

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده مهندسی عمران

پایان نامه کارشناسی ارشد مهندسی محیط زیست

استفاده از تکنولوژی میکرو نانو حباب در حذف گونه های باکتریایی عفونت های بیمارستانی

نگارنده: نیلوفر گوهری

اساتید راهنما

دکتر بهناز دهرآزما

دکتر مهدی میرزایی

استاد مشاور

دکتر سید فضل الله ساغروانی

دی ماه ۱۳۹۸

در این صفحه صورت جلسه دفاع را قرار دهید. لازم است پس از صحافی این صفحه مجدداً توسط دانشکده مهر گردد و استاد راهنما با امضای خود اصلاحات پایان نامه را تایید کند.

ما حاصل بهترین سال های زندگیم را تقدیم می کنم به آن ها که برایم بهترین هستند و بهترین ها را برایم خواسته اند:

تقدیم

به نگاه پر مهر و دستان سخاوتمند مادر که الفبای زندگی را عاشقانه به من آموخت

به پدر عزیز و بزرگوارم که استوارترین تکیه گاه زندگی ام است

و به برادر مهربانم که وجودش گرمابخش هستی ام است

که هرچه آموختم در مکتب عشق شما آموختم و هرچه بگو شتم قطره ای از دریای بی کران مهربانیان را پاس بگویم، توانم.
ره آوردی کران سنگ تر از این ارزان نداشتم تا به خاک پایتان نثار کنم، باشد که حاصل تلاشم، نسیم کوزه غبار محنتگیتان را بزداید.

شکر و قدردانی

اکنون که به یاری پروردگار و راهبانی اساتید بزرگوار موفق به پایان این رساله شده ام، بر خود لازم میدانم تا به پاس زحمات و رهنمودهای مشفقانه اساتید فریخته و بزرگوارم، سرکار خانم دکتر بهناز دهرآزما و جناب آقای دکتر مهدی میرزایی که با راهنمایی های دلسوزانه و مساعدت همه جانبه خود، بنده را یاری نمودند و همچنین از جناب آقای دکتر سید فضل الله ساغروانی که در طول این پژوهش همواره نظرات ارزشمندشان راه گشای اینجانب در تکمیل این پایان نامه بوده است، نهایت شکر و قدردانی را به عمل آورم.

باتقدیر و دود فراوان از اساتید فریخته و کرامی جناب آقای دکتر رمضان واقعی و جناب آقای دکتر بهزاد کرمایی که زحمت بازنگری و داوری این پایان نامه را متقبل شدند.

همچنین بر خود لازم می دانم از سرکار خانم مژگان فضلی به پاس کمک های بی دریغشان کمال شکر و قدردانی را داشته باشم.

تهیه نامه

اینجانب نیلوفر گوهری دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته مهندسی عمران - مهندسی محیط

زیست دانشکده مهندسی عمران دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه استفاده از تکنولوژی

میکرو نانو حباب در حذف گونه‌های باکتریایی عفونت‌های بیمارستانی تحت راهنمایی دکتر

بهناز دهرآزما و دکتر مهدی میرزایی متعهد می شوم:

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافت‌های آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه ای، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

چکیده

هدف از این پژوهش "استفاده از تکنولوژی میکرو نانو حباب ازن در حذف گونه‌های باکتریایی عفونت‌های بیمارستانی" بوده است. به این منظور نمونه‌های تهیه شده از ۴ گونه باکتری انتروکوک فکالیس، اش‌ریشیاکلای، استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا در تماس مستقیم با میکرو نانو حباب (میناب) ازن و همچنین گاز ازن (جهت مقایسه)، در دمای محیط قرار گرفتند. در زمان تماس‌های مورد نظر از نمونه‌ها کشت گرفته شد. نتایج نشان داد که به طور کلی با افزایش غلظت ازن ورودی، زمان حذف باکتری‌های مورد مطالعه کاهش می‌یابد. راندمان حذف باکتری توسط میناب ازن در مقایسه با ازن زنی معمول در همان غلظت، به صورت محسوسی افزایش می‌یابد. حذف کامل باکتری‌های انتروکوک فکالیس، اش‌ریشیاکلای و استافیلوکوک اورئوس در غلظت 10 g h^{-1} برای میناب ازن در کمتر از ۱ دقیقه و برای باکتری سودوموناس پس از ۹۰ ثانیه اتفاق افتاد. در ازن معمولی با غلظت یاد شده نیز باکتری‌های انتروکوک فکالیس، اش‌ریشیاکلای، استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب در دقایق ۱۰، ۱۲، ۲۲ و ۲۲ حذف شدند. در هر دو غلظت 5 g h^{-1} و 10 g h^{-1} از گاز ازن باکتری انتروکوک فکالیس طی ۶۰ دقیقه ازن زنی و باکتری‌های اش‌ریشیاکلای و استافیلوکوک اورئوس پس از ۹۰ دقیقه ازن زنی حذف گشتند. زمان حذف کامل باکتری سودوموناس آئروژینوزا نیز برای غلظت 10 g h^{-1} از گاز ازن ۱۳۰ دقیقه و برای غلظت 5 g h^{-1} معادل ۱۲۰ دقیقه اندازه‌گیری شد. باکتری‌های انتروکوک فکالیس، اش‌ریشیاکلای، استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب در مجاورت میناب ازن با غلظت 10 g h^{-1} در زمان تماس‌های ۸، ۸، ۱۰ و ۲۲ دقیقه از بین رفتند. باکتری‌های مذکور به ترتیب طی درمان با میناب ازن با غلظت 5 g h^{-1} پس از ۲، ۳، ۵ و ۸ دقیقه تماس به طور کامل حذف شدند. مشاهده گردید که سریع‌ترین حذف در تمامی غلظت‌های گاز ازن مربوط به باکتری انتروکوک فکالیس و طولانی‌ترین زمان حذف مربوط به باکتری سودوموناس آئروژینوزا بوده است. بر اساس نتایج این پژوهش، در گندزدایی آب‌های آلوده به باکتری‌های مذکور می‌توان از میناب ازن جهت تسریع و افزایش بازده فرایند گندزدایی به صورت موثری بهره برد.

کلمات کلیدی: میکرو نانو حباب، ازن، باکتری، حذف

فهرست مطالب

ل	فهرست جداول
م	فهرست اشکال
۱	فصل ۱ کلیات
۲	۱-۱ مقدمه
۳	۲-۱ بیان مسئله
۵	۳-۱ ضرورت و هدف انجام تحقیق
۶	۴-۱ روش انجام تحقیق
۷	۵-۱ ساختار پایان نامه
۹	فصل ۲ مبانی تئوریک و مروری بر مطالعات پیشین
۱۰	۱-۲ مقدمه
۱۰	۲-۲ پروکاریوت‌ها
۱۱	۳-۲ باکتری‌ها
۱۱	۱-۳-۲ ساختار باکتری‌ها
۱۲	۲-۳-۲ تکثیر باکتری‌ها
۱۳	۳-۳-۲ مراحل رشد باکتری
۱۵	۴-۳-۲ طبقه‌بندی باکتری‌ها
۱۷	۵-۳-۲ باکتری‌های مورد بررسی در تحقیق حاضر
۲۰	۶-۳-۲ بیوفیلم
۲۱	۴-۲ عفونت‌های بیمارستانی
۲۴	۵-۲ فاضلاب و پاتوژن‌ها

- ۶-۲ روش‌های پاکسازی باکتری‌ها ۲۵
- ۱-۶-۲ ضدعفونی کردن و گندزدایی ۲۶
- ۷-۲ فناوری میکرو نانو حباب ۳۱
- ۱-۷-۲ نسبت سطح به حجم بالا ۳۲
- ۲-۷-۲ فشار داخلی بالا ۳۲
- ۳-۷-۲ سرعت بالا آمدن آهسته ۳۳
- ۴-۷-۲ بار سطحی منفی ۳۵
- ۵-۷-۲ کاهش اصطکاک کششی ۳۵
- ۸-۲ کاربردهای میکرو نانو حباب‌ها ۳۶
- ۹-۲ ازن ۳۷
- ۱-۹-۲ تحقیقات درزمینه‌ی کاربرد ازن در حذف باکتری ۳۸
- ۱۰-۲ تحقیقات در زمینه‌ی حذف باکتری‌ها توسط میکرو نانو حباب ازن ۴۲

فصل ۳ مواد و روش‌ها

- ۱-۳ مقدمه ۴۵
- ۲-۳ مواد ۴۶
- ۳-۳ روش‌ها ۴۶
- ۱-۳-۳ دستگاه مولد میکرو نانو حباب ۴۶
- ۲-۳-۳ دستگاه ازن ساز ۴۷
- ۴-۳ کشت باکتری ۴۹
- ۱-۴-۳ ساخت محیط کشت ۵۰
- ۲-۴-۳ نحوه‌ی کشت ۵۰
- ۳-۴-۳ تهیه سوسپانسیون میکروبی نیم مک‌فارلند ۵۱

- ۳-۴-۴ اندازه‌گیری غلظت باکتری در سوسپانسیون اولیه ۵۲
- ۳-۵ روش کلی آزمایش حذف باکتری‌ها توسط میناب ازن ۵۲
- ۳-۶ روش بررسی تأثیر پارامترهای مختلف بر عملکرد میکرو نانو حباب ۵۴
- ۳-۶-۱ بررسی تأثیر غلظت بر حذف کامل باکتری‌ها ۵۴
- ۳-۶-۲ بررسی تأثیر زمان بر روند حذف باکتری‌ها ۵۵
- ۳-۷ روش محاسبه درصد حذف باکتری ۵۵

فصل ۴ نتایج و بحث ۵۷

- ۴-۱ مقدمه ۵۸
- ۴-۲ خصوصیات میناب ازن ۵۸
- ۴-۳ بررسی تأثیر پارامتر غلظت ازن بر حذف کامل باکتری‌ها ۶۰
- ۴-۳-۱ باکتری انتروکوک فکاليس ۶۱
- ۴-۳-۲ باکتری اشريشياکلاي ۶۲
- ۴-۳-۳ باکتری استافيلوکوک اورئوس ۶۴
- ۴-۳-۴ باکتری سودوموناس آئروژینوزا ۶۶
- ۴-۴ بررسی پاسخ باکتری‌ها به میناب ازن و ازن زنی معمولی در غلظت‌های مختلف ۶۸
- ۴-۵ بررسی تأثیر پارامتر زمان بر روند حذف باکتری‌های مورد مطالعه ۷۱
- ۴-۵-۱ غلظت بالای ازن (10 g h^{-1}) ۷۱
- ۴-۵-۲ غلظت متوسط ازن (5 g h^{-1}) ۷۵
- ۴-۵-۳ غلظت پایین ازن ($1/7 \text{ g h}^{-1}$) ۸۲
- ۴-۶ بررسی پاسخ باکتری‌ها به میناب ازن و ازن زنی معمولی در زمان‌های مختلف ۸۹
- ۴-۶-۱ باکتری انتروکوک فکاليس ۹۰
- ۴-۶-۲ باکتری اشريشياکلاي ۹۲

۳-۶-۴ باکتری استافیلوکوک اورئوس ۹۴

۴-۶-۴ باکتری سودوموناس آئروژینوزا ۹۶

فصل ۵ نتیجه گیری و پیشنهادات ۹۹

۱-۵ مقدمه ۱۰۰

۲-۵ جمع بندی نتایج ۱۰۰

۱-۲-۵ جمع بندی مقایسه ی تأثیر میناب ازن و گاز ازن بر حذف باکتری های مورد بررسی ۱۰۰

۲-۲-۵ جمع بندی مقالات در زمینه ی حذف باکتری توسط ازن و میناب ازن ۱۰۲

۳-۵ پیشنهادات برای انجام مطالعات آتی ۱۰۴

مراجع ۱۰۵

فهرست جداول

- جدول ۱-۲ اجزا سلولی باکتری ۱۲
- جدول ۲-۲ مدت زمان زنده ماندن پاتوژن ها در شرایط گوناگون ۲۵
- جدول ۱-۳ مشخصات فنی دستگاه ازن ساز برای تولید غلظت کم $(1 - gh/7)$ و متوسط $(5 gh - 1)$ از ازن ۴۹
- جدول ۱-۴ خصوصیات میکرو نانو حباب های تولیدی ۵۹
- جدول ۱-۵ جمع بندی تحقیقات پیشین ۱۰۲

فهرست اشکال

- شکل ۱-۲ ساختار شماتیک باکتری ۱۱
- شکل ۲-۲ تقسیم دوتایی باکتری ۱۳
- شکل ۳-۲ نمودار فازهای رشد باکتری ۱۴
- شکل ۴-۲ دیواره سلولی باکتری‌ها، الف) گرم مثبت، ب) گرم منفی ۱۶
- شکل ۵-۲ شمایی از ۳ نوع اصلی باکتری (از راست به چپ: کوکوس، اسپیرال، باسیل) ۱۶
- شکل ۶-۲ کلونی‌های باکتری استافیلوکوک اورئوس پس از ۲۴ ساعت انکباسیون در محیط کشت بلاد آگار با قطر ۴-۳ mm ۱۸
- شکل ۷-۲ سویه‌های باکتری سودوموناس آئروژینوزا کشت داده شده در محیط مولر هینتون آگار، الف) قطر؛ ۳-۴ mm ب) بزرگنمایی ۱۰۰۰، سایز $2 \mu m \times 0.6$ ۱۹
- شکل ۸-۲ باکتری اشیریشیاکلائی با بزرگنمایی ۱۰۰۰ ۲۰
- شکل ۹-۲ باکتری انتروکوک فکالیز کشت داده شده در محیط مولر هینتون آگار ۲۰
- شکل ۱۰-۲ مقایسه‌ی سطح مشترک با کاهش قطر حباب ۳۲
- شکل ۱۱-۲ نحوه‌ی حرکت انواع حباب‌ها در سیال ۳۴
- شکل ۱۲-۲ نحوه‌ی تعامل حباب معمولی و میکرو نانو حباب‌ها با ذرات و آلاینده‌ها ۳۵
- شکل ۱-۳ دستگاه تولید میناب، الف؛ نمای روبه رو ب؛ نمای پشت ۴۷
- شکل ۲-۳ دستگاه ازن ساز مورد استفاده برای تهیه غلظت بالای ازن ($10 g h - 1$) ۴۸
- شکل ۳-۳ مشخصات فنی دستگاه ازن ساز مورد استفاده برای تهیه غلظت بالای ازن ($10 g h - 1$) ۴۸
- شکل ۴-۳ دستگاه مورد استفاده جهت تولید ازن در دو غلظت $1/7$ و $5 g h - 1$ ۴۹
- شکل ۵-۳ نحوه‌ی کشت باکتری ۵۱
- شکل ۶-۳ نمونه‌ی پلیت باکتری کشت داده شده ۵۱
- شکل ۷-۳ شمایی از شمارش باکتری‌ها پس از خارج نمودن پلیت‌ها از انکباتور ۵۳
- شکل ۸-۳ شمایی از تهیه سوپانسیون نیم مک فارلند باکتری‌های اشیریشیاکلائی و سودوموناس آئروژینوزا ۵۳
- شکل ۹-۳ شماتیکی از مراحل آزمایش ۵۴
- شکل ۱-۴ سایز-تعداد میکرو نانو حباب‌های ازن تولیدی توسط مولد میناب ۵۹
- شکل ۲-۴ میزان زتا پتانسیل میکرو نانو حباب‌های ازن تولیدی توسط مولد میناب ۶۰
- شکل ۳-۴ تأثیر غلظت ازن بر حذف کامل باکتری انتروکوک فکالیز توسط میناب ازن و ازن: $1/7 g h - 1$ ، Low، Medium، $5 g h - 1$ و $10 g h - 1$ ۶۲

- شکل ۴-۴ تأثیر غلظت ازن بر حذف کامل باکتری اشیریشیاکلای توسط میناب ازن و ازن، $1/7 g h$ ۶۳
- شکل ۵-۴ تأثیر غلظت ازن بر حذف کامل باکتری استافیلوکوک اورئوس توسط میناب ازن و ازن، $1/7 g h$: Low، $5 g h - 1$: Medium و $10 g h - 1$: High ۶۵
- شکل ۶-۴ تأثیر غلظت ازن بر حذف کامل باکتری سودوموناس آئروژینوزا توسط میناب ازن و ازن، $1/7 g h - 1$: Low، $5 g h - 1$: Medium و $10 g h - 1$: High ۶۶
- شکل ۷-۴ مقایسه‌ی پاسخ باکتری‌ها در غلظت بالا ($10 g h - 1$) از ازن در دو روش ازن زنی معمولی و استفاده از میناب ازن ۶۹
- شکل ۸-۴ مقایسه‌ی پاسخ باکتری‌ها در غلظت متوسط ($5 g h - 1$) از ازن در دو روش ازن زنی معمولی و استفاده از میناب ازن ۶۹
- شکل ۹-۴ مقایسه‌ی پاسخ باکتری‌ها در غلظت کم ($1/7 g h - 1$) از ازن در دو روش ازن زنی معمولی و استفاده از میناب ازن ۷۰
- شکل ۱۰-۴ تصویر کلونی‌های باکتری‌های مورد بررسی پس از زمان ۹۰ ثانیه استفاده از غلظت بالا از میناب ازن، الف: انتروکوک فکالیز، ب: اشیریشیاکلای، ج: استافیلوکوک اورئوس، د: سودوموناس آئروژینوزا ۷۲
- شکل ۱۱-۴ روند حذف باکتری‌ها بر حسب زمان در اثر مجاورت با غلظت بالای ازن ($10 g h - 1$)، الف) بر حسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU/mL) ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%) ۷۴
- شکل ۱۲-۴ تصویر کلونی‌های باکتری‌های مورد بررسی در طی زمان‌های مختلف (اعداد نوشته شده در زیر هر تصویر بر حسب دقیقه) پس از استفاده از غلظت بالا ($10 g h - 1$) از ازن معمولی الف: انتروکوک فکالیز، ب: اشیریشیاکلای، ج: استافیلوکوک اورئوس، د: سودوموناس آئروژینوزا ۷۵
- شکل ۱۳-۴ روند حذف باکتری‌ها بر حسب زمان در اثر مجاورت با غلظت متوسط میناب ازن ($5 g h - 1$)، الف) بر حسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU/mL) ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%) ۷۸
- شکل ۱۴-۴ تصویر کلونی‌های باکتری‌های مورد بررسی در طی زمان‌های مختلف (اعداد نوشته شده در زیر هر تصویر بر حسب دقیقه) پس از استفاده از غلظت متوسط ($5 g h - 1$) از میناب ازن الف: انتروکوک فکالیز، ب: اشیریشیاکلای، ج: استافیلوکوک اورئوس، د: سودوموناس آئروژینوزا ۷۹
- شکل ۱۵-۴ روند حذف باکتری‌ها بر حسب زمان در اثر مجاورت با غلظت متوسط ازن ($5 g h - 1$)، الف) بر حسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU/mL) ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%) ۸۱

- شکل ۴-۱۶ تصویر کلونی‌های باکتری‌های مورد بررسی در طی زمان‌های مختلف (اعداد نوشته شده در زیر هر تصویر برحسب دقیقه) پس از استفاده از غلظت متوسط ($1 - 5 g h$) از ازن معمولی الف: انتروکوک فکالیز، ب: اشیشیاکلای، ج: استافیلوکوک اورئوس، د: سودوموناس آئروژینوزا..... ۸۲
- شکل ۴-۱۷ روند حذف باکتری‌ها بر حسب زمان در اثر مجاورت با غلظت پایین میناب ازن ($1 - 1/7 g h$)، الف) برحسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU/mL) ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%). ۸۵
- شکل ۴-۱۸ تصویر کلونی‌های باکتری‌های مورد بررسی در طی زمان‌های مختلف (اعداد نوشته شده در زیر هر تصویر برحسب دقیقه) پس از استفاده از غلظت پایین ($1 - 1/7 g h$) از میناب ازن الف: انتروکوک فکالیز، ب: اشیشیاکلای، ج: استافیلوکوک اورئوس، د: سودوموناس آئروژینوزا..... ۸۶
- شکل ۴-۱۹ روند حذف باکتری‌ها بر حسب زمان در اثر مجاورت با غلظت پایین ازن ($1 - 1/7 g h$)، الف) برحسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU/mL) ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%). ۸۸
- شکل ۴-۲۰ تصویر کلونی‌های باکتری‌های مورد بررسی در طی زمان‌های مختلف (اعداد نوشته شده در زیر هر تصویر برحسب دقیقه) پس از استفاده از غلظت پایین ($1 - 1/7 g h$) از ازن معمولی الف: انتروکوک فکالیز، ب: اشیشیاکلای، ج: استافیلوکوک اورئوس، د: سودوموناس آئروژینوزا..... ۸۹
- شکل ۴-۲۱ روند حذف باکتری انتروکوک فکالیز بر حسب زمان در غلظت‌های مختلف از میناب ازن و ازن معمولی الف) برحسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU/mL) ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%). ۹۱
- شکل ۴-۲۲ روند حذف باکتری اشیشیاکلای بر حسب زمان در غلظت‌های مختلف از میناب ازن و ازن معمولی الف) برحسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU/mL) ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%). ۹۳
- شکل ۴-۲۳ روند حذف باکتری استافیلوکوک اورئوس بر حسب زمان در غلظت‌های مختلف از میناب ازن و ازن معمولی الف) برحسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU / m L) ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%). ۹۵
- شکل ۴-۲۴ روند حذف باکتری سودوموناس آئروژینوزا بر حسب زمان در غلظت‌های مختلف از میناب ازن و ازن معمولی الف) برحسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU /m L) ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%). ۹۷
- شکل ۵-۱ مقایسه‌ی کلی حذف ۴ باکتری توسط میناب ازن و ازن: $1 - 1/7 g h$ Medium, Low : $1 - 5 g h$ High و ۱۰۱

فصل ۱

کلیات

۱-۱ مقدمه

بیمارستان‌ها ارگان‌هایی هستند که با ارائه‌ی خدمات درمانی، نقش مهمی در بالا بردن سطح سلامت جوامع دارند. از جمله‌ی مهم‌ترین عوامل مرگ‌ومیر در بیمارستان‌ها می‌توان به عفونت‌های بیمارستانی اشاره نمود. سالیانه بیماران بسیاری از عفونت بیمارستانی رنج می‌برند که این موضوع سبب ایجاد بار اقتصادی برای جامعه می‌گردد (Sax et al, 2009; ولی زاده حسنلویی و همکاران، ۱۳۹۱). عفونت بیمارستانی در اثر تماس میزبان با عامل ایجاد عفونت به وجود می‌آید. انتقال بیماری‌های عفونی و به‌موازات آن پیشگیری از انتقال، یکی از جنبه‌های مهم درزمینه‌ی ارائه‌ی خدمات درمانی است (آزما و همکاران، ۱۳۹۳).

ضدعفونی کردن یکی از اصول اولیه برای جلوگیری از انتقال پاتوژن‌های بیماری‌زا به افراد است. هرگونه نقص و بی‌توجهی در طی مراحل ضدعفونی کردن تجهیزات پزشکی، سبب ایجاد خطر برای بیمار و افراد مرتبط با وی می‌گردد. برای کاهش میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از روش‌های فیزیکی و شیمیایی گوناگون، استفاده می‌گردد. ازجمله‌ی این روش‌ها می‌توان به استفاده از اشعه ماوراءبنفش، غشاء، فیلتراسیون، حرارت بالا، الکترولیز، ازن زنی، کلرزنی، فشار اسمزی و استفاده از گندزدهای مختلف مانند دکونکس، سایدکس، کرئولین، پراستیک اسید، هیپوکلریت سدیم، میکروتن، آب ژاول و ... اشاره نمود. انتخاب ضدعفونی‌کننده مناسب و به کار بستن روش‌های استاندارد می‌تواند در کاهش عفونت‌های باکتریایی مؤثر باشد (انباری و همکاران، ۱۳۹۳). بسیاری از عفونت‌های بیمارستانی به علت استفاده‌ی نامناسب و ناکافی از مواد گندزدا روی می‌دهد. لذا هدف استفاده از این مواد در درجه‌ی اول جلوگیری و یا کاهش خطر ابتلا به عفونت‌های بیمارستانی است (ولی زاده حسنلویی و همکاران، ۱۳۹۱).

میکرو حباب‌ها، حباب‌هایی با ابعاد ۱۰ الی ۵۰ میکرومتر و نانو حباب‌ها، حباب‌هایی با ابعاد کمتر از ۲۰۰ نانومتر می‌باشند (Agarwal et al, 2011). این حباب‌ها به علت سایز کوچکشان، رفتاری منحصر به فرد دارند که با توجه به آن، دارای کاربردهای گوناگون می‌باشند. ازجمله خواص این حباب‌ها

می‌توان به مواردی مانند: نسبت سطح به حجم بالا، فشار داخلی بالا، پایداری بالا در فاز مایع، نرخ انحلال بالا و ... اشاره نمود. مولدهای گوناگونی مثل مولد چرخشی، فشاری و مولد کاویتاسیونی برای تولید این حباب‌ها وجود دارد (کریمی اندانی و ساغروانی، ۱۳۹۵).

در این تحقیق تأثیر استفاده از تکنولوژی میکرو نانو حباب به‌عنوان گندزدا، جهت مهار رشد و حذف باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا^۱، اشریشیاکلای^۲، استافیلوکوک اورئوس^۳ و انتروکوک فکالیس^۴ (به‌عنوان عوامل ایجاد عفونت‌های بیمارستانی در سطوح بیمارستانی) مورد بررسی قرار گرفته است. باکتری‌های ذکر شده از شایع‌ترین عوامل ایجاد عفونت‌های مختلف بیمارستانی به شمار می‌آیند. به‌طور مثال اشریشیاکلای شایع‌ترین عامل در ایجاد عفونت دستگاه ادراری و سودوموناس عامل ایجاد عفونت‌های ادراری، سیستم تنفسی، عفونت دستگاه گوارش و ... می‌باشند. این باکتری‌ها همچنین می‌توانند با ایجاد بیوفیلم روی سطوح، نسبت به عوامل مختلف ضد باکتریایی مقاوم شوند و سبب افزایش زمان بستری و ایجاد بار اقتصادی گردند. تکنولوژی میکرو نانو حباب به علت مزایای ذکر شده و همچنین سازگاری با محیط‌زیست، خاصیت اکسیداسیون بالا، عدم ایجاد فرآورده‌های جانبی خطرناک و استفاده‌ی آسان، مورد پژوهش قرار گرفت.

۱-۲ بیان مسئله

ازجمله پیامدهای افزایش جمعیت، تمایل به شهرنشینی و ارتقا سطح کیفیت زندگی، می‌توان به افزایش روند تولید فاضلاب اشاره نمود. با توجه به کاهش منابع آبی و در پی آن افزایش سرانه مصرف آب، استفاده مجدد از آب الزامی به نظر می‌رسد. فاضلاب بیمارستانی دارای مقادیر بسیاری از پاتوژن‌ها، مواد دارویی، آنتی‌بیوتیک‌ها و ... می‌باشد. ورود این فاضلاب به محیط‌زیست پیش از تصفیه، سبب آلودگی منابع آب و خاک خواهد شد. هر ساله افراد بی شماری از طریق ورود میکروارگانیسم

¹ *Pseudomonas aeruginosa*

² *Escherichia coli*

³ *Staphylococcus aureus*

⁴ *Enterococcus faecalis*

هایی مانند ویروس‌ها، باکتری‌ها و آغازیان موجود در آب آلوده دچار بیماری می‌گردند (Wanjun et al, 2015). استفاده‌ی سرخود و بیش‌ازحد آنتی‌بیوتیک‌ها، دسترسی آسان به آن‌ها و از سوی دیگر عواملی مانند عدم کارایی مناسب تصفیه‌خانه‌ها و ورود فاضلاب بیمارستانی به فاضلاب شهری، سبب افزایش مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌گردد (هادی و همکاران، ۱۳۹۰). مصرف زیاد آنتی‌بیوتیک‌ها همچنین می‌تواند سبب افزایش تنوع و تعداد باکتری‌های مقاوم گردد. باقیمانده آنتی‌بیوتیک در محیط ممکن است باعث افزایش مقاومت باکتری‌ها شده و تهدیدی جدی برای سلامتی عمومی باشد. امروزه مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان باکتری‌های پاتوژن به مشکلی جدی تبدیل گردیده است. بیماری‌های مسری که در بیمارستان به وجود می‌آید، اغلب حاصل افزایش مقاومت باکتری‌ها هستند (ملکوتیان و همکاران، ۱۳۹۴).

عفونت بیمارستانی را می‌توان به‌عنوان عارضه‌ی جانبی و قابل‌پیشگیری توسط بیمارستان تلقی کرد. عفونت بیمارستانی سبب مشکلات زیادی برای بیماران از جمله طولانی شدن پروسه‌ی درمان، بار مالی و ... می‌گردد (امینی و همکاران، ۱۳۹۴). عفونت‌های بیمارستانی در سرتاسر جهان به‌عنوان معضلی مهم در زمینه‌ی بهداشت عمومی شناخته شده‌اند. طبق اعلامیه‌ی سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۰۵ سالیانه بیش از ۱/۴ میلیون نفر دچار عفونت می‌شوند (براک و همکاران، ۱۳۹۰). عفونت یازدهمین علت مرگ در جهان و پنجمین علت مرگ در بیمارستان‌ها است (ززولی و همکاران، ۱۳۹۳). بر اساس گزارشی در سال ۱۹۹۵ در آمریکا عفونت‌های بیمارستانی هر ۶ دقیقه موجب مرگ ۱ نفر می‌گردد. این رقم برای کشورهای در حال توسعه بین ۲ تا ۴ میلیون در سال است. از ۵-۱۰٪ احتمال بروز عفونت در بیمارستان‌های آمریکا حدود ۱٪ آن موجب مرگ و میر می‌گردد. این درصد برای کشورهای در حال توسعه می‌تواند حتی از ۲۵٪ نیز تجاوز کند و تا مرز ۵۰٪ نیز برسد (ایمانی فولادی و همکاران، ۱۳۸۷).

از مهم‌ترین آلاینده‌های فاضلاب بیمارستانی می‌توان به باکتری‌ها و ویروس‌ها اشاره نمود که می‌توانند خطر بالقوه‌ی انتقال بیماری‌های عفونی را به همراه داشته باشند. باکتری‌ها در اکثر شرایط آب و هوایی و محیطی وجود دارند ولی بیشترین تجمع آن‌ها در فاضلاب بیمارستانی مشاهده می‌گردد.

۳-۱ ضرورت و هدف انجام تحقیق

کمبود منابع آب و آلودگی آب‌های در دسترس (به علت ورود آلاینده‌های مختلف) و از سویی ورود بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها به منابع آب، سبب افزایش مقاومت باکتری‌های موجود می‌گردد. به علت مجاورت طولانی مدت باکتری‌ها با داروهای مختلف موجود در فاضلاب (به‌ویژه فاضلاب بیمارستانی)، باکتری‌ها به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم شده و به‌صورت مخزنی از ژن‌های مقاوم درمی‌آیند. در صورت انتقال ژن‌های مقاوم به باکتری‌های موجود در محیط، از باکتری‌های بیماری‌زا، خطری جدی سلامت جامعه را تهدید خواهد کرد (ملکوتیان و ستاروند، ۱۳۹۳). با توجه به آلودگی ناشی از ورود مواد ضدعفونی‌کننده‌ی گوناگون و افزایش مقاومت باکتری‌ها، استفاده از مواد ضدعفونی‌کننده‌ی جدید که مؤثر، سریع‌العمل و سازگار با محیط‌زیست باشند، ضروری به نظر می‌رسد.

روش‌های اصلی انتقال میکروارگانیسم‌ها عبارت است از تماس، ناقلین، هوا، عوامل مشترک و ذرات معلق که مهم‌ترین آن‌ها تماس است. لذا باید به مقوله‌ی گندزدایی و انتخاب گندزدای مناسب دقت نمود و به این وسیله تا حد زیادی از بروز عفونت‌های بیمارستانی جلوگیری کرد. امروزه از مواد شیمیایی گوناگونی جهت ضدعفونی کردن استفاده می‌گردد. شرکت‌های متفاوت هرکدام محصولاتی با مزایا و معایب خاص خود دارند. این محصولات از لحاظ تأثیر، راندمان، مدت‌زمان مواجهه، تأثیر بر محیط‌زیست و اثر به‌جامانده بر جنس مواد و سایر ویژگی‌ها متفاوت‌اند. تاکنون هیچ محلول ضدعفونی‌کننده‌ای که تمامی خصوصیات موردنظر را داشته باشد، تهیه نشده است. لذا تحقیق بر روی محلول ضدعفونی‌کننده‌ی جدید ضروری به نظر می‌رسد.

- با توجه به مطالب بیان شده هدف کلی این تحقیق، "استفاده از تکنولوژی میکرو نانو حباب در حذف گونه‌های باکتریایی عفونت‌های بیمارستانی" می‌باشد.
- اهداف جزئی زیر در این راستا دنبال خواهد شد:
- بررسی امکان مهار رشد و حذف گونه‌های باکتریایی ناشی از عفونت‌های بیمارستانی با استفاده از میکرو نانو حباب ازن در غلظت‌های متفاوت
 - تأثیر میکرو نانو حباب ازن بر باکتری‌های مذکور در زمان تماس‌های مختلف
 - یافتن مؤثرترین غلظت برای حذف سویه‌های باکتریایی
 - یافتن غلظت بهینه ازن برای از بین بردن باکتری‌ها
 - مقایسه تأثیر میکرو نانو حباب ازن و گاز ازن بر ۴ گونه‌ی باکتریایی مذکور در غلظت‌های متفاوت از ازن

۱-۴ روش انجام تحقیق

تحقیق حاضر طی مراحل زیر انجام می‌پذیرد:

- ۱- جمع‌آوری نتایج و روش‌های مورد استفاده در تحقیقات پیشین
- ۲- تهیه مواد مورد نیاز و آشنایی با روند کار
- ۳- انجام آزمایشات جهت انتخاب و بررسی پارامترهای مؤثر بر فرآیند از بین بردن باکتری‌های پاتوژن
- ۴- بررسی و ارزیابی مؤثرترین غلظت ازن در از بین بردن باکتری‌های مورد بررسی (بین ۳ غلظت مورد بررسی)
- ۵- مقایسه بازده عملکرد میکرو نانو حباب ازن و گاز ازن در حذف باکتری‌های مورد بررسی
- ۶- تجزیه و تحلیل نتایج بدست آمده و ترسیم نمودارها و جداول مربوطه
- ۷- بررسی نهایی و نگارش پایان‌نامه

۱-۵ ساختار پایان نامه

تحقیق حاضر به شیوه‌ی زیر سازمان‌بندی گردیده است:

۱- فصل اول: کلیات

در این فصل از پایان‌نامه به بیان مسئله، ضرورت و هدف انجام تحقیق و روند و ساختار کلی تحقیق اشاره گردیده است.

۲- فصل دوم: مبانی تئوریک و مروری بر مطالعات پیشین

این قسمت از پایان‌نامه شامل توضیحی در مورد باکتری‌ها، روش‌های حذف باکتری، عفونت‌های بیمارستانی و گندزدایی می‌باشد. همچنین مطالعات مشابه پیشین و نتایج تحقیقات درزمینه‌ی موردنظر نیز موردبررسی قرار گرفته است.

۳- فصل سوم: مواد و روش‌ها

در این بخش شرح مواد موردنیاز، وسایل و دستگاه‌های مورداستفاده جهت انجام آزمایش، پروسه‌ی انجام آن و آنالیزهای مربوطه آمده است.

۴- فصل چهارم: بحث و نتایج

این قسمت از تحقیق به بررسی نتایج حاصله، ترسیم جداول، نمودارها و گراف‌ها، تجزیه و تحلیل فرآیندهای انجام‌شده، آنالیزهای انجام‌شده بر روی نمونه‌ها جهت بررسی تأثیر میکرو نانو حباب ازن در مقایسه با گاز ازن در از بین بردن سویه‌های باکتریایی اختصاص یافته است.

۵- فصل پنجم: نتیجه‌گیری و پیشنهادات جهت مطالعات آتی

در این بخش جمع‌بندی نتایج حاصل از آزمایشات انجام‌شده و پیشنهادهایی در ارتباط با استفاده از تکنولوژی میکرو نانو حباب در از بین بردن آلودگی‌های باکتریایی و توسعه‌ی تحقیق حاضر ارائه گردیده است.

فصل ۲

مبانی تئوریک و مروری بر مطالعات پیشین

۲-۱ مقدمه

افزایش روزافزون جمعیت، توسعه شهرنشینی و پیشرفت تکنولوژی، افزایش میزان سرانه مصرف آب، افزایش میزان فاضلاب تولیدی را سبب گردیده است. از سوی دیگر به علت کمبود منابع آب سالم و در دسترس و خطر آلودگی‌های زیست‌محیطی، تصفیه فاضلاب اجتناب‌ناپذیر خواهد بود. به علت عدم پیش‌تصفیه قبل از ورود فاضلاب بیمارستانی به فاضلاب شهری، مشکلات بهداشتی ناشی از وجود عوامل میکروبی امروزه گریبانگیر جامعه شده است (ملکوتیان و همکاران، ۱۳۹۴). در این فصل به معرفی یوکاریوت‌ها، پروکاریوت‌ها، باکتری‌ها، طبقه‌بندی آن‌ها، نمودار رشد باکتری، عفونت‌های بیمارستانی، روش‌های پاکسازی عفونت‌های بیمارستانی، گندزدایی، معرفی تکنولوژی میکرو نانو حباب و بررسی تحقیقات پیشین انجام شده در زمینه جلوگیری از عفونت‌های بیمارستانی و کاربردهای میکرو نانو حباب در این زمینه پرداخته می‌شود.

۲-۲ پروکاریوت‌ها

موجودات زنده برحسب ساختار سلولی به دودسته‌ی یوکاریوت‌ها^۱ و پروکاریوت‌ها^۲ تقسیم‌بندی می‌شوند. سلول‌های پروکاریوت، ساده‌تر از یوکاریوت می‌باشند. DNA پروکاریوت‌ها به صورت بسته‌ای حلقوی به نام نوکلئوتید^۳ شناخته می‌شود که حامل اطلاعات وراثتی و ژنتیکی می‌باشد. پروکاریوت‌ها هسته‌ی واقعی ندارند و به صورت جنسی تولیدمثل انجام نمی‌دهند. تولید مثل آن‌ها غیرجنسی است و معمولاً به صورت تقسیم دوتایی است که پس از همانندسازی و مضاعف شدن کروموزوم‌ها صورت می‌گیرد. طبق طبقه‌بندی ذکر شده باکتری‌ها نیز در رده‌ی پروکاریوت‌ها قرار می‌گیرند (Brooks et al, 2013).

¹ Eukaryote

² Prokaryote

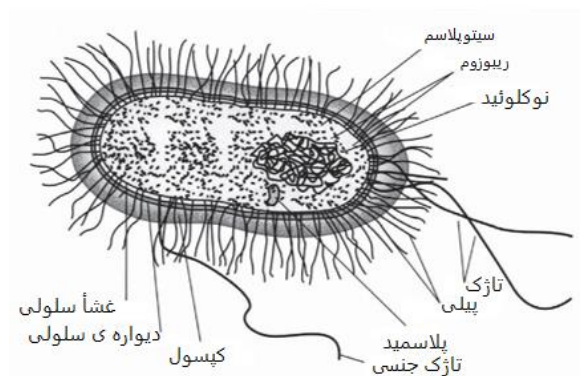
³ Nucleotide

۲-۳ باکتری‌ها

باکتری‌ها فراوان‌ترین و قدیمی‌ترین موجودات تک‌سلولی کره‌ی زمین هستند. باکتری ارگانیسمی ساده و تک‌سلولی است. به دلیل وجود هسته، دستگاه گلژی و شبکه اندوپلاسمی در باکتری، فعالیت‌های متابولیکی باکتریایی در سیتوپلاسم و پوشش سلولی انجام می‌شوند. باکتری‌ها فاقد هسته حقیقی بوده و تحت عنوان پروکاریوت‌ها طبقه بندی می‌شوند. باکتری‌ها در محیط‌های با شرایط مختلف ساکن می‌شوند و در هوا، آب و به‌ویژه روی سطوح می‌توانند یافت شوند. برخی از آن‌ها در انسان و حیوانات و گیاهان بیماری‌زا هستند. تعداد زیادی از باکتری‌های موجود در بدن به دلیل اثرات حفاظتی دستگاه ایمنی، بی‌زیان بوده و تعداد کمی نیز سودمند هستند. می‌توان گفت بدون فعالیت باکتری‌ها، حیات بر روی زمین مختل می‌گردد.

