

مقاله پژوهشی

بهینه‌سازی سنتز نانو کامپوزیت آلژینات/سیلیکا/اکسید منیزیم به عنوان یک ترکیب ضدقارچ

محمد سلمانی مبارکه^۱، محمد حسام مارابی^۲، نیما فلاح‌نیا^{۱*} و محسن صفائی^{۳*}

۱- مرکز تحقیقات علوم نوین دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۲- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۳- بخش بیومواد دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۴۰۲/۰۹/۲۱، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۴۰۲/۱۱/۲۸، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۴۰۲/۱۱/۳۰

چکیده

افزایش روز افزون مقاومت میکروبی تهدیدی جدی برای سلامت انسان‌ها در سراسر جهان است و مقابله با این مشکل یک چالش جدی در تمامی مراکز درمانی می‌باشد. با توجه به کمبود داروهای ضدقارچی موثر تولید ترکیبات جدید در این زمینه بسیار ضروری می‌باشد. بدین منظور در این پژوهش، سنتز بهینه نانو کامپوزیت آلژینات/سیلیکا/اکسید منیزیم با بالاترین فعالیت ضدقارچی علیه سویه قارچی کاندیدا/آلیکسنس در شرایط برون تن مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس روش تاگوچی ۹ آزمایش طراحی شد و نانو کامپوزیت‌ها با استفاده از روش اختلاط مستقیم سنتز شدند. سپس بهترین شرایط سنتز نانو کامپوزیت با بالاترین فعالیت ضدقارچی تعیین گردید. نتایج نشان داد که در حضور نانو کامپوزیت سنتز شده در شرایط آزمایش ۳ (۲ میلی گرم/میلی لیتر آلژینات، ۳ میلی گرم/میلی لیتر سیلیکا و ۴/۵ میلی گرم/میلی لیتر اکسید منیزیم) میزان مهار رشد قارچی به ۹۳/۴۵ درصد رسید. همچنین مشاهده شد بیشترین تاثیر را بر مهار رشد قارچ کاندیدا/آلیکسنس به ترتیب اکسید منیزیم با اثرگذاری به میزان ۵۹/۲۷ درصد، سیلیکا به میزان ۲۵/۳۶ درصد و آلژینات به میزان ۱/۴۲ درصد نشان دادند. هر سه فاکتور آلژینات، سیلیکا و اکسید منیزیم در سطح ۳ بیشترین تاثیر را در مهار رشد قارچ کاندیدا آلیکسنس داشتند. سپس نانو کامپوزیت سنتز شده در شرایط بهینه با استفاده از روش‌های مختلف مشخصه‌یابی FT-IR، FE-SEM، XRD و TEM مورد ارزیابی قرار گرفت که بیان‌گر خواص ساختاری و ترکیب شیمیایی مطلوب آن بود. نتایج نشان داد، نانو کامپوزیت سنتز شده به عنوان یک عامل ضدقارچی دارای عملکرد موثری است و می‌توان از آن در زمینه‌های مختلف پزشکی و دندانپزشکی بهره جست.

واژه‌های کلیدی: نانو کامپوزیت، بیوپلیمر آلژینات، نانوذرات سیلیکا، نانوذرات اکسید منیزیم، فعالیت ضدقارچ.

۱- مقدمه

دهان و دندان می‌باشد [۱]. اگرچه سهم باکتری‌ها در بیماری‌های عفونت‌های دندانی کاملاً اثبات شده است، اما نقش سایر میکروارگانیسم‌ها مانند قارچ‌ها، ویروس‌ها، باکتریوفاژها و آرکی‌ها در روند بیماری نامشخص است [۲].

افزایش عفونت‌های دهانی و مقاوم شدن میکروارگانیسم‌ها به ترکیبات ضد میکروبی موجود از جمله مشکلات بهداشت

* عهده‌دار مکاتبات: محسن صفائی

نشانی: دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تلفن: ۰۸۳-۳۷۲۹۶۵۹۱، دورنگار: ۰۸۳-۳۷۲۹۶۵۹۱، پست الکترونیکی: mohsen-safaei@yahoo.com

عملکرد ضد میکروبی را افزایش دهند و کاربردهای بالقوه این ماده را برای پاسخ گویی به تقاضاهای مختلف در زمینه زیست پزشکی، تصفیه آب و صنایع غذایی و غیره گسترش دهند [۵].

پلیمر آلزینات از جمله ترکیبات پرکاربرد در دندانپزشکی می باشد. پیشرفت های اخیر در تنظیم بیوستتاز آلزینات به وسیله باکتری ها، تولید آلزینات با ویژگی های سفارشی جهت کاربردهای خاص را امکان پذیر نموده است. در سال های اخیر مطالعات متعددی پیرامون آلزینات و ترکیبات نانوکامپوزیت حاوی آن در جهت بهبود خواص ضد میکروبی آن صورت گرفته است [۹-۱۲]. بهبود ویژگی ها سنتز ترکیباتی این بیوپلیمر با داشتن زنجیره پلی ساکاریدی که دارای تعداد زیادی گروه های هیدروکسیل است، می تواند به خوبی با یون های فلزی ترکیب و یک محیط ایده آل را برای بهبود اثربخشی نانوذرات فلزی فراهم کند [۱۳]. علاوه بر این، بسیاری از اکسیدهای فلزی معدنی نیز به دلیل پایداری و ایمنی در میان نانوذرات اکسیدی، به عنوان عوامل ضد میکروبی مورد توجه قرار گرفته اند. به عنوان مثال از نانوذرات اکسید منیزیم، به دلیل پایداری در شرایط تنش زا، برای درمان بیماری های مختلف استفاده شده است [۱۴].

