



รายงานวิจัย

การสังเคราะห์ไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็กเพื่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และความ
เป็นพิษต่อเซลล์

Synthesis of Iron doped Titanium Dioxide for Antimicrobial Activity and
Cytotoxicity

ผศ.ดร.อุไรวรรณ วีระพันธ์

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากกองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ประจำปีงบประมาณ 2559

สงมอ

เลขหมู่.....	๑๖
Bib Key.....	440961
.....	1 ก.ค. 2563

สารบัญ

รายการตาราง

	หน้า
รายการตาราง	ค
รายการภาพประกอบ	ง
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
บทคัดย่อภาษาไทย	ช
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ซ
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจสอบเอกสาร	3
วิธีการทดลอง	11
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	15
สรุปผลการทดลอง	28
เอกสารอ้างอิง	29
ภาคผนวก	32

รายการภาพประกอบ

รายการตาราง

ตารางที่	เนื้อหา	หน้า
4.1	แสดง Vibrational Mode ที่พบในไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก	18
4.2	แสดง ค่าแถบพลังงาน (E_g) ในไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก	19
4.3	แสดงปริมาณองค์ประกอบของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5%mol	21
4.4	แสดงผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5%mol	27
4.5	FTIR สเปกตรัมของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เหนือ 500 °C	17
4.6	FTIR สเปกตรัมของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เหนือ 800 °C	17
4.7	ผลการดูดกลืนแสงของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เหนือ 500 °C	19
4.8	ผลของอนุภาคดูดกลืนแสงของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เหนือ 800 °C	20
4.9	SEM-EDX สเปกตรัมของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เหนือ 500 °C	20
4.10	SEM-EDX สเปกตรัมของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เหนือ 800 °C	21
4.11	TEM ของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 %mol เหนือ 500 และ 800 °C	22
4.12	ร้อยละการยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> หลังทดสอบด้วย TiO_2 และ TiO_2/Fe เหนือ 500 °C	23
4.13	ร้อยละการยับยั้งเชื้อ <i>B. subtilis</i> หลังทดสอบด้วย TiO_2 และ TiO_2/Fe เหนือ 500 °C	24
4.14	ร้อยละการยับยั้งเชื้อ <i>P. denitrificans</i> หลังทดสอบด้วย TiO_2 และ TiO_2/Fe เหนือ 500 °C	24
4.15	ร้อยละการยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i> หลังทดสอบด้วย TiO_2 และ TiO_2/Fe เหนือ 500 °C	24

รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
2.1	ปฏิกิริยาเร่งด้วยแสงของไทเทเนียมไดออกไซด์	4
2.2	การเปลี่ยนแปลงสถานะจากโซลเป็นเจล	4
2.3	กระบวนการโซลเจล	5
2.4	แสดงผลของการเติม Zn ลงใน TiO_2	9
4.1	XRD pattern ของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เเผาที่ 500 °C	15
4.2	XRD pattern ของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เเผาที่ 800 °C	15
4.3	FT-IR สเปกตรัมของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เเผาที่ 500 °C	17
4.4	FT-IR สเปกตรัมของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เเผาที่ 800 °C	17
4.5	แถบการดูดกลืนแสงของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เเผาที่ 500 °C	19
4.6	แสดงแถบการดูดกลืนแสงของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เเผาที่ 800 °C	20
4.7	SEM-EDX สเปกตรัมของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เเผาที่ 500 °C	20
4.8	SEM-EDX สเปกตรัมของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เเผาที่ 800 °C	21
4.9	SEM ของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 %mol เเผาที่ 500 และ 800 °C	22
4.10	ร้อยละการยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> หลังทดสอบด้วย TiO_2 และ TiO_2/Fe เเผาที่ 500 °C	23
4.11	ร้อยละการยับยั้งเชื้อ <i>B. subtilis</i> หลังทดสอบด้วย TiO_2 และ TiO_2/Fe เเผาที่ 500 °C	24
4.12	ร้อยละการยับยั้งเชื้อ <i>P. aeruginoso</i> หลังทดสอบด้วย TiO_2 และ TiO_2/Fe เเผาที่ 500 °C	24
4.13	ร้อยละการยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i> หลังทดสอบด้วย TiO_2 และ TiO_2/Fe เเผาที่ 500 °C	24

- | | | |
|------|---|----|
| 4.14 | ร้อยละการยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> หลังทดสอบด้วย TiO_2 และ TiO_2/Fe เผาที่ $800\text{ }^\circ\text{C}$ | 25 |
| 4.15 | ร้อยละการยับยั้งเชื้อ <i>B. subtilis</i> หลังทดสอบด้วย TiO_2 และ TiO_2/Fe เผาที่ $800\text{ }^\circ\text{C}$ | 25 |
| 4.16 | ร้อยละการยับยั้งเชื้อ <i>P. aeruginosa</i> หลังทดสอบด้วย TiO_2 และ TiO_2/Fe เผาที่ $800\text{ }^\circ\text{C}$ | 25 |
| 4.17 | ร้อยละการยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i> หลังทดสอบด้วย TiO_2 และ TiO_2/Fe เผาที่ $800\text{ }^\circ\text{C}$ | 26 |

กิตติกรรมประกาศ

เป็นที่ทราบกันดีว่าไทเทเนียมไดออกไซด์มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง มีเสถียรภาพซึ่งได้ถูกนำมาใช้กันอย่างกว้างขวางสำหรับการฆ่าเชื้อในกลุ่มจุลินทรีย์ รวมถึงแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส ปฏิกิริยาเร่งด้วยแสงของอนุภาคนาโนไทเทเนียมไดออกไซด์ ไม่เพียงขึ้นอยู่กับสมบัติของวัสดุไทเทเนียมไดออกไซด์ แต่ยังเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงโลหะที่ใช้ผสม หรือโลหะออกไซด์ของไทเทเนียมไดออกไซด์ดั่งนั้น ในงานวิจัยชิ้นนี้ จึงได้เตรียมและศึกษาสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol และทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *Escherichia coli* (*E. coli*) *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) *Bocillus subtilis* (*B. subtilis*) และ *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*)

โดยงานวิจัยชิ้นนี้ได้รับเงินอุดหนุนวิจัยจากกองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ประจำปีงบประมาณ 2559 ทั้งนี้ขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ที่ให้โอกาสในการทำงานวิจัยชิ้นนี้

นักวิจัย

เรื่อง: การสังเคราะห์ไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก เพื่อการยับยั้ง เชื้อจุลินทรีย์และความเป็นพิษต่อเซลล์

บทคัดย่อ: เตรียมไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็กโดยวิธีโซล-เจล เเผที่อุณหภูมิ 500 และ 800 °C ศึกษาสมบัติของอนุภาคที่สังเคราะห์ขึ้นโดยเทคนิค เอ็กซเรย์ดิฟแฟรกชัน ฟลูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี ดิฟฟิวสิวีตีเฟลกแทนซ์ยูวีวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ ส่องกราด และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและอุปกรณ์วิเคราะห์ธาตุ ผลจากเทคนิค เอ็กซเรย์ดิฟ แฟรกชัน พบเฟสอนาเทสเพียงเฟสเดียวเมื่อเผที่ 500 °C แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการเผเป็น 800 °C เฟสอนาเทส เปลี่ยนไปเป็นเฟสรูไทน์ และยังพบ เฟสซูดอบลูโคไนต์ (Fe_2TiO_5) เล็กน้อย อนุภาคที่สังเคราะห์ได้แสดงฤทธิ์ในการยับ ยั้ง *E.coli* *B. subtilis* และ *S. aureus* ได้ดีภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์

คำสำคัญ: อนุภาคนาโน การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ความเป็นพิษต่อเซลล์

Title: Synthesis of Iron doped Titanium Dioxide for Antimicrobial Activity and Cytotoxicity

Abstract: TiO_2 and iron-doped TiO_2 were synthesized by sol-gel method. They were calcined at 500 and 800 °C for 2. The synthesized particles were characterized by X-ray diffraction (XRD), fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), UV-vis diffuse reflectance spectrophotometry (UV/DRS), scanning electron microscopy (SEM) and scanning electron microscope-energy dispersive X-Ray analysis (SEM-EDX). The XRD patterns of all samples which was calcined at 500 °C showed only anatase phase. When increasing temperature from 500 to 800 °C, anatase phase transformed to rutile phase. Minor Pseudobrookite (Fe_2TiO_5) phase was observed at 800 °C. The particles that contained rutile showed the higher antibacterial activity in *E.coli*, *B. subtilis*, and *S. aureus* than anatase phase under fluorescence irradiation.

KEYWORDS: nanoparticles, antimicrobial, cytotoxicity

บทที่ 1

บทนำ

ในปัจจุบันนี้วัสดุที่เป็นโลหะออกไซด์ที่มีขนาดอนุภาคระดับนาโนเมตรได้รับความสนใจนำมาประยุกต์ใช้ทั้งในด้านการแพทย์ ด้านความงาม และด้านสิ่งแวดล้อม เช่น ออกไซด์ของสังกะสี ออกไซด์ไทเทเนียม และออกไซด์ของเหล็ก เป็นต้น สำหรับสารประกอบออกไซด์ของโลหะไทเทเนียมที่เป็นวัสดุนาโนเทคโนโลยีได้มีการนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น เครื่องสำอาง อุตสาหกรรมสีทาบ้าน อุตสาหกรรมสีย้อม เป็นต้น เนื่องจากมีความเสถียรสูง ไม่เป็นพิษ ราคาถูก แข็งแรงทนต่อสภาพกัดกร่อนของคลอรีน น้ำทะเล และ กรด-ด่างได้ดี โครงสร้างของผลึกไทเทเนียมไดออกไซด์ มี ได้ 3 แบบ คือ รูไทล์ (rutile) อนาเทส (anatase) และ บรูคไคท์ (brookite) โดยปกติจะพบไทเทเนียมไดออกไซด์ในโครงสร้างผลึกแบบอนาเทสและรูไทล์ โดยที่โครงสร้างผลึกอนาเทสสามารถเปลี่ยนเป็นโครงสร้างผลึกรูไทล์ได้ที่อุณหภูมิสูง (นัตดา, 2555) ส่วนเพสบุคไคท์นั้นมีโอกาสพบน้อยมาก ดังนั้นโครงสร้างผลึกของไทเทเนียมไดออกไซด์มีความสำคัญเพราะเป็นตัวแปรสำคัญตัวหนึ่งในการกำหนดประสิทธิภาพในการประยุกต์ใช้งาน ไทเทเนียมไดออกไซด์สามารถเตรียมได้หลายวิธี เช่น วิธีการตกตะกอนร่วม วิธีโซล-เจล วิธีไฮโดรเทอร์มอล เป็นต้น ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อดีข้อเสียที่แตกต่างกัน สำหรับกระบวนการเตรียมไทเทเนียมไดออกไซด์ที่ได้รับความนิยมมากคือ วิธีโซล-เจล เนื่องจากวิธีนี้สามารถเตรียมสารได้ง่าย ราคาไม่แพง ทำการทดลองได้ที่อุณหภูมิห้องและความดันบรรยากาศ

ได้มีการนำไทเทเนียมไดออกไซด์มาประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ใช้ โดยใช้เป็นตัวช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ และใช้สำหรับการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยไทเทเนียมไดออกไซด์สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (Matsunaga และคณะ, 1985) ซึ่งกลไกการยับยั้งแบคทีเรียจะเกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวของตัวเร่งปฏิกิริยา หากตัวเร่งปฏิกิริยามีขนาดอนุภาคเล็ก มีพื้นที่ผิวในการดูดซับมาก ประสิทธิภาพในการย่อยสลายจึงสูงขึ้นไปด้วย (Amin และคณะ, 2009) อนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยา เช่น อนุมูลออกซิเจนที่ว่องไว (reactive oxygen species, ROS) จะทำลายผนังเซลล์และเซลล์เมมเบรนของแบคทีเรีย ทำให้เซลล์แตกและของเหลวภายในรั่วไหลออกมา (Egerton และคณะ, 2006) เป็นเหตุให้แบคทีเรียตายในที่สุด จากคุณสมบัติในการฆ่าแบคทีเรียของไทเทเนียมไดออกไซด์ ทำให้มีการนำไทเทเนียมไดออกไซด์มาพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการฆ่าแบคทีเรีย โดยมีการนำไทเทเนียมไดออกไซด์มาเจือด้วยธาตุบางชนิด เช่น เหล็ก (วีระชัย และคณะ, 2557) ทังสเดน (มาหามะสุโฮมิ และคณะ, 2557) และ ซีเรียม (Dedkova และคณะ, 2012) เป็นต้น ซึ่งพบว่าการเจือไทเทเนียมไดออกไซด์ด้วยธาตุดังกล่าวในสถานะที่เหมาะสมช่วยให้ประสิทธิภาพในการฆ่าแบคทีเรียดีขึ้น

นอกจากนี้ได้มีการศึกษาถึงการนำไทเทเนียมไดออกไซด์มาทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น นำไทเทเนียมไดออกไซด์มาทดสอบการออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอด (human lung epithelial cells A549) (Moschini และคณะ, 2010) และมีการเจือไทเทเนียมไดออกไซด์ด้วยสังกะสีแล้วนำมาทดสอบการออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) (Ahamed และคณะ, 2016)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้สนใจที่จะนำไทเทเนียมไดออกไซด์มาประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ทั้งการยับยั้ง จุลินทรีย์ก่อโรค และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยเตรียมไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก ที่ความเข้มข้น ต่างๆ กัน โดยไอออนเหล็กอาจทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายผนังเซลล์แบคทีเรียเพิ่มขึ้น โดยเหล็กจะเป็นตัว ยับยั้งไม่ให้อิเล็กทรอนิกส์กับโฮลรวมตัวกัน ทำให้ไฮดรอกซิลเรดิคัลที่เกิดขึ้นเพิ่มขึ้น ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการ ออกซิไดซ์แบคทีเรีย (Egerton และคณะ, 2006) โดยทดสอบการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ 4 ชนิด คือ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* และ *Pseudomonas aeruginosa* ภายใต้การกระตุ้นด้วยแสง ฟลูออเรสเซนต์ และแสงยูวี และนำไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็กที่เตรียมขึ้นไปทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้ง เซลล์มะเร็งเต้านมของคน (MCF-7) มะเร็งปอดของคน (NCI-H187) มะเร็งช่องปากของคน (KB) ซึ่งผลการทดลอง ที่ได้ อาจจะสามารุใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาคุณสมบัติในการฆ่าแบคทีเรียของไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วย เหล็กและอาจนำไปสู่การประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์และด้านอื่น ๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เตรียม TiO_2 และ TiO_2 ที่เจือด้วย Fe โดยวิธี Sol-Gel และศึกษาสมบัติทางกายภาพและทางเคมีด้วยเทคนิค FT-IR, TEM, XRD, UV/DRS, SEM-EDX
2. ศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* และ *Pseudomonas aeruginosa*
3. ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง 3 ชนิด คือ เซลล์มะเร็งเต้านมของคน (MCF-7) มะเร็งปอดของคน (NCI-H187) มะเร็งช่องปากของคน (KB)

บทที่ 2

การตรวจสอบเอกสาร

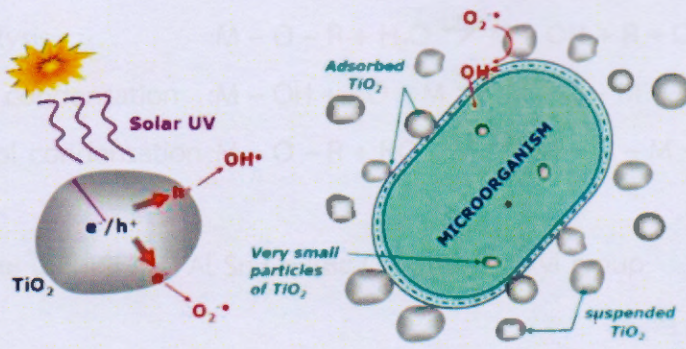
2.1 การเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงของไทเทเนียมไดออกไซด์

ไทเทเนียมไดออกไซด์ (Titanium dioxide: TiO_2) มีสูตรโมเลกุลทั่วไปคือ TiO_2 ซึ่งในธรรมชาติจะอยู่ในรูปของแร่ิลเมนไนต์ (Ilmenite) หรือแร่ลูโคซีน (Leucocene) ซึ่งเป็นแร่สีดุกชนิดหนึ่งที่มีองค์ประกอบหลักเป็นไอรอนไททาเนต (FeTiO_3) สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของไทเทเนียมไดออกไซด์ มีลักษณะเป็นของแข็ง สีขาว ไม่ละลายน้ำ ไม่เป็นพิษ ปลอดภัยในการใช้กับอาหาร ยา สี เครื่องสำอาง สมบัติทางแสงของไทเทเนียมไดออกไซด์ ที่บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพและความยาวคลื่นช่วงยูวีได้ดี เป็นสารกึ่งตัวนำ (ชนิด n-type) มีค่าดัชนีหักเหของแสงสูง

ชนิดไทเทเนียมไดออกไซด์แบ่งตามโครงสร้างของผลึก ได้แก่

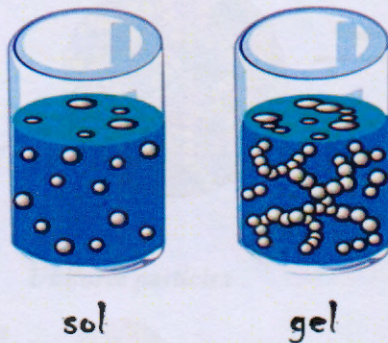
1. รูไทล์ (rutile) มีโครงสร้างผลึกแบบเทตระโกนัล (tetragonal) เป็นชนิดที่พบมากที่สุด ในธรรมชาติ มีความคงทน และเสถียรต่อการเปลี่ยนแปลงต่ออุณหภูมิที่สูง
2. อนาเทส (anatase) มีโครงสร้างผลึกแบบเทตระโกนัล (tetragonal) เป็นชนิดที่พบในธรรมชาติปานกลางหากให้ความร้อนสูงกว่า 915 องศาเซลเซียส จะเปลี่ยนโครงสร้างผลึกเป็นแบบรูไทล์
3. บรูคไคท์ (brookite) มีโครงสร้างผลึกแบบออร์โธโรมบิก (orthorhombic) เป็นชนิดที่พบได้น้อยในธรรมชาติ มีความเสถียรต่ออุณหภูมิต่ำ หากได้รับความร้อนมากกว่า 750 องศาเซลเซียส จะเปลี่ยนโครงสร้างผลึกเป็นแบบรูไทล์

