

سنتر و ارزیابی رفتار ضدباکتریایی نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره به عنوان یک افزودنی ضدباکتریایی به مواد دندانی

ندا بهرمندی طلوع^{۱*}، محمد حسین فتحی^{۲،۳}، احمد منشی^۴، وجیه السادات مرتضوی^۵، فرزانه شیرانی^۶ و مریم محمدی سیچانی^۷

چکیده

در این پژوهش، رفتار ضدباکتریایی نانوذرات تیتانیا و نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره در مقابل باکتری استرپتوکوکوس موتانس مورد ارزیابی گرفت و نتایج با سه باکتری بیماری‌زای دیگر مقایسه شد. ابتدا نانوذرات تیتانیا و نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره به روش سل-ژل سنتز شده و با تکنیک‌های پراش پرتو ایکس، میکروسکوپ الکترونی روبشی همراه با طیف‌سنجی تفکیک انرژی و میکروسکوپ الکترونی عبوری مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس رفتار ضدباکتریایی نانوذرات سنتز شده در مقابل باکتری استرپتوکوکوس موتانس و سه باکتری بیماری‌زای دیگر با روش آگار دایلوشن مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج ارزیابی فازی، حضور فاز آناز را در تمامی نمونه‌ها نشان داد. اندازه نانوذرات تیتانیا و نانوذرات نقره به ترتیب ۳۰ و ۱۵ نانومتر تعیین شد. نتایج آزمون‌های ضدباکتریایی نشان داد که نانوذرات تیتانیا دوپ شده با سه درصد گوناگون نقره، در حداقل غلظت بازدارندگی ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باعث عدم رشد باکتری می‌شوند در حالی که نانوذرات تیتانیا در حضور نور فلوروسنت و در حداقل غلظت بازدارندگی ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، تنها کاهش رشد باکتری را از خود نشان می‌دهند. افزون بر این، حداقل غلظت بازدارندگی برای سه باکتری بیماری‌زای دیگر ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد که این مقدار مربوط به نانو ذرات تیتانیا دوپ شده با ۵ درصد مولی نقره بود و در دیگر نانوذرات رشد باکتری مشاهده شد. نتایج بدست آمده نشان‌دهنده افزایش خاصیت ضدباکتریایی نانوذرات تیتانیا در اثر حضور نقره است. علت این افزایش هم حضور نانوذرات نقره با خاصیت ضدباکتریایی و هم اثر نقره بر خاصیت فوتوکاتالیستی نانوذرات تیتانیا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات تیتانیا، نقره، دوپ کردن، خاصیت ضدباکتریایی.

۱- کارشناس ارشد مهندسی مواد، دانشکده مهندسی مواد، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲- استاد، گروه پژوهشی بیومواد، دانشکده مهندسی مواد، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران.

۳- مرکز تحقیقات مواد دندانی، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۴- استاد، دانشکده مهندسی مواد، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

۵- استاد، مرکز تحقیقات دندانپزشکی پروفیسور ترابی‌نژاد و گروه ترمیمی و زیبایی دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۶- دانشیار، مرکز تحقیقات دندانپزشکی پروفیسور ترابی‌نژاد و گروه ترمیمی و زیبایی دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۷- مربی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، گروه میکروبیولوژی، اصفهان، ایران.

*- نویسنده مسئول مقاله: Bahremandi.n@gmail.com

پیشگفتار

پوسیدگی دندان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های شناخته شده می‌باشد که ۹۵٪ جمعیت جهان در سنین گوناگون زندگی به آن مبتلا هستند و در کشورهای فقیر و در حال توسعه هنوز به عنوان یک مشکل سلامت عمومی مطرح می‌باشد. استفاده از برخی ضد میکروب‌ها و افزودن فلوراید به چندین مکمل رژیم غذایی باعث کاهش شیوع پوسیدگی‌های دندانی شده است، اما گزارش شده که مواد شیمیایی ضدباکتریایی اغلب فلور باکتریایی پوسیدگی دهانی را تخریب کرده و روی گوارش اثر می‌گذارند. همچنین، در برخی از موارد استفاده از فلوراید چندان موثر نیست. به همین دلیل، نیاز به استفاده از ماده‌ای است که خصوصیت ضدباکتریایی خوبی داشته باشد و مقاومت ایجاد نکند [۱].

دی‌اکسید تیتانیم یا تیتانیا ماده‌ای سفید رنگ، سازگار با محیط زیست، غیرسمی و دارای خاصیت فوتوکاتالیستی می‌باشد [۲]. این ماده فوتون‌هایی با طول موج کم‌تر از ۳۸۰۰ آنگستروم را جذب کرده و الکترون و حفره تولید می‌کند که می‌تواند گونه‌های فعال اکسیژن (مثل رادیکال‌های رادیکال‌های اکسیژن و هیدروکسیل و یون O_2^{-2}) را از راه واکنش H_2O و O_2 جذب شده روی سطح تیتانیا، تولید نماید. پتانسیل اکسیداسیون بالای گونه‌های اکسیژن فعال، می‌تواند برای مواردی همچون پاکسازی هوا، دفع عفونت، پوشش ضدباکتریایی، صفحات فوتوکاتالیستی و غیره بکار رود [۳-۷]. تنها مانع برای استفاده از این خصوصیت تیتانیا، قرار گرفتن در اشعه فرابنفش بمنظور استفاده از خاصیت فوتوکاتالیستی می‌باشد. در مورد نانو ذرات تیتانیا افزون بر این مانع، سرعت بالای بازآرایی الکترون-حفره تولید شده، کاربرد این ذرات را محدود می‌کند [۲ و ۷]. یکی از راه‌های رفع این مشکلات و افزایش فعالیت فوتوکاتالیستی، دوپ نمودن تیتانیا با فلزات نجیب و فلزات انتقالی (مثل پلاتین، آهن، مس، طلا، نقره و...) می‌باشد. این فلزات طول موج مورد نیاز را از محدوده فرابنفش به محدوده نور مرئی منتقل کرده و حساسیت آن‌ها را افزایش می‌دهند [۲ و ۵ و ۶]. به طور کلی می‌توان گفت مهم‌ترین مزیت فرایند دوپ نمودن، بهبود راندمان جدایش بارها می‌باشد. در این حالت، طول عمر حاملان بار (الکترون و حفره تولید شده) افزایش

خواهد یافت و تعداد بیش‌تری حفره به سطح تیتانیا خواهد رسید و در نتیجه، تعداد بیش‌تری رادیکال‌های هیدروکسیل تولید خواهد شد [۸ و ۹]. لازم به ذکر است که از میان روش‌های سنتز نانوذرات تیتانیا، روش سل-ژل یک از روش‌های موفق بوده و باعث توزیع یکنواخت عنصر دوپ شده در ترکیب می‌گردد [۱۰].

