Original Article

Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles on standard strains and isolates of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* from food

Dargahi Z[1], Partoazar AR[2], Naddafi S[1], Soltan-Dallal MM[3*]

1- Department of Pathobiology, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran.
2- Experimental Medicine Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran.
3- Food Microbiology Research Center, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran.

Received: 2019/05/30 | Accepted: 2019/10/5

Abstract:

Background: Due to the human need for food, any change in the quality and quantity of food will affect the health of the community. It is important to remove microbial contaminants from food during the production, storage and supply phases. In this study, the antibacterial effects of nanoparticles of zinc oxide on two *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* were investigated.

Materials and Methods: In this study, zinc oxide nanoparticles were prepared from zeolite and quantified by X-ray fluorescence. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of nanoparticles of zinc oxide were determined using a disc diffusion method. Graphpad prism statistical software was used for data analysis and ANOVA was used for analysis of variance. Significant limit was set at 0.05 ($P \leq 0.05$).

Results: Based on the results of this study, the MIC value of nanoparticles of zinc oxide for all tested bacteria was 4 mg/ml, and the MBC values for standard strain and *Escherichia coli* isolates were 8 and 4 mg/ml, respectively. The standard strain and isolate of *Listeria monocytogenes* was calculated to be 4 mg/ml.

Conclusion: The present study showed that zinc oxide nanoparticles can be used as a deterrent against the pathogens of the materials and avoid contamination.

Keywords: Nanoparticle, Zinc Oxide, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, Antibacterial

***Corresponding Author:**
Email: msoltandallal@gmail.com
Tel: 0098 218 899 2971
Fax: 0098 218 899 2971

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2019; Vol. 23, No 5, Pages 528-534

Please cite this article as: Dargahi Z, Partoazar AR, Naddafi S, Soltan-Dallal MM. Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles on standard strains and isolates of Escherichia coli and Listeria monocytogenes from food. ***Feyz*** 2019; 23(5): 528-34.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-19]

بررسی فعالیت ضدّباکتریایی نانوذرّه اکسید روی بر سویه‌های استاندارد و جدایه *اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* از موادغذایی

زهرا درگاهی [۱]، علیرضا پرتوآذر [۲]، شیما ندافی [۱]، محمّدمهدی سلطان دلال [۳*]

خلاصه:

سابقه و هدف: به‌دلیل نیاز روزمره انسان به موادغذایی هرگونه تغییر در کیفیت و کمیت موادغذایی تأثیر بسزایی در بهداشت و سلامت جامعه خواهد داشت. زدودن آلودگی‌های میکروبی از موادغذایی در هر یک از مراحل تولید، نگهداری و عرضه موادغذایی قابل‌اهمیت است. در این تحقیق، اثرات ضدّباکتریایی نانوذرّه اکسید روی بر دو باکتری *اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، نانوذرّه اکسید روی از ژئولیت تهیه شد و مقدار آن بااستفاده از دستگاه فلورسانس اشعه ایکس (X-Ray Fluorescence) در آزمایشگاه دانشگاه تربیت مدرس تعیین شد. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) نانوذرّه اکسید روی بااستفاده از روش دیسک‌گذاری تعیین شد.

نتایج: براساس نتایج این بررسی، مقدار MIC نانوذرّه اکسید روی برای همه‌ی باکتری‌های مورد آزمایش ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و مقادیر MBC این ماده برای سویه استاندارد و جدایه *اشریشیا کلی* به‌ترتیب برابر با ۴ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای سویه استاندارد و جدایه *لیستریا مونوسیتوژنز* ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که نانوذرّات اکسید روی می‌توانند به‌عنوان یک عامل بازدارنده در مقابل پاتوژن‌های موادغذایی در بسته‌بندی و نگهداری موادغذایی مورداستفاده قرار گیرند و از آلودگی آن‌ها جلوگیری کنند.

واژگان کلیدی: نانوذرّه، اکسید روی، *اشریشیا کلی*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، ضدّباکتریایی

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره بیست و سوم، شماره ۵، آذر و دی ۹۸، صفحات ۵۳۴-۵۲۸

مقدمه

اشریشیا کلی یکی از شایع‌ترین باکتری‌های بیماری‌زا بوده که از طریق آب آلوده و غذاهای ناپخته باعث مسمومیت، اختلالات گوارشی و در موارد حاد باعث مرگ‌ومیر می‌شود [۱]. تاکنون شیوع بیماری‌های مختلفی ناشی از حضور *اشریشیا کلی* در آب‌های آشامیدنی و مواد غذایی در نقاط مختلف جهان گزارش شده که می‌توان به والکرتون در کانادا، هایلند در اسکاتلند و اوساکا در ژاپن اشاره نمود [۳،۲]. مطالعات اخیر نشان داده‌است که *لیستریا مونوسیتوژنز* می‌تواند از طریق مصرف غذای آلوده به انسان منتقل شود.

