

คุณสมบัติการฆ่าเชื้อก่อโรคของน้ำออกซิไดซ์

วิดา กวานเหียน* คณฤดี ดวงสิน และ สุนิษา ฐานะภักดี

สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ สำนักวิชาสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

บทคัดย่อ

น้ำออกซิไดซ์ (electrolyzed oxidizing water: EOW) ผลิตจากเครื่องมือโดยกระบวนการแยกน้ำผ่านกระแสไฟฟ้า การศึกษานี้ใช้น้ำออกซิไดซ์มาทดสอบคุณสมบัติการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้แบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 แบคทีเรียแกรมลบ *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27853 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 700603 และยีสต์ *Candida albicans* ผลการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีพบว่า EOW มีคุณสมบัติเป็นกรดที่ pH 2.45 ± 0.08 ประสิทธิภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชัน (Oxidation Reduction Potential: ORP) มีค่าเป็นบวกสูงมากที่ค่า $1,090.50 \pm 29.26$ mV และมีคลอรีนอิสระ (available chlorine concentration: ACC) 136.5 ± 6.40 ppm ผลเหล่านี้แสดงถึงการเป็นสารออกซิไดซ์ของน้ำออกซิไดซ์ ที่สามารถฆ่าเชื้อได้ พบว่าน้ำออกซิไดซ์ฆ่ายีสต์ในเวลา 30 วินาที ฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ที่เวลา 3 นาที ซึ่งกลไกที่เป็นไปได้ของน้ำออกซิไดซ์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ คือการทำลายผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์เนื่องจากพบโปรตีนจากเชื้อจุลินทรีย์หลุดออกมาและตรวจวัดได้ อย่างไรก็ตาม คุณสมบัติการทำลายเชื้อจุลินทรีย์จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีการเติมพลาสติกมาจกคน แสดงให้เห็นว่าสารประกอบอินทรีย์ในพลาสติกมาเป็นสารรบกวนคุณสมบัติการฆ่าเชื้อของน้ำออกซิไดซ์

คำสำคัญ: น้ำออกซิไดซ์ จุลินทรีย์ก่อโรค คุณสมบัติการฆ่าเชื้อ

*ผู้รับผิดชอบบทความ

วิดา กวานเหียน

สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ สำนักวิชาสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

222 ตำบลไทยบุรี อำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช 80160

Email: wiyadakwanhian@gmail.com

The Pathogenic Inactivating Properties of Oxidizing Water

Wiyada Kwanhian* Donruedee Taungsin and Sunisa Tanapakdee

Department of Medical Technology, School of Allied Health Sciences, Walailak University

Abstract

Electrolyzed oxidizing water (EOW) is produced by instrument that provided by electrical separation procedure. The study investigated the properties of EOW to disinfect pathogenic microorganisms, including Gram positive bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 25922; Gram negative bacteria *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27853 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 700603; and clinical yeast strain *Candida albicans*. The chemical properties of EOW showed acidity pH 2.45 ± 0.08 , strongly positive of oxidation reduction potential (ORP) with $1,090.50 \pm 29.26$ mV and high available chlorine concentration (ACC) with 136.5 ± 6.40 ppm. The results indicated that EOW can inactivate microbial caused of its oxidizing properties. The EOW absolutely destroyed yeast cells in 30 seconds exposure, gram positive and gram negative bacteria in 3 minutes exposure. The possible microorganism inactivation mechanism of EOW is cell wall and cell membrane destroying. However, the efficiency was significant reduced when human plasma was added. It can be indicated that the blood organic compounds might be interfering microbial inactivation of EOW.

Keywords: Oxidizing water; Pathogenic Microorganisms; Disinfection

*Corresponding author

Wiyada Kwanhian

Department of Medical Technology, School of Allied Health Sciences, Walailak University,
222 Thaiburi, Thasala district, Nakhon si Thammarat province, Thailand, 80160

Email: wiyadakwanhian@gmail.com

บทนำ

น้ำออกซิไดซ์ (oxidizing water) ถูกพัฒนาและเริ่มใช้ครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่น เครื่องมือที่ใช้ในการผลิตจะมีกระแสไฟฟ้าทำให้เกิดกระบวนการอิเล็กโทรไลซิสของสารละลายเกลือความเข้มข้นต่ำประมาณร้อยละ 0.1 ที่มีโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ถูกละลายด้วยแผ่นเมมเบรน อีออนที่แตกตัวในระบบได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Na^+) ไฮโดรเจนไฮดรอกไซด์ (H^+) คลอไรด์ไฮดรอกไซด์ (Cl^-) และไฮดรอกไซด์ไฮดรอกไซด์ (OH^-) โดยอีออนทั้งหมดจะเคลื่อนผ่านแผ่นเมมเบรนไปที่ขั้วตรงข้ามคือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Na^+) และ ไฮโดรเจนไฮดรอกไซด์ (H^+) เคลื่อนตัวผ่านเมมเบรนไปที่แคโทด ซึ่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Na^+) จะรวมตัวกับไฮดรอกไซด์ไฮดรอกไซด์ (OH^-) ที่แตกตัวที่ขั้วแคโทดนี้กลายเป็นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ทำให้สารละลายในบริเวณนี้มีคุณสมบัติเป็นสารลดน้ำรีดิวซ์ (Electrolyzed reducing water; ERW) ส่วนคลอไรด์ไฮดรอกไซด์ (Cl^-) และไฮดรอกไซด์ไฮดรอกไซด์ (OH^-) จะเคลื่อนผ่านแผ่นเมมเบรนไปที่ขั้วแอโนด โดยจะมีการทำปฏิกิริยากันเปลี่ยนเป็นกรดไฮโปคลอริก (HOCl) และ กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ทำให้สารละลายในบริเวณนี้มีคุณสมบัติเป็นสารลดน้ำออกซิไดซ์ (Electrolyzed reducing water; EOW) จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าน้ำออกซิไดซ์มีฤทธิ์เป็นกรด pH ประมาณ 2.7 หรือต่ำกว่า มีประสิทธิภาพการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (Oxidation Reduction Potential: ORP) มากกว่า 1,000 mV มีคลอรีนอิสระตั้งแต่ 10-80 ppm^{1,2}

น้ำยาฆ่าเชื้อ (disinfectant) ใช้เรียกสารเคมีที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ ทำให้ปลอดเชื้อหรือทำลายเชื้อ ใช้กับสิ่งไม่มีชีวิตเช่น เครื่องมือและสถานที่ เป็นต้น สารเคมีเหล่านี้จะทำให้เกิดอันตรายต่อผิวหนังและเยื่อเมือกของร่างกายโดยตรง การแบ่งชนิดของน้ำยาฆ่าเชื้อสามารถแบ่งได้หลายวิธี โดยวิธีหนึ่งที่นิยมคือการแบ่งตามคุณสมบัติทางเคมี โดยเฉพาะโครงสร้างทางเคมี สารประเภทที่นิยมนำมาเป็นน้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้กับเครื่องมือและพื้นผิวต่างๆชนิดหนึ่งคือ สารประกอบคลอรีน (chlorine containing compounds) สารที่เป็นที่นิยมใช้เป็นมาตรฐานทั่วไปคือ โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (NaOCl) ออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจากการละลายน้ำแล้วให้กรดไฮโปคลอรัส (hypochlorous acid: -HOCl) เข้าทำปฏิกิริยากับโปรตีนภายในเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ หรืออาจเกิดการออกซิไดซ์ (oxidize) โซเดียมไฮโปคลอไรด์มีราคาถูก ฆ่าเชื้อได้ดีโดยขึ้นกับความเข้มข้นที่ใช้ ที่ความเข้มข้น 0.5-1 % สามารถทำลายไวรัสตับอักเสบ^{3,4} และไวรัสเอชไอวีได้ นอกจากนี้ความเข้มข้น 0.5% ที่เรียกว่า Dakin's solution สามารถใช้เป็นสารฆ่าเชื้อ (antiseptic solution) ใช้ล้างแผลสกปรกเพื่อละลายและดับกลิ่นเนื้อเยื่อที่ตายแล้ว อย่างไรก็ตาม NaOCl มีข้อเสียหลายประการ ได้แก่ เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีความคงตัวต่ำ ต้องเตรียมผสมน้ำยาใหม่ทุกวัน ระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อและผิวหนัง กลิ่นฉุน มีฤทธิ์กัดกร่อนโลหะ นอกจากนี้ประสิทธิภาพจะลดลงเมื่อสัมผัสกับอินทรีย์วัตถุ ดังนั้นจึงมีข้อเสนอแนะว่าก่อนจะทำการฆ่าเชื้อด้วย Dakin's solution ควรทำความสะอาดเครื่องมือก่อนนำมาฆ่าเชื้อ^{6,7}