۲-۳-۱ ساختار باکتری‌ها

ساختار باکتری‌ها به‌صورت مختصر در شکل ۱-۲ و جدول ۱-۲ آورده شده است.



شکل ۱-۲ ساختار شماتیک باکتری (Brooks et al, 2013)

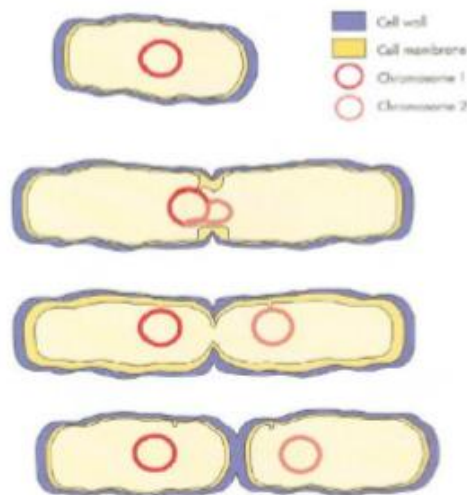
جدول ۲-۱ اجزا سلولی باکتری (متکف، ۲۰۰۴)

اجزای سلولی	عملکرد
دیواره سلولی	نیروی لازم برای نگهداری شکل سلول را فراهم می کند و از غشاء سلولی حفاظت می کند. تعدادی از باکتریها می توانند یک لایه پلی ساکارید ضخیم در بیرون لایه سلولی تشکیل دهند که کپسول یا لایه موکولیدی ^۱ نامیده می شود.
غشاء سلولی	کنترل عبور مواد مغذی و آلی محلول به داخل سلول و مواد زائد و محصولات سوخت و ساز را به بیرون سلول بر عهده دارد.
سیتوپلاسم	شامل مواد سلولی است که عملیات سلولی را انجام می دهند که حاوی آب، مواد مغذی، آنزیم ها، ریبوزوم و مولکولهای آلی کوچک است.
غشاء سیتوپلاسمی	شامل مواد ذخیره ای است که می تواند کریبن، مواد مغذی یا انرژی را فراهم کند. اینها ممکن است ترکیبات کربوهیدراته مانند پلی هیدروکسی بوتیرات یا گلیکوژن، پلی فسفات، لیپیدها و گرانول های سولفور باشد.
DNA	یک مولکول مارپیچ شکل دو رشته ای است که شامل اطلاعات ژنتیکی برای تعیین نوع پروتئین سلول و آنزیم های تولیدی است.
DNA پلاسمید	مولکولهای دایره ای کوچک DNA که می تواند مشخصات ژنتیکی باکتری را مشخص کند.
ریبوزوم	ذراتی در سیتوپلاسم است که از RNA و پروتئین تشکیل می شوند و مکانهایی برای تولید پروتئین می باشند.
تاژک	ساختار مویی شکل پروتئینی است که از غشاء سیتوپلاسمی در طولهای مختلف از سلول باکتری بوجود می آید و یا چرخش یا سرعت بالا باعث حرکت می شود.
پیلی و fimbriae	ساختار مویی شکل پروتئینی کوچکی است (پیلی طولانی تر است) که باکتری را قادر می سازد تا به سطح بچسبد، پیلی همچنین، باکتری را قادر می سازد تا به هر چیز دیگر متصل شود.

۲-۳-۲ تکثیر باکتری ها

باکتری ها می توانند به شیوه های مختلفی بالاخص تقسیم دوتایی تکثیر یابند. باکتری های مطرح در علم پزشکی، عموماً به وسیله ی تقسیم دوتایی تکثیر می شوند. در این نوع تقسیم، باکتری به شرط وجود شرایط مناسب (وجود مواد غذایی، دمای مناسب، عدم وجود ترکیبات شیمیایی مضر و ...) در هر بیست دقیقه، طویل شده و به دو قسمت نسبتاً مساوی تقسیم می شود. پس از تکمیل دیواره، یک کروموزوم دختر به هریک از سلول ها انتقال یافته و سلول ها جدا می شوند. لذا باکتری به صورت لگاریتمی تکثیر می شود (یک باکتری تبدیل به دو باکتری و سپس به چهار باکتری و به همین ترتیب تکثیر می شوند). در صورت مساعد نبودن شرایط، باکتری پوشش ضخیمی دورتادور خود پدید می آورد که به آندوسپور (هاگ درونی) معروف است. آندوسپور، از باکتری در برابر شرایط نامساعد حفاظت

کرده و ممکن است صدها سال بعد در صورت مناسب شدن شرایط زیست، باکتری فعالیت خود را از سر گیرد (متکف و همکاران، ۲۰۰۴).

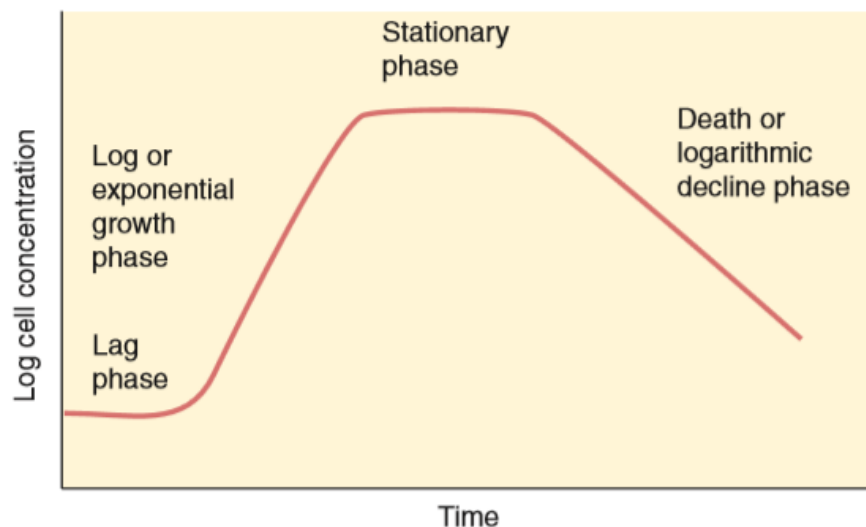


شکل ۲-۲ تقسیم دوتایی باکتری (فلاح و همکاران، ۱۳۹۵)

۲-۳-۳ مراحل رشد باکتری

مراحل رشد باکتری در شکل ۲-۳ آورده شده است و شامل مراحل زیر می‌باشد (متکف و همکاران، ۲۰۰۴).

۱- مرحله تأخیری (Lag phase): زمانی که باکتری‌ها به محیط رشد جدید منتقل می‌شوند، در طی مرحله مقدماتی باکتری‌ها می‌بایست خود را با شرایط جدید انطباق دهند. ممکن است تغییراتی در درجه حرارت، دسترس‌پذیری مواد غذایی یا غلظت مواد زائد، ایجاد شده باشد. هریک از شرایط جدید می‌تواند سبب سرکوبی یا فعال‌سازی ژن‌ها گردد. در این مرحله باکتری‌ها از نظر متابولیسمی فعال هستند، از نظر اندازه بزرگ‌شده‌اند؛ اما هنوز تقسیم‌نشده‌اند. باکتری در این مرحله، در حال ارزیابی مواد موجود در محیط است و بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد مضر از خود نشان می‌دهد. در طی مرحله تأخیری باکتری‌ها تکثیر نمی‌شوند، لذا تعداد آن‌ها افزایش نمی‌یابد.



شکل ۲-۳ نمودار فازهای رشد باکتری (Brooks et al, 2013)

۲- مرحله رشد لگاریتمی (Log phase): در آغاز تکثیر، مقدار باکتری‌ها به صورت لگاریتمی افزایش می‌یابد. در این مرحله باکتری‌ها فعال‌ترین شکل متابولیکی خود را دارند. سلول‌های باکتری با سرعت ماکزیمم تکثیر می‌یابند؛ زیرا هیچ محدودیتی ناشی از میزان مواد مغذی وجود ندارد. باکتری‌های موجود در سوسپانسیون از لحاظ شکل و اندازه یکسان هستند. لذا تعداد سلول‌ها و جرمشان به طور مساوی افزوده می‌شود. منحنی رشد جرم سلولی در این فاز به صورت لگاریتمی افزایش می‌یابد. باکتری‌ها در این مرحله بیشترین حساسیت را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، عوامل فیزیکی و شیمیایی نشان می‌دهند.

۳- مرحله رشد ثابت (Stationary phase): در طول این فاز، غلظت جرم سلولی به طور نسبی با گذشت زمان ثابت می‌ماند. ایجاد این حالت برای باکتری به عواملی مانند کاهش مواد غذایی موجود در محیط، تولید متابولیت‌های سمی و کاهش میزان اکسیژن برای انواع هوازی بستگی دارد. در این مرحله تعداد باکتری‌های متولدشده برابر با تعداد از بین رفتن آن‌ها است.

۴- فاز مرگ و میر لگاریتمی (Death phase): در آخرین مرحله، کمبود مواد غذایی و تجمع مواد سمی سبب مرگ سریع باکتری‌ها می‌گردد. در فاز مرگ سرعت رشد باکتری‌ها منفی است. تعداد باکتری‌ها به شدت و به صورت لگاریتمی کاهش می‌یابد.

۲-۳-۴ طبقه‌بندی باکتری‌ها

باکتری‌ها بر اساس دیواره‌ی سلولی، متابولیسم، بیماری‌زایی، شیوه‌ی تأمین انرژی، شکل و ... طبقه‌بندی می‌گردند. پوشش سلولی باکتری شامل غشا سلولی و دیواره‌ی سلولی می‌باشد. غشا سیتوپلاسمی ذکر شده از سه بخش شامل پروتئین (۶۰-۷۰٪)، لیپید و فسفولیپید (۲۰-۳۰٪) و کربوهیدرات تشکیل شده است. دیواره‌ی سلولی ساختار کیسه‌مانندی است که سلول را احاطه کرده، سبب استحکام سلول و حفاظت از آن می‌باشد. بر اساس دیواره‌ی سلولی، باکتری‌ها به دو گروه گرم منفی و گرم مثبت تقسیم‌بندی می‌گردند. باکتری گرم مثبت پوششی دولایه دارد. این پوشش شامل غشا سیتوپلاسمی و دیواره‌ی ضخیم سلولی با اتصالات تشکیل شده از پپتیدوگلیکان می‌باشد. در باکتری گرم منفی غشا سیتوپلاسمی، دیواره نازک سلولی و غشا خارجی دارای زوائد بیرونی از جنس لیپوساکارید می‌باشد. در رنگ‌آمیزی باکتری‌ها، باکتری گرم مثبت به رنگ بنفش است. باکتری گرم منفی در اثر رنگ‌آمیزی به رنگ قرمز درمی‌آید. نوع رنگ‌پذیری، مربوط به ویژگی‌های دیواره‌ای آن‌ها است. باکتری‌های گرم منفی به سبب داشتن دیواره‌های ضخیم‌تر نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم‌تر هستند. این باکتری‌ها تنها باکتری‌های دارای غشا خارجی هستند. باکتری‌های گرم مثبت در نتیجه تبادل حرارتی زنده می‌مانند (وزیری و همکاران، ۱۳۹۵). همان‌گونه که در شکل ۲-۴ مشاهده می‌شود، لایه پپتیدوگلیکان در باکتری‌های گرم مثبت، ضخیم‌تر از لایه پپتیدوگلیکان باکتری‌های گرم منفی است. همچنین فقط گرم منفی‌ها دارای غشاء خارجی حاوی لیپوپلی ساکارید و دارای فضای پری پلاسمی می‌باشند (Brooks et al, 2013 ; متکف و همکاران، ۲۰۰۴).



شکل ۲-۴ دیواره ی سلولی باکتری ها، (الف) گرم مثبت، (ب) گرم منفی (Brooks et al, 2013)

از جمله باکتری های گرم منفی می توان به اشیریشیاکلائی، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا^۱، شیگلا^۲، کلبسیلا پنوموئیه^۳ و از باکتری های گرم مثبت می توان به انتروکوک فکالایس، استافیلوکوک، باسیلوس^۴ و کلسترییدیوم^۵ اشاره نمود. بر اساس نیاز به اکسیژن، باکتری ها به سه دسته ی هوازی، بی هوازی و بی هوازی اختیاری و بر اساس شیوه ی تأمین انرژی به دودسته ی اتوتروف و هتروتروف تقسیم بندی می شوند. باکتری ها همچنین بر اساس شکل به ۳ گروه اصلی کوکسی (کروی شکل)، باسیل (میله ای شکل)، اسپیرال (مارپیچی شکل) تقسیم بندی می شوند (شکل ۵-۲).



شکل ۲-۵ شمایی از ۳ نوع اصلی باکتری (از راست به چپ: کوکوس، اسپیرال، باسیل) (Brooks et al, 2013)

¹ Salmonella

² Shigella

³ Klebsiella pneumoniae

⁴ Bacillus

⁵ Clostridium

باکتری‌ها برحسب بیماری‌زایی نیز به دو گروه بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا تقسیم می‌شوند. بیشتر باکتری‌ها مفید یا حداقل غیر بیماری‌زا هستند. از جمله باکتری‌های بیماری‌زا می‌توان به انتروکوک فکالیس، اشریشیاکلای، استافیلوکوک اورئوس، سالمونلا، سودوموناس، کلبسیلاپنومویه و ... اشاره نمود. باکتری‌ها اشکال و اندازه‌های متعددی دارند. اندازه‌ی آن‌ها از ۰/۱۵ میکرومتر که متعلق به مایکوپلاسما^۱ها است تا ۲۵۰ میکرومتر که اسپیروکت^۲ها را در برمی‌گیرد، متغیر است. باکتری‌ها برحسب درجه حرارت موردنیاز جهت رشد به گروه‌های سایکروفیل^۳ (سرمدوست)، مزوفیل^۴ و ترموفیل^۵ تقسیم می‌شوند. سایکروفیل‌ها درجه حرارت بهینه‌ی رشد کمتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد دارند. این درجه بهینه در مزوفیل‌ها ۴۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد و در ترموفیل‌ها برابر با ۶۰-۴۵ درجه می‌باشد.

۲-۳-۵ باکتری‌های مورد بررسی در تحقیق حاضر

باکتری‌های انتخاب شده جهت تحقیق حاضر از عوامل ایجاد عفونت‌های بیمارستانی هستند. در این قسمت اشاره مختصری به مشخصات این باکتری‌ها می‌شود.

استافیلوکوک اورئوس

باکتری کروی شکل با قطر حدودا ۱ μm که عموماً کلونی‌هایی به صورت خوشه انگور تشکیل می‌دهد. پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در انکوباتور قطر آن به ۲ الی ۴ میلی‌متر می‌رسد (شکل ۲-۶). این باکتری پیگمنت‌های زرد متمایل به طلایی ایجاد می‌کند، به همین علت به آن استافیلوکوک طلایی نیز گفته می‌شود. این باکتری گرم مثبت بوده و قادر به حرکت نمی‌باشد. در دمای 42°C و PH ۱۰ رشد می‌کند و دمای بهینه جهت رشد آن ۳۷ درجه سانتی‌گراد است. استافیلوکوک

¹ Mycoplasma

² Spirochaetes

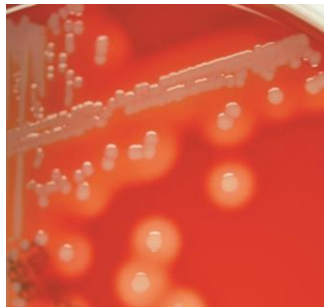
³ Psychophiles

⁴ Mesophyll

⁵ Thermophiles

اورئوس به صورت هوازی و بی هوازی وجود دارد. بیماری‌های ناشی از فعالیت این باکتری به موارد زیر طبقه بندی می‌شوند:

- ۱- پوست و بافت نرم: شامل زخم عفونی، آبسه، دمل و در موارد خاص سلولیت
- ۲- اسکلتی عضلانی: کورک استخوانی، آماس مفاصل، عفونت عضله اسکلتی و ...
- ۳- سیستم عصبی مرکزی: مننژیت، ترومبوفلیت داخل جمجمه (فشار درون جمجمه) و ...
- ۴- تنفسی: التهاب گلو، ورم لوزه، سینوزیت، گوش درد، چرک ریه و ذات الریه
- ۵- درون عروقی: مسمومیت خون، کم خونی و ...
- ۶- ادراری (در موارد نادر)

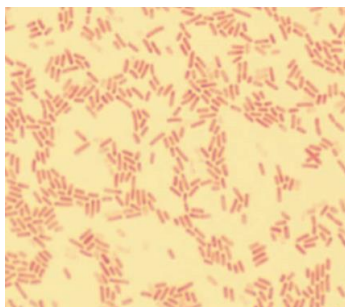


شکل ۲-۶ کلونی‌های باکتری استافیلوکوک اورئوس پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در محیط کشت بلاد آگار^۱ با قطر ۳-۴ mm (Brooks et al, 2013)

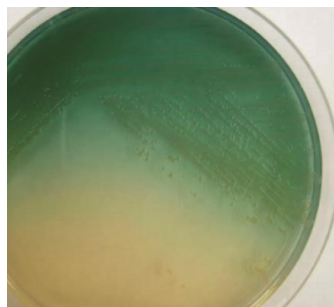
سودوموناس آئروژینوزا

سودوموناس باکتری هوازی و گرم منفی است که عموماً در آب، خاک و سایر محیط‌های مرطوب یافت می‌شود. ابعاد این باکتری $3-1/5 \mu m$ * $0/5$ است (شکل ۲-۷). توسط تازک قادر به حرکت می‌باشد و در گستره دمایی وسیعی ($42-6^{\circ}C$) توانایی رشد دارد. گرچه رشد بهینه در دمای $37^{\circ}C$ مشاهده می‌گردد.

^۱ Blood Agar



ب



الف

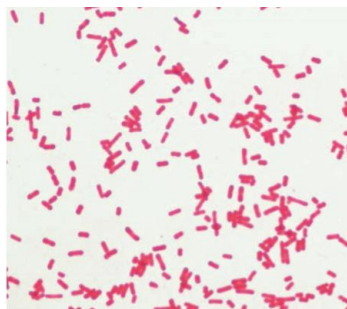
شکل ۲-۷ سویه‌های باکتری سودوموناس آئروژینوزا کشت داده شده در محیط مولر هینتون آگار^۱، الف) قطر: mm ۳-۴ ب) بزرگنمایی ۱۰۰۰، سایز $2 \mu m \times 0.6$ (Brooks et al, 2013)

این باکتری پیگمنت‌های سبز رنگ تشکیل می‌دهد که پس از مدتی به علت اکسید شدن به قهوه ای روشن تغییر رنگ می‌دهند. سودوموناس باکتری‌ای فرصت طلب است که از ضعف سیستم بدنی استفاده کرده و عفونت ایجاد می‌کند. از جمله بیماری‌های ایجاد شده توسط این باکتری می‌توان به عفونت خون، عفونت ریه، زخم‌های عفونی و سوختگی‌های شدید، عفونی شدن مجاری ادراری و ... اشاره نمود.

اشریشیاکلاهی

برخلاف دیگر کلیفرم‌ها، اشریشیاکلاهی انگلی است که درون روده‌ی انسان و حیوانات زندگی می‌کند و در محیط زیست تنها برای چند روز وجود دارد. وجود این باکتری در آب آشامیدنی بیانگر آلودگی‌های انسانی و حیوانی است. به‌طور متداول باکتری اشریشیاکلاهی به‌عنوان یکی از باکتری‌های شاخص آلودگی آب مورد استفاده قرار می‌گیرد (رزولی و همکاران، ۱۳۹۴). این باکتری گرم منفی، میله ای بوده و اندازه آن $3-1 \mu m \times 0.7-0.4$ است (شکل ۲-۸). برخی از گونه‌های آن ساکن و برخی توسط تاژک قادر به حرکت می‌باشند. در دمای $40-10^{\circ}C$ قادر به رشد می‌باشد و دمای بهینه $37^{\circ}C$ می‌باشد. این باکتری سبب عفونت‌های ادراری، خونی، عفونت ناشی از زخم و ... می‌شود.

^۱ Mueller Hinton agar



شکل ۲-۸ باکتری اشیریشیاکلای با بزرگنمایی ۱۰۰۰ (Brooks et al, 2013)

انتروکوک فکالایس

این باکتری بی هوازی اختیاری و گرم مثبت است (شکل ۲-۹). انتروکوک فکالایس جزو باکتری‌های مزوفیل به حساب می‌آید و در دمای 45°C - 10°C قادر به رشد است. این باکتری در برابر PH، فشار اسمزی، غلظت بالای فلزات سنگین، آنتی بیوتیک‌ها و ... مقاوم است. همچنین این باکتری در برابر خشکی تحمل بالایی داشته و می‌تواند ماه‌ها روی سطوح خشک باقی بماند. از جمله‌ی مهمترین عفونت‌های ایجاد شده توسط انتروکوک‌ها می‌توان به عفونت‌های مجرای ادراری، مننژیت، وجود باکتری در خون (باکتریمی)، التهاب قلب (اندوکاردیت) و ... اشاره کرد (Ramsey et al, 2014).

(Ananthanarayan & Paniker, 2005)



شکل ۲-۹ باکتری انتروکوک فکالایس کشت داده شده در محیط مولر هینتون آگار

۲-۳-۶ بیوفیلم

در نتیجه‌ی پیوستن و رشد باکتری‌های روی سطوح، تراکم باکتریایی تشکیل می‌گردد که با نام بیوفیلم شناخته می‌شود. بیوفیلم با ایجاد یک حالت حفاظت‌شده برای رشد، اجازه می‌دهد باکتری‌ها در محیط‌های ضد میکروبی زنده بمانند و باعث افزایش شانس بقای باکتری می‌شود. تشکیل بیوفیلم سبب

کاهش حساسیت باکتری‌ها، به کم‌آبی، بیگانه‌خواری، سمیت فلزی، شرایط اسیدی، آنتی‌بیوتیک‌ها و زیست‌کش‌ها می‌گردد. بیوفیل‌ها با عوامل کنترلی مانند حرارت، دترجنت‌ها، گندزداها و خشک‌کردن به راحتی از بین نمی‌روند. باکتری‌های عامل ایجاد بیوفیل عموماً مقاوم به آنتی‌بیوتیک و ماده‌ی پلیمری خارج سلولی هستند (تیموری و مظفری ثابت، ۱۳۹۶). برخی باکتری‌های موجود در بیوفیل مقاومت چشمگیری در برابر انواع عوامل ضد میکروبی از خود نشان می‌دهند که به مراتب از حالت پلانکتونی (حالت اولیه باکتری‌ها، قبل از اتصال آن‌ها به منظور ایجاد بیوفیل را حالت پلانکتونی گویند). بیشتر است. لذا این بیوفیل‌ها می‌توانند هزاربار در برابر عوامل ضد میکروبی نسبت به هم‌تای پلانکتونی خود مقاوم‌تر گردند (جوادی و همکاران، ۱۳۸۸؛ هاتفی زاده و همکاران، ۱۳۹۵). باوجود اینکه بیوفیل‌های متصل به سطح به‌طور کلی حساسیت کمتری از باکتری‌ها در حالت پلانکتونی دارند، میزان حساسیت کاهش یافته درمورد تمام باکتری‌ها صادق نیست. به‌طور مثال تفاوتی بین مقاومت حالت پلانکتونی و بیوفیل باکتری کلبسیلاپنومویه در معرض هیپوکلریت سدیم و مونوکلروآمین وجود ندارد (Otter et al, 2014).

۲-۴ عفونت‌های بیمارستانی

ازجمله مهم‌ترین علل مرگ‌ومیر در بیماران بستری در بیمارستان‌ها می‌توان به عفونت‌های بیمارستانی اشاره نمود. ازجمله تعاریفی که به عفونت بیمارستانی اطلاق می‌گردد؛ می‌توان موارد زیر را برشمرد (محمدنژاد و همکاران، ۱۳۹۴؛ قربانی بیرگانی و اسدپور، ۱۳۹۰):

۱- عفونت بیمارستانی گونه‌ای از عفونت است که در زمان پذیرش در دوران نهفته بودن قرار نداشته باشد و طی ۴۸ الی ۷۲ ساعت پس از پذیرش در بیمار یا بستگان، کارکنان و عیادت کنندگان دیده شود.

۲- عفونت بیمارستانی گونه‌ای از عفونت است که ۲ الی ۳ روز پس از پذیرش و یا طی دوره‌ی مشخصی پس از ترخیص (۱۰ الی ۳۰ روز) در بیمار ایجاد گردد، به شرطی که در زمان پذیرش

در دوران نهفتگی نباشد. اگر جسم خارجی در بدن بیمار کار گذاشته شود تا یک سال پس از عمل امکان وقوع عفونت بیمارستانی وجود دارد.

۳- عفونت بیمارستانی نوعی از عفونت است که در ۴۸ الی ۷۲ ساعت اول بستری شدن در بیمار ظاهر شود. به شرطی که آن بیماری در زمان پذیرش در دوران کمون قرار نداشته باشد و فرد علائم آشکار عفونت را نداشته باشد.

بر اساس آمار سازمان بهداشت جهانی بیشترین میزان عفونت بیمارستانی در بیمارستان‌های شرق مدیترانه و آسیای شرقی و کمترین عفونت در غرب اقیانوس آرام و اروپا مشاهده شده است (محمدنژاد و همکاران، ۱۳۹۴). طبق اعلام همین سازمان سالیانه بیش از ۲ میلیون مورد عفونت بیمارستانی گزارش می‌شود که هزینه‌ای بالغ بر ۱۷-۲۹ میلیارد دلار به همراه دارد (قربانی بیرگانی و اسدیپور، ۱۳۹۰). ۵ الی ۱۰ میلیارد دلار از این رقم طبق گزارش اداره سلامت آمریکا، مربوط به این کشور می‌باشد (امینی و همکاران، ۱۳۹۴). بر اساس آمار، میزان بروز عفونت در کشورهای مختلف، متفاوت است. به‌طور مثال این رقم در آمریکا بین ۳/۵۸ تا ۱۱/۱٪، در کلمبیا ۸/۴٪، اروپا ۱/۶ الی ۱۳/۲ درصد و برزیل ۵۰/۷-۱۸/۹٪ گزارش شده است. در انگلستان و ایرلند از هر بیمار حداقل یک مورد عفونت بیمارستانی گزارش می‌شود. در آمریکا شیوع عفونت در بخش مراقبت‌های ویژه ۳ برابر بخش‌های دیگر است. عامل ۹۰٪ عفونت‌های بخش مراقبت‌های ویژه باکتری‌ها می‌باشند. بیماران این بخش به علت ضعف عمومی بدن، ضعیف شدن مکانیسم‌های دفاعی، مدت‌زمان بستری طولانی‌تر نسبت به سایر بیماران، در معرض عفونت بیشتری قرار دارند (محمدنژاد و همکاران، ۱۳۹۴). عمده‌ترین عفونت‌های بیمارستانی به ترتیب عفونت‌های ادراری، تنفسی، خون، عفونت محل جراحی و دستگاه گوارشی هستند. ازجمله باکتری‌های شایع در ایجاد عفونت بیمارستانی می‌توان به اشریشیاکلا، سودوموناس آئروژینوزا و اسینتوباکتر^۱ اشاره نمود (براک و همکاران، ۱۳۹۰). سودوموناس

^۱ Acinetobacter

آئروژینوزا پس از اشریشیاکلای و استافیلوکوک اورئوس، به عنوان سومین باکتری فرصت طلب بیمارستانی شناخته شده است (توتونچی و ضیغمی، ۱۳۹۵؛ رجب پور و همکاران، ۱۳۹۲).

نتایج تحقیق امینی و همکاران نیز شایع ترین باکتری‌ها در عفونت ادراری را اشریشیاکلای، در عفونت ریه آسینتوباکتر، در عفونت‌های ناشی از جراحی استافیلوکوک طلایی و کلبسیلا پنوموپیه و در جریان خون، انتروکوک فکاليس معرفی نمود (امینی و همکاران، ۱۳۹۴). اشریشیاکلای جدا شده از انسان مهم‌ترین پاتوژنی است که افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌خصوص نسبت به نسل اول آنتی‌بیوتیک‌ها مانند آمپی‌سیلین و نسل سوم سفالوسپورین‌ها، آمینوگلیکوزیدها و فلورکینولون نشان می‌دهد (ملکوتیان و ستاروند، ۱۳۹۳).

طی بررسی‌ای روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا، محققان دریافتند به علت تنوع ژنتیکی بالای این باکتری نمی‌توان آنتی‌بیوتیکی که به صورت قطعی توانایی درمان داشته باشد را معرفی نمود. زیرا الگوی مقاومتی باکتری سودوموناس آئروژینوزا برای مناطق و افراد مختلف، متفاوت می‌باشد. با این حال سودوموناس آئروژینوزای مورد استفاده در تحقیق بیشترین حساسیت را به آنتی‌بیوتیک کلیستین و پس از آن آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم و پیپراسیلین-تازوباکتام نشان داد (شهرکی زاهدانی و همکاران، ۱۳۹۷).

طی تحقیق انجام‌شده در بیمارستان آریا اهواز عفونت‌های دیده‌شده به شرح زیر می‌باشد: عفونت ادراری ۴۱٪، عفونت تنفسی ۲۸٪، محل جراحی ۲۰/۵٪ و عفونت‌های خونی ۱۰/۵٪ در این تحقیق عوامل بیماری‌زا ایجادکننده عفونت به ترتیب سودوموناس آئروژینوزا ۵۴/۹۱٪، کلبسیلا ۱۷/۲٪ و اشریشیاکلای ۱۵/۷٪ بود. سودوموناس آئروژینوزا شایع‌ترین ارگانیسم گرم منفی عامل عفونت‌های بیمارستانی است که در سوختگی‌های زخم‌های جراحی، افراد با نقص سیستم ایمنی (مانند سرطان و ایدز) دیده می‌شود. عوامل شیوع مقاومت این باکتری عبارت‌اند از استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها، ضعف در جداسازی، قرنطینه بیمارستان و ... (قربانی بیرگانی و اسدپور، ۱۳۹۰).

۲-۵ فاضلاب و پاتوژن‌ها

استفاده مجدد از فاضلاب روشی مطلوب برای حفاظت از محیط‌زیست و منابع آب طبیعی است. فاضلاب درمان نشده می‌تواند مشکلات حادی برای سلامتی انسان و محیط‌زیست ایجاد کند. این امر سبب کم شدن دسترسی به آب‌های پاک می‌گردد. حدود ۹۹ درصد از فاضلاب، آب است و تنها ۱ درصد آن را زباله‌های جامد تشکیل می‌دهد (کریمی اندانی، ۱۳۹۵). در واقع اختلاط بی‌رویه فاضلاب‌های صنایع یا فاضلاب شهری و در ادامه ورود پاتوژن‌ها از فاضلاب شهری به منابع آب، گسترش آن‌ها و ورود آن‌ها به بدن موجودات زنده از جمله مشکلات زیست محیطی عصر حاضر می‌باشد. مدت زمان پایداری پاتوژن‌ها در محیط‌زیست مختلف بوده و روزها و گاهی ماه‌ها به صورت فعال در محیط‌زیست باقی می‌مانند (جدول ۲-۲).

جدول ۲-۲ مدت زمان زنده ماندن پاتوژن ها در شرایط گوناگون (Vigneswaran and Sundaravadivel, 2004)

Type of pathogen	Survival time in days			
	In feces and sludge	In sewage and freshwater	In soil	On crops
1. Viruses Enteroviruses	<100 (<20)	<120 (<50)	<100 (<30)	<60 (<15)
2. Bacteria				
Fecal coliforms	<90 (<50)	<60 (<30)	<70 (<20)	<30 (<15)
Salmonella spp.	<60 (<30)	<60 (<30)	<70 (<20)	<30 (<15)
Shigella spp.	<30 (<10)	<30 (<10)	-	<10 (<5)
Vibrio cholerae	<30 (<5)	<30 (<10)	<20 (<10)	<5 (<2)
3. Protozoa				
Entamoeba-hystolytica cysts	<30 (<15)	<30 (<15)	<20 (<10)	<10 (<2)
4. Helminths				
Ascaris-lumbricoides eggs	many months	many months	many months	<60 (<30)

۲-۶ روش های پاکسازی باکتری ها

جهت حذف باکتری ها روش های مختلف فیزیکی و شیمیایی مانند: فیلتراسیون، اسمز معکوس، گندزدایی با کلر و ... وجود دارد. روش متعارف گندزدایی فاضلاب با کلر مشکلات زیست محیطی (نزول کیفیت شیمیایی پساب و تولید ترکیبات جانبی) و مشکلات بهره برداری (تغییر PH، کدورت، دما، کمیت و کیفیت فاضلاب) را شامل می شود (سادات و همکاران، ۱۳۸۷). در سال های اخیر علم به تشکیل محصولات جانبی هالوژنه، نظیر تری هالومتان ها و تأثیرات منفی آن ها بر سلامت انسان و سمیت کلر در دزهای بالا سبب شد که محققان درصدد یافتن ضد عفونی کننده های جدید و روش های اکسیداسیون پیشرفته همچون استفاده از اشعه فرابنفش، الکترولیز، ازن زنی و ... باشند. اشعه ماوراء بنفش میکروارگانیسم ها را به وسیله اثر متقابل شیمیایی غیرفعال نمی کند؛ بلکه آن ها را به وسیله جذب نور غیرفعال می نماید که سبب واکنش فتوشیمیایی می شود. این اشعه به علت نفوذ در دیواره ی

سلول میکروارگانیسم‌ها، مواد مولکولی ضروری برای عامل سلولی را تغییر می‌دهد (ززولی و همکاران، ۱۳۹۴؛ Metcalf and Eddy, 2004). روش‌های پاکسازی باکتری‌ها در ادامه آورده شده است.

۲-۶-۱ ضدعفونی کردن و گندزدایی

علم میکروبی‌شناسی در سال ۱۶۶۷ و توسط آنتون لیون هوک آغاز گشت. از ابتدای پیدایش دانش میکروبی‌شناسی، ضدعفونی کردن به‌منظور کنترل میکروارگانیسم‌ها نیز شناخته شد. به‌عنوان اولین نمونه‌های ضدعفونی کردن می‌توان به مومیایی کردن اجساد در مصر باستان اشاره نمود. حدود ۱۶۰ سال قبل با پدیدار شدن دانش میکروبی‌شناسی برای کنترل کردن میکروارگانیسم‌ها از ضدعفونی کردن استفاده شد. سملویس و لیستر تعدادی از روش‌ها را برای کنترل اولیه پاتوژن‌ها بکار بستند. ضدعفونی کردن نوین نیز نخستین بار توسط جوزف لیستر با ابداع روش‌هایی جهت کنترل اولیه پاتوژن‌ها مورد استفاده قرار گرفت که شرح آن در مقاله‌ای با نام اصول گندزدایی در عمل جراحی در سال ۱۸۶۷ منتشر گردید. سملویس شستشوی دست با کلرین و لیستر استفاده از اسپری اسید کربولیک برای زخم‌های جراحی را پیشنهاد کردند (ایمانی فولادی و همکاران، ۱۳۸۷). امروزه به‌منظور کنترل آلودگی‌های محیط (سطوح، وسایل و دستگاه‌ها، فضاها، اماکن درمانی و ...)، کاهش خطر ایجاد میکروب‌های مقاوم، استفاده کمتر از آنتی‌بیوتیک‌ها، اثربخشی بیشتر آن‌ها و کاهش مرگ و کاهش هزینه‌ها، کاربرد مناسب گندزدا در بیمارستان و مراکز درمانی ضرورت دارد. سطوح به‌عنوان جزئی از فرایند در انتقال میکروارگانیسم‌ها مورد توجه قرار می‌گیرند، زیرا آن‌ها با پوست دست در تماس می‌باشند. برخی از مواد ضدعفونی‌کننده دارای آثار زیان باری برای انسان هستند، به‌طور مثال فرآورده‌های کلر که می‌توانند سبب ایجاد آسم گردند و یا ارتوفیل‌فنول که می‌تواند سبب ابتلا به سرطان گردد. برخی از این مواد نیز سبب حساسیت‌های پوستی و ایجاد خطرات زیست‌محیطی می‌شوند. کلر به دلیل ارزانی و سهولت استفاده از مدت‌ها پیش به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین مواد گندزدا محسوب می‌شود (ززولی و همکاران، ۱۳۹۴؛ سادات و همکاران، ۱۳۸۷؛ Metcalf and 2004)

Eddy, عدم توجه به خواص شیمیایی گندزدا می‌تواند سبب کم شدن اثر آن گردد؛ به‌طور مثال استفاده هم‌زمان از شوینده‌های آنیونی و کاتیونی یا حضور ترکیبات آلی مخصوصاً در محلی که با الکل، فنل یا گلو تارآلدئید گندزدایی می‌شود، به‌شدت سبب کاهش فعالیت آن‌ها می‌گردد. با افزایش مدت‌زمان مواجهه پاتوژن‌ها با مواد ضدعفونی‌کننده، احتمال حذف میکروارگانیسم‌ها افزایش می‌یابد. افزایش PH نیز در فعالیت ضد میکروبی ترکیبات فنولی تأثیر معکوس و در ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی و گلو تارآلدئید اثر مثبت دارد. در صورت ثابت بودن سایر متغیرها، افزایش غلظت ماده‌ی گندزدا اثربخشی آن را افزایش می‌دهد. تنها مورد استثنا در این زمینه ترکیبات ید دار است. در مورد افزایش اثربخشی رابطه خطی ثابتی وجود ندارد. به‌عنوان مثال در صورت دو برابر شدن غلظت ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی زمان نصف می‌شود درحالی‌که اگر غلظت محلول دارای فنول نصف شود زمان مورد نیاز ۶۴ برابر می‌شود (ززولی و همکاران، ۱۳۹۳). اثربخشی ضدعفونی‌کننده به عواملی همچون نوع تجهیزات، مواد مصرفی، مدت‌زمان مواجهه و ... دارد. با توجه به وجود باکتری در محیط‌های متفاوت روش‌های متنوعی برای حذف آن‌ها موجود است. فرآیندهای معمول گندزدایی مانند استفاده از کلر، اشعه ماوراءبنفش و ... تأثیر کمی بر ژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک دارند (ملکوتیان و ستاروند، ۱۳۹۳). نتایج مطالعات صورت گرفته روی مواد گندزدای مصرفی برای مدت طولانی بیان کرد این مواد ایجاد محصولات جانبی می‌کنند. لذا تلاش در جهت جایگزینی روش‌های جدیدی که دارای اثرات جانبی کمتر باشند، مورد توجه قرار گرفته است.

از بین بردن یا غیرفعال کردن میکروارگانیسم‌های پاتوژن نظیر باکتری‌ها، ویروس‌ها، انگل‌ها و ... از سطح وسایل، گندزدایی نام دارد. گندزدایی با توجه به فاکتورهایی همچون نوع میکروارگانیسم، شدت آلودگی، غلظت، مدت تماس، دما، میزان قلیائیت و ... به ۳ گروه زیر تقسیم می‌شود (میرشکاری، ۱۳۹۷).

الف) گندزدایی سطح پایین: تأثیر خوبی بر روی باکتری‌های گرم مثبت دارند اما تأثیر کمی بر باکتری‌های گرم منفی و ویروس‌ها دارند، مانند ترکیبات فنل.

