بازیافت آب، دورهٔ ۲، شمارهٔ ۱، بهار ۱۳۹۴، صفحه ۶۹-۵۹

ضدعفونی‌کردن فاضلاب شهری توسط سامانه‌های دوغابی و سیمانی نانوذرات TiO_2

اعظم یوسفی
تهران، دانشگاه علم و صنعت ایران، مرکز تحقیقات سیمان
(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۸/۱۰- تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۳/۱۶)

چکیده

استفاده از فعالیت کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در غیر فعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها، بیشتر به‌صورت سوسپانسیون در مایعات یا به‌طور محدود به‌صورت تثبیت‌شده بر مواد به‌کار گرفته شد. استفاده از فرایند اکسیداسیون پیشرفته، راهکاری جدید در تصفیهٔ آب و فاضلاب درنظر گرفته می‌شود. در این مطالعه، از سامانه‌های دوغابی (۰/۱ g/L) و تثبیت‌شدهٔ نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در بستر سیمان (۰/۱-۲ درصد)، تحت تابش فرابنفش ۱۶۰ واتی برای بررسی ویژگی ضد باکتریایی آن‌ها استفاده شد. خواص ضد میکروبی کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، با شمارش کلنی‌های باکتری‌های زنده انجام گرفت. نتایج آزمایش‌ها نشان داد نانوذرات در تاریکی اثر میکروب‌کشی نداشت، ولی برعکس در حضور پرتوهای فرابنفش خاصیت باکتری‌کشی قوی (۹۹٪<) دارند. نتایج سامانهٔ تثبیت نانوذرات نشان دادند خاصیت ضد میکروبی آن‌ها مؤثر (۸۰٪<) است و بهترین درصد افزودن نانوذرات به سیمان یک درصد است، اما باکتری‌های غیر فعال‌شده در مجاورت سیمان، پس از طی دورهٔ تاریکی، رشد مجدد بسیار بالایی پیدا می‌کنند؛ بنابراین، در این شرایط، تابش نور باید به‌طور پیوسته وجود داشته باشد تا ویژگی کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، میکروارگانیسم‌های فاضلاب را بکشد و آب سالم تهیه شود.

واژه‌های کلیدی: باکتری *ای‌کلای*، سیمان، فاضلاب، فعالیت ضد میکروبی، کاتالیزگری نوری، نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید.

۱. مقدمه و هدف

امروزه از انواع روش‌های کلراسیون، ازناسیون، تابش فرابنفش و فیلتراسیون برای ضد عفونی‌کردن آب و فاضلاب استفاده می‌شود. هرکدام از این روش‌ها دارای محاسن و معایبی است و استفاده از فرایند اکسیداسیون پیشرفتهٔ نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید راهکاری جدید در تصفیهٔ آب و فاضلاب درنظر گرفته می‌شود [۱،۲]. فعالیت ضد میکروبی تیتانیم دی‌اکساید تحت تابش فرابنفش اولین‌بار در سال ۱۹۸۵ بیان شد و از آن زمان تاکنون، مطالعات در این زمینه، به‌طور نمایی افزایش یافت [۳]. تیتانیم دی‌اکساید به‌عنوان کاتالیزگر نوری مؤثرتر از دیگر عوامل ضد میکروبی است، زیرا آن‌ها در درازمدت نه تنها میکروب‌ها را می‌کشند بلکه سلول‌های باکتریایی، قارچ‌ها، جلبک‌ها و ویروس‌ها را تجزیه هم می‌کنند [۴]. این امر به‌دلیل عمل اکسیداسیون بالای حفره‌ها و رادیکال‌های هیدروکسیل تولیدی آن است. با تابش اشعهٔ پرانرژی فرابنفش بر سطح نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، جفت‌های الکترون و حفره ایجاد می‌شود. واکنش‌های اکسایش و کاهش آن‌ها با اکسیژن و رطوبت موجود، گونه‌های اکسیژن فعال مانند سوپراکساید (O_2^-)، هیدروژن‌پراکساید (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل ($HO^\cdot$) تولید می‌کند و درنهایت رادیکال هیدروکسیل ممکن است آلودگی‌های آلی و حتی میکروب‌ها را به‌طور کامل به کربن‌دی‌اکسید و آب اکسید تبدیل کند [۳].

تاکنون از نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در مواد ساختمانی بتنی، پلاستیک‌ها، رنگ‌ها، کاشی‌ها و... استفاده شد [۳]. اکثر پژوهش‌ها [۵،۹] از باکتری *ای‌کلای* به‌عنوان باکتری مدل و

* نویسندهٔ مسئول: تلفن: ۷۷۲۴۰۴۹۶- ۰۲۱ Email: Azyousefi90@gmail.com

شاخص آلودگی میکروبی محیط‌های مختلف برای بررسی فعالیت ضد میکروبی نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید استفاده کردند. در این مطالعات، از انواع گونه‌های باکتری *ای‌کلای* با بارهای میکروبی متفاوت (10^{4}-10^{12} CFU/mL) در غلظت‌های مختلف نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید (۰/۱-۲/۵ g/L) و در سامانه‌های گوناگون دوغابی و تثبیت‌شده بر مواد شیشه‌ای و پلیمری، تا غیر فعال‌سازی بالای ۹۰ درصد استفاده شد، ولی به‌دلیل نبود استاندارد و یکسان‌بودن شرایط غیرفعال‌سازی باکتری‌ها، مقایسهٔ نتایج مشکل است. درمجموع، باکتری *ای‌کلای* پس از مجاورت با نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید و تحت تابش پرتوهای فرابنفش از بین رفت. مطالعات نشان دادند سازوکار کشته‌شدن باکتری‌ها توسط فعالیت کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید تحت تابش، در اثر تخریب دیوارهٔ سلولی آن‌ها صورت می‌گیرد. اغلب پژوهش‌ها [۱۰، ۱۲] فرایند تخریب باکتریایی را با شمارش تعداد کلنی‌های زندهٔ باکتری‌ها قبل و بعد از تابش پرتوهای فرابنفش و در حضور نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید دنبال کردند. در این فرایند، تماس بین سلول‌های باکتریایی و نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، موجب معکوس‌شدن نفوذپذیری غشای سلول می‌شود و تخریب لایه‌های دیوارهٔ سلولی و خروج مولکول‌های کوچک و یون‌ها را از سلول باکتریایی به‌دنبال دارد. تخریب بیشتر غشا موجب کمبود و خروج مولکول‌های بزرگ‌تر مانند پروتئین‌ها می‌شود و بالاخره مرگ سلول فرا می‌رسد. تخریب اجزای داخل سلولی نیز در ادامهٔ فرایند کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید صورت می‌گیرد [۳] و نفوذ نانوذرات به داخل سلول نیز ممکن است اتفاق بیفتد [۵]. مواد آلی و معدنی خارج‌شده از سلول‌های مرده، می‌توانند به فعال‌شدن مجدد باکتری‌های زنده کمک کنند.

