

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

Dargahi Z<sup>1</sup>, Partoazar AR<sup>2</sup>, Naddafi S<sup>1</sup>, Soltan-Dallal MM<sup>3\*</sup>

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 ضدبacterیایی نانوذره اکسید روی بر سویه‌های استاندارد و جدایه اشريشیا کلی و لیستریا مونوستیوژنر از موادغذایی

۱ زهرا درگاهی ، ۲ علیرضا پرتواذر ، ۳ شیما ندانی ، محمدمهدي سلطان دلال

## 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 مرافق تولید، نگهداری و عرضه موادغذایی قابل اهمیت است. در این تحقیق، اثرات ضدبacterیایی نانوذره اکسید روی بر دو bacterی اشريشیا کلی و لیستریا مونوستیوژنر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، نانوذره اکسید روی از زنولیت تهیه شد و مقدار آن باستفاده از دستگاه فلورسانس اشعه ایکس (X-Ray Fluorescence) در آزمایشگاه دانشگاه تربیت مدرس تعیین شد. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت bacterی کشی (MBC) نانوذره اکسید روی باستفاده از روش دیسک گذاری تعیین شد.

نتایج: براساس نتایج این بررسی، مقدار MIC نانوذره اکسید روی برای همه bacterی‌های مورد آزمایش ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و مقادیر MBC این ماده برای سویه استاندارد و جدایه/اشريشیا کلی به ترتیب برابر با ۴ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای سویه استاندارد و جدایه لیستریا مونوستیوژنر ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که نانوذره اکسید روی می‌تواند به عنوان یک عامل بازدارنده در مقابل پاتوژن‌های موادغذایی در بستebندی و نگهداری موادغذایی مورداستفاده قرار گیرند و از آلودگی آن‌ها جلوگیری کنند.

وازگان کلیدی: نانوذره، اکسید روی، اشريشیا کلی، لیستریا مونوستیوژنر، ضدبacterیایی

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

## مقدمه

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

لیستریا مونوستیوژنر از آن جهت از نظر بهداشتی مهم است که ممکن است عفونت غذایی ناشی از این bacterی منجر به عوارضی مانند: متززیت، سپتیسمی و سقط جنین در زنان آبستن شود [۴]. از طرفی در موارد اپیدمیک بیماری لیستریوزیس، میزان مرگ و میر ممکن است تا حد ۲۰ درصد و در افراد مستعد تا ۷۵ درصد نیز برسد [۵]. توسعه برخی مواد با خواص ضدبacterیوبی از دیرباز جزو اهداف علوم پزشکی بوده است. عوامل ضدبacterیوبی براساس ترکیب شیمیایی به دو دسته عوامل ضدبacterیوبی آلی و غیرآلی تقسیم می‌شوند. بسیاری از نواقص عوامل ضدبacterیوبی آلی منجر به محدودیت استفاده از آن‌ها شده است 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 ضدبacterیوبی غیرآلی در شرکت‌های ساخت عوامل ضدبacterیوبی بسیار موردنوجه قرار گرفته‌اند. از بین عوامل ضدبacterیوبی غیرآلی، اکسید نانوذرهات بسیار موردنوجه بوده و در مطالعات مختلف مورداستفاده قرار گرفته است. مقاومت bacterیایی نسبت به عوامل bacterیوستاتیک و bacterیسید در سال‌های اخیر به علت گسترش سویه‌های مقاوم افزایش یافته است. محققان زیادی در مطالعات خود به این نتیجه رسیده‌اند که نانو اکسید فلزات بسیار فعال بوده، در مقابل bacterی‌های گرم مثبت و گرم منفی فعالیت bacterیسید فوق العاده‌ای نشان می‌دهند [۶]. امروزه فناوری نانو در عرصه‌های

۱. کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی موادغذایی، 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