ب) گندزدایی سطح متوسط: سبب از بین رفتن کلیه ی باکتری‌های پاتوژن می‌شوند ولی تمام ویروس‌ها را از بین نمی‌برند و تأثیری بر اسپور باکتری‌ها ندارند مانند کلر و الکل.

ج) گندزدایی سطح بالا : منجر به کشته شدن طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها مانند باکتری، ویروس، قارچ و مخمرها در زمان مواجهه کمی می‌گردند مانند هیدروژن پراکسید.

ازجمله معیارهای انتخاب یک گندزدای مناسب می‌توان به دسترسی، سهولت تولید، قدرت گندزدایی، تشکیل محصولات جانبی گندزدا در کمترین حد ممکن، هزینه‌ی مناسب و عدم ایجاد اختلال در کیفیت آب اشاره نمود (غلامی و همکاران، ۱۳۹۰).

ویژگی‌های لازم برای یک گندزدای مناسب (میرشکاری، ۱۳۹۷) :

- ۱- در آب محلول باشد.
- ۲- گستره‌ی عملکردی وسیعی داشته باشد.
- ۳- روش استفاده از آن آسان باشد
- ۴- فاقد بوی زننده و نامطبوع باشد
- ۵- برای چشم، پوست و دستگاه تنفسی محرک نباشد.
- ۶- میکروارگانیسم‌ها به آن مقاوم نباشند.
- ۷- با سطوح سازگاری داشته باشد و سبب خوردگی فلزات و یا از بین رفتن وسایل پزشکی نگردد.
- ۸- ارزان و در دسترس باشد.
- ۹- سمی نباشد.
- ۱۰- استفاده همزمان از آن همراه مواد پاک‌کننده امکان‌پذیر باشد.
- ۱۱- باثبات باشد. در طول زمان نگهداری تمایل به جامد شدن و یا ته‌نشینی نداشته باشد (هموژن باشد).
- ۱۲- خاصیت خود را در برابر مواد آلی (مانند خون، خلط، ادرار و ...) حفظ کند.
- ۱۳- خواص ضدعفونی‌کنندگی قابل‌قبول داشته باشد.

۱۴- غیرقابل اشتعال باشد (نقطه‌ی اشتعال آن بالای ۶۵ درجه سانتی گراد باشد).

در تحقیقی از ۶۱ نمونه‌ی باکتریایی برداشت‌شده از سطوح، ۹۵٪ هنگام کشت با مواد مغذی رشد کردند. به دلیل عدم وجود باکتری‌های پلانکتونی، باکتری‌ها قادر به رشد نبودند. پس از غوطه‌ور ساختن سطوح نمونه در مواد مغذی و قرار دادن نمونه‌ها داخل انکوباتور، گونه‌های مختلف باکتری از سطوح شناسایی شدند. ۷۶٪ از نمونه‌ها طی ۲۴ ساعت اولیه رشد کردند. نمونه‌ها با دوره‌ی کمون شش‌ماهه در محلول گلووتارالدئید ۲/۵٪ تهیه و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در غلظت‌های متوالی اتانول (۱۰٪، ۲۵٪، ۵۰٪، ۷۰٪، ۹۰٪ و ۱۰۰٪) قرار گرفتند. تقریباً تمام نمونه‌ها بیوفیلیم‌های خشک را دربر داشتند. دلیل رشد باکتری‌ها، وجود باکتری‌های شسته نشده در سطوح خشک شناسایی شد و توسط میکروسکوپ الکترونی تجزیه، تحلیل و تأیید گشت (Ledwoch et al, 2018).

سحرخیزان و همکاران به بررسی تأثیر ضدعفونی‌کننده‌های جدید سانوسیل، آلپروساید، بیبفورت و ژاول‌دوز در مقایسه با ۲ ضدعفونی‌کننده‌ی قدیمی میکروتن و دکونکس بر روی ۱۴ گونه از پاتوژن‌ها پرداختند. آلپروساید دارای بیشترین تأثیر و پس از آن ژاول‌دوز و سانوسیل و در آخر بیبفورت با کمترین تأثیر مشاهده شد. همچنین در بین ضدعفونی‌کننده‌های قدیمی دکونکس اثربخشی بسیار خوبی داشت اما میکروتن در رده‌ی ضدعفونی‌کننده‌های ضعیف طبقه‌بندی گردید. همچنین نتایج نشان داد که ژاول‌دوز دارای بیشترین تأثیر بر باکتری اشیریشیاکلای و بیبفورت به‌عنوان کم‌اثرترین ضدعفونی‌کننده عمل کرد. برای باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه نیز ژاول بهترین تأثیربخشی و میکروتن و سانوسیل کمترین تأثیر را داشتند (سحرخیزان و همکاران، ۱۳۹۳).

در تحقیقی دیگر محققان با بررسی تأثیر ضدعفونی کردن کاتترها^۱ به‌وسیله‌ی اتانول (اتیل الکل و ایزوپروپیل الکل)، بتادین ۱۰٪ (بتادین یک کمپلکس ید محلول در آب است که باکتری‌ها و اسپورها را از بین می‌برد) و ترکیب کلر هگزیدین گلوکونات ۲٪ با اتانول ۳۵٪ (این ترکیب جهت ضدعفونی کردن دست قبل از عمل جراحی بکار می‌رود) در پیشگیری از ابتلا بیماران به عفونت و فلبیت (التهاب

^۱ Catheter

سیاهرگ) پرداختند. بین ابتلا به عفونت و سن بیمار، محل ورود کاتتر و جنس آن ارتباطی مشاهده نگردید. نتیجه‌ی این آزمایشات بیان کرد تنها در هنگام استفاده از بتادین، ۷٪ احتمال ایجاد عفونت وجود دارد (شامی و همکاران، ۱۳۹۴).

طی بررسی‌های یوسفی مشعوف و همکاران بر روی تأثیر مواد ضدعفونی‌کننده که در دو مکان مجزا (بیمارستان و آزمایشگاه میکروپزشناسی دانشکده پزشکی) انجام گردید، اثربخشی فرمالدئید ۸٪ و کلوتارالدئید ۲٪ بر روی باکتری اشریشیاکلای و استافیلوکوک اورئوس قابل قبول بود. اثربخشی به‌آسا و کرئولین نامطلوب ارزیابی گردید. در میان آنتی‌سپتیک‌ها نیز کلر هگزیدین و ساوین اثربخشی بهتر و الکل ۷۰٪ اثربخشی کمی را نشان داد (یوسفی مشعوف و همکاران، ۱۳۸۵).

در مطالعه‌ای روی باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس (به‌عنوان باکتری مقاوم گرم مثبت)، سودوموناس آئروژینوزا و آسینتوباکتر کلکواستیکوس^۱ (به‌عنوان باکتری‌های گرم منفی مقاوم) از ۵ ضدعفونی‌کننده‌ی آنیزوسین، سولفانیدس، میکروتن، کولوئید و نانوسید نتایج زیر حاصل شد. ۱- باکتری گرم مثبت نسبت به مواد ضدعفونی‌کننده حساس‌تر از باکتری‌های گرم منفی اند. این مقاومت مربوط به غشاء خارجی است. ۲- نانوسید که از ترکیبات نقره انتخاب‌شده بود بر باکتری‌ها تأثیر نداشت. ۳- کولوئید ماده‌ی ضدعفونی‌کننده‌ی مناسبی ارزیابی نشد. این ضدعفونی‌کننده در زمان پیشنهادی سازنده فقط از رشد باکتری‌های گرم مثبت جلوگیری کرد و در جمعیت بالای باکتریایی قادر به کنترل رشد باکتری‌های گرم منفی نبود. ۴- در مورد آنیزوسین نیز زمان پیشنهادی بر گرم منفی‌ها تأثیری نداشت و تنها از رشد گرم مثبت‌ها جلوگیری کرد. ۵- میکروتن و سولفانیدس ضدعفونی‌های خوبی معرفی شدند زیرا در زمان پیشنهادی بر هر نوع باکتری تأثیرگذار بودند. میکروتن در زمان کم‌تری از سولفانیدس باعث مهار باکتری‌ها گردید (ایمانی فولادی و همکاران، ۱۳۸۷).

¹ Acinetobacter calcoaceticus

طبق بررسی محمدنژاد و همکاران بر روی عفونت‌های بیمارستانی، روش‌های پیشگیری از آن به قرار زیر بیان گردید: ۱- محدود کردن انتقال میکروارگانیسم که یکی از راه‌های آن استفاده از ضدعفونی‌کننده‌های مناسب است. ۲- استفاده از ضدعفونی‌کننده‌های مناسب برای دست ۳- تلاش تیمی برای کنترل عفونت ۴- رعایت کلیه نکات سترون سازی واحد گندزدایی ۵- استفاده مناسب از آنتی‌بیوتیک‌ها ۶- دفع بهداشتی زباله و ... (محمدنژاد و همکاران، ۱۳۹۴).

در نتیجه‌ی بررسی هاتفی زاده و همکاران بر روی حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد و حداقل غلظت کشندگی دارو بالاترین میزان MIC^۱ مربوط به ساولن و کمترین آن مربوط به دکونکس بود. طی این بررسی مؤثرترین ماده‌ی ضدعفونی‌کننده برای MRSA، ساولن معرفی شد (هاتفی زاده و همکاران، ۱۳۹۵).

۷-۲ فناوری میکرو نانو حباب

توسعه در تحقیقات برای فناوری نانو در طول ۲۰ سال گذشته به‌طور نمادین گسترش یافته است. بسیاری از دانشمندان پیش‌بینی می‌کنند که می‌توان از فناوری نانو برای حل طیف وسیعی از فعالیت‌های پزشکی استفاده کرد (Tildesley, 2010). حباب‌هایی با قطر بین ۱۰ تا ۵۰ میکرومتر را میکرو حباب و حباب‌هایی با قطر کوچک‌تر از ۲۰۰ نانومتر را نانو حباب گویند (Liu, 2011 ; Rajam et al, 2016).

میکرو نانو حباب تکنولوژی جدیدی است که در آن می‌توان گازهای مختلف (اکسیژن، هوا، ازن و ...) را به‌صورت حباب‌هایی با قطر نانومتری وارد محلول‌های آبی کرد. میکرو نانو حباب‌ها به علت سائز کوچکی‌شان دارای ویژگی‌های مخصوصی هستند. از جمله‌ی این خواص می‌توان به موارد زیر اشاره نمود:

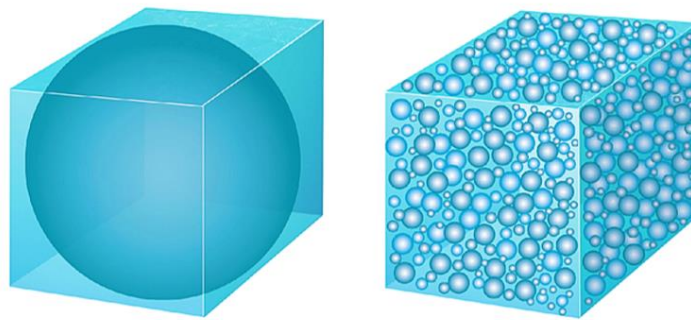
¹ Minimum inhibitory concentration

۲-۷-۱ نسبت سطح به حجم بالا

میکرو نانو حباب‌ها دارای سطح ویژه بالایی هستند. این سطح برای حباب‌های کروی طبق رابطه ۱-۲ تعریف می‌گردد که در آن a سطح ویژه، A سطح، V حجم و d_b قطر حباب می‌باشند.

$$a = \frac{A}{V} = \frac{\pi d_b^2}{\frac{\pi d_b^3}{6}} = \frac{6}{d_b} \quad \text{رابطه ۱-۲}$$

همان‌طور که مشاهده می‌شود قطر حباب و سطح ویژه نسبت عکس دارند. لذا با کاهش قطر حباب، سطح ویژه افزایش می‌یابد. شکل ۱۰-۲ نشان‌دهنده‌ی افزایش سطح مشترک با کاهش قطر حباب در حجم مشخص، است.



شکل ۱۰-۲ مقایسه‌ی سطح مشترک با کاهش قطر حباب (Klopfer, 2015)

افزایش سطح سبب افزایش امکان تبادل بین دو فاز مایع و گاز و افزایش امکان برخورد حباب‌ها با آلاینده می‌گردد. همچنین با کاهش قطر حباب‌ها، نرخ برخورد و در نتیجه راندمان فرایند نیز افزایش می‌یابد (Klopfer, 2015).

۲-۷-۲ فشار داخلی بالا

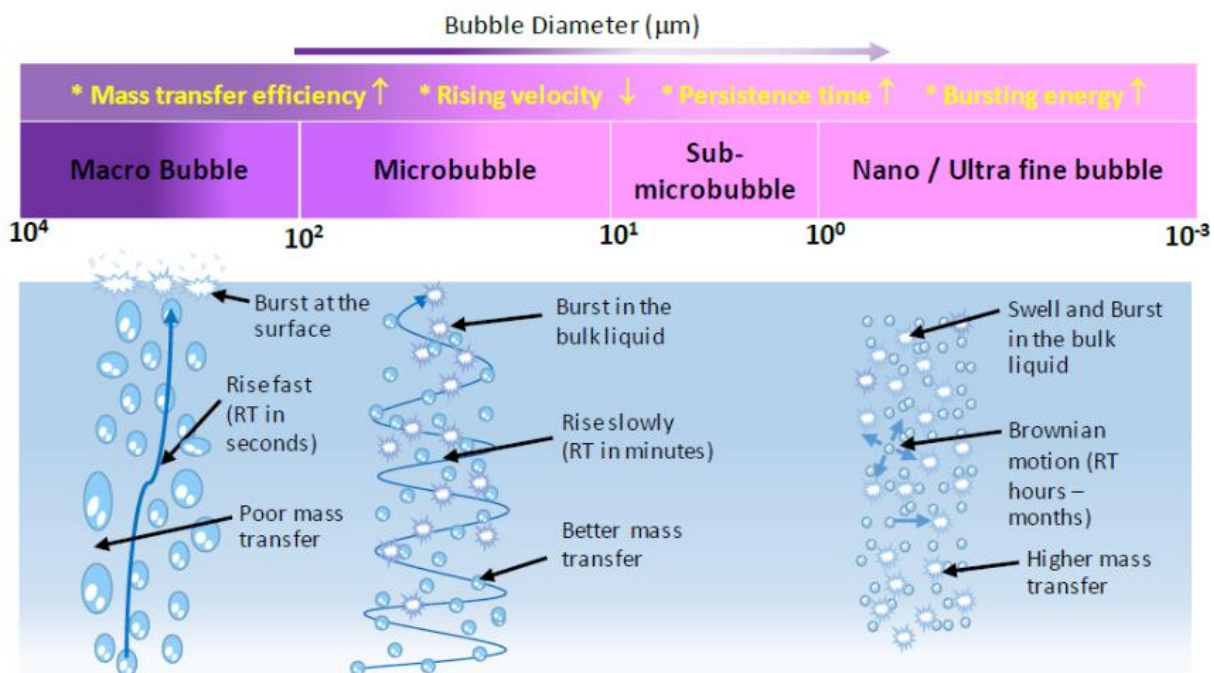
فشار داخلی حباب‌ها طبق معادله یانگ-لاپلاس (رابطه ۲-۲) محاسبه می‌گردد. با توجه به این رابطه مشاهده می‌شود که فشار داخلی حباب به علت تنش سطحی (σ) بالاتر از فشار محیط اطراف است.

$$P_g = P_l + \frac{4\sigma}{d_b}$$

در رابطه ۲-۲ P_g فشار گاز، P_l فشار مایع (Pa)، σ کشش سطحی ($\text{N} \cdot \text{m}^{-1}$) و d_b قطر حباب است. فشار داخلی حباب با قطر آن رابطه عکس دارد. لذا فشار داخلی میکرو نانو حباب‌ها به علت سایز کوچک‌تر، بیشتر از فشار داخلی میلی حباب‌ها است. افزایش فشار داخلی سبب افزایش ظرفیت انحلال میکرو نانو حباب‌ها در سیال می‌گردد (Atkins and de paula, 2006).

۲-۷-۳ سرعت بالا آمدن آهسته

حباب معمولی پس از تشکیل شدن، مسیر مستقیم به سمت بالا را به سرعت طی کرده و با رسیدن به سطح آب متلاشی می‌گردد. در مورد میکرو نانو حباب‌ها نیز مسیر به سمت بالا ولی با سرعت بسیار آهسته‌تر طی می‌شود. میکرو نانو حباب‌ها عموماً به علت غلبه نیروی کشش سطحی سیال پایه بر اختلاف وزن کره، بسیار آهسته حرکت کرده و درون آب متلاشی می‌شوند. شکل ۲-۱۱ نحوه حرکت حباب و میکرو نانو حباب را نمایش می‌دهد.



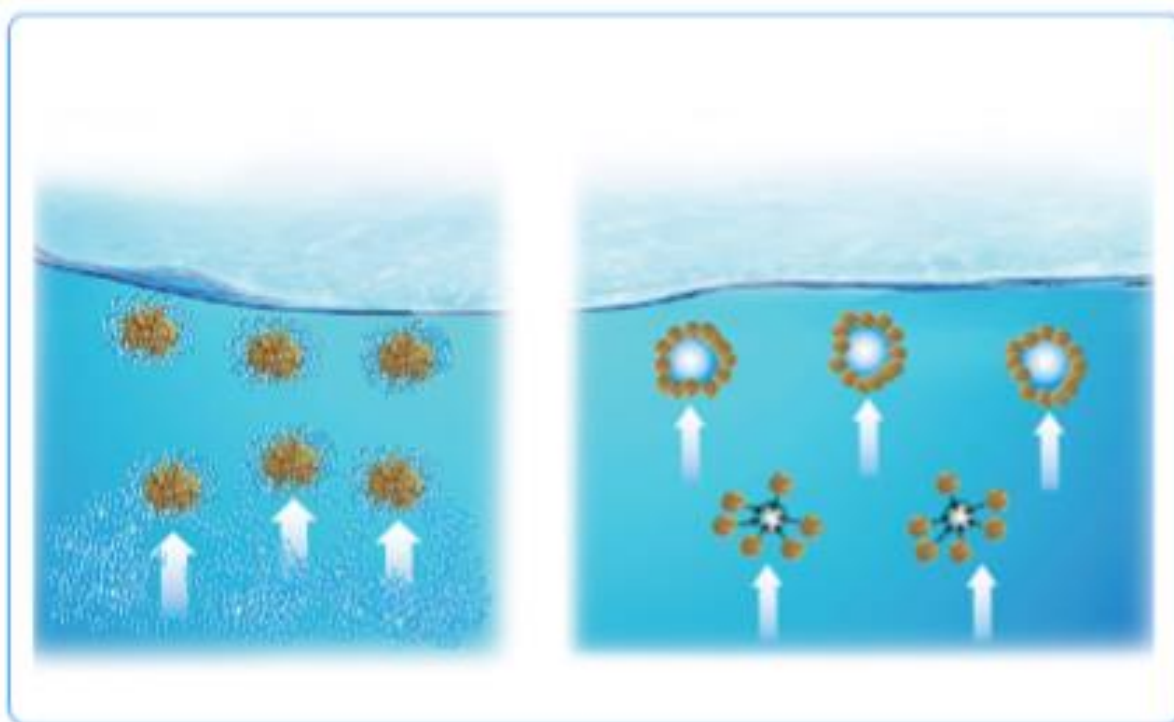
شکل ۲-۱۱ نحوه‌ی حرکت انواع حباب‌ها در سیال (Temesgen et al, 2017)

سرعت نهایی برای حباب‌های کروی با قطر کوچک تنها در صورت ثابت بودن سطح توسط قانون استوک قابل بررسی می‌باشد. در مواردی که سطح متحرک باشد از رابطه Hadamard-Rybczynski (رابطه ۲-۳) استفاده می‌شود.

$$U_b = \frac{\rho g d_b^2}{12 \mu} \quad \text{رابطه ۲-۳}$$

در این رابطه U_b سرعت نهایی بالا آمدن میکرو نانو حباب، ρ چگالی مایع (Kg/m^3)، g شتاب جاذبه زمین (m/s^2)، d_b قطر حباب (m) و μ ویسکوزیته مایع (Pa.s) می‌باشد.

شکل ۲-۱۲ نیز نحوه‌ی تعامل حباب معمولی و میکرو نانو حباب‌ها با ذرات و آلاینده‌ها را نمایش می‌دهد.



شکل ۲-۱۲ نحوه‌ی تعامل حباب معمولی و میکرو حباب‌ها با ذرات و آلاینده‌ها (Klopfer, 2015)

۲-۷-۴ بار سطحی منفی

به بار سطح ذرات موجود در یک سیال زتا پتانسیل گفته می‌شود. زتا پتانسیل خاصیتی فیزیکی برای ذرات باردار است که اندازه‌گیری آن از شاخص‌های مهم در پایداری مواد کلوئیدی به شمار می‌رود. با توجه به اندازه‌گیری زتا پتانسیل، سطح میکرو حباب‌ها در گستره وسیعی از PH، بار سطحی آن‌ها منفی است (Ushikubo, 2010).

۲-۷-۵ کاهش اصطکاک کششی

نیروی اصطکاک بین دو فاز مایع و گاز با افزایش حجم حباب‌ها کاهش می‌یابد. برای کاهش اصطکاک پوسته‌ای می‌توان از تزریق میکرو حباب‌ها در لایه‌ی مرزی جسم جامد و سیال بهره برد. یکی از موارد استفاده از این موضوع، تزریق میکرو حباب‌ها در قسمت تحتانی کشتی‌های بزرگ است. از مزایای استفاده از این روش می‌توان به کاهش نیروی مقاوم در برابر حرکت اجسام و کاهش مصرف سوخت اشاره نمود. علاوه بر ویژگی‌های ذکرشده، میکرو حباب‌ها خواصی همچون باقی ماندن

طولانی در فاز مایع و در نتیجه افزایش انحلال گاز و تولید رادیکال آزاد در زمان فروپاشی حباب‌ها به علت تراکم بالای یون‌ها در سطح مشترک گاز و مایع را دارا می‌باشند (Takahashi et al, 2007). میکرو نانو حباب‌ها به علت سایز کوچک و سطح ویژه‌ی بالا، دارای ظرفیت حمل بار الکتریکی بالا هستند. همچنین سرعت انتقال بالایی دارند که سبب افزایش راندمان حلالیت گاز در سیال می‌گردد (Matsuki, 2014; Tildesley, 2010).

یکی از مشکلاتی که در علم نانو سیالات وجود دارد، چگونگی شناور ماندن نانو ذرات و به‌خصوص حباب‌ها در سیال پایه می‌باشد. به علت پایداری قابل قبول حباب نانو در سیال پایه و تأثیرات آن بر سیال می‌توان از آن برای افزایش نیمه عمر گازی، مانند ازن، نیز بهره برد. هنگام استفاده از میکرو نانو حباب‌های هوا برای هوادهی، میکرو حباب‌ها تنها برای چهار تا پنج دقیقه در آب باقی می‌مانند در حالیکه حضور نانو حباب‌های هوا چند روز در آب ادامه می‌یابد. بنابراین اکسیژن حل شده می‌تواند برای مدت طولانی با نانو حباب‌ها برای بهبود تخریب مواد آلی، ضد عفونی شدن آب و تمیزکاری سطوح مفید واقع شود (Ghadimkhani et al, 2016).

۲-۸ کاربردهای میکرو نانو حباب‌ها

این تکنولوژی کاربردهای گوناگونی دارد که در ذیل به اختصار به آن‌ها اشاره می‌شود:

- تمیز کردن فیلتر غشایی سرامیکی توسط میناب هوا (Ghadimkhani et al, 2016)
- سرعت بخشیدن به رشد گیاهان (کشاورزی) (Jiang et al, 2016 ; Li et al, 2019 ; Dahrazma et al, 2019)
- بهبود خواص مکانیکی بتن (Arefi et al, 2016 ; Asadollahfardi, 2019)
- سرعت بخشیدن به رشد حیواناتی همچون ماهی و موش (Ebina et al, 2013)
- عملکرد در تمیز کردن به وسیله حباب (ماشین لباسشویی، ماشین ظرفشویی و...) (Serizawa, 2017)
- حذف نفت از خاک (Gotoh et al, 2006)

- تصفیه فاضلاب حاوی فنول (Li et al, 2009)
- بهبود مصرف سوخت (حباب‌های ریز باعث بهبود کیفیت سوخت و راندمان احتراق بیشتر می‌شود). (Nakatake et al, 2013)
- استفاده در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب (Sumikura, 2007 ; کریمی اندانی و ساغروانی ، ۱۳۹۵)
- از بین بردن باکتری و ویروس (درمان پزشکی) (Kumar, 2016)
- حذف سموم کشاورزی، حشره کش‌ها (حسین شاهی بندری، ۱۳۹۱) و ...

۲-۹ ازن

ازن واژه‌ای یونانی با معنای بوی تند است. ازن یکی از آلوتروپ‌های اکسیژن با فرمول شیمیایی O_3 می‌باشد. این مولکول در دمای اتاق به‌صورت گازی، بدون رنگ و با بویی کاملاً محسوس و تند است. گاز ازن در شرایط اتمسفر طبیعی نقطه جوش برابر ۱۱۲- درجه سانتی گراد دارد. وزن مولکولی ازن ۴۸ می‌باشد. ازن قدرت حلالیت خوبی در آب دارد طوریکه در مقایسه با اکسیژن ۲۰ برابر حلالیت بیشتری دارد (کریم رحیمی و همکاران، ۱۳۸۳). ازن نمی‌تواند در طبیعت به‌صورت پایدار باقی بماند و سریعاً به O و O_2 تجزیه می‌گردد. اکسیژن می‌تواند به‌صورت پایدار در محیط باقی بماند اما اکسیژن نوزاد با آلاینده‌ها واکنش می‌دهد. ازن به علت داشتن اکسیژن نوزاد توانایی بالایی در از بین بردن باکتری‌ها از خود نشان داده و یکی از قوی‌ترین اکسیدکننده‌هایی است که کاربرد وسیعی در تصفیه آب و فاضلاب و و حذف باکتری‌ها از محیط دارد (Gassie and Englehardt, 2017)؛ ایزدی و همکاران، ۱۳۹۳). اثر اکسیدکنندگی ازن سریع است و بیشتر ترکیبات آلی در مجاورت این گاز به ترکیبات ساده‌تری تجزیه می‌شوند (کریم رحیمی و همکاران، ۱۳۸۳). به علت پایدار نبودن ازن نمی‌توان آن را ذخیره یا حمل کرد، لذا لازم به استفاده از ژنراتور ازن در محل می‌باشد که سبب برطرف شدن مشکلات و خطرات ناشی از حمل و نقل می‌گردد (توکلی و همکاران، ۱۳۸۹). رفتار این گاز در آب و هوا به دلیل وجود رادیکال‌های آزاد در آب، متفاوت است. رادیکال‌های هیدروکسیل آزاد،

عمر کوتاهی دارند. نیم‌عمر ازن در آب به این علت از نیم‌عمر آن در هوا کمتر است. نیم‌عمر ازن در آب در حدود ۲۰ دقیقه است و این به معنی آن است که در هر بیست دقیقه غلظت ازن به نصف مقدار اولیه می‌رسد. از آنجایی که ازن نیم‌عمر کوتاهی دارد، در هنگام استفاده از آن برای تصفیه آب، باید آن را در محل تولید کرد. دما تأثیر به سزایی در نیم‌عمر ازن دارد. انحلال ازن و پایداری آن در آب در دماهای بالاتر کاهش میابد طوری که انحلال ازن در آب در دماهای بالاتر از ۴۰ درجه ممکن نیست زیرا در این دما نیم‌عمر ازن در آب بسیار کم می‌باشد. طی فرآیند پیچیده‌ای ازن می‌تواند باعث غیرفعال سازی پاتوژن‌ها گردد. در این فرآیند هدف ازن حمله به چربی‌های غیراشباع (ترکیبات غشاء) و آنزیم‌ها و اسیدهای نوکلئیک (ترکیبات تشکیل‌دهنده سلول) است. میکروارگانیسم‌ها بر اثر تخریب غشاء و یا تجزیه ترکیبات سلولی از بین می‌روند (کاظمی طاسکوه و همکاران، ۱۳۹۳). ازجمله مزایای استفاده از ازن به‌عنوان ضدعفونی‌کننده، می‌توان به مواردی همچون برجا نگذاشتن مواد جانبی و مضر، اکسیدکنندگی بالا، سرعت بالا، تابع PH نبودن، قابلیت از بین بردن میکروارگانیسم‌های مختلف شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها، مخمرها و جلبک‌ها اشاره نمود. ازن ۵۰ برابر از کلر بر دیواره‌ی باکتری مؤثرتر است و در کشتن آن‌ها ۳۰۰۰ بار سریع‌تر از کلر عمل می‌کند. افزون بر این ازن باعث تولید رادیکال هیدروکسیل می‌شود که قدرت پتانسیل و احیای بیشتری از کلر دارد. پتانسیل اکسیداسیون ازن ۲/۰۷ ولت و پتانسیل اکسیداسیون کلر ۱/۳۶ ولت است. بنابراین ازن بازده بیشتری در حذف باکتری‌ها دارد (توکلی و همکاران، ۱۳۸۹؛ ملکوتیان و همکاران، ۱۳۹۴).

۲-۹-۱ تحقیقات در زمینه‌ی کاربرد ازن در حذف باکتری

گاز ازن به‌عنوان گندزدا در حذف باکتری‌های گوناگونی چون سالمونلا (توکلی و همکاران، ۱۳۸۹)، اشریشیاکلا، باکتری‌های کلیفرمی و استافیلوکوک اورئوس (ززولی و همکاران، ۱۳۹۴؛ کاظمی

طاسکوه و همکاران، ۱۳۹۳)، باسیلوس سرئوس^۱ (کریم رحیمی و همکاران، ۱۳۸۳)، باکتری‌های کلیفرم مدفوعی (ملکوتیان و همکاران، ۱۳۹۴) و ... مورد استفاده قرار گرفته است.

تحقیقات کاظمی طاسکوه و همکاران روی تأثیر استفاده از آب ازن دار بر کاهش تعداد میکروارگانیسم‌ها و باکتری‌های پاتوژن در کشتارگاه مرغ، نشان داد که تأثیر ازن بر ضدعفونی کردن آب چیلر کشتارگاه سبب کاهش ۹۹٪ باکتری‌های هوازی، اشریشیاکلای و باکتری‌های کلیفرمی آب چیلر می‌گردد. هم‌چنین آن‌ها دریافتند ازن بر اشریشیاکلای و استافیلوکوکوک اورئوس تأثیر بیشتری از کلر دارد. استفاده از ازن با غلظت ۰/۲، ۰/۵ و ۱ ppm در تمامی حالات به طرز معناداری سبب کاهش عدد لگاریتمی باکتری‌های استافیلوکوکوک اورئوس گشت. با افزایش غلظت ازن، تعداد اکسیژن نوزاد حاصل از آن در آب افزایش یافته و در نتیجه تأثیر ضدعفونی‌کنندگی آن بیشتر شد. این تحقیق هم چنان بیان کرد که اشریشیاکلای به‌عنوان یک باکتری گرم منفی نسبت به استافیلوکوکوک اورئوس (گرم مثبت) در برابر ازن حساس‌تر است. افزایش غلظت ازن، سبب کاهش $\log 2/3$ اشریشیاکلای و $\log 1/7$ استافیلوکوک اورئوس گردید. علت این موضوع تفاوت در دیواره‌ی غشاء سلولی آن‌ها است (کاظمی طاسکوه و همکاران، ۱۳۹۳). یافته‌های مطالعه کریم رحیمی و همکاران در مورد تأثیر ازن بر باکتری نشان داد، باکتری‌های بدون اسپور در تراکم اولیه 10^7-10^2 سلول در میلی‌لیتر در حداکثر غلظت ۱۵ ppm ازن نابود می‌شوند. تنها استثنا باکتری اسپوردار باسیلوس سرئوس است که در غلظت 10^7-10^5 سلول در میلی‌لیتر نیاز به غلظت دو برابری و زمان ۳ ساعته دارد (کریم رحیمی و همکاران، ۱۳۸۳).

ززولی و همکاران، کارایی ازن در گندزدایی آب‌های آلوده به اشریشیاکلای به‌عنوان شاخص آلودگی کلیفرم مدفوعی آب را مورد بررسی قرار دادند. برای تعیین اثر دوز ازن بر گندزدایی، ازن زنی با سه دوز ۱، ۳ و ۵ میلی‌گرم در لیتر انجام شد. هم‌چنین برای تعیین اثر زمان تماس بر راندمان گندزدایی، عمل ازن زنی با مدت‌زمان تماس ۱، ۵، ۱۰ و ۲۰ دقیقه انجام شد. علت انتخاب زمان تماس حداکثر

¹ Bacillus cereus

۲۰ دقیقه برای ازن زنی، تجزیه ازن در این زمان است. این مطالعه نشان داده است که راندمان حذف باکتری در زمان بیش از ۵ دقیقه ۱۰۰ درصد می‌باشد. همچنین نتایج بیان کردند، با افزایش غلظت ازن و کاهش دانسیته باکتری میزان نابودی اشیریشیاکلای افزایش می‌یابد (ززولی و همکاران، ۱۳۹۴). در مطالعه‌ی دیگری ملکوتیان و همکاران به مقایسه‌ی امکان حذف باکتری‌های کلیفرم در فاضلاب خام بیمارستان با استفاده از روش ازن زنی به صورت مجزا و توأم با آب اکسیژنه پرداختند. ازن زنی فاضلاب خام بیمارستانی با غلظت ازن تزریقی ۲۴ گرم ازن در ساعت به مدت ۱۰ دقیقه سبب حذف ۹۹/۹۷ درصد از باکتری‌های کلیفرم و ۹۹/۹۱ درصد از باکتری‌های کلیفرم مدفوعی گردید. با افزایش زمان ازن زنی فاضلاب خام بیمارستانی به ۳۰ دقیقه و با همان دوز ۱۰۰ درصد باکتری‌های کلیفرم و کلیفرم مدفوعی نابود شدند. نتایج نشان‌دهنده کارایی مؤثر دو فرایند ازن زنی و فرآیند اکسیداسیون پیشرفته در حذف تمامی باکتری‌های کلیفرم می‌باشد. همین نتیجه با تزریق ازن به صورت منفرد نیز حاصل گردید، لذا پیشنهاد می‌شود پیش تصفیه فاضلاب بیمارستان به منظور حذف تمامی باکتری‌های کلیفرم تنها با ازن زنی انجام گیرد (ملکوتیان و همکاران، ۱۳۹۴).

طبق پژوهش انجام‌شده باهدف بررسی تأثیر گاز ازن در کاهش آلودگی کلی باکتریایی لاشه مرغ کشتار شده در یکی از کشتارگاه‌های صنعتی تهران، محققان دریافتند استفاده از ازن در کاهش بار میکروبی لاشه‌های گوشت کشتارگاه تأثیر زیادی دارد. با افزایش میزان غلظت ازن، علاوه بر کاهش کلی باکتری‌ها، سالمونلا نیز حذف گردید. تعداد کل باکتری‌ها طی ۱۰ دقیقه ازن زنی در غلظت ۸ ppm از $10^5 \times 1/0.2$ cfu/g به $10^2 \times 1/0.6$ رسید. لذا ازن می‌تواند به عنوان یک ضد عفونی کننده مناسب در این زمینه به کار گرفته شود (توکلی و همکاران، ۱۳۸۹). طی تحقیقی جهت حذف دو باکتری اشیریشیاکلای و انتروکوک فکالیس، از غلظت ۱ mg/L از ازن با زمان تماس ۳۰ ثانیه الی ۲۰ دقیقه استفاده شد. در این تحقیق باکتری اشیریشیاکلای نماینده باکتری‌های گرم منفی و باکتری انتروکوک فکالیس نماینده باکتری‌های گرم مثبت بود. باکتری انتروکوک فکالیس طی ۳۰ ثانیه و باکتری اشیریشیاکلای در مدت زمان ۲۰ دقیقه حذف گشت. با اینکه مرگ و میر انتروکوک

فکالیس به طرز قابل توجهی بالاتر بود، اما دیواره‌ی سلولی اشريشیاکلاي دچار آسیب شديد شده بود. علت از بين رفتن باکتری اشريشیاکلاي ، آسیب شديد دیواره سلولی و دليل از بين رفتن باکتری انتروکوک فکاليس آسیب رسيدن به اجزای داخلی سلول گزارش گرديد. نتایج نشانگر حساسیت بالاتر باکتری انتروکوک به ازن بود (Ersoy et al, 2019).

تأثير ازن بر فاضلاب دارای باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها، طی مطالعه‌ای بررسی گرديد. غلظت ازن مصرفی $0.9 \pm 0.1 \text{ gO}_3$ به ازای 1 g/DOC بود. میزان باکتری‌های انتروکوک، استافیلوکوک و سودوموناس آئروژینوزا پس از ازن زنی به ترتیب $98/9$ ، $78/1$ و $60/2$ ٪ کاهش یافتند (Alexander et al, 2016).

طی تحقیقی تأثیر روش‌های متفاوت گندزدایی (استفاده از اشعه ماورأ بنفش، ازن زنی و کلر زنی) بر دو باکتری اشريشیاکلاي و انتروکوک فاسیوم^۲ بررسی شد. طی ۵ دقیقه ازن زنی با غلظت 1 mg/L ازن، بیش از ۹۹٪^۳ ARB (باکتری مقاوم به آنتی بیوتیک) حذف شدند. سلول‌های باکتری طی ۵ دقیقه ازن زنی با غلظت یاد شده، $0.5 \log$ کاهش یافتند. میزان کاهش باکتری‌ها طی ۳۰ دقیقه کلرزنی با غلظت 0.5 mg/L ، $3.8-5.6 \log$ گزارش شد (Stange et al, 2019).

طی بررسی بر روی باکتری اشريشیاکلاي مقاوم به چند آنتی بیوتیک، محققان دریافتند که برای حذف بیش از ۹۰ درصد از باکتری به بیش از 30 mg/L کلر احتیاج است. برای دست یافتن به همین درصد حذف توسط ازن به 3 mg/L ازن نیاز بود (Oh et al, 2014).

^۱ Dissolved organic carbon

^۲ Enterococcus faecium

^۳ Antibiotic Resistant Bacteria

۲-۱۰ تحقیقات در زمینه‌ی حذف باکتری‌ها توسط میکرو نانو

حباب ازن

از میکرو نانو حباب یا میناب ازن تاکنون برای حذف باکتری‌هایی چون استافیلوکوک اورئوس (Morimoto et al, 2010)، اشريشیاکلاي و اسمگماتيس مايکوباکتریوم^۱ (Seki et al, 2017)،

کلبسیلا پنومونیه، سالمونلا، سودوموناس آئروژینوزا (Inatsu et al, 2011) و... استفاده شده‌است.

طی تحقیقی، باکتری استافیلوکوک اورئوس با توانایی تشکیل بیوفیلم، به ۲ نمونه‌ی متفاوت تلقیح گردید. جهت تلقیح باکتری، ۷۰۰ میکرولیتر محیط کشت مایع حاوی ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری تهیه گردید. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها با آب نمک به‌خوبی شستشو داده شدند. در مرحله‌ی بعد، نمونه‌ها درون ۳ نمونه‌ی آب معمولی، آب دارای میناب در دمای اتاق و آب دارای میناب ازن در دمای ۴ درجه سانتی گراد و در نسبت ۱ به ۱۰ از باکتری قرار داده شدند. نتیجه بیانگر تأثیر آنتی باکتریال میناب ازن بر باکتری استافیلوکوک اورئوس بود (Morimoto et al, 2010).

