



سنتز نانوکامپوزیت $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2$ آلائیده شده با فلزات مس و نیکل و بررسی

خواص ضد باکتریایی آن در اکوسیستم‌های آبی

بهاره دبیر وزیری^۱، محمد هادی گیویان راد^۱، ایمان سوری نژاد^{۲*}، علی ماشینچیان مرادی^۱، پرگل قوام مصطفوی^۱

۱. گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

۲. گروه شیلات، دانشکده، علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان

چکیده

نوع مقاله

پژوهشی

در مطالعه حاضر نانوذرات مغناطیسی $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ با روش سولوترمال، سنتز شده و پس از پوشش‌دهی با لایه سیلیکا (SiO_2)، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (TiO_2) به عنوان هسته برای رشد روی آن بکار گرفته شد تا نانوکامپوزیت $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2$ بدست آید. برای افزایش بازده فتوکاتالیستی، این نانوکامپوزیت با فلزات مس و نیکل آلائیده شد. برای شناسایی و تعیین خواص نانوذرات از طیف سنجی پراش اشعه ایکس، میکروسکوپ الکترونی روبشی و طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه استفاده شد. خاصیت ضدباکتریایی نانوکامپوزیت‌های مغناطیسی آلائیده شده بر باکتری‌های گرم مثبت *Staphylococcus aureus* و گرم منفی *Escherichia coli* با استفاده از روش انتشار دیسک و تعیین میزان حداقل غلظت بازدارندگی بررسی شد. نتایج سنجش میزان بازدارندگی از رشد باکتری‌ها نشان داد که نانوکامپوزیت سنتز شده $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2$ در هر دو محیط کشت خواص ضد باکتریایی بالایی دارد و کارایی آن با آلائیدن با فلزات مس و نیکل افزایش می‌یابد. مقدار ۱۵ میلی گرم برای کاتالیست‌های حاوی مس و نیکل به عنوان کمترین مقدار برای ممانعت از رشد باکتری‌ها انتخاب شد. بررسی خاصیت ضدباکتریایی نانوکاتالیست‌ها در روش انتشار دیسک نشان داد $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Cu}$ با شعاع بازدارندگی بیشتر، عملکرد بهتری دارد. در جمع‌بندی، نانوکامپوزیت‌های سنتز شده دارای خصوصیت فتوکاتالیستی، پتانسیل مناسبی جهت حذف باکتری‌های مضر از محیط آبی دارند.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۲۱

تاریخ چاپ الکترونیک: ۱۴۰۲/۰۶/۳۱

*نویسنده مسئول:

Sourinejad@hormozgan.ac.ir

کلید واژه‌ها: نانوذرات مغناطیسی، فتوکاتالیست TiO_2 ، حداقل غلظت بازدارندگی، باکتری *Staphylococcus aureus*

مقدمه

در حال حاضر، پیشرفت‌های صورت گرفته در علم نانو باعث شده است که ذرات معدنی و آلی در مقیاس نانو در درمان بیماری‌های باکتریایی مورد استفاده قرار گیرند. اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم بالای ذرات در مقیاس نانو باعث گردیده است که سطح تماس آنها با عوامل میکروبی افزایش یافته و لذا خاصیت آنتی‌باکتریایی این مواد افزایش یابد. نانو ذرات فلزی با خاصیت آنتی‌باکتریایی زمانی که بر روی سطوح مختلف پوشش داده می‌شوند، می‌توانند در سطح وسیعی در تیمار منابع آبی به کار روند؛

همچنین کامپوزیت‌های ساخته شده از نانو ذرات فلزی به علت افزایش خاصیت آنتی‌باکتریایی می‌توانند به طور موثری استفاده شوند (Chen et al., 2017).

طی دهه‌های اخیر، تخریب فتوکاتالیستی آلاینده‌های آلی موجود در پساب‌ها با استفاده از نانو مواد نیمه هادی توجه زیادی را به خود جلب کرده است. در میان اکسیدهای نیمه هادی فتوکاتالیستی، TiO_2 به عنوان مناسب‌ترین گزینه جهت کاربردهای زیست محیطی معرفی شده است. این ماده به عنوان یک عامل ضد باکتریایی می‌تواند منجر به غیر فعال شدن باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها و حتی سلول‌های سرطانی شود. TiO_2 دارای خصوصیات مطلوب بیولوژیکی و شیمیایی و قدرت اکسید کنندگی بالا، سمیت پائین و خاصیت خودپالایی می‌باشد. نانو ذرات TiO_2 دارای مساحت سطحی بالایی بوده و از فعالیت فتوکاتالیستی بسیار مناسبی برخوردار است اما جداسازی و بازیابی آن بسیار دشوار و پرهزینه است. روش‌های جداسازی مرسوم همانند سانتریفیوژ و فیلتراسیون منجر به از دست رفتن مقدار زیادی از کاتالیست‌ها می‌شود. به علاوه، سانتریفیوژ نیازمند مقدار زیادی انرژی است که ممکن است منجر به آلودگی ثانویه گردد. بنابراین برای طراحی سیستم فتوکاتالیستی چند منظوره که هم دارای فعالیت نوری بالا و هم بازیافت به صرفه باشد، با چالش مواجه هستیم (Ghasemi et al., 2019; Huang et al., 2011).

در سال‌های اخیر با ایجاد کاتالیست‌هایی با ترکیب نانومغناطیسی بسیاری از مشکلات ذکر شده حل شده است؛ چرا که با اعمال یک میدان مغناطیسی به سادگی می‌توان آن‌ها را از محلول جدا کرد. اکسیدهای آهن (مانند Fe_2O_3 و Fe_3O_4) بیشتر در ترکیب مواد نانوکامپوزیتی مورد استفاده قرار می‌گیرند؛ این امر به دلیل ترکیب آن‌ها، سطح عامل‌دار و انعطاف‌پذیر، غیر سمی بودن و واکنش یا پاسخ نسبت به میدان مغناطیسی است. هسته مغناطیسی Fe_2O_3 تا حد بسیار زیادی باعث تسهیل در جداسازی و بازیابی کاتالیست از محلول واکنشی می‌شود. تحت تاثیر یک میدان مغناطیسی خارجی، هسته Fe_2O_3 اجازه می‌دهد که تقریباً همه کاتالیست‌ها بازیابی شوند (Dabirvaziri et al., 2019; Feng et al., 2017; Khojasteh et al., 2016). میزان بهره‌وری کاتالیستی حتی بعد از ۱۸ چرخه واکنشی ثابت باقی می‌ماند و کاهش بهره‌وری آن چیزی در حدود ۲/۵٪ است.