اکسید منیزیم کاربردهای چشم گیری را در زمینه پزشکی مانند بازسازی استخوان، تسکین سوزش معده و مشکلات گوارشی، همچنین عوامل ضد تومور و ضد میکروبی نشان داده است و توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده به عنوان یک ماده بیولوژیکی ایمن پذیرفته شده است [۱۵]. همچنین در مورد نانوذرات سیلیکا، فعالیت ضد میکروبی این ذرات به دلیل افزایش مساحت سطح، در مقیاس نانو قابل توجه است [۱۶].

در این پژوهش، بهینه سازی سنتز نانوکامپوزیت جدید آلزینات/سیلیکا/اکسید منیزیم با بالاترین فعالیت ضدقارچی با استفاده از روش تاگوجی برای نخستین بار مورد بررسی قرار گرفت. بیوپلیمر آلزینات به عنوان ماده زمینه و نانوذرات اکسید منیزیم و سیلیکا به عنوان عوامل تقویت کننده استفاده

یوکاریوت های قارچی قسمت کوچکی از میکروبیوم دهان را تشکیل می دهند که بیشترین نسبت آن از گونه های کاندیدا با غلبه کاندیدا آلیکنس تشکیل شده است [۳]. کاندیدا آلیکنس، در مقایسه با همتایان خود، به نظر می رسد دارای سازگاری محیطی برتر، برای فرار از دفاع میزبان در زیستگاه های نامطلوب است [۲]. در حال حاضر در مقایسه با آنتی بیوتیک ها، تعداد عوامل ضدقارچی بسیار محدود است. همچنین استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک ها و داروهای ضد قارچی سبب شده مقاومت ضدقارچی به عنوان یک مشکل جدی جهت درمان ظاهر شود [۴].

استفاده از علم مواد و فناوری نانو در پزشکی، پتانسیل قابل توجهی را برای مقابله با جنبه های مختلف عفونت های میکروبی نشان داده است. ثابت شده است که بسیاری از نانومواد دارای خواص ضد میکروبی ذاتی هستند که به ندرت در حالت توده این خواص را دارند [۵].

در حال حاضر، نانومواد رایج ضد قارچی شامل چهار دسته نانوذرات معدنی، نانوساختارهای آلی، نانومواد بر پایه ساختار کربنی و نانوساختارهای ترکیبی است [۶]. نانوذرات معدنی عمدتاً حاوی نانوذرات فلزی و نانو یون های نیمه هادی با اثر فتوکاتالیستی هستند [۷]. بسیاری از نانوذرات مانند نقره، طلا، اکسید سیلیسیم و اکسید منیزیم فعالیت ضدقارچی مطلوبی دارند [۸].

نانوکامپوزیت ها به عنوان ترکیبات چند جزئی تعریف می شوند که حداقل یکی از عناصر دارای ابعادی کمتر از ۱۰۰ نانومتر باشد. استفاده از نانوکامپوزیت ها ساخت مواد جدید با خصوصیات فیزیکی قابل اصلاح را امکان پذیر می کند. این ویژگی منحصر به فرد در سال های اخیر مورد توجه دانشمندان و مهندسان در زمینه های مختلف قرار گرفته است. ترکیب نانوذرات ضد میکروبی شناخته شده در ماتریس های پلیمری، سرامیکی یا فلزی باعث ایجاد نسل جدیدی از مواد با بهبود خواص و فعالیت ضد میکروبی شده است. در برخی موارد، ماتریس های پلیمری، سرامیکی یا فلزی نه تنها از نانوذرات پشتیبانی می کنند بلکه می توانند

شدند. سپس شرایط بهینه سنتز نانو کامپوزیت جدید آلزینات/سیلیکا/اکسید منیزیم بر علیه پاتوژن دهانی *کاندیدا آلبیکنس* بررسی شد.

۲- فعالیت‌های تجربی

بیوپلیمر آلزینات به روش سنتز باکتریایی، با استفاده از باکتری *ازتوباکتریوینلانیدی* مطابق با روش به کار گرفته شده توسط صفائی و همکاران (۲۰۱۹) تهیه شد. بدین منظور این باکتری با مشخصه IBRC10786 از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شد. سپس مرحله تلقیح این باکتری در محیط کشت انجام شد و محیط کشت حاوی باکتری، به مدت ۷۲ ساعت تحت دمای 29°C در یک انکوباتور شیکردار با دور ۱۵۰ دور در دقیقه انکوبه شد. ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت نهایی که حاوی ۱۰ میلی‌لیتر اتیلن دی آمین تترااستیک اسید (EDTA) ۰/۱ مولار و ۱۰ میلی‌لیتر سدیم کلرید ۱ مولار بود تحت شرایط 5000 دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سلول‌های باکتریایی که در مایع رویی وجود داشت ته نشین شده و جدا گردید و به ظرفی که حاوی ایزوپروپانول بود اضافه شد، و به مدت ۲۰ دقیقه توسط همزن مغناطیسی هم زده شد. پس از این مرحله، رسوب بدست آمده با استفاده از کاغذ صافی جدا شد و به مدت ۷۲ ساعت تحت دمای 40°C در آون خشک شد تا بیوپلیمر پلی ساکارییدی آلزینات بدست آمد [۱۲].

