ISSN: 2476-6917; Modares Journal of Biotechnology. 2019;10(2):247-253

Study of Viscosity Behavior and Surface Properties of the Active System by Escherichia coli/Water/Polyvinylpyrrolidone

ARTICLE INFO

Article Type
Original Research

Authors
Ayazi M.[1] *PhD,*
Golshan Ebrahimi N.*[1] *PhD*

How to cite this article
Ayazi M, Golshan Ebrahimi N. Study of Viscosity Behavior and Surface Properties of the Active System by Escherichia coli/Water/Polyvinylpyrrolidone. Modares Journal of Biotechn-ology. 2019;10(2):247-253.

[1]Polymer Engineering Department, Chemistry Engineering Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Correspondence
Address: Tarbiat Modares University, Nasr Bridge, Jalal-Al-Ahmad Highway, Tehran, Iran. Postal Code: 1411713116
Phone: +98 (21) 82883342
Fax: +98 (21) 82884931
ebrahimn@modares.ac.ir

Article History
Received: January 28, 2018
Accepted: March 10, 2018
ePublished: June 20, 2019

ABSTRACT

Aims: The study of the behavior of active suspended fluid introduced a new topic for a wide range of applications such as reactors, microfluidic pumps, cultivating surfaces and antibacterial surfaces. The motility of bacterial suspension has generated a shear force (Hydrodynamic interaction) across the cells, which has an effect on the fluid viscosity. In this study, shear rheometer was used to evaluate the viscosity behavior of Escherichia coli (E. coli) in a water/polymer environment as a function of bacteria concentration and shear rate.

Materials and Methods: In the experimental study, the activity of E. coli was evaluated by choosing the constant concentration (0.01g/ml) and molecular weight of polyvinylpyrrolidone (360KDa). Also, the surface tensions of E. coli, Acetobacter xylinum, and S. aureus solutions were calculated using Wilhelmy test.

Findings: Activity of E. coli suspension results the lower viscosity comparing with the bacteria-free solution. The relative viscosities of the solutions were analyzed in a wide range of shear rates and bacterial concentrations. At a low shear rate up to1S-1, the relative viscosity was found to be less than a unit value (Less than water). Also, due to the collective motility break up to smaller parts at high shear rates, the viscosity increased. The critical volume fraction was defined in determined bacterial concentration (0.8v/v) to analyze the collective movement of bacteria. The interfacial tension was reduced by bacteria presence of three different stain types that confirmed the effect of bacteria activity on the flow behavior.

Conclusion: The activity of E. coli bacteria makes it easy for fluid to flow at low shear rates. The viscosity reduction of active particle has a potential to demonstrate a variety of novel applications when a reduced energy level is needed.

Keywords E.coli; Rheology; Interfacial tension; Viscosity; Newtonian behavior

CITATION LINKS

[1] Non-Newtonian viscosity of Escherichia ... [2] Rheology of active-particle ... [3] The Taylor-Couette motor: Spontaneous flows of active polar fluids ... [4] Nanomachines, fundamentals and applications ... [5] Particle-tracking microrheology of living cells: Principles ... [6] Engineering bacterial motility ... [7] Transcriptional control of motility enables directional movement of Escherichia coli in ... [8] Active colloids in complex ... [9] Hydrodynamics of soft active ... [10] Onset of collective and cohesive suspensions: A simple kinetic ... [11] The dilute rheology of swimming ... [12] Collective motion in an active suspension of Escherichia coli ... [13] Motor characteristics determine the rheological behavior of a suspension ... [14] Critical bacterial concentration ... [15] Hydrodynamic attraction of swimming microorganisms ... [16] Bacterial ... [17] Self-concentration and large-scale coherence in bacterial ... [18] Running and tumbling with E. coli in polymeric ... [19] Flagellated bacterial motility ... [20] Effect of viscosity on bacterial ... [21] A mathematical explanation of an increase in bacterial swimming speed with viscosity in linear-polymer ... [22] Turning bacteria suspensions ... [23] Reduction of viscosity in suspension ... [24] Staphylococcus aureus forms ... [25] Rheology of sheared bacterial ... [26] Defining motility in the ... [27] Focus: Swimming microbes change ... [28] Collective motion of spherical ... [29] Poly(vinylpyrrolidone) - a versatile ... [30] Molecular adsorption steers bacterial ... [31] Wilhelmy plate method ... [32] Polyvinylpyrrolidone can be used ... [33] Altered motility of Caulobacter ... [34] The influence of oxygen and arginine ... [35] Bacterial swimming and ... [36] Coli and oxygen: A motility ... [37] Refractive index of Escherichia ... [38] Viscosity of bacterial suspensions ... [39] Suspension biomechanics of swimming ... [40] The role of hydrodynamic interaction ... [41] Shear thickening in concentrated ... [42] Correlation properties of collective motion in ...

Copyright© 2019, TMU Press. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

مطالعه تغییرات جریان‌پذیری و خواص سطحی سامانه فعال باکتری *اشریشیا کلی*/آب/ پلی‌وینیل‌پیرولیدن

