Archive of SID

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان
مقاله پژوهشی
دوره ۲۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۵

اثر نانو ذره نقره در حذف باکتری کلبسیلا پنومونیه جدا شده از پساب‌های صنعتی صنایع همدان

رضا حبیبی پور [۱،*]، مینا صادقیان [۲]، اصغر سیف [۳]، سمیه بیات [۱]

[۱] گروه میکروبیولوژی، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران
[۲] گروه محیط زیست، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران
[۳] گروه آمار ،دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

*نویسنده مسئول: رضا حبیبی پور، استادیار گروه میکروبیولوژی، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران. ایمیل: habibipour@iauh.ac.ir

DOI: 10.21859/hums-23046

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۵/۰۸
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۹/۲۸

واژگان کلیدی:
کلبسیلا پنومونیه
نانو ذرات
نقره
فاضلاب

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی همدان محفوظ است.

چکیده

مقدمه: پیشرفت در علوم و فناوری نانو در دهه گذشته، فرصت‌های زیادی برای بررسی اثرات بیولوژیکی از جمله اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات ایجاد کرده است. هدف این مطالعه تعیین خواص ضد میکروبی نانو ذرات نقره در حذف باکتری کلبسیلا پنومونیه جدا شده از پساب‌های صنعتی است.

روش کار: در این مطالعه تجربی، پس از نمونه برداری از صنایع آلوده تست‌های مربوط به کلیفرم کل و مدفوعی با روش‌های استاندارد میکروبیولوژی انجام شد. فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات نقره بر روی باکتری‌های مذکور (ایزوله و استاندارد کلبسیلا پنومونیه)، با روش رقت سازی در محیط مایع مورد بررسی قرار گرفت. به هر یک از رقت‌ها یک میلی لیتر سوسپانسون باکتری حاوی 10^8 CFU/mL × ۱/۵ اضافه و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. پس از طی شدن مدت مذکور طول موج ۶۰۰ nm برای اندازه گیری غلظت باکتری‌ها استفاده شد. سپس از هر رقت ۱۰۰ میکرولیتر روی محیط پخش و گرمخانه‌گذاری شد. در نهایت نتایج به کمک روش‌های آماری و نرم‌افزار SPSS ۲۲ آنالیز و تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: آلودگی کلیفرم کل و توتال پساب صنایع نساجی تأیید و باکتری کلبسیلا پنومونیه (شاخص آلودگی صنایع نساجی) ایزوله گردید. با افزایش غلظت، میزان فعالیت ضدباکتریایی نانو ذرات نقره بیشتر شد و تعداد کلنی‌ها کاهش یافت. هر چند هیچ یک از غلظت‌ها قادر به مهار و حذف کامل باکتری‌ها نبود و بر پایه نوع باکتری گرچه اثر، متفاوت بود ولی این تفاوت به لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد، متغیرهای مورد بررسی یعنی نوع باکتری و غلظت نانو ذرات نقره از عوامل مؤثر در بروز خاصیت ضد میکروبی نانو ذرات نقره است. گر چه غلظت‌های مورد استفاده بر باکتری‌های مذکور مؤثر بودند ولی باعث حذف کامل باکتری‌ها نشدند.

مقدمه

امروزه یکی از مهمترین مسائل روز جامعه نگرش نو و پایدار به منابع آب و بر نامه ریزی برای آن می‌باشد. توسعه پایدار به شدت وابسته به مدیریت بهینه منابع آب است. بنابراین تدوین استراتژی‌های مناسب و ارائه راهکارهای مقابله با بحران آب و اولویت بندی این راهکارها به منظور تمرکز بیشتر در جهت مقابله اصولی با آن بسیار مفید و کاربردی خواهد بود. سال ۲۰۵۰ میلادی انسان برای تأمین آب مورد نیاز خود مجبور است نیمی از کل منابع آب شیرین دنیا را به خدمت گیرد و اگر رشد صنعت و جمعیت به شدت کنونی ادامه یابد، نیاز مبرم به اتخاذ سیاست‌های آبی مناسب‌تری است تا بتوان به مدیریت صحیح و تخصیص عادلانه آن در بخش‌های مختلف مصرفی پرداخت [۱, ۲]. براساس گزارش سازمان ملل در آیندهٔ نزدیک، حدود ۳۱ کشور جهان با کم‌بود آب مواجه خواهند شد و نام ایران به عنوان یکی از بزرگترین کشورهای درگیر بحران آب در آینده مطرح می‌شود. بر اساس شاخص سازمان ملل و همچنین موسسه بین المللی مدیریت آب (IWMI) ایران در وضعیت بحران شدید آبی قرار دارد و از سوی دیگر خشکسالی‌های دوره‌ای، استفاده بی‌رویه از منابع، تغییر کاربری زمین‌ها، شرایط هیدرولوژیکی و عوامل اجتماعی، از قبیل رشد جمعیت، مهاجرت، نبود فرهنگ صحیح مصرف و عواملی از قبیل سوءمدیریت منابع، ناتوانی نهادهای مسئول برای تأمین خدمات انتقال آب، سیاست‌های اقتصادی نامناسب، تحولات اجتماعی و برنامه ریزی ضعیف دولت-ها از جمله مواردی هستند که باعث آلودگی منابع آب، شیوع بیماری‌های مرتبط و تشدید فزاینده بحران آب در بسیاری از

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 10:21 +0430 on Sunday April 30th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 10:21 +0430 on Sunday April 30th 2017

