



การเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของ ฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสและเฟสรูไทล์

Comparison of Antibacterial Ability of Anatase and Rutile TiO_2 Thin Films

สุรีย์ ทองวนิชนิยม¹, อติศร บุรณวงษ์² และ เมธี จันทโรปกรณ์¹

Suree Tongwanichniyom¹, Adisorn Buranawong² and Methee Juntaropakorn¹

¹ภาควิชาทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ ศรีราชา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

¹Department of Resources and Environment, Faculty of Science at Sriracha, Kasetsart University

²ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

²Department of Physics, Faculty of Science, Burapha University

Received : 16 July 2020

Revised : 23 November 2020

Accepted : 25 December 2020

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ (TiO_2) โครงสร้างระดับนาโนเคลือบบนแผ่นซิลิคอนและกระจกสไลด์ที่เป็นวัสดุรองรับด้วยเทคนิควิธีแอคทีฟที่ตีซีแมกนีตรอนสเปคโตรริง เพื่อศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสและเฟสรูไทล์ โดยนำฟิล์มที่เคลือบได้ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคต่าง ๆ ดังนี้ โครงสร้างผลึกวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) โครงสร้างจุลภาคและความหนาวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อีมิสชัน (FE-SEM) และค่าการส่งผ่านแสงวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer) ผลการศึกษาพบว่า เฟสของฟิล์มที่เคลือบได้แปรตามความหนาของฟิล์มที่เพิ่มขึ้นจากเฟสรูไทล์เป็นเฟสอานาเทส โดยฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทส มีขนาดผลึก 43 nm ความหนา 150 nm และค่าการส่งผ่านแสงในช่วงที่ตามองเห็นประมาณ 75% พื้นผิวมีลักษณะก่อตัวเป็นเกรนแบบเรียวยาวกระจายทั่วผิวหน้าของฟิล์ม และมีช่องว่างระหว่างเกรนซึ่งสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ส่วนฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสรูไทล์ มีขนาดผลึก 20 nm ความหนา 143 nm และค่าการส่งผ่านแสงในช่วงที่ตามองเห็นประมาณ 65% พื้นผิวมีลักษณะก่อตัวเป็นเกรนแบบกลุ่มก้อนกลมมนกระจายตัวต่อเนื่องทั่วผิวหน้าของฟิล์ม และไม่มีช่องว่างระหว่างเกรน เมื่อศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้ง *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกโดยใช้แสงอัลตราไวโอเล็ตชนิดเอ (UVA) พบว่า กระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสและเฟสรูไทล์ มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียเพิ่มขึ้นตามเวลาในการฉายแสงอัลตราไวโอเล็ตชนิดเอ และสามารถยับยั้ง *Escherichia coli* ได้ดีกว่า *Staphylococcus aureus* โดยฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสสามารถยับยั้ง *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่าเฟสรูไทล์

คำสำคัญ : ฟิล์มบาง ; ไทเทเนียมไดออกไซด์ ; เฟสอานาเทส ; เฟสรูไทล์ ; การยับยั้งแบคทีเรีย



Abstract

This research studied the nano-structured titanium dioxide (TiO_2) thin films that had been coated on the silicon and glass slides by the reactive DC magnetron sputtering technique to compare the antibacterial ability of the TiO_2 thin films between the anatase and rutile phases. After coating, the films were analyzed by various techniques. The crystal structures of coated samples were analyzed by the X-ray Diffraction (XRD), the microstructure surface and thickness were analyzed by the Field Emission Scanning Electron Microscope (FE-SEM), and the measurements of the optical transmission were analyzed by the UV-Visible Spectrophotometer. The results showed that the phases of the coated films varied with the total pressure while coating. The pressure increased from the rutile phase to the anatase phase. The crystal size of TiO_2 thin films of the anatase phase was 43 nm, and the thickness was 150 nm. Also, the transmission in the visible range was approximately 75%. The surface had been formed and became tapered grains, and the grains spread over the surface of the film. There were deep grooves between grains. It could be observed from the FE-SEM. Meanwhile, the crystal size of TiO_2 thin films of the rutile phase was 20 nm, and the thickness was 143 nm. The transmission in the visible range was approximately 65%. The surface had been formed in small and rounded grains. Then, they continuously spread across the surface of the film, and there were no deep grooves between grains. The comparison of the antibacterial ability between *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* with photocatalysis using the ultraviolet type A (UVA) found that the glass slides coated with the TiO_2 thin films of the anatase and rutile phases had increased the antibacterial ability with time of the UVA irradiation. Moreover, TiO_2 thin films of the anatase phase were more effective in disinfection than those of the rutile phase, and the TiO_2 thin films of anatase phase was able to inhibit *Escherichia coli* better than *Staphylococcus aureus*.

Keywords : thin films ; titanium dioxide ; anatase phase ; rutile phase ; antibacteria

บทนำ

ปัจจุบันภาคอุตสาหกรรมทั่วโลกกำลังให้ความสนใจในการปรับปรุงสมบัติเชิงพื้นผิวของวัสดุเกือบทุกชนิด โดยแนวทางหนึ่งที่มีความสนใจอย่างมากคือ การเคลือบผิววัสดุด้วยสารที่มีสมบัติเหมาะสมในรูปของฟิล์มบางที่มีความหนาในระดับนาโนเมตร โดยเฉพาะฟิล์มบางของสารประกอบซึ่งมีอยู่หลายชนิดและมีสมบัติแตกต่างกัน (Jafari *et al.*, 2015) ทั้งนี้ไทเทเนียมไดออกไซด์ (TiO_2) จัดเป็นสารประกอบออกไซด์ของโลหะไทเทเนียมซึ่งอยู่ในกลุ่มโลหะทรานซิชัน โดยไทเทเนียมไดออกไซด์ที่พบได้ในธรรมชาติมี 3 เฟส คือ เฟสอนาเทส (anatase) ($a = 0.3785 \text{ nm}$, $c = 0.9514 \text{ nm}$) และเฟสรูไทล์ (rutile) ($a = 0.4594 \text{ nm}$, $c = 0.2958 \text{ nm}$) มีโครงสร้างผลึกแบบเตตระโกนอล (tetragonal) ส่วนเฟสบรูไกท์ (brookite) ($a = 0.918 \text{ nm}$, $b = 0.5447 \text{ nm}$, $c = 0.5145 \text{ nm}$) มีโครงสร้างผลึกเป็นแบบออร์โธโรมบิก (orthorhombic) (Brady & Clauser, 1991) โดยปกติแล้วไม่ค่อยพบไทเทเนียมไดออกไซด์ในเฟสบรูไกท์ แต่จะพบเพียงโครงสร้างแบบอสังฐานในเฟสอนาเทสและเฟสรูไทล์

