

# بررسی تأثیر عوامل مختلف بر فرمولاسیون و طراحی لعاب‌های آنتی‌باکتریال

صادق اسماعیلی، علی نعمتی

گروه مهندسی مواد- سرامیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

**چکیده:** برای ساختن لعاب‌های آنتی‌باکتریال از فلزات مختلفی به عنوان عامل ضد میکروبی استفاده شده است. از میان این فلزات، میتوان به نقره، طلا، روی، جیوه اشاره کرد. از آنجایی که نانو ذرات نقره دارای اثر ضد باکتری نسبتاً بالایی بوده و از این جهت به طور گسترده در علول و صنایع گوناگون مورد استفاده قرار می‌گیرند. در تأثیر عوامل مختلفی از جمله سایز، شکل، نوع پوشش، نوع باکتری و شرایط محیطی را بر میزان اثر بخشی و فعالیت آنتی‌باکتریال این نانو ذره بررسی نمودیم. کلمات کلیدی: آنتی‌باکتریال، لعاب، هیدروکسی آپاتیت، آاناتاز، روتایل، دی‌اکسید تیتانیوم

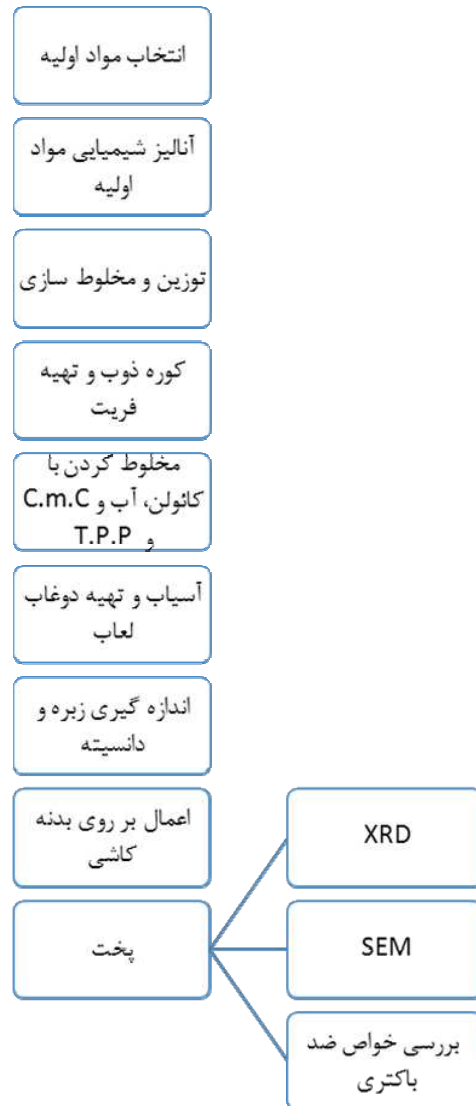
## ۱- مقدمه

لعاب‌های آنتی‌باکتریال عمدتاً به وسیله ترکیب کردن مواد ضد میکروبی با دوغاب لعاب و اعمال آن بر روی بدنه سرامیکی ایجاد شده اند. اولین توصیف علمی از اثرات ضد میکروبی نقره توسط دانشمندی به نام رالین در سال ۱۸۶۹ داده شد که نشان داد، آسپیریلوس نیجر در ظروف نقره‌ای نمی‌تواند رشد کند، در سال ۱۸۸۱ نیز پزشکی به نام کارل کرد نیترات نقره ۲٪ را برای جلوگیری از کوری از سوزاک که از مادران سوزاکی به دنیا می‌آمدند، به کار برد [۱، ۲]. ترکیب ضد میکروبی نیترات نقره کلوئیدی در سال ۱۹۲۰ ساخته شد و در سال ۱۹۶۵ دکتر چارز، سولفادیازین و نقره را برای بهبود زخم‌ها به کار برد [۳]. در عصر حاضر نانو ذرات نقره به عنوان یک ماده‌ی ضد میکروب، گسترش فراوانی یافته است. ترکیبات نقره، سلاح اصلی در مقابل زخم‌های عفونی در جنگ جهانی اول بود تا اینکه آنتی‌بیوتیک‌ها تولید شدند. در سال ۱۹۹۹ سازمان غذا و دارو آمریکا تایید نمود که مضرات زیر برای نقره وجود ندارند: ایجاد انرژی نمی‌کند، تداخل دارویی مضر به وجود نمی‌آورد و مرگ در اثر استفاده از آن گزارش نشده است [۴]. سایز نانو ذرات از مهم‌ترین عوامل تأثیر گذار بر خواص آنتی‌باکتریال به شمار می‌آید. هانگ لی-یو و همکارانش در مقاله‌ی خود، سه سایز مختلف از نانو ذرات کوچک، متوسط و بزرگ را به منظور مشاهده‌ی اثر ضد باکتری و همچنین اثر سمیشان مورد مطالعه قرار دادند. در این مطالعه مشخص شد که نانو ذرات نقره با اندازه‌ی کوچکتر دارای ویژگی‌های ضد باکتری بهتری بوده و دارای اثر سمیت سلولی بالاتری نیز می‌باشند. همچنین مشخص شد که با افزایش سایز نانو ذرات نقره فعالیت ضد باکتری آن‌ها کاهش می‌یابد و این مطلب یافته‌های قبلی را در این مورد که در نانو ذرات نقره‌ی کوچکتر به دلیل بالاتر بودن نسبت سطح به حجم، احتمال تعامل با سطح باکتری افزایش یافته و منجر به تشدید اثر آنتی‌باکتریال می‌شود تایید می‌کند [۵]. Radniecki و همکارانش (۲۰۱۱) در مطالعات خود دریافتند که نانو ذرات نقره با اندازه‌ی ۲۰nm دارای اثر سمیت بیشتری نسبت به نانو ذرات با سایز ۸۰nm می‌باشد و این به دلیل بالاتر بودن نسبت سطح به حجم در ذرات کوچکتر است. همچنین این نکته قابل توجه است که اثر بازدارندگی نانو ذرات نقره بر روی باکتری به غلظت نانو ذرات و همچنین تعداد (میزان) اولیه‌ی باکتری وابسته می‌باشد به گونه‌ای که رشد سلول‌های باکتری با کاهش غلظت نانو ذرات، به سرعت از سر گرفته می‌شود [۶]. در سال ۲۰۰۵، Morones و

