บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การออกแบบและประดิษฐ์เครื่อง Catalasemeter

Catalasemeter ที่ประดิษฐ์ขึ้นเพื่อใช้ในการทดลองนี้ ดัดแปลงจากหลักการของ Gagnon และคณะ (1977) สามารถวัดแอคติวิตีของคะตะเลสได้ในรูปของเวลาที่เกิดปฏิกิริยาหรือ Flotation Time (FT) โดยอาศัยปริมาณออกซิเจนที่เกิดจากปฏิกิริยาของคะตะเลสกับสับสเตรท ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ การทำงานของเครื่องมือจะเริ่มขึ้นเมื่อใส่แผ่น paper disc ที่ดูดซับสารละลายตัวอย่างไว้ลงในหลอดทดสอบของเครื่องซึ่งบรรจุสับสเตรทของคะตะเลส คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไว้ แผ่น paper disc จะจมตัวลงสู่ก้นหลอด ถ้าในตัวอย่างมีคะตะเลสจะทำให้เกิดผลผลิตของปฏิกิริยาคือออกซิเจนขึ้น ฟองก๊าซที่เกิดขึ้นจะจับอยู่กับแผ่น paper disc และทำให้แผ่น paper disc ลอยขึ้นสู่ผิวหน้าของสารละลาย เครื่องมือสามารถควบคุมการเริ่มต้นและหยุดจับเวลาเมื่อแผ่น paper disc เริ่มจมและลอยกลับขึ้นมาอีกครั้งได้โดยอัตโนมัติ โดยอาศัยการทำงานของ photo cell ซึ่งปล่อยลำแสง infrared ออกมาเป็น sensor ของวงจร เมื่อแผ่น paper disc จมและลอยผ่าน sensor แต่ละครั้ง ก็เป็นการต่อและตัดวงจรการทำงานของเครื่องมือ

Catalasemeter ที่ประดิษฐ์ ได้ออกแบบให้มี photo cell 2 ตำแหน่ง คือ ที่บริเวณส่วนบน (A) และ ส่วนล่าง (B) ของหลอดบรรจุสับสเตรท ตามรูปแบบที่แสดงในรูปที่ 5 ซึ่งsensor ทั้ง 2 ตำแหน่งดังกล่าวนี้ สามารถกำหนดให้ทำงานร่วมกัน เช่น ให้ A = start และ B = stop หรือ B = start และ A= stop ได้ หรือให้ทำงานแยกเป็นอิสระจากกัน เช่น ให้ A หรือ B ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งเป็นทั้ง start และ stop ได้ ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในการใช้ศึกษาเกี่ยวกับตัวแปรอื่นที่อาจมีผลต่อการจมและลอยของแผ่น disc เช่น ความสูงของสารละลายสับสเตรท ความกว้างของหลอดบรรจุสับสเตรท หรืออื่นๆ อันจะทำให้การจับเวลาของปฏิกิริยาคลาดเคลื่อนไปได้ ซึ่งควรจะได้ทำการทดลองต่อไป เครื่อง Catalasemeter ที่มีจำหน่ายทางการค้าซึ่งผลิตโดยบริษัท Bio-Engineering Group Ltd., Westport, CT ได้กำหนดให้ใช้แผ่น paper disc สำหรับบรรจุสารละลายตัวอย่างและดักก๊าซออกซิเจนของปฏิกิริยา ที่ทำจากวัสดุเฉพาะขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12.7 มิลลิเมตร (# 57-GH) ของบริษัท Schleicher & Schuell Co. (Keen, NH) ซึ่งมีความสามารถในการดูดซับตัวอย่างได้สูง แต่ไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับสมบัติอื่นของแผ่น disc นี้ ส่วนในงาน

วิจัยของชื่นจิต จันทน์วัฒนวงษ์ (2538) ได้ดัดแปลงใช้กระดาษกรอง Whatman® No.2 เส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตรแทน พบว่าให้ผลดีในระดับหนึ่ง ในงานวิจัยนี้ดัดแปลงการใช้แผ่น sterile absorbant pad ของบริษัท Millipore® มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร ทำจากวัสดุ cellulose สามารถดูดซับตัวอย่างได้มาก และให้ผลการทดลองที่ดีเช่นกัน ในงานวิจัยของ Wang และ Fung (1986) รายงานว่าสามารถปรับปรุงให้ Catalasemeter มี sensitivity ดีขึ้นโดยใช้แผ่น filter membrane เส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร pore size 0.45 ไมโครเมตร กรองตัวอย่างที่จะทดสอบ แต่ชื่นจิต จันทน์วัฒนวงษ์ (2538) รายงานว่า filter membrane ไม่เหมาะที่จะใช้ในการวัดแอคติวิตีของคะตะเลสจากแบคทีเรียมีชีวิต เนื่องจากเมื่อหย่อนแผ่น filter membrane (# RC 55, Schleicher & Schuell, Germany) ลงในสารละลายสับสเตรท เซลล์แบคทีเรียจะหลุดออกมาเป็นจำนวนมากทำให้การประมาณจำนวนแบคทีเรียคลาดเคลื่อนได้ แต่ทั้งนี้แผ่น filter membrane ที่ใช้ในงานวิจัยทั้งสองอาจเป็นคนละชนิดกัน ทำให้ความสามารถในการเกาะติดของแบคทีเรียแตกต่างกันได้ นอกจากนี้ปัจจัยอื่น ๆ ที่ควรควบคุมให้คงที่ เพื่อให้ผลการวัดโดย Catalasemeter คลาดเคลื่อนน้อยที่สุด ได้แก่ ขนาดของแผ่น disc ควรเท่ากันและมีการตัดขอบที่สมบูรณ์ดีทุกแผ่น ไม่มีตำหนิใดๆ และปริมาตรของตัวอย่างที่แผ่นdisc ดูดซับไว้ ควรควบคุมให้เท่ากันทุกครั้ง ซึ่งในงานวิจัยนี้ สามารถควบคุมปริมาตรของตัวอย่างให้คงที่ทุกครั้งได้ โดยการใช้ micropipette แทนวิธีการจุ่มแผ่น paper disc ให้ชุ่มอิ่มตัวในสารละลายตัวอย่าง

