



Photocatalytic Degradation of *E. Coli* Bacteria by Graphitic Carbon Nitride Photocatalysts under Visible Light Irradiation

Zahra Ahmadi Panah¹, Reyhane Dehghan², Mehran Bijari³, Afsaneh Shahbazi^{4*}

1. MSc., Dept. of Environmental Technologies, Environmental Science Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
2. Ph.D., Dept. of Biodiversity and Ecosystem Management, Environmental Science Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
3. Ph.D., Dept. of Environmental Technologies, Environmental Science Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
4. Assoc. Prof., Dept. of Environmental Technologies, Environmental Science Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
(Corresponding Author) a_shahbazi@sbu.ac.ir



<https://doi.org/10.22093/wwj.2024.474438.3431>

Original Paper

Abstract

Photocatalytic technology offers novel solutions for wastewater treatment using visible light. Graphitic carbon nitride, as a polymeric semiconductor, has attracted significant attention in this field. However, overcoming the limitations of this material remains a major challenge for researchers. In this study, a graphitic carbon nitride photocatalyst was synthesized using a thermal polymerization method with melamine as a precursor in a new gaseous atmosphere of CO₂. For comparison, similar samples were synthesized in common atmospheres such as N₂ and air. The structure, morphology, and properties of the samples were characterized using various analyses. Additionally, considering the importance of *E. Coli* bacteria, their antibacterial activity against this bacterium was evaluated under both light and dark conditions. The sample synthesized in the CO₂ atmosphere had a surface area approximately 3 and 2 times higher than those synthesized in air and nitrogen atmospheres, respectively. Also, the luminescence intensity of this sample was significantly lower, indicating an improvement in photocatalytic performance. The results of microbiological tests showed that the CN-CO₂ sample completely inactivated *E. Coli* bacteria with an initial concentration of 107 CFU/mL when exposed to an effective dose of 0.2 g/L within 180 minutes under visible light irradiation. In contrast, the CN-air and CN-N₂ samples inhibited 62.7% and 29.5% of the bacteria, respectively. The results also indicated that CN-CO₂ had a high ability to inhibit bacterial growth in the dark. The results of the disk diffusion assay and bacterial viability tests in solid media also confirmed these findings. Given the significant advantages of this nanomaterial (CN-CO₂), including high photocatalytic activity, strong antibacterial properties, and a simple and one-step synthesis method, it can be used as an efficient photocatalyst for water and wastewater treatment industries.

Keywords:
Graphitic Carbon Nitride, Advanced Oxidation Processes, Photocatalyst, Wastewater Treatment, *E. Coli*.



Received: June 9, 2024
Revised: Aug. 29, 2024
Accepted: Sep. 10, 2024

To cite this article:

Ahmadi Panah, Z., Dehghan, R., Bijari, M. and Shahbazi, A., 2024. Photocatalytic degradation of *E. Coli* bacteria by graphitic carbon nitride photocatalysts under visible light irradiation. *Water and Wastewater*, 35(3), 69-88.
<https://doi.org/10.22093/wwj.2023.474438.3431>.

Use your device to scan and read the article online



© The Author(s).

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)



1. Introduction

Photocatalytic technology, by intelligently harnessing the visible spectrum of light, has revolutionized the process of microbial water and wastewater treatment. This innovative technology is recognized as a promising solution to address environmental challenges. Although traditional methods such as chemical oxidation have been effective in water treatment, their numerous drawbacks have imposed significant limitations on their widespread use. Given the inefficiency of traditional methods in completely removing contaminants and pathogens, the need to develop novel approaches to improve wastewater treatment has become increasingly urgent.

In recent years, advanced oxidation processes, especially those utilizing photocatalysts, have emerged as a viable option to replace traditional water disinfection methods due to their numerous advantages. By generating reactive oxygen species, these processes enable the efficient degradation and removal of contaminants present in wastewater. Graphitic carbon nitride ($g\text{-C}_3\text{N}_4$), due to its unique properties, has emerged as a promising polymeric semiconductor in the field of photocatalysis. However, its inherent limitations reduce its efficiency. Modification methods such as doping and morphology alteration can overcome these limitations, however, the complexity and high cost of these methods limit their widespread application. The aim of this research is to investigate the effect of using different atmospheres on the synthesis and antibacterial properties of graphitic carbon nitride against *E. Coli* bacteria.

2. Methodology

To assess the antibacterial properties of graphitic carbon nitride photocatalysts, samples were synthesized under different atmospheric conditions using melamine. The synthesized materials were characterized using techniques such as XRD, FTIR, FESEM, BET, PL, and DRS to understand their structural and morphological properties.

E. Coli, a significant opportunistic pathogen, was used as a model bacterium to evaluate the antibacterial efficacy of the photocatalysts under both light and dark conditions. Various tests, including MIC¹, MBC², bacterial viability assays, and disk diffusion, were conducted to determine the antimicrobial performance of the synthesized materials.

3. Results

¹ Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

² Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

3.1. Structure and morphology of photocatalysts

The analysis results indicated the successful synthesis of graphitic carbon nitride with effective structural modifications. The sample synthesized in a carbon dioxide atmosphere (CN-CO₂) exhibited a significantly larger surface area, approximately 3 and 2 times greater than the samples synthesized in air (CN-air) and nitrogen (CN-N₂) atmospheres, suggesting an increased number of active sites on its surface (Table 1). Additionally, the luminescence intensity of CN-CO₂ was significantly lower, indicating a reduced rate of electron-hole pair recombination and an increased lifetime of charge carriers.

Table 1. BET analysis results for the synthesized samples

Average pore diameter (nm)	Total pore volume (cm ³ /g)	Specific surface area (m ² /g)	Photocatalyst
8.37	6.28	27.368	CN-CO ₂
16.50	0.843	12.22	CN-N ₂
8.81	2.03	9.23	CN-air

3.2. Antibacterial and disinfectant properties of synthesized photocatalysts

3.2.1. Results of determining the MIC and MBC

In antibacterial tests against *E. Coli* bacteria, CN-CO₂ demonstrated the highest antibacterial activity under visible light irradiation, completely inactivating the bacteria within 180 minutes. To completely inhibit *E. Coli* bacteria with an initial concentration of 10⁷ CFU/mL, a concentration of 0.2 g/L of the material was required, while a concentration of 0.1 g/L was sufficient to prevent the growth of these bacteria. In contrast, CN-air and CN-N₂ samples inhibited only 62.7% and 29.5% of the bacteria, respectively. These results clearly indicate the superior antibacterial performance of CN-CO₂ compared to the other samples under the tested conditions. The enhanced antibacterial activity of CN-CO₂ can be attributed to its unique structural and morphological properties, which facilitate efficient light absorption and generate reactive oxygen species³. The presence of CO₂ during the synthesis process likely played a crucial role in optimizing the material's properties for antibacterial applications. Results in dark conditions demonstrated CN-CO₂'s potent ability to inhibit bacterial growth, even without the presence of light. This suggests that CN-CO₂ possesses inherent antimicrobial properties,

³ Reactive Oxygen Species (ROS)



possibly due to its unique surface chemistry or the release of antibacterial agents.

3.2.2. Survival of *E.Coli* bacteria against synthesized photocatalysts

To investigate the bacterial survival rate, agar plates were exposed to light. The bactericidal effect was directly reflected in the total number of colonies on the agar plates. After 180 minutes of visible light irradiation, almost no bacterial colonies were found on plates containing CN-CO₂ at a concentration of 0.2 g/L, as well as on plates corresponding to the gentamicin control. Based on the results obtained, it was determined that the use of a carbon dioxide atmosphere in the synthesis of graphitic carbon nitride can be an effective method to enhance the photocatalytic antibacterial capacity of nanomaterials. On the other hand, a significant difference was observed between the bacterial colonies of the CN-CO₂ group and the plates containing CN-air and CN-N₂, indicating a poor antibacterial performance of these nanomaterials. Considering the porous structure of the CN-CO₂ nanomaterial, a higher proportion of bacteria are trapped in this structure compared to other nanomaterials, which results in better antibacterial performance compared to other nanomaterials (Fig. 1).

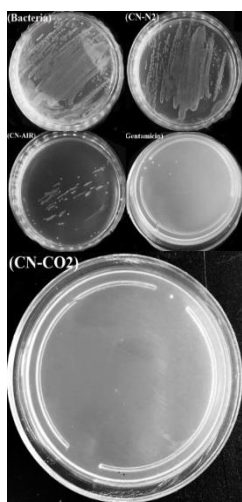


Fig. 1. Investigation of *E.Coli* survival against synthesized photocatalysts and gentamicin antibiotic

3.2.3. Results of the antibacterial activity of nanoparticles using the disk diffusion method

The zone of inhibition produced by the photocatalytic nanomaterials on Muller Hinton agar plates was measured after 24 hours to evaluate their antimicrobial properties. As shown in Fig. 2, the zone of inhibition produced by the CN-CO₂ nanomaterial had a radius of 13 mm, while that of CN-air was 8 mm. No zone of inhibition was observed around the blank disk for

the CN-N₂ sample, indicating limited antibacterial properties of this nanomaterial. The gentamicin control exhibited a zone of inhibition with a radius of 11 mm. The disk diffusion assay clearly demonstrated that the CN-CO₂ nanomaterial, despite its simple synthesis method and lack of complex metals or compounds in its structure, exhibited the highest antibacterial activity among the synthesized samples. This outstanding performance can be attributed to the unique chemical composition and structure of this nanomaterial, which enables more effective interaction with the bacterial cell wall and, consequently, cell destruction.

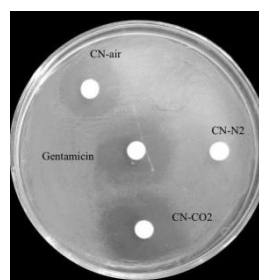


Fig. 2. Zone of inhibition produced by synthesized nanomaterials and the antibiotic gentamicin against *E.Coli* bacteria

4. Conclusion

This study investigated the photocatalytic performance of g-C₃N₄ synthesized in different atmospheres for effective bacterial removal and wastewater purification. Among the synthesized samples, CN-CO₂ demonstrated superior photocatalytic activity compared to CN-N₂ and CN-air. Factorial analysis confirmed that using CO₂ in the synthesis process significantly enhanced the photodegradation of *E.Coli*. After 180 minutes of exposure to CN-CO₂, no bacterial colonies were observed on the treated plates, while other photocatalysts allowed for significant *E.Coli* growth. Microbiological tests revealed that CN-CO₂ completely inactivated *E.Coli* bacteria with an initial concentration of 10⁷ CFU/mL at an effective dose of 0.2 g/L within 180 minutes under visible light irradiation. In contrast, CN-N₂ and CN-air exhibited lower antibacterial activity compared to CN-CO₂. Given the remarkable advantages of this nanomaterial (CN-CO₂), including its high photocatalytic activity, strong antibacterial properties, and simple one-step synthesis method, it can be utilized as an efficient photocatalyst in wastewater treatment industries. This novel nanomaterial holds great potential to replace traditional treatment methods and improve drinking water quality. Additionally, the application of this technology not only contributes to reducing environmental pollution but can also lead to decreased water treatment costs and increased efficiency in this industry.





