

سنتز نانوکامپوزیت سه هسته‌ای روی/آهن/مس در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت و بررسی خواص آنتی باکتریال آن در محیط‌های آبی

فرشاد رحیمی^۱، فرشاد خیری^{۱*}، ایرج میرزایی^۲، محمد سیروس آذر^۱، فرهاد فرهنگ‌پژوه^۳، الهام جنت‌دوست^۱

^۱ دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی ارومیه، ارومیه، ایران

^۲ گروه مکانیک، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۳ گروه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۱۱

تاریخ تصحیح: ۹۸/۱۱/۰۴

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۳/۲۲

چکیده

تصفیه و باکتری‌زدایی آب‌های آلوده به میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، از جمله مسائل مهمی محسوب می‌شود که سلامت جوامع بشری بدان وابسته است. در سال‌های اخیر، روش‌های مختلفی برای میکروب‌زدایی آب‌ها ارائه شده است که در این میان استفاده از زئولیت‌ها یک روش کاربردی و مهم است. ورود هر اتم آلومینیوم به داخل ساختار واحد چهاروجهی (حایگزین شده با اتم سیلیس) باعث ایجاد یک بار منفی در چهارچوب زئولیت می‌گردد که باید توسط کاتیون‌های خارج از چهارچوب خنثی گردند. در این پژوهش، به بررسی اصلاح زئولیت کلینوپتیلولیت از طریق تبادل یون و وارد کردن یون‌هایی با اثر آنتی‌باکتریال نظیر مس، روی و آهن، کاهش آن‌ها با استفاده از سدیم بروهیدرید و تبدیل آن‌ها به نانوذرات فلزات دارای اثر آنتی‌باکتریال، پرداخته شده است. نتایج حاصل، نشان‌دهنده‌ی خواص آنتی‌باکتریال ذرات مس درون نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت می‌باشد. برای اثبات مراحل مختلف کار از تکنیک‌های FT-IR، XRD، TEM و FE-SEM استفاده شده است.

کلمات کلیدی: زئولیت کلینوپتیلولیت، نانوذرات مس - روی - آهن، آنتی‌باکتریال.

۱- مقدمه

بسیاری از مشکلات بهداشتی کشورهای در حال توسعه، عدم برخورداری از آب آشامیدنی سالم است. از آنجایی که محور توسعه پایدار، انسان سالم است و سلامت انسان در گرو بهره‌مندی از آب آشامیدنی مطلوب می‌باشد، بدون تأمین آب سالم، جایی برای سلامت مثبت و رفاه جامعه وجود ندارد. آلودگی آب یک مشکل بزرگ جهانی است که به ارزیابی مداوم و تجدیدنظر در سیاست‌های منابع آبی در همه‌ی سطوح احتیاج دارد [۱]. آب، می‌تواند یکی از مکان‌های مناسب برای رشد یا انتشار میکروارگانیسم‌هایی باشد که علت اصلی بسیاری از بیماری‌ها در انسان هستند. تصفیه و باکتری‌زدایی آب‌های آلوده از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، از جمله مسائل مهمی محسوب می‌شود که سلامت جوامع بشری بدان وابسته است. در سال‌های اخیر، روش‌های متنوعی جهت باکتری‌زدایی از محیط‌های آبی ارائه شده است [۲ و ۳].

زئولیت‌ها^۱ آلومینوسیلیکات‌های^۲ بلورینی هستند که از ساختارهای چهار وجهی [TO₄] تشکیل شده‌اند که در آنها T نشان-دهنده اتم سیلیس و آلومینیوم است. ورود هر اتم آلومینیوم به داخل ساختار واحد چهاروجهی (جایگزین شده با اتم سیلیس) باعث ایجاد یک بار منفی در چهارچوب زئولیت می‌گردد که باید توسط کاتیون‌های خارج از چارچوب خنثی گردند [۴]. زئولیت در عین حال که بی‌بو و بی‌مزه است، می‌تواند به‌عنوان یک گندزدای عالی و غیرسمی محسوب شود [۵ و ۶]. این ماده‌ی غیرآلی با دیگر عوامل ضد باکتریایی طبیعی، تفاوت زیادی دارد که از آن جمله می‌توان به پایداری شیمیایی بالا در نقطه ذوب، فراریت بالا و همچنین قیمت مناسب اشاره کرد [۷]. اوزون ماده‌ای سمی، ناپایدار و گران قیمتی است که در سالهای اخیر از آن در روشهای گندزدایی استفاده شده است [۸]. فرآیند گندزدایی به کمک زئولیت‌های اصلاح‌شده، شبیه به فرآیند گندزدایی توسط ازون است. با این تفاوت که زئولیت به خاطر وجود تعداد حفرات بالاتر و میزان یون زیادی که در ساختار خود دارد می‌تواند اکسیژن فعال و یا نانوذرات فعال را به تدریج آزاد کند. بنابراین می‌توان از زئولیت‌ها در حالتی ایمن‌تر استفاده کرد [۹-۱۱]. علاوه بر این، امروزه عوامل ضد باکتریایی معدنی نیز نظیر یون‌ها و یا اتم‌های فلزی [۱۲ و ۱۳]، اکسیدهای فلزی، هیدروکسید-های فلزی [۱۴]، کامپوزیت فلزات [۱۵] و یا اکسید فلزات با خاک رس^۳ توجه زیادی را به دلیل توانایی محدود کردن و یا مختل کردن رشد باکتری‌ها و در نتیجه از بین بردن باکتری‌ها به خود معطوف کرده‌اند [۱۶-۱۸]. نانوذرات فلزی احیاء شده سطح ویژه-ی زیادی دارند اما این روشها به تنهایی قابل استفاده در مقیاس صنعتی برای برخی مواد نیستند و بایستی همراه با یک پایه نگهدارنده^۴ به کار برده شوند. قرص‌ها و ستون‌های زئولیتی به‌عنوان یک پایه نگهدارنده، علاوه‌براینکه از لحاظ اقتصادی شرایط را بهینه می‌کنند، باعث افزایش سطح فعال و قابلیت جذب نیز می‌شوند [۱۹].

