

سننتز و بررسی خواص آنتی باکتریال نانوکامپوزیت  $G-Fe_3O_4$ نیامدی محمودآبادی، عاطفه<sup>\*</sup>، کمپانی، احمد<sup>۲</sup>، مشرقی، منصور<sup>۳</sup>.

۱) و ۲- آزمایشگاه مواد و الکتروسرامیک، گروه فیزیک، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- آزمایشگاه میکروبیولوژی گروه زیست شناسی، دانشگاه فردوسی مشهد

## خلاصه

نانوکامپوزیت مغناطیسی گرافن -  $Fe_3O_4$  ( $G-Fe_3O_4$ ) و نانوذرات  $Fe_3O_4$  به روش سولوترمال (solvothermal) سنتز شد. ساختار نمونه ها توسط روش های پراش پرتو ایکس (XRD) و تبدیل فوریه فرسرخ (FTIR) مورد بررسی قرار گرفتند. طیف XRD بدست آمده به خوبی نشان می دهد که ساختار نانو کامپوزیت ( $G-Fe_3O_4$ ) و نانو ذرات  $Fe_3O_4$  تشکیل شده است. با استفاده از رابطه ی دبای شرر متوسط اندازه ی بلورک های  $Fe_3O_4$  در نانو کامپوزیت در حدود 31 نانومتر و متوسط اندازه ی نانو بلورک های نانو ذرات  $Fe_3O_4$  در 17 نانومتر بدست آمد. طیف FTIR مربوط به نانو کامپوزیت حضور پیوند های O-H, C-O و Fe-O در نانو کامپوزیت  $G-Fe_3O_4$  را تایید می کند. خاصیت آنتی باکتریال هر دو نمونه  $G-Fe_3O_4$  و  $Fe_3O_4$  بر علیه باکتری E.Coli با رسم نمودار رشد باکتری و استفاده از روش Microdilution مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که خاصیت ضد باکتری نانو کامپوزیت  $G-Fe_3O_4$  در مقایسه با نانوذرات  $Fe_3O_4$  به صورت چشمگیری بهتر است. تصاویر TEM نشان می دهد که ذرات  $Fe_3O_4$  شکل تقریباً کروی داشته و اندازه متوسط آنها در حدود 50 nm می باشد.

کلمات کلیدی: نانو کامپوزیت،  $G-Fe_3O_4$ ، گرافن، خاصیت ضد باکتری، نانو ذرات  $Fe_3O_4$

## ۱. مقدمه

گرافن، لایه ی دو بعدی از اتم های کربن در یک ساختار شش گوشه است که در آن اتم های کربن با هیبرید  $SP^2$  به هم متصل شده اند. امروزه گرافن در زمینه های مختلف کاربرد فراوانی پیدا کرده است. قابلیت های گرافن بیشتر به خاطر تحرک پذیری حامل های بار، بالا بودن سطح قابل دسترس، ساختار انعطاف پذیر، خاصیت گذردهی بالا و رسانایی گرمایی و الکتریکی مناسب آن است. بعلاوه گرافن می تواند به راحتی با قرار گرفتن گروه های اکسیژن دار بر روی سطح خود عامل دار شود. نانو کامپوزیت های گرافن و اکسید های فلزی می توانند در زمینه های مختلفی از جمله ساخت باتری های لیتیومی و به عنوان ماده ی ضد میکروب در تصفیه ی آب مورد استفاده قرار گیرند. با قراردادن بعضی از اکسید های فلزی و نیم رسانا بر روی سطح گرافن می توان برخی از خواص آن از قبیل خاصیت فوتوکاتالیستی و ضد میکروبی را بهبود بخشید. [1,2]