کشورها شده است [۳]. در حدود ۱/۱ میلیون نفر در جهان به منبع آشامیدنی با کیفیت بالا دسترسی ندارند. بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی (WHO) در سال ۲۰۰۸ میزان مرگ و میر مرتبط با بیماری‌های منتقله آب بیش از ۵ میلیون نفر در سال بوده است. بنابراین گندزدایی آب برای از بین بردن میکروب‌های بیماری‌زا ضروری می‌باشد. یک گندزدای ایده آل بایستی ویژگی‌هایی از قبیل خاصیت ضد باکتریایی گسترده در دمای محیط و در زمان کوتاه، عدم تولید محصولات جانبی گندزدایی مضر برای سلامتی در طی استفاده و بعد از استفاده، قیمت ارزان، ذخیره‌سازی و استفاده آسان، حلالیت بالا در آب و عدم خورندگی داشته باشد. نانو ذرات می‌توانند نقش مهمی در فرایندهای گندزدایی ایفا کنند. کارشناسان معتقدند که فناوری نانو می‌تواند نقش کلیدی دررفع مشکلات تصفیه آب و پساب داشته باشد [۴]. بهره‌گیری از فناوری نانو در فرایند تصفیه آب، راه حل مناسبی است تا بتوان به سادگی آب آلوده را برای استفاده در کشاورزی ویا حتی برای مصارف خانگی بازیافت نمود. با توسعه فناوری نانو در صنعت آب و فاضلاب، می‌توان تحولی عظیم در تأمین آب مصرفی و بخش‌های وابسته به آن، به وجود آورد. کاربردهای فناوری نانو در تصفیه آب، گندزدایی، استفاده بهینه ازآب سفره‌های زیر زمینی وبهبود سازه‌های آبی از جمله ویژگی‌هایی است که صنعت آب و فاضلاب با استفاده از فناوری نانوبه دنبال تحقق آن است. بسیاری از نانو ذرات از قبیل نانو ذرات نقره، فتوکاتالیست دی اکسید تیتانیوم، منیزیم اکسید، نانو ذرات آهن و ... برای غیر فعال سازی میکروارگانیسم‌های موجود در آب آشامیدنی، فاضلاب، آب‌های سطحی و دیگر منابع پیشنهاد شده‌اند. با توجه به خاصیت ضد میکروبی نقره و افزایش این خاصیت در مقیاس نانو، می‌توان از آن در مبارزه با عوامل بیماری‌زای مختلف انسانی و حیوانی بهره‌مند شد. نانو ذرات نقره به دلیل رسانایی مناسب، پایداری شیمیایی، خواص کاتالیتیک، فتونیک و اپتوالکترونیک بسیار مورد توجه محققان است. در زمینه تحقیقات مرتبط با علوم زیست شناسی، نانو ذرات نقره به عنوان عامل باکتری کش استفاده شده‌اند. اخیراً در ردیابی DNA نیز کاربرد پیدا کرده‌اند. با توسعه علم نانو تکنولوژی و تولید نانو ذرات نقره، استفاده از نقره به عنوان ماده باکتری‌کش قدرتمند رونق یافته است. این نانو ذرات خصوصیاتی مانند میزان سطح بالا، اندازه کوچک و پراکندگی بالا می‌باشند. با وجود این‌که اثرات ضد میکروبی نقره بر روی باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها به خوبی شناخته شده است، اما مکانیسم و روش اثر نقره بر روی انواع میکروب‌ها هنوز ناشناخته است [۵-۸]. بنابراین در این مطالعه سعی شده از نانو ذرات نقره جهت تعیین کارایی فعالیت ضد میکروبی غلظت‌های گوناگونی از نانو ذرات نقره برروی باکتری کلبسیلا پنومونیه ایزوله شده از پساب‌های صنعتی و نمونه استاندارد آن استفاده شود، شاید بتوان در آینده از این مواد در پاک‌سازی پساب‌های صنعتی استفاده کرد.

روش‌کار

این مطالعه به صورت مقطعی تجربی و در مقیاس آزمایشگاهی انجام شد. آزمون‌های تشخیصی کلیفرم کل و مدفوعی از پساب نمونه‌برداری شده برپایه روش آزمون استاندارد ملی ۳۷۵۹ انجام شد. گونه‌های باکتری استفاده شده در این مطالعه شامل باکتری گرم منفی کلبسیلا پنومونیه (ایزوله و استاندارد) که نوع ایزوله آن به روش صافی غشایی از پساب جدا سازی شد. باکتری‌ها قبل از استفاده، در شرایط هوازی و در محیط نوترینت براث برای مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند، کلنی‌های روییده از نظر ماکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفتند. برای شناسایی باکتری‌های جداشده، هریک از کلنی‌های به دست آمده کدبندی شدند و آزمایشات مربوط به تعیین هویت شامل میکروسکوپی، بیوشیمیایی و ژنتیکی روی آنها انجام گرفت. سپس باکتری کلبسیلا پنومونیه ایزوله شناسایی و هم‌چنین نمونه استاندارد آن (PTCC700603) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه و مورد استفاده قرار گرفت.

