การสังเคราะห์วัสดุซิงค์ออกไซด์/คอปเปอร์ออกไซด์ นาโนคอมโพสิท เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค สำหรับการประยุกต์ใช้ในบรรจุภัณฑ์อาหาร

Synthesis of ZnO/CuO Nanocomposites Against Pathogenic Bacteria for Application in Food Packaging

วีรชน ภูหินกอง[1] ฐิตา ฟูเผ่า[2] และพุทธิธร แสงรุ่งเรือง[1]*
[1]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต
[2]โรงเรียนการเรือน มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

Weerachon Phoohinkong[1], Tita Foophow[2] & Puttitorn Saengrungruang[1*]
[1]Faculty of Science and Technology, Suan Dusit University
[2]School of Culinary Arts, Suan Dusit University

บทคัดย่อ

การเกิดโรคจากอาหารที่มีจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมเป็นปัญหาที่สำคัญทางสิ่งแวดล้อมและเศรษฐกิจที่สำคัญในปัจจุบัน การพัฒนาวัสดุที่ใช้ผลิตบรรจุภัณฑ์อาหารยับยั้งเชื้อเป็นอีกวิธีที่ใช้ลดปัญหาจุลินทรีย์ในอาหาร อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์และนาโนคอปเปอร์ออกไซด์เป็นวัสดุที่มีสมบัติพิเศษในการยับยั้งเชื้อ งานวิจัยนี้ทำการปรับปรุงการสังเคราะห์ของผสมวัสดุคอปเปอร์ออกไซด์ ซิงค์ออกไซด์-นาโนคอมโพสิทด้วยการปรับปรุงเทคนิคการตกตะกอนร่วมเพื่อใช้เป็นวัสดุยับยั้งเชื้อ ทำการศึกษาผลของการเติมเกลืออินออแกนิคและสัดส่วนของซิงค์ต่อคอปเปอร์ตั้งต้นในการสังเคราะห์ ศึกษาลักษณะรูปร่างของของผสมที่สังเคราะห์ได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตอนแบบส่องกราด (FESEM) ทำการศึกษายืนยันองค์ประกอบทางเคมีและโครงสร้างผลึกของสารที่สังเคราะห์ได้ด้วยการตรวจวัดการเรืองแสงรังสีเอ็กซ์ (EDX) และเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ (XRD) ศึกษาสมบัติการยับยั้งเชื้อด้วยเทคนิค Agar well diffusion method โดยใช้เชื้อแบคทีเรียก่อเกิดโรค *Escherichia coli (E. coli)* และ *Staphylococcus aureus (S. aureus)* ซึ่งเป็นตัวแทนแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก ผลการสังเคราะห์พบว่าสามารถสังเคราะห์ของผสมซิงค์ออกไซด์และคอปเปอร์ออกไซด์นาโนคอมโพสิทที่มีการกระจายตัวของอนุภาคทั้งสองผสมกันสม่ำเสมอ ผลการยับยั้งเชื้อก่อโรค พบว่าของผสมที่สังเคราะห์ได้สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ดีกว่า

* ผู้ประสานงานหลัก (Corresponding Author)
e-mail: puttitorn@hotmail.com

95-118.indd 95 11/4/16 4:32:55 PM

อนุภาคซิงค์ออกไซด์เกรดการค้าในอุตสาหกรรม ซิงค์ออกไซด์เกรดนาโน ซิงค์ออกไซด์เกรดไมโครไนส์ และคอปเปอร์ออกไซด์เกรดอุตสาหกรรม วัสดุที่สังเคราะห์ได้สามารถที่จะนำไปศึกษาประยุกต์ใช้เป็นวัสดุห่อหุ้มอาหารยับยั้งเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงต่อไป

คำสำคัญ: ยับยั้งเชื้อก่อโรค คอปเปอร์ออกไซด์นาโนไวร์ ซิงค์ออกไซด์ คอปเปอร์ออกไซด์นาโนคอมโพสิท

Abstract

Pathogenic bacterial infections from food via environment have been of considerable importance in recent years. The development of metal oxide material for antimicrobial food packaging is a potential way to reduce pathogenic bacteria in food. The ZnO and CuO have the unique properties to stop growth rates of pathogenic bacteria. This study sought to improve the synthesizing of ZnO/CuO nanocomposites via a co-precipitation method. The effect of inorganic salt addition and the precursor mole ratio of Zn^{2+} to Cu^{2+} were studied. The particle size and morphology were characterized by field emission scanning electron microscopy (FESEM) and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX). The phase compositions were confirmed by X-ray diffraction infrared spectroscopy (XRD). The antimicrobial activity of the nanocomposite samples was investigated using a modified agar well diffusion method with *Escherichia coli (E. coli)* and *Staphylococcus aureus (S. aureus)* for Gram-negative and Gram-positive bacteria, respectively. The results indicate that well dispersion and mixing between ZnO and CuO in nanocomposite samples occurred. In the best condition, the nanocomposite samples showed an excellent inhibitory effect which was better than the commercial ZnO, nanoZnO and industrial ZnO and CuO. This study suggested that these ZnO/CuO nanocomposites can be potentially utilized in antimicrobial food packaging.

Keywords: Antimicrobial, CuO nanowire, ZnO/CuO nanocomposites

95-118.indd 96 11/4/16 4:32:55 PM

บทนำ

เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเป็นปัญหาที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อสุขภาวะและอุตสาหกรรม โดยเฉพาะอุตสาหกรรมอาหาร ดังนั้นการศึกษาเพื่อพัฒนาวัสดุที่มีคุณสมบัติพิเศษในการยับยั้งเชื้อก่อโรคจึงได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน (Srithaworn et al., 2015; Chanchaichaovivat & Khaokang 2013; Emamifar et al., 2011) วัสดุนาโนซิงค์ออกไซด์และนาโนคอปเปอร์ออกไซด์เป็นวัสดุที่มีสมบัติพิเศษในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ได้รับความสนใจในการศึกษาเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นวัสดุที่มีอยู่มากในธรรมชาติหาได้ง่าย ต้นทุนต่ำ มีกลไกในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้หลากหลาย มีความคงทนสูงสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้หลากหลาย (Sirelkhatim et al., 2015; Zhang et al., 2010; Li et al., 2015., Li et al., 2012; Ruparelia et al., 2008) มีการนำมาศึกษาเพื่อประยุกต์ใช้ในด้านวัสดุบรรจุภัณฑ์อาหารยับยั้งเชื้อก่อโรค (De Moura et al., 2012) เช่น Emamifar et al. (2011) ได้ทำการเตรียมของผสมนาโนคอมโพสิทสำหรับบรรจุภัณฑ์อาหารยับยั้งเชื้อที่มีส่วนผสมของอนุภาคเงินและอนุภาคซิงค์ออกไซด์ ผลที่ได้พบว่าวัสดุที่ได้นั้น สามารถยืดอายุน้ำส้มได้ถึง 28 วัน ซึ่งพบว่าสามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ Tankhiwale & Bajpai (2012) ทำการเตรียม ZnO ต้นทุนต่ำเคลือบบนฟิล์มโพลิเอทิลีนสำหรับใช้เป็นวัสดุบรรจุภัณฑ์อาหาร สามารถยับยั้งเชื้อได้โดยทดสอบกับเชื้อ *E. Coli* Kaewkhong (2014) ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์รูปร่างทรงกลม มีขนาดอยู่ในช่วง 200 ถึง 400 นาโนเมตร พบว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ได้สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าอนุภาคนาโนเงิน Subhan et al. (2015) ได้ทำการเตรียมอนุภาคนาโน CeO, CuO และ ZnO ด้วยเทคนิคการตกตะกอนร่วม และศึกษาการยับยั้งเชื้อ *E. Coli* และ *S. aureus* พบว่ากลไกในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อขึ้นอยู่กับปัจจัยที่เป็นลักษณะสมบัติของซิงค์ออกไซด์และคอปเปอร์-ออกไซด์ในหลายด้าน เช่น ลักษณะโครงสร้างผลึก ลักษณะรูปร่างของอนุภาค ขนาดอนุภาค คุณสมบัติของพื้นผิว ความสม่ำเสมอของอนุภาค และเมื่อเป็นของผสมของซิงค์ออกไซด์และคอปเปอร์-ออกไซด์สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อออกฤทธิ์เสริมกันได้ซึ่งขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น คุณสมบัติของอนุภาคทั้งสอง การกระจายตัวการผสมของอนุภาคทั้งสอง ผิวสัมผัสรอยต่อของอนุภาคทั้งสอง เป็นต้น (Sirelkhatim et al., 2015; Zhang et al., 2010; Li et al., 2015; Chang et al., 2012; Raghupathi et al., 2011; Espitia et al., 2012; Kadam et al., 2015) ซึ่งทั้งหมดนี้ขึ้นอยู่กับการสังเคราะห์และการเตรียมของผสม ปัจจุบันมีการศึกษาพัฒนาการเตรียมอนุภาคทั้งสองนี้เพื่อให้เหมาะสมต่อการนำไปใช้งานด้านการยับยั้งเชื้อ เช่น Kadam et al. (2015) ทำการศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์รูปร่างต่างๆ โดยไม่ใช้สารแม่แบบ โดยพบว่าซิงค์ออกไซด์ที่มีรูปร่างลักษณะแท่งนาโน (13 นาโนเมตร) จะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ Lingaraju et al. (2015) สังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์ด้วยเทคนิคทางชีววิทยาที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยใช้สารสกัดจากพืช เป็นสารรีดิวซ์ อนุภาคที่ได้มีขนาดผลึกประมาณ 28 นาโนเมตร และแสดงคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อทั้งแกรมบวกและแกรมลบอย่างมีนัยสำคัญ Suresh et al. (2015) สังเคราะห์อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์โดยใช้เทคนิคการเผาไหม้ (Combustion) ด้วยสารสกัดจากพืช และมีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อได้สูง Ren et al. (2009) ได้สังเคราะห์อนุภาคนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ด้วยเทคนิค Thermal

