

## بررسی خواص باکتری کشی آلیاژ نانوکریستالی مس - قلع تولید شده از مواد اولیه اکسیدی و فلزی به روش آلیاژسازی مکانیکی

محمد رضایت<sup>۱</sup>، محمد تلافی نوغانی<sup>۲\*</sup>، مرتضی ثقفی یزدی<sup>۲</sup>، رضا احمدی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی مواد و متالورژی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

<sup>۲</sup> استادیار گروه مواد و متالورژی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

\* noghani@eng.ikiu.ac.ir

### اطلاعات مقاله:

دریافت: ۱۷ شهریور ۱۳۹۷

پذیرش: ۶ آذر ۱۳۹۷

### چکیده:

هدف از انجام این پژوهش تولید آلیاژ مس-قلع به روش آلیاژسازی مکانیکی و بهبود حد حلالیت مس و قلع و در نهایت بررسی خاصیت ضدباکتری آلیاژ تولید شده می‌باشد. تولید این آلیاژ بوسیله آسیاب سیاره‌ای و گلوله‌هایی از جنس آلیاژهای نیکل - کروم (۸۰ درصد نیکل و ۲۰ درصد کروم) با ۳۵ و ۵۰ و ۸۳ درصد مس انجام شده و خاصیت باکتری کشی توسط دستگاه آزمون چگالی نوری بررسی شد. نتایج نشانگر این بود که با استفاده از روش آلیاژسازی مکانیکی حد حلالیت از ۱۱ درصد به ۲۲ درصد افزایش می‌یابد و افزایش درصد مس در آلیاژ تولید شده خاصیت ضدباکتری آلیاژ تولید شده را افزایش می‌دهد.

### کلید واژه:

آسیابکاری مکانیکی، آلیاژ مس-قلع، نانوکریستالی

### ۱- مقدمه

امروزه آلیاژسازی مکانیکی به روشی متداول جهت ساخت گستره وسیعی از نانوذرات تبدیل شده است. از جمله مزایای این روش می‌توان به سهولت فرآیند تولید، همراه با تعداد پایین مراحل عملیاتی، عدم استفاده از مواد پایدار کننده و حلال‌های گران‌قیمت، امکان تولید مقدار زیاد محصول و رعایت مسائل زیست محیطی به علاوه اینکه با استفاده از این روش حد حلالیت نسبت به روش ریختگی تا دو برابر افزایش می‌یابد، اشاره نمود [۱]. این ویژگی‌ها باعث شده تا

آلیاژسازی مکانیکی به عنوان روشی ممتاز مورد توجه قرار گیرد. تحقیقات و مطالعات بسیاری همواره جهت تولید مواد با خواص و کارایی مطلوب‌تر در حال انجام است. به همین دلیل تقاضای روزافزون، جهت دستیابی به مواد سبک‌تر، مستحکم‌تر، سخت‌تر و دارای خواص ویژه در دمای بالاتر؛ منجر به ارائه و طراحی موادی با قابلیت‌های ویژه شده است. در این بین فرآیند آلیاژسازی مکانیکی، که یکی از روش‌های تولید مواد پیشرفته می‌باشد، توجه تعداد زیادی از محققین را به خود جلب نموده است. آلیاژسازی مکانیکی یکی از روش‌های فرآوری است که امکان تولید مواد همگن



از مخلوط پودری اولیه را فراهم می‌کند. در سال ۱۹۶۶ جان بنجامینو همکارانش در آزمایشگاه تحقیقاتی پائول دی مریکادر کمپانی بین المللی نیکل<sup>۱</sup> این فرآیند را معرفی نمودند. این روش نتیجه تحقیقات طولانی مدتی بود که به منظور تولید سوپر آلیاژ پایه نیکل مورد استفاده در توربین گازی انجام می‌گرفت [۲].

عملیات آسیاکاری به عنوان فرآیند مقدماتی آلیاژسازی مکانیکی به شکستن و خردایش مواد درشت به ابعاد ریز اطلاق می‌شود. بیش از چهار دهه است که از آسیای گلوله‌ای به عنوان روشی استاندارد به منظور کاهش ابعاد ذرات در زمینه‌های کانه‌آرایی و متالورژی پودر استفاده شده است. این در حالی است که امروزه از روش آسیاکاری جهت اهداف مهم‌تری یعنی تهیه مواد با خواص فیزیکی و مکانیکی مطلوب‌تر و در واقع مواد جدید مهندسی استفاده می‌شود. بر همین اساس عبارت آلیاژسازی مکانیکی روز به روز در متالورژی و علم مواد رایج‌تر شده است. به طور کلی آلیاژسازی مکانیکی نوعی فرآیند آسیاکاری است که در آن مخلوط پودری تحت تاثیر برخوردهای پرنرژی بین اجزای آسیا (گلوله‌ها و محفظه) قرار می‌گیرد. این فرآیند به طور معمول در اتمسفر خنثی انجام شده و برای تهیه پودرهای فلزی و سرامیکی در حالت جامد استفاده می‌شود. جوش سرد و شکست دو پدیده عمده در آلیاژسازی مکانیکی هستند. فرآیند آلیاژسازی تنها تا زمانی ادامه می‌یابد که نرخ جوش خوردن با شکست در تعادل باشد. از آنجا که این فرآیند در حالت جامد انجام می‌شود، امکان تولید آلیاژهای جدید از مخلوط مواد اولیه با نقطه ذوب پایین و بالا را

فراهم نموده است. هر چند که معمولاً مواد اولیه مورد استفاده در آلیاژسازی مکانیکی بایستی حداقل دارای یک جزء فلزی نرم به عنوان زمینه و یا عامل پیوند دهنده سایر اجزاء با یکدیگر باشد، اما بسیاری از بررسی‌ها نشان داده است که قابلیت تشکیل محلول جامد از فلزات ترد و همچنین ترکیبات بین‌فلزی و آلیاژهای غیر بلوری با آلیاژسازی مکانیکی وجود دارد [۱، ۲]. سوپر آلیاژهای سخت شده با ذرات اکسیدی پایه نیکل و ترکیبات بین فلزی مورد استفاده در کاربرد های دما بالا از قبیل Ni-Al و Ti-Al از مهمترین مواد صنعتی تولید شده به این روش است [۳].

