فصلنامه‌ی علمی پژوهشی

علم و مهندسی سرامیک

دوره‌ی ۷، شماره‌ی ۲، تابستان ۱۳۹۷

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

محمّد رضایت[۱]، محمّد تلافی نوغانی[۲*]، مرتضی ثقفی یزدی[۲]، رضا احمدی[۲]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی مواد و متالورژی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

[۲] 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

کلید واژه:

آسیاکاری مکانیکی، آلیاژ مس–قلع، نانوکریستالی

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.

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 کارآیی 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[1] 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 پرانرژی 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 معمولا مواد اولیه مورد استفاده در آلیاژسازی مکانیکی بایستی حداقل دارای یک جزء فلزی نرم به عنوان زمینه و یاعامل 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 آلیاژ های 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 دیاگرام تعادلی در یکدیگر انحلال‌ناپذیر 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 به‌صرفه ارایه شود، ولی هرگز نمی‌توان با این روش اقدام به تولید آلیاژی با ساختار نانوکریستالی نمود و تولید این آلیاژ مستلزم استفاده ار 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

[1] INCO= International Nickel Company

می‌توان از این روش یک روش مقرون به‌صرفه 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[1] اشاره نمود [۷]. این خاصیت سبب شده که این آلیاژ کاربردهای فراوانی در علوم بخصوص علم پزشکی ایفا نماید. برای بررسی خاصیت باکتری کشی آزمون های فراوانی وجود دارد که مهمترین آن ها آزمون چگالی نوری[2] می‌باشد [۸]. با انجام این آزمون ها 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 (واکنش۱) مخلوط شدند. سرعت آسیاکاری ۱۲۰rpm با نسبت پودر به گلوله ۲۰ به ۱و 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 Cu kα 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 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.

$$SnO_2+CuO+2C \rightarrow Sn\text{-}Cu+2CO_2 \qquad (۱$$

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

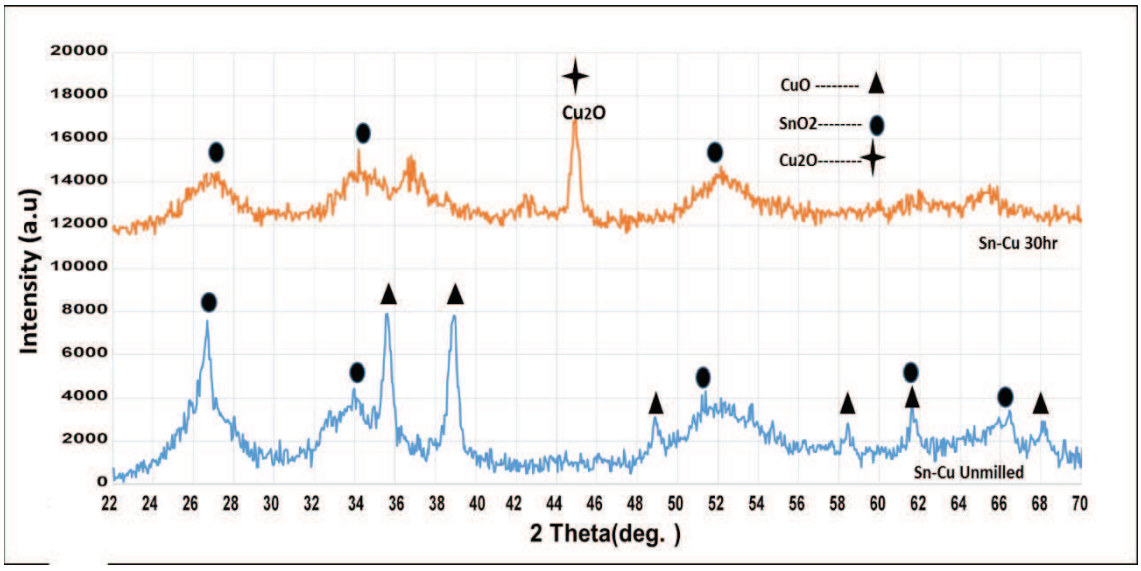
برای بررسی خواص ضدباکتری نانو ذره اکسید مس- قلع از باکتری گرم منفی، E-coli درآزمون شمارش کلی و روش چگالی نوری استفاده شده و مقایسه خاصیت باکتری کشی در غلظت های مختلف نانو ذره صورت گرفت. برای تهیه محیط کشت باکتری از محیط LB آگار (متشکل از تریپتون ۱۵گرم بر لیتر، کلرید سدیم ۳ گرم بر لیتر، عصاره مخمر ۳ گرم 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