معصومه‌سادات ایازی PhD
گروه مهندسی پلیمر، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
نادره گلشن‌ابراهیمی* PhD
گروه مهندسی پلیمر، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده
بررسی رفتار جریان‌های حاوی ذرات فعالی همچون باکتری، موضوع جدیدی است که توانایی تعریف در کاربردهای گسترده را دارد. تحرک محلول باکتری، به‌دلیل نیروی هیدرودینامیک، نیروی برشی در اطراف سلول ایجاد می‌کند که بر رفتار سیال تاثیر می‌گذارد. در این تحقیق برای بررسی رفتار باکتری *اشریشیا کلی* در محیط آب/پلیمر با استفاده از رئومتر برشی، تغییرات گرانروی محلول بررسی شد. در مطالعه حاضر، با انتخاب غلظت (۰/۰۱گرم بر میلی‌لیتر) و وزن مولکولی مناسب از پلی‌وینیل‌پیرولیدن (۳۶۰کیلودالتون)، فعالیت باکتری *اشریشیا کلی* در آزمون رئومتری و باسرعت‌های برشی مختلف بررسی شد. همچنین، تاثیر حضور سه گونه باکتریایی *اشریشیا کلی*، *استوباکتر گزیلینوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس در میزان تنش بین سطحی سیال، به کمک آزمون ویلهلمی بررسی شد.* فعالیت باکتری سبب کاهش گرانروی محلول نسبت به محلول عاری از باکتری می‌شود. همچنین داده‌های گرانروی نسبی محلول در محدوده وسیعی از سرعت‌های برشی و در رقت‌های مختلف باکتری، تحلیل شد؛ آن گونه که گرانروی نسبی در حالت رقیق و سرعت‌های برشی کم (یک‌برثانیه)، کمتر از یک و در سرعت‌های برشی بیشتر، افزایش یافته است. در این پژوهش، به‌منظور تحلیل و ارتباط حرکت جمعی، کسر حجمی باکتری ۰/۸ شد. همچنین، اگر چه میزان کاهش کشش سطحی در سه محلول باکتریایی مقادیر متفاوتی نشان دادند، اما روند کاهش تنش سطحی در آنها، می‌تواند شاهدی بر تاثیر فعالیت باکتری بر رفتار جریان‌پذیری سیال باشد. فعالیت باکتری *اشریشیا کلی* سبب سهولت جریان‌پذیری سیال در محدوده سرعت‌های برشی کم می‌شود. مشاهده گرانروی کاهش یافته در این ذره فعال می‌تواند کاربردهای جدیدی را با توجه به کاهش انرژی مورد نیاز برای جریان‌پذیری آن تعریف نماید.
کلیدواژه‌ها: *اشریشیا کلی*، رئولوژی، کشش سطح، گرانروی، رفتار غیرنیوتنی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۱۹
*نویسنده مسئول: ebrahimn@modares.ac.ir

مقدمه

اصطلاح سامانه‌های تعلیقی ذرات فعال، به محلول‌های حاوی ذرات معلقی اطلاق می‌شود که با توانایی حرکت خود (چه با محرک خارجی یا نیروی داخلی) سبب تغییر انرژی سامانه یا اعمال تنش مکانیکی در جریان محیط سیال می‌شوند که البته این رفتار در سامانه‌های حاوی ذرات منفعل قابل مشاهده نیست[1-2]. به‌عنوان مثال در تحقیقی که روی پاسخ ذرات قطبی فعال به نیروی برشی صورت گرفت، پیش‌بینی رسیدن به محدوده "گرانروی صفر" به‌واسطه افزایش فعالیت آن به دست آمد که این نتیجه شگرف به معنی عدم اتلاف نیروی محرکه توسط جریان سیال است. به عبارتی برای حرکت این سیال، با توجه به توانایی فعالیت ذره بدون صرف انرژی (یا همان مشاهده گرانروی صفر)، تنها با استفاده از نیروی محرکه درونی ذرات، انتقال آن میسر است[3]. در این میان شناخت رفتارهای جریان‌پذیری ریزجاندارانی همچون باکتری، جلبک و تک‌یاخته‌ها با توجه به توانایی شناگری آنها جالب توجه است. اهمیت شناخت رفتار این سامانه‌ها در کاربردهای متنوعی همچون فرآیندهای مرتبط با مخلوط‌کردن، پمپاژ، انتقال مستقیم آن در میکروسل‌ها (مانند ورود سیال حاوی ریزجاندار به تراشه‌های آزمایشگاهی)، سامانه‌های تحویل دارو و زیست‌سنسور و زیست‌ربات‌های باکتری مصداق می‌یابد[4-7]. در سامانه‌های ریزجاندار به‌واسطه فعالیت‌های حیاتی مانند تراکم و شنا که به‌واسطه تحرک تاژک‌ها یا رشته‌های موجود در آن است، حرکت جمعی سازمان‌یافته و هماهنگ‌شده[8] میسر است که امکان پیکربندی و آرایش دسته ریزجانداران در حضور جریان را به وجود می‌آورد[9]. این ویژگی می‌تواند سبب اتلاف یا تولید انرژی و در نتیجه ایجاد ناپایداری و تغییر رفتار جریان سیال شود. در تفسیر مشاهدات مربوط به توانایی حرکت دسته‌جمعی، می‌توان به تعاملات کوتاه‌مدت ذرات همچون جهت‌گیری‌های دوقطبی آنها[10] یا پیوند هیدرودینامیکی بین ذرات سیال اشاره نمود[11]. در تحقیقات گذشته برای تعیین حرکت جمعی باکتری، مقیاس طولی از تجمع باکتری تعریف شده است[12] که در این مقیاس طولی با تعریف تعداد باکتری‌های تجمع‌یافته در ساختارهای خوشه‌مانند تشکیل‌شده از باکتری، میزان تمایل حرکت گروهی بررسی شده است. به این ترتیب که در مقادیر کمتر از مقدار بحرانی تعریف‌شده، توانایی جهت‌گیری خوشه‌ها در مسیر جریان وجود دارد. در پژوهشی دیگر، حرکت خوشه‌ها، انعطاف‌پذیری بیشتری را با توجه به نوع باکتری و غلظت حضور آن، نشان دادند[13]. از این رو تعریف مقدار بحرانی غلظت باکتری در سامانه‌های تعلیقی (با توجه به اندازه و ابعاد متوسط سلول ریزجاندار) در تحلیل سازوکار آرایش‌یافتگی سلول‌ها در حرکت جمعی اهمیت دارد[14].