از میان فلزات دوپ شده بر روی نانوذرات تیتانیا، نقره توجه زیادی را به خود جلب نموده است و پژوهش‌های زیادی در این زمینه انجام شده است [۲، ۸، ۱۱-۱۶]. انصاری و همکاران، نانو کامپوزیت تیتانیا-نقره را به وسیله روش سل-ژل و با استفاده از یک عامل کاهنده سنتز نموده و فعالیت ضدباکتریایی پودر سنتز شده را در مقابل باکتری اشرشیا کولای^۱ بررسی کردند. نتایج نشان دادند که بالاترین خاصیت ضدباکتریایی در مقابل رشد اشرشیا کولای، برای نمونه کلسینه شده در دمای ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد و پودر تیتانیا-نقره قادر است از رشد باکتری‌ها در غیاب اشعه فرابنفش جلوگیری نماید [۱۲]. همچنین، اشکاران، نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره را به روش سل-ژل سنتز نمود. آزمون ضدباکتریایی در مقابل باکتری اشرشیا کولای، افزایش قابل توجهی در خصوصیات ضدباکتریایی نانوذرات Ag/TiO_2 نشان داد که علت آن عمل کردن نقره دوپ شده به عنوان دام الکترون و در نتیجه، جلوگیری از بازترکیب الکترون و حفره تولید شده، می‌باشد [۱۷].

نقره یک عنصر مناسب و غیرسمی است و خود خاصیت ضدباکتریایی دارد به گونه‌ای که از قدیم به عنوان یک عامل ضدباکتریایی در درمان بیماری‌های عفونی استفاده می‌شده است [۱۸ و ۱۹]. با کاهش اندازه ذرات و تولید نانوذرات نقره، خاصیت ضدباکتریایی که وابسته به سطح می‌باشد، افزایش می‌یابد [۱۲ و ۱۷]. از این‌رو پژوهش‌های زیادی بر روی نانوذرات نقره انجام شده است که از جمله نتایج تجاری این پژوهش‌ها در حوزه بهداشت و پزشکی، تولید پانسمان‌های زخم، وسایل ضدبارداری، ابزارها و وسایل جراحی و پروتزهای استخوانی می‌باشد که همگی با نانو ذرات نقره پوشش داده شده‌اند [۱]. نانوذرات نقره اثر ضدباکتریایی قوی روی تعداد زیادی

^۱ - Eshershia coli

در ابتدا تیتانیم ایزوپروپوکساید، به اسید استیک اضافه و با سرعت ۶۰۰ دور بر دقیقه هم زده شد. سپس آب مقطر به صورت قطره قطره به مخلوط فوق افزوده شد (نسبت‌های مولار تیتانیم ایزوپروپوکساید، اسید استیک و آب مقطر به ترتیب برابر است با ۱:۱۰۰:۱). فرایند هم زدن محلول حاصل به مدت ۸ ساعت با استفاده از همزن مغناطیسی ادامه یافت. سپس محلول درون خشک‌کن در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و در نهایت، در کوره در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت با سرعت گرم کردن ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه کلسینه شد. برای نمونه‌های نانوذرات تیتانیا دوپ شده با ۱، ۳ و ۵ درصد مولی نقره، از نیترات نقره به عنوان حامل یون نقره استفاده شد [۱۱].

مشخصه یابی نانوذرات تیتانیا و نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره

- آزمون پراش پرتو ایکس (XRD)

فازشناسی و بررسی ساختار فازی نانوذرات تیتانیا و نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره توسط آزمون پراش پرتو ایکس (Philips X'Pert System) انجام شد. الگوهای پراش با استفاده از لامپ $\text{CuK}\alpha$ با طول موج $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$ ، در محدوده زاویه $2\theta = 10^\circ$ تا $2\theta = 100^\circ$ و با اندازه گام 0.05° به دست آمد.

ارزیابی با میکروسکوپ الکترونی روبشی به همراه سیستم تفکیک انرژی پرتو ایکس^۳

بمنظور شناسایی و بررسی توزیع نقره در نانوذرات تیتانیا دوپ شده از میکروسکوپ الکترونی روبشی به همراه سیستم تفکیک انرژی پرتو ایکس (Seron AIS 2100) استفاده شد. به این منظور، نمونه حاوی سه درصد مولی نقره دوپ شده مورد آزمون قرار گرفت.

از میکروارگانیزم‌ها دارند و مشخص شده است که اثر ضدباکتریایی آن‌ها به اندازه و شکل ذرات نقره بستگی دارد [۱ و ۱۶]. در پژوهشی که به وسیله اسپینوزا و همکارانش [۲۰] انجام شد، نانوذرات نقره خاصیت ضدباکتریایی قوی در مقابل باکتری استرپتوکوکوس موتانس (یکی از باکتری‌های مهم که باعث پوسیدگی دندان می‌شود) از خود نشان دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که با کاهش اندازه نانوذرات نقره از ۱۰۰ نانومتر به ۱۶ نانومتر، حداقل غلظت بازدارندگی^۱ (MIC) نصف می‌گردد و این به معنای افزایش خاصیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره با اندازه ذرات کوچک‌تر می‌باشد [۲۰].

از آن‌جا که نقره خاصیت ضدباکتریایی داشته و در غلظت پایین همراه با توزیع خوب روی تیتانیا، یک مخلوط مناسبی به عنوان عامل ضدباکتریایی تیتانیا- نقره فراهم می‌کند [۱۲ و ۱۷]، می‌تواند به عنوان یک افزودنی مناسب به مواد دندانی مطرح باشد. با توجه به مطالب ذکر شده، در این پژوهش، رفتار ضدباکتریایی نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین، بمنظور ارزیابی بهتر، رفتار ضدباکتریایی این نانوذرات با چند نوع باکتری بیماری‌زای دیگر مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

سنتز نانوذرات تیتانیا و نانوذرات تیتانیا دوپ شده با

نقره به روش سل-ژل

به منظور سنتز نانوذرات تیتانیا و نیز سنتز تیتانیای دوپ شده با درصد‌های گوناگون نقره، از روش سل-ژل استفاده شد. فرایند سل-ژل جذاب‌ترین روش برای ورود یون‌های فلزی خارجی به داخل پودر اکسید می‌باشد [۸]. با استفاده از این روش ساده، می‌توان پودر همگنی از تیتانیای دوپ شده با فلز (نقره) تهیه نمود [۸، ۱۱، ۱۳ و ۱۵]. در این روش از تیتانیم ایزوپروپوکساید $\text{Ti}[\text{OCH}(\text{CH}_3)_2]_4$ (۹۹٪ خالص، Merck آلمان) به عنوان پیش‌ساز تیتانیم، نیترات نقره AgNO_3 (۹۹٪ خالص، Applichem آلمان) و از اسید استیک CH_3COOH (۹۹٪ خالص، Merck آلمان) به عنوان حلال استفاده شد [۱۱].

^۱ - Minimum Inhibitory Concentration

^۲ - Step size

^۳ - Scanning Electron Microscopy with Energy Dispersive X-ray

ارزیابی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری

از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) ساخت شرکت Philips، مدل CM-FEG ۱۲۰ با طول موج ۰٫۳۷ آنگستروم و ولتاژ ۲۰۰kV جهت مطالعه مورفولوژی و تخمین اندازه ذرات پودر تولیدی استفاده شد. به کمک تصاویر بدست آمده و با استفاده از نرم افزار Image Tools، اندازه ذرات محاسبه گردید.

