مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۳، شماره ۴، تیر ۱۳۹۴
صفحه: ۲۰۸۲-۲۰۷۰

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 23, No.4, Jun-Jul 2015
Pages: 2070-2082

سنتز نانوذرات اکسیدروی با استفاده از روش آسیاکاری پرانرژی و بررسی خاصیت ضدمیکروبی آن

نرجس محمدی[۱]، محبوبه میرحسینی*[۲]، مریم شیرزاد[۳]، علی دهقان همدان[۴]، نازیلا یزدانی کشکولی[۵]

چکیده

مقدمه: زیست شناسان از نانوذرات اکسیدروی (ZnO) به طور فزاینده‌ای در کاربردهای زیستی استفاده کرده‌اند. هداف این تحقیق امکان سنجی ساخت نانوذرات اکسیدروی به روش آسیاکاری پرانرژی و بررسی خاصیت ضدمیکروبی آنها می‌باشد.

روش بررسی: روش آسیاکاری پر انرژی برای تولید نانوذرات اکسیدروی از پودر میکرونی آن مورد استفاده قرار گرفت. سپس حالت فازی، مورفولوژی و اندازه نانوذرات اکسیدروی سنتز شده با دستگاه (PSA: Particle Size Analyzer)، پراش اشعه ایکس (XRD)، طیف سنج مرئی- فرابنش (UV- Vis) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین خاصیت ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی علیه باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس آرئوس بررسی گردید.

نتایج: بررسی ویژگی نانوذرات اکسید روی سنتزی نشان داد که اندازه نانوذرات در محدوده ۲۰ تا ۹۰ نانومتر قرار دارد و مورفولوژی آنها به صورت نانومیله و نانوذره با سطح مقطع چند وجهی است. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات اثر ضد میکروبی افزایش یافته و باکتری استافیلوکوکوس آرئوس در غلظت‌های ۶ و ۱۰ میلی‌مولار به ترتیب ۰/۵±۳ و ۰/۵±۷ میلی‌متر قطر هاله عدم رشد داشته است. MIC و MBC نانوذرات اکسیدروی تهیه شده برای باکتری استافیلوکوکوس آرئوس به ترتیب۰±۲/۵ و ۰±۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای باکتری اشریشیاکلی ۰±۷/۵ و ۰±۸ به دست آمد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که می‌توان نانوذرات و نانومیله‌های اکسیدروی را با اعمال فرآیند آسیاکاری پر انرژی روی ذرات میکرونی اکسیدروی تهیه کرد. همچنین بر اساس نتایج به دست آمده می‌توان از آنها در بسته‌بندی مواد غذایی و فرآیند محافظت از مواد غذایی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: آسیاکاری پر انرژی، نانوذرات اکسیدروی، نانومیله‌ها، ضدباکتریایی، استافیلوکوکوس آرئوس، اشریشیاکلی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشگاه پیام نور، ایران
۲- استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه پیام نور، دانشگاه پیام نور، ایران
۳،۵- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشگاه پیام نور، ایران
۴- دانشجوی دکترای مهندسی مواد و متالوژی، پژوهشکده پوشش‌های نانوساختار، دانشگاه پیام نور، یزد، ایران
***(نویسنده مسئول)؛ تلفن:۰۹۱۳۳۷۳۰۸۹۵، پست الکترونیکی:** m.mirhossaini@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۶/۱۸ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۹**

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

مقدمه

در سال‌های اخیر تلاش‌های بسیار زیادی برای تولید نانوذرات به دلیل خواص ویژه نوری، شیمیایی، الکتریکی و فوتوالکتریکی آنها صورت گرفته است که موید استفاده‌های گوناگون این مواد در زمینه‌هایی چون کاتالیست‌ها، اپتیک، داروسازی، مکانیک، مغناطیس و انرژی است. در چند دهه اخیر نانومواد غیرآلی که دارای ساختار بسیار جدید، خواص بیولوژیکی، شیمیایی و فیزیکی پیشرفته هستند، تولید شده است. این مواد با ساختار و شکل نانویی خود توجه زیادی را به خود جلب کرده است زیرا پتانسیل آنها برای رسیدن به مراحل خاص و انتخابی به خصوص در کاربردهای دارویی و بیولوژیکی بسیار بالاست(۱). در حال حاضر استفاده از مواد نانوساختار بسیار گسترده شده است و مزیت‌های کاربردی زیادی از نانوذرات آلی و غیرآلی به دست آمده است. این امر امکان کاربرد نانومواد در زمینه‌های بی‌شماری از جمله کاربردهای فیزیکی، شیمیایی، دارویی، عوامل پوشش دهنده سطوح، نساجی، کشاورزی، زراعت، بیوشیمی و مانند آن پیشنهاد می‌کند.

نانومواد در پزشکی به عنوان اعجوبه شناخته شده است و این امر ناشی از آن است که آنتی‌بیوتیک‌ها تنها تعداد بسیار کمی از عوامل مسبب بیماری‌های مختلف را از بین می‌برند در حالی که نانومواد حدود ۶۵۰ نوع از عوامل ایجادکننده بیماری‌ها را از بین می‌برند(۲). اگر نانومواد را در محیط‌های کشت باکتری‌ها وارد کنیم، مقاومت باکتری‌ها بسیار اندک خواهد شد به طوری که در تست‌های آزمایشگاهی نانومواد، باکتری‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها در عرض چند دقیقه بعد از تماس با نانومواد از بین می‌روند. تاثیر نانومواد روی باکتری‌ها زمانی اهمیت زیادی پیدا می‌کند که باکتری‌ها به علت تشکیل سطوح با انرژی پایین در زنجیره‌های غذایی بسیاری از اکوسیستم‌ها شرکت می‌کنند(۳). سال‌های اخیر، استفاده از عوامل ضدمیکروبی معدنی در کاربردهای غیرخوراکی توجه زیادی را برای کنترل میکروب‌ها به خود جذب کرده است. مطالعات اخیر اثبات می‌کند که نانومواد سولفیدی و اکسید فلزات دارای خواص آنتی باکتریایی بسیار خوبی هستند و عوامل آنتی باکتریایی که شامل این نانومواد باشند، می‌توانند دارای خاصیت ضدمیکروبی بسیار مؤثری باشند(۴). بعضی از نانوذرات ساخته شده از اکسیدهای فلزی در شرایط پردازش سخت پایدار هستند و نه تنها علیه باکتری‌ها مسمومیت انتخابی دارند بلکه اثر سمی بسیار کمی بر روی سلول‌های انسان‌ها و حیوان‌ها دارند. به عنوان مثال، نانوذرات اکسید روی، یک نانوذره غیرسمی و زیست سازگار است. نانوذره اکسید روی به عنوان حامل مواد دارویی، مواد آرایشی و مواد پرکننده پزشکی استفاده شده است(۲،۳). اخیراً دریافتند، نانوذرات اکسید روی دارای فعالیت‌های ضدباکتری در برابر پاتوژن منتقله از راه مواد غذایی از جمله: *E. coli* O157: H7 و اشریشیاکلی انتروتوکسیژنیک است(۲،۴). بنابراین تولید نانومواد به روش‌های آسان و مقرون به صرفه مورد توجه قرار گرفته و از آنجا که در تولید نانوذرات اکسیدروی به روش آسیاکاری تحقیقات زیادی صورت نگرفته است، در این مطالعه تولید این نانوذره مهم به این روش مورد بررسی قرار گرفت و همچنین خاصیت ضدمیکروبی نانوذره اکسید روی سنتزی با نانوذره خریداری شده به صورت تجاری مقایسه گردید.

