

## Investigating the Health Effects of Modified Montmorillonite Nanoclay on the Digestive System

Karimdoust Shahriyar<sup>1\*</sup>, Kalkan Ekrem<sup>1,2</sup>, Vasigh Yousef<sup>3</sup>

1. Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Geology Engineering, Engineering Faculty, Atatürk University, Erzurum, Turkey

2. Department of Civil Engineering, Engineering Faculty, Atatürk University, Erzurum, Turkey

3. Department of Geography, Islamic Azad University, Ardabil Branch, Ardabil, Iran

\* *Corresponding author.* Tel: +989143511961, Fax: +984533515005, E-mail: karimdoust\_sh@yahoo.com

Received: Nov 22, 2023 Accepted: Jan 11, 2024

### ABSTRACT

**Background & objectives:** This study aims to assess the antibacterial efficacy of montmorillonite nanoclay modified with silver and bismuth nanoparticles against *Escherichia coli*, a common gram-negative bacterium known for causing gastrointestinal and extraintestinal infections.

**Methods:** Methods: In this research, the initial steps for producing montmorillonite nanoclay included extracting bentonite from mines, crushing and grinding the raw material, and then sieving the resulting powder to obtain particles smaller than 74  $\mu\text{m}$ . The nanoclay underwent optimization and was treated with silver and bismuth nanoparticles. The analysis involved electron microscopy, X-ray diffraction, laser diffraction for particle size assessment, and evaluation of quartz peak intensity to measure the effectiveness of the antibacterial nanoclay synthesis. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined through agar dilution to assess its impact on *E. coli* viability in vitro.

**Results:** Utilizing Results: Using montmorillonite particles smaller than 2  $\mu\text{m}$  was effective in producing pharmaceutical nanoclay. The montmorillonite nanoclay with silver showed the highest efficacy against the standard *E. coli* strain, with a MIC value of 64  $\mu\text{g/mL}$ . Following in effectiveness were the bismuth nanoparticle-modified nanoclay and the montmorillonite nanoclay, having MIC values of 128 and 512  $\mu\text{g/mL}$ , respectively.

**Conclusion:** The physical production method emerged as the safest and most efficient approach for pharmaceutical-grade nanoclay. Treating nanoclay with silver ions showed greater success compared to bismuth nanoparticle modification.

**Keywords:** Bismuth Nanoparticles; Silver Nanoparticles; *Escherichia Coli*; Montmorillonite; Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

# بررسی تاثیر بهداشتی نانو خاک رس اصلاح شده مونت موریلونیتی بر سلامتی دستگاه گوارش

شهریار کریم دوست<sup>۱\*</sup>، اکرم کالکان<sup>۲</sup>، یوسف وثیق<sup>۳</sup>

۱. گروه زمین‌شناسی کاربردی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آتاتورک، ارزروم، ترکیه

۲. گروه مهندسی عمران، دانشکده مهندسی، دانشگاه آتاتورک، ارزروم، ترکیه

۳. گروه جغرافیا، دانشکده علوم انسانی، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران

\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۴۳۵۱۱۹۶۱ فاکس: ۰۴۵۳۳۵۱۵۰۰۵ پست الکترونیک: karimdoust\_sh@yahoo.com

## چکیده

**زمینه و اهداف:** هدف از تحقیق حاضر بررسی قدرت آنتی باکتریال نانورس مونت موریلونیت اصلاح شده با نانوذرات نقره و بیسموت بر روی میکروارگانیزم پاتوژن اشرشیاکلی است که شایع‌ترین باسیل گرم منفی مسئول عفونت‌های گوارشی و خارج روده ای جهان می‌باشد.

**روش کار:** نمونه برداری از معادن بنتونیت و انجام فرآیند خریدایش و نرمایش نمونه‌های خام معدنی و در نهایت الک کردن ذرات پودر شده بمنظور استحصال فیزیکی ذراتی با ابعاد کوچکتر از ۷۴ میکرون، اولین مرحله تولید نانورس مونتموریلونیتی در این پژوهش بوده است. نانورس مونت موریلونیتی، به روش بهینه سازی و تیمار با نانوذرات نقره و بیسموت انجام و کارائی و مطلوبیت سنجی روش‌های سنتز نانورس‌های آنتی باکتریال بوسیله نتایج آنالیز میکروسکوپ الکترونی، آنالیزهای پراش اشعه ایکس، تعیین توزیع لیزری اندازه ذرات و شدت پیک کوارتز تعیین شد. بررسی تاثیر نانورس‌های آنتی باکتریال سنتز شده بر روی فعالیت حیاتی میکروارگانیزم پاتوژن اشرشیاکلی بوسیله آزمون آگار دایلوشن، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت.

**یافته‌ها:** بکارگیری مونتموریلونیت با اندازه ذرات کوچکتر از ۲ میکرومتر به منظور استحصال نانورس دارویی روش مناسبی است. نانورس مونت موریلونیت حاوی نقره با MIC برابر ۶۴ میکروگرم در میلی لیتر بیشترین تاثیر گذاری را بر سویه استاندارد اشرشیاکلی داشت و نانورس مونت موریلونیت حاوی بیسموت و نانورس مونت موریلونیت به ترتیب با MIC برابر ۱۲۸ و ۵۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر در مقام‌های بعدی قرار گرفتند.

**نتیجه گیری:** در تهیه نانورس بمنظور مصارف دارویی، روش فیزیکی ایمن‌ترین و کارآمدترین متد بوده و موفقیت تیمار نانورس خالص سازی شده با یون نقره کارآمدتر از تیمار نانورس اصلاح شده با نانوذرات بیسموت است.

**واژه‌های کلیدی:** نانو ذرات بیسموت، نانوذرات نقره، اشرشیاکلی، مونتموریلونیت، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)

دریافت: ۱۴۰۲/۹/۱ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۱

## مقدمه

برای اغلب مردم دنیا زمین‌شناسی<sup>۱</sup>، علم مطالعه کانی‌ها، سنگ‌ها و نحوه تشکیل و توزیع آنها بر روی کره زمین است، این در حالی است که امروزه علم

زمین‌شناسی گام را فراتر گذاشته و مطالعات و تحقیقات بین رشته‌ای بسیار کاربردی را در شاخه‌های نوین رقم زده است. در سال‌های اخیر ارتباط میان پدیده‌های زمین‌شناسی و سلامتی انسان‌ها و موجودات کره زمین مورد بحث محافل علمی سراسر

<sup>۱</sup> Geology

جهان شده و توجه دانشمندان علوم مختلف را به خود معطوف داشته و علم بین رشته ای جدیدی تحت عنوان زمین‌شناسی پزشکی<sup>۱</sup> پا به عرصه علوم تحقیقاتی گذاشته است (۴-۱). استفاده از مواد معدنی و کانی‌های مختلف در صنایع دارویی و پزشکی به جهت کاهش مخاطرات جانبی داروهای شیمیایی جنبه دیگری از زمینه‌های مطالعاتی این علم نوپا می‌باشد. کانی‌های رسی مواد معدنی ارزشمندی هستند که برای اکثر تمدن‌های بشری حائز اهمیت بوده و در صنایع متعدد کاربرد داشته‌اند. امروزه نیز رس‌ها بدلیل خواص منحصر بفردشان در صنایع مختلف به ویژه در صنایع دارویی و پزشکی جایگاه خاصی را به خود اختصاص داده‌اند. کانی‌های رسی<sup>۲</sup> مواد طبیعی ارزان‌قیمتی هستند که ویژگی و کاربرد آنها تابع ساختار داخلی و ترکیب شیمیایی آنها است. با ایجاد اندک تغییراتی در ساختار و ترکیب رس‌ها (مانند اشباع کردن با فلزات - تیمار کردن توسط اسیدها) می‌توان از آنها کاتالیزورهای بسیار مفید و ارزشمندی در صنایع مختلف بدست آورد است (۲). ظهور فناوری نانو<sup>۳</sup> دامنه فعالیت‌های زمین‌شناسی را دوچندان کرده و ابزارها و متدهای بسیار ارزشمند و کاربردی را در اختیار پژوهشگران زمین‌شناسی نوین قرار داده است. نانوثئوساینس<sup>۴</sup> عنوان شاخه ای از علم زمین‌شناسی مدرن و امروزی است که حوزه مطالعات بین رشته ای آن، انجام پژوهش‌های زمین‌شناسی بوسیله فناوری نانو در حد ساختار مولکولی و اتمی و در ابعاد نانومتری است (۵). محدوده مطالعات نانوتکنولوژی عموماً برای اشاره به حوزه‌ای از علم که ویژگی کاربردی آن در سطح مولکولی کوچکتر از ۱ میکرومتر (معمولاً کوچکتر از ۱ تا ۱۰۰ نانومتر) و ساخت دستگاه‌هایی محدوده همین اندازه است، به کار برده می‌شود (۶،۵).

نانوزمین‌شناسی، مطالعات بین رشته‌ای است که در آن از مشارکت فناوری نانوتکنولوژی با دانش زمین‌شناسی صحبت می‌شود. عبارتی دیگر استفاده از ابزارهای فناوری نانو و پارامترهای ساختاری زمین‌شناسی در مطالعات بین رشته‌ای جهت دستیابی به اهداف بهبودی خاص است. در این راستا مواد جامد زمین به عنوان اشیاء تحقیق محسوب می‌شود. مطالعات فشرده بر روی نانوذرات و نانساختارهای معدنی و پی بردن به عوامل موثر و کارا در این مواد، یکی از مهمترین اهداف این علم بین رشته ای است. هدف اصلی پژوهشی نانوزمین‌شناسی، آشکار کردن اطلاعات نانومقیاس ثبت شده توسط مواد جامد زمین، با کمک ابزارها، تجربیات و نتایج مطالعه علوم نانو است که به سرعت در حال توسعه و گسترش است (۷،۸). هم اکنون، نانوزمین‌شناسی یکی از پیشروترین شاخه‌های بین رشته‌ای است که زمینه تحقیقاتی جدیدی را در دست انجام دارد. زمین‌شناسان به پتانسیل توسعه نظریه نانومتر در زمین‌شناسی پی برده و ظهور نانوزمین‌شناسی، دانشمندان علوم زمین را با ایده‌های جدید و جهت گیری تحقیقاتی ویژه‌ای برای دانستن بیشتر در مورد زمین و فرصتی را برای درک مکانیسم ریز کیهانی اجسام زمین‌شناسی و فعالیت‌های زمین‌شناسی فراهم کرده است (۹). مونتموریلونیت یک نانوذره رسی است که عمده‌ترین فاز موجود در کانی رسی بنتونیت را تشکیل می‌دهد. نانوذرات رس با ابعاد تقریبی ۱۰ آنگستروم و خواص منحصربه‌فرد، کاربردهای مختلفی را در صنایع داروسازی یافته است. از جمله این کاربردهای می‌توان به تولید نانوداروها با پایه رسی، دارو رسانی هدفمند، رهاسازی کنترل شده داروها در صنایع داروسازی و کاربردهای فراوان در مداوای بیماری‌های خاص اشاره کرد (۱۰). ویژگی‌های ساختاری و ابعادی این ماده معدنی منحصربفرد باعث شده است که مونتموریلونیت به طور گسترده‌ای در کاربردهای پزشکی و صنعتی مورد توجه خاصی قرار گیرد

<sup>1</sup> Medical Geology

<sup>2</sup> Clay Minerals

<sup>3</sup> Nanotechnology

<sup>4</sup> Nanogeoscience

(۱۱،۱۲،۱۰). این نانو رس، بطور خاص، برای ایجاد سیستم‌های مختلف تحویل دارو و غلبه بر معایب داروی سنتی و شیمیایی، از جمله حلالیت کم و خواص فارماکوکینتیک ضعیف (فراهمی زیستی کم و نیمه عمر کوتاه بیولوژیکی) واجد کاربردهای دارویی ویژه ای در صنایع پزشکی است (۱۳). میکروارگانسیم اشتریشیا کلی شایع ترین باسیل گرم منفی است که مسئول انواع عفونت‌های گوارشی و خارج روده ای در سراسر جهان بوده (۱۴) و به عنوان بخش عمده ای از فلور طبیعی روده انسان، عامل انواع عفونت‌های فرصت طلب اکتسابی از جامعه و بیمارستانی مانند عفونت‌های دستگاه ادراری، سپتی سمی، ذات الریه، مننژیت نوزادان و غیره است. با بهینه سازی و ایجاد تغییراتی در ساختمان کانی‌های رسی می‌توان با حذف و یا غیرفعال سازی میکروارگانسیم‌های پاتوژن شایع بدن (مانند اشتریشیا کلی) گامی اساسی در امر حفظ سلامتی دستگاه گوارش انسان‌ها برداشت. سمی بودن، تاثیر منفی بر بافت‌های سالم، عدم جذب سریع و عوارض جانبی دیگر از موارد منفی استفاده از داروهای شیمیایی در پروسه درمان محسوب می‌شود که با رشد چشمگیر فناوری نانو و پژوهش‌های انجام‌یافته در صنعت پزشکی و داروسازی، جانشین نمودن درمانگرهای طبیعی بجای داروهای شیمیایی، در راس مطالعات کنونی صنایع داروسازی است (۱۵،۱۶). اصلی‌ترین و مهمترین بخش پژوهش حاضر، استحصال و تهیه نانو رس آنتی باکتریال از ماده معدنی بنتونیت است. آماده سازی اولیه ماده خام معدنی به منظور تبدیل آن به ذراتی در حد سانتی‌متر و میکرومتر با خردایش (سنگ شکن‌های فکی)، نرمایش (آسیاب‌های دیسکی) و الک کردن در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی انجام می‌شود. حذف رطوبت و میکروارگانسیم‌های نمونه آماده سازی شده بوسیله کوره‌های آزمایشگاهی جهت حذف میکروارگانسیم‌های آلی از ماده معدنی ضروری است. هدف اصلی تخلیص، استحصال کانی رسی مونت

موریلونیت با درجه خلوص بالا از بنتونیت است. اصلاح و بهینه‌سازی مونت موریلونیت خالص‌سازی شده به‌منظور افزایش کارایی مورد نظر، با روش‌های مختلف فیزیکی و شیمیایی و متدهای نانوتکنولوژی صورت می‌گیرد. سنتز نانورس آنتی باکتریال بر پایه نانورس مونت موریلونیتی با جاگذاری عناصر فلزی چون نقره و بیسموت در بین لایه‌های رسی به وقوع می‌پیوندد. در همین راستا، کیفیت و کارایی روش خالص سازی، اصلاح و جاگذاری توسط آنالیزهای پراش اشعه ایکس، میکروسکوپی‌های الکترونی و روش‌های مقایسه ای ارزیابی شده است. بررسی تاثیر نانورس آنتی باکتریال تهیه شده بر روی سوبه میکروارگانسیم پاتوژن در محیط آزمایشگاهی و روش برون‌تنی<sup>۱</sup> مهمترین بخش و در واقع اساسی‌ترین قسمت تحقیق است. سنجش و ارزیابی این تاثیر بوسیله آزمون انتشار در آگار تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی<sup>۲</sup> (MIC) نانوذرات انجام گرفته است.

## روش کار

### نوع مطالعه

این مطالعه از نوع توصیفی- مقطعی بوده و به بررسی تاثیر بهداشتی نانوخاک رس اصلاح شده مونت موریلونیتی (با نانوذرات نقره و بیسموت) بر سلامتی دستگاه گوارش می‌پردازد. علاوه بر آن، شدت خاصیت آنتی‌باکتریال نانورس‌های سنتز شده نیز مورد مقایسه و سنجش قرار گرفته است.

**فرآوری، استحصال و تهیه نانو رس از ماده معدنی خام**  
شناسائی، نمونه برداری علمی و انتقال نمونه‌ها (بر اساس پروتکل‌های استاندارد) از معدن آنارون استان خراسان واقع در شمال شرق کشور بعنوان مرغوبترین بنتونیت موجود در کشور ایران جهت انجام پژوهش مورد نظر، اولین قدم اجرایی این پژوهش محسوب می‌شود. آماده سازی اولیه از قبیل زدایش مواد

<sup>1</sup> In-Vitro

<sup>2</sup> Minimum Inhibitory Concentration

ناخالصی آلی و رطوبت مازاد و پس از آن خردایش<sup>۱</sup> آزمایش<sup>۲</sup> نمونه‌ها در آزمایشگاه برای بدست آوردن ذراتی در حد کمتر از یک سانتی‌متر و در نهایت الک کردن نمونه‌های خرد شده بمنظور حصول ذراتی کوچکتر از ۲۰۰ مش (۷۴ میکرون) اقدامات فیزیکی خالص‌سازی ماده معدنی خام بوده است. در ادامه، خالص‌سازی و استحصال نانورس مونت موریلونیت از بنتونیت خام الک شده بر اساس روش سرعت سقوط ذرات جامد در محیط مایع<sup>۳</sup> (قانون استوکس) انجام گرفت. در نهایت مطلوبیت سنجی فرآیند خالص‌سازی و استحصال نانورس فرآوری شده (بعنوان پایه آنتی باکتریال معدنی) توسط نتایج آنالیزهای دیفرکتومتری اشعه ایکس<sup>۴</sup> (XRD) با متد اصلاح با اتیلن گلیکول، تعیین توزیع پراکندگی لیزری اندازه ذرات<sup>۵</sup> (PSA) و شدت پیک کوارتز قبل و بعد خالص‌سازی مورد ارزیابی قرار گرفت.

#### سنتز نانورس آنتی باکتریال

نانورس تخلیص شده جهت سنتز کامپوزیت آنتی‌باکتریال، با نانوذرات نقره و بیسموت مورد تیمار و اصلاح قرار گرفت که محصول این مرحله تهیه دو نانورس مونت موریلونیت آنتی‌باکتریال نقره و بیسموت‌دار بود. اثبات خواص آنتی‌باکتریال فلزاتی چون نقره و بیسموت و حصول نتایج کاربردی توسط پژوهش‌های انجام گرفته در این خصوص و نتایج ارزشمندی از خواص ضدباکتریایی پلیمرهای سنتز شده با این عناصر (۲،۱۷) و استفاده از ترکیبات بیسموت (بیسموت ساب سیترات) در مداوای بیماران مبتلا به آلودگی‌های دستگاه گوارش عاملی برای انجام پژوهش حاضر بوده است. بهینه‌سازی، اصلاح و سنتز نانورس آنتی‌باکتریال، و قرار دادن یون‌های فلزی

بصورت مهمان در فاصله مابین لایه‌ها و یا خلل و فرج موجود در ساختار نانورس‌های خالص‌سازی شده و بررسی خواص و قدرت آنتی باکتریال نانوذرات معدنی اصلاح و تیمار شده (با عناصر فلزی نانو ذرات نقره و بیسموت) و بررسی تاثیر آن بر فعالیت باکتری اشرشیا کلی هدف این پژوهش است. به منظور سنتز نانورس آنتی باکتریال و تیمار آن با نانو ذرات از نیترات نقره ( $AgNO_3$ ) مربوط با شرکت مرک<sup>۶</sup> آلمان، سدیم دودسیل سولفات (SDS) و محلول فرم‌آلدهید ۳۰ درصد (Formaldehyde, Pharmachmical Co.) به صورت دیسپرس و به مدت یک ساعت با سرعت ۱۲۰ دور بر دقیقه، سانترفیوژ گردید (۱۸،۱۹). همچنین به منظور تیمار با نانوذرات بیسموت از ماده نیترات بیسموت [ $Bi(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$ ] مربوط به شرکت مرک آلمان، اسید نیتریک، اسید سیتریک، سورفاکتانت SDS بمنظور جلوگیری از آگلوموره شدن ذرات در محیطی با اسیدیته (pH) همواره حدود ۳ به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق و ۳ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد با تهیه محلول سول-ژل کامل و تشکیل رسوب زرد رنگ و سپس سانترفیوژ و خشک کردن مراحل سنتز نانورس مونت موریلونیت اصلاح با بیسموت را شامل می‌شود (۹).

#### پارامترهای کیفیت سنجی نانورس آنتی باکتریال

طیف سنجی پراش انرژی پرتو ایکس یک روش تحلیلی است که برای تجزیه و تحلیل ساختاری، یا خصوصیات شیمیایی یک نمونه به کار می‌رود. شناسایی فازهای موجود در ریز ساختار ماده از طریق ترکیب شیمیایی، نقش به‌سزایی در شناخت و تعیین فازهای مجهول ایفا می‌کند. تجزیه و تحلیل EDAX یک مکمل برای میکروسکوپ‌های الکترونی<sup>۷</sup> SEM است و اگر آنالیزر SEM مجهز به آشکارساز EDS باشد، علاوه بر تصویربرداری از سطح نمونه، می‌توان اطلاعات

<sup>1</sup> Crushing

<sup>2</sup> Pulverizing

<sup>3</sup> Stokes' Law

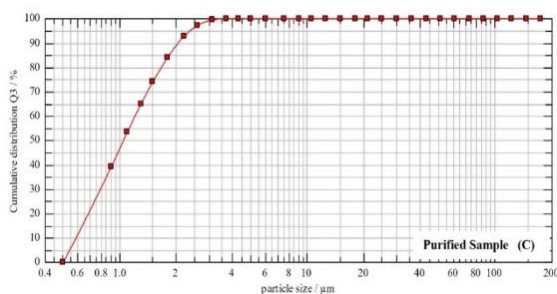
<sup>4</sup> X-ray Diffraction

<sup>5</sup> Particle Size Analyzer

<sup>6</sup> Merck

<sup>7</sup> Scanning Electron Microscopy

هرچقدر گسترده پراکندگی ذرات خالص سازی شده نسبت به نمونه اولیه محدود به اندازه ذرات مطلوب و مد نظر باشد در واقع فرایند خالص سازی با موفقیت انجام گرفته است. به منظور ارزیابی فرآیند خالص سازی، نمونه‌های بنتونیت، تحت تجزیه و تحلیل و آنالیز پراکندگی اندازه ذرات بصورت لیزری قرار گرفته اند. منحنی‌های توزیع اندازه دانه از نتایج تجزیه و تحلیل توزیع اندازه ذرات لیزری برای نمونه بنتونیت خام اولیه، نمونه بنتونیت پودر شده و نمونه بنتونیت خالص سازی شده ترسیم و در شکل ۱ ارائه شده است. با توجه به نتیجه آنالیز لیزری تعیین اندازه ذرات آنالیز نانو رس‌ها دارای بالاترین همگنی اندازه ذرات بوده و استحصال نانورس از ماده معدنی خام موفقیت آمیز بوده است. وجود ناخالصی در نانو رس‌ها باعث کاهش خصوصیات مثبت نانورس شده و یک امتیاز منفی در مرغوبیت آن به شمار می‌آید. بهمین دلیل خالص سازی و استحصال مونت موریلونیت (نانو رس) مهمترین مبحث در تهیه و تولید نانورس است. بنابراین برای حذف ناخالصی‌های همراه با مونت موریلونیت باید روش‌های مناسبی به کار گرفته شود تا نانورس استحصال شده تا حد زیادی عاری از ناخالصی بوده و خصوصیات مطلوب پلیمر را بهبود بخشد (۲۳،۲۴).



شکل ۱. نتیجه آنالیز تعیین توزیع اندازه (PSA) نانورس‌های تهیه شده

ناخالصی‌ها یا عبارتی کانی همراه با ذخائر بنتونیت شامل: کوارتز، کریستوبالیت، اپال (CT)، گچ، آلپیت، انورتیت، آپاتیت، هالیت، دولومیت، کربنات سدیم، سیدریت، بیوتیت، موسکویت، کلریت، پیریت،

مربوط به عناصر تشکیل دهنده نمونه را استخراج کرد. با استفاده از سیستم EDX می‌توان عناصر Fe, Al, Si, Ca, Mg را به تصویر کشید که با روش‌های معمولی شیمیایی و طیف نگاری این کار ممکن نیست. لذا ریزسنجی در میکروسکوپ الکترونی به صورت ابزار مهمی در تشخیص ویژگی‌های انواع مواد جامد درآمده است. با استفاده از این روش می‌توان وجود یا عدم وجود عناصر مختلف تشکیل دهنده فازهای موجود در نمونه را به منظور مقایسه در نمونه‌های متفاوت به تصویر کشید (۲۰،۲۱). کارایی و مطلوبیت سنجی روش‌های سنتز نانورس‌های آنتی‌باکتریال بوسیله بررسی و تحلیل نتایج آنالیز میکروسکوپ الکترونی SEM/EDX ریزسنجی ساختاری شد.

#### تهیه، آماده سازی و کشت میکروارگانیزم پاتوژن

ابتدا سویه استاندارد ATCC 2592 / *شریشیا کلی* در محیط EMB آگار کشت داده شد. سپس گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت و از کلنی‌های رشد یافته جهت انجام آزمایشات استفاده شد.

#### تعیین حساسیت آنتی‌باکتریال

حداقل غلظت ممانعت کننده نانو رس خام، نانو رس آنتی‌باکتریال نقره و نانو رس آنتی‌باکتریال بیسموت در برابر ایزوله استاندارد مورد مطالعه با استفاده از روش میکرو دیلوشن طبق توصیه موسسه استاندارد روش‌های آزمایشگاهی (CLSI)<sup>۱</sup> (۲۲) تعیین شد.

#### یافته‌ها

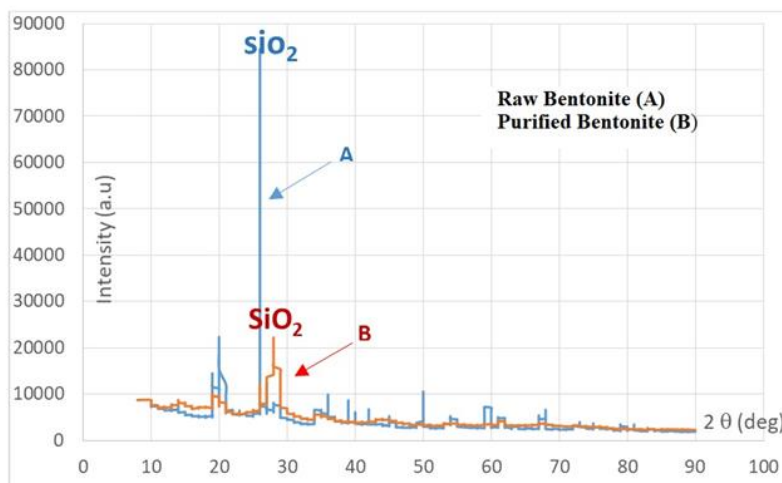
#### مرغوبیت سنجی نانورس خالص سازی شده بعنوان حامل دارویی

اولین و مهمترین قدم در خالص سازی و استحصال نانورس از بنتونیت در تحقیق حاضر، رسیدن به اندازه ذرات با قطر مورد نظر و مهمتر از آن بالابودن درصد همگنی ذرات با قطر مذکور است.

<sup>۱</sup> Clinical Laboratory Standard Institute

دیاگرام ارائه شده از پراش پرتو ایکس نمونه خام اولیه (A) و نمونه خالص سازی شده (B) می‌توان دریافت که مهمترین ناخالص موجود در نمونه اولیه (A) کوارتز است. ترکیبات سیلیسی ( $\text{SiO}_2$ ) یکی از مهمترین ناخالصی‌های موجود در نانورس (مونت موریلونیت) بوده و اساسی‌ترین فاکتور منفی در بحث خالص‌سازی بخصوص در کاربردهای بهداشتی و دارویی است. مونت- موریلونیت کانی هوازده است و به همین دلیل کانی‌های سیلیسی (به دلیل استحکام و سختی بالایی که دارد) در اکثر نمونه‌های بنتونیت دیده می‌شود. در آنالیز پراش اشعه ایکس پیک اصلی کانی کوارتز با زاویه  $2\theta$  بین حدود ۲۵ تا ۳۰ درجه دیده می‌شود. در نتیجه آنالیز XRD نمونه بنتونیت خام قبل از خالص‌سازی، پیک کانی کوارتز را می‌توان در همان محدوده و با شدت بسیار بالا مشاهده کرد، که این امر نشان می‌دهد کوارتز مهمترین ناخالصی موجود در نمونه بنتونیت است.

کائولونیت و هماتیت است. اکثر ناخالصی‌های همراه با بنتونیت (به استثناء ناخالصی‌های سیلیسی ریز دانه) با استفاده از روش‌های خالص‌سازی متداول براحتی قابل جدایش هستند و از آنجایی که برای تولید نانو رس، مونت موریلونیتی با درجه خلوص بالا مورد نیاز است، حذف ناخالصی‌های سیلیسی همراه با بنتونیت تا حد مطلوب امری ضروری و مستلزم استفاده از فرایندهای خالص‌سازی ویژه است (۲۵،۲۶). در این پژوهش به منظور بررسی و ارزیابی نمونه رس خالص‌سازی شده در خصوص حذف مهمترین ناخالصی رس بنتونیت (سیلیس)، از نمونه خام اولیه و نمونه تخلیص شده پراش پرتو ایکس تهیه و از روش مقایسه شدت پیک کوارتز در قبل و بعد خالص‌سازی برای ارزیابی استفاده شد. الگوهای پراش اشعه ایکس (XRD) نمونه بنتونیت خام و نمونه بنتونیت خالص‌سازی شده (مونت‌موریلونیت) مورد استفاده در مطالعه، در شکل ۲ نشان داده شده است. با توجه به



شکل ۲. الگوهای پراش اشعه ایکس بنتونیت خام (A) و بنتونیت خالص شده (B)

حذف ناخالصی سیلیسی همراه می‌باشد که این امر به‌وضوح در الگوی XRD ارائه شده قابل اثبات است. در شکل ۳ نمودارهای نتایج پراش اشعه ایکس همان نمونه‌ها با شرایط آنالیز یکسان پس از تیمار با اتیلن گلیکول نیز ارائه شده است. در تیمار با اتیلن گلیکول، مولکول‌های قطبی اتیلن گلیکول در فضاهای بین لایه‌ای

دقت در الگوی پراش اشعه ایکس ارائه شده، از نمونه بنتونیت خالص‌سازی شده موید کاهش چشمگیر شدت سیلیس در نمونه بوده و گویای اختلاف فاحش بین پیک ترکیب سیلیسی در دو دیاگرام قبل و بعد خالص‌سازی است که خود نشان از موفقیت آمیز بودن روش خالص‌سازی انجام شده در پژوهش حاضر در

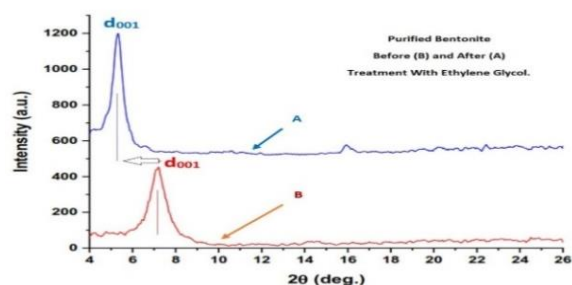
بیشتری داشته و منتخب به تهیه نانورس آنتی‌باکتریال در ادامه فرآیند پژوهش حاضر است.

### مشخصه‌یابی و بررسی مطلوبیت نانورس آنتی‌باکتریال سنتز شده

به منظور بررسی کارایی روش‌های سنتز نانورس‌های آنتی‌باکتریال تهیه شده، نمونه‌های تیمار شده با یون نقره و بیسموت توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۲</sup> مورد آنالیز طیف سنجی پراش انرژی پرتو ایکس SEM/EDX و بررسی‌های ریزسنجی ساختاری قرار گرفتند. در شکل ۴ نتیجه آنالیز SEM/EDX نمونه‌های نانورس تیمار شده با یون‌های نقره و بیسموت به صورت نموداری و به همراه تصاویر ریخت‌شناسی نمایش داده شده است. در حالت کلی حضور پیک‌های نقره و بیسموت در نمودار دلیلی بر موفقیت آمیز بودن روش‌های تیمار بوده است که این موضوع دلیلی محکم بر موفقیت آمیز بودن فرآیند تیمار و بهینه‌سازی روش‌های منتخب در این پژوهش است.

با مقایسه نسبی نتایج ریزسنجی عناصر موجود در آنالیز SEM/EDX در دو نمونه تیمار شده می‌توان پی برد که درصد نسبی نقره نسبت به بیسموت بیشتر بوده که این خود حاکی از کارایی مطلوب‌تر روش تیمار یون‌های نقره نسبت به روش تیمار بیسموت است. این فراوانی نسبی در تصاویر ریخت‌شناسی ارائه شده از نمونه‌های (بر روی نمودار) نیز قابل مشاهده و نمایان است. همچنان که در نتیجه آنالیزها مشهود است، درصد نسبی دیگر عناصر در هر دو نمونه تقریباً مشابه بوده و با یکدیگر مطابقت دارند. از ویژگی‌های مهم دستگاه آنالیز EDX این است که بصورت انتخابی دستگاه قابلیت به تصویر کشیدن نقاطی از سطح نمونه که احتمال حضور عنصر مورد نظر وجود داشته باشد را داراست (۲۰). تصویر حاصل نشان‌دهنده نقاط رنگی است که هر نقطه بیانگر وجود عنصر مورد بررسی در سطح نمونه است. این تصاویر

کانی مونت موریلونیت جذب شده و باعث افزایش فاصله مبنائی<sup>۱</sup> (d<sub>001</sub>) در نمونه می‌شود که این امر باعث افزایش اندازه بلورهای مونت موریلونیت و در نتیجه زیاد شدن شدت پیک مربوطه در الگوی پراش شده و تشخیص و بررسی آن را تسهیل می‌نماید. شایان ذکر است که این روند افزایش شدت پیک پس از تیمار با اتیلن گلیکول در نمونه‌های مختلف یکسان نبوده و جذب اتیلن گلیکول در مونت موریلونیت بسته به تعداد و نوع کاتیون‌های بین لایه‌ای متفاوت است.



شکل ۳. الگوهای XRD برای نمونه بنتونیت خالص سازی شده قبل (B) و پس از تیمار (A) با اتیلن گلیکول

با توجه به نتایج آنالیز نمونه بنتونیت پس از تیمار با اتیلن گلیکول، افزایش شدت پیک در نمودار حاکی از اصلاح بهینه در نمونه بنتونیت تخلیص شده است و موفقیت آمیز بودن روش خالص‌سازی برای استحصال نانورس است. هرچه کاتیون‌های تک ظرفیتی در لایه میانی کانی مونت موریلونیت بیشتر باشد، جذب اتیلن گلیکول زیادتر و هر چه کاتیون‌های دو ظرفیتی آن بیشتر باشد، جذب اتیلن گلیکول کمتر خواهد بود. بر اساس این اصل و با ارزیابی داده‌های آنالیز می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که به احتمال زیاد کاتیون‌های موجود در نمونه تک ظرفیتی بوده است. از آنجایی که هدف اصلی فرآیند خالص‌سازی در این تحقیق، به دست آوردن مونت موریلونیت با بالاترین کیفیت مد نظر است، مشاهده می‌شود که محصول تخلیص انجام شده در این پژوهش مطلوبیت و کارایی

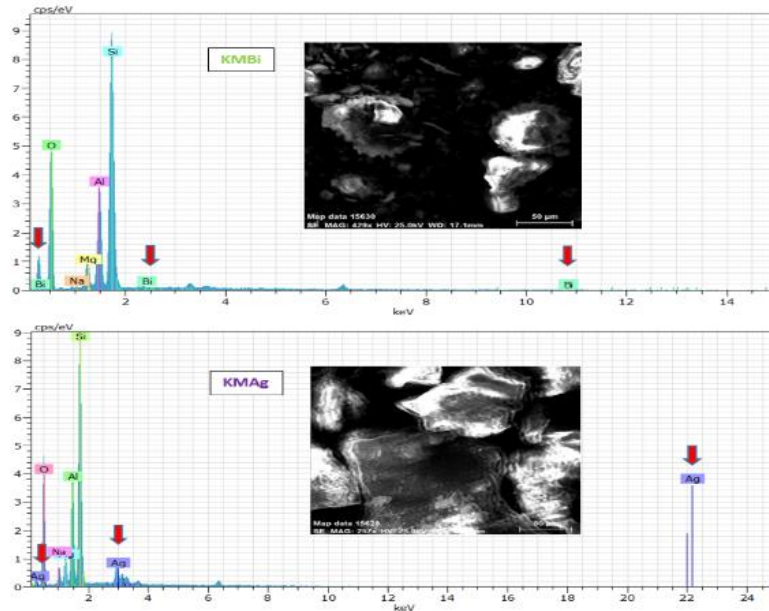
<sup>1</sup> Basal Spacing

<sup>2</sup> Scanning Electron Microscope

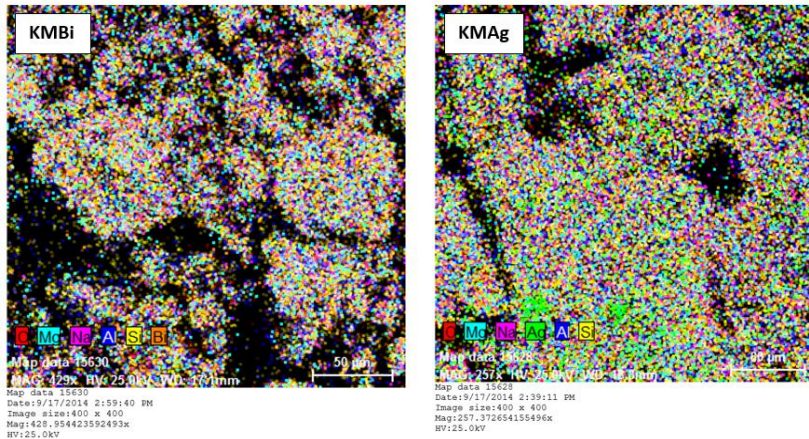


فراوانی این عناصر تحلیل‌های ریزسنجی عنصری داشته باشد. در شکل ۵ تصویر پراکندگی نقاط مربوط به عناصر مورد مطالعه با رنگ‌های مختلف نشان داده شده است.

و نقاط رنگی به پژوهشگر این امکان را می‌دهد که با مقایسه پراکندگی و تراکم فراوانی نقاط رنگی مربوط به هر عنصر بتواند در خصوص وجود یا عدم عناصر یا فازهای مختلف موجود در نمونه و همچنین درصد



شکل ۴. نتیجه آنالیز SEM/EDX نمونه‌های نانورس تیمار شده با یون‌های نقره (KMAg) و بیسموت (KMBi)



شکل ۵. تصویر توزیع نقطه ای بر اساس طبقه بندی رنگی عناصر در نمونه‌های اصلاح شده با یون نقره (KMAg) و بیسموت (KMBi)

سنتز شده و بر روی این ارگانایسم تاثیر داده می‌شود، جهت تکرارپذیری و ادامه مطالعات در سایر نقاط جهان، تاثیر این نانوذرات بر روی یک سویه استاندارد از *شریشیا کلی* (ATCC 2592) مورد سنجش و ارزیابی قرار گرفت.

### نمونه گیری باکتریایی و حجم نمونه

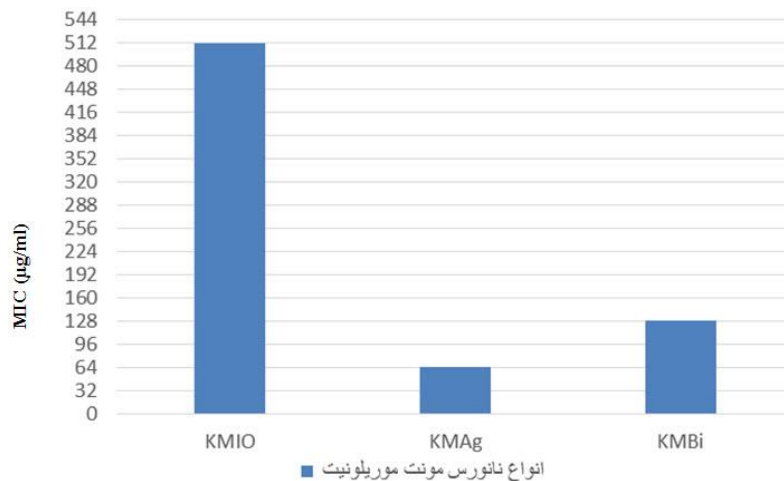
این مطالعه به منظور بررسی تاثیر نانورس مونت موریلونیت حاوی نانوذرات نقره و نانورس مونت موریلونیت حاوی نانوذرات بیسموت بر روی میکروارگانایسم *شریشیا کلی* انجام گرفت. نظر به این که نانو رس‌ها اصلاح شده مذکور برای اولین بار

### ارزیابی عملکرد نانورس آنتی باکتریال

در پژوهش حاضر، دو نمونه آنتی باکتریال سنتز شده بر پایه نانورس مونت موریلونیت توسط تست آنتی بیوگرام MIC یا حداقل غلظت مهارکنندگی (بعنوان یکی از کارآمدترین تست‌های حوزه میکروبیولوژی در زمینه آنتی باکتریال) مورد ارزیابی قرار گرفتند. ارزیابی و کیفیت سنجی سه نمونه آنتی باکتریال سنتز شده معدنی بر روی پاتوژن عامل بیماری‌های دستگاه گوارش (*شریشیا کلی* شایع‌ترین باسیل گرم منفی است که مسئول انواع عفونت‌های گوارشی و خارج روده‌ای در سراسر جهان) و بررسی شدت مهارکنندگی این نمونه‌ها با هم مقایسه و مورد بررسی قرار گرفت. دو مورد از نمونه‌های مورد آزمایش، رس تیمارشده با یون‌های بیسموت (KMBi) و نقره (KMAg) بوده و نمونه سوم خاک رس خالص سازی شده (نانو رس مونت موریلونیت) با نام اختصاری KMIO بوده است و می‌توان از آن بعنوان نمونه شاهد استفاده کرد. برای این منظور از سویه استاندارد ATCC 2592 *شریشیا کلی* کشت داده شده جهت تست آنتی باکتریال MIC استفاده شد. به منظور انجام تست آنتی باکتریال (MIC) غلظت‌های ۰.۲۴، ۰.۱۲، ۰.۰۶، ۰.۰۳۲، ۰.۰۱۶، ۰.۰۰۸، ۰.۰۰۴، ۰.۰۰۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر از خاک رس تهیه و تیمارشده (از هر سه نمونه KMIO, KMAg, KMBi) در محیط کشت ایجاد شد. برای حصول چنین غلظت‌هایی ابتدا محیط کشت با غلظت  $1.024 \mu\text{g/ml}$  به طور سریالی با استفاده از رقیق کننده محیط کشت مولر هینتون برات نسبت‌های ۱/۲ در چاهک‌های مربوطه بر روی میکروپلیت ۹۶ چاهکی رقیق‌سازی شد و محلول‌های ضد میکروبی از غلظت ۰.۲۴ تا ۱ میکروگرم در هر میلی لیتر برای ترکیبات معدنی نمونه‌های تهیه شده به طور جداگانه آماده گردید،

سپس به نسبت یک دهم به محیط کشت ذوب شده با دمای ۵۰-۴۸ درجه سانتی‌گراد اضافه شد. با این عمل غلظت‌های نهایی ذکر شده در بالا که برای انجام آزمون MIC مورد نیاز بود، به دست آمد. مطابق تست‌های MIC انجام شده بر اساس غلظت‌های تهیه شده از سه نمونه خاک رس خالص‌سازی شده (KMIO)، نمونه خالص‌سازی شده و تیمارشده با یون نقره (KMAg) و نمونه تیمارشده با بیسموت (KMBi) بیشترین شدت مهارکنندگی رشد باکتری مربوط به نمونه تیمارشده با یون نقره یا نمونه (KMAg) مشاهده شده که در غلظت ۶۴ میکروگرم در میلی لیتر بوده و پس از آن نمونه تیمار شده با بیسموت که در غلظت ۱۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر دومین خاصیت مهارکنندگی را ظاهر کرده و خاک رس خالص‌سازی شده بدون تیمار (مونت موریلونیت) در غلظت ۵۱۲ میکروگرم در میلی لیتر اثر مهارکنندگی خود را نشان داده و از نظر شدت مهارکنندگی در مقام سوم قرار گرفت.

بر اساس نتایج تست حداقل غلظت مهارکنندگی، بیشترین خاصیت ضدباکتریایی نمونه‌ها در مقابل سویه استاندارد ATCC 2592 *شریشیا کلی* مربوط به نمونه تیمارشده با نقره بوده است که با توجه به تحقیقات دانشمندان در خصوص خاصیت عنصر نقره این نتیجه کاملاً بر تحقیقات علمی منطبق بوده است. در مقایسه با آن نانورس تیمار شده با بیسموت دارای قدرت آنتی باکتریال کمتری نسبت به نمونه KMAg دانسته و بر اساس این می‌توان خاصیت ضدباکتریایی مونت موریلونیت اصلاح شده با نقره خاصیت قوی‌تر نسبت به مونت موریلونیت بیسموت‌دار دانست. خاصیت مهارکنندگی نمونه نانو بتونیت خالص و بدون تیمار کمتر از دو نمونه مورد اشاره است.



نمودار ۱. حداقل غلظت مهارکنندگی انواع نانورس مونت موریلونیوم. خاک رس خالص سازی شده (KMIO)، نمونه خالص سازی شده و تیمار شده با یون نقره (KMAg) و نمونه تیمار شده با بیسموت (KMBi)

## بحث

در سال‌های اخیر، میکروارگانیزم‌های مقاوم به دارو یک مشکل جدی و فزاینده بهداشت عمومی هستند (۲۷). استراتژی‌های جدید برای کنترل فعالیت باکتری‌ها به فوریت مورد نیاز است و نانومواد می‌توانند رویکرد بسیار امیدوارکننده‌ای باشند، زیرا اندازه کوچک ذره سطح بزرگی را ایجاد می‌کند و در نتیجه واکنش‌پذیری (و در بسیاری موارد سمیت) به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. نانوذرات فلزی که بیشترین آزمایش را دارند عبارتند از: نقره، مس، طلا، آلومینیوم، تیتانیوم، آهن، روی، بیسموت و غیره (۲۸). برخی از این فلزات بر روی چندین ماده دیگر پوشانده شده‌اند. استراتژی دیگر ترکیب این فلزات در بستری مانند نانورس مونت موریلونیوم است که نانو ساختارهای ضد میکروبی معدنی را تشکیل می‌دهد. با توجه به باکتری‌ها و قارچ‌ها، شایع‌ترین کاندیدها برای آزمایش‌های میکروبی عبارتند از: *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشریشیا کلی*، *کلبسیلا پنومونیا* و *باسیلوس سوبتیلیس* (۲۸). پتانسیل ضد میکروبی این ذرات نانو ساختار، مکانیسم عمل آنها و کاربردهای مراقبت بهداشتی در مقابل *اشریشیا کلی* از میان گونه‌های دیگر در این

بررسی ارائه شده و مورد بحث قرار گرفته است. امروزه کانی‌های رسی به ویژه مونت موریلونیوم (از گروه اسمکتیت‌های ۲:۱) بدلیل ویژگی‌های منحصربفردشان از قبیل ساختار ورقه‌ای ویژه، ارزان و در دسترس بودن، ظرفیت تبادل یونی بالا، امکان تغییر فاصله بین صفحات و شیمی منحصربفرد این نوع کانی‌ها به ویژه زمانی که به صورت خالص شده با عنوان نانورس<sup>۱</sup> عرضه می‌شود در صنایع و مصارف پیشرفته چون نانو کامپوزیت‌ها و داروسازی (بعنوان حاملین دارو) بسیار مورد توجه و استفاده قرار گرفته‌اند (۲۹،۳۰). بر این اساس خالص‌سازی و استحصال نانو مونت موریلونیوم و درجه خلوص و مطلوبیت مشخصه‌های کاربردی آن در صنایع بهداشتی و داروسازی اهمیت بسیار ویژه و ارزشمند دارد. بررسی‌های زیادی برای افزایش درجه خلوص مونت موریلونیوم و ارتقاء قابلیت‌های آن به منظور استفاده از این کانی ارزشمند در صنایع داروسازی انجام گرفته است هدف اکثر این مطالعات دستیابی به نانومونت موریلونیومی با بیشترین میزان خلوص و کمترین تغییر در ساختار آن است. در همین راستا مرغوبیت سنجی کانی رسی خالص‌سازی شده در

<sup>۱</sup> Nanoclay

صنایع داروسازی امری خطیر و بسیار اساسی است. باتوجه به اینکه اساس فرآیند خالص سازی و استحصال مونت موریلونیت (نانو رس) از بنتونیت اولیه در این تحقیق بر جدایش مکانیکی و شکل و ابعاد اندازه ذرات استوار بوده است، نتایج حاصل از آنالیز تعیین توزیع اندازه ذرات با استفاده از دستگاه لیزری (PSA) در ارزشیابی و مطلوبیت سنجی کارایی روش خالص سازی و پراکنش و جداسازی ذرات حائز اهمیت بسزایی است [۲۴]. طبق بررسی‌های انجام شده مطالعات مشابهی تاکنون در جهان به بررسی تاثیرات نانورس مونت موریلونیت حاوی نقره و بیسموت بر میکروارگانیزم *اشریشیا کلی* که پاتوژن شایع اکتسابی از جامعه و بیمارستان تحت عنوان بهداشتی نانوخاک رس اصلاح شده مونت موریلونیتی بر سلامتی دستگاه گوارش انجام نگرفته است. طبق اعلام سازمان بهداشت جهانی، تا سال ۲۰۵۰ مرگ و میر ناشی از ارگانیزم‌های مقاوم جز ۱۰ عامل اصلی مرگ و میر بشر خواهد بود که نشان‌دهنده ضرورت کشف روش‌های جایگزین درمان این عفونت‌ها را نشان می‌دهد (۳۱). پژوهش‌های اخیر علم پزشکی با کمک نانوتکنولوژی در شاخه نوین چون ژئومیکروبیولوژی اقدام به مطالعه بر روی داروهای سنتز شده معدنی نموده است تا علاوه بر کاهش خواص سمی و اثرات جانبی و مضر داروهای شیمیایی، در صنایع داروسازی گام‌های اساسی برای سنتز و تهیه داروهای معدنی نموده و تحولی عظیم را در این حوزه رقم زند. نانودرمانگرهای معدنی بدلیل سازگار بودن با سیستم طبیعی و ارگان‌های مختلف بدن، پروتکل‌های ایمنی درمان را فراهم آورده، مخاطرات جانبی داروهای غیرشیمیایی را به حداقل رسانده و شاخه جدیدی را به دنیای پزشکی و پژوهشگران معرفی می‌کند. در این راستا و از میان مواد معدنی و کانی‌های مختلف، برخی از کانی‌های رسی به دلیل ویژگی‌های خاص و ابعاد بسیار ریز (در مواردی بصورت نانومتری) در مرکز تمرکز پژوهش‌های ژئومیکروبیولوژی قرار گرفته‌اند.

نانو رس‌ها گروهی از فیلوسیلیکات‌ها معدنی هستند که حداقل در یک بعد، ابعاد نانومتری داشته و مواد ارگانیکی ارزشمندی در فناوری نانو محسوب می‌شوند. مونت موریلونیت به عنوان یک نانو ذره رسی است که عمده‌ترین فاز موجود در بنتونیت را تشکیل می‌دهد و با ابعاد نانومتری (حدود ۱۰ آنگستروم) و خواص ساختاری منحصر به فردی در محیط‌های قطبی، سطح ویژه بالا، خواص الکتریکی سطحی و ظرفیت تبادل کاتیونی توانسته است کاربردهای چشمگیری را در صنایع پزشکی و داروسازی و پژوهش‌های سنتز داروهای معدنی پیدا کند. مونت موریلونیت یکی از اجزای اصلی سازنده بنتونیت و یک ماده معدنی رس چندمنظوره فراوان و ارزان قیمت با خواص منحصر به فرد، مانند تورم و جذب است. این ویژگی‌ها باعث شده است که مونت موریلونیت به طور گسترده‌ای در کاربردهای پزشکی و صنعتی مورد استفاده قرار گیرد (۱۲، ۳۲). برای ایجاد سیستم‌های مختلف تحویل دارو برای غلبه بر معایب دارویی داروها، از جمله حل‌ناپذیری کم و خواص فارماکوکینتیک یک ضعیف (فراهمی زیستی کم و نیمه عمر کوتاه بیولوژیکی) استفاده شده است (۳۳). باتوجه به این خواص مونت موریلونیت، استفاده از این ماده معدنی رسی در سیستم‌های انتقال دارو می‌تواند یک روش امیدوارکننده برای بهبود اثربخشی داروها در بدن از طریق رهاسازی مداوم داروهای آبدوست یا حل شدن داروهای آبگریز باشد. علاوه بر این، مونت موریلونیت عملکرد فرمولاسیون اصلی حامل‌های مختلف دارو را افزایش می‌دهد. با الهام از پژوهش‌های سنتز داروهای معدنی، در این تحقیق ابتدا با استفاده از روش‌های خالص سازی، نانورس مونت موریلونیت از بینونیت خام استحصال و با اصلاح، بیپینه سازی و تیمار نانورس فرآوری شده بوسیله نانوذرات نقره و بیسموت ماده معدنی آنتی باکتریال بر پایه نانورس تهیه گردید.

## نتیجه گیری

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، مناسب‌ترین روش برای استحصال و تخلیص نانوذرات مونت موریلونیت (بخصوص بمنظور کاربردهای دارویی) با ابعاد کوچکتر از ۲ میکرومتر بکارگیری جداسازی فیزیکی بر اساس قانون استوکس روشی امن و کم هزینه می‌باشد. اگرچه حذف کامل ناخالصی‌های سیلیسی مستلزم استفاده از روش‌های شیمیایی است. نظر به این که خالص سازی مونت موریلونیت از بنتونیت خام بر اساس روش فیزیکی نوعی فرآیند جدایش مکانیکی نانورس محسوب می‌شود، مناسب ترین و سهل ترین روش ارزیابی تولید این نانو ذرات، روش توزیع اندازه ذرات با دستگاه لیزری<sup>۱</sup> است که اساس تحلیل آن پراکندگی بر قطر متوسط ذرات است. بررسی نتایج روش خالص سازی با شاخص‌های مختلف در این پژوهش ثابت کرد آنالیزهای پراش پرتو ایکس، و مقایسه شدت پیک کوارتز و تلفیقی از نتایج آن‌ها، روشی کارآمد برای ارزیابی مطلوبیت روش‌های تخلیص و خالص‌سازی فیزیکی تهیه نانورس‌ها و استحصال مونت موریلونیت از بنتونیت خام است. شایان ذکر است که استفاده از تیمار نمونه‌ها با اتیلن گلیکول جهت تهیه آنالیز پراش پرتو ایکس، کار بررسی

نتایج و پروسه تشخیص پیک‌های حاصله را بسیار راحت‌تر و تشخیص را تسهیل می‌نماید. استفاده از تصاویر رنگی حاصل از نتایج آنالیز ریز ساختاری (SEM/EDX) و الگوی پراکندگی عناصر مختلف موجود در سطح نمونه‌های مورد مطالعه و انطباق نقاط رنگی مربوط به عناصر مختلف با یکدیگر جهت تفسیر و تحلیل حضور یا عدم حضور عناصر تشکیل دهنده فازها به منظور بررسی کیفیت روش‌های بهینه‌سازی یا تیمار و حضور یا عدم حضور ناخالصی‌ها در نمونه‌ها علیرغم سادگی و ساده‌بودن نتایج، روشی بسیار کارآمد، آسان و کاربردی است. نتایج این پژوهش ثابت کرد که خاصیت نانورس آنتی‌باکتریال تیمار شده با نقره بیشتر از نانورس بیسموت‌دار بوده و حداقل غلظت مهارکنندگی موریلونیت نقره‌دار مطلوب‌تر از نمونه بیسموت دار آن است.

## تشکر و قدردانی

این پژوهش بخشی از یافته‌های پایان نامه مقطع دکترا رشته زمین‌شناسی پزشکی می‌باشد که در دانشگاه آتاتورک کشور ترکیه با شماره مصوبه E-83443830-300-2200276278 انجام گرفته است.

<sup>1</sup> Particulate Size Analyzer

## References

- 1- Atabay E. Jeolojik Unsurlar ve Halk Sağlığı (Tıbbi Jeoloji) Tıbbi Jeolojinin Önemi. Popüler Bilim Dergisi. 2011;207:56-61.
- 2- Hughes GA. Nanostructure-mediated drug delivery. Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine. 2005;1(1):22-30.
- 3- Varol E, Varol S, Davraz A. Tıbbi jeoloji ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisi. Genel Tip Dergisi. 2009;19(1):45-49.
- 4- Rani A, Asgher M, Qamar SA, Khalid N. Nanostructure-mediated delivery of therapeutic drugs—A comprehensive review. Int J Chem Biochem Sci. 2019;15:5-14.
- 5- Huffman D, Ristvey J, Tweed A, Palmer E. Integrating nanoscience and technology in the high school science classroom. Nanotechnology Reviews. 2015;4(1):81-102.
- 6- Bayda S, Adeel M, Tuccinardi T, Cordani M, Rizzolio F. The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical–physical applications to nanomedicine. Molecules. 2019;25(1):112.
- 7- Ju Y, Huang C, Sun Y, Wan Q, Lu X, Lu S, et al. Nanogeosciences: Research history, current status, and development trends. Journal of Nanoscience and Nanotechnology. 2017;17(9):5930-65.

- 8- Ju Y-w, Huang C, Sun Y, Zou C-n, He H-p, Wan Q, et al. Nanogeology in China: A review, *China Geology*. 2017;1:286-303. doi: 10.31035/cg2018020. View online: <https://doi.org/10.31035/cg2018020>.
- 9- Schindler M, Hochella Jr MF. Soil memory in mineral surface coatings: Environmental processes recorded at the nanoscale. *Geology*. 2015;43(5):415-18.
- 10- Rautureau M, Gomes C, Liewig N, Katouzian-Safadi M. Clays and health. Properties and Therapeutic Uses. 2017;217.
- 11- Buck BJ, Londono SC, McLaurin BT, Metcalf R, Mouri H, Selinus O, et al. The emerging field of medical geology in brief: some examples. *Environmental Earth Sciences*. 2016;75:1-13.
- 12- Maxim LD, Niebo R, McConnell EE. Bentonite toxicology and epidemiology—a review. *Inhalation toxicology*. 2016;28(13):591-617.
- 13- Iqbal J, Abbasi BA, Ahmad R, Mahmood T, Ali B, Khalil AT, et al. Nanomedicines for developing cancer nanotherapeutics: From benchtop to bedside and beyond. *Applied microbiology and biotechnology*. 2018;102:9449-70.
- 14- Galindo-Méndez M. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *E Coli Infections-Importance of Early Diagnosis and Efficient Treatment*. 2020:1-20.
- 15- Rosario JAd, de Moura GB, Gusatti M, Riella HG. Synthesis of silver-treated bentonite: Evaluation of its antibacterial properties. *Chemical Engineering Transactions*. 2009;17:1795-1800.
- 16- Sora VM, Meroni G, Martino PA, Soggiu A, Bonizzi L, Zecconi A. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: Virulence factors and antibiotic resistance. *Pathogens*. 2021;10(11):1355.
- 17- Singh N, Singh R, Shukla M, Kaul G, Chopra S, Joshi KB, et al. Peptide nanostructure-mediated antibiotic delivery by exploiting H<sub>2</sub>S-rich environment in clinically relevant bacterial cultures. *ACS Infectious Diseases*. 2020;6(9):2441-50.
- 18- Shokouhi A-R, Aslanoglou S, Nisbet D, Voelcker NH, Elnathan R. Vertically configured nanostructure-mediated electroporation: a promising route for intracellular regulations and interrogations. *Materials Horizons*. 2020;7(11):2810-31.
- 19- Zhang S, Hao M, Gao W, Liu F, Duan J, Kong Y, et al. Neuron-like cell differentiation of hADSCs promoted by a copper sulfide nanostructure mediated plasmonic effect driven by near-infrared light. *Nanoscale*. 2020;12(17):9833-41.
- 20- Veiskarami M, Sarvi MN, Mokhtari AR. Influence of the purity of montmorillonite on its surface modification with an alkyl-ammonium salt. *Applied Clay Science*. 2016;120:111-20.
- 21- Qiao Z, Liu Z, Zhang S, Yang Y, Wu Y, Liu L, et al. Purification of montmorillonite and the influence of the purification method on textural properties. *Applied Clay Science*. 2020;187:105491.
- 22- Weinstein MP, Lewis JS. The clinical and laboratory standards institute subcommittee on antimicrobial susceptibility testing: background, organization, functions, and processes. *Journal of clinical microbiology*. 2020;58(3):10.1128/jcm. 01864-19.
- 23- Yuwono HS, Tangke FR, Farenia R. Effects of Calcium Bentonite on High Blood Cholesterol Level. *Althea Medical Journal*. 2018;5(3):139-41.
- 24- Khatoon N, Chu MQ, Zhou CH. Nanoclay-based drug delivery systems and their therapeutic potentials. *Journal of Materials Chemistry B*. 2020;8(33):7335-51.
- 25- Roy HS, Islam MM, Mollah MYA, Susan MABH. Polyaniline-MnO<sub>2</sub> composites prepared in-situ during oxidative polymerization of aniline for supercapacitor applications. *Materials Today: Proceedings*. 2020;29:1013-19.
- 26- Vijayalakshmi S, Kumar E, Nithya S. Investigation on polyaniline with manganese dioxide nanostructure by using an in situ oxidative polymerization method. *Ionics*. 2020;26:839-48.
- 27- Salam MA, Al-Amin MY, Salam MT, Pawar JS, Akhter N, Rabaan AA, et al. Antimicrobial resistance: a growing serious threat for global public health. *Healthcare: MDPI*; 2023. p. 1946.
- 28- Yıldız C, Bayraktepe DE, Yazan Z, Önal M. Bismuth nanoparticles decorated on Na-montmorillonite-multiwall carbon nanotube for simultaneous determination of heavy metal ions-electrochemical methods. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2022;910:116205.
- 29- Shirzad-Siboni M, Khataee A, Hassani A, Karaca S. Preparation, characterization and application of a CTAB-modified nanoclay for the adsorption of an herbicide from aqueous solutions: Kinetic and equilibrium studies. *Comptes Rendus Chimie*. 2015;18(2):204-14.

- 30- Mostafa AG, Abd El-Hamid AI, Akl MA. Surfactant-supported organoclay for removal of anionic food dyes in batch and column modes: adsorption characteristics and mechanism study. *Applied Water Science*. 2023;13(8):163.
- 31- Medina M-j, Legido-Quigley H, Hsu LY. Antimicrobial resistance in one health. *Global Health Security: Recognizing Vulnerabilities, Creating Opportunities*. 2020:209-29.
- 32- Borah D, Nath H, Saikia H. Modification of bentonite clay & its applications: A review. *Reviews in Inorganic Chemistry*. 2022;42(3):265-82.
- 33- Haberl H, Wiedenhofer D, Virág D, Kalt G, Plank B, Brockway P, et al. A systematic review of the evidence on decoupling of GDP, resource use and GHG emissions, part II: synthesizing the insights. *Environmental research letters*. 2020;15(6):065003.