همکارانش اثر آنتی باکتریال نانو ذرات نقره که دارای سایزی در محدوده ۱۰۰-۱ نانومتر بودند را بروی ۴ گونه از باکتری‌های گرم منفی شامل: *E. coli*، *V.cholera*، *P. aeruginosa* و *S. typhus* مورد بررسی قرار دادند. نتایج این بررسی نشان داد که خواص آنتی باکتریال نانو ذرات نقره به سایز آن وابسته است به گونه‌ای که نانو ذرات نقره با قطر ۱ تا ۱۰۰ نانومتر دارای اثر آنتی باکتریال بودند [۷]. Panacek و همکاران (۲۰۰۶) ذرات نقره با سایز ۲۵-۴۵۰ نانومتر را سنتز نموده و خواص آنتی باکتریال ذرات سنتز شده را نیز مورد مطالعه قرار دادند. نتایج بررسی این گروه نشان داد که بیشترین اثر آنتی باکتریال مربوط به ذراتی با قطر میانگین ۲۵ نانومتر می‌باشد [۸]. نتایج بدست آمده از بررسی که توسط Choi و Hu (۲۰۰۸) صورت گرفت نیز نتایج پیشین را تایید نمود [۹]. Lok و همکارانش (۲۰۰۷) که با استفاده از روش borohydride نانو ذرات نقره‌ی کروی شکل با قطر میانگین ۹ نانومتر را سنتز نمودند [۱۰]، Martinez-Castanon و همکارانش (۲۰۰۸) [۱۱] و Baker (۲۰۰۵) [۱۲]، نیز با بررسی خواص آنتی باکتریال نانو ذرات نقره مشاهده نمودند که نانو ذرات کوچکتر دارای خواص آنتی باکتریال بالاتری می‌باشند. Kim و همکارانش (۲۰۰۷) جهت بررسی ارتباط میان غلظت نانو ذرات نقره با خلوص آنتی باکتریال آن از غلظت‌های ۰/۲ تا ۳۳ مولار نانو ذرات نقره استفاده نموده و اثر آن را بر روی دو باکتری گرم منفی *E. coli* و گرم مثبت *S.aureus* مطالعه نمودند [۱۳].

## ۲- مواد و روش تحقیق

مراحل کلی انجام تحقیق در شکل (۱) آمده است.



شکل ۱- مراحل کلی انجام تحقیق

### ۳- مطالعات و آزمایشات انجام شده

مطالعات و آزمایشات انجام شده جهت فرمولاسیون لعاب به شرح ذیل می‌باشد:

#### ۳-۱- بررسی آنالیز فازی

این تست جهت بررسی و شناسایی فازهای ایجاد شده در نمونه توسط دستگاه XRD انجام شد. انجام آزمایش XRD به جهت بررسی حضور نقره، دی اکسید تیتانیوم و هیدروکسید آپاتیت در سطح لعاب صورت گرفت. البته هدف از آنالیز اشعه ایکس نمونه‌ها یافتن مکانیزم از بین بردن باکتری‌ها توسط حضور نقره، دی اکسید تیتانیوم و هیدروکسید آپاتیت به عنوان یک ماده آنتی‌باکتریال نیز بود.

#### ۳-۲- آنالیز ریزساختاری

این تست توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) به منظور بررسی کریستال‌های موجود در لعاب، آنالیز نقطه‌ای انجام شد. دستگاه SEM در مرکز پژوهش رازی تهران موجود بود.

#### ۳-۳- آزمون تعیین زاویه تماس ترشوندگی دینامیکی

به منظور بررسی رفتار ترشوندگی نمونه از دستگاه تعیین زاویه ترشوندگی دینامیکی شد. بدین منظور نمونه آماده شد. نمونه در ابعاد ۱×۱ بریده و سطح آن قبل از استفاده در دستگاه به طور کامل تمیز شده خروجی دستگاه نمودارهای نیرو برحسب جابه جایی است.

