

## مطالعه خواص ضد باکتری لایه نازک نانوکامپوزیتی نیتريد تانتالم حاوی ذرات طلا و نقره

طاهره قنبری راد<sup>۱</sup>، پروانه سنگ‌پور<sup>۲\*</sup>، سیدمجید برقمی<sup>۱</sup>، مهدی صدری<sup>۱</sup><sup>۱</sup>دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم، گروه فیزیک، کرج، ایران<sup>۲</sup>پژوهشگاه مواد و انرژی، پژوهشکده فناوری نانو و مواد پیشرفته، کرج، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۳/۰۸/۱۱، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۴/۰۳/۰۹، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۴/۰۵/۰۶

**چکیده** پوشش نانوکامپوزیتی نیتريد تانتالم - طلا / نقره به وسیله دستگاه لایه نشانی استوانه‌ای کندوپاش D.C بر روی زیرلایه‌هایی از جنس استیل ضدزنگ ۳۱۶ انباشت شده است. نمونه‌ها در دمای ۴۰۰ درجه سلسیوس و زمان‌های مختلف ۳، ۵ و ۷ دقیقه تحت عملیات حرارتی قرار داده شده‌اند. ساختار کریستالی، توپوگرافی، مورفولوژی و عناصر موجود در لایه‌ها به ترتیب توسط پراش اشعه ایکس، میکروسکوپ نیروی اتمی و تفرق انرژی اشعه ایکس مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته‌اند. به علاوه ویژگی خود تمیز شونده این لایه‌ها با استفاده از آزمایش‌های زاویه تماسی مطالعه شده است. به منظور بررسی خواص ضدباکتری لایه‌ها با آزمون تماس باکتری *Staphylococcus aureus* در زمان‌های تماس ۱، ۳ و ۶ ساعت انجام گرفت. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که اندازه میانگین نانوذرات لایه‌ها کمتر از ۴۰ نانومتر است که سایز نانوذرات و خواص زاویه تماسی می‌تواند به وسیله دما و زمان عملیات حرارتی کنترل شود. همچنین لایه‌های انباشت شده دارای خواص آب‌گریزی و خود تمیز شونده مناسبی هستند به طوری که زاویه تماس قطره آب با سطح لایه بیشتر از ۹۰° است، که منجر به ممانعت بهتری در برابر چسبندگی باکتری‌ها به سطح این لایه‌ها می‌شود.

**کلمات کلیدی:** ضدباکتری، نانوذرات طلا، آب‌گریزی، نیتريد تانتالم، نانو کامپوزیتی.

## Investigation of Antibacterial Properties of TaN-(Ag/Au) Nanocomposite Thin Films Using Surgical Instruments

Tahereh Ghanbaryrad<sup>1</sup>, Parvaneh Sangpour<sup>2\*</sup>, Seyed Majid Borghei<sup>1</sup>, Mahdi Sadry<sup>1</sup><sup>1</sup> Islamic Azad University, Department of Physics, Karaj, Iran<sup>2</sup> Materials and Energy Research Center, Nanotechnology and Advanced Materials Department, Karaj, Iran

**Abstract** TaN-(Ag/Au) nanocomposite thin film was deposited on stainless steel (type 316) substrates by cylindrical DC Cosputtering technique. Samples were annealed at 400 °C for different times 3, 5 and 7 minutes. Surface topography, crystalline structure, surface morphology and contact angle measurement of the prepared films were analyzed by using atomic force microscopy (AFM), X-ray diffractometry (XRD) and scanning electron microscopy (SEM) techniques, respectively. Antibacterial activity was measured by using *Staphylococcus aureus* bacteria at 1, 3 and 6 hours incubation times. The average size of nanoparticles measured less than 40 nm. The average size of particles and contact angle property could be controlled by annealing time and temperature. Results showed that the TaN-(Ag/Au) thin film is hydrophobic (its contact angle is more than 90 degree), so it can decrease the bacteria adhesion to the surface of the samples .

