

علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره بیست و دوم، شماره چهار، تیر ماه ۹۹

سنتر و بررسی کارآیی نانوکامپوزیت اسفنج پلی اورتانی سلول باز - اکسید نقره در گندزدایی آب

حمیدرضا اشجاری باسمنج^۱

میر سعید سید دراجی^{*۲}

dorrajii@znu.ac.ir

محمدحسین رسولی فرد^۳

مریم مقدم^۴

شیما شیخ محمدی^۴

تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۹/۲۳

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۲/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: یکی از مهم‌ترین و کارآمدترین روش‌ها برای میکروب زدایی و تصفیه آب استفاده از نانوتکنولوژی می‌باشد. پخش نانوذرات اکسید نقره در ماتریس‌های پلیمری مختلف، به ویژه ماتریس اسفنج پلی‌اورتانی سلول‌باز برای تهیه نانوکامپوزیت‌های ضد میکروبی با نسبت سطح به حجم بالا، می‌تواند روشی کارا در فرآیند تصفیه و ضد عفونی آب باشد.

روش بررسی: در پژوهش حاضر نانوذرات اکسید نقره داخل مواد اولیه اسفنج پلی‌اورتانی سلول‌باز پخش و در ادامه اسفنج پلی‌اورتانی باروش One-shot سنتز گردید. در ادامه قابلیت استفاده از اسفنج پلی‌اورتانی سنتز شده به عنوان عامل ضد باکتریایی جهت گندزدایی آب با روش "شمارش کلنی‌ها" (کاهش تعداد باکتری‌های آب آلوده با گذشت زمان) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین سوسپانسیون نیم مک فارلند ($1/5 \times 10^8$ CFU/ml) رقیق شده با سرم بیولوژیکی (۲:۱) از باکتری‌های اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس به عنوان آب آلوده به کارگرفته شدند. در نهایت خواص ساختاری اسفنج سنتز شده با استفاده از تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و طیف مادون قرمز تبدیل فوریه (FT-IR) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در پایان ۱۲ ساعت آزمون ضدباکتریایی مشخص گردید، نانوکامپوزیت تهیه شده خاصیت ضدباکتریایی قابل قبولی در برابر باکتری اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس دارد. همین‌طور یافته‌ها نشان دادند، نانوکامپوزیت در شرایط معینی پس از ۶ و ۸ ساعت به ترتیب از رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس ارئوس و اشریشیا کلی جلوگیری کرده است. به طوری که پس از ۶ و ۸ ساعت برخورد با

۱- کارشناس ارشد شیمی کاربردی، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۲- دانشیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. *مسئول مکاتبات.

۳- دانشیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۴- دانشجوی کارشناسی ارشد شیمی کاربردی، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

نانوکامپوزیت، تعداد باکتری‌های استافیلوکوکوس ارئوس و اش‌ریشیا کلی موجود در آب آلوده به ترتیب 10^6 CFU/ml ($t_0 = 10^6$ CFU/ml, $t_8 = 3.5 \times 10^6$ CFU/ml) و 10^5 CFU/ml ($t_0 = 5 \times 10^5$ CFU/ml, $t_6 = 10^6$ CFU/ml) درصد کاهش یافته بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج بدست آمده توسعه این اسفنج‌ها و بکارگیری آن‌ها در فرایند تصفیه آب می‌تواند سبب کاهش چشم‌گیر استفاده از داروهای شیمیایی جهت کنترل عفونت‌ها شود. نانوذرات اکسید نقره به دلیل نسبت سطح به حجم بالا و برهم‌کنش‌هایی که با دیواره باکتری‌ها دارند باعث آسیب به دیواره باکتریایی شده و ساختار سلولی باکتری‌ها را از بین می‌برند.

واژه‌های کلیدی: اسفنج پلی‌اورتانی سلول‌باز، نانوکامپوزیت و گندزدایی.

Synthesis and Investigation of Open Cell Polyurethane Sponge-Silver Oxide Nanocomposite Efficacy in Water Disinfection

H.R. Ashjari-Basmenj¹

M. S. Seyed Dorraji^{*2}

dorraji@znu.ac.ir

M. H. Rasoulifard³

M. Moghadam⁴

S. Sheikh Mohammadi⁴

Accepted: 2017.12.14

Received: 2016.05.10

Abstract

Background and Objective: The use of nanotechnology is one of the most important and effective methods for microbial enumeration and water treatment. Dispersing the silver oxide nanoparticles in different polymer matrixes (in particular, open cell polyurethane sponge matrixes) can be an efficient way in the water treatment and microbial enumeration.

Method: In the present study, the silver oxide nanoparticles were dispersed into the open cell polyurethane sponge raw materials and then, the polyurethane sponge was synthesized using a One-shot method. In addition, the usability of synthesized polyurethane sponge as an antibacterial agent for water disinfection was investigated by using "plate counting" (reducing the bacteria number in contaminated water over time) method. Also the 0.5 McFarland (1.5×10^8 CFU/ml) suspensions diluted with biomass serum (1:2) of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were used as contaminated water. Ultimately, the structural properties of synthetic sponges were investigated using Scanning Electron Microscopy (SEM) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR).

Findings: The end of 12 hours has been recognized the antimicrobial activities of the prepared sponges against *Escherichia coli* and *Staphylococcus* are acceptable. The results indicated that the antimicrobial activities of the prepared sponges against *Escherichia coli* and *Staphylococcus* are acceptable. The results also showed that nanocomposite in certain conditions after 6 and 8 hours prevented the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria, respectively. So that after 6 and 8 hours contact with the nanocomposite, the number of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria in contaminated water was reduced by 100% ($t_0=50 \times 10^6$ CFU/ml, $t_6=0 \times 10^6$ CFU/ml) and 30% ($t_0=50 \times 10^6$ CFU/ml, $t_8=35 \times 10^6$ CFU/ml), respectively.

Discussion and conclusion: Development and utilization of antimicrobial sponges in water treatment processes can reduce the use of chemical agents to infection control. Silver oxide nanoparticles, due to the high surface-to-volume ratio and interactions with the bacterial cell walls, cause damage to the bacterial cell walls and destroy the cellular structure of the bacteria.