آماده سازی محلول‌های نانو ذره نقره: نانو ذره نقره مذکور به صورت محلول کلوئیدی دریک ویال ۱ لیتری از شرکت نانو نصب پارس خریداری شد. حساسیت کلبسیلا پنومونیه به نانو ذرات نقره با استفاده از روش استاندارد تهیه رقت سریال در محیط آگاردار بررسی شد [۹, ۱۰]. به این صورت که رقت‌های دو برابر کم‌شونده از نانو ذرات نقره با غلظت اولیه ۰/۱% (۱۰۰۰ ppm) در محیط آگاردار تهیه شد. و غلظت‌های به دست آمده در سری رقت عبارت بودند از: ppm ۳/۹ ،۷/۸۱ ،۱۵/۶۲ ،۳۱/۲۵ ،۶۲/۵ ،۱۲۵ ،۲۵۰ و ۵۰۰ هم‌چنین کلیه محیط کشت‌های مصرفی ساخت شرکت مرک آلمان بود.

دستگاه‌ها، وسایل و مواد مورد استفاده شامل هود مدل (JTLV2X)، اسپکتروفتومتر مدل (3510 Jenway)، انکوباتور مدل (2002 H)، پمپ خلاء، ترازوی دیجیتال، شیکر، لوله‌های تخمیری، وسیله تلقیح، بطری‌های نمونه‌برداری، انواع میکروپلیت، پتری دیش و محیط کشت‌های ساخت شرکت مرک آلمان.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 10:21 +0430 on Sunday April 30th 2017

بررسی اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره به روش رقت سازی در محیط مایع

ابتدا برای شاهد یک استاندارد نیم مک فارلند تهیه شد. به این منظور ۰/۶ ml از محلول کلرور باریم ۱ درصد در ۱۰۰ ml اسیدسولفوریک به حجم ۱۰۰ رسانده شد و جذب نوری یا دانسیته نوری این محلول برابر با ۱ خوانده شد. محیط‌های نوترینت براث که از قبل آماده و درون لوله‌های در دار ریخته شده بود را در نزدیکی شعله قرار داده و سپس یک لوپ کامل از کلبسیلا پنومونیه (ایزوله و استاندارد) که از قبل فعال شده بود به محیط نوترینت براث وارد کرده و تکان داده شد تا باکتری کاملاً در محیط یکنواخت شود. لوله‌های مذکور به مدت ۲۴ ساعت در دمای $37^{o}C$ گرمخانه گذاری شد. سپس کدورت لوله‌های حاوی نوترینت براث و باکتری بررسی شدند. این کدورت مشابه کدورت استاندارد نیم مک فارلند است و جذب نوری آن برابر با ۱ و طبق استاندارد نیم مک فارلند شمارش باکتری در آن CFU/mL ^{8}۱۰ × ۱/۵ از باکتری کلبسیلا پنومونیه بود. عملیات یاد شده به طور مشابه برای باکتری کلبسیلا پنومونیه استاندارد نیز تکرار شد.

در این آزمایش از ۱۰ لوله استریل که هر یک حاوی ۵ میلی لیتر محیط کشت مولر هینتون براث بود، استفاده گردید. سپس ۵ میلی لیتر از نانو ذرات با غلظت اولیه مورد نظر را به لوله یک اضافه نموده و پس از مخلوط کردن نانو ذره با محیط کشت و هموژن شدن توسط شیکر ۵ میلی لیتر از محلول برداشته و به لوله دوم اضافه گردید و به همین ترتیب تا لوله آخر نانو ذره‌ها رقیق شدند. از لوله آخر ۵ میلی لیتر برداشته و بیرون ریخته شد. به این ترتیب غلظت‌های ppm ۳/۹ ۷/۸۱، ۱۵/۶۲، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ از نانو ذرات بدست آمد. آن‌گاه از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده معادل نیم مک فارلند به اندازه ۱۰۰ میکرولیتر توسط سمپلری که از قبل در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در فشار ۱۵ Ibf/in^2 استریل شده بود برداشته و به هر لوله اضافه گردید. لوله شماره ۹ حاوی محیط کشت و سوسپانسیون باکتری به عنوان شاهد مثبت و لوله شماره ۱۰ حاوی محیط کشت و نانو ذره به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد. سپس تمامی لوله‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد و برای تعیین میزان غلظت مواد، که سبب مهار رشد میکروارگانیسم‌ها می‌شود، میزان کدورت لوله‌ها (OD) که بیان‌گر رشد باکتری تلقیح شده در حضور نانو ذره می‌باشد در طول موج ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway ۳۵۱۰) خوانده شد. برای به دست آوردن حداقل غلظت کشندگی، از لوله‌هایی که شفاف به نظر می‌رسیدند، یعنی نشانه‌هایی از کدورت یا رشد باکتری در آن‌ها دیده نمی‌شد، مقدار کمی توسط سوآپ استریل برداشته و با روش کشت خطی بر روی پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل کرده و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری رشد یا عدم رشد باکتری‌ها بر روی پلیت‌ها مورد بررسی قرار گرفت. تمامی‌آزمایش‌ها برابر با دستورالعمل‌های موسسه استاندارد و آزمایشگاه پزشکی (clinical laboratory and standards institute= CLSI) انجام شد [۱۱, ۱۲]. جهت تجزیه و تحلیل داده‌های این پژوهش، از آزمون‌های آماری تحلیل واریانس مختلط و من-ویتنی استفاده شد. البته به‌منظور انتخاب آزمون مناسب، فرض نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف مورد بررسی قرار گرفت. در صورت معنادار بودن اثر عوامل این پژوهش بر متغیرهای وابسته، اندازه اثر نیز با استفاده از ضریب گزارش شد. جهت پردازش‌های آماری، از نرم افزار SPSS ۲۲ استفاده شد.

