

## تثبیت نانوذره‌های نقره بر نانوجندسازهای بسپاری مگنتیت-کیتوسان و بررسی ویژگی ضد میکروبی آنها

زهرة زرنگار<sup>۱</sup>، جواد صفری<sup>۲\*</sup> و زهرة زهرایی<sup>۳</sup>

۱- دکتری شیمی آلی، پژوهشگر پسادکتری، دانشکده شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- استاد تمام بخش شیمی آلی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

۳- استادیار بخش زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

دریافت: آذر ۱۳۹۷، بازنگری: خرداد ۱۳۹۸، پذیرش: خرداد ۱۳۹۸

**چکیده:** بسپارهای مغناطیسی به‌عنوان یک تثبیت‌کننده مناسب برای تهیه نانوذره‌های گوناگون استفاده شده‌اند. نانوذره‌های تهیه‌شده با این روش، می‌توانند بسیار مقاوم در برابر توده‌ای شدن باشند و در نتیجه کارایی بهتری در کاربردهای گوناگون داشته باشند. در این پژوهش، نانوجندسازهای بسپاری مغناطیسی کیتوسان - مگنتیت ( $Fe_3O_4-CS$ ) به روش هم‌رسوبی یون‌های آهن (II) و آهن (III) در حضور بسیار کیتوسان تهیه شد و با انواع روش‌های شناسایی موردبررسی قرار گرفت. سپس، نانوذره‌های نقره به روش کاهش شیمیایی نقره نیترات با سدیم بورهیدرید، بر نانوجندسازها تثبیت شد. مشخصه‌یابی نانو ساختارها با استفاده از پراش پرتو ایکس (XRD)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و مغناطیس‌سنجی نمونه‌ی ارتعاشی (VSM) انجام شد. سپس، فعالیت ضد میکروبی نانوذره‌های نقره تثبیت‌شده برای انواع ریزاندامگان مانند باکتری‌های گرم - مثبت، گرم - منفی و قارچ‌ها به روش انتشار در آگار موردبررسی قرار گرفت و نتایج رضایت‌بخشی را نشان داد.

**واژه‌های کلیدی:** نانوذرات مغناطیسی، نانوذرات نقره، فعالیت ضد میکروبی، باکتری‌های گرم - مثبت، باکتری‌های گرم - منفی

### مقدمه

یکی از عامل‌های مؤثر در توسعه‌ی نانوجندسازهای بسپاری، نانوذره‌های مغناطیسی است. این نانو ساختارها از دو بخش بسپار و نانوذره‌های مغناطیسی تشکیل شده‌اند. نانوذره‌های مغناطیسی در اندازه و شکل‌های متفاوت، با بسپارهای آلی ترکیب می‌شوند و افزون بر ویژگی مغناطیسی، باعث ویژگی‌های نوری و مکانیکی، پایداری گرمایی و ویژگی دی‌الکتریکی نانوجندسازها می‌شوند؛ به‌طوری‌که در کاربردهای صنعتی، زیستی، پزشکی، دارورسانی و غیره موردتوجه قرار گرفته‌اند [۴ تا ۶].

چندسازها مواد هستند که از دو یا بیش‌تر از دو بخش ماده‌ی سازنده تشکیل شده‌اند و ویژگی‌های برتری را نسبت به مواد سازنده‌ی خود نشان می‌دهند. نانوجندسازها، ساختارهای چندجزیی با بعدهای نانومتری هستند. نانوجندسازهای زمینه‌ی بسپاری<sup>۱</sup> که از یک زمینه‌ی بسپار و تقویت‌کننده‌های نانومتری تشکیل شده‌اند، دارای استحکام بالا، وزن کم، پایداری گرمایی بالا، رسانایی الکتریکی و مقاومت شیمیایی بالایی هستند [۱ تا ۳].

1. Composites 2. Polymeric

نقره باشد.

در این پژوهش، نانوذره‌های نقره به روش احیای شیمیایی نقره نترات با سدیم‌بورهیدرید بر نانوجندسازهای  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-CS}$  تثبیت شد. توزیع یکنواخت نانوذره‌های نقره بر نانوجندسازهای  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-CS}$  نشان می‌دهد که بستر مغناطیسی می‌تواند در آزمون فعالیت ضد میکروبی نقره کارآمد و مؤثر باشد. آزمون فعالیت ضد میکروبی  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-CS-Ag}$  در برابر باکتری‌ها و قارچ‌ها، به روش دیسک پخش انجام شد و نتایج این آزمون نشان داد که نانوجندساز مغناطیسی می‌تواند در کنترل رشد ریزاندامگان‌ها مؤثر باشد.

