بررسی خاصیت ضد باکتریایی ظروف انتقال آب، تهیه شده از نانو ذرات نقره کپسوله شده

میثم نعمتی[۱] تقی عبادی[۲] حسین نازک دست[۳]
مهرناز اسماعیل زاده[۴] یزدان رضازاده[۵]

(دریافت ۹۰/۱/۹ پذیرش ۹۰/۸/۲۶)

چکیده

استفاده از منابع آب سطحی به‌عنوان یکی از منابع آب آشامیدنی در کشور و کاربرد سیستم‌های کلرزنی به‌عنوان متداول‌ترین روش گندزدایی آب آشامیدنی، احتمال تولید محصولات جانبی ناشی از گندزدایی (DBPS) در آب تصفیه شده را افزایش می‌دهد. هزینه مورد نیاز به‌منظور حذف DBPSها محققان را بر آن داشته تا به‌دنبال روشی برای حذف کلرزنی و نیاز به کلر باقیمانده باشند. استفاده از نانو ذرات فعلی نظیر نقره، مس و روی به‌شکل پودر در تزریق پلیمر و تولید نانو کامپوزیت، یکی از بهترین کاندیداها است ولی مشکلات متعددی نظیر عدم توزیع یکنواخت نانو ذرات در ماتریس پلیمری، پخش ذرات در هوا (TLV)، رهایش نانو ذرات در سیستم و تجمع در بدن، بالا بودن میزان مصرف به‌دلیل کاهش خواص پرکنندگی و افزایش قیمت تمام شده منجر به عدم گسترش این تکنولوژی شده است. استفاده از کپسول‌های مواد به‌دلیل رهایش صفر و میزان پرکنندگی بیشتر و قیمت پایین می‌تواند جایگزین خوب و مفیدی باشد. در این پژوهش غلظتهای مختلفی از میکروذرات AL_2O_3/SiO_2 که نانو ذرات نقره بر روی آن قرارگرفته است، به‌منظور تولید ورق مورد استفاده قرارگرفت و آزمایش‌های میکربی بر روی نمونه کامپوزیت‌های تهیه شده به‌روش استاندارد ۱۰۹۰۰ ملی ایران انجام گرفت. بر اساس میزان باکتری و زمان ماند، حداقل ذره مورد نیاز به‌منظور کند کردن روند رشد باکتری‌ها، ۴ درصد وزنی تعیین گردید.

واژه‌های کلیدی: نانو ذرات نقره، نانو کامپوزیت، خاصیت ضد باکتریایی، نقره کپسوله شده، گندزدایی

Anti-Bacterial Properties of Water Transport Containers Made from Encapsulated Silver Nanoparticles

Maysam Nemati [1] *Taghi Ebadi [2]* *Hossein Nazokdast [3]*
Mehrnaz Esmaeilzadeh [4] *Yazdan Rezazadeh [5]*

(Received Nov. 30, 2010 Accepted March 29, 2011)

Abstract

Considering the surface water resources as one of the main water supplies in many regions of Iran. The application of chlorination for disinfecting drinking water has increased the rate of Disinfection By- Products (DBPs) formation.The required cost for DBPS removal motivates researchers to find a solution related to substitute the chlorination process and need for residual chlorine. Using the current Nano particles such as silver, copper and zinc in powder form is one of the best alternatives in injecting polymer and producing the pipe, but several problems such as lack of uniform distribution of Nano particles in polymer matrices, distribution of particles in the air (TLV), release of Nano particles into the system and accumulate in the body, high consumption due to reduction of filler properties and increased cost price of products led to unpopularity of this technology. Using capsulated material because of zero release and high rates and low prices can be a good choice and useful substituent. In this study various concentrations of Al_2O_3 / SiO_2 micro-particles,which the

1. M.Sc. Student of Chemical Eng., Amir kabir University of Tech., Tehran (Corresponding Author) (+98 21) 44033673 m.nemati21@gmail.com
2. Assist. Prof. of Environmental Eng., Amir Kabir University of Tech., Tehran
3. Prof. of Polymer Eng., Amir Kabir University of Tech., Tehran
4. M.Sc. of Applied Microbiology, Biotechnology Institute, Jahad Daneshgahi, Tehran
5. Director of Research, Pasargad Nano Chemistry Lotus Company

۱- دانشجوی کارشناس ارشد مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی امیر کبیر، تهران (نویسنده مسئول) ٤٤٠٣٣٦٧٣ (٠٢١) m.nemati21@gmail.com
۲- استادیار گروه مهندسی عمران محیط زیست، دانشگاه صنعتی امیر کبیر، تهران
۳- استاد گروه مهندس پلیمر، دانشگاه صنعتی امیر کبیر، تهران
٤- کارشناس ارشد گروه میکروبیولوژی کاربردی، پژوهشکده بیوتکنولوژی، جهاد دانشگاهی واحد تهران
۵- مدیر تحقیقات شرکت نانو شیمی لوتوس پاسارگاد

Archive of SID
www.SID.ir

silver Nano particles are on these micro-particles have been used to produce sheets, and microbial tests have been done on samples of composites prepared by Iran national standard method of 10.900. And ultimately based on an amount of bacteria and retention time minimum particulate required to slow the growth of bacteria was determined as 4 percent by weight.

