

بررسی اثرهای ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی دوپه شده با مس و آلومینیم علیه شیگلا فلکسنری

زهرة دیدار*

۱- استادیار گروه صنایع غذایی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۵/۱۱

چکیده

در این تحقیق، نانوذرات دوپه مس-اکسید روی، آلومینیم-اکسید روی به روش رسوب شیمیایی سنتز و خصوصیات ساختاری و ظاهری آنها با استفاده از طیف مادون قرمز فوریه، پراش اشعه X و میکروسکوپ الکترونی عبوری بررسی شد. ظاهر شدن پیک‌های دامنه ۲۴۰۲، ۱۶۳۸ و ۱۳۶۵ بر سانتی‌متر طیف مادون قرمز فوریه وجود مس را در ساختار نانوذرات اکسید روی و پیک‌های ۲۳۶۲، ۱۷۴۰ و ۱۳۶۴ بر سانتی‌متر نیز وجود آلومینیم را در ساختار نشان داده است. الگوی پراش اشعه X و تصویرهای میکروسکوپ عبوری نیز تأیید کننده دوپه شدن عناصر مس و آلومینیم در ساختار اکسید روی با روش رسوب شیمیایی است. اثرهای ضد میکروبی نانوذرات دوپه مورد نظر با تعیین قطر هاله عدم رشد و حداقل غلظت بازدارندگی رشد بر باکتری شیگلا فلکسنری (PTCC 1234) بررسی شد. نتایج آزمون‌های اثر ضد میکروبی نشان داده است که نانوذرات دوپه مس-اکسید روی، در مقایسه با آلومینیم-اکسید روی، اثر ضد میکروبی بیشتری بر شیگلا فلکسنری دارد و قطر هاله عدم رشد برابر با ۳۲ میلی‌متر ایجاد می‌کند در حالی که قطر هاله عدم رشد در مورد آلومینیم-اکسید روی ۱۴ میلی‌متر بوده است. به علاوه، هر دو نانوذره دوپه، نسبت به نانوذرات اکسید روی به تنهایی، اثر ضد میکروبی بیشتری ایجاد می‌کنند (۰/۰۱ $p \leq$). حداقل غلظت مهارتی رشد نانوذرات دوپه مس-اکسید روی و آلومینیم-اکسید روی به ترتیب ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است. نتایج بررسی‌ها نشان داده است ترکیب این نانوذرات با دو ماده ضد میکروب (پراکسید هیدروژن و هیپوکلریت سدیم) اثر هم‌افزایی (سینرژیستی) دارد.

واژه‌های کلیدی

هم‌افزا (سینرژیست)، نانوذرات دوپه، هیپوکلریت

مقدمه

است. برخی پژوهشگران اثرهای ضد میکروبی نانوذرات را در برابر میکروارگانیسم‌های مختلف گزارش کرده‌اند (Tran *et al.*, 2010) از جمله اثر ضد باکتریایی اکسید سزیم بر اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژنوزا، استرپتوکوکوس پیروژن، استرپتوکوکوس پنومونی، استافیلوکوکوس اپیدرمیس، سیتروباکتر فروندی، انتروباکتر آئروژنز (Masadeh *et al.*, 2015)، اکسید وانادیم بر استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی (Natalio *et al.*, 2012)، اکسید آهن بر کلبسیلا (Hasanova *et al.*, 2015)

نانوذرات، به علت خصوصیات منحصر به فرد فیزیکی و شیمیایی‌شان، کاربرد رو به گسترشی در علوم مختلف زیستی، شیمی، فیزیک و بیوشیمی دارند (Fernandez-Garcia *et al.*, 2004). دلیل اهمیت استفاده از نانوذرات به‌عنوان ترکیبات ضد میکروبی، افزایش مقاومت میکروارگانیسم‌ها به مواد میکروب‌کش متداول است که ظهور گونه‌های میکروبی مقاوم به ترکیبات میکروب‌کش، ضرورت استفاده از مواد ضد میکروب نوین را ایجاد کرده

شیوع فراوان آن در جهان ۲- میزان عفونت‌زایی بالا (۲۰۰-۱۰ عدد سلول میکروبی) است (DuPont Herbert et al., 1989). در میان گونه‌های شیگلا، شیگلا فلکسنری حدود ۶۶ درصد و شیگلا سونی حدود ۱۸ درصد از کل شیگلا ایزوله شده از مواد غذایی را شامل می‌شوند (Ahmed & Shimamoto, 2015). در این پژوهش اثرهای ضد میکروبی نانوذرات دوپه مس و آلومینیم با اکسید روی بر شیگلا فلکسنری بررسی شده است. به منظور بررسی اثرهای هم‌افزایی (سینرژیستی) نانوذرات دوپه شده، از دو ماده ضد میکروب متداول شامل پراکسید هیدروژن و هیپوکلریت سدیم استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

کلیه مواد شیمیایی مصرف شده در این پژوهش از شرکت مرک آلمان تهیه شده است به جز نانو ذره اکسید روی که از شرکت سیگما تهیه گردید (اندازه ذرات کمتر از ۱۰۰ نانومتر).