95-118.indd 97 11/4/16 4:32:55 PM

plasma อนุภาคคอปเปอร์และคอปเปอร์ออกไซด์ที่ได้มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 20 ถึง 95 นาโนเมตร สามารถยับยั้งเชื้อได้เมื่อมีความเข้มข้นตั้งแต่ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร Jadhav et al. (2011) ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโน-คอปเปอร์ออกไซด์ด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า โดยใช้สารแม่แบบ และตัวทำละลายอินทรีย์ ผลอนุภาคที่เตรียมได้มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่สูง Hassan et al. (2012) สังเคราะห์และวิเคราะห์ยืนยันผลอนุภาคผลึกนาโนคอปเปอร์ออกไซด์โดยเทคนิคทางสารละลาย พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ที่ความเข้มข้นเพียง 2.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และยังได้ศึกษากลไกในการทำลายเซลล์จุลชีพของอนุภาคที่สังเคราะห์ได้โดยยืนยันด้วยภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน Pandiyarajan et al. (2013) ได้สังเคราะห์อนุภาคเกร็ดนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ (Nanoflakes) ด้วยเทคนิคโซลเจล และพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นสูงขึ้นจะเพิ่มความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้สูงขึ้น Sivaraj et al. (2014) และ Naika et al. (2015) ได้ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนคอปเปอร์ออกไซด์โดยการใช้สารสกัดจากพืชเป็นสารตั้งต้น โดยสามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างมีนัยสำคัญ และยังสามารถสังเคราะห์อนุภาคนาโนคอปเปอร์-ออกไซด์ด้วยเทคนิคต่างๆ อีก เช่น เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (Katwal et al., 2015) เทคนิคทางไฮโดรเทอมอล (Ananth et al., 2015) และเทคนิค Chemical bath deposition (CBD) เป็นต้น (Shinde et al., 2016) ซึ่งพบว่าอนุภาคคอปเปอร์ออกไซด์ที่มีโครงสร้างระดับนาโนเมตรทำให้มีสมบัติในด้านการยับยั้งเชื้อ โดยทั่วไปแล้วอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ พบว่ามีสมบัติในการยับยั้งเชื้อได้ดีกว่าอนุภาคนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ ซึ่ง Jafari et al. (2011) ได้ทำการสังเคราะห์ของผสมผลึกนาโนซิงค์ออกไซด์และคอปเปอร์ออกไซด์ ด้วยเทคนิคทางสารละลาย พบว่าผลึกนาโนคอปเปอร์ออกไซด์มีสมบัติยับยั้งเชื้อน้อยกว่าซิงค์ออกไซด์และน้อยกว่าของผสมซิงค์ออกไซด์และคอปเปอร์ออกไซด์ การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อของของผสมจึงเป็นที่น่าสนใจ พบว่าเมื่อเป็นของผสมซิงค์ออกไซด์และคอปเปอร์ออกไซด์จะทำให้มีการเสริมประสิทธิภาพในด้านต่างๆ เช่น การดูดกลืนแสงในย่านวิสิเบิลและเกิดการแยกประจุระหว่างสองวัฏภาคซึ่งยับยั้งการรวมกันของคู่อิเล็กตรอนโฮลแพร์ ทำให้เสริมประสิทธิภาพในกระบวนการเร่งปฏิกิริยาทางแสงเพิ่มมากขึ้น (Sirelkhatim et al., 2015; Zhang et al., 2010; Li et al., 2015; Chang et al., 2012; Perelshtein et al., 2015; Prasanna & Rajagopalan, 2015; Li et al., 2012) เป็นต้น

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์ของผสมซิงค์ออกไซด์คอปเปอร์ออกไซด์นาโนคอมโพสิท ด้วยเทคนิคการตกตะกอนที่ปรับปรุงขึ้น ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีต้นทุนต่ำและสามารถทำการขยายขนาดเพื่อผลิตในเชิงปริมาณได้ง่าย โดยไม่ใช้สารเคมี แม่แบบที่มีต้นทุนสูงรวมทั้งตัวทำละลายต้นทุนสูงในการสังเคราะห์ การปรับปรุงการสังเคราะห์ด้วยการใช้เกลืออินออแกนิคร่วมในสารละลาย และศึกษาผลของสัดส่วนของสารตั้งต้นซิงค์และคอปเปอร์ต่อลักษณะของอนุภาคที่ได้ รวมทั้งนำผลที่สังเคราะห์ได้ทั้งหมดมาศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อก่อโรค ทั้งเชื้อในกลุ่ม Gram-positive และ Gram-negative ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษต่อสุขภาพของคนเราได้ โดยเลือกใช้ *E. coli* เป็นตัวแทน Gram-negative และ *S. aureus* เป็นตัวแทน Gram-positive และวัดขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของการยับยั้งเชื้อ ด้วยเทคนิค Agar well diffusion method

95-118.indd 98 11/4/16 4:32:55 PM

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาเทคนิคการสังเคราะห์วัสดุของผสมซิงค์ออกไซด์คอปเปอร์ออกไซด์นาโนคอมโพสิท
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรคด้วยการแพร่บนวุ้นอาหารของวัสดุที่สังเคราะห์ขึ้น

วิธีการวิจัย

สารเคมี

ซิงค์อะซีเตท (Zinc acetate $Zn(O_2CCH_3)_2(H_2O)_2$) คอปเปอร์อะซีเตท (Copper acetate $Cu(O_2CCH_3)_2(H_2O)_2$) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) โซเดียมอะซีเตท (Sodium acetate CH_3COONa) เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol C_2H_6O) เกรดวิเคราะห์ทั้งหมด ซิงค์ออกไซด์ทางการค้าเกรดนาโน ซิงค์ออกไซด์ทางการค้าเกรดไมโครไนส์ ซิงค์ออกไซด์ทางการค้าเกรดอุตสาหกรรม และคอปเปอร์ออกไซด์ทางการค้าเกรดอุตสาหกรรม Trypticase soy agar (TSA) และ Trypticase soy broth (TSB)

การเตรียมวัสดุของผสมซิงค์ออกไซด์คอปเปอร์ออกไซด์นาโนคอมโพสิท

1. เตรียมสารละลายตั้งต้น สารละลายซิงค์อะซีเตทและสารละลายซิงค์อะซีเตทเจือด้วยคอปเปอร์-อะซีเตท ความเข้มข้นรวม 0.1 โมลาร์ โดยเตรียมเกลือซิงค์อะซีเตทและเกลือซิงค์อะซีเตทที่มีส่วนผสมของคอปเปอร์อะซีเตทที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ โดยโมล ดังนี้ 1 ต่อ 1 โมล คอปเปอร์ 10%, และ1% โดยโมล โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของคอปเปอร์คือ 50 10 และ1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทำการเติมเกลืออนินทรีย์ (โซเดียมอะซีเตท หรือโซเดียมคลอไรด์) 0.2 M ในสารละลายสำหรับเปรียบเทียบผลของการเติมเกลืออนินทรีย์ในการสังเคราะห์

2. นำสารละลายตั้งต้นซิงค์คอปเปอร์มา 125 มิลลิลิตร เติมลงในขวดรูปชมพู่ จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ 125 มิลลิลิตร ทำการปั่นกวนตลอดเวลา จนกระทั่งปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ และทำการหยุดที่เวลา 1 ชั่วโมง เพื่อให้มั่นใจว่าเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์

3. แยกตะกอนที่ได้มาทำการล้างด้วยน้ำกลั่น 5 รอบ จากนั้นล้างด้วยเอทานอล 1 รอบ

4. นำตะกอนที่ล้างแล้วอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปทำการศึกษาสมบัติต่างๆ ต่อไป

วัสดุของผสมซิงค์ออกไซด์คอปเปอร์ออกไซด์นาโนคอมโพสิทที่เตรียมได้จากสารตั้งต้นที่มีสัดส่วนของคอปเปอร์ คือร้อยละ 50, 10, และ 1 แทนด้วยรหัส CZO50, CZO10 และ CZO01 ตามลำดับ สำหรับกรณีเติมเกลือโซเดียมอะซีเตทและโซดียมคลอไรด์แทนด้วย CZO50NaAc, CZO10NaAc, CZO01NaAc, CZO50NaCl, CZO10NaCl และ CZO01NaCl ตามลำดับ ตัวอย่างที่สังเคราะห์โดยใช้สารตั้งต้นโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์แทนด้วย CZO50K, CZO10K และ CZO01K ตามลำดับ

95-118.indd 99 11/4/16 4:32:55 PM

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของวัสดุของผสมนาโนซิงค์ออกไซด์และนาโนคอปเปอร์ออกไซด์

ทำการศึกษาลักษณะรูปร่าง ขนาดอนุภาคของของผสมที่สังเคราะห์ได้ด้วยกล้องส่องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิล์มอิมิชชันรุ่น FE-SEM MODEL: HITACHI – S4700 ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยการวิเคราะห์สเปกตรัมการเรืองแสงรังสีเอ็กซ์ ด้วยเครื่องวิเคราะห์ธาตุเชิงพลังงาน EDS ยี่ห้อ Bruker AXS รุ่น Quantax 4010 ศึกษาโครงสร้างผลึกจากรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ด้วยเครื่องวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X'Pert PRO PANalytical)

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อของวัสดุของผสมนาโนซิงค์ออกไซด์และนาโนคอปเปอร์-ออกไซด์