\***لیسانس نویسنده مسئول:**

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

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

تلفن: ۰۲۱ ۸۸۹۹۲۹۷۱ دو روزه: ۰۲۱ ۸۸۹۹۲۹۷۱

پست الکترونیک: msoltandallal@gmail.com

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

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری نمونه

این مطالعه از نوع تجربی بوده، بر روی دو باکتری *اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوئنر* 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 جمع‌آوری شده در مراحل بعدی، جدایه‌ها در محیط تریپتیک سوی برات (TSB) (مرک، آلمان) حاوی ۱۵ درصد گلیسروول کشت ذخیره داده شده، در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

### آماده‌سازی سویه‌های میکروبی

سویه‌های استاندارد *اشریشیا کلی* 25922 ATCC و *لیستریا مونوسیتوئنر* 13932 ATCC استفاده شده در این پژوهش از شرکت تعویقی دانش بنیان زیست رویش که به صورت فریز TSB خشک نگهداری شده بودند، تهیه شد. ابتدا در محیط کشت گذاشته شد و بعد از آن بر روی محیط کشت تریپتیک سوی آگار کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در گرم خانه با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد. بهمنظور تهیه سوسپانسیون باکتریابی جهت انجام آزمایشات در هر روز، ابتدا نیم مک فارلند ( $1 \times 10^8$ ) ۱/۵ عدد باکتری در هر میلی لیتر) تهیه شد. برای اطمینان از ایجاد کدورت صحیح سوسپانسیون نیم مک فارلند، جذب آن به وسیله اسپکتروفوتومتر در محدوده طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۶].

### آماده‌سازی زئولیت

ابتدا زئولیت از نوع کلینوپیتولیت clinoptilolite سدیم-پتاسیمی با خلوص متوسط ۸۰ درصد از شرکت افزاند واقع در سمنان تهیه شد. سپس ۶۰۰ گرم از آن در داخل بشر، ۳ مرتبه به مدت ۱۵ دقیقه با ۵۰۰ میلی لیتر 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 گرم‌داهه شد تا کاملاً خشک شود.

### تهیه نانوذره اکسید روی

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

مختلف صنعتی، بهداشتی، پزشکی و غذایی تأثیرگذار است. قاعده‌ای کی از تأثیرگذارترین اثرات فناوری نوین در زندگی بشر، به مقوله صنعت غذا بر می‌گردد [۷]. اکسید روی با خواص فیزیکی و شیمیایی خاص خود یک ماده چند عملکردی است که در صنایع مختلفی مثل: الکترونیک، اپتالکترونیک، 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 به علت ویژگی‌های ضد میکروبی، ضد عفونی-کشنده‌گی و خشک‌کننده‌اش به طور 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 با DNA، پروتئین‌ها و لپیدها منجر به مرگ سلول می‌شود. ۲) از بین رفتن آرایش غشا به دلیل تجمع نانوذرات در غشاء باکتری و هم‌چنین تجمع آن‌ها در درون سلول. ۳) آزادشدن یون‌های روی که با اتصال به غشاء میکرووارگانیسم‌ها سبب اعمال اثر ضد میکروبی می‌شوند. نانوذرات از طریق 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 رادیکال‌های اکسیژن تولید شده 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 غالباً پراکسید هیدروژن تولید شده 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 شده است 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، به عنوان 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 باکتریابی نانوذره اکسید روی بر سویه‌های استاندارد و جدایه اشریشیا کلی و *لیستریا مونوسیتوئنر* از مواد غذایی است.

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

#### نتایج انتشار دیسک

دیسک‌های بلانک استریل (مست، انگلستان) در غلظت‌های ۱۶.۸، ۴.۲، ۱.۰، ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوذره اکسید روی، به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. تعدادی دیسک در استات روی و آب منطر به عنوان کترول مثبت و منفی قرار داده شد، بعد از دیسک-گذاری توسط پنس استریل، پلیت‌ها را به مدت 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 سوپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی و سوپانسیون نانوذره اکسید روی با استفاده از دستگاه XRF تعیین شد (جدول شماره ۱).

