Archive of SID

پانزدهمین سمینار ملی مهندسی سطح
پژوهشگاه مواد و انرژی
۲۹ و ۳۰ مهرماه ۱۳۹۳

انجمن علوم و تکنولوژی سطح ایران

مطالعه خواص ضد باکتری لایه نازک نانوکامپوزیتی تانتالم نیترات حاوی نانو ذرات طلا و نقره

طاهره قنبری راد[۱]، پروانه سنگ پور[۲]، سید مجید برقعی [۱]، مهدی صدری [۱]

[۱]. دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، دانشکده علوم، گروه فیزیک
[۲]. پژوهشگاه مواد و انرژی، پژوهشکده فناوری نانو و مواد پیشرفته، کرج

چکیده

پوشش نانو کامپوزیتی تانتالم نیترات- طلا / نقره بوسیله دستگاه لایه نشانی استوانه ای کندوپاش D.C بر روی زیر لایه هایی از جنس استیل ضد زنگ ۳۱۶ انباشت شده است. زیر لایه ها در دمای ۴۰۰ درجه سیلسیوس و زمان های مختلف ۳، ۵ و ۷ دقیقه تحت عملیات حرارتی قرار داده شده اند. ساختار کریستالی، توپوگرافی ، مورفولوژی و عناصر موجود در لایه ها به ترتیب، توسط پراش اشعه ایکس، میکروسکوپ نیروی اتمی و تفرق انرژی اشعه ایکس مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته اند. به علاوه ویژگی خود تمیز شوندگی این لایه ها با استفاده از آزمایشات زاویه تماسی مطالعه شده است. به منظور بررسی خواص ضد باکتری لایه ها با باآزمکتری Staphylococcus aurous در زمان های تماس با باکتری ۱، ۳ و ۶ ساعت انجام گرفته است. نتایج بدست آمده نشان می دهد که اندازه میانگین نانوذرات لایه ها کمتر از ۴۰ نانومتر است. همچنین لایه های انباشت شده دارای خواص آب گریزی و خود تمیزمناسبی هستند بط.ریکه زاویه تماس قطره آب با سطح لایه بیشتر از° ۹۰ است، که منجر به ممانعت بهتری در برابر چشبندگی باکتری ها به سطح این لایه ها می شود.

واژه‌های کلیدی: ضد باکتری؛ نانو ذرات طلا؛ آب گریزی؛ تانتالم نیترات ؛ نانو کامپوزیتی.