[1] Anti-Bacterial
[2] Optical Density

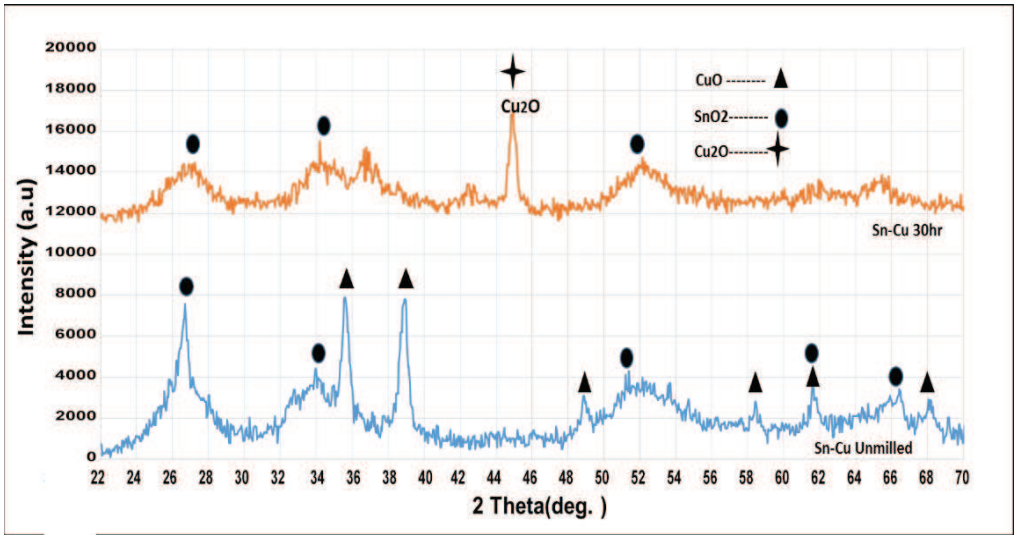
شیکر انکوباتور قرار گرفت. سپس باکتری در پلیت مخصوص، رشد داده شدو نانوذرات مس– قلع با غلظت‌های مختلف به محیط کشت اضافه شدند و با نمونه شاهد فاقد ماده ضد باکتری مقایسه صورت گرفت و نتایج به صورت نمودار و تصاویر گزارش شد.

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 CuO و 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 Cu_2O تشکیل گردیده است که این ترکیب جدید مطلوب نظر نمی‌باشد. آسیاکاری در زمان‌های بالاتر در دمای محیط منجر به عملیات احیا نمی‌شود. لذا با استفاده از آنالیز تجزیه و تحلیل دیفرانسیل حرارت (DTA) شکل۳ 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 SnO_2 و CuO می‌باشد و به وضوح گواه بر این است که دستیابی به این دو ترکیب نیازمند اعمال عملیات حرارتی می‌باشد.



