



بررسی اثر ناخالصی مس بر قابلیت آنتی باکتریایی نانوذرات ZnSe آلاینده به مس علیه باکتری‌های گرم منفی اشیریشیا کولای و سودوموناس آئروژینوزا

سعید ابراهیمی^۱ | داریوش سوری*^۱ | مهدی قبولی^۲

^۱ گروه فیزیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ملایر، شهر ملایر، استان همدان
^۲ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، شهر ملایر، استان همدان

چکیده: در پژوهش حاضر، ابتدا نانوذرات ZnSe:Cu با درصدهای مختلف ناخالصی مس (۰، ۰/۱، ۰/۷۵ و ۱/۵ درصد) و همچنین ZnSe تحت تابش مایکروویو به مدت ۶ دقیقه به روش آبی تهیه شده و سپس، خواص آنتی باکتریایی آن‌ها روی دو باکتری گرم منفی اشیریشیا کولای و سودوموناس آئروژینوزا، به روش انتشار دیسک مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش به منظور سنتز نانوذرات مذکور، پودرهای سلنیوم و سدیم بوروهیدرید به عنوان مواد اولیه تهیه منبع یون سلنیوم و استات روی به عنوان منبع یون روی مورد استفاده قرار گرفته است. با تنظیم pH محلول روی مقدار ۱۱/۲، از تیوگلیکولیک اسید (TGA) به عنوان عامل پوششی جهت ممانعت از کلوخه‌ای شدن نانوذرات سنتز شده استفاده شده است. نتایج مشخصه‌نگاری پراش پرتو ایکس و طیف سنجی فرابنفش - مرئی محلول حاوی نانوذرات نشان دهنده گستره‌ی ۲/۱۴-۱/۹۴ برای اندازه نانوذرات و گاف حدود ۳/۶۵-۳/۵ eV می‌باشد. جهت مطالعه خاصیت آنتی باکتریایی نمونه‌ها، ابتدا باکتری‌های اشیریشیا کولای و سودوموناس آئروژینوزا بر محیط کشت مولر هینتون آگار تلقیح شد و سپس دیسک‌های بارگذاری شده توسط نانوذرات مورد مطالعه بر روی آن‌ها قرار گرفت. پس از گذشت ۱۸ ساعت از ماندگاری نمونه‌های نهایی در انکوباتور، قطر هاله‌های ممانعت از رشد هر باکتری (میزان حساسیت آن‌ها) اندازه‌گیری شد. یافته‌های این پژوهش حاکی از آن است که این نانوذرات دارای خاصیت آنتی باکتریایی قابل توجهی بر روی باکتری‌های گرم منفی اشیریشیا کولای و سودوموناس آئروژینوزا می‌باشند و قابلیت استفاده در حوزه داروهای آنتی باکتری را دارا می‌باشند. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که بیشترین فعالیت نانوذرات آلاینده، مربوط به درصد ناخالصی مس ۱/۵ روی باکتری اشیریشیا کولای می‌باشد. همچنین نمونه بدون ناخالصی تهیه شده تحت زمان تابش مایکروویو به مدت ۶ دقیقه، دارای بیشترین فعالیت آنتی باکتریایی برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا بود.

واژگان کلیدی: نانوذرات ZnSe، ZnSe:Cu، تابش مایکروویو، خاصیت آنتی باکتریایی، روش انتشار دیسک.

d.souri@malayeru.ac.ir

بسیاری از آنتی بیوتیک‌هایی که تا کنون برای مبارزه با عفونت‌های باکتریایی مؤثر واقع می‌شدند، به دلیل سیر تکاملی سویه‌های مقاوم، اثر خود را از دست داده‌اند که این امر مراقبت‌های پزشکی را به خطر می‌اندازد [۱]. یکی از تلاش‌های اخیر پژوهشگران برای غلبه

۱- مقدمه

ظهور مقاومت دارویی سویه‌های باکتری، به خصوص در محیط‌های بیمارستانی، تهدیدی جدی برای جوامع بشری محسوب می‌شود.

۷۷/۲~ در حالت توده و شعاع بوهر ۸ نانومتر در دمای اتاق است [۹] و گزارش‌هایی در خصوص خواص نوری و ساختاری آن منتشر شده است [۷ و ۱۰]؛ اما خواص ضد میکروبی این نانوذرات چندان گزارش نشده است و به نظر می‌رسد که با توجه به نانومقیاس بودن، پایه مبتنی بر فلز روی و همچنین ورود ناخالصی مس بتوانند دارای خواص آنتی باکتریایی و بیولوژیکی ویژه‌ای باشند. انتظار می‌رود یون‌های مس اثر قابل توجهی را ایجاد نمایند. لذا در این پژوهش با توجه به مطالعات صورت گرفته بر روی ویژگی‌های ساختاری و نوری در پژوهش‌های پیشین [۷ و ۱۰]، به بررسی اثر ناخالصی مس بر خواص آنتی باکتریایی نانوذرات پرداخته می‌شود.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد و تجهیزات

جهت سنتز نانوذرات روی سولفید آلاییده به مس، پودرهای سلیوم (Se)، سدیم بوروهیدرید (سدیم تتراهیدروبورات: NaBH₄)، روی استات (Zn(Ac)₂)، سدیم هیدروکسید (NaOH)، مس (II) سولفات، تیوگلیکولیک اسید (سولفانیل استیک اسید: TGA)، مولر هیتتون برات و آگار (از محصولات شرکت مرک) خریداری شده‌اند. طیف جذبی نمونه‌ها توسط دستگاه UV - Visible (Perkin Elmer, Lambda-USA25) و پراش پرتو ایکس توسط دستگاه XRD (AXS) D8 Bruker diffractometer (Cuk_α, Germany) صورت گرفته است. لازم به ذکر است که در تمامی مرحله سنتز از آب دیونیزه به عنوان حلال اصلی استفاده شده است.

۲-۲- روش آزمایش

جهت سنتز نانوذرات سولفید روی، ابتدا برای تهیه منبع یون‌های سلیوم، مقدار ۰/۰۴۸ گرم پودر سلیوم و ۰/۰۸ گرم پودر سدیم بوروهیدرید در ۴ میلی‌لیتر آب گاز زدایی شده حل می‌شود و به مدت ۲۰ دقیقه تحت شارش گاز آرگون گاززدایی می‌شود. سپس به منظور آماده سازی منبع یون روی مقدار ۰/۲۶۲۸ گرم روی استات را در ۱۵۰ میلی لیتر آب دیونیزه حل کرده و پس از تنظیم pH روی ۱۱/۲، محلول TGA به عنوان عامل پوششی به آن

