

سنتر و مطالعه اثر مدت زمان تابش مایکروویو بر زیست آزمون ضد باکتری نانوبلورهای سلنید روی در حضور دو باکتری گرم مثبت استافیلوکوک اورئوس و باسیلوس سرئوس

نوشین سلیمی^۱، داریوش سوری^{۱*}، مهدی قبولی^۲

^۱ دانشکده علوم پایه، گروه فیزیک، دانشگاه ملایر
^۲ دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه ملایر

* d.souri@gmail.com

چکیده:

در کار حاضر، نانوذرات سلنیدروی از طریق روش آبی-مایکروویو و با اعمال مدت زمان‌های مختلف تابش در $pH=11/2$ سنتز شده‌اند و خواص ضد میکروبی آن‌ها علیه باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوک اورئوس و باسیلوس سرئوس بررسی شد. تکنیک‌های استفاده شده برای مشخصه‌یابی نانوذرات سنتز شده عبارتند از پراش پرتو X و میکروسکوپ الکترونی روبشی که به ترتیب برای تعیین ساختار بلوری و مورفولوژی نانوذرات سنتز شده مورد استفاده قرار گرفته است و خواص نوری به وسیله طیف سنجی UV-Vis بررسی شده است؛ مشخصه‌نگاری پراش پرتو ایکس و طیف سنجی فرابنفش-مرئی مؤید تشکیل فاز نانو درگستره ۲/۱۴۲-۱/۹۴۲ نانومتر می‌باشد. با توجه به اندازه کوچک نانوذرات حاصل، خاصیت آنتی باکتریال این نانوذرات به روش انتشار دیسک در محیط کشت جامد مولر-هیتون آگار انجام شده است؛ نانوذرات ZnSe با بار منفی خود با گروه‌های تیول در غشای سلولی پروتئین واکنش نشان می‌دهند و عملکرد سلول‌ها را مختل می‌کند و به نظر می‌رسد که اتصال به سطح و نفوذ و از بین بردن غشا، مهم‌ترین مکانیزم نانوذرات ZnSe است؛ در مجموع می‌توان این گونه بیان کرد که مکانیزم اصلی ویژگی‌های ضدباکتریایی نانوذرات سلنیدروی، رسوخ کردن این نانوذرات به دیواره سلول باکتری است. از میان سوبه‌های مورد بررسی، نتایج نشان داد که نانوذرات سلنیدروی خاصیت ضد میکروبی بالایی در مقابل باکتری باسیلوس سرئوس دارند. قطر هاله عدم رشد باکتری باسیلوس سرئوس و استافیلوکوک اورئوس برای نمونه‌های مختلف به ترتیب در گستره $16/86-1/96$ (mm) و $14/34-9/37$ (mm) بود و به طور کلی رابطه معکوسی بین قطر هاله عدم رشد و اندازه نانوذرات وجود دارد.

اطلاعات مقاله:

دریافت: ۲۳ تیر ۱۳۹۷
پذیرش: ۲۲ دی ۱۳۹۷

کلید واژه:

نانوذرات سلنید روی، زمان تابش مایکروویو، روش انتشار دیسک، خاصیت آنتی باکتریال، باکتری‌های گرم مثبت

۱- مقدمه

کاربردهای مورد نیاز مدیریت شود. اکثر فرآیندهای طبیعی در مقیاس نانومتر اتفاق می‌افتد، بنابراین تلاقی نانو فناوری و بیوفناوری خواهد توانست بسیاری از مسائل مربوط به زیست

نانو فناوری کنترل مواد در مقیاس اتمی به منظور دستیابی به ویژگی‌های منحصر به فرد است که می‌تواند به سمت



پزشکی را حل و تحولی در زمینه سلامت ایجاد کند [۱-۳]. واژه‌ی نانو بیوتکنولوژی مربوط به استفاده عملی نانوذرات در سیستم‌های بیولوژی بوده و به دلیل اهمیت بالای آن روز به روز رو به گسترش است [۴]. امروزه به رغم این واقعیت که زندگی انسان در مسیر رفاه است، طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها در حال رشد هستند و در تعادل طبیعی با بدن انسان و محیط قرار دارند و از این رو کنترل اثرات مضر آنها حیاتی است [۵]. برای حل این مشکل، بسیاری از راه‌ها و مواد توسط محققان پیشنهاد شده است، (برای مثال استفاده از عوامل ضد میکروبی سنتی مانند کانامینسین، اسپکتینیمایسین و پنی سیلین)، با این حال استفاده مکرر از این عوامل موجب مقاومت در برابر میکروب‌ها می‌شود [۶]. در سال‌های اخیر خاصیت ضد میکروبی و ضد باکتری نانوذرات و برخی پلیمرها توجه زیادی در مباحث مقاومت میکروبی و رژیم دارویی به خود جلب نموده‌اند؛ نانو ذرات می‌توانند به درون سلول باکتری نفوذ کنند و پس از ورود با تخریب آنزیم‌ها و سایر بخش‌های درونی سلول، از رشد باکتری جلوگیری کرده و جمعیت باکتریایی را کاهش دهند [۷-۱۰]. پوشش سلولی باکتری نقش مهمی در افزایش توانایی زیست باکتری‌ها دارد؛ پوشش سلولی شامل لایه‌های مختلفی می‌باشد که یکی از آنها غشای سلولی و لایه‌ی دیگر دیواره سلولی است؛ دیواره سلولی در باکتری‌ها بسیار مهم می‌باشد. مهم‌ترین ترکیب دیواره سلولی ترکیبی به نام پپتیدوگلیکان است که این ترکیب متشکل از پروتئین و قند می‌باشد. دیواره‌ی سلولی به صورت لایه‌ای تکرار می‌شود و در باکتری‌های گرم مثبت تا چهل لایه پپتیدوگلیکان وجود دارد [۸]. تعدادی از پروتئین‌های غشای