จากที่กล่าวมาแสดงให้เห็นว่าถ้าต้องการศึกษาประสิทธิภาพการทำลายจุลินทรีย์ของน้ำออกซิไดซ์ ต้องศึกษาคุณสมบัติที่สำคัญที่ทำให้สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ ได้แก่ ปริมาณคลอรีนอิสระ (ACC) การเป็นสารออกซิไดซ์ที่วัดได้จากค่าประสิทธิภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชัน (ORP) คุณสมบัติเหล่านี้ทำให้น้ำออกซิไดซ์สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งจะสามารถจัดให้น้ำออกซิไดซ์เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อ disinfectant ได้

โรงพยาบาลและห้องปฏิบัติการทางแพทย์เป็นแหล่งของการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ก่อโรค กระบวนการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในโรงพยาบาลและห้องปฏิบัติการทางแพทย์ เป็นขั้นตอนที่จำเป็นในการควบคุมโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล (hospital acquire infection) โดยการควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาลที่ล้มเหลวจะเป็นสาเหตุของการเกิดการแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล ซึ่งส่งผลให้เกิดผลเสียหลายประการ เช่น ระยะเวลาพักรักษาตัวในโรงพยาบาลยาวนานมากขึ้น ใช้จ่ายเงินมากขึ้น อัตราการตายเพิ่มขึ้น การฆ่าเชื้อในโรงพยาบาลทำได้โดยการใช้น้ำยาฆ่าเชื้อกลุ่ม disinfectant เช็ดพื้นผิวต่างๆ ที่คนไข้และบุคลากรทางการแพทย์ต้องสัมผัส เช่น พื้นผิวโต๊ะปฏิบัติการ และอุปกรณ์ทางการแพทย์ต่างๆ เป็นต้น สำหรับการทำลายจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ทำได้โดยการแช่วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้แล้วในน้ำยาฆ่าเชื้อ และนำน้ำยาฆ่าเชื้อมาเช็ดทำความสะอาดพื้นผิวโต๊ะปฏิบัติการ คุณสมบัติการทำลายเชื้อของสารฆ่าเชื้อขึ้นอยู่กับ

กับหลายปัจจัย เช่น ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ ความสามารถในการเป็นสารออกซิไดซ์ และ การมีสารประกอบคลอรีน เป็นต้น ดังนั้นถ้าต้องการนำน้ำออกซิไดซ์มาใช้เป็นสารฆ่าเชื้อในห้องปฏิบัติการและควบคุมโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลจึงต้องทำการศึกษาค้นคว้าคุณสมบัติเหล่านี้ รวมถึงศึกษาประสิทธิภาพของการฆ่าเชื้อในสภาวะที่มีสารรบกวน เพื่อจะได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และโรงพยาบาลได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย

น้ำออกซิไดซ์

ละลาย เกลือโซเดียมคลอไรด์ 2 กรัม ในน้ำกลั่น pH 7.0 ปริมาตร 2 ลิตร (0.1% w/v NaCl) นำเข้าผลิตน้ำออกซิไดซ์ในเครื่องทำน้ำออกซิไดซ์ ยี่ห้อ Labosci รุ่น 7.5.114 (Shibata, Japan) โดยผ่านกระแสไฟฟ้า 5 นาที่ เก็บน้ำจากฝั่งเมมเบรนที่แยกน้ำส่วนกรด (acid ionizing water) ในการศึกษาเรียกว่า “น้ำออกซิไดซ์” โดยใช้ทันทีหรือเก็บในภาชนะปิดสนิทที่อุณหภูมิห้อง

การวัดคุณสมบัติทางเคมีของน้ำออกซิไดซ์

วัดค่า pH และ ประสิทธิภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชัน (oxidation reduction potential; ORP) (เครื่อง Sension⁺ MM10 HACH Company, USA) ตรวจวัดปริมาณคลอรีนอิสระ (available chlorine concentration: ACC) ด้วยวิธีไดเตรทติฟิเคชัน โดย สารดีพีดี (N,N-diethyl-p-phenylenediamine, DPD) ทำหน้าที่เป็นอินดิเค

เตอร์⁸ การตรวจวัดคุณสมบัติทำการทดสอบ 3 ครั้งแบบเป็นอิสระต่อกัน เพื่อหาค่าเฉลี่ย นอกจากนี้ยังวัดคุณสมบัติดังกล่าวของสารควบคุมผลลบคือน้ำกลั่น และสารฆ่าเชื้อมาตรฐานโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaOCl) เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบคุณสมบัติกับน้ำออกซิไดซ์

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ

เชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน แบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* ATCC 25922 แบคทีเรียแกรมลบ *K. pneumonia* ATCC 27853 และ *P. aeruginosa* ATCC 700603 ส่วนยีสต์ *C. albicans* เป็นสายพันธุ์ที่แยกได้จากตัวอย่างทางคลินิกจากโรงพยาบาลมหาราช นครศรีธรรมราช นำเชื้อแบคทีเรียมาเพาะบนอาหาร nutrient agar (Difco) ส่วนยีสต์เพาะเชื้อบน sabouraud dextrose agar (Difco) จุลินทรีย์ทั้งหมดถูกนำมาเชื่อมด้วยสไลด์แกรม ทดสอบการเจริญในอาหารและคุณสมบัติชีวเคมี เพื่อยืนยันชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ตามมาตรฐานการเพาะเชื้อและวินิจฉัยเชื้อ⁹

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์เพื่อการทดสอบทำโดยนำเชื้อแบคทีเรียและยีสต์เพาะเลี้ยงเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy broth (TSB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำเชื้อในหลอดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1,500g เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นล้างด้วย normal saline solution (NSS) 2 ครั้ง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 nm ปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0.15 ด้วย NSS ซึ่งจะมีปริมาณจุลินทรีย์ประมาณ 10^8 CFU/mL นำสารละลาย

เชื้อจุลินทรีย์ไปใช้ในการทดสอบคุณสมบัติการฆ่าเชื้อของน้ำออกซิไดซ์ ซึ่งจะทำให้การทดสอบควบคู่กับสารควบคุมผลบวกและลบ

การทดสอบฤทธิ์การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำออกซิไดซ์

น้ำออกซิไดซ์ 5 mL ผสมกับเชื้อจุลินทรีย์ 5 mL ทดสอบที่เวลา 30 วินาที 1 นาที 3 นาที 5 นาที และ 10 นาที ตามลำดับ เมื่อครบเวลาเติม 0.5% sodium thiosulphate 5 mL เพื่อหยุดปฏิกิริยา ตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้นนับจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตด้วยวิธี spread plate คำนวณเชื้อจุลินทรีย์รอดชีวิตในหน่วย colony forming unit/mL (CFU/mL)