ฟิล์มบางของสารประกอบไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นฟิล์มบางที่ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง เนื่องจากมีสมบัติที่ดีหลายด้าน เช่น เป็นฟิล์มใส มีค่าการส่งผ่านแสงในช่วงที่ตามองเห็นสูง ทนการกัดกร่อนและขีดข่วน (Ritter, 1975; Pulker, 1999) มีค่าดัชนีหักเหสูง (เฟสอนาเทส = 2.5 และเฟสรูไทล์ = 2.7) มีค่าช่องว่างแถบพลังงานกว้าง (เฟสอนาเทส = 3.18 eV และเฟสรูไทล์ = 3.03 eV) (Lim *et al.*, 2000) มีความเสถียรต่อสารเคมี ไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ราคาถูก ทนการกัดกร่อน (Mohsen & Vajihel, 2012) นอกจากนี้ไทเทเนียมไดออกไซด์ยังมีสมบัติเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง (photocatalysts) (Babelon *et al.*, 1998) สามารถย่อยสลายสารมลพิษอินทรีย์ภายใต้การฉายแสงอัลตราไวโอเล็ต (Ou *et al.*, 2006) เมื่อนำไทเทเนียมไดออกไซด์มาเคลือบชิ้นงานจะทำให้มีสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ (Terry *et al.*, 2006) และไทเทเนียมไดออกไซด์ยังมีสมบัติไฮโดรฟิลิก (hydrophilicity) ทำให้น้ำที่เกาะบริเวณผิวไม่จับตัวเป็นหยดน้ำ ไม่ทิ้งคราบสกปรกไว้บนผิววัสดุ ช่วยลดการจับตัวของฝุ่นละอองและสามารถยับยั้งเชื้อโรคที่ติดมากับฝุ่นละอองได้อีกด้วย (Hathaisamit *et al.*, 2009) จึงทำให้นักวิจัยและภาคอุตสาหกรรมสนใจในการนำไทเทเนียมไดออกไซด์มาใช้ในงานด้านต่าง ๆ เช่น การเคลือบฟิล์มกันสะท้อนแสง (antireflection coating) การเคลือบฟิล์มสะท้อนแสงสูง (high-reflectance coating) การเคลือบฟิล์มบางเลือกสี (wavelength-selective coating) ชั้นเคลือบผิวป้องกัน (protective coating) หรือกระจกทำความสะอาดตัวเอง (self-cleaning glass) ซึ่งเป็นนวัตกรรมที่ช่วยในเรื่องการประหยัดค่าใช้จ่ายในการทำมาสะอาดและป้องกันเชื้อโรค (Tantipalakul *et al.*, 2018) สำหรับการเตรียมฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ทำได้หลายวิธี เช่น วิธีโซลเจล (sol gel) วิธีระเหยสาร (evaporation) วิธีอาร์เอฟสปัตเตอร์ริง (RF sputtering) วิธีดีซีสปัตเตอร์ริง (DC sputtering) อย่างไรก็ตามการเตรียมฟิล์มด้วยวิธีสปัตเตอร์ริงเป็นวิธีที่ได้รับความสนใจมาก เนื่องจากมีข้อดีซึ่งได้เปรียบวิธีอื่นคือ สามารถควบคุมอัตราการเคลือบและปรับเปลี่ยนสมบัติของฟิล์มได้ง่ายโดยการปรับเงื่อนไขการเคลือบ เช่น ความดันขณะเคลือบ อัตราการไหลแก๊ส กำลังไฟฟ้า ความต่างศักย์ไบแอส (Choeysupaket *et al.*, 2018)

เนื่องจากประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศเขตร้อนและมีความชื้นสูงจึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียหลายชนิด อีกทั้งในปัจจุบันแบคทีเรียมีวิวัฒนาการในการมีชีวิตรอดได้นานมากขึ้นทำให้เกิดการแพร่กระจายและการปนเปื้อนของแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อมได้ง่าย ซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ แบคทีเรียก่อโรคที่พบปนเปื้อนส่วนใหญ่



ได้แก่ *Escherichia coli* (*E. coli*) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ อาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์ สามารถเข้าสู่ร่างกายได้โดยการรับประทาน เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ท้องเสีย และอาการเกี่ยวกับทางเดินอาหาร (Yosboonruang *et al.*, 2018) และ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก อาศัยอยู่ในสภาวะแวดล้อมภายนอกร่างกายของคนและสัตว์ มักพบอยู่บริเวณเส้นผม ผิวหนัง หรือขนสัตว์ เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษเฉียบพลันและผิวหนังอักเสบ (Tapaneeyakul & Kongsuk, 2015) ซึ่งจากสมบัติการเกิดปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลติกภายใต้การฉายแสงอัลตราไวโอเลตบนกระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ (Sunada *et al.*, 2003) จึงทำให้มีการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลติกภายใต้การฉายแสงอัลตราไวโอเลตบนวัสดุที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ เพื่อพัฒนาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น

งานวิจัยนี้ศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* ของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ เฟสอานาเทสและเฟสรูไทล์ ที่เคลือบด้วยเทคนิควิธีแอคทีฟเมกนีตรอนสปัตเตอริง โดยศึกษาโครงสร้างผลึกด้วยเทคนิควิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) ศึกษาโครงสร้างจุลภาคและความหนาของฟิล์มด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อีมิสชัน (FE-SEM) ศึกษาค่าการส่งผ่านแสงด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิล สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer) และทดสอบความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* ของฟิล์มที่เคลือบได้ภายใต้การฉายแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอ เพื่อเป็นแนวทางในการวิจัยและพัฒนาการเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียบนวัสดุทางการแพทย์ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมฟิล์มบาง ฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ในงานวิจัยนี้เคลือบด้วยวิธีแอคทีฟเมกนีตรอนสปัตเตอริง จากเครื่องเคลือบในสุญญากาศระบบดีซีแมกนีตรอนสปัตเตอริง ซึ่งประกอบด้วย (1) ภาชนะสุญญากาศทรงกระบอกทำจากสแตนเลส ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 310 mm สูง 310 mm เครื่องสุญญากาศประกอบด้วยเครื่องสูบบางแปรไอน้ำมันชนิดระบายความร้อนด้วยน้ำเย็นและเครื่องสูบลูโรตารีเป็นเครื่องสูบท้าย การวัดความดันใช้มาตรวัดความดันของ PFEIFFER ซึ่งใช้ส่วนแสดงผลรุ่น TPG262 และมาตรวัดความดันชนิด Compact Full Range Gauge รุ่น PKR251 และ (2) ระบบเคลือบเป็นส่วนเคลือบฟิล์มบางประกอบด้วย เป้าสารเคลือบไทเทเนียมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 mm ความบริสุทธิ์ 99.95% แมกนีตรอนคาโทดชนิดระบายความร้อนด้วยน้ำเย็น มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 mm ติดตั้งบริเวณแผ่นปิดบนของห้องเคลือบ พร้อมภาคจ่ายไฟฟ้าแรงสูงกระแสตรงขนาด 1000 W 3 A การจ่ายแก๊สในการเคลือบด้วยเครื่องควบคุมอัตราไหลมวลแก๊สของ MKS รุ่น type 247D ในการเคลือบใช้แก๊ส 2 ชนิด คือ แก๊สอาร์กอน (Ar) (99.999%) ทำหน้าที่เป็นแก๊สสปัตเตอริง และแก๊สออกซิเจน (O_2) (99.9995%) ทำหน้าที่เป็นแก๊สไวปฏิกิริยา

ขั้นตอนการเคลือบฟิล์มบนแผ่นซิลิคอนและกระจกสไลด์เริ่มจากทำความสะอาดวัสดุรองรับด้วยน้ำยาทำความสะอาด จากนั้นนำไปล้างด้วยอะซิโตนในเครื่องอัลตราโซนิกส์ 20 min ล้างต่อด้วยไอโซโพรพานอล 20 min นำมาเป่าแห้งด้วยลมร้อน แล้วนำเข้าห้องเคลือบปิดฝาภาชนะสุญญากาศ และสร้างสภาวะสุญญากาศให้มีค่าความดันพื้น (P_0) เท่ากับ 5×10^{-5}



mbar จากนั้นปล่อยแก๊สอาร์กอนและแก๊สออกซิเจนเข้าภาชนะสุญญากาศตามค่าที่กำหนดไว้ ทั้งนี้ตัวแปรที่ใช้ในการศึกษาคือ ความดันรวมขณะเคลือบ (P_t) ฟิล์มแต่ละชุดเคลือบนาน 60 min สำหรับเงื่อนไขที่ใช้ในการเตรียมฟิล์มสรุปดังในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เงื่อนไขการเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

เงื่อนไข	รายละเอียด
เป้าสารเคลือบ	ไทเทเนียม
วัสดุรองรับ	แผ่นซิลิคอนและกระจกสไลด์
ความดันพื้น	5.0×10^{-5} mbar
ความดันรวมขณะเคลือบ สำหรับเฟสรูไทล์	3.0×10^{-3} mbar
ความดันรวมขณะเคลือบ สำหรับเฟสอนาเทส	1.1×10^{-2} mbar
ระยะห่างระหว่างเป้าสารเคลือบถึงวัสดุรองรับ	10 cm
อัตราไหลแก๊สอาร์กอน	5 sccm
อัตราไหลแก๊สออกซิเจน	10 sccm
กระแสไฟฟ้าเป้าสารเคลือบ	500 mA
กำลังไฟฟ้า	225 W
เวลาที่ใช้ในการเคลือบ	60 min

