

سنتز احتراقی نانوکامپوزیت‌های اکسید فلزی/خاکرس و بررسی خواص ساختاری و ضدباکتریایی

ستاره خسروان^(۱)، جلیل وحدتی خاکی^(۲)، مصطفی میرجلیلی^{(۳)*}، مریم مقدم متین^(۴)، نعیمه اسفندیاری^(۵)

(۱) دانشجوی دکتری مهندسی مواد و متالورژی، دانشکده مهندسی، دانشگاه فردوسی مشهد.

(۲) استاد گروه مهندسی مواد و متالورژی، دانشکده مهندسی، دانشگاه فردوسی مشهد.

(۳) نویسنده مسئول: دانشیار گروه مهندسی مواد و متالورژی، دانشکده مهندسی، دانشگاه فردوسی مشهد.

(۴) استاد گروه بیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد.

(۵) دکترای مهندسی مواد و متالورژی، دانشکده مهندسی، دانشگاه فردوسی مشهد.

(mirjalili@um.ac.ir) مصطفی میرجلیلی : نویسنده مسئول *

چکیده

گسترش سریع عفونت‌های باکتریایی و افزایش مقاومت دارویی، نیاز به توسعه مواد ضدباکتریایی نوین، ایمن و کارآمد را بیش از پیش برجسته کرده است. در این پژوهش، نانوکامپوزیت‌های سه‌جزئی ZnO/CuO/Clay با استفاده از روش سنتز احتراقی در محلول و به‌کارگیری سوخت سبز گلیسین سنتز شدند و اثر نسبت‌های مختلف فازی و مقدار خاکرس بر ویژگی‌های ساختاری و عملکرد ضدباکتریایی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج ترمودینامیکی نشان داد که حضور کائولن با کاهش دمای آدیاباتیک واکنش، از رشد بیش‌ازحد ذرات جلوگیری کرده و زمینه را برای تشکیل نانوذرات ریزتر با تخلخل بالاتر فراهم می‌کند. آنالیزهای FE-SEM و EDS-MAP توزیع یکنواخت نانوذرات کروی ZnO و CuO را بر سطح و میان‌لایه‌های کائولن و تشکیل ساختارهای ناهمگون پایدار را تأیید کردند. نتایج BET وجود تخلخل‌های مزوحفره‌ای (۳-۵ نانومتری) و افزایش قابل توجه سطح ویژه، به‌خصوص در نمونه‌های حاوی ۲۵٪ خاکرس، را نشان داد. ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی علیه باکتری‌های گرم‌منفی *E. coli* و گرم‌مثبت *S. aureus* بیانگر عملکرد برتر نمونه‌های با ۲۵٪ خاکرس و نسبت‌های بالاتر ZnO و CuO بود، به‌طوری‌که مهار ۱۰۰٪ از رشد باکتری حتی در غلظت‌های پایین نیز حاصل شد. بررسی مکانیسم عملکرد ضدباکتریایی نشان داد که تخریب مکانیکی غشای سلولی، تولید گونه‌های فعال اکسیژنی و رهایش یون‌های فلزی، نقش‌های اصلی را ایفا می‌کنند. در مجموع، نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay سنتز شده به روش احتراقی در محلول، به‌عنوان سامانه‌هایی چندمنظوره و دوست‌دار محیط‌زیست، پتانسیل بالایی برای کاربردهای زیست‌پزشکی و ضدباکتریایی دارند.

واژه‌های کلیدی: نانوکامپوزیت، سنتز احتراقی در محلول، ZnO، CuO، اکسید فلزی، کائولن، ضدباکتری

بیماری‌های عفونی از مهم‌ترین چالش‌های سلامت جهانی محسوب می‌شوند که سال‌هاست تهدیدی جدی برای زندگی انسان‌ها به شمار می‌آیند. گسترش سریع عفونت‌های باکتریایی، به‌ویژه با ظهور سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، کارایی درمان‌های رایج را به‌شدت کاهش داده و منجر به افزایش نرخ ابتلا و مرگ‌ومیر شده است [۱، ۲]. باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی از عوامل اصلی بروز عفونت‌های بیمارستانی، عفونت‌های زخم و سوختگی، عفونت‌های مرتبط با دیابت و همچنین عفونت‌های ناشی از کاشت ایمپلنت‌ها هستند. استفاده گسترده و مکرر از آنتی‌بیوتیک‌ها نه‌تنها در بسیاری از موارد اثربخشی خود را از دست داده، بلکه موجب شکل‌گیری گونه‌های مقاوم شده است که درمان آن‌ها با روش‌های متداول دشوار یا حتی غیرممکن است. این شرایط، نیاز فوری به توسعه راهکارهای نوین، ایمن و مؤثر برای کنترل عفونت‌های میکروبی را برجسته می‌سازد [۳، ۴].

در این میان، نانویست‌فناوری نقش کلیدی در توسعه نانومواد فلزی و اکسید فلزی با ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی منحصربه‌فرد ایفا کرده است. نانوذرات اکسید فلزی به دلیل نسبت سطح به حجم بالا، زیست‌فعالی قابل‌توجه، قابلیت تولید گونه‌های فعال اکسیژنی (ROS)^۱ و توانایی برهم‌کنش مؤثر با سلول‌های میکروبی، توجه گسترده‌ای را در حوزه‌های زیست‌پزشکی و زیست‌محیطی به خود جلب کرده‌اند [۵-۷]. با این حال، یکی از چالش‌های اساسی در کاربرد نانوذرات خالص، احتمال بروز سمیت سلولی و تجمع ذرات است که می‌تواند کاربردهای بالینی آن‌ها را محدود سازد. از این‌رو، کامپوزیت کردن نانوذرات با بسترهای زیست‌سازگار به‌عنوان راهکاری مؤثر برای کاهش سمیت، افزایش پایداری و بهبود کارایی زیستی آن‌ها مطرح شده است [۸-۱۱].

در میان اکسیدهای فلزی مختلف، اکسید روی (ZnO) و اکسید مس (CuO) به دلیل فراوانی طبیعی، هزینه پایین، سمیت نسبتاً کم، سطح ویژه بالا و خواص فوتوکاتالیستی برجسته، جایگاه ویژه‌ای یافته‌اند [۱۲، ۱۳]. اکسید روی به‌عنوان یک نیمه‌رسانای نوع n با شکاف باند وسیع، توانایی تولید ROS و فعالیت ضدباکتریایی مؤثری دارد و استفاده از آن برای مصارف انسانی توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) تأیید شده است [۱۴، ۱۵]. در مقابل، اکسید مس یک نیمه‌رسانای نوع p با شکاف باند باریک‌تر است که به‌دلیل ویژگی‌های نوری، الکتریکی و زیستی خاص خود، فعالیت ضدباکتریایی قابل‌توجهی از خود نشان می‌دهد [۱۵]. ترکیب این دو اکسید فلزی در قالب نانو کامپوزیت‌ها می‌تواند با ایجاد اثرات هم‌افزایی، منجر به بهبود جداسازی جفت‌های الکترون-حفره، افزایش تولید ROS ها و ارتقای عملکرد ضدباکتریایی نیز شود [۳، ۱۶].

در کنار اکسیدهای فلزی، کانی‌های رسی به‌ویژه کائولن، به دلیل زیست‌سازگاری، غیرسمی بودن، هزینه پایین، ساختار لایه‌ای، سطح ویژه مناسب و ظرفیت بالای جذب یون‌ها، به‌عنوان بسترهای پایدار و سبز برای تثبیت

¹ Reactive Oxygen Species

نانوذرات مورد توجه قرار گرفته‌اند [۱۷-۱۹]. کائولن با ساختار فیلوسیلیکاتی ۱:۱، علاوه بر جلوگیری از تجمع نانوذرات، موجب پراکندگی یکنواخت آن‌ها و افزایش سطح تماس مؤثر با سلول‌های باکتریایی می‌شود [۱۷، ۲۰]. از سوی دیگر، سابقه طولانی استفاده از کانی‌های رسی در کاربردهای دارویی، آرایشی و ترمیم زخم، نشان‌دهنده ایمنی و پتانسیل بالای این مواد در کاربردهای زیستی است [۲۱-۲۳].

روش سنتز یکی از عوامل تعیین‌کننده در کنترل ریزساختار، مورفولوژی و عملکرد نهایی نانوکامپوزیت‌ها به شمار می‌رود. در سال‌های اخیر، روش سنتز احتراقی در محلول (SCS)^۲ به‌عنوان روشی ساده، سریع، مقرون‌به‌صرفه و دوستدار محیط‌زیست، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. این روش با ایجاد واکنش‌های بسیار گرمازا و کوتاه‌مدت، امکان تولید نانومواد متخلخل با اندازه ذرات نانومتری و پراکندگی مناسب را فراهم می‌کند [۲۴-۲۶]. استفاده از سوخت‌های سبز نظیر گلیسین، علاوه بر هم‌راستایی با اصول شیمی سبز، موجب کاهش پسماندهای خطرناک و افزایش یکنواختی محصولات نهایی می‌شود. آزادسازی حجم قابل‌توجهی از گازها در طول فرآیند احتراق، از رشد بیش از حد ذرات جلوگیری کرده و ساختارهای نانومتخلخل با سطح ویژه بالا ایجاد می‌کند که برای کاربردهای ضدباکتریایی بسیار مطلوب هستند [۲۷، ۲۸]. به جهت مقایسه روش سنتز احتراقی در محلول با دیگر روش‌های سنتز مطالعه شده در گذشته، جدول ۱ ارائه شده است:

جدول ۱. مزایا و معایب فرآیندهای مختلف سنتز نانوذرات اکسیدفلزی [۲].

شماره	روش سنتز	مزایا	معایب
۱	فرآیند مکانوشیمیایی	سادگی، قابلیت تولید در مقیاس بالا، هزینه فرآوری کم، اندازه کوچک ذرات، بلورینگی بالا	وجود مقادیر بالای ناخالصی
۲	روش هم-رسوبی	سادگی، قابلیت کنترل پارامترهای فرآیند سنتز	احتمال بالای توده ای شدن ذرات
۳	روش سل-ژل	آسان، ارزان، تکرارپذیر	احتمال بالای توده ای شدن ذرات، چالش در تولید با مقیاس بالا
۴	روش سولوترمال و هیدروترمال	درجه بالای بلورینگی، خلوص بالا	نیاز به فشار و دمای بالا

^۲ Solution Combustion Synthesis

۵	روش میکروامولسیون	آسان، بازگشت پذیر، از لحاظ ترمودینامیکی پایدار	احتیاج به عامل فعال سطحی برای پایداری، ظرفیت حلالیت کم، نقطه ذوب بالا
۶	روش های بیولوژیک	بی خطر برای محیط زیست، ارزان قیمت	نداشتن توزیع اندازه یکنواخت
۷	روش سنتز احتراقی در محلول	بی خطر برای محیط زیست، ارزان قیمت، کوتاه بودن زمان فرآیند، امکان تولید مواد نانومقیاس، آسان، خلوص بالا	دشواری کنترل دقیق فرآیند واکنش

با وجود گزارش های متعدد درباره نانوذرات اکسید روی، اکسید مس و حتی نانوکامپوزیت های دوتایی آن ها، بررسی نانوکامپوزیت های سه جزئی ZnO/CuO/Clay با استفاده از روش سنتز احتراقی در محلول، تاکنون و بجز در این پژوهش، مورد توجه قرار نگرفته است. این خلأ پژوهشی، زمینه ساز نوآوری تحقیق حاضر به شمار می رود.

