ฝ่ายวิจัย
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เสนอ

รายงานฉบับสมบูรณ์
ชุดโครงการสำรวจสำหรับการประเมินและวางแผนการวิจัย เพื่อการพัฒนาอุตสาหกรรมเกษตร-อุตสาหกรรมอาหาร

โครงการสำรวจสำหรับการดำเนินการวิจัย
เพื่อ
พัฒนาอุตสาหกรรมเกี่ยวกับกุ้งแบบครบวงจร

โครงการนี้ได้รับการสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีงบประมาณ 2544

RD0402760

คณะผู้วิจัย

โครงการสำรวจสำหรับการดำเนินการวิจัย
เพื่อพัฒนาอุตสาหกรรมกุ้งแบบครบวงจร

ภาควิชาเคมี

ผศ. พรพรรณ อุดมกาญจนนันท์

ผศ. สุชาดา จูอนุวัฒนกุล

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ผศ. ดร. สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ

อ. ดร. ธมณี สงวนดีกุล

ผศ. ดร. สุเมธ ตันตระเธียร (ผู้ประสานงาน)

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป

อ. ดร. ปรีเปรม พัฒนมหกุล

รายงานฉบับสมบูรณ์

ชุดโครงการสำรวจสำรับการประเมินและวางแผนการวิจัย
เพื่อการพัฒนาอุตสาหกรรมเกษตร-อุตสาหกรรมอาหาร

โครงการสำรวจสำหรับการดำเนินการวิจัยเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรมเกี่ยวกับกุ้งแบบครบวงจร

หน่วยงานที่รับผิดชอบ ฝ่ายวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะผู้สำรวจ
อ. ดร. ปรีเปรม พัฒนมหกุล
ผศ. พรพรรณ อุดมกาญจนนันท์
ผศ. สุชาดา จูอนุวัฒนกุล
ผศ. ดร. สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ
อ. ดร. รมณี สงวนดีกุล
ผศ. ดร. สุเมธ ตันตระเธียร (ผู้ประสานงาน)

วันที่ 15 ตุลาคม พ.ศ. 2545

คำนำ

รายงานผลการสำรวจสำหรับการดำเนินการวิจัยเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรมเกี่ยวกับกุ้งแบบครบวงจรฉบับนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการสำรวจข้อมูลและความต้องการวิจัย เพื่อนำมาเป็นแนวทางการวิจัย สำหรับเป็นแนวทางเพื่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์กุ้งให้มีคุณภาพและปลอดภัยในระดับสากล เนื่องจากผลิตภัณฑ์กุ้งเป็นสินค้าการเกษตรที่นำรายได้เข้าสู่ประเทศได้ในอันดับต้นๆ ประเทศอื่นๆ ซึ่งเป็นเพื่อนบ้านในกลุ่มประเทศอาเซียน หลายประเทศ ได้มีการพัฒนาการเลี้ยงและส่งออกกุ้งกันมากขึ้น ทำให้มีคู่แข่งทางการค้ามากขึ้น การจะรักษาความเป็นที่นิยมของผู้บริโภคได้จะต้องสามารถผลิตได้มากขึ้น และผลิตภัณฑ์จะต้องมีคุณภาพดีและคงที่

ดังนั้นการสำรวจข้อมูลเพื่อเป็นแนวทางการวิจัยในฉบับนี้จึงได้มีการหาข้อมูลในเชิงวิจัยในห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้เป็นแนวทางสำหรับการวิจัยเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรมเกี่ยวกับกุ้งต่อไป

คณะผู้สำรวจ

อ. ดร. ปรีเปรม พัฒนมหกุล
ผศ. สุชาดา จูอนุวัฒนกุล
ผศ. พรพรรณ อุดมกาญจนนันท์
ผศ. ดร. สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ
อ. ดร. รมณี สงวนดีกุล
ผศ. ดร. สุเมธ ตันตระเธียร

เลขหมู่
เลขทะเบียน 016500
วัน. เดือน. ปี 25 ส.ค. 58

สารบัญ

หน้าที่

บทนำ 3

บทที่ 1. ทบทวนเอกสาร

กุ้งกุลาดำ 4

ขั้นตอนในการผลิตและเลี้ยงกุ้งกุลาดำ 4

การแปรรูปกุ้ง 9

กุ้งแช่แข็งเพื่อการส่งออก 12

การตรวจสอบและเกณฑ์คุณภาพกุ้งแช่แข็ง 14

การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์กุ้งแช่แข็ง 19

ผลของการแช่แข็งต่อคุณภาพทางกายภาพของผลิตภัณฑ์กุ้ง 21

จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์กุ้ง 23

ปริมาณจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในขั้นตอนต่างๆ ของการผลิตผลิตภัณฑ์กุ้ง 24

มาตรฐานทางจุลชีววิทยาสำหรับผลิตภัณฑ์กุ้ง 25

ข้อสังเกตและปัญหา 26

บทที่ 2 การปรับปรุงพันธุ์กุ้งด้วยยีนเทคโนโลยี 27

บทที่ 3 การตรวจวิเคราะห์สารปฏิชีวินะตกค้างในกุ้ง 30

การศึกษาการเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์สารอินทรีย์ตกค้างปริมาณน้อยมากด้วย เทคนิคไมโครเวฟไดเจสชัน (Microwave digestion) 49

การวิเคราะห์สารปฏิชีวนะโดยใช้ HPLC 52

บทที่ 4 ผลของกระบวนการแช่เย็นและแช่เยือกแข็งต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกุ้งกุลาดำ . 54

การเปลี่ยนแปลงของกุ้งกุลาดำระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิแช่เย็น 59

การศึกษาผลของการแช่แข็งต่อการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพของเนื้อกุ้ง กุลาดำ 60

บทที่ 5 จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์กุ้ง 64

การศึกษาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกุ้งสดจากตลาดขายส่ง 66

ผลของการแช่แข็งต่อซาลโมเนลล่า (Salmonella) 67

สรุปการสำรวจสำหรับการประเมิน 74

เอกสารอ้างอิง 75

บทนำ

ประเทศไทยมีรายได้จากการส่งออกผลิตภัณฑ์เกษตรเป็นหลักมาเป็นเวลานาน ในปัจจุบันจากภาวะเศรษฐกิจตกต่ำ ทำให้ไทยต้องพึ่งพารายได้จากการส่งออกเป็นหลัก รัฐบาลได้มีนโยบายที่จะให้อุตสาหกรรมเกษตรด้านอุตสาหกรรมอาหาร เป็นหลักในการนำรายได้เข้าสู่ประเทศ เคียงคู่กับการท่องเที่ยว

ในกลุ่มอุตสาหกรรมอาหาร ด้านการประมงนั้น ประเทศไทยเป็นผู้นำในด้านอุตสาหกรรมการผลิตกุ้ง ทั้งทางด้านของการเพาะเลี้ยงและการส่งออก กุ้งแช่แข็งของประเทศไทยได้มีการส่งออกเป็นมูลค่า 46,839 ล้านบาทในปี 2541 เนื่องจากมีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงเริ่มต้นตั้งแต่ปี 2518 โดยกรมประมงจากนั้นมีการพัฒนาและส่งเสริมการเลี้ยงและการแปรรูปตลอดมา ดังจะเห็นได้จากการเติบโตของอุตสาหกรรมกุ้งในระหว่างปี 2523 ถึง 2542 การส่งออกกุ้งของประเทศไทยมีอัตราขยายตัวอย่างมากโดยที่ในปี 2538 มีมูลค่าการส่งออกเป็น 4,999 ล้านบาท เป็น 87,850 ล้านบาทในปี 2542 ปริมาณการส่งออกในปี 2538 เป็น 42,197 ตันและเพิ่มขึ้นจนในปี 2542 เป็น 240,529 ตัน ปริมาณกุ้งที่ส่งออกเพิ่มขึ้นนั้นส่วนหนึ่งได้จากการเพาะเลี้ยง เพราะในระหว่างปี 2523-2534 นั้น ปริมาณกุ้งที่จับได้จากธรรมชาติมีอัตราลดลงร้อยละ 1.88 ต่อปี ในขณะที่กุ้งจากการเพาะเลี้ยงมีปริมาณเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 35.30 ต่อปี ในปัจจุบันส่วนใหญ่จะได้จากการเพาะเลี้ยง และที่จับได้ในธรรมชาติมีน้อยลง ในปี 2542 กุ้งสดแช่เย็นและแช่แข็งเป็นผลิตภัณฑ์ที่นำเงินเข้าในประเทศเป็นอันดับแรกของประเทศ โดย ส่งออกเป็นกุ้งแปรรูปจำนวน 113,299 ตัน มีมูลค่า 40,743 ล้านบาท และกุ้งแช่แข็งมีการส่งออก 127,229 ตัน มีมูลค่าการส่งออก 46,839 ล้านบาท

เนื่องจากในปัจจุบันเพื่อนบ้านของไทยในแถบเอเชีย ได้มีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงและมีการส่งออกกุ้งกันมากขึ้น โดยเฉพาะประเทศอินโดนิเซียและเวียตนาม ซึ่งจะมีผลทำให้ตลาดของผลิตภัณฑ์กุ้งของไทยมีขนาดเล็กลงได้ ถ้าไม่มีการพัฒนาการผลิตและการแปรรูปให้ผลิตภัณฑ์กุ้งมีคุณภาพทั้งทางกายภาพ ทางเคมี และทางจุลินทรีย์ให้ดีขึ้นและมีความคงที่มากขึ้น

แม้ว่าจะมีการบริโภคกุ้งอยู่หลายชนิด แต่ผลิตภัณฑ์กุ้งประมาณร้อยละ 90 จะเป็นผลิตภัณฑ์จากกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ดังนั้นการสำรวจครั้งนี้มีความประสงค์ที่จะศึกษาถึงการจัดการพ่อและแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำและแนวทางในการพัฒนา เพื่อให้ได้ลูกกุ้งที่แข็งแรง และศึกษาถึงปริมาณ และชนิดของยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง รวมถึงการตกค้างในกระบวนการผลิต และวิธีการตรวจวิเคราะห์ รวมทั้งศึกษาถึงคุณภาพของกุ้งแปรรูปและกุ้งแช่แข็ง และแนวทางในการพัฒนาและศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์กุ้ง และแนวทางในการปรับปรุงคุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์กุ้ง

บทที่ 1 ทบทวนเอกสาร

อ ดร รมณี สงวนดีกุล
ผศ ดร สุเมธ ตันตระเธียร

กุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำเป็นกุ้งทะเลชนิดหนึ่งที่มีขนาดใหญ่ เปลือกและหัวเกลี้ยงไม่มีขน ฟันกรีด้านบนมี 7-8 ซี่ ด้านล่างมี 3 ซี่ ช่องข้างกรีทั้งสองด้านแคบและยาวไม่ถึงฟันกรีสุดท้าย ลำตัวเป็นข้อปล้อง มีปล้องทั้งหมด 19 ปล้อง แต่ละปล้องมีระยาง 1 คู่ ระยางแต่ละคู่มีหน้าที่แตกต่างกันออกไป กุ้งชนิดนี้มีสีต่างๆ ทั้งน้ำตาลหรือสีน้ำเงิน มีสีเข้มพาดขวางตัว ลำตัวแบ่งออกเป็นสามส่วนใหญ่ คือ หัว อก และลำตัว ส่วนหัวมี 5 ปล้อง ส่วนอกมี 8 ปล้อง และส่วนลำตัวมี 6 ปล้อง เนื่องจากกุ้งนี้มีขนาดค่อนข้างใหญ่ จึงถูกเรียกว่า 'Giant Tiger Prawn' และมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Penaeus monodon* Fabricus

ถิ่นอาศัยของกุ้งกุลาดำ สามารถพบได้ในน่านแถบ ฟิลิปปินส์ อินโดนิเซีย อินเดีย มาเลเซีย และที่พบมากในแถบประเทศไทย อินเดีย และออสเตรเลีย กุ้งชนิดนี้สามารถทนน้ำที่มีอุณหภูมิสูงได้ดี ชอบอยู่ในที่เป็นดินโคลน กินอาหารได้ทั้งพืชและสัตว์

ระยะการเจริญของกุ้งหลังจากที่ฟักออกจากไข่แล้ว ลูกกุ้งจะมีรูปร่างเปลี่ยนแปลงไปตามการเจริญเติบโต ซึ่งการเจริญสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ระยะ คือ

- ระยะที่หนึ่ง หรือ ระยะนอเพียส เป็นระยะที่กุ้งออกจากไข่มีขนาดเล็กมาก ดูด้วยตาเปล่าเห็นได้ยาก มีรูปร่างค่อนข้างกลม กินอาหารจากถุงที่ติดตัวมา มีการลอกคราบรวมทั้งหมด 6 ครั้ง ลูกกุ้งระยะนี้มีอัตราการรอดต่ำ
- ระยะที่สอง หรือ ระยะโปรตัวซัว ระยะนี้กุ้งจะมีอายุประมาณ 3-6 วันหลังจากฟักออกจากไข่ ลูกกุ้งระยะนี้ยังว่ายน้ำได้ไม่แข็งแรง เริ่มกินอาหารได้โดยจะกินแพลงตอนขนาดเล็ก ที่เป็นทั้งพืชและสัตว์ ระยะนี้เป็นระยะนี้เป็นระยะที่สำคัญที่สุด ถ้าผ่านระยะนี้ไปได้ อัตรารอดของลูกกุ้งจะมีอัตรารอดสูง ระยะนี้มีการลอกคราบ 3 ครั้ง
- ระยะที่สาม หรือ ระยะไมซิส เป็นระยะที่ลูกกุ้งแข็งแรงมากขึ้น มีรูปร่างเหมือนกับพ่อแม่กุ้งมากขึ้น เป็นระยะที่มีการเปลี่ยนแปลงไปเหมือนกับพ่อแม่มากขึ้น เมื่อลูกกุ้งเจริญถึงขั้น post lavar แล้ว ลูกกุ้งจะกินอาหารมากชนิดขึ้น จะเริ่มกิน เนื้อหอย เนื้อปลา เป็นต้น

เมื่อลูกกุ้งเจริญถึงขั้น post lava จะกินเวลาประมาณ 12 วันหลังจากฟักออกจากไข่ ระยะนี้รูปร่างจะคล้ายกับกุ้งขนาดใหญ่มากขึ้น แต่อวัยวะต่างๆ ยังไม่สมบูรณ์ ลูกกุ้งมีความยาวไม่เกิน ½ นิ้ว หรือประมาก 10 มิลลิเมตร ลูกกุ้งจะต้องลอกคราบอีกหลายครั้งจึงจะมีเป็นกุ้งใหญ่ที่สมบูรณ์ และจากระยะที่โตเต็มวันนี้จะต้องใช้เวลาประมาณ 3 เดือน จึงจะเข้าระยะสืบพันธุ์ การวางไข่ของกุ้งนี้จะวางไข่ในทะเลลึก

ขั้นตอนในการผลิตและเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

แต่เดิมนั้นประเทศไทยมีการเพาะเลี้ยงกุ้งในลักษณะการเลี้ยงแบบธรรมชาติ โดยเลี้ยงกุ้งแชบ๊วย และกุ้งตะกาด เป็นส่วนใหญ่ จนในปีพ.ศ. 2515 เริ่มมีการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศไทย หลังจากที่กรมประมงสามารถผลิตลูกกุ้งกุลาดำได้จากโรงเพาะพันธุ์ของกรมประมง จึงได้มีการส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยง ในราวปี 2518 จึงเริ่มมีการเลี้ยงแบบพัฒนา (Intensive system) ซึ่งต้องปล่อยกุ้งลงเลี้ยงแบบหนาแน่นและให้อาหารเป็นเวลา อุตสาห

กรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลได้เริ่มอย่างจริงจังในราวปี 2523 จากนั้นจึงมีการเริ่มตั้งโรงงานผลิตกุ้งแช่แข็ง ที่มีห้องเย็นเพื่อทำการแช่เยือกแข็งกุ้งเพื่อการส่งออก

ในการเลี้ยงเพื่อการผลิตกุ้งกุลาดำนั้นมีกระบวนการซึ่งสามารถแยกออกได้เป็น การจัดหาและเลือกพันธุ์กุ้ง การเพาะเลี้ยง การใช้ยารักษาโรคกุ้ง การจัดหาอาหารกุ้ง นอกจากนั้นเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งจะต้องจัดเตรียมหาอุปกรณ์ที่จะใช้ในการเลี้ยง อุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆที่ใช้ในการควบคุมสภาวะต่างๆ ให้เหมาะสมสำหรับกุ้ง เพื่อให้กุ้งได้เจริญและลอกคราบได้ ถ้าหากกุ้งไม่สามารถลอกคราบได้จะหยุดการเจริญและอาจทำให้กุ้งตายได้ การเลี้ยงกุ้งที่มีการเร่งให้เจริญได้เร็ว และเลี้ยงกุ้งให้ได้ปริมาณมากในพื้นที่จำกัด ก็จะต้องพึ่งอุปกรณ์และเครื่องมือรวมทั้งการลงทุนในด้านพลังงานมากขึ้น

การจัดหาและเลือกพันธุ์กุ้ง

อุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงกุ้งของไทยได้เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ดังนั้นความต้องการลูกกุ้งเพื่อการเพาะเลี้ยงจึงมีความต้องการเป็นจำนวนมากด้วย โดยที่ลูกกุ้งที่นำมาเลี้ยงเกือบทั้งหมดมาจากโรงเพาะกุ้ง (Shrimp Hatchery Plant) ที่ใช้แม่กุ้งที่จับจากธรรมชาติคือ จับจากทะเลลึก บางส่วนจะได้จากการเลี้ยงได้ในบ่อ ซึ่งลูกกุ้งที่เกิดจากพ่อและแม่พันธุ์ทั้งสองแหล่งจะมีคุณภาพต่างกัน คือ ไข่กุ้งที่ได้จากพ่อและแม่พันธุ์จากธรรมชาติ จะมีคุณภาพดี สามารถฟักเป็นลูกกุ้งได้มาก และมีปริมาณมาก (เจ. เวซ. พริมาเวรา, 2529) ราคาของพ่อพันธุ์กุ้งประเภทนี้มีราคาประมาณ 200-300 บาท และแม่พันธุ์อาจมีราคาตั้งแต่ 1,000 – 10,000 บาท ขนาดของกุ้งที่เหมาะมาใช้เป็นพ่อพันธุ์ควรหนักตั้งแต่ 50 กรัมขึ้นไป ส่วนที่จะนำมาใช้เป็นแม่พันธุ์ควรหนัก 80-90 กรัมขึ้นไป (ฐานเกษตรกรรม, 2530)

แม่พันธุ์กุ้งเมื่อได้มาแล้ว จะมาทำการบีบตาหรือตัดตา แล้วรีดเอาฮอร์โมน GIH (Gonad Inhibiting Hormone) ที่ยับยั้งการสร้างไข่ออกจากก้านตากุ้ง เมื่อกุ้งถูกรีดฮอร์โมนออกแล้วจะเริ่มตั้งไข่ และทำการผสมกับตัวผู้ ดังนั้นกุ้งแม่พันธุ์หนึ่งตัวอาจจะทำการให้ไข่ได้ 2 ครั้ง อย่างมาก 3 ครั้ง ปริมาณไข่ประมาณ 200,000 – 300,000 ฟองต่อแม่พันธุ์หนึ่งตัว ไข่ที่ได้รับการผสมแล้วจึงถูกนำมาเพาะฟักต่อไปเป็นลูกกุ้งวัยอ่อน และมีอัตราการผสมพันธุ์ประมาณ 50%

เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงกุ้งซื้อลูกกุ้งวัยอ่อน มาเพาะเลี้ยงในบ่อเลี้ยงที่ได้เตรียมไว้ โดยทำการคัดเลือกกุ้งที่มีลักษณะดีดังนี้คือ

- ขนาดลูกกุ้งต้องใกล้เคียงกัน ไม่แตกต่างกันมาก เพื่อลดปัญหาในการให้อาหารและการจับ
- ตรวจสอบว่ามีการใช้ยาปฏิชีวนะกับลูกกุ้งมาแล้วหรือไม่ เพราะลูกกุ้งอาจมีลักษณะที่อ่อนแอเมื่อเลี้ยงในบ่อ
- ลำตัวยาว กล้ามเนื้อใส
- ลำตัวไม่มีลักษณะที่ผิดปกติ เช่น ลำตัวคด หัวบิดเบี้ยว
- มีอวัยวะภายนอกครบถ้วน ระยางและแพนหางไม่ขาด ไม่มีจุดดำหรือแถบดำบริเวณหลัง
- แข็งแรง ไม่นอนอยู่ก้นถุงขณะขนส่ง
- แพนหางกางออกขณะว่ายน้ำ
- หนวดยาว ตรงเรียว และชิดติดกัน
- ลำตัวเป็นสีน้ำตาล หรือสีเทา ไม่ควรมีสีแดง

- ส่วนหัวและส่วนหางของลูกกุ้งไม่มีสิ่งสกปรกติดอยู่
- ไม่โก่งตัวงอขณะพัก
- ไม่มีพยาธิเกาะบริเวณลำตัว

ลูกกุ้งที่มีความแข็งแรงสามารถทดสอบได้โดย นำลูกกุ้งใส่ภาชนะใส่น้ำ แล้วเอามือกวนน้ำให้หมุนช้าๆ ลูกกุ้งที่แข็งแรงจะว่ายทวนกระแสน้ำหรือเกาะติดพื้น และเมื่อหยุดกวนให้มีกระแสน้ำ ลูกกุ้งจะว่ายไปเกาะที่ขอบภาชนะ ลูกกุ้งที่อยู่กลางภาชนะจะเป็นลูกกุ้งที่อ่อนแอ กุ้งที่เลือกมานั้นควรจะต้องเป็นกุ้งที่แข็งแรงมากกว่า 95%

การเพาะเลี้ยง

การเพาะเลี้ยงกุ้งเริ่มตั้งแต่การเตรียมบ่อ บ่อที่เลี้ยงกุ้งเป็นบ่อลึกประมาณ 80-100 ซม มีปากบ่อยกเป็นคัน ขนาดของบ่อขึ้นอยู่กับพื้นที่ที่มี ถ้าเพิ่งเริ่มทำการเลี้ยงเป็นครั้งแรกนั้น บ่อเป็นบ่อใหม่ เมื่อขุดแล้วก็จะเริ่มนำน้ำกร่อยหรือน้ำทะเล เข้าบ่อ พร้อมที่จะทำนำลูกกุ้งมาเพาะเลี้ยง ถ้าเป็นบ่อเก่ามีการเลี้ยงมาแล้ว หลังจากจับกุ้งแต่ละรุ่น ก็จะทำการตักหรือดูดตะกอนที่อยู่ก้นบ่อ และทำการตากบ่อ เพื่อเตรียมพร้อมเพื่อจะเลี้ยงในรุ่นต่อไป

การเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศไทยมีการเพาะเลี้ยงแบบต่างๆ คือ แบบธรรมชาติ แบบกึ่งพัฒนา และแบบพัฒนา ซึ่งแบบธรรมชาตินั้นเป็นการเลี้ยงแบบดั้งเดิม เมื่อเกษตรกรเตรียมบ่อแล้ว ก็ถ่ายน้ำทะเลเข้าบ่อเพื่อให้ลูกกุ้งเข้าบ่อและเก็บน้ำไว้ประมาณ 60-90 วัน วิธีนี้จะใช้พื้นที่ค่อนข้างมาก ส่วนใหญ่จะใช้พื้นที่มากกว่า 25 ไร่ขึ้นไป และอาศัยลูกกุ้งจากธรรมชาติเท่านั้น และไม่มีการให้อาหารในระหว่างการเก็บน้ำไว้ ผลผลิตต่ำได้ปีละประมาณ 40-60 กก ต่อไร่

การเลี้ยงกุ้งแบบกึ่งพัฒนา มีลักษณะคล้ายกับแบบธรรมชาติ แต่มีการควบคุมปัจจัยการผลิตด้วย ขนาดบ่อเฉลี่ยประมาณ 10-25 ไร่ และมีการนำกุ้งพันธุ์จากโรงฟักมาเสริมกับกุ้งธรรมชาติ โดยปล่อยลูกกุ้งประมาณ 24,000 ตัวต่อไร่ มีการให้อาหารวันละ 1-2 ครั้ง มีการเติมออกซิเจนและการป้องกันโรค โดยควบคุมปริมาณออกซิเจนในน้ำให้มีประมาณ 3 ส่วนในล้านส่วน มีความเค็ม 15-25 ส่วนในล้านส่วน และความเป็นกรดด่าง 7.5-8.5

การเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนา เป็นการเพาะเลี้ยงกุ้งโดยนำเทคโนโลยีมาจัดการรูปแบบบ่อ และควบคุมปัจจัยการผลิตทุกชนิด โดยมีการควบคุมสภาพของน้ำ ปริมาณออกซิเจน ความเป็นกรดด่าง อุณหภูมิ การควบคุมโรค และการกำจัดศัตรูของกุ้ง ขนาดของบ่อเลี้ยงมีขนาดประมาณ 10-12 ไร่ มีการให้อาหารวันละ 3-5 ครั้ง ทำการปล่อยลูกกุ้งลงในบ่อประมาณ 15 ตัวต่อตารางเมตรขึ้นไป ระยะเวลาการเลี้ยงประมาณ 4-5 เดือนต่อรุ่น ในหนึ่งปีสามารถเลี้ยงได้ 2 รุ่น การเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนายังแบ่งออกเป็น 2 ระบบคือ ระบบเปิด และระบบปิด ซึ่งระบบเปิดนั้นหมายถึงว่ามีการเปลี่ยนถ่ายน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงกับธรรมชาติ ส่วนระบบปิดนั้นหมายถึงว่าไม่มีการถ่ายเทแลกเปลี่ยนน้ำในบ่อเลี้ยงกับแหล่งน้ำธรรมชาติ แต่จะใช้การหมุนเวียนน้ำจากการเลี้ยงกุ้ง และนำมาใช้หลังจากที่มีการบำบัดแล้ว การเลี้ยงกุ้งด้วยวิธีนี้ต้องการอุปกรณ์ในการเติมอากาศให้น้ำ เครื่องวัดปริมาณออกซิเจนในน้ำ เครื่องวัดความดัน เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง เครื่องวัดอุณหภูมิ เครื่องกำเนิดไฟฟ้า มาตรวัดน้ำ

พื้นที่เลี้ยงกุ้งของประเทศทั้งที่เป็นการเลี้ยงแบบธรรมชาติ กึ่งพัฒนา และพัฒนา มีพื้นที่การเพาะเลี้ยงรวมกันมีพื้นที่มากกว่า 5 แสนไร่ ดังแสดงในตารางที่ 1. เนื่องจากการเลี้ยงกุ้งแบบธรรมชาติแม้ว่าจะไม่ต้องการการลงทุนและการดูแลมาก แต่จะต้องใช้พื้นที่มาก และจะต้องอยู่ในพื้นที่ที่สามารถทำการถ่ายเทน้ำได้ง่าย และต้องพึ่งพาธรรม

ชาติมาก และต้องใช้เวลานาน จึงมีเกษตรกรหันมาเลี้ยงกุ้งในแบบกึ่งพัฒนาและพัฒนามากขึ้น เนื่องจากใช้พื้นที่น้อย และใช้เวลาสั้นกว่า แม้ว่าจะต้องลงทุนมากกว่ารวมทั้งต้องให้ความดูแลเป็นอย่างมาก

ในปัจจุบันมีการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบริเวณน้ำจืดและเป็นแบบพัฒนามากขึ้น มีการเพาะเลี้ยงเป็นพื้นที่ประมาณ 90,000 ไร่ ใน 13 จังหวัดเขตภาคกลางและใกล้เคียง โดยทำการเพาะเลี้ยงในน้ำที่มีระดับความเค็มต่ำ แต่อย่างไรก็ตามการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบริเวณน้ำจืดแม้ว่าจะเป็นการเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกร แต่ก็มีผลกระทบพื้นที่เพาะเลี้ยงได้ในระยะยาวรวมทั้งกับสิ่งแวดล้อมด้วย

ตารางที่ 1 ตารางแสดงจำนวนผู้เลี้ยง เนื้อที่เลี้ยง และผลผลิตจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำจำแนกตามระบบการเลี้ยง ระหว่าง พศ. 2536-2540

พ.ศ.	ธรรมชาติ			กึ่งพัฒนา			พัฒนา		
	ราย	ไร่	ตัน	ราย	ไร่	ตัน	ราย	ไร่	ตัน
2536	3,031	152,565	5,250.02	1,522	68,173	3,750.08	15,474	228,564	216,514.18
2537	3,244	163,541	4,158.75	1,247	52,811	3,128.13	17,707	241,441	256,159.09
2538	2,972	138,376	3,456.52	1,172	50,568	2,902.35	22,001	279,442	253,181.68
2539	3,093	144,634	4,522.07	1,036	46,246	3,426.56	19,284	283,267	131,550.90
2540		139,152			40,250			277,598	

ที่มา: กรมประมง (2541)

การใช้ยารักษาโรค

ยารักษาโรคกุ้งที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบ่งออกเป็น 2 พวกใหญ่คือ พวกที่เป็นยาปฏิชีวนะ และยาฆ่าเชื้อ ยาปฏิชีวนะหรือยาต้านจุลชีพใช้ผสมลงในอาหารให้กุ้งกิน หรือละลายในน้ำแช่ลูกกุ้งเพื่อรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย ยาที่ใช้กันอย่างแพร่หลายคือ ออกซิเตตร้าซัยคลิน ซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้อย่างกว้างขวาง มีลักษณะเป็นผลสีเหลือง ใช้คลุกกับอาหารให้ทั่ว ในอัตราส่วน 3-5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม การใช้ให้ใช้ติดต่อกันประมาณ 5-7 วัน กรดออกโซลินิค ซึ่งเป็นยากลุ่มควิโนโลน มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย มีลักษณะเป็นผงสีขาว ยากลุ่มคลอแรมฟินิคอล มีฤทธิในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย มีลักษณะเป็นผงสีขาว ไม่ละลายน้ำ โดยทั่วไปแล้วไม่นิยมใช้ เนื่องจากคลอแรมฟินิคอลถ้าใช้มากจะทำให้กุ้งแคระแกรน นอกจากนั้นถ้าตกค้างอยู่ในอาหารสำหรับคนบริโภค ในปริมาณมากจะทำให้ประสาทตาพิการ กระดูกฝ่อ เสียความสามารถในการสร้างเม็ดเลือด

ยาฆ่าเชื้อ เช่น เบนซัลโคเนี่ยมคลอไรด์ หรือ (BKC) มาลาไคท์ กรีน ฟอร์มาลีน สารเบนซัลโคเนียมคลอไรด์ มีฤทธิในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และผลต่อแพลงตอน ใช้ในความเข้มข้น 2 ส่วนในล้านและสาดให้ทั่วบ่อ มาลาไคท์กรีน เป็นสารมีสีเขียวเข้ม ใช้รักษาโรคจากเชื้อรา และโรคจากปราสิทภายนอกและในทางเดินอาหาร โรคจุดขาว ใช้ผสมกับฟอร์มารีนในอัตราส่วน 0.1/25 ส่วนในล้านส่วน ฟอร์มาลีน ใช้รักษาโรคจากปรสิทเซลล์เดียว นอกจากนั้นยังช่วยลดปริมาณแบคทีเรียด้วย ใช้ในความเข้มข้น 25-50 ส่วนต่อล้านส่วน

นอกจากยารักษาโรคแล้ว สารที่ใช้ในการปรับสภาพน้ำและพื้นบ่อ สารในกลุ่มนี้ช่วยในการป้องกันไม่ให้เกิดโรคกับกุ้งและรักษาคุณภาพน้ำ เพิ่มการละลายออกซิเจนในน้ำ ลดตะกอนแขวนลอยของเสียในน้ำ กำจัดตะกอนของเสียของกุ้ง สารที่ใช้ได้แก่ วัสดุประเภทปูน ทั้งปูนเผา ปูนขาว ปูนมาร์ล และปูนโดโลไมท์ และซีโอไลท์ และจุลินทรีย์ ได้แก่จุลินทรีย์พวก แบซิลัส เซลลูโลโมแนส แอโรแบคเตอร์ ซูโดโมนาส ไนโตรโซโมนาส จุลินทรีย์เหล่านี้จะช่วยย่อยและกำจัดเศษอาหารและของเสียอื่นๆ กำจัดสารพิษ ป้องกันการเจริญเติบโตอย่างผิดปกติของแพลงตอน โปรโตซัว และสาหร่ายต่างๆ เพิ่มการละลายของออกซิเจนในน้ำ และลดความเครียดของกุ้งในทางอ้อม

อาหารกุ้ง

เนื่องจากมีการเลี้ยงกุ้งแบบกึ่งพัฒนาและแบบพัฒนาเป็นพื้นที่มาก ดังนั้นอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งจึงเป็นที่ต้องการอย่างมาก เนื่องจากการเลี้ยงกุ้งทั้งสองแบบจะต้องให้อาหารกุ้งตั้งแต่ 3 ครั้งต่อวัน จนถึง 5 ครั้งต่อวัน อาหารกุ้งแบ่งออกได้เป็น 2 อย่างคือ อาหารธรรมชาติ และอาหารสำเร็จรูป

อาหารธรรมชาติ หมายถึง พืชและสัตว์น้ำเล็กๆ ที่มีอยู่ในบ่อหรือติดมากับน้ำกร่อยหรือน้ำทะเล เมื่อมีการถ่ายน้ำเข้าบ่อ อาหารธรรมชาติสำหรับกุ้งได้แก่พวก ไดอะตอม โรติฟอร์ ไรน้ำเค็ม (อาร์ทิเมีย) และสาหร่าย ไดอะตอมเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว อาจอยู่รวมกันเป็นเส้นสาย หรือกระจายอยู่ในน้ำ เหมาะสำหรับเป็นอาหารกุ้งวัยอ่อน ไดอะตอมบางชนิดหาและเลี้ยงได้ง่าย ได้แก่พวก *Chaetoceros* sp.และ *Skeletonema costatum*

อาหารสำเร็จรูป เป็นอาหารที่ปรุงแต่งจากวัตถุดิบหลายชนิดมารวมกัน เช่น ปลาป่น ปลาหมึก กากถั่ว แป้ง วิตามิน และแร่ธาตุต่างๆ โดยที่วัตถุดิบเหล่านี้นำมาคลุกรวมกันและอัดให้เป็นเม็ดมีขนาดเหมาะกับวัยและขนาดของกุ้ง โดยอาหารสำเร็จรูปที่นำไปเลี้ยงกุ้ง มีลักษณะที่ดีคือ ควรจะมีกลิ่น รสดี ดึงดูดให้กุ้งวิ่งไปหากิน และกินมาก มีคุณค่าทางอาหารสำหรับกุ้งครบถ้วนสมบูรณ์ เพื่อให้กุ้งเจริญและลอกคราบ กุ้งย่อยได้ง่าย ไม่เหม็นหืนหรือขึ้นรา อาหารจมน้ำเร็วมีขนาดเล็กพอเหมาะกับขนาดกุ้ง และทนอยู่ในน้ำได้ 3 ชมหรือมากกว่า

กุ้งที่เลี้ยงในแบบพัฒนาหรือกึ่งพัฒนานั้นเป็นการเลี้ยงกุ้งจำนวนมากในพื้นที่จำกัด อาหารที่มีอยู่ในน้ำที่เลี้ยงนั้นมีไม่พอ จำเป็นต้องมีการให้อาหารกับกุ้งตลอด ปริมาณการให้นั้นขึ้นอยู่กับจำนวนกุ้ง สภาพการเลี้ยง อายุ และความเครียดของกุ้ง กุ้งที่มีความเครียดมากจากสภาพของน้ำในบ่อจะกินน้อยและไม่ค่อยเจริญเติบโต กุ้งที่ไม่มีความเครียดจะกินอาหารได้มาก อาหารที่ดีมีคุณค่าทางอาหารครบถ้วน จะทำให้กุ้งเจริญเร็ว

การแปรรูปกุ้ง

การขนส่งกุ้งจากบ่อถึงโรงงาน

กุ้งที่จับจากบ่อ จะนำมาใส่ในน้ำแข็งเลย เพื่อให้อุณหภูมิของกุ้งตลดลงอย่างรวดเร็วถึงประมาณ 0 องศาเซลเซียส เรียกการนำกุ้งลงแช่น้ำแข็งนี้ว่า "การดองน้ำแข็ง" โดยการเทกุ้งลงในภาชนะที่ใช้สำหรับการขนส่งสลับกับน้ำแข็ง น้ำแข็งที่ใช้เป็นน้ำแข็งทุบ โดยที่ใช้น้ำแข็ง 1 ส่วนต่อกุ้ง 1 ส่วน เพื่อขนส่งจากบ่อไปยังโรงงานหรือแพกุ้ง เพื่อทำการประมูล ถ้าต้องทำการขนส่งเป็นระยะทางไกลอาจต้องใช้น้ำแข็งมากขึ้นเป็น 1.5 ส่วนต่อกุ้ง 1 ส่วน

คุณภาพของกุ้งจะขึ้นอยู่กับการรักษาอุณหภูมิของกุ้งหลังจากการจับแล้ว ถ้ากุ้งหลังจับมีอุณหภูมิสูงถึงประมาณ 10 องศาเซลเซียส จะทำให้กุ้งเสื่อมคุณภาพเร็วขึ้นกว่าการรักษาอุณหภูมิของกุ้งที่ 0 องศาเซลเซียส ถึง 5 เท่า