علاوه بر این ارزیابی‌ها در مورد نوع حرکت باکتری به ساختار آن وابسته است، به‌عنوان مثال، باکتری *اشریشیا کلی* به‌واسطه تاژک انتهایی، حرکت فشاردهنده داشته که سبب ایجاد نیروی جاذبه دوقطبی در تعاملات هیدرودینامیکی شده و بر توانایی آرایش و جهت‌گیری باکتری موثر است[15-16]. آرایش‌یافتگی باکتری *اشریشیا کلی* در محیطی با سیال نیوتنی (مانند آب) [17] و مایعات غیرنیوتنی (محلول پلیمری) [18] متفاوت است. به عبارتی، تحرک باکتری منجر به افزایش کشیدگی زنجیر پلیمری (ذره دیگر معلق در آب) و در نتیجه افزایش تحرک و جابه‌جایی سیال شده است[19]. از آنجایی که در علم پلیمر، ویژگی‌هایی همچون وزن مولکولی، نوع پلیمر و غلظت آن بر رفتار جریان سیال تعلیقی موثر است، ارتباط غلظت پلیمر و انتقال انرژی در سامانه باکتری تاژکدار نشان می‌دهد نقش پلیمر حتی در مقادیر کمی از آن سبب افزایش شدت پویایی باکتری در محلول می‌شود[18]. در این میان یکی از پرکاربردترین پلیمرهای استفاده‌شده در این حوزه، پلیمر خطی پلی‌وینیل‌پیرولیدن (PVP) است[20]. با توجه به این که آغاز گره‌خوردگی (در پلیمرها به‌واسطه وزن مولکولی بالای آنها، پدیده‌ای به نام گره‌خوردگی یا درهم‌تنیدگی زنجیرها اتفاق می‌افتد که سبب حفظ تمامیت پلیمر در برابر تنش خارجی می‌شود) در محلول پلیمری به غلظت و وزن مولکولی آن بستگی دارد[21]، در صورت بزرگ‌تربودن ابعاد باکتری انتخابی در مقایسه با طول زنجیره پلیمری، انتظار می‌رود حرکت باکتری بر شبکه پلیمری غالب باشد و ارزیابی محلول، نتایج مربوط به رفتار باکتری و نه محلول پلیمری را نشان دهد.

برای بررسی مفاهیم پایه مکانیک و واکنش سامانه‌های تعلیق فعال در حرکت، می‌توان از اندازه‌گیری‌های رئولوژیکی در جریان برشی استفاده نمود[5, 22]. اولین مشاهدات رفتار رئولوژیکی، روی محلول باکتری *باسیلوس سابتیلیس* (*Bacillus subtilis*) و در

سال ۲۰۰۹ صورت گرفت[23] که در آن، کاهش گرانروی محلول فعال نسبت به محلول خالص گزارش شده است. بررسی رفتار گرانروی سیال در مورد رفتار حرکت جمعی باکتری *اشریشیا کلی* در سرعت برشی و چگالی کم سلول انجام شده است. مشاهدات مربوط به کاهش گرانروی در کسر حجمی بحرانی، تاییدی بر حرکت جمعی باکتری است[13]. بررسی همین باکتری در میکروالگو با ابعاد طراحی‌شده معین، رفتار هیدرودینامیک ذرات فعال و سیال را تایید می‌کند[1]. برخی از نویسندگان روند تغییر گرانروی را به سازوکار حرکت نوع باکتری ارتباط می‌دهند که با توجه به ساختار تاژک موجود در انتهای سلول یا ساختارفیزیکی آن می‌تواند متفاوت باشد[23-25]. در تحقیقات اخیر تاثیر نوع حرکت متفاوت باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) در سیال، با توجه به عدم تاژک انتهایی، نیز بررسی شده است[24, 26]. در این راستا در بررسی‌های رئولوژیکی محلول‌های باکتری، رفتارهای جریان‌پذیری متفاوتی متناسب با ساختار باکتری مشاهده شده است[27, 28]. البته در مطالعات انجام‌شده اهمیت تغییر گرانروی محلول باکتری *اشریشیا کلی* مورد توجه قرار گرفته است[22]، اما تغییر گرانروی در محدوده وسیعی از سرعت برشی برای این باکتری انجام نشده است.

در این پژوهش با توجه به تاریخچه طولانی و شناخته‌شده باکتری *اشریشیا کلی* در کاربردهای زیست‌فناوری و غذایی، سامانه سیال آب/پلی‌وینیل‌پیرولیدن انتخاب شد. از دلایل انتخاب محیط تعریف‌شده می‌توان به کاربرد گسترده PVP در صنایع غذایی و دارویی و پزشکی اشاره نمود[29]. بررسی تغییرات گرانروی در محدوده وسیعی از سرعت برشی و در غلظت‌های متنوعی از محلول به کمک رئومتر برشی (رفتار گرانروی سیال) بررسی می‌شود. با توجه به تاثیر غلظت بر رفتار حرکت جمعی باکتری، در این تحقیق مقدار غلظت بحرانی برای ارزیابی دقیق‌تر محلول‌های حاوی این ذره فعال نیز محاسبه می‌شود. همچنین از آنجایی که انتظار می‌رود میزان فعالیت باکتری‌های هوازی در نزدیکی سطح افزایش یابد[15, 30]، در این پژوهش تاثیر فعالیت این باکتری (*E. coli*) و دو نوع باکتری هوازی دیگر (*استوباکتر گزیلینوم*؛ *Acetobacter xylinum* و *S. aureus*) بر کشش سطحی محلول، برای اولین‌بار، به کمک آزمون ویلهلمی[31]، بررسی می‌شود. انتظار می‌رود به کمک نتایج بررسی دو آزمون اخیر بتوان رفتار جریان این سامانه را تحلیل نمود.

