

ผลของอุณหภูมิการเผาต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา
ของนาโนซิงค์ออกไซด์ที่เตรียมโดยวิธีโซลเจล

Effect of Calcination Temperature on Physicochemical Properties and Antifungal

Activity of Nano-Zinc Oxide Prepared by Sol-Gel Method

รัตนารณ์ สมฤทธิ์¹ วรุตม์ คุณสุทธิ์^{1*} ธีระวิทย์ พลโคกก่อง¹ ปัฐพงศ์ เทียมตรี² สุวนันท์ โสมะมี² และ เสาวณีย์ สายบุตร²
Rattanaporn Somrit¹ Warut Koonnasoot^{1*} Thirawit Phonkhokkong¹ Pattapong Tiemtreet² Suwanan Somame²
and Saowanee Saibut²

¹สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

²สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

¹Division of Physics, Faculty of Science, Buriram Rajabhat University

²Division of Physics, Faculty of Education, Buriram Rajabhat University

*E-mail: warut.ks@bru.ac.th

Received: Sep 01, 2022

Revised: Oct 02, 2022

Accepted: Oct 06, 2022

บทคัดย่อ

ซิงค์ออกไซด์เป็นวัสดุที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด การสังเคราะห์ซิงค์ออกไซด์ให้มีโครงสร้างในระดับนาโนสามารถช่วยเพิ่มศักยภาพในการใช้ประโยชน์ ในการศึกษานี้ได้สังเคราะห์นาโนซิงค์ออกไซด์ด้วยวิธีโซลเจล โดยใช้อุณหภูมิการเผาที่ 300, 500 และ 700 องศาเซลเซียส งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิการเผาต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของนาโนซิงค์ออกไซด์ และความสามารถของสารดังกล่าวในการยับยั้งเชื้อรา *Aecidium mori* (Barclay) Barclay ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคราสนิมในหม่อน การศึกษาและวิเคราะห์คุณสมบัติของนาโนซิงค์ออกไซด์ใช้เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) การวิเคราะห์ธาตุเชิงพลังงานของรังสีเอกซ์ (EDS) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อีมิสชัน (FESEM) เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FTIR) และการวิเคราะห์พื้นที่ผิวจำเพาะตามวิธีการของ Brunauer-Emmett-Teller (BET) ส่วนการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อราใช้วิธี poisoned food technique จากการทดลองพบว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ขึ้นมีโครงสร้างผลึกแบบเฮกซะโกนอลเวิร์ทไซด์ ขนาดอนุภาคอยู่ในระดับนาโน มีพื้นที่ผิวจำเพาะ 6.381-16.487 ตารางเมตรต่อกรัม และมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา โดยนาโนซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ที่อุณหภูมิการเผา 300 องศาเซลเซียส ที่มีความเข้มข้น 3,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสูงที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่านาโนซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ที่อุณหภูมิการเผาที่ต่างกันมีขนาดอนุภาค พื้นที่ผิวจำเพาะ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อราที่แตกต่างกัน

คำสำคัญ: ซิงค์ออกไซด์ อุณหภูมิการเผา วิธีโซลเจล ความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา

Abstract

Zinc oxide is an environmentally friendly substance with broad-spectrum antimicrobial activity. Synthesis of zinc oxide into nanoscale structures can increase its potential for utilization. In this study, nano-zinc oxide was synthesized by sol-gel method using calcination temperatures at 300, 500 and 700°C. This research aimed to study the effect of calcination temperature on physicochemical properties of nano-zinc oxide and its antifungal activity against *Aecidium mori* (Barclay) Barclay, the causative agent of mulberry red rust. The properties of nano-zinc oxide were investigated and analyzed by using X-Ray Diffraction (XRD), Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS), Field Emission Scanning Electron Microscopy (FESEM), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and

Brunauer-Emmett-Teller (BET) specific surface area analysis. Antifungal activity was studied by poisoned food technique. From the experiments, it was found that the synthesized zinc oxide particles had a hexagonal wurtzite crystal structure. Sizes of the particles were at the nanoscopic scale. They had specific surface areas of 6.381-16.487 m²/g and also exhibited antifungal activity. The nano-zinc oxide synthesized at calcination temperature of 300°C with the concentration of 3,000 µg/mL in potato dextrose agar was found to exhibit the highest antifungal activity. Furthermore, it was found that nano-zinc oxide synthesized at different calcination temperatures had different particle sizes, specific surface areas and antifungal activity.

