



บทความวิจัย

สมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของอนุภาคคอปเปอร์บนถ่านกัมมันต์ที่เตรียมด้วยการเอิบซุ่มแบบแห้งและแบบเปียก

มาลี สันติคุณาภรณ์* เจนจิรา จิรแสงทอง และ ทรงวุฒิ จันทิ

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ชาญณรงค์ อัสวเทศานุกา

ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทรศัพท์ 02 5643 0019 ต่อ 3132 อีเมล: smalee@engr.tu.ac.th DOI: 10.14416/j.kmutnb.2024.07.007

รับเมื่อ 2 สิงหาคม 2564 แก้ไขเมื่อ 19 กันยายน 2565 ตอรับเมื่อ 29 กันยายน 2565 เผยแพร่ออนไลน์ 23 กรกฎาคม 2567

© 2024 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

บทคัดย่อ

ถ่านกัมมันต์ซึ่งถูกเตรียมจากของเหลือทิ้งทางการเกษตรได้ถูกนำมาใช้บำบัดน้ำกันอย่างกว้างขวาง การเพิ่มสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียของถ่านกัมมันต์ดึงดูดความสนใจของนักวิจัยในการนำไปประยุกต์ใช้ในงานต่าง ๆ งานวิจัยนี้ศึกษาสมบัติการยับยั้งแบคทีเรียของคอปเปอร์บนถ่านกัมมันต์ที่เตรียมจากเม็ดบัว (AAC) และเปรียบเทียบกับถ่านกัมมันต์ทางการค้า (CAC) อนุภาคคอปเปอร์ถูกเตรียมโดยวิธีเอิบซุ่มแบบเปียก (W) และแบบแห้ง (D) ด้วยสารละลายคอปเปอร์ (II) ไนเตรต เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของคอปเปอร์ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ผลวิเคราะห์องค์ประกอบจากเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์พบ Cu^0 ในตัวอย่างที่เตรียมด้วยวิธีการเอิบซุ่มแบบเปียก (CAC-5W และ AAC-5W) ส่วน CuO และ Cu_2O มักถูกพบในตัวอย่างที่เตรียมด้วยวิธีการเอิบซุ่มแบบแห้ง (CAC-5D และ AAC-5D) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดแสดงให้เห็นว่าอนุภาคคอปเปอร์/คอปเปอร์ออกไซด์บน CAC-5W มีกระจายตัวได้ดีกว่าตัวอย่าง CAC-5D จากผลการวิเคราะห์สมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disc Diffusion พบว่า ตัวอย่างที่เตรียมโดยวิธีเอิบซุ่มแบบเปียก (AAC-5W และ CAC-5W) แสดงสมบัติการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ได้ดีกว่าตัวอย่างที่เตรียมโดยวิธีการเอิบซุ่มแบบแห้ง (AAC-5D และ CAC-5D) ซึ่งแสดงสมบัติการยับยั้งเชื้อ *E. coli* เพียงอย่างเดียว ดังนั้นสรุปได้ว่าคอปเปอร์ที่เตรียมโดยวิธีเอิบซุ่มแบบเปียกมีสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าที่เตรียมโดยวิธีการเอิบซุ่มแบบแห้ง

คำสำคัญ: การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย อนุภาคคอปเปอร์ ถ่านกัมมันต์ การเอิบซุ่มแบบเปียก การเอิบซุ่มแบบแห้ง

การอ้างอิงบทความ: มาลี สันติคุณาภรณ์, เจนจิรา จิรแสงทอง, ทรงวุฒิ จันทิ และชาญณรงค์ อัสวเทศานุกา, “สมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของอนุภาคคอปเปอร์บนถ่านกัมมันต์ที่เตรียมด้วยการเอิบซุ่มแบบแห้งและแบบเปียก,” วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, ปีที่ 34, ฉบับที่ 4, หน้า 1-13, เลขที่บทความ 244-116232, ต.ค.-ธ.ค. 2567.



Antibacterial Performance of Copper Particles Doped on Activated Carbon Prepared by Wet and Dry Impregnation Methods

Malee Santikunaporn*, Jenjira Jirasangthong and Songwuit Chanthee

Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Thammasat University, Pathum Thani, Thailand

Channarong Asavatesanupap

Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Thammasat University, Pathum Thani, Thailand

* Corresponding Author, Tel. 02 5643 0019 ext. 3132, E-mail: smalee@engr.tu.ac.th DOI: 10.14416/j.kmutnb.2024.07.007

Received 2 August 2021; Revised 19 September 2022; Accepted 29 September 2022; Published online: 23 July 2024

© 2024 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

Abstract

Activated carbon produced from agricultural wastes has been widely used in water treatment. Enhancing antibacterial properties of activated carbon has attracted researchers' attention towards many applications. This research aims to study the antibacterial properties of copper impregnated on Apricot stone Activated Carbon (AAC) and compare with those of Commercial Activated Carbon (CAC). The copper particles were prepared by Wet impregnation (W) and Dry impregnation (D) methods with copper (II) nitrate solution to obtain 5%wt of Cu concentration. The XRD results demonstrated that Cu^0 was found on activated carbons prepared by the wet impregnation method (CAC-5W and AAC-5W) whereas both CuO and Cu_2O were mostly found on activated carbons prepared by the dry impregnation method (CAC-5D and AAC-5D). Furthermore, SEM images showed that the $\text{Cu}/\text{Cu}_x\text{O}$ particles are well dispersed on CAC-5W than on CAC-5D. From the antibacterial activity evaluated by disc diffusion method showed that AAC-5W and CAC-5W exhibited the inhibition zone against both *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 whereas AAC-5D and CAC-5D exhibited the inhibition zone against only *E. coli*. Therefore, it can be concluded that copper loaded on activated carbon prepared by the wet impregnation exhibiting higher antibacterial activity than that by the dry impregnation.

Keywords: Antibacterial Activity, Copper Particles, Activated Carbon, Wet Impregnation, Dry Impregnation

Please cite this article as: M. Santikunaporn, J. Jirasangthong, S. Chanthee and C. Asavatesanupap, "Antibacterial Performance of Copper particles Doped on Activated Carbon Prepared by Wet and Dry Impregnation Methods," *The Journal of KMUTNB*, vol. 34, no. 4, pp. 1-13, ID. 244-116232, Oct.-Dec. 2024 (in Thai).

