



## سنتز نانوکامپوزیت زئولیت- آهن اکسید به روش کوالانسی پوشش داده شده با فیلم کربوکسی متیل سلولز و ارزیابی ویژگی‌های مکانیکی و الکتریکی آن

ولی عزیزی<sup>۱</sup>، رضا رضایی مکرّم<sup>۲\*</sup>، محمود صوتی خیابانی<sup>۲</sup>، حامد همیشه‌کار<sup>۳</sup> و مهدی رحیمی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۷/۴/۲۶

<sup>۱</sup> کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تبریز

<sup>۲</sup> به‌ترتیب استادیار و دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تبریز

<sup>۳</sup> دانشیار گروه داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

<sup>۴</sup> دانشجوی دکتری شیمی، دانشگاه تبریز

\* مسئول مکاتبه: Email: rrmokarram@yahoo.com

### چکیده

**زمینه مطالعه:** نانوذرات سوپر پارامغناطیسی مثل آهن اکسید ( $Fe_3O_4$ ) می‌توانند با بکارگیری میدان مغناطیسی خارجی براحتی بازیافت شوند. هدف: در این پژوهش میکروذرات زئولیت که سطح تماس داخلی وسیعی دارند با نانوذرات اکسید آهن به روش کوالانسی به همدیگر اتصال یافته و با کربوکسی متیل سلولز به روش بستر آمیخته پوشش داده شدند. نانوکامپوزیت تولیدشده بعنوان بستری برای تثبیت شیمیایی آنزیم آلفاآمیلاز طراحی شد و راندمان بارگذاری و راندمان تثبیت در آن محاسبه گردید. روش: برای بررسی خصوصیات سطحی و اندازه ذرات میکروسکوب الکترونی روبشی، برای تهیه برهمکنش میان اجزاء واکنش از اسپکتروسکوپی فروسرخ، برای مطالعه ساختار مواد بلوری از دستگاه پراش اشعه ایکس استفاده گردید. راندمان بارگذاری با اندازه‌گیری میزان پروتئین تثبیت نشده توسط معرف برادفورد و اسپکتروفتومتری محدوده نور مرئی- فرابنفش محاسبه گردید و راندمان تثبیت اندازه‌گیری فعالیت آلفاآمیلاز به روش میلر محاسبه شد. **نتایج:** نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که نانوذرات مغناطیسی آهن بوسیله اتصال‌دهنده تری متوکسی سیلیل پروپیل آمین به یکدیگر چسبیده و نانو سیم‌های آهن را ساخته‌اند. در آزمون مکانیکی مقاومت کشش نهایی، بیشترین افزایش طول، مدول الاستیک و کرنش تا نقطه شکست به ترتیب ۱/۳۱ مگاپاسکال، ۱۳/۷۲ میلی‌متر، ۳/۹۵ مگاپاسکال و ۳۴/۳۱ درصد نشان داده شد. منحنی اختلاف پتانسیل- شدت جریان غیرخطی بود که نشان‌دهنده ماهیت نیمه‌هادی فیلم نانوکامپوزیتی می‌باشد. هدایت الکتریکی در اختلاف پتانسیل ۱ ولت و شدت جریان ۰/۱ میلی‌آمپر برابر ۰/۰۵۳ زیمنس بر سانتی متر محاسبه گردید و پاسخ آمپرومتریک در ۴۵۰ ثانیه حدود ۲/۵ میکروآمپر مشاهده شد. راندمان بارگذاری و راندمان تثبیت به ترتیب ۹۳/۲ درصد و ۸۲ درصد بدست آمد. **نتیجه‌گیری نهایی:** مقایسه خواص الکتریکی و مکانیکی فیلم نانوکامپوزیتی با مطالعات دیگر نشان داد که خواص مکانیکی فیلم تهیه شده و خواص الکتریکی این فیلم برای استفاده در حسگرهای زیستی بسیار مناسب می‌باشد. همچنین با توجه به راندمان بارگذاری و راندمان تثبیت آنزیم بالا، پتانسیل بستر نانوکامپوزیتی سنتز شده بسیار مطلوب بدست آمد.

**واژگان کلیدی:** فیلم نانوکامپوزیتی، زئولیت، نانوذرات مغناطیسی آهن، کربوکسی متیل سلولز، رسانایی

## مقدمه

نانوکامپوزیت‌ها ترکیبی از یک یا مخلوطی از پلی‌مرها هستند که واجد حداقل یک ماده پرکننده آلی یا معدنی، با ابعاد کمتر از ۱۰۰ نانومتر می‌باشند (می‌هیندو کولاسوریا و همکاران ۲۰۱۴). در کاربردهای درمانی و پزشکی نیاز اساسی به استفاده از نانو ذرات مغناطیسی پلی‌مری است و پلی‌مر پوششی باید زیست‌سازگار و غیر سمی باشد. از طرف دیگر، برای کاربردهای صنعتی پلی‌مرها نه تنها باید با محیط سازگار باشند بلکه لازم است ارزان و در دسترس و هزینه فرآوری آن‌ها کم باشد (نامدئو و همکاران ۲۰۰۹). نانوذرات سوپر پارامغناطیسی برپایه مگنتیت ( $Fe_3O_4$ ) ویژگی‌های جالب توجه زیادی مثل مساحت سطح بالا، ویژگی‌های الکتریکی، نوری و کاتالیتیکی، بازیافت آسان با بکارگیری میدان مغناطیسی خارجی و سازگاری عالی با محیط زیست دارند (خیری ۲۰۱۴؛ نتو و همکاران ۲۰۱۳). در مطالعه ای داروی ضد سرطان ۵-فلوروراسیل را روی نانوکامپوزیت زئولیت- سوپرپارا مغناطیس بارگذاری و رهایش آن را ارزیابی کرده اند (سقیرو و همکاران ۲۰۱۶).

سطح وسیع گروه‌های عاملی فعال در ترکیبات معدنی از جنس رس می‌تواند به تعامل بین مواد معدنی رسی و مولکول‌های آلی آنزیمی بوسیله خاصیت هیدروفوب کمک کند (آن و همکاران ۲۰۱۵). ترکیبات آلی یا معدنی بر پایه سیلیکا در پژوهش‌های مختلف جهت تثبیت مولکول‌های زیستی بکار گرفته شده‌اند. این ترکیبات بعلاوه ویژگی‌هایی مثل مساحت سطح بالا، استحکام مکانیکی، خنثی بودن و زیست‌سازگاری عالی برای ساخت حسگرهای زیستی آنزیمی مطلوب هستند (گوپالان و همکاران ۲۰۰۹). زئولیت‌ها گروه مهمی از آلومینوسیلیکات‌های کریستالی هستند که بطور وسیعی بعنوان جاذب، مبادله‌کننده یون، کاتالیزور و بستر کاتالیزور استفاده شده‌اند (عزیزی و همکاران ۲۰۱۳). زئولیت‌های طبیعی امروزه بطور گسترده‌ای در لوازم

آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود و این به علت فعالیت‌های زیست شناختی شناخته‌شده مانند محافظت در برابر فرابنفش و تأثیر در بهبود زخم می‌باشد (تیجل و همکاران ۲۰۱۸). مهمترین ویژگی‌های زئولیت‌ها عبارتند از: متبلور بودن، سیستم حفره‌ای منظم و یک شکل، سطح تماس داخلی وسیع (نیونی و همکاران ۲۰۱۵)، پایداری حرارتی بالا، ظرفیت تبادل یونی بالا (عزیزی و همکاران ۲۰۱۳)، غیرسمی بودن و بی‌خطر بودن برای محیط‌زیست.

کربوکسی متیل سلولز یکی از ارزانتترین زیست پلیمرهای کربوهیدراتی است که فیلم‌های با خواص و ظاهر مناسب تشکیل می‌دهد ولی مشکل اصلی آن همانند سایر زیست پلیمرها آبدوستی نسبتاً بالای آن می‌باشد (قنبرزاده و الماسی ۱۳۸۸). مقاومت به حلال‌های آلی و روغن، خنثی بودن از لحاظ فیزیولوژیکی، خاصیت تشکیل فیلم خوب و مقاومت مکانیکی بالا و حالت چسبندگی آن برای استفاده در حسگرهای زیستی از ویژگی‌های آن است. همچنین ماده‌ای غیر سمی و زیست‌تخریب‌پذیر است (باریک و همکاران ۲۰۱۰؛ ال ساید و همکاران ۲۰۱۵).