در سامانه‌های آبی، جذب باکتری‌ها بر سطوح جامدات، اندرکنشی پیچیده بین آن‌هاست [۱۳]. طبق مطالعات ما، عوامل مؤثر بر جذب میکروارگانیسم‌ها بر سطوح جامدات به غلظت و نوع جامد، نوع و سویهٔ باکتری [۱۴]، نوع و ظرفیت کاتیون‌های موجود در محلول، زنده یا مرده‌بودن میکروب، pH، پتانسیل زتای جاذب و میکروب، اندازهٔ میکروب [۱۴] و... بستگی دارند. البته جذب‌شدن باکتری‌ها به مواد معدنی، منفعتی مشهود برای این میکروارگانیسم‌هاست، زیرا این سطوح از مواد مغذی مهم آن‌ها تشکیل شده‌اند [۱۳].

طبق اطلاعات ما، از فعالیت کاتالیزگری نوری تیتانیم دی‌اکساید، بیشتر به‌صورت سوسپانسیون در مایعات و تعدادی بر سطوح تثبیت‌شده استفاده شد [۱، ۱۵]، ولی هیچ‌یک از پژوهش‌ها اثر ضد میکروبی نانوذرات را در بستر سیمان بررسی نکردند. از آنجاکه اکثر سازه‌های مربوط به سامانه‌های آب و فاضلاب از جنس بتن هستند، تثبیت نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در بستر سیمان و استفاده از خمیر حاصله به‌صورت روکش ساختارهای بتنی فاضلابی، ممکن است راهکار مناسبی برای استفاده از ویژگی کاتالیزگری نوری نانوذرات در غیر فعال‌سازی میکروب‌های موجود در آب و فاضلاب درنظر گرفته شود. البته مطالعات ناچیزی، کاهش فعالیت کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید را با مرور زمان گزارش کردند [۱۶، ۱۷]. درهرحال، به‌نظر می‌رسد، تا زمانی‌که نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید اندازهٔ نانومتری خود را حفظ کند و عاملی بین نانوذرات، نور و آلودگی (آلی یا میکروبی) حائل نشود، خاصیت کاتالیزگری نوری آن‌ها همچنان فعال است.

هدف مطالعهٔ حاضر تهیهٔ آب سالم از فاضلاب شهری با تکیه بر فعالیت کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید است. درواقع، سازه‌های انتقال و تصفیه‌خانه‌های فاضلاب می‌توانند به کمک فناوری نانو، خواص ضد باکتریایی داشته باشند. در این مطالعه، ویژگی مذکور در سامانه‌های دوغابی و تثبیت‌شدهٔ نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید بر باکتری *ای‌کلای* (به عنوان باکتری مدل محیط‌های آلودهٔ میکروبی) بررسی شد.

۲. مواد، میکروارگانیسم و روش‌ها

۱.۲. مواد

مواد شیمیایی استفاده‌شده کلسیم‌هیدروکساید با خلوص ۹۶ درصد از شرکت مرک و نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید تجاری با عنوان P25 هستند. نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید استفاده‌شده، براساس اطلاعات فروشنده دارای اندازهٔ ذرات ۱۰± ۲۱ نانومتر، سطح ویژهٔ $۵۰m^2/g$ و خلوص ۹۹/۵ درصد است و دارای خاصیت کاتالیزگری نوری هستند. از نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید برای تهیهٔ سوسپانسیون میکروبی نانوذرات و در ساخت نمونه‌های خمیر سخت‌شدهٔ سیمانی با درصدهای 2-1/0 استفاده شد. به‌دلیل مسائل زیست‌محیطی، اقتصادی و کارپذیری یکسان خمیر سیمان‌های حاوی نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، از درصدهای پایین آن‌ها استفاده شد. در این پژوهش، پودر سیمان پرتلند نوع ۲ تهران و پودرهای پپتون، عصارهٔ مخمر و نوترینت آگار (NA) از شرکت ایتالیایی Liofilchem استفاده شد.

۲.۲. میکروارگانیسم

باکتری *ای‌کلای* PTCC ۱۳۳۰ از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های ایران (IROST)[1] وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. محیط کشت مایع باکتری *ای‌کلای* LB (۵ گرم پپتون به علاوه ۳ گرم عصارهٔ مخمر در یک لیتر آب مقطر) و محیط کشت جامد آن NA درنظر گرفته شد. pH بهینهٔ رشد باکتری ۷ و دمای آن ۳۷°C است. این میکروارگانیسم در محیط کشت جامد در یخچال نگهداری و هر سه تا چهار هفته یک‌بار تجدید کشت شد.

۳.۲. روش آزمایش‌ها

رشد باکتری در ارلن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری، با نسبت حجم محیط کشت به حجم ارلن ۱ به ۵، با ۱ درصد تلقیح باکتریایی در انتهای فاز لگاریتمی با سن هشت ساعت و در شرایط شیکرانکوباتور با دمای ۳۷ °C و دور ۲۰۰ rpm به صورت سه‌بار تکرار انجام گرفت. سپس آزمایش‌های ضد باکتریایی نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در اثر فعالیت کاتالیزگری نوری آن‌ها در آب، در سامانه‌های دوغابی و تثبیت‌شده به‌صورت سه‌بار تکرار انجام گرفتند. آزمایش سامانهٔ دوغابی نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید با غلظت ۰/۱ g/L، همانند مطالعهٔ قبلی [۱۸] همراه با نمونه‌های شاهد لیز و فتولیزشدن باکتری و اثر نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید بر باکتری *ای‌کلای* صورت گرفت. در هر آزمون، ۹۹ قسمت حجمی سوسپانسیون نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، به‌علاوه یک قسمت حجمی سوسپانسیون میکروبی در انتهای فاز لگاریتمی استفاده شد. این سوسپانسیون به‌عنوان محلول شبیه‌سازی‌شده با فاضلاب شهری آلوده به بار میکروبی ولی تصفیه‌شده از مواد آلی و معدنی درنظر گرفته شد. هدف این طراحی، آزمایش مقدماتی درمورد فعالیت کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید بر فاضلاب شهری آلوده به بار میکروبی است.

در آزمایش سامانهٔ تثبیت نانوذرات در بستر سیمان، ابتدا نمونه‌های سیمانی حاوی درصدهای مختلف نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید تهیه شدند. به‌این‌منظور، مقدار مشخص نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید (۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم نسبت به ۱۰۰ گرم پودر سیمان) وزن‌شده، به ۳۵ میلی‌لیتر محلول آب آهک اشباع صاف‌شده اضافه شد و تحت عملیات فراصوت پروبی (مدل Badelin 2070) قرار داده شد تا سوسپانسیون یکنواخت و پایداری حاصل شود [۱۹]. سوسپانسیون آماده‌شده فوراً به پودر سیمان در دمای محیط افزوده شد و به‌طور دستی کاملاً مخلوط شدند تا خمیر یکنواختی ایجاد شود. برای ساخت نمونه‌های سیمانی، مطابق مطالعهٔ قبلی [۲۰] عمل شد. pH اولیهٔ نمونه‌ها، بالای ۱۲ است و این محیط خودبه‌خود کشندهٔ باکتری‌هاست. برای کاهش pH سطحی نمونه‌های سیمانی در آزمایشگاه نیز همانند روش ارائه‌شده در مطالعهٔ قبلی [۲۰] عمل شد. براین‌اساس و با کاهش مناسب pH سطحی نمونه‌ها تا حدود ۷، آن‌ها آمادگی لازم را برای آزمون‌های کاتالیزگری نوری ضد باکتریایی به‌دست آوردند.

