ว กรมวิทย พ 2544 ; 43 (3) : 211 - 214

การศึกษาการปนเปื้อนของ *Enterobacteriaceae* ในปลาบดแช่แข็ง

Study of *Enterobacteriaceae* Contamination in Frozen Minced Fish Meat

ธนัชชา สุวรรณวัฒน์
ณัฐกานต์ ติยศิวาพร

Tanatcha Suwanawat
Nutthakan Tiyasiwaporn

กองอาหารส่งออก
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

Division of Food for Export
Department of Medical Sciences
Tiwanond Road, Nonthaburi 11000

บทคัดย่อ การศึกษาการปนเปื้อนของ *Enterobacteriaceae* ในปลาบดแช่แข็งเพื่อการส่งออก จำนวน 295 ตัวอย่าง โดยวิธีตรวจนับจำนวน(Enumeration technique) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Violet red bile (1% glucose) agar ใช้ glucose และ oxidase tests ในขั้นตอนตรวจยืนยัน พบผลลบ(<10 cfu/g) และผลบวก (10 - 1,000 cfu/g) จำนวน 9 ตัวอย่าง(3.05%) และ 286 ตัวอย่าง (96.95%) ตามลำดับ โดยที่ 25 ตัวอย่าง(8.48%) เกินมาตรฐานกลุ่มประชาคมยุโรป (>1,000 cfu/g) การเสริมความเข้มแข็งของวิธีการปฏิบัติที่ดีในกระบวนการผลิต (GMP) และการนำระบบวิเคราะห์อันตรายและควบคุมจุดวิกฤติ (Hazard Analysis and Critical Control Point System: HACCP) มาประยุกต์ใช้ในการควบคุมกระบวนการผลิตเป็นสิ่งที่ควรดำเนินการ เพื่อปรับคุณภาพผลิตภัณฑ์ คุ้มครองผู้บริโภค และ สนับสนุนการส่งออก

ABSTRACT The study of *Enterobacteriaceae* contaminated in 295 frozen minced fish meat samples for export was studied by enumeration technique. Violet red bile (1% glucose) was used as selective agar. Glucose and oxidase tests were done for confirmation. Results showed 9 (3.05%) and 286 (96.95%) samples with negative (<10 cfu/g) and positive (10 - 1,000 cfu/g) samples respectively. Whereas 25 (8.48%) samples were exceed European standard (>1,000 cfu/g). Good Manufacturing Practices strengthening and Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) System implementation for processing control should be done. In order to enhancing product quality, consumer protection, and facilitate the international trade.

Key words : *Enterobacteriaceae*, enumeration, frozen minced fish

บทนำ

ปัจจุบันเนื้อปลาบดแช่แข็ง (Frozen minced fish meat)เป็นผลิตภัณฑ์อาหารทะเลที่ผ่านการแปรรูปเพื่อส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ในปี พ.ศ. 2542 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้ออกหนังสือรับรองการส่งออกปลาบดแช่แข็งไปจำหน่ายยังต่างประเทศเป็นมูลค่าถึง 98.5 ล้านเหรียญสหรัฐ ซึ่งคุณภาพสินค้าเป็นสิ่งสำคัญที่ประเทศคู่ค้าใช้เป็นเงื่อนไขในการต่อรองและยอมรับสินค้า หลายประเทศได้กำหนดให้ใช้ระบบ HACCP เป็นมาตรการควบคุมคุณภาพในการผลิตอาหาร การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาใน

อาหารเป็นการทดสอบอย่างหนึ่งว่าระบบควบคุมคุณภาพนั้นได้ผลเพียงใด ซึ่งประเทศในกลุ่มประชาคมยุโรปได้ใช้ Total *Enterobacteriaceae* ในการประเมินผลว่ามีการปนเปื้อนภายหลังกระบวนการผลิตหรือไม่โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Violet red bile agar เติมกลูโคส 1% เป็น selective media สำหรับทดสอบ(Mehlman,1984) ซึ่งประเทศในกลุ่มประชาคมยุโรป เช่น ประเทศสเปนได้มีข้อกำหนดให้ผลิตภัณฑ์อาหารทะเลนำเข้าพบเชื้อ *Enterobacteriaceae* ได้ไม่เกิน 1,000 cfu/g สำหรับเชื้อในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* เป็นแบคทีเรียที่สำคัญกลุ่มหนึ่ง ซึ่งบางชนิดเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร พบได้ทั่วไปในดิน พืชผัก ในลำไส้คนและสัตว์ จึงปนเปื้อนได้ทุกที่ หรืออาจปนเปื้อนมาจากสิ่งขับถ่ายของคนและสัตว์ไปสู่ภาชนะและสิ่งของเครื่องใช้ที่ผ่านการหยิบจับด้วยมือจึงเป็นสาเหตุของการปนเปื้อนในอาหารและน้ำ ลักษณะเด่นของแบคทีเรียกลุ่มนี้คือเป็นแบคทีเรีย gram negative rod สามารถ ferment น้ำตาลกลูโคสและไม่ผลิตเอนไซม์ออกซิเดส แบคทีเรียกลุ่มนี้ที่สำคัญและก่อให้เกิดโรคในคนและสัตว์เช่น *Escherichia coli, E. coli O157:H7, Klebsella, Salmonella, Shigella, Yersinia* รวมทั้ง Coliform ซึ่งเป็นดรรชนีแสดงสุขลักษณะของอาหาร (Botly *et al*,1998,ICMSF,1988) นอกจากนี้แบคทีเรียกลุ่มนี้ยังสามารถเพิ่มจำนวนได้ในอาหารเมื่ออยู่ในสภาพที่เหมาะสม

สืบเนื่องจากที่ผ่านมาผลการตรวจอาหารเพื่อออกหนังสือรับรองการส่งออกของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่าในปลาบดแช่แข็งมักมีปัญหาเรื่องปริมาณเชื้อแบคทีเรียและ Coliform สูง จากรายงานประจำปี 2542 ในตัวอย่างปลาบดแช่แข็งมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียมากกว่า $1.0x10^5$ cfu/g ถึงร้อยละ 50 ของตัวอย่างทั้งหมด ซึ่งเป็นปริมาณที่ค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับอาหารทะเลชนิดอื่น แสดงว่าอาจจะมีการปนเปื้อนของเชื้อในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ที่เป็นสาเหตุของโรคในระบบทางเดินอาหารอยู่ด้วยก็ได้ ดังนั้นการตรวจเชื้อ *Enterobacteriaceae* ในปลาบดแช่แข็งจึงเป็นการตรวจสอบซึ่งครอบคลุมเชื้อกลุ่มที่เป็น gram negative rod และสามารถ ferment น้ำตาลกลูโคสได้แก่ *Salmonella, E. coli.* Coliform และอื่นๆ เพื่อยืนยันคุณภาพว่าปลอดภัยจากเชื้อกลุ่มดังกล่าว (Buckle *et al*,1989) และเป็นการทดสอบว่าการควบคุมคุณภาพปลาบดแช่แข็งได้ผลหรือไม่ เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปปรับปรุงกระบวนการผลิตต่อไป

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่าง

ตัวอย่างปลาบดแช่แข็งจากโรงงานผลิตอาหารแช่แข็งเพื่อส่งออก ที่ส่งมาตรวจเพื่อขอหนังสือรับรองคุณภาพ (Health certificate) จำนวน 295 ตัวอย่าง จาก 7 โรงงาน

วัสดุอุปกรณ์

Incubator (35°c), Colony counter, Petri dish, Test tube, Pipette

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

Violet red bile agar + glucose 1% (VRBGA) (Difco), Glucose salt medium (GSM)(ICMSF,1988), Nutrient agar(Difco), Tetramethylparaphylenediamine dihydrochloride, 1% aqueous solution (Sigma)