نانوذرات سیلیکا بصورت تجاری با خلوص بالای ۹۹٪ از شرکت مرک تهیه گردید. روش سنتز نانو ذرات اکسید منیزیم و مقادیر استفاده شده براساس پژوهش انجام شده توسط مقدم و همکاران (۲۰۲۱) صورت گرفت. جهت تولید نانو ذرات اکسید منیزیم، از نیترا ت منیزیم شش آب به $(\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})$ و سدیم هیدروکسید (NaOH) با خلوص بالای ۹۹٪ ساخت شرکت مرک و آب مقطر دو بار تقطیر استفاده شد. برای سنتز نانو ذرات، محلول ۲ مولار سدیم هیدروکسید در دمای اتاق به صورت قطره‌ای به محلول ۰/۱۸ مولار منیزیم نیترا ت اضافه شد و رسوب تشکیل شده پس از

یک ساعت همزدن، توسط کاغذ صافی جداسازی شد و به مدت ۲۴ ساعت تحت دمای 120°C در آون قرار گرفت. سپس رسوب خشک شده توسط هاون آسیاب شد و برای انجام تکلیس به مدت ۲ ساعت در کوره تحت دمای 450°C قرار گرفت تا پودر نانو ذرات اکسید منیزیم تهیه گردید [۱۷].

به منظور بررسی و تعیین شرایط بهینه سنتز نانو کامپوزیت‌ها با بیشترین فعالیت ضد میکروبی، با استفاده از نرم افزار Qulitek-4 طبق روش تاگوچی، ۹ آزمایش حاوی نسبت‌های متفاوت از بیوپلیمر آلزینات، نانو ذرات سیلیکا و نانو ذرات اکسید منیزیم طراحی شد. برای بررسی توان ضد میکروبی نانو کامپوزیت سنتز شده، با استفاده از روش اختلاط مستقیم، سطوح ۲، ۴ و ۶ میلی‌گرم/میلی‌لیتر از محلول بیوپلیمر آلزینات و سطوح ۱/۵، ۳ و ۴/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر از نانو ذرات اکسید منیزیم و سطوح ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم/میلی‌لیتر محلول نانو ذرات سیلیکا، نه نمونه از نانو کامپوزیت مورد بررسی سنتز شد. در سنتز نانو کامپوزیت، ابتدا محلول‌های اجزای سازنده به صورت جداگانه توسط همزن مغناطیسی به مدت یک ساعت هم زده شدند. سپس این سه محلول به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق توسط دستگاه همگن ساز التراسونیک، دیسپرس شدند. در نهایت محلول نانو ذرات اکسید منیزیم و نانو ذرات سیلیکا به طور همزمان و به صورت قطره قطره به محلول پلیمری آلزینات اضافه شدند. محلول نهایی به مدت یک ساعت هم زده شد و پس از این مدت، محلول به مدت ۱۵ دقیقه دیسپرس شد. در نهایت برای تهیه پودر نانو کامپوزیت نهایی، محلول تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت درون آون با دمای 120°C قرار گرفت تا رسوبات نانو کامپوزیت تشکیل شود. رسوب حاصل توسط کاردک از ظرف جداسازی شد و در هاون آسیاب شد تا پودر نانو کامپوزیت نهایی تهیه شود [۱۷].

میزان فعالیت ضد قارچ نانو کامپوزیت آلزینات/سیلیکا/اکسید منیزیم سنتز شده بر روی *کاندیدا آلبیکنس* با استفاده از روش واحد تشکیل دهنده کلنی (CFU) مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور *کاندیدا آلبیکنس* بر روی محیط کشت سابورود دکستروز آگار (Sabouraud Dextrose Agar: SDA) به

۳- نتایج و بحث

در این پژوهش، بهینه‌سازی سنتز نانو کامپوزیت جدید آلزینات/سیلیکا/اکسید منیزیم با بالاترین فعالیت ضدقارچی با استفاده از روش تاگوچی انجام شد. شرایط بهینه برای تولید نانو کامپوزیت آلزینات/سیلیکا/اکسید منیزیم با بیشترین فعالیت ضدقارچی، پس از بررسی اثرات ۹ نانو کامپوزیت سنتز شده در شرایط مختلف بر میزان مهار رشد قارچ *کاندیدا آلیکنس* تعیین شد (جدول ۱). نتایج نشان داد نانو کامپوزیت تولید شده در شرایط آزمایش شماره ۳ (آلزینات ۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر، سیلیکا ۳ میلی‌گرم/میلی‌لیتر و اکسید منیزیم ۴/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) دارای بالاترین فعالیت ضدقارچی بر ضدقارچ *کاندیدا آلیکنس* بود و تحت آن شرایط بیشترین مهار رشد قارچی (بیش از ۹۳ درصد) اتفاق افتاد. مطالعات پیشین نشان داد، افزودن نانوذرات به ساختار بیوپلیمر آلزینات موجب بهبود خواص ضد میکروبی آن می‌شود که در مطابقت با نتایج مطالعه حاضر است [۹-۱۲]. چگونگی فعالیت ضدقارچی نانومواد تهیه شده دقیقاً روشن نیست با این حال مطالعات قبلی چندین مکانیسم را معرفی نموده‌اند. این فعالیت ضدقارچی نانوذرات در زمینه نانو کامپوزیت بر اساس ویژگی‌های منحصر به فرد نانوذره مانند شکل، بار، اندازه، نسبت بالای سطح به جرم و واکنش پذیری بالا اتفاق می‌افتد. به طور کلی فعالیت ضد میکروبی (باکتری‌ها و/یا قارچ‌ها) نانوذرات به برهم کنش مستقیم آن‌ها با دیواره غشاء سلولی باکتری و قارچ و جلوگیری از تشکیل بیوفیلم نسبت داده شده است. علاوه بر این، نانوذرات از طریق تحریک پاسخ‌های ایمنی میزبان، تولید گونه‌های اکسیژن فعال سمی (ROS) و ایجاد اختلالات درون سلولی (به عنوان مثال، اختلال در فعالیت آنزیم‌ها، آسیب به DNA و پروتئین سلول)، اثرات ضد میکروبی قوی دارند. به بیان دیگر، نانوذرات اکسیدی با تولید گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر می‌توانند به عنوان یک محرک برای تخریب اجزای داخلی سلول‌های میکروبی عمل کنند. قارچ *کاندیدا آلیکنس* که دیواره سلولی ضخیم‌تری نسبت به باکتری‌ها دارد، در برابر مواد ضد میکروبی مقاوم‌تر

مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ °C جهت تهیه کلنی تازه انکوبه شد. پس از ایزوله کردن قارچ مقداری از یک کلنی را برداشته و در آب مقطر دوبار تقطیر حل نمودیم تا غلظت تقریبی ۱۰^۶ CFU/ml حاصل شد. جهت بررسی فعالیت ضدقارچ نانو کامپوزیت سنتز شده محلول‌هایی حاوی محیط کشت سابورود دکستروز آگار و ۹ نانو کامپوزیت سنتز شده (۱ mg/ml) تهیه شد. محلول‌های حاصل در درون پتری دیش ریخته شد و پس از انجماد محیط کشت میزان ۱۰۰ μL از سوسپانسیون قارچی تهیه شده بر روی محیط کشت با استفاده از سوآپ بصورت کامل کشت داده شد. در گروه کنترل میزان ۱۰۰ μL از سوسپانسیون قارچی بر روی محیط کشت سابورود دکستروز آگار خالص کشت داده شد. تعداد کلنی‌ها برای ۹ گروه آزمایشی و گروه کنترل پس از ۹۶ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۰ °C شمارش شد، تمامی گروه‌ها دارای سه تکرار بودند. میزان مهار رشد قارچ بوسیله هر یک از نانو کامپوزیت‌های سنتز شده با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد:

$$C_g (\%) = \frac{C_g - E_g}{C_g} \times 100 \quad (1)$$

که C_g میانگین رشد کلونی‌ها در گروه شاهد و E_g میانگین رشد کلونی‌ها در گروه آزمایشی است. کلیه آزمایشات دارای سه بار تکرار بودند [۱۸].

خواص نانو کامپوزیت سنتز شده و اجزای تشکیل دهنده آن با استفاده از آنالیزهای مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور از دستگاه‌های طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) (Company/USA Thermo)، دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FESEM) (TESCAN, MIRA III model/Czech Republic)، طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDX) (MIRA III) (model SAMX detector/France) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM Philips EM208S/Netherlands)، استفاده شد.

است. در اولین مرحله از فرآیند عملکرد ضدقارچی، رادیکال‌های واکنش‌دهنده موجب تولید هیدروکسیل می‌شوند که این رادیکال‌ها با تهاجم به دیواره‌ی سلولی آن را تخریب می‌کنند و فعالیت تنفسی آن را مختل می‌کنند. در مرحله بعد با اکسیداسیون بیشتر لیپیدها، به بازها و زنجیره DNA آسیب وارد می‌شود و فعالیت آن‌ها را مختل می‌کنند و در نهایت با کاهش شدید فعالیت تنفسی، مرگ سلول رخ می‌دهد [۱۹].

اثر متقابل فاکتورها بر میزان مهار رشد قارچ *کاندیدا آلبیکنس* در جدول (۳) ارائه شده است. آلترینات در سطح اول و سیلیکا در سطح سوم بیشترین تاثیر متقابل را بر یکدیگر و بر میزان مهار رشد قارچ *کاندیدا آلبیکنس* به مقدار ۲۹/۷۲ درصد داشتند. آلترینات در سطح اول و اکسیدمنیزیم در سطح سوم اثر متقابل معنی‌داری بر میزان مهار رشد قارچ *کاندیدا آلبیکنس* به مقدار ۲۰/۲۳ درصد نشان دادند. کمترین درصد شاخص شدت تاثیر متقابل متعلق به سیلیکا و اکسیدمنیزیم در سطح سوم به میزان ۱۰/۷۲ درصد بود.

جدول ۱: طراحی آزمایشات به روش تاگوچی و نرخ مهار رشد قارچ نانو کامپوزیت سنتز آلترینات/سیلیکا/منیزیا.

