

การเตรียมและลักษณะสมบัติของผงเซรามิกจากเปลือกไข่เพื่อต้านแบคทีเรีย

นางสาวปัทมา ปรีชา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีเซรามิก ภาควิชาวัสดุศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF ANTIBACTERIAL CERAMIC POWDER
FROM EGGSHELL

Miss Pattama Preecha

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Ceramic Technology

Department of Materials Science

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2009

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การเตรียมและลักษณะสมบัติของผงเซรามิกจากเปลือกไข่
เพื่อต้านแบคทีเรีย

โดย

นางสาว บัทยา ปรีชา

สาขาวิชา

เทคโนโลยีเซรามิก

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดุจฤทัย พงษ์เก่า คະซีมา

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริพันธ์ เจียมศิริเลิศ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดุจฤทัย พงษ์เก่า คະซีมา)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุพัตรา จินาวัดมน)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชื่นจิต ประกิจชัยวัฒนา)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร.พิทักษ์ เหล่ารัตนกุล)

5172361923 : MAJOR CERAMIC TECHNOLOGY

KEYWORDS : ANTIBACTERIAL / EGGSHELL / CERAMIC OXIDE / POWDER

PATTAMA PREECHA : PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF
ANTIBACTERIAL CERAMIC POWDER FROM EGGSHELL. THESIS ADVISOR :
ASST. PROF. DUJREUTAI PONGKAO KASHIMA, D.Eng, 76 pp.

Inorganic antibacterial agents have attracted great interest because they are proved to be safe and stable in comparison with organic antibacterial agents. In this research, preparation of antibacterial ceramic powder from eggshell was studied. Waste eggshells were cleaned to be using as starting material. The effect of calcining temperature ranging from 500-900°C was investigated. XRD patterns of the as-calcined powders at 700 °C, 800 °C and 900 °C showed the complete set of peaks of $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Moreover, for the as-calcined powder at 900 °C, CaO phase was found. Microstructures of the as-calcined powder at 700 °C or above were nearly similar to those of commercial $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and CaO. Mean particle sizes of powder calcined at 700 °C and higher, were around 10 μm , smaller than those of 500 °C and 600 °C. Accordingly, the specific surface areas of as-calcined powders at 700 °C and above were much larger than those of 500 °C and 600 °C. The best antibacterial activities against both *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were found in the powders calcined at 700°C and higher. The as-calcined powder 700°C was selected for antibacterial test on smooth and rough skin fruits. The result showed dead *Escherichia coli* cells on the surface of both kinds of fruits, and this confirmed its potential for agricultural product washing application. The factors affecting antibacterial mechanism of the as-calcined powders were the large quantity of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and CaO phases, high alkalinity which was about 12-13 and generating active oxygen species.

Department : Materials Science..... Student's Signature

Field of Study : Ceramic Technology..... Advisor's Signature

Academic Year : 2009.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้ด้วยดี โดยได้รับความช่วยเหลือทั้งในด้านวิชาการและการดำเนินการวิจัยจากบุคคลและหน่วยงานต่างๆ ผู้เขียนขอขอบพระคุณบุคคลและหน่วยงานต่างๆ ดังนี้

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. . ดุจฤทัย พงษ์เก่า คະชิม่า ที่ให้ความช่วยเหลือ คำชี้แนะ ช่วยชี้แนะแนวทางในการแก้ไขปัญหา ให้ความรู้และแนวคิดที่ดีต่อการทำงานวิจัย ตลอดจนมอบโอกาสและประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า

คณาจารย์และเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน ที่ให้ความรู้ตลอดจนอำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ ด้วยดีมาตลอด

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านสำหรับการตรวจแก้ไขรูปเล่ม และคำแนะนำวิทยานิพนธ์ที่ทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้มีความสมบูรณ์มากขึ้น

ศูนย์ความเป็นเลิศด้านปิโตรเลียม ปิโตรเคมีและวัสดุขั้นสูงและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยแห่งชาติ สำหรับทุนการศึกษาและทุนวิจัยตลอดระยะเวลาที่ศึกษาในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

คุณธนิต สิงหนุญพงศ์ เจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาจุลชีววิทยา คุณ ธนากร เทพามาตย์ เจ้าหน้าที่ประจำเครื่อง SEM จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการวิเคราะห์ผลการทดลองให้

คุณสมคิด ทองศิลา ครูปฏิบัติการประจำภาควิชาวัสดุศาสตร์ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกและให้คำแนะนำในการใช้เตาเผาอุณหภูมิสูง

พี่ๆ เพื่อนๆ ภาควิชาวัสดุศาสตร์ สาขา วิชา เทคโนโลยีเซรามิกทุกคน ที่คอยให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจมาโดยตลอด

สุดท้ายขอขอบพระคุณพ่อ แม่ ครอบครัวปรีชา ที่ให้การอบรมสั่งสอนเลี้ยงดูในการสนับสนุน เป็นกำลังใจ พร้อมทั้งมอบโอกาสและประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้าเสมอมา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับแบคทีเรีย.....	3
2.1.1 ประเภทของแบคทีเรีย.....	3
2.1.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	6
2.1.3 <i>Escherichia coli</i>	8
2.2 โรคที่เกิดจากแบคทีเรีย.....	10
2.3 สารต้านแบคทีเรีย.....	12
2.3.1 แคลเซียมออกไซด์.....	12
2.3.2 แคลเซียมไฮดรอกไซด์.....	14
2.4 กลไกการต้านแบคทีเรียของสารต้านแบคทีเรียชนิดอนินทรีย์.....	15
2.5 ผงล้างผักผลไม้.....	17
2.6 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	20
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	23
3.1 วัตถุประสงค์ที่ใช้ในการทดลอง.....	23
3.2 แผนผังการเตรียมผงเซรามิกจากเปลือกไข่.....	23
3.3 การเตรียมผงเซรามิกจากเปลือกไข่.....	24
3.3.1 การเตรียมเปลือกไข่ก่อนเผาแคลไซน์.....	24

3.3.2 การเตรียมผงเซรามิกจากเปลือกไข่.....	24
3.4 แผนผังการวิจัย.....	25
3.5 การวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของสารตัวอย่าง.....	25
3.5.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติทางโครงสร้างของ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่เพื่อด้านแบคทีเรีย.....	25
3.5.2 การวิเคราะห์สมบัติด้านแบคทีเรียของผงเซรามิกจาก เปลือกไข่.....	26
3.6 การวิเคราะห์กลไกในการด้านแบคทีเรียของสารตัวอย่าง.....	28
3.7 ประสิทธิภาพการใช้งานผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่สังเคราะห์ได้ เพื่อใช้เป็นผงล้างผักผลไม้.....	29
3.7.1 ประสิทธิภาพการด้านแบคทีเรียในสภาวะที่มีผลงุ่นง่านอยู่ ด้วย.....	29
3.7.2 ประสิทธิภาพการด้านแบคทีเรียต่อผักผลไม้ที่มีลักษณะ ของพื้นผิวต่างกัน.....	29
3.7.3 เปรียบเทียบลักษณะของเซลล์ <i>E. coli</i> หลังสัมผัสกับ ผงเซรามิกที่สังเคราะห์ได้เป็นเวลา 6 ชั่วโมงด้วยเทคนิค Transmission electron microscope (TEM).....	31
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	33
4.1 สมบัติทางโครงสร้างและองค์ประกอบของเปลือกไข่.....	33
4.2 ลักษณะเฉพาะของผงเซรามิกจากเปลือกไข่หลังเผาแคลไซน์ในช่วง อุณหภูมิ 500- 900°C.....	34
4.2.1 เฟสองค์ประกอบเชิงคุณภาพ.....	34
4.2.2 เฟสองค์ประกอบเชิงปริมาณ.....	35
4.2.3 โครงสร้างจุลภาค.....	36
4.2.4 การกระจายของขนาดอนุภาค.....	42
4.2.5 พื้นผิวจำเพาะ.....	43
4.3 สมบัติด้านแบคทีเรียของผงเซรามิกจากเปลือกไข่หลังเผาแคลไซน์ ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 500-900 °C.....	44
4.3.1 สมบัติด้านแบคทีเรียชนิด Gram-positive.....	44
4.3.2 สมบัติด้านแบคทีเรียชนิด Gram-negative.....	45

4.3.3 กลไกการต้านแบคทีเรีย.....	46
4.4 การประยุกต์ใช้งานผงเซรามิกจากเปลือกไข่เพื่อใช้เป็นผงล้างผัก ผลไม้.....	51
4.5 ลักษณะเซลล์แบคทีเรียหลังสัมผัสกับผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผา แคลไซน์ที่ 700 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยเทคนิค Transmission Electron Microscope.....	56
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	58
5.1 สรุปและอภิปรายผลการวิจัย.....	58
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	58
รายการอ้างอิง.....	59
ภาคผนวก.....	65
ภาคผนวก ก.....	66
ภาคผนวก ข.....	69
ภาคผนวก ค.....	72
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	76

สารบัญตาราง

	หน้า	
ตารางที่ 2.1	ตัวอย่างงานวิจัยที่แสดงภาวะการเกิดสมบัติต้านแบคทีเรีย.....	16
ตารางที่ 2.2	ปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตชนิด <i>E. coli</i> O157:H7 และ <i>Salmonella</i> ในกระบวนการผลิตและสิ่งแวดล้อมภายในฟาร์มเกษตรกรรม.....	18
ตารางที่ 2.3	สารต้านแบคทีเรียชนิดต่างๆและสมบัติต้านแบคทีเรีย	21
ตารางที่ 3.1	ตัวแปรการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิต่างๆ.....	24
ตารางที่ 3.2	ตัวแปรการใช้เครื่อง X-ray Diffractometer.....	25
ตารางที่ 3.3	ส่วนประกอบในขวดทดลองเพื่อทดสอบประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียต่อผักผลไม้ที่มีลักษณะของพื้นผิวต่างกัน.....	31
ตารางที่ 4.1	พื้นที่ผิวจำเพาะของผงเซรามิกจากเปลือกไข่หลังเผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500-900°C.....	43

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 2.1	แบบจำลองโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียชนิด Gram-positive..... 3
รูปที่ 2.2	แบบจำลองโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียชนิด Gram-negative..... 5
รูปที่ 2.3	แบบจำลองโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียชนิด Gram-positive เปรียบเทียบกับชนิด Gram-negative..... 6
รูปที่ 2.4	กระป๋องที่สามารถให้ความร้อนได้ด้วยตัวเอง..... 15
รูปที่ 2.5	ขั้นตอนการใช้งานผงล้างผักผลไม้ Surfcer..... 19
รูปที่ 2.6	ตัวอย่างของบรรจุผงดูดซับ Surfcer..... 19
รูปที่ 3.1	แผนผังการเตรียมผงเซรามิกจากเปลือกไข่..... 23
รูปที่ 3.2	แผนผังการวิจัย..... 25
รูปที่ 3.3	เทคนิค spread plate..... 27
รูปที่ 3.4	การทำเจือจางเพื่อให้จำ นวนโคโลนีที่เจริญบนจานอาหารอยู่ในช่วงที่สามารถนับได้..... 28
รูปที่ 4.1	รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ แสดงองค์ประกอบของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ก่อนเผาแคลไซต์..... 33
รูปที่ 4.2	องค์ประกอบเชิงคุณภาพของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผา แคลไซต์ในช่วงอุณหภูมิ 500°C - 900°C..... 34
รูปที่ 4.3	ปริมาณเฟสองค์ประกอบของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซต์ในช่วงอุณหภูมิ 500 °C -900°C..... 35
รูปที่ 4.4	ภาพถ่าย SEM แสดงโครงสร้างจุลภาคของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ หลังเผาแคลไซต์ในช่วงอุณหภูมิ 500°C -900°C..... 36
รูปที่ 4.5	ภาพถ่าย SEM เปรียบเทียบโครงสร้างจุลภาคของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาอุณหภูมิ 700°C 800°C และ 900°C กับโครงสร้างจุลภาคของผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์และแคลเซียมออกไซด์คุณภาพทางการค้า..... 38
รูปที่ 4.6	แผนภูมิสมดุลของเฟสระหว่างแคลเซียมออกไซด์และน้ำกับอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงในช่วง 600°C - 900°C..... 40
รูปที่ 4.7	แผนภูมิสมดุลของเฟสระหว่างแคลเซียมออกไซด์และน้ำกับอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงในช่วง 700°C - 1000°C..... 41

รูปที่ 4.8	การกระจายของขนาดอนุภาคของผงเซรามิกจากเปลือกไข่หลังเผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500 °C - 900 °C.....	42
รูปที่ 4.9	กราฟแสดงสมบัติด้านแบคทีเรียชนิด Gram-positive ของผงเซรามิกจากเปลือกไข่หลังเผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500°C - 900°C.....	44
รูปที่ 4.10	กราฟแสดงสมบัติด้านแบคทีเรียชนิด Gram-negative ของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500°C - 900°C.....	45
รูปที่ 4.11	ผลของค่า pH ที่สูงต่อการแตกของเซลล์แบคทีเรีย.....	46
รูปที่ 4.12	ปฏิกิริยา Lipid peroxidation หรือ saponification ของไฮดรอกซิลไอออนต่อโมเลกุลไขมันบน Cell membrane.....	47
รูปที่ 4.13	กราฟแสดงค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงไปทุกๆ 15 นาทีของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่ผ่านการเผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500 °C -900 °C แล้วนำมาผสมกับน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 0.05 % W/V เป็นระยะเวลาานาน 6 ชั่วโมง.....	48
รูปที่ 4.14	แบบจำลองโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียชนิด Gram-positive เปรียบเทียบกับชนิด Gram-negative.....	49
รูปที่ 4.15	สมบัติด้านแบคทีเรีย ชนิด <i>E. coli</i> ของผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 700 °C 800 °C และ 900 °C ในภาวะที่มีผลของน้ำอยู่ด้วย.....	51
รูปที่ 4.16	สมบัติด้านแบคทีเรียชนิด <i>E. coli</i> ของผงเซรามิก จากเปลือกไข่เผาแคลไซน์ ที่อุณหภูมิ 700 °C, 800 °C และ 900 °C ในภาวะที่มีผลของน้ำอยู่ด้วย.....	52
รูปที่ 4.17	โครงสร้างจุลภาคของเซลล์ <i>E. coli</i> บนผิวของผงเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้งานเพื่อด้านแบคทีเรียของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์ 500 °C และ 700 °C	53
รูปที่ 4.18	โครงสร้างจุลภาคของเซลล์ <i>E. coli</i> บนฝักกาดหอม เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้งานเพื่อด้านแบคทีเรียของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์ 500°C กับ 700°C.....	55
รูปที่ 4.19	ลักษณะเซลล์ <i>E. coli</i> ปกติ เปรียบเทียบกับเซลล์ <i>E. coli</i> หลังสัมผัสผงเซรามิกเผาแคลไซน์ที่ 700 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง.....	56
รูปที่ 4.20	ภาพ TEM ของแบคทีเรียชนิดต่างๆในภาวะ pH 12 (A) <i>L. monocytogens</i> (B) <i>E. coli</i> O157:H7 (C) <i>S. enteritidis</i> ATCC 13706.....	57

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไวรัสและแบคทีเรียชนิดอันตราย ส่งผลต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์ในปัจจุบันเป็นอย่างมาก จากสถิติขององค์การอนามัยโลก (WHO)^[1] ได้เปิดเผยสถิติการตายของมนุษย์ในปี ค.ศ. 1996 ว่ามีจำนวนทั้งสิ้น 52 ล้านคน โดยจำนวนหนึ่งในสามหรือ 17 ล้านคนนั้นมีสาเหตุการตายจากเชื้อแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อโรคระบาดที่อันตรายมาก เช่น SARS ได้คร่าชีวิตของประชากรโลกไปอย่างมากในช่วงครึ่งปีแรกของปี ค.ศ. 2003 ดังนั้นจึงมีการวิจัยเพื่อพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในด้าน การกำจัดไวรัสและแบคทีเรียเพื่อสร้างสุขภาวะที่ดีต่อมนุษยโลก

สารต้านแบคทีเรียคือสารที่สามารถต่อต้านการ เจริญและขยายพันธุ์ของแบคทีเรีย แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ สารต้านแบคทีเรียกลุ่มอินทรีย์ ตัวอย่างของสารต้านแบคทีเรียกลุ่มนี้คือ ไคโตซาน^[2] ไตรโคโลซาน^[3] หรือไตรโคโลคาร์แบน^[4] เป็นต้น เนื่องจากเป็นสารที่สามารถสังเคราะห์จากธรรมชาติจึงทำให้มีข้อดีคือ มีความเป็นพิษน้อย สามารถใช้กับกระบวนการผลิตอาหาร เวชภัณฑ์หรือเวชสำอางได้

สารต้านแบคทีเรียกลุ่มที่สองคือกลุ่มอนินทรีย์ ตัวอย่างของกลุ่มนี้คือ ไทเทเนียมไดออกไซด์^[5] คอปเปอร์^[6] หรือซิลเวอร์^[7] เป็นต้น กลไกในการทำงานของสารต้านแบคทีเรียกลุ่มนี้คือ ทำลายระบบการทำงานของดีเอ็นเอและเอ็นไซม์ภายในเซลล์ของแบคทีเรีย และทำให้ปฏิกิริยาต่างๆในเซลล์ของแบคทีเรียล้มเหลวและตายในที่สุด ข้อดีคือสามารถใช้กับกระบวนการผลิตที่มีอุณหภูมิสูงได้ เนื่องจากทนต่ออุณหภูมิสูงได้ดี เช่น อุตสาหกรรมการผลิตแก้วหรือกระจก อุตสาหกรรมการผลิตยาหรือเวชภัณฑ์ เป็นต้น แต่มีข้อจำกัดคือ เนื่องจากกลไกในการทำงานของสารต้านแบคทีเรียกลุ่มอนินทรีย์มีผลต่อเซลล์โดยตรง จึงอาจส่งผล ต่อการทำงานของเซลล์ข้างเคียงหรือเซลล์ที่ไม่ต้องการทำลายได้ โอกาสเกิดความเป็นพิษในเซลล์มีสูงจากข้อจำกัดของการใช้สารต้านแบคทีเรียกลุ่มอนินทรีย์ข้างต้นจึงเป็นแนวคิดในการทำวิจัยเตรียมสารต้านแบคทีเรียกลุ่มอนินทรีย์จากสารประกอบออกไซด์ซึ่งมีความเสถียรสูง มีความเป็นพิษต่ำ และสามารถสังเคราะห์ได้จากวัสดุเหลือทิ้ง จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีผู้ศึกษาสมบัติต้านแบคทีเรียของผงเซรามิก 26 ชนิด^[8] พบว่ามีผงเซรามิกเพียงบางชนิดที่มีสมบัติดังกล่าว

หนึ่งในนั้นคือแคลเซียมออกไซด์ โดยใช้วัตถุดิบเริ่มต้นเป็นเปลือกหอยซึ่งเป็น วัสดุเหลือทิ้ง นำมา ผ่านกระบวนการทางความร้อนจนเปลี่ยนเป็นแคลเซียมออกไซด์ซึ่งแสดงสมบัติด้านแบคทีเรีย

สำหรับงานวิจัยนี้จะศึกษาการเตรียมผงเซรามิกด้านแบคทีเรียจากวัตถุดิบตั้งต้นที่เป็น เปลือกไข่ ซึ่งมีองค์ประกอบหลักเป็นแคลเซียมคาร์บอเนตเช่นเดียวกับเปลือกหอย โดยจะศึกษาหา ภาวะที่เหมาะสมได้แก่ อุณหภูมิการเผาแคลไซน์ (500°C, 600°C, 700°C, 800°C และ 900°C) เพื่อให้เกิด เฟส ที่แสดง สมบัติการด้านแบคทีเรีย นั่นคือแคลเซียมออกไซด์ และวิเคราะห์ ลักษณะเฉพาะของผงเซรามิกที่เตรียมได้ ได้แก่ เฟสองค์ประกอบ สัณฐานวิทยา พื้นที่ผิว จำเพาะ และการกระจายของขนาดอนุภาค รวมถึงศึกษากลไกการด้านแบคทีเรียของผงเซรามิกที่เตรียมขึ้น และประสิทธิภาพในการประยุกต์ใช้งานเพื่อเป็นผนังผักผลไม้

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผล ของ อุณหภูมิการเผาแคลไซน์ต่อเฟส องค์ประกอบ สัณฐานวิทยา พื้นที่ผิวจำเพาะ และการกระจายของขนาดอนุภาคที่เหมาะสมของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่แสดง สมบัติด้านแบคทีเรีย
2. เพื่อศึกษากลไกการด้านแบคทีเรียของผงเซรามิกที่เตรียมขึ้น

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาผลของอุณหภูมิในการเผาแคลไซน์ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ (500 °C, 600 °C, 700 °C, 800 °C และ 900 °C) เพื่อให้เกิดสมบัติด้านแบคทีเรียได้ดีที่สุด
2. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดเฟสแคลเซียมออกไซด์และแคลเซียมไฮดรอกไซด์
3. ศึกษา ประสิทธิภาพและ กลไกในการด้านแบคทีเรียของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ ที่สังเคราะห์ได้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่มีสมบัติด้านแบคทีเรียและได้ ทราบถึงกลไกการด้านแบคทีเรียของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เตรียมขึ้น

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

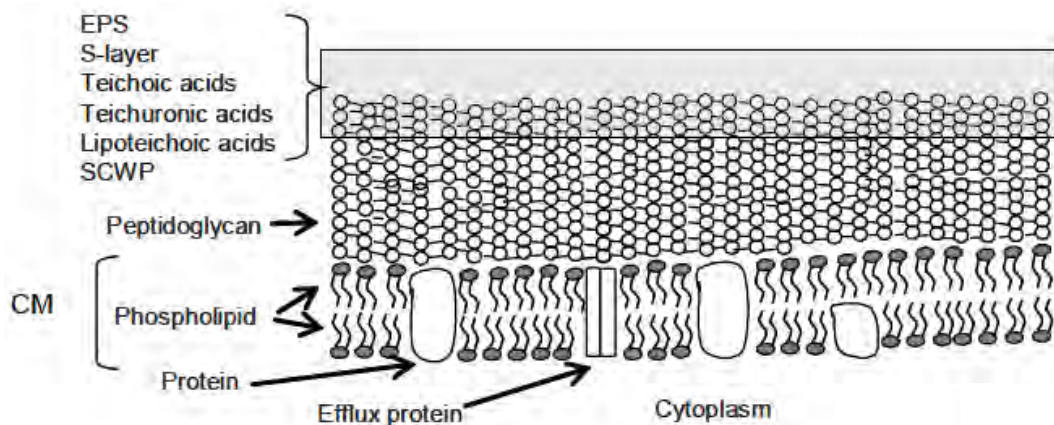
2.1 ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับแบคทีเรีย

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กเซลล์เดียวในกลุ่มโพรคาริโอต (prokaryote) โดยทั่วไปมีความยาวของเซลล์อยู่ในระดับไมโครเมตร รูปร่างของแบคทีเรียมีหลากหลายรูปแบบ เช่น ทรงกลม แท่ง หรือเป็นเกลียว เราสามารถพบแบคทีเรียได้ในทุกๆ ที่ที่อยู่อาศัย ในดิน แหล่งน้ำ รวมถึงในสิ่งมีชีวิตเช่น คน สัตว์ และพืช หรือแม้กระทั่งขยะกัมมันตรังสี มีการรายงานว่าพบเซลล์แบคทีเรียถึง 40 ล้านเซลล์ในดินเพียง 1 กรัมและในน้ำเพียง 1 มิลลิลิตร ดังนั้นแบคทีเรียจึงเป็นสิ่งมีชีวิตใกล้ตัวเรามากอย่างคาดไม่ถึง^[9]

2.1.1 ประเภทของแบคทีเรีย

การแบ่งประเภทของแบคทีเรียสามารถใช้เกณฑ์การ แบ่งได้หลายรูปแบบ เช่น รูปร่าง ความต้องการใช้ออกซิเจน หรือแหล่งอาหาร เป็นต้น ในที่นี้ขออธิบายการแบ่งประเภทของแบคทีเรียตามโครงสร้างผนังเซลล์และการย้อมติดสีแกรมซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท^[10] คือ

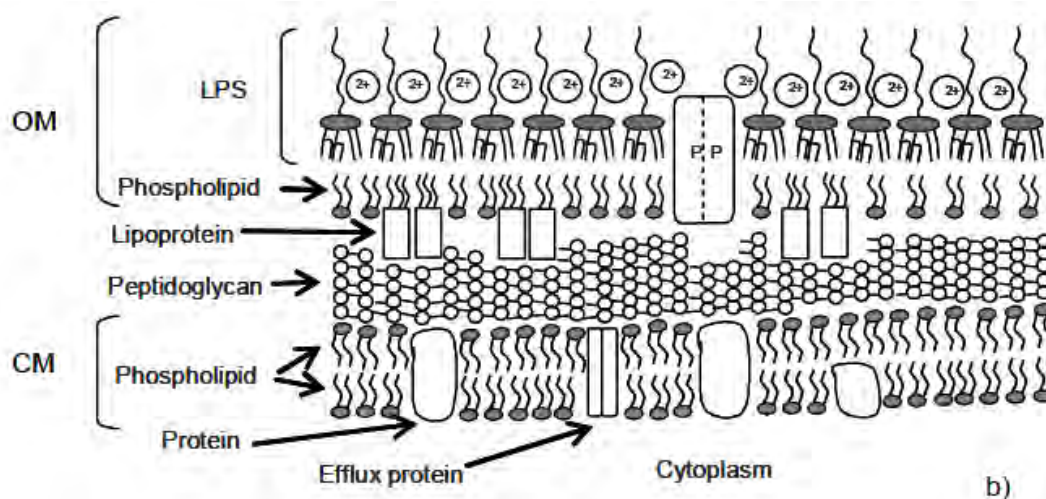
1. แบคทีเรียชนิด Gram-positive คือ แบคทีเรียที่สามารถย้อมติดสีแกรมบวก เป็นสีม่วง ตัวอย่างของแบคทีเรียกลุ่มนี้คือ *Staphylococcus aureus* เมื่อพิจารณา โครงสร้างของผนังเซลล์ จะพบว่ามี 2 ชั้น คือ Cytoplasmic membrane (CM) และ Peptidoglycan ดังแสดงในรูปที่ 2.1^[11]



รูปที่ 2.1 แบบจำลองโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียชนิด Gram-positive^[11]

ของเหลวภายในเซลล์หรือไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ของแบคทีเรียชนิด Gram-positive จะถูกล้อมรอบด้วย Cytoplasmic membrane (CM) เป็นชั้นแรกหรือเรียกอีกอย่างว่า Phospholipid bilayer ซึ่งประกอบด้วยโมเลกุลของไขมันและโปรตีน^{[12],[13]} Cytoplasmic membrane มีความสำคัญต่อระบบต่างๆภายในเซลล์มาก เช่น ควบคุม การผ่านเข้าออกของโมเลกุลต่างๆ^[14] การถ่ายเทอิเล็กตรอน การแบ่งเซลล์และการเจริญเติบโตของเซลล์ เป็นต้น นอกจากนี้ CM ยังเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญต่อเซลล์ ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้จะควบคุมเมตาบอลิซึม รักษาความแข็งแรงต่อเมมเบรน ควบคุมการซึมผ่านของโมเลกุลและไอออนต่างๆ^[15] ดังนั้น Cytoplasmic membrane จึงเป็นเป้าหมายสำคัญในการทำลายของสารต้านแบคทีเรีย สำหรับแบคทีเรียชนิด Gram-positive นั้น CM จะถูกปกคลุมด้วยชั้นของ Cell wall ที่มีความหนา เรียกว่า Peptidoglycan หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า murein มีความหนาประมาณ 20-80 nm ประกอบด้วยโมเลกุล Polysaccharide, teichoic acids, teichuronic acids และ lipoteichoic acids^{[16],[17]} นอกจากนี้ แบคทีเรียในกลุ่ม Gram-positive หลายชนิดยังมีชั้น cell wall พิเศษซึ่งเป็นโมเลกุลพอลิเมอร์ที่เรียกว่า “secondary” cell wall polymers (SCWPs) ซึ่งช่วยให้ชั้นผิวนอกสุดของแบคทีเรียกับชั้นในสามารถเชื่อมยึดกันได้ดีเพื่อให้มีความแข็งแรงมากขึ้น^[17] Peptidoglycan มีโครงสร้างคล้าย สาย พอลิเมอร์ที่ ประกอบด้วย วยโมเลกุลของ Polysaccharide และ Peptide เชื่อมต่อกันด้วยพันธะโควาเลนต์ และมีการเชื่อมพันธะทางขวาง (cross-link) ทำให้เป็นโมเลกุลใหญ่โมเลกุลเดี่ยว เพื่อให้มีความแข็งแรง เพียงพอที่จะ ควบคุม ความดันออสโมติกภายในเซลล์ให้คงที่และให้เซลล์คงรูปได้^{[18],[19]}