در این پژوهش میکروذرات زئولیت و نانوذرات اکسید آهن به روش کوالانسی به همدیگر اتصال داده شدند و با کربوکسی متیل سلولز به روش بستر آمیخته پوشش داده شدند. هدف از این پژوهش استفاده از مواد اولیه ارزان و زیست سازگار برای تهیه فیلمی با استحکام مکانیکی خوب و با رسانایی بالا بود. نانوکامپوزیت تولید شده بعنوان بستری برای تثبیت آنزیم طراحی و ساخته شد. همچنین کارایی بارگذاری و تثبیت آنزیم آلفا آمیلاز روی بستر نانو کامپوزیتی محاسبه گردید.

## مواد و روش‌ها

## مواد

میکروذرات زئولیت نوع A در اندازه ۱ تا ۲ میکرومتر (از شرکت کیمیا خاتم تبریز)، نانوذرات مغناطیسی آهن (از شرکت کیمیا خاتم تبریز)، نانوذرات مغناطیسی آهن ( $Fe_3O_4$ ) (از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان)، کربوکسی متیل سلولز<sup>۱</sup> (با وزن مولکولی بالا از شرکت سیگما آلدریچ<sup>۲</sup> انگلستان)، محلول تری متوکسی سیلیل پروپیل آمین (خلوص ۹۵٪ از شرکت مرک<sup>۳</sup> آلمان)، حلال تولوئن (از شرکت شارلوا اسپانیا)، گلیسرین (از شرکت دوکسان کره جنوبی).

## دستگاه‌ها

سانتریفوژ (مدل Universal 320 ساخت ایران)، ترازو (با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم مدل HR200 ساخت آلمان)، همزن مغناطیسی (مدل Heidolph MR ساخت آلمان)، سونیکاتور پروب (مدل Hielscher ساخت آلمان)، اسپکتروسکوپی فروسرخ (FTIR) (مدل Tensor 27 ساخت آلمان)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (مدل Mira 3 FEG SEM ساخت اتریش)، دستگاه پراش پرتو ایکس (مدل XD5000 ساخت فرانسه)، دستگاه کشش و فشار (مدل Santam STM-1 ساخت ایران)، دستگاه پروب چهار نقطه‌ای (مدل 2410 ساخت آمریکا).

## روش‌ها

## اتصال زئولیت و آهن اکسید

ابتدا ۰/۱ گرم نانوذرات مغناطیسی آهن و ۱ گرم میکروذرات زئولیت در ۲۰ میلی‌لیتر حلال تولوئن ریخته، بوسیله سونیکاتور نوع پروب به مدت ۵ دقیقه دیسپرس شد. سپس ۱ میلی‌لیتر محلول تری‌متوکسی‌سیلیل‌پروپیل‌آمین که عامل اصلاح و اتصال همزمان نانوذرات مغناطیسی آهن و زئولیت می‌باشد، اضافه گردید و پس از بازروانی در دمای ۵۰°C به مدت ۳ ساعت، به مدت ۷۲ ساعت تحت گاز

بی‌اثر ازت و همزدن مداوم برای ایجاد اتصال قرارگرفت. بعد از گذشت ۷۲ ساعت ذرات اتصال‌یافته با سانتریفوژ (سرعت ۹۰۰۰ دور در دقیقه برابر با شتاب گرانشی حدود  $10500 \times g$  به مدت ۱۰ دقیقه) از حلال تولوئن جدا گردید و سپس با آب مقطر ۳ بار شستشو داده شد و در دسیکاتور و در دمای محیط نگهداری شد (حسینی پور و همکاران ۲۰۱۵).

**تهیه فیلم نانوکامپوزیتی زئولیت/اکسید آهن/CMC**  
برای این منظور زئولیت-اکسید آهن سنتز شده با درصد مناسبی از CMC آمیخته شد. در این مرحله، ابتدا مقادیر مختلف (۵ و ۴، ۳، ۲، ۱ درصد) CMC را در محلول ۲٪ گلیسرول حل کرده و سپس ۱۰ میلی‌گرم زئولیت مغناطیسی در دمای ۵۰°C به آن اضافه گردید تا بصورت صاف و یکنواخت درآید. مخلوط حاصل در داخل پلیت پلی‌استیرن به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط خشک گردید (شمس و میر محمدی ۲۰۰۷).

## میکروسکوپ الکترونی روبشی

برای بررسی خصوصیات سطحی و اندازه ذرات زئولیت، زئولیت اصلاح شده با نانوذرات مغناطیسی آهن و فیلم نانوکامپوزیتی زئولیت-اکسید آهن-CMC، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) بکار گرفته شد. به کمک تصاویر گرفته شده می‌توان از اندازه نانوذرات و همچنین چگونگی توزیع آن اطلاعات مفیدی کسب نمود. دستگاه در ولتاژ ۱۰ کیلو ولت مورد استفاده قرار گرفت.

**تهیه فیلم نانوکامپوزیتی برای مطالعه میکروسکوپی**  
تهیه نمونه‌ها در این پژوهش بدین ترتیب بود که مقدار ۱ میلی‌گرم از ذرات درون یک میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد و کاملاً همگن گردید. سپس یک قطره از نمونه روی لامل ریخته و بخوبی پخش شد. برای تهیه نمونه دارای پوشش نیز ۱ سانتی‌متر از فیلم نانوکامپوزیتی برش و روی لامل قرار داده شد. همه نمونه‌ها برای خشک شدن به مدت ۲ ساعت داخل آون با دمای ۳۷°C گذاشته شد.

1- Carboxy methyl cellulose

2- Sigma Aldrich

3- Merck

4- Reflux

مقدار نمونه برای پراش اشعه ایکس حداقل ۰/۵ گرم است. طول موج استفاده شده در این تحقیق ۱/۵۴ آنگستروم بود.

**اندازه‌گیری خواص مکانیکی با دستگاه کشش و فشار**  
آزمون کشش یکی از آزمون‌های مخرب علم مواد است که در آن یک نمونه تحت اثر کشش تک محوری تا حد شکست مورد مطالعه قرار می‌گیرد. نتایج حاصل از آزمون به طور معمول برای انتخاب یک ماده به منظور کنترل کیفیت و پیش بینی اینکه چگونه یک ماده تحت انواع دیگری از نیروها واکنش نشان می‌دهد به کار می‌رود. خواصی که از طریق آزمون کشش اندازه‌گیری شدند عبارتند از: مقاومت کشش نهایی، بیشترین افزایش طول، مدول یانگ، کرنش تا نقطه شکست. ضخامت فیلم در ۵ نقطه با استفاده از میکروسنج اندازه‌گیری و ضخامت متوسط محاسبه شد. ضخامت متوسط فیلم  $0.1 \pm 0.21$  میلی‌متر بدست آمد. آزمون مکانیکی فیلم نانوکامپوزیتی براساس روش اصلاح‌شده ASTM D882-91 انجام شد. ابتدا عمل مشروط کردن نمونه به مدت ۲۴ ساعت در رطوبت نسبی ۵۵ درصد انجام شد (فخری و همکاران ۱۳۹۰). سپس، فیلم به شکل دمبل با ابعاد  $6 \times 0.5$  سانتی‌متر بریده شد و در بین دو فک دستگاه قرار گرفت. فاصله اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک بالایی به ترتیب ۴۰ میلی‌متر و ۰/۵ میلی‌متر بر دقیقه معین‌شده و داده‌ها به کمک رایانه ثبت شد.

#### اندازه‌گیری خواص الکتریکی

اغلب به منظور اندازه‌گیری مقاومت سطحی و ایجاد منحنی ولتاژ-جریان الکتریکی از تکنیک اندازه‌گیری الکتریکی دو نقطه‌ای استفاده می‌شود. اما وقتی مقاومت ماده نسبتاً کم (مثل نانولوله‌های کربنی) باشد یا وقتی مقاومت نسبتاً بالا باشد، پروب چهار نقطه‌ای نتایج دقیق‌تری می‌دهد. منحنی  $I-V$ ، هدایت الکتریکی و پایداری پاسخ الکتریکی برای فیلم نانوکامپوزیتی با استفاده از دستگاه پروب چهار نقطه‌ای بدست آمد. منحنی  $I-V$ ، در محدوده اختلاف پتانسیل ۱- تا ۱+ ولت

سپس با لایه نازکی از آلیاژ طلا پوشش داده‌شد و در جایگاه دستگاه تعبیه شد (اچلین ۲۰۰۹).