***Keywords*:** Silver Nanoparticles, Nano-Composites, Antibacterial, Silver Encapsulated, Disinfection.

۱- مقدمه

همزمان با شروع گندزدایی آب آشامیدنی با ترکیبات کلر در سال ۱۹۰۴ میلادی، بیماری‌های همه‌گیر مرتبط با مصرف آب آلوده به‌شدت کاهش یافت[۱ و ۲]. پس از آن روشهای مختلف گندزدایی آبهای آشامیدنی مانند کاربرد گاز ازن و اشعه فرابنفش به‌منظور رفع آلودگی آب گسترش پیدا کرد. اما به‌دلیل هزینه‌های بالای این روشها و مزایای متعدد کلر و مشتقات آن، گندزدایی آب با این ترکیبات معمول‌ترین روش گندزدایی در سطح جهان محسوب می‌گردد[۳ و ۴]. در سال ۱۹۷۴ میلادی گروهی از پژوهشگران آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا[1]، سوئیس و هلند به وجود ترکیباتی در آب گندزدایی شده با کلر پی برده‌اند که تا قبل از آن زمان در آب آشامیدنی مشاهده نشده بود و به‌دنبال راهی به‌منظور حذف این محصولات جانبی از آب آشامیدنی برآمدند[۱ و ۴]. هزینه‌های اولیه و ثانویه تحمیل شده به‌واسطه استفاده از گندزداهای شیمیایی، محققان را بر آن داشته تا جایگزین مناسبی برای این گندزداها بیابند[۵]. با توجه به چالشهای موجود در زمینه دستیابی به‌روشهای مناسب گندزدایی بدون تولید محصولات جانبی مضر که در استفاده از گندزداهای شیمیایی مرسوم ایجاد می‌شود و به موازات آن تقاضای روز افزون برای تمرکززدایی سیستم‌های تصفیه آب آشامیدنی، نیاز به تکنولوژی‌های جدید گندزدایی مؤثر و کنترل میکربی آب بیش از پیش احساس می‌شود زیرا عوارض ناشی از گندزداها و آثار بلندمدت آنها بر سلامت انسان‌ها موجب نگرانی بشر شده است[۶]. امروزه از تکنولوژی‌های مدرنی به‌منظور جایگزینی گندزداهای شیمیایی استفاده می‌شود که هر کدام با توجه به شرایطی که از آنها بهره‌برداری می‌شود دارای مزایا و معایبی هستند. افزایش جمعیت، نیاز روز افزون به آب آشامیدنی سالم، بحران انرژی، قیمت تمام شده، تمرکز امکانات تصفیه آب و امکان آلودگی مجدد در خطوط انتقال آب از جمله مواردی است که محققان را بر آن داشته تا به‌دنبال راهی برای تمرکز زدایی و پایش پیوسته آب از منابع تا محل مصرف در کشورهای در حال توسعه باشند[۷].

امروزه خاصیت ضد میکربی چندین نانو ماده طبیعی و سنتزی همراه با مکانیسم آنها به اثبات رسیده است[۶ و ۸]. در میان نانو ذرات، نقره به‌دلیل برخی ویژگی‌ها و کاربردهای خاص، مورد توجه فراوانی قرار گرفته است. یون نقره دارای خاصیت آنتی باکتریال است و به‌طور گسترده از آن به‌صورت سوسپانسیون نیترات نقره به‌عنوان گندزدا و ضدعفونی کننده استفاده می‌شود[۹]. اگرچه طرز استفاده از نیترات نقره به‌صورت سوسپانسیون آسان است ولی این طرز استفاده، گستره استفاده از سوسپانسیون نقره را محدود به چند کاربرد خاص کرده است و نمی‌توان در اغلب موارد از سوسپانسیون استفاده کرد، به‌خصوص در گندزدایی از آب آشامیدنی که پس از اضافه کردن سوسپانسیون و انجام فرایند گندزدایی، نیترات نقره باید از آب حذف شود تا وارد محصول نهایی نگردد و بتوان مجدداً از ذرات استفاده کرد. به این منظور باید از سیستم فیلتراسیون غشایی استفاده کرد[۹]. به‌علاوه موارد دیگری اعم از عدم انتشار مناسب به‌دلیل تجمع و کلوخه شدن، عدم ابقاء ذرات نقره در محیط و عدم ماندگاری خاصیت ضد میکربی، مزیتهای استفاده از ذرات را به چالش کشیده است. تثبیت ذرات در جداره راکتورها و فیلترهای غشایی منجر به حذف عملیات جداسازی می‌گردد و از تشکیل بیوفیلم در سطح جلوگیری می‌نماید ولی از طرفی پوشش در سطح، میزان استفاده از نانو ذرات را محدود کرده و سطح مؤثر در دسترس را کاهش می‌دهد و در این حالت، بازده نسبت به حالتی که از ذرات به‌صورت سوسپانسیون استفاده می‌شود کمتر است. همچنین ممکن است ذرات از سطح تجهیزات تصفیه رها شده و وارد محصول نهایی گردند[۱۰].

