# خاصیت ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی

**زیبا ویسی ملکشاهی[1]، داود افشار[2]، رضا رنجبر[3]، محمد حسن شیرازی*[4]، فرزاد رضایی[5]، رامینا محبوبی[6]، زهرا پاکباز[6]، سارا حاجی خانی[7]**

1. کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی
2. دانشجوی دکترای تخصصی باکتری شناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران
3. متخصص باکتری شناسی، دانشیار مرکز تحقیقات بیولوژی ملکولی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله تهران
4. متخصص باکتری شناسی، دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
5. کارشناس شیمی دانشگاه آزاد واحد تهران جنوب
6. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران
7. کارشناس میکروب شناسی گروه پاتوبیوژی دانشکده بهداشت

*** نشانی برای مکاتبه:** تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، گروه پاتوبیولوژی، mhshirazi@tums.ac.ir

دریافت مقاله: مرداد نود و یک پذیرش برای چاپ: مهر نود و یک

## چکیده

**سابقه و هدف:** *نانو ذره ZnO دارای خاصیت ضدباکتریایی بر علیه باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی است. هدف از انجام این مطالعه تعیین اثر نانو ذره ZnO بر باکتری های ایجاد کننده عفونتهای بیمارستانی می باشد.*

**روش کار:** *شش نمونه پارچه ی نایلونی در ابعاد 20x20 سانتیمتر برای انجام عملیات پلاسما ی کرونا تهیه و شسته شد. عملیات کرونا در شش شرایط مختلف انجام گردید. بعد از تهیه محلول حاوی نانوذرات و تهیه محیط کشت ، باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی در محیط تریپتیکاز آگار 37 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت انکوبه گردید. از روی شمارش تعداد کلنی باکتری ها قدرت ضدباکتریایی نانوذره محاسبه گردید.*

**یافته ها:** *با افزایش قدرت و تعداد دور پلاسما میزان فعالیت ضد باکتریایی اکسید روی بیشتر شده و تعداد کلنی ها کاهش یافت.*

**نتیجه گیری:** *میزان قدرت خاصیت ضد باکتری متناسب با قدرت و تعداد دور کرونا می باشد که میزان جذب نانو ذره ی اکسید روی را بر روی نمونه ها نشان می دهد. یافته های تحقیق نشان می دهد که پارچه های دارای نانو ذرات روی روش امید بخش در حذف باکتریها از پارچه ها می باشد.*

**واژگان کلیدی:** ***نانو ذره ZnO، استافیلوکوکوس ، اورئوس، اشریشیاکلی***

### مقدمه

منسوجات و مواد رنگ زای مصرفی برای رنگ رزی آنها محیط های مغذی برای رشد باکتری ها محسوب می شوند. لذا برای جلوگیری از کلنیزاسیون باکتریها، ساخت منسوجاتی که دارای خاصیت ضدباکتریایی باشند از اهمیت بالایی برخوردار است. ذرات نانو به خاطر خصوصیت های غیر معمول نوری، شیمیایی، فوتوالکتروشیمیایی و الکتریکی، مورد توجه دانشمندان هستند(1). مشخص شده است که بسیاری از فلزات سنگین در غلظت های بسیار کم، باکتری ها را از بین می برند. مکانیسم اصلی تاثیر نانوذرات بر روی باکتری ها از طریق آسیب به DNA، پروتئین و تخریب دیواره سلولی می باشد(2و3). فلزاتی نظیر مس، روی و کبالت از جمله مواد ضد باکتری موثر برای تکمیل خاصیت ضد باکتریای منسوجات به شمار می روند. نانو ذرات نقره نیز برای بسیاری از باکتریهای گرم منفی و گرم مثبت این خاصیت را دارا هستند اما هیچ ضرری به سلول های انسانی و پستانداران نمی رساند(4). در شکل صنعتی، پارچه ها را با نانو ذرات مختلفی مانند نانو ذره نقره سترون کرده و از آنها به منظور جلوگیری یا به حداقل رساندن تاثیر باکتری های آسیب زا، مانند استافیلوکوکوس اورئوس، در بیمارستان ها استفاده می کنند(5). یکی از مهم ترین نانوذرات، اکسید روی (ZnO) است که در بسیاری از کشورها در مقیاس صنعتی استفاده می شود(6و7). مکانیسم عمل اکسید روی نیز شبیه سایر نانو ذرات است ولی بیشتر از طریق تخریب دیواره باکتری عمل می کند(8). با توجه به این ویژگی نانوذره اکسید روی به عنوان یکی از پرکاربردترین نانوذرات برای مقابله با باکتری های گرم منفی و گرم مثبت مورد استفاده قرار گرفته اند. هدف از انجام این مطالعه تعیین اثر نانو ذره ZnO بر باکتری های ایجاد کننده عفونتهای بیمارستانی می باشد.

