JARC

سنتز و شناسایی نانوذرات وانادیم اکساید بهینه‌شده با نقره و بررسی اثر ضد باکتری آن بر اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس

مرجان حاجی محمدجوادی[۱و*]، حمیدرضا آقابزرگ[۲] و هدی پاسدار[۳]

۱- کارشناس ارشد شیمی معدنی، گروه شیمی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- استاد شیمی معدنی، پژوهشگاه صنعت نفت، تهران، ایران
۳- دانشیار شیمی معدنی، گروه شیمی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۶، بازنگری: خرداد ۱۳۹۶، پذیرش: خرداد ۱۳۹۶

چکیده: در این پژوهش، نانوذرات نقره-وانادیم اکساید با روش سل-ژل به‌عنوان ترکیب ضد باکتری تهیه شد. برای تهیه نمونه از وانادیم پنتاکسید به‌عنوان منبع وانادیم و از نقره نیترات به‌عنوان منبع نقره استفاده شد. نانوذرات تهیه‌شده به‌وسیله پراش پرتو ایکس (XRD) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مجهز به سامانه تجزیه عنصری (EDX) شناسایی شدند. نتیجه‌های به‌دست آمده ساختار مونوکلینیک را برای این نمونه تأیید کرد. آزمون ضد باکتری نمونه سنتز شده به دو روش انتشار دیسک و تعیین کمترین غلظت مهار رشد بر روی باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک اشرشیاکلی (ATCC25922) به‌عنوان یک باکتری گرم منفی و استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC6538) به‌عنوان یک باکتری گرم مثبت انجام شد. نتیجه‌های به‌دست آمده نشان داد که ترکیب نانوذره نقره-وانادیم اکساید سنتز شده در هر دو روش، ویژگی ضد باکتری بالایی را دارد.

واژه‌های کلیدی: نانوذره نقره وانادیم اکساید، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، فعالیت ضد باکتری

مقدمه

قرن‌های زیادی است که فلزها به‌عنوان عامل‌های ضد باکتری استفاده می‌شوند. این ویژگی از دیرباز شناخته‌شده بوده و به‌کار می‌رفت. برای مثال، در جنگ‌ها برای ترمیم زخم‌های سربازان، سکه‌ای از جنس نقره روی زخم قرار می‌دادند و یا برای نگهداری مواد غذایی مانند شیر از ظروف نقره‌ای استفاده می‌کردند. همچنین، به دلیل این‌که یون‌های نقره و ترکیب‌های نقره نسبت به میکروارگانیسم‌ها بسیار کشنده هستند برای ساخت ضریح ائمه از آن استفاده می‌شد. پیش از پیدایش آنتی‌بیوتیک‌ها از ویژگی‌های ضد باکتری یون نقره استفاده می‌شد اما به دلیل سمیت و تغییر رنگی که یون نقره در بافت بدن انسان ایجاد می‌کند استفاده از آن کم شد تا با پیدایش آنتی‌بیوتیک‌ها به‌طور کامل کنار گذاشته شد. با مقاوم شدن میکروارگانیسم‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده از فلزات به‌ویژه نقره این بار به‌صورت نانوذرات دوباره مورد توجه قرار گرفت. نانوذرات نقره سمیت کمتری نسبت به یون نقره داشته و در بافت بدن انسان تغییر رنگ ایجاد نمی‌کنند [۱ تا ۱۰]. ذرات معدنی در حد نانو، ساده و یا مرکب، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی منحصربه‌فرد از خود نشان می‌دهند که می‌توانند در فیزیک، شیمی، زیست‌شناسی، پزشکی و داروسازی کاربردهای متعددی داشته باشند [۱۱ تا ۱۴]. در دهه گذشته، اکسیدهای وانادیم یک‌بعدی