#### ۳-۴- آزمایش ضد میکروبی

خاصیت آنتی باکتریال نیترا نقره طی دو مرحله، آزمایش می‌گردد. در مرحله اول خاصیت آنتی‌باکتریال نیترا نقره به تنهایی اندازه‌گیری می‌شود تا آنتی باکتریال بودن این ماده اثبات گردد. مرحله دوم آزمایش، اندازه‌گیری خاصیت آنتی باکتریالی نمونه‌های حاوی نیترا نقره می‌باشد. در این مرحله خاصیت آنتی باکتریالی نیترا نقره در درون لعاب، قبل و بعد از پخت مورد آزمایش قرار می‌گیرد. آزمایش ضد میکروبی بر روی نمونه‌ها با بررسی هاله عدم رشد اطراف هر نمونه و مطابق با روش استاندارد ۵/۰ مک فارلند صورت پذیرفت. به منظور انجام این آزمایش از دو نوع باکتری استافیلوکوک و اشرشیاکلی استفاده شد. در این روش از هر باکتری، سوسپانسیون میکروبی با غلظت  $10^7-10^8$  cfu/ml تهیه گردید. سپس با کمک سوپ از سوسپانسیون هر باکتری به طور مجزا بر روی محیط مولر هینتون آگار که درون پلیت‌های استریل ریخته شده اند، کشت داده شد. پس از آن نمونه‌ها از سطح حاوی لعاب بر روی محیط آغشته به باکتری قرار داده شدند. پلیت‌ها به منظور رشد باکتری‌ها به مدت ۲۴-۴۸ ساعت درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد.

از باکتری اشرشیا کولی برای اندازه گیری میزان خاصیت ضدباکتریایی استفاده گردید. روش استفاده شده برای انجام آزمون ضد باکتری در شکل (۲) نشان داده شده است. یک سوسپانسیون از باکتری E.Coli با کشت باکتری در مدت ۲۴ ساعت آماده شد، سپس شسته و تا میزان  $10^7-10^8$  CFU/mL رقیق گردید. سطح کاشی به وسیله اتانول ۸۰٪ استریل و خشک، سپس میزان ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول باکتری به کمک قطره چکان بر روی سطح کاشی ریخته شد.

کاشی با یک لام شیشه‌ای برای تماس بهتر و جلوگیری از خشک شدن سوسپانسیون پوشیده و به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. بعد از آن مقداری از سوسپانسیون بر روی پتری دیش نمونه برداری و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برای کشت باکتری‌های باقیمانده نگهداری شد که در این مرحله کلونی‌های باکتریایی تشکیل گردید. در مرحله بعد میزان باکتری‌های زنده مانده با استفاده از شمارش تعداد کلونی‌های تشکیل شده در پتری دیش، اندازه‌گیری شد. خواص ضد باکتری نمونه‌ها با استفاده از مقایسه باکتری‌های زنده مانده هر نمونه با باکتری‌های لعاب مرجع طبق رابطه زیر اندازه گیری شد:

$$S=100(N_e/N_c)$$

که در این رابطه S درصد باکتری‌های زنده مانده،  $N_e$  تعداد باکتری‌های زنده مانده در نمونه مورد آزمایش و  $N_c$  تعداد باکتری‌های

زنده مانده در نمونه مرجع (نمونه‌ای که اثر ضد میکروبی ندارد) می‌باشد. جهت بهبود خواص ضد باکتری نمونه، از نمونه به وسیله پولیش یا اچ شیمیایی لایه نازک سطحی برداشته شده تا محل تجمع نانو ذرات نقره بیشتری حاصل شود.



شکل ۲- روش استفاده شده برای انجام آزمون ضد باکتری

#### ۴- بحث و بررسی نتایج

##### ۴-۱- آزمایش ضد میکروبی نمونه‌ها (هاله عدم رشد)

در صورت وجود خاصیت آنتی باکتریالی در هر کدام از نمونه‌ها در اطراف نمونه بسته به قدرت ضد میکروبی ماده آنتی باکتریال، هاله‌ای با نام هاله عدم رشد تشکیل می‌شود. این هاله در اثر از بین رفتن باکتری‌های اطراف نمونه تحت تاثیر خاصیت آنتی باکتریال آن‌ها، ایجاد می‌شود. در واقع فضای هاله محدوده‌ای است که به واسطه خاصیت آنتی باکتریال نیترا نقره، باکتری‌ها قابلیت رشد و زیست نخواهند داشت. به منظور کمی شدن خاصیت آنتی باکتریال اندازه هاله‌ها بر حسب سانتی متر بیان می‌شود. در جدول (۱) قطر هاله عدم رشد برای نمونه‌ها با درصدهای مختلف نیترا نقره، دی اکسید تیتانیوم و هیدروکسی آپاتیت و البته قبل و پس از پخت نشان داده شده است. نتایج به دست آمده نشان از موثر نبودن افزودن بیش از ۲٪ نیترا نقره به ترکیب لعاب می‌باشد. البته ممکن است این وضعیت در مورد نمونه‌های پخته متفاوت باشد. ایجاد هاله عدم رشد در اطراف نانو ذرات نقره و هیدروکسی آپاتیت بهینه نشانگر خاصیت ضد باکتریایی این نانوذرات می‌باشد. هر چه قطر هاله عدم رشد بیشتر باشد خاصیت آنتی میکروبیال نانوذرات قوی تر است. طبق نتایج نانو ذرات نقره و هیدروکسی آپاتیت بارگذاری شده با خاصیت ضد باکتریایی بر روی نمونه‌های  $\text{TiO}_2$  (r)،  $\text{TiO}_2$  (A) نشان داد که هاله عدم رشد در نمونه‌ها بیش از ۲ سانتی متر است.