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อของวัสดุของผสมนาโนที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค Agar well diffusion method โดยเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้แก่ *S. aureus* เป็นตัวแทนเชื้อก่อโรค gram-positive และ *E. coli* เป็นตัวแทนเชื้อก่อโรค Gram-negative ทำการทดสอบการเกิดการยับยั้งเชื้อโดยสังเกตบริเวณที่เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญรอบบริเวณที่มีสารของผสมนาโนตัวอย่าง หรือเรียกว่าบริเวณใส (Clear zone) ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถในการแพร่ของสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อบนอาหารวุ้น โดยวัดขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใสเพื่อประเมินผลในเชิงปริมาณได้

ทำการทดสอบโดยเตรียมเชื้อแบคทีเรีย เกลี่ยเชื้อให้สม่ำเสมอบนวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ในจานเลี้ยงเชื้อ ทำการเจาะหลุมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.0 มิลลิเมตร จากนั้นหยดสารละลายของผสมนาโนปริมาตร 50 ไมโครลิตร ในหลุมที่เจาะไว้ นำไปบ่มเพาะเชื้อที่ตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 ± 2 องศาเซลเซียส ทำการสังเกตและบันทึกผลเส้นผ่าศูนย์กลางของการยับยั้งเชื้อ เตรียมความเข้มข้นของสารตัวอย่าง 4 ความเข้มข้น ได้แก่ 5 กรัมต่อลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า และ เครื่องอุลตร้าโซนิค จากนั้นนำมาเจือจางทีละสิบเท่าตามลำดับ จะได้ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร 0.05 กรัมต่อลิตร และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยคิดเป็นน้ำหนักของสารตัวอย่างของผสมที่ใช้ในการทดสอบการยับยั้งเชื้อเท่ากับ 0.25 มิลลิกรัม 0.025 มิลลิกรัม 2.5 ไมโครกรัม และ 0.25 ไมโครกรัม ตามลำดับ

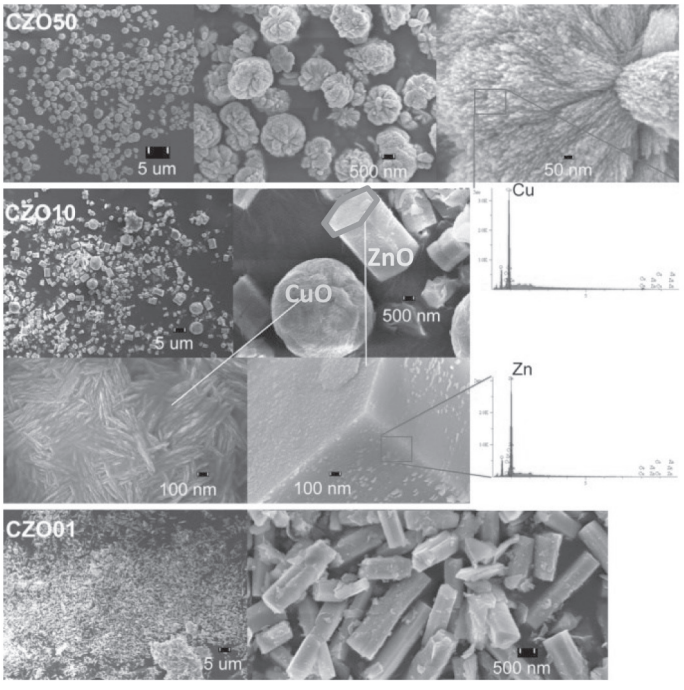
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. การสังเคราะห์ของผสมอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์คอปเปอร์ออกไซด์นาโนคอมโพสิท

ผลการสังเคราะห์ของผสมซิงค์ออกไซด์คอปเปอร์ออกไซด์ด้วยเทคนิคการตกตะกอนร่วมโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ตัวอย่าง CZO50, CZO10 และ CZO01 ดังแสดงในภาพที่ 1 เมื่อพิจารณากับสเปกตรัมการเรืองแสงรังสีเอ็กซ์จะพบว่า ประกอบไปด้วยคอปเปอร์และออกซิเจนเป็นองค์ประกอบหลัก แสดงให้เห็นว่าอนุภาคทรงกลมเป็นอนุภาคของคอปเปอร์ออกไซด์ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอนุภาคอยู่ในช่วงระหว่าง 1.5 – 2 ไมโครเมตร ซึ่งมีลักษณะเป็นการเกาะกลุ่มกันของอนุภาคเริ่มต้นที่มีลักษณะเส้นคอปเปอร์ออกไซด์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10 นาโนเมตร มีลักษณะรูปร่างแบบ Hierarchical dandelion-like ดังแสดงในภาพที่ 1 ตัวอย่าง CZO50 ที่กำลังขยายต่างๆ ซึ่งจะพบว่าอนุภาคที่ได้มีลักษณะ

95-118.indd 100 11/4/16 4:32:55 PM

ที่เหมือนกันหมดสม่ำเสมอเป็นเนื้อเดียวกัน และพบเพียงอนุภาคของคอปเปอร์ออกไซด์ และเมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของคอปเปอร์ในสารละลายตั้งต้นเป็น 10 และ 1 เปอร์เซ็นต์ (CZO10 และ CZO01 ตามลำดับ) พบว่ามีอนุภาคซิงค์ออกไซด์เกิดขึ้นที่ความเข้มข้นคอปเปอร์ 10 เปอร์เซ็นต์ สารตัวอย่าง CZO 10 โดยจะมีลักษณะเป็นแท่งผลึกเฮกซะโกนัลที่ชัดเจน มีความกว้างและความยาวอยู่ในช่วงประมาณ 1.5 ถึง 2.5 ไมโครเมตร และ 1.5 ถึง 5 ไมโครเมตร ตามลำดับ และมีผลึกซิงค์ออกไซด์เป็นองค์ประกอบหลักในตัวอย่าง CZO01 หรือเมื่อความเข้มข้นคอปเปอร์ตั้งต้นเหลือ 1 เปอร์เซ็นต์ โดยยืนยันจากสเปกตรัมการเรืองแสงรังสีเอ็กซ์ซึ่งประกอบไปด้วยซิงค์และออกซิเจนเป็นองค์ประกอบหลัก



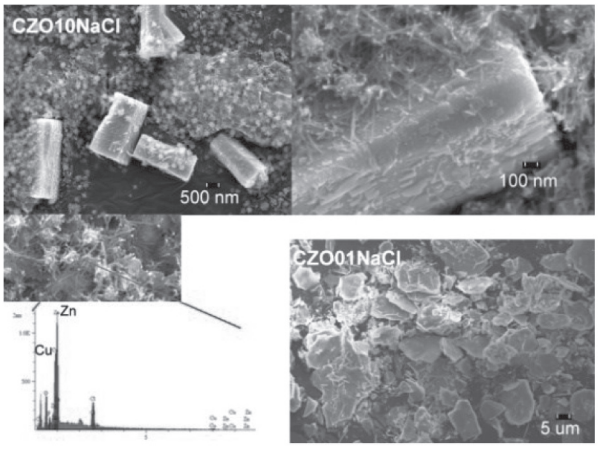
ภาพที่ 1 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของตัวอย่าง CZO50 CZO10 และ CZO01 และแสดงสเปกตรัมการเรืองแสงรังสีเอ็กซ์

เมื่อความเข้มข้นของคอปเปอร์ลดลงจาก 50 เป็น 10 เปอร์เซ็นต์ จะพบว่าอนุภาคคอปเปอร์ออกไซด์มีการเกาะกลุ่มกันเป็นก้อนที่มีขนาดใหญ่ขึ้น เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 ไมโครเมตร และมีลักษณะการเกาะตัวปิดแน่น สำหรับอนุภาคซิงค์ออกไซด์มีลักษณะที่มีความยาวสม่ำเสมอขึ้นอยู่ในช่วงประมาณ 4 ไมโครเมตร เมื่อสัดส่วนความเข้มข้นของซิงค์ตั้งต้นสูงขึ้นที่ 99 เปอร์เซ็นต์ต่อคอปเปอร์ 1 เปอร์เซ็นต์ (ความเข้มข้นรวม 0.10 โมล่าร์) (CZO01) โดยมีความกว้างของแท่งผลึกน้อยลงอยู่ในช่วง

95-118.indd 101 11/4/16 4:32:55 PM

ประมาณ 0.5 ถึง 1 ไมโครเมตร และมีการโตของผลึกในระนาบ 111 และ 100 ไม่เท่ากัน อาจเป็นผลมาจากไอออนของคอปเปอร์อะซีเตทที่มีอยู่ในระบบ จึงทำให้มีรูปร่างเฮกซะโกนัลที่มีสมมาตรไม่สม่ำเสมอ (Wang, 2012)

เมื่อเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ในระบบ สำหรับการสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นสารละลายคอปเปอร์ 10 เปอร์เซ็นต์ (CZO10NaCl) อนุภาคเส้นนาโนคอปเปอร์ออกไซด์จะไม่เกิดการเกาะกลุ่มเป็นอนุภาคทรงกลมแต่จะมีการเกาะกลุ่มที่หลวม มีขนาดเล็กลง ดังแสดงในภาพที่ 2 โดยกลุ่มอนุภาคคอปเปอร์-ออกไซด์มีขนาดประมาณ 500 – 600 นาโนเมตร



ภาพที่ 2 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและสเปกตรัมการเรืองแสงรังสีเอ็กซ์ CZO10NaCl และ CZO01NaCl