از جمله سایر کاربردهای مهم این روش تهیه آلیاژهای جدیدی است که بر اساس دیگرام تعادلی در یکدیگر انحلال ناپذیر بوده و یا حد حلالیت پایینی دارند و نیاز به روش‌های غیر تعادلی جهت تولید آلیاژ از جمله روش آلیاژ سازی مکانیکی است. در حقیقت با استفاده از آسیاکاری مکانیکی می‌توان حد حلالیت را در آلیاژ مس-قلع افزایش داد. تولید آلیاژ مس-قلع به روش ریختگی می‌تواند بعنوان یک روش مقرون به صرفه ارایه شود، ولی هرگز نمی‌توان با این روش اقدام به تولید آلیاژی با ساختار نانو کریستالی نمود و تولید این آلیاژ مستلزم استفاده از روش آلیاژسازی مکانیکی است. هنگام تولید آلیاژ به کمک روش ریختگی حد حلالیت قلع در مس از ۱۰ درصد تجاوز نمی‌کند که با استفاده از روش آلیاژسازی مکانیکی این مقدار به حدود ۲۲ درصد افزایش خواهد یافت. با استفاده از پارامترهای اصلی فرایند آسیاکاری مکانیکی از قبیل سرعت، زمان و دمای آسیاکاری، نسبت گلوله به پودر و بهبود این پارامترها

<sup>1</sup> INCO= International Nickel Company



احیا به دست آمد. ترتیب همین مراحل برای آلیاژهایی با ۳۵ و ۵۰ و ۸۳ درصد مس انجام شد که در تمام این آلیاژها نیاز به عملیات حرارتی در کوره تیوبی بود. پس از عملیات حرارتی از نمونه‌ها آزمون پراش پرتوی ایکس و تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی (SEM) صورت گرفت سپس آزمون ضدباکتری چگالی نوری انجام شد که نتایج آن گزارش شده است.



ب- آسیاکاری پودرهای فلزی مس و قلع

پودرهای مس و قلع فلزی با خلوص ۹۹/۹۹ درصد تهیه شدند و آسیاکاری در محفظه‌ای از جنس فولاد سخت پر کروم با سرعت آسیاکاری ۱۲۰ دور در دقیقه و در مدت زمان‌های ۱۰ دقیقه و ۲ و ۵ و ۱۰ و ۱۵ و ۳۰ ساعت انجام شد سپس از نمونه‌های تولید شده آزمون پراش پرتوی ایکس به عمل آمد که نتایج آن گزارش شد. و نتایج با نمونه‌های تولید شده با پیش ماده اکسیدی مورد مقایسه قرار گرفت.

ج- بررسی خواص ضدباکتری

برای بررسی خواص ضدباکتری نانو ذره اکسید مس-قلع از باکتری گرم منفی، E-coli در آزمون شمارش کلی و روش چگالی نوری استفاده شده و مقایسه خاصیت باکتری کشی در غلظت‌های مختلف نانو ذره صورت گرفت. برای تهیه محیط کشت باکتری از محیط LB آگار (متشکل از تریپتون ۱۵ گرم بر لیتر، کلرید سدیم ۳ گرم بر لیتر، عصاره مخمر ۳ گرم بر لیتر و آگار ۲۵ گرم بر لیتر می‌باشد) استفاده شده است [۹]. این باکتری در محیط LB آگار کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۳ ساعت بر روی

می‌توان از این روش یک روش مقرون به صرفه با تولید پودر آلیاژی در حجم بالا ابداع کرد [۴، ۵، ۶].

از جمله خاصیت‌های مطلوب دیگر آلیاژ مس-قلع می‌توان به خاصیت ضد باکتری<sup>۱</sup> اشاره نمود [۷]. این خاصیت سبب شده که این آلیاژ کاربردهای فراوانی در علوم بخصوص علم پزشکی ایفا نماید. برای بررسی خاصیت باکتری کشی آزمون‌های فراوانی وجود دارد که مهمترین آن‌ها آزمون چگالی نوری<sup>۲</sup> می‌باشد [۸]. با انجام این آزمون‌ها می‌توان به قدرت باکتری کشی ماده تولید شده پی برد.

## ۲- فعالیت‌های تجربی

الف- آسیاکاری پودرهای اکسیدی به همراه گرافیت و سپس عملیات حرارتی

پودرهای اکسید مس و اکسید قلع با احیا کننده گرافیت بانسبت مشخص (واکنش ۱) مخلوط شدند. سرعت آسیاکاری ۱۲۰rpm با نسبت پودر به گلوله ۲۰ به ۱ و محفظه و ساچمه‌هایی از جنس آلیاژ کروم نیکل در نظر گرفته شد. مدت زمان آسیاکاری ۱۰ دقیقه و ۲ و ۵ و ۱۰ و ۱۵ و ۳۰ ساعت انتخاب شد تا بصورت کامل تغییرات مشاهده گردد. همچنین برای جلوگیری از اکسیداسیون ذرات پودر، عملیات آسیاکاری در اتمسفر گاز آرگون با خلوص ۹۹/۹۹ درصد انجام شد. در تمامی آزمایش‌ها پرتو ایکس  $\text{Cu } k\alpha$  تکفام با طول موج ۱/۵۴ انگستروم استفاده شد. پس از ۳۰ ساعت آسیاکاری مشاهده شد که احیا صورت نگرفته است به همین خاطر با استفاده از آنالیز تجزیه و تحلیل دیفرانسیل حرارتی (DTA) مقدار درجه حرارت برای عملیات حرارتی

