บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

บทนี้กล่าวถึงอุปกรณ์ เครื่องมือและวัสดุที่ใช้ในงานวิจัย ตลอดรวมถึงขั้นตอนและวิธีการทดลอง ตั้งแต่การเตรียมฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ การศึกษาลักษณะเฉพาะทางกายภาพ และการศึกษาการฆ่าเชื้อ *E. coli* ของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

กรอบแนวคิดของงานวิจัย

ผู้วิจัยแบ่งการดำเนินงานของวิทยานิพนธ์นี้เป็น 3 ส่วนคือ (1) การเตรียมฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ (2) การหาลักษณะเฉพาะของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ และ (3) การศึกษาการฆ่าเชื้อ *E. coli* ของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ สรุปได้ดังนี้

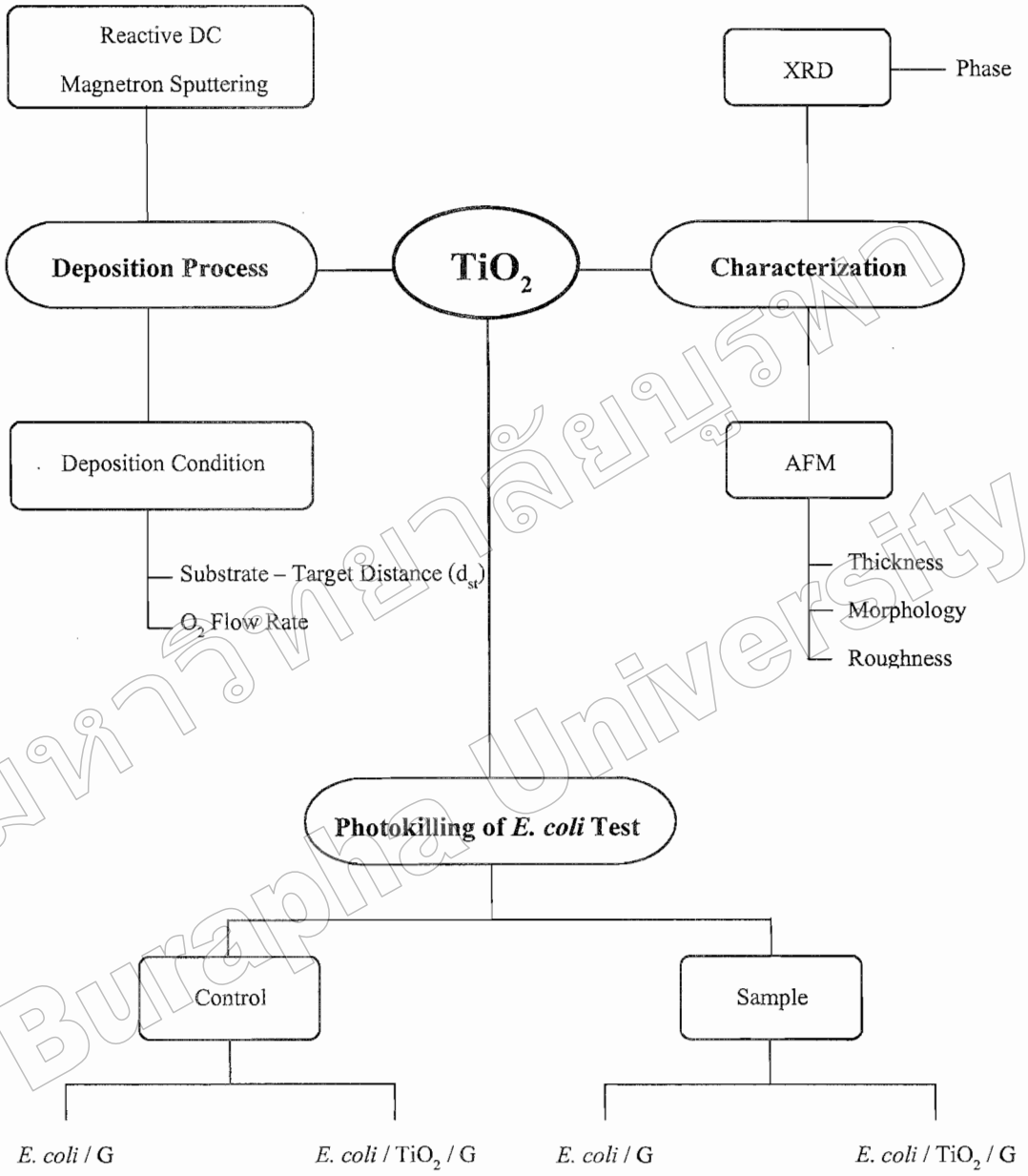
การเตรียมฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ เริ่มจากศึกษาอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเคลือบ ตัวแปรและขั้นตอนการเคลือบ ซึ่งวิทยานิพนธ์นี้ใช้การเคลือบด้วยวิธีรีแอคตีฟ ดีซี แมกนีตรอน สปัตเตอริง จากนั้นจึงทดลองเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ โดยศึกษาผลของระยะห่างระหว่างเป้าสารเคลือบกับวัสดุรองรับ และผลของอัตราไหลแก๊สออกซิเจนต่อโครงสร้างของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

การศึกษาลักษณะเฉพาะของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบได้ ด้วยเทคนิค XRD เพื่อศึกษาโครงสร้างผลึก ขนาดผลึก ค่าคงที่แลตทิซ (Lattice Constants) และใช้เทคนิค AFM เพื่อศึกษาความหนา และลักษณะพื้นผิว

ส่วนการศึกษาการฆ่าเชื้อ *E. coli* โดยการฉายแสงอัลตราไวโอเลต ผู้วิจัยจะนำฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เตรียมได้จากเงื่อนไขที่เหมาะสม ไปทดสอบความสามารถในการฆ่าเชื้อ *E. coli* โดยการนำเชื้อ *E. coli* ไปทดสอบบนกระจกที่ไม่เคลือบและเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ จากนั้นนำกระจกทั้งสองชนิดดังกล่าวมากระตุ้นด้วยแสงอัลตราไวโอเลต ซึ่งจะมีชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต จากนั้นนำกระจกที่ผ่านการทดสอบแล้วมาศึกษาการเจริญของเชื้อ *E. coli* และตรวจนับปริมาณเชื้อ *E. coli* ที่เหลือรอดตาย เปรียบเทียบผลกับชุดควบคุม

สุดท้ายเป็นการอภิปรายผลของระยะห่างระหว่างเป้าสารเคลือบกับวัสดุรองรับ ผลของอัตราไหลแก๊สออกซิเจนต่อโครงสร้างของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ และผลทดสอบการฆ่าเชื้อ *E. coli* ของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 3-1 กรอบแนวความคิดของการวิจัย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เครื่องมือและวัสดุที่ใช้ในการทดลอง

อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัยนี้แบ่งเป็น 3 ส่วน คือ

1. การเตรียมฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

1.1 เครื่องเคลือบสุญญากาศระบบ รีแอคตีฟ ดีซี แมกนีตรอน สปัตเตอริง ที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ เครื่องเคลือบที่ใช้ในการวิจัยสร้างขึ้นโดยห้องปฏิบัติการวิจัยเทคโนโลยีสุญญากาศและฟิล์มบาง ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา (ภาพที่ 3-2)

1.2 วัสดุที่ใช้ในการทดลอง

1.2.1 เป้าสารเคลือบ (Target) เป็นเป้าไทเทเนียม มีความบริสุทธิ์ 99.97 %

1.2.2 วัสดุรองรับ (Substrate) มี 2 ชนิด คือ

- กระจกสไลด์ใช้เพื่อศึกษาความสามารถในการฆ่าเชื้อ *E. coli* ของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

