ทวี ญาณสุคนธ์ และ ศรีวัย พิกุล[1]

*แผนกวิชาชีววิทยา และแผนกวิชากีฏวิทยาและโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์*

อาหารประเภทที่มีลักษณะหวานและเย็นที่จำหน่ายสำหรับบริโภคกันอย่างหนึ่ง ได้แก่ ไอสครีม ผลิตภัณฑ์นี้ได้รับความนิยมจากประชาชนเพิ่มขึ้นเสมอมา ในประเทศไทยเราตอนหลังสงครามโลกครั้งที่สองแล้วการผลิตและการบริโภคได้แพร่หลายขึ้นอย่างรวดเร็วจนกระทั่งมีโรงงานทันสมัยผลิตไอสครีมเป็นการค้าใหญ่โต

ในบทความนี้ควรชี้แจงให้ทราบว่าผลิตภัณฑ์อย่างไรคือที่ใช้ในการค้นคว้า ไอสครีม(ice cream) อาจหมายถึงของหวานที่ทำจากส่วนผสมของน้ำนมและน้ำตาล แล้วทำให้เย็นจนน้ำแข็งเป็นเกล็ด (freeze) ในต่างประเทศหลายแห่งมีบทบัญญัติด้วยว่าต้องเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมถึงระดับมาตรฐาน ส่วนที่มักต้องบ่งไว้ในกฎเกณฑ์ คือ ปริมาณของไขมัน ปริมาณของแข็งจากน้ำนม (milk solid) และน้ำหนักต่อลิตร ส่วนนครกรุงเทพ ฯ ไม่เข้มงวดในเรื่องมาตรฐานอย่างนี้ *ไอสครีม* ในบทความนี้หมายความเพียง *อาหารทำจากส่วนผสมของน้ำนม และน้ำตาล แล้วทำให้เย็นจนน้ำแข็งเป็นเกล็ด*

มีผลิตภัณฑ์อีกชนิดหนึ่งเหมือนอย่างที่กล่าวข้างบน แต่ไม่ใช้น้ำนม เป็นส่วนผสม ผลิตภัณฑ์นี้เราบางคนก็เรียกไอสครีมเหมือนกัน ต่างประเทศหลายแห่งที่ใช้ภาษาอังกฤษให้ชื่ออาหารอย่างนี้ว่า *ice* ในบทความนี้อาหารอย่างนี้เราจะเรียกว่า *ไอสครีมไม่ใส่น้ำนม* หรือ *ไอสครีมหวานเย็น* หรือ *ice*

เนื่องจากผลิตภัณฑ์เหล่านี้เป็นของเย็น จึงเป็นธรรมดาที่เราจะคำนึงถึงความปลอดภัยในการบริโภคโดยเพ่งเล็งไปในทางโรคภัยไข้เจ็บอันอาจเนื่องมาจากจุลินทรีย์บางชนิด โรงงานสมัยใหม่สามารถผลิตไอสครีมจำหน่ายแก่ผู้บริโภคทั่วทั้งเมือง หรือทั่วประเทศ ความบกพร่องในการผลิตนั้นเมื่อเกิดขึ้นอาจเป็นภัยแก่คนจำนวนมาก

1. ศรีวัย พิกุล ปัจจุบันที่กรมการข้าว กระทรวงเกษตร

[วิทยาสารเกษตรศาสตร์ ปีที่ 2 ฉบับที่ 2 เมษายน พ.ศ. 2505
The Kasetsart Journal Vol. 2, No. 2 April 1962]

หรืออาจทั่วประเทศ สาเหตุของการบกพร่องนั้นมีหลายทาง เช่น เครื่องปรุง ภาชนะที่ใช้ คนทำ การขนส่ง การเก็บรักษา คนหยิบหรือตัก ตลอดจนภาชนะที่ใส่จำหน่าย

วิธีหนึ่งที่จะสอบสวนคุณภาพทางชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ก็โดยนับจำนวนจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ และถ้าเป็นไปได้ก็ควรสอบสวนชนิดของจุลินทรีย์ด้วย จำนวนจุลินทรีย์มากมิได้หมายความว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีเชื้อโรคอยู่ แต่แสดงว่าอาจไม่ปราณีต อาจไม่เอาใจใส่เรื่องสุขลักษณะในการผลิต และเมื่อบริโภคเข้าไปอาจมีโอกาสเกิดภัยได้ การค้นคว้าครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเริ่มการศึกษาคุณภาพไอสครีมโดยนับจำนวนบัคเตรี และตรวจสอบบักเตรีจำพวก coliform ในไอสครีมตัวอย่างที่ไปซื้อมาจากร้านหลายแห่งในบริเวณกรุงเทพ ฯ การค้นคว้าครั้งนี้ใช้เวลาระหว่าง มิถุนายน 2501 ถึง ธันวาคม 2502