بر مقاومت باکتری‌ها و عوامل بیماری‌زا در مقابل آنتی بیوتیک‌ها استفاده از استراتژی فناوری نانو می‌باشد [۲]. نانوفناوری زمینه‌ای فعال جهت مطالعه مواد نانومقیاس با اندازه ذرات کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر می‌باشد [۳]؛ ذرات در چنین ابعادی نسبت به مواد توده‌ای دارای خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوت و منحصر به فردی هستند. بنابراین، این گونه مواد می‌توانند اثرات بیولوژیکی بر سلول‌های زنده ایجاد کنند [۴]. پژوهش‌های متعددی مبتنی بر مکانیسم‌های احتمالی مربوط به برهمکنش بین نانوذرات با ماکرومولکول‌های موجودات زنده انجام گرفته است. اختلاف بین بار منفی میکروارگانیسم و بار مثبت نانو ذره به صورت یک الکترومغناطیس جاذب بین میکروب و نانوذره عمل کرده و باعث اتصال نانوذره به سطح سلول شده و در نتیجه می‌تواند باعث مرگ سلول شود که در نهایت تعداد زیادی از این تماس‌ها منجر به اکسید شدن مولکول‌های سطحی میکروب‌ها شده و باعث مرگ سریع آن‌ها می‌شوند. احتمال داده می‌شود یون‌های آزاده شده از نانو مواد با گروه‌های تیول (-SH) پروتئین‌های سطحی سلول‌های باکتریایی واکنش دهند. تعدادی از این پروتئین‌های غشاء سلول‌های باکتریایی، عمل انتقال مواد معدنی از سطح دیواره را بر عهده دارند که نانومواد با اثر بر روی این پروتئین‌ها باعث غیر فعال شدن آن‌ها، کاهش تراوایی غشاء و در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شوند. همچنین نانومواد، چسبندگی سلول باکتری و تشکیل بیوفیلم را به تأخیر می‌اندازند که این عمل باعث می‌شود گروهی از باکتری‌ها نتوانند تثبیت شده و تکثیر یابند [۵ و ۶]. نانومواد و به خصوص نانومواد فلزی به علت داشتن بار سطحی و نسبت سطح به حجم بالای خود، آنزیم‌ها و DNA میکروارگانیسم‌ها را با تبادل الکترون بین گروه‌های دهنده الکترون مثل تیول، کربوکسیلات آمید، ایمیدازول، اندول و هیدروکسیل غیر فعال می‌نمایند [۵]. آن‌ها با حفره‌هایی که در دیواره سلولی باکتری ایجاد می‌کنند، منجر به افزایش نفوذپذیری و در نتیجه مرگ سلولی می‌شوند [۶].

در سال‌های اخیر نانوبلورهای نیمرسانا به دلیل خواص اپتیکی و نوری منحصر به فردشان که ناشی از اثرات محدودیت کوانتومی است، مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته‌اند [۷]. در میان انواع مختلف نیمرساناها (CdTe, CdSe, CdS) گزارش‌های نسبتاً کمی در مورد نانوذرات ZnSe وجود دارد [۸]؛ ZnSe یکی از مهمترین نیمرساناهای گروه IV-II بوده که دارای گاف نواری

شده و سپس روی سطح محیط کشت آغشته به نیم‌مک باکتری قرار گرفتند؛ و فعالیت آنتی باکتریایی هر نانوذره سه بار تکرار و ارزیابی شد تا بتوان از میانگین نتایج جهت تحلیل استفاده نمود. نمونه‌های نهایی پس از قرارگیری دیسک‌های حاوی نانوذرات بر سطح محیط کشت (جهت مهیا شدن شرایط رشد باکتری)، به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفتند و پس از این مدت زمان، جهت قرائت قطر هاله‌های عدم رشد باکتری پیرامون دیسک‌ها، از انکوباتور خارج شده و اندازه‌گیری‌های لازم صورت گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- الگوی پراش پرتو X و گاف انرژی

پیش از گزارش و تحلیل نتایج آزمون آنتی باکتریایی، برخی ویژگی‌های گزارش شده [۷ و ۱۰] نانوذرات سنتز شده به اختصار معرفی می‌گردد. بدون شک مشخصه نگاری نمونه‌ها برای تحلیل نتایج، بسیار مفید خواهد بود. با توجه به گزارشات قبلی [۷ و ۱۰]، الگوی پراش پرتو X (XRD) نمونه‌های دارای ناخالصی و بدون ناخالصی نشان داده است که نمونه‌ها دارای ساختار fcc با اندازه ذرات در حوزه نانو می‌باشند. همچنین گزارش شده است که [۱۳] آرایش نمونه‌ها با مس افزایش اندازه نانوذرات را در پی داشته و به دلیل کم بودن درصد ناخالصی الگوی پراش هیچ جابجایی در قله‌ها را نشان نداده است و ساختار کلی نانوذرات حفظ شده است. همچنین مقایسه‌ی نتایج نمونه‌های ZnSe بدون و با حضور تابش میکروویو مؤید عدم تغییر ساختار اصلی بوده و تابش میکروویو باعث افزایش اندازه ذرات شده است [۷ و ۱۰ و ۱۳]. در محاسبه اندازه نانوذرات از الگوی XRD نمونه‌ها و رابطه دبی شرر (رابطه ۱) استفاده شده است:

$$D = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (1)$$

در این رابطه D اندازه نانوذرات، k یک عدد ثابت تقریباً ۰/۸۹، λ طول موج منبع پرتو X مورد استفاده، β پهنای کل در نصف ارتفاع بیشینه (FWHM) بر حسب رادیان و θ زاویه پراش می‌باشد [۱۳]؛ شکل ۱ الگوهای نوعی XRD نمونه‌ها را نشان داده و جدول ۱

اضافه می‌شود. این محلول نیز به مدت ۴۰ دقیقه گاز زدایی شده و سپس محلول منبع یون سلنیوم به آرامی و پیوستگی به آن اضافه می‌گردد. بدین ترتیب فرآیند هسته‌زایی و تولید نانوذرات آغاز شده و پس از ۱۰ دقیقه گاز زدایی محلول کلئیدی نانوذرات سلنید روی حاصل می‌گردد. برای تهیه نانوذرات سلنید روی آلاینده به مس با درصد‌های ناخالصی ۰/۱، ۰/۷۵ و ۱/۵ درصد نیز تمامی فرآیندهای فوق تکرار می‌گردد، با این تفاوت که در مرحله تهیه منبع یون روی پیش از افزودن TGA به ترتیب مقدار ۰/۲، ۱/۵ و ۳ میلی لیتر مس (II) سولفات ۶ میلی مولار به آن اضافه می‌گردد. برای سنتز نانوذرات ZnSe تحت تابش میکروویو کافی است نمونه مورد نظر در معرض تابش میکروویو قرار گیرد و به مدت ۶ دقیقه حرارت دهی شود [۷]. پس از سنتز و مشخصه‌یابی نانوذرات مذکور، قابلیت آنتی باکتریایی آن‌ها علیه باکتری‌های گرم منفی اشرشیا کولای و سودوموناس آئروژینوزا به روش انتشار دیسک (به عنوان روشی ساده، کم هزینه و با نتایج مؤثر و قابل اندازه‌گیری مستقیم) [۱۱]، انجام شده است؛ در این روش شناخته شده، پلیت‌های آگار با یک سوسپانسیون استاندارد از میکروارگانیسم مورد آزمایش تلقیح می‌شوند، سپس دیسک‌های کاغذ صافی (با قطری در حدود ۶ میلی-متر)، حاوی ترکیب ضد میکروبی مورد آزمون با غلظت مورد نظر بر روی سطح آگار قرار داده می‌شود. پتری دیش‌ها تحت شرایط مناسب انکوبه می‌شوند (به مدت ۱۶-۱۸ ساعت در دمای C ۳۵-۳۷ [۱۱]). معمولاً عامل ضد میکروبی در آگار پخش شده و مانع جوانه زنی و رشد میکروارگانیسم مورد آزمایش می‌شود و در نهایت قطر ناحیه ممانعت از رشد اندازه‌گیری می‌شود [۱۲]. در این راستا، جهت تلقیح باکتری و ایجاد نیم‌مک، ۱/۰۵ گرم از پودر مولر هینتون برات در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده و سپس مطابق استاندارد شرکت سازنده، برای تهیه محیط کشت جامد، مقدار ۴/۲ گرم پودر مولر هینتون برات را به همراه ۳ گرم پودر آگار در ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل نموده و پس از استریل آن‌ها در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۲۲ دقیقه در اتوکلاو، درون پتری دیش‌ها ریخته می‌شوند تا محیط کشت جامد بدست آید. محلول نیم‌مک هر باکتری با استفاده از روش مک فارلند [۱۱]، تهیه شده و روی سطح محیط کشت‌های جامد آگار کشت چمنی داده شدند. جهت ارزیابی-های هاله عدم رشد باکتری مقدار ۱۴۰ میکرولیتر از نانوذرات مورد مطالعه روی دیسک‌های کاغذی از کاغذ صافی واتمن بارگذاری

