

# اثر ضد باکتریایی نانوذرات اکسید روی و صافی‌های پوشش داده شده با آن در

## حذف اشریشیا کلی و انتروکوکوس فکالیس

همتاسادات قادریان<sup>۱</sup>      مریم محمدی سیجانی<sup>۲</sup>      محمدحسن یوسفی<sup>۳</sup>

(دریافت ۹۲/۱۰/۲      پذیرش ۹۳/۳/۱۲)

### چکیده

آب تمیز لازمه حیات و حفظ اکوسیستم است. هدف از این پژوهش، ارزیابی اثرات ضد باکتریایی نانوذرات روی، بر رشد اشریشیا کلی و انتروکوکوس فکالیس به عنوان شاخص آلودگی آب و همچنین بررسی فعالیت ضد باکتریایی فیلترهای آب پوشش داده شده با این نانوذرات در حذف باکتری‌های یادشده بود. خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات روی، ۵ و ۱۰۰ نانومتری در غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵/۰، ۵۰/۰ و ۱۰۰/۰ میلی گرم در لیتر در شرایط آزمایشگاهی به روش انتشار چاهک بررسی شد. حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی این نانوذرات نیز به روش برات دایلوژن تعیین شد. برای بررسی ویژگی تصفیه‌کنندگی نانوذرات اکسید روی، این ذرات به روش رسوبی بر روی فیلترهای پلی پروپیلنی پوشش داده شدند. فیلتراسیون آب آلوده با تعداد استاندارد از باکتری‌های مورد آزمایش انجام شد. بیشترین هاله عدم رشد نانوذرات اکسید روی ۵ نانومتری بر علیه اشریشیا کلی و انتروکوکوس فکالیس در غلظت ۱۰۰/۰ میلی گرم در میلی لیتر به ترتیب ۱۴/۰۰±۱/۷۳ و ۱۱/۶۷±۱/۵۲ به دست آمد. حداقل غلظت مهارکنندگی نانوذرات اکسید روی نیز ۲۵/۰ میلی گرم در میلی لیتر به دست آمد. آزمون‌های آماری، رابطه بین غلظت نانوذرات و اثرات ضد باکتریایی آنها را معنی‌دار نشان دادند ( $P < 0.001$ ). فیلتر پلی پروپیلنی پوشش داده شده با نانوذرات اکسید روی ۵ نانومتری، در جلوگیری از رشد و حذف اشریشیا کلی مؤثر بود.

**واژه‌های کلیدی:** نانوذرات اکسید روی، اشریشیا کلی، انتروکوکوس فکالیس، اثر ضد باکتریایی

## Antibacterial Activity of ZnO Nanoparticles and Filters Coated with ZnO Nanoparticles on Eliminating *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis*

H.S. Ghaderian<sup>1</sup>      M. Mohammadi Sichani<sup>2</sup>      M.H. Yousefi<sup>3</sup>

(Received Dec. 23, 2013      Accepted June 2, 2014)

### Abstract

Clean water is vital to both human life and preservation of ecosystems. The goal of this study was to investigate the antibacterial effects of ZnO nanoparticles and filters coated with different sizes of ZnO nanoparticles on *Escherichia coli* (ATCC: 25922) and *Enterococcus faecalis* (ATCC: 11700) as the predominant bacteria in contaminated water. The antibacterial effects of ZnO nanoparticles (5 and 100 nm in size) at concentrations of 12.5, 25.0, 50.0, and 100.0 mg/ml were determined using the well diffusion method in vitro. Minimum inhibitory concentrations and minimal bactericidal concentrations of ZnO nanoparticles were determined by the broth micro-dilution method. In another part of the study, ZnO nanoparticles were coated on polypropylene filters using the precipitation method to investigate their removal efficiency. Filtration of contaminated water was performed using a standard number of the bacteria being tested. ZnO nanoparticles (5 nm) at a concentration of 100.0 mg/ml showed maximum sensitivity against *E. coli* and *Enterococcus faecalis* by inhibition zones of  $14.00 \pm 1.73$  and  $11.67 \pm 1.52$  mm, respectively. Maximum inhibitory concentration of ZnO nanoparticles was determined as 25mg/ml. A significant relationship was found between antibacterial activity and ZnO nanoparticles concentration ( $P$ . value  $< 0.001$ ). It may be claimed that treatment with polypropylene filters coated with ZnO nanoparticles (5nm) is an effective process for controlling bacterial growth and eliminating *E. coli*.