*عهده‌دار مکاتبات: marjanjavadi100@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مانند نانوذرات وانادیم اکسید، نانومیله وانادیم اکسید، نانوسیم وانادیم اکسید، نانوکمربند وانادیم اکسید و نانولوله وانادیم اکسید به‌صورت گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است [۱۵ تا ۱۸]. در سال‌های اخیر، Klabunde و همکارانش نشان دادند که نانوذرات اکسید فلزی نیز در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی واکنش بسیار عالی نشان می‌دهند [۱۹]. اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس دو باکتری مهم در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی به شمار می‌روند. باکتری اشرشیاکولی که به‌طورمعمول با نام مخفف "ای‌کولی" نام برده می‌شود، باکتری گرم منفی میله‌ای شکل است که به‌طور شایع در بخش تحتانی روده حیوانات خونگرم یافت می‌شود. بزرگ‌ترین عامل عفونت‌های ادراری و شاخص آلودگی آب شهری به فاضلاب است. بیشتر گونه‌های ای‌کولی بی‌ضرر هستند، اما برخی از انواع آن باعث مسمومیت وخیم در انسان‌ها می‌شوند. استافیلوکوکوس اورئوس باکتری گرم مثبت کروی شکل است و یکی از عوامل مهم در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی است. این باکتری که به دلیل تولید رنگ‌دانه طلایی کارتنوئیدی، استافیلوکوک طلایی گفته می‌شود، طیف وسیعی از بیماری‌ها را در انسان شامل می‌شود. جایگاه این باکتری در طبیعت پراکنده است. در چرک بیماران، روی مخاط و پوست اشخاص سالم، آب، هوا، خاک، زمین و شیر گاو وجود دارد. انواع متفاوت آن در بین سایر حیوانات موجود است. استافیلوکوک‌ها روی هر محیط مغذی رشد می‌کنند. در نتیجه استفاده بی‌رویه از داروهای ضدمیکروبی در درمان بیماریهای عفونی، مقاومت میکروارگانیسمها در برابر خیلی از آنتی‌بیوتیک‌ها توسعه یافته است و یک نیاز برای توسعه داروهای ضدمیکروبی وجود دارد [۲۰].

در این پژوهش، نانوذرات نقره- وانادیم پنتاکسید با روش سل ژل و به‌صورت پودر جامد سنتز شد. ساختار بلوری نمونه سنتز با استفاده از الگوی پراش پرتو ایکس به‌دست آمده با الگوهای مرجع مقایسه شد. اندازه ذرات با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مجهز به سامانه تجزیه‌ای (EDX) به‌دست آمد. آزمون ضدباکتریایی روی دو نوع باکتری اشرشیاکولی (ATCC25922) و استافیلوکوک اورئوس (ATCC6538) به دو روش انتشار دیسک و حداقل غلظتی از بازدارنده که رشد باکتری‌ها را مهار می‌کند (MIC)، مورد ارزیابی قرار گرفت.

بخش تجربی

مواد مورد استفاده

برای سنتز نانوذرات نقره- وانادیم پنتاکسید، از نقره نیترات (۹۹%)، وانادیم پنتاکسید (۹۹%) و اگزالیک اسید (۹۹%) بودند که تمام آن‌ها ساخت شرکت مرک بودند، استفاده شد. برای آزمون‌های ضد باکتری از محیط کشت مولر هینتون آگار ساخت شرکت مرک و محیط کشت مولر هینتون براث ساخت شرکت سیگما استفاده شد. باکتری‌های اشرشیاکولی (ATCC25922) و استافیلوکوک اورئوس (ATCC6538) از دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و فنون دریایی تهیه شدند.

سنتز نانوذرات نقره- وانادیم پنتاکسید

برای سنتز نانوذرات نقره- وانادیم پنتاکسید از روش سل ژل استفاده شد. به این منظور، نخست ۳٫۸۰ گرم از پودر اگزالیک اسید در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. سپس ۱٫۸۱ گرم از پودر وانادیم پنتاکسید در این محلول حل شد و پس از آن ۰٫۵۵ گرم نقره نیترات در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و قطره‌قطره به محلول بالا افزوده شد. محلول در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حدود ۵ ساعت با همزن مغناطیسی هم‌زده شد و سپس به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در یک بوته چینی خشک شد. نمونه به‌دست آمده به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۵۰ درجه سانتی‌گراد در کوره کلسینه شد.

روش‌های شناسایی نمونه سنتز شده

الگوی پراش پرتو ایکس نمونه تهیه‌شده با استفاده از لامپ CuKα با طول‌موج ۱٫۵۴۰۶۰ Å به‌دست آمد. ساختار بلوری نمونه سنتز شده با الگوهای مرجع مقایسه شد. به‌منظور بررسی توزیع نانوذرات نقره- وانادیم پنتاکسید از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) ساخت شرکت KYKY چین مدل EM3200 مجهز به سامانه تجزیه‌ای (EDX) برای تجزیه عنصری نمونه‌ها استفاده شد.