تهیه نانوذرات دوپه به روش رسوب شیمیایی

روش رسوبی شیمیایی برای تهیه نانوذرات دوپه مس-اکسید روی و آلومینیم-اکسید روی به کار برده شد. محلول‌های سولفات‌ها از فلزات مورد نظر تهیه و پس از مخلوط شدن با یکدیگر در دستگاه سونیکاتور مدل یوروسونیک 4D (ساخت کشور ایتالیا) در دمای ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۲ ساعت و تحت فرکانس ۵۷ کیلوهرتز قرار داده شدند. پس از گذشت این مدت زمان، دما به ۸۰ درجه سلسیوس رسانیده شد و با افزودن آهسته محلول هیدروکسید سدیم (با غلظت ۲۵ درصد) میزان pH محلول به ۱۲ رسانیده شد. به مدت ۳۰ دقیقه هم‌زدن ادامه یافت. به منظور ترسیب نانوذرات تشکیل شده، محلول به مدت ۱۸ ساعت در دمای محیط قرار داده شد و جداسازی با سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ دور در دقیقه انجام گردید. خالص‌سازی از طریق شست‌وشو با آب مقطر و اتانول ادامه

اکسید تیتانیوم بر کاندیدا (Andre et al., 2015)، اکسید نیکل بر استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، اشریشیاکلی (Baek & An, 2011) اکسید کلسیم بر سالمونلا استنلی (Tang et al., 2013). نانوذرات اکسیدهای فلزی به علت دارا بودن سطح به حجم بالا، خاصیت ضد میکروبی قوی‌تری نشان می‌دهند (Whitesides, 2005). به منظور بهبود خصوصیات این دسته از ترکیبات، واکنش‌های مختلفی استفاده می‌شود که از میان آنها دوپه کردن را می‌توان نام برد (Srinivasulu et al., 2017). در این روش، عناصر با ظرفیت کمتر در ساختار اکسید فلزی، ترکیب می‌شود. برخی پژوهش‌ها اثر این عمل را در بهبود خاصیت ضد میکروبی نانوذرات بر پایه اکسیدهای فلزی گزارش کرده‌اند از جمله ترکیب نقره در ساختار اکسید تیتانیوم در برابر کاندیدا (Andre et al., 2015)، ترکیب آهن و اکسید نقره در برابر اشریشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس، سودوموناس فلئورسنس (Bhushan et al., 2015) از جمله تحقیقات در این زمینه است. به کار بردن هم‌زمان نانوذرات با سایر ترکیبات ضد میکروبی نیز می‌تواند به افزایش کارایی نانوذرات بینجامد از جمله اثر هم‌افزا (سینرژیست) به کار بردن نانوذرات با ترکیباتی نظیر نایسین (Jin & He, 2011)، آب اکسیژنه (Natalio et al., 2012) و سپیروفلاکسین (Masadeh et al., 2015). شیگلا فلکسنری گونه باکتریایی متعلق به خانواده انتروباکتریاسه است و یکی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زای غذایی که سبب بروز شیگلوزیس می‌شود. شیگلوزیس در کشورهای در حال توسعه به خصوص در آسیا شایع است. تخمین زده شده است که سالانه در آسیا ۱۲۵ مورد بروز شیگلوزیس و ۱۴۰۰۰ مورد مرگ رخ می‌دهد (Bardhan et al., 2010). ابتلا به شیگلا با مصرف غذاهای آلوده (عمدتاً سالاد سبزمینی، سبزی‌های خام، گوشت و شیر) و نیز در شرایط نامناسب بهداشتی در محل تولید، رخ می‌دهد (Liew et al., 2014). اهمیت شیگلوزیس به دلیل ۱-

غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بر سطح محیط کشت سالمونلا- شیگلا آگار تلقیح شده با باکتری شیگلا فلکسنری (۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی با جمعیت تقریبی 1.06×10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر) قرار داده شد و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس برای ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. هاله عدم رشد برای نشان دادن فعالیت ضد باکتری در نظر گرفته شد (Mohammadi *et al.*, 2014). به‌عنوان کنترل مثبت و منفی به ترتیب از دیسک آنتی‌بیوتیکی پنی‌سیلین و آب مقطر استریل استفاده گردید (Ahmadi Esbechin *et al.*, 2014).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و محاسبه شاخص کسر غلظت مهارکنندگی

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد از روش برات ماکرودایلوشن استفاده شد. با تعیین شاخص کسر غلظت مهارکنندگی، میزان اثر هم‌افزایی (سینرژیستی) دو ماده (نانوذره و مواد ضد میکروب) مشخص گردید. در لوله‌های حاوی نوترینت برات، مقدار یک میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف از نانوذرات و همچنین غلظت‌های مشخصی از هیپوکلریت سدیم و پراکسید هیدروژن (جدول ۲) ریخته شد. پس از آن، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون سویه میکروبی شیگلا فلکسنری (PTCC 1234) با کدورت مشخص، به لوله‌ها اضافه شد. کنترل مثبت حاوی محیط کشت نوترینت برات و یک میلی‌لیتر سوسپانسیون میکروبی و کنترل منفی حاوی محیط کشت برات استریل همراه با نانوذرات یا مواد ضد میکروب مورد مطالعه بود. پس از مراحل فوق، در لوله‌ها بسته شد و گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت صورت گرفت. دانسیته نوری برای تمام نمونه‌ها قبل و بعد از گرمخانه‌گذاری در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد (Dong *et al.*, 2015). شاخص کسر مهاری برای هر یک از ترکیبات بر اساس روابط (۱) تا (۳) محاسبه شد:

یافت. خشک کردن رسوبات به‌دست آمده در دمای ۲۰۰ درجه سلسیوس برای ۱ ساعت در آون خلأ صورت گرفت (Mukhtar *et al.*, 2012).

