شیمی نساجی

سنتز و ارزیابی رنگزای راکتیو جدید با خاصیت ضدحشره و ضد باکتری

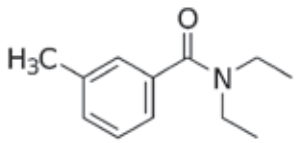
محمدامین سارلی، جواد مختاری*، علی شمس ناتری

چکیده

رنگزای راکتیو جدید ضدحشره و ضد باکتری از واکنش دی آزوته-کوپل شدن سولفادی آزین به عنوان نمک دی‌آزونیوم و کوپلر حاصل از واکنش H- اسید با تری کلرو تری آزین و N, N- دی اتیل-۳-متیل-تولومید (DEET) سنتز شد. ماده‌ی رنگزا فیلتر و خالص‌سازی شد و ساختمان آن با روش‌های دستگاهی ^{1}H NMR و FTIR شناسایی شد. خواص اسپکتروسکوپی رنگزا شامل λ_{max} و ε_{max} توسط دستگاه اسپکتروفتومتری UV-Vis اندازه‌گیری شد. خاصیت ضدباکتری رنگزا در مقابل باکتری‌های P.aeruginosa و E.coli (گرم منفی) و S.aureus و S.mutance (گرم مثبت) با روش MIC ارزیابی گردید. نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت ضدباکتری رنگزای سنتز شده در مقابل هر دو نوع باکتری انتخاب شده نشان داد که ماده‌ی رنگزای سنتز شده دارای فعالیت ضدباکتری قابل قبولی است.

مقدمه

گزش بسیاری از حشرات موجب واکنش‌های نامطلوب و ناخواسته زیادی می‌گردد. از طرف دیگری بسیاری از حشرات نقش مهمی در انتقال تعداد زیادی از بیماری‌های مسری دارند. براساس گزارش سازمان بهداشت جهانی، کشورهای حوزه‌ی مدیترانه‌ی شرقی و از جمله ایران از مهمترین کانون‌های بیماری‌های منتقله به وسیله حشرات هستند [۱]. بروز جنگ جهانی دوم و نیاز پرسنل ارتش به ویژه در مناطق گرمسیری موجب شد که تحقیقات وسیعی در زمینه کشف و تهیه داروهای دافع حشرات انجام پذیرد [۲]. عوامل شیمیایی دافع حشرات روی پوست یا لباس استفاده می‌شوند تا مانع از تماس و گزش حشراتی مثل پشه‌ی مالاریایی، ککها و سایر بندپایان شوند. در رابطه با مکانیزم عمل ترکیبات دافع حشرات مشخص شده است که علت عدم توجه و عدم جذب حشرات به برخی از اشخاص به خاطر تفاوت‌های موجود در شیمی بدن آنها می‌باشد. از طرف دیگر مشخص شده است که شاخکهای پشه از گیرنده‌هایی پوشیده شده که می‌تواند جریان دی‌اکسید کربن و بخار آب ناشی از خون گرم میزبان را شناسایی نماید. بنابراین وقتی پشه به هوایی آغشته از این مواد برسد، علایم رسیده به شاخکهایش به طریقی اختلال در تشخیص و یافت میزبان برای او به وجود می‌آورد. ترکیبات دافع از طریق ایجاد یک بو یا حس شدید و تند و تغییر دادن خصوصیات میزبان باعث ایجاد یک میزبان مخالف و غیرجذاب برای حشره می‌شود [۳]. بدین منظور بیش از ده هزار ترکیب شیمیایی برای خاصیت دفع‌کنندگی حشرات مورد تست قرار گرفتند.

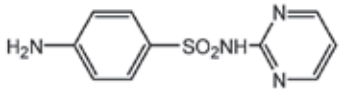


شکل ۱. N،N-دی‌اتیل- متا- تولوآمید (DEET)