تخریب فوتوکاتالیستی باکتری *E. Coli* توسط فوتوکاتالیست‌های کربن نیتريد گرافیتی تحت تابش نور مرئی

زهر احمدی پناه^۱، ریحانه دهقان^۲، مهران بیجاری^۳، افسانه شهبازی^{۴*}

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه فناوری‌های محیط‌زیست، پژوهشکده علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
 ۲- دانش‌آموخته دکترای تخصصی، گروه تنوع زیستی و مدیریت اکوسیستم‌ها، پژوهشکده علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
 ۳- دانش‌آموخته دکترای تخصصی، گروه فناوری‌های محیط‌زیست، پژوهشکده علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
 ۴- دانشیار، گروه فناوری‌های محیط‌زیست، پژوهشکده علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
 (نویسنده مسئول) a_shahbazi@sbu.ac.ir



<https://doi.org/10.22093/wwj.2024.474438.3431>

مقاله پژوهشی

چکیده

فناوری فوتوکاتالیستی با استفاده از نور مرئی، راهکاری نوین برای تصفیه فاضلاب ارائه می‌دهد. کربن نیتريد گرافیتی، در سال‌های اخیر به‌عنوان یک نیمه‌هادی پلیمری، در این حوزه مورد توجه قرار گرفته است. با این حال، رفع محدودیت‌های موجود در این ماده، چالش اصلی پیش روی پژوهشگران است. در این پژوهش، فوتوکاتالیست کربن نیتريد گرافیتی با استفاده از روش پلیمریزاسیون حرارتی و با بهره‌گیری از ملامین، به‌عنوان پیش‌ساز، در اتمسفر گازی جدید CO₂ سنتز شد. به‌منظور مقایسه، نمونه‌های مشابه در اتمسفرهای رایج همچون N₂ و هوا سنتز شدند. ساختار، مورفولوژی و خواص نمونه‌ها با استفاده از آنالیزهای مختلف مشخص شد. همچنین، با توجه به اهمیت باکتری *E. Coli*، فعالیت ضدباکتریایی آنها در برابر این باکتری تحت شرایط نوری مختلف (روشنایی و تاریکی) ارزیابی شد. با توجه به نتایج، نمونه سنتز شده در اتمسفر CO₂ به‌ترتیب دارای مساحت سطحی حدود ۳ و ۲ برابر بیشتر از، نمونه‌های سنتز شده در اتمسفر هوا و نیتروژن بود. همچنین، شدت لومینسانس در این نمونه به‌طور قابل توجهی کمتر بود که این امر نشان‌دهنده بهبود عملکرد فوتوکاتالیستی آن است. نتایج آزمایش‌های میکروبی نشان داد ماده CN-CO₂ به‌طور کامل باکتری *E. Coli* با غلظت اولیه ۱۰^۷CFU/mL، را با دوز مؤثر ۰/۲g/L در مدت ۱۸۰ دقیقه تحت تابش نور مرئی غیرفعال کرد. این در حالی است که نمونه‌های CN-air و CN-N₂ به‌ترتیب ۶۲/۷ و ۲۹/۵ درصد از باکتری‌ها را مهار کردند. همچنین نتایج در شرایط تاریکی نشان داد که CN-CO₂ توانایی بالایی در مهار رشد باکتری دارد. نتایج آزمایش انتشار دیسک دیفیوژن و بررسی زنده‌مانی باکتری در محیط جامد نیز این یافته‌ها را تأیید کرد. با توجه به مزایای بارز این نانوماده (CN-CO₂)، از جمله قدرت فوتوکاتالیستی بالا، خاصیت ضدباکتریایی قوی و روش سنتز ساده و یک مرحله‌ای، می‌توان از آن به‌عنوان یک کاتالیست نوری کارآمد در صنعت تصفیه فاضلاب بهره برد.

واژه‌های کلیدی:
 کربن نیتريد گرافیتی،
 اکسیداسیون پیشرفته،
 فوتوکاتالیست، تصفیه
 فاضلاب، *E. Coli*

دریافت: ۱۴۰۳/۳/۳۰
 اصلاح: ۱۴۰۳/۷/۸
 پذیرش: ۱۴۰۳/۷/۲۰

از دستگاه خود برای اسکن و خواندن مقاله به صورت آنلاین استفاده کنید



برای ارجاع به این مقاله به صورت زیر اقدام فرمایید:

احمدی پناه، زهرا، دهقان، ریحانه، بیجاری، مهران، شهبازی، افسانه، ۱۴۰۳، تخریب فوتوکاتالیستی باکتری *E. Coli* توسط

فوتوکاتالیست‌های کربن نیتريد گرافیتی تحت تابش نور مرئی، *آب و فاضلاب*، ۳۵(۳)، ۸۸-۶۹.

<https://doi.org/10.22093/wwj.2023.474438.3431>



© The Author(s).

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)



۱- مقدمه

تأمین آب آشامیدنی سالم، یکی از مهم‌ترین نیازهای بشر بوده و برای حفظ سلامت و بهبود کیفیت زندگی انسان ضروری است (Ni et al., 2022). همچنین آب، یکی از مهم‌ترین و متداول‌ترین راه‌های انتقال عوامل بیماری‌زا مانند باکتری‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها به بدن انسان است (Kadova et al., 2021). از سوی دیگر، استفاده مجدد از آب، یکی از ارکان اصلی تحقق اقتصاد چرخشی در بخش آب و فاضلاب است. با تصفیه آب از منابع مختلفی مانند آب خاکستری، آب باران و فاضلاب (شهری و صنعتی)، می‌توان هم به کاهش فشار بر منابع آب خام کمک کرد و هم خطر ابتلا به بیماری‌های ناشی از آب آلوده را کاهش داد (Ramm and Smol, 2024).

اگرچه روش‌های سنتی تصفیه فاضلاب مانند اکسیداسیون شیمیایی، تابش فرابنفش، فیلتراسیون و اسمز معکوس در حذف بسیاری از آلاینده‌ها مؤثر هستند، اما تولید محصولات جانبی خطرناک، مصرف بالای انرژی، هزینه‌های زیاد و احتمال بازگشت مجدد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، محدودیت‌هایی را برای استفاده گسترده از این روش‌ها ایجاد کرده است. بنابراین، به‌منظور غلبه بر محدودیت‌های روش‌های سنتی تصفیه فاضلاب، توسعه راهکارهای نوآورانه امری ضروری است (Sabariselvan et al., 2024).

فرایندهای اکسیداسیون پیشرفته^۱، به‌ویژه با استفاده از فوتوکاتالیست‌ها، به‌عنوان روشی نوین و کارآمد برای تصفیه و گندزدایی فاضلاب مورد توجه قرار گرفته‌اند. این فرایندها با تولید گونه‌های فعال اکسیژن^۲ مانند رادیکال‌های هیدروکسیل، قادر به حذف مؤثر آلاینده‌های آلی و میکروارگانیسم‌ها هستند. مزایای برجسته این روش‌ها شامل پایداری بالا، سازگاری با محیط‌زیست و عدم تولید محصولات جانبی سمی است، که آنها را به جایگزینی مناسب برای روش‌های سنتی گندزدایی فاضلاب تبدیل کرده است (Du et al., 2024).

فرایند فوتوکاتالیست، که شامل مراحل جذب نور، تولید الکترون و حفره و سپس انجام واکنش‌های شیمیایی روی سطح کاتالیست است، با وجود پتانسیل‌های فراوان، با چالش‌هایی نیز

همراه است. عملکرد یک فوتوکاتالیست به عوامل مختلفی از جمله توانایی جذب نور، کارایی جداسازی الکترون و حفره و فعالیت سطحی آن بستگی دارد (Padervand et al., 2022). با این حال، محدودیت‌هایی مانند بازترکیب سریع الکترون و حفره، پایداری کم در برابر نور و مواد شیمیایی و همچنین انتخاب‌پذیری پایین در واکنش‌ها، از جمله موانع اصلی در کاربرد گسترده این فناوری هستند. به‌عبارت دیگر، اگرچه فوتوکاتالیست‌ها قادرند با استفاده از انرژی نور، واکنش‌های شیمیایی را تسریع کنند، اما عوامل متعددی بر عملکرد آنها تأثیر می‌گذارد و باعث کاهش کارایی کلی فرایند می‌شوند (Padervand et al., 2019). برای غلبه بر این موانع، پژوهش‌های گسترده‌ای در زمینه طراحی و ساخت فوتوکاتالیست‌های جدید با خواص بهبود یافته در حال انجام است (Li et al., 2022).

در میان فوتوکاتالیست‌ها، دی‌اکسید تیتانیوم به‌دلیل کارایی فوتوکاتالیستی مناسب، هزینه کم، پایداری شیمیایی و فیزیکی مورد توجه قرار گرفته است. با این حال، استفاده از دی‌اکسید تیتانیوم به‌دلیل باندگپ پهن (۳/۲eV) که باعث می‌شود، برای فعال‌سازی به نور ماورای بنفش نیاز داشته باشد، با چالش‌های بسیاری همراه است (Balakrishnan and Chinthala, 2022).

استفاده از اشعه ماورای بنفش، چه به‌صورت طبیعی (خورشیدی) و چه مصنوعی، به‌دلیل افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های پوستی و چشمی، تشدید بیماری‌های خودایمن و فعال شدن ویروس‌ها، توصیه نمی‌شود (Gallagher and Lee, 2006). بنابراین، نیاز به توسعه ضدعفونی‌کننده‌های فوتوکاتالیستی مبتنی بر نور مرئی برای دستیابی به گندزدایی کارآمد فاضلاب، حس می‌شود (Zheng et al., 2018). همچنین اغلب فوتوکاتالیست‌های گزارش شده، مبتنی بر فلز یا حداقل دربرگیرنده یک کاتالیست حاوی فلز هستند، که هزینه زیاد و فراوانی اندک از عوامل محدودکننده این گونه از فوتوکاتالیست‌ها است (Zhang et al., 2018).

علاوه بر این، نگرانی‌هایی در مورد آزادسازی یون‌های فلزی سمی از این مواد به محیط‌زیست وجود دارد. به‌همین دلیل، اخیراً فوتوکاتالیست‌های بدون فلز، مانند اکسید گرافن (Tabasum et al., 2023) و گرافن (Wang et al., 2013) و کربن نیتريد گرافیتی (Zhong et al., 2023)، به‌منظور جایگزینی فوتوکاتالیست‌های مبتنی بر فلز با اهداف گوناگون از جمله تصفیه فاضلاب توسعه

¹ Advanced Oxygen Process

² Reactive Oxygen Species



مرسوم (نیتروژن و هوا) سنتز شد و به‌طور کامل از نظر خواص فیزیکی شیمیایی و کارایی فوتوکاتالیستی در حذف باکتری گرم منفی *E. Coli* بررسی شد.

۲- روش پژوهش

۲-۱- مواد: پودر ملامین ($C_3H_6N_6$) به‌عنوان پیش‌ساز سنتز کربن نیتريد گرافیتی از شرکت مرک^۱ خریداری شد. برای انجام آزمایش‌های خاصیت آنتی‌باکتریال، از باکتری گرم منفی *E. Coli* با سویه ATCC 25922 استفاده شد. محیط کشت مولر-هینتون، آگار و ال‌بی‌براث از برند کیولب برای ساخت محیط تغذیه میکروبی به کار برده شد. دیسک بلانک به قطر ۶ میلی‌متر برای انجام آزمایش آنتی‌بیوگرام از شرکت پادتن طب تهیه شد.

۲-۲- تجهیزات مورد استفاده: نمونه‌های کربن نیتريد گرافیتی با استفاده از کوره‌های تیوبی (لوله‌ای) و باکسی ساخت شرکت Memmert آلمان سنتز شدند. الگوهای پراش اشعه ایکس نمونه‌ها از طریق دستگاه XRD^۲ مدل Bruker D8 Advance ساخته آلمان ثبت شد. طیف مادون قرمز تبدیل فوریه^۳ توسط دستگاه FTIR-8400S ساخت شیماتزو ژاپن ثبت شد. سطح ویژه و حجم منافذ نمونه‌ها توسط آنالیز BET^۴ با رویکرد جذب و اجذب N_2 مدل Belsorb MINI X ساخت آلمان ارزیابی و ثبت شدند. مورفولوژی و آنالیز عنصری نمونه‌ها به کمک دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی^۵ مدل Mira3 Tescan ساخت جمهوری چک به دست آمد. طیف فوتولومینسانس^۶ نمونه‌ها توسط دستگاه PL Spectroscopy مدل RF-6000 شرکت شیماتزو ژاپن اندازه‌گیری شد. برای بررسی خواص نوری فوتوکاتالیست‌ها از آنالیز طیف‌سنجی بازتابش انتشاری فرابنفش- مرئی^۷ مدل UV-3600i Plus ساخت شیماتزو ژاپن استفاده شد. همچنین در طول این پژوهش از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل DR2800 ساخت

کربن نیتريد گرافیتی ($g-C_3N_4$) به‌دلیل خواص منحصربه‌فرد خود، در زمینه‌های مختلفی از جمله فوتوکاتالیست، ذخیره انرژی، سنجش و زمینه‌های زیست پزشکی استفاده شده است (Xu and Ma, 2023).