Keywords: Zinc oxide, Calcination temperature, Sol-gel method, Antifungal activity

1. บทนำ

ปัจจุบันเกษตรกรผู้ปลูกหม่อนเลี้ยงไหมได้รับผลกระทบจากการระบาดของเชื้อราก่อโรคพืชหลายชนิด เช่น เชื้อรา *Phyllactinia corylea* (Pers) Karst ซึ่งเป็นสาเหตุของโรครากเน่า โรคใบไหม้ และ โรคใบด่าง [1] และเชื้อรา *Aecidium mori* (Barclay) Barclay ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคราสนิม (Red rust) [2], [3] โรคจากเชื้อราเหล่านี้ทำให้ผลผลิตของใบหม่อน และคุณภาพของใบหม่อนที่นำไปเลี้ยงไหมของเกษตรกรลดลง ซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อผลผลิต และคุณภาพของรังไหม หากไม่มีการกำจัดเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคพืช อาจทำให้โรคดังกล่าวสะสมจนในที่สุดทำให้ต้นหม่อนตายได้

โรคราสนิมพบการระบาดทั่วทุกภาคของประเทศไทย มักเกิดในช่วงปลายฤดูฝนถึงต้นฤดูหนาวที่มีอากาศเย็นและชื้น โรคนี้มีการแพร่ระบาดที่รวดเร็ว และยากต่อการรักษา ลักษณะอาการของโรค คือ ด้านหน้าใบเป็นจุดสีเหลืองถึงจุดสีน้ำตาล มีวงสีเหลืองล้อมรอบ ส่วนทางหลังใบเป็นจุดนูน ภายในจุดนูนมีเส้นใยของราฝังอยู่ จุดนูนสามารถแตกออกได้เมื่อราเจริญเต็มที่ หากนำใบหม่อนที่เป็นโรคราสนิมไปเลี้ยงตัวไหมจะทำให้ระยะการเป็นตัวหนอน (Larval stage) นานกว่าปกติ [4]

ซิงค์ออกไซด์ (Zinc oxide; ZnO) เป็นวัสดุกลุ่มโลหะออกไซด์ที่มีความน่าสนใจ เนื่องจากมีคุณสมบัติเฉพาะตัวที่โดดเด่น คือ เป็นสารประกอบที่สามารถพบได้ในธรรมชาติ ไม่มีพิษ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม [5], [6] มีประสิทธิภาพในการต่อต้านจุลินทรีย์หลายชนิด [7] และสามารถสังเคราะห์ขึ้นมาให้บริสุทธิ์ได้ [8] หากนำเตรียมให้มีโครงสร้างในระดับนาโนจะช่วยเพิ่มศักยภาพสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้งานได้อย่างหลากหลาย [9] ในปัจจุบันมีรายงานวิจัยเกี่ยวกับการนำนาโนซิงค์ออกไซด์ (Nano-zinc oxide) มาใช้เพื่อควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช [10]-[13] เช่น นาโนซิงค์ออกไซด์ที่มีความเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งเชื้อราแป้งของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ได้ [10] นอกจากนี้

นาโนซิงค์ออกไซด์ที่มีรูปร่างที่ต่างกันยังสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคพืชได้แตกต่างกัน เช่น จากการศึกษาการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Alternaria sp.* พบว่านาโนซิงค์ออกไซด์ที่มีรูปร่างมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราดังกล่าวได้ดีที่สุด [11]

ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้สังเคราะห์นาโนซิงค์ออกไซด์ด้วยวิธีโซลเจล ที่อุณหภูมิการเผา (Calcination temperature) ที่ 300, 500 และ 700 องศาเซลเซียส และศึกษาผลของอุณหภูมิการเผาดังกล่าวต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อราของนาโนซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ขึ้น

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1. การสังเคราะห์นาโนซิงค์ออกไซด์

สารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์นาโนซิงค์ออกไซด์ด้วยวิธีโซลเจล (Sol-gel method) คือ ซิงค์อะซิเตทไดไฮเดรตที่มีความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.5 (Zinc acetate dehydrate 99.5%) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) โดยเตรียมสารละลายซิงค์อะซิเตท ที่มีความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (Molar) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้องด้วยเครื่องกวนสารละลายแบบแม่เหล็กอย่างต่อเนื่อง เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นหยดสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่มีความเข้มข้น 0.8 โมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร คนสารละลายต่อเนื่องเป็นเวลา 45 นาที กรองและล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น นำตะกอนที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และให้ความร้อนที่อุณหภูมิการเผาที่ 300 500 และ 700 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง [14]

ในที่นี้ขอแทนนาโนซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ที่อุณหภูมิการเผาที่ 300, 500 และ 700 องศาเซลเซียส เป็น ZnO-300, ZnO-500 และ ZnO-700 ตามลำดับ