طبق گزارشات قبلی [۷ و ۱۳]، گاف انرژی نوری نمونه‌ها با استفاده از روش نوین مشتق انطباق طیف جذبی (DASF) [۱۴] محاسبه شده‌اند. در این روش، از رابطه ۲ استفاده می‌گردد.

$$\frac{d\{\ln[A/\lambda]\}}{d(1/\lambda)} = \frac{m}{\left(\frac{1}{\lambda} - \frac{1}{\lambda_g}\right)} \quad (2)$$

که در آن A معرف جذب نوری، λ و λ_g به ترتیب طول موج فرودی بر نمونه و طول موج گاف انرژی نوری نمونه و m نیز شاخص گذار می‌باشد. بنابر رابطه ۱، نمودار مشتق طیف جذب $\left(\frac{d\{\ln[A/\lambda]\}}{d(1/\lambda)}\right)$ بر حسب $1/\lambda$ در $1/\lambda_g$ دارای ناپیوستگی خواهد بود. بنابراین با تعیین مکان ناپیوستگی در این نمودار، مقدار طول موج گاف انرژی نوری با دقت بالا و بدون نیاز به پیش داوری در زمینه نوع گذار نوری صورت گرفته در نیمرسانا (تعیین مقدار m و نیز آگاهی از ضخامت نمونه) تعیین می‌گردد. بدین ترتیب، گاف انرژی نوری نیمرسانا از رابطه ۳ قابل محاسبه است.

$$E_{\text{gap}}^{\text{DASF}} (\text{eV}) = \frac{hc}{\lambda_g} = \frac{1239.83}{\lambda_g} \quad (3)$$

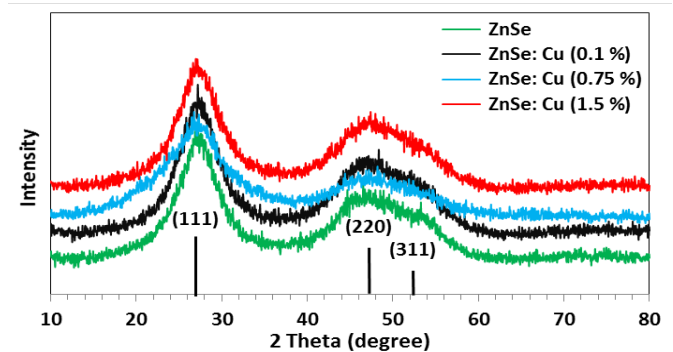
که در آن h و c به ترتیب ثابت پلانک و سرعت نور می‌باشند. علاوه بر نتایج اندازه ذرات بر مبنای نتایج XRD، اندازه نانوذرات سنتز شده را می‌توان با استفاده از مقادیر گاف انرژی و با بهره‌گیری از تقریب جرم موثر [۱۳] رابطه ۴، محاسبه نمود.

$$E_g(\text{nano}) - E_g(\text{bulk}) = \frac{\hbar^2 \pi^2}{2R^2} \left(\frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*} \right) - \frac{1.8e^2}{\epsilon R} \quad (4)$$

در این رابطه \hbar ثابت پلانک کاهشدهنده، R اندازه نانوذره، $E_g(\text{bulk})$ مقدارگاف انرژی حالت توده‌ای (دارای مقدار ۲/۷ eV) [۱۳]، $E_g(\text{nano})$ گاف انرژی نمونه‌های مورد نظر حاصل از طیف UV-Vis و محاسبه شده به روش مشتق انطباق طیف جذبی، e بار الکترون، m_e^* و m_h^* نیز به ترتیب جرم موثر الکترون و حفره می‌باشند.

اندازه نانوذرات سنتز شده در این پژوهش با استفاده از رابطه ۶ و مقدار E_g نیز به روش DASF محاسبه شده و نمودار تغییرات گاف انرژی و اندازه نانوذرات بر حسب درصد ناخالصی مس نمونه‌ها در شکل ۳ رسم شده است. با توجه به آنچه مشاهده می‌شود با افزایش درصد ناخالصی، اندازه نانوذرات روند افزایشی و گاف انرژی نمونه‌ها

مقادیر حاصل از مشخصه‌یابی XRD را برای هریک از نانوذرات سنتز شده نشان می‌دهد.

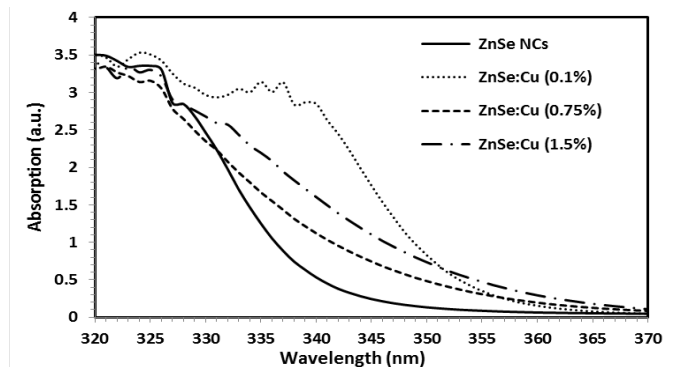


شکل ۱: الگوهای XRD نانوذرات روی سلنید سنتز شده با درصد‌های مختلف ناخالصی مس بدون تابش میکروویو [۷]

جدول ۱: مقادیر بدست آمده از مشخصه‌یابی XRD نمونه‌های تهیه شده [۱۳]

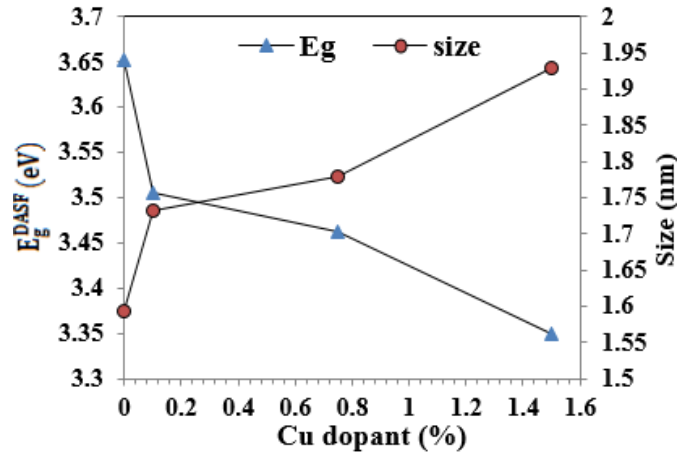
Sample	MWIR Time (min)	FWHM (Degree)	2θ	Cos(θ)	NCs Size (nm)
ZnSeNCs	-	۴/۱۶۱	۲۷/۲۰۸	-۰/۹۷۱۹۴۴۴۵	۱/۹۴۲
ZnSe: Cu (0.1%)	-	۴/۰۶۸	۲۷/۳۴۱	-۰/۹۷۱۶۷۰۸۰	۱/۹۸۷
ZnSe: Cu (0.75%)	-	۴/۳۰۲	۲۷/۰۷۸	-۰/۹۷۲۲۱۰۶۷	۱/۸۷۸
ZnSe:Cu (1.5%)	-	۴/۰۹۱	۲۷/۳۱۵	-۰/۹۷۱۷۲۴۴۰	۱/۹۷۵
ZnSeNCs	۶	۲/۷۷۱	۲۷/۰۴۷	-۰/۹۷۲۲	۲/۱۴۲

همچنین، طیف جذبی نانوذرات سلنیدروی آلیبده با درصد‌های مولی مختلف ناخالصی مس در گستره فرابنفش- مرئی [۷] نشان داده است که لبه جذب با افزایش درصد ناخالصی نمونه‌ها و افزایش اندازه نانوذرات، به سمت طول موج‌های بلندتر جابجا شده است (شکل ۲). می‌توان از داده‌های جذب گاف انرژی، پهنای انرژی حالت‌های دنباله‌ای درگاف انرژی (انرژی اورباخ) و نوع گذار القایی نوری انجام شده برای حامل‌های بار را بدست آورد که برخی در ادامه معرفی می‌گردند [۱۳].



