

بررسی اثرات ضد میکروبی نانوذرات ترکیبی اکسید روی - منگنز و نانوذرات اکسید روی - آهن علیه باکتری شیگلا فلکسنری

محمد مهدی سلطان دلال^۱، زهره دیدار^{۲*}

۱. استاد مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲. استادیار گروه صنایع غذایی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۱/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۰

زمینه و هدف افزایش مقاومت میکروب‌ها در برابر ترکیبات میکروب‌کش متداول یکی از معضلات بهداشت و سلامت عمومی است. لذا تحقیقات درباره ترکیبات ضد میکروبی نوین رو به گسترش است. نانوذرات ترکیباتی با خواص منحصر به فرد هستند که ضد میکروبی بودن از جمله خصوصیات آن‌هاست.

مواد و روش‌ها در این تحقیق، سنتز نانوذرات منگنز - اکسید روی و نانوذره آهن - اکسید روی به روش ترسیب شیمیایی هم‌زمان و بررسی ویژگی‌های نانوذرات حاصل، با استفاده از طیف مادون قرمز فوری، پراش اشعه X و میکروسکوپ الکترونی عبوری صورت گرفت. اثرات ضد میکروبی نانوذرات در برابر باکتری شیگلا فلکسنری (PTCC 1234) توسط روش تعیین قطر هاله عدم رشد سنجیده شد. میزان هم‌افزایی نانوذرات با دو ماده پراکسید هیدروژن و هیپوکلریت سدیم با محاسبه حداقل غلظت بازدارنده کسری انجام شد.

یافته‌ها بررسی‌های ساختاری نشان‌دهنده کارایی مناسب روش ترسیب شیمیایی هم‌زمان در تهیه نانوذرات منگنز - اکسید روی و آهن - اکسید روی بوده است. نتایج آزمون ضد میکروبی نشان داد که نانوذرات منگنز - اکسید روی اثرات ضد میکروبی بیشتری بر شیگلا فلکسنری نسبت به آهن - اکسید روی دارد و قطر هاله عدم رشد برابر با ۲۵ میلی‌متر ایجاد کرد؛ در حالی که قطر هاله عدم رشد در مورد آهن - اکسید روی ۱۴ میلی‌متر بود. به علاوه هر دو نانوذره ترکیبی اثرات ضد میکروبی بیشتری در مقایسه با نانوذرات اکسید روی به تنهایی داشتند؛ در نتیجه عمل ترکیب این عناصر در ساختار اکسید روی سبب بهبود خاصیت ضد میکروبی آن می‌گردد. همچنین مخلوط هریک از نانوذرات با پراکسید هیدروژن و هیپوکلریت سدیم اثرات هم‌افزایی داشتند.

نتیجه‌گیری نانوذرات آهن - اکسید روی و نانوذرات منگنز - اکسید روی دارای خواص ضد میکروبی در برابر شیگلا فلکسنری هستند که این خاصیت همراه با پراکسید هیدروژن و هیپوکلریت سدیم هم‌افزایی را نشان می‌دهد.

کلیدواژه‌ها:

اکسید روی، هم‌افزایی، شیگلا فلکسنری.

۱. مقدمه

نانوتکنولوژی کاربرد گسترده‌ای در علوم مختلف از جمله فیزیک، شیمی و علوم زیستی یافته است [۱]. نانوذرات اکسیدهای فلزی دارای خواص منحصر به فردی هستند که سبب کاربرد آن‌ها در صنایع مختلف شده است [۲]. از خصوصیات این ترکیبات

خاصیت ضد میکروبی آن‌هاست [۳].

افزایش مقاومت میکروب‌ها در برابر مواد میکروب‌کش متداول یکی از مشکلات در زمینه بهداشت و سلامت عمومی است که سبب تمرکز محققان مختلف بر استفاده از ترکیبات میکروب‌کش نوین شده است. پژوهشگران اثرات ضد میکروبی

* نویسنده مسئول: زهره دیدار

نشانی: گروه صنایع غذایی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران

دورنگار: ۰۵۱۴۲۶۱۵۴۷۲

تلفن: ۰۵۱۴۲۶۲۱۹۰۵

رایانه: z_didar57@yahoo.com

شناسه ORCID: 0000-0001-6268-6376

شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0002-4900-9458

مجله علمی - پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۲۶، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۸، ص ۵۶۵-۵۷۵

آدرس سایت: <http://jsums.medsab.ac.ir> رایانامه: journal@medsab.ac.ir

شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

۰/۶۶٪) و شیگلا سونئی^{۱۰} (شیوع ۱۸٪) است [۲۰]. در این تحقیق، اثرات ضد میکروبی نانوذرات ترکیبی آهن و منگنز با اکسید روی بر شیگلا فلکسنری مورد مطالعه قرار گرفته است. به منظور بررسی اثرات هم افزایی نانوذرات ترکیبی، از دو ماده ضد میکروبی متداول شامل آب اکسیژنه و هیپوکلریت سدیم استفاده شد.

