

اثر نانو ذره نقره در از بین بردن اشریشیاکولی جدا شده از پساب صنعتی

* دکتر رضا حبیبی پور (PhD)^۱ - مینا صادقیان (MSc)^۲ - دکتر اصغر سیف (PhD)^۳

^۱ نویسنده مسئول: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران

پست الکترونیک: habibipour@iauh.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۹۳/۰۸/۱۹ تاریخ ارسال: ۹۴/۰۶/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۷/۲۲

چکیده

مقدمه: امروزه، پژوهش برای یافتن مواد ضد میکروبی جدید انجام می‌شود و نانو ذره‌ها برای رسیدن به این هدف نماینده خوبی هستند.

هدف: بررسی خواص ضد میکروبی نانو ذرات نقره در حذف باکتری اشریشیاکولی جدا شده از پساب صنعتی

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، پس از نمونه برداری از صنایع آلوده، اندازه‌گیری فکال کولی‌فرم و توتال کولی‌فرم پساب‌های صنایع گوناگون با روش‌های استاندارد میکروبیولوژی انجام شد. سپس، نانو ذره نقره با غلظت‌های گوناگون به روش رقت لوله‌ای در محیط کشت نوترینت برات بر باکتری اشریشیاکولی ایزوله و استاندارد (PTCC8739) اثر داده شد و میزان کدورت لوله‌ها (OD) که نشانگر رشد باکتری است در طول موج ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. سپس، از تمام لوله‌ها بر محیط کشت جامد نوترینت آگار تلقیح انجام شد. در پایان نتایج به روش آماری و نرم‌افزار SPSS22 آنالیز و تجزیه و تحلیل شد.

نتایج: آلودگی توتال کولی‌فرم و فکال کولی‌فرم پساب صنایع کشتارگاه تایید و باکتری اشریشیاکولی ایزوله شد. 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: نوع باکتری و غلظت، در بروز ویژگی ضد میکروبی نانو ذرات نقره موثرند. از طرفی گرچه غلظت‌های مورد استفاده بر اشریشیاکولی موثر بودند ولی باعث حذف کامل باکتری نشدند و نیاز است که توجه اقتصادی و دیگر عوامل دخیل در کاربرد نانوذرات بررسی شود.

کلید واژه‌ها: اشریشیاکولی / نانوذرات / نقره

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و پنجم شماره ۹۷، صفحات: ۳۷-۲۹

مقدمه

مرگ‌ومیرها در کشورهای فقیر جهان هستند. عوامل بروز این بیماری‌ها شامل تک یاخته‌ها، ویروس‌ها، باکتری‌ها، کرم‌ها و انگل‌ها هستند (۲).

برخی روش‌های فیزیکی تصفیه آب مانند پرتوی فرابنفش، امواج فراتر از صوت و غشاها گرچه بسیاری از سنج‌های یک گندزدای خوب را دارند، اما نمی‌توانند باقی‌مانده کافی را برای سیستم‌هایی با شبکه توزیع گسترده یا زمان‌های ماند طولانی فراهم کنند. گندزدهای شیمیایی جایگزین دربرگیرنده کلروآمین، دی‌اکسیدکلر، برم و پرمنگنات پتاسیم نیز به دلیل کارایی کم، بهای بالا و تولید مواد سمی محدود شده‌اند. بنابراین، لازم است تکنولوژی‌های جدید برای گندزدایی موثر آب جستجو و شناسایی شوند. با توجه به توانمندی فناوری نانو در حذف و کنترل آلودگی‌های محیطی و تصفیه و پیشگیری از انتشار آنها می‌توان آن را به‌عنوان تکنولوژی سبز

در حال حاضر به دلیل افزایش جمعیت، بویژه در کشورهای فقیر و از سوی دیگر ارتقای سطح زندگی، سرانه مصرف آب در جهان رو به افزایش است و به پیروی از آن، کمبود منابع آب سالم در بسیاری از مناطق به‌شدت احساس می‌شود. با افزایش حدود ۹۰ میلیون نفر در هر سال به جمعیت کره زمین و برداشت بیش از حد و نیز آلودگی منابع آبی زمین، این کمبود تشدید و در نتیجه آن تنش‌های حاد سیاسی و اجتماعی در پهنه جهانی بویژه در کشورها مناطق خشک و نیمه‌خشک، بیشتر خواهد شد. از این رو قرن حاضر قرن چالش آب خواهد بود (۱).