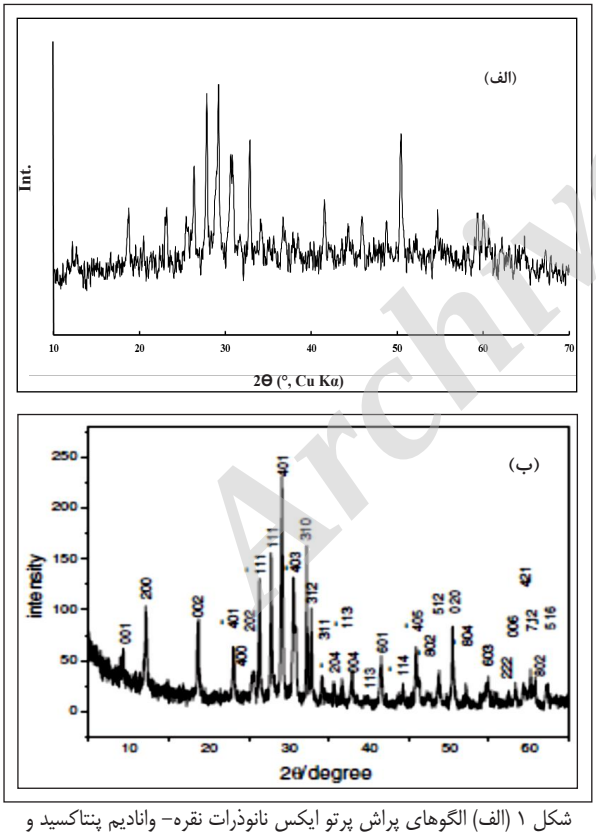
Archive of SID
www.SID.ir

آزمون ضد باکتری

برای بررسی فعالیت ضد باکتری از دو نوع باکتری اشرشیاکولی (ATCC25922) و استافیلوکوک اورئوس (ATCC6538) استفاده شد. ابتدا فعالیت ضد باکتری نانوذره نقره- وانادیم پنتاکسید به روش انتشار دیسک مورد ارزیابی قرار گرفت. ۰/۰۱ گرم از پودر نانوذره نقره- وانادیم پنتاکسید سنتز شده در ۲ میلی‌لیتر اتانول ۰/۵ درصد با دستگاه فراصوت BANDELIN electronic مدل RK ۱۰۰ ساخت کشور آلمان پراکنده شد. از تعلیقه به‌دست آمده به مقدارهای متفاوت روی دیسک‌های بلانک ریخته شد و در نهایت این دیسک‌ها بر روی محیط کشت مولر-هیلتون آگار که حاوی تعلیقه باکتری معادل نیم مک فارلند (McFarland standar) از باکتری‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس بود قرار گرفت. قطر هاله شکل‌گرفته اطراف نمونه قرصی شکل پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون صفحه آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در آون Townson & Mercer LTD ساخت کشور انگلستان اندازه‌گیری شد. سپس به روش (MIC)، حداقل غلظتی از بازدارنده که رشد باکتری‌ها را مهار می‌کرد به‌طور دقیق‌تر مشخص شد. برای انجام دادن این آزمایش از لوله‌های استریل که داخل هریک، ۱ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون براث بود، استفاده شد. سپس به ترتیب ۱۰ و ۲۰ و ۳۰ تا ۱۵۰ میکرولیتر به‌وسیله نمونه‌گیر از ترکیب سنتز شده به لوله‌ها افزوده شد. سپس از تعلیقه[1] باکتری‌های تهیه‌شده معادل نیم مک فارلند به‌اندازه ۲۰ میکرولیتر برداشته و به لوله‌ها افزوده شد. دو لوله شاهد که یکی حاوی محیط کشت و ترکیبات سنتز شده است به‌عنوان شاهد منفی و دیگری حاوی محیط کشت و تعلیقه باکتری بود به‌عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. پس از آن لوله‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور گذاشته شد. مقدار کدورت لوله‌ها که بیانگر مقدار رشد باکتری است خوانده شد. برای این کار می‌بایست لوله‌ها را در مقابل نور گرفته و مقدار رشد یا عدم رشد باکتری را بررسی کرد. در این روش غلظت آخرین لوله‌ای که رشد باکتری در آن مشاهده می‌شود، بیانگر MIC نمونه مورد بررسی است.