شکل ۲: طیف جذب نوری ناحیه فرابنفش- مرئی نانوذرات روی سلنید سنتز شده با درصد‌های مختلف ناخالصی مس بدون تابش میکروویو [۷]

به سمت طول موج‌های بلندتر سوق پیدا کرده و روند کاهشی دارد که نتیجه‌ای معقول و منطقی می‌باشد [۱۳].



شکل ۳: نمودار تغییرات گاف انرژی و اندازه نانوذرات (٪ ۰، ۰/۱، ۰/۷۵، ۱/۵) ZnSe:Cu تهیه شده به روش آبی (بدون تابش میکروویو) برحسب درصد ناخالصی مس [۷ و ۱۳]

همچنین لازم به ذکر است که نمونه ZnSe بدون ناخالصی تحت تابش میکروویو به مدت ۶ دقیقه قرار گرفته است و دارای گاف انرژی ۳/۵۰۰ الکترون ولت و اندازه ذره‌ی ۱/۷۳ نانومتر می‌باشد که نسبت به نمونه بدون ناخالصی و بدون تابش میکروویو (شکل ۱)، اندازه ذرات آن افزایش و گاف انرژی آن کاهش یافته است و مؤید رشد نانوذرات با تابش میکروویو می‌باشد. به طور خلاصه جدول ۲ میزان انرژی اورباخ و اندازه دقیق نانوذرات را که با استفاده از تقریب جرم مؤثر سنتز شده‌اند نشان می‌دهد.

جدول ۲: مقادیر انرژی اورباخ و اندازه نانوذرات با استفاده از رابطه تقریب جرم مؤثر [۷ و ۱۰]

Sample	ZnSe NCs Time = 0	ZnSe:Cu (0.1 %)	ZnSe:Cu (0.75 %)	ZnSe:Cu (1.5 %)	ZnSe NCs Time = 6
$E_{Tail}(eV)$	۰/۰۶۵	۰/۰۶۰	۰/۱۰۶	۰/۱۰۳	۰/۰۵۱
NCs Size (nm)	۱/۵۹	۱/۷۲	۱/۷۸	۱/۹۲	۱/۷۴

۳-۲- نتایج و تحلیل داده‌های قابلیت آنتی باکتریایی نانوذرات سنتز شده روی باکتری‌های گرم منفی اشریشیا کولای و سودوموناس آئروژینوزا

باکتری‌ها بر اساس ساختار غشایی مختلفی که دارند، به دو دسته کلی گرم منفی و گرم مثبت طبقه‌بندی می‌شوند. دیواره باکتری‌های گرم منفی متشکل از دو غشاء سلولی، یک غشاء خارجی و یک غشاء پلازما با تنها یک لایه نازک پپتیدوگلیکان به ضخامت حداکثر ۷-۸ nm می‌باشند؛ درحالی که باکتری‌های گرم مثبت دارای یک غشای سیتوپلاسمی با چند لایه پلیمر پپتیدوگلیکان و یک دیواره سلولی ضخیم به ضخامت ۸۰-۲۰۰ nm هستند. بنابراین نانوذراتی در این مقیاس به آسانی می‌توانند از پپتیدوگلیکان عبور کنند و از این رو باکتری‌ها به شدت آسیب پذیر هستند [۱۵].

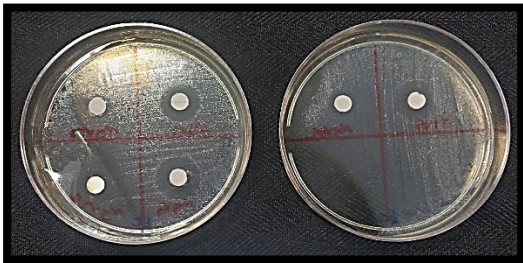
دیواره سلول باکتری گرم منفی از فسفولیپیدها، لیپوپلی ساکاریدها و یک تا دو لایه پپتیدوگلیکان تشکیل شده است درحالی‌که دیواره سلول باکتری گرم مثبت از اسید تیوکوئیک و حدود ۴۰ لایه پپتیدوگلیکان تشکیل شده است [۱۶]. در ابتدا مناسب خواهد بود که دو باکتری گرم منفی مورد آزمون به اختصار معرفی گردند.

خانواده انتروباکتریاسه باسیل‌های گرم منفی هستند که در همه جا وجود داشته و در خاک، آب و سبزیجات یافت می‌شوند، جزء فلور طبیعی روده حیوانات و انسان می‌باشند. یکی از گونه‌های بیماری‌زای این خانواده، اشریشیا کولای است [۱۷]. این باکتری که به طور معمول با نام مخفف "ای کولای" خوانده می‌شود، باکتری گرم منفی میله‌ای شکلی است که به طور شایع در بخش تحتانی روده حیوانات خونگرم یافت می‌شود و بزرگترین عامل عفونت‌های ادراری و شاخص آلودگی آب شهری به فاضلاب است. بیشتر گونه‌های ای کولای بی‌ضرر هستند، اما برخی از انواع آن باعث مسمومیت وخیم در انسان‌ها می‌شوند [۱۸]. این باکتری قادر به تولید آنزیم‌های بتالاکتازهای متنوع بوده و عامل بیماری‌هایی چون باکتری، عفونت‌های مجاری ادراری، گاستروانتریت، مننژیت نوزادان و عفونت‌های درون شکمی است [۱۷ و ۱۹]. در عین حال این باکتری پتانسیل بالایی را برای ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی دارد. به عنوان مثال در سال ۲۰۰۲، سویه مقاوم به آمپی سیلین و سیپروفلوکساسین گزارش شده است [۱۹].

همچنین، اعضای جنس سودوموناس ارگانوسم‌هایی هستند که در خاک، مواد آلی در حال فساد، گیاهان و آب یافت می‌شوند. این ارگانوسم‌ها در محیط‌های مرطوب بیمارستانی، همچون غذا، ظرفشویی، وسایل تمییز کننده کف زمین، تجهیزات درمانی سیستم

۳-۴- هاله‌های ممانعت از رشد باکتری، ایجاد شده توسط نانوذرات و تحلیل عملکرد نانوذرات

شکل ۵ نمونه‌ای از هاله ممانعت از رشد باکتری اشرشیا کولای را در اطراف دیسک‌های بارگذاری شده با حجم ۱۴۰ میکرولیتر از نانوذره $ZnSe:Cu(1.5\%)$ را برای هر سه تکرار آزمایش نشان می‌دهد. لازم به ذکر است که هاله‌های بزرگتر مربوط به حجم بارگذاری ۱۴۰ میکرولیتر و هاله‌های کوچکتر روی دیسک مقابل آن‌ها در نیم حجم ۷۰ میکرولیتر می‌باشد؛ شایان ذکر است که در کار حاضر از روش رقیق سازی سریالی (سریال غلظت‌ها) استفاده نشده است و صرفاً روش انتشار دیسک در دو حجم بارگذاری ۱۴۰ و ۷۰ میکرولیتر انجام شده است و با توجه به اندازه قطر هاله‌ها (شکل ۵) و سطح مؤثر هاله‌ها، می‌توان نتیجه گرفت که اثر آنتی باکتریایی برای حجم ۱۴۰ میکرولیتر بیشتر است؛ بنابراین، در ادامه، نتایج مربوط به حج بارگذاری ۱۴۰ میکرولیتر تشریح شده است. همانطور که مشاهده می‌شود نانوذرات موجب ایجاد یک هاله مهارکنندگی پیرامون دیسک‌ها شده‌اند.