สับสเตรทของคะตะเลสที่ใช้ในการทดสอบปฏิกิริยา คือสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้นร้อยละ 3 (3% v/v ในน้ำ) ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะใช้วัดแอคติวิตีของคะตะเลส (Gagnon, Hunting และ Esselen, 1959) การเติม EDTA เข้มข้น 10^{-6} โมลต่อลิตรลงไปร้อยละ 1 จะช่วยกำจัดไอออนของโลหะหนักที่รบกวนปฏิกิริยาของคะตะเลส ทำให้ Catalasemeter มี sensitivity ดีขึ้น (Dodds, Holley และ Kemoton, 1983) นอกจากนี้ Cohen, Dembiec และ Marcus (1970) แนะนำว่าการเติมเอธานอลเข้มข้นร้อยละ 0.02 ลงในสับสเตรทด้วย จะช่วยรักษาคะตะเลสให้อยู่ใน active form ทำให้คะตะเลส มี sensitivity ในการตรวจสอบมากขึ้น Gagnon, Hunting และ Esselen (1959) แนะนำว่าหากเป็นไปได้ควรใช้สารละลายสับสเตรทที่เตรียมในครั้งเดียวกันตลอดการทดลอง และควรควบคุมอุณหภูมิของสารละลายสับสเตรทนี้ให้คงที่ตลอดด้วยเพื่อลดความคลาดเคลื่อนของการทดลอง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงควบคุมโดยใช้สารละลายสับสเตรทที่เตรียมใหม่ ๆ และทำการทดลองที่อุณหภูมิห้อง (28 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส) ทุกครั้ง ซึ่งสารละลายสับสเตรทจะมีอุณหภูมิประมาณ 25 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส

2. การทดสอบ sensitivity ของเครื่อง Catalasemeter ต่อเอนไซม์คะตะเลส จากเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์

จากการทดสอบเบื้องต้นพบว่า *Micrococcus luteus* และ *Pseudomonas aeruginosa* เป็นแบคทีเรียชนิดที่ให้ผลการทดสอบคะตะเลสเป็นบวกสูง (strong catalase positive) จึงเลือกมาเป็นตัวแทนในการใช้ทดสอบ sensitivity ของเครื่อง Catalasemeter ผลการทดสอบสำหรับแบคทีเรีย *M. luteus* ATCC 9341 แสดงในรูปที่ 7 พบว่า Catalasemeter มี sensitivity ต่อจำนวนเซลล์ในช่วง 10^4 ถึง 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร และความสัมพันธ์ระหว่าง Logarithm Colony Forming Units ต่อมิลลิลิตร กับ Logarithm Flotation Time เป็นแบบเส้นตรง มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient; r) เท่ากับ – 0.99 ($p \leq 0.05$) และผลการทดสอบสำหรับแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ATCC 27853 แสดงในรูปที่ 8 พบว่า Catalasemeter มี sensitivity ต่อจำนวนเซลล์ในช่วง 10^5 ถึง 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร และความสัมพันธ์ระหว่าง Logarithm Colony Forming Units ต่อมิลลิลิตร กับ Logarithm Flotation Time เป็นแบบเส้นตรงเช่นกัน มีค่า r เท่ากับ – 0.99 ($p \leq 0.05$) ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าว พบว่าสามารถตรวจสอบจำนวนแบคทีเรีย *M. luteus* ได้ที่จำนวนเซลล์ต่ำกว่าแบคทีเรีย *P. aeruginosa* คือที่จำนวน 10^3 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ต้องมีจำนวน *P. aeruginosa* มากกว่า 10^4 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เครื่องมือจึงสามารถตรวจสอบได้ ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลของ Gottschalk (1986) ซึ่งรายงานว่าแบคทีเรียในกลุ่ม *Micrococcus* มี specific activity ของคะตะเลสสูงกว่ากลุ่ม *Pseudomonas* species เหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากแบคทีเรียต่างชนิดกันจะมีความสามารถในการสร้างคะตะเลสได้ต่างกัน (Charbonneau, Therrien และ Gagnon, 1975; Wang และ Fung, 1986) ดังนั้นแบคทีเรียที่สามารถสร้างคะตะเลสได้ในปริมาณที่มากกว่า ก็จะสามารถตรวจพบได้ที่จำนวนเซลล์ต่ำกว่า นั่นคือ sensitivity ของวิธีการจะขึ้นกับชนิดของแบคทีเรีย และแบคทีเรียที่ไม่สร้างคะตะเลสก็จะไม่มีการตอบสนองต่อเครื่องมือ ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากค่า r ของความสัมพันธ์ของจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดกับแอคติวิตีของคะตะเลส ซึ่งอยู่ในระดับที่ดี และความสามารถในการตรวจสอบแอคติวิตีของคะตะเลสได้ที่จำนวนแบคทีเรียในช่วงกว้าง จึงน่าจะนำ Catalasemeter ที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้ไปใช้ประมาณจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างได้