- แผ่นซิลิกอนใช้เพื่อศึกษาโครงสร้างผลึก ขนาดผลึก ค่าคงที่แลตทิซ ความหนา และลักษณะพื้นผิวของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

1.2.3 แก๊ส (Gas) ประกอบด้วยแก๊ส 2 ชนิด คือ

- แก๊สอาร์กอน (99.999%) เป็นแก๊สสปัตเตอร์ (Sputtered Gas)

- แก๊สออกซิเจน(99.995%) เป็นแก๊สไวปฏิกิริยา (Reactive Gas)

2. การหาลักษณะเฉพาะทางกายภาพของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

2.1 X-Ray Diffractrometer สำหรับศึกษาโครงสร้างผลึกงานวิจัยนี้ใช้เครื่อง X-Ray Diffractrometer รุ่น Rint 2000 (Rigaku Corporation) ของภาควิชาวิศวกรรมโลหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2 Atomic Force Microscopeสำหรับศึกษาความหนา และลักษณะพื้นผิวงานวิจัยนี้ใช้เครื่อง Atomic Force Microscope รุ่น Nanoscope IV (Veeco Instruments Inc.) ของศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. การศึกษาการฆ่าเชื้อ *E. coli* ของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

3.1 การเตรียมเชื้อ *E. coli*

3.1.1 แบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 25922 จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ประเทศไทย

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป ยี่ห้อ Nutrient Broth (NB)

3.1.3 น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (Distillation)

3.1.4 ไมโครปิเปตต์ (Micropipette)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3.1.5 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.1.6 หลอดทดลอง (Test Tube) ขนาด 150 มิลลิเมตร

3.1.7 หลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ (Microcentrifuge Tube)

3.1.8 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Burner)

3.1.9 สำลี

3.1.10 ถุงมือยาง

3.1.11 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow Clean Bench)

3.1.12 เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated Centrifuge) ความเร็วรอบ 10,000 xg

3.1.13 หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)

3.1.14 เครื่องเขย่าแนวราบแบบวงกลม (Shaker)

3.1.15 เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrometer)

3.2 การทดสอบความสามารถในการฆ่าเชื้อ *E. coli* ของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

3.2.1 ฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบได้

3.2.2 กระจกสไลด์ (Slide)

3.2.3 แผ่นใส (Overhead Film)

3.2.4 จานอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri Dish)

3.2.5 แท่งแก้วสำหรับเกลี่ยเชื้อแบคทีเรีย (Spreader)

3.2.6 ปากคีบ (Forceps)

3.2.7 อาหารเลี้ยงเชื้อ Desoxycholate Agar

3.2.8 กล่องกำเนิดแสงอัลตราไวโอเลต

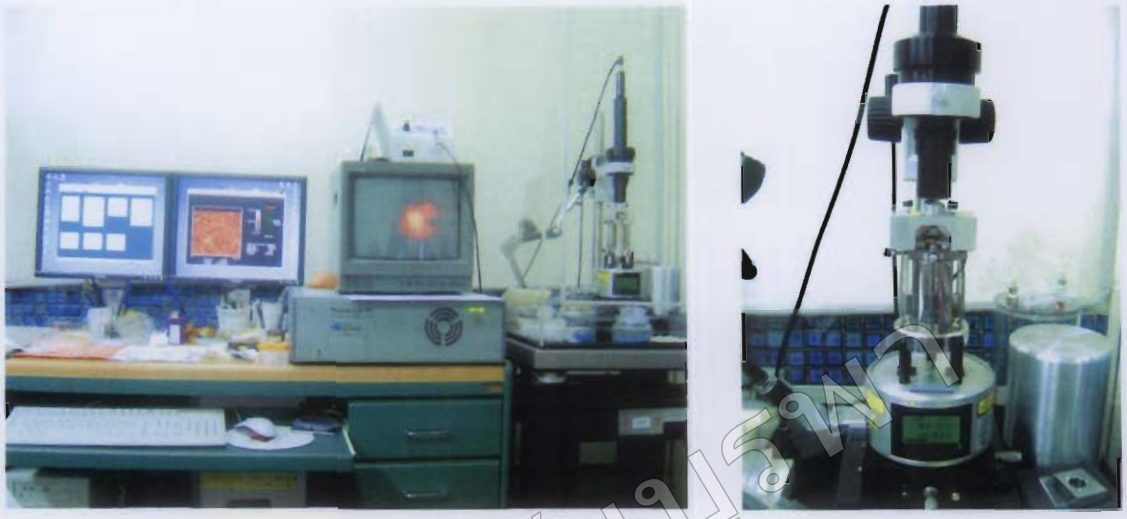
3.2.9 อุปกรณ์เครื่องแก้วอื่น ๆ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาพที่ 3-2 เครื่องเคลือบสุญญากาศระบบรีแอคตีฟ ดีซี แมกนีตรอน สปัตเตอริง ที่ใช้ในงานวิจัย

ภาพที่ 3-3 เครื่อง X-Ray Diffractrometer (XRD)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

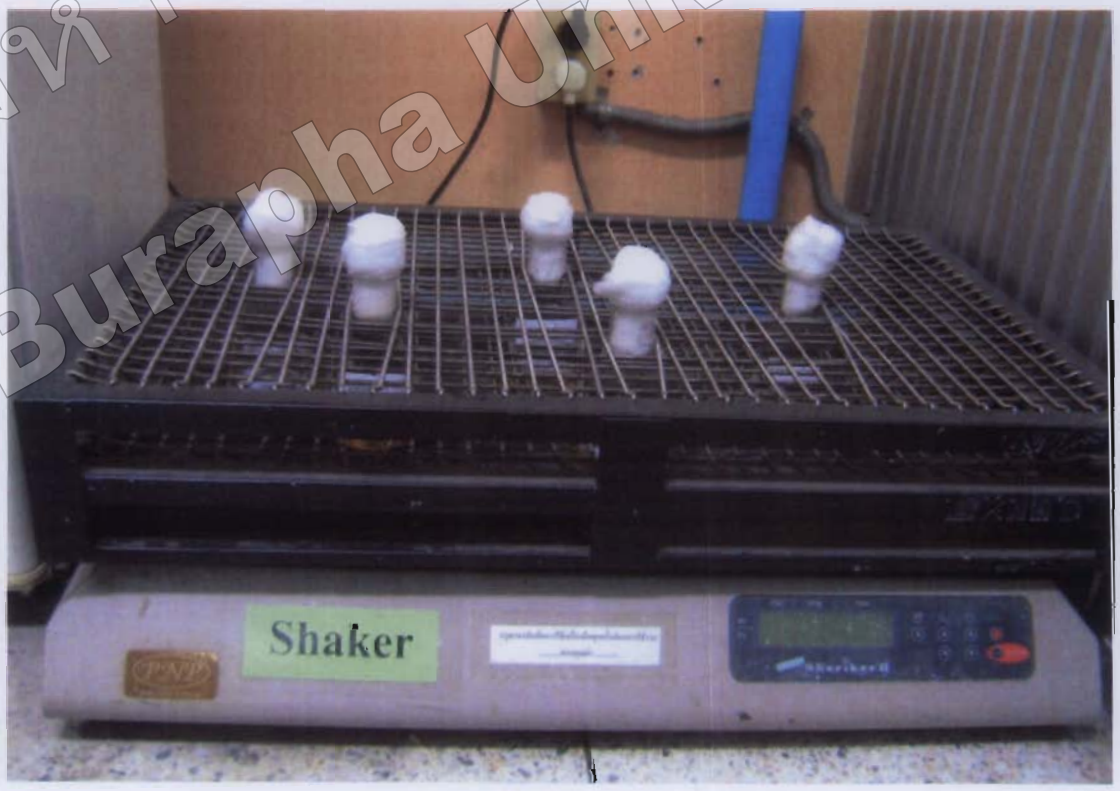


ภาพที่ 3-4 เครื่อง Atomic Force Microscope (AFM)