۲. مواد و روش ها

۲.۱. تهیه نانوذرات ترکیبی به روش ترسیب هم زمان

ترسیب هم زمان از جمله روش های سنتز نانوذرات ترکیبی است. در این مطالعه، جهت تهیه نانوذرات ترکیبی از این روش شیمیایی استفاده شد. محلول های اولیه شامل سولفات منگنز و سولفات روی (سنتز نانوذرات منگنز - اکسید روی) و سولفات آهن و سولفات روی (سنتز نانوذرات آهن - اکسید روی) به کار برده شد. ابتدا محلول های سولفات با یکدیگر مخلوط و به مدت ۲ ساعت در دستگاه اولتراسونیک با فرکانس ۵YkHz و دمای ۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد همراه با هم زدن گذاشته شد. جهت افزایش pH محلول (تا حدود ۱۲)، هیدروکسید سود (۲۵٪ وزنی/حجمی) قطره قطره به آن افزوده شد و دوباره ۳۰ دقیقه دیگر هم زدن ادامه یافت. در نهایت مراحل خالص سازی توسط سانتریفیوژ، شست و شو و خشک کردن صورت گرفت [۲۱].

۲.۲. تعیین خصوصیات نانوذرات ترکیبی

بررسی خصوصیات ساختاری نانوذرات توسط روش طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه^{۱۱} با دستگاه Perkin-Elmer مدل Spectroma2 در دامنه فرکانس $4500-400 \text{ cm}^{-1}$ انجام شد. آزمون پراش اشعه x توسط دستگاه Phillips PW1820 سنجیده شد. میکروسکوپ الکترونی عبوری HITACHI مدل H-7500 نیز به منظور بررسی مورفولوژی نانوذرات به کار برده شد (بزرگنمایی ۷۰,۰۰۰).

۲.۳. آماده سازی سوپه میکروبی

باکتری شیگلا فلکسنری (PTCC 1234) به صورت آمپول لیوفیلیزه از مرکز پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه شد.

نانوذرات اکسیدهای فلزی را بررسی کرده اند [۴]. دسته وسیعی از نانوذرات اکسید فلزی از نظر خصوصیات ضد میکروبی مطالعه شده اند: نانوذرات اکسید مس در برابر شیگلا دیسنتری^۱ و ویبریو کلرا^۲ [۵]، نانوذرات اکسید منیزیم در برابر اشرشیاکلی و سالمونلا استنلی^۳ [۶]، نانوذرات اکسید نقره در مقابل استرپتوکوکوس موناس^۴ [۷]، نانوذرات اکسید روی در برابر سودوموناس آئروژنوزا^۵ و استافیلوکوکوس اورئوس^۶ [۸]، نانوذرات اکسید آهن در اشرشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس^۷ و استافیلوکوکوس اورئوس [۹]. فرضیه های ارائه شده درباره خاصیت ضد میکروبی نانوذرات اکسیدهای فلزی شامل تخریب دیواره سلول میکروبی، تجزیه اسیدهای نوکلئیک و آنزیم ها در سلول میکروب است. به منظور بهبود ویژگی های مختلف نانوذرات اکسیدهای فلزی، سایر عناصر در ساختار این ترکیبات به روش های مختلف شیمیایی وارد می گردد که در نتیجه خصوصیات مختلف این نانوذرات تغییر می یابد [۱۰]. مطالعاتی درباره آمیختن و ترکیب کردن سایر عناصر در ساختار اکسیدهای فلزی صورت گرفته است که از جمله می توان آمیختن عنصر نقره در ساختار اکسید تیتانیوم [۱۱]، استرانسیم و باریم در ساختار اکسید روی [۱۲] و روی در ساختار اکسید مس [۱۳] را نام برد. پژوهشگران اثر عمل آمیختن سایر عناصر در ساختار اکسیدهای فلزی و ویژگی های مختلف ضد میکروبی نانوذرات حاصل را بررسی کرده اند؛ از جمله می توان به بررسی اثرات ضدباکتریایی نانوذرات نقره - اکسید تیتانیوم بر اشرشیاکلی [۱۴]، نانوذرات ترکیبی آهن - اکسید نقره در برابر باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیاکلی و سودوموناس فلوروسنس^۸ [۱۵]، نانوذرات ترکیبی تلورید کادمیوم - اکسید روی در برابر اشرشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس و سودوموناس آئروژنوزا [۱۶] اشاره کرد. شیگلا باکتری ای از خانواده انتروباکتریاسه و از عوامل مهم بیماری زای غذایی و بروز شیگلوزیس در انسان است. تخمین زده شده است که سالانه ۱۴,۰۰۰ مورد مرگ ناشی از ابتلا به شیگلوزیس رخ می دهد [۱۷]. راه های مختلف انتقال باکتری شیگلا شامل مصرف غذاهای آلوده به خصوص به صورت خام و نیز شرایط نامناسب بهداشتی است [۱۸]. بیماری شیگلوزیس به علت شیوع فراوان و شدت عفونت زایی زیاد، از نظر بهداشت و سلامت عمومی حائز اهمیت است [۱۹]. گونه های شایع شیگلا در مواد غذایی شامل شیگلا فلکسنری^۹ (شیوع

7. bacillus subtilis

8. pseudomonas fluorescens

9. shigella flexneri

10. shigella sonnei

11. fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR)

