Journal of Metallurgical and Materials Engineering, 37, 3. 2026. (1-22)

Ferdowsi University of Mashhad

Journal of Metallurgical and Materials Engineering

https://jmme.um.ac.ir

Iron&Steel Society of Iran

Solution Combustion Synthesis of Metal Oxide/Clay Nanocomposites and Investigation of Their Structural and Antibacterial Properties

Research Article

Setareh Khosrovan [1], Jalil Vahdati Khaki [2], Mostafa Mirjalili [3], Maryam Moghaddam Matin [4], Naeemeh Esfandiari [5]

10.22067/jmme.2026.97256.1232

Abstract

The increasing prevalence of bacterial infections and antimicrobial resistance highlights the need for effective and environmentally friendly antibacterial materials. In this study, ternary ZnO/CuO/Clay nanocomposites were synthesized via solution combustion synthesis using glycine as a green fuel. The effects of phase composition and clay content on structural properties and antibacterial performance were investigated. Thermodynamic analysis indicated that kaolin reduced the adiabatic reaction temperature, limiting particle growth and promoting the formation of finer, more porous structures. FE-SEM and EDS mapping confirmed the distribution of spherical ZnO and CuO nanoparticles on the kaolin surface and within its interlayers. BET analysis revealed mesopores of 3–5 nm and increased specific surface area, particularly in samples containing 25 wt% clay. Antibacterial evaluations against Gram-negative Escherichia coli and Gram-positive Staphylococcus aureus demonstrated superior activity in nanocomposites containing 25 wt% clay and higher ZnO/CuO proportions, achieving up to 100% bacterial growth inhibition at relatively low concentrations. The proposed antibacterial mechanisms included cell membrane disruption, reactive oxygen species generation, and metal ion release. Overall, these findings highlight the potential of solution-combustion-synthesized ZnO/CuO/Clay nanocomposites as multifunctional, environmentally friendly materials for biomedical and antibacterial applications.

Keywords: Nanocomposite, Solution combustion synthesis, Kaolin, Metal oxide, Antibacterial

1- Introduction

The rapid spread of bacterial infections and the growing emergence of antibiotic-resistant strains pose a serious global health challenge, significantly limiting the effectiveness of conventional antimicrobial treatments. Gram-positive and Gram-negative bacteria are responsible for a wide range of infections, particularly in clinical environments [1, 2]. Therefore, the development of novel, efficient, and environmentally friendly antibacterial materials has become increasingly important.

Metal oxide nanoparticles, especially zinc oxide (ZnO) and copper oxide (CuO), have gained considerable attention due to their strong antibacterial activity, chemical stability, and ability to generate reactive oxygen species (ROS) [3, 4]. ZnO is an FDA-approved material with low toxicity, while CuO exhibits notable biological activity. Combining these oxides in hybrid systems can enhance antibacterial efficiency through synergistic effects [5, 6]. However, nanoparticle agglomeration and stability issues remain major challenges.

Clay minerals such as kaolin provide an effective solution due to their layered structure, high surface area, biocompatibility, and low cost. Kaolin can act as a stable support, preventing agglomeration and improving nanoparticle dispersion [7, 8]. Solution combustion synthesis (SCS), particularly when combined with green fuels such as glycine, offers a rapid, low-cost, and environmentally friendly approach for producing porous

* Manuscript received December 29, 2025, Revised January 05, 2026, Accepted February 07, 2026.

[1] PhD in Metallurgical and Materials Engineering, Department of Materials Science and Engineering, Faculty of Engineering, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

[2] Professor, Department of Materials Science and Engineering, Faculty of Engineering, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

[3] Corresponding Author: Associate Professor, Department of Materials Science and Engineering, Faculty of Engineering, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. **Email**: mirjalili@um.ac.ir

[4] Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

[5] PhD in Metallurgical and Materials Engineering, Department of Materials Science and Engineering, Faculty of Engineering, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

nanocomposites [9, 10]. Despite extensive studies on individual oxides, reports on ternary ZnO/CuO/Clay nanocomposites synthesized via SCS are still limited. This study aims to address this gap.

2- Materials and Methods

Ternary ZnO/CuO/Clay nanocomposites were synthesized using solution combustion synthesis with glycine as a green fuel. Zinc nitrate hexahydrate and copper nitrate trihydrate were used as metal precursors, and kaolin served as the clay substrate. Two sets of samples containing 25 % and 50 % kaolin were prepared with varying ZnO/CuO molar ratios. The precursor solutions were heated at 350 °C until spontaneous ignition occurred, producing porous nanocomposites. The resulting powders were washed and dried at 75 °C. Structural and morphological properties were examined using FE-SEM and EDS elemental mapping. Textural characteristics were evaluated by BET analysis. Antibacterial activity against *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) was assessed using the broth microdilution method.

3- Results and Discussion

Thermodynamic analysis showed that increasing kaolin content reduced the adiabatic combustion temperature, limiting excessive grain growth. Samples containing 25 % kaolin exhibited higher gas evolution during combustion, resulting in more porous structures. FE-SEM images revealed well-dispersed ZnO and CuO nanoparticles anchored on and between the kaolin layers, while EDS mapping confirmed the uniform distribution of all constituent elements. BET results indicated mesoporous structures with average pore diameters of approximately 3–5 nm. The nanocomposites with lower kaolin content demonstrated higher specific surface areas and pore volumes.

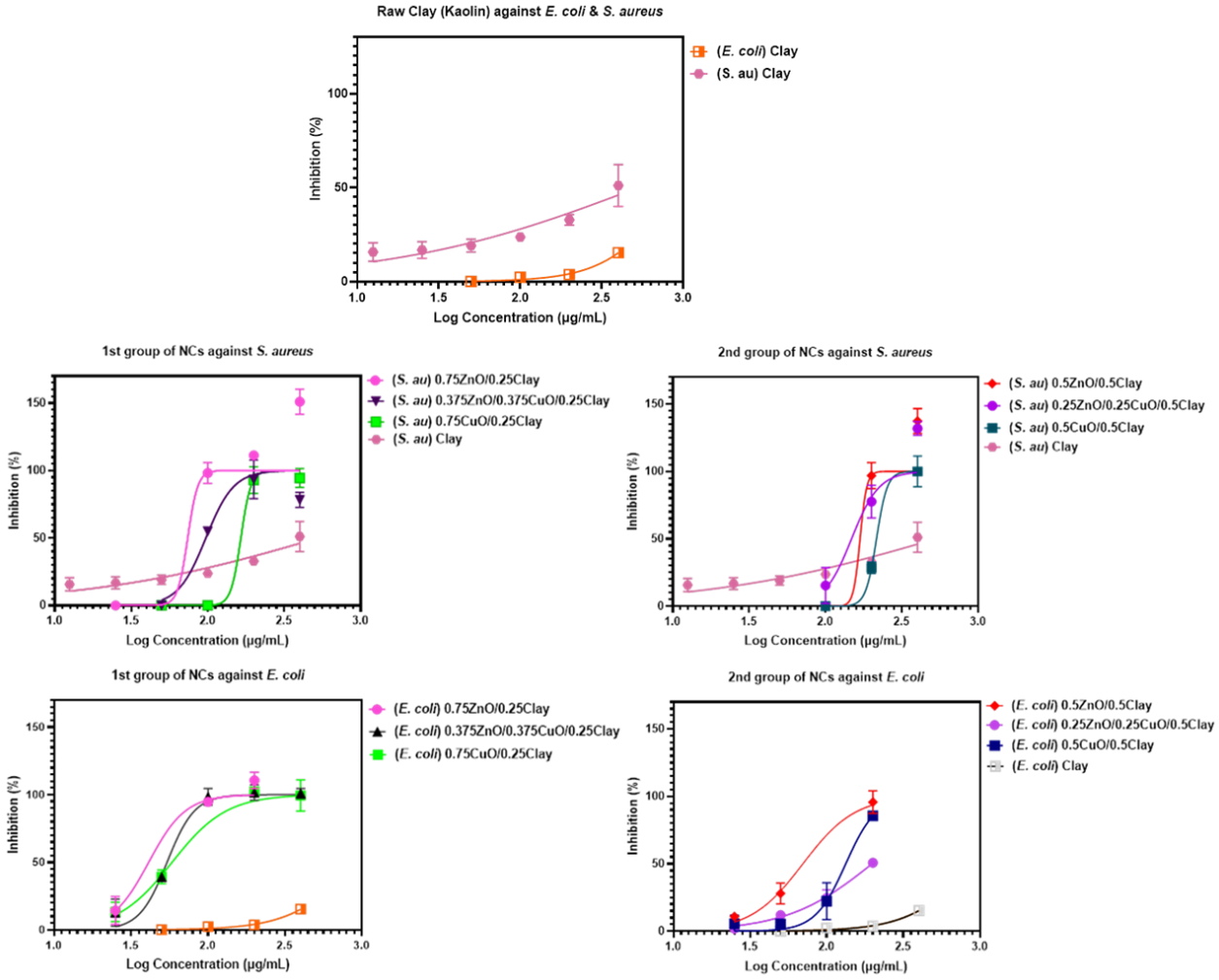


Fig 1. A comparative evaluation of the inhibition percentage as a function of the logarithm of nanoparticle concentration for both the 1st and 2nd series of synthesized nanocomposites, in comparison with pure kaolin, against the growth of *E. coli* and *S. aureus*

Antibacterial studies showed that ternary ZnO/CuO/Clay nanocomposites exhibited significantly enhanced antibacterial activity compared to raw kaolin. Nearly complete inhibition of *E. coli* and *S. aureus* was achieved at low concentrations, particularly for samples containing 25% kaolin. As shown in Figure 1, raw clay displayed substantially weaker antibacterial performance, whereas nanocomposites synthesized via solution combustion showed pronounced efficacy. Among the samples, 0.5ZnO/0.5Clay, 0.75ZnO/0.25Clay and 0.75CuO/0.25Clay exhibited the highest inhibition percentages.

4- Conclusion

Environmentally friendly ZnO/CuO/Clay nanocomposites were successfully synthesized via solution combustion synthesis using glycine as a green fuel. Kaolin content played a critical role in controlling combustion behavior, porosity, and surface area. Nanocomposites containing 25 % kaolin exhibited optimized mesoporous structures and superior antibacterial activity against both Gram-positive and Gram-negative bacteria. These results demonstrate the strong potential of ZnO/CuO/Clay nanocomposites as efficient and sustainable antibacterial materials for biomedical applications.