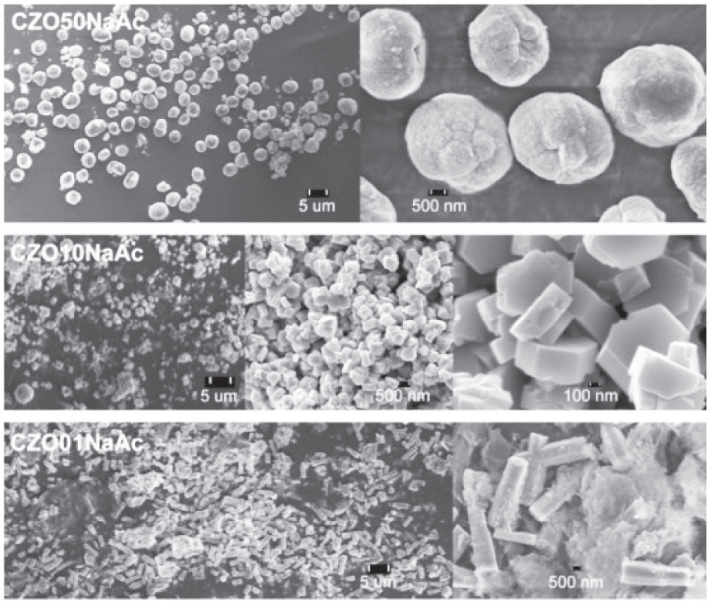
ซึ่งแสดงให้เห็นลักษณะของคอปเปอร์ออกไซด์นาโนไวร์ที่ชัดเจน โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นนาโนคอปเปอร์-ออกไซด์ประมาณ 10 นาโนเมตร กราฟแสดงสเปกตรัมการเรืองแสงรังสีเอ็กซ์แสดงองค์ประกอบทางเคมีของสารตัวอย่างบริเวณในกรอบสีแดง แสดงให้เห็นองค์ประกอบของซิงค์ คอปเปอร์ และออกซิเจน ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีทั้งคอปเปอร์ออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ในบริเวณนั้น ในส่วนผลึกของซิงค์ออกไซด์จะมีลักษณะเฮกซะโกนัลที่แยกออกมาชัดเจนเช่นกัน โดยมีขนาดและรูปร่างไกล้เคียงเดิม (CZO10) ที่สัดส่วนความเข้มข้นสารละลายคอปเปอร์ตั้งต้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ (CZO01NaCl) พบว่าการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ส่งผลให้อนุภาคซิงค์ออกไซด์มีลักษณะเป็นแผ่น ซึ่งคาดว่าเป็นผลจากการควบคุมการโตผลึก ในทิศระนาบ 001 โดยไอออนในระบบ (Wan et al., 2015; Das et al., 2013; Cho et al., 2009; Bakshi, 2016) เนื่องจากความแรงของไอออนร่วมจากเกลือโซเดียมคลอไรด์จึงทำให้เข้าไปบล็อกยูนิทของซิงค์ออกไซด์ในระนาบ 001 ซึ่งเป็นระนาบที่มีสภาพขั้วเป็นบวก จึงทำให้ผลึกซิงค์ออกไซด์มีการโตในระนาบ

95-118.indd 102 11/4/16 4:32:55 PM

อื่นแทนจึงทำให้มีลักษณะอนุภาคเป็นแผ่น (Nanoplate) สำหรับผลของการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ในระบบ CZO50NaCl พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้เกิดการดูดความชื้น

ผลของการเติมเกลือโซเดียมอะซีเตทลงไปในระบบของสารละลาย สารตัวอย่าง CZO50NaAc CZO10NaAc และ CZO01NaAc ดังแสดงในภาพที่ 3 พบว่าส่งผลทำให้เกิดการเกาะรวมของอนุภาคมากขึ้น โดยเกิดเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ขึ้นและมีลักษณะใกล้เคียงทรงกลมมากขึ้นเช่นเดียวกับการลดความเข้มข้นของคอปเปอร์ตั้งต้นและเพิ่มความเข้มข้นของซิงค์ตั้งต้น (CZO10) แต่กลุ่มของอนุภาคที่ได้จะมีลักษณะการเปิดปลายของอนุภาคเส้นนาโนคอปเปอร์ออกไซด์เริ่มต้น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกลุ่มอนุภาคคอปเปอร์ออกไซด์อยู่ในช่วงระหว่าง 3 ถึง 5 ไมโครเมตร เมื่อมีความเข้มข้นของคอปเปอร์ในสารละลายตั้งต้นลดลงที่ 10 เปอร์เซ็นต์ (CZO10NaAc) ผลึกซิงค์ออกไซด์จะมีขนาดเล็กลงเมื่อเทียบกับการสังเคราะห์ที่ไม่เติมเกลือและเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ โดยมีการโตของผลึกในระนาบ 001 ลดลงเหลือประมาณ 100 ถึง 150 นาโนเมตร ในขณะที่ระนาบที่เหลือใกล้เคียงเดิม คือมีขนาดอยู่ในช่วงประมาณ 800 – 1,000 นาโนเมตร ทำให้มีลักษณะรูปร่างแบบแผ่นเฮกซะโกนัล ดังแสดงในภาพที่ 3 CZO10NaAc ซึ่งจากภาพโดยรวมจะพบว่า อนุภาคของคอปเปอร์ออกไซด์จะมีลักษณะการเกาะเป็นกลุ่มอนุภาคทรงกลมเช่นเดียวกัน ซึ่งจากที่ Wan et al. (2015) ได้เสนอว่าอนุภาคคอปเปอร์ออกไซด์ในสารละลายปรกติ (pH ≈ 6.5) การโตผลึกของหน่วย $Cu(OH)_4^{2-}$ ของการเกิดอนุภาคผลึก CuO หรือ $Cu(OH)_2$ จะสามารถเกิดได้ยาก และนอกจากนั้นการเกิดเป็นสารประกอบไอออน $[Cu(N(CH_2CH_2OH)_3)_2]^{2+}$ จะทำให้ยับยั้งการโตของผลึก จึงไม่สามารถทำให้เกิดการฟอร์มผลึก CuO หรือ $Cu(OH)_2$ ได้ ซึ่งเมื่อไม่มีไอออน $Cu(OH)_4^{2-}$ ที่เป็นหน่วยของการฟอร์มตัวของไอออนคอปเปอร์ จึงเป็นเหตุผลที่สามารถทำให้มีไอออน Cu^{2+} ในผลึกซิงค์ออกไซด์ได้ยากมากด้วยการสังเคราะห์ด้วยเทคนิคการตกตะกอนจากสารละลาย ซึ่งเหตุนี้จึงทำให้สามารถเจือไอออน Cu^{2+} ในผลึกซิงค์ออกไซด์ได้ในสัดส่วนที่น้อยมาก และได้ยืนยันแนวคิดด้วยผลการวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยนี้ที่ทำให้เกิดเป็นอนุภาคคอปเปอร์ออกไซด์และซิงค์ออกไซด์แยกจากกัน อย่างไรก็ตาม ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาที่ความเข้มข้นของซิงค์และคอปเปอร์ที่แตกต่างกันมาก และมีปัจจัยเนื่องจากความเข้มข้นไอออนชนิดต่างๆ ร่วมด้วย

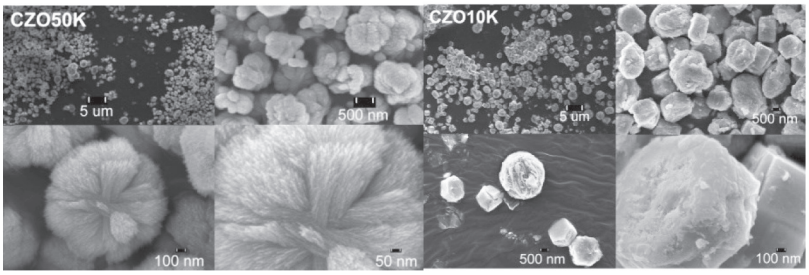
95-118.indd 103 11/4/16 4:32:55 PM



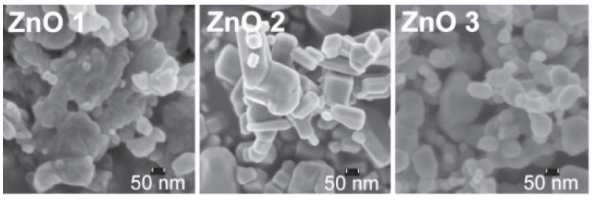
ภาพที่ 3 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของตัวอย่าง CZO50NaAc, CZO10NaAc และ CZO01NaAc

สำหรับตัวอย่าง CZO01NaAc พบว่ามีการเกิดเป็นแท่งอนุภาคเฮกซะโกนัลซิงค์ออกไซด์เช่นเดียวกับการไม่เติมเกลือ (CZO01) โดยมีความกว้างของแท่งผลึกอยู่ในช่วงประมาณ 700 – 1,000 นาโนเมตร และยาวประมาณ 3 ถึง 4 ไมโครเมตร ดังแสดงในภาพที่ 3 ผลของการสังเคราะห์โดยใช้สารละลายโพแทสเซียม-ไฮดรอกไซด์ แสดงในภาพที่ 4 ตัวอย่าง CZO50K และ CZO10K ผลที่ได้พบว่าตัวอย่าง CZO50K พบอนุภาคหลักเป็นคอปเปอร์ออกไซด์ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับตัวอย่าง CZO50 โดยมีขนาดของกลุ่มอนุภาคอยู่ในช่วง 1 ถึง 1.5 ไมโครเมตร ตัวอย่าง CZO10K มีลักษณะของผลึกเฮกซะโกนัลซิงค์ออกไซด์ และเกิดอนุภาคคอปเปอร์ออกไซด์ทรงกลมที่มีลักษณะผิวที่ไม่เผยปลายของอนุภาค คอปเปอร์ออกไซด์ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางอนุภาคประมาณ 2 ไมโครเมตร ภาพที่ 5 แสดงลักษณะของอนุภาคซิงค์ออกไซด์ทางการค้าที่นำมาใช้เป็นสารอ้างอิง ได้แก่ อนุภาคซิงค์ออกไซด์เกรดอุตสาหกรรม (ZnO 1) เกรดไมโครไนส์ (ZnO 2) และเกรดนาโน (ZnO 3) จากซ้ายไปขวาตามลำดับ ลักษณะอนุภาคของซิงค์ออกไซด์เกรดอุตสาหกรรมมีลักษณะเกาะรวมกันเป็นอนุภาคขนาดใหญ่มีขนาดและรูปร่างไม่แน่นอนตั้งแต่ 1 ถึง 15 ไมโครเมตร อนุภาคของซิงค์ออกไซด์เกรดไมโครไนส์ที่ใช้มีลักษณะรูปร่างความเป็นผลึกที่ชัดเจนขนาดอยู่ในช่วงประมาณ 50 ถึง 500 นาโนเมตร และอนุภาคของซิงค์ออกไซด์เกรดนาโนทางการค้ามีขนาดอนุภาคที่เล็กและมีความสม่ำเสมอของขนาดอนุภาคสูงที่สุด โดยมีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วงประมาณ 50 ถึง 150 นาโนเมตร