در این پژوهش، نانوکامپوزیت های ZnO/CuO/Clay با استفاده از روش سنتز احتراقی در محلول و سوخت سبز گلیسین سنتز شده اند. سپس، ویژگی های فیزیکی-شیمیایی و ریزساختاری نمونه ها با بهره گیری از تصاویر FESEM، آنالیز EDS-MAP و BET مورد بررسی قرار گرفته و رفتار واکنش احتراقی نیز ارزیابی شده است. علاوه بر این، عملکرد ضدباکتریایی نانوکامپوزیت ها در برابر باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس^۳ و گرم منفی ای کلای^۴ مطالعه شده است تا ارتباط میان ساختار، مورفولوژی و کارایی ضدباکتریایی این مواد روشن گردد. نتایج این مطالعه می تواند گامی مؤثر در توسعه نانومواد ایمن، پایدار و سازگار با محیط زیست برای کاربردهای زیست پزشکی و کنترل عفونت های میکروبی باشد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد مورد استفاده برای سنتز نانوکامپوزیت ها و بررسی خواص ضدباکتریایی

مواد مورد نیاز برای تولید نانوکامپوزیت های ZnO/Clay، CuO/Clay و ZnO/CuO/Clay، با روش سنتز احتراقی در محلول شامل آب مقطر، آب دیونیزه، خاک رس (کائولن) $Al_2Si_2O_5(OH)_4$ کد ۱۰۴۴۴۰-مرک^۵، آلمان)، نیترات روی ۶ آبه $(Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O > 98\%)$ (مرک، آلمان)، نیترات مس ۳ یا ۶ آبه $(Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O > 99.5\%)$

^۳ *Staphylococcus aureus*

^۴ *Escherichia coli*

^۵ Merck

(لوبا شیمی^۶، هند)، گلایسین ($C_2H_5NO_2 > 99\%$) (سامچون شیمی^۷، کره جنوبی) بودند. تمام محلول‌ها در آب دیونیزه تهیه شدند.

در ادامه باکتری‌های اشیریشیا کلی (*E. coli*) گرم منفی و استافیلوکوکوس اورئوس (*S. aureus*) گرم مثبت و محیط کشت براث^۸، برای انجام آزمون‌های بررسی خواص ضدباکتریایی از آزمایشگاه کشت سلولی گروه زیست‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شدند.

۲-۲- نحوه سنتز نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay و CuO/Clay, ZnO/Clay

طبق جدول ۲، برای تولید نانوکامپوزیت‌های پیش‌بینی شده در این پژوهش، ۲ سری و در هر سری، سه نمونه به ترتیب سنتز شدند که در آن نسبت مولی خاک‌رس ۰/۲۵ و ۰/۵ مول تعیین شده بود، به‌طوری‌که مقدار خاک‌رس در هر گروه (ثابت) و نسبت ZnO/CuO از ۱/۳ تا ۲ (متغیر) در نظر گرفته شد:

جدول ۲. دو سری ترکیبی موردنظر برای تولید نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay.

آزمایش ترکیب	سری اول			سری دوم		
	۱-۱	۱-۲	۱-۳	۲-۱	۲-۲	۲-۳
<i>Clay (mol)</i>	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
<i>ZnO (mol)</i>	۰/۷۵	۰/۳۷۵	۰	۰/۵	۰/۲۵	۰
<i>CuO (mol)</i>	۰	۰/۳۷۵	۰/۷۵	۰	۰/۲۵	۰/۵

برای سنتز نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay، مقادیر مورد نظر از هر پیش‌ماده (با توجه به جدول ۲) یعنی نیترات‌ها، سوخت گلایسین و خاک‌رس با دقت وزن شده و درون بوتله‌های سرامیکی ریخته شدند. سپس این پیش‌ماده‌ها بر اساس نسبت‌های استوکیومتری سوخت به اکسیدکننده (F/O) برابر با ۱/۱۱ و با حداقل حجم مورد نیاز آب دیونیزه (۱۰ میلی‌لیتر) درون بوتله سرامیکی حل شدند. این ترکیب به مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه با استفاده از همزن مغناطیسی مخلوط شد تا محلول همگنی به‌دست آید و مواد به‌طور کامل در یکدیگر حل گردند. سپس

^۶ Loba Chemie

^۷ Samchun Chemicals

^۸ Broth

محلول به دست آمده روی یک هیتر که از قبل در دمای ۳۵۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود، قرار داده شد تا باعث تبخیر آب محلول و تشکیل مخلوط ژل‌مانند گردد. با افزایش دمای ژل تا نقطه اشتعال، واکنش سنتز احتراقی شروع شده و با مشاهده شعله و انتشار گازها (دود) این واکنش به پایان رسید و محصول مورد نظر پس از فرآیندهای احتراقی شدیدی که رخ داد، به دست آمد. پس از آن، پودرهای نانوکامپوزیتی جمع‌آوری شده، سه بار با آب مقطر شسته، از کاغذ صافی عبور داده و سپس به مدت دو ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد، در آون خشک شدند. نهایتاً نانوکامپوزیت‌های سنتز شده پس از خشک شدن، جمع‌آوری و مطابق با جدول ۲، نامگذاری شدند.

۲-۳- روش‌های مشخصه‌یابی

بررسی مورفولوژی، ریزساختار و ترکیب شیمیایی هرکدام از نمونه‌های سنتز شده با کمک آنالیزهای FE-SEM و EDS-MAP انجام شد. همچنین با آنالیز BET بسیاری از پارامترهای ساختاری مثل اندازه ذرات، اندازه حفرات، میزان تخلخل و مقادیر مساحت سطحی برای هرکدام از پودرهای نانوکامپوزیتی محصول محاسبه و ارائه شد.

۲-۴- بررسی خاصیت ضدباکتریایی نانوکامپوزیت‌ها با کمک روش رقیق سازی براث

بررسی رفتار ضدباکتریایی نانوکامپوزیت‌های سنتز شده، یکی از اهداف مهم این پژوهش بوده که از طریق رقت‌سازی متوالی در ظروف کشت ۹۶ خانه و طبق دستورالعمل مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI)^۹ ارزیابی گردید. در این پژوهش، باکتری گرم‌منفی ای کلای (*E. coli* (ATCC 25922 و گرم‌مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (*S. aureus* (ATCC 25923 برای ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی مورد استفاده قرار گرفتند. بررسی خواص ضدباکتریایی همه نانوکامپوزیت‌های تولید شده و خاک‌رس کائولن خام، مورد آزمایش قرار گرفت و در ادامه تمامی مراحل روند این آزمون به ترتیب توضیح داده شده است.

۲-۴-۱- نحوه کشت و آماده‌سازی باکتری‌ها برای انجام آزمون اصلی

به منظور آماده‌سازی باکتری‌ها برای انجام آزمون، ابتدا باید تلقیح باکتری‌ها در محیط براث انجام شود. بدین منظور قبل از شروع آزمایش، هر باکتری به مدت ۲۴ ساعت در محیط کشت مغذی مایع انکوبه شد. سپس کلونی‌هایی از هر دو باکتری (*E. coli* و *S. aureus*) با کمک دسته (لوپ) فیلدوپلاتین^{۱۰}، از محیط آگار جدا و به محیط مغذی براث منتقل شد و این سوسپانسیون‌های حاوی باکتری به مدت ۲۴ ساعت در شیکر انکوباتور^{۱۱} و در

^۹ Clinical and Laboratory Standards Institute

^{۱۰} Fildoplatin loop

^{۱۱} Shaker incubator

دمای °C ۳۷ و گردش ۲۰۰ دور در دقیقه، قرار داده شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، نمونه‌های باکتریایی را از انکوباتور خارج و میزان غلظت یا کدورت آن‌ها طبق استاندارد ۰/۵ مک فارلند^{۱۲}، رقیق شدند که در این استاندارد تعداد باکتری‌ها (یعنی میزان رقت) باید برابر با $10^8 \times 1/5$ CFU/mL باشد.

۲-۴-۲- نحوه آماده‌سازی سوسپانسیون نانوذرات

برای آماده‌سازی سوسپانسیونی از هرکدام از نمونه‌های نانوکامپوزیتی تولید شده، ابتدا ۰/۰۰۲ گرم از هر نمونه را توزین و پس از افزودن محلول براث مغذی به میزان ۲ میلی‌لیتر، سوسپانسیونی با غلظت ۱ mg/mL آماده شد و بعد از قرارگیری نمونه‌ها در اتوکلاو، به مدت ۲۴ ساعت روی همزن مغناطیسی و سپس ۲۰ تا ۳۰ دقیقه در حمام فراصوت قرار گرفتند.

۲-۴-۳- روش انجام آزمون بررسی خواص ضدباکتریایی از طریق رقیق‌سازی براث

به‌منظور انجام آزمون ضدباکتریایی، روش تهیه سری رقت در ظرف کشت ۹۶ تایی انتخاب شد. هر ظرف کشت ۹۶ تایی به ۴ قسمت تقسیم گردید که به ترتیب شامل، (الف) چاهک‌های حاوی نانوذره با باکتری در محیط کشت، (ب) چاهک‌های حاوی نانوذره و محیط کشت (خانه‌های بلانک^{۱۳})، (ج) چاهک‌های حاوی محیط کشت با باکتری (خانه‌های کنترل مثبت) و (د) چاهک‌های حاوی محیط کشت به تنهایی (خانه‌های کنترل منفی)، بودند. همچنین سوسپانسیون نانوذرات برای هرکدام از نمونه‌ها دارای ۶ سری رقت به ترتیب حاوی غلظت‌های ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ µg/mL بودند که پس از آماده‌سازی به چاهک‌های موردنظر یعنی (الف و ب) اضافه شدند. سپس ۱۰ میکرولیتر از هرکدام از سوسپانسیون‌های باکتریایی به چاهک‌های (الف و ج) اضافه شدند. به چاهک‌های باقی مانده (د) نیز محیط کشت باکتریایی (براث مغذی^{۱۴}) اضافه شد. پس از اتمام مراحل رقت‌سازی از نانوذرات و پر کردن تمامی خانه‌های ظرف کشت (طبق پروتکل تعریفی در آزمایش)، ظرف کشت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور °C ۳۷ قرار داده شدند. پس از اتمام انکوباسیون، جذب هر چاهک در طول موج ۵۹۵ نانومتر و با استفاده از دستگاه (ELISA Reader (Awareness start fax 2100) اندازه‌گیری شد تا نهایتاً درصد مهار رشد باکتری (%BGI)^{۱۵} برای هرکدام از نمونه‌ها طبق (معادله ۱) محاسبه شود:

¹² McFarland

¹³ Blank

¹⁴ Nutrient Broth

¹⁵ Bacterial Growth Inhibition (%)

$$\text{معادله ۱)} \quad \text{BGI}(\%) = \left[1 - \frac{\text{جذب (ب)} - \text{جذب (الف)}}{\text{جذب (د)} - \text{جذب (ج)}} \right] \times 100$$

الف) خانه‌های حاوی سوسپانسیون نانوذرات و باکتری در محیط براث

ب) خانه‌های حاوی فقط سوسپانسیون نانوذرات در محیط براث (بلانک)

ج) خانه‌های حاوی فقط سوسپانسیون باکتریایی (کنترل مثبت)

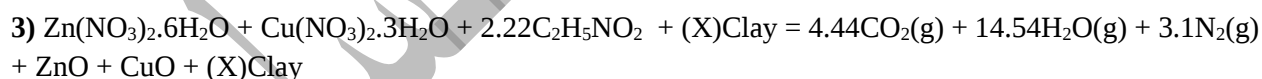
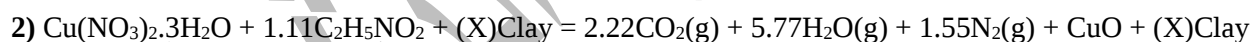
د) خانه‌های حاوی فقط محیط کشت براث (کنترل منفی)

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی واکنش احتراقی

۳-۱-۱- گرمای واکنش و دمای آدیاباتیک

بر اساس نسبت‌های مولی ارائه‌شده در جدول ۲، دو سری و در هر سری، ۳ گروه از نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay سنتز شدند. واکنش‌های اصلی مربوط به سنتز احتراقی هر سری از نانوکامپوزیت‌های طراحی شده و با نسبت‌های استوکیومتری مشخص، به‌صورت زیر است:



در جدول ۳، دماهای آدیاباتیک واکنش‌های سنتز شده به‌طور جداگانه محاسبه شده است. با توجه به مطالعات قبلی، هرچه دمای آدیاباتیک یک سیستم بیشتر باشد، یعنی فرآیند احتراقی با سرعت بیشتری انجام شده و در حالت تئوری چون این دما برای سیستم بی‌دررو محاسبه می‌گردد، پس در حالت تجربی دمای واکنش‌های احتراقی و گرمایی انجام شده، کمتر خواهد بود [۲۹]. به منظور محاسبه دماهای آدیاباتیک هر کدام از فرآیندهای اشاره شده در جدول ۳، از نرم افزار HSC Chemistry 9.0 کمک گرفته شد و اطلاعات ترمودینامیکی هر کدام از واکنش‌دهنده‌ها و محصولات نیز به‌طور جداگانه از این نرم‌افزار و مقالات مرتبط [۲۵، ۳۲-۳۰]، استخراج گردید.

با مقایسه دماهای آدیباتیک محاسبه شده در جدول ۳ و برای تمامی واکنش‌های احتراقی، کاملاً مشخص است که بالاترین دماها مربوط به گروه اول واکنش‌ها با کمترین میزان خاک رس (۲۵٪) می‌باشد. همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد، در حالت تئوری و از آنجایی که این دماها برای یک سیستم آدیباتیک ایده‌آل (بی‌دررو) محاسبه شده‌اند، دماهای واقعی و گرمای آزاد شده در واکنش‌های احتراق تجربی کمتر از این مقادیر خواهد بود و دمای آدیباتیک بالاتر نشان‌دهنده یک فرآیند احتراق سریع‌تر است. با افزایش مقدار خاک رس از ۰/۲۵ به ۰/۵ مول، کاهش قابل توجهی در دمای آدیباتیک رخ می‌دهد. این کاهش دما به دلیل کم شدن گرمایی واکنش، در اثر افزایش مقدار خاک رس تا ۵۰٪ اتفاق افتاده است. علاوه بر این، هنگام مقایسه واکنش‌های تولید اکسید روی با واکنش‌های تولید اکسید مس، واضح است که واکنش‌های اکسید مس درجات بالاتری از گرمایی و دماهای آدیباتیک بالاتری را نشان می‌دهند. در ادامه و با بررسی دیگر آنالیزهای انجام شده، نشان داده خواهد شد که این تفاوت‌های دمایی ایجاد شده به چه میزان بر شکل‌گیری پودرهای نانوکامپوزیتی محصول، مؤثر خواهند بود. در جدول ۳ دماهای آدیباتیک مربوط به تمامی آزمایش‌های طراحی شده که توسط نرم‌افزار HSC Chemistry 9.0 محاسبه شده‌اند، آورده شده است.

جدول ۳. اطلاعات مربوط به واکنش‌های انجام شده و دماهای آدیباتیک حاصل با کمک نرم‌افزار HSC Chemistry 9.0.

آزمایشات طراحی شده	واکنش آزمایش	دمای آدیباتیک (°C)
(سری اول) ۱-۱ (0.75ZnO/0.25Clay)	$0.75\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} + 0.83333\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2 + 0.25\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 = 1.6667\text{CO}_2(\text{g}) + 6.5833\text{H}_2\text{O}(\text{g}) + 1.1667\text{N}_2(\text{g}) + 0.75\text{ZnO} + 0.25\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$	728.7
(سری اول) ۱-۲ (0.375ZnO/0.375CuO/0.25Clay)	$0.375\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} + 0.375\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} + 0.83334\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2 + 0.25\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 = 1.66666\text{CO}_2(\text{g}) + 6.5834\text{H}_2\text{O}(\text{g}) + 1.16668\text{N}_2(\text{g}) + 0.375\text{ZnO} + 0.375\text{CuO} + 0.25\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$	729.9
(سری اول) ۱-۳ (0.75CuO/0.25Clay)	$0.75\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} + 0.83333\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2 + 0.25\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 = 1.6667\text{CO}_2(\text{g}) + 6.5833\text{H}_2\text{O}(\text{g}) + 1.1667\text{N}_2(\text{g}) + 0.75\text{CuO} + 0.25\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$	731.1
(سری دوم) ۲-۱ (0.5ZnO/0.5Clay)	$0.5\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} + 0.55556\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2 + 0.5\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 = 1.1111\text{CO}_2(\text{g}) + 4.3889\text{H}_2\text{O}(\text{g}) + 0.77778\text{N}_2(\text{g}) + 0.5\text{ZnO} + 0.5\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$	558.6
(سری دوم) ۲-۲ (0.25ZnO/0.25CuO/0.5Clay)	$0.25\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} + 0.25\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} + 0.55556\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2 + 0.5\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 = 1.1111\text{CO}_2(\text{g}) + 4.3889\text{H}_2\text{O}(\text{g}) + 0.77786\text{N}_2(\text{g}) + 0.25\text{ZnO} + 0.25\text{CuO} + 0.5\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$	560.5

۳-۱-۲- تاثیر افزایش خاک رس بر معادلات ترمودینامیکی

نکته قابل توجه دیگر مربوط به چگونگی تاثیر افزایش مقادیر خاک رس بر تغییرات ترمودینامیکی واکنش و دمای آدیاباتیک مربوط به هر کدام از واکنش های احتراقی است. در ادامه و با توجه به مطالبی که از دیگر منابع جمع آوری شده به بررسی نقش مهم تعیین متغیرهای ترمودینامیکی موثر در محاسبه دمای آدیاباتیک، پرداخته خواهد شد.

واکنش های احتراقی فرآیندهایی پیچیده هستند و ممکن است شامل مجموعه ای از واکنش های تفکیکی^{۱۶} جداگانه باشند که در زمان های مختلف در طی فرآیند احتراق رخ می دهند که برخی از این مراحل گرماگیر بوده و موجب کاهش دمای نهایی سیستم می شوند [۳۲]. پدیده ی ذکر شده را می توان با معادله ی دمای شعله ی آدیاباتیک و اثر افزودن خاک رس در کاهش آن توضیح داد. دمای شعله ی آدیاباتیک واکنش را می توان از طریق حل (معادله ۲) محاسبه کرد [۳۲]:

$$\Delta H_{\text{combustion}} = \int_{T_0}^{T_{ad}} (\sum n C_p)_{\text{products}} dT \quad (\text{معادله ۲})$$

در این معادله، T_{ad} برابر دمای شعله آدیاباتیک، T_0 دمای اولیه، n تعداد مول های محصول واکنش و C_p مقدار ظرفیت گرمایی محصولات در فشار ثابت است. با توجه به آنتالپی تشکیل و ظرفیت گرمایی، می توان این معادله را برای به دست آوردن دمای شعله ی آدیاباتیک تئوری حل کرد. با این حال، دمای شعله ی تجربی معمولاً کمتر از مقدار تئوری است، زیرا در طی واکنش احتراقی بخشی از گرما از دست می رود. از آن جا که تغییر دما در واکنش های احتراقی بسیار سریع و زیاد می باشد و پیش بینی دقیق محصولات واکنش دشوار است، محاسبه ی دمای شعله به طور دقیق فرآیند آسانی نیست [۳۲، ۳۳]. با حل (معادله ۳) می توان نحوه دستیابی به دمای شعله ی آدیاباتیک را به صورت دقیق تر بیان کرد:

$$T_{ad} = T_0 + \frac{\Delta H^0_{\text{products}} - \Delta H^0_{\text{reactants}}}{(C_p)_{\text{products}}} \quad (\text{معادله ۳})$$

بر اساس این رابطه، سه پارامتر در افزایش دمای شعله آدیاباتیک موثر است:

¹⁶ Dissociation reactions

افزایش آنتالپی تشکیل محصولات ($\Delta H^0 products$)، کاهش آنتالپی تشکیل واکنش دهنده‌ها ($\Delta H^0 reactants$) و کاهش ظرفیت حرارتی محصولات (Cp) [۳۲]. درواقع می‌توان از طریق افزودن موادی که مقدار انرژی گرمایی محصولات را کاهش می‌دهند، آنتالپی تشکیل محصولات را کاهش داده و دمای شعله آدیاباتیک را نهایتاً کمتر کرده و نانوذرات کوچکتری را به‌عنوان محصول به‌دست آورد.

از طرفی دیگر بر اساس داده‌های جدول ۳ مشاهده شده که هنگامی که مقدار خاک رس از ۰/۲۵ تا ۰/۵ مول افزایش می‌یابد، کاهش قابل‌توجهی (حدود $170^\circ C$) در دمای آدیاباتیک تئوری مشاهده می‌شود. این کاهش تولید گرما در اثر افزایش مقدار خاک‌رس به وجود می‌آید و در ابتدای طراحی آزمایش نیز پیش‌بینی شده بود که با کاهش دادن گرمای بالای واکنش، اندازه ذرات کوچکتری حاصل شود که البته در ادامه توضیح داده خواهد شد که عامل نرخ خروج گازهای داغ احتراقی در رقابت با کاهش دمای آدیاباتیک واکنش، منجر به ریزتر شدن ذرات پودری محصول شده است.