### بخش تجربی

مواد و دستگاه‌ها

تمام حلال‌ها، نمک‌های معدنی و کیتوسان از شرکت مرک و چنتامایسین<sup>۷</sup> و نیستاتین<sup>۸</sup> از شرکت سیگما-آلد ریچ خریداری شده و بدون خالص‌سازی دوباره به کار گرفته شدند. طیف‌های فرسرخ تبدیل فوریه (FTIR) نمونه‌ها با تهیه قرص پتاسیم برمید و به کارگیری دستگاه طیف‌سنجی از نوع Magna ۵۵۰ ساخت شرکت نیکولت آمریکا، ثبت شدند. الگوهای پراش پرتو ایکس (XRD) نمونه‌ها با دستگاه Philips X'Pert PRO ساخت کشور هلند با طول موج پرتو ایکس  $\text{CuK}\alpha$  برابر ۱٫۵۴ آنگستروم، قدرت ۴۰ کیلوولت و جریان ۳۰ میلی‌آمپر با سرعت اسکن ۰٫۲ درجه بر ثانیه ثبت شد. گستره ۲θ از ۱۰ تا ۱۰۰ درجه با سرعت اسکن دو درجه بر دقیقه در دمای محیط در دانشگاه کاشان انجام شد. تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) برای تعیین اندازه‌ی ذرات، با دستگاه پیشرفته‌ی FE-SEM از نوع MAIA ساخت شرکت TESCAN کشور جمهوری چک با دقت اندازه‌گیری ۱٫۲ نانومتر و ولتاژ ۳۰ تا ۲۰۰ کیلوولت (در فشار کاهش‌یافته‌ی شدیدی به مقدار ۳-۱۰ تور) تهیه شدند. تصویرهای سه بعدی میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) برای ریخت‌شناسی سطح نانومواد، با میکروسکپ از

نانوجندسازهای بسیاری مغناطیسی کیتوسان-مگنتیت ( $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-CS}$ )، کاربردهای گوناگونی را در دارورسانی [۷]، تصفیه‌ی آب‌های آلوده [۸]، حس‌گرهای زیستی [۹]، کاتالیست‌ها [۱۰]، فعالیت‌های ضد میکروبی [۱۱] و غیره نشان می‌دهند. یکی از کاربردهای آن‌ها، بستری برای تهیه‌ی نانوذره‌هاست [۱۲]. نانوذره‌هایی با اندازه بسیار ریز به سرعت کلوخه‌ای می‌شوند. بسترهای بسیاری مغناطیسی باعث پایداری نانوذره‌ها در برابر عوامل محیطی و شیمیایی می‌شوند [۱۳]. یکی از این نانوذره‌ها، نانوذره‌های نقره است.

صنعت مراقبت‌های بهداشتی، با توجه به رشد مقاومت باکتری‌ها و پادزیست‌ها، به شدت به ویژگی ضد میکروبی نقره نیازمند است. با توجه به آن که نانوذره‌های نقره دارای انرژی سطحی فراوان و فعالیت زیاد هستند، می‌توانند در اثر اکسایش در آب یا هوا، کلوخه‌ای شوند و از ویژگی‌های شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی آن‌ها کاسته شود. امروزه تثبیت نانوذره‌های نقره بر انواع بسترهای بسیاری و فعالیت ضد میکروبی آن‌ها مورد توجه قرار گرفته است [۱۴ تا ۱۷]. کیم<sup>۲</sup> و همکارانش، با تثبیت نانوذره‌های نقره بر بستر ژلاتین، فعالیت ضد میکروبی آن‌ها را بر انواع باکتری‌ها نشان دادند [۱۴]. همچنین داوودباشا<sup>۳</sup> از نانوجندساز نقره - سلولز برای بررسی ویژگی ضد میکروبی نقره در برابر انواع عامل‌های بیماری‌زا استفاده کرد و تأثیر مطلوبی را نسبت به فعالیت ضد میکروبی ذرات نقره به‌دست آورد [۱۵]. لئو<sup>۴</sup> و همکارانش نانوذره‌های نقره را بر بستر کیتوسان قرار دادند و اثر ضد میکروبی آن‌ها را بر باکتری‌ها و قارچ‌ها بررسی کردند. کمینه‌ی غلظت بازدارندگی رشد<sup>۵</sup> و فعالیت ضد باکتری نانوذره‌های نقره تثبیت‌شده بر کیتوسان بسیار بهتر از بسیار کیتوسان بود. اندازه بسیار کوچک نانوذره‌های نقره و نسبت سطح به حجم نانوذره‌ها، باعث شده تا بهتر با غشای انواع ریزاندامگان‌ها<sup>۶</sup> تبادل کند و اثر ضد میکروبی آن‌ها مؤثرتر نشان داده شود [۱۶]. اگرچه در این آزمایش‌ها، نانوذره‌های نقره اثر مطلوبی را در فعالیت ضد باکتری نشان دادند، اما جداسازی آن‌ها از محیط واکنش سخت و دشوار هست. جداسازی مغناطیسی می‌تواند یک فرایند مؤثر در بهبود فعالیت ضد میکروبی نانوذره‌های

1. Antibiotic 2. Kim 3. Davoodbasha 4. Liu 5. Minimum Inhibition Concentration (MIC)  $\mu\text{g/ml}$  6. Microorganisms 7. Gentamicin 8. Nystatine

مورد آزمایش قرار گرفت که شامل سویه‌های باکتریایی گرم - مثبت و گرم - منفی و قارچ‌ها بود که از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. باکتری‌ها به مدت یک شب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در آگار نوترینت و قارچ‌ها در دمای ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در آگار سابوراد دکستروز (SDA) کشت داده شدند [۱۸].

