การเกิดไบโอฟิล์มบนพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้นที่เติมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเอชพีคิวเอ็ม
Biofilm Formation on LLDPE Doped with 2–Hydroxypropyl–3–Piperazinyl–Quinoline carboxylic acid Methacrylate (HPQM)

กุลสุชา ปิ่นเงิน[1,*], อัฐพงษ์ กิตติ์ชัยวัชร์[1], อภิสิทธิ์ โฆษิตชัยยงค์[1], สันติ มิตรประเสริฐพร[2],
เอกชัย วิมลมาลา[1] และ ณรงค์ฤทธิ์ สมบัติสมภพ[1]
[1]กลุ่มวิจัยการผลิตและขึ้นรูปพอลิเมอร์ สายวิชาเทคโนโลยีวัสดุ คณะพลังงานสิ่งแวดล้อมและวัสดุ
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพฯ 10140
[2]บริษัท เจริญมิตร จำกัด แขวงบางไผ่ เขตบางแค กรุงเทพฯ 10160
E-mail: underline.fice@gmail.com

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ศึกษาอิทธิพลของความหยาบผิว และปริมาณการผสมของสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ส่งผลต่อการเกิดไบโอฟิล์มบนพื้นผิวพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้น (LLDPE) โดยทำให้ความหยาบผิวเฉลี่ย (Average surface roughness; Ra) ของชิ้นงานทดสอบอยู่ในช่วง 0.50 - 8.50 ไมครอน และการใช้สารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด 2–Hydroxypropyl–3–Piperazinyl–Quinoline carboxylic acid Methacrylate (HPQM) ในช่วงความเข้มข้น 0 - 2500 ส่วนในล้านส่วน โดยผสมพอลิเมอร์กับสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยเครื่องอัดรีดแบบเกลียวหนอนคู่ (Twin-screw extruder) และขึ้นรูปด้วยเครื่องอัดขึ้นรูปด้วยความร้อน (Hydraulic press) เชื้อแบคทีเรียที่ศึกษาชนิด *Escherichia coli* (ATCC 25922) ในการทดสอบการเกิดไบโอฟิล์มด้วยเทคนิคการนับจำนวนเซลล์ที่ยึดติด เป็นเวลา 0 - 15 วัน ได้ทำการทดสอบสมบัติเชิงกลและการเกิดไบโอฟิล์มของชิ้นงาน ผลการทดสอบพบว่า การเปลี่ยนแปลงความหยาบผิว และความเข้มข้นของการผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียไม่ส่งผลต่อสมบัติเชิงกลโดยรวมของชิ้นงานทดสอบ โดยที่ความหยาบผิวของชิ้นงานทดสอบที่ไม่ผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียไม่ส่งผลต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ยึดติดบนผิวชิ้นงาน การผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในปริมาณเพิ่มขึ้น ส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มเพิ่มขึ้นโดยพบว่าชิ้นงานที่มีปริมาณการผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ 500 ส่วนในล้านส่วน ไม่มีประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มได้ทุกพื้นผิวในช่วงเวลาการทดสอบ กรณีของชิ้นงานที่มีการผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย HPQM ในปริมาณ 1500 ส่วนในล้านส่วนมีประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มอย่างสมบูรณ์ (ค่าการป้องกันไบโอฟิล์ม 99.9%) ทุกความหยาบผิวในช่วงระยะเวลาการทดสอบแรก และมีประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มลดลงในระยะเวลาการทดสอบนานขึ้น เนื่องจากการสูญเสียสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ผิวของชิ้นงาน โดยชิ้นงานที่มีความหยาบผิวต่ำ (2.50 - 4.50 ไมครอน) มีประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มได้ดีกว่าชิ้นงานที่ความหยาบผิวสูง (6.50 - 8.50 ไมครอน) และชิ้นงานที่มีการผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย HPQM ในปริมาณ 2500 ส่วนในล้านส่วน เป็นปริมาณที่มีประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มได้อย่างสมบูรณ์ในทุกช่วงเวลาการทดสอบ

คำสำคัญ: ไบโอฟิล์ม สารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ความหยาบผิว พอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้น

Abstract

The influences of surface roughness and anti-bacterial agent loading on bacterial biofilm formation for linear low density polyethylene (LLDPE) specimens were studied. The anti-bacterial agent used was 2–Hydroxypropyl–3–Piperazinyl–Quinoline carboxylic acid Methacrylate (HPQM) and introduced onto LLDPE by which the concentration in LLDPE was varied from 0 to 2500 parts per million; ppm. Average surface roughness (Ra) was varied from 0.50 to 8.50 μm. LLDPE doped with HPQM was prepared using a twin-screw extruder and a hydraulic press. Biofilm formation and mechanical properties of the specimens were investigated. Biofilm formation was tested against *Escherichia coli* (ATCC 25922) bacteria under incubation times of 0-15 days. It was found that pure LLDPE specimens with different surface roughness levels showed similar biofilm formation under the incubation time of 15 days. All surface rough nesses of LLDPE with loading of HPQM 500 ppm could not prevent the biofilm formation. When increasing the amount of HPQM up to 1500 ppm. The biofilm prevention was improved for all surface rough nesses at lower incubating times. The higher surface roughness (6.50 - 8.50 micron) for LLDPE with loading of HPQM 1500 ppm could prevent the biofilm formation less effective than using the lower surface roughness (2.50 - 4.50 micron) due to the loss of HPQM. The LLDPE doped with HPQM 2500 ppm that it was found that the biofilm formation could be prevented up to 99.9%. The different of HPQM loadings and surface rough nesses did not significantly affect the mechanical properties of the LLDPE.