#### اسپکتروسکوپی فرسرخ (FTIR)

اسپکتروسکوپی فرسرخ برای تعیین برهمکنش‌های میان اجزای واکنش استفاده شد. این روش به عنوان روشی پرقدرت و توسعه یافته برای تعیین ساختار و اندازه‌گیری گونه‌های شیمیایی (نوع گروه‌های عاملی و پیوند موجود در مولکول‌های آن ماده) به کار می‌رود. نمونه‌های آماده شده برای FTIR: ۱- میکروذرات زئولیت، ۲- نانوذرات مغناطیسی آهن، ۳- میکروذرات زئولیت به همراه نانوذرات مغناطیسی آهن اتصال پیدا کرده بوسیله

تری‌متوکسی‌سیلیل‌پروپیل‌آمین، بودند که با استفاده از برمید پتاسیم در نسبت ۱ به ۱۰ و تحت نیروی ۶۰ نیوتن بمدت ۲ دقیقه بشکل قرص درآورده شدند.

#### دستگاه پراش اشعه ایکس (XRD)

پراش اشعه ایکس روشی برای مطالعه ساختار مواد بلوری است که در سال ۱۹۱۲ میلادی توسط ماکس فون لاوله<sup>۲</sup> کشف شد. اشعه‌های ایکسی که برای پراش استفاده می‌شوند، معمولاً طول موجی در حدود ۰/۵ تا ۲/۵ آنگستروم دارند. اگر یک دسته الکترون سریع و پرانرژی به یک هدف فلزی در یک لوله تخلیه برخورد کند. الکترون‌ها در این برخورد سرعت خود را از دست داده و قسمتی از انرژی جنبشی آنها به پرتو X تبدیل می‌گردد. پرتو حاصل که به صورت یک طیف پیوسته ظاهر می‌شود دارای حداقل طول موج و یا حداکثر فرکانس است. در یک ماده‌ی یکسان دارای فازهای کریستالی مختلف (مثلاً کوارتز و شیشه که فازهای مختلف SiO<sub>2</sub> هستند)، نیز الگوهای پراش متفاوت می‌باشد. بنابراین با مطالعه‌ی زاویه‌ای که پیک‌های XRD در آن تشکیل می‌شوند و شدت نسبی هر پیک، می‌توان نوع مواد و فاز آنها را به صورت کیفی شناسایی کرد.

1- Fourier transform infrared spectroscopy

2- X-ray diffraction

3- Max Von Laue

سرعت ۲۰ دور در دقیقه در دمای ۴°C به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند (اشتری و همکاران ۲۰۱۲).

### اندازه گیری راندمان بارگذاری و راندمان تثبیت آنزیم

پروتئین تثبیت‌نشده (سوپرناتانت) با استفاده از روش برادفورد اندازه گیری و با کم کردن مقدار پروتئین اندازه‌گیری شده از کل آنزیم مورد استفاده برای تثبیت، مقدار آنزیم تثبیت‌شده محاسبه شد و سپس راندمان بارگذاری بدست آمد. برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز از روش میلر استفاده شد. در روش میلر رنگ قهوه‌ای در اثر واکنش DNS با قند احیاءکننده ایجاد می‌شود.

$$\text{معادله [۳]} = \left(\frac{\text{IU}}{\text{mg}}\right) \text{ درصد فعالیت}$$

میکرومول مالتوز آزاد شده  
میلی گرم آلفا آمیلاز در دقیقه

یک واحد فعالیت آنزیم آمیلاز (IU)، مقدار مورد نیازی از آنزیم تعریف شده است که یک میکرومول مالتوز را از نشاسته در هر دقیقه در شرایط آزمایش (دمای ۳۰°C) آزاد می‌کند. فعالیت ویژه آنزیم، میکرومول قند تولیدشده به ازای میلی‌گرم پروتئین تثبیت‌شده می‌باشد که با واحد (mol/g.min $\mu$ ) بیان می‌شود و از آنجایی که برای اندازه‌گیری فعالیت، آنزیم به مدت ۵ دقیقه در مجاورت با سوبسترا قرار داده شد، درصد فعالیت در ۵ دقیقه محاسبه گردید (دمیر و همکاران ۲۰۱۲). راندمان تثبیت نسبت فعالیت ویژه آنزیم تثبیت شده به آنزیم آزاد در شرایط یکسان است.

### نتایج و بحث

#### نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی

برای تعیین اندازه و مورفولوژی ذرات ژئولیت، ژئولیت- نانو ذرات آهن و ژئولیت- نانوذرات آهن پوشش‌داده‌شده با فیلم CMC، تصاویر میکروسکوپ الکترونی تهیه شد. همانطور که در تصاویر ۱، ۲ و ۳ مشاهده می‌شود، نانوذرات مغناطیسی آهن بوسیله

بدست آمد. همچنین هدایت الکتریکی با استفاده از رابطه‌های (۱) و (۲) و پایداری پاسخ الکتریکی در اختلاف پتانسیل +۱ ولت و شدت جریان ۰/۱ میلی آمپر با ثبت تغییرات شدت جریان عبوری نسبت به زمان در ولتاژ ثابت محاسبه و تعیین شدند (داس و همکاران ۲۰۱۵؛ ال ساید و همکاران ۲۰۱۵؛ تانداوان و همکاران ۲۰۱۵).

$$\text{معادله} \quad \rho = t \cdot R$$

[1]

$\rho$ : مقاومت حجمی (اهم در سانتی‌متر)

R: مقاومت قرص (اهم)

t: ضخامت قرص (سانتی‌متر)

$$\text{معادله [۲]} = \frac{1}{\text{مقاومت حجمی}} = \text{هدایت}$$

الکتریکی

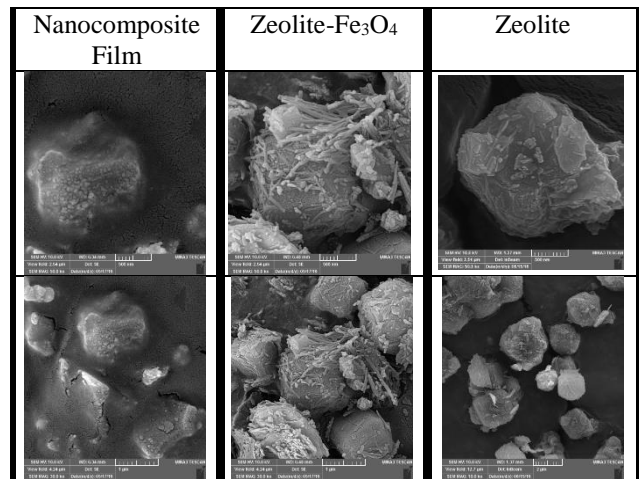
#### تثبیت آنزیم آلفا آمیلاز

۱۰ میلی‌گرم از بستر توزین شد و بر روی آن ۱ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید، سپس برای دیسپرس شدن بهتر ذرات و جدا شدن ذرات بهم‌چسبیده، میکروتیوب‌های حاوی بستر به مدت ۳۰ دقیقه در حمام اولتراسوند قرار داده‌شد. بلافاصله پس از این مرحله ۲۰۰ میکرولیتر گلوکارآلدئید ۲۵٪ اضافه گردید و به مدت ۵۰ دقیقه در دمای محیط (۲۰-۲۶°C) تحت همزدن مداوم قرار گرفت. در نهایت محلول آب و گلوکارآلدئید اضافی (اتصال نیافته) با استفاده از میکروسانتریفوژ (با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه برابر با قدرت حدود ۱۶۰۰۰g به مدت ۵ دقیقه) از بستر جدا گردید. بعد از این مرحله آنزیم حل‌شده در ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار با pH=۶/۵ به میکروتیوب‌های حاوی بستر اضافه شد. در همه میکروتیوب‌ها با پارافیلیم به دقت بسته‌شده و به منظور همگن‌سازی محیط واکنش، هر نمونه حدود یک دقیقه روی ورتکس با سرعت ۳۰۰ دور در دقیقه قرار داده‌شد (حسینی‌پور و همکاران، ۲۰۱۵). در نهایت نمونه‌ها روی همزن اوربیتالی با