روش دیگر استفاده از ذرات نقره که در این پژوهش به آن پرداخته شد، ترکیب ذرات با پلیمر و تهیه کامپوزیت پلیمری است. استفاده از نانو ذرات در پلیمرها علاوه بر این که مشکلات ذکر شده در مصرف نانو ذرات را رفع می‌کند باعث بهبود خواص پلیمر نیز می‌گردد.

۲- مواد و روشها

مواد استفاده شده در این تحقیق شامل پلی‌اتیلن با دانسیته بالا[2] محصول پتروشیمی مارون (کد 4760 HF)، میکرو ذرات $AL_2O_3/SiO_2/Ag$ محصول شرکت مهندسی نانو شیمی لوتوس پاسارگاد که اصطلاحاً به آن نانو ذرات نقره کپسوله شده گفته

[1] US Environmental Protection Agency (USEPA)

[2] High Density Poly Ethylene (HDPE)

Archive of SID
www.SID.ir

می‌شود، محیط‌های کشت شامل نوترینت براث[1]، نوترینت آگار[2]، پلیت کانت آگار[3]، SCDLP[4] محصول شرکت مرک[5] و باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت رایج در آلودگی آبهای شیرین بود (جدول ۱).

در مرحله اول، نانو ذرات نقره کپسوله شده توسط آنالیزورهای XRF مورد بررسی دقیق قرار گرفتند تا از میزان ذرات نقره موجود در ترکیب اطمینان حاصل گردد. سپس نانو ذرات تهیه شده به‌منظور تعیین میزان رهایش ذرات از بستر معدنی مورد شستشو قرار گرفتند و بعد از فیلتراسیون و گرم‌خانه‌گذاری به‌منظور تعیین میزان نقره موجود مجدداً مورد تست XRF قرار داده شدند. پس از حصول اطمینان از کیفیت ذرات اقدام به تولید نانو کامپوزیت‌های پلیمری به‌روش مذاب شد.

در روش مذاب، مستربچ ۴۰ درصد از نانو ذرات نقره کپسوله شده همراه با پلیمر HDPE توسط اکسترودر اینترنال تهیه گردید. سپس از مستربچ تهیه شده به میزان لازم با پلیمر HDPE مخلوط گردید و کامپوزیت‌هایی با ترکیب درصد ۱، ۲، ۴ و ۸ درصد به‌صورت ورق تهیه شد.

به‌منظور استریل نمودن ورقهای حاوی ترکیبات نانو از دستگاه اتوکلاو به‌مدت ۲۰ دقیقه تحت فشار Psi ۲۰ و درجه حرارت ۱۲۱ درجه سلسیوس استفاده شد تا ورقها عاری از هرگونه میکروارگانیسم گردند. سپس استاندارد ۱۰۹۰۰ ملی ایران بر روی ورقها اعمال گردید و کشت ۲۴ ساعته بر روی نمونه‌ها انجام شد و نتایج به‌دست آمده مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. به‌منظور کشت بر روی ورقها، محیط کشت نوترینت براث حاوی باکتری که دارای کدورت معادل یک مک‌فارلند است تهیه شد و به مقدار ۴ میلی‌لیتر بر روی هر ورق تزریق گردید. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری (دمای ۳۶ درجه سلسیوس) شده و پس از خروج از انکوباتور و تزریق جلوگیری کننده SCDLP بر روی ورقها و جمع‌آوری کامل باکتری‌های قادر به زیست، اقدام به رقت‌سازی از سوسپانسیون بازیابی شده شد. پس از تهیه رقتها، باکتری‌ها به‌روش پورپلیت در محیط کشت پلیت کانت آگار کشت داده و پس از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۳۶ درجه سلسیوس، کلنی‌های تشکیل شده توسط کلنی کانتر شمارش شد. این فرایند در فاصله‌های زمانی ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق باکتری بر روی نمونه ۴ درصد تکرار گردید[۱۱]. به‌منظور اطمینان از ماندگاری خاصیت ضد میکربی و عدم رهایش نانو ذرات از سطح پلیمر به مرور زمان، نمونه‌ها در ظرف حاوی آب به‌مدت ۱۵ تا ۳۰ روز نگه داشته شدند و پس از گذشت زمان مذکور آنالیز میکربی بر سطح نمونه‌ها انجام شد.

جدول ۱- سویه‌های باکتری‌های شاهد

نام باکتری	سویه
استافیلوکوکوس اورئوس[6]	ATCC[7] 6538P,PTCC[8] 1112 CIP[9] 53.156,GCMC[10] 346 NBRC[11] 12732,NCIB[12] 8625
اشریشیاکلی[13]	ATCC8739, PTCC 1330 CIP 53.126 , DSM 1576 NBRC 3972 , NCIB 8545

۳- نتایج و بحث

نتایج آنالیز ذرات نشان داد که میکروذرات دارای ۷۲ درصد SiO_2، ۱۲ درصد AL_2O_3 و ۶۶/۳ درصد نانو ذرات نقره هستند که با ادعای شرکت تولید کننده مغایرتی ندارد. پس از اجرای استاندارد ۱۰۹۰۰ ملی ایران نتایج اولیه بعد از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری به‌شرح جدول ۲ بود. میزان تزریق اولیه بر روی هر ورق ۴ میلی‌لیتر از سوسپانسیون نوترینت براث حاوی باکتری با کدورت[14] ۲۵۶/۰ بود که هر میلی‌لیتر بر اساس استاندارد مک فارلند حاوی ۳×۱۰^{۸} سلول باکتری است.

تعداد سلول‌های زنده بازیابی شده بعد از کشت توسط رابطه ۱ محاسبه می‌گردد

$$N = \frac{100 \times C \times D \times V}{A} \qquad (۱)$$

که در این رابطه

A سطح غشاء برحسب میلی‌متر مربع، V میزان تزریق باکتری بر ورق، D رقت قابل شمارش و C : CFU[15] است.

نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد با افزایش میزان نقره خاصیت ضد باکتریایی ورقها افزایش یافته است و در نمونه شاهد افزایش رشد باکتری به‌دلیل نبود نانو ذرات کاملاً مشهود است. همچنین نتایج بیانگر این مطلب است که تأثیر نانو ذرات نقره بر روی باکتری‌های گرم منفی (*E. coli*) بیشتر از گرم مثبت (*St. aureus*) بوده و

1 Nutrient Broth
2 Nutrient Agar
3 Plate count Agar
4 Soybean Casein Digest Brothwith Lecithin and Polyoxethylene Sorbitan Monoleate (SCDLP)
5 Merck

6 *Staphylococcuse Aureus*
7 American Type Culture Collection (ATCC)
8 Persian Type Culture Collection (PTCC)
9 Institute Pasteur Collection (CIP)
10 German Collection of Microorganisms and Cell Collection (GCMC)
11 National Biological Resource Center (NBRC)
12 National Collection of Industrial and marine Bacteria (NCIB)
13 *Esherchia Coli*
14 Optical Density
15 Colony-Forming Unit

www.SID.ir
Archive of SID

جدول ۲- نتایج کشت ۲۴ ساعته بر روی نانوکامپوزیت‌ها

نوع باکتری	$AL_2O_3/SiO_2/Ag$ (درصد)	رقت قابل شمارش	CFU میانگین	$N \times 10^{-7}$ cell/cm^2	Log N
E. coli	شاهد	۹	۶۰	$۶/۶\times۱۰^{۲}$	۹/۸
	۱	۸	۱۵۰	$۴/۶۸\times۱۰^{۲}$	۹/۶
	۲	۷	۹۰	$۲/۸\times۱۰$	۹/۴
	۴	۶	۷۵	$۲/۳\times۱۰^{۰}$	۷/۳
	۸	۷	۴۵	$۱/۴\times۱۰$	۸/۱
St.aureus	شاهد	۱۰	۳۰۰	$۷/۹\times۱۰^{۲}$	۹/۹
	۱	۹	۳۰۰	$۹/۳\times۱۰^{۳}$	۱۰/۹
	۲	۹	۵۰	$۱/۵\times۱۰^{۳}$	۱۰/۱
	۴	۶	۲۵۰	$۷/۸\times۱۰^{۰}$	۷/۹
	۸	۶	۲۷۰	$۸/۴\times۱۰^{۰}$	۷/۹۲

جدول ۳- نتایج بررسی تأثیر زمان بر تعداد باکتری بازیابی شده در نمونه ۴ درصد $AL_2O_3/SiO_2/Ag$

نوع باکتری	زمان تماس (ساعت)	باکتری تزریقی	باکتری زنده بازیافتی	Log N
E. coli	۰	$۱/۲\times۱۰^{۹}$	$۱/۲\times۱۰^{۹}$	۹/۰۷
	۱۲		$۳/۶\times۱۰^{۹}$	۹/۵
	۲۴		$۲/۳\times۱۰^{۷}$	۷/۳
	۴۸		$۱/۸\times۱۰^{۶}$	۶/۲۵
	۷۲		$۱/۵\times۱۰^{۴}$	۴/۱۷
St.aureus	۰	$۱/۲\times۱۰^{۹}$	$۱/۲\times۱۰^{۹}$	۹/۰۷
	۱۲		$۲/۷\times۱۰^{۹}$	۹/۴۴
	۲۴		$۱/۵\times۱۰^{۸}$	۸/۱۷
	۴۸		$۲/۶\times۱۰^{۷}$	۷/۱۴
	۷۲		$۲/۱\times۱۰^{۵}$	۵/۳۲

روند رشد را در این نوع باکتری کندتر کرده است. بر اساس نتایج به‌دست آمده حداقل مقدار ذرات مورد نیاز ۴ درصد تعیین شد. در نمونه‌های ۱و۲ درصد، باکتری‌ها با وجود اینکه نسبت به نمونه شاهد رشد کمتری داشته‌اند اما مقدار آنها نسبت به تلقیح اولیه افزایش داشته است و این به‌دلیل وجود محیط مناسب رشد است. در نمونه ۴ درصد با وجود محیط رشد مناسب، رشد باکتری‌ها از میزان تلقیحی کمتر بوده است که نشان دهنده غلبه نانو ذرات نقره بر روند رشد است. طبق شکل ۱ در نمونه ۸ درصد میزان باکتری بازیابی شده نسبت به نمونه ۴ درصد افزایش داشته است که این امر به‌دلیل کیفیت نامناسب ورق تهیه شده برای نمونه ۸ درصد است. وجود حبابهای هوا به‌دلیل هواگیری نامناسب در طی فرایند اکسترود کردن باعث کاهش میزان ذرات در لایه مرزی گردیده است که بیانگر تأثیر نحوه تولید ورق بر میزان خاصیت ضد میکربی آن است. در مرحله بعد به تأثیر فاکتور زمان بر میزان رشد در نمونه کامپوزیت ۴ درصد پرداخته شد(جدول ۳ و شکل ۲).

بر اساس نتایج به‌دست آمده هرچه زمان تماس نانو ذرات با باکتری‌ها بیشتر باشد، نتایج بهتری حاصل می‌گردد و تعداد باکتری زنده بازیابی شده به‌شدت کاهش می‌یابد. در اینجا این سوال مطرح می‌گردد که آیا کاهش تعداد باکتری‌ها با گذشت زمان متأثر از مرگ و میر طبیعی باکتری‌ها است یا خیر؟ برای پاسخ به این سئوال باید نمودار رشد باکتری شاهد رسم شده و با نتایج حاصل از شمارش باکتری‌ها به‌روش پورپلیت مقایسه گردد. به‌منظور تبدیل تعداد سلول‌های بازیابی شده به مقدار جذب از جدول استاندارد مک فارلند[1] استفاده شد. با توجه به داده‌های جدول ۴ ، بهترین نمودار با کمترین خطا رسم شده و رابطه حاکم بر نمودار به‌دست آمد و میزان جذب از تعداد باکتری‌های بازیافتی محاسبه گردید (رابطه ۲).

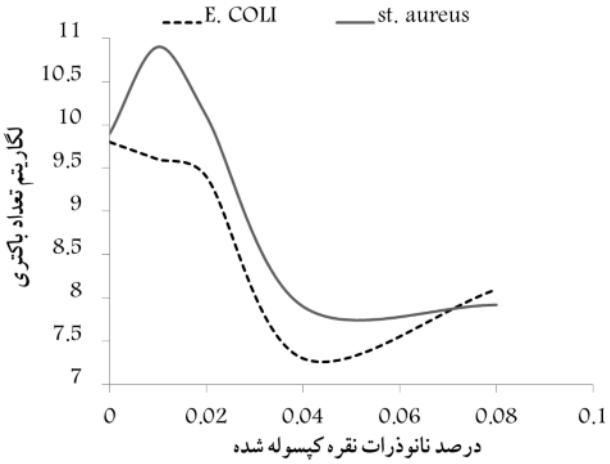
$$y = ۱۷/۳\,x^2 + ۵/۵\,x + ۰/۲۱ \qquad (۲)$$