**Keywords:** Zinc Oxide Nanoparticles, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, Antimicrobial Activity.

1. MSc, Dept. of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
2. Instructor of Microbiology, Dept. of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran (Corresponding Author) (+98 31) 37420140 Mohamadi\_m@iaufala.ac.ir
3. Assoc. Prof. of Physics, Malek-e-Ashtar University of Tech., Shahinshahr, Isfahan, Iran

- ۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران
- ۲- مربی گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران (نویسنده مسئول) ۳۷۴۲۰۱۴۰ (۰۳۱) Mohamadi\_m@iaufala.ac.ir
- ۳- دانشیار، گروه فیزیک، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، شاهین شهر، اصفهان، ایران

میلی لیتر را با سرعت سه لیتر بر ساعت از این فیلتر عبور دادند. آنها مشاهده کردند که پس از پنج ساعت فیلتراسیون، نانوذره پوشش داده شده روی فیلتر پلی پروپیلنی توانایی حذف کامل باکتری های *اشریشیاکلی* موجود در آب را دارد [۹-۱۲].

هدف از این مطالعه بررسی اثر باکتری کشی نانوذرات اکسید روی در حذف سویه های *اشریشیاکلی* و *انتروکوکوس فکالیس* بود. همچنین حداقل غلظت مهارکنندگی و باکتری کشی نانوذرات اکسید روی بر باکتری های یادشده تعیین شد. همچنین توانایی صافی های پوشش داده شده با نانوذرات اکسید روی در حذف این باکتری ها بررسی شد.

## ۲- مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی از سویه های باکتریایی *انتروکوکوس فکالیس* (ATCC: 11700) و *اشریشیاکلی* (ATCC: 25922) به عنوان باکتری های شاخص آلودگی آب استفاده شد. سویه های استاندارد از مرکز کلکسیون قارچ ها و باکتری های صنعتی ایران تهیه شد.

نانوذرات اکسید روی با اندازه های ۵ و ۱۰۰ نانومتر توسط پژوهشگران دانشگاه صنعتی مالک اشتر سنتز شد. نانوذرات اکسید روی با کلرید روی، هیدروکسید پتاسیم و پلی اتیلن گلاکول به روش شیمیایی مهارکردن ساخته شدند. نوع و اندازه نانوذرات روی سنتز شده با الگوی پراش پرتو ایکس<sup>۱</sup> و میکروسکوپ تونلی روبشی<sup>۲</sup> تأیید شد [۱۱].

از آنجایی که تعداد باکتری های تلقیح شده یکی از متغیرهای مهمی است که بر فعالیت ضد میکربی اثر می گذارد، بنابراین تراکم سوسپانسیون تلقیحی میکربی باید استاندارد باشد. به همین دلیل برای تهیه سوسپانسیون میکربی، چند کلنی از کشت تازه و فعال باکتری در محیط کشت مولر هینتون برات در سرم فیزیولوژی استریل تلقیح شد. کدورت این سوسپانسیون به کمک اسپکتروفتومتر در جذب نوری ۰/۰۸ تا ۰/۱ تنظیم شد که مطابق با  $10^8 \times 1/5$  باکتری در هر میلی لیتر است. غلظت های ۵/۱۲، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر از نانوذرات اکسید روی در محلول ۱۰ درصد DMSO<sup>۳</sup> در لوله های آزمایش استریل تهیه شد [۱۲].

