

# بررسی اثر ترکیبی نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن بر روی رشد و مورفولوژی باکتری‌های اشريشياکلى و استافيلوكوكوس اورئوس در آبميوه

مهدي ترابي زارچي<sup>1</sup>، محبوبه ميرحسيني<sup>2\*</sup>

## چكیده

**مقدمه:** نانوذرات فلزی يکی از مواد ضدباکتریایی هستند که در میان آن‌ها نانوذرات  $MgO$  و  $Fe_2O_3$  نسبت به سایر نانوذرات، سمیت کمتری بر سلول‌های پستانداران دارند. هدف از این مطالعه، بررسی اثر نانوذرات اکسید آهن و اکسید منیزیم به صورت ترکیبی و دستیابی به ترکیب بهینه دو نانوذره در مهار رشد دو باکتری *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* در آبمیوه است.

**روش بررسی:** در این پژوهش تجربی و آزمایشگاهی اثر ضدباکتریایی ترکیب نانوذرات  $MgO$  و  $Fe_2O_3$  بر باکتری‌های اشريشياکلى و استافيلوكوكوس اورئوس در محیط مایع ارزیابی و سپس اثر آن‌ها به صورت توأم در آبمیوه‌های هویج، انار و سیب به صورت جداگانه به روش کلنی کانت بررسی شد. همچنین از میکروسکوپ الکترونی برای بررسی تغییرات مورفولوژیک استافيلوكوكوس اورئوس و اشريشياکلى پس از تیمار ضدمیکروبی استفاده شد، سپس داده‌ها با استفاده از آزمون آماری One Way Anova تحلیل شد.

**نتایج:** نتایج نشان داد در محیط مایع، این نانوذرات باعث کاهش رشد هردو باکتری می‌شوند. مناسب‌ترین ترکیب ضدباکتریایی این دو نانوذره  $MgO_{0.5}/Fe_2O_3_{0.5}$  بود؛ حساسیت استافيلوكوكوس اورئوس نسبت به اشريشياکلى در برابر نانوذرات بیشتر بود. یافته‌های پژوهش در مورد آبمیوه‌ها نشان داد که اثر ترکیبی دو نانوذره باعث کاهش رشد دو باکتری می‌شود. اثر ترکیبی از نانوذرات اکسید آهن و اکسید منیزیم باعث تخریب غشای سلولی و در نتیجه نشت محتويات داخل سلولی و در نهایت مرگ سلول‌های باکتریایی می‌شود.

**نتیجه‌گیری:** نانوذرات اکسید آهن و اکسید منیزیم در غلظت‌های مجاز، اثر قابل توجهی بر باکتری‌های اشريشياکلى و استافيلوكوكوس اورئوس دارند.

**واژه‌های کلیدی:** نانوذرات، اکسید منیزیم ( $MgO$ ) و اکسید آهن ( $Fe_2O_3$ )، آبمیوه، پاتوژن مواد غذایی.

۱. کارشناس ارشد مرکز تحقیقات زیست فناوری پزشکی، واحد اشکذر، دانشگاه آزاد اسلامی

۲. استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور

(نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۳۳۷۳۰۸۹۵، پست الکترونیکی: m.mirhossaini@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۶/۲۰

## مقدمه

به (DNA)، آسیب به پروتئین و تخریب دیواره سلولی است<sup>(۹)</sup>.  
 (۱۰).

مطالعات نشان می‌دهد که  $MgO$ ,  $ZnO$ ,  $Fe_2O_3$  فعالیت ضد باکتریایی در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی از جمله استافیلوکوکوس اورئوس، اشريشیاکلی، همچنین آسپرژیلوس نیجر، ساکارومایسس و سایر قارچ‌ها دارند<sup>(۱۱)</sup> البته باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی‌ها در برابر  $MgO$ ,  $ZnO$ ,  $Fe_2O_3$  حساس‌تر هستند<sup>(۱۲)</sup>.

در این میان هرچند بررسی زیادی در مورد اثر ضدباکتریایی نانوذرات اکسید منیزیم صورت نگرفته ولی با توجه به کم هزینه بودن سنتز نانو اکسید منیزیم و نیز سمیت کمتر این نانوذرات نسبت به نانوذرات نقره و مس، استفاده از این نانوذرات در آینده مقرر شده است. اکسید منیزیم دارای فعالیت باکتریوسایدی در برابر پاتوژن‌های اشريشیاکلی است<sup>(۱۳)</sup>. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که نانوذره اکسید منیزیم می‌تواند به تنها یک عامل بالقوه مؤثر ضد باکتری ضدمیکروبی و به عنوان یک عامل غذایی استفاده شود<sup>(۱۴)</sup>. در پژوهشی اکسید منیزیم برای تسکین سوزش و ناراحتی‌های معده، به عنوان آنتی‌اسید، عامل ضد سموم و همچنین برای بازسازی استخوان مورد استفاده قرار می‌گیرد<sup>(۱۵)</sup>. به تازگی از نانوذرات  $O$  در درمان سلطان همچنین نانو سرما درمانی و هیپرترمی استفاده می‌شود<sup>(۱۶)</sup>. از این رو پتانسیل بالقوه‌ای برای بررسی اثرات ضدمیکروبی این نانوذرات بر گونه‌های مختلف باکتریایی وجود دارد.

برای ذرات اکسید آهن ( $Fe_3O_4$ -  $Fe_2O_3$ ) و کادمیم سمیت بسیار کمی مشاهده شده است ولی در صورت ترکیب این مواد با سایر نانوذرات فلزی سمیت آن دچار تغییر می‌شود<sup>(۱۷)</sup> از طرفی دیگر اثبات شده است که کبالت و آهن در مقایسه با سایر نانوذرات اکسید فلزی مثل نقره دارای اثرات زیست سازگاری بهتری هستند و نیز قدرت اثرباری مناسبی را از خود نشان می‌دهند لذا یک عامل انتخابی مناسب برای کاربردی نمودن این نانوذرات جهت مقابله و پیشگیری از این عامل بیماری زا هستند

استفاده از خاصیت ضدمیکروبی نانوذرات، جهت به کارگیری از آن‌ها در صنایع بسته‌بندی و مواد غذایی و دست‌یابی به مناسب‌ترین نانوذره و بهترین میزان مصرف آن‌ها، می‌تواند باعث کاهش هزینه‌ها و پرهیز از عوارض جانبی استفاده از آن‌ها و کاهش مسمومیت دارویی شود.