2. การศึกษาลักษณะเฉพาะของฟิล์ม นำฟิล์มไปศึกษาลักษณะเฉพาะด้วยเทคนิคต่าง ๆ ดังนี้ (1) ศึกษาโครงสร้างผลึกด้วยเทคนิควิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) (Bruker รุ่น D8) โดยใช้ $\text{Cu-K}\alpha$ ($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$) ตรวจวัดแบบ 2θ -scan ด้วยมุมตกกระทบเฉียง (grazing incident angle) เท่ากับ 2° โดยสแกนมุม 2θ จากมุม 20° ถึง 80° (2) ขนาดผลึกคำนวณจากสมการของ Scherrer (Cullity & Stock, 2001) (3) ศึกษาลักษณะพื้นผิว โครงสร้างจุลภาค และความหนาของฟิล์มบางด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อีมิสชัน (FE-SEM) (Hitachi รุ่น S4700) (4) ศึกษาค่าการส่งผ่านแสงด้วยเครื่องอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer) (Shimadzu รุ่น UV 2600) และ (5) ศึกษาค่าดัชนีหักเหของแสงจากสเปคตรัมการส่งผ่านแสงของฟิล์มด้วยวิธีของ Swanepoel (Swanepoel's envelope method) (Swanepoel, 1983)

3. การเตรียมแบคทีเรีย นำ *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25933 ที่ได้รับจากหน่วยเก็บรักษาจุลินทรีย์ทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (DMST) มาเลี้ยงในอาหาร nutrient broth (NB) บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C นาน 24 hrs จากนั้นถ่ายเชื้อลงในน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85% ปริมาตร 10 mL และปรับให้มีความหนาแน่นประมาณ 1×10^8 CFU/mL ด้วย McFarland standard No. 0.5 (Roy *et al.*, 2013)



4. การทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย ทดสอบความสามารถของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสและเฟสรูไทล์ในการยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* ด้วยเทคนิคการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อบนอาหาร plate count agar (PCA) ซึ่งดัดแปลงจากมาตรฐานการทดสอบ ASTM E2149-01 โดยนำกระจกใสที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสและเฟสรูไทล์มากระตุ้นด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตชนิดเอ (UVA) ที่มีความเข้มแสงเท่ากับ 1.8 mW/cm^2 นาน 30 min เติมเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ที่เตรียมไว้ปริมาตร 50 μL ลงบนชิ้นงานและนำไปฉายแสงอัลตราไวโอเล็ตชนิดเอเพื่อกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลติก ที่เวลาทดสอบ 0 10 20 30 40 50 และ 60 min จากนั้นล้างชิ้นงานด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85% ปริมาตร 10 mL ทำการเจือจางเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียเป็นลำดับขั้นด้วยวิธี ten-fold serial dilutions และ ปิเปตเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียแต่ละระดับความเจือจางมา 0.1 mL เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร plate count agar ด้วยเทคนิค spread plate ทำการทดสอบจำนวน 4 ซ้ำในแต่ละชุดทดสอบ นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C นาน 24 hrs จากนั้นตรวจนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียที่รอดชีวิต นำมาคำนวณในหน่วย colony forming unit/mL (CFU/mL) ตามสมการที่ (1) (Chammanee *et al.*, 2009) และคำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียตามสมการที่ (2)

$$\text{CFU/mL} = \frac{A}{10^n \times B} \quad (1)$$

โดยที่ A คือ ค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียรอดชีวิตในแต่ละชุดทดสอบ
n คือ จำนวนครั้งการทำเจือจาง
B คือ ปริมาตรสารละลายแบคทีเรีย (ในงานวิจัยนี้ใช้ 0.1 mL)

$$\text{ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย (\%)} = \left(\frac{C-D}{C} \right) \times 100 \quad (2)$$

โดยที่ C คือ ค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียที่รอดชีวิตจากการทดสอบบนกระจกไม่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์
D คือ ค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียที่รอดชีวิตจากการทดสอบบนกระจกเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) เพื่อเปรียบเทียบความสามารถของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสและเฟสรูไทล์ในการยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* และหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS 17.0

ผลการวิจัย

1. ลักษณะทางกายภาพของวัสดุรองรับ ลักษณะทางกายภาพของแผ่นซิลิคอนกับกระจกสไลด์ที่ไม่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์และเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ภายใต้เงื่อนไขที่กำหนด จากงานวิจัยนี้ได้ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 1(a) แผ่นซิลิคอนและกระจกสไลด์ที่ไม่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ภาพที่ 1(b) แผ่นซิลิคอนและกระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ความหนา 150 nm พบว่า แผ่นซิลิคอนที่เคลือบได้มีสีฟ้า ส่วนกระจกสไลด์มีลักษณะใส ส่งผ่านแสงได้ แสงสะท้อนที่ผิวหน้าของฟิล์มเป็นสีฟ้าอ่อน ส่วนภาพที่ 1(c) แผ่นซิลิคอนและกระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ความหนา 143 nm พบว่า แผ่นซิลิคอนที่เคลือบได้มีสีเหลือง ส่วนกระจกสไลด์มีลักษณะใส ส่งผ่านแสงได้ แสงสะท้อนที่ผิวหน้าของฟิล์มเป็นสีเหลืองอ่อน



(a)



(b)



(c)

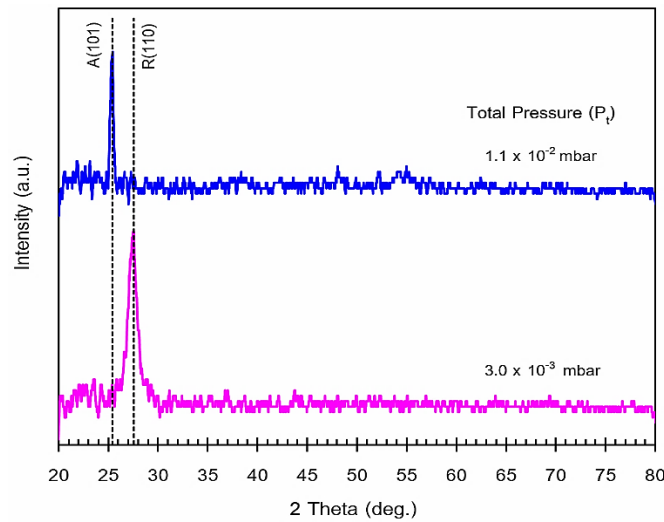
ภาพที่ 1 ลักษณะทางกายภาพของวัสดุรองรับ

(a) แผ่นซิลิคอนและกระจกสไลด์ที่ไม่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

(b) แผ่นซิลิคอนและกระจกสไลด์เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ความหนา 150 nm

(c) แผ่นซิลิคอนและกระจกสไลด์เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ความหนา 143 nm

2. ลักษณะเฉพาะของฟิล์ม เมื่อนำฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์โครงสร้างผลึกด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) แสดงดังภาพที่ 2 พบว่า ฟิล์มที่เคลือบได้เมื่อใช้ความดันรวมขณะเคลือบเท่ากับ 3.0×10^{-3} mbar จะปรากฏรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ที่มีมุมประมาณ 27.45° ซึ่งตรงกับสารประกอบไทเทเนียมไดออกไซด์ที่มีโครงสร้างผลึกแบบรูไทล์ระนาบ (110) (ตามฐานข้อมูล JCPDS เลขที่ 89-4920) ขณะที่เมื่อใช้ความดันรวมขณะเคลือบเท่ากับ 1.1×10^{-2} mbar พบรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ที่มีมุมประมาณ 25.26° ซึ่งตรงกับสารประกอบไทเทเนียมไดออกไซด์ที่มีโครงสร้างผลึกแบบอนาเทส ระนาบ (101) (ตามฐานข้อมูล JCPDS เลขที่ 89-4921) โดยขนาดผลึกของฟิล์มที่เตรียมได้ทั้งหมดซึ่งคำนวณจากสมการของ Scherrer (Cullity & Stock, 2001) พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง 20–43 nm ดังแสดงในตารางที่ 2