در حال حاضر کربن نیتريد گرافیتی به‌عنوان یک نیمه‌هادی پلیمری بدون فلز، به‌دلیل داشتن مزایای مختلف از جمله شکاف باند باریک و قابل تنظیم (۲/۷eV)، قابلیت زیست تخریب‌پذیری، پایداری فیزیکی شیمیایی بالا، ساختار نوار الکترونیکی منحصربه‌فرد، عدم تولید آلاینده ثانویه و قابلیت پاسخ‌گویی به نور مرئی، مورد توجه پژوهشگران و دانشمندان قرار گرفته است (Joy et al., 2023). اگرچه کربن نیتريد گرافیتی خالص به‌دلیل محدودیت‌های ذاتی، مانند نرخ نوترکیبی بالای حامل‌های بار، هدایت الکتریکی پایین، مساحت سطح کم و عدم جذب کافی نور مرئی در محدوده $400 < \lambda < 700$ نانومتر، کارایی ایده‌آلی را به‌عنوان یک فوتوکاتالیست ارائه نمی‌دهد. با این حال، روش‌های مختلفی مانند دوپینگ عنصری (Wei et al., 2022) و اصلاح مورفولوژی (Karbalaeemorad et al., 2024) می‌توانند کارایی $g-C_3N_4$ را به‌طور قابل‌توجهی افزایش دهند. اما این روش‌ها نیازمند فرایندهای سنتز پیچیده و معرف‌های پرهزینه هستند که آنها را برای کاربردهای عملی مناسب نمی‌سازد (Fang, 2017).

همان‌طور که مطالعات پیشین نشان داده‌اند، خواص نوری، ساختاری و کاتالیستی کربن نیتريد گرافیتی به شدت تحت تأثیر شرایط سنتز، به ویژه جو کلسیناسیون قرار می‌گیرد (Xu et al., 2013). جو‌هایی مانند هیدروژن (H_2) و آمونیاک (NH_3) می‌توانند با ایجاد نقص‌های ساختاری، بر خواص ذاتی این ماده و در نتیجه فعالیت فوتوکاتالیستی آن تأثیرگذار باشند. همچنین، جو حاصل از خود فرایند پیرولیز نیز می‌تواند بر روی ساختار و خواص نهایی ماده تأثیرگذار باشد. این یافته‌ها نشان می‌دهند که انتخاب جو مناسب در فرایند سنتز و انتخاب پیش‌ساز مناسب، ابزاری قدرتمند برای تنظیم خواص $g-C_3N_4$ و بهبود عملکرد آن در کاربردهای مختلف، به‌ویژه در زمینه فوتوکاتالیست است (Li et al., 2015).

در این پژوهش، برای اولین بار با ایجاد اتمسفر غنی از دی‌اکسید کربن، تلاش شد تا کارایی تخریب فوتوکاتالیستی آلاینده میکروبی، توسط کربن نیتريد گرافیتی سنتز شده در این شرایط بررسی شود. همچنین برای مقایسه، $g-C_3N_4$ تحت دو اتمسفر

¹ Merck

² X Ray Diffraction (XRD)

³ Fourier-Transform Infrared (FTIR)

⁴ Brunauer-Emmett-Teller (BET)

⁵ Field Emission Scanning Electron Microscopy (FESEM)

⁶ Photoluminescence (PL)

⁷ Diffuse Reflectance Spectroscopy (DRS)



۲-۵- اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌باکتریال و ضد عفونی‌کنندگی فوتوکاتالیست‌های سنتز شده به سه روش

۲-۵-۱- روش تعیین حداقل غلظت بازدارنده^۲ و حداقل غلظت باکتری‌کش^۳: کمترین غلظت یک ماده شیمیایی که می‌تواند از رشد قابل مشاهده یک نوع میکروارگانیسم (مانند باکتری یا قارچ) جلوگیری کند، حداقل غلظت بازدارنده و حداقل غلظت یک ماده شیمیایی که بتواند تمام باکتری‌ها را از بین ببرد، حداقل غلظت باکتری‌کش نامیده می‌شود (Kargar and Meshkini, 2024).

از این رو برای محاسبه دو غلظت بیان شده برای هر یک از فوتوکاتالیست‌های سنتز شده، در مقابل باکتری *E. Coli* از روش اندازه‌گیری چگالی نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر، در بازه زمانی و غلظت‌های مختلف، در دو شرایط نور و تاریکی، استفاده شد. در ابتدا به محیط کشت ال‌بی‌براث حاوی غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ گرم در لیتر از نانومواد (CN-air و CN-N₂، CN-CO₂) با حجم ۴/۹ میلی‌لیتر، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول باکتری فعال شده، اضافه شد. همچنین مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از سوپانسیون باکتری فعال شده در ۴/۹ میلی‌لیتر محیط کشت ال‌بی‌براث به‌عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. تمامی نمونه‌ها به مدت ۳ ساعت زیر لامپ LED با قدرت ۵۰ وات (طول موج ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر) با حفظ فاصله ۱۰ سانتی‌متری از نمونه‌ها به‌عنوان منبع نور تجربی قرار گرفتند. دمای محیط با دمنده (خنک‌کننده) در طول آزمایش کنترل شد. کدورت نمونه‌ها زیر نور مستقیم و شرایط تاریکی با فاصله زمانی ۱/۵ ساعت با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری و ثبت شد. آزمایش در سه تکرار انجام شد و میانگین OD برای محاسبه حداقل غلظت بازدارنده و حداقل غلظت باکتری‌کش فوتوکاتالیست‌های سنتز شده استفاده شد. برای اندازه‌گیری کارایی تخریب باکتری از معادله ۱ استفاده شد

$$(1) \quad \text{تخریب} (\%) = \left[\frac{OD_{\text{کنترل}} - OD_{\text{نمونه}}}{OD_{\text{کنترل}}} \right] \times 100$$

که در آن

OD نمونه: مقدار جذب نوری نمونه پس از ۳ ساعت تماس با

شرکت Hach، و لامپ LED با قدرت ۵۰ وات ساخت شرکت گلنور کشور ایران، استفاده شد.

۲-۳- سنتز فوتوکاتالیست‌ها: برای تهیه نمونه‌ها از روش پلیمریزاسیون حرارتی ساده استفاده شد. با استفاده از این روش ابتدا ۱۰ گرم از پودر ملامین به قایقک آلومینا منتقل شد. سپس قایقک در کوره لوله‌ای در دمای ۵۵۰°C به مدت ۳ ساعت با نرخ افزایش دمای ۵°C/min در اتمسفر گاز کربن دی‌اکسید و نیتروژن، حرارت داده شد. نمونه CN-air در شرایط مشابه در بوتله چینی با استفاده از کوره باکسی سنتز شد. پس از خنک شدن کوره تا دمای اتاق، پودر حاصل از هر جریان گاز به ترتیب با عناوین CN-CO₂، CN-N₂ و CN-air نام‌گذاری شدند.

۲-۴- تهیه و کشت محلول باکتری: قبل از انجام آزمایش‌های میکروبی، تمام مواد و ابزار به‌کار گرفته شده در دمای ۱۲۱°C با استفاده از اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند. برای کشت باکتری *E. Coli*، تعدادی کلنی به محیط کشت ال‌بی‌براث اضافه شده و به مدت یک شب در شیکر در دمای ۳۷°C و سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه انکوبه شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول باکتری کشت شده، به مدت ۱ دقیقه در ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد تا محیط کشت حذف شود. پس از آن باکتری‌ها دو بار با محلول نمک ۰/۹ درصد شستشو داده شدند و در نهایت، مقدار OD^۱ در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین شد. عدد OD به دست آمده برابر با ۰/۵ بود (OD₆₀₀=0.5) که این مقدار برابر با ۱×۱۰^۸ CFU/mL است. OD به‌عنوان ضریب جذب نوری شناخته می‌شود و به‌طور مستقیم با غلظت سلول‌های باکتری در نمونه مرتبط است (Mira et al., 2022). برای رسیدن به غلظت ۱۰^۷ CFU/mL، از روش رقت تدریجی (رقت سریالی) با استفاده از محلول نمک ۰/۹ درصد استفاده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول باکتریایی با غلظت ۱۰^۸ CFU/mL برداشته شد و ۹۰۰ میکرولیتر محلول نمک به آن اضافه شد. از این محلول رقیق شده که معادل ۱۰^۷ CFU/mL از باکتری *E. Coli* بود، برای انجام آزمایش‌ها استفاده شد.

²Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

³Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

¹Optical Density (OD)



شدند. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای 35°C گرم‌گذاری شدند و ناحیه مهار اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری و ثبت شد. از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

۳- یافته‌ها

۳-۱- مشخصات ساختار و مورفولوژی فوتوکاتالیست‌ها

۳-۱-۱- نتایج آنالیز XRD: ساختار کریستالی نانومواد سنتز شده CN-N_2 ، CN-CO_2 و CN-air توسط آنالیز XRD اندازه‌گیری شد. همان‌طور که نتایج در شکل ۱-ا نشان داده شده است، دو قله پراش متمایز برای هر سه ماده به دست آمد. یک پیک پراش قوی‌تر در $27/26^{\circ}$ درجه مربوط به صفحه (۰۰۲) و یک پیک جزئی در $13/2^{\circ}$ درجه مربوط به صفحه (۱۰۰) است. دو پیک شاخص در زوایای اشاره شده، در هر سه ماده وجود دارد و مشخصاً با الگوهای تأیید شده در پژوهش‌های قبلی مطابقت دارد که نشان‌دهنده سنتز موفقیت‌آمیز کربن نیتريد گرافیتی است (Xu et al., 2020).

پیک نخست (۱۰۰) به ساختار کریستالی سطح کربن نیتريد گرافیتی مرتبط بوده و مطابق با آرایش دوره‌ای ساختار هپتازین که واحد ساختاری اصلی در لایه کربن نیتريد گرافیتی است، می‌باشد. پیک دوم (۰۰۲) که مربوط به فضای بین لایه‌ای، واحد آروماتیک (tri-s-triazine) است، به علت وجود فضای انباشتگی در سیستم مزدوج آروماتیک شکل می‌گیرد و سطح کریستالی این مواد را نشان می‌دهد. تطبیق پیک‌های پراش، نشان می‌دهد که اسکلت شیمیایی $\text{g-C}_3\text{N}_4$ حفظ شده است. همچنین به وضوح دیده می‌شود که حتی بعد از تغییر جریان گاز سنتز، همان الگوهای پراش در $\text{g-C}_3\text{N}_4$ حفظ می‌شود، این موضوع نشان می‌دهد واحد سازنده آروماتیک تری آزین از نظر شیمیایی در برابر هر گونه اصلاح ساختاری مقاوم است. همچنین عدم وجود قله‌های شاخص دیگر نشان‌دهنده خلوص ترکیب سنتز شده، است. کاهش در مقدار ۲۵، گسترش فاصله بین لایه‌ای را بر اساس قانون پراگ نشان می‌دهد (Song et al., 2018).

