



بیست و هفتمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران و سیزدهمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران.
۱۴-۱۶ بهمن ۱۳۹۹



کد مقاله : ۱-۲۵۲۱-۱۰-A

مطالعه اثرات ضد باکتریایی شیشه تبادل یون شده با نمک نقره بر باکتری ای کولای K-12 سویه MG1655

اعظم توسلی کوپائی، محمد دهقان نیری، جعفر مصطفوی امجد

دانشکده فیزیک، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه، زنجان

tavassolip1990@gmail.com, m.d.niry@iasbs.ac.ir, mostafavi@iasbs.ac.ir

چکیده - خاصیت ضدباکتریایی نقره به چند قرن گذشته بر می گردد و به این دلیل موجب شهرت این ماده برای مقاصد بهداشتی و درمانی شده است. در این مقاله، برای تولید نانوذرات و یون نقره، به منظور مطالعه اثر ضد باکتریایی آن بر باکتری ای کولای، از روش تبادل یون استفاده شده است. به منظور یافتن مناسب ترین زمان برای مشاهده اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره، منحنی رشد را به دست آوردیم تا زمان شروع و پایان فاز رشد باکتری را تعیین کنیم. سپس سوسپانسیون باکتری به میکروکانالی با بستر شیشه تبادل یون شده با یون نقره، تزریق شد. تحلیل آماری ویدیوهای میکروسکوپی ثبت شده از باکتری های در معرض نانوذرات و یون نقره، نشان داد که با افزایش غلظت نمک نقره، زمان مشخصه τ_1 کوتاهشدهو β در غلظت ۷٪ پس از ۱۰ دقیقه ۴۰٪ کاهش می یابد.

کلید واژه-اثرات ضد باکتریایی، باکتری ای کولای، تبادل یون، منحنی رشد، نانوذرات نقره.

The Study of Antibacterial Effects of Ion-Exchange Glass with Silver Salt on E. coli K-12 strain MG1655

Azam Tavassoli Koupaei, Mohammad Dehghan Niry, Jafar Mostafavi Amjad

Department of Physics, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences (IASBS), Zanajn

tavassolip1990@gmail.com, m.d.niry@iasbs.ac.ir, mostafavi@iasbs.ac.ir

Abstract- The antibacterial property of silver nanoparticles has come back to the past few centuries and has fueled their reputation for medical and hygienic purposes. This study is focused on the antibacterial effects of silver nanoparticles produced by the ion-exchange method on E. coli bacteria. The bacteria growth curve was obtained so that the best time for observing the antibacterial interaction with silver nanoparticles could be determined. A cultivated bacterial suspension was then injected into a microchannel composed of an ion-exchange glass substrate that had earlier been introduced with silver ions. Statistical analysis of microscopic videos captured the bacteria's exposure to nanoparticles and silver ions revealed that as silver salt concentration increases, the characteristic time τ_1 decreases and at the concentration of 7%, β declines by 40% after 10 minutes.

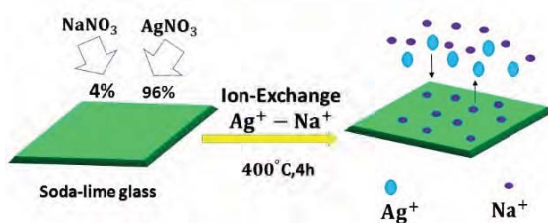
Keywords: antibacterial effects, E. coli bacteria, ion exchange, growth curve, silver nanoparticles.

مقدمه

ضدباکتریایی شیشه تبادل یون شده با نمک نقره در غلظت‌های مختلف، بر باکتری ای کولای بررسی شود.

تبادل یون

تبادل یون، میان یون درون ماتریس شیشه (معمولاً Na^+) و یک یون مثبت دیگر با اندازه بزرگ‌تر و ظرفیت یکسان (مثلاً Ag^+) صورت می‌گیرد. همان‌گونه که در شکل ۱ نشان داده شده، عمل تبادل یون با پدیده پخش یون‌ها داخل ماتریس شیشه صورت می‌گیرد. در روند حرارت‌دهی در کوره، نمک نیترات سدیم و نیترات نقره ذوب شده و یون‌های نقره به علت برانگیختگی گرمایی تا چند ده میکرون در شیشه نفوذ پیدا می‌کنند و با یون‌های سدیم درون شیشه جابه‌جا می‌شوند. نمونه‌های تبادل یون شده پس از اینکه از کوره بیرون آورده می‌شوند، تغییر رنگ پیدا می‌کنند که به علت حضور یون‌های نقره است.