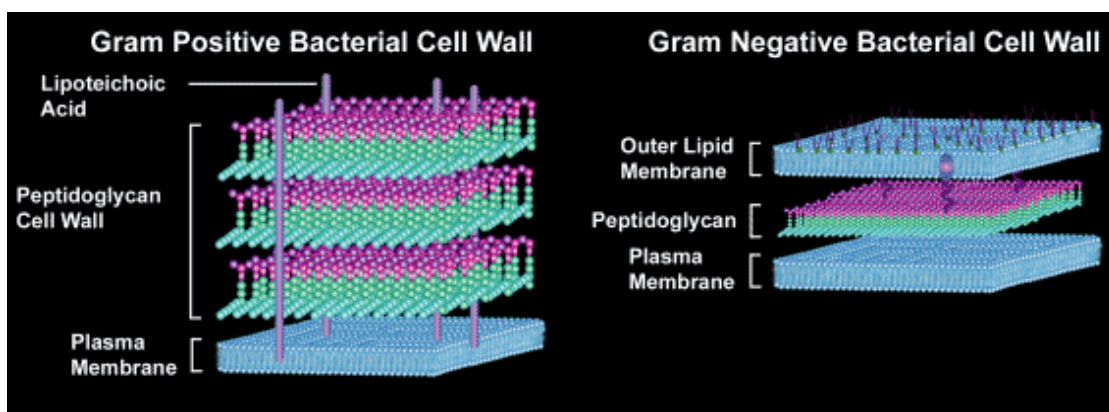
2. แบคทีเรียชนิด Gram-negative คือแบคทีเรีย ที่ย้อมติดสีแกรมลบ เป็นสีแดง ได้ ตัวอย่างของแบคทีเรียกลุ่มนี้คือ *Escherichia coli* โครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียชนิด Gram-negative ซึ่งมี 3 ชั้น ประกอบด้วย Inner membrane, Peptidoglycan และ Outer membrane ดังแสดงในรูปที่ 2.2^[11]



รูปที่ 2.2 แบบจำลองโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียชนิด Gram-negative^[11]

ความแตกต่างของโครงสร้างผนังเซลล์แบคทีเรียชนิด Gram-positive และ Gram-negative คือ แบคทีเรียชนิด Gram-negative จะมีชั้น Outer membrane (OM) ต่อจากชั้น Peptidoglycan อยู่ชั้นนอกสุดเพื่อปกคลุม Cytoplasmic membrane, Peptidoglycan และ periplasmic space^{[20],[21]} ซึ่งเป็นช่องว่างภายในเซลล์ที่พบเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียชนิด Gram-negative มีหน้าที่เก็บเอนไซม์ที่สำคัญของเซลล์ เช่น degradative enzymes^[21] นอกจากนี้แบคทีเรียกลุ่ม Gram-negative ยังมีความหนาของชั้น Peptidoglycan บางกว่า คือ ประมาณ 1-7 nm^{[16],[22]} ในขณะที่แบคทีเรียชนิด Gram-positive มีความหนาของชั้น Peptidoglycan 20-80 nm^{[16],[17]} สำหรับชั้น Outer membrane นี้ ประกอบด้วยโมเลกุลของไขมันและโปรตีน ซึ่งเรียกว่า Lipopolysaccharide (LPS) และมีโมเลกุล Lipoproteins ช่วยยึดระหว่าง Outer membrane และ Peptidoglycan นอกจากนี้ยังพบ Divalent cation บนผิว LPS เพื่อช่วยให้โครงสร้างเซลล์มีความแข็งแรงมากขึ้น ซึ่งทำให้บริเวณผิวชั้นนอกของแบคทีเรียกลุ่ม Gram-negative มีขั้วเล็กน้อย คือมีความเป็นบวก เนื่องจาก Outer membrane มีโมเลกุลส่วนใหญ่เป็นไขมันซึ่งมีสมบัติไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) ดังนั้นจึงมีช่องที่เป็นโมเลกุลโปรตีน เรียกว่า Porins เพื่อควบคุมการผ่านเข้าออกของ สารอาหารขนาดเล็กหรือ โมเลกุลที่ชอบน้ำ (Hydrophilic molecules) ภายในเซลล์^{[16],[21]}

แบคทีเรียทั้งสองชนิดมีความหนาของผนังเซลล์แตกต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 2.3^[23]



รูปที่ 2.3 แบบจำลองโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียชนิด Gram-positive เปรียบเทียบกับชนิด Gram-negative^[23]

จากรูปจะพบว่าแบคทีเรีย ยกกลุ่ม Gram-positive มีผนังเซลล์หนากว่ากลุ่ม Gram-negative ซึ่งเกิดจากความแตกต่างของความหนาชั้น Peptidoglycan นั่นเอง ดังตัวอย่าง ความหนาของผนังเซลล์แบคทีเรียชนิด *E. coli* คือ 2-3 nm^[24] ในขณะที่แบคทีเรียชนิด *S. aureus* 20-80 nm^[24]

2.1.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในจีนัส (Genus) ของ Gram-positive คำว่า *Staphylococcus* มาจากภาษากรีกคือ staphyle ที่หมายถึงองุ่น และ kokkos ที่หมายถึงเบอร์รี่ เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะพบเป็นลักษณะกลม (0.5 – 1.0 ไมครอน) เรียงตัวกันเป็นกลุ่มที่คล้ายพวงองุ่น แต่อาจจะพบเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ (โดยมากไม่เกิน 4 เซลล์) อยู่ปะปนด้วยกันเสมอเวลาแยกมาเลี้ยง

Staphylococci ประกอบด้วยสปีชีส์ย่อยๆมากมาย โดยมากพบได้ที่ผิวหนังโพรงจมูก เยื่อหูทางเดินหายใจ ทางเดินอาหาร และบาดแผลที่เป็นฝีหนอง รวมถึงในดินฝุ่นละออง^[25]

Staphylococcus เป็นสาเหตุของโรคหลายชนิดที่มีความรุนแรงต่างกัน ตั้งแต่อาการที่ไม่จำเป็นต้องรักษาอย่างเร่งด่วน เช่น สิว จนถึงระดับอาการหรือโรคที่ต้องรีบเร่งรักษา เช่น ปอดบวม เยื่อหุ้มสมองอักเสบ เป็นต้น สปีชีส์ของ *Staphylococcus* ที่อันตรายมากคือ *Staphylococcus aureus*^[26]

Staphylococcus aureus หรือ *S. aureus* เคลื่อนที่ไม่ได้และไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 6–46°C โดยมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30–37°C สามารถทนความร้อนที่ 60 °C ได้นาน 30 นาที และสามารถสร้างสารพิษที่อุณหภูมิมากกว่า 10 °C ค่า pH ที่สามารถเจริญได้ดีอยู่ในช่วง 4.0 – 10.0 โดยมีช่วงที่เหมาะสมคือ 7.0 – 7.5 *S. aureus* ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม Facultative anaerobe คือสามารถเจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนมากกว่าไม่มีออกซิเจน และสามารถสร้างพิษ enterotoxin แบ่งออกเป็น 8 ชนิดได้แก่ A, B, C1, C2, C3, D, E และ H ชนิดที่พบบ่อยและซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษคือ A กับ D สารพิษนี้มีคุณสมบัติพิเศษคือทนความร้อน ไม่ถูกทำลายแม้ต้มเดือดครึ่งชั่วโมง และทนความร้อนที่ 121 °C นาน 15 นาที สารพิษนี้จะละลายได้ในน้ำและสามารถทนต่อรังสีแกมมาในปริมาณที่อนุญาตให้ใช้กับอาหารอีกด้วย^[25]

แหล่งที่พบเชื้อ *S. aureus*

พบได้ที่ผิวหนัง โพรงจมูก เยื่อ อนุทางเดินหายใจ ทางเดินอาหาร และบาดแผลที่เป็นฝีหนอง รวมถึงในดินฝุ่นละออง

อาหารที่มักพบเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อน

ได้แก่ อาหารโปรตีนหรือมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ เนื้อสัตว์ดิบ เช่น ไก่ดิบ นำนมจากแม่วัวที่เป็นเต้านมอักเสบ หรือครีมที่ไม่ได้ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ นอกจากนั้นยังพบในอาหารที่มีโอกาสสัมผัสกับมือผู้ประกอบอาหาร และมักเป็นอาหารที่บริโภคโดยไม่ผ่านความร้อน ได้แก่ สลัดมันฝรั่ง สลัดผักกะโรนี พูน่าสลัด รวมทั้งขนมอบบางชนิดที่มีไส้ครีม เอแคลร์ ไข่ของโดนัท หรือพาย เป็นต้น

การทำให้เกิดโรค

เชื้อ *S. aureus* ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งเกิดจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนสารพิษ แม้ในปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม ก็สามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ สารพิษชนิดนี้จะมีปริมาณสูงมากเมื่อมีเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร 100,000 เซลล์ต่อกรัมอาหาร ทำให้เกิดโรค Acute infection (ฝี หนอง แผลติดเชื้อ) และ Acute toxaemias (heat stable enterotoxin)

อาการ

หลังจากรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไปประมาณ 1-6 ชั่วโมง จะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วงอย่างรุนแรงจนอ่อนเพลียมาก ปวดท้องและเป็นตะคริว ส่วนมากไม่มีไข้ ในรายที่มีอาการรุนแรงอาจช็อคได้ อาจมีอาการอื่นแทรกซ้อนในผู้สูงอายุ เด็กแรกเกิด และ

ผู้ป่วยโรคเบาหวาน แต่ส่วนใหญ่อาการจะดีขึ้นใน 8-24 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานของร่างกาย และปริมาณของสารพิษที่ได้รับเข้าไปในร่างกาย

การป้องกัน

1. รับประทานอาหารที่ปรุงสุกใหม่ๆ
2. หากยังไม่รับประทานในทันทีให้นำอาหารที่ปรุงสำเร็จแล้วไปเก็บที่อุณหภูมิต่ำอย่างรวดเร็ว เพราะที่อุณหภูมิต่ำๆ เชื้อจะหยุดแบ่งตัวและไม่สร้างสารพิษ

3. อุ่นอาหารให้ร้อนก่อนรับประทานทุกครั้ง

4. ไม่ควรถูกผู้ติดเชื้อ *S. aureus* บริเวณมือ หรือแขน ทำหน้าที่เกี่ยวกับอาหาร

การควบคุม

1. ป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* โดยมีการจัดการด้านสุขลักษณะ และการควบคุมกระบวนการผลิตที่ดี

2. ป้องกันการเจริญและการสร้างสารพิษ enterotoxin โดยควบคุมอุณหภูมิและระยะเวลาในการประกอบอาหาร

3. ทำลายเชื้อ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนในอาหารโดยการใช้ความร้อน^[25]

2.1.3 *Escherichia coli*

Escherichia coli หรือ *E. coli* เป็นแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์ม และถูกจัดอยู่ในกลุ่ม Gram-negative ลักษณะเซลล์ *E. coli* จะมีรูปร่างเป็นแท่งคล้ายทรงกระบอก มีความยาวประมาณ 2 ไมครอน และเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ไมครอน ส่วนประกอบในเซลล์ *E. coli* จะมี flagella ซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นยาวๆ อยู่รอบเซลล์รูปทรงกระบอกเพื่อช่วยให้ *E. coli* เคลื่อนที่ได้

E. coli มีหลายร้อยสายพันธุ์ ส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรคร้ายแรงเท่าใดนัก และเป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในทางเดินอาหารส่วนลำไส้ ของสัตว์และมนุษย์ โดยไม่ทำให้เกิดโรคแต่อย่างใด แต่ในบางสายพันธุ์ เช่น O157:H7 สามารถสร้างโปรตีนที่เป็นพิษ ทำให้เกิดโรคที่รุนแรงและเป็นอันตรายถึงกับเสียชีวิตได้ สาเหตุสำคัญที่ทำให้ *E. coli* ชนิด O157:H7 เป็นอันตรายต่อมนุษย์นั้นเกิดจาก *E. coli* ได้รับชิ้นส่วนของดีเอ็นเอจากแบคทีเรีย *Shigella sp.* โดยผ่านทางไวรัส ดีเอ็นเอดังกล่าวเป็นตัวกำหนดให้สร้างโปรตีนที่เป็นสารพิษเรียกว่า Shiga-like toxin แล้วเข้ามาผนวกกับพลาสมิดของ *E. coli* ชนิดนี้ ทำให้กลายเป็นแบคทีเรียที่อันตรายมากที่สุดตัวหนึ่ง และที่สำคัญคือเป็นแบคทีเรียเชื้อโรคที่พบในอาหาร^[27] การระบาดของเชื้อ *E. coli* O157:H7 ครั้งแรกในปี 1982 จากการสืบสวนโรคด้วยวิธีการทางระบาดวิทยา พบว่า

เกิดจากเนื้อที่นำมาทำแฮมเบอร์เกอร์ติดเชื้อ *E. coli* O157:H7 หลังจากนั้นพบการระบาดใหญ่อีกหลายครั้งและพบการระบาดในท้องถิ่นแทบทุกปี ส่งผลให้ปัจจุบันมีการศึกษาการระบาดวิทยาของเชื้อนี้ ในการศึกษาการระบาดของโรคนี้จำเป็นต้องระบุสายพันธุ์ให้ชัดเจน เนื่องจากเชื้อ *E. coli* ชนิดอื่นไม่ก่อให้เกิดโรครุนแรงในลักษณะนี้

การแพร่กระจายของเชื้อ *E. coli* O157:H7 พบได้ทั่วไปในฟาร์มปศุสัตว์ และสามารถตรวจพบเชื้อในลำไส้ของวัวควายที่มีสุขภาพดี ไม่เป็นสัตว์ป่วยแต่อย่างใด เนื้อสัตว์โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้อบดมีโอกาสปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* O157:H7 ได้มาก ไม่ว่าจะเป็นการปนเปื้อนในฟาร์ม การปนเปื้อนจากกระบวนการผลิต แม้กระทั่งการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์นม เมื่อคนกินเนื้อที่ปนเปื้อนเชื้อและไม่ได้ปรุงอาหารให้สุกจึงได้รับเชื้อได้ง่าย เนื้อที่ไม่สุกและปนเปื้อนเชื้อมักจะดูไม่ออกจากลักษณะภายนอกและไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ จากการศึกษาวิจัยทางจุลชีววิทยาพบว่าคนที่ร่างกายได้รับเชื้อ *E. coli* O157:H7 เพียงเล็กน้อยก็สามารถก่อให้เกิดโรคได้^[27]

เชื้อ *E. coli* O157:H7 ยังอาจพบได้ในผลิตภัณฑ์นม น้ำผลไม้ ผักสดบางชนิด ซาลามี และพบว่าเกิดการระบาดจากแหล่งน้ำที่มีเชื้อโรคนี้อยู่อีกด้วย เชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในอุจจาระของผู้ป่วยยังสามารถแพร่เชื้อต่อไปอีกได้ ดังนั้นการรักษาสุขอนามัยที่ถูกต้องจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการป้องกันการระบาดของโรคนี้ สิ่งสำคัญที่ควรเน้นเสมอคือ เรื่องของการล้างมือ หลักฐานทางวิชาการระบุไว้อย่างชัดเจนว่าเพียงการล้างมือเท่านั้น ก็สามารถลดการกระจายของเชื้อ *E. coli* O157:H7 ได้ สำหรับบ้านที่มีเด็กอ่อนต้องให้การดูแลเกี่ยวกับการขับถ่ายของเด็กด้วย เนื่องจากพบว่าเป็นสาเหตุสำคัญอีกประการหนึ่งของการะบาดของโรคนี้ เด็กเล็กสามารถแพร่เชื้อได้นานถึงสองสัปดาห์ และในเด็กโตพบว่าหากได้รับเชื้อแล้วมักจะเกิดอาการเจ็บป่วยเป็นโรคแทบทุกราย

เชื้อ *E. coli* O157:H7 ก่อให้เกิดโรคท้องเสียหรืออุจจาระร่วง ในบางรายอาการอาจไม่รุนแรงมากและหายได้ภายในเจ็ดวันสัปดาห์ อย่างไรก็ตามผู้ป่วยน้อยรายที่จะถ่ายอุจจาระปกติ โรคอุจจาระร่วงที่เกิดจากการติดเชื้อนี้มักจะไม่มียา แต่ผู้ป่วยจะปวดท้องมาก ถึงขั้นปวดบิดได้ในเด็กอ่อนอายุน้อย 5 ปีและในผู้สูงอายุ มักจะเกิดโรคแทรกซ้อน เม็ดเลือดแดงถูกทำลายและทำให้ไตวาย เรียกชื่อว่า กลุ่มอาการเม็ดเลือดแดงแตกและไตวาย (Hemolytic uremic syndrome) ในประเทศสหรัฐอเมริกาพบได้ร้อยละ 2-7 ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อโรคนี้ และเป็นสาเหตุที่สำคัญที่สุดที่ทำให้เกิดภาวะไตวายเฉียบพลันในเด็ก การติดเชื้อ *E. coli* O157:H7 จึงมีความสำคัญและเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่ควรให้ความสนใจอย่างหนึ่ง^[28]

2.2 โรคที่เกิดจากแบคทีเรีย

เป็นที่ทราบกันดีว่าแบคทีเรียมีความสำคัญในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น ในอุตสาหกรรมอาหารจะใช้แบคทีเรียในการผลิตชีสและโยเกิร์ตผ่านกระบวนการหมัก อุตสาหกรรมยาที่สังเคราะห์ยาปฏิชีวนะและสารเคมีต่างๆ รวมถึงในขั้นตอนการบำบัดสิ่งปฏิกูลในโรงงาน อุตสาหกรรม อย่างไรก็ตามยังมีแบคทีเรียอีกกลุ่มหนึ่งที่ไม่มีประโยชน์ใดๆ เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ เช่น อหิวาตกโรค ชิฟิลิส แอนแทรกซ์ โรคเรื้อน กาฬโรค โรคอาหารเป็นพิษ โรคอุจจาระร่วง เป็นต้น

จากข้อมูลของกลุ่มระบาดวิทยาโรคติดต่อ สำนักระบาดวิทยา ^[29] กล่าวว่า โรคอาหารเป็นพิษ เป็นคำกว้างๆที่ใช้อธิบายอาการป่วยที่เกิดจากการรับประทานอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อน สาเหตุอาจเกิดจากการปนเปื้อนของสารเคมี หรือโลหะหนัก ที่พบว่าเป็นสาเหตุของอาหารเป็นพิษบ่อยครั้ง ได้แก่

1) สารพิษของแบคทีเรียที่เจริญเติบโตในอาหารก่อนการบริโภค เช่น สารพิษของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* หรือผลิตสารพิษในลำไส้เมื่อบริโภคเข้าไป เช่น *Clostridium perfringens*

2) จากการติดเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส หรือพยาธิ เช่น อุจจาระร่วง สาเหตุจาก *Escherichia coli*, salmonellosis, shigellosis, viral gastroenteritis, trichinosis ฯลฯ

3) สารพิษจากสาหร่ายบางพันธุ์ (Harmful algae species) เช่น ciguatera fish poisoning, paralytic shellfish poisoning ฯลฯ หรือพิษปลาปักเป้า

การระบาดของโรคอาหารเป็นพิษพบได้จากการที่คนจำนวนมากรับประทานอาหารร่วมกันและมีอาการอย่างรวดเร็วหลังจากรับประทานอาหารแล้ว โรคอาหารเป็นพิษอาจจะเป็นสาเหตุที่พบบ่อยมากในการป่วยเฉียบพลัน นอกจากโรคอาหารเป็นพิษแล้วยังมีโรคอีกอย่างหนึ่งที่มีสาเหตุมาจากแบคทีเรีย นั่นคือ อุจจาระร่วงเฉียบพลัน (Acute diarrhea)^[30]

โรคอุจจาระร่วงเฉียบพลัน^[30] คือ กลุ่มอาการที่มีการถ่ายอุจจาระเหลวหรือเป็นน้ำ และอาจมีอาการ อาเจียน หรือเป็นไข้ร่วมด้วย เกิดจากสาเหตุได้หลายอย่าง เช่น จากเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ เชื้ออหิวาตกโรค, เชื้อบิด (*Shigella*), *Salmonella*, *E. coli.*, ฯลฯ อาจเกิดจากเชื้อปรสิตในลำไส้หรือจากเชื้อไวรัส นอกจากนี้โรคติดต่ออื่นๆ เช่น มาลาเรีย หัด หนองพยาธิบางชนิด หรือสารเคมีบางอย่างทำให้เกิดอุจจาระร่วงได้ ประมาณกันว่าร้อยละ 70 อุจจาระร่วงสามารถตรวจสาเหตุได้ถ้ามีห้องชันสูตรที่ทันสมัยเพียงพอ

สำหรับประเทศพัฒนาแล้ว อาการอุจจาระร่วงจะหาสาเหตุได้ประมาณ 45 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ยกเว้นในช่วงฤดูหนาวที่สามารถตรวจพบได้สูงกว่าช่วงอื่นเนื่องจากประมาณ 50-70 เปอร์เซ็นต์เกิดจากเชื้อไวรัสโรต้าในเด็กทารก อย่างไรก็ตาม เชื้อโรคที่พบใหม่ๆ มีห้องปฏิบัติการน้อยแห่งที่สามารถตรวจได้ โดยทั่วไปในทางปฏิบัติการเจ็บป่วยด้วยอุจจาระร่วง สามารถแบ่งตามลักษณะคลินิกได้ 6 ประเภท คือ

1. อุจจาระร่วงธรรมดา (Simple diarrhea) รักษาด้วยสารละลายเกลือแร่ทางปากที่มีน้ำตาล, กลูโคส และ เกลือแร่จำเป็น (ORS) โดยไม่จำเป็นต้องหาสาเหตุของการเจ็บป่วยแต่อย่างใด

2. บิด (Dysentery) มีอุจจาระถ่ายออกจํานวนน้อยแต่อาจพบว่ามีเลือดและมูกหรืออย่างใดอย่างหนึ่ง ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Shigella*, *Salmonella*, *E. coli* O157:H7 หรือเชื้อตัวอื่นๆ

3. อุจจาระร่วงยืดเยื้อ (Persistent diarrhea) มีอาการติดต่อกันเกินกว่า 14 วัน และมักเกิดการติดเชื้อ

4. อุจจาระร่วงรุนแรง (Severe diarrhea) มีลักษณะเหมือนกับ Cholera ที่มีอาการถ่ายเป็นน้ำจํานวนมาก เกิดการขาดน้ำอย่างรวดเร็ว

5. Viral gastroenteritis มีอาการอาเจียนเป็นสำคัญ และบ่อยครั้งโดยที่อุจจาระร่วงไม่เป็นอาการหลัก ถ่ายเป็นน้ำ และปวดท้องร่วมด้วย ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะที่มีสาเหตุมาจากไวรัสทำให้เกิดอาการทางเดินอาหารอักเสบ หรือจากสารพิษของเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Vibrio parahaemolyticus*

6. ลำไส้อักเสบเลือดออก (Hemorrhagic colitis) ถ่ายอุจจาระเป็น น้ำแต่มีเลือดออกชัดเจน ไม่มีไข้ และตรวจไม่พบเม็ดเลือดขาวในอุจจาระ

โรคอุจจาระร่วงจากเชื้อ *Escherichia coli* (Diarrhea caused by *Escherichia coli*)
Escherichia coli ก่อโรคอุจจาระร่วงแบ่งเป็น 6 ชนิดใหญ่ คือ

- 1) Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC)
- 2) Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)
- 3) Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)
- 4) Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)
- 5) Enteroaggregative *E. coli* (EAEC)
- 6) Diffuse-adherent *E. coli* (DAEC)

แต่ละกลุ่มมีลักษณะที่แตกต่างกันในด้านพยาธิสภาพ การเกิดโรค คุณสมบัติเฉพาะด้าน ความรุนแรงของเชื้อและลักษณะพิเศษตาม O : H Serotypes ในบางกรณีอาจมีความแตกต่างในกลุ่มอาการคลินิกและลักษณะทางระบาดวิทยา

2.3 สารต้านแบคทีเรีย

สารต้านแบคทีเรียกลุ่มอินทรีย์ เช่น โคโคซาน^[31] เป็นสารที่สามารถสังเคราะห์จากธรรมชาติจึงทำให้มีข้อดีคือ มีความเป็นพิษน้อย สามารถใช้กับกระบวนการผลิตอาหาร เวชภัณฑ์ หรือเวชสำอางได้ แต่ข้อจำกัดของการใช้สารต้านแบคทีเรียกลุ่มอินทรีย์คือ ไม่สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับกระบวนการผลิตที่ต้องใช้อุณหภูมิสูงได้เพราะจะเกิดการสลายตัว

สารต้านแบคทีเรียกลุ่มอนินทรีย์ เช่น ไทเทเนียมไดออกไซด์^[32] คอปเปอร์^[32] หรือซิลเวอร์^[33] มีกลไกในการทำงานคือ ทำลายระบบการทำงานของดีเอ็นเอและเอ็นไซม์ภายในเซลล์ของแบคทีเรีย และทำให้ปฏิกิริยาต่างๆในเซลล์ของแบคทีเรียล้มเหลวและตายในที่สุด ข้อดีคือสามารถใช้กับกระบวนการผลิตที่มีอุณหภูมิสูงได้ เนื่องจากทนต่ออุณหภูมิสูงได้ดี เช่นอุตสาหกรรมการผลิตแก้วหรือกระจก อุตสาหกรรมการผลิตยาหรือเวชภัณฑ์ เป็นต้น แต่มีข้อจำกัดคือ เนื่องจากกลไกในการทำงานของสารต้านแบคทีเรียกลุ่มอนินทรีย์มีผลต่อเซลล์โดยตรง จึงอาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์ข้างเคียงหรือเซลล์ที่ไม่ต้องการทำลายได้ โอกาสเกิดความเป็นพิษในเซลล์มีสูงจากข้อจำกัดของสารต้านแบคทีเรียกลุ่มอนินทรีย์ดังกล่าวจึงเป็นแนวคิดสำคัญในงานวิจัยนี้

จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องของสารต้านแบคทีเรียชนิดอนินทรีย์ Sawai, J.^[34] ได้ทดสอบสมบัติต้านแบคทีเรียของเซรามิก 26 ชนิด และพบว่ามีเพียง 10 ชนิดที่สามารถต้านแบคทีเรียได้ หนึ่งในนั้นคือแคลเซียมออกไซด์ซึ่งแสดงสมบัติต้านแบคทีเรียได้ดีมาก ดังนั้นก่อนที่จะศึกษาสมบัติต้านแบคทีเรียของแคลเซียมออกไซด์ต่อไป ควรทราบถึงลักษณะสมบัติโดยพื้นฐานของแคลเซียมออกไซด์ก่อน

2.3.1 แคลเซียมออกไซด์ (Calcium oxide)

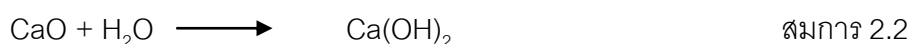
แคลเซียมออกไซด์หรือปูนขาวมีสูตรทางเคมีคือ CaO เป็นสารประกอบเคมีที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยมีลักษณะคือที่อุณหภูมิห้องแคลเซียมออกไซด์จะเป็นของแข็งสีขาว มีความเป็นด่างและกัดกร่อนได้ สำหรับแคลเซียมออกไซด์ทางการค้ามักจะผสมแมกนีเซียมออกไซด์

(Magnesium oxide) ซิลิคอนออกไซด์ (Silicon oxide) อลูมิเนียมออกไซด์ (Aluminium oxide) และเหล็กออกไซด์ (Iron oxide) ลงไปด้วยในปริมาณไม่มากนัก

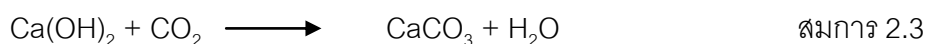
แคลเซียมออกไซด์มักสังเคราะห์จากปฏิกิริยาการสลายตัวของสารที่มีองค์ประกอบหลักเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate, CaCO_3) โดยการเผาสารตั้งต้นเหล่านั้นให้มีอุณหภูมิสูงถึง 825°C ซึ่งเรียกปฏิกิริยานี้ว่า Calcination หรือ lime-burning เป็นปฏิกิริยาที่โมเลกุลคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbon dioxide, CO_2) หลุดออกจากโมเลกุลของแคลเซียมคาร์บอเนต จนได้เป็นเฟสของแคลเซียมออกไซด์ ปฏิกิริยานี้ผันกลับได้โดยเมื่อแคลเซียมออกไซด์ ถูกทำให้เย็นตัวลงจะดูดซับโมเลกุลของคาร์บอนไดออกไซด์จากอากาศ เมื่อเวลาผ่านไปก็จะเปลี่ยนไปเป็นแคลเซียมคาร์บอเนตอีกเช่นเดิม^[35] ดังแสดงสมการที่ 2.1



แคลเซียมออกไซด์มีคุณสมบัติหลากหลายทำให้กลายเป็นสารประกอบที่มีราคาในอุตสาหกรรม โดยในปัจจุบันพบว่ามีการผลิตมากกว่า 20 ล้านตันต่อปีในประเทศสหรัฐอเมริกา การใช้ประโยชน์ของแคลเซียมออกไซด์แต่เดิมนั้นจะใช้ทำปฏิกิริยากับคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อให้เกิดเป็นแคลเซียมคาร์บอเนตอีกครั้ง เมื่อนำแคลเซียมออกไซด์ผสมกับน้ำและทราย จะได้เป็นซีเมนต์ซึ่งใช้ในงานก่อสร้างเพื่อให้อิฐหรืออิฐบล็อกและหินที่ผสมในปูนสามารถผสมและเชื่อมกันได้ที่อุณหภูมิห้อง ปฏิกิริยาระหว่างแคลเซียมออกไซด์และคาร์บอนไดออกไซด์เกิดช้ามาก ปฏิกิริยาจะเกิดเร็วขึ้น โดยการผสมแคลเซียมออกไซด์กับน้ำซึ่งเมื่อผสมกันแล้วจะทำให้เกิดเฟสแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Calcium hydroxide) ดังปฏิกิริยา