که در این رابطه

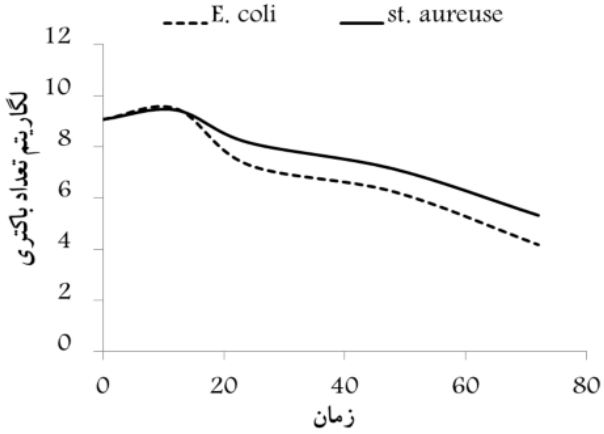
y برابر $cfu \times 10^{-8}$ و x برابر مقدار جذب است.

[1] McFarland Standards

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱- باکتری بازیابی شده برحسب درصد پودر موجود در نانو کامپوزیت



شکل ۲- باکتری بازیابی شده برحسب زمان در نمونه نانو کامپوزیت ۴ درصد

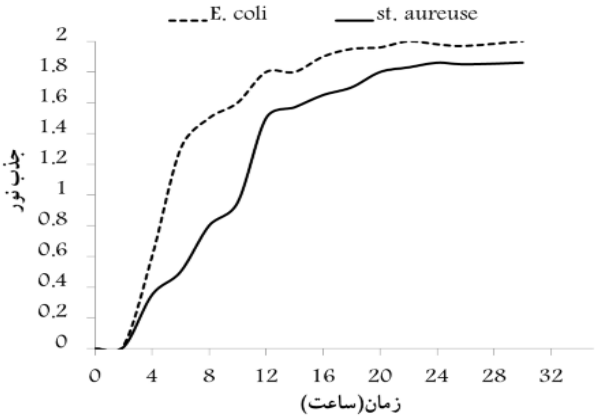
نمودار رشد باکتری‌ها در محیط مایع نوترینت براث که عاری از هرگونه عامل ضد باکتریایی است نشان می‌دهد که فاز رشد لگاریتمی باکتری‌ها از ۳ ساعت بعد از تلقیح آغاز و تا ۱۴ ساعت بعد از تلقیح که وارد فاز کند شدن رشد می‌شود ادامه دارد. جذب نور قرائت شده توسط دستگاه اسپکتروفومتر نشان می‌دهد که عدد جذب در فاز لگاریتمی بین ۱/۰ تا ۶/۱ است. تزریق باکتری بر روی نمونه ۴ درصد زمانی انجام می‌گیرد که سوسپانسیون تلقیح در ابتدای فاز لگاریتمی بوده و عدد جذب با سرعت بیشتری در حال افزایش است که نشان دهنده سرعت زیاد تکثیر باکتری‌ها است. عدد جذب محلول در زمان تلقیح ۲۵۶/۰ است. بر اساس نمودار رشد باکتری به بررسی تأثیر ضد باکتریایی نانو کامپوزیت‌ها در بازه زمانی صفر تا ۴۰ ساعت پرداخته شد. نتایج حاصل از این بازه زمانی دارای اعتبار بوده و می‌توان بر این نتایج استناد کرد. پس از گذشت ۴۰ ساعت از زمان تلقیح، مایع تلقیح به آرامی وارد فازی می‌شود که میزان مرگ باکتری از میزان تکثیر بیشتر شده و دیگر نمی‌توان بین مرگ و میر طبیعی و مرگ و میر ناشی از خاصیت ضد باکتریایی ورق تفکیک قائل شد. در ابتدای تزریق تا ۲ ساعت اولیه باکتری‌ها در فاز اولیه سکون بوده و دارای مقاومت نسبتاً زیادی هستند. بازه زمانی ۳ تا ۱۲ ساعت بعد از تلقیح مرحله رشد لگاریتمی است و پس از آن وارد مرحله کند شدن رشد شده و پس از ۵ تا ۶ ساعت وارد فاز سکون می‌گردند. این فاز مرحله ایستایی نام دارد و در این مرحله تعداد باکتری‌ها نه زیاد شده و نه کم می‌شود. شکل ۳ به خوبی این واقعیت را نشان می‌دهد. ثابت شدن عدد جذب نشان دهنده ثابت شدن کدورت ناشی از میزان باکتری‌ها است.

