

## بررسی اثر نانوقره بر حذف باکتری‌های کلیفرم از آب آلوده

محمدباقر میران زاده<sup>۱</sup>، داورخواه ربانی<sup>۲</sup>، سیمین ناصری<sup>۳</sup>، رامین نبی‌زاده<sup>۴</sup>، سید غلامعباس موسوی<sup>۵</sup>، فائزه قدمی<sup>۶\*</sup>

خلاصه:

**سابقه و هدف:** اگرچه نقره در گندزدایی آب موثر است، ولی از معایب آن می‌توان به تیره کردن پوست و غشا مخاطی در نتیجه تماس طولانی با غلظت‌های زیاد و نیز هزینه بالای آن نام برد. انتظار می‌رود با کاربرد مقادیر کمتر این فلز در نتیجه استفاده از نانوفناوری معایب مذکور برطرف شود. هدف از این تحقیق ارزیابی اثر نانوقره بر حذف باکتری‌های کلیفرم از آب آلوده است.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه تجربی در سیستم بسته و در مقیاس آزمایشگاهی بر روی آب آلوده دست‌ساز که با اضافه کردن ۵ میلی لیتر پساب به ۶۰ لیتر آب شبکه شهری ساخته شده بود، انجام گرفت. هر بار، به ۶ ظرف (۵۰۰ میلی لیتری) از آب آلوده، نانوقره خالص با مقادیر  $1 \mu\text{g/L}$  - ۱۸۰ - ۳۰ افزوده شد و در طول ۱۰۰ دقیقه هر ۲۰ دقیقه یک‌بار یک نمونه برداشت شده و مطابق کتاب استاندارد متود، آزمایش شد.

**نتایج:** نتایج نشان داد افزایش زمان تماس با نانوقره، باعث حذف بیشتر کلیفرم‌ها است ( $P=0/001$ )، اما رابطه معنی‌داری بین مقدار نانوقره و حذف کلیفرم‌ها دیده نشد ( $P=0/6$ ). حداکثر حذف (۹۲/۴۱ درصد) در زمان تماس ۱۰۰ دقیقه و برای  $60 \mu\text{g/L}$  نانوقره به دست آمد.

**نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج این تحقیق، می‌توان نتیجه گرفت که نانوقره برای حذف کلیفرم‌ها از آب آلوده موثر است، اما برای گندزدایی آب آشامیدنی نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه است.

**واژگان کلیدی:** آب، گندزدایی، نانوقره، باکتری‌های کلیفرم

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره شانزدهم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۱، صفحات ۳۵-۳۱

### مقدمه

اگرچه فرآیندهای معمول تصفیه آب که شامل انعقاد، لخته سازی، ته نشینی و صاف سازی است، اغلب میکروارگانیسم‌ها را از بین می‌برد اما به دلیل باقی ماندن برخی میکروارگانیسم‌ها و یا ورود آنها بعد از این مراحل، لازم است آب گندزدایی شود. گندزدایی عبارت از تخریب میکروارگانیسم‌هایی است که قادر به ایجاد بیماری در انسان هستند [۴،۳]. رایج‌ترین روش‌ها برای گندزدایی آب استفاده از کلر، کلرامین و دی اکسید کلر است. سایر گندزداها هم شامل اشعه ماورا بنفش، آهک کلرینه شده، برم، ید، و نقره می‌باشند [۵]. اگرچه روش‌های رایج در تصفیه آب آشامیدنی می‌توانند به‌نحو موثری عوامل میکروبی را کنترل نمایند، اما تحقیقات انجام شده طی چند دهه اخیر بین گندزدایی آب و تشکیل محصولات جانبی گندزدایی (DBPs) Disinfection By Products; ارتباط نشان می‌دهند [۲]. برخی روش‌های فیزیکی تصفیه، مانند اشعه ماورا بنفش، امواج مافوق صوت و غشاهای اگرچه بسیاری از معیارهای یک گندزدای خوب را دارند، اما نمی‌توانند باقی‌مانده کافی را برای سیستم‌هایی با شبکه توزیع گسترده و یا زمان‌های ماند طولانی فراهم کنند. گندزداهای شیمیایی جایگزین شامل کلرامین، دی اکسید کلر، برم، دی اکسید تیتانیوم و پرمنگنات پتاسیم نیز به دلیل کارایی کم، قیمت بالا و تولید DBPs سمی، محدود شده است [۶]. بنابراین لازم است تکنولوژی‌های جدید برای گندزدایی موثر آب جستجو و شناسایی

بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت در سال ۲۰۰۴، حداقل یک ششم از جمعیت جهان که برابر با ۱/۱ میلیارد نفر می‌باشد، به آب آشامیدنی سالم دسترسی ندارند. اسهال هر ساله ۲/۲ میلیون نفر که اغلب آنها بچه‌های زیر پنج سال هستند را به کام مرگ می‌کشد [۱]. امروزه به‌دست آوردن منابع آب کافی و حذف موثر و کم‌هزینه عوامل بیماری‌زا، مواد شیمیایی و دیگر آلودگی‌های آب یک چالش جهانی در حال رشد است [۲].

<sup>۱</sup> دانشیار، گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کاشان  
<sup>۲</sup> استادیار، گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

<sup>۳</sup> استاد، گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت و انیستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۴</sup> دانشیار، گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت و انیستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۵</sup> مربی، مرکز تحقیقات تروما، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

<sup>۶</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

\*نشانی نویسنده مسئول:

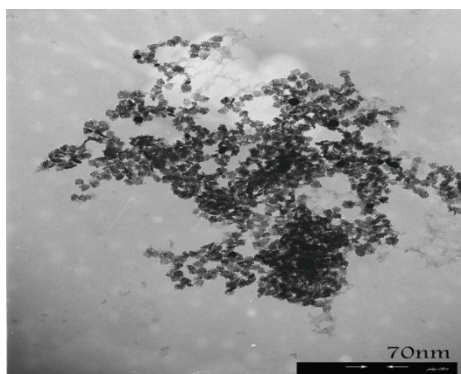
کاشان، کیلومتر ۵ بلوار قطب روانی، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده بهداشت، گروه بهداشت محیط

تلفن: ۰۹۱۲ ۶۹۹۳۴۰۲      دورنویس: ۰۳۶۱ ۵۵۵۰۱۱۱

پست الکترونیک: ghadamyfaezeh87@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۰/۵/۱۶      تاریخ پذیرش نهایی: ۹۰/۶/۲۸

محیط دانشگاه علوم پزشکی کاشان ابتدا آب آلوده دست‌ساز با اضافه کردن ۵ میلی لیتر پساب تصفیه خانه فاضلاب لیجن فعال به ۶۰ لیتر آب شبکه شهری فاقد کلر باقیمانده ساخته شد. سپس، هم-زمان به ۶ ظرف حاوی ۰/۵ لیتر از آب آلوده دست‌ساز مقادیر مختلف نانونقره شامل ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ میکروگرم در لیتر افزوده شد و از هریک از ظروف در زمان‌های صفر، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ دقیقه نمونه برداری انجام گرفت و کلیه مراحل مذکور سه بار تکرار شد. باتوجه به مقادیر و زمان‌های مختلف نمونه برداری و با احتساب ۳ بار تکرار در مجموع ۱۰۸ نمونه میکروبی آماده شد. نمونه‌های برداشتی به روش ۱۵ لوله‌ای مطابق دستور العمل شماره B-۹۲۲۱ چاپ بیست و یکم کتاب روش‌های استاندارد برای آزمایشات آب و فاضلاب آزمایش شد [۱۲]. نتایج حاصله با آزمون‌های آماری mixed design ANOVA و Kolmogorova - Smirov model و به کمک نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.



شکل شماره ۱- عکس میکروسکوپ الکترونی گذاره مربوط به نانو ذرات نقره شرکت نانو پاک پرشیا

#### نتایج

نتایج بررسی اثر مقادیر متفاوت سوسپانسیون نانونقره در زمان‌های واکنش مختلف بر تعداد کلیفرم احتمالی باقیمانده در ۱۰۰ میلی لیتر از نمونه‌های آب آلوده دست‌ساز در جدول شماره ۱ ارائه شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود میزان ۳۰ میکروگرم در لیتر سوسپانسیون نانونقره توانسته است تعداد کلیفرم‌های احتمالی را از ۱۰۴/۶۶ عدد در یک‌صد میلی لیتر از نمونه‌های خام پس از ۱۰۰ دقیقه تماس به ۲۷/۶۶ عدد در صد میلی‌لیتر (۷۳/۵ درصد) کاهش دهد. در نمودار شماره ۱ روند حذف کلیفرم‌های احتمالی در مقادیر مختلف با یکدیگر مقایسه شده است. همان‌گونه که از این نمودار بر می‌آید با افزایش زمان تماس در کلیه مقادیر، حذف کلیفرم‌های احتمالی سیر صعودی داشته و