5- Reference

[1] C. Ashajyothi, K. H. Harish, N. Dubey, and R. K. Chandrakanth, "Antibiofilm activity of biogenic copper and zinc oxide nanoparticles-antimicrobials collegiate against multiple drug resistant bacteria: a nanoscale approach," *Journal of Nanostructure in Chemistry*, vol. 6, no. 4, pp. 329-341, 2016. [Online]. Available: https://doi.org/10.1007/s40097-016-0205-2

[2] P. P. Mahamuni-Badiger, P. M. Patil, M. V. Badiger, P. R. Patel, B. S. Thorat-Gadgil, A. Pandit, and R. A. Bohara, "Biofilm formation to inhibition: Role of zinc oxide-based nanoparticles," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 108, p. 110319, 2020. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110319

[3] S. Sharma, K. Kumar, N. Thakur, S. Chauhan, and M. S. Chauhan, "Eco-friendly Ocimum tenuiflorum green route synthesis of CuO nanoparticles: Characterizations on photocatalytic and antibacterial activities," *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 9, no. 4, p. 105395, 2021. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105395

[4] T. T. T. Nguyen, Y. N. N. Nguyen, X. T. Tran, T. T. T. Nguyen, and T. Van Tran, "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*, vol. 11, no. 5, p. 111003, 2023. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.111003

[5] S. S. Sana, D. V. Kumbhakar, A. Pasha, S. C. Pawar, A. N. Grace, R. P. Singh, et al., "Crotalaria verrucosa leaf extract mediated synthesis of zinc oxide nanoparticles: assessment of antimicrobial and anticancer activity," *Molecules*, vol. 25, no. 21, p. 4896, 2020. [Online]. Available: https://doi.org/10.3390/molecules25214896

[6] R. Kaur, M. Suresh, J. López-Vidrier, S. Gutsch, C. Weiss, M. Prescher, et al., "In situ approach to fabricate heterojunction p–n CuO–ZnO nanostructures for efficient photocatalytic reactions," *New Journal of Chemistry*, vol. 44, no. 45, pp. 19742-19752, 2020. [Online]. Available: https://doi.org/10.1039/D0NJ03770B

[7] O. Kabadayi, 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*, vol. 319, p. 100433, 2024. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.dwt.2024.100433

[8] I. Ahmed and U. Javed, "Innovative PVA-kaolin-thyme composite: synthesis, hemostatic efficiency, and antimicrobial properties," *Polymer Bulletin*, pp. 1-20, 2025. [Online]. Available: https://doi.org/10.1007/s00289-025-05841-0

[9] F. Siddique, S. Gonzalez-Cortes, A. Mirzaei, T. Xiao, M. A. Rafiq, and X. Zhang, "Solution combustion synthesis: the relevant metrics for producing advanced and nanostructured photocatalysts," *Nanoscale*, vol. 14, no. 33, pp. 11806-11868, 2022. [Online]. Available: https://doi.org/10.1039/D2NR02714C

[10] Z. Yin, S. Li, X. Li, W. Shi, W. Liu, Z. Gao, et al., "A review on the synthesis of metal oxide nanomaterials by microwave induced solution combustion," *RSC Advances*, vol. 13, no. 5, pp. 3265-3277, 2023. [Online].Available: https://doi.org/10.1039/D2RA07936D

مهندسی متالورژی و مواد، ۳۷، ۳، ۱۴۰۵. (۱-۲۲)

مهندسی متالورژی و مواد

https://jmme.um.ac.ir/

انجمن آهن و فولاد ایران

سنتز احتراقی نانوکامپوزیت‌های اکسید فلزی/خاک رس و بررسی خواص ساختاری و ضدباکتریایی*

مقاله پژوهشی

ستاره خسروان[۱] جلیل وحدتی خاکی[۲] مصطفی میرجلیلی[۳] مریم مقدم متین[۴] نعیمه اسفندیاری[۵]

DOI: 10.22067/jmme.2026.97256.1232

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 گلایسین سنتز شدند و اثر نسبت‌های مختلف فازی و مقدار خاک رس 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 بیش از حد ذرات جلوگیری می‌کند 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، تأیید کردند. نتایج BET وجود تخلخل‌های مزوحفره‌ای (۳–۵ نانومتری) و افزایش قابل توجه سطح ویژه، به خصوص در نمونه‌های حاوی ٪۲۵ خاک رس، را نشان داد. ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی علیه باکتری‌های گرم‌منفی E. coli و گرم‌مثبت S. aureus بیانگر عملکرد برتر نمونه‌های با ٪۲۵ خاک رس و نسبت‌های بالاتر ZnO و CuO بود، به طوری که 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 سنتزشده به روش احتراقی در محلول، به عنوان سامانه‌هایی چندمنظوره و دوست‌دار محیط‌زیست، پتانسیل بالایی برای کاربردهای زیست‌پزشکی و ضدباکتریایی دارند.*

واژه‌های کلیدی نانوکامپوزیت، سنتز احتراقی در محلول، ZnO، CuO، اکسیدفلزی، کائولن، ضدباکتری.

Solution Combustion Synthesis of Metal Oxide/Clay Nanocomposites and Investigation of Their Structural and Antibacterial Properties

Setareh Khosrovan Jalil Vahdati Khaki Mostafa Mirjalili Maryam Moghaddam Matin Naeemeh Esfandiari

Abstract The rapid spread of bacterial infections and the increasing emergence of drug-resistant strains have intensified the need for the development of novel, safe, and efficient antibacterial materials. In this study, ternary ZnO/CuO/Clay nanocomposites were synthesized via solution combustion synthesis using glycine as a green fuel, and the effects of different phase ratios and clay contents on their structural characteristics and antibacterial performance were systematically investigated. Thermodynamic analyses revealed that the presence of kaolin reduced the adiabatic reaction temperature, thereby suppressing excessive particle growth and promoting the formation of finer nanoparticles with higher porosity. FE-SEM and EDS elemental mapping confirmed the uniform distribution of spherical ZnO and CuO nanoparticles on the surface and within the interlayers of kaolin, leading to the formation of stable heterogeneous structures. BET analysis demonstrated the presence of mesoporous structures with pore sizes in the range of 3–5 nm and a significant increase in specific surface area, particularly for samples containing 25% clay. Antibacterial evaluation against the Gram-negative *Escherichia coli* and Gram-positive *Staphylococcus aureus* indicated superior antibacterial activity for nanocomposites with 25% clay and higher ZnO and CuO ratios, achieving up to 100% bacterial growth inhibition even at low concentrations. Investigation of the antibacterial mechanisms suggested that mechanical disruption of bacterial cell membranes, reactive oxygen species generation, and metal ion release play dominant roles. Overall, ZnO/CuO/Clay nanocomposites synthesized via solution combustion synthesis exhibit high potential as multifunctional and environmentally friendly materials for antibacterial and biomedical applications.

Keywords Nanocomposite, Solution Combustion Synthesis, ZnO, CuO, Metal Oxide, Kaolin, Antibacterial.

* تاریخ دریافت مقاله ۱۴۰۴/۱۰/۸ و تاریخ اصلاح مقاله ۱۴۰۴/۱۰/۱۵ تاریخ پذیرش آن ۱۴۰۴/۱۱/۱۸ می‌باشد.

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

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

(۳) نویسندهٔ مسئول، دانشیار گروه مهندسی مواد و متالورژی، دانشکده مهندسی، دانشگاه فردوسی مشهد. **Email:** mirjalili@um.ac.ir

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

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

مقدمه

بیماری‌های عفونی از مهم‌ترین چالش‌های سلامت جهانی محسوب می‌شوند که سال‌هاست تهدیدی جدی برای زندگی انسان‌ها به شمار می‌آیند. گسترش سریع عفونت‌های باکتریایی، به ویژه با ظهور سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، کارایی درمان‌های رایج را به شدت کاهش داده و منجر به افزایش نرخ بیماری و مرگ و میر شده است [1,2]. 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 غیر ممکن است. این شرایط، نیاز فوری به توسعه راهکارهای نوین، ایمن و مؤثر برای کنترل عفونت‌های میکروبی را برجسته می‌سازد [3,4].

در این میان، نانوزیست‌فناوری نقش کلیدی در توسعه نانومواد فلزی و اکسید فلزی با ویژگی‌های فیزیکی ـ شیمیایی منحصر به فرد ایفا کرده است. نانوذرات اکسید فلزی به دلیل نسبت سطح به حجم بالا، زیست‌فعالی قابل توجه، قابلیت تولید گونه‌های فعال اکسیژنی (Reactive Oxygen Species) (ROS) و توانایی برهم‌کنش مؤثر با سلول‌های میکروبی، توجه گسترده‌ای را در حوزه‌های زیست‌پزشکی و زیست‌محیطی به خود جلب کرده‌اند [7-5]. 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 این رو، کامپوزیت کردن نانوذرات با بسترهای زیست‌سازگار به عنوان راهکاری مؤثر برای کاهش سمیت، افزایش پایداری و بهبود کارایی زیستی آن‌ها مطرح شده است [11-8].

در میان اکسیدهای فلزی مختلف، اکسید روی (ZnO) و اکسید مس (CuO) به دلیل فراوانی طبیعی، هزینه پایین، سمیت نسبتا کم، سطح ویژه بالا و خواص فوتوکاتالیستی برجسته، جایگاه ویژه‌ای یافته‌اند [12,13]. اکسید روی به عنوان 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 [14,15]. در مقابل، اکسید مس یک نیمه‌رسانای نوع p با شکاف باند باریک‌تر است که به دلیل ویژگی‌های نوری، الکتریکی و زیستی خاص خود، فعالیت ضدباکتریایی قابل توجهی از خود نشان می‌دهد [15]. ترکیب این دو اکسید فلزی در قالب نانوکامپوزیت‌ها می‌تواند با ایجاد اثرات هم‌افزایی، منجر به بهبود جداسازی جفت‌های الکترون ـ حفره، افزایش تولید ROSها و ارتقای عملکرد ضدباکتریایی نیز شود [3,16].

در کنار اکسیدهای فلزی، کانی‌های رسی به ویژه کائولن، به دلیل زیست‌سازگاری، غیر سمی بودن، هزینه پایین، ساختار لایه‌ای، سطح ویژه مناسب و ظرفیت بالای جذب یون‌ها، به عنوان بسترهای پایدار و سبز برای تثبیت نانوذرات مورد توجه قرار گرفته‌اند [19-17]. 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 [17,20]. 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 [23-21].

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) (Solution Combustion Synthesis) به عنوان روشی ساده، سریع، مقرون به صرفه و دوستدار محیط زیست، 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 [26-24]. استفاده از سوخت‌های سبز نظیر گلایسین، علاوه بر همراستایی با اصول شیمی سبز، موجب کاهش پسماندهای خطرناک و افزایش یکنواختی محصولات نهایی می‌شود. آزادسازی حجم قابل توجهی از گازها در طول فرایند احتراق، از رشد بیش از حد ذرات جلوگیری می‌کند و ساختارهای نانومتخلخل با سطح ویژه بالا ایجاد می‌کند که برای کاربردهای ضد باکتریایی بسیار مطلوب هستند [27,28]. به جهت مقایسه روش سنتز احتراقی در محلول با دیگر روش‌های سنتز مطالعه‌شده در گذشته، جدول (۱) ارائه شده است.