การวัด Intracellular protein leaking ด้วย วิธี dye-binding (Bradford)

น้ำออกซิไดซ์ 5 mL ผสมกับเชื้อจุลินทรีย์ 5 mL ทดสอบที่เวลา 30 วินาที 1 นาที 3 นาที 5 นาที และ 10 นาที ตามลำดับ ครบเวลาแล้วเติม 0.5% sodium thiosulphate 5 mL เพื่อหยุดปฏิกิริยา ตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้อง 5 นาที วัดโปรตีนที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากเซลล์จุลินทรีย์ที่แตกสลายจากการทำลายของสารฆ่าเชื้อ ทำการวัดโปรตีนดังกล่าวด้วยวิธี dye-binding (Bradford) ซึ่งจะวัดสีที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่าง coomassie dye กับโปรตีน วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm ความเข้มข้นของโปรตีนเทียบจากกราฟมาตรฐานโปรตีน bovine serum albumin (BSA)¹⁰

การทดสอบผลของสารประกอบอินทรีย์ใน พลาสมาต่อฤทธิ์การฆ่าเชื้อของน้ำออกซิไดซ์

นำเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ 6 mL ผสมกับพลาสมาแช่แข็ง (fresh frozen plasma; FFP) ที่ละลายแล้ว ปริมาตร 2 mL เติมน้ำออกซิไดซ์ 5 mL บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที เมื่อครบเวลาแล้ว เติม 0.5% sodium thiosulfate 5 mL เพื่อหยุดปฏิกิริยา ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที หลังจากนั้นนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่รอดชีวิตด้วยวิธี Spread-plate คำนวณเชื้อจุลินทรีย์รอดชีวิตในหน่วย CFU/mL

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการศึกษาจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต และคุณสมบัติทางเคมีของน้ำออกซิไดซ์ pH ORP และ ACC แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย (mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation; SD) คำนวณจากการทำการทดลอง 3 ซ้ำแบบอิสระต่อกัน ความแตกต่างระหว่างกลุ่มเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้สถิติ independent student t-test (2-tailed) โดยค่า $p < 0.05$ บ่งบอกความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ผลการวิจัย

คุณสมบัติทางเคมีและความคงตัวของน้ำออกซิไดซ์

น้ำออกซิไดซ์มีคุณสมบัติเป็นกรดสูงจากค่า pH 2.45 ± 0.08 ซึ่งแตกต่างจากโซเดียมไฮโป

คลอไรต์ที่มีความเป็นด่างสูงมีค่า pH 11.4 ± 0.0 ส่วนน้ำกลั่นมีความเป็นกลาง pH 7.4 ± 0.1 เมื่อวัดค่า ORP พบว่า น้ำออกซิไดซ์เป็นสารออกซิไดซ์สูงมากจากค่า ORP $1,090.50 \pm 29.26$ mV เมื่อเปรียบเทียบกับโซเดียมไฮโปคลอไรต์และน้ำกลั่นที่มีค่า ORP 427 ± 14.1 และ 235.5 ± 5.0 mV ตามลำดับ และเมื่อวัดค่าคลอรีนอิสระพบ ACC 136.5 ± 6.40 ppm ซึ่งต่ำกว่า ACC ของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่มีค่า 600 ± 0.0 ppm ส่วนน้ำกลั่นไม่พบคลอรีนอิสระละลายอยู่ ข้อมูลแสดงในตารางที่ 1

เมื่อเทียบค่าการเปลี่ยนแปลงเปลี่ยนแปลงของ pH และ ORP ในแต่ละวันของการเก็บรักษาเทียบกับแรก พบว่า pH ในวันที่ 4 และ 5 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับวันแรกของการผลิต ในขณะที่ ORP แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทุกวัน เมื่อเทียบกับวันแรกของการเตรียมทุกวัน ยกเว้นวันที่ 7 อย่างไรก็ตาม ความคงตัวของน้ำออกซิไดซ์ที่เก็บที่อุณหภูมิห้องในภาชนะปิดสนิท วัดค่า pH และ ORP ต่อเนื่อง 7 วัน พบว่า pH น้ำออกซิไดซ์ยังคงความเป็นกรดมีการเปลี่ยนแปลงตั้งแต่ 2.32 ถึง 2.40 และค่า ORP เปลี่ยนแปลงตั้งแต่ +1080 ถึง +1111 ทั้งสองค่ามีการเปลี่ยนแปลงต่ำโดยพิจารณาจากการมีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (% CV) ที่เท่ากับ 1.42 และ 0.93 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางเคมีของน้ำออกซิไดซ์ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ และน้ำกลั่น

สารทดสอบ	pH	ORP (mV)	ACC (ppm)
EOW	2.45±0.08	1,090.50±29.26	136.5±6.40
NaOCl	11.40±0.00	427.00±14.10	600.00±0.00
DW	7.40±0.10	235.50±5.00	0.00±0.00

ORP; oxidation reduction potential, mV; millivolt, ACC; available chlorine concentration, ppm; part per million

ตารางที่ 2 การทดสอบความคงตัวของคุณสมบัติทางเคมี pH และ ORP ของน้ำออกซิไดซ์ตั้งแต่วันที่ 1 ถึง 7 หลังการผลิต

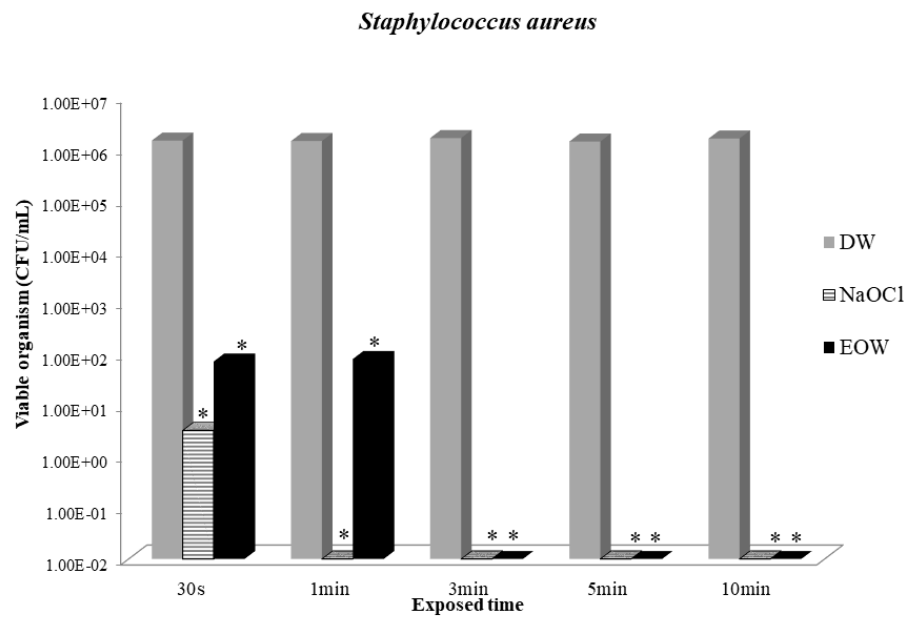
Day	pH	ORP (mV)
1	2.34±0.01 ^a	1080±1.53 ^a
2	2.36±0.01 ^a	1101±1.00 ^b
3	2.36±0.01 ^a	1092±1.00 ^b
4	2.40±0.01 ^b	1097±1.53 ^b
5	2.40±0.01 ^b	1101±1.00 ^b
6	2.32±0.01 ^a	1089±1.00 ^b
7	2.33±0.01 ^a	1111±1.15 ^a
mean	2.36	1096
SD	0.03	10.14
%CV	1.42	0.93

ORP; oxidation reduction potential, mV; millivolt, %CV; percent coefficient of variation, a, b; ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าการตรวจวัด day 1