1. บทนำ

วัสดุที่มีสมบัติยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียก่อโรคส่งผลกระทบต่อสุขภาพทั้งในระยะสั้นและระยะยาว ตลอดจนก่อให้เกิดอันตรายจนถึงแก่ชีวิตได้ เช่น ท้องเสีย อาเจียน ภาวะไตวาย อัมพาต เป็นต้น [1] แบคทีเรียก่อโรคซึ่งได้แก่ *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella typhimurium* หรือ *Bacillus cereus* สามารถพบได้ในแหล่งน้ำต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นแม่น้ำ คลอง บึง น้ำบาดาล ดังนั้นการพัฒนาวัสดุต่าง ๆ ที่มีสมบัติยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจึงได้รับความสนใจอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งวัสดุที่พัฒนาบนพื้นฐานของอนุภาคโลหะขนาดนาโนเมตรซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียอย่างมีประสิทธิภาพทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบได้ เช่น ไทเทเนียมไดออกไซด์ [2], [3] โลหะเงิน [4]-[7] ซิงค์ออกไซด์ [8], [9] แมกนีเซียมออกไซด์ [10], [11] และโลหะคอปเปอร์ [12], [13]

อนุภาคนาโนคอปเปอร์เป็นวัสดุที่มีคุณสมบัติโดดเด่นทั้งในแง่ของประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* [12], [13] *S. aureus* [14], [15] *Bacillus subtilis* [15] *Klebsiella pneumoniae* [16], [17] และ *S. typhimurium* [17] ซึ่งได้รับความสนใจมากกว่าโลหะชนิดอื่น เนื่องจากมีต้นทุนต่ำ มีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตได้น้อยกว่าโลหะชนิดอื่น และสามารถนำมาดัดแปลงหรือปรับแต่งโครงสร้างทางโมเลกุลได้หลากหลาย ใน ค.ศ. 2012 อนุภาคนาโนคอปเปอร์ได้ถูกสังเคราะห์โดยวิธีโพลีออล และพบว่า Cu^0 มีผลการต้านเชื้อ *E. coli* ได้สูงสุดเมื่อเทียบกับแบคทีเรียชนิดอื่น [16] ต่อมา El Zowalaty [17] พบว่าอนุภาคคอปเปอร์ที่มีขนาดอนุภาค 2-100 นาโนเมตร แสดงการต้านเชื้อแบคทีเรียสูงมากกว่าอนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่า 100 นาโนเมตร เนื่องจากอนุภาคที่มีขนาดเล็กสามารถทำลายเยื่อหุ้มรอบเซลล์และทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (Reactive Oxygen Species) ซึ่งสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย [18], [19] ต่อมาพบว่า รูปร่าง ขนาดและความเป็นผลึกของอนุภาคคอปเปอร์ขึ้นกับสารอนินทรีย์ (Copper Acetate, Copper Chloride และ Copper

Sulfate) และสารรีดิวซ์ (NaOH และ Ascorbic Acid) ที่ใช้และยังส่งผลต่อความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* และ *Listeria monocytogenes* ด้วย [13], [19] นอกจากนี้ CuO แสดงฤทธิ์การยับยั้งการเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้สูงกว่าแบคทีเรียแกรมบวก [20] และยังขึ้นกับความเข้มข้นของ CuO [21], [22]

โดยทั่วไป อนุภาคนาโนคอปเปอร์จะเกิดการรวมตัวกันเป็นอนุภาคที่ใหญ่ขึ้น เนื่องจากอันตรกิริยาระหว่างอนุภาคซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญ เพราะการรวมตัวกันของอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้นส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย [17] จากเหตุผลดังกล่าว การศึกษาโลหะบนวัสดุรองรับจึงได้รับความสนใจจากนักวิจัย เพื่อป้องกันไม่ให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของอนุภาคนาโนคอปเปอร์ลดต่ำลง

ถ่านกัมมันต์เป็นวัสดุคาร์บอนที่มีรูพรุนขนาดเล็กและมีพื้นที่ผิวจำเพาะสูง เนื่องจากกรรมวิธีการเตรียมถ่านกัมมันต์ไม่ซับซ้อน ในปัจจุบันถ่านกัมมันต์จึงถูกเตรียมขึ้นจากของเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น กะลาปาล์ม แกลบ เศษไม้ ซังข้าวโพด เป็นต้น ซึ่งมีอยู่ในปริมาณมาก หาได้ง่าย และราคาถูก นอกจากนี้ยังเป็นการตอบโต้แนวคิดขยะเหลือศูนย์ (Zero Waste Management) ซึ่งเป็นการนำของเสียกลับมาใช้ประโยชน์ใหม่โดยการเพิ่มมูลค่าให้กับของเสียดังกล่าว ถ่านกัมมันต์นิยมนำมาใช้เป็นตัวดูดซับในการกำจัดสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์อันตรายในกระบวนการบำบัดน้ำ [23] รวมถึงการกำจัดมลพิษทางอากาศด้วย [24] นอกจากนี้ถ่านกัมมันต์ยังถูกนำมาใช้เป็นวัสดุรองรับโลหะ โดยมีความน่าสนใจทั้งในแง่ของราคา ความเป็นพิษต่ำ ความทนทานต่อความเป็นกรด-ด่างสูง และเนื่องจากถ่านกัมมันต์มีรูพรุนและพื้นที่ผิวจำเพาะค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับตัวรองรับซิลิกาและอะลูมินาจึงส่งผลให้โลหะมีการกระจายตัวบนพื้นผิวอย่างสม่ำเสมอ [25]

การเอ็บซุ่มเป็นวิธีที่นิยมนำมาใช้ในการเตรียมโลหะบนตัวรองรับเมื่อเปรียบเทียบกับทำให้ตกตะกอน (Precipitation) หรือการแลกเปลี่ยนไอออน (Ion Exchange) เนื่องจากการเอ็บซุ่มมีขั้นตอนในการเตรียมที่ง่าย ไม่ยุ่งยาก



ปริมาณสารที่ใช้น้อย และที่สำคัญ ปริมาณของเสียที่เกิดขึ้น จากวิธีการเตรียมค่อนข้างน้อย [26] การเอิบซุ่มสามารถทำได้ 2 วิธี ซึ่งขึ้นกับปริมาณสารละลายโลหะที่ใช้ในการเตรียม กล่าวคือ การเอิบซุ่มแบบแห้ง (Dry Impregnation) ซึ่ง ปริมาณของสารละลายโลหะที่ใช้จะเท่ากับปริมาตรรูพรุน ของตัวรองรับที่ใช้ในการเตรียม ในขณะที่การเอิบซุ่ม แบบเปียก (Wet Impregnation) ปริมาณของสารละลาย โลหะที่ใช้มากกว่าปริมาตรรูพรุนของตัวรองรับมาก จากที่ กล่าวข้างต้น ทำให้ลักษณะและสมบัติของโลหะบนตัวรองรับ มีความแตกต่างกัน ซึ่งจะส่งผลต่อปฏิกิริยา เมื่อนำไปใช้งาน Cooper และคณะพบว่า ตัวเร่งปฏิกิริยา Ag-K/CeO₂-ZrO₂-Al₂O₃ ที่เตรียมด้วยวิธีการเอิบซุ่มแบบแห้งมีความสามารถในการออกซิไดซ์เขม่าดำต่ำที่สุด เมื่อเทียบกับการเตรียม Ag-K/CeO₂-ZrO₂-Al₂O₃ ด้วยวิธีการเอิบซุ่มแบบเปียกและการตก สะสมไอทางเคมี [27]