#### سنجش پخش در آگار<sup>۲</sup>

فعالیت ضدباکتری و ضد قارچ  $Fe_3O_4$ -CS-Ag به روش پخش در آگار مورد بررسی قرار گرفت [۱۹]. ۱۰۰ میکرولیتر از  $10^8$  CFU/ml باکتری،  $10^6$  CFU/ml مخمر و  $10^4$  spore/ml قارچ به ترتیب بر محیط‌های آگار مولر-هیتون (MHA)<sup>۳</sup>، سابوراد دکستروز و پوتاتو دکستروز<sup>۴</sup> قرار داده شد. چاهک‌هایی به قطر شش میلی‌متر بر دیسک‌ها ایجاد و با ۱۰ میکرولیتر از ترکیب‌های مورد آزمایش پر شد.  $10 \mu\text{g/well}$  پادزیست چنتامایسین و  $100 \text{ IU/well}$  از نیستاتین به ترتیب به‌عنوان یک استاندارد مثبت برای تعیین حساسیت باکتری‌ها و قارچ‌ها استفاده شد. محیط کشت برای باکتری‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، برای قارچ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و برای مخمر به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرم‌گذاری و تیمار شد. قطر هاله ممانعت از رشد برای هر ترکیب بر دیسک، برحسب میلی‌متر گزارش شد. کمینه‌ی غلظت بازدارنده‌ی (MIC) رشد برای باکتری‌ها و قارچ‌ها به روش میکروچاهک انجام شد [۲۰].  $Fe_3O_4$ -CS-Ag با غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. سپس، در ۱۰ لوله‌ی آزمایش سترون دارای کشت مایع برات (محیط کشت مایع که بدون آگار است و در لوله آزمایش انجام شد). رقت‌های سری دوتایی تهیه‌شده در یک گستره غلظت ۳۱/۲۵ تا ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانوجندسازه (۵/۵ تا ۳۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر یون نقره) آماده شد. جنتامایسین به‌عنوان داروی استاندارد برای کنترل مثبت (در شرایط یکسان برای آزمایش نمونه‌ها) به‌کارگرفته شد.

نوع EM3200 ساخت شرکت KYKY (از کشور چین) با دقت اندازه‌گیری ۱۰ نانومتر تهیه شد. مغناطش ترکیب‌های مغناطیسی با دستگاه NDKF توسط شرکت مغناطیس دقیق کویر در دانشگاه کاشان، در دمای محیط ثبت شدند.

#### تهیه‌ی نانوجندسازه $Fe_3O_4$ -CS

۱/۵ گرم کیتوسان (با وزن مولکولی ۱۰۰۰۰۰ تا ۳۰۰۰۰۰) در ۱۰۰ میلی‌لیتر از استیک اسید ۰/۰۵ مولار حل شد. سپس، ۶/۵۰ میلی‌مول (۱/۲۹ گرم) از آهن (II) کلرید (چهار آبه) و ۱۳ میلی‌مول (۳/۵۱ گرم) از آهن (III) کلرید (شش آبه) به محلول افزوده شد. مخلوط به مدت شش ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد (در فضای آرگون) تحت هم‌زدن مکانیکی قرار گرفت. سپس، شش میلی‌لیتر آمونیم هیدروکسید ۲۵ درصد وزنی، قطره‌قطره به مخلوط افزوده و واکنش برای ۳۰ دقیقه ادامه یافت. پس از سرد شدن، نانوذره‌های  $Fe_3O_4$ -CS، با آهن‌ربای مغناطیسی جدا و سه مرتبه با آب و استیک اسید رقیق شسته و در فشار کاهش‌یافته در دمای ۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد خشک شد [۱۰].

#### تهیه $Fe_3O_4$ -CS-Ag

۰/۱۲ گرم از  $Fe_3O_4$ -CS در ۵۰ میلی‌لیتر آب یون‌زدوده و در حمام فراصوت همگن شد. سپس، ۰/۰۳۵۰ گرم نمک نقره نیترات حل‌شده در ۳۰ میلی‌لیتر آب یون‌زدوده، به مخلوط افزوده شد. درحال هم‌زدن مخلوط با همزن مغناطیسی، مقدار مازاد محلول تازه تهیه‌شده سدیم بورهیدرید حل‌شده در آب (۰/۰۳۱ گرم)، قطره‌قطره به آن افزوده شد. در این زمان رنگ محلول از قهوه‌ای پررنگ به خاکستری متمایل شد. پس از دو ساعت از ادامه‌ی واکنش، نانوجندسازه‌ی  $Fe_3O_4$ -CS-Ag با آهن‌ربای مغناطیسی جدا و سه مرتبه با آب یون‌زدوده، شسته و فرآورده در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد.