การขนส่งควรบรรจุกุ้งในภาชนะบรรจุที่มีขนาดไม่ใหญ่มากและมีขอบแข็ง ทำด้วยไม้หรือพลาสติก เนื่องจากภาชนะบรรจุที่ใหญ่ เมื่อบรรจุมาก น้ำหนักกุ้งที่อยู่ข้างบนจะกดทับทำให้กุ้งที่อยู่ข้างล่างทำให้เสื่อมคุณภาพได้เร็วขึ้น รถหรือพาหนะที่ใช้ในการขนส่งกุ้ง ควรจะต้องมีการบุด้วยฉนวนเพื่อป้องกันการสูญเสียความเย็นอย่างรวดเร็ว กุ้งที่จับแล้วควรส่งโรงงานหรือตลาดทันที อย่างรวดเร็ว เพื่อไม่ให้คุณภาพของกุ้งต้องเสียมาก

<u>วัตถุดิบสำหรับการผลิต</u>

โรงงานผู้ผลิตอาจรับวัตถุดิบจากชาวประมงโดยตรง หรือซื้อขายโดยการประมูลจากแพกุ้ง รวมทั้งรับซื้อจากท่าเรือ โดยส่วนใหญ่จะรับวัตถุดิบจากชาวประมงทั้งที่เป็นอิสระและที่มีความร่วมมือกับทางบริษัท กุ้งที่ได้จะเป็นกุ้งทั้งตัว เมื่อรับกุ้งเข้าสู่โรงงานแล้วจะทำความสะอาดกุ้งด้วยน้ำสะอาดที่มีส่วนผสมของคลอรีนประมาณ 5 ส่วนในล้านส่วน และทำการรักษาอุณหภูมิให้ไม่ให้เกิน 5 องศาเซลเซียส

เมื่อกุ้งวัตถุดิบถูกส่งมายังโรงงาน เจ้าหน้าควบคุมคุณภาพของโรงงานจะต้องทำการตรวจคุณภาพของกุ้งที่เข้าโรงงาน การตรวจคุณภาพกุ้งทางด้านกายภาพ เช่น การตรวจสอบกลิ่น มีกลิ่นที่ไม่สด หรือมีลักษณะที่แสดงว่ากุ้งนี้ไม่สด มีกลิ่นปนเปื้อนต่าง ๆ เช่น กลิ่นน้ำมันดีเซล หรือกลิ่นคล้ายยังข้าวโพด ฯลฯ ทางเคมีมีการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณยาปฏิชีวนะ เช่น กรดออกโซลินิค เป็นต้น

<u>การแปรรูป</u>

การแปรรูปกุ้งกุลาดำเพื่อทำเป็นผลิตภัณฑ์นั้นสามารถแบ่งออกได้ดังนี้คือ

1. การแปรรูปขั้นต้น

   การแปรรูปขั้นนี้เป็นการแต่งกุ้งเพื่อที่จะใช้เพื่อเข้ากระบวนการผลิตหรือเพื่อทำการเพิ่มมูลค่าต่อไป การแปรรูปในขั้นนี้มีหลายลักษณะ แล้วแต่ความต้องการ โดยมีลักษณะต่างๆ ดังนี้

   1.1 กุ้งเด็ดหัว (Raw Headless Shell-on) เป็นกุ้งที่ได้รับการเด็ดหัวออก โดยที่เปลือกและระยางส่วนลำตัวยังอยู่รวมทั้งยังมีหางติดอยู่ตามธรรมชาติ

   1.2 กุ้งเด็ดหัวปอกเปลือก (Raw Peeled Undeveined) เป็นกุ้งที่ถูกเด็ดหัวออก และปอกเปลือกออกหมด กุ้งที่มีการแต่งในลักษณะนี้ยังแบ่งออกเป็นลักษณะต่างๆ ได้เป็น

      1.2.1 กุ้งไม่ชักไส้ คือ กุ้งที่เด็ดหัว และปอกเปลือก

      1.2.2 กุ้งชักไส้ คือ กุ้งที่เด็ดหัว และปอกเปลือก และทำการผ่าหลังและดึงไส้ออก

      1.2.3 กุ้งตัดแต่งแบบผีเสื้อ คือ กุ้งที่เด็ดหัว และปอกเปลือก และทำการผ่าหลังและดึงไส้ออก และทำการผ่ากุ้งลึกและตลอดทั้งตัว แบะเนื้อออกเหมือนกับปีกผีเสื้อ (butterfly)

      1.2.4 กุ้งผ่าหลัง คือกุ้งที่เด็ดหัว ปอกเปลือก และทำการผ่าหลังให้ขาดจากกันเป็นทางยาวอย่างน้อย 4 ปล้องนับจากปล้องแรก และดึงไส้ออก

1.3 กุ้งแกะเปลือกไว้หาง (Headless Peeled Deveined Tail-on)

1.4 กุ้งแกะเปลือก เด็ดหัว ไว้หาง

1.4.1 กุ้งไว้หางไม่ผ่าหลัง

1.4.2 กุ้งไว้หางผ่าหลัง

- ชักไส้
- กุ้งตัดแต่งแบบผีเสื้อ
- กุ้งผ่าหลัง

1.5 กุ้งแกะเปลือก ไว้หาง เสียบไม้

1.6 กุ้งยืด ไว้หาง

1.7 กุ้งทั้งตัว

1.8 กุ้งต้ม

สำหรับกุ้งแช่แข็งนั้น กุ้งที่ผ่านกระบวนการแปรรูปขั้นต้นนี้ จะถูกนำไปแปรรูปในกระบวนการอื่นต่อไป เพื่อเป็น กุ้งสดแช่แข็ง กุ้งชุบแป้ง กุ้งชุบแป้งเทมปุระ กุ้งทอด เป็นต้น

2. กระบวนการแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่ากุ้ง

กระบวนการแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่ากุ้ง เป็นกระบวนการผลิตที่มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ผลิตภัณฑ์กุ้งสามารถนำมาใช้เป็นอาหารได้เลย หรือต้องผ่านกระบวนการในการปรุงอีกเพียงเล็กน้อย ผลิตภัณฑ์เหล่านี้ใช้กุ้งเป็นวัตถุดิบหลักและใช้ส่วนประกอบอื่นๆ ร่วมด้วย ผลิตภัณฑ์กุ้งที่อาจใช้กุ้งต้มมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตได้แก่ ข้าวปั้นหน้ากุ้ง เกี๊ยวกุ้งทอด เปาะเปี๊ยะกุ้ง กุ้งยืดไว้หางชุบแป้งเทมปุระ กุ้งผ่าหลังไว้หางชุบขนมปัง เป็นต้น ผลิตภัณฑ์ที่อาจใช้กุ้งสดเป็นวัตถุดิบ ได้แก่ กุ้งผ่าหลังไว้หางชุบขนมปัง กุ้งกะเทียม ข้าวกะเพรากุ้ง ขนมจีบกุ้ง ข้าวผัดพริกกุ้ง กุ้งต้มยำ และแกงกะหรี่กุ้ง เป็นต้น ซึ่งกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์เหล่าจะแตกต่างกันออกไป และเมื่อผลิตภัณฑ์ผ่านกระบวนการเพิ่มมูลค่าแล้ว จะต้องเข้าสู่กระบวนการถนอมอาหารซึ่งอาจใช้วิธีการถนอมอาหารหลักได้แก่ การแช่เยือกแข็ง และการทำเป็นผลิตภัณฑ์กระป๋อง

3. การแช่แข็งกุ้ง

กุ้งที่ผ่านกระบวนการแปรรูปขั้นต้นแล้ว อาจผ่านกระบวนการแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าก่อน หรือไม่ผ่านก็ตาม เมื่อต้องการถนอมรักษาเพื่อยืดอายุการเก็บด้วยการแช่แข็ง จะทำการแช่แข็งด้วยวิธีการแช่แข็งในลักษณะต่างๆ กัน ได้แก่ การแช่เยือกแข็งแบบ contact plate freezing หรือการแช่เยือกแข็งแบบ individual quick freezing ขึ้นอยู่กับลักษณะและราคาของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ โดยทั่วไปกุ้งที่ผ่านการแช่เยือกแข็งด้วยวิธี individual quick freezing จะมีราคาแพงกว่า เนื่องจากมีความสะดวกในการนำผลิตภัณฑ์ไปใช้ต่อ และกระบวนการผลิตต้องใช้ต้นทุนที่มากกว่า

การแช่แข็งแบบ contact plate freezing เหมาะสำหรับการแช่แข็งกุ้งสดที่เป็นแบบกุ้งทั้งตัว กุ้งเด็ดหัว เนื่องจากในการแช่แข็งแบบนี้ กุ้งจะถูกจัดเรียงในภาชนะสำหรับการแช่แข็ง ในปริมาณและขนาดที่กำหนด จากนั้นจะเติมน้ำลงไปในภาชนะสำหรับแช่ ให้เต็ม จากนั้นจึงนำภาชนะที่ถูกบรรจุแล้วไปทำการแช่เยือกแข็งในตู้แช่ โดยทำการ

ลดอุณหภูมิของกุ้งและน้ำลงจนถึงประมาณ -20 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 1-2 ชั่วโมง เครื่องแช่เย็นแบบนี้ใช้แอมโมเนียเป็นสารทำความเย็น จากนั้นจึงนำกุ้งที่แช่แข็งแล้วออกจากภาชนะสำหรับการแช่แข็ง และทำการบรรจุในบรรจุภัณฑ์

การแช่แข็งแบบ individual quick freezing (IQF) นั้นจะเป็นการแช่เยือกแข็ง โดยการเรียงกุ้งที่ต้องการแช่แข็งบนสายพานทีละตัว และทำการลำเลียงกุ้งผ่านเครื่องแช่เยือกแข็ง กุ้งแต่ละตัวจะถูกลดอุณหภูมิลงถึงประมาณ -40 องศาเซลเซียส ใช้เวลาประมาณ 5-10 นาที เครื่องแช่เยือกแข็งนี้อาจใช้สารทำความเย็นได้หลายอย่าง เช่น เป็นคาร์บอนไดออกไซด์เหลว หรือ ไนโตรเจนเหลว เป็นต้น เมื่อกุ้งถูกเคลื่อนตามสายพานผ่านออกจากเครื่องแช่เยือกแข็งแล้ว จะถูกบรรจุลงในบรรจุภัณฑ์ การแช่แข็งในลักษณะนี้เหมาะสำหรับผลิตภัณฑ์กุ้งสดที่ผ่านการตัดแต่ง และกุ้งที่ผ่านการเพิ่มมูลค่าลักษณะต่างๆ

4. ผลิตภัณฑ์กุ้งที่ไม่ต้องแช่เยือกแข็ง

ผลิตภัณฑ์กุ้งที่ไม่ต้องผ่านการแช่แข็ง ส่วนใหญ่จะเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทบรรจุกระป๋อง ส่วนใหญ่จะเป็นประเภทน้ำแกง เช่น แกงกะหรี่กุ้ง ต้มยำกุ้ง เป็นต้น กระบวนการผลิตของผลิตภัณฑ์เหล่านี้ใช้กุ้งที่ผ่านกระบวนการแปรรูปขั้นต้นมาเป็นส่วนประกอบ กับเครื่องแกงหรือองค์ประกอบอื่นๆ ของผลิตภัณฑ์ และนำไปเข้ากระบวนการให้ความร้อน เพื่อการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์และเป็นถนอมอาหาร

กุ้งแช่แข็งเพื่อการส่งออก

กุ้งที่นิยมนำมาบริโภคในประเทศไทยมีทั้งที่เป็นกุ้งน้ำจืดและกุ้งน้ำเค็ม(น้ำกร่อย) กุ้งน้ำจืดที่นิยมรับประทานได้แก่ กุ้งนาง (*Macrobachium rosenbergii*) กุ้งฝอย (*Macrobachium lanchesteri*) ส่วนกุ้งน้ำกร่อยและกุ้งทะเลนั้นมีอยู่หลายชนิดที่นำมาบริโภคได้แก่ กุ้งกุลาดำ (*Peneaus monodon*) กุ้งแชบ๊วย (*Peneaus merguiensis* และ *Penaeus indicus*) กุ้งตะกาด (*Metapeneaus* sp)และกุ้งมังกร (*Panulirus* sp) เป็นต้น แต่กุ้งที่มีการเลี้ยงกันมากที่สุดนั้นได้แก่ กุ้งกุลาดำ โดยที่มีการเลี้ยงตามชายฝั่งทะเลและในบริเวณพื้นที่น้ำจืด ผลผลิตกุ้งกุลาดำและกุ้งชนิดต่างๆแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2. ผลผลิตและมูลค่าของกุ้งทะเลและกุ้งอื่นๆ ในปีต่าง ๆ

ปริมาณ :ตัน, มูลค่า : ล้านบาท

ปี	กุ้งกุลาดำ		กุ้งอื่นๆ		รวม	
	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า
2535	179,357.52	25,054.86	5,526.80	445.28	184,884.32	25,500.14
2536	219,900.12	31,938.82	5,614.19	486.53	225,514.30	32,425.34
2537	259,083.77	39,410.22	4,362.20	334.84	263.445.97	39,745.25
2538	255,890.07	39,244.82	3,650.47	300.43	459,540.54	39,544.65
2539	235,035.12	39,914.82	4,464.41	397.31	239,499.53	40,312.13
2540	223,551.18	48,674.38	4,009.06	430.13	227,560.24	49,104.51

ที่มา : กรมประมง 2543

กุ้งที่ใช้ในการบริโภคได้จากการเพาะเลี้ยงและจับจากธรรมชาติ แต่กุ้งที่จับได้จากธรรมชาติมีปริมาณลดลงทุกปี โดยปริมาณที่จับได้ในปี 2536 มีปริมาณ 300 ตัน 2540 มีปริมาณ 200 ตัน (ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร) อาจมีสาเหตุจากการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมและการลดลงของป่าชายเลน ถึงอย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงกุ้งของเกษตรกร ทำให้มีผลผลิตกุ้งเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนั้นยังมีการนำเข้ากุ้งในปริมาณที่เพิ่มขึ้นทุกปีเช่นกัน

กุ้งที่ใช้ในการบริโภคและผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อการส่งออกของไทย นั้นไม่ได้ใช้เฉพาะกุ้งที่เพาะเลี้ยงขึ้นในประเทศเท่านั้น ประเทศไทยมีการนำเข้ากุ้งทะเลจากประเทศเพื่อนบ้าน จาก อินโดนิเซียและเวียตนามเป็นส่วนใหญ่ โดยมีการนำเข้าคิดเป็นประมาณ ร้อยละ 10 ของการส่งออกทั้งหมด ขึ้นอยู่กับภาวะการผลิตและราคาของกุ้งที่ผลิตในประเทศเป็นหลัก ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 บัญชีสมดุลกุ้งกุลาดำของไทย ปริมาณ: ตัน

ปี	ผลผลิต	นำเข้า	ส่งออก	บริโภคในประเทศ
2537	259,434	11,789	228,132	43,091
2538	258,120	15,926	238,124	33,922
2539	210,210	14,950	206,700	18.460
2540	170,200	36,000	204,800	1,400
2541	200,200	22,000	217,600	4,600

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร

กุ้งที่จับและผลิตได้รวมทั้งนำเข้าเหล่านี้ ใช้บริโภคภายในประเทศ และส่วนใหญ่ได้ส่งออก การส่งออกกุ้งของประเทศไทยได้เพิ่มขึ้นทุกๆ ปี จนประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกกุ้งรายใหญ่ของโลก ซึ่งปัจจุบันเป็นผู้ส่งออกกุ้งเป็นอันดับหนึ่งของโลก โดยที่มีปริมาณและมูลค่าการส่งออกเพิ่มขึ้นทุกปีตั้งแต่ปี 2529 จนถึง ปี 2537 และตั้งแต่ปี 2537 จนถึง

ปี 2542 ปริมาณการส่งออกกุ้งไม่ได้เพิ่มขึ้น โดยมีการส่งออกทั้งกุ้งแช่เยือกแข็งและกุ้งแปรรูปอื่นๆ รวมกันเป็นปริมาณ 240,000 ตัน และมีมูลค่าประมาณ 90,000 ล้านบาท ในปี 2542 ดังแสดงในตารางที่ 4 โดยตลาดที่สำคัญของการส่งออกกุ้งของไทยได้แก่ ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา สิงคโปร์ จีน ไต้หวัน และฮ่องกง โดยมีคู่แข่งที่สำคัญ ได้แก่ เอกวาดอร์ อินโดนิเซีย อินเดีย แมกซิโก และเวียตนาม เป็นต้น

ตารางที่ 4 ปริมาณมูลค่ากุ้ง และผลิตภัณฑ์กุ้งส่งออกของประเทศไทย ระหว่างปี 2529-2542

หน่วย : ปริมาณ (ตัน); มูลค่า ; (ล้านบาท)

ปี	กุ้งแปรรูปชนิดอื่น		กุ้งแช่เยือกแข็ง		การส่งออกทั้งหมด	
	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า
2528	18,156	1,560	24,041	3,439	42,197	4,999
2529	21,193	1,831	28,729	4,391	49,922	6,222
2530	26,306	2,573	33,903	5,749	60,215	8,321
2531	25,716	2,894	49,827	9,698	75,526	12,595
2531	25,816	3,204	74,928	16,059	100,108	19,262
2533	31,713	5,202	84,722	20,454	116,437	25,655
2534	38,351	6,947	121,240	26,681	159,591	33,627
2535	41,559	8,273	140,422	31,696	182,001	39,969
2536	45,975	11,156	148,886	37,842	194,861	48,998
2537	53,616	13,993	199,476	49,156	253,092	63,148
2538	61,980	17,013	175,091	50,302	237,071	67,315
2539	69,467	19,329	161,462	43,402	230,929	62,731
2540	75,409	28,532	137,082	47,185	212,491	75,717
2541	101,076	38,364	147,251	57,418	248,265	95,783
2542	113,299	40,743	127,229	46,839	240,529	87,850

ที่มา; กรมศุลกากร (2543)

การตรวจสอบและคุณภาพของกุ้งแช่แข็ง

เกณฑ์ของกุ้งแช่แข็งที่มีคุณภาพนั้นขึ้นอยู่กับตลาดและความต้องการของตลาด การตรวจสอบและคุณภาพของกุ้งแช่แข็งอาจมีแตกต่างกันออกไป แล้วแต่ประเทศต่างๆ จะกำหนด โดยทั่วไปจะมีข้อกำหนดที่ใกล้เคียงกัน ดังจะเห็นว่าข้อกำหนดที่จะสามารถนำเข้าในสหรัฐได้มีกำหนดไว้ทั้งทางกายภาพ ทางเคมี และทางจุลินทรีย์ ตาม U.S.C1621-1629 โดยที่มาตรฐานนี้จะใช้กับคุณภาพของกุ้งสดและกุ้งแช่แข็งที่มีความสะอาด รวมทั้งกุ้งที่ผ่านการผลิตมาแล้ว เมื่อเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกุ้งเยือกแข็ง ของกระทรวงอุตสาหกรรม มอก 115-2529

USC 1621-1629	มอก 115-2529

นิยาม	นิยาม
• กุ้งสด (uncoagulated protein) • กุ้งลวก (unboiled) กุ้งที่ถูกให้ความร้อนในช่วงเวลาที่สั้นโดยที่อุณหภูมิที่ผิวของผลิตภัณฑ์สูงพอที่จะทำให้เกิดการ coagulate ของโปรตีน • กุ้งสุก (cooked-heated) กุ้งที่ถูกให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาที่จะทำให้กึ่งกลางของกุ้งร้อนพอที่จะทำให้โปรตีนเกิด coagulation	• กุ้งดิบ (raw) หมายถึง กุ้งสด หรือกุ้งที่ได้รับความร้อนโดยไม่ทำให้โปรตีนที่ผิวเนื้อกุ้งแข็งตัว • กุ้งกึ่งสุก (preboiled) กุ้งที่ได้รับความร้อนโดยทำให้โปรตีนที่ผิวเนื้อกุ้งแข็งตัว แต่จะไม่ทำให้โปรตีนในตัวกุ้งแข็งตัว • กุ้งสุก (cooked) กุ้งที่ได้รับความร้อนโดยทำให้โปรตีนของกุ้งแข็งตลอดทั้งตัว
ลักษณะของกุ้งที่มีขายในท้องตลาด • กุ้งทั้งตัว (head on) กุ้งที่มีหัว เปลือก และหางอยู่ • กุ้งไม่มีหัว (headless) เฉพาะส่วนหัวของกุ้งถูกเอาออก แต่เปลือกและหางยังอยู่ • กุ้งลอกเปลือก เป็นกุ้งที่ลอกเปลือก แต่เส้นกลางหลังยังไม่ถูกเอาออกและหลังยังไม่ถูกผ่า และยังมีส่วนเปลือกปล้องสุดท้ายและส่วนหางอยู่ • กุ้งลอกเปลือกและไม่มีหาง เป็นกุ้งที่ลอกเปลือก รวมทั้งเปลือกของกุ้งปล้องสุดท้ายและส่วนหางถูกเอาออก แต่เส้นกลางหลังยังไม่ถูกเอาออกและหลังยังไม่ถูกผ่า • กุ้งลอกเปลือกและผ่าหลัง เป็นกุ้งที่ลอกเปลือก ส่วนเปลือกของกุ้งปล้องสุดท้ายและส่วนหางยังอยู่ และผ่าหลังเอาเส้นกลางหลังออก ตัวกุ้งยังมีลักษณะกลม • กุ้งลอกเปลือก ผ่าหลัง และไม่มีหาง เป็นกุ้งที่ลอกเปลือก รวมทั้งเปลือกของกุ้งปล้องสุดท้ายและส่วนหางถูกเอาออก และผ่าหลังเอาเส้นกลางหลังออก ตัวกุ้งยังมีลักษณะกลม • กุ้งลอกเปลือก ผ่าหลัง และแบะออกเป็นรูปผีเสื้อ (peel and deveined, butterfly, tail on) เป็นกุ้งที่ลอกเปลือก ส่วนเปลือกของกุ้งปล้องสุดท้ายและส่วนหางยังอยู่ และผ่าหลังเอาเส้มนกลางหลังออก และแบะออกเป็นรูปผีเสื้อ • กุ้งลอกเปลือก ผ่าหลังจนถึงปล้องที่ห้า (peeled and deveined,	ชนิดของกุ้งแช่เยือกแข็ง 1. กุ้งทั้งตัว (whole shrimp) ได้แก่ กุ้งที่มีหัว (cephalothorax) ลำตัว และหางครบ ไม่เอาเปลือกออก 2. กุ้งเด็ดหัว (headless) ได้แก่ กุ้งตามข้อ 1. ที่เอาหัวออก 3. กุ้งเนื้อไว้หาง (peeled tail on) ได้แก่กุ้งที่เอาหัวและเปลือกออกแล้ว แต่ยังคงเหลือกเปลือกปล้องสุดท้ายที่ตัดกับหางและหางอยู่ แบ่งออกเป็น 4 แบบคือ 3.1 แบบเต็มตัว (round) 3.2 แบบเต็มตัวซักไส้ (round and deveined) ได้แก่กุ้งตามข้อ 3.1 ที่เอาไส้ออก 3.3 แบบผีเสื้อ (split or cutlet) ได้แก่กุ้งตามข้อ 3.2 ที่ผ่าหลังลึกเกินครึ่งหนึ่งของความหนาของตัว แล้วแผ่ออกเป็นรูปผีเสื้อ 3.4 แบบผ่าหลัง (western style) ได้แก่ กุ้งตามข้อ 3.2

western style) เป็นกุ้งที่ลอก เปลือก ส่วนเปลือกของกุ้งปล้องสุดท้ายและส่วนหางยังอยู่ และผ่าหลังถึงปล้องที่ห้า • กุ้งที่มีการตัดแต่งตามที่ลูกค้าสั่ง หรือการตัดแต่งพิเศษระบุไว้บนภาชนะบรรจุ	ที่ผ่าหลังลึกผ่านแถบกลางลำตัวได้ขาดจากกันนับจากปล้องที่ 1 ทางหัวจนถึงปล้องที่ 4 4. กุ้งเนื้อไม่ไว้หาง (peeled tail off)ได้แก่ กุ้งที่เอาหัว หาง และเปลือกออกทั้งหมด แบ่งออกเป็น 4 แบบ คือ 4.1 แบบเต็มตัว (peeled) 4.2 แบบเต็มตัวชักไส้ (peeled and deveined) ได้แก่กุ้งตามข้อ 4.1 ที่เอาไส้ออก 4.3 แบบผีเสื้อ (split or cutlet) ได้แก่กุ้งตามข้อ 4.2 ที่ผ่าหลังลึกเกินครึ่งหนึ่งของความหนาของตัว แล้วแผ่ออกเป็นรูปผีเสื้อ 4.4 แบบผ่าหลัง (western style) ได้แก่ กุ้งตามข้อ 4.2 ที่ผ่าหลังลึกผ่านแถบกลางลำตัวได้ขาดจากกันนับจากปล้องที่ 1 ทางหัวจนถึงปล้องที่ 4 5. กุ้งชิ้น (pieces) ได้แก่กุ้งที่มีปล้องน้อยกว่า 5 ปล้อง สำหรับกุ้งที่มีขนาดเท่ากับหรือน้องกว่า 50 ตัวต่อกิโลกรัม หรือ กุ้งที่มีปล้องน้อยกว่า 4 ปล้องสำหรับกุ้งที่มีขนาดมากกว่า 50 ตัวต่อกิโลกรัม 6. กุ้งชนิดอื่นๆ ได้แก่ กุ้งที่แตกต่างจากข้อ 1 ถึง 5 และต้องระบุชนิดหรือแบบบนฉลากอย่างชัดเจน เพื่อหลีกเลี่ยงการเข้าใจผิดที่จะมี

	ขึ้นต่อผู้บริโภค
การประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์กุ้งแช่แข็ง 1 การตรวจพิจารณาผลิตภัณฑ์แช่เยือกแข็ง • การสูญเสียความชื้น (dehydration) หมายถึงการที่กุ้งสูญเสียความชื้นจากเนื้อกุ้งที่สังเกตได้หลังจากที่ glaze และเปลือกถูกนำออกจากผลิตภัณฑ์ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงอื่นๆที่แตกต่างไปจากลักษณะปกติ การสูญเสียความชื้นแบ่งออกเป็นระดับต่างๆ ได้เป็น • การสูญเสียความชื้นเล็กน้อย (slight dehydration) หมายถึงผลิตภัณฑ์ที่สังเกตได้ยากว่ามีการสูญเสียความชื้นแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ • การสูญเสียความชื้นในระดับกลาง (moderate dehydration) หมายถึงผลิตภัณฑ์ที่สังเกตได้ว่ามีการสูญเสียความชื้น แต่มีการเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไม่รุนแรง • การสูญเสียความชื้นอย่างมาก (excessive dehydration) เป็นการสูญเสียความชื้นของผลิตภัณฑ์อย่างมากจนมีผลทำให้ผลทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงอย่างมาก 2 การตรวจพิจารณากุ้งสดหรือกุ้งที่ผ่านการละลายน้ำแข็ง • ความสม่ำเสมอของขนาดของผลิตภัณฑ์กุ้ง • โดยการสังเกตและสุ่มกุ้งทั้งตัวที่มีขนาดใหญ่ที่สุดจำนวนไม่เกินร้อยละ 10 ที่ไม่แตกหักมาชั่งน้ำหนัก • โดยการสังเกตและสุ่มกุ้งทั้งตัวที่มีขนาดเล็กที่สุดจำนวนไม่เกินร้อยละ 10 ที่ไม่แตกหัก มาชั่งน้ำหนัก • นำน้ำหนักของกุ้งที่มีน้ำหลักมากที่สุดหารด้วยน้ำหนักของกุ้งที่มีน้ำหนักน้อยที่สุด จะได้ผลเป็นอัตราส่วนของความสม่ำเสมอ 3 จุดดำ (black spot) ที่ส่วนหัวของกุ้ง เนื่องจากการทำความสะอาดที่ไม่ดี โดยอาจมีส่วนของกุ้งที่มีสีดำหรือสีคล้ำ ซึ่งเป็นผลทำให้คุณภาพทางประสาทสัมผัสของกุ้งลดลง ไม่ว่ากุ้งนั้นจะเป็นแบบที่มีเปลือกหรือไม่มีเปลือก จุดคล้ำหรือดำนี้ถูกเพ่งเล็งมาก ถ้ามีปรากฏ	การประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์กุ้งแช่เยือกแข็ง ใน มอก ไม่จัดแบ่งกุ้งแช่เยือกแข็งออกเป็นเกรดต่างๆ แต่กำหนดคุณสมบัติที่ต้องการได้แก่ 1.ลักษณะทั่วไป 1.1 กุ้งเยือกแข็งในภาชนะบรรจุเดียวกันต้องเป็นกุ้งชนิดและแบบเดียวกัน เป็นกุ้งดิบ กุ้งกึ่งสุก หรือกุ้งสุกอย่างเดียวกัน มีขนาดสม่ำเสมอกัน ถ้าเป็นกุ้งทั้งตัวหรือกุ้งเด็ดหัว ต้องเป็นกุ้งชนิด (species) เดียวกัน 1.2 กุ้งแช่เยือกแข็งต้องมีสีตามชนิด (species) ของกุ้งและสะอาด 2. การตรวจสอบที่ทำโดยการตรวจพินิจกลิ่นและลักษณะเนื้อ 2.1 กลิ่น หลังจากทำให้สุกแล้วต้องมีกลิ่นเฉพาะของกุ้ง ปราศจากกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เมื่อตรวจสอบแล้วต้องได้คะแนนไม่น้อยกว่า 3 คะแนน โดยพิจารณาดังนี้ ดีมาก มีลักษณะของกลิ่นตั้งแต่กลิ่นสดไปจนถึงไม่มีกลิ่นใดๆ 5 คะแนน ดี เริ่มมีกลิ่นแรงขึ้น แต่ไม่มีกลิ่นคาวที่น่ารังเกียจที่แสดงถึงการเน่าเสีย 4 คะแนน

นับได้ 3 ตำแหน่งและขนาดที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็กมากหรือขนาดใหญ่กว่าปลายดินสอ ได้แพร่เข้าไปในเนื้อกุ้งหรือยังอยู่บนผิว หรือมีขนาดใหญ่กว่า 1/3 ของพื้นที่ของเปลือกที่เล็กที่สุด

4 สำหรับกุ้งที่แตกหักไม่สมบูรณ์ หรือเป็นชิ้น

- กุ้งเป็นชิ้น (shrimp pieces) มีอยู่ 2 ลักษณะ
  - ชิ้นกุ้งนับได้ 70 ชิ้นหรือน้อยกว่าในหนึ่งปอนด์ (0.45 กิโลกรัม) สำหรับกุ้งที่มีปล้องอยู่น้อยกว่า 5 ปล้อง ทั้งที่มีส่วนหางหรือไม่มี
  - กุ้งที่นับได้มากกว่า 70 ชิ้นในหนึ่งปอนด์ รวมถึงกุ้งที่มีน้อยกว่า 4 ปล้อง หรือส่วนที่แตกหักจากกุ้งทั้งตัวแต่มีขนาดใหญ่กว่า 2/3 ของความหนาของกุ้ง
- กุ้งไม่สมบูรณ์ (broken shrimp) หมายถึงกุ้งที่แตกออกจากกุ้งทั้งตัว และมีขนาดเกินกว่า 1/3 ของความหนาของตัวกุ้ง
- กุ้งที่เสียหาย (damaged shrimp) หมายถึงกุ้งที่แตกไม่สมบูรณ์จากการถูกบดหรือกระแทก ทำให้เสียรูปไม่มีลักษณะให้เห็นเป็นชิ้นกุ้ง
- กุ้งที่ไม่ต้องการ และส่วนหัว (unacceptable shrimp and heads)
  - ส่วนขา (walking legs) ทั้งที่ติดอยู่กับตัวกุ้งหรือไม่ติดอยู่กับตัวกุ้ง
  - ส่วนเปลือกและหนวดหรือชิ้นส่วนที่ไม่ติดอยู่กับตัวกุ้ง
  - ส่วนของแพนหาง (flipper) หมายถึงส่วนของหางที่มีส่วนของปล้องสุดท้ายหรือไม่มี และทั้งที่มีเนื้อกุ้งติดหรือไม่มี
  - ส่วนที่ไม่พึงประสงค์ หมายถึงวัสดุที่ไม่ใช่ส่วนของกุ้งแต่ไม่มีอันตรายติดมากับตัวอย่างกุ้ง
- กุ้งที่ถูกลอกเปลือกไม่สมบูรณ์ (improper peeled shrimp) หมายถึงการที่กุ้งยังมีหัวติด หรือถูกนำหัว รยางค์ว่ายน้ำ หรือส่วนหางออกไม่หมด สำหรับกุ้งที่ลอกเปลือกและไม่มีหาง หรือในการกลับกันคือ กุ้งทั้งตัวแต่ขาดหัว หรือหาง (กุ้งที่ยังไม่ลอกเปลือก shell on shrimp ถ้าเนื้อส่วนปล้องสุดท้ายหาย ถือ ว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่เสียหาย
- กุ้งที่ถูกผ่าหลังและเอาเส้นหลังออกไม่สมบูรณ์ หมายถึงเส้น

พอใช้ มีกลิ่นคาวจัด และกลิ่นผิดปกติเล็กน้อย 3 คะแนน

ไม่ดี มีกลิ่นผิดปกติชัดเจน (กลิ่นแอมโมเนีย) 2 คะแนน

เหม็นเน่า มีกลิ่นเหม็นเน่าชัดเจน ไม่เหมาะแก่การบริโภค 1 คะแนน

2.2 ลักษณะเนื้อ หลังจากทำให้สุกแล้ว ต้องมีเนื้อแน่นไม่ยุ่ย

3. การเคลือบ (เฉพาะกุ้งแช่เยือกแข็งที่ใช้น้ำเคลือบ) กุ้งแช่เยือกแข็ง อาจจะเคลือบแบบเป็นก้อนหรือแบบเป็นตัวก็ได้ น้ำเคลือบที่แข็งตัวจะต้องเคลือบผลิตภัณฑ์อย่างทั่วถึง

การตรวจสอบให้ทำโดยการพินิจ

4. ด่างที่ระเหยได้

ต้องไม่เกิน 30 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อน้ำหนักเนื้อ 100 กรัม

5. ข้อบกพร่องที่ยอมให้มีได้

กุ้งแช่เยือกแข็งอาจมีข้อบกพร่องได้แต่ต้องไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนดไว้ในตารางที่ 1 ในมอก

การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพินิจสำหรับชนิดของข้อบกพร่องที่คิดเป็นร้อยละโดยจำนวนตัว สำหรับการทดสอบที่ทำโดยการตรวจพินิจและชั่ง สำหรับข้อบกพร่องที่คิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก และข้อบกพร่องที่ยอมให้มีได้ให้คิดจากน้ำหนัก 500 กรัม

หลัง (alimentary canal) ที่อาจมีทรายหรือส่วนตะกอน หรือไข่ ซึ่งสมควรจะต้องถูกกำจัด แต่ยังมีอยู่กับกุ้งสำหรับกุ้งลอกเปลือกและผ่าหลัง สงหรับกุ้งพวกที่มีขนาด 70 ชิ้น หรือน้อยกว่าต่อปอนด์ เส้นกลางหลังที่เหลืออยู่ยาวกว่า 1 ปล้องลำตัว ถือว่าเป็นข้อเสียหาย สำหรับกุ้งที่ขนาด 70-500 ชิ้นต่อปอนด์ เส้นกลางหลังหรือไข่ถ้ามีอยู่ยาวเกิน 2 ปล้องถือว่าเป็นข้อเสียหายโดยมีข้อสังเกต สำหรับกุ้งที่มีขนาด 500 ชิ้นต่อปอนด์ เส้นกลางหลังหรือไข่ไม่ถือว่าเป็นข้อเสียหาย 5 การตรวจสอบกุ้งที่ทำให้สุกแล้ว • สมบัติทางกายภาพ สมบัติทางกายภาพของกุ้งที่สุกแล้วจะต้องแน่น ยืดหยุ่นได้ แต่ไม่เหนียว มีความชุ่มชื้น แต่ไม่เละ สมบัติทางกายภาพที่ไม่ต้องการคือ เหนียว แห้ง หรือเละ ซึ่งต่างออกไปจากลักษณะของกุ้งปกติ ซึ่งเพิ่งจับได้และได้ถูกทำให้สุกทันที ลักษณะทางกายภาพที่ไม่ต้องการอาจจำแนกระดับเป็น - เล็กน้อย คือ มีความเหนียวเล็กน้อย แห้ง ไม่แฉะเละ - ปานกลาง คือ มีความเหนียวปานกลาง แห้ง หรือแฉะเละ - มาก คือ มีความเหนียวมาก แห้งมาก หรือ แฉะเละ เมื่อตัวอย่างถูกนำมาตรวจเพื่อหาข้อตำหนิทางกายภาพ ตามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ข้อตำหนิจะถูกบันทึกและคะแนนของข้อตำหนิจะถูกพิจารณาคะแนนที่เป็นข้อตำหนิจะถูกรวมกัน คะแนนรวมนี้จะถูกนำมากำหนดเป็น unit grade ของตัวอย่างนั้นระบบการให้คะแนนนี้จะถือว่าตัวอย่างที่สมบูรณ์มีคะแนนเท่ากับ 0 US Grade A Flavor and Odor - Good Maximum number of defect points - 15 US Grade B Flavor and odor - Reasonably Good Maximum number of defect points - 30	แต่ในตัวอย่าง 500 กรัม ถ้ามีข้อบกพร่องชนิดเดียวกันหรือหลายชนิดรวมกันมากกว่า 4 ข้อบกพร่อง ให้ถือว่าผลิตภัณฑ์นั้นเป็นผลิตภัณฑ์บกพร่อง ดังแสดงในตารางที่ 1 ในมอก

การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์กุ้งแช่แข็ง

ผลิตภัณฑ์จะต้องถูกวิเคราะห์คุณภาพตามวิธีใน Official Methods of Analysis ของ Association of Official Analytical Chemistry (AOAC) ตีพิมพ์ครั้งที่ 14 section 18.004 (หน้า 331) และ section 32.059 และ 32.060 (หน้า 613)

1. การวัด Cooking time "Official Methods of Analysis" section 18,004
   การวัดเวลาสุกของกุ้งตัวอย่างนั้น จะถือว่าสุกเมื่อถูกให้ความร้อนจนมีอุณหภูมิภายใน (internal temperature) มากกว่า 70 องศาเซลเซียส ซึ่งเวลาที่จะทำให้กุ้งสุกจะขึ้นอยู่กับขนาดของกุ้งตัวอย่าง และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำให้สุก ในการวัดเวลาที่ทำให้สุก ทำได้โดยใช้เครื่องมือวัดความร้อนพร้อมกับ probe ที่ทราบความยาวของ probe ทำการวัดอุณหภูมิภายในของกุ้ง อุปกรณ์ในการทำให้สุก รวมทั้งน้ำมันสำหรับทอด ซึ่งจะต้องไม่มีสิ่งต่างๆปนอยู่ซึ่งจะไม่ทำให้รบกวนการตรวจสอบทางประสาทสัมผัส วิธีในการให้ความร้อนแก่กุ้ง อาจใช้อุปกรณ์ต่างๆ เช่น อุปกรณ์ในการอบ การอบโดยใช้ foil หุ้ม ต้ม ต้มในถุง ทอดในกระทะก้นแบน ทอดในน้ำมัน อบ ทอดบน grill อบ นึ่ง และใช้ microwave
2. ปริมาณบรรจุทั้งหมด (Net contents of Frozen Food Containers-Unglazed Food) ทำการตรวจตามวิธี Official Methods of Analysis sections 32.059 และ 32.030 ซึ่งมีเกณฑ์ในการเลือกเครื่องชั่งดังนี้
   - สำหรับบรรจุภัณฑ์มีขนาด 5 ปอนด์ (2.27 กก)หรือต่ำกว่า ใช้เครื่องชั่งที่มีความสามารถในการวัดละเอียดได้ 0.01 oz (0.28 กรัม)
   - สำหรับบรรจุภัณฑ์ที่มีขนาดเกิน 5 ปอนด์ (2.27 กก) ใช้เครื่องชั่งที่มีความสามารถในการวัดละเอียดถึง 0.025 oz (0.71 กรัม)

   ทำการติดตั้งเครื่องชั่งบนที่ที่มั่นคงและได้ระดับ ปรับเครื่องให้อ่านได้ตรง 0 เมื่อไม่มีตัวอย่าง หรือแขนวัดอยู่ที่ rest point จากนั้นนำบรรจุภัณฑ์ของตัวอย่างกุ้งออกจากตู้แช่ ทำการกำจัดเกล็ดน้ำแข็งจากส่วนนอกของบรรจุภัณฑ์ และทำการชั่งน้ำหนักทันที (W) เปิดบรรจุภัณฑ์และนำผลิตภัณฑ์ออกจากบรรจุภัณฑ์ รวมทั้งเกล็ดน้ำแข็ง ทำบรรจุภัณฑ์ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องและทำการชั่งน้ำหนัก (E) น้ำหนักผลิตภัณฑ์ = W - E
3. น้ำหนักสุทธิของผลิตภัณฑ์ (Net contents of Frozen Seafood-Glazed Seafoods) วิเคราะห์ตาม AOAC "Official Methods of Analysis" section 18,002
   การวัดสามารถทำได้โดยใช้เครื่องชั่งที่เหมาะสม ตาม section 32.059 และได้ติดตั้งและปรับ 0 (set zero) เรียบร้อยแล้ว นำผลิตภัณฑ์ออกจากตู้แช่ เปิดและนำผลิตภัณฑ์ออกมาและละลายน้ำแข็ง โดยใช้น้ำเย็นผ่านจนกระทั่งน้ำแข็งหมด แล้วนำผลิตภัณฑ์ไปไว้ใน circular sieve No. 8, เส้นผ่าศูนย์กลาง 20 ซม สำหรับบรรจุภัณฑ์ขนาดต่ำกว่า 0.9 กก และใช้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง สำหรับบรรจุภัณฑ์ขนาด 0.9 กก โดยที่ไม่ต้องเขย่าหรือแกว่ง ค่อยๆเอียง sieve ทำเป็นมุม 17-20 องศา เพื่อให้สะเด็ดน้ำได้ง่ายขึ้น ตั้งไว้เป็นเวลา 2 นาที (โดยการจับเวลา) ทำการวัดน้ำหนักของผลิตภัณฑ์ทันที น้ำหนักที่ได้เป็นนน สุทธิ
4. น้ำหนักหลังสะเด็ดน้ำของกุ้งแช่แข็ง (Drained Weight of Frozen Shrimp) วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC "Official Methods of Analysis" sections 18.016 และ 18.017

อุปกรณ์ที่ใช้ประกอบด้วยตะกร้าลวดที่มีขนาดใหญ่พอที่จะใส่ผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในภาชนะบรรจุ และมีช่องเปิดเล็กพอที่จะกันไม่ให้ผลิตภัณฑ์หลุดออกจากตะกร้า เครื่องชั่งที่ชั่งละเอียดได้ 0.25 กรัม และ sieve No 8 เส้นผ่าศูนย์กลาง 20 และ 30 ซม

วิธีทำ นำผลิตภัณฑ์จากแต่ละบรรจุภัณฑ์ใส่ลงในตะกร้าลวดและจุ่มลงในถังขนาด 1.5 ลิตร ที่มีน้ำซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 26±3 องศาเซลเซียส โดยให้ส่วนบนของตะกร้าเลยจากระดับน้ำ และที่ก้นของถังเปิดน้ำที่มีอุณหภูมิเดียวกันนี้เข้ามาในถังโดยให้มีความเร็วในการไหล 4-11 ลิตรต่อนาที ทันทีที่น้ำแข็งในผลิตภัณฑ์ละลาย โดยการสังเกตจากการนุ่มของตัวกุ้ง ให้รีบนำผลิตภัณฑ์ใส่ใน sieve ขนาด 20 ซม ถ้าเป็นบรรจุภัณฑ์ขนาดไม่เกิน 0.45 กก และขนาด 30 ซม ถ้าบรรจุภัณฑ์ขนาด 0.9 กก และเกลี่ยให้กระจาย ทิ้งผลิตภัณฑ์ไว้ใน sieve โดยเอียง sieve ประมาณ 30 องศา จากระนาบ จับเวลา 2 นาที จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ไปชั่ง

ผลของการแช่แข็งต่อคุณภาพทางกายภาพของผลิตภัณฑ์กุ้ง

หลักพื้นฐานในการแช่เยือกแข็งคือ การลดอุณหภูมิของอาหารหรือผลิตภัณฑ์นั้นให้ต่ำลงจนถึงระดับที่สิ่งมีชีวิตนั้นไม่สามารถจะดำเนินปฏิกิริยาทางชีวเคมีต่อไปได้ ตามปกติจุลินทรีย์ที่มีปะปนอยู่ในอาหารนั้นจะชะงักการเจริญเติบโตและหยุดกระบวนการทางเมแทบอลิซึมลงแต่เนื้อเยื่อของอาหารจะยังคงลักษณะอยู่ได้ โดยทั่วไปมักจะเป็นที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า ซึ่งหลักสำคัญคือ การเปลี่ยนสภาวะของน้ำในอาหารที่เป็นของเหลวให้เป็นน้ำแข็ง เพื่อมิให้น้ำนั้นสามารถทำหน้าที่ต่างๆในปฏิกิริยาเคมี และไม่เป็นสับสเตรทให้กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ปะปนมากับอาหารได้ (สายสนม ประดิษฐดวง, 2539) แม้ว่าการแช่เยือกแข็งจะเป็นวิธีที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีถนอมอาหารอื่นๆ ก็ตาม แต่ก็ยังมีผลในการทำลายผลิตผลหรือผลิตภัณฑ์ที่นำไปแช่เยือกแข็งได้ ความรุนแรงของการทำลายนั้นขึ้นกับลักษณะของกระบวนการแช่เยือกแข็งและของผลิตภัณฑ์ (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก, 2532; สายสนม ประดิษฐดวง, 2539)

การเปลี่ยนแปลงที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำแช่เยือกแข็งอาจเกิดขึ้นในขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่ง นับตั้งแต่เป็นวัตถุดิบจนกระทั่งถึงมือผู้บริโภค การเปลี่ยนแปลงนี้สามารถแยกได้เป็น 4 ขั้นตอนคือ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นก่อนการแช่เยือกแข็ง การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในขณะแช่เยือกแข็ง การเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บในสภาพแช่เยือกแข็ง และการเปลี่ยนแปลงภายหลังการละลายน้ำแข็งออก (มยุรี จัยวัฒน์, 2529)

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นก่อนการแช่เยือกแข็ง

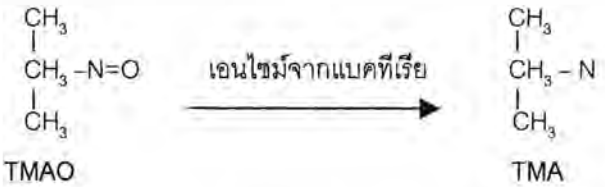
การเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นตั้งแต่หลังจากสัตว์น้ำถูกจับขึ้นมาจากแหล่งน้ำ และเมื่อตายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในลักษณะที่ต่างจากขณะที่สัตว์น้ำยังมีชีวิตอยู่ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นก่อนการแช่เยือกแข็งเกิดจากสาเหตุที่สำคัญ 2 ประการคือ

1. การเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ในตัวสัตว์น้ำเอง

สัตว์น้ำที่ยังมีชีวิตจะมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีอยู่ตลอดเวลา เช่น กระบวนการสร้างและสลาย (metabolism) การปรับสภาพความเข้มข้นของสารละลายในเนื้อเยื่อให้เหมาะกับความเข้มข้นของน้ำทะเล (osmoregulation) ซึ่งเป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบบางชนิด เช่น ยูเรีย ไกลซีน เป็นต้น แต่สัตว์น้ำที่ตายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีอีกลักษณะหนึ่งโดยเอนไซม์ที่มีอยู่ในตัวสัตว์น้ำจะย่อยสลาย ATP ผ่านกระบวนการ ATP hydrolysis ให้สารประกอบโมเลกุลเล็กๆ เกิดขึ้นมากมาย ทำให้เกิดสี และกลิ่นรสในสัตว์น้ำ ซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของสารนั้น (ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, 2538; มยุรี จัยวัฒน์, 2529; วรรณวิบูลย์ กาญจนกุญชร, 2539; Morrison, 1993)

2. การเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์จากแบคทีเรียที่ติดอยู่ในตัวสัตว์น้ำ

หลังจากที่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่มีอยู่ในตัวสัตว์น้ำแล้ว เอนไซม์จากแบคทีเรียจะทำหน้าที่ย่อยสลายสารต่างๆของสัตว์น้ำ ทำให้สัตว์น้ำมีกลิ่นเหม็นและเน่าเสียในที่สุด (ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, 2538; Morrison, 1993) เช่น การย่อยสลายสารประกอบtrimethylamine oxide (TMAO) ซึ่งพบมากในสัตว์น้ำประเภทปลา ปกติ TMAO จะไม่มีกลิ่น แต่แบคทีเรียจะใช้เอนไซม์ย่อยสลาย TMAO ให้เปลี่ยนเป็น trimethylamine (TMA) ดังสมการต่อไปนี้



TMAO TMA

เนื่องจากสัตว์น้ำที่เน่าเสียมีการสะสมของ TMA ไว้มาก จึงมักใช้ปริมาณ TMA เป็นดัชนีชี้การเน่าเสียของสัตว์น้ำ อย่างไรก็ตามมีสัตว์น้ำบางชนิดในขณะที่มีการเน่าเสียเกิดขึ้นแต่ยังคงมีปริมาณ TMA เพียงเล็กน้อยเท่านั้น และสัตว์น้ำบางชนิดมีปริมาณ TMA มากแต่ยังคงนำไปบริโภคได้

การเปลี่ยนแปลงในระยะแรกนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิทั้งสิ้น ดังนั้นการลดการเปลี่ยนแปลงเพื่อชะลอการเสื่อมเสียของสัตว์น้ำจึงขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในการเก็บรักษาหลังจากจับสัตว์น้ำขึ้นมาจากแหล่งน้ำ ดังนั้นเมื่อจับสัตว์น้ำแล้วควรเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ เช่น ดองในน้ำแข็ง หรือเก็บในห้องเย็น เนื่องจากการเก็บรักษาสัตว์น้ำที่อุณหภูมิต่ำจะช่วยให้ปฏิกิริยาต่างๆ ของเอนไซม์เกิดขึ้นได้ช้าลง (มยุรี จัยวัฒน์, 2529)

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นขณะแช่เยือกแข็ง

การแช่เยือกแข็งจะเป็นผลให้เกิดผลึกน้ำแข็งขึ้นภายในอาหาร ขนาดหรือการเปลี่ยนแปลงขนาดของผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นนี้จะมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารแช่เยือกแข็งเมื่อนำผลิตภัณฑ์ไปละลายน้ำแข็งออก การเพิ่มขนาดของผลึกมักจะเกิดขึ้นในระหว่าง 1 เดือนแรกของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาวะแช่เยือกแข็ง ถ้าผลึกน้ำแข็งเริ่มต้นมีขนาดเล็กก็จะมีโอกาสในการขยายขนาดของผลึกน้ำแข็งได้น้อยกว่าผลึกน้ำแข็งเริ่มต้นที่มีขนาดใหญ่ (Boast, 1985)

อัตราเร็วของการแช่เยือกแข็งเป็นเรื่องสำคัญที่มีความสัมพันธ์กับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น การแช่เยือกแข็งแบบช้า (slow หรือ sharp freezing) การแช่เยือกแข็งแบบเร็ว (rapid หรือ quick หรือ fast freezing) และการแช่เยือกแข็งแบบเร็วมาก (ulttra rapid freezing) อาจแบ่งได้ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 อัตราเร็วในการแช่เยือกแข็งจากวิธีการแช่เยือกแข็งที่ต่างกัน โดยใช้หลักการวัดความเร็วของการเกิดผิวหน้าน้ำแข็ง

วิธีในการแช่เยือกแข็ง	อัตราเร็วของการแช่เยือกแข็ง (เซนติเมตร/ชั่วโมง)
Ultra rapid freezing	> 10
Rapid freezing	1-10
Normal freezing	0.3-1
Slow freezing	0.1-0.3
Very slow freezing	< 0.1

ที่มา : Boegh-Soerensen and Jul (1985)

จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์กุ้ง

กุ้งที่มีสุขภาพแข็งแรงโดยทั่วไปแล้ว จะมีจุลินทรีย์อาศัยอยู่บนผิวและซอกหลืบของตัวกุ้ง ทั้งที่เปลือกและระยางทั้งหมด จุลินทรีย์เหล่านี้อาจเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรคกับกุ้งและผู้บริโภค และพวกที่สามารถก่อให้เกิดโรคกับกุ้ง หรือกับผู้บริโภคได้

กุ้งทะเลที่มีโรคกุ้งจะทำให้คุณภาพและราคาของกุ้งลดลง การยอมรับของตลาดจากต่างประเทศลดลง นอกจากนั้นผลผลิตของกุ้งลดลง ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นด้วย นอกจากนั้นยังต้องเสียค่ายารักษาโรค โรคที่มีการระบาดอย่างรุนแรงในปัจจุบันได้แก่

โรคระบาดกุ้งที่เกิดจากแบคทีเรีย

1. โรควิบริโอ หรือ โรคตายเดือน จะมีลักษณะอาการว่ายน้ำเชื่องช้า อ่อนเพลีย ไม่กินอาหาร ลำตัวกุ้งจะมีสีแดงเรื่อๆ และตายได้ง่าย โรคนี้มักจะพบในบ่อที่เกิดน้ำเน่าเสีย เนื่องจากการสะสมอินทรีย์สารสูง
2. โรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ มีลักษณะอาการอ่อนแอ ไม่ค่อยว่ายน้ำ กินอาหารลดลง ลำตัวงอ หากติดเชื้อมากและรุนแรงจะจมลงก้นบ่อและตาย กุ้งที่ติดเชื้อจะเรือแสงในเวลากลางคืน
3. โรคเหงือกสีซา จะมีอาการเรืองแสง บริเวณเหงือกมีสีน้ำตาลอ่อน มีสีซา และจะตายเร็วใน 3-4 วัน

โรคระบาดกุ้งที่เกิดจากเชื้อไวรัส

1. โรคหัวเหลือง มีลักษณะอาการ กินอาหารลด อ่อนเพลีย ไม่มีแรงดีด บริเวณส่วนหัว ซึ่งประกอบด้วยตับ ตับอ่อนและเหงือกมีสีเหลือง กุ้งจะตายเร็วมากในเวลา 1-3 วัน

2. โรคตัวแดงดวงขาว กุ้งที่เป็นโรคนี้จะมีการกินอาหารน้อยลง ลำตัวมีสีแดงหรือแดงเรื่อๆ และมีดวงสีขาวตามเปลือกร่วมด้วย กุ้งที่ติดเชื้อจะทยอยตายหมดในเวลา 5-7 วัน

ปริมาณจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในขั้นตอนต่างๆของการผลิตผลิตภัณฑ์กุ้ง

เนื่องจากจุลินทรีย์มีความเกี่ยวข้องกับการผลิตผลิตภัณฑ์กุ้งทุกขั้นตอน การสำรวจข้อมูลทางด้านจุลินทรีย์จากรายงานและเอกสารตีพิมพ์ ดังแสดงในตารางที่ 6 7 และ 8

ตารางที่ 6 ชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในกุ้งและวัตถุดิบ

ัวอย่าง	แหล่ง	จำนวน	Salmonella	Vibrio	Staph.	Coliform	Fecal coliform	E. coli	อ้างอิง
ง	หน้ารง.	97	11.5%*	-	-	-	-	-	สุวิมล, 2543
ง	หน้ารง. บ่อ	-	ไม่พบ	*V. para* ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-	-	HampongKittikun, 1995
าบ่อ	บ่อ	28	ไม่พบ	*V. cho* 0.07%,non01 32%	-		<100: 78%	-	Dalsgaard., et al. 1995
ลน	บ่อ	26	ไม่พบ	non01 27%	-		>1000: 78%	-	
ง	บ่อ	25	ไม่พบ	non01 16%	-		>1000: 36%	-	
ยมูลไก่	ผู้ผลิต	10	ไม่พบ	-	-		-	-	
าหารเม็ด	ผู้ผลิต	28	ไม่พบ	-	-		-	-	
าบ่อ	บ่อ	24	พบ	-	-	1.7	3.2	1.7	Bhaskar, etal., 1995
ลน	บ่อ	24	พบ	-	-	12.6	3.4	2.6	
ง	บ่อ	18	พบ	-	-	7.7	2.3	0.08	
ื้อหอยลาย	บ่อ	5	พบ	-	-	16	9.2	2.2	
าหารเม็ด	บ่อ	5	พบ	-	-	16	5.4	ไม่พบ	
ลน	บ่อ	-	22.1%**	non01 3.1%	-	-	-	-	Reilly and Twiddy, 1992
ง	บ่อ	-	16%**	non 01 1.5%	-	-	-	-	
ง	รง.	56		V. para <10	-	-	-	-	Karunasagar, 1984

* พบ *S. anatum, S. stanley, S. brunet, S. bovismobificans,* and *Salmonella* sp.

** พบ *S. anatum, S. wandsworth, S. postsdam*

ตารางที่ 7 ปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ที่ตรวจพบจากกุ้งแช่แข็งในโรงงาน

วอย่าง	จำนวน	Salmo.	Vibrio	Staph.	t. coliform	f. coliform	E. coli	APC	อ้างอิง
งดิบ	1264	0.1%*	-	1%	$<2.5x10^3$ 14.4%	-	2%	$<10^5$ 96%	Mohamed,
งสุก	914	ไม่พบ	-	ไม่พบ	$<1.8x10^2$ 2.9%	-	ไม่พบ	$<10^4$ 99%	etal., 1998
งดิบ	300	-	-	-	<10 43%	-	<3 75%	$<10^6$ 95%	เพ็ญศรี, 2534
งสุก	184	-	v. para 1%	-	-	-	-	-	Seng, 1977
งสุก	100	พบ	ไม่พบ	$>2x10^3$ 34%	-	-	-	$<10^6$ 45%	Beckers,1981
ง	-	8.1%	-	-	-	-	-	-	Gecans, 1994
งดิบ	-	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-	49.7	-	$1.35x10^5$	Seydi, 1993
ในการผลิต	50	-	V. para <10	-	-	-	-	-	Karunasagar,
ง	70	-	V. para <10	-	-	-	-	-	1984
ง	-	-	V. para 75.8%	-	-	-	-	-	Wong, 1999

ตารางที่ 8 ปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์กุ้งในตลาด

ตัวอย่าง	จำนวน	APC	t. coliform	E. coli	Staph	Vibrio	อ้างอิง
กุ้งดิบ	-	-	-	-	-	63.3% *	Berry etal., 1994
กุ้งสุกปอกเปลือก	1464	30 13,000 / 35 7,200	<10	<10	<10	-	Swartzentruber,
กุ้งสุกปอกเปลือก	1468	30 860,000 / 35 300,000	<10	<10	<10	-	etal., 1980
กุ้งดิบ	1300	30 800,000 / 35 300,000	<10	<10	<10	-	

* พบ *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*

มาตรฐานทางจุลชีววิทยาสำหรับผลิตภัณฑ์กุ้ง

มาตรฐานทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์กุ้งสำหรับประเทศที่เป็นผู้นำเข้าสำคัญ ได้แก่ ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และออสเตรเลีย ได้กำหนดมาตรฐานโดยทั่วไปมุ่งเน้นถึงประเด็นใหญ่ๆ คือ มาตรฐานในการผลิตให้ถูกสุขลักษณะ (Sanitation and hygiene requirement) การกำหนดมาตรฐานทางจุลชีววิทยา (Microbiological standard) ซึ่งได้แก่ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ มาตรฐานทางจุลชีววิทยาสำหรับกุ้งแช่แข็งของประเทศต่างๆ แสดงในตารางที่ 9 นอกจากนั้นเป็นมาตรฐานทางเคมี ได้แก่ สารเคมีที่เป็นมาตรวัดความสด สารเจือปน และสารปนเปื้อน รวมถึงมาตรฐานทางกายภาพ

ตารางที่ 9 มาตรฐานทางจุลชีววิทยาสำหรับผลิตภัณฑ์กุ้งแช่แข็ง

ชนิดของผลิตภัณฑ์	TVC/g	*E. coli*	*S. aureus*	V . cholerae	*Salmonella* sp.	Others
Frozen Raw Product [1]	N=5, c=2 m = 10^6 M = $5x10^6$	N=5, c=2 m = 10 M = 100	N=5, c=2 m = 100 M = 1000	ND	ND	
Frozen Cooked Product [2]	N=5, c=2 m = 10^5 M = $5x10^5$	N=5, c=2 m = 10 M = 100	N=5, c=2 m = 10 M = 100	ND	ND	*L. monocytogenes* = ND *V. parahaemolyticus* = ND
Marina Mix [3]	N=5, c=2 m = $5x10^5$ M = $1x10^6$	N=5, c=2 m = 10 M = 100	N=5, c=2 m = 10 M = 100	ND	ND	
Breaded shrimp [3]	N=5, c=2 m = 10^5 M = $5x10^6$	N=5, c=2 m = 10 M = 100	N=5, c=2 m = 10 M = 100	ND	ND	

[1] Ministry of Health and Welfare of Japan, 1983. Notification No.153,27 August 1983

[2] Eu Commission, 1993. Commission Decision of 15 December 1992 on the microbiological criteria applicable to the production of cooked crustaceans and the molluscan shelfish. (93/51/ EEC). Official Journal of European Communities. No L61/I.p. 11-13

[3] Austrian Quarantine and Inspection Services, 1997. Notice No. 16/97 Risk Categorized Food Commodities. Imported Food Program. Department of Primary Industries and Energy, Cambera

ข้อสังเกตและปัญหา

ข้อสังเกตด้านการผลิตและแปรรูป

1. ในปัจจุบันมีการส่งออกกุ้งสดแช่แข็งเป็นปริมาณมาก ควรจะให้มีการเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์กุ้งก่อนที่จะส่งออก เพื่อเพิ่มราคาและเพิ่มส่วนแบ่งการตลาดให้กับผลิตภัณฑ์กุ้ง
2. ภาครัฐควรจะอำนวยความสะดวกในการส่งออก โดยให้บริการตรวจสอบก่อนส่งออก รับรองมาตรฐานด้านสุขอนามัย และรับรองคุณภาพมาตรฐานสินค้า โดยปรับปรุงหน่วยงานที่มีหน้าที่ดังกล่าวให้มีมากขึ้นหรือมีประสิทธิภาพมากขึ้น ให้ความสะดวก รวดเร็ว เน้นรูปแบบการให้บริการแบบครบวงจร เพื่อลดค่าใช้จ่ายให้กับผู้ประกอบการและผู้ส่งออก ซึ่งสามารถลดปัญหาต่างๆได้โดยการเพิ่มห้องปฏิบัติการที่มีความสามารถและมาตรฐานในการตรวจสอบ

3. ปัญหาด้านสารปฏิชีวนะตกค้างในกุ้ง เป็นปัญหาสำคัญทำให้กุ้งสดแช่เยือกแข็งของไทยไม่สามารถส่งออกไปยังกลุ่มประเทศยุโรปได้ ปัญหานี้แยกออกได้สองส่วนคือ ในส่วนของการเพาะเลี้ยง และการวิเคราะห์สารตกค้าง ซึ่งปัญหาข้อแรกนั้นจะต้องมีการแนะนำการใช้ยาปฏิชีวนะทั้งชนิดและการปฏิบัติอย่างถูกต้องเพื่อลดปริมาณของสารตกค้าง และในด้านการวิเคราะห์สารตกค้าง ควรมีการทำวิจัยเพื่อหาวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมกับการนำมาใช้วิเคราะห์ตัวอย่างกุ้ง เพื่อให้ได้การตรวจวัดที่แน่นอนและเป็นที่เชื่อถือของต่างประเทศ

ปัญหาการส่งออกของกุ้งแช่แข็ง

กุ้งทะเลแช่แข็งของประเทศไทยได้มีการส่งออกไปยังตลาดในประเทศต่างๆ ทั่วโลก ส่วนใหญ่เป็นที่ยอมรับว่ากุ้งของไทยมีคุณภาพดี ซึ่งจะสังเกตได้จากราคาของกุ้งซึ่งส่งออกจากประเทศไทย มีราคาที่สูงกว่ากุ้งที่ส่งออกจากประเทศเพื่อนบ้านใกล้เคียงกัน เช่น อินโดนิเซีย และเวียตนาม โดยที่ราคากุ้งของไทยนั้นมีราคาอยู่ที่ประมาณ

แม้ว่ากุ้งแช่แข็งของไทยจะเป็นที่ยอมรับและเป็นที่ต้องการ แต่กุ้งบางส่วนที่ส่งออกนั้นมีคุณภาพที่ไม่ได้รับการยอมรับจากประเทศผู้สั่งเข้า มีผลิตภัณฑ์กุ้งแช่แข็งบางส่วนถูกกักกันเพื่อรอการตรวจสอบและไม่สามารถนำเข้าประเทศต่างๆ ได้ เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้มีรายงานรายเดือนแสดงให้เห็นว่ามีผลิตภัณฑ์กุ้งแช่แข็งจากประเทศไทยถูกกักกันไว้ ด้วยเหตุผลเนื่องจากตรวจพบ สิ่งสกปรก (filth) การตกค้างของสารปฏิชีวนะ รวมทั้งการใช้สารปฏิชีวนะที่ต้องห้าม และจุลินทรีย์พวก Salmonella ติดมากับผลิตภัณฑ์กุ้งที่จะนำเข้า

บทที่ 2 การปรับปรุงการผลิตกุ้งกุลาดำโดยยีนเทคโนโลยี

อ ดร ปรีเปรม พัฒนมหกุล

ปัญหาที่สำคัญสำหรับผู้เลี้ยงกุ้งในปัจจุบัน คือการมีผลผลิตที่ตกต่ำกว่าในอดีตมาก ซึ่งเป็นผลให้ต้นทุนในการผลิตกุ้งสูงขึ้น สาเหตุที่ทำให้ผลผลิตตกต่ำลงนั้นคาดว่ามีอยู่หลายสาเหตุ แต่สาเหตุที่สำคัญๆ นั้น ได้แก่การมีพ่อแม่พันธุ์รวมถึงลูกกุ้งที่ด้อยคุณภาพและการที่เกิดโรคระบาดของเชื้อโรคบางกลุ่มโดยเฉพาะเชื้อไวรัสในช่วงเวลาหลายปีที่ผ่านมา ดังนั้นเพื่อเป็นการแก้ปัญหาผลผลิตที่ตกต่ำนั้น จึงต้องพยายามที่จะพัฒนาเทคนิคการเลี้ยงกุ้งให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นโดยให้มีค่าใช้จ่ายต่อปริมาณผลผลิตในอัตราที่ต่ำลงให้ได้ในอนาคต การปรับปรุงพันธุ์กุ้งให้สามารถผลิตลูกกุ้งที่มีคุณภาพ และมีความต้านทานต่อโรคจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง และด้วยเหตุนี้ความรู้ทางด้านอณูชีววิทยา (molecular biology) จึงเข้ามามีบทบาทอย่างมากในปัจจุบันต่อการวิจัยและพัฒนา (research & development) เนื่องจากสามารถทำให้ทราบข้อมูลทางพันธุกรรมที่กำหนดลักษณะและการแสดงออกของสิ่งมีชีวิตที่ศึกษาได้ ซึ่งจะนำไปสู่การวิจัยที่ให้ผลที่คาดการณ์และต้องการได้ในระยะเวลาอันสั้นเมื่อเทียบกับการศึกษาและวิจัยในด้านอื่น

ที่ผ่านมา อุตสาหกรรมการผลิตกุ้งในประเทศไทยนั้นอาศัยการปรับเปลี่ยนหลายๆ อย่างเพื่อทำให้ได้ผลผลิตกุ้งในปริมาณที่สูงขึ้น เช่นมีการเลี้ยงกุ้งแบบหนาแน่นมากขึ้น (เลี้ยงกุ้งจำนวนมากในพื้นที่น้อย; แบบ intensive) และได้ปรับวิธีการเลี้ยงแบบระบบเปิด (มีการถ่ายน้ำอย่างเต็มที่) มาเป็นแบบระบบกึ่งปิด (เติมน้ำจากแหล่งน้ำบ้างเล็กน้อย) และระบบปิด (เติมน้ำจากบ่อพักน้ำหรือไม่เติมน้ำเลย) นอกจากนั้นยังได้มีการพัฒนาในด้านการเตรียมบ่อ การให้อาหาร คุณสมบัติของอาหาร การจัดการบ่อและน้ำในบ่อในขณะเลี้ยง การขลิบตาแม่พันธุ์กุ้งเพื่อเร่งการวางไข่ รวมไปถึงความพยายามที่จะนำความรู้ทางเทคโนโลยีชีวภาพ (biotechnology) และความรู้ทางด้านอณูชีววิทยา (molecular biology) มาประยุกต์ใช้ด้วย อย่างไรก็ตามการแก้ปัญหาผลผลิตกุ้งตกต่ำในปัจจุบันก็ยังไม่ให้ผลเป็นที่น่าพอใจนัก จำเป็นต้องมีการวิจัยและพัฒนาอย่างต่อเนื่องต่อไป

ปัญหาการมีพ่อแม่พันธุ์กุ้งที่ด้อยคุณภาพ อาจวิเคราะห์ได้ว่าสืบเนื่องมาจากปัญหาการขาดแคลนพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำนั่นเอง จำนวนแม่กุ้งที่ต้องใช้ในการผลิตกุ้งกุลาดำในประเทศไทยสำหรับการส่งออกในปี 2542 (จำนวน 240,552 เมตริกตัน) อาจคำนวณได้ถึง 58,924 ตัวต่อเดือน (ประจวบ หล่ำอุบล และคณะ, 2543) ซึ่งเป็นแม่พันธุ์กุ้งที่จับมาจากธรรมชาติเกือบทั้งสิ้น จะเห็นได้ว่าจากความต้องการแม่กุ้งที่มีสูงมากนี้เอง ทำให้แม่กุ้งที่เคยมีอยู่ในบริเวณชายฝั่งทะเลของไทยลดจำนวนลงและไม่เพียงพอต่อความต้องการ จนต้องนำเข้าแม่กุ้งจากประเทศเพื่อนบ้าน เช่น ประเทศเวียตนาม และอินโดนีเซีย การขนส่งแม่กุ้งที่ใช้เวลานานและมีการจัดการที่ไม่ดี ทำให้แม่กุ้งบอบช้ำและตายเป็นจำนวนมาก และเป็นแม่กุ้งที่ไม่แข็งแรง เมื่อนำมาเพาะพันธุ์จะให้จำนวนลูกกุ้งน้อยและด้อยคุณภาพด้วย

การขาดแคลนพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำนั้นเกิดขึ้นกับประเทศต่างๆ ที่เป็นประเทศผู้ผลิตกุ้งทั่วโลก และเป็นปัญหาที่ได้รับความสนใจจึงมีงานวิจัยเพื่อพัฒนาการผลิตพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจากการเลี้ยง (domesticated

broodstock) แต่พบว่ายังให้ผลผลิตน้อยกว่าที่ได้จากพ่อแม่พันธุ์จากธรรมชาติ (ธนาวุฒิ กล่าวเกลี้ยง และคณะ, 2543; ธวัช ศรีวีระชัย และคณะ, 2543; สุพล ตั้นสุวรรณ, 2541) การคัดเลือกพันธุ์ที่สามารถให้ผลผลิตสูงนั้น อาจกระทำได้โดยวิธีใดวิธีหนึ่งหรือผสมผสานระหว่างวิธีต่อไปนี้

1. Phenotypic programmes วิธีนี้เป็นวิธีแบบเก่าที่อาศัยการ cross breeding ของสิ่งมีชีวิต แล้วคัดพันธุ์โดยการเลือกตัวที่มีลักษณะที่แสดงออกมาอย่างที่ต้องการไว้ วิธีนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะสามารถคัดจนได้พันธุ์ที่มีลักษณะที่ต้องการแต่ก็ใช้ระยะเวลานาน และอาจได้ลูกที่มีลักษณะด้อยทางพันธุกรรมบางอย่างแฝงอยู่ก็ได้
2. Genotypic programmes วิธีนี้เป็นวิธีที่ค่อนข้างใหม่สำหรับการเพาะพันธุ์สัตว์น้ำ ซึ่งใช้ได้ผลกับปลาแซลมอน และหอยนางรม แต่สำหรับกุ้งกุลาดำนั้นยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมอีกมาก เนื่องจากปัจจุบันยังมีข้อมูลเกี่ยวกับการทำงานของยีน (gene function) อยู่เพียงเล็กน้อย เมื่อทราบข้อมูลพื้นฐาน ทราบว่ายีนใดควบคุมการแสดงออกของสิ่งมีชีวิต และทราบว่ายีนแบบใดที่เป็นยีนดีควบคุมลักษณะที่ต้องการได้ ก็จะสามารถทำการคัดพันธุ์โดยคัดจากสิ่งมีชีวิตที่มียีนในลักษณะที่ต้องการได้ วิธีนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะได้พันธุ์ที่มีลักษณะที่ต้องการได้เช่นเดียวกัน และใช้ระยะเวลาในการดำเนินการสั้นกว่าวิธีแรกมาก เพียงแต่ว่าในปัจจุบันยังขาดข้อมูลเบื้องต้นที่จะทำให้การดำเนินการเป็นไปได้อย่างเต็มที่
3. Transgenic programmes วิธีนี้จะต้องเปลี่ยนยีนที่ไม่ต้องการของสิ่งมีชีวิตด้วยยีนที่มีลักษณะที่ต้องการโดยใช้วิธีทาง genetic engineering ทำให้ได้เป็นสิ่งมีชีวิตพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมตรงตามความต้องการได้ อย่างไรก็ตามการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ด้วยวิธีนี้ยังเป็นที่ถกเถียงกันอยู่มากในด้านต่างๆ เช่นด้านจริยธรรม ด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ ความปลอดภัยต่อผู้บริโภค รวมถึงผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมที่อาจจะเกิดขึ้นด้วย

การปรับปรุงพันธุ์กุ้งกุลาดำโดยการคัดยีนที่ต้องการ (genotypic programmes) นั้นต้องการข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับลักษณะทางพันธุกรรมของกุ้งกุลาดำ เมื่อพิจารณาถึงลักษณะที่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตกุ้ง จะได้ลักษณะที่สำคัญคือการเจริญเติบโต ความดกของไข่ อัตราการรอดตาย และความต้านทานโรค เป็นต้น ซึ่งลักษณะบางลักษณะเมื่อพิจารณาในด้านพันธุกรรมแล้วอาจมีความจำเพาะและสามารถถ่ายทอดไปสู่ลูกหลานได้ ดังนั้นหากสามารถคัดเลือกลักษณะทางพันธุกรรมที่มีความสำคัญต่อการเพิ่มผลผลิตกุ้งได้ก็จะได้พันธุ์กุ้งที่ให้ผลผลิตมากต่อไป

การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของกุ้งกุลาดำ ทำได้โดย

1. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) วิธีการ RFLP เป็นเทคนิคที่ใช้ตรวจสอบความแตกต่างของลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอที่เกิดจากการตัดด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) แล้วแยกชิ้นส่วนที่ตัดได้ด้วยวิธี gel electrophoresis จากนั้นทำ southern blot เพื่อย้ายชิ้นส่วนเหล่านี้ไปไว้บน membrane แล้วติดตามชิ้นส่วนด้วย probes ต่างๆ จากการติดตามชิ้นส่วนเหล่านี้สามารถวิเคราะห์หาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของประชากรกุ้งกุลาดำได้

2. Polymerase Chain Reaction (PCR) วิธีการ PCR เป็นเทคนิคที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการศึกษาให้มีปริมาณมากขึ้นในหลอดทดลอง โดยใช้เอ็นไซม์ DNA polymerase ซึ่งเป็นการเลียนแบบการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอ (DNA replication) ในสิ่งมีชีวิต เทคนิคนี้ได้นำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ทางการเพาะเลี้ยงอย่างกว้างขวาง เช่นการตรวจการติดเชื้อของแม่กุ้งและลูกกุ้งวัยอ่อน รวมทั้งการนำไปใช้เป็นพื้นฐานในการทำ DNA fingerprint เช่นเทคนิค RAPD และ AFLP เป็นต้น

เทคนิค RAPD-PCR สามารถจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างกุ้งที่จับมาจากพื้นที่ต่างกันได้ (Tassanakajon et al., 1998a) โดยกุ้งที่ทำการทดลองซึ่งมาจากตำแหน่งต่างๆ 5 ตำแหน่งบริเวณแหลมอินโดจีนนั้นถูกจำแนกออกตามตำแหน่งหรือพื้นที่ที่พบได้เป็น 3 สายพันธุ์ด้วยกัน คือ สายพันธุ์จากฝั่งอ่าวไทย (จากจังหวัดตราดและชุมพร) สายพันธุ์จากฝั่งทะเลอันดามัน (จากจังหวัดพังงา และ สตูล-ตรัง) และสายพันธุ์จากทะเลอันดามันบริเวณ medan ประเทศอินโดนีเซีย นอกจากนั้นเทคนิคที่เป็น PCR-based อีกเทคนิคหนึ่งที่นำมาใช้ในการจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมคือ Microsatellite ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในสัตว์น้ำหลายชนิดในปัจจุบัน (Brooker et al., 2000) และยังนิยมใช้เพื่อประโยชน์ในการคัดพันธุ์สัตว์น้ำด้วย

การปรับปรุงพันธุ์โดยการคัดยีนที่ต้องการนั้น อาจใช้โมเลกุลเครื่องหมาย (molecular marker) เพื่อช่วยในการคัดพันธุ์ การพัฒนาเครื่องหมายไมโครแซทเทิลไลท์ (microsatellite marker) จึงเกิดขึ้น และกำลังเป็นเทคนิคที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากสามารถจำแนกความแตกต่างในระดับประชากรได้ Microsatellite คือส่วนของดีเอ็นเอที่มีการเรียงตัวของลำดับเบสจำนวน 1-6 เบส (nucleotides) ซ้ำกันตั้งแต่สองซ้ำขึ้นไป พบได้ทั่วไปในจีโนมของกุ้งและสัตว์อื่นๆ ซึ่งการศึกษา microsatellite ในจีโนมของสิ่งมีชีวิตสามารถทำได้ 2 วิธี คือ

1. วิธีที่ใช้กับ RFLP เป็นการใช้ microsatellite เป็น probe ตรวจสอบดีเอ็นเอที่ผ่านการตัดด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะและจาก southern blot วิธีนี้มีข้อด้อยคือจำนวน allele เกิดขึ้นมากโดยไม่ทราบว่า allele ใดเป็น allelic กันและใช้เวลานานในการทำแต่ละครั้ง
2. วิธีที่ใช้กับ PCR เป็นการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอส่วนที่เป็น microsatellite วิธีนี้สามารถแสดงให้เห็น allele ที่เกิดขึ้นในตำแหน่งที่จำเพาะ และใช้เวลาสั้นในการทำแต่ละครั้ง

Microsatellite ได้รับการพัฒนาและใช้ประโยชน์ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด รวมทั้งสัตว์น้ำและกุ้งด้วย เช่น การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม (Wolfus et al., 1997) และเป็นเครื่องหมายบ่งบอกพ่อแม่พันธุ์แต่ละตัวและครอบครัวกุ้ง (Mooer et al., 1999; Wolfus et al., 1997) ชนิดของกุ้งที่ได้รับการพัฒนา microsatellite แล้ว ได้แก่ *P. vannamei* (Garcia et al., 1996), *P. setiferus* (Ball et al., 1998), *P. japonicus* (Mooer et al., 1999), *P. stylirostris* (Vonau et al., 1999) และ *P. monodon* (Brooker et al., 2000; Supungul et al., 2000; Xu et al., 1999; Tassanakajon et al., 1998b)

จะเห็นได้ว่าการปรับปรุงผลผลิตกุ้งกุลาดำโดยยีนเทคโนโลยีนั้นต้องอาศัยการวิจัยเกี่ยวกับโมเลกุลเครื่องหมายเพื่อการใช้ประโยชน์ในการคัดพันธุ์ที่มีลักษณะที่ต้องการได้ ลักษณะที่ต้องการได้แก่ลักษณะพ่อแม่พันธุ์ที่มีอัตราการเจริญเติบโตดี มีไข่ดก และมีความต้านทานต่อโรคต่างๆ ได้ดี

บทที่ 3 การตรวจวิเคราะห์สารปฏิชีวนะตกค้างในกุ้ง

ผศ พรพรรณ อุดมกาญจนนันท์
ผศ สุชาดา จูอนุวัฒนกุล

ประเทศไทยส่งออกกุ้งทะเลพันธุ์ *Monodon* หรือ Giant Tiger Shrimp หรือ Black Tiger shrimp หรือกุ้งกุลาดำ เป็นรายใหญ่ของโลก การส่งออกมีอัตราการขยายตัวอย่างมาก สามารถสร้างรายได้เข้าประเทศปีละประมาณ 100,000 ล้านบาท โดยมีส่วนแบ่งในตลาดโลกประมาณ 30 % ตลาดส่งออกที่สำคัญได้แก่ สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น สหภาพยุโรป (EU) โดยมีคู่แข่งทางการค้าที่สำคัญได้แก่ จีน เวียตนาม อินเดีย อินโดนีเซีย และบังคลาเทศ เป็นต้น ผลผลิตที่ส่งออกนี้กว่าร้อยละ 99 เป็นการผลิตจากการเพาะเลี้ยงตามพื้นที่จังหวัดชายทะเลต่าง ๆ ซึ่งในปัจจุบันมีเนื้อที่การเลี้ยงประมาณ 450,000 ไร่ ได้ผลผลิตประมาณ 200,000 - 250,000 ตันต่อปี (ธำมรงค์ ประกอบบุญ, 2545) การพัฒนาอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งเพื่อให้ได้ผลผลิตมากที่สุด ต้นทุนต่ำที่สุดและสามารถต่อสู้กับคู่แข่งได้ เป็นเหตุให้ผู้เลี้ยงจำเป็นต้องให้อาหารเสริมเพื่อเร่งการเจริญเติบโตของกุ้ง และผสมสารปฏิชีวนะลงในอาหารเพื่อควบคุมและป้องกันโรคต่าง ๆ การผสมสารปฏิชีวนะนี้ทำให้เกิดการตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์มากขึ้น ก่อให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพอนามัยของประชาชน และมีผลต่อการส่งออกสินค้า

ผลิตภัณฑ์กุ้งสำหรับการส่งออกมีอยู่หลายรูปแบบ อาทิเช่น กุ้งสดแช่แข็ง กุ้งต้มแช่แข็ง กุ้งกระป๋อง นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์แช่แข็งสำเร็จรูปต่างๆ ที่ใช้กุ้งเป็นส่วนผสม เช่น ซาลาเปา ฮะเก๋า ขนมจีบ ต้มยำกุ้ง และอาหารทะเลรวม เนื่องจากผลิตภัณฑ์กุ้งมีราคาสูง ประเทศผู้นำเข้าจึงเข้มงวดในคุณภาพสินค้า และได้กำหนดมาตรฐานสำหรับผลิตภัณฑ์กุ้ง โดยมุ่งเน้นถึง

1. มาตรฐานการผลิตให้ถูกสุขลักษณะ (Sanitation and hygiene requirement) โดยการควบคุมสุขลักษณะการผลิตและควบคุมการผลิตตามหลักการ HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point)

2. มาตรฐานทางจุลชีววิทยา (Microbiological standard) ได้แก่ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ หรือปริมาณเชื้อทั้งหมดสำหรับผลิตภัณฑ์สุก และผลิตภัณฑ์พร้อมบริโภค

3. มาตรฐานทางเคมี โดยทั่วไปประเทศต่างๆ จะกำหนด

4. มาตรฐานทางกายภาพ ได้แก่ ชนิดของสัตว์น้ำ ปริมาณน้ำหนัก

สำหรับการส่งออกผลิตภัณฑ์กุ้งของไทย ปัญหาส่วนใหญ่เกิดจากสารปฏิชีวนะตกค้าง ซึ่งในปัจจุบันถือเป็นเรื่องที่สำคัญมาก เพราะหลายประเทศกำหนดให้ตรวจสอบสารปฏิชีวนะตกค้าง ได้แก่ ออกซีเททระซัยคลิน (oxytetracyclin) และออกโซลินิกแอซิด (oxolinic acid) ในผลิตภัณฑ์ที่นำเข้า เนื่องจากไทยยังใช้สารเหล่านี้ในการเพาะเลี้ยงกุ้ง ถ้าพบว่ามีสารปฏิชีวนะตกค้าง ผลิตภัณฑ์เหล่านั้นจะถูกส่งกลับทันที และดูเหมือนว่าปัญหานี้จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เช่น ญี่ปุ่นกำหนดให้ตรวจสอบสารปฏิชีวนะตกค้าง 100% ในกุ้งแช่แข็ง ในปัจจุบันญี่ปุ่นอนุโลมให้โรงงานไทยที่กรมประมง หรือ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์รับรองและขึ้นบัญชีไว้กับกระทรวงสาธารณสุขญี่ปุ่น จำนวน 23 โรงงาน ไม่ต้องตรวจ 100% เมื่อปลายปี 2544 สหภาพยุโรปได้ตรวจพบ คลอแรมฟินิคอล (chloramphenicol) ในสินค้ากุ้งที่มาจากประเทศจีน เวียตนาม อินโดนีเซีย ทำให้สหภาพยุโรปเข้มงวดในการตรวจสินค้าที่มาจากเอเชีย

และเมื่อเดือนกุมภาพันธ์ 2545 นี้ เนเธอร์แลนด์ได้ตรวจพบ ไนโตรฟิวแรน (nitrofuran) ในกุ้งแช่แข็งของไทย ซึ่งเหตุการณ์ครั้งนี้ได้สร้างความเสียหายต่อชื่อเสียงของประเทศไทยเป็นอย่างมาก นอกจากนี้ สหภาพยุโรปได้ มีมาตรการตรวจสอบคุณภาพสินค้ากุ้งนำเข้าอย่างเข้มงดจากทุกประเทศ และจะทำการเผาสินค้าทั้งล็อตที่ตรวจพบ

ตารางที่ 10 มาตรฐานทางเคมีสำหรับผลิตภัณฑ์กุ้งแช่แข็ง

Type of product	Hg [1] (ppm)	Cd [2] (ppm)	Pb [2] (ppm)	TVB [3] (mg%)	Drug Residue (ppm) [6]		P_2O_5 [5]	Others [5]
					Oxytertracyclin	Oxolinic Acid		
1. Raw Product	0.5	0.2	1.0	30	0.1	0	0.5%	Sulphite = 100
2. Cooked Product	0.5	0.2	1.0	30	0.1	0	0.5%	Sulphite = 100
3. Product for Raw Consumption	0.5	0.2	1.0	25	0.1	0	0.5%	Sulphite = 100

1. EU Commission, 1993. Commission Decision of 19 May 1993 on Determining analysis methods, sampling plans and Maximum limits for mercury in Fishery Products (93/351/EEC). Official Journal of European Communities. No. L 61/1. p.1-36.
2. FAO, 1989. Food Safety Regulations Applied to Fish by Major Importing Countries. FAO Fisheries Circular No.825. Food Agriculture Organization of the United Nations. Rome.
3. EU Commission, 1991. Council Directive of 22 July 1991 laying down the condition for the production and placing on the market of fishery products. (91/493/EEC). Official Journal of European Communities. No. L 268. p. 15-23.
4. EU Commission, 1991. Council Directive of 15 July 1991 laying down the health conditions for the production and placing on the market of live bivalve. (91/492/EEC). Official Journal of European Communities. No. L 268. p.1-14.
5. EU Commission, 1995. European Parliament and Council Directive No.95/2/EC of 20 February 1995 on food additives other than colour and sweetners. Official Journal of European Communities. No. L 6/1. p.1-36.
6. CODEX Alimentarius, 1993.

- ดัชนีวัดความสดของสัตว์น้ำ ได้แก่ total volatile nitrogen หรือ indole (เฉพาะสหรัฐอเมริกา)
- สารเจือปน ได้แก่ เมตาไบซัลไฟต์ ฟอสเฟต EDTA รวมถึงสารเคมีหรือสารปฏิชีวนะตกค้าง
- สารปนเปื้อน ได้แก่ โลหะหนัก สารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์

สารปฏิชีวนะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้ง

จุดมุ่งหมายของการใช้สารปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำนั้น เพื่อป้องกันการระบาดของโรค มากกว่าการใช้สารปฏิชีวนะในปริมาณมากเพื่อการรักษาโรคที่เกิดขึ้นแล้ว การตั้งมาตรการควบคุมปริมาณการใช้สารปฏิชีวนะนั้น เนื่องจากหากมีการใช้สารปฏิชีวนะเป็นเวลานาน จะทำให้แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคนั้นเกิดการดื้อยา ซึ่งทำให้ต้องเพิ่มปริมาณสารปฏิชีวนะขึ้นเรื่อยๆ นอกจากนี้ แบคทีเรียเหล่านี้สามารถถ่ายทอดการดื้อยาต่อสารปฏิชีวนะเหล่านี้ให้กับแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคกับมนุษย์ (human pathogens) เช่น *Vibrio parahaemolyticus* และบางครั้งก็สามารถถ่ายทอดการดื้อยานี้ให้กับแบคทีเรียทั่ว ๆ ไปที่อาศัยอยู่ในกระเพาะอาหารของมนุษย์ได้ เมื่อมีการบริโภคอาหารที่มีแบคทีเรียที่ดื้อยาเข้าไปในปริมาณที่มากพอ อาการดื้อยานี้ก็จะถูกถ่ายทอดให้กับแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคกับมนุษย์ในกระเพาะอาหาร เช่น *Salmonella* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคไทฟอยด์ เป็นต้น

มีผู้สรุปอันตรายของสารปฏิชีวนะ หรือสารปฏิชีวนะตกค้างชนิดต่าง ๆ ไว้ดังนี้ (กรมประมง, 2538)

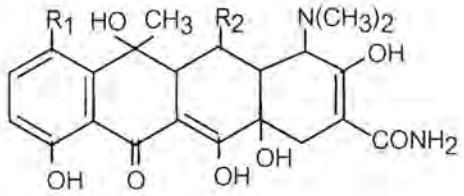
1. คลอแรมฟินิคอล (Chloramphenical) มีผลทำให้กระดูกฝ่อ และเสียความสามารถในการสร้างเม็ดเลือด
2. ฟูราโซลิโดน (Furazolidone) มีผลทำให้ระบบทางเดินอาหารผิดปกติ มีอาการแพ้ และอาจก่อให้เกิดเนื้อเยื่อผิดปกติ
3. คานามัยซิน (Kanamycin) มีผลทำให้เกิดอาการแพ้ ประสาทรับเสียง โดยเฉพาะหูส่วนใน ผิดปกติ
4. ไนเฟอไพรินอล (Nifurpirinol) อาจก่อให้เกิดมะเร็ง
5. ออกซีเททระไซคลิน (Oxytetracycline) ทำให้ระบบทางเดินอาหารผิดปกติ ไต และตับผิดปกติ
6. ซัลฟา (Sulfanilamides) ทำให้ระบบตับและไตผิดปกติ เป็นมะเร็งในเม็ดโลหิต และเกิดอาการแพ้ได้
7. ไตรเมโทรพริม (trimetroprim) ทำให้ระบบตับ และไตผิดปกติ และเป็นมะเร็งในเม็ดโลหิต

ยาต้านจุลชีพที่นิยมใช้ในสัตว์น้ำ มีอยู่ด้วยกันหลายกลุ่ม แต่ละกลุ่มจะมีคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ต่างกันไป ยาต้านจุลชีพที่ใช้ในปัจจุบันมี 3 กลุ่ม คือ

1. ยากลุ่มเททระซัยคลิน (Tetracycline)
2. ยากลุ่มควิโนโลนและฟลูออโรคซิโนโลน (Quinolone and Fluoroquinolone)
3. ยากลุ่มซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamides)

ยากลุ่มเททระซัยคลิน (Tetracycline)

เป็นยาที่ใช้กันแพร่หลาย เป็นอนุพันธ์ของ hydronaphthacene ยาในกลุ่มเททระซัยคลินที่นิยมใช้มี 3 ชนิดได้แก่ ออกซีเททระซัยคลิน (Oxytetracycline) เททระซัยคลิน (Tetracycline) และ คลอรเททระซัยคลิน (Chlortetracycline)



Oxytetracycline :	$R_1 = H$	$R_2 = OH$
Tetracycline :	$R_1 = H$	$R_2 = H$
Chlortetracycline :	$R_1 = Cl$	$R_2 = H$

ยากลุ่มเททระซัยคลิน มีลักษณะเป็นผลึกสีเหลือง รสขม ละลายน้ำได้จำกัดที่ pH 7 มีฤทธิ์สูงสุดที่ pH 5.5-6 ยากลุ่มนี้มีฤทธิ์กว้างขวาง (board spectrum) ต่อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ แบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน (aerobic bacteria) แบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic bacteria) สไปโรชีตส์ (Spirochetes) ไมโคพลาสมาส์ (Mycoplasmas) ริคเคตเชียส์ (Rickettsias) คลาไมเดียส์ (Chlamydias) และโปรโตซัวหลายชนิด โดยไประงับการสังเคราะห์โปรตีน ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตและสืบพันธุ์ของแบคทีเรีย เททระซัยคลินและออกซี

เททระซัยคลิน จะทำหน้าที่ป้องกันการเชื่อมต่อของประจุ *t*RNA (RNA = Ribonucleic acid) กับจุด A (A site) บน 70S ไรโบโซม ทำให้ห่วงโซ่เปปไทด์ (peptide chain) ไม่สามารถขยายยาวต่อไปได้

ออกซีเททระซัยคลิน มีชื่อทางการค้าว่า เทอร์รามัยซิน (Terramycin) ผลิตจากเชื้อรา *Streptomyces rimosus* ถูกค้นพบใน ปี ค.ศ.1948 โดย Duggar และคณะ ยาชนิดนี้เมื่ออยู่ในสภาพบริสุทธิ์จะเป็นสีขาว เมื่ออยู่ในสารละลายที่เป็นกลางจะอยู่ตัวมากกว่ายาชนิดอื่นในกลุ่มเดียวกัน แต่มีความสามารถในการกำจัดแบคทีเรียแบบเดียวกัน คือระงับการสังเคราะห์โปรตีน ในความเข้มข้นและปริมาณยาที่พอเหมาะจะไปหยุดการใช้กรดนิวคลีอิกสำรอง ซึ่งจะทำให้กรดนี้หายไปหลังจากทำให้เกิดปฏิกิริยาแตกตัวของโมเลกุลใหญ่ (depolymerization) เป็นโมโนนิวคลีโอไทด์ (mononucleotides) นอกจากนี้ ยังไประงับการหายใจของเซลล์

ออกซีเททระซัยคลิน อยู่ในกลุ่มยาที่ออกฤทธิ์สั้น (ระยะครึ่งชีวิต 6 – 9 ชั่วโมง) ต้องใช้บ่อย ทำให้เสียค่าใช้จ่ายมากและเสียเวลา มักมีพิษต่อระบบประสาทส่วนกลาง (Central Nervous System, CNS) มีพิษต่อตับและตับอ่อน ถ้าใช้ต่อเนื่องกันเป็นเวลานาน และทำให้เกิดอาการแพ้แสงอีกด้วย ปัจจุบันนิยมใช้ยากลุ่มนี้รักษาโรคติดเชื้อจากจุลชีพอื่น ๆ ที่ไม่ใช่แบคทีเรีย เนื่องจากแบคทีเรียส่วนใหญ่ดื้อต่อยานี้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ โดยเปลี่ยนแปลงเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยา (target alteration) และสามารถควบคุมพันธุกรรมของการดื้อยาได้ด้วย ซึ่งจะทำให้การกระจายการดื้อยาเป็นไปอย่างรวดเร็ว

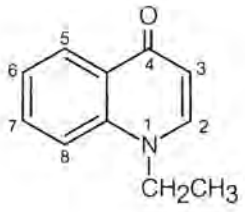
การดื้อยาของแบคทีเรียต่อออกซีเททระซัยคลิน เกิดจากความสามารถในการขับยาออกจากเซลล์ (active efflux) ซึ่งเป็นกลไกที่อาศัยพลังงาน PMF (Proton-motive force) หรือ ATP ที่เยื่อหุ้มเซลล์ (cytoplasmic membrane) ของแบคทีเรียพวกนี้จะมี integral inner membrane protein ซึ่งเป็นโปรตีนที่สำคัญในกลไกการขับยาออกจากเซลล์ นอกจากนี้ การดื้อยาของแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะชนิดนี้ยังถูกควบคุมโดยยีนส์หลายกลุ่ม เรียกว่า Gene Tet เช่น กลุ่มโปรตีน Class A-E มี Gene Tet A-E Class M และ O มี Gene Tet M หรือ Class K-L มี Gene Tet K-L เป็นต้น

ถ้าผสมออกซีเททระซัยคลินให้กุ้งกินเป็นระยะ ๆ จะทำให้กุ้งโตเร็วและอ้วนเร็วกว่ากุ้งที่ไม่ได้รับยานี้ โดยที่ยานี้จะไปเปลี่ยนกลุ่มจุลชีพในทางเดินอาหารของกุ้ง แต่แบคทีเรียจะดื้อยาอย่างรวดเร็ว และส่งผ่านความสามารถดื้อยานี้ไปทางพันธุกรรมอีกด้วย

เกือบจะไม่มีโรงฟักลูกกุ้งแห่งใดที่ไม่รู้จักออกซีเททระซัยคลิน เพราะต้องใช้ในบ่อลูกกุ้ง พี เพื่อป้องกันโรค ทำให้ลูกกุ้งโตเร็วและอัตรารอดสูง แต่ในปัจจุบัน ถึงแม้จะใส่ยานี้ในบ่ออนุบาลลูกกุ้ง ลูกกุ้งก็ยังตาย เนื่องจากเหตุผลดังกล่าวข้างต้น ถ้าลูกกุ้งพีรอดจนลงบ่อดิน แบคทีเรียในตัวลูกกุ้งซึ่งได้รับรู้และสัมผัสยานี้แล้วเริ่มเตรียมตัวดื้อยาอยู่ตลอดเวลา ถ้าแบคทีเรียดื้อยา กุ้งก็จะตาย ถ้ายังไม่ดื้อยา กุ้งก็รอด

ยากลุ่มควิโนโลนและฟลูออโรควิโนโลน

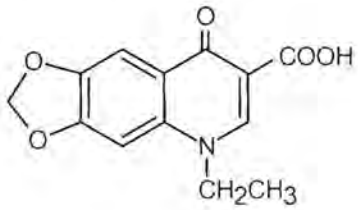
ยากลุ่มนี้หมู่ออกฤทธิ์คือ carboxylic acid ที่ตำแหน่ง 3 และหมู่ ketone ที่ตำแหน่ง 4 ซึ่งจะออกฤทธิ์กับ DNA gyrase



4- Quinolone

ยากลุ่มนี้จัดแบ่งเป็น 3 รุ่น คือ

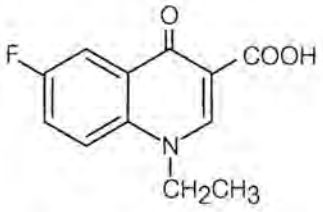
1. รุ่นที่ 1 (First generation quinolone) คือยาควิโนโลนที่ได้รับการสังเคราะห์ขึ้นเป็นครั้งแรก ได้แก่ นาลิดิซิก แอซิด (Nalidixic acid) ออกโซลินิก แอซิด (Oxolinic acid) ยากลุ่มนี้จะออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้แคบ ทำลายเชื้อเฉพาะแบคทีเรียแกรมลบเป็นส่วนใหญ่ เชื้อดื้อยาได้ง่าย จึงได้มีการดัดแปลงเพื่อให้ยามีประสิทธิภาพในการออก



ฤทธิ์ดีขึ้น

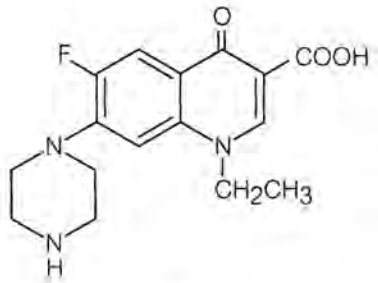
Oxolinic acid

2. รุ่นที่ 2 (Second generation quinolone) คือยาควิโนโลนที่ได้รับการพัฒนาโดยการเติมฟลูออรีนที่ตำแหน่งที่ 6 ทำให้ยาผ่านเข้าเซลล์ของแบคทีเรียได้ดีขึ้น และจับกับ DNA gyrase เพิ่มขึ้น ทำให้ยาออกฤทธิ์ได้กว้างขวางขึ้น โดยออกฤทธิ์ได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ยากลุ่มที่ 2 นี้เรียกว่า ยากลุ่มฟลูออโรควิโนโลน



Fluoroquinolone

3. รุ่นที่ 3 (Third generation quinolone) คือยากลุ่มควิโนโลนที่ได้รับการพัฒนาจากฟลูออโรควิโนโลน โดยการเติม piperazine ring ลงในตำแหน่ง 7 เพื่อให้ยาออกฤทธิ์ทำลายเชื้อแบคทีเรียได้กว้างขวางขึ้น ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ และเติม cyclopropyl group ในตำแหน่ง 1 เพื่อให้ยาสามารถถูกดูดซึมเข้ากระแสเลือดได้เร็วขึ้น และการให้ยา (dose) ลดลง ยากลุ่มนี้เรียกว่า ยากลุ่มฟลูออโรควิโนลินเช่นเดียวกับกลุ่มที่ 2 เช่น นอร์ฟล็อกซาซิน (Norfloxacin) ไซโปรฟล็อกซาซิน (Cyprofloxacin) เอ็นโรฟล็อกซาซิน (Enrofloxacin)



Norfloxacin

ยากลุ่มนอร์ฟล็อกซาซินเป็นยาที่นิยมและมีจำหน่ายมากในตลาดค้ายาสำหรับกุ้ง มีความรุนแรงเรียงลำดับดังนี้

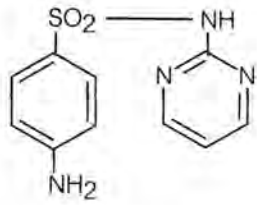
ไซโปรฟล็อกซาซิน > โลเมฟล็อกซาซิน > ออฟฟล็อกซาซิน > พลีฟล็อกซาซิน > นอร์ฟล็อกซาซิน
(Ciprofloxacin) (Lomefloxacin) (Ofloxacin) (plefloxacin) (Norfloxacin)

ยาออฟฟล็อกซาซิน โลเมฟล็อกซาซิน และพลีฟล็อกซาซิน ถูกดูดซึมได้ดีมากตามลำดับ ให้ประโยชน์เกือบ 100% ซิโปรฟล็อกซาซิน ถูกดูดซึมได้น้อยลงมา ส่วนนอร์ฟล็อกซาซิน ซึ่งเป็นที่นิยมใช้รักษากุ้งป่วยกันมาก ถูกดูดซึมได้น้อยที่สุด ทำให้เหลือยามากในลำไส้กุ้ง จึงเป็นยาที่ใช้รักษาโรคลำไส้อักเสบจากแบคทีเรียในตัวกุ้งได้ดี (ไส้เหลือง ขี้ขาวเป็นหลอด) โดยจะฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ แต่ไม่ฆ่าแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic bacteria)

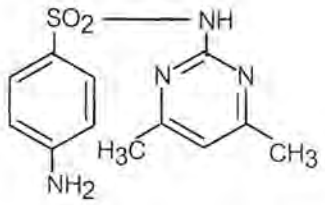
ยากลุ่มซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamides)

ยาซัลฟาเป็นผงสีขาว รสขม ไม่มีกลิ่น ทนความร้อนได้ดี ยาซัลฟาที่ละลายน้ำได้ดีต้องเตรียมอยู่ในรูปของเกลือ ยาซัลฟาออกฤทธิ์กว้างต่อแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการขยายตัวของแบคทีเรียโดยไปขัดขวางการสร้างเมทาโบไลต์ที่สำคัญของแบคทีเรีย กรณีที่กุ้งมีอาการป่วยอย่างเรื้อรัง การใช้ยาซัลฟาจะไม่ค่อยได้ผลดีเท่าที่ควร เนื่องจากยาซัลฟาออกฤทธิ์เพียงไปยับยั้งการเจริญและขยายตัวของแบคทีเรียเท่านั้น ด้วยเหตุนี้ยากลุ่มซัลฟาจึงเหมาะสมที่จะใช้ในการป้องกันและรักษาโรคในสัตว์น้ำในระยะเริ่มต้นที่ยังไม่มีอาการเรื้อรัง ยาซัลฟาที่ใช้กันมี 2 ชนิด คือ ซัลฟาไดอาซีน (sulfadiazine sodium salt) และซัลฟาเมทาซีน (sulfamethazine sodium salt)

I96800743

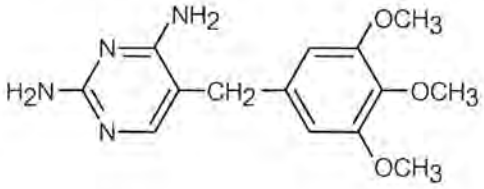


Sulfadiazine



Sulfamethazine

ยาซัลฟาเพียงตัวเดียวจะออกฤทธิ์เพียงยับยั้งการเจริญเติบโตและการขยายตัวของแบคทีเรียเท่านั้น เชื้อแบคทีเรียจะลดลงในช่วงแรกของการใช้ยา และเชื้อจะเพิ่มจำนวนขึ้นอีกเนื่องจากเชื้อยังไม่ตาย ดังนั้นหากใช้ยากลุ่มนี้นาน ๆ เชื้ออาจดื้อยาได้ ถ้าใช้ยาซัลฟารวมกับไตรเมโทรพริม



(Trimetroprim) การออกฤทธิ์จะแรงและเร็วกว่า

Trimetroprim

ซัลฟา-ไตรเมโทรพริมมีใช้กันหลายชนิด เป็นยารวมที่ประกอบด้วยซัลฟาเมทาซีนหรือซัลฟาไดอาซีน 400 mg และไตรเมโทรพริม 80 mg (5:1) ได้รับความนิยมแพร่หลาย และมีการใช้ยานี้มากมายจนเกินข้อบ่งชี้และเกินเหตุ ซัลฟาเมทาซีน-ไตรเมโทรพริม มีสมบัติดีกว่า ซัลฟาไดอาซีน-ไตรเมโทรพริม เนื่องจากซัลฟาเมทาซีนและไตรเมโทรพริมจะมีฤทธิ์เสริมกันและกัน ทำให้ยามีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ แต่ไม่ได้ป้องกันการดื้อยาของเชื้อต่อยาแต่ละชนิด เชื้อแบคทีเรียมีความสามารถในการดื้อยาทั้งสองชนิดได้รวดเร็ว จึงไม่สมควรให้กุ้งกินเป็นเวลานานติดต่อกัน ยาชนิดนี้เหมาะสำหรับใช้กับลูกกุ้งอายุ 15 วัน เพราะจะสามารถตัดเชื้อวิบริโอในตับ และรักษาโรคลำไส้อักเสบไปพร้อมกัน ยานี้ใช้กับแบคทีเรียแกรมลบ และกลุ่มวิบริโอ ได้ดี ยานี้ทำให้การ ผลิตเม็ดเลือดของกุ้งลดลง ทำให้ความสามารถในการจับเชื้อโรคด้วยเม็ดเลือดลดลงด้วย นอกจากนี้อาจทำให้เม็ดเลือดแตกง่าย เมื่อมีบาดแผลเลือดจะแข็งตัวช้า

ยาปฏิชีวนะหรือยาต้านจุลชีพที่เป็นที่รู้จักและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในกลุ่มนักเพาะเลี้ยงกุ้ง ได้แก่ ออกซีเท ทระซัยคลิน (Oxytetracycline) และกรดออกโซลินิก (Oxolinic Acid) สำหรับกรดออกโซลินิกนั้น เป็นยาที่ใช้กันเฉพาะกลุ่ม ไม่แพร่หลายนัก เมื่อเทียบกับยาในกลุ่มเททระซัยคลิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในบ่อเลี้ยง เพื่อป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย

Food and Drug Administration (FDA) ของสหรัฐอเมริกา ยินยอมให้ใช้สารเคมีหรือสารปฏิชีวนะบางชนิดกับกุ้งได้ แต่ต้องไม่มีสารตกค้าง หรือมีน้อยที่สุด เช่น

1. ฟอร์มาลิน (Formalin) ตกค้างไม่เกิน 0.1 ppm

2. เทอรามัยซิน (Terramycin) ต้องไม่มีตกค้าง

3. ไตรเมโทรพริม (Trimetroprim) ต้องไม่มีตกค้าง

สารปฏิชีวนะและสารเคมีที่ FDA สหรัฐอเมริกาห้ามใช้กับสัตว์น้ำโดยเด็ดขาด ได้แก่ กลุ่มฟลูออโรควิโนโลน สารกลุ่มนี้ดัดแปลงมาจากกรดนาลิดิซิก ได้แก่

1. กรดออกโซลินิก
2. นอร์ฟล็อกซาซิน
3. โรซ็อกซาซิน
4. ฟลูมิควิน
5. อื่นๆ

ยาปฏิชีวนะที่ห้ามใช้เด็ดขาดยังได้แก่

1. ออกซีเททระซัยคลิน
2. เททระซัยคลิน
3. ดอกซีซัยคลิน
4. คลอแรมฟีนิคอล

สารเคมีที่ห้ามใช้เด็ดขาด ได้แก่

1. มาลาไคท์ กรีน
2. ไนโตรฟิวแรน
3. อื่นๆ

ยาปฏิชีวนะบางชนิดที่ใช้กับกุ้งกุลาดำ (คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2538)

ชนิดยา	ปริมาณที่ใช้ทดลอง กรัม/กก.อาหารเม็ด	ผลของยา	ปริมาณ - ระยะเวลาที่ใช้	ระยะที่ตกค้าง
คลอแรมฟีนิคอล	2.5, 5.0	ยาดูดซึมเข้าตัวกุ้ง 0.02 – 0.2 ppm		2 วัน
ไนโตรฟิวราโซน	2.5, 5.0	ดูดซึมน้อยมาก		ตรวจไม่พบ
ซัลฟาไดอาซีน	10.0, 20.0	ดูดซึมได้เร็ว	ควรใช้ 10 กรัม ต่ออาหารเม็ด 1 กก. นาน 5 - 7 วัน	16 วัน
ซัลฟาเมทาซีน	10.0, 20.0	ดูดซึมได้เร็ว	ควรใช้ 10 กรัม ต่ออาหารเม็ด 1 กก. นาน 5 - 7 วัน	นานกว่า 20 วัน
ซัลฟาไทอาโซล	10.0, 20.0	ดูดซึมได้ไม่ดีนัก	ควรใช้ 20 กรัม ต่ออาหารเม็ด 1 กก. นาน 5 - 7 วัน	4 วัน
ซัลฟาโมโนเมทอกซิน	10.0, 20.0	ดูดซึมได้เร็ว	ควรใช้ 15-20 กรัม ต่ออาหารเม็ด 1 กก. นาน 5 - 7 วัน	นานกว่า 20 วัน
ออกซีเททระซัยคลิน	2.5, 5.0, 7.5	ดูดซึมเข้ากล้ามเนื้อสูงกว่าเลือด ดูดซึมได้เร็วแต่ไม่สมบูรณ์	ควรใช้ 5-7 กรัม ต่ออาหารเม็ด 1 กก. นาน 5 - 7 วัน	4 วัน

ฟูราโซลิโดน	5.0, 7.5	ดูดซึมเข้ากล้ามเนื้อได้น้อยมาก แต่สะสมอยู่หลายวัน	ควรใช้ 7.5 กรัม ต่ออาหารเม็ด 1 กก. นาน 5 - 7 วัน	6 วัน
ออกโซลินิก แอซิด	1.0, 2.0	(ข้อมูลไม่เพียงพอ)	ควรใช้ 2 กรัม ต่ออาหารเม็ด 1 กก. นาน 5 - 7 วัน	5 วัน