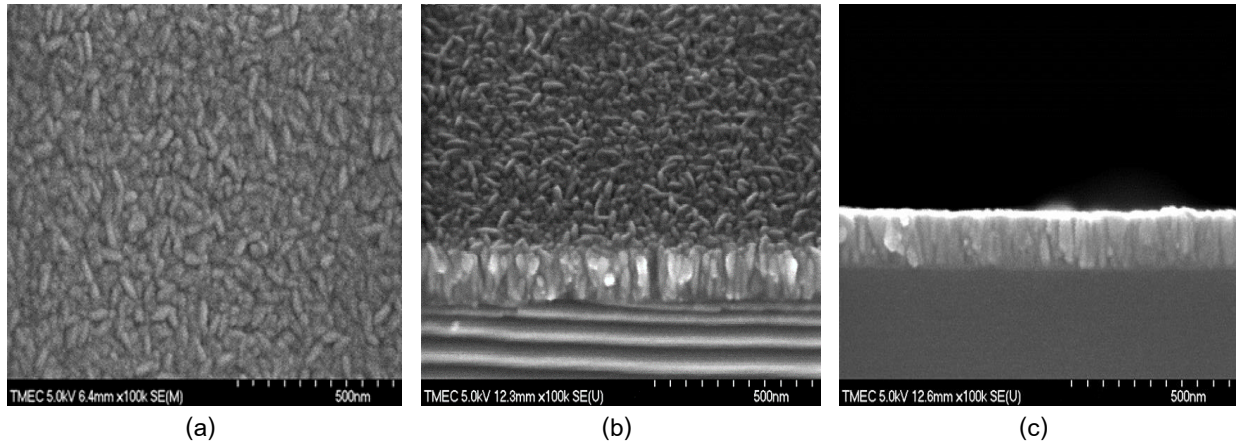


ภาพที่ 2 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่ความดันรวมต่างกัน

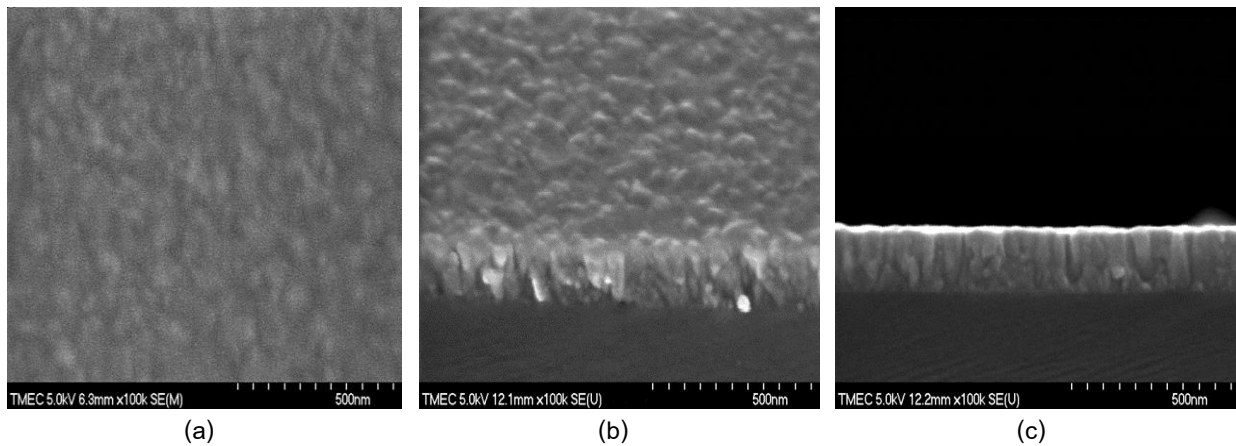
ตารางที่ 2 ขนาดผลึก ความหนา ค่าช่องว่างแถบพลังงานและค่าดัชนีหักเหของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่ความดันรวมต่างกัน

ความดันรวม (mbar)	เฟส	ขนาดผลึก (nm)		ความหนา (nm)	Eg (eV)	n
		Rutile (110)	Anatase (101)			
3.0×10^{-3}	รูไทล์	20	–	143	3.24	2.50
1.1×10^{-2}	อนาเทส	–	43	150	3.36	2.30

ลักษณะพื้นผิวและเกรนของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เตรียมได้ เมื่อใช้ความดันรวมขณะเคลือบต่างกัน ผลการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อิมิตชัน (FE-SEM) พบว่า ฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบด้วยความดันรวมสูง (1.1×10^{-2} mbar) ความหนา 150 nm มีลักษณะเกรนเป็นแบบเรียวยาวแหลม กระจายทั่วผิวหน้าของฟิล์ม มีช่องว่างระหว่างเกรน และจากภาพภาคตัดขวางแสดงให้เห็นว่า ฟิล์มที่เตรียมได้มีโครงสร้างเป็นแบบคอลัมนา (ภาพที่ 3) ส่วนฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบด้วยความดันรวมต่ำ (3.0×10^{-3} mbar) ความหนา 143 nm เกรนของฟิล์มเป็นแบบกลุ่มก้อนกลมมน กระจายตัวต่อเนื่องทั่วผิวหน้าของฟิล์ม และไม่มีช่องว่างระหว่างเกรน แสดงดังภาพที่ 4



ภาพที่ 3 (a), (b) ลักษณะพื้นผิว และ (c) ภาคตัดขวางของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทส จากห้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อีมีสชัน (FE-SEM)

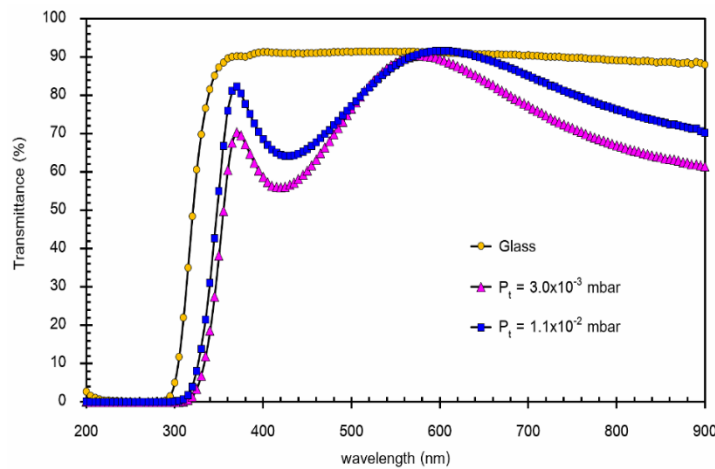


ภาพที่ 4 (a), (b) ลักษณะพื้นผิว และ (c) ภาคตัดขวางของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสรูไทล์ จากห้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อีมีสชัน (FE-SEM)

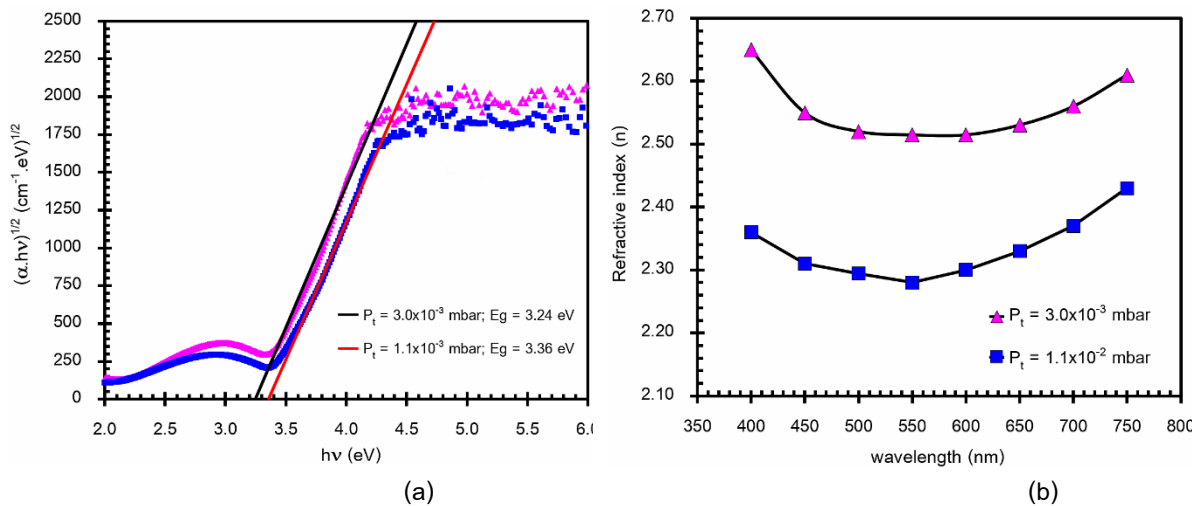
สมบัติทางแสงของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่ศึกษาในงานวิจัยนี้ประกอบด้วย ค่าการส่งผ่านแสง (%T) ค่าดัชนีหักเห (n) และค่าช่องว่างแถบพลังงาน (E_g) ซึ่งผลการวิเคราะห์ค่าการส่งผ่านแสงของกระจกใสที่เป็นตัวควบคุม (control sample) และฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบบนแผ่นกระจกใสด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิล สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS spectrophotometer) แสดงดังในภาพที่ 5 พบว่า กระจกใสที่เป็นตัวควบคุมจะไม่ส่งผ่านแสงที่มีความยาวคลื่นต่ำกว่า 300 nm แต่ในช่วงความยาวคลื่น 300–350 nm มีค่าการส่งผ่านแสงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จากนั้นค่าการส่งผ่านแสงคงที่ประมาณ 90% ตลอดความยาวคลื่นแสงที่ทดลอง ส่วนค่าการส่งผ่านแสงของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบบนกระจกใสได้พบว่า มีลักษณะแตกต่างออกไป โดยฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ (ทุกเงื่อนไขการเคลือบ) จะเริ่มส่งผ่านแสง

