

บทที่ 3

ผลการทดลอง

ตารางที่ 3.1 ผลของชนิดของน้ำต่อ pH และ ปริมาณ AvCl_2 ของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่เก็บไว้เป็นเวลา 0 และ 7 วัน

ตำรับที่	pH		AvCl_2 (ppm)	
	0 วัน	7 วัน	0 วัน	7 วัน
1	9.315	9.505	4388	4035
2	8.115	7.775	3822	1334
3	9.544	9.939	4388	4100
4	8.175	7.909	3539	1301

ผลจากตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าชนิดของน้ำที่ใช้ในการทดลองนี้ได้แก่ น้ำประปาและน้ำกลั่นไม่มีผลต่อ pH และปริมาณ AvCl_2 ของน้ำยาฆ่าเชื้อ หลังจากเตรียมไว้เป็นเวลา 0 และ 7 วัน อนึ่งคุณภาพของน้ำประปาในขณะที่ทำการทดลองได้มาตรฐานเทียบได้กับน้ำดื่ม

ตารางที่ 3.2 ผลของ KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 และ สารช่วยในตำรับต่อ pH และ ปริมาณ AvCl_2 ของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่เก็บไว้เป็นเวลา 0 และ 7 วัน

ตำรับที่	pH		AvCl_2 (ppm)	
	0 วัน	7 วัน	0 วัน	7 วัน
5	7.450	6.827	3822	943
6	7.022	6.598	3326	781
7	7.370	6.771	3964	943
8	6.961	6.599	3716	774

ผลจากตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่าการเติม KH_2PO_4 และ Na_2HPO_4 ลงในน้ำยาฆ่าเชื้อโซเดียมไฮโปคลอไรท์จะทำให้ pH และ AvCl_2 ต่ำลง และหลังจากเตรียมไว้เป็นเวลา 7 วัน pH ลดลงต่อไปจากวันแรกที่เตรียม พบว่า AvCl_2 ลดลงอย่างมาก อันเป็นผลเนื่อง

มาจาก pH ของสารละลาย KH_2PO_4 และ Na_2HPO_4 มีค่าน้อยกว่า 10 ทำให้ pH ของน้ำยาฆ่าเชื้อ มีค่าน้อยกว่า 10 ซึ่ง pH ที่ต่ำลงทำให้ AvCl_2 ลดลงด้วย

ตารางที่ 3.3 ผลของ EDTA และ สารช่วยในตำรับต่อ pH และ ปริมาณ AvCl_2 ของน้ำยาฆ่าเชื้อโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่เก็บไว้เป็นเวลา 0 และ 7 วัน

ตำรับที่	pH		AvCl_2 (ppm)	
	0 วัน	7 วัน	0 วัน	7 วัน
9	9.962	8.945	4133	3864
10	8.175	7.909	3539	1301
11	8.009	7.767	3397	1138
12	7.022	6.598	3327	781
13	6.961	6.599	3716	774

ตารางที่ 3 แสดงให้เห็นผลจากการเติม EDTA 0.05 % ลงในน้ำยาฆ่าเชื้อทำให้ pH และ AvCl_2 ต่ำลง และหลังจากเตรียมไว้เป็นเวลา 7 วัน pH และ AvCl_2 ลดลงต่อไปอย่างมาก เนื่องจาก pH ของสารละลาย EDTA มีค่าน้อยกว่า 10 ทำให้ pH ของน้ำยาฆ่าเชื้อ มีค่าน้อยกว่า 10 ซึ่ง pH ที่ต่ำจะมีผลทำให้ AvCl_2 ลดลงอย่างรวดเร็ว สำหรับการเติม EDTA ในปริมาณ 0.005 % ลงในน้ำยาฆ่าเชื้อ จะมีผลต่อ pH ของสารละลายบ้างเล็กน้อย ทำให้ค่า pH และ AvCl_2 ของสารละลาย หลังจากเตรียมไว้เป็นเวลา 7 วัน มีค่าลดลงเล็กน้อย