ภาพที่ 3-5 ตู้ปลอดเชื้อ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาพที่ 3-6 เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ



ภาพที่ 3-7 เครื่องเขย่าแนวราบแบบวงกลม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาพที่ 3-8 อุปกรณ์และเครื่องแก้วที่ใช้ในการทดลอง

ภาพที่ 3-9 แบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 25922
จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ประเทศไทย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

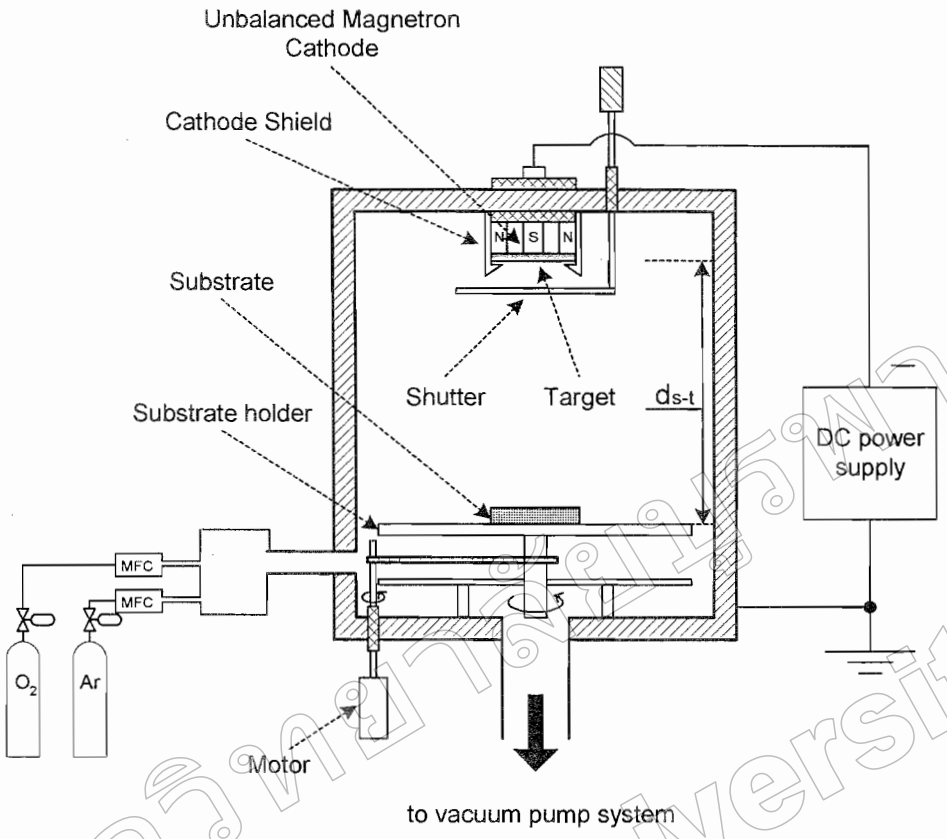
เครื่องเคลือบฟิล์มบางระบบ รีแอคตีฟ ดีซี สปัตเตอริง

ฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ในงานวิทยานิพนธ์นี้ เตรียมได้จากเครื่องเคลือบในสุญญากาศระบบ ดีซี อันบาลานซ์ แมกนีตรอน สปัตเตอริง (ภาพที่ 3-10) ด้วยเทคนิครีแอคตีฟสปัตเตอริง ซึ่งเป็นกระบวนการภายใต้สภาวะสุญญากาศ ดังนั้น เพื่อให้ฟิล์มบางที่ได้มีคุณภาพและสมบัติตามที่ต้องการ จะต้องลดความดันภายในภาชนะสุญญากาศให้อยู่ในระดับ 10^{-5} mbar ส่วนประกอบของเครื่องเคลือบระบบสปัตเตอริงในงานวิจัยนี้ประกอบไปด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนของระบบสุญญากาศ (Vacuum System) และส่วนของระบบเคลือบ (Coating System) รายละเอียดดังนี้

1. ส่วนระบบสุญญากาศ ประกอบด้วย ห้องเคลือบทรงกระบอกทำจากสเตนเลส ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 310.0 mm สูง 370.0 mm ระบบเครื่องสูบสุญญากาศประกอบด้วยเครื่องสูบแบบแพร่ไอแบบระบายความร้อนด้วยน้ำและมีเครื่องสูบกลโรตารีเป็นเครื่องสูบท้าย การวัดความดันภายในภาชนะสุญญากาศใช้มาตรวัดความดันของ Balzers รุ่น TPG300 โดยใช้หัววัดแบบพิรานี รุ่น TPR010 และหัววัดแบบเพนนิ่งรุ่น IKR050

2. ส่วนของระบบเคลือบ เป็นส่วนเตรียมฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ประกอบด้วยแมกนีตรอนคาโทด 2 หัว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 54.0 mm ระบายความร้อนด้วยน้ำติดตั้งเป้าไทเทเนียม (99.97%) ที่คาโทด พร้อมภาคจ่ายไฟฟ้าแรงสูงกระแสตรง ใช้แก๊สอาร์กอนความบริสุทธิ์สูง (99.999%) เป็นแก๊สสปัตเตอร์ ใช้แก๊สออกซิเจนความบริสุทธิ์สูง (99.995%) เป็นแก๊สไวปฏิกิริยา สำหรับการจ่ายแก๊สอาร์กอนและแก๊สออกซิเจนในกระบวนการเคลือบควบคุมด้วย Mass Flow Controller ของ MKS type247D

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 3-10 ไดอะแกรมของเครื่องเคลือบ

การสร้างสภาวะสุญญากาศ

ก่อนทำการเคลือบฟิล์มด้วยวิธีสปัตเตอริง ต้องทำความดันในภาชนะสุญญากาศให้อยู่ในสภาวะสุญญากาศที่ระดับสุญญากาศสูง (High Vacuum) ความดันประมาณ 10^{-3} - 10^{-5} mbar เพื่อลดการปนเปื้อนของฟิล์มที่เคลือบได้เนื่องจากการคงค้างของแก๊สในภาชนะสุญญากาศ (Residual Gas) การสร้างสภาวะสุญญากาศจะใช้ระบบเครื่องสูบสุญญากาศ ประกอบด้วยเครื่องสูบแบบแพร่ไอ (Diffusion Pump) หนุนหลังด้วยเครื่องสูบกลโรตารี (Rotary Pump) ที่ต่อเข้ากับภาชนะสุญญากาศด้วยท่อและมีวาล์วควบคุมการปิด-เปิด (ภาพที่ 3-11) โดยในตอนต้นจะใช้เครื่องสูบกลโรตารีเพื่อลดความดันในภาชนะสุญญากาศจากความดันบรรยากาศเป็นความดันต่ำประมาณ 10^{-2} mbar ต่อมาจะใช้เครื่องสูบแบบแพร่ไอ เพื่อลดความดันในภาชนะสุญญากาศจาก 10^{-2} mbar ให้ลดลงอยู่ในช่วงความดัน 10^{-5} mbar