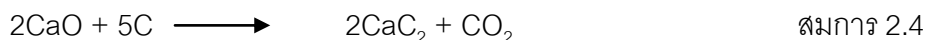


ปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์กับคาร์บอนไดออกไซด์จะเกิดได้เร็วมาก ทำให้เกิดซีเมนต์ที่แข็งตัวได้เร็วขึ้น



นอกจากนี้แคลเซียมออกไซด์มีคุณสมบัติเป็นสารละลายได้ดีกับสารประกอบซิลิเกต (Silicates) โดยเมื่อแคลเซียมออกไซด์ถูกให้ความร้อนกับซิลิกา (Silica, SiO_2) และโซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate, Na_2CO_3) จะทำให้เกิดสารละลายที่มีความเสถียร เมื่อยื่นตัวลงจะไม่เกิดการตกผลึกแต่จะเกิดเป็นของแข็งที่ไม่มีความเป็นผลึกใส และแทบจะไม่มีสีที่เรียกว่า แก้ว เนื่องจากสารละลายดังกล่าวไม่ใช่สารบริสุทธิ์ดังนั้นแก้วจึงไม่มีจุดหลอมเหลวที่แน่นอน มันจะค่อยๆ หลอมตัวเมื่อได้รับความร้อน ดังนั้นแก้วจึงสามารถขึ้นรูปได้ในหลายรูปร่าง การผลิตแก้วจากแคลเซียมออกไซด์หรือปูนขาวจึงเป็นหนึ่งในการใช้งานปูนขาวในอดีต

นอกจากนี้ แคลเซียมออกไซด์ยังเป็นส่วนสำคัญในการผลิตแคลเซียมคาร์ไบด์ (Calcium carbide, CaC_2) โดยทำปฏิกิริยากับถ่านโค้ก (Coke) และให้ความร้อน ดังสมการ 2.4

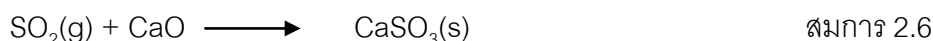


เมื่อแคลเซียมคาร์ไบด์ทำปฏิกิริยากับน้ำ จะทำให้เกิดก๊าซอะเซทิลีน (Acetylene gas) ดังสมการ 2.5



ก๊าซอะเซทิลีนเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญของสารประกอบอินทรีย์ซึ่งเป็นวัตถุดิบของวัสดุประเภทพอลิเมอร์ (polymers)

แคลเซียมออกไซด์ยังสามารถควบคุมมลพิษได้โดยใช้เป็นตัวดูดซับก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) ซึ่งถูกปล่อยออกมาจากโรงงานอุตสาหกรรม เมื่อซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทำปฏิกิริยากับแคลเซียมออกไซด์จะทำให้เกิดของแข็งที่เรียกว่าแคลเซียมซัลไฟต์ (Calcium sulfite) ดังสมการ 2.6



ในขั้นตอนการบำบัดน้ำเสียยังใช้แคลเซียมออกไซด์ในการกำจัดฟอสเฟต (Phosphates) อีกด้วย ดังสมการ 2.7



การบำบัดน้ำเสียโดยการเติมแคลเซียมออกไซด์นั้นจะทำให้ความเป็นกรดของน้ำลดลง เนื่องจากแคลเซียมออกไซด์มีสมบัติเป็นด่าง นอกจากปฏิกิริยาต่างๆที่กล่าวมาแล้ว แคลเซียมออกไซด์ยังถูกใช้ในกระบวนการต่างๆอีกมากมาย เช่นอุตสาหกรรมพลาสติก กระดาษ น้ำตาล เป็นต้น^[36]

2.3.2 แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Calcium hydroxide)

แคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นสารประกอบ ที่มีสูตรทางเคมีคือ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างแคลเซียมออกไซด์กับน้ำ มีลักษณะเป็นผงสีขาวเช่นเดียวกับแคลเซียมออกไซด์ หรือกล่าวได้ว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นเฟสที่มีความเสถียรของแคลเซียมออกไซด์

จากที่กล่าวในตอนต้นว่ากระบวนการสังเคราะห์แคลเซียมออกไซด์ในอุตสาหกรรมนั้น มักจะใช้สารตั้งต้นเป็นสารที่มีองค์ประกอบหลักเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต เช่น หินปูน โดยการนำหินปูนมาให้ความร้อนหรือเผาแคลไซน์เพื่อให้เกิดเป็นแคลเซียมออกไซด์ แต่ในความเป็นจริง แคลเซียมออกไซด์ที่ได้จะไม่เสถียรในสภาวะที่มีความชื้นและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

เฟสที่เสถียรกว่าคือแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ดังนั้นในอุตสาหกรรมการเตรียมปูนขาวจึงมักเปลี่ยนแคลเซียมออกไซด์ให้อยู่ในรูปของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ซึ่งมีความเสถียรกว่า ดังสมการ 2.8



จากสมการที่ 2.8 พบว่าเป็นปฏิกิริยาคายความร้อน เมื่อปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ระบบจะคายความร้อนออกมาในปริมาณมาก (3.54 MJ) ซึ่งสามารถนำความร้อนที่ได้นี้ไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้ด้วย เช่น กระจกที่ให้ความร้อนได้ด้วยตัวเอง^[37] ดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 กระจกที่สามารถให้ความร้อนได้ด้วยตัวเอง^[37]

จากรูปที่ 2.4 เป็นกระจก อาหารที่สามารถให้ความร้อนได้ด้วยตัวเอง โดยจะประกอบด้วยพื้นที่ 2 ส่วนที่แยกกัน ส่วนแรกหรือด้านในจะบรรจุอาหารหรือเครื่องดื่มไว้ ส่วนที่สองหรือด้านนอกจะบรรจุสารเคมีที่สามารถทำปฏิกิริยาคายความร้อนได้ เมื่อผู้บริโภคต้องการให้ความร้อนแก่อาหารที่บรรจุในส่วนแรกก็จะดึงวงแหวนด้านบนออกเพื่อให้สารเคมีในพื้นที่วงแหวนด้านนอกทำปฏิกิริยาและคายความร้อนออกมาให้กับอาหารที่ในวงแหวนด้านใน^[37]

2.4 กลไกการต้านแบคทีเรียของสารต้านแบคทีเรียชนิดอนินทรีย์

สารต้านแบคทีเรียชนิดอนินทรีย์ในกลุ่มโลหะ เช่น ซิลเวอร์หรือคอปเปอร์ มีกลไกที่แตกต่างจากกลุ่มสารประกอบออกไซด์ สำหรับซิลเวอร์ (Ag^0) นั้น เมื่อสัมผัสกับบรรยากาศที่มีออกซิเจนจะทำให้อนุภาคบางส่วนเกิดการออกซิไดส์กลายเป็นอนุภาคเงินที่มีประจุ (Ag^+) และอนุภาคเหล่านี้จะไปเกาะที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียและทำอันตรกิริยากับส่วนประกอบในไซโตพลาสซึม รบกวนการเกิด Oxidative Phosphorylation ในกระบวนการเมตาบอลิซึมยับยั้งเอนไซม์ในกระบวนการหายใจของเซลล์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ หรือรบกวนการส่งผ่านโปรตอนระหว่างเซลล์และสิ่งแวดล้อม

นอกจากนี้ Sondi, I. และคณะ^[38] ยังพบว่าอนุภาคเงินที่สะสมตัวอย่างหนาแน่นที่บริเวณผนังเซลล์สามารถแทรกผ่านเข้าไปภายในเซลล์ของเชื้อ *E. coli* ได้ กลไกการต้านแบคทีเรียของคอปเปอร์ก็คล้ายกับซิลเวอร์ นั่นคือ คอปเปอร์ไอออน (Cu^{2+}) จะแทรกตัวเข้าไปในเซลล์ของแบคทีเรียและรวมตัวกับ DNA ของแบคทีเรีย ทำให้โมเลกุลโปรตีนของ DNA แข็งตัวและไม่สามารถทำหน้าที่ถ่ายถอดรหัสพันธุกรรมได้ นอกจากนี้ยังทำลายโมเลกุลโปรตีนของเซลล์เมมเบรนซึ่งส่งผลต่อไซโตพลาสซึมในเซลล์และทำให้เซลล์ตายในที่สุด^[39]

จากงานวิจัยต่างๆที่เกี่ยวข้องกับกลไกการต้านแบคทีเรีย พบว่ามีปัจจัยที่เกี่ยวข้องของหลายประการ เช่น ค่า pH อุณหภูมิ ความเข้มข้นของสารต้านแบคทีเรีย เป็นต้น โดยปัจจัยต่างๆเหล่านี้มีความสัมพันธ์กัน ค่า pH ที่สูงในระดับ 12-13 จะทำให้เซลล์เมมเบรนของแบคทีเรียอ่อนแอลงเนื่องจาก การละลายของ ชั้นโปรตีนในเซลล์เมมเบรน นอกจากนี้ยังเกิดปฏิกิริยา Saponification กับโมเลกุลไขมันอีกด้วย จึงทำให้ลำดับการจัดเรียงตัวของโมเลกุลโปรตีนและไขมันเปลี่ยนไป ความแข็งแรงของเซลล์เมมเบรนลดลงและทำให้เซลล์แตกได้ในที่สุด ซึ่งปรากฏการณ์ที่กล่าวมาข้างต้นจะเกิดได้ง่ายและรวดเร็วขึ้นที่อุณหภูมิสูงประมาณ 45°C - 50°C ดังสรุปตัวอย่างงานวิจัยที่กล่าวมาในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างงานวิจัยที่แสดงภาวะการเกิดสมบัติต้านแบคทีเรีย

ภาวะที่ทำให้เกิดการต้านแบคทีเรีย	ชนิดของแบคทีเรีย	ปีที่พิมพ์	หมายเหตุ
1. ค่า pH 11.0 – 12.5 และอุณหภูมิในช่วง 37.7°C-43.3°C	<i>Salmonella</i> Enteritidis	1994 ^[40]	ทดสอบในโรงงานผลิตไข่สดในประเทศอังกฤษ
2. ค่าความเป็นกรดต่าง 10-11 และอุณหภูมิ 45°C-55°C	<i>E. coli</i> O157:H7 <i>Salmonella</i> Enteritidis	1996 ^[41]	
3. ค่าความเป็นกรดต่าง 5.2 และอุณหภูมิ 43.3 °C 20 ชั่วโมง 46.1 °C 10 ชั่วโมง 48.9 °C 3 ชั่วโมง	<i>E. coli</i> O157:H7 <i>Salmonella</i> Enteritidis	1998 ^[42]	ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อสมบัติการต้านแบคทีเรีย

2.5 ผงล้างผักผลไม้

การปนเปื้อนของผักและผลไม้เกิดขึ้นได้หลายทางและในหลายขั้นตอน ทั้งในขั้นตอนก่อนและหลังเก็บเกี่ยว (Pre and Post-harvest) ทางหนึ่งก็คือการใช้ปุ๋ยธรรมชาติในการปลูกผักและผลไม้ ซึ่งส่วนใหญ่ได้มาจากซากพืชซากสัตว์มูลสัตว์โดยตรง นอกจากนี้ยังพบว่า มูลสัตว์อาจจะกระจายปนเปื้อนไปยังแหล่งอื่นๆ เช่น ระบบชลประทานหรือแหล่งน้ำที่ใช้ในการปลูกพืชผักและผลไม้ โดยการชะล้างของฝนหรือโดยสัตว์ป่าเป็นตัวช่วย ในการแพร่กระจายของเชื้อโรคจากจุดหนึ่งไปยังอีกจุดหนึ่ง ตลอดจนน้ำที่ใช้ในกระบวนการล้างทำความสะอาดผักผลไม้ก็อาจถูกปนเปื้อนโดยมูลสัตว์ ที่สำคัญก็คือ การ handling ของคนงานหรือผู้ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการผลิต ก็ยังเป็นอีกสาเหตุสำคัญของ การปนเปื้อนหากไม่มีสุขลักษณะที่ดีในการผลิต^[43]

เชื้อที่ก่อให้เกิดโรคที่สำคัญๆที่อยู่ในตัวสัตว์และ ถูกขับถ่ายออกมาพร้อม กับมูลสัตว์ ซึ่งอาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนในอาหารได้มีดังนี้คือ *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp. และ *Escherichia coli* ในผักผลไม้พบว่าเชื้อสองตัวหลังเป็นสาเหตุหรือเป็นเชื้อที่พบมากเมื่อเกิดการระบาดของโรคที่เกิดจากอาหาร (foodborne outbreak) ซึ่งศูนย์ควบคุม และป้องกันโรค (Center of Disease Control and Prevention, CDC) ของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้ให้คำนิยามไว้ในปี 2000 ว่าคือการเกิดเหตุการณ์ที่ผู้บริโภครับประทานอาหารชนิดเดียวกัน แล้วเกิดการเจ็บป่วยเหมือนกันตั้งแต่ 2 รายขึ้นไป โดยในช่วงระหว่างปี 1991 ถึง 2002 พบว่าร้อยละ 21 ของเหตุการณ์เกิดขึ้นจากผักและผลไม้ และมีสาเหตุมาจาก *E. coli* O157:H7 ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคที่เพิ่งถูกค้นพบได้ไม่นานและเป็นหนึ่งในเชื้อก่อโรคหลายชนิดที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างสูงในขณะนี้ เนื่องจากความรุนแรงของเชื้อที่ทำให้เกิดอาการท้องเสียอย่างรุนแรง ถ่ายเป็นเลือด (Severe bloody diarrhea) และในบางกรณีเกิด Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) และอาจทำให้เสียชีวิตได้

มาตรฐานของ National Organic Standards กำหนดไว้ว่า มูลสัตว์ ซากพืช ซากสัตว์ จะต้องถูกหมัก (compost) ตามหลักการและข้อปฏิบัติที่มีเฉพาะ และ จะต้องใส่ในแหล่งปลูกพืชหรือผลิตอาหารอินทรีย์เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 90 วันก่อนทำการเก็บเกี่ยว ซึ่งช่วงเวลาดังกล่าวน่าจะทำให้เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคต่างๆที่ปนเปื้อนอยู่ในปุ๋ย หรือที่อยู่บนพื้นผิวของผักผลไม้ นั้นลดปริมาณลง แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าเชื้อก่อโรคบางชนิดเช่น *E. coli* O157:H7 และ *Salmonella* spp. นั้นสามารถรอดชีวิตได้ หรือมีชีวิตรอดอยู่ได้นานเกินกว่า 90 วันในฟาร์มและในผักผลไม้ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.2 ซึ่งหมายความว่ามีโอกาสที่ผู้บริโภคจะรับประทานผักผลไม้ที่อาจถูกปนเปื้อนด้วยเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดนั้นๆเข้าไป ถึงแม้ว่าจะทำการเก็บเกี่ยวหลัง 90 วันหลังจากที่มีการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ก็ตาม^[43]

ตารางที่ 2.2 ปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตชนิด *E. coli* O157:H7 และ *Salmonella* ในกระบวนการผลิตและสิ่งแวดล้อมภายในฟาร์มเกษตรกรรม^[44]

เวลาที่รอดชีวิต	ตัวกลางที่มีจุลินทรีย์อยู่	จุลินทรีย์ก่อโรค
1 ปี	ปุ๋ยจากมูลของแกะ	<i>E. coli</i> O157:H7
49 วัน	ปุ๋ยคอก	<i>E. coli</i> O157:H7
63 วัน	ผักกาด	<i>Salmonella</i> Typhimurium
161 วัน	ผักชีฝรั่ง	<i>Salmonella</i> Typhimurium
2 วัน	สารฆ่าเชื้อรา	<i>E. coli</i> O157:H7
15 วัน	สารฆ่าเชื้อรา	<i>Salmonella</i>
20 วัน	ผักกาด	<i>E. coli</i> O157:H7
21 – 45 วัน	ดินที่ไถคราดแล้ว	<i>E. coli</i> O157:H7
47 – 96 วัน	ถั่ว	<i>E. coli</i> O157:H7
100 วัน	ทุ่งหญ้า	<i>E. coli</i> O157:H7
49 วัน	มะเขือเทศ	<i>Salmonella</i> Montevideo

ในระบบและขั้นตอนการผลิตผักและผลไม้สด เช่น ผักผลไม้สดบรรจุถุง ถึงแม้ว่าจะมีขั้นตอนการล้างทำความสะอาดก่อนที่จะมีการบรรจุเพื่อช่วยลดปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ลง แต่พบว่าจุลินทรีย์บางชนิดไม่สามารถถูกกำจัดออกไปได้ด้วยขั้นตอนดังกล่าวหรือถูกกำจัดออกไปในปริมาณที่น้อยมาก นอกจากนี้ไม่สามารถถูกกำจัดออกไปได้แล้ว บางชนิดยังสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณได้อีกด้วย ซึ่งเป็นการเพิ่มโอกาสของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษหรือโรคที่เกิดเนื่องจากการบริโภคอาหาร^[44] ดังนั้นก่อนการบริโภคผักและผลไม้ปลอดสารพิษครั้งใด โดยเฉพาะอย่างยิ่งการบริโภคผักและผลไม้สด ผู้บริโภคควรตระหนักถึงความจริงในข้อนี้ เนื่องจากการบริโภคแบบสดหมายถึงการที่ไม่มีกระบวนการแปรรูปในขั้นตอนต่อไปหรือไม่มีกระบวนการให้ความร้อน ซึ่งสามารถทำลายทั้งเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *Salmonella* spp. ได้ ดังมีรายงานว่าที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส (160 องศาฟาเรนไฮต์) สามารถทำลายเชื้อทั้งสองชนิดนี้ได้หากมีการให้ความร้อนแก่อาหารอย่างทั่วถึงจนจุดที่เย็นที่สุด (cool spot) หรือจุดที่ความร้อนเข้าไปไม่ถึงยากที่สุดมีอุณหภูมิสูงถึงอุณหภูมิดังกล่าว^[43]

จากข้อมูลที่กำลังกล่าวมาข้างต้นสามารถยืนยันได้ว่า พืชผักผลไม้ที่นิยมรับประทานแบบสด เช่น ผักสลัดบรรจุถุงหรือผลไม้สดนั้นอาจจะเป็นพาหะให้กับแบคทีเรียก่อโรคได้ ถึงแม้ว่าจะมีการล้างก่อนที่จะบรรจุถุงแล้วก็ตาม ดังนั้นก่อนนำมาบริโภคจึงควรนำมาล้างก่อนอีกครั้งเพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีแบคทีเรียก่อโรคเกาะอยู่บนผิวของผักผลไม้ที่จะรับประทานแล้วแน่นอน

ในประเทศญี่ปุ่นมีผงเซรามิกที่ถูกผลิตขึ้นเพื่อ ใช้ล้างผักผลไม้ วางจำหน่าย^[45] โดยมีลักษณะเป็นผงสีขาวละเอียดบรรจุอยู่ในซอง มีชื่อทางการค้าว่า “Surfcera” รายละเอียดบนซองระบุว่าผลิตขึ้นจากวัสดุธรรมชาติ โดยมีองค์ประกอบหลักเป็นแคลเซียมออกไซด์ (CaO) วิธีใช้คือให้เทผงในซองซึ่งบรรจุไว้ 1 กรัมลงในภาชนะบรรจุน้ำ 2 ลิตร จากนั้นนำผักหรือผลไม้มาแช่ลงในนานประมาณ 5-10 นาที ดังแสดงในรูปที่ 2.5^[45]

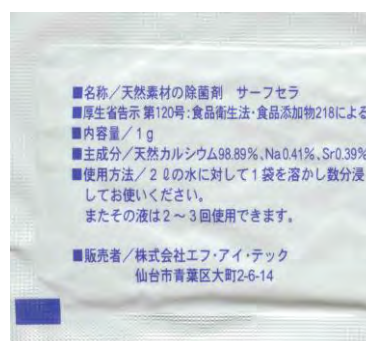


รูปที่ 2.5 ขั้นตอนการใช้งานผงล้างผักผลไม้ Surfcera^[45]

จากคำแนะนำบนผลิตภัณฑ์ที่อธิบายวิธีการใช้กล่าวว่า ผักผลไม้ที่ผ่านการล้างด้วยสารดังกล่าวแล้วสามารถนำไปรับประทานได้ทันทีโดยไม่ต้องล้างน้ำซ้ำอีก สาร 1 ซองเมื่อใส่ลงในน้ำแล้วสามารถใช้ล้างผักผลไม้ได้ 2-3 ครั้ง ภายใน 24 ชั่วโมง ข้อความด้านหลังซองในรูปที่ 2.6 ระบุองค์ประกอบหลักทางเคมีว่าประกอบด้วย แคลเซียม (Ca) 98.89% โซเดียม (Na) 0.41% และ สตรอนเชียม (Sr) 0.39% แสดงให้เห็นว่าสาร ประกอบในกลุ่มแคลเซียมซึ่งเป็นองค์ประกอบหลัก น่าจะมีบทบาทสำคัญในการต้านแบคทีเรียได้^[45]



(A)



(B)

รูปที่ 2.6 ตัวอย่างซองบรรจุผงดูดซับ Surfcera (A) ด้านหน้าของ (B) ด้านหลังของ^[45]

2.6 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี 2009 Du, Y. และคณะ^[46] ได้ทำการทดลองเตรียมโคโตซานที่ละลายน้ำได้จากเปลือกกุ้งและทดสอบสมบัติการต้านแบคทีเรีย จากผลการทดลองพบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) สามารถช่วยให้โคโตซานละลายน้ำได้ดีขึ้นและเพิ่มสมบัติการต้านแบคทีเรียให้ดีขึ้นด้วย แต่ข้อจำกัดของการใช้สารต้านแบคทีเรียกลุ่มอินทรีย์คือ ไม่สามารถใช้กับการผลิตที่มีอุณหภูมิสูงได้ ทำให้จำกัดต่อการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมที่ต้องใช้อุณหภูมิสูง ในปี 2003 Jeon, H.J. และคณะ^[7] ได้ทดลองเตรียมฟิล์มบาง ของซิลเวอร์-ซิลิกาโดยเทคนิค sol-gel พบว่าฟิล์มบางให้สมบัติต้านแบคทีเรียได้ดี ในปี 2008 Xu, Y. และคณะ^[1] ทำการทดลองเตรียมแก้วบอโรซิลิเกตที่เจือด้วยซิลเวอร์ ซึ่งผลการทดลองพบว่าแก้วมีสมบัติต้านแบคทีเรียที่ดี ในปี 2005 Dan Z.G. และคณะ^[6] ได้ศึกษาโครงสร้างจุลภาคและสมบัติต้านแบคทีเรียของสแตนเลสที่มีคอปเปอร์ไอออนที่เตรียมได้ ผลการทดลองพบว่า สแตนเลสที่เตรียมได้มีสมบัติต้านแบคทีเรียที่ดีและยังคงสมบัติต้านทานการกัดกร่อนไว้ได้อีกด้วย จากงานวิจัยต่างๆที่กล่าวมาพบว่ามีสารต้านแบคทีเรียกลุ่มโลหะ เช่น ซิลเวอร์และคอปเปอร์สามารถประยุกต์ใช้ได้ในระบบการผลิตที่มีอุณหภูมิสูง แต่ยังมีข้อจำกัดเรื่องกลไกการต้านแบคทีเรียที่พบว่าทำให้เกิดความพิษในเซลล์ได้ ซึ่งไม่เหมาะสมสำหรับการประยุกต์ใช้งานในด้านอาหารหรือการบริโภค ในปี 1995 Sawai, J. และคณะ^[34] ได้ศึกษาผลของผงเซรามิก 26 ชนิดต่อสมบัติต้านของแบคทีเรีย ผลการทดลองพบว่ามีผงเซรามิก 10 ชนิดที่มีสมบัติต้านแบคทีเรีย และพบว่าแคลเซียมออกไซด์ (CaO) ให้สมบัติต้านแบคทีเรียได้ดีที่สุดในปี 2001 Sawai, J. และคณะ^[47] ได้ทดลองวัดค่าทางจลนพลศาสตร์ของการเกิดปฏิกิริยากับแบคทีเรียของเปลือกหอยที่ได้รับความร้อน ผลการทดลองพบว่าแคลเซียมคาร์บอเนตในเปลือกหอยจะเปลี่ยนเฟสไปเป็นแคลเซียมออกไซด์ และเปลือกหอยที่ผ่านการเผาแคลไซน์ (Calcination) ในช่วงอุณหภูมิ 700 °C ขึ้นไปจะแสดงสมบัติต้านแบคทีเรียได้ดีที่สุด การเพิ่มอุณหภูมิในการเผาจะทำให้สมบัติต้านแบคทีเรียดีขึ้น และจากอาร์เรเนียสพลอตระหว่างอุณหภูมิกับค่าคงที่การเกิดปฏิกิริยา พบค่าความไม่ต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 22 °C ซึ่งสัมพันธ์กับอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟสของไขมันที่เซลล์เมมเบรนของแบคทีเรีย และยังพบว่ากลไกการต้านแบคทีเรียไม่เกี่ยวข้องกับค่าความเป็นเบสของแคลเซียมออกไซด์ ในปี 2003 Sawai, J. และคณะ^[48] ได้ศึกษาหาปริมาณของผงเซรามิกออกไซด์ 3 ชนิด คือ ZnO MgO และ CaO ในการต้านแบคทีเรีย โดยศึกษาแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *E. coli* และ *S. aureus* โดยวิธีวัดการเปลี่ยนแปลงสมบัติการนำไฟฟ้า จากผลการทดลองต่อแบคทีเรียชนิด *E. coli* พบว่าเซรามิกที่แสดงสมบัติต้านแบคทีเรียได้ดีที่สุดคือ CaO รองลงมาคือ MgO และ ZnO ส่วนแบคทีเรียชนิด *S. aureus* เซรามิกที่แสดง

สมบัติต้านแบคทีเรียได้ดีที่สุดคือ ZnO ต่อมาในปี 2008 Zhang, L. และคณะ^[49] ได้เตรียมผงเซรามิก ZnO ในระดับนาโนและผลของการเก็บผงเซรามิกที่เตรียมได้ในเวลาต่างกันและภาวะต่างกัน เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรีย จากผลการทดลองพบว่า ผง ZnO ที่เตรียมได้ในระดับ นาโนและเก็บไว้ในที่สว่างเป็นเวลา 120 วัน แสดงผลการต้านแบคทีเรียชนิด *E.coli* ได้ดีที่สุด ปี 1999 Sawai, J. และคณะ^[50] ได้เปรียบเทียบสมบัติต้านแบคทีเรียชนิด *S. aureus* ระหว่าง CaO, MgO และ ZnO ซึ่งผลการทดลองพบว่า CaO และ MgO ให้สมบัติต้านแบคทีเรียได้ดีกว่า ZnO จากงานวิจัยต่างๆที่ผ่านมาสามารถยืนยันได้ถึงสมบัติต้านแบคทีเรียของแคลเซียมออกไซด์ ในปี 1990 Ribeiro, E.S.และคณะ^[51] ได้ศึกษาสมบัติต้านแบคทีเรียของ MTA Dentsply, MTA Angelus, Portland cement และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (CaOH)₂ โดยกำหนดชนิดของแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacteroides fragilis* และ *Enterococcus faecalis* ผลการทดลองพบว่า แคลเซียมไฮดรอกไซด์สามารถทำลายแบคทีเรียชนิด *P. aeruginosa* และ *B. fragillis* ได้ ในปี 1995 Estrela, C. และคณะ^[52] ได้ศึกษากลไกในการทำละลายเซลล์แบคทีเรียของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ผลการทดลองพบว่าไฮดรอกซิล ไอออน (OH⁻) ที่แตกตัวจากแคลเซียมไฮดรอกไซด์จะทำให้ค่า pH สูงขึ้น ซึ่งจะส่งผลต่อโมเลกุลโปรตีนในเซลล์เมมเบรนทำให้โมเลกุลโปรตีนถูกทำลาย (Denaturation) นอกจากนี้ยังส่งผลต่อโมเลกุลไขมันคือเกิดปฏิกิริยา saponification ทำให้ความแข็งแรงของเซลล์เมมเบรนลดลงและเซลล์แบคทีเรียตายในที่สุด ในปี 2001 Sawai, J. และคณะ^[53] ได้ศึกษาประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียของ แคลเซียมออกไซด์ บนผักกะหล่ำปลีเป็นเวลา 5 นาที จากผลการทดลองพบว่าแคลเซียมออกไซด์สามารถต้านแบคทีเรียได้ดีที่ความเข้มข้นเพียง 20-30 % W/V

จากข้อมูลงานวิจัยต่างๆที่เกี่ยวข้องกับสารต้านแบคทีเรีย สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 สารต้านแบคทีเรียชนิดต่างๆและสมบัติต้านแบคทีเรีย

สารต้านแบคทีเรีย	สารตั้งต้น	การทดลอง	ชนิดแบคทีเรีย/หมายเหตุ	ปีที่พิมพ์
1. ไคโตซาน	เปลือกกุ้ง	ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถเพิ่มสมบัติการละลายน้ำ	<i>E. coli</i> และ <i>S aureus</i> / ไม่สามารถใช้ในกระบวนการผลิตที่มีอุณหภูมิสูง	2009 ^[2]