در پژوهشی دیگر از میکرو نانو حباب یخ‌زده‌ی ازن بر روی باکتری اشريشیاکلاي (E.coli W3110) استفاده شد. آب حاوی میناب ۱ ماه باقی‌مانده در دمای ۲۰- طی ۵ دقیقه قادر به از بین بردن باکتری اشريشیاکلاي بود. این زمان برای آب حاوی میناب ۳ ماه باقی‌مانده به ۱۵ دقیقه افزایش یافت. آب نگه داشته شده در این دما پس از یک سال قادر به از بین بردن بیش از ۹۵٪ باکتری‌ها طی ۶۰ دقیقه بود. این آزمایش هم‌چنین بر روی باکتری M.smegmatis (که یکی از مقاوم‌ترین باکتری‌ها نسبت به مواد گندزدا می‌باشد)، تکرار شد. نتیجه‌ی آن مشابه باکتری اشريشیاکلاي گزارش گردید. آب حاوی میکرو نانو حباب ازن پس از یک سال باقی ماندن در دمای ۲۰-، طی ۱۵ دقیقه این باکتری را از بین برد (Seki et al, 2017).

^۱ Mycobacterium smegmatis

مطالعه‌ای در زمینه‌ی تأثیر میکروحباب ازن بر روی ۱۳ گونه‌ی باکتریایی شامل اشیشیاکلای، کلبسیلاپنومونیه، سالمونلا، سودوموناس آئروژینوزا و ... انجام پذیرفت. در این آزمایش پس از تلقیح باکتری‌های موردنظر به سبزیجات، آن‌ها را درون بشر حاوی آب دارای میکرو حباب ازن به مدت ۳ دقیقه غوطه‌ور نمودند. پس از خارج نمودن آب حاصل از شستشو با شمارش باکتری‌های باقی‌مانده خاصیت آنتی باکتریال میکرو حباب ازن مشخص گردید. کاهش ۵ تا $7/4 \log$ لگاریتم تعداد کلونی‌ها در هر میلی‌لیتر طی ۳ دقیقه تماس باکتری‌ها با آب حاوی میناب، قابل مشاهده بود (Inatsu et al, 2011).

هایاکومو و همکاران طی بررسی تأثیر نمونه‌های آب حاوی میناب بر دو باکتری *Porphyromonas gingivalis* و *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* مشاهده نمودند پس از ۳۰ ثانیه برخورد با آب حاوی میناب ازن تعداد کلونی‌های موجود در هر میلی‌لیتر به صفر رسید (Hayakumo et al, 2014).

طی پژوهشی باکتری‌های موجود روی کلم چینی پیش از درمان و پس از درمان توسط آب دی یونیزه و میکرو نانو حباب بررسی شدند. تعداد باکتری‌ها پیش از درمان $\log \frac{cfu}{g}$ $6/1$ گزارش گردید. طی درمان با میکرو نانو حباب ازن این عدد به $\log \frac{cfu}{g}$ $5/3$ و در مجاورت آب دی یونیزه تعداد این باکتری‌ها به $\log \frac{cfu}{g}$ $5/9$ کاهش یافت (Ushida et al, 2017).

فصل ۳

مواد و روش ها

۳-۱ مقدمه

ازن به علت خاصیت اکسیدکنندگی بالا و میکرو نانو حباب‌ها به دلیل انحلال‌پذیری بالا، عدم پایداری در محیط‌زیست و سرعت بالا در اکسیداسیون برای از بین بردن پاتوژن‌ها پرکاربرد هستند. در این فصل به معرفی مواد مورد استفاده در آزمایشات، دستگاه‌های استفاده شده، روش اندازه‌گیری پارامترهای موردنیاز و مراحل بهینه‌سازی پارامترها پرداخته شده است.

۳-۲ مواد

- باکتری‌های استفاده شده در آزمایشات از سویه‌های استاندارد موجود در دانشگاه علوم پزشکی شاهرود تهیه گردید. ۴ سویه باکتریایی اشریشیاکلا، انتروکوک فکالیز، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس در این آزمایشات مورد بررسی قرار گرفتند.

- میکرو نانو حباب‌های مورد استفاده در آزمایشات توسط دستگاه تولید مولد میناب ساخت شرکت نوفناوران میناب طوس مستقر در آزمایشگاه تحقیقاتی نانوسیالات در محیط‌های متخلل دانشگاه صنعتی شاهرود تولید شد.

- محیط کشت مورد استفاده، محیط مولر هینتون آگار بود که از شرکت هیسپان لب اسپانیا تهیه گردید.

۳-۳ روش‌ها

۳-۳-۱ دستگاه مولد میکرو نانو حباب

تولید میناب توسط مولد میکرو نانو حباب استفاده شده در این پایان‌نامه که بر اساس کاویتاسیون هیدرودینامیکی طراحی و ساخته شده است، انجام پذیرفت. این دستگاه از سه بخش عمده ورود گاز، اعمال فشار بر مخلوط گاز و آب، منطقه کاهش یا افت فشار و آزادسازی بخشی از گاز حل شده تشکیل شده است (شکل ۳-۱). هدف ورود گاز در این دستگاه، افزایش حلالیت میزان گاز حل شده در آب

به منظور افزایش کارایی پدیده کاویتاسیون و تولید حباب می باشد. بنابراین، برخلاف سایر دستگاه‌ها، گاز در این دستگاه قبل از پمپ تزریق شده است. از هیچ گونه پمپ بادی استفاده نمی شود و گاز در منطقه موردنظر با قرار دادن سوراخ هایی بر روی بدنه مولد باعث بهبود نحوه کارکرد و کاهش هزینه تولید و متغیر بودن نوع گاز وارده به دستگاه می شود. از جمله ویژگی های طراحی و ساخت این دستگاه امکان استفاده از چند گاز برای تولید همزمان و در نتیجه محدوده وسیع تری از انواع حباب ها با نوع و سایزهای مختلف است.

میناب مورد استفاده در آزمایشات در آزمایشگاه تحقیقاتی نانوسیالات در محیط های متخلل دانشگاه صنعتی شاهرود تهیه گردید. شماره ثبت اختراع دستگاه مولد هیدرولیکی میناب ۸۳۹۹۸ است.



ب

الف

شکل ۱-۳ دستگاه تولید میناب، الف؛ نمای روبه رو ب؛ نمای پشت

۳-۳-۲ دستگاه ازن ساز

جهت تولید ازن مورد استفاده در آزمایشات از دو دستگاه ازن ساز استفاده شد. برای تولید غلظت بالای ازن 10 g h^{-1} از دستگاه Ozonica Serie Ozone Generator مدل Oz 60 استفاده شد (شکل ۳-۳).



شکل ۳-۳ دستگاه ازن ساز مورد استفاده برای تهیه غلظت بالای ازن (10 g h^{-1})

Ozone Generator Ozonica Serie		
Model: Oz 60	SN :31020400600105	Date : 2013.09
FEED GAZ	O2/AIR	Voltage 200 V
PRESSURE	0.2 bar	Current 3 A
FLOW	6/35 NL/min	Frequency 50/60 Hz
Ozone	60/28 Ng/h	Power 660w
www.irancode.ir		
3829100524360011		
www.ozoneab.com Made in Q.S.S.E.Z Tel:+98 21 66594634-4		

شکل ۳-۳ مشخصات فنی دستگاه ازن ساز مورد استفاده برای تهیه غلظت بالای ازن (10 g h^{-1})

دستگاه مورد استفاده جهت تولید ازن در دو غلظت $1/7$ و 5 g h^{-1} ساخت شرکت فنون آزاد سبز مدل COG 5 می باشد (شکل ۳-۴). ورودی دستگاه مورد استفاده می تواند هوا یا اکسیژن باشد. اگر ورودی دستگاه به کپسول اکسیژن متصل گردد، خروجی دستگاه غلظت 5 g h^{-1} ازن خواهد بود. در صورت اتصال ورودی دستگاه به هوا نیز ازن تولیدی حدود 2 g h^{-1} است. برخی از خصوصیات فنی دستگاه در جدول ۳-۲ آورده شده است.



شکل ۳-۴ دستگاه مورد استفاده جهت تولید ازن در دو غلظت $1/7$ و 5 g h^{-1}

جدول ۳-۱ مشخصات فنی دستگاه ازن ساز برای تولید غلظت کم ($1/7 \text{ g h}^{-1}$) و متوسط (5 g h^{-1}) از ازن

COG 5		COG 1		مدل
0.5		0.25		جریان برق (A)
اکسیژن	هوا	اکسیژن	هوا	گاز تغذیه کننده
> 90	-	> 90	-	اکسیژن خلص (Wt%)
1	5	0.2	1	جریان گاز (L/min)
5	~ 2	1	~ 0.4	خروجی ازن (grO_3/h)
41		30		L ابعاد (cm)
35		22		W
20		17		H
5		1.5		وزن (Kg)
5 ~ 30				دمای کارکرد ($^{\circ}\text{C}$)
0.3 ~ 0.7				فشار کارکرد (Bar)
1 ~ 18				غلظت ازن (Wt%)
- 60				نقطه شبنم ($^{\circ}\text{C}$)
0.1				روغن (ppm)
1000				اندازه ذرات (nm)
15				مواد آلی (ppm)
1				فشار ورودی (bar)

۳-۴ کشت باکتری

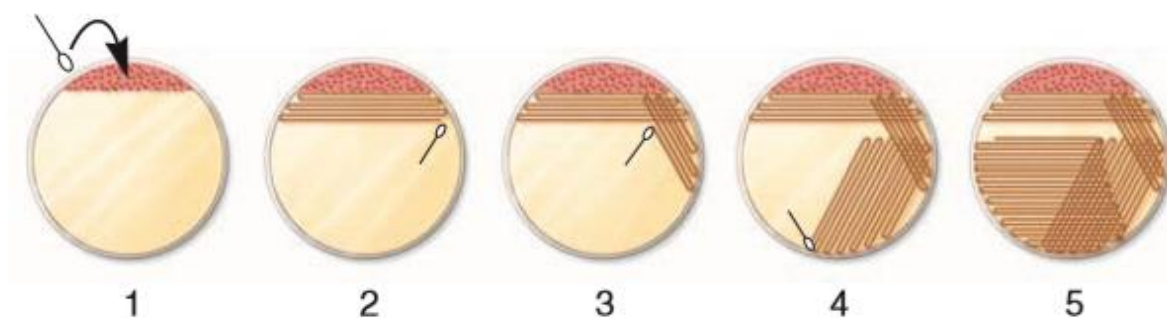
در این بخش به بررسی مراحل کشت باکتری پرداخته می شود.

۳-۴-۱ ساخت محیط کشت

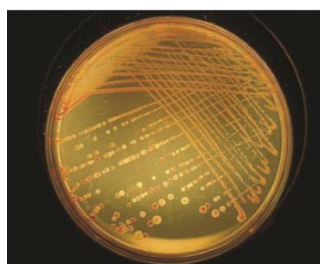
در ابتدا با توجه به دستورالعمل ذکرشده بر روی هر یک از محیط کشت‌ها، مقدار مشخصی از محیط کشت برداشته و توسط ترازو وزن می‌شود. سپس آن را در میزان مشخص آب حل نموده و جهت شفاف شدن محیط کشت، ظرف حاوی محلول بر روی شعله قرار داده می‌شود. سپس محیط کشت به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو قرار می‌گیرد. پس از اتمام اتوکلاو، محیط کشت، درون پلیت‌ها ریخته و پس از سرد شدن به یخچال انتقال داده می‌شود.

۳-۴-۲ نحوه کشت

در ابتدا لوپ را روی شعله گرفته تا استریل گردد. پس از سرد شدن لوپ، آن را درون سویه استاندارد فرو برده و با حرکات زیگزاک روی محیط کشت حرکت داده می‌شود. سپس دوباره لوپ توسط شعله استریل گشته، پلیت ۹۰ درجه چرخانده شده و حرکت زیگزاک، از مرحله کشت قبلی ادامه می‌یابد (شکل ۳-۴). این پروسه چندین بار دیگر تکرار می‌شود. در هر مرحله تعداد کلونی‌های باکتری انتقال یافته به بخش بعد کمتر می‌شود. لازم به ذکر است کلیه‌ی مراحل کشت باید در شعاع قابل قبولی از شعله انجام گردد. پلیت‌ها پس از کشت به انکوباتور منتقل می‌شوند. باکتری‌ها برای رشد به مدت زمانی بین ۱۸ الی ۲۴ ساعت احتیاج دارند. نمونه‌ی پلیت باکتری کشت داده در شکل ۳-۵ آورده شده است.



شکل ۳-۵ نحوه‌ی کشت باکتری (Brooks et al, 2013)



شکل ۳-۶ نمونه‌ی پلیت باکتری کشت داده شده (Brooks et al, 2013)

۳-۴-۳ تهیه سوسپانسیون میکروبی نیم مک‌فارلند

ابتدا لوله حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط کشت ^۱TSB (تریپتیک سوی براث) را درون دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل Pharmecia Biotech Novaspec) قرار داده و در طول موج ۶۲۵ نانومتر، دستگاه صفر شد. این نمونه به‌عنوان نمونه‌ی بلانک و شفاف در نظر گرفته شد. پس از آن توسط سوآپ مقداری از کلونی باکتری برداشته شد و درون محیط کشت حل گردید؛ تا زمانی که دستگاه اسپکتروفوتومتر عددی بین ۰/۰۸ تا ۰/۱۲ را نشان دهد. جذب نور در ۶۲۵ نانومتر بین دو عدد ذکرشده، نشانگر کدورتی معادل کدورت سوسپانسیون باکتریایی حاوی $1/5 \times 10^8$ باکتری در هر میلی‌لیتر می‌باشد (Mcfarland, 1907).

^۱ Tryptic Soy Broth

۳-۴-۴ اندازه‌گیری غلظت باکتری در سوسپانسیون اولیه

غلظت اولیه باکتری با استفاده از روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری گردید. در این روش برای هر باکتری ۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون نیم مک‌فارلند تهیه شد. دستگاه توسط محیط کشت صفر شد و سپس نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Pharmecia Biotech Novaspec) در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت گردید. عدد قرائت شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر باید عددی بین ۰/۰۸ تا ۰/۱۲ باشد.

۳-۵ روش کلی آزمایش حذف باکتری‌ها توسط میناب ازن

کلیه آزمایشات در سیستم پیوسته صورت گرفت. در تمامی آزمایش‌های مربوطه جهت بررسی تأثیر میکرو نانو حباب ازن بر باکتری اش‌ریشیاکلائی، انتروکوک فکالایس، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوک اورئوس، سوسپانسیون نیم مک‌فارلند باکتری موردنظر تهیه شد. در هر مرحله از آزمایش دو سوسپانسیون یکسان از باکتری موردنظر طبق توضیحات بخش ۳-۴-۴ تهیه شد. برای انجام هر آزمایش، ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه‌شده به ۷ لیتر آب شرب شهر شاهرود اضافه شد. قبل از روشن نمودن دستگاه میکرو نانو حباب از نمونه آب حاوی باکتری مورد نظر، توسط سمپلر، ۲۰ میکرولیتر برداشت شد. جهت شمارش جمعیت باکتریایی، نمونه توسط سوآپ روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. سپس دستگاه را روشن نموده و متناسب با غلظت ازن در زمان‌های مشخص، از محلول در حال ازن زنی نمونه برداشته و کشت داده شد. پلیت‌ها به مدت ۱۸-۲۴ ساعت درون انکوباتور قرار داده شد. شمارش باکتری‌های رشد کرده در زمان‌های ازن زنی مختلف نسبت به باکتری‌های پلیت پیش از درمان با ازن (زمان صفر)، بیانگر تأثیر تکنولوژی میکرو نانو حباب در ازن زنی بردن باکتری مورد نظر در نظر گرفته شد. برای مشخص کردن بازه بندی‌های مناسب جهت ازن زنی چند زمان فرضی انتخاب شد و با توجه به نتایج حاصل از آزمایشات ابتدایی بازه‌های مناسب جهت

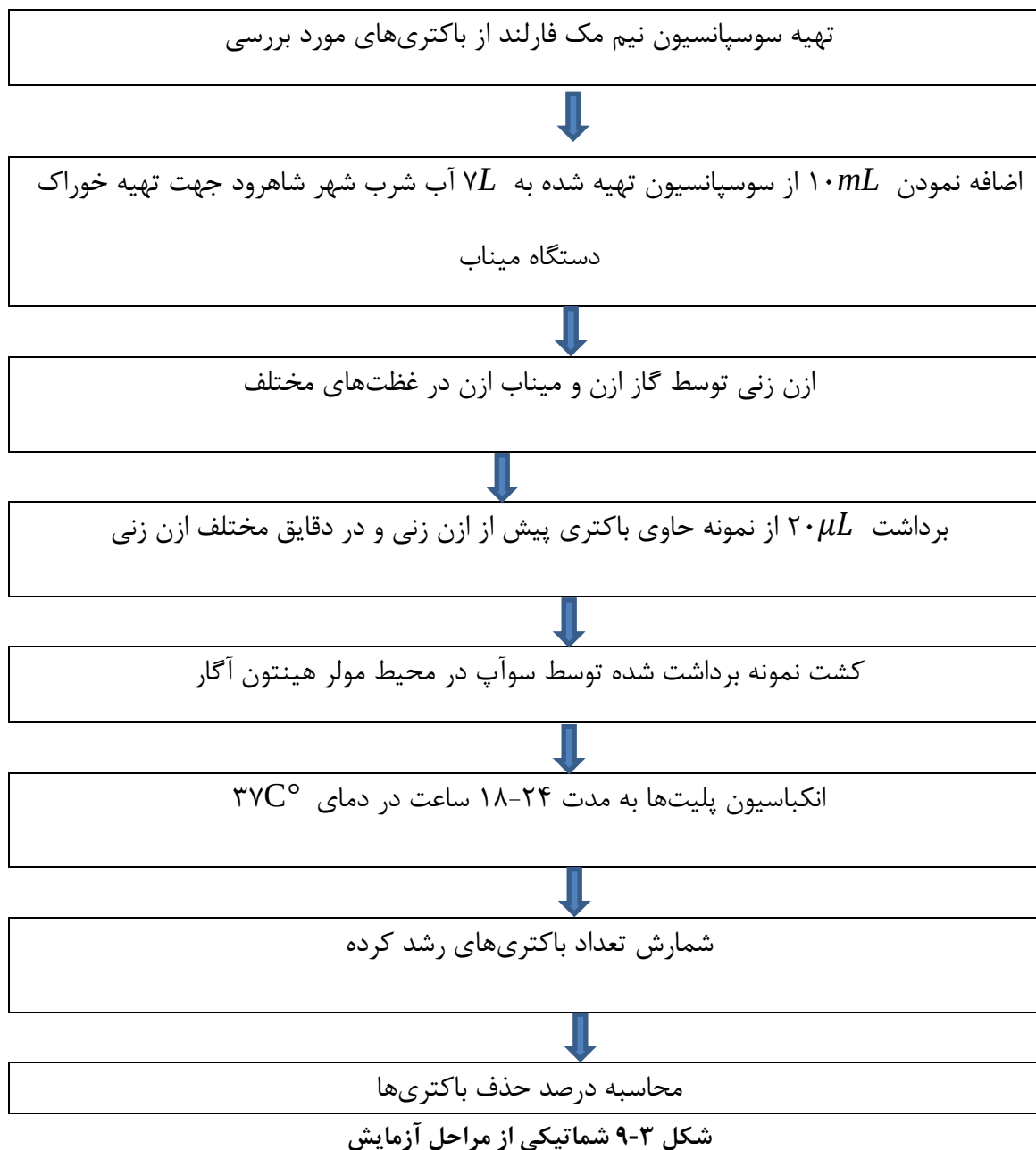
انجام آزمایش مشخص گردید. تمامی آزمایشات با ۳ بار تکرار و خطای کمتر از ۵٪ انجام گرفت. شکل‌های ۷-۳، ۸-۳ و ۹-۳ شمای کلی از مراحل آزمایشات را نشان می‌دهند.



شکل ۷-۳ نمایی از شمارش باکتری‌ها پس از خارج نمودن پلیت‌ها از انکوباتور



شکل ۸-۳ نمایی از تهیه سوپانسیون نیم مک فارلند باکتری‌های اشریشیاکلاهی و سودوموناس آئروژینوزا



۳-۶ روش بررسی تأثیر پارامترهای مختلف بر عملکرد میکرو نانو حباب

۳-۶-۱ بررسی تأثیر غلظت بر حذف کامل باکتری‌ها

آزمایشات توسط دو دستگاه ذکر شده و ۳ غلظت ۱/۷، ۵ و 10 g h^{-1} تکرار شد. با توجه به نتایج بدست آمده مشخص است افزایش غلظت ازن باعث حذف سریع‌تر باکتری‌ها می‌گردد.

۳-۶-۲ بررسی تأثیر زمان بر روند حذف باکتری‌ها

در این مرحله به بررسی تأثیر پارامتر زمان تماس بر فرآیند حذف پرداخته شد. بدین منظور در دقایق متفاوت از ۴ باکتری مورد بررسی در مجاورت ۲ عامل حذف گاز ازن و میناب ازن نمونه برداشت شد. با شمارش تعداد باکتری‌ها پیش و پس از ازن زنی مشاهده می‌شود، افزایش زمان تماس ازن زنی سبب افزایش درصد حذف باکتری‌ها می‌گردد.

۳-۷ روش محاسبه درصد حذف باکتری

در هر مرحله از آزمایشات از سوسپانسیون باکتریایی پیش و پس از درمان با ازن کشت گرفته شد. شمارش باکتری‌ها به ازای هر ml انجام پذیرفته است و به علت انجام نمونه‌گیری با استفاده از سمپلر ۲۰ میکرولیتری، جهت برآورد تعداد واقعی کلونی‌های شمارش شده در هر پلیت، در ۵۰ ضرب شده‌اند. به‌طور مثال همانگونه که در شکل ۴-۱۵ مشخص است؛ در دقیقه سیزدهم ازن زنی، ۸ کلونی در شکل دیده می‌شود که با ضرب این عدد در ۵۰، تعداد ۴۰۰ کلونی در میلی لیتر بدست می‌آید. درصد حذف باکتری از رابطه ۳-۱ زیر بدست آمد:

$$\%R = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100 \quad \text{رابطه ۳-۱}$$

که در این رابطه R درصد حذف باکتری، C_i تعداد اولیه باکتری ($\frac{CFU}{mL}$) و C_f تعداد باکتری باقی‌مانده ($\frac{CFU}{mL}$) پس از اتمام فرآیند می‌باشد.

فصل ۴

نتیج و بحث

۴-۱ مقدمه

هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر میناب ازن در مقایسه با گاز ازن بر روی حذف ۴ گونه‌ی باکتریایی عامل عفونت‌های بیمارستانی شامل انتروکوک فکالایس، اشریشیاکلای، استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا در شرایط مختلف و غلظت‌های متفاوت از ازن می‌باشد. در این فصل به ارائه‌ی نتایج بدست آمده از آزمایشات، آنالیزهای صورت گرفته و تفسیر آن‌ها پرداخته می‌شود.

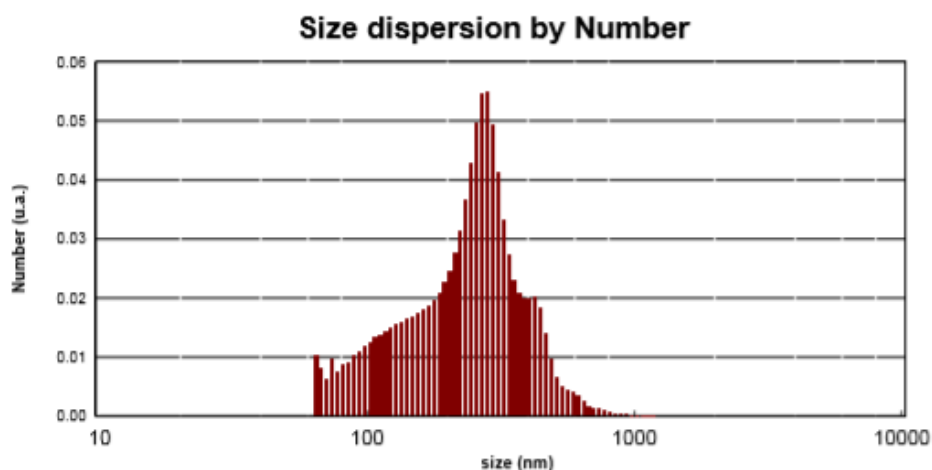
۴-۲ خصوصیات میناب ازن

برای اندازه‌گیری قطر حباب‌ها روش‌هایی مثل استفاده از روابط تجربی (همانند قانون استوکس)، استفاده از اشعه X، عکس برداری، آنالیز تصاویر و ... وجود دارد. این روش‌ها فاقد کارایی مناسب جهت اندازه‌گیری میکرو نانو حباب‌ها می‌باشند (احمدی و همکاران، ۱۳۹۳). در این تحقیق سایز حباب‌های تولیدی با استفاده از ^۱DLS (روش تفرق نور) مورد بررسی قرار گرفته است. آزمایش اندازه‌گیری ابعاد میکرو نانو حباب توسط دستگاه Laser Particle Size Analyser ساخت Cordouan Technologies واقع در دانشگاه فردوسی مشهد انجام پذیرفت. این دستگاه قادر به اندازه‌گیری ذرات در محدوده‌ی ابعادی ۲۰ نانومتر تا ۲۰۰۰ میکرومتر می‌باشد. بر اساس نتایج بدست‌آمده از آنالیز DLS، سایز ذرات به طور میانگین ۳۶۸/۷۴ نانومتر می‌باشد. این امر نشان دهنده‌ی تولید حباب‌های در سایز میکرو و نانو توسط مولد میناب می‌باشد. خصوصیات میکرو نانو حباب‌های تولیدی در جدول ۴-۱ و شکل ۴-۱ آمده است.

^۱ Dynamic Light Scattering

جدول ۱-۴ خصوصیات میکرو نانو حباب‌های تولیدی

پارامتر	Nm
$Dv_{10}^1 =$	۲۵۷/۱۱
$Dv_{50}^2 =$	۴۰۷/۴۹
$Dv_{90}^3 =$	۷۴۱/۵۱
$D_{mean}^{number^4} =$	۲۵۴/۰۲
$Z_{avg}^{\Delta} =$	۳۶۸/۷۴



شکل ۱-۴ سایز-تعداد میکرو نانو حباب‌های ازن تولیدی توسط مولد میناب

به اختلاف پتانسیل الکتریکی موجود در سطح ذره زتا پتانسیل گفته می‌شود. پارامتر زتا پتانسیل از عوامل مهم در پایداری مواد کلوئیدی به شمار می‌رود. با بالا رفتن قدر مطلق زتا پتانسیل، نیروی دافعه دو ذره‌ای که به هم نزدیک می‌شوند افزایش می‌یابد؛ این امر سبب افزایش پایداری کلوئید می‌گردد. در زتا پتانسیل‌های کمتر از ۱۰ میلی ولت، ذرات در محلول به سمت ناپایداری سوق

^۱ معرف قطری است که ۱۰٪ حجمی میکرو نانو حباب‌ها دارای ابعادی کوچک‌تر از آن هستند.

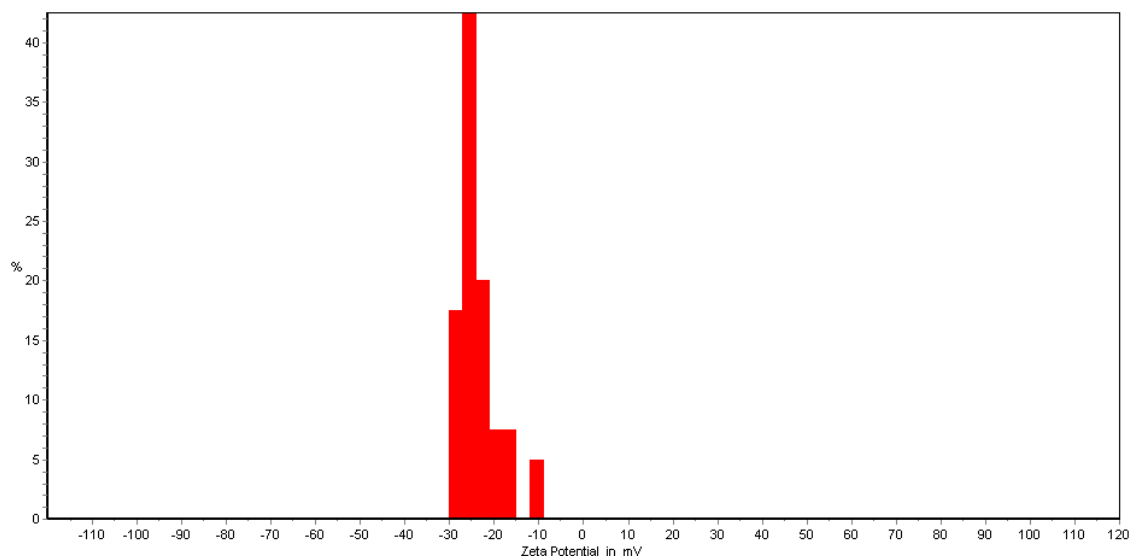
^۲ قطری که ۵۰٪ ذرات از آن کوچک‌تر است.

^۳ قطری که ۹۰٪ ذرات از آن کوچک‌تر است.

^۴ قطر متوسط میکرو نانو حباب‌های تولیدی

^۵ میانگین قطر هیدرودینامیکی

می‌یابند. اندازه‌گیری زتا پتانسیل توسط دستگاه Zeta Compact Cad Instrument واقع در دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. شکل ۲-۴ میزان زتا پتانسیل میکرو نانو حباب‌های ازن را نشان می‌دهد. میانگین زتا پتانسیل حباب‌ها ۲۳/۵۴- میلی ولت برآورد گردید. بار منفی زتا پتانسیل، منفی بودن شارژ در سطح حباب‌ها را روشن می‌سازد. همچنین قدر مطلق زتا پتانسیل حباب‌ها نشان از پایداری این حباب‌ها در مایع دارد. در واقع همین خاصیت پایداری حباب‌ها در مایع یکی از دلایل اصلی ماندگاری بیشتر میکرو نانو حباب‌ها در مایع نسبت به حباب‌های درشت‌تر می‌باشد. افزایش ماندگاری میکرو نانو حباب‌ها باعث افزایش کارایی گاز محصور شد. در این حباب‌ها و در نتیجه افزایش بازده واکنش مورد انتظار می‌گردد.



شکل ۲-۴ میزان زتا پتانسیل میکرو نانو حباب‌های ازن تولیدی توسط مولد میناب

۳-۴ بررسی تأثیر پارامتر غلظت ازن بر حذف باکتری‌ها

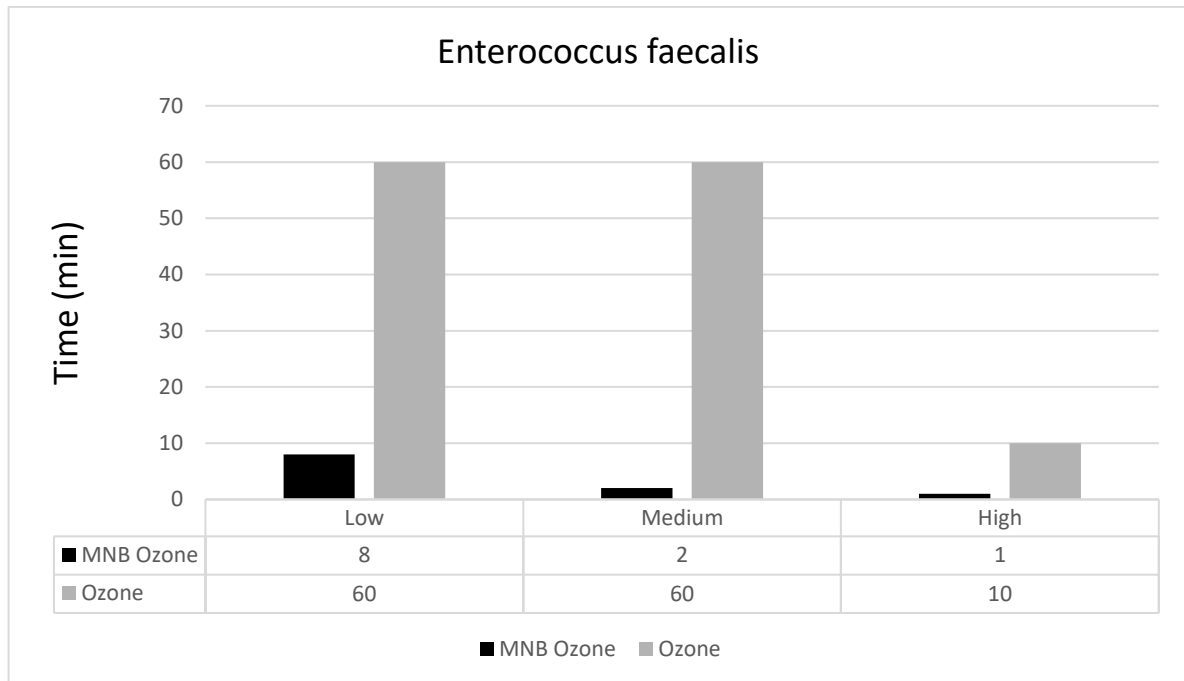
در این بخش به بررسی تأثیر غلظت ورودی ازن شامل (Low) ۱/۷، (Medium) ۵ و (High) 10 g h^{-1} به صورت ازن معمولی و میناب ازن بر از بین بردن باکتری‌های انتروکوک فکالیس، اشریشیاکلا، استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا پرداخته شده است.

۴-۳-۱ باکتری انتروکوک فکالیس

شکل ۳-۴ مقایسه‌ی تأثیر غلظت ازن بر حذف کامل باکتری انتروکوک فکالیس، با دو روش ازن زنی معمول و بهره بردن از تکنولوژی میکرو نانو حباب را نمایش می‌دهد. از این شکل می‌توان دریافت، زمان مورد نیاز برای حذف کامل باکتری انتروکوک فکالیس توسط میناب ازن در غلظت 10 g h^{-1} ، کاهش ۱۰ برابری نسبت به ازن زنی معمول با همان غلظت ازن، داشته است. زمان تماس برای حذف باکتری انتروکوک فکالیس در غلظت ازن ورودی 5 g h^{-1} ، برای نمونه در مجاورت میناب نسبت به گاز ازن در غلظت برابر، از ۶۰ دقیقه به ۲ دقیقه تقلیل یافته است. در غلظت پایین ازن، زمان تماس جهت حذف کامل باکتری انتروکوک فکالیس، برای میناب نسبت به ازن زنی معمول، $7/5$ برابر کاهش یافته است. همچنین طبق نتایج مشخص شده است که با کاهش $5/9$ برابری در غلظت ازن مصرفی از 10 g h^{-1} به $1/7 \text{ g h}^{-1}$ ، زمان مورد نیاز برای حذف کامل باکتری انتروکوک فکالیس طی درمان با میناب ازن ۸ برابر افزایش یافته است. برای ازن زنی معمول نیز افزایش ۶ برابری زمان تماس مورد نیاز مشاهده می‌گردد. کاهش زمان در غلظت متوسط (5 g h^{-1})، برای انتروکوک فکالیس بیشینه است. با کاهش غلظت ازن مصرفی از 10 g h^{-1} به 5 g h^{-1} ، زمان مورد نیاز جهت حذف کامل باکتری انتروکوک فکالیس طی درمان با میناب ازن ۲ برابر و این زمان برای گاز ازن ۶ برابر افزایش یافت. با توجه به شکل ۳-۴، تفاوتی در زمان ازن زنی معمولی جهت حذف کامل باکتری انتروکوک فکالیس در دو غلظت 5 g h^{-1} و $1/7 \text{ g h}^{-1}$ مشاهده نمی‌شود. در صورتیکه برای میناب ازن با افزایش غلظت از $1/7 \text{ g h}^{-1}$ به 5 g h^{-1} کاهش ۴ برابری زمان تماس مورد نیاز جهت حذف باکتری انتروکوک فکالیس مشهود است.

نکته حائز اهمیت توانایی حذف باکتری انتروکوک فکالیس توسط میناب ازن در غلظت $1/7 \text{ g h}^{-1}$ در مدت زمان کوتاه‌تری (۸ min) نسبت به گاز ازن با غلظت $5/9$ برابری یا 10 g h^{-1} (۱۰ min) می‌باشد. از این موضوع می‌توان به کارایی بالای میناب ازن در غلظت‌های کم ازن پی برد. با توجه به

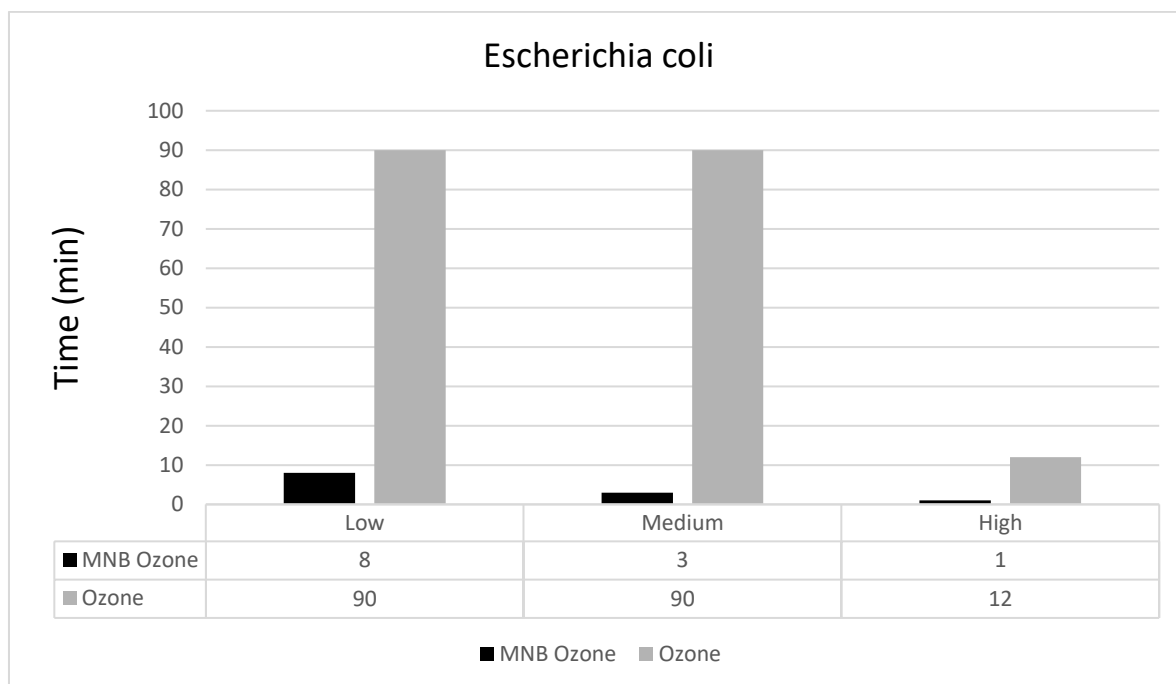
سایز کوچک میکرو نانو حباب و سطح تماس بسیار بالای آن‌ها، پایداری میناب ازن باعث افزایش مقدار و زمان تماس ازن با باکتری‌ها در مقایسه با ازن معمولی گشته و بازده خاصیت اکسیدکنندگی ازن در حذف باکتری‌ها نسبت به ازن معمولی را افزایش داده است.



شکل ۳-۴ تأثیر غلظت ازن بر حذف کامل باکتری انتروکوک فکالایس توسط میناب ازن و ازن: $1/7 \text{ g h}^{-1}$ Low، 5 g h^{-1} Medium و 10 g h^{-1} High

۲-۳-۴ باکتری اشیریشیاکلای

شکل ۴-۴ نشانگر تأثیر غلظت ازن بر حذف کامل باکتری اشیریشیاکلای توسط دو نمونه‌ی میناب ازن و گاز ازن می‌باشد. با توجه به نمودار می‌توان دریافت که حذف کامل باکتری اشیریشیاکلای برای میناب ازن در غلظت بالای ازن (10 g h^{-1})، ۱۲ بار سریع‌تر از ازن با همان غلظت و حذف در غلظت 5 g h^{-1} ، برای میناب ازن ۳۰ برابر سریع‌تر از حذف توسط گاز ازن در همان غلظت اتفاق افتاده است. همانند باکتری انتروکوک فکالایس، حداکثر تفاوت بین زمان حذف باکتری توسط میناب و گاز ازن، در غلظت متوسط (5 g h^{-1}) مشاهده گردید. در غلظت $1/7 \text{ g h}^{-1}$ ، زمان تماس حذف باکتری اشیریشیاکلای توسط میناب در مقایسه با گاز ازن ۱۱/۲۵ برابر، کاهش یافته است.