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สำหรับขั้นตอนการสร้างภาวะสุญญากาศ มีดังนี้

1. ตรวจเช็ควาล์วหยาบ (หมายเลข 9) วาล์วท้าย (หมายเลข 11) และวาล์วสุญญากาศสูง (หมายเลข 10) ให้อยู่ในสภาพปิดทั้งหมด

2. เปิดสวิทซ์หลัก เพื่อจ่ายไฟฟ้าให้แก่ระบบต่าง ๆ ของเครื่อง เช่น ระบบวัดความดัน และระบบควบคุมการทำงานของระบบเครื่องสูบสุญญากาศ เป็นต้น หลังจากนั้นเปิดสวิทซ์ Rotary เพื่อให้เครื่องสูบกลโรตารี (หมายเลข 7) ทำงาน

3. เริ่มสูบอากาศจากเครื่องสูบแบบแพร่ไอ โดยใช้เครื่องสูบกลโรตารี โดยเปิดวาล์วท้าย เพื่อให้เครื่องสูบกลโรตารีสูบอากาศออกจากเครื่องสูบกลแบบแพร่ไอ (หมายเลข 6) จนความดันในเครื่องสูบแบบแพร่ไอ เมื่ออ่านจากพิรานีเกจ (หมายเลข 4) มีค่าน้อยกว่า 10^{-2} mbar ซึ่งเป็นความดันที่เครื่องสูบแบบแพร่ไอ สามารถทำงานได้ พร้อมทั้งเปิดสวิทซ์ Diffusion เพื่อให้ตัวทำความร้อนของเครื่องสูบแบบแพร่ไอทำงานเป็นการเริ่มต้มน้ำมัน ใช้ประมาณ 20 นาที

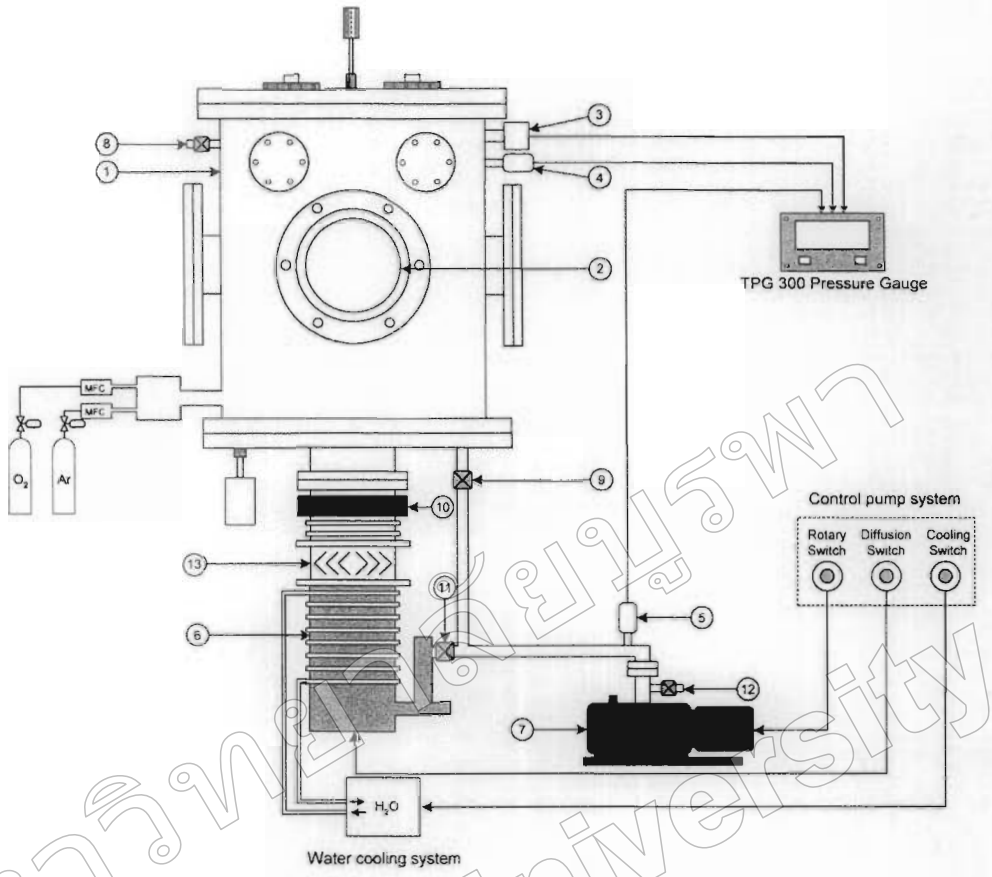
4. ในระหว่างการต้มน้ำมันนำวัสดุรองรับที่ต้องการเคลือบวางในภาชนะสุญญากาศ โดยก่อนวางวัสดุรองรับต้องตรวจความดันในภาชนะสุญญากาศ ยังคงอยู่ในสภาวะเป็นสุญญากาศหรือไม่ ถ้ายังคงเป็นสุญญากาศให้ทำการเปิดวาล์วปล่อย เพื่อให้อากาศเข้าสู่ภาชนะสุญญากาศจนความดันในภาชนะสุญญากาศเท่ากับความดันบรรยากาศ หลังจากนั้นทำการเปิดฝาครอบภาชนะสุญญากาศออก นำวัสดุรองรับที่ต้องการเคลือบไปวาง ปิดฝาครอบและปิดวาล์วปล่อยให้สนิท

5. สร้างสภาวะสุญญากาศขั้นต้นในภาชนะสุญญากาศโดยใช้เครื่องสูบกลโรตารี โดยการปิดวาล์วท้าย แล้วเปิดวาล์วหยาบเพื่อให้เครื่องสูบกลโรตารีสูบอากาศออกจากภาชนะสุญญากาศ จนความดันในภาชนะสุญญากาศ มีค่าประมาณ 10^{-2} mbar เมื่ออ่านความดันจากมาตรวัดความดันแบบช่วงกว้าง (หมายเลข 3)

6. เมื่อต้มน้ำมันจนครบ 20 นาที ทำการสร้างสภาวะสุญญากาศสูง ในภาชนะสุญญากาศด้วยเครื่องสูบแบบแพร่ไอ โดยปิดวาล์วหยาบ แล้วเปิดวาล์วท้าย หลังจากนั้นเปิดวาล์วสุญญากาศสูง เพื่อให้เครื่องสูบแบบแพร่ไอสูบอากาศออกจากภาชนะสุญญากาศเพื่อทำความดันในภาชนะสุญญากาศให้อยู่ในระดับสภาวะสุญญากาศสูง หรืออยู่ในช่วง 10^{-5} - 10^{-6} mbar

7. จับเวลาและรอจนความดันในภาชนะสุญญากาศมีค่าประมาณ 5×10^{-5} mbar ซึ่งกำหนดให้เป็นค่าความดันพื้น (P_b) ก่อนเริ่มกระบวนการเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 3-11 ไดอะแกรมระบบเครื่องสูบสุญญากาศของระบบเคลือบสปัตเตอริง

1. ภาชนะสุญญากาศ (Vacuum Chamber)
2. หน้าต่าง (Window)
3. มาตรวัดความดันเพนนิ่ง (Penning Gauge)
4. มาตรวัดความดันพิรานี (Pirani Gauge)
5. มาตรวัดความดันแบบพิรานี (Pirani Gauge)
6. เครื่องสูบแบบแพร่ไอ (Diffusion Pump)
7. เครื่องสูบกลโรตารี (Rotary Pump)
8. วาล์วปล่อย (Vent Valve)
9. วาล์วหยาบ (Roughing Valve)
10. วาล์วสุญญากาศสูง (High Vacuum Valve)
11. วาล์วท้าย (Backing Valve)
12. วาล์วปล่อย (Vent Valve)
13. แบฟเฟิล (Baffle)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การเตรียมวัสดุรองรับสำหรับการเคลือบฟิล์ม