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลที่ได้จากการวิจัย และความต้องการของสหรัฐอเมริกา จะพบว่าแตกต่างกันมาก ที่เห็นได้ชัดเจน มี 3 ชนิด คือ

	สหรัฐฯ ทดลอง (มิลลิกรัม / กุ้ง 1 กก.)	ให้หยุดยาก่อนจับ (วัน)
1. ออกซีเททระซัยคลิน	50	25
2. ออกโซลินิก แอซิด	50	30
3. ซัลฟาโมโนเมทอกซิน	40	30

อย่างไรก็ตาม องค์กร FDA ของสหรัฐอเมริกา ได้ห้ามใช้ยาเหล่านี้กับกุ้งที่นำเข้าสหรัฐอเมริกาโดยเด็ดขาด สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้ทำเอกสารประชาสัมพันธ์ "ยาหรือเคมีภัณฑ์ที่ควรใช้ในการเลี้ยงกุ้ง" ดังนี้

ยาที่ไม่ควรใช้โดยเด็ดขาด

1. ยาต้านจุลชีพกลุ่มคลอแรมฟีนิคอล (Chloramphenicol)
   - 1.1 คลอแรมฟีนิคอล (Chloramphenicol)
   - 1.2 ไทแอมฟีนิคอล (Thaiamphenicol)
   - 1.3 ฟลอเฟนนิคอล (Flofenicol)
2. ยาต้านจุลชีพกลุ่มเบต้า-แลคแตม (β-Lactams)
   - 2.1 แอมม็อกซิซิลิน (Amoxicillin)
   - 2.2 แอมพิซิลิน (Ampicillin)
3. ยาต้านจุลชีพกลุ่มไนโตรฟิวแรน (Nitrofurans)
   - 3.1 ฟิวราโซลิโดน (Furazolidone)
   - 3.2 ไนเฟอไพรินอล (Nifurpirinol)
   - 3.3 ไนโตรฟิวแรนโตอิน (Nitrofurantoin)
   - 3.4 ไนโตรฟิวราโซน (Nitrofurazone)
   - 3.5 ไนเฟอสไตริเนต (Nifurstyrenate)
4. ยาต้านจุลชีพกลุ่มฟลูออโรควิโนโลน (Fluoroquinolones)
   - 4.1 ฟลูมิควิน (Flumequine)

4.2 เอ็นโรฟล็อกซาซิน (Enrofloxacin)

4.3 ซาราฟล็อกซาซิน (Sarafloxacin)

4.4 นอร์ฟล็อกซาซิน (Norfloxacin)

4.5 ไดฟล็อกซาซิน (Difloxacin)

4.6 ซิโปรฟล็อกซาซิน (Ciprofloxacin)

5. ยาต้านจุลชีพกลุ่มซัลโฟนามีด (Sulfonamides)

5.1 ซัลฟาไดอาซีน (Sulfadiazine)

5.2 ซัลฟาเมอราซีน (Sulfamerazine)

5.3 ซัลฟาไดมีดีน (Sulfadimidine)

5.4 ซัลฟาโมโนเมทท็อกซีน (Sulfamonomethoxine)

5.5 ซัลฟาไดเมทท็อกซีน (Sulfadimethoxine)

6. ยาต้านจุลชีพกลุ่มไกลโคเปปไทด์ (Glycopeptides)

6.1 บาซิทราซิน (Bacitracin)

6.2 แวนโคมัยซิน (Vancomycin)

6.3 โพลีมัยซิน (Polymyxins)

6.4 โคลิซติน (Colistin)

ยาที่แนะนำให้ใช้

ยาต้านจุลชีพที่จดทะเบียนกับ USFDA ในการรักษาโรคสัตว์น้ำ

1. ออกซีเททระซัยคลิน (Oxytetracycline) ชื่อทางการค้าคือ เทอรามัยซิน, ไฟเซอร์ (Terramycin®, Pfizer)

2. ซัลฟาไดเมทท็อกซีน (Sulfamethoxine) + ออเมโทรพริม (Ormethoprim) ชื่อทางการค้าคือ โรเมท-30, ฮอฟแมน-ลาโรซ (Romet-30®, Hoffman-LaRoche)

ยาที่แนะนำให้ใช้ได้เมื่อจำเป็น

ยาต้านจุลชีพกลุ่มเททระซัยคลิน (tetracyclines)

1. เททระซัยคลิน (Tetracycline)
2. คลอเททระซัยคลิน (Chlortetracycline)
3. ออกซีเททระซัยคลิน (Oxytetracycline)
4. ดอกซีซัยคลิน (Doxycycline)

ยาต้านจุลชีพกลุ่มควิโนโลน (Quinolones)

1. นาลิดิกซิก แอซิด (Nalidixic acid)
2. ออกโซลินิก แอซิด (Oxolinic acid)

เกษตรกรมักใช้สารเคมีต่าง ๆ ตามคำแนะนำของผู้ผลิตสารเคมีเหล่านั้นบนฉลาก โดยไม่มีความรู้ทางเคมีเพียงพอที่จะพิจารณาถึงความจำเป็นและประสิทธิภาพของการใช้สารเหล่านั้น การใช้สารปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงกุ้งนั้น แม้จะทำให้กุ้งมีสุขภาพดีขึ้น แต่การใช้อย่างไม่ถูกวิธีนอกจากจะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และเป็นปัญหากับการส่งออกผลิตภัณฑ์กุ้งแล้ว ยังมีผลต่อการเพาะเลี้ยงกุ้งคือจะไปกระตุ้นให้แบคทีเรียดื้อยา อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีผู้เสนอแนะวิธีการใช้สารปฏิชีวนะในบ่อกุ้งที่ถูกต้อง แต่มีข้อแนะนำเกี่ยวกับการใช้สารปฏิชีวนะให้ได้ประโยชน์มากที่สุดคือ ไม่ควรใช้นานเกิน 5 วัน และเมื่อใช้แล้วต้องเว้นระยะไว้อย่างน้อย 14 วันจึงจะจับกุ้งได้ ข้อมูลเหล่านี้เป็นเพียงข้อเสนอแนะ ไม่สามารถยืนยันได้ 100% ว่าถ้าเว้นระยะไว้ 14 วันแล้วจะไม่มีสารปฏิชีวนะเหลือตกค้างอยู่ (พรเลิศ จันทร์รัชชกูล และคณะ, 2537) นอกจากนี้ การใช้สารปฏิชีวนะของเกษตรกรยังขึ้นกับฤดูกาล พื้นที่ของแหล่งเพาะเลี้ยง หรือปัญหาการระบาดของโรคเฉพาะหน้า วิธีที่จะได้ข้อมูลที่ถูกต้องคือการตรวจวิเคราะห์สารปฏิชีวนะตกค้างในห้องปฏิบัติการก่อนการจับขาย

การวิเคราะห์สารปฏิชีวนะตกค้างในอาหาร ทำได้หลายวิธี ได้แก่

- ✡ วิธีการทางเคมี (Chemical Methods)

  เช่น TLC, HPLC, GC, GC-MS, Spectrofluorometry, Capillary Electrophoresis ฯลฯ
- ✡ วิธีการทางจุลชีววิทยา (Microbiological Methods)

  เช่น Agar diffusion assay, Turbidimetric assay ฯลฯ
- ✡ วิธีทางภูมิคุ้มกันวิทยา (Immuno Assays)

  เช่น ELISA, RIA, CFT, Agglutination assay

วิธีการตรวจวิเคราะห์เหล่านี้ต้องทำในห้องปฏิบัติการ ในปัจจุบันกรมประมงมีหน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบประจำจังหวัดชายทะเล (ส่วนใหญ่จะอยู่ในบริเวณสถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง) ซึ่งทำหน้าที่ตรวจสอบรับรองผลผลิตสัตว์น้ำแก่ผู้ประกอบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำภายในพื้นที่ สำหรับกุ้งทะเลหน่วยนี้จะตรวจสอบปริมาณสารปฏิชีวนะ ได้แก่ ออกซีเททระซัยคลิน และออกโซลินิกแอซิด ที่ตกค้างในส่วนเนื้อ โดย Chromatographic Methods อย่างไรก็ตาม หน่วยงานเหล่านี้จึงยังไม่สามารถให้บริการตรวจสอบและให้คำแนะนำแก่เกษตรกรได้อย่างทั่วถึง การส่งตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์จะต้องใช้ระยะเวลาหลายวัน ทำให้เกษตรกรสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงกุ้งอีกมาก เกษตรกรส่วนใหญ่จึงจับกุ้งขายโดยไม่ได้ตรวจวิเคราะห์ นอกจากนี้ การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารปฏิชีวนะตกค้างเหล่านี้ไม่ว่าจะเป็นวิธีทางเคมี วิธีทางจุลชีววิทยา หรือวิธีทางภูมิคุ้มกันวิทยาต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์มาก และต้องใช้เครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูง จึงควรมีการพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารปฏิชีวนะที่รวดเร็วและถูกต้องขึ้นเพื่อแก้ปัญหาเหล่านี้

การวิเคราะห์สารอินทรีย์ตกค้างปริมาณน้อยมาก

สารปฏิชีวนะที่ตกค้างในกุ้งจะมีปริมาณน้อยมาก (trace levels) ในระดับส่วนในล้านส่วน (ppm) การวิเคราะห์ปริมาณสารปนเปื้อนในอาหารที่เจือปนอยู่ในปริมาณน้อยมาก (trace levels) เมื่อมีสารอื่น ๆ ที่มีปริมาณมากในอาหารนั้น ทำได้ยากเนื่องจากสารเหล่านั้นอาจรบกวนการวิเคราะห์ วิธีการวิเคราะห์สารอินทรีย์ตกค้าง

ปริมาณน้อยมากทำได้หลายวิธี ทุกวิธีประกอบด้วยขั้นตอนพื้นฐาน คือ การเตรียมตัวอย่าง (sample preparation) การสกัด (extraction) การคลีนอัพ (cleanup) การแยกและการตรวจวัด (separation and detection)

การเตรียมตัวอย่าง *(sample preparation)*

การเตรียมตัวอย่างมีวัตถุประสงค์หลักคือ การทำให้ได้ตัวอย่าง (subsample) ที่เป็นตัวแทนของตัวอย่างเริ่มต้น ดังนั้น จะต้องเก็บตัวอย่างในที่เย็นตั้งแต่จุดเก็บตัวอย่าง สำหรับตัวอย่างที่ไม่ใช่ของเหลว จะต้องนำตัวอย่างปริมาณมากพอมาผสมและทำให้มีขนาดเล็กลงโดยการสับ หรือบด จนทำให้ตัวอย่างที่จะนำไปวิเคราะห์เป็นเนื้อเดียวกันและเป็นตัวแทนของตัวอย่างเริ่มต้น

การสกัด *(extraction)*

เป็นการสกัดสารที่ต้องการวิเคราะห์จากส่วนประกอบอื่นๆ ของตัวอย่าง การสกัด liquid foods อาจทำได้โดย liquid-liquid extraction โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ หรือโดยเทคนิค solid-phase extraction (SPE) การสกัด solid foods ขึ้นกับสภาพขั้วของสารอินทรีย์ที่ต้องการวิเคราะห์ และเมทริกซ์ของตัวอย่างอาหาร โดยทั่วไปทำโดยการทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenize) กับตัวทำละลายหรือสารละลายสกัดที่เหมาะสมด้วย shaker, blender, Polytron. Omni mixer, หรือ sonicator

นอกจากนี้ การสกัดสารอินทรีย์ปริมาณน้อยมากอาจทำได้ด้วยเทคนิค supercritical fluid extraction (SFE) โดยใช้ supercritical fluid (มักใช้ CO_2) และ organic modifier หรือเทคนิค microwave extraction ข้อดีของเทคนิคทั้งสองนี้คือ ลดการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ลดเวลาที่ใช้สำหรับการเตรียมตัวอย่าง และลดปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นพิษซึ่งผู้วิเคราะห์ได้รับ และลดปัญหาเกี่ยวกับการทิ้งตัวทำละลายดังกล่าว

การคลีนอัพ *(cleanup or isolation)*

เป็นขั้นตอนที่กำจัดองค์ประกอบที่รบกวนการวิเคราะห์สารที่สนใจ ทำให้สารที่ต้องการวิเคราะห์บริสุทธิ์ขึ้น และมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ขั้นตอนนี้ประกอบด้วย partitioning และ purification การเลือกวิธีการ cleanup ขึ้นกับการละลาย สมบัติไอออนิกและสภาพขั้ว เสถียรภาพต่อความร้อน และมวลโมเลกุลของสารประกอบ การคลีนอัพที่นิยมใช้คือ preparative chromatography ซึ่งใช้ในการทำให้บริสุทธิ์โดย (1) adsorption chromatography ซึ่งใช้คอลัมน์ที่บรรจุ Florisil, silica, alumina, carbon หรือ (2) gel permeation (or size exclusion) chromatography

ขั้นตอนการคลีนอัพ ทำให้เกิดข้อจำกัดในการวิเคราะห์สารอินทรีย์ตกค้างปริมาณน้อยมาก เนื่องจากต้องใช้เวลานาน และในบางกรณีจะให้ %recovery ของสารที่ต้องการวิเคราะห์ต่ำ ทำให้ผลการวิเคราะห์ไม่ถูกต้อง ในปัจจุบันมีเทคโนโลยีใหม่ในการคลีนอัพ เช่น solid phase extraction (SPE) ซึ่งทำให้การคลีนอัพและการสกัดทำได้เร็วขึ้น อย่างไรก็ดี SPE มีข้อเสียคือ ไม่สามารถใช้กับตัวอย่างปริมาณมาก ๆ ได้

เดริเวไทเซชัน (derivatization)

เป็นการทำให้สารที่ต้องการวิเคราะห์อยู่ในรูปอนุพันธ์ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ ทำให้การสกัด การคลีนอัพ การแยก หรือการตรวจวัดมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น ขั้นตอนนี้มีความจำเป็นสำหรับการวิเคราะห์สารบางชนิด

และบางวิธีเท่านั้น เช่น ในการวิเคราะห์ด้วย GC อาจทำ derivatization โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อ (ก) เพิ่มสภาพระเหยได้ของสารที่ต้องการวิเคราะห์ (ข) เพิ่มเสถียรภาพต่อความร้อน (ค) เพิ่มสภาพตรวจวัดได้ของสารที่ต้องการวิเคราะห์ต่อ detector ในการวิเคราะห์ด้วย HPLC อาจทำ derivatization เพื่อ เพิ่มสภาพตรวจวัดได้ของสารที่ต้องการวิเคราะห์ต่อ detector chemical derivatization นี้อาจทำได้ทั้ง precolumn และ postcolumn

การแยกและการตรวจวัด (separation and detection)

เป็นขั้นตอนที่แยกสารที่ต้องการวิเคราะห์แต่ละชนิดและตัวอย่างที่ถูกสกัดมาด้วยออกจากกัน และการทำให้เกิด response ที่วัดปริมาณของส่วนประกอบแต่ละชนิด

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง การสกัด และการคลีนอัพ เป็นขั้นตอนที่ต้องใช้เวลามากและอาจก่อให้เกิดความผิดพลาดต่อการวิเคราะห์ได้มาก ขั้นตอนเหล่านี้จึงมีความสำคัญมาก เนื่องจากนักวิเคราะห์อาหารจะต้องแยกสารที่ต้องการวิเคราะห์จาก food matrices จึงมีความซับซ้อนและแปรเปลี่ยนไปตามชนิดของตัวอย่างเสมอ

Microwave Sample Preparation

ในปัจจุบันการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการเตรียมตัวอย่าง (sample preparation) ในห้องปฏิบัติการ (Browski and Schmaling, 1999) การเตรียมตัวอย่างโดยใช้ไมโครเวฟมีบทบาทในการวิเคราะห์อาหาร เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็ว โดยมีการนำไมโครเวฟมาใช้เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ.1975 เพื่อให้ความร้อนแก่กรดใน erlenmeyer flask เพื่อไดเจสต์ biological matrices ซึ่งทำให้ใช้เวลาในการไดเจสชันน้อยลงกว่าวิธีปกติที่ใช้กัน ในปัจจุบันมีการใช้ไมโครเวฟสำหรับการไดเจสต์ตัวอย่าง การทำให้เข้มข้น การสกัด โปรตีนไฮโดรลิซิส และการสังเคราะห์สารอินทรีย์ นอกจากนี้ พบว่าไมโครเวฟใช้ได้ดีทั้งในการหาปริมาณสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ใน sample matrices ต่าง ๆ ข้อดีของเทคนิคนี้คือ ทำได้อย่างรวดเร็ว ทำแบบอัตโนมัติ (automation) ได้ง่าย สามารถลด background contamination ได้ และโดยทั่วไปวิธีนี้จะให้ % recoveries สูง (Wong,et.al.,1997)

การเลี้ยงกุ้งกุลาดำให้ปลอดจากโรคติดเชื้อ

โรคในกุ้งกุลาดำสามารถแบ่งออกเป็น 2 อย่างด้วยกัน คือ **โรคที่ไม่ติดเชื้อ** และ **โรคติดเชื้อ**

โรคที่ไม่ติดเชื้อนั้นเกิดจากสาเหตุหลายประการคือ

1. ขาดการจัดการที่เหมาะสม เช่น ไม่ได้ตรวจสอบคุณภาพน้ำอย่างละเอียดก่อนเปลี่ยนถ่ายน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารพิษต่าง ๆ
2. องค์ประกอบต่าง ๆ ในน้ำและดินมีการเปลี่ยนแปลง เช่นความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณแพลงตอนพืชและสัตว์มีไม่สม่ำเสมอ
3. อาหารที่กุ้งได้รับมีองค์ประกอบของธาตุอาหารไม่ครบถ้วน
4. เกิดจากสายสายพันธุ์กุ้งเอง

จะเห็นได้ว่าโรคที่ไม่ติดเชื้อนั้น สามารถก่อให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในเรื่องคุณภาพน้ำและดินที่เปลี่ยนแปลงอย่างกระทันหัน หรือมีสารพิษปนเปื้อนในน้ำ หรือก่อให้เกิดความเครียดต่อกุ้งแล้ว

มีเชื้อโรคต่าง ๆ เข้าแทรกซ้อน สำหรับกุ้งที่ได้รับสารอาหารไม่ครบถ้วนเป็นเวลานาน จะแสดงอาการเมื่อกุ้งมีอายุมาก เช่น หนึ่งเดือนขึ้นไป กุ้งเหล่านั้นจะมีสุขภาพไม่แข็งแรง เติบโตช้า เชื้อโรคต่าง ๆ เข้าแทรกซ้อนได้ง่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของการมีไขมันแทรกในตับมากเกินไป ซึ่งอาจจะเกิดจากการผิดปกติของตับในการนำไขมันไปใช้เป็นพลังงาน หรือเกิดจากปริมาณของไขมันมีมากเกินไปในอาหาร นอกไปจากนี้อาหารยังมีความสำคัญต่อคุณภาพและปริมาณของเลือดกุ้ง ซึ่งเลือดกุ้งมีบทบาทสำคัญยิ่งในการกำจัดศัตรู เช่น พวกเชื้อโรคต่าง ๆ หรือสารพิษต่าง ๆ ตลอดจนมีหน้าที่นำสารอาหารต่าง ๆ ไปเลี้ยงร่างกายกุ้ง การขาดอาหาร เช่น ไวตามินชนิดต่าง ๆ จะก่อให้เกิดปัญหาต่างๆ ได้ ฉะนั้นในเรื่องของอาหารผู้เลี้ยงควรจะศึกษาข้อมูลจากผู้ผลิตอย่างรอบคอบ เปรียบเทียบอัตราการอยู่รอด ตลอดจนอัตราการเจริญเติบโต และอัตราแลกเนื้อ หรือควรมีการเสริมธาตุอาหารที่จำเป็นเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ที่สำคัญยิ่งควรพิจารณาถึงคุณภาพของกุ้งด้วย ทั้งนี้เนื่องจากว่าการผลิตกุ้งกุลาดำส่วนใหญ่ของไทยนั้นเพื่อการส่งออก ผู้ซื้อทุกประเทศไม่ว่าจะเป็นตลาดในยุโรป อเมริกา หรือในเอเชีย จะมีข้อกำหนดไม่ให้มีการปนเปื้อนของเชื้อโรคต่างๆ เช่น เชื้อ samonella หรือสารพิษต่างๆ เช่น สารปราบศัตรูพืช โลหะหนักบางชนิด รวมทั้งสารปฏิชีวนะต่างๆ เช่น oxytetracycline , oxolinic acid ฉะนั้นจึงควรมีการจัดการผลิตให้ถูกวิธี รวมทั้งมีการตรวจสอบคุณภาพสัตว์น้ำอย่างสม่ำเสมอจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

นอกจากการสูญเสียของกุ้งเนื่องจากโรคที่ไม่ติดเชื้อแล้ว ยังมีการสูญเสียที่สำคัญยิ่งอันเนื่องมาจากโรคที่ติดเชื้อ เชื้อโรคที่สำคัญที่พบได้เสมอในกุ้งที่ป่วยมีดังนี้คือ

1. **พยาธิภายนอก** ซึ่งสามารถแก้ได้หลายวิธีคือตรวจสอบสุขภาพกุ้งอย่างสม่ำเสมอ เปลี่ยนถ่ายน้ำ ใช้สารเคมีบางชนิด เช่นฟอร์มาลิน ตามขนาดและปริมาณที่ผู้ผลิตแนะนำ มีการตรวจสอบคุณภาพน้ำอย่างสม่ำเสมอ และควบคุมปริมาณอาหารให้เหมาะสม

2. **เชื้อแบคทีเรีย** แนวทางแก้ไข และรักษาโรคที่เกิดจากแบคทีเรียทำได้โดย ตรวจสอบชนิดและปริมาณของเชื้อแบคทีเรียในน้ำอย่างสม่ำเสมอ และควรใช้ยาฆ่าเชื้อเป็นครั้งคราว ตรวจสอบสุขภาพกุ้งโดยควรทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียจากเลือดหรือตับกุ้งเป็นระยะอย่างน้อยทุกอาทิตย์ เมื่อกุ้งเริ่มแสดงอาการป่วยควรทำการควบคุมและรักษาด้วยยาปฏิชีวนะโดย

   1. ใช้ยาปฏิชีวนะที่ไวต่อเชื้อที่ทำให้เกิดโรค นั่นหมายความว่าควรมีห้องปฏิบัติการที่มีความพร้อมทั้งทางด้านอุปกรณ์และบุคลากร
   2. ให้ยาหรือสารเคมีในขนาดที่ถูกต้องทันทีทันใด ในขณะที่กุ้งยังกินอาหารอยู่
   3. ให้อาหารเสริมพวกวิตามินและแร่ธาตุ เพื่อช่วยให้กุ้งมีสุขภาพแข็งแรงขึ้น
   4. ควรเว้นระยะหยุดยาอย่างน้อย 14 วัน ก่อนจำหน่ายเพื่อป้องกันไม่ให้มีสารปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อกุ้ง

3. **โรคที่เกิดจากไวรัส** แนวทางการป้องกันและรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสในกุ้งกุลาดำโดยทั่วไปแล้วยังไม่มีการรักษาโรคที่เกิดจากไวรัสโดยตรง ฉะนั้นเมื่อกุ้งป่วยด้วยไวรัสจำเป็นจะต้องป้องกันมิให้เชื้ออื่นเข้าแทรกซ้อนโดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย จึงนิยมให้ยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันโรคแทรกซ้อน

จะเห็นได้ว่าโรคที่เกิดกับกุ้งกุลาดำมีด้วยกันหลายสาเหตุ ในแต่ละสาเหตุมีวิธีการควบคุมป้องกันและรักษาต่างๆ กัน ผู้เลี้ยงจำเป็นจะต้องมีการจัดการอย่างรัดกุม ควรจะมีการวางแผนการผลิต และที่สำคัญควรจะมีการเฝ้า

ระวังโรคอย่างถูกวิธีและสม่ำเสมอ ซึ่งในปัจจุบันนี้มีภาคเอกชนให้บริการการตรวจคุณภาพ น้ำ-ดิน และตัวกุ้งอย่างต่อเนื่องในทุกพื้นที่ ซึ่งมีส่วนช่วยให้มีผลผลิตเพิ่มมากขึ้น ที่สำคัญคือจะต้องควบคุมคุณภาพของเนื้อกุ้งให้มีรสชาดเหมือนกุ้งจากธรรมชาติ และมีความสดปราศจากเชื้อโรคและสารตกค้างทุกชนิดตามหลักสากล เพื่อเป็นหลักประกันว่านี่คือกุ้งจากประเทศไทย

การแก้ปัญหาสารตกค้างในกุ้งกุลาดำ

จากการที่ประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปหรืออียูตรวจพบยาในกลุ่ม Nitrofurans จากกุ้งกุลาดำที่มาจากประเทศไทย และมีการเผาทำลายไปตามที่มีรายงานตามข่าวไปแล้วนั้น ส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งกุลาดำของไทยอย่างมาก เนื่องจากประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ของกุ้งทะเลจากประเทศไทยทั้งหมดเป็นการส่งออกจริงอยู่ที่ปริมาณส่วนแบ่งของตลาดกุ้งไทยในประเทศกลุ่มสหภาพยุโรปมีไม่มาก เพียงไม่กี่เปอร์เซ็นต์ แต่ข่าวที่ออกไปนั้นกระจายไปทั่วโลก ทำให้ประเทศอื่นๆ ที่ซื้อกุ้งจากประเทศไทย โดยเฉพาะสหรัฐอมริกาซึ่งเป็นตลาดใหญ่ของไทย เกิดความกังวลว่ากุ้งจากประเทศไทยมีสารตกค้างมาก อาจจะเป็นปัญหาต่อผู้บริโภค แม้ว่าปริมาณสารตกค้างจะมีปริมาณเพียงเล็กน้อยก็ตาม การที่ประเทศในกลุ่มอียูใช้วิธีการตรวจที่ค่อนข้างจะละเอียดกาที่เคยปฏิบัติกันมา โดยเนื้อแท้แล้วอาจจะเป็นเพราะที่ผ่านมาตั้งแต่มีการระบาดของโรควัวบ้าในยุโรป ธุรกิจฟาร์มเลี้ยงวัวในประเทศกลุ่มยุโรปได้รับความเสียหายมาก ประชาชนหันไปบริโภคอาหารทะเลและไก่เพิ่มขึ้น การที่อียูออกมาให้ความเข้มงวดในเรื่องสารตกค้างในกุ้ง อาจเพื่อต้องการให้ผู้บริโภคหันไปกินวัวอย่างเดิมหรือไม่ อย่างไรก็ตามในเมื่อมีปัญหาเกิดขึ้น เราเป็นผู้ผลิตก็ต้องปฏิบัติตามเงื่อนไขต่างๆ เพื่อให้สอดคล้องกับกฎระเบียบของประเทศผู้ซื้อ

สถานภาพการเลี้ยงกุ้งของเกษตรกรส่วนใหญ่ในปี 2544

ปี 2544 การเลี้ยงกุ้งโดยภาพรวมไม่ค่อยประสบความสำเร็จ กุ้งมีปัญหามาก คือ กุ้งโตช้า เป็นโรคขี้ขาวตัวหลวม ดังนั้นเวลาจับกุ้งจะได้ผลผลิตต่ำกว่าเป้าหมายที่วางไว้ อาการต่างๆ เหล่านี้ล้วนเป็นปัจจัยที่จะทำให้ผู้เลี้ยงใช้ยาปฏิชีวนะ เพื่อป้องกันหรือพยายามแก้ปัญหาให้ดีขึ้น แต่ส่วนใหญ่ในปีที่ผ่านมามักจะไม่ได้ผล ในที่สุดก็ต้องจับกุ้งที่มียาปฏิชีวนะตกค้างขึ้นมา

เมื่อมีปัญหาเกิดขึ้นถ้ามองอย่างง่ายๆ คืออย่าใช้ยาปฏิชีวนะ เลี้ยงโดยใช้จุลินทรีย์เติมลงไปในบ่อ ทำความสะอาดพื้นบ่อและมีการใช้จุลินทรีย์บางชนิดผสมอาหารให้กุ้งกินเป็นระยะๆ ที่เรียกกันทั่วไปว่า Probiotic กุ้งก็จะแข็งแรงเพราะแบคทีเรียเหล่านั้นผลิตกรดออกมา ลด pH ของทางเดินอาหาร จะป้องกันการเกิดโรคจากเชื้อไวรัสได้ แบคทีเรียบางชนิดสามารถผลิตสารที่ทำให้กุ้งสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานโรคต่างๆ ได้ วิธีการเลี้ยงที่มีการแนะนำคือการเลี้ยงที่เน้นที่การป้องกันแทนที่จะเน้นที่การรักษา เพราะเมื่อกุ้งป่วยแล้วจะรักษาไม่ได้ผล การป้องกันได้แก่การรักษาพื้นบ่อให้สะอาดกุ้งจะแข็งแรงและไม่ป่วย ฟาร์มที่มีความรู้ความเข้าใจดีจะให้ความสำคัญกับปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องและทำให้การเลี้ยงกุ้งประสบความสำเร็จ แต่ยังมีฟาร์มขนาดเล็กหรือรายย่อยเป็นจำนวนมากที่เลี้ยงแบบไม่ค่อยจะถูกต้องนัก การจัดการพื้นบ่อ คุณภาพน้ำ การให้อากาศและอื่นๆ ไม่ดีเท่าที่ควร เมื่อกุ้งมีอาการผิดปกติหรือป่วย ขนาดกุ้งก็ยังเล็กหรือยังไม่ได้ขนาดที่จะขาย เช่นตั้งใจว่าจะขายเมื่อกุ้งมีอายุ 120 วัน จึงตั้งใจว่าจะหยุดให้ยากุ้งเมื่อมีอายุ 90 วัน เพราะรู้ดีว่าต้องหยุดให้ยาอย่างน้อย 30 วันก่อนจับขาย แต่พอกุ้งมีอายุ 80 วัน กุ้งเริ่มกิน

อาหารลดลง ฟ้าปิดหลายวันกุ้งเข้าไปหมกเลนมาก จึงให้ยากินเพื่อป้องกันกุ้งติดเชื้อแบคทีเรีย เมื่อกุ้งเข้าไปหมกเลนนานๆ ปรากฏว่าหลังจากนั้นไม่กี่วันอาการของกุ้งไม่ดีขึ้น กินอาหารลดลงเรื่อยๆ ในที่สุดต้องจับทั้งๆ ที่รู้ว่าจะงดให้ยาก่อนจับ 30 วัน นี่เป็นตัวอย่างที่มักจะเกิดขึ้นจริงเสมอเช่นเดียวกับอาการขี้ขาว ต้องให้ยา แต่กุ้งไม่หายป่วย ในที่สุดก็ต้องจับกุ้งที่มียาตกค้างอยู่

ปัญหาที่เกิดขึ้นจริงเช่นนี้ หนทางแก้ไขต้องร่วมมือกัน การที่บอกว่าให้งดการใช้ยา ให้ใช้จุลินทรีย์แต่เพียงอย่างเดียวก็แก้ปัญหายาตกค้างได้แล้ว พูดง่ายแต่ทำยาก เกษตรกรรายย่อยมีความรู้ไม่มาก อุปกรณ์ในการเลี้ยงกุ้ง เครื่องให้อากาศ และระบบการเลี้ยงที่ไม่ค่อยพร้อม มักจะมีปัญหาในระหว่างการเลี้ยงบ่อยๆ ดังนั้นทุกฝ่ายต้องร่วมมือกันแก้ปัญหาอย่างจริงจัง โดยมองในภาพรวมที่ต้องปฏิบัติด้วยกันคือ

1. สารต้องห้ามทุกชนิดที่ประเทศผู้ซื้อประกาศห้ามใช้อย่างเด็ดขาด ต้องไม่มีขายในประเทศ และห้ามนำเข้ามาจำหน่าย

2. ให้ความรู้ความเข้าใจการเลี้ยงแบบชีวภาพหรือ Probiotic อย่างถูกต้องแก่ฟาร์มที่มีความพร้อม และสามารถทำได้แบบค่อยเป็นค่อยไป

3. ถ้าจำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะก็ต้องเป็นชนิดที่ประเทศผู้ซื้อกุ้งอนุญาตให้ใช้ แต่ต้องมีสะสมได้ไม่เกินที่กำหนดไว้

4. ห้องเย็นต้องทำการสุ่มตรวจหายาตกค้างในกุ้ง เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มียาตกค้าง ถ้าทุกห้องเย็นปฏิบัติเหมือนกัน ในที่สุดผู้เลี้ยงกุ้งก็ต้องระมัดระวัง ถ้ามียาตกค้างจะทำให้ขายกุ้งไม่ได้ ในกรณีนี้สิ่งที่ต้องควรระมัดระวังคือการตรวจยาตกค้างในแต่ละห้องปฏิบัติการต้องมีมาตรฐานเดียวกัน

แนวทางปฏิบัติของกรมประมงในการแก้ไขสถานการณ์สารตกค้างในกุ้งไทย

1. กรมประมงในฐานะที่เป็น Competent Authority ได้ทำการตรวจวิเคราะห์คลอแรมเฟนิคอลในสินค้าก่อนการส่งออก 100% หากตรวจพบในปริมาณที่เกินกว่า 0.3 ppb. จะไม่อนุญาตให้ส่งออก ซึ่งได้ดำเนินการตั้งแต่ตุลาคม 2544 เป็นต้นมา และได้ทำการตรวจวิเคราะห์ Nitrofuran ตั้งแต่ 15 กุมภาพันธ์ 2545

2. กรมประมงได้สุ่มเก็บตัวอย่างเคมีภัณฑ์และตัวอย่างกุ้งกุลาดำเพื่อตรวจหาคลอแรมเฟนิคอลตั้งแต่ปลายปีที่แล้ว และเมื่อตรวจพบจะทำการแจ้งไปยังชมรมผู้ค้าปัจจัยการผลิตและส่งเจ้าหน้าที่ไปให้คำแนะนำแก่เกษตรกรถึงผลเสียและห้ามใช้ยาดังกล่าว

3. กรมประมงได้สุ่มตรวจไนโตรฟูราน และคลอแรมเฟนิคอลในอาหารกุ้งที่เก็บจากโรงงานผลิตอาหารกุ้ง

4. ตรวจสอบสารตกค้างในกุ้งกุลาดำที่ตลาดกลางเพื่อสร้างความมั่นใจให้ผู้ประกอบการ และสามารถตรวจ

สอบย้อนกลับไปยังฟาร์มได้

5. กรมประมงได้จัดซื้อเครื่องวิเคราะห์หาคลอแรมเฟนิคอลและคอลัมoNในการตรวจหาไนโตรฟูราน ให้แก่

ศูนย์/สถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งทั่วประเทศ เพื่อให้บริการแก่เกษตรกรในการตรวจสารตกค้าง

6. จัดอบรมเกษตรกรในพื้นที่ที่มีการเลี้ยงกุ้งในหัวข้อเรื่องการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำคุณภาพในเดือนมีนาคม 2545 ในพื้นที่ 8 จังหวัด จำนวน 11 ครั้ง มีเกษตรกรเข้าร่วมประมาณ 1,000 ราย

7. กรมประมงร่วมกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้จัดอบรมเจ้าหน้าที่ของกรมประมงให้เป็นพนักงานเจ้าหน้าที่ตามพระราชบัญญัติอาหารและยา

8. จัดอบรมใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์สารตกค้างให้แก่เจ้าหน้าที่กรมประมงและเจ้าหน้าที่ของโรงงานแปรรูป

9. กรมประมงร่วมกับสำนักมาตรฐานและตรวจสอบสินค้าเกษตรได้จัดทำแผ่นพับ ประชาสัมพันธ์เกี่ยวกับ

การใช้ยาที่ถูกต้อง ยาที่ห้ามใช้และยาที่ใช้ได้เมื่อจำเป็นแจกจ่ายแก่เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งทะเลทั่วประเทศ

10. กรมประมงได้สั่งการให้เจ้าหน้าที่ของกรมประมงติดตามการใช้ยาของเกษตรกรอย่างใกล้ชิด

11. กรมประมงส่งเสริมให้เกษตรกรเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบรักษาสิ่งแวดล้อม ตามแนวทาง Code of Conduct โดยมุ่งเน้นการผลิตที่ปลอดภัย มีคุณภาพและการผลิตทุกขบวนการตั้งแต่ฟาร์มถึงการส่งออกที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ซึ่งเมื่อวันที่ 3 เมษายน 2545 ฯพณฯ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้มอบใบรับรองฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลตามมาตรฐาน CoC ให้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งจำนวน 23 ราย และโรงเพาะฟักจำนวน 3 แห่ง

12. กรมประมงได้จัดทำระบบการแก้ไขปัญหาสารตกค้างในสินค้าสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงอย่างครบวงจร และเป็นระบบที่กรมประมงได้แจ้งให้สหภาพยุโรป อเมริกา และแคนาดาได้รับทราบอย่างเป็นทางการ กรมประมงได้จัดทำโครงการตรวจสอบติดตามป้องกันยาปฏิชีวนะตกค้างในผลผลิตกุ้ง เสนอขอใช้งบกระตุ้นเศรษฐกิจ ในวงเงิน 574 ล้านบาท ระยะดำเนินงาน 5 ปี

มาตรการป้องกันและแก้ไขปัญหาสารตกค้างในสินค้ากุ้งตามมติคณะรัฐมนตรี

ระยะสั้น

1. เรียกสินค้ากุ้งที่อยู่ระหว่างเดินทางและไม่มีความมั่นใจในเรื่องสารตกค้างให้นำกลับมาตรวจใหม่และล่าสุดนำกลับมา 14 ตู้คอนเทนเนอร์จาก 5 บริษัท

