

ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของเครื่องอบแสงยูวีที่พัฒนาโดยคณะวิศวกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

Development of UV Chamber for Antibacterial Activity by the Faculty of
Engineering, Ubon Ratchathani University

ปาริชาติ พุ่มขจร¹ นฤมล คณะวงศ์² จริยาภรณ์ อุ๋นวงษ์³ ผดุง กิจแสง⁴ และ พงศ์ศักดิ์ รัตนชัยกุลโสภณ⁵
Parichat Phumkhachorn¹ Naruemon Kanawong² Jariyaporn Onwong³ Padung Kitsawang⁴ and
Pongsak Rattanachaikunsopon⁵

Received : March 10, 2022

Revised : March 29, 2022

Accepted : April 1, 2022

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความสามารถของตู้อบแสงยูวีที่พัฒนาขึ้นโดยคณะ
วิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบต่าง ๆ ซึ่งได้แก่
Escherichia coli (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Bacillus cereus* (*B. cereus*) และ
Extended Spectrum Beta Lactamase Escherichia coli (*ESBL E. coli*) ซึ่งเป็นตัวแทนของแบคทีเรีย
แกรมลบ แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียที่สร้างสปอร์ และแบคทีเรียดื้อยา ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่า
เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของแบคทีเรียทดสอบเท่ากับ 0.5 McFarland ป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI Agar

¹รองศาสตราจารย์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

Associate Professor, Department of Biological Science, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University
E-mail : scpariph@gmail.com

²นักศึกษาสาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

Student in Microbiology Program, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University
E-mail : naruemon.ka.60@ubu.com

³ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

Assistant Professor, Department of Industrial Engineering, Faculty of Engineering, Ubon Ratchathani University
E-mail : jariyaporn.s@ubu.ac.th

⁴นักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

Scientist, Department of Electrical Engineering, Faculty of Engineering, Ubon Ratchathani University
E-mail : padung.k@ubu.ac.th

⁵ศาสตราจารย์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

Professor, Department of Biological Science, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University
E-mail : rattanachaikunsopon@yahoo.com

แล้วนำไปอบแสงยูวีเป็นเวลา 10 นาที แบคทีเรียทดสอบทุกชนิดถูกยับยั้งได้ อย่างไรก็ตามเมื่อทำการทดลองเช่นเดิม โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของแบคทีเรียทดสอบเท่ากับ 0.5 McFarland แต่ลดเวลาในการอบแสงยูวีลงเป็น 2, 3, 4 และ 5 นาที พบว่า การอบแสงยูวีเป็นเวลา 3, 4 และ 5 นาที สามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทุกชนิดได้ แต่การอบแสงยูวีเป็นเวลา 2 นาที สามารถยับยั้งได้เฉพาะ *S. aureus* และ ESBL *E. coli* แต่ไม่สามารถยับยั้ง *B. cereus* และ *E. coli* ได้ นอกจากนี้ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่า การอบแสงยูวีเป็นเวลา 3 นาที ยังสามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทุกชนิดที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 1, 2, 3 และ 4 McFarland ได้ จากการศึกษาสามารถสรุปได้ว่าหากต้องนำตู้อบแสงยูวีนี้ไปใช้งานจริงและต้องการให้ยับยั้งแบคทีเรียได้ทุกประเภทควรใช้เวลาในการอบแสงยูวีเป็นเวลอย่างน้อย 3 นาที

คำสำคัญ: ตู้อบแสงยูวี แบคทีเรีย ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย

Abstract

This study aims to examine the ability of UV chamber developed by the Faculty of Engineering, Ubon Ratchathani University to inhibit *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Bacillus cereus* (*B. cereus*) and Extended Spectrum Beta Lactamase *Escherichia coli* (ESBL *E. coli*) that were used as representatives of gram negative bacteria, gram positive bacteria, spore producing bacteria and drug resistant bacteria, respectively. When the tested bacteria with the initial concentration of 0.5 McFarland were streaked on BHI agar and exposed to UV for 10 min, all tested bacteria were inhibited. However, when the same experiment was performed using each bacteria with the initial concentration of 0.5 McFarland but decreasing the UV exposure time to 2, 3, 4 and 5 min, it was found that exposure to UV for 3, 4 and 5 min could inhibit all of the tested bacteria while exposure to UV for 2 min could inhibit only *S. aureus* and ESBL *E. coli* but not *B. cereus* and *E. coli*. Moreover, it was also found that exposure to UV for 3 min could inhibit all of the tested bacteria with the initial concentrations of 1, 2, 3 and 4 McFarland. From this study, it is suggested that the most effective exposure time for the application of the UV chamber to inhibit all types of bacteria would be at least 3 min.