۱. کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی موادغذایی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲. استادیار، مرکز تحقیقات طبّ تجربی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳. استاد، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

*** نشانی نویسنده مسؤول:**

دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی موادغذایی

تلفن: ۸۸۹۹۲۹۷۱ ۰۲۱ **دورنویس:** ۸۸۹۹۲۹۷۱ ۰۲۱

پست الکترونیک: msoltandallal@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۹ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۳۹۸/۷/۱۳

لیستریا مونوسیتوژنز از آن جهت از نظر بهداشتی مهم است که ممکن است عفونت غذایی ناشی از این باکتری منجر به عوارضی مانند: مننژیت، سپتی‌سمی و سقط جنین در زنان آبستن شود [۴]. ازطرفی در موارد اپیدمیک بیماری لیستریوزیس، میزان مرگ‌ومیر ممکن است تا حدّ ۲۰ درصد و در افراد مستعد تا ۷۵ درصد نیز برسد [۵]. توسعه برخی مواد با خواص ضدّمیکروبی از دیرباز جزو اهداف علوم پزشکی بوده‌است. عوامل ضدّمیکروبی براساس ترکیب شیمیایی به دو دسته عوامل ضدّمیکروبی آلی و غیرآلی تقسیم می‌شوند. بسیاری از نواقص عوامل ضدّمیکروبی آلی منجر به محدودیت استفاده از آن‌ها شده‌است که می‌توان به مقاومت پایین آن‌ها در مقابل حرارت، قابلیت تجزیه و درنتیجه نیمه عمر پایین در حرارت و فشار نسبتاً بالا اشاره نمود [۶]. درنتیجه عوامل ضدّمیکروبی غیرآلی در شرکت‌های ساخت عوامل ضدّمیکروبی بسیار موردتوجه قرار گرفته‌اند. از بین عوامل ضدّمیکروبی غیرآلی، اکسید نانوذرّات بسیار موردتوجه بوده و در مطالعات مختلف مورداستفاده قرار گرفته است. مقاومت باکتریایی نسبت به عوامل باکتریواستاتیک و باکتریسید در سال‌های اخیر به علت گسترش سویه‌های مقاوم افزایش یافته‌است. محققان زیادی در مطالعات خود به این نتیجه رسیده‌اند که نانو اکسید فلزات بسیار فعال بوده، در مقابل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی فعالیت باکتریسید فوق‌العاده‌ای نشان می‌دهند [۶]. امروزه فناوری نانو در عرصه‌های

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-19]

مختلف صنعتی، بهداشتی، پزشکی و غذایی تأثیرگذار است. قاعدتاً یکی از تأثیرگذارترین اثرات فناوری نوین در زندگی بشر، به مقوله صنعت غذا برمی‌گردد [۷]. اکسید روی با خواص فیزیکی و شیمیایی خاصّ خود یک ماده چند عملکردی است که در صنایع مختلفی مثل: الکترونیک، اپتوالکترونیک، لیزر و همین‌طور صنایع سرامیک، نساجی، کشاورزی، آرایشی و داروسازی کاربرد دارد و به خاطر سمیت پایین آن و قابلیت تجزیه زیستی یک ماده مناسب برای تحقیقات زیست‌پزشکی و سیستم‌های طرفدار محیط زیست است. اکسید روی به‌علت ویژگی‌های ضدّمیکروبی، ضدّعفونی-کنندگی و خشک‌کننده‌اش به‌طور گسترده در تولید انواع مختلف داروها استفاده می‌شود [۸]. اثر ضدّمیکروبی نانوذرّات اکسید روی را می‌توان با چندین مکانیسم توجیه کرد: ۱) القای استرس اکسیداتیو به‌دلیل تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال که واکنش این رادیکال‌های اکسیژن فعال با DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها منجر به مرگ سلول می‌شود. ۲) از بین رفتن آرایش غشا به‌دلیل تجمع نانوذرّات در غشای باکتری و هم‌چنین تجمع آن‌ها در درون سلول. ۳) آزادشدن یون‌های روی که با اتصال به غشای میکروارگانیسم‌ها سبب اعمال اثر ضدّمیکروبی می‌شوند. نانوذرّات ازطریق تماس نزدیک با سلول باعث تغییر در ریزمحیط باکتری شده، با افزایش حلالیت فلز یا تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال در نهایت باعث آسیب به غشا می‌شوند [۹]. ساوایی در مطالعه خود تأثیر رادیکال-های اکسیژن تولیدشده توسط اکسید روی را در ایجاد اثر ضدّمیکروبی آن بررسی کرد و دریافت که تولید پراکسید هیدروژن منجر به بروز اثر ضدّمیکروبی شده، با افزایش غلظت آن غلظت پراکسید هیدروژن تولیدشده هم به‌صورت خطی افزایش می‌یابد [۱۰]. در برخی از مطالعات نیز به سوراخ‌شدن دیواره باکتری در نتیجه نفوذ نانوذرّات اکسید فلزی به درون سلول اشاره شده‌است و اعتقاد بر این است که در اعمال اثر ضدّمیکروبی نقش دارد [۱۱]. از آن‌جا که اثر ضدّمیکروبی نانوذرّه اکسید روی برای هر سویه اختصاصی هست، در نتیجه کاربرد این نانوذرّه جهت کنترل باکتری‌ها به مطالعات اختصاصی نیاز دارد و افزایش زمان تماس و غلظت عامل ضدّمیکروبی مورداستفاده، به‌عنوان فاکتوری مهم می‌تواند در کاهش تعداد باکتری‌ها مؤثر باشد. به‌دلیل نیاز روزمره انسان به مواد غذایی هرگونه تغییر در کیفیت و کمیت موادغذایی تأثیر بسزایی در بهداشت و سلامت جامعه خواهد داشت. هدف از اجرای این طرح، بررسی فعالیت ضدّباکتریایی نانوذرّه اکسید روی بر سویه‌های استاندارد و جدایه *اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* از موادغذایی است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه

این مطالعه از نوع تجربی بوده، بر روی دو باکتری *اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* که در طی کارهای قبلی از نمونه‌های غذایی جدا شده بودند، در کنار دو سویه استاندارد از همان باکتری انجام شد.

ذخیره‌سازی و نگهداری جدایه‌ها

جهت استفاده از جدایه‌های جمع‌آوری‌شده در مراحل بعدی، جدایه‌ها در محیط تریپتیک سوی براث (TSB) (مرک، آلمان) حاوی ۱۵ درصد گلیسرول کشت ذخیره داده شده، در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آماده‌سازی سویه‌های میکروبی

سویه‌های استاندارد *اشریشیا کلی* ATCC 25922 و *لیستریا مونوسیتوژنز* ATCC 13932 استفاده‌شده در این پژوهش از شرکت تعاونی دانش بنیان زیست رویش که به صورت فریز خشک نگهداری شده بودند، تهیه شد. ابتدا در محیط کشت TSB گذاشته شد و بعد از آن بر روی محیط کشت تریپتیک سوی آگار کشت داده شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در گرم‌خانه با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به‌منظور تهیه سوسپانسیون باکتریایی جهت انجام آزمایشات در هر روز، ابتدا نیم مک فارلند (۱×۱۰^{۸}- ۱/۵ عدد باکتری در هر میلی‌لیتر) تهیه شد. برای اطمینان از ایجاد کدورت صحیح سوسپانسیون نیم مک فارلند، جذب آن به‌وسیله اسپکتروفتومتر در محدوده طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۶].

آماده‌سازی زئولیت

ابتدا زئولیت از نوع کلینوپتیلولیت clinoptilolite سدیم-پتاسیمی با خلوص متوسط ۸۰ درصد از شرکت افرازند واقع در سمنان تهیه شد. سپس ۶۰۰ گرم از آن در داخل بشر، ۳ مرتبه به مدت ۱۵ دقیقه با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه شستشو داده شد. در مرحله بعد به‌مدت یک شبانه‌روز در داخل پلیت شیشه‌ای در دمای محیط خشک و روز بعد بااستفاده از انکوباتور ۸۰ درجه سانتی-گراد در مدت ۲ ساعت گرما داده شد تا کاملاً خشک شود.

تهیه نانوذرّه اکسید روی

مقدار ۱۰۰ گرم زئولیت با ۷۰ گرم استات روی (مرک، آلمان) در داخل بشر ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته و ۴۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به آن اضافه و pH آن اندازه گرفته شد که pH: ۶ بود، سپس این ساختار درون بشر بر روی دستگاه مگنت استیرر در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد و به آرامی به‌منظور بالا بردن اندازه pH به‌تدریج به ساختار موردنظر سود ۲ مولار (مرک،

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-19]

آلمان) اضافه شد که pH به ۱۲ رسید، بعد از ثابت‌ماندن pH یک ساعت روی دستگاه مگنت استیرر باقی ماند، سپس بااستفاده از کاغذ صافی سلولزی واتمن ۴۰ و باند سفید (S&S589/2:12- 25 um ساخت آلمان) محتوای بشر فیلتر شد.