2. ตรวจสอบสินค้ากุ้งที่ส่งออกไปต่างประเทศ 100%

3. ให้บริการตรวจสอบสารตกค้างให้แก่เกษตรกรในพื้นที่ชายฝั่งทะเล ตามศูนย์/สถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง

4. กรมประมงจัดทำหนังสือไปยังประเทศผู้ส่งออกวัตถุดิบกุ้งเข้าประเทศไทย โดยผ่านทางสถานฑูต ได้แก่

ประเทศจีน อินเดีย อินโดนีเซีย บังคลาเทศ มาเลเซีย และพม่า เพื่อให้ผู้ส่งออกจัดทำใบปลอดโรค (Health Certification) จากประเทศต้นทางมาแสดงยังประเทศไทยด้วย พร้อมทั้งประสานกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ในการตรวจสอบใบปลอดโรคอีกทางหนึ่งด้วย

5. ประชาสัมพันธ์เกี่ยวกับผลเสียของสารตกค้างในสินค้ากุ้ง และแนวทางในการผลิตกุ้งปลอดสารผ่านสื่อต่างๆ

6. รณรงค์และประชาสัมพันธ์เกี่ยวกับผลเสียของสารตกค้างโดยผ่านบริษัทค้าอาหารสัตว์น้ำ/เคมีภัณฑ์ โดยจัดทำฉลากติดถุงอาหาร

ระยะยาว

1. ส่งเสริมให้เกษตรกรเลี้ยงกุ้งระบบชีวภาพตามแนวทาง Code of Conduct เพื่อให้ได้กุ้งคุณภาพปลอดภัย และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

2. กรมประมงมีแผนการควบคุมและตรวจสอบยาปฏิชีวนะที่ห้ามใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำซึ่งจะควบคุมทุกขั้นตอน
การผลิต และซื้อขาย ซึ่งสามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ทุกเวลา โดยดำเนินการดังนี้

- ตรวจสอบในระดับฟาร์มและจัดทำหนังสือกำกับการซื้อ – ขายกุ้งกุลาดำ (Movement Document) ทุก
  ครั้งที่มีการซื้อขาย
- ปรับปรุงทะเบียนผู้เลี้ยงกุ้งทะเลให้เป็นปัจจุบันเพื่อประโยชน์ในการจัดทำ Movement Document และ
  สอบกลับ
- สร้างความเข้าใจผู้ประกอบการที่เกี่ยงข้องกับอุตสาหกรรมกุ้ง

ความจำเป็นของการมีชุดตรวจสอบสารตกค้างในกุ้ง

1. เพื่อเป็นเครื่องมือในการเฝ้าระวังหรือป้องกันโรคต่างๆ ที่จะเกิดกับกุ้ง
2. เพื่อให้การตรวจหาสารตกค้างมีความรวดเร็ว และมีความแม่นยำในระดับหนึ่ง
3. เป็นชุดตรวจสอบที่ทำได้ง่าย รวดเร็ว และราคาหรือค่าใช้จ่ายต่ำ สามารถใช้ได้อย่างแพร่หลาย และมีประสิทธิภาพ
4. เป็นเครื่องมือที่ช่วยให้การดำเนินการตามแนวทง Code fo Conduct ประสบความสำเร็จเป็นวงกว้าง

แนวทางในการพัฒนาชุดตรวจสอบสารปฏิชีวนะตกค้างในกุ้ง

1. ค้นคว้าข้อมูลทางการวิเคราะห์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง เพื่อคัดเลือกระบบการวิเคราะห์ทางเคมีที่มีความเป็นไปได้
มาจำนวนหนึ่งในการพัฒนาเป็นชุดตรวจสอบที่ดีได้
2. ดำเนินการตรวจสอบความเป็นไปได้ของแต่ละระบบ สรุป รวบรวมข้อมูลและประมวลผล

3. พัฒนาเป็นชุดตรวจสอบ ซึ่งชุดตรวจสอบที่ดีจะต้องมีความรวดเร็วในการตรวจสอบ มีความแม่นยำพอ

สมควร และใช้ง่าย สะดวก ค่าใช้จ่ายต่ำ

4. ทำการ validate ชุดตรวจสอบกับวิธีวิเคราะห์มาตรฐานที่ใช้เครื่องมือวิเคราะห์ขั้นสูง

การศึกษาการเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์สารอินทรีย์ตกค้างปริมาณน้อยมากด้วยเทคนิคไมโครเวฟไดเจสชัน (microwave digestion) (Masahiro et al., 1996)

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์สารอินทรีย์ตกค้างปริมาณน้อยมาก (trace organic substances) ด้วยเทคนิคไมโครเวฟไดเจสชัน

สารเคมี

-10 % phosphoric acid

- hexane

เครื่องมือ

- Microwave digestion unit ชนิด closed system (Anton Paar)

วิธีทดลอง

1. นำเนื้อกุ้งมาหั่น แล้วนำมาปั่นใน blender
2. ชั่งเนื้อกุ้ง 3.00 g และ 5.00 g ใส่ในแต่ละ vessel
3. เติม 10% phosphoric acid 10 mL และน้ำกลั่น 15 mL ลงใน vessel ทั้งสอง
4. นำ vessel ไปบรรจุใน rotor แล้วนำเข้า microwave digestion unit เป็นเวลา 60 วินาที โดยตั้งโปรแกรมดังนี้

watt	time (mm:ss)	watt
100	0:10	500
500	0:50	500
0	5:00	0

บันทึกอุณหภูมิขณะทำไมโครเวฟไดเจสชัน

5. นำมากรองเอากากออก สกัดส่วนที่กรองได้ด้วย hexane 15 mL 3 ครั้ง เก็บชั้น hexane ไว้
6. นำชั้น hexane มากลั่นแบบลดความดันด้วย rotary evaporator แล้วพ่นด้วยแก๊สไนโตรเจนจนแห้ง
7. ชั่งน้ำหนักสารที่เหลือ

8. ทำการทดลองควบคุม (control) โดยใช้เนื้อกุ้ง 3.00 g และ 5.00 g ทดลองเช่นเดียวกัน แต่ไม่ได้ทำไมโครเวฟไดเจสชัน

ผลการทดลอง

1. อุณหภูมิในขณะทำไมโครเวฟไดเจสชันเนื้อกุ้งเป็นเวลา 60 นาที

Sample weight (g)	Temperature (°C)															
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16
3.00	31	32	33	35	37	38	38	38	38	38	38	37	37	38	37	37
5.00	31	32	34	35	36	37	38	38	38	38	38	37	38	37	37	38

2. ปริมาณไขมันที่ลดลงเมื่อทำไมโครเวฟไดเจสชันเนื้อกุ้งเป็นเวลา 60 นาที

ตัวอย่าง	ปริมาณไขมัน (g)	ปริมาณไขมันที่เปลี่ยนแปลง (%)
เนื้อกุ้ง 3.00 g (control)	0.1971	- 8.89 %
เนื้อกุ้ง 3.00 g	0.1796	
เนื้อกุ้ง 5.00 g (control)	0.5157	- 67.73 %
เนื้อกุ้ง 5.00 g	0.1664	

วิเคราะห์และวิจารณ์ผลการทดลอง

เนื้อกุ้งจะมีไขมันสัตว์ซึ่งมีโมเลกุลใหญ่อยู่มาก จึงเป็นปัญหาในการวิเคราะห์สารอินทรีย์ตกค้างซึ่งมีอยู่ในปริมาณน้อยมาก (trace) เนื่องจากไขมันจะรบกวนการวิเคราะห์ จึงต้องกำจัดออกด้วยกระบวนการคลีนอัพ (cleanup) ก่อนการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ขั้นสูง เช่น High performance liquid chromatography (HPLC)

ปริมาณตัวอย่างที่ใช้

การทดลองนี้ใช้ microwave digestion unit ซึ่งเป็นระบบปิด ไม่สามารถใช้กับสารปริมาณมากได้เนื่องจากจะทำให้ความดันในภาชนะปิดสูงเกินไปในขณะที่ไดเจสต์ด้วยกรด แต่ในการวิเคราะห์สารอินทรีย์ตกค้างซึ่งมีปริมาณน้อยมาก จำเป็นต้องใช้สารตัวอย่างปริมาณมากพอที่จะมีสารอินทรีย์ตกค้างปริมาณสูงกว่า detection limit ของเครื่องมือวิเคราะห์ขั้นสูง นอกจากนี้ยังจำเป็นต้องมีขั้นตอนทำให้สารละลายตัวอย่างความเข้มข้นมากขึ้น เพื่อให้ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้องสูง ในการทดลองได้ศึกษาเพื่อหาปริมาณตัวอย่างที่มากที่สุดเท่าที่จะทำไมโครเวฟไดเจสชันด้วยเครื่องมือที่มีอยู่ได้ คือ 3.0 g และ 5.0 g

ชนิดของกรดที่ใช้

ในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์สารอินทรีย์ตกค้างปริมาณน้อยมากนั้น กรดที่ใช้สำหรับทำไมโครเวฟไดเจสชันต้องไม่เป็นตัวออกซิไดส์ที่แรง และมีความเข้มข้นไม่สูงเกินไป เพื่อไม่ให้สารอินทรีย์ตกค้างที่ต้องการวิเคราะห์เกิดการสลายตัว ในการทดลองนี้จึงเลือกใช้กรดฟอสฟอริก 10 % ตามวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์สารอินทรีย์ตกค้างในอาหาร ของกระทรวงสาธารณสุข ประเทศญี่ปุ่น

สภาวะการทำไมโครเวฟไดเจสชัน

ปัจจัยหนึ่งที่ต้องคำนึงถึงในการทำไมโครเวฟไดเจสชัน คือพลังงานของคลื่นไมโครเวฟ และระยะเวลาในการทำไมโครเวฟไดเจสชัน ในการทดลองนี้เลือกใช้ไมโครเวฟที่กำลัง 500 วัตต์ ซึ่งเป็นกำลังที่ต่ำและไม่ทำลายสารอินทรีย์ตกค้าง (วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์สารอินทรีย์ตกค้างในอาหาร ของกระทรวงสาธารณสุข ประเทศญี่ปุ่น) จากศึกษาระยะเวลาการทำไมโครเวฟไดเจสชันโดยใช้ระยะเวลาต่าง ๆ กัน คือ 60, 90, 120 และ 150 วินาที โดยตั้งโปรแกรมให้เข้าสู่กำลัง 500 วัตต์ในเวลาสั้นที่สุด คือ 10 วินาที ติดตามบันทึกอุณหภูมิตลอดระยะเวลาที่ทำไดเจสชันจากจอแสดงค่าต่าง ๆ ของเครื่องมือ พบว่าอุณหภูมิจะเข้าสู่อุณหภูมิสูงสุดอย่างรวดเร็วก่อน 60 วินาทีมาก เมื่อใช้ระยะเวลาต่างกัน การขจัดสารรบกวนทำได้เท่ากัน จึงกำหนดให้ระยะเวลา 60 นาทีเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำไมโครเวฟไดเจสชัน ที่กำลัง 500 วัตต์ เนื่องจากเป็นระยะเวลาที่ลดปริมาณสารรบกวนลงได้มากและไม่เสี่ยงต่อการสลายตัวของสารอินทรีย์ตกค้างที่ต้องการวิเคราะห์

ผลการคลีนอัพโดยวิธีไมโครเวฟไดเจสชัน

จากการทดลองพบว่าสารที่ได้จาการทดลองยังคงมีไขมันอยู่มาก จึงไม่ได้นำไปวิเคราะห์สารอินทรีย์ตกค้างด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ขั้นสูง เช่น HPLC แต่ได้นำสารที่ได้ไปชั่งน้ำหนักเพื่อหาปริมาณที่ลดลงไขมันซึ่งเป็นสารรบกวน และพบว่าไขมันที่เหลือมีน้ำหนักลดลง แสดงว่าการทำไมโครเวฟไดเจสชันสามารถลดปริมาณสารรบกวนได้อย่างมีนัยสำคัญ

สรุปผลการทดลอง

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ไมโครเวฟไดเจสชันสามารถใช้เป็นเทคนิคในการเตรียมตัวอย่างอาหารเพื่อการวิเคราะห์สารอินทรีย์ตกค้างได้ ข้อดีของวิธีนี้ที่เห็นได้ชัดเจนคือ ทำได้ง่ายและรวดเร็ว ลดสารรบกวนการวิเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญ ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณน้อย จึงปลอดภัยต่อผู้วิเคราะห์และไม่ก่อให้เกิดปัญหามลพิษต่อสิ่งแวดล้อม

อย่างไรก็ดี การใช้ไมโครเวฟไดเจสชันในระบบปิดทำให้ไม่สามารถใช้ตัวอย่างปริมาณมากซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นในการวิเคราะห์สารอินทรีย์ตกค้างปริมาณน้อยมากในตัวอย่างอาหาร ดังนั้นในขั้นต่อไปจะได้ศึกษาการเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์สารอินทรีย์ตกค้างปริมาณน้อยมากโดยใช้เตาอบไมโครเวฟ (microwave oven) เพื่อให้สามารถใช้ตัวอย่างอาหารได้มากขึ้น

นอกจากนี้ ยังพบว่าไมโครเวฟไดเจสชันที่การทดลองยังไม่สามารถคลีนอัพได้อย่างสมบูรณ์ สารที่ได้ยังคงมีไขมันอยู่มาก จึงจำเป็นที่จะต้องศึกษาถึงวิธีการที่จะทำให้การคลีนอัพเป็นไปได้อย่างสมบูรณ์ต่อไป

วิธีวิเคราะห์สารปฏิชีวนะโดยใช้ HPLC

ได้รวบรวมวิธีวิเคราะห์สารปฏิชีวนะ ได้แก่ ออกซีเททระซัยคลิน ออกโซลินิก แอซิด เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่ทำได้สะดวกและรวดเร็วต่อไป ดังนี้

วิธีการตรวจวิเคราะห์ *Oxytetracycline* (AOAC, 1995, **สุภาพรรณ บริลเลียนเตส**, 2538)

1. การเตรียมสารละลาย

1.1 สารละลายสกัด (Extraction solution)

1. เตรียมสารละลาย 0.1 M Na_2EDTA, 0.2 M Na_2HPO_4 และ 0.1 M Citric acid
2. เติมสารละลาย 0.2 M Na_2HPO_4 ลงในสารละลาย 0.1 M Citric acid จนปรับ pH ได้ 6.0 แล้วเติม 0.1 M Na_2EDTA จนปรับ pH ได้ 5.5

สารละลายนี้สามารถเก็บไว้ใช้ได้นานโดยเก็บไว้ในตู้เย็น

3. ผสมสารละลายนี้กับเมทานอลสำหรับสกัด ในอัตราส่วน สารละลาย : เมทานอล = 3 : 7

1.2 Mobile Phase (1 M Imidazole Solution)

1. ชั่ง imidazole 68.088 g magnesium acetate 10.72 g และ Na_2EDTA 0.37 g ละลายน้ำ 800 mL ปรับ pH ให้เป็น 7.2 แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร
2. ผสมสารละลายที่ได้กับเมทานอล ในอัตราส่วน Imidazole Solution : methanol = 77 : 23

1.3 สารละลายมาตรฐาน Oxytetracycline, Tetracycline และ Chlortetracycline

1.3.1 Primary standard solution (1000 µg/mL) :

ชั่ง Oxytetracycline, Tetracycline และ Chlortetracycline อย่างละ 0.1 g ใส่ในขวดวัดปริมาตร 100 mL ละลายใน 0.1 M HCl แล้วเติม 0.1 M HCl จนมีปริมาตรเป็น 100 mL

1.3.2 Secondary standard solution (10 µg/mL) :

ปิเปต Primary standard solution 1 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตร 100 mL เติม methanol จนมีปริมาตรเป็น 100 mL

1.3.3 Working standard solution (1 µg/mL) :

ปิเปต Secondary standard solution 10 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตร 100 mL เติม methanol จนมีปริมาตรเป็น 100 mL

1.3.4 Working standard solution for HPLC Injection

ปิเปต Working standard solution 2 mL ใส่ในหลอดทดลอง เป่าด้วย nitrogen gas จนแห้ง ละลายด้วย mobile phase 2 mL

2. Condition of HPLC

Column : Reverse Phase Nova-Pak C-18 (15 cm x 3.9 mm i.d.)

Mobile Phase	:	1 M Imidazole : MeOH = 77 : 23
Flow rate	:	0.8 mL/min
Detector	:	Fluorescence – Excitation wavelength 380 nm
		Emission wavelength 520 nm
Injection volume	:	20 µL

3. วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 10 g ใส่ใน centrifuge tube
2. homogenize 2 ครั้ง กับ extraction solution ครั้งละ 60 mL เป็นเวลา 1 นาที
3. เซนตริฟิวจ์ ที่ 3000 rpm เป็นเวลา 5 นาที
4. กรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 58
5. เก็บสารละลาย และระเหยจนมีปริมาตร 40 mL โดยใช้ rotary evaporator ที่ 40°C
6. ใส่สารละลายลงใน separatory funnel 500 mL เติม deionized water 20 mL และ petroleum ether 20 mL เขย่าเป็นเวลา 10 นาที
7. เก็บ aqueous layer (ชั้นล่าง) และนำไปผ่าน Sep-pak C18 ซึ่งได้ conditioning โดยผ่าน methanol 10 mL ตามด้วยน้ำ 10 mL แล้ว
8. elute OTC, CTC และ TC ด้วย MeOH 10 mL ลงใน 100 mL RBF ระเหยให้แห้งโดยใช้ rotary evaporator ที่ 40°C
9. ละลาย residues ของ OTC, CTC และ TC ด้วย 1 M imidazole – MeOH (77:23) 2 mL
10. inject HPLC 20 µL

วิธีการวิเคราะห์ Oxolinic Acid *(Ikai, et. al. 1989)*

1. ชั่งตัวอย่างกุ้งที่บดละเอียด 5 g ในบีกเกอร์ 150 mL เติม Na_2SO_4 5 g และสารละลายสกัด n-hexane - ethyl acetate (1 : 3) 15 mL
2. ปั่นผสมให้ละเอียดด้วย homogenizer ที่ 1500 rpm เป็นเวลา 1 นาที แล้วกรองผ่านสำลี ใส่สารละลายที่ได้ใน syringe ที่ต่ออยู่กับ Sep-Pak amino-cartridge
3. สกัดตัวอย่างซ้ำด้วยสารละลายสกัด 15 mL ปั่นผสมด้วย homogenizer ที่ 1500 rpm เป็นเวลา 1 นาที กรองผ่านสำลีอันเดิม ล้างบีกเกอร์และสำลีด้วยสารละลายสกัด 10 mL รวมสารละลายใสที่ได้ทั้งหมดใน syringe
4. ทำให้ Sep-Pak amino-cartridge แห้งโดย suction นาน 10 นาที
5. elute oxolinic acid ด้วย mobile phase methanol - acetonitrile - oxalic acid pH 3.3 (1 : 3: 6) 10 mL
6. inject เข้า HPLC 200 µL

วิธีการวิเคราะห์ Oxolinic Acid *(สุภาพรรณ บริลเลียนเตส ดัดแปลงจาก Ikai, et. al. (1989)*

1. ชั่งตัวอย่างกุ้งที่บดละเอียด 5 g ในบีกเกอร์ 150 mL เติม hexane - ethyl acetate (1 : 3) 40 mL
2. ปั่นผสมให้ละเอียดด้วย homogenizer เป็นเวลา 1 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง เบอร์ 1
3. homogenize ซ้ำกับ hexane - ethyl acetate (1 : 3) 40 mL
4. ใช้แก๊ส N_2 เป่าจนสารละลายแห้ง
5. ละลาย residues ด้วย methanol - acetonitrile - oxalic acid pH 3.3 (1 : 3: 6) 5 mL กรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1
6. inject เข้า HPLC 100 µL

วิธีการวิเคราะห์ Oxolinic Acid โดยกองควบคุมตรวจสอบผลิตภัณฑ์และแปรรูปสัตว์น้ำ

1. ชั่งตัวอย่าง 5 g ใส่ใน centrifuge tube เติม Na_2SO_4 10 g และ ethyl acetate 30 mL
2. homogenize 1 นาที
3. เซนตริฟิวจ์ ที่ 4000 rpm เป็นเวลา 5 นาที หรือกรองผ่านกระดาษกรอง เบอร์ 1 เก็บสารละลายใสในขวดก้นกลม ขนาด 250 mL
4. homogenize ซ้ำ กับ ethyl acetate 30 mL
5. เซนตริฟิวจ์หรือกรองผ่านกระดาษกรอง เบอร์ 1 เก็บสารละลายใสในขวดก้นกลมใบเดิม
6. ระเหยจนแห้ง โดยใช้ vacuum rotary evaporator ที่ 40°C
7. ละลาย residues ด้วย mobile phase [methanol - acetonitrile - oxalic acid pH 3.3 (1 : 3: 6)] 5 mL และ hexane 1 mL
8. เซนตริฟิวจ์ ที่ 5000 rpm เป็นเวลา 5 นาที
9. ใช้ aqueous layer (ชั้นล่าง) ฉีดเข้า HPLC

บทที่ 4 ผลของกระบวนการแช่เยือกแข็งต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกุ้งกุลาดำ

ผศ ดร สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ
ผศ ดร สุเมธ ตันตระเธียร

การแช่แข็งอาหารในอุตสาหกรรม

การแช่แข็งที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารแช่แข็ง สามารถแบ่งออกเป็นแบบต่างๆ ตามลักษณะของอุปกรณ์และปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ตามที่ Fennema et al (1973) ได้รวบรวมไว้ดังนี้

1 Liquid Immersion Freezing หรือ การจุ่มอาหารโดยตรงในน้ำยาหรือสารให้ความเย็น (Refrigerant) เป็นวิธีการแช่แข็งที่มีการใช้กับผลิตภัณฑ์ที่มีรูปร่างไม่สม่ำเสมอ เช่น ไก่ และสัตว์ปีกต่างๆ มากกว่าจะใช้กับผลิตภัณฑ์จากประมง เช่น ชิ้นปลาหมึก หรือ ชิ้นปลาชำแหละ การแช่แข็งด้วยวิธีนี้ผิวของผลิตภัณฑ์เกิดเกล็ดน้ำแข็งกระจายตัวได้ดี เนื่องจากเกิดการถ่ายเทความร้อนบริเวณผิวดีมาก และทำให้สีผิวของผลิตภัณฑ์ขาวหม่น นอกจากนั้นยังปรับให้เป็นระบบต่อเนื่องค่อนข้างง่าย

2 **วิธีการใช้ลมเย็น** (Air Freezing) โดยใช้ลมเย็นที่มีอุณหภูมิในช่วง -18 ถึง – 40 °C แบ่งเป็น

- Still Air Freezing เป็นการแช่แข็งโดยใช้อากาศเย็นหมุนเวียนเหนืออาหารอย่างช้าๆหรือไม่มี ตัวทำความเย็นที่ใช้คือ แอมโมเนีย, Dichlorodifluoromethane หรือน้ำเกลือที่เย็นจัดไหลอยู่ภายในท่อที่ขดเป็นวง และมีชั้นวางทับท่อเย็นนั้น การแช่แข็งทำโดยวางชิ้นอาหารลงบนถาดที่วางอยู่บนชั้น อัตราการถ่ายเทความร้อนระหว่างสารทำความเย็นกับชิ้นอาหารมีค่าต่ำเพราะพื้นที่ผิวของชิ้นอาหารไม่ได้สัมผัสกับท่อเย็นโดยตรง และภายในมีการหมุนเวียนของลมเย็นช้ามาก

- Air Blast Freezing เป็นการแช่แข็งโดยใช้อากาศเย็นหมุนเวียนเหนืออาหารด้วยความเร็วสูง การใช้ลมเย็นเป่าลงบนอาหารที่เข้ามาแบบต่อเนื่องในอัตราเร็วสูง โดยให้อากาศนั้นผ่านขดลวดทำความเย็นซึ่งหล่อไว้ด้วยสารให้ความเย็นโดยมากใช้แอมโมเนีย ส่วนใหญ่นิยมบรรจุอาหารก่อนนำมาแช่แข็ง อุณหภูมิที่เป่าลงบนอาหารจะประมาณ – 34.1 °C หรือต่ำกว่า การแช่แข็งแบบนี้มีผลดีก็คือ เป็นกระบวนการที่ใช้ต้นทุนและค่าใช้จ่ายในการดำเนินการ ต่ำ แต่ทั้งนี้หากควบคุมสภาวะการแช่แข็งไม่ดีพอ จะทำให้เกิดการสูญเสียน้ำมาก โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้บรรจุหีบห่อ อัตราเร็วของการแช่แข็งขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของเครื่องและขนาดของอาหาร

- **การใช้แรงลมเป่าให้อาหารลอยตัว** (Fluidized bed freezing) หลักการคล้ายกับ air blast แต่ความเร็วลมจะสูงกว่าเพราะต้องใช้ลมเป่าให้อาหารลอยตัวในขณะที่แช่แข็ง ซึ่งวิธีนี้อาหารจะต้องเป็นของแข็งเท่านั้นและมีขนาดเล็ก

3 **การใช้แผ่นความเย็น** (Plate freezer) การแช่แข็งแบบนี้จะทำในตู้เก็บที่หุ้มฉนวน อาหารจะถูกนำไปวางบนแผ่นโลหะที่ไม่เป็นสนิมเรียงเป็นชั้นซ้อนกันภายในตู้มีเครื่องทำความเย็นและสามารถส่งสารให้ความเย็นผ่านไปตามท่อระหว่างชั้นของแผ่นโลหะที่วางอาหารไว้ แล้วจึงอัดแผ่นโลหะให้ผิวหน้าแนบสนิทกับชิ้นอาหารโดยอาศัยแรงกด จนอาหารมีอุณหภูมิต่ำลงถึง – 18 °C

4 Cryogenic Freezing เป็นการแช่แข็งที่มีอัตราเร็วในการแช่แข็งสูง การแช่แข็งแบบนี้ถูกสร้างโดยอาศัยหลักการเปลี่ยนสถานะของสารให้ความเย็นโดยอาศัยการดูดความร้อนจากอาหารที่จะแช่แข็งและเกิดการเปลี่ยนสถานะของตัวทำความเย็น สารตัวทำความเย็นที่ใช้ต้องเป็นประเภทที่ใช้กับอาหาร (Food grade) สารให้ความเย็น

ที่นิยมใช้กันทั่วไปได้แก่ Nitrogen, Carbon dioxide แข็งหรือเหลว ข้อดีของการแช่แข็งวิธีนี้คือ การสูญเสียน้ำของผลิตภัณฑ์น้อยมาก ออกซิเจนถูกกำจัดออกระหว่างการแช่เยือกแข็ง ทำลายเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้อย และเนื่องจากอัตราการแช่แข็งเร็วมาก สามารถแช่แข็งผลิตภัณฑ์ ได้จำนวนมากในระยะเวลาสั้น

การเปลี่ยนแปลงในขณะแช่เยือกแข็ง

การเปลี่ยนแปลงของอาหารระหว่างการแช่เยือกแข็งและการเก็บในอุณหภูมิแช่เยือกแข็ง มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นที่สำคัญ 2 ประการ คือ การเกิดผลึก (Ice crystal formation) และการขยายตัวของผลึก (Crystal Growth) Fennema et al., (1973) ได้อธิบายเรื่องดังนี้คือ

- **การเกิดนิวเคลียสผลึก** (Nucleation) เกิดขึ้นเมื่อสภาวะเอื้ออำนวยให้โมเลกุลมาจับตัวกันเป็นอนุภาคเล็กๆที่มีระเบียบจนมีขนาดโตพอที่สามารถจะอยู่ได้ และสามารถเป็นจุดสำหรับการขยายตัวของผลึกต่อไป การเกิด Nucleation มี 2ลักษณะ คือ Homogeneous และ Heterogeneous nucleation

- **การขยายตัวของผลึก** หลังการเกิด Nucleation แล้ว การขยายตัวของผลึกน้ำแข็งจะเกิดในความเร็วที่ควบคุมโดยอัตราเร็วที่โมเลกุลน้ำทำปฏิกิริยากับผิวผลึก อัตราการแพร่ของน้ำไปยังผิวผลึก และอัตราการนำความร้อนออก การเปลี่ยนแปลงของน้ำไปเป็นน้ำแข็งจะทำให้ความเข้มข้นของสารละลายที่ยังไม่ถูกทำให้เปลี่ยนสถานะเพิ่มขึ้น และจุดเยือกแข็งลดลง จนกระทั่งตัวถูกละลายถูกลดอุณหภูมิจนถึงจุดเยือกแข็งที่เรียกว่า Eutectic point ได้หลายจุด ซึ่งจำนวนจุดเหล่านี้บางครั้งอาจไม่เท่ากับจำนวนตัวถูกละลาย และอัตราการขยายตัวของผลึกน้ำแข็งจะเพิ่มขึ้นเมื่อความแตกต่างของอุณหภูมิระหว่างผิวหน้าของผลึกน้ำแข็งกับอุณหภูมิของส่วนที่ยังไม่แข็งตัวมีค่ามากอีกด้วย

อัตราเร็วในการแช่แข็งและคุณภาพของผลิตภัณฑ์

สิ่งที่น่าสนใจและสำคัญอีกประการของการตกผลึก คือการกระจายของน้ำแข็งในเนื้อเยื่อ และสารแขวนลอย ทั้งนี้ตำแหน่งของผลึกน้ำแข็งในเนื้อเยื่อและสารแขวนลอยของเซลล์นั้นยังมีความสัมพันธ์กับอัตราเร็วในการแช่แข็ง อุณหภูมิของตัวอย่าง และธรรมชาติของเซลล์ การแช่เยือกแข็งแบบช้า (Slow freezing) จะมีผลทำให้ได้ผลึกขนาดใหญ่ ตำแหน่งของน้ำเปลี่ยนแปลงไป เกิดลักษณะปรากฏของความเหี่ยวย่นในอาหารแช่แข็งและในบางครั้งทำให้มีคุณภาพต่ำกว่าที่ยอมรับได้ (Fennema et al., 1973) ในขณะที่การแช่แข็งอย่างรวดเร็ว (Quick freezing) เนื้อเยื่อและสารแขวนลอยของเซลล์ทุกชนิดจะให้ผลึกน้ำแข็งกระจายทั้งภายในและภายนอกเซลล์อย่างสม่ำเสมอ การเกิดผลึกอย่างสม่ำเสมอนี้ มีผลทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งขนาดเล็กจำนวนมาก การเคลื่อนย้ายตำแหน่งของน้ำเกิดขึ้นน้อย ลักษณะที่ปรากฏจะเหมือนกับลักษณะที่เป็นของสด อาหารที่ได้มีคุณภาพสูงกว่าอาหารที่ได้จากการแช่แข็งแบบช้า

ผลิตภัณฑ์แช่เยือกแข็ง (Frozen products) เป็นที่รู้จักกันมานานแล้วตั้งแต่ปี พ.ศ. 2403 โดยประเทศอเมริกาเริ่มพัฒนาอุตสาหกรรมอาหารแช่แข็ง ส่วนประเทศไทยเริ่มมีการผลิตผลิตภัณฑ์แช่แข็งตั้งแต่ปีพ.ศ. 2505 (อัจฉรา พุ่มฉัตร, 2537) สถิติการจับสัตว์น้ำของโลกในปีค.ศ. 1980 ได้มีการนำสัตว์น้ำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์แช่เยือกแข็งร้อยละ 21.7 โดยมีการแปรรูปสัตว์น้ำเป็นผลิตภัณฑ์แช่เยือกแข็งเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 20.0 ในปีค.ศ. 1976 ถึงแม้ว่าจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นแต่มั่นคงและเป็นเครื่องชี้ว่าในอนาคตผลิตภัณฑ์แช่เยือกแข็งก็ยังคงได้รับความนิยมจากผู้บริโภค เนื่องจากผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีคุณสมบัติที่เป็นข้อได้เปรียบหลายประการ คือ สามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน 6

เดือนถึง 1 ปี โดยที่ยังมีคุณภาพที่ดีอยู่ , มีการสูญเสียวิตามินในอาหารน้อยกว่าการแปรรูปด้วยวิธีอื่น ๆ เช่น การบรรจุกระป๋อง เป็นต้น และง่ายต่อการสะดวกต่อการดูแลรักษาและขนส่ง (Wheaton และ Lawson, 1985)

กุ้งแช่เยือกแข็ง

มยุรี จัยวัฒน์ (2532) ได้สรุปข้อมูลที่เกี่ยวกับกุ้งแช่แข็งไว้ดังนี้คือกุ้งที่นำมาทำกุ้งเยือกแข็งส่วนใหญ่เป็นกุ้งทะเลที่อยู่ในวงศ์ต่าง ๆ ดังนี้ Paneidae , Pandalidae , Crangonidae และ Palaemonidae ซึ่งมีชื่อเรียกทางการค้าดังนี้คือ กุ้งโอคัก (Pink shrimp) , กุ้งแชบ๊วย (White shrimp) , กุ้งกุลาดำ (Tiger prawn) , กุ้งลายแดง (Flower prawn) , กุ้งหิน (King or sakura prawn) และกุ้งทราย (Sand shrimp) ที่เป็นกุ้งเลี้ยงคือ กุ้งกุลาดำ กุ้งแชบ๊วย (กุ้งขาวหรือกุ้งวัง) และกุ้งก้ามกราม

รูปแบบที่ใช้ในการส่งออกมี 2 ลักษณะด้วยกันคือ

- Block frozen เป็นการแช่แข็งรวมกันหลายชิ้นในกล่องเดียวกัน
- Individual frozen เป็นการแช่แข็งเป็นตัว ๆ หรือชิ้นเดียว

กุ้งแช่เยือกแข็งแบ่งตามลักษณะการผลิตได้ดังนี้คือ

- Whole shrimp เป็นกุ้งทั้งตัว ทำจากกุ้งที่มีความสดมาก คุณภาพดี ไม่มีจุดสีดำ ที่หัว หรือที่เปลือก
- Headless shrimp เป็นกุ้งหักหัวออกแล้ว
- Peel tail – on (PTO) หรือ cutlet เป็นกุ้งแกะเปลือกแต่ไว้หาง
- PTO – deveined คือกุ้ง PTO ที่มีการผ่าหลังเอาไส้ออก
- Butterfly เป็นกุ้งหักหัว แกะเปลือก และมีการผ่าหลังลึกลงไปจนเกือบถึงด้านท้องจนแผ่กางออกได้ นิยมใช้กุ้งโดคักและกุ้งทราย
- RPUD เป็นกุ้งหักหัว แกะเปลือก ไม่มีหาง
- RPD เหมือนชนิด RPUD แต่ผ่าเอาไส้ออก
- PC เป็นกุ้งหักหัว แกะเปลือก และลวกสุก
- CP หรือ CPC มีการลวกก่อนแกะเปลือกหรือมีการลวกอีกครั้งหลังแกะเปลือก
- กุ้งบั้ง (Kelemate)

การเตรียมการผลิตกุ้งแช่แข็ง

มยุรี จัยวัฒน์ (2532) ได้อธิบายขั้นตอนการทำการแช่แข็งไว้ดังต่อไปนี้

1 การรับวัตถุดิบ (Receiving) ผู้ผลิตอาจรับวัตถุดิบจากชาวประมงหรือสะพานปลา นำมาส่งให้กับบริษัทในสภาพกุ้งทั้งตัว (ถ้าสดมาก) หรือเด็ดหัวแล้ว (ในกรณีที่ต้องการป้องกันการเกิดจุดสีดำบนตัวกุ้ง) หลังจากรับวัตถุดิบจะมีการล้างด้วยน้ำที่ผ่านการเติมคลอรีน 3 – 5 ส่วนในล้านส่วน (ppm) และทำให้เย็นลงประมาณ 10 °C

2 **การเตรียมการ** (Preparation) มีการคัดเลือกพวกที่เสียทิ้งหรือแยกตามคุณภาพหรือการคัดเกรดในกรณีที่วัตถุดิบไม่มีความสม่ำเสมอกัน นอกจากนั้นมีการคัดตามขนาดต่าง ๆ หลังจากนั้นอาจมีการเด็ดหัว แกะเปลือก ผ่าหลังเอาไส้ออก ทำให้สุกและอื่น ๆ ตามชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ แล้วทำความสะอาดอีกครั้งหนึ่งโดยการล้างด้วยน้ำเย็นที่ผ่านการเติมคลอรีนแล้ว

3 **การบรรจุ** (Packing) มีการบรรจุตามน้ำหนักที่ต้องการเช่นขนาด 1 ปอนด์, 1 กิโลกรัม, 1.8 กิโลกรัม, 5 ปอนด์ และ2 กิโลกรัม เป็นต้น การชั่งน้ำหนักเพื่อการบรรจุ นิยมชั่งให้เกินไว้ประมาณร้อยละ 5 –10 ของน้ำหนักเพื่อให้ได้น้ำหนักสุทธิหลังการละลายน้ำแข็งออก (Thawing) ที่ถูกต้อง ทั้งนี้เนื่องจากในระหว่างการเก็บในห้องเย็น จะมีการระเหยของน้ำทำให้สูญเสียน้ำหนักส่วนหนึ่งไป ในขั้นตอนนี้อาจมีการใช้วัตถุเจือปนเพื่อวัตถุประสงค์ บาง อย่างได้ เช่น การเติมเกลือ การเติมหรือแช่ในสารละลายฟอสเฟตเพื่อช่วยรักษาน้ำหนัก (Yield) และคุณภาพของเนื้อสัมผัส (Texture) ในปริมาณที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้กำหนดไว้