ถ่านกัมมันต์ที่มีการเติมอนุภาคคอปเปอร์ นอกจาก จะสามารถกำจัดมลพิษทางน้ำและอากาศแล้ว ยังสามารถ ยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคได้อีกด้วย ดังนั้นจึงช่วยลดขั้นตอนใน กระบวนการบำบัดน้ำและอากาศได้ นอกจากนี้วัสดุดังกล่าว ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นแผ่นกรองฆ่าเชื้อแบคทีเรีย [28] บรรจุภัณฑ์สำหรับอาหาร [29] และอื่น ๆ [30]–[32]

เม็ดบวียซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากโรงงานแปรรูปผลไม้ อบแห้งและน้ำผลไม้ส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมของ โรงงาน โดยเฉพาะก่อให้เกิดความเสียหายต่อระบบบำบัด น้ำทิ้ง เช่น อุดตันท่อระบาย บิมน้ำเสียหาย เป็นต้น เนื่องจาก เม็ดบวียมีขนาดเล็ก แข็งและมีอยู่เป็นจำนวนมาก ดังนั้น การเพิ่มมูลค่าให้กับเม็ดบวียจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ งาน วิจัยนี้จึงนำเอาเม็ดบวียมาเพิ่มมูลค่า โดยการนำมาใช้เป็น วัสดุตั้งต้นสำหรับการเตรียมถ่านกัมมันต์ เพื่อนำถ่าน กัมมันต์ที่เตรียมได้ไปใช้เป็นตัวรองรับอนุภาคคอปเปอร์ โดยทำการเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีเอิบซุ่ม แบบเปียกและแบบแห้งต่อสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย แกรมลบ *E. coli* และแกรมบวก *S. aureus* ซึ่งการศึกษา ถึงผลของวิธีการเตรียมโลหะบนถ่านกัมมันต์ต่อสมบัติการ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียยังมีอยู่ไม่มากนัก นอกจากนี้ถ่านกัมมันต์

ทางการค้ายังถูกนำมาใช้เป็นตัวเปรียบเทียบกับวิธีการยับยั้ง แบคทีเรียด้วย

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 วัสดุและสารเคมี

วัสดุที่ใช้ในการวิจัยนี้คือ เม็ดบวียที่ได้มาจากบริษัท ดอยคำผลิตภัณฑ์อาหาร จำกัด ถ่านกัมมันต์ทางการค้า (CAC, Biocat) โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH, Kem Aus) คอปเปอร์ (II) ไนเตรตไตรไฮเดรต (Cu(NO₃)₂ · 3H₂O, Carlo-Erba Reagents)

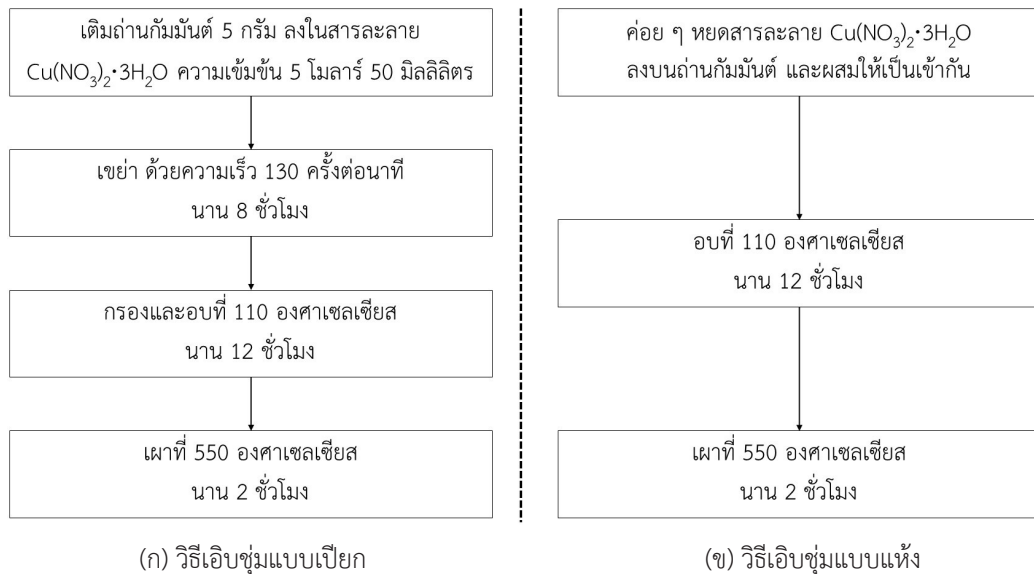
2.2 การเตรียมถ่านกัมมันต์

นำเปลือกเม็ดบวียมาล้างเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกและอบไล่ ความชื้นที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเปลือกเม็ดบวียไปเผาในเตา Muffle ในภาวะแอ็บ อากาศ ภายใต้บรรยากาศ ที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 1 ชั่วโมง บดถ่านที่ได้ให้มีขนาด 2–3 มิลลิเมตร เพื่อใช้ สำหรับการเตรียมถ่านกัมมันต์ต่อไป

นำ 30 กรัมของถ่านที่เตรียมไว้ใส่ในสารละลาย โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2.5 โมลาร์ ปริมาตร 400 มิลลิลิตร กวนผสมเข้าด้วยกันที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นให้ทำการกรองและอบไล่ ความชื้นที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้ไปเผาที่อุณหภูมิ 850 องศาเซลเซียส ด้วย อัตรา 10 องศาเซลเซียสต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ภายใต้ บรรยากาศไนโตรเจน จากนั้นนำไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้อยู่ในช่วง 5–7 และนำไปอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บดถ่านกัมมันต์ที่ได้ให้มี ลักษณะเป็นผงและกำหนดชื่อเป็น AAC

2.3 การเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีจุ่มแบบเปียก

นำ AAC จำนวน 5 กรัม ผสมกับสารละลายคอปเปอร์ (II) ไนเตรต ความเข้มข้น 5 โมลาร์ จำนวน 50 มิลลิลิตร โดยใช้ อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิห้อง และตั้งความเร็วใน การเขย่า 130 ครั้งต่อนาที เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นกรอง



รูปที่ 1 การเตรียมคอปเปอร์บนถ่านกัมมันต์ด้วยวิธีเอ็บซุ่ม

ของผสมและนำของแข็งที่กรองได้ไปอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน ดังแสดงในรูปที่ 1 (ก) ตัวอย่างที่ได้คือ AAC-5W สำหรับการเตรียมตัวอย่าง CAC-5W นั้นสามารถเตรียมด้วยวิธีการเช่นเดียวกับ AAC-5W แต่เปลี่ยนจาก AAC เป็น CAC

2.4 การเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการจุ่มแบบแห้ง

นำ AAC จำนวน 5 กรัม ใส่ในตัวกรอง และค่อย ๆ หยดสารละลายคอปเปอร์ (II) ไนเตรตที่เตรียมได้จากการละลายคอปเปอร์ (II) ไนเตรตไตรไฮเดรตจำนวน 2.9 กรัม ในน้ำปราศจากไอออน 20 มิลลิลิตร ลงบน AAC ที่ละลาย กวนของผสมดังกล่าวให้สารละลายซึมเข้าไปในถ่านกัมมันต์ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จึงนำไปอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำของผสมที่ได้ไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน ดังแสดงในรูปที่ 1 (ข) ตัวอย่างที่ได้คือ AAC-5D สำหรับการเตรียม CAC-5D นั้นสามารถ