تهیه کامپوزیت غیر نانو اکسید روی

ابتدا مقدار ۱۰۰ گرم زئولیت با ۷۰ گرم استات روی در داخل بشر ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته و ۴۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به آن اضافه شد. این ساختار درون بشر بر روی دستگاه مگنت استیرر قرار داده شد، بعد از گذشت ۳۰ دقیقه بااستفاده از کاغذ صافی سلولزی واتمن ۴۰ و باند سفید (S&S589/2:12-25 um ساخت آلمان) محتوای بشر فیلتر و بعد محتویات روی فیلتر با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه شستشو داده شد؛ سپس هر دو محتوای فیلترشده به پلیت شیشه‌ای انتقال داده و به مدت ۱ شبانه‌روز در دمای محیط خشک شد. در روز دوم، پلیت به مدت ۲ ساعت در انکوباتور ۸۰ درجه سانتی‌گراد و سپس در فور ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲ ساعت قرار داده شد، سپس برای کلسینه‌کردن ماده حاصله از کوره ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲ ساعت استفاده شد [۱۲] و در آخر مقدار اکسید روی بااستفاده از دستگاه XRF در آزمایشگاه دانشگاه تربیت‌مدرس تعیین شد.

(Model: PW 2404, Company: Philips, Country: Holland)

قطر نانوذرّات اکسید روی که به شکل کروی می‌باشد، با سایز متوسط ۳۰ نانومتر در سطح زئولیت پخش شده‌است.

تست حساسیت ضدّمیکروبی

از هر چهار نمونه، نانوذرّه اکسید روی و کامپوزیت غیر نانو اکسید روی و زئولیت و استات روی غلظت‌های ۰،۰٫۵،۱،۲،۴،۸،۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در محیط TSB تهیه و جهت حل‌شدن ورتکس شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط نگهداری شد. بعد از آن محلول رویی جدا و اتوکلاو شد. برای هر ۴ باکتری به‌طور جداگانه از ۸ لوله استریل که هر کدام حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط TSB استریل و سوسپانسیون نانوذرّه اکسید روی، سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی، زئولیت و استات روی بود، استفاده شد. سپس به همه لوله‌ها از سوسپانسیون میکروبی موردنظر با کدورت معادل نیم مک فارلند (مرک، آلمان) به‌میزان ۵۰ میکرولیتر (یک لوله به‌عنوان کنترل منفی بود و سوسپانسیونی در آن ریخته نشد) اضافه شد. یک لوله حاوی سوسپانسیون میکروبی فاقد نانوذرّه به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. لوله‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته، جواب با مشاهده کدورت و شفافیت به‌صورت رشد، یا عدم رشد در نظر گرفته شد و به این ترتیب میزان MIC نانوذرّه اکسید روی برای هریک از میکروارگانیسم‌ها تعیین شد. کمترین غلظت از سوسپانسیون نانوذرّه که دارای کدورت نبود، به‌عنوان حداقل غلظت ممانعت‌کننده رشد نانوذرّه تعیین شد. در لوله‌هایی که عدم رشد داشتند با انجام یک کشت مجدد بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) MBC تعیین شد، این بررسی‌ها سه بار تکرار شد [۹].

انتشار دیسک

دیسک‌های بلانک استریل (مست، انگلستان) در غلظت‌های ۱۶،۸،۴،۲،۱،۰٫۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوذرّه اکسید روی، به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. تعدادی دیسک در استات روی و آب مقطر به‌عنوان کنترل مثبت و منفی قرار داده شد، بعد از دیسک‌گذاری توسط پنس‌استریل، پلیت‌ها را به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده، هاله‌های عدم رشد (در صورت ایجاد) با خط‌کش، همانند روش اندازه‌گیری دیسک‌های آنتی‌بیوگرام اندازه‌گیری و یادداشت شد [۶].

نتایج

مقدار اکسید روی در سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی و سوسپانسیون نانوذرّه اکسید روی بااستفاده از دستگاه XRF تعیین شد (جدول شماره ۱).