جدول ۱ مزایا و معایب فرایندهای مختلف سنتز نانوذرات اکسیدفلزی [2]

شماره	روش سنتز	مزایا	معایب
۱	فرایند مکانوشیمیایی	سادگی، قابلیت تولید در مقیاس بالا، هزینه فرآوری کم، اندازه کوچک ذرات، بلورینگی بالا	وجود مقادیر بالای ناخالصی
۲	روش هم ـ رسوبی	سادگی، قابلیت کنترل پارامترهای فرایند سنتز	احتمال بالای توده‌ای شدن ذرات
۳	روش سل ـ ژل	آسان، ارزان، تکرارپذیر	احتمال بالای توده‌ای شدن ذرات، چالش در تولید با مقیاس بالا
۴	روش سولوترمال و هیدروترمال	درجه بالای بلورینگی، خلوص بالا	نیاز به فشار و دمای بالا
۵	روش میکروامولسیون	آسان، بازگشت‌پذیر، از لحاظ ترمودینامیکی پایدار	احتیاج به عامل فعال سطحی برای پایداری، ظرفیت حلالیت کم، نقطه ذوب بالا
۶	روش‌های بیولوژیک	بی‌خطر برای محیط‌زیست، ارزان قیمت	نداشتن توزیع اندازه یکنواخت
۷	روش سنتز احتراقی در محلول	بی‌خطر برای محیط‌زیست، ارزان قیمت، کوتاه بودن زمان فرایند، امکان تولید مواد نانومقیاس، آسان، خلوص بالا	دشواری کنترل دقیق فرایند واکنش

با وجود گزارش‌های متعدد درباره نانوذرات اکسید روی، اکسید مس و حتی نانوکامپوزیت‌های دوتایی آن‌ها، بررسی نانوکامپوزیت‌های سه‌جزئی ZnO/CuO/Clay و با استفاده از روش سنتز احتراقی در محلول، تا کنون و به جز در این پژوهش، مورد توجه قرار نگرفته است. این خلأ پژوهشی، زمینه‌ساز نوآوری تحقیق حاضر به شمار می‌رود.

در این پژوهش، نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay با استفاده از روش سنتز احتراقی در محلول و سوخت سبز گلایسین سنتز شده‌اند. سپس، ویژگی‌های فیزیکی ـ شیمیایی و ریزساختاری نمونه‌ها با بهره‌گیری 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 نانوکامپوزیت‌ها در برابر باکتری‌های گرم‌مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (Staphylococcus aureus) و گرم‌منفی ای کلای (Escherichia coli) مطالعه شده است تا ارتباط میان ساختار، مورفولوژی و کارایی ضد باکتریایی این مواد روشن گردد. نتایج این مطالعه می‌تواند گامی مؤثر در توسعه نانومواد ایمن، پایدار و سازگار با محیط زیست برای کاربردهای زیست‌پزشکی و کنترل عفونت‌های میکروبی باشد.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده برای سنتز نانوکامپوزیت‌ها و بررسی خواص ضدباکتریایی

مواد مورد نیاز برای تولید نانوکامپوزیت‌های 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 (Merck)، آلمان)، نیترات روی ۶ آبه ($Zn(NO_3)_2.6H_2O$> 98%) (مرک، آلمان)، نیترات مس ۳ یا ۶ آبه ($Cu(NO_3)_2.3H_2O$> 99.5%) (لوبا شیمی (Loba Chemie)، هند)، گلایسین ($C_2H_5NO_2$> 99%) (سامچون شیمی (Samchun Chemicals)، کره جنوبی) بودند. تمام محلول‌ها در آب دیونیزه تهیه شدند.

در ادامه باکتری‌های اشریشیا کلی (E. coli) گرم‌منفی و استافیلوکوکوس اورئوس (S. aureus) گرم‌مثبت و محیط کشت براث (Broth)، برای انجام آزمون‌های بررسی خواص ضد باکتریایی از آزمایشگاه کشت سلولی گروه زیست‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شدند.

نحوه سنتز نانوکامپوزیت‌های ZnO/Clay، CuO/Clay و ZnO/CuO/Clay

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

برای سنتز نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay، مقادیر مورد نظر از هر پیش‌ماده (با توجه به جدول ۲) یعنی نیترات‌ها، سوخت

گلایسین و خاک رس با دقت وزن شدند و درون بوته‌های 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 بوته سرامیکی حل شدند. این ترکیب به مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه با استفاده از همزن مغناطیسی مخلوط شد تا محلول همگنی به دست آید و مواد به طور کامل در یکدیگر حل گردند. سپس 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 شد و با مشاهده شعله و انتشار گازها (دود) این واکنش به پایان رسید و محصول مورد نظر پس از فرایندهای احتراقی شدیدی که رخ داد، به دست آمد. پس از آن، پودرهای نانوکامپوزیتی جمع‌آوری‌شده، سه بار با آب مقطر شسته شدند، از کاغذ صافی عبور داده شدند و سپس به مدت دو ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد، در آون خشک شدند. در نهایت نانوکامپوزیت‌های سنتز شده پس از خشک شدن، جمع‌آوری و مطابق با جدول (۲)، نام‌گذاری شدند.

جدول ۲ دو سری ترکیبی مورد نظر برای تولید نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay

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

روش‌های مشخصه‌یابی

بررسی مورفولوژی، ریزساختار و ترکیب شیمیایی هر کدام 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 هر کدام از پودرهای نانوکامپوزیتی محصول محاسبه و ارائه شد.

بررسی خاصیت ضدباکتریایی نانوکامپوزیت‌ها با کمک روش رقیق‌سازی براث

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

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 (Fildoplatin loop)، از محیط آگار جدا و به محیط مغذی براث منتقل شد و این سوسپانسیون‌های حاوی باکتری به مدت ۲۴ ساعت در شیکر انکوباتور (Shaker incubator) و در دمای $37\ ^{o}C$ و گردش ۲۰۰ دور در دقیقه، قرار داده شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، نمونه‌های باکتریایی از انکوباتور خارج شدند و غلظت یا کدورت آن‌ها طبق استاندارد ۰/۵ مک فارلند (McFarland)، رقیق شد که در این استاندارد تعداد باکتری‌ها (یعنی میزان رقت) باید برابر با $1/5\times10^{8}$ CFU/mL باشد.

نحوه آماده‌سازی سوسپانسیون نانوذرات

برای آماده‌سازی سوسپانسیونی از هر کدام از نمونه‌های نانوکامپوزیتی تولیدشده، ابتدا ۰/۰۰۲ گرم از هر نمونه را وزن کردند 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.

روش انجام آزمون بررسی خواص ضدباکتریایی از طریق رقیق‌سازی براث

به منظور انجام آزمون ضد باکتریایی، روش تهیه سری رقت در ظرف کشت ۹۶تایی انتخاب شد. هر ظرف کشت ۹۶تایی به چهار 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 (Blank))، 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 هر کدام از نمونه‌ها دارای شش سری رقت به ترتیب حاوی غلظت‌های ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ µg/mL بودند که پس از آماده‌سازی به چاهک‌های مورد نظر یعنی (الف و ب) اضافه شدند. سپس ۱۰ میکرولیتر از هر کدام از سوسپانسیون‌های باکتریایی به چاهک-های (الف و ج) اضافه شدند. به چاهک‌های باقی‌مانده (د) نیز محیط کشت باکتریایی (براث مغذی (Nutrient Broth)) 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 ۳۷ °C 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 نهایتا درصد مهار رشد باکتری (%BGI) ((Bacterial Growth Inhibition (%)) برای هر کدام از نمونه‌ها طبق (معادله ۱) محاسبه شود:

$$(\%BGI) = [1 - \frac{جذب_{(ب)} - جذب_{(الف)}}{جذب_{(د)} - جذب_{(ج)}}] \times ۱۰۰ \quad \text{(معادله ۱)} \quad \text{درصد مهار}$$

(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).

نتایج و بحث

بررسی واکنش احتراقی

گرمای واکنش و دمای آدیاباتیک. بر اساس نسبت‌های مولی ارائه‌شده در جدول (۲)، دو سری و در هر سری، سه 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، به صورت زیر است:

1) $Zn(NO_3)_2.6H_2O + 1.11C_2H_5NO_2 + (X)Clay = 2.22CO_2(g) + 8.77H_2O(g) + 1.55N_2(g) + ZnO + (X)Clay$

2) $Cu(NO_3)_2.3H_2O + 1.11C_2H_5NO_2 + (X)Clay = 2.22CO_2(g) + 5.77H_2O(g) + 1.55N_2(g) + CuO + (X)Clay$

3) $Zn(NO_3)_2.6H_2O + Cu(NO_3)_2.3H_2O + 2.22C_2H_5NO_2 + (X)Clay = 4.44CO_2(g) + 14.54H_2O(g) + 3.1N_2(g) + ZnO + CuO + (X)Clay$

در جدول (۳)، دماهای آدیاباتیک واکنش‌های سنتزشده به-طور جداگانه محاسبه شده است. با توجه به مطالعات قبلی، هرچه دمای آدیاباتیک یک سیستم بیشتر باشد، یعنی فرایند احتراقی با سرعت بیشتری انجام می‌شود و در حالت تئوری چون این دما برای سیستم بی‌دررو محاسبه می‌گردد، پس در حالت تجربی دمای واکنش‌های احتراقی و گرمازایی انجام‌شده، کمتر خواهد بود [29]. به منظور محاسبه دماهای آدیاباتیک هر کدام از فرایندهای اشاره‌شده در جدول (۳)، از نرم‌افزار HSC Chemistry 9.0 کمک گرفته شد و اطلاعات ترمودینامیکی هر کدام از واکنش‌دهنده‌ها و محصولات نیز به طور جداگانه از این نرم‌افزار و مقالات مرتبط [25,30-32]، استخراج گردید.

با مقایسه دماهای آدیاباتیک محاسبه‌شده در جدول (۳) و برای تمامی واکنش‌های احتراقی، کاملا مشخص است که بالاترین دماها مربوط به گروه اول واکنش‌ها با کمترین میزان خاک رس (۲۵٪) است. همان طور که پیشتر اشاره شد، در حالت تئوری و از آن‌جایی که این دماها برای یک سیستم آدیاباتیک ایدئال (بی-دررو) محاسبه شده‌اند، دماهای واقعی و گرمای آزادشده در واکنش‌های احتراق تجربی کمتر از این مقادیر خواهد بود و دمای آدیاباتیک بالاتر نشان‌دهنده یک فرایند احتراق سریع‌تر است. با افزایش مقدار خاک رس از ۰/۲۵ به ۰/۵ مول، کاهش قابل توجهی

در دمای آدیاباتیک رخ می‌دهد. این کاهش دما به دلیل کم شدن گرمازایی 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 گرمازایی و دماهای آدیاباتیک بالاتری را نشان می‌دهند. در ادامه و با بررسی دیگر آنالیزهای انجام‌شده، نشان داده خواهد شد که این تفاوت‌های دمایی ایجادشده به چه میزان بر شکل‌گیری پودرهای نانوکامپوزیتی محصول، مؤثر خواهند بود. در جدول (۳) دماهای آدیاباتیک مربوط به تمامی آزمایش‌های طراحی‌شده که توسط نرم‌افزار HSC Chemistry 9.0 محاسبه شده‌اند، آورده شده است.