آزمون ضدباکتریایی

نانوذرات تیتانیا و نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره
در آزمون‌های مربوط به بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوپودرهای تیتانیا دوپ شده با نقره، باکتری‌ها از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران تهیه شد. باکتری‌های مورد استفاده در این آزمون‌ها استرپتوکوکوس موتانس^۱ (ATCC: 35668)، استافیلوکوکوس آرنوس^۲ (ATCC:25923)، اشرشیاکولای^۳ (ATCC:25922) ، سودوموناس آروژینوزا^۴ (ATCC:27853) بود. فعالیت ضدباکتریایی نانوپودرهای تیتانیا و تیتانیا دوپ شده با درصدهای گوناگون نقره به روش آگار دایلوشن^۵ مورد ارزیابی قرار گرفت [۲۱]. روش آگار دایلوشن یکی از بهترین روش‌های ارزیابی اثرات ضدباکتریایی بویژه برای موادی است که در محیط‌های آبی حلالیت مناسبی ندارند. در این روش غلظت‌های گوناگون از نانوذرات در محیط جامد آگاردار تهیه شد و سپس تعداد استاندارد از باکتری‌های مورد آزمایش بر روی این محیط‌های کشت در مجاورت نانوذرات کشت داده شد. سوسپانسیون جوان و فعالی از هر باکتری در محیط کشت BHI^۶ آماده گردید. برای اجرای هر مرحله از آزمون‌ها، مطابق با روش‌های استاندارد سوسپانسیون باکتری با کدورتی معادل کدورت نیم استاندارد مک فارلند^۷ (معادل $10^8 \times 1/5$ باکتری در هر میلی‌لیتر از محیط کشت) تهیه شد. بمنظور تعیین میزان

حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) به روش آگار دایلوشن، غلظت‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از نانوپودرهای تیتانیا و نانوپودرهای تیتانیا دوپ شده با درصدهای گوناگون نقره، در محیط کشت مولر هینتون آگار^۸ تهیه شد. محیط‌های کشت حاوی نانوپودرها در دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد با فشار ۱۵ پوند بر اینچ و به مدت ۱۵ دقیقه استریل شده و سپس درون پلیت‌های استریل توزیع شدند. پس از خنک شدن آگار موجود در محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های گوناگون از نانوپودرها، ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی بر روی آن‌ها کشت داده شد. سپس پلیت‌های کشت داده شده به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از مدت زمان معین، پیدایش کلنی‌های باکتری روی محیط‌های کشت مورد بررسی قرار گرفت. عدم تشکیل کلنی بر روی محیط‌های کشت حاوی نانو ذرات نشانه فعالیت ضد میکروبی آن غلظت از ماده مورد نظر خواهد بود.

نتایج و بحث

شکل ۱، الگوهای پراش پرتو ایکس نانوذرات تیتانیا و نانوذرات تیتانیا دوپ شده به روش سل-ژل را نشان می‌دهد. مقادیر ۱، ۳ و ۵ درصد مولی نقره بر روی نانوذرات تیتانیا دوپ شده و نمونه‌ها در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد عملیات حرارتی شدند. بررسی‌های فازی با استفاده از الگوهای پراش پرتو ایکس نانوذرات تیتانیا و نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره نشان داد که تنها فاز مشاهده شده در الگوهای پراش، فاز آاناتاز از تیتانیا می‌باشد که با الگوی استاندارد 00-004-0477 تطابق خوبی دارد. همچنین، اثری از فاز روتایل دیده نشد. هیچ پیکی از نقره مشاهده نشد و این می‌تواند به دلیل کم بودن میزان نقره و در نتیجه، عدم آشکار شدن به وسیله آنالیز پراش پرتو ایکس باشد [۲ و ۲۲]. افزون بر این، مشاهده نشدن پیک‌های نقره در نمونه کلسینه شده در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد می‌تواند بیانگر حضور همگن ذرات نقره در ترکیب باشد چرا که بررسی‌های انجام شده به وسیله پژوهشگران [۱۱]، نشان داد که با افزایش دمای

¹ - Streptococcus mutans

² -Staphylococcus aureus

³ - Escherichia coli

⁴ - Pseudomonas aeruginosa

⁵ - Agar Dilution

⁶ - Brain Hearth Infusion agar

⁷ - McFarland standard

⁸ - Muller Hinton Agar

گفت نقره دوپ شده روی سطح نانوذرات تیتانیا به گونه یکنواخت در ترکیب توزیع شده است و توزیع همگنی از نانوذرات نقره در میان نانوذرات تیتانیا وجود دارد. درحالی که نتایج این آنالیز توزیع یکنواخت نقره را در ترکیب نشان می‌دهد، عدم توزیع یکنواخت نقره در روشی که از نانوپودر تیتانیای آماده استفاده می‌کند، گزارش شده است [۷]. در نتیجه، می‌توان گفت که یکی از مزایای دوپ کردن به روش سل-ژل بدست آوردن ترکیبی همگن و یکنواخت از نانوذرات دوپ شده با نقره می‌باشد درحالی که در روش دیگر توزیع یکنواختی وجود نخواهد داشت. از طرفی موثر بودن یون فلزی وارد شده به عوامل گوناگونی از جمله میزان فلز وارد شده و چگونگی توزیع آن وابسته است [۶]. افزون بر این، در موارد زیادی گزارش شده است که افزایش میزان فلز دوپ شده، بیش از حد بهینه اثر معکوس بر روی فرایند دارد چرا که در این حالت، سطح نانوذرات تیتانیا با نقره پوشیده شده و مانع از تماس مستقیم ماده آلی یا باکتری با سطح ذرات می‌گردد [۲]. از این رو، عدم توزیع یکنواخت نقره در ترکیب می‌تواند باعث کاهش روند بهبود خاصیت ضدباکتریایی گردد.

به منظور تعیین اندازه ذرات از نمونه نانوذرات تیتانیا دوپ شده با سه درصد مولی نقره، تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری تهیه گردید (شکل ۳). با دقت در تصاویر دو نوع ذره مشاهده می‌شود: ذرات تقریباً کروی شکل که خاکستری روشن هستند و ذرات شبه کروی که به رنگ تیره‌تر (سیاه) می‌باشند. ذرات روشن‌تر، نانوذرات تیتانیا و ذرات تیره‌تر که بر روی این ذرات قرار گرفته‌اند، نانوذرات نقره می‌باشند [۱۳]. همان‌طور که اشاره شد، به دلیل این‌که اندازه شعاع یون نقره از شعاع تیتانیوم بزرگتر است، یون نقره نمی‌تواند وارد ساختار تیتانیا شده و نهایتاً بر روی سطح ذرات تیتانیا قرار می‌گیرد [۸ و ۱۳].