شدت پیک در $26/27^{\circ}$ درجه CN-CO_2 کاهش یافت و شکل پیک پهن‌تر شد. علاوه بر این، پیک به زوایای پایین‌تر منتقل شد که نشان‌دهنده فاصله بین لایه‌ای بیشتر در CN-CO_2 و ساختار

نانوماده است. این مقدار نشان‌دهنده تراکم باکتری باقیمانده در نمونه است. هر چه OD نهایی کمتر باشد، به معنای حذف بیشتر باکتری‌ها است. OD کنترل: مقدار جذب نوری نمونه‌ای است که فقط حاوی باکتری بوده و نانوماده به آن اضافه نشده است.

۲-۵-۲- بررسی زنده‌مانی باکتری *E. Coli* در برابر

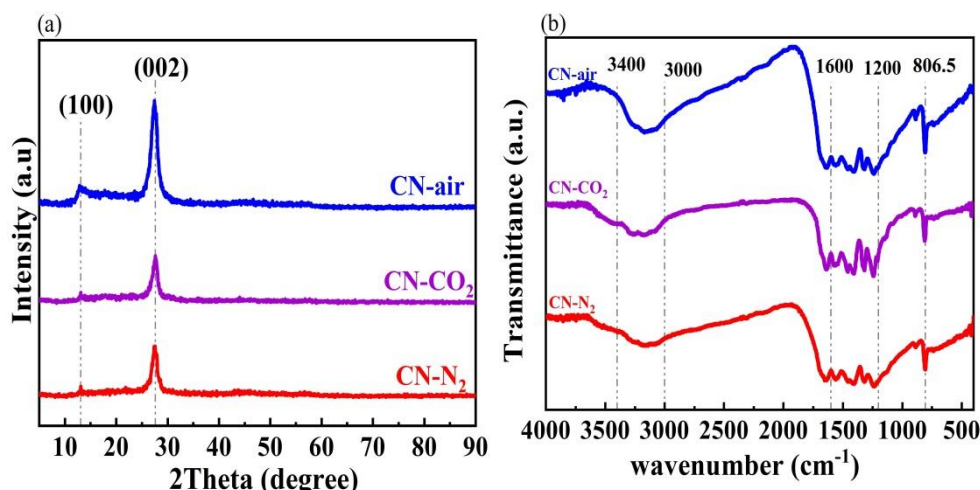
فوتوکاتالیست‌های سنتز شده: برای بررسی قدرت آنتی‌باکتریال فوتوکاتالیست‌های سنتز شده، ابتدا غلظت $0/2$ گرم در لیتر از هر فوتوکاتالیست (CN-air و CN-N_2 ، CN-CO_2) محلول در محیط ال‌بی‌پراش تهیه شد، سپس به هریک از محلول‌ها، 100 میکرولیتر باکتری *E. Coli* اضافه شد. تمامی نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در شیکر انکوباتر با سرعت 200 دور در دقیقه، در دمای 37°C و تحت تابش نور مرئی (لامپ LED) نگهداری شدند. بعد از گذشت زمان مورد نظر، مقدار 100 میکرولیتر از محلول با استفاده از محلول نمک ۹ درصد تا 10^{-3} (رقت $1/1000$) بار رقیق شد و سپس میزان 100 میکرولیتر از محلول رقیق شده، به پلیت‌های ۶ سانتی‌متری حاوی محیط آگار اضافه شد. پلیت‌ها در دمای 37°C به مدت ۲۴ ساعت گرم‌گذاری شدند. همچنین از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد و پس از گذشت زمان مورد نظر، میزان رشد باکتری در هر نمونه بررسی شد.

۲-۵-۳- روش اندازه‌گیری ناحیه مهار باکتری با روش دیسک

دیفیوژن: برای بررسی ناحیه مهار (شعاع ناحیه فاقد رشد باکتری در حضور نانوماده) در برابر سویه باکتری *E. Coli*، از روش انتشار دیسک، مطابق دستورالعمل‌های ارائه شده توسط مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاه^۱ (Nasiri et al., 2016)، در محیط کشت مولر-هینتون استفاده شد. برای اطمینان از توزیع یکنواخت تلقیح، در زمان کشت باکتری صفحات پلیت در زوایای 60° درجه با استفاده از لوپ استریل کشت داده شدند. سپس با استفاده از پنس استریل دیسک‌های ۶ میلی‌متری آغشته به 100 میکرولیتر از هر نانوماده شامل CN-CO_2 ، CN-N_2 و CN-air به غلظت $0/2$ گرم در لیتر روی پلیت‌های کشت داده شده، قرار داده

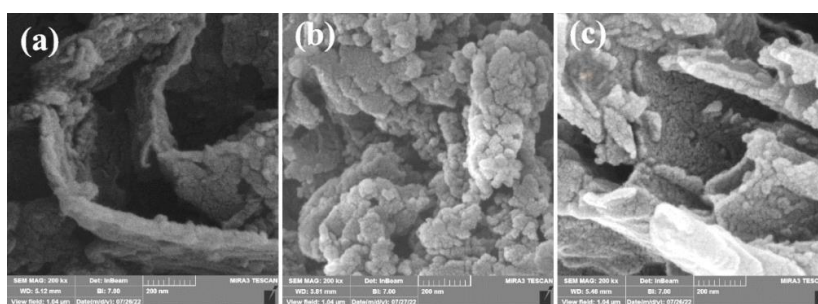
¹ Clinical & Laboratory Standards Institute





شکل ۱- الگوهای (a) XRD و (b) FTIR نمونه‌های سنتز شده

Fig. 1. (a) XRD and (b) FTIR spectra of synthesized materials



شکل ۲- تصویر FESEM نمونه‌های سنتز شده (a) CN-CO₂, (b) CN-N₂ و (c) CN-air

Fig. 2. FESEM images of the synthesized samples: (a) CN-CO₂, (b) CN-N₂ and (c) CN-air

صفحه‌ای شکل آن است (Du et al., 2024). در طیف مربوط به CN-air، قله (۰۰۲) کمی جابه‌جا می‌شود و به مقدار ۲۰ بالاتر مایل می‌شود که این می‌تواند نشان‌دهنده کاهش فاصله نوار باریک و انباشته شدن متراکم‌تر باشد (Patnaik et al., 2016).

۳-۱-۲- نتایج آنالیز FTIR: آنالیز FTIR بر روی سه نمونه CN-N₂، CN-CO₂ و CN-air برای بررسی ساختار شیمیایی و شیمی سطح انجام شد (شکل ۱-ب). همان‌طور که در شکل قابل مشاهده است، طیف FTIR مواد مختلف، هیچ تفاوت قابل‌توجهی ندارند که نشان‌دهنده شباهت ساختار شیمیایی و گروه‌های عاملی تمام نمونه‌های به‌دست آمده است (Yang et al., 2023).

۳-۱-۳- نتایج آنالیز FESEM: با مقایسه تصاویر در شکل ۲ که توسط FESEM برای سه نانوماده سنتز شده ثبت شده است، می‌توان به وضوح تأثیر جریان گاز در فرایند سنتز را مشاهده کرد.

مربوط به پیوندهای C=N و C-N مرتبط دانست (Chen et al., 2019) نوار جذب گسترده‌ای که در حدود ۳۰۰۰ تا ۳۴۰۰ cm⁻¹ قرار دارد را می‌توان به ارتعاش کششی پیوند N-H نسبت داد که نشان‌دهنده وجود گروه‌های آمینه آزاد متراکم نشده و گونه‌های هیدروکسیل جذب شده در سطح نانوماده است (Zhou et al., 2016) این تفاسیر نشان می‌دهد که ساختار اصلی g-C₃N₄ در مواد اصلاح شده، حفظ شده است.

در حالی که یک سری از قله‌ها در منطقه ۱۲۰۰ تا ۱۶۰۰ cm⁻¹ را می‌توان به حالت‌های کشش معمولی مربوط به پیوندهای C=N و C-N مرتبط دانست (Chen et al., 2019) نوار جذب گسترده‌ای که در حدود ۳۰۰۰ تا ۳۴۰۰ cm⁻¹ قرار دارد را می‌توان به ارتعاش کششی پیوند N-H نسبت داد که نشان‌دهنده وجود گروه‌های آمینه آزاد متراکم نشده و گونه‌های هیدروکسیل جذب شده در سطح نانوماده است (Zhou et al., 2016) این تفاسیر نشان می‌دهد که ساختار اصلی g-C₃N₄ در مواد اصلاح شده، حفظ شده است.

در طیف مربوط به CN-air، قله (۰۰۲) کمی جابه‌جا می‌شود و به مقدار ۲۰ بالاتر مایل می‌شود که این می‌تواند نشان‌دهنده کاهش فاصله نوار باریک و انباشته شدن متراکم‌تر باشد (Patnaik et al., 2016).

۳-۱-۳- نتایج آنالیز FTIR: آنالیز FTIR بر روی سه نمونه CN-N₂، CN-CO₂ و CN-air برای بررسی ساختار شیمیایی و شیمی سطح انجام شد (شکل ۱-ب). همان‌طور که در شکل قابل مشاهده است، طیف FTIR مواد مختلف، هیچ تفاوت قابل‌توجهی ندارند که نشان‌دهنده شباهت ساختار شیمیایی و گروه‌های عاملی تمام نمونه‌های به‌دست آمده است (Yang et al., 2023).

پیک واقع در منطقه ۸۱۰/۵ و ۸۰۶/۱۶ cm⁻¹ به ارتعاش خمشی حلقه‌های هپتازین اختصاص داده شده است



جدول ۱- نتایج آنالیز BET برای نمونه‌های سنتز شده

Table 1. BET analysis results for the synthesized samples

Average pore diameter (nm)	Total pore volume (cm ³ /g)	Specific surface area (m ² /g)	Photocatalyst
8.37	6.28	27.368	CN-CO ₂
16.43	0.843	12.22	CN-N ₂
8.81	2.03	9.23	CN-air

شد (جدول ۱). در پژوهشی چنگ و همکاران در سال ۲۰۲۳، با استفاده از پیش‌ساز ملامین در جو نیتروژن، کربن نیتريد گرافیتی سنتز کردند، نتایج آنالیز BET برای این ماده مساحت سطحی در حدود $9/6 \text{ m}^2/\text{g}$ را نشان داد (Cheng et al., 2023).

در پژوهش دیگر پارس و همکاران در سال ۲۰۲۲، کربن نیتريد گرافیتی را با استفاده از پیش‌ساز ملامین در جو آرگون با مساحت سطح $18 \text{ m}^2/\text{g}$ سنتز کردند (Praus et al., 2022). مقایسه مساحت سطح $\text{g-C}_3\text{N}_4$ سنتز شده با پیش‌ساز ملامین در اتمسفرهای مختلف (کربن دی‌اکسید، نیتروژن و هوا)، با یافته‌های سایر پژوهش‌ها نشان می‌دهد که نمونه‌های سنتز شده در این مطالعات، از نظر مساحت سطح برتری قابل توجهی دارند. مساحت سطح نمونه‌ایی که با گاز کربن دی‌اکسید سنتز شده، حدود ۲ و ۳ برابر بیشتر از نمونه‌های سنتز شده در گازهای هوا و نیتروژن است. این تفاوت در نتایج حاکی از آن است که نوع جریان گاز به‌کار گرفته شده طی عملیات سنتز، در تعیین ویژگی‌ها و ساختار نانوذره سنتز شده اهمیت قابل توجهی دارد (Zhang et al., 2023). نمودارهای جذب و واجذب نیتروژن که از نوع هیستریسیس H_3 است (شکل ۳-ا)، به خوبی تفاوت سه ماده سنتز شده در شکل حفره و مساحت سطح را نشان می‌دهد.