نتیجه‌ها و بحث

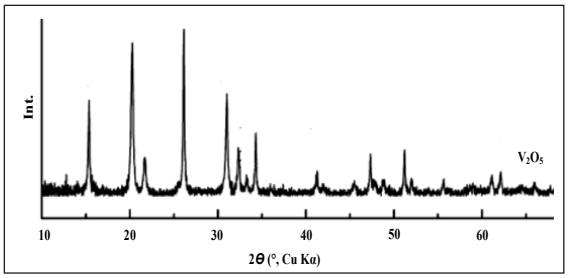
الگوی پراش پرتو ایکس نانوذرات نقره- وانادیم پنتاکسید سنتز شده در شکل ۱- الف نشان داده شده است. این الگو با الگوی نمونه استاندارد beta-$Ag_{0.33}V_2O_5$ در شکل ۱- ب هم‌خوانی بسیار خوبی دارد [۲۱]. با مطالعه این الگو و مقایسه آن با الگوی نمونه مرجع نانوذرات وانادیم پنتاکسید (JPCDS No: 890612) در شکل ۲ و الگوی مرجع نانوذرات نقره (JPCDS No: 89-3722) در شکل ۳ مشخص شد که تفاوت آشکاری بین این الگوها وجود دارد. این مقایسه همچنین، نشان می‌دهد که نمونه سنتز شده خالص بوده و دارای ناخالصی نیست. طیف تجزیه عنصری که در شکل ۴ نشان داده شده نیز وجود عنصرهای وانادیم و نقره را در این نمونه تأیید می‌کند. وجود عنصر Au مربوط به پوشش دهی نمونه با طلاست.



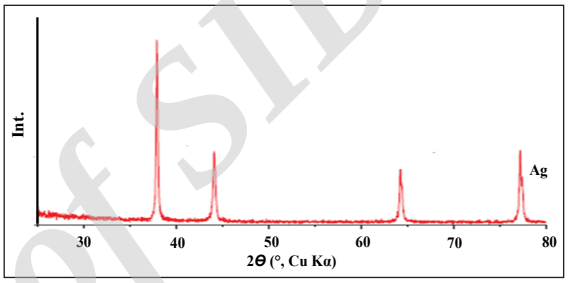
شکل ۱ (الف) الگوهای پراش پرتو ایکس نانوذرات نقره- وانادیم پنتاکسید و (ب) نمونه استاندارد beta-$Ag_{0.33}V_2O_5$

1. Suspension

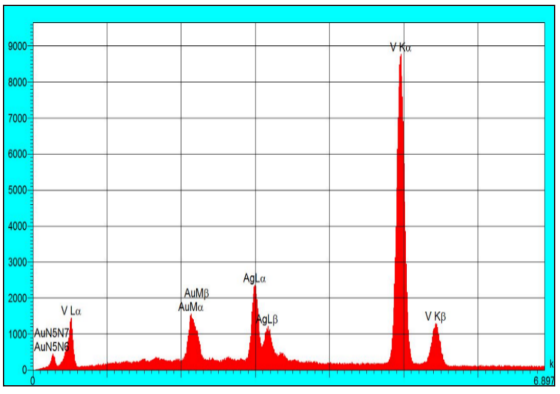
Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۲ الگوی پراش پرتو ایکس نمونه مرجع نانوذرات وانادیم پنتاکسید

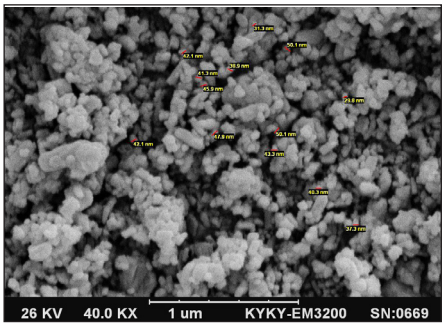


شکل ۳ الگوی پراش پرتو ایکس نمونه مرجع نانوذرات نقره



شکل ۴ طیف EDX نانوذرات نقره- وانادیم پنتاکسید

تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نمونه سنتز شده در شکل ۵ ارائه شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، اندازه ذرات در مقیاس نانو است. البته به علت چگالی سطحی بالای نانوذرات و تمایل به تجمع، توده‌هایی نیز در تصویر دیده می‌شود.