از نگاه آمار، ۸۰ درصد جمعیت جهان تنها به ۲۰ درصد از ذخایر سالم و بهداشتی دسترسی دارند. بیماری‌های ناشی از آب آلوده مانند وبا، حصبه، اسهال‌های میکروبی و خونی، هپاتیت، سل، دیفتری و انگل‌های خونی عامل بسیاری از

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران

۲. گروه محیط زیست، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران

۳. گروه آمار، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینای همدان، همدان، ایران ۲۹

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت تجربی در مقیاس آزمایشگاهی و در سیستم بسته بر نمونه‌های آلوده پساب صنعتی انجام شده است. با بررسی شکل‌های گوناگون رده‌بندی صنایع، مانند طبقه‌بندی فرامرزی (International Classification of Goods and Services (Manufacturing Indexes and Classification) و همچنین آخرین ویرایش طبقه‌بندی استاندارد فرامرزی تلاش‌های اقتصادی (International Standard Industrial Classification of all Economic Activities) (ISIC) و با توجه به دو سرشماری عمومی صنعت و معدن و اطلاعات وزارت صنایع، سازمان مدیریت و برنامه‌ریزی و مرکز آمار ایران و سرانجام با در نظر گرفتن چگونگی پخش و گوناگونی صنایع در استان همدان به ویژه صنایع بزرگ از نظر تولید فاضلاب صنعتی پنج گروه اصلی صنایع غذایی و آشامیدنی، صنایع نساجی، صنایع شیمیایی، صنایع فلزی و صنایع محصولات کانی غیرفلزی شناسایی و مطالعه شد.

گونه‌ی باکتری در این مطالعه باکتری گرم منفی اشریشیاکولی بود که به روش صافی غشایی پس از آزمون‌های بیوشیمی، رنگ‌آمیزی گرم و مشاهده کلنی‌ها و پس از اطمینان از نوع و سره بودن باکتری از پساب صنعتی جدا شد. نمونه استاندارد آن اشریشیاکولی (PTCC8739) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه و مورد استفاده قرار گرفت.

دستگاه‌ها، وسایل و مواد استفاده شده عبارت بودند از: هود مدل (JTLV2X)، اسپکتروفوتومتر مدل (Jenway 3510)، انکوباتور مدل (H 2002)، پمپ خلاء، ترازوی دیجیتال، شیکر، لوله‌های تخمیری، وسیله تلقیح، بطری‌های نمونه‌برداری، انواع میکروپلیت، دیش پتری، همچنین، همه محیط کشت‌های مورد استفاده آگار و برات ساخت شرکت مرک آلمان

بررسی خواص ضد میکروبی: در آغاز یک استاندارد نیم مک فارلند برای شاهد تهیه شد. به این منظور ۰/۶ میلی‌لیتر محلول کلرور باریم ۱ درصد در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک به حجم رسانده شد و جذب نوری با دانسیته نوری این محلول برابر با ۱ خوانده شد. محیط‌های نوترینت برات که از پیش

و ابزاری موثر برای دستیابی به گسترش پایدار در نظر گرفت (۳).

از همه مواد ضد میکروبی، یون نقره بیشترین کاربرد را دارد. نانو ذرات نقره به دلیل ابعاد کوچکی که دارند دارای ویژگی‌های بی‌همتای فیزیکی و شیمیایی هستند. این کاهش در ابعاد، باعث بالا رفتن نسبت سطح به حجم شده و در نتیجه سطح تماس با ریزسازواره‌ها افزایش می‌یابد. به همین دلیل نانو ذرات نقره اثر میکروبوکشی بالاتری نسبت به توده فلز نقره دارند. سازوکار ریزبینانه اثر نانو ذرات بر ریزسازواره‌ها مشخص نیست اما سه سازوکار به‌طور معمول پیشنهاد شده که عبارت است از: ۱- آزادسازی تدریجی یون‌های نقره و در نتیجه مهار ATP و رونویسی DNA ۲- آسیب مستقیم به غشای سلولی توسط نانو ذرات نقره ۳- ایجاد رادیکال‌های اکسیژن فعال توسط نانو ذرات نقره و یون‌های نقره (۸-۴).

در سال ۲۰۰۵، چو و همکاران کمترین غلظت بازدارندگی نانو ذرات نقره و پلاتین را بر توقف رشد استافیلوکوک اورئوس مطالعه کردند (۹). همچنین، روپالیا و همکاران در سال ۲۰۰۶ اثر نانو ذره نقره را در برابر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکولی بررسی کردند (۱۰). در مطالعه‌ی دیگر آدامز و همکاران در سال ۲۰۰۶، در بررسی اثر ضد میکروبی اکسید تیتانیوم، دی اکسید سیلیکون و اکسید روی بر باکتری‌های اشریشیاکولی و باسیلوس سوبتیلیس دریافتند بیشترین حساسیت نسبت به نانو ذرات مربوط به باسیلوس سوبتیلیس است (۱۱). تا امروز مطالعات فراوانی در مورد خاصیت میکروبوکشی نانو ذرات انجام شد اما در پساب‌های صنعتی با توجه به نوع صنعت و متفاوت بودن ترکیب فیزیکی و شیمیایی پساب لازم است، مطالعه گسترده‌تری صورت گرفته تا خواص این مواد بیشتر آشکار شود. این پژوهش با هدف تعیین فعالیت ضد میکروبی غلظت‌های گوناگونی از نانو ذرات نقره بر باکتری اشریشیاکولی ایزوله شده از پساب‌های صنعتی و نمونه استاندارد آن انجام شد به این امید که در آینده بتوان از این مواد در پاک‌سازی پساب‌های صنعتی استفاده کرد.