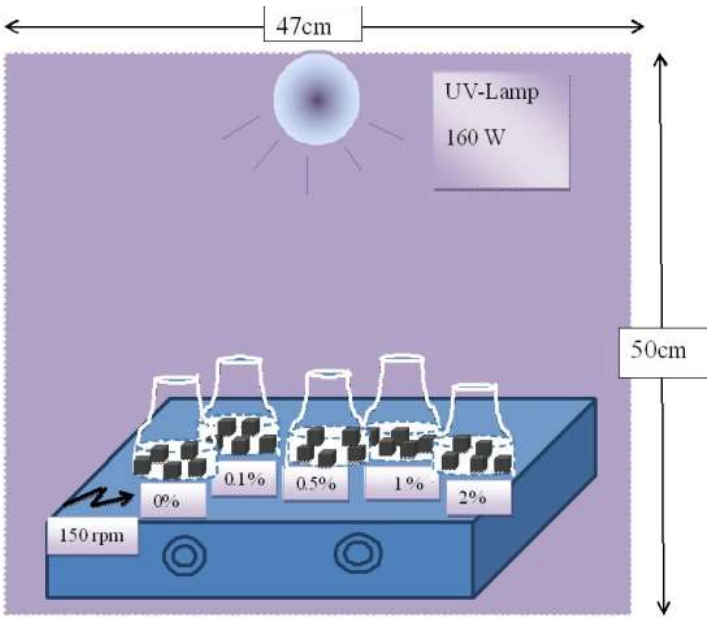
در آزمون‌های ضد باکتریایی نانوذرات تثبیت‌شده در بستر سیمان در اثر فعالیت کاتالیزگری نوری آن‌ها، مطابق جدول ۱، شش آزمایش مربوط به آزمایش‌های شاهد و چهار آزمایش دیگر مربوط به فعالیت کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید با درصدهای مختلف در بستر سیمان هستند. طبق این جدول، آزمایش‌های شاهد مربوط به میزان فروشویی اجزای سیمان در تاریکی و نور یا لیز و فتولیزشدن باکتری‌ها در آب با نمونه‌های سیمانی یا بدون آن‌ها هستند. در این آزمون‌ها، ابتدا ۱۰ ارلن ۲۵۰ CC حاوی ۱۰۰ CC آب با و بدون پنج نمونهٔ سیمانی عاری و حاوی درصدهای مختلف نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، مطابق جدول ۱ آماده شدند. پس از استریل‌کردن ارلن‌ها، ۱ درصد مایهٔ تلقیح باکتری *ای‌کلای* در انتهای فاز لگاریتمی و در کنار شعله، به تمام ارلن‌ها (به‌عنوان محلول شبیه‌سازی‌شده با فاضلاب شهری آلوده به بار میکروبی ولی تصفیه‌شده از مواد آلی و معدنی) به جز آزمایش‌های ۱ و ۲ (آزمایش‌های شاهد فروشویی اجزای سیمان در داخل آب و در حضور نور و تاریکی) تلقیح شد. این دو آزمایش، به‌منظور رصد تغییرات pH محلول‌ها با زمان طراحی شدند.

معمولاً برای شروع آزمایش‌های کاتالیزگری نوری سامانه‌های مختلف نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، قبل از روشن‌کردن لامپ فرابنفش، زمانی را برای انجام‌دادن فرایندهای احتمالی جذب و واجذب بین مواد موجود در سوسپانسیون‌ها درنظر می‌گیرند. در آزمایش‌های غیر فعال‌سازی باکتریایی توسط نمونه‌های سیمان عاری و حاوی درصدهای مختلف نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، نتایج شمارش کلنی‌های باکتری‌های زندهٔ موجود در محلول، قبل و بعد از دورهٔ ۳۰ دقیقه‌ای تاریکی، به‌عنوان ارزیابی میزان جذب باکتری بر سطوح آن‌ها درنظر گرفته شد. پس از طی دورهٔ

1. Iranian Research Organization for Science and Technology

۳۰ دقیقه‌ای تاریکی، لامپ فرابنفش (توان ۱۶۰ وات از شرکت ناروا)[1] روشن شد و در زمان‌های مختلف آزمایش، از ارلن‌های معرفی‌شده در جدول ۱ که تلقیح باکتری در آن‌ها صورت گرفته بود، یک میلی‌لیتر نمونه‌گیری شد و پس از رقیق‌سازی‌های متوالی، شمارش کلنی‌های باکتری‌های زندهٔ آن‌ها روی پلیت‌های حاوی نوترینت آگار انجام گرفت. شکل ۱ طرح‌وارهٔ ساده‌ای از سامانهٔ استفاده‌شده را در این آزمون نشان می‌دهد.

برای بررسی رشد مجدد باکتری *ای‌کلای*، پس از آزمایش‌های کاتالیزگری نوری نمونه‌های سیمانی، تمامی ارلن‌های آزمایش‌هایی که در آن‌ها تلقیح باکتریایی صورت گرفته بود (جدول ۱، شمارهٔ ۳-۱۰) در شرایط تاریکی و در دمای محیط تا سه روز نگهداری شدند. در این فاصلهٔ زمانی، دوباره تعداد کلنی‌های باکتری‌های زندهٔ آن‌ها شمارش شدند.



شکل ۱. سامانهٔ کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید تثبیت‌شده در بستر سیمان

جدول ۱. انواع آزمایش‌های شاهد و ضد میکروبی باکتری *ای‌کلای* در اثر فعالیت کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در بستر سیمان

آزمایش	نمایانگر			تابش UV	نانوذرات در سیمان (٪)
۱	فروشویی اجزای نمونه‌های سیمانی عاری از نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در		تاریکی	-	۰
۲			تابش	+	
۳	لیزشدن	باکتری *ای‌کلای*		–	–
۴	فتولیزشدن			+	
۵	لیزشدن	باکتری *ای‌کلای* در محلول حاوی اجزا فروشویی‌شدهٔ نمونه‌های سیمانی عاری از نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در	تاریکی	–	۰
۶	فتولیزشدن		تابش	+	
۷	بررسی فعالیت کاتالیزگری نوری درصدهای مختلف نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در نمونه‌های سیمانی بر زنده‌بودن باکتری *ای‌کلای* در آب و تحت تابش			+	۰/۱
۸					۰/۵
۹					۱
۱۰					۲