در این تحقیق، سنتز نانوکامپوزیت سه هسته‌ای روی/آهن/مس در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت با استفاده از روش آند فدا شونده و ظرفیت احیاء کاتیونها بر اساس سری الکتروشیمیایی انجام شده است. برای بهینه‌سازی و مشخصه‌یابی نمونه‌های سنتز شده از تکنیک‌های XRD، FT-IR و SEM استفاده شده است. خواص آنتی باکتریال نانوکامپوزیت‌های سنتز شده در حضور زئولیت بر علیه باکتری‌های اشر شیاکلی به عنوان یکی از کلی فرم‌های مهم مدفوعی در بحث بهداشت آب و پاستورلا مولتی سیدا به عنوان یکی از عوامل باکتریایی گرم منفی در بحث بهداشت دام مورد بررسی قرار گرفته است.

1 Zeolite
2 Aluminosilicate
3 Clay
4 Support

۲- کارهای تجربی

۲-۱- مواد و تجهیزات

برای انجام آزمایشات، نیترات آهن شش آب ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)، نیترات روی شش آب ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)، نیترات مس شش-آب ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)، سدیم بورو هیدرید (NaBH_4)، سدیم هیدروکسید (NaOH)، هیدروکلریک اسید (HCl) و محیط‌های کشت سلولی از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. زئولیت کلینوپتیلولیت از معادن سمنان تهیه شد. باکتری های مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از اشرشیاکلی سویه استاندارد ATCC 35218 و پاستورلا مولتی سیدا جدا شده از ریه گوساله مبتلا به پنومونی (کلکسیون کشت میکروبی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه). در تمامی مراحل سنتز برای رقیق-سازی و شستشو از آب بدون یون استفاده شده است. جهت مشخصه‌یابی نانوکامپوزیت سنتز شده از دستگاه FTIR با آنالیز Avatar 360 و دستگاه پراش سنج اشعه ایکس پودری مدل EXPERT ساخت کارخانه فیلیپس^۱ آمریکا استفاده شده و الگوهای مورد استفاده در پراش اشعه ایکس از خط طیفی $\text{K}\alpha$ فلز مس با طول موج 0.61 \AA به دست آمد. برای مطالعات مورفولوژی نانوکامپوزیت سنتز شده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) فیلیپس مدل XL30 و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) فیلیپس مدل EM208S استفاده شد.

۲-۲- آماده سازی نمونه‌ها

۲-۲-۱- آماده سازی زئولیت

ابتدا برای دسترسی به زئولیت کلینوپتیلولیت با ابعاد میکرومتری می‌بایست زئولیت به‌طور کامل آسیاب شود. پس از آسیاب کردن، به‌منظور حذف مواد معدنی زائد موجود، زئولیت آسیاب شده با محلول ۰/۱ مولار اسید کلریدریک مخلوط شده و به مدت سه ساعت بر روی همزن قرار داده می‌شود. پس از شستشوی زئولیت با آب بدون یون، همین فرآیند با محلول ۰/۱ مولار سدیم هیدروکسید نیز تکرار می‌شود. پس از حذف مواد معدنی زائد، زئولیت سه بار با آب بدون یون شسته شده و خشک می‌گردد و در نهایت برای مراحل بعدی آزمایش در محلی خشک و به دور از رطوبت نگهداری می‌شود.

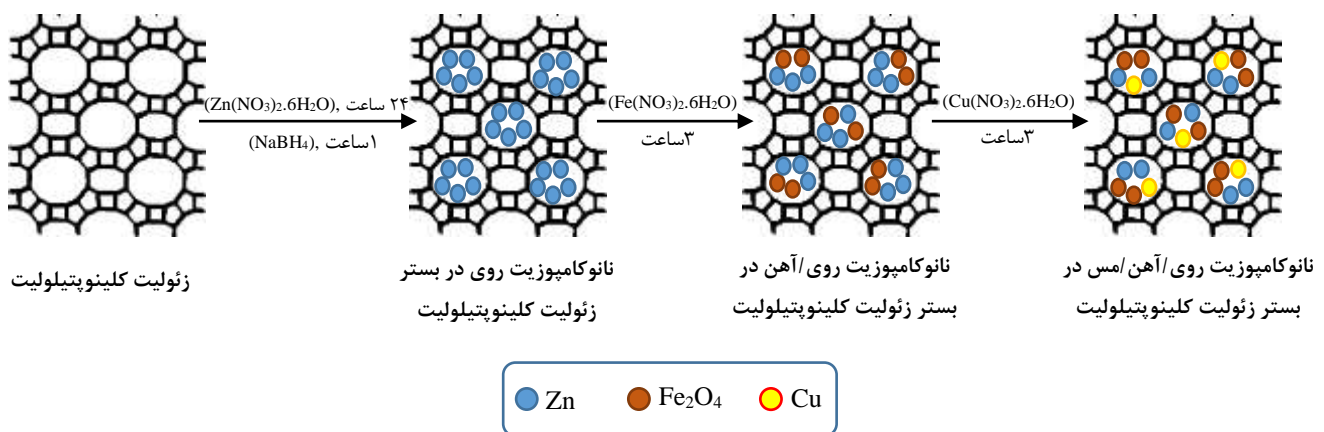
۲-۲-۲- تهیه نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت

در ابتدا به منظور انجام تبادل یونی بین زئولیت و یون فلز روی (Zn^{+2})، ۰/۵ گرم از زئولیت آماده‌سازی شده از مرحله قبل با محلول نمک $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ با غلظت ۰/۱ مولار مخلوط شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق بر روی همزن قرار داده می‌شود. سپس برای احیاء یونهای روی (Zn^{+2}) مبادله شده، زئولیت حاصل به مدت یک ساعت بر روی همزن در مجاورت ۲۴ میلی‌مولار سدیم بروهیدرید قرار می‌گیرد. برای حذف جذب‌های سطحی و غیراختصاصی نمونه حاصل دوبار با آب بدون یون