جدول ۱- نتایج آزمایش ضد میکروبی نمونه‌های نانو ذرات نقره و هیدروکسی آپاتیت

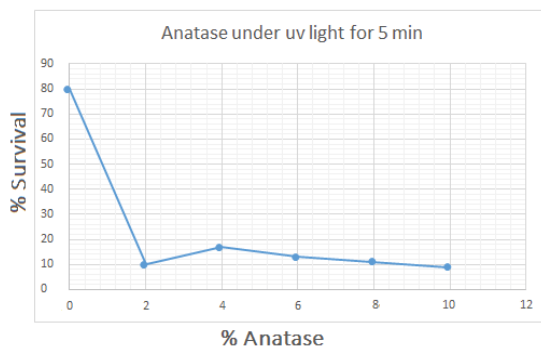
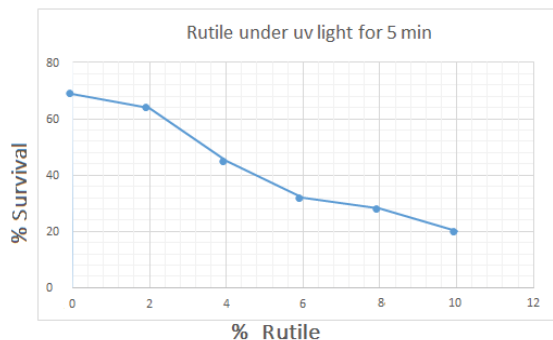
کد نمونه	هاله عدم رشد E. coli	هاله عدم رشد S. aureus
$\text{TiO}_2$ (r)	۰	۰
$\text{TiO}_2$ (A)	۱	۱
$\text{TiO}_2$ (r)-0.5%Ag-0.5%HAP	۲/۱	۳/۰
$\text{TiO}_2$ (A)-1%Ag-1%HAP	۲/۳	۳/۲
$\text{TiO}_2$ (A)-2%Ag-2%HAP	۲/۰	۲/۹
$\text{TiO}_2$ (A)-3%Ag-3%HAP	۲/۰	۲/۹

منظور قطر هاله عدم رشد همرا با باکتری‌های مقاوم است.

##### ۴-۲- بررسی اثر مقدار کاتالیست بر مرگ باکتری‌ها

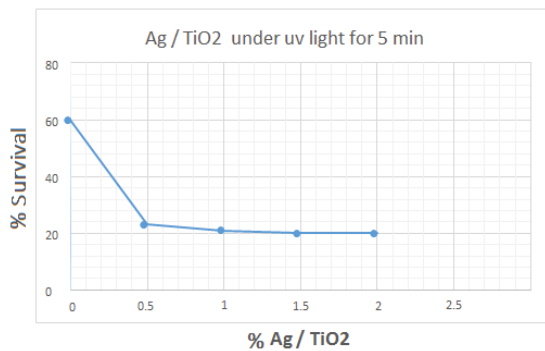
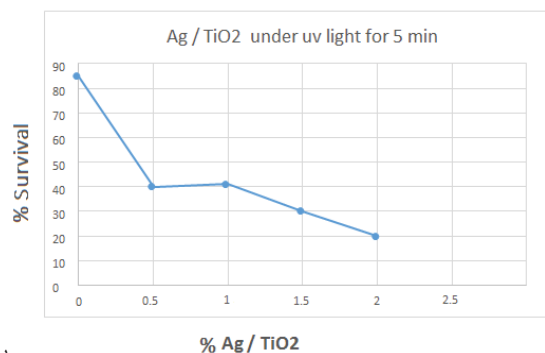
در شکل (۳) اثر ضد باکتریایی دی اکسید تیتانیوم در معرض نور فرابنفش نشان داده شده است. با افزایش جرم آناتاز در لعاب اثر ضد باکتریایی آن افزایش یافته است. و این به دلیل افزایش تعداد الکترون‌ها و حفره‌ها در سطح پوشش می‌باشد. در نتیجه

افزایش تعداد الکترون-حفره‌ها، مقدار گونه‌های اکسیداتیو زیاد می‌شود. و این خود مرگ باکتری‌ها را در بر دارد. این کاهش سلول‌های زنده با افزایش مقدار روتایل و نقره/ دی اکسید تیتانیوم نیز تکرار می‌شود. (شکل (۳) تا شکل (۵)).