\*

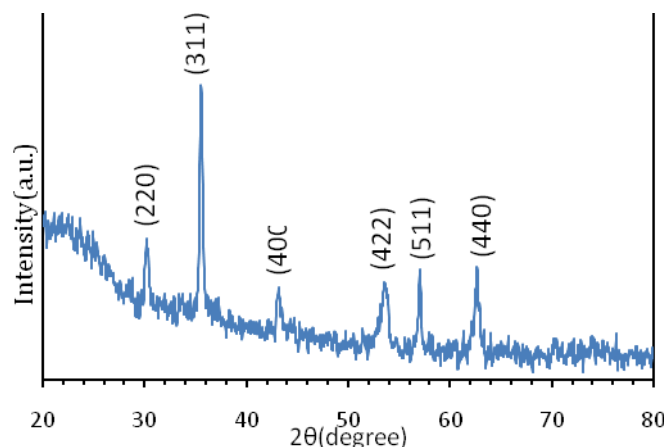
Email: anm.teh2010@gmail.com

## ۲. بخش تجربی و سنتز

در این تحقیق، گرافن به روش هومر اصلاح شده (modified hummer) با استفاده از ماده‌ی اولیه گرافیت در آزمایشگاه مواد و الکتروسرامیک گروه فیزیک دانشکده علوم دانشگاه فردوسی سنتز شد. سپس با استفاده از اکسید گرافن سنتز شده، پیش ماده آهن III استیل استونات  $[\text{Fe}(\text{aca})_3]$  و استات آمونیوم  $[\text{NH}_4\text{Ac}]$ ، نانوکامپوزیت  $\text{G-Fe}_3\text{O}_4$  به روش سولوترمال سنتز شد. برای مقایسه خواص و ساختار نانوکامپوزیت تهیه شده، نانوذرات  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  را نیز به روش سولوترمال و با استفاده از پیش ماده آهن III استیل استونات  $[\text{Fe}(\text{aca})_3]$ ،  $\text{PVP}$  [Polyvinylpolymer] و اتیلن گلیکول سنتز شد. [3] برای مشخصه‌یابی نانوکامپوزیت سنتز شده روش‌های پراش پرتو ایکس (XRD)، طیف سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) به کار گرفته شد.

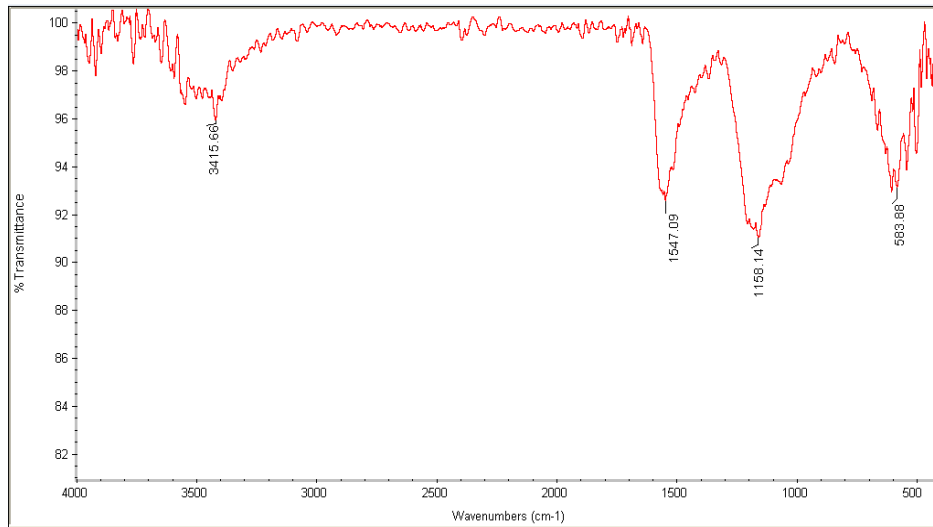
## ۳. آنالیزها

طیف XRD نمونه نانوکامپوزیت  $\text{G-Fe}_3\text{O}_4$  در شکل ۱ نشان داده شده است.



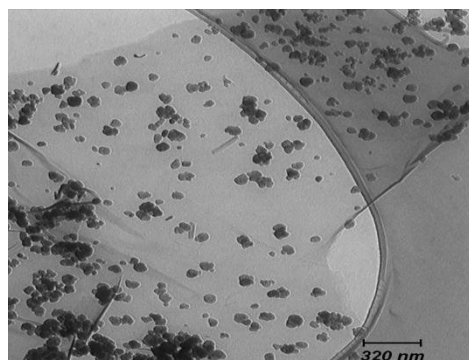
شکل ۱ - طیف XRD نانوکامپوزیت  $\text{G-Fe}_3\text{O}_4$

همان‌طور که در این شکل مشخص است قله‌های مشخصی در  $2\theta$  درجه ۶۲/۶، ۵۶/۹، ۵۳/۴۳، ۵/۲، ۳۵/۶، ۳۰/۲، (۲۲۰)، (۳۱۱)، (۴۰۰)، (۴۲۴)، (۵۱۱) و (۴۴۰) در ساختار  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  وجود دارد. بلوری  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  در نانوکامپوزیت  $\text{G-Fe}_3\text{O}_4$  را تایید می‌کند. قله‌ی  $2\theta = 25^\circ$  درجه نیز مربوط به حضور گرافن در نانوکامپوزیت  $\text{G-Fe}_3\text{O}_4$  است.