ตารางที่ 3.4 ผลของ Surfactant และ สารช่วยในตำรับ ที่มีต่อ pH และ ปริมาณ AvCl_2 ของน้ำยาฆ่าเชื้อโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่เก็บไว้เป็นเวลา 0 และ 7 วัน

ตำรับที่	pH		AvCl_2 (ppm)	
	0 วัน	7 วัน	0 วัน	7 วัน
14	9.691	9.933	4247	3937
15	8.009	7.767	3397	1139
16	10.247	9.893	4219	4067
17	10.230	9.454	4100	3652
18	10.348	9.511	4067	3403

ตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่าการเติม surfactant ลงในน้ำยาฆ่าเชื้อ ไม่มีผลต่อ pH และ ปริมาณ AvCl_2 ของน้ำยาฆ่าเชื้อ หลังจากเตรียมไว้เป็นเวลา 0 และ 7 วัน แต่การเติม EDTA 0.05 % มีผล

ตารางที่ 3.5 ผลของปริมาณ NaOCl และ สารช่วยในตำรับ ที่มีต่อ pH และ ปริมาณ AvCl_2 ของน้ำยาฆ่าเชื้อ หลังจากเตรียมไว้เป็นเวลา 0 และ 7 วัน

ตำรับที่	pH		AvCl_2 (ppm)	
	0 วัน	7 วัน	0 วัน	7 วัน
19	10.163	9.235	4254	3968
20	10.247	9.893	4219	4067
21	10.230	9.454	4100	3652
22	10.348	9.511	4067	3403
23	9.962	9.045	4133	3864
24	10.448	9.464	8296	8167
25	10.480	9.423	8509	8233
26	10.499	9.962	8260	8200
27	10.513	9.683	7935	7161
28	10.324	9.305	8083	7869

ตารางที่ 5 แสดงให้เห็นว่าการเติม SLS หรือ Tween 20 หรือ Tween 80 0.1 % หรือ EDTA 0.005 % ลงในน้ำยาฆ่าเชื้อ จะไม่มีผลต่อ pH และ AvCl_2 หลังจากเตรียมไว้เป็นเวลา 0 และ 7 วัน

ตารางที่ 3.6 ผลของ Surfactant ที่มีต่อค่า MIC ของเชื้อ *S. aureus*

Conc. (%NaOCl)	0.5 % Clorox®			0.5 % Clorox® + 0.1 % SLS			0.5 % Clorox® + 0.1 % Tween 80		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.004	+	+	+	+	++	++	+	+	+

ตารางที่ 6 แสดงให้เห็นว่าการไม่เติม หรือ เติม Sodium Lauryl Sulphate หรือ Tween 80 ในปริมาณ 0.1 % ลงในน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโปคลอไรท์ไม่มีผลต่อค่า MIC ของน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโปคลอไรท์ ที่มีต่อเชื้อ *S aureus* ซึ่งค่า MIC ที่ได้ คือ 0.02 %

ตารางที่ 3.7 ผลของ Surfactant ที่มีต่อค่า MIC ของเชื้อ *E. coli*

Conc. (%NaOCl)	0.5 % Clorox®			0.5 % Clorox® + 0.1 % SLS			0.5 % Clorox® + 0.1 % Tween 80		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.004	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-
0.0008	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0.00016	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

ตารางที่ 7 แสดงให้เห็นว่าการไม่เติม หรือ เติม Sodium Lauryl Sulphate 0.1 % ลงในน้ำยาฆ่าเชื้อไม่มีผลต่อค่า MIC ของน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโปคลอไรท์ต่อเชื้อ *E. coli* ซึ่งค่า MIC ที่ได้ คือ 0.02 % ของ NaOCl ขณะเดียวกันพบว่า Tween 80 จะทำให้ค่า MIC ของน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโปคลอไรท์ ที่มีต่อเชื้อ *E. coli* มีค่าลดลง เป็น 0.004 %

