โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การทดสอบประสิทธิภาพของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพาราคาถูก
Studying and testing for the disinfection of portable ultraviolet sterilization boxes

ชื่อนิสิต นายติณณภพ ดวงทา **เลขประจำตัว** 6033412023

ภาควิชา ฟิสิกส์

ปีการศึกษา 2563

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อโครงงาน	การทดสอบประสิทธิภาพของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพาราคาถูก
โดย	นายติณณภพ ดวงทา
ภาควิชา	ฟิสิกส์
ปีการศึกษา	2563
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.พงษ์ ทรงพงษ์

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2563

คณะกรรมการสอบได้ตรวจและรับรองรายงานฉบับนี้แล้ว

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มนต์เทียน เทียนประทีป)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ต้นพงศ์ แก้วคงคา)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พงษ์ ทรงพงษ์)

หัวข้อโครงงาน	การทดสอบประสิทธิภาพของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพาราคาถูก
โดย	นายติณณภพ ดวงทา
ภาควิชา	ฟิสิกส์
ปีการศึกษา	2563
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.พงษ์ ทรงพงษ์

บทคัดย่อ

โครงงานนี้มีจุดประสงค์เพื่อต้องการทดสอบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพาราคาถูก โดยใช้ตัวอย่างในการทดสอบเป็นหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting ที่ผ่านการรับรองมาตรฐานราคา 600 บาท กล่องฆ่าเชื้อแบบพกพา Sterilization Box ราคา 200 บาทและกล่อง Multi-function Sterilizer ราคา 400 บาท โดยในการวิเคราะห์ประสิทธิภาพจะต้องหาความยาวคลื่นของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตของแต่ละกล่องโดยวิธีการสังเกตริ้วการแทรกสอดของรังสีผ่านเกรตติงที่ตกกระทบบนฉากเรืองแสง จากสเปกโตรมิเตอร์ ผลการทดสอบพบว่าหลอดทั้งสามชนิดมีค่าความยาวคลื่นใกล้เคียงกันประมาณ 222 นาโนเมตร ซึ่งค่าดังกล่าวมีความใกล้เคียงกับค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของแบคทีเรีย จากการทดสอบการฆ่าเชื้อโดยใช้ชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรีย SI-2 ที่พัฒนาโดยกรมอนามัย เมื่อเปรียบเทียบเฉพาะสีของน้ำยาทดสอบเท่านั้น ปรากฏว่าได้ผลเป็นบวกทั้งสามหลอด กล่าวคือหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตที่ผ่านการรับรองมาตรฐาน ราคา 600 บาท มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อสูงที่สุด รองลงมาคือกล่องฆ่าเชื้อราคา 400 และ 200 บาทตามลำดับ และปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียยังมีค่าเกินมาตรฐานอยู่ทั้งสามหลอด ปัจจัยที่ทำให้อุปกรณ์ทั้งสามชนิดที่มีค่าความยาวคลื่นใกล้เคียงกันมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อต่างกันก็คือ ระยะห่างของตัวอย่างจากหลอดและระยะเวลาในการฉายของรังสีอัลตราไวโอเลต และจากการทดสอบการฆ่าเชื้อโดยใช้เทคนิค Pour Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เมื่อเทียบให้ประสิทธิภาพของอุปกรณ์ฆ่าเชื้อทุกชนิดเป็น 100% ตามคู่มือที่แนบมาของแต่ละกล่อง ปรากฏว่าในภาพรวมหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อมากที่สุด รองลงมาคือกล่อง Sterilization Box และกล่อง Multi-Function Sterilizer มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อต่ำที่สุด

คำสำคัญ : การแทรกสอดผ่านเกรตติง, ชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรีย SI-2, การทดสอบโดยการเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด PDA

Project title	Studying and testing for the disinfection of portable ultraviolet sterilization boxes
Author	Tinnapop Duangtha
Department	Physics
Academic Year	2020
Project Advisor	Assistant Professor Pong Songpongs

ABSTRACT

This project's purpose is to test the efficacy of bacteria sterilization of cheap portable sterilization boxes. The samples in this test are a certified PHILIPS Lighting ultraviolet lamp (600 baht), “Sterilization Box” (400 baht) and “Multi-function Sterilizer” (200 baht). The efficacy of these tools is analyzed from the wavelength of UV for each tool by using the fringes that hit on the fluorescence screen of the UV passing through a grating plate. The test results showed that all three tubes had a similar wavelength of about 222 nm that is close to the maximum absorption peak of bacteria. Next, A sterilization test was performed by using the test kit for the detection of coliforms in food (SI-2) developed by the Thai Ministry of Public Health's Department of Health. The efficacy is observed by comparing the color of the testing solution. The test results are positive on all three tubes. Nevertheless, the certified ultraviolet lamp has the highest performance of sterilization. It is followed by the sterilization boxes, priced at 400 and 200 baht, respectively. However, the number of coliform bacteria still exceeded the standard for all three tubes. The factors of the different sterilization efficacy of these three tubes, having the similar wavelength of UV, are the distance of radiation and the exposure time of UV itself. The final testing is a sterilization test using the Pour Plate technique on a PDA culture medium. By set the standard efficacy of portable sterilization box when using the conditions from a manual is 100%, the PHILIPS Lighting ultraviolet lamp is the most effective. It is followed by the “Sterilization Box”. The "Multi-Function Sterilizer" box has the lowest efficacy in sterilization.

KEYWORDS : Interference, Test Kit for Detection of Coliforms in Food (SI-2), Potato Dextrose Agar (PDA)

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบคุณ ผศ.พงษ์ ทรงพงษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานเป็นอย่างสูงที่ได้ให้คำปรึกษา แนะนำแนวทางซื้ออุปกรณ์ในการทดลอง ตลอดจนช่วยตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ อีกทั้งยังให้ความรู้แก่ข้าพเจ้า ทำให้รายงานฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ข้าพเจ้าขอขอบคุณ ผศ.ดร.มนต์เทียน เทียนประทีป รศ.ดร. ต้นพงศ์ แก้วคงคา ที่ได้ให้ความกรุณาสละเวลาอันมีค่าเพื่อมาเป็นประธานกรรมการสอบ และกรรมการสอบ รวมถึงได้ให้ความรู้ ข้อเสนอแนะ เพื่อเป็นประโยชน์สำหรับใช้ในการแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้เกิดความถูกต้องและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ข้าพเจ้าขอขอบคุณคณาจารย์ภาควิชาฟิสิกส์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ถ่ายทอดความรู้ทางฟิสิกส์ ซึ่งข้าพเจ้าสามารถนำมาใช้ในทำโครงงานครั้งนี้ได้

และสุดท้ายข้าพเจ้าขอขอบคุณภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำการทดลองและอุปกรณ์เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ในการทดลอง ทำให้การทดลองสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	2
1.4 วิธีการดำเนินงาน	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับรังสีอัลตราไวโอเลต	5
2.2 ความยาวคลื่นของรังสีอัลตราไวโอเลต	5
2.3 ปริมาณความเข้มของรังสีอัลตราไวโอเลต (UV Irradiance)	6
2.4 ความหนาแน่นของพลังงานของรังสีอัลตราไวโอเลต (UV Energy Density)	6
2.5 หลอดรังสีอัลตราไวโอเลต	7
2.6 กระบวนการที่เกิดขึ้นในแบคทีเรียเมื่อถูกฉายด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต	7
2.7 กระบวนการซ่อมแซมตัวเองของแบคทีเรีย NER	8
2.8 กระบวนการที่เกิดขึ้นในไวรัสเมื่อถูกฉายด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต	9
2.9 เกรตติง	9
2.10 สเปกโตรมิเตอร์	10
2.11 การหาความยาวคลื่นของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพา	11
2.12 ชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียขั้นต้น SI-2	11
2.13 การเลี้ยงเชื้อด้วยเทคนิค Pour Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA	12

หน้า

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 การศึกษาลักษณะทั่วไปของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพา

3.1.1 ศึกษาลักษณะทั่วไปของกล่องสำหรับใส่หลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting 13

3.1.2 ศึกษาลักษณะทั่วไปของกล่องฆ่าเชื้อ Sterilization Box ราคา 400 บาท 13

3.1.3 ศึกษาลักษณะทั่วไปของกล่องฆ่าเชื้อ Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท 14

3.2 การทดลองเพื่อหาความยาวคลื่นของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต

3.2.1 การจัดอุปกรณ์ในการสร้างสเปกโตรมิเตอร์ 15

3.2.2 การเตรียมฉากเรืองแสง 15

3.2.3 ทำการทดลองฉายรังสีอัลตราไวโอเลต 16

3.3 การทดสอบการฆ่าเชื้อโดยใช้ชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียขั้นต้น SI-2 17

3.4 การทดสอบการฆ่าเชื้อโดยใช้เทคนิค Pour Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 18

บทที่ 4 ผลการศึกษาและอภิปรายผลการศึกษา

4.1 ผลการทดลองการหาความยาวคลื่นของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต 20

4.2 ผลการทดลองในการฆ่าเชื้อของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตโดยใช้ชุดทดสอบสำหรับการทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียขั้นต้น (SI-2) 24

4.3 ผลการทดลองในการฆ่าเชื้อของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตโดยการสวอป (Swab) ตัวอย่างแล้วทดสอบโดยการเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 26

4.4 แนวทางในการทดลองและอภิปรายผลในอนาคต 33

บทที่ 5 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษา 34

5.2 ข้อเสนอแนะ 35

บรรณานุกรม 36

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. ผลการทดลองการหาความยาวคลื่นรังสีอัลตราไวโอเลต 40

ภาคผนวก ข. ผลการทดลองการทดสอบการฆ่าเชื้อด้วยเทคนิค Pour plate 41

ภาคผนวก ค. ความผิดพลาดของการทดลอง 42

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 แสดง Dose ในการฆ่าเชื้อของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตร 7

ตารางที่ 3.1 แสดงการอ่านค่าจากชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียขั้นต้น SI-2 18

ตารางที่ 4.1 แสดงแถบสว่างที่สังเกต ระยะห่างจากแถบสว่างกึ่งกลาง ระยะจากเกรตติงถึงฉาก และความยาวคลื่นที่คำนวณได้ ของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting TUV TL Mini โดยใช้เกรตติงที่มีจำนวนช่อง 1000 ช่อง/มิลลิเมตร 21

ตารางที่ 4.2 แสดงแถบสว่างที่สังเกต ระยะห่างจากแถบสว่างกึ่งกลาง ระยะจากเกรตติงถึงฉาก และความยาวคลื่นที่คำนวณได้ ของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตของกล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท โดยใช้เกรตติงที่มีจำนวนช่อง 1000 ช่อง/มิลลิเมตร 22

ตารางที่ 4.3 แสดงแถบสว่างที่สังเกต ระยะห่างจากแถบสว่างกึ่งกลาง ระยะจากเกรตติงถึงฉาก และความยาวคลื่นที่คำนวณได้ ของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตของกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท โดยใช้เกรตติงที่มีจำนวนช่อง 1000 ช่อง/มิลลิเมตร 23

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการทดลองในการฆ่าเชื้อของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตโดยใช้ชุดทดสอบสำหรับการทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียขั้นต้น (SI-2) เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง 24

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบการฆ่าเชื้อโดยใช้เทคนิค Pour Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง 26

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1.1 แสดงกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพาราคาถูกที่วางขายตามท้องตลาด 2

รูปที่ 2.1 แสดงความยาวคลื่นของรังสีอัลตราไวโอเลตแต่ละชนิด 5

รูปที่ 2.2 แสดงสเปกตรัมของหลอดปรอท แบบความดันปานกลาง (Medium-pressure mercury lamp) โดยจะสังเกตุได้ว่ามีพีคอยู่ในช่วง UVC ด้วยนั่นคือ 253.7 นาโนเมตร 6

รูปที่ 2.3 แสดงการเกิดของ Thymine dimer ใน DNA 8

รูปที่ 2.4 กระบวนการ NER ของ Escherichia coli (E.coli) 8

รูปที่ 2.5 แสดงภาพของเกรตติงแบบส่องผ่าน (Transmission grating) 9

รูปที่ 2.6 แสดงตัวอย่างเกรตติงแบบสะท้อนและโครงสร้างที่ผิวของเกรตติง 9

รูปที่ 2.7 แสดงเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ที่ใช้เกรตติงเลี้ยวเบนในการแยกสเปกตรัมของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า 10

รูปที่ 3.1 แสดงเอกสารแนบของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting 13

รูปที่ 3.2 แสดงเอกสารแนบของกล่องฆ่าเชื้อ Sterilization Box ราคา 400 บาท 14

รูปที่ 3.3 แสดงเอกสารแนบของกล่องฆ่าเชื้อ Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท 14

รูปที่ 3.4 แสดงการจัดวางอุปกรณ์ในการสร้างสเปกโตรมิเตอร์ 15

รูปที่ 3.5 แสดงการทดสอบด้วยแสงอัลตราไวโอเลตก่อนจะนำไปทดลองจริง 16

รูปที่ 3.6 แสดงลักษณะการวางหลอดและครอบด้วยกล่องเพื่อป้องกันอันตรายจากรังสีอัลตราไวโอเลต 16

รูปที่ 3.7 แสดงการทดลองโดยใช้ชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียขั้นต้น SI-2 17

รูปที่ 3.8 แสดงการทดสอบการฆ่าเชื้อโดยใช้เทคนิค Pour Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 19

รูปที่ 4.1 แสดงภาพผลการทดลองบางส่วนของการหาความยาวคลื่นของหลอด PHILIPS Lighting ที่ระยะห่างจากฉาก (L) เท่ากับ 10 เซนติเมตร 20

รูปที่ 4.2 แสดงการทดลองการฆ่าเชื้อของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตโดยใช้ชุดทดสอบสำหรับการทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียขั้นต้น (SI-2) 25

รูปที่ 4.3 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A’] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบไม่เจือจาง [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B’] 27

รูปที่ 4.4 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A’] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/2 [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B’] 28

หน้า

รูปที่ 4.5 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A'] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/10 [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B'] 28

รูปที่ 4.6 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A'] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของกล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบไม่เจือจาง [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B'] 29

รูปที่ 4.7 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A'] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของกล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/2 [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B'] 29

รูปที่ 4.8 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A'] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของกล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/10 [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B'] 30

รูปที่ 4.9 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A'] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบไม่เจือจาง [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B'] 30

รูปที่ 4.10 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A'] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/2 [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B'] 31

รูปที่ 4.11 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A'] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/10 [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B'] 31

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

การระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ 2019 (COVID-19) ถูกพบครั้งแรกเมื่อเดือนธันวาคม ปีพุทธศักราช 2562 และโรคนี้ได้ถูกกำหนดให้เป็นโรคระบาดโดยองค์การอนามัยโลกในวันที่ 11 มีนาคม 2563 จนถึงตอนนี้มีผู้ติดเชื้อทั่วโลกรวมทั้งหมด 137 ล้านคน และมีผู้เสียชีวิต 2.95 ล้านคน [1] โดยการแพร่กระจายของเชื้อ SARS-CoV-2 ซึ่งเป็นไวรัสตัวต้นเหตุของโรคโควิด-19 นี้ สามารถแพร่เชื้อได้จากการสัมผัสโดยตรงและทางอากาศ จากการศึกษาพบว่าไวรัสชนิดนี้สามารถมีชีวิตอยู่ในอากาศได้นานอย่างน้อย 3 ชั่วโมง [2] ผู้ที่ติดเชื้อส่วนใหญ่จะไม่มีอาการในช่วงแรก จึงยากที่จะรู้ว่าบุคคลใดติดเชื้อบ้าง จึงมีบริษัทหลายบริษัทที่ผลิตและจำหน่ายกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพา ซึ่งราคาของกล่องนี้มีตั้งแต่ราคาหลักร้อยถึงหลักหมื่น โดยลักษณะของแต่ละกล่องมีลักษณะที่แตกต่างกันออกไป เช่น การใช้ไฟเลี้ยงจากแบตเตอรี่สำรองแบบพกพาหรือจากโทรศัพท์มือถือ เป็นต้น