[۱]. Saba ghanbaryrad @ gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

آنچه موجب اهمیت تولید لایه های ضد باکتری برای پوشش دهی ابزار پزشکی می شود، کاهش احتمال سرایت عفونت پس از کاشت ایمپلنت و انجام عمل جراحی می باشد. این عفونتها به دلیل استفاده از ابزارآلات جراحی، برشگرها و پیچ های نگهدارنده شکستگی استخوان تاثیر شدیدی در به مخاطره انداختن سلامت انسان ها دارد [۱]. چسبندگی باکتری ها به ابزار پزشکی اولین گام در سرایت عفونت های باکتریایی است. هنگامیکه باکتری ها به ابزار پزشکی بچسبند، فرآیند چندگانه ای آغاز و منجر به تشکیل اجتماع پیچیده ای از باکتری های چسبنده به سطح می شود که در اصطلاح به آن بیو فیلم می گویند. با شکل گیری بیو فیلم، درمان کلینیکی آن به این دلیل که باکتری ها درون بیوفیلم در برابر آنتی بیوتیک ها محافظت می شوند، بسیار مشکل است و اغلب لازم می شود که ابزار پزشکی عفونی شده را ضد عفونی و یا جایگزین کرد تا از گسترش عوارض طاقت فرسا و حتی مرگ آور آن جلوگیری به عمل آورد. ضد عفونی کردن ابزار آلوده و درمانهای اضافی به تدریج رنج بیمار، هزینه های درمان و مرگ و میر را افزایش می دهد، [۱] .در تولید پوششهای ضد باکتریایی برای سطوح، علاوه بر انتخاب نانو ذرات مناسب، خود پوشش ها نیز باید دارای قابلیت سازش پذیری زیستی، استحکام کافی، ضد سایش و پوسیدگی باشند [۲]. برای تولید پوشش های ضد باکتری ابتدا زیر لایه ای با خواص مناسب را انتخاب کرده، سپس با کاشت نانو ذراتی که دارای خاصیت ضد باکتری هستند، به لایه خاصیت ضد باکتری می دهند. در همین راستا، تحقیقات نشان داده است که لایه های نانو کامپوزیتی تانتالم نیترات حاوی نانو ذرات نقره دارای خواص لازم و کافی برای پوشش دهی ابزار پزشکی هستند، [۴-۲]. از خواص بسیار مهم لایه تانتالم نیترات آب گریز بودن سطح این لایه است زیرا آب گریز بودن لایه مانع چسبیدن باکتری ها به سطح می شود، [۳،۵]. اما با کاشت نانو ذرات نقره بر سطح آن، خاصیت آب گریزی لایه از بین می رود، [۱]. بنابر این باید بدنبال راهی برای حل این مشکل بود تا بتوان در کنار آب گریزی عالی لایه تانتالم نیترات، از خاصیت ضد باکتری کم نظیر نانو ذرات نقره نیز بهره گرفت. نانو ذرات نقره بیشترین نوید را در ارائه رفتار ضد باکتریای دارند. زیرا هنگامیکه اتم های نقره تبدیل به یون شده و وارد محیط می شوند چندین گونه از باکتری ها را متوقف می کند که احتمالا به دلیل ایجاد پیوند با ساختار DNA باکتریهاست، [۶]. همچنین گزارش شده است که نانو ذرات نقره و طلا به دلیل پیوند قوی شان با الکترون های اهدایی در سلولهای باکتریایی، فعالیت ضد باکتری قوی را در برابر باکتری ها ارائه می دهند [۷]. البته نانو ذرات طلا نسبت به نانو ذرات نقره، از جهتی دارای مزیت هستند چرا که نانوذرات طلا دارای خاصیت سمی بودن کمتری نسبت به نانو ذرات نقره اند که این امر به دلیل ویژگیهای عنصری این ماده است [۸].

در این تحقیق ما علاوه بر تولید لایه نانو کامپوزیتی تانتالم نیترات حاوی هر دو نانو ذره طلا و نقره، موفق به اصلاح سطح لایه، اندازه میانگین نانو ذرات و آب گریزی سطح این لایه ها شده ایم، بطوریکه آب گریزی سطح را با حضور نانو ذرات حفظ کرده و خاصیت عدم چسبندگی باکتریایی به سطح را افزایش داده ایم.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش تحقیق

برای انباشت لایه تانتالم نیترات، زیر لایه استیل ضد زنگ ۳۱۶ با ابعاد ۱ × ۱ سانتیمتر مربع را طبق روشهای استاندارد شستشو داده و تحت شرایط زیر در دستگاه لایه نشانی کندو پاش DC[۱] قرار داده ایم.

تارگت استوانه ای تانتالم با درصد خلوص ۹۹/۹۹٪ برای تولید لایه تانتالم نیترات، یک سیم نقره خالص، به طول ۱۲ سانتیمتر و قطر ۱ میلیمتر برای ایجاد نانو ذرات نقره و دو قطعه شمش طلا با درصد خلوص ۹۹/۹۹٪ و ابعاد ۰/۷۵ × ۰/۸ × ۰/۵ سانتی متر مکعب، مطابق با آنچه در شکل ۱ به تصویر کشیده شده است، در دستگاه قرار گرفته اند. گاز ورودی به محفظه دستگاه لایه نشانی ترکیبی از گاز های آرگون و نیتروژن بوده که بطور همزمان و با در صد ترکیب مساوی به محفظه تزریق شده است. ابتدا سیستم تا فشار(torr) ۸×۱۰^{-۵} خلا شده، سپس با تزریق مخلوط گازی آرگون- نیتروژن، فشار در محفظه لایه نشانی به (torr) $۲/۳ \times ۱۰^{-۲}$ رسیده است. فرآیند لایه نشانی در مدت زمان ۲۵ دقیقه انجام گرفته است. سپس نمونه لایه های انباشت شده را تحت فرآیند پخت، توسط کوره الکتریکی، در زمانهای ۳ ، ۵ و۷ دقیقه در دمای ۴۰۰ درجه سیلسیوس قرار دادهایم. به منظور مطالعه و بررسی ترکیبات ساختاری لایه های انباشت شده از آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD) و برای درصد ترکیب شیمیایی عناصر تشکیل دهنده نمونه ها از تکنیک جانبی میکروسکوپ الکترونی (EDX) با بزرگنمایی x ۵۰۰ بهره گرفتیم. از آنالیز میکروسکوپ نیرو اتمی(AFM) و اندازه گیری زاویه تماس(Contact Angle)، به منظور بررسی سطح نمونه ها و خواص آب گریزی لایه ها استفاده شده است.

در آخر میزان فعالیت ضد باکتری لایه ها در زمان های تماس با باکتری ۱، ۳ و۶ ساعت در محیط کشتی با دمای ۳۷ درجه سیلسیوس و (CFU) $۶/۴۶ \times ۱۰^{-۸}$ باکتری گرام مثبت Staphylococcus aurous ، تحت تابش نور مرئی مورد سنجش قرار گرفته است.

نتایج و بحث

با استفاده از تکنیک جانبی میکروسکوپ الکترونی، تست تفرق انرژی اشعه ایکس (EDX)، درصد و نوع عناصر شیمیایی موجود در لایه های انباشت شده تعیین و نمودار آن در شکل ۲ ارائه شده است. به دلیل نازک بودن ضخامت لایه های انباشت شده، علاوه بر پیک های مربوط به تانتالم، نقره، طلا و نیتروژن، پیک های عناصر دیگر نظیر آهن، نیکل، کبالت، مولیبدن و غیره نیز دیده می شود. این عناصر مربوط به زیر لایه استیل ضد زنگ ۳۱۶ هستند.

سپس این لایه ها در دمای ۴۰۰ درجه سیلسیوس برای مدت زمانهای مختلف ۳، ۵ و ۷ دقیقه تحت فرآیند پخت قرار داده شده اند تا ساختار کریستالی آنها شکل بگیرد. در مرحله بعدی، آزمایش پراش اشعه ایکس و ظهور پیک های تانتالم نیترات در نمودار حاصل از این آزمایش، ساختار کریستالی هگزاگونال را در $^{\circ}$ ۳۴/۵۴ تایید می کند. با این حال، هیچ پیکی از نقره و طلا مشاهده نشده است. علت آشکار نشدن پیک های مربوطه وحضور

[۱]. DC Co-Sputtering

www.SID.ir

Archive of SID

ذرات نقره و طلا، غلظت کم نانو ذرات موجود در لایه ها ست، چرا کـه درصـد غلظـت نسـبی (نـانو ذرات بـه تانتالم نیترات) آنها حد اکتر حدود ۳/۵ ٪-۳ ٪ بوده است. لازم به ذکر است که حضـور عناصـر نقـره و طـلا در لایه های انباشت شده توسط آزمایش EDX و آزمایش ضد باکتری به اثبات رسیده است.

شکل ۳ تصویر AFM از سطح لایه تانتالم نیترات- نقره / طلا و جدول ۱ نتایج حاصل از بررسـی میـزان خشـنی میانگین سطح لایه ها و اندازه میانگین نانو ذرات بدسـت آمـده از آزمـایش AFM را ارائـه مـی دهـد. مقایسـه تغییرات خشنی میانگین سطح با زمان پخت لایه های انباشت شده مشخص مـی کنـد بـا افـزایش زمـان در دمـای ثابت ۴۰۰ درجه سیلسیوس، میزان خشنی میانگین سطح لایه ها نیز افزایش می یابد. این امر به دلیل افزایش تعـداد نانو ذرات نقره و طلا ی روی سطح است که با افزایش مدت زمـان پخـت تعـداد شـان روی سـطح لایـه افـزایش یافته و موجب افزایش ناهمواری و خشنی میانگین سـطح مـی شـوند. همچنـین انـدازه میـانگین نـانو ذرات نیـز بـا افزایش زمان پخت، افزایش داشته است. لازم به ذکر است که میزان افزایش اندازه نانو ذرات برای لایه هایی کـه در زمان ۷ دقیقه پخت شده اند تغییرات قابل ملاحظه ای را نسبت به نمونه های پخت شده در مدت زمان ۵ دقیقه نشان نمی دهد. علت این امر را می توان در غلظت نسبی کم نقره و طلا جویا شد. زیرا برخی از نـانو ذراتـی کـه در طی فرآ یند پخت به سمت سطح می آیند روی سطح با نانوذراتی که قبلا در آن نقطه قرار گرفتـه انـد، ادغـام شده، نانو ذراتی با اندازه های بزرگتر شکل می گیرند. اما افزایش اندازه این نانو ذرات وابسـتگی بـه غلظـت نـانو ذرات دارد. چرا که با گذر زمان از تعداد نانو ذراتی که درون لایه قرار دارند کم مـی شـود و بـه همـان میـزان از تعداد نانو ذراتی که به سطح می رسند کاسته می شود. درنتیجه تعداد نانو ذراتی که بطور تصادفی روی سـطح بـا هم ادغام می شدند نیز کاسته می شود و بدین شکل از شیب صعودی اندازه میانگین نـانو ذرات بـه مـرور کاسـته می شود.

جدول ۲ داده های حاصل از آزمایش زاویه تماسی قطره آب را با سطح لایه تانتالم نیترات- نقره/ طلا نشان مـی دهد. همانطور که مشاهده می شود با افزایش زمان فرآیند پخت، میزان زاویه تماسی قطره آب با سطح ثابت باقی می ماند و با حضور نانو ذرات طلا و نقره روی سطح لایه های انباشت شـده از آب گریـزی لایـه تانتـالم نیتـرات کاسته نمی شود که این امر خود از اهمیت بسزایی برخوردار است، حفظ آب گریزی لایه هـای نـانو کـامپوزیتی تانتالم نیترات - نقره / طلا موجب می شود تا علاوه بر بهره مندی از خاصیت ضد باکتری نانو ذرات نقره و طلا، از خاصیت ممانعت از چسبندگی باکتری به سطح لایه فاقد نانو ذره تانتـالم نیتـرات بهـره منـد شـویم و کـارایی و کیفیت لایه ها را تا حد مطلوبی افزایش دهیم.

در گام بعدی آزمایش ضد باکتری نمونه لایه های تانتالم نیترات - نقره / طلا در زمان های تماس با باکتری ۱، ۳ و۶ سـاعت در محـیط کشـتی بـا دمـای ۳۷ درجـه سیلسـیوس و (CFU) $۶/۴۶ \times ۱۰^{-۸}$ بـاکتری گـرام مثبـت Staphylococcus aurous ، تحت تابش نور مرئی انجام شده اسـت. نمـودار شـکل ۴ نتـایج آزمـایش ضـد باکتری را بر حسب مدت زمان تماس لایه ها با محلول باکتریایی نشان مـی دهنـد. از مقایسـه نتـایج فعالیـت ضـد باکتری نمونه لایه های نانو کامپوزیتی تانتالم نیترات - نقره / طلا ی تولیدی با نتایج فعالیـت ضـد بـاکتری دیگـر

www.SID.ir

Archive of SID

مقالات [۱۰، ۹، ۶]، در نگاه اول نتایج ما ضعیف به نظر می رسد. اما باید توجه کرد که تعداد باکتری های بکار رفته در آزمایش های مشابه برابر $۱۰^{۸}$ باکتری و تعداد باکتری های مورد استفاده در آزمایش ما بیش از ۶ برابر تعداد باکتری مورد استفاده توسط آنها بوده است. از این رو می توان بیان کرد که در یک ساعت اول تماس لایه با سوسپانسیون باکتریایی حدود ۹۰ ٪ از باکتری ها توسط نانو ذرات از بین می روند. شایان ذکر است که سطح تماس لایه با باکتری ها تاثیر بسزایی در فعالیت ضد میکروبی لایه دارد. بنابراین از مقایسه مساحت یک سانتی متری لایه ما با لایه هایی به قطر ۵ سانتی متر بکار رفته در مقالات مذکور در می یابیم که لایه های نانو کامپوزیتی تانتالم نیترات – نقره / طلا تولیدی قادرند در همان ساعات اولیه تماس با سوسپانسیون باکتریایی ۱۰۰٪ باکتری ها را از بین ببرند. از سویی دیگر باتوجه به این امر که در طی آزمایش ضد باکتری این نمونه ها از تابش اشعه UV استفاده نشده است می توان بیان کرد که لایه های حاصل دارای خاصیت ضد باکتری بسیار مطلوبی هستند.

نتیجه‌گیری

۱) لایه نانو کامپوزیتی تانتالم نیترات – طلا / نقره بوسیله دستگاه لایه نشانی استوانه ای کندوپاش D.C بر روی زیر لایه هایی از جنس استیل ضد زنگ ۳۱۶ انباشت شده است.

۲) ساختار کریستالی هگزاگونال لایه تانتالوم نیترات با درصد اختلاط ۵۰-۵۰ گاز های آرگون و نیتروژن در فشار لایه نشانی (torr) $۲/۳ \times ۱۰^{-۲}$ حاصل شده است.

۳) اندازه میانگین نانو ذرات کمتر از ۲۰ نانومتر است.

۴) خاصیت آبگریزی این لایه ها در حالی که اندازه گیری زاویه تماسی بدون استفاده از پرتوافکنی UV انجام گرفته بیشتر از ۹۰° است که این نتیجه بیانگر خاصیت آبگریزی عالی این لایه هاست.

۵) فعالیت ضد باکتری نمونه لایه های تانتالم نیترات – نقره / طلا با در نظر گرفتن عدم استفاده از پرتوافکنی UV در طی زمان تماس با باکتری لایه ها، ابعاد نمونه ها و تعداد باکتری های بکار برده، بسیار مطلوب و کارآمد بوده است.

مراجع

۱. Zhao, Y. Liua, C. Wanga, S. Wanga, N. Peng, C. Jeynes, Reduction of bacterial adhesion on ion-implanted stainless steel surfaces, Medical Engineering & Physics , ۳۰ (۲۰۰۸) ۳٤۱–۳٤۹.

۲. J.H. Hsieh, Antibacterial behavior of TaN–Ag thin films with and without annealing, Journal of surface and coating technology, ۲۰۲ (۲۰۰۸) ٥٥۸٦–٥٥۸۹.

۳. Heng-Li Huang, Antibacterial TaN-Ag coatings on titanium dental implants, Journal of surface and coating technology, ۲۰٥ (۲۰۱۰) ۱٦۳٦–۱٦٤۱.

٤. Q. Zhao, Reduction of bacterial adhesion on ion-implanted stainless steel surfaces, J. Medical Engineering & Physics, ۳۰ (۲۰۰۸) ۳٤۱–۳٤۹.

www.SID.ir

Archive of SID

۵. Jincheng Wang, Zhuopeng Wang, Song Guo, Jingyu Zhang, Yang Song, Xiaoming Dong, Xiaonan Wang, Jihong Yu, Antibacterial and anti-adhesive zeolite coatings on titanium alloy surface, Microporous and Mesoporous Materials, ۱٤٦ (۲۰۱۱) ۲۱٦–۲۲۲.