شکل ۴- اثر مقدار روتایل بر در صد سلول‌های زنده تحت فرابنفش به مدت ۵ دقیقه و در غلظت اولیه (CFU/ML)  $3/7 \times 10^4$

شکل ۳- اثر مقدار آناتاز بر در صد سلول‌های زنده تحت فرابنفش به مدت ۵ دقیقه و در غلظت اولیه (CFU/ML)  $2/7 \times 10^4$



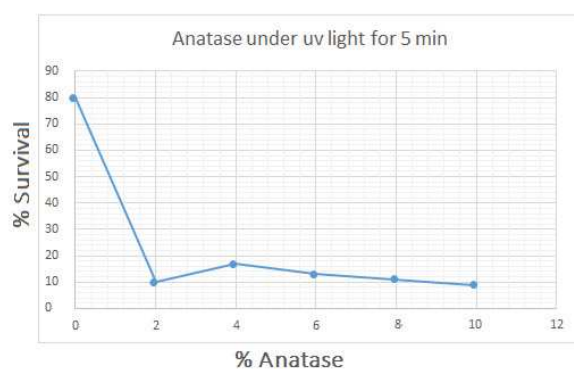
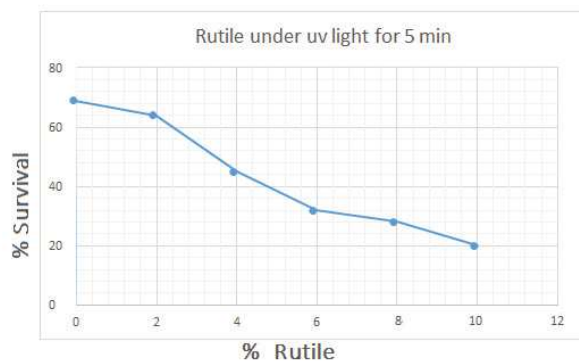
ج

الف

شکل ۵- اثر مقدار نقره / آناتاز بر در صد سلول‌های زنده باقیمانده در غلظت اولیه (الف) (CFU/ML)  $2/5 \times 10^5$  به مدت ۵ دقیقه تحت فرابنفش (ب) (CFU/ML)  $3/8 \times 10^5$  به مدت ۵ دقیقه در نور مرئی

#### ۳-۴- بررسی اثر نوع کاتالیست دی اکسید تیتانیوم بر مرگ باکتری‌ها

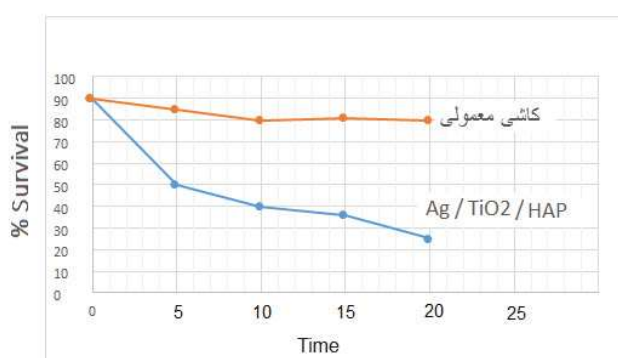
نوع فتوکاتالیست به کار برده شده در لعاب کاشی بر خاصیت ضد باکتریایی تاثیر گذار است. شکل (۶) نشان می‌دهد که فتوکاتالیست دی اکسید تیتانیوم در شکل کریستالی آناتاز از روتایل فعال تر است.



شکل ۶- بررسی اثر ضد باکتریایی کاشی حاوی آناتاز / هیدروکسی آپاتیت و روتایل/ هیدروکسی آپاتیت در معرض نور فرابنفش به مدت ۵ دقیقه

نوع فتوکاتالیست به کار برده شده در لعاب کاشی بر خاصیت ضد باکتریایی تاثیر گذار است. شکل (۶) نشان می‌دهد که فتوکاتالیست دی اکسید تیتانیوم در شکل کریستالی آناتاز از روتایل فعال تر است.

تخریب کشنده القا شده در غشا سلول به خاطر واکنش اکسیداتیو قوی می‌باشد که  $O_2^-$  (رادیکال‌های آنیونی سوپر اکسید) و رادیکال OH تولید شده از واکنش فتوکاتالیستی بر سطح  $TiO_2$  در سیستم تر ( $H_2O+O_2$ ) موجبات این عمل را فراهم می‌کنند. اولی از انتقال الکترون برانگیخته از  $Ti^{3+}$  به  $O_2$  ایجاد می‌شود و بعدی هم از به تله انداختن حفره تشکیل شده بر OH روی سطح شکل می‌گیرد. قدرت باکتری شاید حاصله از آناتاز با مقدار گاف انرژی بالاتر بیشتر است. آناتاز با گاف انرژی بزرگ  $3/2$  الکترون ولت، به تابش فرابنفش نیاز دارد. به این معنا که انرژی لازم جهت برانگیختگی الکترون‌ها از نوار ظرفیت و انتقال آن به نوار هدایت تنها از طریق نور فرابنفش تولید می‌شود. به محض از بین رفتن تابش فرابنفش باز ترکیب الکترون‌ها و حفره شکل می‌گیرد. این در حالیست که جدایش الکترون‌ها و حفره‌ها با نشان دادن نانو ذرات نقره بر سطح دی اکسید تیتانیوم افزایش یافته و نقره به عنوان تله الکترون عمل می‌کند. الکترون‌های به دام افتاده جذب  $O_2$  شده و گونه اکسیداتیو تولید می‌گردد. با افزایش زمان تابش می‌توان انتظار داشت که کاشی‌های حاوی نقره/ دی اکسید تیتانیوم تمامی سلول‌های باکتری را از بین ببرد.