Keywords: UV Chamber, Bacteria, Antibacterial Activity

1. บทนำ

แสงอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet Light) หรือแสงยูวี (UV Light) เป็นแสงที่มีความยาวคลื่นในช่วง 100 ถึง 400 นาโนเมตร ซึ่งอยู่ในช่วงคลื่นที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (Invisible Light) แหล่งกำเนิดแสงยูวีตามธรรมชาติที่ใหญ่ที่สุด คือ ดวงอาทิตย์ โดยแสงยูวีที่ปล่อยออกมาจากดวงอาทิตย์สามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท ตามความยาวคลื่น คือ รังสียูวีเอ (UVA) รังสียูวีบี (UVB) รังสียูวีซี (UVC) ซึ่งมีความยาวคลื่นในช่วง 315 ถึง 400 นาโนเมตร, 280 ถึง 315 นาโนเมตร และ 100 ถึง 280 นาโนเมตร ตามลำดับ [1] ในบรรดาแสงยูวีทั้ง 3 ประเภทนี้ UVA และ UVB สามารถผ่านชั้นบรรยากาศ และชั้นโอโซน ลงมายังพื้นผิวโลกได้ ซึ่งแสงทั้ง 2 ประเภทนี้ทำให้เกิดความระคายเคือง และผลกระทบด้านสุขภาพของผิวมนุษย์ เช่น ทำให้เกิดรอยไหม้ กระ รอยเหี่ยวย่น หรือ ในกรณีที่รุนแรงอาจนำไปสู่การเกิดมะเร็งของผิวหนัง [2] ส่วน UVC เป็นแสงยูวีที่มีความยาวคลื่นต่ำ และมีความสามารถในการฆ่าจุลินทรีย์ต่าง ๆ ได้ ดังนั้น UVC จึงมีอีกชื่อหนึ่งว่า Germicidal UV [3] อย่างไรก็ตามในธรรมชาติ UVC ที่ปล่อยออกมาจากดวงอาทิตย์จะถูกดูดซับด้วยชั้นโอโซนทำให้ไม่สามารถผ่านมาสู่ผิวของโลกได้ จากความสามารถของ UVC ในการฆ่าจุลินทรีย์จึงทำให้มีการผลิตหลอดไฟที่ผลิต UVC (UVC Lamp) ออกมาจำหน่ายในเชิงพาณิชย์เพื่อใช้ในการฆ่าเชื้อในสถานที่ต่าง ๆ เช่น ห้องผู้ป่วยในโรงพยาบาล ห้องปฏิบัติการทดลองปลอดเชื้อ ห้องบริบาลสัตว์ป่วย หรือแม้แต่ใช้ในการฆ่าเชื้อในสระน้ำ เป็นต้น

ในสถานการณ์ที่มีการระบาดของโรค ความต้องการวัสดุอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับการป้องกัน หรือ ฆ่าเชื้อเพิ่มสูงขึ้นเกินกว่ากำลังการผลิตหลายเท่า ซึ่งส่งผลทำให้เกิดการขาดแคลน หรือการเพิ่มสูงขึ้นของราคาของวัสดุอุปกรณ์ดังกล่าว ด้วยเหตุนี้ทางคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานีจึงมีแนวคิดที่จะสร้างตู้อบแสงยูวี (UV Chamber) เพื่อใช้ฆ่าเชื้อ ภายใต้โครงการนวัตกรรมสนับสนุนทางการแพทย์รองรับการระบาดจากเชื้อไวรัส COVID-19 โดยเครื่องดังกล่าวประกอบด้วยหลอดยูวี จำนวน 2 หลอด ซึ่งแต่ละหลอดมีกำลังการผลิตแสง UVC (UVC Radiation) เท่ากับ 8 วัตต์ (Watts) อย่างไรก็ตามก่อนที่จะนำตู้อบแสงยูวีดังกล่าวไปใช้จริงจำเป็นต้องมีการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อน ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความสามารถของตู้อบแสงยูวีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียประเภทต่าง ๆ ซึ่งได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียที่สร้างสปอร์ และแบคทีเรียดื้อยา

2. วัตถุประสงค์

การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความสามารถของตู้อบแสงยูวีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียประเภทต่าง ๆ ซึ่งได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียที่สร้างสปอร์ และแบคทีเรียดื้อยา

3. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

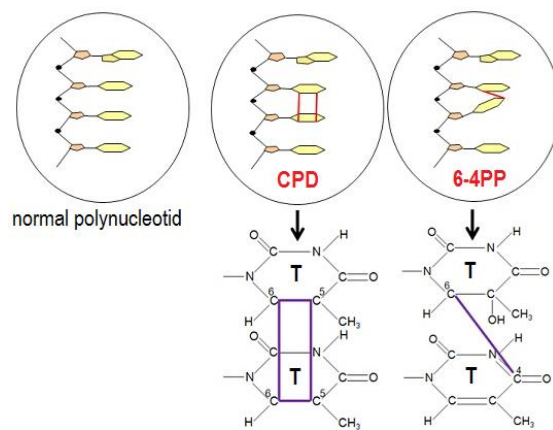
แสงอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet Light) หรือแสงยูวี (UV Light) เป็นแสงที่มีความยาวคลื่นในช่วง

100 ถึง 400 นาโนเมตร ซึ่งอยู่ในช่วงคลื่นที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (Invisible Light) แหล่งกำเนิดแสงยูวีตามธรรมชาติที่ใหญ่ที่สุด คือ ดวงอาทิตย์ โดยแสงยูวีที่ปล่อยออกมาจากดวงอาทิตย์สามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท ตามความยาวคลื่น คือ รังสียูวีเอ (UVA) รังสียูวีบี (UVB) รังสียูวีซี (UVC) [1] รังสี UVA มีความยาวคลื่น 400 ถึง 315 นาโนเมตร เป็นรังสีที่สามารถทะลุชั้นบรรยากาศของโลกได้ถึงร้อยละ 95 ทำให้เข้าทำลายผิวหนังได้ลึกถึงระดับชั้นในหรือชั้นหนังแท้ (Dermis) อันเป็นสาเหตุของการเกิดสารต้านอนุมูลอิสระที่นำมาซึ่งริ้วรอย ฝ้า กระ บนใบหน้าและผิวหนัง หากได้รับรังสียูวีเอสะสมเป็นปริมาณมากอาจเพิ่มโอกาสเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งผิวหนังต่อไป ในขณะที่รังสียูวีบี ซึ่งมีช่วงความยาวคลื่น 280 ถึง 315 นาโนเมตร สามารถทะลุชั้นบรรยากาศของโลกได้เพียงร้อยละ 10 แต่เป็นรังสีที่ช่วยกระตุ้นให้ร่างกายสร้างวิตามินดี [4] อย่างไรก็ตามหากได้รับมากเกินไปจะส่งผลให้เกิดการทำลายผิวหนังชั้นนอกหรือชั้นหนังกำพร้า (Epidermis) หรือเกิดอาการผิวไหม้ [5] ส่วนรังสียูวีซี ซึ่งมีช่วงความยาวคลื่น 100 ถึง 280 นาโนเมตร เป็นรังสีที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ [2] และเป็นรังสีที่มีความอันตรายสูงที่สุดเนื่องจากมีความถี่สูง แต่ชั้นบรรยากาศของโลกทำหน้าที่ช่วยกรองรังสียูวีซีไว้ได้ จึงทำให้อันตรายของรังสียูวีซีไม่ส่งผลอันตรายต่อมนุษย์ จากที่กล่าวไปข้างต้นประเภทของรังสีที่สำคัญและมีความสามารถในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์หรือยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ คือ รังสียูวีซี ซึ่งสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ไม่ว่าจะเป็น แบคทีเรีย ไวรัส รา และยีสต์ได้

ที่ผ่านมา มีงานวิจัยจำนวนมากที่แสดงให้เห็นถึงความสามารถของรังสียูวีซีในการยับยั้งแบคทีเรียหลากหลายชนิด ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* [6] แบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* และ *Pseudomonas aeruginosa* [6] และแบคทีเรียดื้อยา เช่น *Methicillin Resistant Staphylococcus pyogenes* [7] นอกจากนี้ยังมีการวิจัยที่นำเอารังสียูวีซีมาช่วยป้องกันการติดเชื้อบริเวณแผลผ่าตัด [8]

กลไกการทำลายเชื้อแบคทีเรียของรังสียูวีซีเป็นการทำลายกรดนิวคลีอิก (Nucleic Acids) ที่ประกอบสำคัญของดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ โดยโครงสร้างดังกล่าวสามารถดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 260 ถึง 265 นาโนเมตร ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่อยู่ในช่วงของรังสียูวีซีได้ดีที่สุด เมื่อกรดนิวคลีอิกรับเอารังสียูวีซีเข้าไปจะทำให้เกิดความผิดปกติขึ้น ซึ่งความผิดปกติที่พบได้บ่อย คือ ไพริมิดีนไดเมอร์ (Pyrimidine Dimer) ที่สามารถส่งผลให้กระบวนการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอ (DNA Replication) ไม่สามารถเกิดขึ้นได้ ซึ่งนำไปสู่การตายของแบคทีเรียในที่สุด [9]