3. การศึกษาชนิด และปริมาณของ predominant bacteria ที่พบเป็นส่วนใหญ่ในเนื้อไก่

ขั้นตอนในการศึกษาชนิด และปริมาณของ predominant bacteria ที่แยกได้จากเนื้อไก่ โดยเก็บตัวอย่างเนื้อไก่แช่เย็นที่จำหน่ายในซูเปอร์มาร์เก็ตต่าง ๆ ในกรุงเทพมหานคร หลังจากสุ่มตัวอย่างโคโลนีเดี่ยวซึ่งเป็นเชื้อบริสุทธิ์ แล้วนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยการทำ Gram's stain พบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นพวก bacilli แกรมลบ มากกว่าร้อยละ 90 และมีพวก cocci แกรมบวก ปะปนมาบ้างเล็กน้อย ซึ่ง Gill และ Newton (1977) กล่าวว่า ถึงแม้จะพบแบคทีเรียหลายชนิดได้ในเนื้อไก่หลังการฆ่าใหม่ ๆ แต่ก็จะพบเหลืออยู่บางกลุ่มเท่านั้น หลังจากเนื้อไก่นั้นผ่านกระบวนการตัดแต่งแล้ว จากนั้นจึงได้นำแบคทีเรียที่สุ่มตัวอย่างมาทำการทดสอบสมบัติทางชีวเคมี เพื่อจำแนกชนิดต่อไป โดยขั้นแรกเมื่อทำการทดสอบการสร้างคะตะเลสเบื้องต้น โดยใช้วิธี Capillary tube catalase test (Fung และ Petrishko, 1973) ซึ่งวิธีนี้ นอกจากจะให้ผลว่าแบคทีเรียสร้างคะตะเลสได้หรือไม่แล้ว ยังทราบถึงปริมาณคร่าว ๆ ว่า แบคทีเรียสามารถสร้างคะตะเลสได้มากหรือน้อยด้วยจากความสูงของฟองก๊าซที่ปรากฏในหลอด capillary ซึ่งผลการทดสอบพบว่า แบคทีเรียเกือบทั้งหมดสามารถสร้าง catalase ได้ในปริมาณต่าง ๆ กัน ขึ้นกับสายพันธุ์ แต่ส่วนใหญ่ก็สามารถสร้างได้ในปริมาณสูง ต่อมานำแบคทีเรียกลุ่มที่พบมากที่สุด คือ พวก bacilli แกรมลบ มาทดสอบ oxidation - fermentation test (วิธีการ แสดงในภาคผนวก จ 3) ซึ่งเป็นการตรวจสอบว่าแบคทีเรียสามารถย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตได้โดยวิธีการออกซิไดส์ หรือการหมัก โดยกระบวนการ oxidation ของคาร์โบไฮเดรตเป็นกระบวนการที่ใช้อากาศ โดยแบคทีเรียพวก obligate หรือ strictly aerobe ส่วนแบคทีเรียที่มีกระบวนการ fermentation ได้ ปกติแล้วจะเป็นพวก facultative anaerobe จึงเป็นการทดสอบที่ทำให้สามารถแยกแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae ออกจากพวก bacilli แกรมลบอื่น ๆ ได้ (นันทนา อรุณฤกษ์, 2537) ซึ่งผลการทดสอบพบว่า มีแบคทีเรียที่สุ่มตัวอย่างมาประมาณร้อยละ 3 ที่ให้ผลการทดสอบเป็นแบบ fermentation ดังนั้นจึงสรุปว่าเป็นพวก Enterobacteriaceae ซึ่งจะให้ผลการทดสอบ oxidase เป็นลบด้วย (วิธีการ แสดงในภาคผนวก จ 3) จากนั้นนำพวก bacilli แกรมลบอีกพวกหนึ่ง ที่มีกิจกรรมแบบ oxidation มาทดสอบ oxidase ซึ่งจากผลการทดสอบ จะทำให้แยกแบคทีเรียได้ 2 กลุ่ม คือ oxidase บวก และ oxidase ลบ พบว่ากลุ่มที่ให้ผลการทดสอบ oxidase เป็นลบ มีประมาณร้อยละ 3 สรุปว่าเป็นชนิด *Acinetobacter* sp. และกลุ่มที่ให้ผลการทดสอบ oxidase เป็นบวกมีมากถึงประมาณร้อยละ 87 สรุปว่าเป็นกลุ่ม Pseudomonadaceae (Holt, 1994) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยหลายชิ้นที่รายงานว่า แบคทีเรียกลุ่ม *Pseudomonas* sp. นี้ พบเป็นสาเหตุ

หลักในการเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์ (Ayres และคณะ, 1950; Walker และ Ayres, 1956; Nagel และ คณะ, 1960; Patterson, 1972; Gill และ Newton, 1977; Thomas และ McMeekin, 1980) ต่อมาเมื่อทำการทดสอบ oxidase กับแบคทีเรียอีกพวกหนึ่ง คือพวก cocci แกรมบวก พบว่าเกือบทั้งหมดประมาณร้อยละ 5 ให้ผลการทดสอบ oxidase เป็นลบ จึงสรุปว่ากลุ่มนี้เป็น *Micrococcus* sp. (ดวงพร คันธโชติ, 2537)

ดังนั้นสรุปได้ว่า predominant bacteria ที่พบเป็นส่วนใหญ่ในเนื้อไก่ คือ *Pseudomonas* sp. ซึ่งพบมากถึงประมาณร้อยละ 87 ส่วนแบคทีเรียกลุ่มอื่น ๆ ที่พบ ได้แก่ *Micrococcus* sp., *Acinetobacter* sp. และพวก Enterobacteriaceae โดยพบในปริมาณที่ต่ำกว่า *Pseudomonas* sp. มาก

4. การศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการใช้ยับยั้งคะตะเลสรบกวนจากเนื้อเยื่อไก่ และเลือดไก่