สารต้านแบคทีเรีย	สารตั้งต้น	การทดลอง	ชนิดแบคทีเรีย / หมายเหตุ	ปีที่พิมพ์
2. Ag ⁺	AgNO ₃	การเตรียมฟิล์มบาง Ag-SiO ₂	<i>E. coli</i>	2003 ^[7]
3. Ag ⁺	Ag ₃ PO ₄	การเตรียมแก้วบอโรซิลิเกตที่เจือด้วยซิลเวอร์	<i>E. coli</i>	2008 ^[1]
4. Cu ²⁺	Cu ทางการค้า	วัสดุสแตนเลสที่มี Cu ²⁺	<i>E. coli</i> และ <i>S. aureus</i>	2005 ^[6]
5. CaO	เปลือกหอย เหลือทิ้ง	ทดสอบสมบัติต้านแบคทีเรีย	<i>E. coli</i>	1995 ^[34]
6. CaO, MgO และ ZnO	CaO, MgO และ ZnO ทางการค้า	ทดสอบสมบัติต้านแบคทีเรีย	<i>E. coli</i> และ <i>S. aureus</i>	2003 ^[48]
7. ZnO	ZnO ทาง การค้า	ประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียในเวลากลางวัน-กลางคืน และระยะเวลาที่เปลี่ยนไป	<i>E. coli</i>	2008 ^[49]
8. CaO	เปลือกหอย เหลือทิ้ง	ทดสอบการต้านแบคทีเรียในผักกะหล่ำสด	Aerobic bacteria	2001 ^[53]
9 Ca(OH) ₂	Ca(OH) ₂ ทาง การค้า	ทดสอบสมบัติต้านแบคทีเรีย	<i>P. aeruginosa</i> และ <i>B. fragilllis</i>	1990 ^[51]
10 Ca(OH) ₂	Ca(OH) ₂ ทาง การค้า	ศึกษากลไกการเกิดปฏิกิริยาของแคลเซียมและไฮดรอกซิลไอออนต่อน้ำเยื่อและแบคทีเรีย	ไฮดรอกซิลไอออนทำลายโมเลกุลโปรตีนและไขมันที่เซลล์เมมเบรนของแบคทีเรีย	1995 ^[52]

บทที่ 3

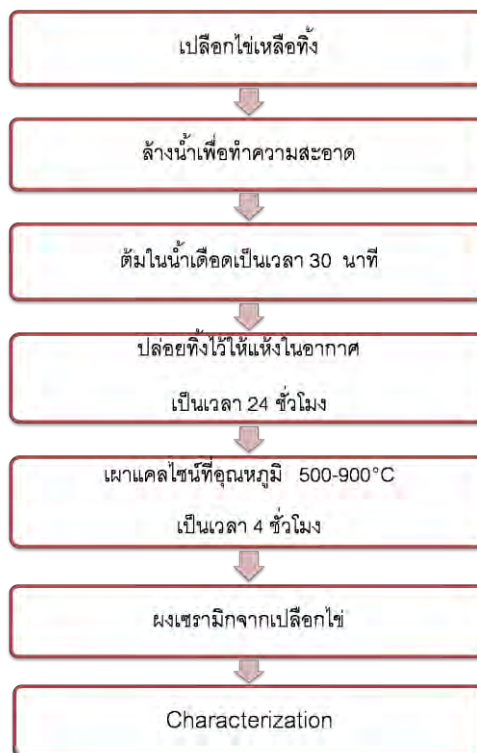
วิธีดำเนินการวิจัย

ในงานวิจัยนี้จะศึกษาการเตรียมผงเซรามิกจากเปลือกไข่เพื่อด้านแบคทีเรีย โดยจะวิเคราะห์ผลและเปรียบเทียบลักษณะเฉพาะของผงเซรามิกที่เตรียมได้หลังเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิต่างๆ เพื่อให้ได้วิธีการเตรียมที่เหมาะสมกับด้านแบคทีเรียได้ดีที่สุด โดยจะศึกษาอุณหภูมิการเผาในช่วง 500°C - 900°C ที่จะทำให้แคลเซียมคาร์บอเนตซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในเปลือกไข่สามารถเกิดปฏิกิริยาได้สมบูรณ์จนเปลี่ยนเฟสไปเป็นแคลเซียมออกไซด์หรือแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งเป็นเฟสที่ต้องการได้

3.1 วัสดุที่ใช้ในการทดลอง

วัสดุที่ใช้ในการทดลองคือเปลือกไข่ ซึ่งถือว่าเป็นขยะเหลือทิ้งตามร้านอาหารต่างๆ โดยจะนำเปลือกไข่ที่ได้มาทำความสะอาดก่อนที่จะเผาแคลไซน์และวิเคราะห์ต่อไป

3.2 แผนผังการเตรียมผงเซรามิกจากเปลือกไข่



รูปที่ 3.1 แผนผังการเตรียมผงเซรามิกจากเปลือกไข่

3.3 การเตรียมผงเซรามิกจากเปลือกไข่

3.3.1 การเตรียมเปลือกไข่ก่อนเผาแคลไซน์

เนื่องจากเปลือกไข่ที่ใช้ในการทดลองเป็นเปลือกไข่ที่ เป็นขยะเหลือทิ้งจากร้านอาหาร ดังนั้นก่อนที่จะเผาแคลไซน์จึงต้องทำความสะอาดในเบื้องต้นก่อน โดยนำเปลือกไข่ล้างทำความสะอาดในน้ำประปา จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงปล่อยให้แห้งในอากาศเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

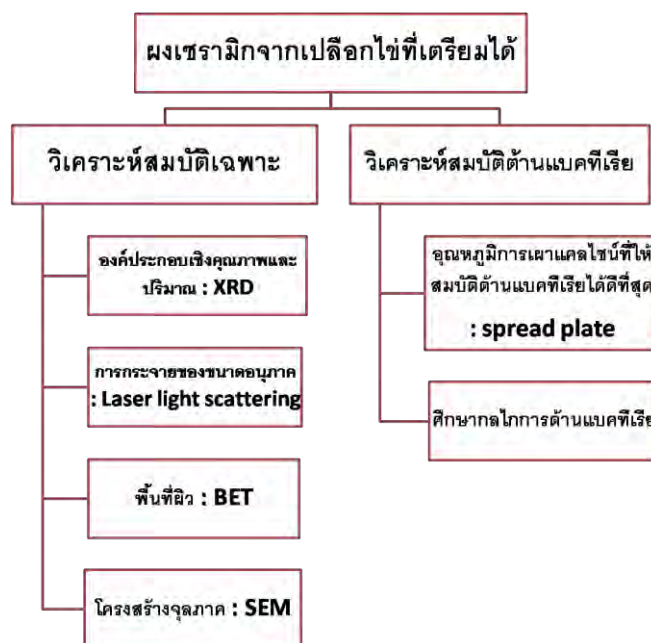
3.3.2 การเตรียมผงเซรามิกจากเปลือกไข่

หลังจากได้เปลือกไข่ที่ผ่านการทำความสะอาดแล้ว นำเปลือกไข่ที่ได้ไปเผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500 °C, 600 °C, 700 °C, 800 °C และ 900 °C ภายใต้บรรยากาศปกติ โดยกำหนดสภาวะของเตาเผาดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ตัวแปรการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิต่างๆ

Heating Rate (°C/min)	3
Soaking Time (h)	4
Cooling Rate (°C/min)	3

3.4 แผนผังการวิจัย



รูปที่ 3.2 แผนผังการวิจัย

3.5 การวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของสารตัวอย่าง

3.5.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติทางโครงสร้างของผงเซรามิกจากเปลือกไข่เพื่อต้านแบคทีเรีย โดยมีเงื่อนไขต่างกัน

วิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติทางโครงสร้างของผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผาแคลไซต์ที่อุณหภูมิ 500 °C – 900 °C เพื่อวิเคราะห์ถึงวิธีการเตรียมที่เหมาะสมซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพสูงสุดในการต้านแบคทีเรีย

1) เฟสองค์ประกอบเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณด้วย เครื่อง X-ray diffractometer โดยใช้ตัวแปรและสภาวะดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ตัวแปรการใช้เครื่อง X-ray Diffractometer

Scan angle (degree)	10-80
Step size (°/point)	0.02
Temp (°C)	25
Target	Cu K _α

2) โครงสร้าง ระดับจุลภาค โดยใช้ เทคนิค การส่องกราดของอิเล็กตรอนด้วยเครื่องมือ Scanning electron microscope (SEM) รุ่น JSM-6480LV, JEOL, Japan

การเตรียมตัวอย่างสำหรับตรวจลักษณะโครงสร้างระดับจุลภาคคือ นำผงเซรามิก ที่เตรียมได้ไปกระจายตัวในเอทานอล หมุนปั่นด้วยเครื่องอัลตราโซนิกนาน 3 นาที จากนั้นหยด สารตัวอย่าง 1 หยดลงบนกระจกสไลด์ ก่อนที่จะนำกระจกมาติดกับแท่นรองที่มีคาร์บอนเทป ติดอยู่ แล้วนำไปเคลือบผิวด้วยทอง เพื่อให้เกิดการนำไฟฟ้า ก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์โครงสร้าง ระดับจุลภาคด้วย SEM

3) การกระจายของขนาดอนุภาคด้วยเทคนิค Laser light scattering จากเครื่อง Particle size analyzer รุ่น Mastersizer 2000 ผลิตโดยบริษัท Malvern

การเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์ เริ่มจากการนำสารตัวอย่างมาทำให้เกิดการกระจาย ตัวในน้ำกลั่นโดยการสั่นด้วยเครื่องอัลตราโซนิกประมาณ 3 นาทีจนเกิดการกระจายตัวอย่าง สม่ำเสมอ จากนั้นใช้หลอดหยดดูดสารตัวอย่าง มาทำการวิเคราะห์การกระจายตัวของขนาด อนุภาค

4) พื้นที่ผิวด้วยเทคนิค BET จากเครื่อง BET analyzer รุ่น Coulter SA3100

การเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์ เริ่มจากนำสารตัวอย่างไปอบก่อนวิเคราะห์ประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นชั่งน้ำหนักสารตัวอย่างที่จะใช้วิเคราะห์ให้ได้ ประมาณ 0.05 กรัม ชั่งน้ำหนักของ สารและครุชีเบล (crucible) ก่อนและหลัง degas เพื่อนำค่าที่ได้ป้อนให้กับเครื่องและวิเคราะห์ ออกมาเป็นพื้นที่ผิวจำเพาะของสารตัวอย่าง

3.5.2 การวิเคราะห์สมบัติด้านแบคทีเรียของผงเซรามิกจากเปลือกไข่

วิเคราะห์สมบัติการต้านแบคทีเรียของ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่หลังเผาแคลไซน์ที่ อุณหภูมิ 500 °C – 900 °C โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1) เตรียมแบคทีเรีย ที่ใช้ในการทดสอบ คือ *Escherichia coli* สำหรับเป็นตัวแทนกลุ่ม Gram-negative และ *Staphylococcus aureus* สำหรับเป็นตัวแทนกลุ่ม Gram-positive บนจาน เพาะเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) (Difco, USA) โดยการลาก (Streak) และโดยเทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใช้ในการทดลองต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave โดยสภาวะที่ใช้คือ อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (NB) (Difco, USA) ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ และเติมผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผาแคลไซน์ ที่อุณหภูมิ 500 °C, 600 °C, 700 °C, 800 °C และ 900°C ที่จะทดสอบ สมบัติด้านแบคทีเรีย ลงไปในปริมาณ 0.025 กรัม เพื่อให้ความเข้มข้นของผงเซรามิกที่เตรียมได้เป็น 0.05% W/V

3) เติมแบคทีเรียที่เตรียมไว้ในข้อ 1) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ที่มีผงเซรามิกจากเปลือกไข่หลังเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิต่างๆดังกล่าวไว้ข้างต้น โดยให้มีจำนวนเซลล์แบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากับ 10^8 CFU/ml จากนั้นเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที (rpm) เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อให้แบคทีเรียสัมผัสกับผงเซรามิกจากเปลือกไข่

4) ตรวจสอบการรอดชีวิตของแบคทีเรียโดยการเปิดอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ที่มีแบคทีเรียสัมผัสกับผงเซรามิกจากเปลือกไข่ดังข้อ 3) ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) จากนั้นเกลี่ยให้ทั่วทั้งจานเพาะเชื้อด้วยแท่งแก้วรูปตัวแอล (เรียกเทคนิคนี้ว่าเทคนิค spread plate) ดังแสดงในรูปที่ 3.3 (ทำซ้ำ 3 ซ้ำ) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตรวจผลโดยการนับจำนวนโคโลนี (colony) ของแบคทีเรียที่รอดชีวิต โดยรายงานผลเป็นจำนวน Colony Forming Unit / ml (CFU/ml)



รูปที่ 3.3 เทคนิค spread plate ^[54]

ในการนับจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ด้วยวิธีนี้ จำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหารมีความสำคัญ คือ ต้องมีจำนวนไม่มากหรือน้อยเกินไป โดยทั่วไปจะนับเฉพาะจานอาหารที่มีจำนวนเซลล์ระหว่าง 25-250 เซลล์เท่านั้น ดังนั้นเพื่อให้จำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหารอยู่ในช่วงดังกล่าว ควรทำการเจือจางเชื้อเริ่มต้นหลายๆครั้ง โดยทั่วไปทำเป็นลำดับๆละ 10 เท่า (serial number) ดังแสดงในรูปที่ 3.4 แล้วทำการเพาะเชื้อจุลินทรีย์ที่แต่ละระดับการเจือจางลงบนจานอาหาร เมื่อเชื้อจุลินทรีย์เจริญบนจานอาหารแล้ว นับจำนวนและทำการคำนวณหาจุลินทรีย์ต่อกรัมหรือมล.ของตัวอย่างได้ การรายงานผลมักรายงานเป็น colony forming unit (CFU) มากกว่าจำนวนจุลินทรีย์

เนื่องจากไม่สามารถบอกได้ อย่างแน่นอนว่า 1 โคโลนีมาจาก 1 เซลล์^[55] สามารถคำนวณจำนวนแบคทีเรียได้ดังสมการ 3.1

จำนวนแบคทีเรียต่อมล. ของตัวอย่าง = ค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรียบนจานอาหาร 2 จานที่ระดับการเจือจางเดียวกัน \times ส่วนกลับของระดับการเจือจางมีหน่วยเป็น CFU (Colony forming unit) ต่อ มล.

สมการ 3.1

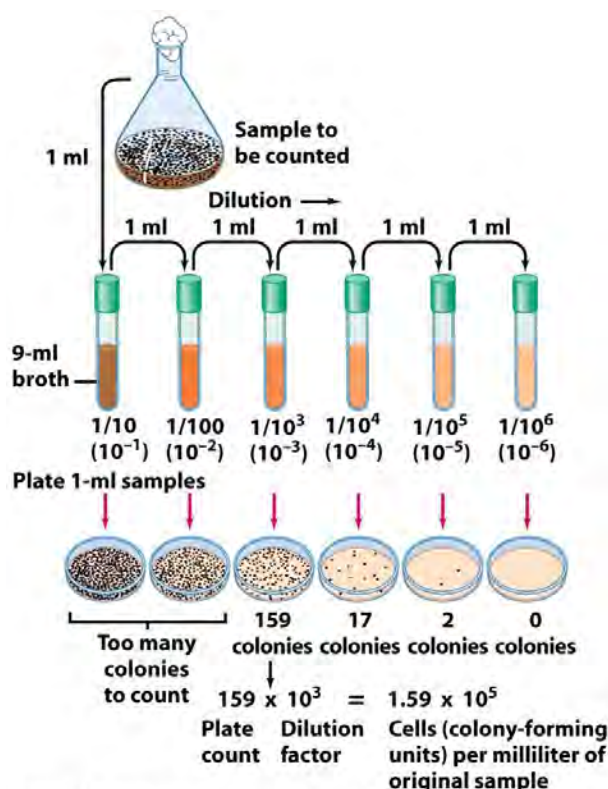


Figure 6-11 Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

รูปที่ 3.4 การทำเจือจางเพื่อให้จำนวนโคโลนีที่เจริญบนจานอาหารอยู่ในช่วงที่สามารถนับได้^[56]

3.6 การวิเคราะห์หลักไในการต้านแบคทีเรียของสารตัวอย่าง

เนื่องจากค่า pH เป็นกลไกที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดสมบัติต้านแบคทีเรีย จึงได้วิเคราะห์ค่า pH ของผงเซรามิกจาก เปลือกไข่ที่สังเคราะห์ได้ โดยการ นำผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผาแคลไซน์ ที่อุณหภูมิต่างๆ มาผสมกับน้ำกลั่น ให้มีความเข้มข้น 0.05% W/V และวัดค่า pH ทุกๆ 15 นาทีเป็นเวลา 6 ชั่วโมงซึ่งเป็นเวลาที่เท่ากับการทดสอบสมบัติต้านแบคทีเรีย เพื่อสังเกตค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงไป

การเตรียมสารละลายเพื่อใช้วัดค่า pH เริ่มจากซึ่งผงเซรามิกจากเปลือกไข่ เผาแคลไซต์ที่อุณหภูมิ 500 °C, 600 °C, 700 °C, 800 °C และ 900 °C มา 0.025 กรัม ผสม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรเพื่อให้ได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 0.05 W/V จากนั้นนำไปวัด pH ด้วยเครื่อง pH meter รุ่น M320 บริษัท Becthai ทุกๆ 15 นาที เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

3.7 ประสิทธิภาพการใช้งานผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่สังเคราะห์ได้เพื่อใช้เป็นผงล้างผักและผลไม้

3.7.1 ประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียในสภาวะที่มีผลง่อนอยู่ด้วย

จากการวิเคราะห์สมบัติต้านแบคทีเรียที่ผ่านมา เป็นการวิเคราะห์โดยใช้ผงเซรามิกลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแบคทีเรีย ดังนั้นแบคทีเรียจะสัมผัสกับผงเซรามิกตัวอย่างโดยตรง แต่ในสภาวะการใช้งานจริง เช่น การใช้งานเป็นผงล้างผักผลไม้ ผงเซรามิกจะต้องสามารถทำลายแบคทีเรียได้แม้ว่าจะมีผักผลไม้อยู่ในน้ำด้วยก็ตามเพื่อให้เกิดสมบัติการต้านแบคทีเรียที่สมบูรณ์ ดังนั้นเราจึงทดสอบประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่สังเคราะห์ได้ในสภาวะที่มีผักผลไม้ ในที่นี้เลือกองุ่นเป็นผลไม้อ้างอิง เนื่องจากเป็นผลไม้ที่รับประทานกันทั่วไป และมีขนาดพอเหมาะที่จะใส่ในขวดรูปชมพู่ที่ทำการทดลอง โดยเลือกตัวอย่างผงเซรามิกที่ให้ประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียที่ดีที่สุดข้อ 3.5.2 เพื่อเป็นตัวแทนของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่มีสมบัติต้านแบคทีเรีย ซึ่งในการทดสอบจะทำเหมือนข้อ 3.5.2 แต่ในขั้นตอนการใส่ผงเซรามิก ตัวอย่างลงไป ใน Nutrient broth จะเพิ่มผลง่อนที่ซื้อจากตลาดสามย่าน เพื่อใช้เป็นตัวแทนของผลง่อนที่สามารถหาซื้อได้จริงเพื่อการบริโภคริ โภคและ อาจมีการปนเปื้อนของสารเคมีอยู่ด้วย ลงไป 1-2 ผล และเลือก *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียอ้างอิง จากนั้นทำการทดสอบเหมือนเดิมทุกประการดังกล่าวไว้แล้วในข้อ 3.5.2

3.7.2 ประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียต่อผักและผลไม้ที่มีลักษณะของพื้นผิวต่างกัน

เนื่องจากผักผลไม้โดยทั่วไปมีพื้นผิวต่างกัน บางชนิดมีผิวเรียบ บางชนิดมีผิวขรุขระ ดังนั้นจึงควรทดสอบประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียของผงเซรามิกที่สังเคราะห์ได้ต่อผักผลไม้ที่มีพื้นผิวต่างกัน โดยเลือกองุ่นเป็นตัวแทนผลไม้ที่มีผิวเรียบและเลือก ผักกาดหอมเป็นตัวแทนผักที่มีผิวขรุขระ สำหรับตัวอย่างผงเซรามิกจะเลือกผงเซรามิก เผาแคลไซต์ที่ 500 °C และ 700 °C เพื่อเปรียบเทียบผลที่เกิดขึ้น

ขั้นตอนการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการใช้งานของผงเซรามิกตัวอย่างนั้น มีวิธีการดังนี้

- 1) เตรียมแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ (*Escherichia coli*) บนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) (Difco, USA) โดยเทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใช้ในการทดลองต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave โดยภาวะที่ใช้คือ อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว
- 2) เตรียมชิ้นอุ้งและ ผักกาดหอมที่จะใส่ลงไปในการอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth โดยเลือกผลอุ้งที่มีขนาดพอดีสำหรับใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ และตัด ผักกาดหอมเป็นชิ้นเล็กๆให้มีขนาดกว้างxยาว ไม่เกิน 3x5 ตารางมิลลิเมตร
- 3) เติมน้ำที่เตรียมไว้ในข้อ 1) ลงใน flask อาหารเลี้ยงเชื้อ NB ที่มีผงเซรามิกตัวอย่างและผักผลไม้ข้างอิง โดยจัดรูปแบบการทดลองเพื่อเปรียบเทียบผล ดังตารางที่ 3.3 โดยให้มีจำนวนเซลล์แบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากับ 10^8 CFU/ml จากนั้นเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที (rpm) เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อให้แบคทีเรียสัมผัสกับผงเซรามิกจากเปลือกไข่
- 4) นำตัวอย่างใบผักกาดและผลอุ้งออกมาจากอาหารเลี้ยงเชื้อ แช่ตัวอย่างในน้ำยา 2.5% glutaraldehyde ใน 0.1 M phosphate buffer ซึ่งมี pH 7.2 นาน 2 ชั่วโมงหรือข้ามคืนในตู้เย็น
- 5) ล้างน้ำยาออกด้วย phosphate buffer 2 ครั้ง แล้วตามด้วยน้ำกลั่น 1 ครั้งๆละ 10 นาที
- 6) Dehydrate ด้วยเอทานอล (EtOH) ที่ความเข้มข้น 30%, 50%, 70%, และ 90% ตามลำดับ ขั้นตอนละ 10 นาที และตามด้วย Absolute Ethanol 3 ครั้งๆละ 10 นาที
- 7) นำไปทำให้แห้ง ณ จุดวิกฤติ ด้วยเครื่อง Critical point dryer ยี่ห้อ Balzers รุ่น CPD 020
- 8) ติดตัวอย่างบนแท่นวางตัวอย่าง (stub) ด้วยเทปกาวสองหน้าหรือกาว
- 9) นำไปฉาบทองด้วยเครื่อง Ion sputter ยี่ห้อ Balzers รุ่น SCD 040
- 10) นำไปส่องดูเซลล์ *E. coli* ที่อยู่บนผิวผักกาดและผลอุ้งด้วยเครื่อง SEM ยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM-6480LV

ตารางที่ 3.3 ส่วนประกอบในขวดทดลองเพื่อทดสอบประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียต่อผักผลไม้
ที่มีลักษณะของพื้นผิวต่างกัน

ขวดที่	ชนิด แบคทีเรีย	ผงเซรามิกตัวอย่าง		ผักผลไม้อ้างอิง		หมายเหตุ
		E504	E704	ผลองุ่น	ผักกาดหอม	
1	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	(Blank)
2	<i>E. coli</i>	✓	-	✓	-	
3	<i>E. coli</i>	✓	-	-	✓	
4	<i>E. coli</i>	-	✓	✓	-	
5	<i>E. coli</i>	-	✓	-	✓	

กำหนดให้

E504 คือผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผาแคลไซต์ที่อุณหภูมิ 500 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

E704 คือ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผาแคลไซต์ที่อุณหภูมิ 700 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

3.7.3 เปรียบเทียบลักษณะ เซลล์ *E. coli* หลังสัมผัสกับผงเซรามิก เคาแคลไซต์ที่ 700°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมงด้วยเทคนิค Transmission electron microscope (TEM)

หลังจากวิเคราะห์โดยเทคนิค SEM แล้ว ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบ ลักษณะเซลล์ *E. coli* หลังสัมผัสผงเซรามิกโดย เทคนิค TEM เพื่อสังเกตลักษณะเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปโดยละเอียด มากยิ่งขึ้น โดยเลือกผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผาแคลไซต์ที่อุณหภูมิ 700 °C และเลือก *E. coli* เป็น แบคทีเรียอ้างอิง โดย ให้เซลล์ *E. coli* สัมผัสกับผงเซรามิกเป็นเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำ ตัวอย่างเซลล์ *E. coli* ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TEM โดยมีวิธีการเตรียมตัวอย่างดังนี้

1) เตรียมแบคทีเรีย *E. coli* ที่ใช้ในการทดสอบบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) (Difco, USA) โดยเทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อ NA (Difco, USA) ที่ใช้ในการทดลองต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave โดยสภาวะที่ใช้คือ อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (NB) (Difco, USA) ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่และเติมผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่สังเคราะห์ได้ โดยเลือกผงเซรามิก เคาแคลไซต์ที่ อุณหภูมิ 700 °C เป็นตัวแทนผงเซรามิก ที่จะทดสอบสมบัติต้านแบคทีเรียลงไปปริมาณ 0.025 กรัม เพื่อให้มีความเข้มข้น 0.05% W/V

- 3) เติมแบคทีเรียที่เตรียมไว้ในข้อ 1) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB (Difco, USA) ที่มีผงเซรามิกจากเปลือกไข่แห้งเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 700 °C โดยให้มีจำนวนเซลล์แบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากับ 10^8 CFU/ml จากนั้นเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที (rpm) เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อให้แบคทีเรียสัมผัสกับผงเซรามิกจากเปลือกไข่
- 4) ปั่นตกตะกอนเซลล์ ดูน้ําใส ที่ใส่ fixative คือ 2.5% glutaraldehyde ใน 0.1 M phosphate buffer เขย่าให้เซลล์กระจาย ทิ้งไว้ 2 ชั่วโมงหรือค้างคืนในตู้เย็น
- 5) ปั่นตกตะกอนเซลล์ ดูด fixative ที่ใส่ 0.1 M phosphate buffer ลงไป เขย่าให้เซลล์กระจาย ทิ้งไว้ 15 นาที
- 6) ทำซ้ำตามข้อ 5) สามครั้ง
- 7) ปั่นตกตะกอนเซลล์ ดูด buffer ที่ใส่ 1% osmium tetroxide in 0.1 M phosphate buffer เขย่าให้เซลล์กระจาย ทิ้งไว้ใน hood 1-2 ชั่วโมง
- 8) ปั่นตกตะกอนเซลล์ ล้างด้วย 0.1 M phosphate buffer 15 นาที 1 ครั้ง
- 9) ปั่นตกตะกอนเซลล์ ล้างด้วยน้ำกลั่น 15 นาที 1 ครั้ง
- 10) ปั่นตกตะกอนเซลล์ ดูน้ําใสที่ผสม (mix) เซลล์กับ 1.5% agar ที่หลอมและทิ้งไว้ให้อุณหภูมิประมาณ 45-50 °C เมื่ออุ่นแข็งตัว ตัด agar เป็นชิ้นสี่เหลี่ยมเล็กๆ ขนาดไม่เกิน 0.5 mm.
- 11) Dehydrate ด้วย 35%, 50%, 70%, 95% EtOH ครั้งละ 15 นาที
- 12) Dehydrate ด้วย Absolute EtOH 15 นาที 3 ครั้ง และ Propylene oxide 3 ครั้งๆ ละ 15 นาที
- 13) Infiltrate ด้วย Spurr resin ผสมกับ Propylene oxide
 - อัตราส่วน 1:3 นาน 2-3 ชั่วโมง หรือค้างคืน
 - อัตราส่วน 1:1 นาน 2-3 ชั่วโมง หรือค้างคืน
 - อัตราส่วน 3:1 นาน 2-3 ชั่วโมง หรือค้างคืน
 และ pure spurr resin 2 ชั่วโมง 3 ครั้ง ควรทิ้งข้ามคืน 1 ครั้ง
- 14) อบที่อุณหภูมิ 70 °C นาน 8 ชั่วโมง
- 15) ตัด section ด้วยเครื่อง ultramicrotome ให้ได้ความหนาประมาณ 60 - 90 nm วาง section บน copper grid 300 mesh
- 16) ย้อมด้วย uranyl acetate 10-15 นาที และ lead citrate 5-10 นาที
- 17) ตรวจวิเคราะห์ลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปของเซลล์ด้วย TEM

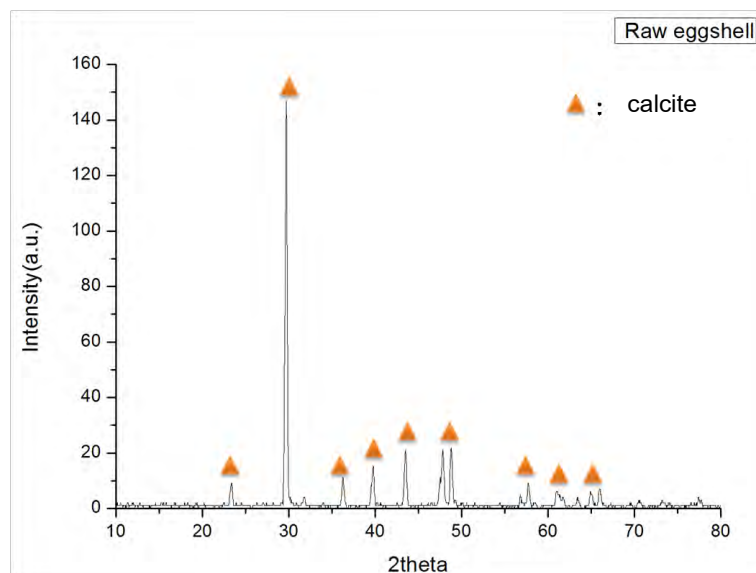
บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