<sup>1</sup> Anti-Bacterial

<sup>2</sup> Optical Density

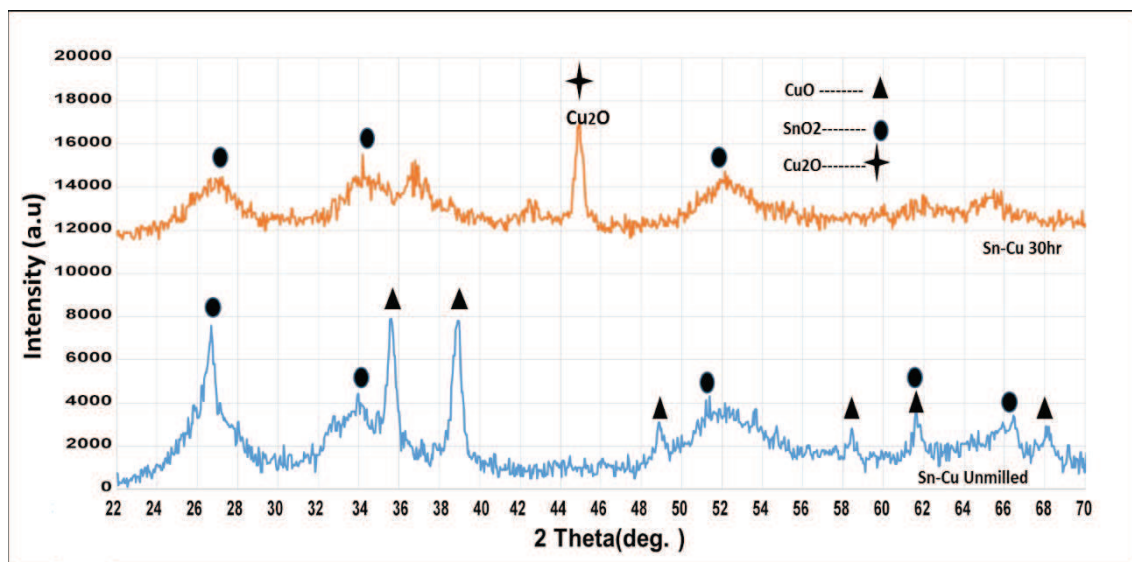


نمی‌باشد. آسیاکاری در زمان‌های بالاتر در دمای محیط منجر به عملیات احیا نمی‌شود. لذا با استفاده از آنالیز تجزیه و تحلیل دیفرانسیل حرارت (DTA) شکل ۳ و شکل ۴ در زمان‌های مختلف مشاهده می‌شود که پیک‌های حاصله جا به جا شده و در نمونه ۱۰ ساعت به سمت پایین یعنی کاهش وزن پودر حرکت می‌کنند که از این تغییر می‌توان به دمای احیای پودر پی برد و با بررسی تحلیل ترمودینامیکی واکنش‌ها، مخلوط پودری در دماهای بالاتر از دمای محیط احیا شده و منجر به تولید آلیاژ مس-قلع نانوساختار می‌شود. شکل ۱ مقایسه الگوی پرتو ایکس نمونه آسیاکاری نشده با نمونه ۳۰ ساعت آسیاکاری شده است که بیانگر عدم تشکیل فاز  $\text{CuO}$  و  $\text{SnO}_2$  می‌باشد و به وضوح گواه بر این است که دستیابی به این دو ترکیب نیازمند اعمال عملیات حرارتی می‌باشد.

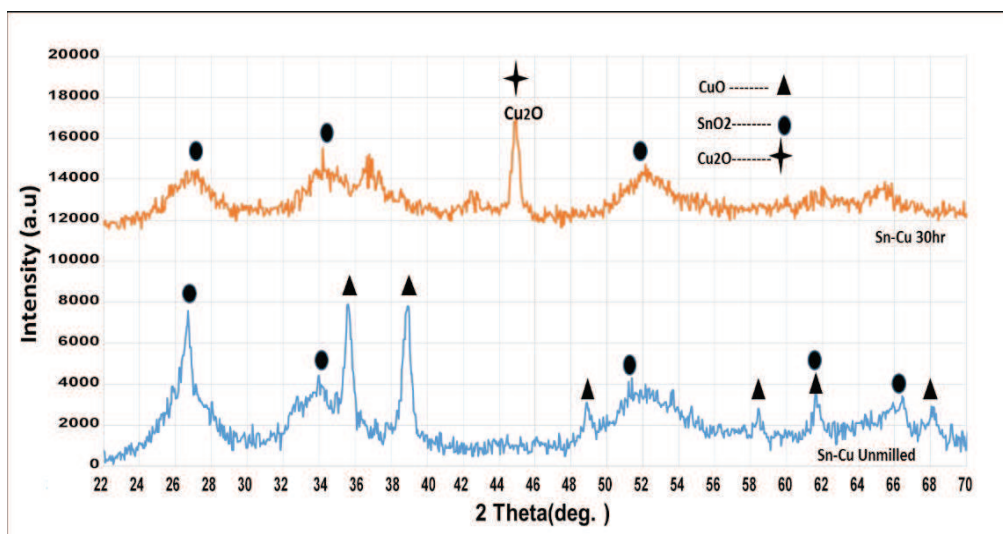
شیکر انکوباتور قرار گرفت. سپس باکتری در پلیت مخصوص، رشد داده شد و نانوذرات مس-قلع با غلظت‌های مختلف به محیط کشت اضافه شدند و با نمونه شاهد فاقد ماده ضد باکتری مقایسه صورت گرفت و نتایج به صورت نمودار و تصاویر گزارش شد.

### ۳- نتایج و بحث

نتایج حاصل از الگوهای آنالیز پراش پرتو ایکس، بر روی پودرهای تولید شده در زمان‌های ۱۰ دقیقه و ۳۰ ساعت آسیاکاری در شکل‌ها ۱ و ۲ نشان داده شده‌اند. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش زمان آسیاکاری شدت پیک‌های  $\text{CuO}$  و  $\text{SnO}_2$  کاهش یافته که دلیل آن کاهش اندازه‌ی دانه و افزایش کرنش شبکه ناشی از ایجاد نابجایی‌ها در شبکه کریستالی ذرات است و همچنین فاز جدید  $\text{Cu}_2\text{O}$  تشکیل گردیده است که این ترکیب جدید مطلوب نظر



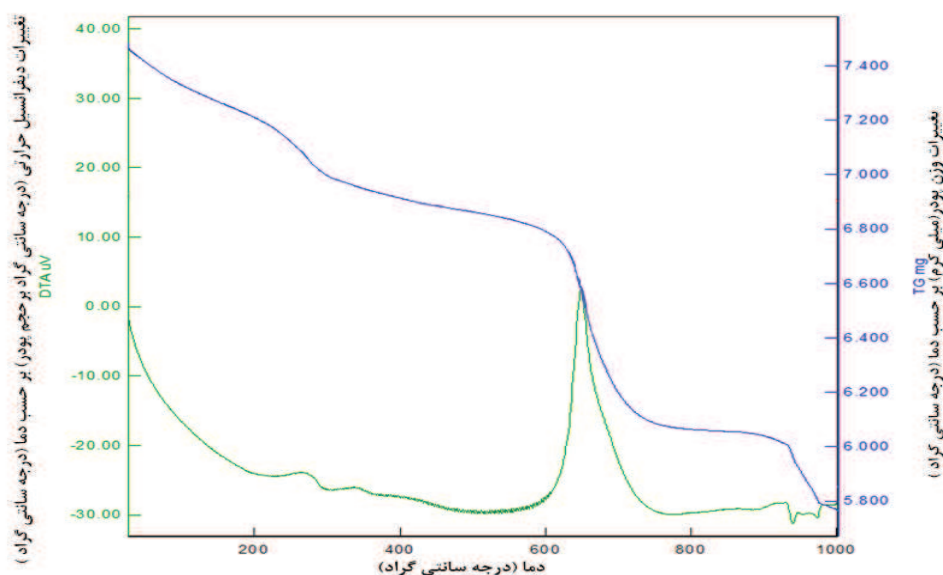
شکل ۱- الگوی پراش اشعه ایکس نمونه آسیا شده در زمان‌های مختلف آسیاکاری با پیش ماده اکسیدی.