تعیین خصوصیات نانوذرات دوپه

خصوصیات نانوذرات با کمک طیف مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) با دستگاه Perkin-Elmer مدل Spectroma2 در دامنه فرکانس ۴۵۰۰-۴۰۰۰ بر سانتی‌متر ارزیابی شد. پراش پرتو X با استفاده از دستگاه Phillips PW1820 از ۲ تا ۸۰ صورت پذیرفت.

بررسی ویژگی‌های نانوذرات

نانوذرات دوپه شده با میکروسکوپ الکترونی عبوری HITACHI مدل H-7500 و بزرگنمایی ۷۰۰۰۰ بررسی شد.

آماده سازی مایه تلقیح

شیگلا فلکسنری (PTCC 1234) از مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری و به محیط نوترینت برات منتقل و گرمخانه‌گذاری (دمای ۳۲ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت) شد. سلول‌های میکروبی با سانتی‌فیوژ مدل ALC4232 (۴۰۰۰ دور بر دقیقه) جداسازی و از روش مک فارلند برای تعیین جمعیت میکروبی استفاده شد. کدورت اولیه سوسپانسیون میکروبی معادل با محلول ۰/۵ مک فارلند تعیین شد (دانسیته نوری محلول ۰/۵ مک فارلند در طول موج ۶۲۵ نانومتر برابر با ۰/۱۳-۰/۰۸ است که معادل با جمعیت میکروبی حدود 1.08×10^8 است). به‌منظور تهیه جمعیت میکروبی برابر با 1.06×10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر، از سرم فیزیولوژی به نسبت ۰/۰۱ برای رقیق‌سازی استفاده شد (Moradian Eivari *et al.*, 2015).

تعیین اثر ضد میکروبی نانوذرات

اثر ضد میکروبی نانوذرات دوپه شده به تنهایی یا همراه با ترکیبات ضد میکروب مورد مطالعه (پراکسید هیدروژن، هیپوکلریت سدیم) با روش انتشار در آگار به روش نقطه‌ای بررسی شد. بیست میکرولیتر از محلول نانوذرات با

باشد، نشان دهنده اثر سینرژیستی دو ماده ضد میکروب است. چنانچه این اندیس بین ۰/۵ و ۰/۷۵ باشد اثر دو ماده ضد میکروب به صورت اثر سینرژیستی کم تفسیر می شود (Hendiani et al., 2015).

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش‌ها در سه تکرار و تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار STATISTICA نسخه ۱۰ صورت گرفت. تیمارهای مورد آزمایش در جدول (۱) آورده شده است.

$$FIC(A) = \frac{\text{حداقل غلظت مهاری ماده A در حالت مخلوط}}{\text{حداقل غلظت مهاری ماده A به تنهایی}} \quad (1)$$

$$FIC(B) = \frac{\text{حداقل غلظت مهاری ماده B در حالت مخلوط}}{\text{حداقل غلظت مهاری ماده B به تنهایی}} \quad (2)$$