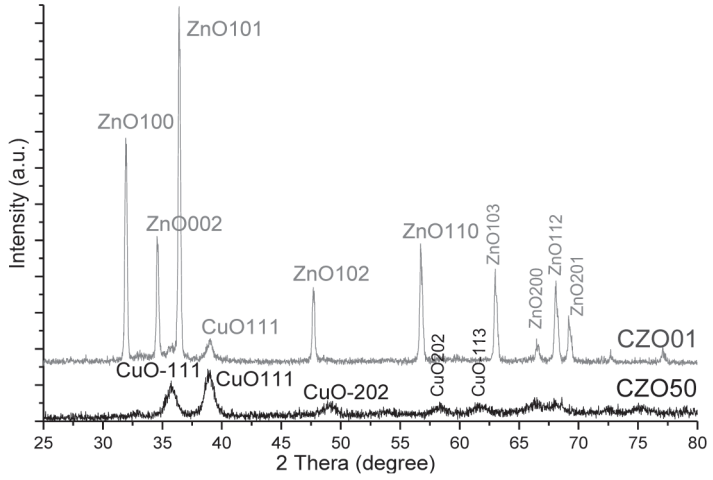
95-118.indd 104 11/4/16 4:32:56 PM



ภาพที่ 4 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของตัวอย่าง CZO50K และ CZO10K



ภาพที่ 5 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของอนุภาคซิงค์ออกไซด์ทางการค้าเกรดอุตสาหกรรม เกรดไมโครไนส์ และเกรดนาโน ที่ใช้ในการทดลองนี้จากซ้ายไปขวาตามลำดับ



ภาพที่ 6 แสดงกราฟรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของตัวอย่าง CZO01 และ CZO50

95-118.indd 105 11/4/16 4:32:56 PM

แสดงรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของวัสดุของผสมนาโนซิงค์ออกไซด์และนาโนคอปเปอร์-ออกไซด์ที่สังเคราะห์ เปรียบเทียบที่สัดส่วนของสารตั้งต้นซิงค์ต่อคอบเปอร์ 99 ต่อ 1 เปอร์เซ็นต์ (CZO01) กราฟสีแดงเส้นบน และสัดส่วนของสารตั้งต้นซิงค์ต่อคอบเปอร์หนึ่งต่อหนึ่ง (CZO50) กราฟสีดำเส้นล่าง พบว่ามีลักษณะรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของซิงค์ออกไซด์และคอบเปอร์ออกไซด์รวมกัน โดยพีคที่ตำแหน่ง 2θ ประมาณ 31.9°, 34.5°, 36.5°, 47.7°, 56.7°, 63°, 66.5°, 68° และ 69.2° เป็นของระนาบของผลึกซิงค์ออกไซด์ 100, 002, 101, 102, 110, 103, 200 112 และ 201 ตามลำดับ แสดงว่าซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิคการตกตะกอนร่วมมีโครงสร้างผลึกแบบ Zincite ซึ่งมีโครงสร้างลักษณะผลึกเป็นเฮกซะโกนัลสอดคล้องกับผลที่ได้จากภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของคอปเปอร์ออกไซด์ที่ชัดเจนที่เงื่อนไขสัดส่วนของสารตั้งต้นซิงค์ต่อคอบเปอร์หนึ่งต่อหนึ่ง ในภาพที่ 6 กราฟสีดำเส้นล่าง พบพีคที่ตำแหน่ง 2θ ประมาณ 35.7°, 38.9°, 49.2°, 58.5° และ 62° ซึ่งเป็นพีคของระนาบคอบเปอร์ออกไซด์ -111, 111, -202, 202 และ -113 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะรูปแบบอนุภาคที่ได้จากภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลกตรอนและปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น พิจารณาจากผลของรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์และภาพถ่ายพบว่าจะเกิดเป็นคอปเปอร์ออกไซด์ได้ดีกว่าการเกิดซิงค์ออกไซด์

2. ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อของวัสดุของผสมนาโนซิงค์ออกไซด์และนาโนคอปเปอร์ออกไซด์

ในการศึกษาการยับยั้งเชื้อของวัสดุของผสมซิงค์ออกไซด์คอปเปอร์ออกไซด์นาโนคอมโพสิทที่สังเคราะห์ได้ที่เงื่อนไขต่าง ๆ ทำโดยการวัดขนาดของ Inhibition zone ที่เกิดจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อด้วยวัสดุเนื่องจากการแพร่ (Gandhi et al., 2013) โดยใช้เทคนิคที่ดัดแปลงจาก Agar well diffusion method เชื้อที่ใช้ในการทดลอง คือ *E. coli* และ *S. aureus* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ จุลินทรีย์สามารถปนเปื้อนและเพิ่มจำนวนได้ในอาหาร และเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้อาหารเกิดการเสื่อมเสีย โดยเฉพาะประเทศไทย ซึ่งเป็นประเทศเขตร้อนมีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 30-35°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียและจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (Ray & Bhunia, 2007) ความเข้มข้นของวัสดุของผสมซิงค์ออกไซด์คอปเปอร์ออกไซด์นาโนคอมโพสิทที่ใช้ในการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่เริ่มมีผลในการยับยั้งเชื้อคือ 5 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นน้ำหนักสารเท่ากับ 0.25 มิลลิกรัม ผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* และการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นของสาร 5 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2

95-118.indd 106 11/4/16 4:32:56 PM

ตารางที่ 1 แสดงผลของการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของวัสดุซิงค์ออกไซด์คอปเปอร์ออกไซด์นาโนคอมโพสิทที่สังเคราะห์ได้

ร้อยละของคอปเปอร์ตั้งต้นในการสังเคราะห์	รัศมีในการยับยั้งเชื้อ ± SD (mm)			
	ใช้ NaOH ในการสังเคราะห์			ใช้ KOH ในการสังเคราะห์ ไม่เติมเกลือ
	ไม่เติมเกลือ	NaCl	NaAC^{ns}	
50	(CZO50) 5.63^{aA} ± 1.05	(CZO50NaCl) N/A	(CZO50NaAC) 0^{b}	(CZO50K) 3.83^{aA} ± 0.76
10	(CZO10) 0^{bC}	(CZO10NaCl) 0.43^{aA} ± 0.31	(CZO10NaAC) 0^{b}	(CZO10K) 30^{bB}
1.0	(CZO01) 1.10^{aB} ± 0.35	(CZO01NaCl) 0^{bB}	CZO01NaAC) 0^{b}	(CZO01K) 30.33^{abB} ± 0.58

หมายเหตุ: N/A หมายถึงไม่สามารถสังเคราะห์ได้
ค่าที่ได้มาจากการทดลองจำนวนสามซ้ำ (triplicate)
ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษร $^{a-b}$ ที่ต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษร $^{A-C}$ ที่ต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
^{ns} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 2 แสดงผลของการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของวัสดุซิงค์ออกไซด์คอปเปอร์ออกไซด์นาโนคอมโพสิทที่สังเคราะห์ได้

ร้อยละของคอปเปอร์ตั้งต้นในการสังเคราะห์	รัศมีในการยับยั้งเชื้อ ± SD (mm)			
	ใช้ NaOH ในการสังเคราะห์			ใช้ KOH ในการสังเคราะห์
	ไม่เติมเกลือ	NaCl	NaAC^{ns}	
50	3.62^{aA} ± 0.58	N/A	1.30^{bA} ± 0.17	2.03^{bA} ± 0.95
10	0^{C}	0	0^{B}	0^{B}
1.0	0.96^{aB} ± 0.05	0^{b}	0b^{B}	0.76^{aA} ± 0.66

หมายเหตุ: N/A หมายถึงไม่สามารถสังเคราะห์ได้
ค่าที่ได้มาจากการทดลองจำนวนสามซ้ำ (triplicate)
ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษร $^{a-b}$ ที่ต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษร $^{A-C}$ ที่ต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
^{ns} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