شوند [۲]. نقره از زمان‌های قدیم به‌طور گسترده برای ساخت وسایل غذاخوری به‌کار رفته است [۷]. امروزه هم یون نقره برای گندزدایی به‌کار می‌رود. فلزاتی مانند نقره، مس، جیوه، منگنز، و آهن پتانسیل گندزدایی آب را دارند، ولی از میان آنها فقط نقره برای گندزدایی آب مصرفی انسان به‌کار می‌رود؛ اما که محلول‌های نقره در مقایسه با محلول‌های کلر بسیار گران هستند [۸]. از آن جایی که یکی از عوامل مهم محدود کننده در کاربرد نقره در گندزدایی آب، عامل اقتصادی است، لذا در صورتی که بتوان ضمن حفظ خاصیت گندزدایی و سایر امتیازات آن، از طریق کاهش مقدار موثر، مشکل اقتصادی یاد شده را برطرف نمود، گام موثری در رابطه با گندزدایی آب محسوب می‌شود. ظهور علم و تکنولوژی نانو در دهه اخیر فرصت‌هایی را برای کشف خاصیت باکتری کشی نانوذرات فلزی ایجاد کرده است. خواص باکتری کشی نانوذرات فلزی مربوط به اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم بالای آن است که به آنها اجازه می‌دهد از نزدیک با غشاء میکروبی واکنش بدهند [۹]. چندین نانو مواد طبیعی و مصنوعی از جمله کینوزان، فتوکاتالیت‌های اکسید تیتانیوم، نانولوله‌های کربنی و نانوذرات نقره خواص ضد میکروبی قوی‌ای از خود نشان داده‌اند [۲]. در میان تمام نانو مواد ضد میکروبی نانو ذرات نقره بیشترین کاربرد را دارند. مطالعه ظرفیت گندزدایی محصولات نانو نقره نشان می‌دهد که محلول گندزدا با غلظت ۱۰ppm قادر است از رشد اشرشیاکلی و کلیفرم‌ها به‌طور کامل جلوگیری کند [۷]. تحقیق دیگری نشان می‌دهد حداقل غلظت بازدارنده نانوذرات نقره برای استافیلوک اورئوس و اشرشیا کلی به ترتیب ۵ و ۱۰ ppm بوده است [۱۰]. هم‌چنین، حداقل غلظت ضد میکروبی نانونقره برای باکتری‌های بیوفیلم ۱۰ میلی‌گرم در لیتر است [۱۱]. تنها اثر بد نقره، تیره کردن پوست و غشا مخاطی در نتیجه تماس طولانی مدت با مقادیر زیاد نقره است و بر این اساس با کاهش مقدار در اثر استفاده از نانوفناوری، سندی مبنی بر سمیت نانوذرات نقره برای انسان وجود ندارد [۲]. با توجه به نکات یاد شده این تحقیق در نظر دارد اثر بخشی یک محلول نانو نقره تولید ایران را بر روی محتمل‌ترین تعداد کلیفرم‌ها در آب آلوده مورد بررسی قرار دهد.

#### مواد و روش‌ها

این تحقیق یک مطالعه تجربی در مقیاس آزمایشگاهی است که در سیستم بسته بر روی نمونه‌های آب آلوده دست‌ساز صورت گرفته است. نانونقره به‌صورت سوسپانسیون حاوی نانوذرات نقره با اندازه ۱۰ نانومتر از شرکت نانوپاک پرشیا خریداری شد (شکل شماره ۱). در آزمایشگاه تحقیقاتی بهداشت

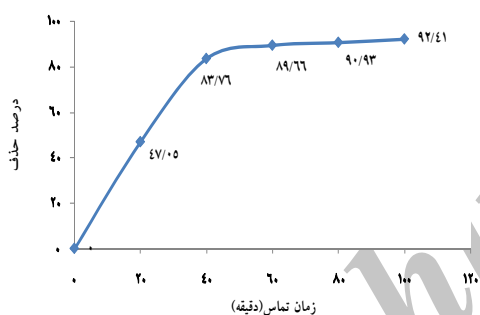
حذف کلیفرم‌های احتمالی در ۱۰۰ میلی لیتر برای مقادیر مختلف نانوقره پس از زمان تماس ۱۰۰ دقیقه نشان داده شده است.