نکته‌ی قابل‌توجه دیگر مربوط به تاثیر سوخت انتخابی بر گرمای واکنش و دمای نهایی شعله است. تفاوت در آنتالپی تشکیل سوخت‌های مختلف، یکی از دلایل اصلی عملکرد متفاوت آن‌ها در فرآیند احتراقی است، زیرا هر سوخت مقدار متفاوتی گرما در طی واکنش تولید می‌کند. در پژوهش حاضر، سوخت گلايسين به دليل آنتالپی احتراق یا $\Delta H_{combustion}$ کمتر آن انتخاب شد. بر اساس گزارش Liao و همکارانش [۳۴]، در سنتز پودرهای $Lu_3Al_5O_{12}$ دوپ شده با Tb، استفاده از گلايسين در مقایسه با اوره، آنتالپی احتراقی پایین‌تری ایجاد کرده و در نتیجه منجر به تشکیل ذرات کوچک‌تری در محصول نیز شده بود. علاوه بر این، در حالی که پودرهای تولیدشده با گلايسين دارای اندازه کوچک‌تری بودند، پودرهای حاصل از احتراق با اوره به‌شدت آگلومره (توده‌ای) شده بودند. از این رو می‌توان نتیجه گرفت که گرمای اضافی حاصل از احتراق اوره باعث تسريع فرآیند زینترینگ از طریق افزایش پدیده‌ی نفوذ شده و همین موضوع برتری استفاده از سوخت گلايسين را نشان می‌دهد [۳۴].

۳-۱-۳- تاثیر کاهش دمای آدیاباتیک بر کامل شدن واکنش‌ها

پس از خشک شدن در آون $75^\circ C$ ، نمونه‌های نانوکامپوزیتی سنتز شده جمع‌آوری شدند و بعد از اتمام هر مرحله، وزن پودرهای نانوکامپوزیتی تولید شده اندازه‌گیری گردید. مقادیر مولی و وزنی هرکدام از واکنش‌دهنده‌ها و وزن نهایی محصولات در جدول ۴ ارائه شده‌اند. با توجه به وزن محصولات خشک شده به دست آمده در هر دو گروه، واضح است که مقدار کمتر خاک‌رس در گروه اول، منجر به کاهش وزن محصولات شده است. این کاهش به حجم

بالا تر گازهای آزاد شده در طول احتراق گروه اول نسبت داده می شود که منجر به پراکندگی بیشتر نانوپودرهای محصول تولیدی شده است.

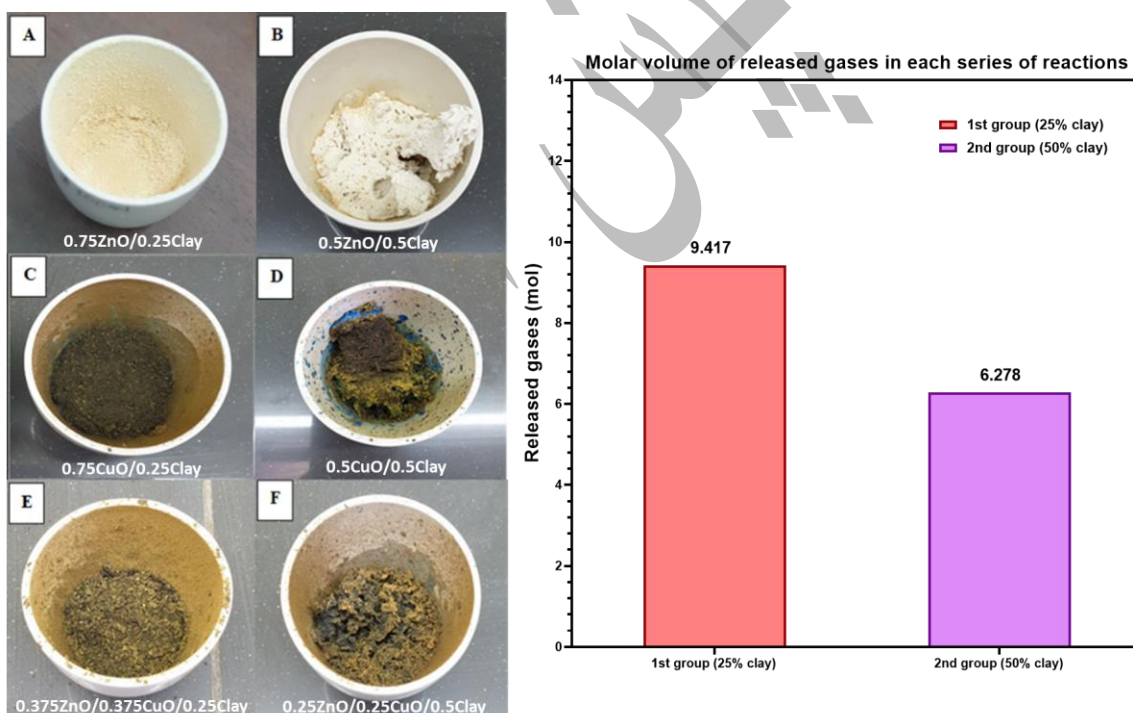
جدول ۴. مشخصات وزنی و مولی واکنش دهنده ها و محصولات در دو سری سنتز شده.

ماده نمونه	مقادیر مولی واکنش دهنده ها (mol)				مقادیر وزنی واکنش دهنده ها (به یک ضریب ثابت تقسیم شده اند) (g)				وزن محصول نانوکامپوزیتی پس از خشک شدن (g)
	نیترات روی هگزهیدرات	نیترات مس تری هیدرات	گلیسین	کائولن	نیترات روی هگزهیدرات	نیترات مس تری هیدرات	گلیسین	کائولن	ZnO/CuO/Clay
(0.75ZnO/0.25Clay)	0.75	0	0.833	0.25	3.187	0	0.893	0.92	1.71
(0.375ZnO/0.375CuO/0.25Clay)	0.375	0.375	0.833	0.25	1.59	1.29	0.893	0.92	1.55
(0.75CuO/0.25Clay)	0	0.75	0.833	0.25	0	2.59	0.893	0.92	1.08
(0.5ZnO/0.5Clay)	0.5	0	0.555	0.5	2.12	0	0.59	1.84	2.10
(0.25ZnO/0.25CuO/0.5Clay)	0.25	0.25	0.555	0.5	1.062	0.86	0.59	1.84	1.97
(0.5CuO/0.5Clay)	0	0.5	0.555	0.5	0	1.73	0.59	1.84	1.92

۳-۱-۴- حجم استوکیومتری گازهای آزاد شده در احتراق

یکی از پارامترهای مهم در واکنش های سنتز احتراقی، حجم گازهای آزاد شده است. درواقع حجم بالاتر گازهای آزاد شده علاوه بر پراکندگی بیشتر نانوذرات تولید شده منجر به افزایش تخلخل و مساحت سطح ویژه محصول نانوکامپوزیتی می شود. علاوه بر این ها، حجم گازهای آزاد شده بر دمای نهایی محصول پس از احتراق نیز تأثیر گذار است، به طوری که افزایش حجم گازهای آزاد شده باعث کاهش سریع تر دمای سیستم می شود و در نتیجه از رشد بیش از حد ذرات و آگلومره شدن آن ها جلوگیری می کند [۳۵]. حجم مولی پیش بینی شده برای گازهای آزاد شده در هر گروه از نانوکامپوزیت های سنتز شده در نمودار شکل ۱ که بر اساس واکنش های درج شده در جدول ۳ محاسبه شده اند، نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود، کاهش درصد خاک رس از ۵۰٪ به ۲۵٪ باعث افزایش حجم گازهای آزاد شده از ۶/۲۷۸ به ۹/۴۱۶ مول در طی فرآیندهای سنتز احتراقی شده است. شکل (A-F) ۱ تصاویر پودرهای متخلخل نانوکامپوزیتی سنتز شده را بلافاصله پس از تکمیل فرآیند احتراق (اتمام شعله و آزادسازی گاز و دود) و قبل از نرم سابی محصول، نشان می دهند.

مقایسه این دو گروه، همان‌طور که در شکل (A-F) ۱ نشان داده شده، بیانگر آن است که حجم بیشتر گازهای آزادشده، به‌ویژه در گروه اول، منجر به تشکیل نانو پودرهای اسفنجی و با تخلخل بیشتری شده است. برای تأیید این موضوع از آنالیز BET نیز کمک گرفته شد که در ادامه نتایج آن آورده شده است. نتایج آنالیز BET نیز این موضوع را تأیید کرد، به‌طوری که افزایش حجم و سرعت آزادسازی گاز در نمونه‌های گروه اول یعنی شکل‌های (A, C, E) ۱، باعث افزایش حجم تخلخل اما کاهش اندازه متوسط حفره‌ها شده است که در ادامه با نتایج BET تأیید می‌شود. در مقابل، در گروه دوم، کاهش حجم و سرعت آزادسازی گازهای داغ احتراقی، موجب افت تدریجی دمای آدیاباتیک احتراق، یعنی در نمونه‌های نشان داده شده در تصاویر (B, D, F) ۱ گردیده که منجر به تشکیل حفرات کمتر اما بزرگ‌تر و در نهایت کاهش حجم کلی تخلخل نمونه‌های گروه دوم با ۵۰٪ خاک‌رس شده است که با یافته‌های Moqaddam و همکارانش [۳۶] برای سنتز احتراقی نمونه‌های $\alpha\text{-MnO}_2$ نیز هم‌خوانی دارد. در مطالعه دیگری Novitskaya و همکارانش [۳۲] نیز اشاره کرده بودند که آزادسازی گرمای واکنش (که دمای احتراق آدیاباتیک را افزایش می‌دهد) و همچنین میزان خروج گازهای داغ احتراقی، دو عامل رقابتی در تعیین ساختار نهایی پودرهای سنتز شده از سنتز احتراقی هستند.



شکل ۱. تصاویر نمودار مقادیر حجم مولی گازهای آزاد شده در هر ۲ سری از واکنش‌ها همراه با تصاویر محصولات سنتز شده بلافاصله پس از اتمام فرآیند احتراق و خروج گازها (A-F).