منتقل کرده و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری رشد باکتری‌ها بر روی پلیت بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های این پژوهش از آزمون‌های آماری تحلیل واریانس مختلط و من-ویتی استفاده شد. البته برای انتخاب آزمون مناسب، فرض طبیعی بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. در صورت معنی‌دار بودن اثر عوامل این پژوهش بر متغیرهای وابسته، اندازه اثر نیز با استفاده از ضریب η^2 گزارش شد. جهت پردازش‌های آماری، از آخرین نسخه‌ی نرم افزار SPSS در هنگام این پژوهش، یعنی SPSS22 استفاده شد.

نتایج

آزمون‌های توتال‌کولی‌فرم و فکال‌کولی‌فرم از پساب نمونه‌برداری شده برپایه روش آزمون استاندارد ملی ۳۷۵۹ انجام شد. بررسی نتایج این آزمون‌ها در نمونه‌های پساب کشتارگاه مثبت و باکتری (اشریشیاکولی) 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 این آزمون‌ها برای هر غلظت با ۳ تکرار صورت گرفت. طبق مشاهده هیچ‌یک از غلظت‌ها توان حذف کامل رشد باکتری‌ها را ندارند.

با توجه به جدول ۲، برای بررسی متغیرها که شامل؛ غلظت‌های گوناگون نانو ذرات نقره و نوع ایزوله و استاندارد باکتری اشریشیاکولی است، از تحلیل واریانس مختلط استفاده شد. در مورد غلظت نانو ذرات

$$P - Value \cong 0 \leq \alpha - 0.05$$

و همچنین در مورد نوع باکتری نیز با توجه به این‌که

$$P - Value \cong 0 \leq \alpha = 0.05$$

بنابراین، تفاوت میزان کدورت در غلظت‌های گوناگون نانو ذرات در باکتری‌های ایزوله و استاندارد تایید می‌شود.

آماده شده بود، درون لوله‌های دردار استریل در نزدیکی شعله ریخته شد و سپس یک لوپ کامل از اشریشیاکولی (ایزوله و استاندارد) برداشته و به محیط نوترینت برات وارد و تکان داده شد تا باکتری کاملاً در محیط یکنواخت شود. لوله‌های نامبرده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شدند. سپس، کدورت لوله‌ها بررسی شد. این کدورت مشابه کدورت استاندارد نیم مک فارلند و جذب نوری آن ۱ و برپایه استاندارد نیم مک فارلند شمارش تعداد باکتری در آن $1/5 \times 10^8$ CFU/ml از باکتری اشریشیاکولی بود. برای تهیه سری رقت از نانو ذرات ۱۰ لوله استریل که هر یک حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هیتتون برات بود استفاده شد. سپس ۵ میلی‌لیتر از نانو ذرات با غلظت اولیه را به لوله شماره ۱ اضافه کرده پس از مخلوط کردن محیط کشت و نانو ذره توسط شیکر ۵ میلی‌لیتر از محلول برداشته، به لوله دوم می‌افزاییم و به‌همین ترتیب تا لوله آخر نانو ذرات رقیق شدند. از لوله آخر ۵ میلی‌لیتر برداشته و بیرون ریخته شد. به این ترتیب غلظت‌های ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵، ۱۵/۶۲، ۷/۸۱، ۳/۹ PPM از نانو ذرات بدست آمد. آنگاه از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده، نیم مک فارلند به اندازه ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به هر لوله افزوده شد. گفتنی است که سر سمپلرها از پیش در اتو کلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در فشار 15 Ibf/in^2 استریل شدند. لوله شماره ۹ حاوی محیط کشت و سوسپانسیون باکتری به عنوان شاهد مثبت و لوله شماره ۱۰ حاوی محیط کشت و نانو ذره به‌عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد. سپس، لوله‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شد و برای تعیین غلظت مواد که سبب مهار رشد ریزسازواره‌ها می‌شود، میزان کدورت لوله‌ها (OD) که نشانگر رشد باکتری است در طول موج ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. برای بدست آوردن کمینه غلظت کشندگی از لوله‌هایی که شفاف به نظر می‌رسیدند یعنی نشانه‌هایی از کدورت یا رشد باکتری در آنها دیده نمی‌شد، مقدار کمی توسط سمپلر برداشت و به محیط کشت مولر هیتتون آگار

جدول ۱. تعیین کارایی غلظت‌های گوناگون نانو ذرات نقره در مهار رشد باکتری اشیریشیاکولی