2.2. การวิเคราะห์คุณสมบัติเฉพาะของนาโนซิงค์ออกไซด์

ในการศึกษานี้วิเคราะห์โครงสร้างผลึกของนาโนซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray Diffraction; XRD) โดยใช้แหล่งกำเนิดรังสี $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1.5405$ อังสตรอม; Å) วิเคราะห์ที่มุม 2θ ตั้งแต่ 20 ถึง 80 องศา คำนวณหาขนาดผลึกโดยใช้สมการเดอบายเชอร์เรอร์ (Debye-Scherrer equation) [15] ตรวจสอบลักษณะพื้นฐานด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ชนิดฟิลด์อีมิสชัน (Field Emission Scanning Electron Microscope; FESEM) ทำการทดสอบโดยใช้ศักย์ไฟฟ้าในการเร่งอิเล็กตรอนที่ 30 กิโลโวลต์ (Kilovolt) ใช้กำลังขยาย $30,000$ เท่า ตรวจสอบองค์ประกอบของธาตุเชิงปริมาณด้วยอุปกรณ์วิเคราะห์ธาตุเชิงพลังงานของรังสีเอกซ์ (Energy Dispersive X-ray Spectrometer; EDS) วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Fourier Transform Infrared Spectroscopy; FTIR) และวิเคราะห์พื้นที่ผิวจำเพาะตามวิธีการของ Brunauer-Emmett-Teller (BET) ด้วยเครื่องวิเคราะห์พื้นที่ผิวและขนาดรูพรุน Model NOVA-e ยี่ห้อ Quantachrome โดยใช้ก๊าซไนโตรเจนเป็นตัวดูดซับ

2.3. การคัดแยกเชื้อราสาเหตุโรคราสนิม

การแยกเชื้อ *Aecidium mori* (Barclay) Barclay ด้วยวิธี Tissue transplanting บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Potato dextrose agar (PDA) [16] ทำโดยนำใบหม่อนที่เป็นโรคราสนิมมาตัดเนื้อเยื่อใบบริเวณรอยต่อระหว่างแผล และเนื้อเยื่อปกติ ขนาด 0.5×0.5 เซนติเมตร แช่น้ำยาคลอโรกซ์ (Clorox) ความเข้มข้นร้อยละ 15 เพื่อฆ่าเชื้อ และล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นวางบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมยาปฏิชีวนะ Tetracycline นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำซ้ำจำนวน 2 ครั้ง หลังจากนั้นนำเชื้อราที่แยกได้ไปตรวจสอบโดยสังเกตการเจริญเติบโต และลักษณะพื้นฐานเชื้อราโดยกล้องจุลทรรศน์แบบที่ก้ำกึ่งขยายของเลนส์ใกล้วัตถุ (Objective lens) 40 เท่า เพื่อยืนยันว่าเชื้อดังกล่าวเป็นเชื้อราสาเหตุโรคราสนิม

2.4. การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา

ในการศึกษานี้ทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Aecidium mori* (Barclay) Barclay สาเหตุก่อโรคราสนิมในหม่อน ด้วยวิธี Poisoned food

technique [11] โดยนำนาโนซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ได้มาผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ $1,000$, $2,000$ และ $3,000$ ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม จากนั้นเทลงในจานเพาะเชื้อปริมาตร 20 มิลลิกรัม ทั้งไว้จานอาหารแห้ง นำที่เจาะจุกคอร์ก (Cork borer) ที่ปลอดเชื้อมาเจาะบริเวณขอบเส้นใยของเชื้อราที่เลี้ยงไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีอายุ 7 วัน โดยเจาะเส้นใยบริเวณรอบ ๆ โคลินี่เพื่อให้ได้เส้นใยที่กำลังเจริญ ใช้เข็มเย็บเย็บ (Needle) ที่ปลอดเชื้อมาย้ายชิ้นส่วนที่เจาะไปวางบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมนาโนซิงค์ออกไซด์ความเข้มข้นต่าง ๆ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน สังเกตผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคลินี่เชื้อราเปรียบเทียบกับจานเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม (ไม่ผสมนาโนซิงค์ออกไซด์) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และคำนวณค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

$$\text{ร้อยละการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา} = \frac{C-T}{C} \times 100$$

โดยที่

C = ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคลินี่เชื้อราบนจานเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม (มิลลิเมตร)

T = ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคลินี่เชื้อราบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารผสมนาโนซิงค์ออกไซด์ (มิลลิเมตร)

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

3.1. ผลการวิเคราะห์โครงสร้างผลึก

จากการวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของนาโนซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ได้ด้วยวิธีโซลเจล โดยใช้อุณหภูมิการเผาที่ 300 , 500 และ 700 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค XRD พบรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ในโครงสร้างของสารที่สังเคราะห์ได้ ดังแสดงใน Figure 1