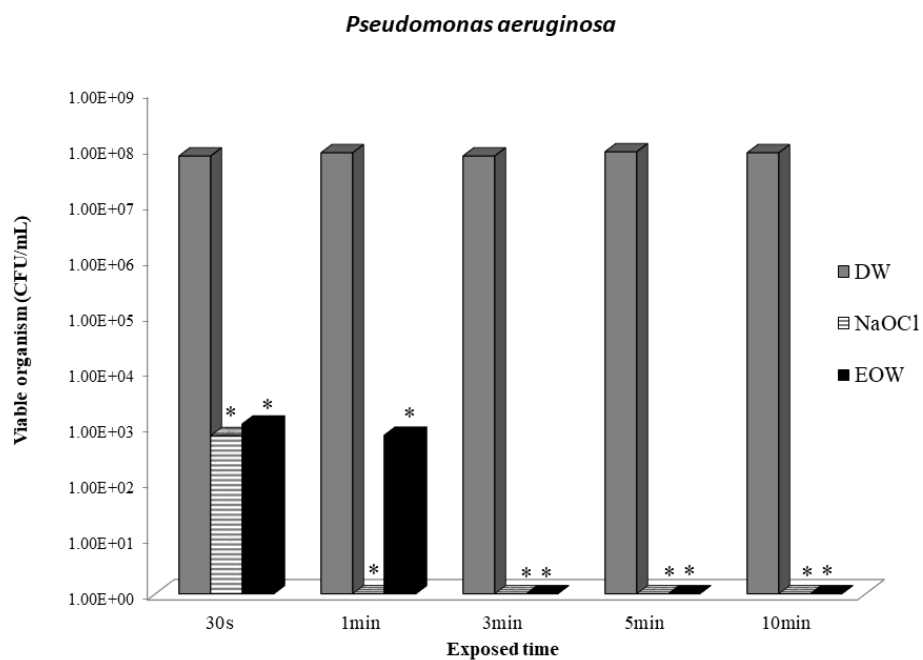
ฤทธิ์การฆ่าจุลินทรีย์ก่อโรคของน้ำออกซิไดซ์

น้ำออกซิไดซ์ และ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวก *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 แบคทีเรียแกรมลบ *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27853 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 700603 และยีสต์ *Candida albicans* โดยพบว่าจำนวนเชื้อรอดชีวิตรอดลงอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่วันที่ 30 วินาทีแรกของการสัมผัสเชื้อเมื่อเปรียบเทียบกับ

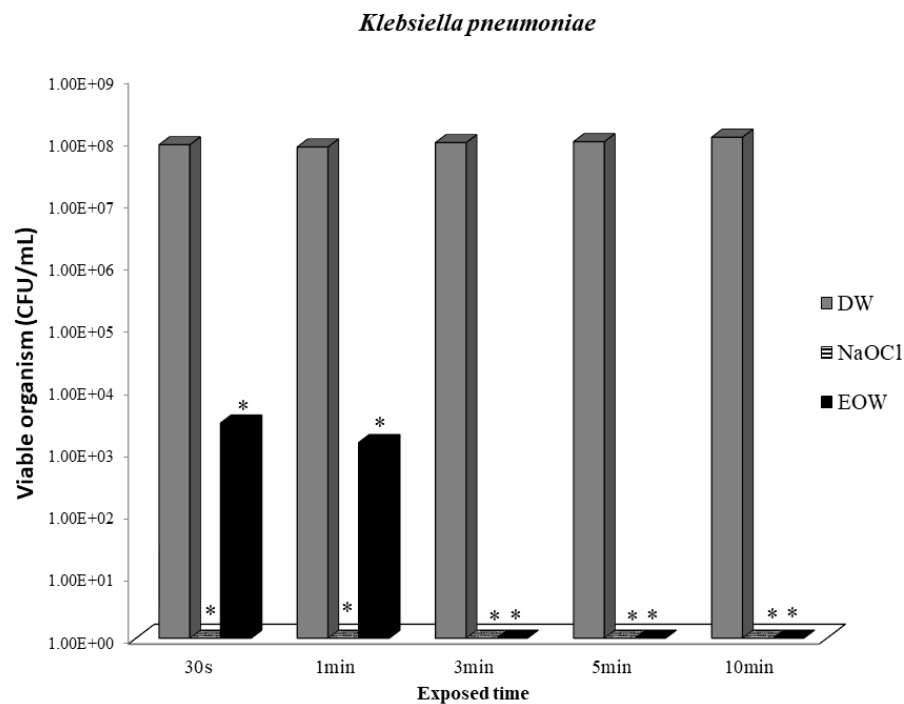
น้ำกลั่น ($p \text{ value} < 0.05$) ผลการศึกษาแสดงในรูปที่ 1 ถึง 4



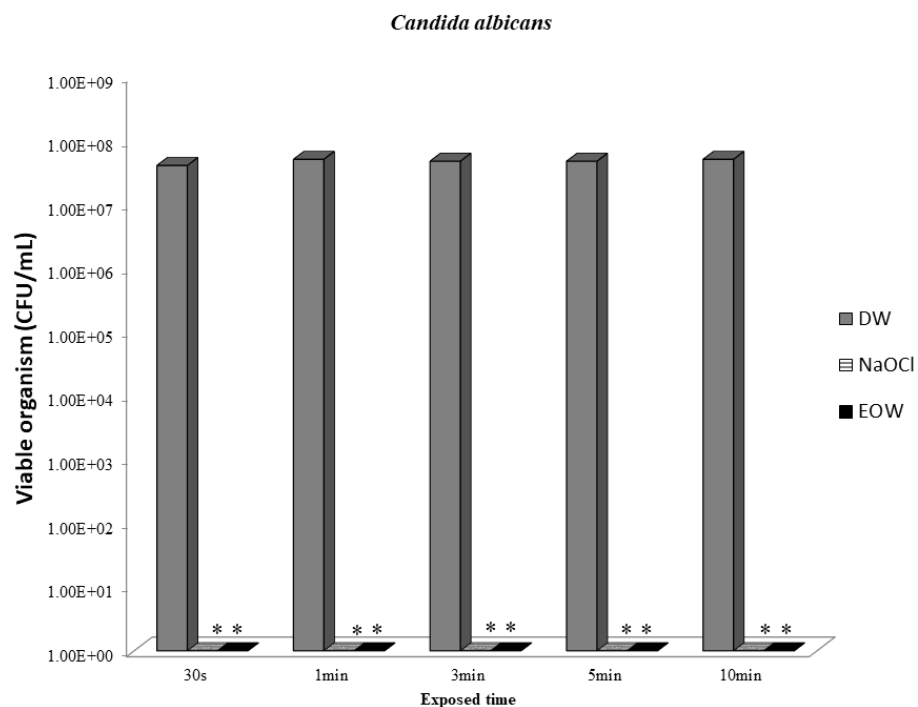
รูปที่ 1 ภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* ของน้ำออกซิไดซ์ โซเดียมไฮโปคลอไรด์ และน้ำกลั่น (* $p < 0.05$ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)



รูปที่ 2 ภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *Pseudomonas aeruginosa* ของน้ำออกซิไดซ์ โซเดียมไฮโปคลอไรด์ และน้ำกลั่น ที่เวลาต่างๆ (* $p < 0.05$ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)



รูปที่ 3 ภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *Klebsiella pneumoniae* ของน้ำออกซิไดซ์ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ และน้ำกลั่น ที่เวลาต่างๆ (* $p < 0.05$ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)



