

จำนวนแบคทีเรียของปลาทุสระหว่างการเดินทาง

ประเสริฐ สายสิทธิ์

คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความสัมพันธ์ระหว่างปลาที่มีชีวิตกับแบคทีเรียนั้นพบว่ามีมาแต่ตามธรรมชาติ ปลาบางอย่างเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียไว้เพื่อประโยชน์ของตัวเอง เช่น ปลาที่อาศัยอยู่ในท้องทะเลลึก (3) บนผิวหนังจะมีรอยสำหรับเป็นที่อาศัยของ luminous bacteria ฉะนั้น ขณะที่ปลาวัยไปมาจะมีแสงเรือง ซึ่งมองเห็นได้ในที่มืด ประโยชน์ของแสงเรืองบนตัวปลาเหล่านี้ยังไม่มีใครทราบแน่นอน แต่จะบอกได้ว่าลักษณะของจุลกำเนิดแสงบนตัวปลา แต่ละชนิดนั้นแตกต่างกัน และปลาเกือบทุกชนิดที่อาศัยอยู่ในทะเลลึกนั้นมีแสงสว่างอยู่บนตัว สำหรับปลาที่อาศัยอยู่ในที่ตื้นขึ้นมากความต้องการที่จะสร้างแสงสว่างก็หมดไป เพราะอาศัยแสงสว่างจากดวงอาทิตย์ แต่แบคทีเรียก็ยังคงพบมีอยู่กับปลาเช่นเดิม แต่แทนที่จะเรืองแสงได้อย่างที่พบอยู่บนตัวปลาน้ำลึกก็เป็นแต่เพียงแบคทีเรียธรรมดา ประโยชน์ของแบคทีเรียพวกหลังนี้ยังไม่มีใครทราบแน่นอน จากการค้นคว้าของนักวิทยาศาสตร์พบแต่เพียงว่า ชนิดของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่เป็นส่วนมากบนตัวปลานั้น แตกต่างกันไปตามแต่ชนิดและแหล่งที่อาศัยของปลา เช่น ปลาคอด พบมีชนิดของแบคทีเรียอาศัยอยู่ด้วยดังนี้

	Arctic	North Sea
Pseudomonas	40 %	10 %
Micrococcus	5 %	30 %
Achromobacter	50 %	50 %

จากตัวอย่างข้างบนนี้ อย่างน้อยก็แสดงให้เห็นว่า ชนิดของปลาที่มีส่วนสัมพันธ์อยู่กับชนิดของแบคทีเรียบนตัวปลา สำหรับที่มาของแบคทีเรียบนตัวปลาขณะที่ปลายังมีชีวิตอยู่นั้น ก็คือน้ำ ถ้าเป็นปลาทะเลแหล่งที่มาของแบคทีเรียก็คือน้ำทะเล แต่จำนวนแบคทีเรียที่พบตัวปลานั้น แตกต่างกันไปตามบริเวณที่ปลาอาศัยอยู่ เช่น ชายทะเลที่อยู่ใกล้กับมนุษย์และสัตว์ พบว่ามีแบคทีเรียบนตัวปลามากที่สุด ถัดลงไปก็เป็นบริเวณที่ทำการประมงเป็นประจำ และมีน้อยที่สุด ก็คือในทะเลที่มนุษย์ผ่านไปมาน้อยที่สุด (2)

แบคทีเรียที่พบอยู่ในน้ำทะเลนั้น ไม่ใช่แต่จะมีแต่โทษแก่มนุษย์แต่อย่างเดียว ที่เป็นประโยชน์ก็มีอยู่บ้าง คือ

(๑) ใช้เป็นอาหารของลูกปลา และ molluscs

(๒) ทำให้สัตว์และพืชที่ตายแล้ว เปลี่ยนสภาพเป็นอาหารของพืชและสัตว์ที่มีชีวิตอยู่ต่อไป

(๓) ช่วยให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพของท้องน้ำ (hydrological conditions)

(๔) เปลี่ยนแปลงวัตถุและธาตุที่อยู่ในทะเลให้กลายมาเป็นอาหารสำหรับมนุษย์และสัตว์

(๕) ช่วยขจัดอนุมูลเหล็ก และสารห้อยแขวน calcium sulfate ให้ตกตะกอนไปจากน้ำทะเล

ลักษณะที่เป็นโทษของแบคทีเรียพวกนี้ คือ

ทำให้ปลาเกิดการเน่าเสีย

ทำให้เกิดเครื่องมือจับสัตว์น้ำผุและเสื่อม

คุณภาพ

ทำให้เรือเสียหาย

ทำให้น้ำทะเลตามชายหาดสกปรก

ทำให้โลหะเกิดสนิม

โดยเฉพาะเกี่ยวกับเรื่องการเก็บรักษาสลาคแล้ว แบคทีเรียที่พบบนตัวปลา นับว่าเป็นตัวการที่สำคัญที่สุด เพียงแต่จำนวนแบคทีเรียเท่าที่มีบนตัวปลา เมื่อปลาถูกจับขึ้นมาจากทะเลใหม่ก็มากพอที่จะทำให้ลายปลาทั้งตัวให้เน่าเสียไปทั้งหมดได้ในที่สุด ถ้ายังปลาได้รับเชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้นอีกในระหว่างที่มีการขนถ่าย ก็จะทำให้อายุการเก็บรักษาลงไปอีกโดยปกติแบคทีเรียที่มากับปลานั้นไม่มีอันตรายต่อชีวิตมนุษย์และสัตว์ แต่แบคทีเรียเพิ่มขึ้นภายหลังนั้นอาจจะมีทั้งชนิดที่นำโรคมารับให้มนุษย์และสัตว์ และชนิดที่ไม่เป็นอันตรายแต่อย่างใดก็ได้ ถึงแม้ในต่างประเทศทั้ง ๆ ที่มีกฎหมายควบคุมการจำหน่ายอาหาร และยารักษาโรคก็ยังพบ *Escherichia coli* ในชั้นปลาที่เก็บไว้สด