مهار رشد قارچ (%)	منیزیا (mg/ml)			سیلیکا (mg/ml)			آلترینات (mg/ml)			آزمایش
	۱/۵	۳	۴/۵	۱	۲	۳	۲	۴	۶	
۵۸/۲۴	۱/۵			۱			۲			۱
۶۴/۱۷	۳			۲			۲			۲
۹۳/۴۵	۴/۵			۳			۲			۳
۶۱/۹۲	۳			۱			۴			۴
۸۸/۷۸	۴/۵			۲			۴			۵
۷۰/۲۴	۱/۵			۳			۴			۶
۸۱/۴۳	۴/۵			۱			۶			۷
۶۸/۴۰	۱/۵			۲			۶			۸
۸۵/۴۲	۳			۳			۶			۹

جدول (۲) نشان‌دهنده تاثیر فاکتورهای آلترینات، سیلیکا و اکسیدمنیزیم بر میزان مهار رشد قارچ *کاندیدا آلبیکنس* می‌باشد. نتایج بیانگر این است که هر سه فاکتور آلترینات، سیلیکا و اکسیدمنیزیم در سطح ۳ بیشترین تاثیر را در مهار رشد قارچ *کاندیدا آلبیکنس* داشتند.

جدول ۳: اثرات متقابل عوامل مورد مطالعه بر مهار رشد *کاندیدا آلبیکنس*.

شرایط بهینه	شاخص شدت (%)	ستون	جفت عوامل متقابل
[۳,۱]	۲۹/۷۲	۱ × ۲	آلترینات × سیلیکا
[۳,۱]	۲۰/۲۳	۱ × ۳	آلترینات × منیزیا
[۳,۳]	۱۰/۷۲	۲ × ۳	سیلیکا × منیزیا

آنالیز واریانس پارامترهای تاثیرگذار بر مهار رشد قارچ *کاندیدا آلبیکنس* در جدول (۴) ارائه شده است. بیشترین تاثیر را بر مهار رشد قارچ *کاندیدا آلبیکنس* به ترتیب اکسیدمنیزیم با اثرگذاری به میزان ۵۹/۲۷ درصد و سیلیکا به میزان ۲۵/۳۶ درصد و آلترینات به میزان ۱/۴۲ درصد نشان دادند.

جدول ۴: تجزیه و تحلیل واریانس عوامل مؤثر بر مهار رشد *کاندیدا آلبیکنس*.

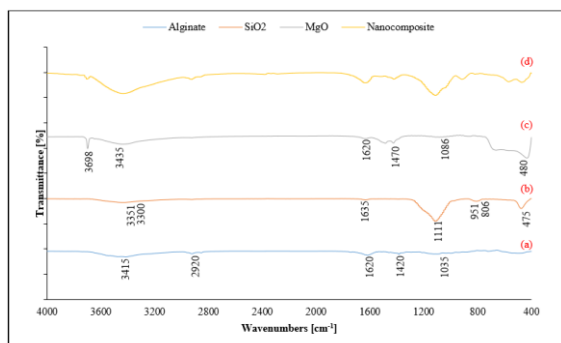
فاکتورها	درجه آزادی	مجموع مربعات	واریانس	نسبت - F (F)	جمع خالص (%)	درصد
آلترینات	۲	۶۴/۷۳	۳۲/۳۶	۱/۴۱	۱۸/۶۸	۱/۴۲
سیلیکا	۲	۳۸۰/۵۸	۱۹۰/۲۹	۸/۲۷	۳۳۴/۵۴	۲۵/۳۶
منیزیا	۲	۸۲۸/۰۱	۴۱۴/۰۰	۱۷/۹۸	۷۸۱/۹۶	۵۹/۲۷

پس از بررسی داده‌ها و تجزیه و تحلیل اثر هر یک از فاکتورها و اثر متقابل آن‌ها شرایط بهینه برای سنتز نانو کامپوزیت آلترینات/سیلیکا/اکسیدمنیزیم با بیشترین فعالیت

جدول ۲: اثرات اصلی سطوح مختلف آلترینات، سیلیکا و منیزیا بر مهار رشد *کاندیدا آلبیکنس*.

فاکتورها	سطح ۱	سطح ۲	سطح ۳
آلترینات	۷۱/۹۵	۷۳/۶۵	۷۸/۳۰
سیلیکا	۶۷/۲۰	۷۳/۶۶	۸۳/۰۴
منیزیا	۶۵/۵۱	۷۰/۵۰	۸۷/۸۹

خمش پیوند Si-O-Si می‌باشند. یک پیک جذب گسترده در محدوده 3351 cm^{-1} نوسان کششی گروه سیلانول را نشان داد. بر این اساس، وجود پیوند بین سیلیسیم و اکسیژن، ماهیت شیمیایی نانوذرات سیلیکا را نشان داد [۲۱]. در طیف FTIR نانوذرات اکسید منیزیم (نمودار c)، نوسان کششی پیوند H-O-H توسط یک پیک گسترده در محدوده 3435 cm^{-1} نشان داده شد [۲۲]. وجود پیک شدید در 3698 cm^{-1} به دلیل وجود گروه OH در منیزیم هیدروکسید است. پیک‌های جذبی در 1470 cm^{-1} و 1086 cm^{-1} مرتبط با لرزش خمشی پیوند OH و ارتعاشات کششی Mg-OH می‌باشد. پیک‌های متصل به هم جذبی دیگر در محدوده موقعیت 1620 cm^{-1} به ترتیب به دلیل کشش و لرزش خمشی آب است. پیک‌های مشاهده شده در محدوده طول موج زیر 800 cm^{-1} وجود اتصال بین منیزیم و اکسیژن و در نتیجه ماهیت شیمیایی نانوذرات اکسید منیزیم را نشان داد [۲۳]. مقایسه طیف FTIR نانوذرات اکسیدی و پلیمر آلزینات با طیف نانوکامپوزیت سنتز شده، نشان داد که طیف نانوکامپوزیت نهایی حاصل برهم کنش اجزای سازنده است (نمودار d).



