

عنوان طرح پژوهشی: مطالعه اثر ذرات نانوسیور در گندزدایی آب آشامیدنی شهر شیراز

مجری طرح: دکتر مسعود نوشادی

گزارش اجمالی پیشرفت و نتایج کار به درخواست آقای مهندس شرفی

۸۸/۴/۱۷

بسمه تعالی

پیامدهای ناشی از آلودگی میکروبی سبب می شود که کنترل آب از نظر بیولوژیکی همواره از درجه اهمیت بالایی برخوردار باشد. لذا در این تحقیق تلاش شده است با بهره گیری از فناوری های نوین، در راستای رسیدن به آب آشامیدنی پاک و عاری از عوامل پاتوژن قدم برداشت. گزارش ذیل شرح کوتاهی از ابزار، روشها و نتایج حاصله از این بررسی است.

ابزار کار

۱. میکروسکوپ TEM:

برای بررسی مرفولوژی ذرات با اندازه نانو می بایستی از این میکروسکوپ استفاده شود. برای این منظور از دستگاه TEM مدل Philips CM10 استفاده شد. بزرگنمایی عکسها که در بخش بعدی آورده شده $1000 \times 2,1 \times 52$ می باشد.

۲. دستگاه UV-Visible spectrophotometer:

برای بدست آوردن پیک جذب در مملول نانو نقره و مشخص شدن وجود این ذرات در نمونه، از این دستگاه با مدل UV-۱۶۰۱PC, SHimaDzu استفاده شد.

۳. میکروسکوپ SEM:

جهت بررسی عدم تغییر سافتار پلیمر بعد از پوشش دهی و نمایش تفلفل بالا و در نتیجه مسامت سطح زیاد پلیمر از این ابزار با مدل ۵۵۲۶, oxford استفاده شده است. همچنین جهت بررسی وجود عنصر نقره درون پلیمر از EDAX نیز استفاده گردید. تصویر میکروسکوپ در بخش مقدمه آورده شده است.

۴. Polarograph:

جهت اندازه گیری مقادیر نقره در مملول نانو ذرات نقره و آب تصفیه شده حاصله، از این دستگاه با مدل Metrohm ۷۵۷ استفاده شد.

روش کار

۱. بخش شیمی

در ابتدا با تیترازول نیترات نقره ۱ لیتر مملول ۰٫۱ نرمال سافته می شود. هدف سافت نیترات نقره ۰٫۰۰۵ مولار است. بنابراین ۲۵ ml از مملول را با آب مقطر به حجم ۵۰۰ ml می رسانیم تا این نرمالیه بدست آید. برای سافت ۱۰۰ ml سدیم سیترات ۱ gr، ۱ از این ماده با ۱۰۰ ml آب مقطر مخلوط می گردد. برای سافت مملول نانو ذرات نقره، ۵۰۰ ml نیترات

نقره ۰,۰۰۵ نرمال با ۲۰۰۰ ml آب مقطر به حجم ۲۵۰۰ ml رسانده شده ($N_1V_1=N_2V_2$)، سپس روی شعله قرار داده شده تا بجوشد. بعد به آن ۱۰۰ ml سدیم سیترات ۱٪ افزوده به مدت ۲ دقیقه جوشانده شده تا مملول به رنگ زرد کمزنگ در آید. باید توجه داشت برای پوشش دهی پلیمر ۱/۵ لیتر از این مملول کافی است. مرفولوژی ذرات نانو نقره با میکروسکوپ TEM و پیک جذب مملول که نمایانگر تشکیل ذرات نانو نقره می باشد از طریق دستگاه UV-Visible spectroscopy بررسی شد.

پلیمر در قطعات $۲۰\text{cm} \times ۲۵\text{cm} \times ۰,۴\text{cm}$ تهیه و با آب مقطر شسته شده و به مدت یک شب در مملول قرار می گیرد. بعد از گذشت مدت زمان مورد نظر، پلیمر از ظرف حاوی مملول خارج شده، برای جداسدن ذرات جذب نشده و یونهای اضافه، پلیمر ۴ تا ۷ مرتبه با آب مقطر شسته و فیلتر می گردد. برای هر مرتبه شستشو پلیمر به مدت ۲۰ دقیقه در آب باقی می ماند. تغییر رنگ حاصله نشان دهنده اتصال ذرات نانو نقره به سطح پلیمر می باشد. لازم به ذکر است طی مراحل شستشو این رنگ تغییر نمی کند. مدت زمان تماس و مقدار حجم مملول برای اشباع پلیمر می باشد. با کاهش مقدار مملول یا کاهش مدت زمان تماس می توان غلظت نقره در پلیمر را کاهش داد. سافتار پلیمر و وجود نقره در آن بعد از پوشش دهی با میکروسکوپ SEM و EDX بررسی می شود.