**Keywords:** antibacterial, Au/Ag nanoparticles, hydrophobic, TaN, nano-composite.

## ۱- مقدمه

می‌دهند زیرا هنگامی که نانوذرات نقره وارد محیط می‌شوند، چندین گونه از باکتری‌ها را نابود می‌کنند که احتمالاً به دلیل ایجاد پیوند با ساختار DNA باکتریها است [۶]. همچنین گزارش شده که نانوذرات نقره و طلا به دلیل پیوند قوی با الکترون‌های اهدایی در سلول‌های باکتریایی، فعالیت ضدباکتری قوی را در برابر باکتری‌ها ارائه می‌دهند [۷]. البته نانوذرات طلا نسبت به نانوذرات نقره، از جهتی دارای مزیت هستند چرا که نانوذرات طلا دارای خاصیت سمی بودن کمتری نسبت به نانوذرات نقره هستند که این امر به دلیل ویژگی‌های عنصری این ماده است [۸].

در این تحقیق ما علاوه بر تولید لایه نانوکامپوزیتی نیتريد تانتالم حاوی هر دو نانوذره طلا و نقره، موفق به اصلاح سطح لایه، اندازه میانگین نانوذرات و آب‌گریزی سطح این لایه‌ها شده‌ایم، به طوری که آب‌گریزی سطح را با حضور نانوذرات حفظ کرده و خاصیت عدم چسبندگی باکتریایی به سطح را افزایش داده‌ایم.

## ۲- روش تحقیق

برای انباشت لایه نیتريد تانتالم، زیرلایه فولاد زنگ‌نزن ۳۱۶ با ابعاد  $1 \times 1$  سانتی‌متر مربع طبق روش‌های استاندارد شستشو داده و تحت شرایط زیر در دستگاه لایه‌نشانی کندو پاش DC قرار داده شد.

برای تولید لایه نیتريد تانتالم، تارگت استوانه‌ای تانتالم با درصد خلوص ۹۹/۹۹٪ در ارتفاع ۲۰ و قطر ۳/۱ سانتی‌متر، یک سیم نقره خالص به طول ۱۲ سانتی‌متر و قطر ۱ میلی‌متر برای ایجاد نانوذرات نقره و دو قطعه شمش طلا با درصد خلوص ۹۹/۹۹٪ و ابعاد  $0.75 \times 0.8 \times 0.5$  سانتی‌متر مکعب، مطابق با آنچه در شکل (۱) به تصویر کشیده شده، در دستگاه قرار گرفته‌اند.

گاز ورودی به محفظه دستگاه لایه‌نشانی ترکیبی از گازهای آرگون و نیتروژن بوده که به‌طور هم‌زمان و با درصد ترکیب مساوی به محفظه تزریق شده است. ابتدا سیستم تا فشار  $(\text{torr}) 10^{-5} \times 8$  خلا، سپس با تزریق مخلوط گازی آرگون- نیتروژن، فشار در محفظه لایه‌نشانی به  $(\text{torr}) 10^{-2} \times 2/3$  رسید. فرآیند لایه‌نشانی در مدت زمان ۲۵