یافته‌ها

بررسی نتایج این آزمون‌ها در نمونه‌های پساب صنایع نساجی مثبت و باکتری کلبسیلا پنومونیه (شاخص صنایع نساجی) از پساب این صنایع ایزوله شد. نتایج اثر غلظت‌های متفاوت سوسپانسیون نانو نقره بر باکتری ایزوله و استاندارد در جدول ۱ آمده است. به منظور افزایش دقت تمامی آزمون‌ها برای هر غلظت، ۳ بارتکرار شد و میانگین نتایج گزارش شد. طبق مشاهدات هیچ‌یک از غلظت‌ها قادر به حذف کامل رشد باکتری‌ها نبودند.

با توجه به جدول ۲، برای بررسی متغیرها که شامل؛ غلظت‌های گوناگون نانو ذرات نقره و نوع ایزوله و استاندارد باکتری کلبسیلا پنومونیه است، از تحلیل واریانس مختلط استفاده شد. در مورد غلظت نانو ذرات و $F=3303.492$,$df_1=8$,$df_2=108$ و $P\text{-}Value\cong 0<\alpha=0.05$ هم‌چنین درمورد نوع باکتری نیز با توجه به‌این‌که $F=333.715$,$df_1=1$,$df_2=108$ و $P\text{-}Value\cong 0<\alpha=0.05$ و شده‌است. بنابراین، تفاوت میزان کدورت در غلظت‌های گوناگون نانو ذرات در باکتری‌های ایزوله و استاندارد تأیید می‌شود.

همان‌گونه که از تصویر ۱ پیداست، نتایج بررسی روش رقت لوله‌ای نشان داد که با افزایش غلظت نانو ذرات در داخل لوله‌ها، میانگین میزان کدورت یا به عبارت دیگر رشد باکتری‌ها کاهش می‌یابد.

www.SID.ir

Archive of SID

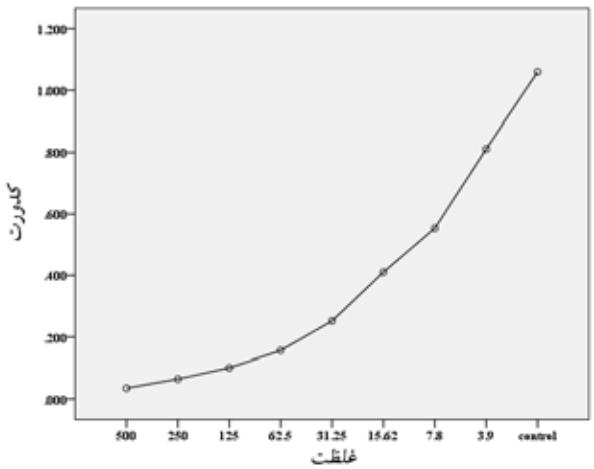
جدول ۱: تعیین کارایی غلظت‌های گوناگون نانوذرات نقره در مهار رشد باکتری کلبسیلا پنومونیه [a]

غلظت‌های گوناگون نانو ذرات نقره، ppm	سنجش شماره ۱		سنجش شماره ۲		سنجش شماره ۳	
	باکتری استاندارد	باکتری ایزوله	باکتری استاندارد	باکتری ایزوله	باکتری استاندارد	باکتری ایزوله
۵۰۰	۰/.۰۴۴	۰/.۰۴۷	۰/۰۳۹	۰/۰۴۹	۰/۰۴۵	۰/۰۴۸
۲۵۰	۰/۰۵۶	۰/۰۱۳۱	۰/۰۵۸	۰/۰۱۳۸	۰/۰۶۳	۰/۱۱۹
۱۲۵	۰/۱۲۹	۰/۱۶۴	۰/۱۲۹	۰/۱۶۶	۰/۱۳۴	۰/۱۵۳
۶۲/۵	۰/۱۶۶	۰/۱۸۷	۰/۱۵۹	۰/۱۸۰	۰/۱۸۵	۰/۱۹۷
۳۱/۲۵	۰/۲۶۹	۰/۳۰۶	۰/۳۰۲	۰/۳۲۹	۰/۲۶۸	۰/۲۹۱
۱۵/۶۲	۰/۴۱۶	۰/۴۳۷	۰/۳۹۹	۰/۵۱۳	۰/۴۲۸	۰/۴۴۲
۷/۸۱	۰/۵۱۰	۰/۶۶۰	۰/۴۹۷	۰/۶۳۵	۰/۵۷۲	۰/۵۹۵
۳/۹	۰/۸۶۹	۰/۹۹۷	۰/۸۹۲	۰/۹۷۴	۰/۸۹۶	۰/۹۵۱
کنترل مثبت	۱/۰۸۶	۱/۱۹۲	۱/۱۰۹	۱/۱۷۹	۱/۰۳۵	۱/۲۰۲
کنترل منفی	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶

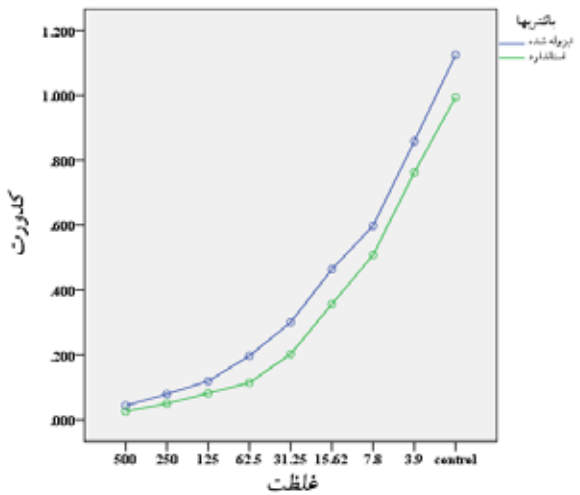
* اندازه‌گیری میزان جذب برای باکتری کلبسیلا پنومونیه درطول موج ۶۰۰ nm