1. shigella dysenteriae

2. vibrio cholerae

3. salmonella stanely

4. streptococcus mutans

5. pseudomonas aeruginosa

6. staphylococcus aureus

میکروبی (جمعیت حدود 10^6 سلول در هر میلی لیتر) و ۱ میلی لیتر محیط برات استریل و کنترل منفی فاقد سوسپانسیون میکروبی بود. پس از مراحل یادشده، درب لوله‌ها بسته شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C درجه سانتی گراد، گرم‌خانه‌گذاری گردید [۲۴]. چگالی نوری برای تمام نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر قبل و بعد از گرم‌خانه‌گذاری سنجیده شد. شاخص غلظت بازدارنده کسری با فرمول‌های ذیل محاسبه شد:

$$FIC(A) = \frac{\text{حداقل غلظت مهاری ماده } A \text{ در حالت ترکیبی}}{\text{حداقل غلظت مهاری ماده } A \text{ به تنهایی}}$$

$$FIC(B) = \frac{\text{حداقل غلظت مهاری ماده } B \text{ در حالت ترکیبی}}{\text{حداقل غلظت مهاری ماده } B \text{ به تنهایی}}$$

$$\Sigma FIC = FIC(A) + FIC(B)$$

نتایج بدین صورت تفسیر شد: غلظت بازدارنده کسری کمتر از 0.5 نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی؛ 0.5 — 0.75 نمودار اثر هم‌افزایی جزئی؛ 1 — 0.75 نمایانگر اثر افزایشی؛ 4 — 1 نشانگر بی‌اثر بودن و بیشتر از 4 نشان‌دهنده اثر آنتاگونیستی است [۲۵].

این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد نیشابور با شناسه IR.IAU.NEYSHABUR.REC.1397.001 مورد تأیید قرار گرفت.

۲.۶. آنالیزهای آماری

تمام آزمایش‌ها ۳ بار تکرار شد. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار STATISTICA (نسخه ۱۰) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. جدول ۱ غلظت‌های مختلف تیمارهای مورد بررسی را نشان می‌دهد.

جدول ۱. تیمارهای مختلف مورد بررسی و کدهای مربوطه

کد	تیمار	کد	تیمار	کد	تیمار
۱	اکسید روی (۵mg/ml)	۸	منگنز - اکسید روی (۵mg/ml)	۱۵	آهن - اکسید روی (۵mg/ml)
۲	اکسید روی (۱۰ mg/ml)	۹	منگنز - اکسید روی (۱۰ mg/ml)	۱۶	آهن - اکسید روی (۱۰ mg/ml)
۳	اکسید روی (۲۰ mg/ml)	۱۰	منگنز - اکسید روی (۲۰ mg/ml)	۱۷	آهن - اکسید روی (۲۰ mg/ml)
۴	اکسید روی (۳۰ mg/ml)	۱۱	منگنز - اکسید روی (۳۰ mg/ml)	۱۸	آهن - اکسید روی (۳۰ mg/ml)
۵	اکسید روی (۴۰ mg/ml)	۱۲	منگنز - اکسید روی (۴۰ mg/ml)	۱۹	آهن - اکسید روی (۴۰ mg/ml)
۶	اکسید روی (۵۰ mg/ml)	۱۳	منگنز - اکسید روی (۵۰ mg/ml)	۲۰	آهن - اکسید روی (۵۰ mg/ml)
۷	اکسید روی (۶۰ mg/ml)	۱۴	منگنز - اکسید روی (۶۰ mg/ml)	۲۱	آهن - اکسید روی (۶۰ mg/ml)

در شرایط استریل، به محیط نوترینت برات منتقل گردید و برای مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C درجه سانتی گراد گرم‌گذاری شد. توسط سانتریفیوژ (مدل ALC4232) با دور 4000rpm جداسازی سلول میکروبی صورت گرفت. تعیین جمعیت میکروبی با روش مک‌فارلند انجام شد [۲۲]. جمعیت باکتریایی حدود 10^6 کلنی در هر میلی لیتر برای این تحقیق استفاده شد.

۲.۴. فعالیت ضد میکروبی

روش انتشار در آگار و تعیین قطر هاله عدم رشد برحسب میلی متر جهت تعیین میزان فعالیت ضد میکروبی به کار برده شد. ابتدا مقدار 100 میکرولیتر از سویه میکروبی (شیگلا فلکسنسری) با جمعیت حدود 10^6 سلول در هر میلی لیتر بر روی سطح محیط کشت سالمونلا - شیگلا آگار تلقیح شد. سپس غلظت‌های 5 ، 10 ، 20 ، 30 ، 40 ، 50 و 60 میلی گرم در میلی لیتر از هریک از نانوذرات ترکیبی اکسید روی بر روی سطح محیط کشت سالمونلا - شیگلا آگار تلقیح شده با باکتری شیگلا فلکسنسری قرار داده شد و سپس پلیت‌ها در دمای 37°C درجه سانتی گراد برای مدت ۲۴ ساعت گرم‌گذاری شدند. هاله عدم رشد برای نشان دادن فعالیت ضدباکتری در نظر گرفته شد [۲۳].

۲.۵. تعیین غلظت بازدارنده کسری^۱ برای مخلوط نانوذرات و مواد ضد میکروب (پراکسید هیدروژن، هیپوکلریت سدیم)

شاخص غلظت بازدارنده کسری جهت بررسی اثر به کار بردن هم‌زمان نانوذرات و مواد ضد میکروب استفاده شد. ابتدا به لوله‌های حاوی محیط نوترینت برات، 1 میلی لیتر از هریک از رقت‌های مورد نظر تهیه شده از نانوذرات و مواد ضد میکروب (جدول ۲) ریخته شد. کنترل مثبت شامل 1 میلی لیتر سوسپانسیون