$$\Sigma FIC = FIC(A) + FIC(B) \quad (3)$$

اندیس کسر مهارکنندگی محاسبه شده اگر کمتر از ۰/۵

جدول ۱- تیمارهای مختلف مورد بررسی و کدهای هر یک

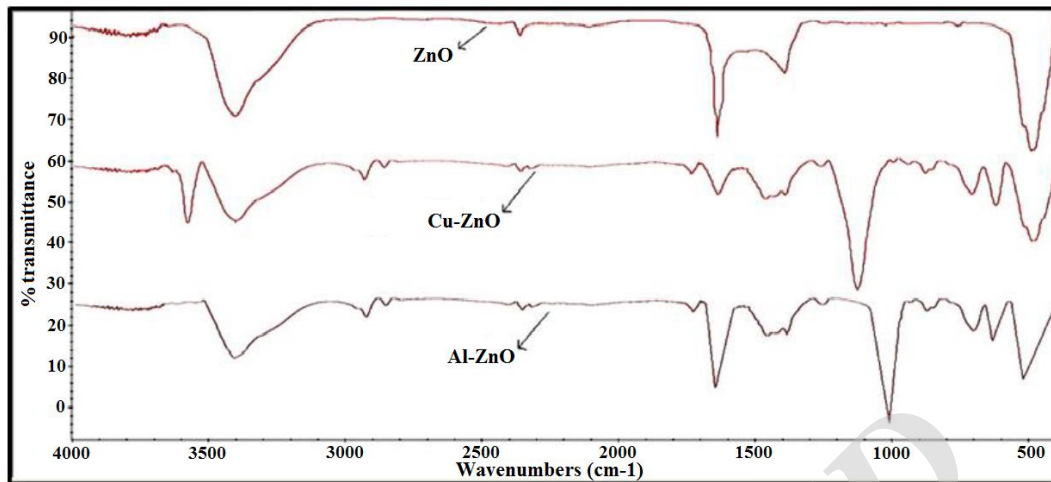
کد	تیمار	کد	تیمار	کد	تیمار
۱	نانوذرات اکسید روی (۵ میلی گرم/ میلی لیتر)	۸	نانوذرات دوپه مس- اکسید روی (۵ میلی گرم/ میلی لیتر)	۱۵	نانوذرات دوپه آلومینیم- اکسید روی (۵ میلی گرم/ میلی لیتر)
۲	نانوذرات اکسید روی (۱۰ میلی گرم/ میلی لیتر)	۹	نانوذرات دوپه مس- اکسید روی (۱۰ میلی گرم/ میلی لیتر)	۱۶	نانوذرات دوپه آلومینیم- اکسید روی (۱۰ میلی گرم/ میلی لیتر)
۳	نانوذرات اکسید روی (۲۰ میلی گرم/ میلی لیتر)	۱۰	نانوذرات دوپه مس- اکسید روی (۲۰ میلی گرم/ میلی لیتر)	۱۷	نانوذرات دوپه آلومینیم- اکسید روی (۲۰ میلی گرم/ میلی لیتر)
۴	نانوذرات اکسید روی (۳۰ میلی گرم/ میلی لیتر)	۱۱	نانوذرات دوپه مس- اکسید روی (۳۰ میلی گرم/ میلی لیتر)	۱۸	نانوذرات دوپه آلومینیم- اکسید روی (۳۰ میلی گرم/ میلی لیتر)
۵	نانوذرات اکسید روی (۵۰ میلی گرم/ میلی لیتر)	۱۲	نانوذرات دوپه مس- اکسید روی (۵۰ میلی گرم/ میلی لیتر)	۱۹	نانوذرات دوپه آلومینیم- اکسید روی (۵۰ میلی گرم/ میلی لیتر)
۶	نانوذرات اکسید روی (۱۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر)	۱۳	نانوذرات دوپه مس- اکسید روی (۱۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر)	۲۰	نانوذرات دوپه آلومینیم- اکسید روی (۱۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر)
۷	نانوذرات اکسید روی (۲۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر)	۱۴	نانوذرات دوپه مس- اکسید روی (۲۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر)	۲۱	نانوذرات دوپه آلومینیم- اکسید روی (۲۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر)

نتایج و بحث

خصوصیات فیزیکی نانوذرات دوپه اکسید روی

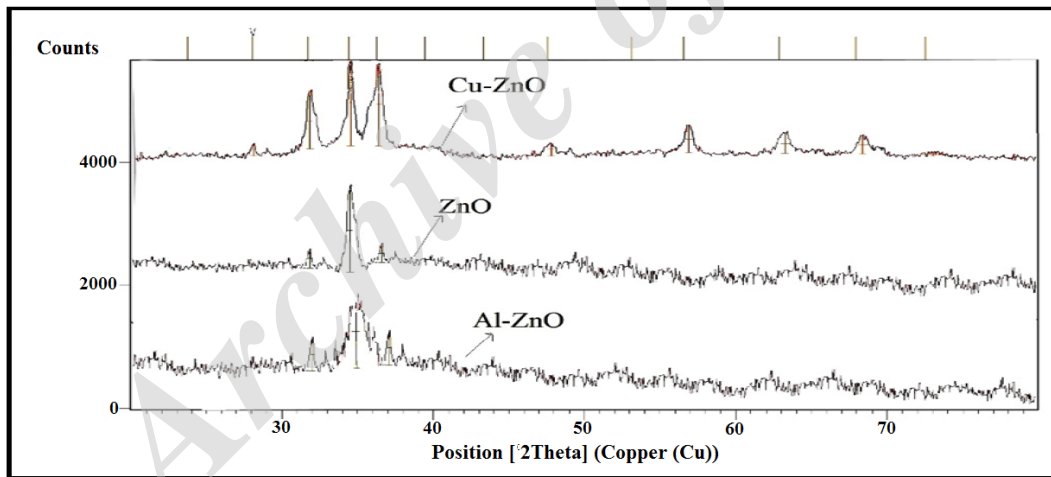
۱۳۶۵ بر سانتی متر نشان دهنده وجود مس در نانوذرات اکسید روی است (Sreeram, 2017). در خصوص نانوذرات آلومینیم-اکسید روی، پیک‌های ۲۳۶۲، ۱۷۴۰ و ۱۳۶۴ بر سانتی متر نیز وجود آلومینیم را در ساختار نشان می‌دهد (Sreeram, 2017). الگوی پراش اشعه ایکس در نانوذرات دوپه اکسید روی، مس- اکسید روی و آلومینیم اکسید روی در شکل (۲) نشان داده شده است.