เมื่อไทเทเนียมไดออกไซด์ได้รับการกระตุ้นด้วยแสงจะเกิดปฏิกิริยาทางเคมีโดยปลดปล่อยประจุลบ (-) ออกมาซึ่งประจุลบจะไปจับกับออกซิเจน (O_2) ในอากาศกลายเป็น “ซูเปอร์ออกไซด์ ($\text{Super Oxide: O}_2^-$)” ส่วนประจุบวก (+) ที่เหลืออยู่ก็จะไปดึงเอาประจุลบของน้ำ (H_2O) ในอากาศ เพื่อให้ตัวเองกลับมาสมดุล ดังนั้นไทเทเนียมไดออกไซด์จึงไม่สลายหรือหายไปเมื่อปฏิกิริยานั้นเสร็จสิ้นลงและน้ำที่สูญเสียประจุลบไป จะกลายเป็นไฮดรอกซิลเรดิคัล (Hydroxyl Radical : $\cdot\text{OH}$) ซึ่งทั้ง “ซูเปอร์ออกไซด์” (O_2^-) และ “ไฮดรอกซิลเรดิคัล” ($\cdot\text{OH}$) ที่เกิดขึ้น มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์ พันธะไฮโดรคาร์บอนแล้วกลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำคือน้ำในสู่อากาศมีการค้นพบว่าไทเทเนียมไดออกไซด์ สามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาดังกล่าว โดยใช้เพียงแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลอด LED และสามารถกำจัดแบคทีเรียได้แสดงดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 ปฏิกริยาเร่งด้วยแสงของไทเทเนียมไดออกไซด์
(ที่มา <http://anouchemistry.blogspot.com/2010/>)

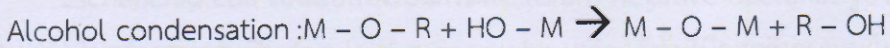
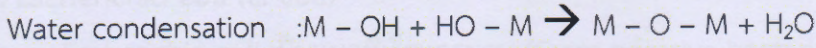
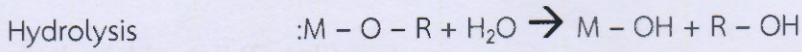
วิธีการสังเคราะห์ไทเทเนียมไดออกไซด์สามารถสังเคราะห์ได้หลายวิธี ในงานวิจัยชิ้นนี้ จะสังเคราะห์ไทเทเนียมไดออกไซด์ด้วยกระบวนการโซล-เจล(Sol-Gel Technology) ซึ่งเป็นกระบวนการเปลี่ยนสถานะจากของเหลวที่เรียกว่า “Sol” ส่วนมากอยู่ในรูปของสารแขวนลอยที่มีขนาดอนุภาคประมาณ 0.1-1 ไมครอน เป็นของแข็งที่เรียกว่า “Gel” แสดงดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 การเปลี่ยนแปลงสถานะจากโซลเป็นเจล

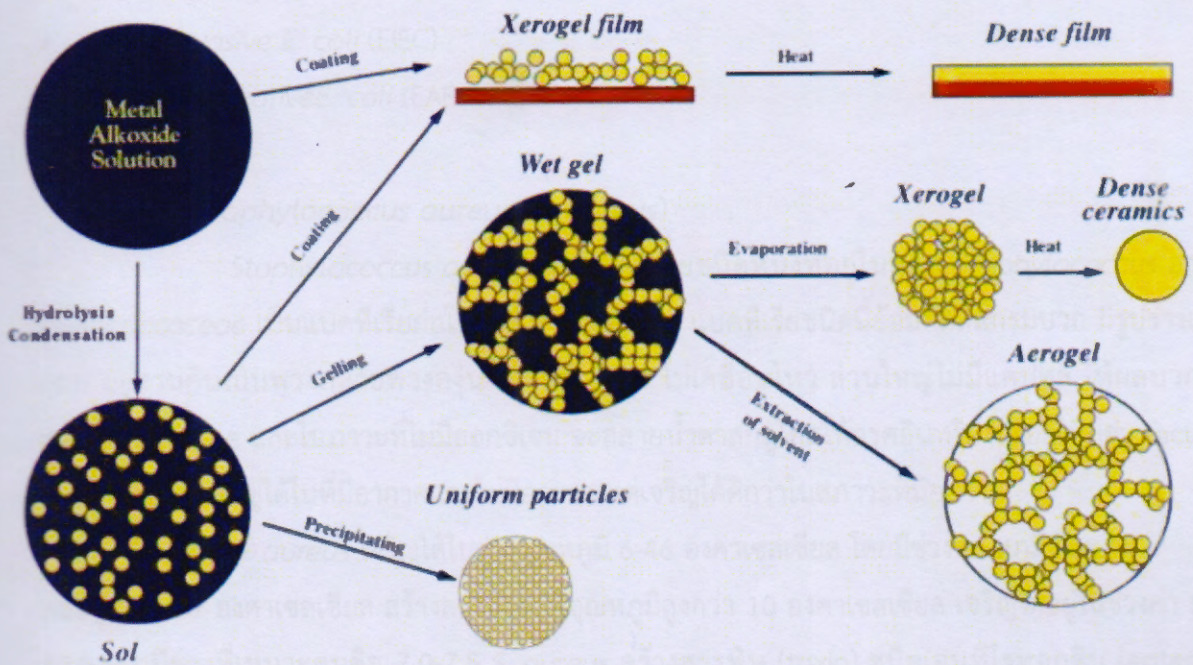
(ที่มา http://www.mpikg.mpg.de/1571937/Sol-gel_chemistry_of_carbon)

ปฏิกิริยาในกระบวนการโซล-เจล มี 3 ปฏิกิริยา คือ Hydrolysis Water condensation และ Alcohol condensation ดังสมการ ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา คือ pH ตัวเร่งปฏิกิริยา อัตราส่วนโมลของน้ำและโลหะ และอุณหภูมิ ดังนั้นการควบคุมปัจจัยเหล่านี้ ในสภาวะที่ต่างกันจะทำให้โซลและเจลที่ได้ มีสมบัติและโครงสร้างต่างกัน



เมื่อ M แทนโลหะ ได้แก่ Si ZrTi Al Sn Ce และ OR แทน Alkoxyl group

ในกระบวนการผลิตทั้งจากสถานะที่เป็น Sol และ Gel เมื่อเข้าสู่กระบวนการทำให้แห้งจะได้ผลิตภัณฑ์ในรูปแบบต่างๆ เช่น fiber aerogel xerogel powder และ coating film เป็นวัสดุสารตั้งต้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการโซล-เจลจะมีความบริสุทธิ์สูง เนื่องจากเป็นการเตรียมสารหรือวัสดุในระดับโมเลกุลทำให้สามารถกำหนดสมบัติต่างๆ ที่ต้องการได้ง่ายแสดงดังภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 กระบวนการโซลเจล

(ที่มา <http://globalinforesearch.hatenablog.com/entry/2017/06/05/165046>)

งานวิจัยชิ้นนี้สนใจศึกษาเกี่ยวกับการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์ และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol ในการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. *Escherichia coli* (*E. coli*)

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) รูปร่างเป็นแท่ง (rod shape) ไม่สร้างสปอร์ เป็น facultative anaerobe เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน *E. coli* อยู่ในวงศ์ *Enterobacteriaceae* และเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliform) ประเภท fecal coliform ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น จึงใช้เป็นตัวชี้บ่งชี้สุขลักษณะของอาหารและน้ำ

E. coli ส่วนใหญ่ไม่ใช่จุลินทรีย์ก่อโรค (Pathogen) แต่บางชนิดที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (Food poisoning) หรือเรียกว่า Enterovirulent *Escherichia coli* group (EEC group) มี 5 ประเภทคือ

- *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC)
- *Enteropathogenic E. coli* (EPEC)
- *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC) หรือ *E. coli* 0157:H7
- *Enteroinvasive E. coli* (EIEC)
- *Enteroadherent E. coli* (EAEC)

2. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่อยู่ในสกุล *Staphylococcus* อยู่ในวงศ์ *Micrococcaceae* เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในอาหาร แบคทีเรียชนิดนี้ย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างเป็นทรงกลม อยู่รวมกันเป็นพวงคล้ายพวงองุ่น ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนไหว ส่วนใหญ่ไม่มีแคปซูล ให้ผลบวกในการทดสอบ catalase และในภาวะที่ไม่มีออกซิเจน จะสลายน้ำตาลกลูโคสให้กรดอินทรีย์ จัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobe คือเจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ แต่เจริญได้ดีกว่าในสภาวะที่มีอากาศ

S. aureus เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 6-46 องศาเซลเซียส โดยมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ที่ 30-37 องศาเซลเซียส สร้างสารพิษได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 10 องศาเซลเซียส เจริญได้ในช่วงค่า pH 4.0-10.0 โดยมีช่วงที่เหมาะสมคือ 7.0-7.5 *S. aureus* สร้างสารพิษ (toxin) ชนิดเอนทีโรทอกซิน (enterotoxin) สารพิษที่สร้างมีสมบัติพิเศษ คือ ทนความร้อน

S. aureus ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ชนิด intoxication ซึ่งเกิดจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษ enterotoxin ที่เชื้อสร้างขึ้น ปนเปื้อนในปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม จะสามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้องและอ่อนเพลีย ผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการปวดศีรษะ เป็นตะคริวที่กล้ามเนื้อ และมีการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเป็นระยะๆ รวมทั้งอาจมีการเต้นของชีพจรผิดปกติ ซึ่งโดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นภายใน 2-3 วัน ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานสารพิษของร่างกาย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในอาหารและปริมาณสารพิษที่สร้างขึ้นในอาหาร รวมทั้งสภาพร่างกายโดยทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อมด้วย

3. *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*)

Bacillus subtilis เป็นแบคทีเรีย (bacteria) รูปร่างเป็นแท่ง (rod shape) ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) อยู่ในวงศ์ *Bacillaceae* ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกับ *Clostridium* และ *Desulfotomaculum* เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลล่า (flaggella) ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต (aerobic bacteria) แต่บางชนิดเป็น facultative anaerobe

4. *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*)

Pseudomonas aeruginosa เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างแท่ง (bacilli) ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต (aerobic) เป็นแบคทีเรียในวงศ์ *Pseudomonadaceae* สามารถเคลื่อนที่ได้โดย flagellum 1 เส้นที่ติดอยู่ตรงหัว ปกติจะพบกระจายอยู่ในดิน น้ำ ขยะหรือในพืช และเป็น normal flora ในลำไส้คน *P. aeruginosa* สามารถทำให้เกิดโรคในคนได้ รวมทั้งสัตว์ แมลงและต้นไม้ได้บ้าง

P. aeruginosa เป็นเชื้อโรคฉวยโอกาสจะมีการติดเชื้อมักเกิดกับผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำหรือป่วยมาก ๆ หรือผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาล บางทีเรียกโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *P. aeruginosa* ว่าโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล จากผู้ป่วยโรคที่ติดเชื้อในโรงพยาบาลจำนวน 2000 คนต่อปี จะมีจำนวน 10% ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *P. aeruginosa* ซึ่งเป็นสาเหตุอันดับสอง ในการทำให้เกิดโรคปอดบวมในโรงพยาบาล และเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ในการก่อให้เกิดโรคปอดบวม ในห้อง ICU โรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* สามารถแพร่กระจายภายในโรงพยาบาลโดยบุคลากร อุปกรณ์การแพทย์ ผิวน้ำ น้ำยาฆ่าเชื้อ และอาหาร โรคติดเชื้อนี้เป็นปัญหาที่รุนแรงมากในโรงพยาบาลมากเนื่องจาก ผู้ป่วยซึ่งมีอาการหนักอยู่แล้วจะเสียชีวิตเนื่องจากโรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* และ *Pseudomonas* คือตัวยาปฏิชีวนะมากทำให้ยากต่อการรักษา

P. aeruginosa สามารถติดเชื้อได้หลายระบบในร่างกาย เนื่องจากมีหลายปัจจัยในการก่อให้เกิด เช่น ความสามารถในการเกาะยึดติดกับเยื่อผิวติดต่อยาปฏิชีวนะสร้างโปรตีนที่มาทำลายเนื้อเยื่อ

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สำหรับการเตรียมอนุภาคนาโนไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยธาตุต่างๆ ได้มีการวิจัยอย่างต่อเนื่อง โดย Vu และคณะ (2010) ได้เตรียมไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยโลหะ Fe^{3+} Cr^{3+} และ V^{5+} และเจือด้วยโลหะ N พบว่าเฟสของไทเทเนียมไดออกไซด์ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อมีการเจือด้วยธาตุดังกล่าว โดยมีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 20-30 นาโนเมตร และได้นำมาศึกษาการสลายสีย้อม methylene blue (MB) , (active dryer) PR ทั้งในแสงช่วงยูวี และช่วงแสงที่มองเห็น โดยการสลายสีย้อมในช่วงแสงที่มองเห็นเกิดได้ดีกว่าแสงช่วงยูวี นอกจากนี้ยังได้ศึกษาการสลาย p-xylene โดยไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยโลหะทั้ง 3 ชนิด สามารถเปลี่ยนไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ได้อย่างสมบูรณ์

Kokila และคณะ (2010) ได้เตรียมไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยโลหะ Fe^{3+} เพื่อที่จะไปยับยั้งการรวมกันของอิเล็กตรอนกับหลุมประจุบวก และได้นำมาศึกษาการสลายสีย้อม methylene blue (MB) โดยเหล็กที่เติมลงไปไปช่วยให้ประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงดีขึ้น เนื่องจากขนาดอนุภาคของไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยโลหะ Fe^{3+} ไม่เพิ่มขึ้น พื้นที่ผิวมากขึ้น และปริมาณเหล็กที่มากขึ้นทำให้แถบการดูดกลืนแสงเลื่อนไปทางด้านความยาวคลื่นสูงขึ้นผลจากเทคนิค X-ray Diffraction (XRD) พบพีกที่ระนาบ 101 ($2\theta = 33.3^\circ$) ซึ่งมีเฉพาะเฟสอนาเทสเพียงเฟสเดียวและที่ระนาบ 104 ($2\theta = 33.3^\circ$) จะเป็นตำแหน่งที่ระบุถึงธาตุเหล็ก

นอกจากนี้ มีงานวิจัยที่นำไทเทเนียมไดออกไซด์มาประยุกต์ใช้ในการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย เช่น Sikong และคณะ (2010) ได้เตรียม $TiO_2/3SnO_2$ ที่เจือด้วยเหล็ก พบว่าสารที่เตรียมได้อยู่ในรูปอนาเทส และมีขนาดอนุภาคเป็น 12.89 ไมโครเมตรอนุภาคเหล็กที่เจือลงไปช่วยทำให้อนุภาคนาโนมีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาทางแสงเพิ่มขึ้นในช่วงของแสงที่มองเห็น และสามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ได้สมบูรณ์ภายใต้แสงยูวี และสามารถยับยั้งได้ 99.7% ภายใต้แสงที่มองเห็น

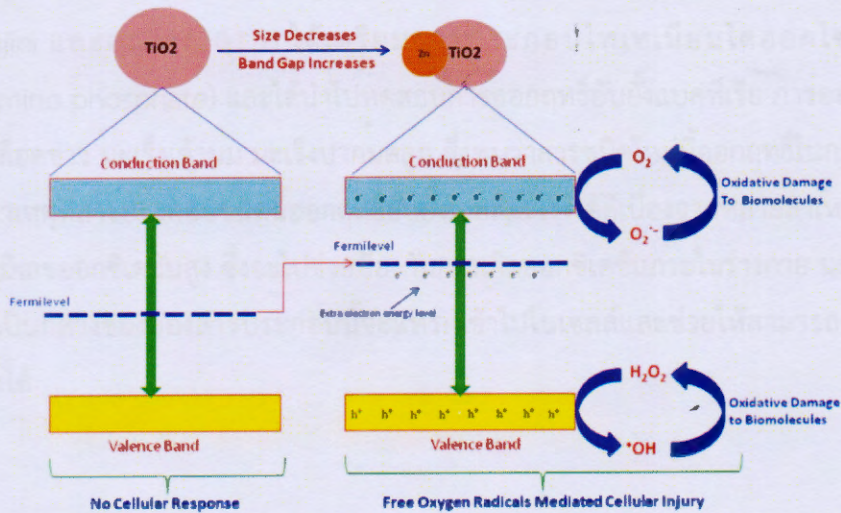
Stoyanova และคณะ (2013) ได้สังเคราะห์ TiO_2 และ TiO_2 ที่เจือด้วยเหล็กโดยวิธีโซล-เจล ขนาดอนุภาคเฉลี่ยของ TiO_2 ที่เจือด้วยเหล็กเป็น 12-15 นาโนเมตร ทดสอบการสลายของสีย้อม Reactive Black 5 ภายใต้แสงยูวีและแสงที่มองเห็น สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 25922 ได้ดีภายใต้แสงยูวีพบว่าปริมาณเหล็กเป็น 0.5 %mol สามารถสลายสีย้อมในปฏิกิริยาเร่งด้วยแสงภายใต้การแสงยูวีและแสงที่มองเห็น

Yuzheng และคณะ (2014) ได้เตรียมไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยโบรอน โดยไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยโบรอนที่เผาที่อุณหภูมิ 600 และ 700 องศาเซลเซียส จะพบเฟสอนาเทส แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการเผาเป็น 900 องศาเซลเซียส จะพบเพียงเฟสรูไทน์ และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการเผาขนาดอนุภาคก็จะเพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับขนาดที่วัดได้ด้วยเทคนิค Transmission Electron Microscopy (TEM) และจากเทคนิค X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) พบว่าอะตอมของโบรอนแทรกเข้าไปในโครงสร้างของไทเทเนียมไดออกไซด์ได้บางส่วน และจากการทดสอบนำไปทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้ง *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ภายใต้แสงที่มองเห็นพบว่าไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยโบรอนที่เผาที่ 600 และ 700 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่าอนุภาคที่เผาที่ 900 องศาเซลเซียส

Kumar และคณะ (2015) ได้เตรียมไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก โดยมีขนาดอนุภาคอยู่ที่ 5.6 นาโนเมตร และพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *Mycobacterium smegmatis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis*