4.1 การศึกษาแอคติวิตีของคะตะเลสที่pH ต่าง ๆ

เนื่องจากคะตะเลสเป็นเอนไซม์ที่พบได้ทั่วไปในสัตว์ พืช และจุลินทรีย์ ดังนั้นในการแยก suspension ของจุลินทรีย์จากตัวอย่างเนื้อไก่ เพื่อนำมาตรวจสอบแอคติวิตีของคะตะเลสจากแบคทีเรียที่ปนเปื้อนอยู่ จะมีคะตะเลสจากเนื้อเยื่อ และ เลือดไก่ติดมาด้วย อันจะทำให้การวัดค่าแอคติวิตีของคะตะเลสจากแบคทีเรียผิดพลาดไป ซึ่งจะทำให้การแปลผลไปเป็นจำนวนเซลล์แบคทีเรียทั้งหมดผิดพลาดไปด้วย ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องหาวิธียับยั้งคะตะเลสรบกวน โดยอาศัยหลักการที่ว่า เอนไซม์ที่มาจากแหล่งต่างกัน จะมีสมบัติต่างกัน เนื่องจากมีองค์ประกอบของโปรตีนแตกต่างกัน (Whitaker, 1994) มีผู้วิจัยที่อาศัยหลักการนี้ ในการจำแนกความแตกต่างของคะตะเลสจากแหล่งต่างกันได้ เช่น Willits และ Babel (1956) ตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมจากแม่วัวที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ โดยประเมินจากแอคติวิตีของคะตะเลสที่สร้างจากเซลล์เม็ดเลือดขาว สามารถแยกแอคติวิตีของคะตะเลสจากแหล่งอื่นออกไปได้โดยการปรับpH เป็น 7.2 ซึ่งเป็น pH ที่เหมาะกับการทำงานของคะตะเลสจากเซลล์เม็ดเลือดขาว Wang และ Fung (1986) ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้แอคติวิตีของคะตะเลสในการประมาณจำนวนจุลินทรีย์บนผิวเนื้อไก่ โดยแยกคะตะเลสจากแหล่งอื่น คือเลือดที่ติดบนผิวเนื้อไก่ออก โดยปรับ pH เป็น 3.3 ในงานวิจัยนี้ต้องการหาภาวะที่เหมาะสมในการยับยั้งคะตะเลสรบกวน ซึ่งจากการตรวจสอบเบื้องต้นพบว่ามาจากเศษเนื้อเยื่อและเลือดไก่ที่มีในตัวอย่าง และพบว่าทั้ง 2 แหล่งดังกล่าว มีคะตะเลสอยู่ในปริมาณมาก จึงได้ทำการศึกษาผลของ pH ที่มีต่อแอคติวิตีของคะตะเลสจากทั้ง predominant bacteria และ จากเนื้อเยื่อไก่ และ เลือดไก่ ซึ่งรบกวนการตรวจสอบ ในการตรวจสอบใช้ Catalasemeter ที่ประดิษฐ์ขึ้น แสดงผลในรูปค่า Flotation Time (FT) มีหน่วยเป็นวินาที ซึ่งค่า FT จะแปรผกผันกับปริมาณหรือแอคติวิตีของคะตะเลส ผลการศึกษาพบว่าคะตะเลสที่แยกได้จากเนื้อเยื่อไก่มีแอคติวิตีสูงสุดในช่วง pH 11.0 ถึง 5.0 โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 4 ส่วนคะตะเลสจากเลือดไก่ มีแอคติวิตีสูงสุดในช่วง pH 11.0 ถึง 7.0 โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 5 ทั้งนี้พบว่าแอคติวิตีของคะตะเลสจากทั้ง 2 แหล่ง จะลดลงเรื่อย ๆ เมื่อค่าpH ลดต่ำลง และเริ่มสูญเสียแอคติวิตีอย่างมากเมื่อ pH ต่ำกว่า 6.0 เป็นต้นไป นอกจากนี้พบว่าคะตะเลสจากเนื้อเยื่อไก่มีเสถียรภาพต่อ pH ที่ลดต่ำลงมากกว่าคะตะเลสจากเลือดไก่ โดยยังคง

พบแอคติวิตีของคะตะเลสจากเนื้อเยื่อไก่ได้ แม้ที่ pH 2.0 ในขณะที่ Catalasemeter ไม่สามารถตรวจสอบแอคติวิตีของคะตะเลสจากเลือดไก่ได้ เมื่อpH ต่ำกว่า 2.6 เป็นต้นไป และเมื่อทำการศึกษาแอคติวิตีของคะตะเลสจากpredominant bacteria โดยเลือก *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Micrococcus luteus* ATCC 9341 มาเป็นตัวแทน ตามผลการศึกษาชนิดและปริมาณ predominant bacteria ที่พบเป็นส่วนใหญ่ในเนื้อไก่ ในขั้นตอนการวิจัย ข้อ 3 ซึ่งพบแบคทีเรียกลุ่ม *Pseudomonas* sp. มากที่สุดถึงร้อยละ 87 ในขณะที่จะพบแบคทีเรียกลุ่ม *Micrococcus* sp. มาก ในกลุ่มจุลินทรีย์ที่แยกได้จากซากสัตว์ปีกหลังการฆ่า (Thomas และ McMeekin, 1980) และจากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถสร้างคะตะเลสได้ในระดับสูง (strong catalase positive) ผลการศึกษาพบว่า คะตะเลสจากแบคทีเรีย *P. aeruginosa* มีแอคติวิตีสูงสุดที่ pH 9.0 และแอคติวิตีในช่วง pH 11.0 ถึง 6.0 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 6 ส่วนคะตะเลสจากแบคทีเรีย *M. luteus* มีแอคติวิตีสูงสุดที่ pH 7.0 และแอคติวิตีในช่วง pH 9.0 ถึง 6.0 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 7 ทั้งนี้พบว่าแอคติวิตีของคะตะเลสจากแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด จะลดลงเรื่อย ๆ เมื่อค่าpH ลดต่ำลง แต่ก็ยังคงตรวจพบได้แม้ pH ต่ำถึง 2.0 โดยสูญเสียแอคติวิตีไปส่วนหนึ่ง ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าคะตะเลสจาก predominant bacteria ทั้งสองชนิด มีเสถียรภาพต่อ pH ที่ลดต่ำลงดีกว่าคะตะเลสจากเนื้อเยื่อไก่ และ เลือดไก่