ทั้งนี้ก่อนนำวัสดุรองรับมาเคลือบฟิล์มต้องนำมาทำความสะอาดเพื่อขจัดสิ่งสกปรก ได้แก่ คราบฝุ่น ไขมันสารอินทรีย์ต่าง ๆ ก่อน ซึ่งจะทำให้ได้ผิววัสดุรองรับที่ได้มีความสะอาด ทำให้ฟิล์มที่เคลือบยึดติดแน่นลงบนผิวหน้าของวัสดุรองรับ สำหรับการทำความสะอาดวัสดุรองรับ เริ่มจากนำวัสดุรองรับไปล้างด้วยไตรคลอโรเอทิลีน (Trichloroethylene) โดยใช้อัลตราโซนิกส์ เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปล้างด้วยอะซิโตนโดยใช้อัลตราโซนิกส์เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปล้างต่อด้วยไอโซโพรพานอล (Isopropanal) โดยใช้อัลตราโซนิกส์อีก 5 นาที นำวัสดุรองรับขึ้นด้วยคีมคีบ เป่าด้วยลมร้อนให้แห้ง จากนั้นนำวัสดุรองรับใส่เข้าในภาชนะสุญญากาศเพื่อรอการเคลือบ ดังแสดงในภาพที่ 3-12

ภาพที่ 3-12 ขั้นตอนการล้างวัสดุรองรับ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

การเคลือบฟิล์มบางในภาชนะสุญญากาศด้วยวิธีรีแอคตีฟ ดีซี แมกนีตรอน สปัตเตอริง มีรายละเอียดพอสรุปได้ดังนี้ แหล่งจ่ายไฟฟ้ากระแสตรงถูกติดตั้งเข้ากับระบบเคลือบโดยต่อศักย์ไฟฟ้าลบเข้ากับขั้วคาโทดและต่อศักย์ไฟฟ้าบวก (Ground) กับภาชนะสุญญากาศ เป้าไทเทเนียมจะถูกติดตั้งกับขั้วคาโทด โดยด้านบนของคาโทดจะต่อกับระบบไหลเวียนน้ำเย็นเพื่อใช้ระบายความร้อนที่เกิดขึ้นบริเวณคาโทดจากการสปัตเตอร์ของไอออนอาร์กอนที่บริเวณผิวหน้าเป้าสารเคลือบ ส่วนวัสดุรองรับถูกวางบนแผ่นรองรับที่ติดตั้งบนแท่นวางที่สามารถเคลื่อนที่ขึ้นลงได้ โดยชัตเตอร์ (Shutter) ใช้สำหรับกั้นระหว่างวัสดุรองรับกับเป้าสารเคลือบ เพื่อป้องกันการเคลือบผิววัสดุรองรับในระหว่างกระบวนการทำความสะอาดหน้าเป้า (Pre-Sputtering) และอุปกรณ์ Control Unit ที่เชื่อมต่อกับ Mass Flow Controller (MFC) ใช้บังคับการทำงานของเครื่องควบคุมการปล่อยแก๊สอย่างละเอียด เพื่อควบคุมอัตราการไหลของแก๊สอาร์กอนและแก๊สออกซิเจน ที่เข้าสู่ภาชนะสุญญากาศ โดยค่าอัตราการไหลของแก๊สจะมีหน่วยเป็น Standard Cubic Centimeter per Minute at STP (sccm)

ขั้นตอนในการเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ มีรายละเอียดดังนี้

1. นำวัสดุรองรับที่ต้องการเคลือบวางไว้บนแท่นวางวัสดุรองรับ ปิดชัตเตอร์หน้าเป้าไทเทเนียม แล้วปิดฝาภาชนะสุญญากาศ

2. ลดความดันภายในภาชนะสุญญากาศเท่ากับ 5×10^{-5} mbar กำหนดเป็นค่าความดันพื้น (P_b) ของระบบก่อนทำการเคลือบฟิล์ม บันทึกค่าความดัน P_b ที่อ่านได้

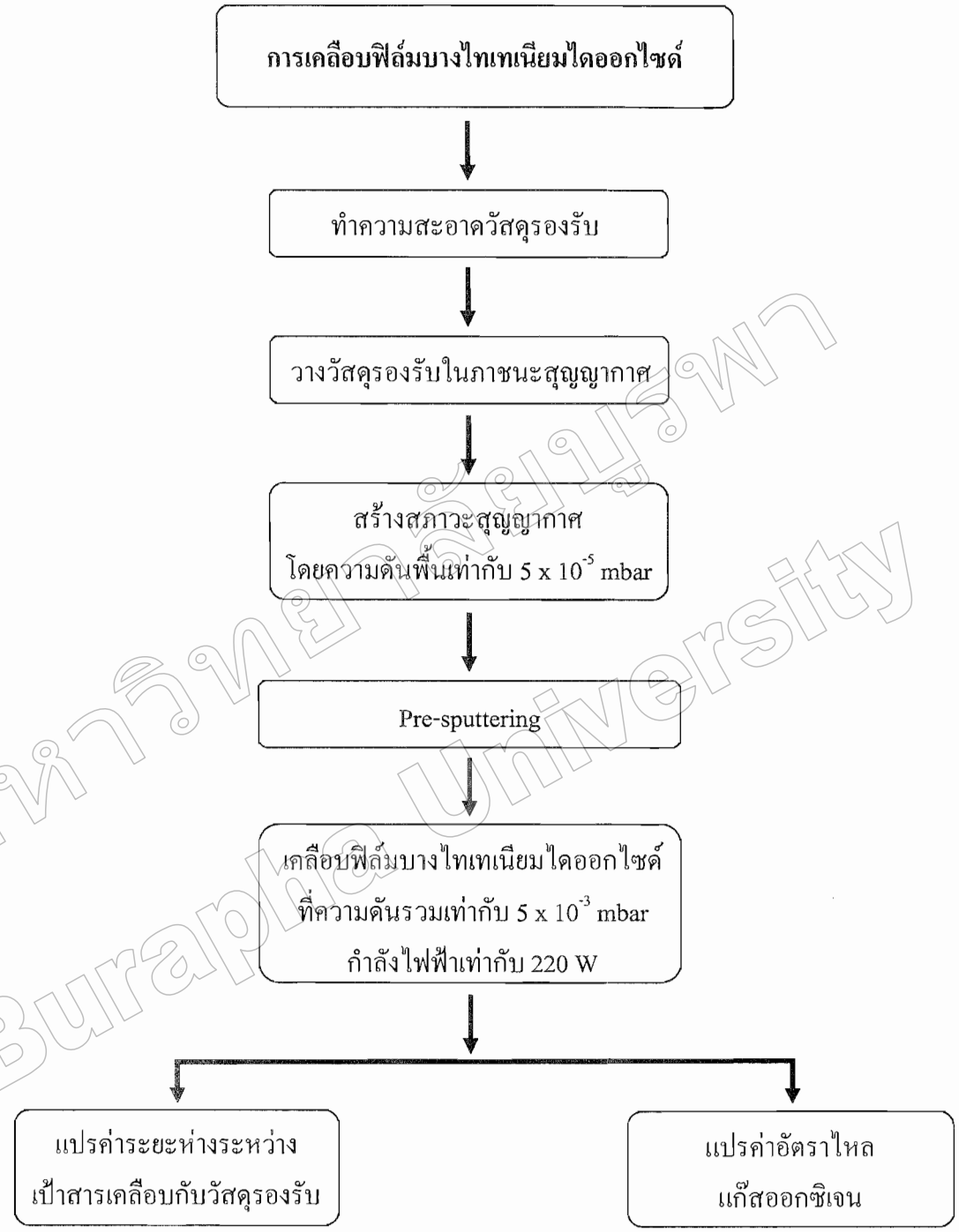
3. ทำความสะอาดหน้าเป้าสารเคลือบด้วยกระบวนการ Pre-Sputtering เป็นเวลา 3 นาที