جدول ۲: نتایج آنالیز متغیرهای مورد مطالعه در مهار رشد باکتری‌ها از پساب بوسیله نانو ذرات نقره

متغیرها	مجموع مربعات نوع III	درجه آزادی	میانگین توان دوم	F	سطح معنی‌دار	اندازه اثر
غلظت	۱۸/۷۳۹	۸	۲/۳۴۲	۳۳۰۳/۴۹۲	۰/۰۰۰	۰/۹۹۶
نوع	۰/۲۳۷	۱	۰/۲۳۷	۳۳۳/۷۱۵	۰/۰۰۰	۰/۷۵۶
غلظت نوع	۰/۰۵۵	۸	۰/۰۰۷	۹/۶۰۹	۰/۰۰۰	۰/۴۱۶
خطا	۰/۰۷۷	۰/۱۰۸,۰۰۱	–	–	–	
کل	۴۳/۳۵۰	۱۶۲	–	–	–	–



تصویر ۱: مقایسه میانگین کدورت (رشد باکتری) در غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره و گروه کنترل



تصویر ۲: بررسی اثر نوع باکتری (ایزوله-استاندارد) بر میزان کدورت

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 10:21 +0430 on Sunday April 30th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 10:21 +0430 on Sunday April 30th 2017

تصویر ۲ نشان‌دهندهٔ اثر تقابلی باکتری‌های ایزوله و استاندارد و سطوح هشت‌گانه متغیر غلظت نانو ذرات بر میزان کدورت است. همان‌طور که از نمودار پیداست باکتری استاندارد در تمامی سطوح کدورت کمتری نسبت به باکتری ایزوله نشان می‌دهد.

برای بررسی و سنجش دقیق میانگین کدورت در سطح باکتری‌ها (ایزوله- استاندارد)، باید از تی- آزمون مستقل استفاده شود، اما چون فرض نرمال بودن داده‌ها رد شده می‌بایستی ناپارامتری تی- آزمون مستقل یعنی من-ویتنی بکار رود. گرچه نمودار بالا تفاوت کدورت در باکتری‌های ایزوله و استاندارد را نشان می‌دهد، اما با توجه به جدول من- ویتنی از آنجا که می‌باشد، اختلاف معنی‌دار نیست. بدین‌معنی که تفاوتی از لحاظ کدورت ایجاد شده که نشان از رشد باکتری دارد بین باکتری ایزوله و استاندارد کلبسیلا پنومونیه وجود ندارد.

بحث

برپایه نتایج این پژوهش، آلودگی میکروبی (توتال‌کولی‌فرم و فکال‌کولی‌فرم و کلبسیلا پنومونیه) پساب صنایع نساجی محرز شد که این نتایج با مطالعه پژوهشگران دیگر مبنی بر این که فاضلاب این صنایع محتوی آلاینده‌های متعدد است که روش‌های تصفیه متداول قادر به حذف کلیه آلاینده‌های آن نیست و در صورت تصفیه نشدن و تخلیه نامناسب به محیط زیست زیان‌های جبران ناپذیری وارد می‌کند مطابقت دارد [۱۳-۱۹]. در این مطالعه اثر ضدمیکروبی غلظت‌های گوناگون نانو ذرات نقره بر روی باکتری کلبسیلا پنومونیه ایزوله و استاندارد بررسی شد. نانو ذرات نقره به دلیل اندازه کمی که دارند، سطح تماس بیشتری با فضای بیرون داشته و تأثیر بیشتری بر غشای سلول‌ها می‌گذارند. نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد مکانیسم مهارکنندگی نانوذرات نقره به عمل‌کرد یون‌های نقره در محلول کلوئیدی برمی‌گردد. هم‌چنین دگرگون ساختن میکروارگانیسم به وسیله تبدیل پیوندهای SA-g به SH صورت می‌گیرد. در این مکانیسم ذرات نانونقره فلزی به مرور زمان یون‌های نقره از خود ساطع می‌کنند. این یون‌ها طی واکنش جانشینی، باندهای SH را در جداره میکروارگانیسم‌ها به باندهای SA-g تبدیل کرده که نتیجه آن از بین رفتن میکروارگانیسم است [۲۰-۲۲]. چنان چه کومار و همکاران در سال ۲۰۰۴ بیان کردند که نانوذرات نقره با گروه‌های سولفیدریل (S–H–) با دیواره سلولی باکتری واکنش داده و ترکیب R–S–S–R را تشکیل می‌دهند، این ترکیب تنفس سلولی را متوقف می‌کند و سبب مرگ سلولی می‌شود [۲۳].