4.2 การศึกษาแอคติวิตีของคะตะเลสที่อุณหภูมิต่าง ๆ

ในการศึกษาแอคติวิตีของคะตะเลสที่อุณหภูมิต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ยับยั้งคะตะเลสรบกวนจากแหล่งอื่น ผลการศึกษาพบว่าคะตะเลสจาก predominant bacteria ที่เลือกมาเป็นตัวแทนในการศึกษา คือ *P. aeruginosa* สามารถถูกยับยั้งได้ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที หรือที่อุณหภูมิ 78 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ดังแสดงในตารางที่ 10 ส่วน *M. luteus* สามารถถูกยับยั้งได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า คือที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที หรือที่อุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ดังแสดงในตารางที่ 11 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Boismenu และ คณะ (1990) ที่รายงานผลการใช้ความร้อนในการยับยั้งแอคติวิตีของคะตะเลสจาก psychrophillic bacteria ในเนื้อปลา cod 2 ชนิด คือ *Pseudomonas* sp. และ *Micrococcus* sp. ได้ที่อุณหภูมิ 93 องศาเซลเซียส และ 73 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แต่เหตุที่อุณหภูมิที่ใช้ยับยั้งแอคติวิตีของคะตะเลสจากแบคทีเรียในการทดลองดังกล่าว สูงกว่าที่ตรวจสอบได้ในงานวิจัยนี้ อาจเป็นเพราะแบคทีเรียตัวอย่างที่ใช้ทดสอบเป็นคนละสายพันธุ์ (species) กัน จึงทำให้คะตะเลสที่ผลิตได้มีสมบัติต่างกันไป ถึงแม้ว่าจะอยู่ใน genus เดียวกัน และ อีกประการหนึ่ง Catalasemeter ที่ใช้ในการทดลองดังกล่าวเป็นเครื่องมือที่มีจำหน่ายทางการค้า ซึ่งใช้แผ่น paper disc ที่มีสมบัติเฉพาะ (# 57 – GH, Schleicher & Schuell Co., Keen, N. H.) มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 12.7 มิลลิเมตร แต่ในงานวิจัยนี้ ดัดแปลงใช้แผ่น paper disc ที่เป็น sterile absorbant pad ของบริษัท Millipore® ทำจากวัสดุ cellulose มีความหนาประมาณ 1 มิลลิเมตร และมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร จึงมีน้ำหนักมากกว่า ทำให้ต้องการก๊าซออกซิเจนในการยกแผ่น paper disc ให้ลอยขึ้นสู่ผิวหน้าสารละลายในปริมาณมากกว่าด้วย ดังนั้นจึงทำให้ Catalasemeter ที่มีจำหน่ายทางการค้าสามารถตรวจสอบแอคติวิตีของคะตะเลสที่เหลืออยู่ (residual catalase) หลังการให้ความร้อน เมื่อมีปริมาณต่ำกว่าที่เครื่องCatalasemeter ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองสามารถตรวจสอบได้ เมื่อทำการศึกษาแอคติวิตีของคะตะเลสจากเนื้อเยื่อไก่และเลือดไก่ที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่าคะตะเลสจากทั้งสองแหล่ง มีแอคติวิตีสูงสุดที่ช่วงอุณหภูมิ 35 ถึง 40 องศาเซลเซียส แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นกว่านั้น ก็จะเริ่มสูญเสียแอคติวิตีอย่างรวดเร็ว และคะตะเลสจากเนื้อเยื่อไก่สามารถถูกยับยั้งได้ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ทั้งเมื่อใช้เวลาในการให้ความร้อน นาน 5 นาที และ 10 นาที ซึ่ง Catalasemeter ไม่สามารถตรวจสอบแอคติวิตีได้ ดังแสดงในตารางที่ 8 แต่ทั้งนี้ในการทดลองของ Ang และ คณะ (1994) รายงานว่า สามารถตรวจสอบแอคติวิตีของคะตะเลสในเนื้ออกไก่ และ น่องไก่ได้จนถึงอุณหภูมิ 71 องศาเซลเซียส โดยใช้วิธี

sensitive catalase test ซึ่งมี sensitivity ดีกว่า Catalasemeter ส่วนคะตะเลสจากเลือดไก่ พบว่าสามารถถูกยับยั้งได้โดยใช้อุณหภูมิต่ำกว่าเนื้อเยื่อไก่ คือที่ 64 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที หรือที่ 62 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ดังแสดงในตารางที่ 9 นอกจากนี้ พบว่าคะตะเลสจากทุกแหล่งที่ศึกษาจะมีแอคติวิตีเพิ่มสูงขึ้นกว่า control ซึ่งไม่ได้ให้ภาวะใด ๆ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นจนถึงระดับหนึ่ง ก่อนที่จะเริ่มลดต่ำลงจนถูกยับยั้งไปในที่สุด เหตุที่เป็นเช่นนี้ เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิจะเป็นการช่วยเพิ่มพลังงานจลน์ที่โมเลกุลของสารปฏิกิริยา มีผลให้เกิดการจับกันของเอนไซม์กับสับสเตรทต่อหน่วยเวลาได้มากขึ้น ทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นจนถึงระดับหนึ่งที่โมเลกุลของเอนไซม์มีพลังงานมากเกินไป โครงสร้างตติยภูมิเกิดความเสียหาย ส่งผลให้เอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติ (denature) และสูญเสียแอคติวิตีไป (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2535)