1. NARVA

۴.۲. روش اندازه‌گیری

از روش‌های تعیین دانسیتهٔ سلولی براساس جذب نوری کشت میکروبی (OD600)، وزن خشک سلولی (DCW)[1]، شمارش تعداد کلنی باکتری‌های زنده و مقدار pH کشت برای رسم منحنی رشد باکتری‌ها استفاده شد. برای اندازه‌گیری میزان کدورت محیط به‌عنوان معیاری از میزان رشد سلول باکتریایی از دستگاه طیف‌سنج (مدلMetertech-SP8001)[2] در طول موج ۶۰۰ نانومتر استفاده شد. برای تعیین وزن خشک سلولی نمونه‌های سوسپانسیون میکروبی، پس از نمونه‌گیری در سانتریفوژ با دور rpm ۴۰۰۰ و به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ °C رسوب داده شدند. تودهٔ سلولی مرطوب در دمای ۷۰ °C به مدت ۲۴ ساعت خشک شد. جرم تودهٔ خشک سلولی بر حجم کشت غوطه‌ور میکروبی به‌صورت mg/L گزارش شد. برای شمارش تعداد کلنی‌های زندهٔ باکتری ای‌کلای در زمان‌های مختلف تابش و تاریکی، از هر نمونه سوسپانسیون میکروبی با دقت مشخص، ۱۰۰ میکرولیتر برداشته شد و روی محیط کشت جامد NA به‌صورت سه‌بار تکرار پخش و در دمای ۳۰°C گرماخانه‌گذاری شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت تعداد کلنی‌های ایجادشده، شمارش و در ضریب رقیق‌سازی ضرب و به‌صورت CFU/mL گزارش شد.

۳. نتایج و بحث

برای مطالعهٔ رفتار باکتری *ای‌کلای*، انواع منحنی‌های رشد آن (تغییرات pH، دانسیتهٔ نوری، وزن خشک سلولی و تعداد کلنی‌های تشکیل‌شده در میلی‌لیتر محلول نسبت به زمان) براساس بخش ۳.۲ تهیه شدند. براساس نتایج، pH سوسپانسیون باکتری *ای‌کلای* در هشت ساعت از کشت، از مقدار اولیهٔ حدود ۷ به ۸ رسید و کدورت آن تا حد یک افزایش یافت. تعداد کلنی‌های ایجادشده در این فاصلهٔ زمانی، پس از یک روز گرماخانه‌گذاری، حدود CFU/mL $۱۰^{۱۱}$ و مقدار وزن خشک سلولی آن حدود ۸۵۰ mg/L اندازه‌گیری شد (نتایج نشان داده نشد). براین‌اساس، نیمهٔ فاز لگاریتمی رشد باکتری *ای‌کلای* زمان چهار ساعت است.

۱.۳. نتایج سامانهٔ دوغابی نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید بر باکتری *ای‌کلای*

در سامانهٔ دوغابی نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، تعداد اولیهٔ باکتری‌های موجود در هر ارلن به‌طور متوسط CFU/mL $۱/۲۶\times۱۰^{۱۱}$ شمارش شد. پس از انجام‌دادن آزمون‌ها مطابق بخش ۳.۲ و شمارش کلنی‌های ایجادشده روی محیط کشت جامد NA در روز بعد، به‌طور خلاصه درمورد غیر فعال‌سازی باکتری *ای‌کلای* در سامانهٔ دوغابی نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در آب، نتایج زیر حاصل شد:

- ✓ لیزشدن باکتریایی در حد ناچیز صورت گرفت. به طوری‌که در مدت ۱۲۰ دقیقه‌ای آزمایش، تعداد کلنی‌های باکتریایی در مقدار CFU/mL $۱/۳\times۱۰^{۱۰}$ ثابت باقی ماند.
- ✓ تابش فرابنفش به‌تنهایی خاصیت باکتری‌کشی ندارد و فرایند فتولیز باکتریایی بسیار ناچیز صورت می‌گیرد. در مدت آزمایش، به‌طور متوسط تعداد کلنی‌های باکتریایی در مقدار CFU/mL ۳×۱۰^{۹} ثابت باقی ماند.
- ✓ افزودن نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید با غلظت g/L ۰/۱، تغییر pH محسوسی را برای آب ایجاد نکرد و نانوذرات در تاریکی خاصیت باکتری‌کشی ندارند. در دورهٔ آزمایش، به‌طور متوسط تعداد کلنی‌های باکتریایی در مقدار CFU/mL ۲×۱۰^{۹} ثابت باقی ماند.
- ✓ فعالیت کاتالیزگری نوری سامانهٔ دوغابی نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید پس از یک ساعت تابش فرابنفش، به درصد قابل قبول برای غیر فعال‌کردن باکتری *ای‌کلای* می‌رسد. در ۹۰ دقیقه از آزمایش، تعداد کلنی‌ها به میزان CFU/mL ۷×۱۰^{۳} کاهش یافت. در این آزمون، میزان تخریب باکتری *ای‌کلای* پس از دو ساعت به ۹۹/۹۹۹۹۹۹ درصد رسید. برای فرایند باکتری‌کشی، این درصد تخریب بالا درصد بسیار خوبی است.
- ✓ در این مجموعه‌آزمایش‌ها، هیچ‌گونه رشد مجدد باکتریایی، پس از قطع تابش مشاهده نشد و مرگ باکتری‌ها پس از رسیدن به درصد قابل قبول، برگشت‌ناپذیر بود.

در سامانهٔ دوغابی نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، تماس بین سلول باکتری و سطح نانوذرات بسیار زیاد است؛ بنابراین، حملات رادیکال‌های هیدروکسیل به دیوارهٔ سلولی باکتریایی بسیار مؤثر است. درنتیجه، با استفاده از فناوری کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، می‌توان به محیط‌ها و آب عاری از میکروب دست یافت.

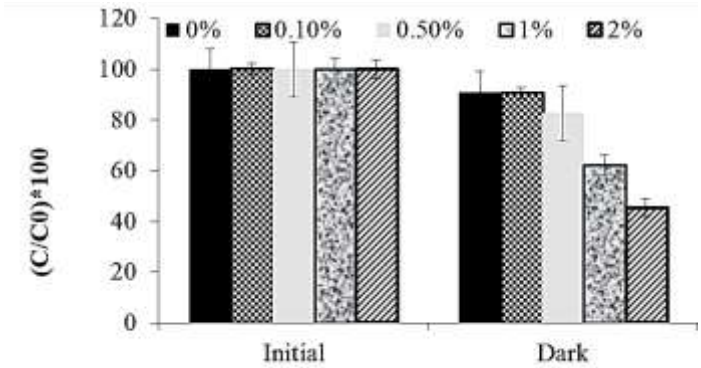
---
1. Dry Cell Weight
2. Spectrophotometer

۲.۳. نتایج سامانهٔ تثبیت نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در بستر سیمان بر باکتری *ای‌کلای*

در این قسمت، نتایج آزمایش‌های بررسی فعالیت کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید بر باکتری *ای‌کلای* در سامانهٔ سیمانی مطابق بخش ۳.۲ و جدول ۱ ارائه می‌شود. به دلیل اینکه در آزمایش‌های شاهد ۱ و ۲ جدول ۱، هیچ‌گونه باکتری تلقیح نشده بود، رصد pH محلول آن‌ها نسبت به زمان صورت گرفت. حاصل این اندازه‌گیری، تغییرات ناچیز pH محلول‌ها با زمان است؛ بنابراین، حضور فیزیکی نمونه‌های سیمانی و فروشویی ناچیز اجزای آن‌ها نمی‌تواند موجب مرگ باکتری‌ها شود. اثر سامانهٔ تثبیت نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در سیمان بر باکتری‌ها شامل سه بخش جذب باکتری‌ها بر سطح نمونه‌های سیمانی، فعالیت کاتالیزگری نوری و رشد مجدد باکتریایی در آب پس از قطع تابش است. نتایج این آزمون‌ها در ادامه آورده می‌شود.