شکل ۴ بر اساس زمان تماس باکتری‌ها با نمونه کامپوزیت ۴ درصد و نمونه HDPE خالص رسم شده است. تعداد باکتری‌های زنده بازیابی شده به‌روش پورپلیت توسط داده‌های جدول استاندارد مک فارلند و رابطه ۲ به عدد جذب تبدیل شده و در شکل ۴ رسم شده است. در زمان تلقیح، تعداد باکتری موجود در سطح هر ورق برابر بوده و در شرایط محیطی کاملاً یکسان گرم‌خانه‌گذاری شده‌اند. در ابتدا به‌دلیل اینکه محیط مناسب رشد بر روی سطوح مهیا است، باکتری‌ها به تکثیر ادامه می‌دهند ولی با سرعت کمتر

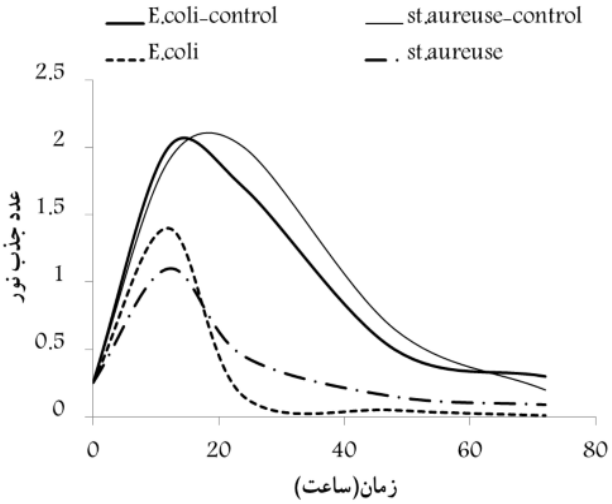
جدول ۴- استاندارد مک فارلند

شماره استاندارد مک‌فارلند	باریم کلرید (میلی‌لیتر)	اسید سولفوریک (میلی‌لیتر)	تراکم سلولی تقریبی (۱×۱۰^{۸}) (cfu/mL)	درصد عبور	جذب
۰/۵	۰/۰۵	۹/۹۵	۱/۵	۷۴/۳	۰/۱۳۲
۱	۰/۱	۹/۹	۳/۰	۵۵/۶	۰/۲۵۷
۲	۰/۲	۹/۸	۶/۰	۳۵/۶	۰/۴۵۱
۳	۰/۳	۹/۷	۹/۰	۲۶/۴	۰/۵۸۲
۴	۰/۴	۹/۶	۱۲/۰	۲۱/۵	۰/۶۶۹

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۳- مقایسه نمونه شاهد باکتری *E. coli* و *S. aureus* در محیط نوترینت براث



شکل ۴- مقایسه جذب نور نمونه ۴ درصد و نمونه شاهد برای هر دو باکتری *E. coli* و *S. aureus*

نسبت به نمونه‌های شاهد. شمارش باکتری زنده پس از ۱۲ ساعت نشان می‌دهد که تعداد باکتری‌های موجود در سطح نمونه کامپوزیت‌های ۴ درصد به مراتب از نمونه‌های شاهد کمتر است که نشان دهنده تأثیر کامپوزیت بر روند رشد باکتری‌ها است. فعالیت ضد باکتریایی (R) پس از ۲۴ ساعت توسط رابطه ۳ برای باکتری *E. coli*، ۹۴ درصد و برای باکتری *St.aureuse*، ۸۷ درصد محاسبه گردید[۱۱].

$$R = \frac{B - A}{B} \times 100 \qquad (۳)$$

که در این رابطه

B تعداد سلول‌های بازیابی شده از ورق پلی اتیلن خالص بعد از ۲۴ ساعت و A تعداد سلول‌های بازیابی شده از نانو کامپوزیت پس از ۲۴ ساعت است.

پس از گذشت ۲۴ ساعت با وجود اینکه سرعت رشد باکتری *E. coli* از باکتری *St. aureuse*، طبق نتایج شکلهای ۳ و ۴ بیشتر بوده است ولی تعداد باکتری *E. coli* زنده بازیابی شده از سطح نمونه کامپوزیت ۴ درصد از تعداد باکتری *St. aureuse* بازیابی شده کمتر است که نشان دهنده تأثیر ضد باکتریایی بیشتر نانو ذرات بر باکتری‌های گرم منفی است. نتایج حاصل از شمارش باکتری‌های زنده پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت نشان می‌دهد که تعداد باکتری‌های زنده به‌شدت کاهش یافته است. در نمونه‌های شاهد نیز با اینکه عامل ضد باکتریایی وجود نداشته است تعداد باکتری‌های زنده بازیابی شده تغییر محسوسی داشته است که این امر ناشی از مرگ و میر طبیعی باکتری‌ها پس گذشت ۴۰ ساعت از زمان تزریق است.