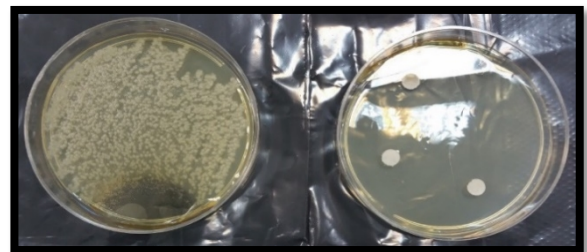
شکل ۵: تصویر نوعی از قطر هاله ممانعت از رشد باکتری اشرشیا کولای در اطراف دیسک‌های بارگذاری شده توسط $ZnSe:Cu(1.5\%)$ سنتز شده به روش آبی-مایکروویو

مکانیسم واکنش نانوذرات سنتز شده مورد مطالعه همانگونه که برای نقره ذکر شده است [۲۰]، می‌تواند به ترکیبات گروه تیول موجود در آنزیم‌های تنفسی سلول‌های باکتریایی مرتبط شود. بدین گونه که نانوذرات به دیواره سلولی باکتریایی و غشایی سلولی متصل شده و مانع روند تنفس و تغذیه می‌شود. قابلیت ضد میکروبی نانوذرات، به شکل آن‌ها نیز وابسته است. این امر می‌تواند با بررسی مهار رشد باکتری برای اشکال مختلف نانوذرات تأیید شود [۲۰]. جدول ۳ جزئیات نمونه‌ها، نامگذاری آن‌ها و اندازه قطر هاله‌های ممانعت از رشد را نسبت به هر باکتری نشان می‌دهد.

تنفسی و دیالیز و حتی محلول‌های ضد عفونی کننده وجود دارند. این ارگانسیم‌ها قادر هستند از بسیاری از مواد آلی بعنوان منبع کربن و نیتروژن استفاده کنند و حتی قادر به رشد در آب مقطر هم می‌باشند. اعضاء جنس سودوموناس دارای بسیاری از فاکتورهای ساختاری، آنزیم‌ها و توکسین‌ها می‌باشند که سبب ویرولانسی و مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌ها و گندزداها شده است. سودوموناس آئروژینواز شایعترین گونه این جنس بوده که عامل عفونت‌های ریوی، عفونت‌های اولیه پوستی، عفونت‌های مجاری ادراری، عفونت گوش و عفونت‌های فرصت طلب می‌باشد [۱۷].

۳-۳- نتایج تست کنترل مثبت و کنترل منفی

به منظور حصول اطمینان از صحت انجام آزمایش، عدم آلودگی باکتریایی دیسک‌های بارگذاری شده و همچنین کارآمدی محیط کشت، لازم است تست کنترل منفی و کنترل مثبت انجام گردد. بدین منظور چند دیسک حاوی نانوذرات را در یک محیط کشت بدون باکتری قرار می‌دهیم (کنترل منفی) و یک محیط کشت داده شده توسط باکتری را نیز بدون قرار دادن دیسک بر روی آن به همراه نمونه‌ها مورد بررسی قرار می‌دهیم (کنترل مثبت). عدم رشد باکتری در کنترل منفی و رؤیت رشد باکتری در کنترل مثبت نشان دهنده صحیح و قابل اطمینان بودن آزمایش است. مطابق شکل ۴ به وضوح می‌توان مشاهده کرد که در آزمایش کنترل مثبت (در غیاب نانوذرات و دیسک) باکتری به خوبی رشد نموده است و محیط کشت محل مناسبی برای رشد باکتری بوده است. در حالی که در آزمایش کنترل منفی هیچ باکتری دیده نمی‌شود و این مؤید آن است که نانوذرات و همچنین دیسک مورد استفاده، خود عامل باکتری نبوده‌اند.



شکل ۴: تصویر حاصل از آزمایش کنترل مثبت (C^+) و کنترل منفی (C^-).

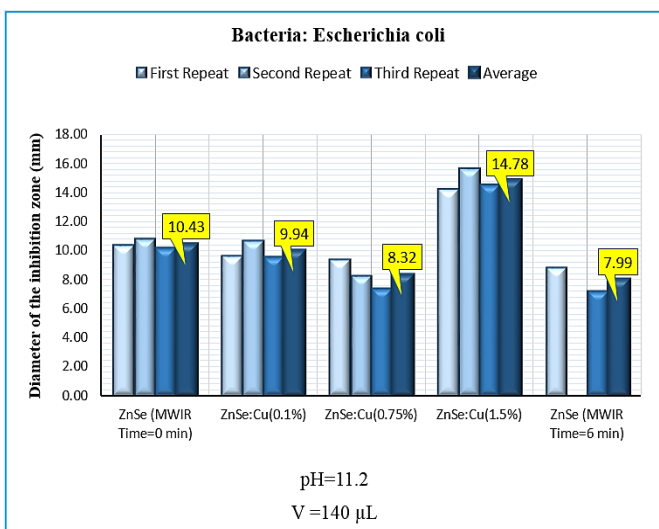
جدول ۳: قطر هاله ممانعت از رشد باکتری‌های اشرشیا کولای و سودوموناس آئروژینوزا در حضور دیسک‌های حاوی ۱۴۰ میکرولیتر از نانوذرات سنتز شده

نمونه ZnSe(pH=11.2)	قطر هاله عدم رشد باکتری‌های گرم مثبت مورد آزمون (mm)			
	نمونه ZnSe (شماره N110)	نمونه ZnSe:Cu(0.1) (شماره N1101)	نمونه ZnSe:Cu(0.75) (شماره N1175)	نمونه ZnSe:Cu(1.5) (شماره N1115)
تایس ۶ دقیقه مایکروبیو ZnSe (شماره N116)	۱۰/۴۰	۹/۶۵	۹/۳۷	۱۴/۲۳
آزمایش اول	۱۰/۴۰	۹/۶۵	۹/۳۷	۱۴/۲۳
تکرار	۱۰/۷۶	۱۰/۶۵	۸/۲۵	۱۵/۵۹
دوم	۱۰/۱۵	۹/۵۴	۷/۳۵	۱۴/۵۲
تکرار	۱۰/۱۵	۹/۵۴	۷/۳۵	۱۴/۵۲
سوم	۱۰/۴۳	۹/۹۴	۸/۳۲	۱۴/۷۸
میانگین قطر هاله عدم رشد	۱۰/۴۳	۹/۹۴	۸/۳۲	۱۴/۷۸
آزمایش اول	۹/۸۵	۱۰/۲۲	۹/۳۱	۹/۵۴
تکرار	۱۱/۳۲	۸/۵۲	۹/۸۴	۹/۹۶
دوم	۸/۸۷	۱۱/۲۱	۹/۴۱	۹/۴۴
تکرار	۸/۸۷	۱۱/۲۱	۹/۴۱	۹/۴۴
سوم	۱۰/۰۱	۹/۹۸	۹/۵۲	۹/۶۴
میانگین قطر هاله عدم رشد	۱۰/۰۱	۹/۹۸	۹/۵۲	۹/۶۴

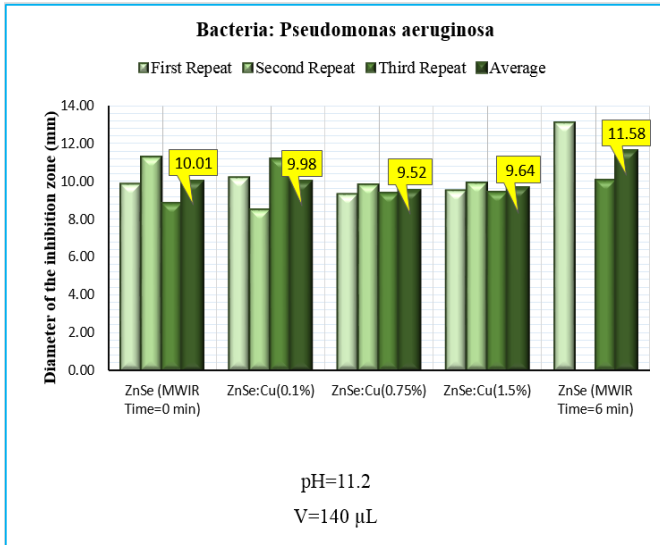
شکل ۶ قطر هاله ممانعت از رشد باکتری ای کولای را که نمایانگر میزان فعالیت آنتی باکتریایی هر کدام از نانوذرات است، در قالب نمودار هیستوگرام نشان می‌دهد. با توجه به نمودار شکل ۶ برای غلظت ۱۴۰ میکرولیتری بارگذاری نانوذرات، می‌توان مشاهده نمود که اثر آنتی باکتریایی نانوذرات برای نمونه‌های N110، N1101 و N1175 با افزایش درصد ناخالصی، روند کاهشی دارد این درحالی است که برای نمونه N1115 قدرت مهارتی به یکباره نسبت به نمونه بدون ناخالصی رشد چشمگیری صورت گرفته است.