หมุมต่ำ ๆ แสดงว่าชั้นปลานั้นได้รับเชื้อมาจาก faecal contamination และอาจจะมีเชื้อโรคอื่น ๆ ประปนอยู่ด้วยก็ได้ เช่น *Clostridium botulinum* ซึ่งติดกับชั้นปลาเข้ามาโดยความสกปรกของผู้ที่เกี่ยวข้องกับที่เรียกชนิดนี้นอกจากจะทนต่อความร้อนสูงแล้ว ยังสร้างสารที่มีพิษอย่างร้ายแรงอีกด้วย

เหตุที่แบคทีเรียมากมายหลายชนิดสามารถใช้เนื้อปลาเป็นอาหารได้นั้น เพราะเนื้อปลาประกอบด้วยอาหารที่เป็นประโยชน์หลายอย่าง มีทั้งโปรตีน กรดอะมิโน และวิตามิน ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย จึงทำให้เนื้อปลาเกิดการเน่าเสียขึ้นได้ง่าย และเนื่องจากการเน่าเสีย มีสาเหตุส่วนใหญ่มาจากแบคทีเรีย ดังนั้นการควบคุมไม่ให้ปลาเน่าเสียได้เร็ว จึงอยู่ที่จำนวนแบคทีเรียที่พบบนตัวปลา ถ้าปลามีจำนวนแบคทีเรียมากจะเสียเร็วกว่าปลาที่มีจำนวนแบคทีเรียน้อย ถ้าเก็บปลานั้นไว้ที่อุณหภูมิเดียวกัน จะเห็นได้ว่าจำนวนแบคทีเรียนั้นมีความสำคัญเกี่ยวกับคุณภาพของปลาสลาคอยู่ไม่น้อย จึงได้มีผู้คิดใช้จำนวนแบคทีเรียเพื่อตัดสินคุณภาพของปลา แรกทีเดียวก็ใช้วิธีนับจำนวนแบคทีเรียโดยตรง ซึ่งจะได้กล่าวถึงรายละเอียดต่อไปในภาคปฏิบัติการ แต่เนื่องจากวิธีนี้ใช้เวลานานและค่อนข้างจะสับสนไม่สะดวกที่จะนำไปใช้ในกรณีที่ต้องการจะทราบถึงคุณภาพของปลาโดยเร็วได้ จึงได้มีผู้คิดหาวิธีที่จะหาจำนวนแบคทีเรียโดยทางอ้อมซึ่งให้ผลลัพธ์เร็วกว่า และถูกต้องพอประมาณ ตามที่ Straka (5) ได้ชี้แจงให้เห็นก็มีอยู่หลายวิธีด้วยกัน วิธีใหม่ที่สุดของ USDA ใช้

เวลาเพียง ๓-๕ ชั่วโมง วิธีนี้คัดแปลงมาจาก resazurin reduction method ข้อเสียของวิธีนี้อยู่ที่ เราต้องกะให้จำนวนแบคทีเรียอยู่ในระหว่าง ๑๐๐,๐๐๐ ถึง ๑,๐๐๐,๐๐๐ ตัว ต่อตัวอย่างหนักหนึ่งกรัม จึงจะได้ผลลัพท์ถูกต้องพอประมาณ อีกวิธีหนึ่งที่จะใช้เวลาน้อยกว่าวิธีที่กล่าวมาแล้ว คือการใช้การเปลี่ยนสีของ tetrazolium กับปฏิกิริยาของน้ำย่อย dehydrogenase ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น วิธีนี้ไม่ต้องเสียเวลาในการฟักเชื้อและการเปลี่ยนสีของ tetrazolium จากไม่มีสีเป็นสีแดงหรือสีฟ้า จะเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับจำนวนแบคทีเรียและน้ำย่อย dehydrogenase ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น แต่เนื่องจากวิธีเหล่านี้ไม่ให้ผลลัพท์ที่ถูกต้องนักดังกล่าวนำมาแล้วแต่ต้น ดังนั้นการวิจัยคราวนี้จึงใช้วิธีที่ใช้หาจำนวนแบคทีเรียโดยตรง ตามแบบที่นิยมเรียกกันทั่ว ๆ ไปว่า pour plate method (4)

การขนถ่ายปลาทุสด

วิธีการขนถ่ายที่ใช้ปฏิบัติกันที่องค์การสหภาพปลา นั้นพอจะแยกกล่าวได้เป็นสองหัวข้อใหญ่ด้วยกัน คือ

๑. การขนถ่ายทางเรือ และ
 ๒. การขนถ่ายทางรถยนต์
- ซึ่งจะกล่าวถึงโดยละเอียดดังต่อไปนี้

๑. การขนถ่ายปลาทุสดทางเรือ

ส่วนมากเรือประมงที่บรรทุกปลาทุสดส่งมาที่สหภาพปลา เป็นเรือที่ทำการประมงในบริเวณอ่าวไทย ปลาที่จับได้บรรทุกรวมกันในห้องใต้ท้องเรือ