هیچ ترتیبی بین مقدار و درصد حذف مشاهده نمی‌شود. آزمون آماری نیز رابطه معنی‌داری بین مقدار نانوقره و حذف کلیفرم احتمالی نشان نداد ( $P=0/6$ ). در نمودار شماره ۲ میانگین درصد

جدول شماره ۱- تاثیر مقدار و زمان تماس نانوقره بر تعداد کلیفرم باقیمانده در ۱۰۰ میلی لیتر از نمونه‌های آب آلوده دست ساز

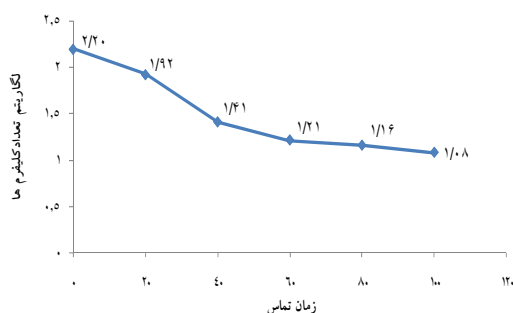
زمان واکنش (دقیقه)	نانوقره (میکروگرم در لیتر)					
	۱۸۰	۱۵۰	۱۲۰	۹۰	۶۰	۳۰
۰	۱۰۸/۳۳±۱۴۸/۷۶	۲۵۳±۲۳۷/۶۳	۳۰/۳۳±۳۳/۰۸	۶۲±۴۷/۶۲	۱۵۸±۱۰۱/۱۲	۱۰۴/۶۶±۱۱۷/۵۴
۲۰	۸۲/۶۶±۱۱۸/۹۷	۱۲۴±۱۵۳/۰۶	۱۷/۳۳±۱۳/۰۵	۳۶/۶۶±۳۹/۱۰	۸۳/۶۶±۴۰/۰۷	۵۹/۶۶±۶۹/۸۷
۴۰	۸۱/۶۶±۱۱۹/۸۰	۷۹/۳۳±۸۰/۱۳	۱۶±۱۲	۲۸/۶۶±۲۹/۲۸	۲۵/۶۶±۱۲/۵۰	۵۹/۳۳±۷۰/۱۱
۶۰	۷۹/۳۳±۱۲۱/۳۳	۷۴/۶۶±۸۴/۵۰	۱۰/۳۳±۹/۰۷	۲۲/۳۳±۲۱/۵۹	۱۶/۳۳±۱۱/۹۳	۴۴±۴۸/۵۹
۸۰	۴۹/۳۳±۶۹/۸۵	۵۲/۶۶±۶۷/۱۵	۹/۳۳±۸/۰۸	۲۰/۶۶±۱۸/۰۳	۱۴/۳۳±۱۳/۶۵	۳۱±۳۴/۵۹
۱۰۰	۱۶/۳۳±۱۴/۴۶	۴۷/۶۶±۷۱/۳۴	۹±۷/۸۱	۱۷±۱۳/۷۴	۱۲±۱۳	۲۷/۶۶±۲۸/۹۸

مساوی ۶۰ دقیقه برای دست‌یابی به ۵۰ درصد حذف را نشان داد mixed design ANOVA. هم‌چنین، آزمون آماری ( $P=0/001$ ) model نیز رابطه معنی‌داری بین زمان تماس و حذف باکتری‌های کلیفرم را نشان داد ( $P=0/001$ ).