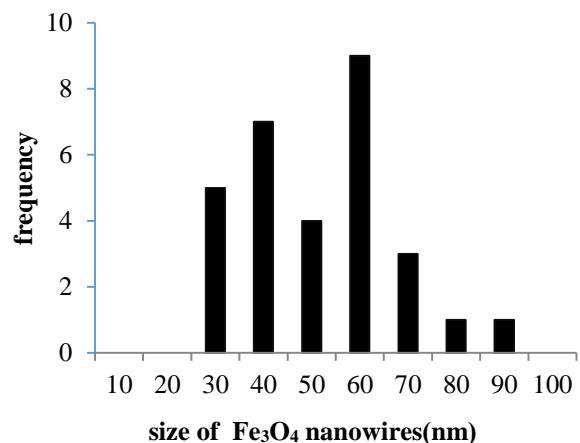
**نتایج حاصل از اسپکتروسکوپی فروسرخ**

برای تایید حضور نانوذرات مغناطیسی آهن بر روی میکروذرات زئولیت، طیف فروسرخ نمونه‌ها گرفته شد. شکل (۳- طیف زئولیت) نشان دهنده طیف فروسرخ مربوط به میکروذرات زئولیت است. پیک موجود در عدد موج<sup>۱</sup> (بسامد زاویه‌ای) حدود  $672\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاشات خمشی گروه‌های Si-O-Si، موجود در زئولیت است. پیک موجود در عدد موج حدود  $554\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاشات کششی گروه‌های Si-O-Al، موجود در ساختار سه بعدی زئولیت است. پیک‌های موجود در عدد موج‌های حدود  $669\text{cm}^{-1}$  و  $1004\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاشات کششی گروه‌های Si-O، موجود در زئولیت هستند. همچنین پیک موجود در عدد موج حدود  $\text{cm}^{-1}$   $1657$  مربوط به ارتعاشات خمشی مولکول‌های آب متصل به شبکه‌ی سه بعدی زئولیت است که آب زئولیتی<sup>۲</sup> نامیده می‌شود (عزیزی و همکاران ۲۰۱۳؛ اسماعیلی و سارمنیا ۲۰۱۶). پیک موجود در عدد موج  $\text{cm}^{-1}$   $3500-3300$  مربوط به ارتعاشات کششی گروه‌های عاملی OH موجود در مولکول‌های Si-OH می‌باشد. در شکل (۳- طیف نانوذرات آهن) پیک موجود در عدد موج حدود  $580\text{cm}^{-1}$  پیک شاخص مربوط به نانوذرات مغناطیسی آهن می‌باشد که مربوط به ارتعاشات کششی گروه‌های Fe-O است. همچنین پیک موجود در عدد موج حدود  $3425\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاشات کششی گروه‌های عاملی OH- موجود در Fe-OH است. پیک موجود در عدد موج حدود  $554\text{cm}^{-1}$  نشان‌دهنده گروه‌های Fe-O موجود در نانوذرات آهن است که تایید کننده اتصال نانوذرات آهن به زئولیت می‌باشد. اما در این شکل بدلیل هم‌پوشانی با پیک مربوط به Si-O-Al موجود در ساختار زئولیت نمی‌توان از اتصال نانوذرات اطمینان حاصل کرد. بنابراین برای تایید اتصال نانوذرات مغناطیسی آهن به

اتصال‌دهنده تری متوکسی سیلیل پروپیل آمین به یکدیگر چسبیده و نانو سیم‌های آهن را ساخته‌اند. سپس همین اتصال‌دهنده سبب اتصال نانوسیم‌ها به میکروذرات زئولیت شده است. همچنین چگونگی پخش ذرات زئولیت- آهن در داخل فیلم مشاهده می‌شود. تفسیر اندازه ذرات بوسیله نرم افزار j image نشان داد که میانگین اندازه قطر ۳۰ عدد نانوسیم برابر  $48/8$  نانومتر بود. نمودار هیستوگرامی توزیع ذرات در شکل ۲ آورده شده است.



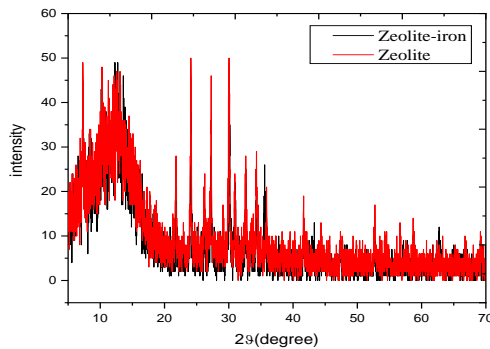
شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی  
Figure 1- Scanning electron microscope images



شکل ۲- نمودار هیستوگرامی توزیع اندازه نانوسیم های آهن  
Figure 2- Histogram chart of iron nanowires size distribution

1- Wave number  
2- Zeolitic water

تری متوکسی سیلیل پروپیل آمین است (شکل ۳- طیف زئولیت - آهن اکسید).



شکل ۵- الگوی پراش اشعه ایکس برای زئولیت و زئولیت- آهن اکسید

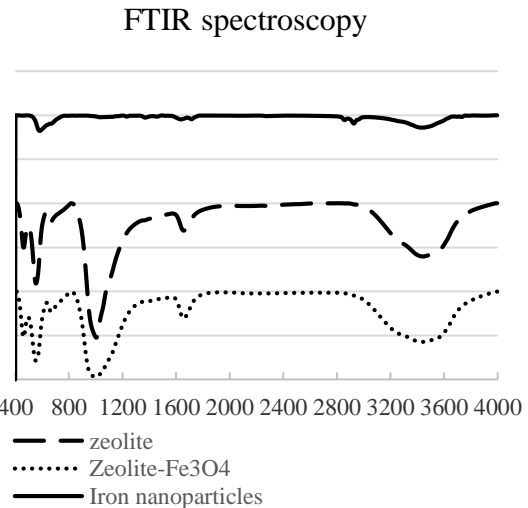
Figure 5 - X-ray diffraction pattern for zeolite and zeolite-iron oxide

بررسی نتایج پراش اشعه ایکس (XRD)

مواد مختلف به دلیل چیدمان و نظم متفاوت اتمی دارای الگوی پراش متفاوتی هستند. پس الگوی پراش هر ترکیب منحصر به فرد است. زئولیت بعنوان یک ماده کریستالی شناخته شده است درحالیکه نانوذرات مغناطیسی آهن دارای بخش آمورف بیشتری هستند، در نتیجه تداخل امواج در نانوکامپوزیت زئولیت-آهن اکسید از نوع ویرانگر بوده و برای تایید اتصال نانوذرات آهن به زئولیت باید در زئولیت مغناطیسی شده کاهش پیک کریستالی ملاحظه گردد. بنابراین شدت پیک در کریستال‌های زئولیت بیشتر از زمانی خواهد بود که زئولیت در اتصال با نانوذرات آهن باشد. شکل ۵ تاییدکننده همین موضوع و در نتیجه تاییدکننده اتصال نانوذرات آهن به زئولیت است.

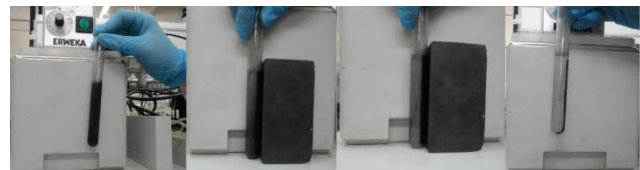
در گراف‌های بدست آمده می‌توان با محاسبه‌ی عرض پیک در نصف شدت بیشینه (FWHM) اندازه ذرات بلوری را به طور تقریبی محاسبه کرد. برای این منظور، ابتدا شدیدترین پیک را در زاویه‌ی ۲θ در نظر گرفته و

زئولیت از آزمون پراش اشعه ایکس و آزمون جذب توسط میدان مغناطیسی خارجی استفاده گردید (شکل ۴ و ۵).