เชื้ออ้างอิง

Vibrio parahaemolyticus ATCC 43996 เป็น positive control สำหรับทดสอบ oxidase

Salmonella typhimurium ATCC 14028 เป็น positive control สำหรับ VRBGA

Escherichia coli ATCC 25922 เป็น positive control สำหรับ VRBGA

วิธีการ

การตรวจสอบเชื้อ *Enterobacteriaceae* ในตัวอย่างปลาบดแช่แข็ง โดยวิธีนับจำนวน (Enumeration by plate count) ตามวิธีที่ระบุใน ICMSF,1988 ซึ่งมี 2 ขั้นตอนคือ ขั้นนับจำนวนโดยเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ Violet red bile agar เติมน้ำตาลกลูโคส 1% และขั้นตอนตรวจสอบยืนยันผลที่นับได้โดยทดสอบการใช้น้ำตาลกลูโคส และทดสอบ oxidase ซึ่งเชื้อกลุ่ม *Enterobacteriaceae* สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสโดยจะเปลี่ยนสีอาหารเลี้ยงเชื้อ GSM ให้กลายเป็นสีเหลืองและให้ผล oxidase เป็นลบ

ผล

จากการตรวจวิเคราะห์เชื้อกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ในปลาบดแช่แข็งจำนวน 295 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบเชื้อ *Enterobacteriaceae* (<10 cfu/g) คิดเป็นร้อยละ 3.05(9 ตัวอย่าง) พบเชื้อ *Enterobacteriaceae* คิดเป็นร้อยละ 96.95 (286 ตัวอย่าง) และจากตัวอย่างที่พบเชื้อ *Enterobacteriaceae* พบว่ามีปริมาณเชื้ออยู่ในช่วง 10 - 1,000 cfu/g คิดเป็นร้อยละ 88.47 (261 ตัวอย่าง) และเป็นตัวอย่างที่มีเชื้อ >1,000 cfu/g คิดเป็นร้อยละ 8.48 (25 ตัวอย่าง) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 จำนวนตัวอย่างปลาบดแช่แข็งที่ตรวจพบเชื้อ Enterobacteriaceae ในปริมาณเชื้อที่ช่วงต่างๆ จาก 295 ตัวอย่าง

ปริมาณเชื้อ *Enterobacteriacea* (cfu/g)	จำนวนตัวอย่าง	คิดเป็นร้อยละ	รวมจำนวนที่ผ่านและไม่ผ่านเกณฑ์ (ร้อยละ)
<10 (ไม่พบ)	9	3.05	
			≤1,000 cfu/g = 91.52
10-1,000	261	88.47	
>1,000-100,000	25	8.48	
			>1,000 cfu/g = 8.48
>100,000 (ไม่พบ)	0	0	
รวม	295	100	100

วิจารณ์

จากการศึกษาพบว่าจำนวนตัวอย่างปลาบดแช่แข็งที่ตรวจพบเชื้อ *Enterobacteriaceae* มีปริมาณสูงถึงร้อยละ 96.95 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างส่วนใหญ่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *Enterobacteriaceae* แต่ปริมาณอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ของประเทศในกลุ่มประชาคมยุโรป คือไม่เกิน 1,000 cfu/g คิดเป็นร้อยละ 91.52 และที่ไม่ผ่านเกณฑ์เพียงร้อยละ 8.48 แม้ว่าเชื้ออยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ค่อนข้างสูง การปนเปื้อนของเชื้อ *Enterobacteriaceae* แสดงถึงสุขลักษณะการผลิตที่บกพร่องบ่งชี้ถึงความเสี่ยงในการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร เพราะแบคทีเรียกลุ่มนี้มักจะปะปนมากับอุจจาระ (ICMSF,1988)

นอกจากการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียระหว่างกระบวนการผลิต โดยการปนเปื้อนจาก ผู้สัมผัสอาหาร วัสดุอุปกรณ์ น้ำ น้ำแข็ง และ/หรือการเจริญของเชื้อจากการควบคุมอุณหภูมิและเวลาในแต่ละขั้นตอนบกพร่อง ตลอดถึงการปนเปื้อนหลังกระบวนการผลิตแล้ว การเก็บรักษาวัตถุดิบก่อน

กระบวนการผลิตเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ปริมาณการปนเปื้อนของ *Enterobacteriaceae* สูง เนื่องจากโรงงานผลิตปลาบดแช่แข็งเพื่อการส่งออก จะรับซื้อวัตถุดิบปลาทั้งตัวเป็นจำนวนมาก เพื่อให้พอกับปริมาณการผลิต ทำให้ต้องใช้เวลานานเพื่อรอการตัดแต่งและนำเข้ากระบวนการผลิต การลดอุณหภูมิให้ต่ำลงเป็นสิ่งที่ต้องดำเนินการควบคุมอย่างเข้มงวดในขั้นตอนนี้ เพื่อป้องกันการเจริญ ของเชื้อแบคทีเรีย กรณีที่โรงงานใช้น้ำแข็งน้อยทำให้ปริมาณเริ่มต้นของแบคทีเรียค่อนข้างสูง เมื่อผ่านกระบวนการผลิต แม้ว่ามีการล้างด้วยน้ำสะอาดหลายครั้ง ก็ไม่สามารถลดปริมาณแบคทีเรียลงในระดับที่ยอมรับได้

ปัญหาการปนเปื้อนของ *Enterobacteriaceae* ในปลาบดแช่แข็ง อาจจะลดลงหรือหมดไปได้ ถ้าผู้ผลิตปรับเปลี่ยนและแก้ไขจุดบกพร่องต่างๆในกระบวนการผลิตที่อาจก่อให้เกิดการปนเปื้อน และเพิ่มปริมาณของเชื้อ มีการจัดการด้านสุขลักษณะอาหารที่เหมาะสม นำเอาระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤติที่ต้องควบคุมมาใช้ในกระบวนการผลิตปลาบด ป้องกันไม่ให้เกิดปัญหาการปนเปื้อน โดยมีการจัดการที่ดีตั้งแต่ต้นทุกขั้นตอนตลอดกระบวนการผลิต และมีการตรวจเชื้อ *Enterobacteriaceae* ในผลิตภัณฑ์ปลาบดแช่แข็งหรือทดสอบจากขั้นตอนต่างๆในระหว่างการผลิตเพื่อหาสาเหตุของการปนเปื้อนและทดสอบว่าการควบคุมคุณภาพได้ผลจริง (WHO,1996) ก็จะได้ปลาบดที่มีคุณภาพเป็นที่ต้องการของลูกค้า

สรุป

ผลการศึกษาโดยใช้เชื้อ *Enterobacteriaceae* เป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพแสดงให้เห็นเป็นภาพรวมว่าผลิตภัณฑ์ปลาบดแช่แข็งอยู่ในเกณฑ์สำหรับการส่งออก แต่เนื่องจากข้อกำหนดของประเทศผู้นำเข้าซึ่งมีแนวโน้มสูงขึ้นเพื่อคุ้มครองผู้บริโภคในประเทศประกอบกับมาตรฐานสากลที่กำหนดโดยคณะกรรมการอาหารระหว่างประเทศ (CODEX Committee) ได้ระบุให้มีการประเมินความเสี่ยงในอาหาร ซึ่งต้องใช้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ โดยเฉพาะปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร เพื่อการกำหนดเงื่อนไขความปลอดภัยของอาหารด้านจุลชีววิทยา จึงมีความจำเป็นต้องมีการศึกษาปริมาณปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าวอย่างต่อเนื่อง และใช้เป็นข้อมูลสำหรับผู้ผลิตในการปรับเปลี่ยนกระบวนการผลิตให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดี สม่ำเสมอ ส่งเสริมเศรษฐกิจและสนับสนุนการส่งออกโดยตรง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณเพ็ญศรี รอดมา ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านสุขลักษณะการผลิต ที่ได้สนับสนุนให้คำปรึกษา แนะนำ และแก้ไขให้งานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Botly A. Forbes, Daniel F. Sahm, Alice S.Weissfeld, Diagnostic microbiology 10th Edition, Mosby,Inc. St.Louis,1998 : 511-514

Buckle K.A, Davey J.A, Eyies M.J, *et al.* Foodborn microoganisms of public health significance, 4th Edition, JM.Executive printing service pty Ltd. Gordon,Australia,1989 : 5-11

ICMSF, Microorganism in Foods 1 Their significance and methods of enumeration, 2th Edition, University of Toronto press,Toronto,1988 : 8-349

Mehlman Ira J, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, American Public Health Washington, DC,1984 : 267

WHO, Guidelines for strengthening a National Food Safety Program, World Health Organization, 1966 : 15-23