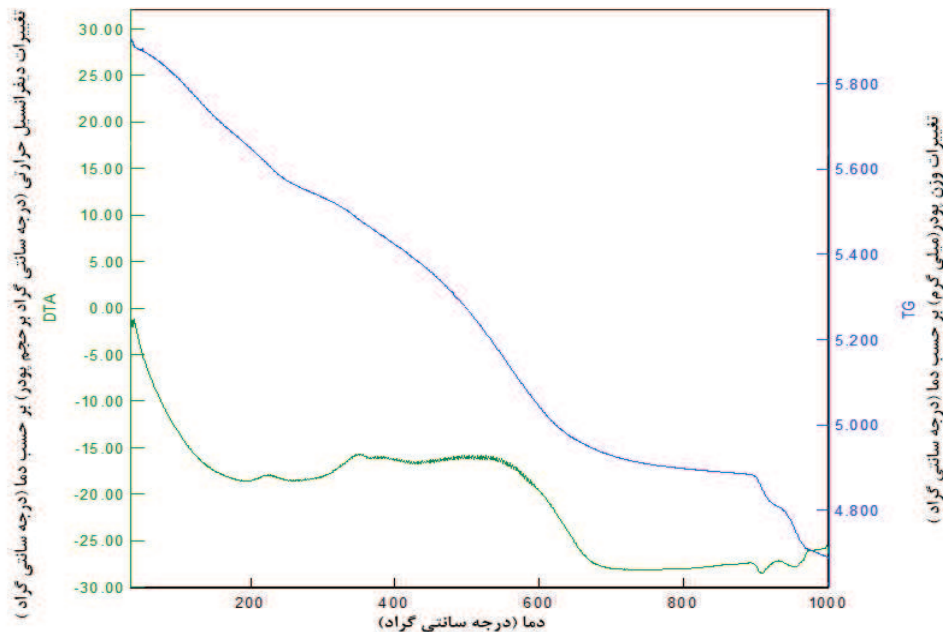
شکل ۲- الگوی پراش اشعه ایکس نمونه آسیا شده در زمان های مختلف آسیاکاری با پیش ماده فلزی.

دست رفتن رطوبت در پودر می باشد. محور سبز رنگ نیز تغییرات دیفرانسیل حرارتی بر حسب دما را نشان می دهد که در قسمت هایی که پیک کاهش یافته واکنش گرماگیر رخ داده و در قسمت هایی که پیک رو به بالا می باشد واکنش گرمازا اتفاق افتاده است. و به طور کلی بیان گر ایجاد فاز جدید در دماهایی است که تغییرات در پیک ها رخ داده است.

شکل ۲ آسیاکاری با پیش ماده فلزی را نشان می دهد که از تحلیل این الگوی پرتوی ایکس با نرم افزار Xpert مشاهده شد که فازهای  $\text{CuO}$  و  $\text{SnO}_2$  تشکیل گردیده اند. در شکل های ۳ و ۴ محور آبی رنگ مربوط به تغییرات وزن پودر نسبت به دما می باشد که کاملاً مشخص است با افزایش دما وزن پودر کاهش می یابد که این امر به دلیل از



شکل ۳- آزمون تجزیه و تحلیل دیفرانسیل حرارتی نمونه ۱۰ دقیقه آسیا شده.



شکل ۴- آزمون تجزیه و تحلیل دیفرانسیل حرارتی نمونه ۱۰ ساعت آسیا شده.

سانتی گراد کاملاً عملیات احیا صورت گرفته و آلیاژ مس- قلع تولید شده است.

همچنین پیک ساختار  $\text{Cu}_2\text{O}$  در نتایج XRD در دمای ۴۰۰ و ۷۰۰ درجه سانتی گراد قابل مشاهده است که نشان دهنده احیا جزئی اکسید مس در این دما می باشد.

در ۱۰۰ درجه سانتی گراد مخلوط پودری که ۴۰ درصد گرافیت مازاد به عنوان احیا کننده داشته است قسمت زیادی از ساختار به آلیاژ  $\text{Cu-Sn}$  تبدیل شده و مقدار کمی اکسید مس و اکسید قلع در ساختار قابل مشاهده است. با افزایش درصد کربن گرافیت مازاد به درصدهای ۶۰ و ۸۰ به مشاهده شد که عملیات احیا صورت نمی گیرد. در اکثر تحقیقات روی آلیاژسازی مس و قلع از حالت فلزی این عناصر برای مواد اولیه استفاده شده بود که در این تحقیق از پیش ماده‌ی اکسیدی استفاده شده است. مزیت آن عمل خردایش بیشتر و کاهش میزان چسبندگی پودر در حین

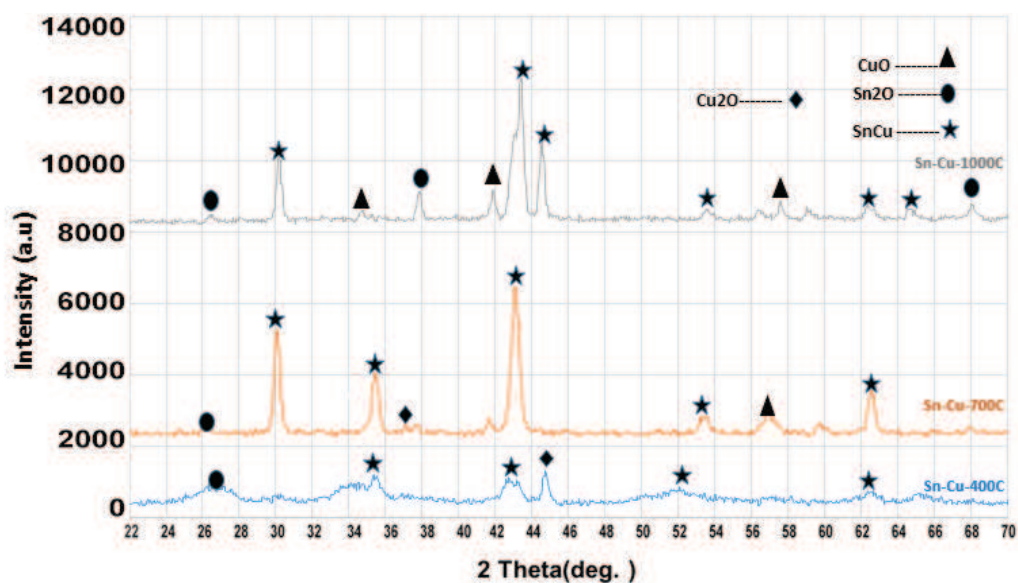
بررسی و مشاهده نمودارهای DTA (شکل ۳ و ۴) نشان می دهد که در دماهای ۴۰۰ و ۷۰۰ و ۱۰۰۰ درجه سانتی گراد تغییرات چشم گیری در وزن پودر تولیدی رخ داده است و وزن پودر کاهش یافته است که نشان دهنده ایجاد یک واکنش در دماهای فوق است به همین منظور این دماها (۴۰۰ و ۷۰۰ و ۱۰۰۰) برای عملیات حرارتی انتخاب شدند.