سلول‌های باکتریایی عمل انتقال مواد معدنی از سطح دیواره‌ی سلول را به عهده دارند، که نانو مواد با اثر بر روی این پروتئین‌ها باعث غیرفعال شدن و نفوذ ناپذیری غشا می‌شوند [۱۱]. غیرفعال شدن تراوایی غشاء در نهایت باعث مرگ سلول می‌شود [۱۲]. نقاط کوانتومی سلنیدروی با گاف ۲/۷۲ الکترون ولت در حالت توده از جمله مهم‌ترین نقاط کوانتومی نیم‌رسانا هستند. گاف انرژی این دسته نانو ساختارها با تغییر اندازه قابل کنترل است بنابراین در سنتز نانوذرات بسیار مهم است که نه تنها اندازه ذرات، بلکه شکل و مورفولوژی ذرات نیز کنترل شود. روش‌های مختلفی که برای سنتز نانو ذرات وجود دارد [۱۳]، اما اخیراً روش تابش ماکروویو به عنوان یک روش جدید، سریع و کم هزینه جهت تهیه نانوذرات نیم‌رسانا سلنید روی مورد توجه واقع شده است که این روش جزء روش‌های پایین به بالای ترموشیمیایی محسوب می‌گردد و توزیع باریک اندازه ذرات در آن قابل کنترل است. در این پژوهش ضمن استفاده از روش آبی در سنتز نانوذرات و رشد آن‌ها تحت تابش مایکروویو؛ از تیوگلیکولیک اسید با نام اختصاری TGA به عنوان یک عامل پوششی قوی برای ننگه داشتن ذرات در ابعاد نانو استفاده شده که علاوه بر جلوگیری از رشد بی‌رویه و کلوخه‌ای شدن ذرات، باعث تسریع واکنش نیز میشود. در این پژوهش پس از سنتز نانوذرات سلنید روی و در نظر گرفتن ملاحظات ساختاری و نوری آن‌ها [۱۴]، خاصیت آنتی باکتریال آن‌ها علیه باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوک اورئوس و باسیلوس سرئوس جهت ارزیابی عملکرد نانو ذرات سلنید روی صورت گرفت. از آنجا که درمان عفونت باکتریایی هزینه زیادی را به بخش درمان



کشور تحمیل می کند، به نظر می رسد کنترل عفونت و یا حتی تغییری کوچک ولی موثر در جهت کنترل عفونت ناشی از باکتری ها می تواند از دیدگاه اقتصاد سلامت، بسیار مفید و مقرون به صرفه باشد. در این کار به منظور بررسی قابلیت آنتی باکتریال از روش انتشار دیسک استفاده شده است، که از مزایای این روش می توان به توانایی آزمایش تعداد زیادی میکروارگانیسم و عوامل ضد میکروبی و سهولت تفسیر نتایج اشاره نمود. از آنجا که تست های انتشار دیسک، فعالیت ضد باکتری را تشخیص می دهند، بنابراین می توان از آن با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم به خوبی استفاده نمود.

۲- فعالیت های تجربی

۲-۱- مواد و تجهیزات

این پژوهش تجربی بوده و در آزمایشگاه با سنتز نانوذرات مورد نظر، روی سوبه های استاندارد باکتریایی انجام شده است. به منظور سنتز نانوذرات سلنیدروی به روش آبی و بررسی قابلیت ضد میکروبی آن ها از مواد اولیه پودر سلنیوم (Se)، سدیم بوروهیدرید (NaBH_4)، استات روی ($(\text{Ac})\text{Zn}_2$)، سدیم هیدروکسید (NaOH) و تیوگلیکولیک اسید (TGA) و پودر مولر-هینتون آگار و پودر مولر-هینتون برات استفاده شده است، کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده از محصولات شرکت مرک آلمان تهیه گردید. بر مبنای گزارشات قبلی طیف جذب نمونه ها توسط دستگاه UV - Visible (Perkin Elmer, Lambda25-USA) به دست آمده است و تحلیل ساختاری و حصول پراش پرتو ایکس توسط دستگاه XRD (Bruker diffractometer)

۳- روش آزمایش

۳-۱- سنتز نانوذرات

سه مرحله اصلی در فرآیند ساخت نانو ذرات سلنید روی در نظر گرفته شده است، که پایان این مراحل به معنای آغاز فرایند هسته زایی و تولید نانو ذرات سلنید روی است. در تمام مراحل سنتز از آب دیونیزه بعنوان حلال اصلی استفاده شده است. این مراحل به این شرح است: الف) با اضافه کردن پودر سلنیوم و سدیم بروهیدرید در یک بالن سه دهانه حاوی ۴ میلی لیتر آب گاززدایی شده تحت شارش گاز نیتروژن، محلولی به عنوان منبع یون سلنیوم تهیه شد، سپس این محلول به یک سرنگ که حاوی ۱۲ میلی لیتر آب گاززدایی شده است منتقل گردید. ب) پودر استات روی در ۱۵۰ میلی لیتر آب دیونیزه حل شده و سپس تیوگلیکولیک اسید به عنوان عامل پوششی به محلول اضافه گردید. سپس با استفاده از سدیم هیدروکسید pH آن بر روی ۱۱/۲ تنظیم شد در این مرحله منبع یون روی نیز تهیه گردید. ج) در مرحله آخر منبع یون سلنیوم به منبع یون روی تحت شارش گاز نیتروژن اضافه گردید و نانوذرات سلنید روی تشکیل شدند. در نهایت محلول حاصل جهت رشد نانوذرات در زمان های مختلف ۰، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۶ دقیقه تحت تابش مایکروویو قرار گرفته است. از طیف جذب ناحیه فرابنفش - مرئی آن ها جهت تحلیل های نوری و از پودر خشک حاصل از سانتریفیوژ محلول نهایی، جهت تحلیل ساختاری و حصول پراش پرتو ایکس استفاده شده است.



۳-۲- بررسی قابلیت ضد میکروبی نانوذرات سلنید روی

ابتدا قبل از انجام هر آزمایش ضد باکتری تست‌های کنترل منفی و مثبت انجام گرفت تا از صحت عملکرد رشد باکتری در غیاب هر گونه عامل مهارکننده (بدون نانو ذره کنترل مثبت) و استریل بودن نمونه‌های نانو ذرات (کنترل منفی) اطمینان حاصل شود. بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات سلنید روی در محیط کشت مولر-هینتون آگار حاوی دو نوع باکتری گرم مثبت استافیلوکوک اورئوس و باسیلوس سرئوس به روش انتشار دیسک انجام شد. در این پژوهش ابتدا برای ایجاد بستر کشت جامد، طبق پروتکل شرکت سازنده ۴/۲ گرم پودر مولر هینتون براث با ۳ گرم پودر آگار در ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده است و محلول حاصل به مدت ۴۰ دقیقه در اتوکلاو به منظور استریل شدن قرار گرفت؛ و در نهایت محلول استریل شده در زیر هود به داخل پتری دیش‌های با اندازه‌های یکسان منتقل گردید.