95-118.indd 107 11/4/16 4:32:56 PM

จากตารางที่ 1 และตารางที่ 2 จะพบว่า CZO50 มีขนาดของ Inhibition zone ของการยับยั้งเชื้อ *E. coli* มากที่สุด ที่ 5.63 ± 1.05 mm และมีสมบัติการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* มากที่สุดเช่นกัน ที่ 3.62 ± 0.58 ซึ่งจากข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีแสดงให้เห็นว่า CZO50 เป็นอนุภาคคอปเปอร์ออกไซด์-นาโนไวร์ที่มีการเกาะกลุ่มลักษณะ Hierarchical dandelion-like เมื่อพิจารณาลักษณะการเรียงตัวของอนุภาคนาโนไวร์และรูปแบบของระนาบการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของตัวอย่าง CZO50 และ CZO50K แล้วจะพบว่ามีการเกาะกลุ่มเรียงตัวกันโดยหันระนาบ {110} ออกมาที่ผิว ซึ่งมีลักษณะรูปร่างใกล้เคียงกับตัวอย่าง CZO50K และให้ผลในการยับยั้งเชื้อได้สูงเช่นกันรองลงมา ซึ่งให้ผลที่สอดคล้องกับ (Hassan et al., 2012; Srivaraj et al., 2014) และมีสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้สูงกว่า *S. aureus* สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Pandiyarajan et al. (2013) และ Naika et al. (2015) ซึ่งอนุภาคนาโนคอปเปอร์ออกไซด์สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้สูงกว่า *S. aureus* อย่างไรก็ตามลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคเป็นปัจจัยที่สำคัญในกลไกการยับยั้งเชื้อเนื่องจากการแพร่ในวุ้นอาหาร ซึ่งในงานวิจัยนี้มีขนาดและรูปร่างของอนุภาคคอปเปอร์-ออกไซด์ที่แตกต่างจากของ Pandiyarajan et al. (2013) และ Naika et al. (2015) อย่างไรก็ตามการทดสอบเคลียร์โซนของ Pandiyarajan et al. (2013) ใช้ที่ปริมาณสารสูงกว่าที่ 1.5 มิลลิกรัม และ Naika et al. (2015) ใช้ปริมาณสารที่ 1.0 มิลลิกรัม มีงานวิจัยที่สังเคราะห์วัสดุคอปเปอร์ออกไซด์ลักษณะ Hierarchical dandelion-like ที่คล้ายกันโดยหันระนาบ {110} ออกมาที่ผิว ด้วยเทคนิคอื่น เช่น เทคนิคทาง Hydrothermal method (Qin et al., 2012; Zhang et al., 2015; Guan et al., 2011) แต่อย่างไรก็ตามอนุภาคมีลักษณะและขนาดที่ต่างกันและไม่ได้นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ

เมื่อพิจารณาถึงปัจจัยโครงสร้างผลึกและลักษณะอนุภาคของตัวอย่างที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจะพบว่าลักษณะโครงสร้างของอนุภาคคอปเปอร์ออกไซด์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดได้ดีควรมีลักษณะของอนุภาคที่มีเส้นนาโนไวร์ที่ชัดเจน เกาะกลุ่มแบบหลวม โดยหันปลายระนาบ {110} ออกมาที่ผิว แต่ถ้าอนุภาคมีการเกาะกันแน่นมากขึ้นจนห่อหุ้มเป็นทรงกลมไม่เผยปลายระนาบ {110} ออกมาที่ผิวจะสามารถยังยั้งเชื้อได้ไม่ดีหรือไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ อย่างไรก็ตามอนุภาคคอปเปอร์ออกไซด์ที่ไม่เผยปลายเส้นนาโนไวร์ออกมาที่ผิว เช่น ตัวอย่าง CZO50NaAc และ CZO01K สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้นั้นมีส่วนผสมของอนุภาคคอปเปอร์ออกไซด์ด้วย ตัวอย่าง CZO01 และ CZO01K สามารถยังยั้งเชื้อทั้งสองชนิดได้เช่นกัน โดยตัวอย่างทั้งสองประกอบด้วยอนุภาคซิงค์ออกไซด์เป็นหลัก ซึ่งสอดคล้องกับคุณสมบัติของอนุภาคซิงค์ออกไซด์โดยทั่วไปที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ (Sirelkhatim et al., 2015; Zhang et al., 2010; Li et al., 2015; Chang et al., 2012; Tankhiwale & Baipai, 2012; Kaewkhong, 2014; Subhan et al., 2015; Raghupathi et al., 2011; Espitia et al., 2012; Kadam et al., 2015; Lingaraju et al., 2015 ; Suresh et al., 2015; Navale et al., 2015; Fakhroueian et al., 2013; Ramazanzadeh et al., 2015; Gandhi et al., 2013), โดยที่ตัวอย่าง CZO01 และ CZO01K สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli* โดยมีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางที่ 1.10 ± 0.35 และ

95-118.indd 108 11/4/16 4:32:56 PM

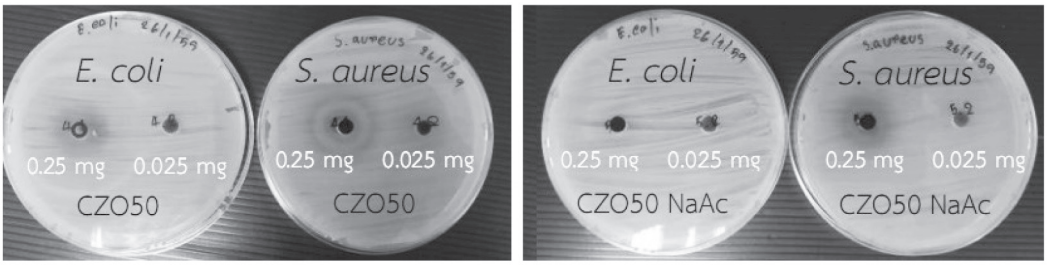
0.76 ± 0.66 mm ตามลำดับ และมีสมบัติการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยมีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางที่ 0.96 ± 0.05 และ 0.33 ± 0.58 ตามลำดับ สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้สูงกว่า *S. aureus* ให้ผลตรงข้ามกับการศึกษาของ Kaewkhong (2014) Bhuyan et al. (2015) และ Gandhi et al. (2013) ซึ่งทั้งหมดพบว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์ที่เขาสังเคราะห์ได้มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ต่ำกว่า *S. aureus* โดยทดสอบกับอนุภาคซิงค์ออกไซด์โครงสร้างนาโนเมตรที่มีลักษณะอนุภาคแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามกลไกที่สำคัญในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อด้วยการแพร่ของอนุภาคซิงค์ออกไซด์ขึ้นอยู่กับขนาดอนุภาครูปร่างลักษณะอนุภาคและปัจจัยอื่นๆ ด้วยเช่นกัน (Sirelkhatim et al., 2015; Chang et al., 2012; Li et al., 2015; Ramazanzadeh et al., 2015; Fakhroueian et al., 2013) โดยรูปร่างลักษณะและขนาดของอนุภาคซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ได้ในงานวิจัยนี้แตกต่างออกไป อย่างไรก็ตามผลการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้สูงกว่า *S. aureus* ของตัวอย่าง CZO01 และ CZO01K อาจเนื่องจากมีส่วนผสมของอนุภาคคอปเปอร์ออกไซด์ในปริมาณน้อยรวมอยู่ด้วย ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อหรืออาจทำให้มีผลเสริมในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ ตามผลการทดลองที่ใกล้เคียงกันของ Ramazanzaden et al., 2015 ที่พบว่า CuO และการเคลือบ CuO-ZnO มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* (ATCC 35668) ได้สูง โดยเชื้อจะไม่มีเจริญเติบโตภายใน 2 ชั่วโมง โดยที่วัสดุอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ แต่เชื้อจะมีปริมาณที่น้อยกว่า control อย่างมีนัยสำคัญ และรายงานการวิจัยของ Bhuyan et al. (2015) ซึ่งพบว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์เจือด้วยคอปเปอร์สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้สูงกว่าอนุภาคซิงค์กออกไซด์ที่ไม่ได้เจือคอปเปอร์และสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้สูงกว่า *S. aureus* เช่นกันทั้งอนุภาคซิงค์ออกไซด์และอนุภาคซิงค์ออกไซด์เจือด้วยคอปเปอร์ อย่างไรก็ตามลักษณะอนุภาคส่วนผสมขององค์ประกอบต่างๆ รวมทั้งโครงสร้างผลึกของทั้งสองมีความแตกต่างจากตัวอย่าง CZO01 และ CZO01K ในงานวิจัยนี้

3. การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อด้วยสารสังเคราะห์ CuO/ZnO กับวัสดุที่มีขายทางการค้า

ทำการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ด้วยวัสดุตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้กับวัสดุที่มีขายทางการค้า 4 ชนิด ได้แก่ ซิงออกไซด์ทางการค้าเกรดนาโน ซิงออกไซด์ทางการค้าเกรดไมโครไนส์ ซิงออกไซด์ทางการค้าเกรดอุตสาหกรรม และคอปเปอร์ออกไซด์ทางการค้าเกรดอุตสาหกรรม โดยที่ปริมาณเดียวกันที่ 0.25 มิลลิกรัม ได้ผลดังภาพที่ 7 และภาพที่ 8 พบว่า วัสดุซิงค์ออกไซด์คอปเปอร์ออกไซด์นาโนคอมโพสิทที่สังเคราะห์ขึ้นสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ แต่วัสดุที่มีขายทางการค้าทั้ง 4 ชนิดไม่สามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดได้ที่ความเข้มข้นเดียวกัน แสดงให้เห็นว่า วัสดุที่สังเคราะห์ขึ้นมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าวัสดุทางการค้าและวัสดุนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ในงานวิจัยอื่นก่อนหน้านี้ โดยมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ในขณะที่ใช้ปริมาณสารน้อยกว่า ซึ่งวัสดุซิงค์-ออกไซด์คอปเปอร์ออกไซด์นาโนคอมโพสิทที่สังเคราะห์ จึงมีความเป็นไปได้และเหมาะสำหรับการนำไปประยุกต์หรือพัฒนาไปใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหารแอคทีฟต่อไป ภาพที่ 7 ซ้ายแสดงตัวอย่างภาพถ่ายของการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ของตัวอย่าง CZO50 โดยที่หลุมด้านซ้ายของแต่ละเพลทมีปริมาณ

