

سنتز نانوذرات نقره در هیدروژل پلی وینیل پیرولیدون بوسیله پرتودهی با الکترون‌های پراثری و تأثیر این ذرات بر خواص هیدروژل

نیره، فلاح نژادتفتی*؛ اقدس، مهدیزاده شاهی؛ بهرام، وخشور؛ فاطمه، انوری؛ رضا، امرایی؛

مهدی، انتظام

سازمان انرژی اتمی ایران، معاونت توسعه کاربرد پرتوها، مجتمع پژوهشی کاربرد پرتوها (یزد)

چکیده

در این تحقیق، سنتز نانوذرات نقره در شبکه هیدروژل PVP به وسیله پرتودهی با باریکه الکترون انجام شد. پرتودهی با ایجاد رادیکالهای آزاد حاصل از آب در هیدروژل، سبب احیاء یون های نقره و تشکیل نانوذرات نقره (AgNPs) می‌گردد. PVP بعنوان عامل پایدارکننده، از رشد بیش از حد اندازه نانو ذرات جلوگیری می‌کند. طیف جذبی UV-vis نانوکامپوزیت Ag/PVP با نشان دادن قله جذبی در ۴۰۵ نانومتر، تشکیل نانوذرات را تأیید کرد و بررسی با میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) تشکیل نانوذرات نقره در ابعاد ۵ نانومتر را نشان داد. بررسی طیف FTIR پیوند کئوردینانس بین نیتروژن حلقه پیرولیدون PVP و نانوذرات نقره را نشان داد. آزمون های تورم، درصد ژل نانوکامپوزیت Ag/PVP با هیدروژل بدون نقره یکسان می باشد. نتایج آزمون ضد میکروبی نشان داد که این هیدروژل دارای خاصیت ضد میکروبی می باشد.

کلید واژه: پرتودهی، هیدروژل، نانوذرات نقره، باریکه الکترون

مقدمه

هیدروژل‌های حاوی نانوذرات، شبکه‌های پلیمری آبدوست و سه بعدی هستند که نانوذرات را در داخل شبکه خود تثبیت می‌کنند. این هیدروژل‌ها امروزه کاربردهای زیادی در زمینه پزشکی و دارویی دارند. از میان تمام نانوذرات فلزی موجود، نانوذرات نقره (AgNPs) و طلا بیشترین کاربرد را دارند. در اکثر موارد برای تولید نانوذرات از روشهای احیای شیمیایی شامل استفاده از هیدرات هیدرازین، اتیلن گلیکول و ... استفاده می‌شود که از لحاظ بیولوژیک سمی و خطرناک می‌باشد. تحقیقات اخیر در راستای تولید نانوذرات فلزی در ماتریس هیدروژل بدون دخالت عوامل مضر و سمی می‌باشد. استفاده از پرتودهی یکی از این روشها است. مزیت سنتز نانوذرات توسط پرتو در هیدروژل شامل امکان تولید نانوذرات همزمان با فرایند استریلیزاسیون و شبکه‌ای شدن هیدروژل، کنترل بهتر اندازه ذرات، سهولت انجام کار و عدم استفاده از آغازگر و عوامل شبکه کننده، ایمن بودن و غیر سمی بودن فرآیند می‌باشد [۱].

ذرات فلزی در حالت پراکنده پایداری کمی دارند، به ویژه ذرات کوچک بسیار ناپایدارند و تمایل به تجمع و کلوخه شدن دارند. یکی از روشهای جلوگیری از تجمع ذرات، جذب آنها توسط مولکولهایی مانند پلیمرها



در سطح ذرات است تا به شکل لایه ای محافظ، ذرات را احاطه کنند. برای تهیه AgNPs نیز اغلب از این روش استفاده می شود. پلیمرهای زیادی برای پایدارسازی محلول کلونئیدی نانو نقره استفاده شده اند که از این میان می توان به پلیمرهای وینیلی با گروههای قطبی مانند پلی وینیل پیرولیدون و پلی وینیل الکل (PVA) اشاره کرد [۲].