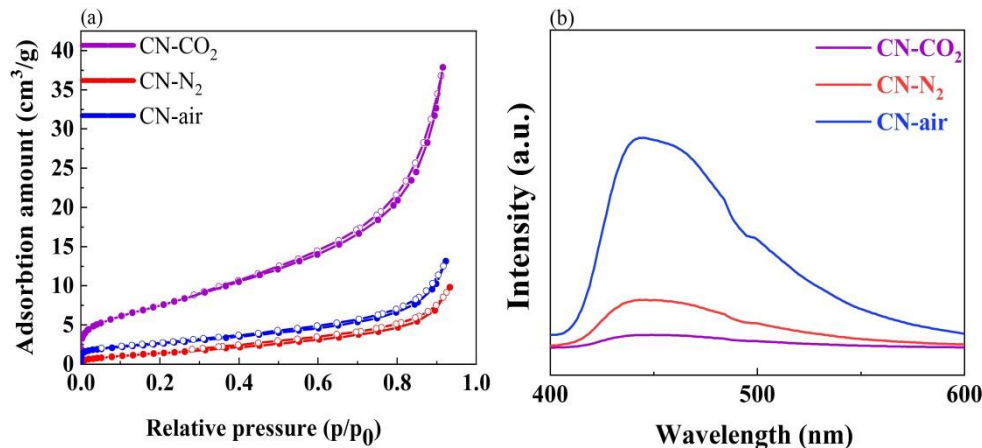
۳-۱-۵- نتایج آنالیز PL: PL می‌تواند به‌عنوان یکی از ابزارهای مفید، به‌منظور بررسی ویژگی‌های نوری مواد نیمه‌رسانا استفاده شود. این آنالیز اطلاعات ارزشمندی در مورد جداسازی، مهاجرت و فرایند نوترکیب جفت‌های الکترون-حفره تولید شده می‌دهد. شدت پیک به‌طور مستقیم با فرایند نوترکیبی الکترون-حفره متناسب است، یعنی هرچه شدت کمتر باشد، خاصیت باز ترکیب

در شکل ۲-ا تصویر کربن نیتريد گرافیتی که با جریان گاز CO_2 سنتز شده، ساختار لایه‌ای کربن نیتريد گرافیتی را به خوبی نشان می‌دهد و مشخصاً با نتایج آزمایش XRD مطابقت دارد، همچنین لبه‌های زاویه‌دار در اینجا نشان‌دهنده، تمایل بیشتر نانوماده به واکنش است. لبه‌های تیز و زاویه‌دار در مواد فوتوکاتالیستی نقش مهمی ایفا می‌کنند.

از یک سو، افزایش سطح ویژه ناشی از این لبه‌ها، تعداد مراکز فعال برای واکنش‌های فوتوکاتالیستی را بالا برده و در نتیجه، کارایی تجزیه آلاینده‌ها و تولید گونه‌های فعال اکسیژن را بهبود می‌بخشد. همچنین، این لبه‌ها به‌عنوان تله‌های بار عمل کرده و جدایش کارآمدتر جفت‌های الکترون-حفره را تسهیل می‌کنند (Wu et al., 2023). از سوی دیگر، این ساختارهای نوک‌تیز، به غشای سلولی باکتری‌ها آسیب رسانده و منجر به نشت محتویات سلولی و در نهایت مرگ باکتری می‌شوند. افزایش سطح تماس بین ماده و باکتری به دلیل وجود لبه‌ها نیز، احتمال برخورد باکتری‌ها با مراکز فعال را افزایش داده و اثر کشندگی ماده را تقویت می‌کند (Zhang et al., 2024). افزایش فواصل بین لایه‌ای در نمونه سنتز شده در اتمسفر CO_2 مکان‌های فعال فراوانی را برای جذب باکتری‌ها افزایش داده و فاصله انتقال بین الکترون و حفره را کوتاه می‌کند که در نهایت منجر به تخریب فوتوکاتالیستی موثرتر می‌شود (Li et al., 2017). در صورتی که در تصویر CN-N_2 (شکل ۲-ب) و CN-air (شکل ۲-ج) ساختاری غیرلایه‌ای و متراکم‌تر دیده می‌شود، که مانع از حمل بار و جرم و جذب نور می‌شود (Fu et al., 2017).

۳-۱-۴- نتایج آنالیز BET: به کمک آنالیز BET مساحت سطح ویژه، حجم کلی حفرات و میانگین قطر حفرات نمونه‌ها اندازه‌گیری





شکل ۳- نمودار (a) ایزوترم جذب و واجذب گاز نیتروژن، (b) طیف‌سنجی فوتولومینسانس نمونه‌های سنتز شده

Fig. 3. (a) BET isotherm and (b) photoluminescence spectra of the synthesized samples

نمودار از طیف‌سنجی DRS-UV به دست آمد. در این روش، یک نمودار با محور عمودی (ahv) شدت جذب نور (به ازای هر فوتون با انرژی مشخص) و محور افقی انرژی فوتون (E_g) رسم می‌شود. سپس با رسم یک خط مماس بر بخش خطی نمودار، نقطه‌ای که این خط محور افقی را قطع می‌کند، به عنوان انرژی باندگپ مستقیم ماده در نظر گرفته می‌شود (شکل ۴-۲). برای محاسبه انرژی باندگپ از معادله ۳ استفاده شد

$$(\alpha hv)^2 = k(hv - E_g) \quad (2)$$

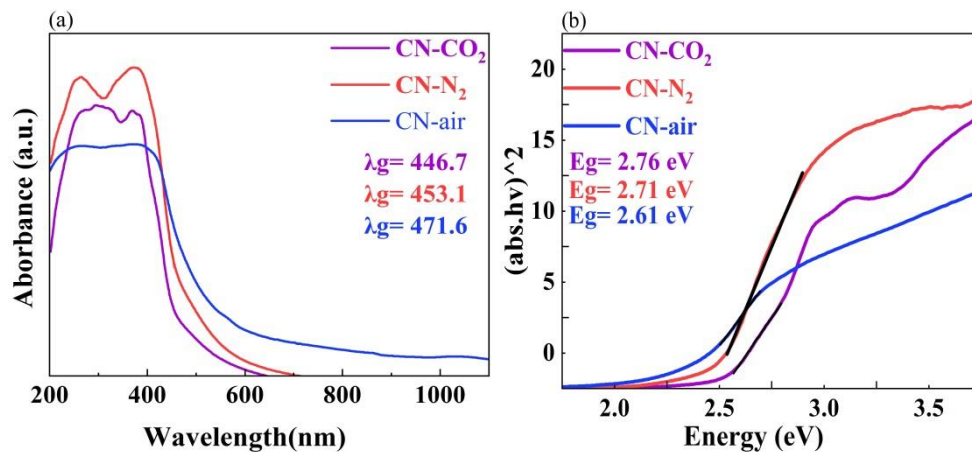
به کمک نتایج به دست آمده از این آنالیزها مشخص شد که مقدار E_g برای نمونه‌های CN-CO₂، CN-N₂ و CN-air به ترتیب ۲/۷۶، ۲/۷۱ و ۲/۶۱ است. آنالیزها نشان دادند که مقدار انرژی باندگپ در نمونه‌های کربن نیتريد گرافیتی با ساختارهای متفاوت، کمی با هم تفاوت دارد. تغییرات جزئی در ساختار نمونه سنتز شده با گاز CO₂، منجر به افزایش پهنای باندگپ نسبت به نمونه‌های دیگر شده است. با وجود افزایش پهنای باندگپ، نمونه سنتز شده با CO₂ کارایی جذب نور و فعالیت فوتوکاتالیستی بیشتری از خود نشان می‌دهد. این پدیده ممکن است به دلیل کاهش نرخ باز ترکیب جفت‌های الکترون-حفره باشد که با یافته‌های گزارش‌های پیشین مبنی بر ارتباط مستقیم بین افزایش پهنای باندگپ و بهبود عملکرد فوتوکاتالیستی سازگار است (Fonseca-Cervantes et al., 2020).

تاخیری نمونه را تأیید می‌کند. همه نمونه‌ها طیف انتشار PL را تحت طول موج تحریک ۳۶۰ نانومتر نشان می‌دهند (شکل ۳-۲). با مقایسه نمونه‌ها با یکدیگر، مشخص شد نمونه CN-CO₂ دارای کمترین میزان نرخ باز ترکیبی بارها در میان نمونه‌های سنتز شده است. نرخ پایین باز ترکیبی بارها در فوتوکاتالیست‌ها موجب افزایش کارایی جداسازی بار و نهایتاً ارتقای عملکرد فوتوکاتالیستی نیمه هادی‌ها می‌شود.

۳-۱-۶- نتایج آنالیز DRS: با استفاده از طیف‌سنجی DRS، ویژگی‌های نوری و توانایی جذب نور نمونه‌های سنتز شده (CN-CO₂، CN-N₂، CN-air) بررسی شد (شکل ۴). نتایج نشان می‌دهد که همه این نمونه‌ها قادر به جذب نور مرئی هستند (شکل ۴-۲). این ویژگی، این مواد را به عنوان کاندیداهای مناسبی برای کاربرد در فرایندهای فوتوکاتالیستی که از نور مرئی برای فعال شدن استفاده می‌کنند، معرفی می‌کند. یکی از مهم‌ترین پارامترهای تعیین‌کننده در مواد فوتوکاتالیستی، انرژی باندگپ است. این پارامتر نشان می‌دهد که چه مقدار انرژی برای ایجاد یک جفت الکترون-حفره (که برای انجام واکنش‌های فوتوکاتالیستی ضروری است) در ماده مورد نیاز است (Wang et al., 2023). در این پژوهش، برای تعیین انرژی باندگپ ماده مورد مطالعه، از روشی به نام نمودار تاوک^۱ استفاده شد. داده‌های مورد نیاز برای رسم این

¹ Tauc





شکل ۴- نمودار (a) DRS لبه جذبی و (b) انرژی باندگپ نمونه‌های سنتز شده

Fig. 4. (a) DRS spectra and absorption edge and (b) band gap energy of the synthesized samples