Keywords: biofilm, antibacterial agent, surface roughness, LLDPE

บทนำ

ในปัจจุบันวัสดุพอลิเอทิลีนนำมาใช้ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ที่หลากหลาย ประกอบไปด้วย ผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับการอุปโภคบริโภค เช่น ถังบรรจุน้ำถุงเย็น ถุงซิบล็อก ถุงใส่อาหาร ของเล่นเด็ก และท่อที่มีความยืดหยุ่นสูง เป็นต้น (Ramkumara et al., 2014) ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ใช้งานส่วนใหญ่นิยมใช้เป็นถังบรรจุน้ำอุปโภค/บริโภค จึงส่งผลให้พื้นผิวด้านในของถังมีการสัมผัสกับน้ำตลอดเวลา หากน้ำที่ใช้มีการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรีย ส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียสามารถยึดเกาะบนพื้นผิวด้านในของภาชนะดังกล่าวและสามารถพัฒนาเป็นไบโอฟิล์มได้สำหรับความหมายของไบโอฟิล์มคือ ชั้นบางๆที่ถูกสร้างขึ้นโดยเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ ที่มีการปนเปื้อนมากับน้ำ ซึ่งแบคทีเรียสามารถสร้างชั้นให้ทนต่อสภาวะภายนอก ให้มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้น ดังนั้น ชั้นไบโอฟิล์มที่เกิดขึ้นบนพื้นผิวของวัสดุจะเป็นแหล่งสะสมของ

เชื้อโรคและเกิดการปนเปื้อนไปสู่ผู้บริโภค ส่งผลให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพ โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร

สำหรับกลไกการเกิดไบโอฟิล์ม (Srey et al., 2013) เริ่มจากการยึดติดเริ่มต้นของเซลล์แบคทีเรียจากเซลล์แบคทีเรียที่อยู่อย่างอิสระในของไหลมาแนบติดบนพื้นผิววัสดุ (Substrate) โดยเซลล์แบคทีเรียบางส่วนสามารถยึดเกาะได้ดีและเซลล์บางส่วนหลุดจากพื้นผิววัสดุได้ โดยที่เซลล์แบคทีเรียเกิดการยึดติดโดยไม่หลุดออก เนื่องจากมีแรงยึดเหนี่ยวที่แข็งแรงขึ้นระหว่างเซลล์แบคทีเรียกับพื้นผิววัสดุ ส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียที่ยึดติดสามารถเจริญและขยายเซลล์ต่อไปได้ การทำลายแรงยึดเหนี่ยวนั้นจำเป็นต้องอาศัยปัจจัยภายนอกมาเกี่ยวข้อง ยกตัวอย่างเช่น แรงเฉือนของของไหลรอบตัวแบคทีเรียหรือการชะล้างจากสารซักล้างหรือสารฆ่าเชื้อ เป็นต้น นอกจากนี้ ความร้อนที่แบคทีเรียได้รับ ส่งผลให้เกิดการทำลายแรงยึดเหนี่ยวของแบคทีเรียเช่นกัน จากนั้นเซลล์แบคทีเรียที่ยึดติดเกิดการเพิ่มจำนวน และมีการเจริญเติบโตมากขึ้นจนพัฒนาเป็นไบโอฟิล์มหรือเป็นโคโลนีขนาดเล็ก ส่งผลให้ชั้นไบโอฟิล์มมีขนาดกว้างขึ้น นอกจากนี้ เซลล์มีการยึดติดกันด้วยสาร EPS (Extracellular Polymeric Substances) ซึ่งเป็นสารที่แบคทีเรียขับออกมาภายนอกเซลล์ มีลักษณะเหนียว ทำหน้าที่เป็นสารเชื่อมระหว่างเซลล์ด้วยกันเอง และเซลล์กับพื้นผิววัสดุ ส่งผลทำให้เกิดการรวมตัวในรูปของโคโลนีที่แข็งแรง จากนั้น โคโลนีมีการเจริญเติบโตเต็มที่ ทำให้ลักษณะของการเกิดชั้นไบโอฟิล์มมีรูปร่างที่แตกต่างกันตามสภาวะและปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดของเชื้อแบคทีเรีย แหล่งสารอาหารที่เซลล์ได้รับ อุณหภูมิ และค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็นต้น ยกตัวอย่างเช่น เชื้อแบคทีเรียชนิด *Escherichia coli (E. coli)* สามารถสร้างไบโอฟิล์มที่มีรูปร่างแบนและเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างในช่วง 7.0 ถึง 7.5 โดยที่ความเป็นกรด-ด่างของน้ำทั่วไปที่ใช้ในการอุปโภคและบริโภคอยู่ในช่วง 6.5 ถึง 8.5 ดังนั้น การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สู่น้ำ ทำให้เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในแหล่งน้ำได้ จากนั้นไบโอฟิล์มบางส่วนสามารถเกิดการแตกออกหรือหลุดออก โดยเกิดจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอย่าง เช่น การขาดแคลนสารอาหาร การเพิ่มขึ้นของแรงเฉือนของของไหลบริเวณรอบๆ เป็นต้น ซึ่งทำให้แบคทีเรียมีการสร้างสารออกมาทำลายเมือกเพื่อให้เซลล์เกิดการหลุดออกไปเกิดเป็นโคโลนีในที่ใหม่ที่มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตเป็นวงจรการเกิดไบโอฟิล์มโดยที่ปัจจัยที่ส่งผลต่อการยึดติดของเซลล์แบคทีเรียบนพื้นผิววัสดุขึ้นอยู่กับลักษณะทางเคมี และกายภาพของพื้นผิว เช่น ความหยาบผิวและความไม่ชอบน้ำของพื้นผิว เป็นต้น (Ferreira et al., 2010) ถ้าวัสดุมีความหยาบผิวมากจะส่งผลให้เซลล์แบคมีเรีย สามารถยึดเกาะได้ดีกว่าพื้นผิวที่มีความหยาบผิวน้อย (Deligianni et al., 2001; Dika et al., 2013) เนื่องจากความขรุขระของพื้นผิวสามารถลดแรงเฉือนของของไหลได้และมีพื้นที่ในการยึดเกาะมาก ทำให้เซลล์แบคทีเรียหลุดออกจากพื้นผิวได้ยากและมีโอกาสเจริญเติบโตต่อไป

ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษากลไกการเกิดไบโอฟิล์มจากแบคทีเรียชนิด *E.coli* บนพื้นผิววัสดุพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้นและการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์ม โดยศึกษาอิทธิพลของความหยาบผิวและปริมาณการเติมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย HPQM ในพอลิเอทิลีนที่ส่งผลต่อสมบัติเชิงกล การเกิดไบโอฟิล์มและประสิทธิภาพการป้องการเกิดกันไบโอฟิล์ม โดยค่าความหยาบผิวเฉลี่ยของชิ้นงานทดสอบที่ศึกษาอยู่ในช่วง

0.50 - 8.50 ไมครอน และการผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด HPQM ในชิ้นงานที่ปริมาณการผสมตั้งแต่ 0 - 2500 ส่วนในล้านส่วน

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาอิทธิพลของความหยาบผิวและปริมาณการเติมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย HPQM ในพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้นที่ส่งผลต่อการเกิดไบโอฟิล์ม

นิยามศัพท์

พอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้น คือ พอลิเมอร์ที่มีสมบัติคล้ายแอลดีพีอี โดยมีความแข็งแรงและความเหนียวมากกว่า แต่ความใสน้อยกว่า เนื่องจากมีความเป็นผลึกจากโครงสร้างที่เป็นระเบียบมากกว่าแอลดีพีอี

ความหยาบผิว คือ ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยที่ได้จากค่าเฉลี่ยของค่าสัมบูรณ์ของค่าความแตกต่างของความสูงของพื้นผิวจากตำแหน่งความสูงเฉลี่ยโดยคำนวณจากเครื่อง Surface Profilometer

สารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย คือ สารหน่วงการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1. ด้านวิชาการ ทราบถึงผลของปริมาณสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และความหยาบผิวของชิ้นงานที่ส่งผลต่อการเกิดไบโอฟิล์มบนพอลิเอทิลีน

2.ด้านเศรษฐศาสตร์และภาคอุตสาหกรรม ภาคเอกชนที่ร่วมโครงการสามารถนำข้อมูลจากงานวิจัยมาเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ และเพิ่มขอบเขตการนำไปใช้งานที่กว้างขวางขึ้น

3.ด้านสังคมและประโยชน์สาธารณะ ผู้ทำวิจัยได้เพิ่มประสบการณ์ในการทำวิจัยร่วมกับภาคอุตสาหกรรมจริง ซึ่งสามารถประยุกต์ใช้ความรู้จากโครงการวิจัยที่ได้รับมาจากภาคอุตสาหกรรมได้

วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุและสารเคมี

วัสดุและสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สมบัติของวัสดุและสารเคมี

วัสดุวิจัย	รายละเอียด		ผู้ผลิต/จำหน่าย
	สมบัติ	คุณลักษณะเฉพาะ	
พอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้น (Linear low density polyethylene, LLDPE)	เกรด	M3804 RUP	บริษัท เครือซีเมนต์ไทย จำกัด (มหาชน) (ประเทศไทย)
	ลักษณะทางกายภาพ	ผงสีขาวขุ่น	
	ความหนาแน่น	0.938 g/cm^3	
	ดัชนีการไหล	4.0 g/10 min (ณ อุณหภูมิ 190°C และน้ำหนักกด 2.16 kg)	
2-Hydroxypropyl-3-Piperazinyl-Quinoline CarboxylicAcid Methacrylate (HPQM)	เกรด	BCA-101A0	บริษัท Micro Science Tech จำกัด (ประเทศเกาหลีใต้)
	ลักษณะทางกายภาพ	ของเหลวสีเหลืองอ่อน	
	ความหนาแน่น	1.05 g/cm^3	
	ความเข้มข้นของ Active ingredient	10 wt%	
เชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* (*E.coli*)	-	ATCC 25922	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (ประเทศไทย)