هدف از این مطالعه سنتز نانوذرات نقره درهیدروژل PVP (بعنوان یک جزیی از ماتریس پلیمر) بوسیله پرتودهی با الکترون و بررسی رفتارهای تورم، درصد ژل، طیف جذبی UV-vis، AFM، FTIR، خاصیت ضد میکروبی، میزان رهایش نقره و مقایسه آن با هیدروژل خالص بدون نقره می باشد. در این تحقیق، سنتز AgNPs در هیدروژل PVP، بمنظور کاربرد در هیدروژل های پوشش دهنده زخم تولیدی مجتمع پژوهشی یزد که پایه اصلی آن PVP می باشد، انجام شد. وجود نانوذرات در هیدروژل سبب ایجاد خاصیت ضد میکروبی در این ژلها شده و استفاده آن را در زخمهای عفونی امکان پذیر می سازد.

۱- مواد و تجهیزات

در این تحقیق از پلی وینیل پیرولیدون (PVP) تهیه شده از شرکت BASF با جرم مولکولی ۱۵۰۰۰۰۰ MW= استفاده شد. محیطهای کشت نوترینت آگار، مولر هینتون آگار و نیترات نقره از شرکت مرک تهیه شد. میکربهای مورد بررسی شامل: استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سوبتی لیس و اشرشیاکلی به صورت لیوفیلیزه از موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی خریداری شد. از آب مقطر برای سنتز هیدروژل استفاده شد.

۲- آزمون ها

۲-۱- ساخت هیدروژل حاوی نقره: برای تهیه هیدروژل، پلی وینیل پیرولیدون به میزان ۷ درصد به آب مقطر با دمای °C ۸۰ اضافه شد. سپس از محلول نیترات نقره به مقادیر ۲۰۰-۱۰۰-۷۰ ppm، بصورت قطره قطره به محلول PVP اضافه شد و پس از مدت ۲ ساعت اختلاط، محلول گاززدایی شد. حجم مشخصی از محلول اولیه هیدروژل در پتری دیش ریخته شد. نمونه ها در دز ۳۳ kGy (دز بهینه تهیه هیدروژل) پرتودهی شدند. از سیستم دزیمتری تری استات سلولز (CTA) به منظور اندازه گیری دز جذبی هیدروژل های پرتودهی شده استفاده شده است. این سیستم مشتمل بر فیلم دزیمترهای CTA و دستگاه اسپکتروفتومتر می باشد. دزیمتری در این سیستم بر پایه ی تغییرات خواص جذب اپتیکی فیلم CTA در نزدیکی ناحیه ی فرابنفش تعبیه شده است. پس از آماده سازی، نمونه ها فیلم گزاری شده و در دزهای مورد نظر توسط پرتوهای الکترون ناشی از شتابدهنده ی Rhodotron مدل TTY۲۰۰، پرتودهی شده اند.

۲-۲- اسپکتروسکوپی UV-vis : جهت بررسی وجود نانو ذرات نقره در شبکه هیدروژل و همچنین میزان رهایش آن از هیدروژل، از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-vis مدل Lambda ۲۵ ساخت شرکت Perkin Elmer استفاده شد.

۲-۳- سنجش رهایش نقره از هیدروژل: جهت بررسی میزان رهایش نقره، نمونه‌هایی به وزن ۱ گرم از هیدروژل در ابعاد ۱ × ۱ cm بریده و در آب مقطر در دمای ۳۷ °C و هم زدن با دور ۶۰ rpm قرار داده شد. طیف UV- vis در نمونه‌ها در بازه‌های زمانی یک ساعته گرفته شد.