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

واکنش‌های احتراقی، فرایندهایی پیچیده هستند و ممکن است شامل مجموعه‌ای از واکنش‌های تفکیکی (Dissociation reactions) جداگانه باشند که در زمان‌های مختلف در طی فرایند احتراق رخ می‌دهند که برخی از این مراحل گرماگیرند و موجب کاهش دمای نهایی سیستم می‌شوند [32]. پدیده ذکرشده را می‌توان با معادله دمای شعله آدیاباتیک و اثر افزودن خاک رس در کاهش آن توضیح داد. دمای شعله آدیاباتیک واکنش را می‌توان از طریق حل معادله (۲) محاسبه کرد [32]:

$$\Delta H_{combustion} = \int_{T_0}^{T_{ad}} (\Sigma\ nCp)_{products}\, dT \qquad (۲)$$

در این معادله، T_{ad} برابر دمای شعله آدیاباتیک، T_0 دمای اولیه، n تعداد مول‌های محصول واکنش و C_p مقدار ظرفیت گرمایی محصولات در فشار ثابت است. با توجه به آنتالپی تشکیل و ظرفیت گرمایی، می‌توان این معادله را برای به دست آوردن دمای شعله آدیاباتیک تئوری حل کرد. با این حال، دمای شعله تجربی معمولا کمتر از مقدار تئوری است، زیرا در طی واکنش احتراقی بخشی از گرما از دست می‌رود. از آن‌جا که تغییر دما در واکنش‌های احتراقی بسیار سریع و زیاد هستند و پیش‌بینی دقیق محصولات واکنش دشوار است، محاسبه دمای شعله به طور دقیق فرایند آسانی نیست [32,33]. با حل معادله (۳) می‌توان نحوه دستیابی به دمای شعله آدیاباتیک را به صورت دقیق‌تر بیان کرد:

$$Tad = T_0 + \frac{\Delta H^0 products - \Delta H^0 reactants}{(Cp)products} \qquad (۳)$$

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

افزایش آنتالپی تشکیل محصولات ($\Delta H^0 products$)، کاهش آنتالپی تشکیل واکنش‌دهنده‌ها ($\Delta H^0 reactants$) و کاهش ظرفیت حرارتی محصولات (C_P) [32]. در واقع می‌توان از طریق افزودن موادی که مقدار انرژی گرمایی محصولات را کاهش می‌دهند، آنتالپی تشکیل محصولات را کاهش داد و دمای شعله آدیاباتیک را نهایتا کمتر کرد و نانوذرات کوچک‌تری را به عنوان محصول به دست 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 قابل توجهی (حدود ۱۷۰C°) در دمای آدیاباتیک تئوری مشاهده می‌شود. این کاهش تولید گرما در اثر افزایش مقدار خاک رس 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.

جدول ۳ اطلاعات مربوط به واکنش‌های انجام‌شده و دماهای آدیاباتیک حاصل با کمک نرم‌افزار HSC Chemistry 9.0

آزمایشات طراحی‌شده	واکنش آزمایش	دمای آدیاباتیک (°C)
(سری اول) 1-1 (0.75ZnO/0.25Clay)	$0.75Zn(NO_3)_2.6H_2O + 0.83333C_2H_5NO_2 + 0.25Al_2Si_2O_5(OH)_4 = 1.6667CO_2(g) + 6.5833H_2O(g) + 1.1667N_2(g) + 0.75ZnO + 0.25Al_2Si_2O_5(OH)_4$	728.7
(سری اول) 2-1 (0.375ZnO/0.375CuO/0.25Clay)	$0.375Zn(NO_3)_2.6H_2O + 0.375Cu(NO_3)_2.6H_2O + 0.83334C_2H_5NO_2 + 0.25Al_2Si_2O_5(OH)_4 = 1.66666CO_2(g) + 6.5834H_2O(g) + 1.16668N_2(g) + 0.375ZnO + 0.375CuO + 0.25 Al_2Si_2O_5(OH)_4$	729.9
(سری اول) 3-1 (0.75CuO/0.25Clay)	$0.75Cu(NO_3)_2.6H_2O + 0.83333C_2H_5NO_2 + 0.25Al_2Si_2O_5(OH)_4 = 1.6667CO_2(g) + 6.5833H_2O(g) + 1.1667N_2(g) + 0.75CuO+0.25Al_2Si_2O_5(OH)_4$	731.1
(سری دوم) 1-2 (0.5ZnO/0.5Clay)	$0.5Zn(NO_3)_2.6H_2O + 0.55556C_2H_5NO_2 + 0.5Al_2Si_2O_5(OH)_4 = 1.1111CO_2(g) + 4.3889H_2O(g) + 0.77778N_2(g) + 0.5ZnO + 0.5\ Al_2Si_2O_5(OH)_4$	558.6
(سری دوم) 2-2 (0.25ZnO/0.25CuO/0.5Clay)	$0.25Zn(NO_3)_2.6H_2O + 0.25Cu(NO_3)_2.6H_2O + 0.55556C_2H_5NO_2 + 0.5Al_2Si_2O_5(OH)_4 = 1.1111CO_2(g) + 4.3889H_2O(g) + 0.77786N_2(g) + 0.25ZnO + 0.25CuO + 0.5\ Al_2Si_2O_5(OH)_4$	560.5
(سری دوم) 3-2 (0.5CuO/0.5Clay)	$0.5Cu(NO_3)_2.6H_2O + 0.55556C_2H_5NO_2 + 0.5Al_2Si_2O_5(OH)_4 = 1.1111CO_2(g) + 4.3889H_2O(g) + 0.77778N_2(g) + 0.5CuO + 0.5\ Al_2Si_2O_5(OH)_4$	561.5

جدول ۴ مشخصات وزنی و مولی واکنش‌دهنده‌ها و محصولات در دو سری سنتزشده

	مقادیر مولی واکنش‌دهنده‌ها (mol)				مقادیر وزنی واکنش‌دهنده‌ها (به یک ضریب ثابت تقسیم شده‌اند) (g)				وزن محصول نانوکامپوزیتی پس از خشک شدن (g)
ماده / نمونه	نیترات روی هگزاهیدرات	نیترات مس تری هیدرات	گلایسین	کائولن	نیترات روی هگزاهیدرات	نیترات مس تری هیدرات	گلایسین	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

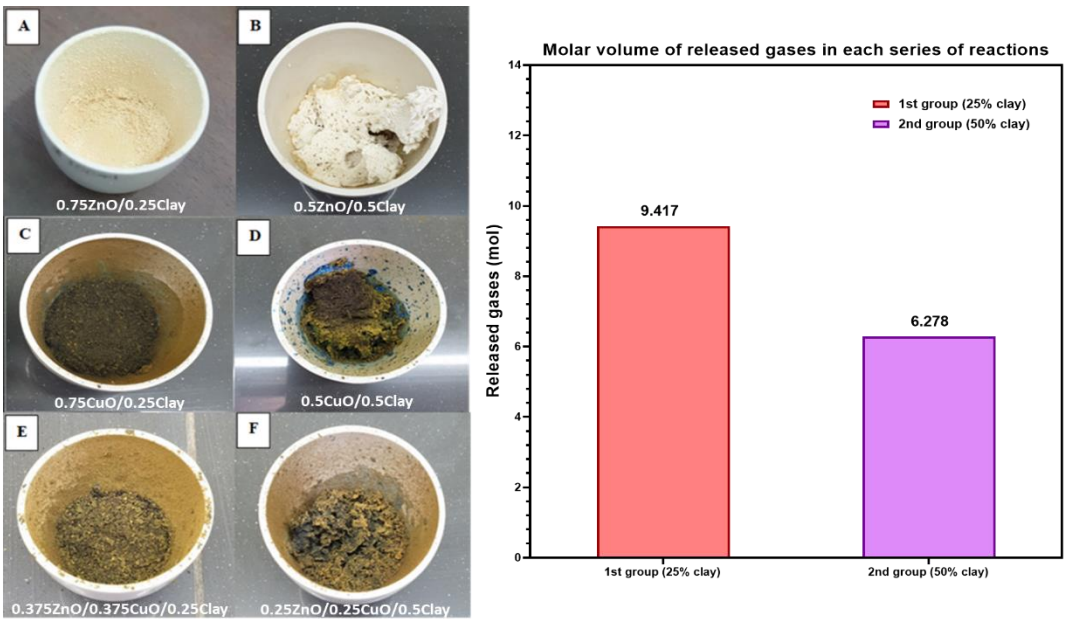
نکته قابل توجه دیگر مربوط به تأثیر سوخت انتخابی بر گرمای واکنش و دمای نهایی شعله است. تفاوت در آنتالپی تشکیل سوخت‌های مختلف، یکی از دلایل اصلی عملکرد متفاوت آن‌ها در فرایند احتراقی است، زیرا هر سوخت مقدار متفاوتی گرما در طی واکنش تولید می‌کند. در پژوهش حاضر، سوخت گلایسین به دلیل آنتالپی احتراق یا ΔHcombustion کمتر آن انتخاب شد. بر اساس گزارش Liao و همکارانش [34]، در سنتز پودرهای $Lu_3Al_5O_{12}$ دوپ‌شده با Tb، استفاده از گلایسین در مقایسه با اوره، آنتالپی احتراق 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 گلایسین دارای اندازه کوچک‌تری بودند، پودرهای حاصل از احتراق با اوره به شدت آگلومره (توده‌ای) شده بودند. از این رو می‌توان نتیجه گرفت که گرمای اضافی حاصل از احتراق اوره باعث تسریع فرایند زینترینگ از طریق افزایش پدیده نفوذ می‌شود و همین موضوع برتری استفاده از سوخت گلایسین را نشان می‌دهد [34].

تأثیر کاهش دمای آدیاباتیک بر کامل شدن واکنش‌ها. پس از خشک شدن در آون ۷۵ C^o، نمونه‌های نانوکامپوزیتی سنتزشده جمع‌آوری شدند و بعد از اتمام هر مرحله، وزن پودرهای نانوکامپوزیتی تولیدشده اندازه‌گیری گردید. مقادیر مولی و وزنی هر کدام از واکنش‌دهنده‌ها و وزن نهایی محصولات در جدول (۴) ارائه شده‌اند. با توجه به وزن محصولات خشک‌شده به دست آمده در هر دو گروه، واضح است که مقدار کمتر خاک رس در

گروه اول، منجر به کاهش وزن محصولات شده است. این کاهش به حجم بالاتر گازهای آزادشده در طول احتراق گروه اول نسبت داده می‌شود که منجر به پراکندگی بیشتر نانوپودرهای محصول تولیدی شده است.