۳. یافته‌های پژوهش

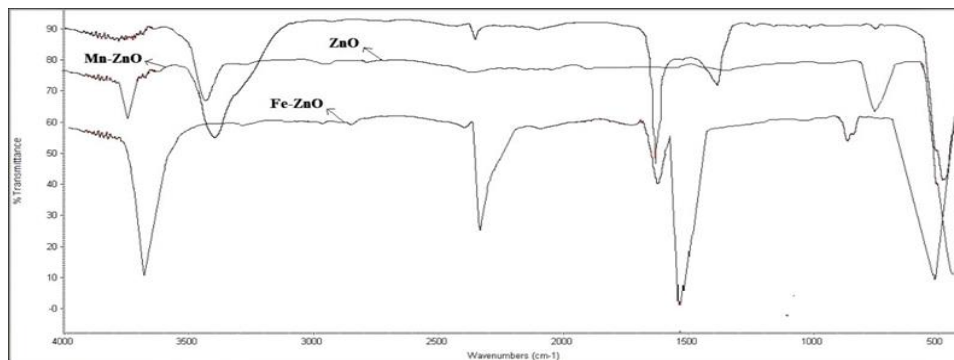
۳.۱. ویژگی‌های نانوذرات آهن - اکسید روی و نانوذرات

منگنز - اکسید روی

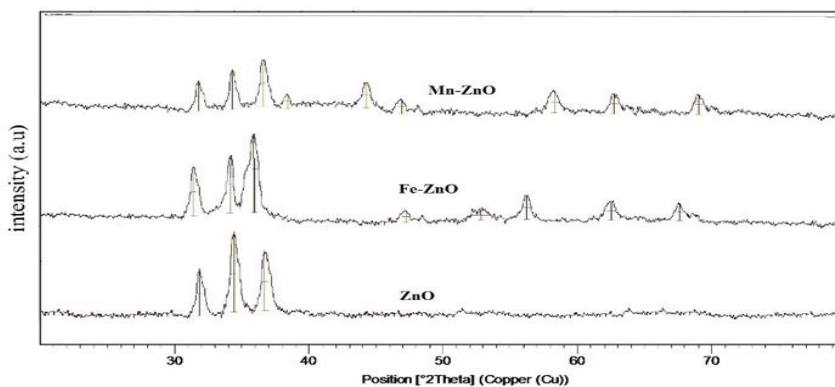
طیف مادون قرمز فوریه نانوذرات در شکل ۱ نشان داده شده

است.

شکل ۲ الگوی تفرق اشعه X مربوط به نانوذرات مورد مطالعه را نشان می‌دهد.



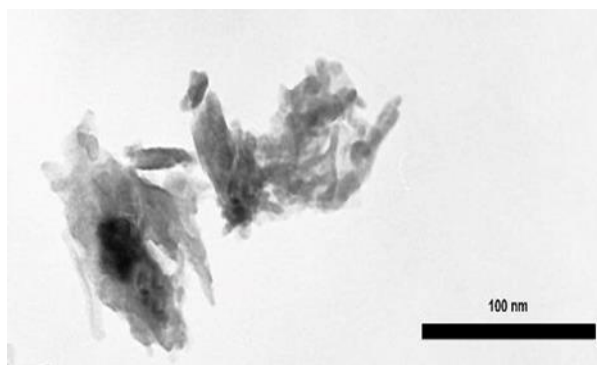
شکل ۱. طیف مادون قرمز فوریه نانوذرات



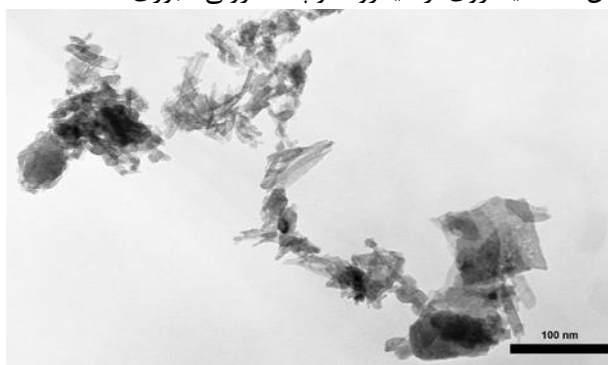
شکل ۲. طیف پراش اشعه x نانوذرات آهن و منگنز - اکسید روی

شد (شکل ۳).

برای بررسی خصوصیات ظاهری نانوذرات منگنز - اکسید روی و آهن - اکسید روی از میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده



(ب)



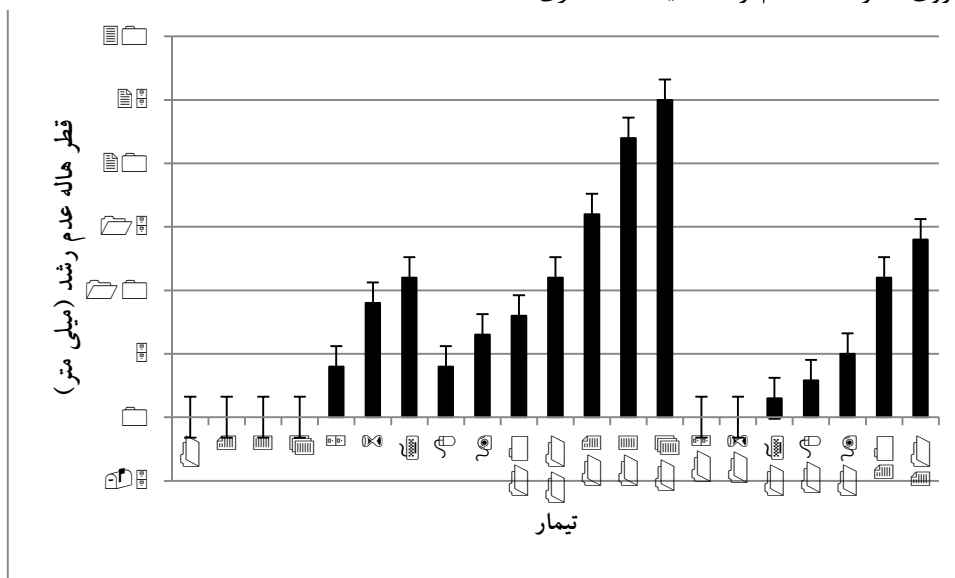
(الف)

