

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

Dargahi Z¹, Partoazar AR², Naddafi S¹, 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.

بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوذره اکسید روی بر سویه‌های استاندارد و جدایه اشریشیا کلی و لیستریا مونوسیژنر از مواد غذایی

زهرا درگاهی^۱، علیرضا پرتوآذر^۲، شیما ندافی^۱، محمدمهدی سلطان دلال^{۳*}

خلاصه:

سابقه و هدف: به دلیل نیاز روزمره انسان به مواد غذایی هرگونه تغییر در کیفیت و کمیت مواد غذایی تأثیر بسزایی در بهداشت و سلامت جامعه خواهد داشت. زدودن آلودگی‌های میکروبی از مواد غذایی در هر یک از مراحل تولید، نگهداری و عرضه مواد غذایی قابل اهمیت است. در این تحقیق، اثرات ضدباکتریایی نانوذره اکسید روی بر دو باکتری اشریشیا کلی و لیستریا مونوسیژنر مورد بررسی قرار گرفت. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، نانوذره اکسید روی از زئولیت تهیه شد و مقدار آن با استفاده از دستگاه فلورسانس اشعه ایکس (X-Ray Fluorescence) در آزمایشگاه دانشگاه تربیت مدرس تعیین شد. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) نانوذره اکسید روی با استفاده از روش دیسک‌گذاری تعیین شد. **نتایج:** براساس نتایج این بررسی، مقدار MIC نانوذره اکسید روی برای همه باکتری‌های مورد آزمایش ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و مقادیر MBC این ماده برای سویه استاندارد و جدایه اشریشیا کلی به ترتیب برابر با ۴ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای سویه استاندارد و جدایه لیستریا مونوسیژنر ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که نانوذرات اکسید روی می‌توانند به‌عنوان یک عامل بازدارنده در مقابل پاتوژن‌های مواد غذایی در بسته‌بندی و نگهداری مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرند و از آلودگی آن‌ها جلوگیری کنند. **واژگان کلیدی:** نانوذره، اکسید روی، اشریشیا کلی، لیستریا مونوسیژنر، ضدباکتریایی

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و سوم، شماره ۵، آذر و دی ۹۸، صفحات ۵۲۴-۵۲۸

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 مونوسیژنر می‌تواند از طریق مصرف غذای آلوده به انسان منتقل شود.

۱. کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی مواد غذایی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
 ۲. استادیار، مرکز تحقیقات طب 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 مسئول:
دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی

دورنویس: ۰۲۱ ۸۸۹۹۲۹۷۱

تلفن: ۰۲۱ ۸۸۹۹۲۹۷۱

پست الکترونیکی: msoltandall@gmail.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۷/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۹

لیستریا مونوسیژنر 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]. از طرفی در موارد اپیدمیکی بیماری لیستریوزیس، میزان مرگ‌ومیر ممکن است تا حد ۲۰ درصد و در افراد مستعد تا ۷۵ درصد نیز برسد [۵]. توسعه برخی مواد با خواص ضد میکروبی از دیرباز جزو اهداف علوم پزشکی بوده‌است. عوامل ضد میکروبی براساس ترکیب شیمیایی به دو دسته عوامل ضد میکروبی آلی و غیر آلی تقسیم می‌شوند. بسیاری از نواقص عوامل ضد میکروبی آلی منجر به محدودیت استفاده از آن‌ها شده‌است که می‌توان به مقاومت پایین آن‌ها در مقابل حرارت، قابلیت تجزیه و در نتیجه نیمه عمر پایین در حرارت و فشار نسبتاً بالا اشاره نمود [۶]. در نتیجه عوامل ضد میکروبی غیر آلی در شرکت‌های ساخت عوامل ضد میکروبی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. از بین عوامل ضد میکروبی غیر آلی، اکسید نانوذرات بسیار مورد توجه بوده و در مطالعات مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌است. مقاومت باکتریایی نسبت به عوامل باکترواستاتیک 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

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 برات (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 به مدت ۲۴ ساعت در گرم‌خانه با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به منظور تهیه سوسپانسیون باکتریایی جهت انجام آزمایشات در هر روز، ابتدا نیم مک فارلند ($10^8 \times 1$) - ۱/۵ عدد باکتری در هر میلی‌لیتر (تهیه شد. برای اطمینان از ایجاد کدورت صحیح سوسپانسیون نیم مک فارلند، جذب آن به وسیله اسپکتروفتومتر در محدوده طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۶].