مواد و روش‌ها

کشت باکتری تازه *E. coli* BL21-DE3 با مخلوطی از آگار، سدیم‌کلرید، تریپتون و عصاره مخمر صورت گرفت. همچنین دو باکتری *استوباکتر گزیلینوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به کمک بخش مهندسی بیوتکنولوژی دانشکده مهندسی شیمی دانشگاه تربیت مدرس تهیه شد. محلول باکتری در همان محیط کشت (به‌منظور تامین مواد مغذی سلول در زمان آزمون) در سامانه تعلیقی آب/پلیمر با رقت ۰/۰۱% وزنی از پلی‌وینیل‌پیرولیدون (PVP) با وزن مولکولی ۳۶۰کیلودالتون رقیق شد تا بتوان فعالیت باکتری را به‌واسطه حضور پلیمر حفظ نمود[32, 33].

آزمون عبور نور تراکم نوری محلول باکتری با استفاده از اسپکتروفتومتر Beckman OD 600 تعیین شد. غلظت‌های مختلف، با رقیق‌کردن با آب به دست آمد و میزان باکتری موجود در آن به کمک طیف جذبی ۶۰۰نانومتر تعیین شد. تخمین میزان غلظت یا فاز رشد و جمعیت سلول‌ها در مایع از طریق، منحنی کالیبراسیون (ایجاد رابطه CFU/ml با OD) به دست آمد. با توجه به رابطه غلظت باکتری (n) برحسب جزء حجمی (φ)، به‌طوری که $\varphi=n/V_b$ و با فرض $V_b=1$میکرومتر، مقادیر گرانروی رسم‌شده متناسب با جزء حجمی به دست آمد.

آزمون کشش سطحی تنسومتر (Kruss K12 GmbH) برای محاسبه کشش سطحی محلوهای باکتری مورد استفاده قرار گرفت. در این روش، ورق نازک و مربعی‌شکل از جنس پلاتین در محلول باکتری قرار گرفت. محاسبه تغییرات نیرو با استفاده از وزنه الکترونی بسیار دقیق (حساسیت تعادل ۰/۰۰۰۰۰۱گرم) بر پلاتین خارج‌شده، از محلول ثبت شد. خروج ورق پلاتین از محلول باکتری با نرخ ۲۱میلی‌متر در دقیقه و در دمای اتاق انجام شد. با کمک نیروی اندازه‌گیری‌شده، میزان کشش سطحی محلول‌های باکتری محاسبه شد.

آزمون رئولوژی مقادیر گرانروی در سرعت برشی ۰/۰۱ تا ۱۰۰ بر ثانیه، با استفاده از رئومتر صفحه-صفحه مدل Ostfildern MCR 502 (Anton Paar؛ اتریش) با قطر ۵۰میلی‌متر، فاصله شکاف یک‌میلی‌متر و در دمای اتاق اندازه‌گیری شد. به‌منظور تحلیل مقادیر گرانروی در سرعت برشی، دو آزمون سرعت برشی متغیر و ثابت صورت گرفت. در آزمون ثابت؛ تنش برشی به‌مدت ۱۵دقیقه اعمال شده، سپس استراحت داده شد. با توجه به سطح کوچک بین سیال و هوا در محفظه قرارگیری نمونه در دستگاه رئومتر، امکان کاسته‌شدن فعالیت باکتری در زمان‌های طولانی‌تر وجود دارد. حفظ شناوری باکتری در مدت زمان طولانی نیازمند رساندن اکسیژن کافی در حین آزمایش است[34-36]. به‌عنوان مثال محدوده زمان فعالیت باکتری در مطالعه مرجع[36]، به حضور اکسیژن بسیار وابسته بیان شده است. از این رو، در پژوهش حاضر آزمون وابسته به زمان، در مدت محدود انجام شد. در ادامه با کمک آزمون تنش برشی متغیر، تغییرات گرانروی در سرعت‌های برشی مختلف به دست آمد.

تحلیل آماری داده‌ها آزمون کشش سطحی برای سه نمونه مستقل تکرار شده و میزان انحراف‌معیار داده‌ها در نرم‌افزار اکسل محاسبه شد. آنالیز واریانس در جدول (ANOVA)، با احتمال ۵% در نرم‌افزارDesign Expert 7 محاسبه شد. در آزمون‌های رئومتری مستقل از زمان، قبل از آزمون مجدد زمان استراحت کوتاهی به نمونه داده شد.

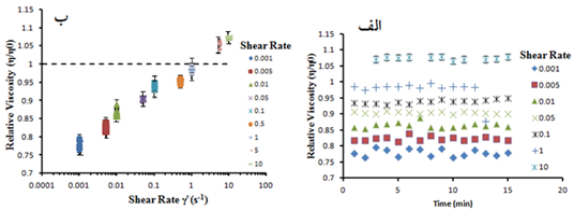
یافته‌ها

داده‌های به‌دست‌آمده از گرانروی محلول ذرات باکتری (η)، و گرانروی محلول آب (η_s=۱/۲۵×۱۰$^{-۳}$Pa.s)، در محاسبه گرانروی نسبی ($\eta_r=\eta/\eta_s$) استفاده و کلیه نتایج در اکسل با فرمت نیمه‌لگاریتمی رسم شدند.

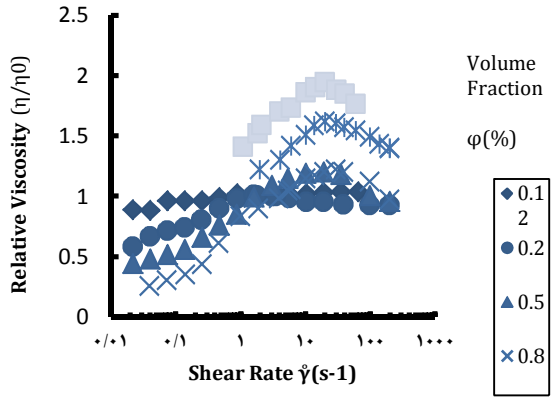
تاثیر محلول فعال بر گرانروی برشی: تغییرات گرانروی محلول *E.coli* (با جزء حجمی۰/۲%) برحسب زمان رسم شد (نمودار ۱- الف). با توجه به ثبات نسبی مقادیر گرانروی با زمان، سایر نمودارها بدون بررسی زمان و برحسب سرعت برشی رسم شد. این داده‌ها با مقادیر مختلف سرعت برشی در نمودار ۱- ب رسم شد. همان‌طور که مشاهده می‌شود نتایج مقادیر گرانروی محلول در محدوده رقیق، کم‌تر از گرانروی آب را نشان می‌دهد و با افزایش سرعت برشی، افزایش می‌یابد.