متأسفانه ممکن است تجزیه نوری یا فتوکاتالیستی منجر به جدا شدن TiO_2 از هسته مغناطیسی اکسید آهن شود که نه تنها باعث تغییر خصوصیات مغناطیسی اکسید آهن می‌شود، بلکه موجب کاهش فعالیت فتوکاتالیستی تیتانیوم- با پایه کاتالیستی خواهد شد. برای حل این مشکل، SiO_2 به عنوان لایه‌ای که مانع از فعل و انفعالات بین هسته مغناطیسی و پوشش TiO_2 می‌شود عمل خواهد کرد. مطالعاتی در رابطه با ساخت نانوکامپوزیت‌های حاوی لایه SiO_2 بین ترکیبات اکسید آهن و تیتانیوم اکسید گزارش شده است (Boningari, T., et al. 2015; Chi et al., 2013; Cui et al., 2013).

گرچه کاربرد TiO_2 مزایای زیادی دارد، اما دارای اثرات مخربی نیز می‌باشد. این ماده تحت تاثیر اشعه ماوراء بنفش فعالیت فتوکاتالیستی از خود نشان می‌دهد که این مهمترین مانع است؛ زیرا اشعه ماوراء بنفش و نزدیک ماوراء بنفش برای انسان مضر است. همچنین نرخ نوترکیبی الکترون-حفره بیش از حد بالاست که باعث بهره‌وری پائین فرآیند فتوکاتالیستی می‌شود. برای حل این مشکل، محققان تلاش کرده‌اند تا فعالیت عامل ضد باکتریایی TiO_2 را تا نور مرئی توسعه دهند. آلائیدن TiO_2 به وسیله یون‌های فلزی از قبیل پلاتین، طلا، نقره، نیکل، مس، کروم، منگنز و کبالت یکی از مهمترین روش‌های این هدف می‌-

باشد (Albiter et al., 2015; Fan et al., 2012). هسته مغناطیسی این امکان را می‌دهد که کاتالیست به آسانی و ارزانی از محلول واکنش جدا شود. به علاوه با آلائیده شدن نانوکامپوزیت $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@\text{SiO}_2@\text{TiO}_2$ توسط ذرات خصوصیات فتوکاتالیستی زیر اشعه نور مرئی افزایش می‌یابد. بنابراین این نانوکامپوزیت پتانسیل بکارگیری در زمینه‌های زیست پزشکی و تصفیه فاضلاب‌ها را دارد. هدف مطالعه حاضر سنتز نانوکامپوزیت کاتالیستی $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@\text{SiO}_2@\text{TiO}_2$ حاوی ذرات فلزی دوپ شده شامل مس و نیکل بود تا خواص ضد باکتریایی آن در محیط آبی بررسی شود.

مواد و روش کار

سنتز پایه مغناطیسی $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$

نانوذرات مغناطیسی $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ که به عنوان پایه کامپوزیت مورد استفاده قرار می‌گیرد، به روش سولوترمال سنتز شد. برای این منظور، در هر بار سنتز ۰/۳۷ گرم از آهن کلراید در ۳۵ میلی لیتر اتیلن گلیکول به مدت ۲۰ دقیقه توسط اولتراسونیک حل گردید تا محلول شفاف بدست آید. سپس به محلول بدست آمده مقدار ۱/۰۸ گرم سدیم استات اضافه شد و مخلوط به مدت یک ساعت بر روی همزن مغناطیسی همزده شد. پس از آن محلول قهوه‌ای رنگ بدست آمده داخل اتوکلاو از جنس استیل ضد زنگ با محفظه درونی از جنس تفلون ریخته شد و نهایتاً اتوکلاو به مدت ۱۲ ساعت در دمای 160°C داخل آون قرار داده شد. پس از سرد شدن اتوکلاو، محلول تیره رنگ حاصل که حاوی نانوذرات مغناطیسی $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ می‌باشد، سه مرتبه توسط اتانول و سه مرتبه توسط آب دیونیزه شستشو داده شد تا ناخالصی‌ها و مواد واکنش نداده از محیط خارج شوند. در پایان نانوذرات بدست آمده در دمای 60°C به مدت ۶ ساعت خشک شدند. در هر بار سنتز حدود ۰/۱ گرم از پودر نانوذرات مغناطیسی $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ بدست آمد. به منظور تامین مقادیر مورد نیاز از پایه کامپوزیت، مراحل فوق تکرار شد (Li et al., 2014).

سنتز نانوکامپوزیت هسته-پوسته $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@\text{SiO}_2$

با استفاده از روش Stöber، لایه‌ای از سیلیس بر روی سطح نانوذرات $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ پوشش داده شد تا نانوذرات کروی- $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@\text{SiO}_2$ تشکیل شود. پوسته SiO_2 می‌تواند به طور موثری از تخریب شیمیایی و حل شدن ذرات $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ در اثر نور UV در طی فرآیند فتوکاتالیستی جلوگیری کرده و قابلیت استفاده مجدد فتوکالیست را پس از چندین بار واکنش، فراهم آورد. همچنین فعالیت فتوکاتالیستی TiO_2 را با کاهش اثر نامطلوب هسته مغناطیسی $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ کاهش دهد. ۰/۱۵ گرم از نانوذرات مغناطیسی $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ درون مخلوطی از ۴۰ میلی لیتر اتانول و ۲۰ میلی لیتر آب دیونیزه ریخته شد؛ سپس ۱/۲ میلی لیتر از محلول آمونیاک ۲۵٪ به مخلوط حاوی نانوذرات مغناطیسی اضافه شد و به مدت یک ساعت توسط اولتراسونیک به خوبی دیسپرس شد. پس از آن ۰/۶ میلی لیتر از تترا اتیل اورتوسیلیکات (TEOS) به صورت قطره قطره اضافه شد و محلول نهایی به مدت ۲ ساعت بر روی همزن مغناطیسی همزده شد. در نهایت کامپوزیت هسته پوسته بدست آمده توسط آب دیونیزه شستشو داده شد و در دمای 60°C به مدت ۳ ساعت درون آون خشک شد (Sun et al., 2013).