## มัชฌิมเพาะเชื้อ (Culture media)

*Tryptone glucose beef extract (milk) agar.* ต่อไปจะเรียกย่อ ๆ ว่ามัชฌิมวุ้น ทีจีเอ็ม (TGM) มัชฌิมนี้ใช้สำหรับปลูกบักเตรีเพื่อนับจำนวนและเป็นมัชฌิมมาตรฐานที่สมาคมการสาธารณะสุขอเมริกัน (American Public Health Association) แนะนำ *(1)* ตำหรับที่ใช้คือ วุ้น 20 กรัม บีฟเอกซแทรกท์ 3 กรัม ทริพโตน 5 กรัม กลูโคส 1 กรัม เตรียมเป็นมัชฌิม 1 ลิตร จัดพีเอช 7 เติมหางน้ำนม 1 เปอร์เซนต์ โดยบริมาตร เมื่อปรุงเสร็จแล้วทำลายเชื้อในหม้อนึ่ง อุณหภูมิ 120 ซ. เป็นเวลานาน 20 นาที

*Brilliant green lactose peptone bile broth.* ต่อไปจะเรียกย่อ ๆ ว่า มัชฌิมเหลว บีแอลบี (BLB) มัชฌิมนี้สมาคมสาธารณสุขอเมริกัน *(1)* แนะนำสำหรับใช้ทำ coliform test มัชฌิมเดียวกันนี้ใช้ทำ presumptive test และประมาณจำนวนบักเตรีcoliform ตำหรับที่ใช้คือ เพพโตน 10 กรัม แล็กโตส 10 กรัม ดีวัวแห้ง 20 กรัม บริลเลียนกรีน 0.0133 กรัม เติมน้ำ 1 ลิตร จัดพีเอช 7.4 เมื่อปรุงแล้วบรรจุในหลอด fermentation แบบ Durham ทำลายเชื้อด้วยหม้อนึ่ง อุณหภูมิ 120 ซ. นาน 15 นาที

*Eosin methylene blue lactose agar.* ต่อไปจะเรียกว่ามัชฌิมวุ้น อีเอ็มบีแอล (EMBL) มัชฌิมนี้ใช้สำหรับทำ coliform test ตอน complete test มีตำหรับดังนี้ *(3)* เพพโตน 10 กรัม แล็กโตส 10 กรัม ไดโปตัสเซี่ยมฟอสเฟต 2 กรัม วุ้น 20 กรัม อีโอซินวาย 0.4 กรัม เมทิลนบลู 0.065 กรัม เตรียมเป็นมัชฌิม 1 ลิตร ปรุงแล้วทำลายเชื้อด้วยหม้อนึ่ง อุณหภูมิ 120 ซ. นาน 20 นาที

## วิธีการ

### *วิธีเก็บตัวอย่าง*

ขวดสำหรับบรรจุตัวอย่าง ใช้ขวดปากกว้างฝาเกลียว ขนาด 100 มิลลิลิตร นำขวดไปอบทำลายเชื้อและชั่งเพื่อทราบน้ำหนัก แล้วนำขวดเหล่านี้ไปเดินซื้อตัวอย่างไอสครีม หรือผลิตภัณฑ์ที่ต้องการตามร้าน ซึ่งได้กะไว้แล้วว่าจะซื้อจากร้านใดบ้าง เมื่อถึงร้านให้ผู้จำหน่ายตักไอสครีมดังที่จะตักจำหน่าย แต่ให้บรรจุลงในขวดที่เตรียมไป ในการออกเก็บตัวอย่างนี้ได้นำหม้อเก็บความเย็น ขนาดเขื่องไปด้วยเพื่อบรรจุขวดที่มีตัวอย่างไอสครีม ทั้งนี้ให้ตัวอย่างไอสครีมมีอุณหภูมิต่ำตลอดเวลา เพื่อไม่ให้บัคเตรีที่อยู่ในไอสครีมเพิ่มจำนวนในระหว่างเวลาเก็บรวบรวมจนถึงเวลาทำการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เมื่อได้ตัวอย่างครบตามจำนวนร้านที่ต้องการในการออกซื้อครั้งหนึ่ง ๆ แล้ว ก็นำมาดำเนินการวิเคราะห์ทันที หากบังเอิญมีความจำเป็น จะต้องเก็บไว้ทำการวิเคราะห์ในวันต่อไปแล้ว ได้เก็บตัวอย่างเหล่านี้ไว้ในตอนที่เย็นจัดของตู้เย็นไฟฟ้า ไม่มีตัวอย่างใดเก็บค้างไว้นานเกิน 24 ชั่วโมงเลย