اولین متغیر بررسی شده در این تحقیق غلظت نانو ذرات می‌باشد. نتایج نشان داد متغیر غلظت نانو ذرات بر میزان رشد باکتری اثر معنی دار دارد و یا به عبارت دیگر بین میزان رشد باکتری و غلظت نانو ذرات نقره ارتباط مستقیم وجود دارد. به این ترتیب که هر چه غلظت نانو ذره بیش‌تر می‌شود میانگین کدورت که نشان‌دهندهٔ رشد باکتری است کاهش پیدا می‌کند و تفاوت بیش‌تری نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌کنیم به‌طوری که بیش‌ترین کدورت در غلظت ۳/۹ و کم‌ترین کدورت در غلظت ۵۰۰ دیده شد که به لحاظ آماری نیز معنی‌دار شد. که این نتایج با یافته‌های بسیاری از محققین دیگر مبنی بر این‌که اثر آنتی باکتریال نانو سیلور وابسته به دوز و تحت تأثیر غلظت نانو ذرات در محلول می‌باشد مطابقت دارد [۲۴-۳۱].

متغیر دیگری که در طول این مطالعه به بررسی آن پرداخته شد متغییر نوع باکتری (ایزوله و استاندارد) کلبسیلا پنومونیه بود. نانو ذرات نقره در برابر باکتری‌های فوق اثرگذاری متفاوتی از خود نشان دادند ولی این اثر معنی دار نبود که این یافته با پژوهش‌های یون و همکاران در سال ۲۰۰۷ و روپارلیا و همکاران در سال ۲۰۰۹، همچنین کیم و همکاران در سال ۲۰۰۷ و یافته‌های بسیاری از محققین دیگر مبنی بر این‌که میزان غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری‌ها بسته به نوع باکتری‌ها متفاوت می‌باشد مطابقت دارد و این حساسیت می‌تواند مربوط به تفاوت در پوشش این باکتری‌ها باشد [۳۲-۳۵]. همان‌طور که از نتایج پیداست سوسپانسیون نانو ذرات تهیه شده به روش مایکرو دایلوشن حتی در غلظت‌های بالا و اولیه نتوانسته است تأثیر چشم‌گیری در حذف باکتری کلبسیلا پنومونیه از خود نشان دهد، چنان که حتی با استفاده از روش‌های دیسک‌گذاری و چاهک‌گذاری به دلیل اثرگذاری ناچیز نتایج درخور ارائه، دست نیامد و این یافته‌ها با نتایج به دست آمده بسیاری از محققین متفاوت است و این مغایرت می‌تواند به دلیل تفاوت در غلظت، هم‌چنین اندازه یا شکل نانو ذرات به کار رفته و نیز نوع ترکیب سورفاکتانت و پایدارکننده آن باشد. همان‌طور که مودگی و همکارانش در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که تأثیرات نانوذرات بر روی سلول‌های موجودات زنده به قطر، اندازه و شکل نانوذرات بستگی دارد [۳۶]. و یا در مطالعه دیگری مورونس و همکاران در سال ۲۰۰۵ نیز که به بررسی خاصیت آنتی باکتریال نانوسیلور با غلظت ppm ۱۵۰ در سه اندازهٔ مختلف برروی استافیلوکوکوس اورئوس پرداختند، نشان دادند که اثر باکتریوسیدال ذرات نانوسیلور وابسته به سایز می‌باشند

www.SID.ir

Archive of SID

و هرچه ذرات کوچک‌تر باشند به دلیل افزایش سطح تماس اثر آنتی باکتریایی آنها افزایش می‌یابد ضمناً در این مطالعه نشان داده شد که علاوه براندازه، مورفولوژی ذرات نیز مؤثر است [۳۷]. تحقیقات اخیر، نشان داده است که نانو ذرات در اندازه‌ها و اشکال مختلف، خصوصیات و فعالیت‌های جدید و متفاوت از خود نشان می‌دهند. ممکن است اثر گذاری بالا و متفاوت نانو ذرات که در بسیاری از مقالات بیان شده استفاده از نانو ذرات به همراه دیگر مواد باشد که باعث تشدید اثر ضد میکروبی آن‌ها می‌شود چنان‌چه در مطالعه‌ای نیاکان و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که ترکیب نانوسیلور و دکونکس اثر قدرت افزایی روی هم داشته لذا خواص ضد میکروبی یکدیگر را تشدید می‌کنند، مشخص شد که محلول طراحی شده از محلول‌های نانو سیلورخالص و " Nanex " پیشنهادی با نام دکونکس ۵۳ پلاس تجاری اثر آنتی باکتریال بیش‌تری داشته و اثر ضد میکروبی آن علیه باکتری شاخص گرم منفی در مقایسه با باکتری گرم مثبت بیش‌تر می‌باشد.

نتیجه گیری

از آن‌جایی که گندزدایی فاضلاب با استفاده از نانو ذرات، توانایی حذف همه عوامل بیماری‌زای میکروبی را ندارد مانور بهره‌برداری در این روش به حداقل می‌رسد، بنابراین، این گزینه به تنهایی برای تصفیه پساب، پیشنهاد نمی‌شود. بر پایه این نتایج می‌توان گفت که نانو ذرات نقره تا حدی در از بین بردن باکتری‌ها از فاضلاب مؤثر است ولی این عمل آلودگی آن را کاملاً بر طرف نمی‌کند. بنابراین نمی‌توان آن را از کلیه مواد آلوده کننده موجود پاک ساخت زیرا عوامل آلوده کننده زیاد بوده و جهت از بین بردن هر یک از آن‌ها تصفیه بخصوصی لازم است و برای مبارزه اساسی با آلودگی آب باید منشأ آلودگی را شناخت و در همان منبع با آن مبارزه کرد.