باکتری‌ها						غلظت‌های گوناگون نانو ذرات نقره (ppm)
سنجش شماره (۳)		سنجش شماره (۲)		سنجش شماره (۱)		
باکتری ایزوله	باکتری استاندارد	باکتری ایزوله	باکتری استاندارد	باکتری ایزوله	باکتری استاندارد	
۰/۰۴۰	۰/۰۱۱	۰/۰۳۹	۰/۰۲۱	۰/۰۴۲	۰/۰۰۸	۵۰۰
۰/۰۵۷	۰/۰۴۹	۰/۰۵۲	۰/۰۴۲	۰/۰۵۷	۰/۰۴۷	۲۵۰
۰/۱۰۳	۰/۰۵۰	۰/۰۸۹	۰/۰۵۹	۰/۰۹۵	۰/۰۶۱	۱۲۵
۰/۱۷۸	۰/۰۷۷	۰/۱۹۹	۰/۰۹۱	۰/۱۹۲	۰/۰۷۲	۶۲/۵
۰/۳۰۹	۰/۱۵۷	۰/۲۸۲	۰/۱۸۵	۰/۲۵۸	۰/۱۶۲	۳۱/۲۵
۰/۴۳۸	۰/۳۰۷	۰/۴۶۰	۰/۲۲۶	۰/۴۹۸	۰/۲۳۹	۱۵/۶۲
۰/۵۹۵	۰/۴۹۹	۰/۵۸۸	۰/۴۴۸	۰/۵۲۶	۰/۴۶۷	۷/۸۱
۰/۹۵۱	۰/۷۲۲	۰/۸۰۹	۰/۶۱۶	۰/۸۲۹	۰/۶۰۳	۳/۹
۱/۲۰۲	۰/۸۸۹	۱/۱۲۳	۰/۸۵۹	۱/۰۷۶	۰/۸۵۳	کنترل مثبت
۰/۰۰۶		۰/۰۰۶		۰/۰۰۶		کنترل منفی

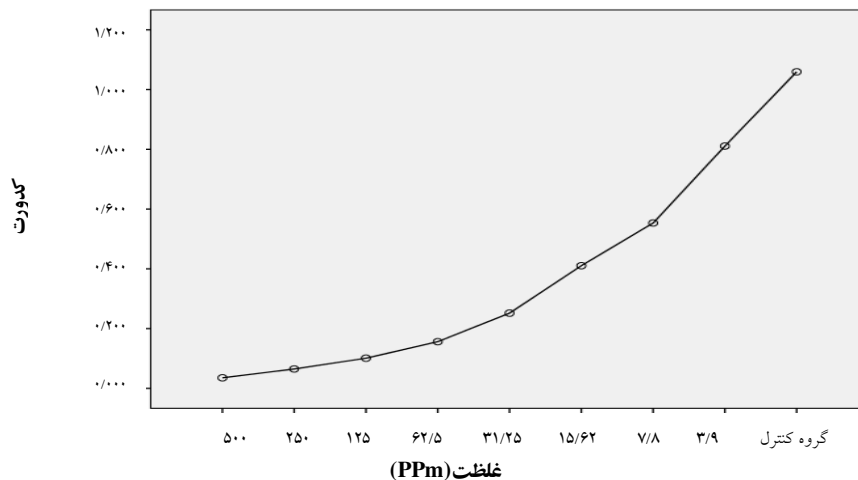
Mixed ANOVA

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	۱۰۸	۰/۰۰۱	-	-	-
کل	۴۳/۳۵۰	۱۶۲	-	-	-	-

همان‌گونه که از نمودار 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.

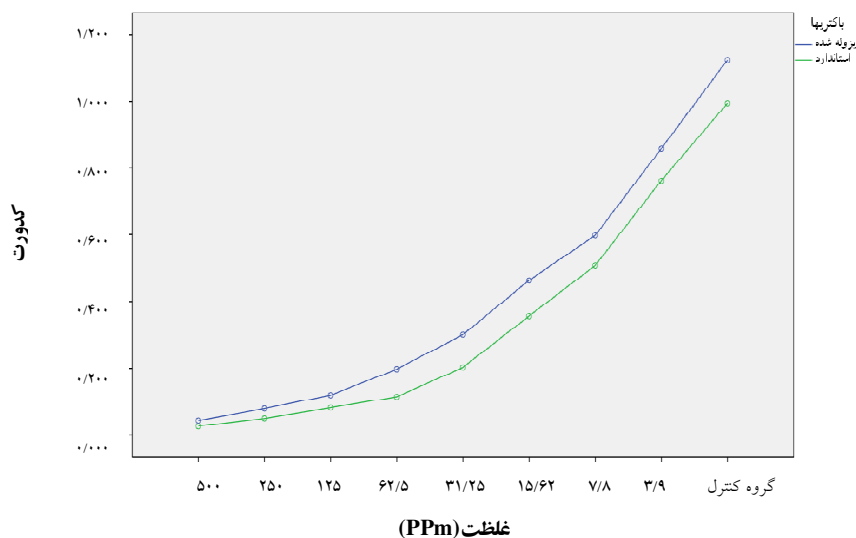
همان‌گونه که از نمودار ۱ پیداست، نتایج بررسی روش رقت لوله‌ای نشان داد که با افزایش غلظت نانو ذرات در داخل لوله‌ها، میانگین میزان کدورت یا به عبارت دیگر رشد باکتری‌ها کاهش می‌یابد.