^۱ Philips

شستشو داده شده و در آون خشک می‌شود. با توجه به سری الکتروشیمیایی و به منظور استفاده از اختلاف پتانسیل شیمیایی یونهای وارد شده برای احیاء دیگر یونها، ترتیب وارد کردن یونها و همینطور غلظت یونهای مورد استفاده در این مرحله بسیار حائز اهمیت است. به همین دلیل، ابتدا زئولیت اصلاح شده با فلز روی، با محلول ppm ۳۰۰۰، $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ مخلوط می‌گردد. در این حالت، نانوذرات روی موجود در شبکه زئولیت به همراه کاتیونهای آهن (Fe^{2+}) موجود در محلول، یک سلول الکتروشیمیایی را تشکیل می‌دهند. نانوذرات روی موجود در شبکه زئولیت به میزانی که غلظت کاتیونهای آهن (Fe^{2+}) اجازه دهند اکسید شده و جای آن را در شبکه زئولیت نانوذرات آهن خواهند گرفت. نمونه‌ی حاصل که در واقع کامپوزیت دو هسته‌ای (روی/آهن) و زئولیت کلینوپتیلولیت است با آب بدون یون شسته می‌شود.

در ادامه کامپوزیت زئولیت کلینوپتیلولیت و نانوذرات دو هسته‌ای (روی/آهن) حاصل، در مجاورت نمک $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ با غلظت ppm ۱۰۰۰ قرار می‌گیرند. با توجه به ترتیب سری الکتروشیمیایی اینبار کاتیونهای مس (Cu^{2+}) موجود در محلول با حمله به نانوذرات روی و آهن آنها را اکسید کرده و به میزانی که غلظت کاتیونهای مس (Cu^{2+}) به عنوان عامل محدودکننده واکنش اجازه می‌دهند، نانوذرات مس نیز درون شبکه زئولیت وارد می‌شوند. به این ترتیب، کامپوزیتی از سه نانوذره روی/آهن/مس وارد ساختار زئولیت می‌شوند. در نهایت، برای حذف تمامی پیوندهای غیراختصاصی نمونه را با آب بدون یون شستشو داده و به مدت ۳ ساعت در آون کاملاً خشک می‌شود. در شکل ۱ شماتیک تهیه نانوکامپوزیت سه هسته‌ای روی/آهن/مس در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت نشان داده شده است.



شکل ۱- شماتیک تهیه نانوکامپوزیت سه هسته‌ای روی/آهن/مس در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت

۳-۲-۲- تهیه کامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) بدون حضور زئولیت کلینوپتیلولیت

به منظور مقایسه حضور زئولیت کلینوپتیلولیت در میزان عملکرد کامپوزیت ذرات چند هسته‌ای (مس/آهن/روی)، کامپوزیت دیگری بدون حضور زئولیت کلینوپتیلولیت ساخته شد، به همین منظور محلول نیترات یونهای فلزی مس، آهن و روی به

نسبت استوکيومتری در کمترین میزان آب مقطر به گونه‌ای که محلول شفاف شود، تهیه شده و محلول حاصل با نسبت ۱:۱ با محلول اسید سیتریک ۵ درصد وزنی مخلوط گردیده و سپس آمونیاک (۳۰ درصد) در شرایطی که محلول در حال هم‌خوردن است به آن اضافه می‌گردد تا pH از ۱ به ۷ برسد. محلول حاصل در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد و دور ۲۸۰ rpm به مدت ۱۰ ساعت تا تبدیل شدن به حالت ژل بر روی همزن قرار داده شد. ژل حاصله به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد درون کوره قرار گرفته و خشک گردید. سپس نمونه آسیاب شده و به مدت شش ساعت در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد در کوره کلسینه شده و مواد آلی زائد آن حذف گردید. در انتها نمونه برای بار دوم آسیاب شده و برای انجام آزمایشات بعدی درون ظرف پلاستیکی تیره در دمای اتاق نگهداری شد.

۴-۲-۲ آزمایشات میکروبیولوژی

جهت بررسی اثرات آنتی‌باکتریال نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر ژئولیت کلینوپتیلولیت از روش های حداقل غلظت مهار کنندگی (Minimum Inhibitory Concentration- MIC)، حداقل غلظت کشندگی (Minimum Bactericidal Concentration- MBC) و دیسک دیفیوژن (Disc Diffusion) استفاده شد. تعیین MIC با روش میکرودايلوشن براث انجام گردید [۲۰]. بدین صورت که ابتدا از محیط کشت مولر هینتون براث ۱۰۰ میکرولیتر به هر چاهک پلیت ۹۶ خانه اضافه گردید، سپس به اولین چاهک ردیف اول، ۱۰۰ میکرولیتر از نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر ژئولیت کلینوپتیلولیت با غلظت ۱۰ mg/mL اضافه گردید و از چاهک دوم به سوم و به همین ترتیب تا چاهک ۱۲ رقت های یک دوم تهیه گردید. در ردیف های دوم تا سوم جهت بررسی خواص آنتی باکتریال، به جای نانوکامپوزیت طراحی شده از کامپوزیت فلزات بدون حضور ژئولیت کلینوپتیلولیت (۱۰ mg/mL) و ژئولیت کلینوپتیلولیت (۱۰ mg/mL) استفاده گردید. نهایتاً به محتویات همه چاهک ها ۱۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی سوسپانسیون باکتریایی (معادل نیم مک فارلند) اضافه گردید. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد وجود یا عدم وجود کدورت که نشان دهنده رشد و یا مهار رشد باکتری بود مشاهده و ثبت شد. چاهکی که کدورتی در آن ایجاد نشده بود، به عنوان حداقل غلظت مهار کننده رشد گزارش گردید. کنترل مثبت رشد باکتری، شامل محیط کشت و باکتری برای هر سویه جهت هر تیمار منظور گردید. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی، ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک هایی که فاقد کدورت در روش حداقل غلظت مهار کنندگی بودند، بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد کمترین غلظتی از نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر ژئولیت کلینوپتیلولیت که باکتری در آن رشد نکرده بود (۹۹٪ عدم رشد) به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش گردید [۲۱]. به منظور آزمایش دیسک دیفیوژن جهت ارزیابی کیفی نتایج حاصل از میکرودايلوشن براث، ۲۰ میکرولیتر از MIC به دست آمده برای نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر ژئولیت