در ادامه ۱/۰۵ گرم پودر مولر هینتون براث در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده است محلول حاصل جهت تلقیح باکتری و ایجاد نیم‌مک مورد استفاده قرار گرفت. به منظور تهیه سوسپانسیون باکتریایی جهت انجام آزمایش، ابتدا سلول‌های باکتریایی را به کمک لوب استریل جمع آوری و در ۵ میلی لیتر محلول آب +براث مخلوط گردید تا سوسپانسیونی معادل با کدورت نیم مک فارلند (۱/۵×۱۰^۸ عدد باکتری در هر میلی لیتر) تهیه شد. برای اطمینان از ایجاد کدورت مذکور، جذب آن به وسیله اسپکتروفتومتر مرئی-فرابنفش در محدوده طول موج ۶۳۰ نانومتر اندازه‌گیری و جذب مطلوب نیم مک در محدوده ۰/۱۳-۰/۰۸ می‌باشد. در ادامه سطح

پلیت حاوی محیط مغذی استریل را با سوسپانسیون باکتری (استافیلوکوک اورئوس و باسیلوس سرئوس) با استفاده از سواب به صورت خطوطی موازی بر هم کشت داده (کشت چمنی)، به گونه‌ای که تمام سطح کشت جامد واقع در پلیت از یک‌لایه میکروبی یکنواخت پوشیده شود. در ادامه آزمایش جهت بارگذاری دیسک‌های دایره‌ای تهیه شده از کاغذ واتمن، از نانوذراتی که در ابتدای کار به روش آبی سنتز شده‌اند و در داخل مایکروویو در زمان‌های ۰، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۶ دقیقه رشد یافته‌اند، استفاده شده است. با استفاده از یک میکروسوپلر از هر نوع نانو ذره به تدریج و در چند مرحله مقدار ۱۴۰ میکرولیتر برداشته و روی دیسک‌های کاغذی بارگذاری شده است. برای در نظر گرفتن میانگین نتایج، این مراحل ۳ بار تکرار گردید. سپس دیسک‌های بارگذاری شده با فاصله مناسب از همدیگر بر روی پتری دیش‌ها قرار گرفت. در نهایت پلیت‌ها در انکوباتور شیکردار (۱۸۰ دور در دقیقه، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و حداکثر زمان ۱۸ ساعت) گرمخانه‌گذاری شدند. میزان تأثیر زمان تابش‌های مختلف مایکروویو بر خاصیت آنتی باکتریال این نانوذرات علیه باکتری‌های گرم مثبت مورد آزمون با توجه به اندازه‌گیری قطر هاله ممانعت از رشد باکتری مشخص گردید.

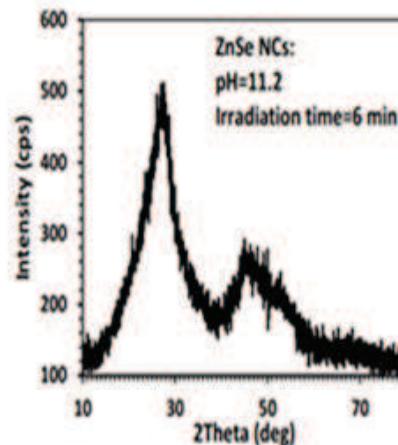
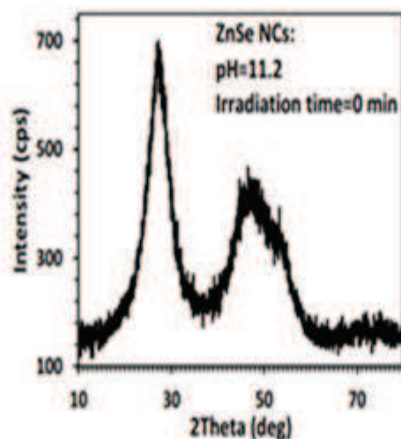
۴- نتایج و بحث

نتایج گزارش شده‌ی الگوی پراش پرتو ایکس در آزمون XRD بیانگر ساختار مکعبی و مرکز وجهی نانو ذرات بوده است. در الگوی پراش شکل ۱ مقدار شاخص‌های میلر (۱۱۱)، (۲۲۰) و (۳۱۱) به ترتیب مربوط به قله‌های از چپ



کلی نانو ذرات اثری نداشته است و جایجایی در قله‌های الگوی پراش ایکس مشاهده نمی‌شود [۱۴].

به راست می‌باشد [۱۴]. همچنین شکل ۱ نشان می‌دهد که تغییر زمان تابش مایکروویو از صفر به ۶ دقیقه روی ساختار



شکل ۱- الگوی XRD نانو ذرات سلنید روی سنتز شده در زمان تابش مایکروویو صفر و ۶ دقیقه [۱۵]

برای نانوذرات سلنیدروی در زمان‌های مختلف تابش مایکروویو مختلف آمده است [۱۴].

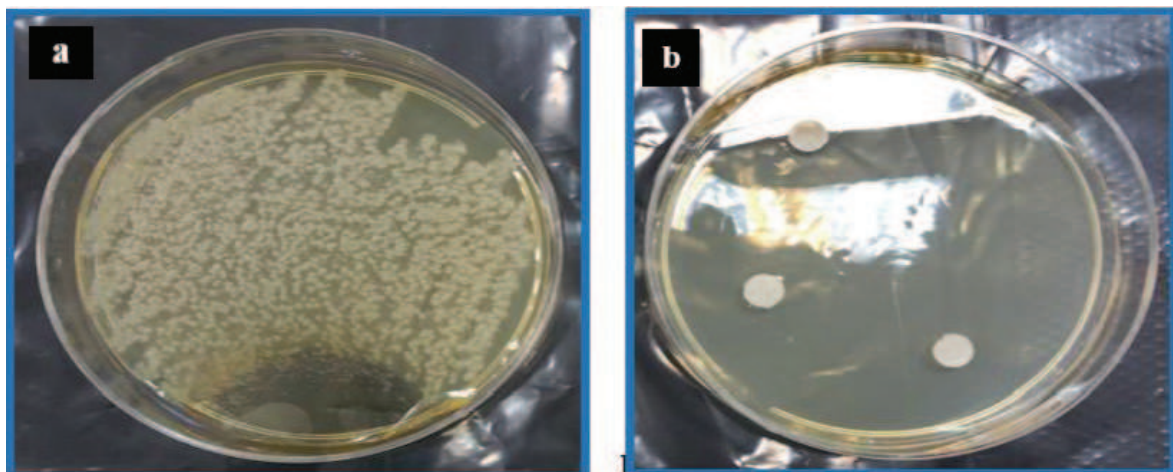
حال به نتایج تست‌های کنترل و نتایج آنتی باکتریال نانو ذرات می‌پردازیم: طبق شکل (C⁺) ۲a همان طور که مشاهده می‌شود، در محیط کنترل مثبت که نانو ذرات به محیط کشت اضافه نگردید رشد باکتری در تمام سطح پتری دیش قابل مشاهده است و همان طور که انتظار می‌رود در این محیط کنترل به دلیل عدم حضور دیسک حاوی نانو ذره هیچ‌گونه فعالیت باکتری کشتی در سطح پتری دیش صورت نگرفته است. از طرفی مطابق شکل ۲b از محیط کشت بدون باکتری (C⁻)، یعنی تنها شامل نمونه‌های شاهد نانو ذره به عنوان کنترل منفی استفاده شد که در این فرآیند نیز مطابق انتظار به دلیل عدم کشت باکتری و آلوده بودن نانوذرات، اثری از تشکیل کلنی و رشد باکتری روی محیط کشت جامد مولر هیتون آگار مشاهده نگردید.