## روش کار

6 نمونه پارچه نایلونی در ابعاد 20x20 سانتیمتر برای انجام عملیات پلاسمای کرونا تهیه و شسته شد. در کرونا با قدرت ده هزار و پنج هزار وات تعداد پاساژها 50، 30 و 20 دور بود. دستگاه در سرعت 2 متر در دقیقه و فاصله ی الکترود ها از یکدیگر 3 میلی متر قرار داده شد.

نمونه ها برای رنگ رزی و الصاق نانو ذره ی اکسید روی، به واحد رنگ رزی انتقال داده شد. فرایند الصاق نانو ذره به پارچه هم زمان با رنگ رزی صورت گرفت. پس از آماده سازی نمونه ها یک گرمی از پارچه های کرونا شده و تهیه نسخه رنگ رزی، حمام رنگ رزی با رنگ زای اسیدی سوپرمیلینگ (Nylosan Red) آماده شد و با توجه به حجم حمام ها، از امولسیون حاوی نانو ذره برای رسیدن به دو غلظت 200 و 400 ppm، محلول نانو به حمام ها اضافه گردید. در نهایت، 13 حمام رنگ رزی ( شش حمام با غلظت 200 و شش حمام با غلظت 400 ppm نانو ذره و حمام آخر بدون نانو ذره ) آماده شد. در هر غلظتی از نانو ذره کرونا با قدرت ده هزار وات، تعداد پاساژها 50، 30 و 20 دور، و پنج هزار وات، تعداد پاساژها 50، 30 و 20 دور، اعمال شد.

از هر یک از پارچه های رنگ شده دو قطعه نمونه به اندازه یک سانتی متر مربع تهیه و در درون دو لوله آزمایش استریل قرار داده شد.

جهت تهیه محیط کشت، 40 گرم از تریپتیکاز سوی آگار به 500 میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید. محیط کشت تا شفاف شدن کامل جوشانده شد و سپس به مدت 15 دقیقه در دمای 121 اتوکلاو گردید. باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی روی محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار کشت داده شدند. یک لوپ از هر کدام از باکتری ها به 10 میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل اضافه شد. سرم فیزیولوژی حاوی باکتری را به غلظت یک ده هزارم رسانده و 1 میلی لیتر از این محلول به هر کدام از نمونه های درون لوله آزمایشگاه اضافه شد. لوله های حاوی نمونه به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی گراد انکوبه شدند. پس از گذشت این مدت، 0/1 میلی لیتر از محلول هر لوله آزمایش برداشته و در پلیت کشت باکتری پخش گردید. سپس به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی گراد انکوبه شدند. سپس پلیت ها برای بررسی میزان رشد باکتری از انکوباتور خارج و شمارش کلونی های رشد کرده در پلیت ها انجام شد. مقادیر بدست آمده برای نمونه های کرونا شده که حاوی نانو ذره ی اکسید روی بودند، با نمونه ی شاهد مقایسه شده و میزان قدرت ضد باکتری بر حسب درصد محاسبه گردید(12-9).

## یافته ها

تعداد کلونی های رشد کرده در نمونه ی شاهد برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس 300 کلونی و برای باکتری اشریشیاکلی 600 کلونی بود. در تمامی موارد میزان رشد باکتری اشریشیاکلی نسبت به استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر مشاهده شد(جدول 1 و 2).

**جدول 1 : میزان قدرت ضد باکتری نمونه های نانو ذرات در غلظت های متفاوت بر استافیلوکوکوس اورئوس**

| شماره ی نمونه | غلظت نانو ی بکار گرفته شده (ppm) | قدرت کرونا ی اعمال شده (watt) | تعداد دور کرونا | درصد قدرت ضد باکتری |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 200 | 10000 | 50 | %96 |
| 2 | | | 30 | %60 |
| 3 | | | 20 | %60 |
| 4 | | 5000 | 50 | %73 |
| 5 | | | 30 | %53 |
| 6 | | | 20 | %33 |
| 7 | 400 | 10000 | 50 | %78 |
| 8 | | | 30 | %73 |
| 9 | | | 20 | %60 |
| 10 | | 5000 | 50 | %60 |
| 11 | | | 30 | %46 |
| 12 | | | 20 | %33 |