#### نتایج تست حساسیت ضدمیکروبی

مقادیر حداقل غلظت بازدارنده رشد سوپانسیون نانوذره اکسید روی علیه همهٔ باکتری‌های مورد آزمایش در این مطالعه ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. در حالی‌که مقادیر حداقل غلظت بازدارنده رشد استات روی که به عنوان کترول مثبت مورد استفاده قرار گرفته بود، علیه همهٔ باکتری‌های مورد آزمایش در این مطالعه ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و سوپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی و زئولیت قادر حداقل غلظت بازدارنده رشد علیه تمامی باکتری‌های مورد آزمایش در این مطالعه بوده‌است. مقادیر حداقل غلظت کشنده‌گی سوپانسیون 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 مونوسپریزر ۴ محاسبه شد. در حالی‌که مقادیر حداقل غلظت کشنده‌گی استات روی علیه باکتری‌های مورد استفاده در این مطالعه ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و سوپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی و زئولیت قادر حداقل غلظت کشنده‌گی علیه باکتری‌های مورد استفاده در این مطالعه بوده‌است.

#### نتایج انتشار دیسک

نتایج بررسی ضدمیکروبی سوپانسیون نانوذره اکسید روی

آلمان) اضافه شد که pH به ۱۲ رسید، بعد از ثابت‌ماندن pH یک ساعت روی دستگاه مگنت استیر باقی ماند، سپس با استفاده از کاغذ صافی سلولزی واتمن ۴۰ و باند سفید (۲:۱۲/um) ۲۵ 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 میلی‌لیتر ریخته و ۴۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به آن اضافه شد. این ساختار درون بشر بر روی دستگاه مگنت استیر قرار داده شد، بعد از گذشت ۳۰ دقیقه با استفاده از کاغذ صافی سلولزی واتمن ۴۰ و باند سفید (۲:۱۲/um) ساخت آلمان) محتوای بشر فیلتر و بعد محتویات روی فیلتر با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه شستشو داده شد؛ سپس هر دو محتوای فیلتر شده 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 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 ضدمیکروبی

از هر چهار نمونه، نانوذره اکسید روی و کامپوزیت غیر نانو اکسید روی و زئولیت و استات روی غلظت‌های ۰.۵، ۱.۲، ۴.۸، ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در محیط TSB تهیه و جهت حل شدن ورتكس 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 سوپانسیون نانوذره اکسید روی، سوپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی، زئولیت و استات روی بود، استفاده شد. سپس به همه لوله‌ها از سوپانسیون میکروبی موردنظر با دورت معادل نیم مک فارلند (مرک، آلمان) به میزان ۵۰ میکرولیتر (یک لوله به عنوان کترول منفی بود و سوپانسیونی در آن ریخته نشد) اضافه شد. یک لوله حاوی سوپانسیون میکروبی فاقد نانوذره به عنوان کترول مثبت استفاده شد. لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته، جواب با مشاهده دورت و شفافیت به صورت رشد، یا عدم رشد در نظر گرفته شد و به این ترتیب میزان MIC نانوذره

مهاری آن کاسته شده است. در غلظت ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر هیچ گونه اثر مهاری علیه باکتری های مورداً زمایش دیده نشد (جدول شماره ۲).

با روش دیسک گذاری نشان داد که لیستریا مونوستیوژنر با کد شناسایی ۱۳۹۳۲ ATCC و جدایه لیستریا مونوستیوژنر در غلظت ۱۶ میلی گرم بر میلی لیتر نانوذره اکسید روی دارای بیشترین اثر مهار کنندگی رشد می باشند که با کاهش غلظت نانوذره از اثرات

جدول شماره ۱- مقایسه درصد های مختلف عناصر موجود در سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانواکسید روی و سوسپانسیون نانوذره اکسید روی