شکل ۷- مقایسه اثر ضد باکتریایی کاشی معمولی و کاشی حاوی ۰/۲۵ درصد نقره/ دی اکسید تیتانیوم/ هیدروکسی آپاتیت در معرض نور مرئی

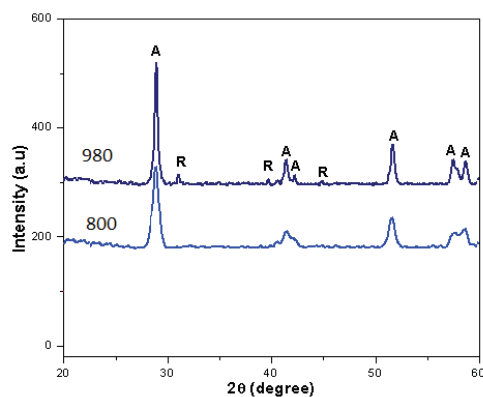
شکل (۷) نشان می‌دهد که درصد کمی از نقره/آناتاز/ هیدروکسی آپاتیت در لعاب کاشی (۰/۲۵٪ درصد) می‌تواند اثر قابل توجهی بر مرگ باکتری‌ها داشته باشد (۶۰ درصد باکتری‌ها از بین رفتند). این در حالیست که کاشی معمولی در مدت ۲۰ دقیقه تابش کاشی ۱۵ درصدی باکتری‌ها را در برداشت که این کاهش می‌تواند به دلیل خشک شدگی محلول بر روی کاشی باشد. همچنین با افزایش زمان تابش نور مرئی و افزایش درصد نقره/آناتاز/ هیدروکسی آپاتیت تمامی سلول‌ها از بین روند. اما از آنجا که افزایش بیش از اندازه مواد افزودنی به لعاب بر ترکیب لعاب خواص نوری، ظاهری آن تاثیر گذار است، درصد بهینه افزایش نقره/ دی اکسید تیتانیوم/ هیدروکسی آپاتیت بین ۰/۲۵ تا ۱ پیشنهاد می‌شود.

#### ۴-۴- بررسی دمای پخت بر شکل کریستالی دی اکسید تیتانیوم

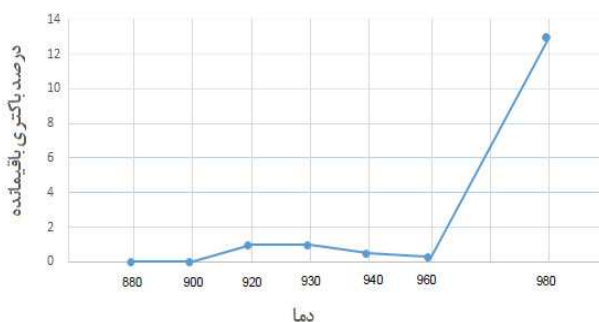
تبدیل فاز آناتاز به روتایل در دمای پخت ۹۸۰ درجه سانتی‌گراد اتفاق می‌افتد. این تغییر فاز به صورت ظاهری نیز قابل تشخیص می‌باشد. به این ترتیب که کاشی حاوی ۱۰٪ آناتاز به مراتب کدرتر از کاشی معمولی می‌باشد. تفاوت رنگ ظاهری در کاشی حاوی آناتاز که در دو دمای مختلف پخت گردیدند گویای این مطلب است که در دمای ۹۸۰ درجه سانتی‌گراد آناتاز به روتایل تبدیل شده است. می‌دانیم آناتاز به دلیل گاف انرژی بزرگتر ( $3/2$ ev) از روتایل ( $3$ ev) موثرتر می‌باشد. شکل (۸) نشان می‌دهد که وقتی دمای پخت کاشی حاوی ۱۰٪ آناتاز از ۸۰۰ به ۹۸۰ درجه سانتی‌گراد افزایش می‌یابد، تغییر فاز آناتاز به روتایل افزایش می‌یابد.

وقتی که دمای پخت از ۸۰۰ تا ۹۸۰ درجه سانتی‌گراد افزایش می‌یابد کاهش میزان فاز آناتاز چشمگیر می‌باشد. میزان فاز آناتاز با افزایش دما بالاتر از ۸۰۰ درجه سانتی‌گراد نیز بطور واضحی کاهش می‌یابد. میزان فاز آناتاز با افزایش دمای پخت از ۸۰۰ تا ۹۸۰ درجه سانتی‌گراد تقریباً بطور خطی کاهش می‌یابد. نتایج XRD نشان می‌دهد که خاصیت فتوکاتالیستی لایه نازک  $TiO_2$  با افزایش

دمای پخت کاهش می‌یابد. علت اصلی آن این است که خاصیت فتوکاتالیستی فاز روتایل به مراتب کمتر از فاز آناتاز می‌باشد. شکل (۹)، اثر دمای پخت لایه نازک را بر خواص آنتی باکتریالی نشان می‌دهد. این خاصیت بوسیله تماس بین E.Coli و سطح نمونه در معرض نور فلورسنت برای ۳۰ دقیقه حاصل شد. همانطور که شکل (۹) نشان می‌دهد خواص آنتی باکتریالی با افزایش دمای پخت افزایش می‌یابد. هنگامی که دمای پخت کمتر از ۹۰۰ درجه سانتیگراد است خواص آنتی باکتریالی ۱۰۰ درصد می‌باشد و تقریباً میزان این خاصیت تا ۹۴۰ درجه سانتیگراد بیش از ۹۹ درصد می‌باشد اما پس از آن این خاصیت به شدت کاهش می‌یابد.