นอกจากได้มีการเตรียมไทเทเนียมไดออกไซด์และนำไปประยุกต์ใช้ในการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแล้วยังใช้ในการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ เช่น Ahamed และ คณะ (2016) ได้เตรียมไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วย Zn โดย Zn ที่เติมลงไปเข้าไปอยู่ในโครงผลึกของไทเทเนียมไดออกไซด์แล้วส่งผลให้แถบช่องว่างพลังงานมีค่าเพิ่มขึ้น โดยแถบช่องว่างพลังงานเมื่อเจือด้วยสังกะสีมีค่า 3.35-3.85 eV

นอกจากนี้ Zn ที่เติมลงไปยังช่วยให้มีการกระจายตัวของอิเล็กตรอนในไทเทเนียมไดออกไซด์ได้ดี ทำให้อิเล็กตรอนถูกกระตุ้นไปยังแถบการนำไฟฟ้าได้ดี ซึ่งยังเป็นการเพิ่มหลุมประจุบวก (h^+) ทั้งหลุมประจุบวกและอิเล็กตรอน (e^-) ที่ถูกกระตุ้นจะเร่งให้เกิดเรดิคัล ซึ่งเรดิคัลเป็นปัจจัยสำคัญในการทำให้เซลล์เสื่อมสลายและนอกจากนี้ Zn ที่เพิ่มเข้าไปยังไปช่วยลดขนาดอนุภาคและยังได้ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) โดยพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Zn จะทำให้เพิ่มความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านมได้ดียิ่งขึ้น แผนภาพแสดงดังรูป



ภาพที่ 2.4 แสดงผลของการเติม Zn ลงใน TiO_2

Kumazawa และคณะ (2002) ได้ศึกษาผลของอนุภาคไทเทเนียมไอออนต่อเซลล์เม็ดเลือดขาว พบว่าไทเทเนียมไดออกไซด์ที่มีขนาดอนุภาคน้อยกว่า 10 ไมโครเมตรจะสามารถออกฤทธิ์ทำลายเซลล์ได้ดี

Dechsakulthorn และคณะ (2007) ได้ศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุภาคนาโนไทเทเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ต่อเซลล์มะเร็งผิวหนังของหนู โดยวิธี MTS assay ค่า IC_{50} ของซิงค์ออกไซด์และของไทเทเนียมไดออกไซด์มีค่า 49.56 ± 12.89 ppm และ $2,969 \pm 667$ ppm ตามลำดับ โดยที่ไทเทเนียมไดออกไซด์ออกฤทธิ์ได้ดีที่ความเข้มข้นสูงๆ

Zhang และคณะ (2011) ได้เตรียมอนุภาคนาโนของโลหะออกไซด์ 4 ชนิด คือ SiO_2 , TiO_2 , Al_2O_3 และ ZnO โดยพบว่าสารทั้งสี่ชนิดสามารถไปทำให้การทำงานของไมโทคอนเดรียในเซลล์มะเร็งปอดของหนูทำงานผิดปกติ ซึ่ง ZnO ออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ TiO_2 , SiO_2 และ Al_2O_3 ตามลำดับ

Kanagesan และคณะ (2013) ได้เตรียมอนุภาคนาโนเหล็กออกไซด์ โดยอนุภาคที่สังเคราะห์ได้มีขนาดประมาณ 19 นาโนเมตร และสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ ซึ่งเป็นประโยชน์ในการพัฒนาต่อไปทางการแพทย์

Karunakaran และคณะ (2013) ได้ทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (NIH3T3) ของสารประกอบ ZrO_2 และ TiO_2 ทั้งอนุภาคระดับไมโครเมตรและระดับนาโนเมตร และนำมาทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งพบว่าความสามารถในการเป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชันกับความเป็นพิษต่อเซลล์ขึ้นกับขนาดอนุภาคของสารทั้งสองชนิด โดยอนุภาคขนาดไมโครเมตรสามารถทำลายเซลล์ได้ดีกว่าอนุภาคขนาดนาโนเมตร เนื่องจากมีความหนาแน่นมากกว่าทำให้ไปเกาะติดที่ผิวของเซลล์ได้ดี โดยลำดับความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (NIH3T3) เป็น ไมโคร- TiO_2 > ไมโคร ZrO_2 > นาโน TiO_2 > นาโน- ZrO_2

Rajini และคณะ (2013) ได้เตรียมสารประกอบไทเทเนียมไดออกไซด์ชนิดใหม่ (titanium dodecylamino phosphate) และได้นำไปทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย การออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งเต้านม มะเร็งปากมดลูก ซึ่งพบว่าสารชนิดใหม่นี้มีออกฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งทั้งสามชนิดได้ดี สาเหตุที่สารประกอบชนิดนี้ออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ดีเนื่องจากหลายสาเหตุด้วยกัน เช่น ไทเทเนียมไดออกไซด์มีเลขออกซิเดชันสูง ซึ่งจะไปช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชันภายในร่างกาย นอกจากนี้ความเป็นระนาบและความเป็นกลางของของสารประกอบนี้จะแทรกเข้าไปในเซลล์และช่วยให้สามารถผ่านเข้าสู่เซลล์ไปทำลายเซลล์มะเร็งได้

1. เครื่องวางสารละลาย (Hot plate stirrer, Heidolph MR 5001)

2. เครื่องปั่นพริกบด (Centrifuge, HERMLE 36 HFO)

3. เตาอบ (CARBOLITE QWF 1200)

4. โถดูดความชื้น (Desiccator)

5. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Binder FO 240)

6. เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่ง (Electronic balance, Sartorius Model)

7. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง (Electronic balance, DENVEN TB-216)

8. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator, Binder BD)

9. ตู้ลมเชื้อ (Laminar flow clean bench, clean clean H)

10. หม้อต้มฆ่าเชื้อภายใต้ความดันไอน้ำ (Autoclave, TOOMY SX-100)

11. ไมโครปิเปต (Micropipette)

12. ไมโครเพลต (Microplate)

13. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope,

Quanta400, FEI, Czech Republic)

14. เครื่องฟูริเยอร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Fourier Transform

Infrared Spectrometer, Vertex 70, Bruker, Germany)

15. เครื่องเลี้ยวรังสีเอกซ์ (X-ray Diffractometer, X'Pert MPD)

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

3.1 สารเคมี เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

1. Ethanol 95%, Merck
2. Methanol 95%, Merck
3. Iron (III) nitrate ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), Merck
4. Tetraisopropylorthotitanate (TIPT) $\geq 98\%$, Merck
5. Dimethyl Sulfoxide (DMSO) 99%, Sigma
6. Sodium chloride 95%, Merck
7. Nutrient agar, Himedia
8. Tryptic Soy Broth, Merck

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องกวนสารละลาย (Hot plate stirrer, Heidolph MR 3001)
2. เครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Centrifuge, HERMLE 36 HK)
3. เต้าเผา (CARBOLITE, CWF 1200)
4. โถดูดความชื้น (Desiccator)
5. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Binder FD 240)
6. เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่ง (Electronic balance, Sartorius Model TE612-L)
7. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง (Electronic balance, DENVEN TB-214)
8. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator, Binder BD)
9. ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar flow clean bench, clean clean H_2)
10. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดันไอน้ำ (Autoclave, TOOMY SX-700)
11. ไมโครปิเปต (Micropipette)
12. ไมโครเพลต (Microplate)
13. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, Quanta400, FEL, Czech Republic)
14. เครื่องฟูรีเออร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ (Fourier Transform Infrared Spectrometer, Vertex 70, Bruker, Germany)
15. เครื่องเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรคโทมิเตอร์ (X-ray Diffractometer, X'Pert MPD,

PHILIPS, Netherlands)

3.1.3 เชื้อจุลินทรีย์

1. *Escherichia coli* (*E. coli*)
2. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)
3. *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*)
4. *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*)

3.2 การเตรียมไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก

3.2.1 การเตรียม TiO_2

ผสมสารละลายเตตระไฮโซพรอพิลอร์โทไททาเนต (TIPT) ปริมาตร 10.00 mL เอทานอลปริมาตร 1.30 mL และเมทานอลปริมาตร 19.25 mL เติมน้ำกลั่น 1.50 mL กวนสารละลายด้วยเครื่องกวนแท่งแม่เหล็ก ที่อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยง รินสารละลายส่วนบนทิ้งแล้วล้างตะกอนด้วยน้ำอุ่น เมทานอลและเอทานอลตามลำดับ เมื่อล้างเสร็จนำตะกอนสีขาวที่ได้วางในโถดูดความชื้น จากนั้นนำตะกอนไปเผาที่อุณหภูมิ 500 และ 800 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะได้ผงไทเทเนียมไดออกไซด์สีขาวละเอียด

3.2.2 การเตรียม TiO_2/Fe 0.5 1.0 และ 1.5 %mol

เติมเตตระไฮโซพรอพิลอร์โทไททาเนต (TIPT) 3.0 mL ผสมกับเอทานอล 50.0 mL ละลาย $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ ในอัตราส่วน 0.5 1.0 และ 1.5 %mol ในน้ำกลั่น 8.3 mL เติมน้ำกลั่นในสารละลายข้างต้น กวนสารละลายที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำไปหมุนเหวี่ยง ล้างตะกอนด้วยน้ำร้อน และเอทานอล ตามลำดับ นำตะกอนที่ได้อบที่อุณหภูมิ 105 °C จากนั้นนำตะกอนไปเผาที่อุณหภูมิ 500 °C และ 800 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะได้ผงไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เผาที่ 500 °C และ 800 °C ตามลำดับ

3.3 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง บนอาหารแข็ง Nutrient agar (NA) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ได้โคโลนีเดี่ยวถ่ายเชื้อแบคทีเรียที่ได้ลงในอาหารเหลว Trypticase soy broth (TSB) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางเชื้อแบคทีเรียด้วย 0.85% โซเดียมคลอไรด์โดยให้มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland Standard จะได้เชื้อแขวนลอยที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10^8 CFU/มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางลงตามลำดับ หลอดละ 10 เท่า จนได้ระดับความเจือจางที่มีความเข้มข้นของเชื้อ เท่ากับ 10^5 CFU/มิลลิลิตร โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรนำเชื้อ

ที่เจือจาง ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy agar (TSA) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อบันทึกจำนวนโคโลนีขั้นตอนการเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

3.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว TSB นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมงเจือจางเชื้อแบคทีเรียให้ได้ความเข้มข้น 10^5 CFU/มิลลิลิตร จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลุมทดลอง โดยใช้ Microplate ชนิด 96 หลุม จากนั้นนำไทเทเนียมไดออกไซด์ และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol ตัวอย่างละ 0.025 กรัมละลายใน 99% Dimethyl Sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร เติมนลงในหลุมทดสอบที่มีเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ หลุมละปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร นำไปรับแสงฟลูออเรสเซนซ์ เป็นเวลา 0 1 2 3 และ 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา นำตัวอย่างในแต่ละหลุมทดสอบ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยลงบนอาหาร TSA แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงหลังจากนั้นนับจำนวนโคโลนีที่เจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อดังสมการต่อไปนี้

3.5.4 Scanning Electron Microscope and Energy Dispersive X-ray Spectrometry (SEM-EDX)

$$\text{Bacterial killing percentage} = 100 \times (N_0 - N) / N_0$$

เมื่อ N_0 คือ จำนวนเชื้อตั้งต้น (โคโลนี)

N คือ จำนวนเชื้อ ณ เวลาทดลอง (โคโลนี)

3.5 การตรวจสอบคุณลักษณะของไทเทเนียมไดออกไซด์ และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก

3.5.1 X-ray Diffraction (XRD)

เทคนิค XRD ใช้วิเคราะห์หาโครงสร้างผลึกและเฟสของไทเทเนียมไดออกไซด์ และคำนวณหาขนาดผลึกของแต่ละเฟสที่เกิดขึ้นในไทเทเนียมไดออกไซด์ และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็กโดยใช้สมการ Scherer (1)-(2) (Sheng และคณะ, 2006) โดยโครงการนี้ใช้เครื่อง XRD รุ่น X'Pert MPD, PHILIPS, Netherlands

3.5.2 Fourier Transform Infrared Spectrometry (FT-IR)

เทคนิค FT-IR ใช้ในการวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันของสาร โดยการวัดการดูดกลืนรังสีที่อยู่ในช่วงอินฟราเรดในช่วงเลขคลื่น $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ โดยใช้ Pellet (KBr) สำหรับโครงการนี้ใช้เครื่อง FT-IR รุ่น Vertex 70, Bruker, Germany

3.5.3 UV-Visible absorption spectroscopy (UV-DRS)

เทคนิค UV-DRS ใช้วิเคราะห์หาค่าแถบพลังงาน (E_g) และการวิเคราะห์หาค่าการดูดกลืนแสง จาก DRS spectra สามารถคำนวณค่าแถบพลังงานได้จากสมการ Planck ทำโดยลากเส้นตัดกราฟ absorption edge ของสารแต่ละตัวจะได้ความยาวคลื่นที่ดูดกลืน (λ) และนำค่าไปคำนวณด้วยสมการ Planck ดังนี้

$$\text{โดยที่ } E_g = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

E_g คือ ค่าแถบพลังงาน (eV)

h คือ ค่าคงที่ของพลังค์ (6.67×10^{-34} J.s)

c คือ ความเร็วของแสง (3×10^8 m.s⁻¹)

λ คือ ความยาวคลื่นที่ดูดกลืน

3.5.4 Scanning Electron Microscope and Energy Dispersive X-ray Spectrometry (SEM-EDX)

เทคนิค SEM-EDX ใช้วิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุต่างๆ ที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง สำหรับโครงการนี้ใช้เครื่อง SEM-EDX รุ่น Quanta400, FEI, Czech Republic



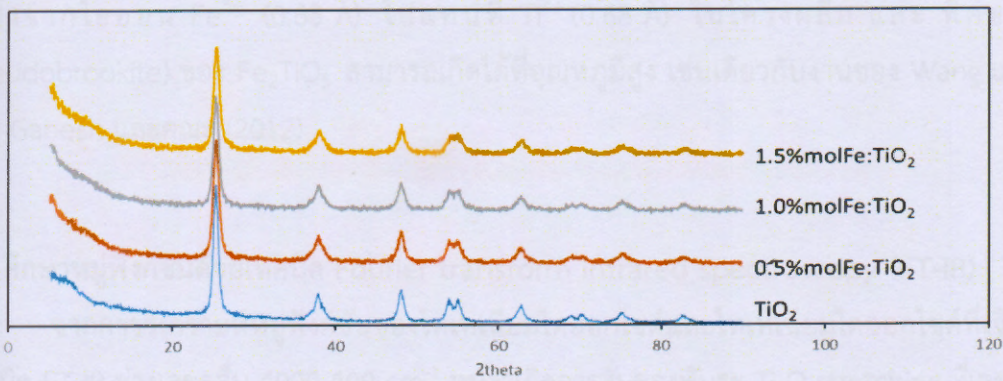
บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

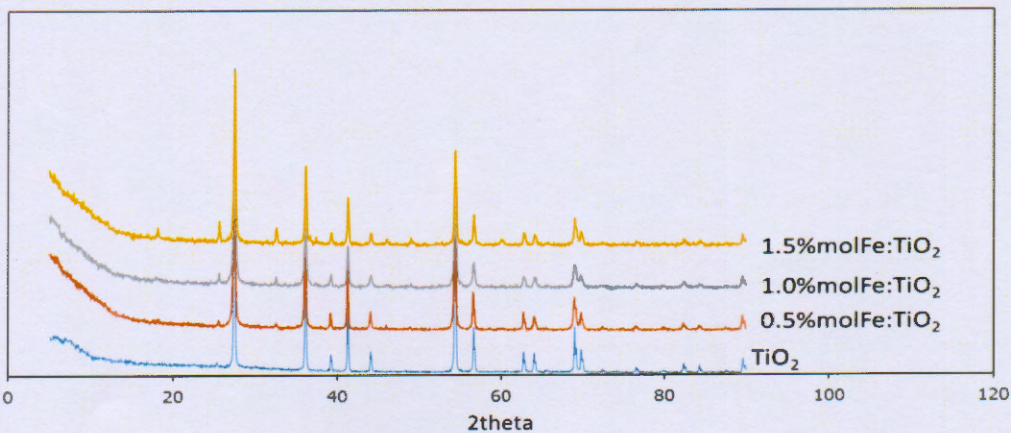
4.1 ศึกษาโครงสร้างผลึกและขนาดผลึกด้วยเทคนิค X-ray Diffraction (XRD)

ในการวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของไทเทเนียมไดออกไซด์ และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก (TiO_2/Fe) 0.5 1.0 และ 1.5 %mol โดยเทคนิค X-ray Diffraction (XRD) โดยใช้ $\text{CuK}\alpha$ เป็นแหล่งกำเนิดรังสีเอกซ์ ทำการวิเคราะห์จากตำแหน่ง 5-90 degree 2 theta โดยผลจากเทคนิค XRD ของไทเทเนียมไดออกไซด์ และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เผาที่ 500 และ 800°C แสดงดังภาพที่ 4.1-

4.2



ภาพที่ 4.1 XRD pattern ของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เผาที่ 500 °C

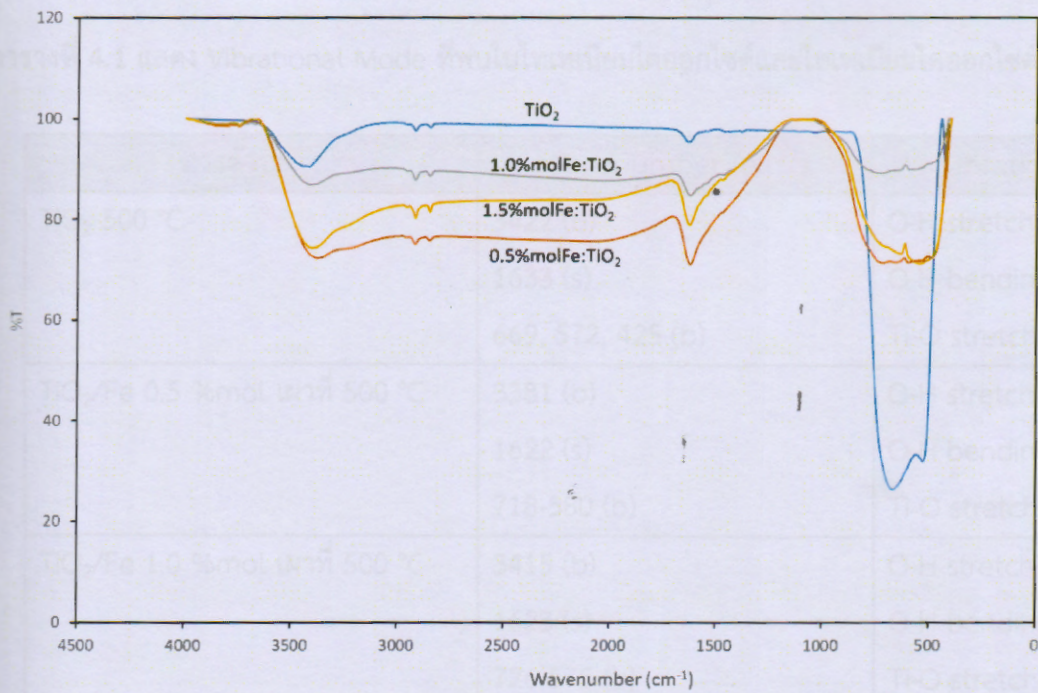


ภาพที่ 4.2 XRD pattern ของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เผาที่ 800 °C