4 **การแช่เยือกแข็ง** (Freezing) อาจใช้ระบบ Air blast ที่อุณหภูมิ – 40 °C ใช้เวลาประมาณ 6 – 10 ชั่วโมงหรือระบบ Contact freezing โดยใช้เวลาประมาณ 3 – 4 ชั่วโมง หรือระบบ Quick freezing โดยใช้เวลาไม่เกิน 30 นาทีถึง 1 ชั่วโมง

5 **การบรรจุหีบห่อ** (Packaging) หลังการแช่แข็งแล้ว มีการบรรจุผลิตภัณฑ์ในถุงพลาสติก กล่องกระดาษ (Inner carton) และกล่องกระดาษแข็งหรือกล่องลูกฟูก (Master carton)

6 **การเก็บในห้องเย็น** (Cold storage) ควรเก็บในห้องเย็นที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า – 20 °C โดยหลีกเลี่ยงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิให้มากที่สุดและหากจะใช้ห้องเย็น ระบบมีพัดลมควรควบคุมให้มีความเร็วของลมต่ำ เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำที่เกิดขึ้นตลอดระยะเวลาที่เก็บ ยิ่งระยะเวลาการเก็บนานเท่าใด ก็จะมีการสูญเสียน้ำมากขึ้น

การเก็บรักษา

การใช้อุณหภูมิต่ำในการถนอมอาหารเป็นการทำให้ปฏิกิริยาทางเคมีและปฏิกิริยาจากเอนไซม์ของอาหารดำเนินไปอย่างช้า ๆ หรือหยุดการทำงาน พบว่าแบคทีเรีย ยีสต์ และราบางชนิดสามารถเจริญได้อย่างช้าๆที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง ดังนั้นที่อุณหภูมิ 0 °C หรือที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 °C จึงไม่สามารถป้องกันการเน่าเสียของอาหารได้ การเก็บรักษาอาหารไว้ที่อุณหภูมิต่ำนั้นทำได้หลายแบบซึ่งแตกต่างกันที่ระดับของอุณหภูมิที่ใช้ การเก็บอาหารภายใต้อุณหภูมิที่ต่ำกว่า 0°C จะทำให้เก็บอาหารได้นานขึ้น ซึ่งเรียกว่าเป็นการเก็บอาหารแบบแช่แข็ง ซึ่งหมายถึง การเก็บรักษาอาหารไว้ในสภาพเป็นน้ำแข็ง ซึ่งจะสามารถเก็บอาหารไว้ได้นานเป็นปีในห้องเย็น แต่การที่จะใช้อุณหภูมิเท่าใดนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร การถนอมอาหารในสภาพแช่แข็งได้มีการนำมาใช้เป็นเวลานานแล้ว และได้มีการพัฒนาเครื่องมือในการทำให้เย็นและกระบวนการในการแช่แข็งอย่างเร็ว (Quick freezing process) ทำให้อุตสาหกรรมห้องเย็นเจริญก้าวหน้าไปได้อย่างรวดเร็ว แม้แต่ตามครัวเรือนก็นิยมนำวิธีการแช่แข็งอาหารมาใช้กัน ในสภาพการเก็บแบบแช่แข็ง จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้เต็มที่และการทำงานของเอนไซม์ต่างๆก็ถูกรบกวน

ถ้าอุณหภูมิในการเก็บยิ่งต่ำ ปฏิกิริยาทางเคมีหรือการทำงานของเอนไซม์ก็ยิ่งช้าลง แต่อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บอาหาร โดยเฉพาะการเก็บอาหารแบบแช่แข็งนั้น แม้ว่าอุณหภูมิที่เก็บจะต่ำกว่า 0°C มาก การทำงานของเอนไซม์ยังคงดำเนินต่อไปได้อย่างช้าๆ (Fennema, 1975) ดังนั้น เพื่อทำการป้องกันการเปลี่ยนแปลงของอาหารเนื่องจากเอนไซม์ จึงนิยมลวกอาหารก่อนที่จะนำมาเก็บแบบแช่แข็ง โดยเฉพาะอาหารพวกพืช ส่วนอาหารโดยเฉพาะเนื้อสัตว์ที่ต้องการให้เนื้อสัตว์หลังการละลายน้ำแข็งเหมือนกับอาหารสด ไม่สามารถทำการลวกได้

การเปลี่ยนแปลงของกุ้งกุลาดำระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิแช่เย็น (5°C)

วัตถุประสงค์

เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของกุ้งกุลาดำระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิแช่เย็น ผลที่ได้นำมาใช้เป็นเกณฑ์สำหรับบอกถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการแช่เยือกแข็งของเนื้อกุ้งกุลาดำ

วิธีการทดลอง

วัตถุดิบ

กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ขนาด 50-60 ตัวต่อกิโลกรัม ซื้อจากตลาดสามย่าน กรุงเทพมหานคร ได้ถูกนำมาทำความสะอาดเมื่อถูกนำมาถึงห้องปฏิบัติการ ด้วยน้ำเย็นอุณหภูมิไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส และวางให้สะเด็ดน้ำ

การเปลี่ยนแปลงของกุ้งกุลาดำระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิแช่เย็น 5°C

กุ้งกุลาดำที่ผ่านการทำความสะอาดแล้ว ถูกนำมาใส่ถุงพลาสติกและแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ทางเคมี และทางจุลชีววิทยา โดยทำการสุ่มตัวอย่างกุ้งกุลาดำที่เก็บที่อุณหภูมิดังกล่าว ทุกวันเพื่อวัด

- สีของกุ้งกุลาดำ
- จำนวนจุลินทรีย์
- ค่าแรงตัดขาด
- ประสาทสัมผัส

นอกจากนั้นทำการต้มกุ้งตัวอย่างที่ผ่านการเก็บที่อุณหภูมิดังกล่าวตามเวลาที่กำหนด ด้วยการต้มในน้ำเดือด เป็นเวลานาน 5 นาที เพื่อทดสอบการตัดขาด และประสาทสัมผัส

ผลการทดลอง

การศึกษาข้อมูลทั่วไปของกุ้ง

กุ้งกุลาดำที่นำมาใช้ในการทดลอง มีขนาดที่ซื้อขายกันในตลาด 50-60 ตัวต่อหนึ่งกิโลกรัม จากการชั่งน้ำหนักของตัวอย่างกุ้งพบว่า มีกุ้งทั้งตัวที่มีน้ำหนักตั้งแต่ 17.1 – 28.29 กรัม โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยที่ 20.26 กรัม ความยาวของลำตัวกุ้งมีขนาดใกล้เคียงกัน โดยมีความยาวตั้งแต่ 14-16 ซม กุ้งมีความยาวเฉลี่ย 14.9 ซม เมื่อลอกเปลือกและเอาหัวออกมีน้ำหนักของเนื้อกุ้งอยู่ระหว่าง 8.3 – 15.12 กรัม เฉลี่ยได้เนื้อกุ้งหนัก 10.22 กรัมต่อตัว โดยที่น้ำหนัก

เนื้อคิดเป็นร้อยละ 48.54 - 53.44 ของน้ำหนักกุ้งทั้งตัว โดยที่กุ้งที่มีน้ำหนักตัวมากกว่าจะมีน้ำหนักของเนื้อมากกว่ากุ้งตัวเล็กที่มีน้ำหนักเบากว่า เมื่อทำให้สุกตามวิธีการทดลองตามที่กล่าวมาแล้ว ได้เนื้อกุ้งประมาณตัวละ 7.63 กรัม สูญเสียน้ำระหว่างการทำให้สุกไปร้อยละ 25 ของน้ำหนักเนื้อกุ้งสด

การเปลี่ยนแปลงของกุ้งระหว่างการเก็บแช่เย็น

กุ้งสดโดยทั่วไปมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาหลังจากกุ้งตาย โดยทั่วไปเมื่อเลือกซื้อกุ้งจากตลาดนั้น ผู้บริโภคจะเลือกกุ้งที่มีลำตัวใส เป็นเงา หัวยังติดอยู่กับลำตัวแน่น และจะไม่เลือกซื้อกุ้งที่ลำตัวเริ่มมีการเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเทา เริ่มมีสีแดงส้ม เกิดขึ้นจากปลายหาง ปลายรยางค์ว่ายน้ำ และบางส่วนของลำตัว หัวติดกับลำตัวอย่างหลวมๆ ลำตัวขุ่นและไม่เป็นเงา ซึ่งกุ้งที่มีลักษณะดังกล่าวจะเป็นกุ้งที่มีคุณภาพไม่ดีแล้ว มีความสดน้อย

กุ้งที่ผ่านการแช่เย็นและมีการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ มีการเปลี่ยนแปลงของสีของเปลือกกุ้งที่ลำตัวน้อย และกุ้งแต่ละตัวมีสีที่เปลือกและสีของเนื้อต่างกันออกไป และด้วยการจำกัดที่การวิเคราะห์ค่าต่างๆ เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์แล้วตัวอย่างจะเกิดความเสียหายด้วย ไม่สามารถใช้เป็นตัวอย่างได้อีกต่อไป ดังนั้นการวัดค่าของสีเพื่อวัดการเปลี่ยนแปลงโดยหาค่าเฉลี่ยนั้นจะเป็นการทำได้ยาก จะสังเกตจากการเริ่มมีสีแดงส้มเกิดแซมขึ้น และจากการเปลี่ยนสีของปลายหางของกุ้ง

เมื่อนำกุ้งกุลาดำมาแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงของกุ้งที่เกิดขึ้นระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิดังกล่าว พบว่ากุ้งที่เก็บนานขึ้นมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ได้แก่ มีการสูญเสียความชื้นหลังการทำให้สุกมากขึ้นโดยที่ในระยะการเก็บที่ 2 วัน เนื้อกุ้งมีการสูญเสียความชื้นในระหว่างการต้มอยู่น้อยคือมีไม่เกินร้อยละ 10 และตั้งแต่วันที่ 3 เป็นต้นไปพบว่ามีการสูญเสียของความชื้นระหว่างการต้มมากกว่าร้อยละ 10 ซึ่งการสูญเสียความชื้นของเนื้อกุ้งนี้ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีค่าทางประสาทสัมผัสต่างออกไปได้ เนื้ออาจมีลักษณะเหนียวขึ้น และมีความกรอบน้อยลง ถ้าสูญเสียความชื้นมากจะทำให้เนื้อกุ้งแห้งและกระด้างรับประทานไม่อร่อย

การศึกษาผลของการแช่เยือกแข็งต่อการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพของเนื้อกุ้งกุลาดำ

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของการแช่เยือกแข็งที่อัตราเร็วของการแช่เยือกแข็งต่างๆ ต่อคุณภาพของเนื้อกุ้งกุลาดำ

วิธีการทดลอง

วัตถุดิบ

กุ้งกุลาดำ *(Penaeus monodon)* ขนาด 70-80 ตัวต่อกิโลกรัม ซื้อจากตลาดสามย่าน กรุงเทพมหานคร ได้ถูกนำมาทำความสะอาดเมื่อถูกนำมาถึงห้องปฏิบัติการ ด้วยน้ำเย็นอุณหภูมิไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส จากนั้นตัดแต่งโดยเด็ดหัว ปอกเปลือก และวางให้สะเด็ดน้ำ

การศึกษาอัตราการแช่เย็นต่อคุณภาพของกุ้งกุลาดำ

กุ้งที่ผ่านการทำความสะอาดและตัดแต่งแล้วมาแช่เยือกแข็งด้วยตู้แช่เยือกแข็งแบบลมพ่น ลักษณะเป็นตู้แช่เยือกแข็งและมีปล่องลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 18 เซนติเมตร ทำการปรับความเร็วลมให้มีความเร็ว 4 6 และ 8 เมตรต่อวินาที ที่อุณหภูมิประมาณ -28 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส สำหรับการแช่แข็งโดยการใช้ลมพ่น

ส่วนการแช่แข็งแบบไครโอจินิค นั้น ทำโดยนำกุ้งที่ผ่านการทำความสะอาดและตัดแต่งเรียบร้อยแล้ว มาทำการแช่เยือกแข็งใน Cryogenic Test Chamber Nitrogen Freezer โดยแปรอุณหภูมิในการแช่แข็งที่ -70 -80 -90 และ -100 องศาเซลเซียส

ติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของกุ้งด้วยสายเทอร์โมคัปเปิล ชนิด Copper-constantan (Type T) โดยจัดให้ปลายของเทอร์โมคัปเปิลข้างหนึ่งอยู่ที่กึ่งกลางของปล้องที่ 2 ของตัวกุ้ง ควบคุมให้อุณหภูมิเริ่มต้นของตัวอย่างกุ้งให้มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และทำการแช่แข็งกุ้งตัวอย่างจนกระทั่งที่กึ่งกลางมีอุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

ทำการวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้

- ค่า Thiobarbituric acid number (TBA) (Pearson, 1976)
- ปริมาณด่างทั้งหมดที่ระเหยได้ (MFRD, 1987)
- ความเป็นกรดด่าง (Bhobe and Pai, 1986)
- โปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือ (MFRD, 1987)
- แรงต้านการตัดขาด

<u>*ผลการทดลอง*</u>

องค์ประกอบทางเคมีของกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำที่นำมาใช้ในการทดลองมีน้ำเป็นองค์ประกอบหลักโดยมีความชื้นอยู่ประมาณร้อยละ 79.75 มีโปรตีนอยู่ประมาณร้อยละ 17.70 นอกนั้นเป็นไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรทรวมกันอยู่ประมาณร้อยละ 3 ดังแสดงในตารางที่11 และมีสมบัติทางเคมีและกายภาพดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 11 องค์ประกอบทางเคมีของกุ้งกุลาดำสด

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณโดยเฉลี่ย (%)
ความชื้น	79.75
โปรตีน	17.70
ไขมัน	0.86
เถ้า	0.99
คาร์โบไฮเดรท	0.70

ตารางที่ 12 สมบัติทางเคมีและกายภาพของกุ้งกุลาดำสด

สมบัติทางเคมีและกายภาพ	ปริมาณโดยเฉลี่ย (%)
ค่า TBA (Thiobarbituric acid number) (mg malonaldehyde/1Kg sample)	0.124
ปริมาณด่างทั้งหมดที่ระเหยได้ (mg N/100g sample)	10.22
ความเป็นกรดด่าง	6.76
ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือ	14.41
แรงต้านการตัดขาด (นิวตัน)	21.57

ตามลักษณะที่ต้องการของผลิตภัณฑ์กุ้งแช่เยือกแข็งตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเยือกแข็ง มอก 115-2529 (กระทรวงอุตสาหกรรม 2529) ได้กำหนดเกณฑ์ของปริมาณด่างทั้งหมดที่ระเหยได้ว่าต้องไม่เกิน 30 มิลลิกรัม ไนโตรเจน/ตัวอย่าง 100 กรัม ซึ่งนงลักษณ์ สุทธิวนิช (2531) ได้ชี้ให้เห็นว่าปริมาณด่างทั้งหมดที่ระเหยได้สามารถใช้เป็นดัชนีบอกความสดของสัตว์น้ำได้ เนื่องจากเป็นการวัดผลิตผลจากการเปลี่ยนแปลงการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์ที่มีอยู่ในสัตว์น้ำ ซึ่งจากเกณฑ์ดังกล่าวจะเห็นว่ากุ้งกุลาดำที่ใช้ในการทดลองนี้ยังมีปริมาณด่างทั้งหมดที่ระเหยได้อยู่ที่ 10.22 มิลลิกรัม ไนโตรเจน/ตัวอย่าง 100 กรัม ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์ของกระทรวงอุตสาหกรรม

ผลของอัตราการแช่แข็งต่อกุ้งกุลาดำ

เมื่อนำกุ้งกุลาดำที่ผ่านการล้างและตัดแต่งแล้ว มาแช่เยือกแข็งแบบลมพ่นโดยใช้ความเร็วลมสามระดับคือ 4 6 และ 8 เมตรต่อวินาที พบว่าการแช่แข็งที่ความเร็วลมดังกล่าวมีความเร็วในการแช่เยือกแข็งที่ 6.85 6.90 และ 7.42 เซนติเมตรต่อชั่วโมงตามลำดับ (ดังแสดงในตารางที่ 13) ซึ่งพบเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติแล้วพบว่าการแช่แข็งที่ -28 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเร็วลม 4 และ 6 เมตรต่อวินาที มีอัตราเร็วการแช่แข็งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) การสูญเสียน้ำหนักของกุ้งที่ผ่านการแช่เยือกแข็งที่ความเร็วลมต่างๆ มีการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการแช่แข็งเป็น 2.71 2.41 และ 3.43 ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การสูญเสียน้ำของกุ้งกุลาดำที่แช่แข็งที่ความเร็วลม 4 และ 6 เมตรต่อวินาที ไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) ส่วนการแช่แข็งที่ความเร็วลม 8 เมตรต่อวินาที จะสูญเสียน้ำมากกว่าถึง 1.15 – 1.46 เท่าของที่ความเร็วลม 4 และ 6 เมตรต่อวินาที แม้ว่าการสูญเสียน้ำจากกุ้งจะสอดคล้องกับอัตราเร็วของการแช่แข็ง แต่ลักษณะทางกายภาพของกุ้งซึ่งวัดโดยแรงต้านทานการตัดขาดนั้นทั้งสามความเร็วลมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่กุ้งที่แช่เยือกแข็งที่ความเร็วลมต่ำกว่ามีค่าแรงความต้านทานการตัดขาดน้อยกว่า ส่วนกุ้งที่ผ่านการแช่แข็งแบบไครโอเจนนิคนั้นมีการสูญเสียน้ำน้อยกว่าการแช่เยือกแข็งแบบลมพ่น ดังแสดงในตารางที่ โดยการแช่เยือกแข็งแบบไครโอเจนนิคที่อุณหภูมิตั้งแต่ -70 ถึง -100 องศาเซลเซียสนั้น มีการสูญเสียน้ำไม่แตกต่างกัน และมีการสูญเสียน้ำเฉลี่ยร้อยละ 1.79

เมื่อพิจารณาถึงการเปลี่ยนแปลงของเนื้อกุ้งจากการต้านแรงตัดขาดของกุ้งที่ผ่านการแช่เยือกแข็งทั้งที่ใช้ลมพ่นและแบบไครโอเจนนิค พบว่าการแช่เยือกแข็งแบบลมพ่นที่อุณหภูมิ -28 องศาเซลเซียส ความเร็วลมที่ใช้มีผลต่อเนื้อสัมผัสของกุ้งหลังจากการละลายน้ำแข็งแล้ว เนื้อกุ้งที่ผ่านการแช่เยือกแข็งที่ความเร็วลม 4 เมตรต่อวินาทีมีแรงตัดขาดน้อยกว่ากุ้งสดและที่ 8 เมตรต่อวินาทีมีแรงต้านการตัดขาดมากกว่ากุ้งสด แต่ที่ความเร็วลม 6 เมตรต่อวินาที มี

แรงตัดขาดไม่ต่างจากเนื้อกุ้งกุลาดำสด ส่วนกุ้งที่ผ่านการแช่เยือกแข็งแบบไครโอเจนนิคพบว่า การแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียสมีค่าแรงต้านการตัดขาดเท่ากับกุ้งกุลาดำสด และเมื่อลดอุณหภูมิการแช่แข็งลงค่าแรงต้านการตัดขาดจะเพิ่มขึ้น แต่เมื่อลดอุณหภูมิการแช่เยือกแข็งลงถึง -100 องศาเซลเซียส ค่าแรงต้านการตัดขาดกลับลดลงอย่างมากจนต่ำกว่าค่าแรงต้านการตัดขาดของกุ้งกุลาดำสด ดังแสดงในตารางที่ 13

ค่าแรงต้านการตัดขาดของเนื้อกุ้ง ใช้เป็นค่าที่บ่งชี้ความอ่อนหรือแข็งของเนื้อกุ้ง เนื้อกุ้งที่มีค่าแรงต้านการตัดขาดมาก มีเนื้อที่แข็ง (firm) ในขณะที่กุ้งที่มีค่าแรงต้านการตัดขาดของเนื้อกุ้งน้อย จะมีเนื้อที่นิ่ม โดยทั่วไปผู้บริโภคนิยมกุ้งที่มีความแข็งที่พอเหมาะ ไม่นิ่มเละ นอกจากนั้นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับแรงตัดขาดอีกปัจจัยที่ควรพิจารณาด้วยคือ ปริมาณความชื้นในเนื้อกุ้ง การสูญเสียน้ำในระหว่างการแช่แข็งมากทำให้เนื้อกุ้งมีความเหนียวมาก

ตารางที่ 13 ความเร็วของการแช่แข็ง การสูญเสียน้ำระหว่างการแช่เยือกแข็ง และ ค่าแรงต้านทานการตัดขาดของเนื้อกุ้งที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง ที่อุณหภูมิต่างๆ เทียบกับกุ้งสด

การแช่เยือกแข็ง			ความเร็วในการแช่เยือกแข็ง (ซม/ซม)	การสูญเสียน้ำจากการแช่เยือกแข็ง(%)	แรงต้านการตัดขาดของเนื้อกุ้ง (นิวตัน)
ลักษณะการแช่เยือกแข็ง		อุณหภูมิ (°C)			
แบบลมพ่น	4 เมตร/วินาที	-28	6.85	2.71	19.29
	6 เมตร/วินาที		6.90	2.14	21.36
	8 เมตร/วินาที		7.42	3.43	22.49
แบบไครโอเจนนิค		-70	11.82	1.83	22.45
		-80	13.26	1.81	22.77
		-90	16.25	1.75	23.78
		-100	21.98	1.75	18.56
กุ้งสด					21.57

ขึ้น จะต้องใช้แรงตัดขาดมากขึ้น สำหรับกุ้งที่ผ่านการแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิต่ำมาก เช่น -100 องศาเซลเซียสมีแรงต้านการตัดขาดของเนื้อกุ้งน้อยอาจเนื่องจากการเกิดการแตกหักและฉีกขาดของกล้ามเนื้อ ซึ่งเป็นผลจากการขยายตัวอย่างรวดเร็วเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของน้ำกลายเป็นน้ำแข็ง ทำให้มีปริมาตรเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการฉีกขาดของกล้ามเนื้อของกุ้ง เมื่อละลายน้ำแข็งแล้วเนื้อกุ้งจึงมีแรงต้านทานการตัดขาดน้อยลง ซึ่งจะทำให้เมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัสจะทำให้มีความรู้สึกเหมือนว่าเนื้อกุ้งนิ่ม และอาจจะมีการสูญเสียรสชาติจากเนื้อมากขึ้นในระหว่างการปรุงอาหาร

สรุป

ลักษณะของการแช่เยือกแข็งแต่ละลักษณะมีผลต่อเนื้อกุ้งต่างกัน การแช่เยือกแข็งโดยใช้ความเร็วของลมช่วยความเร็วของลมมีผลต่อการสูญเสียความชื้นของเนื้อกุ้ง และทำให้เนื้อกุ้งมีแรงต้านการตัดขาดหรือมีความแน่น

เนื้อ ลมที่ช่วยให้การแช่เยือกแข็งเร็วขึ้นมีผลต่อการสูญเสียความชื้นของเนื้อกุ้งซึ่งเป็นผลทำให้เนื้อกุ้งมีแรงต้านการตัดขาดสูงขึ้น ความเร็วของการแช่เยือกแข็งมีผลต่อเนื้อกุ้งคือทำให้เนื้อกุ้งมีแรงต้านแรงตัดขาดต่างกัน โดยที่ กุ้งที่แช่เยือกแข็งแบบไครโอเจนนิคที่ -100 องศาเซลเซียส ทำให้กุ้งมีแรงต้านการตัดขาดต่ำที่สุด ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการขยายตัวอย่างรวดเร็วของน้ำในเนื้อกุ้ง ทำให้เกิดการฉีกขาดของกล้ามเนื้อของกุ้ง

โดยทั่วไปจะกล่าวว่าการแช่เยือกแข็งอาหารนั้น การแช่เยือกแข็งที่เร็วจะช่วยรักษาคุณภาพของเนื้อกุ้งได้ดีกว่าการแช่แข็งที่ช้า แต่จากการทดลองจะเห็นว่าการแช่เยือกแข็งที่เร็วเกินไป ก็ทำให้คุณภาพของเนื้อกุ้งที่ลดลงได้ จึงควรมีการศึกษาถึงวิธีการแช่เยือกแข็งและอัตราความเร็วของการแช่เยือกแข็งที่เหมาะสมในการแช่เยือกแข็งกุ้ง

บทที่ 5 จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์กุ้ง

ผศ ดร สุเมธ ตันตระเธียร
อ ดร รมณี สงวนดีกุล

มาตรฐานสุขลักษณะกุ้งแช่แข็ง

สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม (กระทรวงอุตสาหกรรม 2529) ได้กำหนดมาตรฐานของกุ้งแช่แข็งไว้ดังนี้

1ในกรณีที่เป็นกุ้งดิบ

- จุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total viable count) ต้องไม่เกิน 1 x 10^{7} โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม และจะมีจุลินทรีย์เกิน 1 x 10^{6} โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ได้ไม่เกิน 3 ตัวอย่างใน 5 ตัวอย่าง
- เอสเคอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*) ค่า MPN ต้องไม่เกิน 4 x 10^{2}ต่อตัวอย่าง 1 กรัมและจะมีค่า MPN เกิน 4 ต่อตัวอย่าง 1 กรัมได้ไม่เกิน 3 ตัวอย่างใน 5 ตัวอย่าง
- สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) ต้องไม่เกิน 5 x 10^{3} โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม และจะมีจำนวนไม่เกิน 1 x 10^{3} โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ได้ไม่เกิน 3 ตัวอย่างใน 5 ตัวอย่าง
- ซาลโมเนลลา (*Salmonella* spp.) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม

2 ในกรณีที่เป็นกุ้งสุกและกุ้งกึ่งสุก

- จุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total viable count) ต้องไม่เกิน 1 x 10^{6} โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม และจะมีจุลินทรีย์เกิน 1 x 10^{5} โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ได้ไม่เกิน 2 ตัวอย่างใน 5 ตัวอย่าง
- เอสเคอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*) ค่า MPN ต้องไม่เกิน 1 x 10^{2}ต่อตัวอย่าง 1 กรัมและจะมีค่า MPN เกิน 4 ต่อตัวอย่าง 1 กรัมได้ไม่เกิน 2 ตัวอย่างใน 5 ตัวอย่าง
- สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส (Staphylococcus aureus) ต้องไม่เกิน 5 x 10^{3} โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม และจะมีจำนวนไม่เกิน 5 x 10^{2} โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ได้ไม่เกิน 2 ตัวอย่างใน 5 ตัวอย่าง
- ซาลโมเนลลา (Salmonella) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม

ผลของการใช้แช่เข็งต่อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

จากการรวบรวมของ Robinson ในปี ค.ศ. 1985 เขาได้กล่าวถึงผลของการแช่แข็งที่มีผลต่อการตายและบาดเจ็บของจุลินทรีย์ต่างๆดังนี้คือ การทำให้เซลล์เย็นถึง 0 องศาเซลเซียส, การทำให้เย็นจะดำเนินต่อไปจนเกิดผลึกน้ำแข็งทั้งภายนอกและภายในเซลล์, ความเข้มข้นของตัวถูกละลายที่อยู่ทั้งภายนอกและภายในเซลล์, การเก็บเซลล์ไว้ในสภาพแช่แข็งและการละลายของจุลินทรีย์และสับสเตรทการแช่แข็งมักจะลดจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของจุลินทรีย์ในอาหารและจากการที่จำนวนของจุลินทรีย์ลดลงนี้อาจเนื่องมาจากผลของลีธาล (Lethal effect) หรือสับลีธาล (Sub lethal effect) ก็ได้

1 ผลของลีธาล เซลล์หลายเซลล์อาจถูกฆ่าตายได้โดยการแช่แข็ง แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อในอาหารได้ทั้งหมด การแช่แข็งหรือการเก็บในสภาพแช่แข็งนี้เป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการรักษาเชื้อจุลินทรีย์ที่เลี้ยงไว้ ซึ่งมักจะใช้ไนโตรเจนเหลว ผลของลีธาลนั้นเป็นผลจากการที่โปรตีนหรือเอนไซม์ที่จำเป็นในเซลล์เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่ความเข้มข้นของตัวถูกละลายเพิ่มขึ้นจากเดิมก่อนแช่แข็งหรือสภาพทางกายภาพเกิดความ

เสียหาย เนื่องจากผลึกน้ำแข็ง การให้ความเย็นกับเซลล์อย่างรวดเร็วจากอุณหภูมิที่เหมาะสมจนถึง 0 °C ก็อาจทำให้เซลล์ตายได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกเทอร์โมฟายล์และมีโซฟายล์ เรียกว่าการช็อคด้วยความเย็น(Cold shock) และคงมีความเกี่ยวข้องกับไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งทำให้เซลล์เกิดการรั่วหรือไปทำให้การปล่อยสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ (Robinson, 1985)

2 **ผลของสับลีธาล** การแสดงจำนวนของจุลินทรีย์ในอาหารแช่แข็งนั้นพบว่าจำนวนของจุลินทรีย์ที่ลดลงนั้นอาจจะไม่ใช่จุลินทรีย์ที่ตายแล้วทั้งหมด แต่จะมีบางเซลล์เกิดความเสียหายบางส่วนจนไม่สามารถที่จะเจริญให้เห็นได้เท่านั้น แต่ถ้าทิ้งระยะเวลาให้นานพอสมควร ให้มีการซ่อมแซมส่วนที่เสียหาย หรือมีการเติมสารอาหารบางอย่างให้เซลล์ก็อาจจะเจริญต่อไปได้ (Robinson, 1985)

การศึกษาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกุ้งสดในตลาดขายส่ง

<u>วัตถุประสงค์</u>

เพื่อสำรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหาร ซึ่งติดมากับกุ้ง ในบริเวณตลาดขายส่ง

<u>วิธีการทดลอง</u>

วัตถุดิบ

กุ้งสดจากตลาดขายส่งในจังหวัดสมุทรสาคร โดยทำการสุ่มเก็บจากผู้ขายส่งประมาณ 14 รายในการสุ่มเก็บแต่ละครั้ง ทำการรักษาตัวอย่างในถุงพลาสติกและเก็บในน้ำแข็ง จนกระทั่งมาถึงห้องปฏิบัติการเพื่อการตรวจวิเคราะห์

การตรวจวิเคราะห์

ตัวอย่างกุ้งสดที่นำมาถึงห้องปฏิบัติการถูกนำมาเตรียมการวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ โดยชั่งกุ้ง 25 กรัม ใส่ลงในสารละลาย saline water ปริมาตร 225 มล จากนั้นนำกุ้งในสารละลายเข้าเครื่อง stomacher เพื่อทำการ homogenize และใช้ homogenate ที่ได้เพื่อการตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ของกุ้งตัวอย่างโดยทำการตรวจวิเคราะห์

- total plate count
- phychotrophic bacteria
- coliform
- *Escherichia coli*

ผลและวิจารณ์การทดลอง

จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในกุ้งสดตัวอย่างพบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ต่างๆ ไม่คงที่ มีการแปรผันในช่วงกว้าง จึงได้ทำการเปรียบเทียบการเตรียมตัวอย่างกุ้งสดโดยเปรียบเทียบระหว่างการทำ homogenate ด้วยอุปกรณ์ stomacher และการ rinse ด้วย น้ำ saline water ได้ผลตามตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในกุ้งสดด้วยวิธีการเตรียมตัวอย่างต่างกัน

การเตรียมตัวอย่าง / การตรวจวิเคราะห์	homogenized ด้วย stomacher	rinse ด้วย saline water
Total plate count (cfu/g)	370,000	14,000,000
Phychotrophic bacteria	360,000	1,300,000
MPN Coliform (per g)	240	240
MPN Escherichia (per g)	240	240

ผลการทดลองพบว่าปริมาณจุลินทรีย์จากทั้งสองวิธีการเตรียมตัวอย่างมีปริมาณไม่เท่ากัน โดยเฉพาะในส่วนของการตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบขึ้นในอุณหภูมิการแช่เย็น โดยที่ปริมาณจุลินทรีย์ที่ได้จากการ rinse โดยทำการเขย่ากุ้งและสารละลายเพื่อให้จุลินทรีย์หลุดจากตัวกุ้งมาแขวนลอยในน้ำนั้นมีมากกว่าการทำ homogenate สันนิษฐานได้ว่ามีจุลินทรีย์ส่วนหนึ่งติดอยู่กับกล้ามเนื้อกุ้งซึ่งเป็นส่วนที่ไม่ละลาย ซึ่งในเวลาปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์นั้นจะรอให้ส่วนที่ไม่ละลายนอนอยู่ที่ก้นของถุง stomacher ส่วนจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเจ็บป่วยของผู้บริโภคนั้นมีปริมาณจุลินทรีย์ที่ตรวจนับได้จากทั้งสองวิธีเท่ากัน

ซึ่งจำนวนของจุลินทรีย์ทั้งหมดและจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิแช่เย็นนั้น มีความสำคัญเนื่องจากทั้งสองเป็นดัชนีบอกถึงอายุการเก็บของกุ้งสด เนื่องจากถ้ามีปริมาณจุลินทรีย์อยู่มาก อาจเป็นเครื่องบ่งชี้ได้ว่าจะสามารถเก็บกุ้งสดในอุณหภูมิการแช่เย็นได้สั้นกว่าตัวอย่างที่มีปริมาณจุลินทรีย์ของการตรวจวิเคราะห์ทั้งสองน้อย

ดังนั้นในการวิจัยจะทำการแช่กุ้งทั้งตัวในสารละลาย saline water และทำการเขย่าเพื่อให้จุลินทรีย์แขวนลอยในสารละลาย แทนการ homogenize ด้วย stomacher

สรุป

การตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์เพื่อใช้คาดคะเนถึงคุณภาพของกุ้งสดทั้งตัว ควรจะทำการเตรียมตัวอย่างโดยการ rinse ด้วยน้ำ saline water แทนการเตรียมโดยการทำ homogenate ด้วย stomacher

ผลของการแช่เยือกแข็งต่อซาลโมเนลล่า (Salmonella)

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการอยู่รอด ของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์กุ้งแช่แข็ง

วิธีการทดลอง

วัตถุดิบ

กุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* Fabricius จากตลาดสามย่าน ขนาด

60 ตัว/กิโลกรัม ที่ผ่านการล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเย็นและทำการตัดแต่งกุ้งโดยการเด็ดหัวและปอกเปลือก ล้างด้วยน้ำเย็นวางบนตะแกรงให้สะเด็ดน้ำที่อุณหภูมิ 10 ° C

วิธีวิเคราะห์ทางกายภาพ

หาอัตราเร็วในแช่แข็งกุ้งกุลาดำ

วัดระยะทางจากผิวหน้าของกุ้ง จนถึงจุดกึ่งกลางของกุ้ง หน่วยเป็นเซนติเมตร นำมาหารด้วยระยะเวลาในช่วงการเกิดผลึกน้ำแข็ง(Ice crystal formation) หน่วยเป็นชั่วโมง ดังสมการด้านล่างนี้

$$\text{อัตราเร็ว} = \frac{\text{ระยะทางจากผิวถึงจุดศูนย์กลางของกุ้งกุลาดำ (cm.)}}{\text{ระยะเวลาในช่วง ice crystal formation (hr.)}}$$

หาอัตราเร็วในการแช่แข็ง Salmonella suspension

วัดระยะทางจากผิวหน้าของขวดบรรจุตัวอย่าง จนถึงจุดกึ่งกลางของขวดบรรจุตัวอย่าง หน่วยเป็นเซนติเมตร นำมาหารด้วยระยะเวลาในช่วงการเกิดผลึกน้ำแข็ง
(Ice crystal formation) หน่วยเป็นชั่วโมง ดังสมการด้านล่างนี้

$$\text{อัตราเร็ว} = \frac{\text{ระยะทางจากผิวจนถึงจุดศูนย์กลางของขวดบรรจุตัวอย่าง (cm.)}}{\text{ระยะเวลาในช่วง ice crystal formation (hr.)}}$$

วิธีวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

การเตรียมตัวอย่าง Salmonella suspension

เพาะเลี้ยง *S. derby*ใน Tryptic soy broth ที่ 42 ° C นาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเชื้อมาปั่นเก็บ เซลล์ที่ 3,000 x g เป็นเวลา 10 นาที ล้างอาหารเลี้ยงเชื้อที่ติดมาด้วยน้ำกลั่นที่ผ่าน การฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นปั่นเก็บเซลล์อีกครั้ง นำเซลล์ที่ได้มาเตรียมให้มี ความเข้มข้นเท่ากับ 10^6 cell/ml ด้วย Peptone water 0.1 % ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วนำ Salmonella suspension บรรจุในขวดพลาสติกใสทรงกระบอกที่มีฝาปิด เส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 1 ซม. สูงประมาณ 6ซม. ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยเติมเชื้อ 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาหาปริมาณเชื้อตั้งต้น