نمودار ۱. اثر غلظت‌های گوناگون نانو ذرات در مهار رشد باکتری‌ها در مقایسه با گروه کنترل

نمودار زیر نشان‌دهنده 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.



نمودار ۲. مقایسه تفاوت اثر نانو ذرات در باکتری‌های ایزوله شده و استاندارد

و استاندارد را نشان می‌دهد، اما با توجه به جدول من- ویتنی از آنجا که $P - Value \cong 0/223 > \alpha = 0.05$ می‌باشد، اختلاف معنی‌دار نیست. بدین معنی که تفاوتی از لحاظ کدورت ایجاد شده که نشان از رشد باکتری دارد بین باکتری ایزوله و استاندارد اشریشیاکولی وجود ندارد.

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

جدول ۳. مقایسه میانگین کدورت باکتری ایزوله شده و استاندارد توسط آزمون من-ویتنی

باکتری	مقدار آماره	سطح معنی‌داری
اشریشیاکولی	۱/۲۲۰	۰/۲۲۳

نانوذرات برخلاف نوع باکتری بر رشد میکروبی اثر معنی‌دار دارد. همچنین، مشخص شد، بین غلظت نانو ذره و درصد حذف باکتری ارتباط مستقیم وجود دارد. به این ترتیب که هر چه غلظت نانو ذره بیشتر می‌شود میانگین کدورت که نشان‌دهنده‌ی رشد باکتری است کاهش پیدا می‌کند و تفاوت بیشتری نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌کنیم به طوری که بیشترین کدورت در غلظت ۳/۹ و کمترین کدورت در غلظت ۵۰۰ دیده شد که به لحاظ آماری نیز معنی‌دار شد. این نتایج با یافته‌های بسیاری از محققان مبنی بر این که با افزایش غلظت نانو ذرات درصد حذف باکتری افزایش می‌یابد یعنی خاصیت آنتی‌میکروبی نانو ذرات تحت تاثیر غلظت آن‌ها قرار

بحث و نتیجه‌گیری

بر پایه نتایج این پژوهش، آلودگی میکروبی (توتال کولی‌فرم و فکال کولی‌فرم و اشریشیاکولی) پساب صنایع کشتارگاه محرز شد که این نتایج با مطالعه پژوهشگران دیگر مبنی بر این که فاضلاب این صنایع یکی از آلاینده‌های اساسی محیط زیست هستند و در صورت تصفیه نشدن و تخلیه نامناسب به محیط زیست زیان‌های زیادی وارد می‌کند مطابقت دارد (۱۷-۱۲). در این مطالعه اثر ضد میکروبی غلظت‌های گوناگون نانو ذرات نقره بر باکتری اشریشیاکولی ایزوله و استاندارد بررسی شد. همچنین، دو متغیر نوع باکتری (ایزوله و استاندارد) و غلظت نانو ذرات مطالعه شد. نتایج نشان داد که متغیر غلظت

دارد مطابقت دارد (۲۱-۱۸).

تاثیر نانو ذرات نقره در برابر باکتری‌های گوناگون (نوع ایزوله و استاندارد اشیریشیاکولی) اثرگذاری متفاوتی نشان داد (گرچه معنی دار نبود) که این جستار با نتایج پژوهش Shrivastava و همکاران Ruparefika و همکاران، Kyung و همکاران و بسیاری از محققین دیگر مبنی بر اینکه شدت سمی بودن یا اثر ضدباکتریایی نانو ذرات به نوع و جنس باکتری نیز بستگی دارد مطابقت دارد و نتیجه پژوهش بخاطر این است که باکتری‌های ایزوله و استاندارد یکسان بودند (۲۴-۲۲).