۲-۴- اندازه‌گیری کسر ژل: نمونه‌های هیدروژل به مدت ۲۴ ساعت در آون خلاء تحت دمای ۶۰ °C تا رسیدن به وزن ثابت خشک شد. سپس توزین گردید. پس از آن نمونه‌ها در دمای ۱۰۰ °C در آب مقطر تحت استخراج قرار گرفت. پس از گذشت ۸ ساعت، نمونه‌ها از آب مقطر خارج شد و تحت خلاء و حرارت خشک و توزین گردید. درصد ژل نمونه‌ها از رابطه (۱) محاسبه شد [۱].

$$\text{Gel Content} = \frac{W_d}{W_i} \times 100 \quad (1)$$

W_d : وزن هیدروژل خشک شده پس از شستشو W_i : وزن هیدروژل خشک شده پس از پرتودهی

۲-۵- آزمون تورم : نمونه‌های هیدروژل به مدت ۴۸ ساعت در دمای محیط درون آب مقطر قرار داده شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت و ثابت شدن وزن نمونه‌ها، نمونه در حالت متورم توزین گردید. سپس نمونه‌ها تحت خلاء و حرارت خشک و توزین شد. میزان تورم از رابطه (۲) محاسبه گردید [۱].

$$\text{Swelling ratio} = \frac{(W_s - W_d)}{W_d} \times 100 \quad (2)$$

W_d : وزن هیدروژل خشک پس از شستشو W_s : وزن هیدروژل متورم

۲-۶- آزمون طیف سنجی مادون قرمز: جهت تعیین ساختار شیمیایی و مقایسه گروه‌های عاملی هیدروژل از دستگاه طیف سنجی مادون قرمز FTIR ۸۳۰۰ ساخت کمپانی Shimadzu استفاده شد.

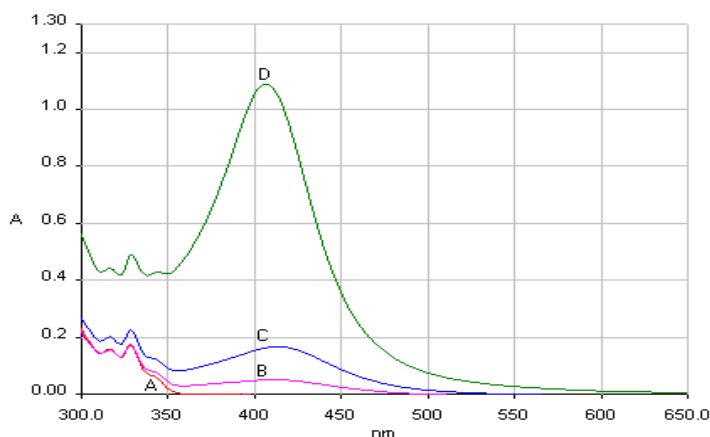
۲-۷- بررسی با میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) : بررسی میکروسکوپی هیدروژل حاوی نانوذره نقره با میکروسکوپ نیروی اتمی ۲,۰,۱ easyScan ۲ controller version انجام شد.

۲-۸- بررسی فعالیت ضد میکروبی

سوسپانسیون حاوی $10^8 \times 1/5 - 10^5$ (۰/۵) مک فارلند) از کشت تازه باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سوبتیلیس و اشرشیاکلی در فسفات بافر تهیه شد. از این سوسپانسیون بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار با روش کشت سطحی، کشت داده شد. از هیدروژلهای تهیه شده حاوی نقره و شاهد (بدون نقره) تحت شرایط استریل دیسک‌هایی با قطر ۱ cm بریده شد و بر روی سطح محیط کشت‌های تلقیح شده قرار گرفت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ °C گرماگذاری شد. سپس محیط‌ها از نظر وجود یا عدم وجود منطقه بازدارنده رشد (هاله) و قطر هاله بررسی شدند [۳].

