำต่ำเกินไป อุณหภูมิการนำสูงเกินไป อุณหภูมิการนำต่ำเกินไป อุณหภูมิการนำสูงเกินไป อุณหภูมิการนำต่ำเกินไป อุณหภูมิการนำสูงเกินไป อุณหภูมิการนำต่ำเกินไป อุณหภูมิการนำสูงเกินไป	ควบคุมอุณหภูมิการนำ ควบคุมอุณหภูมิการนำ ควบคุมอุณหภูมิการนำ ควบคุมอุณหภูมิการนำ ควบคุมอุณหภูมิการนำ ควบคุมอุณหภูมิการนำ ควบคุมอุณหภูมิการนำ ควบคุมอุณหภูมิการนำ ควบคุมอุณหภูมิการนำ ควบคุมอุณหภูมิการนำ	ไม่ต่ำกว่า 70 องศาเซลเซียส	What: How: When: Who: Record:	เมื่ออุณหภูมิการนำต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนด หน้างาน: ปรับตั้งเครื่องนำโดยเปิดวาล์ว หน้างาน: ปรับตั้งเครื่องนำโดยเปิดวาล์ว หน้างาน: ปรับตั้งเครื่องนำโดยเปิดวาล์ว หน้างาน: ปรับตั้งเครื่องนำโดยเปิดวาล์ว หน้างาน: ปรับตั้งเครื่องนำโดยเปิดวาล์ว หน้างาน: ปรับตั้งเครื่องนำโดยเปิดวาล์ว หน้างาน: ปรับตั้งเครื่องนำโดยเปิดวาล์ว หน้างาน: ปรับตั้งเครื่องนำโดยเปิดวาล์ว หน้างาน: ปรับตั้งเครื่องนำโดยเปิดวาล์ว หน้างาน: ปรับตั้งเครื่องนำโดยเปิดวาล์ว

จากตารางที่ 4.6 พบว่าค่าวิกฤติเพื่อป้องกันการเพิ่มขึ้นของฮีสตามีนจากที่ระบุคือการควบคุมระยะเวลา และอุณหภูมิของปลากระบวนการผลิตในระหว่างแต่ละกระบวนการผลิต โดยค่าที่ระบุดังกล่าวนี้ได้จากผลการทดลองในข้อ 4.3 ซึ่งต้องควบคุมอุณหภูมิปลาไม่ให้สูงเกิน 10 องศาเซลเซียส และมีระยะเวลาสูงสุดของปลาระหว่างกระบวนการที่อุณหภูมิดังกล่าวต้องไม่เกิน 24 ชั่วโมง ซึ่งตารางที่ 4.6 จึงได้แบ่งช่วงเวลาสำหรับกระบวนการละลายปลาไม่เกิน 4 ชั่วโมง, กระบวนการผ่าท้อง คัดไส้ ตัดหัวปลา ไม่เกิน 1 ชั่วโมง, กระบวนการบรรจุปลาลงกระป๋อง ไม่เกิน 2 ชั่วโมง และกระบวนการรอเข้าเครื่องนึ่งด้วยไอน้ำ ไม่เกิน 1 ชั่วโมง โดยมีชั่วโมงรวมของกระบวนการผลิตที่มีความเสี่ยงต้องไม่เกิน 8 ชั่วโมง ซึ่งอุณหภูมิปลาจะถูกควบคุมไม่ให้สูงเกิน 10 องศาเซลเซียส ซึ่งถือว่าต่ำกว่าค่าควบคุมที่ได้จากการทดลองที่ 4.3 สำหรับขั้นตอนอื่นๆ อาทิ การล้างปลา, การจัดเก็บในน้ำแข็งไม่ได้มีการกำหนดระยะเวลาสูงสุดไว้ เนื่องจากขั้นตอนดังกล่าวอุณหภูมิปลาใกล้เคียง 0 องศาเซลเซียส จึงไม่มีความเสี่ยงของฮีสตามีนที่เพิ่มขึ้นตามที่ได้กล่าวมาแล้ว