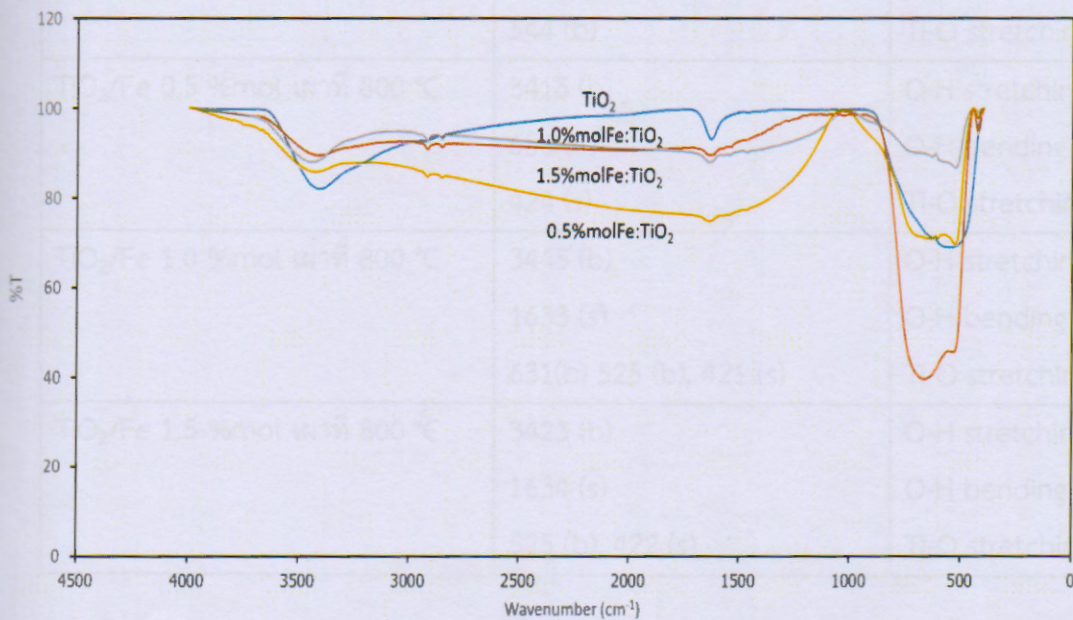
จากผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD โทเทเนียมไดออกไซด์ และโทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์โมล เเผที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส ปรากฏพิกที่ตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 25.37° 25.41° 25.49° และ 25.26° ตามลำดับลักษณะจะเป็นพิกที่กว้าง ซึ่งพบว่าเป็นเฟสอนาเทส (anatase) เพียงเฟสเดียว เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการเผาเป็น 800 องศาเซลเซียส โทเทเนียมไดออกไซด์ และโทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์โมล ปรากฏพิกที่ตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 27.46° (JCPD 01-076-0649) 27.47° (JCPD 01-078-1508) 27.52° (JCPD 01-078-1508) 27.53° (JCPD 01-089-4920) ตามลำดับ ซึ่งลักษณะจะเป็นพิกที่แคบ สูง เป็นเฟสรูไทน์ (Rutile) เป็นหลักและมีพิกของซูโดบรูคไคต์ (Pseudobrookite) ของ Fe_2TiO_5 เล็กน้อย โดยโทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์โมล ปรากฏพิกของ Fe_2TiO_5 ที่ตรงกับ JCPD 01-070-2728 JCPD 01-070-2728 และ JCPD 01-073-1631 ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากไอออน Fe^{3+} (0.68 Å) ไปแทนที่ Ti^{4+} (0.68 Å) ในโครงผลึก และ พิกของซูโดบรูคไคต์ (Pseudobrookite) ของ Fe_2TiO_5 สามารถเกิดได้ที่อุณหภูมิสูง เช่นเดียวกับงานของ Wang และ คณะ (2001) และ Ganesh และคณะ (2012)

4.2 ศึกษาหมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR)

จากการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของโทเทเนียมไดออกไซด์และโทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก ด้วยเทคนิค FT-IR ช่วงเลขคลื่น $4000-400\text{ cm}^{-1}$ พบว่าเกิดการสั่นของพันธะ Ti-O stretching ที่เลขคลื่นในช่วง $421-726\text{ cm}^{-1}$ พันธะ O-H stretching ที่ในช่วงเลขคลื่น $3445-3404\text{ cm}^{-1}$ พันธะ O-H bending ในช่วงเลขคลื่น $1622-1634\text{ cm}^{-1}$ เนื่องจากโมเลกุลน้ำที่ถูกดูดซับบนผิวโทเทเนียมไดออกไซด์ (Stoyanova และคณะ, 2013, Saowaluk และคณะ, 2011) แสดง Vibrational Mode ต่าง ๆ ดังตารางที่ 4.1 และ ภาพที่ 4.3-4.4



ภาพที่ 4.3 FT-IR สเปกตรัมของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 mol เเผาที่ 500 °C



ภาพที่ 4.4 FT-IR สเปกตรัมของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 mol เเผาที่ 800 °C

ตารางที่ 4.1 แสดง Vibrational Mode ที่พบในไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก

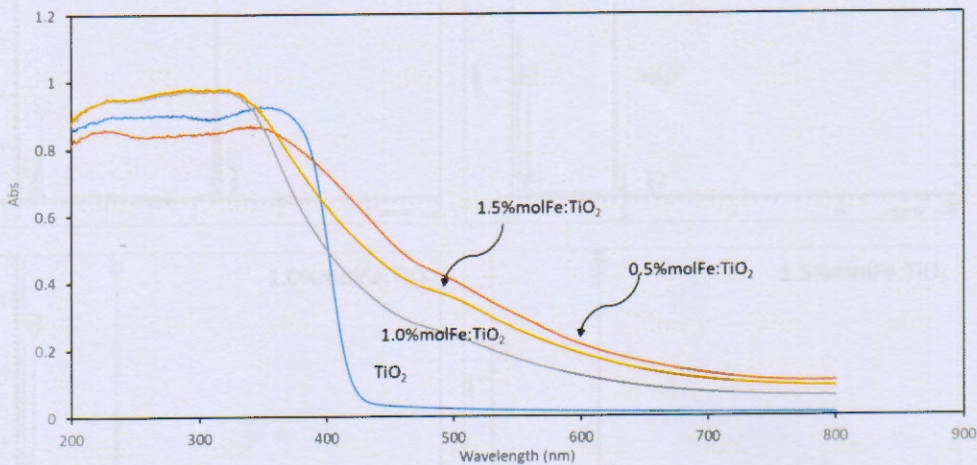
สารตัวอย่าง	Wavenumber (cm ⁻¹)	vibrational mode
TiO ₂ 500 °C	3422 (b) 1633 (s) 669, 572, 425 (b)	O-H stretching O-H bending Ti-O stretching
TiO ₂ /Fe 0.5 %mol เเผาที่ 500 °C	3381 (b) 1622 (s) 718-580 (b)	O-H stretching O-H bending Ti-O stretching
TiO ₂ /Fe 1.0 %mol เเผาที่ 500 °C	3415 (b) 1623 (s) 726-575 (b)	O-H stretching O-H bending Ti-O stretching
TiO ₂ /Fe 1.5 %mol เเผาที่ 500 °C	3404 (b) 1624 (s) 634-545(b)	O-H stretching O-H bending Ti-O stretching
TiO ₂ 800 °C	3413 (b) 1628 (s), 544 (b)	O-H stretching O-H bending Ti-O stretching
TiO ₂ /Fe 0.5 %mol เเผาที่ 800 °C	3415 (b) 656 (b) 424 (s)	O-H stretching O-H bending Ti-O stretching
TiO ₂ /Fe 1.0 %mol เเผาที่ 800 °C	3445 (b) 1633 (s) 631(b) 525 (b), 421 (s)	O-H stretching O-H bending Ti-O stretching
TiO ₂ /Fe 1.5 %mol เเผาที่ 800 °C	3423 (b) 1634 (s) 525 (b), 422 (s)	O-H stretching O-H bending Ti-O stretching

4.4 ศึกษาแถบพลังงาน (E_g) ด้วยเทคนิค Diffused Reflection UV-Vis (UV/DRS)

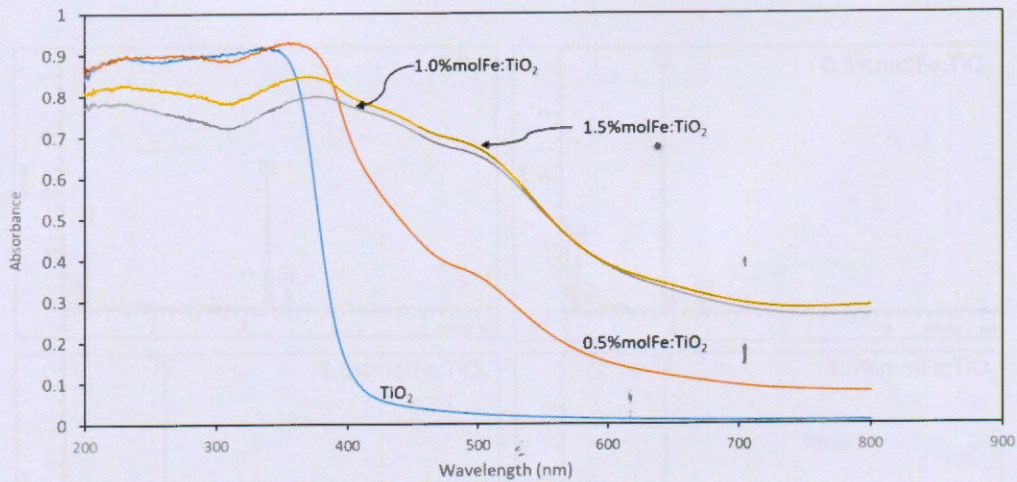
ค่าแถบพลังงาน (E_g) และการวิเคราะห์หาค่าการดูดกลืนแสงจาก DRS spectra สามารถคำนวณค่าแถบพลังงานได้จากสมการ Plank โดย ค่าแถบพลังงาน (E_g) แสดงดังตารางที่ 4.2 และ DRS spectra แสดงดังภาพที่ 4.5 และ 4.6 โดยจะเห็นว่าเมื่อมีการเติมเหล็กลงไปแถบการดูดกลืนเลื่อนไปทางความยาวคลื่นเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเกิดการแทนที่ Ti^{4+} ด้วย Fe^{3+} ซึ่งมีรัศมีไอออน เท่ากับ 0.68 และ 0.64 Å โดยไอออนของเหล็กที่เติมลงไปทำให้เกิดการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากออร์บิทัล 3d ไป ยังแถบการนำไฟฟ้าหรือแถบวาเลนซ์ ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Sood และคณะ (2015) และ Zhu และคณะ (2004)

ตารางที่ 4.2 แสดง ค่าแถบพลังงาน (E_g) ในไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก

ตัวอย่าง	Absorption Edge (nm)	Band gap Energy (eV)
TiO ₂ 500 °C	418.45	2.96
TiO ₂ /Fe 0.5 %mol เผาที่ 500 °C	661.97	1.87
TiO ₂ /Fe 1.0 %mol เผาที่ 500 °C	628.47	1.97
TiO ₂ /Fe 1.5 %mol เผาที่ 500 °C	618.13	2.00
TiO ₂ 800 °C	397.24	3.12
TiO ₂ /Fe 0.5 %mol เผาที่ 800 °C	587.60	2.11
TiO ₂ /Fe 1.0 %mol เผาที่ 800 °C	631.73	1.96
TiO ₂ /Fe 1.5 %mol เผาที่ 800 °C	613.65	2.02



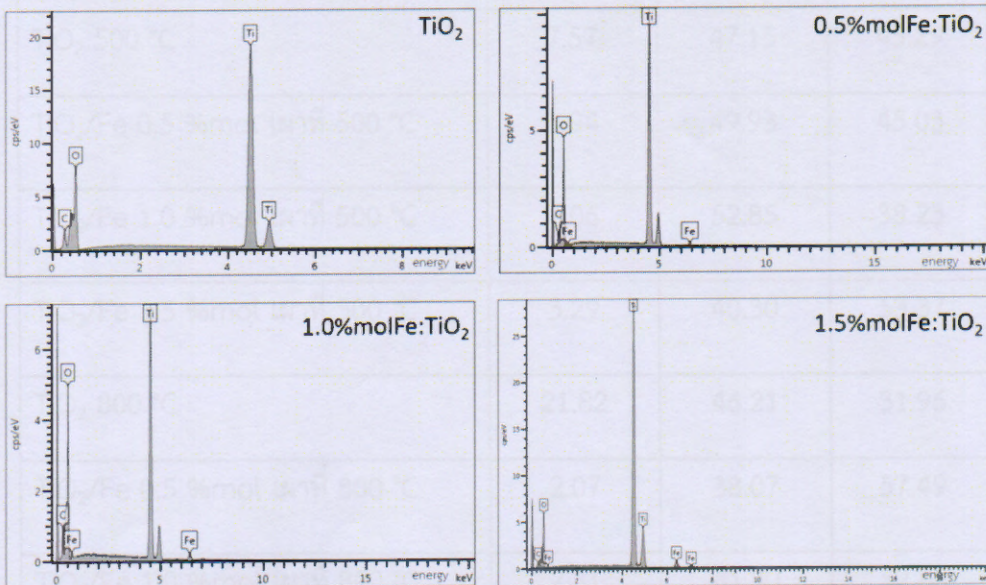
ภาพที่ 4.5 แสดงแถบการดูดกลืนแสงของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เผาที่ 500 °C



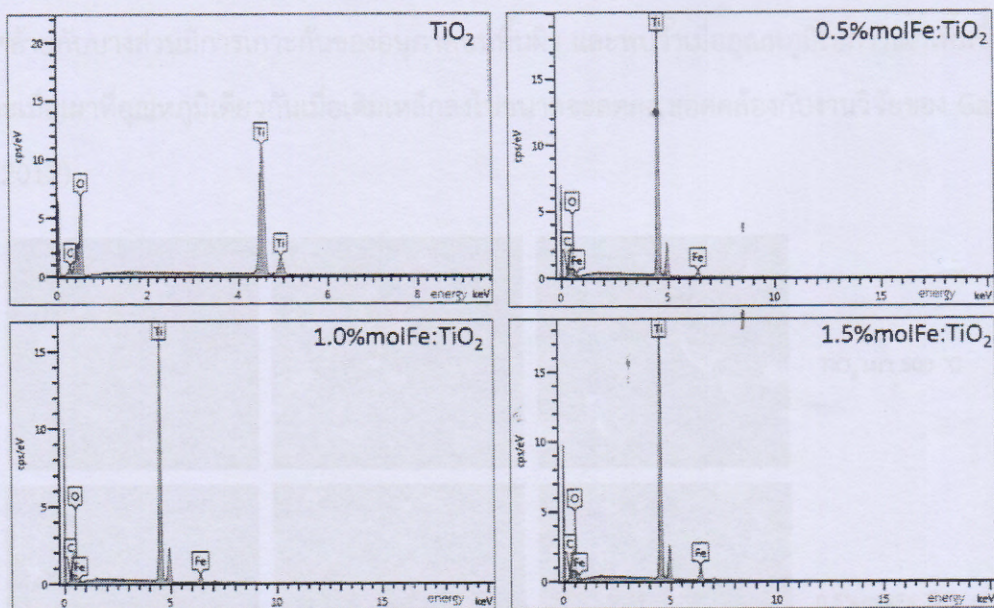
ภาพที่ 4.6 แสดงแถบการดูดกลืนแสงของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เเผาที่ 800 °C

4.5 ศึกษาปริมาณองค์ประกอบด้วยเทคนิค Scanning Electron Microscopy and Energy Dispersive X-ray Spectrometry (SEM-EDX)

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol ด้วยเทคนิค SEM-EDX พบธาตุไทเทเนียม ออกซิเจน และเหล็ก จากไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก และธาตุคาร์บอนจากขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างของไทเทเนียมไดออกไซด์ การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก แสดงดังตารางที่ 4.3 และ SEM-EDX แสดงดังภาพที่ 4.7-4.8



รูปที่ 4.7 SEM-EDX สเปกตรัมของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เเผาที่ 500 °C