#### سویه‌های میکروبی

فعالیت ضد میکروبی نانوذره‌های نقره برای ۱۲ ریزاندامگان

1. Sabouraud dextrose 2. Agar diffusion assay 3. Mueller-Hinton agar 4. Potato dextrose

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-CS از نظر ریخت‌شناسی با نانوذره‌های Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> تفاوت دارد. بزرگ شدن اندازه‌ی نانوذرات تا حدود پنجاه نانومتر نشان‌دهنده‌ی پوشش کیتوسان بر نانوذرات مگنتیت است. تصویر FE-SEM نانوذرات نقره تثبیت‌شده بر نانوجندساز بسیاری مغناطیسی در شکل ۱-ج نشان می‌دهد، نانوذرات به صورت همگن بر بستر مغناطیسی تثبیت‌شده‌اند.

موقعیت و شدت پیک‌ها در الگوهای XRD نانوذرات Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>، Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-CS و Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-CS-Ag در شکل ۲، ثابت می‌کند که شبکه مکعبی آهن اکسید در حضور کیتوسان و نانوذرات نقره حفظ‌شده است (JCPDS No.: 01-1111). داده‌های ۲θ برابر با ۳۸٫۳۳، ۴۴٫۴۸، ۶۴٫۶۸ و ۷۷٫۶۰ درجه که متناظر با صفحه‌های فرضی (۱ ۱ ۱)، (۲ ۰ ۰)، (۲ ۲ ۰) و (۳ ۱ ۱) است، ساختار نانوذرات نقره (JCPDS No.: 87-0717) را تأیید می‌کند. پهن‌شدگی پیک‌ها در ۲θ از ۲۰ تا ۳۰ درجه مربوط به پوشش بی‌شکل کیتوسان است. کیتوسان به‌عنوان یک بسپار بی‌شکل ساختار بلوری ندارد و با وارد شدن آن در ساختار بلوری نانوذرات مگنتیت، بخش بی‌نظم بسپار، باعث پهن‌شدگی پیک می‌شود.

کاهش مغناطیس اشباع از ۶۶٫۵۴ به ۱۹٫۵۱ emu g<sup>-1</sup> در شکل ۳، نشان می‌دهد که کیتوسان و نانوذرات نقره به‌عنوان یک پوشش غیرمغناطیسی بر نانوذرات Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>، از خاصیت مغناطیسی آن می‌کاهد.

اگرچه در منابع علمی بررسی ویژگی ضد میکروبی نانوذرات نقره مورد بررسی و آزمایش قرار گرفته است، ولی مقدار کارایی مؤثر آن به‌اندازه نانوذرات بستگی دارد. در این پژوهش، با تثبیت نانوذرات نقره بر بستری زیست‌سازگار مانند کیتوسان، نانوذرات بسیار ریزی تولید شده است که در ویژگی ضد میکروبی آن باید اثرگذارتر باشد. تعداد زیاد گروه‌های هیدروکسیل باعث تثبیت پایدار نانوذرات بر بستر بسپار می‌شود. همچنین، با ایجاد ویژگی مغناطیسی، جداسازی آن در محیط‌های مورد استفاده بسیار آسان‌تر و مقرون به‌صرفه‌تر خواهد شد. برای بررسی ویژگی ضد میکروبی نانوذرات نقره تثبیت‌شده بر نانوجندساز Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-CS، انواع باکتری‌های گرم - منفی، گرم - مثبت و قارچ‌ها مورد آزمایش

کدورت حاکی از رشد ریزاندامگان‌ها و MIC به‌عنوان پایین‌ترین غلظت ترکیب‌ها برای رشد قابل مشاهده، تعریف شد.