โดยผสมกับน้ำแข็งป่น นอกจากปลาทุสดแล้วยังพบว่ามีปลาอื่นๆ เช่นปลากดทะเลซึ่งมีขนาดใหญ่กว่า ๓๐ กิโลกรัม ปนมาด้วย น้ำหนักของปลาที่ทับถมกันมาในเรือทำให้ปลาส่วนมากบอบช้ำไม่นำมารับประทานราคาต่ำอีกด้วย เมื่อเรือเข้าเทียบท่าเรียบร้อยแล้ว คนงานหนึ่งหรือสองคนจะลงไปในห้องท้องเรือแล้วตักปลาใส่หลว ประมาณหลวละ ๓๐ ก.ก. คนงานอีกพวกหนึ่งจะยกเอาหลวที่ใส่ปลาแล้วไปชั่ง ทั้งนี้เป็นความประสงค์ขององค์การสหภาพปลาและกรมประมง เพื่อทราบถึงน้ำหนักที่แน่นอนของปลาทุสด เพื่อเก็บไว้เป็นสถิติต่อไป ส่วนปลาที่ชั่งแล้วจะถูกนำออกประมูลต่อไป วิธีขนถ่ายนี้นับว่าเป็นวิธีที่ค่อนข้างดี โอกาสที่แบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นระหว่างการขนถ่ายก็น้อยแต่ควรจะแบ่งปลาออกไว้เป็นช่องๆ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการทับถมกันมากเกินไป โดยเฉพาะถ้ามีปลาใหญ่ควรแยกเก็บไว้ต่างหาก ปลาที่บอบช้ำอันเกิดจากการทับถมกันเช่นนี้ นอกจากจะทำให้ดูไม่นำมารับประทานแล้ว ยังเสื่อมคุณภาพเร็วอีกด้วย เพราะเท่ากับเป็นการเปิดช่องทางช่วยให้แบคทีเรียเข้าไปถึงเนื้อปลาได้ง่ายขึ้น

๒. การขนถ่ายปลาทุสดโดยทางรถยนต์

ปลาทุสดที่ลำเลียงมาทางรถยนต์นั้นมีทั้งปลาที่จับได้ในอ่าวไทย และปลาที่จับได้ทางฝั่งมหาสมุทรอินเดีย แต่ลักษณะการลำเลียงปลาทุสดที่จับได้จากแหล่งประมงทั้งสองแห่งนั้นไม่เหมือนกัน จึงจะแยกออกมากล่าวที่ละเอียดดังต่อไปนี้ คือ

ก. การลำเลียงปลาที่จับได้ในอ่าวไทย โดยรถยนต์ การลำเลียงปลาที่จับได้ในอ่าวไทย นอกจากจะลำเลียงมาถึงสะพานปลาโดยทางเรือโดยตรงแล้ว เรือประมงอาจจะจอดรอให้รถมารับปลาที่ทำเรือ ปากน้ำสมุทรปราการ และที่มหารชัย จังหวัดสมุทรสาคร เพื่อช่วยย่นระยะเวลาการลำเลียงปลาให้สั้นขึ้น ปลาที่ลำเลียงมาโดยรถยนต์ก็คล้ายๆ กับปลาที่ลำเลียงมาทางเรือโดยตรง กล่าวคือ กองปลามาในกระบะรถโดยไม่มีภาชนะอื่นบรรจุปลามาอีกชั้นหนึ่ง เมื่อรถมาถึงสะพานปลากองงานก็จะใช้พลั่วตักปลาใส่หลักเพื่อนำเอาไปแช่เลยที่เดียว วิธีนี้จึงมีลักษณะการขนถ่ายใกล้เคียงกับปลาที่ลำเลียงมาทางเรือจนถึงองค์การสะพานปลา แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า ปลาที่ไม่ค่อยบอบช้ำมากเหมือนกับที่สังเกตเห็นจากที่ขนถ่ายขึ้นมาจากเรือโดยตรง

ข. การลำเลียงปลาที่จับได้จากฝั่งทะเลด้านมหาสมุทรอินเดียโดยรถยนต์ ปลาที่ลำเลียงมาจากฝั่งมหาสมุทรอินเดียรู้จักกันทั่วไปว่าเป็นปลาจากจังหวัด ระนอง ปลาที่มาจากระนองนี้ บรรจุมาในหีบไม้แข็งแรงข้างในหีบกรุด้วยใบจากอีกชั้นหนึ่ง เข้าใจว่าเพื่อกันไม่ให้ปลาบอบช้ำ เนื่องจากกระทบกระแทกกับตัวหีบในระหว่างการขนส่ง และทำหน้าที่เป็นฉนวนป้องกันไม่ให้ น้ำแข็งละลายโดยเร็วด้วย เมื่อคนงานเปิดฝาหีบออกจะเห็นมีน้ำแข็งเป็นชั้นหนาอยู่ข้างบน คนงานจะเทปลาในหีบออกกองบนพื้นซีเมนต์ แล้วเลือกเอาแต่จะเพาะตัวปลาใส่หลัก

เพื่อนำไปแช่และประมูลราคาต่อไป จากที่ข้าพเจ้าได้สังเกตเห็นรู้สึกว่ปลาที่มาจากระนองจะมีขนาดใหญ่ และสดน่ารับประทานกว่าปลาที่จับได้ในอ่าวไทย จากคำบอกเล่า ของนายบุญอินทร์พริ้งกล่าวว่า ชาวประมงจังหวัดระนองมีวิธีการรักษาปลาโดยแช่ปลาที่จับได้ในน้ำผสมน้ำแข็ง เพื่อป้องกันไม่ให้ปลาบอบช้ำ เนื่องจากการกระทบกระเทือนระหว่างที่มากับเรือ เมื่อเรือมาถึงท่าแล้ว จึงบรรจุปลาใส่ในหีบไม้ ผสมกับน้ำแข็งอีกทีหนึ่ง จึงสมควรที่จะได้รับการส่งเสริมให้มีการขนส่งปลาตามแบบนี้ และเนื่องจากปลาที่ส่งมาทางรถยนต์ โดยทั่ว ๆ ไป มีคุณภาพดีกว่าที่มาจากเรือ และยังมีส่งเข้ามาในองค์การสะพานปลาเสมอๆ ทำให้สะดวกแก่การที่จะเก็บตัวอย่างมาทำการทดลอง จึงเริ่มทำการศึกษาเกี่ยวกับบักที่เรียของปลาทุสดในระหว่างที่มีการขนถ่ายทางรถยนต์ก่อนเป็นอันดับแรก และจะเริ่มทำการศึกษารื่องบักที่เรียจากการขนถ่ายทางเรือเป็นอันดับต่อไป

แผนสำหรับดำเนินงาน

แผนงานวิจัย เรื่องจำนวนบักที่เรียที่เพิ่มขึ้นระหว่างการขนถ่ายปลาทุสดทางรถยนต์ แบ่งออกเป็นสองประเภทตามแต่ละชนิดของการลำเลียงปลาดังนี้ คือ

๑. การขนถ่ายจากรถยนต์ ประเภท ก.