รังสีอัลตราไวโอเลต (UV) ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการฆ่าเชื้อโรค เนื่องจากไม่จำเป็นต้องไปสัมผัสกับเชื้อโดยตรง โดยหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตที่พบทั่วไปจะเป็นหลอดความดันต่ำ ตัวหลอดผลิตมาจากควอตซ์และใช้ทังสเตนเป็นขั้วไฟฟ้า ภายในตัวหลอดบรรจุไอปรอทหรืออาร์กอนไว้ โดยหลอดชนิดนี้จะให้รังสีอัลตราไวโอเลตที่มีความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตร ซึ่งความยาวคลื่นนี้มีค่าใกล้เคียงกับค่าการดูดกลืนแสง (The maximum absorption peak) ของกรดนิวคลีอิกซึ่งมีค่า 260 นาโนเมตร [3] แต่ว่าหลอดชนิดนี้จะเป็นอันตรายกับผิวหนังและดวงตาของมนุษย์ นอกจากนี้หลอดรังสีอัลตราไวโอเลตยังมีอีกหลายชนิด เช่น หลอดชนิด Far-UVC ที่ปล่อยรังสีความยาวคลื่น 222 นาโนเมตร ซึ่งความยาวคลื่นนี้ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ [4] หลอดชนิด Pulsed xenon และหลอดชนิด UV-LED ที่ได้รับความนิยมในปัจจุบันเช่นกัน โดยหลอดชนิดนี้จะปล่อยรังสีที่มีความยาวคลื่น 214, 265 และ 273 นาโนเมตร [5]

ที่ความยาวคลื่นที่ 260 และ 280 นาโนเมตรจะเป็นค่าดูดกลืนแสงสูงสุดของ RNA ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมชนิดหนึ่งของไวรัส [6] กล่าวคือจะต้องใช้รังสีอัลตราไวโอเลตที่มีความยาวคลื่นใกล้เคียงค่าเหล่านี้เพื่อกำจัดไวรัสและแบคทีเรีย กระบวนการที่รังสีอัลตราไวโอเลตทำลายสารพันธุกรรมของแบคทีเรียมีหลายกรณี แต่ในกรณีที่สำคัญที่สุดคือการดูดซับเอาโฟตอนพลังงานสูงของไนโตรจีนัสเบส (Nitrogenous Base) [7] ซึ่งจะทำให้เบสชนิดไพริมิดีน (Pyrimidine) ที่อยู่ติดกันรวมกันเป็นไดเมอร์ (dimers) โดยกระบวนการนี้เรียกว่าไดเมอไรเซชัน (Dimerization) มีผลทำให้การจำลองตัวของดีเอ็นเอ (DNA Replication) หยุดไปชั่วขณะ แต่เมื่อสารพันธุกรรมเหล่านี้ถูกกระตุ้นโดยแสงอีกครั้งจะทำให้เกิดกระบวนการซ่อมแซมตัวเองที่เรียกว่า NER (Nucleotide Excision Repair mechanism) การซ่อมแซมตัวเองนี้เองที่ทำให้แบคทีเรียมีความสามารถในการอยู่รอดที่แตกต่างกันไป [8]

จากการศึกษาทำให้ทราบความยาวคลื่นของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตที่จะสามารถฆ่าเชื้อโรคได้ อีกทั้งหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตนั้นมีอยู่หลายชนิด ประกอบกับสถานการณ์ในปัจจุบันที่มีโรคติดต่อชนิดใหม่ ๆ เกิดขึ้นเป็นอย่างมาก ทำให้ผู้ผลิตทั้งในและนอกประเทศ ผลิตกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพาราคาถูกเพื่อฆ่าเชื้อโรคบนหน้ากากอนามัย

โทรศัพท์มือถือ ของใช้ส่วนตัวที่ไม่สามารถใช้แอลกอฮอล์ในการทำความสะอาดได้ โดยที่ผู้บริโภคยังไม่ทราบว่าจะสามารถฆ่าเชื้อโรคได้จริงหรือไม่ กล่องที่ราคาถูกจะมีสมบัติตามที่ผู้ผลิตรับรองหรือไม่ ผู้วิจัยจึงมีความประสงค์ที่จะทำวิจัยเรื่อง การทดสอบประสิทธิภาพของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพาราคาถูก เพื่อตรวจสอบสมบัติของกล่อง และการทดสอบการฆ่าเชื้อโดยใช้เชื้อจริง อันจะนำมาซึ่งผลสรุปเพื่อประกอบการตัดสินใจในการซื้อของผู้บริโภคว่าควรจะซื้อกล่องฆ่าเชื้อแบบใดต่อไป

รูปที่ 1.1 แสดงกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพาราคาถูกที่วางขายตามท้องตลาด [24]

และจากอุปสรรคของการหาเชื้อไวรัส อีกทั้งจากการศึกษาพบว่าเชื้อไวรัสทำลายได้ง่ายกว่าเชื้อแบคทีเรีย ในงานวิจัยนี้จึงใช้เชื้อแบคทีเรียแทนการใช้เชื้อไวรัส

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1.2.1 เพื่อทดสอบการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพากับเชื้อจริงว่ามีประสิทธิภาพเพียงพอหรือไม่

1.2.2 เพื่อตรวจสอบสมบัติของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพาว่ามีสมบัติตรงกับเอกสารที่แนบมาหรือไม่

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

โครงงานวิจัยนี้จะทำการทดลองหาความยาวคลื่นของรังสีอัลตราไวโอเลตจากหลอดภายในอุปกรณ์ฆ่าเชื้อทั้งหมด 3 กล่อง คือกล่อง Sterilization Box (400 บาท) กล่อง Multi-function Sterilizer (200 บาท) และจากหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting (600 บาท) ที่ผ่านการรับรองมาตรฐาน จากนั้นจะทดสอบการฆ่าเชื้อของหลอดทั้ง 3 หลอด โดยในการทดลองขั้นแรกคือ การฆ่าเชื้อแบคทีเรียจะใช้ชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียขั้นต้น (SI-2) ที่ผ่านการรับรองจากกรมอนามัย และในการทดลองขั้นที่สองคือ การทดสอบการฆ่าเชื้อจากเชื้อแบคทีเรียโดยใช้วิธี Pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาสรุปผล เสนอแนะปัญหาที่เกิดขึ้นและเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของแต่ละหลอด

1.4 วิธีการดำเนินงาน

1.4.1 แผนการศึกษา

1. ศึกษาเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องและกำหนดวัตถุประสงค์ในการศึกษา
    1.1 ศึกษาความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับรังสีอัลตราไวโอเลต
    1.2 ศึกษาความยาวคลื่นของรังสีอัลตราไวโอเลต
    1.3 ศึกษาปริมาณความเข้มของรังสีอัลตราไวโอเลต (UV Irradiance)
    1.4 ศึกษาเกี่ยวกับ UV Energy Density
    1.5 ศึกษาเกี่ยวกับหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตที่วางขายตามท้องตลาด
2. ศึกษาเกี่ยวกับชีววิทยาของแบคทีเรียและไวรัสเบื้องต้น
    2.1 ศึกษากระบวนการที่เกิดขึ้นในแบคทีเรียเมื่อถูกฉายด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต
    2.2 ศึกษากระบวนการการหยุดทำงานของแบคที่เรีย (Bacteria Inactivation)
    2.3 ศึกษากระบวนการซ่อมแซมตัวเองของแบคทีเรีย NER (The nucleotide excision repair mechanism)
    2.4 ศึกษากระบวนการที่เกิดขึ้นในไวรัสเมื่อถูกฉายด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต
3. ศึกษาส่วนประกอบของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพา
    3.1 ศึกษาลักษณะทั่วไปของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพาทั้งสามกล่อง
4. ศึกษาวิธีการตรวจสอบความยาวคลื่นของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพา
5. ตรวจสอบความยาวคลื่นของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตภายในกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพา
6. การทดสอบกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพากับเชื้อจริง
7. วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผล
8. จัดทำรายงาน
9. นำเสนอผลงาน

1.4.2 ระยะเวลาที่ศึกษา

	รายการ	Sep /20	Oct /20	Nov /20	Dec /20	Jan /21	Feb /21	Mar /21	Apr /21	May /21
1	ศึกษาเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องและกำหนดวัตถุประสงค์ในการศึกษา	◄	►							
2	ศึกษาเกี่ยวกับชีววิทยาของแบคทีเรียและไวรัสเบื้องต้น	◄	—	►						
3	ศึกษาส่วนประกอบของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพา			◄	►					
4	ศึกษาวิธีการตรวจสอบความยาวคลื่นของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพา				◄	►				
5	ตรวจสอบความยาวคลื่นของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตภายในกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพา					◄	—	►		
6	การทดสอบกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพากับเชื้อจริง						◄	—	►	
7	วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผล							◄	—	►
8	จัดทำรายงาน					◄	—	—	—	►
9	นำเสนอผลงาน									◄ ►

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

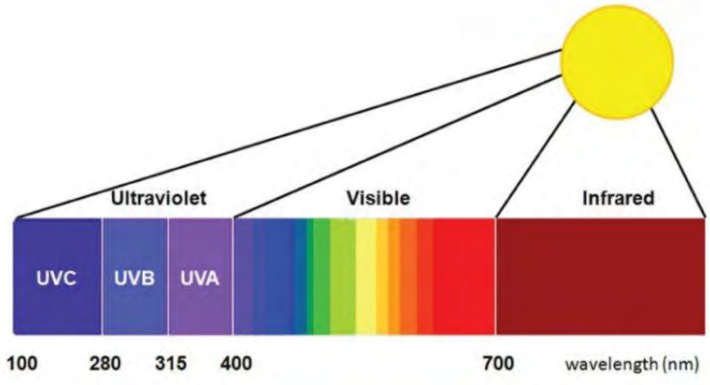
1.5.1 การวิจัยสามารถบอกได้ว่ากล่องฆ่าเชื้อแบบพกพาราคาถูกในท้องตลาดจะมีประสิทธิในการค่าเชื้อแบคทีเรียแตกต่างจากข้อมูลที่ให้มาในเอกสารหรือไม่ อย่างไร

1.5.2 การวิจัยสามารถตอบคำถามผู้บริโภคได้ว่ากล่องฆ่าเชื้อแบบพกพาช่วงราคาใดที่สามารถใช้ค่าเชื้อจริงได้เพื่อประกอบการตัดสินใจของผู้บริโภค

บทที่ 2
ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับรังสีอัลตราไวโอเลต

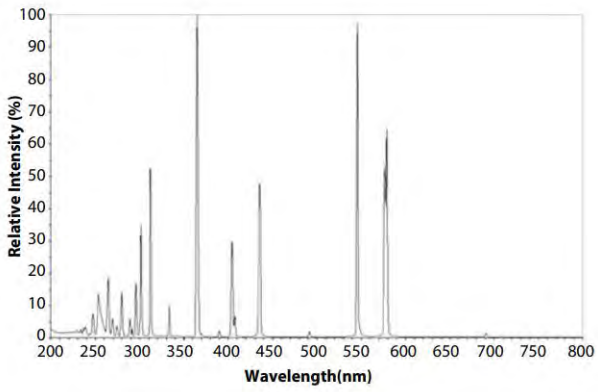
รังสีอัลตราไวโอเลตหรือรังสียูวี เป็นรังสีพลังงานสูงที่ถูกปล่อยมาจากดวงอาทิตย์จากปฏิกิริยานิวเคลียร์ฟิวชั่น (Nuclear Fusion) รังสีอัลตราไวโอเลตแบ่งได้สามชนิดหลัก ๆ คือ รังสีอัลตราไวโอเลตชนิดเอ (UV-A) มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 315-400 นาโนเมตร รังสีอัลตราไวโอเลตชนิดบี (UV-B) มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 280-315 นาโนเมตรและรังสีอัลตราไวโอเลตชนิดซี (UV-C) มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 200-280 นาโนเมตร โดยรังสี UV-C เป็นรังสีที่มีพลังงานสูงที่สุดและเป็นอันตรายต่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิต แต่รังสี UV-C รวมถึงรังสีคอสมิก รังสีแกมมา และรังสีเอกซ์ จะถูกดูดซับโดยชั้นโอโซนของโลกก่อนที่จะมาถึงพื้นโลก โดยรังสีที่ผ่านมาถึงพื้นโลกนั้นประกอบด้วย รังสีของแสง (Visible light) 62.7% รังสีอินฟราเรด 31.9% รังสี UV-A 5.1% และรังสี UV-B 0.3% ทำให้การกลาย (mutation) ในสิ่งมีชีวิตส่วนมากนั้นเกิดจากรังสี UV-B เป็นหลัก [9-12]



รูปที่ 2.1 แสดงความยาวคลื่นของรังสีอัลตราไวโอเลตแต่ละชนิด [25]

2.2 ความยาวคลื่นของรังสีอัลตราไวโอเลต

การทดลองที่จะสามารถใช้หาความยาวคลื่นของรังสีอัลตราไวโอเลต ซึ่งอยู่ในหน่วยนาโนเมตร ในงานทางด้านวิทยาศาสตร์เพื่อที่จะได้ผลอย่างแน่นอนจะต้องใช้เครื่องมือที่เหมาะสม เช่น spectrometer หรือ spectral radiometer ซึ่งเครื่องมือชนิดนี้สามารถแยกพีคความเข้มส่วนของความยาวคลื่น ของรังสีอัลตราไวโอเลตได้อย่างชัดเจน ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 แสดงสเปกตรัมของหลอดปรอท แบบความดันปานกลาง (Medium-pressure mercury lamp) โดยจะสังเกตได้ว่ามีพีคอยู่ในช่วง UVC ด้วยนั่นคือ 253.7 นาโนเมตร [26]

รังสีอัลตราไวโอเลตมีความยาวคลื่นตั้งแต่ 10 nm ถึง 400 นาโนเมตร รังสีอัลตราไวโอเลตที่มีความยาวคลื่นต่ำกว่า 200 นาโนเมตรจะพบในสุญญากาศ ซึ่งไม่ได้มีความสำคัญกับงานทางด้านอุตสาหกรรมมากนัก ส่วนความยาวคลื่นที่ถูกใช้งานในอุตสาหกรรมคือ 200 นาโนเมตร ถึง 400 นาโนเมตร สเปกตรัมของรังสีอัลตราไวโอเลตนั้นไม่มีสี จึงมีการกำหนดเป็นรังสี UV-A UV-B และ UV-C แทน [13]

2.3 ปริมาณความเข้มของรังสีอัลตราไวโอเลต (UV Irradiance)

ปริมาณความเข้มของรังสีอัลตราไวโอเลต ในงานวิจัยนี้จะนิยามว่าเป็นกำลังของรังสีอัลตราไวโอเลต (Watt) ที่เดินทางไปถึงพื้นที่ผิวหนึ่ง ๆ ในหน่วยตารางเซนติเมตร (W/cm^2) กล่องฆ่าเชื้อที่ประกอบด้วยหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตที่ผ่านการรับรองมาตรฐานส่วนใหญ่ ภายในกล่องจะมีผิวสะท้อน (Reflectors) ทั้งมีผิวรวม (Focus) และผิวกระจาย (Diffuse) ของพลังงานของรังสีอัลตราไวโอเลต ดังนั้นพลังงานที่ปล่อยออกมาจะมีค่าต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของผิวสะท้อน (Reflector) ภายในกล่องด้วย [13]

2.4 ความหนาแน่นของพลังงานของรังสีอัลตราไวโอเลต (UV Energy Density)

จากที่ทราบกันอยู่แล้วว่าหน่วย จูล (J) เป็นหน่วยที่ใช้บอกปริมาณงานที่ทำโดย 1 จูล มีค่าเท่ากับ 1 วัตต์วินาที (Ws) ซึ่งในเชิง Energy Density นั้น ในงานเกี่ยวกับรังสีอัลตราไวโอเลต จะนิยมใช้หน่วยไมโครวัตต์วินาทีต่อตารางเซนติเมตร ($\mu Ws/cm^2$) ซึ่งความเป็นจริง Energy density นี้จะถูกเรียกเป็นชื่อใหม่ว่าโดส (Dose) ของรังสีอัลตราไวโอเลต โดยจะขึ้นกับระยะเวลา (t) คือระยะเวลาที่ฉายรังสี (Exposure time) คำว่า Dose นี้จะใช้กันอย่างแพร่หลายในศัพท์ทางชีววิทยามากกว่า [13] โดยในการฆ่าเชื้อนั้น โดสของรังสีอัลตราไวโอเลตที่สามารถฆ่าเชื้อจะแตกต่างกันออกไป โดยจะสังเกตได้ว่าในแบคทีเรียจำนวนโดสในการฆ่าเชื้อนั้นมีค่าสูงกว่าในไวรัส ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสารพันธุกรรมที่อยู่ในไวรัสตัวนั้นด้วย โดสในการฆ่าเชื้อแสดงได้ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดง Dose ในการฆ่าเชื้อของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตร [14]