การเตรียมชิ้นงานทดสอบ

นำพอลิเอทิลีนผสมกับสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 500, 1500 และ 2500 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับโดยเตรียมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียให้มีการกระจายตัวในพอลิเอทิลีน โดยใช้กระบวนการผสมแบบแห้ง (Dry blending) ด้วยเครื่องผสมความเร็วสูง (High speed mixer,บริษัทแลปเทคเอ็นจิเนียริงก์จำกัด (ประเทศไทย)) ที่ความเร็ว 1000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นกำจัดความชื้นในเตาอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ให้น้ำหนักคงที่ และนำของผสมที่ได้ทำการผสมแบบหลอมเหลว (Melt Blending) ด้วยเครื่องอัดรีดแบบเกลียวหนอนคู่ (Twin screw extruder,รุ่น CTW 100P, บริษัท Hakke Rheomex (ประเทศเยอรมนี)) โดยใช้อุณหภูมิดังนี้ โซนป้อน (Feed zone) 120 องศาเซลเซียส โซนอัด (Compression zone, Transition zone) 140 องศาเซลเซียส โซนหลอมเหลว (Melt zone, Metering zone) 150 องศาเซลเซียสและหัวดาย 155 องศาเซลเซียสความเร็วรอบในการผสม 40 รอบต่อนาที จากนั้นนำเข้าเครื่องตัดเม็ดพลาสติกคอมปาวด์ เพื่อนำไปขึ้นรูปเป็นชิ้นงานทดสอบ โดยใช้กระบวนการอัดขึ้นรูปด้วยเครื่องอัดความร้อนระบบแรงดัน (Hot compression moulding, รุ่น LP-20M, บริษัทแลบเทคเอนจิเนียริงจำกัด (ประเทศไทย)) ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส โดยใช้แม่พิมพ์อัดระบบแรงดัน และทำการปรับความหยาบผิวตามมาตรฐานความหยาบของกระดาษทรายเบอร์ต่างๆ เพื่อให้ได้พื้นผิวชิ้นงานที่มีความหยาบผิวเฉลี่ยที่แตกต่างกัน โดยมีค่า 0.50, 2.50, 4.50, 6.50 และ 8.50 ไมครอน โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ±0.05 ไมครอน ตามลำดับ

การทดสอบความหยาบผิวและสมบัติเชิงกล

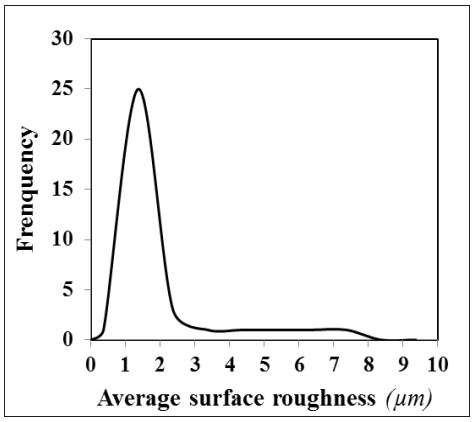
ทดสอบความหยาบผิวของพื้นผิวชิ้นงานทดสอบด้วยเครื่อง Surface stylus profilometer (รุ่น SV-3000CNC, บริษัท Mitutoyo จำกัด) โดยใช้หัววัดชนิดมาตรฐาน (Standard Stylus, รุ่น 12AAC731, บริษัท Mitutoyo จำกัด) รัศมีและมุมของหัววัดเป็น 0.002 มิลลิเมตรและ 60 องศา ตามลำดับและทดสอบสมบัติเชิงกลด้านความต้านทานต่อแรงดึงด้วยเครื่อง Universal testing machine (รุ่น Autograph AG-I, บริษัท Shimadzu จำกัด) ทำการเตรียมชิ้นงานทดสอบเป็นรูปดัมเบลล์ตามมาตรฐาน ASTM D638-10 (Type 1) ด้วยอัตราในการดึง 100 มิลลิเมตรต่อนาที

การทดสอบไบโอฟิล์ม

การทดสอบการเกิดไบโอฟิล์ม (Meira et al., 2012) ทดสอบโดยการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของเชื้อแบคทีเรียที่ยึดติดบนพื้นผิววัสดุ โดยการบ่มชิ้นงานที่มีขนาด 2.5×2.5×0.25 ลูกบาศก์เซนติเมตรในอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแบบเหลวที่มีแบคทีเรียเข้มข้น (OD_{600} = 0.1) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน โดยช่วงการทดสอบตั้งแต่ 3, 6, 9, 12 และ 15 วัน ตามลำดับ นำชิ้นงานออกมาจุ่มในน้ำเกลือ (Normal saline) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 2 ขั้นตอน ดังนี้ ขั้นตอนที่ 1 จุ่มน้ำเกลือเป็นเวลา 3 วินาที เพื่อกำจัดเชื้อที่ไม่ยึดติดบนพื้นผิวออก และ ขั้นตอนที่ 2 จุ่มชิ้นงานพร้อมสกัดเชื้อที่ยึดติดกับผิวชิ้นงานออกโดยการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเขย่าสาร (Vortex shaker, รุ่น KMC-1300V, บริษัท Vision Scientific จำกัด (ประเทศเกาหลีใต้)) เป็นเวลา 1 นาที ทำการนำเชื้อแขวนลอยที่ได้จากขั้นตอนที่ 2 ทำการเจือจางให้มีความเข้มข้นลดลงครั้งละ 10 เท่า และนำเชื้อที่เจือจางได้หยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง จากนั้น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงทำการนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียและบันทึกผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อพื้นที่ของชิ้นงาน