نتایج

اسپکتروسکوپی UV-vis : PVP خالص شفاف است. تشکیل AgNPs در شبکه هیدروژل سبب ظهور رنگ زرد می شود. حضور AgNPs در شبکه ماکرومولکولی ژل بوسیله طیف UV-vis و داشتن ماکزیمم جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتر تأیید شد. در این طول موج طیف پیک تیزی را نشان می دهد. نتایج تحقیقات نشان می دهد پیک در طول موج ۴۰۵ نانومتر مربوط به رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات نقره کروی است [۴]. طیف جذبی UV-vis هیدروژل Ag/PVP و PVP خالص در شکل ۱ آمده است. در هر سه غلظت ppm ۲۰۰ و ۱۰۰ و ۷۰ طیف‌ها در ناحیه ۴۰۵ نانومتر جذب ماکزیمم دارند و افزایش شدت پیک جذبی با افزایش غلظت دیده می شود که نشان دهنده افزایش تعداد ذرات نانو نقره است و باریک بودن پهنای منحنی جذب و وجود پیک تیز نشان دهنده پراکندگی کم اندازه ذرات است [۵]. بیشترین تعداد AgNPs در غلظت ppm ۲۰۰ با توزیع پراکندگی بسیار کم دیده می شود. در غلظت های ppm ۱۰۰ و ۷۰ پراکندگی اندازه ذرات بیشتر است ولی با توجه به محدوده جذب ، ذرات در ابعاد نانو می باشند.



شکل ۱- طیف جذبی UV-vis: A- هیدروژل خالص بدون نقره B- هیدروژل Ag/PVP با غلظت ppm ۷۰ C- هیدروژل

D- هیدروژل Ag/PVP با غلظت ppm ۱۰۰

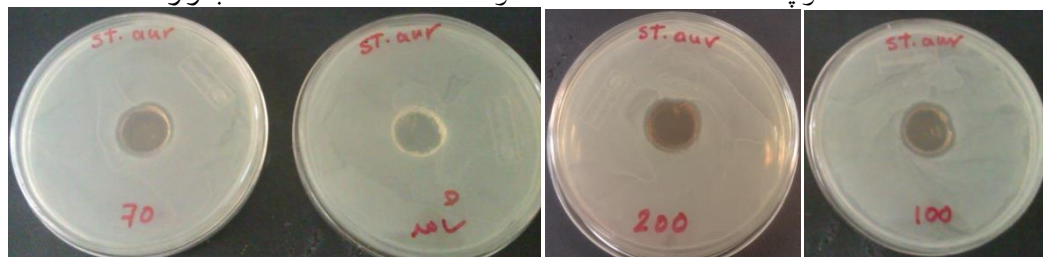
آزمون ضد میکروبی: نتایج آزمون منطقه بازدارنده رشد در جدول ۱ آمده است. در تمام نمونه ها هاله های بازدارنده رشد با قطر کمتر از ۰/۵ میلیمتر دیده شد که نشان دهنده تأثیر باکتریوساید AgNPs بر روی تمام باکتریهای مورد آزمون می باشد. نتایج بدست آمده نشان می دهد که هیدروژل Ag/PVP بر سودوموناس آئروژینوزا و سپس استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین بازدارندگی و بر باسیلوس سوبتی لیس و اشرشیاکلی کمترین بازدارندگی را دارد. کم بودن قطر هاله نشان می دهد که میزان رهائش نقره از هیدروژل Ag/PVP کم می باشد و نتایج آزمون رهائش نقره نیز این مطلب فوق را تأیید می کند و هیدروژل تنها اثر ضد میکروبی خود را در مرز بین محیط کشت و هیدروژل و در محدوده کمی از اطراف آن اعمال می کند. بعبارت دیگر عملکرد هیدروژل بصورت انفعالی است و می تواند با جذب مایع و باکتری از سطح محیط کشت در داخل ساختار و

مواجهه با نقره تاثیر گذار باشد [۶]. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می شود تفاوت معنی داری بین بازدارندگی در سه غلظت نقره دیده نشد که می تواند مربوط به عدم رهایش نقره در هر سه غلظت باشد. بنابر تحقیقات انجام شده پانسمان های زخم که در ساختار خود نقره دارند و رهایش نقره به محیط اطراف خود ندارند در مقایسه با پانسمان های با رهایش AgNPs زیاد، شاید در محیط کشت فعالیت ضد میکربی کمتری داشته باشند ولی در تماس با زخم در کنترل عفونت به همان اندازه موفق هستند [۷].