همان‌طور که از نتایج پیداست سوسپانسیون نانو ذرات تهیه شده به روش مایکرو دایلوژن حتی در غلظت‌های بالا و اولیه نتوانسته است تاثیر چشمگیری در حذف باکتری اشیریشیاکولی از خود نشان دهد، چنان که حتی با استفاده از روش‌های دیسک‌گذاری و چاهک‌گذاری به دلیل اثرگذاری ناچیز نتایج درخور ارائه بدست 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. بنابراین، این ویژگی‌های نانو ذرات می‌تواند بر خاصیت ضد میکروبی آنها موثر باشد یا این‌که محققین دیگر از نانوذرات همراه با مواد دیگر استفاده کرده‌اند که باعث تشدید اثر ضد میکروبی آنها می‌شود. چنان‌چه در پژوهش میرنژاد و همکاران در سال ۲۰۱۳ اثر سینرژسم نانوذرات به همراه آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین بررسی شد. نتایج نشان‌دهنده از فعالیت ضدباکتریایی بسیار خوب نانو ذرات به همراه آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین بر علیه باکتری بروسلایبوریتوس بود (۲۵). همین‌طور موگی و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که تاثیر نانو ذرات بر سلول‌های موجودات زنده به قطر اندازه و شکل نانو ذرات بستگی دارد (۲۶). همچنین، در مطالعه‌ی توسط پتیکا و همکاران در سال ۲۰۰۸، اثر نانوذره نقره کلوییدی با غلظت 300 PPM بر سه سویه پسودوموناس، استافیلوکوک اورئوس و اشیریشیا کلی سنجیده شدند. طبق نتایج، مقادیر MIC نانو ذرات علیه باکتری‌های فوق به ترتیب ۷، ۳۲ و ۳۱ PPM بود (۲۷). مورنس و همکاران در سال ۲۰۰۵، با بررسی خاصیت آنتی‌باکتریال نانو

ذرات نقره بر استافیلوکوک اورئوس نشان دادند که اثر باکتریوسید نانو ذرات وابسته به اندازه است و هر چه کوچک‌تر باشد به دلیل افزایش سطح تماس این خاصیت بیشتر است (۲۸). چنان‌چه چو و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند کمترین غلظت بازدارندگی نانو ذرات نقره برای استافیلوکوک اورئوس و اشیریشیاکولی به ترتیب ۵ و ۱۰ PPM بوده‌ست (۲۹). از طرفی علیزاده و همکاران نشان دادند در روش مایکرو دایلوژن نانو ذرات نقره حتی در غلظت‌های پایین نیز می‌توانند از رشد باکتری بروسلایبوریتوس پیشگیری کنند (۳۰). هومبرتو و همکاران در سال ۲۰۱۰ در مکزیک اثر مهارى نانو ذره نقره را بر روی باکتری‌هایی که مقاومت دارویی زیادی از خودشان نشان می‌دهند، بررسی و مشاهده کردند که نانو ذرات نقره اثر باکتریوستاتیک قابل ملاحظه‌ای بر باکتری‌ها دارند (۳۱). همچنین، خسروی اقبال و همکاران نشان دادند که نانو ذره نقره نه تنها دارای اثر باکتریوستاتیک بلکه اثر باکتریوسید قوی نسبت به نانو ذرات مس دارد و حتی در غلظت کم باعث مرگ باسیلوس‌ها می‌شود (۳۲).

آشکارکردن آلودگی‌ها و تصفیه مواد آلاینده پساب، هدفی است که دست‌یابی آن مستلزم بهره‌گیری از فناوری‌های نوین است. همان‌طور که گفته شد استفاده از پساب برای کاربردهای صنعتی محدودیت‌ها و مخاطره‌های بیشتری با توجه به نوع صنعت دارد مانند مصارف صنعتی، تغذیه مصنوعی، مصارف پرورش ماهی و کشاورزی و با توجه به این‌که گندزدایی فاضلاب با استفاده از نانو ذرات، توانایی حذف همه عوامل بیماری‌زای میکروبی را ندارد مانور بهره‌برداری در این روش به کمینه می‌رسد، بنابراین، این گزینه به‌تنهایی برای تصفیه پساب، پیشنهاد نمی‌شود. بر پایه این نتایج می‌توان گفت که نانو ذرات نقره تا حدی در از بین بردن باکتری‌ها موثر است اما برای ضدعفونی آن کافی نیست. بنابراین پیشنهاد می‌شود در ضدعفونی آب از موادی چون هیپوکلریت سدیم، کلر و ... که از نظر اقتصادی به صرفه‌تر بوده، کاربرد آسان‌تر و تاثیر بیشتری دارند استفاده شود. شاید بتوان با استفاده دوگانه ترکیب کلر و نانو ذرات نتایج مثبت بهتری بدست آورد. به نظر می‌رسد تاثیر سینرژسمی نانو

فاضلاب برای بررسی اثر ضد میکروبی بر این باکتری و باکتری‌های گوناگون مد نظر قرار گیرد.

تشکر و قدردانی: این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته محیط‌زیست و مصوب دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان بود. نویسندگان بدین‌وسیله از همه کسانی که در این پژوهش یاری کردند سپاسگزاری می‌کنند. نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

ذرات با سایر مواد به طرز چشمگیری افزایش می‌یابد که نیاز به پژوهش بیشتر دارد.