สำหรับไอสครีมที่บรรจุหีบห่อ ได้ซื้อมาทั้งห่อโดยไม่ได้แกะถ่ายใส่ขวด เมื่อถึงห้องปฏิบัติการก็เปิดออกและดำเนินการปฏิบัติทันที และในระหว่างเดินทางก็เก็บห่อไอสครีมไว้ในหม้อเก็บความเย็นเช่นเดียวกับที่บรรจุขวด

ทุกครั้งก่อนลงมือวิเคราะห์ ได้ชั่งน้ำหนักขวดที่มีไอสครีมอยู่ เมื่อทราบน้ำหนักไอสครีม และใช้น้ำหนักนี้คำนวนหาราคาของไอสครีม สำหรับพวกที่มีหีบห่อบรรจุนั้น ได้ชั่งรวมกันทั้งห่อแล้วจึงหักน้ำหนักของห่อเปล่า ๆ ภายหลัง

ตัวอย่างสำหรับร้านเดียวกันเก็บห่างกันอย่างน้อย 1 สัปดาห์ ถ้าเป็นไอสครีมแบบทำจากโรงงาน และบรรจุหีบห่อ อาจไปซื้อต่างร้านกันได้

### *ประเภทตัวอย่าง*

*ไอสครีมประเภทโรงงาน* ไอสครีมประเภทนี้เป็นไอสครีมที่ผลิตจากโรงงานที่มีเครื่องกลไกค่อนข้างทันสมัย ตามที่ปฏิบัติกันมาผลิตภัณฑ์นี้บรรจุในภาชนะแล้วส่งไปจำหน่ายตามร้านขายอาหาร วัตถุที่ใช้ห่อมีกระดาษชุบไข และถังโลหะ ราคากรัมละ 0.03—0.04 บาท

*ไอสครีมประเภทไม่โรงงานและราคาแพง* ไอสครีมนี้ไม่ได้ทำจากโรงงาน ทำขึ้นเองโดยร้านที่จำหน่าย คุณสมบัติเป็นไปตามฝีมือและความประสงค์ของผู้ทำแต่ละร้าน จำหน่ายตามร้านที่ค่อนข้างใหญ่โต ราคากรัมละ 0.03—0.04 บาท

*ไอสครีมประเภทไม่โรงงานและราคาปานกลาง* ไอสครีมประเภทนี้ขายตามร้านชนิดที่ใหญ่โตปานกลาง ราคากรัมละ 0.02—0.03 บาท

*ไอสครีมประเภทไม่โรงงานและราคาถูก*

ไอสครีมประเภทนี้ขายตามร้านค้าไม่ใหญ่โต หรือร้านแผงลอย หรือรถเข็นเร่ ราคาประมาณกรัมละ 0.01 บาท

*Ice* ของหวานประเภทนี้ทำขึ้นจากน้ำและน้ำตาลและอาจมีวัตถุอื่นเป็นเครื่องปรุงด้วย เช่น มะพร้าว ไม่มีน้ำนมเป็นส่วนปรุง ราคามีแตกต่างกันแล้วแต่ขนาดและชื่อเสียงของร้านจำหน่าย ของหวานชนิดนี้ได้นำมาค้นคว้าประกอบกับไอสครีมประเภทอื่น ยังมิได้ทำการค้นคว้าสำหรับ ice นี้โดยเฉพาะ

*การนับจำนวนบัคเตรี*

ในการนับจำนวนบักเตรีนี้ได้ใช้วิธีปลูกลงในมัชฌิมสำหรับปลูกดังกล่าวไว้แล้วข้างต้น ก่อนปลูกบักเตรีได้ทำให้ตัวอย่างจางลงเพื่อสะดวกในการนับ การทำจางได้ทำในอัตราส่วนต่าง ๆ กันแล้วแต่ว่าตัวอย่างเป็นชนิดมีบัคเตรีมากหรือน้อย จากผลการทดลองขั้นต้นจะทราบได้ว่าไอสครีมร้านใดหรือชนิดใดควรจะทำให้จางลงเป็นอัตราส่วนเท่าใดจึงจะเหมาะสมให้ได้จำนวน colony ที่ขึ้นในจานจานละ 20—300 ซึ่งเป็นจำนวนที่เมื่อเวลานับมีการผิดพลาดได้น้อย ที่ปฏิบัติความจางอยู่ในอัตราระหว่าง 1 : พัน ถึง 1 : สิบล้าน