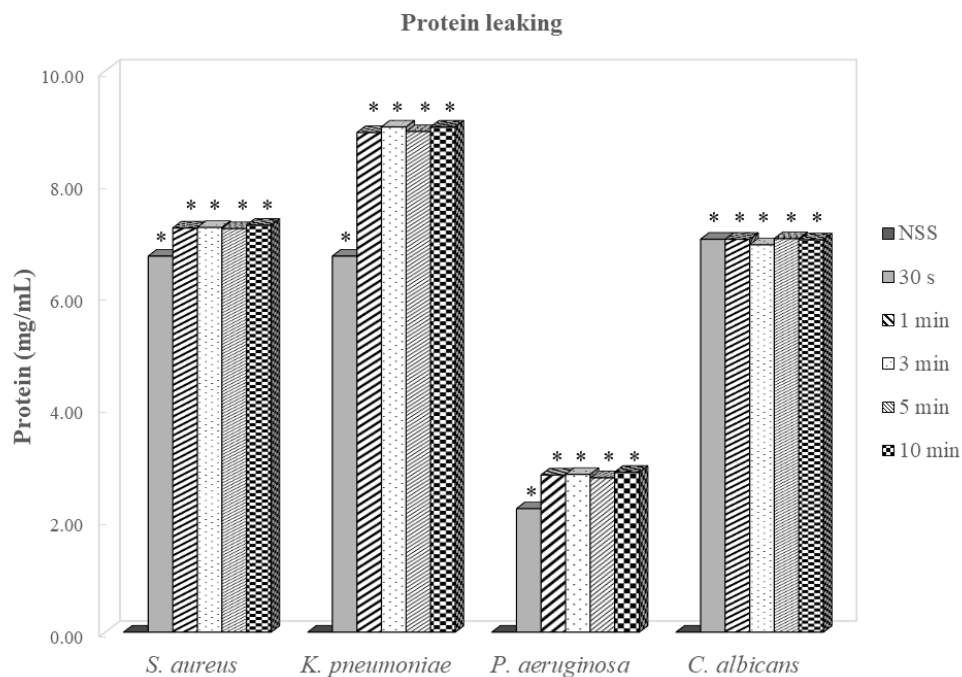
รูปที่ 4 ภาพการฆ่ายีสต์ *Candida albicans* ของน้ำออกซิไดซ์ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ และน้ำกลั่น ที่เวลาต่างๆ (* $p < 0.05$ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

วัดโปรตีนจากเซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกทำลาย และ ปลดปล่อยออกมาสู่สารละลาย

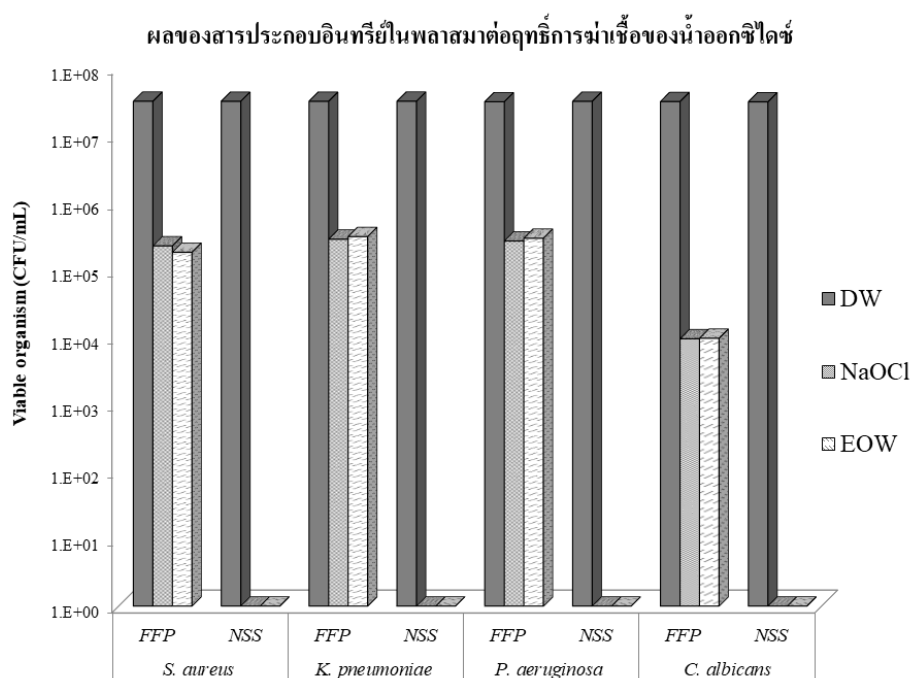
การวัด Intracellular protein leaking เป็น การวัดค่าโปรตีนที่รั่วออกมาจากภายในเซลล์ จุลินทรีย์ พบว่า หลังจากน้ำออกซิไดซ์สัมผัส เชื้อจุลินทรีย์ที่ระยะเวลาต่างๆ จะมีการรั่วไหล ของโปรตีนจากภายในเซลล์แบคทีเรียตั้งแต่เวลา ที่ 30 วินาที และพบมากขึ้นในนาที่ที่ 1 หลังการ สัมผัสเชื้อ และความเข้มข้นของโปรตีนค่อนข้าง คงตัวในเวลาถัดๆ ไปที่ 3 นาที 5 นาที และ 10 นาที แสดงผลในรูปที่ 5

ผลของสารประกอบอินทรีย์ในพลาสติกต่อฤทธิ์ การฆ่าเชื้อของน้ำออกซิไดซ์

ทดสอบผลของสารประกอบอินทรีย์ใน พลาสติกต่อฤทธิ์การฆ่าเชื้อของน้ำออกซิไดซ์ โดยเติมพลาสติกลงไปเพื่อรบกวนประสิทธิภาพ การฆ่าเชื้อ ผลการศึกษาพบว่า ที่เวลา 10 นาที ของการสัมผัสเชื้อพบว่าน้ำออกซิไดซ์ และ โซเดียมไฮโปคลอไรต์สามารถฆ่าแบคทีเรียและ ยีสต์ที่นำมาทดสอบได้ทั้งหมด แต่ในขณะที่ เวลา 10 นาที ของการสัมผัสเชื้อในสภาวะการ ทดสอบที่เติมพลาสติกลงไป พบว่าทั้งน้ำ ออกซิไดซ์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ผสมกับ พลาสติก ไม่สามารถทำลายเชื้อได้หมด แสดงให้ เห็นว่าสารประกอบอินทรีย์ในพลาสติกมีผล ขยับยั้งการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ แต่อย่างไรก็ตาม จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตยังคงลดลงอย่างมี นัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับหลอดน้ำกลั่นที่เป็น สารควบคุมผลลบ แสดงผลในรูปที่ 6



รูปที่ 5 ปริมาณโปรตีนที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากเซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกทำลายด้วยน้ำออกซิไดซ์ ที่เวลาต่างๆ เปรียบเทียบกับเมื่อน้ำเกลือ NSS (* $p < 0.05$ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)



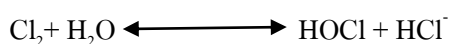
รูปที่ 6 ผลของสารประกอบอินทรีย์ในพลาสติกต่อการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำออกซิไดซ์ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaOCl) และน้ำกลั่น (DW) ทดสอบโดยการเติมพลาสติก (FFP) และน้ำเกลือ (NSS)

วิจารณ์ผลการศึกษา

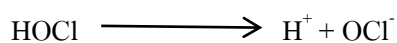
ในปัจจุบันมีการผลิตน้ำออกซิไดซ์เป็นสารฆ่าเชื้ออีกทางเลือกหนึ่ง มีคุณสมบัติเป็นสารฆ่าเชื้อที่ไม่มีสารพิษ มีความเสถียร สามารถเก็บได้นาน ราคาไม่แพง สามารถฆ่าเชื้อได้ในระยะเวลาสั้นๆ และมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้งาน¹¹ แต่ประสิทธิภาพของน้ำออกซิไดซ์ ในการยับยั้งเชื้อ จะลดลงเมื่อสัมผัสกับสารประกอบอินทรีย์¹² ซึ่งได้มีการศึกษาฤทธิ์การฆ่าเชื้อของน้ำออกซิไดซ์ กับแบคทีเรียทั้งในเชื้อก่อโรคและไม่ก่อโรคว่างขวางในภาคการเกษตรและอุตสาหกรรมอาหารพบว่า น้ำออกซิไดซ์สามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* O157:H7 *S. enteritis* และ *L. monocytogenes* *S. aureus* และ *Salmonella* spp.¹¹ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อไวรัสได้แก่เชื้อเอชไอวี ได้อีกด้วย¹³