شکل ۱: طیف FTIR: (a) آلزینات، (b) سیلیکا، (c) منیزیا و (d) نانوکامپوزیت آلزینات/سیلیکا/منیزیا.

در شکل ۲، شکل ظاهری و مورفولوژی نانوکامپوزیت آلزینات-سیلیکا-اکسید منیزیم و اجزای سازنده آن با بزرگنمایی 500 nm از طریق میکروگراف میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی مورد بررسی قرار گرفته است. نانوذرات بر اساس ویژگی‌های شیمیایی و الکترواستاتیکی

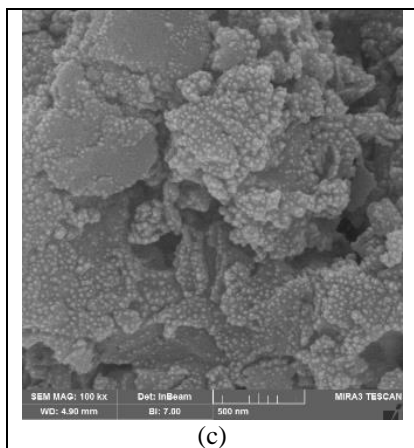
ضدقارچی تخمین زده شد (جدول ۵). بر اساس این نتایج، اکسید منیزیم بالاترین سهم و آلزینات کمترین سهم را در میزان مهار رشد قارچ کاندیدا/آلیکنس داشتند و سیلیکا تأثیری بین این دو فاکتور و نزدیک به آلزینات نشان داد. سطح سوم برای هر سه فاکتور آلزینات، سیلیکا و اکسید منیزیم مناسب‌ترین سطح تشخیص داده شد. بر اساس نتایج، تخمین زده شد که نانوکامپوزیت سنتز شده در شرایط بهینه بیش از ۹۹٪ از رشد قارچ جلوگیری کرده که بیشترین مطابقت را با نتایج آزمایش ۳ داشت.

جدول ۵: شرایط بهینه برای سنتز نانوکامپوزیت

آلزینات/سیلیکا/منیزیا با بالاترین فعالیت ضدقارچی.

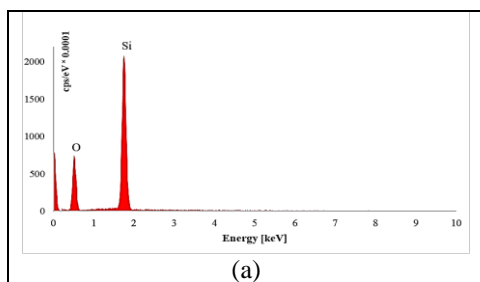
سهم	سطح	فاکتورها
۳/۶۶	۳	آلزینات
۸/۴۰	۳	سیلیکا
۱۳/۲۵	۳	منیزیا
۲۵/۳۲		سهم کل از همه فاکتورها
۷۴/۶۳		میانگین کل عملکرد فعلی
۹۹/۹۵		مهار رشد قارچ در شرایط بهینه

طیف FTIR نانوکامپوزیت آلزینات-سیلیکا-اکسید منیزیم و اجزای سازنده آن در محدوده طول موج $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ در شکل ۱ نشان داده شده است. در طیف FTIR آلزینات (نمودار a) یک باند جذب گسترده مربوط به گروه هیدروکسیل OH در موقعیت 3415 cm^{-1} و یک باند جذب مربوط به کشش پیوند CH در موقعیت 2920 cm^{-1} دیده شد و نوار جذب مشاهده شده در 1035 cm^{-1} به کشش حلقوی اتر COC نسبت داده شد. پیک‌هایی که در 1620 cm^{-1} و 1420 cm^{-1} آشکار شدند، به ترتیب به ارتعاشات کششی متقارن و نامتقارن آنیون‌های کربوکسیلات مربوط می‌شوند [۲۰]. در طیف FTIR نانوذرات سیلیکا (نمودار b)، پیک‌هایی در موقعیت‌های 1635 ، 1111 ، 1086 ، 951 ، 806 ، 475 و 482 cm^{-1} مشاهده شد که به ترتیب مربوط به کشش پیوند OH در سیلانول و آب، خمش پیوند OH در آب، کشش پیوند Si-O، کشش پیوند Si-OH، کشش متقارن Si-O-Si،

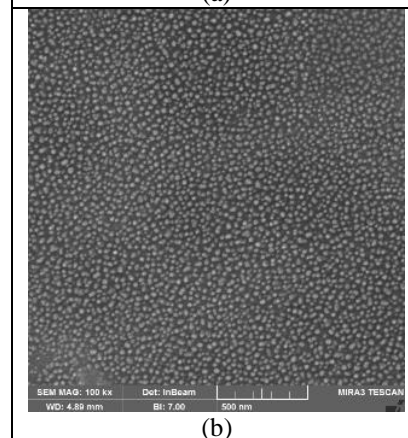
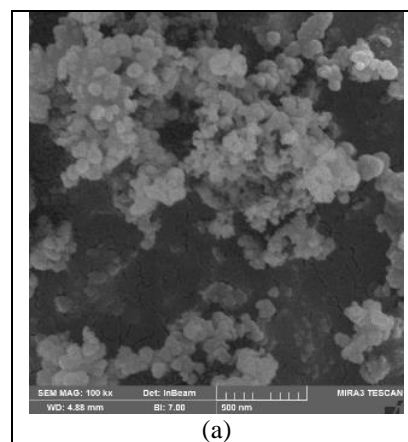


شکل ۲: تصاویر FESEM با بزرگنمایی یکسان از: (a) نانوذرات سیلیکا، (b) نانوذرات اکسید منیزیم و (c) نانو کامپوزیت آلزینات-سیلیکا-اکسید منیزیم.