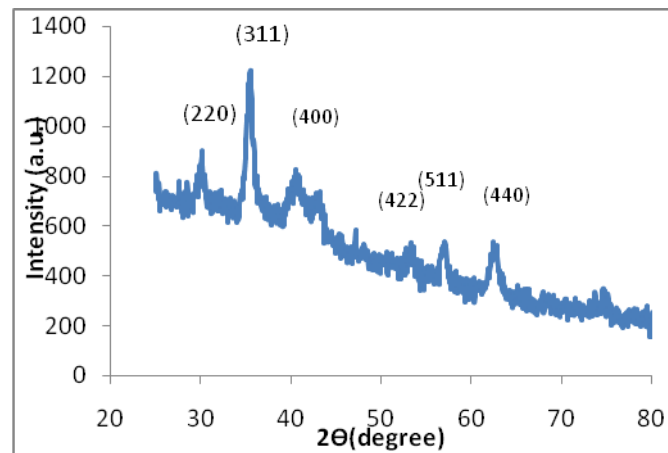
شکل ۲ - طیف FTIR نانوکامپوزیت G-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

همان‌طور که در طیف FTIR (شکل ۲) دیده می‌شود، قله‌های قبل از دره‌ی (۵۸۳ cm<sup>-1</sup>) نشان‌دهنده پیوند Fe-O و حضور Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> در ساختار می‌باشد. همچنین قله‌های ناشی از وجود GO (۷۵۰ تا ۱۷۵۰ cm<sup>-1</sup>) قابل مشاهده است که بخش اکسیژن‌دار پیوند های C-O و C=O و C-OH موجود در GO را نشان می‌دهد. تصویر TEM نانوکامپوزیت G-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (شکل ۳) به خوبی نشان می‌دهد که نانوذرات Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> با اندازه‌ی میانگین در حدود ۵۰ نانومتر با توزیع مناسبی روی صفحات گرافن نشانده شده‌اند.



شکل ۳ - تصویر TEM نانوکامپوزیت  $G-Fe_3O_4$

در شکل ۴ طیف XRD نانوذرات  $Fe_3O_4$  نشان داده شده است.



شکل ۴ - طیف XRD نانوذرات  $Fe_3O_4$

#### ۴. محاسبات

اندازه بلورک های  $Fe_3O_4$  موجود در نانو کامپوزیت  $G-Fe_3O_4$  استفاده از طیف XRD نانو کامپوزیت و فرمول دبای شرر تخمین زده شد. زوایای مربوط به قله ها و همچنین پهنای نیم ارتفاع آن ها در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- مقادیر بدست آمده از طیف XRD

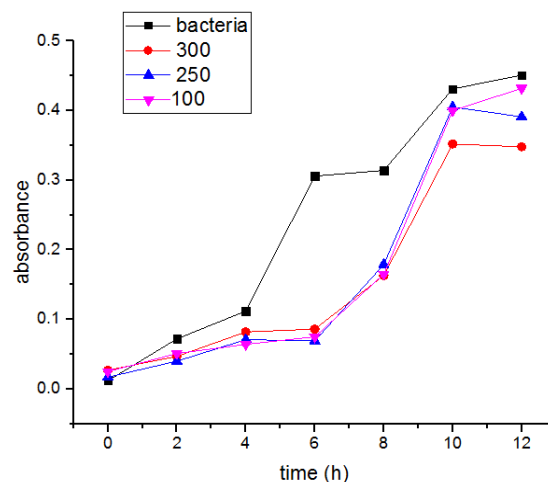
$2\theta$ (°)	$\cos\theta$	$\beta$ (°)	D(nm)
۳۰.۲	۰.۹۶	۰.۴	۲۰.۲
۳۵.۶	۰.۹۵	۰.۳	۲۷.۸
۴۳.۲	۰.۹۲	۰.۴	۲۱.۸
۵۳.۵	۰.۸۹	۰.۵	۱۷.۸
۵۶.۹	۰.۸۷	۰.۳	۳۰.۴
۶۲.۶	۰.۸۵	۰.۲	۴۶.۷