خدمتی که آنتی‌بیوتیک‌ها در کاهش عفونت‌ها و تسکین آلام بشری نموده‌اند امری غیرقابل انکار بوده و بر کسی پوشیده نیست اما در سال‌های اخیر به دلیل استفاده نادرست و بی‌رویه از آن‌ها، مقاومت باکتری‌ها به این عوامل ضدمیکروبی افزایش یافته و یا گونه‌های جدید مقاومی ایجاد شده که به عنوان یک چالش و مشکل در سیستم بهداشتی مطرح است<sup>(۱)</sup>. بنا بر تخمین سازمان بهداشت جهانی روزانه از هر ۱۰ بیماری که در بیمارستان‌ها پذیرش می‌شوند یک نفر به عفونت‌های بیمارستانی مبتلا می‌شود و هزینه‌ای که بیماران جهت درمان متتحمل می‌شوند سه برابر هزینه درمان بیمارانی است که به عفونت بیمارستانی مبتلا نشده‌اند<sup>(۲)</sup>. مقاومت باکتریایی به عوامل باکتریوستاتیک در سال‌های اخیر به علت گسترش سویه‌های مقاوم افزایش یافته است<sup>(۳)</sup> و برخی از عوامل ضدمیکروبی به صورت وسیعی التهاب آور و سمی هستند<sup>(۴)</sup> بنابراین تلاش برای معرفی انواع جدیدی از عوامل ضدمیکروبی جزو اولویت‌های مراکز پژوهشی بهداشت و سلامت است و محققان به این نتیجه رسیده‌اند که نانو اکسید فلزات بسیار فعال بوده و در مقابل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی فعالیت باکتری کشی فوق العاده‌ای نشان می‌دهند<sup>(۵)، (۶)</sup> ترکیبات جدید ضدمیکروبی که از رشد باکتری بیماری‌زا ممانعت می‌کنند، یک هدف مطلوب محسوب می‌شود. عوامل ایجاد کننده عفونت‌ها می‌توانند متعدد باشند و تشکیل کلنی، رشد سلول باکتری و تشکیل ماتریکس‌های بیوفیلمی فشرده میکروبی؛ باکتری‌ها را در مقابل سیستم دفاعی میزبان مقاوم می‌کنند، نانوذرات این توانایی را دارند که از تشکیل این عوامل دفاعی میکروب در برابر سیستم اینمی میزبان جلوگیری کنند<sup>(۷)، (۸)</sup>. مشخص شده است که بسیاری از فلزات سنگین در غلاظت‌های بسیار کم، باکتری‌ها را از بین می‌برند. مکانیسم اصلی تأثیر نانوذرات بر روی باکتری‌ها از طریق آسیب

از SIGMA-ALDRICH آمریکا با قطر کمتر از ۵۰ نانومتر و نانوذرات اکسید منیزیم از US Research Nanomaterials آمریکا با قطر ۲۰ نانومتر خریداری شد. نانوذرات اکسید آهن و اکسید منیزیم در آب دوباره تقطیر استریل به مدت ۲۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک (الما سونیک، آلمان) برای این که پراکنده شوند و تعليق کلورئیدی یکسان را تشکیل دهند، سونیکیت شدند.

برای بررسی فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید آهن و اکسید منیزیم از روش قطره پلیت به روش یوجنیو و همکاران (۲۱) با اندکی تغییر استفاده شد. برای بررسی فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید آهن و اکسید منیزیم ابتدا هر یک از باکتری‌های اشريشیاکلی و استافیلوكوکوس اورئوس به صورت چمنی بروی پلیت‌های حاوی TSA به صورت جداگانه کشت داده شدند. سپس در مرحله اول غلظت‌های  $0/25\text{MgO}$ ,  $0/25\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $0/50\text{MgO}$ ,  $0/50\text{Fe}_2\text{O}_3$ - $+0/50\text{MgO}$ ,  $0/75\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $0/75\text{MgO}$ ,  $0/50\text{Fe}_2\text{O}_3$  میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و  $0/25\text{Fe}_2\text{O}_3+0/25\text{MgO}$ ,  $0/50\text{Fe}_2\text{O}_3+0/75\text{MgO}$ ,  $0/50\text{Fe}_2\text{O}_3+1/5\text{MgO}$ ,  $1/5\text{Fe}_2\text{O}_3+1/5\text{MgO}$ ,  $1/5\text{Fe}_2\text{O}_3+1\text{MgO}$ ,  $1/5\text{Fe}_2\text{O}_3+1/5\text{MgO}$  میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شده و علیه باکتری‌های نامبرده استفاده شد. بعد از آن محل قرار گرفتن نانوذرات به صورت قطره‌ای در هر پلیت به صورت نقاط مجزا مشخص گردید سپس ۲۰ میکرو لیتر از غلظت‌های آماده شده بر روی این نقاط مشخص شده بر روی این پلیت‌ها قرار گرفتند و اجازه داده شد تا قطره‌ها خشک گردد سپس هر پلیت در  $37^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. سپس از هاله عدم رشد در اطراف نمونه (قطره‌های خشک شده) برای نشان دادن فعالیت‌های ضد باکتری برای هر غلظت از نانوذرات استفاده شد (۲۱ و ۲۲).

(۱۸). باکتری‌های *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* از باکتری‌های بیماری‌زای مهم و مؤثر در مسمومیت غذایی هستند (۱۹).

با وجود اینکه مکانیسم‌های ضد میکروبی نانو ساختارهای فلزی هنوز به طور کامل روشن و واضح نیست اما سه مکانیسم در بین دانشمندان به طور گستردگی پذیرفته شده است که عبارتند از: جذب یون‌های فلزی ساطع شده از نانوذرات به درون سلول و ایجاد اختلال در مکانیسم‌های تولید و مصرف ATP و همانندسازی DNA. آسیب به سیستم اکسیداتیو گونه‌های میکروبی استفاده کننده از اکسیژن فعال (Reactive oxygen species) در تماس با نانوذرات فلزی. به این ترتیب که نانوذره مانند یک پیل الکتروشیمیایی عمل می‌کند و با اکسید کردن اتم اکسیژن، تولید یون اکسیژن و با هیدرولیز کردن آب، تولید یون OH می‌کند که هر دو این ترکیبات از قوی‌ترین عوامل ضد میکروبی می‌باشند. تجمع نانوذرات در غشاء باکتری و تخرب آن که باعث از بین رفتن خاصیت نفوذ‌پذیری انتخابی و عملکرد نادرست پمپ‌های پروتونی می‌شود (۲۰).

در این تحقیق هدف، بررسی اثر نانوذرات اکسید آهن و اکسید منیزیم به صورت ترکیبی بر روی رشد باکتری‌های *Escherichia coli* (*E.coli*) و *Staphylococcus aureus* جهت دستیابی به ترکیب بهینه‌ی دو نانوذره در مهار رشد باکتری اشريشياکلی و استافيلوكوكوس اورئوس در مواد غذایی (آبمیوه) است.

### روش بررسی

روش مطالعه در این پژوهش از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده است. سویه‌های باکتری مورد استفاده در این آزمایش شامل استافیلوكوکوس اورئوس (PTCC1431) و اشريشياکلی (PTCC1394) بود. باکتری‌های نامبرده از کلکسیون میکروبی ایران تهیه شد. محلول‌های استوک تا زمان مورد استفاده در دمای  $-80$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. باکتری‌ها در تریپتیک سوی آگار (TSA:Liofilchem, Italy) در  $37$  درجه سانتی‌گراد فعال شدند و تا زمان استفاده در  $0$  تا  $2$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نانوذرات اکسید آهن

حاوی باکتری‌های استافیلولوکوکوس اورئوس و اشريشیاکلی به همه ارلن‌ها اضافه گردید. یک ارلن نیز به عنوان شاهد که فقط حاوی آبمیوه و سوسپانسیون مخلوط باکتری‌ها بود تهیه شد. در نهایت ارلن‌ها بر روی شیکر قرار گرفتند. در این مرحله رشد به روش کلنسی کانت باکتری‌ها در ۴ بازه زمانی ۳ ساعت، ۸ ساعت، ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. در اینجا پس از زمان مورد نظر نمونه‌ها در پلیت‌های با محیط کشت‌های EMB و MSA کشت شده و به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و سپس رشد باکتری بر روی این محیط‌ها مورد بررسی قرار گرفت (۲۲).