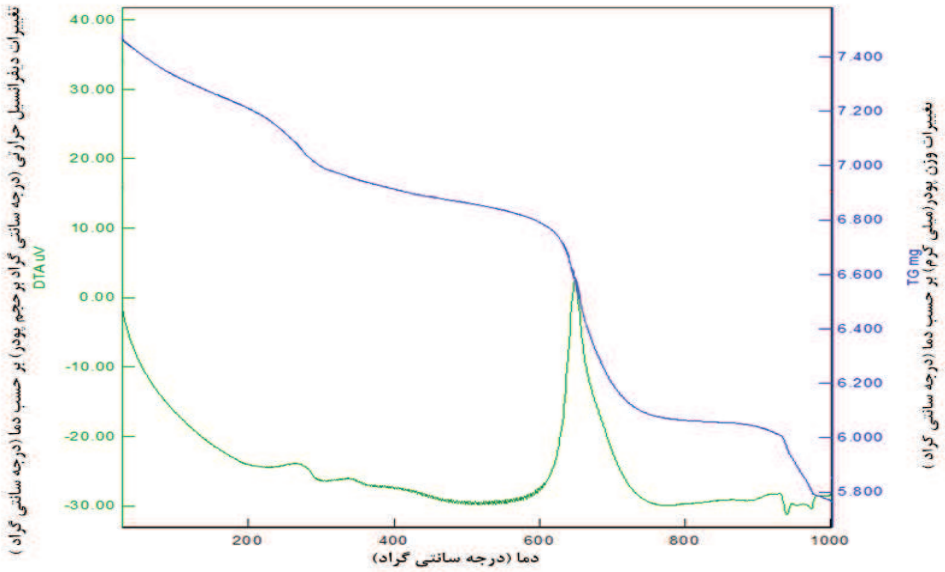
شکل ۱- الگوی پراش اشعه ایکس نمونه آسیا شده در زمان های مختلف آسیاکاری با پیش ماده اکسیدی.



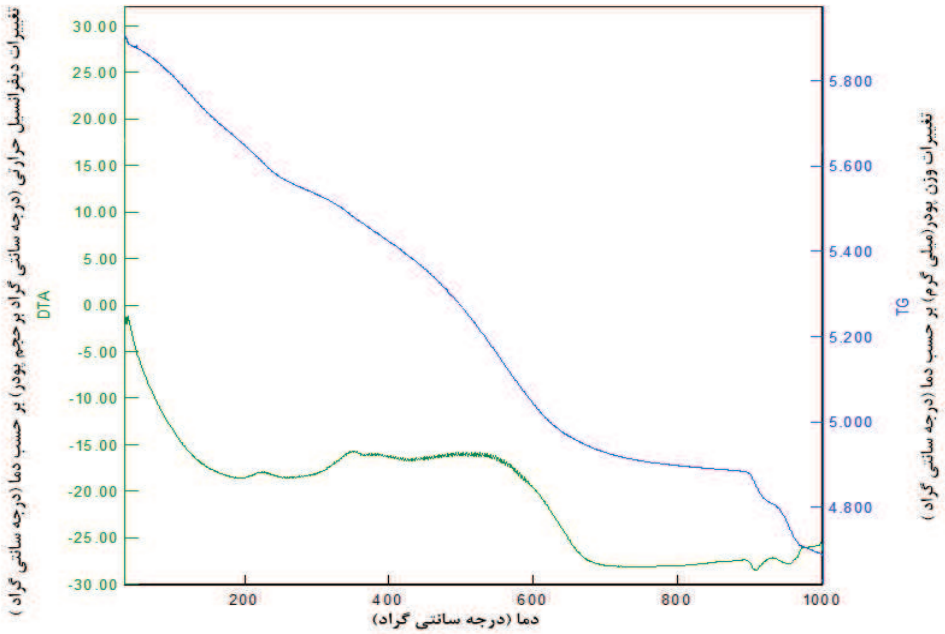
شکل ۲- الگوی پراش اشعه ایکس نمونه آسیا شده در زمان های مختلف آسیاکاری با پیش ماده فلزی.

شکل ۲ آسیاکاری با پیش ماده فلزی را نشان می‌دهد که از تحلیل این الگوی پرتوی ایکس با نرم‌افزار Xpert مشاهده شد که فازهای SnO_2 و CuO تشکیل گردیده‌اند.