در نمودار ۲ مقادیر گرانروی نسبی محلول تعلیقی *E.coli*، در

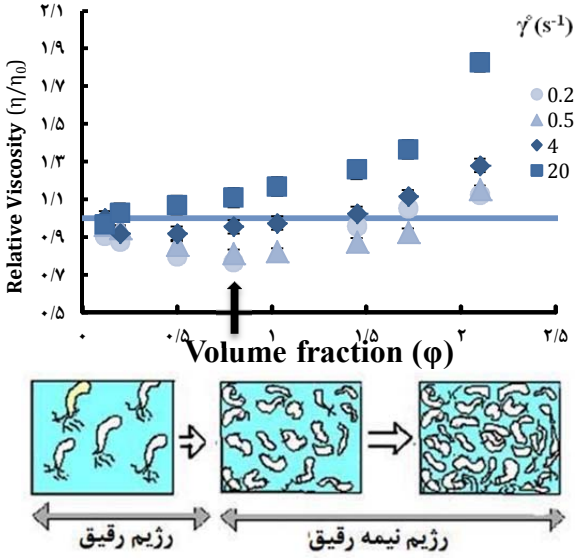
سرعت‌های برشی و با غلظت‌های مختلف نشان داده شده است. تغییرات گرانروی نسبی با درصد حجمی در سرعت‌های برشی ۰/۲، ۰/۵ ، ٤ و ۲۰بر ثانیه، در نمودار ۳ رسم شده است.



نمودار ۱) تغییرات گرانروی نسبی محلول *E. coli* با کسر حجمی (φ=%۰/۲)؛ الف) در آزمون وابسته به زمان، ب) در سرعت‌های برشی مختلف



نمودار ۲) تغییرات گرانروی نسبی، در سرعت‌های برشی و غلظت‌های متفاوت φ(%)



نمودار ۳) تغییرات گرانروی نسبی در سرعت برشی ۰/۲، ۰،٤/۵ و ۲۰ با درصد حجم‌های متفاوت

تاثیر محلول فعال بر کشش سطحی: درک رفتار کشش سطحی محلول باکتری در پیش‌بینی و شناخت محلول‌های فعال موثر است. در تحقیق حاضر، برای اولین‌بار، اثر سه نوع باکتری هوازی بر کشش سطحی به کمک آزمون ویلهلمی مورد مطالعه قرار گرفت. مقادیر کشش سطحی این باکتری‌ها در غلظت معین (10^5CFU/ml) در جدول ۱ ذکر شده است.

جدول ۱) تاثیر باکتری بر رفتار کشش سطحی محلول

محلول	کشش سطحی (میلی‌نیوتن/متر)
آب مقطر	٦۹/۰۷±۰/۰۲٦
استافیلوکوکوس اورئوس	٦٥/۲٤±۰/۰٤۱
اشریشیا کلی	٥٤/۰٦±۰/۰۲۳
استوباکتر گزیلینوم	٥۰/۸±۰/۰۱٥

بحث

همان‌طور که در بخش مقدمه بیان شد، رفتار باکتری به محلول حاوی آن وابسته است[18, 19]. به این معنی که حضور پلیمر در محلول اطراف باکتری، می‌تواند بر فعالیت آن تاثیر بگذارد.

در تحقیق حاضر در توجیه استفاده از پلیمر PVP، با توجه به رفتار غیرنیوتنی غالب پلیمرها و امکان تاثیر آن بر رئولوژی سیال، نتایج تاثیر غلظت‌های مختلف پلیمر بر گرانروی سیال بررسی شد که در بخش پیوست ذکر شده است. نتایج نشان می‌دهد که حضور درصد کمی از پلیمر PVP (۰/۰۱گرم بر میلی‌لیتر) بر رفتار نیوتنی آب تاثیری نداشته و گرانروی محلول همچنان نزدیک گرانروی آب خالص است (η=1.25×10^{-3}Pa.s). از طرف دیگر در انتخاب غلظت و وزن مولکولی مناسب پلیمر، توجه به نکاتی ضروری است. میزان غلظت و وزن مولکولی انتخاب شده، مقدار r_g محلول پلیمری را کمتر از ۶۰نانومتر نتیجه می‌دهد که در مقایسه با سطح مقطع باکتری *E.coli* که در حدود ۰/۸۰میکرومتر است[37]، بسیار کوچک‌تر است. در این صورت انتظار می‌رود پلیمر نقشی بر رفتار رئولوژی محلول نداشته باشد و تغییرات گرانروی محلول را می‌توان تنها به حضور باکتری و نه پلیمر نسبت داد.

با توجه به بحث مطرح‌شده در بخش تجربی، فعالیت باکتری می‌تواند بر رفتار وابسته به زمان تاثیر بگذارد، از این رو در ابتدا داده‌های گرانروی نسبی محلول، نسبت به زمان و در سرعت‌های برشی ثابت، مقایسه شد. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد فعالیت باکتری در شرایط فراهم‌شده (با توجه به محدودیت اکسیژن در محفظه قرارگیری نمونه در دستگاه رئومتری) در مدت‌زمان ۱۵دقیقه، تغییر محسوسی نشان نداده است (نمودار ۱- الف). این نتیجه با داده‌های به‌دست‌آمده از تحقیقات انجام‌شده در رابطه با محدودیت زمان فعالیت باکتری مطابقت دارد[36]. در ادامه، نتایج گرانروی محلول نسبت به سرعت برشی به دست آمد (نمودار ۱- ب). با توجه به این که زمان انجام آزمون گرانروی نسبت به سرعت برشی (نمودار ۲)، در کمتر از ۱۵دقیقه انجام شده است، می‌توان از کاسته‌نشدن فعالیت باکتری نسبت به زمان اطمینان حاصل نمود.