ประเภทนี้ปลาถูกกองมาในกระบะรถยนต์ และไม่มีภาชนะอื่นใส่ จึงได้จัดแบ่งการหาจำนวนบักที่เรียออกเป็นสองระยะ คือ

ก. หาแบคทีเรียจากปลาที่อยู่ในกะบะ
รถยนต์

ข. หาจำนวนแบคทีเรียของปลาที่ใส่หัว
เรียบร้อยแล้ว

๒. การขนถ่ายจากรถยนต์ ประเภท ข.

ปลาถูกบรรจุทุกมาในหีบไม้และบรรจุทุกมา
ในรถยนต์ จึงแบ่งการหาจำนวนแบคทีเรียออกเป็น
๓ ระยะ คือ.

ก. หาจำนวนแบคทีเรียของปลาจากหีบ

ข. หาจำนวนแบคทีเรียของปลาเมื่อกองอยู่
บนพื้นซีเมนต์

ค. หาจำนวนแบคทีเรียของปลาเมื่ออยู่ใน
หัวพร้อมที่จะถูกนำไปฆ่า

ด้วยวิธีนี้เราจะทราบจำนวนแบคทีเรียที่เพิ่ม
ขึ้นทุกระยะที่มีการขนถ่าย ทำให้เป็นการง่ายที่
หาสาเหตุหรือที่มาของแบคทีเรีย เพื่อจะได้หาทาง
ป้องกันต่อไปได้สะดวกยิ่งขึ้น

อนึ่ง เพื่อที่จะอำนวยความสะดวกให้แก่ผู้
ที่สนใจติดตามงานวิจัยชิ้นนี้ จึงได้กำหนดเลข
หมายของการทดลองด้วยตัวเลขสองจำนวน ๆ
หน้าแสดงถึงการทดลองครั้งที่ ส่วนเลขตัวหลังสุด
แสดงซ้ำที่ทำในแต่ละการทดลองชุดหลัก control
เลขตัวหลังเป็นศูนย์สำหรับการทำชุดหลักนั้นได้
ทำเลียนแบบการทดลองอันอื่น ๆ ทุกอย่าง เว้น
แต่น้ำกลั่นที่ใช้สำหรับทำให้แบคทีเรียเจือจางลง
ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อ ๑ ml. แทนน้ำแบคทีเรียที่ได้
จากปลา

วิธีหาจำนวนแบคทีเรีย

วิธีที่ใช้หาจำนวนแบคทีเรียในงานวิจัยคราวนี้
เป็นวิธีตรงซึ่งนิยมใช้กันในห้องปฏิบัติการ โดย
นำเอาตัวอย่างจำนวนหนึ่งมาทำให้เจือจางลงด้วยน้ำ
กลั่นที่บริสุทธิ์และปราศจากเชื้อจุลินทรีย์จนได้
จำนวนแบคทีเรียในน้ำหนึ่ง ml. ประมาณ ๓๐-๓๐๐
ตัว ถ้าจำนวนแบคทีเรียต่อหนึ่ง ml. น้อยกว่า ๓๐
หรือมากกว่า ๓๐๐ ตัว ถือว่าเป็นจำนวนที่ไม่แน่นอน
เมื่อทำให้ตัวอย่างเจือจางลงตามต้องการ
แล้วจึงนำเอาน้ำนั้น ๑ ml. ไปใส่ใน petri dish เติม
medium ที่เหมาะสมลงไป (ควรจะเป็น medium
ที่ประกอบด้วยวุ้นและจะแข็งตัวเมื่อเย็นลง) แล้ว
นำไปฟัก อุณหภูมิสำหรับฟักเชื้อนั้นก็จะต้องแล้วแต่
ชนิดของแบคทีเรีย แต่โดยทั่วไปใช้อุณหภูมิของ
ห้อง หลังจากฟักเชื้อประมาณ ๒ วันจะสามารถ
นับกลุ่มของแบคทีเรียที่ปรากฏอยู่ในจานเลี้ยง
เชื้อ และคำนวณปริมาณแบคทีเรียในตัวอย่างได้
การเตรียมงาน

๑. การเตรียมน้ำยาและมีเดียสำหรับเลี้ยง
แบคทีเรีย

ก. การเตรียมมีเดีย มีเดียที่ใช้สำหรับ
เลี้ยงแบคทีเรียเตรียมจาก nutrient agar ของบริษัท
Difco โดยละลาย nutrient agar ๒๓ กรัมลงในน้ำ
กลั่น ๑๐๐๐ ml โดยที่แบคทีเรียที่จะเลี้ยงเป็นแบคทีเรีย
ที่ได้จากปลาทะเล ดังนั้นจึงได้เติมเกลือ (NaCl)
บริสุทธิ์ลงไปอีก ๑๐ กรัม เพื่อให้แบคทีเรียมีกำเนิด
มาจากน้ำทะเลเค็มได้ และจำนวนเกลือที่เติม
ลงไปก็ไม่มากพอที่จะหยุดหรือทำลายแบคทีเรียที่

ไม่มีกำเนิดมาจากน้ำทะเล บักที่เรียเกือบทุกชนิด ต้องการเกลือเพื่อการเจริญเติบโตและส่วนมาก เติบโตได้ดีในมีเดียมที่มีเกลือปนอยู่ด้วย ๑%–๒% (6)

เมื่อเค็มเกลือและ nutrient agar ลงไปในน้ำกลั่นแล้วเขย่าให้เข้ากัน หลังจากนั้นก็นำไปต้มจนกระทั่งมันละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำ จึงแบ่งออกใส่ขวดขนาด ๓๕๐ ml. เพื่อนำไปนึ่งฆ่าเชื้อต่อไปโดยใช้เวลานาน ๒๕ นาที ความกด ๑๕ ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว

ข. การเตรียม dilution tubes ใช้บิวเรตเติมน้ำกลั่นลงในหลอดทดลองตามจำนวนที่ต้องการ แล้วจุกด้วยสำลี นำเอาหลอดน้ำกลั่นไปนึ่งฆ่าเชื้อ ใช้เวลาและความกดเดียวกันกับที่ใช้กับ nutrient agar

๒. การเตรียมเครื่องมือ

ก. การเตรียม swab ใช้ไม้ไผ่ยาว ประมาณ ๕ นิ้ว เจียกให้เล็กขนาดไม้ก้านรูปพัดปลายข้างหนึ่งด้วยสำลี บรรจุไม้ที่พันด้วยสำลีนี้ลงในหลอดแก้วทดลองขนาดใหญ่และอุดด้วยสำลีจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ใช้ความกด ๑๕ ปอนด์ ต่อตารางนิ้วและเวลา ๑๕ นาที

ข. การเตรียมเครื่องมือ sampling ใช้หลอดทองเหลืองเส้นผ่าศูนย์กลาง ๑ นิ้ว ยาวประมาณ ๗ นิ้ว ปลายหนึ่งบดกริดติดกับมือถือที่ทำด้วยท่อทองเหลืองขนาดเดียวกัน แต่สั้นกว่า คือยาวประมาณ ๔ นิ้ว ส่วนอีกปลายหนึ่งฝนให้คม ก่อนจะใช้จุ่มปลายด้านที่ฝนให้คมในแอลกอฮอล์

แล้วเผาเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจจะติดมากับโลหะ พอเย็นลงก็ใช้ทำรอยบนหลังปลา เพื่อเก็บบักที่เรียได้ทันที ไม่ควรจะทิ้งเครื่องมือ sampling ไว้นานเกินไป หลังจากเผาฆ่าเชื้อแล้ว เพราะบักที่เรียจากอากาศจะเข้าไปเกาะอีก ทำให้จำนวนบักที่เรียบบนผิวหลังปลาผิดไป จำนวนพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างบักที่เรียโดยใช้เครื่องมือชนิดนี้จะเท่ากับ ๐.๗๘๗ ตารางนิ้ว

ปฏิบัติการ

๑. การทำชุดหลัก เพื่อที่จะแก้ไขข้อสงสัยที่อาจจะมีขึ้นได้ว่า จำนวนบักที่เรียตัวปลาอาจจะเพิ่มขึ้นจากการขยายตัวเองมากกว่าที่จะได้รับเพิ่มขึ้นจากภายนอก จึงได้ทำการทดลองชุดนี้ขึ้น

เนื่องจากตลอดเวลาที่ทำการขนถ่ายปลานั้นจะมีน้ำแข็งไว้เป็นเวลา ๕ ชั่วโมงซึ่งเป็นเวลาที่ปลาจะต้องรอการขนถ่ายก่อนที่จะนำไปประมวลขยาย และได้หาจำนวนบักที่เรียเมื่อเริ่มแช่ปลาเพื่อเปรียบเทียบกับจำนวนบักที่เรียหลังจากแช่ปลาครบ ๕ ชั่วโมง โดยได้ทำการทดลองดังนี้

ได้สุ่มเลือกปลาจำนวน 4 ตัว จากปลาทั้งหมด ประมาณ 30 ตัว มาเป็นตัวอย่างใช้ชั่งทองเหลืองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 นิ้ว (พื้นที่ 0.78 ตารางนิ้ว) ทำรอยบนหลังปลาทั้ง 4 ตัว เพื่อที่จะให้ได้พื้นที่บนหลังปลาเท่า ๆ กัน ใช้ swab ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วเช็ดในบริเวณที่เป็นรอยจนสะอาดจึงเอา swab ไปล้างในน้ำกลั่นที่บริสุทธิ์ 10 ml. เขย่าหลาย ๆ ครั้ง เพื่อให้บักที่เรียหลุดไปในน้ำกลั่นเพิ่ม dilution factor ขึ้นเรื่อยๆ เป็น $\frac{2}{10}, \frac{3}{10}$

$\frac{4}{10}$ และ $\frac{6}{10}$ ตามลำดับ เหตุผลที่ต้องทำหลาย ๆ dilution เช่นนี้ก็เพื่อให้แบคทีเรียอยู่ใน acceptable range ก็อยู่ในระหว่าง 30 – 300 ตัว ต่อ 1 ml

จากผลของการทดลองได้พบว่ามีจำนวนแบคทีเรียดังนี้

เวลาที่	หลอดทดลอง	ความเจือจาง			เฉลี่ย
เก็บตัวอย่าง	ที่	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	
09.00	21	—	—	เสีย	
	22	—	—	108	+
	23	—	—	135	
	24	—	—	204	179×10^4

หมายเหตุ ความเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-3} ที่เว้นว่างนั้นแสดงว่า มีจำนวนแบคทีเรีย เกินกว่า 300 ตัว หรือน้อยกว่า 30 ตัว

เวลาที่	หลอดทดลอง	ความเจือจาง			เฉลี่ย
เก็บตัวอย่าง	ที่	10^{-2}	10^{-4}	10^{-5}	
14.00	31	—	172	22	
	32	—	597	73	
	33	—	198	43	
	34	—	290	15	314×10^4

จากข้อมูลข้างบนจะเห็นว่าเมื่อสุดท้ายของการทดลอง แบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าของเมื่อเริ่มการทดลอง คือ เพิ่ม จาก 179×10^4 เป็น 314×10^4 เวลาที่เริ่มทำการทดลองกับเมื่อเสร็จการทดลอง ห่างกัน ถึง ๕ ชั่วโมง พอจะอนุมานได้ว่าตลอดเวลา ๕ ชั่วโมงนี้แบคทีเรียทำการแบ่งตัวเพียงครั้งเดียวเท่านั้น ซึ่งนับว่าน้ำแข็งมี

ประโยชน์อย่างมากในการที่ช่วยให้แบคทีเรียขยายพันธุ์ช้าลง ถ้าโดยปกติทั้งปลาไว้ในอุณหภูมิของห้องปลาอาจจะเสียจำนวนแบคทีเรียอาจจะถึง 10^7 ตัว