جهت بررسی اثر تؤام نانوذرات اکسید آهن و اکسید منیزیم بر مورفولوژی باکتری‌های اشريشیاکلی و استافیلولوکوکوس اورئوس، نانوذرات با غلظت‌های  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ،  $0.5\text{MgO}$ ،  $1/5\text{MgO}$  و ترکیب آنها  $0.5\text{Fe}_2\text{O}_3 + 0.5\text{MgO}$  میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آماده شده بود تلقیح گردید و ارلن‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباسیون شیکر دار انکوبه گردید. میزان رشد باکتری‌ها به روش کلنسی کانت در حضور غلظت‌های موردنظر نانوذرات طی ۲۴ ساعت هر ۳ ساعت بررسی گردید. بدین ترتیب که هر زمان (۳ و ۶ و ۹ و ۲۴ ساعت) برداشت ۱ میلی‌لیتر از ارلن‌ها صورت گرفت و رقت‌سازی در لوله‌ها انجام شد و بر روی پلیت حاوی EMB برای باکتری اشريشیاکلی و پلیت حاوی MSA برای باکتری استافیلولوکوکوس اورئوس برده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و سپس رشد باکتری بر روی این محیط‌ها مورد بررسی قرار گرفت (۲۲).

تصاویر سلول‌های باکتریایی اشريشیاکلی و استافیلولوکوکوس اورئوس تیمار شده و تیمار نشده با میکروسکوپ الکترونی با بزرگنمایی ۲۵۰۰۰ ثبت گردید.

آزمایش‌های مختلف در سه تکرار انجام شد و اثرات غلظت‌های متفاوت اکسید آهن و اکسید منیزیم بر میزان رشد

جهت بررسی اثر نانوذرات اکسید آهن و اکسید منیزیم در محیط کشت مایع، از محیط کشت تریپتیکازوسی‌براث (TSB) استفاده گردید. در مرحله اول ۱۰ ارلن برای هر باکتری در نظر گرفته شد. غلظت‌های محاسبه شده از نانوذرات در مرحله اول از غلظت‌های  $0.5\text{Fe}_2\text{O}_3$ ،  $0.5\text{MgO}$ ،  $0.5\text{MgO}$ ،  $0.5\text{Fe}_2\text{O}_3$ ،  $0.5\text{MgO}$ ،  $0.5\text{Fe}_2\text{O}_3 + 0.5\text{MgO}$ ،  $0.5\text{Fe}_2\text{O}_3 + 0.5\text{MgO}$  میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ارلن‌های مربوطه اضافه گردید. برای هر باکتری یک ارلن به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد که فقط شامل محیط کشت استریل و بدون هیچ‌گونه نانوذرات است. سپس به هر کدام از ارلن‌ها به میزان ۱۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون باکتریایی حاوی  $7\text{ }\mu\text{g}$  باکتری که از قبل آماده شده بود تلقیح گردید و ارلن‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباسیون شیکر دار انکوبه گردید. میزان رشد باکتری‌ها به روش کلنسی کانت در حضور غلظت‌های موردنظر نانوذرات طی ۲۴ ساعت هر ۳ ساعت بررسی گردید. بدین ترتیب که هر زمان (۳ و ۶ و ۹ و ۲۴ ساعت) برداشت ۱ میلی‌لیتر از ارلن‌ها صورت گرفت و رقت‌سازی در لوله‌ها انجام شد و بر روی پلیت حاوی EMB برای باکتری اشريشیاکلی و پلیت حاوی MSA برای باکتری استافیلولوکوکوس اورئوس برده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و سپس رشد باکتری بر روی این محیط‌ها مورد بررسی قرار گرفت (۲۲).

به منظور بررسی اثر نانوذرات بر باکتری‌ها در مواد غذایی از آبمیوه استفاده شد. آبمیوه‌های مورد استفاده در این مرحله آب سیب، آب انار و آب هویج بود. بدین ترتیب که طبق محاسبات انجام شده به جای محیط کشت از آبمیوه‌ها استفاده شد و نانوذرات و سوسپانسیون باکتریایی به آن‌ها اضافه شد و رشد باکتری‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در این مرحله ۱۲ ارلن در نظر گرفته شد که برای هر آبمیوه ۴ ارلن مورد نیاز بود. نانوذرات با غلظت‌های  $0.5\text{Fe}_2\text{O}_3$ ،  $0.5\text{MgO}$ ،  $0.5\text{Fe}_2\text{O}_3 + 0.5\text{MgO}$ ،  $0.5\text{Fe}_2\text{O}_3 + 0.5\text{MgO}$  میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آماده شده به هر ارلن اضافه شد. در نهایت ۲۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون باکتریایی

مورد نظر است. در این بخش از آزمون آماری Oneway استفاده شد و داده های به دست آمده نشان داد که نانوذرات اکسید منیزیم و همچنین اکسید آهن یک ماده مؤثر علیه باکتری های مورد آزمایش است. این نتایج حاکی از کاهش تعداد سلول های باکتری اشريشياکلي است. پس از مشخص شدن خطای انحراف معیار، میزان اختلافات میانگین داده ها در حالت استفاده از نانوذرات با حالت کنترل (بدون نانوذرات)، تعیین و محاسبه گردید که نتایج حاکی از معنی دار بودن این کاهش بود ( $p=0.00$ ).

داده های پژوهش نشان داد که نانوذرات ترکیبی اکسید منیزیم و اکسید آهن  $1/5 \text{MgO} + 0.5 \text{Fe}_2\text{O}_3$  ۱۰٪ تأثیر مطلوبی بر کاهش رشد باکتری اشريشياکلي دارند. جدول ۱ اثر نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن در غلظت های مختلف علیه باکتری اشريشياکلي را نشان می دهد. آن چنان که در این جدول ۱ مشهود است نانوذرات اکسید منیزیم و نانوذرات اکسید آهن در غلظت  $1/5 \text{MgO} + 0.5 \text{Fe}_2\text{O}_3$  ۱۰٪ تأثیر قوی تری را بر باکتری اشريشياکلي دارد.

باکتری ها بواسیله ANOVA یک طرفه بررسی شد. در صدهای به دست آمده در تست ANOVA برای تعیین اختلافات معنی دار بین میانگین های گروه ها مقایسه شدند.

برای مقایسه های چندگانه از آزمون های تعقیبی با درجه اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. آنالیز های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت. سطح معنی داری کمتر از ۰.۰۵ در نظر گرفته شد.

## نتایج

نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن و غلظت های توأم این نانوذرات در محیط کشت جامد علیه باکتری های اشريشياکلي و استافیلوکوکوس اورئوس، استفاده گردید و نتایج به دست آمده حاکی از کاهش رشد باکتری ها نبود و اثر نانوذرات در محیط جامد مثبت گزارش نشد.