شکل ۴-۴ تأثیر غلظت ازن بر حذف باکتری اشریشیاکلای توسط میناب ازن و ازن: $1/7 \text{ g h}^{-1}$

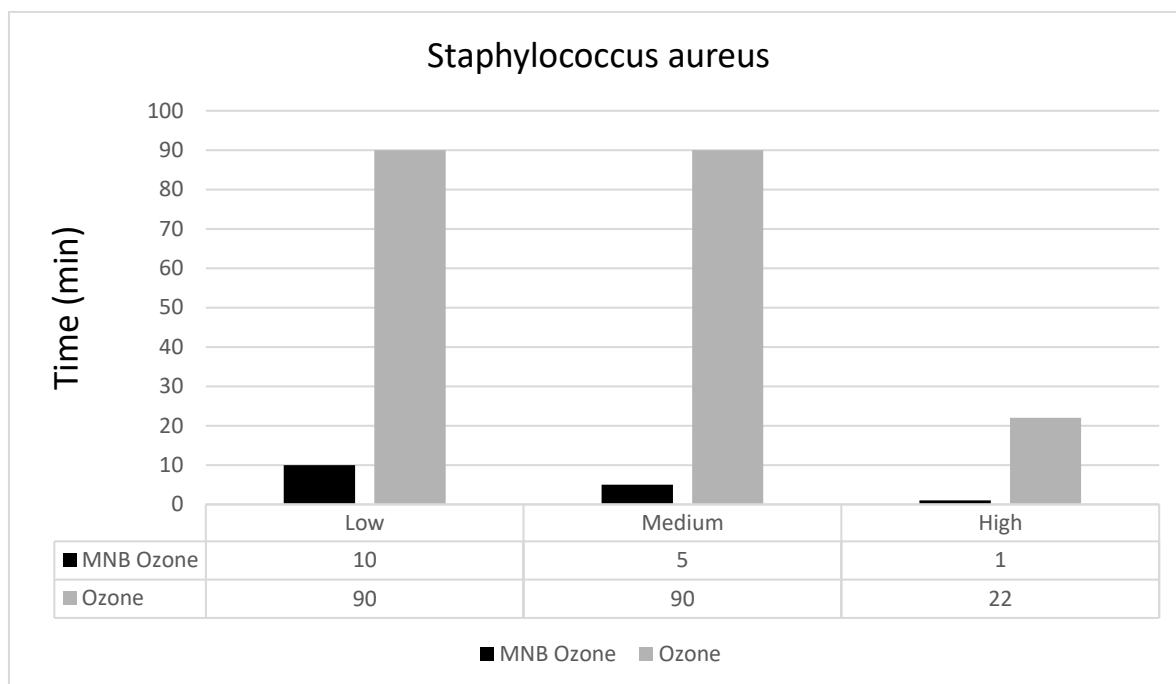
Low: 5 g h^{-1} و High: 10 g h^{-1}

همچنین نتایج مشخص می‌سازند که با کاهش غلظت ازن مصرفی از 10 g h^{-1} به 5 g h^{-1} ، زمان مورد نیاز برای حذف کامل باکتری اشریشیاکلای با استفاده از میناب ازن و ازن به ترتیب ۳ و $7/5$ برابر افزایش یافته است. میناب ازن در غلظت $1/7 \text{ g h}^{-1}$ ، $1/5$ برابر سریع تر قادر به حذف باکتری اشریشیاکلای نسبت به گاز ازن با غلظت 10 g h^{-1} می‌باشد. با توجه به شکل ۴-۴، همانند باکتری انتروکوک فکالایس تفاوتی در زمان تماس مورد نیاز (90 min) جهت حذف کامل باکتری اشریشیاکلای توسط گاز ازن در دو غلظت 5 g h^{-1} و $1/7 \text{ g h}^{-1}$ مشاهده نمی‌شود. درحالی‌که هنگام استفاده از میناب ازن، با کاهش غلظت از 5 g h^{-1} به $1/7 \text{ g h}^{-1}$ ، زمان تماس مورد نیاز جهت حذف باکتری اشریشیاکلای $2/6$ برابر افزایش یافته است. علت این موضوع می‌تواند عدم برخورد کارای حباب‌های ازن معمولی با باکتری اشریشیاکلای در مقایسه با میناب ازن باشد. این موضوع تاییدی بر کارایی تکنولوژی میکرو نانو حباب در غلظت‌های پایین است.

با توجه به نمودار ۳-۴ و ۴-۴ می‌توان دریافت در غلظت بالا از میناب ازن، زمان حذف باکتری‌های اش‌ریشیاکلای و انتروکوک فکالایس برابر بود اما اش‌ریشیاکلای در همین غلظت از گاز ازن به مدت زمان بیشتری جهت حذف کامل احتیاج داشت. در غلظت 5 g h^{-1} نیز در هر دو نحوه‌ی ازن زنی، زمان حذف باکتری اش‌ریشیاکلای $1/5$ برابر انتروکوک فکالایس اندازه‌گیری شد. گرچه در غلظت پایین گاز ازن، اش‌ریشیاکلای باز هم به $1/5$ برابر بیشتر زمان نسبت به انتروکوک فکالایس جهت حذف احتیاج داشت اما هر دوی این باکتری‌ها در مجاورت میناب ازن در غلظت پایین در زمان یکسانی از بین رفتند.

۳-۳-۴ باکتری استافیلوکوک اورئوس

در شکل ۴-۵ اثر ضدعفونی‌کنندگی ازن بر آب حاوی باکتری استافیلوکوک اورئوس، توسط گاز ازن و میناب ازن در ۳ غلظت $1/7$ ، 5 و 10 g h^{-1} نشان داده شده است. زمان موردنیاز برای حذف کامل باکتری استافیلوکوک اورئوس توسط میناب ازن در غلظت 10 g h^{-1} ، کاهش ۲۲ برابری نسبت به ازن زنی معمول داشته است. زمان مجاورت جهت حذف این باکتری در غلظت $1/7$ و 5 g h^{-1} ، برای گاز ازن به ترتیب ۹ و ۱۸ برابر میناب ازن است. زمان مورد نیاز جهت حذف باکتری استافیلوکوک اورئوس هنگام استفاده از غلظت پایین میناب ازن ($1/7 \text{ g h}^{-1}$)، بیش از ۲ برابر، کمتر از زمان ازن زنی معمول با غلظت 10 g h^{-1} است. این امر مزیت استفاده از میناب ازن به جای ازن در امر گندزدایی را روشن می‌سازد. با کاهش غلظت ازن مصرفی از 5 g h^{-1} به $1/7 \text{ g h}^{-1}$ ، زمان مورد نیاز برای حذف کامل باکتری ۲ برابر افزایش یافته است. با افزایش غلظت از $1/7 \text{ g h}^{-1}$ به 10 g h^{-1} ، زمان تماس جهت حذف باکتری استافیلوکوک اورئوس توسط میناب ازن، ۱۰ برابر کاهش یافت. با افزایش $5/9$ برابری غلظت برای گاز ازن نیز زمان تماس مورد نیاز جهت حذف تا ۴ برابر کاهش می‌یابد.



شکل ۴-۵ تأثیر غلظت ازن بر حذف کامل باکتری استافیلوکوک اورئوس توسط میناب ازن و

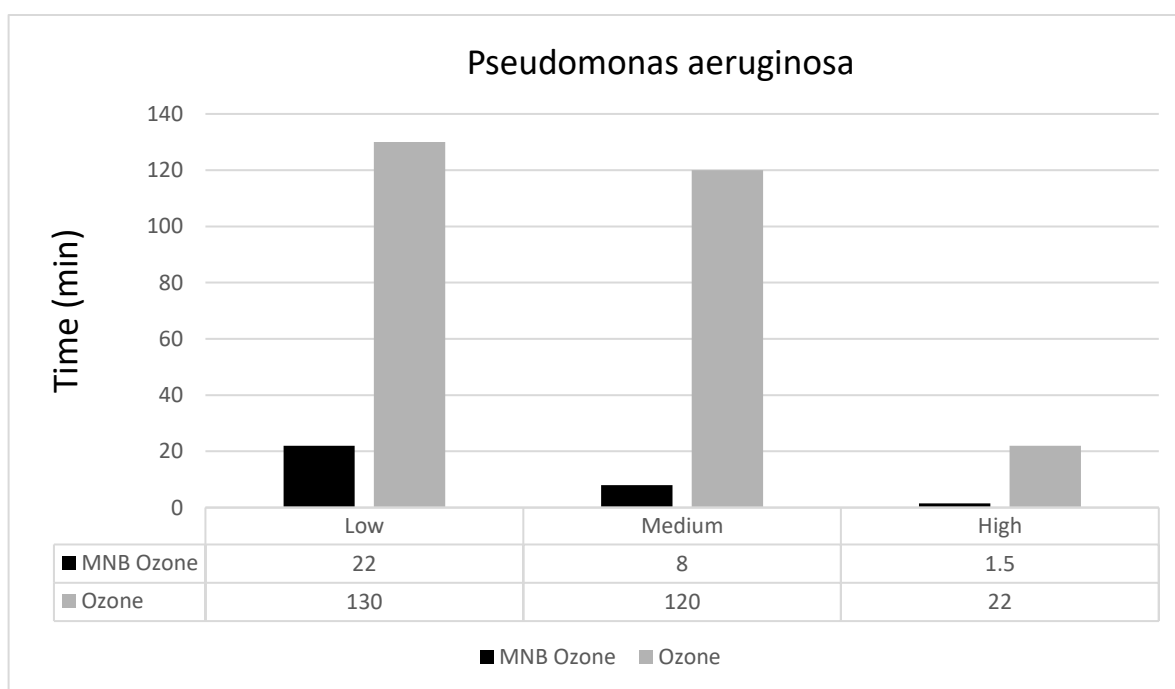
ازن،: $1/7 \text{ g h}^{-1}$: Low، 5 g h^{-1} : Medium و 10 g h^{-1} : High

با مقایسه شکل‌های ۴-۳ و ۴-۵ می‌توان مشاهده کرد باکتری‌های انتروکوک فکالیز و استافیلوکوک اورئوس در غلظت بالای میناب ازن در زمان کمتر از یک دقیقه به‌طور کامل حذف شدند. درحالی‌که استافیلوکوک اورئوس در همان غلظت از گاز ازن ۱۲ دقیقه دیرتر از انتروکوک فکالیز از بین رفت. میناب ازن در غلظت 5 g h^{-1} تأثیر بهتری در حذف باکتری انتروکوک فکالیز داشته و این باکتری را $2/5$ برابر سریع‌تر از باکتری استافیلوکوک اورئوس از بین برد. این نسبت برای ازن زنی معمولی $1/5$ برابر است.

با بررسی نمودارهای ۴-۵ و ۴-۴ نتایج زیر قابل مشاهده است. در غلظت بالای میناب ازن هر دو باکتری اش‌ریشیاکلائی و استافیلوکوک اورئوس در دقیقه‌ی اول حذف شدند در صورتی‌که برای گاز ازن زمان حذف اش‌ریشیاکلائی ۱۰ دقیقه کمتر بود. در غلظت متوسط و پایین گاز ازن زمان برای هر دو نحوه‌ی ازن زنی ثابت بود. این موضوع می‌تواند به علت تفاوت غلظت ناچیز ازن باشد.

۴-۳-۴ باکتری سودوموناس آئروژینوزا

شکل ۴-۶ بیانگر تأثیر غلظت ازن بر حذف کامل باکتری سودوموناس آئروژینوزا حین استفاده از میناب ازن و گاز ازن به عنوان گندزدا است. همانطور که در نمودار مشاهده می‌گردد، باکتری سودوموناس آئروژینوزا نسبت به سه باکتری قبلی در برابر ازن مقاومت بیشتری دارد و برای حذف آن مدت زمان طولانی تری نیاز است. زمان مجاورت برای حذف این باکتری در غلظت 10 g h^{-1} از میناب ازن، $1/5$ برابر دیگر باکتری‌های مورد بررسی بود.



شکل ۴-۶ تأثیر غلظت ازن بر حذف کامل باکتری سودوموناس آئروژینوزا توسط میناب ازن و

ازن، $1/7 \text{ g h}^{-1}$: Low، 5 g h^{-1} : Medium و 10 g h^{-1} : High

در شرایط یکسان استفاده از میناب ازن با غلظت 5 g h^{-1} ، باکتری سودوموناس آئروژینوزا برای حذف کامل به زمان تماس ۴ برابری نسبت به باکتری انتروکوک فکالینس احتیاج دارد. این نسبت برای باکتری اشیریشیاکلای $2/6$ و برای باکتری استافیلوکوک اورئوس $1/6$ برابر می‌باشد. در ازن زنی معمول با غلظت 5 g h^{-1} ، باکتری سودوموناس آئروژینوزا برای حذف به زمانی ۲ برابر انتروکوک فکالینس نیاز دارد. زمان تماس جهت حذف کامل باکتری سودوموناس آئروژینوزا هنگام استفاده از گاز ازن در غلظت $1/7 \text{ g h}^{-1}$ ، ۱۳۰ دقیقه است.

با مقایسه نمودار ۴-۶ با سه نمودار قبلی میتوان دریافت سودوموناس آئروژینوزا مقاوم‌ترین باکتری از بین باکتری‌های مورد مطالعه در این تحقیق می‌باشد. زمان حذف این باکتری در غلظت $10^{-1} g h^{-1}$ ، ۲۲ دقیقه و همانند باکتری استافیلوکوک اورئوس می‌باشد. در صورتیکه در غلظت $5 g h^{-1}$ از گاز ازن، سودوموناس آئروژینوزا به ۲ برابر زمان نسبت به انتروکوک فکالایس جهت حذف کامل نیاز دارد. سودوموناس آئروژینوزا پس از ۱۲۰ دقیقه ازن زنی معمول در غلظت $5 g h^{-1}$ از بین رفت. درحالیکه حذف این باکتری در همان غلظت ازن ورودی با استفاده از تکنولوژی میکرو نانو حباب تنها ۸ دقیقه زمان برد. استفاده از این تکنولوژی زمان مورد نیاز جهت حذف را ۱۵ برابر کاهش داد. بیشترین زمان مورد نیاز جهت حذف کامل باکتری در این تحقیق مربوط به باکتری سودوموناس آئروژینوزا و غلظت $1/7 g h^{-1}$ بود. با توجه به نمودارهای ترسیم شده مشاهده می‌گردد زمان مجاورت جهت حذف باکتری‌های انتروکوک فکالایس، اشیریشیاکلای و استافیلوکوک اورئوس در غلظت متوسط ($5 g h^{-1}$) و پایین ($1/7 g h^{-1}$) از گاز ازن یکسان است. یکی از دلایل احتمالی این موضوع، نزدیک بودن غلظت کم ($1/7 g h^{-1}$) و غلظت متوسط ($5 g h^{-1}$) ازن در مقایسه با غلظت $10^{-1} g h^{-1}$ که به عنوان غلظت بالا استفاده شده است، می‌باشد.

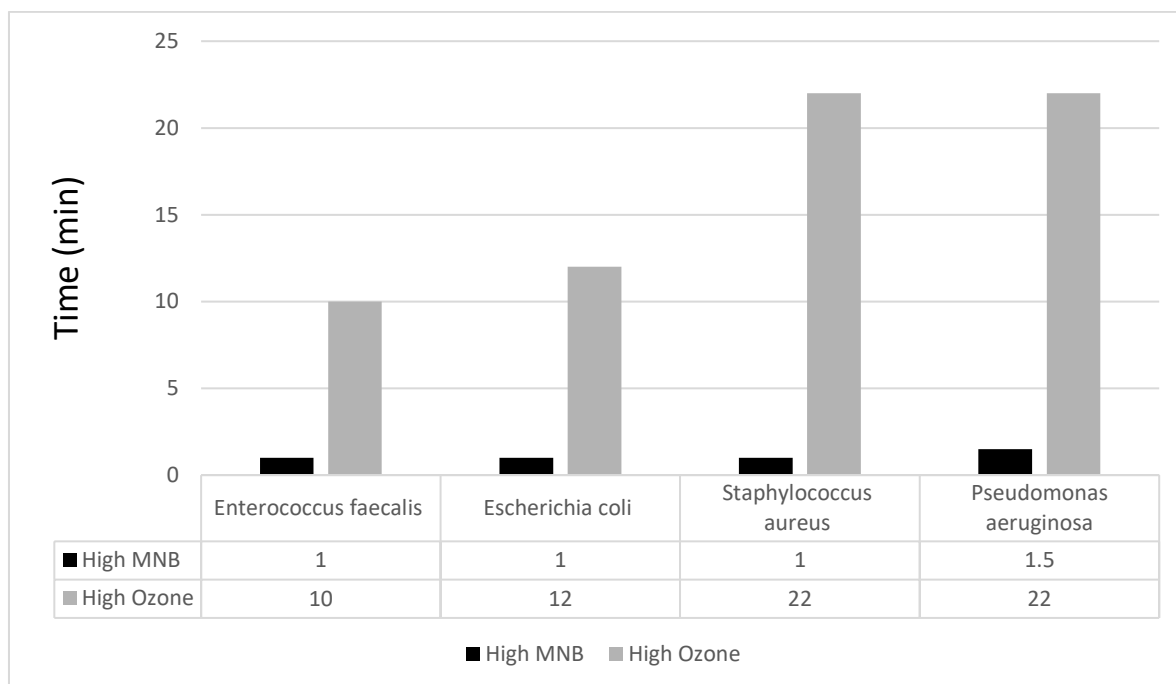
با توجه به ۴ نمودار پیشین مشخص است در غلظت بالا ($10^{-1} g h^{-1}$) بیشترین تفاوت در زمان حذف باکتری‌ها توسط دو نحوه‌ی ازن زنی به باکتری استافیلوکوک اورئوس با ۲۲ برابر کاهش زمان حذف هنگام استفاده از میناب ازن می‌باشد. این عدد برای باکتری‌های انتروکوک فکالایس، اشیریشیاکلای و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۱۰، ۱۲ و $14/66$ برابر است. در غلظت متوسط ($5 g h^{-1}$) ازن ورودی، بیشترین کاهش زمان مربوط به باکتری اشیریشیاکلای و انتروکوک فکالایس با ۳۰ برابر کاهش زمان حذف با میناب ازن می‌باشد. این نسبت برای باکتری استافیلوکوک اورئوس ۱۸ برابر و برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا ۱۵ برابر سریع‌تر می‌باشد. در غلظت کم ازن، باکتری اشیریشیاکلای بیشترین نرخ کاهش زمان مورد نیاز جهت حذف را نسبت به ۳ باکتری دیگر داشت. این باکتری توسط میناب ازن $11/25$ ، مرتبه سریع‌تر از مجاورتش با گاز ازن از بین رفت. کاهش زمان

حذف برای باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس، انتروکوک فکالایس و سودوموناس آئروژینوزا ۹، ۷/۵ و ۵/۹ برابر اندازه‌گیری شد.

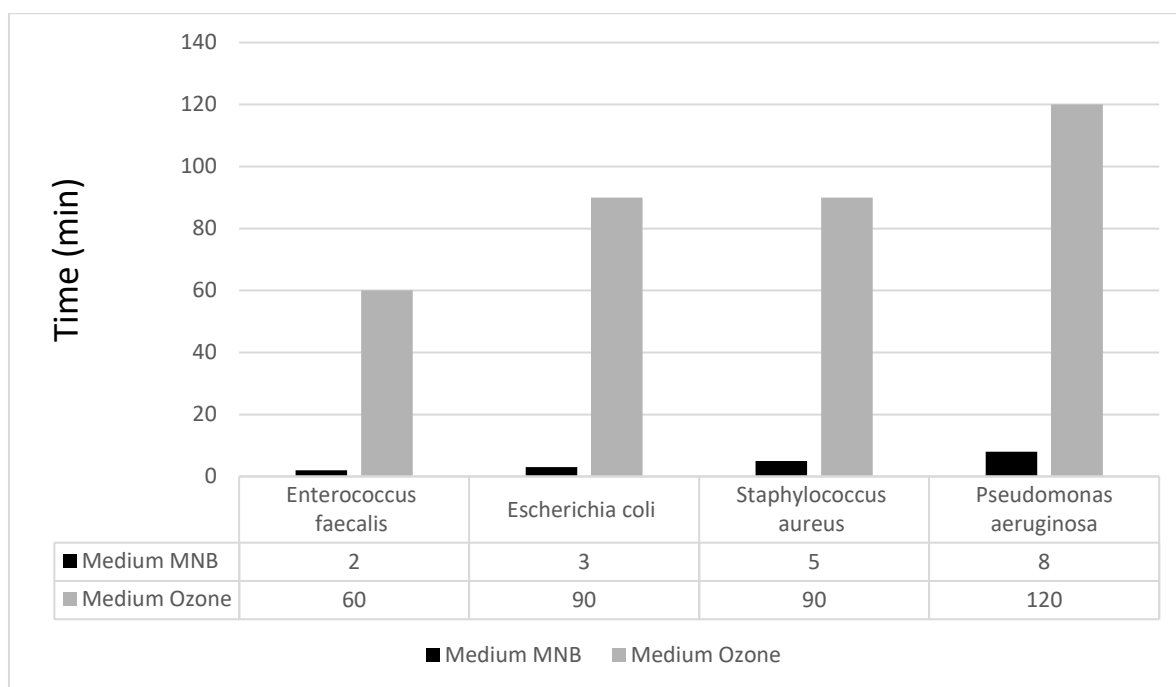
بیشینه کارایی تکنولوژی میکرو نانو حباب در غلظت 5 g h^{-1} و مربوط به باکتری‌های اشیریشیاکلای و انتروکوک فکالایس با ۳۰ مرتبه کاهش زمان مورد نیاز و کمینه کارایی مربوط به باکتری سودوموناس آئروژینوزا در غلظت $1/7 \text{ g h}^{-1}$ با ۵/۹ برابر کاهش زمان بود.

۴-۴ بررسی پاسخ باکتری‌ها به میناب ازن و ازن زنی معمولی در غلظت‌های مختلف

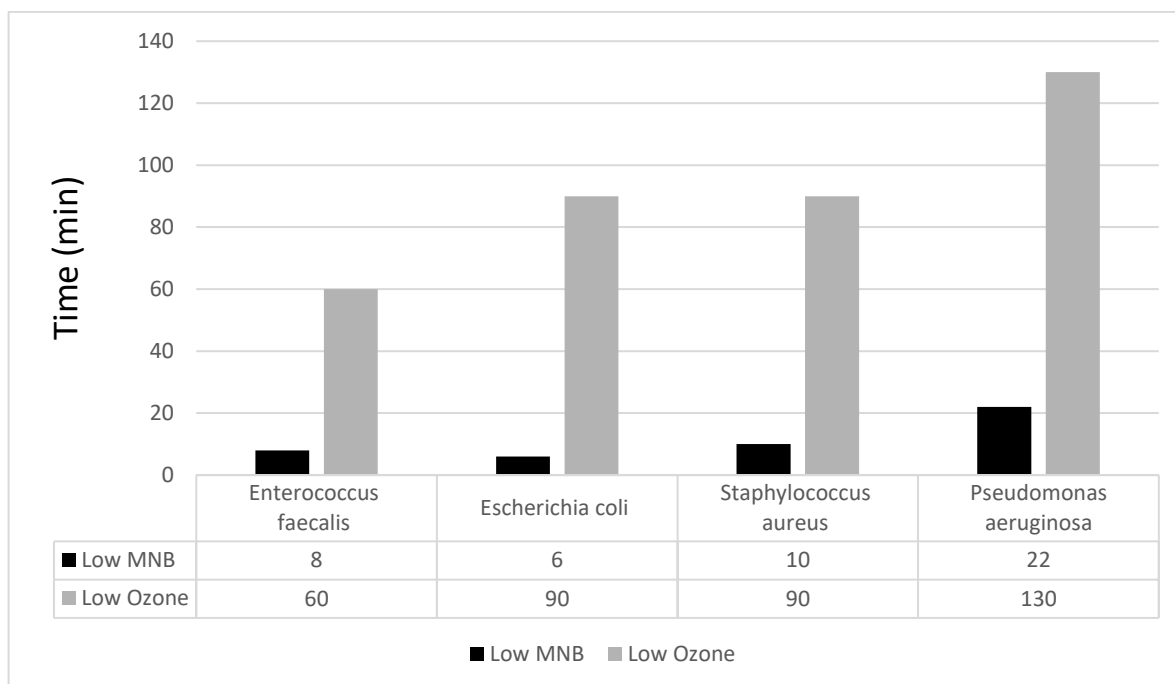
شکل‌های ۴-۷، ۴-۸ و ۴-۹ نتایج حاصل از مقایسه‌ی زمان حذف کامل باکتری‌های مورد بررسی در مجاورت میناب و گاز ازن را نشان می‌دهند. غلظت ازن برای هر دو روش یکسان بوده و تنها شیوه‌ی ازن زنی تفاوت دارد. همانگونه که مشاهده می‌گردد، حداکثر تفاوت در زمان تماس برای دو شیوه‌ی ازن زنی، در غلظت متوسط اتفاق می‌افتد. حذف کامل برای باکتری اشیریشیاکلای در غلظت 10 g h^{-1} میناب ازن، ۱۲ بار سریع‌تر از ازن در همان غلظت اتفاق افتاده است. برای باکتری‌های انتروکوک فکالایس، استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا حذف کامل در این غلظت از میناب ازن به ترتیب ۱۰، ۲۲ و ۱۴/۶ برابر ازن زنی معمولی می‌باشد. زمان مورد نیاز جهت حذف کامل باکتری اشیریشیاکلای برای غلظت متوسط میناب ازن (5 g h^{-1})، ۳۰ برابر کمتر از زمان مورد نیاز برای حذف کامل این باکتری توسط گاز ازن است. زمان لازم برای حذف باکتری‌های انتروکوک فکالایس، استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۳۰، ۱۸ و ۱۵ برابر کاهش داشته است. در غلظت $1/7 \text{ g h}^{-1}$ نیز همانند دو غلظت دیگر زمان تماس جهت حذف کامل با استفاده از میناب ازن نسبت به ازن زنی معمول کاهش یافته است.



شکل ۷-۴ مقایسه‌ی پاسخ باکتری‌ها در غلظت بالا ($10g\ h^{-1}$) از ازن در دو روش ازن زنی معمولی و استفاده از میناب ازن



شکل ۸-۴ مقایسه‌ی پاسخ باکتری‌ها در غلظت متوسط ($5g\ h^{-1}$) از ازن در دو روش ازن زنی معمولی و استفاده از میناب ازن



شکل ۴-۹ مقایسه‌ی پاسخ باکتری‌ها در غلظت کم ($1/7 g h^{-1}$) از ازن در دو روش ازن زنی معمولی و استفاده از میناب ازن

زمان تماس مورد نیاز جهت پاکسازی و حذف کامل باکتری‌های اشیریشیاکلای، انتروکوک فکالایس، استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا در تماس با میناب به ترتیب ۱۵، ۷/۵، ۹ و ۵/۹ برابر کمتر از زمان مورد نیاز برای حذف کامل این باکتری‌ها از محیط آبی با استفاده از گاز ازن می‌باشد. هم چنین نتایج مشخص می‌سازند که با کاهش ۵/۹ برابری در غلظت ازن مصرفی از $10 g h^{-1}$ به $1/7 g h^{-1}$ ، زمان مورد نیاز برای حذف کامل باکتری اشیریشیاکلای با استفاده از میناب ازن و ازن به ترتیب ۳ و ۷/۵ برابر افزایش یافته است که این امر مزیت استفاده از میناب ازن به جای ازن در امر گندزدایی را روشن می‌سازد. این عدد برای باکتری انتروکوک فکالایس، در مجاورت میناب ازن ۸ برابر و برای ازن ۶ برابر افزایش یافته است. باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا نیز به ترتیب در مجاورت میناب ۱۰ و ۱۴/۶ برابر و برای گاز ازن ۴ و ۵/۹ برابر زمان جهت حذف کامل نیاز داشتند.

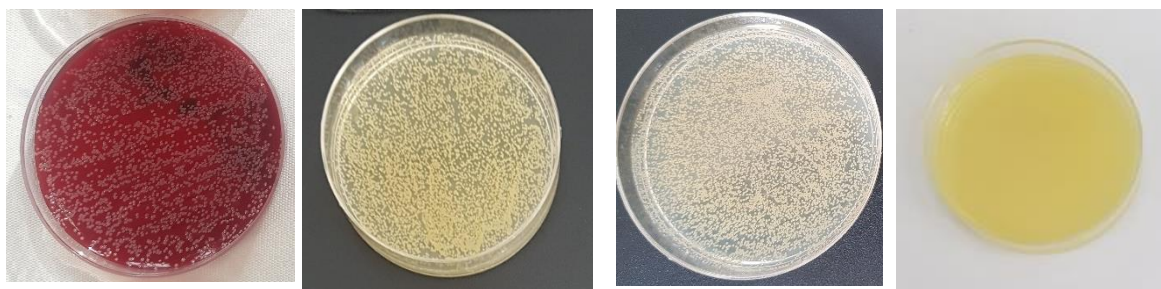
۴-۵ بررسی تأثیر پارامتر زمان بر روند حذف باکتری‌های مورد

مطالعه

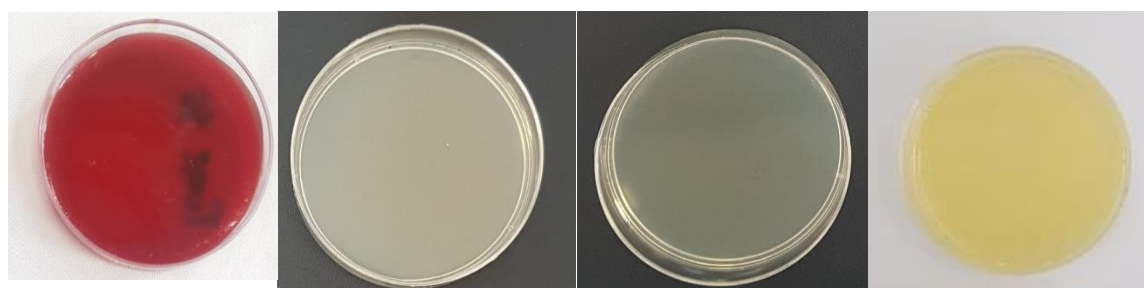
در این بخش روند حذف باکتری‌ها در اثر مجاورت با غلظت‌های متفاوت از گاز ازن در دو شیوه‌ی ازن زنی سنتی و استفاده از تکنولوژی میکرو نانو حباب بر حسب زمان به دو صورت روند حذف (الف) و درصد حذف (ب) آورده شده است. تصاویر مربوط به باکتری‌ها در اثر مجاورت با ۳ غلظت/۱ $g\ h^{-1}$ ، ۷ $g\ h^{-1}$ و ۱۰ $g\ h^{-1}$ از گاز ازن و میناب ازن نیز در هر قسمت مشاهده می‌گردد.

۴-۵-۱ غلظت بالای ازن ($10\ g\ h^{-1}$)

در شکل ۴-۱۰ تصویر کلونی‌های باکتری‌های مورد بررسی پس از زمان ۹۰ ثانیه استفاده از میناب ازن با غلظت بالای $10\ g\ h^{-1}$ نشان داده شده است. با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده می‌شود که میناب ازن بیشترین بازدهی را در غلظت $10\ g\ h^{-1}$ با حذف کامل در ۱/۵ دقیقه برای سودوموناس و ۱ دقیقه برای سه باکتری دیگر داشته است. به علت حذف هر ۴ باکتری توسط میناب ازن با غلظت بالا در زمانی کمتر از ۹۰ ثانیه، نمودار روند حذف باکتری‌ها برای میناب ازن در غلظت بالا ترسیم نشده است. میناب ازن در غلظت بالا ($10\ g\ h^{-1}$) قادر به کاهش زمان حذف تا ۲۲ برابر بوده است. در مورد میناب ازن نیز سودوموناس آخرین باکتری حذف شده بود.



۹۰ s ↓



الف

ب

ج

د

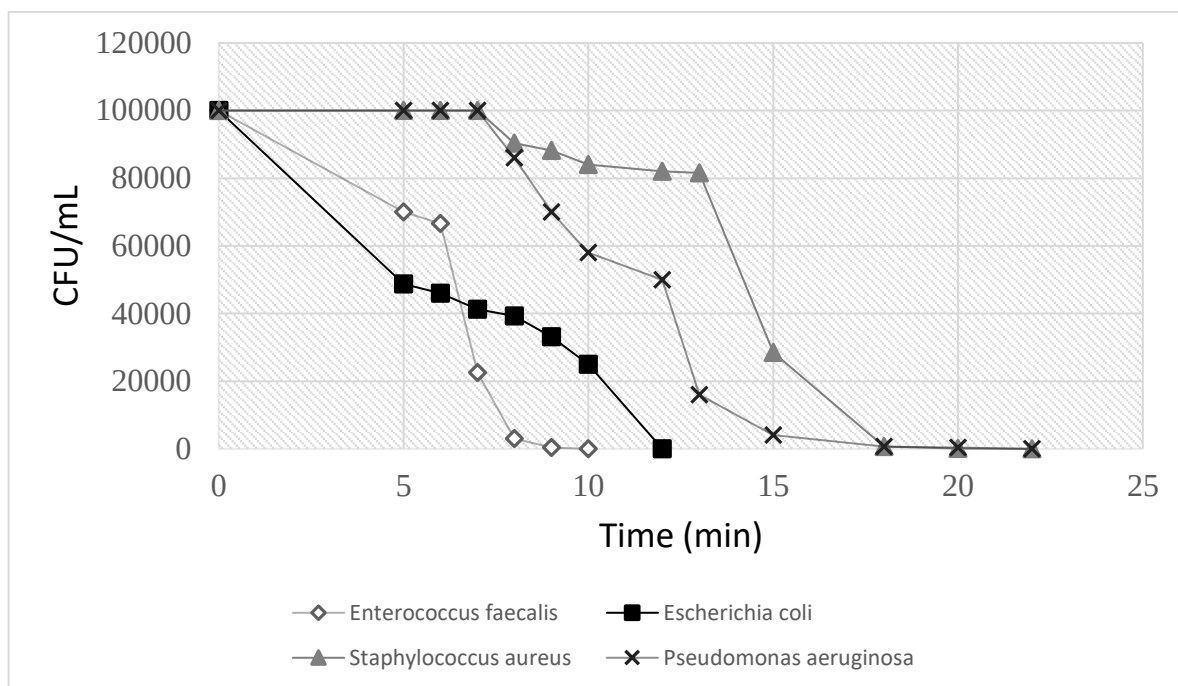
شکل ۴-۱۰ تصویر کلونی‌های باکتری‌های مورد بررسی پس از زمان ۹۰ ثانیه استفاده از غلظت بالا از میناب ازن، الف: انتروکوک فکالایس، ب: اشیریشیاکلای، ج: استافیلوکوک اورئوس، د: سودوموناس آئروژینوزا

روند حذف باکتری‌های مورد بررسی در ازن زنی معمولی با غلظت بالا (10 g h^{-1}) برحسب زمان در شکل ۴-۱۱ آورده شده است. در غلظت بالا از گاز ازن به ترتیب باکتری‌های انتروکوک فکالایس، اشیریشیاکلای، استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس از محلول آبی حذف شدند. با توجه به نتایج مشخص می‌گردد که تعداد باکتری‌های انتروکوک فکالایس در دقیقه ۶ ام ازن زنی ۶۶۶۵۰ و در دقیقه ۷ ام این تعداد به حدود یک سوم (22500) تقلیل یافته است. شیب نمودار مربوط به باکتری انتروکوک فکالایس بین دقایق ۶-۷ و ۷-۸، شدید بوده و پس از آن شیب ملایم شده و در دقیقه ۱۰ ام از ازن زنی این باکتری به‌طور کامل حذف شد. بیشترین سرعت کاهش باکتری در دقیقه ۵ ام مربوط به باکتری اشیریشیاکلای بود. تعداد این باکتری طی ۵ دقیقه ابتدایی، به نصف رسید و در دقیقه ۱۲ به‌طور کامل از بین رفت. با توجه به نتایج در مقایسه بین باکتری‌های اشیریشیاکلای و انتروکوک فکالایس می‌توان دید در دقایق ابتدایی سرعت حذف در اشیریشیاکلای بالاتر است. بین دقیقه ۶ ام و ۷ ام ازن زنی به‌علت افزایش ناگهانی شیب نمودار انتروکوک فکالایس، تعداد

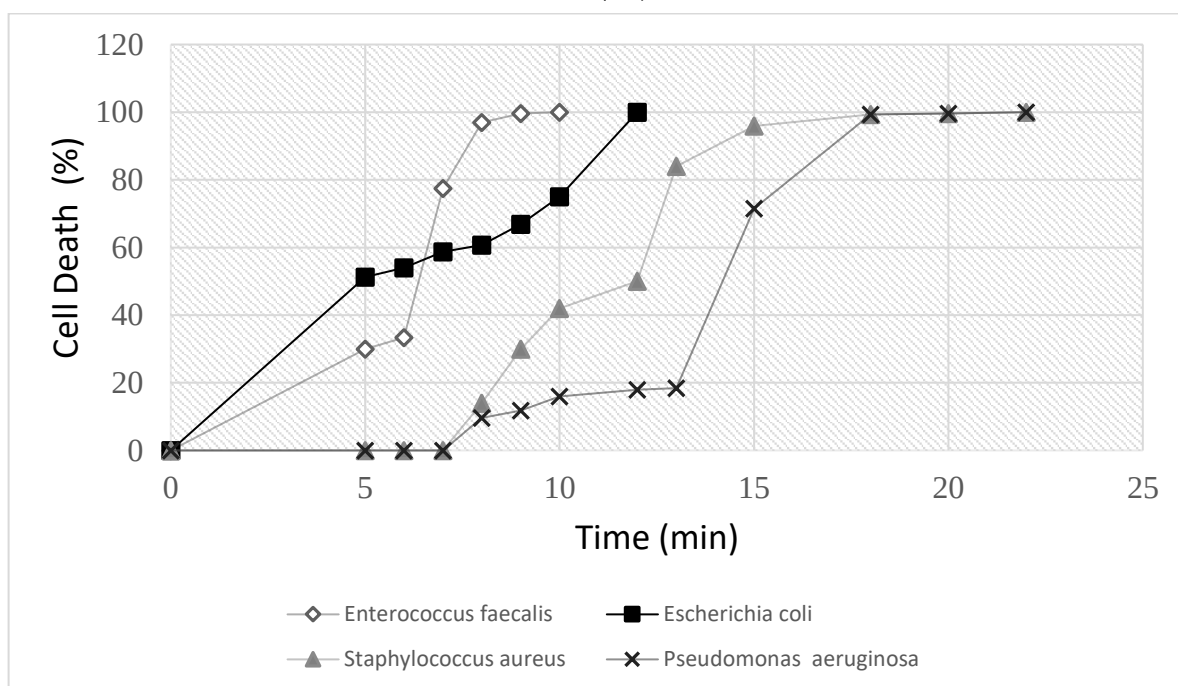
این دو باکتری برابر شده و پس از آن باکتری انتروکوک فکالایس زیر نمودار اشیریشیاکلای قرار گرفته و سریع تر حذف شد.