آماده‌سازی ژنولیت

ابتدا ژنولیت 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 به مدت یک شبانه‌روز در داخل پلیت شیشه‌ای در دمای محیط خشک و روز بعد با استفاده از انکوباتور ۸۰ درجه سانتی-گراد در مدت ۲ ساعت گرما داده شد تا کاملاً خشک شود.

تهیه نانوذره اکسید روی

مقدار ۱۰۰ گرم ژنولیت 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 ۶: pH بود، سپس این ساختار درون بشر بر روی دستگاه مگنت استیرر در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد و به آرامی به منظور بالا بردن اندازه pH به تدریج به ساختار موردنظر سود ۲ مولار (مرک،

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 خاص 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 ضد میکروبی، ضد عفونی‌کنندگی و خشک‌کننده‌اش به‌طور گسترده در تولید انواع مختلف داروها استفاده می‌شود [۸]. اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی را می‌توان با چندین مکانیسم توجیه کرد: (۱) القای استرس اکسیداتیو به دلیل 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 به دلیل تجمع نانوذرات در غشای باکتری و هم‌چنین تجمع آن‌ها در درون سلول. (۳) آزاد شدن یون‌های روی که با اتصال به غشای میکروارگانیسم‌ها سبب اعمال اثر ضد میکروبی می‌شوند. نانوذرات از طریق تماس نزدیک با سلول باعث تغییر در ریز محیط باکتری شده، با افزایش حلالیت فلز یا تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال در نهایت باعث آسیب به غشا می‌شوند [۹]. ساوایی در مطالعه خود تأثیر رادیکال‌های اکسیژن تولیدشده توسط اکسید روی را در ایجاد اثر ضد میکروبی آن بررسی کرد و دریافت که تولید پراکسید هیدروژن منجر به بروز اثر ضد میکروبی شده، با افزایش غلظت آن غلظت پراکسید هیدروژن تولیدشده هم به صورت خطی افزایش می‌یابد [۱۰]. در برخی از مطالعات نیز به سوراخ‌شدن دیواره باکتری در نتیجه نفوذ نانوذرات اکسید فلزی به درون سلول اشاره شده‌است و اعتقاد بر این است که در اعمال اثر ضد میکروبی نقش دارد [۱۱]. از آن‌جا که اثر ضد میکروبی نانوذره اکسید روی برای هر سویه اختصاصی هست، در نتیجه کاربرد این نانوذره جهت کنترل باکتری‌ها به مطالعات اختصاصی نیاز دارد و افزایش زمان تماس و غلظت عامل ضد میکروبی مورد استفاده، به‌عنوان فاکتوری مهم می‌تواند در کاهش تعداد باکتری‌ها مؤثر باشد. به دلیل نیاز روزمره انسان به مواد غذایی هرگونه تغییر در کیفیت و کمیت مواد غذایی تأثیر بسزایی در بهداشت و سلامت جامعه خواهد داشت. هدف از اجرای این طرح، بررسی فعالیت ضد باکتریایی نانوذره اکسید روی بر سویه‌های استاندارد و جدایه *اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* از مواد غذایی است.