นำผงเซรามิกจากเปลือกไข่ก่อนและหลังเผาแคลไซน์มาวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะด้วยเทคนิคต่างๆเพื่อศึกษาเฟสองค์ประกอบ โครงสร้างจุลภาค พื้นที่ผิวจำเพาะ และการกระจายของขนาดอนุภาค รวมถึงสมบัติการด้านแบคทีเรียในช่วงอุณหภูมิการเผาแคลไซน์ต่างๆเพื่อให้ได้วิธีการเตรียมผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่ให้สมบัติด้านแบคทีเรีย ดังมีรายละเอียดการวิเคราะห์ข้อมูลดังต่อไปนี้

4.1 สมบัติทางโครงสร้างและองค์ประกอบของเปลือกไข่

เพื่อศึกษาองค์ประกอบหลักที่พบในเปลือกไข่ก่อนที่จะเผาแคลไซน์ จึงนำเปลือกไข่เหลือทิ้งที่ผ่านการทำความสะอาดและอบให้แห้งแล้วไปตรวจวิเคราะห์เฟสด้วยเทคนิค XRD ดังแสดงผลในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์แสดงองค์ประกอบของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ก่อนเผาแคลไซน์

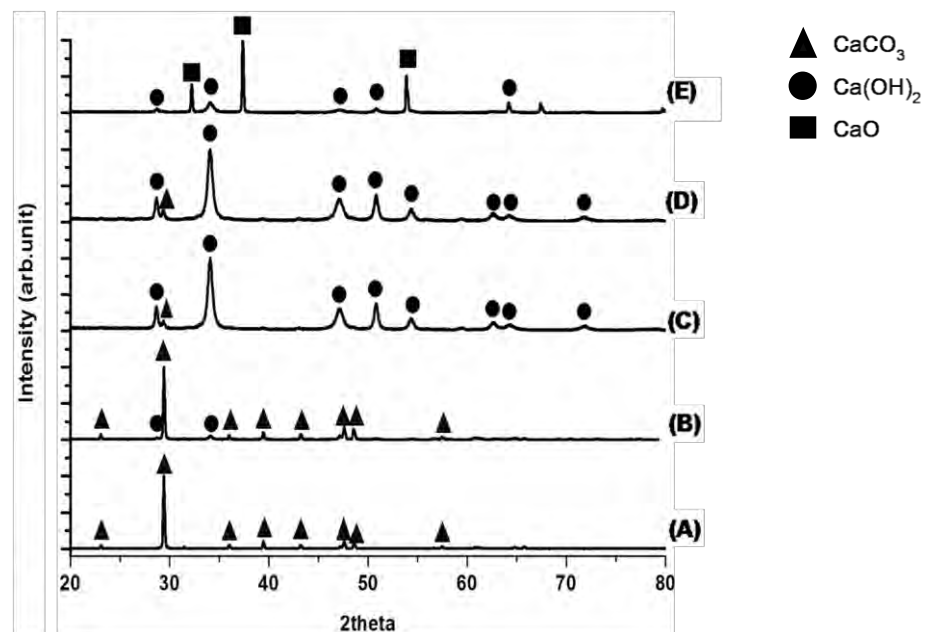
ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD โดยเปรียบเทียบพีคที่เกิดขึ้นกับพีคมาตรฐาน พบว่าเปลือกไข่ก่อนเผาแคลไซน์ที่ใช้ในการทดลองมีพีคที่เกิดขึ้นตรงกับ JCPDS card No. 01-070-0095 ซึ่งเป็นเฟสของแคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate, calcite)

4.2 ลักษณะเฉพาะของผงเซรามิกจากเปลือกไข่หลังเผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500- 900°C

นำผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เตรียมได้หลังเผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500°C-900°C มาวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะด้วย เทคนิคต่างๆ เพื่อศึกษาองค์ประกอบ โครงสร้างจุลภาค การกระจายของขนาดอนุภาคและพื้นที่ผิวจำเพาะ รวมถึงสมบัติการต้านแบคทีเรีย เพื่อให้ได้ อุณหภูมิการเผาแคลไซน์ที่เหมาะสม ดังมีรายละเอียดการวิเคราะห์ทดสอบดังต่อไปนี้

4.2.1 เฟสองค์ประกอบเชิงคุณภาพ

นำผงเซรามิกจากเปลือกไข่หลังเผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500°C – 900°C มาทดสอบ ด้วยเทคนิค XRD เพื่อศึกษาองค์ประกอบที่เกิดขึ้นหลังจากเผาแคลไซน์แล้ว ดังแสดงในรูปที่ 4.2.1



รูปที่ 4.2 องค์ประกอบเชิงคุณภาพของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ

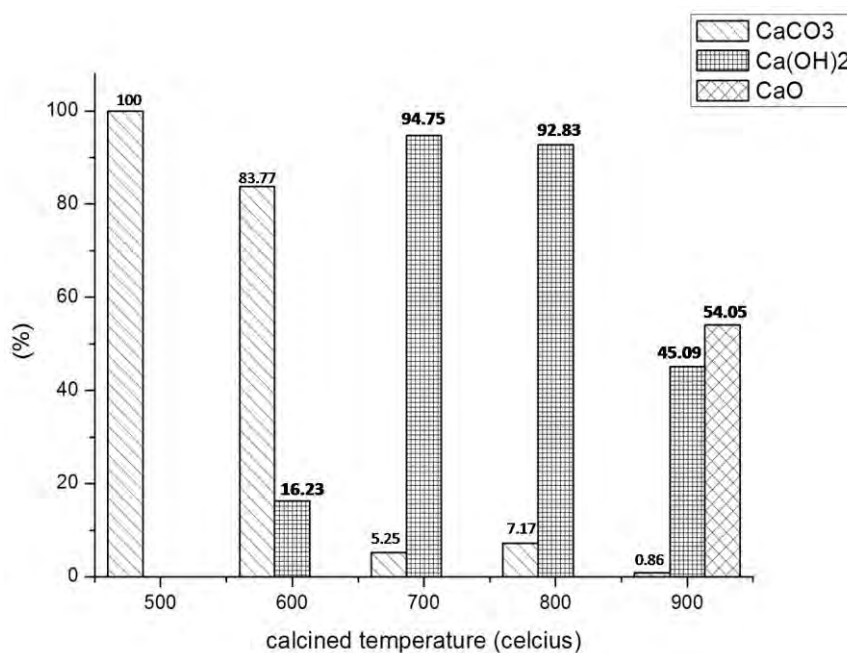
500°C – 900°C (A) 500 °C, (B) 600 °C, (C) 700 °C, (D) 800 °C และ (E) 900 °C

จากรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ ในรูปที่ 4.2 พบว่าอุณหภูมิการเผาแคลไซน์ ที่ 500°C พีคที่เกิดขึ้นเป็นเฟสของแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) (JCPDS card No. 01-086-2334) ที่ 600°C พีคที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่เป็นเฟสของแคลเซียมคาร์บอเนตและเริ่มปรากฏเฟสของ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Ca(OH)_2) ขึ้นเล็กน้อยที่ $2\theta = 28.672^\circ$ และ 34.102° (JCPDS card No.

00-044-1481) ที่ 700°C และ 800°C พิกทั้งหมดจะเป็นเฟสของแคลเซียมไฮดรอกไซด์อย่างสมบูรณ์ (JCPDS card No. 00-044-1481) และเมื่ออุณหภูมิการเผา แคลไซน์เพิ่มขึ้นเป็น 900°C นอกจากจะปรากฏเฟสของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (JCPDS card No. 01-084-1264) แล้วยังพบเฟสของแคลเซียมออกไซด์ (CaO) (JCPDS card No. 01-077-2376) อีกด้วย

4.2.2 เฟสองค์ประกอบเชิงปริมาณ

หลังจากวิเคราะห์เฟสที่เกิดขึ้นในช่วงอุณหภูมิการเผาแคลไซน์ต่างๆแล้ว ได้วิเคราะห์เชิงปริมาณของเฟสต่างๆโดยเทคนิค Rietveld refinement method ซึ่งเป็นการใช้โปรแกรมในเครื่องดิฟแฟรคโตมิเตอร์ เพื่อคำนวณปริมาณของเฟสที่พบจากพื้นที่ใต้กราฟของพิกที่เกิดขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 4.3



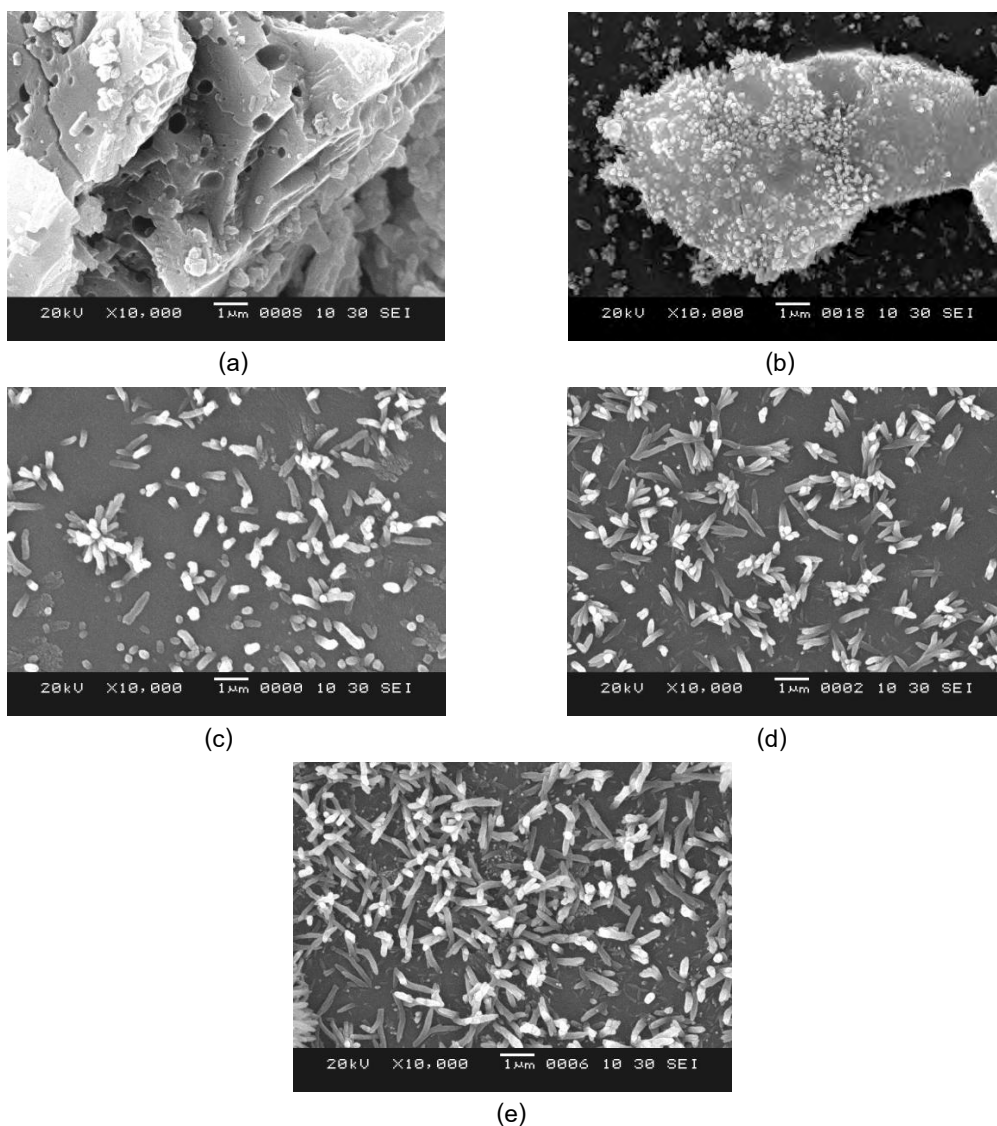
รูปที่ 4.3 ปริมาณเฟสองค์ประกอบของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500°C - 900°C

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณของเฟสที่พบโดยเทคนิค Rietveld refinement method และแสดงผลออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์ พบว่าที่อุณหภูมิการเผาแคลไซน์ 500 °C ปริมาณของเฟสแคลเซียมคาร์บอเนตที่เกิดขึ้นคือ 100% ที่อุณหภูมิ 600 °C ปริมาณของแคลเซียมคาร์บอเนตลดลง (83.77%) ส่วนปริมาณของแคลเซียมไฮดรอกไซด์พบในปริมาณเล็กน้อย (16.23%) เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 700 °C และ 800 °C พบปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตลดลงน้อยกว่า 10%

(5.25% และ 7.17%) ในขณะที่ปริมาณของแคลเซียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้นมากกว่า 90% (94.75% และ 92.83%) และเมื่ออุณหภูมิการเผาแคลไซน์เพิ่มขึ้นถึง 900 °C พบปริมาณแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 45.09% และปริมาณของแคลเซียมออกไซด์ 54.05% ซึ่งปริมาณของเฟสที่คำนวณได้สอดคล้องกับรูปแบบพีค XRD ด้วย

4.2.3 โครงสร้างจุลภาค

เพื่อศึกษาโครงสร้างจุลภาคของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500 °C – 900 °C จึงนำผงเซรามิกที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการส่องกราดของอิเล็กตรอนด้วยเครื่องมือ Scanning Electron Microscope (SEM) ดังแสดงในรูปที่ 4.4



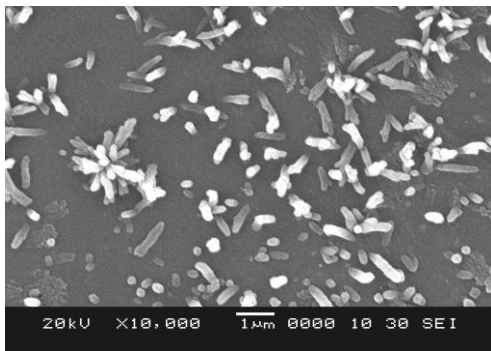
รูปที่ 4.4 ภาพถ่าย SEM แสดงโครงสร้างจุลภาคของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ หลังเผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500 – 900 °C (a) 500 °C (b) 600 °C (c) 700 °C (d) 800 °C และ (e) 900 °C

จากผลการทดสอบด้วยเทคนิค SEM เพื่อเปรียบเทียบโครงสร้างจุลภาคของผงเซรามิกที่กำลังขยายเท่ากัน (10,000x) พบว่าอุณหภูมิการเผาแคลไซต์ที่ 500 °C ผงเซรามิกมีโครงสร้างจุลภาคเป็นแผ่นๆ ซ้อนทับกัน ขนาดอนุภาคอยู่ในช่วงประมาณ 100 μm เช่นเดียวกับ อุณหภูมิเผาแคลไซต์ที่ 600 °C โครงสร้างผลึกมีลักษณะเป็นแผ่นๆ แต่เริ่มสังเกตเห็นอนุภาคเล็กๆ รูปร่างกลมมนอยู่บนพื้นผิวของอนุภาคขนาดใหญ่ เมื่ออุณหภูมิการเผาแคลไซต์สูงขึ้นเป็น 700 °C, 800 °C และ 900 °C โครงสร้างผลึกของผงเซรามิกจะมีโครงสร้างเป็นแท่งเล็กๆ ค้ำยเข้ม และมีขนาดเท่ากันสม่ำเสมอในช่วงประมาณ 10 μm

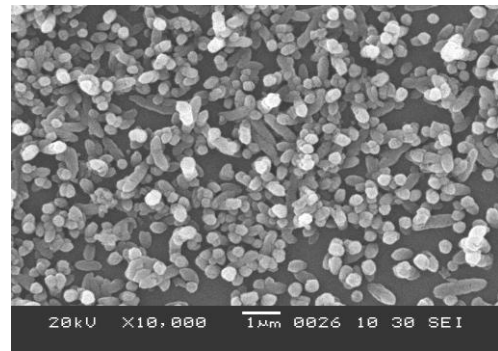
การเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของผงเซรามิกเผาแคลไซต์ที่อุณหภูมิต่างๆนี้ เกิดจากปฏิกิริยา $\text{CaCO}_3 \longrightarrow \text{CaO} + \text{CO}_2$ สมการ 4.1

เนื่องจากปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยาคูดความร้อน ดังนั้นต้อง มีการให้ความร้อนที่พอดี เพื่อให้ปฏิกิริยาดำเนินไปข้างหน้าอย่างสมบูรณ์ สังเกตได้จากอุณหภูมิเผาแคลไซต์ที่ 500 °C ที่มีลักษณะอนุภาคเป็นแผ่นๆ และมีขนาดใหญ่ เนื่องจากอุณหภูมียังไม่สูงพอที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นแคลเซียมออกไซด์ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 600 °C อนุภาคจะเริ่ม เปลี่ยนแปลงไปเพื่อเกิดอนุภาคใหม่ (Nucleate) และมีอนุภาคเล็กๆ เกิดขึ้นด้วย และเมื่ออุณหภูมิเผาแคลไซต์เพิ่มขึ้นเป็น 700 °C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่พอเหมาะต่อการเกิดปฏิกิริยา ทำให้ปฏิกิริยาดำเนินไปข้างหน้าได้อย่างสมบูรณ์ อนุภาคเล็กๆ เริ่มแตกออกจาก อนุภาคขนาดใหญ่เพื่อให้กลายเป็นเฟสแคลเซียมออกไซด์ ดังนั้นเมื่ออุณหภูมิมากเกินไปที่ปฏิกิริยาต้องการคือ ที่อุณหภูมิ 800 °C และ 900 °C จึง ทำให้ลักษณะอนุภาคที่ได้ไม่ต่างกัน

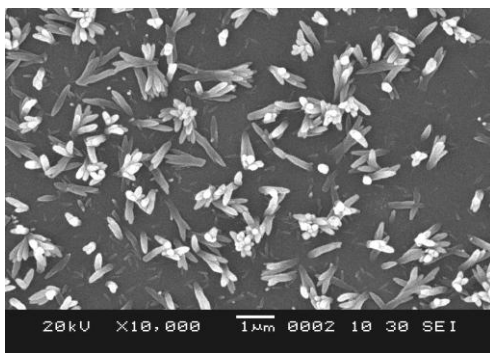
จากผลการวิเคราะห์เฟสที่เกิดขึ้นโดยเทคนิค XRD พบว่าอุณหภูมิการเผาแคลไซต์ที่ 700 °C และ 800 °C เฟสที่เกิดขึ้นคือแคลเซียมไฮดรอกไซด์ และที่อุณหภูมิ 900°C พบทั้งเฟสของแคลเซียมไฮดรอกไซด์และแคลเซียมออกไซด์ จึงเปรียบเทียบโครงสร้างจุลภาคของผงเซรามิกเผาแคลไซต์ที่ 700 °C 800 °C และ 900 °C กับผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์และแคลเซียมออกไซด์ทางการค้า ดังแสดงในรูปที่ 4.5



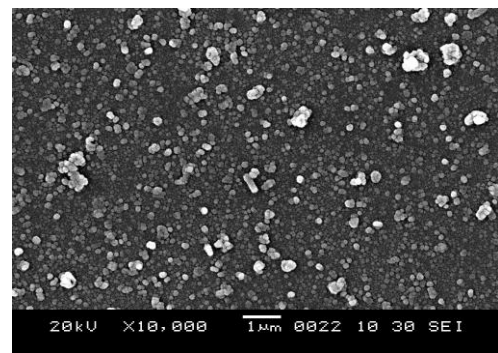
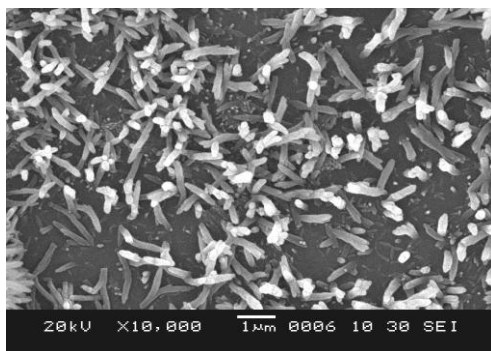
700°C



CaO



800°C

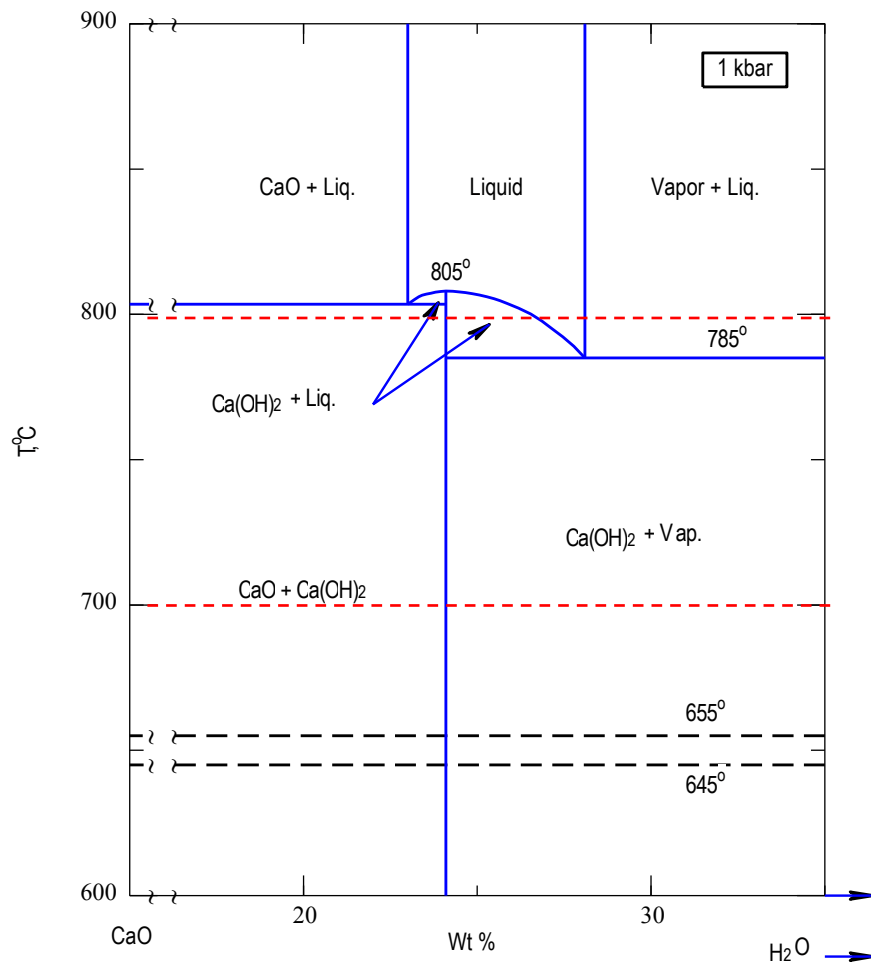
Ca(OH)₂

900°C

รูปที่ 4.5 ภาพถ่าย SEM เปรียบเทียบโครงสร้างจุลภาคของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาอุณหภูมิ 700 °C, 800 °C และ 900 °C กับโครงสร้างจุลภาคของผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์และแคลเซียมออกไซด์ทางการค้า

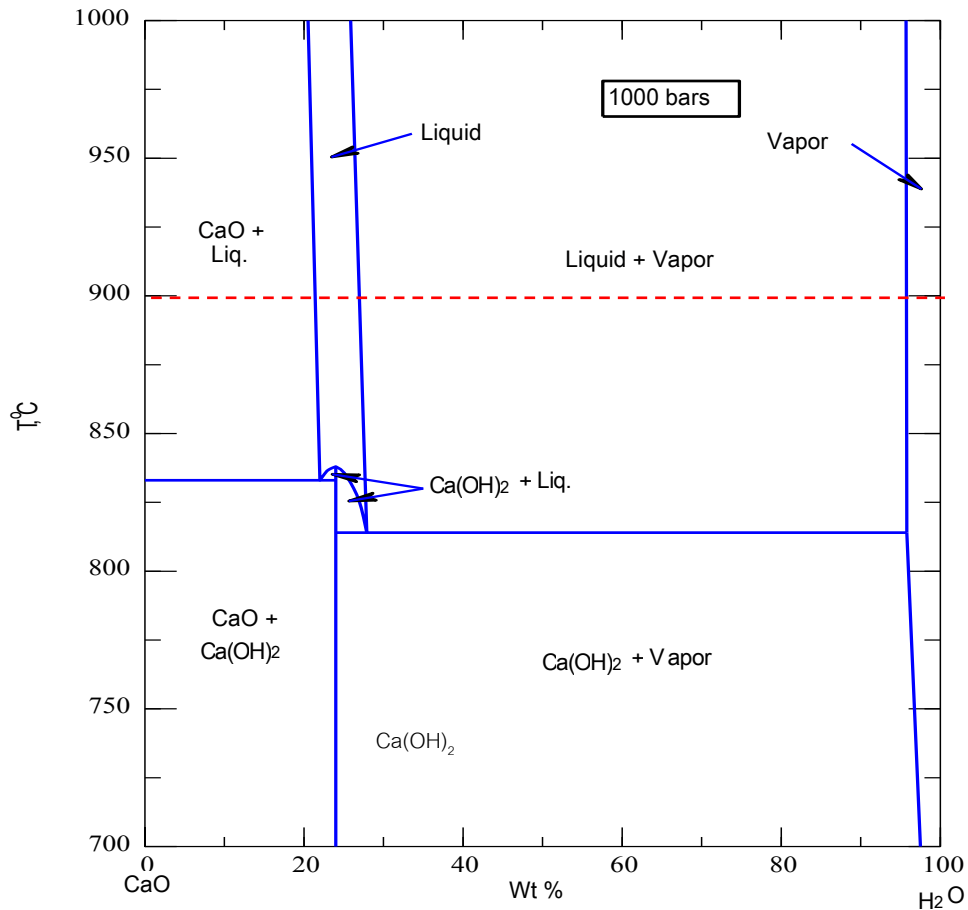
จากรูปที่ 4.5 แสดงการเปรียบเทียบโครงสร้างจุลภาคโดยภาพถ่าย SEM ของ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผา แคลไซน์ ที่อุณหภูมิ 700 °C, 800 °C และ 900 °C กับผง แคลเซียมออกไซด์และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ทางการค้า พบว่าโครงสร้างจุลภาคของ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เตรียมได้มีลักษณะเป็นแท่งเล็กๆทรงกระบอก มีลักษณะของหัวและท้ายแหลมเล็กคล้ายเข็ม ต่างจากโครงสร้างจุลภาคของแคลเซียมออกไซด์ทางการค้า ที่มีลักษณะเป็น แท่งรูปทรงกระบอก ไม่ยาวมาก เนื่องจากอุณหภูมิเผาแคลไซน์ที่ 700 °C และ 800 °C มีเฟสที่ ปรากฏส่วนใหญ่คือ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ซึ่งมีโครงสร้างจุลภาคเป็น Hexagonal (JCPDS card No. 00-044-1481) ทำให้โครงสร้างจุลภาค ที่พบเป็นแท่งที่ยาวกว่าผงแคลเซียมออกไซด์ทาง การค้าซึ่งมีโครงสร้างจุลภาคเป็น Cubic (JCPDS card No. 01-077-2376) แต่เมื่อพิจารณา โครงสร้างจุลภาคของแคล เซียมไฮดรอกไซด์ทางการค้ากลับไม่พบโครงสร้าง Hexagonal แต่อย่างใด แต่มีลักษณะเป็นอนุภาคที่ไม่มีรูปร่างเฉพาะ เป็นอนุภาคเล็กๆที่รวมตัวกัน และสำหรับ ผงเซรามิกเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C จากผล XRD พบว่าเฟสที่ปรากฏส่วนใหญ่เป็น แคลเซียมไฮดรอกไซด์ และแคลเซียมออกไซด์ แต่จากภาพ SEM ลักษณะโครงสร้างจุลภาค เป็น แท่งเล็กๆ รูปทรงกระบอก มีลักษณะของหัวและท้ายแหลมเล็กคล้ายเข็ม ไม่แตกต่างจากอุณหภูมิ เผาแคลไซน์ที่ 700 °C และ 800 °C

ดังนั้นเพื่อศึกษาเฟสที่เสถียร ณ อุณหภูมิต่างๆ จึงใช้แผนภูมิสมดุลของเฟสเพื่อพิจารณา เฟสที่เสถียร ณ อุณหภูมิ 700 °C 800 °C และ 900 °C ดังแสดงในรูปที่ 4.6



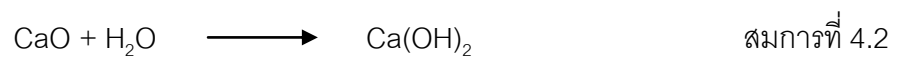
รูปที่ 4.6 แผนภูมิสมดุลของเฟสระหว่างแคลเซียมออกไซด์และน้ำกับอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง ในช่วง $600\text{ }^{\circ}\text{C} - 900\text{ }^{\circ}\text{C}$ ^[57]