ดังนั้นจากผลการศึกษาแอคติวิตีของคะตะเลสจากเนื้อเยื่อไก่ เลือดไก่ และ predominant bacteria ทั้ง 2 ชนิด ที่ pH และอุณหภูมิต่าง ๆ พบว่า pH ที่สามารถยับยั้งแอคติวิตีของคะตะเลสรบกวนจากเลือดไก่ได้อย่างสมบูรณ์ คือ pH ต่ำกว่า 2.6 แต่สำหรับคะตะเลสจากเนื้อเยื่อไก่ แม้ว่า pH จะลดต่ำลงถึง 2.0 แล้ว ก็ยังสามารถตรวจพบแอคติวิตีของคะตะเลสได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าไม่สามารถใช้ pH ต่ำยับยั้งคะตะเลสรบกวนจากเนื้อเยื่อไก่ได้ และในขณะเดียวกัน การใช้ pH ที่ต่ำมากก็ทำให้คะตะเลสจาก predominant bacteria ที่ต้องการตรวจสอบสูญเสียแอคติวิตีลงไปมากด้วย ส่วนผลของการใช้อุณหภูมิในการยับยั้งคะตะเลสรบกวนจากทั้งเนื้อเยื่อไก่และเลือดไก่ พบว่าสามารถถูกยับยั้งได้เมื่อใช้อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ขึ้นไป โดยที่อุณหภูมิดังกล่าวนี้คะตะเลสจาก predominant bacteria ไม่ได้ถูกยับยั้งไปด้วย จากผลการทดลองดังกล่าว จึงได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิร่วมกับ pH ที่มีต่อแอคติวิตีของคะตะเลสจากแหล่งต่าง ๆ เพื่อที่ว่าอาจช่วยลดภาวะของอุณหภูมิ และ pH ที่ใช้ในการยับยั้งแอคติวิตีของคะตะเลสรบกวนจากทั้ง 2 แหล่งลงได้ ซึ่งผลพบว่าเมื่อให้ภาวะอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ร่วมกับ pH 2.6 แก่คะตะเลสจากเนื้อเยื่อไก่ สามารถยับยั้งแอคติวิตีได้ และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 55 องศาเซลเซียส ก็สามารถลด pH ลงเหลือ 3.6 ดังแสดงในตารางที่ 12 ในขณะที่แอคติวิตีของคะตะเลสจากเลือดไก่ ถูกยับยั้งได้เมื่อใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสร่วมกับ pH 2.8 และเมื่อใช้อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส pH 3.8 ดังแสดงในตารางที่ 13 ดังนั้นจึงเลือกภาวะที่ใช้ยับยั้งคะตะเลสจากทั้ง 2 แหล่งได้ คือ การใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส pH 2.6 และ อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส pH 3.6 มาทดสอบว่ามีผลต่อแอคติวิตีของคะตะเลสจาก predominant bacteria อย่างไร ซึ่งผลพบว่าภาวะดังกล่าวเป็นภาวะที่รุนแรงเกินไป เพราะทำให้แอคติวิตีของคะตะเลสจาก predominant bacteria ทั้ง 2 ชนิด

สูญเสียไปมาก ดังแสดงในตารางที่ 14 และตารางที่ 15 จึงสรุปได้ว่าไม่สามารถใช้ภาวะอุณหภูมิสูง และ pH ต่ำร่วมกันเพื่อยับยั้งแอคติวิตีของคะตะเลสรบกวนได้ เนื่องจากมีผลกระทบต่อแอคติวิตีของคะตะเลสจากแบคทีเรียที่ต้องการตรวจสอบด้วย และ ถ้าจะเลือกใช้ภาวะ pH ต่ำ เพียงอย่างเดียว ก็ไม่ให้ผลยับยั้งแอคติวิตีของคะตะเลสรบกวนโดยสมบูรณ์ เนื่องจากยังคงพบแอคติวิตีของคะตะเลสจากเนื้อเยื่อไก่ได้แม้ที่ pH 2.0 ดังนั้นจึงเลือกใช้การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เพียงอย่างเดียว เนื่องจากสามารถยับยั้งแอคติวิตีของคะตะเลสรบกวนจากทั้งเนื้อเยื่อไก่ และ เลือดไก่ได้โดยสมบูรณ์ ในขณะเดียวกันก็ยังคงพบแอคติวิตีของคะตะเลสจาก predominant bacteria ทั้ง 2 ชนิด อยู่ในระดับสูง

5. การศึกษาการประมาณจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในเนื้อไก่แช่เย็น

ในการศึกษาการประมาณจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในเนื้อไก่โดยใช้ Catalasemeter ทำการทดลองโดยเลือกตัวอย่างเป็นเนื้อไก่แช่เย็น ที่มีจำหน่ายในซูเปอร์มาร์เก็ตต่าง ๆ ในกรุงเทพมหานคร เป็นชนิดเนื้อส่วนอกติดกับปีกบนและเนื้อส่วนน่อง เพื่อทดสอบว่าเครื่องมือและวิธีการสามารถใช้กับตัวอย่างต่างชนิดกันได้ผลดีเช่นกัน ผลการศึกษาพบว่าสำหรับการประมาณจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (total viable cell count) เครื่องมือมี sensitivity ต่อจำนวนเซลล์แบคทีเรียในช่วง 10^4 ถึง 10^9 โคโลนีต่อกรัม และความสัมพันธ์ระหว่าง Logarithm Colony Forming Units ต่อกรัม กับ Logarithm Flotation Time เป็นแบบเส้นตรงเช่นเดียวกันทั้งในตัวอย่างชนิดเนื้ออกไก่และเนื้อน่องไก่ โดยมีค่า r เท่ากับ – 0.98 ($p \leq 0.05$) และ –0.96 ($p \leq 0.05$) ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 12 และ รูปที่ 13 เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองของ Wang และ Fung (1986) ซึ่งใช้ Catalasemeter ที่จำหน่ายทางการค้า แต่ดัดแปลงใช้แผ่น filter membrane แทน ในการศึกษาความสัมพันธ์ของแอคติวิตีของคะตะเลสกับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในเนื้อไก่แช่เย็น พบว่าสามารถประมาณจำนวนแบคทีเรียได้ที่จำนวนเซลล์ต่ำสุดเท่ากับ 10^3 โคโลนีต่อมิลลิลิตรซึ่งน้อยกว่าที่เครื่อง Catalasemeter ที่ประดิษฐ์ขึ้นใช้ในการทดลองนี้สามารถตรวจสอบได้ อาจเป็นเพราะแผ่น filter membrane ดังกล่าว มีน้ำหนักเบากว่าแผ่น paper disc ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ จึงต้องการฟองก๊าซออกซิเจนน้อยกว่าในการยกแผ่น disc ลอยขึ้นสู่ผิวหน้าสารละลาย ในงานวิจัยของ Boismenu และคณะ (1991) ใช้ Catalasemeter ในการศึกษาคุณภาพของเนื้อปลา cod และรายงานว่าวิธีการดังกล่าวให้ความสัมพันธ์ที่ดีมากระหว่างแอคติวิตีของคะตะเลสกับระดับการเสื่อมเสียเนื่องจากแบคทีเรีย ดังนั้นจึงสามารถใช้เป็นวิธีการที่รวดเร็วในการประเมินคุณภาพของเนื้อปลา cod ได้ ชื่นจิต จันทน์วัฒนวงษ์ (2538) ใช้ Catalasemeter ที่สร้างขึ้นเองในการประมาณจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่ปนเปื้อนในกุ้งกุลาดำวัตถุดิบ พบว่าสามารถตรวจสอบแบคทีเรียทั้งหมดได้ในช่วงจำนวนเซลล์ 10^4 ถึง 10^8 โคโลนีต่อกรัม ซึ่งอยู่ในช่วงเดียวกันกับที่เครื่อง Catalasemeter ที่ประดิษฐ์ขึ้นใช้ในงานวิจัยนี้สามารถตรวจสอบได้ ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อแบคทีเรียมีจำนวนต่ำกว่า 10^4 โคโลนีต่อกรัม จะมีปริมาณคะตะเลสไม่มากพอที่จะทำให้เกิดฟองก๊าซในระดับที่สามารถยกแผ่น paper disc ให้ลอยขึ้นได้ ในขณะที่เมื่อจำนวนแบคทีเรียสูงกว่า 10^9 โคโลนีต่อกรัม ฟองก๊าซออกซิเจนจะเกิดขึ้นปริมาณมากในเวลาอันรวดเร็วจนแผ่น paper disc ไม่สามารถจมตัวลงในหลอดทดสอบได้ หรือกล่าวคือเครื่อง Catalasemeter ไม่สามารถวัดค่า FT ได้นั่นเอง