Keywords: Open Cell Polyurethane Sponge, Nanocomposite and Disinfection

1- M. Sc., Applied Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran

2- Associate Prof., Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran

3- Associate Prof., Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran

4- M. Sc. Student of Applied Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran

مقدمه

آب سالم برای زندگی انسان بسیار حیاتی می‌باشد. افزایش وقوع خشک‌سالی‌ها، مصرف بیش از حد آب، رشد جمعیت و بهبود استانداردهای بهداشتی جهان، مساله تأمین آب شیرین را با چالش‌های متعددی روبرو ساخته است (۱-۳). همان‌طور که می‌دانید آب یکی از مستعدترین محیط‌ها برای رشد و تکثیر عوامل بیماری‌زا می‌باشد. یکی از مهم‌ترین نشانه‌های آلودگی آب حضور باکتری در آن است. گندزدایی آب از باکتری‌های آلاینده با استفاده از روش‌های مختلفی مثل صافی غشایی، استفاده از نور فرابنفش، پرتوهای یونیزه کننده، حرارت، امواج فراصوت، استفاده از کلر و سایر ترکیبات شیمیایی، که موجب کاهش بسیار زیاد نرخ مرگ و میر در سطح جهانی می‌باشد، انجام می‌شود (۴-۷). استفاده بی‌رویه و طولانی‌مدت از مواد دارویی جهت کنترل بیماری‌های عفونی، سبب مقاوم شدن سویه‌های فراوانی از باکتری‌های مختلف در برابر این مواد می‌گردد؛ بنابراین استفاده از شیوه‌های جایگزین به دلیل مقاومت عوامل بیماری‌زا در برابر مواد دارویی و محدودیت استفاده بیش از حد از داروها، امری ضروری به نظر می‌رسد (۸، ۹).

در دهه‌های گذشته تحقیقات گسترده‌ای جهت استفاده از ژئولیت‌های طبیعی و مصنوعی، فیلم‌های پلیمری و یون‌های فلزی نظیر یون نقره انجام گرفته است. اخیراً استفاده از نانو تکنولوژی جهت تصفیه و ضدعفونی نمودن آب بسیار مورد توجه می‌باشد. نانوذرات مختلف به دلیل نسبت سطح به حجم بالا در بسیاری از زمینه‌ها کارآمد می‌باشند. تحقیقات گسترده‌ای بر روی اثرات ضدباکتریایی نانوذرات مختلف و همچنین نانوکامپوزیت‌ها صورت گرفته است. استفاده از نانوذرات فلزی جهت فرآیند ضدعفونی آب تکنیک جدیدی است (۴، ۱۰، ۱۲). قبل از استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها ترکیبات مختلف نقره به جهت خاصیت ضد میکروبی در درمان زخم‌ها و سوختگی‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفتند. همچنین امروزه نیز به دلیل محدودیت‌های استفاده از ترکیبات آلی به عنوان عوامل ضد میکروبی، ترکیبات معدنی به‌ویژه نقره بسیار مورد توجه می‌باشند. ترکیبات معدنی با مکانیسم‌های مثل آزاد کردن یون-

های مثبت، نفوذ ذرات به درون سلول باکتریایی و ... ساختار-های باکتریایی را از بین می‌برند (۸). علاوه بر آن وجود برهم-کنش و اتصال اغلب نانوذرات معدنی مختلف به ترکیبات اورتانی در نتیجه وجود گروه‌های کربامات در ساختارهای پلی‌اورتان‌ها، امکان جاسازی نانوذرات در ماتریس پلی‌اورتان‌ها را فراهم می‌آورد. اسفنج‌های پلی‌اورتانی انعطاف‌پذیر به دلیل قیمت پایین و نسبت سطح به حجم بالا، امکان برخورد بیش‌تر باکتری‌ها با نانوذرات فراهم می‌آورند. این نوع از اسفنج‌ها به ویژه اسفنج سلول‌باز به دلیل نسبت سطح به حجم بالای خود سطح برخورد بالایی را با آلاینده‌ها ایجاد می‌کنند. در کنار آن حضور نانوذرات در سطح اسفنج‌های سلول‌باز سطح برخورد بسیار بالایی را ایجاد خواهد نمود. همچنین پخش نانوذرات در ماتریس پلیمرها فرایند بازگردانی آن‌ها برای استفاده دوباره را بسیار آسان‌تر می‌کند (۴). در این زمینه در سال ۱۹۹۰ اکویاما و همکارانش با پخش ژئولیت‌های حاوی یون فلزات (نقره، مس و روی) فوم‌های پلی‌اورتانی انعطاف‌پذیر ضدباکتریایی تهیه نمودند (۱۳). در همین راستا در سال ۲۰۰۴ فوم‌های پلی-اورتانی پوشش داده شده با نانوذرات نقره جهت تصفیه میکروارگانیزم‌های موجود در آب مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل وجود خاصیت ضدباکتریایی در فوم مذکور در مقابل باکتری اشرشیاکلی را اثبات نمود (۱۴). همچنین اطهرالسادات شهیم و همکارانش در سال ۲۰۱۵ کامپوزیت‌های ژئولیت نقره، فوم‌های پلی‌اورتانی را تهیه کرده و به عنوان فیلتر آب جهت تصفیه آب آلوده به باکتری استرپتوکوکوس اینیایی مورد استفاده قرار دادند (۱۵). در ادامه تاثیر نانوذرات اکسید روی و کادمیوم سولفید به عنوان عامل ضدباکتریایی، اخیراً توسط سید دراجی و همکارانش مورد بررسی قرار گرفتند (۱۶).

(۱۷). هدف از این پژوهش تهیه و بررسی کارایی نانوکامپوزیت ضد میکروبی پلی‌اورتانی (اسفنج پلی‌اورتانی سلول‌باز/ اکسید نقره) در برابر باکتری‌های اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس ارفوس می‌باشد. که در این راستا نانوذرات اکسید نقره به عنوان

آنالیزهای انجام شده

جهت مشاهده پخش نانوذرات در ساختار فوم و همچنین بررسی مورفولوژی سلولی آن از تکنیک SEM (model: AIS2100, Seron Technology Co) و به منظور بررسی برهم‌کنش بین نانوذرات و فوم پلی‌اورتانی از طیف سنجی FT-IR (Perkin- Elmer) استفاده گردید (۲۲، ۲۳).