در شکل ۵ مشخص است که مخلوط پودری ۳۰ ساعت آسیاکاری شده در دماهای ۴۰۰، ۷۰۰ و ۱۰۰۰ درجه سانتی گراد با توجه به نتایج آنالیز حرارتی و تحلیل ترمودینامیکی برای عملیات احیا به مدت ۱ ساعت انتخاب شد و در کوره تیوبی قرار گرفت. شکل ۴ نشان می دهد که در دمای ۴۰۰ درجه سانتی گراد هیچ کدام از پودرهای  $\text{CuO}$  و  $\text{SnO}_2$  احیا نمی شوند اما در ۷۰۰ درجه سانتی گراد بصورت جزئی احیا شده و در ۱۰۰۰ درجه

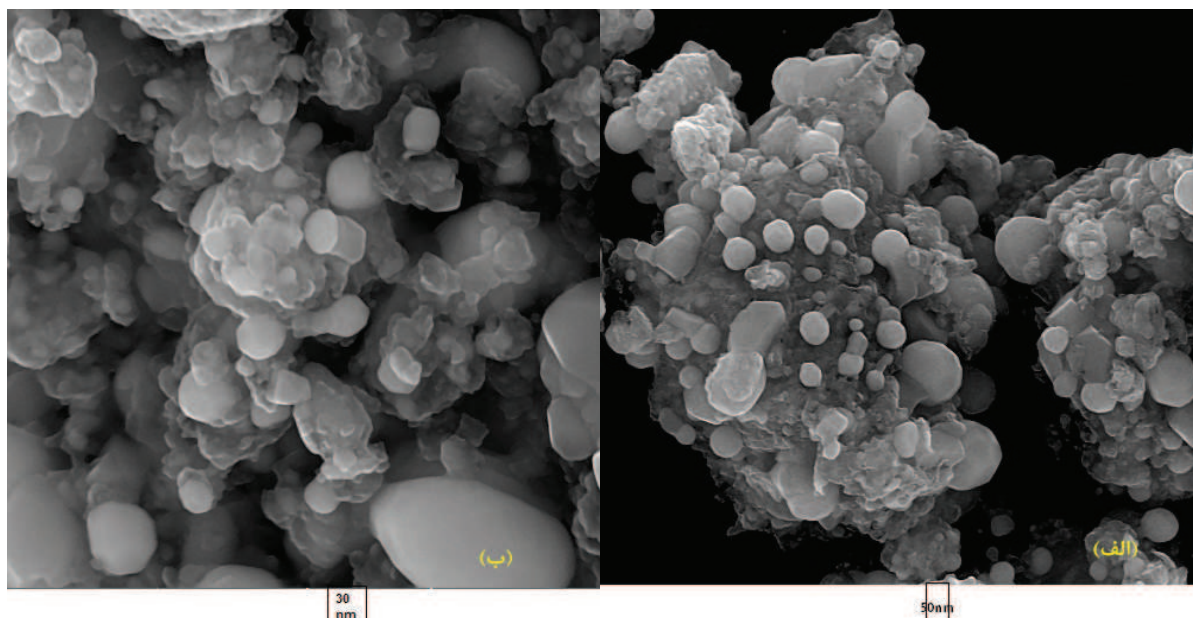


شد شکل ۶ در مورد تصاویر می‌توان ذکر که طبق بررسی تصاویر گرفته شده توسط نرم‌افزار MIP اندازه ذرات پودر آلیاژی تولید شده بین ۲۵ تا ۷۵ نانومتر گزارش شده است که نمایانگر ایجاد آلیاژی با ساختار نانوکریستالی می‌باشد.

آسیاکاری مکانیکی است این امر فرآیند آلیاژ سازی را بهبود می‌بخشد و از لحاظ اقتصادی بسیار بصره‌تر است. بوسیله دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE/SEM) از پودر آلیاژی تولید شده تصاویر در بزرگنمایی‌های مختلف گرفته



شکل ۵- الگوی XRD عملیات حرارتی در دماهای مختلف.



شکل ۶- تصاویر میکروسکوپ الکترونی مربوط به نمونه ۳۰ ساعت آسیاکاری شده و عملیات حرارتی در ۱۰۰۰ درجه سانتی‌گراد تصویر (الف) با بزرگنمایی X ۷۰۰ و تصویر (ب) با بزرگنمایی X ۱۰۰۰ می‌باشد.