روش بررسی

این مطالعه در دو مرحله سنتز نانو ذرات اکسیدروی از طریق آسیاکاری پرانرژی و انجام آزمایشات ضدمیکروبی این نانو ذرات انجام شده است.

اکسیدروی میکرونی از کمپانی مرک آلمان (قطر ذرات ۱۱/۴۳-۰/۵۶ میکرومتر) با درجه خلوص ۹۹ درصد خریداری شد. نسبت وزن گلوله‌ها به پودر اکسیدروی (BPR) ۲۰ به ۱ انتخاب شد. گلوله‌ها و پودر اکسیدروی در داخل محفظه آسیاب گلوله‌ای سایشی (شرکت تعاونی نانو آلیاژکویر- یزد) ریخته شد و اتانول به عنوان ماده کنترل فرآیند (PCA: Process Control Agent) به آن اضافه شد. دستگاه به مدت ۱۵ ساعت با سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه (rpm) تنظیم شد. هر ۵ ساعت مقداری پودر از محفظه آسیاب برداشته شد. اندازه ذرات، مورفولوژی و ترکیبات ساختاری نانوذرات سنتز

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

شده با استفاده از دستگاه PSA، طیفUV-Vis، XRD و TEM مورد بررسی قرار گرفت(۵،۶). برای تهیه محلول استوک نانوذرات سنتزی غلظت ۱۰mg/ml نانوذره در آب مقطر به صورت سوسپانسیون درآورده شد و برای پراکنده شدن مناسب آن از دستگاه اولتراسونیک (SONOPULS BANDELIN) به مدت زمان ۳۰ دقیقه استفاده گردید. همچنین برای مقایسه اثر ضدمیکروبی نانوذرات سنتزی سوسپانسیون‌هایی از نانوذرات اکسیدروی (TECONAN- اسپانیا) (قطر ذرات ۲۰- ۲۵ نانومتر) و پودر میکرونی اکسیدروی تهیه شد. تمام آزمایشات با استفاده از یک سیستم تعلیق کلوئیدی تازه انجام گرفت(۹-۷).

باکتری‌های مورد استفاده جهت انجام آزمایشات ضدباکتریایی اشریشیاکلی (PTCC1394) از انواع باکتری‌های گرم منفی و استافیلوکوکوس آرئوس (PTCC1431) از انواع باکتری‌های گرم مثبت بودند که از کلکسیون میکروبی ایران به دست آمدند. باکتری‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و در تریپتیک سوی آگار در ۳۷ درجه سانتی‌گراد فعال شدند. بعد از فعال شدن از نمونه‌های باکتریایی برای تهیه سوسپانسیون باکتریایی استفاده شد. به منظور تهیه سوسپانسون باکتریایی جهت انجام آزمایشات ابتدا نیم مک‌فارلند (معادل ۱۰۸×۱/۵-۱ عدد باکتری در هر ml) تهیه شد. برای اطمینان از ایجاد کدورت صحیح سوسپانسیون نیم مک‌فارلند، جذب آن به وسیله طیف سنج مرئی- فرابنفش (Optizen 2120UV plus) در محدوده طول موج ۶۲۵nm بین ۰/۱۳ – ۰/۰۸ تنظیم شد.

برای بررسی اثرات ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی سنتز شده در آزمایشگاه از روش انتشار در آگار به روش نقطه پلیت استفاده گردید. بدین منظور ۲۰ میکرولیتر از محلول نانوذرات اکسید روی با غلظت‌های متفاوت (۱ و ۲/۵ و ۵ و ۶ و ۱۰ میلی‌مولار) بر روی پلیت حاوی آگار نرم (۰/۶٪) حاوی ۱۰۷cell/ml باکتری: اشریشیاکلی PTCC1394 و یا استافیلوکوکوس آرئوس PTCC1431، قرار گرفت. هر پلیت TSAYE آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. سپس از هاله عدم رشد در اطراف نمونه برای نشان دادن فعالیت‌های ضدباکتری برای هر غلظت اکسید روی استفاده شد. به عنوان کنترل مثبت و منفی به ترتیب از دیسک آنتی‌بیوتیکی پنی‌سیلین و آب مقطر استریل استفاده گردید(۹-۷).

کمترین میزان غلظت یک عامل ضدمیکروبی که از رشد میکروارگانیسم جلوگیری می‌کند به عنوان (MIC: Minimal Inhibitory Concentration) شناخته می‌شود. تست MIC ممکن است روی آگار و یا یک مایع واسط انجام شود. روش معمول تعیین MIC، تکنیک رقیق‌سازی ترتیبی است که در این تحقیق از همین روش برای رقیق‌سازی استفاده شد. هر لوله آزمایش حاوی غلظت‌های متفاوت از عامل آنتی‌میکروبیال است و میزان یکسان میکروارگانیسم به آنها تلقیح می‌شود. بعد از انکوباسیون مناسب، پایین‌ترین غلظت ماده آنتی‌باکتریال که در آن عدم رشد میکروبی قابل مشاهده است، به عنوان MIC در نظر گرفته می شود و نتیجه به صورت µg/ml گزارش می‌شود. بنابراین سری رقتی از نانوذرات اکسیدروی سنتز شده، اکسیدروی میکرونی و نانوذرات اکسیدروی خریداری شده در تریپتیک سوی براث (TSB: Tryptic Soy Broth) (۰، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰) میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. سوسپانسیونی از کشت تازه (۲۰- ۱۸ ساعته) باکتری در TSB تهیه و کدورت آن با لوله نیم مک‌فارلند تنظیم شد و ۱۰۰ میکرولیتر به هر لوله آزمایش اضافه شد. همچنین یک لوله آزمایش دارای باکتری و بدون نانوذره به عنوان شاهد تهیه گردید. پس از گرماگذاری لوله‌ها از لحاظ داشتن کدورت بررسی شده و کمترین غلظت مهار کننده رشد، تعیین گردید(۱۰).