จากรูปที่ 4.6 จะพบว่าที่อุณหภูมิ $700\text{ }^{\circ}\text{C}$ และ $800\text{ }^{\circ}\text{C}$ เฟสที่เสถียรคือแคลเซียมออกไซด์ และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งเมื่อ weight percent ของแคลเซียมออกไซด์เพิ่มมากขึ้นก็ยิ่งพบเฟสที่เสถียรคือแคลเซียมไฮดรอกไซด์มากขึ้น ดังแสดงในเส้น ประแนวนอนสีแดง แต่เมื่อพิจารณาที่ อุณหภูมิ $900\text{ }^{\circ}\text{C}$ จะพบเพียงเฟสแคลเซียมออกไซด์ที่เสถียรมากขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 แผนภูมิสมดุลของเฟสระหว่างแคลเซียมออกไซด์และน้ำกับอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง ในช่วง 700 °C – 1000 °C^[57]

นอกจากนี้ยังสามารถอ้างอิงได้จากหลักของเทอร์โมไดนามิกส์ (Thermodynamics) โดยการพิจารณาค่าของพลังงานอิสระกิบส์ (Gibbs free energy) ของสมการการเกิดแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Ca(OH)_2) ที่อุณหภูมิ 25°C



สามารถหาค่าพลังงานอิสระกิบส์ของปฏิกิริยาได้จากสมการ

$$\Delta G_{\text{rxn}} = \Delta H_{\text{rxn}} - T\Delta S_{\text{rxn}} \quad \text{สมการที่ 4.3}$$

หาค่า ΔH จาก

$$\Delta H_{\text{rxn}} = H_{\text{Ca(OH)}_2} - (H_{\text{H}_2\text{O}} + H_{\text{CaO}}) \quad \text{สมการที่ 4.4}$$

$$\begin{aligned} \Delta H_{\text{rxn}} &= (-986,090 \text{ J/mol}) - [(-285,830 \text{ J/mol}) + (-635,090 \text{ J/mol})] \\ &= -65,170 \text{ J/mol}^{[58]} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\Delta S_{\text{rxn}} &= S_{\text{Ca(OH)}_2} - (S_{\text{H}_2\text{O}} + S_{\text{CaO}}) && \text{สมการที่ 4.5} \\ &= 83.36 \text{ J/mol}\cdot\text{K} - (69.95 \text{ J/mol}\cdot\text{K} + 38.19 \text{ J/mol}\cdot\text{K}) \\ &= -24.78 \text{ J/mol}\cdot\text{K}^{[58]}\end{aligned}$$

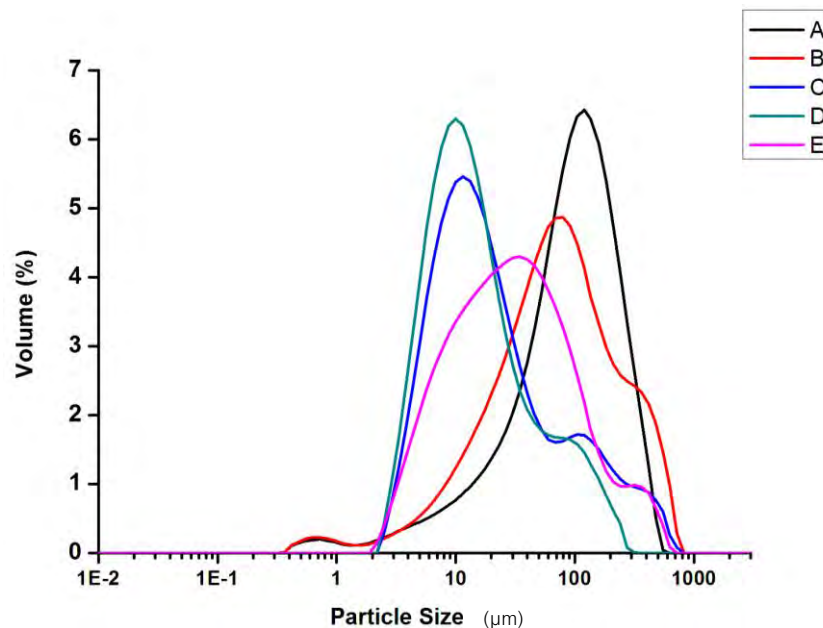
ดังนั้นจะได้ว่า ที่อุณหภูมิ 25°C หรือ 298 K

$$\begin{aligned}\Delta G_{\text{rxn}} &= (-65,170 \text{ J/mol}) - (298 \text{ K})(-24.78 \text{ J/mol}\cdot\text{K}) && \text{สมการที่ 4.6} \\ &= -57,785.56 \text{ J/mol}^{[58]}\end{aligned}$$

จะพบว่าค่า ΔG_{rxn} มีค่าเป็นลบที่สูงมากที่อุณหภูมิ 25 °C ดังนั้นปฏิกิริยานี้จึงสามารถเกิดได้เองที่อุณหภูมิต่ำ เป็นการยืนยันว่า Ca(OH)_2 เป็นเฟสที่เสถียรมากกว่าของ CaO

4.2.4 การกระจายของขนาดอนุภาค

หลังจากศึกษาโครงสร้างจุลภาคของผงเซรามิกที่เตรียมได้แล้ว และได้สังเกตขนาดของอนุภาคจากการวิเคราะห์โดยเทคนิค SEM พบว่า ผงเซรามิก หลังเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 500 °C และ 600 °C มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่าที่อุณหภูมิ 700 °C, 800 °C และ 900 °C เพื่อให้ทราบการกระจายของขนาดอนุภาค โดยละเอียด จึงวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Laser light scattering ดังแสดงผลในรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 การกระจายของขนาดอนุภาคของผงเซรามิกจากเปลือกไข่หลังเผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500 °C - 900 °C (A) 500 °C (B) 600 °C (C) 700 °C (D) 800 °C และ (E) 900 °C

จากรูปที่ 4.8 พบว่าลักษณะการกระจายตัวของขนาดอนุภาคของผงเซรามิกมีค่า 2 ช่วงด้วยกัน คือ ที่ 100 μm (อุณหภูมิการเผาแคลไซน์ที่ 500 °C และ 600 °C) และ 10 μm (อุณหภูมิเผาแคลไซน์ที่ 700 °C, 800 °C และ 900 °C) ซึ่งสอดคล้องกับขนาดผลึกของผงเซรามิกที่วิเคราะห์ได้ด้วยภาพถ่าย SEM ที่พบว่าผงเซรามิกเผาแคลไซน์ที่ 500 °C และ 600 °C มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่าผงเซรามิกที่ผ่านการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิสูงขึ้น

4.2.5 พื้นที่ผิวจำเพาะ

จากผลการวิเคราะห์ที่ผ่านมา พบว่าอุณหภูมิการเผาแคลไซน์มีผลต่อโครงสร้างจุลภาคและการกระจายขนาดของอนุภาคของผงเซรามิกและให้ผลในทางสอดคล้องกัน เพื่อยืนยันผลที่ได้อีกครั้งจึงนำผงเซรามิกที่เตรียมได้มาวิเคราะห์ลักษณะสมบัติอีกอย่างหนึ่ง นั่นคือพื้นที่ผิวจำเพาะ โดยเทคนิค BET ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 พื้นที่ผิวจำเพาะของผงเซรามิกจากเปลือกไข่หลังเผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500 °C - 900 °C

อุณหภูมิเผาแคลไซน์ (°C)	พื้นที่ผิวจำเพาะ (m^2/g)
500	0.51
600	0.78
700	5.46
800	5.14
900	5.30

ตารางที่ 4.1 แสดงพื้นที่ผิวจำเพาะของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เตรียมได้ พบว่าอุณหภูมิการเผาแคลไซน์ที่ 500°C และ 600°C พื้นที่ผิวจำเพาะมีค่าน้อยกว่า 1 ($0.51, 0.78 \text{ m}^2/\text{g}$) ในขณะที่เมื่ออุณหภูมิเผาแคลไซน์เพิ่มขึ้นเป็น 700°C, 800°C และ 900°C พื้นที่ผิวจำเพาะมีค่าเพิ่มมากขึ้น ($5.46, 5.14, 5.30 \text{ m}^2/\text{g}$) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์โครงสร้างจุลภาคและการกระจายของขนาดอนุภาคก่อนหน้านี้ ซึ่งพบว่าผงเซรามิกเผาแคลไซน์ที่ 500 °C และ 600 °C มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่าที่อุณหภูมิ 700 °C 800 °C และ 900 °C ซึ่งจากผลดังกล่าว ผงเซรามิกเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 500°C และ 600°C ควรที่จะมีพื้นที่ผิวจำเพาะน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 700°C 800°C และ 900°C

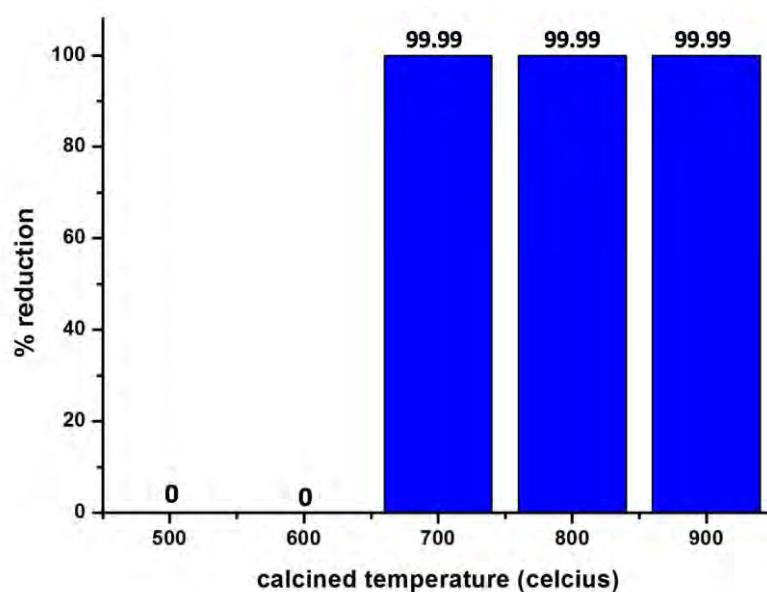
4.3 สมบัติด้านแบคทีเรียของผงเซรามิกจากเปลือกไข่หลังเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิระหว่าง 500-900 °C

หลังจากวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของผงเซรามิกจากเปลือกไข่หลังเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิต่างๆแล้ว ได้ศึกษาสมบัติด้านแบคทีเรียของผงเซรามิกที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค spread plate โดยเลือกทดสอบกับแบคทีเรียทั้งชนิด Gram-negative และ Gram-positive

4.3.1 สมบัติด้านแบคทีเรียชนิด Gram-positive

แบคทีเรียชนิด Gram-positive เป็นแบคทีเรียชนิดที่เมื่อย้อมด้วยสีแกรมแล้วเซลล์สามารถติดสีน้ำเงินเข้มหรือ อม่วง ในขณะที่แบคทีเรียชนิด Gram-negative จะย้อม ติดสีแดง โครงสร้างผนังเซลล์ ของแบคทีเรียชนิด Gram-positive จะมี 2 ชั้น คือ Cell membrane และ Peptidoglycan

Staphylococcus aureus หรือ *S. aureus* เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Gram-positive และเป็นหนึ่งในแบคทีเรียชนิดที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วง ดังนั้นเราจึงเลือก *S. aureus* เป็นตัวแทนแบคทีเรียชนิด Gram-positive ในการทดสอบสมบัติด้านแบคทีเรีย ของผงเซรามิกที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค spread plate และรายงานผลออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์การลดลงของแบคทีเรียหลังสัมผัสกับผงเซรามิกที่เตรียมได้ดังแสดงผลการทดสอบในรูปที่ 4.11



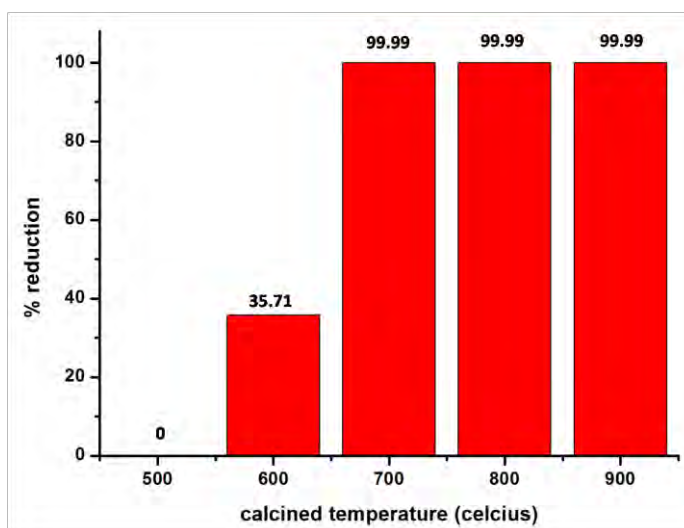
รูปที่ 4.9 กราฟแสดงสมบัติด้านแบคทีเรียชนิด Gram-positive ของผงเซรามิกจากเปลือกไข่หลังเผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500°C - 900°C

จากรูปที่ 4.9 จะพบสมบัติต้านแบคทีเรียชนิด Gram-positive ได้ถึง 99.99% ของผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผาแคลไซน์ ที่อุณหภูมิ 700°C ขึ้นไปเท่านั้น ซึ่งแสดงว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์และแคลเซียมออกไซด์ซึ่งเป็นเฟสที่พบมากที่สุดในผงเซรามิกกลุ่มนั้น มีสมบัติต้านแบคทีเรียชนิด Gram-positive ได้

4.3.2 สมบัติต้านแบคทีเรียชนิด Gram-negative

แบคทีเรียชนิด Gram-negative เป็นแบคทีเรียชนิดที่เมื่อย้อมด้วยสีแกรมแล้วเซลล์สามารถติดสีแดงได้ โดยมีโครงสร้างผนังเซลล์ 3 ชั้น คือ Inner membrane, Peptidoglycan และ Outer membrane

Escherichia coli หรือ *E. coli* เป็นแบคทีเรียชนิด Gram-negative และเป็นหนึ่งในกลุ่มแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วง ดังนั้นในการทดสอบสมบัติต้านแบคทีเรียของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ จึงเลือก *E. coli* เป็นตัวแทนแบคทีเรียชนิด Gram-negative ในการทดสอบด้วยเทคนิค spread plate ดังแสดงผลการทดสอบดังรูปที่ 4.10

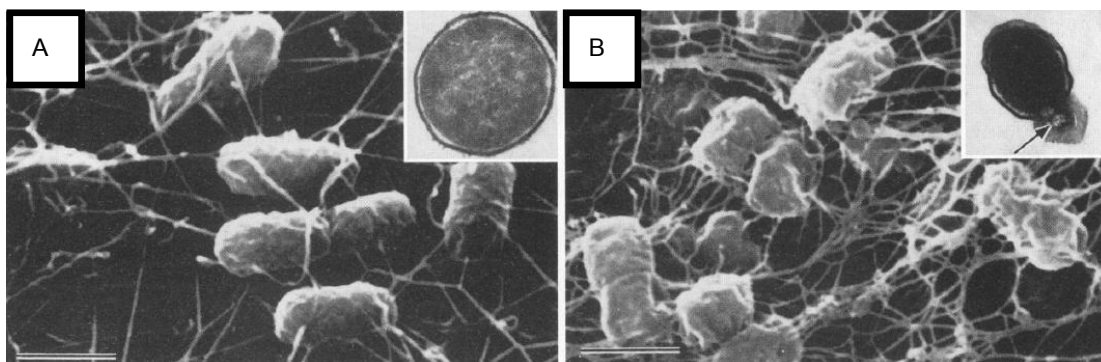


รูปที่ 4.10 กราฟแสดงสมบัติต้านแบคทีเรียชนิด Gram-negative ของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500°C - 900°C

จากรูปที่ 4.10 พบว่าผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผา คัลไซน์ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 700 °C ขึ้นไปจะแสดงสมบัติต้านแบคทีเรียได้มากที่สุด คือ 99.99% แสดงว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์และแคลเซียมออกไซด์ซึ่งเป็นเฟสที่พบมากที่สุดในผงเซรามิกกลุ่มนั้น มีสมบัติต้านแบคทีเรียชนิด Gram-negative ได้

4.3.3 กลไกการต้านแบคทีเรีย

จากงานวิจัยที่ศึกษาการตายของแบคทีเรียโดยสารต้านแบคทีเรียต่างๆพบว่า ค่า pH ที่สูงของสารละลายที่แบคทีเรียอาศัยอยู่เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้แบคทีเรียตาย Mendonca, A.F. และคณะ^[59]พบว่าที่ pH 12 Cytoplasmic membrane ของผนังเซลล์อ่อนแอลง เนื่องจากชั้นนี้จะประกอบด้วยโมเลกุลของโปรตีนและไขมัน ดังนั้นเมื่อสารละลายรอบผนังเซลล์มีค่า pH มาก จะทำให้โปรตีนในชั้นของผนังเซลล์เกิดการละลายและไขมันเกิดปฏิกิริยา saponification ได้ ซึ่งปฏิกิริยานี้จะทำให้เกิดบริเวณที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic site) บนผนังเซลล์มากขึ้น และเนื่องจากความแข็งแรงของผนังเซลล์ขึ้นอยู่กับการจัดเรียงตัวของโมเลกุลโปรตีนและไขมัน เมื่อชั้นโปรตีนและไขมันของเซลล์แบคทีเรียถูกรบกวนด้วย ภาวะค่า pH สูงมากจนเกิดการละลายและปฏิกิริยา saponification ก็จะทำให้การจัดเรียงโมเลกุลเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ส่งผลให้ผนังเซลล์อ่อนแอลงง่ายขึ้น อาจทำให้เซลล์บวมและแตกได้ในที่สุด ดังแสดงการ แตกของเซลล์แบคทีเรียเมื่ออยู่ในภาวะ pH 12 ในรูปที่ 4.11^[59]

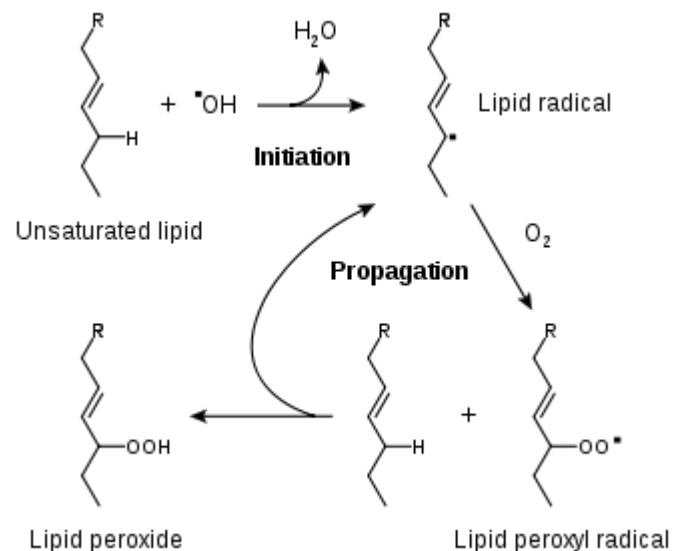


รูปที่ 4.11 ผลของค่า pH ที่สูงต่อการแตกของเซลล์แบคทีเรีย (A) pH 9 (B) pH 12^[59]

จากรูปที่ 4.11 ภาพถ่าย SEM แสดงให้เห็นการเปรียบเทียบโครงสร้างของเซลล์ *E. coli* ที่อยู่ในภาวะ pH ที่ต่างกัน ภาพ A คือ *E. coli* ที่อยู่ใน pH 9 ส่วนภาพ B คือ *E. coli* ที่อยู่ใน pH 12 จากภาพจะพบว่า *E. coli* ที่อยู่ในภาวะ pH มากกว่า (B) จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์อย่างเห็นได้ชัดคือผนังเซลล์จะเสียรูปร่างและเหี่ยวยุบ นอกจากนี้ ของเหลวภายในเซลล์ยังแตกออกมาจากการที่ผนังเซลล์ถูกทำลายด้วย

นอกจากนี้ Estrela C และคณะ^[52]ได้กล่าวถึงกลไกของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในการทำลายจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยศึกษาผลของ pH ต่อเมตาบอลิซึมและการเจริญของเซลล์แบคทีเรีย ผลการทดลองพบว่าไฮดรอกไซด์ไอออน (OH^-) ที่แตกตัวจากโมเลกุลของ

แคลเซียมไฮดรอกไซด์จะมีผลต่อ Cell membrane ของแบคทีเรียมากที่สุด โดย Cell membrane ของแบคทีเรียมีความสำคัญต่อชีวิตของแบคทีเรียอย่างมาก เนื่องจากมีหน้าที่ควบคุมการทำงานต่างๆของเซลล์ เช่น เมตาบอลิซึม การแบ่งเซลล์ การเจริญ การสร้างโ ิมเลกุลไขมัน การถ่ายเท อิเล็กตรอนภายในเซลล์ และยังช่วยให้เกิดการสร้างผนังเซลล์อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นเพื่อให้การทำงานต่างๆที่กล่าวมาข้างต้นสมบูรณ์ ภาวะ pH ภายใน Cell membrane ที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญ การที่เซลล์แบคทีเรียอยู่ในภาวะที่มี ความเข้มข้นของ ไฮดรอกซิล ไอออนสูง จะทำให้เกิดความเสียหายต่อ Cell membrane คือ ทำลายโิมเลกุลโปรตีนและไขมันบน Cell membrane โดยจะทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพ (denaturation) หรือเกิดการคลายเกลียว (uncoiling) และทำลายโิมเลกุล ไขมันที่เรียกว่า unsaturated lipid โดยเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation หรือ saponification^[52] ดังแสดงในรูปที่ 4.12^[60] เมื่อโิมเลกุลโปรตีนและไขมันถูกทำลายก็จะทำให้ cell membrane ไม่สามารถทำหน้าที่ต่างๆภายในเซลล์ได้

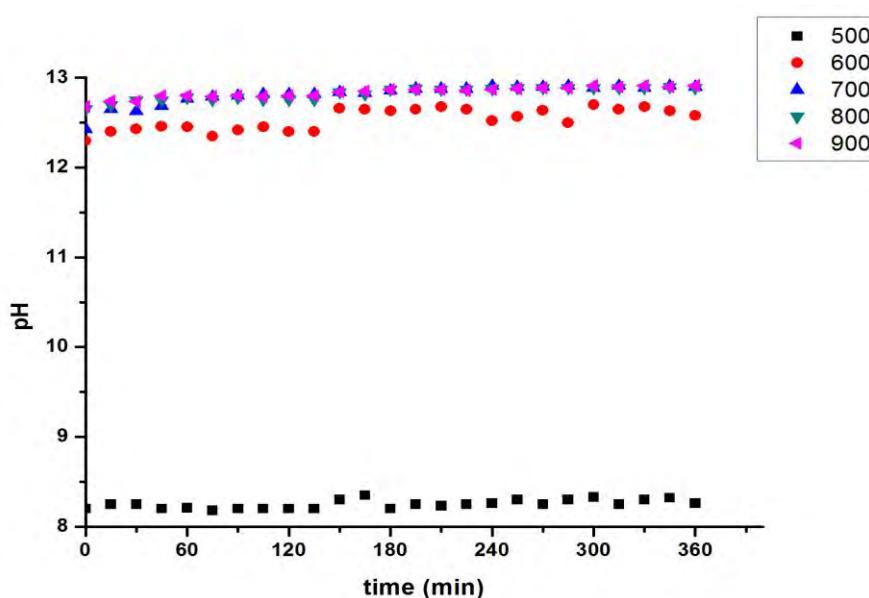


รูปที่ 4.12 ปฏิกิริยา Lipid peroxidation หรือ saponification ของไฮดรอกไซด์ไอออนต่อโิมเลกุล ไขมันบน Cell membrane^[60]

จากรูปที่ 4.12 ปฏิกิริยา Lipid peroxidation เกิดจาก hydroxyl radical ซึ่งมีความว่องไวในการทำปฏิกิริยาจะรวมตัวกับไฮโดรเจนอะตอมของโิมเลกุลไขมัน เกิดเป็นโิมเลกุลน้ำและ Lipid radical เมื่อ Lipid radical ทำปฏิกิริยากับโิมเลกุลออกซิเจนทำให้เกิดเป็น Lipid peroxy radical ซึ่ง radical ที่เกิดมานี้สามารถเหนี่ยวนำ โิมเลกุลไขมันตัวที่สองให้

ถูกออกซิไดซ์ต่อไป เกิดเป็น Lipid peroxy radical ตัวใหม่และเกิดเป็น ปฏิกิริยาลูกโซ่ (Chain reaction) ทำให้โมเลกุลไขมันบน Cell membrane ถูกทำลาย นอกจากนี้ไฮดรอกซิลไอออนยังส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ของแบคทีเรีย และเซลล์แบคทีเรียตายในที่สุด^[61] ดังนั้น เราจึงสามารถกล่าวได้ว่าค่า pH สูงเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เซลล์แบคทีเรียตายได้

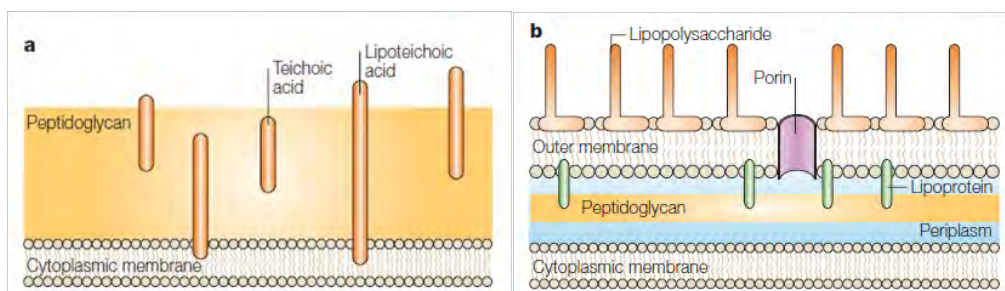
จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้น จึงได้ศึกษาค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงไปต่อเวลาของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่ สังเคราะห์ได้ ผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 0.05 W/V เพื่อศึกษากลไกการต้านแบคทีเรีย ดังแสดงผลในรูปที่ 4.13



รูปที่ 4.13 กราฟแสดงค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงไปทุกๆ 15 นาทีของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่ผ่านการเผาแคลไซน์ในช่วงอุณหภูมิ 500 °C -900 °C แล้วนำมาผสมกับน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 0.05 % W/V เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง

จากรูปที่ 4.13 จะพบว่าผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 500°C มีค่า pH ประมาณ 8 ส่วนอุณหภูมิเผาแคลไซน์ ที่สูงขึ้นไป (600 °C , 700 °C , 800 °C และ 900 °C) มีค่าประมาณ 12-13 ซึ่งสอดคล้องกับผลการต้านแบคทีเรีย ยกเว้นอุณหภูมิเผาแคลไซน์ที่ 600 °C จากผลการทดสอบสมบัติต้านแบคทีเรียชนิด *E. coli* ของผงเซรามิกเผาแคลไซน์ที่ 600 °C พบว่าต้านได้ 35.71% แต่ไม่ต้านแบคทีเรียชนิด *S. aureus* เลย เนื่องจากโครงสร้างผนัง เซลล์ที่ต่างกันของแบคทีเรียทั้งสองชนิด โดย *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิด Gram-negative ผนังเซลล์จะประกอบด้วยโมเลกุลของไขมันและโปรตีนมากกว่าชนิด Gram-positive โดยเฉพาะในชั้นของ

Outer membrane ซึ่งประกอบด้วย Lipopolysaccharide และ Lipoprotein ดังแสดงในรูปที่ 4.14^[16]



รูปที่ 4.14 แบบจำลองโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียชนิด Gram-positive (a) เปรียบเทียบกับชนิด Gram-negative (b)^[16]

จากรูปที่ 4.14 จะพบว่าผนังเซลล์ของแบคทีเรียชนิด Gram-positive มีโมเลกุลไขมันและโปรตีนน้อย โดย ผนังเซลล์ชั้นนอกเป็น Peptidoglycan ที่หนาประมาณ 20-80 nm ประกอบด้วยโมเลกุล Polysaccharide และ Peptide เชื่อมกันด้วยพันธะโควาเลนต์ ทำให้ผนังเซลล์มีความแข็งแรง เนื่องจากมีความหนาและยืดหยุ่นน้อย นอกจากนี้ Peptidoglycan จะช่วยให้ Cell membrane ทนต่อความดันต่างๆ ภายในเซลล์ด้วย^[59] ในขณะที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียชนิด Gram-negative ในชั้น Outer membrane ประกอบด้วยโมเลกุลไขมันและโปรตีนที่เรียกว่า Lipopolysaccharide และ Lipoprotein ทำให้ง่ายต่อการเกิดปฏิกิริยา Lipid peroxidation หรือ saponification ในภาวะ pH ที่สูงถึง 12^[11]

จากความแตกต่างของผนังเซลล์ของแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้เอง ทำให้ผงเซรามิกเผาแคลไซต์ที่อุณหภูมิ 600 °C ให้สมบัติต้านแบคทีเรีย *E. coli* ซึ่งอยู่ในกลุ่ม Gram-negative 35.71 % ในขณะที่แบคทีเรียชนิด *S. aureus* ไม่ต้านเลย เมื่อพิจารณาปริมาณของเฟสที่ปรากฏของผงเซรามิกเผาแคลไซต์ ที่อุณหภูมิ 600 °C พบว่ามีแคลเซียมคาร์บอเนต 83.77% และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 16.23% ดังนั้น ค่า pH ที่สูงถึง 12 จึงมาจากการแตกตัวของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งสามารถแตกตัวเป็นแคลเซียมและไฮดรอกซิลไอออนได้ 100%

