

Antibakteriális textíliák előállítása ezüst nanorészecskék felhasználásával

Kis-Csitári Judit

Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Közalapítvány, Nanotechnológiai Kutatóintézet, Miskolc-Egyetemváros;
Szegedi Tudományegyetem, Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszék, Szeged

Bevezetés

A történelem során, hasonlóan az aranyhoz, az ezüstöt is széles körben hasznosították, mint például ékszerek, szerszámok vagy pénz előállítására, illetve a különböző tudományok fejlődésével fogászati ötvözetekhez, fényképezéshez vagy épp robbanóanyagok gyártásához alkalmazták. Már az ókorban felismert kiváló fertőtlenítő hatása miatt az ezüst felhasználása jelentős szerephez jutott az egészségügyi szférában. Igaz, az antibiotikumok megjelenésével alkalmazásuk háttérbe szorult egy kis időre, ám a modern tudomány előrehaladása segített az ezüst elveszett hírnevének megújulásában.

Az ezüst fém „megmunkálásának” technológiai fejlődésével az ezüst mára már új alakokkal és tulajdonságokkal rendelkezhet. Ezen részecskék, ha legalább egy dimenziójukban kisebbek, mint 100 nanométer (nm), akkor nanorészecskéknek nevezzük őket (nanoparticles, NPs) [1]. Az extrém kis méret következtében (1 nm = 10^{-9} m), az ezüst nanorészecskék rendkívül szokatlan fizikai-kémiai tulajdonságokat rendelkeznek, és biológiai aktivitást mutatnak. Ennek köszönhetően a figyelem újra az ezüst felé fordult, és gőzerővel indultak meg az egészségmegővítés terén folytatott kutatások [2].

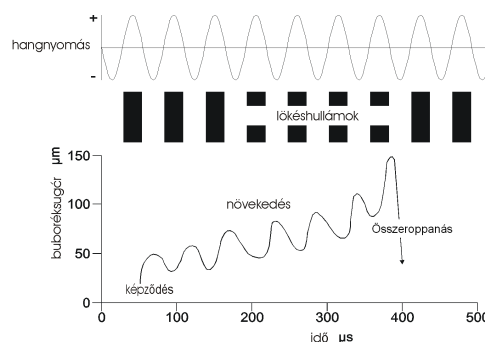
A nanotechnológiai iparban az ezüst nanorészecskék (AgNPs) előállítása és felhasználása az egyik leggyorsabban fejlődő ágazat, és az elkészült termékek a fogyasztók számára már elérhetőek. Néhány ismertebb és főként az egészségmegőrzést célzó termékek, mint pl. kötszerek, sebészeti műszerek [3, 4], alsóneműk és zoknik [5, 6], melyek felületére különböző technikák alkalmazásával ezüst nanorészecskéket vittek fel.

Dolgozatunkban az általunk előállított antibakteriális textíliák készítését és vizsgálatát mutatjuk be. Az ezüst nanorészecskék szintéziséhez az úgynevezett szonokémiás (vagy ultrahangos) módszert alkalmaztuk. A nanorészecskéket transzmissziós elektronmikroszkópiás felvételek (Transmission Electron Microscopy, TEM) alapján minősítettük. A textilanyagok/textilszálak analizéséhez pásztázó elektronmikroszkópot (Scanning Electron Microscopy, SEM) alkalmaztunk, végül az előállított textíliák mikroorganizmusokra kifejtett hatását mikrobiális teszteléssel bizonyítottuk.

Kísérleti rész

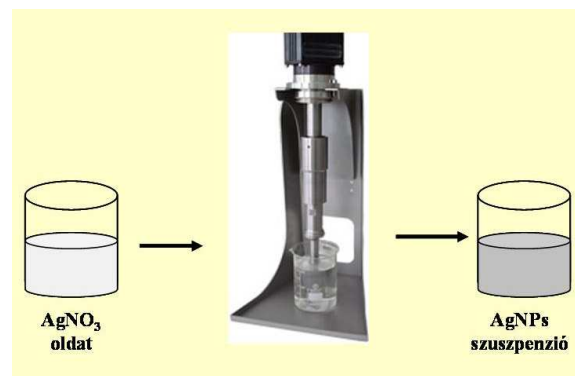
Nanoméretű anyagok előállításának kevésbé ismert módja a szonokémiás eljárás, melynek alapja az akusztikus kavitáció jelensége, azaz ultrahangos besugárral létrehozott buborékképződés, -növekedés és -szétrobbanás. A folyadékfázis ultrahanggal történő besugárra során az oldatban milliányi mikrobuborék keletkezik. Egy bizonyos frekvencia alatt ezek a buborékok a kavitáció jelensége nélkül szűnnek meg. Egy küszöbfrekvencia felett azonban a buborékok nőni kezde-

nek, és a térfogat növekedés következtében a buborékokban a nyomás egyre csökken. Az egyre kisebb nyomás miatt az üregbe egyre több oldószert és oldott anyag molekula párolog. Az így létrejött buborékok össze is olvadhatnak, azonban elérve egy kritikus (rezonancia) méretet robbanásszerűen szét pattannak, és az egész folyamat kezdődik előlről (1. ábra). Az összeroppanás pillanatában, a gőztérben lévő molekulákban több ezer Kelvin hőmérséklet és több ezer atmoszféra nyomás lehet [7,8].



1. ábra. Buborékképződés folyamata folyadékban ultrahangos besugárzás hatására

Az ezüst nanorészecskék előállításához AgNO_3 desztillált vizes oldatát használtuk (0,001-1 M). A szintézishez Hielscher UIP 1000 ultrahangos homogenizátort alkalmaztunk, melynek teljesítménye 1 kW, frekvenciája 20 kHz. Az ezüst-nitrát oldatokat az ultrahanggal 10 percig sugároztuk be (2. ábra). Az előállított AgNPs jellemzésére Philips CM 10 típusú transzmissziós elektronmikroszkópot alkalmaztunk.



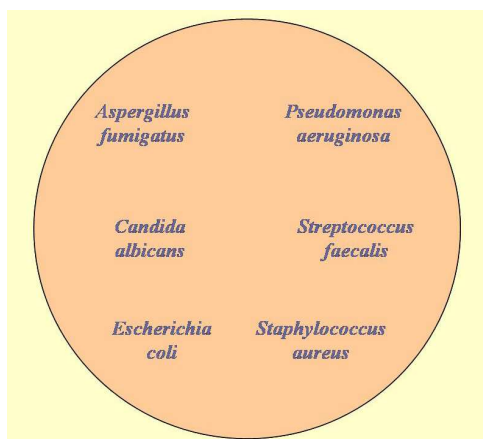
2. ábra. Az UIP 1000 ultrahangos homogenizátor képe és egyben a szintézis elve

A textilanyagon megkötött ezüst nanorészecskéket a textíliákból származó szálakból készített mintán ta-

nulmányoztuk elektronmikroszkóposan, mert a technika nem alkalmas nagy kiterjedésű preparátumok vizsgálatára. A textilszál vizsgálata azzal az előnnyel is járt, hogy képet adott az ezüst részecskék nagyságára és a szálon való elhelyezkedésükre.

A tiszta pamutvászson anyagokat az előállított ezüst nanorészecskéket tartalmazó szuszpenzióba 30 percet áztattuk a nanorészecskéknek a textilián való minél hatékonyabb adszorpciós megkötése érdekében. Az első kísérletsorozatnál fehér színű textilanyagot használtunk, a második kísérletsorozatnál zöld színűt, melyet kórházakban használnak műtétek során. A nanorészecskékkel borított textiliákat a meghatározott adszorpciós idő eltelte után szárítószekrényben szárítottuk meg kb. 60 °C-on. Az AgNPs jelenlétét a textilszálon Hitachi S-4700 pásztázó elektronmikroszkóppal bizonyítottuk.