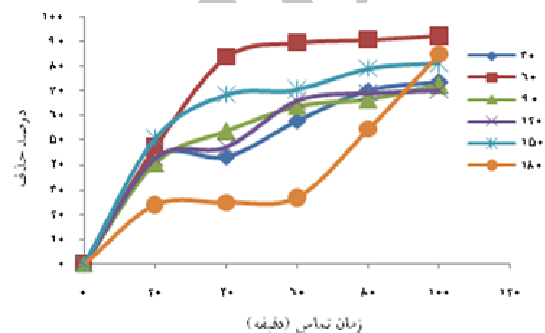


نمودار شماره ۳- روند کاهش تعداد کلیفرم‌های احتمالی در ۱۰۰ میلی لیتر نمونه در ۶۰ µg/L نانوقره

به‌علاوه، نمودار شماره ۴ روند تغییرات لگاریتم تعداد کلیفرم‌های احتمالی باقی‌مانده در ۱۰۰ میلی لیتر نمونه در ۶۰ µg/L نانوقره را نشان می‌دهد.

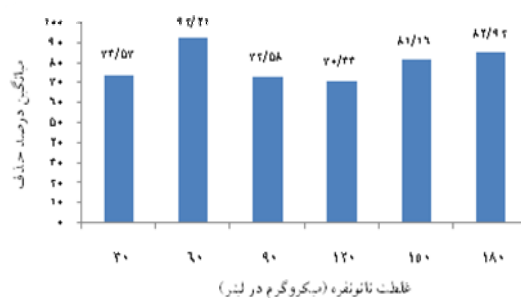


نمودار شماره ۴- روند تغییرات لگاریتم تعداد کلیفرم‌های احتمالی باقی مانده در ۱۰۰ میلی لیتر نمونه در ۶۰ میکروگرم در لیتر نانوقره



نمودار شماره ۱- روند حذف کلیفرم‌های احتمالی در مقادیر مختلف محلول نانوقره

همان‌گونه که ملاحظه می‌شود زمان تماس ۱۰۰ دقیقه، و ۱ µg/L همان‌گونه که ملاحظه می‌شود زمان تماس ۱۰۰ دقیقه، و ۱۰۰ نانوقره حداکثر بازده حذف را نشان می‌دهد.



نمودار شماره ۲- میانگین درصد حذف کلیفرم‌های احتمالی در ۱۰۰ میلی لیتر برای مقادیر مختلف نانوقره پس از زمان تماس ۱۰۰ دقیقه

نمودار شماره ۳ درصد حذف کلیفرم‌های احتمالی نسبت به زمان، در ۶۰ µg/L نانوقره را نشان می‌دهد. این نمودار بیان‌گر آن است که در مقدار یاد شده با افزایش زمان تماس تا ۱۰۰ دقیقه بازده حذف به ۹۲/۴۱ درصد افزایش یافته است. آزمون آماری دقیق فیشر اختلاف معنی‌داری بین زمان تماس کمتر از ۶۰ و بیشتر

شده، بیشتر است. هم‌چنین، از زمان تماس آب و کلر که حدود ۳۰ دقیقه در مراجع ذکر شده است [۵] نیز زیادتر می‌باشد که مستلزم بزرگ‌تر شدن سازه‌های مربوط به حوض تماس می‌شود. غلظت  $60 \mu\text{gr/L}$  نانو نقره در مقایسه با  $30000$  میلی‌گرم در لیتر نقره اعلام شده توسط نبی زاده و همکاران [۱۵] به مراتب کمتر است. و نیز از مقدار لازم کلر جهت گندزدایی آب که حدود ۳ میلی‌گرم در لیتر در دمای  $20^\circ\text{C}$  [۵] کمتر می‌باشد.

#### نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق، می‌توان گفت که نانو نقره برای حذف کلیفرم‌ها از آب آلوده موثر است، اما برای گندزدایی آب آشامیدنی نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه است.