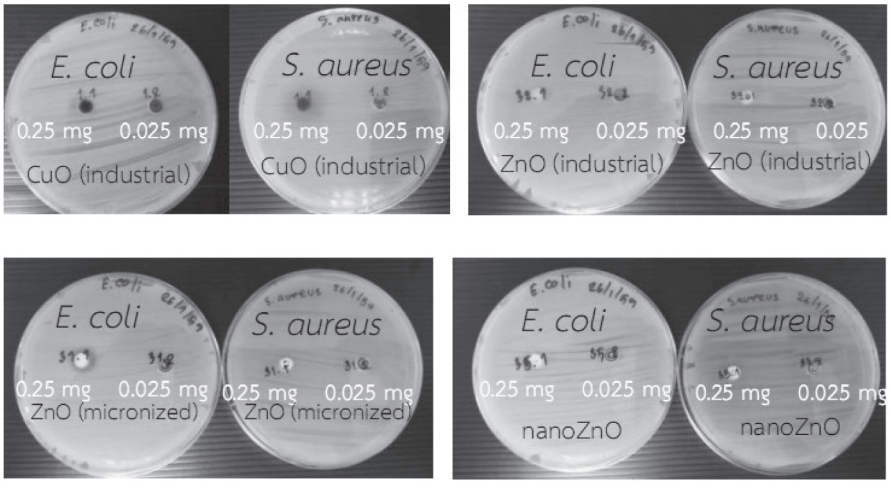
95-118.indd 109 11/4/16 4:32:56 PM

สาร 0.25 มิลลิกรัมและหลุมขวามีปริมาณสาร 0.025 มิลลิกรัม และภาพที่ 7 ขวา แสดงตัวอย่างภาพถ่ายของการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ของตัวอย่าง CZO50NaAc เปรียบเทียบปริมาณสารสองความเข้มข้นเช่นเดียวกัน แสดงลักษณะการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ปริมาณสาร 0.25 มิลลิกรัม



ภาพที่ 7 แสดงภาพถ่ายลักษณะการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ของวัสดุที่สังเคราะห์ขึ้น

อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเพิ่มปริมาณของวัสดุทางการค้าทั้ง 4 ชนิด พบว่าคอปเปอร์ออกไซด์ทางการค้าเกรดอุตสาหกรรมสามารถยับยั้งเชื้อได้ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น 10 เท่า หรือ 50 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็นน้ำหนักสารที่ใช้เท่ากับ 2.5 มิลลิกรัม โดยที่ความเข้มข้นนี้ ซิงค์ออกไซด์ทางการค้าทั้งสามชนิดยังไม่สามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดนี้ได้



ภาพที่ 8 แสดงภาพถ่ายลักษณะการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ของวัสดุทางการค้า

95-118.indd 110 11/4/16 4:32:56 PM

สรุปผลการวิจัย

สามารถทำการสังเคราะห์วัสดุของผสมซิงค์ออกไซด์คอปเปอร์ออกไซด์นาโนคอมโพสิทชนิดใหม่ได้ด้วยเทคนิคที่พัฒนาขึ้น โดยมีการกระจายตัวของอนุภาคทั้งสองผสมกันสม่ำเสมอ สามารถสังเคราะห์อนุภาคเริ่มต้นคอปเปอร์ออกไซด์ที่ได้มีลักษณะอนุภาคลวดนาโนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10 นาโนเมตร โดยมีลักษณะการเกาะกลุ่มกันของลวดนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ให้มีลักษณะทรงกลม (Hierarchical dandelion-like) และมีการกระจายตัวของอนุภาคลวดนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ได้ อนุภาคซิงค์ออกไซด์ที่ได้มีลักษณะโครงสร้างเฮกซะโกนอล ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 ไมโครเมตร สามารถควบคุมให้มีความหนาตั้งแต่ 200 นาโนเมตร ถึง 5 ไมโครเมตร มีโครงสร้างผลึกเป็นแบบ Zincite

อนุภาคลวดนาโนคอปเปอร์ออกไซด์รูปร่าง Hierarchical dandelion-like แบบใหม่ที่สังเคราะห์ได้ในงานวิจัยนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้สูง ซึ่งมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าวัสดุทางการค้า หรือวัสดุนาโนซิงค์ออกไซด์ นาโนคอปเปอร์ออกไซด์ หรือของผสมซิงค์ออกไซด์คอปเปอร์ออกไซด์ที่ได้จากการสังเคราะห์จากงานวิจัยก่อนหน้านี้

ข้อเสนอแนะ

1. กลไกการยับยั้งเชื้อของวัสดุโลหะออกไซด์เกิดจากหลายกลไก เช่น การแพร่ของไอออนโลหะไปทำลายเซลล์เป้าหมาย การทำลายเยื่อหุ้มเซลล์โดยการสัมผัสอนุภาคโลหะออกไซด์เองโดยตรง และการผลิตสารที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อประเภท Reactive Oxygen Species (ROS) จากการเกิดคู่อิเลคตรอนโฮลแพร์ของวัสดุโลหะออกไซด์ เป็นต้น (Sirelkhatim et al., 2015; Zhang et al., 2010; Li M et al., 2015; Chang et al., 2012; Perelshtein et al., 2015; Prasanna & Rajagopalan, 2015; Li et al., 2012) การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อด้วยเทคนิคอื่นเพิ่มเติมอาจทำให้ทราบประสิทธิภาพและกลไกในการยับยั้งเชื้อที่ชัดเจนมากขึ้น

2. ตัวอย่างวัสดุของผสมที่สังเคราะห์ได้มีความแตกต่างกันมากทั้งส่วนผสมขององค์ประกอบ รูปร่างและขนาดอนุภาค และประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ ให้ผลที่ดีในหลายตัวอย่าง ซึ่งสามารถนำแต่ละสภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์ ไปศึกษา อย่างละเอียด เพื่อให้ได้ข้อมูลคุณสมบัติที่ละเอียดของวัสดุและรวมทั้งทำการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อที่ละเอียด ที่สภาวะแวดล้อมต่างๆ เพื่อทำการพัฒนาให้เหมาะสมต่อการนำไปใช้งานด้านบรรจุภัณฑ์อาหารเพื่อยับยั้งเชื้อเพิ่มเติมได้

95-118.indd 111 11/4/16 4:32:56 PM

References

Ananth, A., Dharaneedharan S., Heo, M. S. & Mok, Y.S. (2015). Copper oxide nanomaterials: Synthesis, characterization and structure-specific antibacterial performance. *Chemical Engineering Journal,* 262, 179-188.

Applerot, G., Abu-Mukh, R., Irzh, A., Charmet, J., Keppner, H., Laux, E. Guibert G, Gedanken A. (2010). Decorating parylene-coated glass with ZnO nanoparticles for antibacterial applications: a comparative study of sonochemical, microwave, and microwave-plasma coating routes. *ACS Applied Materials & Interfaces,* 2, 1052-1059.

Bakshi, M.S. (2016). How Surfactants Control Crystal Growth of Nanomaterials. *Crystal Growth & Design,* 16 (2), 1104–1133

Bhuyan, T., Khanuja, M., Sharma, R., Patel, S., Reddy, M.R., Anand, S. & Varma A. (2015). A comparative study of pure and copper (Cu)-doped ZnO nanorods for antibacterial and photocatalytic applications with their mechanism of action. *Journal of Nanoparticle Research,* July, 17, 288.

Chanchaichaovivat, A. & Khaokang, S. (2013). Inhibition of Enteropathogenic Bacteria with Herbal Extracts Used in KaoMak-Starter Making. *SDU Research Journal Sciences and Technology,* 6(2), 11-26.

Chang, Y.N., Zhang M., Xia L., Zhang J. & Xing G. (2012). The Toxic Effects and Mechanisms of CuO and ZnO Nanoparticles. *Materials,* 5(12), 2850-2871.

Cho, S., Jang, J-W., Jung, S-H., Lee, B.R., Oh, E. & Lee, K.-H. (2009). Precursor Effects of Citric Acid and Citrates on ZnO Crystal Formation. *Langmuir,* 25 (6), 3825–3831.

Das, S., Dutta, K. & Pramanik, A. (2013). Morphology control of ZnO with citrate: a time and concentration dependent mechanistic insight. *CrystEngComm,* 15, 6349-6358.

De Moura, M.R., Mattoso, L.H.C. & Zucolotto, V. (2012). Development of cellulose-based bactericidal nanocomposites containing silver nanoparticles and their use as active food packaging. *Journal of Food Engineering,* 109, 520-524.

Emamifar, A., Kadivar M., Shahedi M. & Soleimanian-Zad S. (2011). Effect of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on inactivation of Lactobacillus plantarum in orange juice. *Food Control,* 22 (3–4), 408-413.

95-118.indd 112 11/4/16 4:32:57 PM

Espitia, P.J.P., Soares N.d.F. F., Coimbra J.S.D.R., Andrade N.J.D., Cruz R.S. & Medeiros E.A.A. (2012). Zinc Oxide Nanoparticles: Synthesis, Antimicrobial Activity and Food Packaging Applications. *Food and Bioprocess Technology,* 5(5), 1447-1464.

Fakhroueian, Z., Harsini, F.M., Chalabian, F., Katouzian, F., Shafiekhani, A. & Esmaeilzadeh, P. (2013). Influence of modified ZnO quantum dots and nanostructures as new antibacterials. *Advances in Nanoparticles.* 2, 247-258.

Gandhi, R.R., Gowri, S., Suresh, J. & Sundrarajan, M. (2013). Ionic liquids assisted synthesis of ZnO nanostructures: Controlled size, morphology and antibacterial properties. *Journal of Materials Science,* 29(6), 533-538.

