



سنتز نانو کمپلکس‌های فعال بیوشیمیایی از قرمز تولوئیدین و فلز نیکل

راهبه امیری^{۱*}، زهرا فخریوئیان^۲، سوسن رسولی^۳، محیا فرهادی^۴

۱- استادیار، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵-۸۷۱

۲- استادیار، مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی، دانشگاه تهران، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۶۹۹-۱۴۱۵۵

۳- دانشیار، گروه پژوهشی نانومواد و نانوفناوری، موسسه پژوهشی علوم و فناوری رنگ، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۶۷۶۵-۶۵۴

۴- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه شیمی، واحد تهران مرکزی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵-۸۷۱

تاریخ دریافت: ۹۰/۳/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۰/۲۱ در دسترس به صورت الکترونیکی از: ۱۳۹۱/۹/۲۰

چکیده

در تحقیق ارائه شده، سنتز تعدادی کمپلکس‌های فلزی جدید در مقیاس نانو از یک لیگاند آزوی آروماتیک گزارش شده است. قرمز تولوئیدین به وسیله واکنش‌های آزو-کوپلینگ نمک اورتونیترو-پارا متیل-فنیل دی آزونیوم با ۲-نفتل سنتز شد و سپس کمپلکس‌های فلزی آن با نیکل حجیم و نانو کامپوزیت‌های Ni/SiO_2 در pH های مختلف و شرایط بهینه واکنش، تهیه گردید. ساختارهای محصولات به دست آمده با بازده ۷۵-۸۵ درصد از جذب اتمی و داده‌های طیفی UV، IR و NMR به دست آمدند. بر طبق داده‌های XRD کمپلکس‌های قرمز تولوئیدین-نیکل در مقیاس نانو پیکربندی مونوکلینیک دارند و تصاویر SEM نشان داده است که اندازه ذرات کمتر از ۱۰۰ nm می‌باشد. همچنین فعالیت‌های ضدباکتریایی و ضدقارچی نانو کمپلکس‌های فلزی به صورت *in-vitro* بر علیه تعدادی باکتری و قارچ ارزیابی شد. آنها فعالیت‌های بالایی را بر علیه تمامی گونه‌ها نشان داده‌اند.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات، قرمز تولوئیدین، کمپلکس‌های فلزی، بیوشیمی، نیکل.

Synthesis of Biochemically Active Nano Complexes of Toluidine Red and Nickel Metal

R. Amiri^{*1}, Z. Fakhroueian², S. Rasouli³, M. Farhadi¹

¹ Chemistry Department, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, P.O. Box: 14515-871, Tehran, Iran

² Nanotechnology Research Center, Tehran University, P.O. Box: 1699-14155, Tehran, Iran

³ Department of Nanomaterials & Nanotechnology, Institute for Color Science and Technology, P.O. Box: 16765-654, Tehran, Iran

Received: 07-06-2011

Accepted: 11-01-2012

Available online: 10-12-2012

Abstract

In the present research, the synthesis of some new nano-scale metal chelates of an aromatic azo ligand has been reported. Toluidine red was synthesized by azo-coupling reactions of *o*-nitro-*p*-methyl phenyl diazonium salt with 2-naphthol and then its metal complexes were prepared with bulk Ni and Ni/SiO₂ nanofine composite on the different pH and with the optimized conditions. The structures of products in overall yields of 75- 85% were deduced from their Atomic absorption and their UV, IR and NMR spectral data. According to XRD data, nano-scaled Toluidine Red-Ni complexes have monoclinic configuration and SEM technique have shown the size of particles are less than 100 nm. Also, nano metal complexes were evaluated *in vitro* for their antibacterial and antifungal activities against some bacteria and fungi. They have shown high activity against all species of them. *J. Color Sci. Tech.* 6(2012), 223-232 © Institute for Color Science and Technology.

Keywords: Nanoparticles, Toluidine red, Metal complexes, Biochemistry, Nickel.

۱- مقدمه

ترکیبات آزو (حاوی کروموفور $=N=N-$) قدیمی‌ترین و بزرگ‌ترین گروه مواد رنگزای آلی سنتزی هستند [۱،۲]. این امر به دلیل جنبه‌های مختلف کاربردی آنها در صنایع مختلف مانند رنگ‌کردن الیاف نساجی، تهیه رنگ‌های صنعتی، مطالعات بیودارویی و محدوده وسیعی از فناوری‌ها مثل لیزر، نمایشگرهای بلورمایع، ابزارهای الکترو-نوری و چاپگرهای جوهرافشان می‌باشد [۳-۶]. علی‌رغم اینکه برخی از رنگزاهای آزو سمی شناخته شده‌اند، اما آنها در فعالیتهای بیولوژیکی بویژه ضدباکتریایی و ضدقارچی اهمیت فراوانی دارند [۷-۹]. در این میان، رنگزاهای آزو فلزی شده که از کمپلکس دادن رنگزاهای آزو با فلزات تهیه می‌شوند، به عنوان یک گروه مجزا مورد مصرف متعددی دارند. وارد شدن فلز در ساختار رنگزاهای آزو سبب بهبودی برخی از خواص، به ویژه مقاومت در برابر نور و شستشو می‌گردد، اما گاه کاهش شفافیت رنگ را نیز در بر خواهد داشت. همچنین این امر موجب جابجایی حداکثر طول موج جذبی کمپلکس‌های فلزی نسبت به رنگزاهای عاری از فلز خواهد شد. از جمله فلزات مورد استفاده در این رنگ‌ها می‌توان به مس، کروم، کبالت، آهن و نیکل اشاره کرد [۱۰-۱۲]. در اغلب کارهای صورت گرفته برای تهیه کمپلکس‌های فلزی رنگ‌های آزو از جمله کاری که توسط کابای^۱ و همکارانش وی در سال‌های اخیر انجام شده است [۱۰]، از املاح قابل حل فلزات در مقیاس معمولی استفاده گردیده که با لیگاندهای الکترون‌دهنده و کروموفور آزو وارد کمپلکس شده‌اند به طوری که در گزارش مذکور، آنها از رنگینه‌های آزو حاوی گروه‌های الکترون‌دهنده هیدروکسیل به عنوان لیگاند استفاده نموده و با نمک‌های فلزی محلول در آب کمپلکس‌های نهایی را تهیه کرده‌اند. اما آنچه که کمتر به چشم می‌خورد به کارگیری فلزات در مقیاس نانو برای تهیه محصولات فوق است و همچنین برقراری ارتباط بین فلزات و لیگاندهای الکترون‌کشنده در ساختار رنگزای آلی اولیه، که این مسئله در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفته است. از طرفی دیگر، نانو ذرات رایج‌ترین مواد مورد بررسی در فناوری نانو بوده [۱۳-۱۵] که با توجه به ترکیب شیمیایی، این ذرات به انواع فلزی، سرامیکی، پلیمری و نیمه هادی تقسیم می‌شوند. در بین آنها، سنتز نانو فلزات به دلیل کاربردها و خواص ویژه‌ای که دارا هستند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد و از میان روش‌های به کار رفته روش هم‌رسوبی کاربرد بیشتری برای ساخت نانو کامپوزیت‌های فلزی دارد [۱۶، ۱۷]. بر طبق مطالعات صورت گرفته یکی از چالش‌های دنیای نانو با فناوری‌های خاص خود سهولت به کارگیری آن در عرصه‌های مختلف علمی و کاربردی می‌باشد. لذا هدف از کار ارائه شده برقراری ارتباط بین نانو ذرات با مولکول‌های رنگی در ابعاد میکرو به روشی ساده است. در این راستا،