การทำจางทำได้โดยชั่งไอสครีม 10 กรัม แล้วถ่ายลงในขวดฝาเกลียว ขนาด 150 มิลลิมตร ที่มีน้ำ 90 มิลลิตร ปิดฝาให้แน่น เขย่าให้ของผสมเป็นเนื้อเดียวกัน (25 ครั้งๆ หนึ่งไกล 30 ซม.) ความจางตอนนี้เป็นอัตราส่วน 1:10 ใช้ปิเปตต์ถ่าย 1 มิลลิมตร ลงในน้ำ 99 มิลลิตร หรือถ่าย 10 มิลลิมตร ลงในน้ำ 90 มิลลิตร ต่อไปจนให้ได้อัตราส่วนความจางที่ต้องการ เมื่อได้แล้วใช้ปิเปตต์ถ่ายลงใส่ในจานเปตรี จานละ 1 มิลลิตร รวม 4 จาน แต่ละตัวอย่างใช้อัตราความจาง 3 อัตรา

หลอดมัชฌิมที่จี้เอ็มแล้วทิ้งไว้ให้เย็นถึง 45 ซ. แล้วเทลงในจานเปตรีซึ่งมีตัวอย่างใส่ลงไปแล้วดังกล่าวข้างบน เอียงจานไปมาให้มัชฌิมผสมกับตัวอย่างโดยทั่วถึง วางไว้ให้เย็นจนวุ้นแข็งแล้วจึงกลับจานนำไปเก็บไว้ในตู้ที่จัดอุณหภูมิไว้ 37 ซ. เก็บไว้นาน 48 ชั่วโมง จึงนำออกมานับจำนวนโคโลนีบักเตรี

*การทดสอบสำหรับบัคเตรี Coliform*

สำหรับการทดสอบตอนนี้ใช้ตัวอย่างเติมลงไปในหลอด fermentation ซึ่งมีมัชฌิม บี แอล บี ดังนี้

เติมตัวอย่างหลอดละ 1 มิลลิตร 5 หลอด

,, 0.1 ,, 5 ,,

,, 0.01 ,, 5 ,,

เมื่อทำเสร็จนำไปเก็บในตู้อุณหภูมิ 37 ซ. นาน 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วนำมาดูผล

ถ้าหลอดใดเกิดก๊าซก็นำมาบันทึกผลเป็นบวก ถ้าหลอดใดไม่มีก๊าซเกิดก็บันทึกผลเป็นลบ การทดสอบแบบนี้ใช้ทั้งเพื่อเป็น presumptive test และเพื่อประมาณจำนวนบัคเตรี coliform ด้วยในคราวเดียวกัน ผลของ presumptive test นั้นได้ถือเอาหลอดที่เติมด้วยไอสครีม 1 มิลลิลิตร เมื่อได้จำนวนหลอดที่เป็นบวกจากจำนวนหลอดทั้ง 5 สำหรับทุก ๆ อัตราเจือจางแล้วก็ประมาณจำนวนบัคเตรี coliform อย่างมากที่จะเป็นไปได้ (maximum probable coliform count) ใน 1 มิลลิลิตร ทั้งนี้อาศัยตารางคำนวนในหน้า 137—139 หนังสือ Standard Methods for the Examination of Dairy Products (*1*)

เมื่อตัวอย่างผลิตภัณฑ์ใดได้ผล presumptive test เป็นบวกให้ดำเนินการต่อไป โดยเขี่ยเชื้อ streak ลงบนผิวมัชฌิมวุ้นอีเอ็มบีแอล เลือกเชื้อจากหลอดที่เห็นว่ามีก๊าซเกิดดี เก็บไว้ในตู้ 37 ซ. นาน 48 ชั่วโมง แล้วนำจานออกมาตรวจดูโคโลนี อาศัยลักษณะโคโลนี บันทึกโคโลนี 3 ชนิด คือ ชนิดที่หนึ่ง คือ พวกที่ ferment แล็กโตส ชนิดที่สอง คือ พวกที่ไม่ ferment แล็กโตส ซึ่งสังเกตได้โดยโคโลนีสีขาวหรือชมพูอ่อน ๆ ชนิดที่สามคือ พวกที่โคโลนีขาวและสาม