به منظور بررسی اثر ضد باکتریایی نانوذرات اکسید روی از روش انتشار چاهک<sup>۴</sup> استفاده شد. ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون

آب آلوده در کشورهای در حال توسعه یکی از دلایل عمده مرگ و میر محسوب می شود، بنابراین تصفیه آب بسیار اهمیت دارد. آب شرب علاوه بر کافی بودن باید از نظر بهداشتی نیز مناسب باشد. مطابق با استانداردها، آب آشامیدنی باید عاری از آلودگی شیمیایی و میکربی باشد و بو و کدورت نداشته باشد. یکی از روش های تصفیه معمول و کاربردی برای حذف آلودگی های میکربی آب، کلر زنی است. اگرچه کلر زنی روش مؤثری در حذف آلودگی های آب است، اما کلر با آلایندگی موجود در آب های طبیعی واکنش داده و محصولات جانبی مضر تولید می کند [۱]. ساخت نانوذرات دارای خاصیت ضد میکربی، زمینه را برای آلودگی زدایی از آب ها فراهم کرده است. نانوذرات با مکانیسم هایی متفاوت از کلر، باکتری ها را حذف می کنند که این مسئله در تصفیه آب مهم است. در سال های اخیر، به اکسیدهای فلزی، مانند اکسید روی به عنوان ترکیبی ضد میکربی توجه شده است. افزایش سطح ذره نسبت به حجم آن باعث پایداری نانوذرات شده است [۲]. همچنین نانوذرات، فعالیت ضد باکتریایی قوی نسبت به طیف وسیعی از باکتری ها نشان می دهند. نانوذرات اکسید روی با تولید پراکسید هیدروژن و نفوذ در دیواره سلولی و تخریب غشاء، مانع از رشد باکتری ها می شوند؛ اما مکانیسم فعالیت نانوذرات اکسید روی دقیقاً مشخص نشده است [۳-۶].

کیترا و همکاران در مطالعه ای در سال ۲۰۱۲، نشان دادند که نانوذرات اکسید روی اثر مهارتی در خور توجهی روی *اشریشیاکلی* و *سودوموناس* ها دارند. به عقیده این پژوهشگران نانوذرات اکسید روی علاوه بر اثر مهارتی بر رشد این دو باکتری، از رشد *آسپرژیلوس نایجر* هم جلوگیری می کنند [۲]. در پژوهشی که تایل و همکاران انجام دادند، اثر ضد باکتریایی نانوذرات اکسید روی بر علیه نه گونه باکتریایی، به صورت مقایسه ای انجام و مشخص شد که سویه های گرم مثبت، نسبت به سویه های گرم منفی در برابر نانوذرات اکسید روی، حساسیت بیشتری از خود نشان می دهند [۷]. همچنین یوسف اثر ضد باکتریایی نانوذرات اکسید روی را بر هشت گونه باکتری، یک گونه قارچ کپکی و یک گونه مخمر بررسی کرد. وی بیشترین مهارت رشد را برای *باسیلوس سوبتیلیس* به دست آورد و در مقابل، کمترین مهارت را در مورد *پروتئوس ولگاریس* و *آسپرژیلوس نایجر* گزارش کرد [۸]. حیدرپور و همکاران در سال ۲۰۱۲، مکانیسم ضد باکتریایی چند نانوذره، از جمله نانوذره اکسید روی را شناسایی کردند. آن ها به منظور تصفیه میکربی، آب نانوذرات نقره را روی فیلترهای پلی پروپیلنی رسوب داده و آب آلوده به باکتری *اشریشیاکلی* با غلظت ۱۰۰۰ باکتری در هر

<sup>1</sup> X-Ray Diffraction

<sup>2</sup> Scanning Tunneling Microscope (STM)