شکل (۱) طیف مادون قرمز فوریه نانوذرات مورد مطالعه را نشان می‌دهد. پیک در طول موج ۵۳۰-۵۵۵ بر سانتی متر مربوط به اکسید روی است (Raja & Ramesh, 2013) که در هر سه طیف قابل مشاهده است. پیک‌های دامنه ۲۴۰۲، ۱۶۳۸ و



شکل ۱- طیف مادون قرمز فوریه نانوذرات

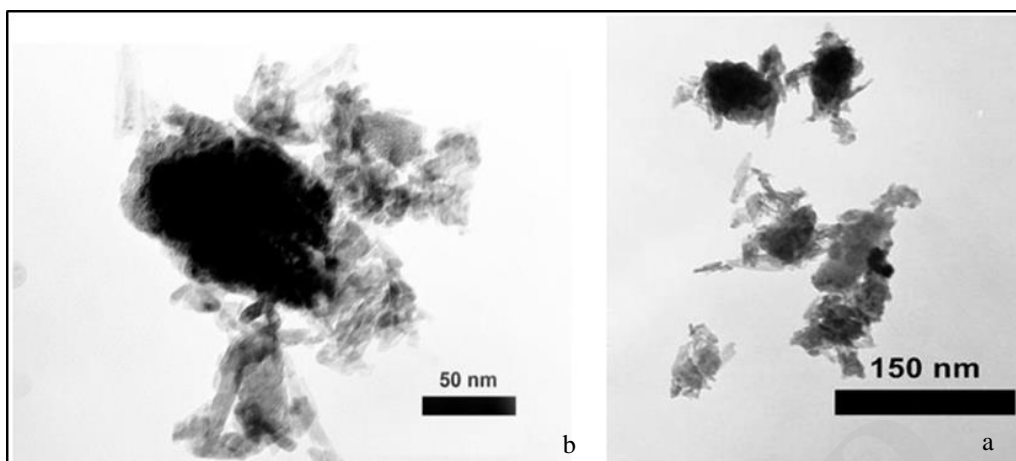
پیک‌های پراش در $2\theta = 31/86^\circ, 34/56^\circ, 36/36^\circ$ مربوط به اکسید روی است (Poloju *et al.*, 2018). دوپه کردن عنصر آلومینیم سبب تغییری محسوس در الگوی پراش اشعه ایکس نانوذرات اکسید نمی‌شود (Poloju *et al.*, 2018) و فقط شکل پیک‌ها کمی تغییر می‌کند (Sreeram, 2017).



شکل ۲- طیف پراش اشعه X نانوذرات

شکل (۳) خصوصیات ظاهری نانوذرات دوپه مس-اکسید روی و آلومینیم-اکسید روی را نشان می‌دهد که با میکروسکوپ الکترونی عبوری گرفته شده است. نتایج به دست آمده از آزمایش‌های FTIR, TEM و XRD نشان دهنده ترکیب عناصر مس و آلومینیم در ساختار اکسید روی است در نتیجه روش هم رسوبی شیمیایی روش مناسبی جهت تهیه نانوذرات بوده است.

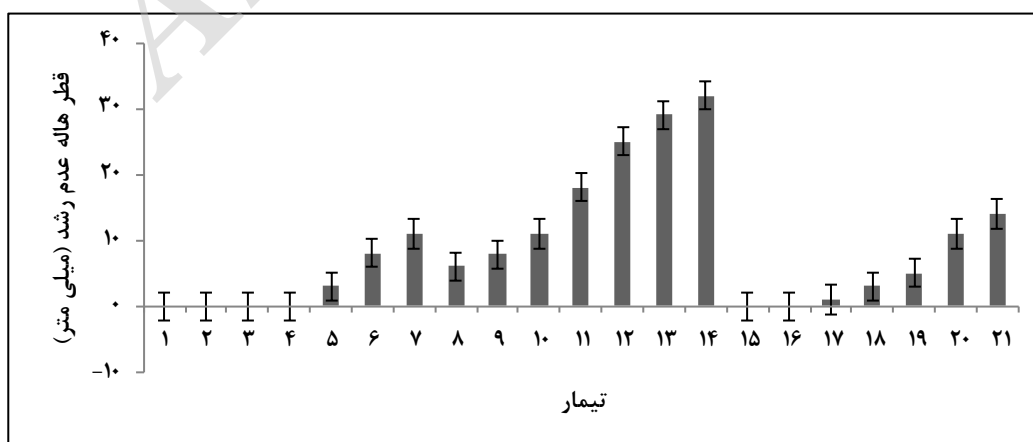
اثر ضد میکروبی بر محیط جامد
به منظور بررسی اثرهای ضد میکروبی نانوذرات دوپه مس-اکسید روی و آلومینیم-اکسید روی، شاخص قطر هاله عدم رشد شیگلا فلکسنری در غلظت‌های مختلف نانوذرات بررسی شد (شکل ۴). دیده شد که اندازه قطر هاله عدم رشد در مورد نانوذرات دوپه مس-اکسید، نسبت به نانوذرات دوپه آلومینیم-اکسید روی، بیشتر است که این



شکل ۳- تصویرهای میکروسکوپ الکترونی عبوری. نانوذرات مس- اکسید روی (a); نانوذرات آلومینیم- اکسید روی (b)

کنترل مثبت (آنتی بیوتیک پنی سیلین) و کنترل منفی (آب مقطر) به ترتیب ۳۷ و ۰ میلی متر است. دوپه کردن عناصر مس و آلومینیم در ساختار نانوذرات اکسید روی سبب افزایش قدرت میکروبی کشی این ترکیبات در برابر شیگلا فلکسنری شده است. ریچترا و همکاران (Richtera *et al.*, 2015) اثر ضد میکروبی قوی گرافن اکسید دوپه شده با عناصر مس، روی، منگنز و نقره را بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* گزارش داده‌اند. دوپه کردن عناصر در ساختار اکسیدهای فلزی به دلیل شکل گیری اکسیژن فعال، سبب بهبود خاصیت ضد میکروبی آنها می‌شود (Sharma *et al.*, 2015).