نتایج حاصل از رابطه شرر [۱۵] و الگوی XRD نشان داده است که با افزایش زمان تابش از صفر به ۶ دقیقه، اندازه نانو ذرات از ۱/۹۴۲ نانومتر به ۲/۱۴۲ نانومتر، افزایش یافته است [۱۴]. همچنین طیف جذبی نمونه‌های نوعی سنتز شده سلنید روی در گستره‌ی فرابنفش-مرئی نشان داده است که با افزایش زمان تابش مایکروویو در pH=۱۱/۲ لبه جذب نمونه‌ها به سمت طول موج قرمز انتقال پیدا کرده است و گاف انرژی نمونه‌ها (بدست آمده از روش DASF (مشتق انطباق طیف جذبی)) در جدول ۱ آمده است [۱۳ و ۱۶]. گزارش‌های قبلی نشان‌دهنده ماهیت نیم‌رسانایی گاف مستقیم نمونه‌ها می‌باشد [۱۵]. همچنین با توجه به مقادیر به دست آمده و رابطه‌ی تقریب جرم موثر [۱۷] می‌توان اندازه ذرات را در زمان‌های مختلف پرتودهی مایکروویو محاسبه نمود. در جدول ۱ مقادیر گاف انرژی، اندازه ذرات با استفاده از تقریب جرم موثر، اندازه ذرات در روش پراش پرتو X و انرژی اورباخ (معیار کیفیت بلوری و بی‌نظمی ساختاری)



جدول ۱- نتایج مربوط به ملاحظات نوری و اندازه ذرات نانوبلورهای سلنیدروی سنتز شده در این پژوهش [۱۴]

زمان تابش مایکروویو	اندازه ذرات از رابطه شرر (nm)	E_{gap}^{D45F} (eV)	اندازه‌ی ذرات (نانومتر) در تقریب جرم موثر	E_{Tail} (eV)
صفر دقیقه	۱/۹۴۲	۳/۶۵۲	۱/۵۹۳	-/۰-۶۷۸
یک دقیقه	-	۳/۶۲۵	۱/۶۱۷	-/۰-۶۶۹
دو دقیقه	-	۳/۵۸۴	۱/۶۵۴	-/۰-۶۱۲
سه دقیقه	-	۳/۵۵۷	۱/۶۷۱	-/۰-۵۶۳
چهار دقیقه	-	۳/۵۴۳	۱/۶۹۳	-/۰-۵۸۲
شش دقیقه	۲/۱۴۲	۳/۵۰۰	۱/۷۳۸	-/۰-۵۱۴



شکل ۲- تصاویر نتایج کنترل مثبت (C⁺) و کنترل منفی (C⁻)

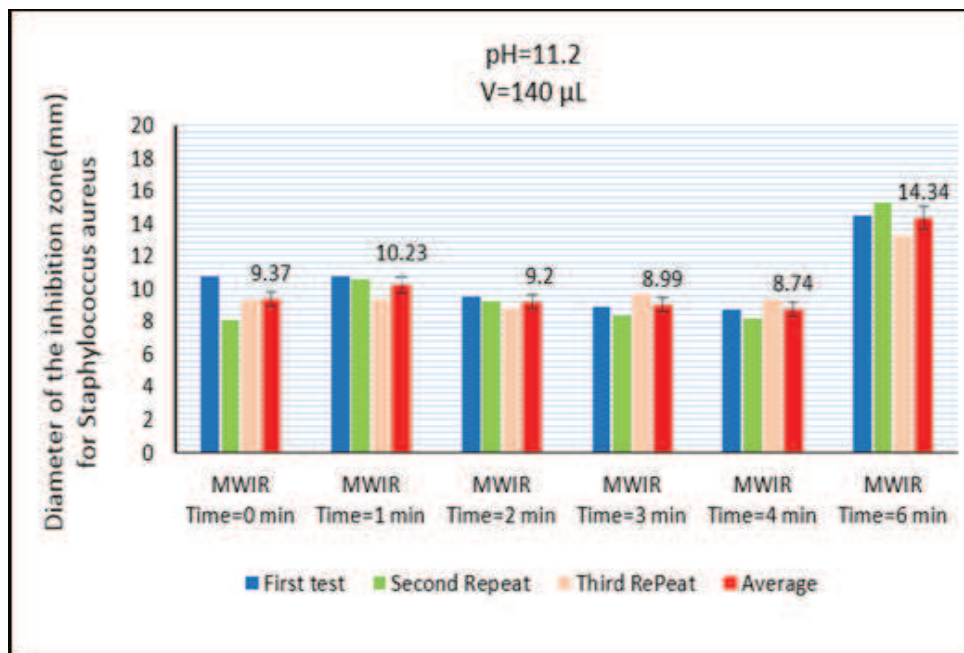
نمودار، با افزایش زمان تابش مایکروویو که طبق جدول ۱ منجر به افزایش اندازه نانوذرات می‌شود، این پاتوژن در حضور این نانوذرات (به جز نمونه رشد یافته در زمان تابش شش دقیقه) مقاومت بیشتری نشان داده است. زیرا با کاهش اندازه ذرات، فعالیت سطحی مواد افزایش چشمگیری می‌یابد و نسبت واکنش مواد با محیط اطراف به دلیل ازدیاد

شکل ۳، نتایج بررسی قابلیت ضد میکروبی نانوذرات سلنید روی رشد یافته در زمان‌های مختلف تابش مایکروویو علیه باکتری استافیلوکوک اورئوس نشان می‌دهد که بیشترین اثر بازدارندگی این باکتری در حضور نانوذرات با حجم ۱۴۰ میکرولیتر مربوط به نمونه رشد یافته در زمان تابش یک دقیقه با قطر هاله عدم رشد ۱۰/۲۳ میلی‌متر می‌باشد. طبق



طبق نمودار هیستوگرام شکل ۳ می‌توان گفت، با وجود نوساناتی که در مهار و رشد باکتری مشاهده شده است، اما به طور کلی تمام نمونه‌های مورد بررسی خاصیت آنتی باکتریایی را در زمان تابش‌های مختلف علیه باکتری مذکور از خود نشان داده‌اند.