عناصر												
TiO <sub>2</sub>	CaO	K <sub>2</sub> O	Cl	SO <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	SiO <sub>2</sub>	۳O <sub>2</sub> Al	MgO	I.O.L			
۰/۱۴۴	۳/۶۶۱	۱/۳۲۴	۰/۰۴	۰/۱۵۳	۰/۰۳۱	۶۵/۸۱۹	۸/۹۰۵	۰/۵۶۸	۹/۱۲	(%)	سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانواکسید روی	
۰/۱۱۷	۴/۳۳۳	۱/۰۲۹	۰/۰۳۹	۰/۱۰۲	۰/۰۳	۵۰/۲۳۲	۴/۶۴۳	۰/۴۷۸	۹/۰۶	(%)	سوسپانسیون نانوذره اکسید روی	
عناصر												
Pb	Ba	Zr	Sr	Rb	ZnO	Cu	Ni	Co	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	MnO		سوسپانسیون
۰/۰۲	۰/۲۳۳	۰/۰۳۶	۰/۱۳۳	۰/۰۰۴	۸/۳۵۸	۰/۰۰۵	۰/۰۷۲	۰/۰۳	۱/۲۹۱	۰/۰۵۳	(%)	کامپوزیت غیر نانواکسید روی
۰/۰۳۲	۰/۳۸۲	۰/۰۳۴	۰/۰۳۵	۰/۰۰۴	۲۵/۱۴۹	۰/۰۰۹	۱/۱۵۴	۰/۰۳۹		(%)	سوسپانسیون نانوذره اکسید روی	
حسب میلی متر												

جدول شماره ۲- تأثیر غلظت های مختلف نانوذره اکسید روی بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر بر روی باکتری های اشریشیا کلی و لیستریا مونوستیوژنر، براساس قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی متر

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

\* دیسک آغشته با استات روی با غلظت ۸ میلی گرم بر میلی لیتر به عنوان کترول مثبت مورد استفاده قرار گرفت.

\*\* دیسک آغشته با آب م قطر به عنوان کترول منفی مورد استفاده قرار گرفت.

میکروبی نانوذرات اکسید فلزات علیه باکتری های گرم مثبت و گرم منفی را موربررسی قرار دادند. در میان سه اکسید نانوذرات فلزات، نانوذرات ZnO دارای پتانسیل ضدبакتری هستند، در حالی که نانوذرات Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> دارای حداقل فعالیت ضدبакتری است. منظور از فعالیت ضدمیکروبی به شرح زیر است: ZnO > CuO > Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> [۱۳]. در مطالعه ای دیگر، این ترکیب اثر مهار کنندگی و باکتری کشی قابل قبولی بر باکتری های استرپتوكوکوس/اینیاپی و اشریشیا کلی دارد [۱۴]. در مطالعه دیگر، نانوذره اکسید روی اثر ضدبакتریایی علیه باکتری های گرم مثبت و منفی داشته، می تواند به عنوان گزینه مناسبی برای حذف این

## بحث

هدف از اجرای این پژوهش، ارزیابی فعالیت ضدبакتریایی نانوذره اکسید روی بر سویه های استاندارد و جدایه/اشریشیا کلی و لیستریا مونوستیوژنر از مواد غذایی بود. یافته های این مطالعه نشان داد که سوسپانسیون نانوذره اکسید روی اثرات ضدمیکروبی بهتری نسبت به سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی، زنولیت و استات روی بر باکتری های اشریشیا کلی و لیستریا مونوستیوژنر دارد. در طی این بررسی، بالافراش غلظت محلول نانوذره، فعالیت ضدبакتریایی افزایش یافت. تحقیقات زیادی روی این نانوذره انجام شده است. Ameri و همکاران در سال ۲۰۱۲ فعالیت ضد