شکل ۳. تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (بزرگ‌نمایی ۷۰,۰۰۰) الف: نانوذرات منگنز - اکسید روی؛ ب: نانوذرات آهن - اکسید روی

۳.۲. اثر ضد میکروبی بر محیط جامد

اندازه گیری شد (شکل ۴).

برای بررسی اثر ضد میکروبی غلظت‌های مختلف نانوذرات آهن و منگنز - اکسید روی قطر هاله عدم رشد شیگلا فلکسنری



شکل ۴. قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) شیگلا فلکسنری در غلظت‌های مختلف نانوذرات منگنز - اکسید روی و آهن - اکسید روی

اختصاصی در $44/43^{\circ}$ ، $38/25^{\circ}$ = 2θ شد [۲۸]. وجود عنصر آهن در ساختار اکسید روی موجب تغییر در شدت $34/47^{\circ}$ و $36/74^{\circ}$ شد که این اثر در سایر پژوهش‌ها نیز گزارش شده است [۱۰].

بررسی ویژگی‌های ظاهری نانوذرات حاصل با استفاده از میکروسکوپ عبوری مؤید ترکیب عناصر آهن و منگنز در ساختار اکسید روی است. نتایج بررسی‌های انجام شده توسط طیف مادون قرمز فوریه، الگوی تفرق اشعه x و تصاویر میکروسکوپی نانوذرات نشان دهنده مناسب بودن روش ترسیب هم‌زمان، در تولید نانوذرات آهن و منگنز - اکسید روی است.

نتایج بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات با استفاده از تعیین قطر هاله عدم رشد نشان داد نانوذرات منگنز - اکسید روی قطر هاله عدم رشد بیشتری نسبت به نانوذرات آهن - اکسید روی ایجاد می‌کنند که نشان دهنده قدرت بیشتر ضد میکروبی منگنز - اکسید روی در برابر شیگلا فلکسنری است. همچنین غلظت‌های مختلف بر خاصیت ضد میکروبی هر یک از نانوذرات مؤثر است و تمام ترکیبات مورد بررسی، در غلظت‌های بیشتر، اثر ضد میکروبی بیشتری نشان دادند. در غلظت 60 mg/ml از اکسید روی، منگنز - اکسید روی و آهن - اکسید روی، قطر هاله عدم رشد به ترتیب برابر با ۱۱، ۲۵ و ۱۴ میلی‌متر بود. این نتایج بیانگر افزایش قدرت اثر ضد میکروبی نانوذرة اکسید روی برابر شیگلا فلکسنری بر اثر ترکیب کردن عناصر منگنز و آهن

۳.۳. بررسی شاخص غلظت بازدارنده کسری و اثرات هم‌افزایی نانوذرات همراه با ترکیبات ضد میکروبی

جدول ۲ نشان دهنده حداقل غلظت بازدارنده و نیز شاخص غلظت بازدارنده کسری نانوذرات به تنهایی یا همراه با پراکسید هیدروژن و هیپوکلریت سدیم است. چنانچه مجموع شاخص غلظت بازدارنده کسری کمتر از $0/5$ باشد، نشان دهنده اثر هم‌افزایی و $0/5-0/75$ نشانگر اثر هم‌افزایی جزئی است.

۴. بحث و نتیجه گیری

با بررسی نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز فوریه، پیک ظاهر شده در طول موج $555-530 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به اکسید روی است [۲۶] که در هر سه طیف مشاهده می‌شود. پیک‌های قابل مشاهده در $1500-650 \text{ cm}^{-1}$ وجود آهن در ساختار نانوذرات آهن - اکسید روی را نشان می‌دهد [۲۷] پیک‌های ظاهر شده در طول موج‌های $1693-1528 \text{ cm}^{-1}$ ، 2348 cm^{-1} و $3850-3070 \text{ cm}^{-1}$ به ترتیب مربوط به پیوندهای $C=C$ ، $O=C=O$ و $C=O$ و $O=H$ هستند [۲۷]. پیوند $Zn\ Mn-O$ سبب ایجاد پیک در 443 cm^{-1} شده است [۲۸].

همچنین با بررسی الگوی تفرق اشعه x، پیک‌های پراش مربوط به اکسید روی شامل $36/36^{\circ}$ ، $34/56^{\circ}$ ، $31/86^{\circ}$ = 2θ است [۱۱]. وجود منگنز در ساختار اکسید روی سبب کاهش شدت این پیک‌ها، و همچنین سبب ظاهر شدن پیک‌های

را به تنهایی گزارش کردند که بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر گزارش شده است.