موضوع نشانگر قدرت ضد میکروبی بیشتر نانوذرات دوپه مس- اکسید روی بر شیگلا فلکسنری است. اثر ضد میکروبی این ترکیبات وابسته به غلظت آنها نیز هست و در غلظت‌های بیشتر، قطر هاله عدم رشد ایجاد شده بزرگ تر است (شکل ۴). بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به مس- اکسید روی با غلظت ۲۰۰ میلی گرم در میلی لیتر است (۳۲ میلی متر). غلظت ۲۰۰ میلی گرم در میلی لیتر از نانوذرات دوپه آلومینیم- اکسید روی سبب ایجاد قطر هاله عدم رشد برابر با ۱۴ میلی متر شده است. نانوذرات اکسید روی به تنهایی قطر هاله عدم رشد برابر با ۱۱ میلی متر را داراست. قطر هاله عدم رشد در مورد



شکل ۴- قطر هاله عدم رشد (میلی متر) شیگلا فلکسنری در غلظت‌های مختلف نانوذرات دوپه مس- اکسید روی و آلومینیم- اکسید روی

نانوذرات مورد مطالعه، سبب افزایش خاصیت ضد میکروبی آنها می‌شود (جدول ۲). نانوذرات دوپه مس-اکسید روی همراه با هیدروژن پراکسید در نسبت ترکیبی (۳۰+۰/۰۰۱) اثر سینرژیستی جزئی داشته است. نانوذرات دوپه مس-اکسید روی و هیپوکلریت سدیم در نسبت‌های ۳۰+۰/۰۷ و ۴۰+۰/۰۸، اثر سینرژیست جزئی دارند ولی در سایر نسبت‌ها، اثر سینرژیستی کامل است. اثر سینرژیستی نانوذرات دوپه آلومینیم-اکسید روی و هیدروژن پراکسید و هیپوکلریت سدیم در تمام غلظت‌ها جزئی است. دانگ و همکاران (Dong et al., 2015) اثر سینرژیستی ترکیب نانوذره نقره با پراکسید هیدروژن و هیپوکلریت سدیم را نشان داده‌اند.

حداقل غلظت بازدارندگی رشد و اثر هم‌افزایی نانوذرات دوپه شده و ترکیبات ضد میکروبی

حداقل غلظت مهار (MIC) برای نانوذرات اکسید روی - مس و اکسید روی- آلومینیم به ترتیب ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است. حداقل غلظت بازدارندگی رشد مربوط به نانوذرات دوپه مس-اکسید روی، آلومینیم-اکسید روی، هیدروژن پراکسید و هیپوکلریت سدیم به تنهایی و به‌صورت ترکیب با یکدیگر، در غلظت‌های مختلف در جدول (۲) آورده شده است. نانوذرات دوپه مس-اکسید روی، در مقایسه با آلومینیم-اکسید روی، در برابر شیگلا فلکسنری دارای غلظت بازدارندگی رشد کمتری هستند. به کار بردن دو ماده ضد میکروب همراه با

جدول ۲- حداقل غلظت بازدارندگی و شاخص کسر غلظت بازدارندگی بر شیگلا فلکسنری

Cu-(mg/ml)/ZnO درصد بازدارندگی	Al-ZnO (mg/ml) درصد بازدارندگی	(ml/ml)H ₂ O ₂ درصد بازدارندگی	(mg/ml)NaOCl درصد بازدارندگی	Cu-ZnO+H ₂ O ₂ ZPIC	Cu-ZnO+NaOCl ZPIC	Al-ZnO+H ₂ O ₂ ZPIC	Al-ZnO+NaOCl ZPIC
۳۰	۲۰	۰/۰۰۱	۰/۰۷	۰/۰۰۱+۳۰	۰/۰۷+۳۰	۰/۰۰۱+۶۰	۰/۰۷+۶۰
۴۰	۴۵	۰/۰۰۲	۰/۰۸	۰/۰۰۲+۴۰	۰/۰۸+۴۰	۰/۰۰۲+۷۰	۰/۰۸+۷۰
۵۰	۶۹	۰/۰۰۳	۰/۰۹	۰/۰۰۳+۵۰	۰/۰۹+۵۰	۰/۰۰۳+۸۰	۰/۰۹+۸۰
۶۰	۸۵	۰/۰۰۴	۰/۱	۰/۰۰۴+۶۰	۰/۱+۶۰	۰/۰۰۴+۹۰	۰/۱+۹۰
۷۰	۱۰۰	۰/۰۰۵	۱۰۰	۰/۰۰۵+۷۰	۱۰۰	۰/۰۰۵+۱۰۰	۱۰۰

نتیجه‌گیری

بررسی‌ها نشان می‌دهد که نانوذرات دوپه مس-اکسید روی و آهن-اکسید روی، دارای خاصیت ضد میکروبی در برابر شیگلا فلکسنری هستند. خاصیت ضد میکروبی این ترکیبات، با افزایش غلظت آنها افزایش می‌یابد و اثر ضد میکروبی اکسید روی دارای مس بیشتر از اثر ضد میکروبی اکسید روی حاوی آلومینیم است. ترکیب

کردن نانوذرات مورد مطالعه با مواد ضد میکروب (هیدروژن پراکسید و هیپوکلریت سدیم)، اثر هم‌افزایی (سینرژیستی) ایجاد می‌کند.