**جدول4 : میزان قدرت ضد باکتری نمونه های نانو ذرات در غلظت های متفاوت بر اشرشیاکلی**

| شماره ی نمونه | غلظت نانو ی بکار گرفته شده (ppm) | قدرت کرونا ی اعمال شده (watt) | تعداد دور کرونا | درصد قدرت ضد باکتری |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 200 | 10000 | 50 | %100 |
| 2 | | | 30 | %94 |
| 3 | | | 20 | %60 |
| 4 | | 5000 | 50 | %94.6 |
| 5 | | | 30 | %92.6 |
| 6 | | | 20 | %33.3 |
| 7 | 400 | 10000 | 50 | %100 |
| 8 | | | 30 | %96 |
| 9 | | | 20 | %96 |
| 10 | | 5000 | 50 | %95 |
| 11 | | | 30 | %92.5 |
| 12 | | | 20 | %80 |

## بحث

روش های متعددی به منظور ایجاد خاصیت ضد باکتریایی بر روی منسوجات بکار برده شده است که یکی از این مواد نانوذرات هستند. در این مطالعه از نانو ذره ی اکسید روی(ZnO) که بر روی پارچه های نایلونی اضافه می شود برای ارزیابی تاثیر آن بر روی باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی استفاده شد. در این مطالعه نیز همانند مطالعات سایر محققین این ماده خاصیت ضد باکتریایی از خود نشان داد. میزان قدرت خاصیت ضد باکتریایی نانو ذره اکسید روی متناسب با قدرت و تعداد دور کرونای اعمال شده است که در این مطالعه نیز همین نتیجه مشاهده گردید که مشخص کننده ی میزان جذب نانو ذره ی اکسید روی برای هر کدام از نمونه ها می باشد.

در مطالعه خانی و هم کاران نشان داده شده است که با استفاده از نانوذرات می توان رشد باکتری های بیماری زایی چون شیگلا، اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس را مهار کرد(13). بنابراین با استفاده از این نانو ذرات برای مقابله با میکروب های بیماری زا می توان در تولید البسه استفاده کرد(14).

در مطالعه ما مشخص شد که میزان غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری ها بسته به نوع باکتری ها متفاوت بوده و باکتری های گرم مثبت حساسیت بیشتری دارند. برخی از محققین اعتقاد دارند این حساسیت می تواند مربوط به نوع دیواره باکتری های گرم مثبت، فیزیولوژی این باکتری در این مطالعه با افزایش قدرت و تعداد دور پلاسما میزان خاصیت ضد باکتریایی بیشتر شد که این موضوع با نتیجه حاصل از مطالعه Selvam S و هم کاران مطابقت دارد(18). چنانچه نمونه های عمل شده با قدرت 10000 وات با 50 دور کرونا در تمام نمونه ها بیشترین تاثیر را در مقابله

## نتیجه گیری

میزان قدرت خاصیت ضد باکتری متناسب با قدرت و تعداد دور کرونا می باشد که میزان جذب نانو ذره ی اکسید روی را بر روی نمونه ها نشان می

ها و متابولیسم آنها باشد(15). در مطالعات Dutta R.K و انصاری مشخص گردید که خاصیت آنتی میکروبی نانوذره نقره تحت تاثیر غلظت آن قرار دارد که این موضوع با نتایج بدست آمده از مطالعه ما نیز مطابقت دارد(16 و 17).

با باکتری ها از خود نشان داده اند، و کمترین تاثیر در مورد نمونه های عمل شده در شرایط 5000 وات و 20 دور کرونا مشاهده می شود.

دهد. یافته های تحقیق نشان می دهد که پارچه های دارای نانو ذرات روی روش امید بخش در حذف باکتری ها از پارچه ها می باشد.

## REFERENCES

1. Peto G, Molnar GL, Paszti Z, Et Al. Electronic Structure Of Gold Nanoparticles Deposited On Siox/Si. Mater Sci Eng C 2002;19:95–9.

2. Heinlaan M, Ivask A, Blinova I, Dubourguier HC, Kahru A. Toxicity Of Nanosized And Bulk Zno, Cuo And Tio2 To Bacteria Vibrio Fischeri And Crustaceans Daphnia Magna And Thamnocephalus Platyurus. Chemosphere 2008; 71(7): 1308-1316.