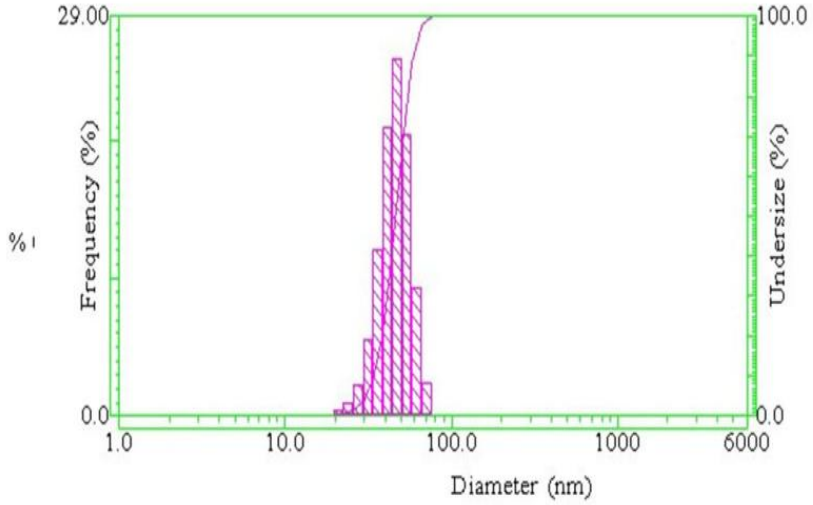
حداقل غلظت کشندگی نانوذرات اکسیدروی (MBC: Minimal Bactericidal Concentration) به کمترین غلظت عامل ضدمیکروبی که اکثر (۹۹/۹٪) جمعیت میکروبی تلقیح شده را از بین می‌برد، اطلاق می‌گردد. برای تعیین این غلظت، ۱۰۰µl از محتویات هر لوله آزمایش بدون رشد در روش بالا را پس از هم‌زدن بر روی پلیت های براد پارکر آگار (BPA: Baird Parker Agar) و ائوزین متیلن بلو- آگار (EMB-agar) و تریپتیک سوی آگار (TSA) پخش شده و به

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

شکل چمنی کشت داده می‌شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد و کمترین غلظتی که سبب از بین رفتن ۹۹/۹٪ از تعداد شمارش اولیه باکتری شده بود، به عنوان MBC ثبت گردید. تعداد باکتری‌ها با توجه به نتایج کنترل کیفی آزمایش‌های تعیین MIC مشخص شدند(۱۰).

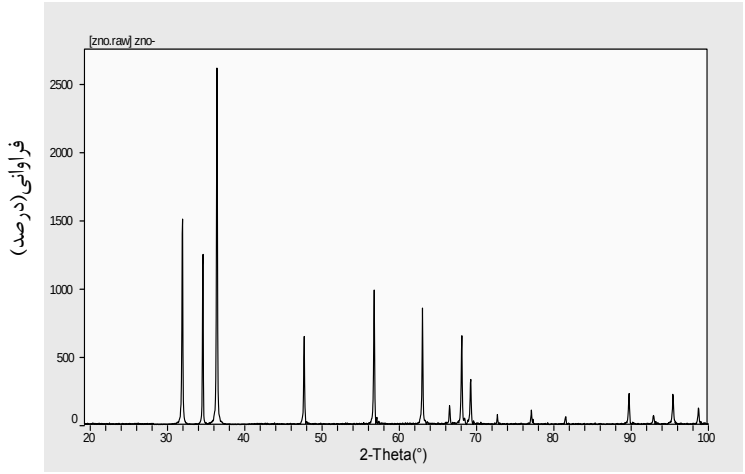
نتایج

بررسی توزیع اندازه ذرات برای اکسید روی میکرونی اندازه ذرات را بین ۰/۵۶ تا ۱۱/۴۳ میکرومتر نشان داد. در حالی که در شکل (۱) توزیع اندازه ذرات اکسیدروی بعد از ۱۵ ساعت نشان داده شده است. طبق شکل ۱ اندازه ذرات کمتر از ۱۰۰نانومتر و توزیع اندازه ذرات بین ۲۰ تا ۹۰ نانومتر است. همچنین مشاهده می‌شود که بیشتر نانوذرات تهیه شده در محدوده ۴۶ تا ۴۸ نانومتر هستند. برای بررسی ساختار بلوری و فازی نانوذره اکسیدروی از پراش اشعه ایکس (XRD) استفاده شد.



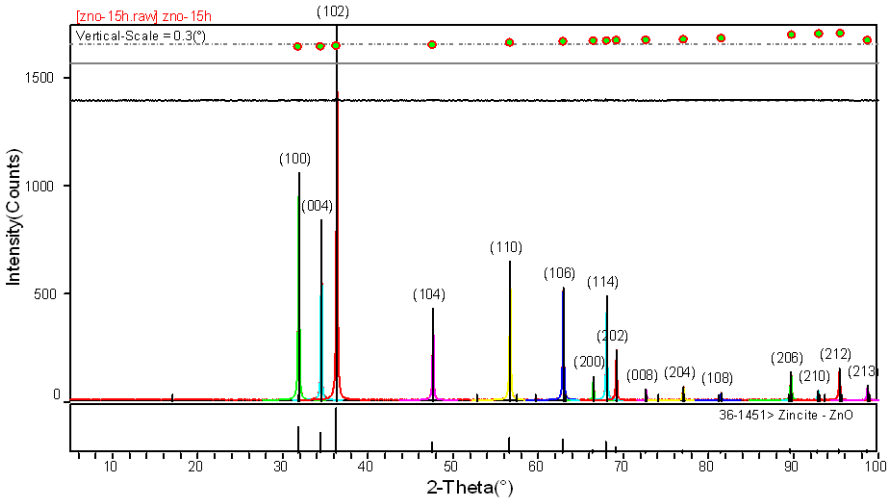
شکل ۱: نمودارتوزیع اندازه نانو ذرات سنتز شده

اشکال (۲) و (۳)، الگوی XRD اکسیدروی میکرونی و نانوذرات اکسیدروی سنتز شده را نشان می‌دهد. تغییرات ساختمانی در پودر اکسیدروی میکرونی را می‌توان با آسیاکاری مشاهده کرد. هر دو شکل ساختار شبکه بلورین را به صورت کریستال هگزاگونال با درجات مختلفی از تبلور و اندازه دانه نشان می‌دهد. همچنین نشان می‌دهد که آسیاکاری بر شکل ذرات تأثیری نداشته بلکه بیشتر بر اندازه آنها تأثیر گذاشته است.