ชนิดของเชื้อ	UV dose (μWs/cm^2) ประสิทธิภาพการทำลายเชื้อ	
	90%	100%
แบคทีเรีย		
Bacillus anthracis-Anthrax	4,520	8,700
Bacillus anthracis spore-Anthrax spores	24,320	46,200
Clostridium tetani	13,000	22,000
Escherichia coli	3,000	6,600
Mycobacterium tuberculosis	6,200	10,000
สปอร์ของเชื้อรา		
Aspergillus flavus	60,000	99,000
Aspergillus niger	132,000	330,000
Mucor racemosus A	17,000	35,200
Penicillium expansum	13,000	22,000
Rhizopus nigricans	111,000	220,000
ไวรัส		
Bacteriophage – *E. coli*	2,600	6,600
Infectious Hepatitis	5,800	8,000
Influenza	3,400	6,600
Polio virus	3,150	6,600
เชื้ออื่น ๆ		
ยีสต์ขนมปัง	6,000	13,200
Chlorella vulgaris	13,000	22,000
Nematode Eggs	45,000	92,000

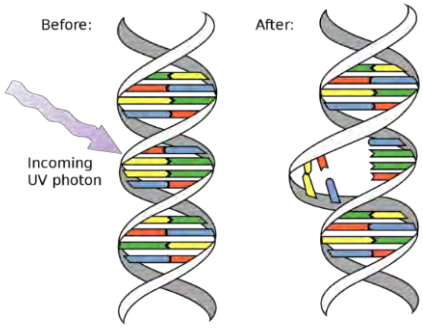
2.5 หลอดรังสีอัลตราไวโอเลต

หลอดที่ใช้งานทั่วไปในด้านการฆ่าเชื้อคือหลอดปรอทความดันต่ำ ภายในหลอดประกอบด้วยแก๊สเฉื่อย เช่น อาร์กอน ซีนอน และ นีออน ด้านในของหลอดจะเคลือบด้วยสารเรืองแสง ขั้วไฟฟ้าของหลอดสร้างจากทังสเตน หลอดชนิดนี้จะปล่อยรังสีอัลตราไวโอเลต ที่มีความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตร ความยาวคลื่นนี้จะมองไม่เห็นด้วยตามนุษย์ แต่อย่างไรก็ตามได้มีการใช้สารจำพวกฟอสฟอรัส เคลือบผิวหลอดไว้เพื่อทำให้แสงสามารถมองเห็นได้ สารเคลือบเหล่านี้ทำให้ตัวหลอดร้อนขึ้น โดยผู้ผลิตสามารถเปลี่ยนสีของแสงที่ออกมาได้ ซึ่งในปัจจุบันมีหลอด LED ที่สามารถปล่อยรังสีอัลตราไวโอเลตออกมาได้แล้วโดยความยาวคลื่นที่ถูกปล่อยมานั้นมีความยาวคลื่น 214, 265 และ 273 นาโนเมตร อีกทั้งยังมีผลการวิจัยระบุไว้ว่าที่ความยาวคลื่น 222 นาโนเมตร รังสีอัลตราไวโอเลตจะไม่เป็นอันตรายต่อดวงตาและผิวหนังของมนุษย์ จึงนิยมใช้ในการฆ่าเชื้ออย่างแพร่หลาย เช่น อุโมงค์รังสียูวี เป็นต้น [4]

2.6 กระบวนการที่เกิดขึ้นในแบคทีเรียเมื่อถูกฉายด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต

กระบวนการการหยุดทำงานของแบคที่เรีย (Bacteria Inactivation) โดยผลของรังสี UV-C ต่อสารพันธุกรรมของไวรัสและแบคทีเรียมีกลไกหลายอย่าง แต่กลไกที่สำคัญที่สุดคือ การดูดซับเอาโฟตอน (Photon) ของรังสีอัลตราไวโอเลตโดยไนโตรจีนัสเบส (Nitrogenous Base) และเบสไพริมิดีน (Pyrimidine) ที่อยู่ติดกันเมื่อได้รับพลังงาน

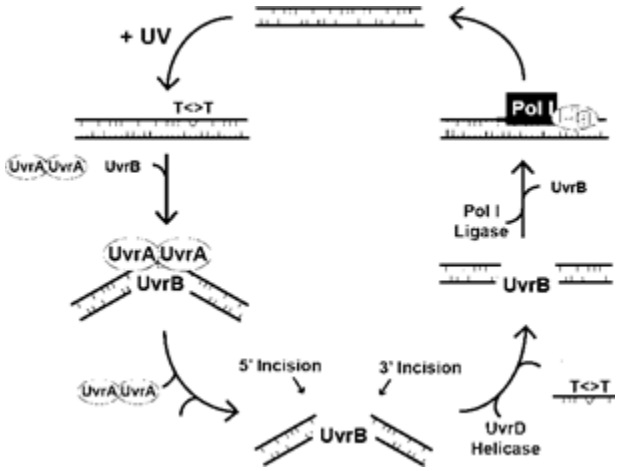
จากโฟตอนของรังสีอัลตราไวโอเลตมากพอจะรวมกันเป็นคู่ ๆ (dimers) ขึ้น โดยกระบวนการนี้เรียกว่าไดเมอไรเซชั่น (Dimerization) กระบวนการนี้ทำให้กระบวนการจำลองตัวของดีเอ็นเอ (DNA Replication) หยุดลง เป็นผลให้กระบวนการเพิ่มจำนวนของเซลล์หยุดลงด้วย เรียกว่า Inactivation ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 แสดงการเกิดของ Thymine dimer ใน DNA [18]

2.7 กระบวนการซ่อมแซมตัวเองของแบคทีเรีย NER (The nucleotide excision repair mechanism)

โดยกระบวนการนี้เป็นไปตามลำดับดังนี้คือ เมื่อดีเอ็นเอสายคู่ (dsDNA) ได้รับความเสียหายจากรังสียูวีจะกระตุ้นให้ UvrABC Endonuclease Multienzyme Complex ซึ่งเป็นไอนเซม์เชิงซ้อนถูกผลิตออกมา โดยกระบวนการ NER เริ่มขึ้นเมื่อหน่วยย่อยของเอนไซม์ UvrA และ UvrB ทำการค้นหาดีเอ็นเอที่ได้รับความเสียหายจากรังสีจนเจอ จากนั้น UvrA dimer จะถูกปล่อยออกมา และเอนไซม์ UvrB จะทำการเรียกเอนไซม์ UvrC มาด้วยเพื่อไฮโดรไลซ์ (hydrolyses) พันธะฟอสฟอไดเอสเทอร์ (Phosphodiester Bond) รอบ ๆ บริเวณที่เสียหาย จากนั้น UvrD helicase จะทำการตัดนิวคลีโอไทด์ (Nucleotide) ประมาณ 12–13 นิวคลีโอไทด์ [8] โดยช่องว่างของนิวคลีโอไทด์เหล่านั้นจะถูกเติมโดย DNA polymerase Pol I ดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 กระบวนการ NER ของ Escherichia coli (E.coli) [8]

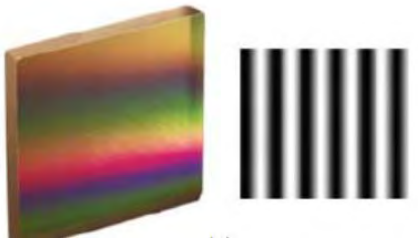
กลไกนี้จะสามารถอธิบายได้เป็นอย่างดีในแบคทีเรีย แต่ในมนุษย์กระบวนการ NER จะใช้โปรตีนที่จำเป็นมากกว่าเพื่อจะเข้าสู่กระบวนการเดียวกันกับ UvrABC ในแบคทีเรีย และการตัดนิวคลิโอไทด์ของ UvrD helicase ในมนุษย์จะเป็นประมาณ 27–29 นิวคลิโอไทด์ [8]

2.8 กระบวนการที่เกิดขึ้นในไวรัสเมื่อถูกฉายด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต

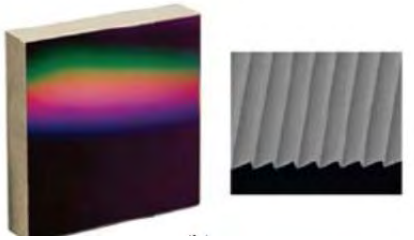
เนื่องจากไวรัสอาจมีได้ทั้งสารพันธุกรรมที่เป็นไปได้ทั้ง DNA และ RNA โดยใน DNA เบสที่ส่งผลต่อการหยุดการทำงานของเซลล์ (Inactivation) มากที่สุดคือคู่เบสไทมีน (Thymine-Thymine) คิดเป็น 59% แต่ใน RNA นั้นไม่มีเบสชนิดนี้ จะมีเพียงเบสยูราซิล (Uracil) ที่ใช้เป็นตัวแทนของเบสไทมีน ส่งผลให้ไวรัสที่มีสารพันธุกรรมเป็น RNA ตอบสนองต่อรังสีอัลตราไวโอเลตน้อยกว่า [21,22] แต่ถึงอย่างไรก็ตามไวรัสสามารถทำให้ถูก Inactivated ได้ที่รังสียูวีความยาวคลื่นเดียวกันกับแบคทีเรีย แต่จะต่างกันในเรื่อง Dose ของรังสีอัลตราไวโอเลตเท่านั้น [23]

2.9 เกรตติง

ในทางทัศนศาสตร์ (Optics) เกรตติงเลี้ยวเบน (Diffraction grating) คือ อุปกรณ์ทางแสงที่ทำให้สมบัติของแสงที่ตกกระทบมีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะซ้ำ ๆ สม่ำเสมอ ทำให้แสงที่ส่องผ่านหรือสะท้อนเกิดการเลี้ยวเบนแล้วไปแทรกสอดกัน เกรตติงชนิดพื้นฐานที่สุดประกอบด้วยแถบทึบแสงและโปร่งแสงสลับกันไป โดยมีระยะห่างระหว่างแถบเท่ากันตลอด ดังรูปที่ 2.5 แสดงภาพของเกรตติงแบบส่องผ่าน (Transmission grating) เกรตติงอีกชนิดหนึ่งคือ เกรตติงแบบสะท้อน (Reflective grating) ผิวของเกรตติงชนิดนี้จะมีลักษณะเป็นร่องที่มีระยะห่างระหว่างร่องคงที่ รูปที่ 2.6 แสดงตัวอย่างเกรตติงแบบสะท้อนและโครงสร้างที่ผิวของเกรตติง



รูปที่ 2.5 แสดงภาพของเกรตติงแบบส่องผ่าน (Transmission grating) [27]

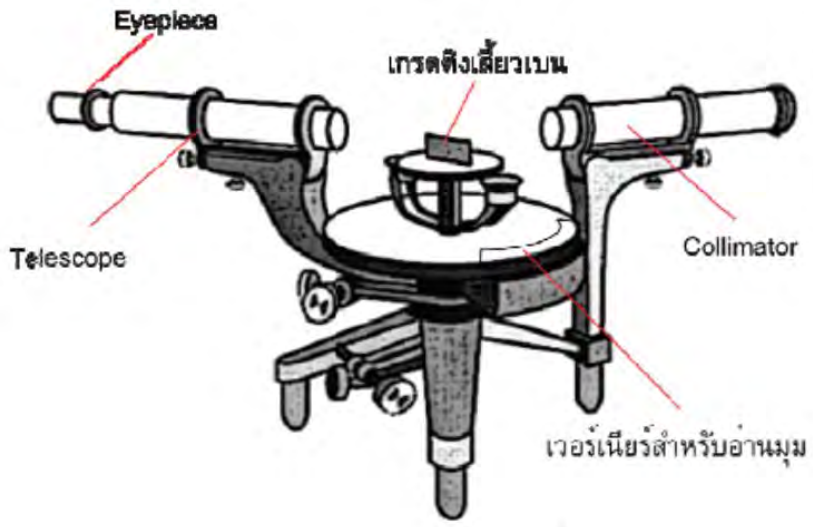


รูปที่ 2.6 แสดงตัวอย่างเกรตติงแบบสะท้อนและโครงสร้างที่ผิวของเกรตติง [27]

เมื่อแสงขนานตกกระทบเกรตติงแบบส่องผ่าน แสงที่เลี้ยวเบนผ่านเกรตติง จะไปแทรกสอดกันทำให้เกิดเป็นแถบมืด (แทรกสอดแบบหักล้าง) และแถบสว่าง (แทรกสอดแบบเสริมกัน) ที่บริเวณต่าง ๆ บนฉาก

2.10 สเปกโตรมิเตอร์

สเปกโตรมิเตอร์ เป็นอุปกรณ์ทัศนศาสตร์สำหรับการวัดสมบัติของแสงในช่วงความยาวคลื่นเฉพาะค่าหนึ่ง ๆ ของสเปกตรัมของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า อธิบายอย่างง่าย คือ สเปกโตรมิเตอร์เป็นอุปกรณ์ซึ่งทำหน้าที่แยกคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าออกตามความยาวคลื่นต่าง ๆ เพื่อช่วยให้การวิเคราะห์ศึกษาองค์ประกอบของสเปกตรัมหนึ่งๆ โดยสเปกโตรมิเตอร์ในห้องปฏิบัติการจะแสดงได้ดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 แสดงเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ที่ใช้เกรตติงเลี้ยวเบนในการแยกสเปกตรัมของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า [27]

2.11 ความยาวคลื่นของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพา

การหาความยาวคลื่นของรังสีอัลตราไวโอเลต โดยใช้เกรตติง (grating) โดยจะใช้การทดลองคล้ายกับแสงที่มองเห็นได้ กล่าวคือจะใช้สมการ

$$d\frac{x}{L} = n\lambda \qquad (2.1)$$

โดย d คือความกว้างระหว่างช่องแคบของแผ่นเกรตติงสองช่องที่อยู่ติดกัน

x คือระยะห่างจากแถบสว่างที่ n เท่ากับ 0 ถึงจุดที่ต้องการวัดบนฉาก

L คือระยะห่างระหว่างเกรตติงและฉาก

λ คือความยาวคลื่น

เพียงแต่จะเปลี่ยนฉากรับแสงเป็นฉากเรืองแสงแทน และจะใช้แถบสว่างที่ n มากขึ้นในการวัด เพราะหากกำหนดความยาวคลื่นเป็น 253.7 นาโนเมตรแล้ว ระยะจากแถบสว่างที่ n เท่ากับ 0 ถึง 1 จะสั้นมากทำให้ต้องวัดที่แถบสว่าง n ที่สูงขึ้น

2.12 ชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียขั้นต้น SI-2

ชุดทดสอบนี้คิดค้นและพัฒนาโดยสำนักสุขาภิบาลอาหารและน้ำ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ใช้ตรวจสอบเบื้องต้นว่า อาหารมีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์มเกินมาตรฐาน (2.2 MPN/100 ml) หรือไม่ เพื่อลดความเสี่ยงของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ โดยโคลิฟอร์มแบคทีเรียเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ใช้เป็นดัชนีชี้วัดสุขลักษณะในการผลิตและความสะอาดของอาหาร โดยเชื้อโคลิฟอร์ม (Coliform) เป็นแบคทีเรียที่พบในดิน น้ำ และลำไส้ของสัตว์ ถูกนำไปใช้เพื่อบ่งชี้สภาพความไม่สะอาดในกระบวนการผลิตอาหารและเครื่องดื่มมานานกว่าศตวรรษแล้ว รวมถึงเป็นเชื้อที่มีการใช้ผลทดสอบคุณภาพน้ำและผลิตภัณฑ์จากนม ทุกวันนี้การนับจำนวนเชื้อโคลิฟอร์ม (Coliform) มักจะใช้เป็นตัวบ่งชี้สุขลักษณะในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม โดยคำว่า โคลิฟอร์ม ไม่ใช่แบ่งตามอนุกรมวิธาน แต่เชื้อโคลิฟอร์มมีคุณลักษณะที่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน ไม่สร้างสปอร์ มีความสามารถในการหมักน้ำตาลแลคโตสเพื่อผลิตกรดและหรือก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ตัวอย่างสกุลของแบคทีเรียที่จัดเป็นเชื้อโคลิฟอร์ม ได้แก่ เชื้อซิโทรแบคเตอร์ (Citrobacter) เชื้อเอนเทอโรแบคเตอร์ (Enterobacter) เชื้อเอสเชอริเชีย (Escherichia) และ เชื้อเคลบเซลลา (Klebsiella) เชื้อโคลิฟอร์มที่เป็นที่รู้จักมากที่สุด คือ เอสเชอริเชีย โคไล (Escherichia coli, E. coli) เป็นเชื้อที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่น แต่ก็สามารถพบได้ในสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติและแพร่กระจายไปยังสถานที่ผลิตอาหาร ตลอดจนแหล่งน้ำดื่ม เชื้ออีโคไล (E. coli) ส่วนมากจะไม่มีอันตราย แต่บางสายพันธุ์อาจทำให้เกิดอาหารเป็นพิษและโรคที่รุนแรงได้