تجزیه و تحلیل آنالیز EDS برای نانو کامپوزیت تهیه شده و اجزای سازنده آن در شکل ۳ آورده شده است. برای نانوذرات سیلیکا، عنصر سیلیسیم در شکل (a) با درصد وزنی ۴۳/۳۱ درصد و اکسیژن با درصد وزنی ۵۶/۶۹ درصد نشان داده شد. همچنین برای نانوذرات اکسید منیزیم در شکل (b)، عنصر منیزیم با درصد وزنی ۵۶/۶۳ درصد و اکسیژن با درصد وزنی ۴۳/۳۷ درصد نشان داده شد. در نهایت برای نانو کامپوزیت تهیه شده، طیف بدست آمده وجود عناصر تشکیل دهنده اجزا سازنده را در ترکیب نهایی نشان داد (شکل c). این عناصر شامل عنصر اکسیژن با بیشترین شدت پیک با درصد وزنی ۵۱/۲۷ درصد، کربن با درصد وزنی ۱۴/۰۷ درصد، سدیم با درصد وزنی ۱۰/۲۱ درصد، منیزیم با درصد وزنی ۱۳/۷۲ درصد، سیلیسیم با درصد وزنی ۱/۵۲ درصد، فسفر با درصد وزنی ۷/۴۲ درصد و کلر با درصد وزنی ۱/۷۹ درصد بودند.

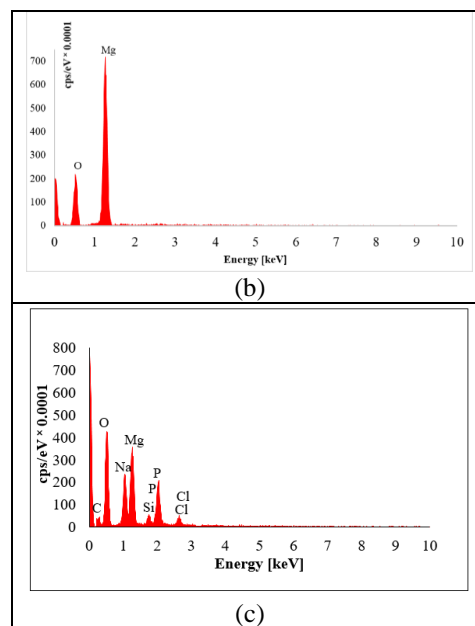


خود، به دو حالت توده‌ای یا با توزیع یکسان در محیط وجود دارند. به علت انرژی سطحی بالایی که ذرات در مقیاس نانو دارند، می‌توانند به یکدیگر متصل شده و ساختارهای متراکم و خوشه‌ای را تشکیل دهند. این خاصیت را می‌توان با اصلاح ویژگی‌های شیمیایی ذرات و یا استفاده از آن‌ها در تهیه نانو کامپوزیت‌ها و در نتیجه آن تغییر انرژی سطحی آن‌ها تغییر داد. بر همین اساس ذرات می‌توانند به شکل‌های مختلف در محیط قرار گیرند. در تصویر (a)، نانوذرات سیلیکا به دلیل اندازه کوچک و انرژی بالا آگلومره شده‌اند و خوشه‌هایی را تشکیل داده‌اند. تصویر (b) نانوذرات اکسید منیزیم با اندازه‌های یکسان و شکل کروی را نشان می‌دهد. همچنین تصویر نانو کامپوزیت در قسمت (c)، قرار گرفتن نانوذرات درون شبکه‌ی پلیمری و پوشش‌دهی بیوپلیمر آلزینات توسط نانوذرات و در نتیجه تشکیل نانو کامپوزیت نهایی را نشان می‌دهد.



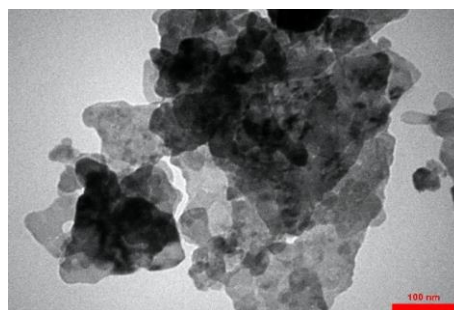
۴- نتیجه گیری

با تحلیل و بررسی نتایج آزمایشات طراحی شده به روش تاگوچی فعالیت ضدقارچی نانوکامپوزیت آلزینات-سیلیکا-اکسید منیزیم، سنتز شده به روش اختلاط مستقیم بر ضدسویه قارچی *کاندیدا آلبیکنس* مورد ارزیابی قرار گرفت و خواص مطلوب ضدقارچی نانوکامپوزیت نامبرده تایید شد. همچنین خواص مطلوب ساختاری نانومواد سنتز شده از طریق روش های مشخصه یابی مختلف تایید گردید. بر اساس نتایج بررسی فعالیت ضدقارچی، تخمین زده شد که نانوکامپوزیت سنتز شده در شرایط بهینه نزدیک به ۹۹/۹۵٪ از رشد قارچ جلوگیری نماید. با توجه به خواص ضدقارچی پیش بینی شده برای این نانوکامپوزیت، استفاده از آن می تواند در دندان پزشکی به طور موثری مفید واقع شود و تغییر مثبتی در مقابله با عفونت های دهانی ایجاد نماید.