این بررسی نشان می‌دهد که مخلوط پراکسید هیدروژن یا هیپوکلریت سدیم همراه با نانوذرات دوپه شده اکسید روی می‌تواند به‌عنوان ترکیبات ضد عفونی کننده کاربرد داشته باشند.

بررسی‌ها نشان می‌دهد که نانوذرات دوپه مس-اکسید روی و آهن-اکسید روی، دارای خاصیت ضد میکروبی در برابر شیگلا فلکسنری هستند. خاصیت ضد میکروبی این ترکیبات، با افزایش غلظت آنها افزایش می‌یابد و اثر ضد میکروبی اکسید روی دارای مس بیشتر از اثر ضد میکروبی اکسید روی حاوی آلومینیم است. ترکیب

مراجع

Ahmadi Esbechin, S., Safari, M., Soltani, N. and Kamali, M. 2014. In vitro antibacterial activity of methanol, ether and aqueous extracts in some species of cyanobacteria. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 24(117): 39-54. (in Persian).

- Ahmed, A.M. and Shimamoto, T. 2015. Molecular characterization of multidrug-resistant *Shigella* spp. of food origin. *International Journal of Food Microbiology*. 194, 78-82.
- Andre, R.S., Zamperini, C.A., Mima, E.G., Longo, V.M., Albuquerque, A.R., Sambrano, J.R., Machado, A.L., Vergani, C.E., Hernandez, A.C., Varela, J.A. and Longo, E. 2015. Antimicrobial activity of TiO₂: Ag nanocrystalline heterostructures: experimental and theoretical insights. *Chemical Physics*. 459, 87-95.
- Ansari, M.A., Khan, H.M., Khan, A.A., Cameotra, S.S., Saquib, Q. and Musarrat, J. 2014. Interaction of Al₂O₃ nanoparticles with *Escherichia coli* and their cell envelope biomolecules. *Journal of Applied Microbiology*. 116(4): 772-783.
- Baek, Y.W. and An, Y.J. 2011. Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and Sb₂O₃) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Streptococcus aureus*. *Science of the Total Environment*. 409(8): 1603-1608.
- Bardhan, P., Faruque, A.S., Naheed, A. and Sack, D.A. 2010. Decrease in shigellosis-related deaths without *Shigella* spp.-specific interventions, Asia. *Emerging Infectious Diseases*. 16(11): 1718-1723.
- Bhushan, M., Muthukamalam, S., Sudharani, S. and Viswanath, A.K. 2015. Synthesis of α -Fe_{2-x}Ag_xO₃ nanocrystals and study of their optical, magnetic and antibacterial properties. *RSC Advances*. 5(40): 32006-32014.
- Dong, X., Koo, Y., Tang, Y., Yun, Y. and Yang, Y. 2015. Superior antibacterial activity of photochemical synthesized ag-cnt composites and their synergistic effects in combination with other antimicrobial agents. *Journal of Nanomed Nanotechnol*. 6(3): 1-7.
- DuPont Herbert, L., Levine Myron, M., Hornick Richard, B. and Formal, S.B. 1989. Inoculum size in shigellosis and implications for expected mode of transmission. *The Journal of Infectious Diseases*. 159(6): 1126-1128.
- Fernandez-Garcia, M., Martinez-Arias, A., Hanson, J.C., Rodriguez, J.A. 2004. Nanostructured oxides in chemistry: characterization and properties. *Chemical Reviews*. 104(9): 4063-104.
- Hasanova, U.A., Ramazanov, M.A., Maharramov, A.M., Eyvazova, Q.M., Agamaliyer, Z.A., Parfyonova, Y.V., Faiq Hajiyeva, S., Hajiyeva, F.V. and Veliyeva, S.B. 2015. Nano-coupling of cephalosporin antibiotics with Fe₃O₄ nanoparticles: Trojan horse approach in antimicrobial chemotherapy of infections caused by *Klebsiella* spp. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*. 6(03): 225.
- Hendiani, S., Ahya Abdi, A., Mohammadi, P. and Kharrazi, SH. 2015. Synthesis of silver nanoparticles and its synergistic effects in combination with imipenem and two biocides against biofilm producing *Acinetobacter baumannii*. *Nanomedicine Journal*. 2(3): 291-298.
- Jin, T. and He, Y. 2011. Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens. *Journal of Nanoparticle Research*. 13(12): 6877-6885.
- Liew, P.S., Teh, C.S.J. Lau, Y.L. and Thong, K.L. 2014. A real-time loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Shigella* species. *Tropical Biomedicine*. 31(4): 709-720.
- Masadeh, M.M., Karasneh, G.A., Al-Akhras, M.A., Albiss, B.A., Aljarah, K.M., Al-Azzam, S.I. and Alzoubi, K.H. 2015. Cerium oxide and iron oxide nanoparticles abolish the antibacterial activity of ciprofloxacin against Gram positive and Gram negative biofilm bacteria. *Cytotechnology*. 67(3): 427-35.