4. ขั้นตอนนี้เป็นการเคลือบฟิล์มโดยเริ่มจากการปล่อยแก๊สอาร์กอน และแก๊สออกซิเจนเข้าสู่ภาชนะสุญญากาศ ตามค่าที่กำหนดไว้ในเงื่อนไขการทดลอง

5. จ่ายศักย์ไฟฟ้าลบให้แก่คาโทด จนเกิดโกลว์ดิสชาร์จ (ชัตเตอร์ยังคงปิดอยู่) เมื่อความต่างศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายให้คาโทดและกระแสคาโทดที่วัดได้ไม่เปลี่ยนแปลง จะเริ่มการเคลือบฟิล์มบาง โดยเปิดชัตเตอร์ที่ปิดหน้าเป้าออก เพื่อเริ่มกระบวนการเคลือบฟิล์มลงบนวัสดุรองรับ พร้อมทั้งบันทึกผลค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า (V) ค่ากระแสไฟฟ้า (I) และความดันรวม (P_t) ที่เกิดขึ้นขณะเริ่มเคลือบฟิล์ม และทำการเคลือบฟิล์ม ตามเวลา (t) ที่กำหนด

6. หลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการเคลือบฟิล์ม ปิดแหล่งจ่ายไฟ ปิดแก๊สอาร์กอนและแก๊สออกซิเจน ปล่อยให้อากาศเข้าไปในภาชนะสุญญากาศ เพื่อนำวัสดุรองรับออกมา

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 3-13 การเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การศึกษาลักษณะเฉพาะของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

การศึกษาลักษณะเฉพาะของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ในงานวิจัยนี้ เป็นการนำฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบได้ มาศึกษาโครงสร้างผลึก ขนาดผลึก ค่าคงที่แลตทิซ ลักษณะพื้นผิว และความหนา โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. การวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ นำวัสดุรองรับที่เป็นแผ่นซิลิกอนที่ผ่านการเคลือบแล้ว มาทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง X-Ray Diffractrometer เพื่อหาโครงสร้างผลึกของฟิล์มไทเทเนียมไดออกไซด์ที่ได้ โดยใช้ Cu-k_α เป็นแหล่งกำเนิดรังสีเอกซ์ ใน Mode Low Angle กำหนดมุมวัดอยู่ในช่วง 20° - 65° สเปกตรัมที่วัดได้นำไปเปรียบเทียบกับรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ตามฐานข้อมูลอ้างอิงของแฟ้ม JCPDS

2. การหาขนาดผลึกของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ สำหรับการหาขนาดผลึกของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ สามารถหาได้จากรูปแบบโครงสร้างผลึกของฟิล์มบางที่เคลือบได้จากเครื่อง X-Ray Diffractrometer โดยใช้ Seherrer Equation ในการคำนวณหาขนาดผลึกของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่ได้หลังการเคลือบ

3. การหาค่าคงที่แลตทิซของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ สำหรับการค่าคงที่แลตทิซของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ สามารถหาได้จากรูปแบบโครงสร้างผลึกของฟิล์มบางที่เคลือบได้จากเครื่อง X-Ray Diffractrometer โดยใช้สมการการหาระยะห่างระหว่างระนาบผลึกของฟิล์มที่มีโครงสร้างแบบเตตระโกนอล ในการคำนวณหาค่าคงที่แลตทิซของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่ได้หลังการเคลือบ

4. การหาความหนาของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ โดยนำวัสดุรองรับที่เป็นแผ่นซิลิกอนที่ผ่านกระบวนการเคลือบแล้ว ไปวัดความหนาด้วยเครื่อง Atomic Force Microscope โดยใช้เข็มขนาดเล็กทำจากซิลิคอนไนไตรด์เคลื่อนที่กราดบนผิวฟิล์มบางเพื่อตรวจวัดความหนา

5. การศึกษาลักษณะพื้นผิวของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ โดยนำวัสดุรองรับที่เป็นแผ่นซิลิกอนที่ผ่านกระบวนการเคลือบแล้วไปวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวด้วยเครื่อง Atomic Force Microscope โดยมีความละเอียดในระดับนาโน และใช้พื้นที่ในการวิเคราะห์เท่ากับ 1 x 1 μm^2 พร้อมวัดค่าความหยาบผิว

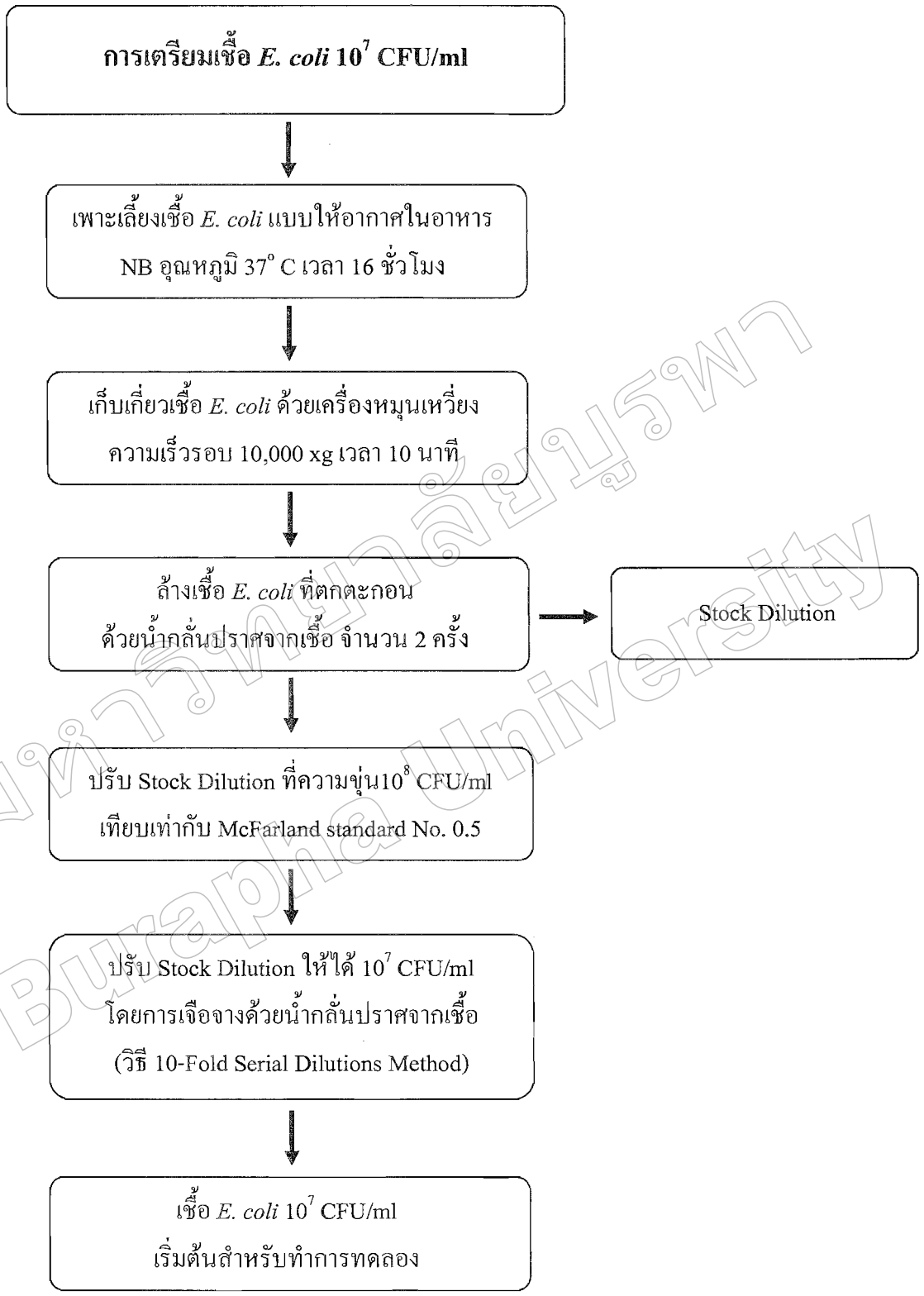
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การศึกษาการฆ่าเชื้อ *E. coli* ของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