جدول ۱ - اثر هیدروژل Ag/PVP بر روی میکربها.

شاهد بدون نقره	۲۰۰ppm	۱۰۰ppm	۷۰ppm	نانوذره نقره / باکتری
-	+++	+++	+++	سودوموناس آئروژینوزا
-	+	+	+	باسیلوس سوبتیلیس
-	++	++	++	استافیلوکوکوس اورئوس
-	+	+	+	اشرشیا کلی

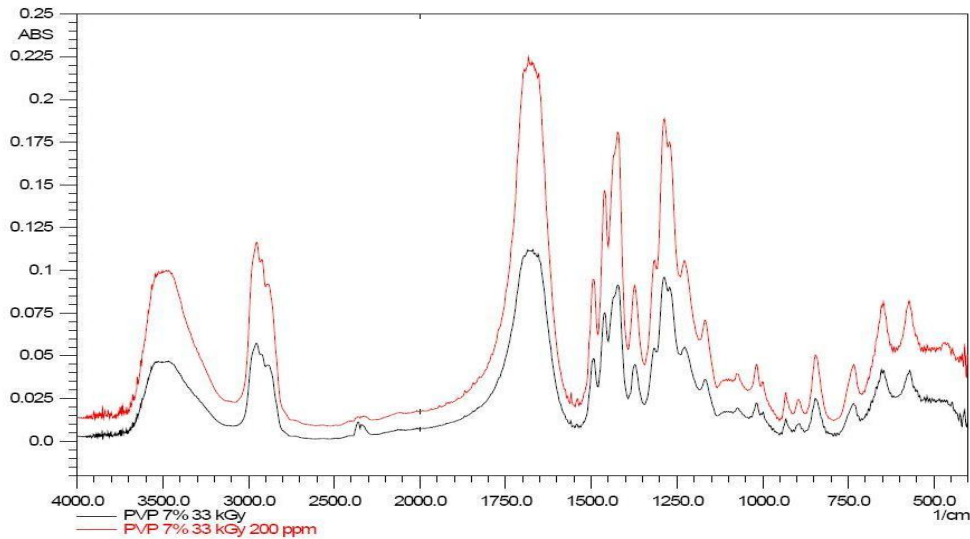
+ هاله کوچک ، ++ هاله متوسط ، +++ هاله بزرگ



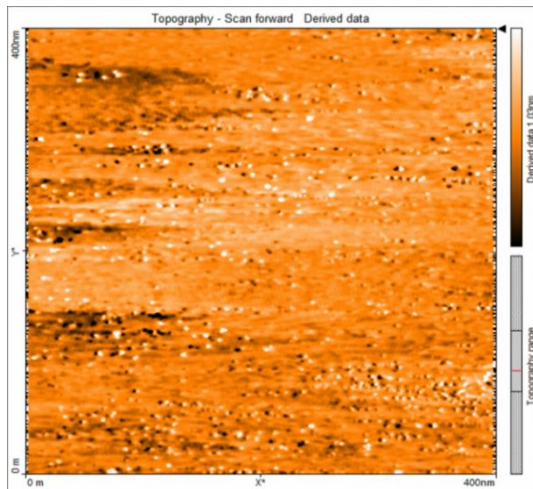
شکل ۲- هاله بازدارنده رشد در اطراف هیدروژل Ag/PVP با غلظت ۷۰ppm و ۱۰۰ و ۲۰۰ و هیدروژل خالص در کشت استافیلوکوکوس اورئوس.