کاهش گرانروی نسبی محلول حاوی باکتری در غلظت ۰/۲% در سرعت برشی کم مشاهده شد. کاهش گرانروی در سرعت برشی کمتر از یک‌برثانیه، را می‌توان مطابق برخی از تحلیل‌های مطالعات انجام‌شده[2] به نوع تاژک این باکتری و حرکت فشاردهنده آن مرتبط دانست. کاهش گرانروی، نتیجه کاربردی مفیدی در تحلیل حرکت دارد. بنابراین، با اعمال کرنش برشی به کمک دستگاه رئومتر و مشاهده کاهش گرانروی، این نتیجه قابل استناد است که مقاومت سیال در برابر نیرو کاهش می‌یابد به عبارتی کاهش انرژی مورد نیاز برای حرکت در سامانه‌هایی که نیازمند پراکندگی، شبکه موئینه، انتقال باکتری، تولید سوخت زیستی و بسیاری از کاربردهایی که شامل محلول تعلیقی باکتری هستند، امکان‌پذیر است.

داده‌های به‌دست‌آمده از تغییرات گرانروی نسبی سیال (مقاومت برشی) بر حسب سرعت برشی (نمودار ۲) را می‌توان در دو بخش

تقسیم‌بندی نمود:

در سرعت‌های برشی کم ($\dot{\gamma}$<۱) نتایج مشابهی با داده‌های نمودار ۱-ب، که در آن داده‌های آزمون پایداری برحسب سرعت برشی رسم شد، به دست آمد. در این بخش نیز کاهش گرانروی محلول حاوی باکتری در غلظت‌های ۰/۱۲، ۰/۲، ۰/۵ و ۰/۸ رسم شده است. مشاهده مقادیر گرانروی کمتر از آب در سرعت‌های برشی کم، که مشابه نتایج تحقیقی است که با استفاده از شبیه‌سازی عددی داده‌های تجربی کاهش گرانروی گزارش شده است[38]. به‌علت عدم تمایل به شکسته‌شدن تجمع باکتری‌ها، این روند کاهش گرانروی در نرخ برش‌های کم منطقی به نظر می‌رسد[1, 13]. وجود حرکت جمعی بین باکتری‌ها[39] که با افزایش سرعت برش منجر به رفتار ضخیم‌شدن برشی (افزایش گرانروی نسبی با غلظت باکتری) می‌شود.

در سرعت‌های برش بالا ($\dot{\gamma}$>۱) مقدار گرانروی نسبی، بزرگ‌تر از یک به دست آمده است. در این محدوده، تعاملات هیدرودینامیکی ناشی از تنش برشی خارجی بر نیروی حرکت جمعی باکتری غلبه کرده، از نزدیک‌شدن ذرات به یکدیگر ممانعت می‌کند. روند گرانروی محلول متناسب با غلظت باکتری پس از رسیدن به مقدار بیشینه، کاهش می‌یابد. به عبارتی، همبستگی افزایش یافته در جهت جریان ناشی از برش[12, 38]، منجر به رفتار رقیق‌شدن برشی می‌شود. در مطالعات انجام‌شده، کاهش سرعت شنای باکتری‌ها با اعمال تنش برشی پیش‌بینی شده بود[40] که با مشاهدات به‌دست‌آمده از تحقیق حاضر در سرعت برشی بالا، انطباق دارد. به عبارت ساده‌تر، رفتار حرکتی ذره فعال *E. coli* در سرعت‌های برشی بالا مشابه تاثیر ذرات کلوئیدی بر رفتار جریان سیال است. چنانچه برای محدوده وسیعی از ذرات کلوئیدی نیز با اعمال نیروی برشی بالاتر، شکسته‌شدن کلوخه‌های ذرات و در نتیجه کاهش گرانروی سیال گزارش شده است[41].

علاوه بر این، طبق نمودار ۲ نشان می‌دهد، افزایش غلظت باکتری از ۰/۸ تا ۲/۵% در تشدید این رفتار موثر است. بنابراین یکی از نشانه‌های مهم در درک رفتار غیرنیوتنی سامانه‌های تعلیقی باکتری، بررسی اثر غلظت ذرات بر گرانروی محلول است که می‌تواند نشانه‌ای از فعالیت جمعی باکتری‌های شناور باشد[12, 42]. تغییرات گرانروی نسبی برحسب غلظت در نمودار ۳ ذکر شده است. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که در سرعت‌های برشی بالاتر از ۰/۸ (یا محدوده رژیم نیمه‌رقیق)، میزان گرانروی روند افزایشی نشان داد. به عبارتی می‌توان گفت که مقادیر گرانروی نسبی کمتر از یک (رفتار کاهشی گرانروی محلول فعال) ناشی از حرکت مجموعه بزرگ‌تر باکتری است که تنها در سرعت‌های برشی کم قابل مشاهده است بنابراین می‌توان این‌طور خلاصه نمود که در سرعت‌های برشی کم حرکت مجموعه‌های بزرگ‌تر باکتری و در سرعت‌های برشی بالاتر، حرکت تصادفی مجموعه‌های کوچک سبب تغییر رفتار نیوتنی سیال می‌شود.