ไพริมิดีนไดเมอร์เกิดจากการที่ไพริมิดีนสองตัวที่อยู่ติดกันบนสายพอลินิวคลีโอไทด์สายเดียวกันยึดติดกันโดยไพริมิดีนทั้งสองตัวดังกล่าวอาจเป็นไทมีน หรือไซโทซีนก็ได้ ถ้าเป็นการยึดติดกันระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 5 และ 6 ของไพริมิดีนทั้งสองตัว ผลที่ได้คือ ไซโคลบิวเทนไพริมิดีนไดเมอร์ (Cyclobutane Pyrimidine Dimer, CPD) (รูปที่ 1) แต่ถ้าเป็นการยึดติดกันระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ของไพริมิดีนตัวหนึ่งกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ของไพริมิดีนอีกตัวหนึ่ง ผลที่ได้คือ (6-4) โฟโตโปรดักต์ ((6-4) Photoproduct, 6-4PP) (รูปที่ 1) ไพริมิดีนไดเมอร์ทั้งสองแบบทำให้ ดีเอ็นเอมีโครงสร้างที่ผิดปกติ (Distorted) และไม่สามารถจำลองตัวเองได้

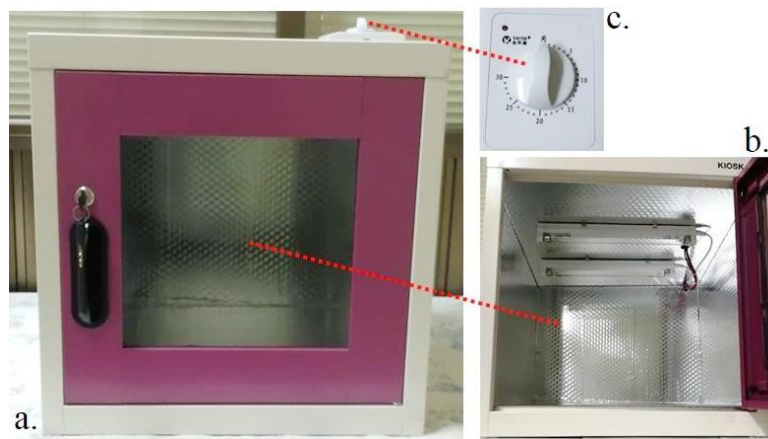


รูปที่ 1 ไซโคลบิวเทนไพริมิดีนไดเมอร์ (CPD) และ (6-4) โฟโตโปรดักต์ (6-4PP)

4. วิธีดำเนินการศึกษา

4.1 ตู้อบแสงยูวี

ตู้อบแสงยูวี (UV Chamber) ที่ใช้ในการศึกษานี้มีขนาด กว้าง 44 ซม. ยาว 40.5 ซม. สูง 44 ซม. ภายในตู้ทางด้านบนมีหลอดยูวี (TUV TL Mini) จำนวน 2 หลอด ซึ่งแต่ละหลอดมีกำลังการผลิตแสง UVC เท่ากับ 8 วัตต์ (Watts) ภายนอกตู้มีปุ่มปรับเวลา ซึ่งปรับเวลาได้ตั้งแต่ 1 ถึง 30 นาที (รูปที่ 2) การใช้งานตู้อบแสงยูวีนี้ หลอดยูวีจะทำงานพร้อมกันทั้งสองหลอด ไม่สามารถเลือกเปิดหลอดใดหลอดหนึ่งได้



รูปที่ 2 ตู้อบแสงยูวีที่พัฒนาโดยคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

(a) ภาพด้านหน้าของตู้; (b.) ภาพด้านในของตู้; (c.) ปุ่มปรับเวลา

4.2 การทดสอบความสามารถของตู้อบแสงยูวีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

การทดลองนี้เป็นการทดสอบความสามารถของตู้อบแสงยูวีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ โดยใช้แบคทีเรียต่อไปนี้ เป็นแบคทีเรียทดสอบ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *ESBL E. coli* ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียที่สร้างสปอร์ และแบคทีเรียที่เรื้อรังตามลำดับ