<sup>3</sup> Dimethylsulfoxide

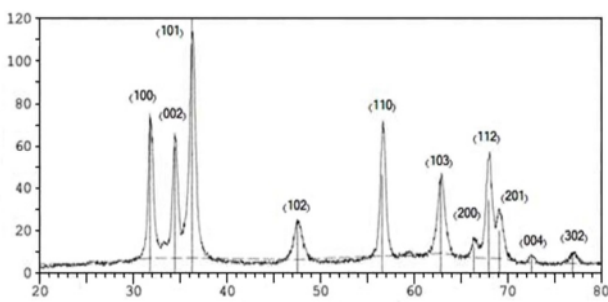
<sup>4</sup> Well Diffusion Method

استاندارد مک‌فارلند در سرم فیزیولوژی تهیه شد و به نسبت ۰/۱ رقیق شد. صافی‌ها درون قیف بوختر قرار داده شدند و عمل فیلتراسیون انجام شد. از آب آلوده شده به باکتری با غلظت  $10^7 \times 1/5$  باکتری در هر میلی‌لیتر یکبار قبل و یکبار بعد از فیلتراسیون مقدار ۱۰۰ میکرولیتر نمونه‌گیری شد و به‌طور جداگانه به پلیت حاوی محیط کشت جامد استریل منتقل و به‌صورت یکنواخت کشت داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند. پس از ۲۴ ساعت، تعداد کلنی‌های موجود در محیط کشت شمارش شد. هر کلنی نماینده حضور یک باکتری در آب است. برای تأیید نتایج، آزمون سه بار تکرار شد [۱۰ و ۱۵]. این آزمایش برای هر دو اندازه نانوذره اکسید روی با *اتروکوکوس فکالیس* نیز سه بار تکرار شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و پرایش ۱۶ انجام شد. برای بررسی وجود اختلاف معنی‌دار در نتایج به دست آمده، از آزمون‌های آنالیز واریانس استفاده شد و اختلاف بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری کمتر  $P < 0/001$  تعیین شد.

### ۳- نتایج

برای تعیین ساختار بلوری نانوذرات تولید شده بیناب، پراش پرتو ایکس گرفته شد. همان‌گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، ساختار بلوری شش‌گوش اکسید روی تشکیل شده است. پهن‌شدگی خطوط بینایی، نشان‌دهنده کوچک بودن اندازه ذرات اکسید روی است.



شکل ۱- الگوی پراش پرتو ایکس نمونه ZnO

به‌منظور بررسی دقیق اندازه نانوذرات تولید شده، تصاویر دو بعدی STM در شکل ۲ آمده است. به‌منظور تهیه نمونه برای تصویربرداری، مقدار کمی از نمونه کلونیدی به‌کمک دستگاه اولتراسونیک در اتانول دیسپرس شد. سپس یک قطره از آن روی سطح HOPG که نوعی گرافیت است، پخش و خشک شد و تصویر آن تهیه شد.

باکتریایی با غلظت برابر نیم مک‌فارلند روی محیط کشت MHA به‌صورت یکنواخت کشت داده شد. پس از گذشت ۱۵ دقیقه توسط پیپت پاستور استریل، چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر در محیط کشت ایجاد شد. ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از غلظت‌های نانو ذرات روی در داخل چاهک‌ها ریخته شد. چاهک حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محلول ۱۰ درصد DMSO استریل، به‌عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد. دیسک آنتی‌بیوتیک‌های وانکوماپسین و جنتامایسین نیز به‌عنوان شاهد مثبت استفاده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند. قطر هاله عدم رشد در اطراف هر چاهک برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. تمام مراحل بالا به‌منظور کاهش خطا، با سه بار تکرار انجام شد [۸ و ۱۳].

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد<sup>۱</sup> و حداقل غلظت باکتری‌کشی<sup>۲</sup> نانوذرات اکسید روی، از روش تهیه رقت در محیط مایع<sup>۳</sup> استفاده شد. نانوذرات اکسید روی در غلظت‌های ۲۵، ۱۲/۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، در محیط کشت مولر هینتون براث حاوی DMSO ۱۰ درصد تهیه شدند. سوسپانسیون باکتریایی با کدورت برابر نیم استاندارد مک‌فارلند، به لوله‌های حاوی غلظت‌های مختلف از نانوذرات تلقیح شدند. لوله حاوی محلول DMSO ۱۰ درصد به‌عنوان لوله کنترل منفی و لوله حاوی محیط کشت و سوسپانسیون باکتری به‌عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. لوله‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار، انکوبه شدند. کمترین غلظت از نانوذرات اکسید روی که در آن کدورتی مشاهده نشد، به‌عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین MBC، ۱۰۰ میکرولیتر از تمام لوله‌هایی که در آنها کدورت قابل تشخیصی مشاهده نشد، بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند. کمترین غلظت از نانوذرات اکسید روی که در آن باکتری رشد نکرده بود، به‌عنوان غلظت MBC در نظر گرفته شد و آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند [۳، ۸ و ۱۴].