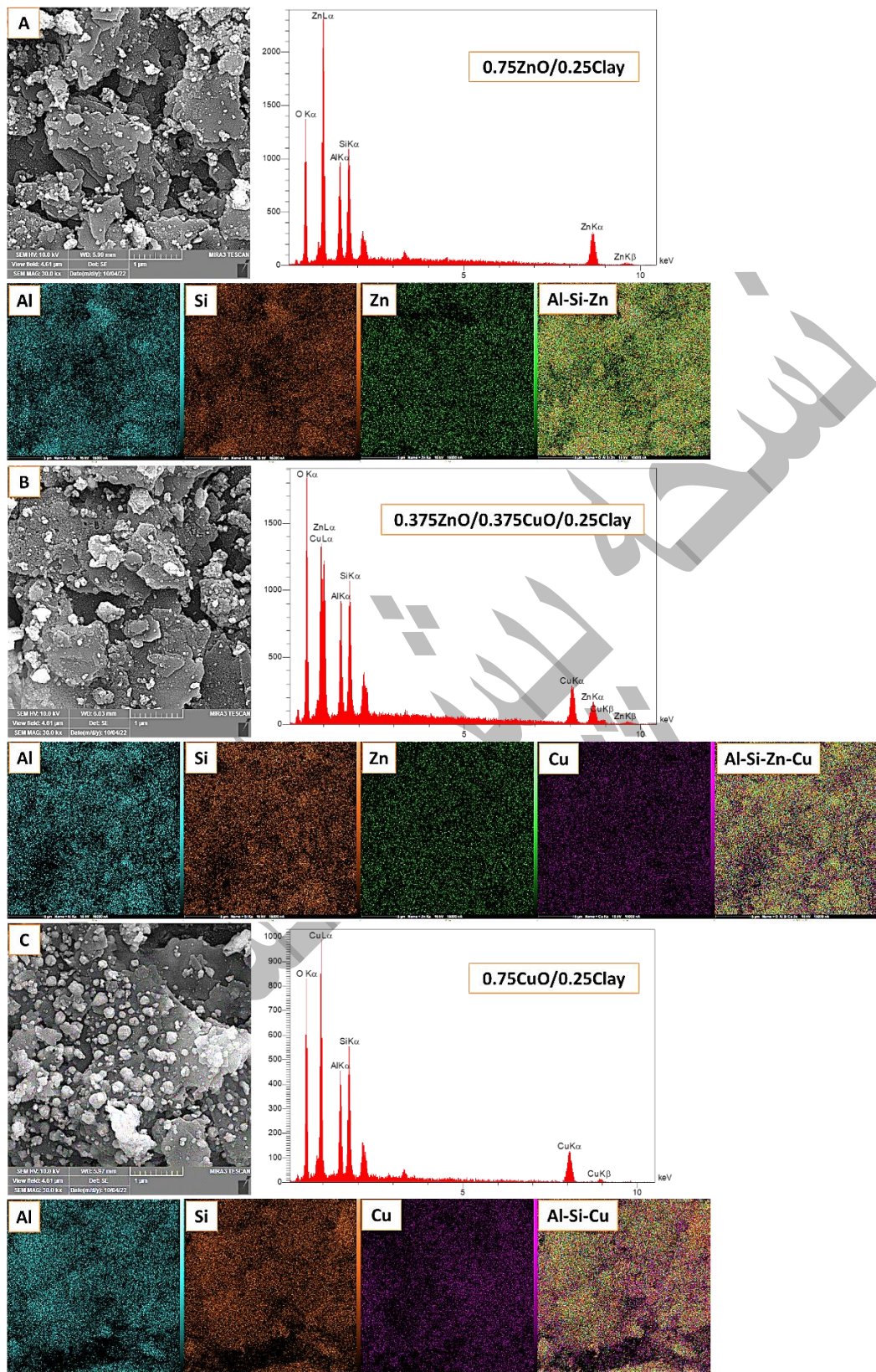
۳-۲- بررسی ساختار فیزیکی نانوکامپوزیت‌ها

۳-۲-۱- بررسی مورفولوژی، ریزساختار و ترکیب شیمیایی با آنالیزهای FE-SEM و EDS-MAP

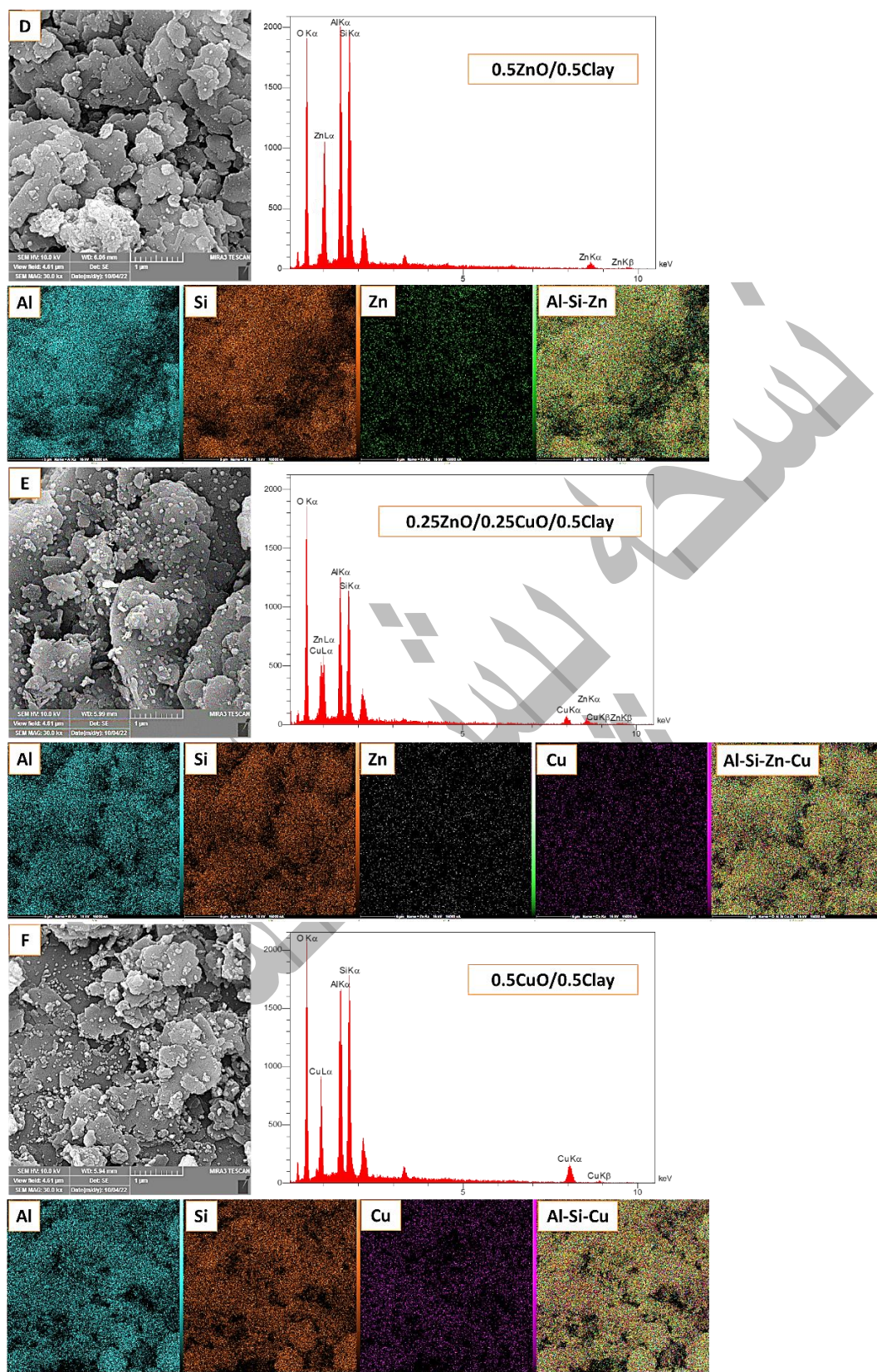
تصاویر میکروسکوپی به دست آمده با تصویربرداری FE-SEM، برای بررسی مورفولوژی نانوکامپوزیت‌های سنتز شده استفاده شد. تصاویر FE-SEM در شکل‌های ۲(A-C) و ۳(D-F) ساختار لایه‌ای مشخص کاتولن را نشان می‌دهند، که در آن نانوذرات کروی اکسید فلزی هم بر روی سطح و هم در فواصل بین لایه‌ای توزیع شده‌اند و در نهایت یک نانوکامپوزیت با پیوند ناهمگون یکپارچه را تشکیل داده‌اند.

ترکیب عنصری تاییدکننده‌ی شکل‌گیری فازهای ZnO و CuO در نانوکامپوزیت‌های سنتز شده بر اساس تصاویر FE-SEM و تحلیل EDS و نگاشت عنصری در تصاویر و نمودارهای شکل‌های ۲(A-C) و ۳(D-F) ارائه شده است. طیف‌های EDS، نقشه‌های توزیع عناصر یا نگاشت عنصری و همچنین میکروگراف‌های FE-SEM حضور عناصر Al، Si، Cu و Zn را تأیید می‌کنند که بیانگر تشکیل موفق ساختارهای با پیوند ناهمگون [۳۷] و با نسبت‌های پیش‌بینی شده برای نانوکامپوزیت‌های ZnO/Clay، ZnO/CuO/Clay و CuO/Clay می‌باشد.

مورفولوژی خاص مربوط به محصول تولیدی در فرآیندهای سنتز احتراقی در محلول، به مکانیسم شکل‌گیری ساختار نیز وابسته است. میزان گازهای آزاد شده یکی از پارامترهای تاثیرگذار بر اندازه و ترکیب فازی محصول نهایی می‌باشد. درواقع رهاسازی میزان زیادی محتوای گازی می‌تواند ذرات ریزتری را ایجاد کند که به دلیل سرعت سرد کردن سریع‌تر محصول جامد و جداسازی اجباری ذرات ازهم بوده که نهایتاً از زینتر شدن ذرات و درشت‌تر شدن آن‌ها جلوگیری خواهد کرد [۳۸].



شکل ۲. ارائه تصاویر FE-SEM، نتایج EDS و نگاشت عنصری مربوط به نانوکامپوزیت‌های گروه اول با ۲۵٪ خاک رس.



شکل ۳. ارائه تصاویر FE-SEM، نتایج EDS و نگاشت عنصری مربوط به نانوکامپوزیت‌های گروه دوم با ۵٪ خاک رس.

۳-۲-۲- بررسی پارامترهای حاصل از آنالیز BET

از آنجا که در این پژوهش از روش سنتز احتراقی در محلول بهره گرفته شد، انتظار می‌رفت که حجم بیشتر گازهای آزادشده منجر به ایجاد تخلخل بالاتر در نانوکامپوزیت‌ها شود، روندی که نتایج حاصل از آنالیز BET نیز آن را تأیید کرد. آنالیز BET به‌منظور مقایسه میزان تخلخل نانوکامپوزیت‌های سنتز شده در هر دو گروه انجام شد. حجم تجمعی حفرات حاصل از جذب BJH^{۱۷} برای گروه اول (۰/۲۵ مول رس) به‌ترتیب برابر با ۰/۱۲۷، ۰/۱۳۱ و ۰/۱۶۰ سانتی‌متر مکعب بر گرم برای نانوکامپوزیت‌های 0.75ZnO/0.25Clay، 0.375ZnO/0.375CuO/0.25Clay و 0.75CuO/0.25Clay بود، در حالی که مقادیر متناظر برای گروه دوم (۰/۵ مول رس) به‌ترتیب ۰/۱۰۲، ۰/۱۱۳ و ۰/۱۲۰ سانتی‌متر مکعب بر گرم برای نانوکامپوزیت‌های 0.5ZnO/0.5Clay، 0.25ZnO/0.25CuO/0.5Clay و 0.5CuO/0.5Clay به‌دست آمد.