حجم استوکیومتری گازهای آزادشده در احتراق. یکی از پارامترهای مهم در واکنش‌های سنتز احتراقی، حجم گازهای آزاد شده است. در واقع حجم بالاتر گازهای آزادشده علاوه بر پراکندگی بیشتر نانوذرات تولیدشده منجر به افزایش تخلخل و مساحت سطح ویژه محصول نانوکامپوزیتی می‌شود. علاوه بر این‌ها، حجم گازهای آزادشده بر دمای نهایی محصول پس از احتراق نیز تأثیرگذار است، به طوری که افزایش حجم گازهای آزاد شده باعث کاهش سریع‌تر دمای سیستم می‌شود و در نتیجه از رشد بیش از حد ذرات و آگلومره شدن آن‌ها جلوگیری می‌کند [35]. حجم مولی پیش‌بینی‌شده برای گازهای آزادشده در هر گروه از نانوکامپوزیت‌های سنتزشده در نمودار شکل (۱) که بر اساس واکنش‌های درج‌شده در جدول (۳) محاسبه شده‌اند، نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود، کاهش درصد خاک رس از ٪۵۰ به ٪۲۵ باعث افزایش حجم گازهای آزادشده از ۶/۲۷۸ به ۹/۴۱۶ مول در طی فرایندهای سنتز احتراقی شده است. شکل (۱-A-F) تصاویر پودرهای متخلخل نانوکامپوزیتی سنتزشده را بلافاصله پس از تکمیل فرایند احتراق (اتمام شعله و آزادسازی گاز و دود) و قبل از نرم‌سابی محصول، نشان می‌دهند.

مقایسه این دو گروه، همان طور که در شکل (۱-A-F) نشان داده شده است، بیانگر آن است که حجم بیشتر گازهای آزادشده، به ویژه 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، به طوری که افزایش حجم و سرعت آزادسازی گاز در نمونه‌های گروه اول یعنی شکل‌های (۱- A, C, E)، 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 داده‌شده در تصاویر (۱-B, D, F) گردیده که منجر به تشکیل حفرات کمتر اما بزرگ‌تر و در نهایت کاهش حجم کلی تخلخل نمونه‌های گروه دوم با ٪۵۰ خاک رس شده است که با یافته‌های Moqaddam و همکارانش [36] برای سنتز احتراقی نمونه‌های α-MnO_2 نیز همخوانی دارد. در مطالعه دیگری Novitskaya و همکارانش [32] 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 سنتزشده از سنتز احتراقی هستند.



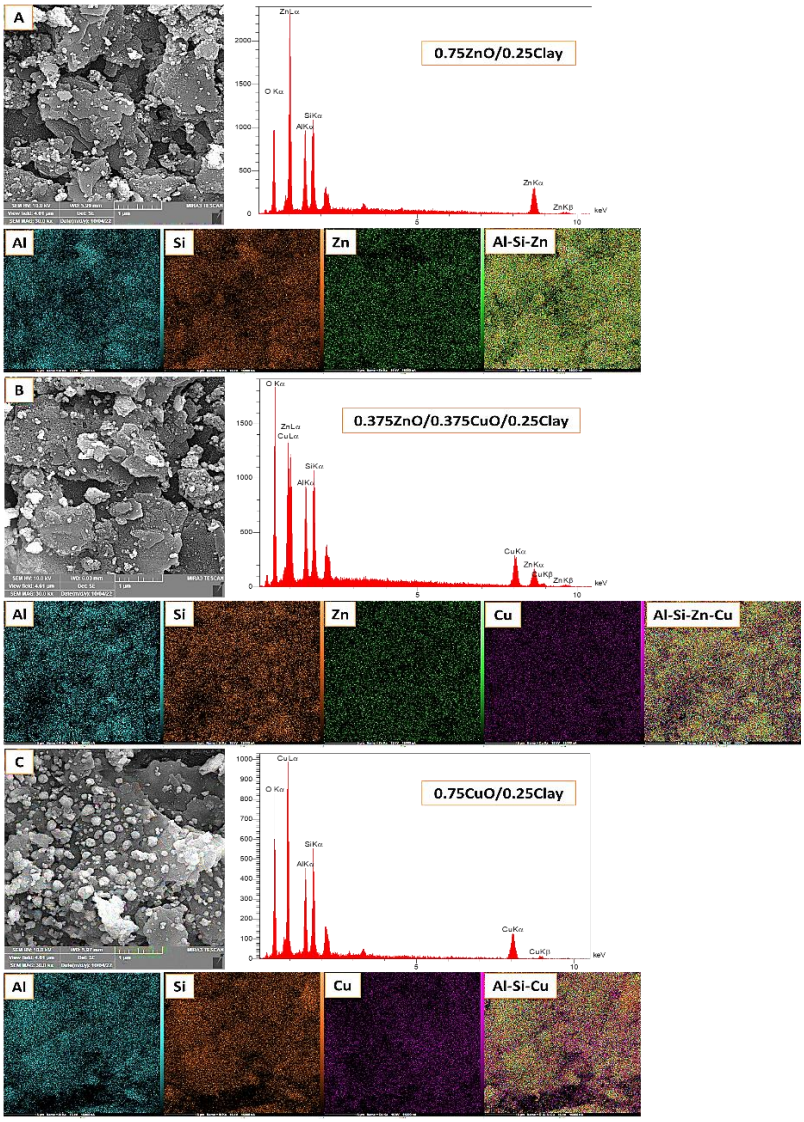
شکل ۱ تصاویر نمودار مقادیر حجم مولی گازهای آزادشده در هر دو سری از واکنش‌ها همراه با تصاویر محصولات سنتزشده بلافاصله پس از اتمام فرایند احتراق و خروج گازها (A-F)

بررسی ساختار فیزیکی نانوکامپوزیت‌ها

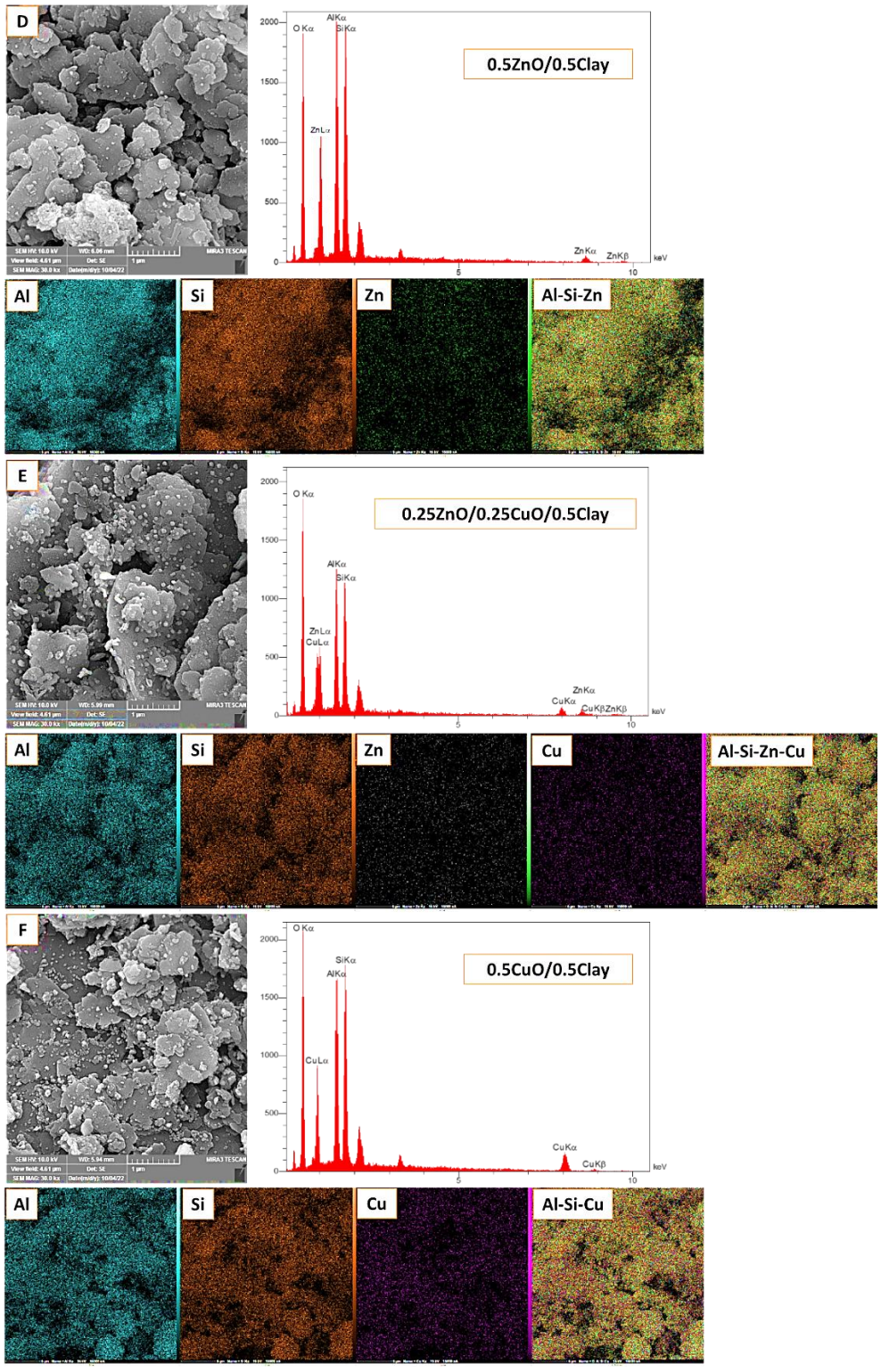
بررسی مورفولوژی، ریزساختار و ترکیب شیمیایی با آنالیزهای FE-SEM و EDS-MAP. تصاویر میکروسکوپی به دست آمده با تصویربرداری FE-SEM، برای بررسی مورفولوژی نانوکامپوزیت‌های سنتزشده استفاده شد. تصاویر FE-SEM در شکل‌های (۲-A-C) و (۳-D-F) ساختار لایه‌ای مشخص کائولن را نشان می‌دهند، که در آن نانوذرات کروی اکسید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

ترکیب عنصری تأییدکننده شکل‌گیری فازهای ZnO و CuO در نانوکامپوزیت‌های سنتزشده 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 [37] و با نسبت‌های پیش‌بینی‌شده برای نانوکامپوزیت‌های ZnO/Clay، ZnO/CuO/Clay و CuO/Clay است.