2.13 การเลี้ยงเชื้อด้วยเทคนิค Pour Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยมันฝรั่งและน้ำตาลเดกโทรส นิยมใช้สำหรับเลี้ยงเชื้อราและแบคทีเรียที่ที่ก่อโรคพืชหรือย่อยสลายซากพืช โดยในกระบวนการผลิตจะใช้มันฝรั่งที่ถูกหั่นเป็นชิ้นบาง ๆ 300 กรัม ต้มในน้ำกลั่น 30 นาที กรองแล้วจึงใส่ในอาหาร จากนั้นเติมเด็กโทรส และวุ้นอย่างละ 20 กรัม แล้วจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที โดยในงานวิจัยนี้จะใช้การเลี้ยงเชื้อด้วยเทคนิคพัวร์เพลต (Pour plate) ซึ่งมีขั้นตอนคือทำการเจือจางตัวอย่างเชื้อให้เหมาะสม (ในงานวิจัยนี้ใช้ 100% 50% 10% โดยปริมาตร) จากนั้นนำไปผสมกับอาหารวุ้นที่หลอมเหลวและเย็นประมาณ 50 องศาเซลเซียสในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว ปล่อยให้อาหารวุ้นแข็งตัวแล้วนำไปบ่มในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (ในงานวิจัยนี้ใช้อุณหภูมิห้อง 25-40 องศาเซลเซียส) จุลินทรีย์จะเจริญในหรือบนอาหารวุ้น มองเห็นเป็นโคโลนีเกิดขึ้น ซึ่งการรายงานจำนวนจุลินทรีย์นิยมแสดงในหน่วยโคโลนีต่อกรัมของอาหารหรือปริมาตร (CFU/g, CFU/ml) นับทั้งบนอาหารวุ้นและในอาหารวุ้น โดยใช้เครื่องมือคือแอพลิเคชัน CFU.AI ในโทรศัพท์มือถือ

บทที่ 3

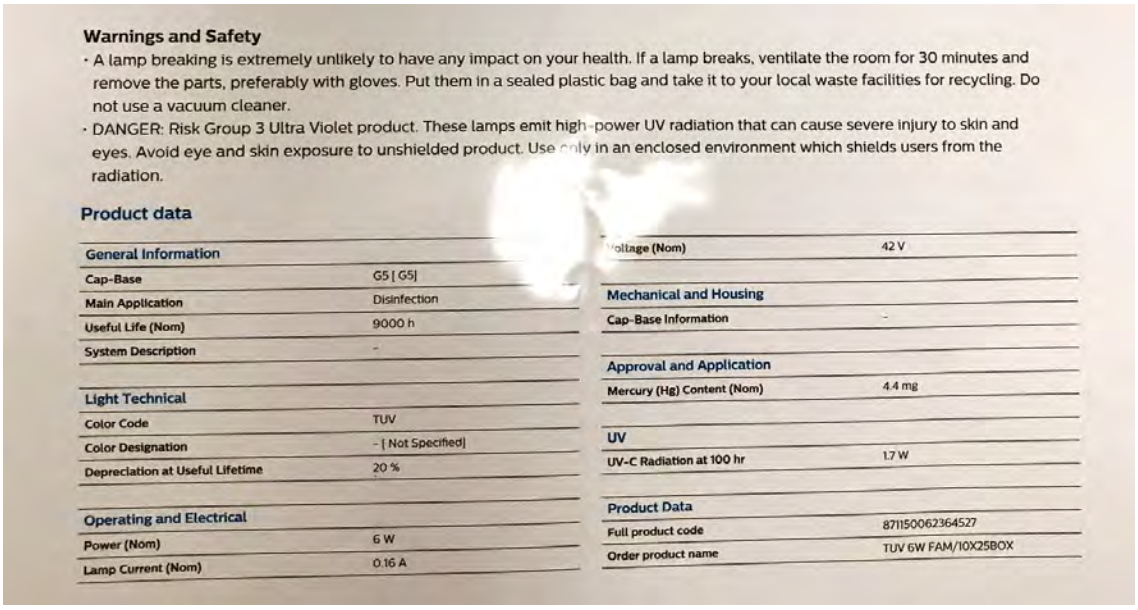
วิธีดำเนินการวิจัย

ในบทนี้จะกล่าวถึงขั้นตอนการศึกษาลักษณะทั่วไปของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพา การจัดอุปกรณ์ในการทดลอง การหาความยาวคลื่นของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตโดยเป็นการทดลองเพื่อหาริ้วการแทรกสอดแบบเสริมกันผ่านเกรตติง (grating) จากนั้นจะเป็นการทดลองฉายแสงของหลอดอัลตราไวโอเลตเพื่อทดสอบกับเชื้อจริงโดยจะใช้ชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียขั้นต้น (SI-2) และการทดสอบการฆ่าเชื้อโดยใช้เทคนิค Pour Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

3.1 การศึกษาลักษณะทั่วไปของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพา

3.1.1 ศึกษาลักษณะทั่วไปของกล่องสำหรับใส่หลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting

สร้างกล่องที่มีฝาครอบมิดชิด โดยระยะจากตัวอย่างที่จะฉายรังสีถึงหลอดเท่ากับ 13.00 เซนติเมตร และเอกสารที่แนบมากับผลิตภัณฑ์แสดงดังรูปที่ 3.1



Warnings and Safety

- A lamp breaking is extremely unlikely to have any impact on your health. If a lamp breaks, ventilate the room for 30 minutes and remove the parts, preferably with gloves. Put them in a sealed plastic bag and take it to your local waste facilities for recycling. Do not use a vacuum cleaner.
- DANGER: Risk Group 3 Ultra Violet product. These lamps emit high-power UV radiation that can cause severe injury to skin and eyes. Avoid eye and skin exposure to unshielded product. Use only in an enclosed environment which shields users from the radiation.

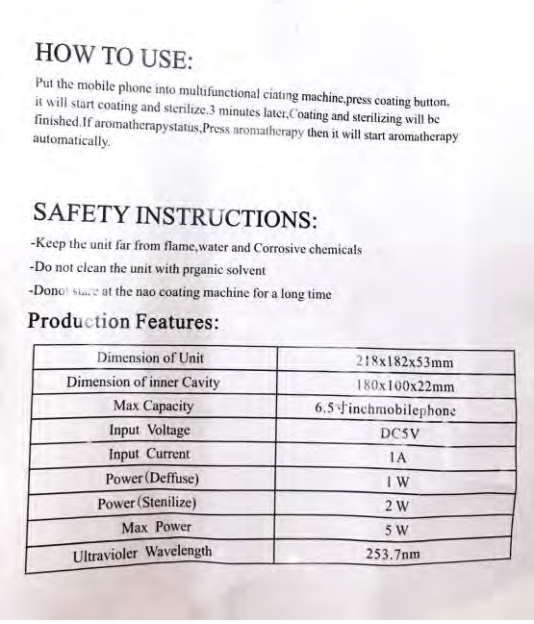
Product data

General Information	
Cap-Base	G5 [G5]
Main Application	Disinfection
Useful Life (Nom)	9000 h
System Description	-
Light Technical	
Color Code	TUV
Color Designation	- [Not Specified]
Depreciation at Useful Lifetime	20 %
Operating and Electrical	
Power (Nom)	6 W
Lamp Current (Nom)	0.16 A
Voltage (Nom)	42 V
Mechanical and Housing	
Cap-Base Information	-
Approval and Application	
Mercury (Hg) Content (Nom)	4.4 mg
UV	
UV-C Radiation at 100 hr	1.7 W
Product Data	
Full product code	871150062364527
Order product name	TUV 6W FAM/10X25BOX

รูปที่ 3.1 แสดงเอกสารแนบของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting

3.1.2 ศึกษาลักษณะทั่วไปของกล่องฆ่าเชื้อ Sterilization Box ราคา 400 บาท

ขนาดของช่องสำหรับใส่วัตถุสำหรับฆ่าเชื้อ มีขนาด 17.80 X 10.35 X 2.90 เซนติเมตร โดยระยะห่างของหลอดถึงตัวอย่างคือ 3.00 เซนติเมตร ระยะห่างระหว่างหลอดกับพื้นผิวด้านล่างของกล่องคือ 1.70 เซนติเมตร โดยเอกสารที่แนบมาเป็นดังรูปที่ 3.2



HOW TO USE:

Put the mobile phone into multifunctional ciating machine,press coating button, it will start coating and sterilize.3 minutes later,Coating and sterilizing will be finished.If aromatherapystatus,Press aromatherapy then it will start aromatherapy automatically.

SAFETY INSTRUCTIONS:

-Keep the unit far from flame,water and Corrosive chemicals
-Do not clean the unit with prganic solvent
-Donot stare at the nao coating machine for a long time

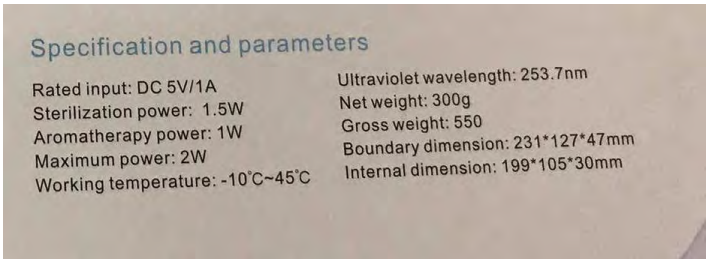
Production Features:

Dimension of Unit	218x182x53mm
Dimension of inner Cavity	180x100x22mm
Max Capacity	6.5 inchmobilephone
Input Voltage	DC5V
Input Current	1A
Power (Deffuse)	1 W
Power (Stenilize)	2 W
Max Power	5 W
Ultravioler Wavelength	253.7nm

รูปที่ 3.2 แสดงเอกสารแนบของกล่องฆ่าเชื้อ Sterilization Box ราคา 400 บาท

3.1.3 ศึกษาลักษณะทั่วไปของกล่องฆ่าเชื้อ Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท

ขนาดของช่องสำหรับใส่วัตุสำหรับฆ่าเชื้อ มีขนาด 19.90 X 10.50 X 3.00 เซนติเมตร โดยระยะห่างจากหลอดถึงตัวอย่างคือ 5.50 เซนติเมตร ระยะห่างจากหลอดถึงพื้นผิวด้านล่างของกล่องคือ 0.50 เซนติเมตร และเอกสารที่แนบมาแสดงได้ดังรูปที่ 3.3



Specification and parameters

Rated input: DC 5V/1A
Sterilization power: 1.5W
Aromatherapy power: 1W
Maximum power: 2W
Working temperature: -10°C~45°C

Ultraviolet wavelength: 253.7nm
Net weight: 300g
Gross weight: 550
Boundary dimension: 231*127*47mm
Internal dimension: 199*105*30mm

รูปที่ 3.3 แสดงเอกสารแนบของกล่องฆ่าเชื้อ Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท

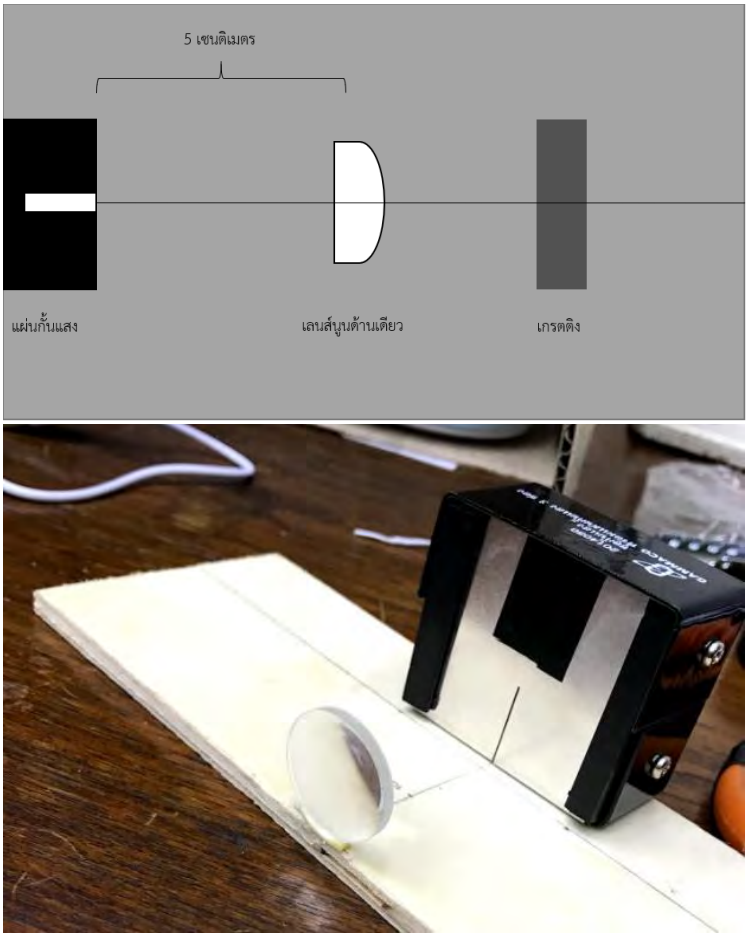
3.2 การทดลองเพื่อหาความยาวคลื่นของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต

3.2.1 การจัดอุปกรณ์ในการสร้างสเปกโตรมิเตอร์

1. แกะกล่องฆ่าเชื้อเพื่อให้เหลือเฉพาะหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตเท่านั้นเพื่อให้ง่ายต่อการทดลอง

2. สร้างชุดการทดลองสเปกโตรมิเตอร์โดยมีแผ่นกันแสงแบบ 1 ช่อง และเลนส์นูนด้านเดียวขนาด 2.5 เซนติเมตร ความยาวโฟกัส 5.0 เซนติเมตรมาวางให้อยู่ในแนวเดียวกันกับชุดแผ่นกั้นแสง

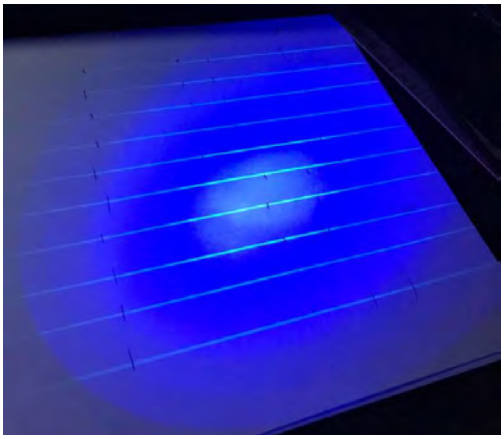
3. นำเกรตติงที่มีจำนวนช่อง 1000 ช่องต่อมิลลิเมตร ($d=10^{-6}$ m) มาวางให้อยู่ในแนวเดียวกันด้านหน้าเลนส์นูน โดยลักษณะการจัดวางอุปกรณ์ในการทดลองแสดงดังรูป 3.4



รูปที่ 3.4 แสดงการจัดวางอุปกรณ์ในการสร้างสเปกโตรมิเตอร์

3.2.2 การเตรียมฉากแสง

1. นำปากกาที่มีสารเรืองแสงขีดเป็นเส้นในแนวนอนตามแนวกระดาษทำซ้ำหลาย ๆ รอบทดสอบโดยการฉายรังสีอัลตราไวโอเลตที่ติดมาด้วยกับปากกา (ไม่ใช่หลอดที่ใช้ทดลองจริง) ดังรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 แสดงการทดสอบด้วยแสงอัลตราไวโอเลตก่อนจะนำไปทดลองจริง

2. นำกระดาษที่ได้จากข้อ 1. เขียนระบุชนิดของหลอดแล้ว ไปติดที่ผนังโดยประมาณให้จุดกึ่งกลางของกระดาษอยู่ในแนวเดียวกันกับแนวของชุดการทดลองแผ่นกั้นแสง เลนส์นูน และเกรตติง

3.2.3 ทำการทดลองฉายรังสีอัลตราไวโอเลต

1. นำเฉพาะส่วนที่เป็นหลอดไปวางในแนวตั้งเพื่อให้แสงจากหลอดกระจายออกทุกทิศในแนวราบโดยนำไปวางไว้ข้างหลังแผ่นกั้นแสงดังรูปที่ 3.6

รูปที่ 3.6 แสดงลักษณะการวางหลอดและครอบด้วยกล่องเพื่อป้องกันอันตรายจากรังสีอัลตราไวโอเลต

2. ทดลองโดยการเปิดหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตโดยหลอด PHILIPS ราคา 600 บาท ต่อกับไฟบ้าน กล่องฆ่าเชื้อ Sterilization Box ราคา 400 บาท ต่อกับแบตเตอรี่พกพาเช่นเดียวกันกับกล่องฆ่าเชื้อ Multi-function Sterilizer ราคา 200 บาท สังเกตริ้วการแทรกสอดที่เกิดขึ้น และบันทึกผลการทดลอง

3.3 การทดสอบการฆ่าเชื้อโดยใช้ชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียเบื้องต้น SI-2

3.3.1 ทำความสะอาดถาด ขวดน้ำยาทดสอบโดยเฉพาะรอบปากขวด มีดคัตเตอร์ และมือของผู้ทดลอง ด้วยแอลกอฮอล์ฆ่าเชื้อ 70% จากนั้นทำการแกะพลาสติกที่ปากขวดด้วยมีดคัตเตอร์อย่างระมัดระวัง

3.3.2 นำน้ำจากแหล่งน้ำที่ไม่สะอาดหน้าตึกฟิสิกส์ 1 มาจำนวนหนึ่ง ใช้เข็มฉีดสารที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วดูดเอาตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรมาใส่ในน้ำยาทดสอบ ซึ่งปริมาณของน้ำยาทดสอบในแต่ขวดมีค่าเท่ากัน ปิดปากขวดให้แน่น และทำความสะอาดด้วยแอลกอฮอล์อีกรอบ

3.3.3 นำน้ำจากตัวอย่างเดียวกันในปริมาณที่เท่ากันไปฉายรังสีด้วยหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting เป็นระยะเวลา 30 นาที ตามที่เอกสารระบุไว้ จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการฉายแสงแล้วมาใส่ในน้ำยาทดสอบ ปิดปากขวดให้แน่น และทำความสะอาดด้วยแอลกอฮอล์อีกรอบ

3.3.4 ทำซ้ำการทดลองในข้อที่ 3.3.3 โดยเปลี่ยนเป็นกล่องฆ่าเชื้อ Sterilization Box ราคา 400 บาท ซึ่งระยะเวลาในการฉายรังสีของอุปกรณ์นี้เป็น 3 นาที ตามเอกสารที่ระบุไว้

3.3.5 ทำซ้ำการทดลองในข้อที่ 3.3.3 โดยเปลี่ยนเป็น Multi-function Sterilizer ราคา 200 บาท ซึ่งระยะเวลาในการฉายรังสีของอุปกรณ์นี้เป็น 6 นาที ตามเอกสารที่ระบุไว้

3.3.6 จดบันทึกระยะเวลาในการปิดขวดของแต่ละขวด จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-40 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงโดยอ่านผลการทดสอบตามตารางที่ 3.1

รูปที่ 3.7 แสดงการทดลองโดยใช้ชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรีย SI-2

ตารางที่ 3.1 แสดงการอ่านค่าจากชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรีย SI-2

การเปลี่ยนสีและลักษณะอื่น ๆ	การอ่านผล
ไม่เปลี่ยนสี (สีม่วง)	ให้แสดงผลเป็นลบ คือโคลิฟอร์มแบคทีเรียมีค่าไม่เกินค่ามาตรฐานที่กรมอนามัยกำหนดไว้ (2.2 MPN/100 ml)
เปลี่ยนเป็นสีม่วงอ่อน	ให้แสดงผลเป็นลบ คือโคลิฟอร์มแบคทีเรียมีค่าไม่เกินค่ามาตรฐานที่กรมอนามัยกำหนดไว้
สีม่วงแกมเหลือง/เมื่อเขย่ามีฟอง	ให้แสดงผลเป็นบวก คือโคลิฟอร์มแบคทีเรียมีค่าเกินค่ามาตรฐานที่กรมอนามัยกำหนดไว้ (มีโคลิฟอร์มแบคทีเรียค่อนข้างมาก)
สีเหลือง/เมื่อเขย่ามีฟอง	ให้แสดงผลเป็นบวก คือโคลิฟอร์มแบคทีเรียมีค่าเกินค่ามาตรฐานที่กรมอนามัยกำหนดไว้ (มีโคลิฟอร์มแบคทีเรียมากที่สุด)

3.4 การทดสอบการฆ่าเชื้อโดยใช้เทคนิค Pour Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

3.4.1 ทำความสะอาดถาดเพาะเชื้อ (Petri dish) ด้วยการต้มฆ่าเชื้อ ทำความสะอาดกล่องสำหรับบรรจุถาดเพาะเชื้อ ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีดคัตเตอร์ และมือของผู้ทดลอง ด้วยแอลกอฮอล์ฆ่าเชื้อ 70% ผู้ทดลองทำการสวมถุงมือยาง จากนั้นแกะพลาสติกที่ปากขวดอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยมีดคัตเตอร์อย่างระมัดระวัง

3.4.2 ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยการนำเข้าไมโครเวฟประมาณ 2 นาที

3.4.3 ในการทดลองนี้จะใช้ตัวอย่างจากแหล่งน้ำที่ไม่สะอาดหน้าตึกฟิสิกส์ 1 โดยแบ่งเป็นตัวอย่างน้ำแบบไม่เจือจาง ตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/2 และตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/10 จากนั้นใช้เข็มฉีดที่ฆ่าเชื้อแล้วดูดเอาตัวอย่าง อย่างละ 1 มิลลิลิตร ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อย่างละ 4 จาน โดยปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละจานมีปริมาณเท่ากัน รวมทั้งหมด 12 จาน ปิดฝาถาดรอให้อาหารวุ้นแข็งตัว

3.4.4 นำจานเลี้ยงเชื้อแต่ละความเข้มข้น 3 แบบ (ไม่เจือจาง,เจือจางในสัดส่วน 1/2 และ เจือจางในสัดส่วน 1/10) ไปเก็บไว้ในกล่อง บันทึกเวลาเก็บจานเลี้ยงเชื้อด้วย

3.4.5 แบ่งจานเลี้ยงเชื้อเป็น 3 กลุ่มแต่ละกลุ่มประกอบไปด้วย จานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบไม่เจือจาง จานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/2 และจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/10

3.4.6 นำกลุ่มที่ 1 ไปฉายรังสีด้วยหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตยี่ห้อ PHILIPS Lighting เป็นระยะเวลา 30 นาที ตามที่เอกสารระบุไว้ จากนั้นนำเข้าไปเก็บในกล่องสำหรับการเลี้ยงเชื้อ บันทึกเวลาเก็บและชนิดตัวอย่างไว้บนกล่องด้วย

3.4.7 ทำซ้ำการทดลองในข้อที่ 3.4.6 กับกลุ่มที่ 2 โดยเปลี่ยนเป็นกล่องฆ่าเชื้อ Sterilization Box ราคา 400 บาท ซึ่งระยะในการฉายรังสีของอุปกรณ์นี้เป็น 3 นาที ตามที่เอกสารระบุไว้

3.4.8 ทำซ้ำการทดลองในข้อที่ 3.4.6 กับกลุ่มที่ 3 โดยเปลี่ยนเป็น Multi-function Sterilizer ราคา 200 บาท ซึ่งระยะในการฉายรังสีของอุปกรณ์นี้เป็น 6 นาที ตามที่เอกสารระบุไว้

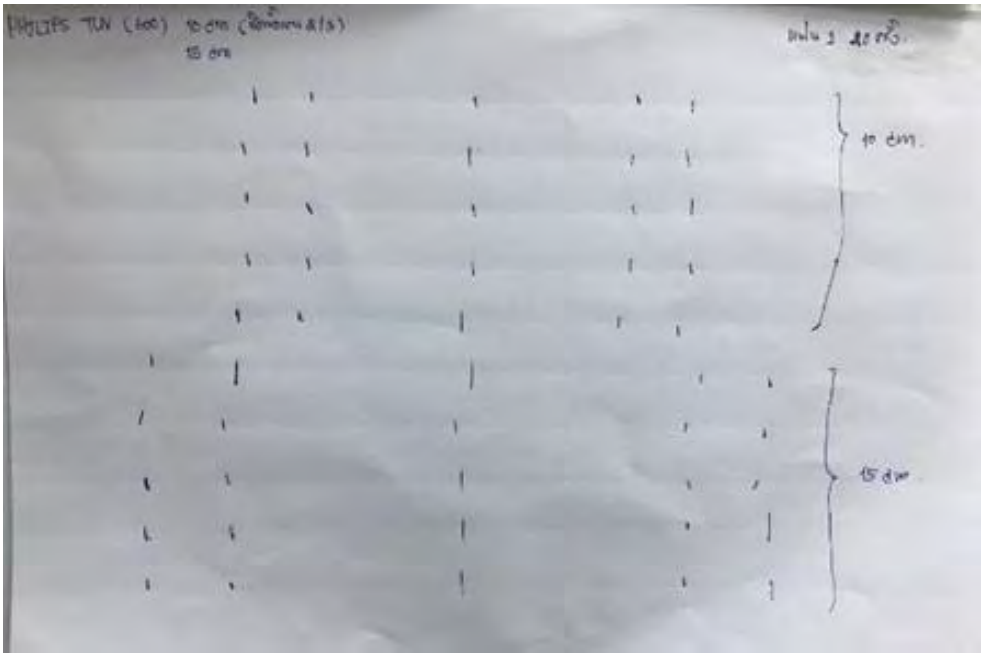
3.4.9 ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-40 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 48 ชั่วโมงเพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลง

รูปที่ 3.8 แสดงการทดสอบการฆ่าเชื้อโดยใช้เทคนิค Pour Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

บทที่ 4
ผลการศึกษาและอภิปรายผลการศึกษา

ในส่วนผลการศึกษาและอภิปรายผลการศึกษาจะประกอบไปด้วยผลการทดลองการหาความยาวคลื่นของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตทั้ง 3 หลอดคือ หลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting หลอดรังสีอัลตราไวโอเลตของกล่องฆ่าเชื้อแบบพกพา (Sterilization Box) ทั้งสองกล่อง โดยใช้เกรตติงที่มีจำนวนช่อง 1000 ช่อง/มิลลิเมตร จากนั้นจะเป็นผลการทดลองการทดสอบกับเชื้อจริงของทั้งสามหลอดโดยจะบันทึกผลการทดลองทั้งการทดสอบกับชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคที่เรียขั้นต้น (SI-2) และผลการทดสอบการฆ่าเชื้อโดยใช้เทคนิค Pour Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

4.1 ผลการทดลองการหาความยาวคลื่นของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต



รูปที่ 4.1 แสดงภาพผลการทดลองบางส่วนของการหาความยาวคลื่นของหลอด PHILIPS Lighting ที่ระยะห่างจากฉาก (L) เท่ากับ 10เซนติเมตร

ตารางที่ 4.1 แสดงแถบสว่างที่สังเกต ระยะห่างจากแถบสว่างกึ่งกลาง ระยะจากเกรตติงถึงฉาก และความยาวคลื่นที่คำนวณได้ ของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting โดยใช้เกรตติงที่มีจำนวนช่อง 1000 ช่อง/มิลลิเมตร

แถบสว่างที่ n	ระยะห่างจากแถบสว่างกลาง [cm]			ระยะจากเกรตติงถึงฉาก (L) [cm]	ความยาวคลื่น (λ) [nm]
	ด้านซ้าย (X_L)	ด้านขวา (X_R)	เฉลี่ย (X_{AVG})		
2	4.80	4.85	4.825	10.00	241.2
2	4.80	4.80	4.80	10.00	240.0
2	4.85	4.80	4.825	10.00	241.2
2	4.90	4.80	4.85	10.00	242.5
2	4.80	4.80	4.80	10.00	240.0
3	6.50	6.50	6.50	10.00	216.7
3	6.65	6.60	6.625	10.00	220.8
3	6.70	6.60	6.65	10.00	221.7
3	6.65	6.65	6.65	10.00	221.7
3	6.70	6.65	6.675	10.00	222.5
2	7.10	7.05	7.075	15.00	235.8
2	7.00	7.05	7.025	15.00	234.2
2	7.10	7.10	7.10	15.00	236.7
2	7.05	7.00	7.025	15.00	234.2
2	7.10	7.00	7.05	15.00	235.0
3	9.60	9.65	9.625	15.00	213.9
3	9.60	9.60	9.60	15.00	213.3
3	9.65	9.60	9.625	15.00	213.9
3	9.60	9.60	9.60	15.00	213.3
3	9.65	9.65	9.65	15.00	214.4

ตารางที่ 4.2 แสดงแถบสว่างที่สังเกต ระยะห่างจากแถบสว่างกึ่งกลาง ระยะจากเกรตติงถึงฉาก และความยาวคลื่นที่คำนวณได้ ของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตของกล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท โดยใช้เกรตติงที่มีจำนวนช่อง 1000 ช่อง/มิลลิเมตร

แถบสว่างที่ n	ระยะห่างจากแถบสว่างกลาง [cm]			ระยะจากเกรตติงถึงฉาก (L) [cm]	ความยาวคลื่น (λ) [nm]
	ด้านซ้าย (X_L)	ด้านขวา (X_R)	เฉลี่ย (X_{AVG})		
3	6.45	6.50	6.475	10.00	215.8
3	6.65	6.25	6.45	10.00	215.0
3	6.35	6.35	6.35	10.00	211.7
3	6.65	6.45	6.55	10.00	218.3
3	6.50	6.45	6.475	10.00	215.8
3	6.50	6.50	6.50	10.00	216.7
3	6.55	6.50	6.525	10.00	217.5
3	6.50	6.50	6.50	10.00	216.7
3	6.60	6.35	6.475	10.00	215.8
3	6.55	6.55	6.55	10.00	218.3
3	4.00	4.00	4.00	6.00	222.2
3	3.75	4.10	3.925	6.00	218.0
3	3.80	3.80	3.80	6.00	211.1
3	4.20	3.90	4.05	6.00	225.0
3	4.00	4.25	4.125	6.00	229.2
3	4.15	4.00	4.075	6.00	226.4
3	4.15	4.15	4.15	6.00	230.6
3	4.00	4.00	4.00	6.00	222.2
3	4.25	3.75	4.00	6.00	222.2
3	4.00	4.05	4.025	6.00	223.6

ตารางที่ 4.3 แสดงแถบสว่างที่สังเกต ระยะห่างจากแถบสว่างกึ่งกลาง ระยะจากเกรตติงถึงฉาก และความยาวคลื่นที่คำนวณได้ ของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตของกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท โดยใช้เกรตติงที่มีจำนวนช่อง 1000 ช่อง/มิลลิเมตร

แถบสว่างที่ n	ระยะห่างจากแถบสว่างกลาง [cm]			ระยะจากเกรตติงถึงฉาก (L) [cm]	ความยาวคลื่น (λ) [nm]
	ด้านซ้าย (X_L)	ด้านขวา (X_R)	เฉลี่ย (X_{AVG})		
3	6.25	6.70	6.475	10.00	215.8
3	6.50	6.50	6.50	10.00	216.7
3	6.70	6.35	6.525	10.00	217.5
3	6.30	6.50	6.40	10.00	213.3
3	6.80	6.10	6.45	10.00	215.0
3	6.70	6.45	6.575	10.00	219.2
3	6.60	6.55	6.575	10.00	219.2
3	6.70	6.40	6.55	10.00	218.3
3	6.65	6.35	6.50	10.00	216.7
3	6.60	6.55	6.575	10.00	219.2
3	4.10	4.00	4.05	6.00	225.0
3	4.00	4.15	4.075	6.00	226.4
3	4.05	3.80	3.925	6.00	218.0
3	4.10	4.00	4.05	6.00	225.0
3	4.00	4.00	4.00	6.00	222.2
3	4.15	4.00	4.075	6.00	226.4
3	4.15	4.15	4.15	6.00	230.6
3	4.15	4.00	4.075	6.00	226.4
3	4.25	3.85	4.05	6.00	225.0
3	4.20	4.05	4.125	6.00	229.2