شکل ۸- آنالیز XRD و مقایسه مقدار روتایل تولیدی در اثر تغییر دمای پخت کاشی

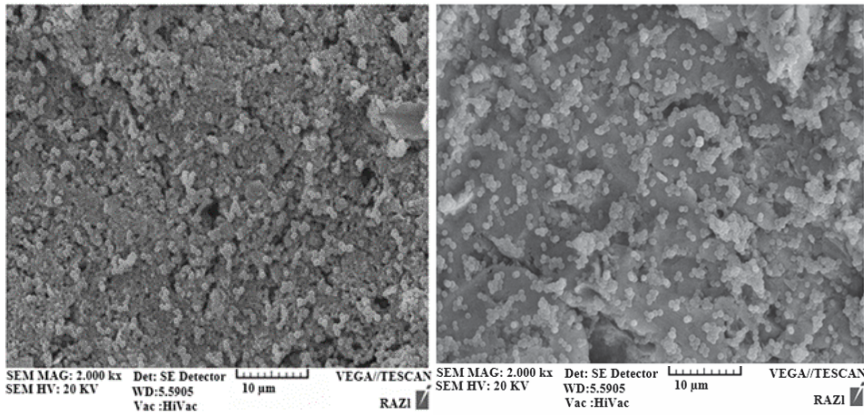


شکل ۹- ارتباط بین دمای پخت و میزان E.Coli باقیمانده پس از انجام آزمون آنتی باکتری

این نتایج را بدین گونه می‌توان توجیه کرد که خاصیت فتوکاتالیستی با افزایش دما کاهش یافته و این خاصیت شدیداً تحت تاثیر نسبت فاز آناتاز به روتایل است. نتایج XRD بیانگر کاهش نسبت روتایل به آناتاز با افزایش دماست. از طرف دیگر با افزایش دما لعاب شروع به ذوب شدن می‌کند و لایه نازک  $TiO_2$  را می‌پوشاند، بنابراین باید دمای پخت را طوری تنظیم کرد که فاز روتایل تشکیل نگردد و از طرف دیگر ذوب لعاب نیز اتفاق نیفتد. با توجه به نتایج به دست آمده این طور به نظر می‌رسد که پس از اعمال فرآیند پخت، خاصیت آنتی باکتریال نمونه‌ها دچار کاهش می‌گردد. به همین دلیل به کارگیری درصدهای بیشتر نیترات نقره مفید می‌باشد. کاهش خاصیت آنتی باکتریال پس از پخت نمونه‌ها، در اثر تبخیر مقدار جزئی از نیترات نقره از ترکیب لعاب صورت می‌گیرد. البته احتمال انجام واکنش و تشکیل ترکیبات غیر مؤثر در درون لعاب نیز دور از انتظار نیست.

#### ۴-۵- بررسی مورفولوژی

سطح مقطع شکست و سطح لعاب‌ها پس از پولیش، پوشش طلا شد و توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی مشاهده گردید و نتایج به دست آمده در شکل (۱۰) تصویر میکروسکوپ الکترونی (الف) لایه  $TiO_2$  بعد از قرار گرفتن در محیط کشت باکتری (ب) از لایه HAP بعد از قرار گرفتن در محیط کشت باکتری نشان داده شده است. تصویر میکروسکوپ الکترونی به منظور بررسی شکل نانوذرات و خواص ضد میکروبی آن‌ها بر روی باکتری‌ها تهیه گردید. ذرات ریز موجود در شکل (۱۰) نانوذرات دی اکسید تیتانیوم هستند که از طریق احاطه کردن باکتری و برهم کنش شیمیایی با پروتئین‌های تیول دار موجود در دیواره سلولی به باکتری متصل شده و کارهای سلولی نظیر تنفس و انتقال مواد را مختل می‌کنند و در نتیجه سبب مرگ سلول باکتری می‌شوند.



شکل ۱۰- تصویر میکروسکوپ الکترونی  
 الف) لایه  $TiO_2$  بعد از قرار گرفتن در محیط کشت باکتری (ب) از لایه HAP بعد از قرار گرفتن در محیط کشت باکتری