٦. Swarna Jaiswal, Patrick McHale, Brendan Duffy, Preparation and rapid analysis of antibacterial silver, copper and zinc doped sol-gel surface, colloids and surface, ۹٤ (۲۰۱۲) ۱۷۰-۱۷٦.

۷. Yongwen Zhang, Huashong Peng, Wei Huang, Yongfeng Zhou, Deyue Yan, Facile preparation and characterization of highly antimicrobial colloid Ag or Au nanoparticles, Journal of Colloid and Interface Science, ۳۲۵ (۲۰۰۸) ۳۷۱–۳۷٦.

۸. Yan Zhou, Ying Kong, Subrata Kundu, Jeffrey D Cirillo, Hong Liang, Antibacterial activities of gold and silver nanoparticles against Escherichia coli and bacillus Calmette-Guérin, Journal of Nanobiotechnology, ۱۰ (۲۰۱۲) ۱۹.

۹. J.H. Hsieh, T.H. Yeh, C. Li, C.H. Chiu, C.T. Huang, Antibacterial properties of TaN-(Ag,Cu) nanocomposite thin films, Vacuum, xxx (۲۰۱۲) ۱-٤.

۱۰. Heng-Li Huang, Yin-Yu Chang, Meng-Cheng Lai, Cai-Rong Lin, Chih-Ho Lai, Tzong-Ming Shieh, Antibacterial TaN-Ag coatings on titanium dental implants, Surface & Coatings Technology, ۲۰۵ (۲۰۱۰) ۱٦۳٦–۱٦٤۱.

جدول ۱: تغییرات میزان خشنی میانگین سطح و اندازه نانو ذرات برحسب مدت زمان فرآیند پخت در درجه حرارت ۴۰۰°C.

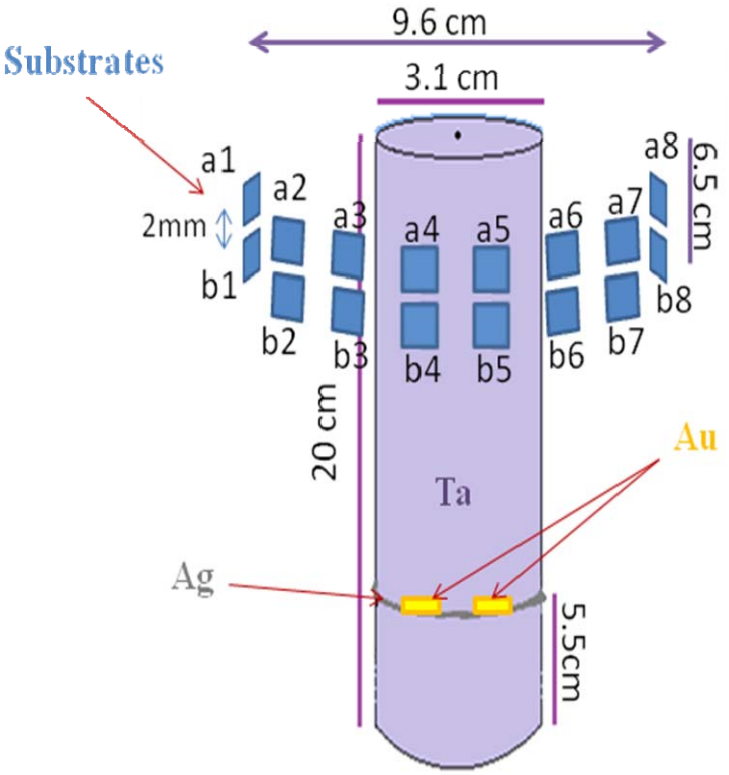
زمان پخت (دقیقه)	۳	۵	۷
خشنی میانگین سطح (nm)	۱/۱	۱/۶	۲/۲
اندازه میانگین نانو ذرات	۹/۳	۱۲	۱۲/۵

جدول ۲: تغییرات میزان زاویه تماس قطره آب با سطح برحسب زمان پخت نمونه ها.