نتایج تست حساسیت ضدّمیکروبی

مقادیر حداقل غلظت بازدارنده رشد سوسپانسیون نانوذرّه اکسید روی علیه همه‌ی باکتری‌های مورد آزمایش در این مطالعه ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. درحالی‌که مقادیر حداقل غلظت بازدارنده رشد استات روی که به‌عنوان کنترل مثبت مورداستفاده قرار گرفته بود، علیه همه‌ی باکتری‌های موردآزمایش در این مطالعه ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی و زئولیت فاقد حداقل غلظت بازدارنده رشد علیه تمامی باکتری‌های موردآزمایش در این مطالعه بوده‌است. مقادیر حداقل غلظت کشندگی سوسپانسیون نانوذرّه اکسید روی علیه سویه استاندارد و جدایه *اشریشیا کلی* به‌ترتیب برابر با ۴ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای سویه استاندارد و جدایه *لیستریا مونوسیتوژنز* ۴ محاسبه شد. درحالی‌که مقادیر حداقل غلظت کشندگی استات روی علیه باکتری‌های مورداستفاده در این مطالعه ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانواکسید روی و زئولیت فاقد حداقل غلظت کشندگی علیه باکتری‌های مورداستفاده در این مطالعه بوده‌است.

نتایج انتشار دیسک

نتایج بررسی ضدّمیکروبی سوسپانسیون نانوذرّه اکسید روی

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-19]

با روش دیسک‌گذاری نشان داد که *لیستریا مونوسیتوژنز* با کد شناسایی ATCC 13932 و جدایه *لیستریا مونوسیتوژنز* در غلظت ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوذرّه اکسید روی دارای بیشترین اثر مهارکنندگی رشد می‌باشند که با کاهش غلظت نانوذرّه از اثرات مهاری آن کاسته شده‌است. در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هیچ‌گونه اثر مهاری علیه باکتری‌های موردآزمایش دیده نشد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۱- مقایسه درصدهای مختلف عناصر موجود در سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانواکسید روی و سوسپانسیون نانوذرّه اکسید روی

	عناصر	I.O.L	MgO	Al_2O_3	SiO2	P2O5	SO3	Cl	K2O	CaO	TiO2
سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی	(٪)	۹/۱۲	۰/۵۶۸	۸/۹۰۵	۶۵/۸۱۹	۰/۰۳۱	۰/۱۵۳	۰/۰۴	۱/۳۲۴	۳/۶۶۱	۰/۱۴۴
سوسپانسیون نانوذرّه اکسید روی	(٪)	۹/۰۶	۰/۴۷۸	۴/۶۴۳	۵۰/۲۳۲	۰/۰۳	۰/۱۰۲	۰/۰۳۹	۱/۰۲۹	۴/۳۳۳	۰/۱۱۷

	عناصر	MnO	Fe_2O_3	Co	Ni	Cu	ZnO	Rb	Sr	Zr	Ba	Pb
سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی	(٪)	۰/۰۵۳	۱/۲۹۱	۰/۰۳	۰/۰۷۲	۰/۰۰۵	۸/۳۵۸	۰/۰۰۴	۰/۱۳۳	۰/۰۳۶	۰/۲۳۳	۰/۰۲
سوسپانسیون نانوذرّه اکسید روی	(٪)	۰/۰۳۹	۱/۱۵۴		۰/۰۰۹		۲۵/۱۴۹	۰/۰۰۴	۰/۰۳۵	۰/۰۳۴	۰/۳۸۲	۰/۰۳۲

جدول شماره ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرّه اکسید روی بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی باکتری‌های *اشریشیاکلی* و لیستریا مونوسیتوژنز، براساس قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر

باکتری / غلظت نانوذرّه اکسید روی	۰/۵	۱	۲	۴	۸	۱۶
اشریشیا کلی ATCC 25922	۰	۸/۱	۹/۳	۱۰/۱	۱۲/۲	۱۶/۰
جدایه *اشریشیا کلی*	۰	۰	۸/۵	۹/۲	۱۶/۱	۲۰/۲
لیستریا مونوسیتوژنز ATCC 13932	۰	۹/۱	۱۲/۲	۱۵/۱	۲۰/۲	۲۵/۴
جدایه *لیستریا مونوسیتوژنز*	۰	۱۰/۲	۱۳/۱	۱۷/۳	۲۲/۴	۲۶/۲
*استات روی	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
**آب مقطر	۰	۰	۰	۰	۰	۰

* دیسک آغشته با استات روی با غلظت ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌عنوان کنترل مثبت مورداستفاده قرار گرفت.