Figure 1 แสดงให้เห็นพีค (Peak) ที่ตำแหน่ง 2θ ที่สอดคล้องกับการเลี้ยวเบนจากระนาบ (100) , (002) , (101) , (102) , (110) , (103) , (200) , (112) , (201) , (004) และ (202) และสอดคล้องกับข้อมูลมาตรฐานที่ทำการตรวจวัดโดย Joint Committee on Powder Diffraction Standard (JCPDs) หมายเลข $36-1451$ ซึ่งบ่งบอกว่านาโนซิงค์ออกไซด์มีโครงสร้างเฮกซะโกนอลเวิร์ทไซด์ (Hexagonal wurtzite) [17], [18] ในทุกตัวอย่าง โดยไม่พบพีคอื่นปรากฏ ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าสารตัวอย่างมีลักษณะเป็นผลึกที่สมบูรณ์ และมีความบริสุทธิ์

เมื่ออุณหภูมิการเผาเพิ่มขึ้น พบว่าค่าความเข้มสูงสุดของพีคการเลี้ยวเบนที่ระนาบ (101) ที่มุมการเลี้ยวเบนประมาณ 36 องศา มีค่าเพิ่มขึ้น และความกว้างที่กึ่งกลางของพีคการเลี้ยวเบน (Full width at half maximum; FWHM) มีค่าลดลง เมื่อคำนวณหาขนาดผลึกด้วยสมการเดออบายเชอร์เรอร์ [19] พบว่าขนาดผลึกมีค่ามากขึ้นเมื่ออุณหภูมิการเผาสูงขึ้น โดยมีค่าเท่ากับ 20.07, 23.19 และ 34.89 นาโนเมตร ที่อุณหภูมิการเผาที่ 300, 500 และ 700 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

3.2. ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานและองค์ประกอบของธาตุ

ผลการวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานของนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ใช้อุณหภูมิการเผาที่แตกต่างกัน แสดงใน Figure 2 และ Table 1 จะเห็นว่าอุณหภูมิการเผามีผลต่อลักษณะสัณฐานของนาโนซิงค์ออกไซด์ โดยเมื่อใช้อุณหภูมิการเผาที่ 300 และ

500 องศาเซลเซียส รูปร่างของนาโนซิงค์ออกไซด์มีลักษณะเป็นแผ่น (Nanosheet) มีขนาด 10.18 ± 6.58 และ 11.67 ± 6.02 นาโนเมตร ตามลำดับ ส่วนการใช้อุณหภูมิการเผาที่ 700 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นการให้พลังงานความร้อนที่สูงขึ้นเข้าปฏิกิริยาตัวอย่าง ทำให้ซิงค์ออกไซด์มีการรวมตัวกัน (Agglomeration) เป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้น ขอบเขตเกรน (Grain boundary) ของอนุภาคมีลักษณะที่ชัดเจน [19] มีรูปร่างทรงกลม (Spherical) และหลายเหลี่ยม (Polygon) ปะปนกัน มีขนาดอนุภาคที่หลากหลาย โดยมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 126.05 ± 105.51 นาโนเมตร

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุของสารที่สังเคราะห์ได้ด้วย EDX ดังแสดงใน Figure 3 พบว่าสารที่สังเคราะห์ที่อุณหภูมิการเผาที่แตกต่างกัน มีองค์ประกอบของธาตุ คือ ซิงค์ (Zn) และออกซิเจน (O) ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน และไม่พบธาตุอื่นในสารที่สังเคราะห์ได้ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารที่สังเคราะห์ได้มีความบริสุทธิ์