پس از قرار گرفتن لایه در محیط کشت، اجتماع زیادی از باکتری‌ها به رنگ تیره بیشتر نقاط سطح لایه پوشانده است. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نیز نشان دهنده اجتماعی از باکتری E.Coil بر روی سطح هیدروکسی آپاتیت HAP است. می‌توان گفت سطح HAP در مقایسه با سطح  $TiO_2$ ، تمایل بسیار زیادی به جذب باکتری دارد. با توجه به قدرت بسیار بالای تخریب باکتری توسط فتوکاتالیست  $TiO_2$ ، و نیز ویژگی جذب بسیار زیاد باکتری توسط HAP، پوشش‌های ترکیبی ساخته شده  $HAP-TiO_2$  دارای ویژگی جذب و تخریب باکتری هستند. نیترات نقره موجود در ترکیب لعاب در اثر بالا رفتن دما و انجام واکنش در درون لعاب، نهایتاً به اکسید نقره تبدیل شده و بر روی سطح لعاب باقی می‌ماند. این امر با توجه به نتایج به دست آمده از آنالیز XRD نمونه‌های آزمایش شده قابل تشخیص می‌باشد. پس از انجام تست میکروبی بر روی نمونه‌ها هاله عدم رشد در اطراف نمونه‌ها تشکیل گردید. قطر این هاله‌ها با توجه به درصد نیترات نقره اضافه شده به ترکیب لعاب در جدول (۱) به طور کامل مشخص شده است. لعاب ساخته شده با نیترات نقره به لحاظ آزمایشات میکروبیولوژیکی از خاصیت آنتی‌باکتریال مطلوبی برخوردار می‌باشد.

## ۵- نتیجه‌گیری

در این تحقیق، لایه نازکی از ذرات نقره و هیدروکسی آپاتیت و دی اکسید تیتانیوم که بر این لایه رسوب‌دهی نوری گردیده است بر روی سطح لعاب خورده نمونه‌های کاشی پوشش داده شد. لعاب ساخته شده با نیترات نقره به لحاظ آزمایشات میکروبیولوژیکی از خاصیت آنتی‌باکتریال مطلوبی برخوردار می‌باشد. از XRD جهت بررسی ارتباط بین فاز تشکیل شده و خواص آنتی‌باکتریالی آن استفاده شد، همچنین اثر افزایش دما بر فاز تشکیل شده و خواص آنتی‌باکتریالی بررسی شد و نتایج بدین شرح بود: لایه تشکیل شده در محدوده دمایی ۸۸۰ تا ۹۸۰ درجه سانتیگراد مخلوطی از فاز روتایل و آاناتاز می‌باشد که با افزایش دما میزان فاز روتایل افزایش می‌یابد. با افزایش دما خواص آنتی‌باکتریالی پوشش کاهش می‌یابد که این نشان دهنده خاصیت فتوکاتالیستی بیشتر فاز آاناتاز نسبت به روتایل می‌باشد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نیز نشان دهنده اجتماعی از باکتری E.Coil بر روی سطح هیدروکسی آپاتیت HAP است. سطح HAP در مقایسه با سطح  $TiO_2$ ، تمایل بسیار زیادی به جذب باکتری دارد.

## مراجع

- [1] Berk, R. G., (1947)., Abstracts of articles on oligodynamic sterilization, US Army Corps of Engineers, Virginia, 768.
- [2] Clement, J., Jarrett, P., (1994), Antibacterial Silver, Prog. Med. Chem, 1, 5-6.
- [3] Wesley Alexander, J., (2009), History of the Medical Use of Silver, SURGICAL INFECTIONS,10(3), 92-289.
- [4] Henglein, A: Small-particle research(1989). physicochemical properties of extremely small colloidal metal and semiconductor particles, Chem. Rev. 89, 1861-1873.
- [5] Hung, L., Shenghong, A., Keng-Yen, F., Shan-hui, H(2010). Antibacterial properties of silver nanoparticles in three different sizes and their nanocomposites with a new waterborne polyurethane, IJN.5,1017-1028.
- [6] Radniecki, T., Stankus,D., Neigh,A., Nason,J., Semprini,L. (2011),Influence of liberated silver from silver nanoparticles on nitrification inhibition of Nitrosomonas europaea, Chemosphere, 85,43-49.



- [7] Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez J. T., Yacaman, M. J., (2005), The bactericidal effect of silver nanoparticles, INSTITUTE OF PHYSICS PUBLISHING, Nanotechnology 16, 2346–2353.
- [8] Panacek A, Kvítek L, Pucek R, Kolar M, Vecerova R, Pizúrova N, Sharma VK, Nevecna T, Zboril R, (2006), Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity 16248-53.
- [9] Choi O, Hu Z ., (2008), Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. Environ Sci Technol 42:4583–4588.
- [10] Lok C, Ho C, Chen R, He Q, Yu W, Sun H, Tam P, Chiu J, Che C., (2007) ,Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. J Biol Inorg Chem 12:527–534.
- [11] Martínez-Castañón GA, Niño-Martínez N, Martínez-Gutierrez F, Martínez-Mendoza JR, Ruiz F. (2008), Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes. J Nanopart Res., 10 (8), 1343–1348.
- [12] Baker C, Pradhan A, Pakstis L, Pochan DJ, Shah SI, (2005), Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles. J Nanosci Nanotechnol. ,5(2):244-9.
- [13] Kim, J. S., E. Kuk, K. N. Yu, J. H. Kim, S. J. Park, H. J., Lee, S. H. Kim, Y. K. Park, Y. H. Park, C. Y. Hwang, Y. K. Kim, Y. S. Lee, D. H. Jeong and M. H. Cho, 2007, Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomedicine, 3, 95-101.