در شکل‌های ۳ و ۴ محور آبی رنگ مربوط به تغییرات وزن پودر نسبت به دما می‌باشد که کاملا مشخص است با افزایش دما وزن پودر کاهش می‌یابد که این امر به دلیل از دست رفتن رطوبت در پودر می‌باشد. محور سبز رنگ نیز تغییرات دیفرانسیل حرارتی بر حسب دما را نشان می‌دهد که در قسمت‌هایی که پیک کاهش یافته واکنش گرماگیر رخ داده و در قسمت‌هایی که پیک رو به بالا می‌باشد واکنش گرمازا اتفاق افتاده است. و به طور کلی بیان‌گر ایجاد فاز جدید در دماهایی است که تغییرات در پیک‌ها رخ داده است.



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.

بررسی و مشاهده نمودارهای DTA (شکل ۳ و۴) نشان می‌دهد که در دماهای ۴۰۰ و ۷۰۰ و ۱۰۰۰ درجه سانتی‌گراد تغییرات چشم‌گیری 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.

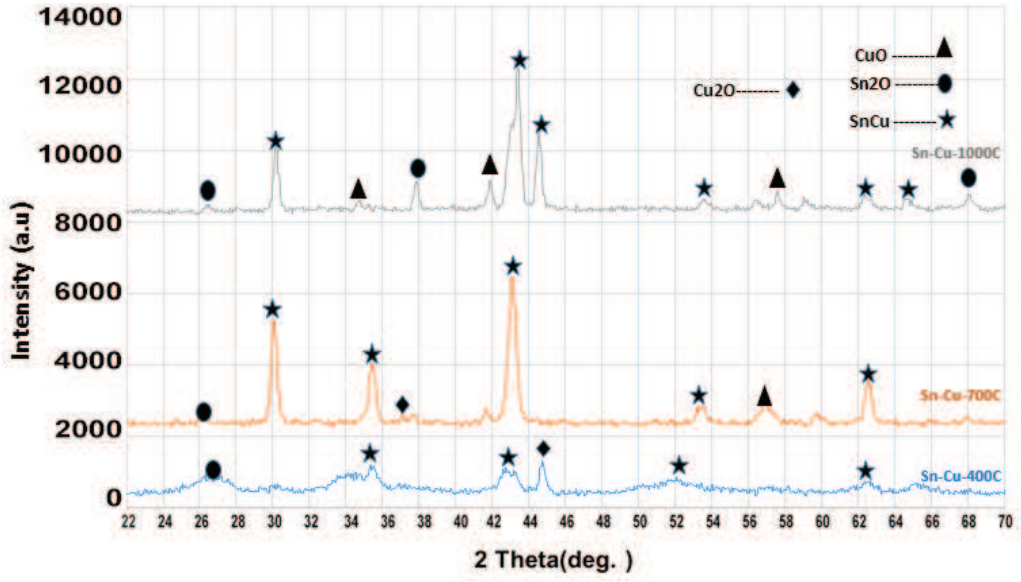
در شکل ۵ مشخص است که مخلوط پودری ۳۰ساعت آسیاکاری شده در دماهای ۴۰۰، ۷۰۰ و ۱۰۰۰درجه‌ی سانتی‌گراد با توجه به نتایج آنالیز حرارتی و تحلیل ترمودینامیکی برای عملیات احیا به مدت ۱ساعت انتخاب شد و در کوره تیوبی قرار گرفت. شکل ۴ نشان می‌دهد که در دمای ۴۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد هیچ کدام از پودرهای CuO و SnO_2 احیا نمی‌شوند اما در ۷۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بصورت جزئی احیا شده و در ۱۰۰۰ درجه سانتی‌گراد کاملا عملیات احیا صورت گرفته و آلیاژ مس–قلع تولید شده است.

همچنین پیک ساختار Cu_2O در نتایج XRD در دمای ۴۰۰ و ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد قابل مشاهده است که نشان دهنده احیا جزئی اکسید مس در این دما می‌باشد.