การทดสอบความสามารถของตูบแสงยูวีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำโดยถ่ายเชื้อแบคทีเรียทดสอบแต่ละชนิดที่บ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI Broth อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI Broth ใหม่ โดยใช้ Inoculum Size เท่ากับ 2% (v/v) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จน Bacterial Culture อยู่ในระยะ Exponential Phase ปรับความเข้มข้นของ Bacterial Culture ให้เท่ากับ 0.5 McFarland แล้วนำมาป้ายลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI Agar ด้วยไม้พันสำลีที่ปลอดเชื้อ (Sterile Swab) จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวไปบ่มในตูบแสงยูวี เป็นเวลา 10 นาที ในลักษณะที่เปิดฝาด้านบนของจานอาหารเลี้ยงเชื้อออก เมื่อครบกำหนดเวลาให้ปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อสังเกตการเจริญของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ในการทดลองนี้มีชุดควบคุม (Control) ซึ่งเป็นชุดควบคุมที่มีการป้ายเชื้อแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI Agar แต่ไม่ต้องนำไปบ่มในตูบแสงยูวี การทดลองนี้ทำซ้ำ 3 ครั้ง

4.3 การศึกษาผลของเวลาในการอบแสงยูวีต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

การทดลองนี้เป็นการหาเวลาที่เหมาะสมสำหรับตูบแสงยูวีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียประเภทต่าง ๆ โดยใช้แบคทีเรียต่อไปนี้เป็นแบคทีเรียทดสอบ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *ESBL E. coli* ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียที่สร้างสปอร์ และแบคทีเรียดื้อยาตามลำดับ

การทดลองนี้ทำเช่นเดียวกับการทดสอบความสามารถของตูบแสงยูวีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ได้กล่าวมาแล้ว เพียงแต่ในการทดลองนี้มีการปรับเปลี่ยนเวลาในการอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI Agar ทั้งที่มีการป้ายเชื้อแบคทีเรียทดสอบ และไม่มีการป้ายเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (Negative Control) เป็น 2, 3, 4 และ 5 นาที การทดลองนี้ทำซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละเวลาของการอบแสงยูวี

4.4 การศึกษาผลของความเข้มข้นของแบคทีเรียต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยแสงยูวี

การทดลองนี้เป็นการศึกษาผลของความเข้มข้นของแบคทีเรียประเภทต่าง ๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยแสงยูวี โดยใช้แบคทีเรียต่อไปนี้เป็นแบคทีเรียทดสอบ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *ESBL E. coli* ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียที่สร้างสปอร์ และแบคทีเรียดื้อยาตามลำดับ

การทดลองนี้ทำเช่นเดียวกับการทดสอบความสามารถของตูบแสงยูวีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ได้กล่าวมาแล้ว เพียงแต่ในการทดลองนี้มีการปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของแบคทีเรียตั้งต้น โดยให้ความเข้มข้น เท่ากับ 1, 2, 3 และ 4 McFarland การทดลองนี้ทำซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละความเข้มข้นของแบคทีเรียตั้งต้น

5. ผลการศึกษาและการอภิปรายผล

5.1 การทดสอบความสามารถของตูบแสงยูวีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียทดสอบทุกชนิด ได้แก่ *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* และ *ESBL E. coli* ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.5 McFarland มาป้ายลงบนอาหาร BHI Agar แล้วนำไปอบแสงยูวีเป็นเวลา 10 นาที

พบว่าแบคทีเรียทดสอบทุกชนิดถูกยับยั้งได้ โดยสังเกตจากการที่ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียทดสอบทุกชนิดบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการอบแสงยูวี ในขณะที่บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ผ่านการอบแสงยูวี ซึ่งใช้เป็น Positive Control แบคทีเรียทดสอบทุกชนิดสามารถเจริญได้ (รูปที่ 3) การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าตู้อบแสงยูวีที่ใช้ในการทดลองมีความสามารถยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียที่สร้างสปอร์ และแบคทีเรียดื้อยา

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่แสดงให้เห็นว่าแสงยูวีสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ [10] แบคทีเรียแกรมบวก [10] แบคทีเรียที่สร้างสปอร์ [11] และแบคทีเรียดื้อยา [12] ได้นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าแสงยูวีสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ เช่น เชื้อรา [13] และไวรัส [14] ได้ด้วย



รูปที่ 3 การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (ความเข้มข้น 0.5 McFarland) หลังจากการอบแสงยูวีเป็นเวลา 10 นาที (a.) ชุดควบคุม; (b.) ชุดทดลอง ($E = E. coli$; $S = S. aureus$; $B = B. cereus$; $ES = ESBL E. coli$)

5.2 การศึกษาผลของเวลาในการอบแสงยูวีต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