برای بررسی فعالیت ضد باکتریایی فیلترهای آب پوشش داده شده با نانوذرات اکسید روی از نانوذرات اکسید روی، در هر دو اندازه ۵ و ۱۰۰ نانومتر، غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شد. قطعات دایره‌ای شکلی از فیلترهای پلی‌پروپیلنی مخصوص تصفیه آب تهیه شد. سپس از محلول نانوذره اکسید روی بر روی تمام سطح آن به‌طور یکنواخت رسوب داده شد. فیلترها در شرایط کاملاً استریل، خشک شدند. سوسپانسیون باکتریایی با کدورت برابر ۰/۵

<sup>1</sup> Minimal Inhibitory Concentration (MIC)

<sup>2</sup> Minimal Bactericidal Concentration (MBC)

<sup>3</sup> Broth Dilution Method

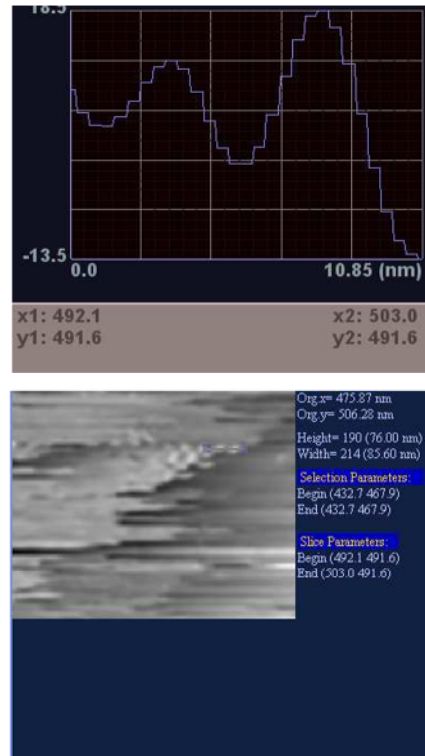
نتایج نشان می‌دهد که نانوذرات اکسیدروی از رشد باکتری *اشریشیاکلی* و *انتروکوکوس فکالیس* جلوگیری می‌کند و این اثر بازدارندگی با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی بر این باکتری‌ها افزایش می‌یابد. در حقیقت بین غلظت نانوذره و درصد حذف باکتری، رابطه مستقیم وجود دارد. این نتایج از لحاظ آماری معنی‌دار است ( $P < 0/05$ ).

غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از نانوذرات اکسید روی در دو اندازه متفاوت روی باکتری *اشریشیاکلی* اثر بازدارندگی بیشتری دارد. همچنین نشان داده شد که نانوذرات اکسید روی در اندازه کوچک‌تر یعنی ۵ نانومتر، تأثیر ضد میکروبی بیشتری دارند. نتایج حاصل از کمترین غلظت مهارکنندگی MIC و کمترین غلظت باکتری‌کشی MBC، مطالب بالا را تأیید می‌کند.

نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس نشان داد که میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌های *اشریشیاکلی* و *انتروکوکوس فکالیس* یکسان نیست، به طوری که میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری *اشریشیاکلی* از نانوذرات اکسید روی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به طور معنی‌داری از سایر غلظت‌ها بیشتر بود ( $P < 0/001$ ). میانگین قطر هاله عدم رشد این باکتری در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نسبت به غلظت ۱۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. همچنین این پژوهش نشان داد که میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری *انتروکوکوس فکالیس* از نانوذرات اکسید روی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به طور معنی‌داری از سایر غلظت‌ها بیشتر است ( $P < 0/001$ ). بین میانگین قطر هاله عدم رشد این باکتری در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نسبت به غلظت ۱۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

در این بررسی، برای سنجش حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری‌ها و حداقل غلظت باکتری‌کشی نانوذرات اکسید روی با اندازه‌های ۵ و ۱۰۰ نانومتر تا غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بر روی دو گونه باکتری مورد آزمایش، از روش میکروداپلوشن استفاده شد. نتایج حاصل از این بررسی‌ها در جدول ۲ ارائه شده است.