เตรียมด้วยวิธีการเช่นเดียวกับ AAC-5D แต่เปลี่ยนจาก AAC เป็น CAC

2.5 เทคนิคการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

ถ่านกัมมันต์ AAC และ CAC ถูกวิเคราะห์หาพื้นที่ผิว บีอีทีและปริมาตรรูพรุนด้วยเครื่องวิเคราะห์พื้นที่ผิว Autosorb iQ, Quantachrome Instruments ตัวอย่าง AAC-5W AAC-5D CAC-5W และ CAC-5D ถูกวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีและชนิดของธาตุด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ (X-ray Diffraction; XRD) รุ่น D8 ADVANCE ECO (Bruker, Germany) โดยบันทึกข้อมูลของ 2θ ในช่วง 10° – 60° และวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวและขนาดของอนุภาคบนถ่านกัมมันต์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopy; SEM) รุ่น JSM-6610LV (JEOL, Japan)

2.6 สมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial Test)

สมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของถ่านกัมมันต์เจืออนุภาคคอปเปอร์ถูกศึกษาด้วยวิธี Disc Diffusion Method [33] โดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส



(Clear Zone) ที่เกิดขึ้นในหน่วยมิลลิเมตร เชื้อแบคทีเรียที่นำมาใช้ในการทดสอบ คือ แบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* ATCC 25922 และ แบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* ATCC 25923 ความเข้มข้น 1×10^8 CFU/mL เริ่มจากนำสารตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นผงละเอียด จำนวน 15–20 มิลลิกรัม มาใส่บนจานเพาะเชื้อ ขนาด 6 มิลลิเมตร กดและอัดให้แน่น หลังจากนั้นทำการเชยเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar ให้ทั่ว นำตัวอย่างวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ชุดควบคุมสำหรับการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียถูกเตรียมเช่นเดียวกันโดยใช้ไฮทิลแอลกอฮอล์ 70% โดยปริมาตร โซเดียมคลอไรด์ 0.85% โดยปริมาตร และน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว การทดสอบของแต่ละตัวอย่างทำซ้ำ 3 ครั้ง

3. ผลการทดลองและอภิปรายผล

3.1 ผลการวิเคราะห์พื้นที่ผิวปอ๊อติและขนาดรูพรุนของถ่านกัมมันต์ที่เตรียมจากเม็ดบัวและทางการค้า

AAC ซึ่งเตรียมจากเม็ดบัวที่ผ่านการกระตุ้นทางเคมีด้วย KOH และผ่านกระบวนการคาร์บอนไนซ์ถูกนำมาใช้เป็นตัวรองรับโลหะคาร์บอนเพื่อศึกษาสมบัติการยับยั้งแบคทีเรีย โดยเปรียบเทียบกับ CAC ซึ่งเป็นถ่านกัมมันต์ทางการค้า จากการศึกษาวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวของ AAC และ CAC พบว่า AAC มีพื้นที่ผิวปอ๊อติเท่ากับ 1,044.1 ตารางเมตรต่อกรัม ปริมาตรรูพรุน 0.386 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อกรัม และขนาดรูพรุนเฉลี่ย 0.74 ตารางเมตร ในขณะที่ CAC มีพื้นที่ผิวปอ๊อติเท่ากับ 734.9 ตารางเมตรต่อกรัม ปริมาตรรูพรุน 0.386 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อกรัม และขนาดรูพรุนเฉลี่ย 1.05 ตารางเมตร ดังแสดงในตารางที่ 1 จากผลการศึกษาพบว่า AAC ที่เตรียมขึ้นในงานวิจัยนี้มีขนาดรูพรุนเล็กกว่า CAC ซึ่งส่งผลให้ AAC

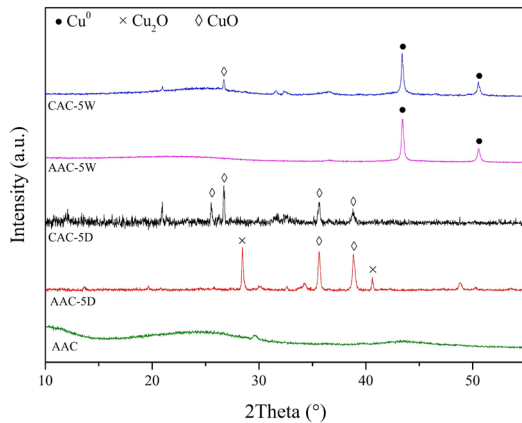
มีพื้นที่ผิวปอ๊อติมากกว่า CAC

3.2 ผลการวิเคราะห์โครงสร้างของสารตัวอย่างด้วยการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์

ผลวิเคราะห์โครงสร้างของคอปเปอร์บนพื้นผิวของถ่านกัมมันต์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ถูกแสดงในรูปที่ 2 ตัวอย่าง AAC ซึ่งเป็นถ่านกัมมันต์ที่ไม่มีการเอิบซุ่มกับสารละลายคอปเปอร์ (II) ไนเตรตไม่พบฟีกแสดงการเลี้ยวเบนของอนุภาคคอปเปอร์ ตัวอย่าง CAC-5D แสดงฟีกการเลี้ยวเบนที่ตำแหน่ง 2θ 25.5° 26.7° 35.6° และ 38.8° ซึ่งสอดคล้องกับระนาบของ CuO (021), CuO (110), CuO (-111), และ CuO (111) ตามลำดับ [21], [34], [35] ในขณะที่ตัวอย่าง AAC-5D แสดงฟีกการเลี้ยวเบนของ CuO อย่างชัดเจน (ตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 35.6° และ 38.8°) เช่นเดียวกับตัวอย่าง CAC-5D นอกจากนี้ AAC-5D ยังแสดงฟีกการเลี้ยวเบนที่ 29.6° และ 42.4° ซึ่งตรงกับระนาบของ Cu₂O (110) และ (200) ตามลำดับ [36] สำหรับตัวอย่างที่ถูกเตรียมจากวิธีการเอิบซุ่มแบบเปียก พบว่าตัวอย่าง CAC-5W แสดงฟีกการเลี้ยวเบนที่ตำแหน่ง 26.7° ซึ่งสอดคล้องกับระนาบของ CuO (110) [34] และฟีกการเลี้ยวเบนที่ 43.4° และ 50.6° ซึ่งสอดคล้องกับระนาบของ Cu⁰ (111) และ Cu⁰ (200) ตามลำดับ [27] ในขณะที่ตัวอย่าง AAC-5W แสดงฟีกการเลี้ยวเบนที่ตำแหน่ง 43.4° และ 50.6° ซึ่งเป็นระนาบของ Cu⁰ จึงกล่าวได้ว่า วิธีเอิบซุ่มแบบเปียกช่วยให้เกิดการก่อตัวของอนุภาคโลหะคอปเปอร์ (Cu⁰) ได้ดีกว่าวิธีการเอิบซุ่มแบบแห้ง ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากวิธีการเอิบซุ่มแบบแห้งใช้ปริมาณสารละลายในปริมาณน้อยกว่าวิธีการเอิบซุ่มแบบเปียก ซึ่งส่งผลต่อการแพร่ของสารละลายในรูพรุน ตัวอย่างที่เตรียมด้วยวิธีการเอิบซุ่มแบบแห้งส่วนใหญ่มีลักษณะแบบเปลือกไข่ (Eggshell) [37]