ตารางที่ 3.8 ผลของ Surfactant ที่มีต่อค่า MIC ของเชื้อ *Ps. aeruginosa*

Conc. (%NaOCl)	0.5 % Clorox®			0.5 % Clorox® + 0.1 % SLS			0.5 % Clorox® + 0.1 % Tween 80		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.004	-	-	+	-	-	-	-	-	-
0.0008	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0.00016	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

ตารางที่ 8 แสดงให้เห็นว่าการไม่เติม หรือ เติม Sodium Lauryl Sulphate 0.1 % ลงใน น้ำยาฆ่าเชื้อไม่มีผลต่อค่า MIC ของน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโปคลอไรต์ต่อเชื้อ *Ps. aeruginosa* ซึ่งค่า MIC ที่ได้คือ 0.004 %

ตารางที่ 3.9 ผลของ Surfactant ที่มีต่อค่า MIC ของเชื้อ *B. subtilis*

Conc. (%NaOCl)	0.5 % Clorox®			0.5 % Clorox® + 0.1 % SLS			0.5 % Clorox® + 0.1 % Tween 80		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.02	++	++	++	++	++	++	++	++	++

ตารางที่ 8 แสดงให้เห็นว่าการไม่เติม หรือ เติม Sodium Lauryl Sulphate หรือ Tween 80 0.1 % ลงในน้ำยาฆ่าเชื้อไม่มีผลต่อค่า MIC ของน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโปคลอไรต์ต่อเชื้อ *B. subtilis* ซึ่งค่า MIC ที่ได้ คือ 0.1 % ของ NaOCl

ตารางที่ 3.10 ผลของ Tween 80 ต่อค่า MIC ของน้ำยาฆ่าเชื้อโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่เก็บไว้เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, และ 4 วัน

ตำรับ ที่	Conc. (%)	หลังจากเตรียมไว้เป็นเวลา (วัน)														
		0			1			2			3			4		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
32	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.004	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+2	+2	+2	+3	+3	+3	+2	+2	+2
	0.0008	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3
33	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.004	+1	+1	+1	+3	+2	+2	+2	+2	+2	+1	+1	+2	+2	+2	+2
	0.0008	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3
34	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.004	+3	+3	+3	+2	+2	+3	+1	+1	+1	+2	+2	+2	+2	+2	+2
	0.0008	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3
35	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.0008	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3

ตารางที่ 10 แสดงค่า MIC ของน้ำยาฆ่าเชื้อที่เตรียมโดยการเติมและไม่เติม Tween 80 (ดูสูตรตำรับที่ 32, 33, 34 และ 35) แล้วเก็บไว้เป็นเวลา 4 วัน พบว่าในช่วง 3 วันแรกมีค่าไม่แตกต่างกันเมื่อความเข้มข้นของไฮโปคลอไรท์เป็น 0.5% ความเข้มข้นของไฮโปคลอไรท์สูงขึ้นเป็น 1% พบว่า เมื่อเติม tween80 0.1% มีผลให้ค่า MIC ลดลง 5 เท่า แสดงว่า tween 80 ช่วยให้อัตราการฆ่าเชื้อเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของไฮโปคลอไรท์สูง ซึ่งเป็นข้อสังเกตที่คาดว่าเกิดจากการสะสมไฮโปคลอไรท์ส่วนหนึ่งไว้ในอนุภาคของสารลดแรงตึงผิว ดังนั้นเมื่อความเข้มข้นของไฮโปคลอไรท์สูงทำให้อนุภาคไฮโปคลอไรท์อิสระมีมากพอที่จะฆ่าเชื้อ ดังนั้นในภาวะที่มีสารลดแรงตึงผิวอยู่ด้วยต้องใช้ไฮโปคลอไรท์ในปริมาณที่เพียงพอต่อการออกฤทธิ์

ตารางที่ 3.11 ผลของสารช่วยในตำรับต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของน้ำยาฆ่าเชื้อ หลังจากเตรียมไว้และใส่เชื้อทุกวันเป็นเวลา 0, 1, 2, 3, และ 4 วัน