Végül az előállított textilanyagokat mikrobiális tesztelésnek vetettük alá. A legtöbb esetben a mikrobiológiai vizsgálatok első lépése a minták sterilizése, így történt a szöveteink esetében is. Ezután a textileket Petri csészébe helyeztük, 2-3 mm vastagságban táptalajt rétegeztünk rájuk, melyet hagytunk megdermedni, és végül 6 különböző mikroorganizmust oltottunk fel, melyek közül kettő Gram- (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), kettő Gram+ (*Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*) baktérium, egy fonális (*Aspergillus fumigatus*) és egy élesztő gomba (*Candida albicans*) volt (3. ábra). A feloltás után a csészéket 30 °C-ra helyeztük 2 nap inkubációs időre.

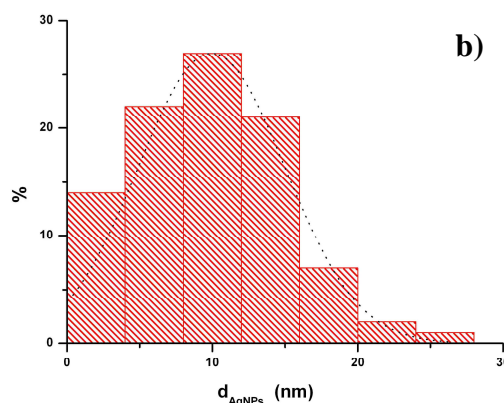
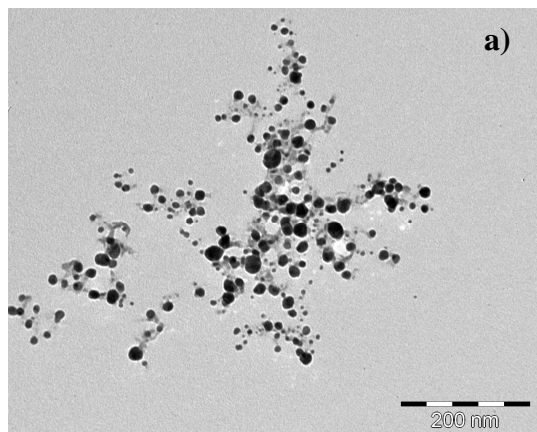


3. ábra A mikroorganizmusok feloltásának sorrendje. Ez az ábra mutatja, hogy az ezüst tartalmú textileken melyik mikroorganizmus típusra nem és melyikre hat az ezüst nanorészecskékkel történt kezelés.

Eredmények és értékelésük

Az akusztikus kavitáció jelenségét kihasználva sikeresen állítottunk elő, különböző kiindulási ezüst koncentrációjú oldatból, ezüst nanorészecskéket. A 4. ábrán figyelhető meg a 0,5 M koncentrációjú kiindulási AgNO₃ oldatból előállított AgNPs és a TEM felvétel alapján mért méreteloszlási hisztogram. Látható, hogy a nanorészecskék átlagos mérete 10 nm, alakjuk gömbölyű.

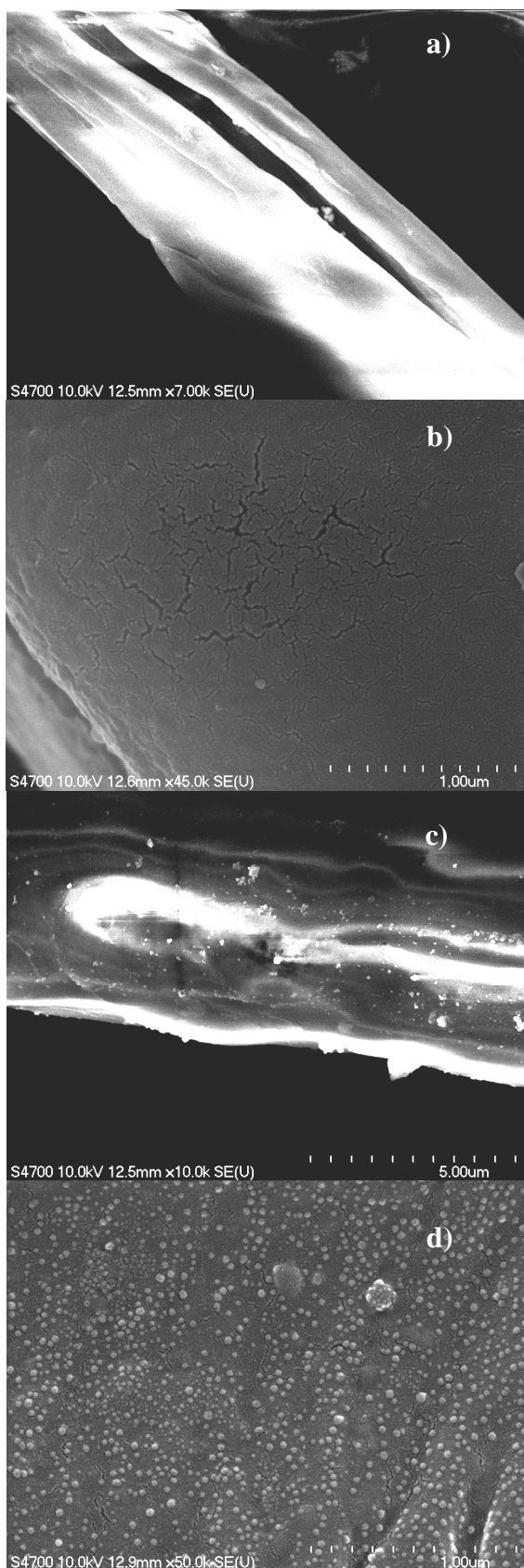
Az elkészített AgNP szuszpenziót, ami tulajdonképpen egy ezüst nanorészecskéket tartalmazó kolloid oldat, antibakteriális textilanyagok előállítására használtuk fel.



4. ábra. a) Ezüst nanorészecskék TEM felvétele, b) az AgNPs méreteloszlási hisztogramja

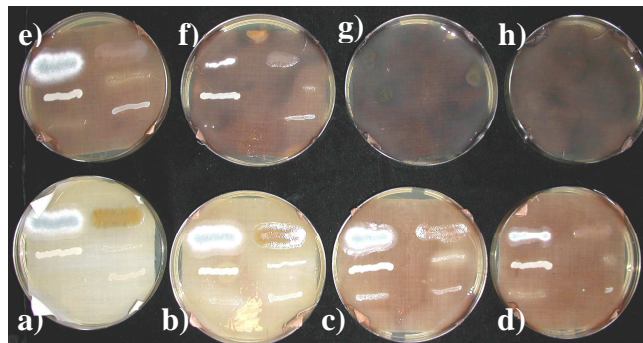
A szálak vizsgálatához pásztázó elektrónmikroszkópot használtunk, amely alkalmas műszer ahhoz, hogy nanoméretű részecskéket vizsgáljunk különböző anyagok felületén. Minden esetben a kezeletlen textilanyagból származó szálát is megvizsgáltuk azért, hogy könnyebben tudjunk következtetést levonni az ezüst nanorészecskék elhelyezkedéséről, illetve nagyságukról. Az 5. ábrán látható SEM felvételek eltérő nagyítások mellett mutatják a tiszta szövetszál 5/a,b és az ezüst nanorészecskéket tartalmazók 5/c,d felületéről készült felvételeket. Tisztán látszanak az ezüst nanorészecskék a kezelt mintákon. Mivel a vizsgálat során a szövetszálaknál elektromos feltöltődési jelenséget tapasztaltunk, mely zavarta a képalkotást (5/a,c), így kb. 5 nm vastagságú, elektromosságot vezető Au/Pd réteggel vontuk be a mintáinkat (5/b,d). Az aranyozott ezüst részecskéket tartalmazó mintán (5/d) látszik, hogy a bemutatott mintán elég sűrűn helyezkednek el a nanorészecskék. Ezüst nanorészecskékkel bevont szövetszál esetében néhány aggregátumok is látható, amelyek a kisebb részecskék összetapadásából jönnek létre. Ezekből a kísérleti eredményekből azt a következtetést vonjuk le, hogy az alkalmazott kezeléssel főleg egymástól elszigetelten, nagy felületi koncentrációban helyezkednek el a nanorészecskék a textilszálak felületén.

A mikroszkópiás méréseket követően a textilanyagok mikrobiális tesztelése következett. Az eredményeket a 6. és 7. ábrákon mutatjuk be. A 6. ábrán láthatók a fehér pamutvászsontra felvitt ezüst nanorészecskék antimikrobiális teszt eredményei.



5. ábra. Szálakról készült SEM felvételek
a) tiszta szál, b) tiszta szál nagyobb nagyítás mellett és Au/Pd réteggel bevonva, c) AgNPs tartalmazó szál, d) AgNPs tartalmazó szál nagyobb nagyítás mellett és Au/Pd réteggel bevonva

A 6/a jelű Petri csésze tartalmazza a tiszta, fehér pamutvásznat, amelyre a feloltott mikrobák, a vártnak megfelelően, telepeket képeztek, tehát az antimikrobiális hatás elmaradt. Ehhez a csészéhez, mint kontrollhoz, viszonyítottuk a különböző koncentrációjú ezüst-nitrát oldatból előállított AgNPs szuszpenzióba mártott textilanyagokat.

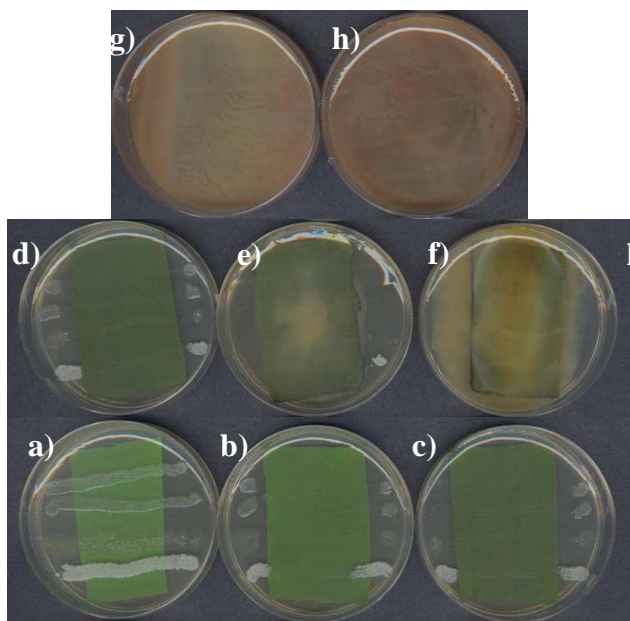


6. ábra. Antimikrobiális teszt eredmények.
a) Tiszta, fehér textil, b-h) AgNPs borított fehér textiliák. Az ezüst koloid oldat készítéséhez használt ezüst-nitrát oldat koncentrációi a következők voltak: b) 0,001, c) 0,005, d) 0,01, e) 0,05, f) 0,1, g) 0,5 és h) 1 mol/dm³

A 6. ábrán látható csészékbe helyezett szövetek színváltozása a textilanyagra felvitt ezüst nanorészecskék koncentrációjának növekedését mutatja. A b) jelű csészében vizsgált textil tartalmazza a legalacsonyabb ezüst koncentrációt, ebben az esetben minden mikroorganizmus megjelent, a kontrollhoz képest a telepek méretében sem figyelhetünk meg változást. A továbbiakban már szemmel látható eltérés tapasztalható, az AgNPs koncentrációjának növekedésével nőtt az antibakteriális hatás. A két, ezüstre nézve legtömegebb textilanyag esetében (6/g,h), még a feloltott gombák növekedése is teljes mértékben gátlódott, itt már antimikrobiális hatásról beszélhetünk.

A 7. ábrán látható a zöld textilanyaggal végzett kísérletek eredménye. Ezeknél a kísérleteknél 4 mikroorganizmust alkalmaztunk, amelyek között ugyanúgy megtalálható a Gram- és Gram+ baktérium, illetve a gomba faj is. A 7. ábrán az a) jelű csésze a kontroll, erre a szövetre ezüstöt nem vittünk fel, így a baktérium- és gombaölő hatás elmaradt. Ehhez viszonyítva már a legalacsonyabb ezüst nanorészecske koncentrációt tartalmazó textilanyag (7/b csésze) esetében is szinte teljesnek mondható az antimikrobiális hatás. Jól megfigyelhető, hogy a textilra felett húzott baktérium, ill. gombaoltások nem képeztek telepet, viszont a csészefalhoz közeli részen elszaporodtak, mert itt már nem érvényesülhetett az ezüst mikroorganizmusok növekedését befolyásoló tulajdonsága. Az e) jelű csészétől kezdődően a táptalaj elszíneződése látható. Ez annak tudható be, hogy a textil ezüsttartalma olyan magas volt, hogy a táptalaj komponensekkel is kölcsönhatásba lépett.

Kísérletsorozataink is azt bizonyítják, hogy az ezüst nanorészecskék hasznos és hatásosak anyagok lehetnek baktériumölő, és magasabb koncentráció esetén gombaölő alkalmazásokban, így a nanorészecskék kivételes tulajdonságainak köszönhetően a nanotechnológia új kapukat nyitott meg a baktériumölő anyagok kifejlesztésében. Az AgNPs előállításáról és antibakteri-



7. ábra. Antimikrobiális teszt eredmények.

a) Tiszta, zöld textilí, b-h) AgNPs borított zöld textilí. Az ezüst kolloid oldat készítéséhez használt ezüst-nitrát oldatok koncentrációi a következők voltak: b) 0,001, c) 0,005, d) 0,01, e) 0,05, f) 0,1, g) 0,5 és h) 1 mol/dm³

ális hatását vizsgáló kutatásokról számos cikket találhatunk a szakirodalomban, viszont maga az antibakteriális mechanizmus csak részben ismeretes. Egyes tanulmányok arról számolnak be, hogy az ezüst ion pozitív töltése és a mikroorganizmus membránjának negatív töltése között létrejövő kapcsolat az alapja a gátló hatásnak [9, 10], míg mások úgy vélik, hogy a baktériumsejt falában található kisebb mélyedések és az ezüst nanorészecskék között kialakuló igen erős kontaktus a részecskék felhalmozódását vonja maga után [11]. Az ezüst köztudottan nagy affinitást mutat foszfor és kén vegyületekkel való reakcióra, és mivel a baktériumok membránja tartalmaz kén tartalmú proteinek, melyek még kedvezőbb kapcsolódási helyek lehetnek az ezüst nanorészecskék számára, az eredmény drasztikussá válik, a sejtmembrán áteresztő-képessége megváltozik, és végső esetben a sejt pusztulásához vezet [12].

Összegzés

Sikeresen állítottunk elő ezüst nanorészecskéket tartalmazó vizes oldatot a szonokémia módszerével. A TEM vizsgálatok során a nanorészecskék alakja gömb formájúnak, átlagos részecskemérete 10 nm-nek adódott. A 10 nm a részecskeméret alsó határa, mert kisebb részecskék esetén fennállhat a lehetősége annak, hogy az ezüst nanorészecske az emberi szervezetbe kerülhet a bőrön keresztül. Az előállított ezüst nanorészecskéket különböző színű textilanyagokra vittük fel, amelyeket mikroszkópos analízis után, mikrobiális tesztnek vetettük alá. A kapott eredmények bizonyították, hogy az ezüst nanorészecskék a mikrobák számára hozzáférhetők voltak, azaz nem ágyazód-

tak be a textilszálak belsejébe a mikrobák által hozzáférhetően helyeken. Ennek az elhelyezkedésnek a következtében az ezüst nanorészecskék kifejthették antimikrobiális hatásukat. Az eredmények bizonyítják, hogy az alkalmazott technológia, beleértve az ezüst nanorészecskék szonokémiai módszerrel való szintézisét, és az ezüst kolloid oldatból az ezüst részecskék textilanyagokra való felvitelét, alkalmas antibakteriális textilek előállítására. A dolgozatban leírt módszerrel készített textilek széles körben alkalmazhatók főként a mindennapi életben és az egészségügyben. A nanoezüst tartalmú textilek részben kiválthatják a szerves vagy szervetlen eredetű, sokszor kloridot tartalmazó fertőtlenítőszereket, emiatt kisebb környezeti terhelést okozhatnak.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani dr. Pfeiffer Ilonának, a Szegedi Tudományegyetem Mikrobiológiai Tanszéke docensének az antimikrobiális tesztek elvégzéséért és Darányi Máriának, a Szegedi Tudományegyetem Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszék PhD. hallgatójának a pásztázó elektronmikroszkópiás felvételek készítéséért. Továbbá köszönettel tartozom dr. Kiricsi Imrénnek, a Szegedi Tudományegyetem Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszék vezetőjének és dr. Kónya Zoltánnak, a tanszék docensének, hogy helyet biztosítottak tanszékükön a kísérletek elvégzéséhez, és útmutató tanácsaikkal segítettek munkámat.

Irodalomjegyzék

- [1] Oberdorster, G., Maynard, A., Donaldson, K., Castranova, V., Fitzpatrick, J., Ausman, K., Carter, J., Kern, B., Kreyling, W., Lai, D., Olin, S., Monteiro-Riviere, N., Warheit, D., Yang, H., *Part Fibre Toxicol.* 2, 8-43, 2005.
- [2] Elechiguerra, J.L., Burt, J.L., Morones, J.R., Camacho-Bragado, A., Gao, X., Lara, H.H., Yacaman, M.J., *J. Nanobiotechnol.* 3, 6, 2005.
- [3] Cheng, D., Yang, J., Zhao, Y., *Chin. Med. Equip. J.* 4, 26-32, 2004.
- [4] Chen, J., Han, C.M., Lin, X.W., Tang, Z.J., Su, S.J., *Zhonghua. Wai. Ke. Za. Zhi.* 44, 50-54, 2004.
- [5] Lee, H.Y., Park, H.K., Lee, Y.M., Kim, K., Park, S.B., *Chem. Commun. (Camb.)* 28, 2959-2961, 2007.
- [6] Vigneshwaran, N., Kathe, A.A., Varadarajan, P.V., Nachane, R.P., Balasubramanya, R.H.J., *Nanosci. Nanotechnol.* 7, 1893-1897, 2007.
- [7] Suslick, K., S., Didenko, Y., Fang, M., M., Hyeon, T., Kolbeck, K., J., McNamara III, W., B., M., Wong, M., *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A* 357, 335-353, 1999.
- [8] Ashokkumar, M., Lee, J., Kentish, S., Grieser, F., *Ultrason. Sonochem.* 14, 470-475 2007.
- [9] Dibrov P, Dzioba J, Gosink KK, *Antimicrob. Agents. Chemother.* 46, 2668- 2670, 2002.
- [10] Hamouda, T., Myc, A., Donovan, B., Shih, A., Y., Reuter, J., D., Baker, J., R., *Microbiol. Res.* 156, 1-7, 2001.
- [11] Sondi I, Salopek-Sondi B., *J. Colloid. Interface. Sci.* 275, 177-82, 2004.
- [12] Vitonov, T., Popov, A., *J. Electroanal. Chem.* 159, 437-441, 1983.