شکل ۱: طرح صوری از نحوه تبادل یون نقره با یون سدیم در بستر شیشه در دمای 400°C به مدت ۴ ساعت.

منحنی رشد

برای دستیابی به شرایط ایده‌آل رشد، بسته به ماده غذایی و شرایط کشت، باید ابتدا منحنی رشد برای باکتری به دست آید تا کشت بهینه و انجام سایر آزمایش‌ها براساس آن برنامه‌ریزی شود. متداول‌ترین روشی که برای به دست آوردن منحنی رشد و ارزیابی رشد میکروبی به صورت کمی در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی به کار می‌رود، اندازه‌گیری چگالی اپتیکی است [۴]. منحنی رشد دارای چهار فاز جداگانه است: فاز تاخیر، فاز رشد، فاز سکون و فاز مرگ. در شکل ۲ منحنی رشد باکتری طی ۱۲ ساعت

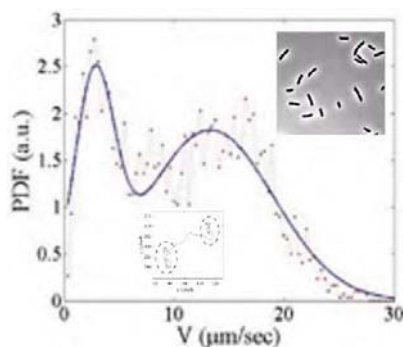
نقره سابقه طولانی ۶۰۰۰ ساله به عنوان داروی درمانی با خاصیت ضد میکروبی دارد. در گذشته برای نگهداری مواد غذایی از ظروف نقره‌ای استفاده می‌شد. در جنگ‌ها، برای مداوای زخم سربازان، روی زخم سکه‌ای از جنس نقره قرار می‌دادند و سپس محل زخم را می‌بستند. ترکیبات نقره، سلاح اصلی در مقابل زخم‌های عفونی در جنگ جهانی اول بود. اما لکه‌دار شدن برگشت‌ناپذیر پوست و چشم ناشی از بیماری آرگیریا [۱]، و کشف آنتی‌بیوتیک‌ها، شهرت نقره به عنوان یک عامل ضد عفونی کننده را به فراموشی سپرد [۱]. با پیشرفت علوم نوین، انتظار می‌رود نقره جایگاه از دست رفته‌اش را باز یابد؛ با تولید نقره به شکل نانوذرات، سطح تماس بیشتر شده و خاصیت ضد میکروبی آن به‌طور چشمگیری افزایش یافته است. نوع واکنش نانوذرات نقره به دو گروه واکنش‌های سطحی-غشایی و واکنش‌های درون سلولی تقسیم می‌شود. شکل و اندازه نانوذرات، نوع واکنش را مشخص می‌کند. اثرات ضدباکتریایی نانوذرات نقره توسط بسیاری از پژوهشگران مورد بررسی قرار گرفته و پتانسیل مؤثر آن‌ها بر علیه طیف گسترده‌ای از میکروب‌ها از جمله باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی، باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک به اثبات رسیده است [۲]. پژوهش‌ها نشان می‌دهد تأثیر خاصیت بازدارندگی نانوذرات نقره بر رشد باکتری، وابسته به میزان غلظت نانوذرات نقره و غلظت اولیه باکتری‌های کشت شده است [۳]. در این پژوهش، نانوذرات نقره با استفاده از روش تبادل یون در بستر شیشه قرار می‌گیرند. تا اثر

بیماری آرگیریا (به انگلیسی: Argyria) به دلیل تشکیل رسوب نقره در بدن ایجاد می‌شود. به همین دلیل رنگ پوست بیمار، نقره‌ایا آبی‌رنگ می‌شود. بیماری آرگیریا زمانی به وجود می‌آید که فرد بیش از اندازه از محصولات نقره استفاده کند.