پس از استفاده از نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن و غلظت های توأم این نانوذرات در محیط کشت مایع علیه باکتری های اشريشياکلي و استافیلوکوکوس اورئوس، نتایج به دست آمده حاکی از کاهش رشد سلول های باکتری های

جدول ۱: نتایج حاصل از اثر نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن بر باکتری اشريشياکلي در محیط کشت مایع (log cfu/ml)

ساعت ۰	ساعت ۴	ساعت ۸	ساعت ۱۰	ساعت ۲۴	گروه شاهد'
۰/۰۰	۷/۶۶	۹/۷۹	۹/۶	۱۰/۱۱	۰/۵Mg
۰/۰۰	۷/۶	۹/۴۸	۹/۹۱	۱۰/۴۹	۱Mg
۰/۰۰	۵/۹	۵/۷۸	۸/۲۸	۱۰/۳۶	۱/۵Mg
۰/۰۰	۴	۲/۲	۱/۶	۳/۴۶	۰/۵Fe
۰/۰۰	۷/۷۳	۹/۸۸	۹/۸۴	۱۰/۳۱	۱Fe
۰/۰۰	۷/۸۷	۱۰	۹/۹۵	۱۰/۲۱	۱/۵Fe
۰/۰۰	۷/۸	۹/۶۲	۱۰/۰۱	۱۰/۱۹	۱Fe + ۱Mg
۰/۰۰	۵/۶۲	۴/۹۸	۵/۲۳	۱۰/۱۸	۰/۵Fe + ۱/۵ MgO
۰/۰۰	۳/۸۹	۱	۱/۳	۲/۸۷	۱/۵Fe + ۰/۵Mg
۰/۰۰	۶/۹۹	۹/۲	۹/۷۸	۱۰/۱۳	۰/۰۰

(بدون نانوذرات)، حاکی از معنی دار بودن این کاهش بوده ( $p=0.00$ ) و به طور کلی ترکیبات نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن نسبت به حالت منفرد تأثیر بیشتری جهت کاهش رشد باکتری دارند. جدول ۲ اثر نانوذرات اکسید منیزیم و

بررسی داده های مربوط به اثر نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نشان می دهد پس از مشخص شدن خطای انحراف معیار، میزان اختلافات میانگین داده ها در حالت استفاده از نانوذرات با حالت کنترل

اکسید آهن در غلظت  $1/5\text{MgO} + 0/5\text{Fe}_2\text{O}_3$  ۱/۵ تأثیر قوی تری را علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس دارد.

اکسید آهن در غلظت‌های مختلف علیه باکتری استافیلوکوکوس/اورئوس را نشان می‌دهد. آنچنان که در این جدول ۲ مشهود می‌باشد نانوذرات اکسید منیزیم و نانوذرات

جدول ۲: نتایج حاصل از اثر نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در محیط کشت مایع ( $\log \text{cfu}/\text{ml}$ )

	ساعت ۰	ساعت ۳	ساعت ۶	ساعت ۹	ساعت ۲۴	
۰۰۰	۲/۹	۴/۰۷	۴/۶۲	۸/۳۴	گروه شاهد	
۰۰۰	۲/۶۴	۲/۹۴	۳/۹۶	۴/۰۷	$0/5\text{Mg}$	
۰۰۰	۲/۳۴	۲/۳۴	۲/۵۲	۲/۶۶	$1\text{Mg}$	
۰۰۰	۲/۴۱	۲/۰۴	۲/۲۸	۲/۲۸	$1/5\text{Mg}$	
۰۰۰	۳	۳/۹۹	۴/۴۷	۹/۷۶	$0/5\text{Fe}$	
۰۰۰	۲/۴۳	۲/۹۵	۳/۵۴	۵/۸۱	$1\text{Fe}$	
۰۰۰	۲/۵۸	۲/۶۹	۳/۴۶	۵/۲۶	$1/5\text{Fe}$	
۰۰۰	۲/۶۵	۲/۵۲	۲/۴۶	۲/۶۹	$1\text{Fe} + 1\text{Mg}$	
۰۰۰	۲/۵۲	۲/۵۱	۲/۴۶	۲/۱۵	$0/5\text{Fe} + 1/5\text{MgO}$	
۰۰۰	۲/۳۴	۲/۴۱	۳/۷۶	۴	$1/5\text{Fe} + 0/5\text{Mg}$	

انار ( $p=0/495$ ) و سیب ( $p=0/035$ ) در حضور نانوذرات بوده و نشان از تأثیرگزاری ترکیب نانوذرات می‌باشد اما مقایسه اثر نانوذرات به لحاظ "آماری" فقط در آب میوه هویج و سیب بر باکتری اشیریشیاکلی معنی‌دار بوده در انار دارای سطح معنی‌داری نبوده است ( $Pvalue > 0/05$ ).

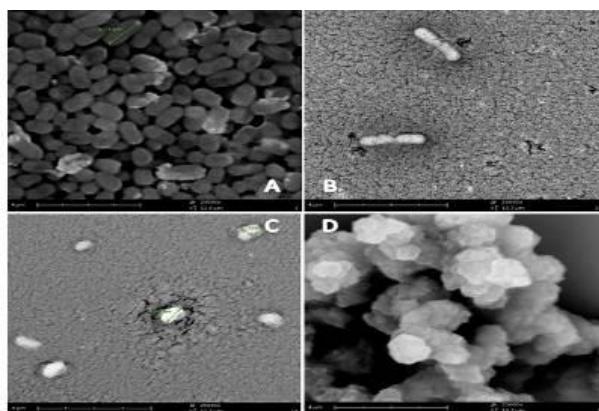
در این پژوهش از لحاظ میکروبیولوژی، کاهش رشد باکتری‌ها استافیلوکوکوس اورئوس و تأثیر نانوذرات قبل  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  مشاهده است. از جمله در محیط آب هویج، نانوذره  $1/5\text{MgO} + 0/5\text{Fe}_2\text{O}_3$  ۱/۵ تأثیر کاهشی خوبی داشته و در ۲۴ ساعت رشد باکتری‌ها را به صفر رسانده است. در محیط آب انار و آب سیب چون محیط مناسبی برای رشد این باکتری نیستند و نتیجه اثر نانوذرات در کاهش رشد قابل بررسی نمی‌باشد. با توجه به تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط آزمون آنالیز واریانس و تعیین سطح معنی‌داری برای سه آب میوه هویج، انار و سیب از نظر آماری مقایسه ترکیبات نانو اکسید منیزیم و اکسید آهن با این آب‌میوه‌ها بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، انار و سیب ( $p=0/729$ ،  $p=0/997$ ،  $p=0/526$ ) به ترتیب برای هویج، A-1 تصویر می‌باشد.

در بررسی اثر نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن، اثر این نانوذرات در حالت‌های منفرد و توأم با یکدیگر در آب‌میوه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. پس از نرمالیزه کردن داده‌های به دست آمده در این آزمایش، تعیین خطای انحراف معيار و معنی‌دار بودن این آزمایش با استفاده از آزمون آماری One Way Anova مشخص گردید که نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن تأثیر مطلوبی بر جلوگیری از رشد باکتری‌های مورد آزمایش در بعضی از آب‌میوه‌های مختلف را دارد. کاهش تعداد سلول‌های این باکتری در هر سه آب میوه در حضور نانوذرات است همچنین با توجه به تأثیر قوی تر نانوذرات اکسید منیزیم، ترکیب این نانوذرات با نانوذرات اکسید آهن باعث بروز رفتار سینرژیسمی علیه باکتری اشیریشیاکلی شده است به طوری که در بین غلظت‌های موجود، غلظت  $1/5\text{MgO} + 0/5\text{Fe}_2\text{O}_3$  بیشترین کاهش را در تعداد سلول‌های باکتری را داشته است.

داده‌های آزمایش، نتایج مربوط به تأثیر این نانوذرات علیه باکتری اشیریشیاکلی را نشان می‌دهد و حاکی از کاهش تعداد سلول‌های این باکتری در آب میوه‌های هویج ( $p=0/15$ ).