การเตรียมตัวอย่าง Salmonella **ในกุ้งกุลาดำ**

เพาะเลี้ยง *S. derby* ใน Tryptic soy broth ที่ 42°C นาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น นำเชื้อมาปั่นเก็บ เซลล์ที่ 3,000 x g เป็นเวลา 10 นาที ล้างอาหารเลี้ยงเชื้อที่ติดมาด้วย น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
จากนั้นปั่นเก็บเซลล์อีกครั้ง นำเซลล์ที่ได้มาเตรียมให้มีความเข้มข้นเท่า กับ 10^6 cell / ml ด้วย Peptone water 0.1 %
ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ นำกุ้งกุลาดำ ขนาด 60 ตัว/กิโลกรัม มาล้างด้วยน้ำเย็นประมาณ 10 ° C
จากนั้นทำการตัดแต่งกุ้งโดยเด็ดหัวและปอกเปลือก ล้างด้วยน้ำเย็น วางพักบนตะแกรงให้สะเด็ดน้ำที่ อุณหภูมิต่ำ
หลังจากนั้นนำกุ้งมาเติม *S. derby* ที่เตรียมใน Peptone water 0.1 % ที่
ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วและทำให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 10^6cell/ml ในการทดลองจะใช้กุ้ง จำนวน 25 กรัม ต่อ *S. derby*

เข้มข้น 10^6 cell / ml จำนวน 1 ml จากนั้นนำมาบรรจุแบบ สุญญากาศในถุงHDPE ที่ผสมไนลอน จากนั้นนำมาหาปริมาณเชื้อตั้งต้น

การหาจำนวน *Salmonella* spp. **ทั้งหมด** ดัดแปลงจากวิธีของ (Velazquez,2000)

- กรณีที่เป็นตัวอย่าง Salmonella suspension แช่แข็ง

นำตัวอย่าง Salmonella suspensionแช่แข็งมาละลายน้ำแข็งออก โดยละลายใน water bath อุณหภูมิ 40 °C จนกระทั่งอุณหภูมิที่จุดศูนย์กลางของตัวอย่างเท่ากับ 5 °C หลังจากนั้นทำ dilution ด้วย peptone water แล้วทำ spread plate บนอาหาร Tryptic soy agar ที่ผสม 1 % ของ yeast extract นำไปบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนเชื้อที่ขึ้น ลักษณะของโคโลนีของ *Salmonella* spp. เป็นดังภาพที่ 9 จากนั้นนำโคโลนีไปตรวจยืนยันในอาหาร SIM medium, TSI และ LIA

- กรณีที่เป็นตัวอย่าง Salmonella ในกุ้งกุลาดำแช่แข็ง

นำตัวอย่าง Salmonella ในกุ้งกุลาดำแช่แข็งมาละลายน้ำแข็งออก โดยละลายใน water bath อุณหภูมิ 40 °C จนกระทั่งอุณหภูมิที่จุดศูนย์กลางของตัวอย่างเท่ากับ 5 °C หลังจากนั้นนำตัวอย่าง Salmonella ในกุ้งกุลาดำ(25 g) มาเติม peptone water จำนวน 225 ml แล้วนำไปตีปั่นด้วยเครื่อง Stochmacher จากนั้นดูดตัวอย่างมา 1 ml นำมาทำ dilution ด้วย peptone water แล้ว spread plate บนอาหาร Tryptic soy agar ที่ผสม 1% yeast extract , 0.08% Ammonium iron (III) citrate และ 0.68% Sodium thiosulphate นำไปบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนเชื้อที่ขึ้น ลักษณะของโคโลนีของ *Salmonella* spp. เป็นดังภาพที่ 10 จากนั้นนำโคโลนีไปตรวจยืนยันในอาหาร SIM medium, TSI และ LIA

การหาจำนวน Salmonella spp. **ที่แข็งแรง** (ดัดแปลงจากวิธีของ Madeline Velazquez, 2000)

- ในกรณีที่เป็นตัวอย่าง Salmonella suspensionแช่แข็ง

นำตัวอย่าง Salmonella suspensionแช่แข็งมาละลายน้ำแข็งออก โดยละลายใน water bath อุณหภูมิ 40 °C จนกระทั่งอุณหภูมิที่จุดศูนย์กลางของตัวอย่างเท่ากับ 5 °C หลังจากนั้นทำ dilution ด้วย peptone water แล้วทำ spread plate บนอาหาร XLD นำไปบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนเชื้อที่ขึ้น ลักษณะของโคโลนีของ *Salmonella* spp. เป็นดังภาพที่ 12 จากนั้นนำโดโลนีไปตรวจยืนยันในอาหาร SIM medium, TSI และ LIA

- ในกรณีที่เป็นตัวอย่าง Salmonella ในกุ้งกุลาดำแช่แข็ง

นำตัวอย่าง Salmonella ในกุ้งกุลาดำแช่แข็งมาละลายน้ำแข็งออก โดยละลายใน water bath อุณหภูมิ 40 °C จนกระทั่งอุณหภูมิที่จุดศูนย์กลางของตัวอย่างเท่ากับ 5 °C หลังจากนั้นนำตัวอย่าง Salmonella ในกุ้งกุลาดำ(25 g) มาเติม peptone water จำนวน 225 ml แล้วนำไปตีปั่นด้วยเครื่อง Stochmacher จากนั้นดูดตัวอย่างมา 1 ml นำมาทำ dilution ด้วย peptone water แล้ว spread plate บนอาหาร XLD นำไปบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนเชื้อที่ขึ้น ลักษณะของโคโลนีของ *Salmonella* spp. เป็นดังภาพที่ 12 จากนั้นนำโดโลนีไปตรวจยืนยันในอาหาร SIM medium, TSI และ LIA

การหาจำนวน Salmonella spp. **ที่บาดเจ็บ**(ดัดแปลงวิธีของ Hayashi S. ,1998)

จำนวนเชื้อที่บาดเจ็บสามารถหาได้จากจำนวนเชื้อทั้งหมด ลบด้วยจำนวนเชื้อที่แข็งแรง

การหาเปอร์เซ็นต์รอดตายของ Salmonella spp. **หลังผ่านกระบวนการแช่แข็ง** (ดัดแปลงวิธีของ Hayashi S. ,1998)

$$\text{เปอร์เซนต์การรอดตาย} = \frac{\text{จำนวนเชื้อทั้งหมดหลังผ่านกระบวนการแช่แข็ง} \times 100}{\text{จำนวนเชื้อทั้งหมดก่อนผ่านกระบวนการแช่แข็ง}}$$

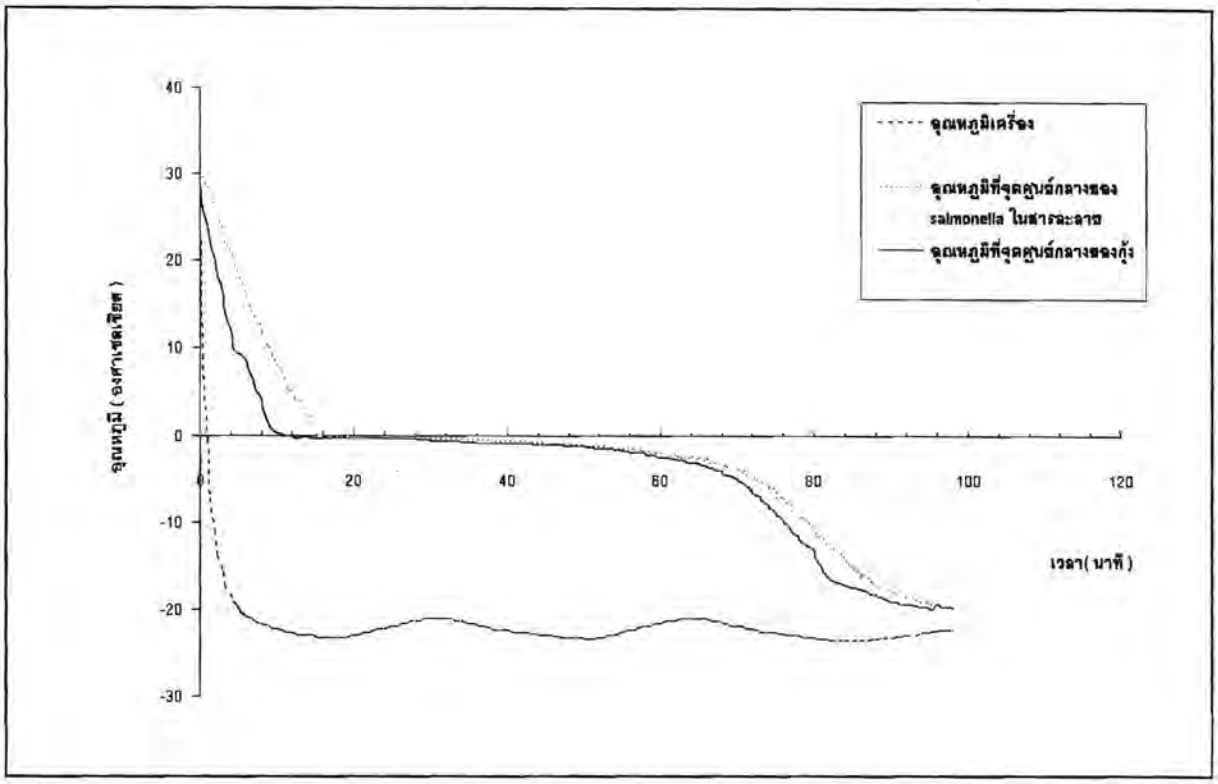
การหาเปอร์เซ็นต์บาดเจ็บของ Salmonella spp. **หลังผ่านกระบวนการแช่แข็ง** (ดัดแปลงวิธีของ Hayashi S. ,1998)

$$\text{- เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บ} = \frac{\text{จำนวนเชื้อที่บาดเจ็บหลังผ่านกระบวนการแช่แข็ง} \times 100}{\text{จำนวนเชื้อทั้งหมดหลังผ่านกระบวนการแช่แข็ง}}$$

<u>*ผลการทดลองและวิจารณ์*</u>

ศึกษาผลของอัตราเร็วในการแช่แข็งต่อการบาดเจ็บและรอดตายของ S. derby

รูปที่ 1 แสดง Freezing curve ของการแช่แข็งตัวอย่าง Salmonella ในกุ้งกุลาดำด้วยการแช่เยือกแข็งแบบ air blast ที่ -20 องศาเซลเซียส ในรูปจะแสดงอุณหภูมิที่จุดศูนย์กลางของตัวอย่าง และอุณหภูมิของอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการแช่แข็งตัวอย่าง ในขณะที่เริ่มแช่แข็งตัวอย่างจนเสร็จสิ้นการแช่แข็ง



รูปที่ 1 กราฟแสดงอุณหภูมิในตัวกุ้งที่แช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียส ในอุปกรณ์แช่เยือกแข็งแบบ still air

ผลของอัตราเร็วในการแช่แข็งต่อการบาดเจ็บและรอดตายของ S. *derby* ของตัวอย่าง Salmonella suspension ที่แช่แข็งด้วยอัตราเร็วต่าง ๆ กันดังแสดงในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 % รอดตาย และ % บาดเจ็บ ของ S. *derby* ของตัวอย่างSalmonella suspensionหลังผ่านกระบวนการแช่แข็งด้วยอัตราเร็วต่าง ๆ

Freezing rate of Salmonella suspension (cm/hr)	% Survival	% Injury of survival
0.62	$4.01^{a} \pm (9.57 \times 10^{-3})$	$25.30^{d} \pm 0.27$
1.05	$3.05^{b} \pm (0.53 \times 10^{-3})$	$30.47^{c} \pm 0.37$
2.00	$1.03^{c} \pm (9.57 \times 10^{-3})$	$50.77^{b} \pm 0.77$
60	$0.15^{d} \pm (9.57 \times 10^{-3})$	$81.09^{a} \pm 0.06$

a,b,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวตั้งเดียวกัน ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (n=4)

จากตารางพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างอัตราความเร็วในการแช่เยือกแข็งและร้อยละของการรอดตายเป็น

ร้อยละการรอดตาย = 2.5444 x อัตราเร็วการแช่เยือกแข็ง $^{(-0.7111)}$ ($R^2 = 0.9647$)

และความสัมพันธ์ระหว่างอัตราความเร็วในการแช่เยือกแข็งต่อร้อยละของเซลล์ที่บาดเจ็บ

ร้อยละของเซลล์ที่บาดเจ็บ = 34.949 x อัตราเร็วการแช่เยือกแข็ง $^{(0.2375)}$ ($R^2 = 0.8732$)

จากการแช่แข็งตัวอย่างSalmonella suspensionโดยแปรอัตราเร็วในการแช่แข็งซึ่งทำได้โดยแช่แข็งตัวอย่างด้วยอุปกรณ์ต่าง ๆ ดังนี้คือ Still air อุณหภูมิ -10 ° C (ช่องแช่แข็งของตู้เย็น), Still air อุณหภูมิ – 20 ° C, Air blast อุณหภูมิ ประมาณ – 20 ° C และ Cryogenic อุณหภูมิ – 70 °C พบว่ามีอัตราเร็วของการแช่แข็งตัวอย่างดังนี้คือ 0.62, 1.05, 2.00 และ 60.00 cm/hr ตามลำดับ Freezing curve ของการแช่แข็งตัวอย่างด้วยอุปกรณ์ต่าง ๆ พบว่าอัตราเร็วต่าง ๆ ที่ใช้ในการแช่แข็งมีผลต่อเปอร์เซ็นต์รอดตายและเปอร์เซ็นต์บาดเจ็บของ *S. derby* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมื่ออัตราเร็วในการแช่ แข็งสูงขึ้นเปอร์เซ็นต์รอดตายของ *S. derby* ลดลง แต่เปอร์เซ็นต์บาดเจ็บของ*S. derby* ที่รอดตายมีค่าเพิ่มขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 18

ผลของอัตราเร็วในการแช่แข็งต่อการบาดเจ็บและรอดตายของ *S. derby* ของตัวอย่างSalmonella ในกุ้งกุลาดำที่แช่แข็งด้วยอัตราเร็วที่ต่าง ๆ กัน ดังแสดงในตารางที่ 16

ตารางที่ 16 % รอดตาย และ % บาดเจ็บ ของ *S. derby* ของตัวอย่าง Salmonella ที่ปนกับกุ้งกุลาดำหลังผ่านกระบวนการแช่แข็งด้วยอัตราเร็วต่าง ๆ

Freezing rate of Shrimp with Salmonella solution(cm/hr)	% Survival	% Injury
0.45	$4.49^{a} \pm (5.91 \times 10^{-2})$	$30.43^{d} \pm 0.31$
0.79	$3.44^{b} \pm (2.38 \times 10^{-2})$	$33.52^{c} \pm 0.16$
1.50	$1.46^{c} \pm (5.23 \times 10^{-2})$	$55.37^{b} \pm 0.29$
45	$0.21^{d} \pm (1.83 \times 10^{-2})$	$78.34^{a} \pm 0.24$

a,b,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวตั้งเดียวกัน ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (n=4)

จากการแช่แข็ง Salmonella ในกุ้งกุลาดำโดยแปรอัตราเร็วในการแช่แข็งซึ่งทำได้โดยแช่แข็งตัวอย่างด้วยอุปกรณ์ต่าง ๆ ดังนี้คือ Still air อุณหภูมิ -10 ° C (ช่องแช่แข็งของตู้เย็น), Still air อุณหภูมิ – 20 ° C, Air blast อุณหภูมิ ประมาณ – 20 ° C และ Cryogenic อุณหภูมิ – 70 ° C พบว่ามีอัตราเร็วของการแช่แข็งตัวอย่างดังนี้คือ 0.45, 0.79, 1.50 และ 45.00 cm/hr ตามลำดับ Freezing curve ของการแช่แข็งตัวอย่างด้วยอุปกรณ์ต่าง ๆ และพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างอัตราความเร็วในการแช่เยือกแข็งและร้อยละของการรอดตายเป็น

ร้อยละการรอดตาย = 2.4998 x อัตราเร็วการแช่เยือกแข็ง $^{(-0.66339)}$ ($R^2 = 0.9819$)

และความสัมพันธ์ระหว่างอัตราความเร็วในการแช่เยือกแข็งต่อร้อยละของเซลล์ที่บาดเจ็บ

ร้อยละของเซลล์ที่บาดเจ็บ = 39.244 x อัตราเร็วการแช่เยือกแข็ง $^{(0.1926)}$ ($R^2 = 0.8384$)

จากการแช่แข็งตัวอย่างด้วยอัตราเร็วต่าง ๆ พบว่าอัตราเร็วต่าง ๆ ที่ใช้ในการแช่แข็งมีผลต่อเปอร์เซ็นต์รอดตายและเปอร์เซ็นต์บาดเจ็บของ *S. derby* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเมื่ออัตราเร็วในการแช่ แข็งสูงขึ้นพบว่าเปอร์เซ็นต์รอดตายของ *S. derby* ลดลงแต่เปอร์เซ็นต์บาดเจ็บของ *S. derby* ที่รอดตายมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งการที่มีเชื้อที่บาดเจ็บอยู่มากนั้นจะทำให้มีการตรวจวิเคราะห์ผิดพลาดได้มากขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 16 ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการแช่แข็ง Salmonella suspension และให้ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Calcott (1978) ได้อธิบายถึงการแช่แข็งสารละลายของเซลล์จุลินทรีย์ ไว้ว่าในขณะที่แช่แข็ง เซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์จะมีลักษณะเหมือนตัวถูกละลายและถูกทำให้กลายเป็นองค์ประกอบและถูกทำให้เข้มข้นในส่วนที่ไม่แข็งตัว(unfrozen portion)ของสารละลายซึ่งคล้ายกับเป็นผลึกน้ำแข็ง ดังนั้นเซลล์ของจุลินทรีย์จึงเปรียบเสมือนถูกห้อมล้อมด้วย super cooling solution ซึ่งพร้อมจะกลายเป็นผลึกน้ำแข็งได้ตลอดเวลา ถ้ามีการคายพลังงานออกsuper cooling solution ที่อยู่รอบ ๆ เซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์จะกลายเป็นผลึกน้ำแข็งที่อยู่รอบ ๆ เซลล์จุลินทรีย์ จึงมีผลทำให้จุลินทรีย์ได้รับผลกระทบของตัวถูกละลายที่เข้มข้นซึ่งก็คือผลึกน้ำแข็งที่อยู่รอบๆเซลล์ของจุลินทรีย์นั่นเอง เมื่อมีผลึกน้ำแข็งอยู่รอบ ๆ จะทำให้น้ำที่อยู่ในเซลล์ถูกดึงออกจากเซลล์ ซึ่งจะทำให้เซลล์จุลินทรีย์มีการเสียน้ำเพิ่มขึ้นอีก นอกจากการเสียน้ำเนื่องจากการเกิด Intracellular ice formation ดังนั้นเมื่อแช่แข็งด้วยอัตรา เร็วที่สูง ดังที่ Fennema (1973) ได้อธิบายไว้ว่า การแช่แข็งแบบเร็วจะทำให้เกิดผลึกที่มีขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วไป การแช่แข็งแบบเร็วจึงมีผลทำให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ของจุลินทรีย์ได้มากกว่าการแช่แข็งแบบช้า ดังนั้นเมื่ออัตราเร็วในการแช่แข็งเพิ่มขึ้น เปอร์เซ็นต์รอดตายของจุลินทรีย์ที่ถูกแช่แข็งจึงลดลงและในขณะเดียวกันจะทำให้เปอร์เซ็นต์ บาดเจ็บของจุลินทรีย์ที่รอดตายมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราเร็วในการแช่เพิ่มขึ้น ซึ่ง Mazur (1973) ได้อธิบายเกี่ยวกับผลของการแช่แข็งที่มีต่อเซลล์จุลินทรีย์ไว้ดังนี้คือมี 5 ปัจจัยหลักที่มีผลต่อการตายและการบาดเจ็บของเซลล์จุลินทรีย์ซึ่งประกอบด้วย อุณหภูมิที่ต่ำ , การเกิด extracellular ice formation , การเกิด intracellular ice formation , ความเข้มข้นของextracellular solutes และความเข้มข้นของ intracellular solutesซึ่งจากการศึกษาพบว่าอุณหภูมิที่ต่ำและ การเกิด extracellular ice formation ไม่ได้เป็นสาเหตุที่สำคัญที่ทำให้เซลล์บาดเจ็บ เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ยังมีชีวิตอยู่หลังเกิดการสูญเสียน้ำ นอกจากนั้นความเข้มข้นของ intracellular solutes ก็ไม่ใช่ปัจจัยหลักที่ทำให้เซลล์จุลินทรีย์เกิดการบาดเจ็บ ส่วนการเกิด intracellular ice formation จะเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้จุลินทรีย์เกิดการบาดเจ็บเนื่องจากความแตกต่างของ osmotic pressure ระหว่าง super cool cytoplasm และ freezing external medium ซึ่งทำให้เซลล์จุลินทรีย์มีแนวโน้มที่จะสูญเสียน้ำออกนอกเซลล์ให้แก่สิ่งแวดล้อม อัตราการสูญเสียน้ำจะขึ้นกับความแตกต่างระหว่างความดันไอของ cytoplasm และ medium นอกจากนั้นยังขึ้นอยู่กับขนาดของเซลล์จุลินทรีย์ ยิ่งเซลล์มีขนาดเล็กจะเกิดการสูญเสียน้ำได้เร็วกว่าเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ เมื่อเกิดการสูญเสียน้ำภายในเซลล์ จะทำให้ความเข้มข้นของสารภายในเซลล์จุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงและส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลง pH รวมทั้งทำให้activity และการทำงานของเอนไซม์เกิดการเปลี่ยนแปลงนอกจากนั้นทำให้ไม่สามารถ ทนต่อ Selective media ซึ่งเป็นลักษณะของเซลล์ที่บาดเจ็บ การเกิด intracellular ice formation จะขึ้นอยู่กับอัตราเร็วที่ใช้ในการแช่แข็งดังที่ Fennema et al., (1973) ได้อธิบายถึงความสัมพันธ์ของอัตราเร็วในการแช่แข็งกับตำแหน่งที่เกิดผลึกและขนาดของผลึกว่าการแช่แข็งแบบช้า ทำให้เกิดการเยือกแข็งภายนอกเซลล์ ซึ่งมีผลทำให้ได้ผลึกขนาดใหญ่ ตำแหน่งของน้ำ

เปลี่ยนไปสูงสุด ส่วนการแช่แข็งแบบเร็วทำให้เกิดผลึกอย่างสม่ำเสมอ ซึ่งมีผลทำให้เกิดผลึกขนาดเล็กจำนวนมาก ซึ่งก็คือมีการเกิด intracellular ice formation มาก เนื่องมาจากมีการเคลื่อนย้ายของน้ำน้อย Robinson(1985) ได้อธิบายถึงการเกิดผลึกน้ำแข็งและการบาดเจ็บของเซลล์จุลินทรีย์ไว้ดังนี้ว่า เมื่อมีการเกิดผลึกจากการกระบวนการแช่แข็ง ผลึกจะมีการดึงน้ำเข้าสู่ตัวผลึก จึงเป็นการแยกน้ำออกจากสารอื่นที่มันรวมตัวกันอยู่ ผลึกน้ำแข็งสามารถที่จะทำลายโครงสร้างเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์ฉีกขาดและดึงน้ำผ่านผนังเซลล์ออกมา สำหรับผลของการแช่แข็งของเซลล์จุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ Calcott (1978) ได้ศึกษาพบว่าอัตราเร็วในการแช่แข็งมีผลต่อการตายและการบาดเจ็บของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งอัตราเร็วในการแช่แข็งตั้งแต่ 3 ° C ต่อนาทีขึ้นไป มีผลทำให้เกิด intracellular ice ของเซลล์จุลินทรีย์ได้มาก นอกจากนั้น Ingram และ Mackey (1976) ได้ศึกษาพบว่า แบคทีเรียแกรมลบตัวอย่างเช่น *Escherichia, Salmonella ,Serratia , Pseudomonas , Acinetobactobacter , Moraxxella* และ *Vibrio* จะเป็นเชื้อที่มีความไวทั้งต่อการแช่แข็งและการเก็บในสภาวะแช่แข็ง ในปี 1966 Mazur ได้เปรียบผลของกระบวนการแช่แข็งต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบพบว่าแบคทีเรียแกรมลบมีความไวต่อการแช่แข็งมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก Jame และ Bailey (1982) ได้ศึกษาพบว่าการตายและการบาดเจ็บของเซลล์จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับอาหารมีความสัมพันธ์กับอัตราเร็วที่ใช้ในการแช่แข็งอาหารโดยพบว่าถ้าการแช่แข็งอาหารมีอัตราเร็วน้อยกว่า 1 ° C ต่อนาที ภายในเซลล์จุลินทรีย์จะไม่เกิด Intracellular freezing ขึ้นภายในเซลล์จุลินทรีย์ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการตายและการบาดเจ็บของเซลล์จุลินทรีย์

สรุป

อัตราเร็วของการแช่เยือกแข็งมีผลต่อเชื้อซาลโมเนลล่า โดยที่อัตราเร็วของการแช่เยือกแข็งที่เร็วขึ้นจะทำให้อัตรารอดตายของเชื้อที่ผ่านการแช่เยือกแข็งน้อยลง แต่อัตราการบาดเจ็บของเชื้อจะเพิ่มขึ้น การบาดเจ็บของเชื้อนี้จะทำให้การต้านทานสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารที่ใช้สำหรับตรวจวิเคราะห์มีน้อยลง ทำให้การตรวจได้ผลเป็น false negative ซึ่งเชื้อที่อยู่ในอาหารนั้นแม้ว่าจะเป็นเชื้อที่บาดเจ็บแต่ก็มีโอกาสที่จะเจริญได้ในร่างกายของผู้บริโภค ซึ่งจะทำให้เกิดอาหารเป็นพิษได้

สรุปการสำรวจสำหรับการประเมิน

จากการสำรวจพบว่าอุตสาหกรรมกุ้งนั้นเป็นอุตสาหกรรมที่มีผู้เกี่ยวข้องมาก ในด้านการเพาะเลี้ยง มีอุตสาหกรรมอาหารกุ้ง อุตสาหกรรมการเลี้ยงไรแดง การซื้อขายสารเคมีในการปรับสภาพบ่อ และผู้เลี้ยงกุ้ง รวมทั้งประมงกุ้งธรรมชาติ เมื่อกุ้งถูกจับออกจากบ่อหรือจากธรรมชาติแล้ว จะถูกนำมาขายที่ตลาดค้ากุ้ง และขนส่งเข้าโรงงานเพื่อการแปรรูปต่อไป

การพัฒนาอุตสาหกรรมเกี่ยวกับกุ้งแบบครบวงจร สามารถแบ่งอุตสาหกรรมเกี่ยวกับกุ้งออกเป็น 2 ระยะ คือ การเพาะเลี้ยง และการแปรรูป การศึกษาเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรมกุ้งในด้านของการเพาะเลี้ยงคือ การศึกษาเพื่อพัฒนาคุณภาพพ่อแม่พันธุ์กุ้ง พัฒนาอาหารกุ้งให้มีคุณภาพและไม่ทำให้เกิดมลพิษในบ่อ และการใช้ยาปฏิชีวนะที่ถูกชนิดและถูกต้อง และในด้านการแปรรูปนั้นเราต้องการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อให้มีผลิตภัณฑ์ใหม่ ๆ ออกสู่ตลาด การศึกษาในเรื่องของการรักษาคุณภาพของกุ้งหรือการแปรรูปของผลิตภัณฑ์กุ้ง และการผลิตที่ไม่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่จะทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ เช่น ซาลโมเนลล่า เป็นต้น นอกจากนั้นการตรวจวิเคราะห์คุณภาพกุ้งทั้งทางจุลชีววิทยาและสารตกค้างก็เป็นปัจจัยในการช่วยส่งเสริมการค้ากุ้งระหว่างประเทศด้วย

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง (2538) การฝึกอบรมการตรวจสอบสารปฏิชีวนะตกค้างในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ กรุงเทพมหานคร

กองบรรณาธิการ (2545) ยาต้านจุลชีพสำหรับกุ้ง – ทำไมจึงต้องใช้ LAB. TODAY 1 (4) 28-34

ธนาวุฒิ กล่าวเกลี้ยง, วาลุกา กฤตรัชตนันต์, ธวัชชัย ทองน้อย และอิสมะแอน อิสหมาน 2543. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อดิน เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 43/2543 กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 18 หน้า

ธวัช ศรีวิระชัย, สมใจ เวชประสิทธิ และ วิชัย ชัยชนะกสิกรรม 2543 การเลี้ยงกุ้งกุลาดำให้ได้ขนาดพ่อแม่พันธุ์ในบ่อดิน เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 49/2543 กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 13 หน้า

ธำมรงค์ ประกอบบุญ (2545) สถานการณ์ของกุ้งไทยในปัจจุบัน เอกสารประกอบการสัมมนา เรื่อง แนวทางวิจัยและมาตรการแก้ปัญหาสารตกค้างในกุ้งไทย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ กรุงเทพมหานคร (D-1)–(D-5)

พรเลิศ จันทร์รัชชกูล เจ เอฟ เทอร์นบอล และ ชะลอ ลิ้มสุวรรณ (2537) คู่มือการเลี้ยงและป้องกันโรคกุ้งกุลาดำ สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง กรุงเทพมหานคร

มยุรี จัยวัฒน์. 2527. การให้ความเย็นผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เพ็ญศรี รอดมา, อุธารัตน์ วุฒิกรภัณฑ์และอัชฌา ฐานานุวัฒน์ 2534 คุณภาพของกุ้งเพาะเลี้ยงและกุ้งทะเลแช่แข็ง วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 33(4):183-188

ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก. 2532. กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร. สงขลา: ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ประจวบ หล่ำอุบล, สุวิทย์ วุฒิสุทธิเมธาวี, อภิชาต วรรณวิจิตร, สมวงษ์ ตระกูลรุ่ง, บรรจง นิสภาวณิชย์, ทิวา เจียวตั้ง และธนวงศ์ เมืองแมน 2543 การปรับปรุงพันธุ์กุ้งกุลาดำแบบครบวงจรและการพัฒนาโมเลกุลเครื่องหมายเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือก รายงานฉบับสมบูรณ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วรรณวิบูลย์ กาญจนกุญชร. 2539. สัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์. ใน วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, หน้า 282-294. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิริลักษณ์ สุวรรณรังษี (2541) มาตรฐานผลิตภัณฑ์กุ้ง วารสารสถาบันอาหาร 2(7) 39-40

สุภาพรรณ บริลเลียนเตส (2538) การตรวจวิเคราะห์สารปฏิชีวนะ Oxolinic acid และ Oxytetracyclin ในกุ้งกุลาดำ การฝึกอบรมการตรวจสอบสารปฏิชีวนะตกค้างในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ กรมประมง กรุงเทพมหานคร

สุพล ตั้นสุวรรณ 2541 การเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบ่อดินให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 18/2541 กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 24 หน้า

สายสนม ประดิษฐดวง. 2539. กระบวนการแช่เยือกแข็งอาหาร. ใน วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, หน้า 131-163. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุวิมล กีรติวิริยาภรณ์ และศันสนีย์ ศรีจันทร์งาม 2543 การปนเปื้อนของเชื้อซาลโมเนลล่าในวัตถุดิบกุ้งกุลาดำ วารสารการประมง 53(5); 455-459

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร 2541

อุตสาหกรรมะ กระทรวง 2529 มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกุ้งเยือกแข็ง มอก 116-2529 กรุงเทพมหานคร สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

AOAC Official Method 995.09, Chlortetracycline, Oxytetracycline, and Tetracycline in Edible Animal Tissues, Liquid Chromatographic Method, First Action 1995.

Ball, A. O., Leonard, S and Chapman, R.W 1998. Characterization of (GT)n microsatellites from native White shrimp (*Paenaeus setiferus*) Molecular Ecology 7, 1251-1253.

Beckers, H.J., Van Schothorst, M. and Van Spreekenc, K.J. 1981. Microbiological quality of frozen precooked and peeled shrimp from South-East Asia and from the NorthSea. Zentralbl Bakrteriol Mikrobiol Hyg.[B]. 172(4-5):401-410

Berry, T.M. , Park, D.I. and Lightner, D.V. 1994. Comparison of the microbial quality of raw shrimp from Chaina, Ecuador or Mexico at both wholesale and retail levels. Journal of Food Protection. 57(2); 150-153

Boegh-Soerensen, L. and Jul, M. 1985. Effects of Freezing/Thawing on Foods. In R.K. Robinson (ed.), Microbiology of Frozen Foods, p. 50. New York: Elsevier Applied Science Publishers.

Brooker, A.L., Benzie, J.A., Blair, D and Versini, J.J. 2000. Population structure of the giant tiger prawn *Penaeus monodon* in Australian waters, determined using microsatellite markers. Marine Biology 136, 149-157

Browski,K. and Schmaling, A. 1999. An integrated microwave digestion system for the modern laboratory. American Laboratory 31 : 22

Calcott,P.H. ,1978. In : Freezing and Thawing Microbes, Patterns of Progress, Meadowfield Press Ltd,Shildon,Co.Durham.

Dalsgaard, A.,, Huss, H.H. and Hanpongkittikun, A. 1995. Prevalance of *Vibrion cholerae* and *Salmonella* in a major shrimp production area in Thailand. International Journal of Food Microbiology. 28:101-103

Fennema, O.R., Powrie, W.D. and Marth, E.H. 1973. Low-Temperature Preservation of Foods and Living Matter. New York; Marcel Dekker, INC

Garicia, D.K., Dhar, A.K. and Alcivar-Warren, A. 1996. Molecular analysis of RAPD marker (B20) reveals two microsatellites and differential mRNA expression in *Penaeus vannamei*. Molecular Biology and Biotechnology 5, 71-83

Gecans, J.S., Bandler, R and Staruszkiewicz, W.F. 1994. Fresh and frozen shrimp; a profile of filth, microbiological contamination and decomposition. Journal of Food Protection 57(2);154-158, 168-169.

Hanpongkittikun, A., Siripongvutikorn, S. and Cohen, L.D. 1995. Black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) quality changes during iced storage. Asean Food Journal. 10(4):125-130

James,S.J. and Bailey,C.1982. Cooling rate in commercial process. Institute of Rerfrigeration Proceedings,78,33-41.

Karunasagar, I and Venugopal, M.N. 1984. Levels of Vibrio parahaemolyticus in Indian shrimp undergoing processing for export. Can. J. Microbiol. 30(5);713-715

Laroeque, L. ; Seiinurr, S. Sved and Weninger, A. (1991) Determination of Oxolinic Acid Residues in Salmon Muscle Tissue by LC with Fluorescence Detector. Health and Welfare Canada, Bureau of Drug Research, Drug Residues Section, Ottawa, Canada.

Masahiro,O., Hirotaka,O., Shinjiro,N. andYasushi,S., "Determination of Pesticide in Onion using a Microwave oven" , J.Shoka sai shi , 1996, 37, 43-47

Mazur,P.1966, In : Cryobiology (ED.H.T.Meryman) ,Academic Press, New York.

Mekker, M. (1996) Handbook of Food Analysis, Volume 2 New York.

MFRD (Marine Fisheries Research Development), 1987. Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fish Products. Singapore; Southeast Asia Fisheries Development Center

Mohamed Hatha, A.A., Paul, N. and Rao, B. 1998. Bacteriological quality of individually quick-frozen (IQF) raw and cookie ready to eat shrimp produced from farm raised black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Food Microbiology 15:177-183.

Morrison, C.R. 1993. Fish and Shellfish. In C.P. Mallett (ed.), Frozen Food Technology, pp. 202-204. New York: Blackie Academic and Professional.

Peason, D. 1976. The Chemical Analysis of Foods, 7th ed. London; Churchill Livingstone Publishing.

Reilly, P.J. and Twiddy, D.R. 1992. Salmonella and Vibrio cholerae in brackishwater cultured tropical prawns. International Journal of Food Microbiology. 16(4):293-301

Reisman, M.E. Sample Preparation : Breaking the Bottleneck. http : //www.foodquality.com/octcovrs.htlm

Robinson R.K. 1985. Microbiology of frozen foods . Elsevier Applied Science Publishers

Wheaton, F.A. and Thomas B. Lawson. 1985. Processing Aquatic Food Products. John Wiely & Sons, New York.518 pp.

Sedi, M and Niang, P.N. 1993. Hygienic and commercial quality of Senegalaese frozen shrimp. Dakar Med. 38(1);17-22

Seng, L.Y. and Jegathesan, M. 1977. A bacteriological study of some frozen and non frozen foods. Southeast Asian Journal Tropical Medical Public Health. 8(4):437-446

Supungul, P., Sootanan, P., Klinbunga, S., Kamonrat, W., Jarayabhand, P. and Tassanakajon, A. 2000. Microsatellite polymorphism and the population structure of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in Thailand. Marine Biotechnology 2, 339-347

Swartzentruber, A., Schwab, A.H. and Wentz, B.A. 1980. Microbiological quality of frozen shrimp and lobster tail in the retail market. Applied Environmental Microbiology 40(4); 765-769

Tassanakajon, A., Pongsomboon, S., Jarayabhand, P., Klinbunga, S and Boonsaeng, V. 1988a. Genetic structure in wild populations of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) using randomly amplified polymorphic DNA analysis. Journal of Marine Biotechnology 6, 249-254

Tassanakajon, A., Tiptawonnukul, A., Supungul, P., Rimphanitchayakit, V, Cook, D., Jarayabhand, P., Klinbunga, S and Boonsaeng, V. 1988b. Isolation and characterization of microsatellite markers in the black tiger prawn *Penaeus monodon*. Molecular Marine Biology and Biotechnology 7, 55-61

Wong, H.C., Chen, M.C. and Liu, S.H. 1999. Incidence of highly genitically diversified *Vibrio haemolyticus* in seafood imported from Asian countries. Int. J. Microbiol. 52(3);181-188

Wong, M.K., Gu, W. and Ng, T.L. (1997) Sample preparation using microwave assisted digestion or extraction technique. Analytical Sciences 13 : 97-102.