سنتز نانوکامپوزیت $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@\text{SiO}_2@\text{TiO}_2$

نانوذرات کروی $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@\text{SiO}_2$ توسط لایه ای از TiO_2 با استفاده از هیدرولیز کردن تترا ایزوپروپیل اورتو تیتانات (TIPOT) پوشانده شد و ساختار سه لایه‌ای از کامپوزیت $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@\text{SiO}_2@\text{TiO}_2$ شامل هسته $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ، لایه میانی SiO_2 و لایه بیرونی TiO_2 شکل گرفت. به طور خلاصه، ۰/۱ گرم از نانوذرات $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@\text{SiO}_2$ درون محلولی حاوی ۳۵ میلی‌لیتر اتانول و ۱ میلی‌لیتر TIPOT به مدت ۱۵ دقیقه با استفاده از دستگاه اولتراسونیک دیسپرس شد. سپس ۲ میلی‌لیتر آب دیونیزه به مخلوط فوق افزوده شد و به مدت نیم ساعت در دمای محیط هم زده شد. پس از آن محلول نهایی به مدت ۴ ساعت در دمای 100°C در سیستم رفلکس قرار گرفت. در نهایت کامپوزیت $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@\text{SiO}_2@\text{TiO}_2$ سه مرتبه توسط اتانول شستشو داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط خشک شد. به منظور بهبود خواص کریستالینگی کامپوزیت سنتز شده، پودر نهایی به مدت ۲ ساعت در دمای 450°C تحت فشار اتمسفر هوا درون کوره کلسینه شد (Rashid et al., 2015).

تثبیت نانوذرات مختلف بر روی نانوکامپوزیت $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@\text{SiO}_2@\text{TiO}_2$

نانوکامپوزیت های $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@\text{SiO}_2@\text{TiO}_2\text{-Ni}$ و $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@\text{SiO}_2@\text{TiO}_2\text{-Cu}$ به روش رسوب‌نوری سنتز شدند. به عنوان مثال، در این روش مقدار ۰/۱۲ گرم از نمک نترات مس ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$) در ۴۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه جهت تهیه محلول ۰/۵ میلی‌مول حل شد. سپس ۰/۱ گرم از نانوذرات $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@\text{SiO}_2@\text{TiO}_2$ به محلول فوق اضافه شد و ذرات درون محلول به مدت ۲۰ دقیقه توسط اولتراسونیک دیسپرس شدند. به مخلوط حاصل ۰/۴ میلی‌لیتر متانول افزوده شد و سپس به منظور حذف اکسیژن موجود در محیط محلول، به مدت ۳۰ دقیقه در فشار اتمسفر تحت گاز نیتروژن قرار داده شد. در نهایت محلول به مدت ۱۲ ساعت تحت پرتو فرابنفش (UV) قرار گرفت. در این مرحله یون‌های مس به ذرات فلز مس کاهش یافته و بر روی ذرات TiO_2 تثبیت می‌شوند. در نهایت ذرات جامد توسط آهنربا از محیط خارج شده و سه مرتبه توسط اتانول و آب دیونیزه شستشو داده شده و به مدت ۱۲ ساعت در دمای 60°C در آون خشک شدند (Qin et al., 2014). تمام مراحل فوق با استفاده از نمک نترات نیکل ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$) به منظور سنتز کامپوزیت $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@\text{SiO}_2@\text{TiO}_2\text{-Ni}$ تکرار شد.

بررسی عملکرد آنتی‌باکتریایی نانوکامپوزیت‌های سنتز شده

انجام آزمایش‌های آنتی‌باکتریایی در محیط کشت جامد و مایع انجام شد. در محیط کشت جامد شعاع‌های بازدارندگی ماده آنتی‌باکتریال اندازه‌گیری شده و در محیط مایع پروتکل بازدارندگی رشد و کمترین غلظت بازدارندگی اندازه‌گیری شده است.

آماده کردن محیط میکروبی

برای انجام آزمایش‌های ضد باکتریایی نانو ساختارهای سنتز شده، از دو نوع باکتری گرم منفی *E. coli* و باکتری گرم مثبت *Staphylococcus aureus* که به صورت آمپول لیوفیلیزه هستند استفاده شد. سویه استاندارد باکتری‌های ذکر شده بر روی محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شدند. پس از تلقیح باکتری بر روی محیط کشت، لوله حاوی درپوش پنبه‌ای در آون با دمای 37°C به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد تا عمل انکوباسیون صورت پذیرد و از باکتری رشد یافته در آزمایش‌ها استفاده شود. به منظور رشد اولیه باکتری‌ها در محیط مایع نوترینت براث، مقداری از باکتری موجود در سویه، توسط لوپ استریل

برداشته شده و در محیط کشت استریل مایع تلقیح شد. پس از انتقال باکتری به میزان اندک، محیط کشت داخل شیکر انکوباتور با دور ۱۵۰ rpm و دمای 37°C به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد (Lu et al., 2014).

بررسی خاصیت ضد باکتریایی به روش انتشار دیسک

برای انجام آزمایش آنتی‌باکتریال به روش انتشار دیسک، ابتدا پلیت یا بشقاب‌های شیشه‌ای برای از بین بردن وجود میکروارگانیسم‌های احتمالی در اتوکلاو قرار داده شدند و سپس مقدار ۱۵ میلی‌لیتر از محیط کشت جامد استریلیزه که در اثر حرارت‌دهی به صورت مایع شده باشد به پلیت‌ها منتقل شده و در محیط قرار گرفته تا آگار سرد شده و جامد شود. مقدار مشخصی از نانوذرات دارای خاصیت ضد باکتریایی به صورت مجزا توزین شده و اتوکلاو شدند. برای قرار دادن نانوذرات به صورت مستقیم بر روی محیط نوترینت آگار، ابتدا توسط میله‌ای شیشه‌ای با قطر ۴ میلی‌متر بر روی آگار چاهک‌هایی ایجاد می‌شود. سپس مقدار مشخصی از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده بر روح سطح آگار ریخته شده و با میله‌ی سر خم به طور کامل در سطح آگار پخش می‌شود. سپس نانوذرات داخل چاهک‌ها ریخته شده و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای 37°C قرار گرفتند تا شعاع بازدارندگی رشد مشاهده و اندازه‌گیری شود (Cui et al., 2013).

تعیین میزان حداقل غلظت بازدارندگی

آزمایش مهار رشد باکتری با استفاده از محاسبه حداقل غلظت بازدارندگی رشد در محیط مایع انجام شد. ابتدا سوسپانسیون میکروبی با غلظت مشخصی تهیه گردید. ارلن‌های حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت نوترینت براث استریل شده تهیه شد. مقدار معینی از سوسپانسیون میکروبی به هر یک از ارلن‌های دارای محیط کشت تلقیح شد و به صورت همزمان مقادیر ۳، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم از نانوذرات توزین شده به محیط کشت مذکور منتقل شد. سپس ارلن‌ها در شیکر انکوباتور با دمای 37°C و دور ۲۰۰ rpm قرار گرفتند. در زمان‌های ۰، ۲، ۴، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از انجام عمل تلقیح از محیط کشت حاوی باکتری و کاتالیست در هر یک از ارلن‌ها به مقدار ۴ میلی‌لیتر نمونه گرفته شد تا غلظت نوری آن‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر گزارش شود. در انتهای ۲۴ ساعت نمودار رشد باکتری‌ها رسم شد و با نمونه شاهدی که به صورت همزمان بدون حضور کاتالیست و دارای میکروب با مقدار مساوی دیگر ارلن‌ها بود، مقایسه صورت گرفت. در این آزمایش کمترین غلظت نانوکاتالیست که از رشد باکتری جلوگیری می‌کند اندازه‌گیری شد (Lu et al., 2014).