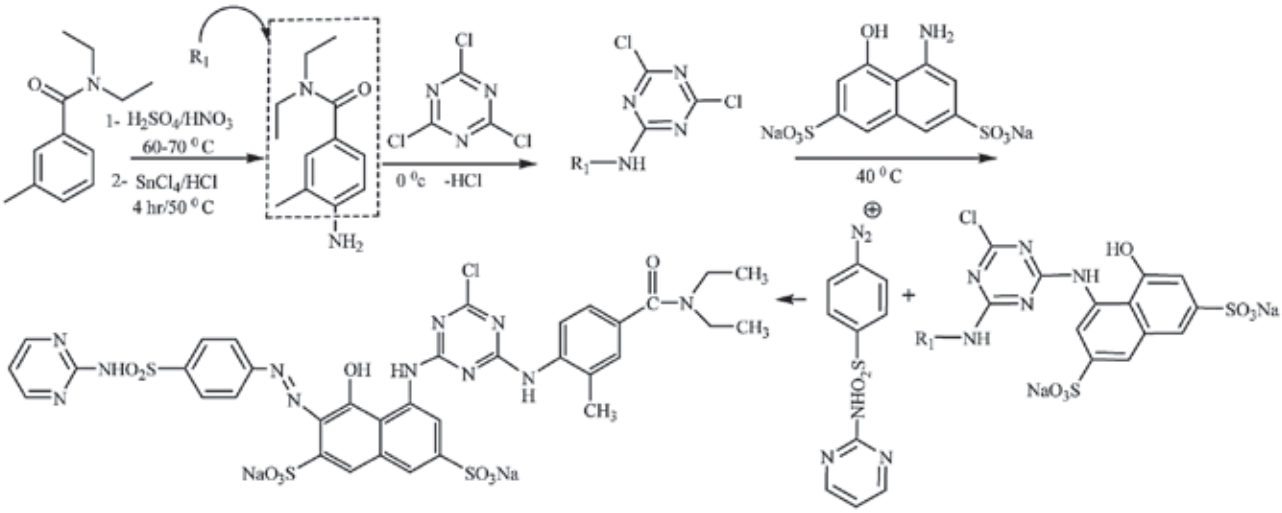
شاید بهترین ترکیبی که عرضه شده "دی‌اتیل تولوآمید" باشد که در مقابل تعداد متعددی از حشرات مؤثر است (شکل ۱). دی‌اتیل تولوآمید با نام‌های OFF، DEET و دتامید نیز معرفی می‌شود. این ترکیب دافع مؤثری برای پشه‌های سیاه، شیگرز ، پشه مالاریا، مگس، کنه، کک و بسیاری از حشرات است [۴].

به علت تماس نزدیک پوست با منسوجات، مدت کوتاهی پس از پوشیدن لباس، منسوج در معرض هجوم میکروارگانیسم‌ها قرار می‌گیرد. باکتری‌ها میکروارگانیسم‌هایی هستند که در شرایط مرطوب رشد کرده و مشکلات متعددی را به وجود می‌آورند. کلاس‌های بزرگی از عامل‌های ضدمیکروبی در صنعت نساجی استفاده می‌شوند. این ترکیبات با آسیب رساندن به دیواره سلولی، تغییر نفوذپذیری غشاء سلولی، تخریب پروتئین‌ها، جلوگیری از فعالیت آنزیم‌ها یا لیپیدها که همگی این موارد برای بقای سلولی میکروب‌ها الزامی می‌باشند باعث نابودی آنها می‌شوند [۵]. داروهای بر پایه‌ی سولفونامید اولین داروها با خاصیت آنتی‌باکتریال بودند که باعث ایجاد انقلابی در صنعت داروسازی شدند. سولفون آمیدها گروه سولفونیلی دارند که به یک گروه آمین متصل است. یکی از مهمترین سولفونامیدها، سولفادی آزین است که باکتری‌ها را از طریق متوقف کردن ترشح فولئیک اسید که برای تولید DNA در سلول باکتری نیاز است از بین می‌برد (شکل ۲) [۶].

رنگزاهای راکتیو ترکیباتی آلی هستند که قادر به تشکیل پیوند کووالانسی با گروه نوکلئوفیل زنجیر پلیمری لیف می‌باشند، در نتیجه وقتی بین رنگزا و لیف پیوند برقرار