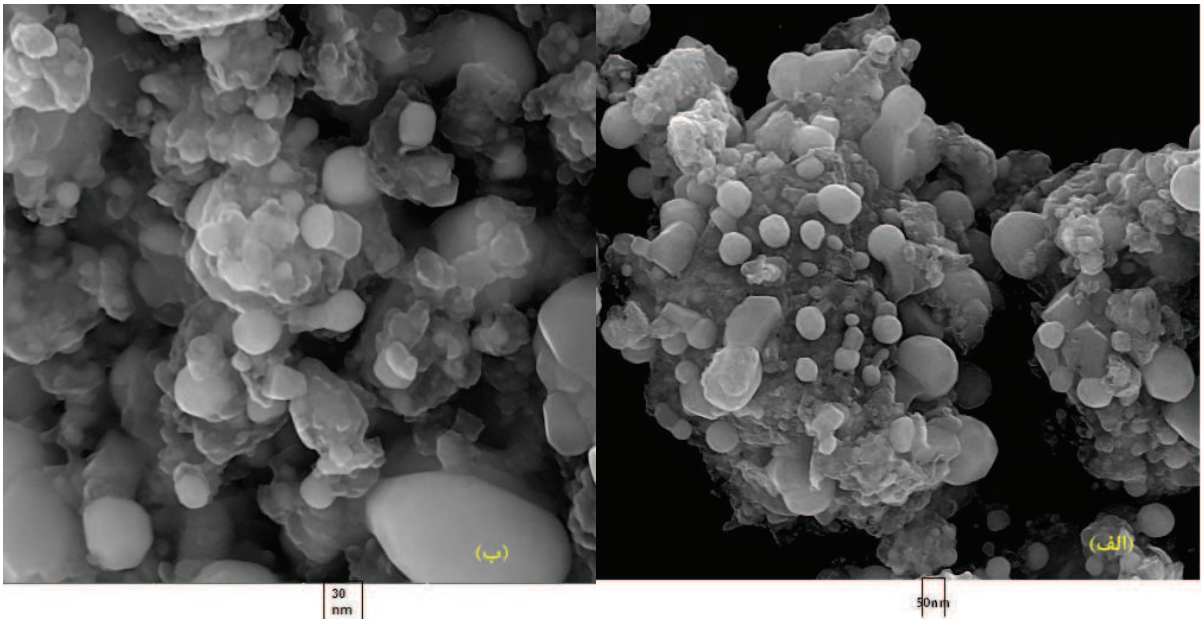
در ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد مخلوط پودری که ۴۰ درصد گرافیت مازاد به عنوان احیا کننده داشته است قسمت زیادی از ساختار به آلیاژ Cu-Sn تبدیل شده و مقدار کمی اکسید مس و اکسید قلع در ساختار قابل مشاهده است. با افزایش درصد کربن گرافیت مازاد به درصدهای ۶۰ و ۸۰ به مشاهده شد که عملیات احیا صورت نمی‌گیرد. در اکثر تحقیات روی آلیاژسازی مس و قلع از حالت فلزی این عناصر برای مواد اولیه استفاده شده بود که در این تحقیق از پیش‌ماده‌ی اکسیدی استفاده شده است. مزیت آن عمل خردایش بیشتر و کاهش میزان چسبندگی پودر در حین

آسیاکاری مکانیکی است این امر فرآیند آلیاژ سازی را بهبود می‌بخشد و از لحاظ اقتصادی بسیار بصرفه‌تر است.

بوسیله دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE/SEM) از پودر آلیاژی تولید شده تصاویر در بزرگنمایی‌های مختلف گرفته 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.



شکل ۵- الگوی XRD عملیات حرارتی در دماهای مختلف.