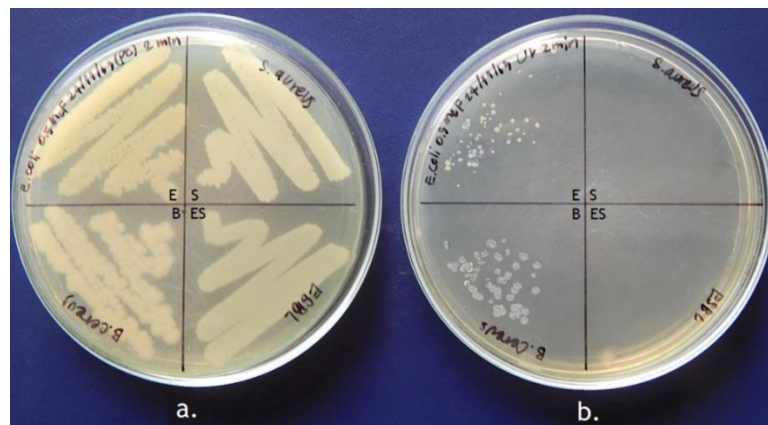
เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียทดสอบทุกชนิด ได้แก่ *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* และ *ESBL E. coli* ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.5 McFarland มาป้ายลงบนอาหาร BHI Agar แล้วนำไปอบแสงยูวีเป็นเวลา 2, 3, 4 และ 5 นาที พบว่าการอบแสงยูวีเป็นเวลา 3, 4 และ 5 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบทุกชนิดได้ (รูปที่ 4 และตารางที่ 1) ในขณะที่การอบแสงยูวีเป็นเวลา 2 นาที สามารถยับยั้งการเจริญได้เฉพาะ *S. aureus* และ *ESBL E. coli* แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *B. cereus* ได้ (รูปที่ 5) จากผลการทดลองนี้ทำให้สรุปได้ว่าหากต้องการใช้ตู้อบแสงยูวีที่ใช้ในการศึกษานี้อบฆ่าเชื้อแบคทีเรียเพื่อให้สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ทุกชนิดควรอบเป็นเวลอย่างน้อย 3 นาที

ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียแต่ละชนิดมีความสามารถในการทนต่อแสงยูวีได้แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลที่ได้จากการศึกษาที่ผ่านมาที่พบว่าแบคทีเรียแต่ละชนิดมีความสามารถในการทนต่อแสงยูวีที่ต่างกัน แม้แต่เชื้อชนิดเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์ก็มีความสามารถในการทนแสงยูวีที่ต่างกัน [11]

ในการศึกษานี้พบว่า *B. cereus* และ *E. coli* มีความสามารถทนต่อแสงยูวีได้ดีกว่าแบคทีเรียทดสอบอีก 2 ชนิด ในกรณีของ *B. cereus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ การทนต่อแสงยูวีอาจเกิดจากการที่มีบางเซลล์ของ *B. cereus* อยู่ในสถานะที่มีการสร้างสปอร์ ทำให้ทนต่อแสงยูวีได้ดี จากรายงานการวิจัยของ Setlow [15] พบว่าสปอร์ของ *B. subtilis* มีความสามารถในการทนต่อแสงยูวีได้ดี เหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องจาก เมื่อสปอร์ได้รับแสงยูวีมักทำให้เกิด Spore Photoproduct (5-Thymine-5, 6-Dihydrothymine) ขึ้นกับ DNA ภายในสปอร์ แต่ความผิดปกติดังกล่าวสามารถถูกซ่อมแซมได้ด้วยเอนไซม์ Spore Photoproduct Lyase ซึ่งมีอยู่ภายในสปอร์ ด้วยเหตุนี้สปอร์จึงมีความสามารถในการซ่อมแซมความผิดปกติของ DNA อันเนื่องมาจากแสงยูวีได้ จึงทำให้ทนต่อแสงยูวีได้ดี ส่วนความสามารถในการทนต่อแสงยูวีของ *E. coli* โดยส่วนใหญ่แล้วเกิดจากการที่แบคทีเรียชนิดนี้มีกลไกการซ่อมแซมความผิดปกติที่เกิดจากแสงยูวี โดยปกติแล้วแสงยูวีมักทำให้เกิดความผิดปกติขึ้นกับ DNA ของแบคทีเรียที่เรียกว่า Pyrimidine Dimer [16] หากแบคทีเรียใดมีกลไกในการซ่อมแซม DNA ได้ดี แบคทีเรานั้นก็จะทนต่อแสงยูวีได้ดี จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า *E. coli* มีหลายกลไกในการซ่อมแซม Pyrimidine Dimer เช่น Photoreactivation, Base Excision Repair และ Nucleotide Excision Repair [17] โดย *E. coli* แต่ละสายพันธุ์อาจใช้กลไกที่แตกต่างกันในการซ่อมแซม DNA ขึ้นอยู่กับเอนไซม์ที่มีอยู่ในแต่ละสายพันธุ์ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า *E. coli* ที่อยู่ในสถานะของการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันมีความสามารถในการทนต่อแสงยูวีที่ต่างกัน โดย *E. coli* ที่อยู่ในระยะ Stationary Phase มีความสามารถในการทนต่อแสงยูวีได้ดีกว่า *E. coli* ที่อยู่ในระยะ Log Phase เนื่องจากเซลล์ในระยะ Stationary Phase มีอัตราการแบ่งเซลล์ที่น้อย จึงทำให้อัตราการเกิด DNA Replication น้อย เซลล์จึงสามารถทุ่มเทให้กับการซ่อมแซม DNA ได้เต็มที่ [18] ในกรณีของการศึกษานี้ที่พบว่า *E. coli* มีความสามารถในการทนต่อแสงยูวีได้ดี อาจมีสาเหตุมาจากปัจจัยใดปัจจัยหนึ่งดังที่กล่าวมาแล้ว