مقایسه این دو گروه، همان‌گونه که در تصاویر شکل (A-F) نشان داده شده بود، بیانگر آن است که حجم بیشتر گازهای آزادشده، به‌ویژه در گروه اول، تشکیل نانوپودرهایی با ساختار اسفنجی‌تر و تخلخل بالاتر را تسهیل کرده است. نتایج آنالیز BET تأیید می‌کند که حجم بیشتر گاز و نرخ آزادسازی سریع‌تر آن در نمونه‌های گروه اول منجر به افزایش حجم تجمعی حفرات شده، هرچند اندازه حفرات کوچک‌تر بوده است. در مقابل، حجم کمتر گاز و نرخ آزادسازی آهسته‌تر در گروه دوم باعث کاهش تدریجی دمای احتراقی آدیاباتیک، به‌ویژه در نمونه‌های نشان‌داده‌شده در شکل‌های (B, D, F) شده که این امر به تشکیل تعداد کمتری حفره با اندازه بزرگ‌تر و در نتیجه کاهش حجم کلی تخلخل انجامیده است.

نتایج آنالیز BET در جدول ۵ خلاصه شده‌اند. قطر متوسط حفرات نانوکامپوزیت‌های سنتز شده (۳-۵ نانومتر) بود که این بازه ماهیت تخلخل‌های مزو^{۱۸} آن‌ها را تأیید می‌کند. علاوه بر این، سطح ویژه تمامی نمونه‌های سنتز شده به روش احتراقی در محلول از سطح ویژه کائولن خام بیشتر بود که نشان می‌دهد فرآیند سنتز و افزودن نانوذرات ZnO و CuO به‌طور مؤثری سطوح قابل دسترس را افزایش داده است. این بهبود ناشی از کاهش اندازه ذرات، افزایش تخلخل، پراکندگی یکنواخت نانوذرات اکسیدی و لایه‌لایه شدن جزئی^{۱۹} کائولن بوده است که در مجموع ماهیت تخلخل‌های مزو بالاتری را ایجاد کرده است. این ویژگی‌ها، همراه با ساختار متخلخل و سطح ویژه بالای

¹⁷ Barrett-Joyner-Halenda

¹⁸ Mesopore

¹⁹ partial exfoliation

نانوکامپوزیت‌ها، به‌ویژه در نمونه‌های حاوی ۰/۲۵ مول رس، آن‌ها را به گزینه‌های امیدوارکننده‌ای برای کاربردهای دارورسانی و حوزه‌های پزشکی تبدیل می‌کند [۳۹].

علاوه بر این، مقایسه نتایج BET ارائه شده در جدول ۵ نشان می‌دهد که نانوکامپوزیت‌های سنتز شده سطح ویژه بسیار بالاتری نسبت به نانوکامپوزیت CuO/kaolin تولید شده به روش رسوب‌دهی تر را دارا هستند [۴۰]. نتایج BET حاصل از این مطالعه که توسط Asmare و همکارانش [۴۰] انجام شده بود، نشان می‌دهد که افزودن CuO به کائولن منجر به تولید حجم حفرات بالایی و به میزان $0.198 \text{ cm}^3/\text{g}$ شده ولی میزان سطح ویژه BET حاصل برای این کامپوزیت مقدار $46/8 \text{ m}^2/\text{g}$ بوده که به نسبت مقادیر بدست آمده برای نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay سنتز شده در پژوهش حاضر مقدار بسیار کمتری می‌باشد.

لازم به ذکر است که تعیین دقیق اندازه کریستالیت و شناسایی فازهای تشکیل شده از طریق داده‌های XRD امکان‌پذیر است، در حالی که اندازه ذرات گزارش شده بر اساس آنالیز BET به صورت غیرمستقیم محاسبه شده‌اند.

جدول ۵. پارامترهای ساختاری و مرتبط با تخلخل نمونه‌های نانوکامپوزیتی ZnO/CuO/Clay

مرجع	قطر متوسط حفره جذب ^{۲۰} (nm)	حجم حفره تجمعی جذب ^{۲۱} BJH (cm^3/g)	مساحت سطح (m^2/g)	اندازه ذره (nm)	نمونه
پژوهش حاضر	3.1	0.127	164.8	45.5	0.75ZnO/0.25Clay
	4.2	0.131	122.3	61.3	0.375ZnO/0.375CuO/0.25Clay
	4.2	0.160	109.4	68.6	0.75CuO/0.25Clay
	4.7	0.102	107.7	69.7	0.5ZnO/0.5Clay
	5.0	0.113	114.1	65.8	0.25ZnO/0.25CuO/0.5Clay
	4.9	0.120	105.9	70.8	0.5CuO/0.5Clay
[40]	4.76	0.198	46.8		CuO/Kaolin

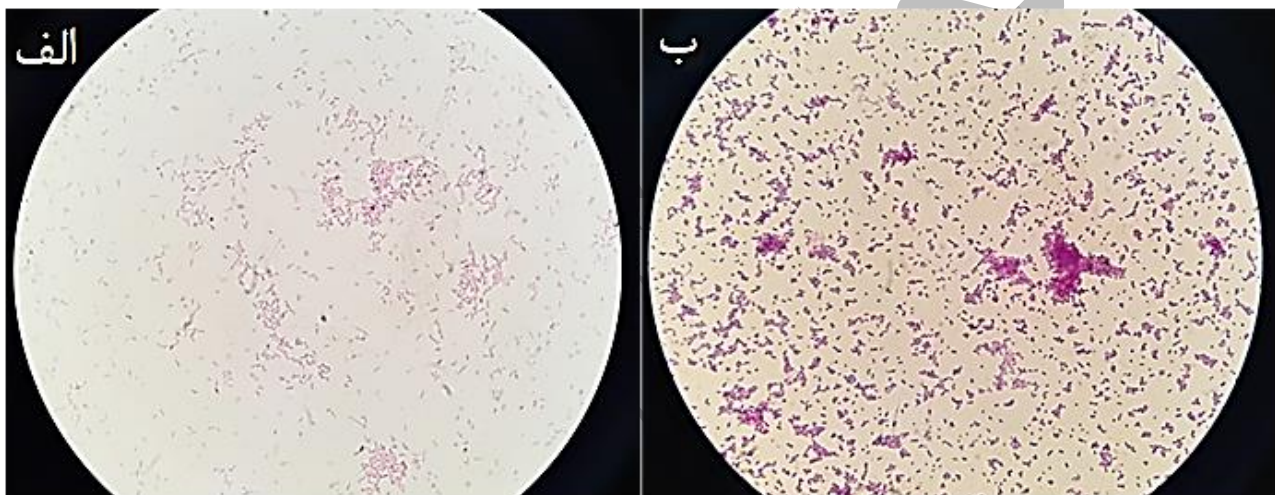
²⁰ Adsorption average pore diameter

²¹ BJH adsorption cumulative pore volume

۳-۳- نتایج آزمون ضدباکتریایی به روش تهیه سری رقت در ظرف کشت ۹۶ تایی

برای شروع، هر باکتری به مدت ۲۴ ساعت در یک محیط مغذی کشت داده شد. فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات سنتز شده از طریق رقیق سازی سریالی در ظروف کشت ۹۶ خانه، مطابق با دستورالعمل های موسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI) ارزیابی گردید.

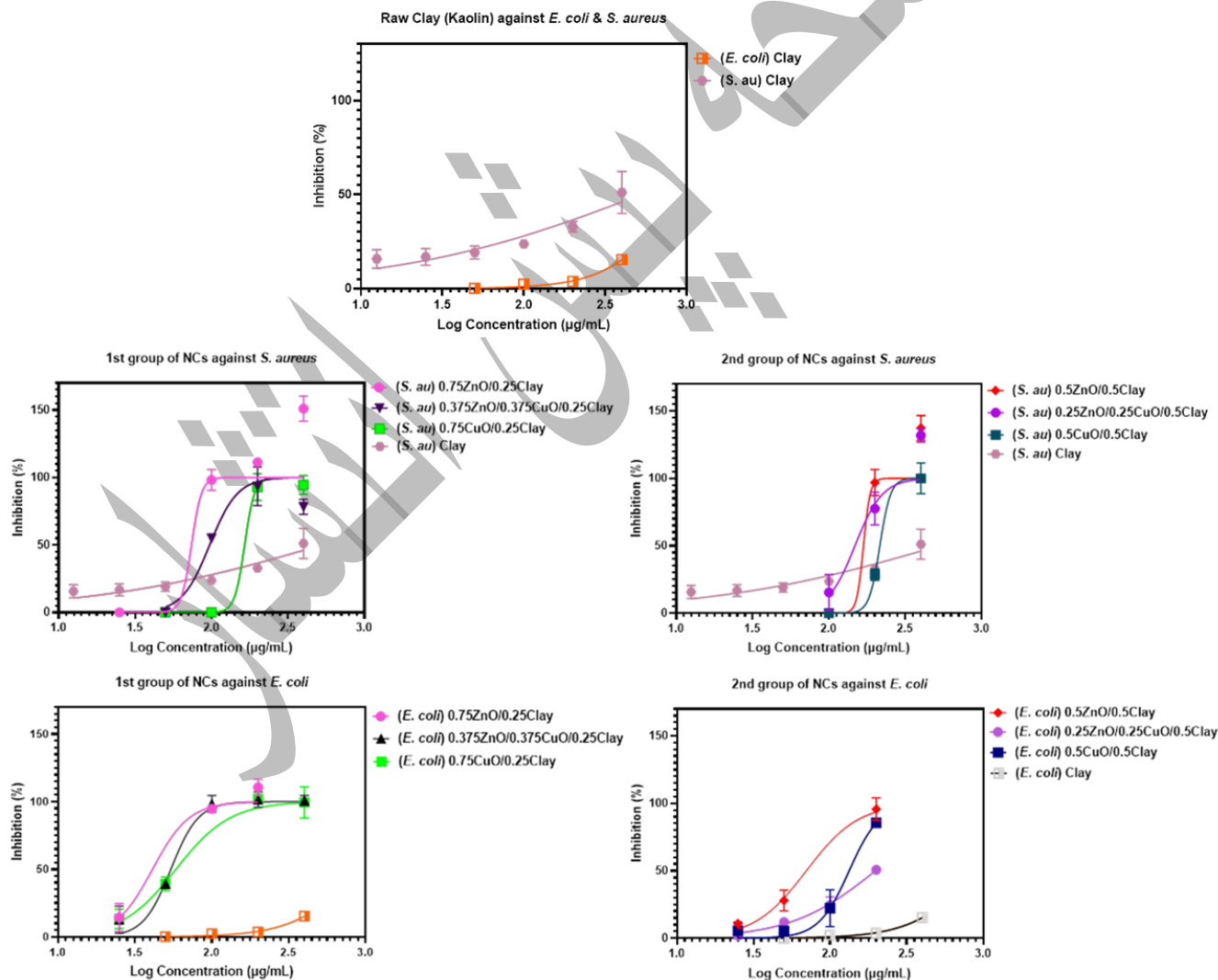
بعد از اطمینان پیدا کردن از خلوص هر کدام از باکتری ها، می توان آن ها را به صورت جداگانه به مدت ۲۴ ساعت کشت داد. پس از اتمام مرحله کشت سلول های باکتریایی باید به اندازه استاندارد نیم مک فارلند که معادل 1.5×10^8 CFU/mL باکتری است، رقیق شوند و بعد از رقیق سازی در آزمون بررسی خواص ضدباکتریایی از طریق روش رقیق سازی براث در ظروف کشت ۹۶ خانه، استفاده شدند.