[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

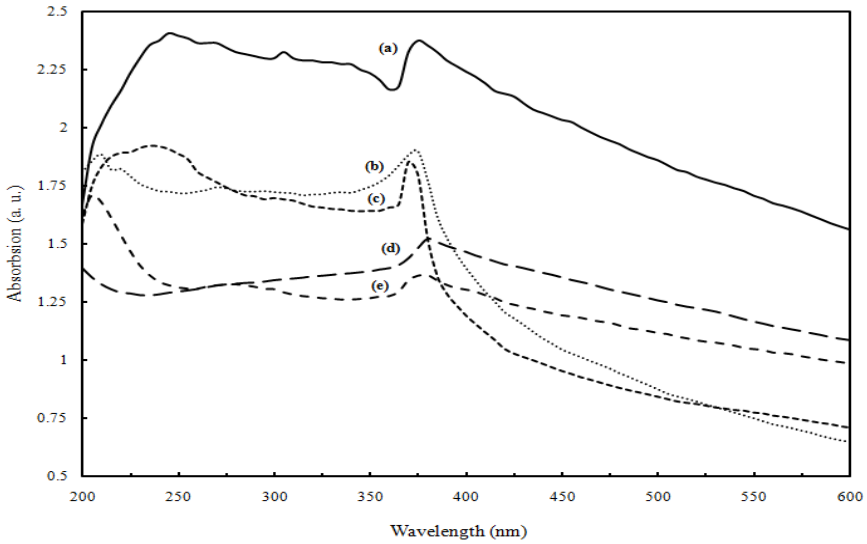
شکل ۲: الگوی پراش پرتو ایکس (XRD) از اکسیدروی میکرونی



شکل ۳: نمونه الگوی پراش پرتو ایکس (XRD) از نانو ذرات اکسیدروی سنتز شده

شکل (۴) طیف UV-Vis از اکسید روی میکرونی جذب بالاتری در ناحیه ۳۹۰nm را نشان می‌دهد در صورتی که طیف UV-Vis از اکسیدروی آسیاب شده بعد از ۵ و ۱۰ ساعت به ترتیب جذب در ناحیه ۳۷۵nm و ۳۷۰nm را نشان می‌دهد.

طیف UV-Vis از اکسیدروی آسیاب شده بعد از ۱۵ ساعت جذب بسیار نزدیک به نانوذره اکسید روی خریداری شده در ناحیه ۳۷۰nm را نشان می‌دهد.

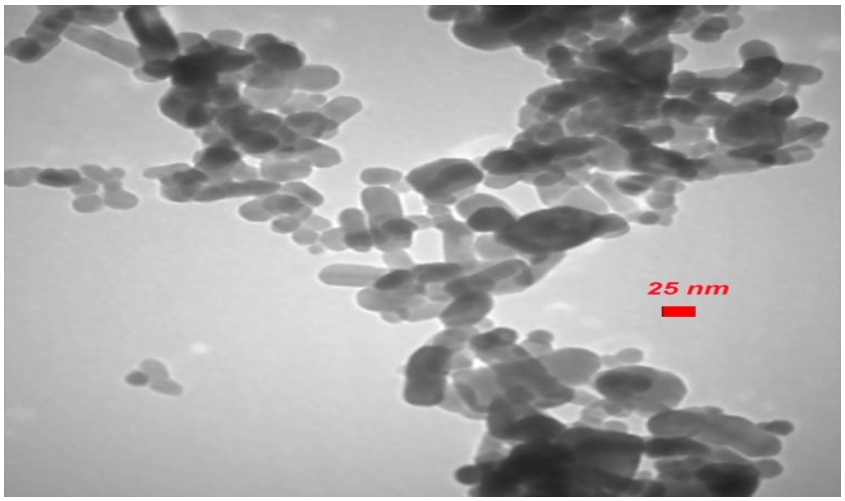


شکل ۴: طیف جذبی UV – vis برای نانو ذرات اکسیدروی سنتز شده بعد از نیم ساعت اولترا سونیک

اکسیدروی میکرونی(d)، اکسیدروی آسیاب ۵ ساعت(e)، نانوذره اکسیدروی خریده شده(b)، اکسیدروی آسیاب شده ۱۵ ساعت(c)، اکسیدروی آسیاب شده ۱۰ ساعت(a)

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

شکل (۵) تصویر TEM از نانوذره اکسیدروی سنتز شده را نشان می‌دهد. بر اساس شکل نانوذرات سنتز شده از لحاظ موفولوژیکی به شکل میله‌ای و چندوجهی هستند. با استفاده از نرم‌افزار مطلب قطر نانوذرات سنتز شده بین۸۰–۲۵ نانومتر محاسبه شد. نتایج بررسی ضدمیکروبی سوسپانسیون نانوذرات اکسیدروی سنتز شده در آگار در جدول (۱) نشان داده شده است. نتایج نشان داد که، غلظت ۱ و ۲/۵ میلی‌مولار اکسید روی در مقابل استافیلوکوکوس آرئوس هاله عدم رشد نداشت. غلظت ۵ میلی‌مولار اثر مهاری نداشته ولی باعث کاهش رشد باکتری در محل تماس باکتری با اکسیدروی شده است. ولی غلظت ۶ و ۱۰ میلی‌مولار اکسید روی به ترتیب هاله عدم رشد ۳±۰/۵ و ۷±۰/۵ میلی‌متر در برابر استافیلوکوکوس آرئوس ایجاد کرده بود. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اکسید روی قطر هاله عدم رشد افزایش یافت. همچنین نتایج هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف از اکسید روی در مقابل اشریشیاکلی نشان داد که هیچکدام از غلظت‌های اکسید روی اثر مهاری روی رشد اشریشیاکلی نداشت و هیچ هاله عدم رشدی در مقابل اشریشیاکلی تشکیل ندادند ولی با افزایش غلظت اکسید روی باعث کاهش رشد این باکتری در محل تماس باکتری با اکسیدروی شدند.



شکل (۵) تصویر TEM از نانو ذرات اکسیدروی سنتز شده

جدول ۱: قطر هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف از اکسید روی سنتز شده

قطر هاله عدم رشد (میلی متر) اشریشیاکلی	قطر هاله عدم رشد (میلی متر) استافیلوکوکوس آرئوس	غلظت نانوذره اکسیدروی (میلی مولار)
-	-	۱
-	-	۲/۵
-	Gr	۵
Gr	۳±۰/۵	۶
Gr	۷±۰/۵	۱۰
–	–	آب
–	۳۲±۰/۵	پنی سیلین

بدون مهار منطقه: - کاهش رشد:Gr

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

نتایج MIC و MBC نانوذرات اکسیدروی خریداری شده و سنتزی و اکسیدروی میکرونی در برابر باکتری‌های اشیرشیاکلی و استافیلوکوکوس آرئوس در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به جدول MIC و MBC استافیلوکوکوس آرئوس در برابر نانوذره اکسیدروی خریداری شده به ترتیب ۰±۰/۷۵ و ۰±۱ برای نانوذره اکسیدروی سنتز شده ۰±۲/۵ و ۰±۳ و اکسیدروی میکرونی ۰±۴/۵ و ۰±۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است.

جدول ۲: MIC و MBC نانوذره خریداری شده(N۱) نانوذره سنتز شده (N۲) و اکسیدروی میکرونی (M) در باکتری استافیلوکوکوس آرئوس و اشریشیاکلی

	استافیلوکوکوس آرئوس		اشریشیاکلی	
نوع باکتری گروه	MBC(mg/ml) (میانگین±انحراف معیار)	MIC(mg/ml) (میانگین±انحراف معیار)	MIC(mg/ml) (میانگین±انحراف معیار)	MBC(mg/ml) (میانگین±انحراف معیار)
N1	۱±۰	۰/۷۵±۰	۵/۵±۰	۶±۰
N2	۳±۰	۲/۵±۰	۷/۵±۰	۸±۰
M	۵±۰	۴/۵±۰	۱۰±۰	۱۱±۰

همچنین MIC و MBC اشریشیاکلی در برابر نانوذره اکسیدروی خریداری شده به ترتیب ۰±۵ و ۰±۶، نانوذره اکسیدروی سنتز شده ۰±۷/۵ و ۰±۸ و اکسیدروی میکرونی ۰±۱۰ و ۰±۱۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌باشد. حساسیت باکتری‌ها نسبت به نانوذره اکسیدروی سنتز شده کمتر از نانوذره اکسیدروی خریداری شده می‌باشد که می‌تواند به علت ناخالصی‌های موجود در نانوذره سنتزی و اندازه بزرگتر ذرات آن در مقایسه با نانوذره خریداری شده باشد. نتایج نشان داد که اکسید روی فعالیت ضدباکتری قوی‌تری علیه استافیلوکوکوس آرئوس نسبت به اشریشیاکلی در مدت ۲۴ ساعت نشان می‌دهد. این داده‌ها همچنین نشان می‌دهد که فعالیت ضدباکتری از اکسید روی، وابسته به غلظت است که پیشتر با استفاده از تست انتشار در آگار مورد تایید قرار گرفته است.

بحث

فرآیند اصلی در آسیاکاری، تولید پودر آلیاژها و ترکیبات با ریزساختار و شکل قابل کنترل می‌باشد و برای این منظور می‌توان از انواع آسیاب‌ها استفاده نمود. فرآیند آسیاکاری می‌تواند در هر دو نوع آسیاب، به صورت آسیاب‌های پر انرژی (مانند آسیاب گلوله‌ای سایشی، آسیاب ماهواره‌ای، آسیاب گریز از مرکز و آسیاب لرزشی) و آسیاب‌های غلتان کم انرژی (مانند آسیاب‌های گلوله‌ای و میله‌ای) انجام گیرد. در این تحقیق فرایند آسیاکاری برای تهیه نانوذرات اکسیدروی در آسیاب گلوله‌ای سایشی که از نوع آسیاب‌های پر انرژی است، انجام شد(۵،۶). نتایج مربوط به توزیع اندازه ذرات نشان می‌دهد در اثر آسیاکاری پرانرژی پودر اکسیدروی میکرونی به نانوذرات اکسیدروی تبدیل شده است. طیف UV-Vis نانوذرات اکسیدروی خریداری شده جذب در ناحیه ۳۷۰ nm را نشان می‌دهد در صورتی که طیف UV-Vis پودر اکسیدروی میکرونی جذب پایین‌تری در ناحیه ۳۹۰ nm را نشان می‌دهد. طیف UV-Vis اکسیدروی آسیاب شده بعد از ۵ و ۱۰ ساعت جذب بالاتر در ناحیه ۳۷۵nm و ۳۷۰nm را نشان می‌دهد. در صورتی که طیف UV-Vis از اکسیدروی آسیاب شده بعد از ۱۵ ساعت جذب نزدیک به نانوذره اکسیدروی خریداری شده در ناحیه ۳۷۰nm را نشان می‌دهد. در ادامه می‌توان گفت در ساعات اولیه آسیاب به علت پدیده شکست و جوش سرد ذرات، اندازه ذرات بزرگتر شده است، بنابراین جذب پایین آمده است(۱۱). با افزایش زمان آسیاب یک بلو شیفت مشاهده می‌شود که دلالت بر افزایش در شکاف باند دارد. بلو شیفت مشاهده شده را می‌توان در درجه اول به اثر حدی کوانتومی نسبت داد اما از آنجا که یک فشار موضعی در اثر فرایند آسیاکاری می‌تواند در

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

باند گپ نانوذرات اکسیدروی تغییر ایجاد کند. تغییر در باند گپ به علت فشار ممکن است تا حدی مسئول بلو شیفت مشاهده شده باشد. جذب در نانو ذرات می‌تواند با توجه به افزایش قدرت نوسان و سطح منطقه با کاهش اندازه ذرات افزایش یابد. بنابراین جذب اگزایتون به طور قابل ملاحظه‌ای در نانوذرات اکسیدروی سنتز شده، افزایش یافته است و این به علت افزایش سطح به حجم این نانوذرات است و باعث می‌شود خواص نوری و الکتریکی نانوذرات اکسیدروی در اندازه نانو با میکرونی متفاوت باشد(۱۲). نتایج مربوط به XRD ساختار شبکه بلورین را به صورت کریستال هگزاگونال نشان می‌دهد. یک upshift اندک در نانوذرات آسیاب شده مشاهده می‌شود که نشان دهنده فشار در نمونه است. همچنین در اثر فرایند آسیاکاری کاهش در اندازه شبکه بلورین و پهن شدگی در پیک مشاهده می‌شود. کاهش در اندازه شبکه بلورین می‌تواند به خاطر ورود ناخالصی‌های آهن و کروم در حین فرایند آسیاکاری باشد. پهن‌شدگی پیک‌ها نیز یه خاطر کاهش اندازه ذرات و تغییر در خواص مغناطیسی می‌باشد. میانگین اندازه نانو ذرات بر طبق فرمول Debye – Scherrer، ۶۰ نانومتر تخمین زده می‌شود در این رابطه از پهنای پیک در نیمه ارتفاع مربوط به برجسته‌ترین پیک یعنی(۱۰۲) استفاده شده است(۱۳). تصویر TEM بیان‌گر شکل نانوذرات است. بر اساس تصویر نانوذرات اکسیدروی سنتز شده دارای شکل میله‌ای و چندوجهی است. کاهش اندازه ذرات باعث تغییر ویژگی ساختاری و فیزیکوشیمیایی آنها و در نتیجه سبب دسترسی آنها برای موجودات زنده و افزایش خواص سمی آنها می‌شود(۱۴). کاهش اندازه و بنابراین کاهش سطح ویژه مخصوص همراه با افزایش تعداد گروه‌های راکتیو بر روی سطح ذرات به عنوان مهمترین عامل برای افزایش سمیت نانوذرات ذکر شده است. شاید افزایش گروه‌های فعال (راکتیو) سطحی به عنوان مکان‌های فعال برای شکل‌گیری گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) شامل سوپراکسید، هیدرژن پراکسید و رادیکال هیدروکسیل منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود. ROS از روش‌های مختلفی نظیر آسیب رساندن به DNA، تداخل با مسیرهای سیگنالینگ سلولی، تغییرات در روند رونویسی ژنها می‌توانند به سلول‌ها آسیب برسانند(۷). نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد با افزایش غلظت نانوذرات، خاصیت ممانعت‌کنندگی نانوذره علیه باکتری افزایش یافته است. در مطالعه Banoee و همکاران تاثیر حضور نانوذرات اکسیدروی همراه با آنتی‌بیوتیک‌های مختلف مورد بررسی قرار داده شد. میانگین اندازه نانوذرات اکسیدروی ۲۰ تا ۴۵ نانومتر بود. از روش انتشار در آگار برای بررسی اثر ضدباکتریایی آموکسی‌سیلین، پنی‌سیلین جی و نیتروفورانتوئین، همراه با نانوذرات اکسیدروی تهیه شده به روش مکانیکی- شیمیایی، بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس آرئوس و اشریشیاکلی استفاده شد. در این مطالعه نانوذرات اکسیدروی موجب کاهش فعالیت ضد باکتریایی آنتی‌بیوتیک‌های فوق‌الذکر گردید ولی آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین در حضور نانوذرات اکسیدروی به میزان ۲۷٪ بر رشد استافیلوکوکوس آرئوس و به میزان ۲۲٪ بر رشد اشریشیاکلی در مقایسه با استفاده از سیپروفلوکساسین به تنهایی اثر مهاری بیشتری داشتند(۱۲). Matthews و همکاران کاربردهای تشخیصی و درمانی ضدباکتری مواد نانودارو (Nanomedicine) را در یک مطالعه مروری بررسی کردند. آنها در مطالعه خود بیان کردند که استفاده از نانوذرات نقره در ترکیب با پنی‌سیلین G و برخی دیگر از آنتی‌بیوتیک‌ها، تأثیر آنها را افزایش می‌دهد. همچنین نانوذرات اکسیدروی دارای فعالیت آنتی‌باکتریال قابل توجه بر روی طیف وسیعی از گونه‌های باکتریایی به خصوص استافیلوکوکوس آرئوس است، بنابراین می‌توان از خواص آنتی‌باکتریال نانوذرات اکسیدروی در پمادها، پوشش‌های سطحی، مواد ضدعفونی‌کننده در دندانپزشکی و وسایل پزشکی سود جست(۱۳). Sevinc و همکارش فعالیت آنتی‌باکتریال کامپوزیت‌های دندانی حاوی نانوذرات اکسیدروی را مورد مطالعه قرار دادند. آنها در این بررسی نشان دادند رزین کامپوزیت‌هایی که حاوی ۱۰٪ نانوذرات اکسیدروی بودند، تعداد باکتری‌ها را تا ۸۰٪ کاهش دادند که نشان‌دهنده قدرت مهارکنندگی معنی‌دار آنها بر رشد بیوفیلم بود(۱۴).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

Hernandez-Sierra و همکاران تأثیر باکتریوسیدال و باکتریوستاتیک نانوذرات نقره، اکسیدروی و طلا را بر استرپتوکوکوس موتانس بررسی کردند. حداقل غلظت مهارکننده (MIC) و حداقل غلظت باکتریوسیدال (MBC) این نانوذرات محلول در محیط کشت بررسی شد. در مورد اکسیدروی، MIC معادل ۵۰۰µg/ml ±۳۰۶/۱۸ و MBC معادل ۵۰۰µg/ml به دست آمد و برای نقره MIC معادل ۲/۷۱µg/ml ± ۴/۸۶ و MBC معادل ۶/۲۵µg/ml و در مورد نانوذرات طلا تنها یک اثر کم در غلظت اولیه ۱۹۷µg/ml وجود داشت(۱۵).

بنابراین می‌توان گفت با افزایش غلظت نانوذره اثر مهاری نیز افزایش یافته است. این نتیجه می‌تواند به سمیت بیشتر در غلظت‌های بالاتر مرتبط باشد، البته این موضوع نمی‌تواند بیانگر رابطه خطی غلظت قابلیت ضدمیکروبی باشد زیرا در غلظت‌های بالاتر احتمال ایجاد مقاومت سازگاری وجود دارد. با توجه به این که تعیین حداقل غلظت باکتری‌کشی از حساسیت بالاتری برخوردار است. بنابراین این روش به عنوان عامل تشخیصی بهتر برای بررسی پتانسیل باکتری کشی عوامل ضدمیکروبی شناخته شده است. در این مطالعه بررسی قابلیت باکتری کشی نانوذرات اکسیدروی به روش تعیین حداقل غلظت باکتری کشی هم بررسی شد. نتایج نشان داد که حساسیت باکتری‌ها نسبت به نانوذره اکسیدروی سنتز شده کمتر از نانوذره اکسیدروی خریداری شده است که می‌تواند به علت ناخالصی‌های موجود در نانوذره سنتزی و همچنین اندازه بزرگتر نانوذرات آن نسبت به نانوذره اکسیدروی خریداری شده باشد. نتایج نشان داد که اکسید روی فعالیت ضدباکتری قوی‌تری علیه استافیلوکوکوس آرئوس نسبت به اشریشیاکلی در مدت ۲۴ ساعت نشان می‌دهد. این داده‌ها همچنین نشان می‌دهد که فعالیت ضدباکتری اکسید روی، وابسته به غلظت است که پیشتر با استفاده از تست انتشار در آگار مورد تأیید قرار گرفته است. نتایج تعیین مقدار MIC و MBC نشان می‌دهد که استافیلوکوکوس آرئوس نسبت به اشرشیاکلی از حساسیت بیشتری برخوردار بوده است به عبارت دیگر اشرشیاکلی نسبت به نانوذرات مقاوم‌تر است. یکی از علل حساسیت پایین‌تر اشرشیاکلی می‌تواند به این دلیل باشد که غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی چون اشرشیاکلی به طور غالب از لیپوپلی ساکارید (LPS: Lipo Poly Saccharide) مستحکم تشکیل شده‌اند که سد مقاومی در برابر نانوذره محسوب می‌شود(۱۶). بر اساس برخی مطالعات سمیت نانوذرات اکسیدروی منجر به ایجاد صدماتی در غشای سلولی باکتری‌ها می‌گردد(۱۷،۱۶). بر اساس نتایج ذکر شده در بالا پیشنهاد می‌شود که مولکول‌های اکسید روی برای بیان فعالیت‌های ضدباکتری نیاز به تماس و نفوذ به سلول‌های میکروبی دارند. به نظر می‌رسد مکانیسم ضدمیکروبی نانوذره اکسیدروی تخریب چربی و پروتئین غشای سلولی باکتری و در نتیجه نشت محتویات داخل سلول است که در نهایت باعث مرگ سلول‌های باکتریایی می‌شوند(۱۸،۱۹). علاوه بر این، تولید پراکسید هیدروژن و یون Zn^{2+} به عنوان کلید مکانیسم اثرات ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی پیشنهاد شده است(۲۰،۲۱). افزایش نفوذپذیری غشای خارج سلولی و داخل سلولی باکتری‌ها در اثر پلی‌وینیل الکل (PVA: Poly Vinal Alcohol) پوشش داده شده با نانوذرات اکسید روی نیز گزارش شده است(۱۶). Ruparelia و همکاران نیز تولید گونه‌های حاوی اکسیژن فعال را یکی از مهمترین دلایل فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات اکسیدروی ذکر کرده‌اند(۲۲). استفاده بیولوژیکی نانوذرات به سرعت در حوزه فناوری نانو در حال توسعه است که امیدهای تازه در تشخیص و درمان سرطان‌های متفاوت را افزایش می‌دهد. همچنین آنها پیشرفت‌های مهمی در تشخیص و درمان سرطان‌های انسان را آسان می‌کند و به روش جدید نانوآنکالژی (Nano Oncology) منجر شده است. نانوذرات روش جدیدی از هدف گیری تومور را ارائه می‌دهد که هم بسیار سودمند است و هم باعث کاهش سمیت موجود با عوامل ضدسرطان را موجب می‌شود. این روش نانوذرات را مورد ایده‌آلی برای هدف‌گیری دقیق سلول‌های سرطان می‌سازد(۲۳). سنتز نانوماده مؤثر بر باکتری با کارایی بالا

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

می‌تواند برای ضدعفونی و از بین بردن باکتری‌ها اهلی و صنعتی مورد استفاده قرار گیرد(۲۴).

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های این مطالعه می‌توان گفت در اثر فرآیند آسیاکاری پرانرژی نانوذرات اکسیدروی تولید شده است. یکی از مزیت‌های روش آسیاکاری نسبت به روش‌های دیگر تولید نانوذرات، اجرای آسان و کم هزینه آن در مقیاس صنعتی است. البته می‌توان با تغییر پارامترهای مؤثر در این فرآیند معایب موجود در این روش مانند عدم یکنواختی اندازه نانوذرات حاصل، آلودگی ناشی از ماده ساینده را کاهش داد. همچنین تعمیم نتایج این مطالعه می‌تواند در درمان بسیاری از بیماری‌های منتقل شده توسط باکتری در زمینه پزشکی مفید واقع شود و با توجه به عوارض آنتی‌بیوتیک‌ها جاگزین مناسبی برای آنها باشد. البته این امر نیاز به مطالعات بیشتری در این زمینه دارد. علاوه بر این، اثر ضدمیکروبی از نانوذرات اکسیدروی در مقابل مواد غذایی پاتوژن‌ها نشان داد ممکن است منجر به استفاده از نانوذرات در بسته‌بندی مواد غذایی و فرآیند محافظت از مواد غدایی شود.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند تا از مسئولین دانشگاه پیام نور مرکز یزد و پژوهشکده پوشش‌های نانوساختار دانشگاه پیام نور استان یزد به دلیل فرآهم نمودن امکانات آزمایشگاهی و نیز محیط مناسب کاری جهت انجام تحقیق مذکور کمال تشکر و سپاس خود را بیان کنند.

References:

1- Sosnik A, Carcaboso AM, Glisoni RJ, Moretton MA, Chiappetta DA. ***New old challenge in tuberculos is: potentially effective nanotechnologies in drug delivery.*** Adv Drug Deliv Rev 2010; 62(4-5): 547-59.

2- Liu Y, He L, Mustapha A, Li H, Hu ZQ, Lin M. ***Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against Escherichia coli O157:H7.*** J Appl Microbiol 2009; 107(4): 1193-201.

3- Brayner R, Ferarri-Iliou R, Brivois N, Djediat S, Benedetti MF, Fiévet F. ***Toxicological impact studies based on Escherichia coli bacteria in ultra fine ZnO nanoparticles colloidal medium.*** Nano Lett 2006; 6(4): 866-70.

4- Roselli M, Finamore A, Garaguso I, Britti MS, Mengheri E. ***Zinc oxide protects cultured enterocytes from the damage induced by Escherichia coli.*** J Nutr 2003; 133(12): 4077-82.

5- Salah N, Habib SS, Khan ZH, Memic A, Azam A, Alarfaj E, et al. ***High-energy ball milling technique for ZnO nanoparticles as antibacterial material.*** Int J Nanomed 2011; 6: 863-69.

6- Suwanboon S, Amornpitoksuk P. ***Preparation of Mg-doped zno nanoparticles by mechanical milling and their optical properties.*** Procedia Engineering 2012; 32: 821-26.

7- Mirhosseini M, Firouzabadi FB. ***Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticle suspensions on food-borne pathogens.*** Int J Dairy Technol 2013; 66(2): 291-95.

8- Firouzabadi FB, Noori M, Edalatpanah Y, Mirhosseini M. ***ZnO nanoparticle suspensions containing citric acid as antimicrobial to control Listeria monocytogenes, Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Bacillus cereus in mango juice.*** Food Control 2014; 42: 310-14.

9- Mirhosseini M, Arjmand V. ***Reducing pathogens by using zinc oxide nanoparticles and acetic acid in sheep***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

meat. J Food Prot 2014; 77(9): 1599-604.

7- Raybaudi-Massilia RM, Mosqueda-Melgar J, Martin-Belloso O. ***Antimicrobial activity of malic acid against Listeria monocytogenes, Salmonella enteritidis and Escherichia coli O157:H7 in apple, pear and melon juices.*** Food Control 2009; 20(2): 105-12.

8- Enayati MH, Sadeghian Z. ***Mechanical alloying principles and applications.*** Journal of Iranian Metallurgical Engineers Society 2001; 23. [Persian].

9- Brus LE. ***Electron–electron and electronhole interactions in small semiconductor crystallites: The size dependence of the lowest excited electronic state.*** J Chem Phys 1984; 80(9): 4403-9 .

10- Damonte LC, Mendoza Zélis LA, Mari Soucase B, Hernández Fenollosa MA. ***Nanoparticles of ZnO obtained by mechanical milling.*** Powder Technol 2004; 148(1): 15-19.

11- Blinova I, Ivask A, Heinlaan M, Mortimer M, Kahru A. ***Ecotoxicity of nanoparticles of CuO and ZnO in natural water.*** Environ Pollut 2010; 158(1): 41-47.

12- Banoee M, Seif S, Nazari ZE, Jafari-Fesharaki P, Shahverdi HR, Moballegh A, et al. ***ZnO nanoparticles enhanced antibacterial activity of ciprofloxacin against Staphylococcus aureus and Escherichia coli.*** J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2010; 93(2): 557-61.

13- Matthews L, Kanwar RK, Zhou S, Punj V, Kanwar JR. ***Applications of nanomedicine in antibacterial medical therapeutics and diagnostics.*** Open Trop Med J 2010; 3: 1-9.

14- Aydin Sevinc B, Hanley L. ***Antibacterial activity of dental composites containing zinc oxide nanoparticles.*** J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater 2010; 94(1): 22-31.

15- Hernández-Sierra JF, Ruiz F, Pena DC, Martínez-Gutiérrez F, Martínez AE, Guillén Ade J, et al. ***The antimicrobial sensitivity of Streptococcus mutans to nanoparticles of silver, zinc oxide, and gold.*** Nanomedicine 2008; 4(3): 237-40.

16- Huang Z, Zheng X, Yan D, Yin G, Liao X, Kang Y, et al. ***Toxicological effect of ZnO nanoparticles based on bacteria.*** Langmuir 2008; 24(8): 4140-44.

17- Tenover FC, Raney PM, Williams PP, Rasheed JK, Biddle JW, Oliver A, et al. ***Evaluation of the NCCLS extended-spectrum beta-lactamase confirmation methods for Escherichia coli with isolates collected during Project ICARE.*** J Clin Microbiol 2003; 41(7): 3142-46.

18- Hoseinzadeh E, Samargandi MR, Alikhani MY, Roshanaei G, Asgari G. ***Antimicrobial efficacy of zinc oxide nanoparticles against gram negative and positive bacteria.*** IJHE 2012; 5(3): 331-42.

19- Weir E, Lawlor A, Whelan A, Regan F. ***The use of nanoparticles in anti microbial materials and their characterization.*** Analyst 2008; 133(7): 835-45.

20- Mirhosseini M, Firouzabadi FB. ***Preparation of ZnO-Polystyerne composite films and investigation of antibacterial properties of ZnO-Polystyerne composite films.*** IJP 2014; 9(2): 99-106.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

21- Nalwa HS. ***Handbook of nanostructured material and nanotechnology.*** vol.1 (Synthesis and Processing), San Diago: Academic Press; 2000.

22- Ruparelia JP, Chatterjee AK, Duttagupta SP, Mukherji S. ***Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles.*** Acta Biomater 2008; 4(3): 707-16.

23- Quintana A, Raczka E, Piehler L, Lee I, Myc A, Majoros I, et al. ***Design and function of a dendrimer-based therapeutic nanodevice targeted to tumor cells through the folate receptor.*** Pharm Res 2002; 19(9): 1310-16.

24- Sondi I, Salopek-Sondi B. ***Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria.*** J Colloid Interface Sci 2004; 275(1): 177-82.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

Synthesizing Zno Nanoparticles by High-Energy Milling and Investigating Their Antimicrobial Effect

Mohammadi N(MSc Student)[1], Mirhosseini M(PhD Student)[*2], Shirzad M(MSc Student)[3], Dehghan Hamdan A(PhD Student)[4], Yazdani N(MSc Student)[5]

[1]*Department of Biology, Payame Noor University, Yazd, Iran*

[2]*Department of Microbiology, Payame Noor University, Yazd, Iran*

[3]*Department of Biochemistry, Nano Structured Coatings Institute, Payame Noor University, Yazd, Iran*

[4]*Department of Material Engineering and Metallogy, Nano Structured Coatings Institute, Payame Noor University, Yazd, Iran*

Received: 9 Sep 2014 ***Accepted:*** 29 Jan 2015

Abstract

Introduction: Biologists have increasingly used zinc oxide (ZnO) nanoparticles in regard with biological applications. The present study aimed to assess feasibility of ZnO nanoparticles synthesis by high-energy milling as well as to investigate their antimicrobial effect.

Methods: The high-energy ball milling technique was used to produce ZnO nanoparticles from micron-scale ZnO particles. The phase state, morphology, and size of the ZnO nanoparticles were characterized by different methods of particle size analyzer (PSA), X-ray diffraction (XRD), UV-Vis spectroscopy and transmission electron microscopy (TEM). Furthermore, the antibacterial effect of ZnO nanoparticles was examined on E. coli and S. aureus bacteria.

Results: The study results demonstrated that size of the synthesized nanoparticles was within the range of 20 -90 nm and their morphology was reported as nanorod and nanoparticles with multifaceted cross-section. An increase in the density of nanoparticles resulted in a rise in the antimicrobial effect. Moreover, Staphylococcus aureus bacteria inhibition zone was 3±0.5 and 7±0.5 mm respectively at the density of 6 and 10 mM. The MIC and MBC of ZnO nanoparticles provided for Staphylococcus aureus were observed 3±3 and 2.5±0 mg/ml, whereas they were reported 7.5±0 and 8±0 mg/ml for Escherichia coli bacteria.

Conclusion: The findings of the present study revealed that ZnO nanomaterials could be synthesized by applying high-energy milling on micron-scaled ZnO particles. In addition, they can be utilized in food packaging and preservation process.

Keywords: Antimicrobial; E. coli; High-energy ball milling; Nanorods; S. aureus: Zinc oxide nanoparticles

This paper should be cited as:

Mohammadi N, Mirhosseini M, Shirzad M, Dehghan Hamdan A, Yazdani N. ***Synthesize ZnO nanoparticles by high-energy milling and investigated its antimicrobial effect***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2015; 23(4): 2070-82.

Corresponding author: Tel: +98 9133730895, Email: mirhossaini@gmail.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]