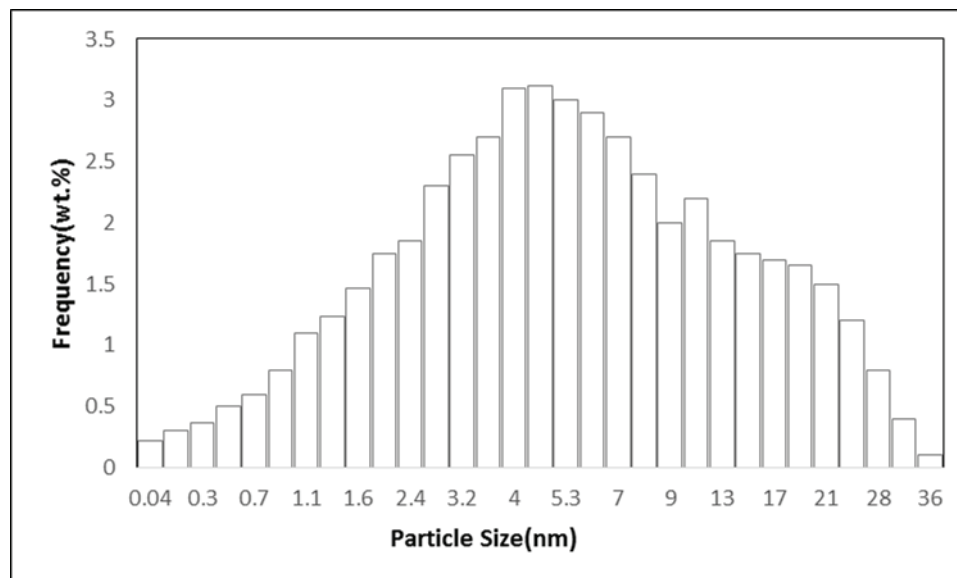


آزمون چگالی نوری با نور دارای طول موج ۶۵۰ نانومتر گرفته شد که نتایج آن به شرح ذیل می‌باشد. در مطالعات قبلی دیده شده بود که با تغییرات غلظت پیش ماده قلع بصورت اکسیدی و فلزی تفاوت‌های بارزی در خاصیت ضدباکتری آلیاژ رخ نمی‌دهد [۱۱]. این آزمایش که با غلظت‌های متفاوت از پودر آلیاژی تولید شده صورت گرفت ابتدا نمونه با غلظت ۵ppm بعنوان شاهد در نظر گرفته شد سپس غلظت‌های ۱۰ ppm و ۵۰ و ۱۰۰ از نانوپودر تولید شده به محیط کشت اضافه شد و تا زمان ۱۰ ساعت مورد آزمایش قرار گرفت طبق نمودار شکل ۸ مشاهده گردید که با افزایش مقدار غلظت نانوذرات خاصیت باکتری کشی افزایش می‌یابد و نمودار به سمت عدد صفر متمایل می‌شود با گذشت زمان از ۱۰ ساعت نمودار کم کم به سمت بالا حرکت می‌کند که نشان می‌دهد از خاصیت ضدباکتری نانوپودر کاسته شده است و باکتری ها در حال غالب شدن در محیط رشد هستند.

تصویر (الف) و (ب) به ترتیب با بزرگنمایی ۷۰۰ برابر و ۱۰۰۰ برابر از سطح نمونه ۳۰ ساعت آسیاکاری شده و عملیات حرارتی شده در دمای ۱۰۰۰ گرفته شده‌اند که این تصاویر ذرات نانو پودر تولید شده را نشان می‌دهند و بر اساس بزرگنمایی و مقیاس روی شکل که ۵۰ و ۳۰ نانو متر می‌باشد گواهی بر ایجاد پودر مدنظر در مقیاس نانوکریستالی است.

شکل ۷ توزیع اندازه ذرات پودر تولید شده را نشان می‌دهد که طبق این نمودار و تصاویر میکروسکوپ الکترونی می‌توان نتیجه گرفت که ذرات به ابعاد مورد نظر یعنی ابعاد نانومتری تبدیل شده اند.

نمونه‌های تولید شده با ۳۵ درصد و ۸۳ درصد مس با پیش ماده اکسیدی برای انجام آزمون‌های ضدباکتری انتخاب شدند همراه با این نمونه‌ها آلیاژهای ۳۵ و ۸۳ درصد مس با پیش ماده فلزی با استفاده از سورفکتانت پلیاتیلن گلیکول (Polyethylene glycol) به عنوان جدا کننده (PCA) و جلوگیری کردن از آگلومره شدن پودر نیز تولید شدند [۱۰].



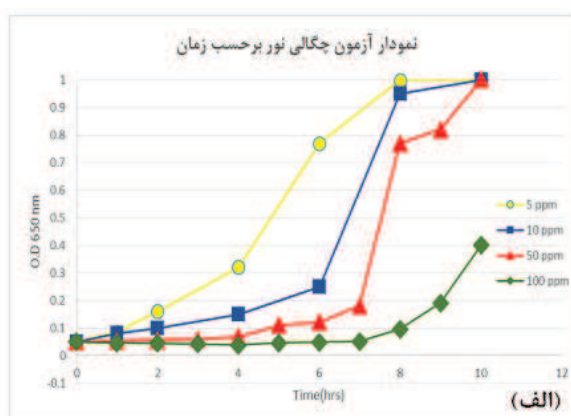
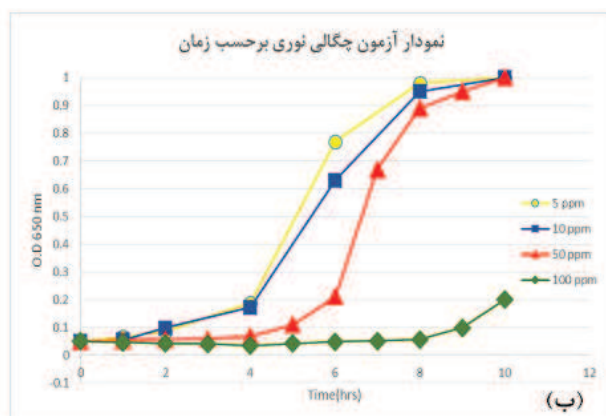
شکل ۷- توزیع اندازه ذرات پودر تولید شده.





شده با پیش ماده فلزی نیز به همین صورت گزارش شده که نشان می‌دهد خاصیت ضدباکتری آلیاژهای تولید شده تفاوت چندانی ندارد ولی در آلیاژ تولید شده با پیش ماده اکسیدی خاصیت ضدباکتری بهتری مشاهده گردید.

در مورد غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ می‌توان به این مورد اشاره نمود که تغییرات تقریباً همانند یکدیگر است ولی در غلظت ۵۰ خاصیت ضد باکتری بیشتر نمایان شده که نمودار به سمت پایین حرکت کرده است. این نمودار برای آلیاژ تولید



شکل ۸- نمودار تغییرات چگالی نوری بر حسب زمان در غلظت‌های ۵ و ۱۰ و ۵۰ و ۱۰۰ میکرو مول بر لیتر با پیش ماده فلزی در محیط کشت باکتری E.Coli شکل (الف) نمونه ۸۳ درصد مس تولید شده با پیش ماده فلزی و شکل (ب) نمونه ۸۳ درصد مس تولید شده با پیش ماده اکسیدی.

### ۳-۱- آزمون شمارش کلونی‌های باکتری

پس از مشاهده نمودارهای آزمون چگالی نوری و بحث پیرامون نتایج بدست آمده از این نمودارها سرانجام منجر به این خواهد شد که این نمودارها مکمل آزمون شمارش کلونی باکتری هستند و تنها بعنوان یک آزمون آنتی‌باکتریال مورد مطالعه قرار نمی‌گیرند [15] و باید در کنار آزمون دیگری مطالعه شوند به همین منظور آزمون شمارش کلونی باکتری انجام شد [16] و نتایج آن توسط تصاویر ذیل قابل مشاهده هستند.