آزمون ضدباکتریایی

سویه‌های خالص باکتری‌های اش‌ریشیاکلی و استافیلوکوکوس به عنوان عوامل آلوده کننده آب از دانشگاه علوم پزشکی زنجان تهیه گردیدند (۴). نوترینت آگار به عنوان محیط کشت باکتری‌ها استفاده گردید. کلیه ظروف شیشه‌ای مورد استفاده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند. براساس آزمون ضدباکتریایی «شمارش کلنی‌ها» سوسپانسیون نیم مک فارلند (CFU/ml) $10^8 \times 1/5$ از باکتری‌ها در سرم بیولوژیکی به عنوان سوسپانسیون مادر تهیه شد. جهت انجام آزمون ضدباکتریایی اسفنج پلی‌اورتانی خالص و اسفنج حاوی نانوذرات اکسید نقره داخل ۲ میلی لیتر سوسپانسیون باکتریایی (10^8 کلنی) غوطه‌ور شدند. سپس در فواصل زمانی مشخص، پس از تماس عامل ضدباکتریایی با باکتری‌ها، حجم مشخصی (۲۰ میکرو لیتر) از سوسپانسیون (با تعداد باکتری مجهول) کشت داده شد و پس از رشد آن‌ها با شمارش تعداد کلنی‌های تشکیل شده، تعداد باکتری‌های موجود در آن حجم مشخص شدند. با توجه به این که تعداد باکتری‌های موجود در سوسپانسیون باکتری در زمان صفر نیز مشخص می‌باشد (CFU/ml) $10^8 \times 0/5$ بنابراین با این روش می‌توان درصد کاهش باکتری‌ها را، در اثر برخورد با اسفنج حاوی نانوذرات، پس از زمان مشخص به دست آورد. شکل ۱ نحوه محاسبه میزان کاهش تعداد باکتری‌ها را پس از برخورد با اسفنج پلی‌اورتانی ضد میکروبی نشان می‌دهد.

عوامل ضدباکتریایی در داخل مواد اولیه سازنده اسفنج پلی‌اورتانی پخش شده و سپس نانوکامپوزیت تهیه می‌شود.

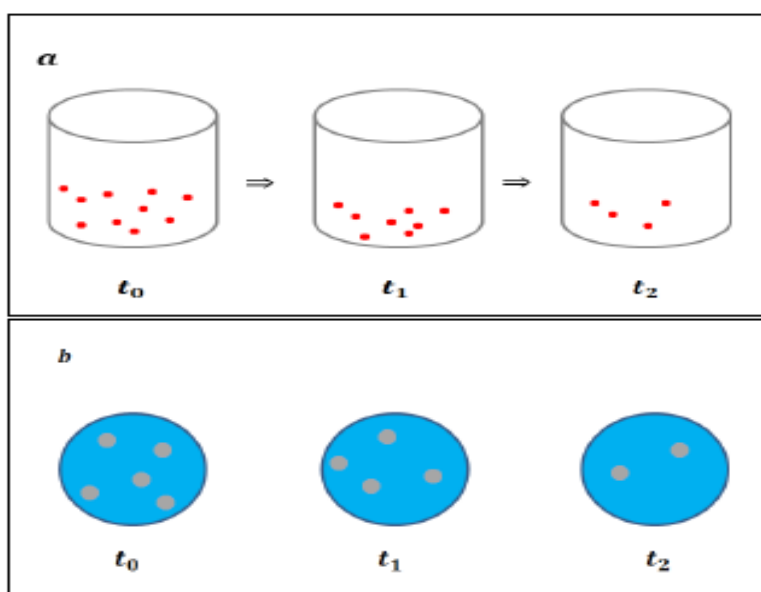
مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده

نانوذرات اکسید نقره با اندازه ۲۰-۵۰ نانومتر خریداری شدند. جهت سنتز فوم پلی‌اورتانی سلول باز، پلی‌ال (mgOH) (48) Number، تولوئن دی ایزوسیانات، کاتالیست آمینی، کاتالیست قلع و سیلیکون سورفاکتانت از شرکت‌های معتبر تهیه شدند. همچنین در این پروژه جهت سنتز اسفنج پلی‌اورتانی از روش One-shot استفاده شد (۱۸، ۱۹).

سنتز نانوکامپوزیت پلی‌اورتانی سلول‌باز

ابتدا ۰/۵ گرم از نانوذرات اکسید نقره داخل مخلوط ۱۰۰ گرم پلی‌ال و ۳ گرم پودر کربوهیدرات پخش و به خوبی هم زده شد. سپس ۴/۴ گرم آب مقطر، ۱ گرم سیلیکون سورفاکتانت، ۰/۰۷ گرم کاتالیست آمینی (دابکو) و ۰/۰۶۵ گرم کاتالیست قلع (کاسموس) به مخلوط اضافه و هم زده شد. در ادامه ۵۵ گرم تولوئن دی ایزوسیانات (TDI) به محلول حاصل از مرحله قبل اضافه گردید و به مدت ۷ ثانیه به شدت هم زده شد. در نهایت محلول ژله‌ای حاصل داخل قالب $15 \times 15 \times 15$ سانتی متری ریخته شده و نانوکامپوزیت مورد نظر سنتز گردید و پس از ۷۲ ساعت مورد استفاده قرار گرفت. جهت کنترل تأثیر اسفنج معمولی فاقد نانوذرات اکسید نقره بر رشد باکتری‌ها، این نوع اسفنج نیز با روش ذکر شده در بالا سنتز گردیده و به عنوان شاهد مورد بررسی قرار گرفت (۱۸، ۱۹). در ادامه اسفنج‌های مورد نظر در مقادیر ۰/۱ گرم برش داده شده و مورد ارزیابی قرار گرفتند. خاصیت ضد باکتریایی اسفنج‌ها در برابر باکتری اش‌ریشیا کلی و استافیلوکوکوس ارئوس با روش «شمارش کلنی‌ها» مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۰، ۲۱).