## ผลและวิจารณ์ผล

### *จำนวนบัคเตรี*

จำนวนบัคเตรีที่นับได้ในไอสครีมประเภทต่าง ๆ มีแสดงไว้ในตารางที่ 1 ประเภทโรงงานรายที่หนึ่งจำนวนบัคเตรีนับได้น้อยและสม่ำเสมอทั้งห้าครั้ง รายที่สองก็สม่ำเสมอและอยู่ในเกณฑ์ไม่มากนัก เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับตัวเลขที่เก็บได้จากผลการค้นคว้าในต่างประเทศบางแห่งก็ไม่ห่างไกลกัน ส่วนรายที่สามจำนวนบัคเตรีสูงมากและสูงผิดสังเกตทุกครั้ง ผลที่ได้นี้แสดงว่าไอสครีมโรงงานนี้สามารถผลิตให้มีบัคเตรีน้อยได้ แต่มีบางโรงงานที่ผลิตไอสครีมมีบัคเตรีมากผิดปรกติ ทั้งนี้คงเนื่องมาจากมีข้อบกพร่อง และไม่ได้มีการสอบคุณภาพในด้านจุลินทรีย์วิทยาเพราะจำนวนบัคเตรีสูงอยู่ทุกคราวที่เก็บตัวอย่างตลอดเวลาการทดลอง

สำหรับไอสครีมที่ไม่ได้ผลิตจากโรงงานนั้นชะนิดราคาแพงและราคาปานกลาง ทุกรายมีจำนวนบัคเตรีนับได้ไม่ห่างไกลกันนัก และอยู่ในเกณฑ์ 20,000—1,600,000 ตัวต่อ 1 กรัม และแต่ละรายตัวอย่างแต่ละครั้งไม่ผิดกันมากนัก พอจะลงความเห็นว่าไอสครีมชุดนี้คงได้รับการเอาใจใส่ในเรื่องสุขลักษณะไม่มากก็น้อย ทั้งนี้เป็นเรื่องที่น่าดีใจอยู่บ้าง อีกประการหนึ่งไอสครีมที่

## ตารางที่ 1

จำนวนบัคเตรีในไอสครีม 1 กรัม ไอสครีมตัวอย่างเก็บตามตลาดกรุงเทพฯ พ.ศ. 2501—2502
นับด้วยวิธีจานเพาะ ตัวเลขเป็นแสนตัว

| ประเภท | รายที่ | ตรวจครั้งที่ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| ไอสครีมโรงงาน | 1 | .21 | .20 | .23 | .11 | .22 |
| | 2 | 2.34 | 2.37 | 1.98 | 1.50 | 1.31 |
| | 3 | 109.0 | 101.2 | 444.0 | 464.0 | 27.5 |
| ไอสครีมไม่โรงงานราคาแพง | 1 | 4.7 | 4.3 | 2.8 | 4.0 | 2.1 |
| | 2 | 6.0 | 6.3 | 6.0 | 2.8 | 1.8 |
| | 3 | 14.4 | 13.0 | 11.6 | 8.8 | 14.8 |
| ไอสครีมไม่โรงงานราคาปานกลาง | 1 | 7.9 | 8.0 | 41.3 | 1.9 | 3.8 |
| | 2 | 15.9 | 9.7 | 13.2 | 3.4 | 3.5 |
| | 3 | .18 | .78 | .38 | .44 | .46 |
| ไอสครีมไม่โรงงานราคาถูก | 1 | 111.5 | 106.2 | 109.0 | 230.5 | 198.0 |
| | 2 | 180.0 | 198.7 | 105.2 | 62.5 | 40.7 |
| | 3 | 82.5 | 74.0 | 83.5 | 11.7 | 43.0 |
| ไอสครีมหวานเย็น | 1 | 545 | 448 | 455 | 270 | 350 |
| | 2 | 59 | 71 | 30 | 27 | 46 |
| | 3 | 138 | 18 | 66 | 63 | 54 |

ไม่ได้ผลิตจากโรงงานคงจะมีวิธีผลิตคล้ายหรือทำนองเดียวกับวิธีทำไอสครีมในครัวเรือน และไอสครีมในครัวเรือนนั้นตามปกติมีจำนวนบัคเตรีสูงกว่าไอสครีมที่ผลิตจากโรงงานที่ดี