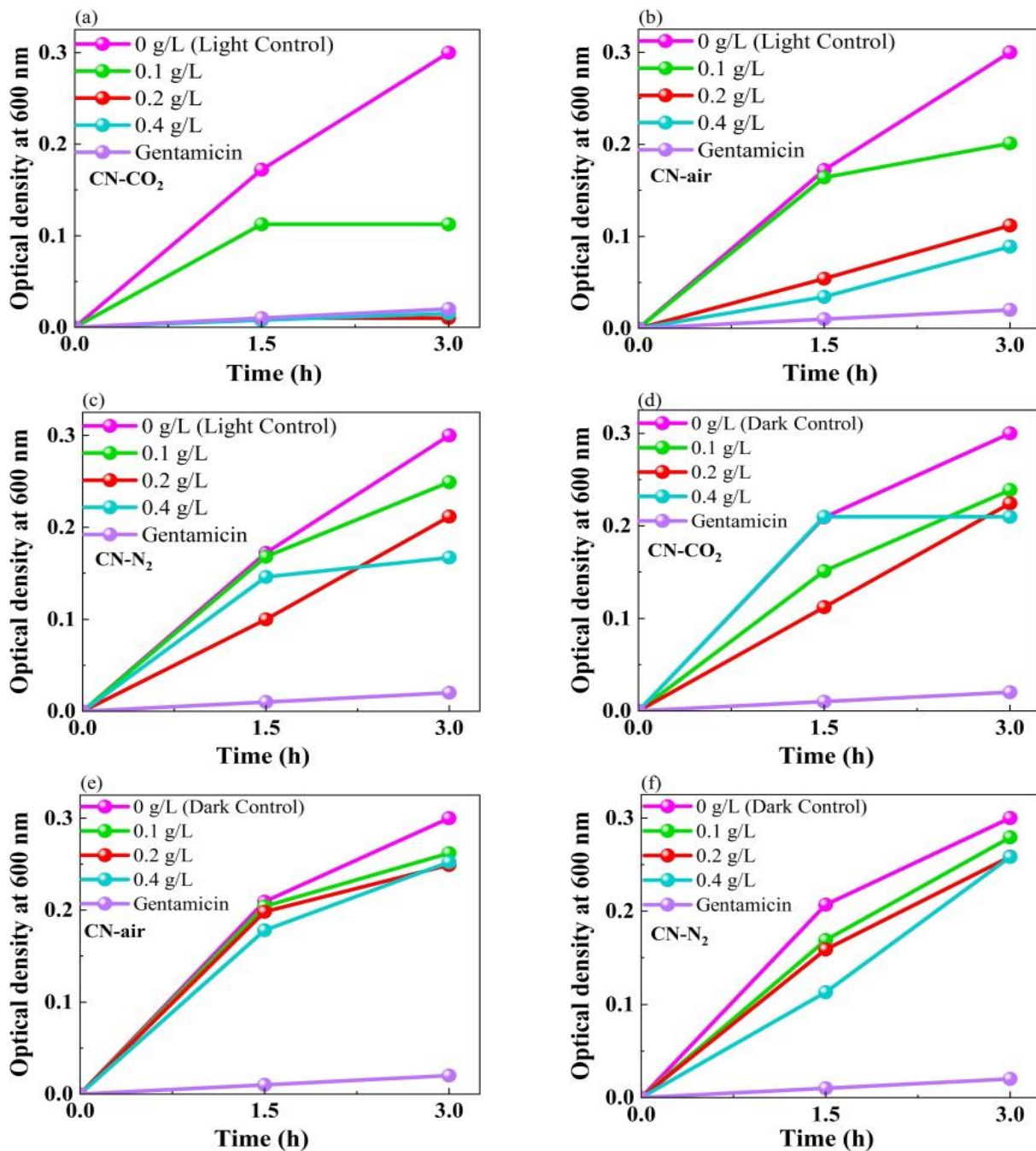
در بین نانومواد سنتز شده، فوتوکاتالیست CN-CO₂ (شکل ۵-ا) مانع از رشد باکتری در این بازه زمانی شد. با افزایش دوز فوتوکاتالیست‌ها به ۰/۲ g/L، میزان حذف نانومواد به ترتیب، به ۱۰۰، ۶۲/۷ و ۲۹/۵ درصد رسید. با افزایش غلظت نانومواد به ۰/۴ g/L، کارایی حذف برای CN-CO₂ تقریباً ثابت باقی ماند، در حالی که میزان حذف CN-N₂ و CN-air به ترتیب به ۷۰/۴ و ۴۴/۳ درصد افزایش یافت. همچنین بررسی تغییرات OD در همین بازه زمانی، در شرایط عدم حضور نور، نشان داد نانومواد CN-CO₂، CN-air و CN-N₂ با دوز ۰/۱ g/L به ترتیب ۲۰/۵، ۱۲/۴ و ۷ درصد از باکتری‌ها را از بین بردند. با افزایش دوز به ۰/۲ g/L، به ترتیب، ۲۵/۳، ۱۷، ۱۳/۹ درصد و با دوز ۰/۴ g/L به ترتیب، ۳۰/۱، ۱۶ و ۱۴ درصد از باکتری‌ها را توانستند در بازه زمانی ۳ ساعت مهار کنند. از طرفی کنترل مثبت جنتامایسن توانست تمام باکتری‌ها را از بین ببرد.

بر اساس نتایج به دست آمده، برای نانوماده CN-CO₂ تحت تابش نور مرئی دوز ۰/۱ g/L، به عنوان حداقل غلظت بازدارنده و دوز ۰/۲ g/L، به عنوان حداقل غلظت باکتری‌کش به دست آمد (شکل ۵-ا). همچنین در شرایط تاریکی، غلظت بازدارنده ۰/۴ g/L به دست آمد، اما در شرایط تاریکی نانوماده CN-CO₂ نتوانست سبب حذف کامل باکتری *E. Coli* شود (شکل ۵-د). نتایج مربوط به نانومواد، CN-N₂ و CN-air نشان داد که این مواد پتانسیل بازدارندگی رشد و کشندگی باکتری را در هیچ یک از

به عبارت دیگر، افزایش پهنای باندگپ در این نمونه، منجر به کاهش احتمال باز ترکیب الکترون‌ها و حفره‌ها شده و در نتیجه، عمر متوسط حامل‌های بار افزایش یافته و احتمال مشارکت آنها در واکنش‌های فوتوکاتالیستی بیشتر شده است. این یافته با پژوهش‌های قبلی که نشان داده‌اند افزایش عمر حامل‌های بار می‌تواند به بهبود عملکرد فوتوکاتالیستی منجر شود، همسو است (Liu et al., 2024).

۳-۲- نتایج اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌باکتریال و ضد عفونی‌کنندگی فوتوکاتالیست‌های سنتز شده به سه روش ۳-۲-۱- نتایج تعیین MIC و MBC: تغییرات OD نشان‌دهنده تغییرات رشد باکتری در حضور غلظت‌های مختلف نانومواد CN-CO₂، CN-air و CN-N₂ است (شکل ۵). (Cimolai, 2021). (Rasool et al., 2016) نتایج نشان داد، خاصیت آنتی‌باکتریال نانومواد با افزایش غلظت تغییر کرده و مهار رشد باکتری وابسته به دوز بود.

در گروه کنترل بدون حضور نانومواد (صفر g/L)، کاهش سلول‌های باکتریایی مشاهده نشد، که نشان می‌دهد شرایط نوری (روشنایی و تاریکی) اثر کشنده‌ای بر سلول‌های باکتریایی ندارد. تغییرات OD نشان داد که کارایی حذف در شرایط تابش نور مرئی طی ۳ ساعت برای نانومواد CN-CO₂، CN-air و CN-N₂ با غلظت ۰/۱ g/L به ترتیب برابر، ۶۲/۵، ۳۲/۷ و ۱۷ درصد بود.



شکل ۵- نمودار تغییرات OD برای (a) CN-CO₂ (b) CN-air (c) CN-N₂ تحت تابش نور مرئی و (d) CN-CO₂ (e) CN-air (f) CN-N₂ در شرایط تاریکی در بازه زمانی ۳ ساعت

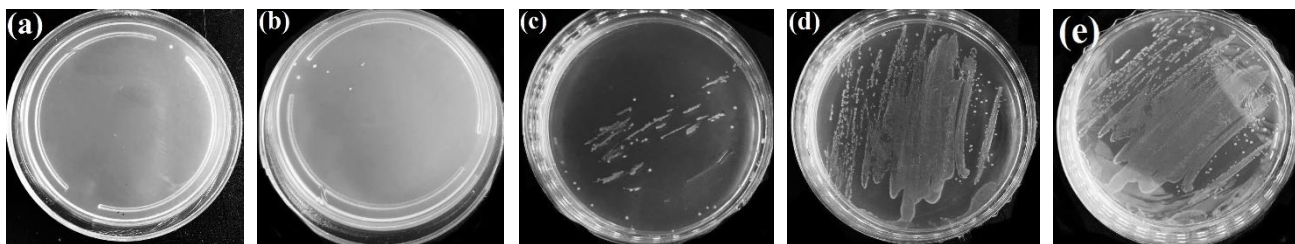
در شرایط تاریکی در بازه زمانی ۳ ساعت

Fig. 5. Plots showing the changes in optical density (OD) over time for samples of (a) CN-CO₂, (b) CN-air, and (c) CN-N₂ when exposed to visible light. Additionally, plots (d), (e) and (f) show the same samples under dark conditions for a period of 3 hours

تابش نور مرئی است. این گونه‌های فعال به دلیل ناپایداری و قدرت تخریب بالا، به اجزای سلولی آسیب می‌رسانند و مرگ سلول را به دنبال دارند (Khan et al., 2024). نتایج حذف باکتری برای

شرایط نوری (روشنایی و تاریکی) ندارد (شکل ۵- c و ۵- f). همچنین تفاوت کارایی حذف بین دو شرایط نور و تاریکی، به علت تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال، توسط فوتوکاتالیست‌ها در حین





شکل ۶- بررسی زنده‌مانی باکتری در مقابل (a) CN-CO₂، (b) Gentamicin، (c) CN-air، (d) CN-N₂ و (e) باکتری *E. Coli* در روشیابی

Fig. 6. Evaluation of bacterial viability against (a) CN-CO₂, (b) the antibiotic Gentamicin, (c) CN-air and CN-N₂ (d), as well as (e) *E. Coli* bacteria, when exposed to visible light

۰/۲ g/L و همچنین پلیت‌های مربوط به کنترل جنتامایسن وجود نداشت (شکل ۶-ا و ۶-ب) بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد که استفاده از اتمسفر کربن دی‌اکسید در سنتز کربن نیتريد گرافیتی، می‌تواند یک روش مؤثر برای افزایش ظرفیت ضدباکتریایی فوتوکاتالیستی این نانومواد باشد. از طرف دیگر تفاوت معناداری بین کلنی‌های باکتریایی گروه CN-CO₂ با پلیت‌های حاوی CN-air (شکل ۶-ج) و CN-N₂ (شکل ۶-د) مشاهده شد، که نشان‌دهنده عملکرد ضعیف ضدباکتریایی این نانومواد است. با توجه به ساختار متخلخل نانوماده CN-CO₂ به دام انداختن باکتری در این ساختار به نسبت بیشتری در مقابل سایر نانوماده‌ها انجام می‌شود که سبب بهبود عملکرد ضدباکتریایی نسبت به سایر نانوماده‌ها می‌شود.

۳-۲-۳- نتایج مربوط به بررسی آثار ضد باکتریایی نانوذرات با روش دیسک دیفیوژن:

برای بررسی خاصیت ضد میکروبی مواد به وسیله روش دیسک دیفیوژن شعاع ناحیه مهار به وجود آمده توسط نانومواد فوتوکاتالیستی در محیط کشت مولر هینتون بعد از گذشت ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد. نانومواد با مکانیسم‌های متنوعی مانند تخریب دیواره سلولی باکتری‌ها، تداخل در فرایندهای حیاتی مانند سنتز پروتئین و تکثیر DNA، یا اختلال در متابولیسم سلولی، از رشد و تکثیر باکتری‌ها جلوگیری می‌کنند. هنگامی که دیسک آغشته به نانوماده روی محیط کشت حاوی باکتری قرار می‌گیرد، نانوذرات به تدریج باکتری‌های اطراف دیسک را تحت تأثیر قرار می‌دهند. در نتیجه، باکتری‌ها در این ناحیه کشته شده یا رشد آنها متوقف می‌شود و یک ناحیه خالی از رشد باکتری به نام ناحیه مهار ایجاد می‌شود (Cunha et al., 2016).

نانوماده CN-CO₂ در شرایط تاریکی، بسیار قابل توجه بود. این عملکرد در غیاب نور، به دلیل ساختار متخلخل و سطح فعال بالا و مورفولوژی منحصر به فرد این نانوماده است که می‌تواند سبب به دام انداختن باکتری‌ها و حذف درصد قابل توجهی از آنها شود (Shimizu et al., 2019).

در پژوهشی لین و همکاران در سال ۲۰۲۱، از کربن نیتريد گرافیتی اصلاح شده به عنوان فوتوکاتالیست استفاده کردند. نتایج این پژوهش نشان داد که فوتوکاتالیست سنتز شده تنها ۳۱ درصد از سلول‌های *E. Coli* را طی ۴ ساعت تابش لامپ زنون، غیرفعال کرد (Lin et al., 2021).

در پژوهشی دیگر که توسط لین و همکاران در سال ۲۰۱۸، انجام شد، کربن نیتريد گرافیتی دوپ شده با بور و فنیل از طریق حرارت سیانامید به عنوان پیش‌ساز تهیه شد. این فوتوکاتالیست ۹۹/۹ درصد از باکتری *E. Coli* در عرض ۳ ساعت با غلظت ۳ mg/L از ۶۰۰ نانوماده تحت تابش لامپ زنون غیرفعال کرد (Lin et al., 2018).