کلینوپتیلولیت، ۲۰ میکرولیتر از نانوکامپوزیت های دو هسته ای (روی/ آهن) و تک هسته ای (روی) در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت با غلظت (۱۰ mg/mL) و همچنین زئولیت کلینوپتیلولیت با غلظت (۱۰ mg/mL) به دیسک های نیتروسلولزی ۶/۴ میلی متری (شرکت پادتن طب) اضافه گردید [۲۰]. سپس سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل نیم مک فارلند بر سطح محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده و بلافاصله دیسک های آغشته به ترکیبات مورد مطالعه بر روی پلیت قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتیگراد قطر هاله عدم رشد را از پشت پلیت با خط کش اندازه گیری و نتایج ثبت شدند. دیسک های آنتی بیوتیکی پنی سیلین (۱۰ mg/mL) و تترا سایکلین (۱۰ mg/mL) به عنوان کنترل در این روش نیز به کار برده شدند. همه آزمایشات در ۳ تکرار انجام و متوسط فعالیت ضد میکروبی گزارش شد [۲۲].

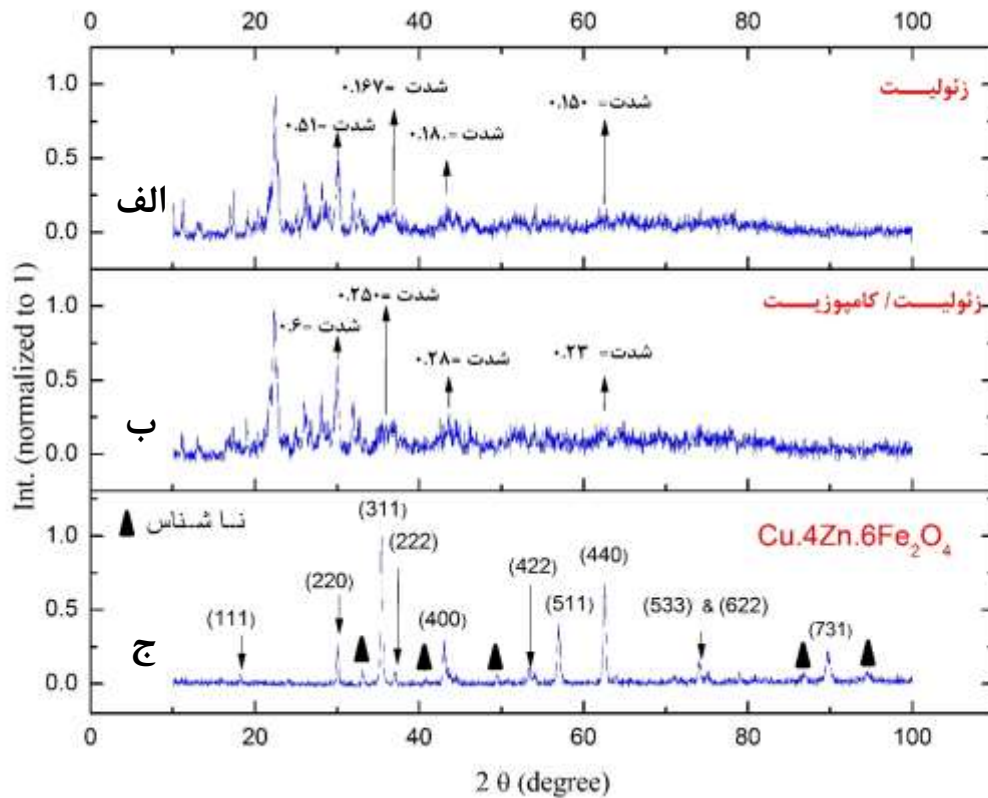
۳- بحث و نتیجه گیری

۳-۱- مشخصه یابی و مطالعات سطح نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت

تصاویر الگوهای XRD زئولیت کلینوپتیلولیت و نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در حضور و عدم حضور بسترزئولیت کلینوپتیلولیت در شکل ۲ نشان داده شده است. الگوی الف در شکل ۲ مربوط به پراش شبکه زئولیت کلینوپتیلولیت است که کاملاً شناخته شده می‌باشد (JCPDS No. 39-1383) [۲۳-۲۵]. نتایج حاصل از پراش اشعه X نمونه کامپوزیت روی/آهن/مس در شکل ۲ ج روشنگر این مطلب است که پیکهای موجود مربوط به ترکیب $Cu_4Zn_6Fe_2O_4$ است که پیکهای مشخصه این ترکیب بر اساس کارت JCPDS No.01-077-0013 شناسایی و نامگذاری شده است. تطابق شدت پیکهای کارت JCPDS با شدت پیکهای موجود بیانگر این مطلب است که روش سنتز به کار برده شده سبب تبلور این ترکیب منطبق با تبلور طبیعی کمپلکس $Cu_4Zn_6Fe_2O_4$ در شبکه مکعبی شده است. با توجه به شکل ۲ ب که مربوط به سنتز این ترکیب در بستر زئولیت می‌باشد مشخص می‌شود که شدت پیکهای زئولیت به طور نسبی (در زوایای مربوط به پیکهای کمپلکس) افزایش یافته که بیانگر حضور این ترکیب در بستر زئولیت می‌باشد. از سوی دیگر عدم تغییر سایر پیکهای زئولیت نشان دهنده عدم آسیب دیدگی در ساختار کلینوپتیلولیت در فرایند تبادل یونی و حرارت دهی است. مقایسه میزان افزایش شدت پیکهای زئولیت در نتیجه سنتز کامپوزیت سه هسته‌ای نشان می‌دهد که شدت پیکهای مربوط به کامپوزیت سه هسته‌ای سنتز شده در بستر زئولیت متفاوت از کامپوزیت سنتز شده به تنهایی است، به طور مثال شدت پیک مربوط به صفحه بلورین (۳۱۱) نسبت به صفحه (۲۲۰) در حضور بستر زئولیت کاهش یافته است که در شکل ۲ قابل مشاهده است.

دلیل تغییر در شدت پیکهای مربوط به صفحات بلورین می‌تواند ناشی از تغییر در مکانیزم جوانه زنی و رشد بلورهای $Cu_4Zn_6Fe_2O_4$ به دلیل حضور اکسیدهای فلزی در بستر زئولیت باشد. حضور برخی پیکهای کوچک در الگوهای پراش کامپوزیت سنتز شده که قابل شناسایی نمی‌باشد می‌تواند بیانگر حضور اکسیدهای فلزی یا فلزاتی باشد که وارد واکنش تشکیل

کمپلکس سه هسته ای نشده اند و عدم حضور سری کامل پیکهای یک ماده مشخص در الگوهای پراش به دلیل میزان ناچیز این ترکیبات است که شناسایی قطعی این ترکیبات به کمک XRD را دشوار می سازد.

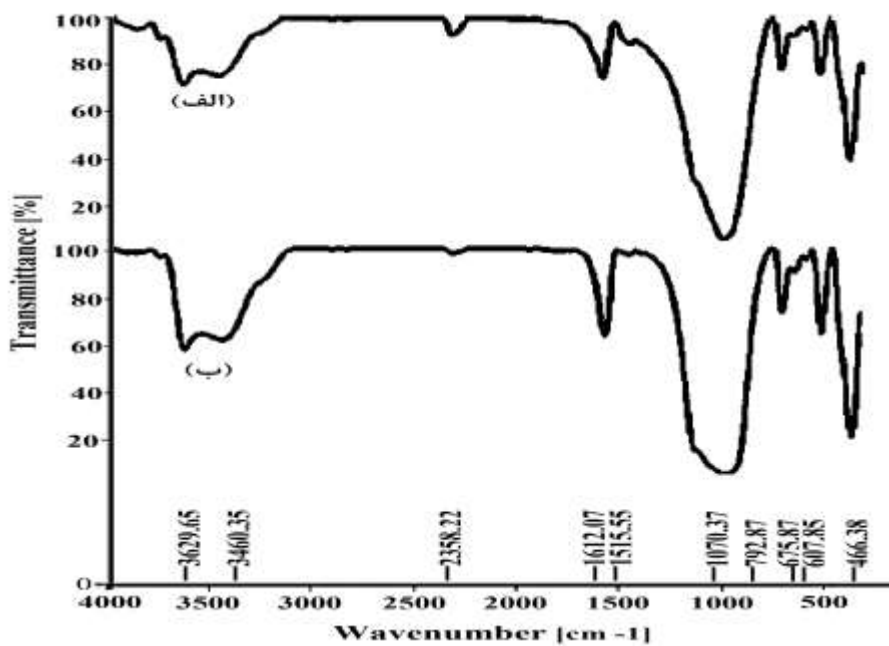


شکل ۲- تصاویر الگوهای XRD (نمونه های الف) زئولیت کلینوپتیلولیت ، ب) نانوکامپوزیت سه هسته ای (روی/آهن/مس) در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت و ج) کامپوزیت $Cu_{0.4}Zn_{0.6}Fe_2O_4$ بدون حضور زئولیت کلینوپتیلولیت.

طیف FT-IR زئولیت کلینوپتیلولیت و نانوکامپوزیت سه هسته ای (روی/آهن/مس) در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت در شکل (۳)- الف و ب) نشان داده شده است. به طور کلی، طیف FT-IR باندهای مربوط به زئولیت های آبدار در محدوده 1600 cm^{-1} تا 4000 cm^{-1} قرار دارد. طیف در محدوده 1070 cm^{-1} ، بر ارتعاش پیوند (-Si-O-Si-) اشاره دارد که ارتعاشات مربوط به (-Al-O-Al) و (-Al-O-Si-) را نیز همپوشانی می کند. کاهش شدید پیک مربوط به CO_2 در 2350 cm^{-1} در نانوکامپوزیت سه هسته ای (روی/آهن/مس) در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت در شکل (۳)-ب) در مقایسه با پیک مربوط به CO_2 در 2350 cm^{-1} زئولیت کلینوپتیلولیت در شکل (۳)-الف) نشان دهنده ی تبادل یونی در زئولیت است. حالت کشش^۱ عمدتاً شامل اتم های تتراهدرال است که در ناحیه $620-740\text{ cm}^{-1}$ بوده و به ترکیب (Al-Si) حساسیت نشان می دهد. در ناحیه 3630 cm^{-1}

¹ Stretching modes

یک جذب صورت گرفته است که به گروه‌های سیلانول^۱ (Si-OH) بر روی سطح خارجی بلورهای زئولیت مربوط می‌شود. این پیک‌ها با پیک‌های پهن و قوی مربوط به کشش OH در ناحیه‌ی 3100 cm^{-1} تا 3500 cm^{-1} همپوشانی دارد. جذب‌های ظاهر شده در محدوده‌ی 900 cm^{-1} - 1200 cm^{-1} به کشش‌ها و حالت‌های خمشی^۲ در ساختار چهارچوبه‌ای زئولیت مربوط است. تغییر شکل آب در محدوده‌ی 1625 cm^{-1} - 1640 cm^{-1} اتفاق می‌افتد. همچنین باند هیدروکسید در محدوده‌ی 3450 cm^{-1} مشاهده می‌شود. باندهای مربوط به ارتعاشات شبکه‌ای در محدوده‌ی زیر 400 cm^{-1} ظاهر می‌شوند. در ناحیه‌ی 300 cm^{-1} تا 700 cm^{-1} تغییراتی ملاحظه می‌شود که این تغییرات در 650 ، 515 ، 495 و 470 cm^{-1} مربوط به پیوندهای یون آهن با اکسیژن است. پیک‌های مربوط به روی و اکسید روی ضعیف هستند و در نواحی 450 و 530 cm^{-1} قرار دارند که به دلیل ظرفیت تبادل یونی ضعیف زئولیت کلینوپتیلولیت و کاتیون‌های روی است که با پیک‌های مربوط به ارتعاشات زئولیت طبیعی در آن مکان‌ها همپوشانی شده است [۲۶]. مشاهدات نشان می‌دهد انتقال کاتیون‌های فلزی به داخل ساختار زئولیت در فرآیند تبادل یونی یا تشکیل اکسید فلزات فقط باعث تغییرات اندکی در محل پیک‌ها شده است. به عبارت دیگر، وارد شدن کاتیون‌ها در زئولیت، تغییرات مهمی در ساختار زئولیت ایجاد نکرده است.