شکل ۲. سولفادی آزین



شکل ۳. مسیر سنتز رنگزا

می‌شود رنگزا قسمتی از لیف می‌گردد. در نتیجه این خاصیت رنگزاهای راکتیو باعث ایجاد ثبات شستشویی بالا بر روی کالای مربوطه می‌شود. از آنجا که بیماری‌هایی چون سالک در شمال ایران و مالاریا در جنوب ایران هنوز شایع بوده و از طرف دیگر بهترین شیوه و حداکثر حفاظت فردی سربازان از گزش حشرات استفاده از مواد دورکننده بر روی پوست و نیز پوشیدن لباس آغشته به این مواد گزارش شده است [۷] و با توجه به اینکه در کشور ما ارتقاء چندانی در این خصوص صورت نگرفته است لذا با کوپل کردن گروه‌های شیمیایی خاص مانند دی‌اتیل تولوآمید (DEET) که دارای خاصیت ضدحشره است و سولفونامیدها که دارای خاصیت ضدباکتری هستند، می‌توان رنگزاهای ضدباکتری و ضد حشره‌ی متنوعی با عملکردهای بالا تولید کرد. بدین منظور از ترکیب ماده‌ی ضدحشره‌ی دی‌اتیل تولوآمید (DEET) و ماده‌ی ضدباکتری سولفادی آزین (SFD) با گروه راکتیو تری آزین کمک می‌گیریم و رنگزای راکتیو جدیدی بر پایه‌ی آزو را سنتز می‌کنیم که علاوه بر دارا بودن خاصیت ضدحشره و ضدباکتری، خواص رنگرزی خوبی نیز بر روی منسوجات داشته باشند. با سنتز و بکارگیری این رنگزای ضدحشره و ضدباکتری سه فرآیند رنگرزی و تکمیل ضدحشره در یک مرحله انجام می‌شود که باعث کاهش هزینه‌ها و افزایش بهره‌وری می‌شود.

روش تحقیق

H- اسید (۸۰٪)، تری کلروتری آزین،N، N- دی متیل متا تولوآمید (DEET)، سولفادی آزین، اتانول، اسیدکلریدریک، اسید نیتریک، کلرید قلع دوآبه، نیتریت سدیم، اسید سولفوریک و سود موادی بودند که برای سنتز مواد واسطه و واکنش‌های احیا، دی آزوته کردن، کوپل کردن و خالص‌سازی استفاده شدند. تمامی مواد مورد استفاده از نوع آزمایشگاهی و محصول شرکتهای مرک و آلدریچ بودند.

ورقه‌های TLC از نوع F254 25 DC-Alufdien 20×20 Cm Kieselgel 60 شرکت مرک و از دستگاه‌های (^{1}H NMR (Brucker Evance 450 MHZ) دانشگاه زنجان، Nicolet magna-ir 560 و دستگاه اسپکتروفتومتر انتقالی Cintra 10 موجود در آزمایشگاه نساجی دانشکده فنی دانشگاه گیلان استفاده شد. برای انجام تست ضدباکتری ماده‌ی رنگزا از دستگاه الایزا (Stat Fax 2100) موجود در گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان استفاده شد.

سنتز رنگزا

برای سنتز کوپلر ابتدا ۸۰/۶ میلی مول N، N- دی متیل متا تولوآمید (DEET) در موقعیت پارا نیتره شد [۸] و سپس در حضور اتانول، کلرید قلع دوآبه و اسید کلریدریک احیا گردید. سپس محصول آمین‌دار شده با سیانوریک کلراید تغلیظ شده به طوری که یک گروه از سیانوریک کلراید، در زیر دمای ۵ درجه سانتی‌گراد واکنش می‌دهد. سپس ۲۱/۳۲ میلی مول ۱-آمینو-۸- هیدروکسی نفتالن-۳، ۶- دی سولفونیک اسید (H-اسید) در ۴۰ میلی‌لیتر آب حل شد و به وسیله کربنات سدیم pH محلول به ۷ رسانیده شد. محلول بدست آمده به صورت قطره قطره در دمای محیط به محصول تغلیظ شده اضافه شد و سپس pH محلول در محدوده ۳-۴ و دما در ۴۰-۴۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. مخلوط به مدت ۲ ساعت در همین شرایط همزده شد و پایان واکنش با استفاده از معرف Ehrlich شناسایی شد. برای چک کردن واکنش از کاغذ TLC و تانک حلال نرمال هگزان، استون و نرمال بوتانول به ترتیب با نسبت ۴:۴:۱ استفاده شد. در مرحله‌ی دی آزوته کردن ۹/۷ میلی مول سولفادی آزین با استفاده از اسیدکلریدریک و نیتریت سدیم دی آزوته شد [۹]. برای اطلاع از کامل شدن واکنش از روش کوپلینگ با ۲- نفتل استفاده شد و برای از بین بردن اسید نیتروس اضافی مخلوط از اوره کمک گرفته شد. جهت کنترل پیشرفت واکنش از تانک TLC با مخلوطی از حلال‌های نرمال بوتانول، آب و استون با نسبت ۲:۱:۱ استفاده شد.

برای سنتز رنگزا، ۶/۷۵ میلی مول از کوپلر به ۱۰۰ میلی لیتر آب اضافه شد. محتویات داخل حمام یخ (زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. نمک دی آزونیوم به آرامی و با کنترل pH در محدوده ۷-۸ به محلول کوپلر اضافه شد. افزایش نمک دی آزونیوم بیش از یک ساعت طول کشید و رنگ مخلوط واکنش سرخابی شد. مخلوط واکنش به مدت ۳ ساعت در دمای زیر ۱۵ درجه سانتی‌گراد همزده شد [۱۰]. مسیر سنتز انجام شده در شکل (۳) نشان داده شده است.

در نهایت پس از خالص‌سازی رنگزا محصول به دست آمده از این واکنش ۶/۰۲ گرم بود که راندمانی حدود ۷۱٪ را نشان می‌دهد. نقطه ذوب محصول نیز اندازه‌گیری شد ولی نشان داد که محصول قبل از ذوب شدن در دمای ۳۲۵ درجه سانتی‌گراد تخریب شده و سیاه می‌شود. TLC بر روی محصول نهایی با حلال‌های نرمال هگزان، استون و نرمال بوتانول به ترتیب با نسبت ۱:۱:۱ انجام شد. کروماتوگرام حاصل از TLC نشان داد که سولفادی آزین دی آزوته شده در محصول نهایی حضور ندارد و تنها یک لکه در کروماتوگرام با Rf متفاوت مشاهده شد.

بررسی ویژگی‌های اسپکتروفتومتری رنگزای سنتز شده

برای این کار غلظت‌های مختلفی از رنگزا در محدوده غلظتی ۰/۰۱۱–۰/۰۰۸ گرم بر لیتر تهیه شد و جذب آن در سل‌های یک سانتی‌متری با اسپکتروفتومتر انتقالی در محدوده موجی ۸۰۰–۳۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. با دقت به مقادیر منحنی جذب، طول موج ماکزیمم جذب (λ_{max}) رنگزا مشخص گردید. سپس با اندازه‌گیری میزان جذب ماکزیمم برای غلظت‌های مختلفی از رنگزا نمودار میزان جذب برحسب غلظت رسم شد و با اندازه‌گیری شیب نمودار ضریب جذب مولار (ε_{max}) رنگزا اندازه‌گیری شد.

ارزیابی خاصیت ضدمیکروبی

روش‌های تست گستره آگار و تست سوسپانسیون و تست MIC برای ارزیابی اثرات ضدمیکروبی منسوجات را استفاده می‌شود. برای این نوع از تست‌ها معمولاً از دو نوع باکتری گرم منفی و گرم مثبت کمک گرفته می‌شود [۵]. برای بررسی خواص ضدباکتری رنگزاهای سنتز شده از روش مینیمم غلظت بازدارنده (MIC) کمک گرفته شد. این روش مشخص‌کننده کمترین غلظتی از ماده ضدباکتری است که از رشد باکتری‌ها جلوگیری می‌کند. یک میلی‌لیتر از محلول سوسپانسیونی حاوی سریال دایلوشن ug/ml ۵۰۰–۷/۸ باکتری‌های نوع گرم مثبت (Staphylococcus aureus (S.aureus و Streptococcus mutans با باکتری‌های نوع گرم منفی Escherichia coli(E.Coli) و P.aeruginosa درون لوله‌های آزمایش استریل ریخته شد. از هر نمونه، محلول پایه mg/ml ۲۵۰ با استفاده از حلال دی متیل سولفوکسید (DMSO) تهیه شد و پس از آن ۹ میلی‌لیتر از محلول‌های رنگی با غلظت‌های متفاوت به آن اضافه شد و محلولها به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت کمترین غلظتی از محلولها که کدورتی در آن مشاهده نشد، به عنوان مینیمم غلظت بازدارنده (MIC) گزارش شد [۱۱].

نتایج و بحث

ساختمان و طیف جذبی رنگزا

برای آنالیز و شناسایی رنگزا از روش‌های آنالیز دستگاهی FTIR و ^{1}H NMR کمک گرفته شد. طیف ^{1}H NMR نشانگر حضور ۳۲ پروتون در ساختار ماده است. نتایج مربوط به FTIR و ^{1}H NMR در جدول (۱) خلاصه شده است که صحت ساختار شیمیایی رنگزا را تأیید می‌کند.

ویژگی‌های اسپکتروفتومتری

اسپکتروفتومتری UV-Vis ماده رنگزای سنتز شده در محلول آبی نشان داد که ماده رنگزای سنتز شده دارای فام سرخابی، دارای طول موج ماکزیمم جذب ۵۱۷ نانومتر و مقدار ضریب خاموشی مولار ۵۰۲۱ لیتر بر مول سانتی‌متر است (جدول ۲).