ที่ความยาวคลื่นประมาณ 330 nm และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนมีค่าการส่งผ่านแสงสูงประมาณ 80% ที่ความยาวคลื่นแสงประมาณ 370 nm และพบค่าการส่งผ่านแสงสูงสุดประมาณ 90% ที่ความยาวคลื่นแสงในช่วงประมาณ 580–600 nm จากนั้นกลับลดลงอีกครั้ง (แต่ยังมีค่าสูงประมาณ 60–75%) ลักษณะการเพิ่มและลดของค่าการส่งผ่านแสงของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นผลมาจากโครงสร้างของฟิล์ม ดัชนีหักเหของฟิล์ม รวมถึงการสะท้อนและแทรกสอดของแสงเมื่อส่งผ่านชั้นของฟิล์มที่มีความหนาต่างกัน (Mardare *et al.*, 2000)

ทั้งนี้เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบค่าการส่งผ่านแสงของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบได้เมื่อใช้ความดันรวมขณะเคลือบต่างกัน พบว่า ฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสรูไทล์ เมื่อเคลือบที่ความดันรวมต่ำ (3.0×10^{-3} mbar) จะมีค่าการส่งผ่านแสงในช่วงที่ตามองเห็นเฉลี่ยประมาณ 65% ซึ่งมีค่าน้อยกว่าฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอนาเทส เมื่อเคลือบที่ความดันรวมสูง (1.1×10^{-2} mbar) จะมีค่าการส่งผ่านแสงในช่วงที่ตามองเห็นเฉลี่ยประมาณ 75%



ภาพที่ 5 ค่าการส่งผ่านแสงของฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์ที่เคลือบบนกระจกใส เมื่อใช้ความดันรวมขณะเคลือบต่างกัน



ภาพที่ 6 (a) ค่าช่องว่างแถบพลังงาน และ (b) ค่าดัชนีหักเหของฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์ในช่วงความยาวคลื่น

400 ถึง 750 nm

สำหรับค่าดัชนีหักเห (n) ของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบบนกระจกสไลด์ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธีของ Swanepoel (1983) ในช่วงความยาวคลื่น 400–750 nm ดังภาพที่ 6 แสดงค่าดัชนีหักเหที่เป็นฟังก์ชันกับความยาวคลื่นแสงของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบด้วยความดันรวมขณะเคลือบแตกต่างกัน พบว่า ฟิล์มที่เคลือบได้ทั้งหมดมีค่าดัชนีหักเหอยู่ในช่วง 2.3–2.5 โดยมีค่าแตกต่างกันขึ้นกับโครงสร้างผลึกหรือเฟสของฟิล์ม ซึ่งฟิล์มที่เคลือบด้วยความดันรวมต่ำ (3.0×10^{-3} mbar) เป็นเฟสรูไทล์จะมีค่าดัชนีหักเหสูง (ความยาวคลื่น 550 nm ฟิล์มมีค่าดัชนีหักเหเท่ากับ 2.5) ขณะที่ฟิล์มที่เคลือบด้วยความดันรวมสูง (1.1×10^{-2} mbar) เป็นเฟสอนาเทสจะมีค่าดัชนีหักเหต่ำ (ความยาวคลื่น 550 nm ฟิล์มมีค่าดัชนีหักเหเท่ากับ 2.3) จากงานวิจัยของ Zhou *et al.* (2006) ชี้ว่าค่าดัชนีหักเหของไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสรูไทล์จะมีค่าสูงกว่าเฟสอนาเทส โดยค่าช่องว่างแถบพลังงานของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เตรียมได้ในงานวิจัยครั้งนี้มีค่าในช่วง 3.24–3.36 eV โดยฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอนาเทสที่เคลือบด้วยความดันรวมสูง (1.1×10^{-2} mbar) จะมีค่าช่องว่างแถบพลังงานเท่ากับ 3.36 eV สูงกว่าฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสรูไทล์ที่เคลือบด้วยความดันรวมต่ำ (3.0×10^{-3} mbar) มีค่าช่องว่างแถบพลังงานเท่ากับ 3.24 eV (Tang *et al.*, 1994)

3. การทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย จากผลการทดสอบความสามารถของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอนาเทสและเฟสรูไทล์ในการยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* ภายใต้การฉายแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอ ที่เวลา 0 10 20 30 40 50 และ 60 min ดังแสดงในตารางที่ 4 พบว่า ก่อนการฉายแสง (0 min) กระจกสไลด์ที่ไม่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์มีจำนวนโคโลนีของ *E. coli* และ *S. aureus* ที่รอดชีวิตเป็นจำนวนมาก แต่เมื่อฉายแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอ ที่เวลา 10 20 30 40 50 และ 60 min บนกระจกสไลด์ที่ไม่เคลือบฟิล์มและกระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอนาเทสและเฟสรูไทล์ พบว่า จำนวนโคโลนีของ *E. coli* และ *S. aureus* ที่รอดชีวิตลดลงตามเวลาที่ใช้ในการฉายแสงที่นานขึ้น อันเป็นผลมาจากความสามารถในการทำลายแบคทีเรียจากแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอและฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ โดยกระจกสไลด์ที่ไม่เคลือบฟิล์มมีจำนวน *E. coli* และ *S. aureus* รอดชีวิตมากกว่ากระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอนาเทสและเฟสรูไทล์ ซึ่งจากการนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียรอดชีวิตเมื่อฉายแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอ ที่เวลา 0 ถึง 60 min พบว่า กระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอนาเทสมีจำนวน *E. coli* ลดลงจาก 3.7×10^5 เป็น 3.5×10^4 CFU/mL และมีจำนวน *S. aureus* ลดลงจาก 9.7×10^5 เป็น 4.9×10^5 CFU/mL ส่วนกระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสรูไทล์มีจำนวน *E. coli* ลดลงจาก 4.6×10^5 เป็น 6.1×10^4 CFU/mL และมีจำนวน *S. aureus* ลดลงจาก 1.0×10^6 เป็น 5.6×10^5 CFU/mL จากการเปรียบเทียบโคโลนีของ *E. coli* และ *S. aureus* ที่เจริญบนอาหาร plate count agar ที่เวลาฉายแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอ นาน 60 min ดังแสดงในภาพที่ 7 พบว่า กระจกที่ไม่เคลือบฟิล์มพบโคโลนีของ *E. coli* และ *S. aureus* เจริญบนอาหาร plate count agar เป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 7a,d) ส่วนกระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอนาเทสและเฟสรูไทล์ทดสอบการยับยั้ง *E. coli* จะพบโคโลนีของ *E. coli* เจริญบนอาหาร plate count agar เพียงเล็กน้อย (ภาพที่ 7b,c) อีกทั้งกระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอนาเทสและเฟสรูไทล์ทดสอบการยับยั้ง *S. aureus* พบโคโลนีของ *S. aureus* เจริญบนอาหาร plate count agar จำนวนมากกว่าทดสอบการยับยั้ง *E. coli* (ภาพที่ 7e,f)

ตารางที่ 4 จำนวน *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* รอดชีวิต ที่เวลาการฉายแสงอัลตราไวโอเล็ต ชนิดเอ 0 ถึง 60 min