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้น้ำออกซิไดซ์ที่ทำการผลิตจากเครื่องผลิตยี่ห้อ LaboSci (Hario Science Co. Ltd, Tokyo, Japan) เพื่อทดสอบฤทธิ์การฆ่าจุลินทรีย์ที่เป็นตัวแทนของจุลินทรีย์ก่อโรคทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ได้แก่ *S. aureus* ATCC25922 *P. aeruginosa* ATCC 700603 *K. pneumoniae* ATCC 27853 และยีสต์ที่แยกได้จากตัวอย่างตรวจทางคลินิกคือ *C. albicans* เปรียบเทียบกับสารฆ่าเชื้อมาตรฐานที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการคือ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaOCl) ซึ่งเป็นสารฆ่าเชื้อชนิด disinfectant ใช้สำหรับฆ่าเชื้อบนเครื่องมือเครื่องใช้อุปกรณ์ทางการแพทย์และพื้นผิวห้องปฏิบัติการ พบว่าน้ำออกซิไดซ์มีค่า ORP สูงกว่าโซเดียมไฮโปคลอไรต์ มากกว่า 2 เท่า ค่า ORP ที่สูงมากนี้ มีผลต่อการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอน หรือค่ารีดอกซ์ของ

เซลล์ ครอบคลุมการขนส่งของน้ำและสารอาหาร การแลกเปลี่ยนประจุระหว่างภายในและภายนอกเซลล์ และสารละลายต่างๆที่มีอยู่ในเซลล์แบคทีเรีย นอกจากนี้ยังมีผลต่อการออกซิไดซ์สารประกอบซัลไฟด์ในชั้นเยื่อหุ้มเซลล์และกลไกของเมตาบอลิซึมต่างๆของเชื้อแบคทีเรีย มีผลต่อการยับยั้งการเจริญและการดำรงชีวิตของเซลล์แบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถทำงานอย่างปกติได้ เซลล์แบคทีเรียจึงสูญเสียการทำงานและตายในที่สุด¹⁴ ส่วนค่า ACC ในโซเดียมไฮโปคลอไรต์มีค่าสูงกว่าน้ำออกซิไดซ์มากกว่า 4 เท่า โดยประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อโรคของสารประกอบคลอรีนขึ้นอยู่กับรูปแบบทางเคมีซึ่งจะสามารถเปลี่ยนรูปได้ตามสภาวะต่างๆที่เปลี่ยนไป เช่น pH อุณหภูมิ ปริมาณสารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำ และคุณภาพน้ำในด้านอื่นๆ ก๊าซคลอรีนเมื่อละลายน้ำจะถูกไฮโดรไลซ์เป็นกรดไฮโปคลอรัส (HOCl) และกรดไฮโดรคลอริก ดังสมการ



ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว และกรดไฮโปคลอรัสจะแตกตัวต่อเป็นไฮโปคลอไรต์อออน (OCI-) ดังสมการ



ปริมาณของกรดไฮโปคลอรัสและไฮโปคลอไรต์อออนจะแปรเปลี่ยนตาม pH โดยพบว่าที่ค่า pH ของน้ำต่ำกว่า 1 คลอรีนอิสระคงเหลือ จะอยู่ในรูปของคลอรีนก๊าซ (Cl_2) ทั้งหมด ที่ค่า pH 1.0-3.5 คลอรีนอิสระจะอยู่ในรูปของก๊าซ และ HOCl ที่ค่า pH อยู่ระหว่าง 3.5 - 5.5 คลอรีนอิสระจะอยู่ในรูป HOCl ทั้งหมดที่ค่า pH อยู่ระหว่าง 5.5 - 9 คลอรีนอิสระจะอยู่ในรูป HOCl

และ OCI^- ที่ค่า pH ของน้ำมากกว่า 9 คลอรีนอิสระจะอยู่ในรูป OCI^- ทั้งหมด ทั้งนี้คลอรีนอิสระในรูป HOCl มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อโรคมากกว่าคลอรีนในรูป OCI^- ถึง 80-200 เท่า^{15,16} ดังนั้นสมบัติทางเคมีคือค่า pH ORP และ ACC ล้วนแต่เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการฤทธิ์การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสิ้นและเมื่อทำการวัดค่า pH และ ORP ของน้ำออกซิไดซ์ต่อเนื่องกันเป็นเวลา 7 วัน พบว่าค่า pH และ ORP มีการเปลี่ยนแปลงค่าเมื่อเก็บน้ำออกซิไดซ์ไว้ในภาชนะปิดซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rahman และคณะ ที่ว่าการเก็บน้ำออกซิไดซ์ไว้ในภาชนะปิดจะทำให้คุณสมบัติทางเคมีของน้ำมีความเสถียรมากกว่าการเก็บไว้ในภาชนะแบบเปิด ทำให้น้ำออกซิไดซ์มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *L. monocytogenes* ได้ 6 วัน หลังจากการเก็บในภาชนะเปิด และ 14 วัน หลังจากการเก็บในภาชนะปิด¹⁷

ปริมาณคลอรีนอิสระ ACC แสดงถึงคุณสมบัติการฆ่าเชื้อของน้ำยาฆ่าเชื้อ พบว่าในโซเดียมไฮโปคลอไรต์มีค่าสูงกว่าน้ำออกซิไดซ์มากกว่า 4 เท่า แสดงถึงกลไกการฆ่าเชื้อหลักของโซเดียมไฮโปคลอไรต์เกิดการกลไกของการมีคลอรีนในสารฆ่าเชื้อชนิดนี้ อย่างไรก็ตามการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนนั้นพบว่าเป็นกลไกกระตุ้นการเกิดเชื้อดื้อยา ซึ่งพบเชื้อดื้อยาเกิดขึ้นในน้ำที่ฆ่าเชื้อด้วยสารคลอรีน¹⁸ พบเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาลและบ่อน้ำทิ้งของโรงพยาบาล¹⁹ โดยกลไกของ chlorine-induced antibiotic resistance ในแบคทีเรียนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด แต่คาดว่าจะเป็นสาเหตุจากกระตุ้นให้แสดงออกของยีน multidrug efflux pump ซึ่งจะช่วยสารนำสาร

ฆ่าเชื้อออกนอกเซลล์ได้มากขึ้นทำให้เกิดการสื่อสารฆ่าเชื้อ รวมถึงการคือยาปฏิชีวนะหลายชนิดของแบคทีเรีย คลอรีน¹⁸