$$D = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (1)$$

در رابطه ی بالا (دبای شرر)  $D$ ،  $\lambda$ ،  $\theta$ ،  $\beta$  به ترتیب اندازه بلورک ها، طول موج پرتوایکس تابشی  $\text{Cu-K}\alpha$  ( $\lambda=0.154$  nm) و پهنا در نیم ارتفاع (برجسب رادیان) می باشد.  $K=0.9$  ثابتی است که به مورفولوژی بلورک ها وابسته است. اندازه ی متوسط بلورک ها با استفاده از این رابطه در حدود ۳۱ نانومتر بدست آمد. اندازه ی نانوذرات  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  نیز با استفاده از طیف XRD نانوذرات (شکل ۴) و فرمول دبای شرر در حدود ۱۷ نانومتر بدست آمد.

### ۵. بررسی خاصیت آنتی باکتریال

جهت بررسی خاصیت ضدباکتری نانوذرات  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  از نمودار رشد باکتری *E. Coli* در حضور نانوذرات استفاده شد. برای رسم این نمودار ابتدا نانو ذرات را در ۹ میلی لیتر محیط کشت مولر هینتون باغلظت های ۳۰۰، ۲۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ تهیه و سپس باکتری *E. Coli* با غلظت  $1 \times 10^8$  CFU/ml (نیم مک فارلند) به محلول ها اضافه گردید و سپس در انکوباتور شیکر در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد و دور ۲۰۰ rpm قرار داده شد. در زمان های ۰، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲ ساعت جذب محلول ها با غلظت های مختلف توسط دستگاه طیف ستج S2100 UV در طول موج ۶۰۰ nm اندازه گیری و میزان جلوگیری از رشد باکتری توسط نانوذره تعیین گردید، که نتایج آن در شکل ۵ قابل مشاهده است.



شکل ۵- نمودار رشد باکتری اشرشیا کلی در حضور غلظت های مختلف نانوذره  $\text{Fe}_3\text{O}_4$

همان طور که در شکل ۵ مشخص است محلول باکتری، در حضور نانوذره  $Fe_3O_4$ ، میزان جذب (کدورت) کمتر داشته که کاهش رشد باکتری را نشان می‌دهد. با توجه به غلظت‌های مختلف  $Fe_3O_4$  ملاحظه می‌شود که در غلظت ۳۰۰ ppm کاهش رشد باکتری بیشتر بوده و لذا MIC (minimum inhibitory concentration) یا همان کمترین غلظت جلوگیری از رشد باکتری  $E. Coli$  توسط نانوذره  $Fe_3O_4$  مقدار ۳۰۰ ppm تعیین گردید. میزان جلوگیری از رشد باکتری توسط نانوکامپوزیت  $G-Fe_3O_4$  نیز به همین روش (Microdilution) مشخص شد. در این روش غلظت‌های مختلف ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ را در حلال ۵۰ درصد آب دیونیزه و ۵۰ درصد گلیسرول حل و استریل نموده و سپس در پلیت ۹۶ خانه ای الیزا تقسیم گردید. در مرحله بعد، باکتری با غلظت  $1 \times 10^8$  CFU/ml (نیم مک فارلند) رابه محلول نانوکامپوزیت اضافه و سپس در انکباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از ۱۲ و ۲۴ ساعت میزان جذب محلول باکتری و نانوکامپوزیت با غلظت‌های مختلف توسط دستگاه ELISA Reader Stat-Fax اندازه گیری شد. داده‌های حاصل از میزان جذب اندازه گیری شده توسط دستگاه ELISA Reader Stat-Fax نشان دهنده ی میزان جذب (کدورت) کمتر محلول در غلظت ۱۵۰ ppm از نانوکامپوزیت  $G-Fe_3O_4$  است و لذا چنین نتیجه شد که در غلظت ۱۵۰ ppm کاهش رشد باکتری بیشتر بوده و MIC یا همان کمترین غلظت جلوگیری از رشد باکتری  $E. Coli$  توسط نانوکامپوزیت  $G-Fe_3O_4$  مقدار ۱۵۰ ppm مشخص شد.