เวลาฉายแสง อัลตราไวโอเล็ต ชนิดเอ (min)	จำนวน <i>Escherichia coli</i> (CFU/mL)			จำนวน <i>Staphylococcus aureus</i> (CFU/mL)		
	กระจกไม่เคลือบฟิล์ม	กระจกเคลือบฟิล์ม เฟสอานาเทส	กระจกเคลือบฟิล์ม เฟสรูไทล์	กระจกไม่เคลือบฟิล์ม	กระจกเคลือบฟิล์ม เฟสอานาเทส	กระจกเคลือบฟิล์ม เฟสรูไทล์
0	>300	3.7×10^5	4.6×10^5	>300	9.7×10^5	1.0×10^6
10	1.4×10^6	3.2×10^5	3.7×10^5	2.9×10^6	8.5×10^5	9.0×10^5
20	5.8×10^5	2.5×10^5	2.8×10^5	2.8×10^6	7.9×10^5	8.4×10^5
30	5.2×10^5	2.2×10^5	2.8×10^5	2.5×10^6	6.8×10^5	7.4×10^5
40	4.8×10^5	2.0×10^5	2.4×10^5	1.4×10^6	6.7×10^5	6.8×10^5
50	3.9×10^5	1.3×10^5	1.8×10^5	1.3×10^6	6.1×10^5	6.2×10^5
60	3.8×10^5	3.5×10^4	6.1×10^4	3.6×10^5	4.9×10^5	5.6×10^5



(a)



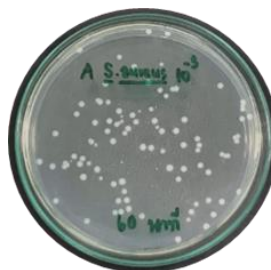
(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

ภาพที่ 7 โคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร plate count agar ที่เวลาฉายแสงอัลตราไวโอเล็ตชนิดเอ นาน 60 min

(a) กระจกไม่เคลือบฟิล์มทดสอบ *E. coli*

(d) กระจกไม่เคลือบฟิล์มทดสอบ *S. aureus*

(b) กระจกเคลือบฟิล์มเฟสอานาเทสทดสอบ *E. coli*

(e) กระจกเคลือบฟิล์มเฟสอานาเทสทดสอบ *S. aureus*

(c) กระจกเคลือบฟิล์มเฟสรูไทล์ทดสอบ *E. coli*

(f) กระจกเคลือบฟิล์มเฟสรูไทล์ทดสอบ *S. aureus*



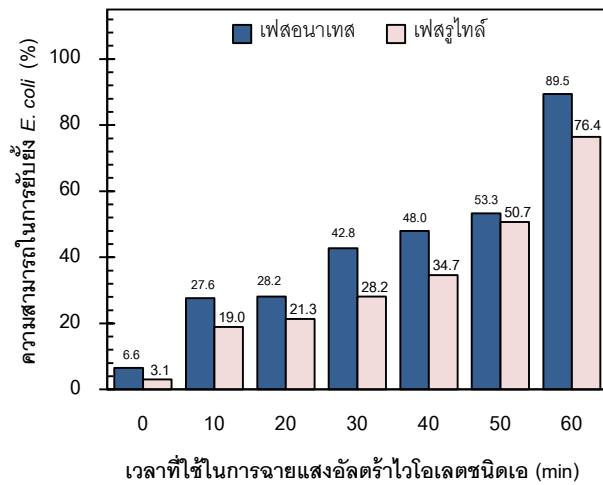
เมื่อนำค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียรอดชีวิตมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียบนกระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสและเฟสรูไทล์ ภายใต้การฉายแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอ ที่เวลา 0 10 20 30 40 50 และ 60 min ดังตารางที่ 5 พบว่า ค่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของกระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เพิ่มขึ้นตามเวลาฉายแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอที่นานขึ้น โดยกระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทส มีความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* เพิ่มขึ้นจาก 6.55% เป็น 89.45% และ *S. aureus* เพิ่มขึ้นจาก 4.65% เป็น 59.45% ส่วนกระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสรูไทล์มีความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* เพิ่มขึ้นจาก 3.05% เป็น 76.40% และ *S. aureus* เพิ่มขึ้นจาก 2.05% เป็น 54.15%

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสและเฟสรูไทล์ในการยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* พบว่า ระยะเวลาในการฉายแสงมีผลต่อความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย ในแต่ละเฟสของฟิล์มที่ทดสอบได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในช่วงความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) และพบว่าฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสมีความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* ได้ดีกว่าเฟสรูไทล์ ซึ่งสอดคล้องกับภาพที่ 8 เปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* ระหว่างฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสกับเฟสรูไทล์ ภายใต้การฉายแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอ ที่เวลา 0 ถึง 60 min พบว่า เมื่อฉายแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอนาน 60 min กระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสมีความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* ได้ 89.45% และ *S. aureus* 59.45% ซึ่งมีค่ามากกว่าฟิล์มเฟสรูไทล์ที่มีความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* เพียง 76.40% และ *S. aureus* 54.15%

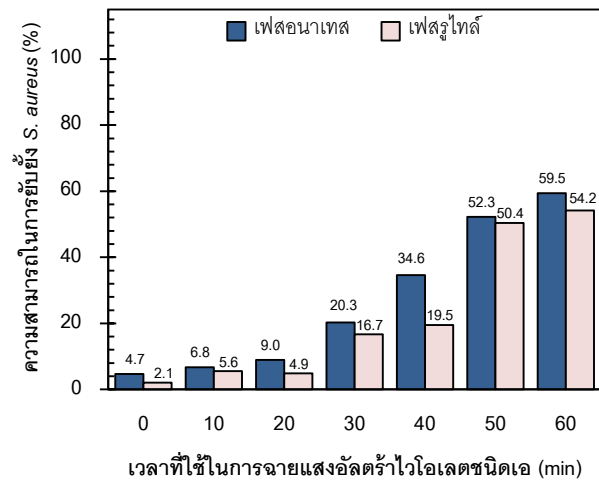
ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย ที่เวลาการฉายแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอ 0 ถึง 60 min

เวลาฉายแสง อัลตราไวโอเลต ชนิดเอ (min)	ความสามารถในการยับยั้ง <i>Escherichia coli</i> (%)		ความสามารถในการยับยั้ง <i>Staphylococcus aureus</i> (%)	
	เฟสอานาเทส	เฟสรูไทล์	เฟสอานาเทส	เฟสรูไทล์
0	6.55 ^a	3.05 ^a	4.65 ^a	2.05 ^a
10	27.60 ^b	18.95 ^b	6.75 ^a	5.55 ^b
20	28.15 ^b	21.30 ^b	8.95 ^a	4.85 ^{ab}
30	42.75 ^c	28.15 ^c	20.25 ^{ab}	16.65 ^c
40	48.00 ^d	34.65 ^d	34.60 ^b	19.50 ^c
50	53.30 ^e	50.65 ^e	52.25 ^c	50.35 ^d
60	89.45 ^f	76.40 ^f	59.45 ^c	54.15 ^e

หมายเหตุ ตัวอักษร a, b, c, d, e และ f ที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์คือ ค่าเฉลี่ยของข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)



(a)



(b)

ภาพที่ 8 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสและเฟสรูโทล ที่เวลาการฉายแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอ 0 ถึง 60 min

(a) เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้ง *E. coli*

(b) เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้ง *S. aureus*

วิจารณ์ผลการวิจัย

ลักษณะทางกายภาพของวัสดุรองรับที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ภายใต้เงื่อนไขที่กำหนดในงานวิจัยนี้ พบว่ากระจกใสที่เคลือบด้วยฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ความหนา 150 nm จะมีลักษณะใส ส่งผ่านแสงได้ แสงสะท้อนที่ผิวหน้าของฟิล์มเป็นสีฟ้าอ่อน ส่วนกระจกใสที่เคลือบด้วยฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ความหนา 143 nm จะมีลักษณะใส ส่งผ่านแสงได้ แสงสะท้อนที่ผิวหน้าของฟิล์มเป็นสีเหลืองอ่อน ทั้งนี้สีของแสงสะท้อนของฟิล์มที่เคลือบได้เกิดจากการแทรกสอดกันของแสงสะท้อนจากชั้นฟิล์มที่เคลือบบนวัสดุรองรับ และเกิดจากฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ทั้งสองเฟส มีค่าดัชนีหักเหที่ต่างกัน จึงทำให้แสงสะท้อนที่ได้มีสีแตกต่างกัน