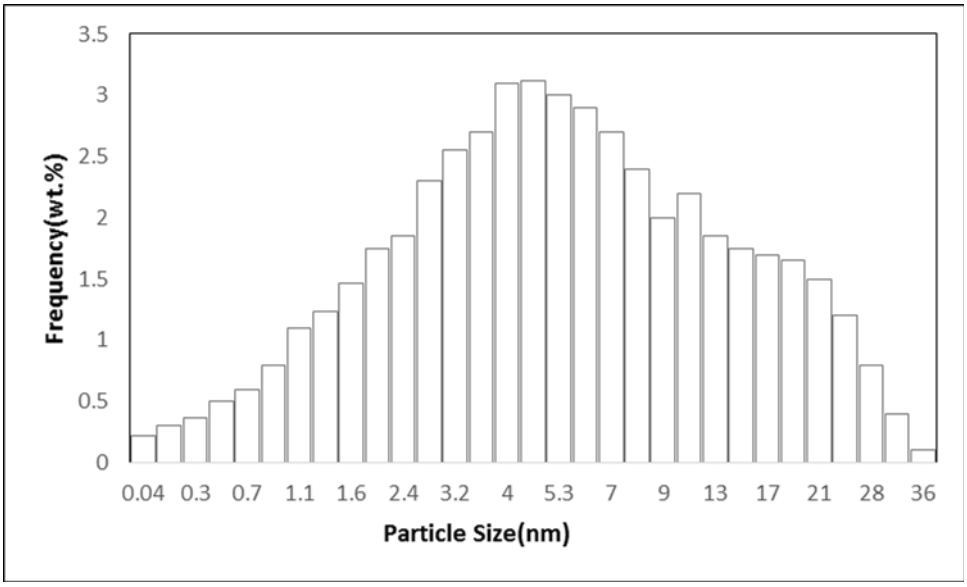
شکل ۶- تصاویر میکروسکوپ الکترونی مربوط به نمونه ۳۰ ساعت آسیاکاری شده و عملیات حرارتی در ۱۰۰۰ درجه سانتی‌گراد تصویر (الف) با بزرگنمایی X ۷۰۰ و تصویر (ب) با بزرگنمایی X۱۰۰۰ می‌باشد.

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.

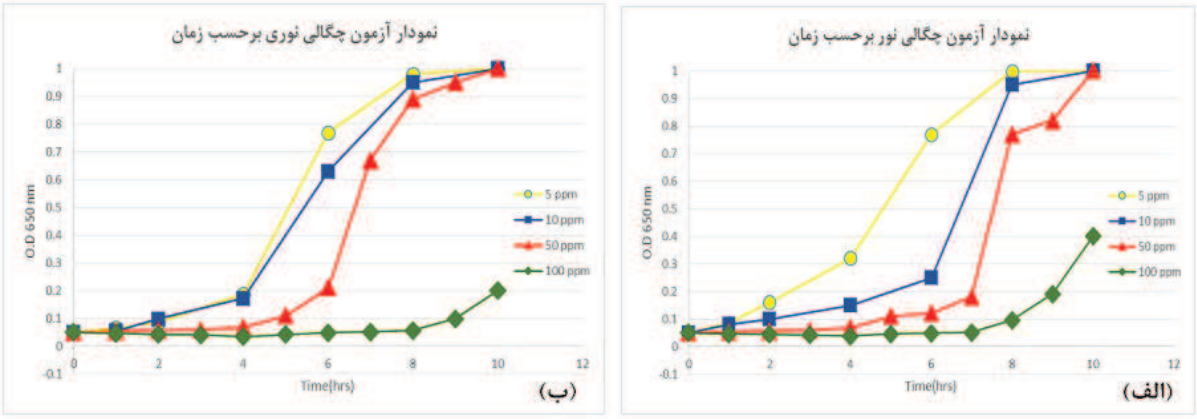
نمونه‌های تولید شده با ۳۵ درصد و ۸۳ درصد مس با پیش ماده اکسیدی برای انجام آزمون‌های ضدباکتری انتخاب شدند همراه با این نمونه‌ها آلیاژهای ۳۵ و ۸۳ درصد مس با پیش‌ماده فلزی با استفاده از سورفکتانت پلیاتیلن گلیکول (Polyethylene glycol) به عنوان جدا کننده (PCA) و جلوگیری کردن از آگلومره شدن پودر نیز تولید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

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 5ppm بعنوان شاهد در نظر گرفته شد سپس غلظت‌های ppm ۱۰ 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.