การศึกษาความสามารถในการฆ่าเชื้อ *E. coli* เป็นการนำฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบได้ โดยเลือกจากเงื่อนไขที่เหมาะสม มาทดสอบความสามารถในการฆ่าเชื้อ ซึ่งในงานวิจัยนี้เลือกใช้เชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli (E. coli)* ATCC 25922 จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ประเทศไทย โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมเชื้อ *E. coli* โดยนำเชื้อ *E. coli* บ่มเชื้อบนอาหารเหลวสำเร็จรูป Nutrient Broth (NB) ปริมาตร 200 ml ในขวดรูปชมพู่ แบบให้อากาศบนเครื่องเขย่าแบบวงกลม 150 rpm ที่อุณหภูมิ 37° C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง เก็บเกี่ยวเซลล์ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ ความเร็วรอบ 10,000 xg เป็นเวลา 10 นาที (ทำการทดลองด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ และอุปกรณ์ทุกชนิดต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121.5° C ความดัน 15 PSI เป็นเวลานาน 15 นาที และในขณะใช้เครื่องฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน จะต้องมีเทปสำหรับนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave tape) ซึ่งจะมีแถบสีที่จะเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีดำหรือน้ำตาลเข้ม เมื่อผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว) นำแชื้อ *E. coli* ที่ตกตะกอนมาล้างด้วยนำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ จำนวน 2 ครั้ง จะได้เชื้อ *E. coli* (Stock Solution) สำหรับใช้ในการทดลอง จากนั้นนำ Stock Solution มาปรับความเข้มข้นความขุ่นของเซลล์ ให้มีค่าประมาณ 10^8 CFU/ml (เทียบเท่ากับ McFarland standard No. 0.5 (O.D. 0.2 ที่ความยาวคลื่น 600 nm)) และนำเซลล์ที่ได้มาทำการปรับความเข้มข้นความขุ่นให้ได้ 10^7 CFU/ml โดยนำเซลล์มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ด้วยวิธี 10-Fold Serial Dilutions Method ซึ่งขั้นตอนการเตรียมเชื้อ *E. coli* แสดงดังภาพที่ 3-14

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 3-14 ขั้นตอนการเตรียมเชื้อ *E. coli*

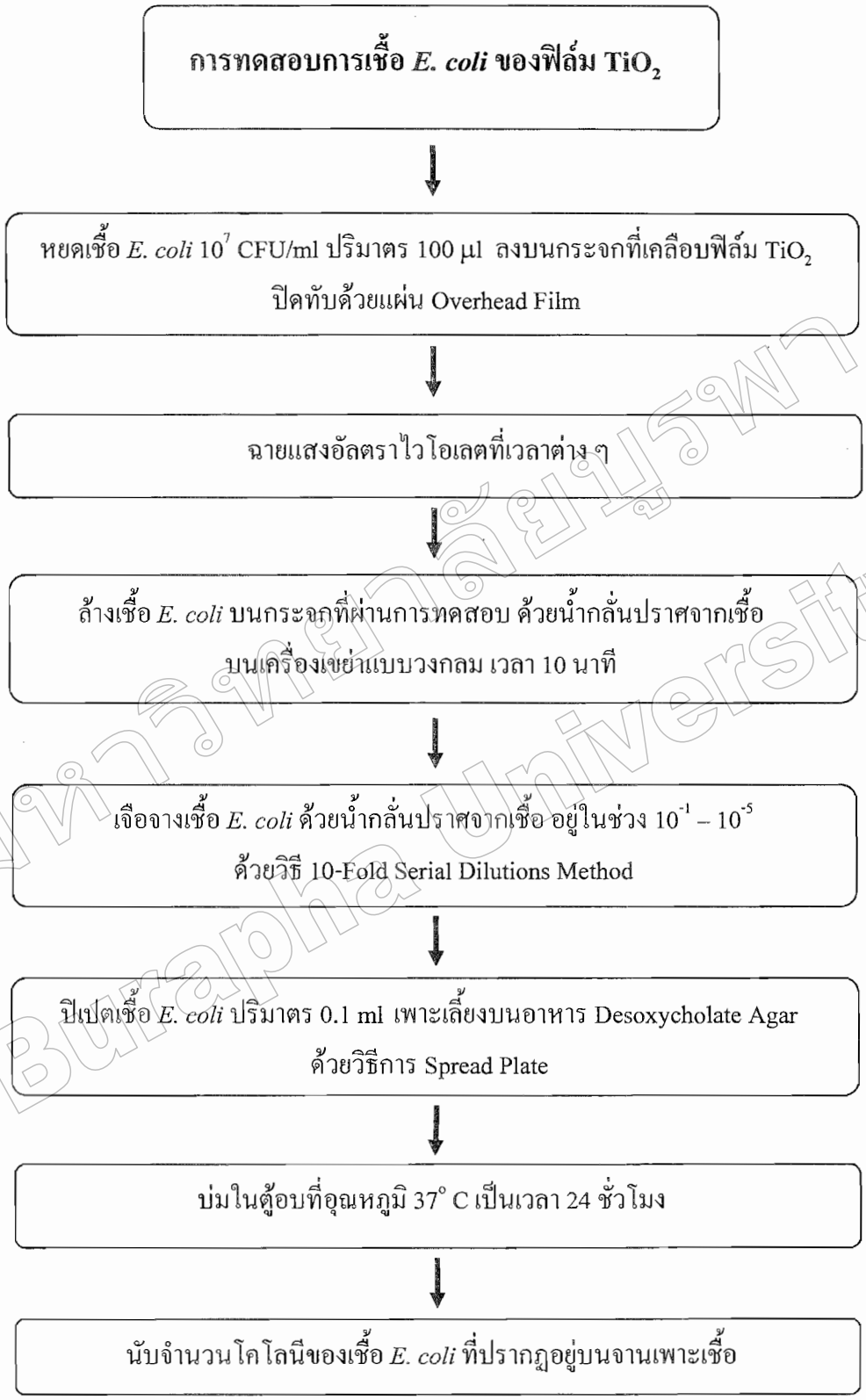
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. การทดสอบความสามารถในการฆ่าเชื้อ *E. coli* ของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เตรียมได้ เริ่มต้นนำเซลล์ *E. coli* ความเข้มข้นความขุ่น 10^7 CFU/ml ปริมาตร 100 µl หยดลงบนบนกระจกที่เคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ และกระจกที่ไม่ผ่านการเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ปิดทับด้วยแผ่น Overhead Film แล้วนำมาฉายแสงอัลตราไวโอเลต พร้อมชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต นำตัวอย่างออกมาจากการฉายแสงอัลตราไวโอเลต และทำการล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 9 ml บนเครื่องเขย่าแบบวงกลม เป็นเวลานาน 10 นาที จากนั้นนำตัวอย่างเซลล์เชื้อ *E. coli* แต่ละตัวอย่างมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อด้วยวิธี 10-Fold Serial Dilutions Method อยู่ในช่วง $10^{-1} - 10^{-5}$ และนำเซลล์แต่ละระดับความเจือจาง ปริมาตรชนิดละ 0.1 ml เพาะเลี้ยงบนอาหาร Desoxycholate Agar ด้วยวิธีการ Spread Plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37° C เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจนับจำนวนเซลล์ที่รอดตาย โดยใช้วิธีการทางชีวภาพ คือ การนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ซึ่งในกรณีที่ตัวอย่างเป็นของเหลว หน่วยในการนับเซลล์ คือ CFU/ml (CFU = colony forming unit) โดยวิธีการที่ใช้ในการคำนวณจำนวนเชื้อ *E. coli* ที่รอดตาย มีดังนี้