شکل ۳: طیف EDX از: (a) نانوذرات سیلیکا، (b) نانوذرات اکسید منیزیم و (c) نانوکامپوزیت آلزینات-سیلیکا-اکسید منیزیم.

در شکل ۴، تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری TEM گرفته شده از نانوکامپوزیت سنتز شده، اندازه، شکل و پراکندگی اجزا سازنده نانوکامپوزیت را نشان داد. نانوذرات به صورت ذرات ریزتر با رنگ تیره تر در تصویر گرفته شده آشکار شده است و از چگالی بالاتری برخوردارند. در اطراف نانوذرات، زمینه بیوپلیمری آلزینات با چگالی کمتر قرار گرفته است. این موضوع قرارگیری مطلوب اجزای سازنده و تشکیل نانوکامپوزیت را نشان داد.



شکل ۴: تصویر TEM نانوکامپوزیت آلزینات-سیلیکا-اکسید منیزیم.

مراجع

- [1] H. Moradpoor, M. Safaei, A. Golshah, H.R. Mozaffari, R. Sharifi, M.M. Imani, M.S. Mobarakeh, *Inorganic Chemistry Communications*, **130**, 2021, 108748.
- [2] S.B. Abraham, F. Al Marzooq, W.H. Himratul-Aznita, H.M.A. Ahmed, L.P. Samaranyake, *BMC Oral Health*, **20**, 2020, 1.
- [3] A. Alberti, S. Corbella, S. Taschieri, L. Francetti, K.S. Fakhruddin, L.P. Samaranyake, *Plos One*, **16**, 2021, 0255003.
- [4] J.L. Xu, Y.X. Luo, S.H. Yuan, L.W. Li, N.N. Liu, *Innovations in Digital Health, Diagnostics, and Biomarkers*, **1**, 2021, 3.
- [5] R.K. Matharu, L. Ciric, M. Edirisinghe, *Nanotechnology*, **29**, 2018, 282001.
- [6] V. Harish, D. Tewari, M. Gaur, A.B. Yadav, S. Swaroop, M. Bechelany, A. Barhoum, *Nanomaterials*, **12**, 2022, 457.
- [7] G. Vitiello, B. Silvestri, G. Luciani, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **18**, 2018, 22.
- [8] K. Kavitha, N. Vijaya, A. Krishnaveni, M. Arthanareeswari, S. Rajendran, A. Al-Hashem, A. Subramania, *In Nanotoxicity. Elsevier*, **25**, 2020, 385.
- [9] M. Safaei, A. Moghadam, *Materials Today Communications*, **31**, 2022, 103698.
- [10] M.M. Imani, F. Ghorbani, P. Gorji, M.S. Mobarakeh, M. Safaei, *Journal of Nanomaterials*, **39**, 2022, 3720499.
- [11] M. Safaei, M. Taran, *Journal of Applied Polymer Science*, **135**, 2018, 45682.
- [12] M. Safaei, M. Taran, M.M. Imani, *Materials Science and Engineering: C*, **101**, 2019, 323.

- [18] S.V. Agarwalla, K. Ellepola, N. Silikas, A.H.C. Neto, C.J. Seneviratne, V. Rosa, *Dental Materials*, **37**, 2021, 370.
- [19] S. Gharpure, A. Akash, B. Ankamwar, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, **20**, 2020, 3303.
- [20] H.I. Chiu, A.D. Ayub, V. Lim, *Pharmaceutics*, **12**, 2020, 38.
- [21] S.M. Rafigh, A. Heydarinasab, *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, **5**, 2017, 10379.
- [22] K. Tharani, A.J. Christy, S. Sagadevan, L.C. Nehru, *Chemical Physics Letters*, **763**, 2021, 138216.
- [23] D.C. Prado, I. Fernandez, J.E. Rodriguez-Paez, *Nanostructures and Nano-objects*, **23**, 2020, 100482.
- [13] A. Banerjee, U. Halder, R. Bandopadhyay, *Journal of Cluster Science*, **28**, 2017, 1803.
- [14] A. Jain, S. Wadhawan, V. Kumar, S.K. Mehta, *Chemical Physics Letters*, **706**, 2018, 53.
- [15] S. Abid, B. Uzair, M.B.K. Niazi, F. Fasim, S.A. Bano, N. Jamil, R. Batool, S. Sajjad, *International Journal of Nanomedicine*, **16**, 2021, 1157.
- [16] V. Selvarajan, S. Obuobi, P.L.R. Ee, *Frontiers in Chemistry*, **8**, 2020, 602.
- [17] A. Moghadam, M.S. Mobarakeh, M. Safaei, S. Kariminia, *Carbohydrate Polymers*, **260**, 2021, 117802.