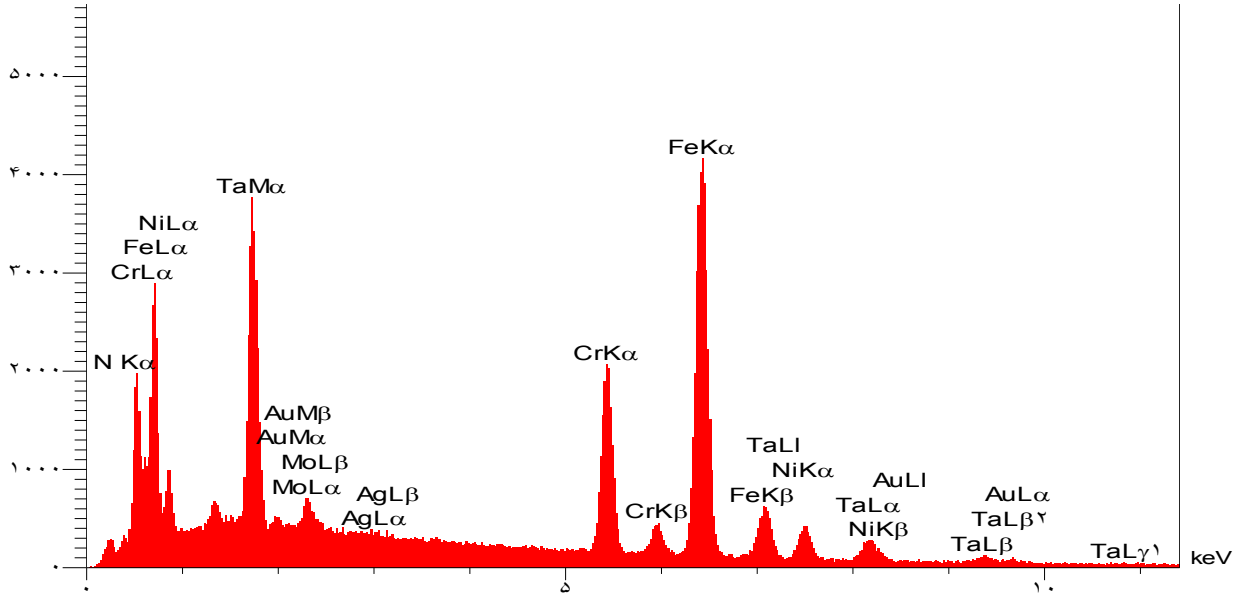
زمان پخت (دقیقه)	۳	۵	۷
زاویه تماس با سطح لایه (درجه)	۹۲ °	۹۲ °	۹۰ °

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱: شماتیک مکان قرار گیری تارگت ها و زیر لایه ها

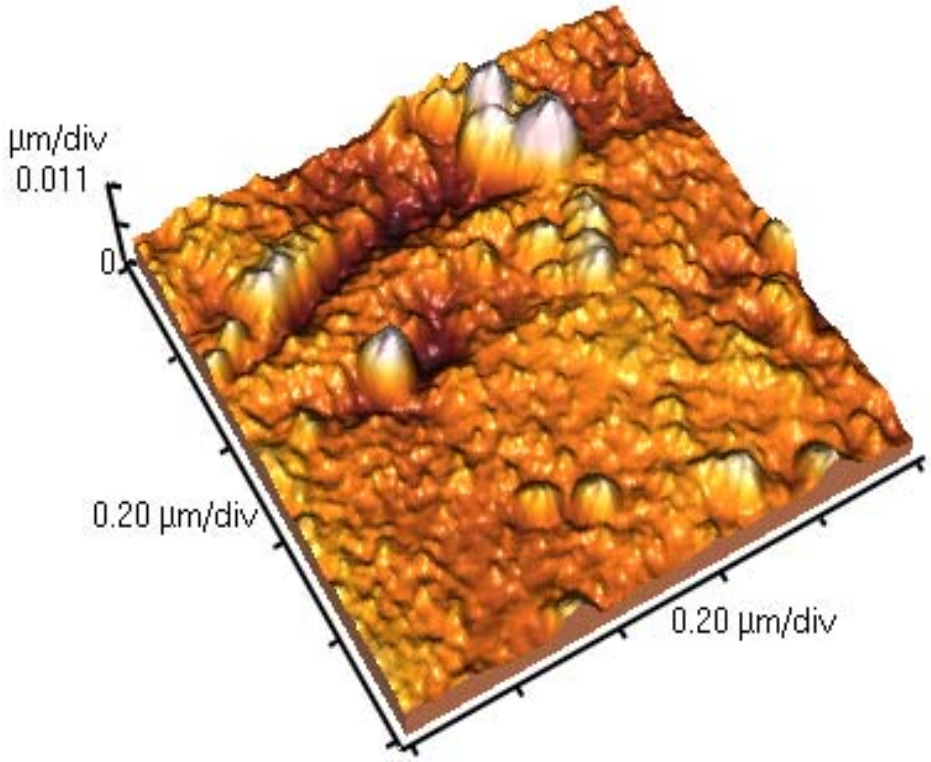


شکل ۲: نمودار حاصل از تفرق انرژی اشعه ایکس از لایه تانتالم نیترات- نقره/ طلا

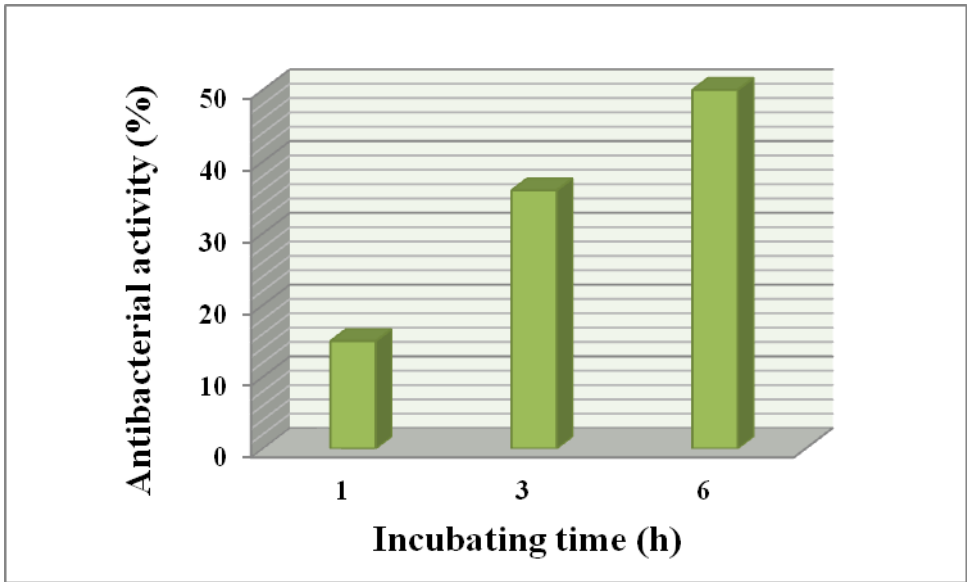
www.SID.ir

Archive of SID

.



شکل ۳: تصویر میکروسکوپی نیروی اتمی از سطح لایه تانتالم نیترات- نقره/ طلا.



شکل ۴: نمودار نتایج فعالیت ضد باکتری لایه تانتالم نیترات- نقره/ روی بر حسب مدت زمان (ساعت) تماس با سوسپانسیون باکتری.

www.SID.ir