รูปที่ 4 การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (ความเข้มข้น 0.5 McFarland) หลังจากการอบแสงยูวีเป็นเวลา 5 นาที
(a.) ชุดควบคุม; (b.) ชุดทดลอง (*E* = *E. coli*; *S* = *S. aureus*; *B* = *B. cereus*; *ES* = *ESBL E. coli*)



รูปที่ 5 การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (ความเข้มข้น 0.5 McFarland) หลังจากการอบแสงยูวีเป็นเวลา 2 นาที
(a.) ชุดควบคุม; (b.) ชุดทดลอง ($E = E. coli$; $S = S. aureus$; $B = B. cereus$; $ES = ESBL E. coli$)

ตารางที่ 1 การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (ความเข้มข้น 0.5 McFarland) หลังจากการอบแสงยูวีที่เวลาต่าง ๆ

แบคทีเรีย	ระยะเวลาในการอบแสงยูวี (นาที)			
	2	3	4	5
<i>Escherichia coli</i>	-	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>	-	+	+	+
<i>ESBL E. coli</i>	+	+	+	+

+ = มีการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย; - = ไม่มีการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

5.3 การศึกษาผลของความเข้มข้นของแบคทีเรียต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยแสงยูวี

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียทดสอบทุกชนิด ได้แก่ *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* และ *ESBL E. coli* ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 1, 2, 3 และ 4 McFarland มาป้ายลงบนอาหาร BHI Agar แล้วนำไปอบแสงยูวีเป็นเวลา 3 นาทีพบว่าแบคทีเรียทดสอบทุกชนิดถูกยับยั้งได้ โดยสังเกตจากการที่ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียทดสอบทุกชนิดบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการอบแสงยูวี ในขณะที่บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ผ่านการอบแสงยูวี ซึ่งใช้เป็น Positive Control แบคทีเรียทดสอบทุกชนิดสามารถเจริญได้ (ตารางที่ 2) การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของแบคทีเรียไม่มีผลต่อความสามารถของตูบแสงยูวีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย หากทำการอบฆ่าเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลา 3 นาที

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Saha และคณะ [19] ที่แสดงให้เห็นว่าเมื่อทดลองฆ่าเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* ด้วยแสงยูวี ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 10^4 , 10^5 , 10^6 และ 10^7 cfu/ml เป็นเวลา 2 นาที ผลที่ได้ไม่แตกต่างกันคือแสงยูวีสามารถลดปริมาณของเชื้อในทุกความเข้มข้นลงได้ 99% และเมื่อทำการทดลองเช่นเดิม แต่เปลี่ยนเชื้อที่ใช้เป็น *P. oleovorans subsp. lubricantis* ก็ยังได้ผลการทดลองเช่นเดิม คือ แสงยูวีสามารถปริมาณของเชื้อในทุกความเข้มข้นลงได้ 99%

ตารางที่ 2 การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากการอบแสงยูวีเป็นเวลา 3 นาที

แบคทีเรีย	ความเข้มข้นของแบคทีเรีย (McFarland)			
	1	2	3	4
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>	+	+	+	+
ESBL <i>E. coli</i>	+	+	+	+

+ = มีการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย; - = ไม่มีการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

6. สรุปผลการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของตู้อบแสงยูวีที่พัฒนาขึ้นโดยคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ซึ่งได้แก่ แบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียที่สร้างสปอร์ และแบคทีเรียดื้อยา ผลจากการศึกษาสามารถสรุปได้ว่า หากต้องนำตู้อบแสงยูวีนี้นำไปใช้งานจริง ซึ่งมีแบคทีเรียหลากหลายสายพันธุ์ปะปนกันอยู่ ควรใช้เวลาในการอบแสงยูวีอย่างน้อย 3 นาที เนื่องจากเวลาดังกล่าวสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทุกชนิด และทุกความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- [1] Amaro-Ortiz A, Yan B, D'Orazio JA. Ultraviolet radiation, aging and the skin: prevention of damage by topical cAMP manipulation. *Molecules*. 2014 May;19(5):6202-19.
- [2] Dai T, Vrahas MS, Murray CK, Hamblin MR. Ultraviolet C irradiation: an alternative antimicrobial approach to localized infections? *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2012 Feb;10(2): 185-195.
- [3] Katara G, Hemvani N, Chitnis S, Chitnis V, Chitnis DS. Surface disinfection by exposure to germicidal UV light. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2008 Jul;26(3): 241-2.
- [4] Wacker M, Holick MF. Sunlight and vitamin D: A global perspective for health. *Dermato-endocrinol*. 2013 Jan;5(1):51-108.
- [5] D'Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV radiation and the skin. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013 Jun;14(6):1222-48.
- [6] Mohr H, Steil L, Gravemann U, Thiele T, Hammer E, Greinacher A, Muller TH, Volker U. A novel approach to pathogen reduction in platelet concentrates using short-wave ultraviolet light. *Transfusion*. 2009 Dec;49(12):2612-24.

- [7] Rao BK, Kumar P, Rao S, Gurung B. Bactericidal effect of ultraviolet C (UVC), direct and filtered through transparent plastic, on gram-positive cocci: an in vitro study. *Ostomy Wound Manage.* 2011 Jul;57(7):46-52.
- [8] Taylor GJ, Leeming JP, Bannister GC. Effect of antiseptics, ultraviolet light and lavage on airborne bacteria in a model wound. *The Journal of bone and joint surgery British volume.* 1993 Sep;75(5):724-30.
- [9] Yin R, Dai T, Avci P, Jorge AE, de Melo WC, Vecchio D, Huang YY, Gupta A, Hamblin MR. Light based anti-infectives: ultraviolet C irradiation, photodynamic therapy, blue light, and beyond. *Current Opinion Pharmacology.* 2013 Oct;13(5):731-62.
- [10] Rose LJ, O'Connell H. UV light inactivation of bacterial biothreat agents. *Applied and Environmental Microbiology.* 2009 May;75(9):2987-90.
- [11] Coohill TP, Sagripanti JL. Ultraviolet radiation of bacteria with particular relevance to biodefense. *Photochem Photobiol.* 2008;84(5):1084-90.
- [12] Zhang CM, Xu L, Wang XC, Zhang K, Liu QQ. Effects of ultraviolet disinfection on antibiotic-resistant *Escherichia coli* from wastewater: inactivation, antibiotic resistance profiles and antibiotic resistance genes. *Journal of Applied Microbiology.* 2017 Apr;123(1):295-306.
- [13] Ozcelik B. Fungi/bactericidal and static effects of ultraviolet light in 254 and 354 nm wavelengths. *Research Journal of Microbiology.* 2007;2(1):42-9.
- [14] Mackenzie D. Ultraviolet light fights new virus. *Engineering (Beijing).* 2020;6(8):851-53.
- [15] Setlow P. Resistance of spores of *Bacillus* species to ultraviolet light. *Environmental and Molecular Mutagenesis.* 2001 Feb;38(2-3):97-104.
- [16] Sanchez-Navarrete J, Ruiz-Perez NJ, Guerra-Trejo A, Toscano-Garibay JD. Simplified modeling of *E. coli* mortality after genome damage induced by UV-C light exposure. *Scientific Reports.* 2020 Jul;10:11240.
- [17] Douki T, Koschimbahr AV, Cadet J. Insight in DNA repair of UV-induced pyrimidine dimers by chromatographic methods. *Photochemistry and Photobiology.* 2017 Jan;93(1):207-15.
- [18] Abedi-Moghaddam N, Bulic A, Henderson L, Lam E. Survival of *Escherichia coli* to UV irradiation during exponential and stationary phases of growth. *Journal of Experimental Microbiology and Immunology.* 2004 Apr;5:44-49.
- [19] Saha R, Donofrio RS, Bagley ST. Determination of the effectiveness of UV radiation as a means of disinfection of metalworking fluids. *Annals of Microbiology.* 2014;64:831-38.