شکل ۳- طیف فروسرخ زئولیت، نانوذرات مغناطیسی آهن و زئولیت متصل شده به آهن توسط تری متوکسی سیلیل پروپیل آمین

Figure 3- FTIR spectra of zeolite, iron magnetic nanoparticles and iron-bound zeolite by trimethoxy silyl propyl amine



شکل ۴- زئولیت-آهن اکسید پس از ۱۰ ثانیه قرار گرفتن در معرض میدان مغناطیسی خارجی

Figure 4- Zeolite-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> after 10 seconds exposure to external magnetic field

هرچند وجود پیک‌های کوتاهی در محدوده عدد موجی  $1200-1500 \text{ cm}^{-1}$  نشان‌دهنده ارتعاشات خمشی گروه‌های C-H آروماتیک (سورش کومار و لی ۲۰۱۱) موجود در عامل اتصال‌دهنده یعنی تری متوکسی سیلیل پروپیل آمین است. همچنین افزایش پیک در عدد موجی حدود  $1657 \text{ cm}^{-1}$  نشان‌دهنده ارتعاشات خمشی گروه‌های N-H (سورش کومار و لی ۲۰۱۱) موجود در

### نتایج اندازه گیری راندمان بارگذاری و راندمان تثبیت آنزیم

نتایج آنالیز آماری نشان داد که اثر نسبت آنزیم به بستر روی راندمان تثبیت و درصد فعالیت معنی‌دار است ( $P < 0.01$ ). نتایج مقایسه میانگین‌های دانکن ( $P < 0.05$ ) برای اثر نسبت آنزیم به بستر، روی راندمان تثبیت نشان داد که بیشترین راندمان تثبیت آنزیم (۹۵ درصد) در نسبت ۰/۲۵ حاصل شد و کمترین راندمان (۷۴/۴ درصد) مربوط به نسبت ۰/۵ بود. نسبت ۱ آنزیم به بستر که بعنوان نسبت بهینه برای تثبیت آنزیم انتخاب شد دارای راندمان بارگذاری ۹۳/۲ درصد و راندمان تثبیت ۸۲ درصد بود. این راندمان تثبیت نسبت به سایر مطالعات بسیار بالا بوده و یک مزیت بزرگ برای بستر سنتز شده به حساب می‌آید. در مطالعات گذشته، تثبیت آنزیم بر روی زئولیت به روش جذب فیزیکی راندمان تثبیت برابر ۵۲٪ داشت (سنیای-اونسل و یسیل-سلیکتاس ۲۰۱۳). در تثبیت آنزیم آمینوآسیلاز بر روی نانوذرات مغناطیسی آهن به روش کوالانسی نیز راندمان بارگذاری ۸۰٪ بدست آمد (فنج و همکاران ۲۰۱۶). همچنین در تثبیت لیپاز روی نانوکامپوزیت آلومینوسیلیکات- ۴۱ (MCM-41) و نانوذرات مغناطیسی آهن راندمان بارگذاری ۷۶٪ بود (خی و زنگ ۲۰۱۶). با توجه به مطالعات گذشته، تثبیت روی زئولیت اصلاح شده با نانوذرات مغناطیسی آهن به روش کوالانسی در پژوهش حاضر، راندمان بسیار بالایی نشان داده است. راندمان بارگذاری و تثبیت بالا در این نوع بستر احتمالاً به دلیل ساختار متخلل و منظم زئولیت و مساحت سطح بالای آن باشد (نیونی و همکاران ۲۰۱۵). از طرفی با اصلاح نمودن بستر با نانوذرات مغناطیسی آهن، تخلخل افزایش یافته و نسبت سطح به حجم بیشتر شده و مقدار پروتئین بیشتری بارگذاری شده است (اشتری و همکاران ۲۰۱۲). همچنین شرایط تولید زئولیت سنتزی و شرایط بهینه‌ای که در تثبیت

پهنای پیک را در نصف شدت پیک به دست می‌آوریم. با استفاده از رابطه‌ی شرر می‌توانیم اندازه‌ی تقریبی کریستالیت (D) را محاسبه کنیم (کیوانی نهر و همکاران ۲۰۱۵).

$$D = \frac{0.9 \times \lambda}{\beta \cos \theta} \quad \text{معادله [۴]}$$

D اندازه‌ی ذره بلوری بر حسب نانومتر،  $\beta$  عرض پیک در نصف شدت بیشینه بر حسب رادیان،  $\theta$  زاویه‌ی براگ مربوط به پیک بر حسب درجه و  $\lambda$  طول موج پرتوی ایکس بر حسب نانومتر (۱/۵۴۰۶ آنگستروم) هستند.

با توجه به رابطه‌ی شرر می‌توان دریافت که هرچه اندازه‌ی ذرات ماده کوچک تر باشد، عرض پیک در نصف شدت بیشینه بزرگتر است، یعنی پیک پهن‌تر و شدت آن کمتر است. بنابراین، پیک نانوذرات در مقایسه با مواد معمولی شدت کمتر و پهنای بیش‌تری دارند. با استفاده از نرم‌افزار origin عرض پیک در نصف شدت بیشینه برای نانو سیم‌های آهن و میکروذرات زئولیت به ترتیب ۰/۱۱۰۶ و ۰/۱۵۰۹ رادیان بدست آمد. همچنین اندازه تقریبی ذرات بلوری طبق معادله ۴ برای نانو سیم‌های آهن و میکروذرات زئولیت به ترتیب ۱/۳۱ و ۰/۹۴ نانومتر محاسبه شد. در جدول ۱ فاصله صفحات در ذرات زئولیت و زئولیت-آهن آورده شده است.

جدول ۱- فاصله صفحات در زئولیت و نانوکامپوزیت زئولیت- آهن اکسید در زوایای مختلف

**Table 1 - Distance between planes in zeolite and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-zeolites nanocomposites at various angles**

| D (2θ )              | 31      | 36      | 41.5    |
|----------------------|---------|---------|---------|
| Zeolite              | 2.88774 | 2.50070 | 2.16791 |
| Zeolite - Iron oxide | 2.88552 | 2.51940 | 2.17109 |
| D (2θ )              | 52.5    | 63      |         |
| Zeolite              | 1.73583 | 1.48941 |         |
| Zeolite - Iron oxide | 1.73414 | 1.48040 |         |



نانوکامپوزیتی ما ۲ درصد گلیسرول استفاده شده است. در مطالعه دیگری گلیسرول مهمترین عامل (نسبت به روغن و ثعلب) روی کاهش میزان مقاومت به کشش و مدول الاستیک و افزایش کشش‌پذیری گزارش شد (فاضل و همکاران ۱۳۹۰).

#### نتایج خواص الکتریکی

بررسی ویژگی‌های الکتریکی فیلم نانوکامپوزیتی جهت استفاده در حسگرهای زیستی در سه قالب رفتار الکتریکی، هدایت الکتریکی و پایداری پاسخ الکتریکی ارائه شد.

#### نتایج رسم منحنی I-V

ارتباط جریان- اختلاف پتانسیل فیلم نانوکامپوزیتی (شکل ۶) به وضوح نشان می‌دهد که در محدوده ۱- تا ۱+ ولت، منحنی غیرخطی است. همچنین منحنی غیرخطی، ماهیت نیمه‌هادی کامپوزیت را بیان می‌کند. ماهیت نیمه‌هادی مواد سطح کاربرد آن‌ها را در زمینه‌های مختلف الکتریکی بالا می‌برد (داس و همکاران ۲۰۱۵). در مطالعه دیگری توسط ال ساید و همکاران (۲۰۱۵)، نانوذرات اکسید مس با متوسط اندازه کریستال ۳۵ نانومتر با روش سل-ژل آماده شد و با فیلم PVA/CMC<sup>۱</sup> مخلوط شد. ویژگی‌های جریان- ولتاژ فیلم‌ها، رفتار غیرهمیک نشان داد.

بکار برده شد می‌تواند دلیلی بر راندمان بالای تثبیت در این پژوهش باشد. در نتیجه‌ای مشابه، راندمان تثبیت ۱۰۰٪ در تثبیت بتا-آمیلاز سیب‌زمینی شیرین روی آگارز فعال شده با گلوآرآلدئید گزارش شده است (تاوانو و همکاران ۲۰۱۳).