در بخش آزمون تنش بین سطحی سیال، از سه گونه باکتریایی مختلف استفاده شد. دو گونه شناخته‌شده و پرکاربرد باکتری هوازی و از گروه گرم مثبت و منفی (با توجه به تفاوت‌های شناخته‌شده این دو گروه به لحاظ دیواره غشای سلولی و ویژگی‌های فیزیکی آنها) انتخاب شد. از آنجایی که میزان حرکت جمعی باکتری در نزدیکی سطح هوا/آب افزایش می‌یابد[17]، انتظار می‌رود تغییر رفتار کشش سطحی سیال تغییر کند. نتایج آزمون ویلهمی (جدول ۱) داده‌های کشش سطحی در مقایسه با آب را نشان می‌دهد که تغییر کشش سطحی محلول آبی در حضور سلول فعال را تایید می‌کند. مقدار کشش سطحی در باکتری *E. coli* (٥٤/٠٦) در مقایسه با آب (٦٩/٠٧) کاهش قابل توجهی نشان داده است. در حالی که کشش سطحی برای باکتری *S. aureus* (٦٥/٢٤) کاهش کمتری را نشان می‌دهد. با توجه به ساختار متفاوت این دو باکتری و نوع سازوکار حرکت آنها، این نتیجه قابل توجیه است[16].

از محدودیت‌های مطالعه حاضر، می‌توان به زمان کوتاه فعالیت باکتری اشاره نمود. برای رفع این محدودیت، باید آزمون‌ها را در حضور مواد مغذی و منبع اکسیژن انجام داد و همچنین تغییرات گرانروی سیال را در زمان‌های طولانی‌تر بررسی نمود.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر به‌منظور بررسی رفتار جریان سیال در محلول باکتری *E. coli* از محلول تعلیقی PVP و آب استفاده شد. نتایج نشان داد که حضور پلیمر با وزن مولکولی و غلظت معین، بر رفتار گرانروی آب تاثیری نداشته و رفتار سامانه آب/ پلیمر همچنان نیوتنی است. از طرفی نتایج تاثیرحضور باکتری در آزمون رئومتری نشان داد که در سرعت‌های برشی کم گرانروی نسبی مقادیری کمتر از گرانروی آب و در سرعت‌های برشی بالاتر گرانروی محلول نسبت به آب افزایش نشان داده است. در نتیجه حضور باکتری سبب تغییر رفتار سامانه از حالت نیوتنی به غیرنیوتنی شده است. روند این تغییرات با افزایش غلظت باکتری شدت و با حرکت جمعی فعال باکتری، قابل تفسیر است. این مشاهدات می‌تواند تاییدی بر توانایی تعاملات باکتری *E. coli* برای سازماندهی حرکت سیال یا کاهش توان مورد نیاز برای جریان محلول حاوی این باکتری در سرعت‌های برشی کم و در درصد حجمی معین است.

علاوه بر این طبق نتایج به‌دست‌آمده از آزمون کشش سطحی، افزایش حرکت باکتری‌های هوازی در نزدیک سطح سیال/ هوا متناسب با ظاهر، نوع باکتری و سازوکار متفاوت حرکت آن، سبب تغییر کشش سطحی نسبت به نمونه آب خالص است.

بنابراین، با درک سازوکار روند تغییرات گرانروی محلول می‌توان کاربردهای جدید و بسیار گسترده‌ای تعریف نمود. کاهش مقاومت جریان‌پذیری سیال حاوی باکتری *E. coli* (یافته به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر) نشان می‌دهد که حضور مقدار کمی PVP در جریان حرکت آرام روی سطوح (فوق‌آب‌گریز) می‌تواند به دفع آسان‌تر باکتری از سطح کمک نماید. از دیگر کاربردهای تحقیق حاضر می‌توان به اهمیت و کاربرد نقش رئولوژی در تحلیل رفتار سایر ذرات زیست‌فعال همچون اسپرم در شناخت فرآیند باروری، سلول‌های سرطانی، اجزای سلول‌های خونی و حتی باکتری‌هایی که برای استخراج کاربرد دارند، اشاره نمود. از آنجایی که روند حرکت این ذرات فعال بسته به ویژگی مایع اطراف آن می‌تواند تغییر یابد، بررسی رئولوژی آنها، می‌تواند ابزار سودمندی برای شناخت سازوکار بیشتر آن در کاربردهای آتی باشد.

تشکر و قدردانی: نگارندگان از خانم مهندس *تیموری* در بخش بیوتکنولوژی دانشکده مهندسی شیمی، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

تاییدیه‌اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: معصومه‌سادات ایازی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/روش‌شناس/پژوهشگر اصلی (۶۰%)؛ نادره گلشن‌ابراهیمی (نویسنده دوم)، روش‌شناس/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۴۰%)

منابع مالی: مقاله حاضر مستخرج از پایان‌نامه دکترا بوده و با حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است.