شکل ۷- توزیع اندازه ذرات پودر تولید شده.

در مورد غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ می‌توان بـه ایـن مـورد اشـاره نمود که تغییرات تقریبا همانند یکدیگر است ولی در غلظـت ۵۰ خاصیت ضد باکتری بیشتر نمایان شـده کـه نمـودار بـه سمت پایین حرکت کرده است. این نمودار برای آلیـاژ تولیـد شده با پیش ماده فلزی نیز به همین صـورت گـزارش شـده که نشان می‌دهد خاصیت ضدباکتری آلیاژهـای تولیـد شـده تفاوت چندانی ندارد ولی در آلیاژ تولید شـده بـا پـیش مـاده اکسیدی خاصیت ضدباکتری بهتری مشاهده گردید.



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.**

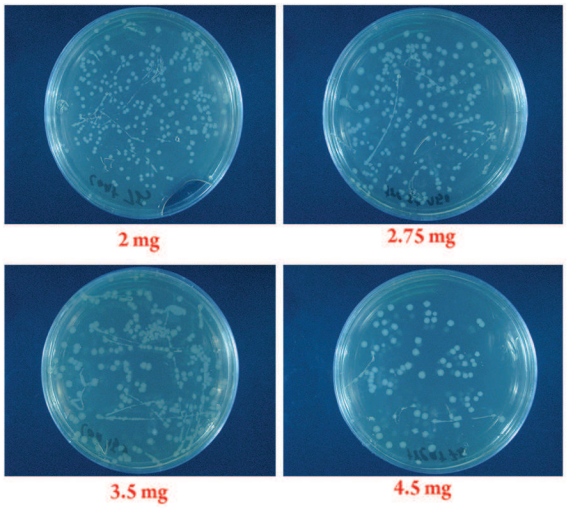
نمودار فوق نشانگر بررسی خاصیت آنتی باکتریـال بـا روش چگالی نوری می‌باشد محور زرد رنگ مربـوط بـه غلظـت ۵ ppm است که به عنوان نمونه شـاهد در نظـر گرفتـه شـده است، محور آبی رنگ مربوط به غلظت ۱۰ ppm مـی‌باشـد که مانند نمونه شاهد خاصیت آنتی باکتریال مطلـوبی نـشان نمـی‌دهـد بـا افـزایش غلظـت بـه ۵۰ ppm خاصـیت آنتی‌باکتریال بهبود می‌یابد که در محور قرمز رنگ مشخص اسـت در نهایـت محـور سـبز رنـگ بهتـرین خاصـیت آنتی‌باکتریال را از خود نشان می‌دهد که دارای غلظـت ۱۰۰ ppm می‌باشد. بعد از گذشت مدت زمان ۱۰ ساعت به مرور زمان این خاصیت آنتی‌باکتریال کاهش یافتـه کـه بیـان‌گـر غلبه کلونی‌های درشت باقی مانده در محیط کـشت و رشـد باکتری می‌باشد.