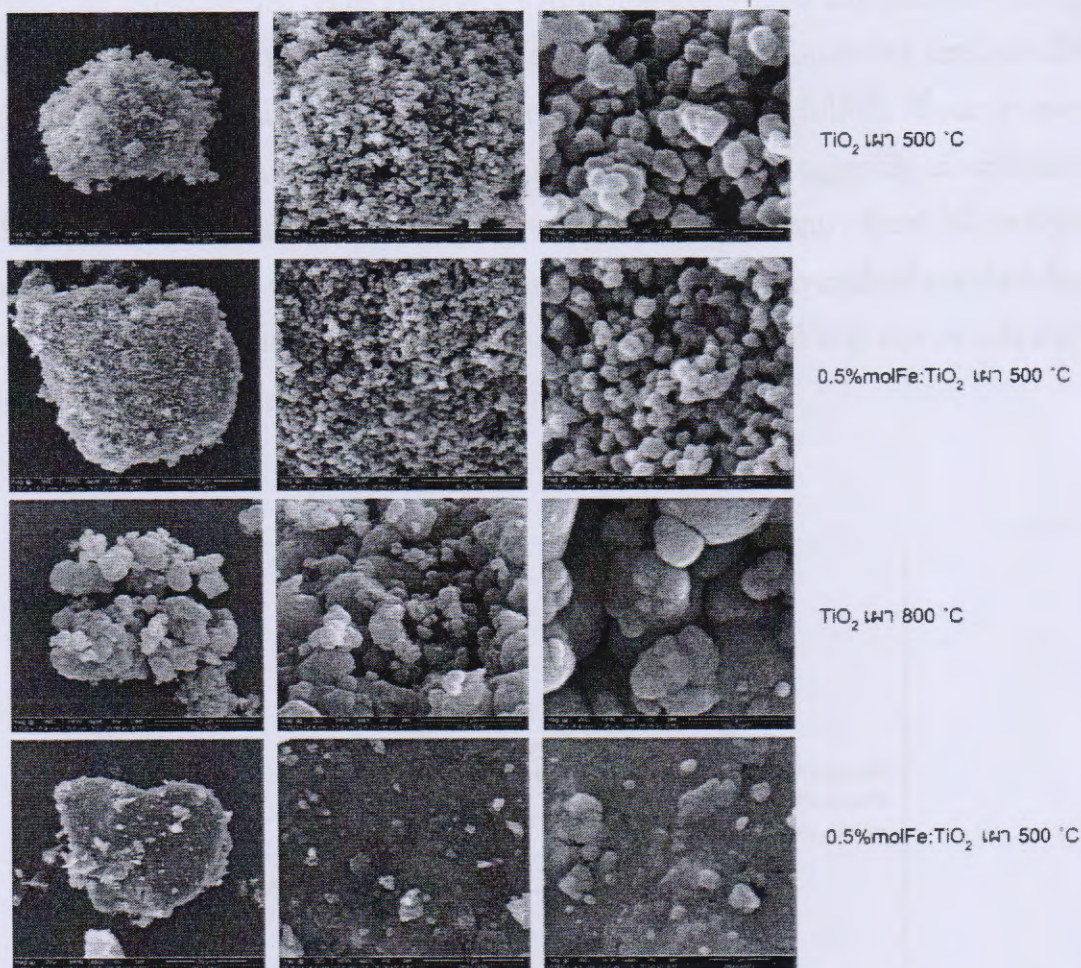


รูปที่ 4.8 SEM-EDX สเปกตรัมของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol เผาที่ 800 °C

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณองค์ประกอบของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5%mol

ชนิดตัวเร่ง	ปริมาณองค์ประกอบของธาตุ (%weight) (SD)			
	C	O	Ti	Fe
TiO ₂ 500 °C	7.57	47.15	45.29	0
TiO ₂ /Fe 0.5 %mol เผาที่ 500 °C	3.94	49.93	45.03	1.10
TiO ₂ /Fe 1.0 %mol เผาที่ 500 °C	7.06	52.85	38.23	1.87
TiO ₂ /Fe 1.5 %mol เผาที่ 500 °C	3.29	40.30	53.37	3.05
TiO ₂ 800 °C	21.82	46.21	31.96	0
TiO ₂ /Fe 0.5 %mol เผาที่ 800 °C	2.07	38.07	57.49	2.37
TiO ₂ /Fe 1.0 %mol เผาที่ 800 °C	2.31	41.30	52.88	3.51
TiO ₂ /Fe 1.5 %mol เผาที่ 800 °C	2.53	38.64	52.72	6.11

และจากการศึกษาพื้นผิวด้วยเทคนิค SEM รูปที่ได้บางส่วนแสดงดังรูปที่ 4.7 ซึ่งจะมีลักษณะค่อนข้างกลมและ ผิวหยาบคล้ายกับบางส่วนมีการเกาะกันของอนุภาคบนพื้นผิว และพบว่าเมื่ออุณหภูมิในการเผาเพิ่มขึ้นขนาดจะใหญ่ขึ้น และเมื่อเผาที่อุณหภูมิเดียวกันเมื่อเติมเหล็กลงไปขนาดจะลดลง.สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ganesh และคณะ (2012)



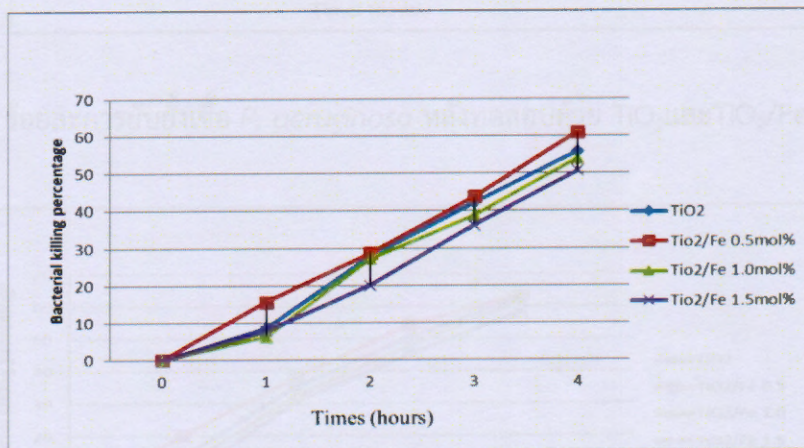
ภาพที่ 4.9 SEM ของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 %mol เเผาที่ 500 และ 800 °C

4.5 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

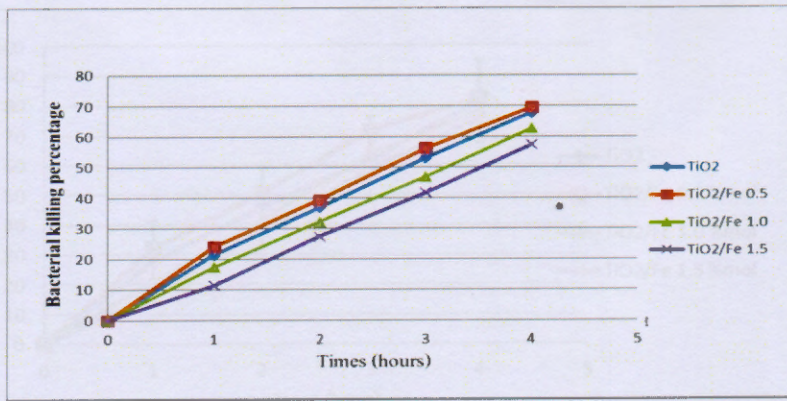
การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียหลังจากทดสอบด้วยไทเทเนียมไดออกไซด์ และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ขนาด 18 วัตต์ เป็นเวลา 1 2 3 และ 4 ชั่วโมง จากนั้นคำนวณหาร้อยละของการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *E. coli* *S. aureus* *B. subtilis* และ *P. aeruginosa* ผลการทดสอบแสดงดังภาพที่ 4.10, 4.12, 4.14 และ 4.16 ตามลำดับ

และภาพถ่ายของเชื้อแบคทีเรียที่รอดชีวิตหลังจากทดสอบด้วยไทเทเนียมไดออกไซด์ และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 %mol แสดงดังภาพที่ 4.10-4.17

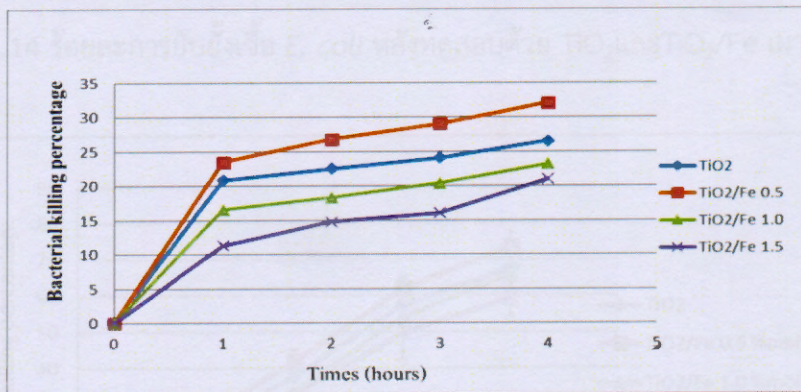
โดยจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าไทเทเนียมไดออกไซด์ และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์โมล สามารถฆ่า *E. coli* *S. aureus* *B. subtilis* และ *P. aeruginosa* ได้ จะเห็นว่าเมื่อเวลาในการรับแสงฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้น จะส่งผลให้ร้อยละของการฆ่าเชื้อเพิ่มสูงขึ้นด้วย โดยอัตราการเพิ่มขึ้นของร้อยละของการฆ่าเชื้อจะสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 1 ชั่วโมงแรกของการทดสอบ และเมื่อเวลาผ่านไปจะเห็นว่าอัตราการฆ่าเชื้อค่อยๆเพิ่มขึ้นจนครบระยะเวลา 4 ชั่วโมง ซึ่งการที่ไทเทเนียมไดออกไซด์ และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์โมล สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้นั้น เนื่องจากผลของปฏิกิริยาโฟโตแคตะไลติกของไทเทเนียมไดออกไซด์จะเข้าไปทำลายผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย เมื่อผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียถูกทำลาย เซลล์ก็จะแตกทำให้สารพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรียไหลออกมา ก็จะทำให้แบคทีเรียตายในที่สุด (วีระชัย และคณะ, 2557) นอกจากนี้เห็นได้ว่าเมื่ออุณหภูมิในการเผาของไทเทเนียมไดออกไซด์เพิ่มจาก 500 เป็น 800 องศาเซลเซียส ส่งผลให้แถบช่องว่างพลังงานลดลงและเมื่อเผาที่ 800 องศาเซลเซียส ทำให้ไทเทเนียมไดออกไซด์เปลี่ยนจากเฟสอนาเทสไปเป็นรูไทน์สมบูรณ์



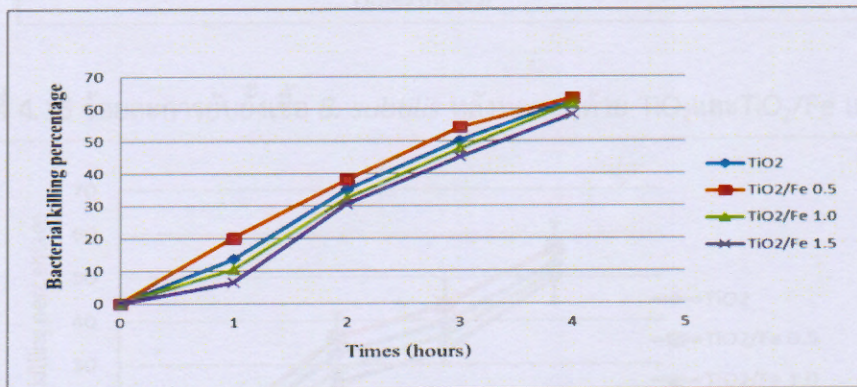
ภาพที่ 4.10 ร้อยละการยับยั้งเชื้อ *E. coli* หลังทดสอบด้วย TiO₂ และ TiO₂/Fe เผาที่ 500 °C



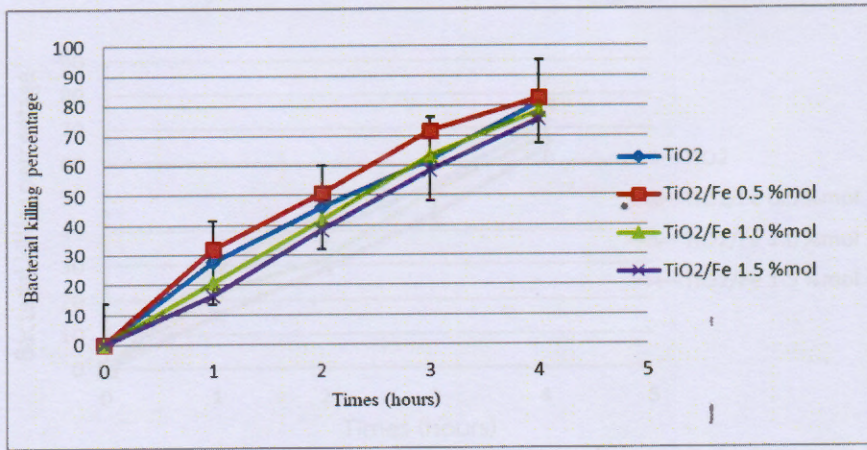
ภาพที่ 4.11 ร้อยละการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* หลังทดสอบด้วย TiO₂ และ TiO₂/Fe เเผาที่ 500 °C



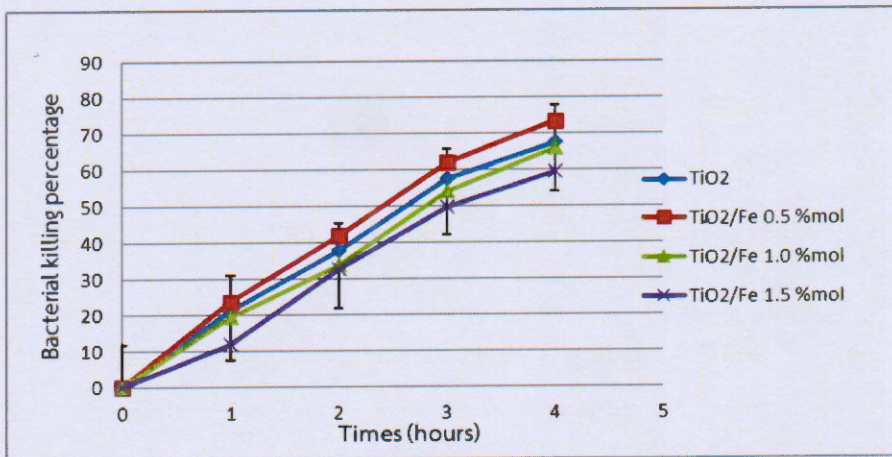
ภาพที่ 4.12 ร้อยละการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* หลังทดสอบด้วย TiO₂ และ TiO₂/Fe เเผาที่ 500 °C



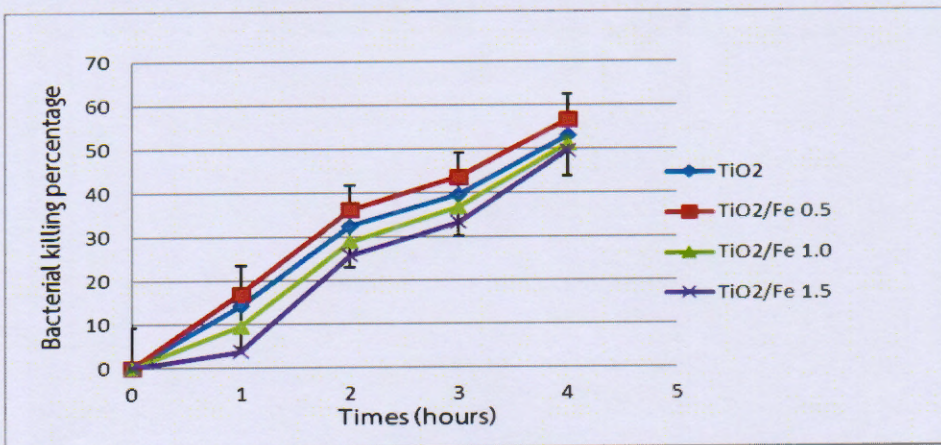
ภาพที่ 4.13 ร้อยละการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* หลังทดสอบด้วย TiO₂ และ TiO₂/Fe เเผาที่ 500 °C



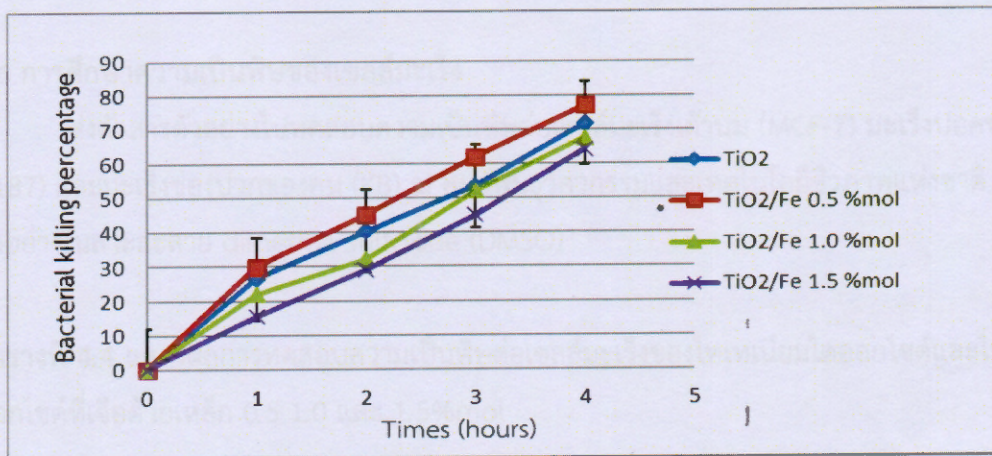
ภาพที่ 4.14 ร้อยละการยับยั้งเชื้อ *E. coli* หลังทดสอบด้วย TiO₂ และ TiO₂/Fe เเผาที่ 800 °C



ภาพที่ 4.15 ร้อยละการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* หลังทดสอบด้วย TiO₂ และ TiO₂/Fe เเผาที่ 800 °C



ภาพที่ 4.16 ร้อยละการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* หลังทดสอบด้วย TiO₂ และ TiO₂/Fe เเผาที่ 800 °C



ภาพที่ 4.17 ร้อยละการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* หลังทดสอบด้วย TiO₂ และ TiO₂/Fe เเผาที่ 800 °C

TiO ₂ 500 °C	negative	negative	negative
TiO ₂ /Fe 0.5 %mol เเผาที่ 500 °C	negative	negative	negative
TiO ₂ /Fe 1.0 %mol เเผาที่ 500 °C	negative	negative	negative
TiO ₂ /Fe 1.5 %mol เเผาที่ 500 °C	negative	negative	negative
TiO ₂ 800 °C	negative	negative	negative
TiO ₂ /Fe 0.5 %mol เเผาที่ 800 °C	negative	negative	negative
TiO ₂ /Fe 1.0 %mol เเผาที่ 800 °C	negative	negative	negative
TiO ₂ /Fe 1.5 %mol เเผาที่ 800 °C	negative	negative	negative

4.6 การศึกษาความเป็นพิษของเซลล์มะเร็ง

ส่งตัวสารตัวอย่างไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) มะเร็งปอดของคน (NCL-H187) และมะเร็งช่องปากของคน (KB) ณ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ โดยละลายตัวอย่างในสภาวะละลาย dimethyl sulfoxide (DMSO)

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก 0.5 1.0 และ 1.5%mol

ชนิดตัวเร่ง	MCF-7	NCL-H187	KB
TiO ₂ 500 °C	negative	negative	negative
TiO ₂ /Fe 0.5 %mol เผาที่ 500 °C	negative	negative	negative
TiO ₂ /Fe 1.0 %mol เผาที่ 500 °C	negative	negative	negative
TiO ₂ /Fe 1.5 %mol เผาที่ 500 °C	negative	negative	negative
TiO ₂ 800 °C	negative	negative	negative
TiO ₂ /Fe 0.5 %mol เผาที่ 800 °C	negative	negative	negative
TiO ₂ /Fe 1.0 %mol เผาที่ 800 °C	negative	negative	negative
TiO ₂ /Fe 1.5 %mol เผาที่ 800 °C	negative	negative	negative

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

2. สำหรับไทเทเนียมไดออกไซด์และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็ก เเผาที่อุณหภูมิ 500 °C จะพบเพียงเฟสอนาเลสเฟสเดียว แต่เมื่อเผาที่ 800 °C จะพบเฟสรูไทน์และมีซูโดบรูไคต์เกิดขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากเกิดการแทนที่ Ti^{4+} ด้วย Fe^{3+} ในโครงผลึก และจากเทคนิค การวัดการดูดกลืนแสงเมื่อมีการเติมเหล็กลงไปแถบการดูดกลืนเลื่อนไปทางความยาวคลื่นเพิ่มขึ้น และจากการศึกษาพื้นผิวพบว่าเมื่ออุณหภูมิในการเผาเพิ่มขึ้นขนาดจะใหญ่ขึ้น และเมื่อเผาที่อุณหภูมิเดียวกันเมื่อเติมเหล็กลงไปขนาดจะลดลง จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์พบว่าไทเทเนียมไดออกไซด์ และไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วยเหล็กสามารถฆ่า *E. coli* *S. aureus* *B. subtilis* และ *P. aeruginosa* ได้ และนอกจากนี้สารตัวอย่างทั้ง 4 ชนิดแสดงผลเป็นลบกับเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) มะเร็งปอดของคน (NCL-H187) และมะเร็งช่องปากของคน (KB)

5. Al, and Hosseini, A., 2009. Synthesis of TiO_2 -Ag nanocomposites with sol-gel method and investigation of its antibacterial activity against *E. coli*. *Polym. Technology*, 19(3), pp.241-245.