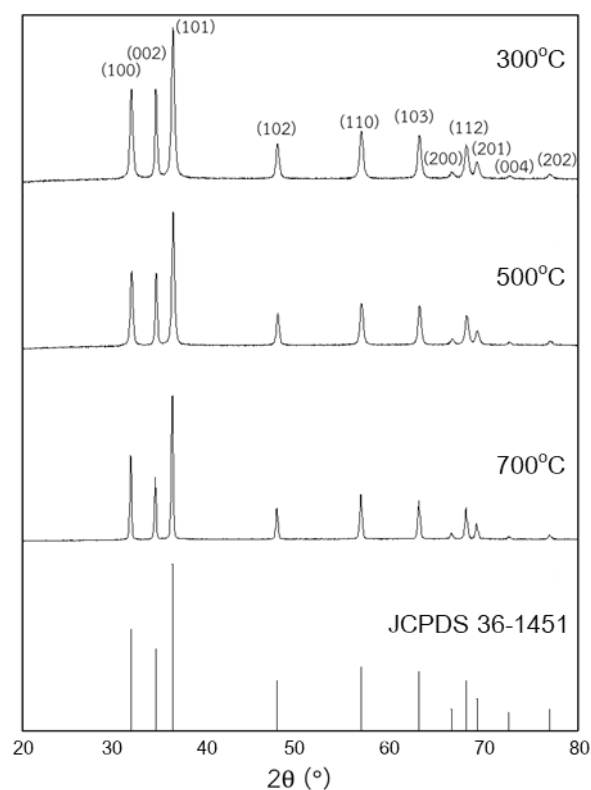


Figure 1 XRD analysis of ZnO nanoparticles

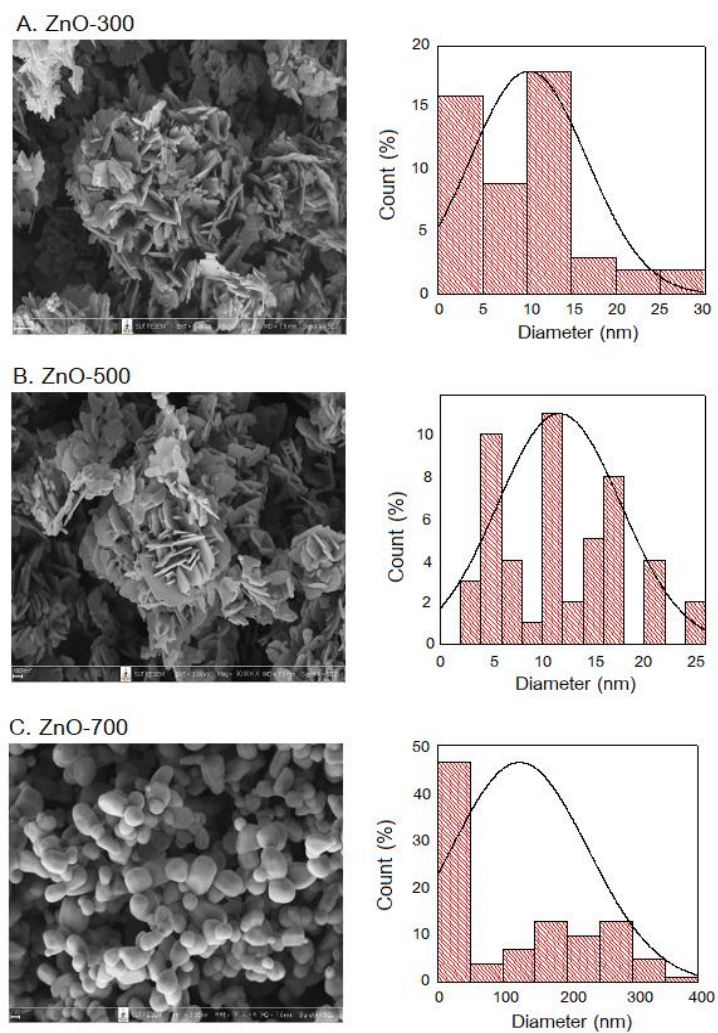


Figure 2 FESEM analysis of ZnO nanoparticles and histograms of particle size distribution

Table 1 Average particle size and specific surface area of ZnO nanoparticles

Sample	Average particle size (nm)	Specific surface area (m ² /g)
ZnO-300	10.18 ± 6.58	16.487
ZnO-500	11.67 ± 6.02	13.237
ZnO-700	126.05 ± 105.51	6.381