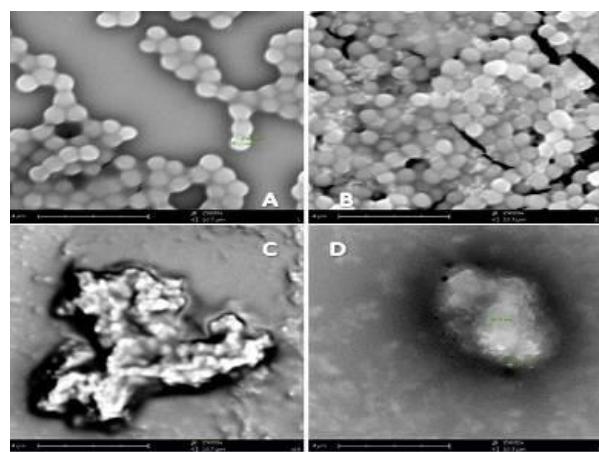
کرده است. تصویر ۱- C نشان می‌دهد که باکتری/شریشیاکلی در مجاورت نانوذره اکسید منیزیم، کاهش یافته و به شدت صدمه دیده است. تصویر ۱- D نشان می‌دهد که ترکیب نانوذره اکسید آهن و اکسید منیزیم، باعث منقبض شدن سلول شده و ایجاد فروپاشیدگی سلول نسبت به سلول‌های سالم شده است.

نشان می‌دهد سلول‌های باکتری اشريشياکلی به وضوح میله‌ای هستند و اندازه‌های نرمال و ساختاری سالم و دست نخورده دارند. تصویر ۱- B نشان می‌دهد که در مجاورت نانوذرات اکسید آهن، تعداد باکتری اشريشياکلی کاهش یافته و باعث تغییر شکل در سطح سلول شده و فرورفتگی‌هایی نیز ایجاد



تصویر ۱- SEM - باکتری/شریشیاکلی

A. باکتری/شریشیاکلی (شاهد) B. اثر ۵/۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوذرات اکسید آهن C. اثر ۱/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوذرات اکسید منیزیم D. اثر توأم ۵/۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوذرات اکسید آهن و ۱/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوذرات اکسید منیزیم



تصویر ۲- SEM - باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

A. باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (شاهد) B. اثر ۵/۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوذرات اکسید آهن C. اثر ۱/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوذرات اکسید منیزیم D. اثر ۵/۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوذرات اکسید آهن و ۱/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوذرات اکسید منیزیم

استافیلوکوکوس اورئوس در مجاورت نانوذرات اکسید آهن، باعث چسبندگی بیشتر باکتری‌ها به هم شده است. تصویر ۲- C نشان می‌دهد که باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در مجاورت نانوذره اکسید منیزیم، آسیب‌دیده و ساختاری نامنظم ایجاد شده است. تصویر ۲- D نیز نشان می‌دهد که ترکیب

تصویر ۲ نیز SEM سلول‌های باکتری استافیلوکوکوس اورئوس را نشان می‌دهد. همان طور که تصویر ۲- A نشان می‌دهد سلول‌های باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به وضوح کروی هستند و اندازه‌های نرمال و ساختاری سالم و دست نخورده دارند. تصویر ۲- B نشان می‌دهد که باکتری

توجه به ساختار دیواره سلولی گرم منفی‌ها و فیزیولوژی آن‌ها این اثرات کمتر مشاهده می‌گردد (۲۳).

یکی از علل حساسیت پایین‌تر اشريشیاکلی می‌تواند به این دلیل باشد که غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی مانند اشريشیاکلی به طور غالب از لیپوپلی ساکارید مستحکم تشکیل شده است که سد مقاومی در برابر نانوذره محسوب می‌شود (۲). Chung و همکارانش پیشنهاد نمودند که میزان تجمع بار منفی بر روی باکتری‌های گرم منفی بیشتر از باکتری‌های گرم مثبت است بر هم کنش نانوذرات دارای بار مثبت و دیواره سلولی دارای بار منفی منجر به نشت محتويات درون سلول باکتری می‌شود (۲۴).

در تحقیقی که توسط Sinha و همکاران صورت پذیرفت، اثر نانوذره نقره و اکسید روی بر باکتری‌های مزو菲尔 (Mesophyll) (سرمادوست) و باکتری‌های هالوفیل (Halophile) (نمک دوست) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آن‌ها نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت حساسیت بیشتری را نسبت به دو نانوذره مورد بررسی نشان می‌دهند (۲۵).

برای افزایش خاصیت ممانعت کنندگی یک ماده ضدبیکروبی همچون نانوذرات، در بعضی مواقع استفاده از این مواد در حالت ترکیبی، می‌تواند یک راهکار مناسب در نظر گرفته شود که علاوه بر افزایش خاصیت ضدبیکروبی، می‌تواند بر محدودیت هر یک از نانوذرات در حالت منفرد غلبه نماید. از جمله مزایای استفاده از نانوذرات در حالت ترکیبی که می‌توان به آن اشاره نمود گستردگی عملکرد آن‌ها، استفاده از غلظت‌های پایین‌تر نانوذرات در حالت ترکیبی نسبت به حالت منفرد، کاهش سمیت، جلوگیری از بروز پدیده مقاومت نسبت به هر یک از نانوذرات است (۲۶، ۲۷). البته کاهش اثر نانوذرات در حالت ترکیبی نیز گاهی اوقات می‌تواند رخدهد. در واقع می‌توان گفت دو ماده ضدبیکروبی که دارای مکانیسم نزدیک به یکدیگر باشند در حالتی که با یکدیگر جمع شوند باعث افزایش خاصیت ضدبیکروبی یکدیگر شده و یا به بیان دیگر رابطه سینرژیسمی نسبت به یکدیگر دارند (۲۷).

نانوذره اکسید آهن و اکسید منیزیم، باعث ایجاد فروپاشیدگی و از بین رفتن سلول شده است.

## بحث

با توجه به بیماری‌زایی و اثرات مخرب باکتری‌های مختلف و لزوم جلوگیری از رشد و افزایش آن‌ها لازم است بهترین روش و کم هزینه ترین و پرپاژنی ترین روش‌های ممکن به کارگیری شود.

در این پژوهش با توجه به جستجوهای متعدد از مقالات منتشرشده در مجلات و سایت‌های معتبر علمی دنیا و بررسی آن‌ها، همچنین با مد نظر قرار دادن مواردی چون صرفه اقتصادی در صورت صنعتی شدن تحقیقات، در دسترس بودن و اثرات متقابل دو نانوذره بر همدیگر (احتمال ایجاد رسوب در اثر ترکیب شدن) و همچنین احتمال حساسیت‌زایی کمتر بر سلول‌های پستانداران، از دو نانوذره  $MgO$ ,  $Fe_2O_3$  استفاده گردید؛ نتایج تحقیقات بیانگر این است که هرچند در محیط کشت جامد اثر ضد باکتریایی ترکیب، قابل قبول نبود اما در حالت سوسپانسیون نانوذرات، به فراخور میزان ترکیب متفاوت دو نانوذره، نتایج مطلوبی به دست آمد که با مطالعات سایر محققان نیز مطابقت دارد.