อย่างไรก็ตามค่าที่ได้จากการดังกล่าวยังได้นำมาใช้ในการกำหนดมาตรการแก้ไข กรณีที่จุดวิกฤติเบี่ยงเบนไป เช่น เมื่อปลามีอุณหภูมิสูงเกิน 10 องศาเซลเซียส แต่ยังไม่สูงเกิน 15 องศาเซลเซียส ยังสามารถควบคุมโอกาสการเพิ่มขึ้นของฮีสตามีนได้ หากมีการควบคุมระยะเวลาตามที่กำหนด ซึ่งจากตัวอย่างการกำหนดแผนการตรวจติดตามจุดควบคุมวิกฤติ และการกำหนดค่าควบคุมวิกฤติในตารางที่ 4.6 สามารถนำไปปรับใช้สำหรับผู้ประกอบการรายย่อย เช่น ธุรกิจขนาดกลาง และขนาดย่อย (SME) เนื่องจากผู้ประกอบการกลุ่มดังกล่าว มีข้อจำกัดในเรื่องอุปกรณ์การผลิต และต้นทุน ซึ่งอาจปรับค่าวิกฤติให้เหมาะสมกับความสามารถของผู้ประกอบการ เช่น อาจปรับค่าอุณหภูมิปลาที่ควบคุมจากเดิมต้องไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส เป็นไม่เกิน 15 องศาเซลเซียส เพื่อลดต้นทุนในการซื้อน้ำแข็งเพื่อลดอุณหภูมิปลา แต่ควรต้องลดระยะเวลาในระหว่างกระบวนการให้สั้นลงเป็นการทดแทน ทั้งนี้ค่าควบคุมจะต้องเป็นไปตามผลการทดลองที่ได้ ซึ่งจะต้องมีการยืนยันความถูกต้องก่อนนำมาใช้งานอีกครั้ง

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

กระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋องของโรงงานต้นแบบมีขั้นตอนที่ความล่าช้าของกระบวนการผลิต อาจส่งผลให้อุณหภูมิและระยะเวลาในการผลิตเพิ่มขึ้น จนทำให้ปริมาณฮีสตามีนเพิ่มขึ้น จำนวน 4 ขั้นตอน ได้แก่ 1) การละลายละลายน้ำแข็งปลาซาร์ดีนแช่เยือกแข็ง 2) การผ่าท้อง ควักไส้ และตัดหัว 3) การบรรจุปลาลงกระป๋อง และ 4) การพักรอกก่อนการนึ่ง อย่างไรก็ตาม ปริมาณฮีสตามีนในปลาตลอดกระบวนการผลิตของโรงงานต้นแบบนี้มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) อีกทั้งปริมาณฮีสตามีนเริ่มต้นในวัตถุดิบ มีผลต่อปริมาณฮีสตามีนในผลิตภัณฑ์

ปลาซาร์ดีนเต็มเชื้อจุลินทรีย์ *Morganella morgani* มีปริมาณฮีสตามีนเพิ่มขึ้นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสสูงกว่าระดับที่กฎหมายกำหนด ภายหลังการบ่มที่ 24 ชั่วโมง แต่การบ่มที่ 10 และ 15 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของฮีสตามีน ดังนั้น การควบคุมอุณหภูมิปลาในระหว่างกระบวนการผลิตให้เท่ากับ 15 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า จะสามารถควบคุมปริมาณฮีสตามีนให้คงที่

