

## ผลการทดลอง

### 1. ผลของคลอรีนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* ในหลอดทดลอง

#### 1.1 คลอรีนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* ในหลอดทดลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารประกอบคลอรีนที่ได้จากสารแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0, 25, 50, 100, 150 และ 200 ppm ในการทำลายเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่อยู่ในรูปสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ ที่มีระดับความเข้มข้นของเชื้อ 2 ระดับ คือ  $10^3$  และ  $10^6$  cfu/ml ที่ระยะเวลาสัมผัส 1, 2, 3, 4 และ 5 นาที ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส พบว่า สารประกอบคลอรีนสามารถฆ่าเชื้อทั้ง 2 ระดับ ได้ทั้งหมด ตั้งแต่ระยะเวลาสัมผัส 1 นาที และที่ระดับความเข้มข้นของสารต่ำที่สุดคือ 25 ppm ดังแสดงในตาราง 1 และจากการจากการศึกษาประสิทธิภาพของสารประกอบคลอรีนที่ได้จากสารแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0, 25, 50, 100, 150 และ 200 ppm ในการทำลายเชื้อ *V. cholerae* ที่อยู่ในรูปสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ ที่มีระดับความเข้มข้นของเชื้อ 2 ระดับ คือ  $10^3$  และ  $10^6$  CFU/ml ที่ระยะเวลาสัมผัส 1, 2, 3, 4 และ 5 นาที ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส พบว่า สารประกอบคลอรีนสามารถฆ่าเชื้อทั้ง 2 ระดับ ได้ทั้งหมด ตั้งแต่ระยะเวลาสัมผัส 1 นาที และที่ระดับความเข้มข้นของสารต่ำที่สุดคือ 25 ppm ดังแสดงในตาราง 2

จากผลการทดลอง ในตารางที่ 1 และ 2 สรุปได้ว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารประกอบคลอรีน 25 ppm และที่ระยะเวลาสัมผัส 1 นาที เป็นระดับความเข้มข้นของสารที่สูงมากพอที่สามารถทำลายเชื้อบริสุทธิ์ของ *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* ที่ระดับความเข้มข้นต่ำคือ  $10^3$  cfu/ml และ ที่ระดับความเข้มข้นสูงคือ  $10^6$  cfu/ml ได้อย่างสมบูรณ์ ได้มีข้อมูลรายงานไว้ว่า เชื้อบริสุทธิ์ *V. parahaemolyticus* จะลดจำนวนลง 1 log cycle เมื่อสัมผัสกับ สาร chlorine หรือ iodophor ที่ระดับความเข้มข้น 13 ppm ในระยะเวลา 15 วินาที

(<http://www.nzfsa.govt.nz/science/data-sheets/vibrio-parahaemolyticus.pdf>)

ตารางที่ 1 ผลของกลอรีนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ใน  
หลอดทดลอง

ระยะเวลาสัมผัส (นาที)	ความเข้มข้น ของกลอรีน (ppm)	จำนวนเซลล์ รอดชีวิต Log <sub>10</sub> cfu/ml	%Reduction	จำนวนเซลล์ รอดชีวิต Log <sub>10</sub> cfu/ml	%Reduction
1	0	3.09	0.00	6.28	0.00
	25	0	100	0	100
	50	0	100	0	100
	100	0	100	0	100
	150	0	100	0	100
	200	0	100	0	100
2	0	3.132	0.00	6.26	0.00
	25	0	100	0	100
	50	0	100	0	100
	100	0	100	0	100
	150	0	100	0	100
	200	0	100	0	100
3	0	3.08	0.00	6.25	0.00
	25	0	100	0	100
	50	0	100	0	100
	100	0	100	0	100
	150	0	100	0	100
	200	0	100	0	100
4	0	3.11	0.00	6.26	0.00
	25	0	100	0	100
	50	0	100	0	100
	100	0	100	0	100
	150	0	100	0	100
	200	0	100	0	100
5	0	3.11	0.00	6.25	0.00
	25	0	100	0	100
	50	0	100	0	100
	100	0	100	0	100
	150	0	100	0	100
	200	0	100	0	100

\* หมายเหตุ ค่าที่ได้เป็นผลจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 2 ผลของกลอรีนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเชื้อ *Vibrio cholerae* ในหลอดทดลอง