ตารางที่ 1 พื้นที่ผิวปอ๊อติและขนาดรูพรุนของถ่านกัมมันต์

ตัวอย่าง	พื้นที่ผิวปอ๊อติ (ตารางเมตรต่อกรัม)	ปริมาตรรูพรุน (ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อกรัม)	ขนาดรูพรุนเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
AAC	1044.08	0.386	0.74
CAC	734.94	0.386	1.05

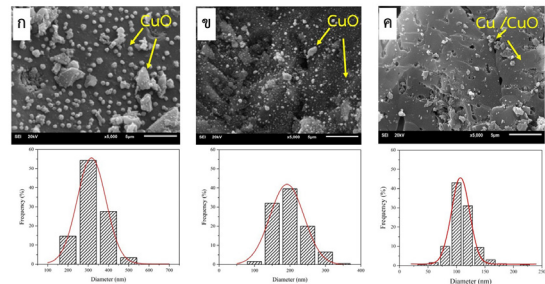


รูปที่ 2 รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของอนุภาคคอปเปอร์บนถ่านกัมมันต์

3.3 ผลการวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยาของตัวอย่าง

รูปที่ 3 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดกำลังขยาย 5,000 เท่าของตัวอย่าง AAC-5W CAC-5W และ CAC-5D จากรูปที่ 3 (ก) ซึ่งแสดงลักษณะอนุภาค CuO บน CAC-5D พบว่า อนุภาค CuO มีลักษณะทรงกลมขนาดเล็กและมีการกระจายตัวค่อนข้างสม่ำเสมอ บนพื้นผิวถ่านกัมมันต์ นอกจากนี้พบอนุภาคขนาดใหญ่ซึ่งเกิดจากการรวมตัวกันของอนุภาค CuO บนพื้นผิว ทำให้อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีลักษณะหลายเหลี่ยม จากการวิเคราะห์ขนาดของอนุภาคพบว่า อนุภาค CuO มีขนาดอยู่ระหว่าง 200–500 นาโนเมตร รูปที่ 3 (ข) แสดงลักษณะพื้นผิวของตัวอย่าง CAC-5W อนุภาค Cu⁰ และ CuO บนพื้นผิว CAC-5W มีลักษณะเป็นทรงกลมขนาดเล็กกระจายตัวบนพื้นผิวถ่านกัมมันต์อย่างสม่ำเสมอ เมื่อวิเคราะห์ขนาดของอนุภาคพบว่า อนุภาคมีขนาดอยู่ระหว่าง 100 – 350 นาโนเมตร ซึ่งเล็กกว่าอนุภาคที่พบบน CAC-5D ขนาดอนุภาคที่เล็กลงเป็นผลมาจากการที่สารสามารถแพร่ผ่านภายในรูพรุนได้ดีกว่าการเอิบชุ่มแบบแห้ง [37] อย่างไรก็ตาม ยังคงตรวจพบการก่อตัวของอนุภาคขนาดใหญ่เกิดขึ้นบนพื้นผิวตัวอย่างของ CAC-5W เช่นเดียวกับกับ CAC-5D

การกระจายตัวของอนุภาคที่ตรวจวัดขนาดจากภาพถ่ายของกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดพบว่า ตัวอย่าง



รูปที่ 3 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดและสัดส่วนของขนาดอนุภาค (ก) CAC-5D (ข) CAC-5W และ (ค) AAC-5W

CAC-5D มีจำนวนอนุภาคขนาด 300 นาโนเมตร มากที่สุดซึ่งคิดเป็นร้อยละ 54.2 รองลงมา คือ อนุภาคขนาด 400 นาโนเมตร ซึ่งมีอยู่ประมาณร้อยละ 27.7 ในขณะที่ขนาดอนุภาคที่พบบน CAC-5W นั้นพบว่า ส่วนใหญ่มีขนาด 200 นาโนเมตร ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 34.4 ขนาด 150 นาโนเมตร คิดเป็นร้อยละ 33.1 และขนาด 250 นาโนเมตร คิดเป็นร้อยละ 19.9

จากผลการศึกษาข้างต้น จะเห็นได้ว่าขนาดของคอปเปอร์บนตัวรองรับเดียวกัน (CAC) มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ซึ่งขึ้นกับวิธีการเตรียมโลหะบนตัวรองรับ ในขณะที่วิธีการเตรียมส่งผลต่อการกระจายตัวของอนุภาคคอปเปอร์เล็กน้อย วิธีการเอิบชุ่มแบบแห้งส่งผลให้อนุภาคคอปเปอร์มีขนาดค่อนข้างใหญ่และก่อให้เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคได้ง่ายกว่าวิธีการเอิบชุ่มแบบเปียก ทั้งนี้เป็นผลมาจากปริมาณของสารละลายที่ใช้และข้อจำกัดในการแพร่ของสารภายในรูพรุน [25], [37]

รูปที่ 3(ค) แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของตัวอย่าง AAC-5W มากกว่าร้อยละ 90 ของอนุภาค CuO ที่กระจายตัวอยู่บน AAC มีขนาดเล็กกว่า 150 นาโนเมตร ถึงแม้ว่าอนุภาค Cu⁰ บน AAC บางส่วนเกิดการรวมตัวเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ แต่อุณหภูมิเหล่านั้นยังคงมีขนาดเล็กกว่าที่พบบน CAC-5W และ CAC-5D จากรูปที่ 3 ซึ่งแสดงสัดส่วนของขนาดอนุภาคคอปเปอร์ที่พบบนถ่านกัมมันต์ อนุภาคคอปเปอร์บน AAC-5W มีความแตกต่างของขนาดอนุภาคค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับ CAC-5W และ CAC-5 โดยอนุภาคที่มีขนาด

100 นาโนเมตรสูงถึงร้อยละ 44.6 ทั้งนี้เนื่องจากตัวรองรับ AAC มีพื้นที่ผิวปฏิกิริยาที่มากกว่าตัวรองรับ CAC