اسپکتروسکوپی FTIR: جهت بررسی برهم کنش بین مولکولهای PVP و AgNPs، آزمون FTIR انجام شد. طیف جذبی IR، PVP خالص و نانوکامپوزیت Ag/PVP با غلظت ۲۰۰ ppm نقره در شکل ۳ نشان داده شده است. موقعیت پیکها در PVP خالص و نانوکامپوزیت Ag/PVP تفاوت کمی دارد. یکی از این تغییر مکانها مربوط به تغییر مکان باند گروه کربونیل آمید از 1660 cm^{-1} در PVP خالص به 1670 cm^{-1} در Ag/PVP است که ممکن است بدلیل تضعیف پیوند بعلت دادن جفت الکترون نیتروژن یا اکسیژن PVP به اربیتال خالی AgNPs باشد. همچنین در موقعیت پیک های 1492 cm^{-1} ، 1372 cm^{-1} و 1285 cm^{-1} تغییر مکان دیده می شود که دلیل آن را می توان پیوند کئوردینانس بین اتم نیتروژن در PVP و AgNPs دانست. تمام تفاوت های نشان داده شده بین دو طیف حاکی از تشکیل کئوردینانس بین اتم نیتروژن و اکسیژن PVP و AgNPs می باشد. بدلیل ممانعت فضایی حلقه پیرولیدون، اندازه AgNPs، نوع کئوردینانس را تعیین می کند. نانوذرات با ابعاد کمتر از ۵۰ نانومتر بدون توجه به ممانعت فضایی، با نیتروژن پیوند برقرار می کنند ولی در ذرات با ابعاد بزرگتر، اثر فضایی حلقه تاثیر گذارتر است و پیوند بین AgNPs و اکسیژن رخ می دهد. با توجه به اینکه ابعاد نانوذرات نقره که در این

تحقیق سنتز شده تقریباً ۵ nm می باشد می توان نتیجه گرفت که مکان اصلی کثوردینانس، بین AgNPs و نیتروژن حلقه پیرولیدون است [۴،۸].



شکل ۳ - طیف FTIR اطراف هیدروژل Ag/PVP با غلظت ۲۰۰ ppm و هیدروژل خالص.



بررسی میکروسکوپی نانوکامپوزیت Ag/PVP :

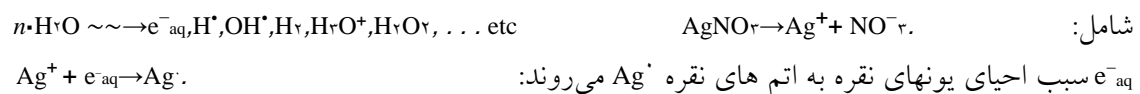
نانوکامپوزیت Ag/PVP با غلظت ۱۰۰ ppm با میکروسکوپی نیروی اتمی (AFM) بررسی شد و ذراتی با ابعاد ۵ نانومتر و بصورت مجزا مشاهده شد. تصویر AFM از AgNPs در شکل ۴ نشان داده شده است.

شکل ۴- تصویر AFM از AgNPs در هیدروژل Ag/PVP با غلظت ۱۰۰ ppm.

آزمون تورم و درصد ژل : تورم و درصد ژل خالص و نانوکامپوزیت Ag/PVP تفاوت چشمگیری نداشت.

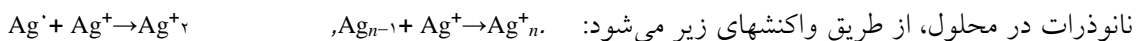
بحث و نتیجه گیری

پرتودهی با الکترون، سبب ایجاد واکنشهای شیمیایی و فرایندهای شکست در محلول PVP و $AgNO_3$ می شود شامل:



$Ag^+ + e^-_{aq} \rightarrow Ag^0$ سبب احیای یونهای نقره به اتم های نقره Ag^0 می روند:

اتم های نقره می تواند با یونهای Ag^+ برخورد کنند و Ag^+ تولید کند که بطور پیشرونده منجر به تشکیل نانوذرات در محلول، از طریق واکنشهای زیر می شود:





بهرحال، واکنشی که منجر به احیای یونهای Ag^+ می شود، می تواند با الکترونهای هیدراته احیاء کننده قوی و همینطور بوسیله رادیکالهای پلیمری PVP با واکنشهای زیر پیشرفت کند:

$$PVP(H) + OH^{\bullet} \rightarrow PVP^{\bullet} + H_2O$$

$$Ag^+_{n} + e^-_{aq} / PVP^{\bullet} \rightarrow (Ag)_n (Ag \text{ nanoparticle})$$

و بدین ترتیب در پرتودهی با الکترون ذرات نقره می تواند رشد کند و نانوذرات نقره تشکیل شوند [۹].