سایت‌های فعال سطحی، بیشتر می‌شود و در نتیجه نانوذرات بهتر می‌توانند به داخل غشای سلول باکتری نفوذ کرده و باعث ایجاد اختلال و حتی مرگ باکتری شوند. بنابراین این نتایج تأکیدی بر نقش اندازه نانوذرات، به عنوان یکی از مهم ترین معیارهای اثرگذار بر اثر ضد باکتری می‌باشد. از طرفی



شکل ۳- نمودار عملکرد خاصیت آنتی باکتریایی نانو ذرات سلنید روی رشد یافته در زمان تابش های مختلف میکروویو علیه باکتری استافیلوکوک اورئوس در حجم بارگذاری نانوذرات ۱۴۰ میکرولیتر

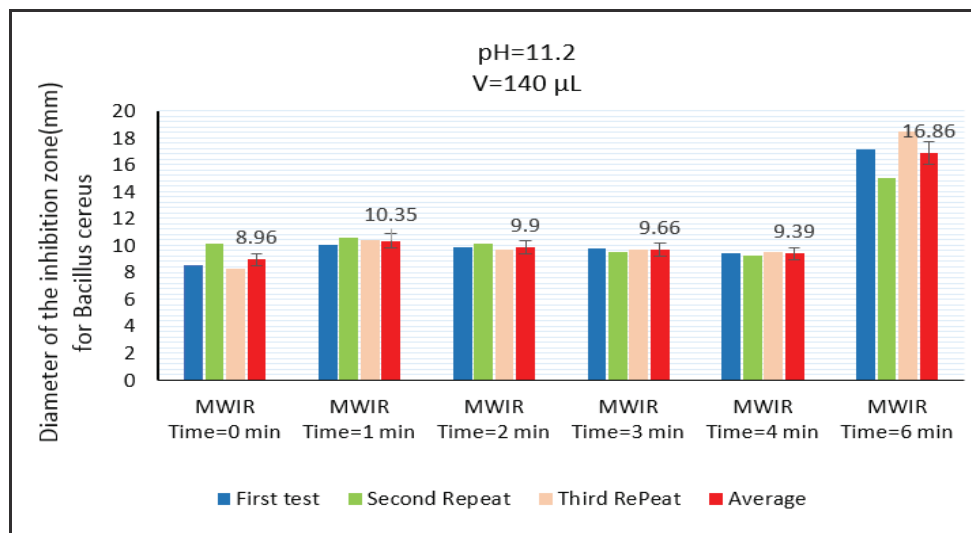
ذرات به دلیل نفوذ کمتر به داخل غشای سلول اثر مهار کمتری علیه این باکتری نشان داده‌اند. طبق نتایج شکل ۴ در سایر زمان‌های تابش میکروویو نیز خاصیت مهار شدگی باکتری باسیلوس سرئوس مشاهده می‌شود که این نشان‌دهنده عملکرد خوب نانو ذرات علیه باکتری باسیلوس می‌باشد. هاله عدم رشد در حضور نمونه بدون زمان تابش میکروویو جز کوچک‌ترین هاله‌ها است و این نمونه با میانگین شعاع هاله ۸/۹۶ میلی متر بیشترین مقاومت را نسبت به سایر نمونه‌ها در حضور این باکتری از خود نشان

شکل ۴ نتایج تست آنتی باکتریال به روش انتشار دیسک را بر روی باکتری باسیلوس سرئوس در زمان‌های مختلف تابش میکروویو و با حجم ۱۴۰ میکرولیتر نانوذره بارگذاری شده را نشان می‌دهد. طبق نمودار شکل ۴ خاصیت آنتی باکتریایی (به جز نمونه رشد یافته در زمان تابش شش دقیقه) در زمان تابش یک دقیقه مشهودتر است. که در این زمان تابش در حجم ۱۴۰ میکرولیتر میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۰/۳۵ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. به طور کلی، طی روند کاهش گاف و افزایش اندازه نانوذرات مورد بررسی، نانو

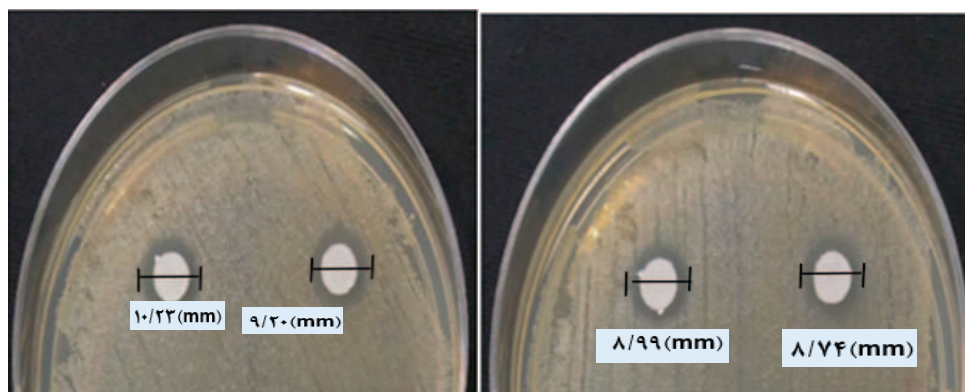


صورت نوعی، هاله ممانعت از رشد باکتری استافیلوکوک اورئوس و باسیلوس سرئوس را در اطراف دیسک‌های بارگذاری شده با ۱۴۰ میکرولیتر از حجم نانوذره رشد یافته در زمان تابش ۱، ۲، ۳ و ۴ دقیقه را نشان می‌دهد، که طبق این شکل نانوذرات موجب ایجاد یک سطح مهاری روی محیط کشت مولر- هیتون آگار در اطراف دیسک شده است.