در ساختار آن است. شارما و همکاران [۲۹] افزایش اثر ضد میکروبی نانوذرات ترکیبی اکسید روی بر نانوذره اکسید روی

جدول ۲. حداقل غلظت بازدارندگی و شاخص غلظت بازدارنده کسری بر روی شیکلا فلسکنری

ΣFIC	Fe-ZnO + NaOCl	ΣFIC	Fe-ZnO + H ₂ O ₂	ΣFIC	Mn-ZnO + NaOCl	ΣFIC	Mn-ZnO + H ₂ O ₂	درصد بازدارندگی	(mg/ml) NaOCl	درصد بازدارندگی	(ml/ml) H ₂ O ₂	درصد بازدارندگی	Fe-ZnO (mg/ml)	درصد بازدارندگی	Mn-(mg/ml)ZnO
۰/۷۱	۰/۰۷ + ۲۰	۰/۷۵	۰/۰۰۱ + ۲۰	۰/۷۲	۰/۰۷ + ۱۰	۰/۷	۰/۰۰۱ + ۱۰	۲۶	۰/۰۷	۳۴	۰/۰۰۱	۲۲	۲۰	۲۰	۱۰
۰/۶۹	۰/۰۸ + ۳۰	۰/۷۲	۰/۰۰۲ + ۳۰	۰/۶۵	۰/۰۸ + ۲۰	۰/۵۲	۰/۰۰۲ + ۲۰	۶۴	۰/۰۸	۵۷	۰/۰۰۲	۵۵	۳۰	۴۵	۲۰
۰/۵۵	۰/۰۹ + ۴۰	۰/۶۳	۰/۰۰۳ + ۴۰	۰/۴۱	۰/۰۹ + ۳۰	۰/۴۲	۰/۰۰۳ + ۳۰	۷۸	۰/۰۹	۷۴	۰/۰۰۳	۶۸	۴۰	۶۹	۳۰
۰/۵۳	۰/۱ + ۵۰	۰/۵۲	۰/۰۰۴ + ۵۰	۰/۳۱	۰/۱ + ۴۰	۰/۳۷	۰/۰۰۴ + ۴۰	۸۸	۰/۱	۸۹	۰/۰۰۴	۸۹	۵۰	۸۵	۴۰
								۱۰۰	۰/۱۲۵	۱۰۰	۰/۰۰۵	۱۰۰	۶۰	۱۰۰	۵۰

ضدمیکروب را اثبات کرده‌اند؛ از جمله دانگ و همکاران [۳۱] هم‌افزایی نانوذرات نقره و دو ماده اکسیدکننده پراکسید هیدروژن و هیپوکلریت سدیم در برابر میکروارگانیسم‌های مختلف را گزارش کرده‌اند.

هندیانی و همکاران [۳۲] اثر هم‌افزایی کاربرد نانوذره نقره همراه با دو ماده ضدمیکروب (بیسموت اتان دی تیول و بیسموت پروپان دی تیول) را در برابر بیوفیلیم‌های باکتری *آسینتوباکتر بومانی* گزارش نموده‌اند. مطابق این تحقیق، استفاده هم‌زمان نانوذره با این دو ماده ضدمیکروب، شاخص غلظت بازدارنده کسری برابر با ۰/۰۵ داشته که نمایانگر اثر هم‌افزایی این ترکیبات با یکدیگر است که این اثر هم‌افزایی هم در برابر سلول‌های میکروب و هم در برابر بیوفیلیم میکروبی مشاهده شده است.

قدردانی و تشکر

این مقاله نتیجه بخشی از طرح مصوب مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره ۳۸۵۹۳ است. بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران که حامی مالی این طرح تحقیقاتی است، سپاس‌گزاریم. از آزمایشگاه میکروبیولوژی و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد نیشابور نیز جهت فراهم کردن امکانات انجام دادن این تحقیق تشکر می‌کنیم.

همچنین میزان حساسیت میکروارگانیسم‌های مختلف متفاوت بوده است که باسیلوس سوبتیلیس و *اشرشیاکلی* به ترتیب بیشترین و کمترین حساسیت را نشان داده‌اند. هاسان و همکاران [۳۰] با بررسی اثرات ضدمیکروبی نانوذرات ترکیبی نقره - اکسید روی بر *اشرشیاکلی* گزارش کردند که مواجهه به مدت ۳ ساعت سبب کاهش ۱/۳ لگاریتم در جمعیت این میکروارگانیسم و مواجهه به مدت ۶ ساعت سبب کاهش قابل توجه در میکروارگانیسم شده است؛ به طوری که به سطح غیرقابل تشخیص رسیده است.

نتایج بررسی حداقل غلظت بازدارندگی و شاخص غلظت بازدارنده کسری و هم‌افزایی نانوذرات همراه با پراکسید هیدروژن و هیپوکلریت سدیم نشان داد که نانوذرات منگنز - اکسید روی دارای غلظت بازدارندگی کمتری نسبت به آهن - اکسید روی در برابر *شیکلا فلکسنری* است. مخلوط دو ماده ضدمیکروب با نانوذرات سبب افزایش خاصیت ضدمیکروبی آن‌ها می‌شود که نانوذرات منگنز - اکسید روی همراه با پراکسید هیدروژن و هیپوکلریت سدیم در غلظت کم، دارای شاخص بازدارنده کسری بیشتر از ۰/۵ هستند؛ لذا اثر هم‌افزایی جزئی دارند و در سایر غلظت‌ها، شاخص بازدارنده کسری کمتر از ۰/۵ نشانگر اثر هم‌افزایی کامل است. نانوذرات آهن - اکسید روی و دو ترکیب ضدمیکروب مورد استفاده (پراکسید هیدروژن و هیپوکلریت سدیم) در تمام غلظت‌ها دارای شاخص بازدارنده کسری بیش از ۰/۵ هستند؛ بنابراین اثر هم‌افزایی جزئی دارند. سایر پژوهش‌ها نیز اثر هم‌افزایی نانوذرات با ترکیبات