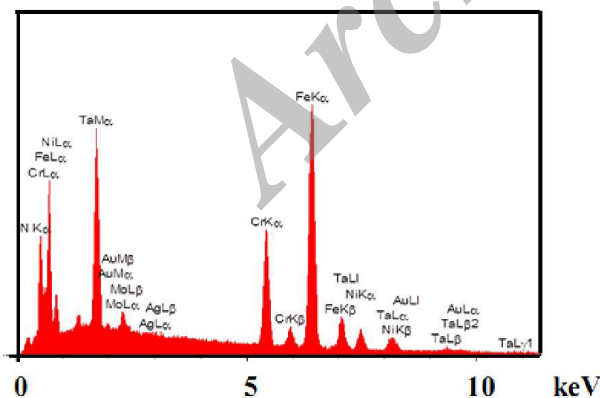
آنچه موجب اهمیت تولید لایه‌های ضدباکتری برای پوشش‌دهی ابزار پزشکی می‌شود، کاهش احتمال ایجاد عفونت پس از کاشت ایمپلنت و انجام عمل جراحی می‌باشد. این عفونت‌ها به دلیل استفاده از ابزارآلات جراحی، برش‌گرها و پیچ‌های نگهدارنده شکستگی استخوان تاثیر شدیدی در به مخاطره انداختن سلامت انسان‌ها دارد [۱]. چسبندگی باکتری‌ها به ابزار پزشکی اولین گام در سرایت عفونت‌های باکتریایی است. هنگامی که باکتری‌ها به ابزار پزشکی بچسبند، فرآیند چندگانه‌ای آغاز و منجر به تشکیل اجتماع پیچیده‌ای از باکتری‌های چسبنده به سطح می‌شود که در اصطلاح به آن بیوفیلم می‌گویند. با شکل‌گیری بیوفیلم، درمان کلینیکی آن به این دلیل که باکتری‌ها درون بیوفیلم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها محافظت می‌شوند، بسیار مشکل است و اغلب لازم می‌شود که ابزار پزشکی عفونی شده را ضدعفونی و یا جایگزین کرد تا از گسترش عوارض طاقت فرسا و حتی مرگ‌آور آن جلوگیری به عمل آورد. ضدعفونی کردن ابزار آلوده و درمان‌های اضافی به تدریج رنج بیمار، هزینه‌های درمان و مرگ و میر را افزایش می‌دهد [۱]. در تولید پوشش‌های ضدباکتریایی برای سطوح، علاوه بر انتخاب نانوذرات مناسب، خودپوشش‌ها نیز باید دارای قابلیت سازش‌پذیری زیستی، استحکام کافی، مقاومت به سایش و پوسیدگی باشند [۲]. برای تولید پوشش‌های ضدباکتری ابتدا زیرلایه‌ای با خواص مناسب را انتخاب کرده، سپس با کاشت نانوذراتی که دارای خاصیت ضدباکتری هستند، به لایه خاصیت ضدباکتری می‌دهند. در همین راستا، تحقیقات نشان داده است که لایه‌های نانوکامپوزیتی نیتريد تانتالم حاوی نانوذرات نقره دارای خواص لازم و کافی برای پوشش‌دهی ابزار پزشکی هستند [۳-۴]. از خواص بسیار مهم لایه نیتريد تانتالم آب‌گریز بودن سطح این لایه است زیرا آب‌گریز بودن لایه مانع چسبیدن باکتری‌ها به سطح می‌شود [۵،۳] اما با کاشت نانوذرات نقره بر سطح آن، خاصیت آب‌گریزی لایه از بین می‌رود [۱]. بنابراین باید به دنبال راهی برای حل این مشکل بود تا بتوان در کنار آب‌گریزی عالی لایه نیتريد تانتالم، از خاصیت ضدباکتری کم‌نظیر نانوذرات نقره نیز بهره گرفت. نانوذرات نقره بیشترین نوید را در ارائه رفتار ضدباکتریایی

شکل (۲) ارائه شده است.

به دلیل نازک بودن ضخامت لایه‌های انباشت شده، علاوه بر پیک‌های مربوط به تانتالم، نقره، طلا و نیتروژن، پیک‌های عناصر دیگر نظیر آهن، نیکل، کبالت، مولیبدن و ... نیز دیده می‌شود. این عناصر مربوط به زیرلایه فولاد زنگ‌نزن ۳۱۶ هستند.