6. Dedkova, K., Pekertova, P., Mate, K., Lang, J. and Kukutschova, J. 2012. Study of the antibacterial activity of composites lachnite/ TiO_2 . *European Social Fund and the state budget of the Czech Republic*, 10, pp.23-25.

7. Ezeron, T.A., Kosa, S.A. and Christensen, P.A., 2006. Photoelectrocatalytic disinfection of *E. coli* suspensions by iron doped TiO_2 . *Physical Chemistry Chemical Physics*, 8(3), pp. 399-405.

8. Ganesh, I., Kumar, P. P., Gupta, A. K., Sekhar, P. S., Radha, K., Padmanabham, G., and Sundararajan, G. (2012). Preparation and characterization of Fe-doped TiO_2 powders for solar light response and photocatalytic applications. *Process Appl. Ceram.*, 6(1), pp.21-36.

9. Kumar, N., Hazarika, S.N., Limbu, S., Boruah, R., Deb, P., Narissa, N.D. and Das, S.K., 2015. Hydrothermal synthesis of anatase titanium dioxide mesoporous microspheres and their antimicrobial activity. *Microporous and Mesoporous Materials*, 213, pp.181-187.

10. Kamalakkannan, J., Chandraboss, V.L. and Senthilvelan, S., 2016. Synthesis and characterization of $InWO_3$ - TiO_2 nanocomposite material and multi application. *World Scientific News*, 58, pp.97-121.

เอกสารอ้างอิง

1. นัตตา เวชชากุล. 2555. การกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำด้วยตัวเร่งปฏิกิริยานาโนไทเทเนียมไดออกไซด์. เชียงใหม่ : ภาควิชาฟิสิกส์และวัสดุศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 38. 53-55.
2. วีระชัย แสงฉาย, อรสา นนมใส และ พิเชษฐ์ จันทวี. 2557. สมบัติโฟโตแคตะไลติกและการฆ่าเชื้อ *E. coli* ของฟิล์มไทเทเนียมไดออกไซด์ที่ได้ด้วยเหล็ก. วารสารวิชาการวิศวกรรมศาสตร์. (7) 46-56.
3. มาหามะสุโฮมิ มะแซ, อรรถกร ประดับจันทร์ และอานนท์ พิสุทธิพงษ์โชโต. 2557. ประสิทธิภาพของสารสังเคราะห์ไทเทเนียมไดออกไซด์ที่โด๊ปทั้งสแตนออกไซด์ในการยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli* และยืดอายุการเก็บรักษาผักและผลไม้. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. (22) 327-336.
4. Ahamed, M., Khan, M.M., Akhtar, M.J., Alhadlaq, H.A. and Alshamsan, A., 2016. Role of Zn doping in oxidative stress mediated cytotoxicity of TiO₂ nanoparticles in human breast cancer MCF-7 cells. *Scientific Reports*, 6. pp1-11.
5. Amin, S.A., Pazouki, M. and Hosseinnia, A., 2009. Synthesis of TiO₂-Ag nanocomposite with sol-gel method and investigation of its antibacterial activity against *E. coli*. *Powder Technology*, 196(3), pp.241-245.
6. Dedkova, K., Peikertova, P., Mate, K., Lang, J. and Kukutschova, J. 2012. Study of the antibacteriay activity of composites kaolinite/TiO₂. European Social Fund and the state budget of the Czech Republic, 10, pp23-25.
7. Egerton, T.A., Kosa, S.A. and Christensen, P.A., 2006. Photoelectrocatalytic disinfection of *E. coli* suspensions by iron doped TiO₂. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 8(3), pp398-406.
8. Ganesh, I., Kumar, P. P., Gupta, A. K., Sekhar, P. S., Radha, K., Padmanabham, G., and Sundararajan, G. (2012). Preparation and characterization of Fe-doped TiO₂ powders for solar light response and photocatalytic applications. *Process. Appl. Cerom*, 6(1), pp21-36.
9. Kumar, N., Hazarika, S.N., Limbu, S., Boruah, R., Deb, P., Namsa, N.D. and Das, S.K., 2015. Hydrothermal synthesis of anatase titanium dioxide mesoporous microspheres and their antimicrobial activity. *Microporous and Mesoporous Materials*, 213, pp.181-187.
10. Kamalakkannan, J., Chandraboss, V.L. and Senthilvelan, S., 2016. Synthesis and characterization of InWO₃-TiO₂ nanocomposite material and multi application. *World Scientific News*, 58, pp.97-121.

11. Kumazawa, R., Watari, F., Takashi, N., Tanimura, Y., Uo, M. and Totsuka, Y., 2002. Effects of Ti ions and particles on neutrophil function and morphology. *Biomaterials*, 23(17), pp.3757-3764.
12. Kanagesan, S., Hashim, M., Tamilselvan, S., Alitheen, N.B., Ismail, I., Hajalilou, A. and Ahsanul, K., 2013. Synthesis, characterization, and cytotoxicity of iron oxide nanoparticles. *Advances in Materials Science and Engineering*. pp1-7.
13. Karunakaran, G., Suriyaprabha, R., Manivasakan, P., Yuvakkumar, R., Rajendran, V. and Kannan, N., 2013. Screening of in vitro cytotoxicity, antioxidant potential and bioactivity of nano-and micro-ZrO₂ and-TiO₂ particles. *Ecotoxicology and environmental safety*, 93, pp.191-197.
14. Kokila, P., Senthilkumar, V. and Nazeer, K.P., 2011. Preparation and photo catalytic activity of Fe³⁺-doped TiO₂ nanoparticles. *Archives of Physics Research*, 2(1), pp246-253.
15. Matsunaga, T., Tomoda, R., Nakajima, T. and Wake, H., 1985. Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders. *FEMS Microbiology letters*, 29(1-2), pp211-214.
16. Moschini, E., Gualtieri, M., Gallinotti, D., Pezzolato, E., Fascio, U., Camatini, M. and Mantecca, P., 2010. Metal oxide nanoparticles induce cytotoxic effects on human lung epithelial cells A549. *Chemical Engineering Transaction*, 22, pp.29-34.
17. Rajini, A., Nookaraju, M., Reddy, I. A. K., & Venkatathri, N. (2017). Synthesis, characterization, antimicrobial and cytotoxicity studies of a novel titanium dodecylamino phosphate. *Journal of Saudi Chemical Society*, 21, pp577-585.
18. Sangchay, W., 2017. WO₃-doped TiO₂ coating on charcoal activated with increase photocatalytic and antibacterial properties synthesized by microwave-assisted sol-gel method. *Journal of Nanotechnology*, pp1-4.
19. Sikong, L., Kongreong, B., Kantachote, D. and Sutthisripok, W., 2010. Photocatalytic activity and antibacterial behavior of Fe³⁺-doped TiO₂/SnO₂ nanoparticles. *Energy Research Journal*, 1(2), pp.120-125.
20. Sheng, Q., Yuan, S., Zhang, J. and Chen, F. 2006. Synthesis of mesoporous titania with high photocatalytic activity by nanocrystalline particle assembly. *Microporous and Mesoporous Materials*, 87, pp177-184.

21. Sood, S., Umar, A., Mehta, S. K., & Kansal, S. K., 2015. Highly effective Fe-doped TiO₂ nanoparticles photocatalysts for visible-light driven photocatalytic degradation of toxic organic compounds. *Journal of colloid and interface science*, 450, pp213-223.
22. Stoyanova, A.M., Hitkova, H.Y., Ivanova, N.K., Bachvarova-Nedelcheva, A.D., Iordanova, R.S. and Sredkova, M.P., 2013. Photocatalytic and antibacterial activity of Fe-doped TiO₂ nanoparticles prepared by nonhydrolytic sol-gel method. *Bulgarian Chemical Communications*, 45(4), pp497-504.
23. Vu, A.T., Nguyen, Q.T., Bui, T.H.L., Tran, M.C., Daňg, T.P. and Tran, T.K.H., 2010. Synthesis and characterization of TiO₂ photocatalyst doped by transition metal ions (Fe³⁺, Cr³⁺ and V⁵⁺). *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 1, pp1-4.
24. Wang, J. A., Limas-Ballesteros, R., Lopez, T., Moreno, A., Gomez, R., Novaro, O., & Bokhimi, X., 2001. Quantitative determination of titanium lattice defects and solid-state reaction mechanism in iron-doped TiO₂ photocatalysts. *The Journal of Physical Chemistry B*, 105(40), pp9692-9698.
25. Yuzheng, W., Xiangxin, X. and He, Y., 2014. Synthesis and antimicrobial activity of boron-doped titania nano-materials. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 22(4), pp474-479.
26. Zhang, X.Q., Yin, L.H., Meng, T.A.N.G. and Pu, Y.P., 2011. ZnO, TiO₂, SiO₂, and Al₂O₃ nanoparticles-induced toxic effects on human fetal lung fibroblasts. *Biomedical and Environmental Sciences*, 24(6), pp.661-669.
27. Zhu, J., Zheng, W., He, B., Zhang, J., and Anpo, M., 2004. Characterization of Fe-TiO₂ photocatalysts synthesized by hydrothermal method and their photocatalytic reactivity for photodegradation of XRG dye diluted in water. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 216(1), pp35-43.

Synthesis and Antimicrobial Activity of Fe:TiO₂ Particles

Uraiwan Werapun^a, Jaraslak Pechwang^b

Faculty of Science and Industrial Technology, Prince of Songkla University, Surat Thani Campus,
 Surat Thani Province, 84000, Thailand

^auraiwan.c@psu.ac.th, ^bjaraslak.p@psu.ac.th

Keywords: titanium dioxide, antibacterial activity, anatase phase, rutile phase, pseudobrookite, calcination temperature

Abstract. TiO₂ and iron-doped TiO₂ were synthesized by sol-gel method. TiO₂ and 0.5 %mol Fe:TiO₂ were calcined at 500 and 800 °C for 3 h. The synthesized particles were characterized by X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), UV-VIS diffuse reflectance spectrophotometry (UV/DRS), scanning electron microscopy (SEM) and scanning electron microscope-energy dispersive X-Ray analysis (SEM-EDX). The XRD patterns of all samples that were calcined at 500 °C showed only anatase phase. On increasing temperature from 500 to 800 °C, the anatase phase transformed to rutile phase. For 0.5 %mol Fe:TiO₂, pseudobrookite (Fe₂TiO₅) phase was observed at 800 °C. The particles that contained rutile showed higher antibacterial activities against *E. coli*, *B. subtilis*, and *S. aureus* than anatase phase, under fluorescent irradiation.

Introduction

It is well-known that bacteria, fungi and viruses are single-cell organisms found everywhere in the world. Some bacteria are pathogenic, such as *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*), and *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*). For prevention or treatment of related diseases, it is important to find novel antibacterial materials from natural or inorganic substances. Titanium dioxide particles are an alternative inorganic material with antibacterial activity, high stability, low cost, and no toxicity to humans [1, 2]. When TiO₂ is illuminated with light, electrons (e⁻) are promoted from valence band to conduction band and holes (h⁺) are generated in the valence band. The electrons and holes have strong reducing and oxidizing activities, and can create hydroxyl radicals (•OH) and superoxide anions (O₂⁻). These reactive species can induce cell death [3, 4]. TiO₂ has three main phases, anatase, rutile and brookite [5]. Brookite is less common than anatase and rutile. The mixed structure of anatase and rutile phases shows the higher performance than pure phase. Besides, brookite phase can cause bacterial cell death in less time than other phases [4]. There are several methods to synthesize TiO₂: sol-gel [6], liquid sprayed into flame [7], precipitation [8], and hydrothermal method [9]. The sol-gel method is widely used to prepare TiO₂ and metal doped TiO₂ particles [10, 11]. Doping with the metal elements Pt, Cu, Co, and Fe has been effective in improving the photocatalytic potency of TiO₂ [12-15]. Moreover, iron has antimicrobial applications [15-17] and can denature bacterial cell walls [18]. However, the bacteria can recover from only partial damage to the cell wall [19]. In prior work, Boonyod *et al.*, 2011, studied the activity against *E. coli* of pure TiO₂ powder under fluorescent light and compared this with UV light. The antibacterial activity under UV irradiation was faster than with fluorescent irradiation [20]. In addition, Yadav *et al.* reported that reducing band gap energy affects antibacterial activity [4].

The purpose of this study was to prepare iron-doped TiO₂ by the sol-gel method. The iron-doped TiO₂ particles were characterized by using XRD, FT-IR, UV/DRS, SEM and SEM-EDX techniques. The antibacterial activities of pure TiO₂ and iron-doped TiO₂ particles were investigated against *S. aureus*, *E. coli*, and *B. subtilis* in the presence of fluorescent light. Fluorescent light sources are less harmful than UV light sources. The use of a less harmful light source is preferable in an antibacterial test.

Experimental

Chemicals

All chemicals used were analytical grade. Tetraisopropyl orthotitanate (TIPT>98%, Merck) and iron(III) nitrate nanohydrate ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, 98%, LOBA Chemie) were used as the starting materials. Methanol (CH_3OH >99%, Merck) and ethanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ >95%, Merck) were used as solvents. Dimethyl Sulfoxide (99%, Sigma), nutrient agar (Himedia), and tryptic soy broth (Merck) were used in testing antibacterial activity.

Synthesis of titanium dioxide (TiO_2)

TiO_2 particles were prepared by the sol-gel method. 10.0 mL of Tetraisopropyl orthotitanate was mixed with 19.3 mL of ethanol and 1.3 mL of methanol. Then 1.5 mL of distilled water was added dropwise into the solution under vigorous stirring at 55 °C for 3 h. The white precipitate was filtered and washed with distilled water, methanol and ethanol, respectively. The TiO_2 powder was dried at room temperature and then calcined at 500 °C or 800 °C for 3 h to obtain white TiO_2 powder.

Synthesis of 0.5 %mol iron doped titanium dioxide (0.5 %mol Fe: TiO_2)

The iron(III) nitrate nanohydrate was dissolved in 8 mL of distilled water. The quantity of $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ into TiO_2 was calculated to be 0.5 %mol. This solution was mixed into the 3.0 mL of tetraisopropyl orthotitanate and 50.0 mL of methanol. The solution was stirred at room temperature for 4 h. The resulting precipitate was washed with hot water and ethanol, respectively. The gel obtained was dried at 105 °C for 2 h and the dried products were ground. The 0.5 %mol Fe: TiO_2 powder was calcined at 500 °C and 800 °C for 3 h. A light brown powder was obtained.

Characterization

The crystal structure of all samples was determined using an X-ray diffractometer (XRD, X'Pert MPD, PHILIPS, Netherlands) in the range $2\theta = 10\text{--}90^\circ$ with monochromatized $\text{CuK}\alpha$ radiation ($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$). The surface chemical bonds were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR, Vertex70, Bruker, Germany) over the range 4000–400 cm^{-1} . Band gap energy was studied by UV-VIS diffuse reflectance spectrophotometry (UV-DRS). Scans were performed over 200–800 nm. Elemental compositions of all samples were analyzed by energy dispersive X-ray spectroscopy with SEM (SEM-EDX, X-Max, Oxford, England). Morphology of the powders was investigated by scanning electron microscopy (SEM, Quanta 400, FEI, Czech Republic).

Antibacterial activity

The tests were carried out against *S. aureus*, *E. coli*, and *B. subtilis* bacteria grown on Trypticase soy broth (TSB) at 37 °C for 18 h. The bacterial solutions were diluted to 105 CFU/mL. 100 μL of a bacterial solution was placed into each well of a 96-well micro plate, and mixed with 100 μL of titanium dioxide solution (0.025 g of TiO_2 or 0.5 mol%Fe: TiO_2 dissolved in 0.5 μL 99% DMSO and 2000 μL distilled water). The mixture was exposed to fluorescent irradiation (18 W) in a rectangular box (12 x 22 x 25 inch) for 4 h. The average fluorescence intensity was estimated as 64 W/m^2 with wavelength interval from 425 to 475 nm. Then, 100 μL of the mixture suspension was sampled and spread on trypticase soy agar plate and incubated at 37°C for 24 h. After incubation, the number of viable colonies of bacteria was observed.