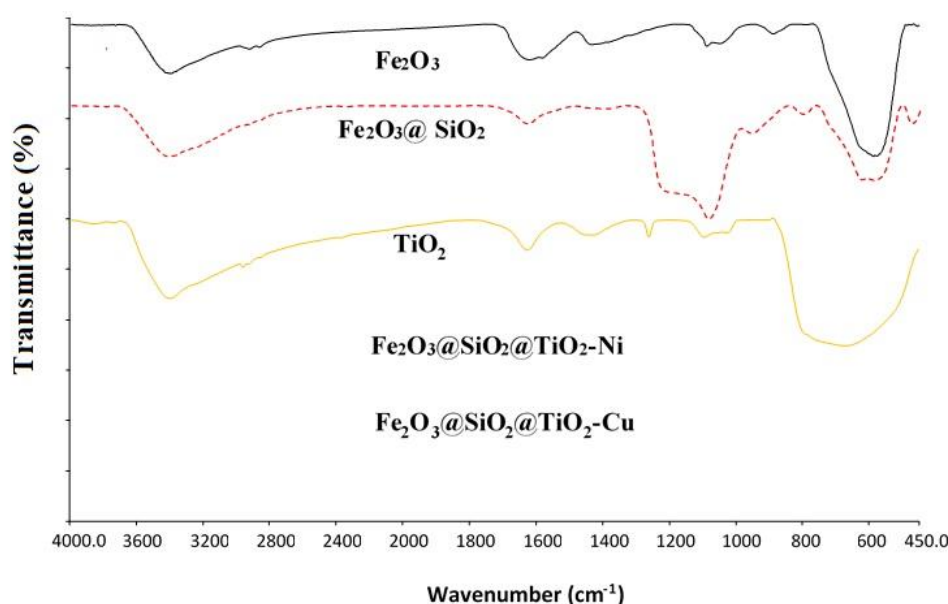
نتایج و بحث

آنالیز FTIR

از آنالیز طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریه (Fourier Transform Infrared Spectroscopy-FTIR) برای تایید ترکیب و ساختار نانو کامپوزیت‌ها استفاده شد. در شکل ۱ طیف مربوط به $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ باندهای جذب قوی را در طول موج‌های ۵۸۷، ۸۸۸ و 1087 cm^{-1} نشان می‌دهد که پیک‌های خاص آن هستند. پیک موجود در طول موج 587 cm^{-1} ، به ارتعاش گروه عاملی O-Fe اختصاص دارد. پس از پوشش نانوذرات مغناطیسی با لایه سیلیس (SiO_2)، پیک جذبی ملاحظه شده در طول موج 800 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی متقارن Si-O-Si و پیک پهن در محدوده طول موج ۱۰۸۰ تا 1100 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی نامتقارن Si-O-Si نانوذرات $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2$ می‌باشد. برای همه نمونه‌ها، پیک‌های جذب در طول موج 1630 cm^{-1} و

در محدوده $3432-3375 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به کشش Si-O-H و ارتعاشات OH باقی مانده در سطح نانوذرات مغناطیسی پوشش داده شده با سیلیکا می‌باشد. پس از اصلاح سطح نانوذرات کروی $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@ \text{SiO}_2$ با TIPOT به منظور سنتز کامپوزیت $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@ \text{SiO}_2@ \text{TiO}_2$ ، پیک جذب از 940 تا 960 cm^{-1} مربوط به ارتعاش Si-O-Ti می‌باشد. پیک پهن در طول موج $500-900 \text{ cm}^{-1}$ که در طیف ملاحظه می‌شود مربوط به کشش پیوند Ti-O و پیوند خمشی O-Ti-O می‌باشد که نشان دهنده تشکیل موفقیت آمیز کامپوزیت مورد نظر می‌باشد (Su et al., 2014).

در ادامه نتایج مربوط به آنالیز FTIR طیف کامپوزیت‌های $\text{Fe}_2\text{O}_3@ \text{SiO}_2@ \text{TiO}_2\text{-Ni}$ و $\text{Fe}_2\text{O}_3@ \text{SiO}_2@ \text{TiO}_2\text{-Cu}$ نیز ارائه شده است. با توجه به مقدار زیاد گروه‌های عاملی هیدروکسیل سطحی، پیک‌های این گروه عاملی در تمام طیف‌ها شدت بالایی دارند. این گروه‌های سطحی موجب تسهیل اصلاح سطح‌های بعدی خواهند شد. همانطور که نشان داده شده است، پس از تثبیت عناصر فلزی مس و نیکل، شدت پیک مربوط به پیوند Si-O در کامپوزیت‌های نهایی (آلاییده شده با فلزات مختلف) نسبت به $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@ \text{SiO}_2$ کاهش یافته است. این امر به دلیل تجمع یافتگی هسته‌های Ni و Cu بر روی سطح پایه حامل $(\text{Fe}_2\text{O}_3@ \text{SiO}_2@ \text{TiO}_2)$ می‌باشد.