การหาความยาวคลื่นจากการทดลองคำนวณโดยใช้สมการที่ 2.1

$$d\frac{x}{L} = n\lambda \qquad (2.1)$$

จากสมการข้างต้นจะได้ความยาวคลื่นเฉลี่ยของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting เมื่อใช้เกรตติงที่มีค่า d เท่ากับ $1x10^{-6}$ เมตร มีค่า 227.6±2.5 นาโนเมตร ความผิดพลาด (%Error) เท่ากับ 10.27% ความยาวคลื่นเฉลี่ยของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตของกล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท มีค่า 219.6±1.2 นาโนเมตร ความผิดพลาด (%Error) เท่ากับ 13.44% และความยาวคลื่นเฉลี่ยของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตของกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท มีค่า 221.2±1.1 นาโนเมตร ความผิดพลาด (%Error) เท่ากับ 12.79% โดยเปอร์เซ็นความผิดพลาดนั้นวัดจากความยาวคลื่นของกล่องหรือหลอดที่ระบุไว้ในเอกสาร ทำให้ได้ข้อสรุปว่าแต่ละหลอดมีการปล่อยรังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่นใกล้เคียงกันที่ประมาณ 222 นาโนเมตร และความยาวคลื่นดังกล่าวมีความใกล้เคียงกับค่าความยาวคลื่นดูดกลืนแสงสูงสุดของแบคทีเรียและไวรัส (260 นาโนเมตร)

4.2 ผลการทดลองในการฆ่าเชื้อของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตโดยใช้ชุดทดสอบสำหรับการทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียขั้นต้น (SI-2)

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการทดลองในการฆ่าเชื้อของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตโดยใช้ชุดทดสอบสำหรับการทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียขั้นต้น (SI-2) เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง

ชนิดของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต/ กล่องฆ่าเชื้อ	ลักษณะการเปลี่ยนสีของน้ำยาทดสอบ	การอ่านผล
ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการฉายรังสี	เปลี่ยนสีจากม่วงเป็นเหลืองอ่อน	บวก (มีโคลิฟอร์มแบคทีเรียมาก)
หลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting	เปลี่ยนสีจากม่วงเป็นเหลืองเข้ม	บวก (มีโคลิฟอร์มแบคทีเรียเกินมาตรฐาน)
กล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท	เปลี่ยนสีจากม่วงเป็นสีเหลือง	บวก (มีโคลิฟอร์มแบคทีเรียค่อนข้างมาก)
กล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท	เปลี่ยนสีจากม่วงเป็นเหลืองอ่อน	บวก (มีโคลิฟอร์มแบคทีเรียมาก)

รูปที่ 4.2 แสดงการทดลองการฆ่าเชื้อของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตโดยใช้ชุดทดสอบสำหรับการทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียขั้นต้น (SI-2)

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าสีของน้ำยาทดสอบมีการเปลี่ยนสีทั้งหมดโดยสีของน้ำยาทดสอบตัวอย่างก่อนการนำไปฉายเป็นสีเหลืองอ่อน ซึ่งมีลักษณะสีเหมือนกับสีของน้ำยาทดสอบหลังการฉายของกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท ซึ่งใช้เวลาในการฉาย 6 นาที โดยเวลาในการฉายถูกตั้งไว้อัตโนมัติ ต่อมาเป็นสีเหลืองปกติซึ่งเป็นสีของน้ำยาทดสอบหลังการฉายของกล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท ซึ่งใช้เวลาในการฉาย 3 นาที โดยเวลาในการฉายถูกตั้งไว้อัตโนมัติ และขวดสุดท้ายเป็นสีของน้ำยาทดสอบหลังการฉายของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting ซึ่งเป็นสีเหลืองเข้ม ซึ่งใช้ระยะเวลาในการฉาย 30 นาทีตามที่เอกสารระบุไว้ว่าจะสามารถฆ่าเชื้อได้ 99.9% โดยทั้งสามหลอดการทดลองมีผลเป็นบวก กล่าวคือทั้งสามหลอดมีโคลิฟอร์มแบคทีเรียเกินค่ามาตรฐานอยู่ นั่นก็คือมีค่าโคลิฟอร์มแบคทีเรียเกิน 2.2 MPN/100 ml (Most probable number of coliform organisms (MPN) หรือ Multiple tubes fermentation technique ซึ่งเป็นวิธีทางสถิติ) ดังนั้นจากภาพจะสังเกตได้ว่าการฆ่าเชื้อของกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท มีประสิทธิภาพน้อยที่สุด รองลงมาคือกล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท และมีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อที่ดีที่สุดคือ หลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting ทำให้อาจกล่าวได้ว่าราคาของกล่องหรือหลอดมีผลต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ ทั้งนี้ในระยะเวลาในการฉายเป็นไปตามที่เอกสารระบุไว้ และระยะห่างของตัวอย่างจากหลอดขณะฉายไม่ได้ถูกควบคุมแต่อย่างใด

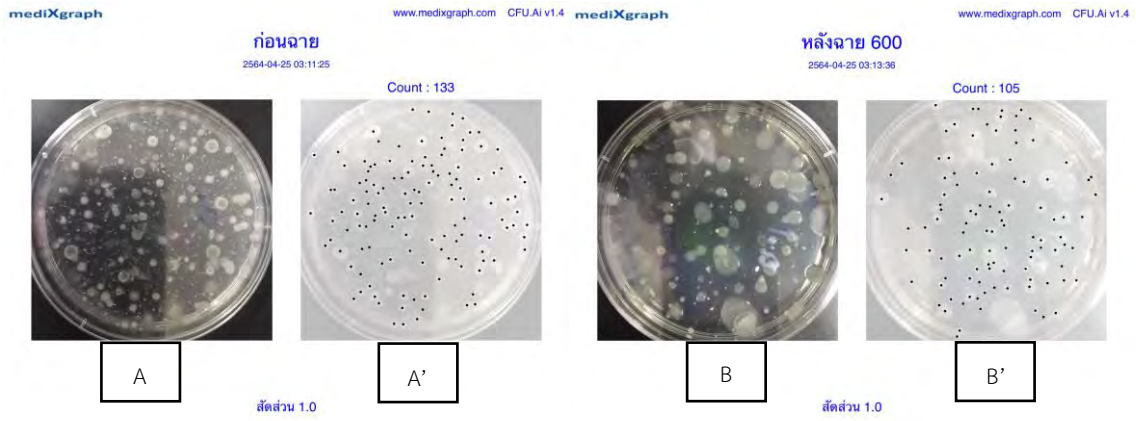
4.3 ผลการทดสอบการฆ่าเชื้อโดยใช้เทคนิค Pour Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบการฆ่าเชื้อโดยใช้เทคนิค Pour Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง

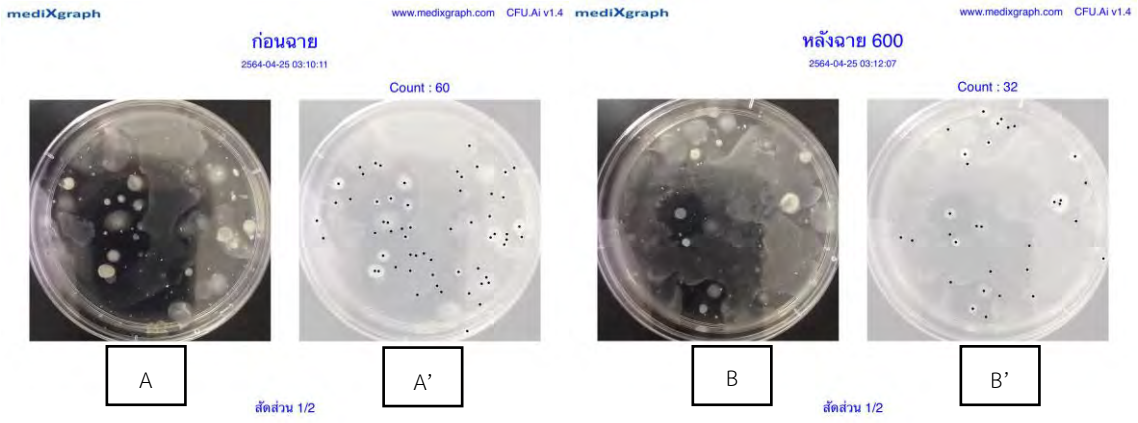
ชนิดของกล่องหรือหลอดฆ่าเชื้อ/ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ		จำนวนโคโลนีก่อนฉาย	จำนวนโคโลนีหลังฉาย ครั้งที่ 1	จำนวนโคโลนีหลังฉาย ครั้งที่ 2	จำนวนโคโลนีหลังฉาย ครั้งที่ 3	ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ (%)
หลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting	จานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบไม่เจือจาง	133	105	103	92	24.81
	จานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/2	60	32	-	-	46.67
	จานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/10	21	10	-	-	52.38
กล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท	จานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบไม่เจือจาง	133	124	121	122	8.02
	จานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/2	60	53	-	-	11.67
	จานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/10	21	17	-	-	19.05

กล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท	จานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบไม่เจือจาง	133	110	118	119	13.03
	จานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/2	60	61	-	-	-
	จานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/10	21	24	-	-	-

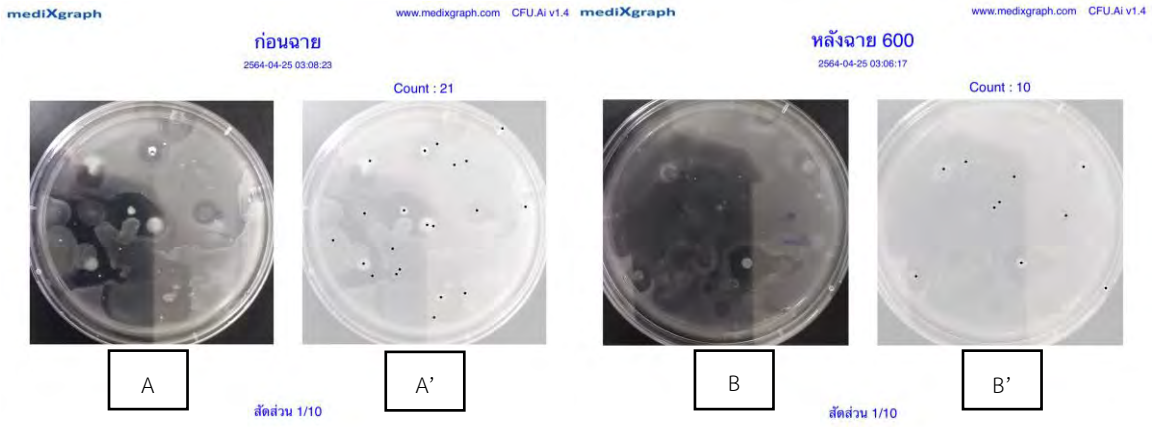
ทั้งนี้ภาพที่ได้จากการนับจำนวนโคโลนีก่อนฉายตัวอย่างอ้างอิงและหลังฉาย ผ่านโปรแกรม CFU.Ai ที่มีการกำหนดความกว้างของโคโลนีขั้นต่ำสำหรับการอ่านค่าทุกครั้งไว้แล้ว แสดงได้ดังรูปต่อไปนี้



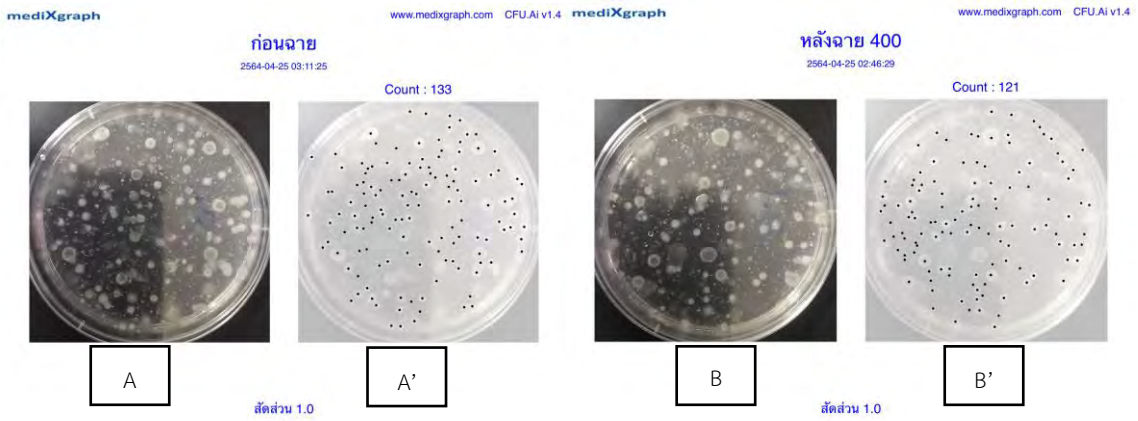
รูปที่ 4.3 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A'] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบไม่เจือจาง [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B']



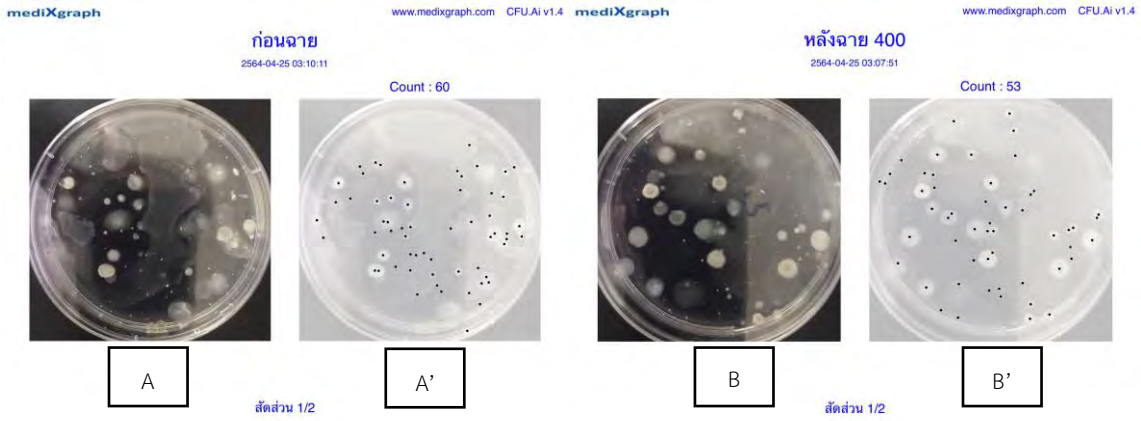
รูปที่ 4.4 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A'] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/2 [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B']



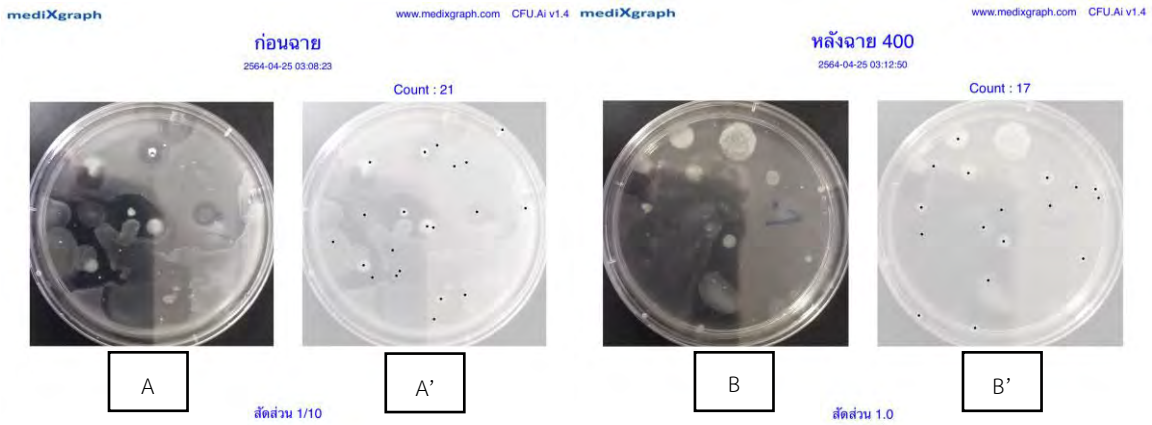
รูปที่ 4.5 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A'] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/10 [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B']



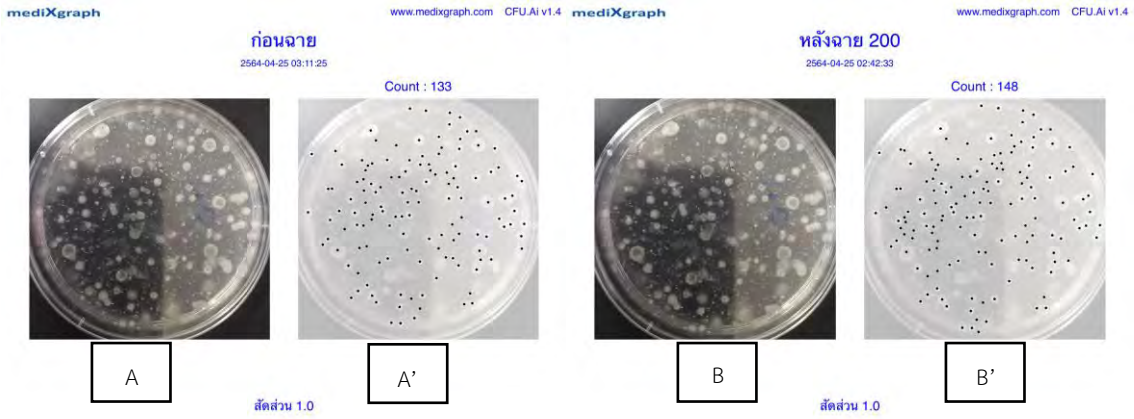
รูปที่ 4.6 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A'] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของกล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบไม่เจือจาง [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B']