ผลการวิจัย

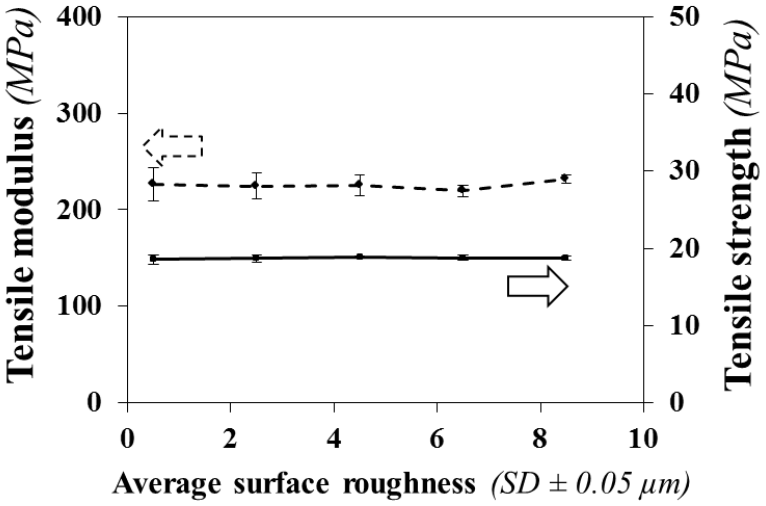
จากงานวิจัยได้ศึกษาผลของความหยาบผิวของชิ้นงานพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้นที่ส่งผลต่อสมบัติเชิงกล และการเกิดไบโอฟิล์มจึงทำการวัดความหยาบผิวของชิ้นงานตัวอย่างจากพอลิเอทิลีนเพื่อหาค่าความหยาบผิวที่ใช้ในงานวิจัย โดยพบว่า ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยมีค่าอยู่ในช่วงประมาณ 0.50 - 8.50 ไมครอน และค่าความหยาบผิวเฉลี่ยช่วงประมาณ 0.50 - 2.50 ไมครอน เป็นค่าความหยาบผิวเฉลี่ยที่พบมากที่สุด ดังแสดงในรูปที่ 1



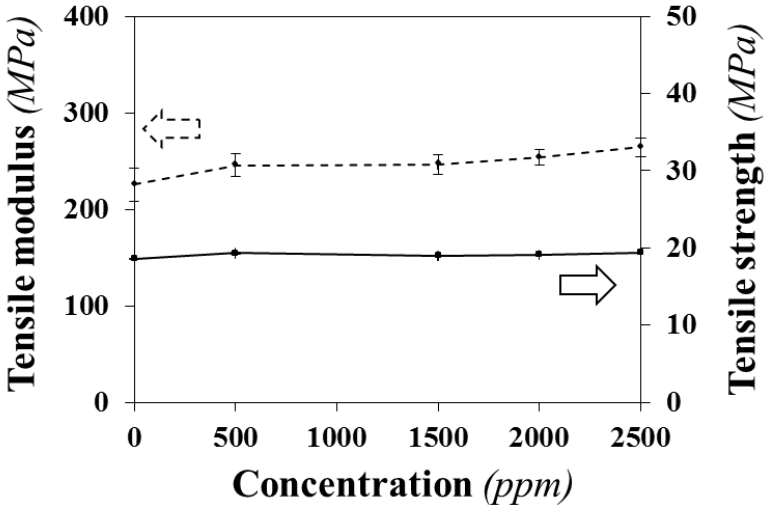
รูปที่ 1 ความหยาบผิวของชิ้นงานตัวอย่างพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้น

ผลการทดสอบสมบัติเชิงกลที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงความหยาบผิวและปริมาณสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่มีต่อความแข็งแรงของชิ้นงาน

จากผลการทดลองสมบัติเชิงกลของชิ้นงานที่มีความหยาบผิวในช่วง 0.50 - 8.50 ไมครอน ดังแสดงในรูปที่ 2 พบว่า ค่ามอดุลัสแรงดึง (Tensile modulus) แสดงดังกราฟเส้นประ และค่าความทนทานต่อแรงดึง (Tensile strength) แสดงดังกราฟเส้นทึบ มีค่าประมาณ 220 – 230 เมกะปาสคาล และ 18 - 20 เมกะปาสคาล ตามลำดับ จะเห็นว่าค่าความหยาบผิวไม่ส่งผลต่อสมบัติโดยรวมของวัสดุ ในกรณีของสมบัติเชิงกลของชิ้นงานที่ผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย HPQM ในปริมาณ 0 – 2500 ส่วนในล้านส่วน ดังแสดงในรูปที่ 3 พบว่า ค่ามอดุลัสแรงดึง (เส้นประ) และค่าความทนทานต่อแรงดึง (เส้นทึบ) มีค่าประมาณ 220 – 260 เมกะปาสคาล และ 18 - 20 เมกะปาสคาล ตามลำดับ



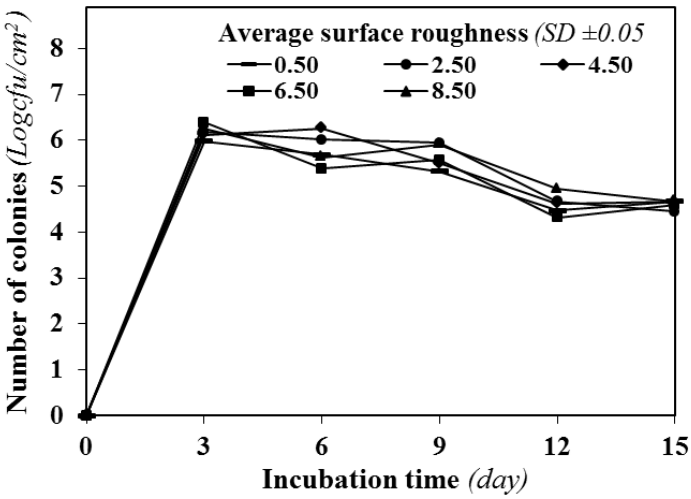
รูปที่ 2 สมบัติเชิงกลของชิ้นงานพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้นที่มีความหยาบผิวแตกต่างกัน