ระยะเวลาสัมผัส (นาที)	ความเข้มข้น ของกลอรีน (ppm)	จำนวนเซลล์ รอดชีวิต Log <sub>10</sub> cfu/ml	%Reduction	จำนวนเซลล์ รอดชีวิต Log <sub>10</sub> cfu/ml	%Reduction
1	0	3.22	0.00	6.14	0.00
	25	0	100	0	100
	50	0	100	0	100
	100	0	100	0	100
	150	0	100	0	100
	200	0	100	0	100
2	0	3.23	0.00	6.11	0.00
	25	0	100	0	100
	50	0	100	0	100
	100	0	100	0	100
	150	0	100	0	100
	200	0	100	0	100
3	0	3.19	0.00	6.15	0.00
	25	0	100	0	100
	50	0	100	0	100
	100	0	100	0	100
	150	0	100	0	100
	200	0	100	0	100
4	0	3.22	0.00	6.13	0.00
	25	0	100	0	100
	50	0	100	0	100
	100	0	100	0	100
	150	0	100	0	100
	200	0	100	0	100
5	0	3.25	0.00	6.15	0.00
	25	0	100	0	100
	50	0	100	0	100
	100	0	100	0	100
	150	0	100	0	100
	200	0	100	0	100

\* หมายเหตุ ค่าที่ได้เป็นผลจากการทดลอง 3 ซ้ำ

## 2. ผลของไคโตแซนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* ในหลอดทดลอง

จากรายงานการวิจัยที่ศึกษาถึงประสิทธิภาพของไคโตแซนในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อและปัจจัยที่เกี่ยวข้องรวมทั้งสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของไคโตแซนพบว่าไคโตแซนทำงานได้ดีที่สภาวะเป็นกรดช่วง pH 4-6 ในการศึกษาจึงใช้ สภาวะที่ pH 5.5 โดยเลือกใช้ตัวทำละลายคือ กรดอะซิติกระดับความเข้มข้นที่ 1% และทดสอบที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่โรงงานอาหารทะเลใช้ในการลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ จากการทดสอบประสิทธิภาพของไคโตแซนที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.025, 0.05, 0.1 และ 0.25 % ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์ *V. parahaemolyticus*  $10^3$  และ  $10^6$  cfu/ml ที่ระยะเวลาสัมผัส 10, 20 และ 30 นาที และนับเชื้อที่เหลือรอดโดยการ spread plate ด้วย Nutrient agar ที่เติม NaCl 1% พบว่าที่ความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้น  $10^3$  cfu/ml ปริมาณเชื้อลดลง มากกว่า 90 % ตั้งแต่ระดับความเข้มข้นของไคโตแซนต่ำที่สุดคือ 0.025% และระยะเวลาสัมผัส 10 นาที และพบว่าเมื่อความเข้มข้นของไคโตแซนเพิ่มเป็น 0.05, 0.1 และ 0.25 % ระดับการลดลงของเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 94.26, 96.17 และ 97.45 ตามลำดับ และพบว่า % การลดลงของเชื้อมีแนวโน้มไม่แตกต่างกันที่ระยะเวลาสัมผัส 20 และ 30 นาที

ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้น  $10^6$  cfu/ml พบว่า ปริมาณการลดลงของเชื้อเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของไคโตแซน แต่ลดลงไม่ถึง 90 % จากการทดสอบพบว่าเชื้อสามารถลดลงมากกว่า 90 % ที่ระดับความเข้มข้นของไคโตแซน 0.1% และระยะเวลาสัมผัส 20 นาที และพบว่าที่ระยะเวลาสัมผัส 30 นาทีก็มีแนวโน้มการลดลงของเชื้อเช่นเดียวกัน ดังแสดงในตารางที่ 3

ผลการทดสอบ ไคโตแซนต่อเชื้อ *V. cholerae* ที่สภาวะการทำงานเดียวกันกับ *V. parahaemolyticus* พบว่ามีแนวโน้มการลดลงของเชื้อเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 ผลของไคโตแซนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในหลอดทดลอง

ระยะเวลาสัมผัส (นาที)	ความเข้มข้นของไคโตแซน (%)	จำนวนเซลล์รอดชีวิต Log <sub>10</sub> cfu/ml	%Reduction	จำนวนเซลล์รอดชีวิต Log <sub>10</sub> cfu/ml	%Reduction
10	0	3.20	0.00	6.23	0.00
	0.025	2.04	92.99	5.80	62.94
	0.05	1.95	94.26	5.77	65.29
	0.1	1.78	96.17	5.58	77.64
	0.25	1.60	97.45	5.51	81.17
20	0	3.20	0.00	6.21	0.00
	0.025	2.00	93.67	5.70	69.13
	0.05	1.90	94.93	5.54	78.39
	0.1	1.70	96.83	4.86	95.55
	0.25	1.60	97.46	4.74	96.60
30	0	3.23	0.00	6.25	0.00
	0.025	2.04	93.52	5.68	72.62
	0.05	2.00	94.11	5.58	78.30
	0.1	1.70	97.05	4.80	96.42
	0.25	1.70	97.05	4.76	96.70

\*หมายเหตุ ค่าที่ได้เป็นผลจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 4 ผลของไคโตแซนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเชื้อ *Vibrio cholerae* ใน

หลอดทดลอง

ระยะเวลา สัมผัส (นาที)	ความเข้มข้น ของไคโตแซน (%)	จำนวนเซลล์ รอดชีวิต Log <sub>10</sub> cfu/ml	%Reduction	จำนวนเซลล์ รอดชีวิต Log <sub>10</sub> cfu/ml	%Reduction
10	0	3.30	0.00	6.24	0.00
	0.025	2.63	78.60	5.33	87.50
	0.05	2.62	79.10	5.35	86.91
	0.1	2.43	86.56	5.33	87.55
	0.25	2.32	89.55	5.25	89.76
20	0	3.31	0.00	5.25	0.00
	0.025	2.64	78.32	5.36	86.93
	0.05	2.53	83.25	5.26	89.77
	0.1	2.15	93.10	5.16	91.87
	0.25	2.00	95.07	5.03	93.97
30	0	3.31	0.00	6.27	0.00
	0.025	2.62	79.44	5.38	87.02
	0.05	2.53	83.35	5.29	89.56
	0.1	2.00	95.10	5.27	90.00
	0.25	1.85	96.57	4.98	94.81

\* หมายเหตุ ค่าที่ได้เป็นผลจากการทดลอง 3 ซ้ำ

### 3. ผลของคลอรีนและไอโอดีนในการล้างกุ้งสดที่มีการเติมเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae*

การทดลองในกุ้งที่มีการเติมเชื้อ ได้เลือกใช้ความเข้มข้นของคลอรีนที่ 25-200 ppm ซึ่งเป็นระดับที่มีประสิทธิภาพสูงในหลอดทดลอง และระยะเวลาสัมผัสเป็น 30 และ 60 นาที

จากผลการศึกษาพบว่า ในกุ้งสดที่มีการเติมเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* เมื่อล้างด้วยสารประกอบคลอรีนที่ความเข้มข้น 50 ppm ที่ 30 นาที พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อได้มากกว่า 90% ส่วนใน *Vibrio cholerae* สามารถลดจำนวนเชื้อเท่ากับ 90% ในความเข้มข้นและเวลาเดียวกัน ความเข้มข้นและเวลาสัมผัสมากกว่านี้ไม่ทำให้จำนวนเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 5 & 6)

ตารางที่ 5 ผลของคลอรีนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในกุ้งสดที่มีการเติมเชื้อ

ระยะเวลาสัมผัส (นาที)	ความเข้มข้นของคลอรีน(ppm)	จำนวนเซลล์รอดชีวิต Log <sub>10</sub> cfu/ml	%Reduction
30	0	4.79	0.00
	25	3.88	86.90
	50	3.46	95.0
	100	3.20	97.10
	150	2.81	98.90
	200	2.48	99.50
60	0	4.81	0.00
	25	3.88	87.50
	50	3.46	95.20
	100	3.20	97.40
	150	2.81	99.00
	200	2.56	99.40

\* หมายเหตุ ค่าที่ได้เป็นผลจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 6 ผลของคลอรีนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเชื้อ *Vibrio cholerae* ในกุ้งสดที่มีการ  
เติมเชื้อ

ระยะเวลา สัมผัส (นาที)	ความเข้มข้นของ คลอรีน(ppm)	จำนวนเซลล์ร็อคชีวิด Log <sub>10</sub> cfu/ml	%Reduction
30	0	4.32	0.00
	25	3.45	86.1
	50	3.30	92.00
	100	3.20	92.19
	150	2.97	95.80
	200	2.46	98.61
60	0	4.36	0.00
	25	3.43	87.65
	50	3.32	90.39
	100	3.28	92.50
	150	3.88	96.43
	200	2.41	98.36