همچنین از مقایسه روند حذف دو باکتری استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا در ازن زنی معمولی طی زمان می توان دریافت تا دقیقه ی هفتم شیب این دو نمودار صفر بوده و ازن زنی بی تأثیر تلقی می گردد. پس از دقیقه ی هفتم، باکتری استافیلوکوک اورئوس با سرعت کمتری نسبت به سودوموناس آئروژینوزا شروع به نابودی می کند. تعداد باکتری های استافیلوکوک اورئوس بین دقایق ۱۳ و ۱۵، ۲/۸ برابر کاهش یافت و شیب نمودار به طرز قابل توجهی افزایش یافت. سپس بین دقایق ۱۵ و ۱۸ طی شیب نسبتاً تندی تعداد باکتری ها به ۷۰۰ کلونی (در میلی لیتر) رسید. پس از ۲۰ دقیقه ازن زنی با روش معمول تعداد باکتری های سودوموناس آئروژینوزا به ۴۰۰ کلونی و تعداد باکتری های استافیلوکوک اورئوس به ۱۰۰ کلونی رسید.

درصد حذف باکتری های انتروکوک فکالایس، اشیریشیاکلای، استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا پس از ۱۰ دقیقه ازن زنی توسط گاز ازن در غلظت 10 g h^{-1} به ترتیب برابر ۱۰۰، ۷۵، ۱۶ و ۴۲٪ بود. درصد حذف در ده دقیقه ی بعدی برای باکتری های اشیریشیاکلای، استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا به ۱۰۰، ۹۹/۶ و ۹۹/۶٪ رسید. شکل ۴-۱۲ نشان دهنده ی تصویر کلونی باکتری ها و روند کاهشی تعداد باکتری ها طی استفاده از گاز ازن در غلظت 10 g h^{-1} در دقایق ذکر شده می باشد. در این تصویر به خوبی می توان کاهش کلونی های باکتری طی درمان با گاز ازن در غلظت بالا را مشاهده نمود.

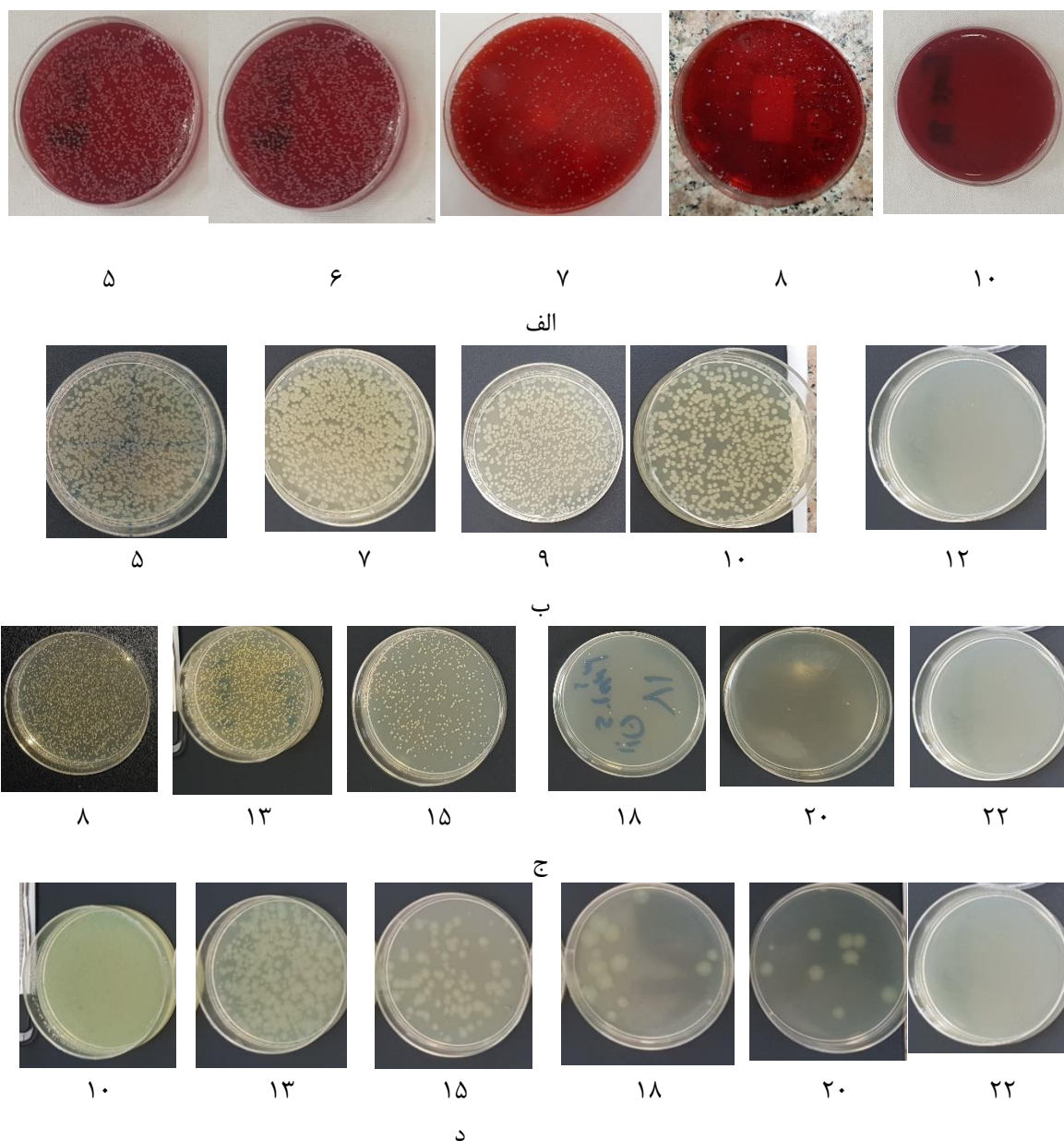


(الف)



(ب)

شکل ۴-۱۱ روند حذف باکتری‌ها بر حسب زمان در اثر مجاورت با غلظت بالای ازن ($10g\ h^{-1}$)، (الف) بر حسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU/mL) (ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%).



شکل ۴-۱۲ تصویر کلونی‌های باکتری‌های مورد بررسی در طی زمان‌های مختلف (اعداد نوشته شده در زیر هر تصویر برحسب دقیقه) پس از استفاده از غلظت بالا ($10 g h^{-1}$) از ازن معمولی الف: انتروکوک فکالیس، ب: اشریشیاکلای، ج: استافیلوکوک اورئوس، د: سودوموناس آئروژینوزا

۴-۵-۲ غلظت متوسط ازن ($5 g h^{-1}$)

روند حذف باکتری‌ها در حضور میناب ازن (شکل ۴-۱۳) و ازن معمولی (شکل ۴-۱۵) با غلظت ازن $5 g h^{-1}$ طی زمان‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. همچنین تصاویر کلونی باکتری‌ها در هنگام استفاده از میناب ازن و ازن زنی معمولی طی زمان‌های مختلف به ترتیب در شکل‌های ۴-۱۴ و ۴-۱۶

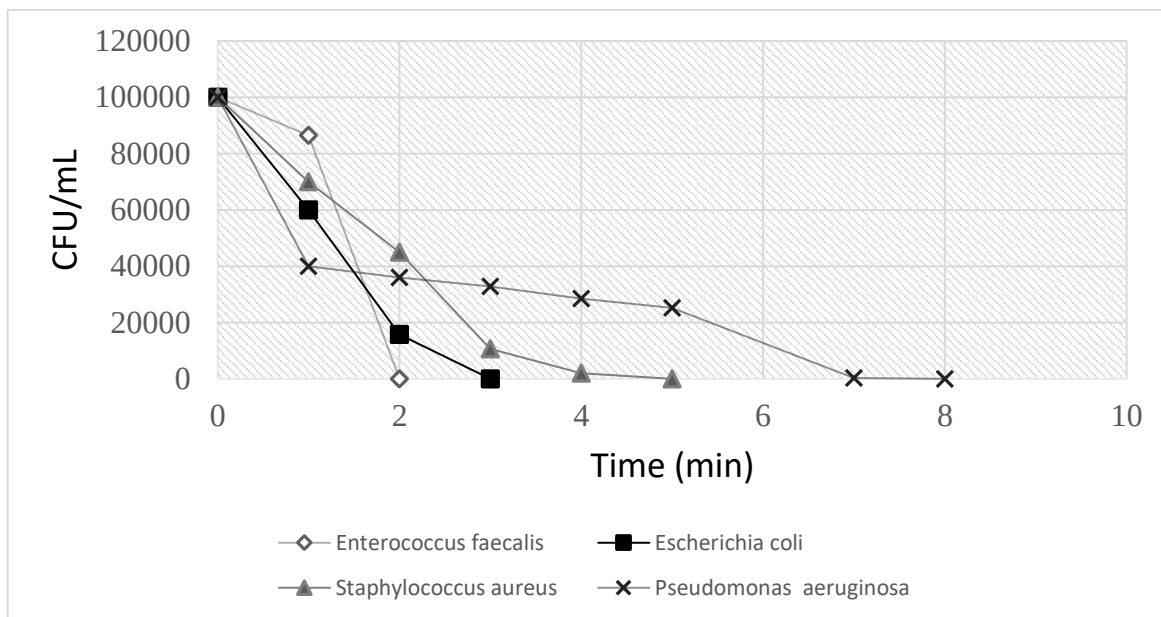
آورده شده است. با توجه به کاهش غلظت ازن، حذف کامل باکتری‌ها در مدت زمان بیشتری نسبت به غلظت بالای میناب ازن (حداکثر ۹۰S) اتفاق می‌افتد. همانگونه که انتظار می‌رفت ترتیب حذف باکتری‌ها در این آزمایش همانند روند حذف باکتری‌ها با استفاده از غلظت $10^{-1} g h^{-1}$ از ازن معمولی اتفاق افتاده است.

مدت زمان حذف کامل برای باکتری‌های انتروکوک فکالیس، اش‌ریشیاکلای، استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب به ۲، ۳، ۵ و ۸ دقیقه افزایش یافت. تعداد باکتری‌ها پیش از ازن زنی صد هزار بود. در اولین دقیقه‌ی ازن زنی با غلظت متوسط میناب ازن، $13/6\%$ از باکتری‌های انتروکوک فکالیس حذف شدند در صورتیکه در همین غلظت از گاز ازن پس از ۱۰ دقیقه ازن زنی تنها $5/6\%$ از باکتری‌های انتروکوک فکالیس حذف می‌شوند. یعنی با ۱۰ برابر کردن زمان ازن زنی باز هم کارایی میناب حدوداً ۲ برابر گاز ازن در همان غلظت است. برای باکتری اش‌ریشیاکلای نیز در اولین دقیقه مجاورتش با میناب ازن در غلظت متوسط ۴۰ درصد حذف اتفاق می‌افتد در صورتیکه توسط گاز ازن در همان غلظت، به حدود ۳۰ دقیقه زمان احتیاج می‌باشد.

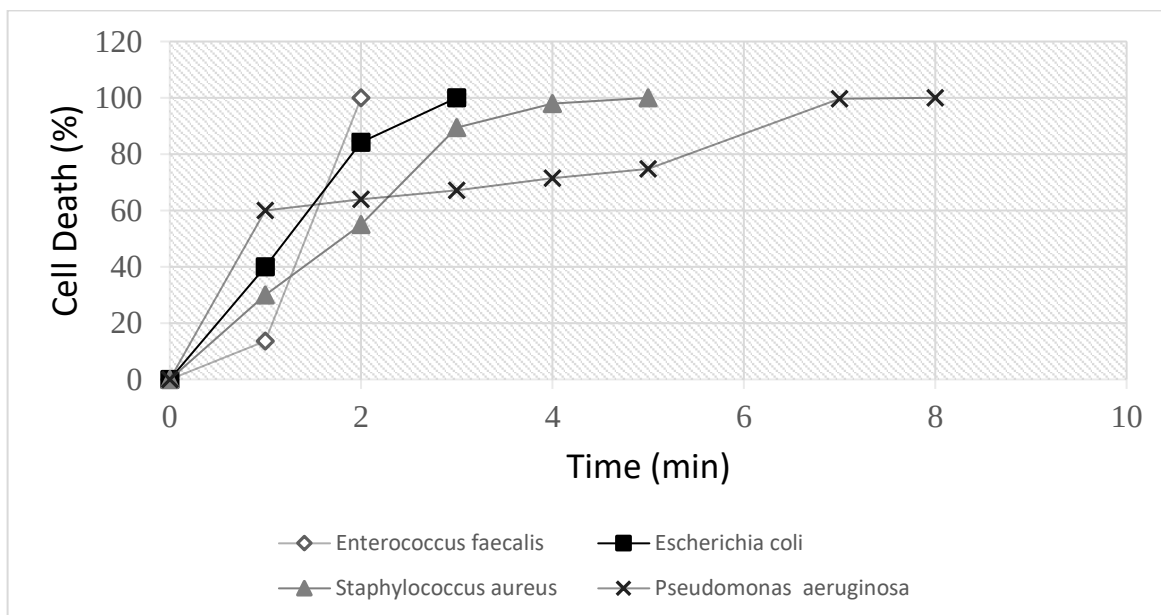
باکتری استافیلوکوک اورئوس در دقیقه‌ی اول مجاورت با میناب ازن با غلظت متوسط 30% حذف داشت و در نهایت در دقیقه‌ی پنجم به‌طور کامل از بین رفت در صورتیکه در اثر مجاورت این باکتری با گاز ازن در همین غلظت حذف کامل طی ۹۰ دقیقه اتفاق می‌افتد. باکتری سودوموناس آئروژینوزا در اولین دقیقه مجاورت با میناب ازن با غلظت $10^{-1} g h^{-1}$ ، ۶۰ درصد حذف شد. در حالیکه در ازن زنی با گاز ازن در همین غلظت طی ۱۰ دقیقه ابتدایی هیچ حذفی صورت نپذیرفت. برای رسیدن به حذف ۶۰ درصدی توسط گاز ازن به بیش از یک ساعت زمان نیاز بود.

سودوموناس آئروژینوزا در اولین دقیقه بیشترین کاهش تعداد باکتری را داشت اما آخرین باکتری‌ای بود که به‌طور کامل حذف شد. در دومین دقیقه ترتیب حذف باکتری‌ها به ترتیب مربوط به باکتری‌های انتروکوک فکالیس، اش‌ریشیاکلای، سودوموناس و استافیلوکوک اورئوس بود. پس از ۲ دقیقه استفاده از میناب ازن، تعداد باکتری‌های باقی مانده برابر با صفر (انتروکوک فکالیس)، ۱۵۸۰۰

(اشریشیاکلاهی)، ۳۶۰۰۰ (سودوموناس آئروژینوزا) و ۴۵۰۰۰ (استافیلوکوک اورئوس) بوده است. درصد حذف باکتری سودوموناس آئروژینوزا برای دقیقه‌ی پنجم ازن زنی با میناب غلظت متوسط ۷۴/۸٪ و برای گاز ازن در همین غلظت در زمانی ۱۰ برابری نسبت به میناب ازن (دقیقه‌ی ۵۰ ام) تنها ۴۲٪ بود. در نهایت میناب ازن با غلظت $5g\ h^{-1}$ ، توانست این باکتری مقاوم را طی ۸ دقیقه به‌طور کامل حذف کند. حذف کامل این باکتری در همین غلظت ازن به روش سنتی ازن زنی ۱۲۰ دقیقه زمان برد.



(الف)



(ب)

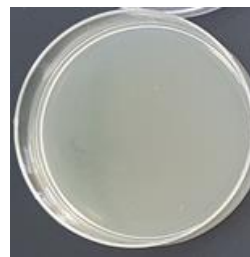
شکل ۴-۱۳ روند حذف باکتری‌ها بر حسب زمان در اثر مجاورت با غلظت متوسط میناب ازن ($5 g h^{-1}$),
 الف) بر حسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU/mL) ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%)



۰



۱



۲

الف



۱



۲

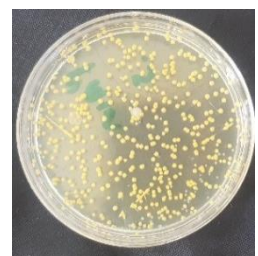


۳

ب



۰



۳



۵

ج



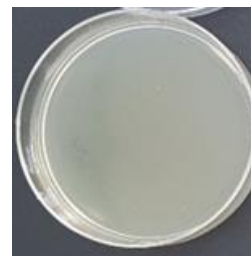
۰



۵



۷

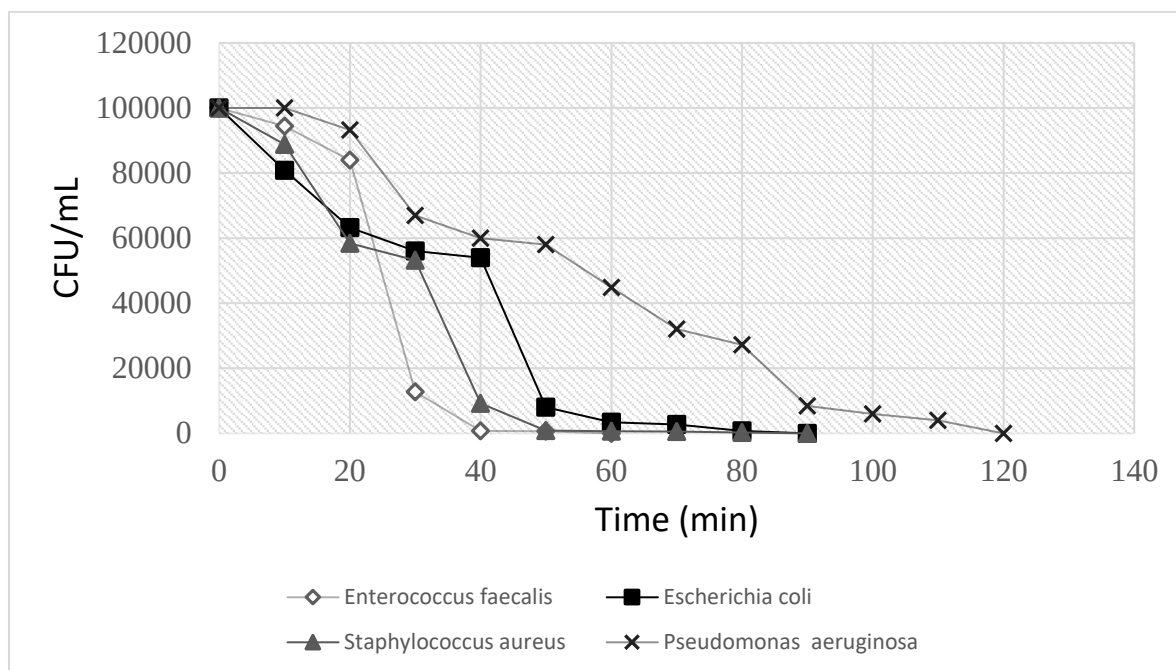


۸

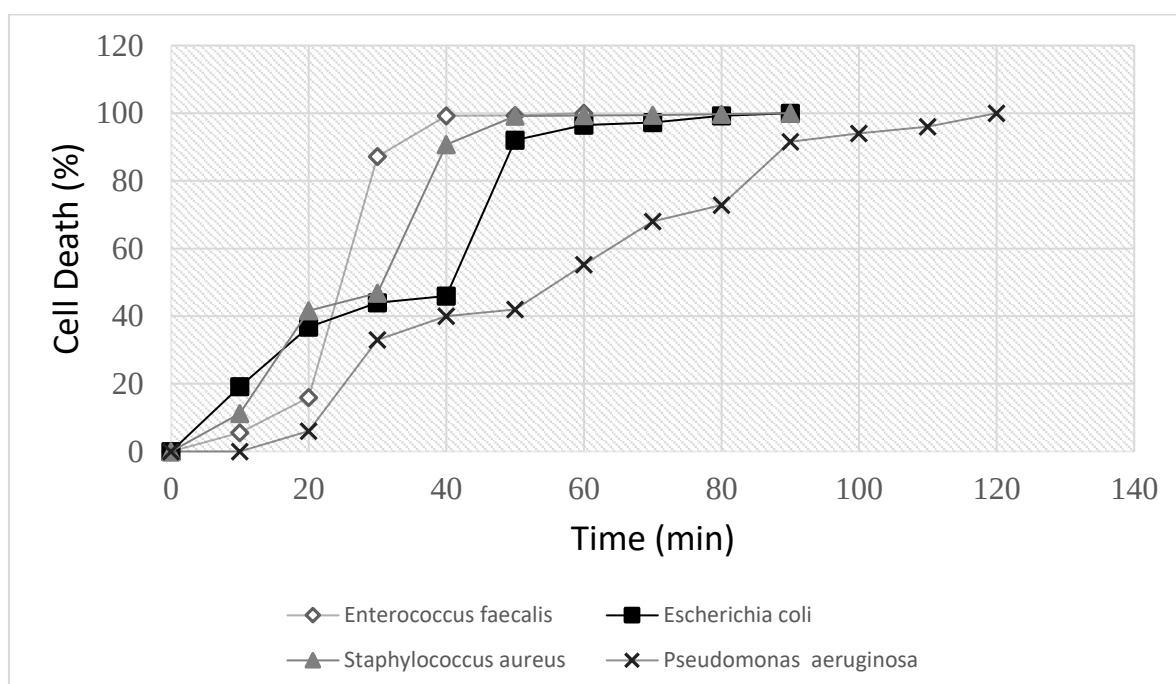
د

شکل ۴-۱۴ تصویر کلونی‌های باکتری‌های مورد بررسی در طی زمان‌های مختلف (اعداد نوشته شده در زیر هر تصویر برحسب دقیقه) پس از استفاده از غلظت متوسط ($5g\ h^{-1}$) از میناب ازن الف: انتروکوک فکالیس، ب: اش‌ریشیا‌کلای، ج: استافیلوکوک اورئوس، د: سودوموناس آئروژینوزا

درصد حذف باکتری‌های انتروکوک فکاليس، اشريشياکلاي و استافيلوکوک اورئوس پس از ۱۰ دقيقه ازن زني توسط گاز ازن در غلظت $5g\ h^{-1}$ به ترتيب برابر ۵/۶، ۱۹/۲، ۱۱/۲٪ و تعداد باکتری‌های سودوموناس آئروژينوزا در اين زمان ثابت بود. اين درصدها در ده دقيقه‌ي بعدي به ۱۶، ۳۶/۸، ۴۱/۶ و ۶٪ رسيدند. در ۳۰ امين دقيقه از ازن زني در غلظت متوسط برای باکتری‌های انتروکوک فکاليس، اشريشياکلاي، استافيلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژينوزا درصد حذف‌های ۸۷/۲، ۴۴، ۴۶/۸ و ۳۳٪ محاسبه گرديد و پس از یک ساعت ازن زني درصدهای حذف به ۹۶/۵، ۹۹/۳ و ۵۵/۲٪ رسيدند. پس از ۹۰ دقيقه دو باکتری اشريشياکلاي و استافيلوکوک نیز به طور کامل از بين رفتند درحاليکه باکتری سودوموناس آئروژينوزا ۹۱/۶٪ حذف گرديد. تصاوير کلوني‌های باقی مانده پس از استفاده از ميناب ازن (شکل ۴-۱۴) و ازن زني سنتي (شکل ۴-۱۶) در زمان‌های مختلف، به خوبي مزيت استفاده از ميناب ازن نسبت به ازن زني معمولی را نمايش می‌دهد. همچنين باکتری سودوموناس آئروژينوزا نیز چه در هنگام استفاده از ميناب ازن و چه در هنگام ازن زني سنتي آخرين باکتری حذف شده می‌باشد.



(الف)



(ب)

شکل ۴-۱۵ روند حذف باکتری‌ها بر حسب زمان در اثر مجاورت با غلظت متوسط ازن (5 g h^{-1})، (الف) بر حسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU/mL) (ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%)



۲۰

۳۰

۴۰

۵۰

۶۰

الف



۴۰

۵۰

۷۰

۸۰

۹۰

ب



۱۰

۳۰

۴۰

۷۰

۹۰

ج



۱۰

۳۰

۶۰

۸۰

۱۲۰

د

شکل ۴-۱۶ تصویر کلونی‌های باکتری‌های مورد بررسی در طی زمان‌های مختلف (اعداد نوشته شده در زیر هر تصویر بر حسب دقیقه) پس از استفاده از غلظت متوسط ($5g\ h^{-1}$) از ازن معمولی الف: انتروکوک فکالیس، ب: اشیریشیاکلای، ج: استافیلوکوک اورئوس، د: سودوموناس آئروژینوزا

۴-۵-۳ غلظت پایین ازن ($1/7\ g\ h^{-1}$)

شکل‌های ۴-۱۷ و ۴-۱۹ به ترتیب نشان دهنده روند تغییر تعداد کلونی باقی مانده پس از درمان با غلظت کم ($1/7\ g\ h^{-1}$) میناب ازن در زمان‌های مختلف است. همچنین شکل‌های ۴-۱۸ و ۴-۲۰ به ترتیب تصویر کلونی باکتری‌ها در محیط کشت را پس از استفاده از میناب ازن و ازن معمولی طی

زمان مشخص می‌سازد. روند کاهش جمعیت باکتریایی با سرعت کمتری نسبت به غلظت بالا و متوسط انجام می‌گیرد. با مقایسه‌ی شکل ۴-۱۷ با شکل ۴-۱۳، این کاهش سرعت برای میناب ازن به طور واضح قابل مشاهده است. زمان حذف باکتری انتروکوک فکاليس در غلظت $1/7 g h^{-1}$ میناب ازن در مقایسه با میناب ازن با غلظت $5 g h^{-1}$ ، افزایش ۴ برابری داشته است. این زمان حذف برای باکتری‌های اشريشياکلاي، استافيلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب $2/6$ ، 2 و $2/75$ برابر افزایش داشته است. همچنین با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده می‌شود که با افزایش $5/9$ برابری غلظت ازن از $1/7 g h^{-1}$ به $10 g h^{-1}$ ، زمان حذف برای باکتری‌های انتروکوک فکاليس، اشريشياکلاي، استافيلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا در مجاورت میناب ازن به ترتیب به $\frac{1}{8}$ ،

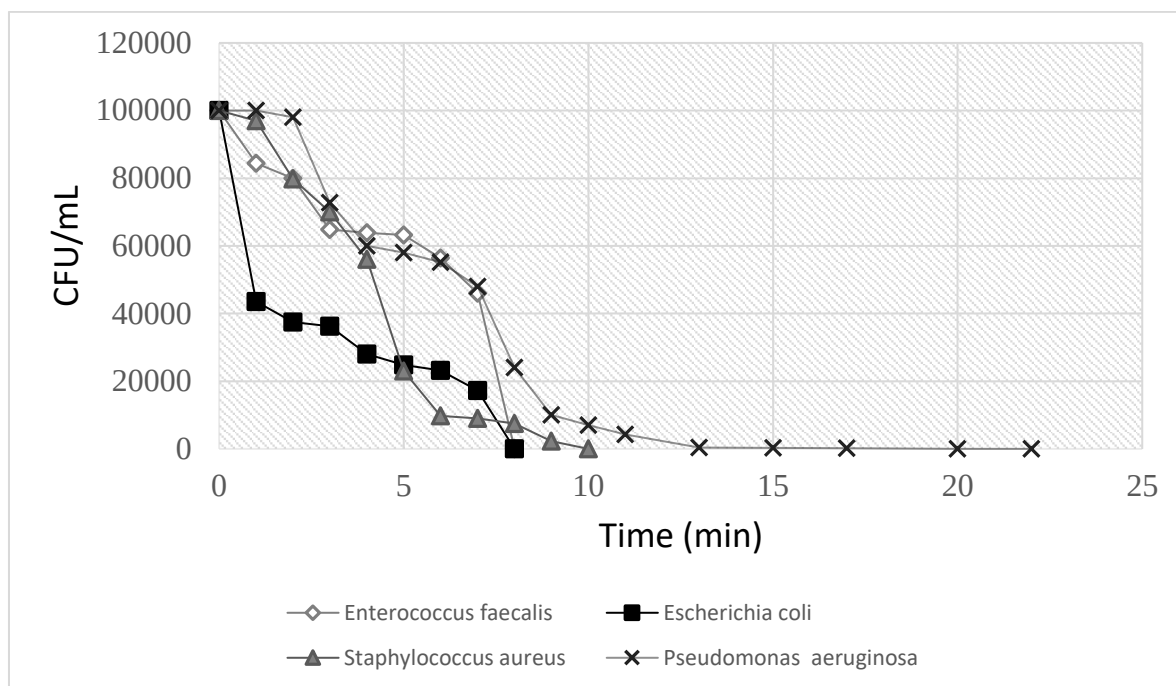
$$\frac{1}{10} \text{ و } \frac{1}{14/6} \text{ تقلیل یافته است.}$$

با مقایسه‌ی شکل ۴-۱۷ و ۴-۱۹ می‌توان دریافت که برای ازن زنی معمولی به علت احتمال کمتر برخورد حباب‌های حاوی ازن با باکتری‌ها و کمتر بودن و بزرگتر بودن حباب‌های تولیدی در واحد زمان، سطح تماس با ازن به شدت کاهش می‌یابد. به علت تفاوت کم بین غلظت متوسط ($5 g h^{-1}$) و غلظت کم ازن ($1/7 g h^{-1}$)، تغییر محسوسی بین زمان حذف در این دو غلظت در ازن زنی معمولی مشاهده نمی‌گردد. همچنین می‌توان گفت در غلظت‌های پایین‌تر ازن تأثیر میناب برای گندزدایی به طور محسوسی بالاتر از تأثیر ازن زنی معمولی می‌باشد.

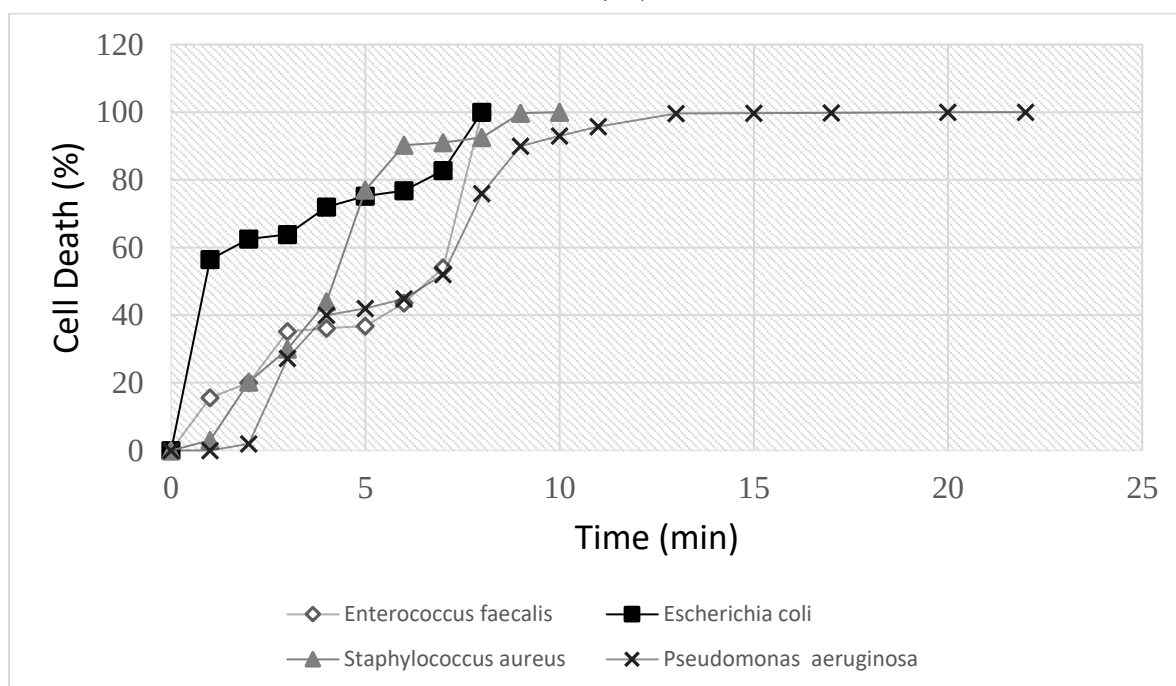
باکتری انتروکوک فکاليس در غلظت کم میناب ازن طی ۷ دقیقه و در همین غلظت از گاز ازن پس از ۱ ساعت ازن زنی از بین رفت. در مورد غلظت پایین گاز ازن نیز درصدهای حذف در دقایق ۴۰، ۵۰ و ۶۰ به ترتیب برابر ۴۰٪، ۸۲/۵٪ و ۱۰۰٪ بود. باکتری اشريشياکلاي در غلظت کم ازن در ۳۰ دقیقه ابتدایی ۳۴٪ در ۳۰ دقیقه میانی ۹۶/۴۵٪ و در ۳۰ دقیقه انتهایی به صورت کامل حذف شد. در حالیکه حذف کامل این باکتری توسط میناب ازن تنها ۶ دقیقه زمان برد.

باکتری استافیلوکوک اورئوس در دقیقه‌ی اول ازن زنی توسط میناب ازن در غلظت $3, 1/7 g h^{-1}$ و در بازه‌های یک دقیقه‌ای بعدی درصدهای حذف به ترتیب برابر ۲۰/۲، ۳۰، ۴۴، ۷۷، ۹۰/۲۵، ۹۱، ۹۲/۵، ۹۹/۷ و در نهایت در دهمین دقیقه ۱۰۰ بود. در مورد غلظت کم گاز ازن در بیست دقیقه اول درصد حذف برابر صفر بود و در ۳۰ امین دقیقه، ۱۵/۶ درصد باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس از بین رفتند. با افزایش زمان تماس باکتری‌ها با ازن درصد حذف نیز بالا رفت تا در ۹۰ امین دقیقه‌ی ازن زنی این باکتری نیز به طور کامل نابود گردید.

تعداد باکتری سودوموناس آئروژینوزا همانند باکتری استافیلوکوک اورئوس پس از بیست دقیقه ازن زنی توسط گاز ازن در غلظت پایین ثابت ماند و در نهایت در ۱۳۰ امین دقیقه ازن زنی نابود شد. باکتری سودوموناس آئروژینوزا تنها باکتری مورد تحقیق بود که تعداد آن در اولین دقیقه از ازن زنی توسط میناب با غلظت کم ثابت ماند. در ۴ امین دقیقه مجاورت این باکتری با میناب، ۴۰٪ حذف اتفاق افتاد که همانگونه که گفته شد بدون استفاده از تکنولوژی میکرو نانو حباب و با ازن زنی معمولی برای رسیدن به این درصد حذف، ۶۰ دقیقه زمان لازم بود.

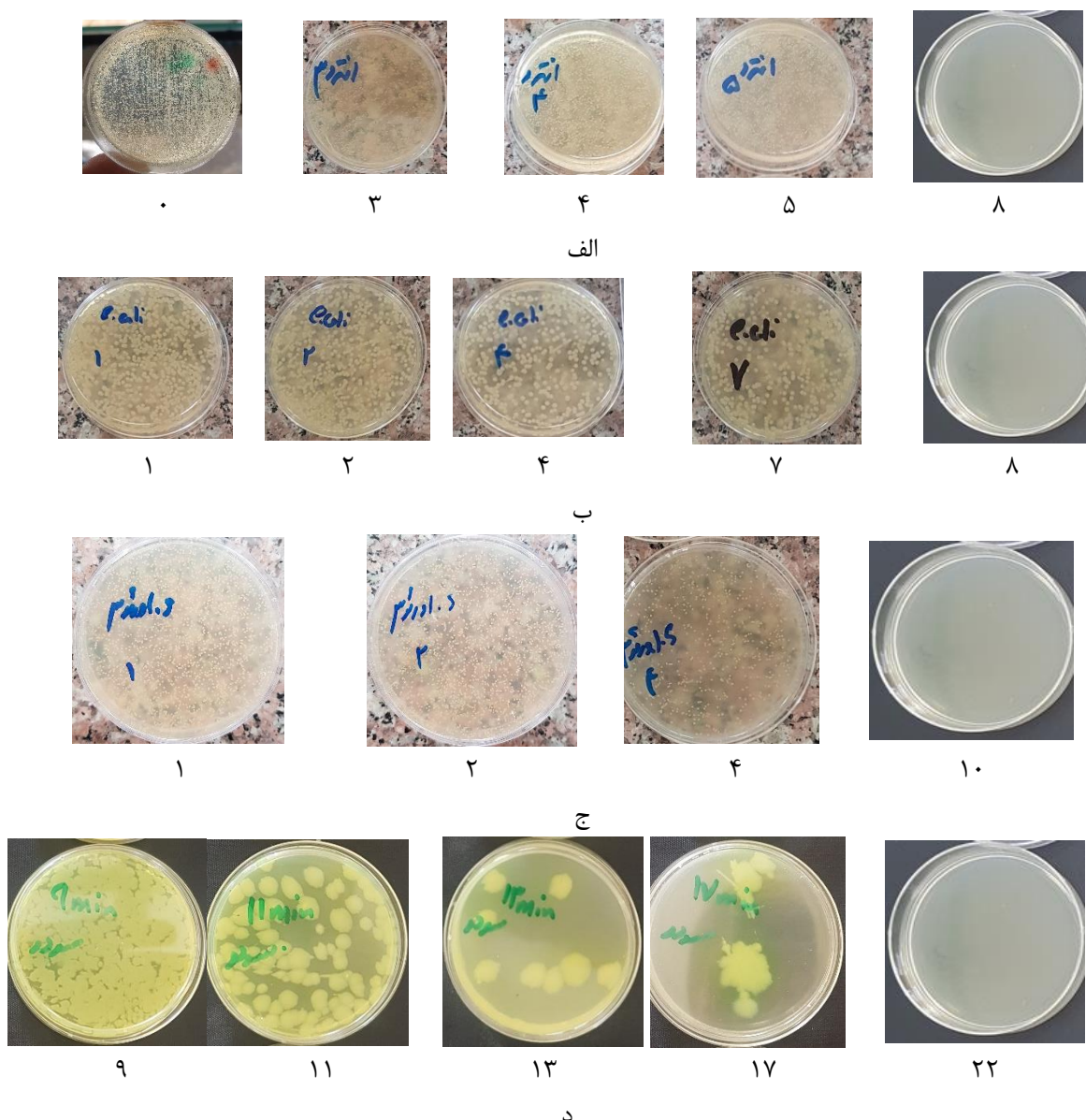


(الف)



(ب)

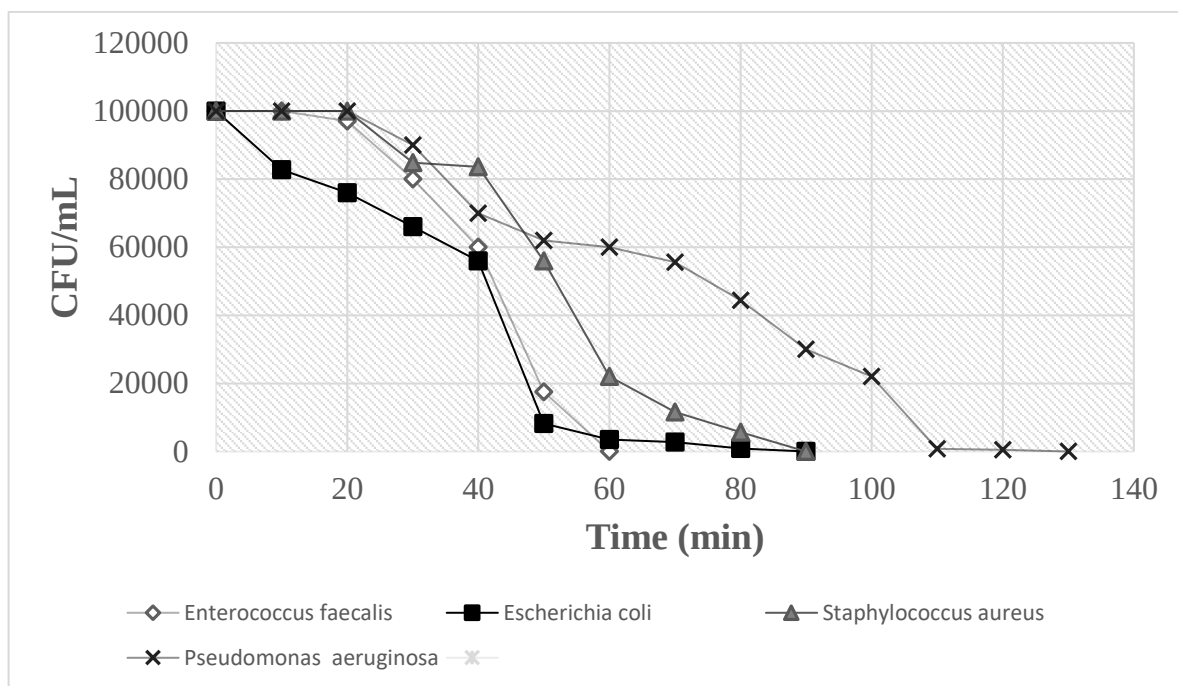
شکل ۴-۱۷ روند حذف باکتری‌ها بر حسب زمان در اثر مجاورت با غلظت پایین میناب ازن ($1/7 \text{ g h}^{-1}$).
الف) بر حسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU/mL) ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%)



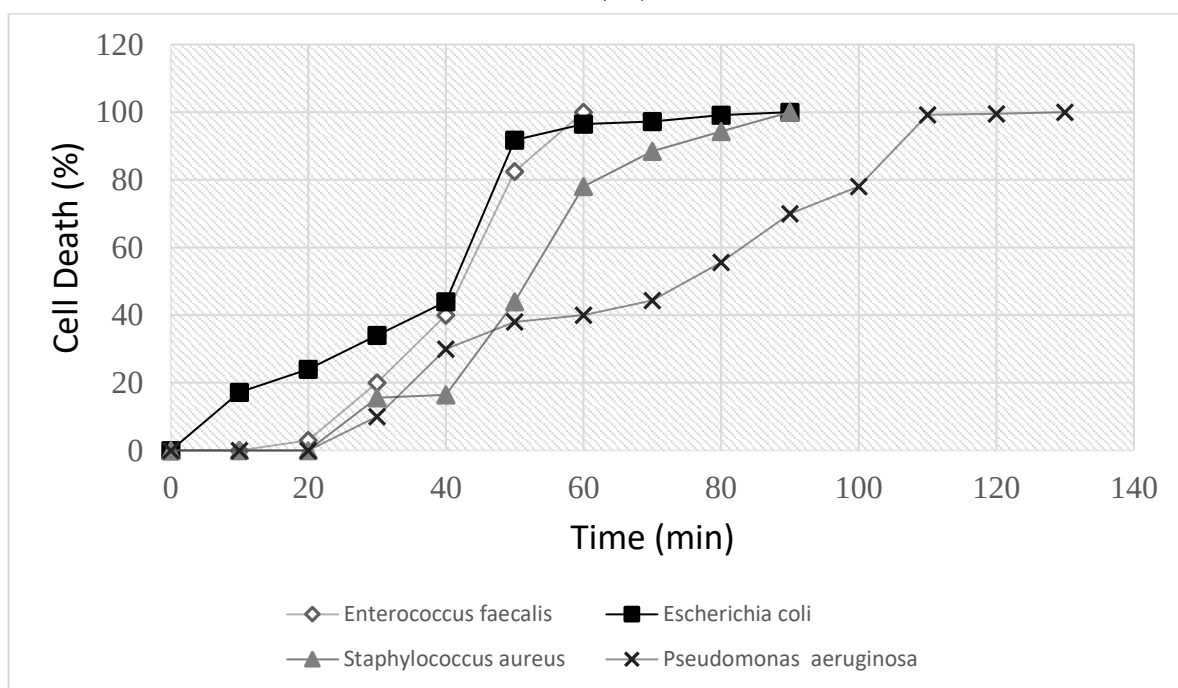
شکل ۴-۱۸ تصویر کلونی‌های باکتری‌های مورد بررسی در طی زمان‌های مختلف (اعداد نوشته شده در زیر هر تصویر برحسب دقیقه) پس از استفاده از غلظت پایین ($1/7 g h^{-1}$) از میناب ازن الف: انتروکوک فکاليس، ب: اشريشياکلاي، ج: استافيلوکوک اورئوس، د: سودوموناس آئروژینوزا

در ۳۰ امین دقیقه از ازن زنی در غلظت پایین برای باکتری‌های انتروکوک فکاليس، اشريشياکلاي، استافيلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا درصد حذف‌های ، ۲۰، ۳۴، ۱۵/۶ و ۱۰٪ بدست آمدند. با افزایش دوبرابری زمان ازن زنی در ۶۰ امین دقیقه مجاورت باکتری‌ها با گاز ازن، باکتری انتروکوک فکاليس به‌طور کامل از بین رفت و درصد حذف باکتری‌های اشريشياکلاي، استافيلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب به ۹۶/۴۵، ۷۸ و ۴۰٪ رسید.