۱.۲.۳. جذب اولیهٔ باکتری *ای‌کلای* بر سطوح نمونه‌های مختلف سیمانی در دورهٔ تاریکی

نتایج شمارش کلنی‌های باکتری‌های زندهٔ قبل و بعد از دورهٔ ۳۰ دقیقه‌ای تاریکی، در آزمایش‌های غیر فعال‌سازی باکتریایی توسط نمونه‌های سیمانی عاری و حاوی درصدهای مختلف نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید مطابق بخش ۳.۲، به عنوان ارزیابی میزان جذب باکتری بر سطوح نمونه‌های مختلف سیمانی در شکل ۲ می‌آید. در دورهٔ تاریکی و در سامانه‌های جامد، مایع و باکتری، هرچه تعداد باکتری‌های آزاد موجود در محلول از باکتری‌های اولیهٔ تلقیح‌شده کمتر شود، می‌توان نتیجه گرفت باقی باکتری‌های تلقیح‌شده، جذب سطح جامد شدند. مطابق شکل ۲، به‌دلیل کاهش تعداد باکتری‌های زندهٔ موجود در محلول بعد از دورهٔ تاریکی، جذب باکتری *ای‌کلای* روی سطوح نمونه‌های سیمانی عاری و حاوی نانوذرات وجود دارد. در این دوره، بیشترین جذب باکتری مربوط به نمونه‌های سیمانی حاوی ۲ درصد نانوذرات است و با کاهش درصد نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در خمیر سخت‌شدهٔ سیمانی، میزان جذب باکتری کاهش می‌یابد. با توجه به اندازهٔ متوسط $۰/۵\ m^۲\mu$ باکتری [۱۳] و سطح $m^۲\mu$ ۲۴×۱۰^۸ نمونه‌های سیمانی استفاده‌شده، تعداد ایده‌آل باکتری‌ها که می‌توانند به سطح پنج نمونهٔ سیمانی موجود در هر ارلن جذب شوند، $۲/۴ \times ۱۰^{۱۰}$ باکتری محاسبه می‌شود. در مطالعهٔ ماروگان و همکاران [۶]، جذب لیپوپلی‌ساکارید دیوارهٔ سلولی باکتری بر اکسیدهای آلومینیم و سیلیسیم نشان داده شد. این اکسیدها در بستر سیمان وجود دارند؛ بنابراین، طبیعی است که جذب باکتری *ای‌کلای* بر سطح نمونه‌های سیمانی اندازه‌گیری شود. همچنین، لین و همکاران در مطالعهٔ خود [۱۴]، جذب باکتری *ای‌کلای* را بر سطح نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید تأیید کردند. سپس با افزودن نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید به بستر سیمان، مکان‌های فعال برای جذب باکتری *ای‌کلای* افزایش یافت.



شکل ۲. تغییرات تعداد کلنی‌های زندهٔ باکتری *ای‌کلای* با حضور نمونه‌های سیمانی عاری و حاوی درصدهای مختلف نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در آب، پس از ۳۰ دقیقه در تاریکی‌بودن (C_0، C: به‌ترتیب غلظت اولیهٔ میکروب و پس از دورهٔ تاریکی)

۲.۲.۳. نتایج آزمایش‌های کاتالیزگری نوری نمونه‌های سیمانی حاوی درصدهای مختلف نانوذرات بر باکتری *ای‌کلای*

شمارش کلنی‌های زندهٔ باکتری *ای‌کلای* در آب و در مجاورت نمونه‌های سیمانی حاوی درصدهای مختلف نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید (آزمایش‌های ۳-۱۰)، در زمان‌های مختلف تا ۲۴۰ دقیقه، مطابق بخش ۳.۲ و جدول ۱ صورت گرفت. آزمایش‌های

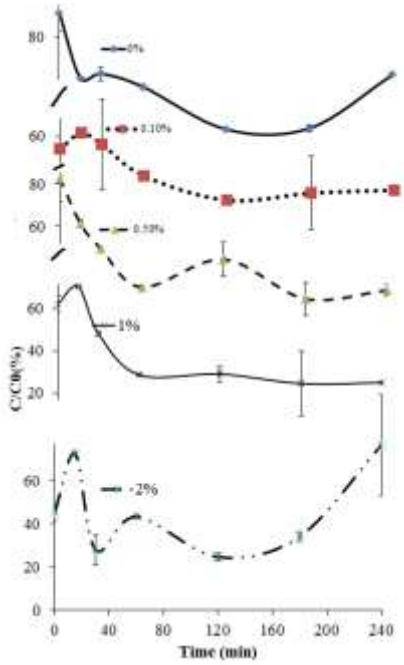
۶-۳ جدول مذکور، به‌ترتیب مربوط به شاهد لیز و فتولیزشدن باکتری *ای‌کلای* در آب با و بدون نمونه‌های سیمانی شاهد در تاریکی و تحت تابش بود که به‌دلیل نبودن نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در آن‌ها، توقع فعالیت کاتالیزگری نوری توسط آن‌ها وجود ندارد و بالطبع کاهش قابل قبول تعداد کلنی باکتری‌های زندهٔ ای‌کلای در آن‌ها وجود ندارد. در طول ۲۴۰ دقیقه از آزمایش‌ها، روند تقریباً ثابت تعداد باکتری‌های *ای‌کلای* وجود دارد. در نمودار 0% شکل ۳ که نتایج شمارش کلنی‌های باکتریایی مربوط به آزمایش سیمان بدون نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید تحت تابش بر باکتری است، جذب و رهاسازی باکتری‌ها بر سطوح نمونه‌ها دیده می‌شود. در این شکل، منظور از لحظهٔ صفر، لحظهٔ بعد از ۳۰ دقیقه تاریکی است. در نمودارهای ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد، روند کاهشی تعداد کلنی‌های زندهٔ باکتری ای‌کلای در محلول ارلن‌ها با افزایش زمان تابش، به دلیل فعالیت کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید موجود در خمیر سخت‌شدهٔ سیمانی وجود دارد. دیده می‌شود که در اثر فعالیت کاتالیزگری نوری، با افزایش درصد نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در بستر سیمان، کاهش تعداد کلنی‌های باکتری *ای‌کلای* اندازه‌گیری شد، ولی در نمودار ۲ درصد، غیر فعال‌سازی یکنواخت باکتریایی دیده نمی‌شود. به‌دلیل هم‌انباشته شدن ۲ درصد نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در بستر سیمان، خاصیت ضد میکروبی مناسبی از این نمونه‌ها تحت تابش اندازه‌گیری نشد، زیرا لی و همکاران [۲۱] در مطالعه‌شان نشان دادند عامل غلظت نانوذرات، بر هم‌انباشتگی آن‌ها مؤثر است و معمولاً با افزایش غلظت نانوذرات، اندازهٔ ذرات نهایی آن‌ها افزایش می‌یابد. شکل ۴، تصویر SEM با بزرگنمایی ۷۰۰۰ نمونهٔ سیمانی حاوی ۲ درصد نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید را نشان می‌دهد. در این شکل، دیده می‌شود در قسمت‌هایی از نمونهٔ سیمانی، هم‌انباشته‌های میکرواندازهٔ تیتانیم دی‌اکساید وجود دارند؛ بنابراین، در نمونه‌های سیمانی حاوی ۲ درصد نانوذرات، ذرات هم‌انباشته شدند و نتوانستند به‌خوبی در بستر سیمان پخش شوند. این هم‌انباشته‌ها موجب کاهش نسبت سطح به حجم و درنهایت کاهش ویژگی کاتالیزگری نوری ذرات تیتانیم دی‌اکساید در بستر سیمان می‌شوند [۱۹] و طبیعی است باکتری‌ها در مجاورت نمونه‌های مذکور به‌خوبی غیر فعال نشوند.