برای بررسی میزان حذف باکتری  $E. Coli$  توسط نانوکامپوزیت  $G-Fe_3O_4$  و مقایسه با نانوذرات  $Fe_3O_4$  از روش CFU (Colony Forming Unit) نیز استفاده شد. بدین منظور باکتری  $E. Coli$  با غلظت  $1 \times 10^8$  CFU/ml (نیم مک فارلند) در ۲ ارلن تهیه کرده و به یکی از آنها مقداری از نمونه نانوکامپوزیت  $G-Fe_3O_4$  با غلظت ۳۰۰ ppm اضافه شد. واز محلول موجود در هر دو ارلن چند قطره به داخل پلیت‌های جامد مخصوص کشت باکتری ریخته و در انکباتور ۳۷ قرار داده شد.

پس از ۲۴ ساعت میزان رشد باکتری در ۲ پلیت با یکدیگر مقایسه گردید. بدین صورت که تعداد کلونی‌های باکتری در پلیت‌های حاوی نانوذره و بدون نانوذره شمرده شد و از رابطه ی زیر بازده حذف باکتری توسط نانوکامپوزیت  $G-Fe_3O_4$  محاسبه گردید.

$$\text{Removal efficiency}(\%) = \frac{CFU_0 - CFU_t}{CFU_0} * 100 \% \quad (2)$$

که در آن  $CFU_0$  تعداد کلونی‌های باکتری در پلیت بدون نانوذره و  $CFU_t$  تعداد کلونی‌های باکتری در پلیت حاوی نانوذره است.

$$\text{Removal efficiency}(\%) = \frac{23 \times 10^3 - 1.5 \times 10^3}{23 \times 10^3} * 100(\%) = 93.48\%$$

برای مقایسه، برای نانوذرات  $Fe_3O_4$  نیز به همین صورت از روش CFU استفاده شد و بازده حذف باکتری توسط نانوذرات  $Fe_3O_4$  محاسبه گردید.

$$\text{Removal efficiency}(\%) = \frac{53 \times 10^3 - 25 \times 10^3}{53 \times 10^3} * 100(\%) = 52.56\%$$

ملاحظه می شود که میزان حذف باکتری توسط نانوکامپوزیت  $G-Fe_3O_4$  در مقایسه با نانوذرات  $Fe_3O_4$  بیشتر می باشد.

## ۶. نتیجه گیری

در این تحقیق، نانوکامپوزیت  $G-Fe_3O_4$  و نانوذرات  $Fe_3O_4$  با روش سولوترمال سنتز شده و ساختار آنها با استفاده از مشخصه یابی های  $FTIR$ ،  $XRD$  و  $TEM$  بررسی شدند. اندازه بلورک های  $Fe_3O_4$  در نانوکامپوزیت  $G-Fe_3O_4$  و نانوذرات  $Fe_3O_4$  نیز با استفاده از طیف  $XRD$  به ترتیب در حدود ۳۱ و ۱۷ نانومتر بدست آمد. اندازه ی متوسط نانوذرات  $Fe_3O_4$  در کامپوزیت با استفاده از عکس های  $TEM$  ۵۰ نانومتر بدست آمد. همچنین خاصیت آنتی باکتریال نانوکامپوزیت  $G-Fe_3O_4$  و نانوذرات  $Fe_3O_4$  به روش های  $Microdilution$  و  $Colony Forming Unit$  اندازه گیری و مورد مقایسه قرار گرفت که نشان دهنده ی بهبود خاصیت آنتی باکتریال نانوکامپوزیت  $G-Fe_3O_4$  نسبت به نانوذرات  $Fe_3O_4$  می باشد.

## ۷. مراجع

1. Sihui Zhan ,Dandan Zhu, S huanglong Ma , Yanan Jia, Hongbing Yu, Zhiqiang Shen , Wenchao Yu (2015), "Highly efficient removal of pathogenic bacteria with magnetic graphene composite", American Chemical society, 7, pp 4290- 4298.
2. Teo Peik-See ,Alagarsamy Pandi Kumar, Hong Ngee ,Huang Nay Ming and Chia Chin Hua (2014), "Magnetically Separable reduced graphene oxide/iron oxide nanocomposite materials for environment remediation ," Royal Society of Chemistry, 44396
3. Liang Xiaojuan ,Ji Guoyuan ,Zhang Liping ,Yang Yuxiang and Liu Xiangnong (2011) , " Synthesis and properties of  $Fe_3O_4$  Nanoparticles by solvothermal Method Using Iron (III) Acetylacetonate," Glass Physics and Chemistry 37, 4 , pp 459- 465