ดังนั้นถึงแม้ภาวะ pH จะสูงถึง 12 ก็ตาม ปัจจัยที่ส่งผลต่อกลไกการต้านแบคทีเรียของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่สังเคราะห์ได้คือ ปริมาณของเฟสแคลเซียมไฮดรอกไซด์และแคลเซียมออกไซด์ นั่นคือ ผงเซรามิกที่มีปริมาณเฟสแคลเซียมออกไซด์หรือแคลเซียมไฮดรอกไซด์มากเพียงพอจึงจะมีสมบัติต้านแบคทีเรีย โดยพบว่าอุณหภูมิเผาแคลไซต์ที่ 700 °C ขึ้นไปจะให้

เฟสดังกล่าวได้มากที่สุด และให้สมบัติด้านแบคทีเรียทั้งชนิด Gram-positive และ Gram-negative ได้ดี

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสมบัติด้านแบคทีเรียของแคลเซียมออกไซด์ โดย Sawai J และคณะ^[63] ได้ศึกษาการเกิดอนุภาคที่มีสมบัติเป็นตัวออกซิไดซ์ของผงเซรามิก 3 ชนิด คือ แมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) ซิงค์ออกไซด์ (ZnO) และ แคลเซียมออกไซด์ (CaO) โดยนำผงเซรามิกทั้ง 3 ชนิดผสมในน้ำกลั่นและตรวจวัดด้วยเทคนิค Chemiluminescence analysis และ Oxygen electrode analysis ผลการทดลองพบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H₂O₂) ในสารละลายของ ZnO และพบซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O₂⁻) ในสารละลายของ MgO และ CaO ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวได้เสนอปัจจัยที่ทำให้ CaO มีสมบัติด้านแบคทีเรียคือ การเกิด ซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O₂⁻) ซึ่งมีความว่องไวในการทำปฏิกิริยามาก โดยจะทำให้เกิด Oxidative stress^[64] ขึ้นภายในเซลล์แบคทีเรีย รบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึม ทำลาย DNA โมเลกุลไขมันและโปรตีนบนเซลล์เมมเบรน

นอกจากภาวะ pH สูงและการเกิดสารที่ว่องไวในการทำปฏิกิริยา (Active species) แล้ว อุณหภูมิยังส่งผลต่อการทำลายแบคทีเรียด้วยเช่นกัน ดังแสดงในงานวิจัยของ Ellajosyula KR และคณะ^[42] ที่ศึกษาภาวะที่ทำลายเซลล์แบคทีเรียชนิด *E. coli* O157:H7 ผลการทดลองพบว่า ถ้าให้ค่า pH คงที่ที่ 5.2 แบคทีเรียจะถูกทำลายที่ภาวะอุณหภูมิและเวลาต่างกัน คือ 43.3 °C ในเวลา 20 ชั่วโมง 46.1 °C ในเวลา 10 ชั่วโมง และ 48.9 °C ในเวลา 3 ชั่วโมง จะพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น เวลาที่ทำให้แบคทีเรียถูกทำลายก็จะน้อยลง นั่นแสดงว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อสมบัติด้านแบคทีเรีย

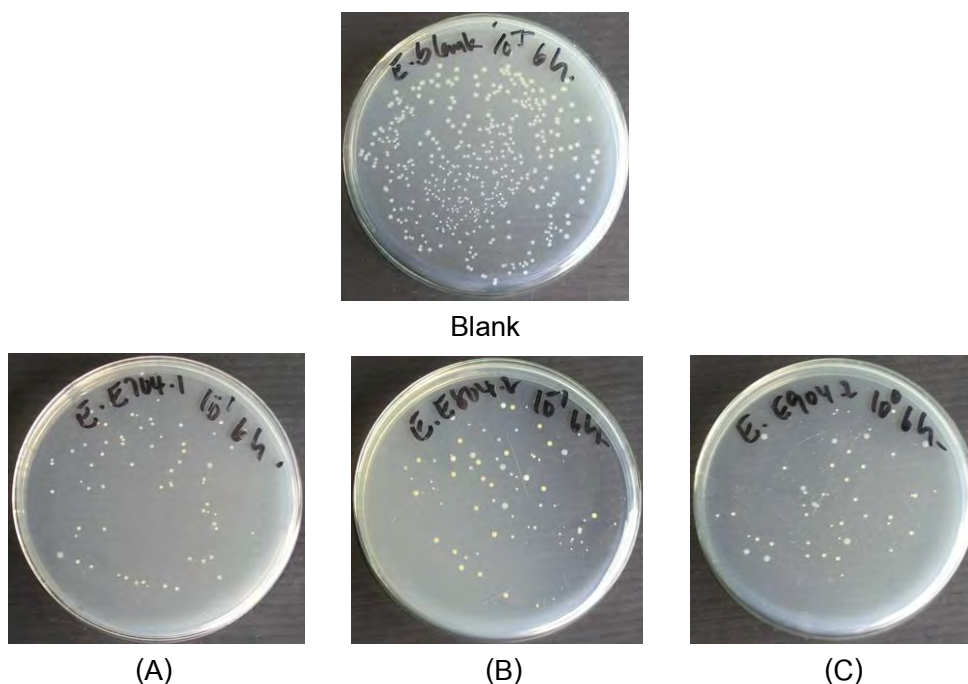
เมื่อพิจารณาสมการ 4.2 ซึ่งเป็นการทำปฏิกิริยาของแคลเซียม ออกไซด์กับน้ำเกิดเป็นแคลเซียมไฮดรอกไซด์ จะพบว่าเป็นปฏิกิริยาคายความร้อนเนื่องจากค่า ΔH (enthalpy) ของปฏิกิริยามีค่าเป็นลบ ดังนั้นความร้อนที่เกิดขึ้นจึงอาจจะเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้แบคทีเรียถูกทำลายได้

เมื่อพิจารณาปัจจัยต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการทำลายเซลล์แบคทีเรียแล้ว จะพบว่าผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่สังเคราะห์ได้มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับกลไกการต้านแบคทีเรียคือ ปริมาณของเฟสแคลเซียมไฮดรอกไซด์และแคลเซียมออกไซด์ ค่า pH ที่สูง^[59] การเกิดสารที่ว่องไวในการทำปฏิกิริยา^[63] และอุณหภูมิที่เกิดจากปฏิกิริยาคายความร้อนของแคลเซียมออกไซด์กับน้ำ

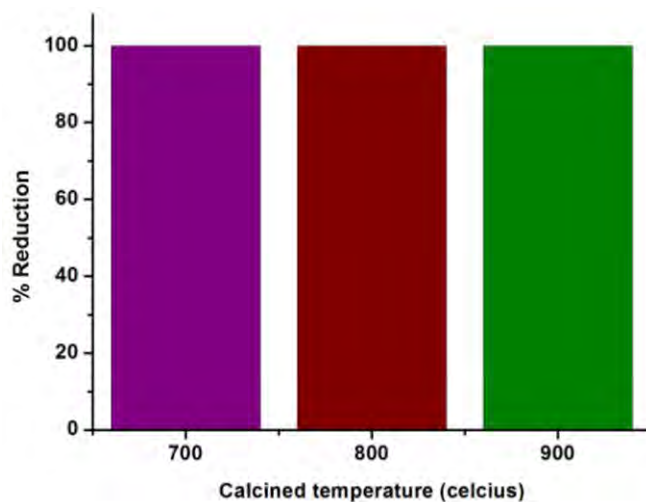
4.4 การประยุกต์ใช้งานผงเซรามิกจากเปลือกไข่เพื่อใช้เป็นผงล้างผักผลไม้

แนวทางหนึ่งในการประยุกต์ใช้ผงเซรามิกจากเปลือกไข่คือ ผงล้างผักผลไม้ เนื่องจากในปัจจุบันคุณภาพของผักผลไม้ในท้องตลาดต่ำลง นอกจากการปนเปื้อนของสารเคมีแล้ว ระบบการจัดเก็บรวมถึงความสะอาดของตลาดล้วนส่งผลต่อคุณภาพของผักผลไม้ ดังนั้นเพื่อเป็นทางเลือกให้ผู้บริโภค การใช้ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ซึ่งผ่านการทดสอบแล้วว่ามีสมบัติต้านแบคทีเรียจึงเป็นที่น่าสนใจ ซึ่งจากการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติต่างๆที่ผ่านมา สามารถยืนยันได้ชัดเจนว่าผงเซรามิกจากเปลือกไข่ หลังเผาแคลไซน์ ที่อุณหภูมิ 700 °C ขึ้นไปจะแสดงสมบัติต้านแบคทีเรียได้ดีที่สุด ดังนั้นจึงทดสอบประสิทธิภาพของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่สังเคราะห์ได้กับผักผลไม้กลุ่มตัวอย่างเพื่อประเมินผลในเชิงการใช้งานจริง

รูปแบบการทดสอบประสิทธิภาพของผงเซรามิกที่สังเคราะห์ได้ในสภาวะการใช้ งานที่มีผักผลไม้อยู่ด้วยนั้น จะเลือกผงเซรามิก เคาแคลไซน์ ที่ 700°C ขึ้นไป เนื่องจากให้สมบัติต้านแบคทีเรียได้ดีที่สุด และเลือกองุ่นเป็นผลไม้ที่ใช้อ้างอิง เนื่องจากองุ่นเป็นผลไม้ที่นิยมโดยทั่วไปและมีขนาดผล เล็กก็พอดีกับขวดทดลองเพื่อทดสอบสมบัติต้านแบคทีเรีย *E. coli* โดยเทคนิค spread plate ดังแสดงผลการทดสอบในรูปที่ 4.15 และ 4.16



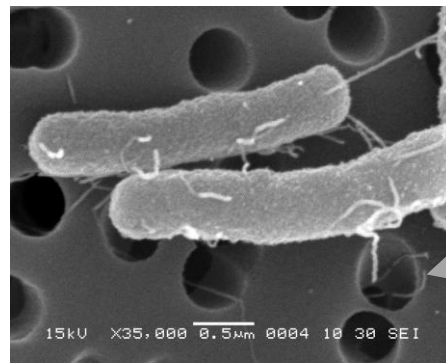
รูปที่ 4.15 สมบัติต้านแบคทีเรียชนิด *E. coli* ของผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ (A) 700 °C (B) 800 °C และ (C) 900 °C ในภาวะที่มีผลองุ่นอยู่ด้วย



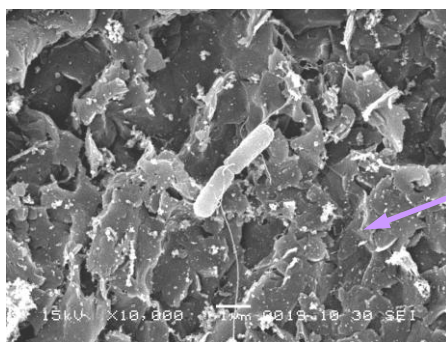
รูปที่ 4.16 สมบัติต้านแบคทีเรียชนิด *E. coli* ของผงเซรามิกเผาจากเปลือกไข่แคลไซต์ที่อุณหภูมิ 700 °C, 800 °C และ 900 °C ในภาวะที่มีผลองุ่นอยู่ด้วย

จากรูปที่ 4.15 และ 4.16 จะพบว่าผงเซรามิกเผาแคลไซต์ที่อุณหภูมิ 700 °C, 800 °C และ 900 °C ให้สมบัติต้านแบคทีเรีย ชนิด *E. coli* ได้ดีถึงแม้ว่ามีผลองุ่นอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ด้วยก็ตาม แสดงถึงประสิทธิภาพสำหรับใช้งานเพื่อเป็นผนังผักและผลไม้

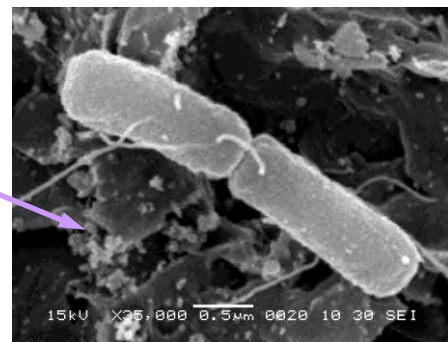
เพื่อบ่งชี้ว่าผิวของผักผลไม้ที่ต่างกัน เช่น ผิวเรียบหรือผิวขรุขระที่มีชอกหลืบให้แบคทีเรียอาศัยอยู่จะมีผลต่อประสิทธิภาพการทำลายเซลล์แบคทีเรีย ของผงเซรามิกที่สังเคราะห์ได้ อย่างไร จึงเพิ่มการทดลองเพื่อทดสอบสมบัติต้านแบคทีเรียกับผักผลไม้ ที่มีลักษณะของพื้นผิวต่างกัน โดยเลือกองุ่นเป็นตัวแทนผลไม้ที่มีผิวเรียบและ ผักกาดหอมเป็นตัวแทนของ ผักที่มีผิวขรุขระ โดยตัดชิ้นส่วนขององุ่นและผักกาดหอมให้มีขนาดเล็กประมาณ 2 ซม. x 3 ซม. เพื่อที่จะนำไปใส่ในขวดเลี้ยงเชื้อ โดยเลือกผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผาแคลไซต์ที่อุณหภูมิ 500 °C เปรียบเทียบกับ 700 °C จากนั้นนำชิ้นส่วนขององุ่นและผักกาดหอมมาสังเกตลักษณะเซลล์ *E. coli* ที่ถูกทำลายบนพื้นผิวนั้นด้วยเทคนิค SEM ดังแสดงผลการทดสอบในรูปที่ 4.17 – 4.18



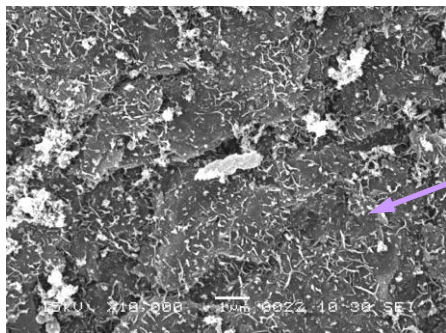
E. coli (blank)



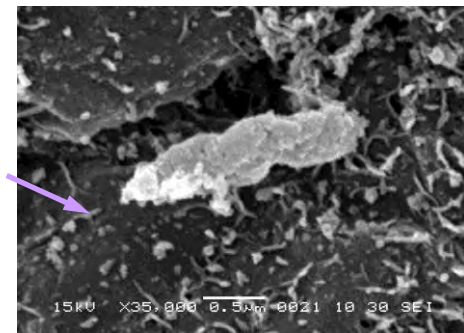
(A)



(B)



(C)

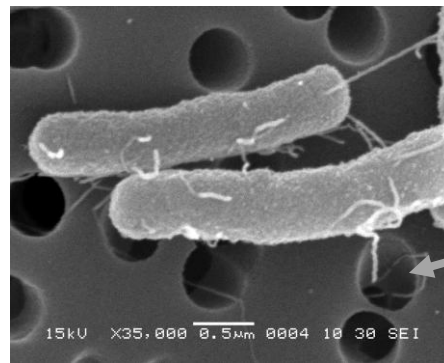


(D)

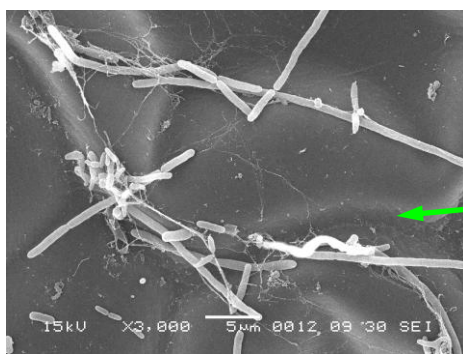
รูปที่ 4.17 โครงสร้างจุลภาคของเซลล์ *E. coli* บนผิวขรุขระเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้งานเพื่อต้านแบคทีเรียของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์ 500°C (A),(B) และ 700°C (C),(D)

จากรูปที่ 4.17 จะสังเกตได้อย่างชัดเจนว่าผงเซรามิก เเผาเคลือบที่ 500°C ไม่มีสมบัติด้านแบคทีเรีย (A),(B) เนื่องจากเซลล์ *E. coli* ที่พบมีรูปร่างเหมือนกับเซลล์ตัวอย่าง (blank) นั่นคือมีรูปร่างเป็นแท่งทรงกระบอก ในขณะที่ผงเซรามิก เเผาเคลือบที่ 700°C สามารถทำลาย *E. coli* ได้ (C),(D) เนื่องจากโครงสร้างจุลภาคของเซลล์ *E. coli* เปลี่ยนแปลงไปอย่างเห็นได้ชัด เซลล์มีลักษณะลีบแบนลงแตกต่างจากเซลล์ตัวอย่างอย่างสิ้นเชิง ดังนั้นผงเซรามิกจากเปลือกไข่หลังเผาเคลือบที่อุณหภูมิ 700°C สามารถประยุกต์ใช้งานกับผลไม้ที่มีผิวเรียบเช่นองุ่นได้

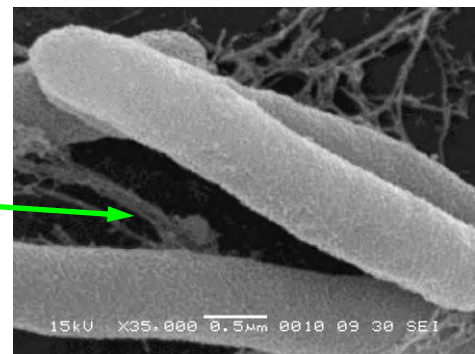
และเพื่อวิเคราะห์ว่าผงเซรามิกที่สังเคราะห์ได้สามารถใช้งานกับผักผลไม้ที่มีผิวขรุขระหรือไม่ จึงทดสอบสมบัติด้านแบคทีเรียของผงเซรามิกอ้างอิงกับผักกาดหอมซึ่งเป็นผักที่มีผิวขรุขระและมีซอกหลืบเหมาะกับการอาศัยของแบคทีเรีย ดังแสดงผลการทดสอบดังรูปที่ 4.18



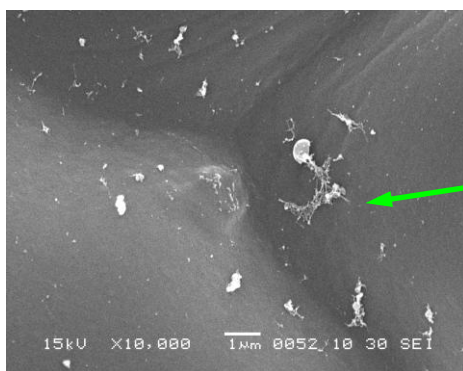
E. coli (blank)



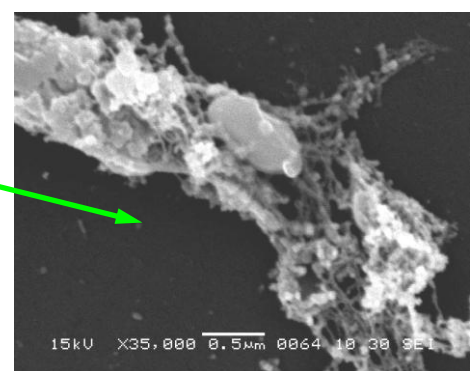
(A)



(B)



(C)



(D)

รูปที่ 4.18 โครงสร้างจุลภาคของ *E. coli* บนผิวผักกาดหอมเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้งานเพื่อต้านแบคทีเรียของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์ 500°C (A),(B) และ 700°C (C),(D)

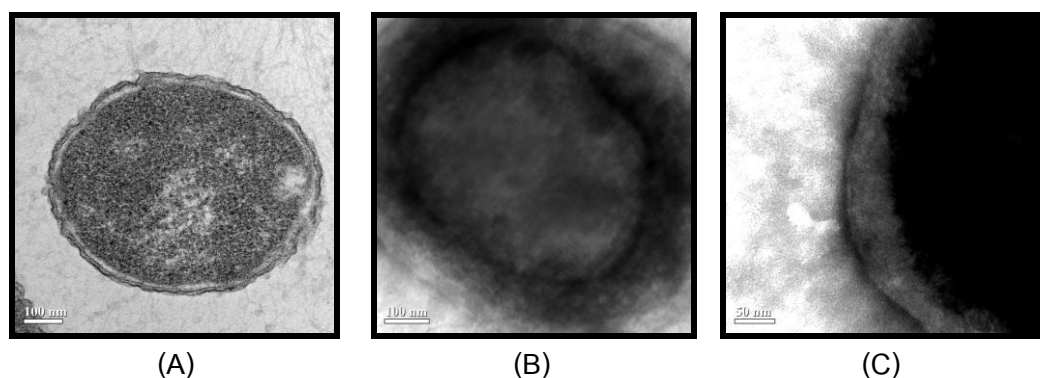
จากรูปที่ 4.18 จะพบว่าโครงสร้างจุลภาคของ *E. coli* บนผิวไบผักกาดที่ทดสอบกับผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผาแคลไซต์ที่ 500°C ยังคงสภาพเป็นแท่งทรงกระบอกเหมือนเดิม (A),(B) ซึ่งสอดคล้องกับบนผิวของุ่น แต่สามารถสังเกตได้ว่าไม่พบ flagella บนเซลล์ของ *E. coli* ในขณะที่เซลล์ *E. coli* ในภาวะที่มีผงเซรามิกเผาแคลไซต์ที่ 700 °C เปลี่ยนรูปร่างไปจากเดิมมากและไม่พบ flagella บนเซลล์ *E. coli* เช่นกัน (C),(D) ซึ่งอาจเกิดจากสารต้านแบคทีเรียทำลาย เซลล์ส่วนนี้ทำให้ไม่สามารถเกาะผิวสัมผัสได้ดี

หลังจากวิเคราะห์โครงสร้างจุลภาคของเซลล์ *E. coli* ด้วยเทคนิค SEM เพื่อเปรียบเทียบสมบัติการต้านแบคทีเรียในภาวะที่มีผลของุ่น และผักกาดหอมแล้ว สามารถสรุปได้ว่า ผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผาแคลไซต์ที่ 700 °C มีประสิทธิภาพสามารถประยุกต์ใช้เป็นผนังผักและผลไม้ได้ไม่ว่าจะเป็นชนิดผิวเรียบหรือผิวขรุขระก็ตาม

4.5 ลักษณะเซลล์แบคทีเรียหลังสัมผัสกับผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผาแคลไซต์ที่ 700 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยเทคนิค Transmission Electron Microscope

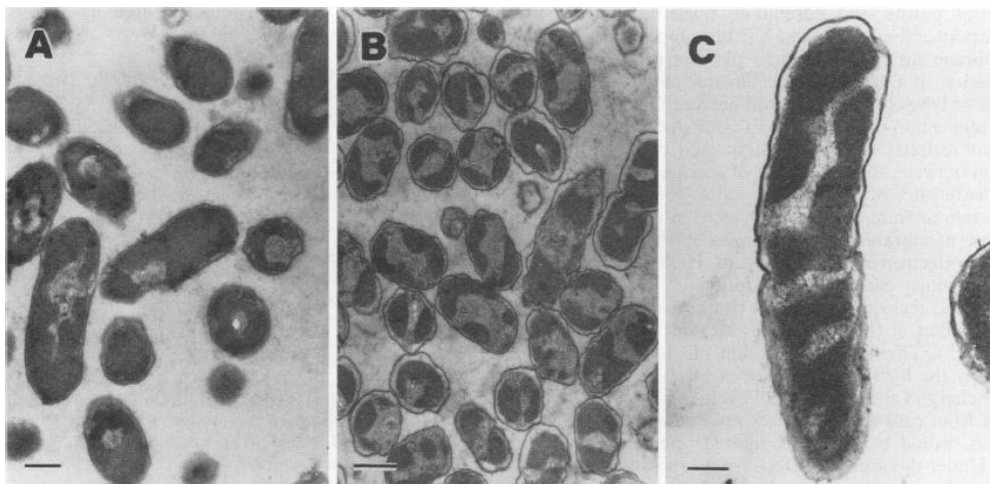
เพื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM จึงได้ทำการทดลองเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์แบคทีเรียโดยละเอียดมากยิ่งขึ้น โดยเลือก แบคทีเรียชนิด *E. coli* เป็นแบคทีเรียอ้างอิง เช่นเดียวกัน และเลือกผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผาแคลไซต์ที่อุณหภูมิ 700 °C เป็นตัวแทนผงเซรามิกที่สังเคราะห์ได้เนื่องจากให้สมบัติต้านแบคทีเรียได้ดี

หลังจากให้ผงเซรามิกเผาแคลไซต์ที่ 700 °C สัมผัสกับเซลล์ *E. coli* เป็นเวลา 6 ชั่วโมงแล้วจึงนำมาวิเคราะห์ลักษณะเซลล์ *E. coli* ที่เปลี่ยนแปลงไปด้วยเทคนิค TEM ดังแสดงผลการวิเคราะห์ในรูปที่ 4.19



รูปที่ 4.19 ลักษณะเซลล์ *E. coli* ปกติ (A) เปรียบเทียบกับเซลล์ *E. coli* หลังสัมผัสผงเซรามิกเผาแคลไซต์ที่ 700 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง (B),(C)

จากรูปที่ 4.19 จะพบว่าเมื่อเปรียบเทียบลักษณะเซลล์ *E. coli* ที่ระดับกำลังขยายเท่ากัน เซลล์ *E. coli* ที่สัมผัสกับผงเซรามิกเป็นเวลา 6 ชั่วโมงมีลักษณะบวมใหญ่ขึ้น อย่างเห็นได้ชัด เมื่อเทียบกับเซลล์ *E. coli* ปกติ และเมื่อพิจารณาถึงลักษณะผนังเซลล์โดยละเอียดมากขึ้นในภาพ (C) จะพบว่าผนังเซลล์มีลักษณะหนาขึ้นกว่าปกติ มาก เกิดความแตกต่างของบริเวณที่มีมืดและสว่าง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mendonca A.F.^[59] ที่พบว่าภาวะ pH 12 จะทำให้เซลล์เมมเบรนของแบคทีเรียอ่อนแอและมีลักษณะบวม ซึ่งอาจทำให้เซลล์แตกออก ของเหลวภายในเซลล์รั่วไหลออกมา จากภาพ TEM ยังพบว่าเกิดบริเวณที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดคือ บริเวณที่สว่าง และมีด โดยสามารถอธิบายได้จากสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) ของ DNA เนื่องจาก DNA มีคุณสมบัติเป็นโมเลกุลที่มีความเป็นลบ (highly negatively charge) และสามารถละลายน้ำได้ที่ภาวะ pH สูง^[65] ซึ่งจากคุณสมบัติดังกล่าวนี้เองจึงทำให้ DNA สามารถถูกทำลายโดยภาวะ pH สูงได้ง่าย ส่วนโมเลกุลอื่นๆภายในเซลล์ เช่น โปรตีน ก็จะมาแทนที่ DNA ที่ถูกทำลายไป ดังแสดงให้เห็นในบริเวณที่มีดของภาพ TEM ดังแสดงในรูปที่ 4.20^[59]



รูปที่ 4.20 ภาพ TEM ของแบคทีเรียชนิดต่างๆในภาวะ pH 12 (A) *L. monocytogenes*
(B) *E. coli* O157:H7 (C) *S. enteritidis* ATCC 13706^[59]

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมผงเซรามิกจากเปลือกไข่เพื่อต้านแบคทีเรีย และวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของผงเซรามิกที่เตรียมได้ รวมถึงกลไกการต้านแบคทีเรียและประสิทธิภาพในการใช้งานเพื่อเป็นผงล้างผักผลไม้ โดยสามารถสรุปได้ดังนี้

1. คุณสมบัติการเผาแคลไซน์ของผงเซรามิกจากเปลือกไข่มีผลต่อการเกิดเฟสแคลเซียมไฮดรอกไซด์และแคลเซียมออกไซด์รวมถึงปริมาณของเฟสที่เกิดขึ้น โดยพบว่าที่ $600\text{ }^{\circ}\text{C}$ จะเริ่มพบเฟสแคลเซียมไฮดรอกไซด์และเมื่ออุณหภูมิ เเผาแคลไซน์ เพิ่มขึ้นเป็น $700\text{ }^{\circ}\text{C}$ จะเกิดเฟสแคลเซียมไฮดรอกไซด์ได้มากที่สุด
2. ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์อุณหภูมิ $700\text{ }^{\circ}\text{C}$ ขึ้นไปจะแสดงสมบัติ ด้านแบคทีเรียได้ดีที่สุด โดย เฟสที่ให้สมบัติต้านแบคทีเรียคือแคลเซียมไฮดรอกไซด์และแคลเซียมออกไซด์
3. สมบัติต้านแบคทีเรียของผง เซรามิก จากเปลือกไข่ ที่สังเคราะห์ได้สามารถทำลายแบคทีเรียได้ทั้งชนิด Gram-positive และ Gram-negative
4. กลไกที่สำคัญในการต้านแบคทีเรียของผงเซรามิกที่สังเคราะห์ได้คือ ปริมาณของเฟสแคลเซียมไฮดรอกไซด์และแคลเซียมออกไซด์ที่เพียงพอ

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการวิจัยและทดลองนี้สามารถทำการพัฒนาและปรับปรุงได้ดังนี้

- 1) ศึกษาปัจจัยอื่นที่ส่งผลต่อการเกิดเฟสแคลเซียมออกไซด์ เช่น เวลาที่ใช้ในการเผาแคลไซน์ เพื่อให้ได้สมบัติการต้านแบคทีเรียที่ดียิ่งขึ้น
- 2) ศึกษาวิธีการเตรียมเพื่อให้ได้สมบัติการดูดซับ เพื่อให้ผงเซรามิกที่สังเคราะห์ได้สามารถดูดซับยาฆ่าแมลงหรือสารพิษที่อยู่ในผักผลไม้ได้ด้วย

รายการอ้างอิง

- [1] Xu, Y., Cheng, J., Zheng, W. and Gao, D. Study on the preparation and properties of silver-doped borosilicate. J Non-Cryst Solids 354 (2008) : 1341-1345.
- [2] Yang, T.C., Chou, C.C. and Li, C.F. Antibacterial activity of N-alkylated disaccharide chitosan derivatives. Int J Food Microb 97 (2005) : 237-245.
- [3] Mishra, S., Karmodiya, K., Parasuraman, P., Surolia, A. and Surolia, N. Design, synthesis, and application of novel triclosan produgs as potential antimicrobial and antibacterial agents. Bioorgan Med Chem 16 (2008) : 5536-5546.
- [4] Klein, D.R., Flannelly, D.F. and Schultz, M.M. Quantitative determination of triclocarban in wastewater effluent by stir bar sorptive extraction and liquid desorption-liquid chromatography-tandem mass spectroscopy. J Chromatogr 1217 (2010) : 1742-1747.
- [5] Trapalis, C.C., Keivanidis, P., Kostas, G., Zaharescu, M., Crisan, M., Szatvanyi, A. and Gartenner, M. TiO₂(Fe³⁺) nanostructured thin films with antibacterial properties. Thin Solid Films 433 (2003) : 186-190.
- [6] Dan, Z.G., Ni, H.W., Xu, B.F., Xiong, J. and Xiong, P.Y. Microstructure and antibacterial properties of AISI 420 stainless steel implanted by copper ions. Thin Solid Films 492 (2005) : 93-100.
- [7] Jeon, H.J., Yi, S.C. and Oh, S.G. Preparation and antibacterial effects of Ag-SiO₂ thin films by sol-gel method. Biomaterials 24 (2003) : 4921-4928.
- [8] Sawai, J. Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay. J Microbiol Meth 54 (2003) : 177-182.
- [9] Whitman, W.B., Coleman, D.C. and Wiebe, W.J. Prokaryotes: the unseen majority. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 95 12 (1998) : 6578-6583.
- [10] Thomson, R. and Bertram, H. Laboratory diagnosis of central nervous system infections. Infect Dis Clin N Am 4 (2001) : 1047-1071.