شکل ۱- نحوه انجام آزمون ضدباکتریایی، (a) کاهش تعداد باکتری‌های آب آلوده در حضور عامل ضدباکتریایی با گذر زمان و (b) تعداد باکتری‌های رشد کرده در محیط کشت پس از برخورد با عامل ضدباکتریایی در مدت زمان‌های مختلف

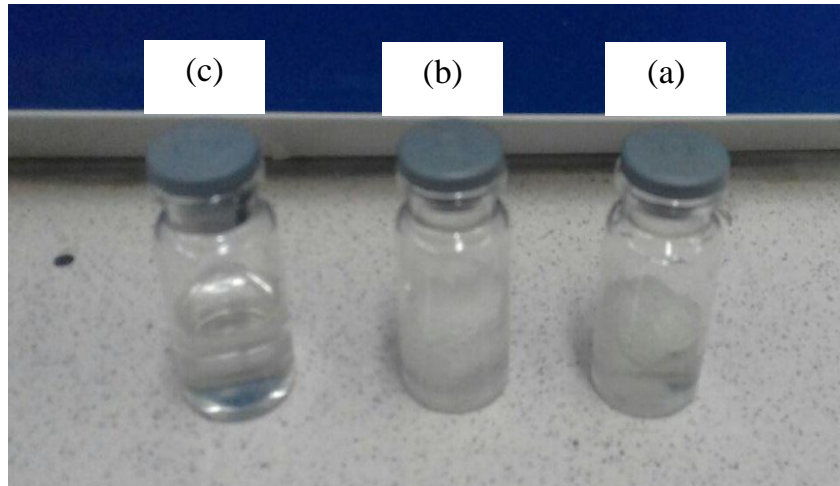
Picture 1- Antibacterial test method, (a) reducing the number of contaminated water bacteria in the presence of an antibacterial agent over time and (b) the number of bacteria grown in the growing medium after exposure to the antibacterial agent at over times

همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است با گذشت زمان تعداد باکتری‌های موجود در ۱ لیتر سوسپانسیون (a) در اثر برخورد با عوامل ضد میکروبی کاهش یافته است. شکل (b) نیز نشان می‌دهد به ازای هر ۲۰ میکرو لیتر سوسپانسیون کشت داده شده در محیط کشت تعداد کلنی‌های رشد کرده با گذشت زمان کاهش یافته است. به عنوان مثال می‌توان به این نتیجه رسید که در محدوده زمانی t_0 تا t_2 ، ۶۰٪ باکتری‌ها کشته شده‌اند.

برای انجام آزمون‌های ضدباکتریایی ابتدا سوسپانسیون نیم مک فارلند از میکروارگانیسم مورد نظر در سرم بیولوژیکی با pH= ۷، در دمای اتاق تهیه گردید (کدورت سوسپانسیون با استفاده از اسپکتروفوتومتر تنظیم گردید). سپس با استفاده از میکرو پیپت ۱CC از این سوسپانسیون در داخل سه لوله آزمایش

استریل شده به وسیله اتوکلاو تزریق شد (در هر لوله آزمایش ۱CC). در ادامه به هر کدام از لوله‌های آزمایش ۱CC سرم بیولوژیکی اضافه گردید تا غلظت سوسپانسیون نصف شود. یکی از سوسپانسیون‌ها به عنوان شاهد اول (باکتری‌ها بدون تماس با اسفنج) جهت کنترل شرایط محیطی روی رشد میکروارگانیسم-ها، دیگری به عنوان شاهد دوم در تماس با اسفنج (۰/۱ گرم) فاقد نانو ذره جهت کنترل اثر ساختار خود اسفنج روی رشد میکروارگانیسم‌ها و سوسپانسیون سوم که در تماس با اسفنج (۰/۱ گرم) حاوی نانوذرات اکسید نقره قرار گرفت تا خاصیت ضد میکروبی نانوکامپوزیت بررسی شود. شکل ۲ فرایند انجام آزمون ضد میکروبی اسفنج پلی‌اورتانی را روی باکتری استافیلوکوکوس نشان می‌دهد.

استریل شده به وسیله اتوکلاو تزریق شد (در هر لوله آزمایش ۱CC). در ادامه به هر کدام از لوله‌های آزمایش ۱CC سرم بیولوژیکی اضافه گردید تا غلظت سوسپانسیون نصف شود. یکی از سوسپانسیون‌ها به عنوان شاهد اول (باکتری‌ها بدون تماس با اسفنج) جهت کنترل شرایط محیطی روی رشد میکروارگانیسم-ها، دیگری به عنوان شاهد دوم در تماس با اسفنج (۰/۱ گرم) فاقد نانو ذره جهت کنترل اثر ساختار خود اسفنج روی رشد میکروارگانیسم‌ها و سوسپانسیون سوم که در تماس با اسفنج (۰/۱ گرم) حاوی نانوذرات اکسید نقره قرار گرفت تا خاصیت ضد میکروبی نانوکامپوزیت بررسی شود. شکل ۲ فرایند انجام آزمون ضد میکروبی اسفنج پلی‌اورتانی را روی باکتری استافیلوکوکوس نشان می‌دهد.