** دیسک آغشته با آب مقطر به‌عنوان کنترل منفی مورداستفاده قرار گرفت.

بحث

هدف از اجرای این پژوهش، ارزیابی فعالیت ضدّباکتریایی نانوذرّه اکسید روی بر سویه‌های استاندارد و جدایه *اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* از موادغذایی بود. یافته‌های این مطالعه نشان داد که سوسپانسیون نانوذرّه اکسید روی اثرات ضدّمیکروبی بهتری نسبت به سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی، زئولیت و استات روی بر باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* دارد. در طی این بررسی، باافزایش غلظت محلول نانوذرّه، فعالیت ضدّباکتریایی افزایش یافت. تحقیقات زیادی روی این نانوذرّه انجام شده‌است. Ameer و همکاران در سال ۲۰۱۲ فعالیت ضدّ میکروبی نانوذرّات اکسید فلزات علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را موردبررسی قرار دادند. در میان سه اکسید نانوذرّات فلزات، نانوذرّات ZnO دارای پتانسیل ضدّباکتری هستند، درحالی‌که نانوذرّات Fe_2O_3 دارای حداقل فعالیت ضدّباکتری است. منظور از فعالیت ضدّمیکروبی به شرح زیر است: $ZnO > CuO > Fe_2O_3$ [۱۳]. در مطالعه‌ای دیگر، این ترکیب اثر مهارکنندگی و باکتری‌کشی قابل‌قبولی بر باکتری‌های *استرپتوکوکوس اینیایی* و *اشریشیا کلی* دارد [۱۴]. در مطالعه دیگر، نانوذرّه اکسید روی اثر ضدّباکتریایی علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی داشته، می‌تواند به‌عنوان گزینه مناسبی برای حذف این

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-19]

باکتری‌ها به‌ویژه باکتری‌های عامل عفونت‌های بیمارستانی استفاده شود [۶]. Gunalan و همکاران در سال ۲۰۱۲ نانوذرّات اکسید روی را سنتز کردند و خواص ضدّباکتریایی و ضدّقارچی آن را بر روی ۴ سویه باکتری و ۴ سویه قارچ موردبررسی قرار دادند و نشان دادند که فعالیت ضدّمیکروبی نانوذرّات به دوز نانوذرّات، زمان تماس، اندازه ذرّات و روش سنتز بستگی دارد [۱۵]. Sawai و همکاران در سال ۲۰۰۴ با بررسی اثر ضدّمیکروبی پودرهای اکسید روی، اکسید مس و اکسید منیزیم گزارش کرده‌اند که این سه اکسید فلزی قدرت ضدّ میکروبی خوبی در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها دارند [۱۰]. Parish و همکاران در سال ۱۹۹۸ نیز استفاده ایمن از نانوذرّه اکسید روی در مصرف غذایی را با اثر دادن آن بر آب پرتقال نشان دادند [۱۶]. Adams و همکاران در سال ۲۰۰۶ تولید گونه‌های حاوی اکسیژن فعال را یکی از مهم‌ترین دلایل فعالیت ضدّمیکروبی نانوذرّات اکسید روی ذکر کرده‌اند [۱۷]. حسینی و همکاران در سال ۲۰۱۳ اثر ضدّقارچی نانوذرّه اکسید روی را بر مهار رشد سویه استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* با روش میکرو براث دایلوشن در مقایسه با داروی فلوکونازول بررسی کردند و از نانوذرّه اکسید روی به‌عنوان گزینه مناسب برای حذف *کاندیدا آلبیکنس* در حیطه پزشکی، به‌ویژه در ارتباط با وسایل پزشکی استفاده شد [۱۸]. Zhang و Chen در سال ۲۰۰۹ بیان داشتند که شرایط محیط و نور مرئی برای فعالیت ضدّمیکروبی اکسید روی کافی است، درحالی‌که این فعالیت در شرایط تاریک با قدرت کمتری انجام می‌شود [۱۹]. Sinha و همکاران در سال ۲۰۱۱ در بررسی