بر پایه ویژگی‌های ضدباکتریایی نانو ذره نقره و نداشتن آگاهی دقیق از دوز و زمان تاثیر اختصاصی آنها بر باکتری‌های گوناگون آزمون دقیق در پی‌گیری این تاثیر پیشنهاد می‌شود. همچنین در مطالعات پس از این اشکال گوناگون میله‌ای و ستاره‌ای با انواع قطرها و سایر نانو ذرات همچون روی، مس و کربن، همین‌طور تلفیق و کاربرد آنها با سایر گندزداها در

منابع

1. McCullagh C, Robertson J, Bahnemann DW, Robertson P. The application of TiO₂ photocatalysis for disinfection of water contaminated with pathogenic microorganisms: a review. *Chemistry and Materials Science* 2010; 3: 359-75.
2. Noroozi R, Mehdinezhad MH, zafarzadeh A. Photocatalytic Removal of Escherichia Coli by ZnO Activated by Ultraviolet-C Light from Aqueous Solution. *Medical Laboratory Journal Golestan of Medical Science* . 2011; 5 (2) :52-61.[Text in Persian]
3. 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 Research Journal* 2008; 42 (18): 4591-602.
4. Chau NH, Bang LA, Buu NQ, Dung,TTN, Ha HT, Quang DV. Manufacture of nanosilver and investigation of its application for disinfection. *Advanced Natural Science* 2008; 9(2): 241-8.
5. Ruparelia JP, Chatterjee AK, Duttagupta SP, Mukherji S. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta Biomaterialia Journal* 2008; 4(3): 707-16.
6. Gurunathan S, Kalishwaralal K, Vaidyanathan R, Venkataraman D, Pandian SRK, Muniyandi J, et al. Biosynthesis, purification and characterization of silver nanoparticles using Escherichia coli: Colloids and Surfaces. *Biointerfaces* 2009; 74: 328-35.
7. Pal S, Tak YK, Song JM. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium Escherichia coli. *Applied Environmental Microbiology* 2007; 73: 1712-20.
8. Dallas P, Sharma VK, Zboril R. Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: Classification, synthetic paths, applications, and perspectives. *Advanced Colloid Interface Science* 2011; 166: 119-35.
9. Cho K-H, Park J-E, Osaka T, Park S-G. The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. *Electrochimica Acta* 2005; 51: 956-60.
10. Ruparelia JP, Duttagupta SP, Chatterjee AK, Mukherji SM. A comparative study on disinfection potential of nanosilver and nanonickel. Technical poster, Proceedings of the 9th Annual Conference of the Indian Environmental Association, entitled . *Advances in Environmental Management and Technology* 2006; 6: 21-3.
11. Janiszewska J, Swieton J, Lipkowski AW, Urbanczyk-Lipkowska Z. Low molecular mass peptide dendrimers that express antimicrobial properties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2003;13(21):3711-3.
12. Gupta VK, Suhas. Application of low-cost adsorbents for dye removal-A review. *Journal of Environmental Management* 2009; 90: 2313-42.
- 13- Piccin JS, Vieira MLG, Goncalves J, Dotto GL, Pinto LAA. Adsorption of FD&C Red No. 40 by chitosan: Isotherms analysis. *Journal of Food Engineering* 2009; 95: 16-20.
14. Ugurlu M. Adsorption of a textile dye onto activated sepiolite. *Microporous and Mesoporous Material Journal* 2009; 119: 276-283.
15. Bulut Y, Aydin H. A kinetics and thermodynamics study of methylene blue adsorption on wheat shells. *Desalination Journal* 2006; 194: 259-267.
16. Maljaei A, Arami M, Mahmoodi NM, Decolorization and aromatic ring degradation of colored textile wastewater using indirect electrochemical oxidation method. *Desalination Journal* 2009; 249: 1074-1078.
17. Nam KY. In vitro antimicrobial effect of the tissue conditioner containing silver nanoparticles. *The Journal of Advanced Prosthodontics* 2011; 3(1): 20-4.
18. Cheng L, Weir MD, Xu HH, Antonucci JM, Kraigsley AM, Lin NJ, et al. Antibacterial amorphous calcium phosphate nanocomposites with a quaternary ammonium dimethacrylate and silver nanoparticles . *US National Library of Medicine National Institutes of Health* 2012; 28(5):561-72.
19. Dutta, R. K., Et Al. "Studies On Antibacterial Activity Of Zno Nanoparticles By ROS Induced Lipid Peroxidation. *Colloids and Surfaces B: Bio interfaces* 2012; 94(1) : 143-50.
20. Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model

for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science* 2004; 275(1):177-82.

21. Ansari, M. A., Et Al. "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." Article in *Applied Microbiology and Biotechnology* 2012; 94: 467-77.