ผลการทดลองนำไปใช้เป็นข้อมูลประกอบในการจัดทำระบบบริหารจัดการด้านความปลอดภัยของฮีสตามีนในกระบวนการผลิตปลากระป๋อง โดยใช้เป็นเกณฑ์ปฏิบัติงานสำหรับมาตรการควบคุม (Control measure) ด้วยการควบคุมระยะเวลาและอุณหภูมิในกระบวนการผลิต โดยมีจุดควบคุมวิกฤติเพิ่มขึ้น 4 ขั้นตอน คือ 1) ขั้นตอนการละลายละลายน้ำแข็งปลาซาร์ดีนแช่เยือกแข็ง 2) ขั้นตอนการผ่าท้อง ควักไส้ และตัดหัวปลา 3) ขั้นตอนการบรรจุปลาลงกระป๋อง และ 4) ขั้นตอนการนึ่งด้วยไอน้ำ และ แผนตรวจติดตามจุดควบคุมวิกฤติ 5 แผน โดยขั้นตอนการนึ่งด้วยไอน้ำประกอบด้วย 2 แผน (การพักรอกก่อนเข้าเครื่องนึ่ง และ อุณหภูมิที่ต่ำกว่าเกณฑ์ในการนึ่งด้วยไอน้ำ) อย่างไรก็ตาม เกณฑ์ปฏิบัติงานสำหรับมาตรการควบคุมจำเป็นต้องยืนยันความถูกต้องของค่าควบคุม ก่อนนำไปใช้งานในระดับโรงงานอุตสาหกรรม

5.2 ข้อเสนอแนะ

- 1) ควรเพิ่มความถี่ของการสุ่มเก็บตัวอย่างปลาในระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในช่วงระหว่าง 12 และ 24 ชั่วโมง เพื่อตรวจติดตามการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮีสตามีนอย่างละเอียด ทำให้สามารถสร้างสมการทำนายการเพิ่มขึ้นของฮีสตามีนให้มีความแม่นยำยิ่งขึ้น

- 2) ควรศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางด้านคุณภาพ และ/หรือลักษณะทางประสาทสัมผัสในระหว่างการบ่มปลาที่อุณหภูมิต่างๆ เนื่องจากลักษณะทางด้านคุณภาพ เช่น ลักษณะปรากฏ และกลิ่นของปลาอาจเริ่มเปลี่ยนแปลงไปจนอาจเป็นลักษณะที่ไม่ยอมรับ แม้ว่าระดับฮีสตามีนจะอยู่ในปริมาณที่กฎหมายกำหนด
- 3) ควรตรวจสอบการเพิ่มจำนวนของเชื้อที่ศึกษา เพื่อนำข้อมูลมาใช้ประกอบในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของฮีสตามีน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- กรมส่งเสริมการส่งออก. 2555. **Factsheet สินค้าอาหารทะเลกระป๋อง และแปรรูป.** [Online].
 เข้าถึงได้จาก : <http://www.depthai.go.th/TabID/298/Default.aspx?aOfficeID=325>.
- กองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำ และผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ, กรมประมง. 2552.
ข้อกำหนดสุขลักษณะการผลิตผลิตภัณฑ์ประมงบรรจุภาชนะปิดสนิท.
 กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.
- กองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ. 2554.
มาตรฐานผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำทางเคมี. [Online]
 เข้าถึงได้จาก : <http://www.fisheries.go.th/quality>.
- คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. 2539.
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1.
 กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มนต์ชัย เทียนทอง. 2558. **การวิเคราะห์การถดถอย Regression Analysis.** [Online].
 เข้าถึงได้จาก : <http://home.dsd.go.th/kamphaengphet/km/information/RESECARCH>.
- มัทนา แสงจินดาวงษ์. 2545. **ผลิตภัณฑ์ประมงของไทย.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ :
 สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. 2555. **สถิติการค้า.** [Online].
 เข้าถึงได้จาก : <http://www2.ops3.moc.go.th>.
- สุวิมล กิรติพิบูล. 2550. **ระบบประกันคุณภาพด้านความปลอดภัยของอาหาร HACCP.**
 พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ : สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2548. **มอก.22000-2548 ระบบการจัดการความปลอดภัยอาหาร ข้อกำหนดสำหรับองค์กรในห่วงโซ่อาหาร.**
 กรุงเทพฯ : กระทรวงอุตสาหกรรม.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2549. **มอก.7000-2549 ระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤติที่ต้องควบคุมในการผลิตอาหาร และคำแนะนำในการนำไปใช้.**
 กรุงเทพฯ : กระทรวงอุตสาหกรรม.
- Ababouch, L., Afilal, M., Rhafiri, S., Busta, F. 1991. "Identification of Histamine-producing Bacteria Isolated from Sardine (*Sardina pilchardus*) Stored in Ice and at Ambient Temperature (25⁰C)". **Food Microbiology.** 8 : 127-136