اثرات ضدّمیکروبی نانوذرّات اکسید روی نشان دادند که گونه‌های گرم منفی *انتروباکتر* و *مارینوباکتر* حساسیت بیشتری به این نانوذرّات در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت *باسیلوس سوبتلیس* دارند. علت مقاوم‌بودن باکتری‌های گرم مثبت به وجود لایه‌های پپتید و گلیکانی ضخیم در این باکتری‌ها نسبت داده می‌شود [۲۰] که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. Reddy و همکاران در سال ۲۰۰۷ اثرات ضدّمیکروبی نانوذرّات اکسید روی را بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* بررسی و مشاهده کردند که باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* حساسیت بیشتری نسبت به نانوذرّات اکسید روی دارد [۲۱] که با نتایج این تحقیق مطابقت ندارد. Gunalan و همکاران در سال ۲۰۱۲ نانوذرّات اکسید روی را سنتز کردند و خواص ضدّباکتریایی و ضدّ قارچی آن را بر روی ۴ سویه باکتری و ۴ سویه قارچ مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که فعالیت ضدّمیکروبی نانوذرّات به دوز نانوذرّات، زمان تماس، اندازه ذرّات و روش سنتز بستگی دارد [۲۲]. Ramani و همکاران در سال ۲۰۱۲ نانوذرّات اکسید روی را با ساختارهای متفاوت سنتز کردند و خواص ضدّباکتریایی آن را بر روی ۴ سویه باکتری گرم مثبت و ۴ سویه باکتری گرم منفی موردبررسی قرار دادند و مشاهده کردند که نانوذرّات اکسید روی کروی‌شکل خواص ضدّباکتریایی بهتری را از خود نشان می‌دهند [۲۳]. Seil و همکاران در سال ۲۰۱۲ کامپوزیتی از پلی‌وینیل کلراید و نانوذرّات اکسید روی سنتز کردند و خواص ضدّباکتریایی آن را بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که اکسید روی باعث بهبود عملکرد خاصیت ضدّباکتریایی کامپوزیت می‌شود [۲۴]. Jiang و همکاران در سال ۲۰۱۳ نانوذرّات اکسید روی را به کمک امواج مایکروویو سنتز کردند و خواص ضدّباکتریایی آن را بر روی *کاندیدا آلبیکنس* مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که خواص ضدّباکتریایی نانوذرّات به شکل و اندازه آن‌ها بستگی دارد [۲۵]. در مطالعه Liu و همکاران در سال ۲۰۰۹ نانوذرّات اکسید روی می‌تواند به‌طور بالقوه به‌عنوان یک عامل ضدّباکتری مؤثر برای حفاظت از امنیت غذایی کشاورزی و مواد غذایی مورداستفاده قرار گیرد [۲۶]. به‌طورکلی، نانوذرّه اکسید روی می‌تواند به‌عنوان یکی از کاربردی‌ترین ضدّعفونی‌کننده‌ها در مقیاس صنعتی استفاده شود [۲۸،۲۷]. باتوجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان دریافت که باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* حساسیت بیشتری نسبت به *اشریشیا کلی* در برابر نانوذرّات اکسید روی دارد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد که از نانوذرّه اکسید روی برای مهار باکتری‌های ذکرشده می‌توان استفاده نمود و دارای پتانسیل مناسبی برای جایگزینی مواد نگهدارنده جهت جلوگیری از فساد مواد غذایی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشکده بهداشت با کد ۳۹۰۸۰ دانشگاه علوم پزشکی تهران بوده‌است. نویسندگان این مقاله مراتب سپاس و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران به‌دلیل حمایت‌های مالی و اجرایی اعلام می‌دارند.