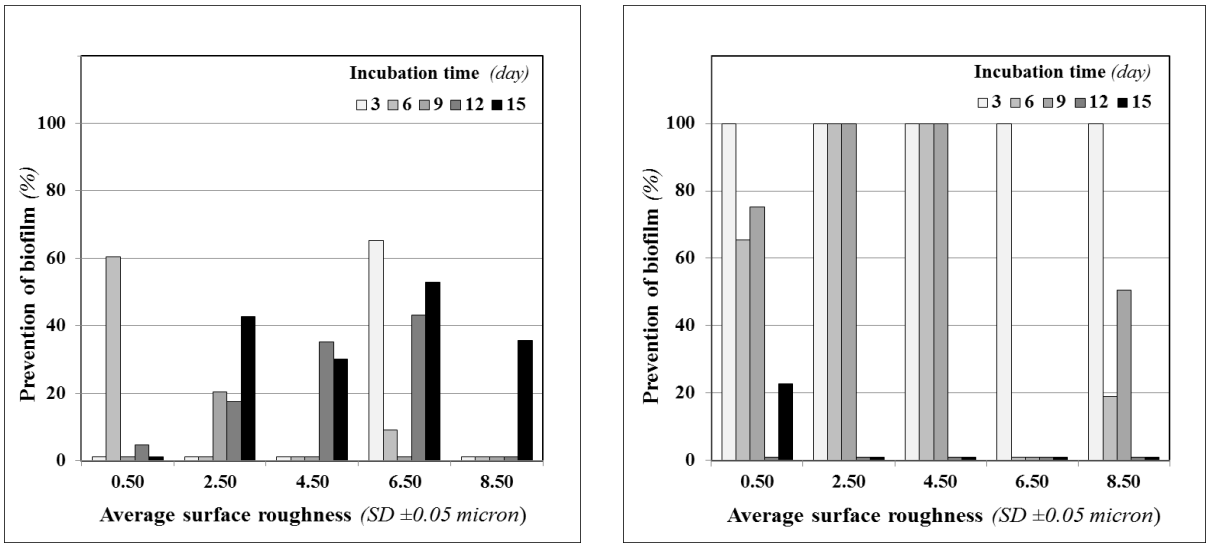
รูปที่ 3 สมบัติเชิงกลของชิ้นงานพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้นที่ผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย HPQM ในปริมาณแตกต่างกัน

ผลการทดลองของความหยาบผิวและปริมาณสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่มีต่อการเกิดไบโอฟิล์มบนผิวชิ้นงานที่ผสมและไม่ผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

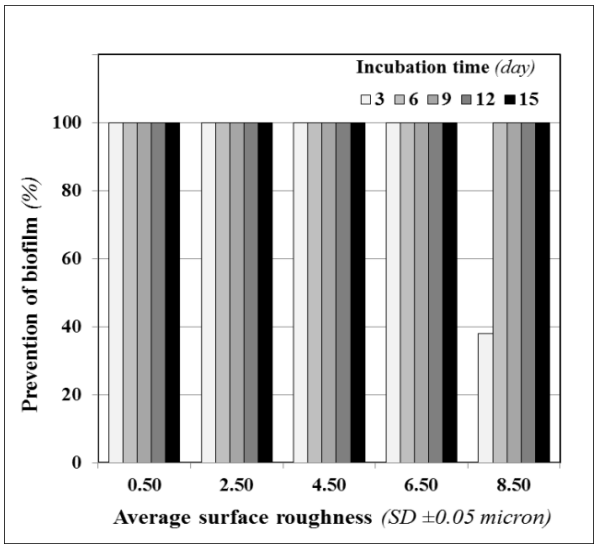
จากผลการทดสอบการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ยึดเกาะบนพื้นผิวพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้นที่ไม่ผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ดังแสดงในรูปที่ 4 พบว่า ในช่วงการทดสอบ 3 – 9 วัน เชื้อแบคทีเรียมีปริมาณเพิ่มขึ้นและคงที่จนมีค่าประมาณ 5.5 – 6.5 Cfu/cm^2 และในช่วงเวลา 9 - 15 วัน เชื้อแบคทีเรียมีปริมาณลดลงจนมีค่าประมาณ 4.5 – 5.5 Cfu/cm^2



รูปที่ 4 จำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ยึดเกาะบนพื้นผิวพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้นที่ไม่ผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย



(a) (b)



(c)

รูปที่ 5 การป้องกันไบโอฟิล์มของชิ้นงานพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้นที่ผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย HPQM ในปริมาณ (a) 500, (b) 1500 และ (c) 2500 ส่วนในล้านส่วน