در این پژوهش اثر نانوذرات اکسید منیزیم با متوسط اندازه ۲۰ نانومتر و نانوذرات اکسید آهن با متوسط اندازه کمتر از ۵۰ نانومتر در غلظت‌های منفرد و توأم (۱/۵، ۱ و ۰/۵) میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر باکتری‌های اشريشیاکلی و استافیلوكوکوس اورئوس مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های این پژوهش نشان داد که نانوذرات مذکور تأثیر مطلوبی بر کاهش تعداد سلول‌های باکتری‌های اشريشیاکلی  $pvalue=0/00$  و استافیلوكوکوس اورئوس  $0/05 \leq p \leq 0/005$  در محیط کشت مایع دارند.

بر اساس یافته‌های این تحقیق حساسیت استافیلوكوکوس اورئوس (گرم مثبت) نسبت به ترکیبات مورد استفاده در این پژوهش در مقایسه با باکتری‌های اشريشیاکلی (گرم منفی) بیشتر است. که در این زمینه نیز ساختار دیواره سلولی در گرم مثبت‌ها می‌تواند توجیه کننده علت این حساسیت باشد و با

اگرچه نانوذرات فلزی تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر سلول‌های باکتریایی، ویروسی و قارچی دارد با توجه به اینکه عناصر آهن و منیزیم جزو عناصر اصلی ساختار بدن پستانداران می‌باشند سمیت نانوذرات  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  و  $\text{MgO}$  نسبت به سایر نانوذرات فلزی کمتر مشاهده و گزارش گردیده است اما بهطور کلی استفاده از نانوذرات می‌تواند اثرات سمی نیز در برداشته باشد. Feng و همکاران در یک تحقیق سمیت نانوذرات روی، به صورت پودر را روی سلول‌های بدن موش در غلظت ۵ گرم در هر کیلوگرم وزن بدن مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها متوجه شدند که این نانوذرات به سلول‌های کبد آسیب رسانده و باعث التهاب خفیف در معده و کلیه می‌شود<sup>(۳۳)</sup> در تحقیقی دیگر Zhu و همکاران نشان دادند که نانوذرات آهن باعث لخته شدن خون و لیز سلولی در ناحیه ریه می‌شود<sup>(۳۴)</sup> همچنین ثابت شده است که نانوذرات می‌توانند توسط نوکلئیک اسید و میتوکندری جذب شده و باعث بروز اختلال در عملکرد طبیعی این بخش‌ها و ایجاد جهش در ماده ژنتیکی شوند<sup>(۳۵)</sup> با توجه به معایبی که نانوذرات بر روی سلول‌های بدن انسان دارد، استفاده آن‌ها به صورت ترکیبی با عصاره‌های گیاهی و همچنین آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند به عنوان یک روش امیدوارکننده در جهت تقویت اثر آنتی‌بیوتیک‌ها و کاهش اثرات سمی هر دو ترکیب مورد استفاده قرار گیرد. چرا که در این صورت نیاز به مصرف بالای این مواد ضدмікробی به تنها نیست و در نتیجه سمیت این مواد کاهش پیدا می‌کند<sup>(۳۶)</sup>. در نهایت نتایج این پژوهش نشان داد که خاصیت ضدباکتریایی  $\text{MgO}$  از  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  بیشتر است که این خود می‌تواند به دلیل ساختار مولکولی متفاوت  $\text{MgO}$  و  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  کوچک‌تر بودن مولکول‌های آن مرتبط باشد در این پژوهش بررسی مورفولوژیکی باکتری‌ها توسط عکسبرداری با میکروسکوپ الکترونی (SEM) نیز صورت گرفت که نتایج نشان داد که نانوذرات ترکیبی بیشترین تأثیر بر روی مورفولوژی باکتری‌ها داشته است.

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق، استفاده از این نانوذرات در جهت کاهش رشد باکتری‌ها، مؤثر به نظر

داده‌های این پژوهش نشان داد که ترکیب این دو نانوذرات با یکدیگر در محیط مایع و آب میوه باعث افزایش تأثیر ضدباکتریایی آن‌ها شده و باعث کاهش چشمگیری در تعداد باکتری‌ها می‌شود. از درصدهای تعیین شده در پژوهش می‌توان مناسب‌ترین ترکیب را  $\text{Fe}_2\text{O}_3 + 0.5 \text{ MgO}$  <sup>(۱/۵)</sup> معرفی کرد. ترکیب دو یا چند نانوذره به منظور تعیین رفتار آنتاگونیسمی یا سینرژیسمی، موضوع تحقیقات پژوهشگران زیادی بوده است. به طور مثال در یک پژوهش Reddy و همکارانش از ترکیب اکسید فلزی نانوذرات بر باکتری‌های بیماری‌زا استفاده نمودند<sup>(۲۸)</sup> در مطالعه‌ای دیگر از ترکیب نانوذرات اکسید روی با دیگر اکسیدهای فلزی بر سریه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متیسیلین (MRSA) و تعدادی از باکتری‌های گرم منفی بیماری‌زا استفاده شده است. در آن مطالعه نشان دادند که ترکیب این نانوذرات با یکدیگر باعث تقویت اثر یکدیگر و ایجاد رفتار سینرژیسمی نسبت به یکدیگر می‌شوند. نتایج آن‌ها نشان داد که باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت مقاومت بیشتری نسبت به سوسپانسیون ترکیبی نانوذرات از خود نشان دادند<sup>(۲۹)</sup>.

Mandal و همکاران در ضمن پژوهش خود بیان داشتند در حالتی که اثر ترکیبی دو نانوذره نسبت به حالت منفرد، باعث کاهش جمعیت باکتریایی شود این دو ترکیب دارای اثر سینرژیسمی نسبت به یکدیگر می‌باشند<sup>(۳۰)</sup>.

در حال حاضر، استفاده از نانوذرات در سلامت مواد غذایی رو به افزایش است، برای مثال، اکسید روی کوانتموی به عنوان تیمار ضدمیکروبی در نمونه سفیده تخم مرغ مایع استفاده شده و نتایج نشان داده با افزایش غلظت اکسید روی کوانتموی به طور قابل توجهی رشد لیستریا منوسایتوژن و سالمونلا انتریدیس در سفیده تخم مرغ مایع کاهش یافته است<sup>(۳۱)</sup>.

محققان گزارش نمودند نانو امولسیون‌ها در برابر انواع عوامل بیماری‌زای مواد غذایی از جمله باکتری‌های گرم منفی مؤثر هستند، آن‌ها می‌توانند برای ضدغوفونی سطح گیاهان در فراوری مواد غذایی و کاهش آلودگی سطح پوست مرغ استفاده شوند<sup>(۳۲)</sup>.

است. در مورد دو نانوذره مصرفی، حد مجاز اکسید آهن در مردان ۸ و در زنان ۱۸ میلیگرم در روز است که در سایت انتیتو ملی بهداشت امریکا منتشر شده است البته این میزان در سنین مختلف و در زمان بارداری و شیردهی نیز متفاوت است (۴۰) و حد مجاز اکسید منیزیم برای زن mg ۳۲۰-۳۱۰ و برای مرد mg ۴۰۰-۴۲۰ تعیین شده است (۱۳). همچنین این افزایش غلظت احتمال ایجاد گونه‌های مقاوم به نانوذرات را نیز افزایش می‌دهد که یک تأثیر منفی محسوب می‌شود زیرا عدم وجود گونه‌های مقاوم به نانوذرات یکی از دلایل استفاده از نانوذرات علیه باکتری‌ها است.