شکل ۵ تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذرات نقره- وانادیم پنتاکسید

همان‌گونه که در شکل ۶ نشان داده شده در آزمون ضد باکتری به روش انتشار دیسک، دیسک‌های خالی با قطر ۴ میلی‌متر شامل غلظت‌های متفاوتی از تعلیقه نانوذرات نقره-وانادیم پنتاکسید در صفحه محیط کشت مولر-هیلتون آگار قرار داده شد. این صفحه‌ها حاوی تعلیقه باکتری معادل نیم مک فارلند (McFarland standar) از باکتری‌های اشرشیاکلی (الف) و استافیلوکوکوس اورئوس(ب) بود. از غلظت ۵ میکروگرم تا ۱۰۰ میکروگرم با فاصله ۵ میکروگرم برای هر باکتری ۲۰ بار آزمایش انجام شد. در غلظت‌های پایین از تعلیقه نانوذرات نقره-وانادیم پنتاکسید به‌عنوان بازدارنده، هاله عدم رشد باکتری دیده نمی‌شد. با افزایش غلظت بازدارنده هاله عدم رشد باکتری کم‌کم مشاهده شد. با افزایش مجدد غلظت بازدارنده با وجود این‌که انتظار می‌رفت با افزایش غلظت تعلیقه نانوذرات نقره- وانادیم پنتاکسید قطر هاله عدم رشد باکتری بزرگ‌تر شود، اما قطر هاله عدم رشد دوباره کم شد. کم شدن قطر هاله عدم رشد باکتری به‌این‌علت بود که بازدارنده به‌صورت تعلیقه روی محیط کشت جامد به‌خوبی پخش نمی‌شد. نقطه بهینه غلظت تعلیقه نانوذرات نقره-وانادیم پنتاکسید، ۳۰ میکروگرم محاسبه شد. قطر هاله عدم رشد باکتری برحسب میلی‌متر برای باکتری‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس در جدول ۱ گزارش شده است.

جدول ۱ قطر هاله ایجادشده اطراف نانوذره نقره-وانادیم پنتاکسید و کمترین غلظت مهار رشد باکتری

باکتری	قطر هاله عدم رشد باکتری (میلی‌متر)	کمترین غلظت مهار رشد (میکروگرم)
Staphylococcusaureus ATCC6538	۲۰	۱۵
E. coli ATCC25922	۱۲	۳۰

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۶ هاله عدم رشد باکتری تشکیل شده در اطراف نمونه سنتز شده بر روی محیط کشت مولر- هیلتون (الف) آگار حاوی تعلیقه باکتری اشرشیاکلی و (ب) استافیلوکوکوس اورئوس

برای تعیین کمترین غلظت مهار رشد مقادیر ۵ تا ۱۵۰ میکروگرم از نانوذرات نقره- وانادیم پنتاکسید سنتز شده با فاصله ۵ میکروگرم داخل ۳۰ لوله‌ی استریل حاوی ۱ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون براث و ۲۰ میکرولیتر تعلیقه باکتری، ریخته شد. کدورت لوله‌ها پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. برای هر باکتری آزمون دو بار تکرار شد. در جدول ۱ کمترین غلظت مهار رشد نمونه‌های سنتز شده بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است که نشان می‌دهد ماده سنتز شده حساسیت ضد باکتری قوی دارد. کمترین غلظت مهار رشد برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس که یک باکتری گرم مثبت است، کمتر از باکتری اشرشیاکلی که یک باکتری گرم منفی است، بود. دلیل این نتیجه را می‌توان این‌چنین توضیح داد که در باکتری‌های گرم منفی به علت داشتن دیواره خارجی سلولی، نفوذپذیری ترکیبات بازدارنده کمتر است.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، نانوذرات نقره-وانادیم اکساید با روش سل-ژل و به‌آسانی با اندازه ذرات کمتر از ۱۰۰ nm سنتز شد. در آزمون‌های ضد باکتری مشخص شد که این ماده می‌تواند بر روی باکتری‌های مقاوم شده به آنتی‌بیوتیک‌ها اثر ضد باکتری قوی داشته باشد. در روش انتشار دیسک به دلیل جامد بودن محیط کشت تعلیقه بازدارنده به‌راحتی پخش نمی‌شد، اما در روش کمترین غلظت مهار رشد به دلیل مایع بودن محیط کشت تعلیقه بازدارنده به‌راحتی پخش و اثر بازدارندگی به‌خوبی مشاهده شد. کمترین غلظت مهار رشد برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس که یک باکتری گرم مثبت است، کمتر از باکتری اشرشیاکلی که یک باکتری گرم منفی است، بود.

مراجع

[1] Stebounova, L.V.; Guio, E.; Grassian, V.H.J. Nanopart. Res. 13, 233–244, 2011.

[2] AshaRani, P.V.; Prakash Hande, M.; Valiyaveettil, S. BMC Cell Biol. 10, doi:10.1186/1471-2121-10-65, 2009.

[3] Dawson, K.A.; Anguissola, S.; Lynch, I. Nanotoxicology, 7, 1–4, 2012.