تعداد باکتری‌ها در آب آلوده به *اشریشیاکلی* که از فیلتر پوشش داده شده با نانوذرات اکسید روی، در اندازه ۵ نانومتر عبور داده شده بود، کاهش یافت. به طوری که تعداد *اشریشیاکلی* از  $10^5$  باکتری در هر میلی‌لیتر به شش باکتری در هر میلی‌لیتر رسید. این کاهش از لحاظ آماری رابطه معنی‌داری را نشان می‌دهد ( $P < 0/001$ ). فیلتراسیون آب با فیلتر آغشته به نانوذرات اکسید روی ۱۰۰



شکل ۲- تصویر STM نمونه نانوذرات روی

نتایج حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی به روش انتشار چاهک در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مورد مطالعه (برحسب میلی‌متر)، در غلظت‌ها و اندازه‌های مختلف نانوذرات اکسید روی

| غلظت نانوذرات (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) | <i>انتروکوکوس فکالیس</i> | <i>اشریشیاکلی</i> |                     |
|---------------------------------------|--------------------------|-------------------|---------------------|
| ۱۰۰                                   | ۱۱/۶۷                    | ۱۴/۰۰             | نانوذره ۵ نانومتر   |
| ۵۰                                    | ± ۱/۵۲                   | ± ۱/۷۳            |                     |
| ۲۵                                    | ۸/۶۷                     | ± ۰/۵۷            |                     |
| ۱۲/۵                                  | ± ۱/۱۵                   | ± ۰/۰۰            |                     |
| ۱۰۰                                   | ± ۷/۵۰                   | ± ۵/۵۷            | نانوذره ۱۰۰ نانومتر |
| ۵۰                                    | ± ۰/۵۷                   | ± ۰/۰۰            |                     |
| ۲۵                                    | ± ۰/۰۰                   | ± ۰/۰۰            |                     |
| ۱۲/۵                                  | ± ۰/۰۰                   | ± ۰/۰۰            |                     |

جدول ۲- مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت باکتری‌کشی برای نانوذرات اکسید روی (برحسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر)

| نانوذره سایز ۵ نانومتر |     | نانوذره سایز ۱۰۰ نانومتر |     |                   |
|------------------------|-----|--------------------------|-----|-------------------|
| MBC                    | MIC | MBC                      | MIC |                   |
| ۲۵                     | ۲۵  | ۱۰۰                      | ۱۰۰ | اشریشیاکلی        |
| ۲۵                     | ۲۵  | ۲۰۰                      | ۱۰۰ | انتروکوکوس فکالیس |

نانومتري هیچ‌گونه تأثیری در کاهش تعداد باکتری نداشت. همچنین فیلترهای آغشته با نانوذرات روی ۵ نانومتري نیز در حذف انتروکوکوس فکالیس از آب مؤثر نبوده‌اند ( $P < 0.001$ ).

#### ۴- بحث

بر اساس اعلام سازمان بهداشت جهانی<sup>۱</sup> تعداد کلیفرم‌ها و باکتری‌های گوارشی شمارش شده در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر آب نوشیدنی باید صفر باشد [۱۶ و ۱۷]. همچنین تصفیه آب با کلر باعث تولید محصولات جانبی مضر می‌شود. در پژوهش حاضر اثر ضد باکتریایی نانوذرات اکسید روی بررسی شد و مشاهده شد که بین میزان حذف اشریشیاکلی و انتروکوکوس فکالیس به وسیله نانوذرات روی با دو اندازه ۵ و ۱۰۰ نانومتر تفاوتی وجود ندارد. همچنین قطر هاله عدم رشد نشان می‌دهد که اثر ضد باکتریایی نانوذرات در اندازه‌های مختلف به نوع باکتری بستگی دارد. اگرچه این اختلاف از نظر آزمون‌های آماری معنی‌ی نداشت ( $P < 0.001$ ).

مطالعات ملکوتیان و همکاران در مورد اثر ضد باکتریایی نانوذرات در حذف باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی این مطلب را تأیید می‌کند. شارما و همکاران در سال ۲۰۱۳، سنتز نانوذرات اکسید روی آلاییده با نقره را انجام دادند که علت همراه کردن ذرات نقره، کاهش بیشتر اندازه نانوذره اکسید روی و افزایش خاصیت ضد میکروبی علیه باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس آرتوس بود و مشاهده شد که میزان MIC برای باکتری استافیلوکوکوس آرتوس با نانوذرات سنتز شده با افزایش غلظت نقره متفاوت بود؛ ولی برای باسیلوس سوبتیلیس، میزان MIC در غلظت‌های مختلف نقره ثابت ماند. همچنین دیده شد که نانوذرات اکسید روی علیه میکروارگانیزم‌های گرمادوست هم، خاصیت ضد باکتریایی از خود نشان می‌دهند [۱۳]. همچنین یوسف و همکاران در سال ۲۰۱۱، تأثیر ضد باکتریایی اکسید روی، نانوذرات اکسید روی و آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل و آموکسی‌سیلین را بر روی شش سویه باکتری یک گونه قارچ کپکی و یک گونه قارچ مخمري