نتایج بدست آمده از اسپکتروسکوپی UV-vis و AFM تولید نانوذرات نقره با ابعاد تقریبی ۵ نانومتر و با توزیع اندازه کم را در ماتریس پلیمر Ag/PVP نشان داد و نتایج FTIR تعیین کرد که مکان اصلی کئوردینانس، بین AgNPs و نیتروژن حلقه پیرولیدون می باشد. خصوصیات تورم و درصد ژل هیدروژل PVP خالص و نانوکامپوزیت Ag/PVP تفاوتی نشان نداد. آزمون های میکربی خاصیت ضد میکربی هیدروژل را در سطح تماس و در منطقه کمی از اطراف هیدروژل نشان داد. در مجموع در این تحقیق به این نتیجه دست یافتیم که پرتودهی با الکترون روشی مناسب برای تولید نانوذرات نقره در درون ماتریس هیدروژل PVP می باشد و توانایی تولید نانوذرات نقره در ماتریس پلیمر همزمان با فرایند استریلیزاسیون، تکنیک پرتودهی را برای کاربردهای پزشکی جذاب ساخته است.

مراجع

- ۱- Rita Singh, Durgeshwer Singh; Radiation synthesis of PVP/alginate hydrogel containing nanosilver as wound dressing; J Mater Sci: Mater Med; ۲۳:۲۶۴۹-۲۶۵۸; ۲۰۱۲.
- ۲- فرید علی محمدی، مجید منتظر، علی شمعی؛ سنتز نانوذرات نقره روی پارچه پنبه ای با استفاده از پلی وینیل پیرولیدون به عنوان عامل کاهنده و پایدارکننده؛ مجله علوم و تکنولوژی پلیمر، شماره ۴، صفحه ۲۷۵-۲۶۵، ۱۳۹۱.
- ۳- Oleg Tkachenko and J. Andreas Karas; Standardizing an in vitro procedure for the evaluation of the antimicrobial activity of wound dressings and the assessment of three wound dressings; J Antimicrob Chemother; ۶۷: ۱۶۹۷-۱۷۰۰; ۲۰۱۲.
- ۴- Zeljka Jovanovic, Aleksandra Radosavljevic, Milorad Siljegovic, Natasa Bibic, Vesna Miskovic-Stankovic, Zorica Kac arevic; Structural and optical characteristics of silver/poly(N-vinyl-۲-pyrrolidone) nanosystems synthesized by γ -irradiation; Radiation Physics and Chemistry; ۸۱ ۱۷۲۰-۱۷۲۸; ۲۰۱۲.
- ۵- Dagmara malina, Agnieszka Sobczak-Kupiec, Zbigniew Wzorek, Zygmunt Kowalski; Silver nanoparticle synthesis with different concentrations of pPolyvinylpyrrolidone; Vol. ۷, No. ۴, , p. ۱۵۲۷-۱۵۳۴; October-December ۲۰۱۲.
- ۶- Claire E. Bradshaw; An in vitro comparison of the antimicrobial activity of honey, iodine and silver wound dressings; Bioscience Horizons Advance Access published February ۲۳, ۲۰۱۱.
- ۷- David J Leaper; Silver dressings: their role in wound management Int Wound J; ۳:۲۸۲-۲۹۴; ۲۰۰۶.
- ۸- Hongshui Wang, Xueliang Qiao, Jianguo Chen, Xiaojian Wang, Shiyuan Ding; Mechanisms of PVP in the preparation of silver nanoparticles; Materials Chemistry and Physics Vol. ۹۴, Pages ۴۴۹-۴۵۳; ۱۵ December ۲۰۰۵.
- ۹- K A Bogle, S D Dhole and V N Bhoraskar; Silver nanoparticles: synthesis and size control by electron irradiation; Nanotechnology ۱۷, ۳۲۰۴-۳۲۰۸, (۲۰۰۶).