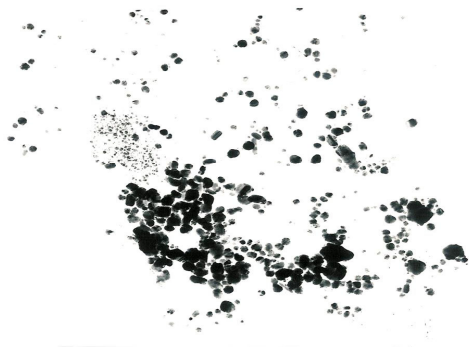
۲. بخش میکروبی

باکتری اشرشیاکلی تیپ *ATCC ۲۵۹۲۲* در غلظت میکروبی (شیرابه میکروبی) 1×10^5 cfu/ml به روش زیر ساخته شده است: باکتری فاصل سازی شده روی محیط مک کانکی رشد داده شد. برای انجام آزمایش ۱ کلنی اشرشیاکلی روی محیط مایع مولر هینتون برات منتقل شده و بعد از ۲۴ ساعت رشد در انکوباتور، سانتریفوژ گردید تا مایع اضافه جدا شود. بعد از دور ریختن مایع جدا شده، رسوب حاصله، ۲ مرتبه با ۱۰ ml نرماسلین (جهت جداسازی محیط کشت از دیواره باکتری) سانتریفوژ گردید. در ادامه رسوب حاصله با آب مقطر استریل به استاندارد ۰/۵ مک فارلند رسانده شد. در ادامه جهت انجام آزمایشات و اطمینان از صحت نتایج، از دو محیط کشت عمومی (نوترینت آگار) و اختصاصی در آب و فاضلاب (Endo-c آگار) استفاده شد در مرحله کشت، ۵ ml از نمونه در یک لوله استریل ریخته و پلیمر حاوی نانو ذرات نقره (فیلتر) با اندازه $1\text{cm} \times 9\text{cm} \times 0,4\text{cm}$ درون لوله انداخته، با پنس استریل فشرده شد تا آب جذب نماید. سپس فیلتر به لوله استریل دیگری منتقل شده و بعد از مدت زمانهای ۲، ۵، ۱۰، ۱۵ دقیقه، فیلتر، با پنس استریل درون لوله استریل دیگری فشرده گردید تا آب تصفیه شده خارج گردد. سپس ۲۰ μl از این آب روی محیط ها، کشت داده شد. نمونه در تماس با پلیمر معمولی و نمونه بدون تماس با پلیمر نیز به عنوان شاهد کشت داده شدند. کلیه مراحل آزمایش میکروبی برای غلظت 1×10^5 cfu/ml روی دو محیط کشت و با سه تکرار انجام شدند.

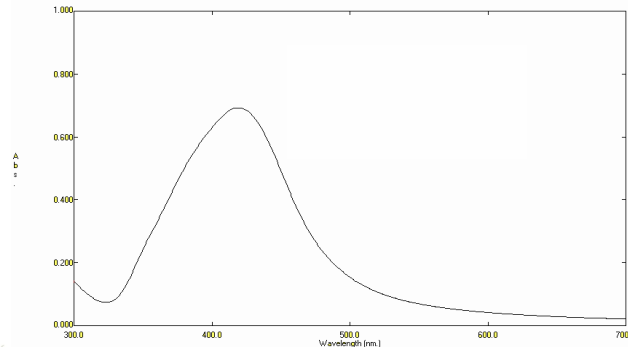
از دو پناه آهکی و دو پناه آبرفتی، آب سد و شبکه متعلق به شرکت آب و فاضلاب شیراز، قبل از کلرزی و با احتمال آلودگی نمونه برداری شد. کلیه آزمایشات میکروبی قبل از فیلتراسیون و بعد از آن طبق روش قبل انجام گردید. کشت متداول و استاندارد MPN نیز انجام گردید. با توجه به حجم کم نمونه بعد از فیلتراسیون و آلودگی نسبتاً پائین نمونه ها، اقدام به آلوده کردن نمونه ها با ۱۰ μl آب آلوده با غلظت (1×10^5 cfu/ml) شد. به طوریکه در آلودگی میکروبی درکشت بشقابی و بدون نیاز به رقیق سازی آلودگی نمونه (قبل از فیلتراسیون) و مذف آلودگی آب (بعد از فیلتراسیون) کاملاً مشهود بود.

نتایج بخش شیمی

پیک جذب uv-visible spectroscopy جهت بررسی وجود نقره در آن گرفته شده است. پیک جذب در ۴۱۹ nm به خوبی وجود نقره را در مملول نشان می دهد(شکل ۱). بعد از آن با استفاده از میکروسکوپ TEM مورفولوژی ذرات نقره بررسی شد. همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است ذرات حاصله از واکنش کروی شکل بوده و اندازه تقریبی کمتر از ۵۰ nm را نشان می دهد.



شکل ۲: مورفولوژی نانوذرات نقره



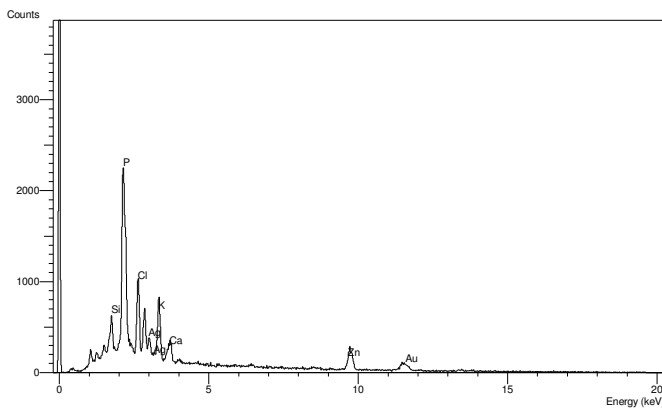
شکل ۱: پیک جذب ۴۱۹ nm

بعد از پوشش دهی پلیمر به رنگ زرد طلایی در می آید و با چندین مرتبه شستشو از بین نمی رود. این امر ثابت می کند ذرات نقره به پلیمر چسبیده و پیوند آن با آب از بین نمی رود. در شکل ۳ تغییر رنگ پلیمر قبل و بعد از پوشش دهی نشان داده شده است.

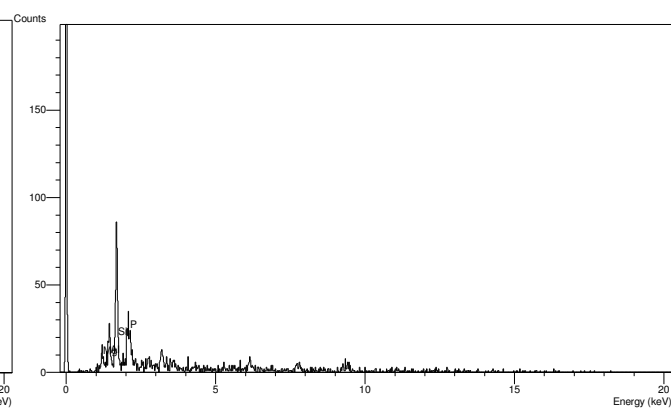


شکل ۳: تغییر رنگ قبل و بعد از پوشش دهی با نانوذرات نقره

با دستگاه EDAX نیز وجود عنصر نقره در پلیمر قبل و بعد از پوشش دهی بررسی شد. نمودارهای ۱ و ۲ نشان می دهد در پلیمر اولیه عنصر نقره وجود ندارد. در مالیکه وجود این عنصر در نمونه بعد از تماس با مملول نانو نقره کاملاً مشخص است.



نمودار ۲: EDX عناصر موجود در پلیمر بعد از پوشش دهی با نقره



نمودار ۱: EDX عناصر موجود در پلیمر قبل از پوشش دهی با نقره

نتایج بخش میکروبی

نتیجه کشت میکروبی در غلظت میکروبی 10^5 cfu/ml × ۱ نشان می دهد مدت زمان لازم برای حذف کامل آلودگی میکروبی ۱۰ دقیقه است.

جدول ۱: درصد حذف میکروبی در غلظت 10^5 cfu/ml و مدت زمانهای مختلف.

درصد حذف	زمان
-	
۲۰	۲
۵۶	۵
۱۰۰	۱۰
۱۰۰	۱۵

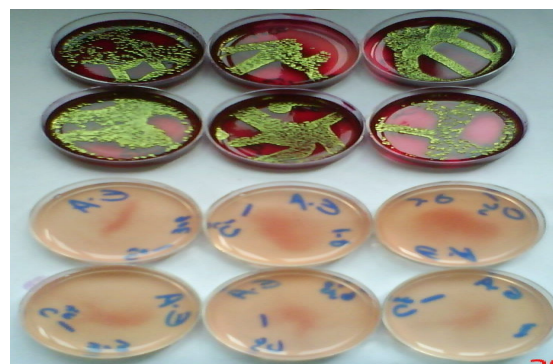
نتایج آزمایشات آب آشامیدنی شهر شیراز در جدول ۲ نشان داده شده است. مقدار آلودگی قبل از فیلتراسیون در کشت MPN به روش ۹ لوله ای بالاتر از ۱۱۰۰ در هر ۱۰۰ ml گزارش شد. این در حالی است که بعد از مدت تماس ۲۰ دقیقه برای نمونه شبکه و چاههای آبرفتی (۳۰۳، ۳۰۶) و ۱۰ دقیقه برای سایر نمونه ها، نتیجه کشت صفر می باشد.

جدول ۲: نتایج کشت میکروبی آب آشامیدنی شهر شیراز در فصول مختلف

شماره	نتایج (MPN/۱۰۰ml)		
	قبل از فیلتراسیون	بعد از فیلتراسیون	زمان (دقیقه)
۵۰۱	$1100 <$	۰	۱۰
۵۰۲	$1100 <$	۰	۱۰
۳۰۳	$1100 <$	۰	۲۰
۳۰۶	$1100 <$	۰	۲۰
سد	$1100 <$	۰	۱۰
شبکه	$1100 <$	۰	۲۰



شکل ۵: نتایج کشت MPN آب آشامیدنی آلوده و پاک.



شکل ۴: نتایج کشت آب آشامیدنی آلوده و پاک روی محیط Endo-c آگار.