3. Zhang L, Jiang Y, Ding Y, Daskalakis N, Jeuken L, Povey M. Mechanistic Investigation Into Antibacterial Behaviour Of Suspensions Of Zno Nanoparticles Against E. Coli. Journal Of Nanoparticle Research 2010; 12(5): 1625-1636.

4. Rai, M., And A., Yadav. 2009. Silver Nanoparticles As A New Generation Of Antimicrobials, Biotechnology Advances, Volume 27, Issue 1, 76-83.

5. Dura´N N, Marcato PD, De S, Et Al. Antibacterial Effect F Silver Nanoparticles Produced By Fungal Process On Textile Fabrics And Their Effluent Treatment. J Biomed Nanotechnol 2007;3:203–8.

6. Handy, RD Et Al.; The Ecotoxicology And Chemistry Of Manufactured Nanoparticles. Ecotoxicology, 2008, Vol 17, Number 4, Pg 287-314.

7. Ostrowski, AD Et Al; Nanotoxicology: Characterizing The Scientific Literature, 2000–2007. Journal Of Nanoparticle Research, 2009, Vol 11, Number 2, Pg 251-257.

8. Reeves JF, Davies SJ, Dodd N. Hydroxyl Radicals (OH & H2O2) Are Associated With Titanium Dioxide (Tio2) Nanoparticle-Induced Cytotoxicity And Oxidative DNA Damage In Fish Cells. Mutation Research/Fundamental And Molecular Mechanisms Of Mutagenesis 2008; 640: 113-22.

9. Nelson Durán, Priscyla D. Marcato, Gabriel I. H. De Souza,Oswaldo L. Alves, and Elisa Esposito, “Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles Produced by Fungal Process on Textile Fabrics and Their Effluent Treatment”, journal of Biomedical Nanotechnology Vol.3, 203–208, 2007, pp 203-208.

10. Stephan T. Dubas, Panittamat Kumlangdudsana , Pranut Potiyaraj, “ Layer-by-layer deposition of antimicrobial silver nanoparticles on textile fibers”, Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 289 (2006), pp 105–109.

11. Nadanathangam Vigneshwaran, Sampath Kumar, A A Kathe, P V Varadarajan and Vire dra Prasad, “Functional finishing of cotton fabrics using zinc oxide–soluble starch nanocomp sites”, Nanotechnology 17 (2006), pp 5087–5095.

12. Alessio Becheri , Maximilian Du¨rr, Pierandrea Lo Nostro , Piero Baglioni, “ Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles: application to textiles as UV-absorbers”, J Nanopart Res (2008) 10, pp 679–689

13. Khani P H, Zand A M, Imani S, Rezayi M, Rezaei-Zarchi S, Determining The Antibacterial Effect Of Zno Nanoparticle Against The Pathogenic Bacterium, Shigella Dysenteriae (Type 1). Int. J. Nano. Dim. 1(4): 279-285.

14. Raffi M, Hussain F, Bhatti T M, Akhter J I, Hameed A, Hasan M M., Mater. Investigations Into The Antibacterial Behavior Of Copper Nanoparticles Against Escherichia Coli. Annals Of Microbiology, 2008; 60(1): 75-80.

15. Nair S, Sasidharan A, Divya Rani VV, Menon D, Nair S, Manzoor K And Raina S . (2009). Role Of Size Scale Of Zno Nanoparticles And Microparticles On Toxicity Toward Bacteria And Osteoblast Cancer Cells. J Mater Sci Mater Med 20 Suppl 1:S235-41. Epub;%2008 Aug 21.:S235-S241.

16. Dutta, R. K., Et Al. "Studies On Antibacterial Activity Of Zno Nanoparticles By ROS Induced Lipid Peroxidation." Colloids Surf.B Biointerfaces. 94:143-50. Epub;%2012 Feb 7. (2012): 143-50.

17. Ansari, M. A., Et Al. "Synthesis And Characterization Of The Antibacterial Potential Of Zno Nanoparticles Against Extended-Spectrum Beta-Lactamases-Producing Escherichia Coli And Klebsiella Pneumoniae Isolated From A Tertiary Care Hospital Of North India." Appl.Microbiol.Biotechnol. 94.2 (2012): 467-77.

18. Selvam, S., Et Al. "Antibacterial Effect Of Novel Synthesized Sulfated Beta-Cyclodextrin Crosslinked Cotton Fabric And Its Improved Antibacterial Activities With Zno, Tio(2) And Ag Nanoparticles Coating." Int.J.Pharm. 434.1-2 (2012): 366-74.