مورفولوژی خاص مربوط به محصول تولیدی در فرایندهای سنتز احتراقی در محلول، به مکانیسم شکل‌گیری ساختار نیز وابسته است. میزان گازهای آزادشده یکی از پارامترهای تأثیرگذار بر اندازه و ترکیب فازی محصول نهایی است. در واقع رهاسازی میزان زیادی محتوای گازی می‌تواند ذرات ریزتری را ایجاد کند که به دلیل سرعت سرد کردن سریع‌تر محصول جامد و جداسازی اجباری ذرات از هم است که نهایتا از ریزتر شدن ذرات و درشت‌تر شدن آن‌ها جلوگیری خواهد کرد [38].



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 ٪۵۰ خاک رس

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 به منظور مقایسه میزان تخلخل نانوکامپوزیت‌های سنتزشده در هر دو گروه انجام شد. حجم تجمعی حفرات حاصل از جذب BJH (Barrett-Joyner-Halenda) برای گروه اول (۰/۲۵ مول رس) به ترتیب برابر با

۰/۱۲۷، ۰/۱۳۱ و ۰/۱۶۰ سانتی‌متر مکعب بر گرم برای نانوکامپوزیت‌های0.375ZnO/0.375CuO/0.25Clay، 0.75ZnO/0.25Clay و 0.75CuO/0.25Clay بود، در حالی که مقادیر متناظر برای گروه دوم (۰/۵ مول رس) به ترتیب 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 به دست آمد.

مقایسه این دو گروه، همان گونه که در تصاویر شکل (A-F-۱) نشان داده شده بود، بیانگر آن است که حجم بیشتر گازهای آزادشده، به ویژه 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 است، هرچند که اندازه حفرات کوچک‌تر بوده است. در مقابل، حجم کمتر گاز و نرخ آزادسازی آهسته‌تر در گروه دوم باعث کاهش تدریجی دمای احتراقی آدیاباتیک، به ویژه در نمونه‌های نشان داده‌شده در شکل‌های (B, D, F-۱) شده است 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 سنتزشده (۳ ـ ۵ نانومتر) بود که این بازه ماهیت تخلخل‌های مزو (Mesopore)ی آن‌ها را تأیید می‌کند. علاوه بر این، سطح ویژه تمامی نمونه‌های سنتزشده به روش احتراقی در محلول از سطح ویژه کائولن خام بیشتر بود که نشان می‌دهد فرایند سنتز و افزودن نانوذرات ZnO و CuO به طور مؤثری سطوح قابل دسترس را افزایش داده است. این بهبود ناشی از کاهش اندازه ذرات، افزایش تخلخل، پراکندگی یکنواخت نانوذرات اکسیدی و لایه لایه شدن جزئی (partial exfoliation) کائولن بوده است که در مجموع ماهیت تخلخل‌های مزوی بالاتری را ایجاد کرده است. این ویژگی‌ها، همراه با ساختار متخلخل و سطح ویژه بالای نانوکامپوزیت‌ها، به ویژه در نمونه‌های حاوی ۰/۲۵ مول رس، آن‌ها را به گزینه‌های امیدوارکننده‌ای برای کاربردهای دارورسانی و حوزه‌های پزشکی تبدیل می‌کند [39].

علاوه بر این، مقایسه نتایج BET ارائه‌شده در جدول (۵) نشان می‌دهد که نانوکامپوزیت‌های سنتزشده سطح ویژه بسیار بالاتری نسبت به نانوکامپوزیت CuO/kaolin تولیدشده به روش رسوب‌دهی تر را دارا هستند [40]. نتایج BET حاصل از این مطالعه که توسط Asmare و همکارانش [40] انجام شده بود، نشان می‌دهد که افزودن CuO به کائولن منجر به تولید حجم بالای حفرات و به میزان ۰/۱۹۸ cm^3/g شده است ولی میزان سطح ویژه BET حاصل برای این کامپوزیت مقدار ۴۶/۸ m^2/g بوده که به نسبت مقادیر به دست آمده برای نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay سنتزشده در پژوهش حاضر مقدار بسیار کمتری است.

لازم به ذکر است که تعیین دقیق اندازه کریستالیت و شناسایی فازهای تشکیل‌شده از طریق داده‌های XRD امکان‌پذیر است، در حالی که اندازه ذرات گزارش‌شده بر اساس آنالیز BET به صورت غیر مستقیم محاسبه شده‌اند.

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

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

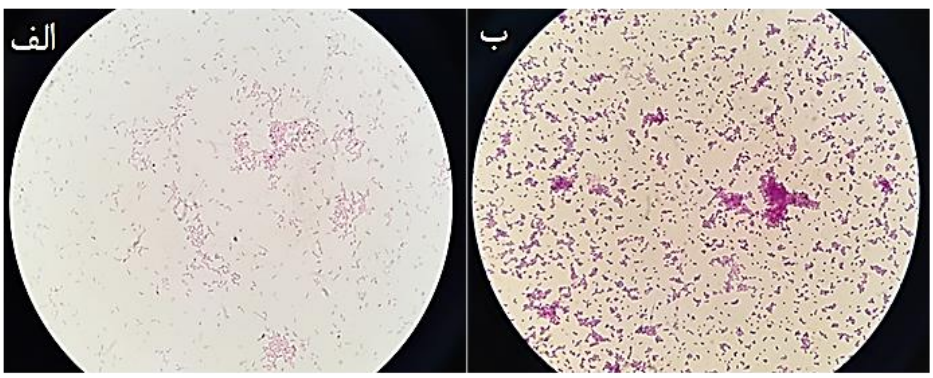
نتایج آزمون ضد باکتریایی به روش تهیه سری رقت در ظرف کشت ۹۶ تایی

برای شروع، هر باکتری به مدت ۲۴ ساعت در یک محیط مغذی کشت داده شد. فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات سنتزشده از طریق رقیق‌سازی سریالی در ظروف کشت ۹۶ خانه، مطابق با دستورالعمل‌های مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI) ارزیابی گردید.

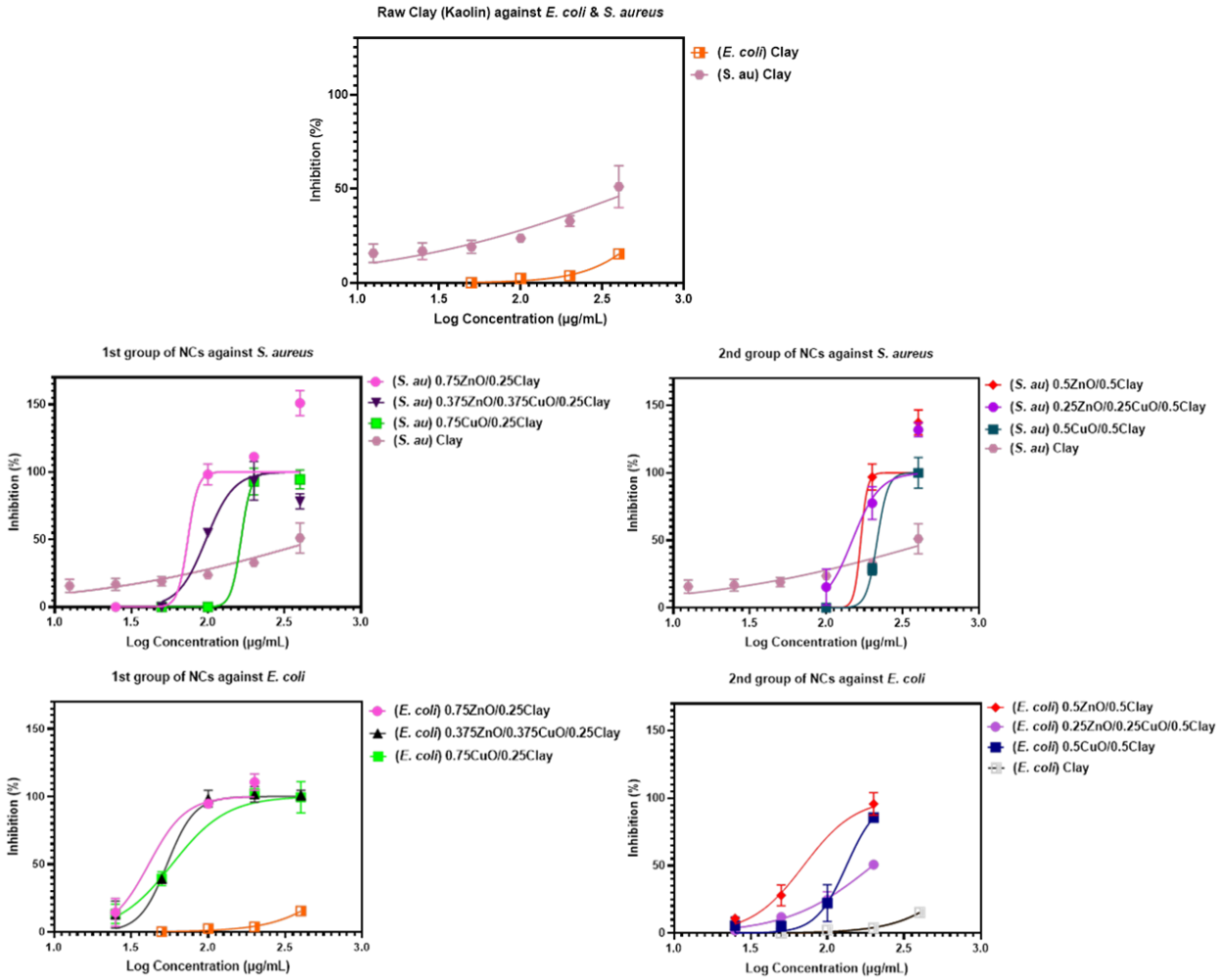
بعد از اطمینان پیدا کردن از خلوص هر کدام از باکتری‌ها، می‌توان آن‌ها را به صورت جداگانه به مدت ۲۴ ساعت کشت داد. پس از اتمام مرحله کشت سلول‌های باکتریایی باید به اندازه استاندارد نیم مک فارلند که معادل $۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/mL باکتری است، رقیق شوند و بعد از رقیق‌سازی در آزمون بررسی خواص ضدباکتریایی از طریق روش رقیق‌سازی براث در ظروف کشت ۹۶ خانه، استفاده شدند.