<sup>1</sup> World Health Organization (WHO)

بررسی کردند. ایشان برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی از روش میکروداپلوشن استفاده کردند. آنها مشاهده کردند که هر چهار ترکیب مورد بررسی خاصیت ضد میکروبی دارند؛ ولی بیشترین مهارکنندگی از نانوذرات اکسیدروی دیده شد. اکسید روی کمترین تأثیر را بر روی میکروب‌های یاد شده داشت. همچنین نشان دادند که تأثیر ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی بر میکروارگانیزم‌های مختلف، متفاوت است [۷]. با توجه به نتایج حاصل از انتشار چاهک، مشاهده شد که با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی، قطر هاله عدم رشد باکتری افزایش می‌یابد. همچنین لیو و همکاران در سال ۲۰۰۹، تأثیر ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی را بر اشریشیاکلی بررسی کردند و مشاهده نمودند که در غلظت ۱۲ میلی‌مول بر لیتر، مهار کامل رشد اتفاق می‌افتد [۱۸].

باکتری اشریشیاکلی نسبت به انتروکوکوس فکالیس، در مقابل هر دو اندازه نانوذره حساس‌تر بوده و در غلظت‌های کمتری از نانوذرات حذف شد. علت این اختلاف را می‌توان به نوع پوشش انتروکوک نسبت داد. انتروکوکوس فکالیس، کوکسی گرم مثبت و واجد لایه‌های متعدد پپتیدوگلیکان است که در مقایسه با اشریشیاکلی گرم منفی مقاومت ذاتی بیشتری دارد. وانگ و همکاران در سال ۲۰۱۲، حساسیت باکتری اشریشیاکلی K88 را در برابر نانوذرات اکسید روی بررسی کردند. آنها با تعیین MIC و MBC اثرات ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی را بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد اشریشیاکلی سویه K88 در غلظت ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر مهار رشد داشت. بنابراین گزارش دادند که نانوذرات اکسید روی، اثر ضد باکتریایی قوی علیه سویه یاد شده دارند [۱۹].

#### ۵- نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش حاکی از آن است که نانوذرات اکسید روی در دو اندازه ۵ و ۱۰۰ نانومتر اثر ضد میکروبی دارند. این اثر در مورد باکتری اشریشیاکلی و انتروکوکوس فکالیس تفاوتی ندارد. همچنین تأثیر ضد میکروبی نانوذرات ۵ نانومتري بیشتر است. طبق نتایج این پژوهش، نانوذره ۵ نانومتري رسوب داده شده بر روی فیلتر پلی‌پروپیلنی، برخلاف نانوذره ۱۰۰ نانومتري، خاصیت ضد باکتریایی خود را علیه باکتری اشریشیاکلی حفظ کرد؛ بنابراین نانوذرات اکسید روی با اندازه ۵ نانومتر پتانسیل خوبی برای استفاده در تصفیه میکروبی آب و یا احتمالاً پساب‌های آلوده خواهد داشت. به هر حال استفاده از فیلترهای رسوب داده شده با نانوذرات اکسید روی نیاز به مطالعه بیشتری دارد و عواقب محیط زیستی ناشی از این ذرات نیز باید دقیقاً ارزیابی شوند.