ข้อผิดพลาดที่อาจจะเกิดขึ้นอย่างหนึ่งในการหาจำนวนแบคทีเรียจากตัวปลา ก็คือ เมื่อปลาอยู่ในน้ำแข็ง ๆ ที่ละลายจะชะล้างเอาแบคทีเรียติดไป

ด้วย ทำให้จำนวนบั๊กที่เรียที่ได้เมื่อสุดท้ายของการทดลองน้อยไปกว่าที่เป็นจริง ข้อผิดพลาดอันนี้อาจจะแก้ไขได้โดยการทำการทดลองขึ้นอีกอันหนึ่ง โดยหาจำนวนบั๊กที่เรียของน้ำแข็งและน้ำที่ได้จากน้ำแข็งละลายผ่านตัวปลา จำนวนบั๊กที่เรียที่เพิ่มขึ้นจากการทำการทดลองนี้สามารถจะนำเอาไปใช้เพื่อแก้ไขข้อผิดพลาดดังกล่าวข้างต้น แต่ผู้เขียนคราวนี้มีเวลาและเครื่องอุปกรณ์จำกัด จึงไม่สามารถจะทำการทดลองเพิ่มเติมให้ทราบข้อเท็จจริงได้

๒. การวิจัยเพื่อหาจำนวนบั๊กที่เรียของปลาทุสตระหว่างการขนถ่ายปลาที่กองมาในกะบะรถยนต์เข้าสู่คู่อการสพานปลา

การทดลองครั้งนี้เริ่มขึ้น เมื่อวันที่ ๕ มกราคม พ.ศ. ๒๕๐๕ เนื่องจากการขนถ่ายประเภทนี้มี

เพียงครั้งเดียว คือขนถ่ายปลาจากกะบะรถยนต์บรรจุแล้วให้นำออกขายในลักษณะ เช่นนั้น จึงได้เก็บตัวอย่างเพื่อวิจัยเปรียบเทียบเพียงสองครั้ง โดยเก็บตัวอย่างจากกะบะรถยนต์ครั้งหนึ่ง และเก็บตัวอย่างเมื่อปลาบรรจุอยู่ในหลั้วเรียบร้อยแล้วอีกครั้งหนึ่ง ในการเก็บตัวอย่างแต่ละครั้งจะเก็บตัวอย่างครั้งละ 4 ตัวอย่าง เมื่อเก็บตัวอย่างได้แล้วก็รีบนำเข้าไปใน ห้องปฏิบัติการขององค์การสพานปลาจะเก็บบั๊กที่เรียต่อพื้นที่หนึ่งตารางหน่วย บรรจุในหลอดน้ำกลั่น 10 ml ตามวิธีที่กล่าวมาแล้วในข้อหนึ่ง เมื่อได้แล้วก็นำหลอดน้ำกลั่นที่มีบั๊กที่เรียจากปลามาแช่น้ำแข็งแล้วเดินทางกลับคณะประมงเพื่อดำเนินการทดลอง เพื่อหาจำนวนบั๊กที่เรียต่อไป ได้ผลดังนี้

การทดลองที่	ความเจือจางของน้ำ			เฉลี่ยรวม
	-3 10	-4 10	-5 10	
71	138	21		
72	339	44		
73	167	16		
74	306	34		
เฉลี่ย	237	31		273×10^3
81		46		
82		49		
83		44		
84		43		
เฉลี่ย		46		46×10^4

- หมายเหตุ 1. การทดลองที่ 7 เป็นการทดลองเพื่อหาจำนวนบันทึกที่เรียจากปลาในกะบะรถยนต์ และการทดลองที่ 8 เป็นการหาจำนวนบันทึกที่เรียจากปลาในหลว
2. ช่องที่เว้นว่างไว้แสดงว่าจำนวนบันทึกที่เรียจากความเจือจางนั้น ๆ มีน้อยกว่า 30 หรือมากกว่า 300 ซึ่งถือว่าเป็นผลลัพธ์ที่ค่อนข้างไม่แน่นอน

3. การวิจัยเพื่อหาจำนวนบันทึกที่เรียของปลาทุสระหว่างกรชนถ่ายปลาจากหีบไม้ที่บรรทุกมากับรถยนต์เข้าองค์การสะพานปลา

การวิจัยเพื่อหาจำนวนบันทึกที่เรียภายใต้ตัวข้อนี้ ก็ดำเนินไปเช่นเดียวกับที่กล่าวมาแล้วในข้อสอง ผิดกันอยู่ที่ว่ากรชนถ่ายปลาจากหีบไม้ไม่ได้ทำกันเป็นสองระยะ ดังนั้นจึงได้เก็บตัวอย่างเพื่อหาจำนวนบันทึกที่เรียรวมสามครั้งด้วยกันคือ จากหีบปลาครั้งหนึ่ง และจากกองปลาบนพื้นซีเมนต์ครั้งหนึ่ง และจากหัวปลาอีกครั้งหนึ่ง แล้วจึงได้นำตัวอย่างทั้งสามครั้งมาทำการวิจัย เพื่อหาจำนวนบันทึกที่เรียต่อไป ซึ่งผลปรากฏดังต่อไปนี้

การทดลองที่	ความเจือจาง				เฉลี่ย
	-2 10	-3 10	-4 10	-5 10	
90					
91	137				
92		61			
93		120			
94	293				
เฉลี่ย	215	91			56×10^3
100					
101		86			
102		165	20		
103			56		
104		191	21		
เฉลี่ย		147	32		233×10^3