3.4 ผลของสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

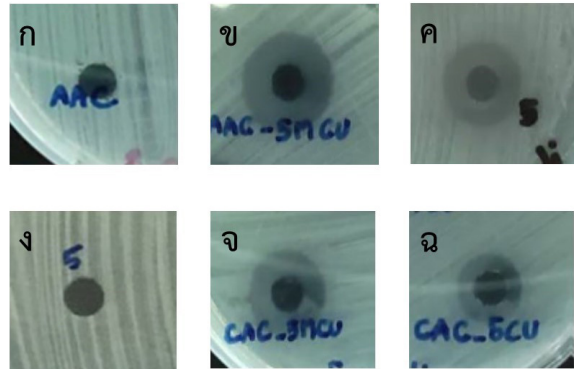
ภาพผลการทดสอบสมบัติยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ACCT 25922 ของตัวอย่างถูกแสดงในรูปที่ 4 และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสที่ได้จากการทดสอบถูกแสดงไว้ในตารางที่ 2 ขนาดบริเวณใสของตัวอย่าง AAC และ CAC เป็นศูนย์ แสดงว่าทั้ง AAC และ CAC ไม่มีสมบัติการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ซึ่งเห็นได้อย่างชัดเจนในรูปที่ 4 (ก) และ (ง) ตามลำดับ

สำหรับตัวอย่างที่มีคอปเปอร์ดิ่งแสดงในรูปที่ 4 (ข) AAC-5W รูปที่ 4 (ค) AAC-5D รูปที่ 4 (จ) CAC-5W และรูปที่ 4 (ฉ) CAC-5D พบบริเวณใสเกิดขึ้นอย่างชัดเจน นั่นแสดงว่าตัวอย่างทั้ง 4 มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *E. coli*

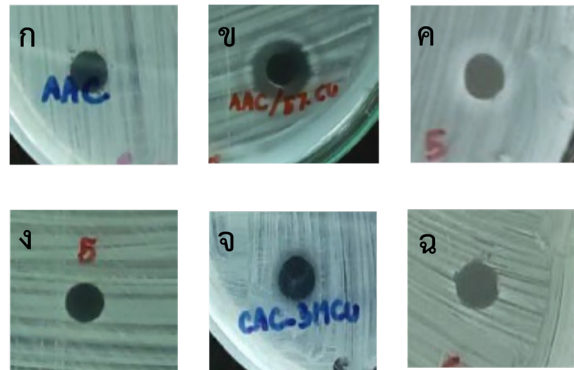
ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (n = 3)

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส (มิลลิเมตร)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
CAC	0	0
AAC	0	0
CAC-5W	16.33 ± 0.58	8.00 ± 0.55
AAC-5W	17.67 ± 0.58	8.33 ± 0.58
CAC-5D	12.67 ± 1.15	0
AAC-5D	12.67 ± 0.58	0

จากตารางที่ 2 AAC-5W แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อ *E. coli* กว้างที่สุด (17.67 ± 0.58 มิลลิเมตร) อันดับรองลงมา คือ CAC-5W (16.33 ± 0.58 มิลลิเมตร) ในขณะที่ AAC-5D และ CAC-5D แสดงบริเวณใสใกล้เคียงกันซึ่งเท่ากับ 12.67 ± 0.58 และ 12.67 ± 1.15 ตามลำดับ ดังนั้นจะเห็นว่าตัวอย่างที่เตรียมด้วยวิธีเอบซุ่มแบบเปียกมีสมบัติการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ดีกว่าตัวอย่างที่เตรียมด้วยวิธีเอบซุ่มแบบแห้ง ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างและขนาดของอนุภาคที่แตกต่างกัน [17]–[19] อนุภาค Cu⁰ บน AAC-5W มีขนาดค่อนข้างเล็ก



รูปที่ 4 สมบัติการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ACCT 25922 ของวัสดุ (ก) AAC (ข) AAC-5W (ค) AAC-5D (ง) CAC (จ) CAC-5W และ (ฉ) CAC-5D



รูปที่ 5 สมบัติการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ของวัสดุ (ก) AAC (ข) AAC-5W (ค) AAC-5D (ง) CAC (จ) CAC-5W และ (ฉ) CAC-5D

และกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอจึงส่งผลให้ AAC-5W แสดงสมบัติการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ดีที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น รูปที่ 5 แสดงผลการทดสอบสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 25923 ของตัวอย่างที่ใช้ศึกษา เช่นเดียวกับผลการทดสอบสมบัติการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ตัวรองรับ AAC (รูปที่ 5 (ก)) และ CAC (รูปที่ 5 (ง)) ไม่เกิดบริเวณใสขึ้น นั่นแสดงว่าถ่านกัมมันต์ที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่แสดงสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Mahlangu และคณะซึ่งทำการทดสอบถ่านกัมมันต์ที่เตรียมจากเส้นใยของ *Platamus occidentalis* และพบว่า

ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* [23] AAC-5W (รูปที่ 5 (ข)) และ CAC-5W (รูปที่ 5 (จ)) เกิดบริเวณใสให้เห็นอย่างชัดเจน โดยขนาดของบริเวณดังกล่าวมีค่าใกล้เคียงกันดังแสดงในตารางที่ 2 บริเวณใสที่เกิดขึ้นของตัวอย่าง AAC-5W และ CAC-5W มีขนาดเท่ากับ 8.33 ± 0.58 และ 8.00 ± 0.55 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในทางตรงกันข้าม AAC-5D (รูปที่ 5 (ค)) และ CAC-5D (รูปที่ 5 (ฉ)) ไม่พบบริเวณใส

จากผลการศึกษาข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า ตัวอย่างที่เตรียมขึ้นจากวิธีเอ็บซุ่มแบบเปียกแสดงสมบัติการยับยั้งทั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. Coli* และ *S. aureus* โดยสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ดีกว่า ในขณะที่ตัวอย่างที่เตรียมขึ้นจากวิธีเอ็บซุ่มแบบแห้งแสดงสมบัติการยับยั้งเชื้อ *E. coli* เพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เนื่องจากผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*) หนากว่าผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ (*E. Coli*) จึงทำให้แบคทีเรียแกรมบวกมีความทนทานต่ออนุภาคโลหะที่มีสมบัติยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ค่อนข้างดี [20] นอกจากนี้สมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียยังขึ้นกับขนาดและโครงสร้างของอนุภาคโลหะด้วย [17]–[19]

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของตัวอย่างที่ถูกเตรียมขึ้นในงานวิจัยนี้กับงานวิจัยอื่น

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส (มิลลิเมตร)	ที่มา
AAC-5W	17.67 ± 0.58	งานวิจัยนี้
CAC-5W	16.33 ± 0.58	งานวิจัยนี้
AAC-5D	12.67 ± 0.58	งานวิจัยนี้
CAC-5D	12.67 ± 1.15	งานวิจัยนี้
Cu/CNFs0.1	14.8 ± 0.4	[19]
Cu-NPs@C-5	14.4 ± 0.5	[38]
CuO/C	11	[39]
Copper NP	12	[40]

จากตารางที่ 3 เปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของตัวอย่างที่ถูกเตรียมขึ้นในงานวิจัยนี้กับวัสดุอื่น ตัวอย่าง AAC-5W (17.67 ± 0.58 มิลลิเมตร) และ CAC-5W (17.67 ± 0.58 มิลลิเมตร) เกิดบริเวณใส