#### تشکر و قدردانی

این پژوهش طرح تحقیقاتی مربوط به پایان نامه کارشناسی ارشد رشته مهندسی بهداشت محیط و مصوب دانشگاه علوم پزشکی کاشان به شماره ۸۹۳۸ بوده است. نویسندگان بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان که هزینه‌های این طرح را تقبل نموده و نیز از همکاری شرکت نانوپاک پرشیا، به‌خصوص آقایان دکتر حاتمی و دکتر باطنی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

#### References:

[1] Water\_sanitation\_health.2004; Guidelines for Drinking Water Quality. Available at: <http://www.who.int/en/factsfigures/04.pdf>.  
[2] Li Q, Mahendra S, Lyon DY, Brunet L, Liga MV, Li D, et al. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications. *Water Res* 2008; 42 (18): 4591-602.  
[3] Mc Ghee TJ. Water supply and sewerage. 6<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill publication; 1991. p. 229.  
[4] Bitton G. Wastewater microbiology. 3<sup>th</sup> ed. John Wiley & Sonse publication; 2005.  
[5] Salvato J, Nemerow N, Agardy FJ. Environmental engineering. 5<sup>th</sup> ed. John Wiley & Sons Inc; 2003. p. 375.  
[6] Niven R. Investigation of silver electrochemistry water disinfection applications. McGill Environmental Engineering Masters Candidate; 2005. p.10  
[7] Chau NH, BangLA, BuuNQ, Dung, TTN, Ha HT, Quang DV. Manufacture of nanosilver and investigation of its application for disinfection. *Adv Nat Sci* 2008; 9(2): 241-8.  
[8] Solsona F, mendez JP. Water disinfection. Regional Office of the World Health Organization. 2003.

نتایج این تحقیق نشان داد که  $60 \mu\text{gr/L}$  نانو نقره مناسب‌ترین مقدار برای حذف کلیفرم‌های احتمالی از آب آلوده است. این میزان در مقایسه با نقره معمولی  $150$  برابر صرفه جویی در مصرف نقره را به همراه دارد [۱۳]. هم‌چنین، نتایج نشان داد که درصد حذف کلیفرم‌های احتمالی با افزایش زمان تماس افزایش یافته است. در زمان واکنش  $100$  دقیقه بالاترین درصد حذف مربوط به  $60 \mu\text{gr/L}$  بود که در این مقدار میانگین تعداد باکتری‌های باقی مانده از  $158$  به  $12$  عدد در صد میلی‌لیتر کاهش یافته است. با توجه به نمودار شماره ۴ چنین استنباط می‌شود که در  $60 \mu\text{gr/L}$  لگاریتم تعداد باکتری‌های باقی مانده نسبت به زمان تماس به صورت یک خط مستقیم است ( $R^2=0/888$  و  $F=31/650$  و  $P=0/005$ ) که نشان می‌دهد حذف باکتری‌های کلیفرم به وسیله سوسپانسیون نانو نقره از سرعت واکنش‌های درجه اول پیروی می‌کند. لذا، به کمک برون یابی (Extrapolation) می‌توان این گونه نتیجه‌گیری کرد که در مقدار یاد شده برای کاهش تعداد باکتری‌ها به کمتر از ۳ عدد در  $100$  میلی‌لیتر که در استاندارد ۳-۱۱۶ ایران [۱۴] آمده است، به حدود  $135$  دقیقه زمان تماس نیاز می‌باشد. زمان واکنش  $135$  دقیقه در مقایسه با حداقل زمان تماس لازم برای مخلوط نانو نقره و آب اکسیژنه که در تحقیق نبی زاده و همکاران [۱۵] برابر  $30$  دقیقه اعلام

[9] Ruparella JP, Chatterjee AK, Duttagupta SP, Mukherji S. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta Biomater* 2008; 4(3): 707-16.  
[10] Cho KH, Park JE, Osaka T, Park SG. The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. *Electrochimica Acta* 2005; 51(5): 956-60.  
[11] Choi O, Yu CP, Esteban Fernández G, Hu Z. Interactions of nanosilver with Escherichia coli cells in planktonic and biofilm cultures. *Water Res* 2010; 44(20): 6095-103.  
[12] Clesceri LS, Greenberg AE, Eaton AD. Standard method for examination of water and wastewater. 20<sup>th</sup> ed. American public health publication; 1999. p. 1786.  
[13] Hendricks D. water treatment unit processes. 1<sup>st</sup> ed. CRC Press; 2006. p. 1006.  
[14] Iran Water Resources' Management Co Drinking Water Quality Standard. Publication Number 116-3. 1992  
[15] Nabizadeh R, Samadi N, Sadeghpour Z, Beikzadeh M. Feasibility study of using complex of hydrogen peroxide and silver for disinfecting swimming pool water and its environment. *Iran J Environ Health Sci Eng* 2008; 5(4): 235-42.