داده است. برتری نمونه رشد یافته با زمان تابش یک دقیقه بر نمونه بدون حرارت را شاید بتوان به دلیل کیفیت بلوری بهتر این نانوذره بر اساس کمتر بودن انرژی اورباخ آن توجیه کرد (جدول ۱). از طرفی بزرگتر بودن قطر هاله نمونه رشد یافته در زمان تابش شش دقیقه، نسبت به سایر نمونه‌ها را با توجه به جدول ۱ می‌توان به کمتر بودن مقدار انرژی اورباخ این نمونه، و کیفیت بلوری بهتر آن نسبت داد. شکل ۵ به



شکل ۴- نمودار عملکرد خاصیت آنتی باکتریایی نانو ذرات سلنید روی رشد یافته در زمان تابش های مختلف مایکروویو علیه باکتری باسیلوس سرئوس در حجم بارگذاری نانوذرات ۱۴۰ میکرولیتر



شکل ۵- تصویر نوعی هاله ممانعت از رشد در اطراف دیسک‌های بارگذاری شده توسط نانو ذرات سلنید روی در زمان‌های مختلف مایکروویو بر باکتری استافیلوکوک اورئوس



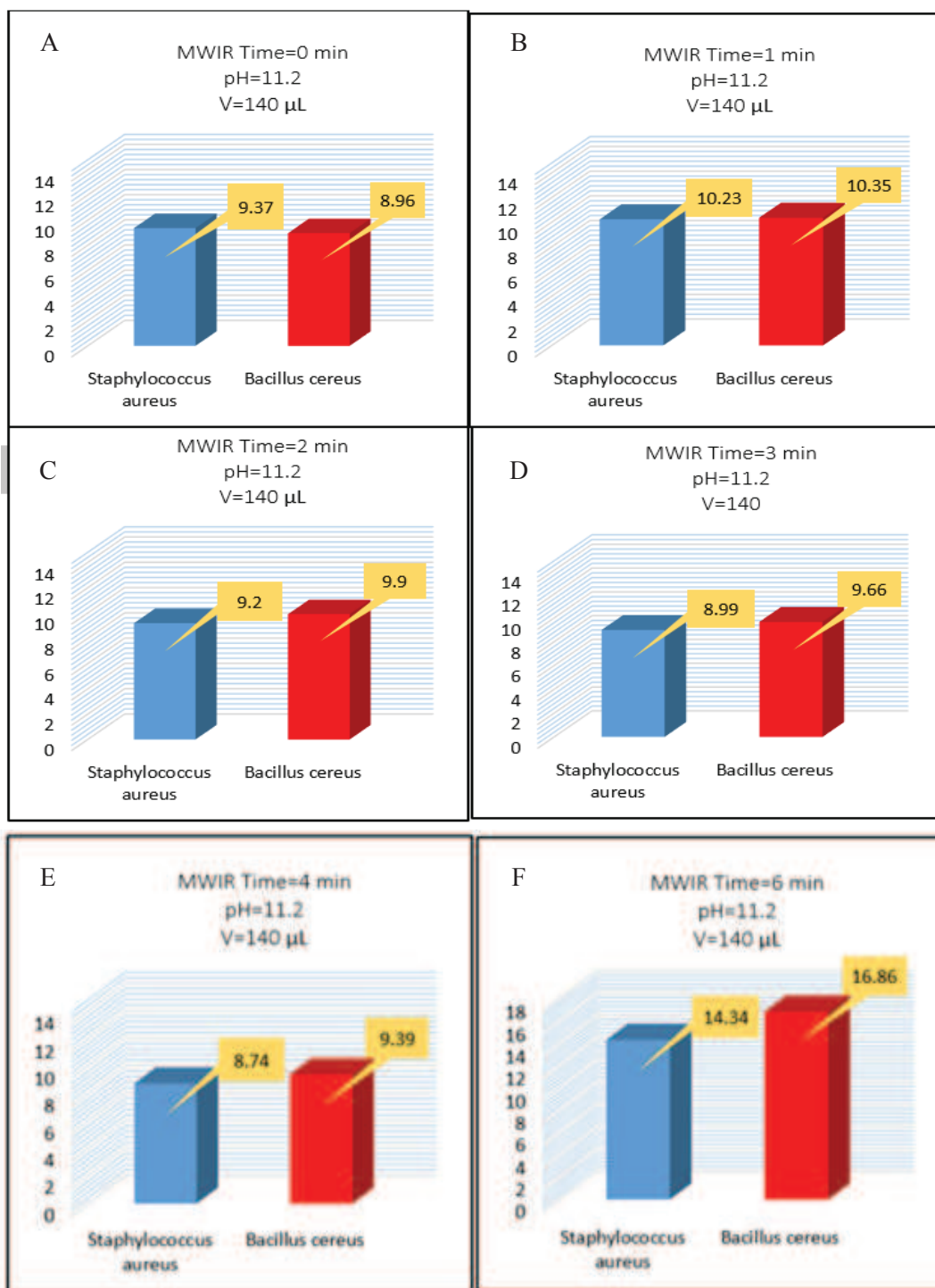
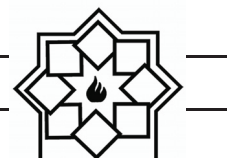
جدول ۲- جزئیات نمونه‌ها، باکتری‌ها و اندازه‌های قطر هاله‌های ممانعت از رشد باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوک اورئوس و باسیلوس سرئوس) مورد آزمون را در حضور نانوذرات سلنید روی رشد یافته در زمان‌های مختلف تابش مایکروویو

زمان تابش مایکروویو	قطر هاله عدم رشد باکتری استافیلوکوک اورئوس (mm)				قطر هاله عدم رشد باکتری باسیلوس سرئوس (mm)			
	آزمایش اول	تکرار دوم	تکرار سوم	میانگین قطر هاله عدم رشد	آزمایش اول	تکرار دوم	تکرار سوم	میانگین قطر هاله عدم رشد
صفر دقیقه	۱۰/۷۳	۸/۰۷	۹/۳۱	۹/۳۷	۸/۵۳	۱۰/۱۲	۸/۲۵	۸/۹۶
یک دقیقه	۱۰/۷۹	۱۰/۵۹	۹/۳۲	۱۰/۲۳	۱۰/۰۵	۱۰/۶۰	۱۰/۴۰	۱۰/۳۵
دو دقیقه	۹/۵۵	۹/۲۳	۸/۸۳	۹/۲۰	۹/۸۸	۱۰/۱۵	۹/۶۷	۹/۹
سه دقیقه	۸/۸۹	۸/۳۹	۹/۷۰	۸/۹۹	۹/۷۵	۹/۵۵	۹/۶۸	۹/۶۶
چهار دقیقه	۸/۷۵	۸/۱۵	۹/۳۴	۸/۷۴	۹/۴۴	۹/۲۷	۹/۴۷	۹/۳۹
شش دقیقه	۱۴/۴۹	۱۵/۳۱	۱۲/۲۴	۱۴/۳۴	۱۷/۱۲	۱۵/۰۳	۱۸/۴۵	۱۶/۸۶

نانوذره بر روی باکتری باسیلوس سرئوس با میانگین شعاع هاله ۱۰/۳۵ میلی‌متر تأثیر مثبت بیشتری داشته است، که مؤید اثر مهارتی بیشتر این نمونه برای مهار باکتری باسیلوس سرئوس است.