สำหรับโครงสร้างผลึกหรือเฟสของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบได้ พบว่า เมื่อใช้ความดันรวมขณะเคลือบต่ำ (3.0×10^{-3} mbar) ฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบได้จะมีเฟสรูโทล แต่ถ้าใช้ความดันรวมขณะเคลือบสูง (1.1×10^{-2} mbar) ฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบได้มีเฟสอานาเทส (Yamakishi *et al.*, 2003) โครงสร้างผลึกของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์จะเปลี่ยนแปลงไปตามความดันรวมขณะเคลือบ โดยที่ความดันรวมขณะเคลือบต่ำฟิล์มที่ได้มีโครงสร้างผลึกแบบรูโทล เนื่องจากที่ความดันรวมขณะเคลือบต่ำระยะปลอดการชนในห้องเคลือบจะมีค่าสูง ทำให้อะตอมของสารเคลือบไม่สูญเสียพลังงานจากการชนกันของอะตอมต่างๆ ในห้องเคลือบ ดังนั้นพลังงานของอะตอมสารเคลือบจึงมีค่าสูงมากพอสำหรับใช้ในการฟอร์มตัวให้มีโครงสร้างผลึกเป็นแบบรูโทล เมื่อใช้ความดันรวมขณะเคลือบสูงฟิล์มที่ได้มีโครงสร้างผลึกแบบอานาเทส

เนื่องจากที่ความดันรวมขณะเคลือบสูงระยะเวลาปลอดการชนมีค่าต่ำ อะตอมสารเคลือบมีโอกาสชนกันทำให้สูญเสียพลังงานมากขึ้น ส่งผลให้อะตอมสารเคลือบมีพลังงานต่ำซึ่งเพียงพอต่อการฟอร์มตัวเป็นฟิล์มบางที่มีโครงสร้างผลึกแบบอนาเทส

ทั้งนี้ลักษณะพื้นผิวและความหนาของฟิล์มบางที่เตรียมได้จะแตกต่างกันเมื่อใช้ความดันรวมขณะเคลือบต่างกัน โดยฟิล์มที่เคลือบด้วยความดันรวมขณะเคลือบต่ำ (3.0×10^{-3} mbar) ลักษณะเกรนของฟิล์มเป็นแบบกลุ่มก้อนกลมมน กระจายตัวต่อเนื่องทั่วผิวหน้าของฟิล์มและไม่มีช่องว่างระหว่างเกรน เมื่อใช้ความดันรวมขณะเคลือบสูง (1.1×10^{-2} mbar) ลักษณะเกรนเป็นแบบเรียวยาวแหลม กระจายทั่วผิวหน้าของฟิล์ม และมีช่องว่างระหว่างเกรน ผลจากภาพภาคตัดขวางแสดงให้เห็นว่าฟิล์มที่เตรียมได้มีโครงสร้างเป็นแบบคอลัมน์ นอกจากนี้ยังพบว่าความดันรวมขณะเคลือบมีผลต่อความหนาของฟิล์ม โดยฟิล์มที่เตรียมด้วยความดันรวมขณะเคลือบสูง (1.1×10^{-2} mbar) มีความหนามากกว่าที่ความดันรวมขณะเคลือบต่ำ (3.0×10^{-3} mbar) เนื่องจากที่ความดันรวมสูงแก๊สอาร์กอนในห้องเคลือบมีปริมาณมากทำให้มีไอออนของแก๊สอาร์กอนจำนวนมาก เป็นผลให้เข้าสารเคลือบ (ไทเทเนียม) มีโอกาสถูกสปัตเตอร์ (โดยไอออนของอาร์กอน) ออกมาเป็นอะตอมของไทเทเนียมในปริมาณสูง ซึ่งเป็นการเพิ่มโอกาสในการทำปฏิกิริยากับแก๊สออกซิเจนแล้วฟอร์มตัวเป็นชั้นเคลือบในลักษณะฟิล์มบางของไทเทเนียม ไดออกไซด์บนผิวหน้าของวัสดุรองรับมากกว่า จึงเป็นเหตุผลให้เมื่อความดันรวมขณะเคลือบเพิ่มขึ้น ความหนาของฟิล์มที่เคลือบได้จึงมีค่าสูงขึ้น

สมบัติทางแสงของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เตรียมได้ในงานวิจัยนี้ พบว่า ค่าการส่งผ่านแสงของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบบนกระจกสไลด์มีลักษณะแตกต่างกันออกไป โดยฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสรูไทล์มีค่าการส่งผ่านแสงในช่วงที่ตามองเห็นประมาณ 65% ส่วนฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอนาเทสมีค่าการส่งผ่านแสงในช่วงที่ตามองเห็นประมาณ 75% เมื่อพิจารณาค่าการส่งผ่านแสงของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ (ทุกเงื่อนไขการเคลือบ) ตามความยาวคลื่น พบว่า มีลักษณะสูงขึ้นและลดลงสลับกันไปตามความยาวคลื่น (มีลักษณะคล้ายการสั่นหรือคล้ายคลื่น) ทั้งนี้ลักษณะการเพิ่มขึ้นและลดลงของค่าการส่งผ่านแสงของฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์ที่ได้ในลักษณะนี้เป็นผลมาจากโครงสร้างของฟิล์ม ชั้นนี้หักเหของฟิล์ม รวมถึงการสะท้อนและแทรกสอดของแสงเมื่อส่งผ่านแต่ละชั้นของฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์ที่มีความหนาต่างกัน (Mardare *et al.*, 2000)

จากการศึกษาความสามารถของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอนาเทสและเฟสรูไทล์ ในการยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ภายใต้การฉายแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอ ที่เวลา 0 ถึง 60 min พบว่า ฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ทั้งเฟสอนาเทสและเฟสรูไทล์ มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้งสองชนิด โดยกระจกสไลด์ที่ไม่เคลือบฟิล์มมีจำนวน *E. coli* และ *S. aureus* ที่รอดชีวิตมากกว่ากระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอนาเทสและเฟสรูไทล์ ซึ่งจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิตจะลดลงตามเวลาในการฉายแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอที่นานขึ้น เนื่องจากฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์มีสมบัติเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาดูดซับแสง (photocatalysts) เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงอัลตราไวโอเลตจะดูดซับพลังงานเท่ากับหรือมากกว่าช่องว่างแถบพลังงาน ทำให้อิเล็กตรอนในแถบวาเลนซ์ถูกกระตุ้นและย้ายขึ้นไปอยู่ในแถบการนำ ดังนั้นในแถบวาเลนซ์จึงเกิดหลุมประจุบวกขึ้น เมื่อสัมผัสกับความชื้นหรือน้ำจะทำให้เกิดอนุมูลอิสระของไฮดรอกซิล (hydroxyl radical; OH•) และอนุมูลอิสระของซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide radicals; O₂⁻) ที่มีความแรงในการทำปฏิกิริยากับเพปติโดไกลแคนของเยื่อหุ้ม

เซลล์แบคทีเรีย ทำให้เกิดความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย เกิดการเสียสภาพของโปรตีน หรือเกิดความเสียหายต่อดีเอ็นเอซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เซลล์แบคทีเรียตายได้ (Sunada *et al.*, 2003)

จากการคำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* ของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ เฟสอานาเทสและเฟสยูไทล์ พบว่า ระยะเวลาในการฉายแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอมีผลต่อความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียในแต่ละเฟสของฟิล์มที่ทดสอบได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) และฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสสามารถยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* ได้ดีกว่าเฟสยูไทล์ โดยกระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสมีเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิดมากกว่ากระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสยูไทล์ เนื่องจากฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสมีช่องว่างแถบพลังงาน 3.36 eV ซึ่งมากกว่าฟิล์มเฟสยูไทล์ที่มีช่องว่างแถบพลังงาน 3.24 eV ทำให้ฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสเกิดปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลติกที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีกว่าฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสยูไทล์ (Zeman & Takabayashi, 2002) และสามารถยับยั้ง *E. coli* ได้ดีกว่า *S. aureus* เนื่องจาก *S. aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีองค์ประกอบของผนังเซลล์เป็นเพปทิโดไกลแคนถึง 90% และมีกรดไทโคอิกเชื่อมกับเพปทิโดไกลแคนช่วยเพิ่มความแข็งแรงทำให้ผนังเซลล์หนากว่าแบคทีเรียแกรมลบ จึงทำให้สามารถยับยั้ง *E. coli* ได้ง่ายกว่า *S. aureus* (Chinkamonthong *et al.*, 2012)