ส่วนในการประมาณจำนวนแบคทีเรีย psychrotroph ทั้งหมด (total psychrotroph count) พบว่าเครื่องมือมี sensitivity ต่อจำนวนเซลล์แบคทีเรียในช่วง 10^3 ถึง 10^8 โคโลนีต่อกรัม และความสัมพันธ์ระหว่าง Logarithm Colony Forming Units ต่อกรัม กับ Logarithm Flotation Time เป็นแบบเส้นตรงเช่นเดียวกันทั้งในตัวอย่างชนิดเนื้ออกไก่และเนื้อน่องไก่ โดยมีค่า r เท่ากับ -0.98 ($p \leq 0.05$) เท่ากัน ดังแสดงในรูปที่ 14 และรูปที่ 15 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกันแล้วจะเห็นได้ว่า Catalasemeter มี sensitivity ต่อแบคทีเรีย psychrotroph มากกว่าแบคทีเรียทั้งหมด นั่นคือ สามารถตรวจสอบแบคทีเรีย psychrotroph ได้ที่จำนวนเซลล์ต่ำกว่า คือตั้งแต่ 10^3 โคโลนีต่อกรัม สาเหตุเนื่องจากพวกเนื้อสัตว์ต่าง ๆ เป็นอาหารที่เน่าเสียได้ง่าย จึงมักเก็บรักษาในภาวะแช่เย็นและมีอากาศ จุลินทรีย์ที่เป็น predominant ของอาหารเหล่านี้คือพวก psychrotroph ซึ่งให้ผลการทดสอบคะตะเลสเป็นบวกสูง (Fung, 1994) ดังนั้นเมื่อตรวจสอบแอคติวิตีของคะตะเลสจากแบคทีเรียในตัวอย่างได้เท่ากัน จะตรวจสอบพบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดสูงกว่าจำนวนแบคทีเรีย psychrotroph เสมอ

6. การศึกษาการประมาณจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในเนื้อไก่แปรรูป

6.1 การศึกษาชนิดและปริมาณของpredominant bacteria ที่พบเป็นส่วนใหญ่ในเนื้อไก่แปรรูป

แม้ว่าจะได้ทำการศึกษาชนิดและปริมาณของ predominant bacteria ที่พบเป็นส่วนใหญ่ในเนื้อไก่ ตามการทดลองข้อ 3 แล้ว โดยพบว่าส่วนมากเป็นพวก *Pseudomonas* sp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างคะตะเลสในระดับสูง จึงให้ผลการตรวจสอบคะตะเลสอยู่ในระดับที่ดี แต่เมื่อต้องการศึกษาการประมาณจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในเนื้อไก่แปรรูป โดยตัวอย่างที่เลือกมาศึกษาคือ น่องไก่หมักซอสกระเทียมแซ่เย็น ซึ่งมีส่วนประกอบอื่น ๆ ที่หลากหลาย เช่น ซอสปรุงรส ซอสหอยนางรม และเครื่องเทศต่างๆ จากการประมาณองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์ โดยคำนวณจากสูตรผลิตภัณฑ์ จะมีองค์ประกอบโดยประมาณเป็น น้ำตาล เกลือ แป้ง และเครื่องเทศ ร้อยละ 20, 10, 5 และ 5 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีการผ่านกระบวนการผลิตหลายขั้นตอนมากกว่าเนื้อไก่ธรรมดา ที่ไม่แปรรูป ดังนั้นจึงต้องมีการตรวจสอบว่า predominant bacteria ของตัวอย่างดังกล่าวใหม่ เนื่องจากถ้าเป็นคนละชนิดกันกับเนื้อไก่ธรรมดา อาจจะทำให้ไม่สามารถใช้ภาวะที่ศึกษาไว้ตามการทดลองที่ 4 สำหรับยับยั้งคะตะเลสรบกวนจากเนื้อเยื่อไก่และเลือดไก่ได้ เพราะอาจมีผลยับยั้งคะตะเลสจาก predominant bacteria ด้วย ซึ่งผลการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้จากการสุ่มตัวอย่างโคโลนีเดี่ยวสำหรับตัวอย่างน่องไก่หมักซอสกระเทียมแซ่เย็น พบว่าเมื่อทำ Gram's stain แบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นพวก bacilli แกรมลบประมาณร้อยละ 70 อีกส่วนหนึ่งเป็นพวก bacilli แกรมบวก และ cocci แกรมบวก ซึ่งมีจำนวนมากกว่าที่พบในเนื้อไก่ธรรมดา จากนั้นจึงนำแบคทีเรียที่แยกได้ดังกล่าวมาทดสอบสมบัติทางชีวเคมีด้านต่าง ๆ ตามขั้นตอนเช่นเดียวกันกับที่อธิบายไว้ในวิจารณ์ผลการทดลองข้อ 3 ซึ่งผลการทดสอบพบว่า แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่พบคือกลุ่ม Enterobacteriaceae ร้อยละ 50 เนื่องจากให้ผลการทดสอบ oxidation – fermentation test (O - F test) เป็นแบบ fermentation และให้ผลการทดสอบ oxidase เป็นลบ ส่วนแบคทีเรียที่พบรองลงมาคือ *Pseudomonas* sp. ร้อยละ 18 เนื่องจากมี metabolism เป็นแบบ oxidation และให้ผลการทดสอบ oxidase เป็นบวก ส่วนพวกที่ติดสีแกรมบวก ซึ่งพบมีรูปร่างทั้งแบบ bacilli และ cocci พบว่าเป็น *Lactobacillus* sp. ร้อยละ 16 เนื่องจากมี metabolism เป็นแบบ fermentation ไม่พบการสร้างสปอร์ และให้ผลการทดสอบคะตะเลสเป็นลบ จากผลการศึกษาชนิดและปริมาณของ predominant bacteria ที่พบเป็น