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Blackburn, C.d.W. and McClure P.J. 2009. **Foodborne Pathogens: Hazard, Risk Analysis and Control**. Cambridge, England : CRC Press.
- Center for Food Safety and Applied Nutrition. 2015. **Fish and Fishery Products: Hazards and Controls Guidance**. [Online]. Available : <http://www.fda.gov/FoodGuidances>.
- Codex Alimentarius. 2003. **General Principle of Food Hygiene**. [Online]. Available : http://www.codexalimentarius.org/download/standards/23/CXP_001e.pdf.
- Costin, S. 2014. **ABIS Online – Bacterial Identification Software**. [Online]. Available : <http://www.tgw1916.net>.
- Enache, E. Kataoka, A. Black, D.G. Weddig, L. Hayman, M. and Bjornsdottir-Butler, K. 2013. “Heat Resistance of Histamine-producing Bacteria in Irradiated Tuna Loins”. **Journal of Food Protection**. 76(9) : 1608-1614.
- European commission. 2015. **RASFF - Food and Feed Safety Alerts**. [Online]. Available : http://ec.europa.eu/food/safety/rasff/index_en.htm.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1988. **Manual on Fish Canning**. [Online]. Available : <http://www.fao.org/docrep/003/t0007e/T0007E00.htm>.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2015. **FAO Data Global Capture Production (Fishstat)**. [Online]. Available : <http://data.fao.org>.
- Frank, H. A. and Yoshinaga, D.H. 1984. **Seafood Toxin. ACS Symposium Series 262**. Washington D.C. : American Chemical Society.
- Frank, H. A. and Yoshinaga, D.H. 1987. “Table for Estimating Histamine Formation in Skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*, at low nonfreezing temperatures”. **Marine Fisheries Review**. 45 : 67-70.
- Guizani, N. Al-Busaidy, M.A. Al-Busaidy, I.M. Mothershaw, A. and Rahman, M.S. 2005. “The Effect of Storage Temperature on Histamine Production and the Freshness of Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*)”. **Food Research International**. 38 : 215-222.
- Humaid, S.A. and Jamal, M.T. 2014. “Effect of Storage Temperature on Histamine Formation and Bacterial Growth in Whole Three Fish Species (*Rastrelliger kanagurta*, *Sardinella gibbosa* and *Lethrinus lentjan*)”. **Life Science Journal**. 11(9) : 927-937.
- Klausen, N.K. and Huss, H.H. 1987. “Growth and Histamine Production by *Morganella morganii* Under Various Temperature Condition”. **Journal of Food Microbiology**. 5 : 147-156.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Kanki, M. Yoda, T. Ishibashi, M. and Tsukamoto, T. 2004. “*Photobacterium phosphoreum* Caused a Histamine Fish Poisoning Incident”.
International Journal of Food Microbiology. 92(1) : 79–87.
- Kim, S.H. Price, R. J. Morrissey, M.T. Field, G. Wei, C. I. and An, H. 2002. “Histamine Production by *Morganella morganii* in Mackerel, Albacore, Mahi-Mahi, and Salmon at Various Storage Temperatures”. **Journal of Food Science.** 67 : 1522–1528.
- Lee, Y. Kung, H. Lin, C. Hwang, C. Lin, C. and Tsai, Y. 2012. “Histamine Production by *Enterobacter aerogenes* in Tuna Dumpling Stuffing at Various Storage Temperatures”.
Food Chemistry. 131 : 405–412.
- Lehane, L. Olley, J. 2000. “Histamine Fish Poisoning Revisited”. **International Journal of Food Microbiology.** 58 : 1-37.
- Lin, C. Kung, H. Huang, Y. Huang, C. Su, Y. and Tsai, Y. 2012. “Histamine Production by *Raoultella ornithinolytica* in Canned Tuna Meat at Various Storage Temperatures”.
Journal of Food Control. 25 : 723-727.
- Lin, C. Kung, H. Lin, C. Tsai, H. Tsai, Y. 2015. “**Histamine Production by *Raoultella ornithinolytica* in Mahi-mahi Meat at Various Storage Temperatures**”.
[Online].
Available : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1021949814001537>.
- McLauchlin, J. Little, C.L. Grant, K.A. and Mithani, V. 2005. “Scombrototoxic Fish Poisoning”.
Journal of Public Health. 28(1) : 61-62.
- National Center for Biotechnology Information. 2015. **PubChem Compound Database; CID=774.** [Online]. Available : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/774>.
- Nei, D. 2014. “Evaluation of Non-bacterial Factors Contributing to Histamine Accumulation in Fish Fillets”. **Journal of Food Control.** 34 : 142-145
- Onarheim, A.M. Wiik, R. Burghardt, J. Stackerbrandt, E. 1994. “Characterization and Identification of Two *Vibrio* Species Indigenous to the Intestine of Fish in Cold Sea Water; Description of *Vibrio iliopiscarius* sp. nov”. **Systematic and Applied Microbiology.** 17(3) : 370-379
- Pan, B.S. and James, D.G. 1985. **Histamine in Marine Products: Production of Bacteria, Measurement and Prediction of Formation.** Rome : FAO.