- Mohammadi, N., Mirhosseini, M., Shirzad, M., Dehghan, Hamdan. and A., Yazdani, N. 2014. Synthesizing zno nanoparticles by high-energy milling and investigating their antimicrobial effect. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences. 23(4): 2070-2082. (in Persian).
- MoradianEivari, A.A., Salehi, M. and Masumeh Malek Jafarian, M. M. 2015. Antimicrobial activity of rosmarinus officinalis on vancomycin -resistant *Staphylococcus Aureus* isolated from Imam Reza hospital patients of mashhad. Journal Neyshabur University of Medical Sciences. 3(3): 39-45. (in Persian).
- Mukhtar, M., Munisa, L. and Saleh, R. 2012. Co-Precipitation synthesis and characterization of nanocrystalline zinc oxide particles doped with cu^{2+} ions. Materials Sciences and Applications. 3(08): 543-551.
- Natalio, F., Andre, R., Hartog, A.F., Stoll, B., Jochum, K.P., Wever, R. and Tremel, W. 2012. Vanadium pentoxide nanoparticles mimic vanadium haloperoxidases and thwart biofilm formation. Nature Nanotechnology. 7(8): 530.
- Poloju, M., Jayababu, N. and Ramana Reddy, M.V. 2018. Improved gas sensing performance of Al doped ZnO/CuO nanocomposite based ammonia gas sensor. Materials Science and Engineering. B 227: 61-67.
- Raja, K.P.S. and Ramesh, D. 2014. Geetha, Structural, FTIR and photoluminescence studies of Fe doped ZnO nanopowder by co-precipitation method. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 131, 183-188.
- Richtera, L., Chudobova, D., Cihalov, K., Kremplova, M., Milosavljevic, V., Kopel, P., Blazkova, V., Hynek, D., Adam, V. and Kizek, R. 2015. The composites of graphene oxide with metal or semimetal nanoparticles and their effect on pathogenic microorganisms. Materials. 8(6): 2994–3011.
- Sharma, N., Jandaik, S., Kumar, S., Chitkara, M. and Singh Sandhu, I. 2015. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of manganese- and iron-doped zinc oxide nanoparticles. Journal of Experimental Nanoscience. 11, 54-71.
- Sreeram, V. 2017. Influence of transition metal (Cu, Al) ions doping on structural and optical properties of ZnO nanopowders. International Journal Chemistry Study. 5(1): 70-73.
- Srinivasulu, T., Saritha, K. and Ramakrishna Reddy, K.T. 2017. Synthesis and characterization of Fe-doped ZnO thin films deposited by chemical spray pyrolysis. Modern Electronic Materials. 3(2): 76-85.
- Tang, Z.X., Yu, Z., Zhang, Z.L., Zhang, X.Y., Pan, Q.Q. and Shi, L.E. 2013. Sonication-assisted preparation of CaO nanoparticles for antibacterial agents. Quimica Nova. 36(7): 933–6.
- Tran, N., Mir, A., Mallik, D., Sinha, A., Nayar, S. and Webster, T.J.2010. Bactericidal effect of iron oxide nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. International Journal of Nanomedicine. 5, 277.
- Whitesides, G.M. 2005. Nanoscience, nanotechnology, and chemistry. Small. 1(2): 172–9.

Investigation on Antimicrobial Effects of Doped Cu, Al- Zinc Oxide Nanoparticles against *Shigella Flexneri*

Z. Didar*

* Corresponding Author: Assistant Professor of Food Science, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran.

Email: z_didar57@yahoo.com

Received: 1 March 2018, Accepted: 2 August 2018

In this study, the synthesis of nanoparticles of doped Copper-zinc oxide and aluminum-zinc oxide by co-precipitation method and investigation of structural and morphological properties of related nanoparticles by using Fourier infrared spectrum, X-ray diffraction and transmission electron microscopy were carried out. In FTIR analysis, existence peaks at 1365, 1638 and 2402 cm^{-1} attributed to copper in zinc oxide structure and appearance of peaks at 1364, 1740 and 2362 cm^{-1} , showed aluminum in zinc oxide structure. Results obtained from XRD and TEM also confirmed that doping process is successfully done. Results showed that the doping of copper and aluminum elements on zinc oxide nanoparticle structure is successfully performed via y co- precipitation method. In order to investigate the antimicrobial effects of these nanoparticles, the inhibition zone (mm) and the minimum inhibitory concentration against *Shigella flexneri* (PTCC 1234) were applied. The results of antimicrobial tests showed that cu-Zn oxide nanoparticles have more antimicrobial effects on *Shigella flexneri* (32mm inhibition zone) than Al-zinc oxide (14mm inhibition zone). Additionally, both doped nanoparticles have more antibacterial effect than zinc oxide nanoparticles alone ($p \leq 0/01$). Minimum inhabitation concentration of cu and al doped nanoparticles were 70 and 100mg/ml, respectively. Combination of studied nanoparticles with two common biocides (Hypochlorite sodium, hydrogen peroxide) have synergistic effects.

Keywords: Doped nanoparticles, Hypochlorite, Synergistic