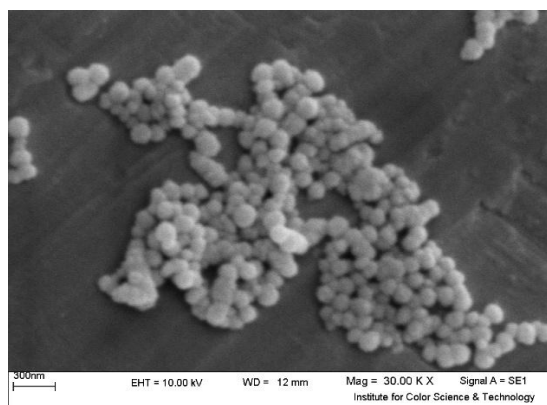
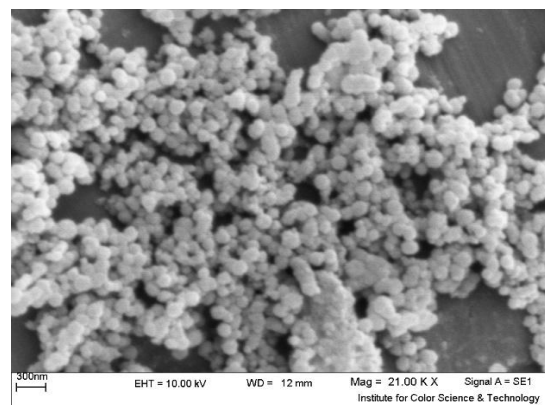
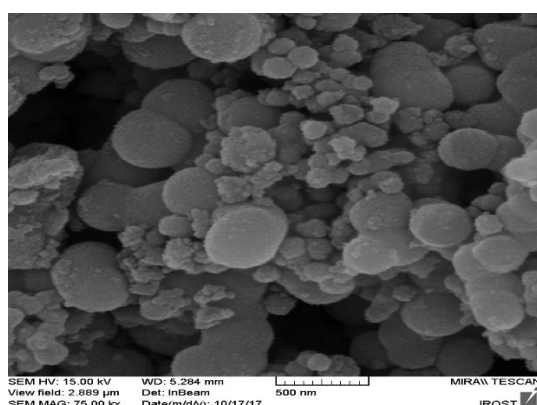
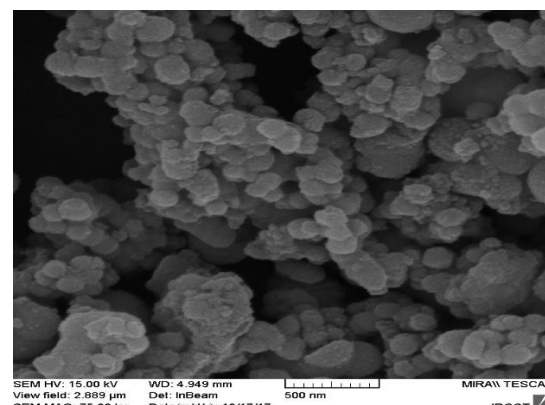


شکل ۱. آنالیز FTIR مربوط به نانومواد سنتز شده و نانو کامپوزیت‌های مس و نیکل

آنالیز SEM

به منظور بررسی اندازه، شکل و مورفولوژی سطح ذرات سنتز شده از آنالیز میکروسکوپ الکترونی پویشی (SEM) استفاده شد. بر اساس شکل ۲، ذرات به دست آمده $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ یکنواخت بوده و دارای قطر متوسط حدود 80 نانومتر می‌باشند. تصویر SEM مربوط به نانوذرات $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@ \text{SiO}_2$ نشان می‌دهد که خصوصیات مورفولوژیکی نانوذرات خالص $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ حفظ شده و تنها اندازه ذرات مقدار کمی بزرگتر شده‌اند؛ افزایش قطر ذرات به دلیل پوشش لایه سیلیکا بر روی هسته‌های مغناطیسی $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ می‌باشد. نانوذرات کروی $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@ \text{SiO}_2$ توسط لایه‌ای از TiO_2 پوشیده شده و ساختار سه لایه‌ای از کامپوزیت-

$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2$ شامل هسته $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ، لایه میانی SiO_2 و لایه بیرونی TiO_2 شکل می‌گیرد. ملاحظه می‌شود که اندازه ذرات کامپوزیت نهایی به طور قابل ملاحظه ای بزرگتر می‌باشد. به عبارتی پس از کلسینه شدن کامپوزیت در دمای 450°C و تبدیل فازی TiO_2 از حالت آمورف (بی شکل) به فاز کریستالی آناز، این تغییر اندازه و رشد ذرات رخ می‌دهد. زمانی که سطح $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2$ توسط لایه‌ای از TiO_2 و فلزات Cu و Ni با استفاده از روش رسوب نوری پوشش داده می‌شود، زبری و اندازه ذرات برای کامپوزیت‌های $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Cu}$ و $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Ni}$ افزایش می‌یابد.

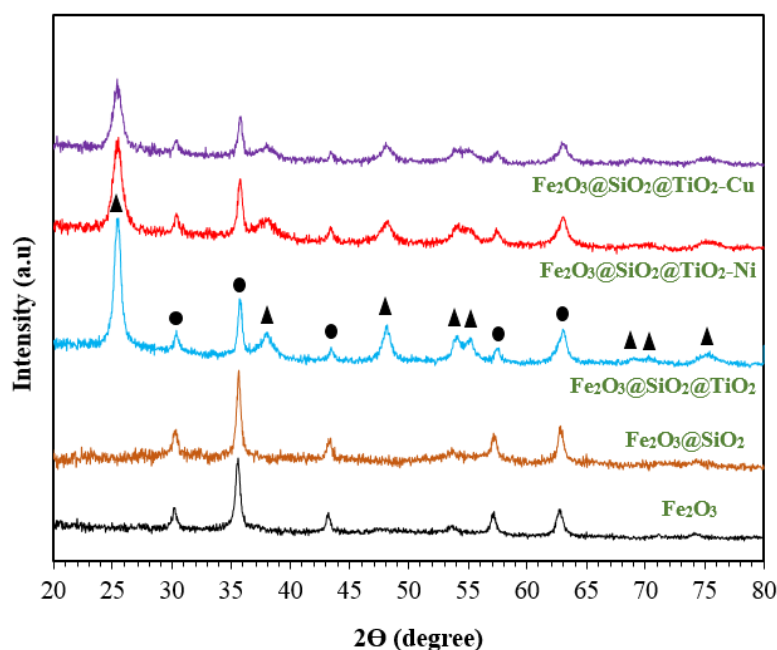
 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2$  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Cu}$  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Ni}$

شکل ۲. تصاویر آنالیز SEM مربوط به نانومواد مغناطیسی و نانو کامپوزیت‌های حاوی فلزات مس و نیکل

آنالیز XRD

برای تعیین فاز و درصد خلوص و کریستالینگی نمونه‌های تهیه شده، آنالیز پراش پرتو X مورد بررسی قرار گرفت. شکل ۳ الگوی پراش پرتو X مربوط به نانوکاتالیست‌های $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Cu}$ و $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Ni}$ را نشان می‌دهد. در ساختار این کامپوزیت‌ها فاز اصلی مربوط به آناز در زاویه $2\theta = 37^\circ$ با شماره کارت JCPDS $01-0562$ قرار دارد. علاوه بر این، هیچ پیک اضافی که نشان دهنده ناخالصی در ساختار مواد باشد، وجود ندارد. پیک‌های پراش تیز و بلند نشان

دهنده این است که مواد سنتز شده دارای بلورینگی یا کریستالینگی بالایی هستند. با این وجود، با توجه به مقدار کم فلزات Ni و Cu در ساختار کامپوزیت‌ها، پیک خاصی که نشان دهنده مس و نیکل باشد، ملاحظه نشد؛ اما با توجه به کاهش جزئی شدت پیک‌های مربوط به نانوکاتالیست‌های $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@SiO_2@TiO_2\text{-Cu}$ و $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@SiO_2@TiO_2\text{-Ni}$ نسبت به پیک‌های $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@SiO_2@TiO_2$ می‌توان استنباط کرد که فلزات مس و نیکل به خوبی بر روی سطح خارجی $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@SiO_2@TiO_2$ تثبیت شده‌اند.