การทดสอบการเกิดไบโอฟิล์มบนชิ้นงานที่ผสมสารยับยั้งเชื้อ HPQM ดังแสดงในรูปที่ 5 การผสมสารยับยั้งเชื้อชนิด HPQM ที่ปริมาณการผสม 500 ส่วนในล้านส่วน ดังแสดงในรูปที่ 5(a) พบว่า ชิ้นงานมีค่าการป้องกันไบโอฟิล์มประมาณ 70 % ทุกช่วงความหยาบผิวและเวลาที่ศึกษา การผสมสารยับยั้งเชื้อ HPQM ที่ปริมาณการผสม 1500 ส่วนในล้านส่วน ดังแสดงในรูปที่ 5 (b) พบว่า ชิ้นงานมีค่าการป้องกันไบโอฟิล์มเพิ่มขึ้น โดยมีค่าการป้องกันไบโอฟิล์มในช่วง 9 วันแรกพบที่ 99.9 % ในขณะที่ช่วงเวลา 12 – 15 วัน มีค่าการป้องกันไบโอฟิล์มประมาณ 30 % ในทุกความหยาบผิว เมื่อเพิ่มสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ปริมาณการผสม 2500 ส่วนในล้านส่วน ดังแสดงในรูปที่ 5 (c) พบว่า ค่าการป้องกันไบโอฟิล์มของชิ้นงานมีค่าสูงขึ้นถึง 99.9 % ในทุกช่วงความหยาบผิวที่เวลาการทดสอบต่างๆ

การอภิปรายผล

จากการทดสอบสมบัติเชิงกล พบว่า การเปลี่ยนแปลงความหยาบผิวในช่วงการทดสอบส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของชิ้นงานทดสอบ ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสมบัติเชิงกลของชิ้นงานพอลิเอทิลีนโดยรวมอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อพิจารณาผลของปริมาณสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ผสมเข้ากับชิ้นงานในช่วงความเข้มข้น 0 - 2500 ส่วนในล้านส่วน ที่มีต่อสมบัติเชิงกลดังแสดงในรูปที่ 3 พบว่า การเติมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียไม่ส่งผลต่อสมบัติเชิงกล ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำการผสมมีปริมาณน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณของพอลิเมอร์เมทริกซ์ (Matrix) (Sributr et al., 2014)

จากผลการทดสอบการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ยึดเกาะบนพื้นผิวพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้นที่ไม่ผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ดังแสดงในรูปที่ 4 พบว่า ในช่วงการทดสอบ 3 วันแรก เชื้อแบคทีเรียมีปริมาณเพิ่มขึ้น คาดว่าเป็นผลมาจากการยึดเกาะของเชื้อแบคทีเรียบนพื้นผิวของชิ้นงาน และเชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญเติบโตในช่วงของขั้นตอนการแนบติดของเชื้อแบคทีเรียจนกระทั่งมีการเจริญเติบโตของชั้นไบโอฟิล์ม

ส่งผลให้พบปริมาณเชื้อแบคทีเรียมากที่สุดจากนั้นในช่วงเวลา 3 - 15 วัน เชื้อแบคทีเรียมีปริมาณคงที่และมีแนวโน้มลดลง คาดว่าเป็นเพราะอยู่ในช่วงที่ไบโอฟิล์มมีการเจริญอย่างสมบูรณ์ และแบคทีเรียบางส่วนเกิดการการหลุดออก ส่งผลให้ปริมาณเชื้อแบคทีเรียลดลงอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาในช่วงเวลาทดสอบพบว่า เชื้อแบคทีเรียมีปริมาณใกล้เคียงกันในทุกความหยาบผิวแสดงให้เห็นว่า ความหยาบผิวของชิ้นงานที่ใช้ในการทดสอบไม่ส่งผลต่อปริมาณการยึดเกาะของเชื้อแบคทีเรียบนพื้นผิววัสดุ

สำหรับชิ้นงานที่ผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจนทำให้ชิ้นงานมีความปลอดเชื้อได้นั้นต้องมีประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มได้ 99.9% จากผลการทดสอบการเกิดไบโอฟิล์มบนชิ้นงานที่ผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย HPQM ดังแสดงในรูปที่ 5 พบว่า การผสมสารยับยั้งเชื้อชนิด HPQM ที่ปริมาณการผสม 500 ส่วนในล้านส่วน พบว่า ชิ้นงานมีค่าการป้องกันไบโอฟิล์มต่ำกว่า 99.9% ทุกช่วงความหยาบผิวและเวลาที่ศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 5(a) แสดงให้เห็นว่า ชิ้นงานไม่มีประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มเนื่องจากปริมาณของสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย HPQM อาจน้อยเกินไปสำหรับงานวิจัยนี้เมื่อทำการเพิ่มปริมาณการผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย HPQM ที่ปริมาณการผสม 1500 ส่วนในล้านส่วนดังแสดงในรูปที่ 5 (b) พบว่า ในช่วงแรกของการทดสอบการป้องกันไบโอฟิล์มของชิ้นงานมีค่าการป้องกันไบโอฟิล์มเพิ่มขึ้นเป็น 99.9% ทุกความหยาบผิว (โดยที่ชิ้นงานที่มีความหยาบผิวต่ำ (0.50 - 4.50 micron) มีประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มได้ 9 วัน ในขณะที่ชิ้นงานที่มีความหยาบผิวสูง (6.50 - 8.50 micron) มีประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มได้ 3 วัน) หลังผ่านช่วงแรกของการทดสอบ พบว่า ค่าการป้องกันไบโอฟิล์มของชิ้นงานในทุกความหยาบผิวลดลง แสดงให้เห็นว่า เมื่อระยะเวลาการทดสอบนานขึ้น ประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มลดลงเนื่องจากการสูญเสียสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ผิวชิ้นงาน โดยชิ้นงานที่มีความหยาบผิวสูงมีค่าการป้องกันไบโอฟิล์มลดลงมากกว่าชิ้นงานที่มีความหยาบผิวต่ำ เนื่องจากชิ้นงานที่มีความหยาบผิวสูงหรือมีพื้นที่ผิวมากมีการสูญเสียสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียออกจากผิวชิ้นงานในปริมาณที่มากกว่า (Sharma et al., 2013) แสดงให้เห็นว่าชิ้นงานที่มีความหยาบผิวต่ำมีประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มได้ดีกว่าชิ้นงานที่มีความหยาบผิวสูง ในขณะที่เมื่อเพิ่มสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ปริมาณการผสม 2500 ส่วนในล้านส่วนดังแสดงในรูปที่ 5 (c) พบว่า ค่าการป้องกันไบโอฟิล์มของชิ้นงานทุกช่วงความหยาบผิวและเวลาของการทดสอบสูงถึง 99.9% แสดงให้เห็นว่า ชิ้นงานทดสอบสามารถแสดงประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มได้อย่างสมบูรณ์