References

- [1]. Fernandez-Garcia M, Martinez-Arias A, Hanson IC, Rodriguez JA. Nanostructured oxides in chemistry: characterization and properties. *Chemical Reviews* 2004; 104: 4063-104.
- [2]. Corr SA. Metal oxide nanoparticles. *Nanoscience* 2013; 1: 180-234.
- [3]. Tran N, Mir A, Mallik D, Sinha A, Navar S, Webster TJ. Bactericidal effect of iron oxide nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Nanomedicine* 2010; 5: 277-83.
- [4]. Whitesides GM. Nanoscience, nanotechnology, and chemistry. *Small* 2005; 1: 172-9.
- [5]. Sutradhar P, Saha M, Maiti DJ. Microwave synthesis of copper oxide nanoparticles using tea leaf and coffee powder extracts and its antibacterial activity. *Journal of Nanostructure in Chemistry* 2014; 4: (86): 1-6.
- [6]. Jin T, He Y. Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens. *Journal of Nanoparticle Research* 2011; 13: 6877-85.
- [7]. Kasraei S, Sami L, Hendi S, Alikhani MY, Rezaei-Soufi L, Khamverdi Z. Antibacterial properties of composite resins incorporating silver and zinc oxide nanoparticles on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus*. *Restorative Dentistry & Endodontics* 2014; 39: 109-14.
- [8]. Seil IT, Webster TJ. Antibacterial effect of zinc oxide nanoparticles combine with ultrasound. *Nanotechnology* 2012; 23: 495101.
- [9]. Zhang W, Shi X, Huang I, Zhang Y, Wu Z, Xian Y. Bacitracin-conjugated superparamagnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, characterization and antibacterial activity. *Chemphyschem* 2012; 13: 3388-96.
- [10]. Poloju, M, Jayababu N, Ramana Reddy, M.V. 2018. Improved gas sensing performance of Al doped ZnO/CuO nanocomposite based ammonia gas sensor. *Materials Science and Engineering. B* 227. 2018; 227: 61-67.
- [11]. Gupta K, Singh RP, Pandey A, Pandey A. Photocatalytic antibacterial performance of TiO₂ and Ag-doped TiO₂ against *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *E. coli*. *Beilstein Journal of Nanotechnology* 2013; 4:346-51.
- [12]. Muthukumaran S, Gopalakrishnan R. Structural, FTIR and photoluminescence studies of Cu doped ZnO nanopowders by co-precipitation method. *Optical Materials* 2012; 34: 1946-53.
- [13]. Hameed ASH, Karthikeyan C, Sasikumar S, Kumar VS, Kumaresan S, Ravi G. Impact of alkaline metal ions Mg²⁺, Ca²⁺, Sr²⁺ and Ba²⁺ on the structural, optical, thermal and antibacterial properties of ZnO nanoparticles prepared by the co-precipitation method. *Journal of Material Chemistry B*. 2013; 1: 5950.
- [14]. Gomathi Devi L, Nagaraj B. Disinfection of Escherichia coli Gram negative bacteria using surface modified TiO₂: optimization of Ag metallization and depiction of charge transfer mechanism. *Photochemistry and Photobiology* 2014; 5:1089-98.

