

سنتز و بررسی ساختار نانو اکسیدهای قلع دو و چهار ظرفیتی به روش سل-ژل و بررسی خاصیت بیولوژیکی آنها

ایران شیخ شعاعی^{۱*}، ندا زارعی^۱، موج خالقی^۲

^۱ دانشکده علوم، بخش شیمی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

^۲ دانشکده علوم، بخش زیست شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۶/۲۸

تاریخ تصحیح: -

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۵/۲۰

چکیده

نانو اکسیدهای قلع دو و چهار ظرفیتی (SnO_2/SnO) با روش سل-ژل از کلرید قلع دو ظرفیتی ($SnCl_2$) در محیط نشاسته تهیه شد. ساختار نانو اکسیدهای تهیه شده را با بکارگیری روش‌های مختلف طیف سنجی از جمله $UV, FT-IR$ و XRD و SEM مورد بررسی و تایید قرار گرفت. سپس تاثیر پارامتر دمای کلسینه شدن ژل بر روی اندازه نانو ذرات کسید فلزی تولید شده بررسی گردید. با توجه به نتایج بدست آمده متوسط اندازه ذرات محاسبه شده با بکارگیری رابطه دبی-شرر برای نمونه نانو اکسید فلزی SnO و SnO_2 سنتز شده به ترتیب برابر با ۱۱/۷۵ و ۱۱/۱۹ نانومتر می‌باشد. در بخش دیگری از این کار تحقیقاتی، مطالعاتی بر روی خاصیت ضد میکروبی نانو اکسیدهای سنتز شده انجام شد. بر طبق نتایج حاصل نانو اکسید قلع چهار ظرفیتی کارایی مناسبی به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی دارد در حالی که نانو اکسید قلع دو ظرفیتی هیچگونه اثر ضد میکروبی ندارد. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که نانو اکسید قلع چهار ظرفیتی (SnO_2) با غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر روی باکتری‌های گرم منفی موثر بود علاوه بر این نانو اکسید فوق می‌تواند مانع از رشد باکترهای سودوموناس آئروژینوزا ($PTCC 1214$)، سودوموناس آئروژینوزا (نمونه بالینی)، اش‌ریشیا کلی ($PTCC 1330$)، کلیسیلا و مخمر کاندیدا آلبیکنس ($PTCC 5027$) گردد. واژگان کلیدی: سل-ژل، نانو اکسید فلزی قلع، خاصیت ضد میکروبی، نشاسته.

۱- مقدمه

عناصر فلزی می‌توانند ترکیبات متنوعی از اکسیدهای فلزی را تحت شرایط خاص به وجود آورند. تقریباً تمام کاتالیزورهای مورد استفاده در صنایع شیمیایی و پتروشیمی و کنترل آلودگی محیط زیست شامل یک اکسید به عنوان فاز فعال، تقویت کننده و یا پشتیبان می‌باشند [۱]. اکسیدهای فلزی از نظر ساختاری با توجه به الگوهای مختلف کریستالی مرتب شده اند و اتصال عناصر به صورت یونی و فلزی می‌باشد. خواص فیزیکی و شیمیایی آنها به طور عمده توسط نقص در لبه‌ها، گوشه‌ها، جاهای خالی و دیگر عیوب سطحی تعیین می‌شود. به این ترتیب نقایص عمدتاً به اتم‌های سطحی برمی‌گردند در نتیجه با کاهش اندازه ذرات اکسیدی

تا حد نانومتر نسبت این نقص‌ها افزایش می‌یابد. نانوذرات اکسیدی که اغلب نانوذرات اکسیدی سرامیکی هم نامیده می‌شوند، شامل محدوده وسیعی از نانوذرات می‌گردند. نانو اکسیدها کاربردهای زیادی در زمینه‌هایی گوناگون از جمله: الکترونیک، مغناطیس، اپتیک، محصولات آرایشی، پزشکی، انرژی و محیط زیست دارند [۲ و ۳].

اکسید قلع (IV) دارای باند گپ $3/6$ الکترون ولت در 300 درجه کلوین است و از نوع نیمه رسانای نوع n می‌باشد [۴]. اکسید قلع (II) دارای کاربردهای زیادی از جمله در پیل‌های خورشیدی، سوپرکازن‌ها، به عنوان کاتالیزور، به عنوان فوتوکاتالیست، در حسگرهای گازی، پوششی برای صرفه جویی در انرژی، دستگاه‌های الکترونیکی، صفحه نمایش کریستال مایع و سلول‌های سوختی دارد. نانو اکسید قلع از روش‌های مختلفی از جمله رسوب دهی یکنواخت، تجزیه حرارتی، هیدروترمال، رسوب دهی الکتریکی و سل-ژل سنتز می‌شود [۵]. اندازه و شکل این ذرات اکسیدی می‌تواند تأثیری بسیار زیاد بر نوع عملکرد و وسعت کارایی آن‌ها داشته باشد. حذف سریع ترآلاینده‌های رنگی زیست محیطی با بهینه سازی نانوذرات اکسید قلع (IV) امکان پذیر است [۶-۸].

۲- بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق بر پایه شیمی سبز، نانو اکسیدهای قلع دو و چهار ظرفیتی به روش سل-ژل با استفاده از حلال آب و نشاسته که پلیمر سازگار با محیط زیست می‌باشد تهیه شد. سپس به بررسی تأثیر دمای کلسینه شدن بر روی اندازه نانوذرات پرداخته شد. با استفاده از روش کلسینه کردن در محدوده دمایی 400 تا 600 درجه سانتیگراد نانو اکسیدهای قلع تهیه شد. دمای کلسینه شدن بر تشکیل نوع نانوذرات و اندازه نانوذرات اکسید قلع موثر است. در دمای 400 درجه سانتیگراد اکسید قلع (II) و در دماهای بالاتر اکسید قلع (IV) تهیه شد. در بخش دیگری از این پژوهش، خاصیت ضد میکروبی نانو اکسیدهای قلع تهیه شده علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی با روش اندازه گیری قطر هاله مهار^۱، اندازه گیری حداقل غلظت مهار^۲ و حداقل غلظت کشنده^۳ و ارزیابی تشکیل بیوفیلم توسط نانو اکسیدهای تهیه شده بررسی گردید. در این مطالعه، فعالیت ضد میکروبی نانو اکسیدهای فلزی SnO و SnO₂ علیه پنج سویه استاندارد سودوموناس آئروژینوزا (PTCC 1214)، استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1112)، میکروکوکوس لوتئوس (PTCC 1110)، باسیلوس سرئوس (PTCC 1015) و اشیریشیا کلی (PTCC 1330)، سه سویه کلینیکی (سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا، انتروکوکوس فکالیس) و یک مخمر (کاندیدا آلبیکنس (PTCC 5027)) با تشکیل هاله عدم رشد، مقدار MIC و MBC و ارزیابی تشکیل بیوفیلم مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که فقط نانو اکسید فلزی SnO₂ علیه باکتری‌های گرم منفی (سودوموناس

¹ IZ= Inhibition Zone

² MIC= Minimum Inhibitory Concentration

³ MBC= Minimum Bactericidal Concentration

آئروژینوزا (PTCC 1214)، سودوموناس آئروژینوزا (نمونه بالینی)، اشریشیا کلی (PTCC 1330) و کلبسیلا موثر است. همچنین دارای اثر ضد قارچی علیه مخمر کاندیدا آلبیکنس (PTCC 5027) می باشد. علاوه بر این، با توجه به نتایج باکتری های جدا شده از نمونه های بالینی نانو اکسید SnO₂ نسبت به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین مقاوم می باشد در صورتیکه دو سویه سودوموناس آئروژینوزا و کلبسیلا نسبت به این نانو اکسید حساس می باشند. بررسی ها نشان داد که نمونه نانو اکسید فلزی SnO هیچگونه اثر ضد میکروبی ندارد.

۳-روش تجربی

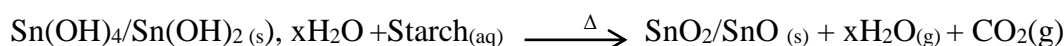
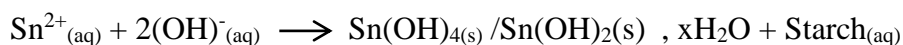
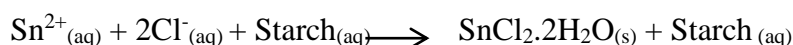
۳-۱-مواد شیمیایی و دستگاهها

موادی که در این کار استفاده شد عبارتند از: کلرید قلع (II) دو آبه، آمونیاک، نشاسته، دی متیل سولفوکساید، محیط کشت مولر هینتون آگار/ برات، محیط کشت عصاره قلب و مغز برات/آگار، محیط کشت سابورد دکستروز آگار/ برات که تمام مواد از شرکت مرک (Merck) تهیه شده و دارای خلوص بالایی بودند، به نحوی که هیچ کدام نیاز به خالص سازی مجدد نداشتند. سویه های باکتریایی استاندارد که از کلکسیون میکروبی تهران تهیه گردید شامل سودوموناس آئروژینوزا (PTCC 1214)، استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1112)، اشریشیا کلی (PTCC 1330)، باسیلوس سرئوس (PTCC 1015) و میکروکوکوس لوتئوس (PTCC 1110)، سویه های بالینی که از نمونه های بیمارستانی جداسازی شده بودند شامل سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا و انتروکوکوس فکالیس و یک نمونه مخمر کاندیدا آلبیکنس (PTCC 5027) مورد بررسی قرار گرفت.

طیف UV نمونه ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر Cary 50 (UV- Visible) ساخت شرکت واریان استرالیا اندازه گیری شد. الگوی پراش نمونه ها توسط دستگاه پراش پرتو ایکس مدل X'PertPro ساخت کشور هلند اندازه گیری شد. طیف FT-IR نمونه ها با استفاده از دستگاه FT-IR الکتروترمال ۹۱۰۰ دیجیتال Bruke-Tensor 27 ساخت کشور انگلستان و استفاده از قرص KBr ثبت شد. ویژگی های مورفولوژی نمونه ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل EM-3200 ساخت کشور چین و جهت کلسینه کردن نمونه ها از کوره الکتریکی مدل Thermolyne 1500 ساخت کشور کره استفاده شد.

۳-۲- روش تهیه نانو اکسیدهای قلع دو و چهار ظرفیتی (SnO₂, SnO)

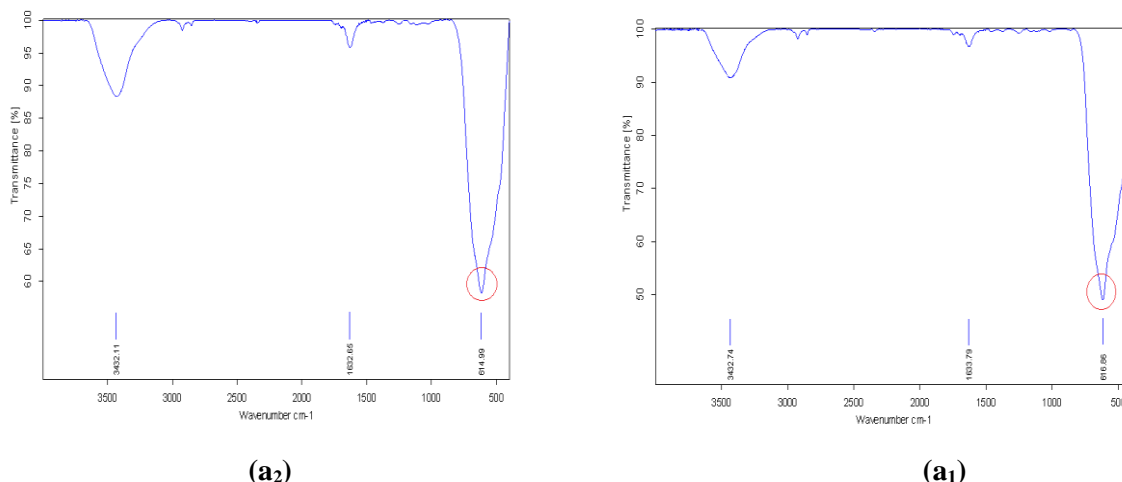
جهت تهیه نانو اکسیدها از روش سل-ژل استفاده شد. برای این منظور سوسپانسیونی از ۱ گرم نشاسته در مقدار ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر تهیه شد. سپس مقدار ۰/۰۲۴ مول کلرید قلع دوآبه به ظرف واکنش اضافه شد و به کمک محلول هیدروکسید آمونیوم ۱ مولار، pH محلول به ۱۰ رسانده و مخلوط حاصل به مدت دو ساعت توسط همزن مغناطیسی در دمای محیط هم خورد. رسوبات حاصل به کمک کاغذ صافی جدا شده و به مدت چهارده ساعت در دمای محیط خشک شد. واکنش های مربوط به تهیه نانو اکسیدهای قلع (II) و (IV) به صورت زیر نشان داده شده است. جهت کلسینه شدن نمونه ها، مقدار مورد نظر از رسوبات را در دماهای مختلف در کوره الکتریکی قرار داده شده که در انتها، ترکیب اکسید فلزی در ابعاد نانو حاصل گردید.



در این کار تحقیقاتی محدوده دمایی ۴۰۰ تا ۶۰۰ درجه سانتیگراد برای کلسینه شدن کلرید قلع دو ظرفیتی انتخاب شد. در دمای ۴۰۰ درجه سانتیگراد نانو اکسید قلع (II) و در سه دمای ۴۵۰، ۵۰۰ و ۶۰۰ درجه سانتیگراد نانو اکسید قلع (IV) حاصل شد.

۳-۳- داده های طیفی نانو اکسیدهای قلع دو و چهار ظرفیتی (SnO₂, SnO)

طیف مادون قرمز اکسید قلع (II) و اکسید قلع (IV) به ترتیب در شکل 1 (a₁) و (a₂) نشان داده شده است. نوار جذبی مشاهده شده در ناحیه های ۶۱۶/۶۸ cm⁻¹ و ۶۱۴/۹۹ cm⁻¹، مربوط به فرکانس جذبی پیوند Sn-O می باشد. جذب Sn-O معمولاً در محدوده ۴۰۰-۱۰۰۰ cm⁻¹ قابل مشاهده می باشد [۹].



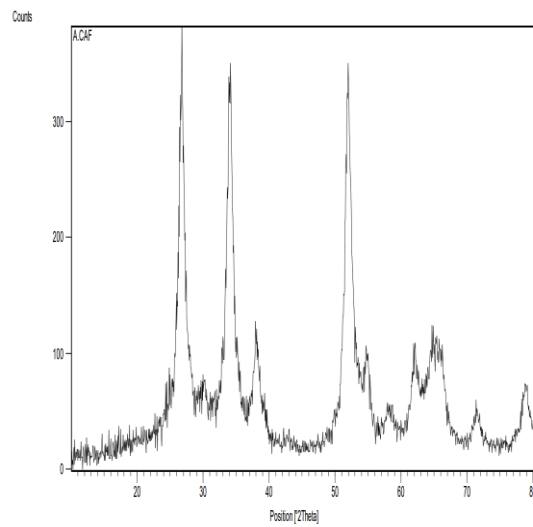
شکل (۱). (a₁) طیف مادون قرمز نمونه نانو اکسید قلع دو ظرفیتی در دمای تهیه شده 400 °C و (a₂) طیف مادون قرمز

نمونه نانو اکسید قلع چهار ظرفیتی در سه دمای تهیه شده 450 °C، 500 °C و 600 °C

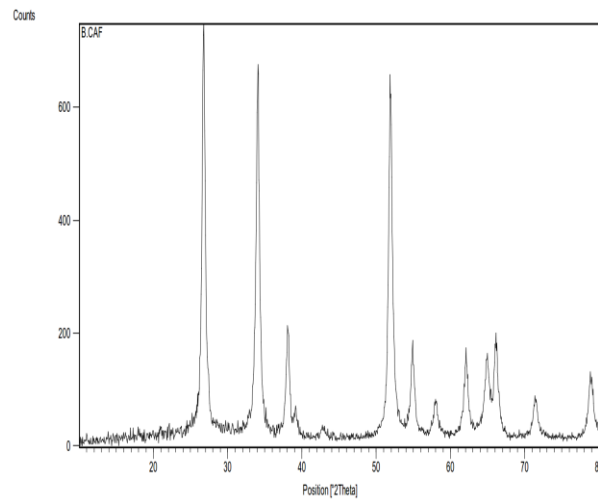
الگوی پراش اشعه ایکس نمونه‌های SnO و SnO₂ در شکل‌های (2) و (3) نشان داده شده است. وجود قله‌های تیز در این طیف‌ها، ساختار کریستالی نانو اکسید را تایید می‌کند. برای اندازه ذرات از معادله دبای-شرر استفاده شد. بر این اساس نتایج تجزیه و تحلیل پراش پرتو ایکس نشان می‌دهد که توزیع اندازه ذرات تقریباً یکنواخت است. فرمول شرر به صورت زیر می‌باشد؛

$$d = \frac{K\lambda}{\beta \cos\alpha}$$

که در این معادله d اندازه ذرات بر حسب نانومتر، K ضریب شکل بلور (معمولاً ۰/۹) در نظر گرفته می‌شود) و بدون دیمانسیون، λ طول موج اشعه ایکس بر حسب نانومتر، β عرض پهنای پیک در نصف ماکزیمم (بر حسب درجه که باید به واحد رادیان تبدیل شود) و α زاویه پراش پرتو ایکس و بدون دیمانسیون است [۷ و ۸]. اندازه نانوذرات اکسید قلع (IV) با افزایش دما درشت‌تر می‌شود. می‌توان اینگونه گفت که با افزایش دما ذرات به یکدیگر چسبیده و اندازه آن‌ها درشت‌تر می‌شود. متوسط اندازه ذرات محاسبه شده برای نمونه‌های اکسید فلزی SnO و SnO₂ به ترتیب ۱۱/۷۵ و ۱۱/۱۹ نانومتر می‌باشد [۹].

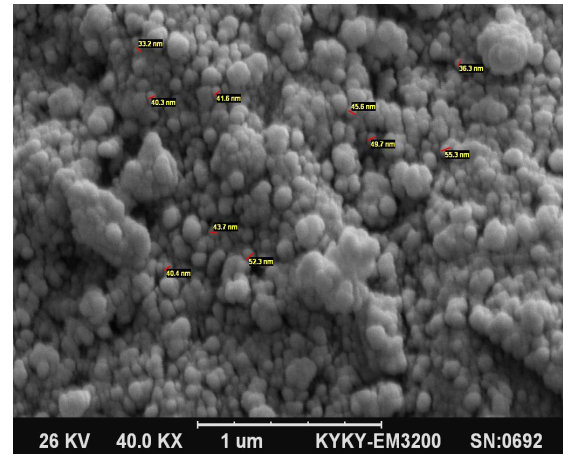
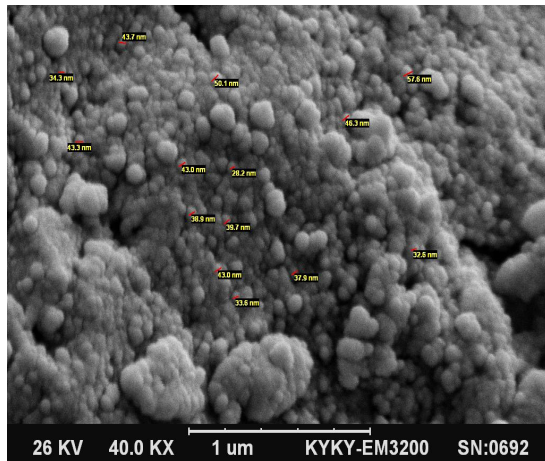


شکل (۲). الگوی پراش پرتو ایکس نانو اکسیدتهپیه شده SnO



شکل (۳). الگوی پراش پرتو ایکس نانو اکسیدتهپیه شده SnO_2

بررسی تصاویر SEM نمونه‌های نانو اکسید فلزی SnO و SnO_2 به ترتیب در شکل‌های (۴) و (۵) آورده شده است که مورفولوژی کروی را نشان می‌دهد. در تصاویر SEM آنها میانگین اندازه ذرات مشخص شده است که طبق تصاویر حاصل متوسط اندازه ذره نمونه‌های نانو اکسیدهای فلزی SnO و SnO_2 به ترتیب برابر با $43/83$ و $40/86$ نانومتر می‌باشد.



شکل (۴). تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانو اکسید SnO شکل (۵). تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانو اکسید SnO₂

طیف‌های الکترونی نانو اکسیدهای تهیه شده قلع (II) و قلع (IV) در حلال DMSO با غلظت ۱۰^{-۶} مولار و در دمای محیط گرفته شده است. طیف الکترونی نانو اکسید قلع در محدوده ۳۰۰-۲۵۰ نانومتر برداشته شده است که در ناحیه ۹۹/۲۷۶ نانومتر برای نانو اکسیدهای قلع (II) و (IV) انتقال الکترونی مشاهده می‌گردد.

۳-۴- ارزیابی خاصیت ضد میکروبی نانو اکسید های قلع دو و چهار ظرفیتی

در این مطالعه، فعالیت ضد میکروبی نمونه‌های نانو اکسید فلزی SnO و SnO₂ علیه پنج سویه استاندارد (سودوموناس آئروژینوزا (PTCC 1214)، استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1112)، اشریشیا کلی (PTCC 1330)، باسیلوس سرئوس (PTCC 1015) و میکروکوکوس لوتئوس (PTCC 1110))، سه سویه‌های بالینی که از نمونه‌های بیمارستانی جداسازی شده بودند (سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا و انتروکوکوس فکالیس) و یک نمونه مخمر کاندیدا آلبیکنس (PTCC 5027) با استفاده از روش انتشار در چاهک [۱۰] بررسی گردید. برای این منظور کشت ۲۴ ساعته از هر باکتری و مخمر جهت تنظیم کدورت سوسپانسیون باکتری و مخمر معادل با استاندارد ۰/۵ مک فارلند صورت گرفت [۱۱]. در ادامه کار، عمل تلقیح سوسپانسیون سویه‌های میکروارگانیسم بر روی تمام سطح آگار توسط سواب صورت گرفت. سپس در شرایط استریل توسط چوب پنبه سوراخ کن استیل و استریل، چاهک‌هایی با فاصله پنج سانتی‌متر از یکدیگر و با فاصله چهار سانتی‌متر از لبه پتری دیش حفر شد. سپس توسط سمپلر درون چاهک‌های ایجاد شده ۵۰ میکرولیتر از ترکیب (با غلظت ۱۰ mg/ml، درحلال DMSO اضافه شد. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد برای ۴۸-۲۴ ساعت انکوبه شدند. فعالیت ضد میکروبی نمونه‌ها را با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد تشکیل شده اطراف چاهک، برحسب میلی‌متر با خط کش مورد سنجش قرار گرفت. لازم به ذکر است در خصوص تمامی باکتری‌ها عملیات فوق انجام گردید. DMSO به عنوان حلال و همچنین به

عنوان عامل کنترل منفی در نظر گرفته شده است در حالی که سیپروفلوکساسین (آنتی بیوتیک استاندارد) و فلوکونازول (ضد قارچ استاندارد) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. تمامی آزمایش‌ها سه بار تکرار شد. نتایج نشان دادند که تنها نانو اکسید فلزی قلع چهار ظرفیتی (SnO_2) علیه باکتری‌های گرم منفی (سودوموناس آئروژینوزا) (PTCC 1214)، سودوموناس آئروژینوزا (نمونه بالینی)، اشریشیا کلی (PTCC 1330) و کلبسیلا موثر است. همچنین دارای اثر ضد قارچی علیه مخمر کاندیدا آلبیکنس (PTCC 5027) می باشد. با توجه به نتایج، باکتری جدا شده از نمونه‌های بالینی نسبت به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین مقاوم بوده در حالیکه دو سویه سودوموناس آئروژینوزا و کلبسیلا نسبت به این نانو اکسید حساس میباشند. به نظر می رسد که نمونه نانو اکسید فلزی دو ظرفیتی (SnO) اثر ضد میکروبی ندارد. در جدول (۱) نتایج مربوط به این بررسی ها آورده شده است.

جدول (۱) خاصیت ضد میکروبی نمونه نانو اکسید فلزی SnO_2 با غلظت 10 mg/ml (ارزیابی قطر هاله بر حسب میلی‌متر)

میکروارگانیزم	نمونه نانو اکسید فلزی SnO_2	نمونه نانو اکسید فلزی SnO	سیپروفلوکساسین	فلوکونازول
سودوموناس آئروژینوزا (PTCC 1214)	۱۱	۰	۲۲	۰
استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1112)	۰	۰	۲۵	۰
میکروکوکوس لوتئوس (PTCC 1110)	۰	۰	۳۱	۰
باسیلوس سرئوس (PTCC 1015)	۰	۰	۲۴	۰
اشریشیا کلی (PTCC 1330)	۱۳	۰	۲۷	۰
سودوموناس آئروژینوزا*	۹	۰	۰	۰
کلبسیلا*	۸,۵	۰	۰	۰
انتروکوکوس فکالیس*	۰	۰	۰	۰
کاندیدا آلبیکنس (PTCC 5027)	۸	۱۰	۰	۳۵

*باکتری‌های جداسازی شده از نمونه‌های بالینی

۳-۵- تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC)

در این پژوهش حداقل غلظت مهاری (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) برای نمونه نانو اکسید فلزی SnO_2 در محدوده ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر تا ۰/۰۷۸ میلی گرم بر میلی لیتر انتخاب شد. MIC عبارت است از کمترین مقدار غلظت نمونه مورد نظر که رشد میکروارگانیسم در حضور آن قابل مشاهده نیست و مهار شده است. برای تعیین MIC، سویه هایی که به نانو اکسید حساس بوده و هاله عدم رشد تشکیل داده است را مورد بررسی قرار می دهند. MIC، به روش براث میکروداپلوشن و در میکروتیتراپلیت ۹۶ خانه ای انجام شد [۱۲]. این میکروتیتراپلیت ها، دارای ۸ ردیف ۱۲ خانه ای هستند تا خانه شماره ۱۰ در هر ردیف رقیق سازی انجام گرفت. نانو اکسید قلع، در رقت های ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر تا ۰/۰۷۸ میلی گرم بر میلی لیتر به صورت دوتایی ساخته شد. در هر خانه میکرو تیتراپلیت پس از رقیق سازی، ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت با حجم برابر از سوسپانسیون ارگانیسم که در محیط کشت مربوطه با کدورت ۰/۵ مک فارلند آماده شده، قرار می گیرد. خانه شماره ۱۱ هر ردیف به عنوان شاهد نانوذره (کنترل منفی)، فقط حاوی محیط کشت و نانوذره بود. خانه های شماره ۱۲ هر ردیف، به عنوان شاهد سویه (کنترل مثبت) برای تعیین کدورت میکروارگانیسم، حاوی محیط کشت و میکروارگانیسم ها بود. میکروتیتراپلیت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد و پس از ۲۴ ساعت نتایج خوانده شد. برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد، از کمترین غلظتی که کدورتی در آن مشاهده نشد به بعد، به میزان ۱۰ میکرولیتر به محیط های کشت حاوی آگار منتقل شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C قرار داده شد. در صورت رشد پس از این مدت زمان، میزان رقت به عنوان MIC تعیین میگردد و در صورت عدم رشد سویه میکروبی، آن غلظت به عنوان MBC ثبت خواهد شد. در این مورد نیز تمام مراحل جهت اطمینان سه بار تکرار شد.

نتایج به دست آمده نشان می دهد که SnO_2 بر روی باکتری های گرم منفی موثر میباشد. علاوه بر این نانو اکسید فوق مانع از رشد باکترهای سودوموناس آئروژینوزا (PTCC 1214)، سودوموناس آئروژینوزا (نمونه بالینی)، اشریشیا کلی (PTCC 1330)، کلبسیلا و مخمر کاندیدا آلبیکنس (PTCC 5027) شده و میتواند آن ها را از بین ببرد. این بدان معنی است که SnO_2 بر این میکروارگانیسم ها اثر مهار و کشندگی دارد. نتایج در جدول (۲) آورده شده است.

جدول (۲) مقایسه اثر مهار تشکیل بیوفیلم ABF، MIC و MBC نانو اکسید فلزی SnO₂ (میلی گرم بر میلی لیتر)

نمونه نانو اکسید فلزی SnO ₂			میکروارگانیسیم
MBC	MIC	**ABF	
1/25	0/625	0/156	سودوموناس آئروژینوزا (PTCC 1214)
1/25	0/625	0/078	اشریشیا کلی (PTCC 1330)
2/5	1/25	0/312	سودوموناس آئروژینوزا*
۵	2/5	-	کلسیلا*
0/625	0/312	-	کاندیدا آلبیکنس (PTCC 5027)