بنابراین، با توجه به نمودارهای غیر فعال‌سازی باکتری *ای‌کلای* در شکل ۳، مشخص می‌شود در نمونه‌های سیمانی حاوی ل۰/۱ درصد به‌دلیل کم‌بودن مقدار نانوذرات و در نمونه‌های ۰/۵ و ۲ درصد، به‌دلیل هم‌انباشته‌شدن نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید و پراکندگی نامناسب آن‌ها در بستر سیمان [۱۹] و همچنین چسبندگی بالای باکتری *ای‌کلای* بر سطح نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در نمونه‌های حاوی ۲ درصد نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید و نرسیدن نور بر مکان‌های فعال، خاصیت کاتالیزگری نوری آن‌ها فعال نشد و درنتیجه غیر فعال‌سازی باکتری *ای‌کلای* در چهار ساعت تابش فرابنفش مؤثر نبود، درحالی‌که در همین دورهٔ آزمایش، ۱ درصد نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، غیر فعال‌سازی مناسبی از باکتری‌ها (بیشتر از ۸۰ درصد) دارد و این ممکن است به دلیل توزیع مناسب‌تر نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در خمیر سخت‌شدهٔ سیمانی و جذب متوسط باکتری‌ها بر سطح نمونه‌ها باشد [۱۹].

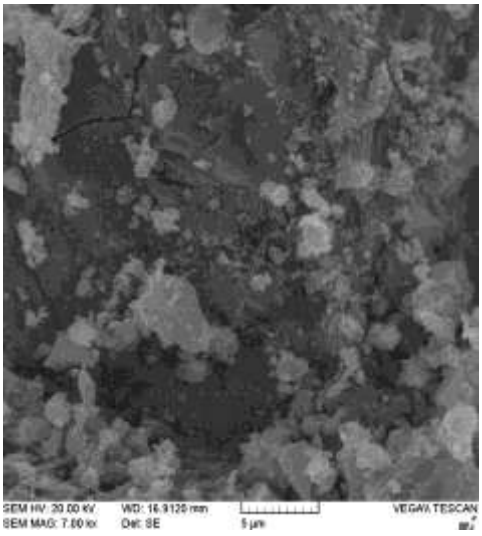
جذب باکتری بر سطح نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید از طرفی می‌تواند حملهٔ رادیکال‌های هیدروکسیل تولیدی را به دیوارهٔ سلولی مؤثرتر کند و مرگ باکتری‌ها را در پی داشته باشد، اما در درازمدت و در ادامهٔ فعالیت کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید و با چسبندگی جسد باکتری‌ها بر مکان‌های فعال آن‌ها، به‌مرور بازده غیر فعال‌سازی باکتریایی نانوذرات تثبیت‌شده در بستر خمیر سیمان کاهش می‌یابد. از آنجاکه هزینهٔ نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید نسبت به پودر سیمان بالاست، در این مطالعه، برای اقتصادی‌بودن طرح و همچنین به‌منظور کاهش مشکلات ناشی از هم‌انباشته‌شدن نانوذرات، از درصدهای پایین آن (۰/۱-۲ درصد) استفاده شد. براساس نتایج، درصد بهینهٔ نانوذرات در بستر سیمان ۱ درصد تعیین می‌شود، زیرا در این درصد، جذب متوسط از باکتری‌ها بر سطح نمونه‌های سیمانی حاوی نانوذرات اندازه‌گیری شد و این نمونه‌ها، نسبت به بقیهٔ نمونه‌های سیمانی دارای درصد ضد عفونی‌کنندگی بالاتری هستند و با توجه به غلظت پایین انتخاب‌شده (۱ درصد)، استفاده از این طرح در سامانه‌های آب و فاضلاب می‌تواند کاملاً اقتصادی باشد.

متأسفانه در هیچ پژوهشی آزمایش‌های مشابه سامانهٔ تثبیت بر باکتری *ای‌کلای*، انجام نگرفت؛ بنابراین، امکان مقایسهٔ نتایج وجود ندارد. به‌هرحال، با تکیه بر نتایج این آزمایش‌ها، مؤثربودن خاصیت ضد باکتریایی، نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در حالت تثبیت در بستر سیمان دیده می‌شود. در سوسپانسیون نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، مشکل بازیابی و جمع‌آوری نانوذرات وجود دارد. هرچند در سامانهٔ تثبیت نانوذرات در بستر سیمانی این مشکل اصلاً مطرح نیست، ولی برای غیر فعال‌سازی باکتری‌ها به زمان تابش بیشتر نیاز است. در پژوهش گویلارد و همکاران [۱۷] کاهش سرعت تخریب

کاتالیزگری نوری متیلن بلو در محیط‌های خنثی و قلیایی و در حضور نمک‌های معدنی (نیترات، کلرید، سولفات، کربنات و فسفات‌ها) به‌دلیل تشکیل لایهٔ نمکی معدنی در سطح نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید گزارش شد؛ بنابراین، تا زمانی‌که سطح فعال نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در اثر تجمع نمک‌های معدنی، جذب گاز کربن‌دی‌اکسید، آلودگی‌های میکروبی، آلی و فرایندهای کربناسیون طبیعی سیمان، پوشیده نشده باشد و نانوذرات توانایی تماس مستقیم با نور و آلودگی را داشته باشند، همچنان خاصیت کاتالیزگری نوری نمونه‌های سیمانی حاوی نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید و ویژگی ضد میکروبی آن‌ها فعال است؛ بنابراین، سامانه‌های بتنی فاضلاب با این فناوری می‌توانند ویژگی ضد میکروبی داشته باشند. مدت‌زمان غیر فعال‌شدن نمونه‌های مذکور به شدت آلودگی‌های محیطی بستگی دارد.