- Rehbein, H. and Oehlenschlager, J. 2009. **Fishery Products Quality, Safety and Authenticity**. Oxford UK : Wiley-Blackwell.
- Rodtong, S. Nawong, S. and Yongsawatdigul, J. 2005. "Histamine Accumulation and Histamine-forming Bacteria in Indian Achovy (*Stolephorus indicus*)". **Food Microbiology**. 22 : 475-482.
- Savany, A. and L. Cronenberger. 1982. "Properties of Histidine Decarboxylase from Rat Gastric Mucosa". **Journal of Biochemistry**. 123 : 593-599.
- Tao, Z. Sato, M. Yamaguchi, T. and Nakano, T. 2009. "Formation and Dffusion Meachanism of Histamine in the Muscle of Tuna Fish". **Food Control**. 20 : 923-926.
- Taylor, S.L. 1986. "Histamine Food Poisoning: Toxicology and Clinical Aspects". **Critical Reviews in Toxicology**. 17(2) : 91-128.
- Taylor, S.L. Guthertz, L.S. Leatherwood, M. Tillman, F. and Lieber, E.R. 1978. "Histamine Production by Food-borne Bacterial Species". **Journal of Food Safety**. 1 : 173-187.
- Tran, V.T. and Snyder, S.H. 1981. "Histidine Decarboxylase: Purification from Fetal Rat Liver, Immunologic Properties, and Histochemical Localization in Brain and Stomach". **Journal of Biological Chemistry**. 256(2) : 680-686.
- Tsai, Y. Chang, S. Kung, H. Wei, C. and Hwang, D. 2005. "Histamine Production by *Enterobacter aerogenes* in Sailfish and Milkfish at Various Storage Temperatures". **Journal of Food Protection**. 68(8) : 1690-1695.
- Whitehead, P.J.P. 1985. **FAO SPECIES CATALOGUE VOL. 7. CLUPEOID FISHES OF THE WORLD (suborder CLUPEOIDEI)**. [Online]. Available : <http://www.fao.org/docrep/009/ac482e/ac482e00.htm>.
- Yoshinaga, D.H. Frank, H.A. 1982. "Histamine-producing bacteria in decomposing skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*)". **Applied and Environmental Microbiology**. 44(2) : 447-452