منابع

1- Gachelin J, Miño G, Berthet H, Lindner A, Rousselet A, Clément E. Non-Newtonian viscosity of Escherichia coli suspensions. Phys Rev Lett. 2013;110(26):268103.
2- Hatwalne Y, Ramaswamy S, Rao M, Simha RA. Rheology of active-particle suspensions. Phys Rev Lett. 2004;92(11):118101.
3- Fürthauer S, Neef M, Grill SW, Kruse K, Jülicher F. The Taylor-Couette motor: Spontaneous flows of active polar fluids between two coaxial cylinders. New J Phys. 2012;14:023001.
4- Credi A. Nanomachines, fundamentals and applications, by Joseph Wang. Angewandte Chemie International Edition. 2014;53(17):4274-5.
5- Wirtz D. Particle-tracking microrheology of living cells: Principles and applications. Annu Rev Biophys. 2009;38:301-26.
6- Virgile C, Hauk P, Wu HC, Shang W, Tsao CY, Payne GF, et al. Engineering bacterial motility towards hydrogen-peroxide. PLoS One. 2018;13(5):e0196999.
7- Ravichandar JD, Bower AG, Agung Julius A, Collins CH. Transcriptional control of motility enables directional movement of Escherichia coli in a signal gradient. Sci Rep. 2017;7:8959.
8- Patteson AE, Gopinath A, Arratia PE. Active colloids in complex fluids. Curr Opin Colloid Interface Sci. 2016;21:86-96.
9- Marchetti MC, Joanny JF, Ramaswamy S, Liverpool TB, Prost J, Rao M, et al. Hydrodynamics of soft active matter. Rev Mod Phys. 2013;85(3):1143.
10- Grégoire G, Chaté H. Onset of collective and cohesive motion. Phys Rev Lett. 2004;92(2):025702.
11- Saintillan D. The dilute rheology of swimming suspensions: A simple kinetic model. Exp Mech. 2010;50(9):1275-81.
12- Gachelin J, Rousselet A, Lindner A, Clement E. Collective motion in an active suspension of Escherichia coli bacteria. New J Phys. 2014;16:025003.
13- Karmakar R, Gulvady R, Tirumkudulu MS, Venkatesh KV. Motor characteristics determine the rheological behavior of a suspension of microswimmers. Phys Fluids. 2014;26(7):071905.
14- Subramanian G, Koch DL. Critical bacterial concentration for the onset of collective swimming. J Fluid Mech. 2009;632:359-400.
15- Berke AP, Turner L, Berg HC, Lauga E. Hydrodynamic attraction of swimming microorganisms by surfaces. Phys Rev Lett. 2008;101(3):038102.
16- Lauga E. Bacterial hydrodynamics. Annu Rev Fluid Mech. 2016;48:1-17.
17- Dombrowski C, Cisneros L, Chatkaew S, Goldstein RE, Kessler JO. Self-concentration and large-scale coherence in bacterial dynamics. Phys Rev Lett. 2004;93(9):098103.
18- Patteson AE, Gopinath A, Goulian M, Arratia PE. Running and tumbling with E. coli in polymeric solutions. Sci Rep. 2015;5:15761.
19- Martinez VA, Schwarz-Linek J, Reufer M, Wilson LG, Morozov AN, Poon WC. Flagellated bacterial motility in polymer solutions. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111(50):17771-6.
20- Schneider WR, Doetsch RN. Effect of viscosity on bacterial motility. J Bacteriol. 1974;117(2):696-701.
21- Magariyama Y, Kudo S. A mathematical explanation of an increase in bacterial swimming speed with viscosity in linear-polymer solutions. Biophys J. 2002;83(2):733-9.
22- López HM, Gachelin J, Douarche C, Auradou H, Clément E. Turning bacteria suspensions into superfluids. Phys Rev Lett. 2015;115(2):028301.
23- Sokolov A, Aranson IS. Reduction of viscosity in suspension of swimming bacteria. Phys Rev Lett. 2009;103(14):148101.
24- Pollitt EJ, Crusz SA, Diggle SP. Staphylococcus aureus forms spreading dendrites that have characteristics of active motility. Sci Rep. 2015;5:17698.
25- Cui Z, Zeng XM. Rheology of sheared bacterial suspensions. In: Childress S, Hosoi A, Schultz W, Wang J, editors. Natural locomotion in fluids and on surfaces, the IMA volumes in mathematics and its applications. 155th Volume. New York: Springer; 2012. pp. 217-24.
26- Pollitt EJG, Diggle SP. Defining motility in the Staphylococci. Cell Mol Life Sci. 2017;74(16):2943-58.
27- D'Agostino M. Focus: Swimming microbes change fluid viscosity. Phys Fluids. 2010;25:9.
28- Rabani A, Ariel G, Be'er A. Collective motion of spherical bacteria. PLoS One. 2013;8(12):e83760.
29- Teodorescu M, Bercea M. Poly(vinylpyrrolidone) - a versatile polymer for biomedical and beyond medical applications. Polym Plast Technol Eng. 2015;54(9):923-43.
30- Morse M, Huang A, Li G, Maxey MR, Tang JX. Molecular adsorption steers bacterial swimming at the air/water interface. Biophys J. 2013;105(1):21-8.
31- KRÜSS. Wilhelmy plate method [Internet]. Hamburg: KRÜSS; 2018 [cited 2019 Jan 23]. Available from: https://www.kruss-scientific.com/services/education-theory/glossary/wilhelmy-plate-method/
32- Denniss S, Rush J. Polyvinylpyrrolidone can be used to cost-effectively increase the viscosity of culture media. FASEB J. 2015;29:1029.
33- Gao Y, Neubauer M, Yang A, Johnson N, Morse M, Li G, et al. Altered motility of Caulobacter crescentus in viscous and viscoelastic media. BMC Microbiol. 2014;14:322.
34- Sherris JC, Preston NW, Shoesmith JG. The influence of oxygen and arginine on the motility of a strain of Pseudomonas sp. J Gen Microbiol. 1957;16(1):86-96.
35- Tuval I, Cisneros L, Dombrowski C, Wolgemuth CW, Kessler JO, Goldstein RE. Bacterial swimming and oxygen transport near contact lines. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005;102(7):2277-82.
36- Douarche C, Buguin A, Salman H, Libchaber A. E. Coli and oxygen: A motility transition. Phys Rev Lett. 2009;102(19):198101.
37- Balaev AE, Dvoretski KN, Doubrovski VA. Refractive index of Escherichia coli cells. Saratov Fall Meeting 2001: Optical Technologies in Biophysics and Medicine III, Saratov, Russian Federation. Bellingham WA: SPIE 4707; 2002.
38- Ryan SD, Haines BM, Berlyand L, Ziebert F, Aranson IS. Viscosity of bacterial suspensions: Hydrodynamic interactions and self-induced noise. Phys Rev E. 2011;83(5):050904(R).
39- Ishikawa T. Suspension biomechanics of swimming microbes. J R Soc Interface. 2009;6:815-34.

40- Ramia M, Tullock DL, Phan-Thien N. The role of hydrodynamic interaction in the locomotion of microorganisms. Biophys J. 1993;65(2):755-78.

41- Brown E, Jaeger HM. Shear thickening in concentrated suspensions: phenomenology, mechanisms and relations to jamming. Rep Prog Phys. 2014;77(4):046602.

42- Ryan SD, Sokolov A, Berlyand L, Aranson IS. Correlation properties of collective motion in bacterial suspensions. New J Phys. 2013;15:105021.