- [11] General Microbiology [online]. Available from:
<http://www.cehs.siu.edu/fix/medmicro/genmicr.htm>[2009, August 28]
- [12] Dan, Z.G., Ni, H.W., Xu, B.F., Xiong, J. and Xiong, P.Y. Microstructure and antibacterial properties of AISI 420 stainless steel implanted by copper ions. Thin Solid Films 492 (2005) : 93-100.
- [13] Hanna-Leena Alakomi. 2007. Weakening of the Gram-negative bacterial outer membrane : A tool for increasing microbiological safety. Academic Dissertation Division of Microbiology Department of Applied Chemistry and Microbiology University of Helsinki.
- [14] Enzymes for Bacterial cells [online]. Available from:
<http://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/learning-center/lysing-enzymes.html>[2010, May 5]
- [15] ศิวพร ศิวาเวช. 2542. การศูษาภิบาลโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร. ปริญญาานิพนธ์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [16] Staphylococcus aureus [online]. Available from: http://www.fisheries.go.th/rgm-samutsa/download/Staphylococcus%20aureus_1.pdf[2008, April 2]
- [17] วรุฒิ เจริญศิริ. เชื้ออีโคไล O157:H7 คืออะไร [online]. Available from:
<http://www.bangkokhealth.com/index.php/2009-01-19-04-20-20/951--o157h7->
[2010, April 1]
- [18] Chang, J.M. and Fang, T.J. Survival of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella enterica serovars Typhimurium in iceberg lettuce and antimicrobial effect of rice vinegar against E. coli O157:H7. Food Microbiol 24 (2007) : 745-751.
- [19] Food poisoning [online]. Available from:
http://epid.moph.go.th/fact/Food_Poisoning.htm[2010, February 10]
- [20] Acute Diarrhea [online]. Available from:
http://www.dpc1.in.th/epidemic/index.php?option=com_content&task=view&id=14&Itemid=28[2010, March 3]

- [21] Xie, W., Xu, P., Wang, W. and Liu, Q. Preparation and antibacterial activity of a water-soluble chitosan derivative. Carbohydr Polym 50 (2002) : 35-40.
- [22] Mungkalasiri, J., Bedel, L., Emieux, F., Dore, J., Renard, F.N.R. and Muay F. DLI-CVD of TiO₂-Cu antibacterial thin film: Growth and characterization. Surf Coat Tech 204 (2009) : 887-892.
- [23] Nunzio, S.D., Brovarone, C.V., Spriano, S., Milanese, D., Verne, E., Bergo, V., Maina, G. and Spinelli, P. Silver containing bioactive glasses prepared by molten salt ion-exchange. J Eur Ceram Soc 24 (2004) : 2935-2942.
- [24] Sawai, J., Igarashi, H., Hashimoto, A., Kokugan, T. and Shimizu, M. Evaluation of growth inhibitory effect of ceramic powder slurry on bacteria by conductance method. J Chem Eng Jpn 28 (1995) : 288-293.
- [25] Calcium Oxide [online]. Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Calcium_oxide[2010, March 27]
- [26] Quick lime [online]. Available from: <http://www.cheresources.com/quicklime.shtml>[2010, April 1]
- [27] Self-heating can [online]. Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Self-heating_can[2010, March 13]
- [28] Sond, I. and Salopek-Sondi, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. J Colloid Interface Sci 275 (2004) : 177-182.
- [29] นางสาวธัญชัชฐา วงศ์ประทัด. 2551. การแทรกอนุภาคเงินระดับนาโนในดินเหนียวสำหรับประยุกต์เพื่อต้านแบคทีเรีย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีเซรามิก ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [30] Catalano, C.R. and Knabel, S.J. Incidence of Salmonella in Pennsylvania egg processing plants and destruction by high pH. J Food Protect 57 (1994) : 587-591.

- [31] Teo, Y.L., Raynor, T.J., Ellajosyula, K.R. and Knabel, S.J. Syneristic effect of high temperature and high pH on the destruction of Salmonella Enteritidis and Escherichia coli O157:H7. J Food Protect 59 (1996) : 1023-1030.
- [32] Ellajosyula, K.R., Doores, S., Mills, E.W., Wilson, R.A., Anantheswaran, R.C. and Knabel, S.J. Destruction of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella Typhimurium in Lebanon bologna by interaction of fermentation pH, heating temperature and time. J Food Protect 61 (1996) : 152-157.
- [33] เพ็ญธิรัตน์ อัครผลสุวรรณ., อาหารอินทรีย์ปลอดภัยจริงหรือ, 782.: คลังข้อมูล สพท, 2552
- [34] Surfcera [online]. Available from: www.surfcera.co.jp[2010, March 18]
- [35] Du, Y., Zhao, Y., Dai, S. and Yang, B. Preparation of water-soluble chitosan from shrimp shell and its antibacterial activity. Innov Food Sci Emerg 10 (2009) : 103-107.
- [36] Hyung, J.J., Yi, S.C. and Oh, S.G. Preparation and antibacterial effects of Ag-SiO₂ thin films by sol-gel method. Innov Food Sci Emerg 10 (2009) : 103-107.
- [37] Sawai, J., Igarashi, H. and Kojima H. Kinetic analysis of the bactericidal action of heated scallop-shell powder. Int J Food Microbiol 71 (2001) : 211-218
- [38] Sawai, J. Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay. J Microb Meth 54 (2003) : 177-182.
- [39] Zhang, L., Ding, Y., Povey, M., York, D.. ZnO nanofluids – A potential antibacterial agent. Prog Nat Sci 18 (2008) : 939-944.
- [40] Sawai, J Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay. J Microbiol Meth 54 (2003) : 177-182.
- [41] Ribeiro, C.S., Kuteken, F.A., Hirata Junior, R. and Scelza, M.F.Z. Comparative evaluation of antimicrobial action of MTA, Calcium hydroxide and Portland cement. J Appl Oral Sci 14 (2006) : 330-333.

- [42] Estrela, C., Sydney, G.B., Bammann, L.L. and Felipe Junior, O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. Braz Dent J 6 (1995) : 85-90.
- [43] Sawai, J Heated scallop-shell powder slurry treatment of shredded cabbage. J Food Protect 64 (2001) : 1579-1583.
- [44] Spread plate[online]. Available from:
<http://www.microbelibrary.org/ASMOOnly/details.asp?id=2320&Lang>[2006, October 9]
- [45] ผศ. ดร. ดุจฤทัย พงษ์เก่า คณะวิชา. 2551. ซิลเวอร์ : สาระที่ยังการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย. วารสารเซรามิกส์ (พฤษภาคม-สิงหาคม) : 89-93.
- [46] Dilution plate count technique[online]. Available from: <http://www.electrical-res.com/dilution-plate-count-technique/>[2009, August 3]
- [47] Acers and NIST. 2004. Phase Equilibria Diagrams version 3.0.1. The United states of American : The American Ceramic Society
- [48] NIST Standard Reference Data. 2008. NIST standard reference data. the United States of America : Standard Reference Data Act.
- [49] Mendonca, A.F., Amoroso, T.L. and Knabel, S.J. Destruction of Gram-negative food-borne pathogenes by high pH involves disruption of the cytoplasmic membrane. Appl Environ Microb 60 (1994) : 4009-4014.
- [50] Lipid peroxidation[online]. Available from:
http://en.wikipedia.org/wiki/Lipid_peroxidation[2010, April 20]
- [51] Estrla, C. and Holland, R. Calcium hydroxide : Study based on scientific evidences. J Appl Oral Sci 11 (2003) : 269-282.
- [52] Lipid peroxidation[online]. Available from:
<http://student.ccbcmd.edu/courses/bio141/lecguide/unit1/prostruct/diseases/enterococcus/u1fig9b.html>[2007, October 4]
- [53] Lipid peroxidation[online]. Available from:
<http://student.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanua/lab16/diseases/nmeningitidis/u1fig10b.html>[2005, August 17]

- [54] Sawai, J., Kawada, E., Kanou, F., Igarashi, H., Hashimoto, A., Kokugan, T. and Shimizu, M. Detection of active oxygen generated from ceramic powders having antibacterial activity. J Chem Eng Jpn 29 (1996) : 627-633.
- [55] Farr, S.B. and Kogoma, T. Oxidative stress response in Escherichia coli and Salmonella typhimurium. Microbiol Rev 55 (1991) : 561-585.
- [56] Nick Oswald. The Basics: How Phenol Extraction Works[online]. Available from: <http://bitesizebio.com/2008/02/12/the-basics-how-phenol-extraction-works/>[2008, February 12]

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ตารางที่ ก-1 แสดงค่า 2θ , intensity และ hkl ของ Calcium carbonate ซึ่งเป็นข้อมูลมาตรฐาน จาก 2003 JCPDS-International Centre for Diffraction Data (PCPDFWIN) หมายเลข JCPDS 01-086-0174

Pattern : 01-086-0174		Radiation = 1.540598		Quality : Alternate		
Ca(CO ₃)		2th	i	h	k	l
Calcium Carbonate Calcite, syn		23.058	99	0	1	2
		29.399	999	1	0	4
		31.422	19	0	0	6
		35.981	139	1	1	0
		39.417	176	1	1	3
		43.171	149	2	0	2
		47.122	65	0	2	4
		47.482	187	0	1	8
		48.505	193	1	1	6
		56.581	31	2	1	1
		57.417	87	1	2	2
		58.060	11	1	0	10
		60.683	51	2	1	4
		60.994	23	2	0	8
		61.364	24	1	1	9
		63.065	19	1	2	5
		64.683	58	3	0	0
		65.582	32	0	0	12
		69.193	10	2	1	7
		70.230	19	0	2	10
		72.896	27	1	2	8
		73.682	6	3	0	6
		76.300	11	2	2	0
		77.138	19	1	1	12
		78.453	1	2	2	3
		80.260	1	1	3	1
		80.971	5	3	1	2
		81.521	22	2	1	10
		82.070	3	0	1	14
		83.797	40	1	3	4
		84.825	18	2	2	6
		85.906	1	3	1	5
		86.451	4	1	2	11
Lattice : Rhombohedral S.G. : R-3c (167) a = 4.98800 c = 17.06800 Z = 6		Mol. weight = 100.09 Volume [CD] = 367.76 Dx = 2.712 Dm = 2.710 l/lcor = 3.22				
ICSD collection code: 080869 Temperature factor: ATF Remarks from ICSD/CSD: REM TEM 295. Remarks from ICSD/CSD: REM DEN. Additional pattern: See PDF 85-1108 and PDF 5-586. Data collection flag: Ambient.						

ตารางที่ ก-2 ค่า 2θ , intensity และ hkl ของ Calcium hydroxide ซึ่งเป็นข้อมูลมาตรฐานจาก 2003 JCPDS-International Centre for Diffraction Data (PCPDFWIN) หมายเลข JCPDS 00-044-1481

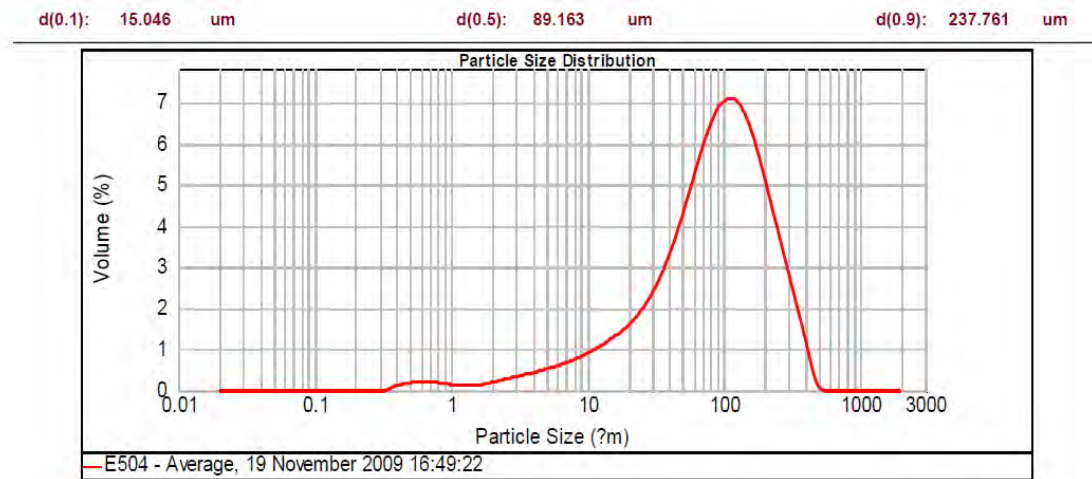
Pattern : 00-044-1481		Radiation = 1.540598		Quality : High		
Ca(OH) ₂		2th	i	h	k	l
		18.008	72	0	0	1
		28.672	27	1	0	0
		34.102	100	1	0	1
Calcium Hydroxide		36.527	1	0	0	2
Portlandite, syn		47.121	30	1	0	2
		50.813	31	1	1	0
		54.358	14	1	1	1
		56.092	1	0	0	3
		59.426	3	2	0	0
		62.634	9	2	0	1
		64.233	7	1	0	3
		*64.233	7	1	1	2
		71.811	6	2	0	2
		77.654	1	0	0	4
		79.095	2	1	1	3
		81.909	2	2	1	0
		84.751	5	1	0	4
		*84.751	5	2	1	1
		86.197	2	2	0	3
		93.209	3	2	1	2
		96.029	2	3	0	0
		98.882	2	1	1	4
		*98.882	2	3	0	1
		103.142	1	0	0	5
		106.066	1	2	0	4
		107.578	2	2	1	3
		110.520	1	1	0	5
		118.268	1	2	2	0
Lattice : Hexagonal		Mol. weight = 74.09				
S.G. : P-3m1 (164)		Volume [CD] = 54.87				
a = 3.58990	Z = 1	Dx = 2.242				
c = 4.91600		l/cor = 2.90				
Color : White Sample source or locality : Sample obtained from σ Chemical Co. General comments : Average relative standard deviation in intensity of the ten strongest reflections for three specimen mounts = 2.2%. Additional pattern : Validated by a calculated pattern. Optical data : A=1.545, B=1.574, Sign=- Deleted and rejected by : Deleted by 4-733 which is satisfactory. Data collection flag : Ambient.						

ตารางที่ ก-3 แสดงค่า 2θ , intensity และ hkl ของ Calcium oxide ซึ่งเป็นข้อมูลมาตรฐานจาก 2003 JCPDS-International Centre for Diffraction Data (PCPDFWIN) หมายเลข JCPDS 01-074-1226

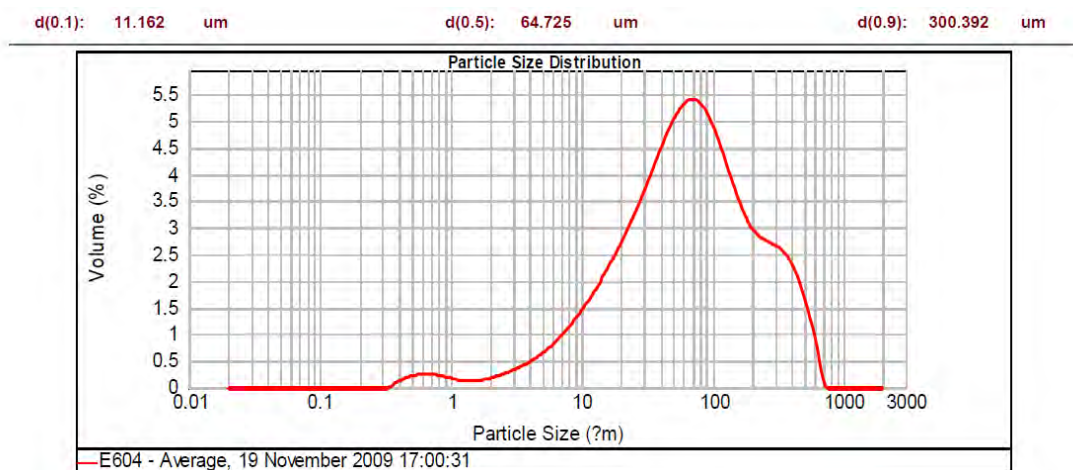
Pattern : 01-074-1226		Radiation = 1.540598				Quality : Calculated
CaO		2th	i	h	k	l
		32.429	418	1	1	1
		37.621	999	2	0	0
		54.258	493	2	2	0
Calcium Oxide		64.647	124	3	1	1
Lime		67.901	127	2	2	2
		80.312	48	4	0	0
		89.293	40	3	3	1
Lattice : Face-centered cubic		Mol. weight = 56.08				
S.G. : F23 (196)		Volume [CD] = 109.08				
a = 4.77800		Dx = 3.415				
		Dm = 3.300				
	Z = 4	I/Icor = 4.51				
<p>ICSD collection code: 026959 Test from ICSD: No R value given. Test from ICSD: At least one TF missing. Test from ICSD: Calc. density unusual but tolerable. Additional pattern: See PDF 43-1001. Data collection flag: Ambient.</p>						

ภาคผนวก ข

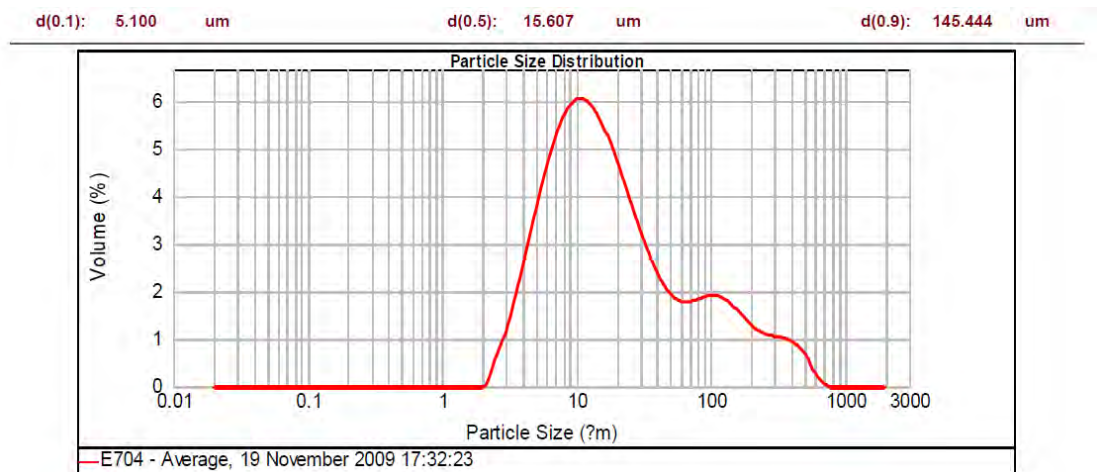
แสดงการกระจายขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง Particle size Analyzer รุ่น 2000 ผลิตโดยบริษัท Malvern โดยใช้เทคนิค Laser Light Scattering



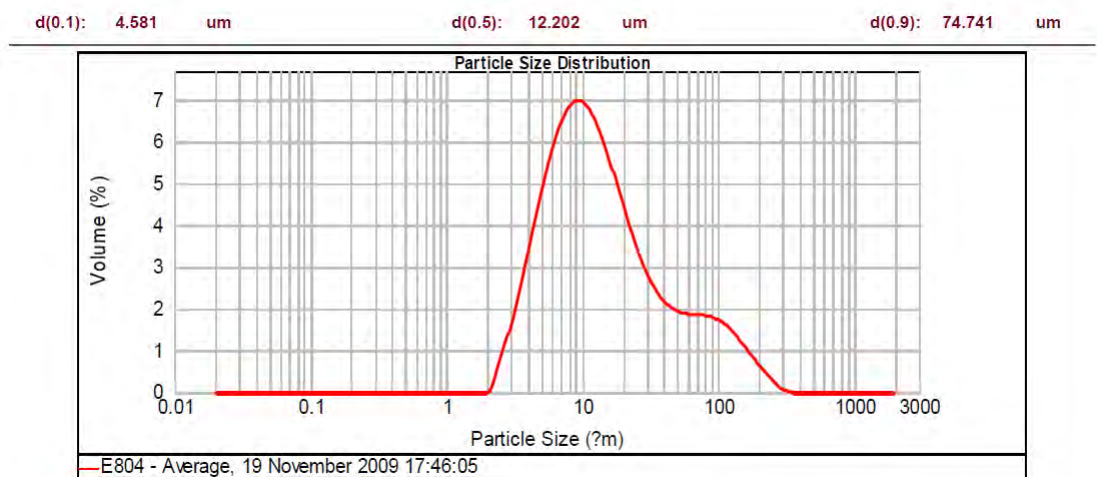
รูปที่ ข-1 การกระจายขนาดอนุภาคของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์อุณหภูมิ 500°C



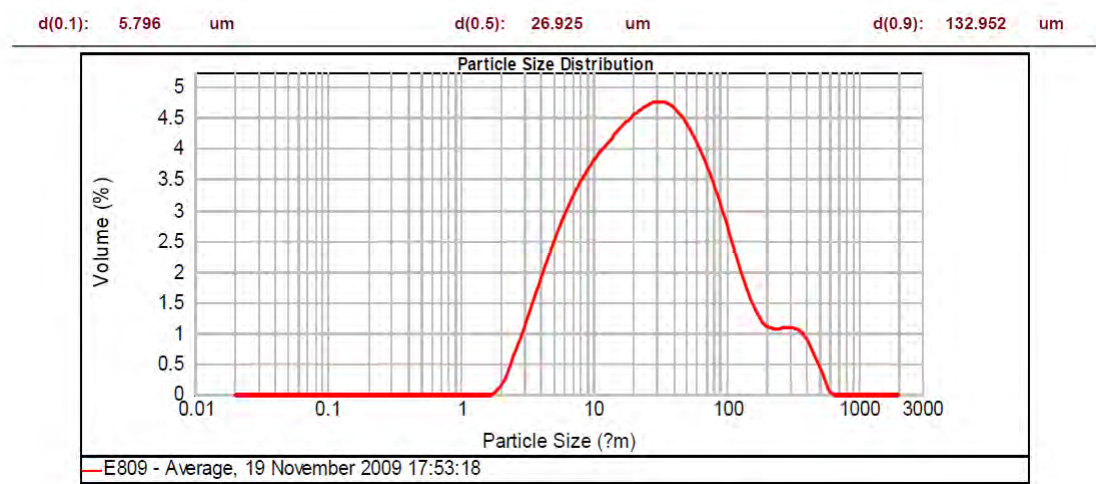
รูปที่ ข-2 การกระจายขนาดอนุภาคของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์อุณหภูมิ 600°C



รูปที่ ข-3 การกระจายขนาดอนุภาคของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์อุณหภูมิ 700°C



รูปที่ ข-4 การกระจายขนาดอนุภาคของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์อุณหภูมิ 800°C



รูปที่ ข-5 การกระจายขนาดอนุภาคของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์อุณหภูมิ 900°C

ภาคผนวก ค

ตารางที่ ค-1 ผลการทดสอบการรื้อด้านแบคทีเรีย *S. aureus* ของผงเซรามิกจากเปลือกไข่เผาเคลือบที่อุณหภูมิต่างๆ

Sample	The number of bacteria CFU/ml (6 h.)	% Reduction
Blank	4.4×10^8	-
E504	8.8×10^8	0
E604	7.8×10^8	0
E704	3.0×10^2	99.99
E804	4.2×10^3	99.99
E904	80	99.99

กำหนดให้

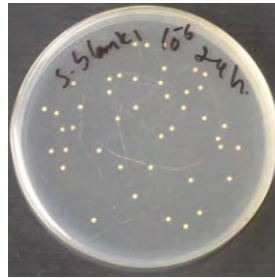
E504 คือ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาเคลือบที่อุณหภูมิ 500°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

E604 คือ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาเคลือบที่อุณหภูมิ 600°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

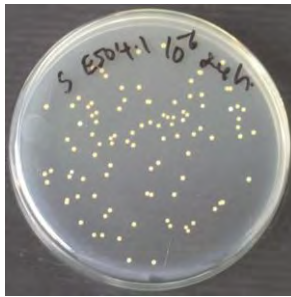
E704 คือ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาเคลือบที่อุณหภูมิ 700°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

E804 คือ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาเคลือบที่อุณหภูมิ 800°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

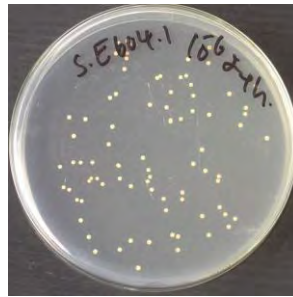
E904 คือ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาเคลือบที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง



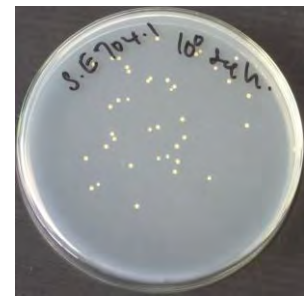
Blank



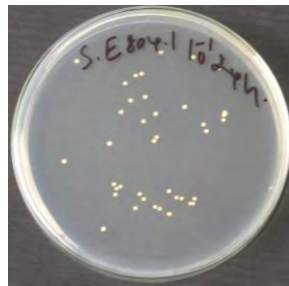
E504



E604



E704



E804



E904

รูปที่ ค-1 สมบัติการต้านแบคทีเรียของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิต่างๆ

กำหนดให้

E504 คือ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์อุณหภูมิ 500°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

E604 คือ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์อุณหภูมิ 600°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

E704 คือ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์อุณหภูมิ 700°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

E804 คือ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์อุณหภูมิ 800°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

E904 คือ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

ตารางที่ ค-2 ผลการทดสอบการต้านแบคทีเรีย *E. coli* ของผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์
ที่อุณหภูมิต่างๆ

Sample	The number of bacteria CFU/ml (6 h.)	% Reduction
Blank	5.3×10^7	-
E504	8.7×10^7	0
Blank	7.0×10^7	
E604	4.5×10^7	35.71
Blank	4.7×10^8	-
E704	1.45×10^4	99.99
E804	5.25×10^3	99.99
E904	5.0×10^2	99.99

กำหนดให้

E504 คือ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์อุณหภูมิ 500°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

E604 คือ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์อุณหภูมิ 600°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

E704 คือ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์อุณหภูมิ 700°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

E804 คือ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์อุณหภูมิ 800°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

E904 คือ ผงเซรามิกจากเปลือกไข่ที่เผาแคลไซน์อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

ตารางที่ ค-3 ผลการทดสอบการต้านแบคทีเรีย *E. coli* ของแคลเซียมคาร์บอเนต แคลเซียมออกไซด์และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ทางการค้า

Sample	The number of bacteria CFU/ml (6 h.)	% Reduction
Blank	6.7×10^7	-
CaCO ₃	4.9×10^7	26.86
CaO	0	100
Ca(OH) ₂	4.0×10^2	99.99

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวปัทมา ปรีชา

เกิดเมื่อวันที่ 1 ธันวาคม พ.ศ. 2528 สถานที่เกิด จังหวัดอุทัยธานี

จบการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาเคมี จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เมื่อปี พ.ศ. 2551 จากนั้นเข้าศึกษาต่อทางด้านวิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีเซรามิก ที่ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และจบการศึกษาในปี พ.ศ. 2553

การนำเสนอผลงานทางวิชาการในระดับนานาชาติ

“Quantitative Phase Evaluation of Antibacterial Ceramic Oxide Powder against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*” Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON2010), Ubon Ratchathani, Thailand