#### نتایج اندازه‌گیری خواص مکانیکی فیلم نانوکامپوزیتی با دستگاه کشش و فشار

آزمون مکانیکی فیلم نانوکامپوزیتی براساس روش اصلاح شده ASTM D882-91 از بین مقادیر مختلف CMC، روی فیلمی با ۳ درصد CMC که از لحاظ ویژگی‌های ظاهری و یکنواختی، بهتر از فیلم‌هایی بود که با درصد‌های دیگر CMC تهیه شده بودند، انجام گرفت. نتایج این آزمون و میانگین اعداد بدست آمده از سه بار تکرار در جدول ۲ آمده است.

#### جدول ۲- نتایج آزمون کشش و فشار فیلم نانوکامپوزیتی زئولیت- آهن اکسید- کربوکسی متیل سلولز.

Table 2- Results of tensile and stress test of zeolite-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-carboxymethyl cellulose nanocomposite film.

| Modulus (MPa) | Elongation (%) | Stress (MPa) | extension (mm) | Results          |
|---------------|----------------|--------------|----------------|------------------|
| 4.2077        | 33.7475        | 1.42         | 13.499         | Threshold (peak) |
| 3.8242        | 34.3185        | 1.32         | 13.7274        | elong aft brk    |

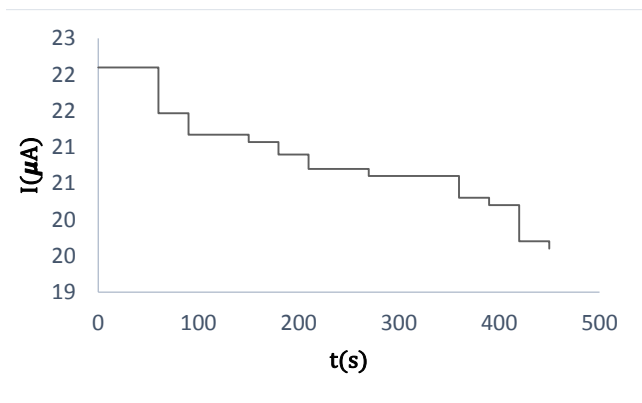
در مطالعه دیگری که روی خواص مکانیکی فیلم آمیخته‌ای مونت موریلونیت/ کربوکسی متیل سلولز/ پلی‌وینیل الکل انجام شده بود مقاومت کشش نهایی و کرنش تا نقطه شکست به ترتیب ۱۹/۱۲ مگاپاسکال و ۱۶/۶۶ درصد بود (فخری و همکاران ۱۳۹۰).

بنابراین خواص مکانیکی فیلم نانو کامپوزیتی در این پژوهش بسیار خوب بوده و می‌تواند در زمینه‌های مختلف بکارگرفته شود. بخشی از خواص مکانیکی خوب فیلم نانو کامپوزیتی را میتوان به درصد استفاده شده از گلیسرول نسبت داد با توجه به اینکه در مطالعه فخری و همکاران ۱/۳ درصد گلیسرول و در فیلم

### نتایج پایداری پاسخ آمپرومتریک

پایداری پاسخ آمپرومتریک یک ویژگی الکتریکی مهم در حسگرهای زیستی است که در فیلم نانوکامپوزیتی در مدت زمان ۴۵۰ ثانیه بررسی شد. پس از گذشت ۴۵۰ ثانیه پاسخ آمپرومتریک حدود ۲/۵ میکروآمپر تغییر یافت (شکل ۷).

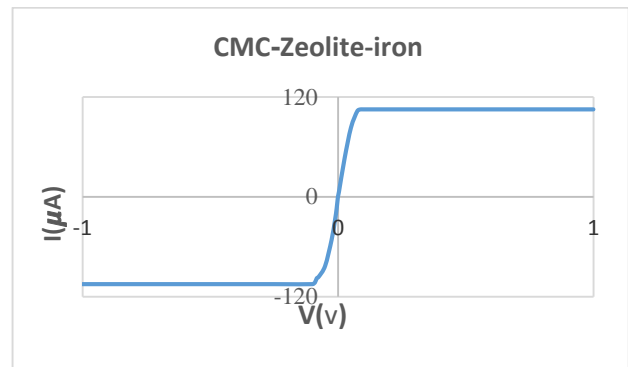
در مطالعات دیگر تغییر پاسخ آمپرومتریک در مدت ۵۰۰ ثانیه حدود ۱/۵ میکروآمپر برای الکتروده هیبریدی اکسید آهن- نانولوله کربنی- طلا (تانداوان ۲۰۱۵) و در مدت ۲ دقیقه حدود ۶ میکروآمپر برای خمیر کربنی حاوی درصد‌های مختلف ژئولیت بدست آمده بود.



شکل ۷- پایداری پاسخ آمپرومتریک فیلم نانوکامپوزیتی  
Figure 7-nanocomposite film amperometric response Stability

### نتیجه‌گیری

در این پژوهش، فیلم نانوکامپوزیتی با خاصیت مغناطیسی سنتز گردید، بگونه‌ای که ژئولیت و نانوذرات مغناطیسی آهن بوسیله تری متوکسی سیلیل پروپیل آمین و طی مرحله بازروانی تولوئن اتصال داده شدند و بوسیله میدان مغناطیسی خارجی و آزمون پراش اشعه ایکس این اتصال تایید گردید. جداسازی بستر بوسیله میدان مغناطیسی خارجی در تثبیت مولکول‌های زیستی و استفاده بعنوان حامل دارویی ( بطور مثال حامل ژئولیتی برای داروی ضد سرطان ۵- فلوروراسیل) بسیار مورد توجه است. در آزمون اسپکتروسکوپی



شکل ۶- منحنی اختلاف پتانسیل- شدت جریان برای فیلم نانوکامپوزیتی

Figure 6. I-V Curve for Nanocomposite Film

### نتایج هدایت الکتریکی

مقدار هدایت الکتریکی جریان متناوب در حقیقت هدایت الکتریکی جریان مستقیم را برای یک سیستم در محدوده فرکانس پایین نشان می‌دهد. قطبیت نقش تعیین‌کننده‌ای برای تغییر هدایت الکتریکی جریان متناوب کامپوزیت ایفا می‌کند. تاثیر قطبیت سطح در محدوده فرکانس پایین بسیار مهم است و دو قطبی‌های القاشده فرصت کافی برای جهت‌گیری خود با میدان الکتریکی مستقیم پیدا می‌کنند (داس و همکاران ۲۰۱۵) در این پژوهش از محدوده فرکانس پایین (۵۰ تا ۶۰ هرتز) استفاده شد.

در نتیجه قطبیت موادی چون CMC بعنوان یک پلی آنیون تاثیر مهمی در هدایت الکتریکی داشت. هدایت الکتریکی برای فیلم نانوکامپوزیتی طبق معادله ۲ در اختلاف پتانسیل ۱ ولت و شدت جریان ۰/۱ میلی‌آمپر برابر ۰/۰۵۳ زیمنس بر سانتی متر شد.

در مطالعه‌ی دیگری هدایت الکتریکی پلی آنیلین- طلا در دمای محیط، برابر ۰/۰۰۰۲۶ زیمنس بر سانتی و پلی آنیلین- طلا- ۴۰ درصد CMC، برابر ۰/۱۲ زیمنس بر سانتی بود (باساواراجا ۲۰۱۳).

بنابراین هدایت الکتریکی فیلم نانوکامپوزیتی سنتز شده بسیار قابل توجه بوده و برای استفاده در سطح الکتروده حسگرهای زیستی مطلوب می‌باشد.

سانتی متر محاسبه شد و پاسخ آمپرومتریک در ۴۵۰ ثانیه حدود ۲/۵ میکروآمپر مشاهده شد. مقایسه خواص الکتریکی و مکانیکی فیلم نانوکامپوزیتی با مطالعات دیگر نشان داد که خواص مکانیکی فیلم تهیه شده بسیار مطلوب است. همچنین خواص الکتریکی این فیلم برای استفاده در حسگرهای زیستی بسیار مناسب است.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله مراتب قدردانی و سپاس خود را از مراکز آزمایشگاهی و دانشگاهی بخصوص مرکز تحقیقات کاربردی دارویی (ساختمان پشمینه) دانشگاه تبریز و تمامی افرادی که اینجانب را در انجام این پژوهش مساعدت نمودند، اعلام میدارم. از خانم دکتر رویا صالحی و خانم وحیده طالبی که در ویرایش مقاله زحمات بی دریغی را متحمل شدند، سپاسگزارم و موفقیت و کامیابی بیش از پیش برایشان خواستارم.