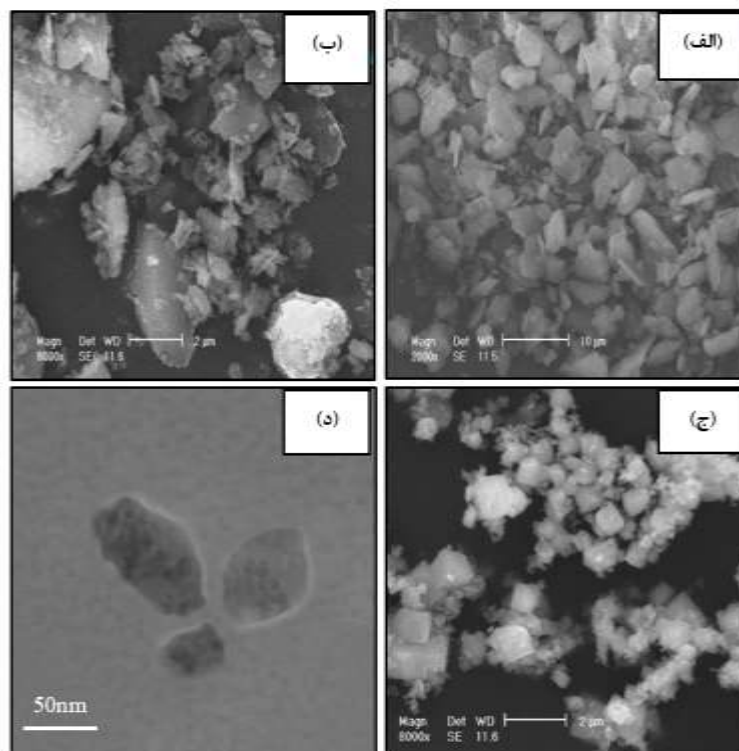
شکل ۳- آزمون FT-IR (الف) زئولیت کلینوپتیلولیت، (ب) نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت.

در شکل ۴ تصاویر FE-SEM و TEM نمونه‌های مختلف آورده شده است. بررسی و مقایسه تصاویر FE-SEM شکل (۴- الف و ب) نشان می‌دهد که ساختار زئولیت پس از تبادل یونی، دچار دگرگونی نشده است که با نتایج حاصل از تست‌های FT-IR

^۱ Silanol

^۲ Bending mode

مطابقت دارد. شکل (۴-ج) مربوط به تصویر FE-SEM ذرات کمپلکس تشکیل شده بدون حضور بستر زئولیت کلینوپتیلولیت است که در بیشتر نقاط اثر کلوخه شدگی مشاهده می‌شود. هندسه بلورهای تشکیل شده که عموماً مکعبی شکل می‌باشد به وضوح در تصویر شکل ۴-ج قابل مشاهده است. مقایسه تصاویر FE-SEM شکل‌های (۴-ب و ج) نشان‌دهنده عملکرد مناسب بستر زئولیت کلینوپتیلولیت در توزیع مناسب ذرات کامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) و جلوگیری از کلوخه شدن آنها در سطح است. تصاویر الگوهای XRD، FT-IR و همینطور مطالعات میکروبی تایید کننده حضور کامپوزیت چند هسته‌ای روی/آهن/مس در بستر زئولیت است، از طرف دیگر تصویر TEM در شکل ۴-د) تایید کننده تشکیل نانوکامپوزیت چند هسته-ای روی/آهن/مس در ابعاد نانومتری درون خلل و فرج بستر زئولیت کلینوپتیلولیت می‌باشد. [۲۷-۲۹].



شکل ۴- تصاویر FE-SEM سطح (الف) زئولیت کلینوپتیلولیت، (ب) نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت، (ج) کامپوزیت فلزات بدون حضور زئولیت و (د) تصویر TEM نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت.

۲-۳- بررسی خواص ضد باکتریایی نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت

در مطالعه روش میکرو دایلوژن برات، اثر ضد میکروبی نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت بر روی باکتری های گرم منفی آلوده کننده منابع آبی مانند اشرشیاکلی (کلی فرم مدفوعی) و پاستورلا مولتی سیدا (زئونوز) مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱). نتایج تست MIC نشان داد که نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت در غلظت $312 \mu\text{g/mL}$ علیه باکتری اشرشیاکلی دارای اثر مهار کننده رشد می باشد. حداقل غلظت مهار کننده رشد توسط نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر زئولیت کلینوپتیلولیت ۲ برابر کامپوزیت

فلزات بدون حضور ژئولیت بود. همچنین نتایج تست MBC نشان داد نانو کامپوزیت طراحی شده در غلظت $625 \mu\text{g/mL}$ دارای اثر کشندگی می باشد. حداقل غلظت کشندگی توسط نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر ژئولیت کلینوپتیلولیت ۲ برابر کامپوزیت فلزات بدون حضور ژئولیت بدست آمد. همچنین اثر کشندگی توسط ژئولیت کلینوپتیلولیت بر باکتری اشرشیاکلی مشاهده نشد. حداقل غلظت مهار کنندگی و کشندگی نانو کامپوزیت طراحی شده بر علیه باکتری پاستورلا به ترتیب در غلظت های $2500 \mu\text{g/mL}$ و $5000 \mu\text{g/mL}$ مشاهده گردید. همچنین ژئولیت کلینوپتیلولیت و کامپوزیت فلزات بدون حضور ژئولیت فاقد هر گونه اثرات بازدارندگی رشد و کشندگی بر علیه باکتری پاستورلا بودند. نتایج نشان داد خواص آنتی باکتریال نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر ژئولیت کلینوپتیلولیت به باکتری مورد مطالعه بستگی دارد.

جدول ۱- نتایج روش میکرو دیلوشن براث.

باکتری	تیمار	غلظت $\mu\text{g/mL}$ ()											
		5000	2500	1250	625	312.5	156.3	78.1	39.1	19.5	9.8	4.9	2.4
الف	A	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	B	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	A	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ب	A	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	A	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

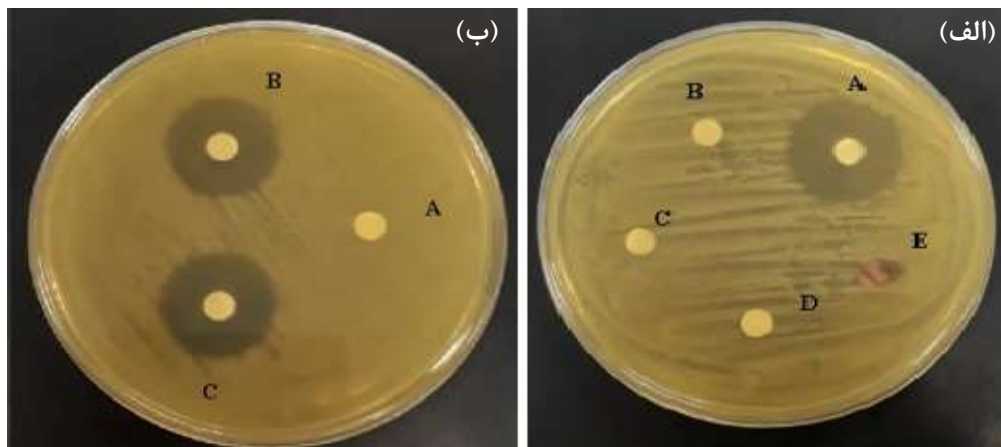
الف) حداقل غلظت مهار کنندگی (Minimum Inhibitory Concentration).

ب) حداقل غلظت کشندگی (Minimum Bactericidal Concentration).

A: نانوکامپوزیت سه هسته ای (روی/آهن/مس) در بستر ژئولیت کلینوپتیلولیت، B: کامپوزیت فلزات بدون حضور ژئولیت کلینوپتیلولیت، C: ژئولیت کلینوپتیلولیت. (+: کدورت و -: عدم کدورت)

در همین رابطه آلسوات و همکاران (۲۰۱۶) اثرات آنتی باکتریال نانو کامپوزیت تک هسته ای (روی) در بستر ژئولیت بر علیه باکتری های باسیلوس سوبتلیس، استافیلوکوکوس ارئوس، سالمونلا کلراسوییس و اشرشیاکلی را بررسی نمودند. نتایج آنها نشان داد با افزایش نسبت اکسید روی به ژئولیت از ۳ به ۸ درصد خواص آنتی باکتریال نانو کامپوزیت طراحی شده نیز افزایش می یابد [۲۷]. بر اساس نتایج آزمون میکرودیالوشن براث، مطالعات مبتنی بر روش دیسک فیوزن (شکل ۵) صرفا بروی باکتری اشرشیاکلی انجام گردید. همانطور که در قرائت دیسک های حاوی ترکیبات مورد آزمایش مشاهده می گردد (شکل ۵-الف) دیسک A حاوی نانو کامپوزیت سه هسته ای (روی/آهن/مس) در بستر ژئولیت کلینوپتیلولیت با ایجاد هاله ای به قطر ۷

میلی متر از رشد باکتری اشرشیاکلی ممانعت به عمل می آورد. عدم تشکیل هاله توسط دیسک های حاوی نانوکامپوزیت دو هسته ای (روی/آهن) در بستر ژئولیت کلینوپتیلولیت، نانوکامپوزیت تک هسته ای (روی) در بستر ژئولیت کلینوپتیلولیت و ژئولیت کلینوپتیلولیت نشان داد عوامل فوق فاقد خاصیت آنتی باکتریال می باشند. به عبارتی هاله ایجاد شده توسط نانو کامپوزیت سه هسته ای طراحی شده در این مطالعه به دلیل اثر هم افزایی نانو ذرات فلزی در بستر ژئولیت می باشد. این نتایج داده های روش میکروداپلوشن براث را تکمیل می کند. آلسوات و همکاران (۲۰۱۷) اثرات آنتی باکتریال نانوکامپوزیت دو هسته ای (روی/مس) در بستر ژئولیت بر علیه باکتری های باسیلوس سوبتلیس و اشرشیاکلی را بررسی و گزارش نمودند هاله ایجاد شده به روش دیسک فیوژن به ترتیب $18/9$ و $23/8$ میلیمتر می باشد [۳۰]. به نظر می رسد که مکانیسم اعمال باکتری-سیدال نانوذرات در بستر ژئولیت، نتیجه رهایش تدریجی یون ها از این نانوذرات می باشد که به دلیل داشتن بار مثبت جذب بار منفی لیپوپروتئین دیواره ی سلولی باکتری ها گشته و با ورود به سلول باعث صدمه زدن به دیواره سلولی یا ایجاد تغییرات در عملکرد آنزیمی می شوند.



شکل ۵- نتایج تست آنتی باکتریال الف) A: نانوکامپوزیت سه هسته ای (روی/آهن/مس) در بستر ژئولیت کلینوپتیلولیت، B: نانوکامپوزیت دو هسته ای (روی/آهن) در بستر ژئولیت کلینوپتیلولیت، C: نانوکامپوزیت تک هسته ای (روی) در بستر ژئولیت کلینوپتیلولیت، D: دیسک نیترو سلولزی (شرکت پادتن طب)، E: ژئولیت کلینوپتیلولیت ب) A: آنتی بیوتیک پنی سیلین B: آنتی بیوتیک تتراسایکلین و C: نانوکامپوزیت سه هسته ای (روی/آهن/مس) در بستر ژئولیت کلینوپتیلولیت علیه باکتری اشرشیاکلی بعد از گذشت ۲۴ ساعت.