تصویر ۵۷۶×۷۶۸ پیکسل بهره برده‌ایم. در تحلیل سرعت از روش ردیابی همزمان چند ذره در دو بعد استفاده شده است. برای تحلیل داده‌های تجربی و محاسبه زمان مشخصه $\tau_{\frac{1}{2}}$ از ضریب β استفاده کرده‌ایم. β درصد باکتری‌های فعال در زمان t را نشان می‌دهد و به صورت نسبت تعداد باکتری‌های فعال ($v > v_c$) به تعداد کل باکتری‌ها ضرب در 100 تعریف می‌شود:

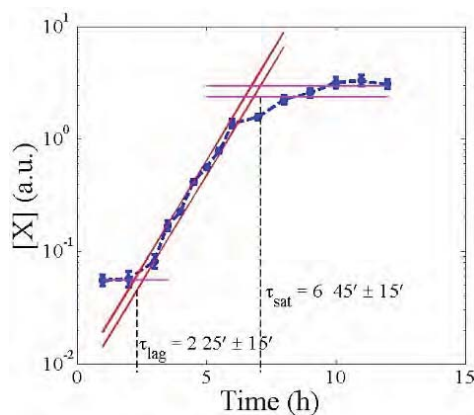
(۱)

سرعت بیشینه باکتری‌های کم سرعت، v_c ، در این نمونه باکتری، $3 \mu\text{m/s}$ است. ضریب β بر مبنای توزیع سرعت باکتری‌ها یعنی $p(v, t)$ در زمان t محاسبه می‌شود. بنا به شکل ۳ نمودار توزیع سرعت باکتری‌ها شامل دو قله است که قله اول از راست مربوط به باکتری‌های فعالی است که در حال حرکت روبه‌جلو هستند. در حالی که قله دوم مربوط به باکتری‌های غیرفعال (با حرکت براونی تصادفی) یا باکتری‌های فعالیست که در حال حرکت رقص درجا هستند.



شکل ۳: تابع توزیع سرعت باکتری (PDF) در بازه زمانی ۳ ثانیه.

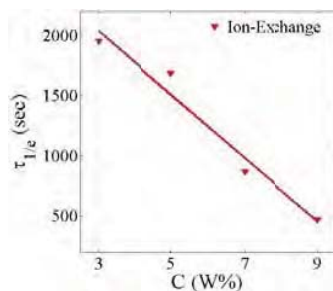
کشت برای غلظت‌های کم در طول موج ثابت $\lambda = 450 \text{ nm}$ رسم شده است. بر طبق این نمودار، دو ساعت و بیست و پنج دقیقه پس از شروع کشت، فاز تأخیر به پایان رسیده و فاز رشد باکتری آغاز می‌شود. همچنین شش ساعت و چهل و پنج دقیقه پس از شروع کشت، باکتری به انتهای فاز رشد رسیده و وارد فاز سکون خود می‌شود.



شکل ۴: منحنی رشد باکتری ای‌کولای در طول ۱۲ ساعت کشت برای غلظت‌های کم در طول موج ثابت $\lambda = 450 \text{ nm}$. زمان شروع فازهای رشد و سکون در شکل با خط‌چین قائم مشخص شده است.

آماده‌سازی نمونه

برای بررسی اثرات ضد باکتریایی شیشه تبادل شده، سوسپانسیون باکتری ای‌کولای به عنوان موجود زنده در میکروکانال‌ها که بسترشان شیشه‌های تبادل یون شده است تزریق شده و در یک بازه زمانی 600 ثانیه ای از باکتری‌ها فیلم برداری شده است. برای اطمینان از این‌که مجاورت باکتری‌ها با نمونه شیشه خام، تأثیری بر مرگ آن‌ها ندارد و تنها یون نقره یا نانوذرات نقره عامل کاهش فعالیت باکتری‌هاست، از نمونه شیشه تمیز به عنوان نمونه کنترل استفاده شده است. برای مشاهده باکتری به صورت زنده، از میکروسکوپ نوری تباین فاز اولیمپوس (Olympus) مدل IX-71 و عدسی شیئی $40 \times$ استفاده کرده‌ایم. برای ثبت تصاویر، از دوربین CCD ساخت شرکت سونی با سرعت فیلم‌برداری 25 تصویر بر ثانیه با ابعاد