فروسرخ پیک‌های شاخص مربوط به زئولیت و نانوذرات آهن همپوشانی داشتند. تثبیت آنزیم آلفا آمیلاز روی زئولیت مغناطیسی انجام شد و راندمان بارگذاری و راندمان تثبیت در شرایط بهینه به ترتیب ۹۳/۲ درصد و ۸۲ درصد بدست آمد. پس از اتصال زئولیت و آهن، فیلم نانوکامپوزیتی در بستری از CMC ساخته شد و ویژگی‌های مکانیکی و الکتریکی آن مورد ارزیابی قرار گرفت. در آزمون مکانیکی مقاومت کشش نهایی، بیشترین افزایش طول، مدول الاستیک و کرنش تا نقطه شکست به ترتیب ۱/۳۱ مگاپاسکال، ۱۳/۷۲ میلی‌متر، ۳/۹۵ مگاپاسکال و ۳۴/۳۱ درصد بدست آمد. در آزمون خواص الکتریکی نیز منحنی اختلاف پتانسیل- شدت جریان غیرخطی بود که نشان‌دهنده ماهیت نیمه هادی فیلم نانوکامپوزیتی می‌باشد. هدایت الکتریکی در اختلاف پتانسیل ۱ ولت و شدت جریان ۰/۱ میلی‌آمپر برابر ۰/۰۵۳ زیمنس بر

### منابع مورد استفاده

- فاضل م، عزیزی م ح، عباسی س، و برزگر م، (۱۳۹۰)، تعیین تأثیر ثعلب، گلیسرول و روغن بر ویژگی‌های فیلم خوراکی بر پایه نشاسته سیب‌زمینی. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۴، ۱۰۲-۹۳.
- فخری ل ا، قنبرزاده ب، دهقان‌نیا ج، و انتظامی، ع ا، (۱۳۹۰)، اثر مونت موریلونیت و نانوبلورسلولوز بر خواص فیزیکی فیلم‌های آمیخته کربوکسی متیل سلولوز- پلی وینیل الکل. مجله علوم و تکنولوژی پلیمر، ۶، ۴۶۶-۴۵۵.
- قنبرزاده ب و الماسی ه، (۱۳۸۸)، تأثیر اسید اولئیک و گلیسرول بر ویژگی‌های نفوذپذیری زاویه تماس و ظاهری فیلم‌های خوراکی حاصل از کربوکسی متیل سلولوز. مجله پژوهش‌های صنایع غذایی، ۱۹، ۳۴-۲۵.
- An N, Zhou ChH, Zhuang XY, Tong DSh and Yu WH, 2015. Immobilization of enzymes on clay minerals for biocatalysts and biosensors. *Applied Clay Science* 114: 283-296.
- Ashtari K, Khajeh K, Fasihi J, Ashtari P, Ramazani A and Vali H, 2012. Silica-encapsulated magnetic nanoparticles: enzyme immobilization and cytotoxic study. *International Journal of Biological Macromolecules* 50(4): 1063-1069.
- Azizi SN, Ranjbar S, Raof JB and Hamidi-Asl E, 2013. Preparation of Ag/NaA zeolite modified carbon paste electrode as a DNA biosensor. *Sensors and Actuators B: Chemical* 181: 319-325.
- Barik A, Solanki PR, Kaushik A, Ali A, Pandey MK, Kim CG and Malhotra BD, 2010. Polyaniline-Carboxymethyl Cellulose Nanocomposite for Cholesterol Detection. *Nanoscience and Nanotechnology* 10: 1-10.
- Basavaraja C, Kim JK and Huh DS, 2013. Characterization and temperature-dependent conductivity of polyaniline nanocomposites encapsulating gold nanoparticles on the surface of carboxymethyl cellulose. *Materials Science and Engineering: B* 178(2): 167-173.

- Cheng Y, Feng B, Yang X, Yang P, Ding Y, Chen Y and Fei J, 2013. Electrochemical biosensing platform based on carboxymethyl cellulose functionalized reduced graphene oxide and hemoglobin hybrid nanocomposite film. *Sensors and Actuators B: Chemical* 182: 288-293.
- Cui M, Wang FJ, Shao ZQ, Lu FS and Wang WJ, 2011. Influence of DS of CMC on morphology and performance of magnetic microcapsules. *Cellulose*, 18(5), 1265-1271.
- Das AK, Maiti S and Khatua BB, 2015. High-performance electrode material prepared through in-situ polymerization of aniline in the presence of zinc acetate and graphene nanoplatelets for supercapacitor application. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 739: 10-19.
- Demir S, Gök SB and Kahraman MV, 2012.  $\alpha$ -Amylase immobilization on functionalized Nano  $\text{CaCO}_3$  by covalent attachment. *Starch - Stärke* 64(1): 3-9.
- Echlin P, 2009. *Handbook of Sample Preparation for Scanning Electron Microscopy & X-Ray Microanalysis*. UK, Cambridge Analytical Microscopy.
- El Sayed AM, El-Gamal S, Morsi WM and Mohammed G, 2015. Effect of PVA and copper oxide nanoparticles on the structural, optical, and electrical properties of carboxymethyl cellulose films. *Journal of Materials Science* 50(13): 4717-4728.
- Esmaeili and Saremnia B, 2016. Synthesis and characterization of NaA zeolite nanoparticles from *Hordeum vulgare* L. husk for the separation of total petroleum hydrocarbon by an adsorption process. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 61: 276-286.
- Feng J, Yu S, Li J, M T and Li P, 2016. Enhancement of the catalytic activity and stability of immobilized aminoacylase using modified magnetic  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles. *Chemical Engineering Journal* 286: 216-222.
- Gopalan AI, Lee KP, Ragupathy D, Lee SH and Lee JW, 2009. An electrochemical glucose biosensor exploiting a polyaniline grafted multiwalled carbonnanotube/perfluorosulfonate ionomer-silica nanocomposite. *Biomaterials* 30: 5999-6005.
- Hosseiniipour SL, Sowti Khiabani M, Hamishehkar H and Salehi R, 2015. Enhanced stability and catalytic activity of immobilized  $\alpha$ -amylase on modified  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles for potential application in food industries. *Journal of Nanoparticle Research* 17: 382.
- Keivani Nahr F, Mokarram RR, Hejazi MA Ghanbarzadeh B, Sowti Khiyabani M and Zoroufchi Benis K, 2015. Optimization of the nanocellulose based cryoprotective medium to enhance the viability of freeze-dried *Lactobacillus Plantarum* using response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology* 64(1): 326-332.
- Khairy M, 2014. Synthesis, characterization, magnetic and electrical properties of polyaniline/ $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  nanocomposite. *Synthetic Metals* 189: 34-41.
- Mihindukulasuriya SDF and Lim LT, 2014. Nanotechnology development in food packaging: A review. *Trends in Food Science & Technology* 40(2): 149-167.
- Nabiyouni G, Shabani A, Karimzadeh S, Ghasemi J and Ramazani H, 2015. Synthesis, characterization and magnetic investigations of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles and zeolite-Y nanocomposites prepared by precipitation method. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 26(8): 5677-5685.
- Namdeo M and Bajpai SK, 2009. Immobilization of  $\alpha$ -amylase onto cellulose-coated magnetite (CCM) nanoparticles and preliminary starch degradation study. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 59(1-3): 134-139.
- Netto CGCM, Toma HE and Andrade LH, 2013. Superparamagnetic nanoparticles as versatile carriers and supporting materials for enzymes. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 85-86: 71-92.
- Sağır T, Huysal M, Durmus Z, Kurt BZ, Senel M and Isık S, 2016. Preparation and in vitro evaluation of 5-fluorouracil loaded magnetite-zeolite nanocomposite (5-FU-MZNC) for cancer drug delivery applications. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 77: 182-190.
- Senyay-Oncel D and Yesil-Celiktas O, 2013. Treatment of immobilized  $\alpha$ -amylase under supercritical  $\text{CO}_2$  conditions: Can activity be enhanced after consecutive enzymatic reactions? *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 91: 72-76.