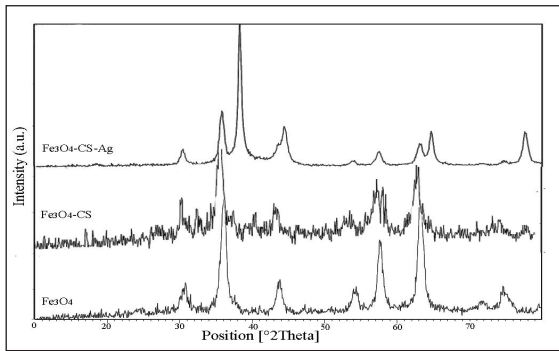
## نتیجه‌ها و بحث

### تهیه و مشخصه‌یابی Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-CS-Ag

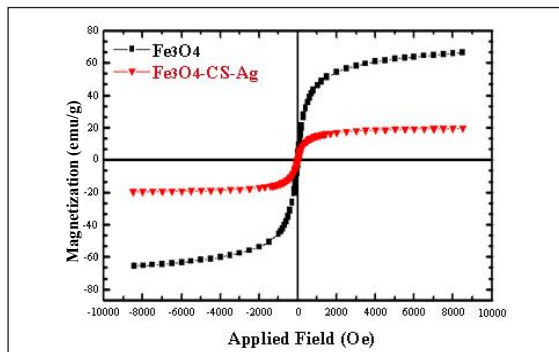
نانوجندساز کیتوسان-مگنتیت (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-CS) به روش هم‌رسوبی یون‌های آهن (II) و آهن (III) در حضور بسپار کیتوسان تهیه شد [۱۰]. سپس، نانوذره‌های نقره به روش کاهش شیمیایی با سدیم بوروهیدرید بر نانوجندساز تثبیت شد. انواع روش‌های دستگاهی برای مشخصه‌یابی نانوذره‌ها انجام شد.

با مقایسه طیف‌های فروسرخ تبدیل فوریه کیتوسان، نانوذره‌های Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-CS و Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> مشخص می‌شود، تثبیت بسپار بر سطح نانوذره‌های Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> با موفقیت انجام شده است. در طیف فروسرخ کیتوسان، نوار جذبی در ۳۴۳۳ cm<sup>-1</sup> ارتعاش‌های کششی گروه‌های هیدروکسیل و آمین را نشان می‌دهد. پهن‌شدگی این نوار به دلیل پیوند هیدروژنی بین مولکولی در پلی‌ساکارید کیتوسان است. نوارهای ۲۹۲۳ cm<sup>-1</sup> و ۲۸۵۵ cm<sup>-1</sup> به ترتیب مربوط به ارتعاش‌های کششی پیوندهای CH<sub>2</sub> و CH کیتوسان است. نوارهای جذبی در ناحیه‌های ۱۶۳۴ cm<sup>-1</sup> و ۱۴۲۳ cm<sup>-1</sup> ارتعاش خمشی گروه‌های NH و C-O را به ترتیب نشان می‌دهد. همچنین، ارتعاش کششی در ناحیه‌ی ۱۰۸۴ cm<sup>-1</sup> مربوط به پیوند C-O است. در طیف فروسرخ Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>، نوارهای جذبی ۳۴۲۹ cm<sup>-1</sup> مربوط به ارتعاش کششی OH بر سطح نانوذره‌های Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>، ۱۶۲۰ cm<sup>-1</sup> نشان‌گر ارتعاش OH تغییر شکل داده‌شده و نوار جذبی ۵۷۶ cm<sup>-1</sup> مربوط به ارتعاش کششی پیوند Fe-O است. در طیف فروسرخ تبدیل فوریه Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-CS، افزون بر ارتعاش‌های کششی و خمشی مربوط به بسپار کیتوسان، ارتعاش کششی پیوند Fe-O در ناحیه ۵۸۰ cm<sup>-1</sup> نیز مشاهده می‌شود.

شکل ۱ تصویرهای SEM نانوذره‌های Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-CS، Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-CS-Ag و Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-CS را نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۱-الف مشخص است، نانوذره‌های مگنتیت ساختار به تقریب کروی دارند. تصویر SEM در شکل ۱-ب نشان می‌دهد که نانوجندساز



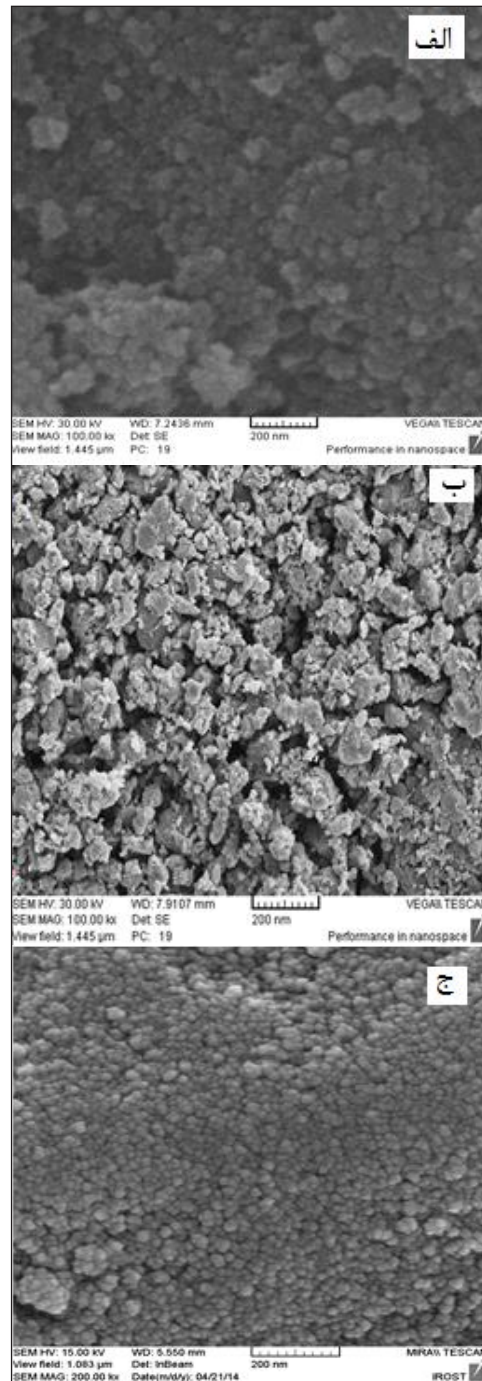
شکل ۲ الگوهای XRD نانوذرات  $Fe_3O_4$ ، نانوجندسازه  $Fe_3O_4$ -CS و  $Fe_3O_4$ -CS-Ag