تصاویر کلونی‌ها در محیط‌های کشت پس از استفاده از میناب ازن (شکل ۴-۱۸) و ازن معمولی (شکل ۴-۲۰) نشان دهنده‌ی روندهای مختلف نابودی باکتری‌ها طی زمان در هنگام استفاده از روش‌های مختلف است. همچنین نشان از بازده بالاتر میناب نسبت به ازن معمولی در نابودی باکتری‌ها و بالا بودن مقاومت باکتری سودوموناس آئروژینوزا در برابر ازن زنی با غلظت پایین ($1/7 \text{ g h}^{-1}$) در هر دو روش نسبت به باکتری‌های دیگر مورد بررسی می‌باشد.

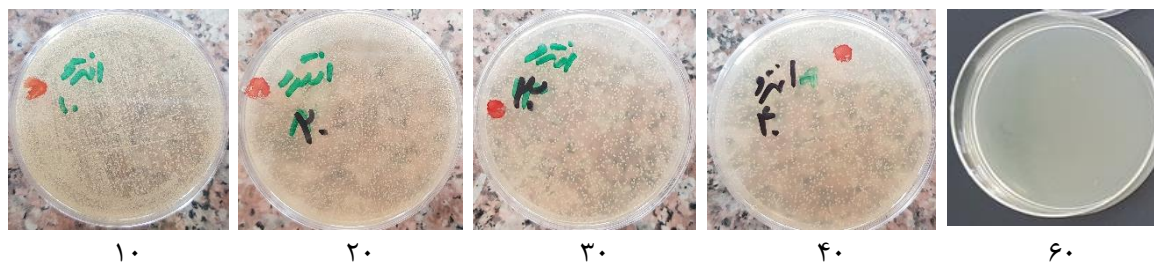


(الف)

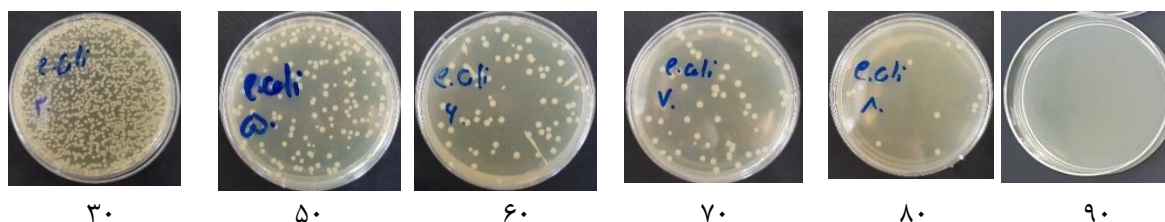


(ب)

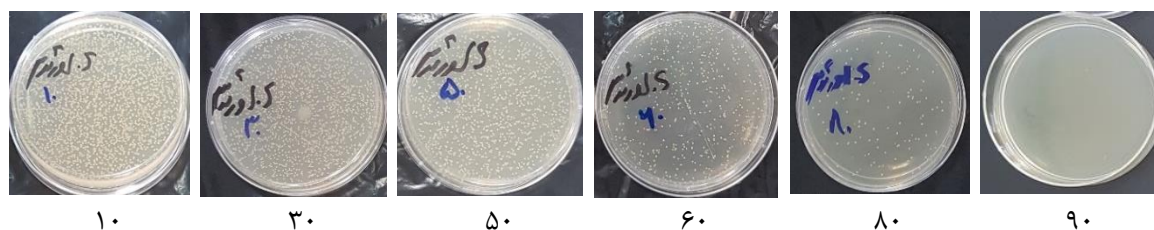
شکل ۴-۱۹ روند حذف باکتری‌ها بر حسب زمان در اثر مجاورت با غلظت پایین ازن ($1/7 \text{ g h}^{-1}$)، (الف) بر حسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU/mL) (ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%).



الف



ب



ج



د

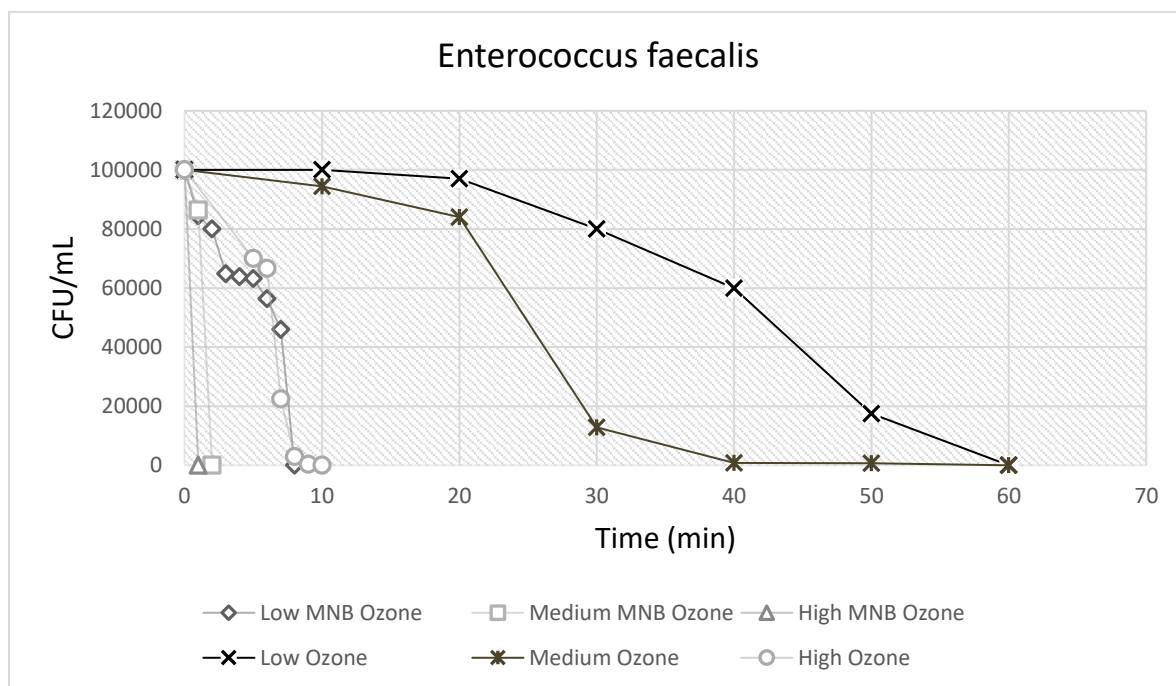
شکل ۴-۲۰ تصویر کلونی‌های باکتری‌های مورد بررسی در طی زمان‌های مختلف (اعداد نوشته شده در زیر هر تصویر برحسب دقیقه) پس از استفاده از غلظت پایین ($1/7 g h^{-1}$) از ازن معمولی الف: انتروکوک فکاليس، ب: اشريشياكلای، ج: استافيلوكوك اورئوس، د: سودوموناس آئروژینوزا

۴-۶ بررسی پاسخ باکتری‌ها به میناب ازن و ازن زنی معمولی در زمان‌های مختلف

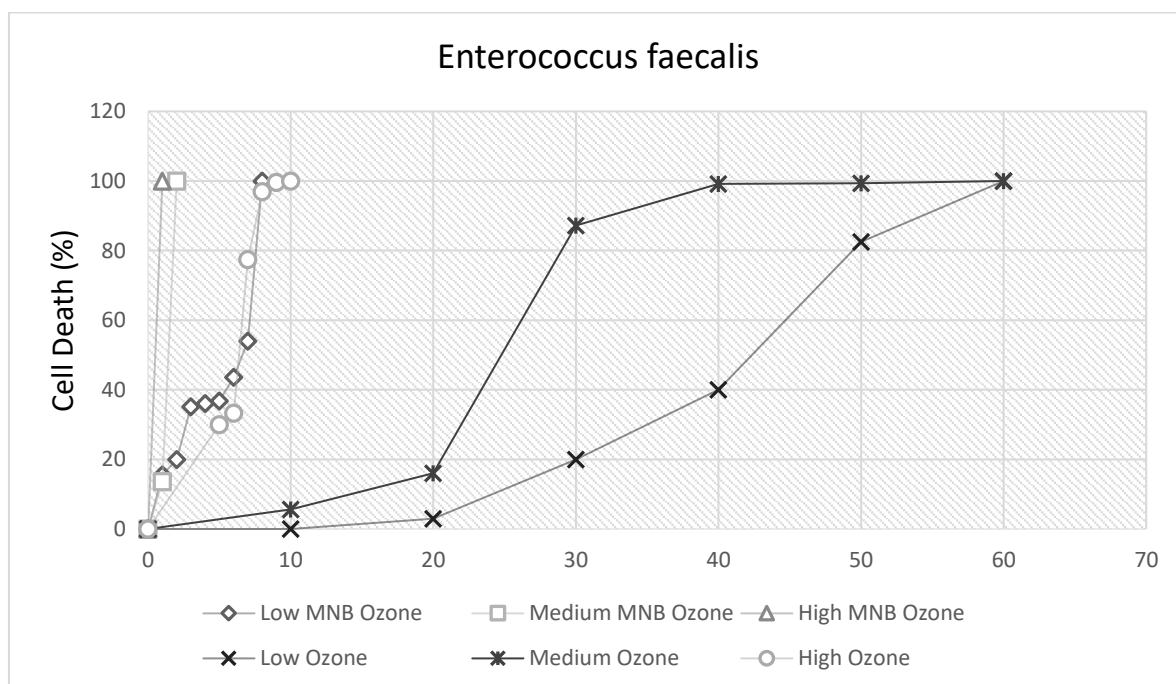
در این قسمت به بررسی روند حذف هر باکتری طی دو نحوه‌ی ازن زنی پرداخته شده است.

۴-۶-۱ باکتری انتروکوک فکالیس

شکل ۴-۲۱ روند حذف باکتری انتروکوک فکالیس بر حسب زمان در غلظت‌های مختلف از میناب ازن و ازن معمولی را معلوم می‌سازد. با توجه به نتایج مشاهده می‌گردد که باکتری انتروکوک فکالیس در هر دو غلظت $1/7 g h^{-1}$ و $5 g h^{-1}$ پس از ۶۰ دقیقه ازن زنی معمولی به‌طور کامل حذف شد؛ اما روند کاهش تعداد باکتری‌ها متفاوت بود. در غلظت متوسط ازن پس از ۱۰ دقیقه ازن زنی تعداد باکتری‌ها حدود ۶٪ کاهش داشت در صورتیکه در غلظت $1/7 g h^{-1}$ ، تعداد باکتری‌ها پس از ۱۰ دقیقه ازن زنی ثابت باقی مانده است. در ده دقیقه دوم ازن زنی تعداد باکتری‌ها در مجاورت غلظت متوسط نسبت به تعداد اولیه باکتری‌ها ۱۶٪ و در غلظت پایین تنها ۳٪ کاهش داشت. در ۳۰ امین دقیقه از ازن زنی برای غلظت متوسط، درصد کاهش نسبت به تعداد اولیه باکتری‌ها ۸۷/۲٪ و برای غلظت پایین ۲۰٪ می‌باشد. در ده دقیقه‌ی چهارم ازن زنی تعداد باکتری‌های انتروکوک فکالیس در غلظت بالا از گاز ازن به ۸۰۰ کلونی و در غلظت پایین به ۶۰۰۰۰ رسید. در دقیقه‌ی پنجاهم در غلظت متوسط ۶۵٪ و در غلظت پایین ازن $1/7 g h^{-1}$ باکتری‌های اولیه باقی ماند. در نهایت پس از یک ساعت ازن زنی در هر ۲ غلظت، باکتری انتروکوک فکالیس به‌طور کامل از بین رفت. باکتری انتروکوک فکالیس طی ازن زنی با غلظت $10 g h^{-1}$ در زمان ۱۰ دقیقه کاملاً از بین رفت در حالیکه اگر غلظت ازن به $5 g h^{-1}$ تنزل یابد، زمان حذف باکتری ۶ برابر افزایش می‌یابد. در ۱۰ دقیقه‌ی اول ازن زنی با غلظت بالا تعداد باکتری انتروکوک فکالیس به صفر رسید در حالیکه در غلظت متوسط تنها ۵/۶٪ از باکتری‌ها طی ۱۰ دقیقه ابتدایی حذف شدند.



(الف)



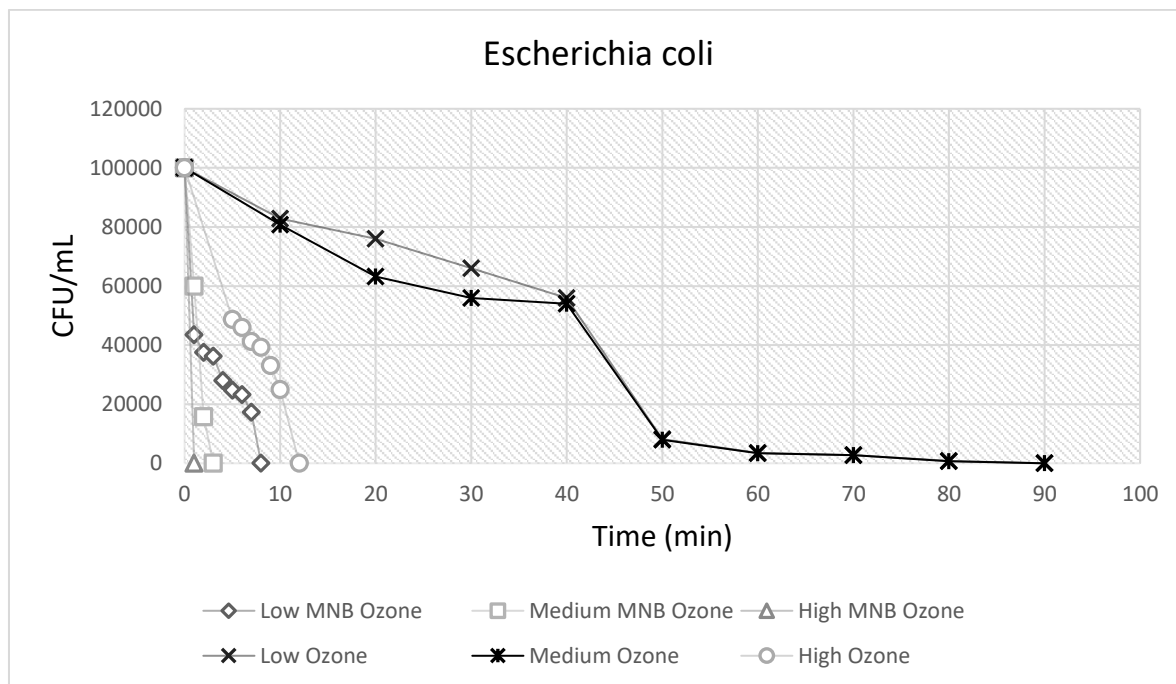
(ب)

شکل ۴-۲۱ روند حذف باکتری انتروکوک فکالیز بر حسب زمان در غلظت‌های مختلف از میناب ازن و ازن معمولی (الف) بر حسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU/mL) (ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%)

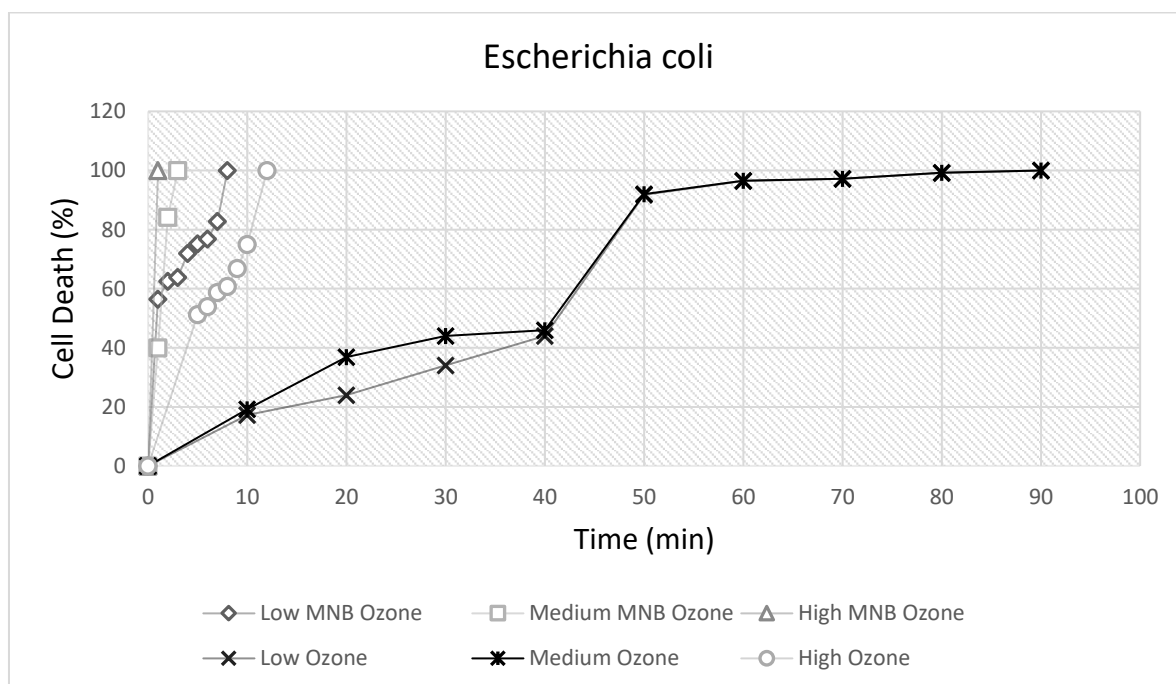
در برخورد باکتری انتروکوک فکالایس با میناب ازن در غلظت بالا این باکتری پس از ۱ دقیقه ازن زنی به طور کامل حذف گردید. در غلظت $5g\ h^{-1}$ ، زمان مورد نیاز جهت حذف به ۲ دقیقه افزایش یافت و در اولین دقیقه ازن زنی با غلظت متوسط کمتر از ۲۰٪ از باکتری مذکور حذف شده بود. با کاهش غلظت ازن به $1/7\ g\ h^{-1}$ ، زمان حذف به طور قابل توجهی افزایش یافت. به طوریکه در اولین دقیقه ازن زنی تعداد باکتری ها به ۸۴۴۰۰ و در دقیقه دوم با حذف ۲۰ درصدی به ۸۰۰۰۰ رسید. سرانجام پس از ۸ دقیقه ازن زنی با غلظت کم میناب ازن، این باکتری به صورت کامل از بین رفت.

۴-۶-۲ باکتری اشريشیاکلاي

شکل ۴-۲۲ روند حذف باکتری اشريشیاکلاي بر حسب زمان در غلظت های مختلف از میناب ازن و ازن معمولی را نمایش می دهد. با توجه به نتایج بدست آمده در مورد باکتری اشريشیاکلاي می توان چنین گفت که این باکتری در غلظت های $1/7\ g\ h^{-1}$ و $5g\ h^{-1}$ ازن، طی ۹۰ دقیقه ازن زنی به طور کامل از بین رفت. در دقیقه ۲۰ ام و ۳۰ ام در غلظت متوسط (نسبت به غلظت پایین ازن) تقریباً ۱۰ هزار باکتری بیشتر حذف گردید. اما پس از آن تا انتهای ۹۰ دقیقه می توان گفت روند حذف تقریباً مشابهی در هر دو غلظت برای باکتری اشريشیاکلاي اتفاق افتاد. همچنین با کاهش غلظت از $10\ g\ h^{-1}$ به $5g\ h^{-1}$ ، زمان مورد نیاز جهت حذف از ۱۲ دقیقه به ۹۰ دقیقه افزایش می یابد. پس از ۱۰ دقیقه استفاده از ازن به عنوان گندزدا در غلظت $10\ g\ h^{-1}$ تعداد باکتری اشريشیاکلاي ۷۵٪ کاهش یافت و در غلظت متوسط حدوداً ۲۰٪ کاهش تعداد باکتری مشاهده می گردد.



(الف)



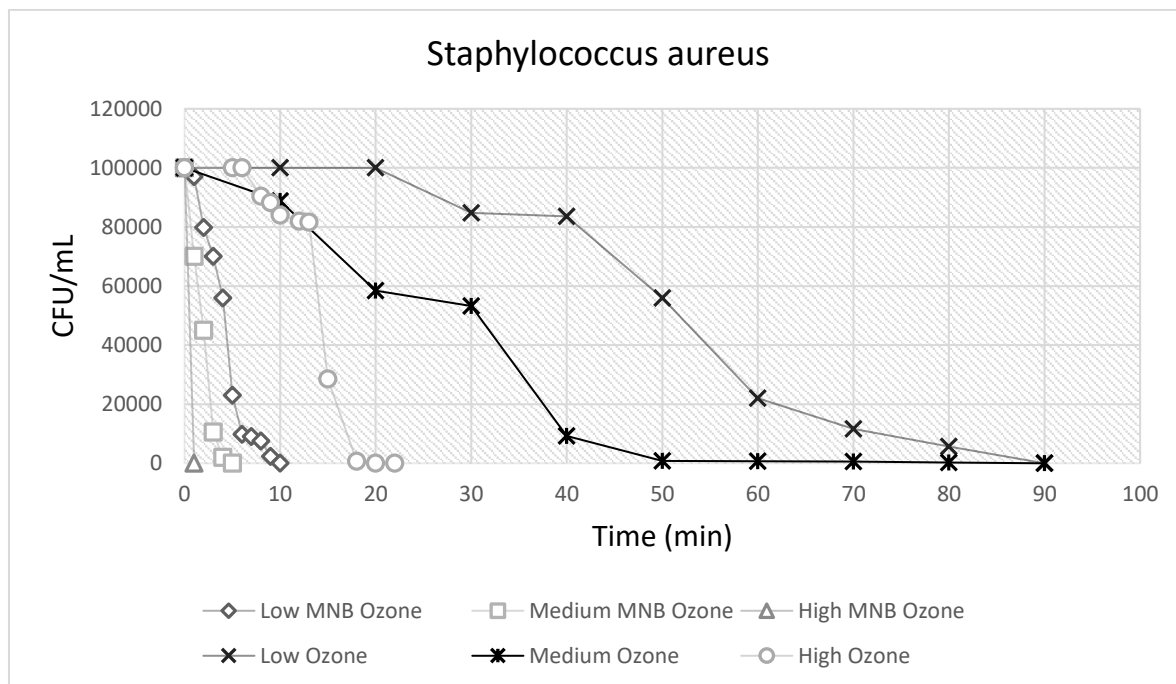
(ب)

شکل ۴-۲۲ روند حذف باکتری اشریشیاکلائی بر حسب زمان در غلظت‌های مختلف از میناب ازن و ازن معمولی (الف) بر حسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU/mL) (ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%)

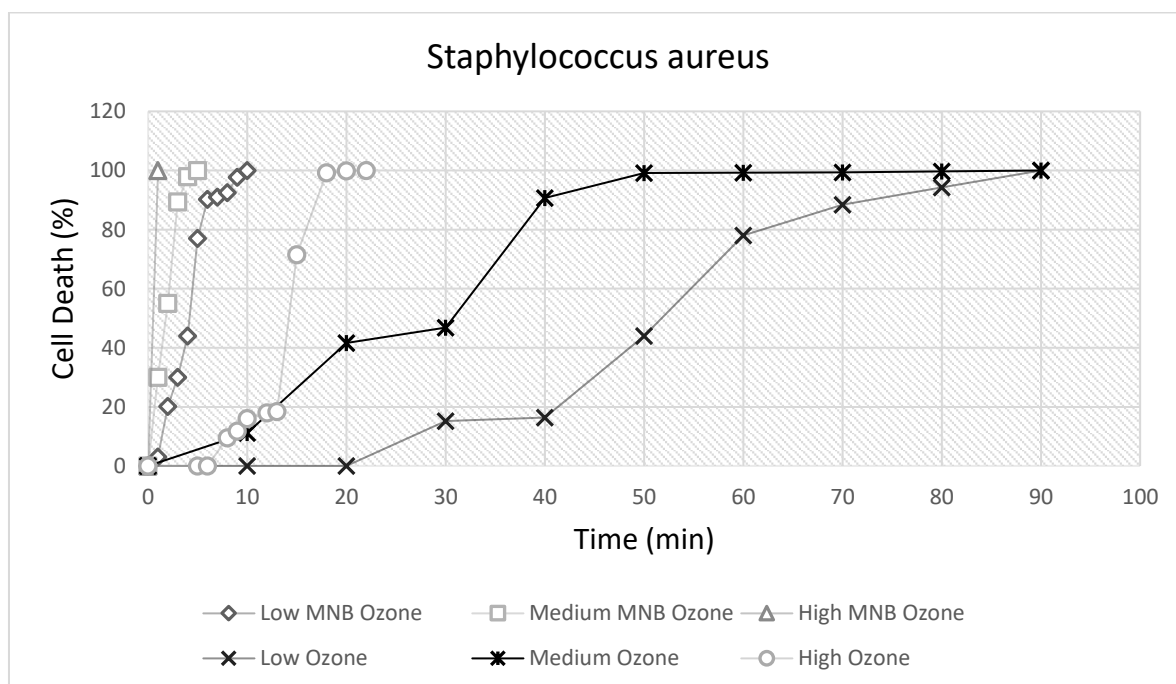
باکتری اشیریشیاکلای در مجاورت میناب ازن با غلظت بالا، همانند باکتری انتروکوک فکالایس پس از ۱ دقیقه ازن‌زنی به‌طور کامل حذف گردید. در غلظت $5g\ h^{-1}$ از میناب ازن این باکتری در اولین دقیقه، حذفی برابر ۴۰٪ داشت. در دقیقه‌ی دوم ازن‌زنی تعداد باکتری‌ها به ۱۵۸۰۰ رسید و نهایتاً در سومین دقیقه به‌طور کامل حذف شد. در غلظت $1/7g\ h^{-1}$ از میناب ازن در اولین دقیقه ازن‌زنی بیش از نیمی از باکتری‌ها حذف شد و با گذشت زمان، حذف کامل در دقیقه‌ی ۸ ام اتفاق افتاد.

۴-۶-۳ باکتری استافیلوکوک اورئوس

شکل ۴-۲۳ روند حذف باکتری استافیلوکوک اورئوس بر حسب زمان در غلظت‌های مختلف از میناب ازن و ازن معمولی را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که زمان حذف کامل باکتری استافیلوکوک اورئوس در غلظت‌های $1/7g\ h^{-1}$ و $5g\ h^{-1}$ از گاز ازن همانند بود. زمان تماس مورد نیاز جهت حذف کامل باکتری استافیلوکوک اورئوس در غلظت $1/7g\ h^{-1}$ از میناب ازن، دو برابر زمان مورد نیاز جهت حذف در غلظت $5g\ h^{-1}$ از میناب ازن بود. این باکتری در دقیقه‌ی ۹۰ ازن‌زنی به‌طور کامل حذف گردید. تعداد این باکتری در غلظت پایین ازن، طی ۲۰ دقیقه ابتدایی تغییری نکرد اما در غلظت متوسط ازن بیش از ۴۰٪ کاهش در ۲۰ دقیقه اول مشاهده شد. این درصد کاهش در غلظت پایین پس از ۵۰ دقیقه ازن‌زنی محقق گردید. پس از یک ساعت ازن‌زنی مداوم تعداد باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس در غلظت $1/7g\ h^{-1}$ به ۲۲۰۰۰ و در غلظت متوسط به ۷۰۰ رسید. باکتری استافیلوکوک اورئوس در مجاورت میناب ازن با غلظت بالا، مانند ۲ باکتری در اولین دقیقه ازن‌زنی به‌طور کامل از بین رفت. در غلظت $5g\ h^{-1}$ از میناب ازن این باکتری پس از ۵ دقیقه و در غلظت $1/7g\ h^{-1}$ طی ۱۰ دقیقه ازن‌زنی به‌طور کامل حذف گردید.



(الف)

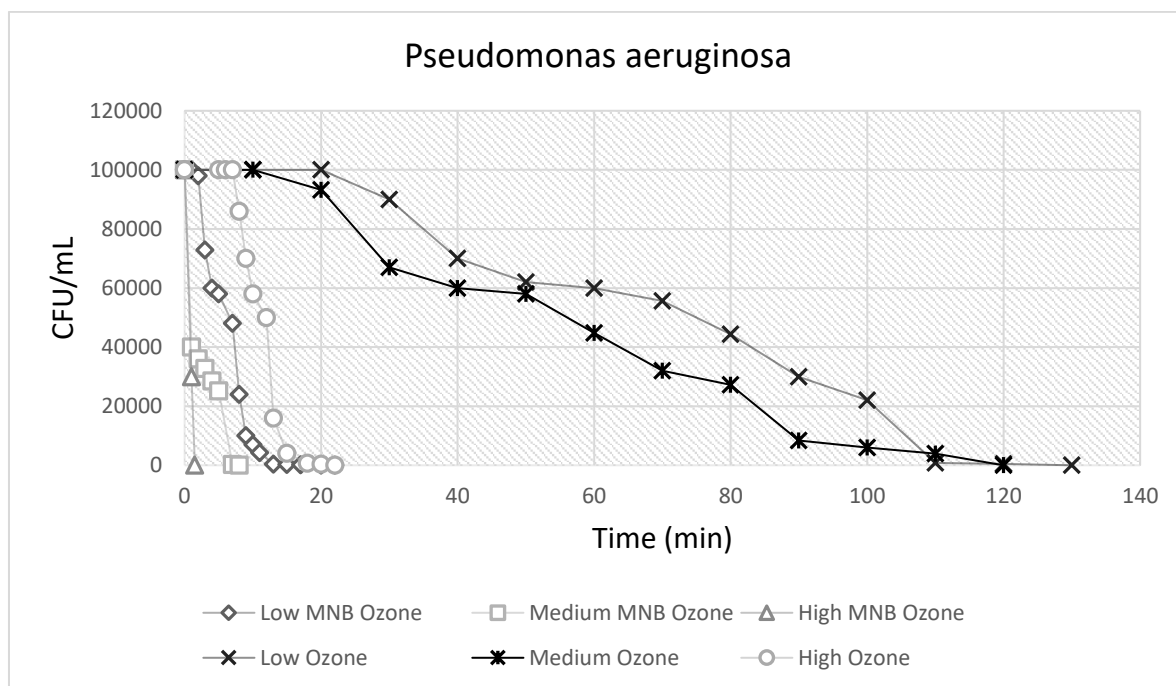


(ب)

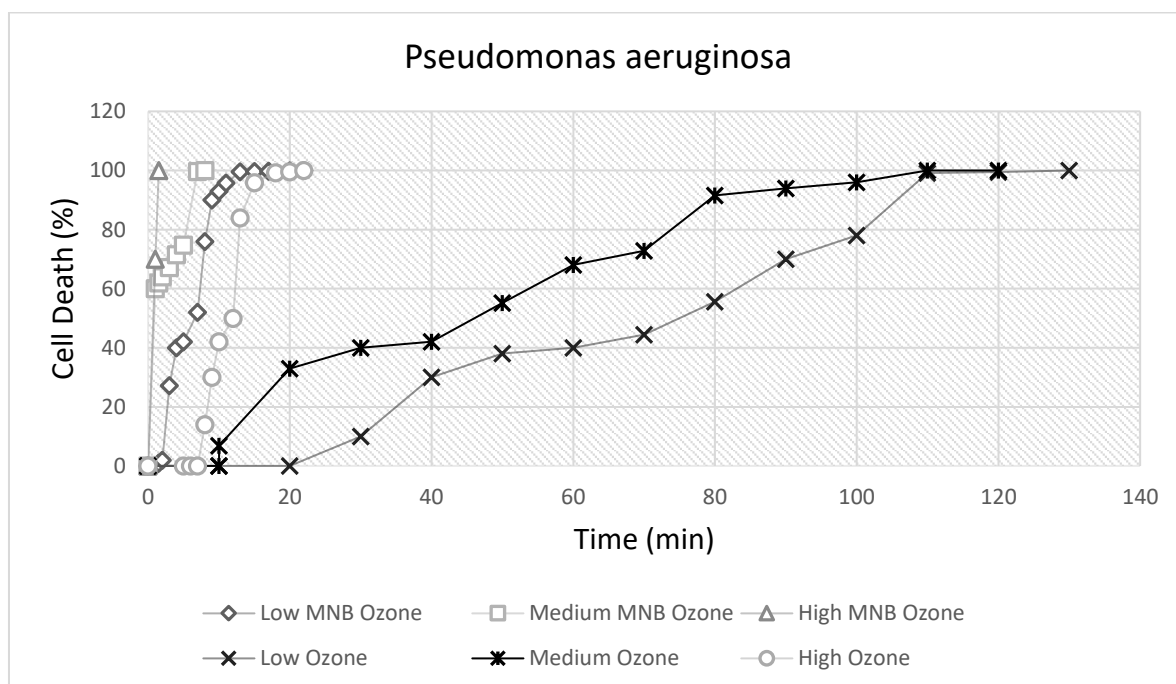
شکل ۴-۲۳ روند حذف باکتری استافیلوکوک اورئوس بر حسب زمان در غلظت‌های مختلف از میناب ازن و ازن معمولی (الف) بر حسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU / mL) (ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%)

۴-۶-۴ باکتری سودوموناس آئروژینوزا

شکل ۴-۲۴ روند حذف باکتری سودوموناس آئروژینوزا بر حسب زمان در غلظت‌های مختلف از میناب ازن و ازن معمولی را معلوم می‌سازد. با بررسی نتایج بدست آمده می‌توان دریافت که در دهمین دقیقه ازن زنی در غلظت $5g\ h^{-1}$ ، تعداد باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا ثابت ماند و پس از آن در دقیقه بیستم تعداد باکتری ۶/۸٪ کاهش یافت. در مورد غلظت پایین ازن در بیست دقیقه ابتدایی تعداد باکتری‌ها ثابت ماند و ازن زنی بی اثر تلقی گردید. در ۳۰ امین دقیقه ازن زنی تعداد باکتری سودوموناس آئروژینوزا در غلظت متوسط، نسبت به تعداد اولیه ۳۳٪ کاهش یافت. در غلظت پایین نیز ۱۰٪ کاهش مشاهده گردید. در ۶۰ امین دقیقه ازن زنی تعداد باکتری‌هایی که در مجاورت غلظت $5g\ h^{-1}$ بودند به ۷۰۰ و تعداد باکتری‌های مجاور با غلظت پایین گاز ازن به ۶۰۰۰۰ رسید. ۴۰٪ کاهش برای غلظت $1/7\ g\ h^{-1}$ پس از ۶۰ دقیقه و برای غلظت $5g\ h^{-1}$ پس از ۴۰ دقیقه اتفاق افتاد. در نهایت باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا پس از ۱۲۰ دقیقه ازن زنی در غلظت $5g\ h^{-1}$ و ۱۳۰ دقیقه ازن زنی در غلظت $1/7\ g\ h^{-1}$ به طور کامل از بین رفت. با توجه به رفتار باکتری سودوموناس آئروژینوزا در ۳ غلظت $1/7g\ h^{-1}$ ، $5g\ h^{-1}$ و $10\ g\ h^{-1}$ از گاز ازن، مشاهده می‌گردد؛ این باکتری در غلظت‌های مذکور به ترتیب طی زمان تماس‌های ۲۲، ۱۲۰ و ۱۳۰ دقیقه به‌طور کامل حذف می‌گردد. با توجه به بازه بندی‌های برابر (۱۰ دقیقه‌ای) برای ۲ غلظت پایین و متوسط ازن، به مقایسه تعداد باکتری سودوموناس آئروژینوزا در این دو غلظت پرداخته می‌شود. در ۱۰ دقیقه ابتدایی تعداد این باکتری در غلظت بالا ۵۸۰۰۰ و در غلظت‌های متوسط و کم برابر ۱۰۰۰۰۰ می‌باشد. بنابراین می‌توان گفت ازن زنی در دو غلظت کم و متوسط بی تأثیر بوده است. در ۲۰ امین دقیقه استفاده از گاز ازن تعداد باکتری در غلظت‌های زیاد، متوسط و کم به‌ترتیب برابر ۴۰۰، ۹۳۲۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ است. یعنی طی ازن زنی با غلظت بالا کمتر از ۰/۵ درصد از باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا باقی مانده است درحالی‌که در غلظت $5g\ h^{-1}$ ، ۹۳/۲٪ و در غلظت $1/7g\ h^{-1}$ ، ۱۰۰٪ باکتری‌ها باقی مانده‌اند.