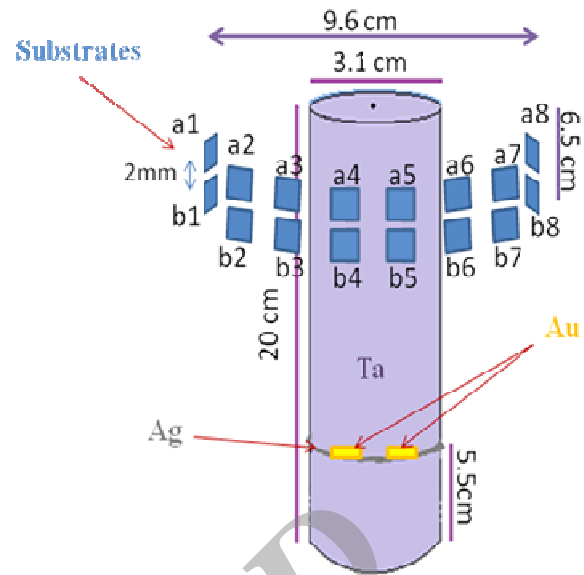
این لایه‌ها در دمای ۴۰۰ درجه سلیسیوس برای مدت زمان‌های مختلف ۳، ۵ و ۷ دقیقه تحت فرآیند پخت قرار داده شده‌اند تا ساختار کریستالی آنها شکل گیرد (۱۰ دقیقه زمان لازم است تا دمای کوره به ۴۰۰ درجه سلیسیوس برسد و نمونه‌ها به صورت جداگانه در آن قرار گرفته و بر روی هر نمونه در یک روز عملیات حرارتی انجام می‌گیرد). آزمایش پراش اشعه ایکس و ظهور پیک‌های نیتريد تانتالم در نمودار حاصل از این آزمایش، ساختار کریستالی هگزاگونال را در  $34/54^{\circ}$  تایید می‌کند. با این حال، هیچ پیکی از نقره و طلا مشاهده نشده که علت آن غلظت کم نانوذرات موجود در لایه‌ها می‌باشد، چرا که درصد غلظت نسبی آنها (نانوذرات به نیتريد تانتالم) حداکثر حدود ۳/۵٪-۳٪ بوده است.

لازم به ذکر است حضور عناصر نقره و طلا در لایه‌های انباشت شده توسط آزمایش EDX و آزمایش ضدباکتری به اثبات رسیده است.



شکل ۲. نمودار حاصل از تفرق انرژی اشعه ایکس لایه نیتريد تانتالم- نقره/ طلا.

شکل (۳) تصویر SEM از سطح لایه نیتريد تانتالم- نقره/ طلا و جدول (۱) نتایج حاصل از بررسی میزان زبری میانگین سطح لایه‌ها و اندازه میانگین نانوذرات به دست



شکل ۱. شماتیک مکان قرارگیری تارگت‌ها و زیرلایه‌ها.

دقیقه انجام گرفته است. سپس نمونه لایه‌های انباشت شده را تحت فرآیند پخت، توسط کوره الکتریکی، در زمان‌های ۳، ۵ و ۷ دقیقه در دمای ۴۰۰ درجه سلیسیوس قرار داده‌ایم.

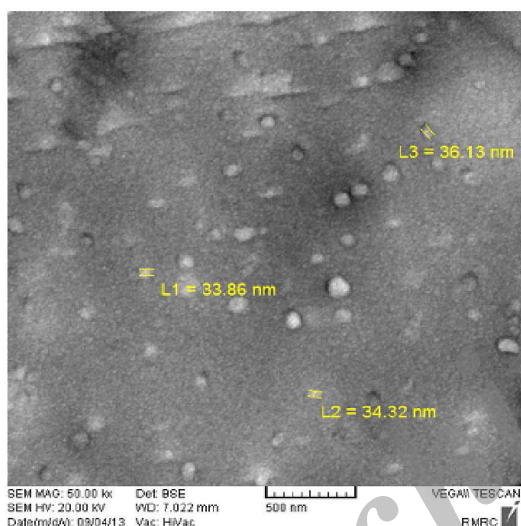
به منظور مطالعه و بررسی ترکیبات ساختاری لایه‌های انباشت شده از آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD) (CLRPD) و برای درصد ترکیب شیمیایی عناصر تشکیل دهنده نمونه‌ها از تکنیک جانبی میکروسکوپ الکترونی (EDX) با بزرگنمایی  $500\times$  بهره گرفتیم (دستگاه TESCAN مدل VEGAII). از آنالیز میکروسکوپ نیرو اتمی (AFM) (Veeco) و اندازه‌گیری زاویه تماس (Contact Angle) (Data physics) (OCA 15 plus)، به منظور بررسی سطح نمونه‌ها و خواص آب‌گریزی لایه‌ها استفاده شده است.