شکل ۳. آنالیز XRD مربوط به نانومواد مغناطیسی و نانوکامپوزیت‌های $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@SiO_2@TiO_2\text{-Ni}$ و $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@SiO_2@TiO_2\text{-Cu}$

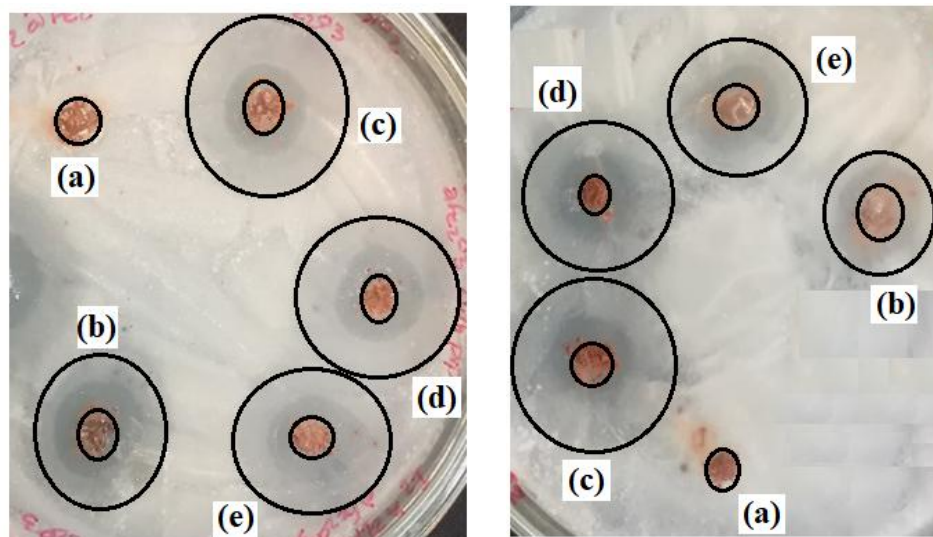
عملکرد آنتی باکتریایی نانوکامپوزیت‌ها

سنجش میزان بازدارندگی از رشد باکتری‌های گرم منفی *Escherichia coli* و گرم مثبت *Staphylococcus aureus* در هر دو محیط کشت جامد و مایع انجام شد.

بررسی خاصیت ضد باکتریایی به روش انتشار دیسک

بررسی خاصیت آنتی باکتریایی در محیط جامد برای کاتالیست‌های حاوی فلزات مس و نیکل انجام گرفت و مطابق شکل ۴ نتایج بیانگر عملکرد خوب این نانوکامپوزیت‌ها در بازدارندگی از رشد باکتری‌ها بودند. نتایج حاصل از اندازه‌گیری شعاع‌های بازدارندگی در جدول ۱ گزارش شده است. همانطور که مشاهده می‌شود نمونه $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@SiO_2$ خاصیت آنتی باکتریال ندارد و هیچ هاله‌ای که نشان دهنده بازدارندگی از رشد باکتری باشد در اطراف این نانوذرات مشاهده نشده است. با توجه به شعاع‌های بازدارندگی ایجاد شده مشاهده می‌شود که نمونه‌های حاوی فلزات مس و نیکل دوپ شده، دارای عملکرد بسیار بهتری از نمونه $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@SiO_2@TiO_2$ هستند. بنابراین مانند آزمایش بازدارندگی رشد در محیط مایع، مشاهده می‌شود که افزودن مس و یا نیکل سبب بهبود خاصیت آنتی باکتریال کاتالیست می‌شود.

به دلیل حساس بودن رشد و پایداری باکتری‌های *S.aureus* و *E.coli* نمی‌توان pH را کمتر از ۵/۴ و بیشتر از ۱۰ بالا برد، زیرا این دو میکروارگانیسم دارای ماهیت نوتروفیل یا خنثی دوست هستند و در شرایط اسیدی و قلیایی غلیظ رشد نمی‌کنند. بنابراین بررسی اثر pH در انجام آزمایش‌ها حذف شد.

*E. coli**S. aureus*

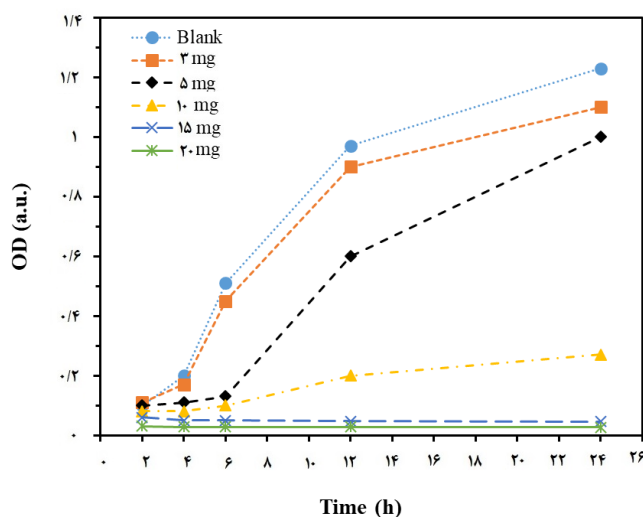
شکل ۴. بررسی شعاع‌های بازدارندگی رشد باکتری‌های *E. coli* و *S. aureus*: (a) $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2$ (b) $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2$ (c) $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Cu}$ و (d) $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Ni}$ (e)

جدول ۱. اندازه قطرهای بازدارندگی با بررسی تغییرات نوع نانوکاتالیست

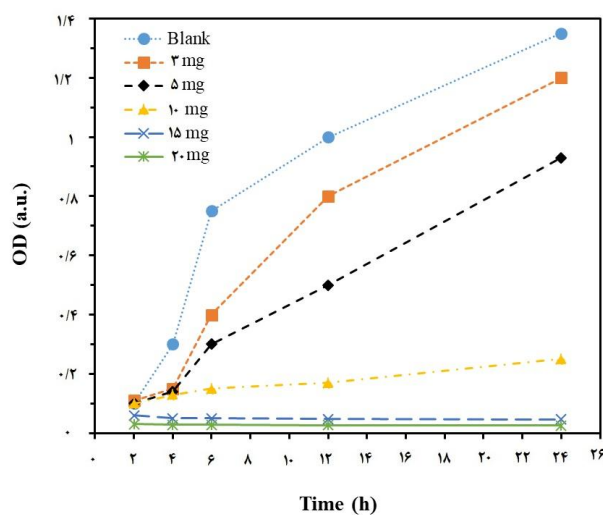
ردیف	نوع نانوساختار	باکتری	قطر هاله (میلی‌متر)
		<i>E. coli</i>	۱۸
۱	$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2$	<i>S. aureus</i>	۱۲
۳	$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Cu}$	<i>E. coli</i>	۲۲
		<i>S. aureus</i>	۲۱
۴	$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Ni}$	<i>E. coli</i>	۲۰
		<i>S. aureus</i>	۱۹

تعیین میزان حداقل غلظت بازدارندگی

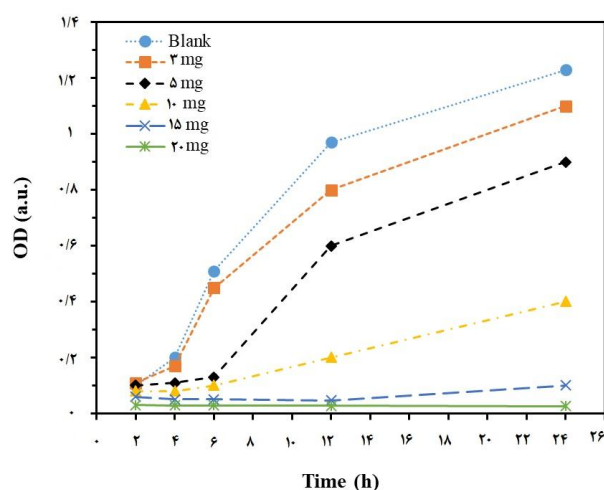
تست محیط مایع برای کاتالیست‌های $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Ni}$ و $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Cu}$ انجام شد تا عملکرد این دو کاتالیست ارزیابی شود. با توجه به شکل‌های ۵-۸ نانوکامپوزیت‌های حاوی فلزات دوپ شده مس و نیکل دارای خاصیت آنتی‌باکتریال هستند.



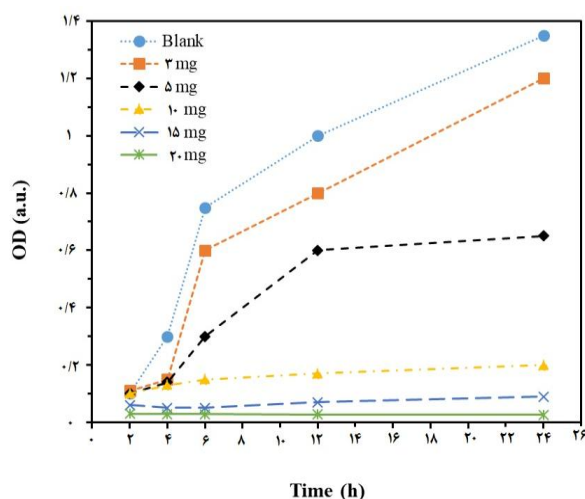
شکل ۵. نمودار رشد باکتری *E. coli* در حضور مقادیر مختلف کاتالیست $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Cu}$



شکل ۶. نمودار رشد باکتری *S. aureus* در حضور مقادیر مختلف کاتالیست $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Cu}$



شکل ۷. نمودار رشد باکتری *E. coli* در حضور مقادیر مختلف کاتالیست $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Ni}$.



شکل ۸. نمودار رشد باکتری *S. aureus* در حضور مقادیر مختلف کاتالیست $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2\text{-Ni}$.

بررسی آزمایشات مربوط به سنجش میزان بازدارندگی از رشد باکتری‌های گرم منفی *Escherichia coli* و گرم مثبت *Staphylococcus aureus* در هر دو محیط کشت جامد و مایع نشان داد که نانوکامپوزیت سنتز شده $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2$ دارای قابلیت خوبی می‌باشد و با کارایی آن با آلاینده فلزات مس و نیکل افزایش می‌یابد. با توجه به نمودارهای رشد، تغییرات غلظت نوری باکتری‌ها در حضور مقادیر ۱۵ و ۲۰ میلی گرم از کاتالیست بسیار ناچیز و اندک بود. همچنین بررسی‌های انجام شده برای نانوکامپوزیت‌های حاوی فلزات دوپ شده مس و نیکل نشان داد که دارای خاصیت آنتی‌باکتریال هستند و مقدار ۱۵ میلی گرم از این کاتالیست‌ها به عنوان کمترین مقدار برای ممانعت از رشد باکتری‌ها انتخاب

شدند. مقایسه بین خاصیت آنتی‌باکتریایی نانوذرات سنتز شده در محیط کشت مایع نشان داد که ذرات مغناطیسی $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ دارای خاصیت آنتی‌باکتریایی بهتری نسبت به نمونه پوشش داده شده با SiO_2 می‌باشد.

نتیجه‌گیری

آلاییدن فلزات مس و نیکل در بازدارندگی از رشد هر دو نوع باکتری موثر بوده و موجب بهبود خاصیت آنتی‌باکتریایی می‌شوند. بررسی خاصیت آنتی‌باکتریایی نانوکاتالیست‌ها در محیط کشت جامد نشان داد هنگامی که نمونه‌ها تحت تابش نور مرئی قرار می‌گیرند، پس از ۲۴ ساعت ذرات TiO_2 خاصیت آنتی‌باکتریایی موثری نسبت به شرایط تاریک از خود نشان می‌دهند. مانند آزمایش بازدارندگی رشد در محیط مایع، مشاهده می‌شود که افزودن مس و یا نیکل سبب بهبود خاصیت آنتی‌باکتریال کاتالیست می‌شود.

منابع

- Albiter, E., Valenzuela, M.A., Alfaro, S., Valverde-Aguilar, G., Martínez-Pallares, F.M. 2015. Photocatalytic deposition of Ag nanoparticles on TiO_2 : Metal precursor effect on the structural and photoactivity properties. *Journal of Saudi Chemical Society*, 19(5): 563-573.
- Boningari, T., Pappas, D.K., Ettireddy, P.R., Kotrba, A.J., Panagiotis G., Smirniotis, P.G. 2015. Influence of SiO_2 on M/ TiO_2 (M= Cu, Mn, and Ce) formulations for low-temperature selective catalytic reduction of NO_x with NH_3 : Surface properties and key components in relation to the activity of NO_x reduction. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 54(8): 2261-2273.
- Chen, F., Yan, F., Chen, Q., Wang, Y., Han, L., Chen, Z. 2014. Fabrication of $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2@ \text{TiO}_2$ nanoparticles supported by graphene oxide sheets for the repeated adsorption and photocatalytic degradation of rhodamine B under UV irradiation. *Dalton Transactions*, 43(36): 13537-13544.
- Chi, Y., Yuan, Q., Li, Y., Zhao, L., Li, N., Li, X., Yan, W. 2013. Magnetically separable $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2@ \text{TiO}_2$ -Ag microspheres with well-designed nanostructure and enhanced photocatalytic activity. *Journal of hazardous materials*, 262: 404-411.
- Cui, B., Peng, H., Xia, H., Guo, X., Guo, H. 2013. Magnetically recoverable core-shell nanocomposites $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@ \text{SiO}_2@ \text{TiO}_2$ -Ag with enhanced photocatalytic activity and antibacterial activity. *Separation and Purification Technology*, 103: 251-257.
- Dabirvaziri, B., Givianrad, M.H., Sourinejad, I., Moradi, A.M., Mostafavi, P.G. 2019. A simple and effective synthesis of magnetic gamma- $\text{Fe}_2\text{O}_3@ \text{SiO}_2@ \text{TiO}_2$ -Ag microspheres as a recyclable photocatalyst: Dye degradation and antibacterial potential. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 17(2), 949-960.
- Fan, Y., Ma, C., Li, W., Yin, Y. 2012. Synthesis and properties of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{TiO}_2$ nanocomposites by hydrothermal synthetic method. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 15(5): 582-585.
- Feng, C., Aldrich, C., Eksteen, J.J., Arrigan, D.W.M. 2017. Removal of arsenic from alkaline process waters of gold cyanidation by use of $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2@ \text{TiO}_2$ nanosorbents. *Minerals Engineering*, 110: 40-46.
- Ghasemi, Z., Abdi, V., Sourinejad, I. 2019. Single-step biosynthesis of $\text{Ag}/\text{AgCl}@ \text{TiO}_2$ plasmonic nanocomposite with enhanced visible light photoactivity through aqueous leaf extract of a mangrove tree. *Applied Nanoscience*, doi:10.1007/s13204-019-01149-4.
- Huang, X., Wang, G., Yang, M., Guo, W., Gao, H. 2011. Synthesis of polyaniline-modified $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{TiO}_2$ composite microspheres and their photocatalytic application. *Materials Letters*, 65(19-20): 2887-2890.
- Khojasteh, H., Salavati-Niasari, M., Mazhari, M.P., Hamadani, M. 2016. Preparation and characterization of $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2@ \text{TiO}_2@ \text{Pd}$ and $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2@ \text{TiO}_2@ \text{Pd-Ag}$ nanocomposites and their utilization in enhanced degradation systems and rapid magnetic separation. *RSC Advances*, 6(81): 78043-78052.
- Li, X., Liu, D.P., Song, S., Zhang, H. 2014. $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2@ \text{TiO}_2@ \text{Pt}$ hierarchical core-shell microspheres: controlled synthesis, enhanced degradation system, and rapid magnetic separation to recycle. *Crystal Growth & Design*, 14(11): 5506-5511.
- Lu, X., Ye, J., Zhang, D., Xie, R., Bogale, R.F., Sun, Y., Zhao, L., Zhao, Q., Ning, G. 2014. Silver carboxylate metal-organic frameworks with highly antibacterial activity and biocompatibility. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 138: 114-121.
- Qin, S., Cai, W., Tang, X., Yang, L. 2014. Sensitively monitoring photodegradation process of organic dye molecules by surface-enhanced Raman spectroscopy based on $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2@ \text{TiO}_2@ \text{Ag}$ particle. *Analyst*, 139(21): 5509-5515.

- Rashid, J., Barakat, M.A., Ruzmanova, Y., Chianese, A. 2015. Fe₃O₄/SiO₂/TiO₂ nanoparticles for photocatalytic degradation of 2-chlorophenol in simulated wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(4): 3149-3157.
- Su, J., Zhang, Y., Xu, S., Wang, S., Ding, H.S., Pan, S., Wang, G., Li, G.H., Zhao, H. 2014. Highly efficient and recyclable triple-shelled Ag@ Fe₃O₄@ SiO₂@ TiO₂ photocatalysts for degradation of organic pollutants and reduction of hexavalent chromium ions. *Nanoscale*, 6(10): 5181-5192.
- Sun, L., He, J., An, S., Zhang, J., Zheng, J., Ren, D. 2013. Recyclable Fe₃O₄@ SiO₂-Ag magnetic nanospheres for the rapid decolorizing of dye pollutants. *Chinese Journal of Catalysis*, 34(7): 1378-1385.



Synthesis of nanocomposite $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2$ doped with copper and nickel and investigation of its antibacterial properties in aquatic ecosystems

Bahareh Dabirvaziri¹, Mohammad Hadi Givianrad¹, Iman Sourinejad^{2*}, Ali Mashinchian Moradi¹, Pargol Ghavam Mostafavi¹

1. Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch

2. Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan

Abstract

In this study, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ magnetic nanoparticles were synthesized via solvothermal method and after coating a silica layer (SiO_2), TiO_2 nanoparticles were used as a core to grow on the outer surface to get $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2$ nanocomposite. In order to increase the photocatalytic efficiency, the obtained nanocomposite was doped with different metals such as copper and nickel. Different techniques such as XRD, SEM and FTIR were used to characterize and determine the properties of the produced nanoparticles. Antibacterial activities of the doped magnetic nanocomposites on the gram-positive *S. aureus* and gram-negative *E.coli* strains were investigated by disc diffusion and minimum inhibitory concentration methods. The results obtained from the inhibition amount of the bacterial growth showed that the $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{@TiO}_2$ nanocomposite has high antibacterial properties which could be increased by doping with copper and nickel metals. The amounts of 15 mg were selected as the minimum inhibition amount of the growth of the bacteria for the two photocatalysts consisting of copper and nickel. It can be concluded that the synthesized nanocomposites with photocatalytic properties have a suitable potential to remove harmful bacteria from the aquatic environments.

ARTICLE TYPE Research

Received: 26 August 2022
Accepted: 10 April 2023
ePublished: 22 September 2023

* Corresponding Author:
sourinejad@hormozgan.ac.ir

Keywords: Magnetic nanoparticles, TiO_2 photocatalyst, Minimum inhibitory concentration, *Staphylococcus aureus*