شکل ۳ منحنی‌های VSM نانوذرات  $Fe_3O_4$  و نانوجندسازه  $Fe_3O_4$ -CS-Ag در دمای محیط

قرار گرفت. برای تهیه‌ی دیسک دارای نانوذرات نقره مطابق استاندارد NCCLS<sup>۱</sup>، ۳۰ میلی‌گرم از  $Fe_3O_4$ -CS-Ag، در یک میلی‌لیتر DMSO تهیه شد. در حدود ۱۰ میکرولیتر از این محلول بر دیسک قرار داده شد که قطری در حدود ۷ تا ۸ میلی‌متر تشکیل داد. دیسک در محیط کشت مولر هینتون قرار داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای باکتری‌ها و دمای ۲۵ سانتی‌گراد برای قارچ‌ها، گرم‌خانه‌گذاری شد. پس از این مدت، اگر نانوذرات نقره، نسبت به باکتری یا قارچ، فعالیت ضد میکروبی نشان دهند، یک هاله‌ی عدم رشد در ظرف نمونه دیده می‌شود. هاله‌ی عدم رشد، نشان می‌دهد که رشد باکتری یا قارچ در اطراف نانوذرات نقره انجام نشده است.

1. National Committee Clinical Laboratory Standard



شکل ۱ تصویرهای SEM نانوذرات  $Fe_3O_4$  (الف)،  $Fe_3O_4$ -CS (ب) و تصویر FE-SEM نانوذرات  $Fe_3O_4$ -CS-Ag (ج)

- منفی مانند سودوموناس آئروژینوزا<sup>۱</sup>، اش‌ریشیا کلی<sup>۲</sup> و کلبسیلا پنومونیه حساسیت نشان می‌دهند و ویژگی‌های ضد میکروبی آن‌ها تأیید می‌شود. ولی قارچ‌ها (آسپرژیلوس نایجر<sup>۳</sup> و آسپرژیلوس برزیلینسیس<sup>۴</sup>) به این آزمون جواب ندادند و هاله‌ی عدم رشد قارچ بر دیسک دیده نشد.

در مرحله‌ی بعدی، کمینه غلظت بازدارندگی رشد (MIC) (برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر)، برای هر کدام از باکتری‌ها و قارچ تک سلولی تعیین شد. این غلظت، کم‌ترین غلظت از

نانوجندساز Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-CS بدون نانوذرات نقره، هیچ فعالیت ضد میکروبی در مقابل دو باکتری استافیلوکوک اپیدرمیدیس<sup>۱</sup> و کلبسیلا پنومونیه<sup>۲</sup> از خود نشان نداد. ولی نانوذرات تثبیت شده بر نانوجندساز مغناطیسی ویژگی ضد باکتری مناسبی را نسبت به باکتری‌ها نشان داده است.

در جدول ۱، مشخص شده است که Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-CS-Ag نسبت به باکتری‌های گرم - مثبت مانند باسیلوس سوبتیلیس<sup>۳</sup>، استافیلوکوکوس اورئوس<sup>۴</sup> و استافیلوکوک اپیدرمیدیس و گرم

جدول ۱ نتایج فعالیت ضد میکروبی Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-CS-Ag

آزمون ریزاندامگان	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @CS-Ag		پادزیست			
	قطر هاله (mm)	MIC (µg/ml)	جنتامایسین		نیستاتین	
			قطر هاله (mm)	MIC (µg/ml)	قطر هاله (mm)	MIC (µg/ml)
سودوموناس آئروژینوزا (ATCC 27853)	۸	۲۵۰	۲۳	۵۰۰	-	-
باسیلوس سوبتیلیس (ATCC 6633)	۸	۲۵۰	۲۱	۵۰۰	-	-
اش‌ریشیا کلی (ATCC 10536)	۸	۲۵۰	۲۰	۵۰۰	-	-
استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 29737)	۸	۲۵۰	۲۱	۵۰۰	-	-
کلبسیلا پنومونیه (ATCC 10031)	۹	۲۵۰	۲۲	۲۵۰	-	-
استافیلوکوک اپیدرمیدیس (ATCC 12228)	۱۱	۲۵۰	۳۵	۵۰۰	-	-
شیگلا دیسانتری (PTCC 1188)	-	-	۱۸	۵۰۰	-	-
پروتئوس ولگاریس (PTCC 1182)	-	-	۲۳	۵۰۰	-	-
سالمونلا پاراتیفی گونه A (ATCC 5702)	-	-	۲۱	۵۰۰	-	-
کاندیدا آلبیکنس (ATCC 10231)	-	-	-	-	۲۵	۱۰۰
آسپرژیلوس نایجر (ATCC 16404)	-	-	-	-	۳۲	۱۲,۵
آسپرژیلوس برزیلینسیس (PTCC 5011)	-	-	-	-	۳۳	۲۵