در آخر میزان فعالیت ضدباکتری لایه‌ها در زمان‌های تماس با باکتری ۱، ۳ و ۶ ساعت در محیط کشتی با دمای ۳۷ درجه سلیسیوس و  $10^{-8}$   $6/46 \times$  (CFU) باکتری گرم مثبت *Staphylococcus aureus*، تحت تابش نور مرئی مورد سنجش قرار گرفته است.

### ۳- نتایج و بحث

با استفاده از تکنیک جانبی میکروسکوپ الکترونی، تست تفرق انرژی اشعه ایکس (EDX)، درصد و نوع عناصر شیمیایی موجود در لایه‌های انباشت شده تعیین و نمودار آن در

جدول (۲) داده‌های حاصل از آزمایش زاویه تماسی قطره آب را با سطح لایه نیتريد تانتالم- نقره/طلا نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش زمان فرآیند پخت، میزان زاویه تماسی قطره آب با سطح ثابت باقی می‌ماند و با حضور نانوذرات طلا و نقره روی سطح لایه‌های انباشت شده از آب‌گریزی لایه نیتريد تانتالم کاسته نمی‌شود که این امر خود از اهمیت بسزایی برخوردار است، حفظ آب‌گریزی لایه‌های نانوکامپوزیتی نیتريد تانتالم- نقره/طلا موجب می‌شود تا علاوه بر بهره‌مندی از خاصیت ضدباکتری نانوذرات نقره و طلا، از خاصیت ممانعت از چسبندگی باکتری به سطح لایه فاقد نانوذره نیتريد تانتالم بهره‌مند شویم و کارایی و کیفیت لایه‌ها را تا حد مطلوبی افزایش دهیم.



شکل ۳. تصویر میکروسکوپ الکترونی از سطح لایه نیتريد

تانتالم- نقره/ طلا

جدول ۲. تغییرات میزان زاویه تماس قطره آب با سطح برحسب زمان پخت نمونه‌ها.

| زمان پخت (دقیقه) | زاویه تماس با سطح لایه (درجه) |
|------------------|-------------------------------|
| ۳                | ۹۲                            |
| ۵                | ۹۲                            |
| ۷                | ۹۰                            |

در گام بعدی آزمایش ضدباکتری نمونه لایه‌های نیتريد تانتالم- نقره/طلا در زمان‌های تماس با باکتری ۱، ۳ و ۶ ساعت در محیط کشتی با دمای ۳۷ درجه سلسیوس و  $10^{-8}$  CFU) × ۶/۴۶ باکتری گرام مثبت *Staphylococcus aureus*، تحت تابش نور مرئی انجام شده است. نمودار شکل (۴) نتایج

آمده از آزمایش AFM را ارائه می‌دهد. مقایسه تغییرات زبری میانگین سطح با زمان پخت لایه‌های انباشت شده مشخص می‌کند با افزایش زمان در دمای ثابت ۴۰۰ درجه سلسیوس، میزان زبری میانگین سطح لایه‌ها نیز افزایش می‌یابد. این امر به دلیل افزایش تعداد نانوذرات نقره و طلا روی سطح است که با افزایش مدت زمان پخت تعداد آنها روی سطح لایه افزایش یافته و موجب افزایش ناهمواری و زبری میانگین سطح می‌شوند. همچنین اندازه میانگین نانوذرات نیز با افزایش زمان پخت، افزایش داشته است. تصویر SEM نیز نشان می‌دهد اندازه نانوذرات روی سطح در حدود ۳۵ نانومتر می‌باشد و ذرات کاملاً یکنواخت و همگن به صورت کروی روی سطح پخش شده‌اند.