شکل ۵- ب نتایج دیسک آغشته به آنتی بیوتیک پنی سیلین و تتراسایکلین در مقایسه با دیسک حاوی نانو کامپوزیت ۳ هسته ای را نشان میدهد. هاله ایجاد شده توسط دیسک آغشته به نانو کامپوزیت ۳ هسته ای و تتراسایکلین با هم برابر می باشد لذا استفاده از این نانو کامپوزیت علیه باکتری های مقاوم به تتراسایکلین پس از انجام مطالعات تکمیلی پیشنهاد میگردد.

۴- نتیجه گیری

در این تحقیق، برای اولین بار نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) در بستر ژئولیت کلینوپتیلولیت با استفاده از روش آند فداشونده سنتز شد. انجام آزمایشات مشخصه‌یابی و مطالعات سطح بر روی نانوکامپوزیت طراحی شده نشان داد کمپلکس سه هسته‌ای در ابعاد نانو درون شبکه ژئولیت تشکیل شده و از طرفی حضور بستر ژئولیت کلینوپتیلولیت با کاهش کلوخه شدن نانوذرات سنتزی باعث توزیع یکنواخت نانوکامپوزیت سه هسته‌ای (روی/آهن/مس) شده است. در ادامه اثر آنتی باکتریال نانوکامپوزیت طراحی شده بر روی باکتری های گرم منفی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد نانو کامپوزیت سه هسته ای در حضور بستر ژئولیت کلینوپتیلولیت از رشد باکتری اشرشیاکلی ممانعت بعمل می آورد.

۵- مراجع

- [1] M. Banoee, S. Seif, Z. E. Nazari, P. Jafari-Fesharaki, H. R. Shahverdi, A. Moballegh, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 93 (2010) 557.
- [2] J. Hrenovic, J. Milenkovic, N. Daneu, R. M. Kepcija, and N. Rajic, *Chemosphere*, 88 (2012) 1103.
- [3] M. Esmhosseini, S. Solatifar, A. Mirzanejad, N. Solatifar, *Journal Of Applied Chemistry*, 3 (1387) 13, in Persian.
- [4] Y. Han, W. Li, M. Zhang, and K. Tao, *Chemosphere*, 72 (2008) 53.
- [5] E. Yousefi, M. Rafienia, H. Fazeli, M. Z. Kasai, *Journal of Isfahan Medical School*, 31 (1392) 830, in Persian.
- [6] S. Zavareh, Z. Farrokhzad, F. Darvish, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 155 (2018) 1.
- [7] T. Maeda and Y. Nose, *Artificial organs*, 23 (1999) 129.
- [8] C. Marambio-Jones, E. M. Hoek, *Journal of Nanoparticle Research*, 12 (2010) 1531.
- [9] S.S. Sadat Hosseini, M. Esmhosseini, S. Khezri, F. Ghanbari Taloki, A. Khosravi, *Journal Of Applied Chemistry*, 11 (1395) 39.
- [10] S. Imazato, *Dental Materials*, 19 (2003) 449.
- [11] E. b. S. Kulprathipanja, "Zeolites in Industrial Separation and Catalysis," 2010, ISBN: 978-3-527-32505-4.
- [12] A. Abusafa, H. Yucel, *Separation and Purification Technology*, 28 (2002) 103.
- [13] H. Kargar, A. Adabi Ardakani, N. Feizi, *Journal Of Applied Chemistry*, 14 (1398) 9, in Persian.
- [14] M. Kragovic, A. Dakovic, Z. Sekulic, M. Trgo, M. Ugrina, J. Peric, *Applied Surface Science*, 58 (2012) 3667.
- [15] M. A. Oliver-Tolentino, A. Guzman-Vargas, E. M. Arce-Estrada, D. Ramírez-Rosales, A. Manzo-Robledo, and E. Lima, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 692 (2013) 31.
- [16] H. Liu, S. Peng, L. Shu, T. Chen, T. Bao, and R. L. Frost, *Journal of Colloid and Interface Science*, 390 (2013) 204.

- [17] F. Hasan, R. Singh, G. Li, D. Zhao, and P. A. Webley, *Journal of Colloid and Interface Science*, 382 (2012)1.
- [18] Kh. B. Ayaz Ahmed, Th. Raman, A. Veerappan, *Materials Science and Engineering: C*, 68 (2016) 939.
- [19] Q. Xie, J. Xie, Z. Wang, D. Wu, Z. Zhang, and H. Kong, *Microporous and Mesoporous Materials*, 179 (2013) 144.
- [20] R. Aryan, B. Ghasemi, H. Beyzaei, M. Najimi, *Journal of Fasa University Medical Science*, 2 (1395) 162, in Persian.
- [21] Z. Soltaninejad, E. Pirali Kheirabadi, F. Nikhoukhah, *Fisheries Science and Technology*, 3 (1395) 65, in Persian.
- [22] A. Sharifi, T. Seifi, A. Mohammadzadeh, *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 23 (1394) 202, in Persian.
- [23] K. Malachová, P. Praus, Z. Rybková, and O. Kozák, *Applied Clay Science*, 53 (2011) 642.
- [24] M. Mirhendi, G. Emtiazi, and R. Roghanian, *Jundishapur Journal of Microbiology*, 6 (2013) E10254.
- [25] J. Hrenovic, J. Milenkovic, T. Ivankovic, and N. Rajic, *J Hazard Mater*, 201-202 (2012) 260.
- [26] F. Shirvani, E. Farajolahi, S. Bakhteyari, and A. Ogunseitani, *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 49, (2014) 4.
- [27] Y. Hei, H. Lin, B. Li, and J. Liu, *chemical Engineering Journal*, 347, (2018) 669.
- [28] J. Behin, A. Shahreyarifar, and H. Kazemeian, *chemical Engineering Technology*, 39, (2016) 12.
- [29] A. A. Alswat, M. Bin Ahmad, T. A. Saleh, M. Z. Bin Hussein, N. Azowa Ibrahima, *Materials Science and Engineering: C*, 68 (2016) 505.
- [30] A.A. Alswat, M. Bin Ahmad, M. Zobir Hussein, N. Azowa Ibrahim, T.A. Saleh, *journal of colloid and interface science*, 33 (2017) 889.