References:

[1] Bahmanabadi R, Khalili MB, Soltan Dallal MM. The Study of Enteropathogenic *Escherichia Coli* Prevalence by PCR Method in Under-5-Year-Old Children's Diarrheal Samples Caused by the

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-19]

Country's Food. ***Payavard*-e-*Salamat*** 2017; 11(6): 715-22. [in Persian]
[2] Murphy HM, Payne SJ, Gagnon GA. Sequential UV-and chlorine-based disinfection to mitigate *Escherichia coli* in drinking water biofilms. ***Water Res*** 2008; 42(8-9): 2083-92.
[3] Tosa K, Hirata T. Photoreactivation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* following UV disinfection. ***Water Res*** 1999; 33(2): 361-6.
[4] Hof H, Nichterlein T, Lampidis R, Wecke J. Listeria dispose of many facettes. ***Biotest Bull*** 1998; 6: 21-3.
[5] Aguado V, Vitas AL, Garcia-Jalon I. characterization of *listeria monocytogenes* and *listeria innocua* from a vegetable processing plant by RAPD and REA. ***Int J Food Microbial*** 2004; 90(3): 341-7.
[6] Hoseinzadeh E, Samargandi MR, Alikhani MY, Roshanaei GH, Asgari GH. Antimicrobial Efficacy of Zinc Oxide Nanoparticles Suspension Against Gram Negative and Gram Positive Bacteria. ***Iran J Health Environ*** 2012; 5(3): 463-74. [in Persian]
[7] Caratto V, Ball L, Sanguineti E, Insorsi A, Firpo I, Alberti S, et al. Antibacterial activity of standard and N-doped titanium dioxide-coated endotracheal tubes: an in vitro study. ***Rev Bras Ter Intensiva*** 2017; 29(1): 55-62
[8] Kolodziejczak A, Jesionowski T. Zinc oxide from synthesis to application. ***Materials*** 2014; 7(4): 2833-81.
[9] Ketabchi M, Iessazadeh Kh, Massiha A. Evaluate the inhibitory activity of ZnO nanoparticles against standard strains and isolates of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* isolated from food samples. ***JFM*** 2017; 4(1): 63-74.
[10] Sawai J, Yoshikawa T. Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay. ***J Appl Microbiol*** 2004; 96: 803-9.
[11] Makhluf S, Dror R, Nitzan Y, Abramovich Y, Jelinek R, Gedanken A. Microwave-Assisted Synthesis of Nanocrystalline MgO and Its Use as a Bacteriocide. ***Adv Funct Mater*** 2005; 15: 1708-15.
[12] Alswat AA, Ahmad MB, Saleh TA, Hussein MZB, Ibrahim NA. Effect of zinc oxide amounts on the properties and antibacterial activities of zeolite/zinc oxide nanocomposite. ***Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*** 2016; 68: 505-11.
[13] Azam A, Ahmed AS, Oves M, Khan MS, Habib SS, Memic A. Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria: a comparative study. ***Int J Nanomedicine*** 2012; 7: 6003.
[14] Mohammadbeigi P, Sodagar M, Mazandarani M, Hoseini Ss. An Investigation of Antibacterial Activity of Zno Nanoparticle on *Streptoccocus Iniae* and *Escheria Coli*. ***Qom Univ Med Sci J*** 2016; 10(5): 55-63. [in Persian]
[15] Gunalan S, Sivaraj R, Rajendran V. Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens, Progress in Natural Science. ***Materials Int*** 2012; 22(6): 695–702.
[16] Parish M. Orange juice quality after treatment by ZnO nanoparticle or thermal pasteurization isostatic high pressure, 2011. ***Lwt*** 1998; 31: 439-42.
[17] Adams LK, Lyon DY, Alvarez PJJ. Comparative ecotoxicity of nanoscale TiO2, SiO2, and ZnO water suspensions. ***Watter Res*** 2006; 40: 3527-32.
[18] Hosseini SS, Mohammadi SH, Joshagani HR, Eskandari M. Colorimetric MTT assessment of antifungal activity of ZnO nanowires against *candida dubliensis* bioflm. ***Jondishapur Med Sci*** 2013; 12(1): 69-80. [in Persian]
[19] Zhang H, Chen G. Potent antimicrobial activity of Ag/TiO2 nanocomposite powder synthesized by a one-pot sol-gel method. Environ. ***Sci Technol*** 2009; 43: 2905–10.
[20] Sinha R, Karan R, Sinha A, Khare SK. Interaction and nanotoxic effect of ZnO and Ag nanoparticles on mesophilic and halophilic bacterial cells. ***Bioresour Technol*** 2011; 2: 1516-20.
[21] Reddy KM, Feris K, Bell J, Wingett DG, Hanley C, Punnoose A. Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems. ***Appl Phys Lett*** 2007; 90(213902): 2139021-3.
[22] Gunalan S, Sivaraj R, Rajendran V. Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens, Progress in Natural Science. ***Materials Intl*** 2012; 22(6): 695–702.
[23] Ramani M, Ponnusamy S, Muthamizhchelvan C. From zinc oxide nanoparticles to microflowers: A study of growth kinetics and biocidal activity**.** ***Materials Sci Engineering*** 2012; 32(8): 2381-89.
[24] Seil JT, Webster TJ. Reduced *Staphylococcus aureus* proliferation and biofilm formation on zinc oxide, nanoparticle PVC composite surfaces. ***Acta Biomater*** 2011; 7(6): 2579-84.
[25] Ma J, Liu J, Bao Y, Zhu Z, Wang X, Zhang J. Synthesis of large-scale uniform mulberry-like ZnO particles with microwave hydrothermal method and its antibacterial property. ***Ceramics Int*** 2013; 39(3): 2803-10.
[26] Liu Y, He L, Mustapha A, Li H, Hu Z, Lin M. Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157: H7. ***J Applied Microbiol*** 2009; 107(4): 1193-201.
[27] Handy R, von der Kammer F, Lead J, Hassellov M, Owen R, Crane M. The ecotoxicology and chemistry of manufactured Nanoparticles. ***Ecotoxicology*** 2008; 17(4): 287-314.
[28] Ostrowski AD, Martin T, Conti J, Hurt I, Harthorn BH. Nanotoxicology: Characterizing the scientific literature, 2000-2007. ***J Nanopart Res*** 2009; 11(2): 251-57.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-19]