برای N116 نسبت به نمونه N110 اثر آنتی باکتریایی کاهش می‌یابد که ناشی از افزایش اندازه نانوذرات است (جدول ۲). بنابراین باکتری ای کولای کمترین حساسیت را نسبت به نمونه N116 و بیشترین حساسیت را نسبت به نمونه N1115 از خود نشان می‌دهد که این نشان دهنده پتانسیل بالاتر نمونه N1115 برای مهار باکتری مذکور می‌باشد. باتوجه به اندازه‌های بدست آمده برای نانوذرات (جدول ۲)، در این جا مکانیسم عملکرد نانوذرات احتمالاً صرفاً از طریق نفوذ به دیواره غشاء نمی‌باشد چرا که نانوذره با اندازه بزرگتر یعنی نمونه N1115، قدرت مهارتی بیشتری را نسبت به نمونه‌های با اندازه کوچکتر از خود به نمایش گذاشته است. بنابراین شاید بتوان گفت که مکانیسم عملکرد سه نمونه اول به صورت نفوذ به دیواره غشای سلولی باکتری بوده و با افزودن ناخالصی و در نتیجه بزرگتر شدن اندازه ذرات، تعداد ذراتی که می‌توانند به داخل دیواره نفوذ کنند

کاهش می‌یابد؛ ولی در نمونه N1115 و افزایش بیشتر اندازه نمونه، مکانیسم عوض شده و با اتصال یون‌های مس به سطح باکتری‌ها موجب تخریب غشا و در نتیجه مرگ باکتری می‌شود. استدلال فوق را می‌توان برگرفته از مقاله ای دانست که با مطالعه بر روی خاصیت آنتی باکتریایی نانو کامپوزیت نقره-گرافن علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی اذعان می‌دارد: توانایی نانوذرات با توجه به نوع سیستم زیستی درگیر و درک مکانیسم واکنش حائز اهمیت خواهد بود. شایان ذکر است که به کارگیری نانو ذرات نقره تحت تأثیر نوع کاربرد، ویژگی‌های ذرات (شکل، اندازه، غلظت، ترکیب شیمیایی) و سیستم زنده درگیر است. همچنین ابعاد نانو در این ذرات باعث عبور آسان‌تر از غشای بیولوژیکی و اثر میکروارگانیزم بر فیزیولوژی سلول شده است بطوریکه با کاهش قطر، سطح تماس افزایش یافته و اثرگذاری و قدرت نفوذ این ذرات بیشتر می‌شود [۲۱]. در کار حاضر می‌توان گفت که با افزایش درصد ناخالصی مس و ایجاد بیشتر حالت‌های سطحی، قابلیت آنتی باکتریایی این نانوذره (N1115) بیشتر شده است، بدین صورت که در مکانیسم عملکرد آنتی باکتریایی نمونه N1115، یون‌های Cu^{2+} قویاً به سر فعال تیول (-SH) و گروه‌های کربوکسیل (-COOH) ایمیدازول ($C_2H_4N_2$) و آمینو ($-NH_2$) پروتئین‌های غشای میکروبی مقید شده و در نتیجه نفوذپذیری سلول برای نانوذرات مذکور و مرگ سلولی آن‌ها افزایش می‌یابد. نتایجی شبیه به این در حضور نانوذرات Cu:ZnS گزارش شده است [۲۲].



شکل ۶: نمودار مقایسه‌ای میزان حساسیت آنتی باکتریایی نانوذرات ZnSe (0، 0.1، 0.75، 1.5 % ZnSe و ZnSe:Cu) در زمان تابش شش دقیقه در حجم بارگذاری نانوذرات ۱۴۰ میکرولیتر علیه باکتری اشرشیا کولای



شکل ۷: نمودار مقایسه‌ای میزان حساسیت آنتی باکتریایی نانوذرات ZnSe (0, 0.1, 0.75, 1.5 % ZnSe:Cu و ZnSe) رشد یافته در زمان تابش شش دقیقه در حجم بارگذاری نانوذرات ۱۴۰ میکرولیتر علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا

شکل ۸-ا میزان هاله ممانعت از رشد را برای هر دو باکتری گرم منفی در حضور نانوذرات N₁₁₀ نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود این نانوذره توانسته است بر روی هر دو باکتری اثر مهاری قابل توجهی را از خود به نمایش بگذارد و این امر توانایی قابل توجه این نانوذره را برای مهار هر دوی این باکتری‌ها نشان می‌دهد. علیرغم این که شعاع ممانعت از رشد برای باکتری ای کولای بیش از سودوموناس است، اما این اختلاف چندان زیاد نیست. به عبارت دیگر می‌توان گفت که هر دو باکتری حساسیت تقریباً یکسانی را نسبت به این نانوذره نشان داده‌اند و این نانوذره برای مهار هر دو باکتری مناسب است.

مطابق نمودار شکل ۸-ب، نمونه N₁₁₀ همانند نمونه N₁₁₀ اثر مهاری مشابهی را بر روی هر دوی این باکتری‌ها دارد. با توجه به اندازه دانه‌های این نمونه، شاید بتوان گفت که مکانیسم عملکرد این نانوذره بر روی هر دو باکتری یکسان است و برای مقابله با هر دو باکتری می‌توان از این نانوذره نیز استفاده نمود.

نمودار شکل ۸-ج نشان می‌دهد که نمونه N₁₁₀ روی هر دو باکتری اثر مهاری دارد اما حساسیت باکتری سودوموناس نسبت به این نانوذره بیشتر بوده و بنابراین نانوذره مذکور جهت از بین بردن این باکتری مناسب‌تر است.

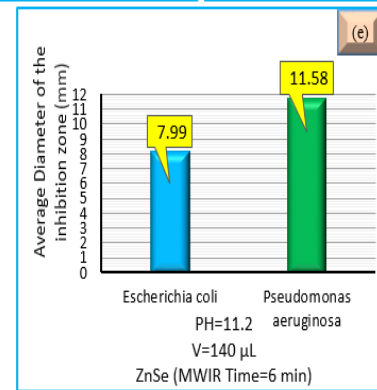
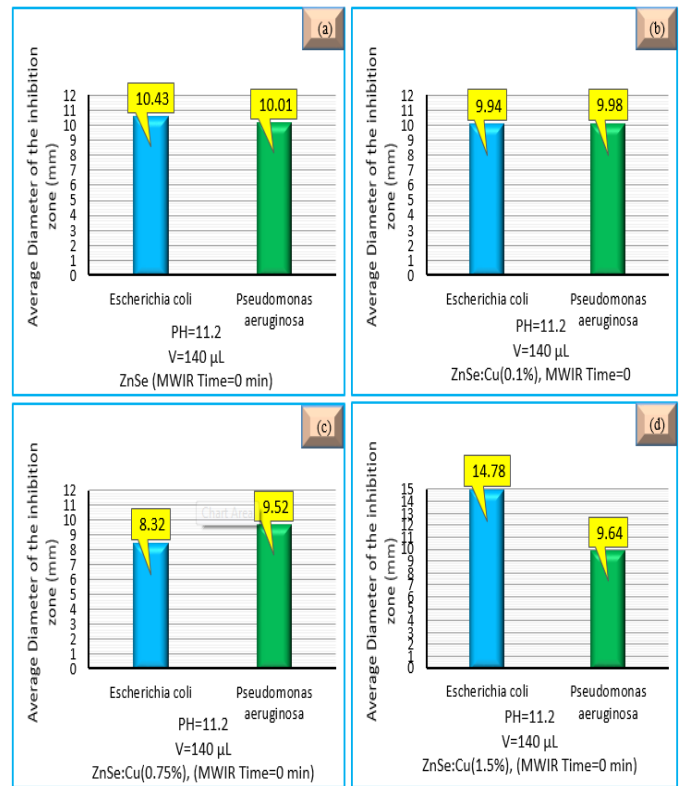
شکل ۸-د نشان می‌دهد که نمونه N₁₁₀ به خوبی هر دو باکتری گرم منفی را مهار کرده است. اما باکتری ای کولای نسبت به این