اکسید روی برای هریک از میکروارگانیسم‌ها تعیین شد. کمترین غلظت از سوسپانسیون نانوذره که دارای کدورت نبود، به‌عنوان حداقل غلظت ممانعت‌کننده رشد نانوذره تعیین شد. در لوله‌هایی که عدم رشد داشتند با انجام یک کشت مجدد بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار (مرک، آلمان) MBC تعیین شد، این بررسی‌ها سه بار تکرار شد [۹].

انتشار دیسک

دیسک‌های بلانک استریل (مست، انگلستان) در غلظت‌های ۰.۵، ۱.۰، ۲.۰، ۴.۰، ۸.۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوذره 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 دیسک-گذاری توسط پن‌استریل، 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 نانوذره اکسید روی با استفاده از دستگاه XRF تعیین شد (جدول شماره ۱).

نتایج تست حساسیت ضد میکروبی

مقادیر حداقل غلظت بازدارنده رشد سوسپانسیون نانوذره 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 مورد استفاده قرار گرفته بود، علیه همه‌ی باکتری‌های مورد آزمایش در این مطالعه ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی و زئولیت فاقد حداقل غلظت بازدارنده رشد علیه تمامی باکتری‌های مورد آزمایش در این مطالعه بوده‌است. مقادیر حداقل غلظت کشندگی سوسپانسیون نانوذره اکسید روی علیه سویه استاندارد و جدایه *اشریشیا کلی* به ترتیب برابر با ۴ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای سویه استاندارد و جدایه *لیستریا مونوسیژنوز* ۴ محاسبه شد. درحالی‌که مقادیر حداقل غلظت کشندگی استات روی علیه باکتری‌های مورد استفاده در این مطالعه ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی و زئولیت فاقد حداقل غلظت کشندگی علیه باکتری‌های مورد استفاده در این مطالعه بوده‌است.

نتایج انتشار دیسک

نتایج بررسی ضد میکروبی سوسپانسیون نانوذره اکسید روی

آلمان) اضافه شد که pH به ۱۲ رسید، بعد از ثابت ماندن pH یک ساعت روی دستگاه مگنت استیرر باقی ماند، سپس با استفاده 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 با استفاده 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 سانتی-گراد به مدت ۲ ساعت قرار داده شد، سپس برای کلسینه کردن ماده حاصله از کوره ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت استفاده شد [۱۲] و در آخر مقدار اکسید روی با استفاده از دستگاه XRF در آزمایشگاه دانشگاه تربیت مدرس تعیین شد.

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

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

تست حساسیت ضد میکروبی

از هر چهار نمونه، نانوذره اکسید روی و کامپوزیت غیر نانو اکسید روی و زئولیت و استات روی غلظت‌های ۰.۵، ۱.۰، ۲.۰، ۴.۰، ۸.۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در محیط TSB تهیه و جهت حل شدن ورتکس شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط نگهداری شد. بعد از آن محلول رویی جدا و اتوکلاو شد. برای هر ۴ باکتری به-طور جداگانه از ۸ لوله استریل که هر کدام حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط TSB استریل و سوسپانسیون نانوذره اکسید روی، سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی، زئولیت و استات روی بود، استفاده شد. سپس به همه لوله‌ها از سوسپانسیون میکروبی مورد نظر با کدورت معادل نیم مک فارلند (مرک، آلمان) به میزان ۵۰ میکرولیتر (یک لوله به‌عنوان کنترل منفی بود و سوسپانسیونی در آن ریخته نشد) اضافه شد. یک لوله حاوی سوسپانسیون میکروبی فاقد نانوذره به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته، جواب با مشاهده کدورت و شفافیت به صورت رشد، یا عدم رشد در نظر گرفته شد و به این ترتیب میزان MIC نانوذره

با روش دیسک‌گذاری نشان داد که لیستریا مونوسی‌توزنر با کد شناسایی ATCC 13932 و جدایه لیستریا مونوسی‌توزنر در غلظت ۱۶ میلی‌لیتر نانوذره اکسید روی دارای بیشترین اثر مهارکنندگی رشد می‌باشند که با کاهش غلظت نانوذره از اثرات

مهارتی آن کاسته شده است. در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هیچ‌گونه اثر مهارتی علیه باکتری‌های مورد آزمایش دیده نشد (جدول شماره ۲).