$$\text{จำนวนเชื้อ } E.\ coli \text{ (CFU/ml)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นในจานเลี้ยงเชื้อ x ระดับความเจือจาง}}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างที่หยดลงไปในจานเลี้ยงเชื้อ}}$$

แต่ละชุดการทดลอง ทำซ้ำจำนวน 4 ครั้ง และเปรียบเทียบผลการทดลองกับชุดควบคุมที่ไม่ฉายรับแสงอัลตราไวโอเลต

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 3-15 ขั้นตอนการทดสอบการฆ่าเชื้อ *E. coli*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แนวทางการทดลอง

การทดลองในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยเตรียมฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์บนกระจกสไลด์และแผ่นซิลิกอน ภายใต้เงื่อนไขต่าง ๆ จากนั้นนำฟิล์มไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบได้ไปวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะทางกายภาพ และศึกษาสมบัติทางแสงของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ซึ่งผู้วิจัยได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง โดยแต่ละการทดลองมีขั้นตอนการทดลองสรุปได้ดังนี้

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของระยะห่างระหว่างเป้าสารเคลือบกับวัสดุรองรับ

วัตถุประสงค์ เพื่อหาระยะห่างระหว่างเป้าสารเคลือบกับวัสดุรองรับที่เหมาะสมสำหรับเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

1. การเตรียมฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่ระยะห่างระหว่างเป้าสารเคลือบกับวัสดุรองรับต่าง ๆ ขั้นตอนนี้เป็นการเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์บนกระจกสไลด์และแผ่นซิลิกอนโดยการแปรค่าระยะห่างระหว่างเป้าสารเคลือบกับวัสดุรองรับในกระบวนการเคลือบเพื่อหาระยะห่างระหว่างเป้าสารเคลือบกับวัสดุรองรับที่เหมาะสมสำหรับเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ซึ่งมีรายละเอียดดังตารางที่ 3-1

2. การวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะทางกายภาพของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ขั้นตอนนี้เป็นการนำฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบได้มาศึกษาโครงสร้างผลึก ขนาดผลึก ค่าคงที่แลตทิซ ความหนา และลักษณะพื้นผิว

ตารางที่ 3-1 เงื่อนไขการเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ที่ระยะห่างระหว่างเป้าสารเคลือบกับวัสดุรองรับต่าง ๆ

เงื่อนไข	รายละเอียด
เป้าสารเคลือบ	ไทเทเนียม (99.97%)
วัสดุรองรับ	กระจกสไลด์ และแผ่นซิลิกอน
ความดันพื้น (mbar)	5.0×10^{-5}
ความดันรวม (mbar)	5.0×10^{-3}
อัตราไหลแก๊สอาร์กอน (sccm)	1
อัตราไหลแก๊สออกซิเจน (sccm)	6
ระยะระหว่างเป้าสารเคลือบถึงวัสดุรองรับ (cm)	10, 12, 14, 16, 18

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของอัตราไหลแก๊สออกซิเจน

วัตถุประสงค์ เพื่อหาอัตราไหลแก๊สออกซิเจนที่เหมาะสมสำหรับเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

1. การเตรียมฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่อัตราไหลแก๊สออกซิเจนต่าง ๆ ขั้นตอนนี้เป็นการเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์บนกระจกสไลด์และแผ่นซิลิกอน โดยการแปรค่าอัตราไหลแก๊สออกซิเจนในกระบวนการเคลือบ เพื่อหาอัตราไหลแก๊สออกซิเจนที่เหมาะสมสำหรับเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ซึ่งมีรายละเอียดดังตารางที่ 3-2

2. การวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะทางกายภาพของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ขั้นตอนนี้เป็นการนำฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบได้มาศึกษาโครงสร้างผลึก ขนาดผลึก ค่าคงที่แลตทิซ ความหนา และลักษณะพื้นผิว

ตารางที่ 3-2 เงื่อนไขการเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่อัตราไหลแก๊สออกซิเจนต่าง ๆ

เงื่อนไข	รายละเอียด
เป้าสารเคลือบ	ไทเทเนียม (99.97%)
วัสดุรองรับ	กระจกสไลด์ และแผ่นซิลิกอน
ความดันพื้น (mbar)	5.0×10^{-5}
ความดันรวม (mbar)	5.0×10^{-3}
ระยะระหว่างเป้าสารเคลือบถึงวัสดุรองรับ (cm)	12
อัตราไหลแก๊สอาร์กอน (sccm)	1
อัตราไหลแก๊สออกซิเจน (sccm)	2, 4, 6

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การทดลองที่ 3 การศึกษาการฆ่าเชื้อ *E. coli* ของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความสามารถในการฆ่าเชื้อ *E. coli* ของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เตรียมได้

1. การเตรียมฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ ที่มีโครงสร้างผลึกแบบอนาเทส โดยเลือกจากเงื่อนไขที่เหมาะสมจากการทดลองในตอนที่ 1 และ 2

2. การทดสอบการฆ่าเชื้อ *E. coli* ของฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ โดยนำฟิล์มบางที่เคลือบได้มาทดสอบความสามารถในการฆ่าเชื้อ *E. coli* เมื่อถูกกระตุ้นด้วยการฉายแสงอัลตราไวโอเลต เปรียบเทียบผลการทดลองกับชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต โดยการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ *E. coli* ที่รอดตาย ในหน่วย CFU/ml

ตารางที่ 3-3 เงื่อนไขการเคลือบฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์ สำหรับการทดสอบความสามารถในการฆ่าเชื้อ *E. coli*

เงื่อนไข	รายละเอียด
เป้าสารเคลือบ	ไทเทเนียม (99.97%)
วัสดุรองรับ	กระจกสไลด์
ความดันพื้น (mbar)	5.0×10^{-5}
ความดันรวม (mbar)	5.0×10^{-3}
อัตราไหลแก๊สอาร์กอน (sccm)	1
อัตราไหลแก๊สออกซิเจน (sccm)	6
ระยะระหว่างเป้าสารเคลือบถึงวัสดุรองรับ (cm)	12

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University