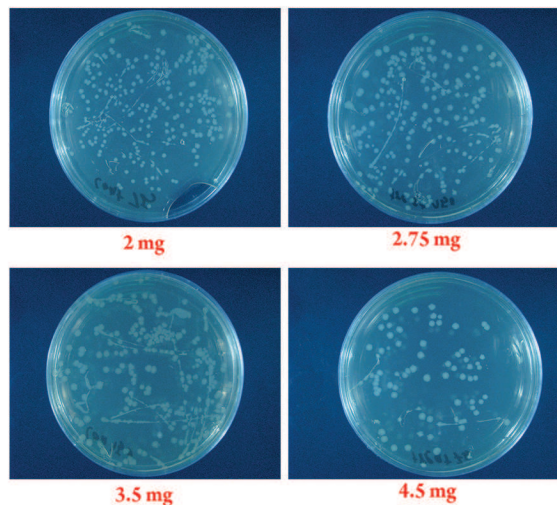
پودر آلیاژ تولید شده مورد استفاده در این آزمون شمارش کلونی حاوی ۵۰ درصد مس و ۵۰ درصد قلع بوده و به وضوح مشاهده گردید که با افزایش غلظت به ترتیب از ۲ و ۲/۷۵ و ۳/۵ و ۴/۵ میلی گرم به محیط رشد باکتری

نمودار فوق نشانگر بررسی خاصیت آنتی‌باکتریال با روش چگالی نوری می‌باشد محور زرد رنگ مربوط به غلظت ۵ ppm است که به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شده است، محور آبی رنگ مربوط به غلظت ۱۰ ppm می‌باشد که مانند نمونه شاهد خاصیت آنتی‌باکتریال مطلوبی نشان نمی‌دهد با افزایش غلظت به ۵۰ ppm خاصیت آنتی‌باکتریال بهبود می‌یابد که در محور قرمز رنگ مشخص است در نهایت محور سبز رنگ بهترین خاصیت آنتی‌باکتریال را از خود نشان می‌دهد که دارای غلظت ۱۰۰ ppm می‌باشد. بعد از گذشت مدت زمان ۱۰ ساعت به مرور زمان این خاصیت آنتی‌باکتریال کاهش یافته که بیان‌گر غلبه کلونی‌های درشت باقی مانده در محیط کشت و رشد باکتری می‌باشد.

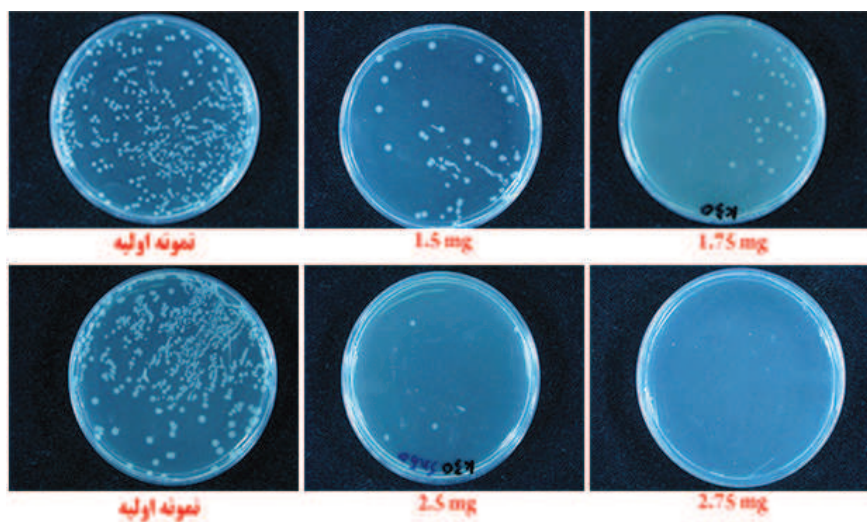


اینکه اگر از آلیاژ ۸۳ درصد مس و ۱۷ درصد قلع استفاده شود تنها با ۲/۷۵ میلی گرم از این آلیاژ می توان تمام باکتری های محیط کشت را از بین برد که این خود گواه بر این است که با افزایش درصد مس خاصیت باکتری کشی آلیاژ افزایش خواهد یافت تا جایی که دیگر محیط کاملاً از باکتری عاری می شود.

E.Coli تعداد کلونی های باکتری کمتر شده و اندازه آنها کوچک تر می شود اما نکته قابل تامل در این آزمون این است که در مقایسه با افزایش خاصیت باکتری کشی باید مقدار پودر بیشتری در محیط ریخته شود [17]. یعنی برای آلیاژ ۵۰ درصد مس و ۵۰ درصد قلع با اضافه کردن ۴/۵ میلی گرم از پودر آلیاژی نتایج مطلوبی بدست می آید حال



شکل ۹- تصاویر کلونی های باکتری E.Coli در محیط مایع مربوط به آلیاژ ۵۰ درصد مس و ۵۰ درصد قلع در غلظت های مختلف از پودر مس-قلع.



شکل ۱۰- تصاویر کلونی های باکتری E.Coli در محیط مایع مربوط به آلیاژ ۸۳ درصد مس و ۱۷ درصد قلع در غلظت های مختلف از پودر مس-قلع.



#### ۴- نتایج روش پورپلیت

آنها را بی حرکت می‌گذاریم تا بسته شود. پلیت‌ها را باید علامت گذاری کنیم که شامل رقت، گروه، ساعت و روز می‌شود [18].

پلیت‌ها را در انکوباتور ۳۲ درجه به مدت ۴۸ ساعت قرار دادیم. بعد از رشد کلونی‌ها نوبت به شمارش آنها می‌رسد. برای دقت در کار بهتر است که تمام پلیت‌ها را شمارش کنیم [19].

حدوداً ۱۵ سی سی از محیط نوترینت آگار در هر پلیت ریخته شد دمای محیط کشت نباید زیاد باشد تا میکروارگانیسم‌ها کشته شوند، تقریباً حدود ۴۵ تا ۵۰ درجه سانتیگراد بهترین شرایط است. پلیت‌ها را ۵ مرتبه به شکل ۸ انگلیسی حرکت می‌دهیم تا محلول یکنواخت شود. سپس

جدول ۱- تعداد کلونی‌های موجود آمده در هر نمونه از روش پورپلیت.