จากการศึกษาฤทธิ์ของน้ำออกซิไดซ์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจำนวน 3 ชนิดและยีสต์ที่แยกได้จากตัวอย่างตรวจทางคลินิก พบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารควบคุมผลลบคือน้ำกลั่น จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p value < 0.05) โดยสารที่สามารถออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุดคือโซเดียมไฮโปคลอไรต์ รองลงมาคือน้ำออกซิไดซ์ ซึ่งเมื่อคุณสมบัติทางเคมีของสารดังกล่าวข้างต้นจะเห็นว่าแม้ว่าโซเดียมไฮโปคลอไรต์จะมีคลอรีนสูงถึง 600 ppm ซึ่งสูงกว่าในน้ำออกซิไดซ์ที่มีค่าคลอรีนเพียง 136.5 ± 6.4 ppm แต่ทั้งนี้ฤทธิ์การฆ่าเชื้อของคลอรีนยังต้องขึ้นอยู่กับค่า pH ของสารนั้นด้วย นอกจากนี้แล้วการที่น้ำออกซิไดซ์มีค่า ORP $1,090.50 \pm 29.26$ mV ซึ่งเป็นค่าที่สูงจึงเป็นอีกปัจจัยในการส่งเสริมทำให้ออกซิไดซ์มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างเท่าเทียมกับโซเดียมไฮโปคลอไรต์และเมื่อดูฤทธิ์การฆ่าเชื้อที่เวลาต่างๆ คือ 30 วินาที 1 นาที 3 นาที 5 นาที และ 10 นาที พบว่าน้ำออกซิไดซ์สามารถออกฤทธิ์การฆ่าเชื้อ *S. aureus* ATCC 25922 และ *C. albicans* ได้หมดตั้งแต่ที่เวลาสัมผัสเชื้อ 30 วินาที แต่สามารถออกฤทธิ์การฆ่าเชื้อ *K. pneumoniae* ATCC 27853 และ *P. aeruginosa* ATCC 700603 ได้หมดตั้งแต่เวลาที่สัมผัสเชื้อ 3 นาที จากการศึกษาของชนัญชิตา สิงคมณีและคณะ พบว่าเวลาที่เหมาะสมที่จะใช้ฆ่าเชื้อรา *Penicillium*

digitatum ได้ดีที่สุดที่เวลา 8 นาที²⁰ ดังนั้นน้ำออกซิไดซ์จึงออกฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียแกรมบวกและยีสต์ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งอาจเกิดจากเชื้อแบคทีเรียแกรมลบมีโครงสร้างเซลล์ที่ซับซ้อนกว่า ทำให้สารออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อของน้ำออกซิไดซ์ไม่สามารถผ่านชั้นเยื่อหุ้มเซลล์ไปทำลายเชื้อได้ในเวลาที่รวดเร็ว เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ พบว่าแบคทีเรียแกรมบวกมีเพปติโดไกลแคน (peptidoglycan) มากถึง 90 เปอร์เซ็นต์ และมีกรดไทโคอิก (teichoic acid) แต่มีจำนวนชนิดของกรดแอมิโน (amino acid) น้อยกว่า ผนังเซลล์มีความหนามากกว่า โดยหนาประมาณ 25-30 ไมครอน ขณะที่แบคทีเรียแกรมลบมีเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก (outer membrane) ซึ่งประกอบด้วย ลิโปพอลิแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide) ล้อมรอบเพปติโดไกลแคน เยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกนี้มีไขมันมากถึง 11-12 % ของน้ำหนักแห้งของผนังเซลล์ ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้เอนไซม์ที่จำเป็นต่อการเจริญของผนังเซลล์ออกจากช่องว่าง (periplasmic space) และป้องกันสารเคมีและเอนไซม์จากภายนอกไม่ให้เข้าไปทำลายเซลล์ ส่งผลให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบถูกทำลายด้วยน้ำออกซิไดซ์ได้ยากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก และนอกจากนี้ทั้ง *K. pneumoniae* ATCC 27853 และ *P. aeruginosa* ATCC 700603 เป็นเชื้อที่สามารถสร้างแคปซูล (capsule) ซึ่งเป็นสารประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) และพอลิเพปไทด์ (polypeptide) มีลักษณะเป็นสารเหนียว เป็นเมือกเหมือนวุ้นมีคุณสมบัติในการช่วยให้

แบคทีเรียทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ความแห้งแล้ง สารเคมี อุณหภูมิจึงอาจเป็นเกราะป้องกันอีกชั้นหนึ่ง ที่ทำให้เชื้อทนต่อสารฆ่าเชื้อได้นานกว่าเชื้อที่ไม่มีแคปซูล จากการศึกษา น้ำออกซิไดซ์มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อยีสต์ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นอาจเนื่องมาจาก ยีสต์มีโครงสร้างของผนังเซลล์เป็นสารพวกเซลลูโลส ซึ่งมีปริมาณโปรตีนและไขมันน้อย เนื่องจากส่วนประกอบของเซลลูโลส ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นน้ำตาลแมนโนสเป็นหลัก ความหนาประมาณ 20 ไมครอน โดยจะมีความหนามากกว่าผนังเซลล์ของแกรมลบ (เฉลี่ยประมาณ 10 ไมครอน) และบางกว่าแกรมบวก (เฉลี่ยประมาณ 20-80 ไมครอน)²¹ ด้วยเหตุผลดังกล่าวน่าจะเป็นผลทำให้สารฆ่าเชื้อสามารถทำลายชั้นผนังเซลล์ของยีสต์และฆ่าเชื้อได้อย่างรวดเร็ว

ผลของสารอินทรีย์ต่อฤทธิ์การฆ่าเชื้อของน้ำออกซิไดซ์โดยใช้ FFP เดิมลงไปในการทดสอบร่วมกับน้ำออกซิไดซ์ ซึ่งสาเหตุที่เลือกใช้ FFP เพราะ FFP เป็นส่วนประกอบเลือดซึ่งเลือดเป็นสิ่งที่ส่งตรวจชนิดหนึ่งทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ ดังนั้นหากต้องการนำน้ำออกซิไดซ์มาใช้ประโยชน์ในทางห้องปฏิบัติการจึงต้องมีการศึกษานี้ขึ้น จากการศึกษาผลของสารอินทรีย์ต่อฤทธิ์การฆ่าเชื้อของน้ำออกซิไดซ์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ โดยให้สารข้างต้นสัมผัสกับเชื้อจุลินทรีย์ที่ระยะเวลา 10 นาที พบว่าในหลอดที่มีการเติม FFP ลงไปมีจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิตมากกว่าหลอดที่ไม่ได้เติม FFP กล่าวคือหลอดที่ไม่ได้เติม FFP น้ำออกซิไดซ์และโซเดียมไฮโปคลอ

ไรต์สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิดที่ทำการทดสอบได้ทั้งหมด ในขณะที่ในหลอดที่มีการเติม FFP ยังคงมีจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตหลงเหลืออยู่ ทำให้ได้ข้อสรุปว่า สารอินทรีย์มีผลต่อฤทธิ์การฆ่าเชื้อของน้ำออกซิไดซ์ ในสภาวะที่มีสารอินทรีย์สูงจะทำให้คลอรีนซึ่งมีอยู่ในน้ำออกซิไดซ์มีประสิทธิภาพด้อยลง เนื่องจากคลอรีนไปทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ก่อนทำให้เหลือคลอรีนที่จะไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์น้อยลง แต่ทั้งนี้แล้วเมื่อเปรียบเทียบกับสารควบคุมผลลบจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตก็ยังคงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \text{ value} < 0.05$) ดังนั้นการรบกวนของสารอินทรีย์จึงมีบ้างเล็กน้อย แต่น้ำออกซิไดซ์ยังคงมีความสามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นการเพิ่มสัดส่วนของน้ำออกซิไดซ์จะทำให้ฤทธิ์ของการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในสภาวะที่มีสารอินทรีย์รบกวนน่าจะมีประสิทธิภาพดีขึ้น และถ้าต้องใช้ในเวลาในการแช่ให้นานกว่า 10 นาที จึงน่าจะสามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ให้หมดไปได้ โดยความเข้มข้นและเวลาที่แน่นอนนั้นไม่สามารถระบุได้แน่ชัดเนื่องจากขึ้นกับความเข้มข้นและชนิดของสารอินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาพร้อมกับตัวอย่างตรวจ