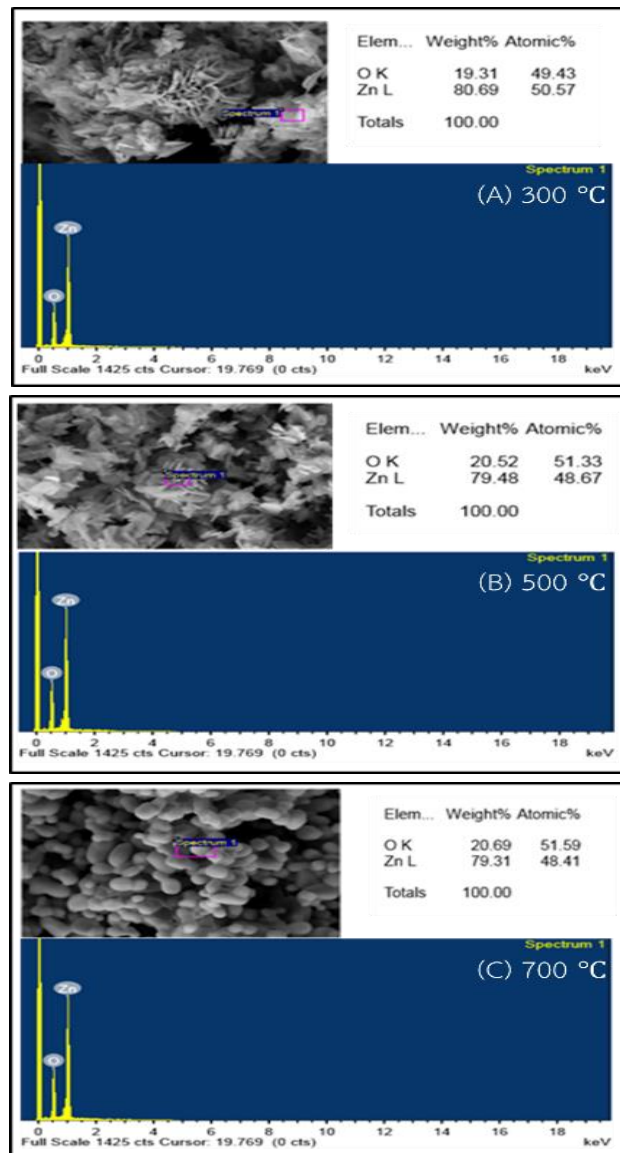


Figure 3 EDX analysis of ZnO nanoparticles

3.3. ผลการวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชัน

สเปกตรัม FTIR ของนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ได้จากการวิเคราะห์ที่ความถี่ช่วง 4,000-400 ต่อเซนติเมตร แสดงใน Figure 4 พบตำแหน่งพีกที่ความถี่ประมาณ 417 ต่อเซนติเมตร ที่สัมพันธ์กับ ZnO โดยพบในทุกตัวอย่าง นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างที่สังเคราะห์ที่อุณหภูมิการเผาที่ 300 องศาเซลเซียส ยังปรากฏสเปกตรัมที่ตำแหน่งพีกที่ความถี่ประมาณ 3,390 ต่อเซนติเมตร ซึ่งเป็นพีกของหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl groups) [6] พีกดังกล่าวอาจเกิดจากการดูดซับโมเลกุลของน้ำ โดย ZnO-300 [13]

3.4. ผลการวิเคราะห์พื้นที่ผิวจำเพาะ

จากการวิเคราะห์พื้นที่ผิวจำเพาะของนาโนซิงค์ออกไซด์ ด้วยเครื่องวิเคราะห์พื้นที่ผิวและขนาดรูพรุน โดยใช้ก๊าซไนโตรเจนเป็นตัวดูดซับ และอุณหภูมิที่ใช้ในการวิเคราะห์เท่ากับ 120 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่ออุณหภูมิการเผาลดลง พื้นที่ผิวจำเพาะของนาโนซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ได้มีค่าสูง โดย ZnO-300 ที่มีลักษณะเป็นแผ่น และมีความหนาของแผ่นน้อย มีพื้นที่ผิวจำเพาะมากที่สุด เท่ากับ 16.487 ตารางเมตรต่อกรัม (Table 1)

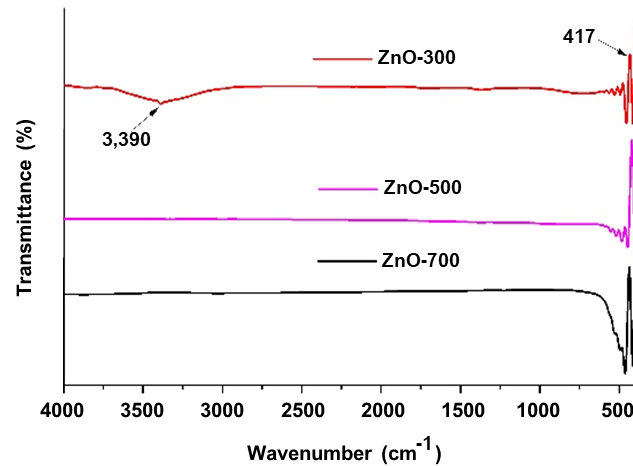


Figure 4 FTIR spectrum of ZnO nanoparticles

3.5. ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา

การทดสอบประสิทธิภาพของนาโนซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ที่อุณหภูมิการเผาที่แตกต่างกันในการยับยั้งเชื้อรา *Aecidium mori* (Barclay) Barclay ใช้ความเข้มข้นของนาโนซิงค์ออกไซด์ คือ 1,000 2,000 และ 3,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร โดยในชุดควบคุมทำการเลี้ยงเชื้อรา *Aecidium mori* (Barclay) Barclay บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่มีการใส่ นาโนซิงค์ออกไซด์ ซึ่งพบวาค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนอาหารชุดควบคุมมีขนาด 55.00 มิลลิเมตร โคโลนีมีการเจริญเป็นลักษณะวงแหวนหลายชั้น มีสีเทาอมน้ำตาล (Figure 5)

เมื่อวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนอาหารชุดทดลอง (ที่ผสมนาโนซิงค์ออกไซด์) พบวาค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรามีค่าลดลงในทุกตัวอย่างเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยสังเกตได้จากค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่มีค่าต่ำกว่า 100 (Figure 6) การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่านาโนซิงค์ออกไซด์มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่านาโนซิงค์ออกไซด์สามารถยับยั้งเชื้อราได้โดยไปมีผลต่อโครงสร้างของโคนิเดีย (Conidia) และโครงสร้างของเส้นใยของเชื้อรา นอกจากนี้ยังมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ของเชื้อรา [6]

หากพิจารณาจากนาโนซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ที่อุณหภูมิการเผาเดียวกัน พบวาละเอียดการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรามีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของนาโนซิงค์ออกไซด์ที่เพิ่มขึ้น และหากพิจารณาเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราโดยนาโนซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ที่อุณหภูมิการเผาที่แตกต่างกัน พบว่านาโนซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ที่อุณหภูมิการเผาที่ต่ำกว่ามีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราได้ดีกว่า

นาโนซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ที่อุณหภูมิการเผาที่สูงกว่าในทุก ๆ ระดับของความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง โดยในการทดลองนี้พบว่าชุดการทดลองที่ให้ค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสูงสุดเท่ากับ 79.39 คือชุดการทดลองที่ใช้ ZnO-300 ที่มีความเข้มข้น 3,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร

จากผลการศึกษาคูณสมบัติเฉพาะของนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ได้กล่าวมาข้างต้น ซึ่งพบว่า ZnO-300 มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า และมีพื้นที่ผิวจำเพาะสูงกว่า ZnO-500 และ ZnO-700 นอกจากนี้ยังพบว่า ZnO-300 มีหมู่ไฮดรอกซิล ซึ่ง ZnO-500 และ ZnO-700 ไม่มี คุณสมบัติเฉพาะดังกล่าวของ ZnO-300 ช่วยส่งเสริมให้มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราได้ดีกว่า ZnO-500 และ ZnO-700 เนื่องจากมีผลการวิจัยที่พบว่านาโนซิงค์ออกไซด์ที่มีขนาดอนุภาคเล็ก และมีพื้นที่ผิวจำเพาะสูงจะมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดี [13] และหมู่ไฮดรอกซิลสามารถขัดขวางหรือยับยั้งการทำงานของไมโทคอนเดรีย (Mitochondria) ซึ่งส่งผลทำให้กระบวนการทางชีวเคมีต่าง ๆ ภายในเซลล์ผิดปกติไป [20]

4. บทสรุป

การสังเคราะห์นาโนซิงค์ออกไซด์ที่อุณหภูมิการเผาที่แตกต่างกัน (300, 500 และ 700 องศาเซลเซียส) ไม่ทำให้โครงสร้างผลึกเปลี่ยนแปลง แต่มีผลต่อรูปร่าง ขนาดของอนุภาค และพื้นที่ผิวจำเพาะ โดยนาโนซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ที่อุณหภูมิการเผาที่ 300 องศาเซลเซียส (ZnO-300) เป็นนาโนซิงค์ออกไซด์ที่มีรูปร่างแบบแผ่น มีขนาดอนุภาคเล็ก มีพื้นที่ผิวจำเพาะสูง และมีฟังก์ชันของหมู่ไฮดรอกซิล ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ช่วยส่งเสริมการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aecidium mori* (Barclay) Barclay

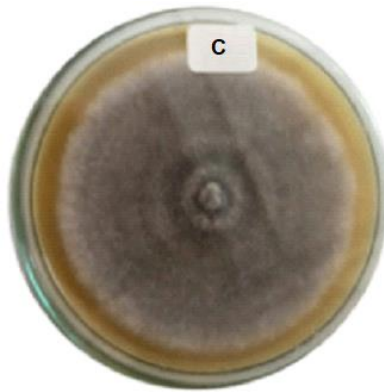


Figure 5 Colony of *Aecidium mori* (Barclay) Barclay on PDA agar without ZnO (control)

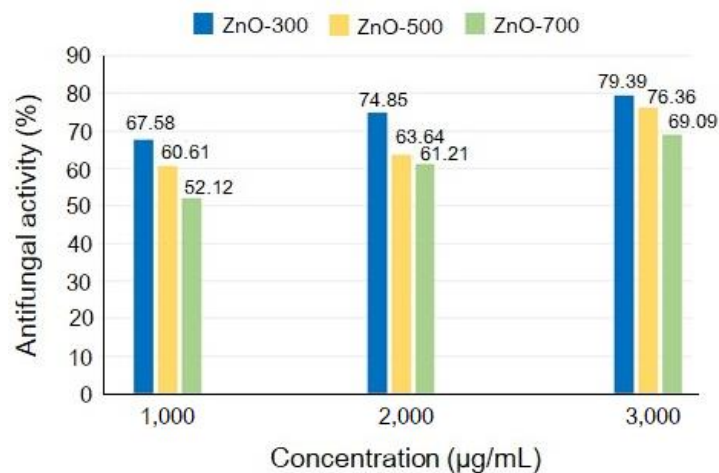


Figure 6 Inhibition of *Aecidium mori* (Barclay) Barclay by different concentrations (1,000, 2,000 and 3,000 µg/mL) of ZnO-300, ZnO-500 and ZnO-700