22. Shrivastava S, Bera T, Roy A, Singh G, Ramachandrarao P, Dash D. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology IOP Scienc* 2007; 18 :103-18.

23. Ruparefica A, Black RJ. Silver Colloid Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and there Activity. *J PhysChem. The Journal of Physical Chemistry* 2009; 10(12):168-188.

24. kyung Woo, Cheong Koo, Kim Woo, Shin S, Hyun So, Young P. Antibacterial Activity and Mechanism of Action of the Silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Applied Environmental Microbiology* 2009; 74(7):2171-8.

25. Mirnejad R, Erfani M, Sadeghi B, Piranfar V. Synergistic effect of silver nanoparticles with streptomycin on the streptomycin-resistant *Brucella abortus*. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences* 2013; 15(5): 72-79.

26. Morones J, Asharani V. The Bactericidal Effect of silver Nanoparticles Against *Staphylococcus Aureus*. *Nanomedicine. Nanotechnology, Biology and Medicine* 2005; 16(19): 213-235.

27. 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. *Toxicological Sciences* 2006; 103: 6419-24.

28. Petica A, Gavariulu A, M.lungue K, Buruntea N, Panzarub K. Colloidal Silver Solutions with Antimicrobial Properties. *Material Science and Engineering* 2008; 15(14): 22-87.

29. Cho K-H, Park J-E, Osaka T, Park S-G. The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient Article in

.ELECTEROCHIMICA ACTA 2005; 51: 956-60.

30. Alizade H, Salavati M, Shapuri R, Abdlahzade P, Nasrian J. Antibacterial effects of silver nanoparticles on *Brucella melitensis* 16M in an animal model in Vitro. *Arak Medical University Journal* 2012; 14(6): 64-70.[Text in Persian]

31. Lara HH, Ayala-Nunez NV, Ixtepan Turrent LC, Rodriguez Padilla C. Bactericidal effect of silver nanoparticles againt multidrug-resistant bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2010; 26(4): 615-21.

32. Khosraviyeghbal R, Akhavansepahi A, Khonafari A, Antimicrobial effects of silver nanoparticles and copper compared with sodium hypochlorite on cell growth and spores of *Bacillus cereus* Svbtyls. *Journal of Microbial Biotechnology Islamic Azad University* 2010; 2(7): 37-44.[Text in Persian]

The Effect of Silver Nano-Particle on Removing the Escherichia Coli from Industrial Residues

*Habibipour R (PhD)¹- Sadeghian M (MSc)²- Seif A(PhD)³

*Corresponding Address: Department of Microbiology, Collage of Basic Science, Islamic Azad University of Hamedan, Hamedan, Iran.
Email: Habibipour@iauh.ac.ir

Received: 10/Nov/2015 Revised: 09/Sep/2015 Accepted: 14/Oct/2015

Abstract

Introduction: Today, research on new antimicrobial materials is growing and nanoparticles can serve as good representative.

Objective: The purpose of this study was to evaluate the antimicrobial properties of silver nanoparticles in the removal of bacteria *E.Coli* isolated from industrial effluents.

Materials and Methods: In this experimental study, after sampling polluted industries, coliform and total coliform measurements fecal industrial wastewater microbiology was performed by standard methods. The silver nanoparticles with different concentrations of the nutrient media broth dilution method in the bacterium *E.Coli* isolates and standard (PTCC8739) and the effect of turbidity tubes (OD), which represents growth of bacteria at a wavelength of 600 nm spectrophotometer was read. Then, all tubes were inoculated on nutrient agar solid medium. The results were analyzed using statistical methods and software SPSS22.

Results: Total coliform and fecal coliform contamination was approved in slaughterhouse wastes and *E.Coli* (slaughterhouse industry pollution index). was isolated. With increasing concentrations, anti-bacterial activity of silver nanoparticles increased and the number of colonies was reduced, although none of the concentrations of bacteria was able to contain and eliminate the bacteria. The effect varies with type of bacteria, but this difference was not statistically significant.

Conclusion: The results showed that the concentration of bacteria and type of bacteria are effective on the range of antimicrobial activities of silver nanoparticles. On the other hand, although the concentrations used in the study of *E.Coli* were effective, but did not remove the whole bacteria and economic feasibility and other factors need to be considered in the application of nanoparticles.

Conflict of interest: none declared

Keyword: *Escherichia Coli*\ Nanoparticles\ Silver

Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 97, Pages: 29-37

Please cite this article as: Habibipour R, Sadeghian M, Seif A. The Effect of Silver Nano-Particle on Removing the Escherichia Coli from Industrial Residues. J of Guilan Univ of Med Sci 2016; 25(97):29-37. [Text in Persian]

1. Department of Microbiology, Collage of Basic Science, Hamedan Branch, Islamic Azad University Hamedan, Iran

2. Department of Environmental Science, Collage of Basic Science, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran

3. Department of Statistic Science, Collage of Basic Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran