Original Paper

Antibacterial activity of ZnO nanoparticles on standard and isolated strains of *Salmonella enteritidis* and *Bacillus cereus* associated with Iranian foods

Shima Naddafi (M.Sc), M.Sc in Food Microbiology, Department of Pathobiology, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0002-0746-3994

***Mohammad Mehdi Soltan Dallal (Ph.D)**, **Corresponding Author**, Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran; Professor, Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. **E-mail: msoltandallal@gmail.com** ORCID ID: 0000-0002-4900-9458

Alireza Partoazar (Ph.D), Assistant Professor, Experimental Medicine Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0001-5559-2873

Zahra Dargahi (M.Sc), M.Sc in Food Microbiology, Department of Pathobiology, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0003-3625-1760

Abstract

Background and Objective: The emergence of Gram-positive and Gram-negative bacteria resistant to antibiotics is a crisis worldwide. In this study, the antibacterial effect of zinc oxide nanoparticles was evaluated on standard and food isolated strains of *Salmonella enteritidis* and *Bacillus cereus*.

Methods: This descriptive laboratory study, zinc oxide nanoparticles were prepared on zeolite materials, and zinc level was determined using XRF. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of ZnO nanoparticles were determined using disc diffusion method.

Results: MIC value for all tested bacteria was 4 mg/ml and MBC values of standard and isolated strains of *Salmonella enteritidis* were 16 and 8 mg/ml, respectively, and for standard and isolated strains of *Bacillus cereus* was calculated in the range of 16 mg/ml.

Conclusion: Zinc oxide nanoparticles can inhibit *Salmonella enteritidis* and *Bacillus cereus* strains and may have a potential for its replacement with current preservatives to prevent food spoilage in industry.

Keywords: *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, Zinc oxide, Nanoparticles, Antibacterial activity, Food

Received 10 Jun 2019 **Revised** 11 Sep 2019 **Accepted** 22 Sep 2019

Cite this article as: Naddafi Sh, Soltan Dallal MM, Partoazar A, Dargahi Z. [Antibacterial activity of ZnO nanoparticles on standard and isolated strains of *Salmonella enteritidis* and *Bacillus cereus* associated with Iranian foods]. J Gorgan Univ Med Sci. 2020 Summer; 22(2): 82-88. [Article in Persian]

تحقیقی

اثر ضدباکتریایی نانو ذره اکسید روی بر سویه‌های استاندارد، جدایه *سالمونلا اینتریتیدیس* و *باسیلوس سرئوس* از مواد غذایی

شیما ندافی، کارشناس ارشد میکروب شناسی مواد غذایی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. ORCID ID: 0000-0002-0746-3994

*** دکتر محمد مهدی سلطان دلال**، استاد، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران؛ استاد، مرکز تحقیقات میکروب شناسی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. ORCID ID: 0000-0002-4900-9458

دکتر علیرضا پرتوآذر، استادیار، مرکز تحقیقات طب تجربی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. ORCID ID: 0000-0001-5559-2873

زهرا درگاهی، کارشناس ارشد میکروب شناسی مواد غذایی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. ORCID ID: 0000-0003-3625-1760

چکیده

زمینه و هدف: *پیدایش گونه‌های باکتری گرم مثبت و گرم منفی که در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند؛ در سرتاسر جهان یک تهدید برای عموم به‌شمار می‌رود. این مطالعه به منظور تعیین فعالیت ضدباکتریایی نانو ذره اکسید روی بر سویه های استاندارد، جدایه سالمونلا اینتریتیدیس و باسیلوس سرئوس از مواد غذایی انجام شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی، نانو ذره اکسید روی از ژئولیت تهیه گردید و مقدار آن با استفاده از XRF تعیین شد. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (Minimum Bactericidal Concentration: MBC) با استفاده از روش انتشار دیسک تعیین شدند.*

یافته ها: *مقدار MIC نانو ذره اکسید روی برای همه باکتری‌های مورد آزمایش ٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و مقادیر MBC این ماده برای سویه استاندارد و جدایه سالمونلا اینتریتیدیس به ترتیب برابر با ١٦ و ٨ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای سویه استاندارد و جدایه باسیلوس سرئوس ١٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید.*

نتیجه‌گیری: *مطالعه حاضر نشان داد که می توان از نانو ذره اکسید روی برای مهار جدایه سالمونلا اینتریتیدیس و باسیلوس سرئوس از مواد غذایی استفاده نمود و پتانسیل مناسبی برای جایگزینی مواد نگهدارنده برای جلوگیری از فساد مواد غذایی است.*

کلید واژه‌ها: *سالمونلا اینتریتیدیس ، باسیلوس سرئوس ، نانو ذره اکسید روی ، فعالیت ضدباکتریایی ، مواد غذایی*

* نویسنده مسؤول : دکتر محمد مهدی سلطان دلال ، پست الکترونیکی msoltandallal@gmail.com

نشانی : تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، گروه پاتوبیولوژی، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی/ بخش میکروب شناسی مواد غذایی

تلفن و نمابر ۸۸۹۹۲۹۷۱-۰۲۱

وصول مقاله: ۱۳۹۸/۳/۲۰ ، اصلاح نهایی: ۱۳۹۸/٦/۲۰ ، پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/٦/۳۱

مقدمه

یکی از شایع‌ترین بیماری‌های منتقله از غذا، سالمونلوزیس است که توسط سروتیپ‌های مختلف باکتری سالمونلا ایجاد می‌شود و نگرانی‌های حاکی از وجود آلودگی طیور و فرآورده‌های آن به این میکروارگانیسم وجود دارد. سالمونلا یکی از عوامل باکتریایی بیماری‌زای مشترک بین انسان و طیور است. از نظر بهداشت عمومی مسمومیت‌های غذایی ناشی از باکتری‌های گروه سالمونلا به‌علت تعدد سروتایپ‌ها، میزبان‌های متفاوت و نیز نقش موثر ناقلین طبیعی‌شان، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. *باسیلوس سرئوس* باکتری میله‌ای شکل گرم مثبت و اسپورزا است. اسپورهای *باسیلوس سرئوس* و اشکال رویشی به‌طور گسترده‌ای در طبیعت، آب و خاک پراکنده شده‌اند. به‌طوری که می‌توان آنها را از مواد غذایی گوناگون جدا نمود. *باسیلوس سرئوس* به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل شایع مسمومیت غذایی در انسان شناخته شده است. این باکتری از مهم‌ترین بیماری‌زاهای مواد غذایی مختلف همچون لبنیات، غلات، برنج و نیز مواد گوشتی است. *باسیلوس سرئوس* با سنتز دو نوع سم، یکی عامل اسهال و دیگری عامل تهوع موجب بیماری و مسمومیت غذایی می‌شود. بیماری‌های دیگری که توسط *باسیلوس سرئوس* ایجاد می‌گردد؛ ماستیست گاوی، منتژیت، آندوکاردیت، عفونت‌های خونی و عفونت‌های چشمی هستند. عوامل ضدمیکروبی بر اساس ترکیب شیمیایی به دو دسته عوامل ضدمیکروبی آلی و غیرآلی تقسیم می‌شوند. بسیاری از نواقص عوامل ضدمیکروبی آلی منجر به محدودیت استفاده آنها شده است. از بین عوامل ضدمیکروبی غیرآلی، اکسید نانو ذرات بسیار مورد توجه بوده و در مطالعات مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌اند. محققین زیادی در مطالعه خود به این نتیجه رسیده‌اند نانو اکسید

فلزات بسیار فعال بوده و در مقابل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی فعالیت باکتری‌کشی فوق العاده‌ای نشان می‌دهند (۱). اکسید روی با خواص فیزیکی و شیمیایی خاص خود یک ماده چند عملکردی است که در صنایع مختلفی مثل الکترونیک، اپتوالکترونیک، لیزر و همین طور صنایع سرامیک، نساجی، کشاورزی، آرایشی و داروسازی کاربرد دارد و به خاطر سمیت پایین آن و قابلیت تجزیه زیستی یک ماده مناسب برای تحقیقات زیست پزشکی و سیستم‌های طرفدار محیط زیست است. اکسید روی به علت ویژگی‌های ضدمیکروبی، ضدعفونی کنندگی و خشک‌کننده‌اش به‌طور گسترده در تولید انواع مختلف داروها استفاده می‌شود. Reddy و همکاران اثرات ضدمیکروبی نانو ذرات اکسید روی را بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* بررسی و مشاهده کردند که باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با باکتری گرم منفی *اشریشیاکلی* حساسیت بیشتری نسبت به نانو ذرات اکسید روی دارد (۲). Gunalan و همکاران نانو ذرات اکسید روی را سنتز کرده و خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی آن را بر روی ۴ سویه باکتری و ۴ سویه قارچ مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که فعالیت ضدمیکروبی نانو ذرات به دوز نانو ذرات، زمان تماس، اندازه ذرات و روش سنتز بستگی دارد (۳). این مطالعه به منظور تعیین فعالیت ضدباکتریایی نانو ذره اکسید روی بر سویه‌های استاندارد، جدایه *سالمونلا اینتریتیدیس* و *باسیلوس سرئوس* از مواد غذایی انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی بر روی ۲ باکتری عامل بیماری‌زایی که طی مطالعات قبلی (۴و۵) جدا شده بود؛ در کنار دو سویه استاندارد از همان باکتری در مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد.

مطالعه مورد تایید کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی (IR.TUMS.VCR.REC.1397.484) قرار گرفت.

آماده سازی زئولیت: ابتدا زئولیت از نوع کلینوپتیلولیت clinoptilolite سدیم- پتاسیمی با خلوص متوسط ۸۰ درصد از شرکت افرازند واقع در سمنان تهیه شد. ۶۰۰ گرم از آن وزن شد و سپس ۳ مرتبه با ۵۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه شستشو داده شد. به مدت یک شبانه روز در دمای محیط خشک گردید و روز بعد با استفاده از انکوباتور با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت گرما داده شد تا کاملاً خشک گردید.

تهیه نانو ذرات زینک اکساید لود شده در زئولیت با روش شیمیایی: مقدار ۱۰۰ گرم زئولیت با ۷۰ گرم استات روی در داخل بشر ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و ۴۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به آن اضافه گردید و pH آن اندازه گیری شد که pH مساوی ۶ بود. سپس این ساختار درون بشر بر روی دستگاه مگنت استیرر Magnet stearer در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد و به آرامی به منظور بالا بردن اندازه pH به تدریج به ساختار مورد نظر سود ۲ مولار اضافه گردید 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) محتوی بشر فیلتر شد (۶).

تهیه زینک اکساید لود شده در زئولیت: ابتدا مقدار ۱۰۰ گرم زئولیت با ۷۰ گرم استات روی در داخل بشر ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و ۴۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به آن اضافه گردید. این ساختار درون بشر بر روی دستگاه مگنت استیرر Magnet stearer گذاشته 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) محتوی بشر فیلتر شد و بعد محتویات روی فیلتر با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه شستشو داده شد.

هر دو محتوی فیلتر شده به پلیت شیشه‌ای منتقل و و به مدت یک شبانه روز در دمای محیط خشک گردید. در روز دوم، پلیت به مدت ۲ ساعت در انکوباتور با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد و سپس در فور با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت قرار داده شد. سپس برای کلسینه کردن ماده حاصله از کوره ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت استفاده شد (۶). در انتها برای سنجش مقدار زینک اکساید، در آزمایشگاه دانشگاه تربیت مدرس XRF (Model: PW 2404, Company: Philips, Country: Holland) انجام شد.

آماده‌سازی سویه‌های میکروبی: سویه‌های استاندارد *سالمونلا اینتریتیدیس* ATCC 13076 و *باسیلوس سرئوس* ATCC 11778 استفاده شده در این مطالعه از شرکت تعاونی دانش بنیان زیست رویش که به صورت فریز خشک نگهداری شده بودند؛ تهیه گردید. ابتدا در محیط کشت تریپتیک سوی براث 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 گردید. به‌منظور تهیه سوسپانسیون باکتریایی برای انجام آزمایشات در هر روز، ابتدا نیم مک فارلند ($۱/۵\times۱۰^{۸}$–۱ 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 nm اندازه‌گیری شد (۱).

تست حساسیت ضدمیکروبی: از هر چهار نمونه، نانو ذره 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 برای حل شدن ورتکس گردید و به مدت ۲۴ ساعت در

دمای محیط نگهداری شد. بعد از آن supernatant جدا شده و اتوکلاو گردید. برای هر ۴ باکتری به‌طور جداگانه از ۸ لوله استریل که هر کدام حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط تریپتیک سوی براث (TSB) استریل و سوسپانسیون نانو ذره 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 به میزان ۵۰ میکرولیتر اضافه شد (۷). یک لوله به‌عنوان شاهد منفی بود و سوسپانسیونی در آن ریخته نشد. یک لوله حاوی سوسپانسیون میکروبی فاقد نانو ذره به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و جواب با مشاهده کدورت و شفافیت به صورت رشد، یا عدم رشد در نظر گرفته شد. به این ترتیب میزان MIC نانو ذره اکسید روی برای هریک از میکروارگانیسم‌ها تعیین شد. کمترین غلظت از سوسپانسیون نانوذره که کدورت در لوله نشان نداد؛ به عنوان حداقل غلظت ممانعت کننده رشد نانو ذره تعیین شد. در لوله‌هایی با عدم رشد، با انجام یک کشت مجدد بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار MBC تعیین شد. این بررسی‌ها سه بار تکرار شد (۷).

انتشار دیسک: دیسک‌های بلانک استریل در غلظت‌های مختلف تهیه شده، به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. تعدادی دیسک در استات روی و آب مقطر به عنوان شاهد مثبت و منفی قرار داده شد. بعد از دیسک‌گذاری توسط پنس استریل، پلیت‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده و هاله‌های عدم رشد (در صورت ایجاد) با خط کش، همانند روش اندازه‌گیری دیسک‌های آنتی‌بیوگرام اندازه‌گیری و یادداشت گردید (۱).

یافته‌ها

مقدار اکسید روی در سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی و سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی با استفاده از دستگاه XRF تعیین شد (جدول یک) که مقدار اکسید روی در سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی ۸/۳۵۸ و مقدار اکسید روی در سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی ۲۵/۱۴۹ تعیین گردید.

نتایج تست حساسیت ضد میکروبی: مقادیر حداقل غلظت بازدارنده رشد سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی علیه همه باکتری‌های مورد آزمایش در این مطالعه ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود و مقادیر حداقل غلظت بازدارنده رشد استات روی علیه همه 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 بوده است. مقادیر حداقل غلظت کشندگی سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی علیه سویه استاندارد و جدایه *سالمونلا اینتریتیدیس* به ترتیب برابر با ۱۶ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای سویه استاندارد و جدایه *باسیلوس سرئوس* ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید و 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 بوده است.

نتایج انتشار دیسک: نتایج بررسی ضدمیکروبی سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی با روش دیسک دیفیوژن نشان داد که *سالمونلا اینتریتیدیس* با کد شناسایی ATCC 13076 در غلظت ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانو ذره اکسید روی دارای بیشترین اثر مهار کنندگی رشد است که با کاهش غلظت نانو ذره از اثرات مهاری آن کاسته شده است (جدول ۲ و شکل یک). سوسپانسیون کامپوزیت غیرنانو اکسید روی و زئولیت اثر مهاری بر روی باکتری‌های مورد آزمایش نداشت و هاله عدم رشدی نداشتند.

جدول ۱ : مقایسه درصدهای مختلف عناصر موجود در سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی و سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی

عناصر	درصد سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی	درصد سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی
L.O.I.	۹/۱۲	۹/۰۶
MgO	۰/۵۶۸	۰/٤۷۸
Al2O3	۸/۹۰۵	۷/٦٤۳
SiO2	٦۵/۸۱۹	۵۰/۲۳۲
P2O5	۰/۰۳۱	۰/۰۳
SO3	۰/۱۵۳	۰/۱۰۲
Cl	۰/۰٤	۰/۰۳۹
K2O	۱/۳۲٤	۱/۰۲۹
CaO	۳/٦٦۱	٤/۳۳۳
TiO2	۰/۱٤٤	۰/۱۱۷
MnO	۰/۰۵۳	۰/۰۳۹
Fe2O3	۱/۲۹۱	۱/۱۵٤
Co	۰/۰۳	
Ni	۰/۰۷۲	۰/۰۰۹
Cu	۰/۰۰۵	
ZnO	۸/۳۵۸	۲۵/۱٤۹
Rb	۰/۰۰٤	۰/۰۰٤
Sr	۰/۱۳۳	۰/۱۳۵
Zr	۰/۰۳٦	۰/۰۳٤
Ba	۰/۲۳۳	۰/۳۸۲
Pb	۰/۰۲	۰/۰۳۲

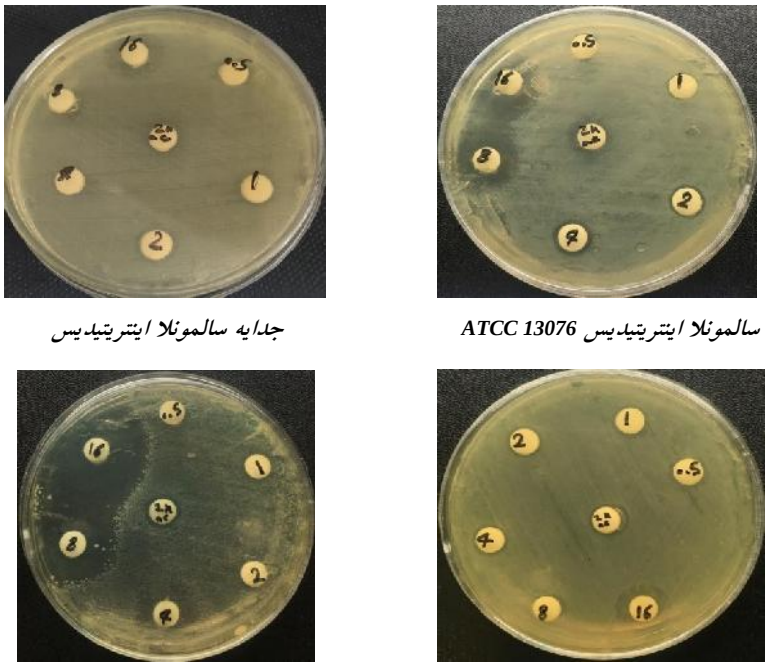
بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی بر همه باکتری‌ها اثرات ضدمیکروبی بهتری نسبت به سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی، زئولیت و استات روی داشت. در طی این بررسی، با افزایش غلظت محلول نانو ذره، فعالیت ضدباکتریایی افزایش یافت. در مطالعه حسین خانی و همکاران نشان

جدول ۲: تاثیر نانو ذره اکسید روی بر روی باکتری‌های سالمونلا اینتریتیدیس و باسیلوس سرئوس بر اساس قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر

باکتری	غلظت نانو ذره (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)							
	۰/۵	۱	۲	٤	۸	۱٦	مثبت	منفی
سالمونلا اینتریتیدیس ATCC 13076	۰	۰	۰	۸	۱۲	۱۹	۱۰	۰
جدایه سالمونلا اینتریتیدیس	۰	۰	۸	۹	۱۰	۱٤	۱۰	۰
باسیلوس سرئوس ATCC 11778	۰	۰	۰	۰	۹	۱۱	۱۰	۰
جدایه باسیلوس سرئوس	۰	۰	۰	۰	۹	۱۲	۱۰	۰

شاهد مثبت: دیسک آغشته به استات روی با غلظت ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، شاهد منفی: دیسک آغشته به آب مقطر



سالمونلا اینتریتیدیس ATCC 13076 — جدایه سالمونلا اینتریتیدیس

باسیلوس سرئوس ATCC 11778 — جدایه باسیلوس سرئوس

شکل ۱ : مقایسه نتایج بررسی ضدمیکروبی سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی با روش دیسک دیفیوژن

داده شد با استفاده از نانو ذرات می‌توان رشد باکتری‌های بیماری‌زایی چون *شیگلا دیسنتری* را مهار کرد (۸). در مطالعه Liu و همکاران عنوان شد که نانو ذرات اکسید روی به عنوان یک عامل ضدباکتری موثر برای حفاظت از امنیت غذایی کشاورزی و مواد غذایی می‌تواند به‌طور بالقوه استفاده شود (۹). Sawai و Yoshikawa با بررسی اثر ضدمیکروبی پودرهای اکسید روی، اکسید مس و اکسید منیزیم گزارش کردند که این سه اکسید فلزی قدرت ضدمیکروبی خوبی در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها دارند (۱۰). Parish نیز استفاده ایمن از نانو ذره اکسید روی در مصرف غذایی را با اثر دادن آن بر آب پرتقال نشان داد (۱۱). Adams و همکاران تولید گونه‌های حاوی اکسیژن فعال را یکی از مهم‌ترین دلایل فعالیت ضدمیکروبی نانو ذرات اکسید روی ذکر کردند (۱۲). حسینی و همکاران اثر ضد قارچی نانو ذره اکسید روی را بر مهار رشد سویه استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* با روش میکرو براث دایلوشن در مقایسه با داروی فلوکونازول بررسی کردند و نانو ذره اکسید روی به عنوان گزینه مناسب برای حذف *کاندیدا آلبیکنس* در حیطه پزشکی، به ویژه در ارتباط با وسایل پزشکی توصیه شد (۱۳). Zhang و Chen 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 (۱۴). Sinha و همکاران در بررسی اثرات ضدمیکروبی نانو ذرات اکسید روی نشان دادند که گونه‌های گرم منفی انتوباکتر و مارینوباکتر حساسیت بیشتری به این نانو ذرات در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت *باسیلوس سوبتلیس* دارند. علت مقاوم بودن باکتری‌های گرم مثبت به وجود لایه‌های پپتید و گلیکانی ضخیم در این باکتری‌ها نسبت داده می‌شود (۱۵) که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. امامی و همکاران در بررسی کارایی ضدمیکروبی نانو ذره اکسید روی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی با مقادیر حداقل غلظت بازداری نانو ذرات اکسید روی برای *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۱ و ۰/۵

میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان دادند که باکتری‌های گرم منفی نسبت به نانو ذرات اکسید روی مقاوم‌تر از باکتری‌های گرم مثبت هستند که با مطالعه حاضر همخوانی ندارد و مشخص شد که فعالیت ضدباکتری نانو ذرات اکسید روی با کاهش اندازه ذرات و افزایش غلظت پودر افزایش می‌یابد که با این مطالعه همخوانی دارد. اثر ضدباکتری نانو ذرات وابسته به زمان بوده و به تدریج اثر می‌گذارد و پودر فله اکسید روی هیچ فعالیت ضدباکتری قابل توجهی را نشان نداد (۱۶). برادران کتابچی و همکاران در ارزیابی فعالیت مهارکنندگی نانو ذره اکسید روی بر سویه‌های استاندارد و ایزوله *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* جداشده از مواد غذایی با مقادیر حداقل غلظت بازداری و باکتری‌کشی نانو ذرات اکسید روی برای میکروارگانیسم‌های حساس به ترتیب در محدوده ۳۱۲/۵- ۷۸/۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۲۵۰۰-۱۵۶/۲۵ نشان دادند که از نانو ذرات اکسید روی برای مهار باکتری‌های یاد شده می‌توان استفاده نمود و پتانسیل مناسبی برای جایگزینی مواد نگهدارنده برای جلوگیری از فساد مواد غذایی است (۱۷). حسین‌زاده و همکاران در مورد کارایی ضدمیکروبی سوسپانسیون نانوذره اکسید روی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی با مقادیر حداقل غلظت بازداری نانو ذرات اکسید روی برای *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *پسودوموناس آئروژینوزا* به ترتیب ۱۲۵۰ و ۶۲۵ و ۱۲۵۰ و ۱۵۶/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان دادند که نانو ذره اکسید روی اثر ضدباکتریایی داشته و می‌تواند به عنوان گزینه مناسبی برای حذف باکتری‌های گرم مثبت و منفی به‌ویژه باکتری‌های عامل عفونت‌های بیمارستانی استفاده گردد (۱). لازم به ذکر است که نانوذرات تهیه شده با روش شیمیایی اثر ضدمیکروبی ضعیف‌تر از انواع نانو ذرات سبز دارند. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان دریافت که باکتری *سالمونلا اینتریتیدیس* حساسیت بیشتری نسبت به *باسیلوس سرئوس* در برابر نانو ذرات اکسید روی دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که می‌توان از نانو ذره اکسید روی برای مهار جدایه *سالمونلا اینتریتیدیس* و *باسیلوس سرئوس* از مواد غذایی استفاده نمود و پتانسیل مناسبی برای جایگزینی مواد نگهدارنده برای جلوگیری از فساد مواد غذایی است. همچنین می‌توان به استفاده از این نانو ذرات در بخش‌های مختلف صنایع غذایی برای مهار یا کاهش رشد میکروارگانیسم‌های موجود در غذا در آینده نزدیک امیدوار بود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب (کد ۳۹۰۷۸) مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی تهران و همچنین حاصل پایان‌نامه خانم شیما ندافی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته میکروب شناسی مواد غذایی از دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران بود. 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. Hoseinzadeh E, Samargandi M R, Alikhani M Y, Roshanaei G, Asgari G. [Antimicrobial Efficacy of Zinc Oxide Nanoparticles Suspension Against Gram Negative and Gram Positive Bacteria]. Iranian Journal of Health and Environment. 2012; 5(3): 331-42. [Article in Persian]

2. 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): 213902-1-213902-3. DOI: 10.1063/1.2742324

3. Gunalan S, Sivaraj R, Rajendran V. Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. Pro Nat Sci-Mater. 2012; 22(6): 695-700. https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2012.11.015

4. Ghourchian S, Douraghi M, Baghani A, Soltan Dallal M. Bacillus cereus Assessment in Dried Vegetables Distributed in Tehran, Iran. J Food Qual Hazards Control. 2018; 5(1): 29-32.

5. Rahimi Nadi Z, Zahraei Salehi T, Ashrafi Tamai I, Rahimi Foroushani A, Sillanpaa M, Soltan Dallal MM. Evaluation of antibiotic resistance and prevalence of common Salmonella enterica serovars isolated from foodborne outbreaks. Microchemical Journal. 2020; 155: 104660. https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104660

6. 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 Nov; 68: 505-11. DOI: 10.1016/j.msec.2016.06.028

7. Masiha AR, Baradaran M, Isazadeh K. [Evaluate the inhibitory activity of ZnO nanoparticles against standard strains and isolates of Staphylococcus aureus and Escherichia coli isolated from food samples]. Journal of Food Microbiology. 2017; 4(1): 63-74. [Article in Persian]

8. Hosseinkhani P, Zand AM, Imani S, Rezayi M, Rezaei Zarchi S. Determining the antibacterial effect of ZnO nanoparticle against the pathogenic bacterium, Shigella dysenteriae (type 1). Int J Nano Dimens. 2011; 1(4): 279-85. DOI: 10.7508/IJND.2010.04.006

9. Liu Y, He L, Mustapha A, Li H, Hu Z, Lin M. Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against Escherichia coli O157: H7. J Appl Microbiol. 2009 Oct; 107(4): 1193-201. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04303.x

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(4): 803-809. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2004.02234.x

11. Parish ME. Orange juice quality after treatment by ZnO nanoparticle or thermal pasteurization isostatic high pressure. Lebenson Wiss Technol. 1998; 31(5): 439-42.

12. Adams LK, Lyon DY, Alvarez PJJ. Comparative ecotoxicity of nanoscale TiO2, SiO2, and ZnO water suspensions. Water Research. 2006; 40(19): 3527-32. https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.08.004

13. Hosseini SS, Joshagani HR, Eskandari M. [Colorimetric MTT assessment of antifungal activity of ZnO nanowires against candida dubliensis bioflm]. Jundishapur Sci Med J. 2013; 12(1): 69-80. [Article in Persian]

14. Zhang H, Chen G. Potent antimicrobial activity of Ag/TiO2 nanocomposite powder synthesized by a one-pot sol-gel method. Environ Sci Technol. 2009 Apr; 43(8): 2905-10. DOI: 10.1021/es803450f

15. 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 Jan; 102(2): 1516-20. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.07.117

16. Emami-Karvani Z, Chehrazi P. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle on gram-positive and gram-negative bacteria. African J Microbiol Res. 2011; 5(12): 1368-73. https://doi.org/10.5897/AJMR10.159

17. Baradaran 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]. Journal of Food Microbiology. 2017; 4(1): 63-74. [Article in Persian]