1. Staphylococcus epidermidis (ATCC 12228) 2. Klebsiella pneumonia (ATCC 10031) 3. Bacillus subtilis (ATCC 6633)  
 4. Staphylococcus aureus (ATCC 29737) 5. Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853) 6. Escherichia coli (ATCC 10536)  
 7. Aspergillus niger (ATCC 16404) 8. Aspergillus brasiliensis (PTCC 5011)

آن غلظت مشخص است. نتایج در جدول ۱ نشان می‌دهد که غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، غلظت بازدارندگی رشد برای انواع باکتری است.

جدول ۲ مقایسه‌ی ویژگی ضد میکروبی نانوذرات  $Fe_3O_4$ -CS-Ag با نانوذرات نقره در مراجع علمی را نشان می‌دهد. به کارگیری غلظت بسیار کم نانوذرات نقره تثبیت شده بر نانوجندسازه‌ی مگنتیت - کیتوسان، برای بالاترین مقدار غلظت تعلیق باکتری و تأثیر آن بر باکتری نشان‌دهنده قدرت ضد میکروبی این نانوجندسازه است.

جدول ۲ مقایسه‌ی ویژگی ضد میکروبی نانوذرات  $Fe_3O_4$ -CS-Ag با نانوذرات نقره در مراجع علمی

نمونه	نوع باکتری	غلظت باکتری (CFUs/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	غلظت نقره ( $\mu\text{g/ml}$ )	مرجع
نانوذرات نقره	اشریشیا کلی	$10^5$	۵۰	۵۰	[۲۱]
نانوذرات نقره	اشریشیا کلی	$10^5$	۷۵	۷۵	[۲۲]
Ag NPs@SiO <sub>2</sub>	اشریشیا کلی	$10^7-10^6$	۴	۱٫۷	[۲۳]
Ag-SiO <sub>2</sub>	اشریشیا کلی	$10^5$	۱۰۰	۱۰	[۲۴]
Ag-SiO <sub>2</sub>	اشریشیا کلی	$10^7$	۶۲٫۵	۱۲٫۵	[۲۵]
SSNs-NH <sub>2</sub> @Ag	اشریشیا کلی	$10^4$	۱۸۰٫۵	۱۰٫۲	[۲۶]
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -CS-Ag	اشریشیا کلی	$10^8$	۲۵۰	۸٫۵	این پژوهش

ویژگی ضدباکتری مناسبی نسبت به انواع باکتری‌های گرم - مثبت و گرم - منفی دارند.

### سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از حمایت‌های مالی دانشگاه کاشان (شماره گرنت ۳۶۳۰۲۲/۱۶) صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنند.

### نتیجه‌گیری

در این پژوهش، نانوذرات نقره با روش کاهش شیمیایی بر نانوجندسازه‌ی بسیاری مغناطیسی تثبیت شد. اندازه بسیار ریز این ذرات و پایداری آن بر بستر مغناطیسی باعث شد تا گزینه‌ای برای انتخاب یک معرف ضد میکروب باشند. بنابراین، فعالیت ضد میکروبی این نانوجندسازه به روش انتشار در آگار مورد بررسی قرار گرفت و نشان داد که نانوذرات نقره در غلظت بسیار کم،

### مراجع

- [1] Suryanarayana, C.; Al-Aqeeli, N.; Progress in Materials Science 58. 383-502, 2013.
- [2] Haldoraia, Y.; Shima, J.J.; Limc, K.T.; Journal of Supercritical Fluids 71, 45-63, 2012.
- [3] Armentano, I.; Dottori, M.; Fortunati, E.; Mattioli, S.; Kenny, J.M.; Polymer Degradation and Stability 95, 2126-2146, 2010.
- [4] Medeiros, S.F.; Santos, A.M.; Fessi H.; Elais-