نتایج بدست آمده از آزمون تعیین حداقل غلظت بازدارندگی برای نانوذرات تیتانیا و نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره در مقابل باکتری استرپتوکوکوس موتانس در جدول ۱ ارائه شده است (علامت + به معنای رشد باکتری و علامت - به معنای عدم رشد آن باکتری در غلظت مربوطه می‌باشد). رشد باکتری‌ها با ایجاد جرم میکروبی در مناطق کشت مشخص می‌گردد که بر حسب نوع باکتری

کلسینه شدن تا ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد، پیک‌هایی از نقره در الگوی پراش ظاهر می‌شود و این پیک‌ها با پیک‌های نقره موجود در الگوی پراش نمونه‌ای حاوی ۱۰۰٪ نیترات نقره کلسینه شده در ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد مطابقت دارد. در طی کلسینه شدن اتم‌های Ag تمایل به آگلومره شدن به خوشه‌های نقره را دارند. از این‌رو، عدم حضور پیک‌های نقره می‌تواند به دلیل کم بودن میزان نقره در ترکیب و نیز توزیع یکنواخت آن باشد که با افزایش دما باعث نفوذ ذرات نقره به سمت سطح ذرات تیتانیا شده و تشکیل آگلومره‌هایی را می‌دهند که امکان تشخیص آنها توسط آنالیز پراش پرتو ایکس فراهم می‌گردد [۱۱]. همچنین، در نتایج پراش پرتو ایکس هیچ پیکی از اکسید نقره یا فازهای دیگری مثل تیتانات نقره مشاهده نشد [۱۰] و نیز هیچ تفاوتی در الگوهای پراش نانوذرات تیتانیا و نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره وجود ندارد [۱۱ و ۱۴]. براین اساس، حفظ ساختار فاز آاناتاز و نیز عدم تغییر پیک‌ها می‌تواند بیانگر قرار گرفتن ذرات نقره در سطح نانوذرات تیتانیا باشد [۱۴]. شعاع یون‌های Ag^+ (۱۲۶ پیکومتر) بزرگ‌تر از Ti^{4+} (۶۸ پیکومتر) بوده و بنابراین، یون‌های نقره وارد شده از فرایند سل-ژل، نمی‌توانند وارد شبکه فاز آاناتاز شوند. در طی کلسینه شدن با افزایش بلورینگی، به گونه یکنواخت یون‌های نقره از حجم ذرات تیتانیا به سطح مهاجرت می‌کنند و در نتیجه، نقره روی سطح ذرات رسوب می‌نماید [۱۱ و ۱۳]. با توجه به الگوهای پراش، افزایش درصد نقره دوپ شده باعث تغییر فاز تیتانیا (در دمای ثابت ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد) نشده و همچنین، به دلیل این که نانوذرات نقره در انتهای فرایند در ترکیب وجود داشته و به خوبی در کل ترکیب توزیع شده‌اند، هیچ پیکی از نقره فلزی دیده نمی‌شود [۱۴].

بمنظور بررسی حضور و چگونگی توزیع نقره در نانوذرات دوپ شده با نقره، از نمونه حاوی سه درصد مولی نقره در مناطق گوناگون، آنالیز عنصری با طیف سنجی تفکیک انرژی پرتو ایکس گرفته شد. در شکل ۲ تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی و نواحی آنالیز شده به همراه طیف آنالیز ناحیه ۲، ارائه شده است. این آنالیز مقدار نقره را در نواحی ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۳/۶۵، ۳/۲۸ و ۳/۴۵ درصد اتمی را نشان می‌دهد. در نتیجه، می‌توان

جرم تشکیل شده به رنگ‌های گوناگون مشاهده می‌شود. شکل ۴ پلیت مربوط به نمونه شاهد (بدون حضور عامل ضدباکتریایی) را نشان می‌دهد و رنگ‌های گوناگون ایجاد شده مربوط به رنگدانه‌های تولید شده توسط هر باکتری در اثر رشد آن می‌باشد. شکل ۵ پلیت‌های حاوی نانوپودر تیتانیا دوپ شده با یک درصد مولی نقره در غلظت‌های گوناگون را نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود در غلظت‌های پایین (از نانوذرات تیتانیا دوپ شده بانقره) رشد باکتری‌ها وجود دارد اما افزایش غلظت نانوذرات کاهش رشد باکتری‌ها را به دنبال دارد. همچنین از میان چهار باکتری بررسی شده، رشد باکتری استریپتوکوکوس موتانس کم‌تر از دیگر باکتری‌ها می‌باشد. با بررسی رشد یا عدم رشد باکتری‌ها در محیط کشت‌های حاوی غلظت‌های گوناگون از نانوپودر تیتانیا، حداقل غلظت بازدارنده آن تعیین شد. جدول ۲، حداقل غلظت‌های بازدارندگی را برای نمونه‌های گوناگون نشان می‌دهد. با مقایسه نتایج آزمون‌ها مشخص می‌شود که نانوذرات تیتانیا دوپ شده با مقادیر گوناگون نقره در غلظت ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و در مقابل باکتری استریپتوکوکوس موتانس از خود خاصیت ضدباکتریایی نشان داده‌اند. همچنین، افزایش درصد نقره از یک درصد مولی به ۳ و ۵ درصد مولی تأثیری بر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) نداشته و از این رو، نمونه حاوی یک درصد نقره به عنوان نمونه بهینه انتخاب گردید. بنابراین، می‌توان گفت حضور نقره باعث افزایش خاصیت ضدباکتریایی تیتانیا شده است، اما افزایش درصد نقره تأثیری قابل محسوس بر افزایش این خاصیت در مقابل باکتری استریپتوکوکوس موتانس نداشته است. به طور کلی، مقدار رشد باکتری حتی در غلظت‌های کم از نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره، کم بود و در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رشد بسیار ناچیزی مشاهده شد.

افزون بر این، با توجه به جداول کمینه غلظت بازدارندگی در نانوذرات تیتانیا دوپ شده با درصد‌های گوناگون نقره برای باکتری استریپتوکوکوس موتانس، ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد. درحالی که برای دیگر باکتری‌ها تنها نانوذرات تیتانیا دوپ شده با ۵ درصد مولی نقره، مانع از رشد باکتری شده‌اند و برای دیگر نانوذرات

دوپ شده با نقره رشد باکتری مشاهده گردید. این اختلاف را می‌توان به میزان نقره دوپ شده و نقش نقره در از بین بردن باکتری‌های گوناگون نسبت داد. استریپتوکوکوس موتانس و استافیلوکوکوس آرنوس از باکتری‌های گرم مثبت و اشرشیا کولای و سودوموناس آئروژینوزا از باکتری‌های گرم منفی می‌باشند و این درحالی است که تفاوت اساسی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت در ساختار تشکیل دهنده پوشش سلولی آن‌هاست. بنابراین، بالا بودن حداقل غلظت بازدارنده نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره بر اشرشیا کولای و سودوموناس آئروژینوزا به احتمال زیاد، به علت نفوذپذیری کم این باکتری‌ها در مقابل ورود ذرات خارجی می‌باشد. استافیلوکوکوس آرنوس نیز اگرچه باکتری گرم مثبت است، ولی پوشش بسیار مستحکم‌تری دارد که در برابر شرایط نامطلوب محیط آن را حفظ می‌کند. حداقل غلظت بازدارنده ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای استریپتوکوکوس موتانس در مقایسه با سایر باکتری‌های مورد آزمایش دور از انتظار نمی‌باشد چراکه پوشش خاص این باکتری امکان نفوذ ذرات خارجی را به سهولت فراهم می‌کند [۲۳].