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์ Histamine

การวิเคราะห์ฮิสตามีนใช้วิธีการภายในของห้องปฏิบัติการ โดยอ้างอิงตามวิธีการมาตรฐาน AOAC c.35, 997.13 ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมตัวอย่างโดยการปั่นตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน
2. ชั่งตัวอย่างจำนวน 5 กรัม \pm 0.0002 กรัมลงในบีกเกอร์ขนาด 100 ml.
3. เติมน้ำ 75% 30 ml.ลงในตัวอย่าง
4. นำไปเข้าเครื่องทำความสะอาดด้วยเครื่องเสียงเป็นเวลา 5 นาที
5. ให้ความร้อนตัวอย่างที่อุณหภูมิ 60 ± 5 องศาเซลเซียสโดยใช้ Water bath เป็นเวลา 15 นาที แล้วพักรอให้เย็น
6. ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล 75% จนได้ปริมาตร 50 ml.
7. กรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1
8. ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ได้ปริมาตร 1 ml. ใสลงใน Anion exchange resin column เติมน้ำ DI ประมาณ 5 ml. แล้วปล่อยให้สารละลายไหลจาก Column ด้วยอัตรา 3 ml. ต่อนาทีลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 ml. ที่มี 1 N HCl บรรจุอยู่
9. เติมน้ำ DI ครั้งละประมาณ 5 ml. ลงในคอลัมน์ตลอด โดยระวังไม่ให้ Resin แห้ง และปิด Column เมื่อได้สารละลายปริมาตรใกล้เคียง 50 ml.
10. ปรับปริมาตรสารละลายด้วยน้ำ DI จนได้ปริมาตร 50 ml.
11. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 5 ml. ลงในหลอดทดลองที่มี 0.1 N HCl
12. เติมสารละลาย 1 N NaOH 3 ml. เขย่าให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที
13. เติมสารละลาย 0.1% o-phthalaldehyde (OPA) 1 ml. เขย่าให้เข้ากัน วางในที่มืดเป็นเวลา 4 นาที
14. เติมสารละลาย 3.57N H₃PO₄ 3 ml. เขย่าให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ให้เย็น
15. นำสารละลายที่ได้ไปวัดด้วยเครื่อง Fluorometer ที่ค่าความยาวคลื่นของการกระตุ้น (Excitation wavelength) 360 nm. และค่าความยาวคลื่นของการเรืองแสง (Emission wavelength) 450 nm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล	นายวรพันธุ์ ยุทธทองกลาง
วัน เดือน ปีเกิด	23 มกราคม 2521 ที่กรุงเทพมหานคร
ที่อยู่	ตำบลท่าทราย อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต คณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ความชำนาญเฉพาะด้าน	<ol style="list-style-type: none">1. การยืนยันความถูกต้องในกระบวนการผลิต (Process Validation)2. การจัดทำระบบบริหารจัดการ GMP & HACCP3. การจัดทำระบบการจัดการด้านคุณภาพ ISO90014. การจัดทำระบบการจัดการด้านความปลอดภัยอาหาร ISO22000 และ BRC Global Standard for Food Safety
ผลงานวิจัย	วรพันธุ์ ยุทธทองกลาง. 2558. “การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮีสตามีนในกระบวนการผลิตปลาซาร์ดีนบรรจุกระป๋อง”. เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53. 3 -6 กุมภาพันธ์ 2558. หน้า 169.
ประสบการณ์การทำงาน	พ.ศ.2542-2548 ตำแหน่ง ผู้จัดการฝ่ายประกันคุณภาพ บริษัท ซีพีเอฟ ผลิตภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน)
ปัจจุบัน	หัวหน้าผู้ตรวจประเมินระบบมาตรฐาน และวิทยากรฝึกอบรม บริษัท บูโรเวริทัส เซอทิฟิเคชั่น (ประเทศไทย) จำกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้