- sari, A.; International Journal of Pharmaceutics 403, 139-161, 2011.
- [5] Oh, J.K.; Park, J.M.; Progress in Polymer Science 36, 168-189, 2011.
- [6] Thanigai Arul, K.; Manikandan, E.; Murmu, P.P.; Kennedy, J.; Henini, M.; Journal of Alloys and Compounds 720, 395-400, 2017.
- [7] Shete, P.B.; Patil, R.M.; Thorat, N.D.; Prasad, A.; Ningthoujamb, R.S.; Ghosh S.J.; Pawar, S.H.; Applied Surface Science 288, 149-157, 2014.
- [8] Cao, C.; Xiao, L.; Chen, C.; Shi, X.; Cao, Q.; Gao, L.; Powder Technology 260, 90-97, 2014.
- [9] Devi, R.; Pundir, C.S.; Sensors & Actuators, B: Chemical 193, 608-615, 2014.
- [10] Zarnegar Z.; Safari, J.; RSC Advances 4, 20932-20939, 2014.
- [11] Shariatinia, Z.; Nikfar, Z.; International Journal of Biological Macromolecules 60, 226-234, 2013.
- [12] Zarnegar Z.; Safari, J.; RSC Advances 4, 20932-20939, 2014.
- [13] Zarnegar Z.; Safari, J.; New Journal of Chemistry 38, 4555-4565, 2014.
- [14] Kim, S.C.; Kim, S.M.; Yoon, G.J.; Nam, S.W.; Lee, S.Y.; Kim, J.W.; Current Applied Physics 14, S172-S179, 2014.
- [15] Davoodbasha, M.; Lee, S.Y.; Kim S.C.; Kim, J.W.; RSC Advances 5, 35052-35060, 2015.
- [16] Biao, L.; Tan, S.; Wang, Y.; Guo, X.; Fu, Y.; Xu, F.; Zu, Y.; and Liu, Z.; Materials Science and Engineering: C 76, 73-80, 2017.
- [17] Tudose, M.; Culita, D.C.; Musuc, A.M.; Somacescu, S.; Ghica, C.; Chifiriuc, M.C.; Bleotu, C. Materials Science and Engineering: C 79, 499-506, 2017.
- [18] Tsai, Y.K.; Fung, C.P.; Lin, J.C.; Chen, J.H.; Chang, F.Y.; Chen, T.L.; Siu, L.K.; Antimicrob Agents Chemother 55, 1485-93, 2011.
- [19] Murray, P.R.; Baron, E.J.; Pfaller, M.A.; Tenover, F.C.; and Tenover, R.H.; "Manual of clinical microbiology" (7th ed.; pp. 1773), ASM, Washington, 1995.
- [20] Gulluce, M.; Sokmen, M.; Sahin, F.; Sokmen, A.; Adiguzel, A.; Ozer, H.; Journal of the Science of Food and Agriculture 48, 735-741, 2004.
- [21] Sondi, I.; Salopek-Sondi, B.; Journal of Colloid Interface Science 275, 177-182, 2004.
- [22] Sharma, V.K.; Yngard, R.A.; Lin, Y.; Advanced Colloid Interface Science 145, 83-96, 2009.
- [23] Yang, H.; Liu, Y.; Shen, Q.; Chen, L.; You, W.; Wang, X.; Sheng, J.; Journal of Material Chemistry 22, 24132-24138, 2012.
- [24] Naik, B.; Desai, V.; Kowshik, M.; Prasad, V.S.; Fernando, G.F.; Ghosh, N.N.; Particuology 9, 243-247, 2011.
- [25] Egger, S.; Lehmann, R.P.; Height, M.J.; Loessner, M.J.; Schuppler, M.; Applied and Environmental Microbiology 75, 2973-2976, 2009.
- [26] Wang, Y.; Wang, Y.; Su, L.; Luan, Y.; Du, X.; Zhang, X.; Journal of Alloys and Compounds 783, 136-144, 2019.



## Stabilization of silver nanoparticles on polymer nanocomposites of magnetite - chitosan and their antimicrobial properties

Zohre Zarnegar<sup>1</sup>, Javad Safari<sup>2\*</sup>, Zohreh Zahraei<sup>3</sup>

1. Research Affiliate, Department of Chemistry, University of Payame Noor, Tehran, Iran
2. Full Prof, Department of Organic Chemistry, College of Chemistry, University of Kashan, Kashan, Iran
3. Assistant Prof, Cell and Molecular Biology department, College of Chemistry, University of Kashan, Kashan, Iran

Received: December 2018, Revised: Jun 2019, Accepted: Jun 2019

**Abstract:** Magnetic polymers were used as suitable stabilizers for the synthesis of various nanoparticles. The synthesized nanoparticles with this method, can be very resistant against agglomeration and resulting in better performance in a variety of applications. In this research, magnetic polymer nanocomposites of magnetite-chitosan ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -CS) were prepared through co-precipitation of  $\text{Fe}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{3+}$  ions in an aqueous solution of chitosan. Then Ag nanoparticles immobilized on this nanocomposite by chemical reducing  $\text{AgNO}_3$  with  $\text{NaBH}_4$ . The nanostructures have been characterized by X-ray powder diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), and vibrating sample magnetometry (VSM) techniques. Then, antibacterial activities of supported Ag nanoparticles were investigated for a variety of microorganisms such as Gram-positive, Gram-negative bacteria, and fungal strains.

**Keywords:** Magnetic nanoparticles, Ag nanoparticles, Antibacterial activity, Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria