

Synthesis of Silver Nanoparticles by Environmentally Friendly Method and Study of Its Antimicrobial Properties in Soap Detergent Production

Birjandi N^{*1}, Karami F², Tavakoli D³

1. Assistant Professor of Environment, Department of Environmental Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khorramabad, Iran

2. Student of Environmental Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khorramabad, Iran

3. Master Degree in Materials Engineering, Eshragh Research Center, Department of Education, Dorud, Iran

* *Corresponding author.* Tel: +986633430160, Fax: +986633430160, E-mail: Birjandi.n@lu.ac.ir

Received: Apr 18, 2019 Accepted: Sep 10, 2020

ABSTRACT

Background & objectives: In the field of health, silver nanoparticles are used to make detergents. Considering the negative environmental problems in the conventional methods of synthesizing silver nanoparticles, this experimental study was conducted with the aim of using an environmentally friendly method for the production of silver in the form of antimicrobial nanoparticles and its application in detergent production.

Methods: In this research, in order to synthesize silver nanoparticles, the method of electrical explosion of wire and PNC device was used in distilled water solution as a plasma medium. Size, structural properties and morphology were investigated by X-ray diffraction (XRD), Infrared spectroscopy (FTIR), atomic force microscopy (AFM) and scanning electron microscopy (SEM), respectively. To prepare the detergent, the method selected by various pre-tests, which had the best result, was used and the antimicrobial activity test was finally performed.

Results: The results obtained using microscopic methods showed that the nanosized silver particles were spherical and had a mean particle size of 40 nm and remained stable in distilled water solution. The results of the antimicrobial test showed that the detergent containing silver nanoparticles had the highest and lowest antimicrobial activity against staphylococcal coagulase and colonic bacteria, respectively.

Conclusions: Based on the results, electrical wire explosion is an appropriate and environmentally friendly method for producing silver nanoparticles. The detergent production using synthetic silver nanoparticles, along with its antimicrobial properties, is a good advancement in health and medicine.

Keywords: Detergent; Silver Nanoparticle; Environment; Antimicrobial Properties; Electrical Explosion of Wire

سنتز نانوذرات نقره به روش سازگار با محیط زیست و بررسی خواص ضد میکروبی آن در تولید شوینده صابونی

نوشین بیرجندی^{۱*}، فاطمه کرمی^۲، داوود توکلی^۳

۱. استادیار محیط زیست، گروه محیط زیست، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

۲. دانشجوی علوم و مهندسی محیط زیست، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

۳. دانش آموخته کارشناسی ارشد مهندسی مواد، پژوهش سرای اشراق، اداره آموزش و پرورش، دورود، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۶۶۳۳۴۳۰۱۶۰ فکس: ۰۶۶۳۳۴۳۰۱۶۰ ایمیل: Birjandi.n@lu.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: در زمینه بهداشتی از نانوذرات نقره در ساخت مواد پاک کننده و شوینده استفاده می‌شود. با در نظر گرفتن مشکلات و اثرات منفی محیط زیستی در روش‌های معمول سنتز نانوذرات نقره، این مطالعه تجربی با هدف استفاده از روشی سازگار با محیط زیست برای ساخت نقره به فرم نانو با خاصیت ضد میکروبی و کاربرد آن در تولید شوینده انجام شد.

روش کار: در این تحقیق به منظور سنتز نانو ذرات نقره از روش انفجار الکتریکی سیم و دستگاه PNC در محلول آب مقطر به عنوان محیط پلازما استفاده شد. اندازه، خواص ساختاری، مورفولوژی و ریخت شناسی به ترتیب با دستگاه‌های پراش اشعه ایکس (XRD)، طیف سنج مادون قرمز (FTIR)، میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورد آنالیز و بررسی قرار گرفتند. برای تهیه شوینده، روش حاصل از پیش تست‌های مختلف که بهترین نتیجه را داشت به کار برده شد و در نهایت آزمون فعالیت ضد میکروبی انجام شد.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده با استفاده از روش‌های میکروسکوپی نشان داد که نانو ذرات نقره سنتز شده کروی شکل و دارای میانگین اندازه ذرات ۴۰ نانومتر بودند و در محلول آب مقطر پایدار ماندند. نتایج آزمون ضد میکروبی نیز نشان داد شوینده حاوی نانو ذرات نقره به ترتیب دارای بیشترین و کمترین خاصیت ضد میکروبی در برابر باکتری‌های استافیلوکوک کواگولاز و ای کولای بوده است.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج حاصله انفجار الکتریکی سیم، روشی مناسب و سازگار با محیط زیست برای تولید نانوذرات نقره است. تولید شوینده با استفاده از نانو ذرات نقره سنتز شده به این روش همراه با خاصیت ضد میکروبی آن، پیشرفت خوبی در زمینه بهداشت و پزشکی محسوب می‌شود.

واژه های کلیدی: شوینده، نانو ذرات نقره، محیط زیست، خاصیت ضد میکروبی، انفجار الکتریکی سیم

دریافت: ۱۳۹۸/۱/۲۹ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۲۰

مقدمه

کمتر از ۱۰۰ نانومتر است، ویژگی‌ها و رفتارهایی را از خود بروز می‌دهند که در مقادیر حجیم با ترکیب مشابه نشان نمی‌دهند. آنچه باعث ظهور فناوری نانو شده نسبت سطح به حجم بالای نانو مواد است، وقتی اندازه ذرات کاهش یابد این نسبت به‌طور قابل توجهی

فناوری نانو عبارت است از مطالعه و کاربرد ساختارهایی از مواد که از نظر اندازه و مقیاس پایه، کمتر از ۱۰۰ نانومتر هستند (محدوده ۱ تا ۱۰۰ نانومتر). در این فناوری ساختارهایی که اندازه آن‌ها

زیاد می‌شود (۱). نانوذرات نقره یکی از پرکاربردترین ذرات در حوزه نانو پس از نانو لوله‌های کربن است که هر روزه بر کاربرد آن در دنیای نانو افزوده می‌شود (۲). به علت شیوع بیماری‌های عفونی که به وسیله باکتری‌های بیماری‌زا ایجاد می‌شود و گسترش مقاومت آنتی بیوتیکی، نانوذرات نقره به عنوان یک عامل ضد میکروبی جدید، عدم ایجاد مقاومت در باکتری‌ها، قیمت ارزان، سمیت کم برای سلول‌های انسانی، مقاومت گرمایی بالا و فرار پایداری آن مورد توجه قرار گرفته است. نانوذرات نقره بر روی تعداد زیادی از گونه‌های باکتری اثرات ضد میکروبی دارد. نقره به دیواره سلولی و غشا پلاسمایی باکتری متصل شده و سبب اختلال در فرآیند تنفس سلولی می‌شود هم‌چنین با اتصال به DNA سلول از همانندسازی آن جلوگیری می‌کند (۳). تحقیقات نشان داده است که اندازه نانوذرات بر خواص ضد میکروبی نقره تاثیر بسزایی دارد. در پژوهشی با بررسی حساسیت سلول‌های پوستی خرگوش با نانوذرات نقره ادعا شده این ذرات مضر نیستند به علاوه ذرات کوچکتر سازگاری بیشتری را با پوست نشان می‌دهند (۴). استفاده از ترکیبات نقره به عنوان عامل ضد میکروبی در حذف کلیفرم از آب موثر می‌باشد. این ذرات وقتی بر روی منسوجات، صابون و سایر مواد قرار می‌گیرند، خاصیت ضد میکروبی و ضد قارچ از خود نشان می‌دهند (۵، ۶). یون‌های نقره در آب، باکتری اشرفیاکلی را از بین می‌برد و احتمال نابودی سالمونلا، شیگلا و ویبرو باکتری را به همراه دارد اما تاثیر کمتری روی ویروس و کیست می‌گذارد. تحقیقات روی لژیونلا نشان‌دهنده حذف کامل آن در مدت ۶ ساعت در تماس با محلول نقره با غلظت ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر بود (۷). گرجیوس^۱ و همکاران در پژوهش خود گزارش دادند که کربن فعال حاوی نقره طی ۳۰ دقیقه، ۹۸ درصد آلودگی اشرفیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس را حذف کرده و رشد

^۱ Georgios

میکروارگانیزم‌های دیگر روی فیلتر را به تاخیر انداخت. در ضمن کاربرد نانو نقره در فیلترهای شمعی راندمان حذف باکتری را از ۸۰ درصد به ۱۰۰-۹۳ درصد افزایش داد (۸). هم‌چنین نتیجه تحقیق اثر گندزدایی نانوذرات نقره بر روی دو گونه اشرفیاکلی نشان‌دهنده حذف کامل آن بود و در این مطالعه زمان تماس، غلظت یون‌های نقره و حساسیت گونه میکروبی به نقره از دیگر عوامل موثر در راندمان حذف بوده است (۹، ۱۰). در زمینه بهداشتی از نانوذرات نقره در ساخت مواد پاک‌کننده و شوینده استفاده می‌شود. منظور از پاک‌کننده‌ها موادی هستند که ذره‌های چربی و چرک را از پارچه‌ها یا اجسام دیگر می‌زدایند و در انواع مختلف تهیه می‌شوند. بیش از ۸۰ درصد از مواد پاک‌کننده مصرفی از شوینده‌های سنتزی تهیه می‌شوند و ماده سورفکتانت در همه مواد شوینده و صابون‌ها مشترک است. سورفکتانت‌ها ترکیباتی هستند که موجب خاصیت پاک‌کنندگی در صابون‌ها و مواد شیمیایی می‌شوند (۱۱). برخی مواد موجود در شوینده‌های سنتزی از جمله آلکیل بنزن سولفونات مشتق شده از مواد شیمیایی نفت، دارای شاخه جانبی در زنجیره هیدروکربنی می‌باشد و توسط باکتری‌ها تجزیه نمی‌شود. از این رو، باقی‌ماندن و تراکم این مواد غیر طبیعی ساخته دست بشر در طبیعت، سبب آلودگی روز افزون آب‌ها و مخازن زیرزمینی می‌شود. اشکال اساسی دیگر شوینده‌های سنتزی، وجود ترکیب‌های فسفردار است که برای تنظیم pH و جلوگیری از واکنش یون‌های کلسیم و منیزیم موجود در آب سخت با ماده شوینده، به آن افزوده می‌شود. فسفات‌ها در اعماق رودخانه‌ها و دریاچه‌ها رسوخ کرده، سبب رشد غیرعادی قارچ‌ها و جلبک‌ها می‌شوند و به این ترتیب با مصرف اکسیژن محلول در آب توسط آن‌ها، زندگی ماهی‌ها و دیگر آبزیان به خطر می‌افتد (۱۲). برای سنتز نانوذرات نقره روش‌های گوناگونی از جمله روش احیای شیمیایی، سونوشیمیایی و غیره وجود

سنتز نانوذرات نقره

به منظور سنتز نانوذرات نقره از دستگاه PNC^۱ مدل 1K-C ساخته شده در شرکت پیام آوران نانو فناوری فردانگر استفاده شد.



شکل ۱. تصویر واقعی دستگاه PNC

شکل ۱ تصویر واقعی دستگاه PNC را نشان می‌دهد. در این دستگاه سیم نقره با خلوص ۹۹ درصد و با ضخامت ۰/۲ میلی متر مورد استفاده قرار گرفت. عملکرد دستگاه بدین صورت است که سیم نقره توسط سامانه تغذیه وارد لوله راهنما می‌شود. سیم از درون لوله راهنما عبور می‌کند و بین الکتروود منفی و الکتروود ولتاژ بالا قرار می‌گیرد. الکتروودها درون محفظه‌ای از جنس PET^۲ با حجمی برابر ۲۵۰ میلی‌لیتر و حاوی آب مقطر، قرار دارند. فاصله بین دو الکتروود حدود ۲۵ میلی متر است هم‌چنین فاصله بین لوله راهنما و الکتروود منفی، ۲ میلی‌متر می‌باشد. انرژی الکتریکی از سامانه با ولتاژ بالا به دست می‌آید. این انرژی در بانک خازن میکروفاراد ذخیره شده و توسط سوئیچ شکاف جرقه رهاگر وارد سیم می‌شود. سیم بین الکتروودهای منفی و ولتاژ بالا قرار می‌گیرد و ۲۵ میلی متر از آن در هر پالس منفجر می‌شود. ولتاژ خروجی دستگاه ۲۵۰ ولت می‌باشد که این ولتاژ از سیم عبور می‌کند سپس سیم در کسری از ثانیه در حدود ۵-۳ ثانیه منفجر شده و تکه تکه می‌شود (۲۲). سپس محلول به دست آمده به منظور جداسازی

دارد (۱۴،۱۳) که در اکثر موارد به دلیل استفاده از مواد شیمیایی، از لحاظ بیولوژیک سمی و خطرناک می‌باشد و می‌تواند اثرات منفی زیادی بر محیط زیست داشته باشد (۱۵). در حال حاضر استفاده از روش‌های جایگزین برای سنتز این نانو مواد که با محیط زیست سازگاری بهتری داشته و آلودگی کمتری ایجاد کنند ضروری به نظر می‌رسد. یکی از روش‌ها که مبنی بر حرارت‌دهی پالسی و تبخیر می‌باشد، روش انفجار الکتریکی سیم است و می‌توان گفت یک روش فاز بخار است که در آن به وسیله تبخیر یک سیم فلزی نازک پس از عبور جریان الکتریکی قوی، ذرات تبخیر می‌شوند (۱۶). در پژوهش‌های گوناگونی از روش انفجار الکتریکی سیم برای تولید نانوذرات فلزی و اکسیدی مانند آلومینیوم، تنگستن و نیکل استفاده شده است (۱۹-۱۷). هم‌چنین پژوهش‌هایی در مورد سنتز برخی نانوذرات فلزی به روش انفجار سیم در محیط‌های مایع و گاز صورت گرفته است (۲۰،۲۱). اما تاکنون تحقیقی در ایران در مورد سنتز نانوذرات نقره با استفاده از روش انفجار الکتریکی سیم صورت نگرفته که از نوآوری‌های این پژوهش می‌باشد. بنابراین هدف از این تحقیق، بررسی سنتز نانوذرات نقره به روش انفجار الکتریکی سیم به عنوان روشی سازگار با محیط زیست و هم‌چنین بررسی خاصیت ضد میکروبی این ذرات در تولید شوینده صابونی بود.

روش کار

این تحقیق یک مطالعه تجربی و کاربردی است که در مقیاس آزمایشگاهی انجام شد و سنتز نانوذرات نقره به روش انفجار الکتریکی سیم و خاصیت ضد میکروبی این ذرات در تولید شوینده صابونی مورد بررسی قرار گرفت.

^۱ Plasma Nano Colloied Maker

^۲ Polyethylene Terephthalate

ذرات از محیط پلاسما در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد و در فریز درایر خشک گردید و به صورت پودر در آمد و از آن برای ساخت شوینده استفاده شد (۱۲).

تعیین اندازه، خواص و مورفولوژی نانوذرات نقره

اندازه، گروه‌های عاملی موجود در سطح و ریخت شناسی نانوذرات نقره سنتز شده به ترتیب با دستگاه‌های XRD^۱، FTIR^۲، AFM^۳ و SEM^۴ مورد آنالیز و بررسی قرار گرفتند. برای تعیین فازهای بلورین نانوذرات نقره سنتز شده و محاسبه اندازه بلورها از الگوی XRD نمونه‌ها استفاده شد. برای این منظور دستگاه XRD مدل STADIP ساخت کشور آلمان با منبع لامپ آند مسی و طول موج $\lambda = 2d \sin \theta$ مورد استفاده قرار گرفت. تعیین ساختار شیمیایی نانوذرات نقره سنتز شده از طریق دستگاه طیف‌سنج مادون قرمز مدل Shimadzo 8400S در محدوده طول موج $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ صورت پذیرفت. برای تعیین اندازه و توزیع پراکندگی نانوذرات نقره سنتز شده میکروسکوپ نیروی اتمی مدل Full plus (شرکت آرا پژوهش) به کار گرفته شد. همچنین مورفولوژی و ریخت شناسی نانوذرات نقره سنتز شده به روش انفجار الکتریکی سیم به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل Tescan مورد بررسی قرار گرفت. برای آماده‌سازی نمونه تصویربرداری، پودر نانوذرات با لایه بسیار نازکی از طلا پوشش داده شد تا باعث رسانای سطحی شده طوری که مسیر باریکه‌های الکترونی برگشتی را تغییر ندهد، همچنین پودر نانوذرات نقره روی یک سطح هادی که بیشتر از جنس آلومینیوم بود پخش گردید (۲۰، ۲۲).

ساخت شوینده صابونی

در این مرحله برای ساخت ۷۰ گرم صابون به عنوان نمونه اولیه، ابتدا به ۵۰ میلی لیتر آب مقطر که نانوذرات نقره [مقادیر کمتر از ۰/۰۰۲ گرم با توجه به استاندارد محیط زیست (۳)] در آن به صورت کلویدی در آمده بود، ۷ گرم سود (هیدروکسید سدیم) به آرامی اضافه شد و در حالی که محلول هم‌زده می‌شد دمای آن به تدریج بالا می‌رفت و تمام سود در آب حل می‌شد. بعد از خنک شدن محلول و رسیدن دمای آن به ۴۵ درجه سانتی گراد، به آرامی به محلول ۵۰ میلی لیتری روغن (چربی حیوانی و روغن نارگیل) که قبلاً گرم شده و دمای آن به ۴۵ درجه سانتی گراد رسیده بود اضافه گردید و مجدداً به مدت ۱۵ دقیقه به خوبی هم زده شد. در مرحله آخر ۳ گرم کربنات سدیم برای کف‌کردن صابون و مقداری اسانس معطر اضافه شد. پیشرفت واکنش به زمان احتیاج داشت، روغن و چربی با سود واکنش داده و گرما تولید گردید، حرارت سبب تبخیر آب شده و صابون به تدریج سفت شد و حالت خمیری پیدا کرد. خمیر به دست آمده را در قالب ریخته و در محل گرم و خشک قرار داده شد. بعد از گذشت حدود ۷ روز صابون به اندازه کافی سفت شده و از قالب جدا گردید و در هوای باز با دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا واکنش به طور کامل انجام شد (۱۲).

فعالیت ضد میکروبی نانوذرات نقره

مطالعات ضد میکروبی نانوذرات نقره با استفاده از روش ZOI^۵ در مواجهه با سه نوع باکتری گرم منفی استافیلوکوک کواگولاز، کلبسیلا و ای کولای، از نوع بالینی مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور سوسپانسیون از کشت تازه این باکتری‌ها در بافر فسفات تهیه شد. از این سوسپانسیون بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار با روش کشت سطحی، کشت داده شد. از شوینده صابونی ساخته شده حاوی نقره و

^۵ Zone of Inhibition

^۱ X-Ray Diffraction

^۲ Fourier Transform Infrared Spectroscopometer

^۳ Atomic Force Microscope

^۴ Scanning Electron Microscope

نصف ماکزیمم پیک $2\theta = 38/121^\circ$ نشان‌دهنده بزرگ‌بودن سایز کریستالی نانوذرات نقره می‌باشد. سایز کریستالی نانوذرات نقره از رابطه زیر به دست می‌آید:

$$D = K \lambda / \beta \cos(\theta) \quad (1)$$

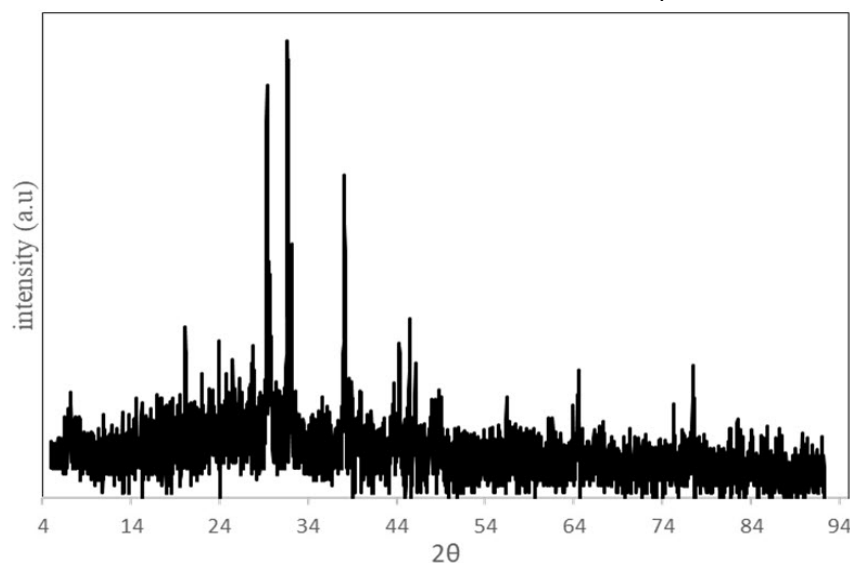
که در رابطه فوق $K = 0.9$ فاکتور شکلی بوده، λ طول موج پرتو ایکس و معادل $1/54.06 \text{ \AA}$ می‌باشد. β پهنای کامل در نصف ماکزیمم پیک پراش، θ زاویه مربوط به پیک پراش می‌باشد. از محاسبه رابطه ۱ سایز کریستالی نانوذرات نقره به دست آمد که با تصاویر AFM همخوانی دارد. در شکل ۳ تصویر FTIR محلول سنتز شده نشان داده شده است. پیک‌های شاخصی در این شکل وجود دارد به طور مثال عدد موج 447 cm^{-1} مربوط به ترکیب دی‌سولفید (S-S)، 1382 cm^{-1} مربوط به گروه متیل (CH_3) و 1637 cm^{-1} مربوط به پیوند دوگانه کربن با کربن ($\text{C}=\text{C}$) است. علاوه بر این، پیک‌های ضعیفی در طول موج‌های 1745 ، 2935 و 3444 cm^{-1} مشاهده می‌شود که به ترتیب مربوط به پیوند دوگانه کربن با اکسیژن ($\text{C}=\text{O}$)، پیوند یگانه کربن با هیدروژن ($\text{C}-\text{H}$) و پیوند یگانه اکسیژن و هیدروژن ($\text{O}-\text{H}$) می‌باشد.

بدون نقره (شاهد) تحت شرایط استریل دیسک‌هایی با قطر ۱ سانتی‌متر بریده شد و بر روی سطح محیط کشت‌های تلقیح‌شده قرار گرفت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد. سپس محیط‌ها از نظر وجود یا عدم وجود منطقه بازدارنده رشد (هاله) و قطر هاله بررسی شدند (۲۳). کلیه مراحل آزمایش میکروبی روی دو محیط کشت مولر هینتون و نوترینت آگار و با سه تکرار انجام شدند.

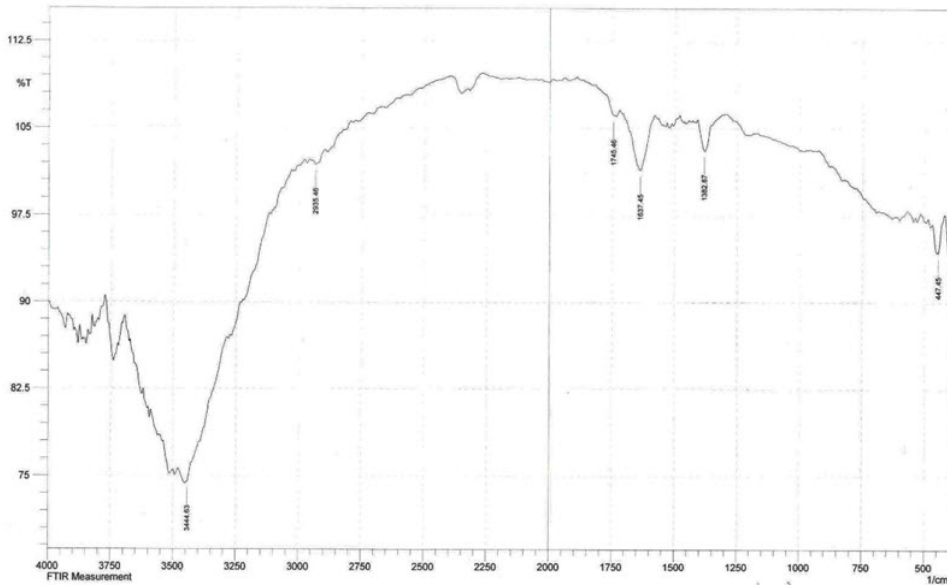
یافته‌ها

آنالیز ساختار نانوذرات نقره سنتز شده

به منظور بررسی و شناسایی ساختار نانوذرات نقره سنتز شده به روش انفجار الکتریکی سیم که در این تحقیق از آن‌ها به عنوان عامل ضد میکروب و سازگار با محیط زیست در ساخت شوینده استفاده شده است، آنالیزهای XRD، FTIR، AFM و SEM انجام شد. شکل ۲ الگوی پراش اشعه ایکس نانوذرات نقره سنتز شده در آب مقطر را به عنوان محیط پلازما نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود پیک‌های موجود در $2\theta = 38/121^\circ$ ، $44/30.7^\circ$ ، $64/45.6^\circ$ و $77/41.4^\circ$ مربوط به ساختار FCC نانوذرات نقره می‌باشد. پهنای کم الگوی پراش در



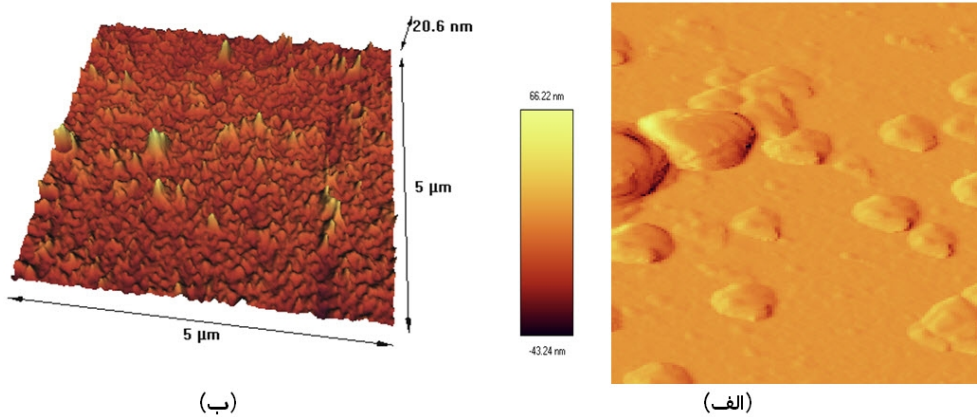
شکل ۲. تصویر XRD نانوذرات نقره سنتز شده به روش انفجار الکتریکی سیم



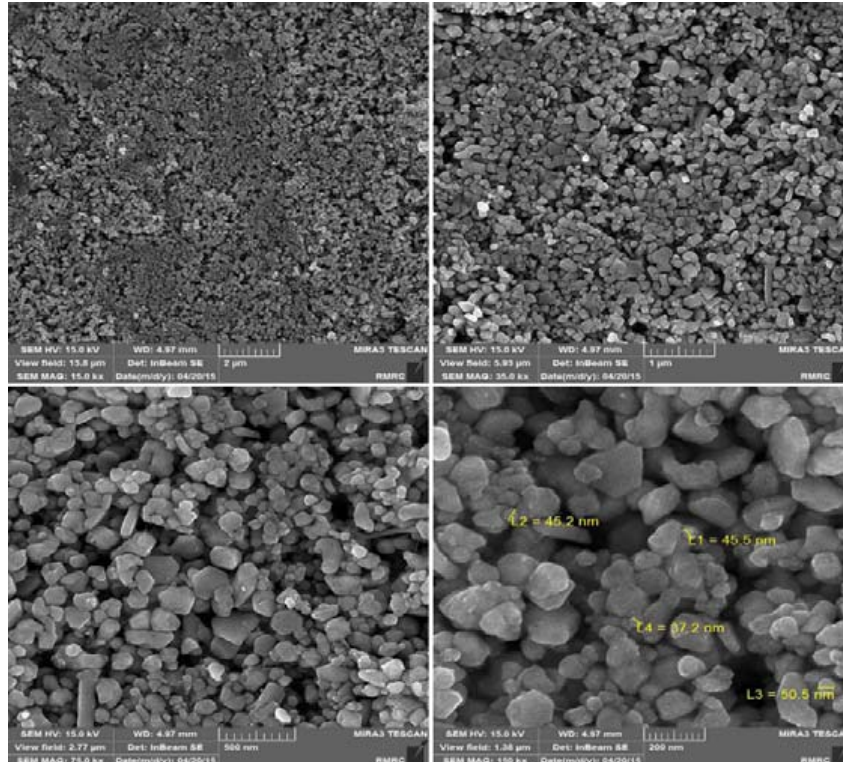
شکل ۳. تصویر FTIR نانوذرات نقره سنتز شده به روش انفجار الکتریکی سیم

داده‌اند به طوری که این نانوذرات به صورت یک لایه روی سطح قرار گرفته‌اند و اندازه متوسط دانه‌های ایجاد شده حدود ۴۰ نانومتر می‌باشد. شکل ۵ تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذرات نقره سنتز شده به روش انفجار الکتریکی سیم را با بزرگنمایی‌های مختلف ۱، ۲، میکرومتر و ۲۰۰، ۵۰۰ نانومتر نشان می‌دهد که همه این بزرگنمایی‌ها مربوط به یک نمونه می‌باشد. تصاویر SEM نشان‌دهنده ابعاد نانومتری ذرات نقره بوده و بیانگر شکل تقریباً کروی در همه بزرگنمایی‌ها می‌باشد. مطابق این تصاویر، اندازه تجمعی نانوذرات نقره بین ۳۰ تا ۷۰ نانومتر متغیر است که با توزیع لانگ نرمال قطر میانگین آن حدود ۴۰ نانومتر می‌باشد.

شکل ۴ (الف) و (ب) تصاویر AFM از نانوذرات نقره سنتز شده به روش انفجار الکتریکی سیم را در دو نمونه به مساحت ۵ میکرون در ۵ میکرون نشان می‌دهد. شکل ۴ (الف) تصویری سه بعدی از نانوذرات نقره را نشان می‌دهد که اندازه ارتفاع ذرات نانومتری با دقت و میزان تفکیک پذیری بالایی اندازه‌گیری شده است. برای نمایان ساختن ارتفاع از رنگ استفاده شده است که هر چه رنگ به سمت روشن‌تر شدن پیش می‌رود ارتفاع ذرات بیشتر می‌شود. شکل ۴ (ب) نمونه با پوشش ذرات نقره را نشان داده است همان طور که مشاهده می‌شود نانوذرات نقره سنتز شده کاملاً کروی اند و با تراکم کم و توزیع و ابعاد غیریکنواخت روی سطح را پوشش



شکل ۴. تصاویر AFM از نانوذرات نقره سنتز شده به روش انفجار الکتریکی سیم (الف) تصویر سه بعدی (ب) تصویر دو بعدی



شکل ۵. تصاویر SEM نانوذرات نقره سنتز شده به روش انفجار الکتریکی سیم در بزرگنمایی‌های مختلف

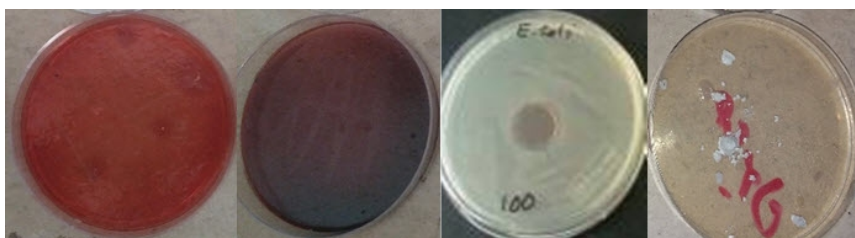
نتایج آزمون فعالیت ضد میکروبی در شوینده تولید شده با نانوذرات نقره

نتایج آزمون منطقه بازدارنده رشد و تصاویر مربوط به آن در سه نوع باکتری استافیلوکوک کواگولاز، کلبسیلا و ای کولای در جدول ۱ و شکل ۶ آمده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد تمام نمونه‌ها به جز نمونه شاهد (بدون نقره) هاله‌های بازدارنده

رشد با قطر کم‌تر از ۱۸ میلی‌متر دارند که حاکی از تاثیر نانوذرات نقره بر روی تمام باکتری‌های مورد آزمون می‌باشد. نانوذرات نقره موجود در شوینده بر استافیلوکوک کواگولاز و سپس کلبسیلا بیشترین بازدارندگی و بر ای کولای کمترین بازدارندگی را دارد.

جدول ۱. اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره بر روی باکتری‌های مختلف

نوع نمونه	قطر هاله (میلی متر)
شاهد	بدون هاله
استافیلوکوک کواگولاز	۱۸
کلبسیلا	۱۲
ای کولای	۶



شکل ۶. هاله بازدارنده رشد در کشت‌های باکتری الف) کلبسیلا ب) استافیلوکوک کواگولاز ج) ای کولای و د) نمونه شاهد

بحث

بررسی نتایج حاصل از آنالیز ساختار نانوذرات نقره سنتز شده

در این تحقیق ساختار و خواص نانوذرات نقره سنتز شده به روش انفجار الکتریکی سیم توسط آنالیزهای XRD، FTIR، AFM و SEM تعیین گردید. نتایج حاصل از این آنالیزها در ادامه مورد بحث و بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه با استفاده از روش XRD از وجود و سنتز نانو کریستال‌های نقره توسط انفجار الکتریکی سیم اطمینان حاصل شد. به طور کلی بر اثر برخورد اشعه ایکس به اتم‌های یک ماده، الکترون‌های آن تحریک شده و نوسان می‌کنند و از آنجا که ذرات باردار شتاب‌دار از خود امواج الکترومغناطیس ساطع می‌کنند این نوسانات باعث تابش امواج جدیدی می‌شوند در نتیجه اشعه ایکس ورودی را در اطراف اتم پراکنده می‌کنند. اشعه‌های پراکنده شده در صورتی یکدیگر را تقویت می‌کنند که هم‌فاز باشند (فاصله طی شده توسط اشعه‌های پراکنده شده مضرب صحیحی از طول موج اشعه ایکس تابیده شده باشد). در غیر این صورت اشعه‌ها یکدیگر را تضعیف و حذف می‌کنند و اختلاف مسیر ایجاد شده ایجاد اختلاف فاز می‌کند. تقویت یا تضعیف اشعه‌ها توسط یکدیگر، بستگی به اختلاف فاز پدید آمده خواهد داشت. در مواد بی شکل اشعه‌ها یکدیگر را تضعیف می‌کنند و پدیده پراش اتفاق نمی‌افتد ولی اگر اتم‌ها به صورت منظم و با فاصله‌های مشخص کنار هم قرار گیرند (ماده کریستالی باشد)، اختلاف مسیر طی شده مضربی از طول موج اشعه ایکس بوده و پراش صورت می‌گیرد. دستگاه پراش اشعه ایکس یکی از تجهیزات منحصر به فرد برای آنالیز و تعیین مشخصات کریستال‌ها در آزمایشگاه می‌باشد از جمله مزیت‌های آن، شناسایی نمونه‌های پودری در زوایای کمتر از ۵ درجه است. الگوی پراش اشعه برای هر ماده، یکتا و منحصر به فرد و همانند اثر انگشت برای آن ماده می‌باشد. تا کنون

الگوی پراش تعداد زیادی از مواد کریستالی جمع‌آوری شده است. با استفاده از این پایگاه داده و با کمک روش جستجو و تطبیق می‌توان ترکیب هر ماده را مشخص نمود (۲۴).

با توجه به نتایج، پیک‌های به دست آمده در این آنالیز با الگوی استاندارد پراش اشعه ایکس نقره تطابق کامل دارد (۲۵). الگوی XRD نانوذرات نقره چهار پیک مجزا در زوایای مختلف را نشان می‌دهد که این یافته نیز کاملاً با نتایج حاصل از پژوهش سایر محققین هم‌خوانی دارد (۲۶، ۲۷). نانوذرات نقره سنتز شده در آب مقطر به شکل کلوئید در می‌آیند و بیشتر نانوذرات تولید شده به صورت معلق در محلول می‌مانند و ذرات میکرومتری و بزرگتر ته نشین می‌شوند (۲۲). پایداری نانوذرات نقره تولید شده در آب مقطر بسیار بالا است، این ذرات به مدت ۶ ماه در آب مقطر پایدار ماندند. به همین دلیل در آنالیز FTIR چون از نمونه محلول آزمون به عمل آمد، قله‌های مربوط به پیوند نقره با دیگر عناصر مشاهده شد. جوانوریج^۱ و همکاران، و وانگا^۲ و همکاران در کاری تحقیقاتی بر روی تشکیل نانوذرات به نتایج مشابهی دست یافتند (۲۸، ۲۹). تکنیک FTIR برای شناسایی گروه‌های سطحی مواد نانو به کار می‌رود. هر نوع گروه سطحی خاص طول موج خاصی از موج IR را جذب می‌کند. این تکنیک با متمرکز کردن پرتو زیر قرمز روی قرص نازکی از KBr که شامل نمونه است انجام می‌شود. پیک‌های جذبی که به طول موج‌های خاص تعلق دارند نشان‌دهنده گروه‌های سطحی حاضر در نمونه می‌باشد. تقریباً تمامی ترکیباتی که پیوند کوالانسی دارند، اعم از آلی یا معدنی، فرکانس‌های متفاوتی از اشعه الکترومغناطیسی را در ناحیه مادون قرمز جذب می‌کنند که سبب ارتعاش آن‌ها می‌گردد. ساده‌ترین انواع حرکات ارتعاشی پیوندها عبارتند از: حرکات کششی و خمشی

¹ Jovanovic

² Wanga

که به صورت متقارن یا نامتقارن وجود دارند. ارتعاشات کششی به طور کلی در فرکانس‌های بالاتری نسبت به ارتعاشات خمشی واقع می‌شوند. هر گروهی که شامل سه اتم یا بیشتر است و حداقل دو اتم در آن گروه یکسان باشند، دو حرکت کششی متقارن و نامتقارن را ایجاد خواهند کرد. دستگاه FTIR با استفاده از تبدیل ریاضی فوریه با ثبت تعدادهای زیاد سیگنال به نويز از دقت بالایی در شناسایی گروه‌های عاملی قرار گرفته روی سطح مزوپور برخوردار است (۳۰). با توجه به نتایج حاصل از آنالیز AFM می‌توان گفت که طبق تعریف مواد نانو کریستال که حداقل در یکی از ابعاد دارای اندازه کم‌تر از ۱۰۰ نانومتر باشند، دانه‌های سطحی نانو شده‌اند. هم‌چنین در ذرات تولید شده هیچ گونه توده‌ای شدن، جوش خوردگی یا ایجاد شبکه‌های نانوذرات مشاهده نشد. با توجه به این شکل در یک منطقه اندازه دانه‌ها کمی از میانگین بیشتر است که دلیل آن می‌تواند افزایش دمای این نقاط در هنگام سنتز باشد که سبب افزایش اندازه دانه‌ها پس از تبلور مجدد دانه‌ها می‌گردد (۳۱). در میکروسکوپ نیروی اتمی، با نیروهایی که میان سطح نمونه مورد بررسی و سوزن در حین روبش وجود دارند، حالت‌های تصویربرداری تعیین شده و تصاویر تهیه می‌شوند. نیروهایی که با نزدیک شدن سوزن به سطح نمونه میان سطح نمونه و سوزن ایجاد می‌شوند شامل چندین نیرو می‌باشند که خود این نیروها به دو دسته نیروهای دوربرد و کوتاه‌برد تقسیم‌بندی می‌شوند. از جمله نیروهای دوربرد می‌توان به نیروهای واندروالسی، الکترواستاتیکی و مغناطیسی اشاره کرد و از جمله نیروهای کوتاه‌برد می‌توان از نیروهای چسبندگی، کوانتومی، کووالانسی و کشسانی نام برد (۳۲). از روش‌های میکروسکوپی برای تعیین ساختار و ریخت شناسی مواد در این تحقیق استفاده شد. تصاویر SEM در تحقیقات مختلف به منظور تجسم و تصویرسازی سطح بیرونی و داخلی اشکال میکروبی در شرایط ناپیوسته و پیوسته در طول

آزمایش‌ها استفاده شده‌اند. با استفاده از روش‌های میکروسکوپی، تصاویری با بزرگنمایی بسیار بالا از ماده به دست می‌آید. قدرت تفکیک تصاویر میکروسکوپی با توجه به کمترین قدرت تمرکز اشعه محدود می‌شود. به عنوان مثال با استفاده از میکروسکوپ‌های نوری قدرت تفکیکی در حدود یک میکرومتر و با استفاده از میکروسکوپ‌های الکترونی و یونی قدرت تفکیک بالا و در حدود یک آنگسترم قابل دسترسی است. میکروسکوپ الکترونی روبشی یکی از بهترین روش‌های آنالیزی است که امروزه در حوزه‌های مختلف کاربردهای فراوانی دارد. این میکروسکوپ، امکان بررسی و آنالیز شیمیایی، ترکیب، سطح و ریزساختار داخلی را در ابعاد میکرونی و نانومتری فراهم آورده است. میکروسکوپ الکترونی با میکروسکوپ نوری قابل مقایسه است. با این تفاوت که در میکروسکوپ الکترونی به جای استفاده از پرتو نور، از بیم الکترونی برای مشاهده نمونه استفاده می‌شود. میکروسکوپ الکترونی روبشی از نوع گسیل میدانی عمق میدان و حد تفکیک بسیار بالاتری نسبت به میکروسکوپ الکترونی روبشی معمولی است و تصاویری با بزرگنمایی یک میلیون برابر را می‌توان با آن تهیه کرد (۳۳).

بررسی نتایج حاصل از آزمون فعالیت ضد میکروبی در شوینده تولید شده با نانوذرات نقره

کم بودن قطر هاله نشان می‌دهد میزان رهایش نقره از نانوذرات نقره موجود در شوینده کم می‌باشد، در واقع نانوذرات نقره اثر ضد میکروبی خود را تنها در مرز بین محیط کشت و شوینده و در محدوده کمی از اطراف آن اعمال می‌کنند. به عبارت دیگر عملکرد شوینده حاوی نقره به صورت انفعالی است و می‌تواند با جذب مایع و باکتری از سطح محیط کشت در داخل ساختار خود و مواجهه با نقره تأثیر گذار باشد (۳۴). بنابر تحقیقات انجام شده پانسمان‌های زخم که در ساختار خود نقره دارند و رهایش نقره به محیط اطراف خود ندارند در مقایسه با پانسمان‌های با

رهایش نقره زیاد، شاید در محیط کشت فعالیت ضد میکروبی کمتری داشته باشند ولی در تماس با زخم در کنترل عفونت به همان اندازه موفق هستند (۳۵). از مهم‌ترین ویژگی‌های نقره خواص ضد میکروبی و ضد باکتریایی این ماده است که از دیرباز مورد توجه بوده و در طب قدیم نیز از آن در درمان زخم‌ها و نگهداری مواد غذایی بهره می‌جستند. بررسی‌های انجام شده در این تحقیق نشان داد نانوذرات سنتز شده با روش پیشنهادی دارای خاصیت گندزدایی مناسب است. یونزوا^۱ و همکاران در پژوهش خود موفق به سنتز نانوذرات نقره با اندازه ذرات ۵/۹ نانومتر از هالیدهای نامحلول نقره در حضور عامل پایدارکننده تیوکولین برومید شدند و بدین دلیل خصوصیات ضد باکتریایی نانوذرات حاصل را بررسی ننموده‌اند هم‌چنین کلرید نقره و برومید نقره را از شرکت شیمیایی مرک تهیه نمودند (۳۶).

نتیجه گیری

استفاده از فناوری‌های نوین به خصوص فناوری نانو در راستای کاهش اثرات سوء محیط زیستی، به عنوان یکی از راهکارهای مدیریتی، مطرح می‌باشد. یکی از مواردی که این فناوری کاربرد خود را متبلور می‌نماید در ارتباط با بهداشت و آلودگی میکروبی می‌باشد. در این تحقیق با استفاده از روش انفجار الکتریکی سیم از مواد غیر شیمیایی و غیر سمی و دستگاه PNC جهت ساخت نانوذرات نقره استفاده شد. نتایج به دست آمده از آنالیزهای FTIR، XRD،

SEM و AFM تولید نانوذرات نقره با ابعاد تقریبی ۴۰ نانومتر و با تراکم کم را در محلول آب مقطر به عنوان محیط پلازما نشان دادند. به علاوه نانوذرات نقره سنتز شده به روش انفجار الکتریکی سیم همه به شکل کره بودند. هم‌چنین آزمون‌های میکروبی، خاصیت ضد میکروبی شوینده حاوی نقره را در سطح تماس و در منطقه کمی از اطراف محیط کشت سه نوع باکتری گرم منفی استافیلوکوک کواگولاز، کلبسیلا و ای کولای نشان داد. به طور کلی در این تحقیق این نتیجه به دست آمد که انفجار الکتریکی سیم روشی مناسب و سازگار با محیط زیست (به دلیل عدم استفاده از هیچ‌گونه ماده شیمیایی) برای تولید نانوذرات نقره در محلول آب مقطر به عنوان محیط پلازما می‌باشد؛ هم‌چنین تولید شوینده با استفاده از نانوذرات نقره سنتز شده به این روش همراه با خاصیت ضد میکروبی آن، پیشرفت خوبی در زمینه بهداشت و پزشکی محسوب می‌شود.

پیشنهاد می‌گردد از این روش در مقیاس صنعتی استفاده شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از حمایت‌های دانشگاه لرستان (طرح پژوهشی با شماره ۹۷۶۱۱۲۶۴۹۸) و زحمات مسئولان محترم پژوهش‌سرای اشراق شهرستان دورود که در این پروژه همکاری داشتند تشکر و قدر دانی به عمل آورند.