สำหรับไอสครีมที่ไม่ได้ผลิตจากโรงงานและเป็นชะนิดราคาถูกนั้น มีบัคเตรีนับได้จำนวนสูงและสูงทุกรายทุกครั้งที่สอบส่วน จำนวนมีตั้งแต่ 1,200,000 ถึง 23,200,000 ต่อกรัม

ส่วนใน ice นั้น บัคเตรีที่นับได้อยู่ในเกณฑ์สูง และบางรายก็สูงมาก ตัวอย่าง ice ที่เก็บมาจากร้านหลายชะนิดและหลายราคา ทั้งหมดไม่ได้ทำจากโรงงาน

ถ้าจะถามว่าไอสครีมดีพอควรนั้นควรจะมีจำนวนบัคเตรีไม่เกินเท่าใดแล้วก็ตอบได้ไม่ง่าย จากเอกสารต่าง ๆ พบว่าความเห็นเรื่องมาตรฐานในต่างประเทศยังมีแตกต่างกัน ที่เคร่งครัดที่สุด 25,000 ตัวต่อกรัม ที่ใจกว้างมีถึง 1,000,000 ตัวต่อกรัม ถ้านำมาตรฐาน 1,000,000 ตัวต่อกรัม เข้าจับสำหรับบ้านเราก็เป็นการดีในข้อที่ว่าให้โอกาสแก่ผู้ผลิต และทำให้ดีใจที่มีไอสครีมหลายรายสอบได้ในเรื่องปริมาณจุลินทรีย์

### *บัคเตรี coliform*

จำนวน most probable numbers ของบัคเตรี coliform ในไอสครีมแสดงไว้ในตารางที่ 2 ในกรณีที่ทุกหลอดเกิดก๊าซแม้ว่าจะใช้ไอสครีมน้อยที่สุด คือ 0.01 มิลลิตร จำนวนบัคเตรีจะเกิน 180 จึงได้บันทึกเป็น 180+

ไอสครีมประเภทโรงงาน 3 รายที่สอบส่วนนั้น 2 รายแรกมีจำนวนบัคเตรี coliform ไม่สูงเกินไป แต่ก็มีบางครั้งที่ขึ้นไปถึง 180 ต่อมิลลิตร ส่วนรายที่ 3 มีจำนวนบัคเตรีสูง และก็ไม่น่าแปลกใจเพราะรายนี้มีจำนวนบัคเตรีนับได้สูงมาก ไอสครีมที่ไม่ได้ทำจากโรงงานชะนิดราคาแพงและราคาปานกลางรวม 6 ราย มีจำนวนบัคเตรี coliform ปาน ๆ กัน มากบ้างน้อยบ้าง ไอสครีมราคาถูกและ ice มีปริมาณบัคเตรี coliform อยู่ในเกณฑ์สูงทุกราย

เวลาทำ complete test ได้บันทึกประเภทของบัคเตรีตามลักษณะของโคโลนีที่ขึ้นบนผิวมัชฌิมวุ้นอีเอ็มบีแอด ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3 บัคเตรีประเภท ferment แล็กโตสมีทุกราย และปรากฏว่ามีโคโลนีไม่ ferment แล็กโตสขึ้นอยู่บ่อย ๆ

## สรุป

ได้มีการสอบส่วนคุณภาพทางชีววิทยาของไอสครีมโดยวิธีนับจำนวนบัคเตรี และทำทดสอบบัคเตรี coliform ตัวอย่างไอสครีมต่าง ๆ เก็บหาได้ตามร้านจำหน่ายในกรุงเทพ ฯ ระหว่างปี พ.ศ. 2501 และ 2502 วิธีนับบัคเตรีใช้

ไม่มีกำเนิดมาจากน้ำทะเล บักทีเรียเกือบทุกชนิดต้องการเกลือเพื่อการเจริญเติบโตและส่วนมากเติบโตได้ดีในมีเดียมที่มีเกลือปนอยู่ด้วย ๑ % – ๒ % ( 6 )

เมื่อเติมเกลือและ nutrient agar ลงไปในน้ำกลั่นแล้วเขย่าให้เข้ากัน หลังจากนั้นก็นำไปต้มจนกระทั่งวุ้นละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำ จึงแบ่งออกใส่ขวดขนาด ๓๕๐ ml. เพื่อนำไปนึ่งฆ่าเชื้อต่อไปโดยใช้เวลานึ่ง ๒๕ นาที ความกด ๑๕ ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว

ข. การเตรียม dilution tubes ใช้บิวเรตเติมน้ำกลั่นลงในหลอดทดลองตามจำนวนที่ต้องการแล้วจุกด้วยสำลี นำเอาหลอดน้ำกลั่นไปนึ่งฆ่าเชื้อใช้เวลาและความกดเดียวกันกับที่ใช้กับ nutrient agar

๒. การเตรียมเครื่องใช้

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

ข. การเตรียมเครื่องมือ sampling ใช้หลอดทองเหลืองเส้นผ่าศูนย์กลาง ๑ นิ้ว ยาวประมาณ ๗ นิ้ว ปลายหนึ่งบัดกรีติดกับมือถือที่ทำด้วยท่อทองเหลืองขนาดเดียวกัน แต่สั้นกว่า คือยาวประมาณ ๔ นิ้ว ส่วนอีกปลายหนึ่งฝนให้คมก่อนจะใช้จุ่มปลายด้านที่ฝนให้คมในแอลกอฮอล์แล้วเผาเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจจะติดมากับโลหะ พอเย็นลงก็ใช้ทำรอยบนหลังปลา เพื่อเก็บบักทีเรียได้ทันที ไม่ควรจะทิ้งเครื่องมือ sampling ไว้นานเกินไป หลังจากเผาฆ่าเชื้อแล้ว เพราะบักทีเรียจากอากาศจะเข้าไปเกาะอีก ทำให้จำนวนบักทีเรียบนผิวหนังปลาผิดไป จำนวนพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างบักทีเรียโดยใช้เครื่องมือชนิดนี้จะเท่ากับ ๐.๗๘๗ ตารางนิ้ว

**ปฏิบัติการ**

๑. การทำชุดหลัก เพื่อที่จะแก้ข้อสงสัยที่อาจจะมีขึ้นได้ว่า จำนวนบักทีเรียตัวปลาอาจจะเพิ่มขึ้นจากการขยายตัวเองมากกว่าที่จะได้รับเพิ่มขึ้นจากภายนอก จึงได้ทำการทดลองชุดนี้ขึ้น

เนื่องจากตลอดเวลาที่ทำการขนถ่ายปลานั้นจะมีน้ำแข็งไว้เป็นเวลา ๕ ชั่วโมงซึ่งเป็นเวลาที่ปลาจะต้องรอการขนถ่ายก่อนที่จะนำไปประมูลขาย และได้หาจำนวนบักทีเรียเมื่อเริ่มแช่ปลาเพื่อเปรียบเทียบกับจำนวนบักทีเรียหลังจากแช่ปลาครบ ๕ ชั่วโมง โดยได้ทำการทดลองดังนี้

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

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

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

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

| เวลาที่ | หลอดทดลอง | ความเจือจาง | | | เฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|
| เก็บตัวอย่าง | ที่ | $10^{-3}$ | $10^{-4}$ | $10^{-5}$ | |
| 14.00 | 31 | — | 172 | 22 | |
| | 32 | — | 597 | 73 | |
| | 33 | — | 198 | 43 | |
| | 34 | — | 290 | 15 | $314 \times 10^4$ |

จากข้อมูลข้างบนจะเห็นว่าเมื่อสุดท้ายของการทดลอง บักทีเรียจะเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าของเมื่อเริ่มการทดลอง คือ เพิ่ม จาก $179 \times 10^4$ เป็น $314 \times 10^4$ เวลาที่เริ่มทำการทดลองกับเมื่อเสร็จการทดลอง ห่างกัน ถึง ๕ ชั่วโมง พอจะอนุมาณได้ว่าตลอดเวลา ๕ ชั่วโมงนี้บักทีเรียทำการแบ่งตัวเพียงครั้งเดียวเท่านั้น ซึ่งนับว่าน้ำแข็งมีประโยชน์อย่างมากในการที่ช่วยให้บักทีเรียขยายพันธุ์ช้าลง ถ้าโดยปกติทิ้งปลาไว้ในอุณหภูมิของห้องปลาอาจจะเสียจำนวนบักทีเรียอาจจะถึง $10^7$ ตัว

ข้อผิดพลาดที่อาจจะเกิดขึ้นอย่างหนึ่งในการหาจำนวนบักทีเรียจากตัวปลา ก็คือ เมื่อปลาอยู่ในน้ำแข็ง ๆ ที่ละลายจะชะล้างเอาบักทีเรียติดไป

plate method และมัชฌิมที่ใช้เลี้ยงเชื้อ คือ วุ้น ทริฟโตนบีฟ เอกซแตรกท์เติมน้ำนม ประเภทของไอสครีมตัวอย่างจัดได้เป็นพวก ๆ คือ (1) ไอสครีมที่ผลิตจากโรงงาน ราคาจำหน่ายปลีกกรัมละ 0.03—0.04 บาท (2) ไอสครีมประเภทที่ไม่ได้ผลิตจากโรงงานและเป็นชนิดราคาแพง ราคาปลีกกรัมละ 0.03—0.04 บาท (3) ไอสครีมประเภทไม่ได้ผลิตจากโรงงานและเป็นชนิดราคาปานกลาง ราคาปลีกกรัมละ 0.02—0.03 บาท (4) ไอสครีมประเภทที่ไม่ได้ผลิตจากโรงงานและเป็นชนิดราคาถูก ราคาปลีกกรัมละ ประมาณ 0.01 บาท (5) ไอสครีมหวานเย็น (ไม่ใส่น้ำนม)

ไอสครีมแบบผลิตจากโรงงาน 3 รายที่ตรวจมี 2 รายที่มีจำนวนบัคเตรีต่ำขนาด 11,000—237,000 ตัวต่อ 1 กรัม แต่รายที่ 3 มีจำนวนบัคเตรีสูงมาก คือ 2,750,000—46,400,000 ตัวต่อ 1 กรัม ไอสครีมที่ไม่ได้ผลิตจากโรงงานชนิดราคาแพงและราคาปานกลาง มีจำนวนบัคเตรีพอ ๆ กัน คือ 20,000—1,600,000 ต่อ 1 กรัม ไอสครีมประเภทที่ไม่ได้ผลิตจากโรงงานและเป็นชนิดราคาถูก มีจำนวนบัคเตรีค่อนข้างสูงถึง 1,200,000—23,100,000 ตัวต่อ 1 กรัม

ไอสครีมประเภทหวานเย็นเป็นแบบที่ไม่ได้ผลิตจากโรงงาน จำนวนบัคเตรีที่นับได้มีตั้งแต่ 3,000,000 ถึง 55,000,000 ต่อ 1 กรัม

ในด้านบัคเตรี coliform นั้น ผลการทดสอบ presumptive เป็นบวกทุกราย ในผลิตภัณฑ์ที่มีจำนวนบัคเตรีที่นับได้สูง มักตรวจพบบัคเตรี coliform หนาแน่นเสมอ ทุกรายสามารถแยกเชื้อ coliform ออกได้ มีบัคเตรีประเภทไม่ ferment แล็กโตสอยู่เสมอ ๆ บนมัชฌิมวุ้นอีโอซินเมทิลีนบลูแล็กโตส

SUMMARY

In 1958–1959, samples of ice cream were callected for bacterial examinations from retailed stores in the City of Bangkok. The examination was mainly on bacterial counts and on coliform tests. The standard plate method was used and the procedures described by the American Public Health Association were closely followed. Samples collected were classified according to price and also according to method of production, that is, whether they were "home–made" or "factory–made".

Among the three brands of factory ice cream examined two gave the total count of 11 – 237 thousand per gram while the third brand gave 2–46 million per gram. Among the home–made ice creams, the high–price and the medium–price samples gave counts ranging from 20 thousand to 1.6 million per gram. The low–price home–made gave counts of 1.2–23.1 million per gram.

Limited number of "home–made" ices were also examined which gave total counts of 3–35 million per gram.

All samples gave positive presumptive coliform tests. High total plate counts were associated with high relative numbers of coliform bacteria.

## REFERENCES

1. APHA, 1948. Standard method for the Examination of Dairy Products, 9th ed. American Public Health Association, New York.

2. American Public Health Association and the American Water Works Association. 1949. Standard Methods for the Examination of Water and Sewage, 9th ed., pp. 185–191. Lancaster press, Inc., New York.

3. Difco Laboratory. 1953. Difco Manual, 9th ed., p. 35, p. 58 Difco Laboratory Inc., Detroit, Michigan.

4. Hammer, B.W. 1948. Dairy Bacteriology, 3rd ed., p. 347. John Wiley and Sons, Inc., New York.

5. Tanner, F.W. 1946. The Microbiology of Foods, 2nd ed., pp. 523–543. Garrard Press, Illinois.