ค่อนข้างกว้างเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง Cu/CNFs0.1 (14.8 ± 0.4 มิลลิเมตร) Cu-NPs@C-5 (14.4 ± 0.5 มิลลิเมตร) CuO/C (14.4 ± 0.5 มิลลิเมตร) และ Copper NP (14.4 ± 0.5 มิลลิเมตร) ในขณะที่บริเวณใสของตัวอย่าง AAC-5D (12.67 ± 0.58) และ CAC-5D (12.67 ± 1.15) มีขนาดใกล้เคียงกับวัสดุอื่น ดังนั้นสามารถกล่าวได้ว่า ตัวอย่างที่ได้จากงานวิจัยนี้มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* อยู่ในเกณฑ์เดียวกับวัสดุที่เตรียมขึ้นจากงานวิจัยอื่น

4. สรุปผลการทดลอง

จากผลการศึกษาสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ของถ่านกัมมันต์ด้วยวิธีการเอ็บซุ่มแบบเปียก และแบบแห้งพบว่า วิธีการเอ็บซุ่มสามารถเตรียมอนุภาคคอปเปอร์บนถ่านกัมมันต์ให้มีขนาดระดับนาโนเมตรได้ แต่อนุภาคคอปเปอร์ที่เตรียมจากวิธีเอ็บซุ่มแบบเปียกมีขนาดเล็กและการกระจายตัวของอนุภาคดีกว่าการเตรียมโดยวิธีการเอ็บซุ่มแบบแห้ง นอกจากนี้วิธีการเตรียมยังส่งผลต่อโครงสร้างของอนุภาคคอปเปอร์ (Cu^0 CuO และ Cu_2O) ด้วย โดยวิธีการเอ็บซุ่มแบบเปียกช่วยให้เกิดการก่อตัวของ Cu^0 ได้ดีกว่าวิธีการเอ็บซุ่มแบบแห้ง สมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ของตัวอย่างเป็นผลอันเนื่องมาจากโครงสร้างและขนาดของอนุภาคคอปเปอร์ ตัวอย่างที่เตรียมจากวิธีการเอ็บซุ่มแบบเปียก AAC-5W และ CAC-5W แสดงบริเวณการยับยั้งทั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* โดยมีบริเวณการยับยั้งเชื้อ *E. coli* สูงที่สุด และสูงกว่าของทั้ง AAC-5D และ CAC-5D ที่แสดงสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* เท่านั้น ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า การเตรียมคอปเปอร์บนถ่านกัมมันต์ด้วยวิธีการเอ็บซุ่มแบบเปียกให้สมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าการเตรียมแบบวิธีการเอ็บซุ่มแบบแห้ง

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม สำหรับเงินอุดหนุนการทำกิจกรรมส่งเสริมและสนับสนุนการ



พัฒนาวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม ปีงบประมาณ 2564
(No. TUFF07/2564)

เอกสารอ้างอิง

- [1] A. H. Havelaar, A. V. Galindo, D. Kurowicka, and R. M. Cooke, "Attribution of foodborne pathogens using structured expert elicitation," *Foodborne Pathogens and Disease*, vol. 5, no. 5, pp. 649–659, 2008.
- [2] B. Thakur, A. Kumar, and D. Kumar, "Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles using *Azadirachta indica* leaf extract and evaluation of their antibacterial activity," *South African Journal of Botany*, vol. 124, pp. 223–227, 2019.
- [3] V. Scuderi, M. Buccheri, G. Impellizzeri, A. Di Mauro, G. Rappazzo, K. Bergum, B. Svensson, and V. Privitera, "Photocatalytic and antibacterial properties of titanium dioxide flat film," *Materials Science in Semiconductor Processing*, vol. 42, pp. 32–35, 2016.
- [4] S. Maiti, D. Krishnan, G. Barman, S. Ghosh, and J. Laha, "Antimicrobial activities of silver nanoparticles synthesized from *Lycopersicon esculentum* extract," *Journal of Analytical Science and Technology*, vol. 5, 2014.
- [5] M. Siqueira, G. Coelho, M. de Moura, J. Bresolin, S. Hubinger, J. Marconcini, and L. Mattoso, "Evaluation of antimicrobial activity of silver nanoparticles for carboxymethylcellulose film applications in food packaging," *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 14, no. 7, pp. 5512–5517, 2014.
- [6] P. Yugandhar and N. Savithamma, "Biosynthesis, characterization and antimicrobial studies of green synthesized silver nanoparticles from fruit extract of *Syzygium alternifolium* (Wt.) Walp. an endemic, endangered medicinal tree taxon," *Applied Nanoscience*, vol. 6, pp. 223–233, 2015.
- [7] E. Pazos-Ortiz, J. Roque-Ruiz, E. Hinojos-Márquez, J. López-Esparza, A. Donohué-Cornejo, J. Cuevas-González, L. Espinosa-Cristóbal, and S. Reyes-López, "Dose-dependent antimicrobial activity of silver nanoparticles on polycaprolactone fibers against gram positive and gram-negative bacteria," *Journal of Nanomaterials*, vol. 2017, pp. 1–9, 2017.
- [8] A.C. Manna, "Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles," *Nano-Antimicrobials*, pp. 151–180, 2012.
- [9] J. Pasquet, Y. Chevalier, E. Couval, D. Bouvier, G. Noizet, C. Morlière, and M. Bolzinger, "Antimicrobial activity of zinc oxide particles on five micro-organisms of the challenge tests related to their physicochemical properties," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 460, no. 1–2, pp. 92–100, 2014.
- [10] T. Jin and Y. He, "Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens," *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 13, pp. 6877–6885, 2011.
- [11] R. Prasanth, S. Kumar, A. Jayalakshmi, G. Singaravelu, K. Govindaraju, and V. Kumar, "Green synthesis of magnesium oxide nanoparticles and their antibacterial activity," *Indian Journal of Geo Marine Sciences*, vol. 48, pp. 1210–1215, 2022.