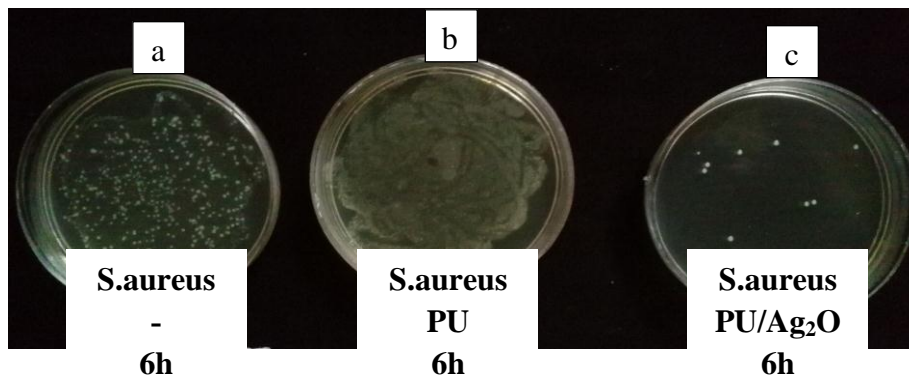


شکل ۲- (a) اسفنج حاوی نانوذرات اکسید نقره (PU/Ag_2O) قرار گرفته داخل سوسپانسیون میکروبی، (b) اسفنج بدون نانوذرات در تماس با سوسپانسیون میکروبی به عنوان شاهد دوم (PU) و (c) سوسپانسیون بدون میکروب به عنوان شاهد اول

Picture 2- (a) the sponge containing silver oxide nanoparticles (PU / Ag_2O) placed inside microbial suspension ,(b) the pure sponge in contact with the microbial suspension as the second control (PU) and (c) the suspension without microorganisms as the first control

در ادامه در فاصله‌های زمانی مشخص از هر کدام از لوله‌های آزمایش $20 \mu l$ سوسپانسیون میکروبی به وسیله میکروپیپت روی محیط کشت منتقل گردیده و به صورت یکنواخت پخش شد. در نهایت پس از اتمام آزمون، پلیت‌ها (ظروف حاوی محیط کشت و میکروارگانیسم‌ها) به انکوباتور منتقل گردیده و در محدوده زمانی ۱۲ ساعت روند کاهشی میکروب‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. شکل ۳ تأثیر اسفنج پلی‌اورتانی حاوی نانوذرات اکسید نقره و فوم خالص را بر رشد باکتری استافیلوکوکوس در محدوده زمانی صفر تا ۶ ساعت نشان می‌دهد.

در ادامه در فاصله‌های زمانی مشخص از هر کدام از لوله‌های آزمایش $20 \mu l$ سوسپانسیون میکروبی به وسیله میکروپیپت روی محیط کشت منتقل گردیده و به صورت یکنواخت پخش شد. در نهایت پس از اتمام آزمون، پلیت‌ها (ظروف حاوی محیط کشت و میکروارگانیسم‌ها) به انکوباتور منتقل گردیده و در محدوده زمانی ۱۲ ساعت روند کاهشی میکروب‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. شکل ۳ تأثیر اسفنج پلی‌اورتانی حاوی نانوذرات اکسید نقره و فوم خالص را بر رشد باکتری استافیلوکوکوس در محدوده زمانی صفر تا ۶ ساعت نشان می‌دهد.



شکل ۳- تأثیر نانوکامپوزیت ضدباکتریایی و معمولی بر رشد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس

Picture 3- The effect of pure sponge and sponge/ Ag_2O nanocomposite on the staphylococcus aureus growth

همان طور که در شکل ۳ نشان داده شده است تعداد کلنی‌های تشکیل شده به وسیله باکتری استافیلوکوکوس (c) از زمان صفر تا ۶ ساعت روند کاهشی به خود گرفته است. در حالی که شکل (a) و (b) نشان می‌دهند تعداد کلنی‌های رشد کرده در

صفر تا ۶ ساعت روند کاهشی به خود گرفته است. در حالی که شکل (a) و (b) نشان می‌دهند تعداد کلنی‌های رشد کرده در

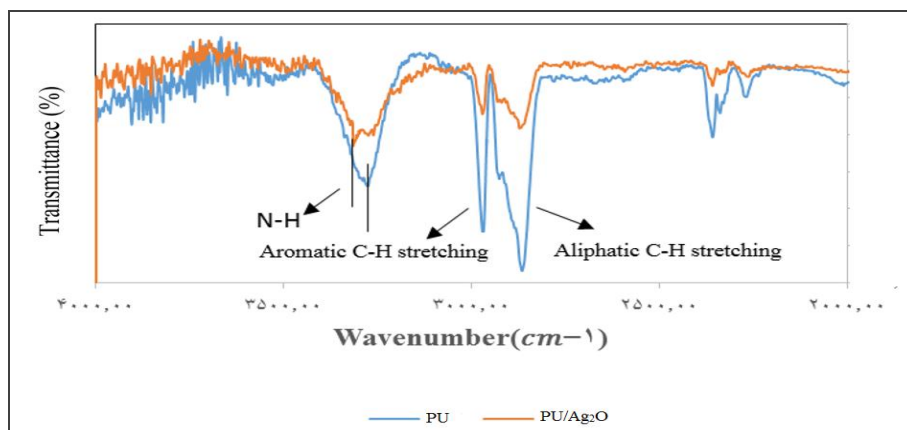
نانوذرات اکسید نقره از روش طیفسنجی مادون قرمز تبدیل فوریه استفاده شد. شکل ۴ نتایج حاصل از این بررسی را نشان می‌دهد. همان طور که در شکل مشخص است پیک مربوط به پیوند -NH- در ساختار پلی‌اورتانی ضدباکتریایی به فرکانس‌های بالاتر (از فرکانس ۳۲۷۶ به ۳۳۱۶) جابجا شده است.

محیط‌های کشت شاهد در همین محدوده‌ی زمانی بدون تغییر بوده است.