*باکتری‌های جداسازی شده از نمونه بالینی
**مهار تشکیل بیوفیلم

۳-۶- ارزیابی تشکیل بیوفیلم

در این بررسی اندازه‌گیری تشکیل بیوفیلم به روش میکروتیتربلیت انجام شد [۱۳]. برای این منظور کشت یک شبه از میکروارگانیسیم تهیه گردید. سپس رقت سازی از غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر تا ۰/۰۷۸ میلی گرم بر میلی لیتر، نانوذرات در محیط کشت تازه و استریل بصورت دوتایی انجام شد. ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت با حجم برابر از سوسپانسیون ارگانیسیم که در محیط کشت مربوطه با کدورت ۰/۵ مک‌فارلند آماده و به هر چاهک انتقال داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. پس از آن، سوسپانسیون میکروبی تخلیه شده و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی استریل، مقدار ۲۵ میکرولیتر از محلول کریستال ویوله ۱٪ به هر چاهک افزوده شد. این رنگ برای سنجش میزان بیوفیلم بسیار مناسب است. بعد از خشک شدن پلیت‌ها، بیوفیلم‌ها به صورت حلقه‌ای ارغوانی رنگ بر روی چاهک‌ها قابل مشاهده میباشند. در این مرحله جهت سنجش کمی تولید بیوفیلم به هر چاهک مقدار ۲۰۰ میکرولیتر اتیل الکل اضافه شد. برای تعیین درجه تشکیل بیوفیلم، جذب آن در طول موج ۵۴۰ نانومتر بررسی گردید. محیط کشت به تنهایی به عنوان کنترل منفی و محیط کشت به همراه باکتری به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد.

بر اساس نتایج تشکیل بیوفیلم، مشخص شد که در حضور نمونه نانو اکسید فلزی SnO₂، تشکیل بیوفیلم در سودوموناس آئروژینوزا (PTCC 1214)، اشریشیا کلی (PTCC 1330) و سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه های بالینی مهار شده است. همچنین بررسی های انجام شده مبین این است که توقف تشکیل بیوفیلم توسط نمونه SnO₂ تا قبل از حداقل

غلظت کشنده و مهار کننده رخ داده است. اما این ترکیب نمی‌تواند تشکیل بیوفیلم در کلبسیلا و کاندیدا/آلبیکنس (PTCC 5027) را تا قبل از MIC متوقف کند. نتایج این بررسی در جدول (۲) آورده شده است.

۴- تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله از حمایت‌های مالی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه شهید باهنر کرمان صمیمانه تشکر می‌نمایند.

۵- مراجع

- [1] S.D. Jackson, S.J. Hargreaves, Wiley-VCH Verlag GmbH, (2009).
- [2] S. Mallakpour, M. Madani, *Progress in Organic Coatings*, **86** (2015) 194.
- [3] V. Hulea, E. Dumitriu, *Nanomaterials in Catalysis*, **1** (2013) 375.
- [4] ^(a)K. Vijayarangamuthu, S. Rath, *Journal of Alloys and Compounds*, **610** (2014) 706, ^(b)A. Derbal, S. Omeiri, A. Bouguelia, M. Trari, *Int. J. Hydrogen Energy* **33** (2008) 42, ^(c)S. Das, S. Kar, S. Chaudhuri, *J. Appl. Phys.* **99** (2006) 114303, ^(d)A. Kar, A. Patra, *J. Phys. Chem. C*. **113** (2009) 4375.
- [5] K. Sato, Y. Yokoyama, J.C. Valmalette, K. Kuruma, H. Abe, T. Takarada, *Crystal Growth & Design* **13** (2013) 1685.
- [6] H. Ullah, I. Khan, Zain H. Yamani, *Ultrasonics Sonochemistry* **34** (2017) 484.
- [7] Ling Li Wang, Zi Jiong Li, Lei Luo, Cheng Zhou Zhao, Li Ping Kang, De Wei Liu, *Journal of Alloys and Compounds*, **682** (2016) 170.
- [8] E. Abdelkader, L. Nadjia, B. Naceur, B. Noureddine, *Journal of Alloys and Compounds*, **679** (2016) 408.
- [9] (a)A. Patterson, *Phys. Rev.* **56** (1939) 978. (b) P. Scherrer, *Göttinger Nachrichten Gesell.*, ol. **2** (1918) 98.
- [10] S. Irshad, M. Mahmood, F. Perveen, *Research J. Biol*, **2** (2012) 1.
- [11] J. McFarland, *Journal. American Med. Assoc.* **14** (1907) 1176.
- [12] C. Carson, B. Cookson, H. Farrelly, T. Riley, *J. Antimicrob. Chemother*, **35** (1995) 421.
- [13] H. Kubota, S. Senda, N. Nomura, H. Tokuda, H. Uchiyama, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **106** (2008) 381.