#### نتیجه‌گیری

از آنجا که ترکیب این دو نانوذرات با یکدیگر در محیط مایع و آب میوه باعث افزایش تأثیر ضدباکتریایی آن‌ها می‌شود، استفاده از آن‌ها به صورت ترکیبی همراه با عوامل ضدمیکروبی شیمیایی و فیزیکی (عصاره‌های گیاهی، آنتیبیوتیک‌ها، نانوذرات دیگر و باکتریوسین‌ها، حرارت، امواج مافوق صوت، جریان الکتریکی و پرتوها) می‌تواند یک روش امیدوارکننده در عرصه صنعت غذایی در جهت کاهش اثرات سمی این ترکیبات بر روی سلول‌های بدن انسان باشد.

#### سپاسگزاری

این پژوهه توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد اشکذر و پژوهشکده پوشش‌های نانوساختار دانشگاه پیام نور استان یزد حمایت شده و نویسنده‌گان از همکاری صمیمانه این مراکز تشکر می‌نمایند.

#### References:

- 1-Yang W, Li H, Gong Y, Chen W, Gaidau C. *Preparation of silver nanoparticles of enhanced antibacterial effect with benzalkonium bromide*. Journal of Optoelectronics and Advanced Materials.2011;13(5):661
- 2-Hoseinzadeh E, Alikhani M, Samarghandy M. *Evaluation of Synergistic Effect of Commercial Zinc Oxide and Copper Oxide Nanoparticles against Gram Positive and Gram Negative Bacteria by Fraction Inhibitory Concentration Index*. ZUMS Journal.2012; 20(82):29-41

می‌رسد و از آنجا که استفاده از نانوذرات در صنایع غذایی متداول شده است می‌توان این نانوذرات را جهت بررسی بیشتر برای استفاده در صنایع غذایی پیشنهاد داد.

با توجه به اطلاعات موجود، نانومواد در مواد غذایی آلی و غیر آلی مورد استفاده قرار می‌گیرند. نانو مواد مهندسی شده که در محصولات غذایی استفاده می‌شوند به سه کلاس اصلی تقسیم شده است: نانو مواد غیر آلی، نانو مواد عاملدار سطحی و نانو مواد مهندسی شده آلی (۳۷). در صنایع غذایی، افزودنی‌های غذایی، بسته بندی مواد غذایی و یا ذخیره‌سازی، از نانو مواد مهندسی شده فلزات واسطه، مانند نقره و آهن؛ فلزات قلیایی خاکی، مانند کلسیم و منیزیم و غیر فلزات مانند سلنیوم و سیلیکات استفاده می‌کنند (۳۸).

در محصولات مصرفی از جمله غذا و آب، همچنین سطوح در تماس با مواد غذایی و بسته‌بندی مواد از نانوذرات نقره استفاده می‌شود. همچنین نمک‌های نانوکلسیم و نانومنیزیم به عنوان مکمل‌های سلامت هم اکنون در دسترس می‌باشند (۳۹).

نانوذرات آهن به عنوان یک مکمل سلامت در رفع آلودگی آب مورد استفاده قرار می‌گیرند که در آن با شکسته شدن آلاینده‌های آلی و کشنن عوامل بیماری‌زای میکروبی آلودگی را رفع می‌کنند. با این وجود، نمی‌توان غلظت را به نسبت زیاد بالا برد، زیرا استفاده از این مواد در مواد غذایی دارای یک حد مجاز است که میزان حد مجاز استفاده از نانوذرات در مواد غذایی در سازمان FDA که سازمان جهانی غذا و دارو است تعیین شده است و این میزان در مورد نانوذرات مختلف و همچنین بسته به جنسیت و وزن بدن مصرف کننده متفاوت

- 3-Hadi M, Shokoohi R, Ebrahimzadeh Namvar A, Karimi M, Solaimany Aminabad M. Antibiotic resistance of isolated bacteria from urban and hospital wastewaters in Hamadan City.** Iranian Journal of Health and Environment. 2011; 4(1):105-14
- 4-Kalantar E, Maleki A, Khosravi M, Mahmoodi S .Evaluation of Ultrasound Waves Effect on Antibiotic Resistance Pseudomonas Aeruginosa and Staphylococcus Aureus Isolated from Hospital and their Comparison with Standard Species.** Iranian Journal of Health and Environment.2010; 3(3):319-26
- 5-Tawale JS, Dey KK, Pasricha R, Sood KN, Srivastava AK. Synthesis and characterization of ZnO tetrapods for optical and antibacterial applications.** Thin Solid Films. 2010;519(3):1244-7.
- 6-Zhang L, Ding Y, Povey M, York D. ZnO nanofluids –A potential antibacterial agent.** Progress in Natural Science.2008;18(8):939-44
- 7-Jones GL, Muller CT, O'Reilly M, Stickler DJ. Effect of triclosan on the development of bacterial biofilms by urinary tract pathogens on urinary catheters.** The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2006;57(2): 266-72
- 8-Schrand AM, Rahman MF, Hussain SM, Schlager JJ, Smith DA, Syed AF. Metal-based nanoparticles and their toxicity assessment.** Wiley interdisciplinary reviews Nanomedicine and nanobiotechnology 2010; 2(5):544-68.
- 9-Heinlaan M, Ivask A, Blinova I, Dubourguier HC, Kahru A. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO to bacteria Vibrio fischeri and crustaceans Daphnia magna and Thamnocephalus platyurus.** Chemosphere .2008; 71(7):1308-16.
- 10- Jeng HA, Swanson J. Toxicity of Metal Oxide Nanoparticles in Mammalian Cells.** Journal of Environmental Science and Health, Part A. 2006;41(12):2699-711.
- 11- Espitia P, Soares Nd, Teófilo R, Vitor D, Coimbra Jd, de Andrade N, et al. Optimized dispersion of ZnO nanoparticles and antimicrobial activity against foodborne pathogens and spoilage microorganisms.** J Nanopart Res.2013;15(1): 1-16.
- 12- Tayel AA, El-Tras WF, Moussa S ,El-Baz AF, Mahrous H, Salem MF, et al. Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens.** Journal of Food Safety 2011;31(2):211-8.
- 13- Jin T, He Y. Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens.** J Nanopart Res.2011; 13(12):6877-85.
- 14- Shi L-E, Xing L, Hou B, Ge H, Guo X, Tang Z. Inorganic nano metal oxides used as anti-microorganism agents for pathogen control.** Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial.2010: 361-68.
- 15- Krishnamoorthy K, Manivannan G, Kim SJ, Jeyasubramanian K, Premanathan M. Antibacterial activity of MgO nanoparticles based on lipid peroxidation by oxygen vacancy.** J Nanopart Res 2012; 14:1063.

- 16-** Di D-R, He Z-Z, Sun Z-Q, Liu J. *A new nano-cryosurgical modality for tumor treatment using biodegradable MgO nanoparticles.* Nanomedicin 2012; 8(8): 1233-41.
- 17-** Rezaei-Zarchi S, Javed A, Javeed Ghani M, Soufian S ,Barzegari Firouzabadi F, Bayanduri Moghaddam A, et al. *Comparative Study of Antimicrobial Activities of TiO<sub>2</sub> and CdO Nanoparticles against the Pathogenic Strain of Escherichia coli.* Iranian Journal of Pathology 2010;5(2):83-9.
- 18-** Kawata K, Osawa M, Okabe S. *In Vitro Toxicity of Silver Nanoparticles at Noncytotoxic Doses to HepG 2 Human Hepatoma Cells.* Environmental Science & Technology 2009;43(15):6046-51
- 19-** Barati B., Saadati M., Bahmani M. Kh. *Isolation and Detection of Enterotoxigenic Staphylococcus Aureus Type A by Multiplex PCR.* Journal of Military Medicine 2006; 8(2):119-28.
- 20-** Shirzad Siboni M, Samadi M, Yang J, Lee S. *Photocatalytic reduction of Cr (VI) and Ni (II) in aqueous solution by synthesized nanoparticle ZnO under ultraviolet light irradiation: a kinetic study.* Environmental technology 2011;32(14):1573-9
- 21-** Parente E, Brienza C, Moles M, Ricciardi A. *A comparison of methods for the measurement of bacteriocin activity.* Journal of Microbiological Methods 1995;22(1):95-108.
- 22-** Mirhosseini M, Firouzabadi FB. *Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticle suspensions on food-borne pathogens.* International Journal of Dairy Technology 2013; 66(2):291-5.
- 23-** Lin D, Xing B. *Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth.* Environmental Pollution 2007; 150(2):243-50.
- 24-** Chung Y-C, Su Y-P, Chen C-C, Jia G, Wang H-l, Wu JG, et al. *Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall.* Acta Pharmacologica Sinica 2004;6:932
- 25-** Sinha R, Karan R, Sinha A, Khare SK. *Interaction and nanotoxic effect of ZnO and Ag nanoparticles on mesophilic and halophilic bacterial cells.* Bioresource Technology 2011; 102(2):1516-20.
- 26-** Kalishwaralal K, BarathManiKanth S, Pandian SRK, Deepak V, Gurunathan S. *Silver nanoparticles impede the biofilm formation by Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus epidermidis.* Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 2010;79(2):340-4.
- 27-** Te Dorsthorst D, Verweij P, Meis J, Punt N, Mouton J. *Comparison of fractional inhibitory concentration index with response surface modeling for characterization of in vitro interaction of antifungals against itraconazole-susceptible and-resistant Aspergillus fumigatus isolates.* Antimicrobial agents and chemotherapy. 2002; 46(3):702-7.
- 28-** Reddy KM, Feris K, Bell J, Wingett DG, Hanley C, Punnoose A. *Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems.* Applied physics letters 2007;90(21): 213902.

- 29-** Ren G, Hu D, Cheng EWC, Vargas-Reus MA, Reip P, Allaker RP. *Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications.* International Journal of Antimicrobial Agents 2009;33(6):587-90.
- 30-** Mandal S, Pal NK, Chowdhury IH, Debmandal M. *Antibacterial Activity of Ciprofloxacin and Trimethoprim, Alone and in Combination, Against Vibrio cholerae O 1'Biotype El Tor Serotype Ogawa Isolates.* Polish Journal of Microbiology 2009;58(1):57-60.
- 31-** Jin T, Sun D, Su JY, Zhang H ,Sue HJ. *Antimicrobial Efficacy of Zinc Oxide Quantum Dots against Listeria monocytogenes, Salmonella Enteritidis, and Escherichia coli O157:H7.* Journal of Food Science. 2009;74(1):M46-52.
- 32-** Sekhon BS. *Food nanotechnology—an overview.* Nanotechnology, science and applications 2010;3: 1-15.
- 33-** Feng Q, Wu J, Chen G, Cui F, Kim T, Kim J. *A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus.* Journal of biomedical materials research 2000;52(4):662-8.
- 34-** Zhu M-T, Feng W-Y, Wang B, Wang T-C, Gu Y-Q, Wang M, et al. *Comparative study of pulmonary responses to nano-and submicron-sized ferric oxide in rats.* Toxicology 2008;247(2):102-11.
- 35-** Singh M, Singh S, Prasad S, Gambhir I. *Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles.* Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures 2008;3(3):115-22.
- 36-** Allahverdiyev AM, Kon KV, Abamor ES, Bagirova M, Rafailovich M. *Coping with antibiotic resistance: combining nanoparticles with antibiotics and other antimicrobial agents.* Expert Rev Anti Infect Ther 2011; 9(11): 1035-52
- 37-** Chaudhry Q, Scotter M, Blackburn J, Ross B, Boxall A, Castle L, et al. *Applications and implications of nanotechnologies for the food sector.* Food Additives & Contaminants: Part A 2008;25(3):241-58.
- 38-** Bouwmeester H, Dekkers S, Noordam MY, Hagens WI, Bulder AS, de Heer C, et al. *Review of health safety aspects of nanotechnologies in food production.* Regulatory Toxicology and Pharmacology 2009; 53(1):52-62.
- 39-** Mirhosseini M, Afzali M. *Investigation into the antibacterial behavior of suspensions of magnesium oxide nanoparticles in combination with nisin and heat against Escherichia coli and Staphylococcus aureus in milk.* Food Control 2016; 15(68):208.
- 40-** Trumbo P, Yates AA, Schlicker S, Poos M. *Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc.* Journal of the American Dietetic Association 2001;101(3): 294-301.

# Investigation of Combination Effect of Magnesium Oxide and Iron Oxide Nanoparticles on the Growth And Morphology of the Bacteria *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia Coli* in Juice

Mahdi Torabi Zarchi<sup>1</sup>, Mahboubeh Mirhosseini<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Medical Biotechnology Research Center, Ashkezar Branch, Islamic Azad University, Ashkezar, Yazd, Iran

<sup>2</sup> Department of Biology, Payame Noor University, Iran

Received: 28 Aug 2016

Accepted: 10 Dec 2016

## Abstract

**Introduction:** Nanoparticles (NPs) are one of the antibacterial substances, among them nanoparticles type MgO and Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> are less toxic to mammalian cells. So, the aim of this study was investigation of combination effects of iron oxide and magnesium oxide nanoparticles on the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* (*E.coli*) to achieve the optimum combination of nanoparticles inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in food (juice).

**Methods:** In this experimental research, the effect of MgO and Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nanoparticles compound on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria in liquid environment was investigated, and then their effect was investigated separately in juices of carrot, pomegranate and apple via colony count approach. Also, scanning electron microscopy was used to characterize the morphological changes of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* after antimicrobial treatments. The results of the research were analyzed using one way ANNOVA.

**Results:** The results of the research indicated that in liquid medium, these nanoparticles lead to reduce the growth of both bacteria. compound of 1.5Mg+0.5Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> was introduced as the most appropriate antibacterial compounds; *Staphylococcus aureus* sensitivity to *Escherichia coli* was higher against nanoparticles. The findings of research about the juices revealed that the combined effect of nanoparticles reduced the growth of both bacteria. the combined effect of Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and MgO nanoparticles treatments distorted and damaged the cell membrane, resulting in a leakage of intracellular contents and eventually the death of bacterial cells.

**Conclusion:** Nanoparticles in the allowed concentrations have significant effect on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria.

**Keywords:** Nanoparticles, Magnesium Oxide (Mgo), Iron Oxide (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>),Juice, Food Pathogens

## This paper should be cited as:

Torabi Zarchi M, Mirhosseini M. Investigation of combination effect of magnesium oxide and iron oxide nanoparticles on the growth and morphology of the bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in juice. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2017; 24(11):924-937

\*Corresponding author: Tel: 09133730895, email: m.mirhossaini@gmail.com