نتایج

آنالیزهای انجام شده

به‌منظور بررسی برهم‌کنش بین زنجیره فوم پلی‌اورتانی و

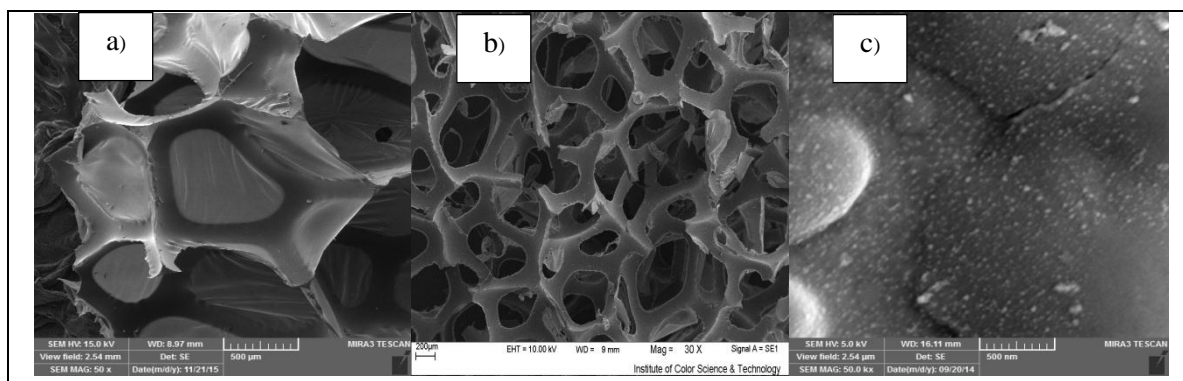


شکل ۴- طیف FT-IR اسفنج نانو کامپوزیتی و معمولی و جابجایی‌های صورت گرفته در فرکانس جذب

Picture 4- The FT-IR spectra of nanocomposite sponge and pure sponge and the spectral changes in absorption frequencies

شکل مشخص است نانوذرات اکسید نقره به خوبی در سطح اسفنج پخش شده‌اند. همچنین شکل ۵ (b) و (c) نشان دهنده ساختار سلولی باز و بسته اسفنج پلی‌اورتانی می‌باشد.

همچنین جهت بررسی پخش نانوذرات اکسید نقره در سطح اسفنج و بررسی ساختار سلولی اسفنج از تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. شکل ۵ (a) نشان دهنده حضور نانو ذرات در سطح نانوکامپوزیت می‌باشد. همان طور که در



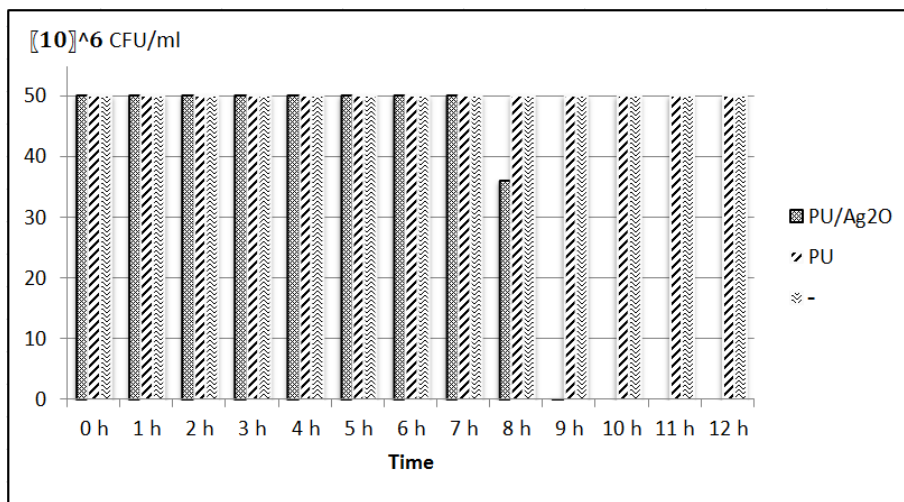
شکل ۵- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) اسفنج‌های پلی‌اورتانی (a) نانوذرات اکسید نقره موجود در سطح

اسفنج، (b) ساختار سلولی اسفنج پلی‌اورتانی سلول باز و (c) ساختار سلولی اسفنج پلی‌اورتانی سلول بسته

Picture 5- SEM images of PU sponges (a) silver oxide nanoparticles on the sponge surface, (b) cellular structure of open cell PU sponge and (c) cellular structure of closed cell PU sponge

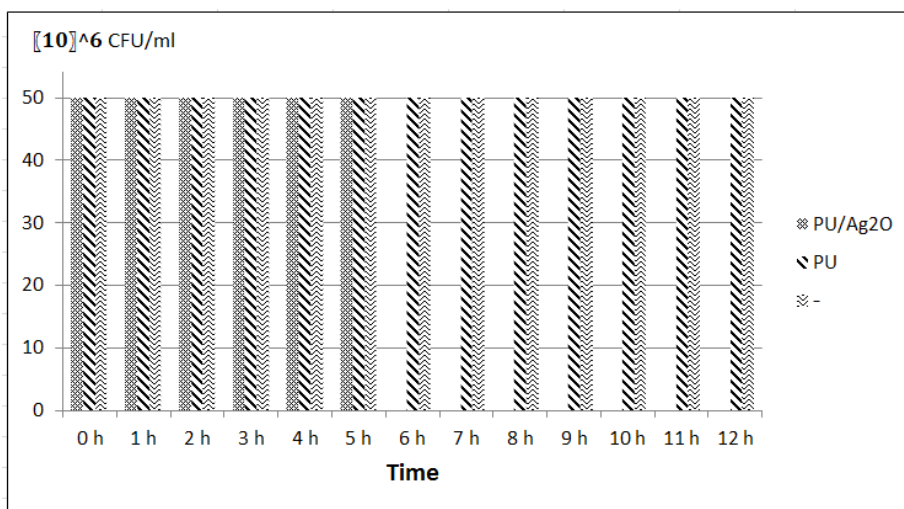
حداقل برسند. نمودارهای ۱ و ۲ به ترتیب میزان تاثیر نانوکامپوزیت بر رشد دو باکتری اشیریشیاکلی و استافیلوکوکوس ارئوس را نشان می‌دهند. همان‌گونه که مشخص است در اثر برخورد نانوکامپوزیت با سوسپانسیون باکتری‌های اشیریشیاکلی و استافیلوکوکوس، تعداد باکتری‌ها با گذشت زمان کاهش یافته است. این درحالی است که تعداد باکتری‌های دو نمونه شاهد (سوسپانسیون باکتری خالص و سوسپانسیون باکتری در تماس با اسفنج فاقد نانوذرات) برای هر دو نوع باکتری بدون تغییر می‌باشد.