در کل نتایج نشان می‌دهند قبل از آنکه محلول وارد فاز مرگ طبیعی شود به‌شدت تحت تأثیر خاصیت ضد باکتریایی نانو کامپوزیت بوده و سرعت رشد متأثر از این خاصیت به وضوح کاهش یافته است و در بازه زمانی ۳ تا ۴۰ ساعت پس از تزریق، میزان خاصیت ضد باکتریایی قابل مشاهده و اندازه‌گیری است.

در طی آزمایش‌های میکربی، ورقهای تهیه شده بارها مورد استفاده قرار گرفتند و در هر مرحله توسط اتوکلاو تحت فشار و دما سترون گردیده و مجدداً در کشت باکتری از آنها استفاده گردید. نتایج حاصل از تست‌های میکربی حاکی از آن است که هیچ رهایشی در سطح پلیمر صورت نگرفته و نانو ذرات از بستر خود جدا نشده و نانو کامپوزیت همچنان خاصیت ضد میکربی خود را حفظ کرده است و دما و فشار بر این خاصیت تأثیر منفی نداشته‌اند.

۴- نتیجه‌گیری

استفاده از نانو ذرات نقره کپسوله شده در تهیه ظروف حاوی آب آشامیدنی بر پایه HDPE دارای مزایای فوق‌العاده نسبت به نانو کامپوزیت‌های تهیه شده از نانو ذرات نقره خالص هستند. این کامپوزیت‌ها بر هر دو طیف باکتری‌های گرم مثبت و منفی مؤثر بوده و تأثیر آن بر باکتری *E. coli* که بر اساس اعلام سازمان بهداشت جهانی شاخص آلودگی میکربی آب معرفی شده است، بیشتر بود. نتایج نشان داد که با استفاده از این میکروذرات، میزان نانو ذرات استفاده شده به‌مراتب کمتر از نمونه‌های خارجی بود و نتایج بهتری از نظر خاصیت ضد باکتریایی سطوح حاصل گردید. در میکروذرات به‌دلیل خاصیت پرکنندگی بیشتری که نسبت به نانو ذرات دارند با وجود عدم رهایش ذرات از بستر معدنی (Al_2O_3/SiO_2)، به‌دلیل پیوند قوی بین SiO_2 و Ag طول ماندگاری خاصیت ضد باکتریایی سطوح که به‌واسطه وجود نانو ذرات Ag در سطح است، افزایش چشمگیری می‌یابد و علاوه بر حفظ خاصیت ضد باکتریایی، ماندگاری ذرات، از عوارض ناشی از رهایش و

Archive

www.SID.ir

تجمع در بدن انسان پیشگیری می‌کند و همچنین علاوه بر صرفه‌جویی در فرایند صنعتی استفاده از این ذرات با ایجاد محیط سالم کاری کمک شایانی در حفظ سلامت افراد خواهد داشت. در دراز مدت با کمک به حذف گندزداهای شیمیایی و عوارض ناشی از استفاده از این گندزداها در سیستم تصفیه آب، هزینه اولیه صرف شده توجیه اقتصادی خواهد داشت.

۵- مراجع

1- Frederick, W. (1998). *Small systems to tackle disinfection by-products*, AWWA Technical Reports, USA.

2- Bryant, E. (1992). *Disinfection alternatives for safe drinking water*, Van Nostrand Reinhold, New York.

3- Alicia, C.(2000). "DBP formation during chlorination." *J. of AWWA*, 92, 76-90.

4- Abdel-shafy, M. (2000). "THM formation in water supply in South Bohamia." *J. of Water Research*, 34, 3452-3459.

5- Raymond, P. (2000). *Biocidal compositions for treating water*. Patent Number 6093422, United State Patent.

6- Mahendra, S. (2008). "Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications." *J. of Water Res*., 42, 4591-4602.

7- Demin, A.P. (2010). "Water management complex of Russia: Concept, state of the art, and problems." *J. of Water Resources*, 37, 711-726.

8- Inaoka, D., and Anzaki, T. (2010) *Antibacterial substrate and method of manufacturing*, Patent Application Pub., USA.

9- Zenji, H. (1990). *Zeolite particles having bacterocidal properties*, Patent Number 4911899, United State Patent.

10- Zenji, H. (1990). *Zeolite particles retaining silver ions having antibacterial properties*, Patent Number 4911898, United State Patent.

11- Shu-Cai, Li. (2010). *Mechanical and antibacterial properties of modified nano-ZnO /high-density Polyethylene composite flms with a low doped content of nano-ZnO*, John Willy and Sons Pub., New York.

Archive of SID

www.SID.ir