جدول ۱. تغییرات میزان زبری میانگین سطح برحسب مدت زمان فرآیند پخت در درجه حرارت  $400^{\circ}\text{C}$ .

| میانگین خشنی سطح (نانومتر) | زمان پخت (دقیقه) |
|----------------------------|------------------|
| ۱/۱                        | ۳                |
| ۱/۶                        | ۵                |
| ۲/۲                        | ۷                |

لازم به ذکر است که میزان افزایش اندازه نانوذرات برای لایه‌هایی که در زمان ۷ دقیقه پخت شده‌اند تغییرات قابل ملاحظه‌ای را نسبت به نمونه‌های پخت شده در مدت زمان ۵ دقیقه نشان نمی‌دهد. علت این امر را می‌توان در غلظت نسبی کم نقره و طلا جویا شد زیرا برخی از نانوذراتی که در طی فرآیند پخت به سمت سطح می‌آیند با نانوذراتی که قبلاً در آن نقطه قرار گرفته‌اند، ادغام شده، نانوذراتی با اندازه‌های بزرگتر شکل می‌گیرد. اما افزایش اندازه این نانوذرات به غلظت نانوذرات بستگی دارد، چرا که با گذر زمان از تعداد نانوذراتی که درون لایه قرار دارند کم می‌شود و به همان میزان از تعداد نانوذراتی که به سطح می‌رسند کاسته می‌شود در نتیجه تعداد نانوذراتی که به طور تصادفی روی سطح با هم ادغام می‌شدند نیز کاسته می‌شود و بدین شکل از شیب صعودی اندازه میانگین نانوذرات به مرور کاسته می‌شود.

زیرلایه‌هایی از جنس فولاد زنگ‌نزن ۳۱۶ انباشت شده است. ساختار کریستالی هگزاگونال لایه نیتريدانتالم با درصد اختلاط ۵۰-۵۰ گازهای آرگون و نیتروژن در فشار لایه‌نشانی  $10^{-2}$  (torr)  $2/3 \times 10^{-2}$  حاصل شده و اندازه میانگین نانوذرات کمتر از ۲۰ نانومتر است.

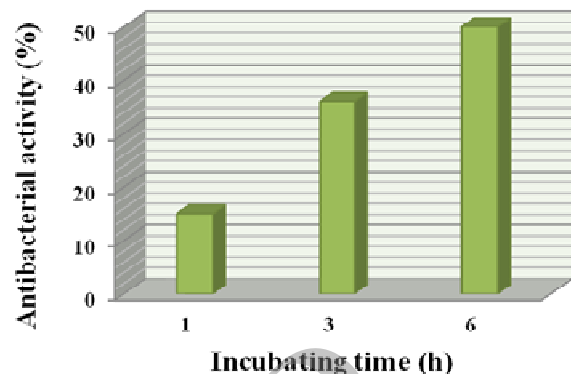
خاصیت آب‌گریزی این لایه‌ها درحالی‌که اندازه‌گیری زاویه تماسی بدون استفاده از پرتوافکنی UV انجام گرفته بیشتر از  $90^\circ$  است که این نتیجه بیانگر خاصیت آب‌گریزی عالی این لایه‌ها می‌باشد.

فعالیت ضدباکتری نمونه لایه‌های نیتريدانتالم-نقره/طلا با در نظر گرفتن عدم استفاده از پرتوافکنی UV در طی زمان تماس با باکتری لایه‌ها، ابعاد نمونه‌ها و تعداد باکتری‌های به کار برده، بسیار مطلوب و کارآمد بوده است.