\* หมายเหตุ ค่าที่ได้เป็นผลจากการทดลอง 3 ซ้ำ

สำหรับผลของไคโตแซนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio cholerae* ในกุ้งสดที่มีการเติมเชื้อพบว่า ที่ความเข้มข้น 0.1% ระยะเวลาสัมผัส 120 นาที สามารถลดเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio cholerae* ได้มากกว่า 90% (ตารางที่ 7 & 8)



ตารางที่ 7 ผลของไคโตแซนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ใน  
กุ้งสดที่มีการเค็มเชื้อ

ระยะเวลา สัมผัส (นาที)	ความเข้มข้นของ ไคโตแซน (%)	จำนวนเซลล์รอดชีวิต $\text{Log}_{10}\text{cfu/ml}$	%Reduction
30	0	4.56	0.00
	0.1	4.15	60.50
	0.25	3.97	74.40
60	0	4.56	0.00
	0.1	3.81	82.40
	0.25	3.79	82.90
120	0	4.46	0.00
	0.1	3.36	92.00
	0.25	3.30	93.26

\* หมายเหตุ ค่าที่ได้เป็นผลจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 8 ผลของไคโตแซนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเชื้อ *Vibrio cholerae* ในกุ้งสดที่มี  
การเติมเชื้อ

ระยะเวลา สัมผัส (นาที)	ความเข้มข้นของ ไคโตแซน (%)	จำนวนเซลล์ร็อคชีวิต Log <sub>10</sub> cfu/ml	%Reduction
30	0	4.30	0.00
	0.1	4.04	41.10
	0.25	4.04	41.10
60	0	4.30	0.00
	0.1	4.81	67.20
	0.25	4.79	68.00
120	0	4.20	0.00
	0.1	3.20	90.20
	0.25	3.18	90.65

\* หมายเหตุ ค่าที่ได้เป็นผลจากการทดลอง 3 ซ้ำ

#### 4. ผลของคลอรีนและไคโตแซนในการลด *V. parahaemolyticus* ในกุ้งสดจากธรรมชาติ

การทดลองลด *V. parahaemolyticus* ในกุ้งสดจากธรรมชาติได้เลือกใช้ความเข้มข้นของคลอรีนและไคโตแซนที่ความเข้มข้น 50 ppm และ 0.1% ที่เวลาสัมผัส 30 นาที และ 120 นาที ตามลำดับ ซึ่งเป็นระดับที่มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อ *Vibrio* 90% ในกุ้งสดที่มีการเติมเชื้อ

จากผลการศึกษาพบว่า เชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* เมื่อล้างด้วยคลอรีนที่ความเข้มข้น 50 ppm ที่ 30 นาที พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อได้ 85.33-97.41% (ตารางที่ 9) สำหรับผลของไคโตแซนที่ความเข้มข้น 0.1% ระยะเวลาสัมผัส 120 นาที สามารถลดเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ได้ 67.39-68.75 (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 9 ผลของคลอรีนที่ระดับความเข้มข้น 50 ppm และระยะเวลาสัมผัส 30 นาทีในการลด *V. parahaemolyticus* ในกุ้งสดจากธรรมชาติ

การทดลองที่	จำนวนเซลล์เริ่มต้น Log <sub>10</sub> cfu/ml	จำนวนเซลล์สุดท้าย Log <sub>10</sub> cfu/ml	% Reduction
1	4.46	2.88	97.41
2	4.88	4.04	85.33
3	4.66	3.38	94.78
4	4.81	3.58	94.06

ตารางที่ 10 ผลของโคโคแซนผลของคลอรีนที่ระดับความเข้มข้น 0.1 % และระยะเวลาสัมผัส 120 นาทีในการลด *V. parahaemolyticus* ในกุ้งสดจากธรรมชาติ

การทดลองที่	จำนวนเซลล์เริ่มต้น Log <sub>10</sub> cfu/ml	จำนวนเซลล์สุดท้าย Log <sub>10</sub> cfu/ml	% Reduction
1	4.66	4.18	67.39
2	4.38	3.88	68.75
3	4.63	4.15	67.44
4	4.66	4.18	67.39