บทสรุป

ความหยาบผิวของชิ้นงานพอลิเอทิลีนและปริมาณของสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของวัสดุพอลิเอทิลีนไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าสมบัติเชิงกลโดยรวมอย่างมีนัยสำคัญ ความหยาบผิวของชิ้นงานที่ใช้ในการทดสอบไม่ส่งผลต่อปริมาณการยึดเกาะของเชื้อแบคทีเรียบนพื้นผิววัสดุ การผสมสารยับยั้งเชื้อ HPQM ที่ปริมาณการผสม 500 ส่วนในล้านส่วน ไม่มีประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์ม ในการผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย HPQM ที่ปริมาณการผสม 1500 ส่วนในล้านส่วน เมื่อระยะเวลาการทดสอบนานขึ้นประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มมีการลดลง โดยชิ้นงานที่มีความหยาบผิวสูงมีค่าการป้องกันไบโอฟิล์มลดลงมากกว่าชิ้นงานที่มีความหยาบผิวต่ำ และในการผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ปริมาณการผสม

2500 ส่วนในล้านส่วน ชิ้นงานทดสอบสามารถแสดงประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มได้อย่างสมบูรณ์

ข้อเสนอแนะ

<u>ข้อเสนอแนะจากผลการวิจัย</u>

ศึกษาเวลาและปริมาณการปลดปล่อยของสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย HPQM ที่ส่งผลต่อการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มบนพอลิเอทิลีน

<u>ข้อเสนอแนะการวิจัยครั้งต่อไป</u>

ทำการทดสอบการเกิดไบโอฟิล์มกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่พบได้ทั่วไป เช่น *S.aureus*

เอกสารอ้างอิง

Deligianni, D.D., Katsala, N.D., Koutsoukos, P.G., & Missirlis, Y.F. (2001). *Effect of surface roughness of hydroxyapatite on human bone marrow cell adhesion*, proliferation, differentiation and detachment strength. *Biomaterials*.22(1), paper no.87-96.doi:10.1016/S0142-9612(00) 00174-5.

Dika, C., Ly-Chatain, M.H., Francius, G., Duval J.F.L., & Gantzer, C. (2013). Non-DLVO adhesion of F-specific RNA bacteriophages to abiotic surfaces: Importance of surface roughness, hydrophobic and electrostatic interactions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*.435, paper no.178-187.doi:10.1016/j.colsurfa.2013.02.045

Ferreira, C., Pereira, A.M., Melo, L.F. & Simões, M. (2010).*Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology.*Portugal:Formatex.

Meira, Q.G.S., Barbosa, I.M., Athayde, A.J.A.A., Siqueira-Júnior, J.P., & Souza, E.L. (2012). *Influence of temperature and surface kind on biofilm formation by Staphylococcus aureus from food-contact surfaces and sensitivity to sanitizers*. Food Control.25 (2), paper no.469-475.doi:10.1016/j.foodcont.2011.11.030

Ramkumara, P.L., Kulkarni, D.M., Abhijit, V.V.R., & Cherukumudi, A. (2014). Investigation of melt flow index and impact strength of foamed LLDPE for rotational moulding process. *Procedia Materials Science*.6, paper no.361-367doi:10.1016/j.mspro. 2014.07.046

Sharma, M., Waterhouse, G.I.N., Loader, S.W.C., Garg, S., & Svirskis, D.(2013). *High surface area polypyrrole scaffolds for tunable drug delivery.* International Journal of Pharmaceutics. 443(1–2), paper no.163-168.doi:10.1016/j.ijpharm.2013.01.006

Srey,S., Jahid, I. K., &Ha, S. (2013). Biofilm formation in food industries: A food safety concern. *Food Control*.31(2), paper no.572-585.doi:10.1016/j. foodcont. 2012.12.001

Sributr, A., Yamsaengsung, W., Israngkura, K., Wimolmala, E., Kositchaiyong, A., & Sombatsompop, N. (2014). *Effects of solution and solid forms of 2-hydroxypropyl-3-piperazinyl-quinoline carboxylic acid methacrylate on antibacterial, physical and mechanical properties of polypropylene sheeting.Journal of Plastic Film and Sheeting*. Retrivedfromhttp://jpf.sagepub.com/content/early/2014/12/02/8756087914561137. full.pdf