## مراجع

1. Y. Liua, Zhao, Wang, C. , Wang, S. , Peng, N. , Jaynes, C. , "Reduction of bacterial adhesion on ion-implanted stainless steel surfaces", *Medical Engineering & Physics* , 30 (2008) 341–349.
2. Hsieh, J.H. , "Antibacterial behavior of TaN–Ag thin films with and without annealing", *Journal of surface and coating technology*, 202 (2008) 5586–5589.
3. Huang, Heng-Li , "Antibacterial TaN–Ag coatings on titanium dental implants", *Journal of surface and coating technology*, 205 (2010) 1636–1641.
4. Zhao, Q. "Reduction of bacterial adhesion on ion-implanted stainless steel surfaces", *J. Medical Engineering & Physics*, 30 (2008) 341–349.
5. Wang, Jincheng , Wang, Zhuopeng , "Song Guo, Jingyu Zhang, Yang Song, Xiaoming Dong, Xiaonan Wang, Jihong Yu, Antibacterial and anti-adhesive zeolite coatings on titanium alloy surface", *Microporous and Mesoporous Materials*, 146 (2011) 216–222.
6. Jaiswal, Swarna , McHale, Patrick , Duffy, Brendan , "Preparation and rapid analysis of antibacterial silver, copper and zinc doped sol-gel surface", *colloids and surface*, 94 (2012) 170–176.
7. Zhang, Yongwen , Peng, Huashong , Huang, Wei , Zhou, Yongfeng, Yan, Deyue , "Facile preparation and characterization of highly antimicrobial colloid Ag or Au nanoparticles", *Journal of Colloid and Interface Science*, 325 (2008) 371–376.
8. Zhou, Yan , Kong, Ying , Kundu, Subrata , Cirillo, Jeffrey D. , Liang, Hong , "Antibacterial activities of gold and silver nanoparticles against *Escherichia coli* and *bacillus Calmette-Guérin*", *Journal of Nanobiotechnology*, 10 ( 2012) 19.
9. Hsieh, J.H. , Yeh, T.H. , Li, C. , Chiu, C.H. , Huang, C.T. , "Antibacterial properties of TaN-(Ag,Cu) nanocomposite thin films", *Vacuum*, xxx (2012) 1–4.
10. Huang, Heng-Li , Chang, Yin-Yu , Lai, Meng-Cheng , Lin, Cai-Rong , Lai, Chih-Ho , Shieh, Tzong-Ming, "Antibacterial TaN–Ag coatings on titanium dental implants", *Surface & Coatings Technology*, 205 (2010) 1636–1641.

آزمایش ضدباکتری را برحسب مدت زمان تماس لایه‌ها با محلول باکتریایی نشان می‌دهند.



شکل ۴. نمودار نتایج فعالیت ضدباکتری لایه نیتريدانتالم-نقره/طلا برحسب مدت زمان (ساعت) تماس با سوسپانسیون باکتری.

از مقایسه نتایج فعالیت ضدباکتری نمونه لایه‌های نانوکامپوزیتی نیتريدانتالم-نقره/طلا تولیدی با نتایج فعالیت ضدباکتری دیگر مقالات [ ۶، ۹، ۱۰ ]، در نگاه اول نتایج ما ضعیف به نظر می‌رسد. اما باید توجه کرد که تعداد باکتری‌های به کار رفته در آزمایش‌های مشابه برابر  $10^8$  باکتری و تعداد باکتری‌های مورد استفاده در آزمایش ما بیش از ۶ برابر تعداد باکتری مورد استفاده توسط آنها بوده است. از این رو می‌توان بیان کرد که در یک ساعت اول تماس لایه با سوسپانسیون باکتریایی حدود ۹۰ درصد از باکتری‌ها توسط نانوذرات از بین می‌روند. شایان ذکر است که سطح تماس لایه با باکتری‌ها تاثیر بسزایی در فعالیت ضد میکروبی لایه دارد. بنابراین از مقایسه مساحت یک سانتی‌متر مربعی لایه ما با لایه‌هایی به قطر ۵ سانتی‌متر به کار رفته در مقالات مذکور درمی‌یابیم که لایه‌های نانوکامپوزیتی نیتريدانتالم-نقره/طلا تولیدی قادرند در همان ساعات اولیه تماس با سوسپانسیون باکتریایی ۱۰۰٪ باکتری‌ها را از بین ببرند. از سویی دیگر باتوجه به این امر که در طی آزمایش ضدباکتری این نمونه‌ها از تابش اشعه UV استفاده نشده است می‌توان بیان کرد که لایه‌های حاصل دارای خاصیت ضدباکتری بسیار مطلوبی هستند.

## ۴- نتیجه‌گیری

لایه نانوکامپوزیتی نیتريدانتالم - طلا/نقره به وسیله دستگاه لایه‌نشانی استوانه‌ای کندوپاش D.C بر روی