



سنتز نانو کمپلکس‌های فعال بیوشیمیایی از قرمز تولوئیدین و فلز نیکل

راهبه امیری^{۱*}، زهرا فخرورئیان^۲، سوسن رسولی^۳، محبیا 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 پذیرش: ۹۰/۱۰/۲۱ در دسترس به صورت الکترونیکی از: ۱۳۹۱/۹/۲۰

چکیده

در تحقیق ارائه شده، سنتز تعدادی کیلیت‌های 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 ۷۵-۱۵ 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 خذاباکتریایی 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/SiO_2 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.

ابتدا با به کارگیری روش‌های شیمیایی نانو ذرات نیکل روی بستر سیلیکا سنتز شده و سپس از طریق روش تک مرحله‌ای به سنتز یک کمپلکس فلزی جدید پرداخته می‌شود. لازم به ذکر است که استفاده از این روش تک مرحله‌ای 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 طیف‌سنجدی تعیین و فعالیت‌های بیوشیمیایی آنها بررسی شده است.

۲-بخش تجربی

۱-۲-مواد

تمامی مواد اولیه مورد استفاده شامل: ۴- متیل-۲- نیتروآنیلین، ۲- نفتل، اسید کلریدریک، سدیم نیتریت، سدیم کربنات، نیترات نیکل ۶ آبه، ترا 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 فرابینش - مرئی (JASCO UV- 550)، طیف‌سنجد زیر قرمز تبدیل فوریه (JASCO FT/IR- 410)، طیف‌سنجد تشدید مغناطیسی هسته ایکس (AVANCE 300, BRUCKER 300- DRX) و میکروسکوپ الکترونی رویشی نشر میدانی (S360 FE-SEM) مورد بررسی و شناسایی قرار گرفت.

سنتز قرمز تولوئیدین

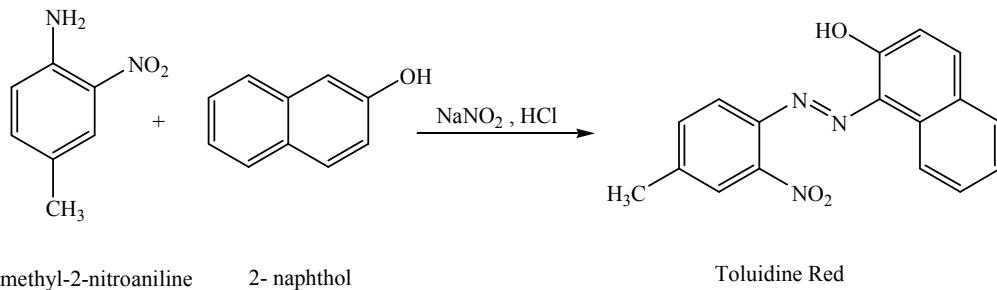
برای تهیه رنگ قرمز تولوئیدین از مواد اولیه ۴- متیل-۲- نیتروآنیلین ۲- نفتل استفاده شده است (شمای ۱).

در ابتداء مقدار ۰,۰۵ مول از ۴- متیل-۲- نیتروآنیلین (برابر با ۷,۶۰ گرم) همراه با مقادیر مساوی از اسید کلریدریک و آب (۳,۷۴ گرم) به مقدار ۰,۰۵۴ مول سدیم نیتریت (معادل ۱۲,۵ میلی‌لیتر) در آب، قطره قطره همراه با کنترل دما در کمتر از 5°C محلول شده است. در مرحله بعد مقدار ۰,۰۶۰ مول سدیم کربنات (برابر با ۶,۳۶ گرم) در آب م قطره 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. درنهایت رنگدانه حاصله را با قیف بوخر صاف کرده و با آب شستشو داده می‌شود. برای اطمینان از خالص بودن رنگ تهیه شده می‌توان از آزمون TLC استفاده کرد [۱۸].

۱- مقدمه

ترکیبات آزو (حاوی کروموفور- $\text{N}=\text{N}-$) قدیمی‌ترین و بزرگ‌ترین گروه مواد رنگزای آلی سنتزی هستند [۱,۲]. این امر به دلیل جنبه‌های مختلف کاربردی آنها در صنایع مختلف مانند رنگ کردن 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 ضد باکتریایی 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 موارد مصرف متعددی دارند. واردشدن 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 برخواهد داشت. همچنین این امر موجب جایگایی 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 الکترون کشنه در ساختار رنگزای آلی اولیه، که این مسئله در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفته است. از طرفی دیگر، نانو ذرات رایج‌ترین مواد مورب بررسی در فناوری نانو بوده [۱۳-۱۵] که با توجه به ترکیب شیمیایی، این ذرات به انواع فلزی، سرامیکی، پلیمری و نیمه‌هادی 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 روشنی ساده است. در این راستا،



شماتی ۱: واکنش تشکیل رنگزای قرمز تولوئیدین.

نیکل، مقدار mmol ۵ از رنگزای قرمز تولوئیدین (معادل با ۱,۵۳۶ گرم) را در حداقل حل اتانول حل نموده و در مرحله بعد مقدار ۲ 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^۳ 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 شیمیابی محصولات

ساختر شیمیابی محصولات به دست آمده توسط جذب اتمی، UV 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 بر حسب درصد ppm	غلظت بر حسب در حساب ppm
NiCl ₂ .6H ₂ O (bulk)	۲۱,۰۲	۱,۰۵۱
Nano Nickel %۱۲	۲۵,۱۸	۱,۲۵۹
Nano Nickel %۲۵	۳۱,۵۷	۱,۵۷۸
2- Reflux		

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 رسوی، به طور خلاصه شرح داده می‌شود: مواد اولیه سنتز نانوذرات اکسید نیکل روی بستر سیلیکا به این صورت انتخاب شده است که، از نمک نیترات نیکل ۶ آبه و TEOS یا تتراتیل 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 غیریونی در راستای ریزشدن نانوذرات 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].

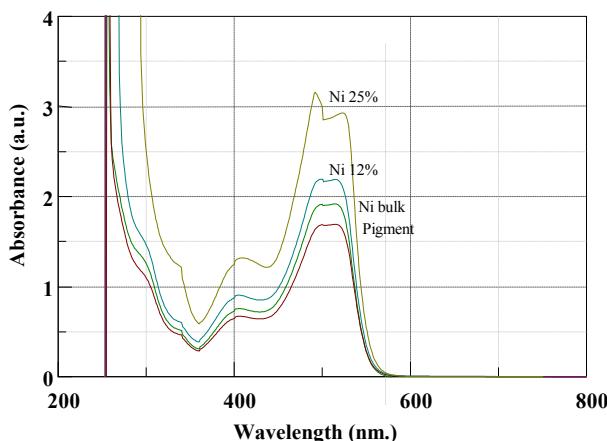
تعیین pH مناسب جهت تهیه کمپلکس‌های فلزی در فرآیند تهیه کمپلکس‌های فلزی سه محدوده pH برای کمپلکس‌های نیکل تعریف شد و میزان نیکل نمونه‌های تهیه شده توسط روش جذب اتمی تعیین گردید که به صورت زیر می‌باشد (این اعداد میزان درصد نیکل موجود در ساختار کمپلکس نهایی را گزارش می‌کند):

- نمونه کمپلکس نیکل در = ۴,۵ pH دارای ۵٪
 - نمونه کمپلکس نیکل در = ۵,۵ pH دارای ۳٪
 - نمونه کمپلکس نیکل در = ۶,۵ pH دارای 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 نانوذرات

1- Surfactant

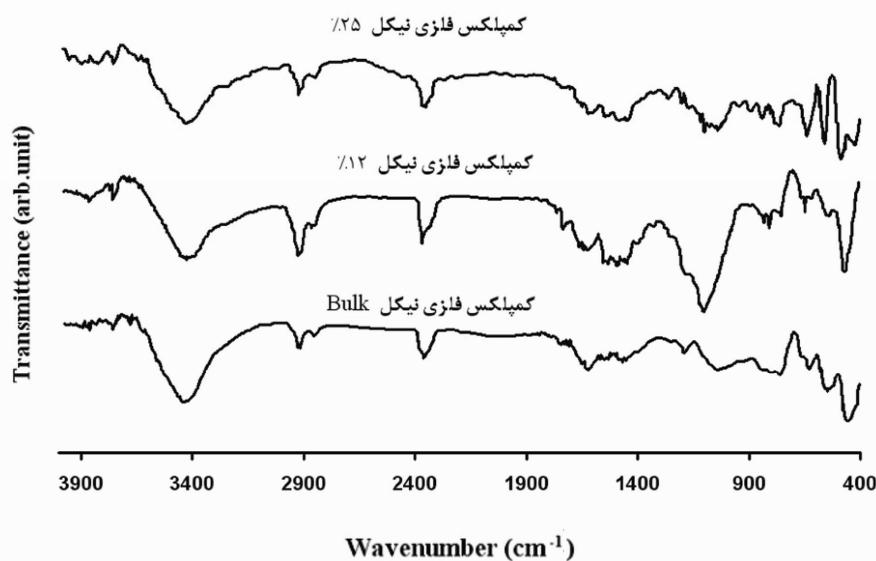
می باشد. جذب در طول موج 1180 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی (C-N)، نوار 1050 cm^{-1} مربوط به جذب کششی پیوند (C-O) نفتلی، نوار حوالی 850 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی خارج از صفحه ای (=C-H) است. همچنین نوار موجود در 750 cm^{-1} مربوط به پیوند (M-N) بوده و در آخر نوارهای محدوده 500 cm^{-1} و 650 cm^{-1}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



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

همان‌گونه که گزارش شده است درصد فلز نیکل در محصول نهایی هنگام استفاده از ماده اولیه نانو نیکل $\approx 25\%$ از بقیه موارد بیشتر است. در طیف UV-Vis رنگدانه قرمز تولوئیدین (شکل ۱) بیشینه طول موج جذبی $\lambda_{\text{max}} = 490\text{ nm}$ می باشد که این جذب مربوط به انتقال $n \rightarrow \pi^*$ است. این نوار در کمپلکس‌های فلزی افزایش شدت نشان می دهد. 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 می دهد. جذب در حوالی $\lambda = 530\text{ nm}$ مربوط به جذب انتقال بار از فلز به سیستم لیگاند می باشد. 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 می باشد لذا انتقال بار از فلز به لیگاند بوده و شدت جذب بالایی ندارد. جذب‌های انتقال بار که در ناحیه فرابنفش و مرئی ظاهر می شوند، انتقالات (d-d) را که معمولاً پیک‌های ضعیفی در ناحیه فرابنفش ظاهر می کنند، می پوشانند [۱۹].

در طیف IR کمپلکس‌های فلزی (شکل ۲)، همان‌گونه که مشاهده می شود نوار پهن موجود در حوالی 3400 cm^{-1} مربوط به گروه عاملی OH است که به دلیل تشکیل پیوند هیدروژنی درون مولکولی 3000 cm^{-1} به صورت پهن ظاهر گردیده است، نوارهای جذبی زیر 2350 cm^{-1} و 2150 cm^{-1} مربوط به گروه نیترو در حالت روزانه است [۲۱] و نوار حوالی 1550 cm^{-1} مربوط به کشن نامتقارن این گروه روی حلقه آروماتیک است. نوارهای محدوده 1470 cm^{-1} مربوط به گروه آزو



شکل ۲: طیف IR کمپلکس فلزی نیکل حجیم، کمپلکس فلزی نیکل 12% و کمپلکس فلزی نیکل 25% .

بررسی ساختاری محصولات

استفاده از روش XRD در تعیین ساختمان کمپلکس‌های فلزی با پردازش داده‌های به دست آمده از الگوی پراش پرتو ایکس در شکل ۴، مشاهده می‌شود که شکل فاز اصلی حاصله در نمونه تولوئیدین قرمز با کارت مرجع شماره JCPDS-۱۸۷۹ تطابق دارد. به علاوه، مقدار کمی فاز فرعی کربوستیوبالیت با شماره کارت JCPDS-۳۹-۱۴۲۵ دیده می‌شود که مربوط به حضور بستر سیلیکا می‌باشد. با توجه به عدم مشخص بودن ساختاری معین مربوط به نیکل به نظر می‌رسد حالت کمپلکس فلزی میان تولوئیدین و فلز نیکل ایجاد شده است. به علاوه نتایج نشان می‌دهند که ایجاد کمپلکس با فلز نیکل تاثیر چندانی بر روی ساختار مونوکلینیک آن نداشته و حتی موقعیت شدیدترین پیک آن در محدوده ۲۷° نیز دچار تغییر نشده است. بنابراین می‌توان 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، θ نشان دهنده عرض پیک اصلی در نصف ارتفاع و β نشان دهنده زاویه انکسار می‌باشد. اگرچه با توجه به بالا بودن پس زمینه تخمین دقیق میانگین اندازه بلورها به روش دبای - شرر امکان‌پذیر نیست ولی به صورت نسبی در محدوده ۲۷ nm است.

تصاویر SEM

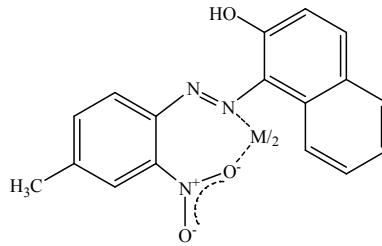
مقایسه تصاویر میکروسکوپ الکترونی رویشی^۲ تهیه شده از رنگرا قرمز تولوئیدین و کمپلکس‌های فلزی نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪ (شکل ۵) نشان دهنده تغییر اندازه و انتقال ذرات از فاز میکرو در رنگزا قرمز تولوئیدین، به فاز نانومتری در کمپلکس‌های فلزی نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪ می‌باشد، به گونه‌ای که تهیه تصاویر واضح، به علت اندازه بسیار کوچک ذرات نانومتری، امکان‌پذیر 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 می‌شود نمونه‌های اولیه تولوئیدین شامل ذراتی کروی تا کشیده و نمونه نیکل شامل ذراتی نسبتاً صفحه‌ای مانند می‌باشند از آنجایی که مساحت سطح موثر نانو ذرات خیلی بزرگ‌تر از نمونه معمولی آن است می‌توانند سطح بیشتری از رنگ را به طور همگن و یکنواخت پوشانند، که این امر از عهده ذرات نیکل حجمی خارج است.

1- Scherrer

2- SEM : Scanning Electron Microscope

با توجه به وابسته بودن ساختمان برخی از کمپلکس‌های فلزی به شرایط تشکیل آن‌ها، از جمله pH محیط، فرض گردید که با افزایش pH محیط، اکسیژن منفی گروه هیدروکسیل نفتل به عنوان لیگاند (به Hهای اسیدی یکی از اکسیژن‌های استخلاف نیترو به عنوان لیگاند (به Hهای اسیدی یکی از اکسیژن‌های پیوند π گروه آزو) عمل خواهد کرد، در حالی که در به همراه ابر الکترونی پیوند π گروه آزو) عمل می‌کند. برای پی بردن به این مسئله سه طیف H-NMR^۳ کمپلکس‌های تهیه شده در pHهای به این گرفته شدن (شکل ۳). این طیف‌ها نشان دادند که پروتون‌های گروه هیدروکسیل نفتل در حوالی ۱۶ ppm و ۱۱ با تغییر pH حذف نمی‌گردند. در صورتی که سینگال مربوط به پروتون متصل به یکی از اکسیژن‌های گروه نیترو در حالت رزنانسی (۸,۹۶ ppm) در محیط قلیایی حذف می‌شود لذا گروه هیدروکسیل نفتل در ایجاد کمپلکس فلزی نقشی نخواهد داشت. تفسیر طیف H-NMR^۴ در جدول ۲ خلاصه شده است.

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

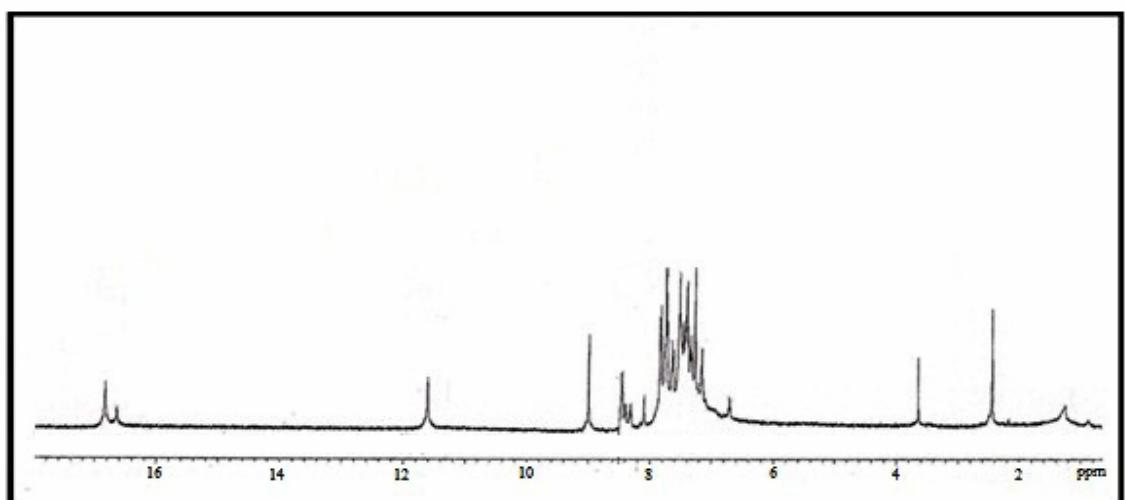


M= Bulk Ni , Nano Ni

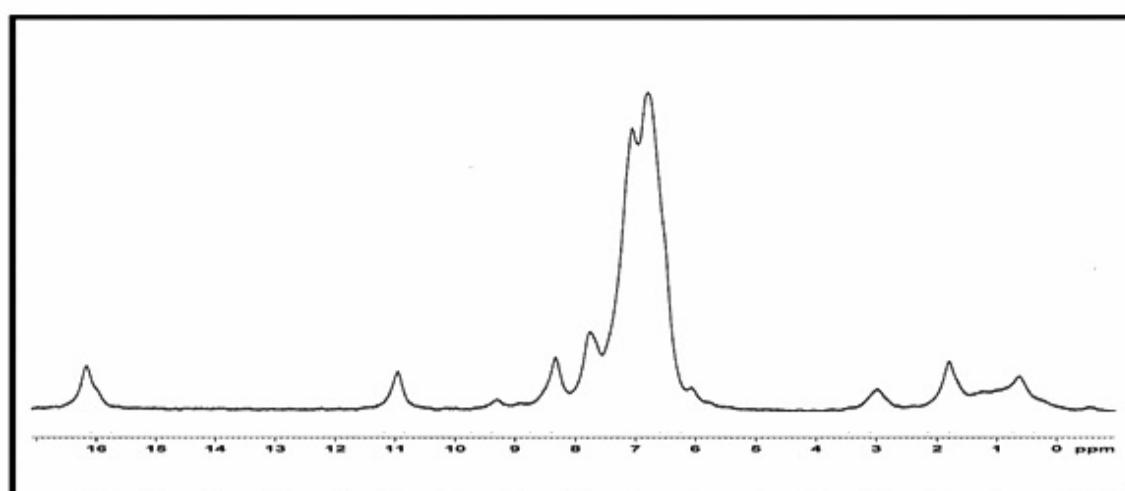
ساختار ۱: ساختار شیمیابی کمپلکس فلزی قرمز تولوئیدین- نیکل.

جدول ۲: نتایج حاصل از طیف H-NMR^۵ کمپلکس‌های تهیه شده در pH=۴,۵

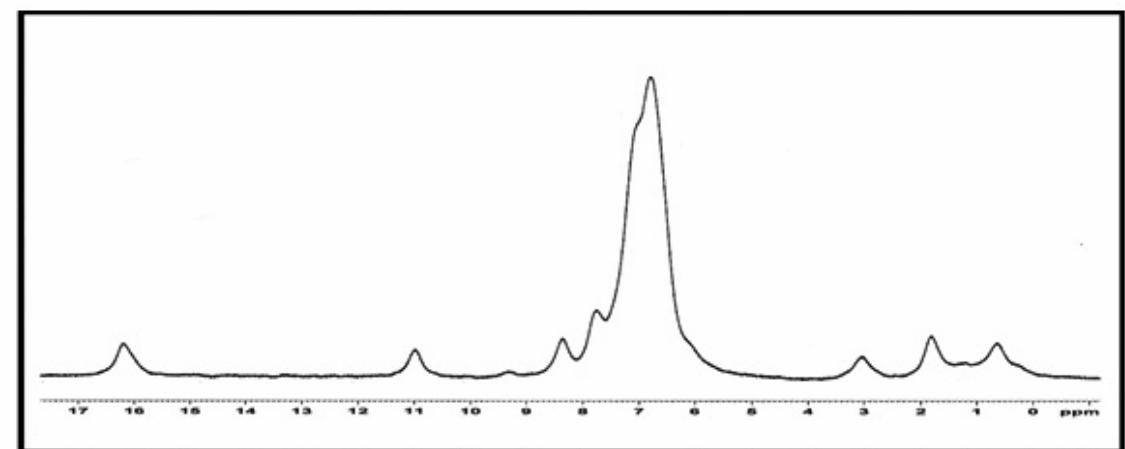
شکافتنگی	مکان signal (ppm)	توضیحات
یکتایی	۱۶,۸۷	- پروتون فلزی*
یکتایی	۱۱,۶۰	- پروتون فنلی
یکتایی	۸,۹۶	- پروتون متصل به یکی از اکسیژنهای گروه نیترو
چندتایی	۶,۸۴ – ۸,۳۷	- پروتون‌های آروماتیک
یکتایی	۳,۶۵	- پروتون‌های گروه متیل
یکتایی	۲,۴۱	- پروتون‌های گروه متیل
* - فلز مرکزی با دو مولکول رنگ تشکیل کمپلکس داده است که از نظر جهت‌گیری در فضای متفاوت بوده و در نتیجه میزان پیوند هیدروژنی هر (–OH) با کروموفور (–N=N–) متفاوت است، پس پروتون‌های فلزی در نواحی متفاوتی ظاهر می‌گردد.		



الف

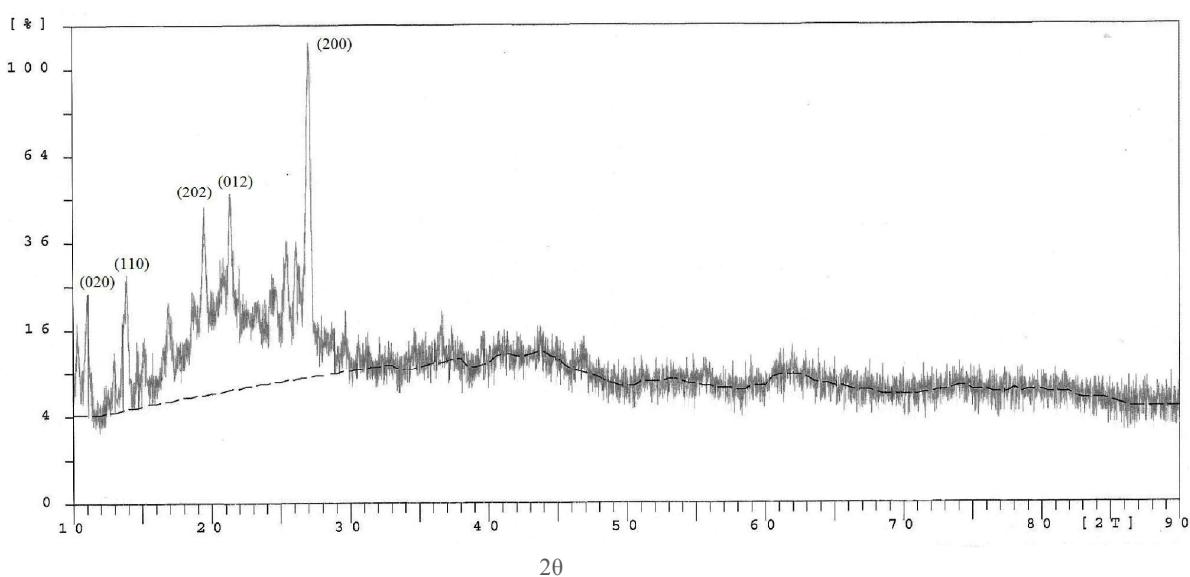


ب

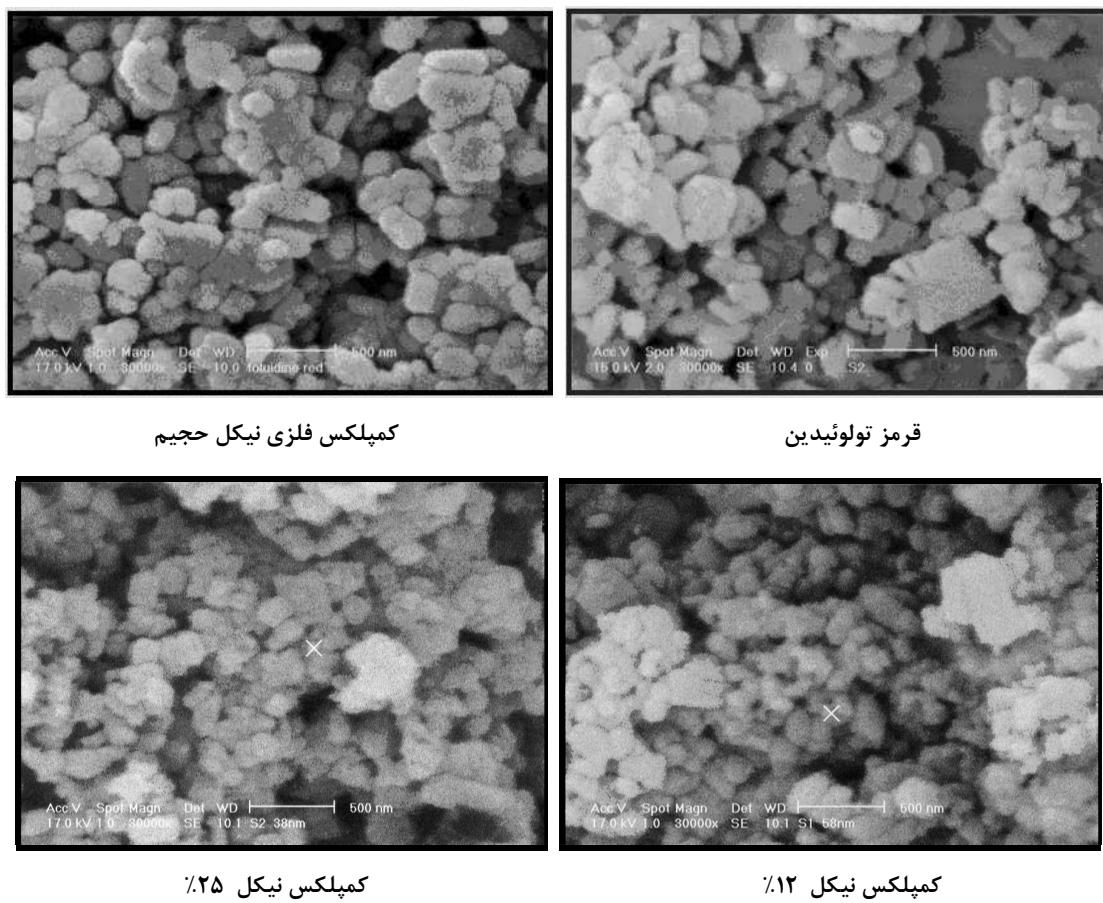


ج

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



شکل ۴: الگوی XRD کمپلکس فلزی نانو ذرات نیکل.



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

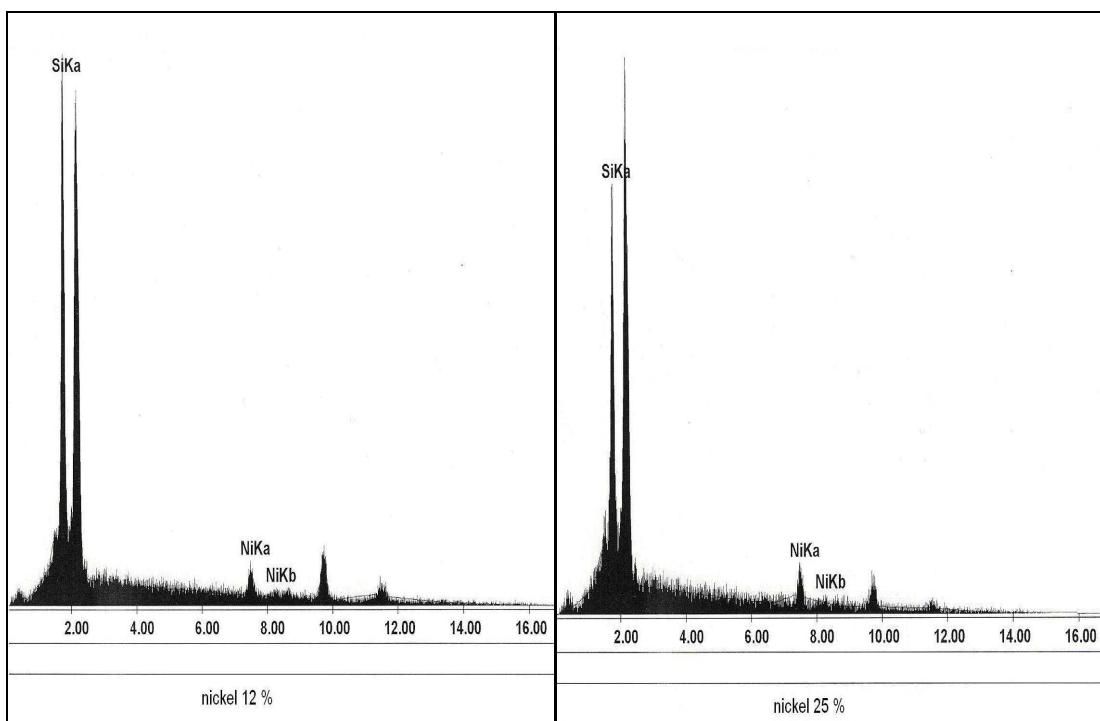
استفاده می شود . محیط کشت مایع "Thioglycollate broth" (جدول ۴) و "soy broth" استفاده می شود . محیط کشت مایع "tryptic soy broth" "جهت برسی رشد باکتری های هوایی و حساس به تغییرات محیطی (نظیر pH ، دما و غیره) و نیز قارچ ها مورد استفاده قرار می گیرد . رنگدانه قرمز تولوئیدین در این محیط کشت، در دمای ۲۵-۲۰ °C و به مدت ۷۲ ساعت مورد انتکوباسیون^۲ واقع شد. در پایان عملیات، رنگ شفاف محیط از بین رفته که این امر نشان دهنده رشد میکروارگانیسم ها (باکتری های هوایی و قارچ ها) است. ولی میکروارگانیسم ها در محیط کشت حاوی کمپلکس های نانوذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪ فاقد رشد بوده اند.

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

بررسی اطلاعات حاصل از آنالیز EDX^۱ در مورد کمپلکس های فلزی نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪ (شکل ۶) نشان دهنده وجود دو عنصر سیلیسیم و نیکل در ترکیب کمپلکس می باشد. وجود عنصر سیلیسیم به علت استفاده از بستر SiO_2 در کامپوزیت های نانو ذرات نیکل است. در EDX کمپلکس فلزی نانو ذرات نیکل ۱۲٪، عنصر نیکل ۳۲٪، از مجموع وزنی دو عنصر Si و Ni و در کمپلکس فلزی نانو ذرات نیکل ۲۵٪، عنصر نیکل ۳۷٪، از مجموع وزنی دو عنصر Si و Ni را تشکیل می دهد.

بررسی خواص میکروبیولوژیکی محصولات

در این بخش برای بررسی خواص آنتی باکتریال رنگزا قرمز تولوئیدین و کمپلکس های نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪ از دو محیط کشت "tryptic



شکل ۶: طیف شناسایی و اندازه گیری 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 میکروارگانیسم ها
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
Dextrose	۲,۵ gr/lit	۲۵ °C در دمای pH = ۷,۳ به عنوان منبع انرژی جهت رشد میکروارگانیسم ها

کمپلکس‌های نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪ در هر دو محیط کشت، در دمای ۳۲ °C و به مدت ۴۸ ساعت مورد incubation واقع شده و در هیچ یک از موارد رشد میکرووارگانیسم‌ها مشاهده نشده است. نتایج نهایی آزمایشات میکروبیولوژیکی در جدول ۸ ارائه گردیده است. با توجه به عدم رشد میکروارگانیسم‌ها در هر چهار محیط کشت حاوی کمپلکس‌های نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪، می‌توان چنین نتیجه گرفت که کمپلکس‌های نانو ذرات نیکل مانع از رشد انواع فارچه‌ها و کپک‌ها و نیز باکتری‌های Enterobacteriaceae در رنگزای آزو می‌شوند. باکتری‌های فوق دسته بزرگی از باکتری‌های گرم منفی را شامل می‌شوند که از معروف‌ترین این باکتری‌ها می‌توان به Shigella (مسبب بیماری اسهال خونی)، Escherichia coli (مسبب بیماری‌هایی همچون ذات‌الریه و التهاب روده‌ای و مثانه‌ای) 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 آنتی‌باکتریال رنگزای قرمز تولوئیدین و کمپلکس‌های نانو ذرات نیکل در محیط‌های 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 ۹: 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 باکتری‌های غیرهوازی، استفاده می‌شود. رنگ دانه قرمز تولوئیدین در این محیط کشت، در pH ۷,۱ در ۲۰-۲۵ °C و به مدت ۲۲ ساعت مورد واقع شد. در پایان عملیات، رنگ شفاف محیط حفظ می‌شود که این امر نشان دهنده عدم رشد میکروارگانیسم‌ها در این محیط است. همچنین کمپلکس‌های نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪ در این محیط کشت، قادر رشد می‌باشند. به طور کلی نتایج این بخش در جدول ۵ گزارش شده است.

در مرحله بعد برای بررسی نمونه‌هایی که در دو محیط کشت عمومی Thioglycollate broth و tryptic soy broth فاقد رشد بوده‌اند (کمپلکس‌های نانو ذرات نیکل ۱۲ و ۲۵٪)، از دو محیط کشت (جدول ۷) Sabouraud dextrose agar (جدول ۶) و Nutrient Agar استفاده می‌شود.

محیط کشت Nutrient Agar جهت کشت باکتری‌های غیر حساس به تغییرات محیطی (نظیر pH، دما و غیره) به کار می‌رود. از جمله مزایای این محیط کشت، حفظ حالت جامد آن در دماهای بالا می‌باشد. همچنین به دلیل رشد تجمع باکتری در سطح آن، نتیجه انکوباسیون به راحتی مشخص می‌شود.

محیط کشت Sabouraud dextrose agar جهت کشت قارچ‌های بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا به کار می‌رود.

جدول ۵: نتایج حاصل از خواص آنتی‌باکتریال رنگزای قرمز تولوئیدین و کمپلکس‌های نانو ذرات نیکل در دو محیط کشت tryptic soy broth و Thioglycollate broth

نمونه	میکروارگانسیم	رنگ قرمز	کمپلکس نانو	کمپلکس نانو	تولوئیدین	ذرات نیکل٪ ۱۲	ذرات نیکل٪ ۲۵	باکتری‌های
-	-	-	-	-	-	-	-	هوایی و
-	-	-	-	-	-	-	-	قارچ‌ها
-	-	-	-	-	-	-	-	باکتری‌های
-	-	-	-	-	-	-	-	غیرهوازی

تصاویر میکروسکوپ الکترونی SEM نیز حاکی از انباشتگی و تراکم بیشتر در مورد کمپلکس نانوساختار نیکل است که این خصوصیت می‌تواند میزان پوشش دهی را نسبت به گونه مشابه در ابعاد میکرو افزایش دهد. همچنین بررسی خواص آنتی باکتریال و ضد قارچی این کمپلکس‌ها در مقایسه با رنگزا اولیه نشان داد که این ساختارها فعالیت بهتری از خود نشان می‌دهند و به همین دلیل می‌توان استفاده از آنها را به عنوان رنگ در مکان‌هایی که امکان آلودگی‌های میکروبی بالا دارند و یا مکان‌هایی که میزان بار میکروبی در آنها مهم است، توصیه نمود.

۴- نتیجه‌گیری

در این مقاله به سنتر کمپلکس‌های فلزی رنگزای قرمز تولوئیدین با استفاده از نیکل حجیم و نانو ذرات نیکل با درصدهای مختلف در کامپوزیت‌های Ni/SiO₂ پرداخته شد. سرعت و سهولت روش به کار رفته از ویژگی‌های کار ارائه شده می‌باشد. نتایج به دست آمده ناشی از بهبود خواص ماده رنگزا در حالت کمپلکس فلزی است. به طوریکه مشاهده شد جذب‌های UV مربوط به کمپلکس‌های فلزی نسبت به رنگزای سنتری افزایش شدت داشت و از طرفی دیگر این افزایش شدت در مورد کمپلکس‌های فلزی نانوساختار به مراتب بیشتر بود که خود نشان‌دهنده برهمنکش بهتر رنگ و فلز نانو می‌باشد. 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. Coor. 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. Purtas, S. Toroglu. A new vic-dioxime ligand containing two azo substituents and its mononuclear nickel, cobalt, and copper complexes: Synthesis, characterization, spectroscopic and biolocal 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. Desal. Synthesis and application of new mordent 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. Techol.* 1(2007), 41-47.
- Z. Fakhroueian, A. Shafeikhani, M. Yousefi, Investigatio of fine nanoparticles syngas catalyst (POM) considering their various morphology. *J. Nanosci Nonotechnol.* 10(2010), 1085-1093.
- Z. Fakhroueian, N. Afroukhteh Langrouri, P. Esmaeilzadeh, The Consideration of splendid increasind trend of green fuel H₂ 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-methylbezothiazolyl)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.