- [12] D. Longano, N. Ditaranto, L. Sabbatini, L. Torsi, and N. Cioffi, "Synthesis and antimicrobial activity of copper nanomaterials," *Nano Antimicrobials*, pp. 85–117, 2012.
- [13] S. Shankar and J. Rhim, "Effect of copper salts and reducing agents on characteristics and antimicrobial activity of copper nanoparticles," *Materials Letters*, vol. 132, pp. 307–311, 2014.
- [14] R. Betancourt-Galindo, P. Reyes-Rodriguez, B. Puente-Urbina, C. Avila-Orta, O. Rodriguez Fernández, G. Cadenas-Pliego, R. Lira-Saldivar, and L. García-Cerda, "Synthesis of copper nanoparticles by thermal decomposition and their antimicrobial properties," *Journal of Nanomaterials*, pp. 1–5, 2014.
- [15] W. Shao, S. Wang, J. Wu, M. Huang, H. Liu, and H. Min, "Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticle loaded regenerated bacterial cellulose membranes," *RSC Advances*, vol. 6, pp. 65879–65884, 2016.
- [16] J. Ramyadevi, K. Jeyasubramanian, A. Marikani, G. Rajakumar and A. Rahuman, "Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles," *Materials Letters*, vol. 71, pp. 114–116, 2012.
- [17] M. El Zowalaty, N. Ibrahim, M. Salama, K. Shameli, M. Usman and N. Zainuddin, "Synthesis, characterization, and antimicrobial properties of copper nanoparticles," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 8, no. 1, pp. 4467–4479, 2013.
- [18] S. Mahmoodi, A. Elmi and S.H. Nezhadi, "Copper nanoparticles as antibacterial agents," *Journal of Molecular Pharmaceutics & Organic Process Research*, vol. 6, no. 1, pp. 140, 2018.
- [19] D. Phan, N. Dorjjugder, M. Khan, Y. Saito, G. Taguchi, H. Lee, Y. Mukai, and I. Kim, "Synthesis and attachment of silver and copper nanoparticles on cellulose nanofibers and comparative antibacterial study," *Cellulose*, vol. 26, no. 11, pp. 6629–6640, 2019.
- [20] S. Sagadevan, S. Vennila, A. Marlinda, Y. A. Douri, M. R. Johan, and J. A. Lett, "Synthesis and evaluation of the structural, optical, and antibacterial properties of copper oxide nanoparticles," *Applied Physics A*, vol. 125, no. 8, pp. 489, 2019.
- [21] S. Jadhav, S. Gaikwad, M. Nimse, and A. Rajbhoj, "Copper oxide nanoparticles: synthesis, characterization and their antibacterial activity," *Journal of Cluster Science*, vol. 22, no. 2, pp. 121–129, 2011.
- [22] S. Karuppannan, R. Ramalingam, S. M. Khalith, M. Dowlath, G. D. Raiyaan, and K. Arunachalam, "Characterization, antibacterial and photocatalytic evaluation of green synthesized copper oxide nanoparticles," *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 31, pp. 101904, 2021.
- [23] N. Jansri and M. Santikunaporn, "The studies of carbonization temperature and amount of phosphoric acid on phenol adsorption on activated carbon prepared from apricot stones," *The Journal of KMUTNB*, col. 32, no. 1, pp. 26–37, 2022 (in Thai).
- [24] T. Mahlangu, I. Arunachellan, S. S. Ray, and M. Onyango, "Preparation of copper-decorated activated carbon derived from *Platanus occidentalis* tree fiber for antimicrobial applications," *Materials*, vol. 15, no. 17, pp. 5953–5968, 2022.



- [25] M. Iwanow, T. Gärtner, V. Sieber and B. König, "Activated carbon as catalyst support: precursors, preparation, modification and Characterization," *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, vol. 16, pp. 1188–1202, 2020.
- [26] P. Munnik, P. E. de Jongh, and K. P. de Jong, "Recent developments in the synthesis of supported catalysts," *Chemical Reviews*, vol. 115, no. 14, pp. 6687–6718, 2015.
- [27] A. Cooper, T. E. Davies, D. J. Morgan, S. Golunski, and S. H. Taylor, "Influence of the preparation method of Ag-K/CeO₂-ZrO₂-Al₂O₃ catalysts on their structure and activity for the simultaneous removal of soot and NO_x," *Catalysts*, vol. 10, no. 3, pp. 294–307, 2020.
- [28] D. Deng, Y. Cheng, Y. Jin, T. Qi, and F. Xiao, "Antioxidative effect of lactic acid-stabilized copper nanoparticles prepared in aqueous solution," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 22, no. 45, pp. 23989, 2012.
- [29] M. Hoseinnejad, S. Jafari, and I. Katouzian, "Inorganic and metal nanoparticles and their antimicrobial activity in food packaging applications," *Critical Reviews in Microbiology*, vol. 44, no. 2, pp. 161–181, 2017.
- [30] Ö. A. Kalaycı, F. B. Cömert, B. Hazer, T. Atalay, K. A. Cavicchi, and M. Cakmak, "Synthesis, characterization, and antibacterial activity of metal nanoparticles embedded into amphiphilic comb-type graft copolymers," *Polymer Bulletin*, vol. 65, pp. 215–226, 2010.
- [31] H. Palza, "Antimicrobial polymers with metal nanoparticles," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 16, no. 1, pp. 2099–2116, 2015.
- [32] R. Roghayieh, M. Rahim, M. Mehran, T. Hossein, E. Parya, and S. Y. Aidin, "Biosynthesis of metallic nanoparticles using mulberry fruit (*Morus alba* L.) extract for the preparation of antimicrobial nanocellulose film," *Applied Nanoscience*, vol. 10, pp. 465–476, 2020.
- [33] L. Yuanyuan, L. Binjie, W. Yonghui, Z. Yanbao, and S. Lei, "Preparation of carboxymethyl chitosan/copper composites and their antibacterial properties," *Materials Research Bulletin*, vol. 48, no. 9, pp. 3411–3415, 2013.
- [34] S. Logpriya, V. Bhuvaneshwari, D. Vaidehi, R. P. SenthilKumar, R. S. N. Malar, B. P. Sheetal, R. Amsaveni, and M. Kalaiselv, "Preparation and characterization of ascorbic acid-mediated chitosan–copper oxide nanocomposite for anti-microbial, sporicidal and biofilm-inhibitory activity," *Journal of Nanostructure in Chemistry*, vol. 8, no. 3, pp. 301–309, 2018.
- [35] A. Lanje, S. Sharma, R. Pode, F. N. A. Ningthoujam, and S. Raghmani, "Synthesis and optical characterization of copper oxide nanoparticles," *Advances in Applied Science Research*, vol. 1, no. 2, pp. 36–40, 2010.
- [36] M. Kouti and L. Matouri, "Fabrication of nanosized cuprous oxide using fehling's solution," *Transaction F: Nanotechnology*, vol. 17, pp. 73–78, 2010.
- [37] A. C. Bueno, M. Mayer, M. Weber, M. Bechelany, M. Klotz, and D. Farrusseng, "Impregnation protocols on alumina beads for controlling the preparation of supported metal catalysts," *Catalysts*, vol. 9, pp. 577–588, 2019.
- [38] C. Hai-feng, W. Juan-juan, W. Ming-yue, and J. Hui, "Preparation and antibacterial activities



- of copper nanoparticles encapsulated by carbon,” *New Carbon Materials*, vol. 34, no. 4, pp. 382–389, 2019.
- [39] P. G. Bhavyasree and T. S. Xavier, “Green synthesis of copper oxide/carbon nanocomposites using the leaf extract of *Adhatoda vasica* Nees, their characterization and antimicrobial activity,” *Heliyon*, vol. 6, no. 2, e03323, 2020.
- [40] P. S. Harikumar and A. Aravind, “Antibacterial activity of copper nanoparticles and copper nanocomposites against *Escherichia coli* Bacteria,” *International Journal of Sciences*, vol. 2, no. 2, pp. 83–90, 2016.