جدول ۱. طیف FTIR و ^{1}H NMR

^{1}H NMR	FTIR
(500 MHz, D2O, δ, ppm):	(KBr, ν, cm-1):
–CH3 (3H, s, 2.30),	3388–3450 (–OH & –NH),
–OH (1H, s, 4.70),	1241 (C–N),
–NH (2H, s, 3.97),	1547 (–N=N–),
–SO2NH (1H, s, 8.80),	1177 (–S=O),
–SO3H (1H, s, 2.93),	1041 (–C–Cl).
Ar-H (11H, m, 7.57–8.49)	

جدول ۲. ویژگی‌های اسپکتروفتومتری ماده‌ی رنگزای سنتز شده

طول موج ماکزیمم λ_{max} (nm)	ضریب جذب مولار ε_{max} ($lmol^{-1}cm^{-1}$)
۵۱۷	۵۰۲۱

طول موج ماکزیمم جذب نوار مرئی فام ماده‌ی رنگزا را تعیین می‌کند. زمانی که یک مولکول رنگزا درون محلول آبی قرار می‌گیرد، سه نوع پیوند هیدروژنی ممکن است برای رنگزا ایجاد شود، پیوند هیدروژنی درون مولکولی، پیوند هیدروژنی بین مولکولی و پیوند هیدروژنی بین مولکول رنگزا و مولکول آب، از طرف دیگر پیوندهای هیدروژنی باعث بالا بردن خاصیت الکترون‌دهندگی گروه‌های سولفونیک اسید و الکترون کشندگی گروه‌های آمین می‌شود که این باعث طول موج ماکزیمم ۵۱۷ نانومتر و فام سرخابی شده است. ضریب جذب مولار قدرت رنگی ماده‌ی رنگزا را تعیین می‌کند. هرچه مقدار ضریب جذب مولار ماده‌ی رنگزا بیشتر باشد، قدرت رنگی آن بالاتر ست. ضریب جذب مولی ۵۰۲۱ لیتر بر مول سانتی‌متر ماده رنگزای سنتز شده نشان‌دهنده‌ی عمق و شدت رنگی مناسب بر روی کالای نساجی است.

خواص ضدباکتری

در تست MIC اثر آنتی‌باکتریال رنگزای سنتز شده با رقت‌های مختلف در حلال DMSO حل شده و مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که رنگزا خاصیت ضدباکتری بهتری در مقابل باکتری‌های نوع گرم مثبت نسبت به باکتری‌های نوع گرم منفی دارد (جدول ۳). در باکتری‌های نوع گرم منفی به دلیل وجود دیواره، رقتهای بالاتر سبب مهار باکتری‌ها شده و در باکتری‌های گرم مثبت این رقت کاهش یافت و با مقدار کمتری از رنگزا مهار باکتری صورت گرفت که این می‌تواند به علت تفاوت ساختمان باکتری‌ها باشد.

جدول ۳. نتایج تست ضدباکتری با روش MIC (ug/ml)

باکتری‌های گرم مثبت		باکتری‌های گرم منفی	
S. aureus	S. mutance	P. aeruginosa	E. coli
۱۵/۶	۱۵/۶	۲۵۰	۱۲۵

نتیجه‌گیری

رنگزای راکتیو مونو آزویی که دارای استخلاف DEET است، سنتز شد. نتایج حاصل از طیف‌های ^{1}H NMR و FTIR بدست آمده و کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) از این رنگزا، حضور گروه ضدحشره‌ی N، N- دی‌اتیل–۳–متیل–تولومید و گروه ضدباکتری سولفادی آزین (SFD) را درون ساختار رنگزا تأیید کردند. نتایج حاصل از اسپکتروفتومتری نشان داد که ماده‌ی رنگزای سنتز شده که دارای طول موج ماکزیمم جذب ۵۱۷ نانومتر و ضریب جذب مولار ۵۰۲۱ لیتر بر مول سانتی‌متر است. نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت ضدباکتری رنگزای سنتز شده در مقابل هر دو نوع باکتری انتخاب شده نشان داد که ماده‌ی رنگزای سنتز شده دارای فعالیت ضدباکتری قابل قبولی است. با سنتز این رنگزای ضدحشره و ضد باکتری جدید سه فرآیند رنگرزی و تکمیل ضدحشره و تکمیل ضدباکتری در یک مرحله انجام شد که باعث کاهش هزینه‌ها و افزایش بهره‌وری می‌شود.

منابع در دفتر مجله موجود است.