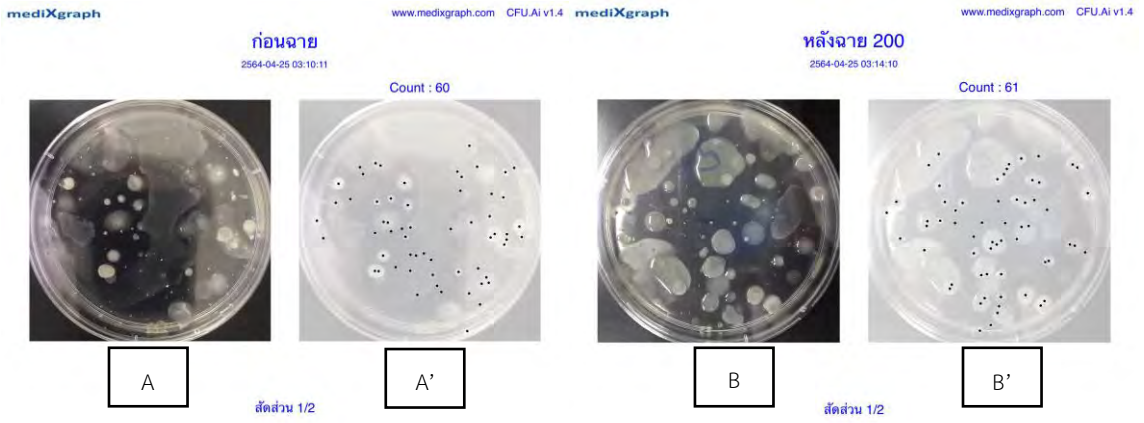
รูปที่ 4.7 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A'] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของกล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/2 [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B']



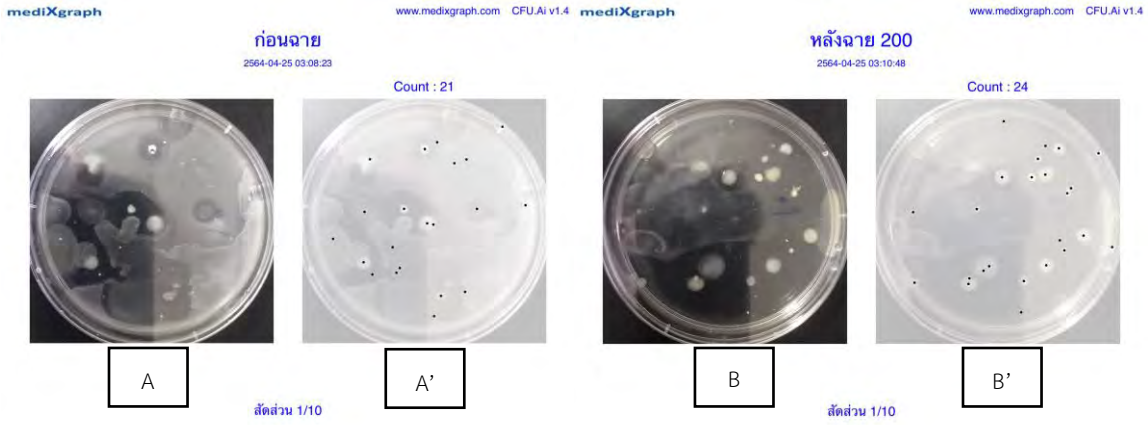
รูปที่ 4.8 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A'] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของกล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/10 [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B']



รูปที่ 4.9 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A'] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบไม่เจือจาง [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B']



รูปที่ 4.10 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A'] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/2 [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B']



รูปที่ 4.11 แสดงภาพถ่ายการทดลองที่ไม่ได้ฉายรังสี [A] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [A'] และภาพหลังการฆ่าเชื้อของกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท ในจานที่ผสมอาหารวุ้นกับตัวอย่างน้ำแบบเจือจางในสัดส่วน 1/10 [B] ซึ่งถูกนับจำนวนโคโลนีด้วยโปรแกรม CFU.Ai [B']

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อมากที่สุดโดยพิจารณาจากทุกระดับการเจือจาง เมื่อเทียบกับเอกสารที่ระบุไว้ และจะสังเกตได้ว่าจำนวนโคโลนี ลดลงเมื่อฉายรังสีทุกระดับการเจือจาง รองลงมาคือกล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท เมื่อเทียบกับเอกสารที่ระบุไว้และจะสังเกตได้ว่าจำนวนโคโลนีลดลงเมื่อฉายรังสีทุกระดับการเจือจางเช่นกัน และกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท จะสังเกตได้ว่าจำนวนโคโลนีแทบจะไม่ลดลงเลยเมื่อฉายรังสีในบางระดับการเจือจาง ทำให้มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อต่ำที่สุด เมื่อเทียบกับเอกสารที่ระบุไว้ และจากการทดลองจะพบว่าการฆ่าเชื้อของกล่องฆ่าเชื้อหรือหลอดที่ได้รับรองมาตรฐานก็ตามมีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำ อันเนื่องมาจากเชื้อที่ใช้ทดสอบมีจุลินทรีย์อยู่หลายชนิดโดยสังเกตได้จากเชื้อที่เจริญในอาหารที่มีลักษณะเป็นเส้นใยจำนวนมาก ทำให้การฉายรังสีอาจไม่ได้ผ่านลงไปถึงเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ข้างใต้เส้นใยเหล่านี้ โดยการทดลองที่ระดับการเจือจางในสัดส่วน 1/2 และ 1/10 ในครั้งที่สองและสามได้หยุดทดลองเพราะว่าผู้ทดลองต้องการเพียงเพราะพิสูจน์ว่าจำนวนโคโลนีที่อ่านได้ขณะไม่เจือจางตัวอย่างน้ำมีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนีหรือไม่ซึ่งเป็นค่าที่นิยมใช้กัน และเป็นเพียงการทดสอบเพื่อยืนยันว่าตัวอย่างที่ถูกเจืองจางนั้นมีแนวโน้มเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับตัวอย่างที่ไม่เจือจางหรือไม่เท่านั้น และการทดลองนี้ทำให้ทราบว่าหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อประมาณ 24.81% กล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อประมาณ 8.02% และกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อประมาณ 13.03% (หากพิจารณาเทียบกับเอกสารที่ระบุไว้ และพิจารณาเฉพาะกรณีตัวอย่างแบบไม่เจือจางเท่านั้น)

4.4 แนวทางในการทดลองและอภิปรายผลในอนาคต

ในการทดลองที่ 3.3 หากต้องการเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างกล่องฆ่าเชื้อราคา 200 และ 400 บาท กับหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting ที่ผ่านการรับรองมาตรฐานนั้น สามารถทำได้ดังนี้

4.4.1 ออกแบบการทดลองในการฉายรังสีโดยให้ระยะห่างโดยรวมจากตัวอย่างที่จะฉายถึงหลอดของหลอด PHILIPS Lighting มีค่าเท่ากับระยะห่างจากตัวอย่างที่จะฉายถึงหลอดของกล่อง Multi-function Sterilizer ราคา 200 บาท

4.4.2 กำหนดระยะเวลาในการฉายของหลอด PHILIPS Lighting ให้เป็น 6 นาทีตามระยะเวลาของกล่อง Multi-function Sterilizer เพื่อให้สามารถเปรียบเทียบได้ว่ากล่องราคา 200 บาทหรือหลอด PHILIPS ที่ผ่านการรับรองมาตรฐานมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียมากกว่ากัน

4.4.3 เมื่อทราบแล้วว่าตัวอย่างน้ำที่ไม่เจือจางมีจำนวนโคโลนีอยู่ในช่วงที่ต้องการ (25-250 โคโลนี) ให้ทำการทดลองเฉพาะในส่วนของการทดลองกับตัวอย่างที่ไม่เจือจาง ทั้งในกรณีของการทดลองในชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียขั้นต้น (SI-2) และการทดสอบด้วยเทคนิค Pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้รับความนิยมในการเลี้ยงเชื้อจำพวกรา ยีสต์ และแบคทีเรีย

4.4.5 ทำการทดลองโดยใช้ตัวอย่างจากแหล่งเดียวกัน โดยทำการทดลองเหมือนกับการทดลองที่ 3.3 ทำซ้ำอย่างน้อย 5 ครั้ง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีจากโปรแกรม CFU.Ai ที่ระบุขนาดเริ่มต้นของโคโลนีที่ต้องการตรวจจับไว้แล้ว เพื่อหาค่าเฉลี่ยที่แม่นยำของจำนวนโคโลนีหลังการฉายรังสีของทั้งหลอด PHILIPS Lighting และกล่อง Multi-function Sterilizer ราคา 200 บาท

4.4.6 เปรียบเทียบจำนวนโคโลนีก่อนและค่าเฉลี่ยของโคโลนีหลังการฉายรังสี จากนั้นเปรียบเทียบค่าระหว่างหลอด PHILIPS Lighting และกล่อง Multi-function Sterilizer ราคา 200 บาท

4.4.7 ทำการทดลองตั้งแต่ข้อ 4.4.1 ซ้ำ กับกล่อง Sterilization box ราคา 400 บาท โดยเปลี่ยนระยะห่างจากตัวอย่างที่จะฉายถึงหลอดให้มีระยะห่างเท่ากันทั้งในหลอด PHILIPS Lighting และกล่อง Sterilization box ราคา 400 บาท และเปลี่ยนระยะเวลาในการฉายของหลอด PHILIPS Lighting ให้เป็น 3 นาทีตามระยะเวลาในการฉายของกล่อง Sterilization box ราคา 400 บาท

4.4.8 เมื่อได้ผลการทดลองแล้ว ก็จะสามารถเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างกล่อง Sterilization box ราคา 400 บาทและกล่อง Multi-function Sterilizer ราคา 200 บาท ได้

4.4.9 เปรียบเทียบผลการทดลองและสรุปผล

ในการทดลองที่ 4.2 ก็เช่นกัน ให้ใช้ตัวอย่างแบบไม่เจือจางเหมือนกับในงานวิจัยนี้ จากนั้นเก็บผลโดยเทียบกับพื้นหลังสีขาวเพื่อให้เปรียบเทียบสีได้ง่าย และอ่านค่าที่ได้ตามตารางที่ 3.1

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษา

ในการทดลองนี้สามารถหาค่าความยาวคลื่นของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตทั้ง 3 ชนิดได้ โดยความยาวคลื่นเฉลี่ยของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting เมื่อใช้เกรตติงที่มีค่า d เท่ากับ $1x10^{-6}$ เมตร มีค่า 227.6±2.5 นาโนเมตร ความผิดพลาด (%Error) เท่ากับ 10.27% ความยาวคลื่นเฉลี่ยของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตของกล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท มีค่า 219.6±1.2 นาโนเมตร ความผิดพลาด (%Error) เท่ากับ 13.44% และความยาวคลื่นเฉลี่ยของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลตของกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท มีค่า 221.2±1.1 นาโนเมตร ความผิดพลาด (%Error) เท่ากับ 12.79% โดยเปอร์เซ็นความผิดพลาดนั้นวัดจากความยาวคลื่นของกล่องหรือหลอดที่ระบุไว้ในเอกสาร ทำให้ได้ข้อสรุปว่าแต่ละหลอดมีการปล่อยรังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่นใกล้เคียงกันที่ประมาณ 222 นาโนเมตร และความยาวคลื่นดังกล่าวมีความใกล้เคียงกับค่าความยาวคลื่นดูดกลืนแสงสูงสุดของแบคทีเรียและไวรัส (260 นาโนเมตร)

การทดลองต่อมาเป็นการทดสอบการฆ่าเชื้อโดยใช้ชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียเบื้องต้น SI-2 ได้ผลสรุปว่าว่าหากเวลาในการฉายถูกตั้งไว้อัตโนมัติ สีของน้ำยาทดสอบมีการเปลี่ยนสีทั้งหมด กล่าวคือทั้งสามหลอดมีโคลิฟอร์มแบคทีเรียเกินค่ามาตรฐานอยู่ โดยสีของน้ำยาทดสอบตัวอย่างก่อนการนำไปฉายเป็นสีเหลืองอ่อน ซึ่งมีลักษณะสีเหมือนกับสีของน้ำยาทดสอบหลังการฉายของกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท ซึ่งใช้เวลาในการฉาย 6 นาที ต่อมากล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท ซึ่งใช้เวลาในการฉาย 3 นาที เปลี่ยนเป็นสีเหลือง และสีของน้ำยาทดสอบหลังการฉายของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting เป็นสีเหลืองเข้ม ซึ่งใช้ระยะเวลาในการฉาย 30 นาทีตามที่เอกสารระบุไว้ว่าจะสามารถฆ่าเชื้อได้ ดังนั้นจะได้ว่าการฆ่าเชื้อของกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท มีประสิทธิภาพน้อยที่สุด รองลงมาคือกล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท และหลอดที่มีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อที่ดีที่สุดคือ หลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting ทำให้อาจกล่าวได้ว่าราคาของกล่องหรือหลอดมีผลต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ ทั้งนี้ในระยะเวลาในการฉายเป็นไปตามที่เอกสารระบุไว้ และระยะห่างของตัวอย่างจากหลอดขณะฉายไม่ได้ถูกควบคุมแต่อย่างใด

ในขั้นตอนสุดท้ายเป็นการทดสอบด้วยเทคนิค Pour plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผลปรากฏว่าหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต PHILIPS Lighting มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อมากที่สุดโดยพิจารณาจากทุกระดับการเจือจาง คิดเป็น 24.81% เมื่อเทียบกับเอกสารที่ระบุไว้ และจำนวนโคโลนีลดลงเมื่อฉายรังสีทุกระดับการเจือจาง รองลงมาคือกล่อง Sterilization Box ราคา 400 บาท คิดเป็น 8.02% เมื่อเทียบกับเอกสารที่ระบุไว้และจำนวนโคโลนีลดลงเมื่อฉายรังสีทุกระดับการเจือจางเช่นกัน และกล่อง Multi-Function Sterilizer ราคา 200 บาท จำนวนโคโลนีแทบจะไม่ลดลงเลยเมื่อฉายรังสีในบางระดับการเจือจาง ทำให้มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับเอกสารที่ระบุไว้ (กรณีมองในภาพรวม)

5.2 ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการทดลองนี้ไม่ได้ทดลองหาโดสของหลอดรังสีอัลตราไวโอเลต ควรทดลองวัดโดสของหลอดรังสีด้วยเครื่องมือจะดีกว่าการคำนวณด้วยสมการเนื่องจากประสิทธิภาพการทำงานของหลอดไม่ได้เต็มประสิทธิภาพตลอดเวลาในขณะทำการฉายรังสี และทำการทดลองที่เวลาที่ในการฉายนานกว่านี้เพื่อหาค่า LD_{50} (ค่าของเวลาฉายที่ทำให้จำนวนเชื้อลดลงเหลือกึ่งหนึ่ง) ของจำนวนโคโลนีด้วยจะดีมาก

ควรยึดเวลาในการฉายด้วยหลอดที่ผ่านการรับรองมาตรฐาน ตามกล่องฆ่าเชื้อ เนื่องจากเป็นเวลาที่ผู้ใช้ทั่วไปไม่สามารถปรับเปลี่ยนได้ นั่นคือปรับเวลาในการฉายด้วยหลอด PHILIPS Lighting ไปตามเวลาของกล่องฆ่าเชื้อเมื่อต้องการเปรียบเทียบกัน และสามารถปรับเป็นจำนวนเท่าได้ เช่น ฉาย 2 ครั้งหรือ 3 ครั้ง ต่อการทดลอง เพื่อหาเงื่อนไขของการทำงานที่ดีที่สุดเมื่อเทียบกับหลอด PHILIPS Lighting