شکل ۵: تغییرات زمان مشخصه τ_{1e} برحسب درصدهای وزنی متفاوت نمک نیترات-نقره. با افزایش درصد وزنی نمک نیترات-نقره، زمان مشخصه τ_{1e} کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش ابتدا برای رسیدن به شرایط ایده آل رشد، ابتدا منحنی رشد باکتری ای‌کولای K-12 را با استفاده از روش چگالی اپتیکی به دست آوردیم. در گام بعدی نمونه باکتری را پس از کشت دادن در شرایط مناسب، در اواخر فاز رشد در میکروکانال‌ها با بستر شیشه‌های تبادل یون شده تزریق کردیم. نتایج به‌دست آمده نشان داد که با افزایش غلظت نمک نقره، زمان مشخصه τ_{1e} کوتاه‌تر می‌شود. این در حالی است که اگر باکتری‌ها در میکروکانالی قرار بگیرند که بستر آن شیشه تمیز است، حداقل تا ۱۵ دقیقه فعال بوده و ضریب β با در نظر گرفتن خطای آزمایش، ۹۰٪ به دست می‌آید.

مرجع‌ها

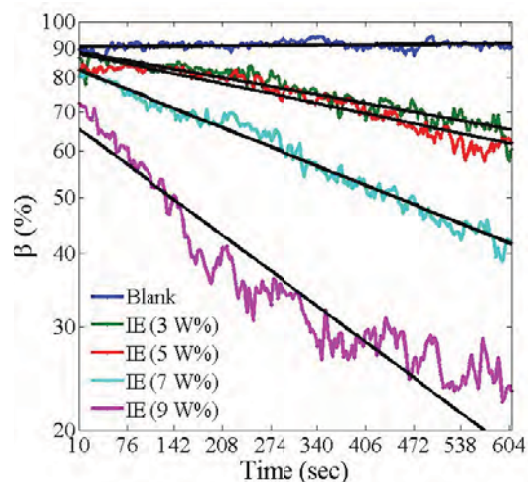
- [۱] M. E. McAuliffe and M. J. Perry, "Are nanoparticles potential male reproductive toxicants? A literature review," *Nanotoxicology*, vol. 1, no. 3, pp. 204–210, 2007.
- [۲] B. S. Atiyeh, M. Costagliola, S. N. Hayek, and S. A. Dibo, "Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature," *burns*, vol. 33, no. 2, pp. 139–148, 2007.
- [۳] I. Sondi and B. Salopek-Sondi, "Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 275, no. 1, pp. 177–182, 2004.
- [۴] J. A. Myers, B. S. Curtis, and W. R. Curtis, "Improving accuracy of cell and chromophore concentration measurements using optical density," *BMC Biophys.*, vol. 6, no. 1, p. 4, 2013.

تغییرات زمانی باکتری ای‌کولای در مجاورت

شیشه تبادل یون شده با نمک نقره

شکل ۴، میانگین تحول زمانی β را در چهار آزمایش یکسان برای باکتری‌ها که در میکروکانال‌ها با بسترهای شیشه‌ای تبادل یون‌شده با درصدهای وزنی مختلف از نمک نیترات-نقره قرار دارند، نشان می‌دهد. در این نمونه‌ها، با افزایش غلظت نمک، زمان غیرفعال شدن باکتری کاهش می‌یابد. میانگین تحول زمانی در این شکل نمودار برازش شده مربوط به هر غلظت رسم شده (منحنی مشکی)، و تابعی که برای برازش تحول زمانی β مورد استفاده قرار

گرفته است به صورت $\beta(t) = \beta_0 e^{-\frac{t}{\tau_{1e}}}$ است.



شکل ۴: نتیجه محاسبه تغییرات β برحسب زمان برای غلظت‌های مختلف نمک نیترات-نقره در ۸ بار آزمایش تابع خط برازش شده به منحنی‌های مربوط به هر غلظت در مدت زمان ۶۰۰ ثانیه برای نمونه تبادل یون شده.

شکل ۵ نتایج تجربی به‌دست آمده برای بررسی تغییرات زمان مشخصه τ_{1e} برحسب درصدهای وزنی متفاوت نمک نیترات-نقره را نشان می‌دهد. با توجه به شکل، با افزایش درصد وزنی نمک نیترات-نقره برای تبادل یون، زمان مشخصه τ_{1e} کاهش می‌یابد؛ یعنی نمونه‌های با غلظت کم‌تر، دارای اثرات سمی ضعیف‌تری نسبت به نمونه‌ها با غلظت‌های بالاتر هستند.