همچنین نتایج به دست آمده از آزمون‌های ضدباکتریایی نشان دهنده کارایی مناسب نانوکامپوزیت‌های پلی‌اورتانی در برابر میکروارگانیسم‌های مورد ارزیابی قرار گرفته می‌باشند. روند تغییرات تعداد باکتری‌ها با گذشت زمان در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است. با تبدیل تعداد کلنی‌ها به تعداد باکتری‌ها در ۲۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی منتقل شده به محیط کشت، می‌توان تعداد باکتری‌های موجود در یک میلی لیتر سوسپانسیون در زمان مفروض را محاسبه کرد. آزمایش مذکور در سه نوبت تکرار شد تا خطاهای احتمالی به



نمودار ۱- تاثیر نانوکامپوزیت PU/Ag₂O بر رشد باکتری اشیریشیاکلی با گذشت زمان

Figure 1- The effect of PU/Ag₂O nanocomposite on the E. coli bacteria growth over time



نمودار ۲- تاثیر نانوکامپوزیت PU/Ag₂O بر رشد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس با گذشت زمان

Figure 2- The effect of PU/Ag₂O nanocomposite on the S. aureus growth over time

بحث و نتیجه گیری

طی دهه‌های اخیر مطالعات گسترده‌ای به منظور بررسی خواص ضد میکروبی نانوذرات مختلف، به ویژه ترکیبات نقره، صورت گرفته است. استفاده از نانوذرات مختلف به صورت پودری به دلیل مشکل جداسازی آن‌ها پس از تأثیر بر باکتری‌ها با محدودیت‌هایی روبرو است (۴). اسفنج‌های سلول‌باز به جهت نسبت سطح به حجم بالاتر در مقایسه با اسفنج‌های سلول‌بسته دارای کارایی بهتری می‌باشند. در پروژه حاضر کارایی نانوکامپوزیت پلی‌اورتانی سلول‌باز/ اکسید نقره، به عنوان عامل ضدباکتریایی مورد بررسی قرار گرفت. نانوکامپوزیت تهیه شده به جهت دسترسی آسان و قیمت پایین مواد اولیه، در بسیاری از محیط‌ها جهت کنترل آلودگی‌ها قابل استفاده می‌باشد. تأثیر اسفنج ضدباکتریایی حاوی نانوذرات اکسید نقره بر کاهش رشد باکتری استافیلوکوکوس در شکل ۳ نشان داده شد. همان طور که در نمودارهای ۱ و ۲ مشخص است باکتری‌های اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس به ترتیب پس از گذشت ۹ و ۶ ساعت به طور کامل از بین رفته‌اند. همچنین نتایج نمودار ۱ نشان می‌دهد تعداد باکتری‌ها پس از ۸ ساعت حدود ۷۰ درصد کاهش داشته است در حالی که تا زمان ۷ ساعت اسفنج ضد میکروبی تأثیر بر رشد باکتری‌ها نداشته است. برای باکتری استافیلوکوکوس ارئوس نیز در محدوده زمانی صفر تا ۵ ساعت اسفنج ضد میکروبی تأثیری بر رشد این باکتری نداشته است. این در حالی است که اسفنج پلی‌اورتانی سلول‌باز بدون نانوذرات اکسید نقره (شاهد) در هیچ بازه زمانی مشخصی، تأثیر بازدارنده‌ای روی رشد باکتری‌ها نداشته است (نمودارهای ۱ و ۲). نتایج بدست آمده در این پژوهش در مقایسه با پژوهش صورت گرفته توسط سید دراجی و همکارانش با نانوکامپوزیت فوم پلی‌اورتانی حاوی نانوذرات اکسید نقره روی زمان بازدارندگی تری را نشان می‌دهند (۱۷).

در پروژه حاضر جهت اطمینان از پخش مناسب نانوذرات روی سطح اسفنج و همچنین بررسی برهم کنش بین گروه‌های عاملی مختلف موجود در ساختار پلی‌اورتانی با نانوذرات اکسید نقره به ترتیب از تکنیک SEM و FT-IR استفاده گردید.

تصویر SEM از اسفنج ضدباکتریایی در شکل ۵ (a) نشان داده شده است. همان طور که در شکل مشخص است، حضور نانوذرات اکسید نقره روی سطح اسفنج ضدباکتریایی به خوبی مشاهده می‌شود. حضور نانوذرات در سطح اسفنج، سبب برهم کنش بین باکتری‌های موجود در محیط و نانوذرات شده و در نهایت موجب از بین رفتن باکتری‌ها می‌شود. همچنین شکل ۵ (b) تایید کننده‌ی اثر کربوهیدرات بر ساختار سلولی اسفنج پلی‌اورتانی می‌باشد، به طوری که ساختار سلولی اسفنج را از حالت بسته (شکل ۵ (c)) به حالت سلول‌باز (شکل ۵ (b)) تبدیل می‌نماید.

مطالعات طیف سنجی مادون قرمز نشان دهنده برهم کنش گروه‌های NH_2 پلی‌اورتانی با نانوذرات اکسید نقره می‌باشد. همان طور که در طیف مادون قرمز نشان داده شده است جابجایی فرکانس پیوند NH_2 برهمکنش بین نانوذرات اکسید نقره و گروه‌های NH_2 پلی‌اورتانی را نشان می‌دهد (۴).

همچنین تشابه سایر پیک‌های طیف مادون قرمز برای اسفنج معمولی و اسفنج حاوی نانوذرات نشان دهنده عدم برهم کنش نانوذرات اکسید نقره با سایر بخش‌های مولکولی اسفنج می‌باشد.