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

عناصر	I.O.L	MgO	Al ₂ O ₃	SiO ₂	P ₂ O ₅	SO ₃	Cl	K ₂ O	CaO	TiO ₂	
سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی	(%)	۰/۵۶۸	۸/۹۰۵	۶۵/۸۱۹	۰/۰۳۱	۰/۱۵۳	۰/۰۴	۱/۳۲۴	۳/۶۶۱	۰/۱۴۴	
سوسپانسیون نانوذره اکسید روی	(%)	۰/۴۷۸	۴/۶۴۳	۵۰/۲۳۲	۰/۰۳	۰/۱۰۲	۰/۰۲۹	۱/۰۲۹	۴/۳۳۳	۰/۱۱۷	
عناصر	MnO	Fe ₂ O 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	۰/۲۳۳	۰/۰۲
سوسپانسیون نانوذره اکسید روی	(%)	۰/۰۳۹	۱/۱۵۴	۰/۰۰۹	۰/۰۰۹	۲۵/۱۴۹	۰/۰۰۴	۰/۰۳۵	۰/۰۳۴	۰/۳۸۲	۰/۰۳۲

جدول شماره ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی باکتری‌های اشریشیا کلی و لیستریا مونوسی‌توزنر، براساس قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر

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

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

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

بحث

هدف از اجرای این پژوهش، ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی نانوذره اکسید روی بر سوبه‌های استاندارد و جدایه اشریشیا کلی و لیستریا مونوسی‌توزنر از مواد غذایی بود. یافته‌های این مطالعه نشان داد که سوسپانسیون نانوذره اکسید روی اثرات ضد میکروبی بهتری نسبت به سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی، زئولیت و استات روی بر باکتری‌های اشریشیا کلی و لیستریا مونوسی‌توزنر دارد. در طی این بررسی، با افزایش غلظت محلول نانوذره، فعالیت ضدباکتریایی افزایش یافت. تحقیقات زیادی روی این نانوذره انجام شده است. Ameer و همکاران در سال ۲۰۱۲ فعالیت ضد

میکروبی نانوذرات اکسید فلزات علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را مورد بررسی قرار دادند. در میان سه اکسید نانوذرات فلزات، نانوذرات ZnO دارای پتانسیل ضدباکتری هستند، درحالی‌که نانوذرات Fe₂O₃ دارای حداقل فعالیت ضدباکتری است. منظور از فعالیت ضد میکروبی به شرح زیر است: ZnO > CuO > Fe₂O₃ [۱۳]. در مطالعه‌ای دیگر، این ترکیب اثر مهارکنندگی و باکتری‌کشی قابل‌قبولی بر باکتری‌های استرپتوکوکوس اینیایی و اشریشیا کلی دارد [۱۴]. در مطالعه دیگر، نانوذره اکسید روی اثر ضدباکتریایی علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی داشته، می‌تواند به‌عنوان گزینه مناسبی برای حذف این