Guan, X., Li, L., Li, G., Fu, Z., Zheng, J. & Yan T. (2011). Hierarchical CuO hollow microspheres: Controlled synthesis for enhanced lithium storage performance. *Journal of Alloys and Compounds,* 509(7), 3367-3374.

Hassan, M.S., Amna T., Yang, O-B., El-Newehy, M. H., Al-Deyab, S. S. & Khil, M-S. (2012). Smart copper oxide nanocrystals: Synthesis, characterization, electrochemical and potent antibacterial activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces,* 97, 201-206.

Jadhav, S., Gaikwad S., Nimse M. & Rajbhoj A. (2011). Copper Oxide Nanoparticles: Synthesis, Characterization and Their Antibacterial Activity. *Journal of Cluster Science,* 22(2), 121-129.

Jafari, A., Ghane, M., Sarabi, M. & Siyavoshifar, F., (2011). Synthesis and Antibacterial Properties of Zinc Oxide Combined with Copper Oxide Nanocrystals. *Oriental Journal of Chemistry,* 27, 811-822.

Kadam, A.N., Dhabbe, R.S., Kokate, M.R., Gavade, N.L., Waghmare, P.R. & Garadkar, K.M. (2015). Template free large scale synthesis of multi-shaped ZnO nanostructures for optical, photocatalytical and antibacterial properties. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics,* 26, 8367-8379.

Kaewkhong, N. (2014). *The Development of Antibacterial Fabric on Textile Materials.* Faculty of science and technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi. (in Thai)

95-118.indd 113 11/4/16 4:32:57 PM

Katwal, R., Kaur, H., Sharma, G., Naushad, M. & Pathania, D. (2015). Electrochemical synthesized copper oxide nanoparticles for enhanced photocatalytic and antimicrobial activity. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry,* 31, 173-184.

Kim, M.H., Kwak S. K., Im S. H., Lee J.-B., Choi K.-Y. & Byun D.-J. (2014). Maneuvering the growth of silver nanoplates: use of halide ions to promote vertical growth. *Journal of Materials Chemistry C,* 2, 6165-6170.

Li M., Li G., Jiang J., Zhang Z., Dai X. & Mai K. (2015). Ultraviolet Resistance and Antimicrobial Properties of ZnO in the Polypropylene Materials: A Review. *Journal of Materials Science & Technology,* 31(4), 331-339.

Li, Y., Zhang W., Niu J. & Chen Y. (2012). Mechanism of Photogenerated Reactive Oxygen Species and Correlation with the Antibacterial Properties of Engineered Metal-Oxide Nanoparticles. *ACS Nano,* 6 (6), 5164–5173.

Lingaraju, K., Raja Naika H., Manjunath, K., Basavaraj, R. B., Nagabhushana, H., Nagaraju, G. & Suresh, D. (2015). Biogenic synthesis of zinc oxide nanoparticles using Ruta graveolens (L.) and their antibacterial and antioxidant activities. *Applied Nanoscience,* 1-8.

Naika, H.R., Lingaraju, K., Manjunath, K., Kumar, D., Nagaraju, G., Suresh, D. & Nagabhushana, H. (2015). Green synthesis of CuO nanoparticles using *Gloriosa superba* L. extract and their antibacterial activity. *Journal of Taibah University for Science,* 9, 7-12.

Navale, G.R., Thripuranthaka, M., Late, D.J. & Shinde, S.S. (2015). Antimicrobial activity of ZnO nanoparticles against pathogenic bacteria and fungi. *JSM Nanotechnology & Nanomedicine.* 3(1), 1033.

Pandiyarajan, T., Udayabhaskar, R., Vignesh, S., James A.,R. & Karthikeyan, B. (2013). Synthesis and concentration dependent antibacterial activities of CuO nanoflakes. *Materials Science and Engineering: C,* 33, 2020-2024.

Perelshtein, I., Lipovsky A., Perkas N., Gedanken A., Moschini E. & Mantecca P. (2015). The influence of the crystalline nature of nano-metal oxides on their antibacterial and toxicity properties. *Nano Research,* 8 (2), 695-707.

95-118.indd 114 11/4/16 4:32:57 PM

Prasanna, V.L. & Vijayaraghavan R. (2015). Insight into the Mechanism of Antibacterial Activity of ZnO: Surface Defects Mediated Reactive Oxygen Species Even in the Dark. *Langmuir,* 31 (33), 9155–9162.

Qin, Y., Zhang F., Chen Y., Zho Y., Jie Li, Zhu A., Luo Y., Tian Y. & Yang J. (2012). Hierarchically Porous CuO Hollow Spheres Fabricated via a One-Pot Template-Free Method for High-Performance Gas Sensors. *The Journal of Physical Chemistry C,* 116 (22), 11994–12000.

Raghupathi, K.R., Koodali R. T. & Manna A.C. (2011). Size-Dependent Bacterial Growth Inhibition and Mechanism of Antibacterial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles. *Langmuir,* 27 (7), 4020–4028.

Ramazanzadeh, B., Jahanbin, A., Yaghoubi, M., Shahtahmassbi, N., Ghazvini, K., Shakeri, M. & Shafaee, H. (2015). Comparison of antibacterial effects of ZnO and CuO nanoparticles coated brackets against Streptococcus Mutans. *Journal of Dentistry, Shiraz University of Medical Sciences.* 16(3): 200-205.

Ray, B. & Bhunia, A. (2007). *Fundamental Food Microbiology.* 4th ed. NY: CRC Press.

Ren, G., Hu D., Cheng E. W.C., Miguel A. Vargas-Reus, R.P. & Allaker R. P. (2009). Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications, *International Journal of Antimicrobial Agents,* 33(6), 587-590.

Ruparelia, J.P., Chatterjee, A.K., Duttagupta, S.P. & Mukherji, S. (2008). Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta Biomaterialia.* 4, 707-716.

Shinde, S., Dhaygude, H., Kim, D-Y., Ghodake, G., Bhagwat, P., Dandge, P. & Fulari, V. (2016). Improved synthesis of copper oxide nanosheets and its application in development of supercapacitor and antimicrobial agents. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* (In Press).

Sirelkhatim, A., Mahmud S., Seeni A., Kaus N. H. M., Ann L. C., Bakhori S. K. M., Hasan H. & Mohamad D. (2015). Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nano-Micro Letters,* 7, 219-242.

95-118.indd 115 11/4/16 4:32:57 PM

Sivaraj, R., Rahman, P. K., Rajiv, P., Narendhran, S. & Venckatesh, R. (2014). Biosynthesis and characterization of Acalypha indica mediated copper oxide nanoparticles and evaluation of its antimicrobial and anticancer activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy,* 129, 255-258.

Srithaworn, M., Thuyhun, A., Chunhachart, O. & Preecharram, S. (2015). Antioxidant and Antibacterial Activity of Crude Extracts from Ya-Keaw Formula Against Shrimp Pathogens. *SDU Research Journal Sciences and Technology,* 8(2), 117-132.

Subhan, M.A., Uddin N., Sarker P., Azad A. K. & Begum K. (2015). Photoluminescence, photocatalytic and antibacterial activities of CeO_2·CuO·ZnO nanocomposite fabricated by co-precipitation method. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy,* 149, 839-850.

Suresh, D., Nethravathi, P.C., Udayabhanu, H., Rajanaika, H., Nagabhushana, H. & Sharma, S. C. (2015). Green synthesis of multifunctional zinc oxide (ZnO) nanoparticles using Cassia fistula plant extract and their photodegradative, antioxidant and antibacterial activities. *Materials Science in Semiconductor Processing,* 31, 446-454.

Tankhiwale, R. & Bajpai S.K. (2012). Preparation, characterization and antibacterial applications of ZnO-nanoparticles coated polyethylene films for food packaging. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces,* 90, 16-20.

Wan, X., Liang, X., Zhang, C., Li, X., Liang, W., Xu, H., Lan, S. & Tie S. (2015). Morphology controlled syntheses of Cu-doped ZnO, tubular Zn(Cu)O and Ag decorated tubular Zn(Cu)O microcrystals for photocatalysis. *Chemical Engineering Journal,* 272, 58-68.

Wang, W. (2012). Morphology-controlled synthesis and growth mechanism of ZnO nanostructures via the NaCl nonaqueous ionic liquid route. *CrystEngComm,* 14, 4997-5004.

Yoon, K.Y., Hoon Byeon, J. Park, J.H. & Hwang, J. (2007). Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus* subtilis to silver and copper nanoparticles. *Science of the Total Environment.* 373, 572-575.

95-118.indd 116 11/4/16 4:32:57 PM

Zhang, L., Jiang Y., Ding Y., Daskalakis N., Jeuken L., Povey M., O'Neill A. J. & York D. W. (2010). Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against *E. coli. Journal of Nanoparticle Research,* 12(5), 1625-1636.

Zhang, Z., Ma C., Huang, M., Li, F., Zhu, S., Hua, C., Yu, L., Zheng, H., Hu, X. & Zhang Y. (2015). Birnessite MnO2-decorated hollow dandelion-like CuO architectures for supercapacitor electrodes. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics,* 26(6), 4212-4220.

คณะผู้เขียน

ดร.พุทธิธร แสงรุ่งเรือง

อาจารย์ประจำหลักสูตรสิ่งแวดล้อมเมืองและอุตสาหกรรม
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต
e-mail: puttitorn@hotmail.com

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐิตา ฟูเผ่า

อาจารย์ประจำหลักสูตรเทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร
โรงเรียนการเรือน มหาวิทยาลัยสวนดุสิต
e-mail: tita_foo@dusit.ac.th

นายวีรชน ภูหินกอง

นักวิจัยคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต
e-mail: p_veerachon@hotmail.com

95-118.indd 117 11/4/16 4:32:57 PM

95-118.indd 118 11/4/16 4:32:57 PM