เนื่องจากสถานการณ์โควิด-19 ทำให้ไม่สามารถทำการทดลองเพิ่มเติมดังกล่าวนี้ได้สะดวก ทั้งนี้ควรมีเวลาสำหรับข้อมูลของตัวอย่างอย่างน้อยการทดลองละ 2 วัน

บรรณานุกรม

[1] World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-2019) situation reports [online]. 2021. Available from: https://www.who.int /emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019 [2021,April 13]

[2] Neeltje van Doremalen. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. N Engl J Med (2020)

[3] O'Brien, W., Hunter, G., Rosson, J., Hulsey, R. and Carns, K. Disinfecting wastewater for discharge & reuse specialty conference of the water environment federation. 2-11-12-22 (WEF). (2019)

[4] Buonanno, M. Germicidal Efficacy and Mammalian Skin Safety of 222-nm UV Light. Radiation Research, 187(4):483-491 (2017)

[5] Food and Drug Administration. UV Lights and Lamps. Ultraviolet-C Radiation, Disinfection, and Coronavirus [online]. 2021. Available from: https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-covid-19-and-medical-devices/uv-lights-and-lamps-ultraviolet-c-radiation-disinfection-and-coronavirus [2021,April 13]

[6] Okamoto, T. and Okabe, S. Ultraviolet absorbance at 260 and 280 nm in RNA measurement is dependent on measurement solution. Int J Mol Med (2000)

[7] Rochette, P. UVA-induced cyclobutane pyrimidine dimers form predominantly at thymine–thymine dipyrimidines and correlate with the mutation spectrum in rodent cells. Nucleic Acids Res. (2003)

[8] Sánchez-Navarrete, J., Ruiz-Pérez, N.J. and Guerra-Trejo, A. et al. Simplified modeling of E. coli mortality after genome damage induced by UV-C light exposure. Sci Rep 10, 11240 (2020)

[9] Meulemans, C.C.E. The Basic Principles of UV–Disinfection of Water, Ozone: Science & Engineering, 9:4, 299-313, DOI: 10.1080/01919518708552146 (1987)

[10] Svobodova, A., Psotova, J. and Walterova, D. Natural phenolics in the prevention of UV-induced skin damage. A review. Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub. 147, 137–145 (2003)

[11] Kozmin, S. G., Pavlov, Y. I., Kunkel, T. A. and Sage, E. Roles of Saccharomyces cerevisiae DNA polymerases Poleta and Polzeta in response to irradiation by simulated sunlight. Nucleic Acids Res. 31, 4541–4552 (2003)

[12] Gonzales-Pumariega, M., Vernhes-Tamayo, M. and Sanchez-Lamar, A. Ultraviolet radiation: its incidence in the human health. Teoria 18, 69–80 (2009)

[13] Mills, P. Ultraviolet (UV) Measurement for Formulators: Part I [online]. 2009. Available from: https://www.pcimag.com/articles/88597-ultraviolet-uv-measurement-for-formulators-part-i [2021,April 13]

[14] ผกากรอง วนไพศาล. บทความเผยแพร่ความรู้สู่ประชาชน. การฆ่าเชื้อด้วยรังสียูวีซี (UVC) [online]. 2020. Available from: https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/488 [2021,April 13]

[15] Clydesdale, G.J., Dandie, G.W. and Muller, H. K. Ultraviolet light induced injury: immunological and inflammatory effects. Immunol Cell Biol 79, 547–568 (2001)

[16] de Gruijl, F.R., van Kranen, H.J. and Mullenders, L.H. UV-induced DNA damage, repair, mutations and oncogenic pathways in skin cancer. J. Photochem. Photobiol. B 63, 19–27 (2001)

[17] van der Leun, J.C. and de Gruijl, F.R. Climate change and skin cancer. Photochem. Photobiol. Sci. 1, 324–326 (2002)

[18] Douki, T., Court, M., Sauvaigo, S., Odin, F. and Cadet, J. Formation of the main UV-induced thymine dimeric lesions within isolated and cellular DNA as measured by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J. Biol. Chem. 275, 11678–11685 (2000)

[19] Park, H. Crystal structure of a DNA decamer containing a cis-syn thymine dimer. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99, 15965–15970 (2002)

[20] Wang, X. and Yu, H. The effect of DNA backbone on the triplet mechanism of UV-induced thymine–thymine (6–4) dimer formation. J. Mol. Model. 24, 319 (2018)

[21] Murphy, T. M. and M. P. Gordon. Photobiology of RNA viruses. Plenum Press, New York, N.Y (1981): 285–351

[22] Rauth, A.M. The physical state of viral nucleic acid and the sensitivity of viruses to ultraviolet light. Biophys. J. 5:257–273 (1965)

[23] David Lytle, C. and Sagripanti, J. Predicted Inactivation of Viruses of Relevance to Biodefense by Solar Radiation. J Virol (2005)

[24] Salegoodth. ตู้อบฆ่าเชื้อ UVC กล่องฆ่าเชื้อ เครื่องฆ่าเชื้อโรค แบบพกพา No.Y564 คุณภาพสูง [online]. 2021. Available from: https://salegoodth.com/products/ตู้อบฆ่าเชื้อ-uvc-กล่องฆ่าเชื้อ-เครื่องฆ่าเชื้อโรค-แบบพกพา-no.y564-s10933937-p8839255578.html [2021,May 30]

[25] Babygiftretail. รังสี UV ฆ่าเชื้อโรคได้จริงหรือ ? [online]. 2021. Available from: https://www.babygiftretail.com/รังสี-uv-ฆ่าเชื้อโรคได้จริงหรือ [2021,May 30]

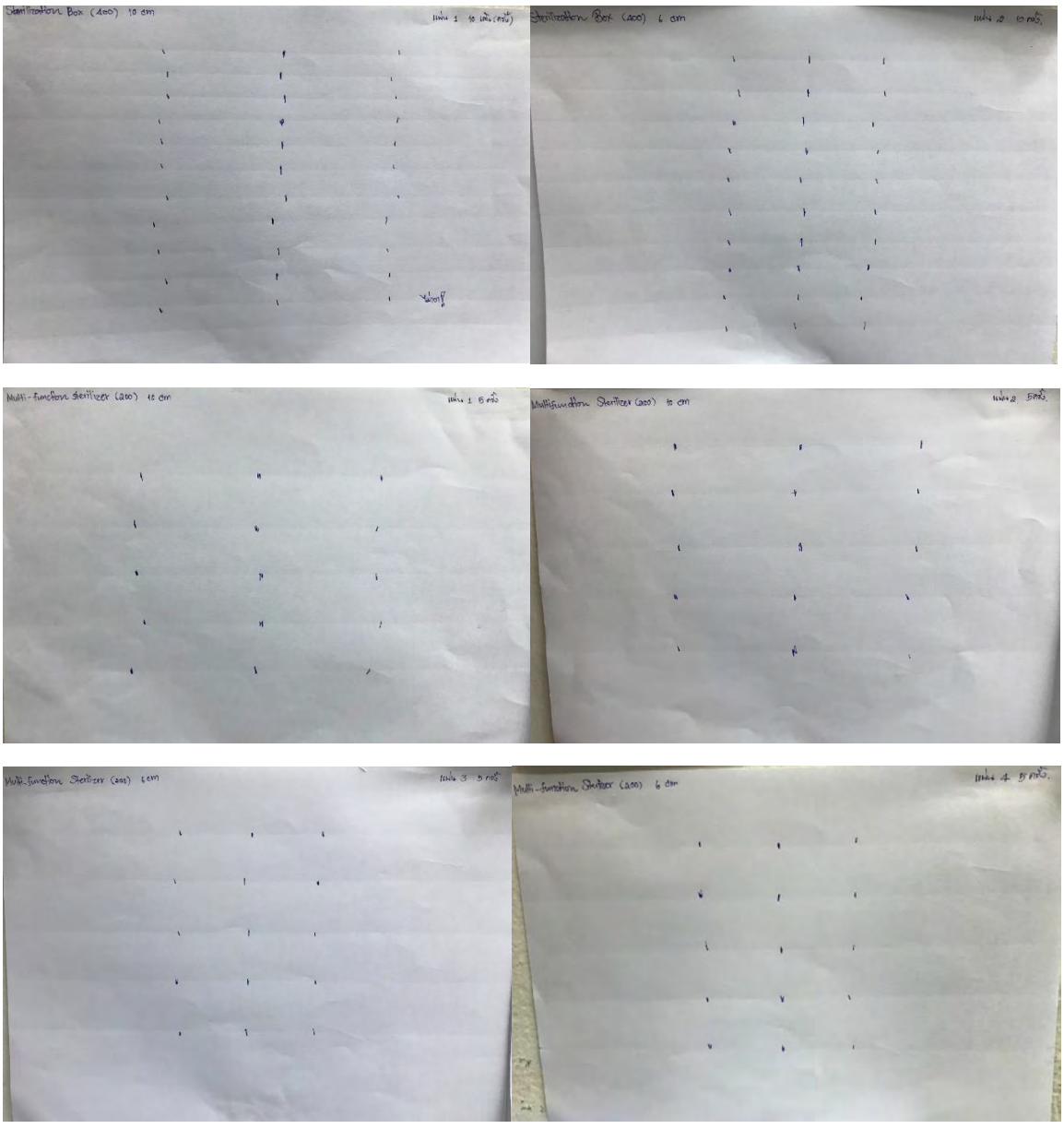
[26] Gindl, M., Sinn, G. and Stanzl-Tschegg, S. The effects of ultraviolet light exposure on the wetting properties of wood, Journal of Adhesion Science and Technology 20(8):817-828, DOI: 10.1163/156856106777638653 (2006)

[27] Chimalawong, P. Lab 4 Spectrometer [online]. 2021. Available from: https://www.google.com/url?sa=i&url=http%3A%2F%2Fp-chimalawong.freevar.com%2Fdoc%2FLab4%2520Spectrometer_CRU_Stu.pdf&psig=AOvVaw3eCtCpLkw0tG8hEp_Qz9Ms&ust=1622426930352000&source=images&cd=vfe&ved=0CAMQjB1qFwoTCOChnbep8PACFQAAAAAdAAAAABAD [2021,May 30]

ภาคผนวก

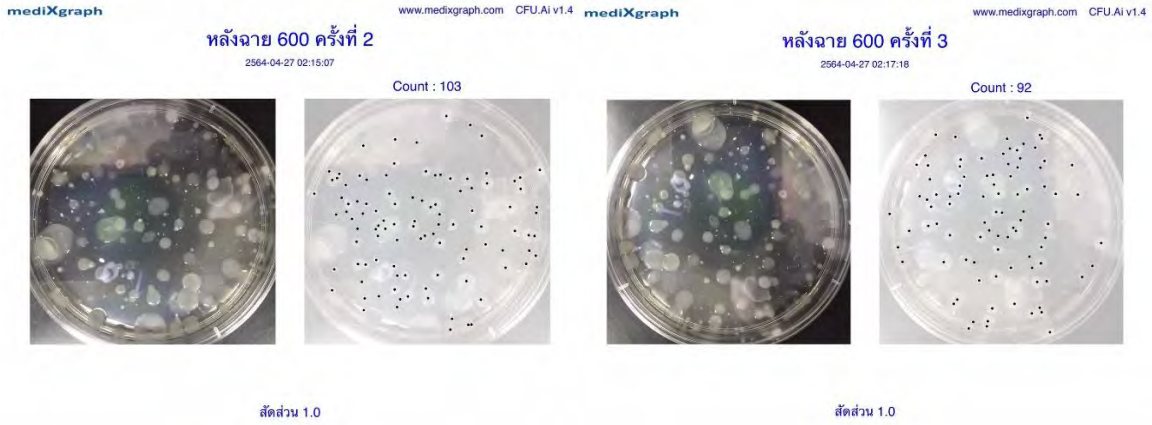
ภาคผนวก ก

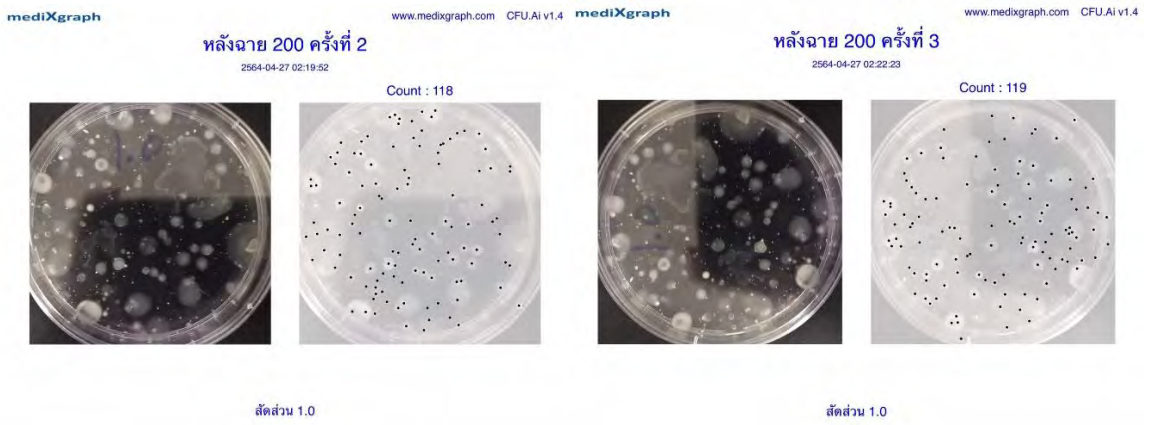
ผลการทดลองการหาความยาวคลื่นรังสีอัลตราไวโอเลต

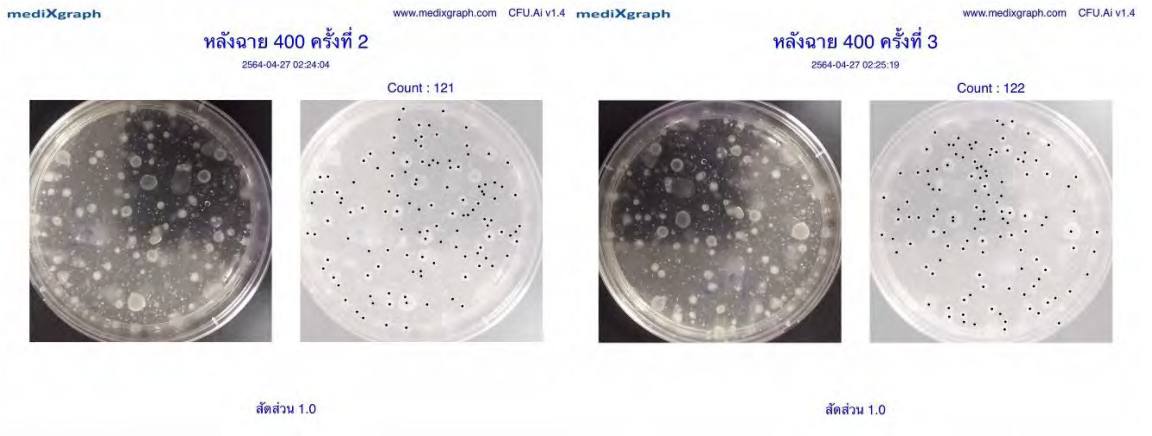


ภาคผนวก ข

ผลการทดลองการทดสอบการฆ่าเชื้อด้วยเทคนิค Pour plate







ภาคผนวก ค

ความผิดพลาดของการทดลอง

1. ความแม่นยำของผลการทดลอง

สำหรับข้อมูลที่มีมากกว่า 5 ข้อมูล จะใช้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, SD) ในการอธิบายความแม่นยำในการวัด โดย

$$s = \pm\sqrt{\frac{\sum\left(x_i - \bar{x}\right)^2}{N-1}}$$

โดยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่มีค่าน้อยแสดงถึงจุดข้อมูลที่มีค่าเข้าใกล้ค่าเฉลี่ยของข้อมูล (expected value) ในทางตรงกันข้ามค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่มีค่ามากแสดงถึงจุดข้อมูลที่กระจายออกจากค่าเฉลี่ยของข้อมูล หากทำการทดลอง N ครั้ง และค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) หาได้จาก

$$\sigma_{\bar{x}} = \frac{\sigma_x}{\sqrt{N}}$$

มักนิยมเขียนอยู่ในรูป

$$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$$

2. ความถูกต้องของผลการทดลอง

ความถูกต้องของผลการทดลองสามารถพิจารณาได้จากเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อน (%Error) โดยกำหนดค่าที่แท้จริงก่อน (ในที่นี้คือ 253.7 นาโนเมตร) อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนจะเขียนอยู่ในรูปค่าสัมบูรณ์

$$\% \text{ Error} = \frac{\text{(true value - experimental value)}}{\text{true value}} \times 100$$