¹ Yonezawa

References

- 1- Riu J, Maroto A, Rius F.X. Nano sensors in Environmental Analysis. *Talanta*: 2006; 69: 288–301.
- 2- Bae E, Park H. J, Park J, Yoon J, Kim Y, Choi K, Yi J. Effect of Chemical Stabilizers in Silver Nanoparticle Suspensions on Nano Toxicity, *Bull. Korean Chem. Soc.* 2011; 32: 613-619.
- 3- Taleghani F, Yaraie R, Sadeghi R, Haghgu R, Rezvani M. Investigation of Toxicity of Nano Silver Cellular to Epitelyal in Experimental Condition, *Journal of Dental Faculty, Medical University of Shahid Beheshti.* 2011; 4: 220-226. [In Persian]

- 4- Shrivastava S, Bera T, Roy A, Singh G, Ramachandrarao P, Dash D. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology*. 2007; 18: 225103-225111.
- 5- Tiwari DK, Behari J, Sen P. Application of Nanoparticles in Waste Treatment. *World Applied Science Journal*. 2008; 3(3): 417-433.
- 6- Noshadi M, Ghanbari Zadeh P. Investigation of Effect the Nano Silver in Treatment of Drinking Water. *Journal of Civil Engineering and Environmental*. 2013; 1: 105-115.
- 7- Mousavi E. *The Professional Bools of Environment and Health: Khaniran publication*. 2002: 107.
- 8- Georgios AS, Pratisnis E. Antibacterial Activity of Nano silver Ions and Particles. *Environmental Science and Technology*. 2010; 44: 5649-5654.
- 9- Jain P, Pradeep T. Potential of Silver Nanoparticle- Coated Polyurethane Foam as an Antibacterial water Filter. *Biotechnology and Bioengineering*. 2005; 590 (1): 59-63.
- 10- Luoma SN. *Silver Nanotechnologies and the Environment: Old Problems or New Challenges*, Woodrow Wilson International center for scholars, project on engineering nanotechnologies, September 2008.
- 11- Mir Moghtadaie M. *Detergents and Surfactants: Hudin publication*, 2006: 324.
- 12- Ojaghi E. *Detergents and Environmental*. *Conferences of Environmental Engineering, the Third. Tehran-Iran Tehran University*. 2007. [In Persian]
- 13- Vaidyanathan R, Gopalram S, Kalishwaralal K, Deepak V, Pandian S, Gurunathan S. Enhanced Silver Nanoparticle Synthesis by Optimization of Nitrate Reductase Activity. *Colloids Surf B Bio Interfaces*. 2010; 75 (1): 335-41
- 14- Yoksan R, Chirachanchai S. Silver Nano Particle Loaded Chitosan–Starch Based Films: Fabrication and Evaluation of Tensile, Barrier and Antimicrobial Properties *Mater Sci Eng*. 2010; 30(6): 891-97.
- 15- Singh R, Singh D. Radiation Synthesis of PVP/alginate Hydrogel Containing Nano Silver as Wound Dressing. *Journal of Mater Sci*. 2012; 23: 2649–2658.
- 16- Li Q, Viereckl A, Rottmair CA, Singer RF. Improved Processing of Carbon Nanotube/ Magnesium Alloy Composites, *Composites Science and Technology*. 2009; 69: 1193–1199.
- 17- Kwon YS, Gromov AA, Ilyin AP, Ditts AA, Kim JS, Park SH, Hong MH. Features of Passivation, Oxidation and Combustion of Tungsten Nano-powders by Air. *International Journal of Refractory Metals and Hard Materials*. 2004; 22 (6): 235-241.
- 18- Fu W, Yang H, Chang L, Li M, Bala H, Yu Q, Zou G. Preparation and Characteristics of Core–Shell Structure Nickel/Silica Nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2005; 262 (1): 71-75.
- 19- Gromov AA, Förster-Barth U, Teipel U. Aluminum Nanopowders Produced by Electrical Explosion of Wires and Passivated by Non-Inert Coatings: Characterisation and Reactivity with Air and water, *Powder Technology*. 2006; 164 (2): 111-115.
- 20- Popenko EM, Gromov AA, Pautova YI, Chaplina EA, Ritzhaupt-Kleissl HJ. SEMEDX Study of Crystal Structure of the combustion product of the Aluminum Nonopowder Burned in Air under the different pressures. *Applied Surface Science*. 2011; 257 (8): 3641-3644.
- 21- Wan J, Cai S, Liu Y, Xie C, Xia X, Zeng D. Reaction Characteristics of Nano-Aluminum and Water by In-situ Investigation, *Materials Chemistry and Physics*. 2012; 136 (2): 466-471.
- 22- Mosleh E, Shahverdi H, Pour Salehi R. Characterization of Aluminum Nano Composite with Electrical Explosion of Wire in Aston. *Journal of Advanced Material in Engineering*. 2016; 2: 47-53.
- 23- Tkachenko O, Andreas Karas J. Standardizing in Vitro Procedure for The Evaluation of The Antimicrobial Activity of Wound Dressings and The Assessment of Three Wound Dressings. *J Antimicrob Chemother*. 2012; 67:1697–1700.
- 24- Quintanilla D, Hierro I, Fajardo M, Sierra I. 2-Mercaptothiazoline modified mesoporous silica for mercury removal from aqueous media. *Journal of Hazardous Materials*. 2006; 134 (1-3): 245-256.
- 25- Penalver P, Huerta B, Borge C, Astorga R, Romero R, Perea A. Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the Enterobacteriaceae family. *APMIS*. 2005; 113: 1 -6.
- 26- Mittal AK, Chisti Y, Banerjee UC. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnol Adv*. 2013; 31 (2): 346-56.

- 27- Singh PK., Bhardwaj K, Dubey P, Prabhune A. UV-Assisted Size Sampling and Antibacterial Screening of Lantana camara Leaf Extract Synthesized Silver Nanoparticles. RSC Advances. 2015; 5: 24513-24520.
- 28- Jovanovic Z, Radosavljevic A, Siljegovic M, Bibic N, Miskovic-Stankovic V, ZoricaKac arevic Z. Structural and optical characteristics of silver/poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) Nano systems synthesized by γ -irradiation. Radiat Phys Chem. 2012; 81: 1720–1728.
- 29- Wanga H, Qiaoa X, Chena J, Wanga X, Ding S. Mechanisms of PVP in the preparation of silver nanoparticles. Mater Chem. 2005; 94: 449–453
- 30- Asadian F, Bandarchian F, Khodakarami Z, Zolriasatain F, Kenoz A. Scientifically Usage of Chemical Machine, University Science Publication. 2005: 193 [In Persian].
- 31- Parvizi M, Ghasemi Monfared H, Habibi Parsa M. Investigation of Structure the Nano Particle in Aluminum 6061 with AFM and XRD. Journal of Faculty of Technical. 2006; 5 (42); 625-630. [In Persian].
- 32- Madadi Organi V, Nikzad E, Parvizi R. AFM, Its Based, Mechanism and Work. Journal of New Ways in Scientifically Labratory. 2017; 2: 29-35. [In Persian]
- 33- Rahimnejad M, Najafpour GD, Ghoreyshi AA, Shakeri M, Zare H. Methylene blue as electron promoters in microbial fuel cell. International Journal of Hydrogen Energy. 2011; 36 (20):13335-13341.
- 34- Bradshaw CE. An in Vitro Comparison of The Antimicrobial Activity of Honey, Iodine and silver Wound Dressings. Journal of Bio Horizons oxford. 2011; 4(1): 61-70.
- 35- Leaper D J. Silver Dressings: Their Role in Wound Management. Int Wound J, 2006; 3(4): 282–294.
- 36- Yonezawa T, Genda H, Koumoto K. Cationic Silver Nanoparticles Dispersed in Water Prepared from Insoluble Salts. Chem Lett. 2003; 32(2): 194-5.