همان‌گونه که در مقدمه بیان شد، نانوذرات تیتانیا خاصیت ضدباکتریایی داشته و این خاصیت وابسته به تابش نور می‌باشد. بنابراین، استفاده از نانوذرات تیتانیا همراه با تابش نور فرابنفش می‌تواند باعث افزایش خاصیت ضدباکتریایی گردد به گونه‌ای که پژوهشگران نانوذرات تیتانیا را به عنوان یک ترکیب مناسب جهت افزودن به سیمان گلاس آینومر^۱ (یکی از مواد پرکردنی دندانی) معرفی نمودند. آن‌ها گزارش کردند که حتی در مقادیر کم از تیتانیا (حدود ۰.۱٪) خاصیت ضدباکتریایی افزایش پیدا کرده است بدون آن‌که باعث کاهش خواص دیگر گلاس آینومر گردد [۲۴]، اما با دوپ نمودن فلز نقره و تقویت خاصیت ضدباکتریایی تیتانیا، انتظار می‌رود که این خاصیت افزایش یافته و در مقادیر کم نیز خاصیت ضدباکتریایی از خود نشان دهد، چرا که افزون بر نقش نقره دوپ شده بر فعال شدن نانوذرات تیتانیا در محدوده نور مرئی، خود نقره نیز خاصیت ضدباکتریایی دارد. پژوهش‌ها نیز نشان داده است که یون‌های نقره با گوگرد،

^۱ -Glass ionomer cement

باکتری از $4+$ به $3+$ را نشان دادند و باعث عدم رشد کامل باکتری‌ها نشدند ($4+$ به معنای رشد زیاد باکتری و $3+$ رشد متوسط باکتری را نشان می‌دهد). همان‌گونه که بیان شد، نانوذرات تیتانیا تنها در مقابل نور از خود خاصیت ضدباکتریایی نشان می‌دهند. علت آن هم تولید الکترون و حفره در اثر برخورد نور با نانوذرات تیتانیا می‌باشد، اما از آن‌جا که در نانوذرات تیتانیا سرعت بازآرایی و ترکیب دوباره این الکترون و حفره بسیار بالاست، خاصیت ضدباکتریایی کم بوده و وابسته به تابش نور می‌باشد. درحالی که عمل دوپ نمودن فلز بر سطح نانوذرات تیتانیا باعث تغییر محدوده جذب نور از فرابنفش به مرئی می‌گردد. از سوی دیگر، پس از خارج شدن از کوره و به دلیل قرار گرفتن در معرض نور تغییر رنگ داده و تیره می‌شوند. علت این امر احیای یون نقره موجود روی نانوذرات تیتانیا می‌باشد. در اثر برخورد نور با ذرات، الکترون و حفره‌ها تحریک شده و الکترون از نوار هدایت به نوار ظرفیت می‌آیند و در آن‌جا این الکترون تولید شده به وسیله یون‌های نقره قرار گرفته روی سطح، جذب شده و Ag^+ به Ag فلزی تبدیل می‌گردد. در اثر این فرایند رنگ نانوپودر تیره می‌گردد. نکته مهم این‌جاست که در اثر جذب الکترون، حفره ایجاد شده باقی مانده و بازآرایی الکترون - حفره کاهش می‌یابد. حفره باقی مانده در نوار ظرفیت، با باکتری‌ها واکنش داده و باعث تخریب ساختمان آن‌ها می‌گردد. گزارش شده است که این پدیده باعث تقویت فرایند ضدباکتریایی می‌گردد [۸، ۲۵ و ۲۶] و این تیره شدن در نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره در همه درصدهای نقره مشاهده شد. به گونه‌ای که میزان تیره شدن با افزایش میزان نقره، شدت می‌یافت.

نتیجه‌گیری

نانوذرات تیتانیا و نانوذرات تیتانیا دوپ شده با درصدهای گوناگون نقره، به روش سل - ژل سنتز شد. رفتار ضدباکتریایی در مقابل باکتری استرپتوکوکوس موتانس و سه نوع باکتری بیماری‌زای دیگر ارزیابی گردید. نانوذرات تیتانیا دوپ شده با درصدهای گوناگون نقره، دارای کمینه غلظت بازدارندگی ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مقابل باکتری

اکسیژن و نیتروژن در مولکول‌های میکروارگانسیم‌ها واکنش داده و پروتئین سلولی را غیرفعال نموده، غشا را شکسته و در نهایت، باعث مرگ سلول می‌گردند [۱۲]. همچنین، نفوذ سریع نقره در باکتری و واکنش با گروه‌های SH- آنزیم متابولیکی اکسیدکننده می‌تواند باعث مرگ باکتری گردد [۱۹]. از سوی دیگر، گزارش شده است که اندازه ذرات و شکل ذرات نقره عاملی مهم برای خاصیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره بشمار می‌رود به گونه‌ای که کاهش اندازه ذرات باعث درگیری مناسب با باکتری شده و این خاصیت را افزایش می‌دهد [۱۵ و ۱۶]. کاهش اندازه ذرات باعث افزایش یون نقره آزاد شده از سطح شده و خاصیت ضدباکتریایی بیشتری را فراهم می‌نماید [۱۹]. افزون بر اندازه نانوذرات، شکل ذرات نیز موثر بوده و ریخت‌شناسی کروی شکل، توانایی درگیری با باکتری و در نهایت، انهدام باکتری را دارد [۱۶]. همان‌گونه که از تصاویر شکل ۳ دیده می‌شود، نانوذرات نقره تقریباً کروی می‌باشند و پژوهش‌ها نشان داده است که شکل ذرات نقره بر روی خاصیت ضدباکتریایی آن موثر است به گونه‌ای که بهترین شکل نانو ذرات نقره برای جلوگیری از رشد باکتری به ترتیب نانو ذرات گوشه دار و بی شکل، نانو ذرات کروی و نانو ذرات میله‌ای شکل می‌باشند چرا که به ترتیب توانایی درگیری بیشتری با باکتری‌ها دارند [۱ و ۱۶-۱۹]. همچنین، نانوذرات نقره با اندازه ذرات کوچک (حدود ۱۰ نانومتر) خواص ضدباکتریایی بهتری از خود بروز می‌دهند [۱۵]. بنابراین، انتظار می‌رود که خاصیت ضدباکتریایی به دلیل حضور نانوذرات نقره قرار گرفته در زمینه تیتانیا، با توجه به شکل و اندازه آن‌ها (۱۵ نانومتر) افزایش یابد و این علاوه بر اثری است که نقره در خاصیت فوتوکاتالیستی نانوذرات تیتانیا دارد و باعث تقویت این خاصیت می‌گردد.