การศึกษาในครั้งนี้ใช้ความเข้มข้นของน้ำออกซิไดซ์ต่อเชื้อปริมาณเท่ากัน โดยไม่มีการเจือจางน้ำออกซิไดซ์ก่อนการทดสอบ จึงยังนำเสนอในการศึกษาผลของการเจือจางน้ำออกซิไดซ์ต่อฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ เพื่อสามารถนำน้ำออกซิไดซ์ไปใช้ได้ ในทางปฏิบัติจริงอย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าน้ำออกซิไดซ์ มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้เท่าเทียมกับ โซเดียมไฮโป

คลอรีน ซึ่งเพื่อศึกษากลไกการฆ่าเชื้อของน้ำออกซิไดซ์ จึงทำการวัดโปรตีนที่รั่วออกมาจากภายในเซลล์จุลินทรีย์เพื่อสนับสนุนการศึกษาของ Guzel-Seydim และคณะที่กล่าวว่า สมบัติสำคัญของน้ำออกซิไดซ์คือ เป็นตัวออกซิไดซ์ที่ดี ซึ่งสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ และสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้หลากหลายชนิด ทั้งชนิดที่สร้างและไม่สร้างสปอร์ รวมทั้งโปรโตซัว²² กลไกการทำลายเซลล์จุลินทรีย์ของน้ำออกซิไดซ์เกิดจากออกซิเจนที่แตกตัวเป็นประจุที่มีความสามารถในการออกซิไดซ์สูง มีผลรบกวนต่อการถ่ายโอนประจุระหว่างชั้นผนังเซลล์ ทำลายโครงสร้างและองค์ประกอบต่างๆ ภายในเซลล์ โดยจะทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ ส่งผลให้เซลล์จุลินทรีย์เสียหายและตายในที่สุด เมื่อมีการทำลายชั้นผนังเซลล์จึงมีการรั่วของโปรตีนและเอนไซม์ต่างๆ ที่อยู่ในเซลล์ออกมา ซึ่งจากการศึกษาก็พบว่าเมื่อทำการวัดโปรตีนที่ปลดปล่อยออกมาจากเซลล์จุลินทรีย์ หลังจากให้น้ำออกซิไดซ์สัมผัสเชื้อจุลินทรีย์ที่ระยะเวลาต่างๆ คือ 30 วินาที 1 นาที 3 นาที 5 นาที และ 10 นาที พบโปรตีน

ตั้งแต่เวลาที่ 30 วินาทีในขณะที่หลอดควบคุมผลลบไม่มีโปรตีนที่ตรวจวัดได้ จึงทำให้ได้ข้อสรุปว่าการทำลายชั้นผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ เป็นกลไกหนึ่งที่น้ำออกซิไดซ์ใช้ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์

สรุปผลการศึกษา

น้ำออกซิไดซ์มีคุณสมบัติเป็นกรดที่ pH 2.45 ± 0.08 ประสิทธิภาพการเกิดออกซิเดชัน-รีดักชัน (oxidation reduction potential: ORP) มีค่าเป็นบวกสูงมากที่ค่า $1,090.50 \pm 29.26$ mV และมีคลอรีนอิสระ (available chlorine concentration: ACC) 136.5 ± 6.40 ppm พบว่าน้ำออกซิไดซ์ สามารถฆ่าจุลินทรีย์ก่อโรคได้แก่แบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* แบคทีเรียแกรมลบ *Klebsiella pneumoniae* และ *Pseudomonas aeruginosa* และยีสต์ *Candida albicans* ได้ อย่างไรก็ตามคุณสมบัติการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำออกซิไดซ์จะลดลงเมื่อมีผลาสมารบกวน

เอกสารอ้างอิง

1. Shimizu Y, Hurusawa T. Antiviral, antibacterial, and antifungal actions of electrolyzed oxidizing water through electrolysis. *Dental J*. 1992; 37: 1055–62.
2. Machado I, Meireles A, Fulgêncio R, et al. Disinfection with neutral electrolyzed oxidizing water to reduce microbial load and to prevent biofilm regrowth in the processing of fresh-cut vegetables. *Food Bioprod Process*. 2016; 98: 333-40.
3. Garcia EG, Del Peso G, Celadilla O, et al. Efficacy of sodium hypochlorite in eradicating hepatitis C virus (HCV)-RNA from the peritoneal effluent of PD patients. *Perit Dial Int*. 2010; 30 (6): 644-6.
4. Schulster LM, Hollinger FB, Dreesman GR, et al. Immunological and biophysical alteration of hepatitis B virus antigens by sodium hypochlorite disinfection. *Appl Environ Microbiol*. 1981; 42(5): 762-7.
5. Bloomfield SF, Smith-Burchnell CA, Dalglish AG. Evaluation of hypochlorite-releasing disinfectants against the human immunodeficiency virus (HIV). *J Hosp Infect*. 1990; 15(3): 273-8.
6. Levine JM. Dakin's Solution: Past, Present, and Future. *Adv Skin Wound Care*. 2013; 26(9): 410–4.
7. McCullough M, Carlson GW. Dakin's solution: historical perspective and current practice. *Ann Plast Surg*. 2014; 73: 254-6.
8. Harp DL. Current Technology of Chlorine Analysis for Water and Wastewater. HACH Company. 1995.
9. Murray PR, Baron EJ, James H, et al. *Manual of Clinical Microbiology*. 6th ed. American Society for Microbiology. Washington, DC. 1995.
10. Bradford M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal Biochem*. 1976; 72: 248–54.
11. Issa-Zacharia A, Kamitani Y, Tiisekwa A, et al. In vitro inactivation of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. using slightly acidic electrolyzed water. *J Biosci Bioeng*. 2010; 110(3): 308-13.
12. Ayebah B, Hung YC, Kim C, et al. Efficacy of electrolyzed water in the inactivation of planktonic and biofilm *Listeria monocytogenes* in the presence of organic matter. *J Food Prot*. 2006; 69(9): 2143-50.
13. Venkitanarayanan KS, Ezeike GOI, Hung Y, et al. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on Plastic Kitchen Cutting Boards by Electrolyzed Oxidizing Water. *J Food Prot*. 1999; 62(8): 857-60.
14. Sankom A, Khantayaporn N, Mahakarnchanakul W. The Application of Oxidizing Sanitizers to Reduce Microbial

- of Fishery Products. Proceedings of the 48th Kasetsart University Annual Conference, 2010 Feb 3-5; Bangkok, Thailand; 2010, 408-16. (*in Thai*)
15. การประปานครหลวง. คลอรีน. Available at http://www.mwa.co.th/ewt_dl_link.php?nid=440, accessed March 15, 2018.
 16. Xiong K, Liu HJ, Liu R. Differences in fungicidal efficiency against *Aspergillus flavus* for neutralized and acidic electrolyzed oxidizing waters. *Int J Food Microbiol.* 2010; 137(1): 67-75.
 17. Rahman SME, Park JH, Wang J, et al. Stability of low concentration electrolyzed water and its sanitization potential against foodborne pathogens. *J Food Eng.* 2012; 113(4): 548-53.
 18. Xi C, Zhang Y, Marrs CF, et al. Prevalence of antibiotic resistance in drinking water treatment and distribution systems. *Appl Environ Microbiol.* 2009; 75(17): 5714-8.
 19. Rodriguez-Mozaz S, Chamorro S, Marti E, et al. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. *Water Res.* 2015; 69: 234-42.
 20. Singkamanee C, Wangchai K, Uthaibud J. Effect of electrolyzed oxidizing (EO) water on growth and development of *Penicillium digitatum* and postharvest decay control of tangerine cv. Sai Nam Pung. *Postharvest Newslette.* 2010; 9(2): 1-3. (*in Thai*)
 21. Garrity GM, Boone DR, Castenholz RW. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed, vol. 1. New York: Springer-Verlag, 2001.
 22. Guzel-Seydim ZB, Greene AK, Seydim AC. Use of ozone in food industry. *LWT Food Sci. Tech.* 2004; 37(4): 453-6