۳-۱- آزمون شمارش کلونی‌های باکتری

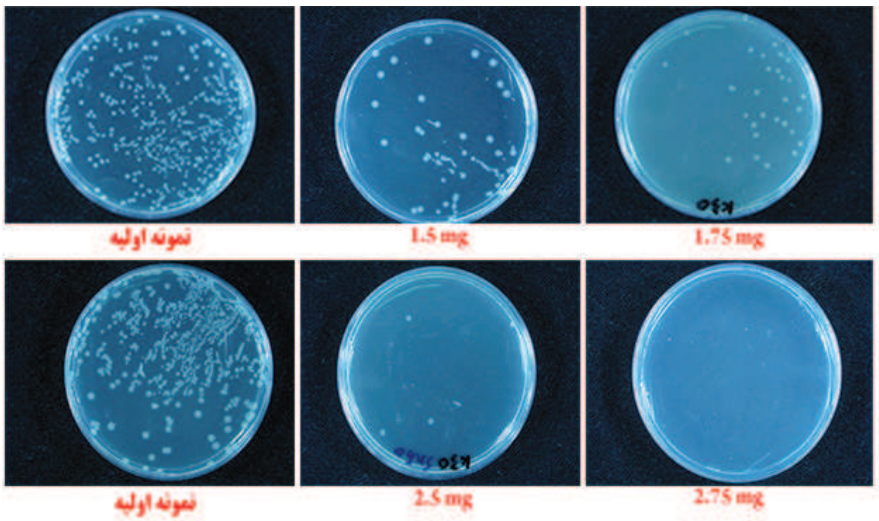
پس از مشاهده نمودارهای آزمون چگالی نوری و بحث پیرامون نتایج بدست آمده از این نمودارها سرانجام منجر به این خواهـد شد که این نمودارها مکمـل آزمـون شـمارش کلـونی بـاکتری هستند و تنها بعنوان یک آزمون آنتی‌باکتریال مورد مطالعه قـرار نمی‌گیرند[15] و باید در کنار آزمون دیگری مطالعـه شـوند بـه همین منظور آزمون شمارش کلونی باکتری انجـام شـد[16] و نتایج آن توسط تصاویر ذیل قابل مشاهده هستند.

پودر آلیاژ تولید شده مورد اسـتفاده در ایـن آزمـون شـمارش کلونی حاوی ۵۰ درصد مـس و ۵۰ درصـد قلـع بـوده و بـه وضوح مشاهده گردید که با افزایش غلظت به ترتیـب از ۲ و ۲/۷۵ و ۳/۵ و ۴/۵ میلـی گـرم بـه محـیط رشـد بـاکتری

E.Coli تعداد کلونی‌های باکتری کمتر شده و انـدازه آن‌هـا کوچک‌تر می‌شود اما نکته قابل تامـل در ایـن آزمـون ایـن است که در مقایسه با افزایش خاصیت بـاکتری کـشی بایـد مقدار پودر بیشتری در محیط ریخته شود[17]. یعنـی بـرای آلیاژ ۵۰ درصد مس و ۵۰ درصد قلـع بـا اضـافه کـردن ۴/۵ میلی گرم از پودر آلیاژی نتایج مطلوبی بدست می‌آیـد حـال اینکه اگر از آلیاژ ۸۳ درصد مس و ۱۷ درصـد قلـع اسـتفاده شود تنها با ۲/۷۵ میلـی گـرم از ایـن آلیـاژ مـی‌تـوان تمـام باکتری‌های محیط کشت را از بین برد که این خود گواه بـر این است که با افزایش درصد مس خاصیت بـاکتری کـشی آلیاژ افزایش خواهد یافت تا جایی‌که دیگر محـیط کـاملا از باکتری عاری می‌شود.



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



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

۴- نتایج روش پورپلیت

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

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

شماره نمونه	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱
تعداد کلونی	۶	۹	۸۹	۲۲۵	۲۹۶	بیش از ۳۰۰	بیش از ۳۰۰	بیش از ۳۰۰
تعداد متوسط						۲۹۶+۲۲۵+۸۹=۶۱۰ ۶۱۰÷۳=۲۰۳		

با توجه به جدول فوق و رابطه ۲ خواهیم داشت:

۲) (مجموع رقت‌های محیط‌های کشت باکتری) ÷ تعداد متوسط کلونی در هر رقت = NCFU

$$۱۰^{۴} \times ۲۰۳ \div (۱۰^{-۴} + ۱۰^{-۵} + ۱۰^{-۶}) = ۱/۸۳۱$$

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 آنتی باکتریال 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 ساختار های اصلی اکسید مس واکسید 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 تا ۷۵ نانو متراز 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.

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.

[۲] دکتر حسن طلائـی (۱۳۸۷)، " The Bronze Age Of Iran عـصر مفـرغ ایـران"، انتـشارات سـمت، 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-SnO2/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. 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.

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 nano-structured 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] RS. Breed , WD. 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. 369-380, 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.