Results and Discussion

X-Ray diffraction analysis

The crystal phases of TiO_2 and 0.5% mol Fe: TiO_2 (calcined at 500 or 800 °C) were investigated by X-ray diffraction. Figure 1 shows the XRD patterns of TiO_2 and 0.5% mol Fe: TiO_2 . The XRD pattern of TiO_2 (500 °C) exhibited reflection peaks at $2\theta = 25.3^\circ$, 37.9° , 48.0° , 53.9° , 55.1° , 62.8° , and 75.2° corresponding to anatase phase (JCPD 01-075-2546). The characteristic peaks of 0.5% mol Fe: TiO_2 (500 °C) appeared at $2\theta = 25.4^\circ$, 37.9° , 48.1° , 54.0° , 55.1° , 62.7° and 75.2° and matched well the anatase phase (JCPD 01-073-1764). No peaks from rutile phase were observed. On increasing the calcination temperature to 800 °C, the characteristic peaks of rutile phase showed

Figure 1. The XRD patterns of TiO_2 and 0.5%mol Fe: TiO_2 calcined at 500 °C and 800 °C.

up in the XRD patterns of TiO_2 at $2\theta = 27.5^\circ, 36.1^\circ, 39.2^\circ, 41.3^\circ, 44.1^\circ, 54.3^\circ,$ and 56.6° (JCPD 01-076-0649) and for the 0.5% mol Fe: TiO_2 at $2\theta = 27.5^\circ, 36.1^\circ, 39.2^\circ, 41.3^\circ, 44.0^\circ, 54.3^\circ,$ and 56.6° (JCPD 01-078-1508). The anatase to rutile phase transformation took place when calcined at 800°C . In the XRD patterns of the 500°C calcined cases, broad peaks were observed, ascribed to small crystal size in the samples. Meanwhile, narrow and sharp peaks were obtained for the cases treated at 800°C , indicating comparatively larger particle size. The crystal phase of 0.5%mol Fe: TiO_2 (800°C) presented a mixture with rutile as the major phase, and pseudobrookite of Fe_2TiO_5 . The diffraction peaks of pseudobrookite Fe_2TiO_5 appeared at $18.3^\circ, 25.6^\circ,$ and 32.5° (JCPD 01-070-2728), and can be explained by the substitution of iron into the TiO_2 structure. In fact, the Ti^{4+} has 0.68 \AA radius that is similar to Fe^{3+} (0.64 \AA). In other studies, Fe_2TiO_5 could be formed at high calcination temperatures [21, 22]. In addition, iron ions can be incorporated into the TiO_2 crystal structure. This is in agreement with other prior studies [23-25], where no iron was found in the XRD patterns. Besides, no peak of Fe was observed because Fe concentration was so low [26, 27]. The crystallite size could be estimated from:

$$d = \frac{0.9\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (1)$$

where d is the crystallite size, β is the full width at half maximum (FWHM) of the reflection (anatase (101) and rutile (110)), λ is the X-ray wavelength corresponding to $\text{CuK}\alpha$ radiation, and θ is Bragg's diffraction angle [28]. The crystallite size of TiO_2 particles increased from 16 to 55 nm as the calcination temperature was increased from 500 to 800°C . In addition, the crystallite size of 0.5%mol Fe: TiO_2 at 500°C was 13 nm and increased to 41 nm at 800°C . The crystallite size was found to decrease with iron doping. It is inferred that the iron ions inhibited the growth of TiO_2 crystallites, which matches the results of other authors [29, 30]. In addition, the unit cell parameters of anatase and rutile (tetragonal, $a = b \neq c, \alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$) were determined from following equation (2) [26]:

$$\frac{1}{d^2} = \frac{h^2 + k^2}{a^2} + \frac{l^2}{c^2} \quad (2)$$

where d is d-spacing and h, k and l are Miller indices of peak. Crystallite size, unit cell parameters and unit cell volume are listed in Table 1. The standard JCPDS patterns of anatase (01-075-2546, 01-073-1764) and rutile (01-075-0649, 01-078-1508) match well the XRD results.

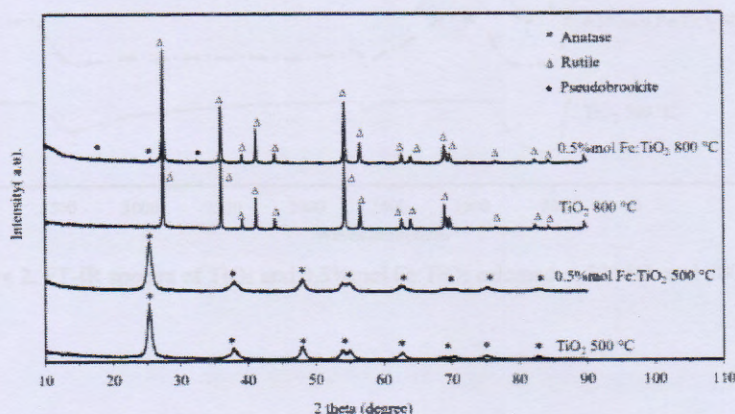


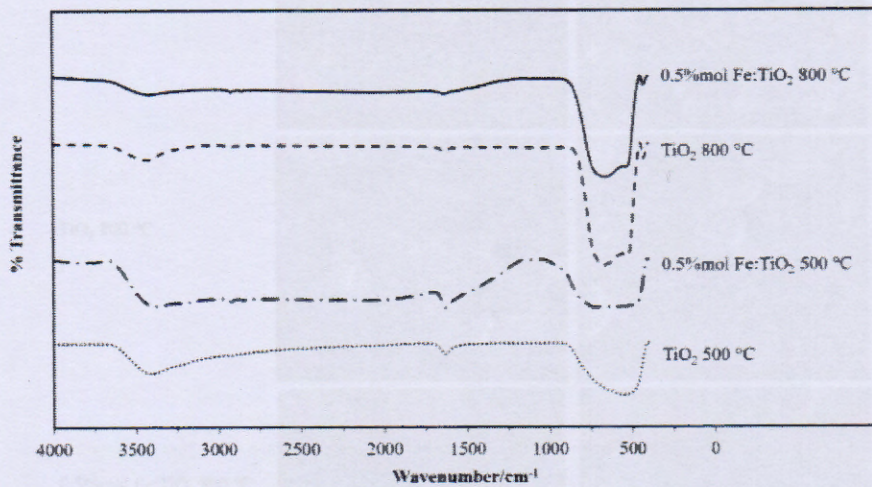
Figure 1. The XRD patterns of TiO_2 and 0.5%mol Fe: TiO_2 calcined at 500°C and 800°C .

Table 1. Crystallite size, unit cell parameters, and cell volume of TiO₂ and 0.5 mol% Fe:TiO₂.

Sample	Crystal Structure	Crystallite size [nm]		Lattice parameters [Å]		Cell Volume [Å ³]	
		Anatase	Rutile	Calculated	JCPDS	Calculated	JCPDS
TiO ₂ 500 °C	Tetragonal	16.21	-	a = 3.7929 b = 3.7929 c = 9.4310	a = 3.7850 b = 3.7850 c = 9.4820	135.68	135.84
0.5 mol% Fe:TiO ₂ 500 °C	Tetragonal	13.73	-	a = 3.7792 b = 3.7792 c = 9.3563	a = 3.7760 b = 3.7760 c = 9.4860	133.63	135.25
TiO ₂ 800 °C	Tetragonal	-	55.10	a = 4.5936 b = 4.5936 c = 2.9582	a = 4.5930 b = 4.5930 c = 2.9590	62.42	62.42
0.5 mol% Fe:TiO ₂ 800 °C	Tetragonal	-	41.33	a = 4.5912 b = 4.5912 c = 2.9594	a = 4.5925 b = 4.5925 c = 2.9578	62.38	62.38

Fourier transform infrared (FTIR) analysis

Fourier transform infrared (FTIR) spectra of TiO₂ and Fe:TiO₂ over the range 4000–400 cm⁻¹ are shown in Figure 2. The broad bands at ~3380–3420 cm⁻¹ were assigned to stretching vibrations of O-H bonds. Moreover, the absorption band at ~1620–1630 cm⁻¹ corresponds to O-H bending. These two characteristics indicate adsorbed water (H₂O) and hydroxyl groups on the catalyst surfaces (Ti-OH) [31, 32]. In addition, small crystallites gave broad peaks. The peaks at 700–400 cm⁻¹ belong to stretching vibrations of Ti-O [33] and Fe-O [34]. These two bands might overlap. Therefore, FT-IR results indicated that functional groups were present on TiO₂ and 0.5%mol Fe:TiO₂ particles.

Figure 2. FT-IR spectra of TiO₂ and 0.5%mol Fe:TiO₂ calcined at 500 °C and 800 °C.

Scanning electron microscopy and scanning electron microscope-energy dispersive X-Ray analysis

Figure 3 shows the SEM images of TiO_2 and $\text{Fe}:\text{TiO}_2$ calcined at 500 or 800 °C. Spherical shapes were observed when annealed at 500 °C. The 0.5%mol $\text{Fe}:\text{TiO}_2$ (800 °C) had rough surfaces with some spherical agglomerated particles attached. The particle size increased, when annealing was at 800 °C [35]. This is consistent with the XRD results. In addition, the particle size decreased with Fe doping. It can be inferred that iron ions inhibited the growth of TiO_2 crystallites. This is consistent with Ganesh and co-workers reporting that the crystallite size decreases with iron concentration [22]. The elemental composition was analysed with scanning electron microscope energy dispersive X-ray technique (SEM EDX). The SEM-EDX analyses for TiO_2 and 0.5% mol $\text{Fe}:\text{TiO}_2$ are shown in Figure 4. The results confirm the presence of iron in the doped samples. The calculated Fe:Ti ratio from EDX spectrum of 0.5% mol $\text{Fe}:\text{TiO}_2$ 800 °C is 0.05:2 ($\text{Fe}_{0.05}:\text{Ti}_2$). This indicates that pseudobrookite (Fe_2TiO_5) occurs as a minor phase in 0.5% mol $\text{Fe}:\text{TiO}_2$ 800 °C which consistent with XRD result.

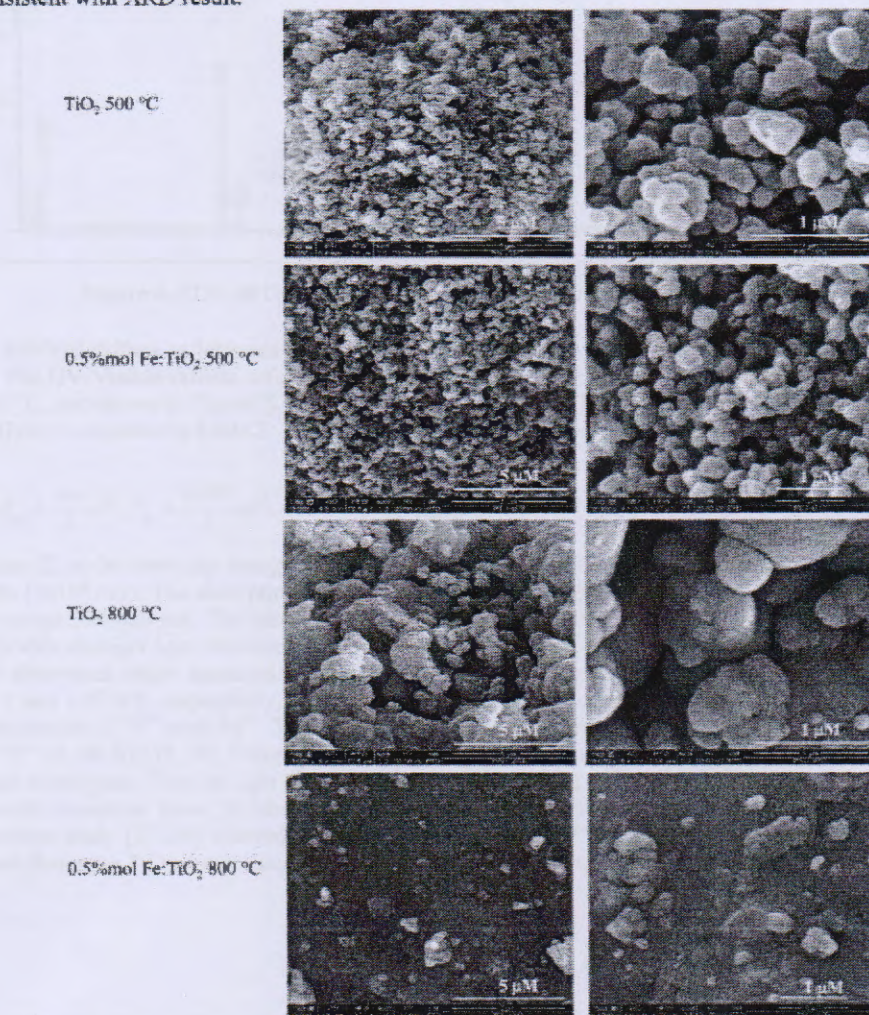


Figure 3. SEM micrographs of TiO_2 and 0.5%mol $\text{Fe}:\text{TiO}_2$ calcined at 500 °C and 800 °C.

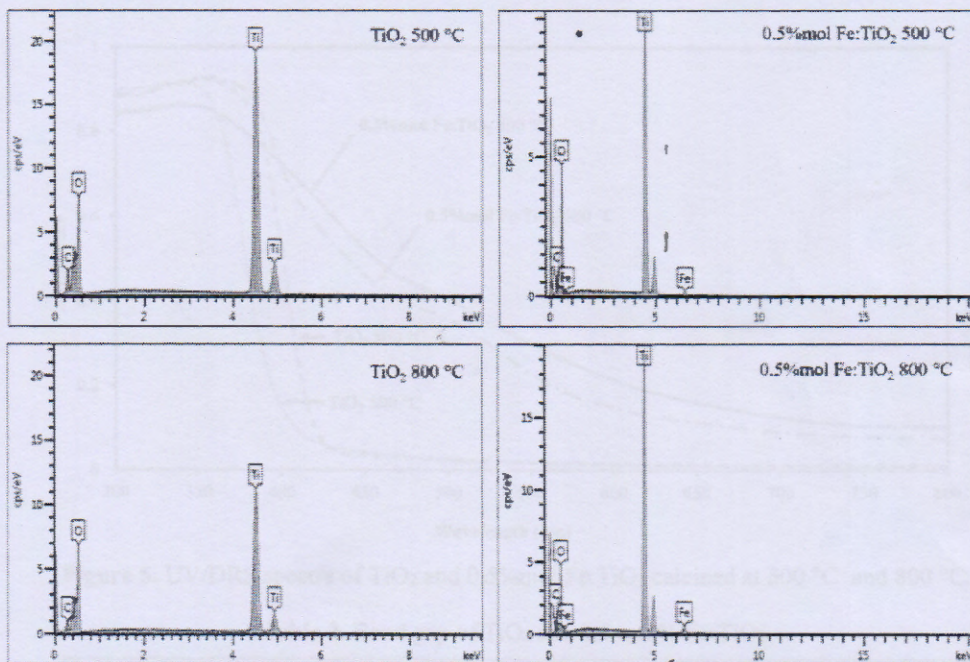


Figure 4. EDX of TiO_2 and 0.5%mol $\text{Fe}:\text{TiO}_2$ calcined at 500 °C and 800 °C.

UV-VIS diffuse reflectance spectra analysis

The UV-Visible diffuse reflectance spectra of TiO_2 and 0.5% mol $\text{Fe}:\text{TiO}_2$, calcined at 500 or 800 °C, are shown in Figure 5. The absorption edge energy (E_g) was calculated from equation (3) [34] and is reported in Table 2.

$$E_g = \frac{hc}{\lambda} eV; E_g = \frac{1240}{\lambda} eV. \quad (3)$$

where E_g is the band gap energy (eV), h is Plank's constant (6.626×10^{-34} J.s), and c is the speed of light (3×10^8 m/s). The absorption edges of pure TiO_2 (500 °C) and TiO_2 (800 °C) were observed in the range 390–420 nm. The band gap decreased from TiO_2 500 °C (3.12 eV) to TiO_2 800 °C (2.96 eV) with stronger heat treatment [22]. In the case of 0.5 %mol $\text{Fe}:\text{TiO}_2$ calcined at 500 or 800 °C, the absorption edges appeared in the range 590–660 nm, corresponding to the band gap energies 2.11 and 1.87 eV, respectively. The absorption edge of Fe^{3+} doped TiO_2 has a red shift due to the substitution of Ti^{4+} with Fe^{3+} . This process can occur because the radius of Fe^{3+} (0.64 Å) is similar to Ti^{4+} (0.68 Å) [37, 38]. The red shift of iron doped TiO_2 was accompanied by a change in colour from white (pure TiO_2) to light brown (0.5 %mol $\text{Fe}:\text{TiO}_2$). In addition, iron ions can enable charge transfer transition from 3d orbitals (Fe) to conduction or valence band. This is consistent with a previous study [27, 39]. According to the UV-Vis results, Fe^{3+} doped TiO_2 can absorb visible light more than pure TiO_2 , suggesting higher photocatalytic antibacterial activity.

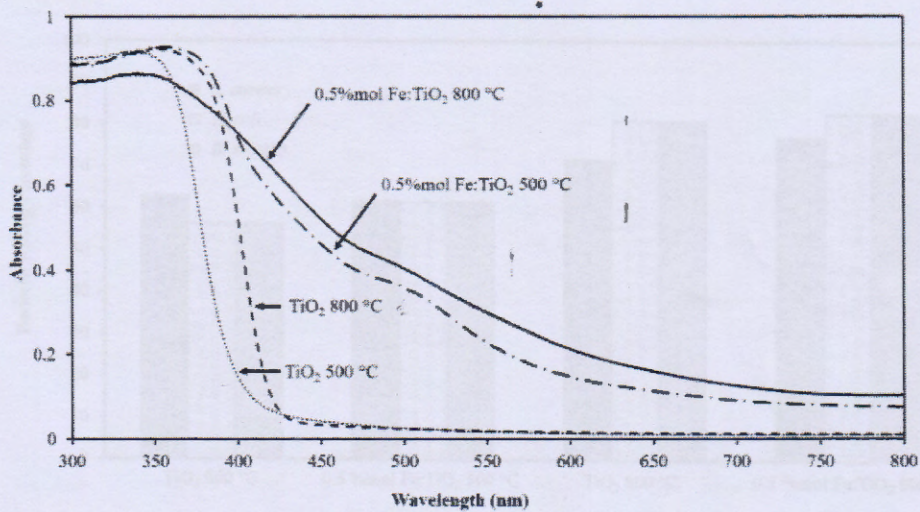


Figure 5. UV/DRS spectra of TiO_2 and 0.5%mol $\text{Fe}:\text{TiO}_2$ calcined at 500 °C and 800 °C.