در این پژوهش، سنتز کربن نیتريد گرافیتی در اتمسفر دی‌اکسید کربن، به تولید ماده‌ای با اثرگذاری ضدباکتریایی قوی در غلظت‌های کم، منجر شد که پتانسیل بالایی برای کاربردها از جمله تصفیه میکروبی فاضلاب داشته باشد.

۳-۲-۳- نتایج بررسی زنده‌مانی باکتری *E. Coli* در برابر فوتوکاتالیست‌های سنتز شده:

برای بررسی میزان زنده‌مانی باکتری از پلیت آگار تحت شرایط تابش نور استفاده شد و اثر کشندگی آن به طور مستقیم در تعداد کلنی‌ها روی پلیت آگار منعکس شد (Yan et al., 2022). پس از ۱۸۰ دقیقه تابش نور مرئی، تقریباً هیچ کلنی باکتری روی پلیت‌های حاوی CN-CO₂ در غلظت



ترکیبات پیچیده در ساختار آن، بیشترین فعالیت ضدباکتریایی را در بین نمونه‌های سنتز شده دارد. این عملکرد برجسته به دلیل ترکیب شیمیایی و ساختار منحصر به فرد این نانوماده است که امکان برهم‌کنش مؤثرتر با دیواره سلولی باکتریایی و در نتیجه امکان تخریب سلول را فراهم می‌آورد (Liu et al., 2023).

۴- بحث و نتیجه‌گیری

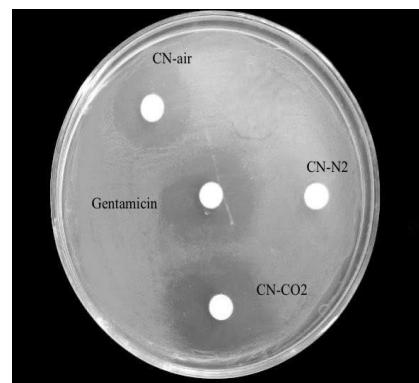
اصلاح ساختار نانومواد می‌تواند تأثیر زیادی بر خاصیت آنتی‌باکتریال این مواد داشته باشد تا به‌عنوان یک راه‌حل نوآورانه، جدید و مقرون به صرفه برای تصفیه پساب در نظر گرفته شوند. در این پژوهش، نانوماده کربن نیتريد گرافیتی با اتمسفر CO_2 همراه با مساحت سطح بالا و خواص فوتوکاتالیستی مناسب از طریق روش تراکم حرارتی یک مرحله‌ای با استفاده از پیش‌ماده‌ی ملامین، سنتز شد. با اصلاح ساختار، این ماده به‌عنوان یک فوتوکاتالیست عملکرد ضدباکتریایی قوی در برابر یکی از شناخته‌شده‌ترین پاتوژن‌های آبی نشان داده شد. در این پژوهش، ساختار، مورفولوژی و خواص نوری و ضدباکتریایی سه نمونه از نانوکربن نیتريد گرافیتی، سنتز شده در اتمسفرهای مختلف (N_2 ، CO_2 و هوا)، با یکدیگر مقایسه شد. فوتوکاتالیست CN- CO_2 تحت تابش نور مرئی، و با دوز مؤثر 0.2 g/L تنها پس از ۱۸۰ دقیقه تابش نور سبب مهار مؤثر و کامل باکتری *E. Coli* شد. با هدف توسعه فناوری‌های نوین تصفیه فاضلاب، نانوماده کربن نیتريد گرافیتی با ساختار اصلاح شده در اتمسفر CO_2 به‌عنوان یک فوتوکاتالیست کارآمد برای حذف باکتری‌های بیماری‌زا معرفی شد. نتایج نشان داد که این نانوماده با دوز پایین و در مدت‌زمان کوتاه قادر به حذف کامل باکتری *E. Coli* از محیط آبی است. این رویکرد نوآورانه، علاوه بر کاهش هزینه‌های تولید، پتانسیل بالایی برای تجاری‌سازی و کاربرد در صنایع مختلف، از جمله تصفیه فاضلاب دارد.

۵- قدردانی

در پایان، نویسندگان از آزمایشگاه نانو فناوری محیط‌زیست، پژوهشکده علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی که امکان انجام این پژوهش را در فضایی علمی فراهم و آنها را در طی این مسیر همراهی کرد، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

همان‌طور که در شکل ۷ نشان داده شده است، ناحیه مهار تشکیل شده توسط نانوماده CN- CO_2 دارای شعاعی به اندازه ۱۳ میلی‌متر و برای CN-air ۸ میلی‌متر بود. در اطراف دیسک بلانک مربوط به نمونه CN- N_2 ناحیه مهاری مشاهده نشد که این می‌تواند نشان‌دهنده خاصیت آنتی‌باکتریال محدود این نانوماده باشد. همچنین کنترل جنتامایسن دارای ناحیه مهاری به شعاع ۱۱ میلی‌متر بود.

در پژوهشی اشفاق و همکاران در سال ۲۰۲۳، با روش هیدروترمال نانومواد Bi_2WO_6 دوپ شده با C_3N_4/PVP با استفاده از غلظت‌های مختلف کربن نیتريد گرافیتی و مقدار مشخصی پلی وینیل پیرولیدون^۱ سنتز کردند، این ترکیب فعالیت ضدباکتریایی علیه *E. Coli* با منطقه بازدارنده ۴/۵۵ میلی‌متری را نشان داد (Ashfaq et al., 2023).



شکل ۷- ناحیه مهار به‌دست آمده توسط نانومواد سنتز شده و

آنتی‌بیوتیک جنتامایسن در مقابل باکتری *E. Coli*

Fig. 7. Zone of inhibition produced by synthesized nanomaterials and the antibiotic gentamicin against *E. Coli* bacteria

همچنین در پژوهشی دیگر، اکرم و همکاران در سال ۲۰۲۳ نانوذرات هیدروکسید باریوم $Ba(OH)_2$ دوپ شده با کیتوسان (CS) را با غلظت‌های مختلف کربن نیتريد گرافیتی سنتز کردند. این نانوماده ناحیه مهار ۷/۸۵ میلی‌متر علیه پاتوژن‌های *E. Coli* را نشان داد (Ikram et al., 2023).

نتایج آزمون دیسک دیفیوژن به وضوح نشان داد که نانوماده CN- CO_2 علی‌رغم سادگی روش سنتز و عدم وجود فلزات یا

¹ Polyvinylpyrrolidone (PVP)



References

- Ashfaq, M. H., Imran, M., Haider, A., Shahzadi, A., Mustajab, M., Ul-Hamid, A., et al. 2023. Antimicrobial potential and rhodamine B dye degradation using graphitic carbon nitride and polyvinylpyrrolidone doped bismuth tungstate supported with in silico molecular docking studies. *Scientific Reports*, 13, 17847. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-44799-9>.
- Balakrishnan, A. and Chinthala, M., 2022. Comprehensive review on advanced reusability of g-C₃N₄ based photocatalysts for the removal of organic pollutants. *Chemosphere*, 297, 134190. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134190>.
- Chen, Y., Wang, P., Liang, Y., Zhao, M., Jiang, Y., Wang, G., et al. 2019. Fabrication of a three-dimensional porous Z-scheme silver/silver bromide/graphitic carbon nitride@nitrogen-doped graphene aerogel with enhanced visible-light photocatalytic and antibacterial activities. *Journal of Colloid and Interface Science*, 536, 389-398. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.10.061>.
- Cheng, S., Miao, L., Xue, K., Bao, Z., Liang, J., Li, X., et al. 2023. Self-assembly synthesis of hollow phosphorus-doped graphitic carbon nitride microboxes for the photodegradation of organic pollutants. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 25, 31020-31027. <https://doi-org.access.semantak.com/10.1039/D3CP04262F>.
- Cimolai, N., 2021. Pharmacotherapy for Bordetella pertussis infection. I. A synthesis of laboratory sciences. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 57, 106258. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106258>.
- Cunha, F. A., Maia, K. R., Mallman, E. J. J., Cunha, M. D. C. D. S. O., Maciel, A. A. M., Souza, I. P. D., et al. 2016. Silver nanoparticles-disk diffusion test against *Escherichia coli* isolates. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 58, 73. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201658073>.
- Das, K. K., Patnaik, S., Mansingh, S., Behera, A., Mohanty, A., Acharya, C., et al. 2020. Enhanced photocatalytic activities of polypyrrole sensitized zinc ferrite/graphitic carbon nitride n-n heterojunction towards ciprofloxacin degradation, hydrogen evolution and antibacterial studies. *Journal of Colloid and Interface Science*, 561, 551-567. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.11.030>.
- Du, J., Zhang, N., Ma, S., Wang, G., Ma, C., Liu, G., et al. 2024. Visible light-driven C/O-g-C₃N₄ activating peroxydisulfate to effectively inactivate antibiotic resistant bacteria and inhibit the transformation of antibiotic resistance genes: insights on the mechanism. *Journal of Hazardous Materials*, 464, 132972. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132972>.
- Fang, L. J., Li, Y. H., Liu, P. F., Wang, D. P., Zeng, H. D., Wang, X. L., et al. 2017. Facile fabrication of large-aspect-ratio g-C₃N₄ nanosheets for enhanced photocatalytic hydrogen evolution. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 5(3), 2039-2043. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b02721>.
- Fonseca-Cervantes, O. R., Pérez-Larios, A., Romero Arellano, V. H., Sulbaran-Rangel, B. and Guzmán González, C. A., 2020. Effects in band gap for photocatalysis in TiO₂ support by adding gold and ruthenium. *Processes*, 8, 1032. <https://doi.org/10.3390/pr8091032>.
- Fu, J., Zhu, B., Jiang, C., Cheng, B., You, W. and Yu, J., 2017. Hierarchical porous O-doped g-C₃N₄ with enhanced photocatalytic CO₂ reduction activity. *Small*, 13, 1603938. <https://doi.org/10.1002/sml.201603938>.
- Gallagher, R. P. and Lee, T. K., 2006. Adverse effects of ultraviolet radiation: a brief review. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 92, 119-131. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2006.02.011>.
- Ikram, M., Haider, A., Naz, S., Bari, M. A., Haider, J., Ul-Hamid, A., et al. 2023. Chitosan and carbon nitride doped barium hydroxide nanoparticles served as dye degrader and bactericidal potential: a molecular docking study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 224, 938-949. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.10.179>.