شکل ۳. تصاویر گرفته شده توسط میکروسکوپ نوری در بزرگنمایی ۴۰۰ از باکتری های الف (*E. coli* و ب) *S. aureus* پس از بررسی خلوص و به منظور استفاده در آزمون بررسی خواص ضدباکتریایی.

در ادامه، شکل ۴، نمودارهای درصد مهار باکتری های *E. coli* و *S. aureus* را برای هر ۶ نمونه نانوکامپوزیتی تولید شده در دو سری متفاوت از غلظت خاک رس (۰/۵ و ۰/۲۵) در مقایسه با رفتار مهاری خاک رس را نشان می دهند. همچنین این نمودارها به مقایسه نمودارهای مربوط به درصد مهار خاک رس به تنهایی در برابر رشد باکتری های *E. coli* و *S. aureus* پرداخته است. درصد مهار در این نمونه ها با کمک معادله ۱ که در بخش ۳-۳-۲ اشاره شد، محاسبه شده است. این داده ها نشان می دهند که خاک رس خام نسبت به نانوکامپوزیت های ZnO/CuO/Clay فعالیت ضدباکتریایی ضعیف تری را در برابر عوامل باکتریایی *E. coli* و *S. aureus* از خود نشان می دهد. در مقابل، نانوکامپوزیت های ZnO/CuO/Clay که از طریق سنتز احتراقی در محلول تولید شده اند، اثرات ضدباکتریایی قابل

توجهی را از خود نشان دادند. با دقت بیشتر در مقایسه نمودارهای درصد مهار برحسب لگاریتم غلظت نانوذرات سنتز شده برای هردو باکتری *E. coli* و *S. aureus* نمونه های $0.75\text{ZnO}/0.25\text{Clay}$ و $0.75\text{CuO}/0.25\text{Clay}$ بالاترین درصدهای مهار را داشته‌اند و پس از آن‌ها بالاترین مقدار بازدارندگی مربوط به نمونه $0.5\text{ZnO}/0.5\text{Clay}$ می‌باشد. به طور کلی، نمونه‌های نانوکامپوزیتی گروه اول (با مقدار مولی خاک رس ۰/۲۵) حتی در غلظت‌های پایین‌تر هم توانستند عملکرد خوبی در مهار رشد هر دو نوع باکتری را از خود نشان دهند که با توجه به نتایج BET می‌توان این‌گونه بیان کرد که به دلیل اندازه ذرات ریزتر، سطح ویژه بالاتر و تخلخل بیشتر این نمونه‌ها بوده که فعالیت ضدباکتریایی بهتری را نشان داده‌اند.



شکل ۴. مقایسه نمودارهای درصد مهار برحسب لگاریتم غلظت نانوذرات برای هر دو سری اول و دوم نانوکامپوزیت‌های سنتز شده به‌علاوه کائولن خالص بر درصد مهار رشد باکتری *E. coli* و *S. aureus*

Reyes-Torres و همکارانش [۴۱] که نانوذرات ZnO و CuO را با روش سنتز سبز تولید کرده بودند، برای مقایسه تفاوت خواص ضدباکتریایی این نانوذرات این‌گونه ذکر کردند که اندازه‌ی نانوذرات می‌تواند بر میزان کارایی ضدباکتریایی آن‌ها تاثیرگذار باشد به گونه‌ای که نانوذرات کوچکتر به طور کلی خواص ضد میکروبی بهتری از خود نشان می‌دهند، هرچند که در مطالعه‌شان به این نکته نیز اشاره کردند که تجمع و توده‌ای شدن نانوذرات در محیط‌های مغذی (مثل محیط کشت باکتری) ممکن است اتفاق بیفتد که منجر به افزایش اندازه نانوذرات و کاهش کارایی ضدباکتریایی آن‌ها می‌شود [۴۱]. در واقع به‌نظر می‌رسد که نانوذرات کوچکتر به دلیل تعامل سطحی بیشتر و توانایی نفوذ آسان‌تر به درون غشای سلول‌های باکتریایی، مؤثرتر عمل می‌کنند [۴۲]. با توجه به این نکات و اندازه ذرات ریز فازهای تشکیل‌دهنده نانوکامپوزیت‌های سنتز شده در پژوهش حاضر (۷۰-۴۵ nm)، که در بخش قبل اشاره شده بود، می‌توان به یکی از دلایل مهم تاثیرگذار بر خواص ضدباکتریایی این نانوکامپوزیت‌ها اشاره کرد. یکی از نکات قابل توجه در نتایج بدست آمده از بررسی خواص ضدباکتریایی نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay سنتز شده در پژوهش حاضر، مربوط به عملکرد ضدباکتریایی بهتر نمونه‌های سری اول با (۰/۲۵ مول خاکرس) بود که نشان می‌داد احتمالاً ایجاد توده‌ای شدن در نانوذرات درشت‌تر سری دوم، منجر به کاهش مساحت سطحی لازم برای برهم‌کنش بین سلول‌های باکتریایی با نانوذرات کامپوزیتی شده و در نتیجه بیواکتیویته لازم بین نانوذرات و باکتری را کاهش داده است [۴۳، ۴۴] و این افزایش توده‌ای شدن باعث کاهش عملکرد ضدباکتریایی نمونه‌های سری دوم به نسبت سری اول، شده است.

نهایتاً نمونه 0.75ZnO/0.25Clay بالاترین بازده ضدباکتریایی را در برابر هر دو سویه باکتری از خود نشان داد. این کارایی بالا را می‌توان به سطح ویژه بسیار زیاد ($164/8 \text{ m}^2/\text{g}$) و اندازه ذرات ریزتر آن (۴۵ nm) نسبت داد که احتمال تماس میان مکان‌های فعال و سلول‌های باکتریایی را افزایش داده و در نهایت موجب مرگ سلولی می‌شود [۴۵].

۳-۴- بررسی مکانیسم عملکرد ضدباکتریایی نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay

بر اساس تحلیل‌های مکانیزمی، عملکرد ضدباکتریایی نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay ناشی از هم‌زمانی چند مسیر فیزیکی و شیمیایی هم‌افزا است. تماس مستقیم نانوکامپوزیت با غشای باکتریایی منجر به نفوذ نانوذرات

ZnO و CuO و همچنین نانورقه‌های خاک‌رس به درون ساختار غشا شده و با ایجاد پارگی‌های مکانیکی، تشکیل حفره و فروپاشی یکپارچگی دیواره سلولی، نشت محتویات سیتوپلاسمی و مرگ سلولی را رقم می‌زند. نانورقه‌های لایه‌ای خاک‌رس با عملکردی شبیه تیغه‌های فیزیکی، تخریب مکانیکی غشا را تشدید کرده و هم‌زمان، حضور نانوذرات اکسیدی در میان این لایه‌ها موجب افزایش برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی با سطح منفی غشای باکتری می‌شود. علاوه بر این، تولید گونه‌های فعال اکسیژنی (ROS) توسط ZnO و CuO باعث القای تنش اکسیداتیو شدید و آسیب به DNA، پروتئین‌ها و لیپیدهای غشایی شده [۴۶، ۴۷]، در حالی که رهایش یون‌های Zn^{2+} و به‌ویژه Cu^{2+} با اختلال در فعالیت‌های آنزیمی و متابولیسم سلولی، نقش مؤثری در تخریب شیمیایی غشا ایفا می‌کند [۴۸، ۴۹]. این اثرات در نمونه‌های دارای ۲۵٪ خاک‌رس به دلیل اندازه ذرات کوچکتر، سطح ویژه بالاتر، پراکندگی مناسب‌تر و تجمع کمتر، تقویت شده و در نهایت منجر به نابودی سریع‌تر و گسترده‌تر باکتری‌های گرم‌منفی و گرم‌مثبت، به‌ویژه در مراحل فعال تقسیم سلولی، می‌شود.

۴- نتیجه‌گیری

در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد که نانوکامپوزیت‌های سه‌جزئی ZnO/CuO/Clay سنتز شده به روش احتراقی در محلول، به‌واسطه‌ی طراحی ساختاری هدفمند و ایجاد برهم‌کنش هم‌افزایی میان فازهای اکسیدفلزی و زمینه‌ی کائولن، از عملکرد زیستی بسیار مطلوبی برخوردار هستند. حضور خاک‌رس کائولن نقش کلیدی در کنترل دمای احتراق، مهار رشد نانوذرات، کاهش تجمع نانوذرات، افزایش سطح ویژه و ایجاد ساختارهای مزوحفره‌ای پایدار ایفا کرد که این عوامل به‌طور مستقیم موجب بهبود فعالیت ضدباکتریایی شدند. توزیع یکنواخت نانوذرات ZnO و CuO بر سطح و میان‌لایه‌های کائولن، مساحت سطح بالا و تخلخل مناسب، به‌ویژه در نمونه‌های حاوی ۲۵٪ خاک‌رس، منجر به افزایش تماس مؤثر با باکتری‌ها، تسهیل تولید گونه‌های فعال اکسیژنی و رهایش یون‌های فلزی گردید و در نهایت تخریب غشای سلولی و مرگ باکتری‌های *E. coli* و *S. aureus* را حتی در غلظت‌های پایین رقم زد. در مقابل، افزایش بیش از حد خاک‌رس سبب تشدید تجمع و کاهش دسترسی زیستی شد. بر این اساس، می‌توان نتیجه گرفت که نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay با ترکیب بهینه و درصد کنترل‌شده‌ی خاک‌رس، به‌عنوان سامانه‌هایی چندمنظوره و کارآمد، پتانسیل بالایی برای توسعه‌ی مواد ضدباکتریایی نوین و کاربردهای زیست‌پزشکی در مواجهه با چالش روبه‌رشد مقاومت دارویی دارند.

- .1 Ashajyothi, C., et al., *Antibiofilm activity of biogenic copper and zinc oxide nanoparticles-antimicrobials collegiate against multiple drug resistant bacteria: a nanoscale approach*. Journal of Nanostructure in Chemistry, 2016. **6**(4): p. 329-341.
- .2 Mahamuni-Badiger, P.P., et al., *Biofilm formation to inhibition: Role of zinc oxide-based nanoparticles*. Materials Science and Engineering: C, 2020. **108**: p. 110319.
- .3 Negrescu, A.M., et al., *Metal oxide nanoparticles: review of synthesis, characterization and biological effects*. Journal of Functional Biomaterials, 2022. **13**(4): p. 274.
- .4 Adeniji, O.O., M.O. Ojemaye, and A.I. Okoh, *Antibacterial activity of metallic nanoparticles against multidrug-resistant pathogens isolated from environmental samples: nanoparticles/antibiotic combination therapy and cytotoxicity study*. ACS Applied Bio Materials, 2022. **5**(10): p. 4814-4826.
- .5 Stankic, S., et al., *Pure and multi metal oxide nanoparticles: synthesis, antibacterial and cytotoxic properties*. Journal of nanobiotechnology, 2016. **14**(1): p. 1-20.
- .6 Esfandiari, N., S. Khosrovan, and M. Mirjalili, *A study on disinfection and adhesion behaviour between bacteria and photocatalytic nanostructures by extended DLVO*. Environmental Technology, 2024. **45**(28): p. 6106-6120.
- .7 Kumar, R., K. Kumar, and N. Thakur, *Biosynthesis of CuO/Cu₂O-ZnO nanocomposites via Commelina benghalensis leaf extract and their antibacterial, photocatalytic and antioxidant assessment*. Inorganic Chemistry Communications, 2023. **157**: p. 111400.
- .8 Karrari, S., H. Mohammadzadeh, and R. Jafari, *Characterization of ZnO-CuO and ZnO-CuO-NiO nanocomposites prepared by co-precipitation and antibacterial properties*. Applied Physics A, 2025. **131**(2): p. 147.
- .9 Aziz, S.N., et al., *Synthesis, characterization, and evaluation of antibacterial and antifungal activities of CuO-ZnO-Co₃O₄ nanocomposites*. Heliyon, 2024. **10**(18)
- .10 Kumar, R., et al., *Multifunctional properties of microwave assisted CuO/Cu₂O-ZnO mixed metal oxide nanocomposites*. Journal of Materials Science: Materials in Electronics, 2023. **34**(16): p. 1255.
- .11 Ali, A.A., E.A. El Fadaly, and N.M. Deraz, *Auto-combustion fabrication, structural, morphological and photocatalytic activity of CuO/ZnO/MgO nanocomposites*. Materials Chemistry and Physics, 2021 :270 .p. 124762.
- .12 Sharma, S., et al., *Eco-friendly Ocimum tenuiflorum green route synthesis of CuO nanoparticles: Characterizations on photocatalytic and antibacterial activities*. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2021. **9**(4): p. 105395.
- .13 Nguyen, T.T.T., et al., *Green synthesis of CuO, ZnO and CuO/ZnO nanoparticles using Annona glabra leaf extract for antioxidant, antibacterial and photocatalytic activities*. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2023. **11**(5): p. 111003.
- .14 Sana ,S.S., et al., *Crotalaria verrucosa leaf extract mediated synthesis of zinc oxide nanoparticles: Assessment of antimicrobial and anticancer activity*. Molecules, 2020. **25**(21): p. 4896.
- .15 Kaur, R., et al., *In situ approach to fabricate heterojunction p-n CuO-ZnO nanostructures for efficient photocatalytic reactions*. New Journal of Chemistry, 2020. **44**(45): p. 19742-19752.
- .16 Kerayu, B.A., et al., *The Effect of CuO Nanoparticle Variation on the Green Synthesized ZnO/CuO Nanocomposites for Antibacterial Activities*. East African Journal of Biophysical and Computational Sciences, 2025. **6**(1): p. 33-45.
- .17 Zyoud, A.H., et al., *Kaolin-supported ZnO nanoparticle catalysts in self-sensitized tetracycline photodegradation: zero-point charge and pH effects*. Applied Clay Science, 2019. **182**: p. 105294.
- .18 KABADAYI, O., E. ALTINTIG, and G. BALLAI, *Zeolite supported zinc oxide nanoparticles composite: Synthesis, characterization, and photocatalytic activity for methylene blue dye degradation*. Desalination and Water Treatment, 2024: p. 100433.

- .19 Ahmed, I. and U. Javed, *Innovative PVA-kaolin-thyme composite: synthesis, hemostatic efficiency, and antimicrobial properties*. Polymer Bulletin, 2025: p. 1-20.
- .20 Qu, M., et al., *Kaolinite-mediated synthesis of ultra-small silver nanoparticles with high antimicrobial activity*. Chemical Communications, 2024. **60**(54): p. 6917-6920.
- .21 Xing, H., et al., *Superabsorbent Composites Based on Layered Clays and Mica: Synthesis, Performance Modulation and Future Challenges*. Materials Today Sustainability, 2025: p. 101178.
- .22 Segneanu, A.-E., et al., *Design and Evaluation of a Zingiber officinale–Kaolinite–Maltodextrin Delivery System: Antioxidant, Antimicrobial, and Cytotoxic Activity Assessment*. Pharmaceutics, 2025. **17**(6): p. 751.
- .23 de Oliveira, C.R.S., et al., *Antimicrobial effect of cotton fabric functionalized with a kaolinite-titania nano-hybrid composite*. Materials Chemistry and Physics, 2023. **295**: p. 127078.
- .24 Vasei, H.V., et al., *Solution combustion synthesis of ZnO powders using various surfactants as fuel*. Journal of Sol-Gel Science and Technology, 2019. **89**(2): p. 586-593.
- .25 Siddique, F., et al., *Solution combustion synthesis: the relevant metrics for producing advanced and nanostructured photocatalysts*. Nanoscale, 202 : (33)14 .2p. 11806-11868.
- .26 Yin, Z., et al., *A review on the synthesis of metal oxide nanomaterials by microwave induced solution combustion*. RSC advances, 2023. **13**(5): p. 3265-3277.
- .27 Khosrovan, S., et al., *Synergistic Mechanisms Underlying Optical ,Antimicrobial, Anticancer, and Antioxidant Activities of Multifunctional Bioactive ZnO/CuO/Clay Nanocomposites*. ACS Applied Bio Materials, 2025.
- .28 Khyrun, S.F., et al., *Novel solution combustion synthesis of CeO₂/CuO nanocomposite for photocatalytic and biological applications*. Optical Materials, 2023. **139**: p. 113756.
- .29 Carlos, E., et al., *Solution combustion synthesis: towards a sustainable approach for metal oxides*. Chemistry—A European Journal, 2020. **26**(42): p. 9099-9125.
- .30 Barin, I., O. Knacke ,and O. Kubaschewski, *Thermochemical properties of inorganic substances: supplement*. 2013: Springer Science & Business Media.
- .31 Mukasyan, A.S., P. Epstein, and P. Dinka, *Solution combustion synthesis of nanomaterials*. Proceedings of the combustion institute, 2007. **31**(2): p. 1789-1795.
- .32 Novitskaya, E., et al., *A review of solution combustion synthesis: an analysis of parameters controlling powder characteristics*. International Materials Reviews, 2021. **66**(3): p. 188-214.
- .33 Purohit, R., et al., *Ultrafine ceria powders via glycine-nitrate combustion*. Materials Research Bulletin, 2001. **36**(15): p. 2711-2721.
- .34 Liao, Y., et al., *Fabrication, structural, and spectroscopic investigation of Tb-doped Lu₃Al₅O₁₂ phosphor*. Journal of materials research, 2005 : (11)20 .p. 2934-2939.
- .35 Kosenko, A. and G. Emel'Chenko, *Equilibrium phase relationships in the system Cu-O under high oxygen pressure*. Journal of phase equilibria, 2001. **22**(1): p. 12-19.
- .36 Moqaddam, M.M., et al., *A new approach in the one-step synthesis of α -MnO₂ via a modified solution combustion procedure*. Nanoscale Advances, 2022. **4**(18): p. 3909-3918.
- .37 Uma, B., et al., *Controlled synthesis of (CuO-Cu₂O) Cu/ZnO multi oxide nanocomposites by facile combustion route: A potential photocatalytic, antimicrobial and anticancer activity*. Ceramics International, 2021. **47**(10): p. 14829-14844.
- .38 Varma, A., et al., *Solution combustion synthesis of nanoscale materials*. Chemical reviews, 2016. **116**(23): p. 14493-14586.
- .39 Wawrzyńczak, A., et al., *Synthesis and characterization of hierarchical zeolites modified with polysaccharides and its potential role as a platform for drug delivery*. Pharmaceutics, 2023. **15**(2): p. 535.

- .40 Asmare, Z.G., B.A. Aragaw, and M. Atlabachew, *Facile Synthesis of Natural Kaolin-Based CuO Catalyst: An Efficient Heterogeneous Catalyst for the Catalytic Reduction of 4-Nitrophenol*. ACS omega, 2024. **9**(49): p. 48014-48031.
- .41 Reyes-Torres, M.A., et al., *Synthesis of CuO and ZnO nanoparticles by a novel green route: antimicrobial activity, cytotoxic effects and their synergism with ampicillin*. Ceramics International, 2019. **45**(18): p. 24461-24468.
- .42 Hoseinzadeh, E., et al., *A review on nano-antimicrobials: metal nanoparticles, methods and mechanisms*. Current drug metabolism, 2017. **18**:(2)p. 120-128.
- .43 Li, R., et al., *Biosynthesis of silver oxide nanoparticles and their photocatalytic and antimicrobial activity evaluation for wound healing applications in nursing care*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2019. **199** :p. 111593.
- .44 Verma, N. and N. Kumar, *Synthesis and biomedical applications of copper oxide nanoparticles: an expanding horizon*. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2019. **5**(3): p. 1170-1188.
- .45 Pan, Y., et al., *Montmorillonite nanosheets with enhanced photodynamic performance for synergistic bacterial ablation*. Journal of Materials Chemistry B, 2021. **9**(2): p. 404-409.
- .46 Sirelkhatim, A., et al., *Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism*. Nano-micro letters :7 .2015 ,p. 219-242.
- .47 Grigore, M.E., et al., *Methods of synthesis, properties and biomedical applications of CuO nanoparticles*. Pharmaceuticals, 2016. **9**(4): p. 75.
- .48 Li, M., L. Zhu, and D. Lin, *Toxicity of ZnO nanoparticles to Escherichia coli: mechanism and the influence of medium components*. Environmental science & technology, 2011. **45**(5): p. 1977-1983.
- .49 Applerot, G., et al., *ZnO nanoparticle-coated surfaces inhibit bacterial biofilm formation and increase antibiotic susceptibility*. Rsc Advances :(6)2 .2012 ,p. 2314-2321.