สรุปผลการวิจัย

กระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ตามเงื่อนไขด้วยวิธีแอคทีฟดีซีแมกนีตรอนสเปดเตอร์ริง เมื่อศึกษาโครงสร้างผลึกด้วยเทคนิควิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) พบว่า ฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบได้มีการจัดเรียงตัวเป็นผลึกเฟสอานาเทส ระนาบ (101) และเฟสยูไทล์ ระนาบ (110) ซึ่งเฟสของฟิล์มที่เคลือบได้จะแปรตามความดันรวมขณะเคลือบที่เพิ่มขึ้นจากเฟสยูไทล์เป็นเฟสอานาเทส โดยฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทส มีขนาดผลึก 43 nm ความหนา 150 nm และค่าการส่งผ่านแสงในช่วงที่ตามองเห็นประมาณ 75% จากการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่า ฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสมีลักษณะพื้นผิวก่อตัวเป็นเกรนแบบเรียวยแหลม กระจายทั่วผิวนำของฟิล์ม มีช่องว่างระหว่างเกรน และมีโครงสร้างเป็นแบบคอลัมน์ ส่วนฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสยูไทล์ มีขนาดผลึก 20 nm ความหนา 143 nm และค่าการส่งผ่านแสงในช่วงที่ตามองเห็นประมาณ 65% จากการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่า ฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสยูไทล์มีลักษณะพื้นผิวก่อตัวเป็นเกรนแบบกลุ่มก้อนกลมมน กระจายตัวต่อเนื่องทั่วผิวนำของฟิล์ม และไม่มีช่องว่างระหว่างเกรน เมื่อศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* พบว่า กระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์มีความสามารถในการยับยั้งทั้ง *E. coli* และ *S. aureus* เพิ่มขึ้นตามเวลาในการฉายแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอ โดยหลังการฉายแสงอัลตราไวโอเลตชนิดเอ ที่เวลา 60 min กระจกสไลด์ที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสมีความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* ได้ 89.45% และ *S. aureus* 59.45% ซึ่งมากกว่าฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสยูไทล์ที่มีความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* เพียง 76.40% และ *S. aureus* 54.15% จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า ฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสอานาเทสมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่าฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เฟสยูไทล์



กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์ ศรีราชา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในการสนับสนุนอุปกรณ์เครื่องมือและสถานที่ในการทำการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

American Society for Testing and Materials. (2001). ASTM International. ASTM E2149–01: Standard Test Method for Determining the Antimicrobial Activity of Immobilized Antimicrobial Agent under Dynamic Contact Conditions. West Conshohocken, PA.

Babelon, P., Dequiedt, A. S., Mostéfa-Sba, H., Bourgeois, S., Sibillot, P., & Sacilotti, M. (1998). SEM and XPS studies of titanium dioxide thin films grown by MOCVD. *Thin Solid Films*, 322, 63–67.

Brady, G.S., & Clauser, H.R. (1991). *Materials Handbook*. New York: McGraw-Hill.

Chammanee, P., Sombatsompop, K., Kositchaiyong, A., & Sombatsompop, N. (2009). Effects of anti-bacterial agents, sample preparation and contact time on anti-bacterial efficacy in MDPE film. *Macromolecular Science*, 48, 755–765.

Chinkamonthong, R., Kositchaiyong, A., & Sombatsompop, N. (2012). Effects of thermal and UV aging on antibacterial properties of linear low-density polyethylene and poly(vinyl chloride) films containing nano-silver colloid. *Journal of Plastic Film & Sheeting*, 29(2), 144–162.

Choeysupaket, A., Chaiyakun, S., & Rattana, T. (2018). Effect of tungsten sputtering current on structural and morphological properties of WC thin films. *SNRU Journal of Science and Technology*, 10(1), 82–86.

Cullity, B.D., & Stock, S.R. (2001). *Elements of X-Ray Diffraction*. New Jersey: Prentice Hall.

Egerton, T.A., Kosaa, A.M., & Christensen, P.A. (2006). Photoelectrocatalytic disinfection of *E. coli* suspensions by iron doped TiO₂. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 8, 398–406.



- Hathaisamit, K., Pudwat, S., Aiempanakit, K., & Damrongrattana, S. (2009) Preparation of Anatase–Titanium Dioxide Films and for Photokilling of Bacteria. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya Rajabhat University. (in Thai)
- Jafari, A., Ghoranneviss, Z., Elahi, S., Ghoranneviss, M., Yazdi, F., & Rezaei, A. (2015). Effects of annealing on TiN thin film growth by DC magnetron sputtering. *Advances in Mechanical Engineering*, 2014, 1–6.
- Lim, J.W., Park, J.S., & Kang, S.W. (2000). Kinetic modeling of film growth rates of TiN films in atomic layer deposition. *Journal of Applied Physics*, 87, 4632–4634.
- Mardare, D., Tasca, M., Delibas, M., & Rusu, G. I. (2000). On the structural properties and optical transmittance of TiO₂ r.f. sputtered thin films. *Applied Surface Science*, 156, 200–206.
- Mohsen, B., & Vajihch, A. (2012). Study of the photocatalytic activity nanocrystalline S, N-codoped TiO₂ thin films and powders under visible and sun light irradiation. *Applied Surface Science*, 258, 6595–6601.
- Ou, Y., Lin, J., Fang, S., & Liao, D. (2006). MWNT–TiO₂: Ni composite catalyst: a new class of catalyst for photocatalytic H₂ evolution from water under visible light illumination. *Chemical Physics Letters*, 429, 199–203.
- Pulker, H.K. (1999). *Coatings on Glass*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V.
- Ritter, E. (1975) Dielectric film materials for optical applications. In H.G., Francombe, M.H., & Hoffman, R.W. (Eds.) *Physics of thin films*. (pp. 1–49). New York: Academic Press.
- Roy, A., Gauri, S.S., Bhattacharya, M., & Bhattacharya, J. (2013). Antimicrobial activity of CaO nanoparticles. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 9, 1–8.
- Sunada, K., Watanabe, T., & Hashimoto, K. (2003). Studies on photokilling of bacteria on TiO₂ thin film. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 156, 227–233.



- Swanepoel, R. (1983). Determination of the thickness and optical constants of amorphous silicon. *Journal of Physics E: Scientific Instruments*, 16, 1214–1222.
- Tang, H., Prasad, K., Sanjine, R., Schmid, P.E., & Lévy, F. (1994). Electrical and optical properties of TiO₂ anatase thin films. *Journal of Applied Physics*, 75, 2042–2047.
- Tantipalakul, Y., Kavinsekson, B., Teekasap, S., & Kaewkhao, J. (2018). Sol gel technique to synthesis of titanium dioxide thin film for self-cleaning glass production. *SAU Journal of science & technology*, 75(1), 22–34. (in Thai)
- Tapaneeyakul, N., & Kongsuk, W. (2015). *Staphylococcus aureus*. Research and Laboratory Development Center. Ministry of Public Health, Thailand. (in Thai)
- Yamagishi, M., Kuriki, S., Song, P.K., & Shigesato, Y. (2003). Thin film TiO₂ photocatalyst deposited by reactive magnetron sputtering. *Thin Solid Films*, 442, 227–231.
- Yosboonruang, A., Kiddee, A., & Boonduang, C. (2018). Surveillance of antimicrobial resistance among *Escherichia coli* from house flies in a hospital area. *Journal Public Health*, 48(2), 185–197.
- Zeman, P., & Takabayashi, S. (2002). Effect of total and oxygen partial pressures on structure of photocatalytic TiO₂ films sputtered on unheated substrate. *Surface and Coatings Technology*, 153, 93–99.
- Zhou, W., Zhong, X.X., Wu, X.C., Yuan, L.G., Shu, Q.W., & Xia, Y.X. (2006). Structural and optical properties of titanium oxide thin films deposited on unheated substrate at different total pressures by reactive dc magnetron sputtering with a substrate bias. *Korean Physical Society*, 49, 2168–2175.