ส่วนใหญ่ในเนื้อไก่แปรรูปดังกล่าว อาจอธิบายได้ว่าเหตุที่พบกลุ่ม Enterobacteriaceae มากที่สุดถึงร้อยละ 50 เป็นเพราะขั้นตอนการแปรรูปผลิตภัณฑ์ในกระบวนการผลิตมีการสุขาภิบาลที่ไม่ดี เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้มักพบเป็นส่วนใหญ่ในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ ดังนั้นจึงอาจปนเปื้อนมาจากคนงานที่มีสุขอนามัยไม่ดี หรือจากน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิตไม่สะอาด หรือจากวัตถุดิบที่ใช้ เช่น เครื่องเทศต่าง ๆ มีการทำความสะอาดไม่ดีพอ มีการปนเปื้อนดินหรือสิ่งอื่น ๆ (ศิวาพร ศิวเวชช, 2536) จึงพบแบคทีเรียกลุ่มนี้เจริญเป็น predominant ขึ้นมา นอกจากนี้การที่มีแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* sp. จำนวนสูงพอควร ซึ่งจะไม่พบในเนื้อไก่ธรรมดา อาจมีที่มาเช่นเดียวกับแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae หรืออาจมาจากพวกซอสชนิดต่าง ๆ ที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ ซึ่งมีองค์ประกอบเป็นพวกน้ำตาลและแป้งอยู่สูง เนื่องจากมักพบแบคทีเรียกลุ่ม *Lactobacillus* sp. นี้ ในแหล่งที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบเป็นส่วนใหญ่ (ดวงพร คันธโชติ, 2537) และเมื่อทดสอบความสามารถในการสร้างคะตะเลสของ predominant bacteria ที่ตรวจพบ ดังที่แสดงในตารางที่ 16 พบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่สร้างคะตะเลสได้ในระดับต่ำ และบางกลุ่มไม่สร้างคะตะเลส

6.2 ศึกษาการประมาณจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในเนื้อไก่แปรรูป

ตัวอย่างเนื้อไก่แปรรูปที่เลือกมาศึกษาคือ น่องไก่หมักซอสกระเทียมแช่เย็น เมื่อพิจารณาผลการตรวจสอบชนิดและปริมาณของ predominant bacteria ที่พบ รวมถึงความสามารถในการสร้างคะตะเลส ดังที่แสดงในตารางที่ 16 ซึ่งพบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่คือกลุ่ม Enterobacteriaceae สร้างคะตะเลสได้ในระดับต่ำ และอีกส่วนหนึ่ง คือ *Lactobacillus* sp. ไม่สร้างคะตะเลส ดังนั้นหากใช้วิธีตรวจสอบแอคติวิตีของคะตะเลสโดย Catalasemeter ในการประมาณจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจะให้ผลไม่ดีเท่าที่ควร เนื่องจาก sensitivity ของวิธีการจะขึ้นกับชนิดของแบคทีเรีย โดย sensitivity จะลดต่ำลงอย่างมากเมื่อมีแบคทีเรียที่ไม่สร้างคะตะเลสอยู่ด้วย (Kustyawati, 1991) ซึ่งจากการทดสอบเบื้องต้นพบว่าเครื่องมือจะสามารถตรวจสอบแอคติวิตีของคะตะเลสได้เมื่อมีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างเนื้อไก่แปรรูปที่เลือกมาศึกษาคือน่องไก่หมักซอสกระเทียมแช่เย็นจำนวนสูงกว่า 10^6 โคโลนีต่อกรัม ในขณะที่ตรวจสอบพบว่าตัวอย่างดังกล่าวมี normal contamination level ประมาณ 10^5 ถึง 10^6 โคโลนีต่อกรัม ดังนั้นเครื่องมือจะสามารถตรวจสอบแอคติวิตีของคะตะเลสได้เมื่อมีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในระดับสูงกว่าปกติเท่านั้น ซึ่งผลการทดลองมีลักษณะเดียวกันกับที่ Kustyawati (1991) ใช้การทดสอบคะตะเลสเพื่อประมาณจำนวนจุลินทรีย์ในตัวอย่างพวกโยเกิร์ตและ sauerkraut ซึ่งมี predominant bacteria ส่วนใหญ่เป็นพวก lactic acid bacteria พบว่าจะสามารถตรวจสอบได้เมื่อตัวอย่างมีจำนวนจุลินทรีย์อยู่ในระดับสูง นอกจากนี้ Lonne (1969) ใช้ Catalasemeter ในการตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียในน้ำนมดิบ และรายงานว่า ถ้าน้ำนมดิบนั้นมีแบคทีเรียชนิดที่ไม่สร้างคะตะเลสเป็นส่วนใหญ่จะทำให้การตรวจสอบผิดพลาดไปได้