Table 2. Band gap of TiO_2 and 0.5 mol% $\text{Fe}:\text{TiO}_2$.

Sample	Cut-off wavelength [nm]	E_g [eV]
TiO_2 500 °C	397	3.12
0.5 mol% $\text{Fe}:\text{TiO}_2$ 500 °C	587	2.11
TiO_2 800 °C	418	2.96
0.5 mol% $\text{Fe}:\text{TiO}_2$ 800 °C	662	1.87

Antimicrobial Activity

Antimicrobial activity was investigated against both Gram-positive (*S. aureus*, *B. subtilis*) and Gram-negative (*E. coli*) bacteria by spread plate technique. The bacterial kill percentages of TiO_2 or 0.5 mol% $\text{Fe}:\text{TiO}_2$ (calcined at 500 or 800 °C) were calculated with equation (4) [19].

$$r = \left(\frac{N_0 - N}{N_0} \right) \times 100. \quad (4)$$

where r is bacterial kill percentage, N_0 is the initial bacterial concentration and N is the viable bacterial concentration after irradiation. Figure 6 presents the bacterial kill percentages under fluorescent irradiation for 4 h. Antimicrobial activities of TiO_2 and 0.5 mol% $\text{Fe}:\text{TiO}_2$ particles prepared at different calcination temperatures (500 or 800 °C) were not the same. The results indicate that the antibacterial activity of all samples increased when calcination temperature changed from 500 to 800 °C. As the temperature increases, the E_g decreases to a lower energy [40]. In addition, the presence of rutile phase in TiO_2 structure enhanced the antibacterial activities against *E. coli* and *B. subtilis* by up to 80%. Besides, the iron doped TiO_2 (0.5 mol% $\text{Fe}:\text{TiO}_2$) showed slightly higher activity than pure TiO_2 because of the substitution of Fe^{2+} for Ti^{4+} [19]. Moreover, the Fe^{2+} creates shallow trapping sites at the donor and acceptor levels, which increases the antibacterial activity as shown in Figure 7. In general, e^-h^+ pairs are generated when TiO_2 is irradiated with light. Water molecules react with h^+ producing $\cdot\text{OH}$ radicals and oxygen molecules react with e^- producing O_2^- [41]. Therefore, the cell walls and cell membranes of bacteria were damaged, when in contact with TiO_2 . Images of *S. aureus*, *B. subtilis* and *E. coli* after treatment for 4 h with TiO_2 or with 0.5 mol% $\text{Fe}:\text{TiO}_2$ are shown in Figure 8.

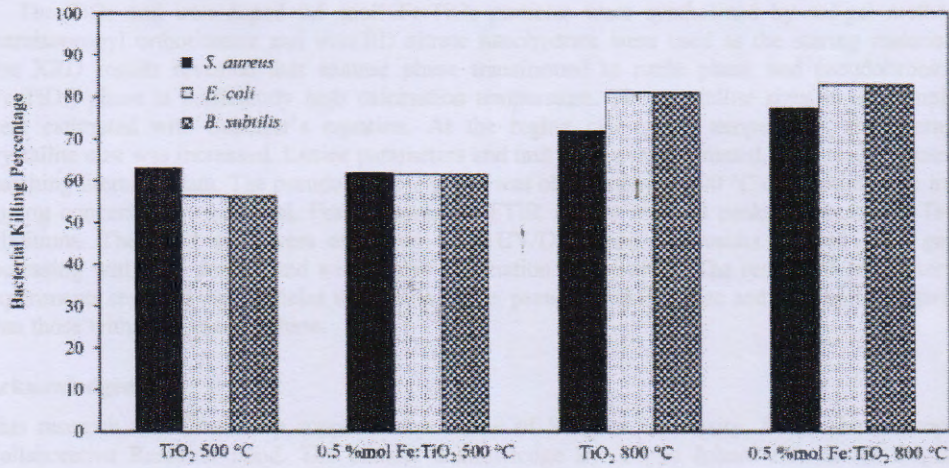


Figure 6. Antimicrobial activity of TiO₂ and 0.5%mol Fe:TiO₂ calcined at 500 °C and 800 °C under fluorescent light irradiation for 4 h.

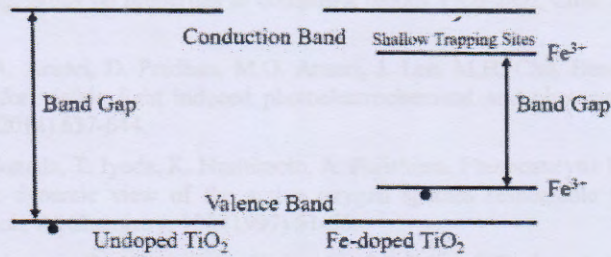


Figure 7. Energy level of pure TiO₂ and Fe-doped TiO₂ [29].

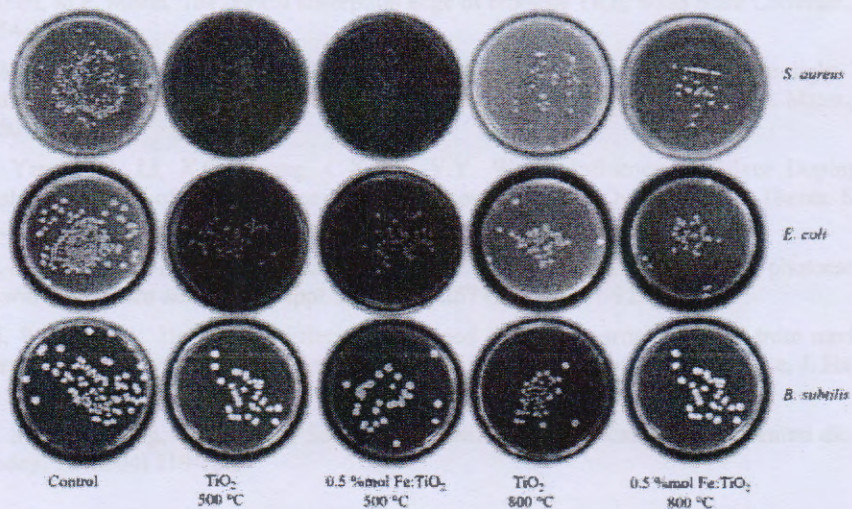


Figure 8. Test results of TiO₂ and Fe-dope TiO₂ against *S. aureus*, *E. coli* and *B. subtilis* under fluorescent light irradiation for 4 h.

Conclusion

The TiO₂ and iron doped 0.5 mol%Fe:TiO₂ particles were synthesized by sol-gel method. Tetraisopropyl orthotitanate and iron(III) nitrate nanohydrate were used as the starting materials. The XRD results revealed that anatase phase transformed to rutile phase and pseudobrookite (Fe₂TiO₅) phase at sufficiently high calcination temperature. The crystallite sizes in all samples were estimated with Scherrer's equation. At the higher calcination temperature, the average crystallite size was increased. Lattice parameters and unit cells were estimated, with results closely matching literature data. The pseudobrookite phase was observed after 800 °C calcination with iron doping concentration 0.5%mol. Furthermore, the FTIR spectra showed peaks attributed to Ti-O vibrations. The band gaps were estimated from UV/DRS, and the results showed band gaps increasing with iron doping and with higher calcination temperature. The results of antibacterial experiments revealed that particles with rutile phase, pseudobrookite phase and had higher activity than those with only anatase phase.

Acknowledgements

This research was financially supported by Prince of Songkla University, Surat Thani campus Collaborative Research Fund. The authors acknowledge Dr. Seppo Juhani Karrila for English editing.

References

- [1] Y. Zhou, G. Jiang, Study on properties of composite oxides TiO₂/SiO₂, *Chin. J. Chem. Eng.* 10 (2002) 349-353.
- [2] M.M. Khan, S.A. Ansari, D. Pradhan, M.O. Ansari, J. Lee, M.H. Cho, Band gap engineered TiO₂ nanoparticles for visible light induced photoelectrochemical and photocatalytic studies, *J. Mater. Chem. A*, 2 (2014) 637-644.
- [3] Y. Kikuchi, K. Sunada, T. Iyoda, K. Hashimoto, A. Fujishima, Photocatalytic bactericidal effect of TiO₂ thin films: dynamic view of the active oxygen species responsible for the effect, *J. Photochem. Photobiol., A: Chemistry*, 106 (1997) 51-56.
- [4] V. Binas, D. Venieri, D. Kotzias, G. Kiriakidis, Modified TiO₂ based photocatalysts for improved air and health quality, *J. Materiomics*, 3 (2017) 3-16.
- [5] R. Zallen, M.P. Moret, The optical absorption edge of brookite TiO₂, *Solid State Commun.*, 137 (2006) 154-157.
- [6] D. Wang, L. Xiao, Q. Luo, X. Li, J. An, Y. Duan, Highly efficient visible light TiO₂ photocatalyst prepared by sol-gel method at temperatures lower than 300° C, *J. Hazard. Mater.*, 192 (2011) 150-159.
- [7] G.J. Yang, C.J. Li, X.C. Huang, C.X. Li, Y.Y. Wang, Influence of Silver Doping on Photocatalytic Activity of Liquid-Flame-Sprayed-Nanostructured TiO₂ Coating, *J. Therm. Spray Technol.*, 16 (2007) 881-885.
- [8] L. Li, H. Zhuang, D. Bu, Characterization and activity of visible-light-driven TiO₂ photocatalyst codoped with lanthanum and iodine, *Appl. Surf. Sci.*, 257 (2011) 9221-9225.
- [9] Z. Li, W. Shen, W. He, X. Zu, Effect of Fe-doped TiO₂ nanoparticle derived from modified hydrothermal process on the photocatalytic degradation performance on methylene blue, *J. Hazard. Mater.*, 155 (2008) 590-594.
- [10] C. Su, B.Y. Hong, C.M. Tseng, Sol-gel preparation and photocatalysis of titanium dioxide, *Catal. Today*, 96 (2004) 119-126.

- [11] S. Gelover, P. Mondragón, A. Jiménez, Titanium dioxide sol-gel deposited over glass and its application as a photocatalyst for water decontamination, *J. Photochem. Photobiol., A: Chemistry*, 165 (2004) 241-246.
- [12] F. Chekin, S. Bagheri, S.B.A. Hamid, Synthesis of Pt doped TiO₂ nanoparticles: characterization and application for electrocatalytic oxidation of L-methionine, *Sens. Actuators, B: Chemical*, 177 (2013) 898-903.
- [13] M. Zaharescu, C. Pirlog, M. Crisan, M. Gartner, A. Vasilescu, TiO₂-based vitreous coatings obtained by sol-gel method, *J. Non-Cryst. Solids*, 160 (1993) 162-166.
- [14] M. Oves, M. Arshad, M.S. Khan, A.S. Ahmed, A. Azam, I.M. Ismail, Anti-microbial activity of cobalt doped zinc oxide nanoparticles: Targeting water borne bacteria, *J. Saudi. Chem. Soc.*, 19 (2015) 581-588.
- [15] C.C. Trapalis, P. Keivanidis, G. Kordas, M. Zaharescu, M. Crisan, A. Szatvanyi, M. Gartner, TiO₂ (Fe³⁺) nanostructured thin films with antibacterial properties, *Thin Solid Films*, 433 (2003) 186-190.
- [16] A.M. Stoyanova, H.Y. Hitkova, N.K. Ivanova, A.D. Bachvarova-Nedelcheva, R.S. Iordanova, M.P. Sredkova, Photocatalytic and antibacterial activity of Fe-doped TiO₂ nanoparticles prepared by nonhydrolytic sol-gel method, *Bulg. Chem. Commun.*, 45 (2013) 497-504.
- [17] P. Kokila, V. Senthilkumar, K.P. Nazeer, Preparation and photo catalytic activity of Fe³⁺-doped TiO₂ nanoparticles, *Arch. Phys. Res.*, 2 (2011) 246-253.
- [18] J.L. Endrino, R.G.S.V. Prasad, D. Basavaraju, K.N. Rao, A. Mosquera, C.S. Naveen, A.R. Phani, Antimicrobial properties of nanostructured TiO₂ plus Fe additive thin films synthesized by a cost-effective sol-gel process, *Nanosci. Nanotech. Let.*, 3 (2011) 629-636.
- [19] W. Zhang, Y. Chen, S. Yu, S. Chen, Y. Yin, Preparation and antibacterial behavior of Fe³⁺-doped nanostructured TiO₂ thin films, *Thin Solid Films*, 516 (2008) 4690-4694.
- [20] S. Boonyod, W. Sutthisripok, L. Sikong, Antibacterial activity of TiO₂ and Fe³⁺ doped TiO₂ nanoparticles synthesized at low temperature, *Adv. Mat. Res.*, 214 (2011) 197-201.
- [21] J.A. Wang, R. Limas-Ballesteros, T. Lopez, A. Moreno, R. Gomez, O. Novaro, X. Bokhimi, Quantitative determination of titanium lattice defects and solid-state reaction mechanism in iron-doped TiO₂ photocatalysts, *J. Phys. Chem. B*, 105 (2001) 9692-9698.
- [22] I. Ganesh, P.P. Kumar, A.K. Gupta, P.S. Sekhar, K. Radha, G. Padmanabham, G. Sundararajan, Preparation and characterization of Fe-doped TiO₂ powders for solar light response and photocatalytic applications, *Process. Appl. Ceram.* 6 (2012) 21-36.
- [23] Z. Li, W. Shen, W. He, X. Zu, Effect of Fe-doped TiO₂ nanoparticle derived from modified hydrothermal process on the photocatalytic degradation performance on methylene blue, *J. Hazard. Mater.*, 155 (2008) 590-594.
- [24] J. Wang, W. Sun, Z. Zhang, Z. Jiang, X. Wang, R. Xu, R. Li, X. Zhang, Preparation of Fe-doped mixed crystal TiO₂ catalyst and investigation of its sonocatalytic activity during degradation of azo fuchsine under ultrasonic irradiation, *J. Colloid Interface Sci.*, 320 (2008) 202-209.
- [25] Z. Mesgari, M. Gharagozlou, A. Khosravi, K. Gharanjig, Spectrophotometric studies of visible light induced photocatalytic degradation of methyl orange using phthalocyanine-modified Fe-doped TiO₂ nanocrystals, *Spectrochim. Acta, Part A*, 92 (2012) 148-153.
- [26] K. Naeem, F. Ouyang, Preparation of Fe³⁺-doped TiO₂ nanoparticles and its photocatalytic activity under UV light, *Physica B: Condensed Matter*, 405 (2010) 221-226.

- [27] S. Sood, A. Umar, S.K. Mehta, S.K. Kansal, Highly effective Fe-doped TiO₂ nanoparticles photocatalysts for visible-light driven photocatalytic degradation of toxic organic compounds, *J. Colloid Interface Sci.*, 450 (2015) 213-223.
- [28] H. Lipson, H. Steeple, *Interpretation of X-ray powder diffraction patterns*, Macmillan, New York, 1970.
- [29] C.Y.W. Lin, D. Channei, P. Koshy, A. Nakaruk, C.C. Sorrell, Effect of Fe doping on TiO₂ films prepared by spin coating, *Ceram. Int.*, 38 (2012) 3943-3946.
- [30] M. Effendi, Effect of doping Fe on TiO₂ thin films prepared by spin coating method, *J. Basic. Appl. Sci.*, 12 (2012), 107-110.
- [31] T. Watanabe, A. Nakajima, R. Wang, M. Minabe, S. Koizumi, A. Fujishima, K. Hashimoto, Photocatalytic activity and photoinduced hydrophilicity of titanium dioxide coated glass, *Thin solid films*, 351 (1999) 260-263.
- [32] S. Zhan, J. Yang, Y. Liu, N. Wang, J. Dai, H. Yu, X. Gao, Y. Li, Mesoporous Fe₂O₃-doped TiO₂ nanostructured fibers with higher photocatalytic activity, *J. Colloid Interface Sci.*, 355 (2011) 328-333.
- [33] A.M. Peiro, J. Peral, C. Domingo, X. Domenech, J.A. Ayllón, Low-temperature deposition of TiO₂ thin films with photocatalytic activity from colloidal anatase aqueous solutions, *Chem. Mater.*, 13 (2001) 2567-2573.
- [34] Y. Luo, Z. Lu, Y. Jiang, D. Wang, L. Yang, P. Huo, Z. Da, X. Bai, X. Xie, P. Yang, Selective photodegradation of 1-methylimidazole-2-thiol by the magnetic and dual conductive imprinted photocatalysts based on TiO₂/Fe₃O₄/MWCNTs, *Chem. Eng. J.* 240 (2014) 244-252.
- [35] N. Nasralla, M. Yeganeh, Y. Astuti, S. Piticharoenphun, N. Shahtahmasebi, A. Kompany, M. Karimipour, B.G. Mendis, N.R.J. Poolton, L. Šiller, Structural and spectroscopic study of Fe-doped TiO₂ nanoparticles prepared by sol-gel method, *Sci. Iran.*, 20 (2013) 1018-1022.
- [36] W. Zhao, Z. Bai, A. Ren, B. Guo, C. Wu, Sunlight photocatalytic activity of CdS modified TiO₂ loaded on activated carbon fibers, *Appl. Surf. Sci.*, 256 (2010) 3493-3498.
- [37] D.I. Anwar, D. Mulyadi, Synthesis of Fe-TiO₂ Composite as a Photocatalyst for Degradation of Methylene Blue, *Procedia Chem.*, 17 (2015) 49-54.
- [38] W.C. Hung, Y.C. Chen, H. Chu, T.K. Tseng, Synthesis and characterization of TiO₂ and Fe/TiO₂ nanoparticles and their performance for photocatalytic degradation of 1,2-dichloroethane, *Appl. Surf. Sci.*, 255 (2008) 2205-2213.
- [39] J. Zhu, W. Zheng, B. He, J. Zhang, M. Anpo, Characterization of Fe-TiO₂ photocatalysts synthesized by hydrothermal method and their photocatalytic reactivity for photodegradation of XRG dye diluted in water, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 216 (2004) 35-43.
- [40] U. Arellano, M. Asomoza, F. Ramirez, Antimicrobial activity of Fe-TiO₂ thin film photocatalysts, *J. Photochem. Photobiol., A: Chemistry*, 222 (2011) 159-165.
- [41] L. Caballero, K.A. Whitehead, N.S. Allen, J. Verran, Inactivation of *Escherichia coli* on immobilized TiO₂ using fluorescent light, *J. Photochem. Photobiol., A: Chemistry*, 202 (2009) 92-98.