- Joy, J., Anas, S. and Thomas, S., 2023. Chapter 1- Graphitic Carbon Nitride: an Uprising Carbonaceous Material. In: Thomas, S., Anas, S., Joy, J., (eds.) *Synthesis, Characterization, and Applications of Graphitic Carbon Nitride*. Elsevier. pp. 1-4. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823038-1.00001-5>.
- Kadoya, S. S., Nishimura, O., Kato, H. and Sano, D., 2021. Predictive water virology using regularized regression analyses for projecting virus inactivation efficiency in ozone disinfection. *Water Research X*, 11, 100093. <https://doi.org/10.1016/j.wroa.2021.100093>.
- Karbalaemorad, Y., Saadati, A. and Sheibani, S., 2024. Photocatalytic activity enhancement of g-C₃N₄ nanosheets through simultaneous inter- and intra-layer charge separation using a facile mechano-thermal method. *Materials Research Bulletin*, 173, 112687. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2024.112687>.
- Kargar, E. and Meshkini, A., 2024. Improved photocatalytic disinfection performance of graphitic carbon nitride through hybridization with humic acid /zinc peroxide: a synergistic generation of antimicrobial reactive oxygen species. *Journal of Photochemistry and Photobiology a: Chemistry*, 452, 115577. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2024.115577>.
- Khan, Q., Sayed, M., Khan, J. A., Rehman, F., Noreen, S., Sohni, S., et al. 2024. Advanced oxidation/reduction processes (AO/RPs) for wastewater treatment, current challenges, and future perspectives: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 31, 1863-1889. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-31181-5>.
- Li, C., Sun, Z., Zhang, W., Yu, C. and Zheng, S., 2018. Highly efficient g-C₃N₄/TiO₂/kaolinite composite with novel three-dimensional structure and enhanced visible light responding ability towards ciprofloxacin and S. aureus. *Applied Catalysis B: Environmental*, 220, 272-282. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2017.08.044>.
- Li, X., Chen, Y. and Tao, Y., 2022. Challenges of photocatalysis and their coping strategies. *Chem Catalysis*, 2, 1315-1345. <https://doi.org/10.1016/j.checat.2022.04.007>.
- Li, X., Hartley, G., Ward, A. J., Young, P. A., Masters, A. F. and Maschmeyer, T., 2015. Hydrogenated defects in graphitic carbon nitride nanosheets for improved photocatalytic hydrogen evolution. *The Journal of Physical Chemistry C*, 119, 14938-14946. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b03538>.
- Li, Y., Li, Y., Ma, S., Wang, P., Hou, Q., Han, J., et al. 2017. Efficient water disinfection with Ag₂WO₄-doped mesoporous g-C₃N₄ under visible light. *Journal of Hazardous Materials*, 338, 33-46. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.05.011>.
- Lin, L., Su, Z., Li, Y. and Zhang, C., 2021. Comparative performance and mechanism of bacterial inactivation induced by metal-free modified g-C₃N₄ under visible light: escherichia coli versus staphylococcus aureus. *Chemosphere*, 265, 129060. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129060>.
- Lin, T., Song, Z., Wu, Y., Chen, L., Wang, S., Fu, F., et al. 2018. Boron- and phenyl-codoped graphitic carbon nitride with greatly enhanced light responsive range for photocatalytic disinfection. *Journal of Hazardous Materials*, 358, 62-68. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.06.053>.
- Liu, C., He, D., Yang, H., Zhang, K., Zhou, X., Zhang, T., et al. 2023. Selective generation of H₂O₂ by cu-modified graphitic carbon nitride for rapid water disinfection via intracellular Fenton reaction. *Chemical Engineering Journal*, 477, 146835. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.146835>.
- Liu, Z., Cui, E., Wang, X. and Jin, Z., 2024. Energy band engineering over phosphorus-doped CdS/graphdiyne S-scheme heterojunction for enhance photocatalytic hydrogen production. *Chemical Engineering Journal*, 486, 150060. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.150060>.
- Mira, P., Yeh, P. and Hall, B. G., 2022. Estimating microbial population data from optical density. *PLoS One*, 17, e0276040. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276040>.



- Nasiri, A., Gharebagh, R. A., Nojoumi, S. A., Akbarizadeh, M., Harirchi, S., Arefnezhad, M., et al. 2016. Evaluation of the antimicrobial activity of silver nanoparticles on antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Basic Science in Medicine*, 1, 25-28. <https://dx.doi.org/10.15171/ijbsm.2016.06>.
- Ni, Y., Wang, M., Liu, L., Li, M., Hu, S., Lin, J., et al. 2022. Efficient and reusable photocatalytic river water disinfection by additive graphitic carbon nitride/magnesium oxide nano-onions with particular "nano-magnifying glass effect". *Journal of Hazardous Materials*, 439, 129533. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129533>.
- Padervand, M., Asgarpour, F., Akbari, A., Eftekhari Sis, B. and Lammel, G., 2019. Hexagonal core-shell SiO₂[-MOYI]Cl-]Ag nanoframeworks for efficient photodegradation of the environmental pollutants and pathogenic bacteria. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 29, 1314-1323. <https://doi.org/10.1007/s10904-019-01095-2>.
- Padervand, M., Ghasemi, S., Hajiahmadi, S., Rhimi, B., Nejad, Z. G., Karima, S., et al. 2022. Multifunctional Ag/AgCl/ZnTiO₃ structures as highly efficient photocatalysts for the removal of nitrophenols, CO₂ photoreduction, biomedical waste treatment, and bacteria inactivation. *Applied Catalysis A: General*, 643, 118794. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2022.118794>.
- Parasuraman, V., Sekar, P. P., Akter, S. M., Lee, W. R., Park, T. Y., Kim, C. G., et al. 2023. Improved photocatalytic disinfection of dual oxidation state (dos)-Ni/g-C₃N₄ under indoor daylight. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 434, 114262. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2022.114262>.
- Patnaik, S., Martha, S., Madras, G. and Parida, K., 2016. The effect of sulfate pre-treatment to improve the deposition of Au-nanoparticles in a gold-modified sulfated g-C₃N₄ plasmonic photocatalyst towards visible light induced water reduction reaction. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18, 28502-28514. <https://doi.org/10.1039/C6CP04262G>.
- Praus, P., Řeháčková, L., Čížek, J., Smýkalová, A., Koštejn, M., Pavlovský, J., et al. 2022. Synthesis of vacant graphitic carbon nitride in argon atmosphere and its utilization for photocatalytic hydrogen generation. *Scientific Reports*, 12, 13622. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17940-3>.
- Ramm, K. and Smol, M., 2024. The potential for water recovery from urban wastewater - the perspective of urban waste water treatment plant operators in Poland. *Journal of Environmental Management*, 358, 120890. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120890>.
- Rasool, K., Helal, M., Ali, A., Ren, C. E., Gogotsi, Y., and Mahmoud, K. A., 2016. Antibacterial Activity of Ti₃C₂T_x MXene. *ACS Nano*, 10, 3674-84. <https://dx.doi.org/10.1021/acs.nano.6b00181>.
- Sabariselvan, L., Okla, M. K., Brindha, B., Kokilavani, S., Abdel-Maksoud, M. A., El-Tayeb, M. A., et al. 2024. Interfacial coupling of CuFe₂O₄ induced hotspots over self-assembled g-C₃N₄ nanosheets as an efficient photocatalytic bacterial disinfectant. *Environmental Pollution*, 342, 123076. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.123076>.
- Shimizu, Y., Ateia, M., Wang, M., Awfa, D. and Yoshimura, C., 2019. Disinfection mechanism of *E. Coli* by CNT-TiO₂ composites: photocatalytic inactivation vs. physical separation. *Chemosphere*, 235, 1041-1049. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.07.006>.
- Song, T., Zhang, P., Wang, T., Ali, A. and Zeng, H., 2018. Alkali-assisted fabrication of holey carbon nitride nanosheet with tunable conjugated system for efficient visible-light-driven water splitting. *Applied Catalysis B: Environmental*, 224, 877-885. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2017.11.039>.



- Tabasum, S., Rani, S., Sharma, A., Dhupar, N., Singh, P. P., Bagri, U., et al. 2023. Efficient photocatalytic degradation of chlorpyrifos pesticide from aquatic agricultural waste using g-C₃N₄ decorated graphene oxide/V₂O₅ nanocomposite. *Topics in Catalysis*, 67(9), 725-736. <https://doi.org/10.1007/s11244-023-01865-w>.
- Wang, J., Fan, Q., Kou, L., Chen, H., Xing, X., Duan, W., et al. 2023. LED-driven sulfamethazine removal and bacterial disinfection by a novel photocatalytic textile impregnated with oxygen vacancy-rich BiO₂-x/g-C₃N₄ hybrid. *Chemical Engineering Journal*, 474, 145590. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.145590>.
- Wang, W., Yu, J. C., Xia, D., Wong, P. K. and Li, Y., 2013. Graphene and g-C₃N₄ nanosheets cowrapped elemental α -sulfur As a novel metal-free heterojunction photocatalyst for bacterial inactivation under visible-light. *Environmental Science and Technology*, 47, 8724-8732. <https://doi.org/10.1021/es4013504>.
- Wei, W., Luo, J., Liu, S., Zhou, Y. and Ma, J., 2022. Enhancing the photocatalytic performance of g-C₃N₄ by using iron single-atom doping for the reduction of U(VI) in aqueous solutions. *Journal of Solid State Chemistry*, 312, 123160. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2022.123160>.
- Wu, S., Madridejos, J. M. L., Lee, J. K., Lu, Y., Xu, R. and Zhang, Z., 2023. In situ quantitative single-molecule study of site-specific photocatalytic activity and dynamics on ultrathin g-C₃N₄ nanosheets. *Nanoscale*, 15, 3449-3460. <https://doi.org/10.1039/D2NR06077A>.
- Xu, J. and Ma, S., 2023. High-efficiency photocatalytic degradation of RhB by protonation of g-C₃N₄ with Ag-loaded TiO₂ nanofibers. *Journal of Crystal Growth*, 617, 127290. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2023.127290>.
- Xu, J., Wang, Y. and Zhu, Y., 2013. Nanoporous graphitic carbon nitride with enhanced photocatalytic performance. *Langmir*, 29, 10566-10572. <https://doi.org/10.1021/la402268u>.
- Xu, X., Wang, S., Yu, X., Dawa, J., Gui, D. and Tang, R., 2020. Biosynthesis of Ag deposited phosphorus and sulfur co-doped g-C₃N₄ with enhanced photocatalytic inactivation performance under visible light. *Applied Surface Science*, 501, 144245. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.144245>.
- Yan, H., Li, P., Jiang, X., Wang, X., Hu, Y., Zhang, Y., et al. 2022. Preparation of graphene oxide/polydopamine-curcumin composite nanomaterials and its antibacterial effect against Staphylococcus aureus induced by white light. *Biomaterials Advances*, 139, 213040. <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2022.213040>.
- Yang, X., Sun, J., Sheng, L., Wang, Z., Ye, Y., Zheng, J., et al. 2023. Carbon dots cooperatively modulating photocatalytic performance and surface charge of O-doped g-C₃N₄ for efficient water disinfection. *Journal of Colloid and Interface Science*, 631, 25-34. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2022.11.002>.
- Zhang, J., Xu, W., Kong, L., Hull, V., Xiao, Y., Xiao, Y., et al. 2018. Strengthening protected areas for giant panda habitat and ecosystem services. *Biological Conservation*, 227, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2018.08.016>.
- Zhang, X., Wu, X., Zhang, J., Xu, H. and Yu, X., 2024. Recent progress in graphitic carbon nitride-based materials for antibacterial applications: synthesis, mechanistic insights, and utilization. *Microstructures*, 4, 2024017. <https://doi.org/10.20517/microstructures.2023.77>.
- Zhang, X., Zhao, X., Li, H., Hao, X., Xu, J., Tian, J., et al. 2023. Corrigendum: detection methods of nanoparticles synthesized by gas-phase method: a review. *Frontiers in Chemistry*, 11. <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1351829>.
- Zheng, X., Shen, Z. P., Cheng, C., Shi, L., Cheng, R. and Yuan, D. H., 2018. Photocatalytic disinfection performance in virus and virus/bacteria system by Cu-TiO₂ nanofibers under visible light. *Environmental Pollution*, 237, 452-459. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.074>.



- Zhong, K. Q., Xie, D. H., Liu, Y. J., Guo, P. C. and Sheng, G. P., 2023. Modulation of ultrathin nanosheet structure and nitrogen defects in graphitic carbon nitride for efficient photocatalytic bacterial inactivation. *Water Research X*, 20, 100193. <https://doi.org/10.1016/j.wroa.2023.100193>.
- Zhou, Y., Zhang, L., Huang, W., Kong, Q., Fan, X., Wang, M., et al. 2016. N-doped graphitic carbon-incorporated g-C₃N₄ for remarkably enhanced photocatalytic H₂ evolution under visible light. *Carbon*, 99, 111-117. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2015.12.008>.