(الف)



(ب)

شکل ۴-۲۴ روند حذف باکتری سودوموناس آئروژینوزا بر حسب زمان در غلظت‌های مختلف از میناب ازن و ازن معمولی (الف) بر حسب تعداد کلونی‌ها در حجم مشخصی از محلول (CFU /m L) (ب) درصد نرخ مرگ باکتری‌ها (%)

باکتری سودوموناس آئروژینوزا در مجاورت میناب ازن با غلظت 10 g h^{-1} بیشترین مقاومت را نشان داده و پس از ۹۰ ثانیه استفاده از میناب ازن غلظت بالا به طور کامل از بین رفت. در غلظت 5 g h^{-1} از میناب ازن، تعداد این باکتری در اولین دقیقه به ۴۰۰۰۰ رسید و برای حذف کامل به ۸ دقیقه زمان احتیاج داشت. در غلظت پایین ($1/7 \text{ g h}^{-1}$) از میناب ازن این باکتری با بیشترین زمان حذف بین باکتری‌های مورد استفاده در تحقیق، پس از ۲۲ دقیقه به طور کامل حذف شد.

فصل ۵

نتیجہ گیری و پیشہادات

۵-۱ مقدمه

در این بخش، به جمع‌بندی نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر پرداخته شده است. در پایان نیز پیشنهاداتی در راستای ادامه و تکمیل این پژوهش ارائه شده است.

۵-۲ جمع‌بندی نتایج

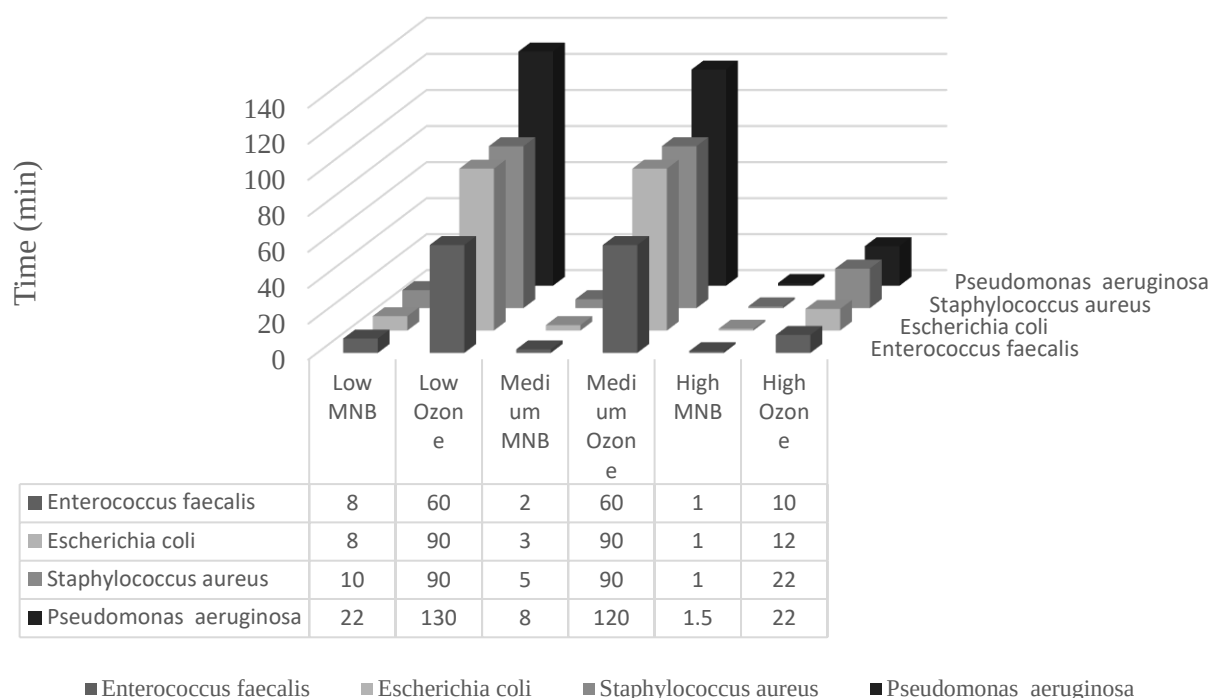
در این پژوهش به منظور حذف باکتری‌های ناشی از عفونت‌های بیمارستانی از محلول آبی، از میناب ازن استفاده گردید. برای مقایسه‌ی تاثیر میناب ازن و ازن‌زنی معمولی، آزمایشات با گاز ازن در غلظت‌های مشابه تکرار شد. کلیه آزمایشات در سیستم پیوسته صورت گرفت و تاثیر پارامترهای غلظت ازن، زمان تماس و ... مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج به دست آمده به صورت زیر جمع‌بندی می‌گردد.

۵-۲-۱ جمع‌بندی مقایسه‌ی تاثیر میناب ازن و گاز ازن بر حذف

باکتری‌های مورد بررسی

شکل ۵-۱ مقایسه ای کلی بین زمان حذف ۴ باکتری انتروکوک فکالایس، اش‌ریشیاکلائی، استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا در ۳ غلظت ۱/۷، ۵ و $g\ h^{-1}$ ۱۰ و دو شیوه‌ی ازن زنی معمولی و استفاده از تکنولوژی میکرو نانو حباب را نشان می‌دهد.

با افزایش زمان تماس میناب ازن با باکتری‌های مورد بررسی، درصد حذف باکتری‌ها به میزان قابل توجهی افزایش می‌یابد. در دو غلظت، ۱/۷ و $5\ g\ h^{-1}$ به علت اختلاف کم دو غلظت، گاز ازن بر باکتری انتروکوک فکالایس، اش‌ریشیاکلائی و استافیلوکوک اورئوس بی تاثیر بوده و تنها زمان حذف کامل باکتری سودوموناس آئروژینوزا افزایش می‌یابد. میناب ازن به علت سطح تماس بسیار بالا در دو غلظت یاد شده، زمان حذف کامل باکتری‌های انتروکوک فکالایس، اش‌ریشیاکلائی، استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا را به ترتیب ۴، ۲/۶۶، ۲ و ۲/۷۵ برابر کاهش داد.



شکل ۱-۵ مقایسه‌ی کلی حذف ۴ باکتری توسط میناب ازن و ازن: $1/7 \text{ g h}^{-1}$: Low, Medium: 5 g h^{-1} و 10 g h^{-1} : High

با توجه به نتایج مشاهده گردید که سریع‌ترین حذف در تمامی غلظت‌های گاز ازن مربوط به باکتری انتروکوک فکالیس و طولانی‌ترین زمان حذف مربوط به باکتری سودوموناس آئروژینوزا بوده است. زمان حذف باکتری سودوموناس آئروژینوزا در غلظت‌های 5 g h^{-1} و 10 g h^{-1} از گاز ازن به ترتیب ۱۲۰ و ۲۲ دقیقه بدست آمد. این زمان برای باکتری انتروکوک فکالیس در غلظت‌های یاد شده برابر ۶۰ و ۱۰ دقیقه بود. لذا حساس‌ترین باکتری به ازن، انتروکوک فکالیس و مقاوم‌ترین باکتری، سودوموناس آئروژینوزا ارزیابی شد. باکتری سودوموناس آئروژینوزا در غلظت $1/7 \text{ g h}^{-1}$ از گاز ازن پس از ۱۳۰ دقیقه ازن زنی به طور کامل حذف گردید؛ در حالیکه در غلظت مشابه ازن، زمان مورد نیاز جهت حذف کامل باکتری انتروکوک فکالیس، ۶۰ دقیقه بود. به طور کلی در هنگام استفاده از میناب ازن به جای ازن معمولی، با غلظت کمتر در زمان کمتری می‌توان به بازده حذف بالاتری از باکتری دست یافت.

۵-۲-۲ جمع بندی مقالات در زمینه ی حذف باکتری توسط ازن و میناب ازن

جمع بندی مطالعات پیشین در مقایسه با تحقیق حاضر در جدول ۵-۱ آورده شده است.

جدول ۵-۱ جمع بندی تحقیقات پیشین

آزمون	نوع سیستم	فرآیند	نتیجه	مرجع
سالمونلا و باکتری های کلی لاشه مرغ	ناپیوسته	ازن زنی	غلظت ازن: ۸ppm زمان تماس: ۱۰ دقیقه کاهش ۲ logcfu/ml از تعداد کل باکتری ها حذف کامل باکتری سالمونلا	توکی و همکاران، ۱۳۸۹
اشریشیاکلاهی، استافیلوکوک اورئوس و باکتری های کلی لاشه مرغ	ناپیوسته	ازن زنی	غلظت ازن : ۱ppm زمان تماس: ۱۵ دقیقه کاهش ۲/۳ logcfu/ml اشریشیاکلاهی، ۱/۷ logcfu/ml استافیلوکوک اورئوس ۱/۶ logcfu/ml تعداد کلی باکتری ها	کاظمی طاسکوه و همکاران، ۱۳۹۳
اشریشیاکلاهی در آب آلوده	پیوسته	ازن زنی	غلظت ازن: ۱mg/L زمان تماس: ۵ دقیقه ۹۹/۵٪ حذف	ززولی و همکاران، ۱۳۹۴
اشریشیاکلاهی در فاضلاب خام بیمارستانی	پیوسته	ازن زنی	غلظت ازن: ۲۴g/h ۹۹/۹۱٪ حذف در ۱۰ دقیقه ۱۰۰٪ حذف در ۳۰ دقیقه	ملکوتیان و همکاران، ۱۳۹۴
تلقیح استافیلوکوکوک اورئوس بر روی	ناپیوسته	میناب ازن	آب معمولی، آب دارای میناب در دمای اتاق آب دارای میناب ازن در دمای ۴ C° بیانگر تأثیر آنتی باکتریال میناب ازن	Morimoto et al, 2010
تلقیح باکتری های اشریشیاکلاهی، کلبسیلاپنومونیه، سالمونلا، استافیلوکوک اورئوس، انتروکوک فکاليس، سودوموناس آئروژینوزا و ...	ناپیوسته	میناب ازن	غلظت ازن: ۵/۴۴ mg/L زمان تماس: ۳ دقیقه کاهش ۷/۴-۵ Log cfu/ml کلی باکتری ها کاهش ۵ Log cfu/ml سودوموناس آئروژینوزا	Inatsu et al, 2011

				بر روی سبزیجات
Oh et al, 2014	حذف ۹۰٪ ARB توسط کلر: ۳۰ mg/L توسط ازن: ۳ mg/L	ازن زنی و کلر زنی	ناپیوسته	اشریشیاکلای در آب
Oh et al, 2015	غلظت ازن: ۵g/h زمان تماس: ۶۰ دقیقه کاهش ۰/۸۵ اشریشیاکلای، Log cfu/ml ۱۰/۳۵ ازن کلیفرم کلی	ازن زنی	پیوسته	اشریشیا کلای و کیلفرم کلی
Alexander et al, 2016	غلظت ازن: ۰/۱ ± ۰/۹ g (به ازای ۱ g/DOC) انتروکوک ۹۸/۹٪ استافیلوکوک ۷۸/۱٪ سودوموناس آئروژینوزا ۶۰/۲٪ کاهش یافتند.	ازن زنی	ناپیوسته	انتروکوک، استافیلوکوک و سودوموناس آئروژینوزا در فاضلاب
Seki et al, 2017	غلظت ازن (پس از یک سال): ۳/۶۸ µg/ml زمان تماس: ۶۰ دقیقه حذف ۹۵٪	میناب یخ زده در دمای ۲۰ C° -	ناپیوسته	اشریشیاکلای
Ushida et al, 2017	زمان تماس: ۳ دقیقه آب دی یونیزه: ۰/۲ Log cfu/g میناب ازن: ۰/۸ Log cfu/g	آب دی یونیزه، میناب ازن	پیوسته و ناپیوسته	باکتری‌های موجود روی کلم چینی
Ersoy et al, 2019	غلظت ازن: ۱mg/L حذف ۱۰۰٪ زمان تماس انتروکوک فکالینس: ۳۰ s زمان تماس اشریشیاکلای: ۲۰ دقیقه	ازن زنی	پیوسته	اشریشیاکلای و انتروکوک فکالینس در آب
Stange et al, 2019	غلظت ازن: ۱ mg/L زمان تماس: ۵ دقیقه حذف بیش از ۹۹٪ ARB (باکتری مقاوم به آنتی بیوتیک)	اشعه ماورأ بنفش، ازن زنی و کلر زنی	ناپیوسته	اشریشیاکلای و انتروکوک فاسیوم
مطالعه‌ی حاضر	غلظت ازن: ۱۰g/h و ۵، ۱/۷ زمان حذف در غلظت بالا (میناب ازن): ۹۰ ثانیه	ازن زنی توسط گاز ازن و میناب	پیوسته	اشریشیاکلای، انتروکوک فکالینس، استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس

^۱ Dissolved organic carbon

آرژونوزا	ازن	افزایش بازدهی ازن دهی با استفاده از تکنولوژی میکرو نانو حباب	
----------	-----	---	--

۳-۵ پیشنهادات برای انجام مطالعات آتی

در این بخش با توجه به مطالعات و آزمایشات انجام شده، مواردی جهت توسعه و تکمیل تحقیق پیش رو پیشنهاد می‌گردد:

- ۱- بررسی عملکرد میکرو نانو حباب گازهای مختلف بر فاضلاب بیمارستانی در کاهش بار میکروبی
- ۲- طراحی و ساخت مولد میکرو نانو حباب جهت ضدعفونی کردن وسایل در بیمارستان‌ها و مراکز بهداشتی
- ۳- بررسی کاربرد همزمان اشعه فرابنفش، میکرو نانو حباب ازن و ضدعفونی کننده‌های رایج
- ۴- بررسی تاثیر تکنولوژی میکرو نانو حباب بر از بین رفتن بیوفیلم‌های باکتریایی مختلف
- ۵- بررسی تاثیر میکرو نانو حباب در کاهش چسبندگی بیوفیلم به سطوح مختلف
- ۶- مقایسه اقتصادی استفاده از روش‌های گوناگون گندزدایی و تکنولوژی میکرو نانو حباب در حذف باکتری‌ها

مراج

آزما، ا.، صادقی خانجانی، م.، کاظم نژاد لیلی، ا.، باقرنیا، م.، (۱۳۹۳)، "مقایسه اثرات آنتی باکتریال ماده ضد عفونی کننده ایرانی Disept با مواد ضد عفونی کننده Micro10 enzyme و Helvemed forte"، **مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد**، دوره ۳۹ (۱)، ص ص ۴۲-۳۵.

احمدی، ر.، خدادادی، ا.، عبداللهی، م.، (۱۳۹۳)، "توزیع ابعادی نانو میکرو حباب ها با روش نوین تفرق اشعه لیزری"، **نشریه علمی پژوهشی مهندسی معدن**، دوره ۹ (۲۵)، ص ص ۳۴-۲۴.

امینی، م.، شجاعی، ث.، رحیمی، ط.، شمس، س.، (۱۳۹۴)، "بررسی عفونت های بیمارستانی در بیمارستان نکویی شهرقم"، **مجله دانشگاه علوم پزشکی قم**، دوره ۹ (۴)، ص ص ۷۳-۶۴.

انباری، ف.، نبی، ع.، خلیلی، م.، (۱۳۹۳)، "مقایسه اثر ضد عفونی کنندگی اتانول، آب اکسیژنه و دکونکس با اشعه ماورأبنفش بر روی سطوح و تجهیزات آزمایشگاه تحقیقاتی ناباروری یزد"، **فصلنامه علمی تخصصی طب کار**، دوره ۶ (۳)، ص ص ۱۹-۱۲.

ایزدی، م.، اسدی، پ.، جنیدی جعفری، ن.، حیدری، ب.، کارلوس پرز اولمدو، ج.، مارکوس، ج.، (۱۳۹۳)، "نقش ازن در درمان زخم های مزمن"، **مجله طب نظامی**، دوره ۱۶ (۳)، ص ص ۱۱۳-۱۰۵.

ایمانی فولادی، ع.، سلطان پور، م.، کجویی، ر.، میرنژاد، ر.، رحیمی، م.، (۱۳۸۷)، "مقایسه اثرات ضد باکتریایی محلول های ضد عفونی کننده رایج علیه سه سویه مقاوم بیمارستانی"، **مجله علوم آزمایشگاهی**، دوره ۲ (۱)، ص ص ۲۵-۱۹.

توتونچی، ف.، ضیغمی، ح.، (۱۳۹۵)، "شناسایی ژن های مولد فنازین در جدایه های بالینی سودوموناس آئروژینوزای با مقاومت چند دارویی"، **پژوهش های آسیب شناسی زیستی**، دوره ۱۹ (۱)، ص ص ۱۱-۱.

توکلی، ح.، رنجبر، ر.، رستمی، ح.، دلخوش، م.، نورآبادی، م.، رستمی، ف.، یزدانی، ج.، (۱۳۸۹)، "بررسی تأثیر گاز ازن در کاهش آلودگی کلی باکتریایی لاشه مرغ کشتار شده در یکی از کشتارگاه های تهران"، **مجله میکروب شناسی پزشکی ایران**، دوره ۴، ص ص ۷۴-۶۶.

تیموری، ف و مظفری ثابت، ن.، (۱۳۹۶)، "بررسی ارتباط بین توانایی تشکیل بیوفیلم و مقاومت های آنتی بیوتیکی در جدایه های کلینیکی و محیطی اسنیتوباکتر بومانی در شهر تهران"، **مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک**، دوره ۲۰ (۴)، ص ص ۹-۱.

جوادی، م.، نوروزی، ج.، امامی، م.، (۱۳۸۸)، "بررسی آلودگی وسایل بیمارستانی"، فصلنامه دانش میکروب شناسی، دوره ۲ (۵)، ص ص ۱۷-۱۱.

رجب پور، م.، عربستانی، م.، یوسفی مشعوف، ر.، علیخانی، م.، (۱۳۹۲)، "تعیین MIC سه کلاس مختلف پادزیستی در ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های آموزشی شهر همدان (۹۱-۱۳۹۰)، مجله میکروب شناسی پزشکی ایران، سال ۷ (۳)، ص ص ۲۵-۱۸.

رزولی، م.، همایون نسب لنگرودی، م.، آهنگان، م.، یزدانی چراتی، ج.، اسلامی فر، م.، (۱۳۹۳)، "بررسی اثر گندزداها (سایدکس، دکونکس، کرئولین) بر باکتری اشريشیاکلاي"، مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دوره ۲۴ (۱۲۲)، ص ص ۱۴۶-۱۳۷.

رزولی، م.، یوسفی، م.، دیانتی، ر.، روح افزایی، م.، مرگان پور، ع.، (۱۳۹۴)، "گندزدایی آب های آلوده به کلیفرم مدفوعی با استفاده از ازن، بررسی تأثیر غلظت ازن و زمان تماس"، مجله تحقیقات سلامت در جامعه، دوره ۱ (۲)، ص ص ۶۲-۵۵.

سادات، ع.، امین، م.، جمشیدی، ا.، حسنی، ا.، (۱۳۸۷)، "مقایسه تأثیر گندزدایی پساب خروجی تصفیه خانه فاضلاب یاسوج به روش های تلفیقی، اشعه ماورأبنفش، پراستیک اسید و هیپوکلریت سدیم در مقیاس پایلوت"، مجله ارمغان دانش، دوره ۱۳ (۴۳)، ص ص ۱۰۰-۹۳.

سحرخیزان، م.، یوسفی مشعوف، ر.، بلالی فرد، ش.، اسماعیلی، ر.، (۱۳۹۳)، "بررسی اثربخشی ضد عفونی کننده‌های جدید سانوسیل، آلپروساید، بیب فورت و ژاول دوز در مقایسه با میکروتن و دکونکس بر روی ارگانیس‌های جدا شده از یونیت های دندان پزشکی"، مجله علمی پژوهان، دوره ۱۲ (۴)، ص ص ۴۹-۴۳.

شامی، ش.، فتحی، م.، محمدی، م.، (۱۳۹۴)، "مقایسه اثر اتانول کلرهگزیدین گلوکونات، اتانول و بتادین در پیشگیری از فلبیت ناشی از کاتترهای وریدهای محیطی در بیماران بخش‌های داخلی بیماران بعثت سنج "، فصلنامه پرستاری، مامایی و پیراپزشکی، دوره ۱ (۱)، ص ص ۲۱-۱۵.

شهرکی زاهدانی، ش.، جهان تیغ، م.، امینی، ی.، (۱۳۹۷)، "تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا"، مجله دانشکده علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، دوره ۷۶ (۸)، ص ص ۵۱۷-۵۲۲.

فلاح، ف.، اسلامی، گ.، گودرزی، ح.، فیاض، ف.، (۱۳۹۵)، درسنامه عفونی بخش باکتری شناسی

قربانی بیرگانی، ع.، اسدپور، س.، (۱۳۹۰)، "عفونت های بیمارستانی در بخش مراقبت های ویژه بیمارستان آریای اهواز ۱۳۸۷ تا ۱۳۸۸"، فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پرستاری و مامایی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، دوره ۸(۲)، ص ص ۹۳-۸۶.

کریم رحیمی، م.، عزیزیان، ج.، قمی مرز دشتی، م.، عدیمی، پ.، فضلعلی کاظمی، ط.، موسوی، ل.، پورخلیلی، ش.، (۱۳۸۳)، "بررسی قدرت ضدعفونی کنندگی ازن بر روی باکتری ها در سطوح جامد"، مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، دوره ۱۴(۲)، ص ص ۶۱-۵۷.

غلامی، م.، دقانی فرد، ع.، زرغام پور، ز.، میرزایی، ر.، (۱۳۹۰)، "کارایی فرآیند فراصوت در حذف باکتری های شاخص مدفوعی اشیریشیاکلائی و انتروکوکوس فیکالیس از آب آشامیدنی"، مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره ۱۴ (۱)، ص ص ۴۱-۳۶.

کاظمی طاسکوه، ن.، وریدی، م.، حداد خداپرست، م.، طباطبایی یزدی، ف.، (۱۳۹۳)، "اثر آب ازن دار بر کاهش باکتری های شاخص و جمعیت کل میکروبی لاشه مرغ در مرحله سرد کردن"، نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۱۰ (۱)، ص ص ۱۴-۹.

کریمی اندانی، م.، ساغروانی، ف.، (۱۳۹۵)، "مروری بر ویژگی ها و کاربردهای میکرو-نانو حباب ها در تصفیه آب و فاضلاب"، دومین کنفرانس علوم، مهندسی و فناوری های محیط زیست، ص ص ۹-۱.

کریمی اندانی، م.، (۱۳۹۵)، پایان نامه ارشد، "بررسی آزمایشگاهی اثر میکرو نانو حباب ها بر بهبود تصفیه هوای فاضلاب شهری"، دانشکده مهندسی عمران، دانشگاه صنعتی شاهرود
متکف، ل.، ادی، ه.، تچوبانگلاس، ج.، برتون، ف.، استنسل، ه.، (۲۰۰۴)، "مهندسی فاضلاب: تصفیه، دفع و استفاده مجدد از آن"، اژدرپور، ا.، انتشارات مک گرا-هیل، ص ص ۱-۱۷۵۶

محمدنژاد، ا.، عباس زاده، ع.، سوری، ح.، افهمی، ش.، (۱۳۹۴)، "کنترل و پیشگیری از عفونت بیمارستانی و ضرورت مراکز درمانی"، نشریه پرستاری قلب و عروق، دوره ۴(۱)، ص ص ۶۵-۵۸.

ملکوتیان، م.، دهقانزاده ریحانی، ر.، ستاروند، س.، لؤلویی، م.، (۱۳۹۴)، "کارایی ازن زنی و اکسیداسیون پیشرفته در حذف باکتری های کلیفرم از فاضلاب خام بیمارستان"، مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، دوره ۱۴ (۸)، ص ص ۶۹۰-۶۷۹.

ملکوتیان، م و ستاروند، س.، (۱۳۹۳)، "بررسی کارایی ازن زنی بر مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری اشیریشیاکلائی جداسازی شده از فاضلاب خام بیمارستان"، مجله سلامت و بهداشت، دوره ۵، ص ص ۵۴۶-۵۳۹.

میرشکاری، م.، (۱۳۹۷)، کتابچه راهنمای مواد گندزدا، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، ص ص ۴۸-۱

وزیری، م.، میرزایی، م.، کلایان مقدم، ح.، فضلی، م.، خرم روز، س.، دربان سارو خلیل، د.، یسلانی فرد، س.، (۱۳۹۵)، "بررسی ارتباط مقاومت آنتی بیوتیکی با agr تایپ در استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین جدا شده از زخم سوختگی بیماران بستری در شهر تهران"، **مجله دانش و تندرستی**، دوره ۱۱(۱)، ص ص ۷-۱.

ولی زاده حسنلویی، م.، امینی تپوک، ف.، خرسندی، ح.، حسینی جزئی، ن.، رحیمی راد، م.، آقداشی، م.، سرداری، س.، (۱۳۹۱)، "مقایسه اثربخشی گندزداهای Epimax S و Epimax SC بر روی باکتری های مولد عفونت های بیمارستانی در بخش های مراقبت های ویژه"، **دو ماهنامه دانشکده پرستاری و مامایی ارومیه**، دوره ۱۰(۶)، ص ص ۸۶۷-۸۷۵.

هاتفی زاده، ب.، حسینی، ف.، مرادی بید هندی، س.، (۱۳۹۵)، "بررسی برخی از مواد آنتی سپتیک بر بیوفیلم سویه های استافیلوکوکی جدا شده از پوست بیماران بستری در تهران طی یک سال"، **مجله علوم پزشکی رازی**، دوره ۲۳ (۱۴۸)، ص ص ۱۳۵-۱۲۸.

هادی، م.، شکوهی، ر.، ابراهیم زاده نامور، ا.، کریمی، م.، سلیمانی امین آباد، م.، (۱۳۹۰)، "مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های جداسازی شده از فاضلاب های شهری و بیمارستانی در شهر همدان"، **فصلنامه سلامت و محیط زیست**، جلد ۱ (۳)، ص ص ۱۰۵-۱۱۴.

یوسفی مشعوف، ر.، فلاح، م.، حیدریرقی، ز.، (۱۳۸۵)، "ارزیابی قدرت اثربخشی ضد عفونی کننده ها و آنتی سپتیک های مورد مصرف در بیمارستان های آموزشی"، **مجله یافته**، دوره ۸ (۱)، ص ص ۵۲-۴۳.

Agarwal, A., Liu, Y., Jern Ng, W., (2011), "Principle and applications of micro bubble and nano bubble technology for water treatment", **Chemosphere**, 84, PP 1175-1180.

Alexander, J., Knopp, G., Dötsch, A., Wieland, A., Schwartz, T., (2016), "Ozone treatment of conditioned wastewater selects antibiotic resistance genes, opportunistic bacteria, and induce strong population shifts", **Science of the Total Environment**, 559, PP 103-112.

Ananthanarayan, R., Paniker, CKJ. (2005), "Textbook of Microbiology", Orient Longman Private Ltd, 7th edition, PP 192-422.

Arefi, A., Saghravani, S.F., Mozaffari Naeeni, R., (2016), "Mechanical Behavior of Concrete, Made with Micro-Nano Air Bubbles", **Civil Engineering Infrastructures Journal**, 49 (1), PP 139-147.

- Asadollahfardi, G., MohsenZadeh, P., Saghravani, S.F., Mohamadzadeh, N., (2019), "The effects of using metakaolin and micro-nanobubble water on concrete properties", **Journal of Building Engineering**, 25, PP 1-35.
- Brooks, G., Carroll, K., Butel, J., Mores, S., Mietzner, T., (2013), Jawetz, Melnick and Adelberg, Medical Microbiology, 26th edition, **McGraw Hill Companies**, PP 1-822.
- Dahrazma, B., Naghedinia, A., Ghasemian Gorgi, H., Saghravani, S.F., (2019), "Morphological and Physiological Responses of Cucumis sativus L. to Water with Micro-Nanobubbles", **Journal of Agricultural Science and Technology**, 21 (1), PP 181-192.
- Ebina, K., Shi, K., Hirao, M., Hashimoto, J., Kawato, Y., Kaneshiro, S., Morimoto, T., Koizumi, K., Yoshikawa, H., (2013), "Oxygen and Air Nanobubble Water Solution Promote the Growth of Plants, Fishes, and Mice", **Public Library of Science**, 8 (6), PP 1-7.
- Ersoy, Z.G., Barisci, S. and Dinc, O., (2019), "Mechanisms of the Escherichia coli and Enterococcus faecalis inactivation by ozone", **LWT**, 100, PP 306-313.
- Gassie, L., Englehardt, J., (2017), "Advanced oxidation and disinfection processes for onsite net-zero greywater reuse: A review", **Water research**, 15 (125), PP 384-399.
- Ghadimkhani, A., Marhaba, T., Zhang, W., (2016), "Ceramic membrane defouling (cleaning) by air nano bubbles", **Chemosphere**, 146, PP 379-384.
- Gotoh, Y., Serizawa, A., Eguchi, T., Tanaka, H., Lzumi, M., (2006), "Oil separation from oil polluted soil by micro bubble injection and separation mechanism", **Japanese Journal of Multiphase Flow**, 20 (1), PP 39-49.
- Hayakumo, S., Arkawa, S., Takahashi, M., Kondo, K., Mano, Y., Izumi, Y., (2014), "Effects of ozone nano-bubble water on periodopathic bacteria and oral cells- in vitro", **Science and Technology of Advanced Materials**, 15, PP 1-7.
- Inatsu, Y., Kitagawa, T., Nakamura, N., Kawasaki, S., Nei, D., Bari, L., Kawamoto, S., (2011), "Effectiveness of stable ozone microbubble water on reducing bacteria on the surface of selected leafy vegetables", **Food science and Technology Research**, 17(6), PP 479-485.
- Jiang, C., Zhao, S., Song, W., Yamaguchi, T., Riskowski, G., (2016), "Effect of Micro Nano Bubble Water on growth, yield and quality of lettuce under substrate cultivation" **International Agricultural Engineering Journal**, 25 (3), PP 1-8.
- Klopfer, M., (2015), "Micro and Nano Bubbles for wound Healing Applications", dissertation for doctorate, University of California, Irvine.
- Kumar, M., (2016), "Ozone Nano Bubble Water: A Magic Wand for the treatment of periodontal Disease", **ARC Journal of Dental Science**, 1 (3), PP 1-2.
- Ledwoch, K., Dancer, S.J., Otter, J.A., Kerr, K., Roposte, D., Maillard, J.-Y., (2018) , "Beware Biofilm! Dry biofilms containing bacterial pathogens on multiple healthcare surfaces; a multicentre study", **Journal of Hospital Infection**, 100 (3), PP 47-56.
- Li, H., Hu, L., Xia, Z., (2013), "Impact of Groundwater Salinity on Bioremediation Enhanced by Micro-Nano Bubbles", **Materials**, 6(9), PP 3676-3687.

- Li, P., Takahashi, M., Chiba, k., (2009), “Degradation of phenol by the collapse of micro bubbles”, **Chemosphere**, 75, PP 1371-1375.
- Li, Y., Liu, Y., Zhou, Y., Wang, T., Pan, J., Zhou, B., Muhammad, T., Zhou, C., (2019), “Micro-nano bubble water oxygation: Synergistically improving irrigation water use efficiency, crop yield and quality”, **Journal of Cleaner Production**, 222, PP 835-843.
- Matsuki, N., Ishikawa, T., Ichiba, S., Shiba, N., Ujike, Y., Yamaguchi, T., (2014), “Oxygen supersaturated fluid using fine micro nano bubbles”, **International Journal of Nanomedicine**, 20, PP 4495-4505.
- Metcalf, L., Eddy, H., Tchobanoglous, G., Burton, F., Stense, H.D., (2004), “Wastewater Engineering Treatment, disposal and Reuse”, 4th edition , **McGraw Hill Higher Education**, PP 1-1756
- McFarland, J., (1907), “Nephelometer; an instrument for estimating the number of bacteria in suspension used for calculating the opsonic index and for vaccines”, **Journal of American Medical Association**, 14, PP 1176-1178.
- Morimoto, Y., Yoshida, A., Murakami, S., Tsuji, H., Yoshitaka, T., Ozaki, T., (2010), “Micronano bubble containing ozone is efficient for bacterial biofilms on orthopaedic material”, **56th annual meeting of the orthopaedic research society**, poster No.2147, National Research Institute for Child Health and Development, Tokyo, Japan.
- Nakatake, Y., Kisu, S., Shigyo, K., Eguchi, T., Watanabe, T., (2013), “Effect of nano air-bubbles mixed into gas oil on common-rail diesel engine”, **Energy**, 59, PP 233-239.
- Oh, J., Salcedo, D.E., Medriano, C.A. and Kim, S., (2014), “Comparison of different disinfection processes in the effective removal of antibiotic-resistant bacteria and genes”, **Journal of Environmental Sciences**, 26(6), PP 1238-1242.
- Oh, K.S., Poh, P.E., Chong, M.N., Gouwanda, D., Lam, W.H. and Chee, C.Y., (2015), “Optimizing the in-line ozone injection and delivery strategy in a multistage pilot-scale greywater treatment system: System validation and cost-benefit analysis”, **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 3(2), PP1146-1151.
- Otter, J.A., K. Vickery, K., Walker, J., deLancey Pulcini, E., Stoodley, P., Goldenberg, S.D., Salkeld, J., Chewins, J., Yezli, S., Edgeworth, J.D., (2014) , “Surface-attached cells, biofilms and biocide susceptibility : implications for hospital cleaning and disinfection“ , **Journal of Hospital Infection**, 89 (1), PP 16-27.
- Rajam, R., Harish, R., Guru Prasad, S., Ramanathan, S., (2016), “Nano Bubbles”, **British Journal of Pharmaceutical and Medical Research**, 1 (2), PP 72-79.
- Ramsey, M., Hartke, A., Huycke, M., (2014), “Enterococci, From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection”, **Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary**.
- Sax, H., Allegranzi, B., Charaiti, M., Boyce, J., Larson, E., Pittet, D., (2009), “The World health organization hand hygiene observation method”, **World Health Organization**, 37, PP 827-834.

- Seki, M., Ishikawa, T., Terada, H., Nashimoto, M., (2017), “Microbicidal effects of stored aqueous ozone solution generated by nano-bubble technology”, **Research Institute for Healthy Living**, 31, PP 570-583.
- Serizawa, A., (2017), “Fundamentals and Applications of Micro/Nano Bubbles”, **1st International Symposium on Application of High voltage, Plasmas & Micro/Nano Bubbles to Agriculture and Aquaculture**, Rajamangala University of Technology, Chiang Mai, Thailand.
- Stange, C., Sidhu, J.P.S., Toze, S. and Tiehm, A., (2019) “Comparative removal of antibiotic resistance genes during chlorination, ozonation, and UV treatment”, **International journal of hygiene and environmental health**, 222(3), PP 541-548.
- Sumikura, M., Hidaka, M., Murakami, H., Nobutomo, Y., Murakami, T., (2007), “Ozone Micro Nano Bubble disinfection method for wastewater reuse system”, **Water Science Technology**, 55 (5), PP 53-61.
- Takahashi, M., Chiba, k., Li, P., (2007), “Free-radical generation from collapsing micro bubbles in the absence of a dynamic stimulus”, **The Journal of Physical Chemistry**, 111 (6) , PP 1343–1347.
- Tildesley, A., (2010), “An investigation into the possibilities of the use of plasmonic nano bubbles in the theranostics and treatment of prostate cancer”, **Nano Technology**, PP 1-8.
- Ushida, A., Koyama, T., Nakamoto, Y., Narumi, T., Sato, T., Hasegawa, T., (2017), “Antimicrobial effectiveness of ultra-fine ozone-rich bubble mixtures for fresh vegetables using an alternating flow”, **Journal of Food Engineering**, 206, PP 48-56.
- Ushikubo, F., Enari, M., Furukawa, T., Nakagawa, R., Makino, Y., Kawagoe, Y., Oshita, S., (2010), “Zeta-potential of Micro and/or Nano bubbles in Water Produced by Some Kinds of Gases”, **IFAC Proceedings Volumes**, 43 (26), PP 283-288.
- Vigneswaran, S., Sundaravadivel, M., (2004), “Recycle and Reuse of Domestic Wastewater”, **Waste Water Recycle, Reuse and Reclamation**.
- Temesgen, T., Bui, T., Han, M., Kim, T., Park, H., (2017), “Micro and Nano Bubble technologies as a new horizon for water treatment techniques: A review”, **Colloid and Interface Science**, 246, PP 40-51.
- Wanjun, W., Guoheng, H., Jimmy, C.Yu., Wong, P., (2015), “Advanced in photocatalytic disinfection bacteria : Development of photo catalysts and mechanisms”, **Journal of environmental Sciences**, 34, PP 232-247.

Abstract

The Purpose of this Study is to use Ozone Micro Nano Bubble Technology to remove bacterial species of nosocomial infection. For this purpose, samples from species of the 4 bacteria namely *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* were placed in direct contact with Ozone Micro Nano Bubbles (OMNB) and ozone gas (For comparison) at ambient temperature of 37 C°. Samples were cultured at different time contacts. The results showed that generally, with increasing concentration of inlet ozone, removal time of the studied bacteria were decreased. The removal efficiency of bacteria by OMNB is significantly increased compared to the usual ozonation at the same concentration. *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* confronted with OMNB at a concentration of 10g/h were completely removed in less than 1 minute while *Pseudomonas aeruginosa* resisted for 90 seconds before total removal. In the same concentration of ozone by ordinary porous diffuser, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa* were removed after 10, 12, 22 and 22 minutes. By decreasing the ozone concentration the removal time was increased. At both concentrations of 1.7 and 5 g/h of ozone gas, *Enterococcus faecalis* was removed in 60 minutes, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* also were removed after 90 minutes of ozonation with diffusers. Time of Complete removal of *Pseudomonas aeruginosa* was also measured; 130 minutes in 1.7 g/h ozone and 120 minutes for 5 g /h of ozone. In the case of OMNB at concentration of 1.7 g/h, water containing *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* respectively was completely disinfected at contact times of 8, 8, 10 and 22 minutes. Mentioned bacteria were completely removed during treatment with OMNB at a concentration of 5 g/h after 2, 3, 5 and 8 minutes. It was observed that the fastest removal at all concentrations of ozone belongs to *Enterococcus faecalis* and the longest removal time was for *Pseudomonas aeruginosa*. According to the results of this study, disinfection of water contaminated with these bacteria can be effectively performed by the use of OMNB to accelerate and increase the efficiency of the disinfection process.

Keywords: Micro Nano Bubble, Ozone, Bacteria, Removal



Shahrood University of
Technology

Faculty of Civil Engineering

M.Sc Thesis in Enviromental Engineering

Application of micro nano bubbles in removal of bacterial species of hospital infections

By: Niloofar Gohari

Supervisor:

Dr. Behnaz Dahrazma

Dr. Mehdi Mirzaii

Advisor:

Dr. Seyed Fazlollah Saghravani

January, 2020