شکل ۶C، نتایج کیفی بررسی خاصیت آنتی باکتریایی نانوذرات رشد یافته در زمان تابش دو دقیقه و غلظت ۱۴۰ میکرولیتر علیه باکتری استافیلوکوک اورئوس و باسیلوس سرئوس را نشان می‌دهد. طبق شکل بیشترین محدوده ضد میکروبی مربوط به باکتری باسیلوس سرئوس با میانگین شعاع هاله عدم رشد ۹/۹ میلی‌متر می‌باشد بنابراین باکتری باسیلوس سرئوس به نانوذرات رشد یافته در زمان تابش ۲ دقیقه در مقایسه با استافیلوکوک اورئوس بیشتر اجازه نفوذ می‌دهد.

شکل ۶A، نمودار میانگین هاله عدم رشد باکتری‌های گرم مثبت مورد آزمون را در حضور نانوذره بدون تابش مایکروویو (بدون حرارت) نشان می‌دهد. مطابق شکل نتایج بررسی نشان داد که باکتری استافیلوکوک اورئوس با میانگین شعاع هاله عدم رشد ۹/۳۷ میلی‌متر حساسیت بیشتری نسبت به باکتری باسیلوس سرئوس داشته است. طبق شکل ۶B، نمونه حرارت دیده در زمان تابش یک دقیقه و در حجم بارگذاری ۱۴۰ میکرولیتر تأثیر قابل توجهی علیه باکتری‌های گرم مثبت مورد آزمون از خود نشان داده است، همان طور که قبلاً ذکر شد برتری نمونه رشد یافته با زمان تابش یک دقیقه بر نمونه بدون حرارت به دلیل کیفیت بلوری بهتر نانوذره بر اساس کمتر بودن انرژی اوربک آن می‌باشد و از بین دو میکروارگانیسم مورد بررسی این



شکل ۶- نمودار مقایسه فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات سلنید در زمان‌های تابش صفر دقیقه (A)، یک دقیقه (B)، دو دقیقه (C)، سه دقیقه (D)، چهار دقیقه (E) و شش دقیقه (F) با حجم بارگذاری ۱۴۰ میکرولیتر علیه باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس و باسیلوس سرئوس



مطابق شکل ۶D، نتایج نشان داد که عملکرد فعالیت آنتی باکتریایی نانوذره رشد یافته در زمان تابش ۳ دقیقه علیه باکتری‌های گرم مثبت بر باکتری باسیلوس با میانگین شعاع هاله ۹/۶۶ میلی متر مشهودتر است. و این مؤید آن است که این نمونه فعالیت آنتی باکتریایی بیشتری را بر روی باسیلوس سرئوس داشته است و بنابراین برای مهار این باکتری مناسب تر است. دلیل احتمالی تفاوت عملکرد برای این دو باکتری را می‌توان در ساختار دیواره سلولی آن‌ها جستجو کرد [۱۸]. شکل ۶E بیان می‌کند که باز هم با افزایش زمان تابش میکروویو، یعنی برای نانوذرات رشد یافته در زمان تابش ۴ دقیقه باکتری باسیلوس سرئوس حساسیت بیشتری نسبت به باکتری استافیلوکوک اورئوس از خود نشان داده است بنابراین افزایش هاله ممانعت از رشد و در نتیجه افزایش قابلیت آنتی باکتریایی در باکتری باسیلوس سرئوس در طی زمان‌های مختلف تابش میکروویو نسبت به باکتری استافیلوکوک اورئوس بیشتر می‌باشد. در نهایت، نتایج نمودار شکل ۶F نشان دهنده مقاومت باکتری استافیلوکوک اورئوس و حساسیت باکتری باسیلوس سرئوس در حضور نانوذره رشد یافته در زمان تابش ۶ دقیقه می‌باشد. از طرفی با وجود اختلاف میانگین قطر هاله عدم رشد دو باکتری مذکور، به طور کلی این نانوذره بر هر دو باکتری گرم مثبت مورد آزمون تأثیر بسیار قابل توجهی اعمال نموده که با توجه به جدول ۱ و کمترین مقدار انرژی اوره‌باخ این نمونه، افزایش نسبی مهارکنندگی باکتری‌ها را به طور کل شاید بتوان به کیفیت بلوری بهتر این نمونه نسبت داد. به طور کلی ضمن حساسیت خاصیت آنتی باکتریال به اندازه نانوذرات، این خاصیت نانو ذرات مورد مطالعه روی باکتری

باسیلوس سرئوس بیشتر بوده است. با توجه به بررسی‌های صورت گرفته در این پژوهش، نانوذرات سلنید روی سنتز شده بروش آبی - میکروویو (که دارای توزیع اندازه باریک و کنترل پذیرند) به عنوان کلاس جدیدی از نانو مواد ضد باکتری جهت کاربردهای کشاورزی، زیست پزشکی، صنایع غذایی و بهداشتی معرفی می‌گردند.