گفتنی است که بررسی خاصیت ضدباکتریایی برای هر نمونه هم در آنکوباتور با نور فلئوروسنت و هم بدون نور بررسی گردید. برای نمونه‌های حاوی نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره تفاوتی در حالت بدون نور و با نور پس از ۲۴ ساعت قرار گرفتن در معرض باکتری، مشاهده نشد. در حالی که نمونه‌های تیتانیا در بالاترین غلظت یعنی ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و تنها در حضور نور، کاهش رشد

مولی نقره به عنوان نمونه بهینه انتخاب شد. نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره می‌تواند به عنوان یک ماده افزودنی به مواد ترمیمی دندان‌ی مطرح باشد و باعث افزایش خاصیت ضدباکتریایی این مواد گردد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات سرکار خانم سمیه پارسا‌فر از اعضاء باشگاه پژوهشگران جوان که در اجرای مراحل پژوهش ما را یاری نمودند، سپاسگزاری می‌شود.

استرپتوکوکوس موتانس می‌باشند درحالی که برای نانوذرات تیتانیا در بالاترین غلظت، یعنی ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و تنها در حضور نور، کاهش رشد باکتری را نشان دادند و باعث عدم رشد کامل باکتری‌ها نشدند. به طور کلی، حضور نقره باعث افزایش خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات تیتانیا شده است، اما افزایش درصد نقره تاثیری قابل محسوس بر افزایش فعالیت ضدباکتریایی در مقابل باکتری استرپتوکوکوس موتانس ندارد. از این رو، نانوذرات تیتانیا با یک درصد

References

- 1- M. Guzman, J. Dille, S. Godet, "Synthesis and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria", *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, Vol. 8, p.p 37–45, 2012.
- 2- E. Pipelzadeh, A.A. Babaluo, M. Haghghi, A. Tavakoli, M. Valizadeh Derakhshan, and A. Karimzadeh Behnami, "Silver Doping on TiO₂ Nanoparticles Using a Sacrificial Acid and its Photocatalytic Performance Under Medium Pressure Mercury UV Lamp", *Chemical Engineering Journal*, Vol. 155, pp. 660–665, 2009.
- 3- A.L Linsebigler, G. Lu, and J.T. Yates, "Photocatalysis on TiO_n Surfaces: Principles, Mechanisms, and Selected Results", *Chemical Review*, Vol. 95, pp. 735-758, 1995.
- 4- P. Chin, Kinetics of Photocatalytic Degradation Using Titanium Dioxide Films, ProQuest, p. 2-7, 2008.
- 5- C. Yi, P. Xiao-Yan, M. Xue-Ming, and Hui, Z., "Study on Photocatalysis Properties of Nanocrystalline Titanium Dioxide", *Journal of Shanghai University*, Vol. 6, pp. 240-243, 2002.
- 6- A. Zaleska, "Characteristic of Doped-TiO₂ Photocatalysts", *Physicochemical Problems of Mineral Processing*, Vol. 42, pp. 211-222, 2008.
- 7- D. Beydoun, R. Amal, G. Low, and S. Evoy "Role of Nanoparticles in Photocatalysis", *Journal of Nanoparticle Research*, Vol. 1, pp. 439 – 458, 1999.
- 8- A. Alem, and H. Sarpoolaky "The Effect of Silver Doping on Photocatalytic Properties of

Titania Multilayer Membranes", *Solid State Sciences*, Vol. 12, pp. 1469-1472, 2010.

۹- م. مختاری مهر، م. ح. شریعت و م. پاک شیر، "بررسی خاصیت فتوکاتالیستی لایه نازک 2 V doped TiO₂ تهیه شده با روش سل-ژل"، *مجله مواد نوین*، جلد ۲، شماره ۳، ص ۲۶-۲۱، بهار ۱۳۹۱.

10- S. Sivakumar, P. Krishna Pillai, P. Mukundan, and K.G.K. Warriar, "Sol-gel Synthesis of Nanosized Anatase from Titanil Sulfate", *Materials Letters*, Vol. 57, pp. 330–335, 2002.

11- M.K.Seery, R. George, P. Floris, and S.C. Pillai., "Silver Doped Titanium Dioxide Nanomaterials for Enhanced Visible Light Photocatalysis", *Journal of Photochemistry and Photobiology*, Vol. 189, pp. 258–263, 2007.

12- S. Ansari. Amin, M. Pazouki, and A.Hosseinnia "Synthesis of TiO₂-Ag Nanocomposite with Sol-Gel Method and Investigation of its Antibacterial Activity Against E. Coli", *Powder Technology*, Vol. 196, pp. 241–245, 2009.

13- H.E. Chaoa, Y.U. Yuna, H.U. Xingfanga, and A. Larbot, "Effect of Silver Doping on the Phase Transformation and Grain Growth of Sol-Gel Titania Powder", *Journal of the European Ceramic Society*, Vol. 23, pp. 1457–1464, 2003.

14- N. Sobana, M. Muruganadham, and M. Swaminathan, "Nano-Ag particles Doped TiO₂ for Efficient Photodegradation of Direct azo dyes", *Journal of Molecular Catalysis*, Vol. 258, pp. 124 –132, 2006.

15- C. Suwanchawalit, P. Chanhom1, P. Sriprang, and S. Wongnawa "A Ag-Doped TiO₂ Photocatalyst for Dye Decolorization

- under UV and Visible Irradiation", Pure and Applied Chemistry International Conference, 2011.
- 16- S. Pal, Y.K. Tak, and J.M. Song, "Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle?" , Applied and Environmental Microbiology, Vol. 73, pp. 1712-1720, 2007.
- 17- A.A., Ashkarran "Antibacterial Properties of Silver-Doped TiO₂ Nanoparticles Under Solar Simulated light", Journal of Theoretical and Applied Physics, Vol. 4, pp. 1-8, 2011.
- 18- X. Chen, H.J. Schluesener, " Nanosilver: A Nanoproduct in Medical Application", Toxicology Letters, Vol. 176, p.p 1-12, 2008.
- 19- R. Mahendra, Y. Alka, and G. Aniket "Silver Nanoparticles as a New Generation of Antimicrobials", Biotechnology Advances, Vol. 27, pp. 76-83, 2009.
- 20- L.F. Espinosa-Cristóbal, G.A. Martínez-Castañón, R.E. Martínez-Martínez, J.P. Loyola-Rodríguez, N. Patiño-Marín, J.F. Reyes-Macias, Facundo Ruiz, "Antibacterial Effect of Silver nanoparticles Against Streptococcus mutans", Materials Letters, Vol. 63, p.p 2603-2606, 2009.
- 21- I. Wiegand, K. Hilpert, R. E. W. Hancock, "Agar and Broth Dilution Methods to Determine the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of Antimicrobial Substances", Nature Protocols, Vol.3, No.2, p.p 163-175, 2008.
- 22- A. Alem, H. Sarpoolaky, and M. Keshmiri, " Titania Ultrafiltration membrane: Preparation, Characterization and Photocatalytic Activity", Journal of the European Ceramic Society, Vol. 29, pp. 629-635, 2009.
- 23- C.R. Mahon, D.C. Lehman, G. Manuselis, Textbook of Diagnostic Microbiology, ISBN: 978-1-4160-6165-6, p. 8-10, 2010.
- 24- K. Tomono, E. Takigawa, T. Suzuki, and M. Ohira, " Effect of TiO₂ Photocatalyst on Physical Properties and Antibacterial Action of Glass Ionomer Cement for Luting", Material Technology, Vol. 22, pp. 83-89, 2004.
- 25- C. Sahoo, A.K. Gupta and A. Pal, "Photocatalytic Degradation of Methyl Red dye in Aqueous Solutions Under UV Irradiation Using Ag⁺ Doped TiO₂", Desalination, Vol. 181, pp. 91-100, 2005.
- 26- D.B. Hamal, and K.J. Klabunde, "Synthesis, Characterization, and Visible Light Activity of New Nanoparticle Photocatalysts Based on Silver, Carbon, and Sulfur-Doped TiO₂", Journal of Colloid and Interface Science, Vol. 311, pp. 514-522, 2007.

پیوست‌ها

جدول ۱- نتایج آزمون ضدباکتریایی برای نانوذرات تیتانیا و نانوذرات تیتانیا دوپ شده با درصد‌های گوناگون نقره در مقابل

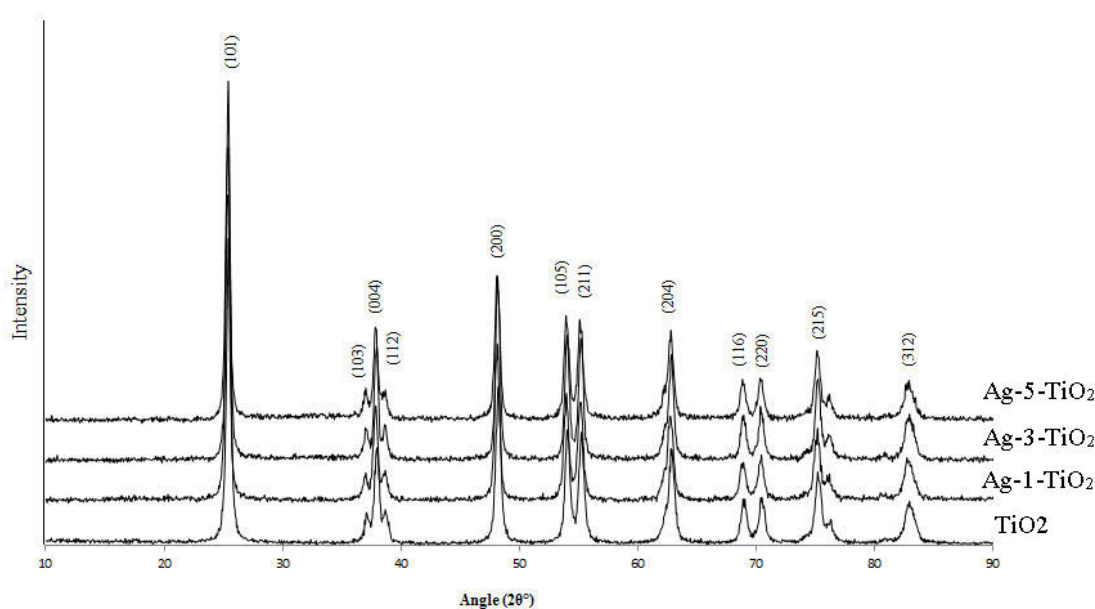
باکتری *Streptococcus mutans* (+: رشد باکتری، -: عدم رشد باکتری).

باکتری	نمونه	غلظت‌های مورد استفاده (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)				
		۱	۲	۳	۴	۵
<i>S.mutans</i>	TiO ₂ (Anatase)	+	+	+	+	+
	Ag-1-T	+	-	-	-	-
	Ag-3-T	+	+	-	-	-
	Ag-5-T	+	+	-	-	-
<i>S.aureus</i>	TiO ₂ (Anatase)	+	+	+	+	+
	Ag-1-T	+	+	+	+	+
	Ag-3-T	+	+	+	+	+
	Ag-5-T	+	+	+	-	-
<i>E.coli</i>	TiO ₂ (Anatase)	+	+	+	+	+
	Ag-1-T	+	+	+	+	+
	Ag-3-T	+	+	+	+	+
	Ag-5-T	+	+	+	-	-
<i>P.aeruginosa</i>	TiO ₂ (Anatase)	+	+	+	+	+
	Ag-1-T	+	+	+	+	+
	Ag-3-T	+	+	+	+	+
	Ag-5-T	+	+	+	-	-

جدول ۲- حداقل غلظت‌های بازدارندگی (MIC) برای نانوذرات تیتانیا و نانو ذرات تیتانیای دوپ شده با درصد‌های گوناگون نقره در مقابل باکتری‌های گوناگون.

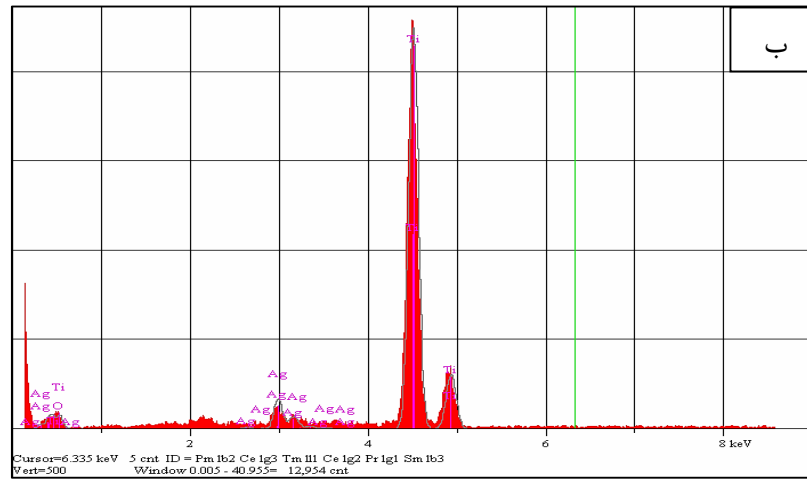
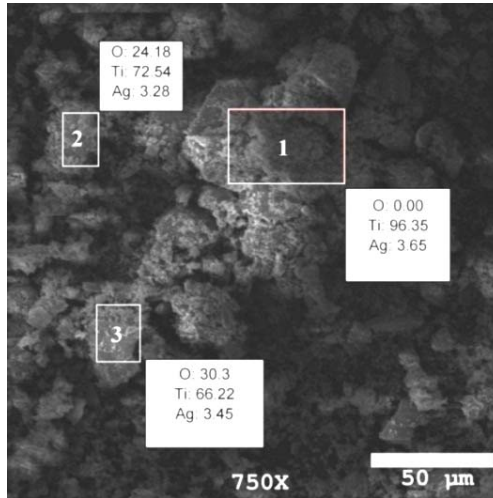
کد نمونه	حداقل غلظت بازدارندگی (میلی گرم بر میلی لیتر)			
	<i>S.mutans</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>
TiO ₂ (Anatase)	۵*	۵*	۵*	۵*
Ag-1-T	۳	-	-	-
Ag-3-T	۳	-	-	-
Ag-5-T	۳	۴	۴	۴

*کاهش رشد باکتری از ۴+ به ۳+ و در حضور نور فلوئورسنت در این غلظت مشاهده شد.
- به معنای رشد در تمامی غلظت‌های مورد بررسی.