1. Arabi, F., Imandar, M., Negahdary, M., Imandar, M., Noughabi, M., Torkamani, M., Akbari-dastjerdi, H., and Fazilati, M. (2012). "Investigation anti-bacterial effect of zinc oxide nanoparticles upon life of *Listeria monocytogenes*." *J. of Annals of Biological Research*, 3(7), 3679-3685.
2. Chitra, K., and Annadurai, G. (2013). "Antimicrobial activity of wet chemically engineered spherical shaped ZnO nanoparticles on food borne pathogen." *Int. J. of Food Research*, 20, 59-64.
3. Emami-Karvani, Z., and Chehrizi, P. (2011). "Antibacterial activity of ZnO nanoparticle on gram positive and gram-negative bacteria." *African J. of Microbiology Research*, 12, 1368-1373.
4. Dutta, R.K., Nenavathu, B.P., Gangishetty, M.K., and Reddy, A.V.R. (2012). "Studies on antibacterial activity of ZnO nanoparticles by ROS induced lipid peroxidation." *J. of Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 94, 143-150.
5. Xie, Y., He, Y., Irwin, P., Jin, T., and Shi, X. (2011). "Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles." *J. of Applied Environmental Microbiology*, 77(7), 2325-2331.
6. Ravikumar, S., Gokulakrishnan, R., and Boomi, P. (2012). "In vitro antibacterial activity of the metal oxide nanoparticles against urinary tract infectious bacterial pathogens." *Asian Pacific J. of Tropical Disease*, 2(2), 85-89.
7. Tayel, A.A., El-tras, W.F., Moussa, S., EL-baz, A.F., Mahrous, H., Salem, M.F., and Brimer, L. (2011). "Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens." *J. of Food Safety*, 31(2), 211-218.
8. Yousef, J.M., and Danial, E.N. (2012). "In vitro antibacterial activity and minimum inhibitory concentration of Zinc Oxide and nano-particle Zinc oxide against pathogenic strains." *J. of Health Sciences*, 2, 38-42.
9. Heidarpour, F., Ghani, W.A., Wan Ab, K., Ahmadun, F.R., Bin, S., Zargar, M., and Mozafari, M.R. (2010). "Nano silver-coated polypropylene water filter: I manufacture by electron beam gun using a modified balzers 760 Machine." *Digest J. of Nanomaterials and Biostructures*, 5(3), 786-796.
10. Heidarpour, F., Ghani, W.A., Wan Ab, K., Ahmadun, F.R., Bin, S., Zargar, M., and Mozafari, M.R. (2010). "Nano silver-coated polypropylene water filter: II evaluationof antimicrobial efficiency." *Digest J. of Nanomaterials and Biostructures*, 3, 797-804.
11. Yousefi, M.H., Fallahzadeh, A., and Abolhassani, M.R. (2010). "Study of optical and magnetic properties of ZnO:Co nanoparticles prepared by chemical synthesis." M.Sc. Thesis, Malek-Ashtar University of Technology. (In Persian)
12. Heidarpour, F., Ghani, W.A., Wan A.B.K., Ahmadun, F.R., Bin, S., Zargar, M., and Mozafari, M.R. (2011). "New trends on microbiological water filter." *Digest J. of Nanomaterials and Biostructures*, 2, 791-802.
13. Jones, N., Ray, B., Ranjit, K.T., and Manna, A.C. (2008). "Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms." *J. of FEMS Microbiology Letters*, 279(1), 71-76.
14. Raghupathi, K.R., Koodali, R.T., and Manna, A.C. (2011). "Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of Zinc Oxide Nanoparticles." *J. of American Chemical Society*, 27, 4020-4028.
15. Sharma, N., Kumar, J., Thakur, S., Sharma, S., and Shrivastava, V. (2013). "Antibacterial study of silver doped zinc oxide nanoparticles against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*." *J. of Drug Invention today*, 5(1), 50-54.
16. Jamieson, R., Gordon, R., Joy, D., and Lee, H. (2004). "Assessing microbial pollution of rural surface waters: A review of current watershed scale modeling approaches." *J. of Agricultural Water Management*, 1, 1-17.
17. Odonkor, S.T., and Ampofo, J.K. (2013). "*Escherichia coli* as an indicator of bacteriological quality of water: an overview." *J. of Microbiology Research*, 4(1), 5-11.
18. Liu, Y., He, L., Mustapha, A., Li, H., Hu, Z. Q., and Lin, M. (2009). "Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157:H7." *J. of Applied Microbiology*, 107, 1193-1201.
19. Wang, C., Liu, L.L., Zhang, A.T., Xie, P., Lu, J.J., and Zou, X.T. (2012). "Antibacterial effects of zinc oxide nanoparticles on *Escherichia coli* K88." *African J. of Biotechnology*, 44, 10248-10254.