110			
111	277	44	
112	70	27	
113	104		
114	66		
เฉลี่ย	129	35	239×10^4

สรุปผลของการทดลอง

จากการทดลองเรื่องจำนวนบักที่เรียที่เพิ่มขึ้นระหว่างการขนถ่ายปลาทุสททั้งสองคราวพบว่าจำนวนบักที่เรียที่พบบนตัวปลา ระหว่างที่มีการขนถ่ายนั้นมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น สำหรับการขนถ่ายภายใต้หัวข้อสองนั้น จำนวนบักที่เรียเพิ่มขึ้นพอประมาณ คือ เพิ่มขึ้นจาก 273×10^3 เป็น 460×10^3 หรือประมาณสองเท่า แต่จำนวนบักที่เรียจะเพิ่มมากที่สุด จากผลของการทดลองครั้งที่สาม เมื่อนำปลาไปกองบนพื้นซีเมนต์ เพื่อคัดเอาน้ำแข็งออก จำนวนบักที่เรียบนตัวปลาเพิ่มขึ้น ถึง 10 เท่า หลังจากนำปลาที่กองบนพื้นซีเมนต์กลับไปบรรจุหีบ โดยเพิ่มขึ้นจาก 23×10^3 ตัว เป็น 239×10^4 ตัว เทียบกับจำนวนบักที่เรียที่พบเพิ่มขึ้น เมื่อเทปลาจากหีบไม่ลงบนพื้นใหม่ ๆ

ถ้าจะพิจารณาตามจำนวนบักที่เรียที่พบครั้งแรก การขนถ่ายแบบบรรจุปลาในกะบะรถยนต์มีจำนวนบักที่เรีย ตอนเริ่มต้น (273×10^3 ตัว) มากกว่าจำนวนบักที่เรียที่พบจากตัวปลาจากหีบไม้ (53×10^3) ถึง ประมาณ 5 เท่า

จำนวนบักที่เรียที่แตกต่างกันนี้อาจจะเนื่องมาจากแหล่งที่ปลาอาศัยเป็นสำคัญ ไม่เกี่ยวข้องกับการขนส่งมากนัก เพราะส่วนมากบักที่เรียจะไม่ขยายพันธุ์อย่างรวดเร็วในอุณหภูมิของน้ำแข็ง ซึ่งข้อเท็จจริงอันนี้จะเห็นจากการทดลอง เรื่องการทำชุดหลักแต่อย่างไรก็ตามหลังจากปลาได้รับการขนถ่ายเสร็จเรียบร้อยแล้ว พบว่าจำนวนบักที่เรียของปลาที่บรรจุมาในหีบไม้ กลับมีมากกว่าจำนวนบักที่เรียจากปลาที่บรรจุมาในกะบะรถยนต์ เกือบ 6 เท่าตัว (460×10^3 กับ 239×10^4) เมื่อเป็นเช่นนั้น ปลาทุสทที่ได้รับการทะนุถนอมอย่างดีจากจังหวัดระนองก็จะเสียเร็วเท่า ๆ กับปลาทุสทที่มาจากมหาชัยหรือเสียเร็วกว่าตัวซ้ำไป เพราะมีจำนวนบักที่เรียบนตัวปลามากกว่า และสาเหตุที่จำนวนบักที่เรียเพิ่มมากขึ้นนั้น เนื่องมาแต่การเพิ่มจำนวนบักที่เรียให้กับปลาในระหว่างการขนถ่ายแต่ประการเดียว ดังนั้น เพื่อที่จะช่วยให้ปลา มีคุณภาพคืออยู่ได้ในเวลานานขึ้น จึงควรจะได้มีแก้ไขการขนถ่ายปลาให้รัดกุมและระมัดระวังในเรื่องความสะอาดให้มากขึ้น

ข้อเสนอแนะในการแข่งขันถ่าย

เพื่อที่จะช่วยลดจำนวนแบคทีเรียบนตัวปลาให้น้อยลง จึงขอแนะนำวิธีการแข่งขันถ่ายปลาดังนี้

1. ควรจะมีก๊อกรู้และท่อน้ำอยู่ใกล้ๆ กับบริเวณที่ทำการแข่งขันถ่ายปลา น้ำนี้ห้ามนำไปใช้ประโยชน์อย่างอื่น เช่น ล้างรถหรือรับประทานให้ใช้เฉพาะล้างปลาหรือล้างพื้นซีเมนต์ ที่ใช้สำหรับกองปลา ตลอดจนภาชนะอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องในการแข่งขันถ่ายปลาอย่างเดียว และถ้าหากที่ใช้เป็นน้ำที่มีคลอรีนปนเพื่อฆ่าเชื้อแบคทีเรียในน้ำเสียก่อนด้วย จะช่วยรักษาความสะอาดได้ดีขึ้น

2. ควรจะทำพื้นซีเมนต์ที่ใช้ สำหรับกองปลาให้สูงพ้นจากการเหยียบย่ำของผู้ที่สัญจรไปมา และควรเป็นพื้นที่เรียบขัดมันด้วยปูนมีความลาดเอียงพอสมควร เพื่อสะดวกในการทำความสะดวกพื้นซีเมนต์ที่ใช้ในการแข่งขันถ่ายปลานี้ควรจะได้รับ การขุดก่อนและหลังจากมีการแข่งขันถ่ายปลาทุกครั้ง

3. น้ำแข็งที่ใช้ใส่ปลามาแต่เดิมเมื่อคัดออก ควรจะทำลายเสีย เพื่อป้องกันไม่ให้ผู้อื่นนำไปใช้ใส่ปลาได้อีก เพราะน้ำแข็งดังกล่าวเต็มไปด้วยเชื้อแบคทีเรีย จึงจะเห็นได้จากข้อมูลข้างล่างนี้

การทดลองที่	ความเจือจาง			เฉลี่ย
	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	
90	—	—	—	
91	—	142	32	
92	—	215	33	
93	—	190	34	
94	—	181	24	
เฉลี่ย	—	182	31	246×10^4