- Shams K and Mirmohammadi SJ, 2007. Preparation of 5A zeolite monolith granular extrudates using kaolin: Investigation of the effect of binder on sieving/adsorption properties using a mixture of linear and branched paraffin hydrocarbons. *Microporous and Mesoporous Materials* 106: 268–277.
- Sureshkumar M and Lee CK, 2011. Polydopamine coated magnetic-chitin (MCT) particles as a new matrix for enzyme immobilization. *Carbohydrate Polymers* 84(2): 775-780.
- Tavano OL, Fernandez-Lafuente R, Goulart AJ and Monti R, 2013. Optimization of the immobilization of sweet potato amylase using glutaraldehyde-agarose support. Characterization of the immobilized enzyme. *Process Biochemistry* 48(7): 1054-1058.
- Tegl G, Stagl V, Mensah A, Huber D, Somitsch W, Grosse-Kracht S and Guebitz GM, 2018. The chemo enzymatic functionalization of chitosan zeolite particles provides antioxidant and antimicrobial properties. *Engineering in Life Sciences* 18 (5): 334-340.
- Thandavan K, Gandhi S, Nesakumar N, Sethuraman S, Rayappan JBB and Krishnan UM, 2015. Hydrogen peroxide biosensor utilizing a hybrid nano-interface of iron oxide nanoparticles and carbon nanotubes to assess the quality of milk. *Sensors and Actuators B: Chemical* 215: 166-173.
- Xie W and Zang X, 2016. Immobilized lipase on core-shell structured Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MCM-41 Nanocomposites as a magnetically recyclable biocatalyst for interesterification of soybean oil and lard. *Food Chemistry* 194: 1283–1292.

## Synthesis of zeolite-iron oxide Nanocomposite using covalent method coated with carboxymethyl cellulose film and evaluation of its mechanical and electrical properties

V Azizi<sup>1</sup>, R Rezaei Mokarram<sup>\*2</sup>, M Sowti Khiabani<sup>2</sup>, H Hamishehkar<sup>3</sup> and M Rahimi<sup>4</sup>

Received: December 4, 2017

Accepted: July 17, 2018

<sup>1</sup> MSc Graduated Student, Department of Food Science and Technology, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor and Associate Professor, respectively, Department of Food Science and Technology, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>3</sup> Associate Professor, Department of Pharmacy, University in Medical Sciences of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>4</sup> PhD Student of Chemistry, University of Tabriz, Tabriz, Iran

\*Corresponding author: Email: rrmokarram@yahoo.com

**Introduction:** In recent years, Nanoscale composites have been considered for excellent physical, mechanical and electrical properties, such as extensive flow, catalytic activity, and more. Super paramagnetic nanoparticles based on magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) have exhibiting striking characteristics, such as large surface area, mobility, and high mass transference. More than that, they can be easily recovered by applying an external magnetic field. In this study, zeolite micro particles with large internal contact surfaces and iron oxide nanoparticles were linked to each other by covalent technique then both were coated via CMC (Carboxy Methyl Cellulose) with the mixed-matrix method. The most important features of zeolites are: regular and uniform pore system and high ion exchange capacity, a large surface area, non-toxic and safe for environment (Nabiyouni et al. 2015). CMC is natural polyanion that have the features such as the ability to provide good films and mechanical resistance and it is augments of electron transfer (Cheng et al. 2013; Cui et al. 2011). The produced nanocomposite was designed as a support for the chemical alpha-amylase immobilization, and the loading efficiency calculated by Bradford reagent and UV-visible spectrophotometer and immobilization efficiency by the Miller method (Starch hydrolysis and optical absorption measurement of maltose produced) were calculated. The mechanical and electrical properties of nanocomposite film were also studied by Four probes device.

**Material and methods:** A commercial enzyme  $\alpha$ -amylase (from *Aspergillus oryzae*, 30 U/mg protein), sodium salt of CMC (high molecular weight), phenol and sodium potassium tartrate were obtained from Sigma-Aldrich.  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles were obtained from Nanosany Corporation (Mashhad, Iran). Na A- zeolite was obtained from Kimia Khatam knowledge-based Co. (Tabriz, Iran). 3-Aminopropyl-trimethoxysilane (95% purity) (APTMS), Glutaraldehyde (25% aqueous solution), soluble starch and 3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS) were obtained from Merck Chemicals (Darmstadt, Germany), All other materials were commercially accessible and they were used without any purification. The bonding of zeolite and iron oxide was done by a trimethoxysilylpropylamine solution, which was used to modify and bond simultaneously iron-zeolite magnetic nanoparticles. The modification and actuation of zeolite surface were performed by  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  and APTMS as the silane-coupling agent, respectively. In brief, a zeolite with a particle size of 1 to 2 micrometers and magnetite nanoparticle (10: 1) was immersed in 20 ml of toluene solvent. Then the mixture was dispersed in toluene for 5 min using probe-type sonicator (70w, 0.5 Hz), followed by addition of 1ml APTMS solution to the mixture for bringing the amino groups on the surface of zeolite and  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (Hosseini-pour, Khiabani, Hamishehkar & Salehi, 2015). The mixture was refluxed at 110 °C for 3 h to induce the surface hydroxyl groups of zeolite. The synthesized iron-zeolite was mixed with a good percentage of CMC plus 2% glycerol to prepare the film. To investigate the surface properties and scanning electron microscope particles, for the interaction of components the infrared spectroscopy and to study an X-ray diffraction the structure of crystalline materials was

used. Mechanical properties were also obtained by a tensile and stress device, electrical properties such as I-V curve; electrical conductivity and electrical response stability for Nano composite film were obtained using a four-point probe. The surface of the support was active by glutaraldehyde (25%) and within 24 hours on an orbital agitator, immobilization the enzyme was performed. The loading efficiency was calculated by measuring the amount of unsaturated protein by Bradford Reagent and the Uv-visible spectrophotometry. The immobilization efficiency was calculated by measuring alpha-amylase activity by miller method (starch hydrolysis and optical absorption measurements from maltose production).

**Results:** The results of scanning electron microscopy showed that magnetic iron nanoparticles were bonded to each other by trimethoxysilyl propyl amine and made iron nanowires. Then, the same binder binds the nanowires to the zeolite microparticles. Iron nano-wires are also embedded in the zeolite microparticles and the bonding is well established. Interpretation of particle size revealed an average size of iron nano-diameter of 48.8 nm. The results of FTIR showed that the peak in the wave number of about  $554\text{ cm}^{-1}$  indicates the Fe-O groups present in the iron nanoparticles, which confirms the binding of the iron nanoparticles to the zeolite. But in this study, nanoparticle bonding cannot be ensured because of the overlap with the Si-O-Al peak in the zeolite structure. Therefore, X-ray diffraction (XRD) test and absorption test by external magnetic field were used to confirm the binding of iron magnetic nanoparticles to zeolite. Zeolite is known as a crystalline material while magnetic iron nanoparticles have more amorphous portions. As a result, the interference of the waves in the zeolite-iron oxide nanocomposite was of a destructive type. In result of XRD test a reduction in the crystalline peak in magnetized zeolites observed that confirm the binding of iron magnetic nanoparticles to zeolite. In the mechanical test of final tensile strength, the maximum elongation, elastic modulus and strain to breaking point were 1.31 MPa, 13.72 mm, 3.95 MPa and 34.31%, respectively. Electrical properties of nanocomposites were measured using a four-probe device. The potential-intensity difference curve was non-linear, indicating the semiconductor nature of the nanocomposite film. The electrical conductivity was calculated at 1 v potential difference and 0.1 mA current equal to  $0.053\text{ s / cm}$  and the amperometric response was observed at 450 s for about  $2.5\text{ }\mu\text{A}$ . Loading efficiency by Bradford method and immobilization efficiency by Miller method were 93.2% and 82%, respectively.

**Conclusion:** Comparison of the electrical and mechanical properties of the nanocomposite film with other studies showed that the mechanical properties of the prepared film and the electrical properties of this film are very suitable for use in biosensors. Also, due to the high loading efficiency and high enzyme immobilization efficiency, the potential of the synthesized nanocomposite support was found to be very desirable. Isolation of the substrate by an external magnetic field in the immobilization of biological molecules and use as a drug carrier (for example, the zeolite carrier for the anti-cancer drug 5-fluorouracil) is of great interest.

**Keywords:** Nanocomposite film, Zeolite,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , CMC, Conductivity