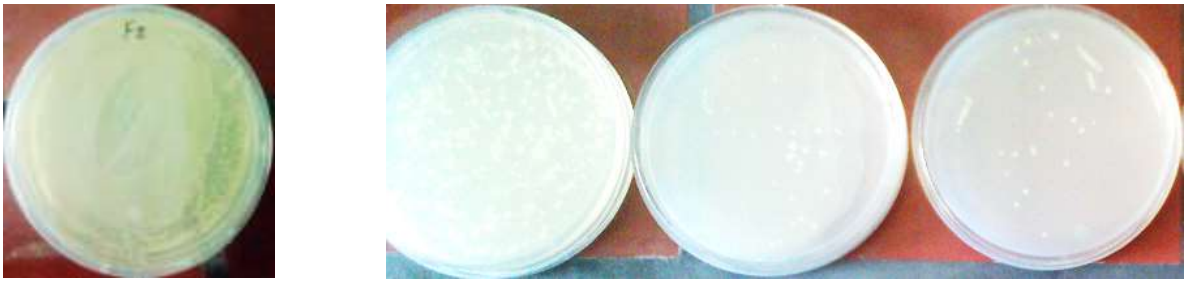
شکل ۳. نمودارهای تغییر تعداد کلنی‌های باکتری *ای‌کلای* در زمان‌های مختلف (0 : مربوط به آزمایش شاهد فتولیزشدن باکتری با نمونهٔ سیمانی، ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد به‌ترتیب مربوط به آزمایش‌های اصلی بررسی ویژگی کاتالیزگری نوری نمونه‌های سیمانی با درصدهای ۰/۱-۲ نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید)



شکل ۴. تصویر SEM نمونهٔ سیمانی حاوی 2 درصد نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید با بزرگنمایی7000

۳.۲.۳. رشد مجدد باکتری *ای‌کلای* پس از قطع تابش و در دورهٔ تاریکی

پس از قطع تابش فرابنفش و نتیجه‌گیری از قسمت ۳-۲ و در دورهٔ سه روزهٔ تاریکی، دوباره شمارش تعداد کلنی‌های باکتری‌های زندهٔ انواع محلول‌های حاوی نمونه‌های سیمانی حاوی درصدهای مختلف نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید صورت گرفت. این اندازه‌گیری‌ها نشان دادند در این شرایط، تعداد باکتری‌های زنده بسیار زیاد شد. مشابه این نتیجه‌گیری در پژوهش‌های رینکن [۷]، گیانانتونیو و همکاران آن‌ها [۱۵] گزارش شد. شکل ۵، تصویر معمولی کاهش تعداد کلنی‌های باکتری *ای‌کلای*، در اثر فعالیت کاتالیزگری نوری نمونهٔ سیمانی حاوی ۱ درصد نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید (الف) و فعالیت مجدد و افزایش کلنی‌ها را پس از سه روز در تاریکی (ب) نشان می‌دهد.



(الف) (ب)

شکل ۵. الف) (از چپ به راست) تغییرات تعداد کلنی باکتری *ای‌کلای* در حضور نمونهٔ سیمانی حاوی ۱ درصد نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید تحت تابش، ب) درادامه، پس از قطع تابش و سه روز در دورهٔ تاریکی‌ماندن

تعداد کلنی‌های ایجادشدهٔ باکتری *ای‌کلای* در دورهٔ تاریکی، حتی بیشتر از تعداد کلنی‌های مایهٔ تلقیح اصلی اولیهٔ آن است. در سیمان، اجزای معدنی مانند اکسیدهای کلسیم، آهن، سیلیسیم، آلومینیم، سدیم، پتاسیم، منیزیم، تیتانیم و... وجود دارد. هرچند محیط کشت باکتری *ای‌کلای* پپتون، یست و پلیت‌های آن نوترینت آگار دارند. پپتون از شیر حیوانات تهیه می‌شود و در اثر هیدرولیز آن انواع اسیدهای آمینه و پپتیدها ایجاد می‌شوند. در پژوهش بنابو و همکاران [۲۲]، آزادسازی یون آهن از درون سلول *ای‌کلای* اثبات شد و براساس پژوهش لیو و همکاران [۹]، یون‌های کلسیم و منیزیم در اثر مرگ باکتری *ای‌کلای* آزاد شد. در پژوهش لیو و همکاران [۸]، برای رشد بهتر یک نوع باکتری در محیط کشت LB، از نمک‌های سولفات منیزیم، آهن، منگنز و فسفات‌های پتاسیم استفاده شد. این مطالب نشان می‌دهند باکتری *ای‌کلای* می‌تواند از اجزا سیمان و کربن‌دی‌اکسید اتمسفری، برای رشد خود استفاده کند. بعد از سه روز در تاریکی‌بودن، باکتری‌های *ای‌کلای* با آن تعداد محدودی که داشتند، رشد بالایی در حضور تمامی نمونه‌های سیمانی حاوی درصدهای مختلف نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید پیدا کردند. این مسئله می‌تواند دو دلیل داشته باشد: ۱. بعضی از باکتری‌ها تا چهار ساعت از تابش هنوز زنده‌اند و قادر به رشد و تولید در تاریکی هستند. ۲. بعضی دیگر از باکتری‌ها پس از فعالیت کاتالیزگری نوری مجروح می‌شوند و از سلول‌های مرده تغذیه می‌کنند. این باکتری‌ها که سریع‌الرشد شده‌اند، دوباره و با سرعت فوق‌العاده رشد می‌کنند [۸]؛ بنابراین، اگر می‌خواهیم فعالیت مجدد باکتریایی وجود نداشته باشد، باید دورهٔ تاریکی پس از تابش حذف شود و تابش نور به‌طور پیوسته وجود داشته باشد تا فرصت دورهٔ تاریکی برای تعمیر و مقاوم‌شدن باکتری‌ها حذف شود.