จะเห็นว่า น้ำแข็งที่ใส่ปลาเมื่อมาทำให้ละลายเป็นน้ำที่ 0° ซ. แล้ว 1 ml. จะมีแบคทีเรียถึง 2.46 ล้านตัว น้ำแข็งที่ใช้สำหรับการทดลองข้างบนนี้ เป็นน้ำแข็งที่เก็บมาจากกองน้ำแข็งที่คัดออกจากปลา และที่ทำการทดลองนี้ขึ้นเพราะผู้เขียนได้พบเสมอ ๆ เมื่อมีโอกาสไปที่สะพานปลาว่าเด็กชาวจีนมาเก็บน้ำแข็งไป และเมื่อได้สอบ

ถามลูกก็ปรากฏว่า เด็กนั้นนำน้ำแข็งนี้ไปขายให้แก่ผู้ขายปลาอีกทีหนึ่ง ดังนั้นจึงทำให้ความมุ่งหมายในการที่จะใช้น้ำแข็งเพื่อรักษาคุณภาพปลาสดอาจจะไม่ได้ผลสมความตั้งใจ ถ้าเราไม่ป้องกันการใช้น้ำแข็งที่สกปรกดังกล่าว

อนึ่ง เพื่อเป็นการช่วยให้พ่อค้าปลามีน้ำแข็งที่สะอาดใช้ องค์การสะพานปลาอาจจะจัดน้ำแข็ง

ป่นที่สะอาดเตรียมไว้ให้ได้ เพราะน้ำแข็งนั้นโดยปกติก็เป็นผลพลอยได้จากห้องเย็น ซึ่งองค์การสะพานปลามีอยู่แล้ว ดังนั้นน้ำแข็งจึงอาจจะผลิตขึ้นได้โดยไม่เสียค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้นอีกมากนัก

4. การที่บางท่านอ้างว่า ปลาจากจังหวัดระนองมีคุณภาพสู้ปลาที่ได้จากปากน้ำสมุทรปราการไม่ได้ เพราะการที่ชาวประมงจังหวัดระนองเอาปลาแช่น้ำปนน้ำแข็ง เป็นเหตุให้ปลาสาละน้ำตาย และนำมาปรุงอาหารทำให้อาหารมีรสชาติสู้ปลาที่ส่งมาจากปากน้ำ จังหวัดสมุทรปราการไม่ได้ คำกล่าวหานี้อาจมีเค้าความจริงอยู่บ้าง ถ้าชาวประมงจังหวัดระนองปล่อยปลาที่เป็น ๆ ลงไปในน้ำผสมน้ำแข็ง และปล่อยให้ปลาค่อย ๆ ตายไปเอง จากการทดลอง Amano (1) พบว่าอายุของปลาสดนั้นขึ้นอยู่กับลักษณะการตายของปลา คือเขาได้ทำการทดลองเปรียบเทียบอายุของปลาสด ที่ฆ่าโดยตัดไขสันหลังกับปลาที่ปล่อยให้ตายเองเก็บรักษาไว้ไม่ได้ไม่นาน ข้อนี้พอจะอธิบายได้ดังนี้ คือ ปลาที่ตายในทันทีทันใดปริมาณของ glycogen ในกล้ามเนื้อจะยังมีเหลืออีกมาก และ glycogen จะค่อย ๆ หมดโดยถูกเปลี่ยนไปเป็น lactic acid ระยะที่ glycogen เปลี่ยนไปเป็น lactic acid นี้เรียกว่า rigor mortis ปลาจะอยู่ในสภาพที่สดตลอดเวลาที่ปลายังมี rigor mortis สำหรับปลาที่ต้องคั่นรอตสู่จนกระทั่งตายนั้นปริมาณ glycogen จะถูกใช้หมดไปโดยเปลี่ยนไปเป็นพลังงานที่ใช้ในการต่อสู้จนหมด ปลาสดประเภทนี้จึงมีอายุการเก็บรักษาสั้นกว่าปลา

สดพวกแรก เช่นเดียวกับปลาที่จับได้โดยชาวประมงจังหวัดระนอง ถ้าปล่อยปลาที่มีชีวิตลงในน้ำผสมน้ำแข็งปลาจะสูญเสีย glycogen ไปในระหว่างที่ต้องต่อสู้เพื่อให้มีชีวิตอยู่ และเมื่อตายลงปลาจะเริ่มเสียทันที อันเป็นสาเหตุให้ปลาค่อยคุณภาพด่างกล่าแล้ว ดังนั้น เพื่อที่จะป้องกันการเสื่อมคุณภาพดังกล่าว ควรจะทำให้ปลาค่อยเสียก่อนโดยเร็วที่สุด แล้วจึงนำไปใส่น้ำผสมน้ำแข็งต่อไป

ขอบคุณ

ผู้เขียนขอขอบคุณสภาวิจัยแห่งชาติ ที่เอื้อเพื่อให้ทุนอุดหนุนการวิจัย เรื่อง จำนวนบันทึกที่เรียกเพิ่มขึ้นระหว่างการขนถ่ายปลาสดและขอขอบคุณองค์การสะพานปลาที่เอื้อเพื่อให้ยืมสถานที่ตลอดจนอำนวยความสะดวก ในการจัดทำตัวอย่างเพื่อประกอบการวิจัย และขอขอบคุณ นายบุญ อินทรมัธยม ผู้ได้คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจจนกระทั่งงานวิจัยนี้เป็นผลสำเร็จ และอาจารย์ในคณะประมงอีกหลาย ๆ ท่าน

REFERENCES

1. Amano, K., Masamishi, B. and Toshi haru, R., 1953. Handling effect upon biochemical changes in the fish muscle immediately after catch—I. Difference of glycolysis. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 19 (4): 487-498.

2. Rowan, A.N., 1953. Bacteriological tests on iced and harbor water. Fishing Industry Research Institute. P. 10-11.
3. Smith, F.W., 1961. Science Digest. Feb. 1961.
4. Stanier, R.Y., Doudoroff, M. and Adelberg, E.A., 1958. The micro-bial world. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J.
5. Straka, 1957. Rapid test estimate bacteria in 5 hours. Frosted Food Field 24 (24).
6. Tressler, D.K. and Lemon L., 1951. Marine Products of commerce. P. 361. Reinhold Publishing Corp., N.Y.