۴ سویه باکتری و ۴ سویه قارچ مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که فعالیت ضدمیکروبی 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 ضدبacterیایی 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 ضدبacterیایی 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 ضدبacterیایی آن را بر روی استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که اکسید روی باعث بهبود عملکرد خاصیت ضدبacterیایی کامپوزیت می‌شود [۲۴]. Jiang و همکاران در سال ۲۰۱۳ نانوذرات اکسید روی را به کمک امواج مایکروویو سنتز کردند و خواص ضدبacterیایی آن را بر روی کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که خواص ضدبacterیایی نانوذرات به شکل و اندازه آنها بستگی دارد [۲۵]. در مطالعه Liu و همکاران در سال ۲۰۰۹ نانوذرات اکسید روی می‌تواند به طور بالقوه به عنوان یک عامل ضدبacterی مؤثر برای حفاظت از امنیت غذایی کشاورزی و مواد غذایی مورداستفاده قرار گیرد [۲۶]. به طور کلی، نانوذره اکسید روی می‌تواند به عنوان یکی از کاربردی‌ترین ضدغفوونی‌کننده‌ها در مقیاس صنعتی استفاده شود [۲۷، ۲۸]. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان دریافت که باکتری لیستریا مونوستیوژنریز 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. نویسنده‌گان 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

باکتری‌ها به ویژه باکتری‌های عامل عفونت‌های بیمارستانی استفاده شود [۶]. Gunalan و همکاران در سال ۲۰۱۲ نانوذرات اکسید روی را سنتز کردند و خواص ضدبacterیایی و ضدقارچی آن را بر روی ۴ سویه باکتری و ۴ سویه قارچ مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات به دوز نانوذرات، زمان تماس، اندازه ذرات و روش سنتز بستگی دارد [۱۵]. Sawai و همکاران در سال ۲۰۰۴ با بررسی اثر ضدمیکروبی پودرهای اکسید روی، اکسید مس و اکسید منیزیم گزارش کرده‌اند که این سه اکسید فلزی قدرت ضدمیکروبی خوبی در برابر طیف وسیعی از میکرووارگانیسم‌ها دارند [۱۰]. Parish و همکاران در سال ۱۹۹۸ از میکرووارگانیسم‌ها دارند [۱۰]. Adams و همکاران در سال ۲۰۰۶ تولید گونه‌های حاوی اکسیزن فعال را کمی از مهم‌ترین دلایل فعالیت ضدمیکروبی 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 براث دایلوجن در مقایسه با داروی فلوكونازول بررسی کردند و از نانوذره اکسید روی به عنوان گزینه مناسب برای حذف کاندیدا آلبیکنس در حیطه پزشکی، به ویژه در ارتباط با وسائل پزشکی استفاده شد [۱۸]. Chen و Zhang در سال ۲۰۰۹ بیان داشتند که شرایط محیط و نور مرئی برای فعالیت ضدمیکروبی اکسید روی کافی است، در حالی که این فعالیت در شرایط تاریک با قدرت کمتری انجام می‌شود [۱۹]. Sinha و همکاران در سال ۲۰۱۱ در بررسی اثرات ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی نشان دادند که گونه‌های گرم منفی انتربراکتر و مارینوپاکتر حساسیت بیشتری به این نانوذرات در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبلیس دارند. علت مقاومت یوکن باکتری‌های گرم مثبت به وجود لایه‌های پیتید و گلیکانی ضخیم در این باکتری‌ها نسبت داده می‌شود [۲۰] که با مطالعه حاضر هم خوانی دارد. Reddy و همکاران در سال ۲۰۰۷ ۲۰۰۷ اثرات ضدمیکروبی 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 ضدبacterیایی و ضدقارچی آن را بر روی

- 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. *Biotech 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, Lessazadeh 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 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 *Escherichia 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 PJ. Comparative ecotoxicity of nanoscale TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, and ZnO water suspensions. *Water Res* 2006; 40: 3527-32.
- [18] Hosseini SS, Mohammadi SH, Joshangani HR, Eskandari M. Colorimetric MTT assessment of antifungal activity of ZnO nanowires against *candida dubliensis* biofilm. *Jondishapur Med Sci* 2013; 12(1): 69-80. [in Persian]
- [19] Zhang H, Chen G. Potent antimicrobial activity of Ag/TiO<sub>2</sub> 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 Int* 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.