- [15]. Bhushan M, Muthukamalam S, Sudharani S, Viswanath AK. Synthesis of α -Fe₂-xAg_xO₃ nanocrystals and study of their optical, magnetic and antibacterial properties. RSC Advances 2015; 5: 32006-14.
- [16]. Patil AB, Bhanage BM. Green methodologies in the synthesis of metal and metal oxide nanoparticles. In: Kharisov BI, Kharissova OV, Dias HVR, editors. Nanomaterials for environmental protection. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc.; 2014. p. 3-311.
- [17]. Bardhan P, Faruque AS, Naheed A, Sack DA. Decrease in shigellosis-related deaths without *Shigella* spp.-specific interventions, Asia. Emerging Infectious Diseases Journal 2010; 16: 1718-23.
- [18]. Liew PS, Teh CSI, Lau YL, Thong KL. A real-time loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Shigella* species. Tropical Biomedicine 2014; 31(4): 709-20.
- [19]. DuPont Herbert L, Levine Myron M, Hornick Richard B, Formal SB. 1989. Inoculum Size in Shigellosis and Implications for Expected Mode of Transmission Author (s): Herbert L. DuPont, Myron M. Levine, Richard B. Hornick and Samuel B. Formal Reviewed work (s): Published by: Oxford University Press Stable URL: <http://.> Journal of Infectious Diseases. 159(6): 1126±8. PMID: 2656880.
- [20]. Ahmed AM, Shimamoto T. Molecular characterization of multidrug-resistant *Shigella* spp. of food origin. Int J Food Microbiol [Internet]. 2015; 194:78±82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro>. 2014.11.013 PMID: 25485847.
- [21]. Mukhtar M, Munisa L, Saleh R. Co-Precipitation Synthesis and Characterization of Nanocrystalline Zinc Oxide Particles Doped with Cu²⁺ Ions. Materials Sciences and Applications. 2012; 3: 543-51
- [22]. Zapata A, Ramirez-Arcos S. A Comparative Study of McFarland Turbidity Standards and the Densimat Photometer to Determine Bacterial Cell Density. Current Microbiology. 2015; 70: 907-909.
- [23]. Sawai J, Kojima H, Igarashi H, Hashimoto A, Shoji S, Sawaki T, et al. Antibacterial characteristics of magnesium oxide powder. World Journal of Microbiology & Biotechnology 2000; 16(2): 187-94.
- [24]. Kumar KA, Mazumdar K, Dutta NK, Karak P, Dastidar SG, Ray R. Evaluation of synergism between the aminoglycoside antibiotic streptomycin and the cardiovascular agent amlodipine. Biological and Pharmaceutical Bulletin 2004; 27: 1116-20.
- [25]. Hameed ASH, Karthikeyan C, Sasikumar S, Kumar VS, Kumaresan S, Ravi G. Impact of alkaline metal ions Mg²⁺, Ca²⁺, Sr²⁺ and Ba²⁺ on the structural, optical, thermal and antibacterial properties of ZnO nanoparticles prepared by the co-precipitation method. Journal of Material Chemistry B 2013; 1: 5950.
- [26]. Malka E, Peralshstein I, Lipovsky A, Shalom Y, Naparstek L, Perkas N, Patick T, Lubart R, Nitzan Y, Banin E, Gedanken A. Eradication of multi-drug resistant bacteria by a novel Zn-doped CuO nanocomposite. Small 2013; 9: 4069-76.
- [27]. Muneer M. Ba-Abbad, Abdul Amir H. Kadhum, Abu Bakar Mohamad, Mohd S. Takriff and Kamaruzzaman Sopian. The effect of process parameters on the size of ZnO nanopartic synthesized via the sol-gel technique. Journal of Alloys and Compounds 2013; 8: 63-70.
- [28]. Amoupour E, Ghodsi FE, Andarva H, Abdolazadeh ziabari, A. Preparation and investigation of optical, structural, and morphological properties of nanostructured ZnO:Mn thin films. Pramana - Journal of Physics 2013; 81(2): 33-341.
- [29]. Sharma N, Jandaik S, Kumar S, Chitkara M, Singh Sandhu I. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of manganese- and iron-doped zinc oxide nanoparticles. Journal of Experimental Nanoscience 2015; 11:1, 54-71.
- [30]. Hassan, IA, Sathasivam S, Nair SP, Carmalt, CI. Antimicrobial Properties of Copper-Doped ZnO Coatings under Darkness and White Light Illumination. ACS Omega 2017; 2, 4556-62.
- [31]. Dong X, Koo Y, Tang Y, Yun Y, Yang Y. 2015. Superior Antibacterial Activity of Photochemical Synthesized Ag-CNT Composites and their Synergistic Effects in Combination with other Antimicrobial Agents. Journal of Nanomedicine and Nanotechnology 2015; 6(3): 1-7.
- [32]. HENDIANI S, ABDI A A, MOHAMMADI P, KHARRAZI SH. Synthesis of silver nanoparticles and its synergistic effects in combination with imipenem and two biocides against biofilm producing *Acinetobacter baumannii*. Nanomedicine Journal 2015; 2(3): 291-98.

Assessment the Antimicrobial Impacts of Manganese and Iron Doped Zinc Oxide Nanoparticles against *Shigella Flexneri*

Soltan-Dallal M.M.¹, Didar Z.^{2*}

1. Department of Pathobiology, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran
2. Department of Food Science and Technology, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran

Abstract

Introduction: Increasing the resistance of microorganism against the common anti-microbial compounds is one of the major public health issue. Therefore, researches focused on finding novel antimicrobial compounds. Nanoparticles are compounds with unique properties such as antimicrobial properties.

Methods: In this study, the synthesis of nanoparticles of manganese-zinc oxide and zinc iron oxide by chemical co- precipitation method performed and assessment the composition of resulted nanoparticles performed via Fourier Infrared spectrum, X-ray diffraction and Transmission electron microscopy. Antimicrobial effects against *shigella flexneri* (PTCC 1234) determined by inhibitory diameter zone method. Synergistic effect of nanoparticle with hydrogen peroxide and hypochlorite sodium also assessed by calculation of the fractional inhibitory concentration (FIC) index.

Results: Structural analysis of Mn- ZnO and Fe- ZnO nanoparticle revealed that co- precipitation is a suitable method for synthesis of these nanoparticles. Results of antimicrobial tests showed that Mn- ZnO nanoparticles has more antibacterial effect against *shigella flexneri* than Fe- ZnO nanoparticles. Inhibitory zone diameter of Mn- ZnO and Fe- ZnO were 25 and 14 mm, respectively. In addition, both obtained nanoparticle exhibited more antimicrobial effect than zinc oxide nanoparticle. This result imply increasing antimicrobial effect of zinc oxide nanoparticle by combination with Mn or Fe. Furthermore, combination of nanoparticles with hydrogen peroxide and hypochlorite sodium showed synergistic effects.

Conclusion: Mn- ZnO and Fe- ZnO have antimicrobial properties against *Shigella flexneri*, and show synergistic effect with hydrogen peroxide and sodium hypochlorite.

Received: 2018/04/18

Accepted: 2018/12/11

Keywords: Zinc oxide, Synergistic, *Shigella flexneri*.