5. References

- [1] Manjunatha, S.E. and et al. 2020. Assortment for host resistance and eco-friendly management of mulberry powdery mildew caused by *Phyllactinia corylea* (Pers.) Karst. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**. 9(3): 2159-2162.
- [2] Adhikari, M.K. 2019. *Aecidium mori* (Barclay) Barclay (rust fungus) parasitic on *Morus alba* L.: A new record for Nepal. **Journal of Plant Resources**. 17(1): 3-5.
- [3] Aime, M.C. and McTaggart, A.R. 2021. A higher-rank classification for rust fungi, with notes on genera. **Fungal Systematics and Evolution**. 7: 21-47.
- [4] Helfer, S. 2014. Rust fungi and global change. **New Phytologist**. 201:770-780.
- [5] Vijayakumar, S. and et al. 2021. Potential eco-friendly Zinc Oxide nanomaterials through Phyco-nanotechnology - A review. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. 35: 102050.

- [6] Jabar, A. and et al. 2017. Synthesis nano zinc oxide materials and their activity on fungus growth. **Engineering and Technology Journal**. 35(1): 76-84.
- [7] Thakur, S., Neogi, S. and Ray, A.K. 2021. Morphology controlled synthesis of ZnO nanostructures for caffeine degradation and *Escherichia coli* inactivation in water. **Catalysts**. 11(1): 1-18.
- [8] Sakaroj, S. and et al. 2020. A potential of thai fruit peel extracts for green synthesis of ZnO nanoparticles. In: **Proceedings of the 58th Kasetsart University Annual Conference**, 5-7 February 2020. Bangkok, Thailand. (in Thai)
- [9] Kalasung, S. and Horprathum, M. 2018. Effects of precursor concentration on morphology and photocatalytic property of ZnO nanorod prepared by hydrothermal method. **Thai Science and Technology Journal**. 28(2): 230-240. (in Thai)
- [10] Pitsamai, S. 2015. Effect of ZnO nanoparticles on the antifungal of mango cv. Nam dok mai. In: **Proceedings of the 2nd National Research Conference of Nakhonratchasima College**, 18-19 June 2015. Nakhonratchasima, Thailand. (in Thai)
- [11] Tedsree, N. and Tedsree, K. 2016. Anti-phytopathogenic fungal activity of nano zinc oxide. **Songklanakarin Journal of Plant Science**. 3(Suppl.): 7-14. (in Thai)
- [12] Pholnak, C. 2017. Zinc oxide nanoparticles and antimicrobial resistance. **Thai Journal of Physics**. 34(3-4): 37-47. (in Thai)
- [13] Arciniegas-Grijalba, P.A. and et al. 2017. ZnO nanoparticles (ZnO-NPs) and their antifungal activity against coffee fungus *Erythricium salmonicolor*. **Applied Nanoscience**. 7: 225-241.
- [14] Sangchay, W. and Ubolchollakhat, K. 2016. Photocatalytic and antibacterial activities of ZnO powders prepared via a sol-gel method. **KKU Engineering Journal**. 43(1): 21-25. (in Thai)
- [15] Sudheer Kumar, K.H., Dhananjaya, N. and Yadav, L.S.R. 2018. *E. tirucalli* plant latex mediated green combustion synthesis of ZnO nanoparticles: Structure, photoluminescence and photo-catalytic activities. **Journal of Science: Advanced Materials and Devices**. 3(3): 303-309.
- [16] Khamklieng, U. and et al. 2018. Biofilm coating from garlic extracts plus biosurfactant against fungal pathogens on mangoes (Nam Dok Mai). **Huachiew Chalermprakiet Science and Technology Journal**. 4(1): 113-123. (in Thai)
- [17] Kenyotha, N. and Laokul, P. 2019. Preparation of zinc oxide hollow spheres and their application as photoanode in dye sensitized solar cell. **Burapha Science Journal**. 24(3): 913-928. (in Thai)
- [18] Chabattula, S.C. and et al. 2021. Anticancer therapeutic efficacy of biogenic Am-ZnO nanoparticles on 2D and 3D tumor models. **Materials Today Chemistry**. 22: 100618.
- [19] Sabeeh, S.H. and Jassam, R.H. 2018. The effect of annealing temperature and Al dopant on characterization of ZnO thin films prepared by sol-gel method. **Results in Physics**. 10(2018): 212-216.
- [20] Qi, S., Jianmei, L. and Tao, L. 2018. Zinc oxide nanoparticle as a novel class of antifungal agents: Current advances and future perspectives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 66: 11209-11220.