۴. جمع‌بندی

مطالعات نشان داد خاصیت کاتالیزگری نوری تیتانیم دی‌اکساید، توانایی کشتن انواع باکتری‌ها را دارد. در این مطالعه، نتایج آزمایش‌های سامانهٔ دوغابی نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید با غلظت g/L ۰/۱، همانند نتایج پژوهش‌های محققان دیگر، نشان دادند نانوذرات در تاریکی ویژگی باکتری‌کشی ندارند، ولی برعکس در برابر پرتوهای فرابنفش خاصیت ضد میکروبی قوی (بالای ۹۰ درصد) دارند. در سامانهٔ تثبیت نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در بستر سیمان با درصدهای ۰/۱-۲، اندازه‌گیری‌های تعداد کلنی‌های آزاد باکتری *ای‌کلای* در دورهٔ تاریکی نشان داد این باکتری جذب سطح نمونه‌های سیمانی می‌شود. با افزایش درصد نانوذرات

تیتانیم دی‌اکساید در آن‌ها، جذب باکتریایی افزایش می‌یابد. همچنین، ویژگی کاتالیزگری نوری نمونه‌های سیمانی حاوی نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، در غیر فعال‌سازی باکتریایی مؤثرند، اما درصد یک نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، به‌دلیل جذب متوسط باکتری‌ها بر سطح نانوذرات و فعالیت کاتالیزگری نوری بیشتر، نسبت به درصدهای دیگر، به‌عنوان درصد بهینهٔ استفاده از نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در بستر سیمان درنظر گرفته شد، ولی در این شرایط، رشد مجدد باکتریایی پس از قطع تابش و در دورهٔ تاریکی وجود دارد؛ بنابراین، در این نوع سامانه‌ها، باید تابش نور به‌طور پیوسته وجود داشته باشد تا ساختارهای سیمانی، امکان رشد انواع میکروارگانیسم را از بین ببرند و محصولات رشد باکتری‌ها تولید نشود؛ بنابراین، با استفاده از ویژگی کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید، می‌توان آب آلوده به میکروارگانیسم‌ها را ضد عفونی کرد. درواقع، با تثبیت نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در بستر سیمان و استفاده از خمیر حاصله به‌صورت روکش ساختارهای فاضلابی بتنی، می‌توان از فعالیت کاتالیزگری نوری آن در داشتن آب سالم از فاضلاب آلوده به انواع آلودگی‌های آلی و میکروبی بهره گرفت.

مراجع

[1]. Marugán, J., Grieken, R., Pablos, C., Sordo, C. (2010). “Analogies and differences between photocatalytic oxidation of chemicals and photocatalytic inactivation of microorganisms”, Water Research, 44, 789-796.

[2]. Grieken, R., Marugán, J., Sordo, C., Martínez, P., Pablos, C. (2009) “Photocatalytic inactivation of bacteria in water using suspended and immobilized silver-TiO_2”, Applied Catalysis B: Environmental, 93, 112-118.

[3]. Foster, H., Ditta, I., Varghese, S., Steele, A. (2011). “Photocatalytic disinfection using titanium dioxide: spectrum and mechanism of antimicrobial activity”, Applied Microbiology Biotechnology, 90, 1847-1868.

[4]. Gavriliu, S., Lungu, M., Gavriliu, L., Grigore, F., Groza, C. (2009). “Antimicrobial colloidal suspensions of silver-titania”, The Open Chemical and Biomedical Methods Journal, 1, 77-85.

[5]. Jiang, W., Mashayekhi, H., Xing, B. (2009). “Bacterial toxicity comparison between nano- and micro-scaled oxide particles”, Environmental Pollution, 157, 1619-1625.

[6]. Marugán, J., van Grieken, R., Sordo, C., Cruz, C. (2008). “Kinetics of the photocatalytic disinfection of *Escherichia coli* suspensions”, Applied Catalysis B: Environmental, 82, 27-36.

[7]. Rincón, A. G., Pulgarin, C. (2004). “Bactericidal action of illuminated TiO_2 on pure Escherichia coli and natural bacterial consortia: post-irradiation events in the dark and assessment of the effective disinfection time”, Applied Catalysis B: Environmental, 49, 99-112.

[8]. Liu, H. L., Yang, T. C. K. (2003). “Photocatalytic inactivation of Escherichia coli and Lactobacillus helveticus by ZnO and TiO_2 activated with ultraviolet light”, Process Biochemistry, 39, 475-481.

[9]. Liu, P., Duan, W., Wang, Q., Li, X. (2010). “The damage of outer membrane of Escherichia coli in the presence of TiO_2 combined with UV light”, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 78, 171-176.

[10]. Lackhoff M., Prieto, X., Nestle, N., Dehn, F., Niessner, R. (2003). “Photocatalytic activity of semiconductor-modified cement-influence of semiconductor type and cement ageing”, Applied Catalysis B: Environmental, 43, 205-216.

[11]. MacFarlane, J. W., Jenkinson, H. F., Scott, T. B. (2011). “Sterilization of microorganisms on jet spray formed titanium dioxide surfaces”, Applied Catalysis B: Environmental, 106, 181-185.

[12]. Machida M., Norimoto K., Kimura, T. (2005). “Antibacterial activity of photocatalytic titanium dioxide thin films with photodeposited silver on the surface of sanitary ware”, Journal of the American Ceramic Society, 88, 95-100.

[13]. Afzal, Ghauri, M., Okibe, N., Barrie, Johnson D. (2007). “Attachment of acidophilic bacteria to solid surfaces: The significance of species and strain variations”, Hydrometallurgy, 85, 72-80.

[14]. Lin, D. Q., Brixius, P. J., Hubbuch, J. J., Thömmes, J., Kula, M. R. (2003). “Biomass/adsorbent electrostatic interactions in expanded bed adsorption: A zeta potential study”, Biotechnology and Bioengineering, 83, 149-157.

[15]. Giannantonio, D., Kurth, J., Kurtis, K., Sobecky, P. (2009). “Effects of concrete properties and nutrients on fungal colonization and fouling”, International Biodeterioration and Biodegradation, 63, 252-259.

[16]. Chen, J., Poon, C. S. (2009). “Photocatalytic construction and building materials: From fundamentals to applications”, Building and Environment, 44, 1899-1906.

[17]. Guillard, C., Puzenat, E., Lachheb, H., Houas, A., Herrmann, J. M. (2005). “Why inorganic salts decrease the TiO_2 photocatalytic efficiency”, International Journal of Photoenergy, 7, 1-9.

[۱۸]. یوسفی، ا.، الهوردی، ع.، حجازی، پ. (۱۳۹۲). "کاربرد فناوری نوین کاتالیزگری نوری نانوذرات تیتانیم دی‌اکساید در کنترل آلودگی میکروبی محیط زیست"، دومین همایش ملی فناوری نوین در کنترل آلودگی‌های محیط زیست، تهران.

[19]. Yousefi, A., Allahverdi, A., Hejazi, P. (2013). “Effective Dispersion of Nano-TiO_2 Powder for Enhancement of Photocatalytic Properties in Cement Mixes”, Construction and building materials, 41, 224–230.

[20]. Yousefi, A., Allahverdi, A., Hejazi, P. (2014). “Accelerated Biodegradation of Cured Cement Paste by Thiobacillus Species under Simulation Condition”, International Biodeterioration and Biodegradation, 86, 317-326.

[21]. Li, G., Lv, L., Fan, H., Ma, J., Li, Y., Wan, Y., Zhao, X. S. (2010). “Effect of the agglomeration of TiO_2 nanoparticles on their photocatalytic performance in the aqueous phase”, Journal of Colloid and Interface Science, 348, 342-347.

[22]. Benabbou, A. K., Derriche, Z., Felix, C., Lejeune, P., Guillard, C. (2007). “Photocatalytic inactivation of Escherischia coli Effect of concentration of TiO_2 and microorganism, nature, and intensity of UV irradiation”, Applied Catalysis B: Environmental, 76, 257–263.