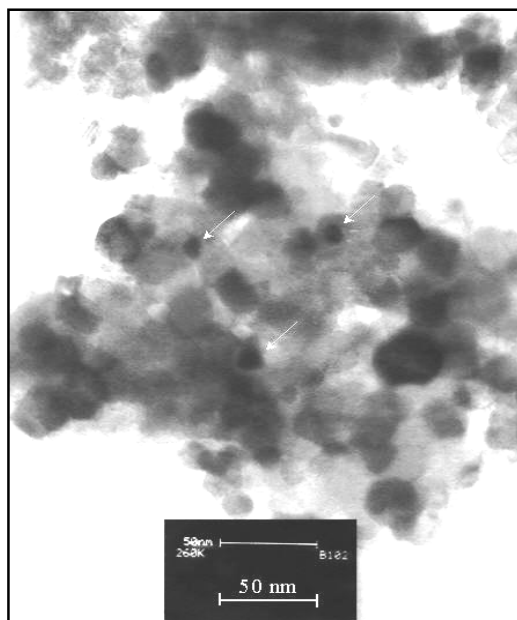


شکل ۱- الگوهای پراش پرتو ایکس نانوذرات تیتانیا و نانوذرات تیتانیا دوپ شده با درصد‌های گوناگون نقره به روش سل-ژل.

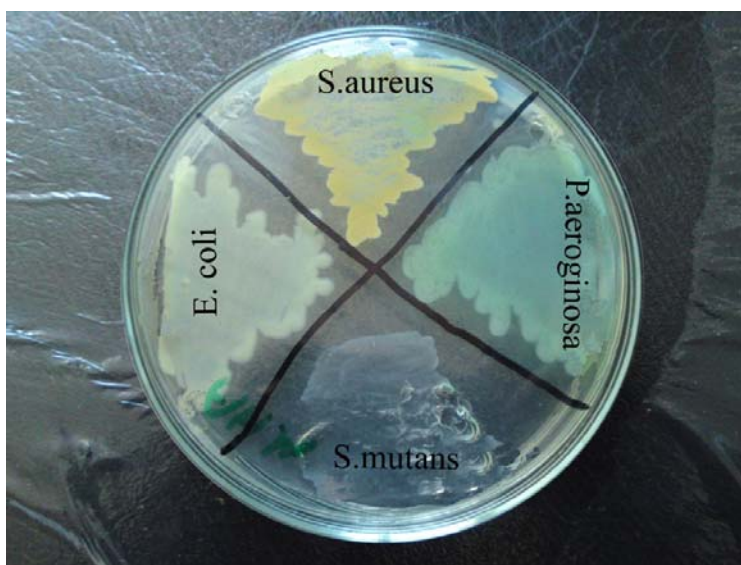
Elt.	Line	Intensity (c/s)	At%	الف	Conc (wt%)
O	Ka	0.00	0.00		0.00
Ti	Ka	104.47	96.35		92.13
Ag	La	6.89	3.65		7.87



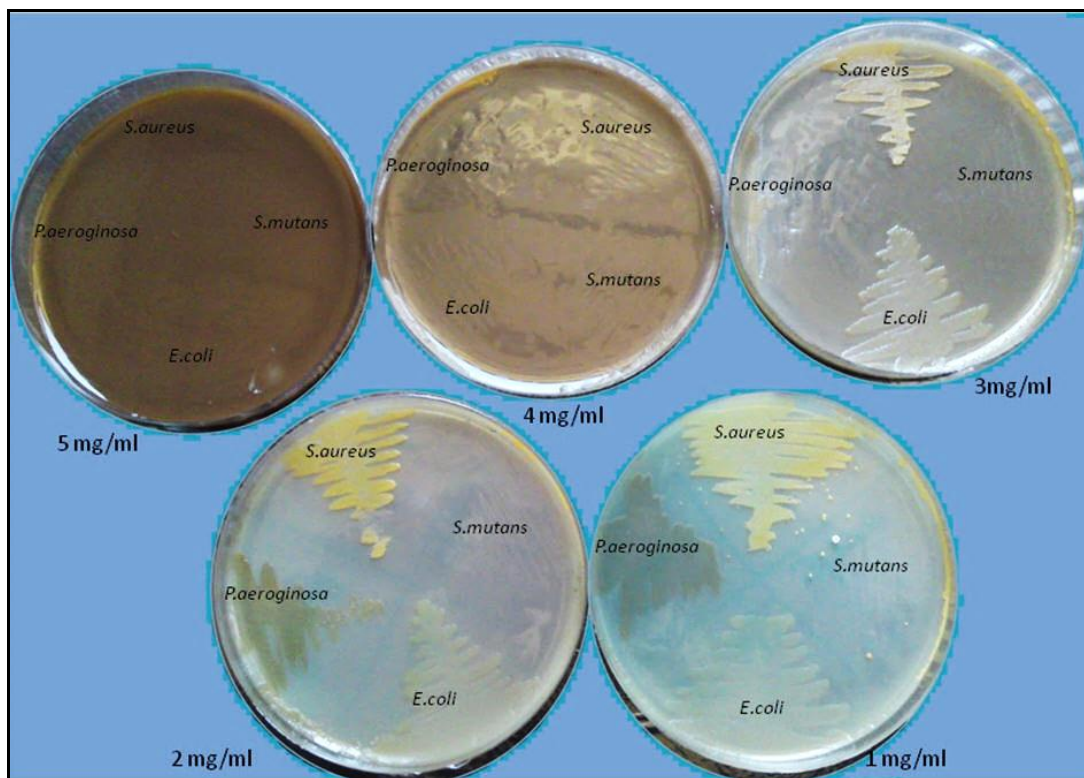
شکل ۲- الف) تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی به همراه نواحی آنالیز عنصری (EDS) و ب) طیف آنالیز ناحیه‌ی ۲، از نانوذرات تیتانیا دوپ شده با سه درصد مولی نقره.



شکل ۳- تصویر میکروسکوپی الکترونی عبوری از نانوذرات تیتانیا دوپ شده با سه درصد مولی نقره در مقیاس ۵۰ نانومتر.



شکل ۴- نمونه شاهد (بدون حضور نانوذرات تیتانیا یا نانوذرات تیتانیا دوپ شده با نقره به عنوان عامل ضدباکتریایی).



شکل ۵- پلیتهای حاوی غلظتهای گوناگون از نانوپودر تیتانیا دوپ شده با یک درصد مولی نقره.