ตำรับ ที่	หลังจากเตรียมไว้และใส่เชื้อทุกวันเป็นเวลา (วัน)														
	0 วัน			1 วัน			2 วัน			3 วัน			4 วัน		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

ตารางที่ 11 แสดงให้เห็นว่าน้ำยาฆ่าเชื้อในตำรับที่ 32, 33, 34, 35 ที่ทดสอบโดยการเติมเชื้อแบคทีเรียทุกวันเป็นเวลา 4 วัน ทดสอบแล้วยังมีประสิทธิภาพดี คือ ไม่พบเชื้อ

ตารางที่ 3.12 ผลของสารช่วยในตำรับ ที่มีต่อค่า MIC ของน้ำยาฆ่าเชื้อ หลัง
จากเตรียมไว้เป็นเวลา 0, 3, 7, และ 14 วัน

ตำรับ ที่	Conc. (%)	หลังจากเตรียมไว้เป็นเวลา (วัน)											
		0			3			7			14		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
36	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.004	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+1	+2	+2	+2
	0.0008	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2
37	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X	X
	0.004	+2	+2	+2	-	+2	+2	+1	+1	+1	X	X	X
	0.0008	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+3	+3	+3	X	X	X
38	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X	X
	0.004	+1	+1	+1	+2	+2	+2	+3	+3	+3	X	X	X
	0.0008	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+3	+3	+3	X	X	X
39	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X	X
	0.004	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+3	+3	+3	X	X	X
	0.0008	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+3	+3	+3	X	X	X
40	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.004	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+3	+3	+3
	0.0008	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+3	+3	+3	+3	+3	+3

X= ไม่ได้ทำการนับจำนวนเนื่องจากพบว่ามิเชื้อมาก

ผลจากตารางที่ 12 แสดงให้เห็นว่าค่า MIC ของน้ำยาฆ่าเชื้อที่เตรียมโดยการเติมสารช่วย (ตำรับที่ 37 - 40) เปรียบเทียบกับตำรับที่ไม่เติมสารอื่น (ตำรับที่ 36) พบว่าการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อในช่วงหลังจากเตรียมไว้เป็นเวลา 0, 3, 7 วันไม่แตกต่างกัน หลังจากเก็บไว้ 14 วันพบว่าตำรับที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว (ตำรับที่ 37-39) ใช้ไม่ได้ผล ในขณะที่ตำรับที่เติม EDTA ยังมีผลฆ่าเชื้อทำนองเดียวกันกับตำรับที่ 36 ผลที่ปรากฏทำให้คาดว่า สารลดแรงตึงผิวมีผลต่อการก่อสารประกอบเชิงซ้อนกับอนุคลไฮโปคลอไรท์ ซึ่งไม่มีผลฆ่าเชื้อ

**ตารางที่ 3.13 ผลของสารช่วยในตำรับ ที่มีต่อ ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของ
น้ำยาฆ่าเชื้อ หลังจากเตรียมไว้ และใส่เชื้อทุกวันเป็นเวลา
0, 3, 7, และ 14 วัน**

ตำรับ ที่	หลังจากเตรียมไว้ และใส่เชื้อทุกวันเป็นเวลา (วัน)											
	0			3			7			14		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
36	1	1	0	0	0	0	0	0	0	+++	+++	+++
37	0	1	0	1	6	1	+B	+B	+B	X	X	X
38	0	0	0	0	0	0	+++	+++	+++	X	X	X
39	2	0	3	0	0	0	+++	+++	+++	X	X	X
40	1	0	0	0	0	0	0	0	0	+++	+++	+++