مطالعات نشان داده‌اند که وقتی ای.کولی تحت درمان با نانوذرات مس قرار می‌گیرند، تغییراتی در مورفولوژی غشاء سلول صورت می‌گیرد. تصور می‌شود که مواد مغذی بین دیواره سلولی و غشاء سلول به خارج انتشار می‌یابد. یون‌های مس می‌توانند با از بین بردن دیواره‌های سلولی و غشاء آن، منجر به مرگ باکتری شوند، چرا که این یون‌ها پتانسیل احیاء بالایی دارند که می‌تواند الکترون-ها را از باکتری استخراج کرده و هسته سلول را اکسید کند [۲۳].

نمودار شکل ۷ بیان می‌کند که برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا، افزایش درصد ناخالصی در نمونه‌های با غلظت ۱۴۰ میکرولیتر، کاهش اثر آنتی باکتریایی را نسبت به حالت بدون ناخالصی در پی داشته است. برای نمونه N₁₁₆ نسبت به N₁₁₀ شاهد افزایش قطر هاله عدم رشد و در نتیجه افزایش خاصیت آنتی باکتریایی هستیم. شاید بتوان گفت که مکانیسم عملکرد نانوذره N₁₁₆ بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا به صورت نفوذ به دیواره سلول نبوده و از طریق اتصال به دیواره سلولی این باکتری، اثر آنتی باکتریایی خود را نشان می‌دهد. برای غلظت ۱۴۰ میکرولیتر، باکتری سودوموناس آئروژینوزا بیشترین حساسیت را نسبت به N₁₁₆ و کمترین حساسیت را نسبت به نمونه N₁₁₀ از خود نشان داده است اما اختلاف معناداری بین نمونه‌های با درصدهای مختلف ناخالصی مشاهده نشده است. بر اساس نتایج به دست آمده، برای مهار باکتری سودوموناس آئروژینوزا نمونه N₁₁₆ بهترین گزینه خواهد بود. باکتری سودوموناس آئروژینوزا یک باکتری گرم منفی و نسبتاً نفوذپذیر بوده و شاید عدم اختلاف فاحش نتایج نمونه‌های مختلف متأثر از این عامل باشد. به نظر می‌رسد مکانیسم اصلی سمیت نانوذرات از طریق استرس اکسندگی باشد که به چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و DNA سلول باکتری آسیب می‌رساند [۲۴]. لازم به ذکر است که با توجه به شعاع (r) هاله‌های ممانعت از رشد باکتری و دایروی بودن شکل آن‌ها، می‌توان سطح مؤثر هاله‌های مذکور (πr^2) را محاسبه نمود.

جهت مقایسه شفاف‌تر، می‌توان عملکرد هر کدام از نانوذرات را برای دو باکتری مورد مطالعه، ارزیابی نمود (شکل ۸).

نانوذره بسیار حساس تر بوده است و بنابراین نمونه مذکور برای مقابله با باکتری ای کولای مناسب تر است.



شکل ۸: نمودار مقایسه‌ای فعالیت آنتی باکتریایی هر کدام از نانوذرات سنتز شده (a) (Time = 0) ZnSe:Cu (c) (0.1%) MWIR ZnSe ، (b) (Time = 0) ZnSe:Cu (d) (0.75%) ZnSe:Cu (e) (1.5%) ZnSe:Cu (MWIR Time = 6) ZnSe با حجم بارگذاری ۱۴۰ میکرولیتر علیه باکتری‌های اشرشیا کولای و سودوموناس آئروژینوزا

با توجه شکل ۸-۹ می‌توان مشاهده نمود که گرچه نانوذرات N₁₁₆ بر روی هر دو باکتری اثر مهاری داشته است، اما باکتری ای کولای مقاومت بیشتری را نسبت به نانوذرات مذکور داشته است. از طرفی، این نمونه اثر مهاری قابل توجهی را نسبت به این نانوذره نشان داده است. دلیل تفاوت عملکرد برای این دو باکتری را احتمالاً باید

در ساختار دیواره سلولی آن‌ها جستجو کرد. شاید بتوان این گونه نتیجه گیری کرد: زمانی که مولکول‌های DNA در حالت طبیعی و آرام هستند، تکثیر DNA می‌تواند به طور مؤثر انجام پذیرد، اما در حالت چگالیده توانایی تکثیر خود را از دست می‌دهد. از این رو زمانی که نانوذرات آلیایده به مس به داخل سلول باکتری، نفوذ می‌کنند، مولکول DNA به حالت چگالیده یا فشرده تبدیل شده و توانایی تکثیر خود را از دست می‌دهد و در نتیجه منجر به مرگ باکتری می‌شود. همچنین گزارش شده است که فلزات سنگین از طریق پیوند با گروه تیول، با پروتئین واکنش می‌دهند و پروتئین‌ها غیر فعال می‌شوند و احتمال می‌رود تغذیه و غشای سلولی باکتری مختل گردد [۲۰].

در یک جمع بندی کلی می‌توان گفت که برای مهار باکتری اشرشیا کولای بهترین گزینه نانوذرات دارای ناخالصی ۱/۵ درصد مس (N₁₁₆) بوده‌اند و نیز برای مقابله با باکتری سودوموناس آئروژینوزا نمونه N₁₁₆ مناسب تر است.

۴- نتیجه گیری

نانوذرات ZnSe و ZnSe:Cu به روش آبی سنتز شده و توسط تابش میکروویو رشد داده شده‌اند. نتایج ساختاری و نوری نمونه‌ها برترتیب بر مبنای XRD و طیف سنجی فرابنفش-مرئی، مؤید تشکیل نانوذرات مذکور و انتقال قرمز لبه جذب نوری آن‌ها با افزایش زمان تابش میکروویو و همچنین افزایش درصد ناخالصی مس بوده است. فعالیت آنتی باکتریایی نانوذرات ZnSe و ZnSe:Cu و نیز ZnSe تحت تابش ۶ دقیقه میکروویو علیه باکتری‌های گرم منفی اشرشیا کولای و سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد و نتایج حاصل نشان می‌دهند که این نانوذرات اثر مهاری قابل توجهی را علیه این باکتری‌ها از خود نشان می‌دهند. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که بیشترین فعالیت نانوذرات آلیایده، مربوط به درصد ناخالصی مس ۱/۵ روی باکتری اشرشیا کولای می‌باشد. همچنین نمونه بدون ناخالصی تهیه شده تحت زمان تابش میکروویو به مدت ۶ دقیقه، دارای بیشترین فعالیت آنتی باکتریایی برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا بود. بر اساس این پژوهش، به نظر می‌رسد که این ماده می‌تواند به عنوان یکی از کاربردی‌ترین ضد عفونی کننده‌ها در مقیاس صنعتی و به ویژه

(ZnSe-NPs): Green synthesis and investigation of their cytotoxicity effects,” *Ceramics International*, 42, 12115–12118, 2016.

[۹] علیرضا بهادر، مهدی ملایی، مسعود کریمی پور، ” سنتز، رشد و بررسی خواص نوری نانوذرات سلنید روی آلاتیده شده با مس به روش فوتوشیمیایی، “ نشریه نانو مقیاس، سال ۱۳۹۴، شماره سوم، صفحات ۱۲۴–۱۱۷.