در ادامه، شکل (۴)، نمودارهای درصد مهار باکتری‌های E. coli و S. aureus را برای هر شش نمونه نانوکامپوزیتی تولیدشده در دو سری متفاوت از غلظت خاک رس (۰/۲۵ و ۰/۵) در مقایسه با رفتار مهاری خاک رس، نشان می‌دهند. همچنین این نمودارها به مقایسه نمودارهای مربوط به درصد مهار خاک رس به تنهایی در برابر رشد باکتری‌های E. coli و S. aureus پرداخته است. درصد مهار در این نمونه‌ها با کمک معادله (۱) محاسبه شده است. این داده‌ها نشان می‌دهند که خاک رس خام نسبت به نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay فعالیت ضد باکتریایی ضعیف‌تری را در برابر عوامل باکتریایی E. coli و S. aureus از خود نشان می‌دهد. در مقابل، نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay که از طریق سنتز احتراقی در محلول تولید شده‌اند، اثرات ضد باکتریایی قابل توجهی را از خود نشان دادند. با دقت بیشتر در مقایسه نمودارهای درصد مهار برحسب لگاریتم غلظت نانوذرات سنتزشده برای هر دو باکتری E. coli و S. aureus نمونه‌های 0.75ZnO/0.25Clay و 0.75CuO/0.25Clay بالاترین درصدهای مهار را داشته‌اند و پس از آن‌ها بالاترین مقدار بازدارندگی مربوط به نمونه 0.5ZnO/0.5Clay است. 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 این گونه بیان کرد که به دلیل اندازه ذرات ریزتر، سطح ویژه بالاتر و تخلخل بیشتر این نمونه‌ها بوده که فعالیت ضد باکتریایی بهتری را نشان داده‌اند.

Reyes-Torres و همکارانش [41] که نانوذرات ZnO و CuO را با روش سنتز سبز تولید کرده بودند، برای مقایسه تفاوت خواص ضد باکتریایی این نانوذرات این گونه ذکر کردند که اندازه نانوذرات می‌تواند بر میزان کارایی ضد باکتریایی آن‌ها تأثیرگذار باشد به گونه‌ای که نانوذرات کوچک‌تر به طور کلی خواص ضد میکروبی بهتری از خود نشان می‌دهند، هر چند 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 ضد باکتریایی آن‌ها می‌شود [41]. در واقع به نظر می‌رسد که نانوذرات کوچک‌تر به دلیل تعامل سطحی بیشتر و توانایی نفوذ آسان‌تر به درون غشای سلول‌های باکتریایی، مؤثرتر عمل می‌کنند [42]. با توجه به این نکات و اندازه ذرات ریز فازهای تشکیل‌دهنده نانوکامپوزیت‌های سنتزشده در پژوهش حاضر (۴۵– ۷۰ nm)، که در بخش قبل اشاره شده بود، می‌توان به یکی از دلایل مهم تأثیرگذار بر خواص ضد باکتریایی این نانوکامپوزیت‌ها اشاره کرد.



شکل ۳ تصاویر گرفته‌شده توسط میکروسکوپ نوری در بزرگ‌نمایی ۴۰۰ از باکتری‌های الف) E. coli و ب) S. aureus پس از بررسی خلوص و به منظور استفاده در آزمون بررسی خواص ضد باکتریایی



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

یکی از نکات قابل توجه در نتایج به دست آمده از بررسی خواص ضد باکتریایی نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay سنتزشده در پژوهش حاضر، مربوط به عملکرد ضد باکتریایی بهتر نمونه‌های سری اول با (۰/۲۵ مول خاک رس) بود که نشان می‌داد احتمالا 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 [43,44] و این افزایش توده‌ای شدن باعث کاهش عملکرد ضد باکتریایی نمونه‌های سری دوم به نسبت سری اول، شده است.

نهایتا نمونه 0.75ZnO/0.25Clay بالاترین بازده ضد باکتریایی را در برابر هر دو سویه باکتری از خود نشان داد. این کارایی بالا را می‌توان به سطح ویژه بسیار زیاد (۱۶۴/۸ m^2/g) و اندازه ذرات ریزتر آن (۴۵ nm) نسبت داد که احتمال تماس میان مکان‌های فعال و سلول‌های باکتریایی را افزایش می‌دهد و در نهایت موجب مرگ سلولی می‌شود [45].

بررسی مکانیسم عملکرد ضد باکتریایی نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay

بر اساس تحلیل‌های مکانیزمی، عملکرد ضد باکتریایی 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 نانوورقه‌های خاک رس به درون ساختار غشاشده و با ایجاد پارگی‌های مکانیکی، تشکیل حفره و فروپاشی یکپارچگی دیواره سلولی، نشت محتویات سیتوپلاسمی و مرگ سلولی را رقم

می‌زند. نانوورقه‌های لایه‌ای خاک رس با عملکردی شبیه تیغه‌های فیزیکی، تخریب مکانیکی غشا را تشدید می‌کند 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 می‌شود [46,47]، در حالی که رهایش یون‌های Zn^{2+} و به ویژه Cu^{2+} با اختلال در فعالیت‌های آنزیمی و متابولیسم سلولی، نقش مؤثری در تخریب شیمیایی غشا ایفا می‌کند [48,49]. این اثرات در نمونه‌های دارای ٪۲۵ خاک رس به دلیل اندازه ذرات کوچک‌تر، سطح ویژه بالاتر، پراکندگی مناسب‌تر و تجمع کمتر، تقویت می‌شود و در نهایت منجر به نابودی سریع‌تر و گسترده‌تر باکتری‌های گرم‌منفی و گرم‌مثبت، به ویژه در مراحل فعال تقسیم سلولی، می‌شود.

نتیجه‌گیری

در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد که نانوکامپوزیت‌های سه‌جزئی ZnO/CuO/Clay سنتزشده به روش احتراقی در محلول، به واسطه طراحی ساختاری هدفمند و ایجاد برهم‌کنش هم‌افزایی میان فازهای اکسیدفلزی و زمینه کائولن، از عملکرد زیستی بسیار مطلوبی برخوردار هستند. حضور خاک رس 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 به طور مستقیم موجب بهبود فعالیت ضدباکتریایی شدند. توزیع یکنواخت نانوذرات ZnOو CuO بر سطح و میان‌لایه‌های کائولن، مساحت سطح بالا و تخلخل مناسب، به ویژه در نمونه‌های حاوی ٪۲۵ خاک رس، 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 خاک رس سبب تشدید تجمع و کاهش دسترسی زیستی شد. بر این اساس، می‌توان نتیجه گرفت که نانوکامپوزیت‌های ZnO/CuO/Clay با ترکیب بهینه و درصد کنترل‌شده خاک رس، به عنوان سامانه‌هایی چندمنظوره و کارآمد، پتانسیل بالایی برای توسعه مواد ضد باکتریایی نوین و کاربردهای زیست‌پزشکی در مواجهه با چالش روبه‌رشد مقاومت دارویی دارند.

سپاسگزاری

مراجع

[1] C. Ashajyothi, K. H. Harish, N. Dubey, and R. K. Chandrakanth, "Antibiofilm activity of biogenic copper and zinc oxide nanoparticles-antimicrobials collegiate against multiple drug resistant bacteria: a nanoscale approach," *Journal of Nanostructure in Chemistry*, vol. 6, no. 4, pp. 329-341, 2016. [Online]. Available: https://doi.org/10.1007/s40097-016-0205-2

[2] P. P. Mahamuni-Badiger, P. M. Patil, M. V. Badiger, P. R. Patel, B. S. Thorat-Gadgil, A. Pandit, and R. A. Bohara, "Biofilm formation to inhibition: Role of zinc oxide-based nanoparticles," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 108, p. 110319, 2020. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110319

[3] A. M. Negrescu, M. S. Killian, S. N. Raghu, P. Schmuki, A. Mazare, and A. Cimpean, "Metal oxide nanoparticles: review of synthesis, characterization and biological effects," *Journal of Functional Biomaterials*, vol. 13, no. 4, p. 274, 2022. [Online]. Available: https://doi.org/10.3390/jfb13040274

[4] O. O. Adeniji, 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*, vol. 5, no. 10, pp. 4814-4826, 2022. [Online].

Available: https://doi.org/10.1021/acsabm.2c00527

[5] S. Stankic, S. Suman, F. Haque, and J. Vidic, "Pure and multi metal oxide nanoparticles: synthesis, antibacterial and cytotoxic properties," *Journal of Nanobiotechnology*, vol. 14, no. 1, p. 73, 2016. [Online]. Available: https://doi.org/10.1186/s12951-016-0225-6

[6] N. Esfandiari, S. Khosrovan, and M. Mirjalili, "A study on disinfection and adhesion behaviour between bacteria and photocatalytic nanostructures by extended DLVO," *Environmental Technology*, vol. 45, no. 28, pp. 6106-6120, 2024. [Online]. Available: https://doi.org/10.1080/09593330.2024.2325381

[7] R. Kumar, 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*, vol. 157, p. 111400, 2023. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.inoche.2023.111400

[8] S. Karrari, H. Mohammadzadeh, and R. Jafari, "Characterization of ZnO-CuO and ZnO-CuO-NiO nanocomposites prepared by co-precipitation and antibacterial properties," *Applied Physics A*, vol. 131, no. 2, p. 147, 2025. [Online]. Available: https://doi.org/10.1007/s00339-025-08273-9

[9] S. N. Aziz, A. M. Abdulwahab, T. S. Aldeen, and D. M. A. Alqabili, "Synthesis, characterization, and evaluation of antibacterial and antifungal activities of CuO-ZnO-Co3O4 nanocomposites," *Heliyon*, vol. 10, no. 18, 2024. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e37802

[10] R. Kumar, K. Kumar, S. Sharma, N. Thakur, and N. Thakur, "Multifunctional properties of microwave assisted CuO/Cu2O-ZnO mixed metal oxide nanocomposites," *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, vol. 34, no. 16, p. 1255, 2023. [Online]. Available: https://doi.org/10.1007/s10854-023-10693-3

[11] A. A. Ali, 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*, vol. 270, p. 124762, 2021. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2021.124762

[12] S. Sharma, K. Kumar, N. Thakur, S. Chauhan, and M. S. Chauhan, "Eco-friendly Ocimum tenuiflorum green route synthesis of CuO nanoparticles: Characterizations on photocatalytic and antibacterial activities," *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 9, no. 4, p. 105395, 2021. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105395

[13] T. T. T. Nguyen, Y. N. N. Nguyen, X. T. Tran, T. T. T. Nguyen, and T. Van Tran, "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*, vol. 11, no. 5, p. 111003, 2023. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.111003

[14] S. S. Sana, D. V. Kumbhakar, A. Pasha, S. C. Pawar, A. N. Grace, R. P. Singh, et al., "Crotalaria verrucosa leaf extract mediated synthesis of zinc oxide nanoparticles: assessment of antimicrobial and anticancer activity," *Molecules*, vol. 25, no. 21, p. 4896, 2020. [Online]. Available: https://doi.org/10.3390/molecules25214896

[15] R. Kaur, M. Suresh, J. López-Vidrier, S. Gutsch, C. Weiss, M. Prescher, et al., "In situ approach to fabricate heterojunction p–n CuO–ZnO nanostructures for efficient photocatalytic reactions," *New Journal of Chemistry*, vol. 44, no. 45, pp. 19742-19752, 2020. [Online]. Available: https://doi.org/10.1039/D0NJ03770B

[16] B. A. Kerayu, H. Alemu, G. Fikadu, A. Keneni, and T. Alemu, "The Effect of CuO Nanoparticle Variation on the Green Synthesized ZnO/CuO Nanocomposites for Antibacterial Activities," *East African Journal of Biophysical*

and Computational Sciences, vol. 6, no. 1, pp. 33-45, 2025. [Online]. Available: https://journals.hu.edu.et/hu-journals/index.php/eajbcs/article/view/1069

[17] A. H. Zyoud, A. Zubi, S. H. Zyoud, M. H. Hilal, S. Zyoud, N. Qamhieh, et al., "Kaolin-supported ZnO nanoparticle catalysts in self-sensitized tetracycline photodegradation: Zero-point charge and pH effects," *Applied Clay Science*, vol. 182, p. 105294, 2019. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.clay.2019.105294

[18] O. Kabadayi, 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*, vol. 319, p. 100433, 2024. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.dwt.2024.100433

[19] I. Ahmed and U. Javed, "Innovative PVA-kaolin-thyme composite: synthesis, hemostatic efficiency, and antimicrobial properties," *Polymer Bulletin*, pp. 1-20, 2025. [Online]. Available: https://doi.org/10.1007/s00289-025-05841-0

[20] M. Qu, M. Yu, T. Liao, and H. Yang, "Kaolinite-mediated synthesis of ultra-small silver nanoparticles with high antimicrobial activity," *Chemical Communications*, vol. 60, no. 54, pp. 6917-6920, 2024. [Online]. Available: https://doi.org/10.1039/D4CC01650E

[21] H. Xing, X. Liu, S. Zhang, M. Wang, L. Yang, and W. Wang, "Superabsorbent composites based on layered clays and mica: Synthesis, performance modulation and future challenges," *Materials Today Sustainability*, p. 101178, 2025. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.mtsust.2025.101178

[22] A. E. Segneanu, I. A. Bradu, G. Vlase, T. Vlase, C. Bejenaru, L. E. Bejenaru, et al., "Design and Evaluation of a Zingiber officinale–Kaolinite–Maltodextrin Delivery System: Antioxidant, Antimicrobial, and Cytotoxic Activity Assessment," *Pharmaceutics*, vol. 17, no. 6, p. 751, 2025. [Online]. Available: https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17060751

[23] C. R. S. de Oliveira, J. Mulinari, M. A. Batistella, A. A. U. de Souza, and S. M. D. A. G. Ulson, "Antimicrobial effect of cotton fabric functionalized with a kaolinite-titania nano-hybrid composite," *Materials Chemistry and Physics*, vol. 295, p. 127078, 2023. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2022.127078

[24] H. V. Vasei, S. M. Masoudpanah, M. Adeli, and M. R. Aboutalebi, "Solution combustion synthesis of ZnO powders using various surfactants as fuel," *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, vol. 89, no. 2, pp. 586-593, 2019. [Online]. Available: https://doi.org/10.1007/s10971-018-4900-y

[25] F. Siddique, S. Gonzalez-Cortes, A. Mirzaei, T. Xiao, M. A. Rafiq, and X. Zhang, "Solution combustion synthesis: the relevant metrics for producing advanced and nanostructured photocatalysts," *Nanoscale*, vol. 14, no. 33, pp. 11806-11868, 2022. [Online]. Available: https://doi.org/10.1039/D2NR02714C

[26] Z. Yin, S. Li, X. Li, W. Shi, W. Liu, Z. Gao, et al., "A review on the synthesis of metal oxide nanomaterials by microwave induced solution combustion," *RSC Advances*, vol. 13, no. 5, pp. 3265-3277, 2023. [Online]. Available: https://doi.org/10.1039/D2RA07936D

[27] S. Khosrovan, J. Vahdati Khaki, M. Mirjalili, M. M. Matin, and N. Esfandiari, "Synergistic Mechanisms Underlying Optical, Antimicrobial, Anticancer, and Antioxidant Activities of Multifunctional Bioactive ZnO/CuO/Clay Nanocomposites," *ACS Applied Bio Materials*, vol. 8, no. 12, pp. 11190-11205, 2025. [Online]. Available: https://doi.org/10.1021/acsabm.5c01884

[28] S. F. Khyrun, A. J. Christy, R. Usha, L. C. Nehru, and S. Suresh, "Novel solution combustion synthesis of CeO2/CuO

nanocomposite for photocatalytic and biological applications," *Optical Materials*, vol. 139, p. 113756, 2023. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.optmat.2023.113756

[29] E. Carlos, R. Martins, E. Fortunato, and R. Branquinho, "Solution combustion synthesis: towards a sustainable approach for metal oxides," *Chemistry–A European Journal*, vol. 26, no. 42, pp. 9099-9125, 2020. [Online]. Available: https://doi.org/10.1002/chem.202000678

[30] I. Barin, O. Knacke, and O. Kubaschewski, *Thermochemical properties of inorganic substances: supplement*. Springer Science & Business Media, 2013. [Online]. Available: https://doi.org/10.1007/978-3-662-02293-1

[31] A. S. Mukasyan, P. Epstein, and P. Dinka, "Solution combustion synthesis of nanomaterials," *Proceedings of the Combustion Institute*, vol. 31, no. 2, pp. 1789-1795, 2007. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.proci.2006.07.052

[32] E. Novitskaya, J. P. Kelly, S. Bhaduri, and O. A. Graeve, "A review of solution combustion synthesis: an analysis of parameters controlling powder characteristics," *International Materials Reviews*, vol. 66, no. 3, pp. 188-214, 2021. [Online]. Available: https://doi.org/10.1080/09506608.2020.1765603

[33] R. D. Purohit, B. P. Sharma, K. T. Pillai, and A. K. Tyagi, "Ultrafine ceria powders via glycine-nitrate combustion," *Materials Research Bulletin*, vol. 36, no. 15, pp. 2711-2721, 2001. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/S0025-5408(01)00762-0

[34] Y. Liao, D. Jiang, T. Feng, and J. Shi, "Fabrication, structural, and spectroscopic investigation of Tb-doped Lu3Al5O12 phosphor," *Journal of Materials Research*, vol. 20, no. 11, pp. 2934-2939, 2005. [Online]. Available: https://doi.org/10.1557/JMR.2005.0386

[35] A. V. Kosenko and G. A. Emel'Chenko, "Equilibrium phase relationships in the system Cu-O under high oxygen pressure," *Journal of Phase Equilibria*, vol. 22, no. 1, pp. 12-19, 2001. [Online]. Available: https://doi.org/10.1007/s11669-001-0050-x

[36] M. M. Moqaddam, M. Mirjalili, J. V. Khaki, and S. M. Beidokhti, "A new approach in the one-step synthesis of α-MnO2 via a modified solution combustion procedure," *Nanoscale Advances*, vol. 4, no. 18, pp. 3909-3918, 2022. [Online]. Available: https://doi.org/10.1039/D2NA00257D

[37] B. Uma, K. S. Anantharaju, L. Renuka, H. Nagabhushana, S. Malini, S. S. More, 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*, vol. 47, no. 10, pp. 14829-14844, 2021. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.09.223

[38] A. Varma, A. S. Mukasyan, A. S. Rogachev, and K. V. Manukyan, "Solution combustion synthesis of nanoscale materials," *Chemical Reviews*, vol. 116, no. 23, pp. 14493-14586, 2016. [Online]. Available: https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00279

[39] A. Wawrzyńczak, I. Nowak, N. Woźniak, J. Chudzińska, and A. Feliczak-Guzik, "Synthesis and characterization of hierarchical zeolites modified with polysaccharides and its potential role as a platform for drug delivery," *Pharmaceutics*, vol. 15, no. 2, p. 535, 2023. [Online]. Available: https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020535

[40] Z. G. Asmare, 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*, vol. 9, no. 49, pp.

48014-48031, 2024. [Online]. Available: https://doi.org/10.1021/acsomega.4c04029

[41] M. A. Reyes-Torres, E. Mendoza-Mendoza, Á. M. Miranda-Hernández, M. A. Pérez-Díaz, M. López-Carrizales, R. D. Peralta-Rodríguez, et al., "Synthesis of CuO and ZnO nanoparticles by a novel green route: antimicrobial activity, cytotoxic effects and their synergism with ampicillin," *Ceramics International*, vol. 45, no. 18, pp. 24461-24468, 2019. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.08.171

[42] E. Hoseinzadeh, P. Makhdoumi, P. Taha, H. Hossini, J. Stelling, M. Amjad Kamal, and G. Md. Ashraf, "A review on nano-antimicrobials: metal nanoparticles, methods and mechanisms," *Current Drug Metabolism*, vol. 18, no. 2, pp. 120-128, 2017. [Online]. Available: https://doi.org/10.2174/1389200217666161201111146

[43] R. Li, Z. Chen, N. Ren, Y. Wang, Y. Wang, and F. Yu, "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*, vol. 199, p. 111593, 2019. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111593

[44] N. Verma and N. Kumar, "Synthesis and biomedical applications of copper oxide nanoparticles: an expanding horizon," *ACS Biomaterials Science & Engineering*, vol. 5, no. 3, pp. 1170-1188, 2019. [Online]. Available: https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.8b01092

[45] Y. Pan, Y. Gao, J. Hu, G. Ye, F. Zhou, and C. Yan, "Montmorillonite nanosheets with enhanced photodynamic performance for synergistic bacterial ablation," *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 9, no. 2, pp. 404-409, 2021. [Online]. Available: https://doi.org/10.1039/D0TB02254C

[46] A. Sirelkhatim, S. Mahmud, A. Seeni, N. H. M. Kaus, L. C. Ann, S. K. M. Bakhori, et al., "Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism," *Nano-Micro Letters*, vol. 7, no. 3, pp. 219-242, 2015. [Online]. Available: https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x

[47] M. E. Grigore, E. R. Biscu, A. M. Holban, M. C. Gestal, and A. M. Grumezescu, "Methods of synthesis, properties and biomedical applications of CuO nanoparticles," *Pharmaceuticals*, vol. 9, no. 4, p. 75, 2016. [Online]. Available: https://doi.org/10.3390/ph9040075

[48] M. Li, L. Zhu, and D. Lin, "Toxicity of ZnO nanoparticles to Escherichia coli: mechanism and the influence of medium components," *Environmental Science & Technology*, vol. 45, no. 5, pp. 1977-1983, 2011. [Online]. Available: https://doi.org/10.1021/es102624t

[49] G. Applerot, J. Lellouche, N. Perkas, Y. Nitzan, A. Gedanken, and E. Banin, "ZnO nanoparticle-coated surfaces inhibit bacterial biofilm formation and increase antibiotic susceptibility," *RSC Advances*, vol. 2, no. 6, pp. 2314-2321, 2012. [Online]. Available: https://doi.org/10.1039/C2RA00602B