X= ไม่ได้ทำการนับจำนวนเนื่องจากพบว่ามิเชื้อขึ้นมาก

ผลจากตารางที่ 13 แสดงให้เห็นว่าน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีการเติม SLS หรือ Tween 20 หรือ Tween 80 ในปริมาณ 0.1 % นั้นหลังจากเตรียมไว้และใส่เชื้อทุกวันเป็นเวลา 3 วัน พบว่าไม่มีเชื้อขึ้นแสดงว่าไฮโปคลอไรท์ยังมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ น้ำยาที่ไม่มีการเติมสารอื่นๆ (ตำรับที่ 36) หรือ น้ำยาฆ่าเชื้อที่มีการเติม EDTA ในปริมาณ 0.005 % (ตำรับที่ 40) นั้น หลังจากเตรียมไว้และใส่เชื้อทุกวันเป็นเวลา 7 วัน พบว่าไม่มีเชื้อขึ้นพบเชื้อเมื่อทดสอบในวันที่ 14 เป็นข้อสังเกตที่สนับสนุนข้อมูลในตารางที่ 12 อีกทางหนึ่ง แสดงให้เห็นว่าน่าจะมีการก่อสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอนุมูลไฮโปคลอไรท์กับสารลดแรงตึงผิวขึ้น และมีผลลดประสิทธิภาพของไฮโปคลอไรท์ลง

ตารางที่ 3.14 ผลของสารช่วยในตำรับต่อค่า MIC ของน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโปคลอไรท์เก็บไว้เป็นเวลา 0, 7, และ 14 วัน

ตำรับ ที่	Conc. (%)	หลังจากเตรียมไว้เป็นเวลา (วัน)								
		0 วัน			7 วัน			14 วัน		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
41	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.004	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.0008	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+3	+3	+3
42	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.004	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.0008	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+3	+3	+3
43	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.004	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+3	+3	+3
	0.0008	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+3	+3	+3
44	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.004	-	-	-	+2	+2	+2	+3	+3	+3
	0.0008	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+3	+3	+3
45	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.004	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.0008	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+3	+3	+3

ผลข้างต้นแสดงให้เห็นว่าค่า MIC ของน้ำยาฆ่าเชื้อที่เตรียมโดยตำรับที่ 41 ซึ่งไม่มีการเติมสารช่วยใดเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 0, 7 และ 14 วันมีค่าคงที่ ค่า MIC ของน้ำยาฆ่าเชื้อที่เติม SLS 0.1 % (ตำรับที่ 42) หรือ ที่เติม EDTA 0.005 % (ตำรับที่ 45) มีค่าคงที่เช่นเดียวกัน ค่า MIC ของน้ำยาฆ่าเชื้อที่เติม Tween 20 หรือ Tween 80 0.1 % มีค่า MIC เปลี่ยนแปลงไปหลังจากเก็บไว้ แสดงให้เห็นว่า non-ionic surfactants มีผลต่อประสิทธิภาพของไฮโปคลอไรท์

ตารางที่ 3.15 ผลของสารช่วยในตำรับต่อประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อหลังจากเตรียมไว้ และใส่เชื้อทุกวันเป็นเวลา 0, 7, และ 14 วัน

ตำรับ ที่	หลังจากเตรียมไว้เป็นเวลา (วัน)								
	0 วัน			7 วัน			14 วัน		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
41	0	0	0	0	0	0	+B	+B	+B
42	0	0	0	3	0	2	+++	+++	+++
43	1	0	0	2	0	0	+++	+++	+++
44	0	0	1	0	0	0	+++	+++	+++
45	0	0	0	0	0	1	+++	+++	+++

ตารางที่ 15 แสดงผลจากการทดสอบโดย challenge test เป็นเวลา 7 วัน พบว่าทั้งน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโปคลอไรท์ที่เติมและไม่เติมสารช่วยอื่นให้ผลใกล้เคียงกัน แต่เมื่อเติมเชื้อไปเป็นเวลา 14 วันพบว่าเชื้อขึ้นทุกตำรับ โดยตำรับที่ไม่มีสารอื่นพบเชื้อ *Bacillus subtilis*

ตำรับที่เหลือพบเชื้อทุกตัวแสดงว่าสารช่วยอื่น ๆ ที่เติมนั้นมีผลต่อประสิทธิภาพของไฮโปคลอไรท์