[4] Bleeker, A.J.; Cassee, F.R.; Geertsma, R.E.; de Jong, W.H.; Heugens, E.H.W.; Koers-Jacquemijns, M.; van de Meent, D.; Oomen, A.G.; Popma, J.; Rietveld, A.G.; et al: Bilthoven, The Netherlands, 2012.

[5] EU. Commission Recommendation of 18 October 2011 on the Definition of Nanomate-

Archive of SID

www.SID.ir

rial (Text with Eea Relevance); 2011/696/EU; Avaliable online: http://eur-lex.europa.eu/Lex-UriServ/ LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:275:0038:0040:EN:PDF (aceessed on 20 October 2011).

[6] Lindén, G. The european commission tries to define nanomaterials. Ann. Occup. Hyg, 55,1–5, 2011.

[7] Khan, S.; Mukherjee, A.; Chandrasekaran, N J. Environ. Sci. 23, 346–352, 2011.

[8] Pal, S.; Tak, Y.K.; Song, J.M. Appl. Environ. Microb.73, 1712–1720, 2007.

[9] Radziuk, D.; Skirtach, A.; Sukhorukov, G.; Shchukin, D.; Möhwald, H. Macromol. Rapid. Commun. 28, 848–855, 2007.

[10] Suresh, A.K.; Pelletier, D.; Wang, W.; Morrell-Falvey, J.L.; Gu, B.; Doktycz, M.J. Langmuir 28, 2727–2735, 2012.

[11] W.C.W. Chan, S. Nie, Science 281, 2016, 1998.

[12] A.P. Alivisatos, Science 271, 933, 1996.

[13] W.C.W. Chan, D.J. Maxwell, X. Gao, R.E. Bailey, M. Han, S. Nie,
Curr. Opin. Biotechnol. 13,40, 2002.

[14] X. Wu, H. Liu, J. Liu, K.N. Haley, J.A. Treadway, J.P. Larson, E. Ge,
F. Peale, M.P. Bruchez, Nat. Biotechnol. 21, 41, 1993.

[15] J. Livage, Chem. Mater. 3,578, 1991.

[16] N. Pinna, U. Wild, J. Urban, R. Schlogl, Adv. Mater. 15, 329, 2003.

[17] N. Magg, J.B. Giorgi, M.M. Frank, B. Immaraporn, T. Schroeder, M. Baumer, H.-J. Freund, J. Am. Chem. Soc. 126, 3616, 2004.

[18] K. Takahashi, S.J. Limmer, Y. Wang, G. Cao, J. Phys. Chem. B. 108, 9795, 2004.

[19] P.K. Stoimenov, R.L. Klinger, G.L. Marchin, K.J. Klabunde, Langmuir 18, 6679, 2002.

[20] Espinal MA, Laszlo A, Simonsen L, Boulahbal F, Williams R, Raviglione MC. New Engl J Med. 344, 1294-1303, 2001.

[21]Yi Liu, Yuanguang Zhang, Meng Zhang, Yitai Qian. Journal of Crystal Growth 289, 197–201, 2006.

Archive of SID

www.SID.ir

JARC

Synthesis and characterization of vanadium oxide nanoparticles modified with silver and the antibacterial effect on E. coli

M. Haji-Mohamad-Javadi[1,*], H.R. Aghabozorg[2] and H. Pasdar[3]

1. MSc in chemistry, North Tehran Branch of Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Prof. of inorganic chemistry, Research Institute of Petroleum Industry, Tehran, Iran
3. Associate prof. of inorganic chemistry, North Tehran Branch of Islamic Azad University, Tehran, Iran

Recieved: May 2017, Revised: June 2017, Accepted: June 2017

Abstract: In this study, silver-vanadium oxide nanoparticles were prepared by a sol-gel method as an anti-bacterial compound. Vanadium pentoxide as a source of vanadium, and silver nitrate as a source of silver were used. The prepared nanoparticles were characterized by X-ray diffraction (XRD) method and scanning electron microscope (SEM) equipped with a system for elemental analysis (EDX). The obtained results confirmed the successful synthesis of the sample and monoclinic structure. Antibacterial tests were performed on Escherichia coli as a gram-negative bacteria and Staphylococcus aureus as a gram-positive bacterium by using disc diffusion and minimum inhibitory concentration methods. The results showed that antibacterial property of this compound was very good.

Keywords: Silver-vanadium oxide nanoparticle, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Antibacterial ativity

Archive of SID

*Corresponding author Email: marjanjavadi100@yahoo.com

www.SID.ir