شماره نمونه	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
تعداد کلونی	بیش از ۳۰۰	بیش از ۳۰۰	بیش از ۳۰۰	۲۹۶	۲۲۵	۸۹	۹	۶
تعداد متوسط	$296 + 225 + 89 = 610$							
	$610 \div 3 = 203$							

با توجه به جدول فوق و رابطه ۲ خواهیم داشت:

$$(۲) \text{ (مجموع رقت‌های محیط‌های کشت باکتری) } \div \text{تعداد متوسط کلونی در هر رقت} = \text{NCFU}$$

$$1/831 = (10^{-4} + 10^{-5} + 10^{-6}) \div (10^4 \times 203)$$

تا ۷۵ نانو متر از تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی به دست آمد. همچنین طبق نتایج حاصل از آزمون شمارش کلونی و آزمون چگالی نوری خاصیت ضدباکتری آلیاژ مس - قلع تولید شده در ۸۳ درصد به دست آمد. از آزمون ضد باکتری می‌توان نتیجه گرفت که افزایش درصد مس یا اکسید مس در آلیاژ مس - قلع باعث افزایش خاصیت آنتی‌باکتریال می‌گردد.

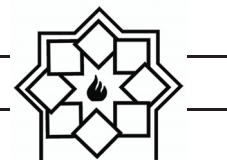
عدد فوق نشان دهنده تعداد کلونی‌ها در رقت‌های مختلف بوده که در حقیقت نمایانگر این است که پودر تولید شده این تعداد کلونی را حذف نموده است البته نتایج مربوط به روش پورپلیت می‌باشد و عدد به دست آمده در استاندارد پورپلیت معرفی می‌گردد که این عدد در این استاندارد بیانگر خاصیت آنتی‌باکتریال بسیار مطلوب می‌باشد [19].

#### ۵- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، نانو ذرات اکسید مس-قلع توسط آلیاژسازی مکانیکی تهیه شد. نتایج الگوی پراش پرتو ایکس تشکیل ساختارهای اصلی اکسید مس و اکسید قلع و آلیاژ شدن این دو باهم را نشان داد و افزایش حد حلالیت قلع در مس از ۱۱ درصد به ۲۲ درصد را تایید کرد و اندازه ذرات در بازه ۲۵

#### مراجع

- [۱] ابوالقاسم عطائی، سعید شیبانی، غلامرضا خیاطی، سعید اسدی کوهنجانی. (۱۳۸۶)، "آلیاژسازی و فعال‌سازی مکانیکی، فناوری تهیه نانومواد"، انتشارات جهاد دانشگاهی واحد تهران، تهران.



- Res. Bull, vol. 46, pp. 384–389, 2011.
- [8] A. J. Varkey, “Antibacterial properties of some metals and alloys in combating coliforms in contaminated water,” *Sci. Res. Essays*, vol. 5, pp. 3834–3839, 2010.
- [9] S. Ishikawa, Y. Matsumura, K. Katoh-Kubo, and T. Tsuchido, “Antibacterial activity of surfactants against *Escherichia coli* cells is influenced by carbon source and anaerobiosis,” *J. Appl. Microbiol.*, vol. 93, pp. 302–309, 2002.
- [10] S. Gnanam and V. Rajendran, “Anionic, cationic and nonionic surfactants-assisted hydrothermal synthesis Of tin oxide nanoparticles and their photoluminescence property,” *Dig. J. Nanomater. Biostructures*, vol. 5, pp. 623–628, 2010.
- [11] Y. Kang, J. Park, D. W. Kim, H. Kim, and Y. C. Kang, “Controlling the antibacterial activity of CuSn thin films by varying the contents of Sn,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 389, pp. 1012–1016, 2016.
- [12] P. Van Viet, T. Tan, N. Ho, N. Bich, and C. Minh, “An improved green synthesis method and *Escherichia coli* antibacterial activity of silver nanoparticles,” *J. The Bronze Age* ” [۲] دکتر حسن طلائی (۱۳۸۷)، “Of Iran عصر مفرغ ایران”، انتشارات سمت، تهران.
- [3] C. Suryanarayana, E. Ivanov, and V. V Boldyrev, “The science and technology of mechanical alloying,” *Mater. Sci. Eng. a-Structural Mater. Prop. Microstruct. Process.* vol. 304, pp. 151–158, 2001.
- [4] J. H. Shin, J. S. Park, and D. H. Bae, “Fabrication of supersaturated Cu-Sn alloy sheets and their antibacterial properties,” *Met. Mater. Int.*, vol. 17, pp. 441–444, 2011.
- [5] Y. de Wang, C. L. Ma, X. D. Sun, and H. De Li, “Preparation of nanocrystalline metal oxide powders with the surfactant-mediated method,” *Inorg. Chem. Commun.*, vol. 5, pp. 751–755, 2002.
- [6] S. T. Oh, W. Lee, S. Y. Chang, and M. J. Suk, “Synthesis of porous Cu-Sn using freeze-drying process of CuO-SnO<sub>2</sub>/camphene slurries,” *Res. Chem. Intermed.*, vol. 40, pp. 2495–2500, 2014.
- [7] M. Valodkar, S. Modi, A. Pal, and S. Thakore, “Synthesis and anti-bacterial activity of Cu, Ag and Cu-Ag alloy nanoparticles: A green approach,” *Mater.*



- 380, 2007.
- [18] Lee, J.H., S. Kim, S.K. Kim, S.B. Han and J.W. Lee et al., "Increase in antibiotic-resistant gram-negative bacterial infections in febrile neutropenic children," *Infect. Chemother*, pp. 181-189, 2016.
- [19] J. Austerjost, D. Marquard, L. Raddatz, D. Geier, T. Becker, T. Scheper, P. Lindner, S. Beutel, "A smart device application for the automated determination of E. coli colonies on agar plates," *Engineering in Life Sciences*, pp. 959-966, 2017.
- Photochem. Photobiol. B Biol, vol. 182, pp. 108-114, 2018.
- [13] I. M. El-nahhal et al., "The efficacy of surfactants in stabilizing coating of nanostructured CuO particles onto the surface of cotton fibers and their antimicrobial activity," *Mater. Chem. Phys*, pp. 160-167, 2018.
- [14] T. Iqbal, A. Aziz, M. A. Khan, S. Andleeb, H. Mahmood, and A. A. Khan, "Surfactant assisted synthesis of ZnO nanostructures using atmospheric pressure microplasma electrochemical process with antibacterial applications," *Materials Science & Engineering B*, vol. 228, pp. 153-159, 2018.
- [15] E. Goldman, L. Green, *Practical Handbook of Microbiology*, Taylor and Francis Group, pp. 864, 2014.
- [16] R.S. Breed, W.D. Dotterrer, "The Number of Colonies Allowable on Satisfactory Agar Plates", *Journal of Bacteriology*, pp. 321-31, 2013.
- [17] C. Valgas, S.M. de Souza, E.F.A. Smania and A. Smania Jr., "Screening methods to determine antibacterial activity of natural products", *Braz. J. Microbiol*, pp. 369-