۴ سویه باکتری و ۴ سویه فارچ مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که فعالیت ضد میکروبی نانوذرات به دوز نانوذرات، زمان تماس، اندازه ذرات و روش سنتز بستگی دارد [۲۲]. Ramani و همکاران در سال ۲۰۱۲ نانوذرات اکسید روی را با ساختارهای متفاوت سنتز کردند و خواص ضدباکتریایی آن را بر روی ۴ سویه باکتری گرم مثبت و ۴ سویه باکتری گرم منفی مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که نانوذرات اکسید روی کروی شکل خواص ضدباکتریایی بهتری را از خود نشان می‌دهند [۲۳]. Seil و همکاران در سال ۲۰۱۲ کامپوزیتی از پلی‌وینیل کلراید و نانوذرات اکسید روی سنتز کردند و خواص ضدباکتریایی آن را بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که اکسید روی باعث بهبود عملکرد خاصیت ضدباکتریایی کامپوزیت می‌شود [۲۴]. Jiang و همکاران در سال ۲۰۱۳ نانوذرات اکسید روی را به کمک امواج مایکروویو سنتز کردند و خواص ضدباکتریایی آن را بر روی *کاندیدا آلبیکنس* مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که خواص ضدباکتریایی نانوذرات به شکل و اندازه آن‌ها بستگی دارد [۲۵]. Liu و همکاران در سال ۲۰۰۹ نانوذرات اکسید روی می‌تواند به‌طور بالقوه به‌عنوان یک عامل ضدباکتری مؤثر برای حفاظت از امنیت غذایی کشاورزی و مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد [۲۶]. به‌طور کلی، نانوذره اکسید روی می‌تواند به‌عنوان یکی از کاربردی‌ترین ضد عفونی‌کننده‌ها در مقیاس صنعتی استفاده شود [۲۸، ۲۷]. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان دریافت که باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز حساسیت بیشتری نسبت به اشریشیا کلی* در برابر نانوذرات اکسید روی دارد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد که از نانوذره اکسید روی برای مهار باکتری‌های ذکر شده 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 بوده است. 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*

باکتری‌ها به‌ویژه باکتری‌های عامل عفونت‌های بیمارستانی استفاده شود [۶]. Gunalan و همکاران در سال ۲۰۱۲ نانوذرات اکسید روی را سنتز کردند و خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی آن را بر روی ۴ سویه باکتری و ۴ سویه فارچ مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که فعالیت ضد میکروبی نانوذرات به دوز نانوذرات، زمان تماس، اندازه ذرات و روش سنتز بستگی دارد [۱۵]. Sawai و همکاران در سال ۲۰۰۴ با بررسی اثر ضد میکروبی پودرهای اکسید روی، اکسید مس و اکسید منیزیم گزارش کرده‌اند که این سه اکسید فلزی قدرت ضد میکروبی خوبی در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها دارند [۱۰]. Parish و همکاران در سال ۱۹۹۸ نیز استفاده ایمن از نانوذره 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 ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی ذکر کرده‌اند [۱۷]. حسینی و همکاران در سال ۲۰۱۳ اثر ضدقارچی نانوذره اکسید روی را بر مهار رشد سویه استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* با روش میکرو برات دایلوژن در مقایسه با داروی فلوکونازول بررسی کردند و از نانوذره اکسید روی به‌عنوان گزینه مناسب برای حذف *کاندیدا آلبیکنس* در حیطه پزشکی، به‌ویژه در ارتباط با وسایل پزشکی استفاده شد [۱۸]. Chen و Zhang در سال ۲۰۰۹ بیان داشتند که شرایط محیط و نور مرئی برای فعالیت ضد میکروبی 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 ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی نشان دادند که گونه‌های گرم منفی *انتروباکتر* و *مارینوباکتر* حساسیت بیشتری به این نانوذرات در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت *باسیلوس سوبتیلیس* 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 ضد میکروبی نانوذرات 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 نانوذرات اکسید روی دارد [۲۱] که با نتایج این تحقیق مطابقت ندارد. Gunalan و همکاران در سال ۲۰۱۲ نانوذرات اکسید روی را سنتز کردند و خواص ضدباکتریایی و ضد قارچی آن را بر روی

Coli Prevalence by PCR Method in Under-5-Year-Old Children's Diarrheal Samples Caused by the

- 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] Makhluif S, Dror R, Nitzan Y, Abramovich Y, Jelinek R, Gedanken A. Microwave-Assisted Synthesis of Nanocrystalline MgO and Its Use as a Bactericide. *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 *Streptococcus 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. *Water 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, Hasselov 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.