نتایج نهایی نشان دهنده آن است که اسفنج‌های پلی‌اورتانی سلول‌باز می‌توانند بستر مناسبی جهت قرار گیری نانوذرات اکسید نقره باشند و همچنین می‌توانند از پتانسیل کافی جهت حذف آلاینده‌های میکروبی برخوردار باشند. لذا مطالعات بیش-تر جهت بهبود روش به کار گرفته در این کار پژوهشی می‌تواند در پژوهش‌های بعدی مورد توجه قرار گیرد. همچنین نتایج حاصل از آزمون‌های ضدباکتریایی نشان دادند، باکتری‌های اشریشیا کلی در مقایسه با باکتری‌های استافیلوکوکوس در برابر نانوکامپوزیت سنتز شده در این کار پژوهشی مقاوم می‌باشند به طوری که رشد باکتری‌های اشریشیا کلی در آب آلوده پس از ۸ ساعت و رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس پس از ۶ ساعت متوقف شده است. دستور کار سنتز نانو ذرات اغلب به صورت ارزان قیمت در دسترس می‌باشد، بنابراین جایگزینی نانوذرات

- means of ultrasound and ozone. *Water Research*, Vol.10, pp.677-684.
7. Nagayoshi, M., Kitamura, C., Fukuizumi, T., Nishihara, T., Terashita, M., 2004. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *Journal of Endodontics*, Vol.30, pp.778-781.
 8. Rai, M., Yadav, A., Gade, A., 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology advances*, Vol.27, pp.76-83.
 9. Safaiyan, SH., Moghaddam, Z., Hosseini, H., Esmaeili, A., 2014. Resistance to Antibiotic in Gram negative bacteria isolated from *Cyprinus Carpio* in Anzali wetland. *J.Env. Sci. Tech*, Vol.15, No.4, pp.65-74. (In Persian)
 10. Ruparelia, JP., Chatterjee, AK., Duttagupta, SP., Mukherji, S., 2008. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta biomaterialia*. Vol.4, pp.707-716.
 11. Sharma, VK., Yngard, RA., Lin, Y., 2009. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in colloid and interface science*, Vol.145, pp.83-96.
 12. Hajipour, MJ., Fromm, KM., Ashkarran, AA., De Aberasturi, DJ., De Larramendi, IR., Rojo, T., et al., 2012. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in biotechnology*. Vol.30, pp.499-511.
 13. Okuyama, T., Kamimura, Y., Yasunaga, K., 1990. Process for producing antibacterial flexible polyurethane foam. Google Patents.
 14. Jain, P., Pradeep, T., 2005. Potential of Silver Nanoparticle-Coated متنوع در ساختار اسفنج پلی اورتانی ضدباکتریایی جهت کارایی بهتر می‌تواند مورد تحقیق و بررسی بیش‌تری قرار گیرد. همچنین توسعه این نانوکامپوزیت‌ها استفاده از داروهای شیمیایی جهت کنترل عفونت را می‌تواند به حداقل خواهد رساند.
- منابع**
1. Blomquist, W., Cunniff, S., Fox, P., Furukawa, D., Garcia, M., Gritzuk, M., Wolff, G., 2012. Desalination and water Purification technology roadmap: A report of the executive committee. In *Desalination: Solutions and Roadmap for an Improved Water Supply*. Nova Science Publishers, Inc. pp. 87-179.
 2. Am Water Works Res F, Langlais B, Reckhow DA, Brink DR. 1991. Ozone in water treatment: application and engineering. CRC press.
 3. Atefeh, M., Taghavi, L., Khani, MR., Bayati, A., Sayadi, M., 2016. Investigation of the quality of drinking water wells in Lavasan-e Kouchak district. *J.Env. Sci. Tech*, Vol.18, No.3, pp.53-66. (In Persian)
 4. Jain, P., Pradeep, T., 2005. Potential of silver nanoparticle-coated polyurethane foam as an antibacterial water filter. *Biotechnology and bioengineering*, Vol.90, pp.59-63.
 5. Malato, S., Fernández-Ibáñez, P., Maldonado, MI., Blanco, J., Gernjak, W., 2009. Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: recent overview and trends. *Catalysis Today*, Vol.147, pp.1-59.
 6. Dahl, E., 1976. Physicochemical aspects of disinfection of water by

- cationic dye adsorbent. *Reactive and Functional Polymers*, Vol.83, pp.14-23.
19. Rastgouy-Houjaghan, M., Rasoulifard, MH., Ashjari-Basmenj, HR., Dorraji, MSS., 2015. Production process of open cell polyurethane sponge. Patent number.87020. (In Persian)
20. W.Y. Han, Z.Y. He, Y.B. Liu, 1992. *Diagnosis Technology for Pathogenic Bacteria*, Jilin Science and Technology Press. (in Chinese).
21. Dorraji, MSS., Ashjari, HR., Rasoulifard, MH., Rastgouy-Houjaghan, M., 2017. Polyurethane foam-cadmium sulfide nanocomposite with open cell structure: Dye removal and antibacterial applications. *Korean Journal of Chemical Engineering*, Vol.34, pp.547-554.
22. Pralhad, T., Rajendrakumar, K., 2004. Study of freeze-dried quercetin-cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, Vol.34, pp.333-339.
23. Zeng, H., Lacefield, WR., 2000. XPS, EDX and FTIR analysis of pulsed laser deposited calcium phosphate bioceramic coatings: the effects of various process parameters. *Biomaterials*, Vol.21, pp.23-30.
- Polyurethane Foam as an Antibacterial Water Filter. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol.90, pp.59-63.
15. Shahim, A., Kalbassi, M., Soltani, M., Johari, S., 2015. Application of Polyurethane Foam Containing Silver Zeolite (Zeomic) in Water Filtration System to Control the Infection Caused by *Streptococcus Iniae* in Rainbow. *Journal of Veterinary Research*, Vol.70, pp.63-71.
16. Dorraji, MSS., Ashjari, HR., Rasoulifard, MH., Rastgouy-Houjaghan, M., 2017. Polyurethane foam-cadmium sulfide nanocomposite with open cell structure: Dye removal and antibacterial applications. *Korean Journal of Chemical Engineering*, Vol.34, pp.547-554.
17. Dorraji, MSS., Rasoulifard, MH., Shajeri, M., Ashjari, HR., Azizi, M., Rastgouy-Houjaghan, M., 2017. The role of prepared ZnO nanoparticles on improvement of mechanical and antibacterial properties of flexible polyurethane foams: experimental modeling. *Polymer Bulletin*, Vol.75, pp.1519-1533.
18. Mohammadi, A., Lakouraj, MM., Barikani, M., 2014. Preparation and characterization of p-tert-butyl thiocalix [4] arene imbedded flexible polyurethane foam: an efficient novel