۵- نتیجه‌گیری

نتایج خاصیت آنتی باکتریایی نانو ذرات سلنید روی سنتز شده در زمان‌های مختلف تابش میکروویو علیه باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوک اورئوس و باسیلوس سرئوس نشان داد که با افزایش زمان تابش میکروویو و افزایش اندازه نانو ذرات خاصیت آنتی باکتریایی کاهش یافته است، از طرفی علی‌رغم اینکه هر دو میکروارگانیسم مورد بررسی گرم مثبت می‌باشند، اما نانوذرات مذکور بر روی هر دو باکتری مورد بررسی اثر مشابهی را اعمال نمی‌کنند و خاصیت آنتی باکتریال نانوذرات روی باکتری باسیلوس سرئوس بیشتر بوده است که دلیل احتمالی این تفاوت را می‌توان در ساختار دیواره سلولی، نوع دیواره باکتری گرم مثبت، فیزیولوژی این باکتری و متابولیسم آن جستجو کرد. به طور کلی قطر هاله عدم رشد باکتری باسیلوس سرئوس و استافیلوکوک اورئوس برای نمونه‌های مختلف به ترتیب در گستره (mm) ۱۶/۸۶ - ۸/۹۶ و (mm) ۱۴/۳۴ - ۹/۳۷ بود. در این مطالعه کاهش اندازه ذرات باعث تغییر ویژگی‌های ساختاری و فیزیکی و شیمیایی آن‌ها می‌گردد. کاهش اندازه ذرات سبب سهل الوصول شدن دسترس آن‌ها برای موجودات زنده شده و در نتیجه منجر به افزایش قدرت تخریبی آن‌ها



- [4] M. I. Sriram, K. Kalishwaralal, S. Barathmanikanth, S. Gurunathani, "Size-based cytotoxicity of silver nanoparticles in bovine retinal endothelial cells," *Nanoscience Methods*, 1(1), pp 56-77, 2012,
- [5] R. Dastjerdi, M. Montazer, "A review on the application of inorganic nano-structured materials in the modification of textiles: focus on anti-microbial properties," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79(1), pp 5-18, 2010.
- [6] H. Z. Zardini, A. Amiri, M. Shanbedi, M. Maghrebi, M. Baniadam, "Enhanced antibacterial activity of amino acids-functionalized multi walled carbon nanotubes by a simple method," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 92, pp 196-202, 2012.
- [7] Chaliha, B. K. Nath, P. k. Verma, E. Kalita, "Synthesis of functionalized Cu: ZnS nanosystems and its antibacterial potential," *Arabian Journal of Chemistry*, 2016.
- [8] Kwamboka, W. Omwoyo, N. Oyaro, "Synthesis, characterization and antimicrobial activity of ZnS nanoparticles," *Vol 4(2)*, 2016.

می‌ود. کاهش اندازه و بنابراین افزایش سطح نسبت به حجم به عنوان عامل افزایش واکنش پذیری نانوذره شده و متقابلاً به عنوان مهم‌ترین فاکتور برای افزایش سمیت نانو ذرات شده است. تاثیر اندازه نانوذرات در فعالیت آنتی باکتریایی توسط Baker و همکاران مورد مطالعه قرار گرفت و نشان دادند که ذرات کوچک با افزایش سطح نسبت به حجم دارای فعالیت ضد میکروبی بیشتری است [۱۹]. مجموع ویژگی‌های فوق نانو ذرات سلنید روی را به ماده‌های مناسب جهت کاربردهای پزشکی تبدیل خواهد کرد.

۶- سپاسگزاری

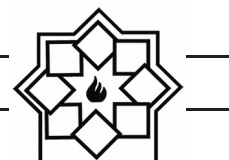
از سرکار خانم دکتر حدیث طوافی به پاس در اختیار قراردادن باکتری‌های مورد استفاده در این آزمایش تشکر و قدردانی می‌گردد.

مراجع

- [1] H. Glitter, "Nanostructured materials: basic concepts and microstructure," *Acta materialia*, 48(1), pp 1-29, 2000.
- [2] Curtis, C. Wilkinson, "Nanotechniques and approaches in biotechnology Trends", *Biotechnoly*, 19, pp 97-101, 2001.
- [3] L. Zhang, T. J. Webster, "Nanotechnology and nanomaterials: promises for improved tissue regeneration," *Nano today*, 4(1), pp 66-80, 2009.



- of clones of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Malaysia,” *Journal of Clinical Microbiology*, 48(3), pp 867-872, 2010.
- [13] D. Souri, M. Sarfehjou, A. R. Khezripour, “The effect of ambient temperature on the optical properties and crystalline quality of ZnSe and ZnSe: Cu NCs grown by rapid microwave irradiation,” *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, pp 1-12, 2017.
- [۱۴] ک. احمدیان، "اثر pH و زمان تابش بر خواص نوری و ساختاری نانو بلورهای ZnSe سنتز شده به روش تابش مایکروویو،" پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه ملایر، ایران، ۱۳۹۶.
- [15] H. P. Klong, L.F. Alexander, “X-ray diffraction procedures, 1954.
- [16] D. Souri, Z. E.Tahan, “A new method for the determination of optical band gap and the nature of optical transitions in semiconductors,” *Applied Physics B* 119, no. 2 pp273-279, 2015.
- [17] K. Singh, V. Viswanath, V. C. Janu, “Synthesis, effect of capping agents, structural, optical and photoluminescence properties of ZnO nanoparticles,” *Journal*
- [9] M. Costa, S. Silva, S. Vicente, C. Neto, P. M. Castro, M. Veiga, M. M. Pintado, “Chitosan nanoparticles as alternative anti-staphylococci agents: Bactericidal, antibiofilm and antiadhesive effects,” *Materials Science and Engineering: C*, 79, PP 221-226, 2017.
- [10] P.W. Su, C.H. Yang, J. F. Yang, P. Y. Su, L. Y. Chuang, “Antibacterial activities and antibacterial mechanism of *Polygonum cuspidatum* extracts against nosocomial drug-resistant pathogens,” *Molecules*, 20(6), pp 11119-11130, 2015.
- [11] S. Selvam, R. R. Gandhi, J. Suresh, S. Gowri, S. Ravikumar, M. Sundrarajan, Antibacterial effect of novel synthesized sulfated β -cyclodextrin crosslinked cotton fabric and its improved antibacterial activities with ZnO, TiO₂ and Ag nanoparticles coating,” *International journal of pharmaceutics*, 434(1-2), pp 366-374, 2012.
- [12] Ghaznavi-Rad, M. N. Shamsudin, Z. Sekawi, L. Y. Khoon, M. N. Aziz, R. A. Hamat, R. A. Hamat, N. Othman, P. P. Chong, A. Belkum, H. G. Moghaddam, V. Neela, “Predominance and emergence



of Luminescence 129, no. 8 pp 874-878,
2009.

[۱۸] نطافتی، ن، پور آقایی، س. "سنتز نانوذرات نقره با ساختار مثلثی شکل و بررسی خواص ضد باکتریایی آنها بر روی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت،" اولین همایش ملی کاربردهای نانو فناوری در صنعت، معدن، کشاورزی و پزشکی.

[19] C. Baker, A. Pradhan, L. Pakstis, D. J. Pochan, S. I. Shah, "Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles," Journal of nanoscience and nanotechnology, 5(2), 244-249, 2005.