ابتدا با به کارگیری روش‌های شیمیایی نانو ذرات نیکل روی بستر سیلیکا سنتز شده و سپس از طریق روشی تک‌مرحله‌ای به سنتز یک کمپلکس فلزی جدید پرداخته می‌شود.

لازم به ذکر است که استفاده از این روش تک‌مرحله‌ای تاکنون گزارش نگردیده است. ساختار محصولات فوق که با استفاده از رنگدانه قرمز تولوئیدین و نانو ذرات نیکل موجود در کامپوزیت‌های Ni/SiO_2 به دست آمدند، از طریق روش‌های متفاوت طیف‌سنجی تعیین و فعالیت‌های بیوشیمیایی آنها بررسی شده است.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد

تمامی مواد اولیه مورد استفاده شامل: ۴- متیل-۲- نیتروآنیلین، ۲- نفتل، اسید کلریدریک، سدیم نیتريت، سدیم کربنات، نیترات نیکل ۶ آب، تترا اتیل ارتوسیلیکات، اتانول و پتاسیم هیدروکسید با درصد خلوص آزمایشگاهی از شرکت مرک تهیه شدند.

۲-۲- روش کار

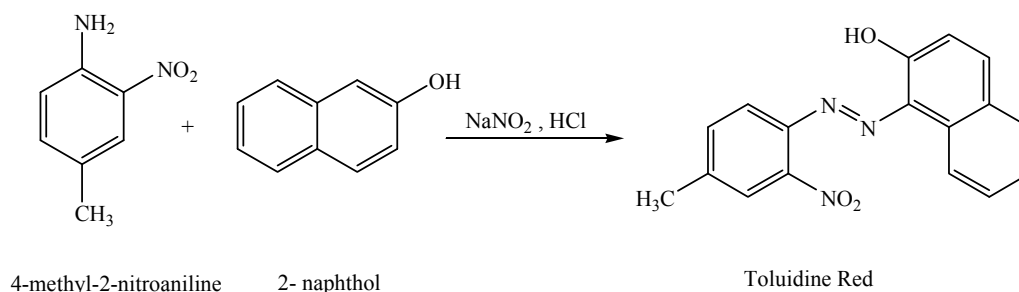
محصولات به دست آمده از طریق دستگاه‌های اسپکتروفوتومتر فرابنفش - مرئی (JASCO UV- 550)، طیف سنج زیر قرمز تبدیل فوری (JASCO FT/IR- 410)، طیف‌سنج تشدید مغناطیسی هسته (AVANCE 300, BRUCKER 300- DRX)، طیف‌سنج پراش پرتو ایکس (Panalytical XRD- MPD)، میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (S360 FE-SEM) مورد بررسی و شناسایی قرار گرفت.

سنتز قرمز تولوئیدین

برای تهیه رنگ قرمز تولوئیدین از مواد اولیه ۴- متیل-۲- نیتروآنیلین و ۲- نفتل استفاده شده است (شمای ۱).

در ابتدا مقدار ۰,۰۵ مول از ۴- متیل-۲- نیتروآنیلین (برابر با ۷,۶۰ گرم) همراه با مقادیر مساوی از اسید کلریدریک و آب (۱۲,۵ میلی‌لیتر) به مقدار ۰,۰۵۴ مول سدیم نیتريت (معادل ۲,۷۴ گرم) محلول در آب، قطره قطره همراه با کنترل دما در کمتر از $5^{\circ}C$ اضافه شده است. در مرحله بعد مقدار ۰,۰۶۰ مول سدیم کربنات (برابر با ۶,۳۶ گرم) در آب مقطر همراه با مقدار ۰,۰۴۹ مول ۲- نفتول (برابر با ۷,۲ گرم) در مخلوط آب و یخ حل شده و سریعاً به مخلوط بالا اضافه گردید.

در این مرحله کوپلاسیون^۲ صورت گرفته و رنگزا آزو تشکیل می‌شود. در نهایت رنگدانه حاصله را با کیف بوخنر صاف کرده و با آب شستشو داده می‌شود. برای اطمینان از خالص بودن رنگ تهیه شده می‌توان از آزمون TLC استفاده کرد [۱۸].



شمای ۱: واکنش تشکیل رنگزای قرمز تولوئیدین.

نیکل، مقدار ۵ mmol از رنگزا قرمز تولوئیدین (معادل با ۱,۵۳۶ گرم) را در حداقل حلال اتانول حل نموده و در مرحله بعد مقدار ۲ mmol از نمک فلزی محلول و یا پراکنده شده در آب به محلول رنگزای آزو افزوده می‌گردد. در این مرحله، pH محلول به محدوده ۴,۵ رسانده می‌شود. در نهایت محلول فوق به مدت ۳۰ دقیقه با کمک هم‌زن مغناطیسی تحت تقطیر برگشتی^۲ قرار داده و در آخر رسوب حاصله صاف شده و چندین مرتبه توسط اتانول شسته و در خلاء خشک شد.

۳- نتایج و بحث

بررسی شیمیایی محصولات

ساختار شیمیایی محصولات به دست آمده توسط جذب اتمی، UV، IR و NMR بررسی گردیده و نتایج آن به شرح زیر می‌باشد. نتایج حاصل از جذب اتمی نمونه‌های سنتز شده در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: میزان نیکل در کمپلکس‌های فلزی تهیه شده.

| کمپلکس‌های فلزی تهیه شده | غلظت برحسب ppm | غلظت برحسب درصد |
|---|----------------|-----------------|
| NiCl ₂ .6H ₂ O (bulk) | ۲۱,۰۲ | ۱,۰۵۱ |
| Nano Nickel %۱۲ | ۲۵,۱۸ | ۱,۲۵۹ |
| Nano Nickel %۲۵ | ۳۱,۵۷ | ۱,۵۷۸ |

سنتز نانوذرات نیکل روی بستر سیلیکا

پیش از شروع ساخت کمپلکس‌های رنگ با فلزات، ابتدا طرز تهیه نانوذرات نیکل روی بستر سیلیکا را به روش هم رسوبی، به طور خلاصه شرح داده می‌شود: مواد اولیه سنتز نانو ذرات اکسید نیکل روی بستر سیلیکا به این صورت انتخاب شده است که، از نمک نیترات نیکل ۶ آب و TEOS یا تترا اتیل ارتوسیلیکات با مقادیر استوکیومتری معینی به صورت محلول در آب استفاده می‌شود. سپس pH محیط توسط پتاسیم هیدروکسید بین ۱۰ تا ۱۱ تنظیم و به مدت سه روز تا یک هفته تقطیر برگشتی می‌شود. در این فاصله می‌توان از مواد فعال سطح^۱ یونی یا غیر یونی در راستای ریزش نانو ذرات استفاده نمود. در پایان رسوب به دست آمده با آب و الکل شستشو و سپس خشک شد و به مدت ۸ - ۶ ساعت کلسینه گردید [۱۶، ۱۷].

تعیین pH مناسب جهت تهیه کمپلکس‌های فلزی

در فرآیند تهیه کمپلکس‌های فلزی سه محدوده pH برای کمپلکس‌های نیکل تعریف شد و میزان نیکل نمونه‌های تهیه شده توسط روش جذب اتمی تعیین گردید که به صورت زیر می‌باشد (این اعداد میزان درصد نیکل موجود در ساختار کمپلکس نهایی را گزارش می‌کند):

- نمونه کمپلکس نیکل در pH = ۴,۵ دارای ۰,۵٪

- نمونه کمپلکس نیکل در pH = ۵,۵ دارای ۰,۳٪

- نمونه کمپلکس نیکل در pH = ۶,۵ دارای ۰,۲٪ نیکل می‌باشد.

با توجه به نتایج حاصله، محدوده بهینه pH جهت تهیه این کمپلکس‌های فلزی ۴,۵ تعیین گردید.

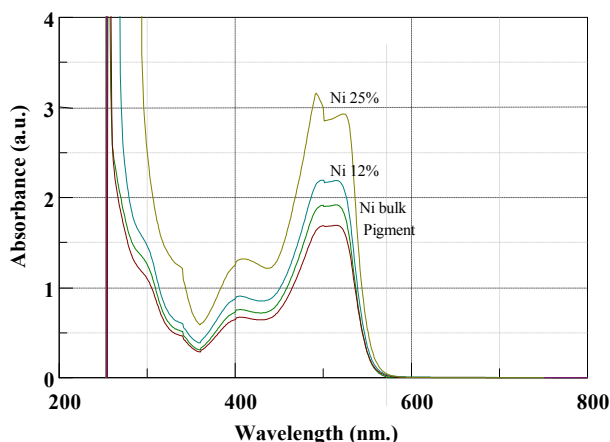
سنتز کمپلکس‌های فلزی

جهت تهیه کمپلکس‌های رنگ با نمک فلز نیکل معمولی و نانو ذرات

2- Reflux

1- Surfactant

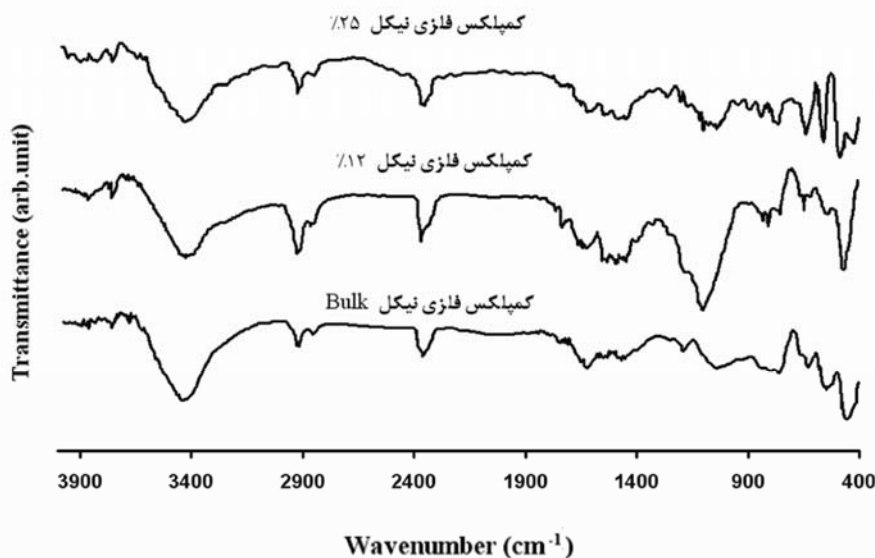
می‌باشد. جذب در طول موج 1180 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی (C=N)، نوار 1050 cm^{-1} مربوط به جذب کششی پیوند (C-O) نفتلی، نوار حوالی 850 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی خارج از صفحه‌ای (=C-H) است. همچنین نوار موجود در 750 cm^{-1} مربوط به پیوند (M=N) بوده و در آخر نوارهای محدوده 500 و 650 cm^{-1} مربوط به پیوندهای (M-O) می‌باشد.



شکل ۱: طیف UV-Vis رنگ قرمز تولوئیدین و کمپلکس‌های فلزی در حلال کلروفرم.

همان‌گونه که گزارش شده است درصد فلز نیکل در محصول نهایی هنگام استفاده از ماده اولیه نانو نیکل ۲۵٪ از بقیه موارد بیشتر است. در طیف UV-Vis رنگدانه قرمز تولوئیدین (شکل ۱) بیشینه طول موج جذبی $\lambda_{\text{max}} = 490 \text{ nm}$ می‌باشد که این جذب مربوط به انتقال ($n \rightarrow \pi^*$) است. این نوار در کمپلکس‌های فلزی افزایش شدت نشان می‌دهد. علت این امر وارد شدن یون Ni^{+2} به سیستم مزدوج است که باعث گسترش بیشتر ابر الکترونی شده و به این ترتیب عدم استقرار الکترون‌های π را افزایش می‌دهد. جذب در حوالی $\lambda = 530 \text{ nm}$ مربوط به جذب انتقال بار از فلز به سیستم لیگاند می‌باشد. در این کمپلکس‌ها به دلیل اینکه لیگاند NO_2^- جز لیگاندهای پذیرنده π است و فلز مرکزی دارای اوربیتال‌های t_{2g} در حال پر شدن می‌باشد لذا انتقال بار از فلز به لیگاند بوده و شدت جذب بالایی ندارد. جذب‌های انتقال بار که در ناحیه فرابنفش و مرئی ظاهر می‌شوند، انتقالات (d-d) را که معمولاً پیک‌های ضعیفی در ناحیه فرابنفش ظاهر می‌کنند، می‌پوشانند [۱۹].

در طیف IR کمپلکس‌های فلزی (شکل ۲)، همان‌گونه که مشاهده می‌شود نوار پهن موجود در حوالی 3400 cm^{-1} مربوط به گروه عاملی OH- است که به دلیل تشکیل پیوند هیدروژنی درون مولکولی به صورت پهن ظاهر گردیده است، نوارهای جذبی زیر 3000 cm^{-1} مربوط به C-H آلیفاتیک می‌باشد. همچنین جذب ارتعاشی حوالی 2350 cm^{-1} مربوط به گروه نیترو در حالت رزونانسی است [۲۱] و نوار حوالی 1550 cm^{-1} مربوط به کشش نامتقارن این گروه روی حلقه آروماتیک است. نوارهای محدوده 1470 cm^{-1} مربوط به گروه آزو



شکل ۲: طیف IR کمپلکس فلزی نیکل حجمی، کمپلکس فلزی نیکل ۱۲٪ و کمپلکس فلزی نیکل ۲۵٪.

بررسی ساختاری محصولات

استفاده از روش XRD در تعیین ساختمان کمپلکس های فلزی با پردازش داده های به دست آمده از الگوی پراش پرتو ایکس در شکل ۴، مشاهده می شود که شکل فاز اصلی حاصله در نمونه تولوئیدین قرمز با کارت مرجع شماره JCPDS ۱۸۷۹-۲۵ تطابق دارد. به علاوه، مقدار کمی فاز فرعی کریستوبالیت با شماره کارت JCPDS ۱۴۲۵-۳۹ دیده می شود که مربوط به حضور بستر سیلیکا می باشد. با توجه به عدم مشخص بودن ساختاری معین مربوط به نیکل به نظر می رسد حالت کمپلکس فلزی میان تولوئیدین و فلز نیکل ایجاد شده است. به علاوه نتایج نشان می دهند که ایجاد کمپلکس با فلز نیکل تاثیر چندانی بر روی ساختار مونوکلینیک آن نداشته و حتی موقعیت شدیدترین پیک آن در محدوده 27° نیز دچار تغییر نشده است. بنابراین می توان نتیجه گرفت که نیکل به خوبی در ساختار قرار گرفته است [۱۶، ۱۷]. همچنین با استفاده از معادله شرر^۱ (رابطه ۱) اندازه بلورکها محاسبه شده است.

$$\tau = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (1)$$

در این معادله λ نشان دهنده طول موج پرتو تابیده شده، β نشان دهنده عرض پیک اصلی در نصف ارتفاع و θ نشان دهنده زاویه انکسار می باشد. اگرچه با توجه به بالا بودن پس زمینه تخمین دقیق میانگین اندازه بلورها به روش دبای - شرر امکان پذیر نیست ولی به صورت نسبی در محدوده ۲۷ nm است.

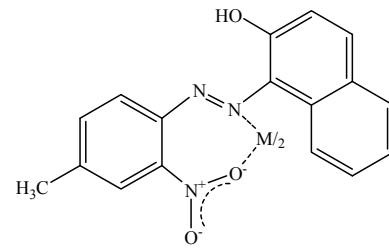
تصاویر SEM

مقایسه تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی^۲ تهیه شده از رنگزا قرمز تولوئیدین و کمپلکس های فلزی نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪ (شکل ۵) نشان دهنده تغییر اندازه و انتقال ذرات از فاز میکرو در رنگزا قرمز تولوئیدین، به فاز نانومتری در کمپلکس های فلزی نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪ می باشد، به گونه ای که تهیه تصاویر واضح، به علت اندازه بسیار کوچک ذرات نانومتری، امکان پذیر نبوده است. به عنوان نمونه اندازه یکی از ذرات در کمپلکس محصول فلزی نانو ذرات نیکل ۱۲٪، ۵۸ nm و در کمپلکس فلزی نانو ذرات نیکل ۲۵٪، ۳۸ nm گزارش شده است. همانگونه که مشاهده می شود نمونه های اولیه تولوئیدین شامل ذراتی کروی تا کشیده و نمونه نیکل شامل ذراتی نسبتاً صفحه ای مانند می باشند از آنجائی که مساحت سطح موثر نانو ذرات خیلی بزرگ تر از نمونه معمولی آن است می توانند سطح بیشتری از رنگ را به طور همگن و یکنواخت بیوشانند، که این امر از عهده ذرات نیکل حجیم خارج است.

1- Scherrer
2- SEM : Scanning Electron Microscope

با توجه به وابسته بودن ساختمان برخی از کمپلکس های فلزی به شرایط تشکیل آن ها، از جمله pH محیط، فرض گردید که با افزایش pH محیط، اکسیژن منفی گروه هیدروکسیل نفتل به عنوان لیگاند (به همراه ابر الکترونی پیوند π گروه آزو) عمل خواهد کرد، در حالی که در pH های اسیدی یکی از اکسیژن های استخلاف نیترو به عنوان لیگاند (به همراه ابر الکترونی پیوند π گروه آزو) عمل می کند. برای پی بردن به این مسئله سه طیف $^1\text{H-NMR}$ کمپلکس های تهیه شده در pH های ۴،۵، ۷،۵ و ۸،۵ گرفته شدند (شکل ۳). این طیف ها نشان دادند که پروتون های گروه هیدروکسیل نفتل در حوالی ۱۶ ppm و ۱۱ با تغییر pH حذف نمی گردند. در صورتی که سیگنال مربوط به پروتون متصل به یکی از اکسیژن های گروه نیترو در حالت رزنانسی (۸،۹۶ ppm) در محیط قلیایی حذف می شود لذا گروه هیدروکسیل نفتل در ایجاد کمپلکس فلزی نقشی نخواهد داشت. تفسیر طیف $^1\text{H-NMR}$ در جدول ۲ خلاصه شده است.

در نتیجه بر طبق اطلاعات حاصله ساختار شیمیایی محصول بدست آمده در ساختار ۱ نشان داده شده است.



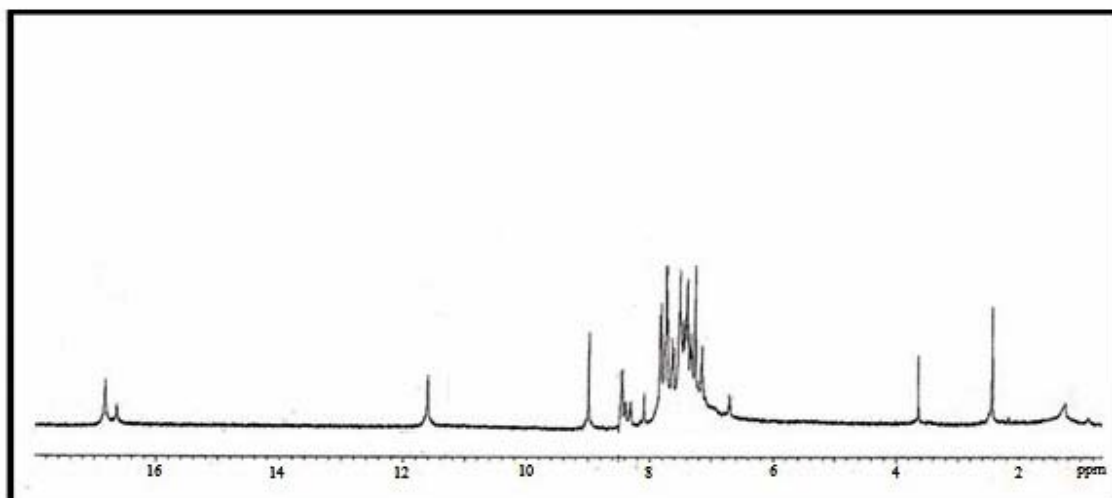
M= Bulk Ni, Nano Ni

ساختار ۱: ساختار شیمیایی کمپلکس فلزی قرمز تولوئیدین - نیکل.

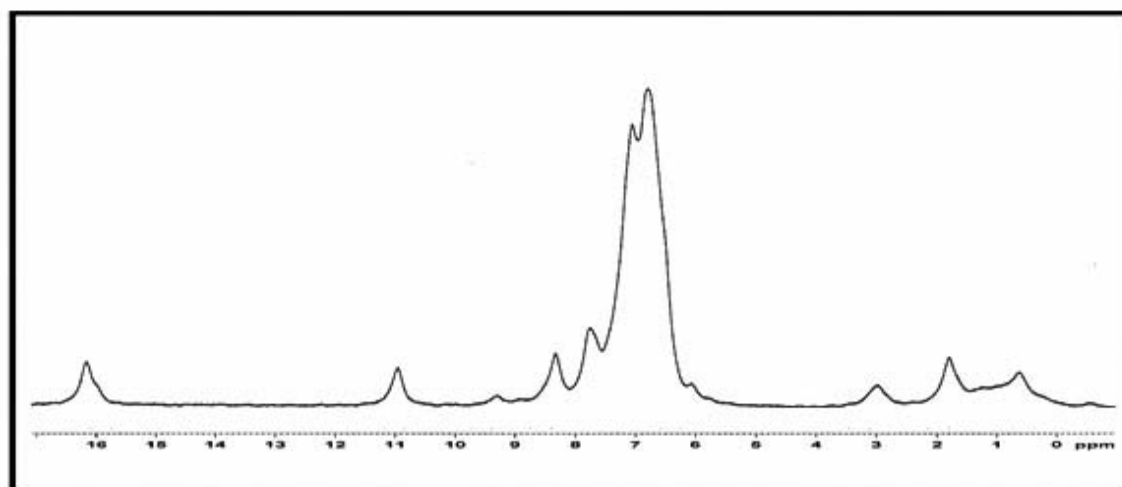
جدول ۲: نتایج حاصل از طیف $^1\text{H-NMR}$ کمپلکس های تهیه شده در pH=۴،۵

| توضیحات | مکان signal (ppm) | شکافتگی |
|---|-------------------|---------|
| - پروتون فنلی* | ۱۶،۸۷ | یکتایی |
| - پروتون فنلی | ۱۱،۶۰ | یکتایی |
| - پروتون متصل به یکی از اکسیژن های گروه نیترو | ۸،۹۶ | یکتایی |
| - پروتون های آروماتیک | ۶،۸۴ - ۸،۳۷ | چندتایی |
| - پروتون های گروه متیل | ۳،۶۵ | یکتایی |
| - پروتون های گروه متیل | ۲،۴۱ | یکتایی |

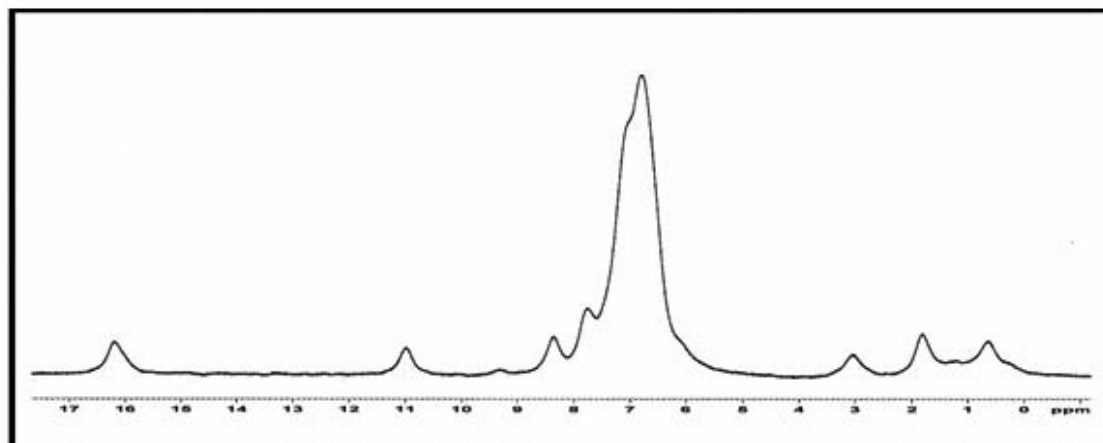
*- فلز مرکزی با دو مولکول رنگ تشکیل کمپلکس داده است که از نظر جهت گیری درضا متفاوت بوده و در نتیجه میزان پیوند هیدروژنی هر (-OH) با کروموفور (-N=N-) متفاوت است، پس پروتون های فنلی در نواحی متفاوتی ظاهر می گردند.



الف

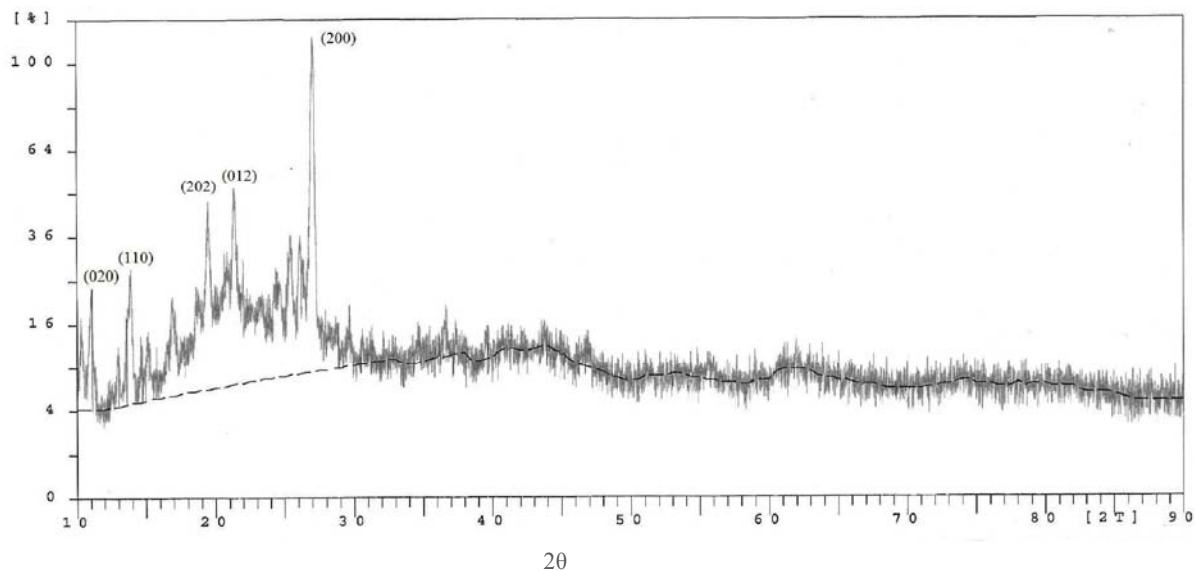


ب



ج

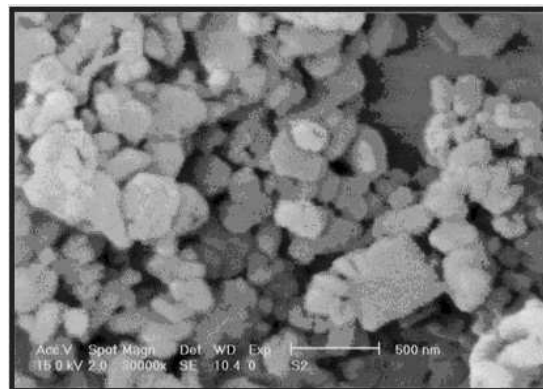
شکل ۳: طیف NMR کمپلکس نانو نیکل تهیه شده در حلال کلروفرم و pHهای الف: ۴,۵، ب: ۷,۵ و ج: ۸,۵.



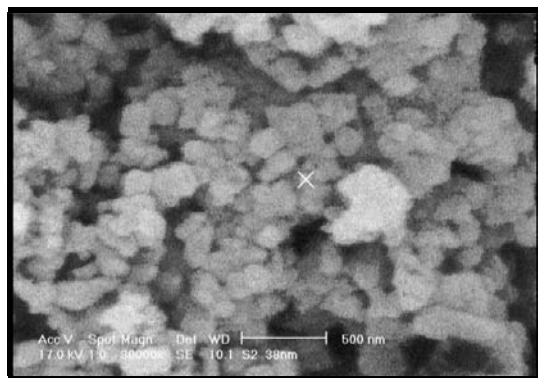
شکل ۴: الگوی XRD کمپلکس فلزی نانو ذرات نیکل.



کمپلکس فلزی نیکل حجیم



قرمز تولوئیدین



کمپلکس نیکل ۲۵٪



کمپلکس نیکل ۱۲٪

شکل ۵: مقایسه تصاویر SEM رنگزا قرمز تولوئیدین و کمپلکس‌های فلزی نیکل حجیم، نانو نیکل ۱۲ و ۲۵٪.

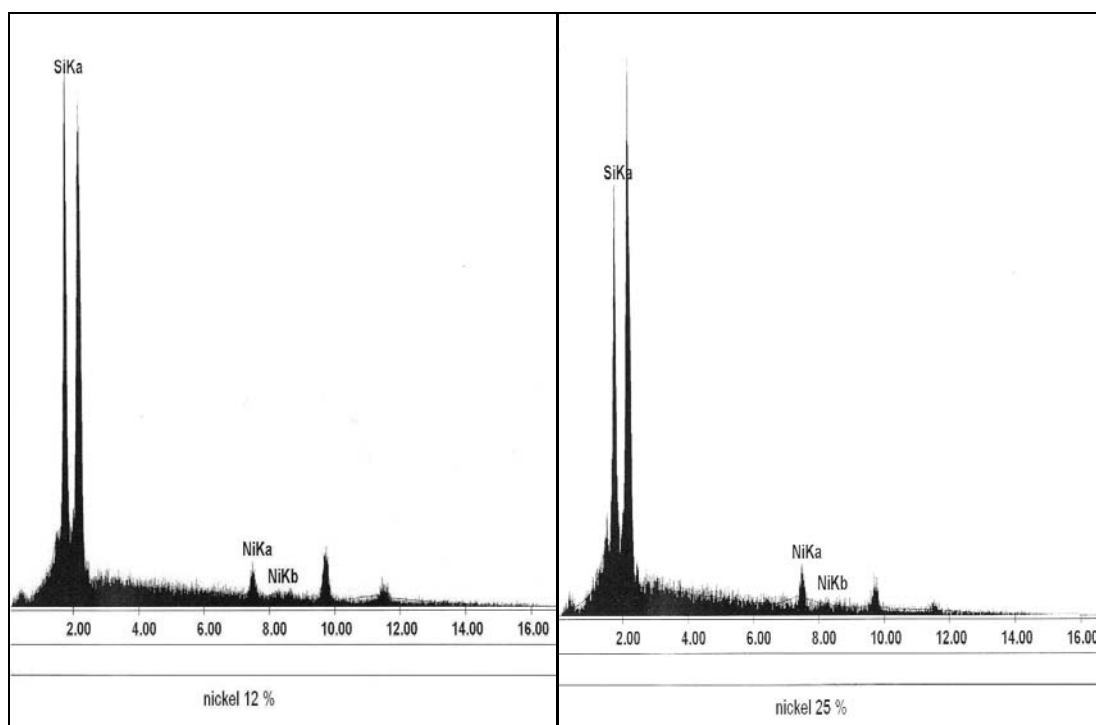
” soy broth (جدول ۳) و ” Thioglycollate broth “ (جدول ۴) استفاده می‌شود. محیط کشت مایع ” tryptic soy broth “ جهت بررسی رشد باکتری‌های هوازی و حساس به تغییرات محیطی (نظیر pH، دما و غیره) و نیز قارچ‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. رنگدانه قرمز تولوئیدین در این محیط کشت، در دمای 25°C - 20°C و به مدت ۷۲ ساعت مورد انکوباسیون^۲ واقع شد. در پایان عملیات، رنگ شفاف محیط از بین رفته که این امر نشان دهنده رشد میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌های هوازی و قارچ‌ها) است. ولی میکروارگانیسم‌ها در محیط کشت حاوی کمپلکس‌های نانوذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪ فاقد رشد بوده‌اند.

بررسی اطلاعات حاصل از آنالیز EDX^۱ در مورد کمپلکس‌های فلزی نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪ (شکل ۶) نشان‌دهنده وجود دو عنصر سیلیسیم و نیکل در ترکیب کمپلکس می‌باشد. وجود عنصر سیلیسیم به علت استفاده از بستر SiO_2 در کامپوزیت‌های نانو ذرات نیکل است. در EDX کمپلکس فلزی نانو ذرات نیکل ۱۲٪، عنصر نیکل ۳۲٫۷۶٪ از مجموع وزنی دو عنصر Si و Ni و در کمپلکس فلزی نانو ذرات نیکل ۲۵٪، عنصر نیکل ۳۷٫۹۰٪ از مجموع وزنی دو عنصر Si و Ni را تشکیل می‌دهد.

بررسی خواص میکروبیولوژیکی محصولات

در این بخش برای بررسی خواص آنتی‌باکتریال رنگزا قرمز تولوئیدین و کمپلکس‌های نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪ از دو محیط کشت tryptic

- 1- Energy Dispersive X-ray microanalysis
- 2- Incubation



شکل ۶: طیف شناسایی و اندازه‌گیری درصد میزان نیکل در کمپلکس نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪ توسط EDX.

جدول ۳: ترکیبات لازم برای تهیه یک لیتر از tryptic soy broth.

| | | |
|--------------------------------|-------------|---|
| Casein peptone | ۱۷٫۰ gr/lit | منبع فسفوپروتئینی جهت رشد میکروارگانیسم‌ها |
| Soya peptone | ۳٫۰ gr/lit | — |
| Sodium chloride | ۵٫۰ gr/lit | برای نگه داشتن تعادل اسمزی |
| Dipotassium hydrogen phosphate | ۲٫۵ gr/lit | به عنوان بافر جهت نگه داشتن $\text{pH} = 7.3$ در دمای 25°C |
| Dextrose | ۲٫۵ gr/lit | به عنوان منبع انرژی جهت رشد میکروارگانیسم‌ها |

کمپلکس های نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪ در هر دو محیط کشت، در دمای °C ۳۲ و به مدت ۴۸ ساعت مورد incubation واقع شده و در هیچ یک از موارد رشد میکروارگانیسم ها مشاهده نشده است. نتایج نهایی آزمایشات میکروبیولوژیکی در جدول ۸ ارائه گردیده است. با توجه به عدم رشد میکروارگانیسم ها در هر چهار محیط کشت حاوی کمپلکس های نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪، می توان چنین نتیجه گرفت که این کمپلکس ها مانع از رشد انواع قارچ ها و کپک ها و نیز باکتری های Enterobacteriaceae در رنگزای آزو می شوند. باکتری های فوق دسته بزرگی از باکتری های گرم منفی را شامل می شوند که از معروف ترین این باکتری ها می توان به Shigella (مسبب بیماری اسهال خونی)، Escherichia coli (مسبب بیماری هایی همچون ذات الریه و التهاب روده ای و مثانه ای) و Salmonella (مسبب بیماری تیفوئید) اشاره کرد.

جدول ۶: ترکیبات لازم برای تهیه یک لیتر از Nutrient Agar.

| | |
|-----------------|-------------|
| Beef Extract | ۳,۰ gr/lit |
| Peptone | ۵,۰ gr/lit |
| Sodium Chloride | ۸,۰ gr/lit |
| Agar | ۱۵,۰ gr/lit |

جدول ۷: ترکیبات لازم برای تهیه یک لیتر از Sabouraud dextrose agar.

| | |
|----------|-------------|
| dextrose | ۴۰,۰ gr/lit |
| Peptone | ۱۰,۰ gr/lit |
| agar | ۲۰,۰ gr/lit |

جدول ۸: نتایج حاصل از خواص آنتی باکتریال رنگزای قرمز تولوئیدین و کمپلکس های نانو ذرات نیکل در محیط های کشت مختلف.

| محیط کشت | | | | نمونه |
|-------------------------|---------------|----------------------|-------------------|---------------------------|
| Sabouraud dextrose agar | Nutrient Agar | Thioglycollate broth | tryptic soy broth | |
| | | - | + | قرمز تولوئیدین |
| | | | | کمپلکس نانو ذرات نیکل ۱۲٪ |
| - | - | - | - | کمپلکس نانو ذرات نیکل ۲۵٪ |

جدول ۴: ترکیبات لازم برای تهیه یک لیتر از Thioglycollate broth.

| | |
|-----------------------------|-----------|
| Pancreatic digest of casein | ۱۵,۰ gr/l |
| Yeast Extract | ۵,۰ gr/l |
| Dextrose | ۵,۵ gr/l |
| Sodium Chloride | ۲,۵ gr/l |
| L-Cystine | ۰,۵ gr/l |
| Sodium Thioglycollate | ۰,۵ gr/l |

از محیط کشت مایع " Thioglycollate broth " جهت بررسی رشد باکتری های غیرهوازی، استفاده می شود. رنگ دانه قرمز تولوئیدین در این محیط کشت، در pH ۷,۱، دمای °C ۲۵-۲۰ و به مدت ۷۲ ساعت مورد واقع شد. در پایان عملیات، رنگ شفاف محیط حفظ می شود که این امر نشان دهنده عدم رشد میکروارگانیسم ها در این محیط است. همچنین کمپلکس های نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪ در این محیط کشت، فاقد رشد می باشند. به طور کلی نتایج این بخش در جدول ۵ گزارش شده است.

در مرحله بعد برای بررسی نمونه هایی که در دو محیط کشت عمومی tryptic soy broth و Thioglycollate broth فاقد رشد بوده اند (کمپلکس های نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪)، از دو محیط کشت Nutrient Agar (جدول ۶) و Sabouraud dextrose agar (جدول ۷) استفاده می شود.

محیط کشت Nutrient Agar جهت کشت باکتری های غیر حساس به تغییرات محیطی (نظیر pH، دما و غیره) به کار می رود. از جمله مزایای این محیط کشت، حفظ حالت جامد آن در دماهای بالا می باشد. همچنین به دلیل رشد تجمع باکتری در سطح آن، نتیجه آنکوباسیون به راحتی مشخص می شود. محیط کشت Sabouraud dextrose agar جهت کشت قارچ های بیماری زا و غیر بیماری زا به کار می رود.

جدول ۵: نتایج حاصل از خواص آنتی باکتریال رنگزای قرمز تولوئیدین و کمپلکس های نانو ذرات نیکل در دو محیط کشت tryptic soy broth و Thioglycollate broth.

| نمونه | | | |
|----------------------------|--------------------|---------------------------|---------------------------|
| میکروارگانیسم | رنگ قرمز تولوئیدین | کمپلکس نانو ذرات نیکل ۱۲٪ | کمپلکس نانو ذرات نیکل ۲۵٪ |
| باکتری های هوازی و قارچ ها | + | - | - |
| باکتری های غیرهوازی | - | - | - |

۴- نتیجه گیری

تصاویر میکروسکوپ الکترونی SEM نیز حاکی از انباشتگی و تراکم بیشتر در مورد کمپلکس نانو ساختار نیکل است که این خصوصیت می تواند میزان پوشش دهی را نسبت به گونه مشابه در ابعاد میکرو افزایش دهد. همچنین بررسی خواص آنتی باکتریال و ضد قارچی این کمپلکس ها در مقایسه با رنگزا اولیه نشان داد که این ساختارها فعالیت بهتری از خود نشان می دهند و به همین دلیل می توان استفاده از آنها را به عنوان رنگ در مکان هایی که امکان آلودگی های میکروبی بالا دارند و یا مکان هایی که میزان بار میکروبی در آنها مهم است، توصیه نمود.

در این مقاله به سنتز کمپلکس های فلزی رنگزای قرمز تولوئیدین با استفاده از نیکل حجیم و نانو ذرات نیکل با درصدهای مختلف در کامپوزیت های Ni/SiO_2 پرداخته شد. سرعت و سهولت روش به کار رفته از ویژگی های کار ارائه شده می باشد. نتایج به دست آمده ناشی از بهبود خواص ماده رنگزا در حالت کمپلکس فلزی است. به طوریکه مشاهده شد جذب های UV مربوط به کمپلکس های فلزی نسبت به رنگزای سنتزی افزایش شدت داشت و از طرفی دیگر این افزایش شدت در مورد کمپلکس های فلزی نانو ساختار به مراتب بیشتر بود که خود نشان دهنده برهم کنش بهتر رنگ و فلز نانو می باشد. ارزیابی

۵- مراجع

- H. Kocaokutgen, M. Gur, M. Tas, Synthesis, spectral, and thermal characterizations of some azo-ester derivatives containing a 4-acryloyloxy group. *Dyes Pigm.* 72(2007), 101-108.
- B. Dixit, H. M. Patel, D. J. Desai, Synthesis and application of new mordant and disperse azo dyes based on 2,4-dihydroxybenzophenone. *J. Serb. Chem. Soc.* 72(2007), 119-127.
- A. T. Peters, H. S. Freeman, Color Chemistry. The Design and Synthesis of organic Dyes and Pigments, Barking, Essex: Elsevier Appl Sci Pub Ltd. 1991, 193-195.
- P. Gregory, High technology application of organic colorants, Plenum Press, New York and London. 1991, 1-3.
- A. A. Andrade, S. B. Yamaki, L. Misoguti, S. C. Zilio, T. D. Z. Atvars, O. N. Oliveira Jr., C. R. Mendonca, Two-photon absorption in diazobenzene compounds. *Optic. Mater.* 27(2004), 441-444.
- V. Chigrinov, E. Prudnikova, V. Kozenkov, H. Kwok, Synthesis and properties of azo dye aligning layer for liquid crystal cells. *Liquid Crystals.* 29(2002), 1321-1327.
- A. S. Burluv, A. I. Uraev, K. A. Lysenko, G. G. Chigarenko, A. G. Ponomarenko, P. V. Matuev, S. A. Nikolaevskii, E. D. Garnovskaya, G. S. Borodkin, A. D. Garnovskii, Novel tribiochemically active metal chelates of aromatic azo ligands. *Russ. J. Coord. Chem.* 32(9) (2006), 686-691.
- M. Tuncel, H. Kahyaoglu, M. Cakir, Synthesis, characterization, and histological activity of novel polydentate azo ligands and their cobalt, copper and nickel complexes. *Trans. Met. Chem.* 33(2008), 605-613.
- M. Kurtoglu, F. Purtaş, S. Toroglu. A new vic-dioxime ligand containing two azo substituents and its mononuclear nickel, cobalt, and copper complexes: Synthesis, characterization, spectroscopic and biological studies. *Trans. Met. Chem.* 33(2008), 705-710.
- N. Kabay, E. Erdem, R. Kilincarslan, E. Y. Sari, Synthesis and characterization of some *o,o'*-dihydroxyazo dyes and their metal complexes. *Trans. Met. Chem.* 32(2007), 1068-1072.
- B. C. Dixit, H. M. Patel, D. J. Desai. Synthesis and application of new mordant and disperse azo dyes based on 2,4-dihydroxybenzophenone. *J. Serb. Chem. Soc.* 72(9) (2007), 119-127.
- H. Cetisli, M. Karakus, E. Erdem, H. Deligoz. Synthesis, metal complexation and spectroscopic characterization of three new azo compounds. *J. Inc. Phen. Macro. Chem.* 42(2002), 187-191.
- J. T. Lue, Physical Properties of Nanomaterials, Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology. American Scientific Publishers. USA. 2007, 10-12.
- G. Schmid, M. Decker, H. Ernst, Small dimensions and material properties. A definition of nanotechnology. Essen, Germany, Europäische Akademie. 2003, 25-46.
- S. Rokhsari Azar, A. A. Farashiani, S. Baghshahi, M. Tamizifar, Investigating the optical and structural characteristics of ZnO:Er nano-layer prepared by sol-gel method. *J. Color. Sci. Technol.* 1(2007), 41-47.
- Z. Fakhroueian, A. Shafiekhani, M. Yousefi, Investigation of fine nanoparticles syngas catalyst (POM) considering their various morphology. *J. Nanosci Nonotechnol.* 10(2010), 1085-1093.
- Z. Fakhroueian, N. Afroukhteh Langroudi, P. Esmailzadeh, The Consideration of splendid increasing trend of green fuel H_2 production with the help of nanofine materials. *Defect Diffusion Forum.* 297-301(2010), 351-358.
- B. Glover, D. Patterson, Colour differences in azo pigments. *J. Soc. Dyers Colorists.* 89(1973), 249-254.
- B. S. Garg, R. K. Sharma, E. Kundra, Copper, nickel, cobalt and zinc complexes of 2-[2-(6-methylbezothiazoly)azo]-5-dimethylaminobenzoic acid: synthesis, spectral, thermal and molecular modeling studies. *Trans. Met. Chem.* 30(2005), 552-559.
- S. S. Kandil, Cobalt, nickel and copper complexes of 4-(sulfonyl-azido)phenylazopyrazolones. *Trans. Met. Chem.* 23(1998), 461-465.
- A. Patterson, The Scherrer formula for X-Ray particle size determination. *Phys. Rev.* 56(1939), 978-982.