[۱۰] کبری احمدیان، ” اثر pH و زمان تابش بر خواص نوری و ساختاری نانوبلورهای ZnSe سنتز شده به روش تابش مایکروویو، “ پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه ملایر، ایران، سال ۱۳۹۶.

[11] A. J. Driscoll, N. Bhat, R. A. Karron, K. L. O'Brien, D. R. Murdoch, “Disk diffusion bioassays for the detection of antibiotic activity in body fluids: Applications for the Pneumonia Etiology research for child health project,” *Clinical Infectious Diseases*, 54, 159-164, 2012.

[12] M. Balouiri, M. Sadiki, & S. K. Ibsouda, “Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review,” *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6, 71–79, 2016.

[۱۳] ”مطالعه اثرات دما و ناخالصی مس بر گاف انرژی، انرژی اورباخ و خصوصیات ساختاری نانوبلورهای ZnSe رشد یافته توسط روش سریع تابش مایکروویو، “ پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه ملایر، ایران، سال ۱۳۹۶.

[14] D. Souri, Z. E. Tahan, “A new method for the determination of optical band gap and the nature of optical transitions in semiconductors,” *Applied Physics B*, 119, 273-279, 2015.

[15] A. Sirelkhatim, S. Mahmud, A. Seeni, N. H. Mohamad Kaus, L. C. Ann, S. K. M. Bakhori, H. Hasan, D. Mohamad, “Review on Zinc oxide Nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism,” *Nano-Micro Letters*, 7, 219–242, 2015.

[16] A. Mai-Prochnow, M. Clauson, J. Hong, A. B. Murphy, “Gram positive and gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma”, *Scientific Reports* 6, 38610, 2016.

[17] M. Bonyadian, T. Z. Salehi, M. Mahzounieh, F. A. Taheri, “Virulence genes of verotoxigenic E.coli

برای ضد عفونی تجهیزات پزشکی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین در صنایع غذایی و کشاورزی پتانسیل بالایی دارند که نیازمند پژوهش‌های بیشتر و گسترده‌تر است.

مراجع

[1] G. F. Webb, E. M. C. D'Agata, P. Magal, S. Ruan, “A model of antibiotic resistant bacterial epidemics in hospitals,” *Mathematical Population Dynamics*, 102, 13343-13348, 2005.

[2] K. Krishnamoorthy, G. Manivannan, S. J. Kim, K. Jeyasubramanian, M. Premanathan, “Antibacterial activity of MgO nanoparticles based on lipid peroxidation by oxygen vacancy,” *Journal of Nanoparticle Research*, 14, 1-10, 2012.

[3] D. Bhattacharya, B. Saha, A. Mukherjee, C. R. Santra, P. Karmakar, “Gold nanoparticles conjugated antibiotics: stability and functional evaluation,” *Nanoscience and Nanotechnology*, 2, 14-21, 2012.

[4] D. Lin, B. Xing, “Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth,” *Environmental Pollution*, 150, 243-250, 2007.

[۵] سیده نسیم کریمی پور، اصغر تنومند، صادق رستم نیا، ” ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات نقره بر روی اسینتوباکتر بومانی، “ مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا، سال ۱۳۹۵، شماره دوم، صفحات ۲۶۴–۲۷۰.

[6] P. Hosseinkhani, A. M. Zand, S. Imani, M. Rezayi, & S. Rezaei Zarchi, “Determining the antibacterial effect of ZnO nanoparticle against the pathogenic bacterium, *Shigella dysenteriae* (type 1),” *International Journal of Nano Dimension*, 1, 279-285, 2011.

[7] D. Souri, M. Sarfehjou, A. Khezripour, “The effect of ambient temperature on the optical properties and crystalline quality of ZnSe and ZnSe:Cu NCs grown by rapid microwave irradiation,” *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 29, 3411–3422, 2018.

[8] N. Khandan Nasab, A. R. Dehnad, H. Salimizand, D. Taherzadeh, D. Prakash, K. D. Verma, M. Darroudi, “Zinc selenide nanoparticles

isolated from raw milk and unpasteurized cheese", Journal of Veterinary Research 66 (3), 223-228, 2011.

[۱۸] مرجان حاجی محمدجوادى، حمید رضا آقابزرگ، هدی پاسدار، "سنتر و شناسایی نانو ذرات وانادیم اکساید بهینه شده با نقره و بررسی اثر ضد باکتری آن بر اشرشیا کولای و استافیلوس کوکوس اورئوس،" نشریه پژوهش‌های کاربردی در شیمی (JARC)، سال ۱۳۹۶، شماره دوم، صفحات ۷۸-۷۳.

[۱۹] پروانه محمدبیگی، محمد سوداگر، محمد مازندرانی، سیده صدیقه حسینی، "بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوذره اکسید روی، بر باکتری استرپتوکوکوس اینیایی و اشرشیاکلی،" مجله دانشگاه علوم پزشکی قم، سال ۱۳۹۵، شماره پنجم، صفحات ۶۳-۵۵.

[20] M. Rai, A. Yadav, A. Gade, "Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials," Biotechnology Advances, 27, 76-83, 2009.

[۲۱] سعید فرهادی، رودابه مهکی، عبدالناصر محمدی، "بررسی خاصیت ضد باکتریایی نانوکامپوزیت نقره-گرافن (Ag-rGO) بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی،" سومین همایش ملی تکنولوژی‌های نوین در شیمی، پتروشیمی و نانو ایران، سال ۱۳۹۵، صفحه ۸.

[22] C. Chaliha, B. K. Nath, P. K. Verma, E. Kalita, "Synthesis of functionalized Cu:ZnS nanosystems and its antibacterial potential," Arabian Journal of Chemistry, 2016.

[23] M. Raffi, S. Mehrwan, T. M. Bhatti, J. A. Akhter, A. Hameed, W. Yawar, & M. ul Hasan, "Investigations into the antibacterial behavior of copper nanoparticles against Escherichia coli," Annals of Microbiology, 60, 75-80, 2010.

[24] M. Heinlaan, A. Ivask, A. Blinova, H. C. Dubourguier, A. Kahru, "Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria Vibrio fischeri and crustaceans Daphnia magna and Thamnocephalus platyurus," Chemosphere, 71, 1308-1316, 2008.



Investigation of the Effect of Cu Impurity on the Antibacterial Potential of Cu-Doped ZnSe Nanoparticles Against Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa Gram Negative Bacteria

S. Ebrahimi¹, D. Souri*¹, M. Ghabooli²

¹ Department of Physics, Faculty of Science, Malayer University, Malayer

² Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer

Abstract: In the present research, ZnSe:Cu nanoparticles with different Cu-dopant content and also under 6 min microwave irradiation were synthesized by aqueous method, and then their antibacterial properties on two Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa gram negative bacteria were investigated. In this work, to synthesize the mentioned nanoparticles, Se and NaBH₄, as initial raw materials of Se ion source, and zinc acetate as Zn ion source have been used. By adjusting the pH at 11.2, TGA has been used as capping agent to prevent agglomeration of nanoparticles. Results of XRD and UV-Visible spectroscopy, show the range of 1.94-2.14 for particles size and 3.50-3.65 eV for energy gap. To study the antibacterial properties, Escherichia coli and Pseudomonas bacteria were used as strain tests. Results of this research imply on that these nanoparticles have considerable antibacterial activity against the mentioned gram-negative bacteria, and have the usage ability in the field of antibacterial drugs. The highest antibacterial activity is devoted to the 1.5% Cu-doped nanoparticles on Escherichia coli. Also the undoped sample prepared under 6 min microwave irradiation had the highest antibacterial activity against the Pseudomonas aeruginosa.

Keywords: : ZnSe nanoparticles, ZnSe:Cu, Microwave irradiation, Antibacterial property, Disc diffusion method