REFERENCES

1. Ma J, Liu W. Effectiveness of ferrate (VI) preoxidation in enhancing the coagulation of surface waters. Water Res. 2002;36(20):4959-62. PMID: 12448543
2. Kawamura S. Integrated design and operation of water treatment facilities. 2nd ed. NewYork: Wiley; 2000.
3. IWMI. Water productivity in agriculture: Limits and Opportunities for Improvements, Press Release: New research findings offer hope for the world water crisis. Nairobi. 2003.
4. Hu J, Chen G, Lo IM. Removal and recovery of Cr(VI) from wastewater by maghemite nanoparticles. Water Res. 2005;39(18):4528-36. DOI: 10.1016/j.watres.2005.05.051 PMID: 16146639
5. Meng ZJ. Wastewater treatment by photocatalytic oxidation of Nano-ZnO. Glob Environ Policy JApan. 2008;12:1-9.
6. Singh M, Singh S, Prasad S, Gambhir IS. Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles. Digest J Nanomaterial Biostruct. 2008;3(3):115-22.
7. Jung WK, Koo HC, Kim KW, Shin S, Kim SH, Park YH. Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Appl Environ Microbiol. 2008;74(7):2171-8. DOI: 10.1128/AEM.02001-07 PMID: 18245232
8. Chaloupka K, Malam Y, Seifalian AM. Nanosilver as a new generation of nanoproduct in biomedical applications. Trends Biotechnol. 2010;28(11):580-8. DOI: 10.1016/j.tibtech.2010.07.006 PMID: 20724010
9. Kawamura-Sato K, Wachino J, Kondo T, Ito H, Arakawa Y. Correlation between reduced susceptibility to disinfectants and multidrug resistance among clinical isolates of Acinetobacter species. J Antimicrob Chemother. 2010;65(9):1975-83. DOI: 10.1093/jac/dkq227 PMID: 20576639
10. Li YH, Liu J, Yang LC, Zhang CH, Li G. [Antibacterial activity determination of six kinds of natural herbs in yunnan on normal oral predominant]. Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 2010;28(2):199-202, 7. PMID: 20480668
11. Sindambiwe JB, Calomme M, Cos P, Totte J, Pieters L, Vlietinck A, et al. Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities. J Ethnopharmacol. 1999;65(1):71-7. PMID: 10350370
12. Adams LK, Lyon DY, Alvarez PJ. Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO2, SiO2, and ZnO water suspensions. Water Res. 2006;40(19):3527-32. DOI: 10.1016/j.watres.2006.08.004 PMID: 17011015
13. Sharifi A, Naghmachi M, Jahedi S, Khosravani SAM. A study on antimicrobial effects of Plantago psyllium. Armaghane Danesh. 2011;16(2):191-9.
14. Lourenco ND, Novais JM, Pinheiro HM. Effect of some operational parameters on textile dye biodegradation in a sequential batch reactor. J Biotechnol. 2001;89(2-3):163-74. PMID: 11500210
15. Geunde MS. color removal from textile effiuenis by Techniques. Water Res. 1991;25:271-3. DOI: 10.1016/0043-1354(91)90006-C
16. Sirianuntapiboon S, Srisornsak P. Removal of disperse dyes from textile wastewater using bio-sludge. Bioresour Technol. 2007;98(5):1057-66. DOI: 10.1016/j.biortech.2006.04.026 PMID: 16797981
17. Mahmoodi NM, Arami M. Degradation and toxicity reduction of textile wastewater using immobilized titania nanophotocatalysis. J Photochem Photobiol B. 2009;94(1):20-4. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2008.09.004 PMID: 18948013
18. Elwakeel KZ. Removal of Reactive Black 5 from aqueous solutions using magnetic chitosan resins. J Hazard Mater. 2009;167(1-3):383-92. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.01.051 PMID: 19272711
19. Gupta VK, Suhas. Application of low-cost adsorbents for dye removal--a review. J Environ Manage. 2009;90(8):2313-42. DOI: 10.1016/j.jenvman.2008.11.017 PMID: 19264388
20. Tahan C, Leung R, Zenner GM, Ellison KD, Crone WC, Miller CA. Nanotechnology and improving packaged food quality and safety. Part 2: Nanocomposites. Am J Physics. 2006;74(5):443-8. DOI: 10.1119/1.2178845
21. Geho DH, Jones CD, Petricoin EF, Liotta LA. Nanoparticles: potential biomarker harvesters. Curr Opin Chem Biol. 2006;10(1):56-61. DOI: 10.1016/j.cbpa.2006.01.003 PMID: 16413816
22. Braydich-Stolle L, Hussain S, Schlager JJ, Hofmann MC. In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. Toxicol Sci. 2005;88(2):412-9. DOI: 10.1093/toxsci/kfi256 PMID: 16014736
23. Siva Kumar V, Nagaraja BM, Shashikala V, Padmasri AH, Madhavendra SS, Raju BD. Microorganisms in water. J Mol Catal A Chem. 2004;223:313–9.
24. Shrivastava S, Bera T, Roy A, Singh G, Ramachandrarao P, Dash D. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. Nanotechnol. 2007;18(22):225103.
25. Dutta RK, Nenavathu BP, Gangishetty MK, Reddy AV. Studies on antibacterial activity of ZnO nanoparticles by ROS induced lipid peroxidation. Colloids Surf B Biointerfaces. 2012;94:143-50. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2012.01.046 PMID: 22348987
26. Ansari MA, Khan HM, Khan AA, Sultan A, Azam A. Synthesis and characterization of the antibacterial potential of ZnO nanoparticles against extended-spectrum beta-lactamases-producing Escherichia coli and *Klebsiella pneumoniae* isolated from a tertiary care hospital of North India. Appl Microbiol Biotechnol. 2012;94(2):467-77. DOI:

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 10:21 +0430 on Sunday April 30th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

10.1007/s00253-011-3733-1 PMID: 22159886
27. Li WR, Xie XB, Shi QS, Zeng HY, Ou-Yang YS, Chen YB. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on Escherichia coli. Appl Microbiol Biotechnol. 2010;85(4):1115-22. DOI: 10.1007/s00253-009-2159-5 PMID: 19669753
28. Guzman M, Dille J, Godet S. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. Nanomedicine. 2012;8(1):37-45. DOI: 10.1016/j.nano.2011.05.007 PMID: 21703988
29. Krishnaraj C, Jagan EG, Rajasekar S, Selvakumar P, Kalaichelvan PT, Mohan N. Synthesis of silver nanoparticles using Acalypha indica leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. Colloids Surf B Biointerfaces. 2010;76(1):50-6. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2009.10.008 PMID: 19896347
30. Khaydarov RR, Khaydarov RA, Estrin Y, Evgrafova S, Scheper T, Endres C, et al. Silver Nanoparticles Nanomaterials: Risks and Benefits. Springer. 2009:287-97.
31. Sadeghian M, Habibipour R, Seif A. Effect of silver nano-particle on removing the enterococcus faecalis bacterium isolated from industrial resid. Ml J Goums. 2015;9(2):133-8.
32. Yoon KY, Hoon Byeon J, Park JH, Hwang J. Susceptibility constants of Escherichia coli and Bacillus subtilis to silver and copper nanoparticles. Sci Total Environ. 2007;373(2-3):572-5. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2006.11.007 PMID: 17173953
33. Diao M, Yao M. Use of zero-valent iron nanoparticles in inactivating microbes. Water Res. 2009;43(20):5243-51. DOI: 10.1016/j.watres.2009.08.051 PMID: 19783027
34. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ, et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomedicine. 2007;3(1):95-101. DOI: 10.1016/j.nano.2006.12.001 PMID: 17379174
35. Habibipour R, Sadeghian M, Seif A. The Effect of Silver Nano-Particle on Removing the Escherichia Coli from Industrial Residues. J Guilan Univ Med Sci. 2016;25(97):29-37.
36. Moudgi BM, Roberts SM. Designing a strategies for safety evaluation of nanomaterials. part nano-interface in a microfluidic chip to probe living vi. characterization of nanoscale particles for cells: challenges and perspectives. Toxicol Sci USA. 2006;103:6419-24.
37. Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K, Kouri JB, Ramírez JT, et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnol. 2005;16(10):2346.

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 10:21 +0430 on Sunday April 30th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences Original Article

No 82, Volume 23, Issue 4

The Effect of Silver Nano-Particles on Removing *Klebsiella pneumoniae* from Industrial Residues

Reza Habibipour [1,*], Mina Sadeghian [2], Asghar Seif [3], Samiye Bayat [1]

[1] *Department of Microbiology, Hamedan Branch,Islamic Azad University, Hamedan, Iran*
[2] *Department of Environmental Science, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran*
[3] *Department of Statistic, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran*

** Corresponding author: Reza Habibipour, Department of Microbiology, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran. E-mail: habibipour@iauh.ac.ir*

DOI: 10.21859/hums-23046

Received: 29.07.2016
Accepted: 18.12.2016

Keywords:
Klebsiella pneumoniae
Nanoparticles
Silver

How to Cite this Article:
Habibipour R, Sadeghian M, Seif A, Bayat S. The Effect of Silver Nano-Particles on Removing Klebsiella pneumoniae from Industrial Residues. *Sci J Hamadan Univ Med Sci*. 2017;**23**(4):306-313. DOI: 10.21859/hums-23046

© 2017 Hamadan University of Medical Sciences.

Abstract

Introduction: Progress in nano-science and nanotechnology in the past decade has provided many opportunities to study the biological effects of nanoparticles, in particular their anti-bacterial effects. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial properties of silver nanoparticles for the removal of *Klebsiella pneumoniae* isolated from industrial effluents.

Methods: In this experimental study, after sampling polluted industries, coliform and total coliform measurements of fecal industrial wastewater microbiology were performed by standard methods. The antimicrobial activity of silver nanoparticles on the bacteria (*Klebsiella pneumoniae* isolates and standard) was evaluated with the agar dilution method and broth dilution. One milliliter suspension containing bacteria at 1.5×10^8 CFU/mL was added to each sample followed by incubation at 37°C for 24 hours. After the mentioned period, the optical density at a wavelength of 600 nm was used to measure the concentration of bacteria. Next, 100 mL of each dilution was transferred to solid medium followed by incubation. The results were analyzed with SPSS 22 software.

Results: Fecal and total coliform bacteria pollution of textile wastewater was approved, and Klebsiella pneumoniae (textile industry pollution index) were isolated. With increasing concentration, the antibacterial activity of silver nanoparticles increased while the number of colonies decreased. Although none of the concentrations were able to eliminate the bacteria, a non-significant decrease in the number of bacteria was observed.

Conclusion: The results of the study showed that the type of bacteria and concentrations of silver nanoparticles antimicrobial properties of silver nanoparticles are risk factors. Although the concentrations used were effective against bacteria yet they did not lead to complete elimination of bacteria Therefore potential impact of nanoparticles for use requires further research and economic factors and other factors should be considered in their application.

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 10:21 +0430 on Sunday April 30th 2017

www.SID.ir